序

所長　渡邉治雄

SARS や新型インフルエンザ(A/H1N1)の事例でより明らかになったことですが、ひとたびどこかの地域で発生した感染症は瞬く間に世界全域に拡大していきます。いまや感染症は「一国の問題ではなく、世界の問題」として認識すべき課題となっています。感染研の大きな使命のひとつは、そのような人類の脅威となる病原体およびそれによって起こる病気の出現を迅速に検知し、その拡大を阻止するための対策に結び付く科学的な研究を行い、国民一人ひとりの健康を守ることに貢献することにあります。所長に就任するに当たり「国民および世界のための研究所、国民および世界に必要とされる研究所」であることを目指すことにしました。

新しい病気（あるいは病原体）を検知することは、日常的な監視を続け、異常をいち早く見抜く能力を培うことによって成し遂げられます。そのために日ごろから行う感染研の研究業務として、（１）感染症の疫学情報収集・解析（発生状況、感染状況等）、（２）病原体の特性の分析（感染特性、病原性、抗原性、増殖性等）、（３）感染症の予防、治療法の開発、およびワクチン等の品質管理、等の包括的･総合的な解析、研究 を行い、施策の根拠となる科学的情報を国、地方に提供し、異常事態への迅速対応（行政機関と共に）に貢献することにあります。

その理念に基づいたこの一年の感染研の遂行状況の概要を以下にまとめます。まず、所内の情報共有の強化を目指しました。新型インフルエンザ(A/H1N1)の事例の対応でも明らかなことですが、大きな事件が起こったときに所が一丸となり迅速に対応するためには、日頃からの所内の連携、情報共有が不可欠です。2009～2010 年における教訓から「国立感染症研究所新型インフルエンザ対策行動計画」の見直しを行い、改訂版を作製しました。さらにインフルエンザ以外の大規模感染症が発生した場合の「国立感染症研究所大規模感染症発生時行動計画」を作製し、迅速に疫学調査、病原体解析を所が一丸となり行う体制を構築しました。また、各部等の研究内容の共有および所内の共同研究の促進を図るために「研究部・センター・室報告会」を開始し、所員等が自由に討議できる雰囲気を作るようにしました。所員が積極的にこの場を利用してくれることを期待しています。

上記のことと同時に、感染研内の実質的な共同研究の促進を図ることとし、２つの研究プロジェクト（「アジアの感染研様研究所との共同研究促進プロジェクト」と「病原体ゲノム解析研究センターとの共同研究プロジェクト」: 研究事業費から研究費の一部を提供）を考案し、所内公募を行いました。公募課題数の倍以上の応募があり、どれも魅力ある研究課題でしたが、公正なる審査に基づき採択課題を決定しました。感染研内の部間の連携と国際的連携の強化に繋がるものと考えています。

「感染症法」に基づき感染研に集まる患者・病原体情報は、保健所、地方衛生研究所(地研)を通して得られるものです。地研等の収集・解析能力に依存していると言っても過言ではありません。特に地研との協力体制は重要であり、その強化の

ために、地研と感染研の共同による「病原体レファレンスセンター」の促進および「病原体検査マニュアル」の大改訂を始めました。地研とのコミュニケーションを一層促進するために、全国地方衛生研究所協議会との定期的な話し会いの場を設け、意思の疎通を図るようにしています。

国外の機関との協力の強化も重要です。WHO(WPRO)との連携を強化するために、WHO の専門家会議に感染研として積極的に職員を派遣し、国際的貢献を図ることとし、WHO 事務局には感染研所長宛の依頼文を必ず出すようにお願いしました。当たり前のことですが、組織として責任を持って対応することを確認しました。

新興感染症の多くはアジアを起点として発生しています。各地域で発生した感染症および病原体の情報をいち早く把握するためには、アジアの感染研様の研究所との連携が功を奏します。その促進を副所長の時から行ってきており、台湾 CDC, 韓国 CDC/NIH, 中国 CDC、ベトナム NIHE との連携（MOU 締結）が確立され、台湾 CDC とは２国間シンポジウムを、中国 CDC、韓国 CDC/NIH とは３国間シンポジウムを毎年開催してきております。本年はインドの NICED との MOU を締結しました。中国 CDC からは、新しい Bunya-virus の発生に関する情報を、インド NICED からは新しい NDM-1 耐性の発生の情報をいち早く提供してもらいました。研究者同志のコミュニケーションをサポートするためにも組織としての連携強化は要となるものであり、さらに促進していく予定です。学問的成果ばかりでなく、人的な交流を深めるという点においても効果があり、危機発生時に迅速なる情報交換を行うことのできる下地となるでしょう。

2004 年のワクチンの品質管理に関する WHO 査察時に、世界的には既に当たり前になっているロットリリース時のサマリーロットプロトコール(SLP)レビューを日本はまだ行っていないことを指摘されました。SLP のレビューをどこの機関が行うのかに関して長らく議論を重ねてきましたが、結論が得られずに時だけが経過していました。所長になったのを機に、感染研が SLP レビューを行い品質管理に責任を持つことを決断しました。その後、試行に向けての準備を整え、2012 年 10 月からの本格施行に向けて動き出しました。わが国の制度の良さを活かすと同時に、国際的な流れへの対応も重要であると考えています。また、ワクチン等の品質管理に関する WHO 会議(ECBS)への参加に関し、その役割分担の取り決めを厚労省と交わしました。感染研が WHO への窓口となり、厚労省との連携を密にすることにしました。

2011 年 3 月 11 日に マグニチュード 9.0 の東日本大震災が発生し、未曾有の大惨事になりました。「予期せぬ」大津波により多くの人命が失われるとともに、原子力発電所の崩壊にも繋がりました。今後、どのような災害が起こるとも限りません。普段からの備えは感染症対策にも繋がるものがあります。所が一体となり対応する体制を構築しておくことに努めていきます。

2010 年度の人事として、渡邉治雄(所長:2010.4)、倉根一郎(副所長:2010.4)、大西真（細菌第一部長：2010.4）、黒田誠（病原体ゲノム解析センター長：2010.9)、西條政幸（ウイルス第一部長：2010.10)、俣野哲朗（エイズ研究センター長：2010.11）らがそれぞれの役職に就任しています。

１．ウイルス第一部

部 長　倉根 一郎（～H22.9.30）

部 長　西條 政幸（H22.10.1～）

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 22 年 4 月 1 日付で倉根一郎が副所長に就任し、併せてウイルス第一部長を併任した。平成 22 年 10 月 1 日付で第三室長西條政幸が部長に就任した。平成 22 年 10 月 1 日付で副所長倉根一郎のウイルス第一部長併任が解かれた。平成 22 年 4 月 1 日付で、モイメンリンが第二室研究員として採用され就任した。平成 23 年 2 月 1 日付で主任研究官林昌宏が第三室長に就任した。さらに平成 23 年 3 月 1 日付で谷英樹が主任研究官として、吉河智城が第一室研究員として採用され就任した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、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、単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、リケッチア、クラミジア等の病原体の研究、血清及び分子疫学、感染症発症機序の解析と診断、治療、予防方法に関する研究を行った。それぞれの研究成果は科学雑誌及び国内外の学会等において発表された。

第一室においては、南米出血熱ウイルスの膜蛋白をシュードタイプされた VSV を用いた中和抗体測定法の開発、新興アレナウイルス Lijo ウイルス感染症の診断法の開発、フィリピンでのサル飼育施設で飼育されている霊長類や養豚場で飼育されているブタにおけるレストンエボラウイルス感染に関する調査研究がなされた。レストンエボラウイルスの宿主を探索した。また、カニクイザルから分離されたイヌジステンパーウイルスのイヌにおける病原性について解析した。SARS コロナウイルスやリフトバレー熱ウイルス感染における宿主自然免疫応答に関する研究がなされた。新興･再興ウイルスの迅速病原体同定法の開発･改良と応用に関する研究により、いくつかの新規ウイルスが同定された。高度弱毒化天然痘ワクチン LC16m8 の温度感受性遺伝子同定、サル痘ウイルス霊長類鼻腔内接種モデルにおける同ワクチンの投与効果の解析のための研究がなされた。

第二室においては、デングウイルス感染の病態解明のためのウイルス学的解析と霊長類感染モデルの開発に関する研究が実施された。また，デングウイルスの非構造蛋白質 NS4A や日本脳炎ウイルスの E 蛋白の増殖や病原性における機能を解析した。日本各地のブタにおける日本脳炎ウイルス感染の疫学的調査を実施した。FcγR 発現細胞を用いたデングウイルス感染症の病態の解析等、同細胞を用いたデングウイルス研究を実施した。チクングニア熱の霊長類感染モデルや診断法を開発した。さらにはチクングニア熱輸入感染例の臨床的疫学的調査を実施し、その実態を明らかにした。

第三室においては、狂犬病ウイルスベクターを用いたワクチン開発、および、狂犬病ワクチン検定法を改良するための基礎研究が実施された。造血幹細胞移植患者におけるウイルス感染症の臨床的研究を行い、その実態を明らかにした。また、国内からの医療機関から進行性多巣性白質脳症（PML）の診断依頼を受け、PHL の診断を支援するとともに日本におけるその疫学を明らかにした。PML の LAMP 法による診断法を開発した。単純ヘルペスウイルス 1 型の新規迅速薬剤感受性試験法の開発、DNA ポリメラーゼ変異を有する薬剤耐性単純ヘルペスウイルスの性質の解析がなされた。

第四室においては、当研究室において開発された迅速スクリーニング法を用いてヒトサイトメガロウイルス（CMV）による先天性感染の臨床と疫学について、昨年度までの結果と併せ 23,757 人について解析した。先天性 CMV 感染児を調査し、ゲノムタイプによる感染経路を解析した。モルモットにおけるモルモット CMV（GPCMV）感染モデルを用いて母児感染の機序に関する研究を行っ

た。マクロアレイを用いてGPCMV感染モルモット胎盤における宿主遺伝子動態を解析した。また、新規抗CMV薬や抗水痘帯状疱疹ウイルス薬の作用機序を明らかにした。

第五室においては、リケッチアに関する研究として、沖縄県宮古島における多様なつつが虫病リケッチアの分離と解析やその迅速診断法開発がなされた。また、つつが虫病リケッチア感染と細胞内脂肪滴形成の関連に関する基礎研究がなされた。さらに、オウム病の疫学研究がなされた。

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担当した。さらに、各ウイルスやリケッチア等による感染症、および、患者検体に関する行政検査、依頼検査を担当した。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. 南米出血熱の実験室診断法の開発—シュードタイプVSVを用いたウイルス中和試験系の開発

ウイルス性出血熱に分類される南米出血熱（アルゼンチン、ボリビア、ベネズエラ、ブラジル出血熱）は、感染症法の改正により1類感染症に追加指定された。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、チャパレウイルスで、BSL4病原体に分類される。そのため、現状では日本ではウイルスを取扱うことができないために、これまでフニンウイルスの組換えNPを用いたIgG-ELISA、抗原検出ELISA、間接蛍光抗体法を開発してきた。本年度は、水疱性口内炎ウイルスvesicular stomatitis virus（VSV）にフニンウイルスのGPをシュードタイプさせ（Junin-GP-VSV）、それを用いてウイルス中和試験法を開発した。Junin-GP-VSVはVSVのG蛋白遺伝子をGFP遺伝子に置換しているため、感受性細胞に不稔感染するとGFPを発現する。中和試験では1,000感染ユニットのJunin-GP-VSVを用い、血清が50%以上中和する最大希釈倍数をウイルス中和抗体力価とした。アルゼンチン国立ウイルス病研究所、ラプラタ大学との共同研究でアルゼンチン出血熱患者血清（15検体）を用いて、フニンウイルスを用いたウイルス中和試験の結果とJunin-GP-VSVを用いた結果を比較した。Junin-GP-VSVを用い測定された中和抗体価は感染性フニンウイルスを用いて測定された抗体価とよく相関した。また、他の南米出血熱原因ウイルスおよびラッサウイルスのシュードタイプVSVとは交差せず、フニンウイルスに特異的であった。本法はアルゼンチン出血熱の血清学的診断法として有用であると考えられた。［谷英樹、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂、伊波興一朗；中内美名(インフルエンザウイルス研究センター)；Agustín E. Ure；Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ大）；Delia A. Enria（アルゼンチン国立ウイルス病研究所）］

2. 出血熱を引き起こす新興アレナウイルスの抗原性の解析

2008年に致死率が80%（患者5名中4名が死亡）のウイルス性出血熱がザンビアと南アフリカで発生した。その患者から新種の旧世界アレナウイルスに分類されるLujo（ルジョ）ウイルスが分離・同定された。昨年度、ルジョウイルスの組換え核蛋白（NP）を免疫したウサギ抗血清は、IgG-ELISA及び間接蛍光抗体法で、旧世界アレナウイルスに分類されるラッサウイルスやリンパ球性脈絡髄膜炎（LCM）ウイルスと比較的強く交差反応を示すが、新世界アレナウイルスには示さないことが明らかにされた。本年度は、ルジョウイルスNPに対するモノクローナル抗体を作製し、他のアレナウイルスとの交差反応性を調べた。得られたいずれの抗体もルジョウイルスNPに特異的に反応した。本モノクローナル抗体は、ルジョウイルス特異的抗原検出法に応用できると考えられる。［水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂；山本貴恵、谷口怜、伊波興一朗、久和茂（東京大学）；酒井宏治（ウイルス第三部）；網康至（動物管理室）］

3.　ブタのレストンエボラウイルス感染症診断法の確立

フィリピンのある養豚場でブタがレストンエボラウイルスに感染していることが明らかにされた。そこで、フィリピン熱帯医学研究所（RITM）、東北大学-RITM 新興・再興感染症共同研

究センターと共同して、ブタにおけるレストンエボラウイルス抗体検出系を確立した。昨年度はレストンエボラウイルスの NP に対する IgG 抗体を検出する IgG-ELISA と間接蛍光抗体法を開発したが、本年度は精度、感度等の向上のため、GP に対する IgG 抗体を検出する IgG-ELISA と間接蛍光抗体法を開発した。さらに、シュードタイプ VSV を用いたウイルス中和試験法を開発した。これらを 2008 年にフィリピンのレストンエボラウイルス感染症の発生した 2 カ所の養豚場、および非流行地、および、日本で飼育されたブタの血清を用いて評価した。流行した養豚場のブタでは同ウイルスに抗体陽性を呈した個体が高い割合で認められたが、非流行地や日本のブタでは認められなかった。なお、一次スクリーニングに最適と考えられる部分 NP を用いた IgG-ELISA 法をフィリピンの RITM と BAI の 2 カ所の研究所に技術移転した。[福士秀悦、飯塚愛恵、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂;佐山勇輔、齊藤麻理子、押谷仁、谷口怜(東京大学)、Demetria C、Olveda R (RITM, フィリピン)、 Rachel Azul、Magdalena SC(BAI、フィリピン)]

4. レストンエボラウイルス感染ブタの抗体応答の解析

フィリピンの養豚場でレストンエボラウイルス感染症が流行した際の感染個体の抗体応答を解析した。その結果、ほとんどの抗体陽性個体はレストンエボラウイルスの NP 及び GP に対する抗体応答が見られ、中和抗体も強く誘導されていた。ヒトのエボラ出血熱患者では、ウイルス蛋白に対する抗体応答が弱いか認められないことが多いというこれまでの成績と異なる。ブタはレストンエボラウイルスに感染しても発症しないためと考えられる。[福士秀悦、飯塚愛恵、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂;佐山勇輔、齊藤麻理子、押谷仁;谷口怜(東京大学);Demetria C、Olveda R、Rachel Azul(RITM、フィリピン);Magdalena SC(BAI、フィリピン)]

5. 1996 年のレストンエボラウイルス感染症が流行した施設のサルの免疫応答の解析

1996 年にフィリピンのある霊長類飼育施設でカニクイサルの間でレストンエボラウイルス感染症が流行した。その際のカニクイザルのレストンエボラウイルスの GP、NP に対する抗体応答、ウイルス血症レベルを調べた。またサイトカイン反応を解析した。その結果、ウイルス血症陽性サルでは抗体応答が認められないか NP のみ認められたのに対し、ウイルス血症陰性サルでは中和抗体、GP 抗体、NP 抗体が誘導されていた。また強いサイトカイン応答はヒトのエボラ出血熱患者でも認められるが、感染サルでは強いサイトカイン応答(IL-6, TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, GM-CSF, MCP-1, MIP-1β, RANTES, IL-1β など)が認められ、サイトカインストームを起こしていることが明らかにされた。抗体応答はヒトに比べて強いことが明らかにされた。[福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、久和茂、倉根一郎、森川茂;谷口怜(東京大学);池上徹郎(テキサス大学医学部ガルベストン校);酒井宏治(ウイルス第三部);永田典代(感染病理部); Miranda ME (RITM フィリピン)]

6. フィリピンのコウモリからのレストンエボラウイルス検出

アフリカではエボラ、マールブルグウイルスの遺伝子や抗体がコウモリから検出されており、フィロウイルスの宿主はコウモリである可能性が指摘されている。そこで、昨年度には 2008 から 2009 年にフィリピンで捕獲した 170 個体のコウモリのレストンエボラウイルス抗体保有状況を調査し、ルーセットオオコウモリにのみ抗体陽性個体が見いだされた。他のコウモリは全て抗体陰性であった。そこで、1 から数コピーの遺伝子を検出できる semi-nested RT-PCR 法を開発し、ルーセットオオコウモリ 16 個体と他のコウモリ約 60 個体の脾臓からウイルス遺伝子検出を試みた。全てが陰性を呈した。今後、ルーセットオオコウモリがウイルスの自然宿主か否かを明らかにするためには、調査個体数を増やして、より詳細な調査が必要であると思われる。[水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂;谷口怜、渡辺俊平、大松勉、上田直也、伊波興一朗、藤井ひかる、久和茂、明石博臣、吉川泰弘(東京大学大学院農学生命科学研究科);Masangkay J(フィリピン大学獣医)]

7. カニクイザルから分離されたイヌジステンパーウイルスの病原性の解析

ある施設で飼育されているカニクイザルに原因不明の肺炎、消化器症状等を主徴とする致死的感染症が流行し、イヌジステンパーウイルス (CDV) が分離された。昨年度、サルから分離された CDV のカニクイザルへの感染実験を行った結果、PBMC、呼吸器、消化器、等の多く

の組織や臓器から CDV が分離され、全身性 CDV 感染症が再現された。この CDV が本来の宿主であるイヌに病原性を有するか否かを山口大学農学部との共同で解析した。本 CDV 感染イヌにおいてイヌジステンパーに特徴的な臨床症状である、二峰性の発熱、腹部発疹、下痢、嘔吐、ハードパッド、眼瞼の腫れ、等が認められ、リンパ球の一過性の減少と炎症性マーカーCRP の一過性の上昇、PBMC への CDV 感染が認められた。高力価 CDV 接種群では 4 頭中 1 頭が死亡し、1 頭が重症化したため安楽殺された。本感染実験の成績から、この CDV はイヌへの強毒性を保持していることが明らかにされた。[福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂；酒井宏治、竹田誠(ウイルス第三部)；田丸精治、前田健、下島昌幸(山口大学獣医微生物)；永田典代、飛梅実（感染病理部)]

8. SARS コロナウイルス感染における宿主自然免疫応答に関する研究

重症呼吸器症候群(SARS)に関して、ウイルス感染動物モデルおよび宿主自然免疫応答に関する研究を行った。SARS コロナウイルス感染における、1型インターフェロン主要転写因子である IRF-3 の役割を解析するため、IRF3 欠損マウスに SARS コロナウイルスを経鼻接種した。その結果、IRF3 欠損マウスは軽微な臨床症状を示したものの、致死的ではなかった。このことから IRF-3 は SARS コロナウイルスに対する感染防御免疫に必須ではないことが明らかにされた。しかし、IRF3 欠損マウスでは野生型マウスに比べ早期に強いインターフェロン応答や炎症性ケモカインが誘導されたことから、IRF3 は調整のとれた宿主炎症性免疫反応に必要であることが示唆された。[福士秀悦、吉河智城；Tseng CK、Peters CJ(テキサス大学医学部ガルベストン校)]

9. リフトバレー熱ウイルス感染における宿主自然免疫応答に関する研究

リフトバレー熱ウイルス(RVFV)のワクチンに対する宿主自然免疫応答の特徴を明らかにすることを目的として、ワクチン候補株である RVFV MP-12 株及び MP-12 株の NSs 領域欠損ウイルス(Clone 13 タイプ)を、RVFV 感染における最初のターゲットであるマクロファージおよび樹状細胞に接種した。Clone 13 タイプは MP-12 に比べ、マクロファージにおける強いインターフェロン応答と炎症性サイトカイン応答を誘導した。さらに、Clone 13 タイプはマクロファージの貪食作用、樹状細胞の成熟を遅らせることが見出された。これらの宿主自然免疫応答の違いが及ぼす抗体反応、T 細胞性応答に対する影響を詳細に検討する必要がある。[福士秀悦、吉河智城；Tseng CK、Peters CJ(テキサス大学医学部ガルベストン校)]

Ⅱ．新興・再興ウイルスの迅速病原体同定法の開発・改良と応用に関する研究」

1. 次世代シークエンサーを用いた迅速病原体同定法の開発に関する研究

病原体感染動物（個体）の組織・細胞から出来るだけ選択的にウイルス由来 RNA を逆転写し、改善 CoCoMo 法によりデザインされた 18 ウイルス科毎の混合共通プライマーセットによりウイルスゲノムを増幅し、次世代シークエンサーでその多くの遺伝子配列情報得て、原因ウイルスを同定するシステムの確立をめざした。本年度は、理論上リボゾーマル RNA に結合できない「選択ヘキサマー」を設計した。モデル系を用いて検討した結果、「選択ヘキサマー」はランダムヘキサマーと比較して rRNA に対するプライミング効率は予想通り低かったものの、ウイルス由来 RNA に対するプライミング効率は同等であった。しかし、全ゲノム増幅法(WGA)での増幅後に次世代シークエンサー解析した結果、予想に反して rRNA 由来配列のリード数は、「選択ヘキサマー」とランダムヘキサマーでは、それぞれ総リード数の 30%と 50%で、両者間で大きな差はなかった。また得られたウイルス由来配列の総リード数は、前者が後者の 2 倍程度であった。これらの結果から、WGA による非特異的増幅過程で rRNA 由来 cDNA が有意に増幅されたと考えられる。その理由は不明であるが、WGA ステップの条件等により、より効率良くウイルス由来 cDNA をプライミング、増幅が可能であると考えられる。今後、この点を改良した上で、改善 CoCoMo 法によりデザインされたプライマーセットによる増幅後に、次世代シークエンサー解析して、ウイルスを迅速に同定する系を確立したい。[水谷哲也、吉河智城、西條政幸、森川茂；永田典代(感染病理部)；本村和嗣、佐藤裕徳、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)；遠藤大二(酪農学園大学)；舟場正幸(京都大学農学部)]

2. 野生イノシシから新規ウイルスの分離および遺伝子配列の決定(1)

群馬県の野生イノシシの糞便からロタウイルスを分離する研究の過程で、細胞変性効果の現れた検体について、ウイルスの網羅的検出法(RDV ver3.1)を行った。その結果、ブタのサペロウイルスに相同性のある遺伝子断片が 14 個得られた。これらの遺伝子情報をもとに long PCR を行い、得られた遺伝子配列情報から VP-1 と 3A タンパク質領域で系統樹を作成したところ、ブタサペロウイルス 1 型のそれにそれぞれ 79.3%と 83.8%の相同性が認められた。このウイルスを Wild Boar Sapelovirus-like virus 1(WBSV-1)と名付けた。また、48 頭のイノシシの糞便について RT-PCR で WBSV-1 遺伝子増幅を試みたところ、6 匹(12.5%)が陽性を呈した。[水谷哲也、大場真巳、緒方もも子、福士秀悦、倉根一郎、西條政幸、森川茂;阿部昌子、酒井宏治(ウイルス第三部);加来義弘(獣医科学部);伊藤直人、杉山誠(岐阜大学)]

3. 野生イノシシから新規ウイルスの分離および遺伝子配列の決定(2)

和歌山県の野生イノシシの血清からウイルス分離を試み、細胞変性効果が観察された検体について RDV 法を実施したところ、ラブドウイルスに相同性のある遺伝子断片が得られた。そこで本ウイルスを Wild Boar Rhabdovirus 1 (WBRV-1) と名付けた。さらにブタやシカでも WBRV-1 に対する中和抗体を産生している個体が存在することが確認された。[水谷哲也、緒方もも子、福士秀悦、倉根一郎、西條政幸、森川茂;酒井宏治(ウイルス第三部);前田健(山口大学);遠藤大二、萩原克郎(酪農学園大学)]

4. 養殖ウナギから新規ウイルスの探索

日本ウナギのウイルス性血管内皮壊死症は、電子顕微鏡でアデノウイルス様の写真が撮られていたがゲノムの遺伝子配列はわかっていなかった。そこで、RDV 法を用いて解析した結果、ポリオーマウイルスにわずかに相同性のある遺伝子断片が得られた。ゲノムウオーキングや次世代型シークエンサーを用いてウイルスゲノムの全長を解析したところ、約 15kbp の環状二本鎖 DNA ウイルスであることが明らかにされた。このウイルスは約 1kbp がポリオーマウイルスの large-T 抗原にわずかに相同性を持つだけで、他の領域は GenBank に登録されている遺伝子配列とほとんど相同性がなかった。[水谷哲也、佐山勇輔、大場真巳、緒方もも子、福士秀悦、倉根一郎、西條政幸、森川茂;酒井宏治(ウイルス第三部)、小野信一、若林健二(東海大学);中西章(国立長寿研);落合秀治(麻布大学)]

5. コウモリアデノウイルスの全長決定

沖縄で捕獲されたフルーツコウモリから分離されたウイルスについて RDV 法を用いて部分的なゲノム遺伝子配列を決定したことを報告した(Emerg Infect Dis. 2008)。本ウイルスは当初 Rykyu virus 1 として発表したが、コウモリで初めてのアデノウイルスの報告であったため Bat adenovirus 1 として認識されている。そこで、次世代型シークエンサーを用いてウイルス遺伝子の全長を決定したところ、ユニークな open reading frame の候補が見つかった。[水谷哲也、大場真巳、緒方もも子、福士秀悦、倉根一郎、西條政幸、森川茂;酒井宏治(ウイルス第三部);前田健(山口大学)]

Ⅲ. ポックスウイルスに関する研究

1. ワクチニアウイルス Lister 株由来クローンの遺伝子配列決定

細胞培養痘そうワクチン LC16m8 は、Lister 株由来温度感受性高度弱毒化クローン LC16m8 株を用いて製造されている。LC16m8 株の温度感受性、弱毒化に関与する遺伝子変異等に関しては、これまで *B5, A56* 遺伝子の 2 遺伝子が同定されているが、これら以外に 2 遺伝子以上存在することが実験的に示唆されている。これらを同定するために、ワクチニアウイルス Lister 株由来クローン LO#4 遺伝子を用いた温度感受性相補法を用いた。得られた温度感受性相補ウイルスクローンのどの遺伝子が LO#4 に由来するかを明らかにするために LO#4 の全遺伝子配列を決定した。遺伝子全域をカバーする 5 ないし 15kbp の PCR 産物を Roche 社の 454 Junior により解析した。その結果、LO#4 は LC16mO 株と 511 箇所の遺伝子に相違が認められた。[吉河智城、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、西條政幸、森川茂;飯塚愛恵、谷口怜、伊波興一朗(東京大学)]

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:サル痘ウイルス鼻腔内接種モデル

での検討

LC16m8 のサル痘ウイルス暴露後接種効果を、霊長類を用いたサル痘ウイルス鼻腔内接種感染モデルにおいて検討した。昨年度までに実施された研究では、ワクチン非接種群（コントロール群）4 頭、暴露（1,000,000 PFU/頭、鼻腔内接種）15 分後 LC16m8 接種群 4 頭、暴露 1 日後接種群 4 頭が用いられ、本年度は各群にそれぞれ 2 頭の個体を追加し、その効果をさらに詳細に解析した。鼻腔内接種暴露後には、3 週間にわたり臨床症状（体重、発熱、活動性、食欲等）を観察し、ウイルス血症レベル、抗体応答、肉眼的病理所見を解析した。その結果、LC16m8 のサル痘ウイルス暴露後接種の明らかなサル痘発症軽症化または予防効果は認められなかった。［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（感染病理部）］

Ⅳ．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) デング熱サルモデルの開発:再感染におけるウイルス力価および中和・感染増強活性の検討

デング熱・デング出血熱の病態形成機序は解明されておらず、実用化されているワクチン・治療薬は存在しない。我々はマーモセットを用いたデングウイルス感染に対するワクチンや治療薬評価系を確立すると共に、デング出血熱の発症機序を解明するための出血熱発症モデルの確立を目的に研究を行った。デングウイルス(DENV)の再感染実験より、マーモセットは 2 回目の DENV 接種によって FcγR 発現細胞を用いた場合、FcγR 非発現細胞よりウイルス血症が低いことが明らかとなった。同様な現象はヒトにおける再感染時にも観察されたことからマーモセットを用いた DENV 再感染モデルは病態メカニズム解析および出血発症モデルとして有用であることが示唆された。さらに、再感染個体の腎臓および肝臓において強い病変が認められた。再感染において、初感染と同血清型対しては防御が認められる一方、異なる血清型に対しては感染が成立し、かつ、ウイルス血症が認められたことから、ワクチン防御効果の判定に使用できることが示唆された。［モイメンリン、大松勉、高崎智彦、倉根一郎；中村紳一朗（滋賀医科大学）；片貝裕子（予防衛生協会）］

(2) マーモセットの T 細胞受容体の解析

近年、デングウイルス感染動物モデルとしてだけではなく、アレルギー疾患や外傷などの実験動物として使用されているマーモセットの遺伝的背景は、まだ十分に解析・同定されていない。マーモセットの T 細胞受容体を解析・同定した。［高崎智彦、北浦一孝、藤井克樹、林昌宏、倉根一郎；鈴木隆二（国立病院機構 相模原病院臨床研究センター）］

(3) FcγR 発現細胞を用いたデングウイルス中和抗体およびウイルス力価の測定

デング出血熱（DHF）は疫学的研究により血清型の異なるデングウイルス（DENV）の再感染時により高い頻度で発症することが示されている。これは初感染時に誘導された中和能を有しない DENV 型交差抗体に起因する抗体依存性感染増強（ADE）によると考えられている。DENV の感染ターゲット細胞の多くが FcγR 発現細胞であることから、我々は FcγR を発現させた BHK 細胞を用いて ADE アッセイする方法を開発した。FcγR 発現細胞を用いてプラーク法にて初感染および再感染患者血清における患者血清の中和能を調べたところ、FcγR 発現 BHK 細胞を用いた中和抗体価は BHK 細胞を用いた場合に比べ低値および検出不可能であった。しかし、二次感染の回復期においていずれの細胞を用いても感染ウイルスの血清型に対する中和活性が検出された。また、FcγR 発現細胞を用いて初感染並びに再感染におけるウイルス血症の検討を行ったところ、FcγR 発現細胞を用いた再感染時のウイルス血症は FcγR を発現しない細胞と比較して約 10 倍高力価であった。さらに、ウイルス血症も約 1 日長く継続した。しかしながら初感染ではこの現象は観察されなかった。以上より、中和能を有しない抗体及び感染増強能を有する抗体が DENV と結合し、感染性抗体－DENV 複合体が形成されると考えられる。また、形成された抗体－DENV 複合体が再感染における高い DENV 血症に重要な役割を果たす可能性が示唆された。［モイメンリン、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎］

(4) デングウイルス分離法の確立：感染増強メカニズムの応用

フラビウイルス属デングウイルス（DENV）には 4 つの異なる血清型が存在する。初感染時に誘導された中和抗体は、異なる血清型のウイルスに対する中和能が不十分であり、再感染時に FcγR 発現細胞における感染を増強させ、症状を重症化させる要因の一つと考えられる。そこで、我々はこの抗体依存性感染増強（ADE）現象を DENV 分離に応用することが可能であると考えており、非中和抗体と DENV と反応させ、FcγR 発現細胞に感染させ、患者検体からウイルス分離を試みた。従来のウイルス分離法においてウイルス分離が不可能な検体の約 50％の検体において非中和抗体の存在下でウイルスが分離された。また他のフラビウイルスにおいても ADE 現象が存在するため、DENV の分離だけでなく他のフラビウイルスの分離にも有用であると考えられる。[モイメンリン、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

(5) デングウイルス 1 型および日本脳炎ウイルスの増殖性および感染細胞側応答の比較

デングウイルス（DENV）をマウスに接種しても、ウイルス血症のレベルは非常に低く、顕著な臨床症状も観察されない。このことが DENV の病原性解析を難しくしている。一方、同じフラビウイルスでも日本脳炎ウイルス（JEV）はマウスに致死的な症状を引き起こす。このような両ウイルス間の差異の原因を探ることを目的とし、DENV 1 型（DENV-1）と JEV の増殖能、および感染細胞での I 型および III 型インターフェロン（IFN）とその関連遺伝子の発現量を比較した。Vero 細胞における増殖速度は DENV-1 の方が明らかに遅かった。しかし両ウイルスにおいて、接種ウイルス量を 100 倍変化させても最終的に到達する感染性ウイルス量に変化はなく、さらに両ウイルス間でもほぼ同等であった。ヒト肺癌由来 A549 細胞およびマウス肝癌由来 Hepa1-6 細胞でも増殖速度は DENV-1 の方が遅かったが、Vero 細胞と異なり、到達する感染性ウイルス量は接種ウイルス量に比例していた。さらに A549 および Hepa1-6 細胞では、到達する感染性ウイルス量が DENV-1 で著しく低く、特に Hepa1-6 細胞で両ウイルス間の差異が大きかった。Hepa1-6 細胞におけるウイルス接種後の I 型および III 型 IFN 遺伝子発現を調べたところ、JEV 感染細胞の方がより早期かつ顕著に誘導されていた。また IFN 応答遺伝子についても同様の傾向が観察された。以上より、JEV は増殖速度が速く、IFN による増殖抑制の影響を受けにくいのに対し、DENV-1 は増殖速度が遅く、この増殖抑制の影響を受けやすい可能性が考えられる。このことが DENV-1 のマウスに対する低病原性の一要因であるものと推察される。一方 DENV-1 に比べ JEV がマウス IFN 関連遺伝子発現をより強力に抑制する可能性については否定的であった。[田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

(6) デングウイルス 1 型非構造蛋白質 NS4A の N 末端アミノ酸変異による増殖能低下を回復させる付加的変異の同定

デングウイルス 1 型（DENV-1）の非構造蛋白質 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貫通領域であるが、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。我々はこの 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組換え DENV-1 を用いて解析してきた。これまでに、１）NS4A の N 末端側がウイルスの増殖に必須であること、２）この部位がウイルス種特異性を示すこと、３）27-34 部位が最もウイルス種特異性に関与していることを明らかにしてきた。本年度は PCR-based random mutagenesis 法により、増殖不能となった 27-34 部位変異体の増殖性を復帰させる変異の導入を試みた。27-34 部位の変異が維持された復帰変異体を数クローン分離し、ウイルスゲノムの塩基配列を決定したところ、共通して別の非構造蛋白質である NS4B の膜貫通領域（TMD3）にミスセンス変異が見出された。またリバースジェネティクス法により、NS4B の変異単独で増殖性を復帰させられることが示された。さらに NS4B 変異が野生型（親株）の増殖性をも増強させることが明らかとなった。以上より、NS4B 変異がウイルスの増殖能を増強させることにより、NS4A 27-34 部位変異体が増殖可能となったと考えられる。[田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

(1) 日本脳炎ウイルスレポーターレプリコンの構築とその評価

基礎ウイルス学的解析や抗ウイルス剤スクリーニングに有用とされる非感染性自立的複製ゲノム(レプリコン)を日本脳炎ウイルスについて作製した。その際、レプリコンの複製を簡便かつ高感度に検出するためのレポーター遺伝子（ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子）をウイルス構造遺伝子領域に置換挿入した。In vitro で合成したレプリコン RNA を培養細胞に導入することにより本レプリコンが複製能を維持していることが確認された。また本レプリコンの複製はリバビリンにより濃度依存的に阻害された。一層の改良の余地はあるものの、今回作製した日本脳炎ウイルスレポーターレプリコンが活用可能であることが示された。[田島茂、加藤文博、高崎智彦、倉根一郎]

(2) 日本脳炎ウイルス E 蛋白質上の 1 アミノ酸置換（S123N）を有する組換え日本脳炎ウイルスの in vitro での性状解析

これまでに日本脳炎ウイルス E 蛋白質の 123 番目のアミノ酸残基が病原性に重要な役割を果たすことを明らかにし、この部位をセリンからアルギニンに置換（S123R）することで有意に病原性が上昇することを見出した。一方、近年この部位がアスパラギン（123N）であるウイルスが、日本だけでなくベトナムや中国でも同定されてきている。しかし 123N 株の性状解析は全く行なわれていない。そこで本部位をセリンからアスパラギンに置換した組換え日本脳炎ウイルスを作製し、アミノ酸置換の影響を調べた。培養細胞を用いた in vitro での増殖性は、親株である 123S と同等であった。よって S123N 変異は in vitro でのウイルス性状に影響を及ぼさないと考えられた。[田島茂、山口幸恵、高崎智彦、倉根一郎]

(3) 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ウイルス中和抗体価測定法に関する情報提供

これまでに日本脳炎ウイルス中和抗体価測定法研修会において、ペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ(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担当者に対して新たな研修を行った。また、これまでの担当者に対して最新の実験手技、抗体等の実験材料に対する情報を開発・提供した。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ため判定までの時間が短縮される。非特異反応の程度も低く，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も可能である．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。[林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

(4) 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兵庫県下の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。1頭から日本脳炎ウイルス3型遺伝子が検出されたが、ウイルス分離には至らなかった。約17%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40頭中3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）]

(5) 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）のデータをもとに夏季の気温（平均気温、最高気温、真夏日の日数など)、降水量と日本脳炎の流行との相関関係を検討したところ、日本脳炎の流行は気温と正の相関をすることが見出だされた。さらに県単位の地域における相関の強さの相違を調査した。また、国立環境研究所との共同研究としてさらに詳細な気象データを入力し解析基盤を強化した。[高崎智彦、柴崎謙一、小滝徹、倉根一郎；肘岡靖明（国立環境研究所）]

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

日本脳炎、ウエストナイル脳炎、ダニ媒介性脳炎の病原ウイルスはいずれもフラビウイルスに属するウイルス

でその臨床像は類似している。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、明確な症状がなくても感染が成立していれば認められた。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の解明を進めた。[高崎智彦、藤井克樹、北浦一孝、林昌宏、倉根一郎；鈴木隆二（国立病院機構相模原病院臨床研究センター）]

4. チクングニアウイルスに関する研究

(1) チクングニア熱の霊長類モデル開発

チクングニア熱の病態解析およびワクチン評価を行う上で最適な霊長類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、そのチクングニアウイルスに対する感受性について検討した。チクングニアウイルスをマーモセット4頭の皮下に接種し、接種1、2、3、4、7、10、14、21日後に経時的に採血した。白血球減少、血小板減少、肝酵素の上昇が認められた。また感染3日後までウイルス血症が観察され、感染7日後から抗体価の上昇が認められた。今後さらなる解析を行う。[林昌宏､高崎智彦､モイメンリン、藤井克樹、北浦一孝、小滝徹、西條政幸、森川茂、倉根一郎；網康至、須崎百合子（動物管理室）；鈴木隆二（国立病院機構 相模原病院臨床研究センター）]

(2) チクングニヤウイルス迅速診断法の開発

チクングニヤウイルスの検出に使用している RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR 法に比較してより迅速な Hyper RT-PCR 法を開発した。Hyper RT-PCR の第一の特徴はその迅速性である。これまでの RT-PCR 法、リアルタイム RT-PCR 法を用いた遺伝子検出法では1時間以上の時間を要するが､本法においては約15分で反応が終了する。チクングニヤウイルスに対して1コピーRNA/sampleの検出感度を有する検出系が確立された。また、これまでに得られた患者血清中のチクングニアウイルス RNA も検出された。［林昌宏、高崎智彦、倉根一郎；藤本嗣人、小長谷昌未（感染症情報センター）］

(3) チクングニア熱輸入症例のサーベイランス

2010年度は4例の輸入症例が確認された。また、2011年2月1日をもって、感染症法および検疫法にチクングニア熱が収載されたことから、空港検疫所および地方衛生研究所にウイルスあるいはウイルス遺伝子を分与した。海外の IgM 捕捉 ELISA キット、イムノクロマトキットの感度および特異性を評価した。[高崎智彦、林昌宏、モイメンリン、小滝徹、倉根一郎]

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効率を検討した。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 1-4 型、ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルス､ポワッサンウイルス､ランガットウイルス、ネギシウイルス、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が作製された。検出限界は 10^{1}-10^{-1} PFU/ml であった。また増幅産物のダイレクトシークエンスを行った結果、増幅産物は各ウイルス特異的でアライメント解析および系統樹解析によりそれぞれのウイルスに同定可能であることが明らかとなった。したがって本プライマーを用いた RT-PCR はフラビウイルス遺伝子を特異的に増幅し、かつ、ターゲット領域の増幅産物を用いた各ウイルスの同定が可能なため、フラビウイルス感染症の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]

Ⅴ．神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

(1) 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不活化試験法についての検討

ヒト用狂犬病ワクチンの安全性を確認するため、現在哺乳マウスを使用した不活化試験が行われている。しか

し、この試験法について、目的である不活化されない狂犬病ウイルスの検出感度に関する詳細な情報はない。また、動物愛護に配慮した試験法の開発が望まれている。そこで、現行の哺乳マウス接種法の感度について検討するとともに、動物を使用せず培養細胞を用いる *in vitro* 試験法を開発した。その結果、今回開発された *in vitro* 試験法の感度は非常に高く、現行法の約 5 倍の感度で狂犬病ウイルスが検出されることが示された。[伊藤(高山)睦代、中道一生、山口（木下）一美、王麗欣、林昌宏、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) 脳脊髄液の JC ポリオーマウイルス検査による進行性多巣性白質脳症の診断支援および国内における発生動向の解析

進行性多巣性白質脳症（PML）は免疫不全患者等において発生する致死的な中枢神経脱髄性疾患であり、持続感染している JC ポリオーマウイルス（JCV）によって引き起こされる。また、PML の診断では、感度や特異性、侵襲性の点から脳脊髄液中の JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。医療機関への診断支援および国内の PML 発生状況のサーベイランスを目的として、脳脊髄液を用いた JCV のリアルタイム PCR 検査系を実施した。今年度では、神経学的所見や脳 MRI 等から PML が疑われた症例について 39 都道府県から計 180 件の依頼を受け、22 検体（17 症例）を JCV-DNA 陽性と判断した。被検者数は 144 名であり、脳脊髄液 JCV 陽性患者数は 17 名（11.8%）であった。また、検査時の調査票を介して情報提供を受けた被検者の基礎疾患や脳の病変部位、各種検査所見等に基づいて、国内における PML の発生を多面的に解析するためのデータベースを作成した。本検査系を用いた医療機関への支援は PML の診断や治療だけでなく、国内における PML の発生動向の解析において有用であることが示された。[中道一生、倉根一郎、林昌宏、西條政幸]

(2) DNA 抽出を必要としない脳脊髄液中 JC ポリオーマウイルスのリアルタイム PCR 検査系の確立

PML の診断では脳脊髄液中の JCV ゲノム DNA のリアルタイム PCR 検査が有効であるが、DNA 抽出時の煩雑な作業やコンタミネーションのリスクについて改善の余地がある。そのため、脳脊髄液から DNA を抽出せずにリアルタイム PCR の鋳型として用いた場合の JCV-DNA 検出系の信頼性を評価した。カオトロピックイオンおよびアルカリ性ポリエチレングリコールを含む処理液と脳脊髄液を混合した後、リアルタイム PCR の鋳型として用いることで、JCV-DNA の定量的な検出が可能であることが明らかにされた。また、PML および非 PML の患者の脳脊髄液を用いた評価では、DNA 抽出物を鋳型として用いた場合と同程度の精度と感度を有することが確認された。本検出法は迅速性および簡便性に優れているだけでなく、臨床検体中の病原体の不活化においても有効であることが示唆された。[中道一生、倉根一郎、林昌宏、西條政幸]

(3) LAMP 法を用いた PML 患者の脳脊髄液中の JC ウイルス診断系の開発

PML の診断法として、LAMP 法を用いた脳脊髄液中の JCV の検出および定量する迅速・簡便な検査法を開発した。JCV 検査のために集められた脳脊髄液 153 検体を用いた。T 遺伝子領域にプライマーを設計し、63℃、60 分で反応させ、反応液の濁度より標準曲線を作成し、定量的に検出した。ゲノムの検出限界は、反応あたり 20 コピー（3000 コピー/mL CSF）であった。LAMP 法の感度および特異度は、リアルタイム PCR 法と比較して、それぞれ 78%と 97%、陽性的中率および陰性的中率は、93%と 90%であった。LAMP 法によるゲノムの定量は、リアルタイム PCR 法によるそれと高い相関（r=0.882）を呈した。今回開発された LAMP 法は、PML の診断や治療指針に有用な検出系である。[中道一生、木下一美、伊藤（高山）睦代、王麗欣、飯塚愛恵、倉根一郎、林昌宏、西條政幸]

3. 造血幹細胞移植患者におけるウイルス感染症に関する研究

(1) 造血幹細胞移植患者における呼吸器ウイルス感染症に関する研究

造血幹細胞移植病棟内での呼吸器ウイルス感染症の流

行を把握し、造血幹細胞移植患者におけるその予後等に与える影響について検討した。虎ノ門病院血液内科で造血幹細胞移植を受けた患者から、術前 1 週間前から毎週ウイルス分離用に咽頭スワブを採取し、HEL 細胞、HEp-2 細胞、Vero 細胞、および、MDCK 細胞を用いてウイルス分離を試みた。研究期間は 2010 年 6 月から 2011 年 3 月である。この間、パラインフルエンザウイルス 3 型、RS ウイルス、ライノウイルス、A 型インフルエンザウイルス H1N1、ムンプスウイルス、単純ヘルペスウイルス 1 型が分離された。特にパラインフルエンザウイルス 3 型による院内感染が発生し、2011 年 6 月に同ウイルスが分離されてから、2011 年 1 月まで同ウイルスによる呼吸器ウイルス感染症が続いた。移植早期に呼吸器ウイルス感染に罹患した患者では予後不良である傾向が認められた。［西條政幸、王麗欣、伊藤（高山）睦代、木下一美、中道一生、林昌宏；辻正徳、谷口修一（虎ノ門病院血液内科）;西村秀一（仙台医療センターウイルスセンター）］

(2)造血幹細胞移植患者における単純ヘルペスウイルス感染症と薬剤耐性ウイルス出現に関する研究

造血幹細胞移植患者において慢性及び急性のヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）感染症は従来から問題となっている。また HSV-1 はアシクロビル（ACV）などの抗ヘルペスウイルス薬に対して感受性があるが、アシクロビル耐性株の出現が問題となっている。そこで造血幹細胞移植患者の移植前後における HSV-1 感染の有無と薬剤耐性株の出現について調査した。造血幹細胞移植患者の咽頭拭い液を移植一週間前から一週間隔で採取した。2010 年 6 月から 12 月の間に 100 人の患者から検体が得られた。採取されたサンプルより HEL299 細胞あるいは Vero 細胞を用いてウイルス分離がなされた。また、分離された各 HSV-1 株の ACV に対する 50 %増殖阻害濃度（IC_{50}）をプラーク減少法にて算出した。さらに分離されたウイルスのチミジンリン酸化酵素と DNA ポリメラーゼのコーティング領域をダイレクトシークエンスした。その結果、ACV が予防的に投与された造血幹細胞移植患者 100 例の内、10 例（10%）において HSV-1 が口腔に排出されていることが明らかにされた。また HSV-1 が分離された 10 例の内、ACV 耐性株が出現したのは 2 例であり、全患者数の 2%であった。この 2 例の患者から分離された ACV 耐性株の遺伝子変異を検討したところ、1 名の患者では TK 遺伝子に 1 か所の欠損変異が、別の患者の耐性株では DNA ポリメラーゼ遺伝子に 1 か所の点変異が検出された。［西條政幸、王麗欣、伊藤（高山）睦代、木下一美、中道一生、林昌宏、；辻正徳、谷口修一（虎ノ門病院血液内科）、西村秀一（仙台医療センターウイルスセンター）］

(3) DNA ポリメラーゼ変異による薬剤耐性単純ヘルペスウイルスの性状解析

単純ヘルペスウイルス（HSV）感染症は臓器移植患者を含む免疫不全患者において難治性であり、ウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）関連薬である ACV 等に対する薬剤耐性 HSV が誘導されることがある。ACV 耐性 HCV の 95%は vTK の変異や欠損に、残りの 5%は DNA ポリメラーゼ（DNApol）の変異による。薬剤耐性 HSV 感染症対策として、DNApol 非関連薬である S2242 に耐性の HSV-1 の性状を解析した。これらのクローンの ACV、フォスカルネット（PFA）、S2242、シドフォビル（CDV）、vTK 関連薬剤であるガンシクロビル（GCV）、ビリブジン（BVdU）、ブロバビル（BVaraU）に対する感受性をプラーク減少法により測定した。また、すべてのクローンの DNApol におけるアミノ酸変異を同定した。DNApol 変異による耐性クローンのほとんどは、GCV、BVdU、BVaraU に感受性で、中には過感受性を呈するクローンも認められた。ACV 耐性クローンの半数以上で、DNApol の保存領域 II と III にアミノ酸変異が認められた。動物実験によるこれらの変異株の病原性を検討したところ、変異箇所により病態も異なっていた。［西條政幸、王麗欣、伊藤（高山）睦代、木下一美、中道一生、倉根一郎、林昌宏］

4. 中枢神経関連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) リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス核蛋白の抗体を用いた診断法の開発

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）はアレナウイルス科に属し、げっ歯類によって媒介され、無菌性髄膜炎や脳炎など多彩な症状を引き起こす。LCMV 感染症の診断法の確立を目的として、LCMV 組換え NP を発現

させ、NP に対する単クローン抗体を作製し、ウイルス抗原検出系を開発した。Truncated-NP を用いたウェスタンブロットや、合成ペプチドを用いた競合 ELISA により、エピトープを決定した。抗体はそれぞれ異なるエピトープを認識していた。単クローン抗体の 3 クローンは、重複するアミノ酸配列（350-355: AAGPPQ）と 8 アミノ酸配列（349-356: QAAGPPQV）、5 アミノ酸配列（395-399: IFQPQ）を認識した。アレナウイルス NP のアミノ酸配列のアライメントより、これらの抗体が新世界アレナウイルスや旧世界アレナウイルスであるラッサウイルスには交差せず、LCMV を特異的に認識することが明らかにされた。開発された単クローン抗体を用いたウイルス検出法は LCMV 感染症の診断に有用であることが確認された。［西條政幸、木下一美、王麗欣、伊藤（高山）睦代、中道一生、森川茂、倉根一郎、林昌宏］

Ⅵ．ヘルペスウイルスに関する研究

1. 水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に関する研究

(1) 水痘ワクチンファクトシートの作成

定期接種に指定されていないワクチンの水痘ワクチンについて、学術論文、各種研究班報告書、米国政府機関（FDA・CDC 等）の資料、PMS 等メーカーのデータなどを分析し、科学的根拠に基づいて現時点までにわかっているすべての知見をファクトシートとしてまとめた。［井上直樹、倉根一郎；多屋慶子（感染症情報センター）］

(2) 水痘ワクチン接種後の細胞性免疫機能評価

生体肝移植患者に対し効果的かつ安全なワクチン接種を行うことを目的とした研究班（代表者：斎藤昭彦）において、水痘ワクチン接種後の細胞性免疫の評価を今後 3 年間かけて行うのに際して、VZV に対する細胞性免疫を測定するための Enzyme-Linked Immunospot（ELISPOT）法の技術移転を医薬基盤研より受け、本研究室で実施するために必要な条件の至適化などを行った。VZV 感染したヒト二倍体細胞（HEL）とモルモット肺線維芽細胞（GPL）由来のライセートが同等の抗原性を示すこと、モルモット IFN-γ が抗ヒト IFN-γ モノクローナル抗体と交差反応を示さなかったことから、GPL 由来ライセートを抗原として用いることにした。［金井亨輔、井上直樹；森康子（医薬基盤研）］

(3) 耐性変異株の解析による新規抗水痘帯状疱疹ウイルス化合物の標的蛋白の同定

水痘の重症化防止、移植における感染症予防、帯状疱疹の治療などを目的として、アシクロビル（ACV）など DNA ポリメラーゼを最終標的とした核酸アナログが治療薬として用いられている。しかし、耐性株の出現の可能性や耐性株に対し利用できる薬剤の副反応などを考慮すると ACV などとは異なる作用点を有する薬剤の開発が求められる。我々が樹立した VZV レポーター細胞株を用いて、H21 年度までに約 1 万のランダム化合物から抗 VZV 化合物をスクリーニングし、同定された化合物のうち EC50 が 1μM 以下で ACV 耐性株に対しても阻害効果がある化合物について詳細な解析を行ってきた。H22 年度は、そのひとつ 35B2 と名付けた化合物について、耐性株を 4 株作出した。最も高い耐性を示した株について、全 ORF の塩基配列を決定した結果、ORF-0、-1、-31、-40、-62 にアミノ酸変異が見られた。これらの ORF について、残り 3 株の配列を決定したところ、全株で ORF40 に変異が存在し、35B2 はカプシド形成を阻害することで抗ウイルス活性を発揮することが明らかにされた。［井上直樹、松下実里、福井良子、津田美穂子；山口十四文（帝京科学大）］

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全国 6 地域 25 施設で出生した新生児全例について先天性 CMV 感染を検討した。昨年度までの結果と併せ 23,757 人の新生児中 73 人が 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、16 例（22%）が明確な臨床症状を出生時に示し、さらに CT や MRI などの頭部画像に異常所見を 14 例 (19%) に認められた。感染児のうち、臨床所見もしくは頭部画像所見の少なくとも一方に異常が認められたのは、全体

の 30%程度であった。従って、新生児期に千人にひとりの出生児が、先天性 CMV 感染による症状・障害を呈していた。非感染群では 2500g 以下の低体重児が 7.4%であるのに対し、感染群では 24%と有意に多かった。同定された感染児について、血液及び尿中のウイルス量の推移、画像検査、聴覚検査、視覚検査、発達検査などの経過観察がなされている。［井上直樹、津田美穂子、福井良子、山田壮一；成育疾患等克服次世代育成研究事業（研究代表者：古谷野伸）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 感染児の 62%（71 例中 44 例）に年長同胞があり、健常群での 48%と比して有意に高い頻度であった。現在までに、そのうちの 34 例について同胞の尿を入手し、25 例について感染児と CMV 遺伝子配列の比較を行うことができた。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、21 例で先天性感染児とその同胞のウイルス株の完全な一致が見られた。従って、外部で感染を受けた年長同胞が尿・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示唆される。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考えられる。［井上直樹、津田美穂子、福井良子］

(3) モルモット CMV（GPCMV）による先天性感染病態におけるモルモットの妊娠週齢の影響の解析

モルモットにおける GPCMV 感染は、先天性感染モデル動物として有用であるが、感染経路となる胎盤におけるウイルス動態や病態に関してはほとんど明らかになっていない。そこで、様々な妊娠週齢および接種後週齢の胎盤・胎児における病態を比較するとともに、ウイルス DNA の検出による感染の局在と動態を解析した。ヒトの妊娠週齢と同様に、妊娠初期に分類される妊娠 1～3 週では、胎盤への障害が原因と思われる流産や未熟胎仔が多く、妊娠 3 週以降では流産や未熟胎仔の割合は少なくなっていた。このような点で、モルモットの妊娠に対する GPCMV 感染の影響は、ヒトの場合のそれに類似していると推察された。一方、先天性感染率はヒトと比較するとモルモットは半分程度低いことが分かった。［山田壮一、福地早希、橋本楓、井上直樹；片野晴隆、佐藤由子（感染病理部）；山口十四文（帝京科学大学）］

(4) マクロアレイを用いた GPCMV 感染モルモット胎盤における宿主遺伝子動態解析

モルモット cDNA 配列（Ensembl）をもとにアレイスライドのカスタム合成を行った。リアルタイム PCR により陽性となった妊娠 4 週胎盤 5 検体及び陰性胎盤 3 検体より抽出した RNA をサンプルとし、定性解析（RIN>7）および Cy3 標識した後、アレイスライドと反応させ、感染および非感染時における遺伝子の発現を比較した。蛍光をスキャンし、数値化したデータについて、GeneSpringX11.0.4（Agilent Technologies）を用いて解析した。GPCMV 感染および非感染検体間で 2 倍以上の遺伝子発現変動の遺伝子を選択し、最終的に unpaired T-test（Benjamini and Hochberg multiple testing correction algorithms）により統計学的解析を行い、有意差のある遺伝子を検索したところ、23 遺伝子（$p<0.05$）が同定された。感染細胞数が個体では極端に少ないことを考慮すると、大きな変化があったものが同定されたと考えられる。同定された主なものは、細胞分化や維持に関する遺伝子、転写に関する遺伝子等であり、免疫誘導と関与するものは見出されなかった。この結果は、ヒト由来の培養栄養膜細胞を用いた解析で主に細胞周期や細胞分化など細胞の形態形成に関する遺伝子の変動が報告されていることと一致し、先天性 CMV 感染による障害の機序として、胎盤の成熟および機能障害により胎児の成長に影響が出ると推定される。［山田壮一、福地早希、橋本楓、福井良子、井上直樹］

(5) モルモット感染動物モデルを用いた CMV ワクチン開発の基礎検討

先天性 CMV 感染の制御には中和抗体が重要な役割を果すことが知られ、これまでに MF59 アジュバンドを用いたウイルス糖蛋白 B（gB）サブユニットワクチンなどに一定の効果があることが報告されたが、実用化には程遠い状況にある。その理由として、個体での伝搬に関わる内皮・上皮細胞や末梢血単核球への CMV 感染制御に、gB 以外の糖蛋白に対する抗体が主要な役割を果すと考え

られるからである。我々は、個体レベルで有効なサブユニットワクチンとなり得る CMV 抗原の選定のために、モルモット CMV（GPCMV）を用いた感染動物モデルでの評価系の確立を図った。GPCMV の gB を発現する E1E4 欠損組換えアデノウイルス（rAd-gB）を作製し、マウスでの予備実験の結果をもとに 5 週齢モルモットに 10^8-10^{10} PFU を腹腔内投与した。3 週後に採血して得た血清と赤色蛍光蛋白発現組換え GPCMV を用いて、GPCMV 特異的中和抗体が rAd-gB 免疫群で GPCMV 感染と同程度に誘導されることを証明した。次に 2 週齢モルモットに rAd-gB 及びコントロール rAd を投与し 3-5 週間後に GPCMV を接種したところ、gB 抗体の亢進、体重減少の抑制を認めた。さらに、GPCMV の体内増殖の指標となる唾液腺中のウイルス量もコントロール群に比べ rAd-gB 群で有意に減少しており、rAd-gB 投与により個体での感染防御が可能であった。［井上直樹、橋本楓、山田壮一、福地早希；山口十四文（帝京科学大)］

(6) GPCMV のゲノム配列の安定性に関する解析

H21 年度までに、個体で感染可能な GPCMV（22122 株）の全塩基配列を決定し、他のグループにより報告されている in vitro で長期継代培養された同じ株との間に 300 以上の部位で配列に差があることを明らかにした。H22 年度は、塩基配列を決定した株を in vitro において 18 代継代培養し、長期培養により塩基配列に変化が発生する可能性を検討したが、変異を生じやすいと思われる gp129-131 領域においても、PCR により導入された変異以外の変化は見られないことから、GPCMV の配列は安定であることが明らかになった。［金井亨輔、福井良子、山田壮一、井上直樹］

Ⅶ. リケッチアに関する研究

1. リケッチアに関する研究

(1) 沖縄県宮古島におけるつつが虫病リケッチアの分離と解析

2008 年、沖縄県内を感染推定地域とするつつが虫病の患者が初めて確認されて以来、感染推定地域における野外調査を実施してきた。2010 年 6 月に沖縄県内を感染推定地域とする第 2 例目のつつが虫病患者が報告された。その患者の感染推定地域を野外調査の対象地域に加え、各種検体を収集したところ、ベクターとなりうるツツガムシがはじめて確認されるとともに、野鼠の脾臓から *Orientia tsutsugamushi* 遺伝子が PCR によって検出された。また、*Orientia tsutsugamushi* が分離された。分離検出された *O. tsutsugamushi* を保有していた野鼠は、きわめて狭い地域に生息しているにもかかわらず、多様な 56K Da 蛋白遺伝子の *O. tsutsugamushi* が存在し，複数の遺伝子型の *O. tsutsugamushi* が限られた地域に分布、*O. tsutsugamushi* の国内およびアジア地域の分布と合わせ、その進化を含めた非常に興味深い知見が得られた。今後の調査継続の重要性が示された。［安藤秀二、小笠原由美子；平良勝也、岡野祥、仁平稔（沖縄県衛生環境研究所）；角坂照貴（愛知医科大学）；藤田博己（大原綜合病院附属大原研究所）；高田伸弘、矢野泰弘（福井大学）；及川陽三郎（金沢医科大学）；高橋守（埼玉県立川越高校）；高野愛、川端寛樹（細菌第一部）；御供田睦代（鹿児島県衛生環境センター）；本田俊郎（鹿児島県奄美中央病院）；北野智一、山本正悟（宮崎県衛生環境研究所)］

(2) リケッチア症ならびに関連リケッチアに関する野外調査

所内外の研究者の協力の下、リケッチア症の新規感染者が確認された地域や調査をより詳細に行う必要のあった地域を中心に、沖縄県、秋田県、岩手県等において野外調査を実施し、採取した各種材料を用いて多様なリケッチアに関する解析を行った。［安藤秀二、小笠原由美子］

(3) リケッチア迅速検出法の開発

リケッチア症の病原体全般（紅斑熱群リケッチア、発疹チフス群リケッチア、つつが虫病オリエンチア）の遺伝子を網羅的に検出できる系がないため、われわれがこれまで開発してきた系、その他の既報を含む系を評価し、multiplex に対応できる遺伝子検出系のより効率的、効果的な組み合わせを検討している。さらに類似の症状を呈す他の感染症を含む網羅的な検出系につなげる。［安藤秀二、小笠原由美子］

(4) 常在リケッチア症対策としての防除法の検討

アウトドア活動が活発な夏季のリケッチア症の予防策は重要である。ベクター生息地での薬剤散布は効果的な予防策の一つとの選択肢としてあげられる。古典型つつが虫病患者発生とアカツツガムシの生息が再確認された地域において、その生息密度等の情報をあらかじめ確認し、消石灰その他の薬剤を散布、それらの効果を気象条件等も加味して経年的に検討している。[安藤秀二；高田伸弘（福井大学）；藤田博己（大原綜合病院付属大原研究所）；高橋守（埼玉県立川越高校）；佐藤寛子（秋田県健康環境センター）；高岡正敏（ペストマネージメントラボ）]

(5) つつが虫病リケッチア培養系からの抗菌薬によるマイコプラズマ汚染の除去

リケッチア培養系からのマイコプラズマ（*Myco*）汚染の除去は、リケッチア研究において重要な課題である。また、*Myco* を含む細菌の汚染防止のため、抗菌薬存在下でリケッチアを培養できることは実用性が高い。そこで、つつが虫病リケッチア（*Ots*）を抗菌薬存在下で培養しその増殖への影響および *Myco* の除去を検討した。その結果、リンコマイシンが *Myco* 類の除去に有効かつ *Ots* の増殖を抑制しないことが示され、*Ots* 培養系からの *Myco* 類汚染の除去に極めて有効であることが示された。Ikeda 株に関しては、完全に汚染が除去された。[小川基彦；内山恒夫（徳島大・院・ヘルスバイオサイエンス研究部）]

(6) つつが虫病リケッチア感染による脂肪滴形成に関する研究

細胞内に形成される脂肪滴（LD）は、脂質の供給や合成過剰の時など、脂質代謝のバランスが崩れたときに観察される。本研究では、つつが虫病リケッチア(*Ots*)感染により、宿主細胞内に LD 形成が促進されるかどうかを検討した。その結果、時間が経過し *Ots* 感染が進むにつれて、LD 形成が促進された。また、LD の大きさや数などは、感染している *Ots* 量に比例する傾向が見られた。また、脂質成分の解析では、*Ots* 感染により中性脂肪の Tryglyceride 量が優位に増加した。一方で、Cholesterol 量は変化しなかった。以上より、*Ots* 感染により宿主細胞の脂質代謝に何らかの影響が起き、LD 形成が感染に比例して促進されることが示された。[小川基彦；深澤征義（感染研・細胞化学部）；内山恒夫（徳島大・院・ヘルスバイオサイエンス研究部）]

(7) 非病原性リケッチア株の培養細胞における増殖抑制

紅斑熱群の病原性株 *R. japonica* と非病原性株 *R. montanensis* の増殖動態を比較した。*R. montanensis* 単独感染ほ乳動物細胞、マダニ細胞では *R. montanensis* の産生量は低いレベルに保たれ、持続感染状態になった。しかしながら、*R. montanensis* 感染後にこれらの細胞に *R. japonica* を重感染すると *R. japonica* の増殖とともに、*R. montanensis* の産生量も上昇した。また、*R. japonica* 感染後に *R. montanensis* を重感染した場合にも両リケッチアの増殖がみられた。さらに、*R. montanensis* 感染 Vero 細胞ではオートファジーが誘導されており、これに *R. japonica* を重感染するとオートファジーの抑制が認められた。以上より、オートファジーがリケッチア量の制御に関係している可能性が考えられた。[小川基彦；内山恒夫、岸真帆美（徳島大・院・ヘルスバイオサイエンス研究部）]

Ⅷ．クラミジアに関する研究

１．クラミジアに関する研究

(1) オウム病の発生リスクに関する研究（第２報）

オウム病は、その原因となる *Chlamydophila psittaci*（*C. psittaci*）を保有する鳥類が、繁殖期などのストレスがかかった時期に、高率に *C. psittaci* を含む排泄物を出すことにより、人への感染のリスクが高まると考えられている。オウム病の感染源として注意を要する鳥類の糞便中の *C. psittaci* を経時的に採取した材料から検出することにより、季節的な変動を把握し、その対処法について考察するため、埼玉県で見つかった *C. psittaci* 保有群について排泄状況を追っている。従来より、鳥の繁殖季節と重なった春から夏にかけて *C. psittaci* が排泄され、オウム病の患者発生とパラレルであることされていたが、平成 21 年度の我々の調査では、夏から秋にかけて排出率のピークが認められた。単年での調査だけでは、個体群、気候等の影響、地域特性などのバイアスが大きくなると考え、平成 22 年度も引き続き同群の調査を継続した。

2010 年の 12 ヶ月間の調査の結果、3、7、8、11 月に検出され､冬季を除くと前年までの調査と同様､夏季に、また長期にわたり検出されており、野外の鳥類においては排泄期間が長いことが示唆された。愛玩鳥のように閉鎖空間で人と密接に接するものと、野外に生息する鳥類の人との接触密度は明らかに異なるため、リスクが高まっているとはいいがたいが、従来の発生時期の傾向にこだわらず、オウム病への注意が必要であることが示唆された。［安藤秀二；近真理奈、山本徳栄（埼玉県衛生研究所）］

(2) オウム病の情報伝達に関する検討

感染症法が施行された 1999 年から 2009 年の期間に、国内医学系雑誌に報告されたオウム病の症例報告について情報を収集し、国内の医療現場へのオウム病の情報がどの程度伝わっているかを検討した。1999 年から 2009 年の期間、感染症法の発生動向調査に報告記録されたオウム病症例数は 329 例であったのに対し、その間、症例報告として経過、治療、診断方法が学術誌にまとまった形で記録が残されているのは 27 症例であった。オウム病の症例報告はほぼ毎年学術誌に掲載されているが、27 症例という数字は典型的な症例に合致しない症例があると同時に、経験のない医療現場への認知を維持するには十分な情報量ではない可能性も考えられた。［安藤秀二；近真理奈、山本徳栄（埼玉県衛生研究所）］

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 24 件について実施した。［田島茂、モイメンリン、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎、西條政幸］

2. 地方衛生研究所への日本脳炎流行予測調査用日本脳炎標準中和抗体の配布

日本脳炎流行予測調査で使用する日本脳炎標準中和抗体を日本脳炎流行予測調査に参加している 10 機関の地方衛生研究所に配布した。［林昌宏、高崎智彦、倉根一郎］

3. クラミジアならびにリケッチア性関連疾患（輸入例含む）の検査業務

肺炎クラミジア、オウム病クラミジア、性器クラミジア、つつが虫病、日本紅斑熱、輸入リケッチア症、Q 熱について検査(血清学的、分子生物学的、生物学的検査・実験室診断)を実施している。平成 22 年の行政検査においては、オウム病 2 例 4 検体、リケッチア症 11 例 34 検体、Q 熱 x 例 x 検体を実施した。また、その他の検査依頼としてクラミジア 1 例 6 検体、リケッチア 21 例 66 検体、Q 熱 1 例 3 検体を実施している。さらに、不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を多数検査検討した。［安藤秀二、小笠原由美子］

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 22 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、水谷哲也、森川茂、西條政幸］

2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

平成 22 年度は 62 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、62 ロットすべてを合格と判定した。［田島茂、林昌宏、モイメンリン、小滝徹、池田真紀子、高崎智彦、西條政幸、倉根一郎］

3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成22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、モイメンリン、田島茂、高崎智彦、西條政幸、倉根一郎］

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成22年度は、3ロット(RB12、RB13、RB14)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（高山）睦代、福士秀悦、高崎智彦、林昌宏、西條政幸、倉根一郎］

5. 水痘ワクチンの検定

水痘抗原国家検定 1 ロット、乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定 8 ロット、輸出用ワクチン依頼検査 19 ロット、合計 28 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、金井亨輔、西條政幸、倉根一郎］

6. クラミジア体外診断薬の承認前試験

Chlamydia trachomatis の抗原検出系１件の承認前試験を実施するとともに、核酸増幅系キットの２件について承認前試験の申請にもとづく申請書の検討を行った。［安藤秀二、倉根一郎］

国際協力関係業務

1. 日本脳炎世界特別ラボラトリー

世界保健機関（WHO）日本脳炎世界特別ラボラトリーとして、血清診断のためのパネル血清およびパネル髄液候補 252 検体を評価した。また、ベトナムから 151 検体、ラオスから 17 検体、シンガポールから１検体の日本脳炎患者検体総計 169 検体に関して確認検査を実施した。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して H21 年度に作成した研修用テキスト（英語版）を用いて WHO 西太平洋域内の日本脳炎実験室レファレンス実験室である中国 CDC に技術移転した。また、香港で開催された第２回日本脳炎実験室診断実習コースにおいて講演、指導を行った。［高崎智彦、モイメンリン、林昌宏、池田真紀子、小滝徹、田島茂、倉根一郎］

2. CMV 核酸増幅定量検査用国際標準品作製のための国際共同研究

定量 PCR などの核酸増幅検査法は、臨床検査として普及しているが、その定量性が臓器移植における薬剤投与の基準決定などに重要である。世界 14 か国 32 組織において NIBSC が作製した国際標準品候補品の評価を行う研究に参加するとともに、最終結果の解析に協力した。［井上直樹、津田美穂子、倉根一郎］

3. ベトナム国立衛生研究所強化プロジェクト

2010 年 6 月、国際協力機構のプロジェクトの一環として、BSL3 実験室での作業を考慮したリケッチア実験室診断の技術指導とワークショップを、on site で実施した。［安藤秀二、倉根一郎］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Itagaki, T., Abiko, C., Ikeda, T., Aoki, Y., Seto, J., Mizuta, K., Ahiko, T., Tsukagoshi, H., Nagano, M., Noda, M., Mizutani, T., Kimura H. (2010): Sequence and phylogenetic analysis of Scafford cardiovirus from children with exudative tonsillitis in Yamagata, Japan. Scand. J. Inect. Dis., 42, 950-952.

2) Sunohara, M., Morikawa, S., Murata, H., Fuse, A., Sato, I. (2010): PKC plays a crucial role in c-mpl gene expression in megakaryoblastic cells. Okajimas Folia Anato. Jpn., 87, 151-154.

3) Ogawa, H., Miyamoto, H., Ebihara, H., Ito, K., Morikawa, S., Feldmann, H., Takada, A. (2011): Detection of all known filovirus species by reverse transcription-polymerase chain reaction using a primer set specific for the viral nucleoprotein gene. J. Virol. Methods, 171, 310-313.

4) Watanabe, S., Masangkay, J.S., Nagata, N., Morikawa, S., Mizutani, T., Fukushi, S., Alviola, P., Omatsu, T., Ueda, N., Iha, K., Taniguchi, S., Fujii, H., Tsuda, S., Endoh, M., Kato, K., Tohya, Y., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y., Akashi, H. (2010): Bat coronaviruses and experimental infection of bats, the Philippines. Emerg. Infect. Dis., 16, 1217-1223.

5) Watanabe, S., Maeda, K., Suzuki, K., Ueda, N., Iha, K., Taniguchi, S., Shimoda, H., Kato, K., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Kurane, I., Akashi, H., Mizutani, T. (2010): Novel betaherpesvirus in bats. Emerg. Infect. Dis., 16:986-988.

6) Tsukagoshi, H., Masuda, Y., Mizutani, T., Mizuta, K., Saitoh, M., Morita, Y., Nishina, A., Kozawa, K., Noda, M., Ryo, A., Kimura, H. (2010): Sequence and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus (SAFV)

genotype 3 isolates from children with upper respiratory infection in Gunma, Japan. Jpn. J. Infecti. Dis., 63, 378-380.

7) Watanabe, S., Mizutani, T., Sakai, K., Iizuka, I., Shiota, T., Sayama, Y., Tsuda, S., Kato, K., Fukushi, S., Saijo, M., Kurane, I., Morikawa, S., Akashi, H. (2010): Development of a method to detect viral RNA sequences from cultured cells by combining size fraction and a rapid determination system for viral RNA sequences (RDV). J. Vet. Sci. Technol., 2010. 1. 1000103 (open access)

8) Nakayama, E., Yokoyama, A., Miyamoto, H., Igarashi, M., Kishida, N., Matuno, K., Marzi, A., Feldmann, H., Ito, K., Saijo, M., Takada, A. (2010): Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of filovirus species-specific antibodies. Clin. Vaccine Immunol., 17, 1723-1728.

9) Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I. (2010): Recent progress in the treatment for Crimean-Congo hemorrhagic fever and future perspectives. Future Virology, 5, 801-809.

10) Mizutani, T., Sayama, Y., Nakanishi, A., Ochiai, H., Sakai, K., Wakabayashi, K., Tanaka, N., Miura, E., Oba, M., Kurane, I., Saijo, M., Morikawa, S., Ono, S.I. (2011): Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, Anguilla japonica. Virology, 412, 179-187.

11) Sayama, Y., Eshita, Y., Yamao, T., Mishimura, M., Sato, T., Srisawat, R., Komalamisra, N., Rongsriyam, Y., Sakai, K., Fukushi, S., Saijo, M., Oshitani, H., Kurane, I., Morikawa, S., Mizutani, T. (2011): Prevalence of Phasi Charoen virus in female mosquitos. J. Parasitol. Vector Biol., 3, 19-21.

12) Saijo, M., Kurane, I., Morikawa, S.: Recombinant protein-based diagnostics for viral hemorrhagic fever. Animal viruses. pp47-56. （Edited by Maeda A） printed by Transworld Research Network, 2010

13) Saijo, M.: Chapter 66 Lassa virus. Pp727-732, *In:* (Ed) Liu D, “Molecular detection of human viral pathogens” , Taylor & Francis CRC Press, 2011

14) Yamamoto, K., Matumoto, K., Lim, C.K., Moi, M.L., Kotaki, A., Takasaki, T. (2010): Chikungunya fever from Malaysia. Intern. Med., 49, 501-505.

15) Moi, M.L., Ujiie, M., Takasaki, T., Kurane, I. (2010): Dengue virus infection in travellers returning from Benin to France, July - August, 2010. Euro Surveillance, 15, 19674.

16) Moi, M.L., Takasaki, T., Kotaki, A., Tajima, S., Lim, C.K., Sakamoto, M., Iwagoe, H., Kobayashi, K., Kurane, I. (2010): Importation of dengue virus type 3 to Japan from Tanzania and Côte d'Ivoire. Emerg. Infect. Dis., 16, 1770-1772.

17) Moi, M.L., Lim, C.K., Kotaki, A., Takasaki, T., Kurane, I. (2011): Detection of higher levels of dengue viremia using Fc gammaR-expressing BHK-21 cells than Fc gammaR-negative cells in secondary infection but not in primary infection. J. Infect. Dis., 203, 1405-1414.

18) Lim, C.K., Kurane, I., Takasaki, T.: Re-emergence of Chikungunya virus. Animal viruses. pp1-22.（Edited by Maeda A） printed by Transworld Research Network, 2010

19) Fujii, Y., Matsutani, T., Kitaura, K., Suzuki, S., Itoh, T., Takasaki, T., Suzuki, R., Kurane, I. (2010): Comprehensive analysis and characterization of the TCR alpha chain sequences in the common marmoset. Immunogenetics, 62, 383-395.

20) Aoyama, I., Uno, K., Yumisashi, T., Takasaki, T., Lim, C.K., Kurane, I., Kase, T., Takahashi, K. (2010): A case of chikungunya fever imported from India to Japan, follow-up of specific IgM and IgG antibodies over a 6-month period. Jpn. J Infect. Dis., 63:65-66.

21) Ito, M., Takasaki, T., Kotaki, A., Tajima, S., Yuwono, D., Rimal, H.S., Santos, F.D., De Jesus, M.D., Lina, B.B., Tsuda, Y., Lim, C.K., Nerome, R., Caleres, A., Shindo, N., Dragaer, R.D., Andjaparidze, A., Kurane, I. (2010): Molecular and virological analyses of dengue virus responsible for dengue outbreak in East timor in 2005. Jpn. J Infect. Dis., 63, 181-184.

22) Imoto, J., Ishikawa, T., Yamanaka, A., Konishi, M., Murakami, K., Shibahara, T., Kubo, M., Lim, C.K., Hamano, M., Takasaki, T., Kurane, I., Udagawa, H., Mukutaf, Y., Konishi, E. (2010): Needle-free jet injection of small doses of Japanese encephalitis DNA and inactivated vaccine mixture induces neutralizing antibodies in miniature pigs and protects against fetal death and mummification in pregnant sows. Vaccine, 28, 7373-7380.

23) Mizuno, Y., Kato, Y., Takeshita, N., Ujiie, M., Kobayashi, T., Kanagawa, S., Kudo, K., Lim, C.K., Takasaki, T. (2011): Clinical and radiological features of imported chikungunya fever in Japan: a study of six cases at the National Center for Global Health and Medicine. J. Infect. Chemother., 17, 419–423.

24) Eshita, Y., Higashihara, J., Onishi, M., Mizuno, M., Yoshida, J., Takasaki, T., Yoshoka, H, Kubota, N., Onishi, Y. (2011): Mechanism of the Introduction of Exogenous Genes into Cultured Cells using DEAE-Dextran-MMA Graft Copolymer as a non-Viral Gene Carrier.II Its Thixotropy Property. J. Nanomed. & Nanotechnol., 2: http//dx.doi.org/10.4172/2157-7439.1000105.

25) Mohammed, M.A., Galbraith, S.E., Radford, A.D., Dove, W., Takasaki, T., Kurane, I., Solomon, T. (2011): Molecular phylogenetic and evolutionary analyses of Muar strain of Japanese encephalitis virus reveal it is the missing fifth genotype. Infect. Genet. Evol., 11:855-862.

26) Ito, M., Katakai, Y., Ono, F., Akari, H., Mukai, R.Z., Takasaki, T., Kotaki, A., Kurane, I. (2011): Serotype-specific and cross-reactive neutralizing antibody responses in cynomolgus monkeys after infection with multiple dengue virus serotypes. Arch. Virol., 156, 1073-1077.

27) Tarumoto, N., Abe, Y., Yamaguchi, T., Takasaki, T., Kurane, I., Maesaki, S. (2011): Dengue fever as an acute febrile disease after overseas travel: a report of two cases. Jpn J. Infect. Dis., 64, 163-164.

28) Tajima,S.,Takasaki,T.,Kurane,I.(2011):Restoration of replication- defective dengue type 1 virus bearing mutations in the N-Terminal cytoplasmic portion of NS4A by the additional mutations in the NS4B Arch.Virol.,156:63-69.

29) Nakamichi, K., Kitani, H., Takayama-Ito, M., Morimoto, K., Kurane, I., Saijo, M. (2010): Celastrol suppresses morphological and transcriptional responses in microglial cells upon stimulation with double-stranded RNA. Int. J. Neurosci., 120, 252-257.

30) Nakamichi, K., Takayama-Ito, M., Nukuzuma, S., Kurane, I., Saijo, M. (2010): Long-term infection of adult mice with murine polyomavirus following stereotaxic inoculation into the brain. Microbiol. Immunol., 54, 475-482.

31) Nukuzuma, S., Kameoka, M., Sugiura, S., Nakamichi, K., Nukuzuma, C., Miyoshi, I., Takegami, T. (2010): Efficient propagation of progressive multifocal

leukoencephalopathy- type JC virus in COS-7-derived cell lines stably expressing Tat protein of human immunodeficiency virus type 1. Microbiol. Immunol., 54, 758-762.

32) Inoue, N.: Chapter 84 Human herpesvirus 5 (cytomegalovirus). pp.949-962, *In:* (Ed) Liu D, "Molecular detection of human viral pathogens" ,Taylor & Francis CRC Press, 2011

33) Shoji, K., Ito, N., Ito, Y., Inoue, N., Adachi, S., Fujimaru, T., Nakamura, T., Nishina, S., Azuma, N., Saitoh, A. (2010): Is a six-week course of ganciclovir therapy effective for chorioretinitis in infants with congenital cytomegalovirus infection? J. Pediatr., 157, 331-333,

34) Nagamori, T., Koyano, S., Inoue, N., Yamada, H., Oshima, M., Minematsu, T., Fujieda, K. (2010): A symptomatic congenital cytomegalovirus infection occurred by viral reactivation more than 2 years after an abortion due to the same strain. J. Clin. Virol., 49, 134-136.

35) Yamada, S., Kosugi, I., Katano, H., Fukui, Y., Kawasaki, H., Arai, Y., Kurane, I., Inoue, N. (2010): In vivo imaging assay for the convenient evaluation of antiviral compounds against cytomegalovirus in mice. Antiviral Res., 88, 45-52.

36) Kanai, K., Takashima, K., Okuno, K., Kato, K., Sano, H., Kuwamoto, S., Higaki, H., Nagata, K., Sugihara, H., Kato, M., Murakami, I., Hayashi, K. (2010): Lifelong persistent EBV infection of rabbits with EBER1-positive lymphocyte infiltration and mild sublethal hemophagocytosis. Virus Res., 153:172-178.

37) Kanai, K., Kato, K., Sano, H., Nagata, K., Okuno, K., Kuwamoto, S., Higaki, H., Sugihara, H., Kato, M., Murakami, I., Hayashi, K. (2010): In vitro Epstein-Barr virus infection model of rabbit lymphocytes from peripheral blood or spleen. Intervirology, 54:17-24.

38) Okuno, K., Takashima, K., Kanai, K., Ohashi, M., Hyuga, R., Sugihara, H., Kuwamoto, S., Kato, M., Sano, H., Sairenji, T., Kanzaki, S., Hayashi, K. (2010): Epstein-Barr virus can infect rabbits by the intranasal or peroral route: an animal model for natural primary EBV infection in humans. J. Med. Virol., 82:977-986.

39) Folster, J.M., Jensen, N.J., Ruyechan, W.T., Inoue, N., Schmid, D.S. (2011): Regulation of the expression of the varicella-zoster virus open reading frame 66 gene. Virus Res., 155, 334-342.

40) Ando, S., Kurosawa, M., Sakata, A., Fujita, H., Sakai, K., Sekine, M., Katsumi, M., Saitou, W., Yano, Y., Takada, N., Takano, A., Kawabata, H., Hanaoka, N., Watanabe, H., Kurane, I., Kishimoto, T. (2010): Human *R. heilongjiangensis* Infection, Japan. Emerg. Infect. Dis., 16, 1306-1308.

41) Takeshita, N., Imoto, K., Ando, S., Yanagisawa, K., Ohji, G., Kato, Y., Sakata, A., Hosokawa, N., Kishimoto, T. (2010): Murine typhus in two travelere returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. J. Travel. Med., 17, 356-358.

42) Yoshii, K., Mottae, K., Omori-Urabe, Y., Chiba, Y., Seto, T., Sanada, T., Maeda, J., Obara, M., Ando, S., Ito, N., Sugiyama, M., Sato, H., Fukushima, H., Kariwa, H., Takashima, I. (2011): Epizootiological study of tick-borne encephalitis virus infection in Japan. J. Vet. Med. Sci., 73, 409-412.

43) Takano, A., Nakao, M., Masuzaka, T., Takada, N., Yano, Y., Ishiguro, F., Fujita, H., Ito, T., Ma, X., Oikawa, Y., Kawamori, F., Kumagai, K., Mikami, T., Hanaoka N., Ando, S., Honda, N., Tayler, K., Tsubota, T., Konnai, S., Watanabe, M., Ohnishi, M., Kawabata, H. (2011):

Multilocus sequence typing Implicates rodents as the main reservoir host of Human-pathogenic Borrelia garinii in Japan. J. Clin. Microbiol., 49, 2035-2039.

44) Watanabe, M., Hasegawa, S., Obara, M., Ando, S., Yamauchi, T., Takizawa, T. (2011): Long-term analysis of the population dynamics of Culex tritaeniorhynchus and Anopheles sinensis, and serological survey of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003. Skarafactory.

2. 和文発表

1) 水谷哲也：「レオウイルス」in 「広範囲血液・尿化学検査，免疫学的検査（３）（第 7 版）－その数値をどう読むかー」日本臨床 410-413，2010 年増刊.

2) 水谷哲也 : 原因不明疾患における感染因子の網羅的解析 －川崎病との関わりー. Progress in Medicine 30:1883-1886, 2010

3) 水谷哲也 : エマージングウイルスと未同定のウイルスの探索（特集：ウイルスの今日的意味）化学療法の領域．26 :1747-1755, 2010

4) 池郁生，Franck BOURGAD，大沢一貴，高木利一，佐藤浩，森川茂，酒井宏治，水谷哲也，西條政幸，倉根一郎，滝本一広，山田靖子，Jean JAUBERT，Marion BERARD，中田初美，平岩典子，目加田和之，高倉彰，伊藤豊志雄，小幡裕一，吉木淳，Xavier MONTAGUTELI : 輸入マウスに感染していたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス. 獣医畜産新報 63:205-207, 2010

5) 西條政幸:アレナウイルス. 臨床と微生物 37:113-116, 2010

6) 西條政幸．南米出血熱の診断法の概要．日本医事新報 4496:83-84，2010

7) 西條政幸：アレナウイルス．日本臨床 68（増刊号）:431-434, 2010

8) 西條政幸：ウイルスの種類と設備（バイオセーフティー）．臨床と微生物 37:389-393, 2010

9) 西條政幸：ウイルス性出血熱．小児感染症学 （編集岡部信彦）pp488-492, 2011

10) 森川茂：痘瘡．小児感染症学 （編集岡部信彦）pp518-522, 2011

11) 田島茂，高崎智彦．日本脳炎：診断と診療 97:2097-2100, 2009

12) Moi, M. L.，Takasaki T.:アジア渡航米国人における日本脳炎の３症例．2003～2007 年－米国. Infectious Agents Surveillance Report 30:244-245, 2009

13) モイメンリン，高崎智彦 : デング熱・デング出血熱. 小児感染症学 （編集岡部信彦）pp508-511, 2011

14) 高崎智彦：黄熱・ウエストナイルウイルス．小児感染症学 （編集岡部信彦）pp493-497, 2011

15) 江下優樹，東原絢子，大西政康，水野正明，吉田純，住吉秀明，吉岡秀克，高崎智彦，石川雄一，久保田直治，大西靖彦 : DEAE-デキストラン共重合体を非ウイルス性遺伝子導入キャリアーとして用いた，培養細胞への外来遺伝子導入．大分大学工学部研究報告 57:1-8, 2010

16) 林昌宏，高崎智彦 : 近年のチクングニア熱の流行状況．公衆衛生 75:39-42, 2011

17) 林昌宏，高崎智彦 : チクングニア熱と近年の流行状況. 獣医公衆衛生研究 13:9-13, 2011

18) 林昌宏，倉根一郎，高崎智彦 : チクングニア熱．改訂版人獣共通感染症 木村哲，喜田宏 編，医薬ジャーナル社 pp160-165, 2011

19) 江下優樹，原絢子，大西政康，水野正明，吉田純，住吉秀明，吉岡秀克，高崎智彦，石川雄一，久保田直治，大西靖彦：DEAE-デキストラン共重合体を非ウイルス性遺伝子導入キャリアーとして用いた，培養細胞への外来遺伝子導入．大分大学工学部研究報告 57:1-8, 2010

20) 井上直樹：各論 4-3 章 先天性サイトメガロウイルス感染児の診断と疫学．川名尚・小島俊行編「母子感染」金原出版　pp202-207, 2011

21) 古谷野伸，井上直樹，長森恒久，他：先天性サイトメガロウイルス感染マススクリーニングの意義．平成 22 年度北海道小児保健研究会会誌　p36-40, 2010

22) 山田秀人，森岡一朗，森實真由美，園山綾子，谷村憲司, 松尾希世美, 松尾雅文, 峰松俊夫, 古谷野伸, 井上直樹：「先天性サイトメガロウイルス感染症の胎児・新生児治療」産婦人科治療 102：131-138, 2011

23) 山田秀人，森岡一朗，森實真由美，園山綾子，谷村憲司, 松尾希世美, 松尾雅文, 峰松俊夫, 井上直樹, 古谷野伸：「サイトメガロウイルス」特集:母児感染が問題となる感染症，周産期医学 41:181-188, 2011

24) 金井亨輔，山田壮一，井上直樹：「HHV-3(VZV)」特集:ヘルペスウイルス．ウイルス 66:197-208, 2010

25) 山内健生, 高野愛, 坂田明子, 馬場俊一, 奥島雄一, 川端寛樹，安藤秀二：タカサゴキララマダニによる人体刺症の 5 例．日本ダニ学会誌 19：15-21，2010

26) 森志朋, 櫻井英一, 赤坂俊英, 坂田明子, 安藤秀二, 岸本寿男:Pre-DIC を併発し polymerase chain reaction (PCR)法で診断したツツガムシ病の 1 例．臨床皮膚科 64:512-516, 2010

27) 安藤秀二，山崎勉：クラミジア，特集 ICT がおさえておきたい微生物のポイント 40．INFECTION CONTROL，メディカ出版 19:686-687, 2010

28) 安藤秀二，坂田明子：日本国内のリケッチア症実験室診断に関する状況と課題．病原微生物検出情報 31:139-140, 2010

29) 安藤秀二, 坂田明子, 花岡希, 川端寛樹, 藤田博己，黒澤昌啓，斉藤若奈，矢野泰弘，高田伸弘，酒井克朗，勝見正道，関根雅夫，小黒美舎子，熊谷正憲，岸本寿男：*Rickettsia heilongjiangensis* 国内感染の第一症例の確認経過と感染源調査．病原微生物検出情報　31:136-137, 2010

30) 中野敏明, 衛藤光, 横田恭子, 古川恵一, 安藤秀二，坂田明子:モザンビーク共和国で感染した Rickettsia africae によるマダニ刺症の 2 例．病原微生物検出情報　31：137-138, 2010

31) 松本一俊, 八尋俊輔, 松尾繁, 原田誠也, 山本正悟，本田俊郎，安藤秀二：熊本県における日本紅斑熱患者の急増．病原微生物検出情報 31:134-135, 2010

32) 竹之下秀雄，成田雅，山本正悟，安藤秀二，藤田博己．福島県におけるタテツツガムシによるつつが虫病：病原微生物検出情報 31:125-126, 2010

33) 岩崎博道，安藤秀二，高田伸弘．肝リケッチア症，日本臨床　肝・胆道系症候群 I（第 2 版），日本臨床社　別冊　pp140-144, 2010

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Saijo, M.: Highly attenuated smallpox vaccine , LC16m8, stockpiled in Japan. US-Japan Cooperative Medical Science Program-Panel Meeting. Hamilton, MO, USA, 2010.06

2) Saijo, M.: Virologic insight into Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreaks in Xinjiang , Chinn.

US-Japan Cooperative Medical Science Program-Panel Meeting. Hamilton, MO, USA, June 2010

3) Saijo, M., Fukushi, S., Mizutani, T., Kurane, I., Morikawa, S.: Evolutional events of Crimean-Congo hemorrhagic fever viruses in Xinjinag , China , assessed with 3 segmented RNA genes. 44th US-Japan Cooperative Medical Science, Viral Diseases Panel Meeting, Sapporo, Japan, June 2010

4) Shiota, T, Saijo, M.: Antiviral resistant herpes virus infections. BIT's 1st World Congress of Virus and Infections-2010, Busan, Korea, July 2010

5) Saijo, M.: Molecular epidemiology on Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections based on the 3 segmented RNA genes. BIT's 1st World Congress of Virus and Infections-2010, Busan, Korea, July 2010

6) Saijo, M.: Post- and pre-exposure vaccination with a highly attenuated smallpox vaccine, LC16m8, and efficacy in protection of nonhuman primates from lethal monkeypox. 4th and ISV Annual Global Congress. Vienna, Austria, October 2010

7) Lim, C.K., Takasaki, T., Moi, M.L., Omatsu, T., Kotaki, A., Chua, K.B., Kurane, I.: Molecular diagnosis and analysis of Chikungunya virus in Malaysia. The ninth International Symposium on Positive-Strand RNA viruses. Atlanta, GA, USA, May 2010

8) Lim C.K., Takasaki, T., Kurane I.: Focus reduction neutralization assay for Japanese encephalitis with peroxidase anti-peroxidase method. 2nd Informal Consultation meeting of WHO Regional and Global Specialized JE Laboratories in the Western Pacific Region. Tokyo, Japan, May 2010

9) Moi, M.L., Lim, C.K., Kotaki, A., Takasaki, T., Kurane, I.: Dengue virus enhancing activity in serum samples from dengue patients determined using FcγR-expressing BHK cells. 44th Joint Working Conference on Viral Diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program, Hokkaido, June 2010.

10) Tajima, S., Yamaguchi, Y., Kato, F., Takasaki, T., Kurane, I.: Effects of single amino acid substitution at position 123 in the Japanese encephalitis virus E protein on its growth rate in vitro and pathogenicity in mice. 1st Asia-Pacific workshop on Neurovirology, Seoul, South Korea, July 2010

11) Lim, C.K., Takasaki, T., Moi, M.L., Omatsu, T., Kotaki, A., Chua, K.B., Kurane I.: Molecular diagnosis and analysis of Chikungunya virus in Malaysia. The 8th Japan-China International Conference of Virology. Harbin, China, July 2010

12) Takasaki, T., Moi, M.L., Lim, C.K., Kurane, I.: Imported Chikungunya fever and dengue fever in JAPAN. The 7th Japan-Taiwan Symposium on Immunization and Travel Medicine. Taipei, Taiwan, September 2010

13) Moi, M.L., Lim, C.K., Kotaki, A., Takasaki, T., Kurane, I.: Titration of neutralizing antibody and viremia in dengue patients using FcγR-expressing cells. 14th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, Malaysia (Kuala Lumpur), October 2010

14) Inoue, N., Koyano, S., Yoshikawa, T., Itoh, Y., Moriuchi, H., Asano, K., Yamada, H., Suzutani, T., Fujieda, K., for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group.: CMV strains identified in urine specimens of almost all congenitally-infected newborns were identical to those of their siblings, suggesting siblings as the major risk factor for congenital infection in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010

15) Yamada, S., Kosugi, I., Katano, H., Fukui, Y., Kawasaki, H., Arai, Y., Kurane, I., Inoue, N.: In vivo imaging assay for the convenient evaluation of antiviral compounds against cytomegalovirus in mice. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010

16) Koyano, S., Inoue, N., Oka, A., Moriuchi, H., Asano, K., Yamada, H., Itoh, Y., Yoshikawa, T., Fujieda, K., for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group.: Multi-center study on congenital CMV in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010

17) Nakamura, H., Liao, H., Henmi, C., Imadome, K., Yajima, M., Fujiwara, S., Koyano, S., Yoshikawa, T., Moriuchi, H., Suzutani, T., Asano, K., Ohishi, T., Itoh, Y., Taiji, H., Inoue, N., Fujieda, K., for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group.: Cellular immunological responses to CMV in congenitally CMV-infected infants identified by a pilot newborn CMV screening study in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010

18) Moriuchi, H., Morioka, I., Yamada, H., Imamura, T., Asano, K., Oka, A., Itoh, Y., Yoshikawa, T., Koyano, S., Inoue, N., Fujieda, K., for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group.: A Multi-center study on the treatment of congenital CMV in Japan. 2010 Congenital Cytomegalovirus Conference, Paris, 2010

19) Ando, S.: Biosafety in diagnosing and research of rickettsioses. JICA-Viet Nam NIHE Workshop Hanoi, Vietnam, June 2010

2. 国内学会

1) 塩田智之, 飯塚愛恵, 倉根一郎, 森川茂, 西條政幸. 293T 細胞における HSV-1 組換えチミジンリン酸化酵素発現の臨床検体薬剤感受性試験への応用. 第 20 回日本抗ウイルス療法研究会，熊本，2010 年 5 月

2) 新倉綾, 池上 徹郎, 森川茂, 山田 靖子, C. J. Peters, 牧野伸治. リフトバレー熱ウイルス L 蛋白のポリメラーセゼ機能におけるロイシンジッパー様モチーフの重要性. 第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

3) 新井智, 永野昌博, 淺川満彦, 木村敏之, 近真理奈, 多屋馨子，森川茂，岡部信彦，Richard Yanagihara. Evolutionary insights from the genetic diversity of Asama virus in the Japanese shrew mole (*Urotrichus talpoides*). 第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

4) 西條政幸，福士秀悦，水谷哲也，緒方もも子，倉根一郎，森川茂. ３分節 RNA の塩基配列に基づく中国新疆ウイグル自治区におけるクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの 分子疫学と進化. 第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

5) 永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，佐藤由子，森川茂，佐多徹太郎. SARS 発症マウスモデルにおける IFN-γ の投与効果. 第 58 回日本ウイルス学会, 徳島，2010 年 11 月

6) 渡辺俊平，Masangkay Joseph S，永田典代，森川茂，水谷哲也，福士秀悦，大松勉，上田直也，伊波興一朗，谷口怜，藤井ひかる，津田峻平，加藤健太郎，遠矢幸伸，久和茂，吉川泰弘，明石博臣.フィリピンにおけるコウモリコロナウイルスの検出および飼育食果コウモリを用いたウイルス感染実験. 第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

7) 岩田奈織子，永田典代，辻隆裕，長谷川秀樹，佐藤由子，横田恭子，宇田晶彦，水谷哲也，西條政幸，森川茂，佐多徹太郎. SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について. 第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

8) 酒井宏治，田丸精治，前田健，永田典代，網康至，

岩田奈織子，鈴木忠樹，水谷哲也，福士秀悦，須崎百合子，緒方もも子，長谷川秀樹，西條政幸，山田靖子，倉根一郎，森川茂．カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスのサル及びイヌでの病原性の解析．第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

9) 伊波興一朗，中内美奈，谷口怜，福士秀悦，水谷哲也，緒方もも子，西條政幸，久和茂，倉根一郎，森川茂．アルゼンチン出血熱の実験室診断法の患者血清を用いた評価．第 58 回日本ウイルス学会, 徳島，2010 年 11 月

10) 木下一美，酒井宏治，永田典代，王麗欣，伊藤(高山) 睦代，中道一生，森川茂，倉根一郎，西條政幸．リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス核蛋白の単クローン抗体を用いた診断法の開発．第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

11) 水谷哲也，酒井宏治，本道栄一，福士秀悦，緒方もも子，西條政幸，倉根一郎，森川茂，前田健．コウモリから分離された新規アデノウイルスのゲノム配列の決定および系統学的解析．第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

12) Vuong Nghia Bui, 水谷哲也, 山本佑, 中村菊保, Tung Hoang Nguyen，苅部一司，松尾賢吾，小川晴子，今井邦俊．Characterization of a novel APMV-6 isolated from a stint: evident for existence of subgroup within the serotype．第 150 回日本獣医学会，帯広，2010 年 9 月

13) 水谷哲也，酒井宏治，本道栄一，福士秀悦，緒方もも子，西條政幸，倉根一郎，森川茂，前田健．コウモリから分離された新規アデノウイルスの分子学的性状決定．第 150 回日本獣医学会，帯広，2010 年 9 月

14) 酒井宏治，永田典代，網康至，岩田奈織子，鈴木忠樹, 水谷哲也, 福士秀悦, 須崎百合子, 緒方もも子，西條政幸，長谷川秀樹，山田靖子，倉根一郎，森川茂．カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスの性状と実験感染サルでの病原性の解析．第 150 回日本獣医学会，帯広，2010 年 9 月

15) 谷口怜, 佐山勇輔, 渡辺俊平, 飯塚愛恵, 福士秀悦, 水谷哲也, 石井寿幸, 久和茂, 明石博臣, 吉川泰弘, 森川茂，倉根一郎．レストンエボラウイルス膜糖蛋白を標的とした抗体検出系の確立．第 150 回日本獣医学会，帯広，2010 年 9 月

16) 水谷哲也，酒井宏治，本道栄一，福士秀悦，緒方もも子，西條政幸，倉根一郎，森川茂，前田健．コウモリから分離された新規アデノウイルスの分子学的性状決定．第 150 回日本獣医学会，帯広，2010 年 9 月

17) 水谷哲也．「微生物の遺伝子診断の進歩」（未知のウイルスの迅速診断法）．第 84 回日本感染症学会総会（パネルディスカッション），京都，2010 年 4 月

18) 甘利昭一郎，生田陽二，小田新，滝有希子，内山健太郎，吉田知広，大場邦弘，野田絵理，河野寿夫，水谷哲也．中枢神経病変を来した，コクサッキーウイルス B4 感染症 7 例についての検討．第 113 回日本小児科学会学術集会，盛岡，2010 年 4 月．

19) 水谷哲也, 黒田誠, 関塚剛史, 大場邦弘, 絹巻暁子, 緒方昌平，石井正浩，森雅亮，横田俊平．次世代シーケンサーによる川崎病の原因究明.第113回日本小児科学会学術集会，盛岡，2010 年 4 月．

20) 黒田誠, 関塚剛史, 絹巻暁子, 佐藤誠一, 大場邦弘, 濱田洋通，寺井勝，緒方昌平，石井正浩，森雅亮，横田俊平，水谷哲也．ウイルスの網羅的解析による川崎病の原因究明.第 113 回日本小児科学会学術集会，盛岡，2010 年 4 月

21) 森雅亮，黒田誠，関塚剛史，大場邦弘，絹巻暁子，

水谷哲也，横田俊平．プロテオーム解析法を用いた川崎病患者血清の網羅的解析.第 113 回日本小児科学会学術集会，盛岡，2010 年 4 月

22) 前田健, 下田宙, 長尾裕美子, 下島昌幸, 鈴木和男, 酒井宏治，水谷哲也．野生動物における日本脳炎ウイルス抗体保有状況とイノシシからのウイルス分離の試み.第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，東京，2010 年 5 月

23) 西條政幸．バイオテロに用いられる可能性のある病原体．第 47 回日本犯罪学会総会，東京，2010 年 11 月

24) 西條政幸．Emerging virus infections and organ transplantation. Transfusion Medical Conference, 逗子, 2011 年 1 月

25) 小林泰一郎，柳澤如樹，菅沼明彦，今村顕史，中村ふくみ，大西健児，高崎智彦，味澤篤．チクングニヤ熱３例の臨床的検討．第 84 回日本感染症学会総会学術集会，京都，2010 年 4 月

26) 林昌宏，高崎智彦，モイメンリン，大松勉，倉根一郎．近年のチクングニヤ熱流行おけるチクングニヤ熱疑い患者血清の病原体および血清学的解析．日本感染症学会総会，京都，2010 年 4 月．

27) 江下優樹，高崎智彦，林昌宏，　Srisawat R，Komalamisra N，　Rongsriyam Y, 湯偉峰, 青野裕士，牧野芳大，成田弘成，牛島廣治，倉根一郎．タイ国産ネッタイシマカのチクングニアウイルス感受性．第 62 回日本衛生動物学会大会，2010 年 4 月

28) 林昌宏，高崎智彦，倉根一郎．チクングニヤ熱の流行状況と実験室診断法．衛生微生物技術協議会第 31 回研究会，2010 年 5 月

29) 高崎智彦, 小滝徹, 田島茂, 林昌宏, モイメンリン, 倉根一郎．輸入デング熱・チクングニヤ熱 検査・診断状況(2008-2010)．衛生微生物技術協議会第 31 回研究会，2010 年 5 月

30) 青山幾子，弓指孝博，加瀬哲男，高橋和郎，高崎智彦，林昌宏，倉根一郎．大阪府におけるデング熱・チクングニヤ熱の検査体制．衛生微生物技術協議会第 31 回研究会，2010 年 5 月

31) 加藤文博，田島茂，山口幸恵，小滝徹，司馬肇，細野邦昭，高崎智彦，倉根一郎．3’ NTR 内に変異を有する日本脳炎ウイルス変異体の in vitro における増殖性および病原性解析．第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，東京，2010 年 5 月

32) 山口幸恵，田島茂，小滝徹，澤辺京子，渡邉治雄，高崎智彦，倉根一郎．日本脳炎ウイルス E 蛋白質の 1アミノ酸置換(S123N)がウイルス増殖に及ぼす影響. 第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 東京, 2010 年 5 月

33) 佐山勇輔, 高崎智彦, 小滝徹, 梅垣康弘, 唐牛良明, 押谷仁，倉根一郎．京都の 1979-1993 における蚊から分離された日本脳炎ウイルスの遺伝子型の推移. 第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 東京, 2010 年 5 月

34) 原田誠也, 西村浩一, 清田直子, 小滝徹, 高崎智彦. 熊本県における日本脳炎ウイルスの疫学調査（第２報）. 第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 東京, 2010 年 5 月

35) 左一八，須藤豊，神邊友宏，田島茂，高崎智彦，倉根一郎，森田公一，鈴木隆．日本脳炎ウイルスによる硫酸化糖鎖認識．第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，東京，2010 年 5 月

36) 高崎智彦，小滝徹，倉根一郎，澤辺京子，林利彦，小林睦生．冬季のイノシシから分離・検出された日本脳炎ウイルス．第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，東京，2010 年 5 月

37) 佐藤弘, 多屋繋子, 高崎智彦, 倉根一郎, 岡部信彦. 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（2009 年度感染症流行予測調査より）. 第 51 回臨床ウイルス学会，高松，2010 年 6 月

38) 青山幾子，弓指孝博，高崎智彦，加瀬哲男，高橋和郎. チクングニヤ熱において IgM 抗体が持続した 1 症例. 第 51 回臨床ウイルス学会，高松，2010 年 6 月

39) 菊川明子，五味康行，真鍋貞雄，鯰江淳子，石川豊数，奥野良信，高崎智彦，倉根一郎，上田重晴. 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンのヒトにおける抗体応答とマウス力価との関係. 第 51 回臨床ウイルス学会，高松，2010 年 6 月

40) 田島茂，高崎智彦，倉根一郎. In vitro におけるデング 1 型ウイルスおよび日本脳炎ウイルスの増殖性および感染細胞側応答の比較. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

41) 加藤文博，田島茂，司馬肇，細野邦昭，高崎智彦，倉根一郎. フラビウイルスレポーターレプリコンの構築. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

42) 山口幸恵，田島茂，小滝徹，澤辺京子，渡邉治雄，高崎智彦，倉根一郎. ウイルス性状における日本脳炎ウイルス E 蛋白質の 1 アミノ酸置換の影響. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

43) モイメンリン，林昌宏，小滝徹，高崎智彦，倉根一郎. デングウイルス再感染患者血清中ウイルス力価の検討 : 感染性抗体―デングウイルス複合体はＦｃγR 発現細胞においてのみ検出された. 第 58 日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

44) 小滝徹，林昌宏，田島茂，高崎智彦，倉根一郎. 日本脳炎ウイルス国内分離株の遺伝子解析(2005～2009). 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

45) 原田誠也，西村浩一，清田直子. 熊本県における日本脳炎注意報発令と日本脳炎ウイルスの自然感染率に関する検討, 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

46) 西村浩一, 原田誠也, 清田直子, 小滝徹, 高崎智彦. 熊本県におけるブタ及び日本脳炎患者から検出された日本脳炎ウイルスの遺伝子解析. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島市，2010 年 11 月

47) モイメンリン，大松勉，高崎智彦，中村紳一朗，片貝祐子，文宏明里，倉根一郎. Marmoset as a tool for vaccine efficacy evaluation. 第 17 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会，東京，2010 年 12 月

48) 青山幾子, 弓指孝博, 高崎智彦, 林昌宏, 加瀬哲男, 高橋和郎. 日本脳炎ワクチン接種によって獲得されるウエストナイルウイルスに対する交差中和抗体の検討. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

49) 林昌宏，藤本嗣人，小長谷昌美，モイメンリン，小滝　徹，倉根一郎，高崎智彦. 近年のチクングニア熱の流行と迅速診断法の検討. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

50) 高崎智彦.媒介性ウイルス感染症（デング熱など）について. 第 16 回近畿熱帯医学会，京都，2011 年 1 月

51) 中道一生，伊藤睦代，倉根一郎，西條政幸. 定量的リアルタイム PCR による脳脊髄液中 JC ウイルスゲノムの検出に基づく進行性多巣性白質脳症の診断支援. 第 84 回日本感染症学会総会，京都，2010 年 4 月

52) 中道一生, 伊藤（高山）睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 脳脊髄液中の JC ポリオーマウイルスの検査支援を介した日本国内における進行性多巣性白質脳症(PML)の発生状況の解析. 第 15 回日本神経感染症学会学術集会，福島，2010 年 10 月

53) 権藤雄一郎，羽柴奈穂美，中多充世，垣内無一，川村和之，長山成美，田中惠子，松井真，山中秀喜，横山仁，中道一生，岡本浩一郎，柿田明美，豊島靖子．腎移植後長期免疫抑制剤投与の経過中，小脳症状で発症した進行性多巣性白質脳症(cerebellar form of PML)の 1 例．第 15 回日本神経感染症学会学術集会，福島，2010 年 10 月

54) 岸田修二，水澤英洋，中道一生，西條政幸．予後調査からみた PML．第 15 回日本神経感染症学会学術集会，福島，2010 年 10 月

55) 中道一生, 伊藤（高山）睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症が疑われた血液疾患患者の脳脊髄液における JC ポリオーマウイルスゲノム DNA の検出. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

56) 奴久妻聡一，中道一生，亀岡正典，杉浦重樹，奴久妻智代子，三好勇夫，竹上勉．HIV-1 Tat は PML 型 JCV の増殖を促進する．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島， 2010 年 11 月

57) 中道一生, 井上直樹, 伊藤（高山）睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症が疑われた患者の脳脊髄液におけるヘルペスウイルスの出現頻度の解析. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 徳島, 2010 年 11 月

58) 木下一美，酒井宏治，永田典代，王麗欣，伊藤（高山）睦代，中道一生，森川茂，倉根一郎，西條政幸. リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス核蛋白の単クローン抗体を用いた診断法の開発．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

59) 王麗欣，木下一美，中道一生，伊藤（高山）睦代，錫谷達夫，倉根一郎，西條政幸．DNA ポリメラーゼ変異によるアシクロビルやフォスカルネット耐性単純ヘルペスウイルス 1 型の他の抗ウイルス薬に対する薬剤感受性．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

60) 伊藤（高山）睦代, 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 14 回日本ワクチン学会学術集会，東京，2010 年 12 月

61) 山田壮一，小杉伊三夫，片野晴隆，福井良子，河崎秀陽，新井義文，福地早希，橋本楓，倉根一郎，井上直樹. GFP 発現組換えマウスサイトメガロウイルスを用いた in vivo imaging による抗ヘルペスウイルス薬 in vivo 評価系の確立．第 25 回ヘルペスウイルス研究会，静岡，2010 年 5 月

62) 金井亨輔，山田壮一，山本由美子，福井良子，倉根一郎，井上直樹．In vivo で増殖可能な Guinea pig CMV (GPCMV) のゲノム配列の解析．第 25 回ヘルペスウイルス研究会，静岡，2010 年 5 月

63) 廖華南，Jung-Hyun Lee，井上直樹，宮戸健二，藤原成悦，中村浩幸．ヒトサイトメガロウイルス UL136 領域に見出された新規遺伝子産物．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

64) 生田和史, 石岡賢, 佐藤友香, 金子久俊, 古谷野伸, 井上直樹，錫谷達夫．リアルタイム PCR 法を用いたサイトメガロウイルスの型別定量判別法．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

65) 金井亨輔，山田壮一，山本由美子，福井良子，倉根一郎，井上直樹．In vivo で増殖可能な Guinea pig (GPCMV)のゲノム配列の解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

66) 林一彦, 高島一昭, 金井亨輔, 長田佳子, 佐野仁志, 桑本聡史，加藤郁．EBV の終生持続感染ウサギモデル．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

67) 長田佳子, 石黒清介, 金井亨輔, 杉原弘貢, 加藤郁, 佐野仁志，林一彦．バセドウ病手術症例における EBER1 陽性リンパ球の検出．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

68) 佐野仁志，金井亨輔，加藤郁，長田佳子，林一彦．P3HR-1 株産生 EBV の経鼻投与における EBV 感染ウサギの解析. 第58回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

69) 桑本聡史, 金井亨輔, 桧垣裕美, 岩崎健, 加藤雅子, 村上一郎，堀江靖，山本修，林一彦．メルケル細胞ポリオーマウイルス感染の有無によるメルケル細胞癌の形態学的相違の検討．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010 年 11 月

70) 本田俊郎，藤田博己，御供田睦代，角坂照貴，矢野泰弘, 高田伸弘, 及川陽三郎, 安藤秀二, 川端寛樹, 山本正悟，高野愛，坂田明子．鹿児島県薩南諸島におけるアサヌママダニと紅斑熱群リケッチア保有状況．第 62 回日本衛生動物学会大会，鹿児島，2010 年 4 月

71) 安藤秀二. ダニ関連細菌感染症における遺伝子検出の意義と課題. 第 84 回日本感染症学会総会, 京都, 平成 22 年 4 月

72) 安藤秀二，小川基彦，岸本寿男，倉根一郎．感染症法施行後 10 年間における国内のリケッチア感染症の発生動向．第 84 回日本感染症学会総会，京都，2010 年 4 月

73) 花岡希, 川端寛樹, 山本正悟, 藤田博己, 坂田明子, 小川基彦, 高野愛, 渡邉治雄, 岸本寿男, 白井睦訓, 倉根一郎，安藤秀二．*In silico* 解析から新規に構築した日本紅斑熱迅速診断法とその応用．第 84 回日本感染症学会総会，京都，2010 年 4 月

74) 中野敏明, 衛藤光, 横田恭子, 古川恵一, 安藤秀二, 坂田明子．　輸入リケッチア症への対応ーアフリカの例から．第 84 回日本感染症学会総会，京都，2010 年 4 月

75) 安藤秀二．日本で報告されるリケッチア症の現状 2009. 第18回ダニと疾患のインターフェース SADI, 佐渡市，2010 年 6 月

76) 安藤秀二. 北日本に見る *R.heilongjiangensis* 感染．シンポジウム「大陸と日本列島に橋を架ける」，第 18 回ダニと疾患のインターフェース SADI，佐渡市，2010 年 6 月

77) 安藤秀二，藤田博己，坂田明子，鶴見みや古，尾崎清明，花岡希，高野愛，川端寛樹．国内のマダニ類が有する多様なリケッチアの遺伝子検出．第 78 回日本細菌学会北海道支部総会・第 28 回日本クラミジア研究会合同学術集会，札幌，2010 年 9 月

78) 岸本寿男，安藤秀二，山崎勉，尾内一信，中浜力．ELISA 法による抗 *C. pneumoniae* IgM 抗体測定キットの比較．第 78 回日本細菌学会北海道支部総会・第28回日本クラミジア研究会合同学術集会, 札幌, 2010 年 9 月

79) 成田雅，鵜沼直穂子，伊藤文人，佐藤憲行，星野智祥，井上実，竹之下秀雄，山本正悟，安藤秀二，藤田博己. 11 月熱　福島県中南部におけるタテツツガムシ症，第 192 回日本内科学会東北地方会，山形，2010 年 9 月

80) 安藤秀二. 発生動向から見える北日本のリケッチア症の課題．第 56 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会，札幌市，2010 年 10 月

81) 伊東拓也，高田伸弘，藤田博己，川端寛樹，安藤秀

二，大竹秀男．北海道におけるイスカチマダニの再発見．第 56 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会，札幌市，2010 年 10 月．

82) 藤田博己，高田伸弘，藤田信子，及川陽三郎，安藤秀二，川端寛樹，大竹秀男．青森県と岩手県におけるイスカチマダニの生息調査．第５６回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会，札幌市，2010 年 10 月

83) 大屋賢司，黒田誠，関塚剛史，Garry Meyers，岸本寿男，安藤秀二，福士秀人．オウム病クラミジア集団発生事例株の全ゲノム配列決定．第 10 回人と動物の共通感染症研究会学術集会，東京，2010 年 10 月

84) 好井健太朗，持舘景太，大森優紀，千葉裕美子，真田崇弘，瀬戸隆弘，前田純子，小原真弓，安藤秀二，伊藤直人，杉山誠，佐藤浩，福島博，苅和宏明，高島郁夫．日本国内におけるダニ媒介性脳炎の血清疫学調査．第 10 回人と動物の共通感染症研究会学術集会，東京，2010 年 10 月

85) 木田浩司，葛谷光隆，濱野雅子，藤井理津志，岸本壽男，高田伸弘，藤田博己，川上万里，田原研司，島津幸枝，安藤秀二．紅斑熱群リケッチアの岡山県におけるサーベイランス.第 65 回日本衛生動物学会西日本支部大会，岡山市，2010 年 11 月

86) 高田伸弘，平良勝也，藤田博己，山本正悟，安藤秀二，角坂照貴，高橋 守，川端寛樹，北野智一，岡野 祥，御供田睦代，高野愛，矢野泰弘，及川陽三郎，本田俊郎，岩崎博道，平良セツ子．台湾系ツツガムシ病をみた宮古列島，そこで確認したデリーツツガムシの浸淫．第 65 回日本衛生動物学会西日本支部大会，岡山市，2010 年 11 月

87) 内山恒夫，岸真帆美，小川基彦．非病原性リケッチア *Rickettsia montanensis* の増殖制御機序．第 58 回日本ウイルス学会，徳島，2010 年 11 月

88) 安藤秀二．クラミジアってなあに？あなたとあなたの未来を守るために．平成２２年度高校生を対象としたシンポジウム「世界の感染症 2010」～アフリカのエイズ，性感染症からインフルエンザまで～，東京，2010 年 11 月

89) 安藤秀二．公的機関におけるリケッチア症実験室診断の現状と課題．第 17 回リケッチア研究会・第３回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会, 大津市, 2011 年 1 月

90) 小川基彦，深澤正義，内山恒夫．つつが虫病リケッチア感染による脂肪滴形成に関する研究～第一報．第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会，大津，2011 年 1 月

91) 小川基彦，内山恒夫．つつが虫病リケッチア培養系からの抗菌薬によるマイコプラズマの除去の試み．第１７回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会，大津，2011 年 1 月

92) 内山恒夫，岸真帆美，小川基彦．非病原性リケッチア株の培養細胞における増殖抑制．第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会，大津，2011 年 1 月

93) 田原研司，高垣謙二，花岡希，安藤秀二．日本紅斑熱の早期診断検査と早期治療の必要性．第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会，大津市，2011 年 1 月

94) 山本徳栄，近真理奈，増田純一郎，高橋守，藤田博己，岸本寿男，小川基彦，安藤秀二．埼玉県内のネズミ類における *Orientia tsutsugamushi* の保有状況．第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会，大津市，2011 年 1 月

95) 成田雅，星野智祥，鵜沼菜穂子，佐藤憲行，菊池明夫，井上 実，門馬直太，村松康成，竹之下秀雄，

藤田博己, 高田伸弘, 山本正悟, 安藤秀二, 高橋 守. 11 月熱 2010　福島県南におけるつつが虫病の臨床像. 第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会, 大津市, 2011 年 1 月

96) 岡野祥, 平良勝也, 藤田博己, 高田伸弘, 角坂照貴, 山本正悟, 北野智一, 安藤秀二. 沖縄県で発生したつつが虫病. 第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会, 大津市, 2011 年 1 月

97) 山本正悟, 北野智一, 三浦美穂, 大橋典男, 川森文彦, 高娃, 呉東興, 安藤秀二, 岸本寿男. 日本紅斑熱発生における猪の役割－宮崎県の場合－. 第 17 回リケッチア研究会・第 3 回日本リケッチア症臨床研究会合同発表会, 大津市, 2011 年 1 月

98) 安藤秀二. 日本国内のリケッチア症の現状－日本紅斑熱を中心に－. 上天草市立総合病院　日本紅斑熱講演会, 熊本, 2011 年 2 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中間バルク１件の神経毒力試験の再試験，小分製品１件の検定をおこなった．また、新たな担当ワクチンとしてロタウイルスによる胃腸炎に対するワクチンの承認前検査を開始している．承認後は製剤担当室として検定を実施する予定である．ワクチン導入前後のロタウイルスの流行状況を把握するための研究も開始している。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，検定方法の開発を引き続きおこなった．ワクチン開発の進行に伴い、国内参照品のロット更新も迅速な対応していく必要がある．

わが国の食中毒の多くの原因となっているノロウイルスに関しては，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．ノロウイルスの爆発的な流行は観察されていないが，引き続き警戒が必要である．カリシウイルスに関する基礎研究が進展している．今年度は構造解析に関する研究が進んだ.治療薬や予防薬の開発につなげていきたい.

第２室はＷＨＯ世界ポリオ根絶計画に参画している．ＷＨＯの指定をうけて，世界の特殊専門ラボとして，また西太平洋地域の指定ラボとして世界各地で分離されるポリオウイルスの性状解析を続けた．今年度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.JICAとの共催で実施した第20回ポリオ実験室診断技術研修会(ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術研修としては第１回目)ではポリオ流行国など各国からの参加者に講義および実習を実施した.また，国内エンテロレファレンスセンターとしてレファレンス活動，依頼検査をおこなった.

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同定したヒト PSGL-1 に関する解析が進んだ.さらにエンテロウイルスに対する抗ウイルス化合物を複数同定し、その標的についての解析をおこなった．環境中のエンテロウイルスサーベイランスも進めている.

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．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およびウイルス因子の両面からの研究が進んだ．新たなウイルス感染増殖モデル系の構築及び新規ワクチン開発に関わる研究も進行している.Ｂ型肝炎ウイルスでは抗ウイルス活性を有する化合物を同定するための実験系を確立した.肝炎研究基盤整備事業の 2 年度目となり，肝炎ウイルス研究成果の情報収集・解析，研究者育成などを進めている．今年度は５回の研修会を実施し，肝炎ウイルス研究データベースを公開した.

第５室の最重要課題はＡ型及びＢ型肝炎ワクチンの検定，検査である．本年度はＡ型肝炎ワクチン２件，Ｂ型肝炎ワクチン６件の検定をおこなった.

Ａ型肝炎は 2010 年春期に多発し、最終的には 346 人の患者が発生した．今後の対策にいかせるよう、この流行に関する解析を進めた．E 型肝炎研究はウイルス培養が可能となり，感染性クローンも樹立できた.ウイルス学的な研究およびワクチン開発に関わる研究を進めている.

厚生科学審議会感染症分科会予防接種部会において、

予防接種法の定期接種となっていない疾病・ワクチンについての検討を進めるにあたり､ポリオワクチン(不活化ワクチン導入に向けて）とＢ型肝炎ワクチンに関して、現時点における情報を幅広く収集し、整理を行うことを目的としてファクトシートを作成した.

以下のような国際的技術協力をおこなった.

第二室

李　岩（中国，山東省疾病予防控制センター）＜笹川フェロー＞平成22年9月3日～平成23年8月23日，エンテロウイルスの遺伝子診断の研究.

第五室

Sadaf Bashir Dar（University of Delhi）平成23年2月27日ー平成23年5月18日，ＬＡＭＰ法によるＢ型肝炎ウイルス検出法の開発と応用と Ｅ 型肝炎ウイルスの基礎研究.

人事面では、平成 22 年 4 月に村山麻子研究員と村上耕介研究員が就任、同年 7 月に第 4 室室長に相崎英樹氏が昇任した．新職員の皆さんの活躍に大いに期待する.

ハンスマン・グラント主任研究官は，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予防衛生研究所（NIH）に長期出張中し、平成22年8月に帰国した.

業　績

調査・研究

I.　下痢症ウイルスに関する研究

１．ノロウイルス（NoV）に関する研究

（１）ノロウイルスリバースジェネティックスシステムに関する研究

新生ウイルス粒子を産生可能なヒトノロウイルス GII/3 U201 株の完全長 cDNA pKS-U201F を用いたリバースジェネティックスシステムを GII/4 Saga1 strain, GII/4, 3 キメラウイルス株 TCH04-577 株, GI/1 Norwalk prototype virus に応用するため, U201 と同様なコンストラクションを行い, それぞれのクローンの細胞内挙動を live cell imaging, 共焦点レーザー顕微鏡, でコンボリューション蛍光顕微鏡によって確認した.

[片山和彦, 岡智一郎, 村上耕介, 脇田隆字]

（２）ノロウイルスを利用した経口ワクチン用ベクター作製の試み

経口ワクチンに特化した腸管特異的な導入が可能なベクターとしてヒトノロウイルスに加え, マウスノロウイルスを利用した遺伝子導入ベクターの作製を行った. pKS-U201F のヒトノロウイルス遺伝子領域をマウスノロウイルスと交換した pKSF-MuNoV-S7, マウスノロウイルスゲノム RNA を T7 RNA polyerase promoter で転写可能な pT7-MuNoV-S7 を構築した. インビトロで合成した MuNoV RNA は, RAW 細胞, 293T 細胞の双方で感染性 MuNoV 粒子を産生可能であった. 現在, pKSF-MuNoV-S7 の感染性を検討中である.

[中西 章(国立長寿医療研究センター), 片山和彦, 岡智一郎, 脇田隆字]

（３）ノロウイルス(NoV)のゲノム解析

2010 年 4 月～2011 年 3 月の間に全国 20 カ所の衛生研究所で収集した感染者糞便を用い, NoV 遺伝子型 GII/4 のゲノム全長の塩基配列を得た. 少なくとも 7 種の GII/4 の単系統亜株が急性胃腸炎の集団発生に関わっていた. ゲノム組換え点として, ORF1/ORF2 境界の高度保存領域を見いだした. これにより, ノロウイルスは, ヒトへの適応変化能力を高めていることが昨年同様に示唆された. 得られた情報は, ノロウイルスサーベランスに還元した.

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

（４）ノロウイルス GII に対する組織血液型抗原物質（HBGA）の結合機構の X 線構造解析による研究

ノロウイルス(NoV)VLP 表面に突出する P 領域には, 様々なタイプの HBGA が結合することが報告され, HBGA は, NoV の受容体候補と考えられている. P 領域を大腸菌で発現し, 高度に生成した後, 様々な HBGA と混合して結晶を作製し, X 線結晶構造解析を行った. 改正に成功した HBGA のすべてが, α1-2fucose によって P 領域に結合しており, 結合様式に差がないことが明らかになった. α1-2fucose は, 腸管粘膜上のムチンに大量に存在していることが知られている. HBGA の NoV に対する不変的結合様式は, NoV 腸管粘膜へのウイルス粒子のコンタクトに重要な役割を果たしている可能性がある.

[Grant S. Hansman, Christian Biertu (NIH), Ivelin Georgiev (NIH), Jason S. McLellan (NIH), Lei Chen (NIH), Tongqing Zhou (NIH), Kazuhiko Katayama and Peter D. Kwong (NIH)]

（５）ノロウイルス網羅的全ゲノム塩基配列解析と CaliciWeb の構築

ノロウイルス（NoV）は, 構造タンパク質領域のゲノム塩基配列を用いて, GI から GV の 5 つのグループに分類できる. このうち, 人に感染するのは GI, II, IV である. GI, GII にはそれぞれ遺伝的に異なる 14-17 種類以上の genotype が存在している. これら genotype のうち, 全長塩基配列が明らかにされているのは約 60%に過ぎない. 我々は, 全長塩基配列の明らかにされていない genotype の網羅的全ゲノム塩基配列解析を推進し, ノロウイルスの分子進化機構, 流行のメカニズム解明を推進している. さらに, NoV を含むカリシウイルスデータベース, 情報共有サイト CaliciWeb の構築し, 国内外への

塩基配列データ共有化を進めている．本年度は，6 種類の genotype の全塩基配列を決定した．

[天野加奈子，小沢一弘，三木元博，片山和彦，岡智一郎，村上耕介，三瀬敬治（札幌医大），脇田隆字]

（６）ノロウイルス非構造タンパク質 p22（3A-like protein）の機能解析

ヒトノロウイルス（NoV）の ORF1 にコードされる非構造蛋白質 3A-like protein（p22)に ER リテンションシグナル配列が存在することを明らかにした．p22 は，細胞内の小胞体からトランスゴルジ間のタンパク質の膜輸送システムに影響を与え，狭間に NoV の複製の場を形成する機能がある可能性が示唆された．

[Tyler M. Sharp (BCM), Susana Guix (BCM), Kazuhiko Katayama, Sue E. Crawford (BCM), Mary K. Estes (BCM)]

（７）ノロウイルス，サポウイルス網羅的 VLP および抗体の作製

ノロウイルス（NoV），サポウイルス（SaV）は，感染モデル動物も存在せず，培養細胞で増殖させることもできない．これらのウイルスの研究，抗原抗体検出システムの開発などにウイルス様中空粒子（VLP）と，それを用いて作製する抗血清は，研究用ツールとして極めて有用である．当部室では，VLP と抗血清の作製を継続し，パネルを維持している．本年度は，６種類の新たな VLP，抗血清を作製した．

[天野加奈子，小沢一弘，三木元博，片山和彦，岡智一郎，村上耕介，李　天成，脇田隆字]

（８）ノロウイルス食中毒事例調査のためのシークエンスデータ共有化

ノロウイルス（NoV）の広域食中毒事例の早期探知に有効と考えられるシークエンスデータの共有化を試行的に実施する中で，同一塩基配列を持つ NoV 遺伝子型 GI.4 3 株の大阪府および大阪市からの登録から，2009 年 8 月初旬に奈良市，大阪市および神戸市の同一居酒屋チェーン店 3 店舗で同時多発的に発生した食中毒事例を探知した．

[野田 衛(国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部)，入谷展弘(大阪市立環境科学研究所)，中田恵子(大阪府立公衆衛生研究所)，斎藤博之(秋田県環境保健研究センター)，片山和彦，岡智一郎，山下和予(感染症情報センター)，田中　忍(神戸市環境保健研究所)，西川　篤(奈良市保健所)，北堀吉映(奈良県保健環境研究センター)，三谷亜里子(京都府山城北保健所)]

（９）国内の下水および河川水からの Genogroup IV ノロウイルスの検出および遺伝子解析

我々はこれまでに下水，河川水中に存在する GI，GII 株の遺伝子を網羅的に解析することで，流域における流行株の把握が出来ることを示した．本年度は，下水，河川水中の GIV 株の存在状況に着目して調査を行った．2005 年 3 月～2006 年 2 月に採水した国内の下水処理場において流入水及び処理水，2003 年 4 月～2004 年 3 月に多摩川の 5 地点において採取した河川水を調査した結果，GIV NoV が冬期に高頻度に検出されること，遺伝的に多様な GIV 株が存在することを明らかにした．GI，GII NoV と同様，GIV NoV も冬期に流行し，さらに時期によって異なる GIV 株が流行している可能性が示唆された．

[北島正章（東大院工学)，岡智一郎，原本英司（山梨大学)，片山和彦，片山浩之(東大院工学)]

（１０）ヒトノロウイルス VLP のヒト腸管由来培養細胞への結合様式の解析

ヒトノロウイルス（HuNoV）の細胞への結合様式を詳細に解析する事を目的として，共焦点レーザー顕微鏡を用いた解析を行った．ヒト腸上皮様細胞株 Caco-2 に HuNoV VLP を加えて反応させた．VLP は一様に全ての細胞に結合するのではなく，一部の細胞集団に特異的に結合することを明らかにした．また，Caco-2 での発現が知られている H1 型 HBGA に対する抗体を用いて，VLP と H1 型 HBGA の細胞における局在を解析したところ，H1 型 HBGA と VLP の局在が必ずしも一致せず，H1 型 HBGA を発現していない細胞にも VLP が結合することを明らかにした．Caco-2 には H1 以外の HBGA もしくは，未知の分子を利用して細胞に結合する可能性がある．

[村上耕介，岡智一郎，松田 幹（名大院生命農学），片山和彦]

（１１）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの変異導入解析

ノロウイルス Chiba407 株（GI/4）の 3C 様プロテアーゼに種々の変異を導入し，Ala 置換で活性が消失したり，タンパク質発現量が低下したりする Trp6, Trp19, Thr27, Leu86, Leu95, Leu97, Met101, Gln117, Leu121, Thr134, Tyr143, Val144, Val167 の 14 残基についてさらにいくつかの変異を導入して機能への影響を見た．既報の立体構造を考慮すると，Thr134 と Tyr143 が基質認識に重要であると考えられたほか，これら 14 残基の多くは相互作用ネットワークを形成し，立体構造の維持，効率的なタンパク質分解に寄与していることが示唆された．

[染谷雄一]

（１２）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼの C 末端領域欠失の効果

ノロウイルス Chiba407 株（GI/4）の 3C 様プロテアーゼは 181 アミノ酸残基から成る．本酵素の結晶構造は 173 番目残基までしか含まない．このことは C 末端領域が一定の構造をとっていないことを示唆する．人工的に C 末端領域を欠失させ，プロテアーゼ活性への影響を見たところ，172 番目残基以降 10 アミノ酸残基を欠失させても活性に影響はなかった．C 末端 10 アミノ酸残基は活性に必要ではないことを示している．

[染谷雄一]

（１３）均一な粒子径のノロウイルス様中空粒子の昆虫細胞での発現とその性質

ノロウイルス Chiba407 株（GI/4）のキャプシド（VP1）タンパク質を Tn5 細胞で発現させると，通常の 38 nm のウイルス様中空粒子（VLP）の他に，23 nm の小粒子を形成する．この VLP は 58 kDa と 52 kDa の 2 種の VP1 タンパク質から成る．アミノ酸配列解析の結果，58k タンパク質の N 末端は Ala4 残基，52 k タンパク質は Thr45 残基であった．Leu43-Ala44-Thr45 を Ala-Pro-Val に置換したところ，58 kDa の単一のタンパク質が生成し，VLP のサイズも 38 nm に均一化された．均一な 38 nm VLP は野生型 VLP（混在型）と抗体の反応性において変化はなかった．血液型糖鎖抗原との反応パターンに変化はなかったが，Lewis b 抗原の結合の程度が三重変異 VLP で顕著に低下していた．

[染谷雄一，白土東子]

（１４）NoV と血液型抗原との結合：糖鎖遺伝子改変細胞による解析

昨年度までに，VLPs を用いた In vitro-binding assay (ELISA, Biacore) によって NoV が ABO 抗原だけでなく Lewis 抗原においてもタイプ 1，2 構造の識別を行っていること，GII/4 遺伝子型株が，他の遺伝子型株に比べ結合できる血液型抗原の種類が多く，またそれぞれの血液型抗原への結合力が強いことを明らかにした．平成 22 年度は糖鎖遺伝子改変細胞を用いた解析により，細胞上の血液型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，GII/4 遺伝子型株の血液型抗原への結合力が強いことを確認した．NoV は血液型抗原のタイプ 1，2 構造を識別することによって自らの組織特異性を決定している可能性がある．また，GII/4 遺伝子型株の血液型抗原への結合力の強さがこの株の伝播力の強さに結びついている可能性がある．

[白土東子，熊谷安希子，栂谷内晶（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，脇田隆字]

（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

GI/2 遺伝子型株のキャプシド P ドメインと Le-a, Le-b 複合体の X 線結晶構造解析を行った. GI/2 遺伝子型株による α1,4Fuc, α1,2Fuc 認識機構の詳細を明らかにした.

[熊谷安希子, 久保田智巳(産総研), 伊藤浩美(産総研), 古川早苗（産総研）, 成松久（産総研）, 武田直和, 石井孝司, 染谷雄一, 脇田隆字, 白土東子]

（１６）マウスノロウイルス（MuNoV）の細胞内局在

ノロウイルスの複製機構を明らかにするため, Raw264.7 培養細胞で増殖する MuNoV の蛋白質, ゲノム dsRNA（複製中間体二本鎖 RNA), nsRNA（新たに合成された RNA）の細胞内局在を蛍光デコンボリューション顕微鏡を用いて調べた. 複製に必須のポリメラーゼは核周辺部位に dsRNA と, ウイルス粒子主構成成分 VP1 蛋白質は細胞質全体に nsRNA と共局在した. MuNoV の複製は核周辺部位で, 粒子形成は細胞質で起こり, それぞれに関与する RNA 種が示唆された.

[下池貴志, 高木弘隆（バイオセイフティー管理室）, 岡智一郎, 村上耕介, 脇田隆字, 片山和彦]

（１７）マウスノロウイルス(MNV)のマウス由来マクロファージ細胞での増殖性

マウスノロウイルス(MNV)の培養・増殖は主にマウスマクロファージ由来細胞株 RAW264.7(ATCC_TIB-81, 以下 RAW)細胞を用いて行われている. 今回, RAW のほかにマクロファージ由来 J774A.1(JCRB9108)細胞での MNV 増殖を解析した. MNV の感染価は, RAW で 6-7log10TCID50/ml, J774A.1 で 4-5log10TCID50/ml となり, 約 100 倍の差が認められた. MNV-RNA 量および, 免疫蛍光染色による観察でも同様の傾向を認めた.

[高木弘隆（バイオセーフティー管理室）, 岡智一郎, 北島正章, 遠矢幸伸, 片山浩之, 片山和彦, 杉山和良]

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

（１）サポウイルス遺伝子型タイピング法の確立

サポウイルスは５つ（GI, GII, GIII, GIV, GV)の遺伝子群（genogroup)に分類され, ヒトからはこのうち４つ(GI, GII, GIV, GV)の genogroup が検出されている. さらに genogroup 内には, 複数のクラスター（遺伝子型 : genotype)が認められる. 本研究では, 統計解析手法に基づいたサポウイルス genotyping 法の確立を目指した. 106 株のサポウイルス構造タンパク質全長の塩基配列セットを用いて, pair-wise distance value を算出し, その相対頻度のヒストグラムに基づき, サポウイルス株のクラスタリングを行った. GIおよびGIIはそれぞれ７つ, GIV および GV はそれぞれ１つの genotype に分類可能であった. 今後, 本方法に基づく遺伝子型タイピングが推奨される.

[岡智一郎, 原田誠也（熊本県保健環境科学研）, 飯塚節子（島根県保健環境科学研）, 植木 洋（宮城県保健環境センター), 入谷展弘（大阪市立環境科学研), 森　功次(東京都健康安全研究センター), Hansman Grant, 村上耕介, 片山和彦]

（２）新規プライマーを用いた食用貝からのサポウイルス核酸の検出

昨年度, 環境水中のサポウイルス核酸検出を行うために新たに構築した nested RT-PCR 系を食用貝からのサポウイルス検出に応用し, 従来法より高い検出率を示すことを示した. 今後, 増幅産物のクローニングを行い, 検出株の詳細な解析を実施する.

[飯塚節子（島根県保健環境科学研), 岡智一郎, 北島正章（東大院工学), 片山浩之（東大院工学), 片山和彦]

（３）熊本県における感染性胃腸炎の起因病原体調査とサポウイルス genogroup の年次変化

2008～2009 年度に, 熊本県内の４つの小児科から搬入された感染性胃腸炎患者の糞便 455 検体について, NoV, SaV, アストロウイルス（AstV）, アイチウイルス(AiV), ロタウイルス（RV), アデノウイルス（AdV), エンテロウイルス（EntV）と細菌培養検査を行った. SaV 陽性の場合, キャプシド領域のシークエンスにより genogroup を決定した. SaV の系統樹解析の結果, 熊本県内では SaV genogroup の年次変化が続いていること, GI, GII 株については年度によって異なるクラスターを形成することが

示され，遺伝的に異なる SaV 株が毎年，新たに感染性胃腸炎を引き起こしていることが明らかとなった．
[原田誠也（熊本県保健環境科学研究所），西村浩一（熊本県保健環境科学研究所），清田直子（熊本県保健環境科学研究所），岡智一郎，片山和彦]

（4）バキュロウイルスタンパク質発現系を用いたサポウイルス様中空粒子の作製

近年，急性胃腸炎の原因ウイルスとしてクローズアップされてきたサポウイルスは，いまだに培養細胞での増殖ができない．ウイルス様中空粒子を用いた我々の研究により，サポウイルスはノロウイルスと同様，多様な抗原性を有することが明らかになってきた．実用的なサポウイルス抗原検出系の開発および性能評価のためには，網羅的な抗原パネルの作製が鍵になる．そこで，本研究では，バキュロウイルスタンパク質発現系を用いてサポウイルス株についてウイルス様中空粒子の作成を試み，新たに GI 1株，GII 6株，GIV 1株の作出に成功した．
[岡智一郎，李　天成，片山和彦]

（5）サポウイルス抗原検出系構築を目指したモノクローナル抗体の作出

迅速，簡便でかつ多検体検出が可能なウイルス抗原検出法を開発することを目的として，サポウイルス様中空粒子（SaV-VLPs）に対する単クローン抗体を作製している．得られたクローンの中には各 Genogroup に特異的な単クローン抗体に加え，すべての Genogroup の株に交叉反応性を示す抗体も複数得られている．今後，これらの抗体を組み合わせ，サポウイルス抗原検出系の構築を行う．
[北元憲利（兵庫県立大），岡智一郎，Hansman GS，田中智之（堺市衛生研究所），片山和彦]

（6）サポウイルス核酸検出系のための標準プラスミドの作成

ヒト由来のサポウイルスは４つの genogroup（GI，GII，GIV，GV）にわかれる．我々はすでにリアルタイム RT-PCR 用の標準プラスミドを作成し，感染症情報センターを介して国内の配布体制を整えているが，近年の衛生研究所との共同研究において，サポウイルスの場合，ノロウイルスと異なり，年ごとに検出される genogroup が変化することが明らかになってきた．2006 年に増幅産物の大きさから genogroup を判定可能な genogrouping RT-PCR 法が開発されており，簡便な検出およびサポウイルスタイピングへの有用性が期待されている．そこで，この genogrouping RT-PCR に使用可能な GI，GII，GIV，GV 株遺伝子を組込んだ標準プラスミドを新たに作製した．今後，これらの標準プラスミドも配布準備を進める．
[岡智一郎，片山和彦]

3．ネコカリシウイルスに関する研究

（1）ネコカリシウイルスの新規リバースジェネティクス系の構築

ネコカリシウイルス（FCV）の複製，翻訳メカニズムの詳細はいまだ不明である．リバースジェネティクス系は過去に構築されているが，いずれも煩雑な操作が必要，ヘルパーウイルスを必要とするなど問題点を抱えている．本年度，我々は FCV ゲノム cDNA をコードする plasmid を培養細胞に transfection するだけで FCV 感染性粒子を回収できる single step リバースジェネティクス系の構築に成功した．本 FCV のリバースジェネティクス系は in vitro での capped RNA の合成や，ヘルパーウイルスの細胞への感染を必要としないため，FCV 以外の因子の干渉を考慮する必要がない．今後，FCV がコードする各ウイルスタンパク質の機能評価，ゲノム複製，翻訳メカニズムの解明への寄与が期待できる．
[岡智一郎，高木弘隆（バイオセーフティ管理室），遠矢幸伸（日大獣医），片山和彦]

５．カリシウイルスに関する研究

（1）カリシウイルスプロテアーゼ catalytic triad 形成残基のポリプロテイン切断活性への重要性

カリシウイルスのゲノムから翻訳された open reading frame 1（ORF1）ポリプロテインは，ORF1 にコードされるプロテアーゼによって切断される．カリシウイルスプロテアーゼには catalytic triad と呼ばれる保存残基

(His, Glu or Asp, Cys)が存在する．本研究ではNorwalk virus (NoV), feline calicivirus (FCV), Sapporo virus (SaV), およびRabbit hemorrhagic disease virus (RHDV)を用いて保存残基の重要性を検証した．その結果，1) 共通してcatalytic triadと呼ばれるHis, Glu or Asp, Cysが重要，2) NoVとFCVについてはGluが必要でない切断部位も存在する，3) 活性中心のCysはSerに置換できないことなどが明らかとなった．リバースジェネティクスを用いた検証結果から，ORF1ポリプロテインの正常な切断がprogeny virus産生に必須であることが示された．
[岡智一郎，横山　勝（病原体ゲノム解析センター)，高木弘隆（バイオセーフティ管理室)，遠矢幸伸（日大獣医),本村和嗣（病原体ゲノム解析センター)，村上耕介，佐藤裕徳(病原体ゲノム解析センター)，片山和彦]

（２）カリシウイルスプロテアーゼで高度に保存されているアミノ酸残基の同定および重要性の評価

カリシウイルス科のウイルスプロテアーゼはアミノ酸配列の騒動性は極めて低いが，機能は類似している．本研究ではプロテアーゼに保存されているアミノ酸残基を抽出し，その重要性を研究した．Norwalk virus (NoV) 32株，feline calicivirus (FCV) 14株，Sapporo virus (SaV) 19株，Rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV)のプロテアーゼを，シャノンエントロピー解析した後，インビトロでの切断実験を行い，保存残基を11カ所同定した．分子構造モデルによって，保存残基は主にプロテアーゼcleft表面に存在することが明らかなった．FCVのリバースジェネティックスによる検証では，感染性ウイルスの増殖には，完全なポリプロテインの切断が必要であることが示唆された．
[岡智一郎，横山 勝(病原体ゲノム解析センター)，高木弘隆（バイオセーフティ管理室)，遠矢幸伸（日大獣医)，本村和嗣(病原体ゲノム解析センター)，村上耕介，佐藤裕徳(病原体ゲノム解析センター)，片山和彦]

５．ロタウイルスに関する研究

（１）全ゲノム塩基配列解析を目的としたロタウイルス分子疫学解析手法の研究

ロタウイルスワクチンの導入前後のロタウイルスサーベイランスにより、ワクチンの効果により激変が予想されるロタウイルスの疫学情報を蓄積し、ロタウイルス感染症の予防衛生、撲滅に関する科学的基盤情報を提供する。特に重篤化に関与する因子を同定し、ワクチン開発、評価システムを構築することを目標として研究を開始した。ロタウイルスは11セグメントからなる2本鎖RNAをゲノムとして有する。全ゲノムセグメントをRT-PCRによって増幅し、全塩基配列を解析するため、primer setのデザインを行い。標準株として用いられるWa株を用いて、テストを行った結果、良好な成績を収めた。今後、本プライマーセットを基準に、ヒトロタウイルスの分子疫学を行う。
[片山和彦、村上耕介、下池貴志、岡智一郎、ハンスマン・グラント、高木弘隆（バイオセーフティ管理室）、脇田隆字]

６．その他

（１）培養細胞を用いたノロウイルス，サポウイルス増殖系の検討

市販培養細胞２５種類について，ノロウイルス，サポウイルスの増殖能を検討した．ウイルス陽性糞便を添加した後，さらに１回passageした培養細胞の上清について核酸定量法でウイルス増殖の有無を検討したところ，いずれの細胞でも添加ウイルス核酸量と比較して，ウイルス核酸量が増加した細胞は認められなかった．また，壊死を示す細胞も認められなかった．
[岡智一郎]

（２）食品検体のノロウイルス，サポウイルス検検出のためのパンソルビン・トラップ法の開発

ウイルスに対する特異抗体と黄色ブドウ球菌菌体成分複合体を用いるパンソルビン・トラップ法(パントラ法)は，食品検体からノロウイルス，サポウイルスを検出するための実践的な手法として有用性が期待される．これまでに，ウイルス様中空粒子に対する特異抗体を用いて，その有用性を検討してきたが，特異抗体の安定供給体制を考慮し，市販グロブリン製剤を用いることでこの中に

含まれる抗ノロウイルス，サポウイルス抗体によって，これらのウイルスを効率的に食品中から検出できることを示した.

[斎藤博之（秋田県健康環境センター)，東方美保（福井県衛生環境研究センター)，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),岡智一郎，片山和彦]

（３）血液製剤における HCV の不活化の検討

血液製剤における HCV の不活化の評価は実施されていない．5%アルブミン製剤に HCV を添加し，１時間の液状加熱（一般的に 60 時間）によって検出感度以下に不活化された．一方，8%エタノール処理 4 時間では HCV は不活化されなかった．この結果はモデルウイルスであるウシ下痢症ウイルス（BVDV）と同じであった．またイムノグロブリン中（4℃保存）では HCV，BVDV 共に少なくとも６日間は不活化されなかった．種々の不活化法に対する HCV と BVDV の不活化効率の相違を明らかにしたい.

[下池貴志，野島清子（血液･安全性研究部)，脇田隆字，岡田義昭（血液･安全性研究部)]

（４）弱毒ポリオウイルスセービン株由来不活化ポリオワクチンの品質管理

現在，弱毒ポリオウイルスセービン株を用いた不活化ポリオワクチン（sIPV）と沈降精製ジフテリア百日咳破傷風混合ワクチン（DPT）を混合した DPT-sIPV 4 混ワクチンが開発されている．ウイルス第二部では，平成 15 年度より DPT-sIPV 4 混ワクチンの安全性と有効性を評価するため，国内参照品の開発を行っている．今年度は，新ロット#09A の抗原量を従来品#04C，#05J の 2 倍濃度 6：200：200（Du/dose）に変更するとともに，接種量増量が標準品の安定性を評価する試験系として適当かどうか，データの蓄積，確認を行った．今後，旧ロット#05J と新ロット#09A の安定性評価，生ポリオワクチン力価を指標とした#09A の力価評価，および適切希釈倍率の検討を引き続き行う.

[白土東子，染谷雄一，柴山恵吾（細菌第二部)，蒲地一成（細菌第二部)，落合雅樹（品質保証室)，藤田賢太郎(品質保証室)，下池貴志，岡智一郎，ハンスマン・グラント，村上耕介，片山和彦，脇田隆字]

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．2010 年度は，エンテロウイルス同定用パネル血清 EP95 を 20 セット，エンテロウイルス単味抗血清 80 種類，コクサッキーA 群同定用 CF 腹水 1 セット，ウイルス標準株 9 株，等を配布した．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）ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術集団研修（JICA 共催）の開催

第 20 回ポリオ実験室診断技術研修会（ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術研修としては第１回目）を実施した．研修期間は 2011 年 1 月 17 日ー2 月 10 日，研修参加者は，ベトナム，アフガニスタンから各 1 名，マレーシア，パキスタン，フィリピン，ナイジェリア，エチオピアから各 2 名，中華人民共和国から 1 名の他，個別研修として中華人民共和国からの参加者 3 名の計 16 名であった．WHO ワクチン予防可能疾患実験室ネットワークにおける国家実験室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，ポリオ根絶および麻しん排除の現状と問題点を中心とした講義および討議を行った．日本脳炎，パピローマ，ロタ等，ワクチン予防可能疾患に関する講義を実施した.

（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 79 検体およびラオス 102 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）2010 年 9 月 22－24 日に，WHO 本部(ジュネーブ)で行われた The 16th Informal Consultation on the Global Polio Laboratory Network 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]

エ）2010 年 8 月 11 日-8 月 20 日に中国省級ポリオ実験室査察（寧夏回族自治区，甘粛省）に JICA 専門家として参加した．

[吉田　弘]

（4）JICA 中国予防可能な疾患（VPDs）プロジェクト支援

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）に関与するとともに，中国 CDC，江西省 CDC，新疆自治区 CDC：各 1 名に対し 3 週間の研修を行った．

[吉田　弘，有田峰太郎，西村順裕，清水博之]

2.西太平洋地域の 2010 年のポリオウイルス分離状況

2010 年にラオスおよびカンボジアから送付された AFP 症例由来の糞便検体 181 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．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）新規ポリオウイルス・エンテロ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，糞便等の臨床検体から，直接ポリオウイルス・エンテロ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．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ポリオ実験室への導入が可能な簡便なウイルス検出法(RT-LAMP 法，ポリオウイルス特異的 PA 法等)に関する技術開発を試みている．

[有田峰太郎，清水博之]

（２）ポリオウイルス同定のための新規ゼラチン粒子凝集法の開発

世界的なポリオウイルス（PV）根絶計画の中で，小児麻痺症例を確定診断するためには急性弛緩性麻痺症例の便検体からの PV 分離・同定が 必須とされている．本研究では，PV の迅速な同定を行うために，ウイルスレセプター分子を利用した新規ゼラチン凝集法の開発を試みた．その結果，PV レセプターで感作したゼラチン粒子を用いることにより，PV の迅速な同定が可能になった．この同定法は，手間および必要とされる時間の点において優れている検査系であると考えられた．

[有田峰太郎，増島操治（富士レビオ），脇田隆字，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 2 歳児を無作為に抽出し，居住する市区町村に，ポリオ生ワクチン(OPV)1 及び 2 回目，BCG，DPT1ー4 回目，麻疹・風疹混合ワクチン(MR)１期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回目も良好であった．OPV1 回目は DPT2ー3 回目と OPV2 回目は，MR１期と競合していることが推測された．不活化ポリオワクチンの円滑な導入に向けて，各種ワクチンの累積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）不活化ポリオワクチン接種者数に関する調査

OPV による健康被害に関する一般の関心が高まるとともに，保護者の間に OPV に対する不安感が広まり，麻痺などの重篤な健康被害の可能性がない IPV 接種に対する要望が増していることがワクチン関係者の間で指摘されている．このため，IPV 接種の実態を把握する目的で，自治体および IPV 接種医療機関にアンケート調査を実施した．その結果，定期接種でない IPV の接種件数を自治体は把握できていないこと，IPV を個人輸入して接種している医療機関での IPV 接種件数は増加傾向にあり，接種医療機関そのものも増加傾向にあることが判明した．

[髙山直秀（都立駒込病院），清水博之]

（５）我が国の不活化ポリオワクチン導入に向けた調査・研究

ポリオワクチンに関する基本的情報について，第 11 回厚生科学審議会感染症分科会予防接種部会資料「ポリオワクチンファクトシート」，および，予防接種部会ワクチン評価に関する小委員会「ポリオワクチン作業チーム報告書」としてまとめ，それぞれ，2010 年 7 月 7 日の予防接種防接種部会および 2011 年 2 月 21 日の小委員会資料として報告した．一刻も早い IPV 含有ワクチンの定期予防接種への導入の必要性について結論づけるとともに，IPV 含有ワクチン導入にあたっての諸課題について検討した．

[清水博之，脇田隆字]

（６）中国広東省における環境ウイルスサーベイランスによるポリオ/エンテロウイルス分離

中国広東省広州市下水処理場を定点として，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継続している．2008 年 4 月から 2010 年 12 月までの流入下水，河川水調査を行ったところ，ほぼ毎月各型ワクチン由来株が下水から分離されており，エンテロは HEV-B 群の E6,E7,E11,E12,E13,E20,E24,CB3,CB5 が分離されていた．現在これらの遺伝子解析を行い，中国国内およびアジア域内の系統解析を行っている．

[Zheng Huangying（広東省 CDC），Zhang Yong（中国 CDC），吉田　弘]

４．エンテロウイルスおよびその他腸管ウイルスに関する研究

（１）PSGL-1 の *O* 型糖鎖付加とエンテロウイルス 71 結合の解析

エンテロウイルス 71 の受容体である PSGL-1 は，57 番目のトレオニンに *O* 型糖鎖付加を受ける．この糖鎖はシアル酸を含み，セレクチンとの結合に重要であることが詳細に解析されている．本研究では，エンテロウイルス 71 との結合における *O* 型糖鎖の役割を解析した．トレオニンをアラニンに換え，*O* 型糖鎖付加を阻害した PSGL-1 変異体には，P セレクチンが結合しなくなったが，エンテロウイルス 71 は結合した．また，PSGL-1 をシアリダーゼ処理した場合も，P セレクチンが結合しなくなったが，エンテロウイルス 71 は結合した．したがって，PSGL-1 の *O* 型糖鎖付加はエンテロウイルス 71 との結合に不要と考えられた．

[西村順裕，脇田隆字，清水博之]

（２）PSGL-1 のチロシン硫酸化とエンテロウイルス 71 結合の解析

エンテロウイルス 71 の受容体である PSGL-1 には，アミノ末端領域に硫酸化を受けるチロシンが 3 つある．これらの硫酸化は，セレクチンやケモカインとの結合に重要である．このチロシン硫酸化のエンテロウイルス結合における役割を解析した．PSGL-1 のチロシンをフェニルアラニンに置換すると，チロシンの硫酸化が

阻害された．これに伴い，エンテロウイルス 71 の結合も阻害された．したがって，PSGL-1 のチロシン硫酸化がエンテロウイルス結合に必須であると考えられた．

［西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（３）細胞の硫酸化阻害によるエンテロウイルス 71 増殖阻害

エンテロウイルス 71 感染における PSGL-1 硫酸化の役割を解析した．Jurkat 細胞を硫酸化阻害剤 sodium chlorate 存在下で培養しても，細胞表面での PSGL-1 発現量には影響しなかった．しかし，エンテロウイルス 71 の増殖は，sodium chlorate の濃度に依存して阻害された．したがって，Jurkat 細胞におけるエンテロウイルス 71 の増殖には PSGL-1 の硫酸化が必須であると考えられた．

［西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（４）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

エンテロウイルス 71 分離株 5 株を L-PSGL-1.1 細胞に感染させ，PSGL-1 依存的ウイルス増殖を解析した．ヒト由来 RD 細胞等で継代したエンテロウイルス 71 分離株（EV71-org）では 1095 株のみ PSGL-1 依存的増殖を示したが，他の 4 株は顕著な増殖を示さなかった．一方，L-PSGL-1.1 細胞にて一度複製させたエンテロウイルス 71（EV71-LPS1）ではどの分離株も PSGL-1 依存的に増殖した．EV71-org と EV71-LPS1 の全長のアミノ酸配列を比較したところ，4 株の EV71-LPS1 はいずれも VP2-149 にアミノ酸置換を有していた．したがって，VP2-149 におけるアミノ酸置換が L-PSGL-1.1 細胞におけるエンテロウイルス 71 の効率的増殖に関与していることが示唆された．

［宮村紘平，西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（５）ヒト PSGL-1 発現マウス L929 細胞に純化したエンテロウイルス 71 のヒト細胞での増殖

L-PSGL-1.1 細胞に順化し VP2-149 に変異をもつエンテロウイルス 71 について，ヒト細胞での増殖性を解析した．ヒト由来である RD 細胞（横紋筋由来），Jurkat 細胞（リンパ球由来），末梢血単核球にウイルスを感染させ，3 日後までのウイルスタイターを測定した．いずれの細胞においても，VP2-149 の変異によるウイルス増殖性の違いは見られなかった．したがって VP2-149 アミノ酸はマウス細胞への感染にのみ関与するものと考えられた．

［宮村紘平，西村順裕，脇田隆字，清水博之］

（６）エンテロウイルス 71 分離株の PSGL-1 依存的ウイルス増殖の検討

これまでの解析でエンテロウイルス 71 分離株は，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ている．PSGL-1 発現 Jurkat 細胞におけるウイルス増殖および抗 PSGL-1 抗体 KPL1 処理によるエンテロウイルス 71 増殖阻害の有無により，PSGL-1 結合株および非結合株を同定することが可能である．新たに入手した異なる genogroup のエンテロウイルス 71 分離株（genogroup B1，B2，B5，C3）について，Jurkat 細胞における PSGL-1 依存的ウイルス増殖を検討したところ，B1 株以外は，Jurkat 細胞で PSGL-1 依存的に増殖した．エンテロウイルス 71 株の genogroup と，PSGL-1 依存的増殖には，直接的な関連性は認められなかった．

［Rifqiyah Nur Umami，西村順裕，清水博之］

（７）培養細胞でのウイルス分離過程における PSGL-1 依存性・非依存性エンテロウイルス 71 株の選択的分離の検討

臨床検体からのエンテロウイルス 71 の分離には，RD 細胞や Vero 細胞等が用いられている．これらの細胞は，PSGL-1 発現 Jurkat 細胞と比較すると，エンテロウイルス 71 受容体 PSGL-1 の発現レベルは低く，ウイルス分離の過程で PSGL-1 非依存性エンテロウイルス 71 を選択的に分離している可能性がある．ウイルス分離過程における，PSGL-1 結合性および PSGL-1 結合に関与するカプシドアミノ酸の変化を検討するため，臨

床検体そのもの，および，臨床検体を接種した後の，RD，Vero，Jurkat の各細胞における CPE 発現とカプシド遺伝子解析を行った．エンテロウイルス 71 陽性検体を接種した Jurkat 細胞では，ウイルス増殖は認められなかった．現在，RD および Vero 細胞におけるウイルス増殖と受容体依存的ウイルス variant の選択的分離およびカプシド遺伝子変異の有無について検討を行っている．

[Rifqiyah Nur Umami，西村順裕，清水博之]

（８）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，エンテロウイルス 71 脳炎を含む手足口病流行における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を解析する．エンテロウイルス 71 脳炎患者および対照例の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 PSGL-1 および SCARB2 受容体分子の分布・局在および病理学的特徴についての比較解析を行っている．

[Ong Kien Chai ，Wong Kum Thong（マラヤ大学），小池智(東京都医学総合研究所)，永田典代(感染病理部)，西村順裕，清水博之]

（９）手足口病，ヘルパンギーナ，および関連合併症の入院症例に関する全国調査

手足口病，ヘルパンギーナ，および関連合併症による入院症例の臨床疫学像を把握するために全国調査を実施している．一次調査により，全国の入院症例数および死亡症例数を推計し，二次調査により，各症例の臨床症状，検査値，病原検索結果などの詳細情報を収集する．一次調査では，小児科を標榜する全国の病院の小児科から，病床別に層化無作為抽出法で抽出した 750 診療科を対象とした．2010 年 4 月ー9 月までの間に入院した 15 歳未満の日本人で，症例定義に一つでも合致する症例について，入院症例数および死亡症例数の報告を依頼した．2011 年 2 月現在，392 診療科(52.3%）から回答を得た．報告症例数は 748 症例で，うち死亡症例数は 4 例であった．一次調査の終了後，二次調査を行い，各症例の特性について情報を収集し，手足口病，ヘルパンギーナ，および関連合併症による入院症例の臨床疫学像を明らかにする．

[福島若葉(大阪市立大学)，中野貴司(川崎医科大学)，清水博之]

（１０）新規抗エンテロウイルス化合物の同定

ワクチンが開発されていないエンテロウイルス 71 (EV71）および生ワクチンの副作用が問題となっているポリオウイルス（PV）について，抗ウイルス薬は感染の予防および治療の有効な手段となることが期待される．大規模化合物ライブラリーを用いたスクリーニングにより，EV71 および PV に対して阻害活性を示す化合物 T-00127-HEV1 を同定した．また，T-00127-HEV1 が,宿主タンパク質 PI4KB に対する特異的阻害剤であることを明らかにした．

[有田峰太郎，小島宏建（東京大学創薬オープンイノベーションセンター)，長野哲雄（東京大学創薬オープンイノベーションセンター)，岡部隆義（東京大学創薬オープンイノベーションセンター)，脇田隆字，清水博之]

（１１）中国山東省における環境ウイルスサーベイランスにて検出された Echo6 型について

山東省 CDC との共同研究にて 2008 年 2 月より継続して主として下水を材料としてエンテロウイルスの分離を行っている． 2008-10 年の間に下水由来 E6 が 30 株分離されたがそのうち 29 株は 2010 年の夏に分離された．VP1 領域の塩基配列を解析したところ 2 つのグループに分かれている．1998 年以降の分離年代の明らかな患者由来株の塩基配列とともにベイズ法による進化速度および分岐年代推定を試みた．その結果，進化速度は 7.047 x 10-3 塩基置換/年と推定され，環境株は 2003 年と 1992 年頃に分岐して現れたと推定された．

継続的に環境サーベイランスを行い，塩基配列を解析することでヒト集団のエンテロウイルスの進化について知見が得られると考えられる．

[Tao Zexin（山東省 CDC），ZhangYong（中国 CDC），吉田　弘]

（１２）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 感染モデルを樹立した．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，等を測定してマウスモデルにおける欠乏状態を評価した．母親マウスがセレン欠乏餌を食べ続けた場合，その仔マウスの肝臓，及び脳中セレン濃度がセレン充足餌を食べ続けた場合よりも低くなることが確認された．脳，及び肝臓のグルタチオンペルオキシダーゼ活性は，セレン充足餌を与えた 25 日セレン欠乏餌を与えた 25 日齢マウスは，有意に低かった．EV71 感染実験を行い，セレン欠乏および充足条件下での病原性発現およびウイルス増殖について比較解析を行った．

[小林紗弥加，渡辺知保(東京大学)，清水博之]

（１３）無菌性髄膜炎を疑う熱性痙攣小児患者からのエンテロウイルスの検出

無菌性髄膜炎患者からはエンテロウイルスが検出される例が多い．エンテロウイルスは，年によって流行する血清型が入れ替わり，地域によっても流行型に差が見られる．無菌性髄膜炎患者の髄液中から B 群エンテロウイルスが高頻度に検出され，その起因ウイルスと考えられているが，他群のエンテロウイルスが検出されることがある．2008 年 4 月ー2010 年 10 月迄の無菌性髄膜炎を疑う熱性痙攣小児患者を対象として患者の髄液，咽頭ぬぐい液，便からエンテロウイルス CODEHOP PCR 法を用いてウイルス検出を試みた．CODEHOP PCR 法で 164 検体から 33 検体陽性(20.1%)となり，髄液検体からコクサッキーA9 検出された．他の陽性検体では咽頭ぬぐい液と便から主に A 群エンテロウイルスが検出された．

[町田早苗（埼玉医大），西村順裕，清水博之]

（１４）コクサッキーB 群ウイルスの腫瘍溶解性の検討

近年ウイルス自身が本来有する腫瘍溶解性を利用した，腫瘍溶解ウイルス療法が注目されてきており，腫瘍溶解性アデノウイルスもしくは単純ヘルペスウイルスを用いた臨床研究が進められている．新たな腫瘍溶解ウイルス療法の開発を目的に，RNA ウイルスであるピコルナウイルス科のエンテロウイルス属に着目して，これまでに約 40 種類のウイルスを各種ヒト癌細胞株（非小細胞肺癌，大腸癌，乳癌，膵癌，腎癌，子宮頸癌，前立腺癌，線維肉腫，白血病）及び腎臓，肺および骨髄ストローマ正常細胞に in vitro で感染させ，それらの抗腫瘍効果について比較検討した．その結果，コクサッキーウイルス B 群ウイルスが，正常肺線維芽細胞を障害することなく，低い感染力価によっても肺癌細胞を特異的に溶解することを発見した．マウスモデルを用いた抗腫瘍活性について検討を進めるとともに，コクサッキーB 群ウイルスによる腫瘍溶解ウイルス療法の有効性・安全性および抗腫瘍メカニズムについて解析を進めている．

[宮本将平，井上博之，谷憲三朗(九州大学)，清水博之]

（１５）ヒトライノウイルスの高感度検出法

冬期普通感冒の主要な原因ウイルスであるヒトライノウイルス(HRV)の CODEHOP VP1 RT-snPCR 法による検出同定について検討を行った．100 の血清型が存在する HRV-A 及び HRV-B に属するウイルスのうち，供試した標準株 48 株は全て検出同定が可能であった．Sequencing 用 primer には reverse 側 primer の AN88

が効果的であった．感冒症状を呈した患者由来材料238 検体から本法によりヒトのエンテロウイルス属に属するウイルス185株が同定された．185株のうち，ヒトエンテロウイルス A(HEV-A)及び HEV-B に属するウイルスが 181 株，HRV に属するウイルスが 4 株であった．4 株の HRV は，何れも培養細胞では分離不可能とされ，最近新たに分類された HRV-C に属するウイルスで，4 株中 3 株が下気道炎患者から検出された．臨床検体から HRV-C も検出同定可能であったことから，迅速高感度な本法は，HEV のみならず HRV の検出同定にも有用である可能性が示唆された．

[吾郷昌信(長崎県環境保健研究センター)，西村順裕，清水博之]

（１６）ヒトカルジオウイルス国内分離株の遺伝子解析

近年，カルジオウイルス属に分類される新たな腸管ウイルス(Saffold virus)の検出が世界各地で報告されている．日本でも，この新たなヒトカルジオウイルスの検出が，最近報告されているが，我が国における伝播実態と特定疾患への関与は明らかでない．高知県で，無菌性髄膜炎および手足口病患者より分離された不明ウイルス 2 株について， Saffold virus 3 型に近縁であることが示唆された．また，病原体サーベイランス由来検体から，Saffold virus 2 型株も検出・分離された．Saffold virus 分離株は，LLC-MK2 細胞および HeLa 細胞において CPE の発現を伴って増殖したが，他のヒト細胞では顕著なウイルス増殖は認められなかった．

[細見卓司(高知県衛生研究所)，Naeem Asif，清水博之]

（１７）パキスタン・アフガニスタンの急性弛緩性麻痺患者糞便検体からのヒトカルジオウイルスの検出と遺伝子解析

近年，カルジオウイルス属に分類される新たな腸管ウイルス（Saffold virus）の検出が世界各地で報告されている．パキスタンにおける AFP サーベイランスにより採取された糞便検体のうち，パキスタン NIH にてポリオウイルスおよびエンテロウイルスを検出した糞便検体以外の検体から，Saffold virus 遺伝子検出およびウイルス分離を試みた．Saffold virus 特異的 RT-PCR およびリアルタイム PCR システムにより，Saffold virus 遺伝子が高頻度に検出された．LLC-MK2 細胞および HeLa 細胞を用いたウイルス分離を試みたところ，多数の CPE 因子が検出されたが，解析の結果，ほとんどが非ポリオエンテロウイルスによる CPE であることが示された．糞便中の Saffold virus は，LLC-MK2 細胞および HeLa 細胞における増殖効率が低く，通常の手法ではウイルス分離は困難であることが明らかとなった．糞便中から直接 Saffold virus 遺伝子を増幅し，遺伝子解析を行ったところ，これまでに報告されている以上に多様な遺伝子型(11 genotypes)の Saffold virus の存在が明らかとなった．Saffold virus は，ヒト腸管ウイルスとして広範に伝播していることが示唆された．今後，より詳細なウイルス学的解析が必要とされる．

[Naeem Asif，西村順裕，清水博之，Syed Sohail Zahoor Zaidi（パキスタン NIH)]

（１８）ヒトカルジオウイルス（Saffold virus）感染性クローンの作製

高知県で分離された髄液からの臨床分離株 JPN08-404（SAFV type 3）を材料として，RT-PCR により得たゲノム全長を含む SAFV cDNA クローン（pSAF404）を作製した．pSAF404 由来 RNA の感染性を確認するために，HeLa 細胞にトランスフェクションして SAFV を産生させた．pSAF404 を鋳型として，T7 RNA polymerase により感染性 RNA の合成を行ったが，得られる転写産物は，完全長 RNA を含まない短鎖化された RNA であった．その原因として，SAFV ゲノム上に存在する human preproparathyroid hormone（PTH）シグナル相同配列の関与が示唆されたことから，PTH シグナルの影響を受けない *CUGA 7* RNAP を用いて RNA 合成を行ったところ，完全長 RNA の合成が確認され，さらに，PTH シグナルを欠損させることで，一般的な T7

RNAP でも完全長 RNA が合成された．*CUGA 7* RNAP で合成した RNA は，HeLa 細胞へのトランスフェクションにより SAFV を産生したことから，感染性 RNA であることが確認された．

[姫田敏樹，大原義朗（金沢医大），細見卓司(高知県衛生研究所)，Naeem Asif，清水博之]

（１９）新規カルジオウイルスの病理学的診断法に関する研究

新規ヒトカルジオウイルスの病理学的診断法を確立することを目的として，陽性参照標本の作製とウイルス抗原検出のための免疫組織化学法に用いる抗体の検討を行った．その結果，ヒトカルジオウイルス(Saffold virus)脳内接種後の乳のみマウス脳組織標本では，抗脳心筋炎ウイルス（EMCV）抗体を用いて抗原検出が可能であることが判明した．感度，特異性の向上のために抗ヒトカルジオウイルス抗体の作製を予定している．

[小谷　治，永田典代(感染病理部)，Naeem Asif，清水博之]

（２０）日本，タイ，スリランカの小児のヒトパレコウイルスによる急性下痢症

急性下痢症の原因ウイルスとしてのヒトパレコウイルス遺伝子の検出を試みた．小児を中心としたウイルス性下痢症と思われる検体の 8～15%の頻度でヒトパレコウイルス遺伝子が検出された．1～14 遺伝子型の中で 1～4 型の頻度が高かったが，10 型および 11 型をスリランカで見出した．タイ，スリランカでは最初の報告である．とくに，スリランカで 10，11 型を見出したように多様なヒトパレコウイルス遺伝子型が見出された．

[牛島廣治(日本大学)，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状況

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，WHO は「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画」を策定し，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．我が国では，西太平洋地域における野生株ポリオウイルス伝播の終息を受け，2000-2002 年にかけて大規模かつ広範な野生株ポリオウイルス保有施設調査が行われたが，調査票の全体的な回収率が低く，調査精度とその後のフォローアップに関する多くの問題点が指摘されていた．2000-2008 年における各種の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を保有する可能性のある施設をリストアップしたうえで，所管省庁の了解のもと各施設に対し保有状況調査を実施し，野生株ポリオウイルス感染性材料保有施設を特定した．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を作成し WHO 西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会に提出した．2008 年 12 月，WHO 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が，保有施設リストのアップデート継続している．

[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)，清水博之]

（２）ポリオ野生株ウイルスの封じ込め対策に関する調査

野生株あるいはワクチン由来ポリオウイルス実験室状況に関する研究を行った．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 WHO 報告書を提出した 2008 年調査以降における，新たな野生株ポリオウイルス保有実態の把握のため，2007 から 2010 年までの４年間におけるポリオウイルス保有状況の変動の有無について，ポリオウイルスに関連するテーマで発表された研究論文について文献検索を行った．医中誌由来５１報のポリオウイルス関連原著論文から同一著者を除外すると３６名，他方 PubMed 由来６２報からは４８名が選択された．ポリオウイルス保有の可能性を持つ

可能性がより高い研究者として，医中誌由来研究者３６名のうちから３名， PubMed 由来４８名のうちからは３名，計６名が候補者として抽出された．

今回調査（2007ー2010 年）の６名を前回調査（2006 年まで）の１２名と照合すると，前回から継続してリストアップされた研究者は１名のみで，他の５名はポリオウイルスに関わる新たな研究者と見なされた．５名のうち４名の所属は既に前回の調査時にリストアップした研究機関であり，残り１名は今回の調査によって新たに特定された研究機関に所属していた．

[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），清水博之]

６．その他

平成 22 年度は 8 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）スリランカのＡ型肝炎流行における疫学調査

2010 年 1 月ー5 月の間にビクトリー・ミリタリー・ホスピタル（スリランカ軍病院）を受診した急性肝炎患者血清 125 検体について A 型肝炎ウイルス（HAV）-IgM による確定診断を行った．また，51 検体について遺伝子解析，患者発症前の任務地，受診日から HAV 流行パターンを解析した．125 人中 119 人が HAV-IgM 陽性であった．遺伝子型は IA 35 人，IB 1 人，IIIA 15 人であった．IA のうち 27 人の患者から検出された HAV-genome は高い相同性を示し同一株の流行が示唆された．この株の患者 22 人の任務地と発症日の関係を見ると，最初に 1 人がトレーニングセンターで発症し，約一ヶ月後（HAV の潜伏期間と一致）同センターで 7 人が発症した．更に一ヶ月後，軍事作戦地域の 9 駐留地でＡ型肝炎患者が確認された（14 人）．これは，トレーニングセンターという人口密集地での流行，更に潜伏期間中の兵士の移動に伴う流行の拡散が疑われた．

[清原知子，Dahanayaka N（スリランカ・Rajarata 大学），佐藤知子，石井孝司，脇田隆字]

（２）HAV 増殖阻害に関する研究

広範囲の RNA/DNA ウイルスに対して増殖阻害効果を示すアマンタジンと，インターフェロンα，および両者を同時に感作させた場合の HAV 増殖阻害効果を HAV KRM003 株と GL37 細胞を用いた in vitro 実験系で検討した．HAV の増殖は各薬剤単独よりも共感作させることによってより強く阻害された．

[清原知子，神田達郎（千葉大学大学院），石井孝司，脇田隆字]

（３）2010 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析

日本での A 型肝炎患者数は 2007 年以降非常に低いレベル（150 人/年程度）で推移していたが，2010 年は３月から全国各地で A 型肝炎が多発し，最終的には 346 人の患者発生を見た．全国の地方衛生研究所と共同で，A 型肝炎患者の糞便または血清から HAV ゲノムの配列を決定し，流行状況を分子疫学的に解析したところ，流行株は genotype IA の２つのクラスターと IIIA の１つのクラスターに大部分が分類されることが判明した．本年に A 型肝炎が多発した理由は，従来日本に土着していた株（GIA）に加え，別の新たな GIA 株が日本に侵入し，また韓国で大流行した株（GIIIA）も一部日本に侵淫してきたためであると考えられた．

[石井孝司，清原知子，吉崎佐矢香，佐藤知子，*島田智恵，*中村奈緒美，*多田有希，**野田 衛，脇田隆字（*感染症情報センター，**国立衛研食品衛生管理部），他 26 地方衛生研究所との共同研究]

（４）2010 年Ａ型肝炎流行の血清疫学的解析

2010 年 3 月からの A 型肝炎流行をうけて，2010 年の患者発生状況と年齢別抗体保有率との相関を検討した．A 型肝炎は予後良好な疾病であるが，高齢者は若年者に比べて重症化することが知られている．日本で

は抗 HAV 抗体保有率の低下と感染リスクの増大，患者の高年齢化に伴う重症例の増加が危惧されてきた．今期の流行では 50 代以上の患者割合が増加し，40-60 代で死亡 1 例を含む 6 例の劇症患者が報告された．患者は抗体保有率が低い世代のうち，20-60 代に集中していた．若年齢層は不顕性感染の割合が高いため報告数が少なかったと考えられた．抗体保有率が高い 70 歳以上の患者は少なかった．今後さらなる抗体保有率の低下と患者の高齢化が予測されるため，積極的な検査態勢と予防推進が望まれる．

[清原知子，多田有希（感染症情報センター），野田 衛（国立医薬品食品衛生研究所），石井孝司，脇田隆字]

（５）A 型肝炎検査態勢の構築

これまで A 型肝炎は感染症発生動向調査の病原体サーベイランスの対象に入っていなかったため，積極的な検体確保及び検査は実施されなかった．しかし，2010 年度の A 型肝炎患者増加と厚生労働省から各自治体宛に発出された「A 型肝炎発生届受理時の検体の確保等について(4 月 26 日)」に対応して，当室では各地方衛生研究所の検査サポート体制および自治体からの患者検体受付・検査システムを構築した．検査サポート体制は電話やメールによる質問対応，検査用プライマー・陽性コントロールの分与などを行った．検体の受付は 4 月 27 日から開始し，133 検体を受理した．結果については当該自治体及び NESFD(食中毒調査支援システム)内に設けられた V-Nus Net Japan にフィードバックし，情報の共有化を図った．

[清原知子，多田有希（感染症情報センター），野田 衛（国立医薬品食品衛生研究所），石井孝司，脇田隆字]

２．B 型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究

（１）HBs 抗体陽性患者に出現した HBV Escape Mutant の解析

HBs 抗体が高力価であるにもかかわらず HBV DNA 量が増加し肝障害を起こす症例があり，出現した HBV 株の遺伝子配列の解析について依頼された．そこで，Escape Mutant が疑われる３症例の血清より DNA を分離し，PCR により HBs 抗体の抗原領域を増幅し塩基配列を決定した．その結果，全ての症例の HBV 株で抗原領域に変異を認め，その変異はこれまでに報告されている Escape Mutant に認められる変異と一致していた．すなわちこれらの症例で出現した HBV 株は Escape Mutant であると考えられた．

[永濱裕康（熊本大学），杉山奈央，加藤孝宣，脇田隆字]

（２）ファクトシートの作製

厚生科学審議会感染症分科会予防接種部会において，予防接種法の定期接種となっていない疾病・ワクチンについての検討を進めるにあたり，各疾病，検討対象となったワクチンについて現時点における情報を幅広く収集し，整理を行うことを目的としてファクトシートの作製が決まった．B 型肝炎ワクチンも対象となり，そのファクトシートを作製した．原案は当部で作製し，臨床・疫学分野等の有識者の意見を反映させた．(http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000000bx23.html 及び http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000014wdd.html にて公開)

[清原知子，石井孝司，脇田隆字]

（３）B 型肝炎ワクチンの試験管内試験法の検討

B 型肝炎ワクチンの in-house Inhibition ELISA を構築した．In-house Inhibition ELISA は Binding ELISA に比べると，アジュバント除去操作が不要で簡便である．しかしながら，国内参照品をリファレンスとした *in vitro* 相対力価は製造所ごとに偏り，各製剤の特性を考慮した自社参照ワクチンが必要である点は Binding ELISA と同様の結果になった．また，一次抗体が異なると同じワクチンでも相対力価が異なるため，一次抗体を選択する際に注意が必要である．in-house Inhibition ELISA をワクチンの国家検定および自社検定に応用するためには試薬も含めた標準化が必要である．

[清原知子，石井孝司，脇田隆字]

（４）HBV 粒子産生を変化させる低分子化合物のスクリーニング

HBV 産生培養細胞株を用いて，HBV 粒子産生を変化させる低分子化合物のスクリーニングをおこなった．その結果，現在までに約 150 のヒット化合物を得ており，この中には核酸アナログなど HBV ポリメラーゼを阻害する可能性がある化合物も含まれているため，スクリーニング系として有用であることを確認している．現在得られた化合物を用いた機能解析をおこなっている．

[渡士幸一，内田奈々子，脇田隆字]

（５）HBV 誘導産生細胞のクローニング

HBV を誘導的に産生可能な細胞株の単一細胞クローニングをおこなった．各細胞クローンの培地中に放出される HBV DNA をリアルタイム PCR により測定したところ，HBV DNA 放出量のさまざまなクローンを得たことが判明した．これらはそれぞれラミブジン処理により HBV DNA 放出が劇的に減少することから，化合物スクリーニングや各種機能解析に有用であると考えられた．

[渡士幸一，脇田隆字]

（６）HBV 生活環後期過程を評価する実験系の構築

HBV 生活環の中で転写以降の生活環後期過程を解析するために，今回，１）キャプシド形成，２）RNA／キャプシド会合，３）DNA 合成，４）放出，等の各生活環ステップの活性を評価する系を構築した．これらを用いて現在抗 HBV 効果をもつ化合物の評価等をおこなっている．

[渡士幸一，内田奈々子，溝上雅史（国際医療研究センター），脇田隆字]

（７）HBV 吸着，侵入等初期過程を評価する実験系の樹立

HBV 生活環の中で吸着，侵入等の初期過程を評価する実験系，検出系を構築した．この系において，これまでに HBV 吸着を抑制することが報告されているヘパリンやポリリジンが HBV 感染を阻害することが確認されたことから，本系は HBV 感染，特に生活環初期過程の評価系として有用であると考えられる．

[渡士幸一，脇田隆字]

３．C 型肝炎ウイルスの研究

（１）遺伝子型 2b のウイルス産生系の構築

培養細胞で効率よく増殖し，感染性ウイルスを産生できる HCV 遺伝子型 2b のウイルス株は未だ存在しない．そこで遺伝子型 2b のウイルス株を用いて JFH-1 株とのキメラを作製した．長期培養により得られたコア領域の適応変異に加えて，5’UTR，NS3 ヘリカーゼ領域，NS5B 領域，3’UTR を JFH-1 株に置換することにより，遺伝子型 2b の株は培養細胞で増殖し，感染性ウイルス粒子を産生できるようになった．

[村山麻子，加藤孝宣，脇田隆字]

（２）培養細胞で非増殖型のウイルス株を増殖型にする変異の同定

培養細胞での増殖がみられない HCV J6CF 株を増殖可能なウイルスに改変するために必要な点変異の同定を試みた．ウイルス RNA を導入した細胞を長期に培養することにより，NS4A 領域に適応変異が得られた．J6CF 株にこの適応変異と，NS5B 領域，3’UTR 領域の JFH-1 株型の変異を導入することにより，J6CF 株の全長 RNA は自律的に複製し，感染性ウイルス産生が可能となった．

[村山麻子，加藤孝宣，脇田隆字]

（３）HCV プロテアーゼのウイルスの生活環における役割の解析

HCV のプロテアーゼはウイルス複製に必須であるだけでなく，宿主の蛋白質を切断し，自然免疫シグナルを押さえることにより，ウイルスが増えやすい環境を作り出している．JFH-1 株は，培養細胞で複製し，ウイルス産生が観察できる HCV 株である．そのプロテアーゼ領域を J6CF 株由来のものに置換すると，ゲノム複製には影響がなく，ウイルス産生だけができなくな

ることから，HCV プロテアーゼはゲノム複製だけでなく，ウイルス粒子形成時にも関わっていた．ウイルス粒子形成に重要な領域はNS3プロテアーゼ領域のC末端側に存在した．

[村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣]

（4）新規HuH-7細胞株を用いた効率の良いHCV培養系の作製

ウイルスの感染予防ワクチンの開発には効率の良いウイルス大量培養系が不可欠であるため，新たな細胞株を用いたより効率の良いHCV培養増殖系の構築を試みた．HuH-7 細胞からクローニングした細胞株を利用すると従来使われている Huh7.5.1 細胞と比較して約10倍のウイルスが得られた．詳細な検討の結果，細胞内での感染性ウイルス粒子形成の効率が良く，またFACS解析により，感染の広がるスピードが早いことが明らかとなった．

[村山麻子，菅野美津子（東芝 RDC)，吉村斉湖（東芝RDC)，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（5）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，404 種類のヒトプロテインキナーゼのうち，89 種類（うち 79 種類がセリン/スレオニンプロテインキナーゼ）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（愛媛大)，遠藤弥重太（愛媛大)，鈴木哲朗（浜松医大)，加藤孝宣，脇田隆字]

（6）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-32P]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，9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 2 であった．

[政木隆博，澤崎達也（愛媛大)，遠藤弥重太（愛媛大)，鈴木哲朗（浜松医大)，加藤孝宣，脇田隆字]

（7）HCV の生活環に関与するセリン/スレオニンプロテインキナーゼの同定

AlphaScreen 解析，in vitro リン酸化アッセイによりスクリーニングされた 9 種類のプロテインキナーゼについて，それらの細胞内発現を siRNA を用いてノックダウンすることにより，感染性HCV産生を制御する2種類の新規プロテインキナーゼを見出した．

[政木隆博，鈴木哲朗（浜松医大)，加藤孝宣，脇田隆字]

（8）HCV の生活環に関与する NS5A 結合プロテインキナーゼの同定

AlphaScreen 解析により NS5A と特異的に結合するプロテインキナーゼを 7 種類同定した．この中から，siRNA を用いたノックダウン実験により，HCV 生活環の制御に関与する新規プロテインキナーゼを 3 種類同定した（2 種類は HCV ゲノム複製に，1 種類は HCV 粒子形成に関与)．

[政木隆博，加藤孝宣，脇田隆字]

（9）NS5A との相互作用により活性調節を受ける新規プロテインキナーゼの探索

HCV 蛋白質がプロテインキナーゼと相互作用することでキナーゼ活性を調節し，ウイルス性肝炎の病態形成に関与することが知られている．今回，AlphaScreen解析において NS5A との相互作用が強固であったプロテインキナーゼを対象に，NS5A との相互作用により活性調節を受ける新規キナーゼの探索を試みた．キナーゼ基質のリン酸化をリン酸化抗体を用いて解析し，NS5A 発現細胞において負に活性調節を受けるプロテインキナーゼを同定した．

[政木隆博，加藤孝宣，脇田隆字]

（１０）HCV ゲノム複製を制御する NS5A 結合ペプチドの取得

大腸菌発現システムを利用し，JFH-1 株 NS5A 蛋白質の domain Ⅰ領域を発現させ，精製した．この精製 NS5A 蛋白質を用いて 11 種類の NS5A 結合ペプチドを取得した．次に，取得ペプチドを HCV サブゲノミックレプリコン細胞に導入し，各 NS5A 結合ペプチドの抗 HCV 作用を解析したところ，11 種類の NS5A 蛋白結合ペプチドのうち，9 種類において HCV ゲノム複製の有意な抑制効果を認めた．

[政木隆博，菅　裕明（東大先端研），鈴木哲朗（浜松医大），加藤孝宣，脇田隆字]

（１１）JFH-1 core と種々の株の NS5A との相互作用の解析

Core と NS5A の相互作用は HCV 感染性粒子産生の初期段階に重要である事が知られている．JFH-1 株及び，野生型では培養細胞内で増殖しない H77，Con1，J6CF，MA 株の NS5A と JFH-1 の core を 293T 細胞に強制発現させ，core による免疫沈降法により相互作用を比較した．その結果，H77，Con1，MA 株の NS5A において core との相互作用の増強を認めた．一方 J6 株では JFH-1 株と同等であった．

[岡本有加，政木隆博，村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣]

（１２）JFH-1 株における NS5A の置換がウイルス増殖に与える影響

JFH-1 株の NS5A 全体を 1a 型 H77c 株，1b 型 Con1 株，2a 型 J6CF 株，2b 型 MA 株にそれぞれ置き換えた全長キメラ株を作製し，これらの増殖を検討した．H77c 株に置き換えたキメラ株では複製能及び粒子産生ともに変化せず，Con1 株に置き換えたキメラ株では，複製，感染性粒子産生に低下が見られた．一方，J6 及び MA 株に置き換えたキメラ株では，複製能に変化は無く感染性粒子産生のみ上昇した．

[岡本有加，政木隆博，村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣]

（１３）JFH-1 株における NS5A の C 末端領域の置換がウイルス増殖に与える影響

J6CF 株及び MA 株は野生型では培養細胞内で増殖出来ないが，JFH-1 株の NS5A をこれらの株に置換すると感染性粒子産生能が上昇する．この原因として NS5A-5B 間の切断効率の変化が考えられた．これを確認するため，JFH-1 株の NS5A の C 末 10 アミノ酸を J6 型，或は MA 型にした変異体を作製し，増殖能を検討した結果，この領域の置換のみで感染性粒子産生の上昇を認めた．

[岡本有加，政木隆博，村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣]

（１４）HCV JFH-1 キメラ株を用いた NS5A 阻害剤の株特異的抗ウイルス活性の評価

HCV JFH-1 株の NS5A 領域を H77 株(1a 型)，Con1 株(1b 型)，J6CF 株(2a 型)，MA 株(2b 型)の NS5A に入れ換えたキメラ株を作製し，NS5A 阻害剤(BMS-790052)に対する感受性を評価した．NS5A 阻害剤の投与によりすべてのキメラ株で用量依存的に複製阻害を認めた．しかし，その阻害活性は株により異なり，遺伝子型 1 のキメラ株では高い感受性を示したが，遺伝子型 2 のキメラ株では抵抗性であった．

[岡本有加，政木隆博，村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣]

（１５）Poly I:C による肝細胞での各種 IFN と ISGs の誘導能の検討

HuH-7 細胞をクローニングし，内因性インターフェロン(IFN)シグナル関連分子である RIG-I および MDA5 の発現が良い細胞株 HuH-7T5 と 7T10 を得た．HuH-7T5 細胞と 7T10 細胞に Poly I:C をリポフェクションし，誘導された IFN シグナルを測定した．その結果，強い III 型 IFN シグナルの誘導を認めたが，I 型 IFN シグナル誘導はごく軽度だった．また，ISGs の誘導は III

型IFNと同様に十分量認められた.これらの細胞のIII型 IFN, ISGs の誘導を Huh7.5.1 細胞と比較すると, HuH-7T5 と 7T10 細胞の方が約 10 倍高値であった.
[藤田めぐみ, 菅野美津子 (東芝 RDC), 吉村斉湖 (東芝 RDC), 杉山奈央, 村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣]

（１６）HCV 感染細胞における ISGs と各種 IFN の誘導能の検討

III 型 IFN の強い誘導を認める HuH-7T5 細胞に HCV JFH-1 の適応変異株を感染させ, Poly I:C のリポフェクションによる IFN シグナルの誘導に与える影響を検討した. その結果, III 型 IFN, ISGs の誘導はいずれも感染細胞で約 1/10 に低下しており, HCV JFH-１株の感染により IFN シグナルおよび ISGs の誘導が抑制されていると考えられた.
[藤田めぐみ, 菅野美津子 (東芝 RDC), 吉村斉湖 (東芝 RDC), 杉山奈央, 村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣]

（１７）HCV 全長 RNA の導入による ISGs と各種 IFN の誘導能の検討

HCV の肝細胞への感染による IFN 誘導の評価のため, HuH-7T5 細胞に JFH-1 株全長の RNA を導入し, IFN および ISGs の mRNA を測定した. その結果, 導入後 12 時間までは poly I:C と同程度の誘導が認められ, HCV RNA の導入でも poly I:C と同様に IFN が誘導されていると考えられた. また, HCV RNA 導入 12 時間以降は JFH-1 株全長 RNA 導入細胞の方が poly I:C 導入細胞と比べ, III 型 IFN, ISGs の誘導が低値となり, HCV の増殖複製によりこの誘導が阻害されていると考えられた.
[藤田めぐみ, 菅野美津子 (東芝 RDC), 吉村斉湖 (東芝 RDC), 杉山奈央, 村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣]

（１８）HCV JFH-1 株の感染による各種 IFN と ISGs 誘導能の検討

HCV RNA 導入による IFN 誘導は観察されたため, 次に肝細胞への HCV 感染による IFN の誘導について検討を行った. 感染力価の高い HCV JFH-1 適応変異株を Huh7.5.1 細胞と HuH-7T5 細胞に感染させ, IFN および ISGs の誘導を評価した. しかし, 全長 HCV RNA の導入で観察されたような誘導は認めなかった. そこで, HCV JFH-1 株の培養上清を濃縮精製後, 抽出した RNA の導入により IFN と ISGs の誘導を評価したが, 誘導は認めなかった.
[藤田めぐみ, 菅野美津子 (東芝 RDC), 吉村斉湖 (東芝 RDC), 杉山奈央, 村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣]

（１９）ビタミン D およびその代謝産物が HCV の複製増殖に与える影響の解析

最近, 慢性 C 型肝炎の IFN 治療においてビタミン D (VD) を併用することで治療効果が向上することが報告されている. しかし, VD 投与の抗 HCV 作用については明らかではない. そこで, VD とその代謝産物の抗 HCV 作用について培養細胞での感染増殖系を用い検討を行った. その結果, VD には抗 HCV 作用は認めず, その代謝産物である 25(OH)VD に抗 HCV 作用があることが明らかになった.
[松村卓哉 (昭和大), 井廻道夫 (昭和大), 杉山奈央, 村山麻子, 政木隆博, 藤田めぐみ, 脇田隆字, 加藤孝宣]

（２０）ビタミン D 代謝産物である 25(OH)VD の抗 HCV 作用の解析

ビタミン D (VD) の肝臓での代謝産物である 25(OH)VD に抗 HCV 作用が有ることがわかった. そこで, その作用機序について培養細胞にて解析を行った.その結果, この 25(OH)VD は HCV の感染や細胞内での複製には影響を与えず, 細胞内での感染性ウイルス粒子形成を阻害していることが明らかになった. 今後, 25(OH)VD は新しい抗 HCV 薬として使用できる可能性が示された.
[松村卓哉 (昭和大), 井廻道夫 (昭和大), 杉山奈央, 村山麻子, 政木隆博, 藤田めぐみ, 脇田隆字, 加藤孝宣]

（２１）ビタミン D 代謝産物である 25(OH)VD に対する耐性変異株の誘導

ビタミンD（VD）の肝臓での代謝産物である25(OH)VDに抗 HCV 作用が有ることがわかった．そこで，その25(OH)VDに対する耐性変異株を誘導するため，HuH-7細胞に HCV JFH-1株を導入し，25(OH)VDを1μMで処理し長期培養を行った．その結果，培養 25 日目頃より培養上清のHCVコア抗原量の増加を認め，耐性変異株が誘導されていると考えられた．増殖している HCV株を全ORFをシーケンスしたところ，NS3のヘリカーゼ領域に一カ所の非同義置換を同定した．

[松村卓哉（昭和大），井廻道夫（昭和大），杉山奈央，村山麻子，政木隆博，藤田めぐみ，脇田隆字，加藤孝宣]

（２２）HCV 生体内適応変異株の抗アポトーシス活性の検討

HCV 感染の慢性化機序の解明のため，HCV JFH-1 株のチンパンジー感染実験で同定された生体内適応変異株が宿主細胞のアポトーシスに与える影響を検討した．その結果，生体内適応変異株の感染細胞では通常のJFH-1 株に比べ，TNF-αや FAS ligand などのサイトカイン投与によるアポトーシス誘導が強く抑制されていた.適応変異株のキメラウイルスを用いた検討から，この抑制効果には，構造領域・非構造領域両方の変異が関与していると考えられた．

[Mohsan Saeed，椎名正明（東北大学），杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（２３）JFH-1株培養細胞適応変異株の性状解析

JFH-1 株を培養細胞に導入し長期培養を行うことにより得られた適応変異株の性状について解析を行った．HCV JFH－１株を25日間培養することにより通常のJFH－１株よりも増殖複製能の高い適応変異株を得た．全ORF のダイレクトシーケンスの結果，E2・NS3・NS5Bにそれぞれ一つずつ変異を同定した．これら同定された変異を詳細に検討した結果，これらの変異は細胞内での効率的な感染性ウイルス粒子形成能および精製されたウイルス粒子の感染性に影響を与えていることが明らかとなった．

[杉山奈央，加藤孝宣，脇田隆字]

（２４）HCV RNA 測定法とコア抗原測定法の相関についての検討

HCV のウイルス量測定法評価のため，日本赤十字社よりHCV陽性検体の供与を受けパネル検体を作製した．このパネル検体を用い，HCV RNA およびコア抗原定量法によりウイルス量を測定し，測定値の分布と相関について検討した．その結果，HCV コア抗原定量法の中でその測定値がHCV RNA定量の結果と乖離する例が数検体認められた．これらの検体のコア領域の塩基配列を比較検討した結果，コア抗原量の測定値に影響を与える領域として，コア領域の aa 47 - 49 のアミノ酸変異が同定された．この領域に２つのアミノ酸変異を認めた検体では，HCV RNA 量との相関から推定されるコア抗原量の期待値の1/10程度の値を示した．

[杉山奈央,村山麻子,政木隆博,渡士幸一,鈴木亮介,相崎英樹,鈴木哲朗(浜松医大),脇田隆字,加藤孝宣]

（２５）JFH-1/Con1キメラレプリコンのコロニー形成法による解析

JFH-1 株のサブジェノミックレプリコンを基としてそれぞれの非構造蛋白質領域遺伝子を Con1 株に交換して代償できるかどうかを試みた．コロニー形成を行った結果，NS3とNS5Bの領域をCon1に交換するとコロニーが全く形成されなかった．一方，NS4A，NS4B，NS5AをCon1に交換するとwild typeと同程度にコロニーが形成された．また，NS4AーNS5Aを交換した場合もwild typeと同程度にコロニーが形成された．

[金ソルイ，伊達朋子，加賀美奈子，相崎英樹，脇田隆字]

（２６）JFH-1/Con1キメラレプリコンの複製活性の測定

ルシフェラーゼによるサブジェノミックレプリコンで複製活性を測定した．Genotype 2a株の JFH-1株を基にして非構造蛋白質領域遺伝子を genotype 1b のCon1株に交換した．その結果，NS3，NS5Bを交換した

ものは全く複製活性がなかったが，NS4A，NS4B，NS5A を交換した場合は複製活性が見られた．さらに NS4A，NS4B，NS5A をまとめて交換すると単独で交換した場合より高い複製活性がみられた．

[金ソルイ，伊達朋子，加賀美奈子，相崎英樹，脇田隆字]

（２７）全長の JFH-1/Con1 キメラウイルスの細胞内複製とウイルス産生の評価

HCV ゲノムの非構造蛋白質領域遺伝子を Con1 株に交換し，Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションして，細胞内と上清中の HCV core を測定した．その結果，NS4A，NS4B，NS5A を Con1 に交換しても細胞内複製活性があり， ウイルス粒子産生も可能だった．また， NS4Aー NS4B を交換すると単独で交換するより高い複製活性やウイルス産生を示した．

[金ソルイ，伊達朋子，加賀美奈子，相崎英樹，脇田隆字]

（２８）NS3 プロテアーゼ領域を Con1 に入れ替えたレプリコンの適応変異の同定

ネオマイシン耐性遺伝子を持つ JFH-1 株のサブジェノミックレプリコンの NS3 プロテアーゼ領域遺伝子を Con1 株に交換した．その合成 RNA を HuH7 細胞にトランスフェクションし， ネオマイシンによる選択培養を行った．形成されたコロニーを解析して，レプリコンゲノムに導入された適応変異を決定した．この適応変異をサブジェノミックレプリコンに挿入すると，コロニー形成能が上昇した．

[金ソルイ，伊達朋子，加賀美奈子，相崎英樹，脇田隆字]

（２９）遺伝子型 3a の患者血清から分離した HCV 株の解析

フランスの肝炎患者の血清中の HCV ゲノムの遺伝子配列を解析し，その HCV 株のコンセンサス配列を決定した．その塩基配列を解析した結果，この HCV 株は遺伝子型 3a に属することが分かった．

[ススムエー，Saeed Mohsan，相崎英樹，脇田隆字]

（３０）HCV 遺伝子型 2a/1b のキメラウイルスを用いた NS5B ポリメラーゼ阻害剤の抗 HCV 作用の検討

遺伝子型 2a の JFH-1 株の NS5B 領域を遺伝子型 1b の配列に置換したキメラウイルスを作製し，NS5B ポリメラーゼ(RdRp)阻害剤の薬剤評価を行った．RdRp の活性部位に作用する PSI-6130 を添加した細胞では JFH-1 とキメラウイルス場合いずれも感受性がみられたが，RdRp パーム部位に作用する JTK-109 を添加した細胞ではキメラウイルスでは抗 HCV 作用がみられたが，JFH-1 ウイルスでは非感受性であった．以上のことから，このキメラウイルスを用いることで日本人に多い遺伝子型 1b に対する RdRp 阻害剤の薬剤評価が可能なことが明らかになった．

[ススムエー，伊達朋子,朝長充則（日本たばこ産業），相崎英樹，脇田隆字]

（３１）抗コアイントラボディによる HCV 増殖抑制のメカニズムの解析

HCV コア蛋白質に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマから，抗体の可変部の遺伝子をクローニングし，シングルドメインまたは scFv を発現するプラスミドを作製した．抗体分子とコア蛋白質との相互作用を免疫沈降法によって確認した．また HCV 感染細胞に抗体分子を発現させると，培養上清中の HCV 感染価が減少する事を確認した．現在,イントラボディによる HCV 産生を抑制させるメカニズムの解明を進めている．

[斎藤憲司，鈴木亮介，松田麻未，鈴木哲朗（浜松医大），相崎英樹，脇田隆字]

（３２）HCV トランスパッケージング型粒子の産生を向上させる変異の同定とその解析

これまでにトランスパッケージング型 HCV 粒子(HCVtcp)の産生系を確立した．構造蛋白質発現組換えアデノウイルスを感染させたパッケージング細胞を用い，HCVtcp の blind-passage を行う事により，NS3

領域に変異を有する増殖の良いトランスパッケージング型粒子が得られた．このNS3の変異は，複数の遺伝子型や株由来の構造蛋白質を用いた場合にも，ウイルスの粒子形成効率を向上させた．
[鈴木亮介，石井孝司，鈴木哲朗（浜松医大），齋藤泉（東大），鐘ヶ江裕美（東大），相崎英樹，脇田隆字]

（３３）HCVの粒子形成に重要なHCV NS2結合宿主因子の同定

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，さらにsiRNAを用いてその発現をノックダウンさせ，ウイルスの産生に影響する宿主因子を選別した．その結果，HCV の粒子形成に重要な役割を果たしていると考えられる膜蛋白質の同定に成功した．
[鈴木亮介，鈴木哲朗（浜松医大），相崎英樹，脇田隆字]

（３４）HCVのライフサイクルにおけるE1，E2糖鎖の役割

E1，E2の糖鎖の機能を解析するため，糖鎖修飾部位アミノ酸に NQ 変異（アスパラギンをグルタミンに置換）を導入しNQ変異型HCVcc の産生量およびその感染性を調べた．粒子産生については 4 ヶ所の変異（E1NQ1，E1NQ2，E2NQ8，E2NQ10）で著しく低下した．感染性については７ヶ所の変異（E1NQ1，E1NQ2，E2NQ3，E2NQ4，E2NQ７，E2NQ8，E2NQ10）で低下した．この結果から糖鎖は細胞侵入だけではなく粒子構造の形成にも重要な機能を担うと言える．
[渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（３５）HCV E2タンパク質の結晶化

ハエ細胞でE2タンパク質E2dTMの作製を試みた．精製したE2dTMは単量体の割合が非常に高く，HCVppの侵入やHCVccの感染について阻害活性を示すことがわかった．E2dTM をゲルろ過にて分画し単量体の E2dTMを得た．単量体E2dTMについても感染阻害活性は有していた．また，糖鎖解析の情報から，HCV の生活環に影響しない糖鎖修飾アミノ酸の NQ 変異型E2dTM-NQ569 についても発現，精製を行い単量体のE2dTMNQ569を得た．現在，E2dTMとE2dTM-NQ569の2種の精製タンパク質について結晶解析を行っている．
[渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（３６）E2タンパク質の中和抗体誘導について

293細胞とハエS2細胞で作成したE2タンパク質はそれぞれ，前者はタンパク質自体ではHCVccに対して感染阻害効果を示さないが後者は阻害効果を示した．つまり，それぞれの E2 タンパク質で立体構造が異なると考えられる．そこで，これらの E2 タンパク質をマウスに免疫して中和抗体の誘導を比較した．その結果，293細胞由来E2タンパク質では中和抗体を誘導したが，ハエS2細胞由来E2タンパク質では誘導されなかった．293細胞由来E2タンパク質は立体構造が正常ではないため中和可能なエピトープが露出していると予想できる．
[渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（３７）HCV E2タンパク質と結合する特殊ペプチドの解析

感染阻害活性を有する単量体 E2dTM を用いて E2 に結合する特殊ペプチドの探索を行った．特殊ペプチドはペプチド分子内のシステイン残基で結合を作り環状の構造を示すことから安定性に優れたペプチドである．また，多様性の高い特殊ペプチドライブラリーを用いることで高親和性の特殊ペプチドを同定できる．スクリーニングから得られた結合能の高い特殊ペプチドの4 個について粗精製を行い，その機能について解析を行った．ウイルス感染への影響を解析したところ，2個についてはHCVcc感染について阻害活性を示した．
[渡邉則幸，脇田隆字]

（３８）HCV-NS5A蛋白に結合しHCV産生に関与する宿主因子の同定

NS5A発現細胞からpull-down法によりNS5Aに結合

する膜蛋白を精製し，プロテオーム解析を施行したところ，未報告蛋白 20 種を含む約 25 種のヒト蛋白が同定された．これらについて HCV レプリコン細胞および HCV 感染細胞を用いて siRNA screening を行ったところ，そのうち 6 種が HCV 産生に関わっており，特に翻訳，複製過程に関与していることが示唆された．

[後藤耕司，山越 智（生物活性物質部），小池和彦（東大消化器内科），鈴木哲朗（浜松医大），相崎英樹，脇田隆字]

（３９）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

脂肪滴周辺膜のプロテオーム解析を行い，45 種類の蛋白を同定し，siRNA によるスクリーニングで，HCV 粒子形成に関与する生体膜蛋白として HSD11 を見出した．現在，HSD11 の肝細胞における生理的な役割について解析を進めている．

[相崎英樹，深澤征義（細胞化学部），花田賢太郎（細胞化学部），本島清人（明治薬科大学),鈴木哲朗（浜松医大),脇田隆字]

（４０）HCV 感染が宿主細胞の脂質代謝に与える影響

HCV 感染による肝脂肪化の原因のひとつとして，超低比重リポ蛋白(VLDL)分泌低下が報告されている．一方，VLDL は HCV の感染性に必須と報告されており，これらの矛盾点を解明するため HCV 感染に伴う肝細胞の脂肪化の分子メカニズムについて，生体での脂質輸送の中心を担っているリポ蛋白に注目し解析した．HCV 感染後，培養上清中の VLDL が増加し，低比重リポ蛋白(LDL)が低下することを見出し，その原因として HCV 感染細胞での VLDL 分解酵素である Hepatic lipase の発現低下を見出した．

[相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），脇田隆字]

（４１）HCV 感染細胞のメタボローム解析

HCV 感染に伴う細胞内代謝の変化を理解するため，代謝物質の網羅的解析（メタボロミクス）を行った．HCV 感染により，TCA 回路，プリン・ピリミジン合成系など蛋白核酸合成等は低下し，ATP，GTP，phosphocreatine 等のエネルギー供与体は減少し，一方解糖系は著名に亢進していた．蛋白核酸合成の低下はウイルス感染に伴う「シャットオフ」現象の可能性があり，ウイルス増殖にエネルギーが消費され，解糖系を亢進させてエネルギー産生を行うというウイルス感染の急性期状態を示している可能性が考えられた．今後，代謝酵素群の mRNA，蛋白レベルの変化，関与する HCV 因子の同定，メカニズムの解明等を目指す．

[松田麻未，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），脇田隆字]

（４２）蛍光標識 HCV 粒子による感染過程の可視化の検討

HCV 感染初期過程を可視化するために，蛍光標識コレステロール NBD-6 を HCV 粒子表面膜に取り込ませた後，ショ糖密度勾配遠心操作で精製し，蛍光標識 HCV 粒子を調製し，氷上でのウイルス吸着処理後，顕微鏡観察したところ，クラスタ状の蛍光シグナルが認められた．HCV 粒子が細胞表面上に広く均一に吸着するのではなく，なんらかのドメインを足場に局所的に吸着することが示唆された．本蛍光標識 HCV 粒子は HCV の細胞への感染過程の解析に有用であることが示唆された．

[山本真民，相崎英樹，鈴木哲朗(浜松医大)，脇田隆字]

（４３）リポプロテインと HCV 粒子の相互作用に粒子表面のコレステロールが及ぼす影響の解析

HCV の感染にはリポプロテインが重要であると報告されている．そこで，HCV 粒子を抗アポリポプロテイン抗体により免疫沈降することでそれらの相互作用を解析した．その結果，VLDL の構成成分である ApoE と HCV 粒子の相互作用に HCV 粒子表面コレステロールが密接に関与することが示唆された．

[山本真民，相崎英樹，鈴木哲朗(浜松医大)，脇田隆字]

（４４）Radial-flow bioreactor(RFB)を用いた，三次元高密度培養法による HCV 感染機構の解析

RFB はヒト肝癌細胞株を三次元高密度培養できる装置である．このシステムを用いてヒト肝癌由来細胞株（FLC-4）に HCV-2a 株（JFH-１株）の感染実験を行ったところ，培養上清中の HCV-RNA 量は感染後５日目に最大１０^{6}copies１ｍｌに達し，以後７週間以上にわたり持続的に検出できた.平皿培養では感染が成立しなかった事より,細胞を三次元培養する事で感染・増殖が成立したと考えられ，現在解析を進めている．

[松本喜弘,相崎英樹,松浦知和（慈恵医大），脇田隆字]

（４５）グリチルリチンの C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析

グリチルリチンは慢性 C 型肝炎患者に用いられているが，その抗 HCV 作用については不明である．そこでグリチルリチンの抗 HCV 作用について検討した．その結果，HCV 生活環の複数ステップにおいて効果が認められ，特に感染性粒子形成おいて強い阻害効果を示した．今後，グリチルリチンの抗 HCV 作用の分子メカニズムの解析を行う．

[松本喜弘,相崎英樹,松浦知和（慈恵医大），和気健二郎（ミノファーゲン製薬），脇田隆字]

（４６）感染性 HCV 産生を変化させる低分子化合物の同定

感染性 HCV 粒子産生系を用いて，感染性 HCV 産生を変化させる低分子化合物のスクリーニングをおこなった．さらに得られたヒット化合物が HCV 生活環のどのステップに関わるかを解析した結果，１）翻訳／ゲノム複製，２）会合，３）会合以降放出まで，に影響するものに分類された．

[渡士幸一，内田奈々子，脇田隆字]

（４７）miRNA 阻害剤を用いた HCV 複製制御の解析

これまでに同定した miRNA 阻害剤は，Huh-7 細胞において AGO2 と miR-122 の結合を解離させることが示された．HCV ゲノム複製を抑制しない誘導体にはこの解離作用が認められなかったことより，この miRNA 阻害剤は AGO2 と miR-122 の関連を解除することにより HCV ゲノム複製を抑制することが示唆された．

[渡士幸一，下遠野邦忠(千葉工業大)，Kuan-Teh Jeang (National Institutes of Health, USA)，脇田隆字]

（４８）halopemide による感染性 HCV 産生抑制機構の解析

化合物スクリーニングにより，感染性 HCV 産生を低下させるものとして halopemide を同定した．この化合物は細胞毒性を引き起こさない濃度において感染性 HCV 産生を約 1/20 以下に減少させた．またこのとき HCV シュードタイプウイルスやレプリコンシステムの活性にはほとんど影響を与えないことより，会合から放出に至る HCV 生活環後期過程を阻害する可能性が考えられた．

[内田奈々子，渡士幸一，脇田隆字]

（４９）肝繊維化における肝星細胞の役割の解析

肝星細胞の活性化が肝線維化と密接に関連していることから，HCV が肝星細胞で複製増殖するかを明らかにすることは重要な課題である．HCV サブゲノム RNA を不死化ヒト肝星細胞に導入し，薬剤（G418)存在化で培養することで，HCV ゲノムが恒常的に複製する細胞株の樹立に成功し，ウイルス複製に伴う細胞外マトリックス関連遺伝子の発現変化について解析した．JFH-1 株はヒト肝星細胞株へのレセプター依存的な感染は認められなかったが，細胞間伝搬様式で肝癌細胞から星細胞へ移行する可能性が示された．

[渡邉則幸，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），脇田隆字]

（５０）HCV 複製複合体における ATP 消費量の検証

HCV レプリコン細胞（genotype 1b, 2a)と肝癌由来細胞株 Huh7 細胞を digitonin で処理し，複製が維持された条件下で複製複合体を含む膜画分を分離した．ATP を添加しその消費量を比較したところ，Huh7 細胞

と比較して，HCV レプリコン細胞の膜画分における ATP の消費量が有為に亢進していた．インターフェロンを処理し複製を阻害したところ，ATP の消費量は低下した．以上の結果から，HCV の複製は多量の ATP を消費していることが示された．

[安東友美，今村博臣(阪大)，鈴木亮介，相崎英樹，鈴木哲朗，脇田隆字]

（５１）HCV 複製細胞における ATP 局在の解析

FRET 技術を利用し生細胞内の ATP レベルを可視化するプローブ(ATeam)を用い，HCV 複製細胞における ATP ダイナミクスを解析した．ATP 濃度と FRET レベルの相関を測定し濃度を算出したところ，細胞質の ATP 濃度は 2 mM から 1 mM に低下していた．一方，複製複合体と考えられる顆粒状の発現部位では，5 ～ 10 mM と大幅に ATP 濃度が亢進していた．HCV 複製細胞では効率的な複製維持のために，細胞質から複製複合体に ATP が流入していると考えられる．

[安東友美，今村博臣(阪大)，鈴木亮介，相崎英樹，鈴木哲朗，脇田隆字]

（５２）HCV ゲノムの多様性の解析

HCV 陽性血清から RNA を抽出し Illumina 社 GAIIx で解析した．既知の HCV ゲノム配列を参照配列としたマッピングと，de novo アセンブル，blast を利用した近縁配列比較を利用し，最も存在比の高い allele の組み合わせであるコンセンサス配列を決定した．続いてコンセンサス配列を参照配列としたマッピングを行い，約 9.6 kb のゲノム上に変異が混在する箇所を 200 数カ所同定した．HCV のウイルスゲノム RNA が確かに多様性を持つことが示された．

[安東友美，相崎英樹，関塚剛史(病原体ゲノム解析研究センター)，黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター)，脇田隆字]

（５３）個々の HCV ゲノム全長配列決定手法の開発

GAIIx 解読結果から変異を含まないプライマーを設計し，多様性を維持したライブラリーを作製した．454 社 GS FLX で解析し，長いリード長を利用して変異の組み合わせを推定した．続いて変異を含むプライマーを設計し PCR で増幅した後，direct sequence を行い変異の組み合わせを全長にわたり確定した．患者血清中に少なくとも３種類の独立したウイルスゲノム RNA 配列が存在することが示された．

[安東友美，相崎英樹，杉山真也（国立国際医療センター)，溝上雅史（国立国際医療センター)，関塚剛史(病原体ゲノム解析研究センター)，黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター)，脇田隆字]

（５４）高純度 HCV 粒子精製方法の構築

細胞培養によって得られた遺伝子組換え C 型肝炎ウイルス粒子（HCVcc）を使用して C 型肝炎ワクチンを開発する上で，細胞培養上清からの高効率な精製方法の構築は重要である．そこで，簡便にスケールアップが可能である限外濾過およびクロマトグラフィー法を用いた HCV 粒子の精製方法を選択し，その精製効率を検討した．

[横川　寛，森山正樹，赤澤大輔（東レ医薬研)，中村紀子（東レ医薬研)，望月英典（東レ医薬研)，石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字]

（５５）HCV 粒子ワクチンの抗 HCV エンベロープ抗体誘導能の評価

Huh-7 細胞で作製した J6/JFH-1 キメラ HCV 粒子を限外濾過およびショ糖密度勾配超遠心法で精製した．UV で不活化した HCV 粒子を，BALB/c マウスに MPL+TDM をアジュバントとして腹腔内投与し，血清を採取して，様々なアイソタイプ抗体の誘導を調べた．

[森山正樹，横川　寛，赤澤大輔(東レ医薬研)，中村紀子（東レ医薬研)，望月英典（東レ医薬研)，石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字]

（５６）HCV 粒子ワクチンに最適なアジュバントの検討

Huh-7 細胞で作製した J6/JFH-1 キメラ HCV 粒子を限外濾過およびショ糖密度勾配超遠心法で精製した．UV

で不活化した HCV 粒子をアジュバントとともに BALB/c マウスに腹腔内投与した．採取した血清を用いて，抗体価および in vitro 中和活性に対する様々なアジュバントの効果を調べた．

[森山正樹，横川 寛，赤澤大輔（東レ医薬研），中村紀子（東レ医薬研），望月英典（東レ医薬研），石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字]

（５７）肝炎情報の収集とデータベース構築及び情報発信

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，肝炎ウイルス感染，病態等を含む国内外の情報等の収集とデータベースの構築，および情報の提供を行って来た．C 型急性肝炎に関する疫学情報は少ない．そこで，感染症法による届出基準に基づき 1999 年 4 月から 2009 年 12 月までの間に提出された本邦における C 型急性肝炎の年別発生状況，年齢別分布，都道府県別報告状況，症状，感染原因・経路等について解析した．急性肝炎の発生動向を全数把握できる制度は他国でも少なく，これらの情報は予防対策，啓発活動に大変有効であると考えられた．

[相崎英樹，田中純子（広島大),脇田隆字]

４．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

（１）HEV の感染性を規定する宿主側因子の探索

PLC/PRF/5 の single cell cloning を行い，HEV の感染増殖が可能な細胞株と不可能な細胞株をそれぞれ複数取得した．感染できない細胞株も，感染性の HEV RNA をトランスフェクションすると HEV 抗原が分泌されることから，細胞内でのウイルス増殖能には問題がないことが示唆された．感染性を規定する宿主側の因子について，プロテオーム解析やアレイ解析の手法で探索を行っている．

[石井孝司，吉崎佐矢香，李　天成，武田直和（阪大微研，日本・タイ感染症共同研究センター），脇田隆字]

（２）HEV の構造蛋白中の感染性を規定する残基の解析

HEV の構造蛋白（ORF2）に変異を導入し，ウイルスの増殖性への影響を調べた．その結果，178 番目のグルタミン酸をアスパラギン酸に変異させた場合に増殖性を失うことが判明した．本変異を持つ ORF2 を発現する組換えバキュロウイルスを作成したところ，蛋白は発現するが粒子は形成されなかった．立体構造モデルに当てはめたところ，本残基は ORF2 が２量体を形成する際に２つの蛋白が相互作用する位置にあり，変異することで２量体が形成できなくなっていることが判明した．

[石井孝司，森 嘉生（ウイルス第３部），吉崎佐矢香，李 天成，武田直和（阪大微研，日本・タイ感染症共同研究センター），脇田隆字]

（３）HEV の構造蛋白 C 端領域の粒子形成に及ぼす役割

ORF2 の C 端 52 アミノ酸は，組換えバキュロウイルスを用いた解析では粒子形成には必須でないことが判明している．本領域を deletion により欠損させた全長クローンから合成された RNA には全く増殖性がなかったが，stop codon の導入により欠損させた全長クローンの RNA を細胞に導入した場合，ORF2 の分泌は観察されたが感染性を示さなかった．感染性がない原因を明らかにするため，粒子形成の有無およびウイルス RNA の粒子中への取り込みについて検討している．

[石井孝司，吉崎佐矢香，李　天成，武田直和（阪大微研，日本・タイ感染症共同研究センター），脇田隆字]

（４）培養細胞における G1 と G4 HEV の増殖

G1 および G4 HEV を PLC/PRF/5 細胞に接種した後，細胞を継代せず，３日ごとに培地の更新によって細胞を維持した．HEV を接種後の七日目から細胞培養上清中に RNA が検出され経時的に増加した．G1 および G4 HEV 構造蛋白は接種７週と４週後の培養上清中からそれぞれ検出され，９週と６週間後にピークに到達し，その

後高いレベルを維持した．この結果から，G1 と G4 HEV も PLC/PRF/5 細胞に感染し増幅することが明らかとなった．また，PLC/PRF/5 細胞で増幅したウイルスをカニクイザルに静脈接種するとウイルスがサル体内で増幅することが確認され，増幅したウイルスが感染性も持つことも明らかになった．HEV 培養系の樹立は HEV 複製のメカニズムを解明するには非常に有用である．

[李　天成，吉崎佐矢香，石井孝司，恒光　裕（動物衛生研究所），脇田隆字，武田直和（阪大微研，日本・タイ感染症共同研究センター）]

（５）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 G1 および G4 HEV を種々の条件で処理した後，PLC/PRF/5 細胞に接種し，経時的に培養上清中のウイルス抗原を ELISA 法で測定して HEV の増殖の有無によりウイルスを失活させる条件を検討した．G3 HEV と同様，ウイルスを失活させる塩素（NaCIO）の有効濃度は 125ppm であった．また，紫外線強度 50μW，30 分間照射によってもウイルスは完全に失活した．HEV はアルコール，クロロホルムに抵抗性を示した．G1 HEV を 65℃，5 分間加熱処理すると HEV は失活したが，これに対して G4 HEV は 65℃，5 分間加熱されても完全に失活しなかった．G4 HEV を完全に失活するには 65℃，10 分間の加熱処理が必要である．

[李　天成，吉崎佐矢香，石井孝司，脇田隆字]

（６）不活化 E 型肝炎ワクチンの検討

培養細胞で増殖した遺伝子型 G1，G3，G4 の HEV を 65℃，10 分間熱処理した後，それぞれをウサギとラットに３回ずつ大腿筋に接種した．接種後，経時的に採血して ELISA 法で HEV に対する抗体を測定し，さらに免疫血清の中和活性を測定した．熱処理によって不活化した各遺伝子型の HEV をウサギ，ラットに接種すると血中に抗 HEV IgG 抗体が誘導された．抗体価は 1:1,600ー25,600 であり，遺伝子型間に抗体価の差が多少見られた．これらの抗体は HEV の PLC/PRF/5 細胞への感染を阻止した．この結果は，不活化 HEV によって誘導された抗体が中和活性を持つことを示唆する．現在サルを用いて不活化ワクチンの検討を継続している．

[李 天成，*網 康至，*須崎百合子，**武田直和，脇田隆字（*動物管理室，**阪大微研，日本・タイ感染症共同研究センター）]

（７）Genotype 5 および 6 HEV 構造蛋白の発現および抗原性の解析

最近，日本に棲息するイノシシから２種類の新しい遺伝子型の HEV が発見されたが，その抗原性や病原性などはまだ解析されていない．本研究では組換えバキュロウイルス発現システムを用いて Genotype 5（G5 HEV）および Genotype 6 HEV（G6 HEV）の構造蛋白を発現し，ウイルス様粒子の形成およびその抗原性の解析を試みた．G5 および G6 HEV ORF2 を RT-PCR 法で増幅し，定法どおり作製した組換えバキュロウイルスを用い Tn5 細胞で構造蛋白を発現させ，ウイルス様粒子（HEV-LPs）を作製した．HEV-LPs をウサギとモルモットに免疫し，抗 HEV-VLPs 抗体を獲得した．HEV-LPs を用いて抗体検出 ELISA 法を，抗体を用いて抗原検出 ELISA 法をそれぞれ樹立し，G5 および G6 HEV の抗原性を従前既知の G1，G3，G4 HEV の抗原性と比較している．

[李 天成，*高橋和明，**片岡紀代，吉崎佐矢香，***網 康至，***須崎百合子，石井孝司，脇田隆字，*三代俊治（*東芝病院，**感染病理部，***動物管理室）]

（８）ラット HEV 構造蛋白の発現および抗原性の解析

最近，ドイツの野生ラットから遺伝子構造上ではヒト HEV と類似するラット HEV が分離されたが，その抗原性や病原性などはまだ解析されていない．本研究では組換えバキュロウイルス発現システムを用いてラット HEV の構造蛋白を発現し，ウイルス様粒子の形成およびその抗原性の解析を行い，ラット HEV 抗体検出法を樹立し，ラット HEV の感染実態を調査する．現在ラット HEV-LPs の作製に成功し，この粒子は既知の G1，G3 G4HEV-LPs との交叉反応を示した．さらに，この粒

子を用いてラット HEV 疫学調査に有用な抗体検出 ELISA 法を樹立した.

[李 天成, *片岡紀代, **網 康至, **須崎百合子, ***武田直和, 脇田隆字 (*感染病理部, **動物管理室, ***阪大微研, 日本・タイ感染症共同研究センター)]

（９）ラット HEV 疫学調査

日本およびベトナムの野生ラットから血清を採取し, ELISA 法を用いて抗ラット HEV IgG および IgM を検査した. さらに IgM 陽性の血清に対して RT-PCR 法によるラット HEV 遺伝子検査を実施した. その結果, ベトナム野生ラットの抗体保有率は 20%であり, HEV RNA 陽性例も存在していることが判明した. 日本野生ラットにおける抗体保有率の調査は進行中である.

[李 天成, *安田俊平, *吉松組子, *有川二郎, 脇田隆字 (*北海道大学)]

（１０）E 型肝炎ウイルスに対するラットの感受性

現在, 多種の野生動物から HEV 抗体が検出されているが, 遺伝子レベルで HEV の感染が確認されたのは極一部の動物に限られている. 最近, ドイツの野生ラットから遺伝子構造上ではヒト HEV と類似するラット HEV が分離されたが, ラット HEV の病原性やヒトへの感染性などの情報はなく, ヒト由来 HEV がラットに感染するかどうかについてもいまだ明らかにされていない. 本実験ではヒト HEV, ラット HEV に対するラットの感受性を感染実験で確認し, 新しい動物モデルを見いだすことを目的として, Genotype 1, 3, 4 HEV およびラット HEV をラット尾静脈内から接種し, 経時的に採血と採便を行った. 血液中のウイルス抗原, 特異抗体, ウイルス遺伝子, ALT/AST および, 便中のウイルス抗原, 抗体, およびウイルス遺伝子を測定しウイルスの感染の有無を評価する. 現在, 感染実験が進行中である.

[李 天成, *網 康至, *須崎百合子, 脇田隆字 (*動物管理室)]

（１１）ラット HEV 粒子形成に必須な領域の同定

ラット HEV ORF2 の N 末端から 100 アミノ酸を欠失させた構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現すると, 直径約 24nm と 35nm の二種類の中空粒子が産生される. アミノ酸配列解析によって, この粒子蛋白は N 末端の 100 個のアミノ酸以外に C 末端から一部のアミノ酸が欠失していた. 構造蛋白の N 末端, あるいは C 末端, さらに両端を欠失した種々のクローンを発現し, VLP 形成に必須な領域の同定を試みている.

[李　天成, 片岡紀代 (感染病理部), 脇田隆字]

（１２）サル由来 HEV の感染性および病原性の検討

最近我々はニホンザルから一株の HEV(M-HEV)を分離したが, M-HEV の感染性や病原性などは明らかにされていない. M-HEV の感染性および病原性を解析するため, このウイルスを二頭のカニクイザルに接種し, サル由来 HEV の感染性や病原性などを検討した. M-HEV が含まれるサル糞便乳剤を 45μm フィルターで濾過した後, 静脈からカニクイザルに接種し, 経時的に採血と採便を行い, ウイルス抗原遺伝子および ALT/AST を経時的に測定してウイルスの感染性を評価した. その結果, 血液および便からウイルス遺伝子が検出され, 血中に抗 HEV IgG, IgM 抗体が検出され, このウイルスが感染性を有することが明らかになった. ただし, 実験過程では ALT/AST の上昇が見られなかったため, 病原性に関してさらに検討する必要がある.

[李 天成, *網 康至, *須崎百合子, 脇田隆字 (*動物管理室)]

（１３）E 型肝炎ウイルスに対するウサギの感受性

最近, ウサギ飼育場から HEV が分離され, HEV がウサギに感染することが示唆された. 本研究では, 実験レベルで HEV がウサギに感染するかどうかを確認し, 新しい動物モデルを見いだすことを目的とした. G1 および G4 HEV をウサギ静脈内に接種し, 経時的に採血と採便を行ない, 血液中のウイルス抗原, 特異抗体, ウイルス遺伝子, ALT/AST, また, 便中のウイルス抗原, 抗体, およびウイルス遺伝子を測定しウイルスの感染の有無を評価した. その結果, 実験ウサギからウ

イルス遺伝子や抗原など検出されず，ALT/AST の上昇も見られなかった．ヒト由来の G1 と G4 HEV はウサギに感染しないことが示唆された．

[李　天成，*網　康至，*須崎百合子，脇田隆字（*動物管理室)]

（１４）ビリオンサイズの HEV 粒子形成と RNA との関連

これまでに我々は，組換えバキュロウイルスを用いて HEV の構造蛋白を発現し，直径 24 nm の小さい粒子と 35nm のビリオンサイズの粒子を作製してきた．ビリオンサイズ粒子には RNA が取り込まれているのに対して，24 nm の中空粒子には RNA が含まれていない．クリオ電子顕微鏡を用いて小さい粒子とビリオンサイズ粒子の三次構造を比較したところ，23 nm の粒子は 60 コピーの構造蛋白から構成される *T=1* であり，ビリオンサイズ粒子は 180 コピーの構造蛋白から構成される *T=7* であることが明らかになった．二種類の粒子の構造蛋白は同じ decameric 構成を持っているため， RNA との結合は HEV のビリオンサイズ粒子の形成に不可欠であることが示唆された．

[李　天成，*Li Xing，武田直和，脇田隆字，宮村達男，*R. Holland Cheng（* University of California，**大阪大学微生物病研究所，日本・タイ感染症共同研究センター）]

（１５）HEV 抗原領域の立体構造

精製した HEV-LPs と中和活性を有する抗 HEV モノクローナル抗体を結合させ，クリオ電子顕微鏡を用いて HEV 抗原領域の立体構造を解析した．抗 HEV モノクローナル抗体は P ドメインとスパイクの側面に結合していることが明らかになった．また，HEV-LPs 結晶構造との分子ドッキングにより，抗 HEV モノクローナル抗体はスパイクの先端に結合していることが示された．ORF2 の C 末端に B 細胞タグを付加したキメラ HEV-LP では，B 細胞タグに対する抗体と抗 HEV モノクローナル抗体の結合部位は異なっていた．外来エピトープが挿入された HEV-LPs を用いた新たな抗原提示システムの開発が期待される．

[*Li Xing，*Joseph C. Wang，李 天成，**武田直和，脇田隆字，宮村達男，*R. Holland Cheng（* University of California，**阪大微研，日本・タイ感染症共同研究センター)]

IV. 腫瘍ウイルスに関する研究

１．新規ヒトポリオーマウイルスに関する研究

（１）メルケル細胞ポリオーマウイルス(MCV)の糖脂質結合解析と感染細胞系の樹立

昨年度，MCV 様粒子と糖脂質との結合を SPR 法及び sucrose floatation assay で解析し，GM3，GD3 へ結合することを示した．今年度は，MCV VP1 から成るレポーター粒子を用いて，ガングリオシド(主に GM3)が正常に合成されているメラノーマ細胞には感染するが，ガングリオシドを合成できない細胞には感染しないことを明らかにした．

[松田麻未，李　天成，中西　章(国立長寿医療研究センター)，片野晴隆(感染病理部)，鈴木亮介，鈴木哲朗(浜松医大)，脇田隆字]

２．ヒトポリオーマウイルス TSV のウイルス様粒子の作製およびその応用

TSV は最近免疫欠損患者の皮膚から分離された新しいポリオーマウイルスであり，毛孔性丘疹などの発症と関連している．しかしながら，現在まで TSV の増殖細胞系は確立されておらず，TSV の生活環，粒子構造などは明らかにされていない．本研究では組換えバキュロウイルス発現システムを用いて TSV のウイルス様粒子（VLP）の作製，精製を試みた．組換えバキュロウイルス感染細胞では TSV　VP1 蛋白が産生され，培養上清に放出された．培養上清から直径約 20nm と 50nm の二種類の球形粒子構造が電子顕微鏡で観察された．この VLP を用いて TSV 抗体検出 ELISA 法を樹立した．今後，我が国の健常人における TSV 抗体保有率を解析し，血清疫学解析を行う予定である．

[李 天成，片岡紀代（感染病理部)，脇田隆字，鈴木哲朗（浜松医大)]

＜別＞　検査業務

第１室：

検定業務

経口生ポリオウイルスワクチン中間段階

F316 検定　神経毒力試験の再試験

経口生ポリオウイルスワクチン小分け品

Lot51 検定

承認前検査

ロタリックス（平成21年12月から）

ロタテック（平成22年4月から）を実施中.

第２室：

平成 22 年度は 8 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５室：

検定業務

乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン　　２件

組換沈降 B 型肝炎ワクチン（酵母由来）　　６件

行政検査

A 型肝炎　11 件

E 型肝炎　４件

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Yamashita Y, Ootsuka Y, Kondo R, Oseto M, Doi M, Miyamoto T, Ueda T, Kondo H, Tanaka T, Wakita T, Katayama K, Takeda N, Oka T. Molecular characterization of Sapovirus detected in a gastroenteritis outbreak at a wedding hall. Journal of Medical Virology. 2010 Apr;82(4): 720-726.

2) Kitajima M, Oka T, Haramoto E, Katayama H, Takeda N, Katayama K, Ohgaki S. Detection and genetic analysis of human sapoviruses in river water in Japan. Applied and Environmental Microbiology. 2010 Apr;76(8): 2461-2467.

3) Iizuka S, Oka T, Tabara K, Omura T, Katayama K, Takeda N, Noda M. Detection of sapoviruses and noroviruses in an outbreak of gastroenteritis linked genetically to shellfish. Journal of Medical Virology. 2010 Jul;82(7): 1247-1254.

4) Ueki Y, Shoji M, Okimura Y, Miyota Y, Masago Y, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Miura T, Sano D, Omura T. Detection of sapovirus in oysters. Microbiology and Immunology 2010 Aug; 54(8): 483-486.

5) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Nakamura H, Mori H, Kanda T, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Takeda N, Sato H, and the Norovirus Surveillance Group of Japan. Divergent Evolution of Norovirus GII/4 by Genome Recombination over 2006-2009 in Japan. Journal of Virology. 2010 Aug; 84(16): 8085-8097.

6) Kitajima M, Oka T, Haramoto E, Takeda N, Katayama K, Katayama H. Seasonal distribution and genetic diversity of genogroups I, II, and IV noroviruses in the Tamagawa River, Japan. Environmental Science & Technology. 2010 Sep; 44(18): 7116-22.

7) Kitajima M, Oka T, Takagi H, Tohya Y, Katayama H, Takeda N, Katayama K. Development and application of a broadly reactive real-time reverse transcription-PCR assay for detection of murine noroviruses. Journal of Virological Methods. 2010 Nov;169(2): 269-273.

8) Bull RA, Hyde J, Mackenzie JM, Hansman GS, Oka T, Takeda N, White PA. Comparison of the replication properties of murine and human calicivirus RNA-dependent RNA polymerases. Virus Genes. 2011 Feb; 42(1):

9) Kitajima M, Oka T, Haramoto E, Phanuwan C, Takeda N, Katayama K, Katayama H. Genetic Diversity of Genogroup IV Noroviruses in Wastewater in Japan. Letters in Applied Microbiology. 2011 Feb; 52(2): 181-184.

10) Oka T, Murakami K, Wakita T, Katayama K.Comparative site-directed mutagenesis in the catalytic amino acid triad in calicivirus proteases. Microbiology and Immunology. 2011.Feb; 55(2): 108-114.

11) Oka T, Takagi H, Tohya Y, Murakami K, Takeda N, Wakita T, Katayama K. Bioluminescence technologies to detect calicivirus protease activity in cell-free system and in infected cells. Antiviral Research. 2011.2.18. Equb ahead of print.

12) Someya Y, Takeda N. Functional Consequences of Mutational Analysis of Norovirus Protease. FEBS Lett. 585(2): 369-374, 2011.

13) Shirato H. Norovirus and Histo-blood Group Antigens. Japanese Journal of Infectious Diseases, 64: 95-103, 2011.

14) Sharp, T. M., Guix, S., Katayama K., Crawford,

S. E., Estes, M. K. Inhibition of Cellular Protein Secretion by Norwalk Virus Nonstructural Protein p22 Requires a Mimic of an Endoplasmic Reticulum Export Signal. PLoS ONE 5(10) e13130, 2010.

15) Arita M, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Wakita T, Shimizu H. Phosphatidylinositol-4 kinase III beta is a target of enviroxime-like compounds for anti-poliovirus activity. J Virol 85 (5): 2364-2372. 2011.

16) Himeda T, Hosomi T, Asif N, Shimizu H, Okuwa T, Muraki Y, Ohara Y: The preparation of an infectious full-length cDNA clone of Saffold virus. Virol J 8: 110, 2011.

17) Sun LM, Zheng HY, Zheng HZ, Guo X, He JF, Guan DW, Kang M, Liu Z, Ke CW, Li JS, Liu L, Guo RN, Yoshida H, Lin JY. An enterovirus 71 epidemic in guangdong province of china, 2008: epidemiological, clinical, and virogenic manifestations. Jpn J Infect Dis 64 (1): 13-18. 2011.

18) Miyamura K, Nishimura Y, Abo M, Wakita T, Shimizu H: Adaptive mutations in the genomes of enterovirus 71 strains following infection of mouse cells expressing human P-selectin glycoprotein ligand-1. J Gen Virol 92(2): 287-291. 2011.

19) Pham NTK, Takanashi S, Tran DN, Abeysekera C, Abeygunawardene A, Khamrin P, Okitsu S, Shimizu H, Mizuguchi M, Ushijima H. Human parechovirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in Sri Lanka. J Clin Microbiol 49(1): 364-366. 2011.

20) Nishimura K, Wakita T, Shimizu H. Tyrosine sulfation of the amino terminus of PSGL-1 is critical for enterovirus 71 infection. PLoS Pathog 6(11): e1001174. 2010.

21) Arita M, Masujima S, Wakita T, Shimizu H. Development of a particle agglutination method with soluble virus receptor for identification of poliovirus. J Clin Microbiol 48(8): 2698-2702. 2010.

22) Miyoshi M, Yoshizumi S, Jinushi M, Ishida S, Okui T, Okano M, Shouji M, Tanaka S, Saigusa J, Mori A, Tanabe H, Yamaguchi R, Nishimura Y, Shimizu H. A case of paralytic poliomyelitis associated with poliovirus vaccine strains in Hokkaido, Japan. Jpn J Infect Dis 63(3):216-217. 2010.

23) Arita M, Takebe Y, Wakita T, Shimizu H. A bifunctional anti-enterovirus compound that inhibits replication and early stage of enterovirus 71 infection. J Gen Virol. 91 (11): 2734-44. 2010.

24) Murayama A, Weng L, Date T, Akazawa D, Tian X, Suzuki T, Kato T, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, Toyoda T: RNA Polymerase Activity and Specific RNA Structure are Required for Efficient HCV Replication in Cultured Cells. PLoS Pathog. 2010 Apr 29; 6(4): e1000885.

25) Takahashi H, Akazawa D, Kato T, Date T, Shirakura M, Nakamura N, Mochizuki H, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Suzuki T, Wakita T. Biological properties of purified recombinant HCV particles with an epitope-tagged envelope. Biochem Biophys Res Commun. 395: 565-71, 2010.

26) Masaki T, Suzuki R, Saeed M, Mori K, Matsuda M, Aizaki H, Ishii K, Maki N, Miyamura T, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Production of infectious hepatitis C virus by using RNA polymerase I-mediated transcription. J Virol 2010;84: 5824-5835.

27) Yamamoto M, Sakamoto N, Nakamura T, Itsui Y, Nakagawa M, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S,

Azuma S, Tsuchiya K, Kato T, Wakita T, Watanabe M. Studies on virus kinetics using infectious fluorescence-tagged hepatitis C virus cell culture. Hepatol Res. 41: 258-69, 2011.

28) Watashi K, Yeung ML, Starost MF, Hosmane RS, Jeang KT. Identification of small molecules that suppress microRNA function and reverse tumorigenesis. J Biol Chem 285(32): 24707-24716, 2010.

29) Watashi K. Alisporivir, a cyclosporin derivative that selectively inhibits cyclophilin, for the treatment of HCV infection. Curr Opin Investig Drugs 11(2): 213-224, 2010.

30) Weng L, Hirata Y, Arai M, Kohara M, Wakita T, Watashi K, Shimotohno K, He Y, Zhong J, Toyoda T. Sphingomyelin activates hepatitis C virus RNA polymerase in a genotype-specific manner. J Virol 84(22): 11761-11770, 2010.

31) Moriishi K, Shoji I, Mori Y, Suzuki R, Suzuki T, Kataoka C, Matsuura Y. Involvement of PA28gamma in the propagation of hepatitis C virus. Hepatology. 52: 411-420, 2010.

32) Watanabe N, Aizaki H, Matsuura T, Kojima S, Wakita T, Suzuki T : Hepatitis C virus RNA replication in human stellate cells regulates gene expression of extracellular matrix-related molecules, Biochem. Biophys. Res. Commun, 407: 135-40,2011.

33) Inoue Y, Aizaki H, Hara H, Matsuda M, Ando T, Shimoji T, Murakami K, Masaki T, Shoji I, Homma S, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. Virology. 410: 38-47, 2011.

34) Hmwe SS, Aizaki H, Date T, Murakami K, Ishii K, Miyamura T, Koike K, Wakita T, Suzuki T. Identification of hepatitis C virus genotype 2a replicon variants with reduced susceptibility to ribavirin. Antiviral Res. 85: 520-4, 2010.

35) Xing L., Wang J.C., Li T.C., Yasutomi Y., Lara J., Khudyakov Y., Schofield D., Emerson S.U., Purcell R.H., Takeda N., Miyamura T., Cheng R.H. Spatial configuration of hepatitis E virus antigenic domain. Journal of Virology, 85: 1117-1124, 2011.

36) Li T.C., Song S. Yang Q., Ishii K., Takeda N., and Wakita T. A cell culture system for hepatitis E virus. Hepatology International. 5: 202, 2011.

37) Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada T., Nakamura N., Tada Y., Noda M. and Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. Hepatology International. 5: 204-205 , 2011.

38) Akazawa D., Morikawa K., Omi N., Takahashi H., Nakamura N., Mochizuki H., Date T., Ishii K., Suzuki T. and Wakita T. Production and Characterization of Hepatitis C Virus Particles from Serum-free Culture. Vaccine, 29: 4821-4828, 2011.

39) Yoshida T., Miyasaka T., Azegami Y., Uchiyama Y., Kasahara H., Ueda H., Nagase H., Fujita S., Ishii K. and Noda M. Investigation of epidemiology and HAV genomes regarding three hepatitis A infections that occurred in April-May, 2010-Nagano. Japanese Journal of Infectious Diseases, 64: 260-261, 2011.

40) Yang L., Kiyohara T., Kanda T., Imazeki F., Fujiwara K., Gauss-Muller V., Ishii K., Wakita T., Yokosuka O. Inhibitory effects on HAV IRES-mediated translation and

replication by a combination of amantadine and interferon-alpha. Virology Journal, 7: 212, 2010.

41) Zhang Y.Y., Zhang B.H., Ishii K. and Liang T. J. A novel function of CD81 in controlling hepatitis C virus replication. Journal of Virology, 84: 3396-3407, 2010.

42) Li T.C., Xing L., Mayazaki N., Simon M.N., Wall J.S., Moore M., Wang C.Y., Takeda N., Wakita T., Miyamura T., Cheng R.H. Structure of hepatitis E virion-sized particle reveals an RNA-dependent viral assembly pathway. Journal of Biological Chemistry, 285: 33175-33183, 2010.

43) Mori K, Ikeda M, Ariumi Y, Dansako H, Wakita T, Kato N. Mechanism of action of ribavirin in a novel hepatitis C virus replication cell system. Virus Res. 2011 157(1): 61-70

44) Ariumi Y, Kuroki M, Maki M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Kato N. The ESCRT system is required for hepatitis C virus production. PLoS One. 2011 Jan 11;6(1): e14517.

45) Hishiki T, Shimizu Y, Tobita R, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Wakita T, Baumert TF, Miyanari Y, Shimotohno K. Infectivity of hepatitis C virus is influenced by association with apolipoprotein E isoforms. J Virol. 2010 84(22): 12048-57.

46) von dem Bussche A, Machida R, Li K, Loevinsohn G, Khander A, Wang J, Wakita T, Wands JR, Li J. Hepatitis C virus NS2 protein triggers endoplasmic reticulum stress and suppresses its own viral replication. J Hepatol. 2010 53(5): 797-804.

47) Mishima K, Sakamoto N, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Kiyohashi K, Kitazume A, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Wakita T, Watanabe M. Cell culture and in vivo analyses of cytopathic hepatitis C virus mutants. Virology. 2010 405(2): 361-9.

48) Podevin P, Carpentier A, Pène V, Aoudjehane L, Carrière M, Zaïdi S, Hernandez C, Calle V, Méritet JF, Scatton O, Dreux M, Cosset FL, Wakita T, Bartenschlager R, Demignot S, Conti F, Rosenberg AR, Calmus Y. Production of infectious hepatitis C virus in primary cultures of human adult hepatocytes. Gastroenterology. 2010 139(4): 1355-64.

49) Kushima Y, Wakita T, Hijikata M. A disulfide-bonded dimer of the core protein of hepatitis C virus is important for virus-like particle production. J Virol. 2010 84(18): 9118-27.

50) Banaudha K, Orenstein JM, Korolnek T, St Laurent GC 3rd, Wakita T, Kumar A.Primary hepatocyte culture supports hepatitis C virus replication: a model for infection-associated hepatocarcinogenesis. Hepatology. 2010 51(6): 1922-32.

51) Shirasaki T, Honda M, Mizuno H, Shimakami T, Okada H, Sakai Y, Murakami S, Wakita T, Kaneko S. La protein required for internal ribosome entry site-directed translation is a potential therapeutic target for hepatitis C virus replication. J Infect Dis. 2010 202(1): 75-85.

52) Arnaud N, Dabo S, Maillard P, Budkowska A, Kalliampakou KI, Mavromara P, Garcin D, Hugon J, Gatignol A, Akazawa D, Wakita T, Meurs EF. Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation. PLoS One. 2010 5(5): e10575.

2. 和文発表

1) 片山和彦, 岡智一郎, 高木弘隆: ノロウイルス研究の現状とマウスノロウイルス研究の有用性. 日本実験動物協会誌「LABIO21」, No. 39, 20-26, 2010.

2) 片山和彦: ノロウイルス感染症研究の現状と課題.「食品衛生研究」平成22年10月5日発行, vol 60, 15-26, 2010.

3) 3)岡智一郎, 片山和彦, 小林慎一, 飯髙順子, 野田 衛: 愛知県と川崎市の食中毒事例から検出されたサポウイルス. GI/2の塩基配列の比較“ 病原体微生物情報(IASR) Vol. 31, 13-14: 2010年11月号.

4) 岡智一郎: ノロウイルス, サポウイルス「臨床検査ガイド 2011-2012」, 758-759. 文光堂.

5) 染谷雄一: ノロウイルスプロテアーゼの構造と機能, 化学療法の領域5月号 26(5): 835-841, 2010, 医薬ジャーナル社.

6) 高山直秀, 崎山 弘, 清水博之, 宮村達男, 岡部信彦 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積接種率 - 2008年度調査結果-. 小児科臨床 63: 1127-1134. 2010.

7) 清水博之: 世界ポリオ根絶の失われた10年とポリオ根絶計画のこれから. ウイルス 60: 49-58, 2010.

8) 藤本嗣人, 花岡 希, 安井良則, 小長谷昌未, 岡部信彦, 高崎智彦, 清水博之: エンテロウイルス遺伝子が検出されEV71抗体上昇が確認された急性脳炎(辺縁系脳炎)症例. 病原微生物検出情報 31: 235, 2010.

9) 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小原真弓, 小渕正次, 倉田毅, 滝澤剛則, 川越久美子, 中村純香, 清水博之, 吉田 弘: 2010年に富山県で検出されたエコーウイルス30型の遺伝子解析. 病原微生物検出情報 31: 298-300, 2010.

10) 清水博之: 不活化ポリオワクチン. 小児内科 42: 1949-1952, 2010.

11) 清水博之: ポリオウイルス. 日本臨牀 68: 422-426, 2010.

12) 清水博之: エンテロウイルス. 日本臨牀 68: 427-430, 2010.

13) 清水博之,「急性灰白髄炎(ポリオ)」の項を担当, 分子予防環境医学研究会編, 分子予防環境医学, 改訂版 201-209, 東京, 本の泉社, 2010.

14) 清水博之,「急性灰白髄炎とポリオ様疾患」の項を担当, 家庭医学大全科, 六訂版 2632-2633, 東京, 法研, 2010.

15) 政木隆博, 松永智子, 高橋宏隆, 加藤孝宣, 遠藤弥重太, 脇田隆字, 澤崎達也, 鈴木哲朗: HCV NS5A蛋白質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. 消化器内科 51: 627-631, 2010.

16) 鈴木哲朗, 原 弘道, 相崎英樹, 鈴木亮介, 政木隆博: C型肝炎ウイルスの複製と粒子形成. ウイルス 60: 87-92, 2010.

17) 渡士幸一: 解明されたシクロスポリンの新規作用 - 抗HCV作用, 今日の移植 23(6): 716-721, 2010.

18) 鈴木哲朗, 原 弘道, 相崎英樹, 鈴木亮介, 政木隆博: C型肝炎ウイルスの複製と粒子形成, ウイルス 60:87-92, 2010.

19) 相崎英樹, 鈴木哲朗, 脇田隆字: HCV生活環における脂質の役割, 日本臨床 69(4): 59-63,2011.

20) 道免和文, 小野原伸也, 田中博文, 春野政虎, 下田慎治, 姜 貞憲, 石井孝司, 高橋和明: 2010年 A 型肝炎ウイルス福岡株に対する分子疫学的検討-1999年ボルネオ(カリマンタン)島由来株との近縁性. 肝臓 印刷中, 2011.

21) 石井孝司: A型肝炎ウイルスのウイルス学的特徴, 日本臨床 69:559-565, 2011.

22) 石井孝司, 李 天成: E型肝炎. 公衆衛生, 75: 43-46 , 2011.

23) 清原知子, 石井孝司: ファクトシート (案) 1. A型肝炎. 食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書 : 社団法人 畜産技術協会, 255-259, 2010.3.

24) 清原知子, 石井孝司: A 型肝炎-ウイルス感染に

よる食中毒- 婦人之友 8月号: 110-114, 2010.
25) 清原知子, 石井孝司: 新時代のワクチン戦略について考える. A型肝炎　臨床検査, 54: 1383-1391, 2010.
26) 清原知子, 石井孝司, 脇田隆字, 中村奈緒美, 島田智恵, 中島一敏, 多田有希: 我が国における A 型肝炎の血清疫学. IASR 31(10): 3-4, 2010.
27) 石井孝司, 清原知子, 吉崎佐矢香, 脇田隆字, 島田智恵, 中村奈緒美, 多田有希, 野田　衛, 三上稔之, 齊藤哲也, 山崎彰美, 清水英明, 宇宿秀三, 長岡宏美, 吉田徹也, 岡村雄一郎, 小原真弓, 柴田伸一郎, 楠原　一, 近野真由美, 入谷展弘, 奴久妻聡一, 川西伸也, 榊原啓子, 槙本義正, 岡本玲子, 世良暢之, 川本大輔, 増本久人, 上村晃秀, 佐藤知子: 2010 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析. IASR 31(10): 4-6, 2010.
28) 野田　衛, 石井孝司, 片山和彦, 多田有希, 中島一敏, 島田智恵, 中村奈緒美, 岡部信彦, 田中　誠, 熊谷優子: 自治体間における A 型肝炎ウイルスの分子的, 疫学的データの共有体制（V-nus net Japan）の構築：その目的と意義. IASR 31(10): 6-8, 2010.
29) 李　天成: E 型肝炎ウイルスマーカー. 肝胆膵 60：661-667, 2010.
30) 李　天成: E 型肝炎. 臨床検査　増刊号　54：1453-1458 , 2010.
31) 脇田隆字: 期待されているこれからのワクチン：C 型肝炎 臨床検査 2010 54(11): 1447-1452.
32) 脇田隆字: HCV の増殖メカニズムの解明 最新医学 2010 65(9): 1870-1875.
33) 脇田隆字、村山麻子: C 型肝炎ウイルスの複製機構 Medical Science Digest 2010 36(8): 912-915.
34) 脇田隆字: HCV 培養系 Medical Practice 2010 27(1): 111-112.

3.その他

1) Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status, Japan: WHO report, 2010.
2) 国立感染症研究所: ポリオワクチンに関するファクトシート,2010 年 7 月 7 日版 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000000bx23-att/2r9852000000bybl.pdf), 2011.
3) 厚生科学審議会感染症分科会予防接種部会ワクチン評価に関する小委員会, ポリオワクチン作業チーム: ポリオワクチン作業チーム報告書 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000014wdd-att/2r98520000016rr8.pdf), 2011.

II. 学 会 発 表

国際学会

1) Oka T, Yokoyama M, Takagi H, Tohya Y, Motomura K, Murakami K, Wakita T, Sato H, Katayama K: Antiviral development. Fourth International Conference on Caliciviruses. State-of-the Art. October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile.
2) Murakami K, Oka T, Wakita T, Matsuda T, Katayama K: Analysis of mechanism of human norovirus binding to Caco-2 cells. Fourth International Conference on Caliciviruses. October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile.
3) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Sato H, and Norovirus Surveillance Group of Japan: Evolution of norovirus GII/4 in Japan by genome recombination. Fourth International Conference on Caliciviruses. October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile.
4) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kanda T, Sato H: Structural insight into substrate recognition based on P4 and P1 residues by sapovirus 3C-like protease. Fourth International Conference on Caliciviruses. October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile.

5) Kitajima M, Oka T, Haramoto E, Takeda N, Katayama K, Katayama H: Genetic diversity of human noroviruses and sapoviruses in river water, Japan. Fourth International Conference on Caliciviruses. October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile.

6) Hnasman, G.S. Chen, L. Georgeiv, I. McLellan, J.S. Katayama, K. Kwong, P.D.: Crystal structures of a rare norovirus P-Domain in complex with Histo-Blood Group antigens. 4th International Conference on Calicivieruses. Santa Cruz, Chile, Oct 16-19, 2010.

7) Harada S, Nishimura K, Kiyota N, Matsumoto K, Yahiro S, Okada M, Katayama K, Oka T: Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenterlitis and genetic analysis of sapovirus strains between 2002 and 2009 in Kumamoto Prefecture , Japan. 16th Federation of Asian Veterinary Associations Congress 2011 February 16-18, 2011. Cebu City, Phillippines.

8) Shirato H and Narimatsu H: Noroviruses distinguish type 1 and type 2 histo-blood group antigens for binding. 1st Asia Pacific Workshop on Neurovirology Seoul 2010. Seoul National University in Seoul, 2010. 7.

9) Katayama K: The newly identified human Norovirus strain HK299 may be recombinant between genogroups. 44th Joint Working Conference on Viral Diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program, Centennial Hall, Hokkaido University, Sapporo Japan. June 28-30, 2010.

10) Nishimura Y, Wakita T, Shimizu H: Tyrosine sulfation of the amino terminus of PSGL-1 is critical for enterovirus 71 infection. 16th Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses. Scotland, 2010.9.11-16.

11) Asif N, Hosomi T, Nishimura Y, Umami RN, Kobayashi S, Zaidi S, Shimizu H: Human Cardioviruses (Saffold viruses): Epidemiology of different genotypes and growth in cell culture, 16th Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses. Scotland, 2010.9.11-16.

12) Mistry N, Inoue H, Storm R, Shimizu H, Koike S, Arnberg N: Coxsackievirus A24 variant uses O-linked glycoconjugates with terminal sialic acid as cellular receptors on human ocular cells. 16th Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses. Scotland, 2010.9.11-16.

13) Nishimura Y, Miyamura K, Shimizu H: Characterization of cellular and viral factors involved in PSGL-1-dependent viral replication of enterovirus 71. EV71 workshop at National Cheng Kung University, Taiwan, 2010. 10. 9

14) Nishimura Y, Miyamura K, Shimizu H: Involvement of host and viral factors for interaction of PSGL-1 with enterovirus 71. The 2nd International Vaccine Symposium、Taiwan, 2010, 10. 7-8.

15) Murayama A, Date T, Kato T, Wakita T: An adaptive mutation in NS4A region enhances Hepatitis C Virus replication and virus production in cell culture. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010. 9.10-14.

16) Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Kato T, Endo Y, Sawasaki T, Wakita T, Suzuki T: Identification of novel hepatitis C virus NS5A-associated protein kinases. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus

and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010. 9.10-14.

17) Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Kato T, Watanabe H, Wakita T: Effects of NS5A replacement in HCV JFH-1 genome on viral replication and infectious particle production in cell culture. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010. 9.10-14.

18) Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Tomonaga M, Masaki T, Kato T, Wakita T, Suzuki T: Role of ERAD pathway in quality control of HCV envelope proteins and maturation of the viral particles. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

19) Watanabe N, Murayama A, Saeed M, Date T, Kato T, Wakita T. Analysis of envelope N-glycans required for HCV lifecycle. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

20) Watashi K, Shimotohno K, Jeang KT, Wakita T: Inhibition of HCV replication by small molecule that suppresses microRNA pathway. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

21) Suzuki R, Akazawa D, Ishii K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T: Efficient production of trans-complemented hepatitis C virus particles: Use for study of viral entry process. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010. 9. 10-14.

22) Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Tomonaga M, Masaki T, Kato T, Wakita T, Suzuki T: Role of ERAD pathway in quality control of HCV envelope proteins and maturation of the viral particles. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010. 9. 10-14.

23) Moriishi K, Shoji I, Mori Y, Suzuki R, Suzuki T, Kataoka C, Matsuura Y: Involvement of PA28gamma in the propagation of HCV. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

24) Watanabe N, Murayama A, Saeed M, Date T, Kato T, Wakita T: Analysis of envelope N-glycans required for HCV lifecycle, 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

25) Ando T, Imamura H, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T, Suzuki T：Real-time visualization of the ATP level in HCV replicating cells. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

26) Moriyama M, Akazawa D, Yokokawa H, Nishimura K, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Kato T, Ishii K and Wakita T: The exploration of effective adjuvant for HCV vaccine to induce neutralizing immunoglobulin in mice. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

27) Suzuki R, Akazawa D, Ishii K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T: Use of *trans*-complemented hepatitis C virus particles for study of viral entry process. 9th International Symposium on Positive-strand RNA Viruses. Atlanta, USA, 2010.5.

28) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Shimada C, Nakamura N, Tada Y, Noda M. Wakita T: Epidemiological and genetic analysis of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Bangkok, Thailand, 2011.2.17-20.

29) Li TC, Song S, Yang Q, Ishii K, Takeda N Wakita T: The stability and inactivation of hepatitis E virus grown in cell culture. Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Bangkok, Thailand, 2011.2.17-20.

30) Ishii K: Surveillance of hepatitis A virus in Japan. Research Forum for the Tohoku-RITM Collaborating Research Center for Emerging and Reemerging Infectious Diseases. Manila, Philippines, 2010.12.10.

31) Li TC: Recombinant Baculovirus Expression System for Vaccine Development. 2010 Wuhan International Symposium on Vaccines - Key Progress in Vaccine Technology. Wuhan, China, 2010.10.12-14.

32) Yokokawa H, Akazawa D, Moriyama M, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Kato T, Ishii K Wakita T: Development of a purification method of highly purified HCV virion for industrial production. 17th International Meeting on HCV and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

33) Moriyama M, Akazawa D, Yokokawa H, Nishimura K, Nakamura N, Mochizuki H, Suzuki T, Kato T, Ishii K Wakita T: The exploration of effective adjuvant for HCV vaccine to induce neutralizing immunoglobulin in mice. 17th International Meeting on HCV and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

34) Suzuki R, Akazawa D, Ishii K, Matsuura Y, Wakita T Suzuki T: Efficient production of trans-complemented hepatitis C virus particles: Use for study of viral entry process. 17th International Meeting on HCV and Related Viruses, Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

35) Li TC: Vaccine Development Employing Using Virus-like Particles and Cell Culture System. United-States Japan Cooperative Medical Science Program, Workshop on Enteric Viral Hepatitis A and E in Asia. Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

36) Ishii K: Surveillance of HAV infection in Japan. United-States Japan Cooperative Medical Science Program, Workshop on Enteric Viral Hepatitis A and E in Asia. Yokohama, Japan, 2010.9.10-14.

37) Li TC, Ishii K, Miyamura T, Takeda N, Wakita T: Establish a cell culture system for hepatitis E virus. The Eighth China-Japan International Conference of Virology. Harbin, China, 2010.6.4-7.

38) Li TC, Liu R, Yoshizaki S, Ishii K, Miyamura T, Takeda N, Wakita T: The stability and inactivation of hepatitis E virus grown in cell culture. 9th International Symposium on Positive-Strand RNA Viruses, Atlanta, USA, 2010.5.17-22.

39) Suzuki R, Akazawa D, Ishii K, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T: Use of trans-complemented hepatitis C virus particles for study of viral entry process. 9th International Symposium on Positive-Strand RNA Viruses, Atlanta, USA, 2010.5.17-22.

40) Wakita T: HCV replication and persistent infection, Cold Spring Harbor Asia Conference on Emerging Infectious Diseases: Emerging Viruses and the Control of Viruses, Cold

Spring Harbor Asia Conference, Suzhou Dushu Lake Conference Center, Suzhou, China, 2010.10.1822.

41) Wakita T: HCV replication in vitro. The 7th Single Topic Conference: Hepatitis C Virus, Asia Pacific Association of the Study of the Liver (APASL), Chiba, Japan, 2010.12.17-18.

2. 国内学会

1) 浅野有香, 村上耕介, 鈴木さやか, 灘野大太, 宇理須厚雄, 岡智一郎, 片山和彦, 松田　幹「母乳に含まれるヒトノロウイルス感染抑制因子の探索」日本農芸化学会中部支部第 159 回例会 2010.10,30.　名古屋.

2) 白土東子：ノロウイルスによる血液型抗原の識別. 第5回糖鎖産業技術フォーラム, 2010.9.

3) 白土東子,　伊藤浩美,　久保田智巳：糖鎖ライブラリーとそれを利用したノロウイルスの糖鎖認識機構の解析. 第 8 回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, 2010.11.

4) 岡智一郎:「カリシウイルスの新知見」ウイルス性下痢症研究会第２２ 回学術集会　2010.11.6. 徳島.

5) 岡智一郎, 高木弘隆, 遠矢幸伸, 村上耕介, 脇田隆字, 片山和彦: ネコカリシウイルスの新規リバースジェネティクス系の構築. 第５８回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

6) 北島正章, 岡智一郎, 原本英司, 武田直和, 片山和彦, 片山浩之: 国内の下水および河川水からの GenogroupIV ノロウイルスの検出および遺伝子解析. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

7) 村上耕介, 岡智一郎, 脇田隆字, 松田　幹, 片山和彦: ノロウイルスのヒト腸管由来細胞への結合様式の解析. 第58回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

8) 斎藤博之, 東方美保, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 野田　衛: 食品検体のノロウイルス検査のためのパンソルビン・トラップ法の開発と拡大適用. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

9) 原田誠也, 西村浩一, 岡智一郎, 片山和彦:「熊本県における感染性胃腸炎の起因病原体調査とサポウイルス genogroup の年次変化」第58回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

10) 高木弘隆, 北島正章, 遠矢幸伸, 岡智一郎, 片山浩之, 片山和彦, 杉山和良: マウスノロウイルス(MNV)のマウス由来培養細胞での増殖性についての検討. 第58回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

11) 野田　衛, 入谷展弘, 中田恵子, 斎藤博之, 田中忍, 西川　篤, 北堀吉映, 三谷亜里子, 三瀬敬治, 山下和予, 岡智一郎, 片山和彦, 岡部信彦: 関西で同時多発的に発生したノロウイルス食中毒事例の解析. 第58回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

12) 北元憲利, 岡智一郎, 片山和彦, Hansman GS, 三好龍也, 田中智之: サポウイルスに対する単クローン抗体の解析. 第58回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

13) 斎藤博之, 東方美保, 岡智一郎, 片山和彦, 田中智之, 野田　衛: 食品検体のノロウイルス検査を目的としたパンソルビン・トラップ法の開発. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.7-9, 徳島.

14) 染谷雄一, 白土東子, 脇田隆字: ノロウイルス様中空粒子アセンブリに影響を与えるドメイン間相互作用, 第58回日本ウイルス学会学術集会, 徳島, 2010.11.7-9.

15) 白土東子, 熊谷安希子, 伊藤浩美, 古川早苗, 成松久, 石井孝司, 染谷雄一, 脇田隆字, 久保田智巳: X線結晶構造解析によるノロウイルスと血液型抗原の結合解析, 第58回日本ウイルス学会学術集会, 徳島, 2010.11.7-9.

16) 守口匡子, 白土東子, 染谷雄一, 奥野良信, 黒澤良和, 谷口孝喜: ファージディスプレイ法に

よる，ヒト型抗ノロウイルス抗体の単離，第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

17) 下池貴志，野島清子，脇田隆字，岡田義昭：血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

18) 久保田智巳，熊谷安希子，古川早苗，伊藤浩美，成松久，石井孝司，染谷雄一，脇田隆字，白土東子：ノロウイルスによるフコース認識の分子基盤，第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会，兵庫，2010.12.7-10.

19) 守口匡子，白土東子，染谷雄一，奥野良信，黒澤良和，谷口孝喜：ファージディスプレイ法による広域遺伝子型反応性ヒト型抗ノロウイルス抗体の単離．日本薬学会第 131 年会，静岡，2011.3.29-31.

20) 野田　衛，片山和彦，石井孝司，岡智一郎，多田有希，山下和予，三瀬敬治，地方衛生研究所，中村奈緒美，島田智恵，岡部信彦：塩基配列情報共有化の食品媒介ウイルス感染症の疫学調査への応用．第３１回日本食品微生物学会総会，2010.11.11-12，滋賀．

21) 村上耕介，岡智一郎，脇田隆字，松田　幹，片山和彦：ノロウイルスのヒト腸管由来培養細胞への結合様式．第３３回日本分子生物学会年会・第８３回日本生化学会大会合同大会，2010.12.7-10，神戸．

22) 岡智一郎，横山　勝，高木弘隆，本村和嗣，村上耕介，佐藤裕徳，脇田隆字，片山和彦：カリシウイルスプロテアーゼ catalytic triad 形成残基のポリプロテイン切断活性への重要性．第３３回日本分子生物学会年会・第８３回日本生化学会大会合同大会，2010.12.7-10，神戸．

23) 片山和彦：今，問題の食中毒．日本獣医公衆衛生学会　シンポジウム，2010.1.31，宮崎市．

24) 岡智一郎，高木弘隆，脇田隆字，片山和彦：ルシフェラーゼセンサーテクノロジーを用いたネコカリシウイルス感染検出系の構築．日本薬学会第 130 年会，2010.3.28-30，岡山．

25) 片山和彦：感染症の動物モデルを考える．マウスノロウイルスとヒトノロウイルス．第 57 回日本実験動物学会シンポジウム，2010.5.12，京都市．

26) 片山和彦：第 31 回衛生微生物技術協議会，2010.5.25-26，鹿児島市．

27) 吉田弘：エンテロウイルス感染症の遺伝子診断．地方衛生研究所全国協議会 第２５回関東甲信静支部ウイルス研究部会，横浜，2010.10 月

28) 吉田弘：リファレンス活動を通じた地方衛生研究所との連携について．学友会シンポジウム，東京，2010.11.18

29) 有田峰太郎，増島操治、脇田隆字，清水博之：ポリオウイルス同定のための新規ゼラチン粒子凝集法の開発．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

30) 有田峰太郎，武部豊、脇田隆字，清水博之：２つの作用点を持つ新規抗エンテロウイルス化合物の解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

31) 西村順裕，脇田隆字，清水博之：コクサッキーA16 型ウイルスの白血球系細胞株における増殖の解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

32) 吾郷昌信，山口顕徳，平野学，吉川亮，西村順裕，清水博之：ヒトライノウイルスの高感度検出同定法．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

33) 町田早苗，西村順裕，清水博之：無菌性髄膜炎を疑う熱性痙攣小児患者からのエンテロウイルスの検出．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

34) 村山麻子，伊達朋子，加藤孝宣，脇田隆字：C 型肝炎ウイルス J6CF 株の培養細胞での増殖に必要なウイルス遺伝子変異の同定．第 58 回 日本

ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

35） 政木隆博，松永智子，高橋宏隆，加藤孝宣，遠藤弥重太，澤崎達也，脇田隆字，鈴木哲朗：HCV NS5A 蛋白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同定と機能解析．第 58 回 日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

36） 加藤孝宣，岡本有加，村山麻子，政木隆博，脇田隆字：HCV の増殖適応変異とその意義．第 58 回 日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

37） 加藤孝宣，Saeed Mohsan，脇田隆字：C 型肝炎ウイルス JFH-1 株患者血清のチンパンジーへの感染実験．第 58 回 日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

38） 岡本有加，政木隆博，村山麻子，加藤孝宣，渡邉治雄，脇田隆字：HCV JFH-1 株における NS5A の置換がウイルス増殖に及ぼす影響の解析．第 58 回 日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

39） Saeed Mohsan，鈴木亮介，渡邉則幸，政木隆博，加藤孝宣，脇田隆字，鈴木哲朗：Role of ERAD pathway in life cycle of hepatitis C virus. 第 58 回 日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

40） 渡邉則幸，村山麻子，Saeed Mohsan，伊達朋子，加藤孝宣，相崎英樹，脇田隆字：HCV エンベロープタンパク質に付加される N 型糖鎖の機能解析．第 58 回 日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.7-9.

41） 政木隆博，松永智子，高橋宏隆，加藤孝宣，宮村達男，遠藤弥重太，澤崎達也，脇田隆字，鈴木哲朗：HCV NS5A 蛋白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．第 46 回日本肝臓学会総会，山形，2010.5.27-28.

42） 加藤孝宣，脇田隆字：C 型肝炎ウイルス JFH-1 株の変異と生体内および培養細胞内での増殖能．第 46 回日本肝臓学会総会，山形，2010.5.27-28.

43） 渡士幸一，下遠野邦忠，Kuan-Teh Jeang，脇田隆字：マイクロ RNA 経路の C 型肝炎ウイルス複製における意義とその創薬標的としての役割，第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

44） 山本真民，相崎英樹，脇田隆字，鈴木哲朗：C 型肝炎ウイルス感染における粒子表面コレステロールの役割．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

45） 鈴木亮介，斎藤憲司，赤澤大輔，石井孝司，松浦善治（阪大），脇田隆字，鈴木哲朗（浜松医大）：C 型肝炎ウイルスの trans-packaging 型粒子を用いた感染機構の解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

46） 渡邉則幸，村山麻子，Saeed Mohsan，伊達朋子，加藤孝宣，相崎英樹，脇田隆字：HCV エンベロープタンパク質に付加される N 型糖鎖の機能解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

47） Saeed Mohsan，鈴木亮介，渡邊則幸，政木隆博，加藤孝宣，脇田隆字，鈴木哲朗：Role of ERAD pathway in life cycle of hepatitis C virus. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

48） 安東友美，今村博臣，鈴木亮介，脇田隆字，鈴木哲朗：C 型肝炎ウイルス複製複合体における ATP 制御の可視化と機能解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，徳島，2010.11.

49） 鈴木亮介，相崎英樹，脇田隆字，鈴木哲朗：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およびウイルス粒子形成への関与．第 33 回日本分子生物学会年会，神戸，2010.12.

50） 松田麻未，李　天成，中西　章，片野晴隆，中村智之，鈴木亮介，畑中研一，脇田隆字，鈴木哲朗：ヒトポリオーマウイルスの糖脂質結合解

析とメルケル細胞ポリオーマウイルス感染細胞系の樹立. 第33回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010.12.

51) 森山正樹, 赤澤大輔, 横川　寛, 中村紀子, 鈴木哲朗, 石井孝司, 脇田隆字: 培養細胞由来HCV粒子ワクチンの免疫誘導能と最適アジュバントの検討. 第14回日本ワクチン学会学術集会, 東京, 2010.12.11-12.

52) 渡士幸一: シクロスポリンの抗 HCV 作用, CPCF2010, 名古屋, 2010.7.

53) 相崎英樹, 後藤耕司, 松本喜弘, 山本真民, 佐藤慈子, 高橋信弘, 本島清人, 深澤征義, 花田賢太郎, 松浦善治, 宮村達男, 脇田隆字, 鈴木哲朗: HCV 粒子形成に関与する脂肪滴周辺膜蛋白の機能解析, 第 46 回日本肝臓学会総会, 2010.5.

54) 清原知子, 石井孝司, 脇田隆字: B型肝炎ワクチンの in vitro 試験：Inhibition Assay, 第１４回日本ワクチン学会, 2010.12, 東京.

55) 森山正樹, 赤澤大輔, 横川　寛, 中村紀子, 鈴木哲朗, 石井孝司, 脇田隆字：培養細胞由来HCV粒子ワクチンの免疫誘導能と最適アジュバントの検討, 第14回日本ワクチン学会, 2010.12, 東京.

56) 石井孝司, 清原知子, 吉崎佐矢香, 脇田隆字, 島田智恵, 中村奈緒美, 多田有希, 野田 衛: 2010年に日本で多発したA型肝炎の分子疫学的解析. 第58回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

57) 石井孝司, 吉崎佐矢香, 杉山奈央, 加藤孝宣, 李天成, 武田直和, 脇田隆字: E型肝炎ウイルスの感染性を規定する宿主側因子の探索. 第58回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

58) 白土東子, 熊谷安希子, 伊藤浩美, 古川早苗, 成松　久, 石井孝司, 染谷雄一, 脇田隆字, 久保田智巳: X線結晶構造解析によるノロウイルスと血液型抗原の結合解析. 第58回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

59) 鈴木亮介, 斎藤憲司, 赤澤大輔, 石井孝司, 松浦善治, 脇田隆字, 鈴木哲朗: C型肝炎ウイルスの *trans*-packaging 型粒子を用いた感染機構の解析. 第 58 回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

60) 李　天成, 方　苓, 片岡紀代, 宮村達男, 脇田隆字: 日本のブタから分離したブタエンテロウイルス 8 の解析. 第 58 回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

61) 李　天成, 方　苓, 網　康至, 須崎百合子, 宮村達男, 武田直和, 脇田隆字: 不活化 E 型肝炎ワクチンの検討, 第 58 回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

62) 李　天成, 方　苓, 王　澤均, 宋　士利, 片岡紀代, 鈴木哲朗, 脇田隆字: ヒュマンボカウイルス様粒子の作製およびその応用, 第58回日本ウイルス学会, 2010.11, 徳島.

63) 李　天成, 方　苓, 片岡紀代, 宮村達男, 脇田隆字: 日本のブタから分離したブタエンテロウイルス8の解析, 第150回日本獣医会学術集会. 2010.9, 帯広.

III. その他

1) 村上耕介: ノロウイルスの細胞への結合様式の解析. 第 1 回浜松感染症セミナー, 静岡, 2011.2.

2) 片山和彦: 下痢症ウイルス　ノロウイルス. 希少感染症研修会, 2010.2.25, 感染研戸山庁舎共用第一会議室.

3) 岡智一郎: 下痢症ウイルス　サポウイルス. 希少感染症研修会, 2010.2.25, 感染研戸山庁舎共用第一会議室.

4) 片山和彦: ノロウイルス感染症. 北海道清心会総会平成22年度研修会, 2010.6.27, 札幌市.

5) 脇田隆字: C型肝炎ウイルスの複製増殖および持続感染機構. 第23回肝臓フォーラム（東部), 日本工業倶楽部会館, 2010,6.5.

6) 脇田隆字: C型肝炎ウイルスの複製増殖および持続感染機構の解析. 第9回KMU研究推進セミナー, 北陸がんプ

ロ教育セミナー，金沢医科大学病院，2010.6.18.

7) 脇田隆字：C型肝炎ウイルスの複製増殖および持続感染機構の研究．第17回ソニックフォーラム，ソニックシティビル，2010.11.25.

8) 脇田隆字：C型肝炎ウイルスの培養細胞でのウイルス複製と生体における持続感染機構．京都大学ウイルス研究所 学術講演会，京都大学 京大会館，2010.7.15.

9) 加藤孝宣：C型肝炎ウイルス JFH-1 株の変異と生体内および培養細胞内での増殖能．第６回 肝免疫・ウイルスフロンティア，大阪，2010.4.17.

10) 加藤孝宣：C型肝炎ウイルスの生体内適応変異の解析．北海道大学遺伝子病制御研究所研究集会「感染・炎症・発癌」，札幌，2010.12.20-21.

3．ウイルス第三部

部長　竹田　誠

概　要

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

人事異動では、平成22年7月1日付で、坂田真史研究員（風疹室）が採用された。また、平成22年9月1日付で、松山州徳主任研究員が、第4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室）室長に配置換えされた（竹田誠部長の事務代行業務が解除された）。平成22年10月1日に第1室に酒井宏治研究員が採用された。また、平成22年12月1日に藤田賢太郎主任研究員（検定検査品質保証室）が併任となった。一方、平成23年3月31日付で野田雅博主任研究員（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室）が感染症情報センターへ配置換えされ、大良勇治研究員（風疹室）が退職した。

当部は、麻疹、風疹、おたふくかぜ（ムンプス）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ている。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定のSOPや標準品の整備等を進め、GMPを中心とする品質管理体制と、国際協調の観点から国際的に通用する品質管理法に転換するための対策に取り組んでいる。感染症対策やワクチン政策に対する社会的要求が高まる中で、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、限られた人員と予算の中で、国民や社会の要望に応えるべく努力を続けている。

研究活動では、麻疹・風疹に関しては、全国的な検査診断ネットワーク体制の構築に関する研究を進めるとともに、ワクチン効果の維持にとって重要な知見となる麻疹ウイルスの抗原性決定基盤に関する研究を進めている。また、麻疹に伴う致死的持続性中枢感染症である亜急性硬化性全脳炎に関する研究、新たなワクチン開発に関する研究、先端技術を用いた麻疹の病態理解に関する研究を行っている。風疹に関しては、風疹の病原診断に関する基幹技術の開発、流行株の変遷に関する研究、ワクチンの安全性や有効性の分子基盤を明らかにするための研究を行っている。ムンプス（おたふく風邪）に関しては、神経病原性に関する研究、流行株の解析などを行っている。インターフェロン・サイトカインに関しては、宿主側の新たな制御機構を研究するとともに、ウイルス側による阻害機構を明らかにするための研究を行い、感染症の包括的な理解を目指している。急性呼吸器ウイルスに関しては、RSウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ならびに重症急性呼吸器症候群(SARS)コロナウイルスをはじめとするヒトコロナウイルスの病態解明に関する研究を行い、その知見をもとにした抗ウイルス剤開発を目指している。

国際協力では、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 西太平洋地域 の Regional Reference Laboratory (RRL)として、麻疹風疹の診断や流行調査に資するための研究を遂行し、また、周辺諸国（中国ならびにモンゴル）への麻疹風疹診断技術の研修、指導、診断精度管理試験等を実施している。また、JICA の依頼に応じてアジア、アフリカ、中国等からの研修生に麻疹診断に関する実習や講義、研修等を実施している。

業　績

調査・研究

調査・研究

I. 麻疹ウイルスに関する研究

1. 麻疹検査診断ネットワークの構築に関する研究

日本を含む WHO 西太平洋地域では 2012 年までの麻疹排除を目指している。麻しん排除の要件には検査診断に基づく麻疹サーベイランス体制の確立がある。日本では民間検査センターの IgM 抗体検査と地方衛生研究所での RT-PCR 法での検査体制を整備しているが感度、特異度等に優れる RT-PCR 法による検査数は少なく、その理由が主に検体搬送環境の不備、並びに自治体への周知が不十分であることであった。この点を改善するために検体搬送用セットを全保健所に配布するとともに、自治体との情報の共有の向上を試みた。その結果、PCR 法による検査数は約 2 倍に増加した。今後も麻しん排除基準を満たすため、検査診断体制を強化する必要がある。［駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、竹田誠］

2. 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

免疫抑制剤を服用し続ける必要のある生体肝移植児は、様々な感染症に対しての抵抗性が低下するため、ワクチン接種による防御免疫能を獲得することが必要と考えられている。しかしながら、現在までのところ、生体肝移植児に対して推奨されるワクチンスケジュールおよび防御免疫能に関する研究データは殆どない。本研究では、生体肝移植児に麻疹含有ワクチン接種した場合の麻疹特異的免疫応答、特に細胞性免疫能について IFN-γELISPOT 法を用いた解析進めている。成人男子の末梢血リンパ球を用いた試験では、マイトジェン刺激による IFN-γ 陽性細胞の検出ができたことから、今後は、ワクチン接種健常児の末梢血リンパ球を用いて実験系の最適条件について検討し、ワクチン接種児検体の解析を行う予定である。［染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠、斉藤昭彦：国立生育医療センター］

3. 麻疹ウイルスワクチン株AIK-Cをベースとした組換えHIVワクチンの開発に関する研究

インフルエンザ、SARS、マラリア、B 型肝炎、RSV など、様々な感染症に対する組換え候補ワクチンとして、麻疹ウイルスが利用されるようになってきている。麻疹ウイルス株として用いられている AIK-C は、その免疫原性と安全性が明らかとなっており、組換えワクチンのベースとして用いることに適していると考えられる。本研究では、その AIK-C の特性を生かした HIV 候補ワクチンの開発を目的とし、ホ乳類細胞内で効率よく発現できるようにコドンを改変した HIV および SIV の gag、env 遺伝子を組み込んだ組換え麻疹ベクターを作成し、そのワクチンとしての効果を評価してゆく予定である。［染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠］

4. H タンパク質アミノ酸 546 番目グリシン変異による麻疹ウイルス感染性に与える影響に関する研究

麻疹ウイルスは、免疫細胞に発現する SLAM、タイトジャンクションを形成する上皮系培養細胞（上皮細胞）、CD46 を受容体として利用出来る。麻疹ウイルス H タンパク質のアミノ酸 481 番目と 546 番目は、一アミノ酸の変異で CD46 を受容体として利用可能になるが、481 番目の変異は、CD46 および上皮細胞両方への親和性が上昇する変異であることが報告されている。546 番目のグリシン変異における受容体利用能の変化について解析を行った。発現プラスミドを用いた細胞融合解析および組換え IC 株を用いた感染実験の結果、H(S546G)変異株は IC 株および H(N481Y)変異株に比較して、上皮細胞への巨細胞形成および感染性の低下が認められた。また、発現プラスミドを用い ICH(S546G)変異と ICH(S546A)変異を比較したところ、ICH(S546A)変異では、ICH(S546G)変異より上皮細胞への融合促進能が保持されていたが、Vero 細胞では細胞融合をサポートできなかった。以上の結果から、546 番目のアミノ酸の側鎖は上皮細胞との作用に関与しており、同アミノ酸がグリシンへ変異することで上皮細胞との作用に影響があると思われる。[關文緒、田原舞乃、中津祐一郎、染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠]

5. 麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態の解析

麻疹ウイルスは宿主細胞内に侵入した後、細胞質内でウイルスゲノム RNA および構造タンパク質の新規合成を行う。それらのウイルス粒子構成要素が細胞膜付近で集合することで、子孫ウイルス粒子を形成すると考えられるが、その詳細な機序は明らかになっていない。麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態をより詳細に解析するために、リバースジェネティクス法を用いて、蛍光タンパク質を融合させた L タンパク質または M タンパク質、H タンパク質を発現する組換え麻疹ウイ

ルスの作製を試みた。感染後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察を行い、感染細胞内での各タンパク質の動的な変化を解析したところ、これらのタンパク質が細胞骨格の一種である微小管により細胞内輸送されている事が明らかとなった。[中津祐一郎、馬学旻、關文緒、鈴木忠樹*、駒瀬勝啓、竹田誠：*感染病理部]

6. 麻疹ウイルスHタンパク質の抗原性変化に関する研究

Hタンパク質のアミノ酸変化による抗原性の変化を解析した。その結果Hタンパク質上には報告されている５つのantigenic site の他にさらにもう一つのantigenic site があることが分かった。６つのうち３つのantigenic site は全ての遺伝子型の株で保存されていた。これらのantigenic siteに対する抗体からのエスケープミュータントを得て、保存されているantigenic siteの場所を特定した。また、エスケープミュータントの解析から、保存されているantigenic siteは麻疹ウイルスの性質を保持するために重要であることが分かった。このため自然界ではこの部位の抗体からエスケープするウイルスが現れる可能性が低いと考えられた。一方、残る３つのantigenic siteはウイルスの遺伝子型によって大きく変化していた。特に最近の流行株は糖鎖の付加によってantigenic site IIの抗体から完全にエスケープしていた。これらのことから、麻疹ウイルスは、いつまでも単一血清型でありつづけるであろうが、多少なりとも抗原性のズレは生じていることが分かった。[田原舞乃、駒瀬勝啓、Xue-Min Ma、Ji-Lan He、酒井宏治、竹田誠]

7. カニクイザルから分離されたイヌジステンパーウイルス（CDV）のSLAM指向性の解析

カニクイザル及びブタオザルのSLAM遺伝子をクローニング・配列決定した。SLAM のアミノ配列は既知のアカゲザル配列と一致し、マカク属内で一致して保存されていることが明らかとなった（ヒトとは 97%のアミノ酸相同性）。また、マカク SLAM 発現プラスミドを作製し、発現細胞系を樹立した。カニクイザル（＃07）から分離した CDV 分離株の H 及び F タンパク質をそれぞれ発現するプラスミドを作製し、マカク及びイヌSLAM発現細胞におけるFusion Assay を実施した。作製したマカク発現ベクターならびに発現細胞系は、イヌSLAM発現細胞と同様に機能的であった。今後、ヒトSLAM発現細胞と並べて、分離ウイルスのSLAM指向性を解析する。［酒井宏治、駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、竹田誠、西條政幸*、森川茂*：*ウイルス第一部］

8. ラオスおける妊娠可能年齢女子の風疹抗体保有状況

ラオス、ビエンチャン市における妊娠可能年齢女子(15-35才)の血中風疹抗体保有状況を調査した。ビエンチャン市内の産科病院 4 院に診察に来た 784 名の女性から採血し、ELISA 法で抗体価を測定し 10IU/ml を cut off 値として抗体保有率を計算した。また、インタビュー調査を実施した。風疹抗体保有率は 83.2%、年齢別の保有率は 65.5%(15-19 才)、80.6% (20-24 才)、86.0%(25-29 才)、92.3%(30-35 才)であり、20-24 才においても約 20%の感受性者がいることがわかった。一方、居住地、結婚、妊娠、教育水準、職業、社会経済水準等の因子と風疹抗体保有との関連性は認められなかった。風疹ワクチンの導入には、慎重な接種対象年齢の検討とともに接種体制の確立が重要と考えられた。[駒瀬勝啓、山本久美 [1]、牛島廣治 [2]、Phengxay Manilay[3], Reiko Tsuyuoka[3], Phengta Vongphrachanh[4]; [1]感染症情報センター、[2]日本大学,[3]WHO Lao office, [4]NCLE]

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹ウイルスワクチン株の温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能との関連性に関する研究

風疹生ワクチンのマーカー試験ではモルモットにワクチンを接種し、抗体価の上昇がみられない場合に適合となる。日本で承認されている風疹ワクチン株５株は、いずれも増殖に温度感受性がある（高温で増殖しない）ことから、体温の高いモルモットでは増殖できず、抗体価が上昇しないのではないかと考えられているが、証明されていない。そこでワクチン株、野生株およびワクチン株の高温増殖性復帰クローンについてマーカー試験と高温増殖性試験の結果の相関性を検討した。その結果、ワクチン株５株はすべて高温増殖性がなく、モルモットに対しては抗体誘導能がなかった。一方、野生型ウイルスの一部および高温増殖性復帰クローンではマーカー試験と高温増殖性試験の結果が相関しない場合があった。以上の結果から、日本で承認されている風疹ワクチン株は、いずれもモルモットに対する抗体誘導能を持たないが、必ずしもその原因を温度感受性だけで説明することはできないことが示唆された。 [大槻紀之、阿保均、久保田耐、森嘉生、海

野幸子*、岡本貴世子、竹田誠、駒瀬勝啓、*医薬品医療機器総合機構]

2. 風疹ウイルスワクチン株及びその親株の感染性クローンの作製

風疹ワクチン株の弱毒化の分子生物学的機構は未だ明らかとなっていない。我々はこれまでに風疹ワクチン株とその親株の遺伝子配列を決定した。その結果、TO-336 ワクチン株とその親株はアミノ酸配列で 6 カ所の変異しかなく、両者の表現系の差異がどのアミノ酸変異に規定されているかを解析するには非常に有用であることが示唆された。それを明らかにするため、TO-336 ワクチン株とその親株について、リバースジェネティックスの系を用いて感染性クローンの作製を試みた。作製された感染性クローンはどちらも、元株に準じた温度感受性を示したことから、元株と同様の性質を保有していることが示唆された。今後は作製された感染性クローンを元に両株のキメラウイルスを作製し、両者の表現系の差異がどのアミノ酸変異に規定されているかを解析する予定である。[岡本貴世子、大槻紀之、阿保均、森嘉生、竹田誠、駒瀬勝啓]

3. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の検討

既報の風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法では、近年我が国で流行の認められた遺伝子型 1j や海外で流行の認められる遺伝子型 2B のウイルスが検出できない問題があった。そこで、これらの遺伝子型のウイルスも検出可能な新規 RT-LAMP 法の開発を行った。新規 RT-LAMP 法で用いるプライマーセットは風疹ウイルス非構造蛋白質領域に設定した。国内ワクチン株（遺伝子型 1a）、94−07 年に当室で分離されたウイルス株（遺伝子型 1j, 2B）由来のウイルス RNA の 10 倍希釈列を用いて、新規 RT-LAMP 法と既報のそれの感度を比較したところ、遺伝子型 1a ウイルスに対しては、両法とも同程度の感度を示したが、遺伝子型 1j, 2B ウイルスにおいては新規法において高い感度が得られた。また、新規 RT-LAMP 法を当室で確立した TaqMan real-time PCR と同様に感度の比較を行ったが、同等の感度が得られた。これまで検出できなかった遺伝子型のウイルスを検出できる RT-LAMP 法が作製できたことから、今後は臨床検体での有用性について検討を行う予定である。[阿保均、大槻紀之、岡本貴世子、森嘉生、駒瀬勝啓]

4. 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である。これまでに日本国内で使用できる風疹国内標準血清とパネル血清を整備する目的で、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の抗風疹 IgG 国際単位(IU 値)の値付けを行った。検査会社に WHO 国際標準血清と国内標準血清候補、パネル血清の HI 法および抗風疹 IgG 定量 ELISA 法による測定を依頼し、結果について平行線定量法による統計処理を行った。その結果、国内標準血清 JPN'03 の抗風疹 IgG 相対力価を 100 IU/mL と決定した。パネル血清については、各々HI 価および ELISA 法による抗風疹 IgG 相対力価(IU 値)を決定した。[岡本貴世子、大槻紀之、藤井薫、森嘉生、駒瀬勝啓]

5. 風疹ウイルスのゲノム複製部位の検討

風疹ウイルスはプラス鎖 RNA をゲノムとして持ち、ゲノムから翻訳されて産生される非構造蛋白質によってゲノム複製が行われる。風疹ウイルスのゲノムが宿主細胞のどの部位で複製されているかは完全に明らかとなっていない。風疹ウイルスのゲノム複製部位を同定する目的でゲノム複製を司る非構造蛋白質 p150 に蛍光蛋白質を挿入した組換えウイルスを作製し、細胞内動態を検討した。その結果、非構造蛋白質 p150 は感染初期には形質膜に存在し、感染が進むにつれ核周辺の線維状構造体として局在することが分かった。ゲノム複製の中間体である dsRNA に対する蛍光抗体法を行ったところ、dsRNA は形質膜に存在し、一部の p150 と共局在することが示された。このことから風疹ウイルスのゲノム複製部位は形質膜上であることが示唆された。[森嘉生、岡本貴世子、坂田真史、大槻紀之、竹田誠]

III. 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歴の有無とムンプス発症

おたふくかぜ生ワクチン接種歴があるにも関わらずムンプスに感染した疑い例について調査をおこなった。北海道深川市の病院に来院し、ムンプス疑い例として診断された患者の臨床検体(咽頭拭い液)より RNA を抽出し、RT−PCR によるム

ンプスウイルスの検出及び、野外株かワクチン株かの判別を行った。12 例の疑い症例中、ムンプス PCR 陽性例は 8 例であった。増幅した DNA の配列を決定したところ、8 例とも遺伝子型 G の野外株であり、6 例は配列決定した範囲の配列が完全に一致し、2 例は数個の塩基が異なるものであった。そのため、ほぼ、単一のウイルスが地区内に流行しているものと判断した。ワクチン接種歴があるとのことであったが、遺伝子型から推定されるムンプスウイルスは特別なものではなく、2000 年より世界中で分離されるウイルスと同じ遺伝子型であった。患者の年齢は 9ー12 歳であることから、SVF の可能性が疑われた。［加藤篤、*岡嶋一樹：*深川市立病院小児科］

2. 東アジアで流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析に関する研究

近隣諸国で流行するムンプスウイルスの解析は、国内での流行動態を理解する上でも、ワクチン対策においても重要である。そこで我々はモンゴル国内で流行するムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行うと共に、その抗原性と中枢神経病原性についても解析した。当初現行の遺伝子型分類基準に基づいて解析した結果、モンゴル由来株は新規の genotype に類別されることが示唆された。しかし、HN 遺伝子、F 遺伝子、および全ゲノム塩基配列配列を用いた詳細な解析の結果、これらのウイルスは遺伝子型 H に分類するのが妥当であることが示唆された。しかしながら、既存の H 型からは系統学的に大きく異なり、1990 年代末に埼玉県や韓国で分離された株と共に新規の亜型（H3）に分類する事を提唱した。また、一連の解析結果から従来の遺伝子型分類の基準は見直しが必要であることが示された。加えて、これまで西半球に主に分布すると考えられていた遺伝子型 H のウイルスにも、東アジア由来の一群があることが示唆された。その抗原性は他の遺伝子型に比べて遺伝子型 A から最も乖離しており、この株の流行が Jeryl-Lynn 株のワクチン効果を減じる可能性が示唆された。従来、遺伝子型 H のウイルスは中枢神経病原性との関連性が高いという報告があるが、新生ラットの感染モデルで評価したところ、この分離株の病原性は通常の国内分離株と同程度に低く、遺伝子型 H と中枢神経病原性との関連性は低いと考えられた。［木所稔、駒瀬勝啓、Tuul Renchin*、*National Centre for Communicable Diseases of Mongolia］

3. ムンプスウイルス病原性の分子基盤：ワクチン株とその親株の比較

おたふくかぜ生ワクチンはウイルスが変化し易いという性質を利用してムンプスウイルス臨床分離株を本来の宿主とは異なるトリ由来細胞に継代馴化して弱毒化したものである。ヒトでの病原性を何が定めているのかを知る目的で、おたふくかぜワクチン(ミヤハラ)株と国立感染症研究所に保管してあった継代馴化途上の株(原株)の塩基配列を比較した。全長 15384 塩基からなるウイルスゲノムには塩基置換が 5 カ所、そのうち 3 カ所(ヌクレオカプシド(N)、膜融合(F)、ラージ(L)蛋白質遺伝子)にアミノ酸置換があった。［加藤篤、永田志保、前寺智弥、竹田誠］

VI. インターフェロン、サイトカインに関する研究

1. パラミクソウイルスのアクセサリー遺伝子の機能

センダイウイルス(SeV)は *P* 遺伝子から産生されるアクセサリー蛋白質 V と C を駆使して宿主細胞の自然免疫系に対抗し、ウイルスの増殖伝播を有利に導くとされている。どの程度有利に働くのかについて検討するため、V または C あるいは両方を同時に消失させた組換え SeV に GFP あるいは luciferase を発現させ、これらレポーター遺伝子の発現を指標に V と C 蛋白質の SeV 多段増殖に及ぼす影響の評価を試みた。［加藤篤、永田志保、久保田耐、竹田誠］

2. 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、竹田誠、久保田眞由美*、張賢聡**、尾里啓子**：*細菌第 2 部、**米国 NIH］

V. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1. 細胞骨格蛋白 cytokeratin8/18 が respiratory syncytial virus (RSV)の複製に与える影響について

本研究ではヒト肥満細胞株である HMC-1 細胞をもちいて、cytokeratin18(C18)が RSV 複製に与える影響について検討した。C18 は酸性ケラチンであり、塩基性ケラチンの C8 と対で発現するため、両遺伝子を哺乳動物発現ベクターに組込み、C8/18 を発現する HMC-1 細胞(HMC-1-C8/18)をクローニングした。RSV を感染させ、経時的にウイルス力価を測定したところ、感染後 4 日目以後の HMC-C8/18 において、10 倍高いウイルス数が検出された。さらに細胞内のウイルス感染価をプラークアッセイにより測定したところ、コントロール細胞に匹敵する量の感染性粒子が検出された。一方で、培養上清中への放出量は 100 分の 1 程度であった。また、shRNA を用いて C18 をノックダウンさせた細胞を構築し、RSV の感染実験を行ったところ、感染後 4 日目において、ウイルス複製量が 10 分の 1 に減少した。従って、RSV は C8 /18 存在下にて複製効率が上昇することが示され、C8/18 が RSV の複製に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。 [白戸憲也、川瀬みゆき、氏家誠*、松山州徳] * 日本獣医生命科学大学

2. 膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 による、ヒトコロナウイルス 229E の細胞表面からの細胞内侵入に関する増強作用について

ヒトコロナウイルス 229E(HCoV229E)はヒトの鼻風邪の原因となる病原体である。本研究では、肺胞上皮細胞に特異的に発現している膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 が HCoV229E の細胞侵入に影響を与えるか否かについて検討を行った。TMPRSS2 を恒常的に発現する HeLa 細胞(HeLa/TMPRSS2)に HCoV229E を感染させたところ、トリプシン処理をすることなく細胞融合を形成し、HeLa 細胞に比べて高い力価を示した。さらに、エンドソームインヒビターの Bafilomycin やシステインプロテアーゼインヒビター存在下においても、ウイルスはこの細胞に侵入できる事を明らかにした。従って、HCoV229E は TMPRSS2 によって、ウイルスの多段階複製が増強される事、TMPRSS2 を利用して細胞表面から細胞侵入を行える事が明らかとなった。[白戸憲也、川瀬みゆき、氏家誠＊、田口文広＊、松山州徳] ＊日本獣医生命科学大学

3. 膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 の特異的インヒビターによる SARS コロナウイルスの感染阻止について

肺に特異的に存在する膜貫通型セリンプロテアーゼ(TMPRSS2)の発現細胞に、コロナウイルスは極めて効率よく感染する。VSV シュードタイプウイルスの表面にそれぞれのコロナウイルス（SARS、NL63）の S 蛋白をもたせたものを作成し、細胞侵入実験に用いた。SARS と NL63 のシュードタイプウイルスの TMPRSS2 発現細胞への感染価は非発現細胞と比較して、３倍から５倍高くなっていた。この結果は TMPRSS2 が ウイルスを活性化し細胞侵入を促進させることを示唆している。また市販のプロテアーゼ阻害剤で処理した細胞へのウイルスの感染を調べ、TMPRSS2 の活性阻害剤の検索をおこなった。セリンプロテアーゼ阻害剤（Camostat）とシステインプロテアーゼ阻害剤（E64d）を同時に作用させることにより、TMPRSS2 発現培養細胞へのこれらのコロナウイルス侵入を完全に阻止できることを明らかにした。[松山州徳、川瀬みゆき、白戸憲也]

4. ブタ流行性下痢症ウイルス(PEDV)の複製サイクルにおけるプロテアーゼの役割について

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。PEDV はトリプシン群のプロテアーゼを利用して S 蛋白の解裂を誘導し、ウイルスと細胞膜との膜融合を誘導していると考えられている。今回我々は、プロテアーゼが PEDV のウイルス複製に与える影響について検討を行うため、トリプシン添加の Vero 細胞、および膜型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 を恒常的に発現する Vero/TMPRSS2 細胞の 2 つの培養系を用いて実験を行った。プロテアーゼ非存在下の Vero 細胞においては、PEDV は細胞に感染することが出来、細胞内で感染性粒子を産生することが出来るが、培養上清中にウイルス粒子がほとんど存在しないことが解った。この状態の Vero 細胞に短時間トリプシンを作用させると、ウイルス粒子は培養上清中へ放出された。電子顕微鏡観察において、プロテアーゼ非存在下では、ウイルス粒子が細胞表面に凝集しているが、プロテアーゼ存在下ではそれらの凝集塊が無くなっていた。従って、PEDV のウイルス複製サイクルに置いて、プロテアーゼはウイルス感染ではなく、培養上清中のウイルス粒子放出に関与していることが明らかとなった。 [白戸憲也、松山州徳、川瀬みゆき、田口文広＊] ＊日本獣医生命科学大学

サーベイランス業務

1. 感染症流行予測調査における風疹感受性調査のため、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 15 都県に配布した。また、平成 21 年度に得られた成績をまとめ報告した。[大槻紀之、感染症情報センター、森　嘉生]

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 4 ロット、風しんワクチン中間段階 4 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 3 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 3 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 66 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 15 ロットの検定を行った [染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生、久保田耐、木所稔、加藤篤、白戸憲也、野田雅博、荻野利夫、竹田誠]

2. 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 187 ロット行った。［荻野利夫、松山州徳、駒瀬勝啓、竹田誠]

3. 人免疫グロブリン製剤麻しん抗体価測定用標準品の更新のため、新規 PHA 用標準抗麻しん血清（非修飾用）、ならびに新規 PHA 用標準抗麻しん血清（修飾用）を作製した [關文緒、染谷健二、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、木所稔、松山州徳、荻野利夫、駒瀬勝啓、竹田誠、血液製剤協会]

4. インターフェロン製剤 12 ロット(a-2b 3 ロット、pega-2b 3 ロット、aLys 3 ロット、recb-1b 1 ロット、天然型 b 2 ロット)の収去検査を行った。[白戸憲也、松山州徳]

レファレンス業務

1. 4 件の麻疹の依頼検査を実施した。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、駒瀬勝啓]

2. 7 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]

3. 10 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、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、駒瀬勝啓]

5. 2 件のムンプスの依頼検査を実施した。[加藤篤、木所稔]

6. 重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランスに関する厚生労働科学研究に参加する 12 衛生研究所において ARI ウイルス検索を実施した結果、Respiratory Syncytial ウイルス（RSV）148 株、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）205 株、ヒトライノウイルス（HRV）224 株、ヒトエンテロウイルス 68（HEV68）15 株、ヒトパラインフルエンザウイルス（HPIV）271 株およびヒトボカウイルス（HBoV）28 株がそれぞれ分離・検出された。[水田克巳*、平良勝也**、仁平稔**、荒川美果***、昆美也子****、田中俊光*****、横井一*****、岡本玲子*******、小村珠喜*******、平野映子********、木村博一*********、野田雅博 : *山形県衛生研究所、**沖縄県衛生環境研究所、***栃木県保健環境センター、****新潟県保健環境科学研究所、*****千葉市環境保健研究所、******山口県環境保健センター、*******島根県保健環境科学研究所、********福井県衛生環境研究センター、*********感染症情報センター]

7. 小児下気道疾患患者 115 例の ARI ウイルス検索を実施した。その結果、RSV ; 35 株、HRV ; 39 株、EV68 ; 7 株、PIV ; 2 株および HBoV ; 4 株が検出された。[荒川美果*、菅井和子**，藤塚麻子**，木村博一***，野田雅博 : *栃木県保健環境センター、**国立病院機構横浜医療センター、***感染症情報センター]

国際協力業務

1. 9th meeting of the Technical Advisory Group on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in the Western Pacific Region（フィリピン、マニラ市）に参加し、麻疹排除計画案について協議した。[駒瀬勝啓]

2. 8th Global measles and Rubella Laboratory network meeting（スイス、ジュネーブ市）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、森嘉生、竹田誠]

3. 4th Hands on training on the Laboratory diagnosis of measles and rubella （中国、香港）に参加し、WHO 西太平洋地域諸国からの参加者へ麻疹検査診断技術の技術指導を行った [駒瀬勝啓、中津祐一郎]

4. JICA 中国予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プロジェクトにおける麻疹実験室トレーニング会議（中国、湖北省、長沙市）に参加して、講義、実技の指導をするとともに中国、日本の麻疹対策について議論した。

［駒瀬勝啓］

研修業務

1. 平成 22 年度 地域保健医療カリキュラム 医師卒後臨床研修プログラムにおいて麻疹、風疹の講義を担当した。［竹田誠］

2. JICA 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プロジェクトにおいて 2 名の中国人研修生の研修コース(9 ヶ月間、ならびに 6 ヶ月間)を実施した。［中津祐一郎、田原舞乃、染谷健二、關文緒、駒瀬勝啓］

3. JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生 16 名に麻疹抗体測定法の実習を行った。［染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、駒瀬勝啓］2011 年 2 月

4. 韓国人研修生に麻しんウイルス遺伝子操作法に関する研修を 2 週間行った。［關文緒、田原舞乃、酒井宏治、中津祐一郎、染谷健二、駒瀬勝啓］

5. 平成 22 年度 感染症危機管理研修会において，麻しん排除計画における病原診断の重要性に関する講義を行った。［駒瀬勝啓］

6. 平成 22 年度 短期研修 ウイルス研修において, 風疹ウイルスの講義を行った。［駒瀬勝啓］

7. JICA 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プロジェクト、カウンターパート研修会において日本の麻疹対策の講義を行った[染谷健二]

8. 平成 22 年度希少感染症診断技術研修会において麻疹診断法の講義を行った。［駒瀬勝啓］

9. 四国 4 県連携事業「麻しんウイルス検査対応強化連携事業」第 1 回協議会に参加し（高知県）、麻しん診診断法に関する講義を行った。［駒瀬勝啓］

10. 平成 22 年度「地域保健総合推進事業」北海道・東北・新潟ブロック専門家会議に参加し、麻しん診断法の講義を行った。［駒瀬勝啓］

11. 平成 22 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会に参加し麻しん診断法に関する講義とともにパネルディスカッションに参加した。［駒瀬勝啓］

12. 四国 4 県連携事業「麻しんウイルス検査対応強化連携事業」第 4 回協議会に参加し（愛媛県）、麻しんの現状と診診断法に関する講義を行い、四国の検査状況について議論した。［駒瀬勝啓］

13. JICA 集団研修「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中国等に研修生 16 名に風疹検出 RT-PCR 法および RT-LAMP 法の実習を行った。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、阿保均、森嘉生］

14. 平成 22 年度短期研修ウイルス研修において講義及び実習の技術援助を行った。［野田雅博］

15. 平成 22 年度 短期研修 新興再興感染症技術研修において, 麻疹ウイルス（総論）の講義を行った。［竹田誠］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Okamoto K, Fujii K, Komase K. Development of a novel Taqmqn real-time PCR assay for detecting rubella virus RNA. J Virol Methods. 168; 267-71 (2010)
2. Otsuki N, Abo H, Kubota T, Mori Y, Umino Y, Okamoto K, Takeda M, Komase K. Elucidation of the full genetic information of Japanese rubella vaccines and the genetic changes associated with in vitro and in vivo vaccine virus phenotypes. Vaccine. 29; 1863-1873 (2011).
3. Kubota T, Matsuoka M, Xu S, Otsuki N, Takeda M, Kato A, and Ozato K. PIASy inhibits virus-induced and interferon-stimulated transcription through distinct mechanisms. J Biol Chem. 286: 8165-75 (2011)
4. Matsuyama S, Nagata N, Shirato K, Kawase M, Takeda M, Taguchi F. Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. J Virol. 2010 Dec;84(24):12658-64.
5. Shirato K, Maejima M, Hirai A, Ami Y, Takeyama N, Tsuchiya K, Kusanagi K, Nunoya T and Taguchi F. Enhanced cell fusion activity in porcine epidemic diarrhea virus adapted to suckling mice. Archives of Virology. 2010, 155:1989-1995.
6. Ayata M, Takeuchi K, Takeda M, Ohgimoto S, Kato S, Sharma LB, Tanaka M, Kuwamura M, Ishida H, Ogura H. (2010) The F gene of the osaka-2 strain of measles virus derived from a case of subacute sclerosing panencephalitis is a major determinant of neurovirulence. J Virol. 84. 11189-99.

7. Meng X, Nakamura T, Okazaki T, Inoue H Takahashi A, Miyamoto S, Sakaguchi G, Eto M, Naito S, Takeda M, Yanagi Y, Tani K. (2010) Enhanced antitumor effects of an engineered measles virus Edmonston strain expressing the wild-type N, P, L genes on human renal cell carcinoma. Mol Ther. 18. 544-51.
8. Ikegame S, Takeda M, Ohno S, Nakatsu Y, Nakanishi Y, Yanagi Y. (2010) RIG-I and MDA5 RNA Helicases Both Contribute to the Induction of Interferon-{alpha}/{beta} in Measles Virus-Infected Human Cells. J Virol. 84. 372-329.
9. Senoh M, Ghosh-Banerjee J, Ramamurthy T, Hamabata T, Kurakawa T, Takeda M, Colwell RR, Nair GB, Takeda Y. (2010) Conversion of viable but nonculturable Vibrio cholerae to the culturable state by co-culture with eukaryotic cells. Microbiol Immunol. 54.502-7.
10. Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, Yamamoto N, Honda M. Intradermal delivery of recombinant vaccinia virus vector DIs induces gut-mucosal immunity. Scand J Immunol. 72:98-105 (2010).
11. Shirogane Y, Takeda M, Tahara M, Ikegame S, Nakamura T, Yanagi Y. Epithelial-mesenchymal transition abolishes the susceptibility of polarized epithelial cell lines to measles virus. The Journal of Biological Chemistry. 285(27): 20882-20890 (2010)
12. Xin JY, Ihara T, Komase K, Nakayama T. Amino Acid Substitutions in Matrix, Fusion and Hemagglutinin Proteins of Wild Measles Virus for Adaptation to Vero Cells. Intervirology.54; 217-228 (2011)
13. Sawada A, Komase K, Nakayama T. AIK-C measles vaccine expressing fusion protein of respiratory syncytial virus induces protective antibodies in cotton rats. Vaccine. 29; 1481-1490 (2011)
14. Suzuki J, Goto H, Komase K, Abo H, Fujii K, Otsuki N, Okamoto K. Rubella virus as a possible etiological agent of Fuchs heterochromic iridocyclitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. (2010) 248:1487-91.
15. Shimizu Y, Hishiki T, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Kato A, Ohsaki Y, Fujimoto T, Takaku H, Shimotohno K. Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. Virology. 407:152-159 (2010)
16. Kashiwazaki H, Nomura R, Matsuyama S, Taguchi F, Watanabe R. Spongiform degeneration induced by neuropathogenic murine coronavirus infection. Pathol Int. 2011 Apr;61(4):184-91.
17. Kyuwa S, Takagaki S, Matsuyama S, Taguchi F, Saegusa J, Iwakura Y, Tagawa Y, Yoshikawa Y. Characterization of a variant virus from ascitic fluid of subacute granulomatous serositis in interferon-gamma-deficient C57BL/6 mice persistently infected with murine coronavirus strain JHM. Viral Immunol. 2010 Aug;23(4):437-42.
18. Yoshizumi M, Kimura H, Okayama Y, Ryo A, Nishina A, Noda M, Tsukagoshi H, Kozawa K, Kurabayashi M, Relationships between cytokine profiles and signaling pathways in parainfluenza virus-infected lung fibroblasts. Front Microbiol. 1:Article 124, 1-7, 2010.
19. Nakamura M, Taira K, Tsukagoshi H, Itokazu K, Nidaira M, Okano S, Kudaka J, Noda M, Takeda M, Kimura H. Detection of various respiratory viruses in patients with influenza-like illness before and after emergence of the 2009 Pandemic H1N1 influenza virus in Okinawa. Jpn J Infect Dis. 64(1):87-89, 2011.
20. Omura T, Iizuka S, Tabara K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M, Kimura H. Detection of human metapneumovirus (HMPV) genomes during an outbreak of bronchitis and pneumonia in an old-age home in Shimane, Japan, in autumn 2009. Jpn J Infect Dis. 64(1):85-87, 2011.
21. Ishioka T, Kimura H, Kita H, Obuchi M, Hoshino H, Noda M, Nishina A, Kozawa K, Kato M. Effects of respiratorysyncytial virus infection and major basic protein derived from eosinophils in pulmonary alveolar epithelial cells (A549). Cell Biol Int. 35:467-474, 2011.
22. Yoshizumi M, Kimura H, Okayama Y, Ryo A, Nishina A, Noda M, Tsukagoshi H, Kozawa K, Kurabayashi M. Relationships between cytokine profiles and signaling pathways in parainfluenza virus-infected lung fibroblasts. Front Microbiol. 1:Article 124, 1-7, 2010.
23. Goto-Sugai K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M, Sugai T, Saito Y, Okabe N, Tashiro M, Kozawa K, Tanaka R, Morita Y, Nishina A, Kimura H. Genotyping and phylogenetic

analyses of major genes in respiratory syncytial virus isolated from infants with bronchiolitis in Japan. Jpn J Infect Dis. 63(6):393-400, 2010.

24. Tsukagoshi H, Masuda Y, Mizutani T, Mizuta K, Saitoh M, Morita Y, Nishina A, Kozawa K, Noda M, Ryo A, Kimura H. Sequence and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 isolates from children with upper respiratory infection in Gunma, Japan. Jpn J Infect Dis. 63(5):378-380, 2010.
25. Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Katsushima N, Matsuzaki Y, Hongo S, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Endemicity of human metapneumovirus subgenogroups A2 and B2 in Yamagata, Japan between 2004 and 2009. Microbiol Immunol. 54(10):634-638, 2010.
26. Nakamura M, Itokazu K, Taira K, Kawaki T, Kudaka J, Nidaira M, Okano S, Kimura H, Noda M. Detection and phylogenetic analysis of human rhinoviruses from Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 63(3):221-223, 2010.
27. Itagaki T, Abiko C, Ikeda T, Aoki Y, Seto J, Mizuta K, Ahiko T, Tsukagoshi H, Nagano M, Noda M, Mizutani T, Kimura H. Detection and phylogenetic analysis of Saffold cardiovirus (SAFV) from children with exudative tonsillitis in Yamagata, Japan. Scand J Infect Dis. 42:950-952, 2010.

2. 和文発表

1. 竹田誠、駒瀬勝啓、森嘉生　世界麻疹排除計画の現状と世界麻疹風疹実験室ネットワークの役割　病原微生物検出情報　32(2) 3-4 (2011)
2. 駒瀬勝啓　ワクチンを考える上で必要な臨床検査の知識 –抗体および抗体検査の意義を問題点- 臨床検査 医学書院　54(11): 1230-1238 (2010)
3. 駒瀬勝啓　抗原抗体反応（抗原測定、抗体測定）　臨床と微生物　近代出版　37(5): 411-416 (2010)
4. 駒瀬勝啓、竹田誠　麻しん排除を目指した麻しん検査診断体制の問題点、病原微生物検出情報 32(2); 41-42 (2011)
5. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠　麻疹の検査診断法と全数検査診断に向けた取り組み　小児科　51;1311-1318 (2010)
6. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠　麻疹風疹実験室ネットワーク　臨床検査　医学書院　54(11);1322-1327 (2010)
7. 田原舞乃、染谷健司、竹田誠 ウイルスのリバースジェネティクス.化学療法の領域 26:3-9 (2010).
8. 加藤 篤　ムンプスウイルス、広範囲血液・尿化学検査、免疫学的検査 日本臨牀　68:389-393 (2010)

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Takeda M, Sirogane Y, Tahara M, Hasiguchi T, Ikegame S, Iwasaki M, Nakamura T, Maenaka K, and Yanagi Y. Measles Virus Infects Epthelial Cells. XIV International Conference on Negative Strand Viruses, Brugge, Belgium, 20-25 June 2010
2. Takeda M, Tahara M, and Komase K. Taking action towards elimination of measles in Japan. The 7th Taiwan-Japan Symposium on Immunization and Travel Medicine. Taiwan. Sept. 2010
3. Takeda M. Measles control in Japan. The 4th China-Korea-Japan forum on communicable disease control and prevention in China. 2010 November 24-25. Beijing, China.
4. Takeda M. Molecular basis for efficient transmission of measles virus. International Symposium on Organella Network: Microbiology, Immunology, and Cell Biology. 2010 July 12-13. Osaka, Japan
5. Nakatsu Y, Takeda M, Iwasaki M, Komase K, and Yanagi Y. The C protein of attenuated measles virus Edmonston strain is fully functional in supporting virus growth. XIV International Conference on Negative Strand Viruses, Brugge, Belgium, 20-25 June 2010
6. Tahara M, Someya K, Seki F, Nakatsu Y, Fujii K, Yanagi Y, Takeda M, and Komase K. Antigenic variations among currently circulating wild-type measles virus strains. XIV International Conference on Negative Strand Viruses, Brugge, Belgium, 20-25 June 2010
7. Tahara M, and Takeda M. Antigenic variations among currently circulating wild-type measles virus strains. 4th ATLANTA PARAMYXER Atlant. USA, Oct. 2010
8. Kubota T, Matsuoka M, Xu S, Takeda M, Shuai K, Kato A,

Ozato K. Piasy inhibits virus induced type I IFN production. 8th Joint Annual Meeting of the ISC/ISICR. Chicago, USA. 3-7 October, 2010

9. Matsuyama S, Nagata N, Takeda M, Taguchi F, Activation of SARS-coronavirus spike protein by transmembrane protease,TMPRSS2. The American Society for Virology 29th Annual Meeting, Bozeman, Montana, USA. 17-21 July 2010
10. Matsuyama S, Nagata N, Shirato K, Kawase M, Takeda M, Ujike M, Taguchi F, Proteolytic activation of SARS coronavirus spike protein by the transmembrane protease, TMPRSS2, The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. 7-10 September 2010.
11. Shirato K, Kawase M, Matsuyama S, Ujike M, and Taguchi F. Transmembrane serine protease TMPRSS2 enhances cell entry of the human coronavirus 229E from cell surface. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. 7-10 September 2010.
12. Shirato K, Maejima M, Hirai A, Ami Y, and Taguchi F. An amino acid substitution in cytoplasmic tail region is a major determinant of high fusogenic activity of S protein of murine-adapted variant of porcine epidemic diarrhea virus. The American Society for Virology 29th Annual Meeting, Bozeman, Montana, USA. 17-21 July 2010
13. Senoh M, Ghosh J, Ramamurthy T, Hamabata T, Kurakawa T, Takeda M, Colwell RR, Nair GB, Takeda Y. Isolation of a protein factor to convert VBNC Vibrio cholerae to culturable state from human colonic epithelial cell HT-29. TheAsia-Africa Research Forum 2010.

2. 国内学会

1. 竹田誠、白銀勇太、田原舞乃、中津祐一郎、橋口隆生、柳雄介 麻疹ウイルスの上皮細胞感染機構.第 58 回日本ウイルス学会学術集会　徳島　2010 年 11 月
2. 竹田誠、麻疹排除に向けた現状と課題ー基礎研究者の立場からー、第 14 回　日本ワクチン学会、2010 年 12 月、東京
3. 竹田誠、麻疹の伝染力の分子基盤、日本ウイルス学会北海道支部　第 44 回夏期シンポジウム「麻疹を中心としたウイルス感染と宿主の感染防御機構」　北海道虻田郡洞爺湖町、2010 年 7 月 24、25 日
4. 駒瀬勝啓　ワクチンの開発に係わるバイオセーフティについて　第10回日本バイオセーフティ学会学術集会、横浜、2010 年 12 月
5. 關文緒、染谷健二、田原舞乃、中津祐一郎、駒瀬勝啓、竹田誠　麻疹ウイルス H タンパク質アミノ酸 546 番目のグリシン変異における極性上皮細胞への感染性および機能変化 : 第 58 回日本ウイルス学会学術集会　徳島 2010 年 11 月
6. 酒井宏治、田丸精治、前田健、永田典代、網康至、岩田奈織子、鈴木忠樹、水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、長谷川秀樹、西條政幸、山田靖子、倉根一郎、森川茂、カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスのサル及びイヌでの病原性の解析、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月
7. 中津祐一郎、鈴木忠樹、馬学旻、関文緒、駒瀬勝啓、柳雄介、竹田誠 イメージング技術を用いた麻疹ウイルス L タンパク質の細胞内動態の解析、第 58 回日本ウイルス学会学術集会　徳島　2010 年 11 月
8. 中津祐一郎、馬学旻、關文緒、鈴木忠樹、駒瀬勝啓、竹田誠 Intracellular movement of polymerase L protein of measles virus is dependent on microtubule network 第 9 回感染症沖縄フォーラム, 沖縄, 2011 年 2 月
9. 田原舞乃、駒瀬勝啓、染谷健二、関文緒、中津祐一郎、藤井薫、柳雄介、竹田誠　麻疹ウイルス主要表面抗原 H タンパク質の抗原性変化.第 58 回日本ウイルス学会学術集会　徳島　2010 年 11 月
10. 田原舞乃、駒瀬勝啓、染谷健二、関文緒、中津祐一郎、藤井薫、柳雄介、竹田誠　麻疹ウイルスの抗原性変化　第 14 回日本ワクチン学会学術集会　東京 2010 年 12 月
11. 馬学旻、中津祐一郎、關文緒、鈴木忠樹、駒瀬勝啓、竹 田 誠　Generation of recombinant measles viruses expressing fluorescent protein-tagged matrix, hemagglutinin, and polymerase proteins,第9回感染症沖縄フォーラム, 沖縄, 2011 年 2 月
12. 大槻紀之、阿保均、久保田耐、森嘉生、海野幸子、岡本貴世子、竹田誠、駒瀬勝啓、風疹ウイルスによるモ

ルモットでの抗体誘導は温度感受性と一致するわけではない、第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010年11月

13. 森嘉生　風疹ウイルス非構造蛋白質のライブイメージング解析：第 17 回トガフラビペスチ研究会　東京 2010年12月
14. 大槻紀之、阿保均、久保田耐、森嘉生、海野幸子、岡本貴世子、竹田誠、駒瀬勝啓、TO-336風疹ワクチン株及びその関連株における温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の比較、第14回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010年12月
15. 岡本貴世子、阿保均、大槻紀之、森嘉生、竹田誠、駒瀬勝啓、風疹ウイルス遺伝子検出による実験室診断技術の改良、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010年11月
16. 阿保均、森嘉生、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、駒瀬勝啓、風疹ウイルス遺伝子検出RT-LAMP法の改良、第14回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010年12月
17. 加藤篤、永田志保、久保田耐、竹田誠、センダイウイルスアクセサリー蛋白質VとCの宿主細胞内増殖に及ぼす影響、第 58 回日本ウイルス学会、徳島、2010年11月
18. 木所稔、駒瀬勝啓、Tuul Renchin、モンゴル国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析−続報−、第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010年11月
19. 木所稔、駒瀬勝啓、Tuul Renchin、東アジアで流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第14回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010年12月
20. 松山州徳、 コロナウイルス細胞侵入機構の解明：第58回日本ウイルス学会学術集会　徳島　2010年11月 杉浦奨励賞受賞講演
21. 松山州徳、 宿主プロテアーゼの関与するSARSコロナウイルスの組織指向性について：第58回日本ウイルス学会学術集会　徳島　2010年11月 シンポジウム９
22. 松山州徳、永田典代、竹田誠、氏家誠、白戸憲也、田口文広、膜貫通型プロテアーゼ（TMPRSS2）によるSARS コロナウイルスの細胞侵入活性化機構、第６２回日本細胞生物学会学術集会（大阪）、2010年5月
23. 白戸憲也、川瀬みゆき、氏家誠、松山州徳　細胞骨格蛋白cytokeratin8/18がrespiratory syncytial virus (RSV)の複製に与える影響について：第58回日本ウイルス学会学術集会　徳島　2010年11月
24. 伊藤由梨、福原秀雄、酒匂幸、橘口隆生、梶川瑞穂、竹田誠、柳雄介、前仲勝実、イヌジステンパーウイルスHタンパク質と受容体SLAMとの分子認識、第58回　日本ウイルス学会、2010年11月、徳島
25. 扇本真治、Bhatta Luna、加藤誠一、綾田稔、駒瀬勝啓、竹内薫、庵原俊昭、小倉壽、麻疹ウイルスワクチン株AIK-C、FF-8、CAM-70の効率的なウイルスRNA合成とAIK-C P蛋白による感染性ウイルス産生の抑制、第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010年11月
26. 澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫、RSウイルス外殻タンパクを発現するキメラ麻疹ウイルスの免疫能の検討、第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010年11月
27. 澤田成史、駒瀬勝啓、中山哲夫、RS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免疫原性の検討、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010年12月
28. 扇本真治、伊藤千彗、Bhatta Luna、加藤誠一、綾田稔、駒瀬勝啓、竹内薫、庵原俊昭、小倉壽、麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C、FF-8、CAM-70 の効率的なウイルスRNA合成とAIK-C P蛋白による感染性ウイルス産生の抑制、第14回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010年12月
29. 本井宏尚、菅井和子、藤塚麻子、小林慈典、木村博一、野田雅博：下気道感染症罹患児におけるウイルス検出状況と臨床像. 第59回日本感染症学会東日本地方学術集会、2010年10月、東京
30. 板垣勉、池田辰也、安孫子千恵子、水田克巳、松嵜葉子、塚越博之、野田雅博、木村博一：Saffold cardiovirus感染症と診断された5例、第20回日本外来小児科学会年次集会、2010年8月、福岡市
31. 松田俊二、小村珠喜、野田雅博：重症心身障害児(者)病棟における呼吸器感染症の流行について　第80回日本感染症学会西日本地方会学術集会、2010年11月、松山市

III. そ の 他

1. 竹田誠（監修）（2011）知ってほしい麻しん、風しん Q&A、財団法人日本予防医学協会
2. 竹田誠 麻しん風しんなどの小児の発疹性感染症、第 17 回 感染研市民セミナー 国立感染症研究所村山庁舎、2010 年 1 月 30 日
3. Takeda M. Training Course III, Virology. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, 7 September 2010
4. 關文緒、竹田誠（2010）麻疹ウイルス、分子予防環境医学研究会（編）改訂版 分子予防環境医学 生命科学研究の予防・環境医学への統合、本の泉社、210-217。

4.細菌第一部

部長　大西　真

概　要

平成22年4月1日に渡邉治雄前部長の後任として大西真が部長に着任した。また、スウェーデン留学のため休職中であった中尾龍馬が平成22年4月より復職した。

H22 年度において、当部では、肺炎球菌ワクチンならびに平成22年２月より任意接種が開始された7価肺炎球菌コンジュゲートワクチンの検定検査、梅毒体外診断薬の承認前試験を担当するとともに、多様な病原細菌に対する行政あるいは依頼検査、レファレンス活動、病原体サーベイランスに係る業務を担当した。

平成22年は7価肺炎球菌コンジュゲートワクチンが利用可能となり、侵襲性肺炎球菌性感染症に対する病原体サーベイランスの重要性が高まっている。製剤担当部として、より一層肺炎球菌感染症制御のために果たすべき役割が高まった。また、腸管出血性大腸菌感染症の感染者数も減少傾向が認められず、腸管出血性大腸菌食中毒患者数を遥かに超えている。病原体サーベイランスを通じて広域散発事例から分離される菌株解析は今後とも重要な業務となる。劇症型溶血性連鎖球菌感染症、レジオネラ症に関するレファレンス活動が進められた。劇症型溶血性連鎖球菌感染症に関しては、その対策に貢献するために病原機構に関する細菌学的な解析が進められた。

その他研究面においては、六室から構成される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、ビブリオ等の腸管感染症原因菌、レジオネラ、レンサ球菌、肺炎球菌、ボレリア、髄膜炎菌、レプトスピラ、淋菌、梅毒スピロヘータ、口腔細菌等）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従来に引き続いて行った。

分子疫学的手法として近年種々の病原細菌の解析に用いられてきた multilocus variable number tandem repeat analysis (MLVA)法の適応範囲を広げるための応用研究を進めてきた。MLVA 法による解析可能な菌種あるいは血清型を拡大することも、今後の課題として挙げられる。また、病原性あるいは薬剤耐性等を含む表現系の変化が形質転換、接合伝達、形質導入あるいはファージ変換等の機構による遺伝子の水平伝播によって引き起こされる。当部においても、形質転換能制御機構、形質転換による耐性遺伝子の伝播等に関する研究が徐々に進展し、成果として発表してきた。

病原体ゲノム解析研究センター、免疫部、ウイルス第一部等の所内各部との共同研究、さらには地方衛生研究所、国内外の研究機関との連携、共同研究も積極的に行なわれた。これらの連携は当部の機能強化のために必須であり、さらなる協力体制を築いていく方向で進めていくことが重要である。

研究費としては、厚生労働省科学研究費として、新興・再興研究事業費、食品安全確保研究事業費、国際医療協力事業費、広域食中毒対策事業費、さらに文部科学省科学研究費を含めた広範な研究費を獲得し、それぞれの研究プロジェクトで貢献を果たした。

業　績

調査・研究

I. 腸管感染症に関する研究

1. 腸管出血性大腸菌：EHEC（志賀毒素産生性大腸菌：STEC）に関する研究

(1) 腸管出血性大腸菌の DNA 型別

ア PFGE による DNA 型別

2010 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 1808 株および026, 0111 等を含むその他の血清型 709 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。2010 年にヒトから分離された O157 については、XbaI 消化により 784 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（7～14 ヶ所）から分離されたパターンとして、Type No.(TN) c293, c57, d482 f34, f91/93, f779 の 6 種類があった。これらの 6 種類のパターンを示す株は、BlnI 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、中島雪絵、高井信子、伊豫田淳、三戸部治郎、泉谷秀昌、石原朋子、大西　真]

イ　Multiple-Locus VNTR Analysis による解析

PFGE により TN c293, c57, d482, f34, f91/93, f779 を示す腸管出血性大腸菌 O157 のうち、BlnI 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、TN f34 を示す株については、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。また、TN f91/93 を示す株では生レバーを推定原因とする焼肉関連事例で分離されていたが、その他にも複数の散発事例由来株が同一 MLVA タイプを示したことから、同一の PFGE 及び MLVA タイプとなったこれらの株は、遺伝子構成が極めて類似し、関連性が高いことが示唆された。[寺嶋　淳、斉藤康憲、菱谷　愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田淳、三戸部治郎、泉谷秀昌、石原朋子、大西　真]

ウ　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（地研）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。また、全国 6 ブロックの代表地研が細菌第一部内のサーバー（jpulsenet)へアクセスしてデータを送受信するシステムの運用を開始した。[寺嶋　淳、中島雪絵、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、大西　真]

エ　血清型 O157:H7 のクレード解析

米国の研究グループによる解析から、血清型 O157:H7 の一部の系統株（クレード 1-9 のうち、クレード 8）は他のクレード株と比較して HUS の発症頻度が高い可能性が指摘されている。我々は独自にクレード 8 を特異的に検出可能なコンベンショナル PCR 系を構築し、国内で分離された O157:H7 株におけるクレード 8 の検出を試みた。その結果、国内株においてもクレード 8 は無症状保菌者由来の散発事例株と比較して HUS 患者由来株に有意に多く見出された［伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、泉谷秀昌、EHEC ワーキンググループ（全国の地方衛生研究所及び保健所等）、大西真]

(2) 血清学的研究

ア　血清型別

平成 22 年に送付されたヒト由来の STEC は総計 2,789 株で、分離頻度の高い順に O157(約 73.1%:H7 または H-), O26（約 13.9%:H11, H-など）O103（約 2.4%：H2 など）, O111（約 2.2%:H-）, O121（約 1.8%:H19 など）, O91（約 1.6%：H51, H14, H-など）, O145（約 1.4%：H-）, O165（約 0.4%:H-）で、その他（約 3.2%）は少なくとも 38 種類の O 血清群（42 種類の血清型）に分類された。O121 と O165 は重症患者からの分離頻度が高く、注意を要する[伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、寺嶋淳、泉谷秀昌、大西真]

イ　溶血性尿毒症症候群（HUS）発症者血清中の抗大腸菌抗体検出による EHEC 感染症の確定診断

菌が分離されない HUS 症例において、EHEC として分離頻度の高い O 血清群(O157, O26, O111, O103, O145, O121, O165：国内で分離される HUS 患者由来 EHEC の約 90%を占める)に対する抗体を血清中に検出することで EHEC 感染履歴が推定可能である。今年度依頼があった 6 件中、O157, O26, O165 の陽性例がそれぞれ 1 件ずつ、O165 と O103 の両方に陽性となった例が１件あり、EHEC 感染による HUS 症例と確定した[伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、齊藤剛仁（情報セ)、寺嶋淳、大西真]

ゥ　市販血清間での血清型別結果の整合性

大腸菌の血清型はデンマークの血清学研究所（SSI）由来の抗血清で最終判定を行っている。国内で発売されているデンカ生研の血清と SSI の抗血清の整合性を解析している過程で、デンカ生研の血清で O74 として型別されていた STEC のうち、SSI の抗 O2 血清と交差反応が見られる株が複数存在することが明らかになった。この結

果を踏まえ、デンカ生研では新たに O2 との交差反応を吸収した抗 O74 血清を作製したので、この血清が O2 と交差反応がないことを大腸菌標準株を用いて確認した。[勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所）、伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、寺嶋淳、デンカ生研、大西真]

エ　血液培養または髄膜炎由来大腸菌の血清型別

髄膜炎を発症した新生児（2 例）の血液、髄液からそれぞれ分離された大腸菌 2 株について、K1 抗原の有無をラテックス凝集反応、および K1 抗原発現大腸菌に特異的に感染するバクテリオファージへの感受性によって解析し、血清型を決定したところ、それぞれ O15:H6（K1 陰性）と O7:K1:HUT であることが明らかとなった[伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、寺嶋淳、大西真]

(3) 病原性遺伝子群 LEE の発現制御に関する研究

多くの EHEC が染色体上に保有する病原性遺伝子群 LEE は、3 型蛋白質輸送装置やこれを介して宿主細胞へ局在する宿主作用因子などがコードされ、これらの機能発現は EHEC の腸管上皮細胞への初期接着過程に必須である。約 40 もの遺伝子から構成される LEE の発現は、LEE 領域外の 3 カ所に別々にコードされている発現制御因子 PchA, PchB, PchC によって正の制御を受ける。Pch は外部環境変化に応答して発現量を変化させることで LEE の発現制御を行うマスターレギュレータとして機能していると考えられており、中でも PchA が LEE の発現制御に最も重要であることが我々のこれまでの研究から明らかとなっている。

ア　ショットガンクローニングによる *pch* の転写制御因子の同定

染色体上の *pchA-lacZ* 遺伝子の活性を指標に、ショットガンクローニングによって O157 のゲノム DNA から *pch* の発現制御遺伝子の同定を試みた。既知の LEE 発現制御遺伝子のうち、その作用点が不明であったいくつかは *pchA* の転写制御を介して LEE 全体の発現制御を行っていることが判明した。大腸菌の低温誘導蛋白質の一つをコードする *cspE* 遺伝子が LEE の発現を抑制するクローンとして同定された。*cspE* の欠損株を構築したところ LEE の発現が上昇し、この表現型は *cspE* だけを運ぶプラスミドで相補された[伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、大西真]

イ　CspE による *pchA* を介した LEE の低温発現抑制機構

cspE 欠損変異による *pchA*, *pchB* および *pchC* の転写活性への影響を解析したところ、*cspE* は *pchA* の転写制御にのみ重要であることが明らかとなった。LEE の至適発現温度はヒトの腸管内と同じ 37℃であり、32℃以下ではその発現が顕著に抑制される。*cspE* 欠損変異株における LEE の発現上昇を様々な温度で野生株と比較した結果、その効果は 32℃で顕著であることが明らかとなった。すなわち、CspE は至適条件以下の環境では *pchA* の転写抑制を介して LEE の不必要な発現を抑制していることが推察された[伊豫田淳、佐藤人美、寺嶋淳、大西真]

(4) 腸管出血性大腸菌のエフェクタータンパク質 EspO1-2 の機能解析

EspO1-2 は III 型分泌機構を介して上皮細胞内に分泌され感染細胞の形態維持に関与する。この分子機構を明らかにする目的で EspO1-2 の機能解析を行った。その結果、EspO1-2 が上皮細胞内で RhoA GEF 活性を持つ EspM2 と相互作用し、ストレスファイバー形成を抑制することを明らかにした。EspM2 は RhoA シグナルを活性化し、ストレスファイバー形成やタイトジャンクションの局在変化を誘導することによって感染細胞の形態を変化させる。従って、EspO1-2 は EspM2 の機能を妨げることによって RhoA シグナルの活性化を制御し、感染細胞の形態を維持することが示唆された。[石原朋子、伊豫田淳、寺嶋淳、泉谷秀昌、大西真]

2. サルモネラ属菌に関する研究

(1) ファージ型別

ア *Salmonella Enteritidis* のファージ型別による解析

2010 年に当研究所にファージ型別のために送付された *Salmonella* Enteritidis は、198 株であった。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。解析された集団事例 13 件のファージ型（PT）の内訳としては、PT47 が 5 件、PT21 が 3 件、RDNC が 2 件、PT1、14ｂ、および 14ｃが各 1 件であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、李志英、高井信子、大西真]

イ *Salmonella* Typhimurium のファージ型別による解析

2010 年に当研究所にファージ型別のために送付された *Salmonella* Typhimurium は、15 株であった。主としてスズメあるいはそれに関連した環境由来の株が多く、ファージ型 DT40 が大半を占めた。[泉谷秀昌、宇根有美（麻布大学）、加藤行男（麻布大学）、福井大祐（旭川市動物園）、李志英、高井信子、大西真]

ウ　チフス菌・パラチフス A 菌のファージ型別

2010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 23株、パラチフスA菌14株であり、前年の菌株数と同様であった。チフス菌では、ファージ型E1が多く、その他にはA、B1、D2、E9等が検出された。パラチフスA菌ではファージ型1及び4が多数を占めた。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

(2) *Salmonella* Enteritidis, Typhimurium 以外のサルモネラに関する血清型別

2010年に当研究所で血清型別、もしくは食中毒事例におけるPFGE解析を行ったサルモネラの血清型としては、I 4:d:-、I 4:i-:、Manhattan、Pomona、I Rough:e,h:1,2、Mgulani、I Rough:r:1,5、Braenderupなどであった。このうち、I 4:i:-およびBraenderupでは食中毒事例も発生しており、今後の動向に注意が必要である。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真]

(3) 各種抗菌薬に対する感受性試験

ア　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

2010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65.2%、パラチフスA菌で92.9%がニューキノロン低感受性であった。また、ニューキノロン系薬剤に耐性を示すチフス菌が1株検出された。第3世代セフェム系抗菌薬に耐性を示すチフス菌・パラチフス A 菌は検出されなかった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

3. 赤痢菌に関する研究

(1) 赤痢菌の遺伝子型別

2010年に依頼、送付された赤痢菌94株についてパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)およびmultilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA)による遺伝子型別を行った。PFGE で使用した制限酵素は *Xba*Iであった。多くは海外渡航歴のある患者由来株であったが、MLVAでは、ツアー集団、家族内感染など、ほぼ事例ごとに異なるタイプが得られた。10月には回転ずしの食中毒事例も含めた広域散発事例が発生し、分子疫学解析においてMLVAが有効であった。[泉谷秀昌、寺嶋淳、李志英、高井信子、石原朋子、大西真]

(2) 赤痢菌の病原因子の発現制御に関する研究

ア　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。当研究ではType III分泌装置遺伝子群の制御因子であるInvEが、細菌の主要なRNA結合蛋白であるHfqを介して転写後レベルで発現調節されることを明らかにした。また、Type III分泌装置発現に関与する変異として同定された因子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た。mRNAの分解を比較したところ、*yfgA*変異体では*invE*-mRNAが高度に安定化していることが示され、さらに精製したYfgA蛋白は*invE*-RNAと強く結合することが示された。YfgAは近年、桿菌の桿状構造を形成する細胞骨格蛋白RodZとして同定されており、一連の研究を通じてRodZの細胞骨格以外の機能としてのRNA結合能を明らかにした。[三戸部治郎]

４．ビブリオ属およびエロモナス属細菌に関する研究

(1) *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株の同定ならびに血清型別

平成22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50株で *Vibrio cholerae*、*V. alginolyticus* および *Aeromonas* spp.が含まれ、すべて国内から依頼であった。その内43株の依頼先は国内の機関であったが、その由来は海外の海水や氷から分離されており、大部分は *V. alginolyticus* と同定された。残り国内株7株は6株が下痢症由来の *V. cholerae* non-O1, non-O139で、1株はO血清型未知の *A. hydrophila* であった。この *A. hydrophila* に感染した小児は、裏急後重を示すなどやや症状の重い下痢症であった。金魚を飼育していた瓶の水からの感染が強く疑われたが、担当医からの指摘で廃棄されたため原因を追求することは出来なかった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

(2) ビブリオ属菌の環境調査

熊本県沿岸部から海水を採取し、*Vibrio vulnificus, V. parahaemolyticus, V. cholerae* の分布状況を調べた。いずれの菌種も、水温、塩分濃度などの環境要因によって、それぞれ異なる程度で、海水中に含まれる菌量が変化した。また、分離菌株および標準株の解析から *atpA*

遺伝子を使った菌の鑑別法を構築した。[泉谷秀昌、森田昌知、松本一俊(熊本県保健環境科学研究所)、荒川英二、山本章治、大西真]

(3) 新規検査系および疫学マーカーの開発

ア　変異エルトール型コレラ菌の新規疫学マーカーの開発菌株間に遺伝的多様性のある変異エルトール型コレラ菌の新規疫学マーカーの開発のため、変異エルトール型コレラ菌のゲノムシーケンスを行い、一塩基置換多型を集積した。その結果、変異エルトール型コレラ菌に特有の22ヵ所のSNPsが明らかとなり、その中から抽出した15ヶ所を標的とすることで、変異エルトール型コレラ菌の型別が可能であった。[森田昌知、泉谷秀昌、荒川英二、山本章治、大西真、黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター)、関塚剛史（病原体ゲノム解析研究センター)]

イ　*V. parahaemolyticus* の食品からの迅速検査法に関する研究

腸炎ビブリオの食品からの検査法について、現行の標準試験法では検査に時間がかかるため、(株)日本ハムとの共同研究で、腸炎ビブリオを特異的に検出するイムノクロマトキットの開発を行っている。市販魚介類や海水などを用いて検出を試みたところ、概ね良好の成績が得られた。しかし、一部の検体ではそこからの分離菌を用いても反応が得られず、また、培地の種類によっては感度の低下がみられることもあり、さらに改良が必要であることがわかった。[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)]

ウ　*V. cholerae* の LPS 合成遺伝子領域の解析および比較

V. cholerae の O 血清群は現在 210 種類あり、その中にはコレラの原因菌である O1、O139 も含まれており、世界的に疫学解析に利用されている。いわゆる NAG と呼ばれる non-O1、non-O139 の一部にはコレラ毒素を産成するものがあり、近年我が国や米国で分離された O141 では、コレラ様の激しい下痢症状も認められる。また、O141 は O75 や O53 と交差反応の認められる。これらの O 抗原合成遺伝子領域の全塩基配列を決定した。またそれぞれを比較し、各 O 血清群に特異的な遺伝子から、PCR による検出系を開発した。[荒川英二、森田昌知、山本章治、泉谷秀昌、大西真]

(4) 形質転換能の制御機構の解析

ア　コレラ菌の形質転換を制御する small RNA の同定

コレラ菌はキチン$(GlcNAc)_n$が存在する環境下で形質転換能を示し、その誘導にはアクティベーター遺伝子 *tfoX* を必要とする。キチンが存在すると *tfoX* の発現が上昇し、産生された蛋白質が DNA 取り込み装置の構造遺伝子群を活性化する。我々はキチンによる *tfoX* の活性化機構について解析を行い、1) キチンダイマー$(GlcNAc)_2$が形質転換を誘導するための最小単位であること、2) $(GlcNAc)_2$による形質転換の誘導は、*tfoX* の翻訳活性化を介していること、を明らかにしてきた。本研究では遺伝学的なスクリーニング法を用いて、*tfoX* の翻訳を活性化する因子 TfoR を同定した。TfoR は 102 塩基からなる短い RNA であり、$(GlcNAc)_2$存在下で発現が誘導された。*tfoR* 遺伝子の欠失株では，*tfoX* の翻訳活性化能が失われるとともに，形質転換も誘導されなかった。TfoR を大量発現させると、$(GlcNAc)_2$が存在しない場合でも *tfoX* の翻訳活性化および形質転換が起こった。さらに、 TfoR が *tfoX* mRNA の翻訳を活性化することを *in vitro* で示した。[山本章治、泉谷秀昌、三戸部治郎、森田昌知、荒川英二、大西真、渡辺治雄]

(5) 旅行者下痢症の微生物学的検討

海外渡航者の下痢症の原因を探索するため、糞便を対象に微生物検索を行った。2010 年に検査した 54 件中 36 件において何らかの病原性を疑う微生物が検出された。検出された主な微生物は、ETEC、EAEC、*Shigella* spp.、*Campylobacter jejuni*、ロタウイルス、*Plesiomonas shigelloides* などであった。[泉谷秀昌、高井信子、加藤康幸（国立国際医療センター)、大西真]

II. レンサ球菌感染症に関する研究

1. 肺炎球菌に関する研究

(1) 肺炎球菌の型別および薬剤感受性試験

小児侵襲性感染由来肺炎球菌の疫学調査。医薬品・医用機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業（新しく開発された Hib、肺炎球菌、ロタウイルス、HPV 等の各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究）の協力研究者として 9 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、常　彬、　神谷斉[国立病院機構三重病院]、庵原俊昭[国立病院機構三重病院])

(2) 健常児に定着する肺炎球菌の解析

2008 年に佐渡島で出生した小児を対象とし、定期健診時

(生後 4、7、10、および 18 ヵ月) に上咽頭培養検査より分離された肺炎球菌の血清型別およびシークエンスタイピングを行った。この調査では近年に新しく同定された 6C および 6D 肺炎球菌が日本国内で初めて検出された。[和田昭仁、 常　彬、大塚岳人(佐渡総合病院)]

3. A 群レンサ球菌関する研究

(1)　A 群レンサ球菌の型別解析

ア　日本における 2009 年の非侵襲性 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別

2009 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、1172 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T12 (307/1172, 26.2%)、T1 (186/1172, 15.9%)、T25 (179/1172, 15.3%)、T4 (162/1172, 13.8%)であった。T12、T4、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。T25 型の分離比率は、2008 年以降、急激に上昇していた (2007 年, 2.7%、2008 年, 9.0%、2009 年, 15.3%)。[池辺忠義、大西真、小黒祐子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研)、嶋智子 (富山衛研)、勝川千尋 (大阪公衛研)、富永潔 (山口環保)、緒方喜久代 (大分衛環研)、 The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

イ　日本における 2009 年に分離された劇症型 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の T 型と非侵襲性患者分離株との T 型の比較

2009 年、56 症例報告があり、そのうち 48 症例が劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)の診断基準を満たしていた。STSS の確定診断例では、T1 型が 48 例中 17 例(35.4%)で分離されており、咽頭炎由来株の分離比率 (15.9%) に比べ、依然高い分離比率を示していた。T12 型は、48 例中 8 例 (16.7%) で分離されており、咽頭炎由来株の分離比率 (26.2%) と比較して低いが、2008 年 (0%) より分離比率が上昇していた。T4 型は 48 例中 0 例で、咽頭炎由来株の分離比率(13.8%)に比べ、低い分離比率を示していた。咽頭炎由来株で分離比率が上昇していた T25 型は、48 例中 3 例 (6.3%) で分離され、2008 年 (3.1%) と比較して増加していた。また、TB3264 型が、48 例中 6 例 (12.5%) から分離され、2008 年 (6.3%) と比較して増加していた。[池辺忠義、大西真、小黒祐子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研)、嶋智子 (富山衛研)、勝川千尋 (大阪公衛研)、富永潔 (山口環保)、緒方喜久代 (大分衛環研)、 The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

ウ　日本において 2009 年に分離された劇症型 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の *emm* 遺伝子型と M 血清型

STSS の確定診断例 48 例中、*emm1* 型(M1 型)が 17 例(35.4%)と最も多く、次いで *emm28* 型(M28 型 2 例、M 血清型不能 4 例)が 6 例(12.5%)、*emm12* 型(M12 型)、*emm89* 型(M 血清型不能)がそれぞれ 5 例(10.4%)と多かった。昨年 1 例であった *emm75* 型(M 血清型不能)による症例は、3 例(6.25%)と増加した。*emm11* 型(M 血清型不能)、*emm49* 型(M49 型 1 例、M 血清型不能 1 例)、*emm113* 型(M 血清型不能)型による症例はそれぞれ 2 例(4.17%)であり、*emm3* 型(M3 型)、*emm22* 型(M 血清型不能)、*emm31* 型(M31 型)、*emm81* 型(M 血清型不能)、*emm87* 型(M 血清型不能)、*emm112* 型(M 血清型不能)による症例はそれぞれ 1 例であった。[池辺忠義、大西真、小黒祐子(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研)、嶋智子 (富山衛研)、勝川千尋 (大阪公衛研)、富永潔 (山口環保)、緒方喜久代 (大分衛環研)、 The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

(2) 日本における劇症型/重症溶血性 A 群レンサ球菌感染症の薬剤感受性試験

2009 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 56 株について薬剤感受性試験を行った。全ての株において、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。エリスロマイシンに対し、50.0% (28/56) の株が、耐性を示し、昨年 (2008 年, 39.1%) より分離率が上昇していた。また、クリンダマイシン、に対し、16.1%(9/56)の株が、耐性を示し、昨年(2008 年, 6.5%)より分離率が上昇した。 [池辺忠義、大西真、小黒祐子 (福島衛研)、大屋日登美 (神奈川衛研)、奥野ルミ (東京健安研)、嶋智子 (富山衛研)、勝川千尋 (大阪公衛研)、富永潔 (山口環保)、緒方喜久代 (大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

4. G 群レンサ球菌に関する研究

(1) 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

2009 年、15 症例報告があり、12 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、*stG6792* 型が 4 例、*stG10* 型が 2 例、*stC74a, stG6, stG116b, stG485, stG653, stG2078* 型がそれぞれ 1 例であった。[池辺忠義、大西真、小黒祐子(福島衛研)、大屋日登美(神奈川衛研)、

奥野ルミ（東京健安研)、嶋智子（富山衛研)、勝川千尋（大阪公衛研)、富永潔（山口環保)、緒方喜久代（大分衛環研）、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

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

2009年、2例のB群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告があった。これら劇症型感染症患者分離株の血清型は、Ib型とV型であった。[池辺忠義、大西真、小黒祐子（福島衛研)、大屋日登美（神奈川衛研)、奥野ルミ（東京健安研)、嶋智子（富山衛研)、勝川千尋（大阪公衛研)、富永潔（山口環保)、緒方喜久代（大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

III.　マイコプラズマに関する研究

子宮筋腫核出術後にみられたMycoplasma hominisによる腹膜炎の症例報告を行った。[田中洋輔、安西桃子、秋田博伸（聖マリアンナ大学横浜市西部病院)、佐々木裕子(細菌第二部)、和田昭仁]

IV *Desulfovibrio* に関する研究

Desulfovibrio desulfuricans による菌血症症例の報告を行った。[棚町千代子、橋本好司、糸山貴子、堀田吏乃、矢野知美、藤健介、小山那奈、佐川公矯（久留米大学病院)、和田昭仁]

V. レジオネラ症に関する研究

1. *Legionella pneumophila* の型別

(1) SBT（sequence-based typing）法による解析

ア　臨床分離株の解析

レジオネラ・レファレンスセンターで新たに収集した *L. pneumophila* 28株（分離年は2008年から2010年3月）について型別を行った。以前の結果もあわせて臨床分離株174株は104種類の遺伝子型（ST）に分けられ、IOD（index of discrimination)は0.988となり、本法の有用性が確認できた。今年度の調査において4事例5株で見出されたST23は世界各国で臨床分離例があり、2002年にわが国の循環式浴槽施設で起きた大規模集団感染事例2例の起因菌の遺伝子型でもある。近年増加傾向にあり、病原性の高い遺伝子型と考えられるので注意が必要である。[前川純子；金子紀子（山形衛研)；黒木俊郎（神奈川衛研)；磯部順子（富山衛研)；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)；吉野修司（宮崎県衛生環境研)；中村奈緒美、阿部信次郎、島田智恵、多田有希(感染症情報センター)；常　彬、倉　文明]

イ　環境分離株の解析1 −浴槽水分離株−

2002年から2010年にかけて長崎県の各地の入浴施設から分離された *L. pneumophila* 血清群1の24株についてSBTを行った。同じ施設から分離され遺伝子型が一致した株を重複例として除くと、18株が15の遺伝子型に分かれた。日本各地の浴槽水分離株について調べると遺伝子型が多様であることが示されていたが、一つの県内の浴槽水を調べても多様性に富むことが分かった。そのうち、7つが新規遺伝子型だった。[前川純子、田栗利紹（長崎県環境保健研究センター)、倉　文明]

ウ　環境分離株の解析2 −冷却塔水分離株−

2010年9月から10月にかけて全国各地の冷却塔水から分離された *L. pneumophila* 血清群1の15株についてSBTを行った。15株は3種類の遺伝子型に分かれ、1種類は新規遺伝子型だった。以前関東地方を中心に冷却塔水分離株 48 株を調べたところ、6 種類に型別され、37株がST1だったことが示されていたが、今回、全国各地からの菌株を15株調べたところ、13株がST1だった。[前川純子；井上浩章、縣　邦雄（アクアス株式会社つくば総合研究所)；倉　文明]

(2)　*Legionella pneumophila* のMLVA法による型別についての検討

MLVA（multiple-locus variable number tandem repeat (VNTR) analysis）法を用いて *Legionella pneumophila* の型別を行った。*L. pneumophila* 臨床分離株40株、土壌分離株26株、冷却塔水分離株28株、浴槽水分離株34株の計128株のVNTR解析を行ったところ、73種類に分類された。今回解析した128株について、すでに結果が得られているSBT法では68種類に分類されたので、MLVA法の分解能はSBT法と比較して同等以上であり、手法も簡便だった。しかし、MLVA法で同一遺伝子型を示したものをSBTで細分化できる場合があり、SBTのデータベースが世界規模で整備されている現状を考えると、両手法を併用することが有効だと考えられた。［前川純子；竹内　彩、村井美代（埼玉県立大学、健康開発学科)；泉山信司（寄生動物部)；倉　文明]

2.　レジオネラ属細菌の検査法の開発に関する研究

(1)　液体培養定量 RT-PCR を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の検討

浴槽水等の環境水からレジオネラ属菌を検出するため行われる平板培養法は、判定までに 7～10 日を要し、検査結果が出たときには現在の浴槽水の状態は不明であることが問題とされている。一方、迅速な結果が得られる遺伝子検査法は死菌も検出することから、塩素消毒された浴槽水中の生菌を正確に求められなかった。これらを回避した検査法として、液体培養（Liquid Culture）定量 RT-PCR 法（LC qRT-PCR、以下 LC 法）を開発した。本法を複数施設で検討した結果、濃縮試料を液体培地で 18 時間培養した際の Ct 値（Ct（18h））が 34 未満、培養前の Ct 値（Ct（0h））との差（ΔCt 値）が 1 以上の基準を同時に満たす場合にレジオネラ生菌の存在予測が可能であった。浴槽水及び原水 61 件を対象に、LC 法と平板培養法の検出結果を比較したところ、LC 法は感度 85.7%、特異度 100%であり、平板培養法の結果を迅速に予測できると考えられた。定量値においても両者は高い相関を示し（R^2 = 0.86）、LC 法により施設の汚染状況を迅速に評価できることが明らかとなった。本法は、検体搬入から最短 21 時間程度で生菌の有無と汚染レベルが判明することに加え、死菌量により潜在的な汚染リスクが評価可能であり、施設の衛生管理及び指導に活用可能と期待された。[烏谷竜哉、浅野由紀子(愛媛県立衛生環境研究所)、田栗利紹（長崎県環境保健研究センター)、磯部順子（富山県衛生研究所)、中嶋 洋（岡山県環境保健センター)、矢崎知子（宮城県保健環境センター)、泉山信司（寄生動物部)、遠藤卓郎、倉　文明]

(2)　LAMP 法で *Legionella londiniensis* を検出する試薬

LAMP 法は、濁度で半定量的に環境水中のレジオネラ属菌の DNA を簡便・迅速に検出する方法として普及している。しかし、環境水から時々検出される *L. londiniensis* は検出できず、試薬の改良が望まれていた。そこで基準株や、日本の分離株（16S rRNA 遺伝子上にいくつか変異がある）を検出できる試薬を開発した。[伊澤真樹（ニッポンジーン)、安中敏光（栄研化学生物化学研究所)、前川純子、倉 文明]

(3)　*Legionella pneumophila* の血清群の同定における PRO-LAB ラテックスの利用

L. pneumophila の血清群の同定にはデンカ生研の 15 種類のレジオネラ免疫血清(ニューモフィラ 1 群ー15 群)がスライド凝集法で利用されている。しかし、どの血清群に対する免疫血清にも反応しない株が浴槽水中からしばしば分離されている。これらの株をドレスデンのモノクローナル抗体で同定すると、ほとんど 4 群、10 群と同定された。このモノクローナル抗体が国内にないので、入手可能な PRO-LAB の血清群に特異的なラテックスで検査した。モノクローナル抗体で血清群 10 と同定された株は対応するラテックスに反応するが血清群 14 にも 10 株中 8 株が交差反応し特異性に問題があった。しかし、その反応性にはパターンがあるので同定の補助として利用可能であった。[倉 文明、前川純子、Jürgen H. Helbig (ドレスデン工科大学)]

(4) レジオネラ属菌検査法のアンケート調査

環境水のレジオネラ数検査の外部精度管理のためには、検査法の多様性を減らし、培養早期にレジオネラを観察可能にする斜光法（日本環境感染学会誌 25 (1): 8-14, 2010）を含む研修の必要性が感じられる。そこで最初に地衛研に対して、アンケートによる環境水のレジオネラ検査法の実態調査を行った。77 カ所に配布し、保健所 1 を含む 75 カ所から回収した。22%（16/71）が研修後に検査を導入し、48%（36/75）が安全キャビネットを利用していた。91%（68/75）が検査法の統一が必要だとした。［森本　洋（北海道立衛生研究所)、磯部順子（富山県衛生研究所)、大屋日登美（神奈川県衛生研究所)、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター)、金子紀子（山形県衛生研究所)、中嶋　洋（岡山県環境保健センター)、矢崎知子（宮城県保健環境センター)、吉野修司（宮崎県衛生環境研究所)、前川純子、倉 文明]

3. レジオネラ属細菌の消毒に関する研究

(1)　アルカリ性温泉水を使用した入浴施設へのモノクロラミン消毒の導入

入浴施設のレジオネラ属菌汚染の対策として遊離塩素消毒が導入されたが、管理が容易ではなく、レジオネラ属菌の汚染が依然として問題となっている。遊離塩素消毒に代わるモノクロラミン消毒に着目し、レジオネラと宿主アメーバを不活化できること、モデル循環式浴槽の消毒が可能であることを示してきた。本年度は遊離塩素消毒が難しいアルカリ性温泉水の掛け流し式浴槽と循環ろ過式浴槽の営業施設で、実地の試験を行った。掛け流し式浴槽施設では、次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムの混合で自動生成したモノクロラミンを、源泉タンク内に自動注入した。入浴中の浴槽水のモノクロラミ

ン濃度は大きな減少もなく、追跡した２ヶ月間にわたり、レジオネラ属菌陰性を維持できた。循環ろ過式浴槽施設では、1週間にわたりモノクロラミンを手投入した結果、温泉補給水の希釈を受けてモノクロラミン濃度が大きく低下することはあったが、レジオネラ属菌は検出されなかった。塩素臭の原因となるトリクロラミンはまったく検出されず、入浴者へのアンケートでも臭気や肌に違和感を感じた者はなかった。モノクロラミン消毒は営業施設においても有用なことが示され、次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が困難といわれるアルカリ性温泉水の消毒方法として期待できた。[杉山寛治、神田 隆（静岡県環境衛生科学研究所)、田栗利紹（長崎県環境保健研究センター)、小坂浩司（国立保健医療科学院)、縣　邦雄（アクアスつくば総合研究所)、泉山信司（寄生動物部)、遠藤卓郎、倉 文明]

VI. 節足動物媒介細菌感染症に関する研究

1. ボレリア属細菌に関する研究

(1) 欧州型 *Borrelia garinii* の拡散に関する調査研究

近年鳥類の移動によりヒトに神経症状を好発させる欧州型*B. garinii*が長距離を移動した例が海外で報告されるようになった.このため,わが国や周辺地域において,その拡散を調査する必要がでてきた．本年度は，モスクワ市近郊において，シュルツェマダニからも低頻度ながら欧州型 *B. garinii* を見出した．このことは，欧州型ボレリアガリニを伝播するリシナスマダニとアジア型 *B. garinii* を伝播するシュルツェマダニが同所的に棲息する地域で，シュルツェマダニを介する伝播サイクルに欧州型ボ *B. garinii* が入り込んだことを明らかにした．今後は調査地域をアジア寄りに移動し欧州型 *B. garinii* 浸潤実態を解明する必要が有る．

[川端寛樹，高野愛，大西真（細菌第一部)，井上智（獣医科学部)，苅和宏明，Trachec SE，Morozov VG，Ma X（所外協力研究者）]

(2) 国内生態系におけるライム病ボレリアの維持伝播経路に関する調査研究

国内でのライム病病原体 *Borrelia garinii* の高感度DNA型別解析から，１）国内に存在する *B. garinii* は2群(*B. garinii* ST-group A，*B. garinii* ST-group B)に大別できること，２）患者由来株の約84%は *B. garinii* ST-group B であること，３）野鼠由来株はすべて *B. garinii* ST-group B であること，さらに，４）患者分離株の約半数が野鼠によって保菌されている *B. garinii* と同じDNA型であることが明らかとなった．以上のことから，我が国においては，ライム病ボレリア *B. garinii* 感染例の少なくとも半数は野鼠由来である可能性が示唆された．

[川端寛樹，高野愛，大西真（細菌第一部)，安藤秀二（ウイルス一部)，花岡希（感染症情報センター)，本田尚子（放射能管理室)，石畝史，高田伸弘，矢野泰弘，増沢俊幸,中尾稔,藤田博己,伊東拓也,及川陽三郎,Kyle Taylor,坪田敏男，今内覚，川森文彦，三上稔之，熊谷邦彦（所外協力研究者）]

(3) ダニ媒介性感染症起因菌の重複感染における重症化に関する基礎的研究

海外ではこれまでに，マダニ媒介性病原体が重複感染した場合，患者病態が重症化しやすいことが報告されている．これら重症化は *Borrelia* と *Anaplasma*，または *Borrelia* とバベシア原虫において見出されている．一方，国内において，これら病原体の重複感染における重症化について、その有無とメカニズムについては全く明らかにされていない．そこで本研究ではこれら病原体の重複感染時の重症化について実験室レベルで解明することを目的とする．本年度は，国内ライム病患者から分離された株を中心に，ヒト血清感受性を指標とした全身感染の有無，およびヒト脳血管内皮細胞の応答について，欧米株との比較解析を行った．

[川端寛樹，高野愛，杉森千恵子，佐藤梢，高橋英之，大西真（細菌第一部)，阿戸学，松村隆之（免疫部）]

2. ペスト菌に関する研究

(1) ペスト菌 F1 antigen に対するポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体を用いた直接抗体法によるペスト菌の迅速検出法の開発

昨年に引き続きペスト菌の主要抗原である F1 antigen をターゲットとした抗原抗体反応を利用したペスト菌の迅速検出法の開発を試みた。本年度は F1 antigen のモノクローナル抗体及び F1 antigen に対するウサギ血清から精製したポリクローナル抗体を用いて蛍光物質 Alexa488 もしくは Alexa594 とコンジュゲートさせた抗体を作製して直接抗体法によるペスト菌の検出法の確立を試みた。その結果、ペスト菌の類縁菌である *Y. pseudotuberuculosis* 及び *Y. enterocolitica* への交差反応は全く認められず、ペスト菌に対しては非常に強い蛍光像が得られた。この結果から直接抗体法を用いてペスト菌を特異的且つ迅速に検出出来る系が確立され

た。[高橋英之]

VII. 髄膜炎菌感染症に関する研究

1. 髄膜炎菌の病原機構に関する研究

(1) GltT-GltM グルタミン酸トランスポーターを介したグルタミン酸の取込みと髄膜炎菌の宿主細胞侵入機構の解析

我々は低ナトリウム駆動グルタミン酸トランスポーターオペロン (NMB1965{*gltT*}-NMB1964{*gltM*})に挿入変異を持つ株が細胞侵入性を失っている事に着目して解析を進めた。その結果、それらの挿入変異株及び完全欠失株はヒト培養細胞への接着能は野生株の 1/10 程度に低下していたが、その侵入能は 1/100 にまで低下しており、*gltT-gltM*変異株は *gltT* もしくは *gltM*遺伝子の単独ではその細胞侵入能の低下は相補されず、また *gltT* 及び *gltM* の両遺伝子のアンバー変異株でも同様の結果が認められたことからヒト培養細胞への侵入には上記 2 遺伝子が両方機能することが必要であることが示唆された。さらに、*gltT* アンバー変異によって mRNA の発現に影響がないにもかかわらず GltM タンパク産物の発現欠損が認められることから *gltT* と *gltM* 遺伝子の発現は翻訳レベルで共役していることが示唆された。また、グルタミン酸を欠如させた培地を用いた感染実験においては野生株でも宿主細胞への侵入効率が著しく低下することが観察され、*gltT-gltM* 完全破壊株ではアクチンの集積やそれに付随するエズリンの集積等の宿主細胞の反応が著しく低下していた。さらに ^{3}H-glutamate の取込みを調べた結果、変異株の細胞侵入性は GltT-GltM を介した ^{3}H-glutamate の取込み能力と正の相関性を示した。
以上のことから、細胞侵入の際に GltT を介した髄膜炎菌のグルタミン酸の一過的な取り込みが髄膜炎菌及び宿主細胞へのシグナルとなって髄膜炎菌の細胞侵入が起こる機構が示唆された。また従来より宿主細胞への侵入は宿主細胞への接着後に一義的に進行する現象であると推測されていたが *gltT-NMB1964* 変異株が細胞侵入能をより大きく欠損していることから細胞接着と細胞侵入は異なる因子が働く独立した事象であることが強く推測された。[高橋英之、Kwang Sik Kim (Johns Hopkins Univ)、渡辺治雄]

(2) 髄膜炎菌の培養細胞における接着の研究

髄膜炎菌による尿道炎が散見されるがその実態は掴めておらず、感染経路及び発症メカニズムは不明であり、本研究ではその実態解明に努めている。取りかかりとして、尿道炎由来髄膜炎菌の細胞接着性に着目した。はじめに、尿道炎由来株と非尿道炎由来株の初期接着の有意差について検討した。簡易的に培養細胞への接着を検出する系として、免疫染色法を用いた細胞接着を評価する系を構築した。この系を用いて尿道炎由来 12 株、非尿道炎由来 61 株について評価した。その結果、尿道炎由来株の約 66.7%、非尿道炎由来の約 18%が強接着型であり、由来の異なる菌株間における細胞接着性に有意差がある事が分かった。[志牟田　健、高橋　英之、大西真]

(3) 髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

2010 年度年度 1 年間に感染研に収集された 3 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 2 株は Y 群、残りの 1 株は non-typable であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は Y 群の 2 株が共に ST-23、non-typable の株が ST-35 であった。本年度も感染研への株の回収が少なかったが、日本では初めて検出された ST-35 の株が注目される。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、大西真]

VIII. レプトスピラ症に関する研究

1. レプトスピラ症血清診断法の開発

組換えタンパク質抗原 LigA を用いた IgM ELISA を構築し,血清診断の標準法である顕微鏡下凝集試験(MAT)との比較を行った. その結果 MAT と比較して LigA-IgM ELISA の感度は 89%, 特異度は 92%であった. スリランカ流行地域の健常人の 37%で既往の感染による MAT 抗体が検出されたが, LigA に対する IgM は検出されず, LigA-IgM ELISA により既往の感染との鑑別が行えることが明らかとなった. さらにμ(mu)-capture ELISA を導入することによって LigA-IgM ELISA の感度を向上することができた. [小泉信夫, 大西真 (細菌第一部), Jayanthe Rajapakse (University of Peradeniya)]

2. 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

(1) イヌのレプトスピラ症強化サーベイランス

イヌのレプトスピラ症の発生実態を明らかにするため 10 県で検査定点サーベイランスを行い, すべての県でレプトスピラ感染のイヌが認められた. 福岡, 熊本, 宮崎

および鹿児島県のイヌの血液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分離株はすべて *L. interrogans* と推定された.分離株の血清群は Australis, Autumnalis, Hebdomadis であった．また，これまで国内で報告された血清群に対する抗血清のいずれとも反応がみられないレプトスピラが,鹿児島県で分離された．[小泉信夫，武藤麻紀，大西真（細菌第一部），赤地重宏（三重県保健環境研究所),堀川和美(福岡県保健環境研究所),原田誠也（熊本県保健環境科学研究所），岡野祥，平良勝也（沖縄県衛生環境研究所），山本正悟（宮崎県衛生環境研究所）]

(2) 各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

全国各地で捕獲されたネズミからレプトスピラの分離を試みた結果，東京都および神奈川県のドブネズミ各 1 匹，沖縄県のクマネズミ 1 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および標準抗血清との反応性から，分離株は *L. interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae（東京都および神奈川県)および *L. borgpetersenii* serogroup Javanica（沖縄県)と同定された．東京都で引き取りあるいは収容されたネコのレプトスピラ保有を調査したが，レプトスピラの分離あるいはレプトスピラ DNA は検出されなかった.

スリランカ・キャンディー地方のウシおよび野鼠のレプトスピラ抗体検出を行い,それぞれ 20%および 18%が陽性であった．またウシ抗体とヒト患者抗体で反応がみられたレプトスピラ血清群が一致したことから，ウシが重要なレプトスピラ保有動物であることが示唆された.[小泉信夫，武藤麻紀，大西真（国立感染症研究所・細菌第一部），谷川力，春成常仁（イカリ消毒技術研究所），小松謙之（シー・アイ・シー），宗村佳子（東京都動物愛護相談センター城南島出張所），Gamage CD，玉城英彦(北海道大学大学院)，Jayanthe Rajapakse (University of Peradeniya)]

IX. 性感染症に関する研究

1. 淋菌に関する研究

(1) 薬剤耐性に関する研究

ア　セフトリアキソン耐性淋菌の分離同定

2009 年、国内で分離された淋菌の第一治療選択剤であるセフトリアキソンに対する MIC が淋菌としては非常に高い値を示すことを見いだした。MLST および PFGE 解析により、国内で出現し蔓延したセフェキシム耐性淋菌と近縁株であることが示された。[大西真、志牟田健、中山周一（細菌第一部)、保科眞二（保科医院)、岩破一博、北脇　城(京都府立大学大学院)、雜賀　威（三菱化学メディエンス）]

イ　セフトリアキソン耐性型 *penA* 遺伝子座 *penA:H041* の伝搬能確認

セフトリアキソン耐性淋菌 H041 の主たる耐性責任遺伝子座 *penA:H041* の PCR 産物 DNA が transformation で感受性菌を耐性菌に変換できること、また H041 と感受性菌の混合培養により *penA:H041* が感受性菌に移行し耐性菌に変換し得ることを実験的にデモンストレーションした。これにより、H041 とは独立に他のセフトリアキソン耐性が出現する可能性に加え、H041 からのセフトリアキソン耐性拡散の可能性が有ることに科学的根拠を与えた。[中山周一、志牟田健、大西真]

ウ　薬剤耐性淋菌のサーベイランス

2010 年 4 月から 2011 年 3 月の間、京都市の 3 箇所のクリニックより輸送された臨床検体の内、本研究所にて淋菌と分離同定された 25 株について PCG、CTRX、AZM、CPFX、CFIX の 5 薬剤に対する MIC 測定を行った。その結果、PCG は 23 株が耐性で、2 株が感受性株であった。CTRX 及び AZM は全株が感受性株であった。CPFX は 24 株が耐性で、1 株のみ感受性株であった。CFIX は、耐性株、低感受性株および感受性株がそれぞれ 3、11 および 11 株であった。[志牟田　健、中山　周一、大西　真]

エ　TEM-135 型 β-ラクタマーゼ産生淋菌に関する研究

プラスミド性の β-ラクタマーゼ産生淋菌（PPNG)の β-ラクタマーゼ遺伝子は TEM-1 型であることが知られていた。タイ国で新規の TEM-135 型遺伝子を保有する淋菌の分離報告があったため、国内分離 PPNG の β-ラクタマーゼ遺伝子の配列決定を行い国内での分離状況と、その分子タイピングを行なった。既に国内においても TEM-135 型 PPNG が分離されていること、それぞれ異なる系統に属していることが見いだされた。TEM 遺伝子の 1 塩基変異により、基質拡張に繋がることが他の細菌において明らかにされている。今後、TEM 遺伝子の変異によるセフトリアキソン耐性淋菌の出現に注意すべきであることが示された。[大西真、志牟田健、中山周一、渡邉治雄（細菌第一部)、小野恵美、岡村登(東京医歯大)]

(2) Type IV 分泌装置保有率の予備的調査

淋菌の Type IV 分泌装置の役割については一部、DNA donor 効率や TonB 欠損時の細胞内生存能に関与する等の報告もあるが必ずしも確立していない。臨床株での保有

率は~65%程度、全身感染症状起因株では~80%となるというサーベイランス結果がある。我々は今回、この保有率と MLST 系統とに連関があるかを予備的に調査してみた。近年の国内分離株で最頻の MLST である ST1901 では保有率が 100% (21/21) であったのに対して、２番目の頻度である ST7363 では 19.35% (6/31) で、大きな差が認められた。議論のある Type IV 分泌装置の役割を含め、その必要性が菌の ST 型とリンクした系統によって差のある可能性が考えられる。今後、先ず ST 型による保有率の差をさらに確認していく予定である。[中山周一、志牟田健、大西真]

X. 口腔細菌感染症に関する研究

1. 口腔細菌のバイオフィルム形成に関する研究

(1) *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成に関する研究

ア *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を抑制する *S. salivarius* 分子の同定

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。この阻害物質の一つが Fructanase(FruA)であることが明らかとなった。FruA は、*S. mutans* が産生する Glucosyltransferase(GTF)による sucrose を基質した glucan 合成を阻害していた。そのメカニズムは、GTF が sucrose を利用して glucan を合成する前に FruA が sucrose を分解し、glucan を合成させなくすることにあると考えられた。FruA は、有望なう蝕予防剤になる可能性が考えられた。[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、大西　真]

イ　*S. mutans* のバイオフィルム形成に対する polypyrrole の効果

S. gordonii の菌体表層蛋白質 (SspB) の SspB(390-T400K-402) と SspB(390-T400K-401) 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。陽電荷表出およびこのペプチドのようなαヘリックス構造に似た化合物として polypyrrole が見つかった。この化合物は、分子構造上一定の間隔で陽電荷を表出している。ペプチドを合成するよりも安価であり、安定して物質を供給することができる。唾液成分がコートされたハイドロキシアパタイトに 10%の polypyrrole を処理すると有意に *S. mutans* のバイオフィルム形成を抑制した。よってこの化合物は、う蝕予防剤ととして有用である可能性が考えられた。[泉福英信、Elif Tuna、大西　真]

ウ　*Streptococcus mutans* の非水溶性グルカン非依存のバイオフィルム形成機序

う蝕原性細菌である *S. mutans* は、ストレス環境下において菌密度の上昇において Qurum sensing が起こり、ComD および ComE のシグナル伝達が起こり、Bacteriocin の産生や外来遺伝子の取り込みが行われる。特に、Autolysin 産生も起こり、この結果菌体が破壊され DNA が露出するようになる。このような DNA は、バイオフィルム形成をより促進させる。本研究では、この DNA 放出に依存したバイオフィルム形成に、*rytR* 遺伝子や *mbrD* 遺伝子が関与することが明らかとなった。これら遺伝子は、抗菌物質の抵抗性に関わる遺伝子であることも明らかとなった。[河原井 武人、成澤 直規、落合 邦康(日本大学歯学部)、渡辺 治雄、大西　真、泉福 英信]

エ　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、アッサム茶抽出成分のう蝕原性細菌 *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。対照として用いた中国産緑茶に比較し、アッサム茶葉は、非常に強いガレート型カテキンによるバイオフィルム形成阻害効果を示した。一方、緑茶にはカテキンの持つバイオフィルム阻害活性を阻害する物質が含まれることが明らかとなった。この阻害物質は、多糖体であることが明らかとなり、糖分析の結果、ペクチンであることが明らかとなった。本研究により、アッサム茶は緑茶に比較し、植物によく含まれるペクチンの含有量が少ないため、*S. mutans* バイオフィルム形成に対する阻害効果を示したことが考えられた。[泉福英信、河原井武人、成澤直規、大西　真]

オ　*Streptococcus mutans* バイオフィルムの病原性調節遺伝子の解明

S. mutans のバイオフィルム形成時の病原性発現には多くの遺伝子が関わっているが、詳細は明確になっていない。臨床分離株は実験室株よりも厳しい環境下で生存しているため、バイオフィルム形成能および調節遺伝子を多く有している。そこで、母子から分離された *S. mutans* において遺伝的に異なる特徴を有していても、比較的に保存されている遺伝子を選び出し、それぞれ遺伝子変異

体作製した。欠損株{SMU832 (Putative glycosyltransferase)、SMU833(hypothetical protein)、SMU1507 (hypothetical protein)、SMU1508 (Putative coenzyme PQQ synthesis protein)}を、バイオフィルム形成量について親株と比較検討した。SMU832 と SMU833 の遺伝子欠損株は、バイオフィルム形成量が親株よりも上昇していた。しかも DNase でそれらのバイオフィルム形成を処理すると、有意に形成量が低下した。よって、SMU832、SMU833 は、DNA 放出を制御してバイオフィルム形成を調節する遺伝子である可能性が考えられた。[泉福英信、茂木瑞穂、成沢直規、河原井武人、渡邉治雄、大西　真]

(2) *Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成に関する研究

ア　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。この SCFA は、ある一定の濃度において、口腔常在菌である *Actinomyces neaslundii* のバイオフィルム形成を上昇させることが明らかとなった。このバイオフィルム形成の上昇を解析するために、*A. naeslundii* X600 の酪酸刺激後のストレス蛋白質の発現量の検討を行うと、酪酸添加により有意にストレス蛋白質である GroEL や GrpE などの発現量が上昇するのが認められた。さらにバイオフィルム形成中に抗 GroEL 抗体を処理すると、有意にバイオフィルム形成量が低下することが認められた。よって、GroEL は菌表層に露出しており、このようなストレス蛋白質の露出がバイオフィルム形成に影響を与えている可能性が考えられた。[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、大西　真]

2. 口腔細菌の菌種内多様性出現機構に関する研究

(1) う蝕原性菌 *Streptococcus mutans* 多様性出現機構の解明

う触原性 *Streptococcus mutans* は他のバクテリアと同様、株もしくは種レベルで多様性を有することが報告されており、これは口腔内環境への適応との関連が示唆されている。本研究においてヒト口腔内から分離された臨床株 FSM-11 株は、17 種の株の中で 10^{-2} 程度と高頻度に S 型コロニーが出現していた。これは、ComE に依存した Quorum Sensing が関わる *recA* 遺伝的組み換え機構により起こることが明らかとなった。一方、*recA* 非依存機構として、ComX に依存した外来遺伝子の取り込みも関与していることが明らかとなった。この２つのメカニズムにより、*S. mutans* の多様性が制御されていると考えられた。[成澤直規、河原井武人、米田早織、大西　真、泉福英信]

3. 歯周病原因菌に対するワクチン開発のための研究

(1) *P. gingivalis* の外膜ヴェシクルの免疫原性に関する研究

主たる歯周病原細菌と考えられている *P. gingivalis* の外膜ヴェシクルを精製し、これをマウス経鼻免疫の実験に利用した。アジュバントには、Toll-like receptor 3 (TLR3) に作用する二本鎖 RNA である polyinosine-polycytidylic acid [Poly(I:C)]を用いた。外膜ヴェシクルと Poly(I:C)の組み合わせで経鼻免疫した場合、*P. gingivalis* 全菌体と交差反応性を示す抗体が、血液(IgG および IgA)、鼻腔洗浄液(IgA)、そして唾液(IgA)に誘導された。同じタンパク量の菌体を免疫原として用いた場合に比べ、外膜ヴェシクルで誘導される抗体価は非常に高かったことから、外膜ヴェシクルには高い免疫原性があり、ワクチンとして応用できる可能性が示唆された。[中尾龍馬、長谷川秀樹 (感染病理部)、相内章 (感染病理部)、大西　真、泉福英信]

4. 口腔感染症のモデル動物の作成

(1) NOD/SCID.*E2f1*$^{-/-}$マウスを用いた齲蝕高感受性モデル動物の確立

唾液分泌能の低下した患者の口腔内は様々な菌が定着し易く、齲蝕細菌をはじめとした多くの微生物に易感染性である。これらの特徴を持つNOD/SCID.*E2f1*$^{-/-}$マウスを作製し、このマウスを用いて*S. mutans*の定着性を検証し、齲蝕高感受性モデル動物として確立する検討を行った。NOD/SCID.*E2f1*$^{-/-}$マウスは、ヒト唾液、アミラーゼ、ムチン、初乳IgA、牛血清アルブミンの歯表面コートにより*S.mutans*の歯面への定着が促進されることが明らかとなった。中でも、ヒト唾液と初乳IgAは、その促進量が高く、これは*S. mutans*に対する抗体の含有が大きく影響していることが明らかとなった。[泉福英信、伊藤龍朗、金口紀彦、木下陽介、成澤直規、渡辺治雄、大西　真]

(2) NOD/SCID.*E2f1*$^{-/-}$マウスを用いた口腔常在菌：*A. naeslundii* と *Streptococcus gordonii* の複合感染モデル動物の確立

NOD/SCID.*E2f1*$^{-/-}$マウスを用いて *A. naeslundii* と *S. gordonii* の歯表面定着性を検証し、口腔常在菌感染モデ

ル動物の確立を検討した。その結果、前準備として、実験の前日から 1 %sucrose 水をマウスに給水した場合、給水しない場合に比べ有意に *A. naeslundii* の歯表面定着性が上昇していた。この実験系で、*A. naeslundii* と *S. gordonii* を口腔内に複合接種すると接種後 180 分で *A. naeslundii* が *S. gordonii* の付着を助け、一方 *S. gordonii* も *A. naeslundii* の付着を助けていた。単一菌による接種よりも複合菌による接種の方が、バイオフィルム形成が上昇する可能性が考えられた。[泉福英信、Zhang Xi、伊藤龍朗、成沢直規、渡辺治雄、大西　真]

5. 口腔における疫学的な調査

歯科医療における院内感染防止システム普及のための評価指標の標準化とその応用について

歯科医療は、患者との近接、唾液血液の飛び散りなどから病原体に曝されるリスクが高いためスタンダードプレコーションを徹底して行う必要がある。しかし歯科医師の、スタンダードプレコーションの理解率は一般開業歯科医師で 25%前後と低く、上昇傾向がみられるものの万全の院内感染防止システムの体制での歯科医療を行っていない。本研究で行った検討では、研修会や実習を開催することにより、院内感染対策の知識がより増え、それが意識や行動のよい方向につながることを明らかにした。しかし、知識への影響に比べ、意識や行動の反応は鈍く、知識への影響程大きな変化に至っていない。今後の継続的な取り組みが重要と考えられた。[泉福英信、小森康雄（東京医科大学）]

レファレンス業務

Ⅰ．劇症型/重症レンサ球菌感染症レファレンス業務

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、大西真、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

II. レジオネラ症に関するレファレンス業務

平成 22 年度は、臨床分離株 53 株、環境分離株 92 株合計 145 株を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 43 株、Lp SG6 の 3 株、Lp SG3 および Lp SG5 各 2 株、Lp SG2 および Lp SG10 各 1 株、*L. londiniensis* 1 株(溺水事例)であった。*L. londiniensis* の臨床分離株はこれまで報告がない。Lp の遺伝子型別（SBT）を検索しレファレンスセンター報告資料を作成した。環境分離株は、Lp SG1 の 63 株、Lp SG10 と推測される 8 株、Lp SG6 および L. spp. 各 5 株(同一施設由来で既存の菌種とは異なる)、*L. nagasakiensis* の 4 株（同一施設由来)、Lp SG7 の 3 株、 Lp SG3 と Lp SG5 と Lp SG12 と *L. bozemanae* 各 1 株であった。この環境分離株中には、同定の依頼のあったもの（5 株)、珍しいレジオネラ属菌（4 株)、まれな環境水由来株（冷却塔補給水由来 3 株、水道水由来 2 株、修景水由来 1 株の合計 6 株)、症例調査に関連した株（7 株）を含んだ。なお、収集された株は、必ずしも平成 22 年度に分離された株ではない。[倉　文明、前川純子、大西　真]

品質管理に関する業務

Ⅰ．肺炎球菌ワクチンの検定

製剤担当室として肺炎球菌ワクチンの検定を、試験担当室および製剤担当室として沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチンの検定を行った。[前川純子、常彬、和田昭仁]

II. 梅毒体外診断薬の承認前検査

厚生労働省の依頼により承認前検査を行ったものは、蛍光 EIA 法による抗梅毒抗体検出試薬、１件と凝集法による抗梅毒抗体定量試薬、１件である。いずれも規格試験に合格した。[中山周一、大西　真]

国際協力関係業務

Ⅰ．JICA 主催の中南米医療従事者向け講習会

今年度も JICA 主催の中南米検査関係者等に表記講習会で梅毒の講義を行った（H23 年 1 月 25 日、当所)。[中山周一]

II. 耐性淋菌対策会議出席

2010 年 4 月 7 日ー9 日にマニラ WPRO で開催された Joint WHO/CDC International consultation on the response to the threat of global antimicrobial resistance (AMR) in *Neisseria gonorrhoeae*. に参加し、各国の耐性淋菌の現状の情報共有とともに、今後危惧される、最後の有効薬剤セフトリアキソンに耐性を持つ淋菌出現に備えたアクションプラン策定の討論等を行った。[中山周一]

III. アジア太平洋地域における新興感染症に対する戦

略(APSED)支援

WPRO の依頼により、ラオス人民共和国の新興感染症対策の一環として実験室診断の機能強化プログラムを策定した。平成 22 年度は、2 回にわたり現地での技術指導を行った。[泉谷秀昌、大西 真]

研修業務

Ⅰ．溶血性レンサ球菌およびその感染症に関する研修

国立感染症研究所村山庁舎で開催された地方衛生研究所等において細菌検査業務に従事する方を対象とした「平成 22 年度短期研修新興再興感染症技術研修」において、溶血性レンサ球菌に関する実習および講義を 3 日間行った。[池辺忠義]

II. レジオネラ症に関する研修

1. 平成 22 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17名に対して2時間の講義を行った。12 月 1 日、東京都。[倉文明、前川純子]

2. 平成 22 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(主として地衛研及び保健所職員)325 名に講義を行った。2 月 28 日、東京都。[倉文明、泉山信司 (寄生動物部)]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Al Benwan K, Al Mulla A, Izumiya H, Albert MJ: Erythema nodosum and bilateral breast abscesses due to *Salmonella enterica* serotype Poona. J Clin Micorbiol 2010, 48; 3786-3787.

2) Alam M, Hasan NA, Sultana M, Nair GB, Sadique A, Faruque AS, Endtz HP, Sack RB, Huq A, Colwell RR, Izumiya H, Morita M, Watanabe H, Cravioto A: Diagnostic limitations to accurate diagnosis of cholera. J Clin Microbiol 2010, 48: 3918-22.

3) Alam M, Nusrin S, Islam A, Bhuiyan NA, Rahim N, Delgado G, Morales R, Mendez JL, Navarro A, Gil AI, Watanabe H, Morita M, Nair GB, Cravioto A: Cholera between 1991 and 1997 in Mexico was associated with infection by classical, El Tor, and El Tor variants of *Vibrio cholerae*. J Clin Microbiol 2010, 48: 3666-3674.

4) Amemura-Maekawa J, Kura F, Helbig JH, Chang B, Kaneko A, Watanabe Y, Isobe J, Nukina M, Nakajima H, Kawano K, Tada Y, Watanabe H, Working Group for *Legionella* in Japan: Characterization of *Legionella pneumophila* isolates from patients in Japan according to serogroups, monoclonal antibody subgroups and sequence types. J Med Microbiol 2010, 59:653-659.

5) Ando S, Kurosawa M, Sakata A, Fujita H, Sakai K, Sekine M, Katsumi M, Sakai W, Yano Y, Takada N, Takano A, Kawabata H, Hanaoka N, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T: Human *Rickettsia heilongjiangensis* infection, Japan. Emerging Infectious Diseases　2010,16:1306-8.

6) Asai t, Sato C, Masani K, Usui M, Ozawa M, Ogino T, Aoki H, Sawada T, Izumiya H, Watanabe H: Epidemiology of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from food-producing animals in Japan. Gut Pathog 2010, 2: 17.

7) Chang B, Otsuka T, Iwaya A, Okazaki M, Matsunaka S, Wada A: Isolation of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 6C and 6D from the nasopharyngeal mucosa of healthy Japanese children. Jpn J Infect Dis 2010, 63: 381-383.

8) Chiou CS, Hung CS, Torpdahl M, Watanabe H, Tung SK, Terajima J, Liang SY, Wang YW: Development and evaluation of multilocus variable number tandem repeat analysis for fine typing and phylogenetic analysis of *Salmonella enterica serovar* Typhimurium. Int J Food Microbiol. 2010 142:67-73.

9) Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H: Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. PLoS Pathog 2010, 6: e1000832.

10) Ikebe T, Wada A, Oguro Y, Ogata K, Katsukawa C, Isobe J, Shima T, Suzuki R, Ohya H, Tominaga K, Okuno R, Uchitani Y, Watanabe H, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan: Emergence of clindamycin-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates obtained from patients with severe invasive infections in Japan. Jpn J Infect Dis 2010, 63: 304-305.

11) Ikebe T, Oguro Y, Ogata K, Katsukawa C, Isobe J, Shima T, Suzuki R, Ohya H, Tominaga K, Okuno R, Uchitani Y, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan: Surveillance of severe

invasive group G streptococcal infections during 2002–2008 in Japan. Jpn J Infect Dis 2010, 63: 372-375.

12) Izumiya H, Pei Y, Terajima J, Ohnishi M, Hayashi T, Iyoda S, Watanabe H: New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: O157, O26, and O111. Microbiol Immunol 2010, 54: 569-577.

13) Izumiya H, Sekizuka T, Nakaya H, Taguchi M, Oguchi A, Ichikawa N, Nishiko R, Yamazaki S, Fujita N, Watanabe H, Ohnishi M, Kuroda M: Whole-genome analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium T000240 reveals the acquisition of a genomic island involved in multidrug resistance via *IS*1 derivatives on the chromosome. Antimicrob Agents Chemother 2011: 55, 623-630.

14) Matsui M, Fujii S-I, Shirokawa R, Amemura-Maekawa J, Chang B, Kura F, Yamauchi K: The first clinical isolate of *Legionella rubrilucens* from a pneumonia patient co-infected with *Legionella pneumophila*. J Med Microbiol 2010, 59:1242-1246

15) Mori A, Konnai S, Yamada S, Hidano A, Murase Y, Ito T, Takano A, Kawabata H, Onuma M, Ohashi K: Two novel Salp 15-like immunosuppressant genes from salivary glands of *Ixodes persulcatus* Schulze tick. Insect Molecular Biology 2010, 19: 359-65

16) Morita M, Takai N, Terajima J, Watanabe H, Kurokawa M, Sagarai H, Ohnishi K, Izumiya H: Plasmid-mediated resistance to cephalospolins in *Salmonella enterica* serovar Typhi. Antimicrob Agents Chemother 2010, 54: 3991-3992.

17) Morita M, Ohnishi M, Arakawa E, Yamamoto S, Nair GB, Matsushita S, Yokoyama K, Kai A, Seto K, Watanabe H, Izumiya H: Emergence and genetic diversity of El Tor *Vibrio cholerae* O1 that possess classical biotype *ctxB* among travel-associated cases of cholera in Japan. J Med Microbiol 2010, 59: 708-712.

18) Morita M, Hirose K, Takai N, Terajima J, Watanabe H, Sagara H, Kurazono T, Yamaguchi M, Kanazawa Y, Oyaizu T, Izumiya H: *Salmonella enterica* serovar Typhi in Japan, 2001-2006: emergence of high-level fluoroquinolone-resistant strains. Epidemiol Infect 2010, 138: 318-321.

19) Nakao R, Takigawa S, Sugano N, Koshi R, Ito K, Watanabe H, Senpuku H: Impact of minocycline ointment for periodontal treatment of oral bacteria. Jpn J Infect Dis 2011, 64: 156-160.

20) Nakayama A, Takahashi H, Ohkusu K, Yamanaka K, Shintani C, Hayakawa S, Ishii J, Watanabe H: A Case of Sepsis and Meningitis Caused by Probable Travel-Related *Neisseria meningitidis* Serogroup B Infection: the First Report of *N. meningitidis* ST-4893 in Japan. Jpn J. Infect. Dis, 2011, 64(1): 61-62.

21) Nishiyama Y, Inaba E, Uematsu H, Senpuku H: Effects of mucosal care on oral pathogens in professional oral hygiene to the elderly. Arch Gerontol Geriatr 2010, 51: e139-e143.

22) Ogawa A, Furukawa S, Fujita S, Mitobe J, Kawarai T, Narisawa N, Sekizuka T, Kuroda M, Ochiai K, Ogihara H, Kosono S, Yoneda S, Watanabe H, Morinaga Y, Uematsu H, Senpuku H: *Streptococcus salivarius* FruA Inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation. Appl Environ Microbiol 2011, 77: 1572-1580.

23) Ohnishi M, Ono E, Shimuta K, Watanabe H. Okamura N. Identification of TEM-135 β-lactamase in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. Antimicrob Agents and Chemother, 2010, 54: 3021-3023.

24) Ohnishi M, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Watanabe H, Kitawaki J: Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. 2011, Emerg Infect Dis, 17: 148-149.

25) Okuda K, Hanada N, Usui Y, Takeuchi H, Koba H, Nakao R, Watanabe H, Senpuku H**:** Inhibition of *Streptococcus mutans* adherence and biofilm formation using analogues of the SspB peptide. Arch Oral Biol 2010, 55: 754-762.

26) Senpuku H. Mini Review: Physical fitness, Oral infection, NK cell activity in elderly. J Dent Health 2011, 61: 135-141.

27) Senpuku H, Miyazaki H, Yoneda S, Yoshihara A, Tada A. A quick statistically accurate diagnosis for caries risk in the elderly. Clin Lab 2010, 56: 505-512.

28) Sithivong N, Izumiya H, Munnalath K, Phouthavane T, Chomlasak K, Sisavath L, Vongdouangchanh A, Vongprachanh P, Watanabe H, Ohinishi M: Cholera Outbreak, Laos, 2007. Emerg Infect Dis 2010, 16: 745-746.

29) Sugawara M, Komori J, Kawakami M, Izumiya H, Watanabe H, Akiba M: Molecular and Phenotypic Characteristics of CMY-2 β-lactamase-producing *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated from cattle in Japan. J Vet Med Sci, 2011, 73: 345-349.

30) Takahashi H, Kim KS Watanabe H: Meningococcal

internalization into human endothelial and epithelial cells is triggered by the influx of extracellular L-glutamate via GltT L-glutamate ABC transporter in *Neisseria meningitidis.* Infect. Immun. *2011*, 79(1): 380-392.

31) Takano A, Goka K, Une Y, Shimada Y, Fujita H, Shino T, Watanabe H, Kawabata H: Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne borreliae from imported reptiles and their associated ticks. Environmental Microbiology 2010, 12: 134-46.

32) Tokunaga A, Yamaguchi H, Morita M, Arakawa E, Izumiya H, Watanabe H, Osawa R: Novel PCR-based genotyping method, using genomic variability between repetitive sequences of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 El Tor and O139. Mol Cell Probes 2010, 24: 99-103, 2010.

33) Toyokawa T, Ohnishi M, Koizumi N: Diagnosis of acute leptospirosis. Expert Rev Anti Infect Ther 2011, 9:111-21.

34) Villanueva SYA, Ezoe H, Baterna R, Yanagihara Y, Muto M, Koizumi N, Fukui T, Okamoto Y, Masuzawa T, Cavinta L, Gloriani N, Yoshida S: Serological and molecular studies on *Leptospira* and leptospirosis among rats in the Philippines. Am J Trop Med Hyg 2010, 82:889-98.

35) Yamada T, Yamada T, Yamamura MK, Katabami K, Hayakawa M, Tomaru U, Shimada S, Morikawa M, Seki T, Ariga S, Ishikawa K, Ikebe T, Gando S, Minakami H: Invasive group A streptococcal infection in pregnancy. J Infect. 2010, 60: 417-424.

36) Yamamoto S, Izumiya H, Mitobe J, Morita M, Arakawa E, Ohnishi M, Watanabe H: Identification of a chitin-induced small RNA that regulates translation of the *tfoX* gene, encoding a positive regulator of natural competence in *Vibrio cholerae*. J Bacteriol 2011, 193:1953-1965.

37) Yamashita H, Furusu A, Nishino T, Obata Y, Miyazaki M, Ichinose H, Higashiyama Y, Ishino T, Koizumi N, Hirakata Y, Kohno S: Two patients who developed leptospirosis-associated acute renal failure within the same season. Intern Med 2010, 49:1143-7.

2. 和文発表

1) 池辺忠義: 劇症型溶血性連鎖球菌感染症の病原因子、化学療法の領域、2010, 26: 1601-1607.

2) 泉谷秀昌：サルモネラ属。食品微生物学辞典。中央法規出版、2010 年 4 月。泉谷秀昌：サルモネラ菌株の最近の傾向と特色。食品衛生研究、第 60 巻第 5 号、13-18、2010 年 5 月。

3) 泉谷秀昌、渡邉治雄：自然界の薬剤耐性汚染－行政的視点から。臨床と微生物第 37 巻第 6 号、611-615、2010 年 11 月。

4) 泉谷秀昌：サルモネラ食中毒について。臨床獣医、第 28 巻第 12 号、12-16、2010 年 12 月。

5) 河原井武人、成沢直規、米田早織、佐伯洋二、津金貴則、落合邦康、渡邉治雄、泉福英信：*Streptococcus mutans*の非水溶性グルカン非依存のバイオフィルム形成機序、Journal of Germfree Life and Gnotobiology、2010, 40: 69-73.

6) 倉 文明、常 彬、前川純子：レジオネラの環境中での生態とその迅速検出、化学療法の領域、2010,26:2385-2394

7) 小泉信夫，渡邉治雄：レプトスピラ．広範囲血液・尿科学検査免疫学的検査第 7 版，2010，27-30.

8) 田中洋輔、佐々木裕子、和田昭仁、安西桃子、秋田博伸．子宮筋腫核出術後に *Mycoplasma hominis* による腹膜炎を認めた 1 例．感染症学雑誌 2011, 85:275-279.

9) 棚町千代子、橋本好司、糸山貴子、堀田吏乃、矢野知美、藤健介、小山那奈、和田昭仁、佐川公矯．血液培養より分離された *Desulfovibrio desulfuricans* の 1 例．臨床病理 2011, 59:466-469.

10) 土橋酉紀，田中好太郎，島田智恵，砂川富正， 小泉信夫，谷口清州，岡部信彦：2008 年沖縄県本島におけるレプトスピラ症の実地疫学調査，獣医畜産新報，2010，63:219-20.

11) 前川純子、倉 文明：レジオネラ感染の分子機構と診断法の進歩、呼吸、2011, 30:125-128

12) 森下綾子，谷口裕子，大滝倫子，川端寛樹：ワシントン DC で刺傷し，帰国後発症したライム病の 1 例、臨床皮膚科、2010，64(4)： 343-6

13) 山内健生，高野 愛，坂田明子，馬場俊一，奥島雄一，川端寛樹，安藤秀二：タカサゴキララマダニによる人体刺症の 5 例、日本ダニ学会誌、2010，19(1)：15-21

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Kaneko A, Watanabe Y, Isobe J, Nukina M, Nakajima H, Kawano K, Furuhata K, Tada Y, Murai M, Chang B, Kura F: Sequence types of *Legionella pneumophila* isolates from patients and environments in Japan. 25th Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Copenhagen, Denmark. Sep. 2010.

2) Helbig, JH, Bruin, J, Amemura-Maekawa J, Barna Z, Pancer K, Lück PC: International study of *Legionella*

pneumophila environmental isolates using monoclonal antibodies and comparison with its diversity in sequence based types. 25th Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Copenhagen, Denmark. Sep. 2010.

3) Ito T, Kawarai T, Narisawa N, Zhang X, Kanaguchi N, Maeda T, Senpuku H, *Streptococcus mutans* colonization on human saliva-treated tooth in NOD/SCID.*E2f1*$^{-/-}$ mice. Poster, 88th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Barcelona, Spain, July, 2010.

4) Kura F, Amemura-Maekawa J, Chang B, Kuroki T: The links between *Legionella* concentrations in spa water and outbreaks of legionellosis. 25th Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* infections. Copenhagen, Denmark. Sep. 2010.

5) Matsumura T, Ikebe T, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M: The defensive role of interferon-γ produced by myeloid cells in invasive group A Streptococcus infection. 18th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages. Kumamoto, Japan. May 2010.

6) Matsumura T, Ikebe T, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M: Identification of IFN-gamma producing cells in severe invasive group A streptococcal infection. 14th International Congress of Immunology. Kobe, Japan. Aug. 2010.

7) Mitobe J, Yanagihara I, Ohnishi K, Yamamoto S, Ohnishi M, Ishihama A Watanabe H: Bacterial cytoskeltal protein RodZ (YfgA) involves expression of Type III secretion system in *Shigella sonnei* through the post-transcriptional processing. 2010, Dec. 5-8 US-Japan Cooperative Medical Science Program. 45 th Conference. Cholera and Other Bacterial Enteric Infections. Kyoto Univ. Kyoto Japan

8) Nakao R, Wai SN, Uhlin BE: Effect of the *kil* gene in plasmid ColE1 on *E. coli* biofilm formation. Biofilms4, Winchester, UK. Sep. 2010.

9) Narisawa N, Kawarai T, Yoneda S, Ito T, Watanabe H, Senpuku H, Apperance mechanisms of smooth colony variant in *Streptococcus mutans*. Poster, 88th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Barcelona, Spain, July. 2010.

10) Otsuka T, Chang B, Wada A, Iwaya A, Okazaki M, SADO-study Working Group. Serotypes of and Antimicrobial Resistance in *S. pneumoniae*/*H. influenzae* in Healthy Infants: The SADO Birth Cohort Study in Sado Island, Japan. The 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Boston, USA. Sep. 2010.

11) Satoh K, Narita T, Matsui-Inohara H, Ito T, Senpuku H, Sugiya H: Study of dray mouth behavior of E2F-1-deficient NOD/SCID mice, Poster Discussion, 88th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Barcelona, Spain, Jul. 2010.

12) Senpuku H, Yoneda S, Narisawa N, Kawarai T, Sato Y, Ochiai K, Watanabe H: Roles of *sunL* in *Streptococcus mutans* biofilm formation and aggregation. Oral Presentation, 88th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Barcelona, Spain, Jul. 2010.

13) Senpuku H. Oral infection, Physical activity and NK cell activation. International Symposium for Global Oral Health Scirnce Niigata 2010, Niigata, Oct. 2010.

14) Takahashi H, Kin KS and Watanabe H. Meningococcal internalization into human endothelial and epithelial cells is triggered by the influx of extracellular L-glutamate via GltT L-glutamate ABC transporter in *Neisseria.* 17th International Pathogenic *Neisseria* Conference, Ganff, Canada, 2010.

15) Takano A, Goka K, Une Y, Fujita H, Shiino T, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H: Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne borreliae from imported reptiles and their associated ticks. 12th International Conference on Lyme borreliosis and other tick-borne diseases. Ljubljana, Slovenia, Sep. 2010.

16) Yamamoto S, Izumiya H, Mitobe J, Morita M, Arakawa E, Ohnishi M, Watanabe H: A chitin-induced small RNA regulates natural competence in *Vibrio cholerae* through translational activation of a positive regulatory gene *tfoX*^{VC}. United States-Japan Cooperative Medical Science Program 45th Annual Joint Panel Meeting on Cholera & Other Bacterial Enteric Infections. Kyoto, Japan. Dec. 2010

2. 国内学会

1) 荒川英二、森田昌知、山本章治、泉谷秀昌、大西真：*V. cholerae* 0抗原合成遺伝子群の比較解析、第44回腸炎ビブリオシンポジウム、2010年、秋田

2) 池辺忠義、阿戸学、松村隆之、長谷川秀樹、小黒祐子、嶋智子、奥野ルミ、大屋日登美、勝川千尋、富永潔、緒方喜久代、佐多徹太郎、小林和夫、大西 真、渡邉治雄：劇症型溶レン菌感染症臨床分離株で高頻度でみら

れる負の転写制御因子の変異、第19回Lancefieldレンサ球菌研究会および第 42 回レンサ球菌感染症研究会合同学会、東京、2010年6月.

3) 泉谷秀昌、多田有希、伊藤健一郎、寺嶋　淳、渡邉治雄：渡航者由来Shigella sonneiの解析。第84回日本感染症学会総会、京都府京都市、2010年4月。

4) 泉谷秀昌：食中毒菌の薬剤耐性の状況について。平成22年度食鳥肉衛生技術研修会、東京都、2011年1月。

5) 泉谷秀昌：赤痢菌MLVA。平成22年度厚生労働省新興再興感染症「食品由来感染症調査における分子疫学手法」に関する九州地区研修会、福岡県福岡市、2011年2月。

6) 泉谷秀昌：食品由来感染症における耐性菌の話題。平成 22 年度希少感染症診断技術研修会、東京都、2011年2月。

7) 伊東拓也, 高田伸弘, 藤田博己, 川端寛樹, 大竹秀男：北海道におけるイスカチマダニの再発見.第56回日本衛生動物学会北日本支部大会、札幌、2010年10月

8) 今内覚, 村瀬優介, 伊東拓也, 高野 愛, 川端寛樹, 村田史郎, 大橋和彦：シュルツェマダニ(*Ixodes persulcatus*)におけるライム病ボレリア伝播関連因子の同定、第56回日本衛生動物学会北日本支部大会、札幌、2010年10月

9) 今内覚, 肥田野新, 村瀬優介, 伊東拓也, 川端寛樹, 樋口豪起, 小沼操, 村田史郎, 大橋和彦：シュルツェマダニ（*Ixodes persulcatus*）由来Salp16の宿主免疫抑機構解析、第150回日本獣医学会学術集会、帯広、2010年9月

10) 伊豫田淳、本田尚子、寺嶋　淳、大西 真：LEE遺伝子群のマスターレギュレーターPch の分別発現制御機構の解析、第14回腸管出血性大腸菌研究会、宮崎、2010年7月

11) 伊豫田淳、寺嶋　淳、大西 真：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 のグローバル発現制御機構の解析、第92回日本細菌学会関東支部総会、東京、2010年11月

12) 氏家無限, Al-shere T. Amilasan, 鈴木 基, Eumelia Salva, Maria Cecilia P. Belo, 小泉信夫, 吉松組子, Wolf-Peter Schmidt, Shane Marte, Efren M. Dimaao, Jose Benito Villarama, 有吉紅也：マニラのサンラザロ病院におけるレプトスピラ症アウトブレイク調査, 第51回日本熱帯医学会大会, 仙台, 2010年12月.

13) Tuna Elif, 前田隆秀、泉福英信、Effect of polypyrole on biofilm formation of *S. mutans*、第52回歯科基礎医学会、東京、2010年9月.

14) 大塚岳人、岡崎実、常彬、和田昭仁：インフルエンザ菌・肺炎球菌の健常児定着と侵襲性病態との関連ー佐渡島出生コホート研究(SADO-study)ー。第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第57回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、東京、2010年10月。

15) 川端寛樹, 高野 愛, 伊東拓也, 石畝史, 高田伸弘, 中尾稔, 増沢俊幸, 藤田博己, 渡邉治雄, 大西 真：多領域DNA配列解析によって推定された国内におけるライム病ボレリア病原体 *Borrelia garinii* の維持・伝播経路、第56回日本衛生動物学会北日本支部大会、札幌、2010年10月

16) 川端寛樹, 高野 愛, 藤田博己, 渡邉治雄：マダニ媒介性であるライム病ボレリアの遺伝子型別解析から推定された病原体の維持、伝播経路、第84回日本感染症学会総会、京都、2010年4月

17) 河原井武人、成澤直規、泉福英信：アッサム茶抽出成分による *Streptococcus mutans* バイオフィルム阻害に関する研究、第 52 回歯科基礎医学会、東京、2010年9月.

18) 神田　隆、高橋奈緒美、八木美弥、西尾智裕、杉山寛治、泉山信司、常　彬、倉　文明、遠藤卓郎：EMA－qPCR による浴槽水中のレジオネラ生菌検出法の検討.　日本防菌防黴学会第37回年次大会、東京、2010年9月

19) 喜田祐介、相馬亜希子、伊豫田淳、栗原那奈子、武藤あきら、大西 真、安倍裕順、戸邉亨、関根靖彦：病原性大腸菌O157株特異的なnon-coding RNA #74ファミリーの機能解析、第33回日本分子生物学会年会、神戸、2010年12月

20) 倉　文明：地方衛生研究所と感染研のインターフェース　---レジオネラの場合---、学友会シンポジウム、東京、2011年11月

21) 倉　文明：レジオネラの検査法、国立保健医療科学院平成 22 年度新興再興感染症技術研修、東京、2010年12月

22) 倉　文明：レジオネラ症の動向　多様な感染源、平成22年度生活衛生関係技術担当者研修会、東京、2011年2月

23) 佐藤寛子、柴田ちひろ、佐藤了悦、斎藤博之、安部真理子、千葉真知子、高橋守、藤田博己、角坂照貴、高田伸弘、川端寛樹、高野 愛：秋田県の著名観光スポットにおけるアカツツガムシ生息状況調査、第56回日本衛生動物学会北日本支部大会、札幌、2010年10月

24) 佐藤寛子、國生泰範、柴田ちひろ、斎藤博之、齊藤志保子、藤田博己、角坂照貴、高田伸弘、高野 愛、川

端寛樹、須藤恒久：Kato 型ツツガムシ病の発生と野外調査における *O. tsutsugamushi* の分離、第 59 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2010 年 10 月

25) 志牟田健、中山周一、飛田収一、伊東三喜雄、藤原光文、大前利市、石川和弘、大西 真: 簡易的な淋菌のスクリーニング系の検討、日本性感染症学会第 23 回学術大会、福岡市、2010 年 12 月

26) 杉山寛治、神田　隆、西尾智裕、八木美弥、田栗利紹、泉山信司、八木田健司、倉　文明、小坂浩司、遠藤卓郎：循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミンの消毒効果.　日本防菌防黴学会第 37 回年次大会、東京、2010 年 9 月

27) 泉福英信：口腔内で構成される常在菌 ＜日和見感染菌の基礎知識とその対応＞、第 17 回日本歯科医療福祉学会ランチョンセミナー、塩尻、2010 年 6 月.

28) 泉福英信：歯科医療における院内感染の評価指標の確立とその有効性の検証、第 59 回日本口腔衛生学会・総会、新潟、2010 年 10 月.

29) Senpuku H, Ochiai K, Ogawa A, Narisawa N, Soneda S, Kawarai T, E Tuna. Products from bacteria play multiple functions in biofilm formation. 第 58 回 Japanese Association Dental Research 総会、北九州、2010 年 11 月.

30) 泉福英信：口腔ケア時に注意すべき日和見感染症－基礎知識と対応－第 30 回日本看護科学学会ランチョンセミナー 、札幌、2010 年 12 月.

31) 相馬亜希子、伊豫田淳、武藤あきら、須藤直樹、大島拓、 徐麻由美、大戸結衣、喜田祐介、戸邉亨、大西真、小椋義俊、林哲也、関根靖彦：病原性大腸菌 O157:H7 Sakai 株の small RNA の機能解析、第 12 回日本 RNA 学会年会、東京、2010 年 7 月

32) 外山雅美、長野則之、長野由紀子、池辺忠義、和田昭仁、荒川宜親：*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* による初めてのヒト侵襲性感染症例、第 19 回 Lancefield レンサ球菌研究会および第 42 回レンサ球菌感染症研究会合同学会、東京、2010 年 6 月

33) 高野 愛、伊東拓也、石畝史、高田伸弘、矢野泰弘、中尾稔、増沢俊幸、藤田博己、渡邉治雄、大西 真、川端寛樹：MLST 解析によって推定された国内におけるライム病ボレリア病原体 *Borrelia garinii* の維持・伝播経路、第 151 回日本獣医学会学術集会、東京、2011 年 3 月

34) 高田伸弘、平良克也、藤田博己、山本正悟、安藤秀二、角坂照貴、高橋 守、川端寛樹、北野智一、岡野 祥、御供田睦代、高野 愛、矢野泰弘、及川陽三郎、本田俊郎、岩崎博道、平良セツ子：台湾系ツツガムシ病をみた宮古列島、そこで確認したデリーツツガムシの浸淫と消長、第 65 回日本衛生動物学会西日本支部大会、岡山、2010 年 11 月

35) 高野 愛、川端寛樹、藤田博己、角坂照貴、今内覚、田島朋子、渡邉治雄、大西 真：ボレリア属細菌のマダニ体内動態と進化に関する研究、第 56 回日本衛生動物学会北日本支部大会、札幌、2010 年 10 月

36) 高橋英之：病原性ナイセリア属菌に関して、平成 21 年度希少感染症・細菌・中級コース（国立保健医療科学院主催）、東京、2010 年 11 月。

37) 常彬、和田昭仁：小児における侵襲性感染症由来の血清型 6C 肺炎球菌の疫学的解析。第 22 回日本臨床微生物学会総会、岡山、2011 年 1 月。

38) 寺嶋　淳：食中毒事件の原因究明やディフューズアウトブレイクの早期発見に向けた検査技術開発と全国ネットワーク―腸管出血性大腸菌感染症を例に―　第 69 回日本公衆衛生学会総会、東京、2010 年 10 月

39) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、大西 真：腸管出血性大腸菌の分子疫学と広域ネットワーク　第 59 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2010、10 月

40) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、大西 真：最近の腸管出血性大腸菌感染症の動向について 第 14 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、宮崎市、2010 年 7 月

41) 成澤直規、伊藤達朗、鈴木奈緒央未、佐藤裕、落合邦康、中尾龍馬、泉福英信：う蝕原性 *Streptococcus mutans* smooth-colony-variant 出現メカニズムと病原性発現に関する検討、第 52 回歯科基礎医学会、東京、2010 年 9 月.

42) 西山佳秀、植松宏、泉福英信：施設入居高齢者の口腔内病原菌に対する口腔粘膜ケアの効果、第 59 回日本口腔衛生学会・総会、新潟、2010 年 10 月.

43) 花岡希，松谷峰之介，川端寛樹，山本正悟，藤田博己，坂田明子，東 慶直，小川基彦，高野 愛，渡邉治雄，岸本寿男，白井睦訓，倉根一郎，安藤秀二：*In silico* 解析から新規に構築した日本紅斑熱迅速診断法とその応用、第 84 回日本感染症学会総会、京都、2010 年 4 月

44) 藤田博己，藤田信子，高田伸弘，及川陽三郎，安藤秀二，川端寛樹，大竹秀男：青森県と岩手県におけるイスカチマダニの生息調査、第 56 回日本衛生動物学会北日本支部大会、札幌、2010 年 10 月

45) 本田俊郎，藤田博己，御供田睦代，角坂照貴，矢野泰弘，高田伸弘，及川陽三郎，安藤秀二，川端寛樹，山本正悟，高野 愛，坂田明子：鹿児島県薩南諸島におけるアサヌママダニと紅斑熱群リケッチア保有状況調査、第 62 回日本衛生動物学会大会、鹿児島、2010 年 4 月

46) 前川純子、菊川紀世己、常　彬、村井美代、山崎利雄：レジオネラ属菌の菌種同定と遺伝子型別、第 22 回日本臨床微生物学会総会、岡山、2011 年 1 月

47) 前川純子：レジオネラの基礎、国立保健医療科学院平成 22 年度新興再興感染症技術研修、東京、2010 年 12 月

48) 松村隆之、池辺忠義、大西 真、渡邉治雄、小林和夫、阿戸学：劇症型溶血性レンサ球菌感染症における環状核骨髄系細胞の保護的役割、第 9 回感染症沖縄フォーラム、沖縄、2011 年 2 月.

49) 武藤麻紀，小泉信夫，鈴木麻未，大西真，赤地重宏，岡野祥，平良勝也，中村正治，濱崎光宏，堀川和美，坂本晃子，舩津丸貞幸，松本一俊，八尋俊輔，原田誠也，山本正悟：国内のイヌのレプトスピラ症サーベイランス，第 151 回日本獣医学会学術集会，東京，2011 年 3 月.

50) 村井美代、前川純子、大西 真：ゲノム配列を利用した *Staphylococcus aureus* ファイブロネクチン結合タンパク遺伝子変異の検討、第 93 回日本細菌学会関東支部総会、 東京、2010 年 10 月

51) 村瀬優介，今内覚，伊藤拓也，高野 愛，川端寛樹，小沼操，村田史郎，大橋和彦：シュルツェマダニ(*Ixodes persulcatus*)由来 Salp15 様因子の性状解析、第 150 回日本獣医学会学術集会、帯広、2010 年 9 月

52) 本井祐太，鈴木正嗣，安藤秀二，川端寛樹，高野 愛，猪熊 壽:島根県美郷町のニホンイノシシと紅斑熱群リケッチアとの関連性について、第 151 回日本獣医学会学術集会．東京、2011 年 3 月

53) 森田昌知、泉谷秀昌、渡邉治雄、相楽裕子、大西健児：2007、2008 年に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 84 回日本感染症学会総会、京都、2010 年 4 月

54) 森田昌知、泉谷秀昌、寺嶋　淳、渡邉治雄、大西 真：耐性プラスミドによりセフェム系抗菌薬耐性を獲得したチフス菌、第 93 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2010 年 10 月

55) 山内健生，高野 愛，丸山宗利，川端寛樹：マレー半島における *Amblyomma* 属マダニによる人体刺症，およびその人体咬着輸入例、第 65 回日本衛生動物学会西日本支部大会、岡山、2010 年 11 月

56) 山崎利雄、倉　文明、循環式浴槽における浴用水の抗酸菌の検出調査、第 80 回実験結核研究会総会、京都、2010 年 5 月

５.細菌第二部

部長　荒 川 宜 親

概　要

細菌第二部は、主として呼吸器系感染症の原因となる病原細菌、全身感染症、日和見感染症、抗酸菌等の慢性持続性感染症起因菌､毒素産生菌､嫌気性菌などについて、細菌学、感染症学などの観点から細菌の病原性（薬剤耐性を含む）や感染症の病態などに関する研究を実施し、また､上記の病原体や感染症の最終確認（レファレンス）業務を担当した。一方、薬事法やその他の関連法令に則り、各種の細菌ワクチンの国家検定業務および、各種標準品の作成等を担当した。部全体としては、担当する病原体の検査や血清診断、ワクチン等の品質管理技術の向上を目指し、試験・検査法の改良等様々な検討や研究を行なった。各室の担当業務を以下に示す。第一室（抗生物質製剤の日局標準品の作製や一斉監視指導収去検査などの品質管理、各種の薬剤耐性菌およびそれらによる感染症の調査や対策等に関する研究）。第二室（ヘモフィルスｂ型菌（Hib）ワクチンの品質管理と生物学的製剤の無菌試験、およびマイコプラズマ、インフルエンザ菌などに関する研究）。第三室（破傷風、ジフテリアの予防のためのトキソイドワクチンや各種の抗血清の品質管理および破傷風菌､ジフテリア毒素産生菌等に関する研究)。第四室(BCG 製剤と精製ツベルクリンの品質管理と結核菌を含むヒト病原性抗酸菌（らい菌を除く）に関する研究）。第五室（百日咳ワクチンの品質管理、エンドトキシン試験、特殊毒性試験、生物統計および百日咳菌に関する研究）。

また、現状および将来的に必要となりうる細菌感染症対策等を見据え、多剤耐性アシネトバクター、クロストリジウム・ディフィシル、バルトネラ属菌、ペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌、コリネバクテリウム・ウルセランス、ヘリコバクター・ピロリ、類鼻疽菌などの診断技術の向上、臨床分離菌の遺伝子／分子疫学解析などを実施した。さらに、厚労省の依頼に基づき、臨時に NDM-1 産生腸内細菌などの緊急調査を実施した。

研究業務および品質管理業務の詳細については担当室毎に記述するが、本年度に部として取り組んだ主な課題を以下に示す。

１．WHO（WPRO）、JICA などの各種海外支援（研究）プロジェクト、国際協力事業等に協力

２．WHO の“Collaborating Center for Research and Reference Services for Immunological and Biological Products”としての活動

３．厚生労働省の院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業の運用支援と改善に関する研究

４．薬剤耐性菌研究事業費等に基づき、国内医療機関等への薬剤耐性菌の解析支援と共同研究

５．地方衛生研究所の細菌検査担当者等を対象とした薬剤耐性菌、*C. difficile* などの解析技術講習会

６．ジフテリア、百日咳、ボツリヌス症などの検査や診断、解析技術の向上と普及のため、地方衛生研究所の細菌検査担当者等を組織してのレファレンス活動

また、厚生労働科学研究費補助金による新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、医薬安全総合研究事業､国際医学協力研究事業､難治性疾患克服研究事業、および、文部科学研究費補助金などにより競争的原理に基づく研究が実施された。

平成 22 年 6 月 1 日付で大塚菜緒研究員（第五室）、平成 22 年 10 月 1 日付で久保田眞由美主任研究官が採用された。一方、平成 23 年 3 月末日で、高橋元秀（第三室長）が定年退官し、荒川宜親（部長）が名古屋大学大学院医学系研究科及び山根一和（主任研究官）が川崎医科大学へ転出した。臨時職員（JANIS 事業担当職員）として筒井敦子、山岸拓也、網中眞由美、臨時職員（事務補助、研究補助）として瀬川晶子、甲斐久美子、瀧世志江、小川(宮永)由弥子、南條友子、粕谷裕子、吉村由美子、増田まり子、久保田(松岡)眞由美、長岡芳昭、岡宮洋子、本郷有美子、鯵坂裕美が在籍し研究業務や品質管理業務などを支援した。客員研究員として新谷三春、協力研究員として黒川博史、川村久美子、長野則之、長野由起子、土井洋平、八木哲也、赤羽貴行、岩島康仁、坂本 崇、鈴木弘倫、玉井清子、中嶋知子、長沢光章、畑中公基、本間 操、前側恒男、村端真由美、森本泰隆、山下美穂子、山田幸司、流動研究員として石和玲子、加地千春、研究生として中村幸嗣らが在籍し、様々な研究等に従事した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研究

１．薬剤耐性菌及び抗菌薬関連下痢症等に関する菌株・検体等の解析依頼の概要

医療機関等から依頼を受けた菌株・検体について、薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査、毒素遺伝子検査、菌種同定及び菌株タイピング解析、*Clostridium difficile* 分離同定及び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.（21 株）、*Staphylococcus* spp.（18 株）、*Streptococcus agalactiae*（65 株）、*C. difficile*（83 株）、*Bacillus cereus*（3 株）、*Pseudomonas* spp.（13 株）、*Escherichia coli*（33 株）、*Enterobacter cloacae*（8 株）、*Citrobacter* spp.（5 株）、*Proteus* spp.（1 株）、*Klebsiella* spp.（17 株）、*Acinetobacter* spp.（51 株）、*Aeromonas hydrophila*（1 株）、*Serratia marcescens*（11 株）、*Empedobacter brevis*（1 株）、*Chryseobacterium meningosepticum*（1 株）、*Capnocytophaga sputigena*（1 株）、*Helicobacter* spp.（2 株）であった。なお、菌株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。［松井真理、山根一和、鈴木里和、和知野純一、加藤はる、木村幸司、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、山岸拓也、柴山恵吾、近田俊文、荒川宜親］

２．我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査等に関する研究

厚生労働省健康局結核感染症課長・通知（健感発 0910 第 1 号：平成 22 年 9 月 10 日）により、2010 年 9 月から 12 月にかけて、カルバペネム系、フルオロキノロン系、アミノ配糖体系の 3 系統すべての抗菌薬に耐性を示す腸内細菌科の細菌を全国の医療機関より収集し、PCR 法により、NDM-1 型、KPC 型、IMP-1 型、IMP-2 型、VIM-2 型の 5 種類のカルバペネム耐性遺伝子の検出を行った。調査期間中、153 株が国立感染症研究所に送付され、うち 72 株（47.1%）が IMP-1 型カルバペネム耐性遺伝子陽性、2 株（1.3%）が NDM-1 型カルバペネム耐性遺伝子陽性、同じく 2 株（1.3%）が KPC 型カルバペネム耐性遺伝子陽性であった。KPC 型カルバペネム耐性遺伝子を保有していた 2 株はいずれも渡航歴のある同一患者より分離された *Klebsiella pneumoniae* であったが、NDM-1 型カルバペネム耐性遺伝子を保有していた *K. pneumoniae* 2 株はいずれも渡航歴の無い 2 名の患者より分離されたものであった。本研究の結果は我が国においてカルバペネム耐性を示す腸内細菌科の多剤耐性菌が広く蔓延していることを示すものではなかったものの、渡航歴の無い患者から NDM-1 型カルバペネム耐性遺伝子保有株が分離されたこと、及び、多くの IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ保有株が報告されたことは、今後もこれらの多剤耐性菌の動向を注視する必要性を示すと考えられた。［近田俊文、山根一和、鈴木里和、和知野純一、松井真理、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、山岸拓也、荒川宜親］

３．多剤耐性緑膿菌の分子疫学に関する研究

国内のある医療機関における多剤耐性緑膿菌の分子疫学的解析を約 3 年間にわたり行った。2006 年 1 月から 2009 年 6 月の間、59 人の入院患者より多剤耐性緑膿菌が分離され、パルスフィールド電気泳動法（PFGE）ではそれらは大きく 3 つのクラスター（A 群、B 群、C 群）に分かれた。死亡率は、PFGE C 群の方が非 C 群よりも高く、多変量解析では、PFGE C 群は呼吸器検体からの分離と相関していた（オッズ比 22）。尿路系の処置の改善により PFGE A 群と B 群が、呼吸器系の処置の改善により PFGE C 群が制圧された。多剤耐性緑膿菌が主に尿検体から分離されている場合であっても、重症患者に伝播する前に呼吸器系の処置に介入する必要があると考えられた。［筒井敦子、鈴木里和、松井真理、山根一和、近田俊文、荒川宜親］

４．アシネトバクター属細菌のキノロン耐性の解析

2000 年から 2011 年 3 月にかけて、医療機関から分離されたアシネトバクター属細菌のうち、遺伝子学的手法で *Acinetobacter baumannii* と同定された菌株 34 株を対象に、フルオロキノロン系抗菌薬耐性と DNA ジャイレース（GyrA）、トポイソメラーゼ IV（ParC）の変異を調べた。34 株中、22 株が ciprofloxacin、levofloxacin に耐性を示した。耐性株はいずれも GyrA（Ser83）、ParC（Ser80 あるいは Glu84）の両方に変異があったのに対して、感性株では GyrA、ParC の変異は見られなかった。［松井真理、荒川宜親］

５．新型メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の解析

国内の医療機関から送付された多剤耐性 *Serratia marcescens* のカルバペネム耐性に関する耐性因子の検索を行ったところ、これまでに報告のないメタロ-β-ラクタマーゼ（SMB-1 と命名）を産生していることがあきらかとなった。また、本メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は IS*CR1* とよばれる DNA 転位因子と連動して DNA 上を転

位する可能性が示唆された。［和知野純一、荒川宜親］

II. 類鼻疽菌に関する研究

１．国内で分離された類鼻疽菌のタイピング

日本国内で分離された類鼻疽菌のタイピングを行った。PFGE 法と MLST 法を用いたところ、感染したと考えられる地域が明らかに異なる菌でも MLST 法では同じタイプと判定される場合があった。PFGE 法ではそれぞれの患者から分離された株のタイプは異なり、再発例では同一のタイプに分類されたことから、日本において類鼻疽菌のタイピングを行う場合は PFGE 法によるタイピングが有効であると考えられた。［山根一和、堀野敦子］

２．類鼻疽菌株の受け入れと同定

本年度は他機関より類鼻疽菌株を 3 件受け入れた。これらの菌株について培養法、核酸試験法を行い類鼻疽菌であると確認した。

［堀野敦子、山根一和］

３．類鼻疽菌の LAMP 法の検討

これまでに類鼻疽菌の LAMP 法は一例の報告があるが､我々は､既報より高感度のプライマー群を設計した。このプライマー群は近縁種の *Burkholderia* 属には反応せず、特異度にも問題はなかった。類鼻疽患者検体は国内では入手できないため、現在、臨床検体を用いた検討を共同研究先のタイ・コンケーン大学にて行っている。

［堀野敦子､山根一和､KKU; Ganjana Lertmemongkolchai］

III. インフルエンザ菌/細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

１．小児における侵襲性感染症由来 *Haemophilus influenzae* の疫学的解析

Haemophilus influenzae 莢膜 b 型菌(Hib)に対するワクチン導入による Hib による侵襲性感染症例の動向ならびに Hib 以外の *H. influenzae* による侵襲性感染症例の調査を引き続き行った。疫学調査に参加している全国 9 県で小児侵襲性感染症から分離された *H. influenzae* 129 株について､莢膜血清型､薬剤感受性試験等の解析を行った。数例の無莢膜型菌を以外では、分離菌のほとんどが b 型菌であり、b 型以外の莢膜型の菌株分離は確認されなかった。［木村幸司、久保田(松岡)眞由美、佐々木裕子、加藤はる、荒川宜親］

２．小児細菌性髄膜炎培養陰性症例の起因菌推定

細菌性髄膜炎疑い症例において、培養陰性の髄液検体について遺伝子増幅法により起因菌推定を行った。4 検体の培養陰性髄液検体のうち、1 検体において *Haemophilus influenzae* が、他の 1 検体において *Streptococcus pneumoniae* 遺伝子が検出され、残りの検体では陰性であった。［佐々木裕子、久保田(松岡)眞由美、木村幸司、加藤はる、荒川宜親］

IV. 抗菌薬関連下痢症に関する研究

１．*Clostridium difficile* BI/NAP1/027 株の loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法による検出

C. difficile の BI/NAP1/027 株に特異的な *slpA* 遺伝子を検出する LAMP 法により、type 027 臨床分離株、および、他のタイプの臨床分離株を解析し、本法の感度、特異度を検討した。〔加藤はる、荒川宜親〕

２．*Clostridium difficile* の院内伝播に関する検討

多施設における *Clostridium difficile* 優勢株の調査を目的とし、国立病院機構を中心に複数の医療施設に菌株収集を依頼した。分離培養検査を行っていなかった施設を対象に国立感染症研究所で *C. difficile* 分離培養講習会を開いた(平成 22 年 12 月 10 日)。また、今までの研究結果から日本で頻繁に分離されるタイプと PCR ribotype 027 株を PCR で簡便に同定する方法の開発に着手した。〔加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江〕［赤羽貴行（安曇野赤十字病院)］［里村秀行（千葉県がんセンター)］［田中伸、高橋正彦（東京医療センター)］

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、binary toxin 遺伝子陽性菌株、アウトブレイク疑い事例における分離株について、毒素産生性の検討、および、NAP1/027 株かどうかを含めてのタイピング解析を行った。

〔加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江、荒川宜親〕

V. 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発症、特に関節炎の新規診断法の検討ならびに病態解析

過去の複数の疫学報告においてリウマチ性関節炎患者の関節液からの検出率が有意に高い *Mycoplasma fermentans* について、生菌投与動物モデルを作成し、関節炎病態ならびに新規 ELISA 診断法評価や *M. fermentans* 糖脂質前投与の影響を解析してきた。今年度は、生菌投与動物血清中の RA 早期診断マーカーである抗環状シトルリン化ペプチド(CCP)抗体価について調べた。これまでの知見では､抗 CCP 抗原はヒトの酵素により生成されるが、*M. fermentans* にも類似の酵素がある。また、生菌投与動物の血清抗体が認識する抗原蛋白を LC-MS/MS

にて解析した結果、抗原変異エピトープを有するリポタンパク質が抗原候補として Mascot スコア 183、アミノ酸配列 coverage 17%で推定された。［佐々木裕子、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）、松田和洋（産業技術総合研究所）、荒川宜親］

２．肺炎マイコプラズマの流行と型別の関連性の検討

Mycoplasma pneumoniae の感染が疑われる患者のスワブよりゲノム DNA を抽出し、協力研究者が所属する 6 カ所の地方衛生研究所で LAMP 法による検出を行っている。ここで陽性になった *M. pneumoniae* 検体について *p1* 領域における RFLP 法で型別を行っている。以前の報告から予想された流行株と異なり、これまでなくⅡ型亜種株が多く検出されており、マイコプラズマ肺炎流行状況との関連を観察している。

［感染研；堀野敦子、蒲地一成、鯵坂裕美、秋田健康環境センター；八柳　潤、東京都健康安全研究センター；奥野ルミ、神奈川県衛生研究所；高橋智恵子、大阪府立公衆衛生研究所；勝川千尋、高知県衛生研究所；松本一繁、藤戸亜紀、愛媛県立衛生環境研究所；烏谷竜哉］

Ⅵ. B 群連鎖球菌に関する研究

１．VITEK2 によるペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌の検出の検討

自動薬剤感受性試験機器 VITEK2 を用いて、既に PBP2X 遺伝子に変異があることが明らかになっているペニシリン低感受性 B 群連鎖球菌について、どのような判定結果になるかを検討した。［木村幸司、甲斐久美子、荒川宜親］

Ⅶ. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

１．ボツリヌス毒素検出系の整備と G 型ボツリヌス抗毒素の作製

マウス接種法に代わるボツリヌス毒素の高感度検出系として DELFIA と AlphaLISA を用いて A 型神経毒素の検出感度を比較した。前者の検出感度はマウス接種法の 5 分の 1 と低かったが、後者は同程度の検出感度を示し、反応時間や操作性の点から毒素検出系として優れていることが明らかとなった。また、ボツリヌス G 型血清の作製として、菌の培養、毒素精製、トキソイド化による免疫用抗原を調整した後、ウサギに接種して高い力価の血清を得た。今後、EP より入手した標準品に標準化を実施し、得られた結果を全国衛生微生物技術協議会理事会で承認を得て、地方衛生研究所へ配布する。

［高橋元秀、見理　剛、山本明彦（感染研）、向本雅郁、幸田知子（大阪府立大）：厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業］

２．C 型および D 型ボツリヌス抗毒素の作製

食品中のボツリヌス菌の分離同定には、最終的にはマウスを使用する動物実験が世界的な標準法である。国内では食中毒患者診断用の ABEF の各毒素検出用の血清は用意されていたが、C と D 型毒素の診断用血清は調整されていなかった。今回、感染症法のバイオセキュリティ対応および食品衛生法上の検査法充実の目的で、羊免疫用の抗原作製、免疫血清の標準化試験を実施して、各地方衛生研究所に配布するとともに、食品等の検査機関にも交付する方法を検討した。［高橋元秀、見理　剛、浅尾　努（日本食品分析センター）、小崎俊司、幸田知子（大阪府立大）：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］

３．糖鎖結合中空糸を用いたボツリヌス毒素除去

糖鎖を用いたボツリヌス毒素除去法を開発するため、前年のラクトース結合中空糸に引き続き、Gb3 結合中空糸（DIC 株式会社との共同研究で供与）への B 型ボツリヌス 16S 毒素のへの吸着を試みた。中空糸 5cm2 に、約 300000 マウス LD50 の精製毒素（Okra 株由来）を含む水溶液 1ml を加え一晩 4℃で震盪し、上清中の毒素量を Western blotting 法およびマウスを用いたバイオアッセイ法で調べたところ、70%程度の毒素が溶液中から除かれていることが確認され、ボツリヌス 16S 毒素除去には、90%以上を除去できるラクトース結合中空糸の方が、Gb3 結合中空糸よりも適していることが示唆された。［石和玲子、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親、NEDO「糖鎖機能活用」プロジェクト］

４.糖鎖との相互作用を用いたボツリヌス毒素検出の試み

糖鎖と毒素の相互作用を簡便に検出するための 96 穴アレイデバイスの開発を目的に、Local Surface Plasmon Resonance (LSPR)原理を用いた検出系の開発を試みた。ラクトースおよび Gb3 に結合しグルコースに結合しないことが知られている B 型ボツリヌス 16S 毒素を用い、これら糖鎖を結合したアレイによって上記の結合が検出できるかどうかを検討した。検出は、糖鎖と毒素の結合に寄って引き起こされる吸収スペクトルの変化を指標として行なった。現在までのところ特異的結合を検出するに至っておらず、検出アレイへ
の糖鎖結合方法の改良等のさらなる検討が必要と考えられる。［石和玲子、岩城正昭、高橋元秀、荒川宜親、NEDO「糖鎖機能活用」プロジェクト］

Ⅷ．ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

１．野外動物に置ける *Corynebacterium ulcerans* のスクリーニング

新たにジフテリア様症状を呈する２名の患者からジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans*（*C.ulcerans* Tox+）を分離した。両患者の環境調査において飼いネコから患者と遺伝子型が一致する *C.ulcerans* Tox+が分離された。全国的な菌分布調査では、5 カ所の愛護センターのネコとイヌより *C.ulcerans* Tox+が分離された。また、名古屋市の動物病院におけるネコの調査では、１匹から毒素非産生性の *C.ulcerans* を分離した。野外活動時間の多いイヌやネコは本菌を保菌または感染している可能性が高く、動物からは動物への菌の伝播も確認した。感染動物は排菌量が多いために、免疫力が低下している人は感染リスクが高い。本調査の成果により *C.diphtheriae* 感染によるジフテリアの届出基準に、*C.ulcerans* 感染に対する注意・啓蒙を含む内容が追記された。(厚生労働省健康局結核感染症課長　健感発　0114 第 1 号　平成 23 年 1 月 14 日）[小宮貴子、山本明彦、岩城正昭、見理　剛、高橋元秀（感染研)、地方衛生研究所およびジフテリアレファレンスセンター、日本小動物獣医会各位、東京医科歯科大学、大阪府立大学]

Ⅸ．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。ピラジナミドの活性型であるピラジン酸の存在下で Rv1330c 蛋白が ATPase 活性を発現することが抗菌活性のメカニズムであることが示唆された。[柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親]

２．結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の機能構造相関解析とその応用

結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素について詳細な機能構造相関解析を行い、本酵素に特異的な多量体構造が活性の発現に必須であることを示した。さらに、新規抗結核薬の開発を目的として、本酵素の活性を阻害する新規化合物のスクリーニングを進めた。[森茂太郎、和知野純一、柴山恵吾、荒川宜親]

３．結核菌のゲノム上に存在する機能未知遺伝子・タンパク質の解析

6 種類の結核菌由来機能未知タンパク質（Rv3779、Rv3780、Rv3781、Rv3783、Rv3784、Rv3785）について、それぞれ大腸菌内での発現系を構築した。条件検討の結果、Rv3780 について大腸菌内で大量発現させる条件を決定した。さらに、FPLC を用いて SDS-PAGE 上で単一バンドになるまで Rv3780 の精製を行った。[森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親]

Ⅹ．ヘリコバクターピロリに関する研究

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。動物実験により、この蛋白が感染成立に重要であることを明らかにした。[柴山恵吾、森茂太郎、和知野純一、荒川宜親]

Ⅺ．百日咳菌に関する研究

１．新規百日咳血清診断法の開発に関する研究

百日咳血清診断の精度向上を目的に新規血清診断法の開発を行った。患児血清を用いた抗原スクリーニングにおいて protein X が新たに診断用抗原として同定され、protein X は *Bordetella* 属細菌の中で百日咳菌に特異的であること、さらに国内製造所 4 社の DTaP ワクチンには protein X が含まれないことが示された。組換え protein X を用いた ELISA 測定系を構築し、百日咳患児血清、ワクチン未接種健常児血清、ワクチン接種健常児血清中の抗 protein X IgG 抗体価を評価した。その結果、患児血清と両健常児血清では抗体価に有意差（$p < 0.01$）が認められ、さらに患児血清では急性期から回復期にかけて抗 protein X 抗体価が上昇することが判明した。[大塚菜緒, 中村幸嗣, 権平文夫 (デンカ生研), 蒲地一成, 荒川宜親]

２．百日咳菌の自己凝集能に関する研究

百日咳菌の簡易同定法として免疫血清を用いた菌凝集検査が広く利用されている。しかし、近年の百日咳流行株には自己凝集能を有する菌株が認められ、臨床現場では菌同定が困難となる場合がある。そこで、自己凝集株を解析したところ、自己凝集能は培養温度や global regulator である *bvg* 制御系の阻害剤により消失することが明らかとなった。また、自己凝集株は継代培養により自己凝集能を失うことが判明し、発現蛋白質の比較解析から自己凝集に関与すると考えられる複数の膜蛋白質を同定した。[大塚菜緒, 蒲地一成]

３．大学における百日咳流行の予防・制御に関する研究

大学、特に医学部における百日咳流行の実態を明らかにすることを目的に、わが国の医学部生 206 名を対象に百日咳保菌調査を実施した。2 大学の医学部生（2 年生および 5 年生）を対象に百日咳遺伝子検査を実施した結

果、第 1 回調査（2010 年 5 月、流行シーズン、検査対象者 105 名）、第 2 回調査（2010 年 11 月、非流行シーズン､検査対象者 101 名）ともに陽性者は 0 名であった。大学医学部生における百日咳流行は集団施設への百日咳菌侵入が原因となる可能性が指摘され、平成 23 年度も引き続き同調査を実施する。［蒲地一成，鰺坂裕美，竹内啓晃（高知大），八木哲也（名古屋大）］

４．遺伝子検査を用いた百日咳サーベイランスシステムの構築と評価に関する研究

昨年度に引き続き、地方衛生研究所 6 機関と協力して遺伝子検査に基づく百日咳サーベイランスを実施した。これまでに百日咳疑い患者検体 393 件について百日咳 LAMP 検査を実施し、26 検体（6.6%）が陽性を示した。陽性例は東京都 13 件、高知県 9 件、大阪府 4 件であり、東京都では 4 種類、大阪府では 2 種類、高知県では 1 種類の流行株の存在を認めた。高知県では百日咳疑い患者の 5.4%（5/92）にマイコプラズマ遺伝子が検出され、遺伝子検査による病原体鑑別の必要性が指摘された。［蒲地一成，鰺坂裕美，堀野敦子，八柳潤（秋田衛研），奥野ルミ（都健安研セ），高橋智恵子（神奈川衛研），勝川千尋（大阪公衛研），烏谷竜哉（愛媛衛研），松本一繁，藤戸亜紀（高知衛研）］

Ⅻ．その他の研究

１．病原体管理システムの構築

現行の感染症法で病原体の安全保管とトレーサビリティを管理し、同時にパンデミック感染症発生時などの大量サンプル処理を効率的に行う為に、病原体の登録、保管、輸送、廃棄における一括管理システムを開発し、バイオセキュリティ及びバイオセーフティの同時確立に寄与することを目的とする。本年はプロトタイプ（ローカル完結型）の構築を完了し、試験運用によってシステムの基本的機能を確認した。［篠原 克明､倉田 毅､駒野 淳、髙田 礼人、氏家 誠、山本 明彦、徐 紅、白倉 雅之、奥谷 晶子､：厚生労働科学研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業］

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の提供

地方衛生研究所及び医療機関等の VRE の遺伝子検査等に協力するために、そのコントロール菌株（DNA 抽出物を含む）及び標準作業手順書を提供した。

［近田俊文、鈴木里和、山根一和、加藤はる、松井真理、和知野純一、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、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（DNA 抽出物を含む）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、松井真理、和知野純一、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、荒川宜親］

Ⅱ．ジフテリア菌関係

1．菌株分与

(1) 平成 22 年 6 月 1 日　*Corynebacterium ulcerans* を大阪府立大学大学院感染制御学講座獣医感染症学教室へ分与した。

(2) 平成 22 年 6 月 2 日　*Corynebacterium diphtheriae*(毒素非産生株)を岐阜大学大学院医学系研究科へ分与した。

(3) 平成 22 年 7 月 6 日 *Corynebacterium ulcerans* を大府立公衆衛生研究所へ分与した。

(4) 平成 22 年 8 月 31 日　*Corynebacterium diphtheriae* PW 8 を横浜市衛生研究所へ分与した。

(5) 平成 22 年 9 月 28 日　*Corynebacterium diphtheriae* PW 8 と *Corynebacterium ulcerans* を日研生物医学研究所へ分与した。

(6) 平成 23 年 3 月 28 日　*Corynebacterium diphtheriae* PW 8 と *Corynebacterium ulcerans* を川崎市衛生研究所へ分与した。

２．試験毒素・抗毒素分与

(1) 平成 22 年 5 月 11 日　ジフテリア試験毒素・標準ジフテリア抗毒素を北里研究所、デンカ生研、武田薬品工業株式会社、阪大微生物病研究会へ分与した。

(2) 平成 22 年 10 月 25 日　ジフテリア試験毒素を北里研究所、武田薬品工業株式会社、化学及血清療法研究所へ分与した。

(3) 平成 23 年 1 月 11 日　ジフテリア試験毒素　SRL 医科分析センターへ分与した。

(4) 平成 23 年 2 月 15 日　ジフテリア試験毒素　阪大微生物病研究会へ分与した。

Ⅲ．百日咳関係

1. 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 17 施設に百日咳 LAMP 診断キット(22 キット)の供与を行った。また遺伝子検査用陽性コントロール DNA を 1 施設に供与した。[鯵坂裕美, 蒲地一成]

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 23 年 2 月現在、国内の 951 医療機関が参加している。事業で収集した院内感染や薬剤耐性菌による感染症の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況を一般や参加医療機関に公開、還元するとともに、平成 22 年度は 1319 件の問い合わせ対応を行った。また、平成 23 年 2 月感染症法の届け出対象疾患に「薬剤耐性アシネトバクター感染症」が追加された事に伴い、全入院患者部門の対象薬剤耐性菌として「多剤耐性アシネトバクター」を追加し、入力支援ソフトの改訂等を行った。病原微生物検出情報（IASR）平成 23 年 1 月号の特集記事、特集関連記事として JANIS に関する記事を掲載したほか、環境感染学会、日中韓感染症フォーラムにおいて事業の概要を報告した。[山岸拓也、筒井敦子、網中眞由美、鈴木里和、山根一和、小川(宮永)由弥子、瀧世志江、荒川宜親]

2．院内感染対策サーベイランス事業におけるデータ解析手法に関する検討

2009 年に JANIS 検査部門に提出された MIC 値をもとに、MIC 値の精度管理基準を作成した。正しいと考えられるデータは、1．MIC 値が 2 のべき乗で報告されたデータ、2．2 のべき乗でない MIC 値が報告された場合、薬剤感受性検査測定法コードが Etest を意味する「41」に設定されたデータ、3．サルファメトキサゾール/トリメトプリム（ST 合剤）の MIC 値が 10×2^n で報告されたデータのいずれかの条件に合致する場合である。明らかに誤っているデータとして警告が必要なデータとして、1．MIC 値が 1024 μg/ml を超える値、2．2 のべき乗でない MIC 値が報告された場合、ただし薬剤感受性検査測定法コードが Etest に設定されているデータは除く、3．ST 合剤の MIC 値が 2 のべき乗でない場合の 3 条件必要であることが明らかになった。[山根一和、鈴木里和、筒井敦子、山岸拓也、荒川宜親]

Ⅱ．百日咳関係

1．百日咳の病原体診断

医療機関（12 施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を 19 件実施した。[鯵坂裕美，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．日本薬局方アムホテリシンＢ標準品のロット更新評価試験について

日局アムホテリシンＢ標準品のロット更新について、その候補品 3 ロット（Lot D、Lot E、Lot F）を入手し、日局標準品の力価基準となる Lot C との力価キャリブレーション試験を行った。この力価試験（Bioassay 定量法）は非常にばらつくことがこれまでの測定経験から分かっているので、日を変えて 10 回繰り返して試験を行い、それらの結果を統計学的に解析して各候補品ロットの力価を算出した。今後、各候補品ロットの純度試験（アムホテリシン A 含量）も行い、総合的な結果からロット更新を行う予定である。[近田俊文、南條友子、鈴木里和、松井真理、森茂太郎、山根一和、粕谷裕子]

2．乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）の免疫原性試験評価系の検討

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）の免疫原性試験評価系の検討

平成 21 年度に引き続き、*Haemophilus influenzae* 莢膜 b 型（Hib）ワクチンの免疫原性についての評価系作成を行った。今年度は、免疫ラット血清について ELISA にて測定した実測値の各試験間の比較方法を検討した。1）接種ワクチン容量 0.01、0.02、0.04、0.08 single human dose で実施した。2）個々の血清を 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 等に希釈し（最低 3 点を用いる）、規定の OD 値を示す血清希釈倍率の逆数からエンドポイント値を求めた。3）接種ワクチンの容量毎に求めた個々のエンドポイント値を、自家製の参照ワクチンロットと平行線定量法で比較し相対値を求めた。問題点として、個体差が大きい場合の統計処理方法の検討、公的参照ワクチンが存在しないため抗体量としての値付けが出来ないことが残された。[佐々木裕子、木村幸司、久保田(松岡)眞由美、増田まり子、長岡芳昭、加藤はる]

3．エンドトキシンを特異的に結合するペプチドの検索

エンドトキシンは細菌細胞壁由来のショックを引き起

こす強力な物質であるため、生物製剤への混入を防ぐために厳重に管理されている。このようなエンドトキシンを特異的に結合するペプチドをファージディスプレイ法にて検索した。発見された Li5-001 はそのエンドとキシンへの結合能力が大変強くエンドトキシン除去やその測定に有用である。[松本　恵、堀内善信、山本明彦、落合雅樹、丹羽　充、高木　隆、尾身博之、小林智美、鈴木正嗣]

４．海外における細菌ワクチン品質管理体制の調査

感染研とほぼ同様な国家研究機関として品質保証の機能をもつ英国 National Institute for Biological Standards and Control（NIBSC）を訪問して、細菌ワクチン部門の実施内容を検証した。NIBSC における業務は　国家の品質管理・保証に関わるだけでなく、WHO の委託機関および EU 組織内の分担責務として、国際および EU 内標準品等の製造と制定に関わっている。NIID の業務は感染症に関する治療、診断、予防および疫学について、国内外に目を向けて科学的な根拠を国民に示すことである。予防を主眼とするワクチンの品質管理のうち、おもに国家検定として関わってきた感染研の業務に SLP の書類審査が追加されるが、NCL として感染症の予防領域を科学的見地から責任もって示すには、品質管理に関わる基礎研究の推進・継続は重要であることを再確認した。[高橋元秀、落合正樹、岩城正昭：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]

５．ウマ抗毒素製剤の WHO 新ガイドライン対応

現行のウマ抗毒素製剤の製造効率化、安全性確保として、WHO が示している蛇抗毒素のガイドライン（WHO-GL）に照らした蛇毒抗毒素製剤の検証と、この GL をモデルに国内で製造するジフテリア抗毒素、ボツリヌス抗毒素製剤への適応を検証した。蛇毒抗毒素製剤の製造工程管理と品質管理の検証、免疫用抗原であるハブ及びまむし毒素の GMP 対応、まむし抗毒素製剤の臨床での使用調査を実施し、需給実態と有効性および安全性を検証した。国内製剤に関するハードの充実・改善点を具体化し、不足の部分においてはソフトで対応することを検討中である。この蛇毒抗毒素製剤の WHO-GL 対応の構築により、他のウマ抗毒素 5 製剤への適応・対応策も具合化される。〔高橋元秀、見理　剛、山本明彦、岩城正昭（感染研）、大隈邦夫、銀永明弘（化血研）、玉那覇康二（沖縄県衛生環境研究所）、一二三亨（(独）災害医療センター）、小崎俊司（大阪府立大）、櫻井信豪（(独）総合機構、: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）

６．輸出用製剤のロットリリースに関する研究

厚労省医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「ワクチンの品質確保のための国家検定手法の国際協調に関する研究」（渡邉班）の研究協力者として、ユニセフ向け輸出用乾燥 BCG ワクチンについて日本のロットリリースの問題点を整理した。[柴山恵吾]

７．インフルエンザワクチンのマウス白血球数減少試験の再評価に関する研究

マウス白血球数減少試験（LP 試験）の精度・再現性を向上させるため、高濃度ワクチン原液を用いワクチンメーカー４社との共同研究を実施した。ワクチン高濃度原液から小分け製品のタンパク濃度（約 200 μg/mL）とその 3 倍濃度の検体を調製し LP 試験を実施した。感染研とメーカー４社の試験成績を解析したところ、いずれの検体、いずれの施設においても有意な LP 活性は認められなかった。このことから、インフルエンザ HA ワクチンには有意な LP 活性は含まれないと結論づけられ、小分け製品に代わり高濃度ワクチン原液を用いた品質管理が可能であることが示唆された。[持田恵子，福田靖，大塚菜緒，久保田真由美，鯵坂裕美，蒲地一成]

８．国際標準精製百日せきワクチン（JNIH-3）の評価

2009 年、WHO は精製百日せきワクチンの力価試験用に国際標準精製百日せきワクチン（国際標準品、34 IU/アンプル）を制定した。そこで国際標準品に対する国内標準品（51 U/バイアル）の力価を評価したところ、その力価は 24.6 IU/バイアルと算出された（n = 3）。このことから、国際標準品を用いた国内 DPT ワクチンの力価は国内標準品よりも低く見積もられる可能性が指摘された。[福田靖，大塚菜緒，斎藤良一，持田恵子，鯵坂裕美，蒲地一成]

９．百日せきワクチンの残存毒素活性評価に関する国際共同検定への参加

現在、WHO では百日せきワクチン中の残存百日咳毒素（PT）活性の評価にはマウスヒスタミン増感（HS）試験法を推奨している。今回、NIBSC より HS 試験の代替法として２種類の in vitro 試験法（Fetuin-ELISA、蛍光 HPLC）が提案され、NIBSC が主催する国際共同検定に参加した。百日せきワクチン 9 検体について上記の in vitro 試験と現行の HS 試験を実施し、その成績を NIBSC に報告した。なお、２種類の in vitro 試験法で得られた成

績には高い相関が見られたが、一方、HS 試験では残存 PT 活性はほとんど検出されなかった。［久保田眞由美，大塚菜緒，福田靖，鰺坂裕美，持田恵子，蒲地一成］

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（注射用テイコプラニン：11 ロット）について力価試験（Bioassay 定量法）、確認試験（IR 及び NMR 解析）、エンドトキシン試験を、注射剤（リンコマイシン塩酸塩水和物注射液：16 ロット）について力価試験（HPLC 定量法）、確認試験（NMR 解析）、エンドトキシン試験を、経口剤（セフジトレンピボキシル細粒：7 ロット／錠：5 ロット）について力価試験（HPLC 定量法）、確認試験（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、力価試験（HPLC 定量法）の適否判定基準について、生物活性物質部と細菌第二部で種々検討した後に、標準作業手順書（SOP）を改訂した。［近田俊文・鈴木里和・松井真理・森茂太郎・山根一和・南條友子・粕谷裕子・荒川宜親（細菌第二部）、宮崎義継・村上裕子・金子幸弘・石川 淳・深澤秀輔・星野泰隆（生物活性物質部）、細菌第二部第五室、血液・安全性研究部第三室］

２．抗生物質医薬品の収去検査の判定における厚生労働省監視指導・麻薬対策課との対応について

昨年度の収去検査（注射用セフタジジム：後発品 1 ロット）の不適合（含量不足）判定について、厚生労働省監視指導・麻薬対策課から薬食監麻発 0819 第 4 号「後発医薬品品質確保対策事業・検査結果報告書（2010.8.19）」が公表された。それによると、感染研の不適合判定を覆す判定：「適[注5]」（注 5：当該品目の定量試験については、必要な検体数を満たしていなかったため、厳密な判定は不能であったが、定量規格の適合性に疑義が生じたため、当該品目の製造販売業者である日医工ファーマ株式会社及び日医工ファーマ株式会社の所在地である富山県（富山県薬事研究所）において、再度、定量試験を実施したところ、定量規格に適合していることが確認された。）となっていた。これらのことに関して、感染研（渡邉所長、荒川部長、近田室長の連名）として厚生労働省監視指導・麻薬対策課宛に「照会＆資料提供依頼」文書（2010.9.29 付）を提出し、その後「回答及び資料」（2010.11.16 付）を受け取った。以上の件については、2008 年度から実施されている卸売販売業者からの「収去検体数量」と「公定書（日局）医薬品各条試験法準拠」の齟齬（必要な収去検体数の不足）が原因で、厚生労働省監視指導・麻薬対策課の対応に責任があり、今年度から改善されることとなった。［渡邉治雄（所長）、荒川宜親・近田俊文・鈴木里和・松井真理・森茂太郎・山根一和（細菌第二部）、宮崎義継・村上裕子・金子幸弘・石川 淳・深澤秀輔・星野泰隆（生物活性物質部）］

Ⅲ．標準品の整備並びに品質管理に関する業務研究

１．抗生物質医薬品標準品の日本薬局方微生物学的力価試験法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の円筒平板法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 2 品目（新規 1 品目、サブ 1 品目）の評価、再評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。また、紫外可視吸光度測定法による品質評価試験で、1 品目のサブロット更新が完了し、更新ロット標準品の交付を行った。［鈴木里和、松井真理、森茂太郎、南條友子、山根一和、粕谷裕子、近田俊文］

２．抗生物質医薬品標準品の日本薬局方液体クロマトグラフィー法での品質評価に関する業務研究

日本薬局方抗生物質標準品について、日局各条（原薬）収載の液体クロマトグラフィー法（HPLC）に準拠した定量法による品質評価試験を行った。サブロット更新を含め 11 品目（新規 3 品目、サブ 8 品目）の評価、再評価が完了し、新規・更新ロット標準品の交付を行った。更に、2003 年度に品質評価した日局標準品（6 品目）について、HPLC 法による定量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。［松井真理、森茂太郎、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

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）： 41 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：22 ロット

沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド： 8 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用いるジフテリアトキソイド原液： 6 ロット

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチンに用い

る破傷風トキソイド原液： 4 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン： 6 ロット
乾燥まむし抗毒素： 1 ロット
乾燥 BCG ワクチン（最終製品）: 19 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）（最終製品）80mg
: 2 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）（最終製品）40mg
: 2 ロット
乾燥 BCG 膀胱内用（コンノート株）: 5 ロット
乾燥 BCG ワクチン（中間段階）： 1 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）： 9 ロット
インフルエンザ HA ワクチン： 82 ロット
ｐＨ４処理酸性人免疫グロブリン： 21 ロット
ポリエチレングリコール処理抗ＨＢｓ人免疫グロブリン： 3 ロット
ポリエチレングリコール処理抗破傷風人免疫グロブリン： 4 ロット
ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン
: 17 ロット
加熱人血漿たん白： 14 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン： 82 ロット
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン： 1 ロット
乾燥ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン
: 47 ロット
乾燥抗 D（Rho）人免疫グロブリン： 4 ロット
乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン ： 4 ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン： 2 ロット
乾燥人フィブリノゲン： 4 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子： 43 ロット
抗 HBs 人免疫グロブリン： 2 ロット
人ハプトグロビン： 7 ロット
人血清アルブミン： 267 ロット
人免疫グロブリン： 4 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）： 41 ロット
沈降 7 価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）： 23 ロット
沈降インフルエンザワクチン（Ｈ５Ｎ１株） - 中間段階
: 4 ロット
肺炎球菌ワクチン： 13 ロット

精製ツベルクリンで、ロット PHV533 が国家検定の力価試験で基準を満たさなかったため不合格となった。ロット PHV531 以降、力価が低い傾向が続いていたため、監視指導麻薬対策課と協議の上原因についての調査を行った。その結果、製造時に用いるツベルクリン原末の量が適当でなかったことが明らかになった。メーカーにおいて原末量が再検討され、感染研においても依頼試験の形で力価試験を実施し、原末量の適正化が行われた。
〔柴山恵吾、持田恵子、和知野純一、堀野敦子〕

２．国家検査（行政検査）の実績

（１）薬剤耐性菌関係

三重県保健環境研究所からのバンコマイシン中程度耐性が疑われる 4 菌株について、PCR 法によるバンコマイシン耐性遺伝子の検出、Etest を用いた薬剤感受性検査、PCR 法による送付菌株の同定（*Enterococcus faecalis* , *Enterococcus faecium*）確認を行った。その結果、バンコマイシン耐性遺伝子は *vanC2/C3*、バンコマイシンの感受性は「I」及びテイコプラニンの感受性は「S」、*E. faecalis* と *E. faecium* は否定されて *Enterococcus casseliflavus* の可能性が示唆された。
（細菌行政検査：第 07104 号）［山根一和、松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、瀧世志江、吉村由美子、近田俊文、荒川宜親］

（２）バルトネラ関係

ア）平成 22 年 5 月 14 日付けで長野県環境保全研究所よりよりバルトネラ感染疑い患者 2 名の抗バルトネラ抗体検査ならびに遺伝子検査の依頼があり実施したが、結果は陰性であった。（感染研行第 07020 号）[佐々木裕子、荒川宜親]
イ）平成 23 年 2 月 25 日付けで秋田県健康環境センターよりバルトネラ感染疑い患者 2 名の抗バルトネラ抗体検査の依頼があり実施したが、結果は陰性であった。（感染研行第 07184 号）〔佐々木裕子、荒川宜親〕

（３）*Clostridium difficile* 感染症関連

Clostridium difficile 感染のアウトブレイクが認められた医療機関から、さいたま市健康科学研究センターを通じて、平成 21 年度から 22 年度にかけて糞便検体の解析が依頼され、*C. difficile* の分離培養、分離菌株の解析を行った [平成 22 年 3 月 5 日（受付番号 97125）平成 22 年 3 月 17 日（受付番号 97128）平成 22 年 4 月 14 日（受付番号 07005）]。最終報告を平成 22 年 6 月 29 日付でおこなった。電話および email で、さいたま市保健福祉局保健所に、医療機関における感染管理指導に関して助言をした。〔加藤はる、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江、荒川宜親〕

（4）ジフテリア、破傷風、ボツリヌス関連

ア）ジフテリア検査　感染研受付番号第 07036、07044、07045、07046、07052 号

神奈川県川崎市井田病院依頼　平成 22 年 6 月 10、21、21、22、29 日受領

患者咽頭スワブ 2 本、接触者咽頭スワブ 20 本、患者血清 2 本、接触者血清 8 本受領

全検体（スワブ）から、ジフテリア菌は検出されなかった。また、ジフテリア毒素及び遺伝子も検出されなかった。

患者の血中ジフテリア抗毒素価は、発症時 0.273 IU/ml、回復期 0.230 IU/ml であった。

イ）ジフテリア抗毒素価検査　感染研受付番号　第 07063 号、第 07117 号

茨城牛久市保健福祉部健康管理課依頼

平成 22 年 7 月 9 日と平成 22 年 10 月 4 日に 5 名のペア血清、合計 10 検体受領

10 検体のジフテリア抗毒素価を測定した。

ウ）ジフテリア検査　感染研受付番号第 07080 号

埼玉県衛生研究所依頼　平成 22 年 8 月 2 日受領

患者の偽膜と咽頭スワブ合計 2 本受領

全検体（スワブ）から、ジフテリア菌は検出されなかった。また、ジフテリア毒素及び遺伝子も検出されなかった。

エ）*Corynebacterium ulcerans* 関連検査　感染研受付番号第 07103 号

愛媛県立衛生環境研究所依頼　平成 22 年 9 月 2 日受領

ネコ由来 4 菌株とイヌ由来 2 菌株、合計 6 菌株受領

ネコ由来 2 菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium ulcerans* であった。

その他の 4 菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* であった。

パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析の結果、イヌ由来 2 菌株は、千葉県ヒト由来株（平成 13 年分離）と同じタイプであった。また、ネコ由来 4 菌株は、岡山県ヒト由来株（平成 17 年分離）と同じタイプであった。

オ）ジフテリア毒素原性検査　感染研受付番号第 07139 号

鳥取県生活環境部衛生環境研究所依頼　平成 22 年 11 月 22 日受領

患者由来 1 菌株受領

受領菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* であった。

カ）ジフテリア検査　感染研受付番号第 07169 号

群馬県前橋市保健所依頼　平成 23 年 1 月 21 日受領

患者の咽頭スワブ 2 本と血清 1 本受領

全検体（スワブ）から、ジフテリア菌、ジフテリア毒素及び遺伝子は検出されなかった。また、血中ジフテリア抗毒素も検出されなかった。

キ）平成22年 12月 14日付けで、横浜市衛生研究所から患者深部膿より分離された菌株について、破傷風毒素原性試験の依頼を受けた。分離菌のクックドミート培養上清中の破傷風毒素がマウスを用いた毒素原性試験で検出された。（行政検査 第07152号）

ク）平成 23 年 3 月 10 日付けで、東京都健康安全センターから患者血清（3 月 7 日採血）からの破傷風毒素の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。（行政検査 第 07196 号）

ケ）平成 22 年 4 月、依頼者：宮崎県衛生環境研究所長。ハチミツの培養検査から分離された菌について、ボツリヌス菌である可能性も含めて、鑑定検査の依頼を受けた。検査菌の培養上清をマウスに投与するとマウスは死亡したが、これはボツリヌス毒素によるものではなく、出血性の要因によるものだった。出血の原因は検査菌によって生産された酵素類（コラゲナーゼやレシチナーゼなど）によるものと考えられた。16S rRNA の遺伝子分析によって検査菌は *Clostridium limosum* と同定された。（細菌行政検査：第 07002 号）

コ）平成 22 年 6 月、依頼者：岡崎市長。乳児ボツリヌス症を疑う患者の便と血清検体について、ボツリヌス毒素およびボツリヌス菌検出検査の依頼を受けた。検査（マウス法、PCR、培養検査）の結果、検体中のボツリヌス毒素およびボツリヌス菌は陰性だった。（細菌行政検査：第 07034 号）

サ）平成 22 年 7 月、依頼者：福岡市保健環境研究所。福岡市内の病院で乳児ボツリヌス症を疑う患者の便から分離された菌について、ボツリヌス菌であるかの鑑定検査依頼を受けた。検査（マウス法）の結果、検査菌は A 型ボツリヌス毒素産生性であることを確認した。また、PCR 検査の結果、検査菌は A(B)型のボツリヌス菌（A 型と B 型の毒素遺伝子を持つが B 型遺伝子はサイレントで、A 型毒素のみを産生する菌）であることを確認した。（Fukuoka2010 株）（細菌行政検査：第 07054 号）

シ）平成23年1月、依頼者：横浜市衛生研究所長。ボツリヌス食中毒を疑う患者２名の血清について、ボツリヌス毒素検出検査の依頼を受けた。マウス法による検査で、検体中からボツリヌス毒素は検出されなかった。（細菌行政検査：第07171号）

ス）平成 23 年 1 月、依頼者:愛媛県立衛生環境研究所長。乳児ボツリヌス症を疑う患者便と血清検体についてボツ

リヌス毒素およびボツリヌス菌検出検査の依頼を受けた。検査（マウス法、PCR、培養検査）の結果、患者便からはB型のボツリヌス毒素が検出され、B型のボツリヌス菌も分離された（Ehime2011 株）。血清検体からはマウス法でボツリヌス毒素は検出されなかった。(細菌行政検査：第 07172 号)

セ）平成 23 年 2 月、依頼者：松山市保健所長。乳児ボツリヌス症例（細菌行政検査：第 07172 号）の原因として疑われたハチミツについて、ボツリヌス菌検出の検査依頼を受けた。検査（マウス法、PCR、培養検査）の結果、ハチミツ検体からボツリヌス菌は検出されなかった。(細菌行政検査：第 07176 号)

［担当：小宮貴子、山本明彦、岩城正昭、見理　剛、高橋元秀］

（５）依頼検査（ジフテリア、破傷風、ボツリヌス）

ア）*Corynebacterium ulcerans* 関連検査　平成 22 年 8 月 13 日受領

神奈川県横浜市衛生研究所より患者由来 1 菌株受領。受領菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* であった。患者周辺の環境調査の結果、患者宅隣家のネコ（鼻汁と口腔内スワブ）からジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* が分離された。PFGE の結果、患者由来菌株とネコ由来菌株は、同じタイプであった。

イ）コリネバクテリウム属菌同定検査　平成 22 年 10 月 7 日受領

茨城県土浦協同病院依頼。患者由来 1 菌株受領。受領菌株は、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* であった。患者周辺の環境調査の結果、ネコ（目やにスワブ）から、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* が分離された。PFGE の結果、患者由来菌株とネコ由来菌株は、同じタイプであった。

ウ）*Corynebacterium ulcerans* 検査　平成 22 年 9 月 17 日、10 月 20 日受領

感染研今岡先生協同研究国内猟犬血中ジフテリア抗毒素価測定のため、猟犬血清 142 検体を受領。ジフテリア抗毒素価測定結果が陽性の猟犬において、*Corynebacterium ulcerans* 分離同定検査を行った。岐阜県の猟犬 1 頭から、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* が分離された。PFGE の結果、和歌山県シャチ由来株（平成 16 年分離）と同じタイプであった。また、この猟犬の血中ジフテリア抗毒素価は、平成 22 年 9 月 21 日採血時は 0.0576 IU/ml であり、同年 10 月 21 日採血して測定した結果は、0.0814 IU/ml であり、著明な変化はみられなかった。

エ）コリネバクテリウム属菌の同定検査　平成 22 年 10 月 13 日受領

千葉県江東微生物研究所依頼、イヌ由来 1 菌株受領。受領菌株は、*Corynebacterium bovis* %ID 70.1 と *Corynebacterium striatum* %ID 73.8 の 2 菌株が分離同定され、両菌株とも、ジフテリア毒素原性は陰性であった。

オ）*Corynebacterium ulcerans* 検査　平成 22 年 10 月 25 日受領

感染研情報センター木村先生依頼

菌株（菌液）1 本受領

受領菌株は、*Corynebacterium macginleyi* %ID 99.5 であった。ジフテリア毒素原性は、陰性であった。

カ）*Corynebacterium ulcerans* 検査　平成 22 年 11 月 22 日受領

医療生協さいたま浦和民主診療所依頼。患者スワブ 4 本受領。全スワブから、ウルセランス菌株、ジフテリア毒素および毒素遺伝子は検出されなかった。

キ）ジフテリア毒素原性検査　平成 22 年 11 月 26 日受領

新潟県信楽園病院　患者由来菌株 1 本受領。菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* であった。

ク）ジフテリア抗毒素価の検査 平成 22 年 11 月 26 日受領

東京都愛里病院依頼　患者血清 1 本受領。ジフテリア抗毒素価は、検出されなかった。

ケ）*Corynebacterium ulcerans* 検査　平成 22 年 12 月 2 日受領

静岡県環境衛生科学研究所依頼。ネコ由来 18 菌株受領全てジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* であった。PFGE 解析の結果、2 菌株は、同県平成 21 年分離ネコ由来株と同じタイプであり、4 菌株は、神奈川県ヒト由来株（平成 18 年分離）と同じタイプであった。12 菌株は神奈川県ヒト由来株（平成 18 年分離）と相同性 95%であった。

コ）ジフテリア毒素原性検査　平成 22 年 12 月 28 日受領

新潟県信楽園病院　患者由来菌株 1 本受領。菌株は、ジフテリア毒素原性陰性の *Corynebacterium diphtheriae* であった。

サ）*Corynebacterium ulcerans* 検査　平成 22 年 1 月 25 日受領

愛媛県立衛生環境研究所より、ネコ由来 6 菌株、イヌ由来 1 菌株、ネコケージ由来 4 菌株、イヌケージ由来 1 菌株の合計 12 菌株受領。　全て、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* であった。PFGE 解析の結

果、10 菌株は岡山県ヒト由来株（平成 17 年分離）と同じタイプであった。

シ）*Corynebacterium ulcerans* 検査　平成 23 年 3 月 9 日受領

大阪府立公衆衛生研究所依頼　ネコ由来 3 菌株受領。全て、ジフテリア毒素原性陽性の *Corynebacterium ulcerans* であった。PFGE 解析の結果、全て岡山県ヒト由来株（平成 17 年分離）と同じタイプであった。

ス）平成 22 年 5 月 10 日付けで、岩手医科大学付属病院中央検査部から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、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、破傷風毒素を産生する破傷風菌と同定した。

セ）平成 22 年 5 月 10 日付けで、東邦大学医療センター大森病院より患者血清（4 月 21 日、23 日採取）の破傷風毒素の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。

ソ）平成22年 10月 2日付けで、浜松医科大学付属病院中央検査部から熱傷患者臀部壊死組織及び血液より分離された*Clostridium sporogenes*について、破傷風毒素の産生の有無について依頼を受けた。*Clostridium sporogenes* の培養上清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。

タ）平成 23 年 1 月、依頼者：静岡県環境衛生科学研究所。沼津市の病院で乳児ボツリヌス症を疑う患者から分離された *Clostridium butyricum* についてボツリヌス毒素検出検査の依頼を受けた。検査（マウス法、PCR、培養検査）の結果、検査菌はボツリヌス毒素遺伝子をもたず、ボツリヌス毒素非産生性だった。

チ）成 23 年 1 月、岡山県で発生した乳児ボツリヌス疑い症例で、岡山県環境保健センターによって患者便から分離された菌がＢ型ボツリヌス菌であることを環境保健センターと連携して最終同定した（培養法、マウス法、PCR）。分離菌は最終同定前に環境保健センターから感染研に輸送分譲し、ボツリヌス菌であることが同定された後は感染研でのみ保管している。（Okayama2011 株）［担当：小宮貴子、山本明彦、岩城正昭、見理　剛、高橋元秀］

（６）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）5 ロットについて実施した。［堀野敦子、森茂太郎、和知野純一、山根一和、柴山恵吾］

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）42 ロットについて実施した。［堀野敦子、和知野純一、山根一和、森茂太郎、柴山恵吾］

（７）精製ツベルクリン関係

ア）精製ツベルクリンの試作品の力価試験を、1 人用製剤 6 ロット、1μg 製剤 3 ロットについて実施した。［和知野純一、持田恵子、堀野敦子、山根一和、柴山恵吾］

３．収去検査の実績

（１）抗生物質医薬品

注射剤（注射用テイコプラニン）（力価試験、エンドトキシン試験）：11 ロット

注射剤（リンコマイシン塩酸塩水和物注射液）（力価試験、エンドトキシン試験）：16 ロット

経口剤（セフジトレンピボキシル細粒）（力価試験）：7 ロット

経口剤（セフジトレンピボキシル錠）（力価試験）：5 ロット

４．承認前検査及び抜取検査等の実績

（１）無菌試験　11 件（抜取　6 件、依頼 5 件：承認前検査４価ヒトパピローマウイルスワクチン（ガーダシル）1 件、参照インフルエンザ HA ワクチン 4 件）

（２）承認前検査における無菌試験ならびにマイコプラズマ否定試験の書類精査

４価ヒトパピローマウイルスワクチン（ガーダシル）、経口弱毒生ヒトロタウイルスワクチン（ロタリックス）、５価経口弱毒生ロタウイルスワクチン（ロタテック）について、CTD や標準作業手順書（SOP）の精査を実施するとともに当該製剤の生物学的製剤基準案作成に関与した。［佐々木裕子、加藤はる］

（３）承認前検査

組換え沈降 4 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン　1 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（86 品目）：計 881 本

抗生物質試験用菌株（1 品目）：2 本

標準ジフテリアトキソイド：　5 本

標準沈降ジフテリアトキソイド：　59 本

参照沈降ジフテリアトキソイド（混合ワクチン用）：149 本

標準ジフテリア抗毒素　：9本
参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）：47本
ジフテリア試験毒素（ウサギ試験用）：　3本
ジフテリア試験毒素（モルモット試験用）：　23本
シック試験毒素（動物用）：　3本
標準破傷風トキソイド：12本
標準沈降破傷風トキソイド：77本
参照沈降破傷風トキソイド（混合ワクチン用）：59本
標準破傷風抗毒素：1本
参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）：59本
標準破傷風人免疫グロブリン：　2本
破傷風試験毒素：5本
標準はぶ抗毒素：6本
はぶ試験毒素（出血Ⅱ）：1本
はぶ試験毒素（致死）：　10本
標準ボツリヌスA型抗毒素：3本
標準ボツリヌスB型抗毒素：4本
標準ボツリヌスE型抗毒素：3本
標準ボツリヌスF型抗毒素：3本
標準精製ツベルクリン：80本
BCG Tokyo172-1：12本
標準百日せきワクチン　65本
参照百日せきワクチン(毒性試験用)　81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　4箱（48本）
攻撃用百日咳菌18323株　3本

６．標準化
標準沈降ジフテリアトキソイド Lot.5　213 IU/Amp 2500本　平成22年12月8日制定
参照沈降ジフテリアトキソイドLot.3　355 U/Amp 500本　平成22年12月8日制定
参照破傷風抗毒素(フロキュラシオン用)1200 units/vial 430本 平成22年7月1日制定
参照ジフテリア抗毒素(フロキュラシオン用)1100 units/vial 300本 平成23年3月3日制定

国際協力関係業務

Ⅰ．WHO関連

１．Collaborating Centre for Research and Reference Service for Immunological and Biological Products の活動として、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドの国際標準品の設定等を実施した。［岩城正昭、高橋元秀、柴山恵吾、荒川宜親］

Ⅱ. JICA関連

１．JICAワクチン品質管理技術コース参加研修生（海外5名）にワクチンの品質管理について講義した（2010年11月)。［高橋元秀、蒲地一成、佐々木裕子］

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

１．厚生労働省科学研究補助金・新型薬剤耐性菌等に関する研究（地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究）の「薬剤耐性菌解析機能強化技術研修会（2010年9月10ー11日）」に協力した。［加藤はる、松井真理、森茂太郎、木村幸司、荒川宜親、地方衛生研究所］

Ⅱ．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」ならびに「微生物管理と試験法」について講義を行うと共に、GMP査察演習の下見、引率、指導を行った。（平成22年5-6月）［高橋元秀、佐々木裕子、加藤はる］

その他

Ⅰ．行政科学等に対する対応

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に出席し、第16改正日本薬局方（追補を含む）の改正案及び収載案の審議に従事した。［近田俊文］

２.厚生労働省健康局結核感染症課長・通知（健感発0910第1号：平成22年9月10日）「我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査等について」の事務局として、問合せの電話及びメールの対応を行った。調査内容及び結果は「調査・研究」の項に記載した。［筒井敦子、山岸拓也、山根一和、鈴木里和、松井真理、和知野純一、近田俊文、荒川宜親］

３．厚生労働省医薬食品局、監視指導・麻薬対策課より各都道府県衛生主管部局に発出された「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針(平成18年7月4日事務連絡)」の改訂作業を実施し終了した。平成23年4月20日付けで改訂版が発出された。(厚生労働科学研究：医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業）[佐々木裕子、他指針作成委員]

４．生物学的試験法委員会に出席した。［加藤はる］

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、山根一和、鈴木里和、松井真理、和知野純一、近田俊文］

２．抗生物質医薬品の試験法についての対応：日本薬局方、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］

３. *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、医師、看護師、検査技師、薬剤師、患者およびその家族、行政等からの、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〕

Ⅲ. GMP 査察

１．医薬品医療機器総合機構からの依頼により、専門委員としてメーカーへの GMP 査察(精製ツベルクリン)に同行し調査を行った。[柴山恵吾]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Wachino J, Shibayama K, Kimura K, Yamane K, Suzuki S, and Arakawa Y.: RmtC intrduces G1405 methylation in 16S rRNA and confers high-level of resistance on Gram-positive microorganisms. FEMS Microbiology Letters, 311(1): 56-60, Oct. 2010.

2) Kawamura-Sato K, Wachino J, Kondo T, Ito H, and Arakawa Y.: Correlation between reduced susceptibility to disinfectants and multidrug resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* species. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 65(9): 1975-1983, Sep. 2010.

3) Wachino J, Yamane K, Suzuki S, Kimura K, and Arakawa Y.: Prevalence of Fosfomycin Resistance among CTX-M-Producing *Escherichia coli* Clinical Isolates in Japan and Identification of Novel Plasmid-Mediated Fosfomycin-Modifying Enzymes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 54(7): 3061-3064, Jul. 2010.

4) Yamaguchi Y, Takashio N, Wachino J, Yamagata Y, Arakawa Y, Matsuda K, and Kurosaki H.: Structure of Metallo-β-lactamase IND-7 from a *Chryseobacterium indologenes* Clinical Isolate at 1.65 Å Resolution. Journal of Biochemistry, 147(6): 905-915, Jun. 2010.

5) Yamagishi T, Matsui T, Nakamura N, Oyama T, Taniguchi K, Aoki T, Hirakawa K, and Okabe N.: Onset and duration of symptoms and timing of disease transmission of 2009 influenza A (H1N1) in an outbreak in Fukuoka, Japan, June 2009. Jpn J Infect Dis., 63(5): 327-31, Sep. 2010.

6) Kawahara T, Taguchi H, Yamagishi T, Udagawa K, Ouchi H, and Misaki H.: A case of infective endocarditis after transurethral prostatic resection. Urol Ann, 2(2): 83-5, May 2010.

7) Kato Haru, Kato Hideaki, Ito Y, Akahane T, Izumida S, Yokoyama T, Kaji C, Arakawa Y.: Typing of *Clostridium difficile* isolates endemic in Japan by sequencing *slpA* and application to direct typing. J Med Microbiol, 59: 556-562, 2010.

8) Iwashima Y, Nakamura A, Kato Haru, Kato Hideaki, Wakimoto Y, Wakiyama N, Kaji C, and Ueda R.: A retrospective study of the epidemiology of *Clostridium difficile* infection at a university hospital in Japan: genotypic features of the isolates and clinical characteristics of the patients. J Infect Chemother, 16: 329-33 2010.

9) Matsumoto, M, Horiuchi, Y, Yamamoto, A, Ochiai, M, Niwa, M, Takagi, T, Omi, H, Kobayashi, T, and Suzuki, M.: Lipopolysaccaride-binding peptides obtained by phage display method. J. Microbiol. Methods, 82: 54-58, 2010.

10) Ochiai M, Yamamoto A, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I, Horiuchi Y, and Yamaguchi K.: Applicability of bacterial endotoxins test to various blood products by the use of endotoxin- specific lysates. Biologicals, 38: 629-636, 2010.

11） Okada K, Komiya T, Yamamoto A, Takahashi M, Kamachi K, Nakano T, Nagai T, Okabe N, Kamiya H, and Nakayama T.: Safe and effective booster immunization using DTaP in teenagers. Vaccine, 28(48) : 7626-33, 2010.

12) Komiya T, Seto Y, De Zoysa A, Iwaki M, Hatanaka A, Tsunoda A, Arakawa Y, Kozaki S, and Takahashi M.: Two Japanese *Corynebacterium ulcerans* isolates from the same hospital: ribotype, toxigenicity and serum antitoxin titre. J Med Microbiol, 59(Pt 12):1497-504, 2010.

13) Iwaki M, Komiya T, Yamamoto A, Ishiwa A, Nagata N, Arakawa Y, and Takahashi M.: Genome organization and pathogenicity of Corynebacterium diphtheriae C7(-) and PW8 strains. Infect Immun., 78(9):3791-800, 2010.

14) Hall AJ, Cassiday PK, Bernard KA, Bolt F, Steigerwalt

AG, Bixler D, Pawloski LC, Whitney AM, Iwaki M, Baldwin A, Dowson CG, Komiya T, Takahashi M, Hinrikson HP, and Tondella ML. : Novel *Corynebacterium diphtheriae* in domestic cats. Emerg Infect Dis., 16(4):688-91, 2010.

15) Torii Y, Goto Y, Takahashi M, Ishida S, Harakawa T, Sakamoto T, Kaji R, Kozaki S, and Ginnaga A. : Quantitative determination of biological activity of botulinum toxins utilizing compound muscle action potentials (CMAP), and comparison of neuromuscular transmission blockage and muscle flaccidity among toxins. Toxicon, 55: 407-414, 2010.

16) Torii Y, Takahashi M, Ishida S, Goto Y, Nakahira S, Harakawa T, Kaji R, Kozaki S, and Ginnaga A. : Quantification of potency of neutralizing antibodies to botulinum toxin using compound muscle action potential (CMAP). Toxicon, 55: 662-665, 2010.

17) Nakane, D, Adan-Kubo, J, Kenri, T, and Miyata, M.: Isolation and characterization of P1 adhesin, a leg protein of the gliding bacterium Mycoplasma pneumoniae. J. Bacteriol., 193: 715-722, 2011.

18) Wachino J, Shibayama K, Suzuki S, Yamane K, Mori S, and Arakawa Y.: Profile of Expression of Helicobacter pylori gamma-glutamyltranspeptidase. Helicobacter, 15(3):184-92, Jun. 2010.

19）Minauchi K, Takahashi S, Sakai T, Kondo M, Shibayama K, Arakawa Y, and Mukai M.: The nosocomial transmission of Helicobacter cinaedi infections in immunocompromised patients. Intern Med., 49(16): 1733-9, 2010.

20）Markey K, Ho MM, Choudhury B, Seki M, Ju L, Castello-Branco LR, Gairola S, Zhao A, Shibayama K, Andre M, and Corbel MJ.: Report of an international collaborative study to evaluate the suitability of multiplex PCR as an identity assay for different sub-strains of BCG vaccine. Vaccine, 28(43): 6964-9, 2010 Oct 8.

21) Han H-J, Kuwae A, Abe A, Arakawa Y, and Kamachi K.: Differential expression of type III effector BteA protein due to IS*481* insertion in *Bordetella pertussis.* PLoS ONE, 6(3): e17797, 2011.

22) Nakamura Y, Kamachi K, Toyoizumi-Ajisaka H, Otsuka N, Saito R, Tsuruoka J, Katsuta T, Nakajima N, Okada K, Kato T, and Arakawa Y.: Marked difference between adults and children in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs. Clin Microbiol Infect., 17:365-70, 2011.

23) Ito M, Masumi A, Mochida K, Kurihara H, Moriishi K, Matsuura Y, Ymaguchi K,and Mizuochi T.: Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent hepatitis C virus infection. J Innate Immun., 2: 607-17, 2010.

24) Ito M, Murakami K, Suzuki T, Mochida K, Suzuki M Ikebuchi K, Ymaguchi K, and Mizuochi T.: Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in perioheral blood B cells of chronic hepatitis C patients. Clinical Immunol. 2010; 135: 459-65,

25) Masumi A, Ito M, Mochida K, Hamaguchi I, Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Tsuruhara M Takizawa K, Kato A, and Yamguchi K.: Enhanced RIG-I expression is mediated by interferon regulatory factor-2 in peripheral blood B cells from hepatitis C virus-infected patients. Biochem Biophys Res Commun., 391: 1623-8, 2010.

26) Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, and Sata T.: Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. PLoS One, 23: 5(4): e10256, Apr. 2010.

27) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, and Miyazaki Y.: An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. Intern Med., 49(5): 491-5, 2010.

２．和文発表

1) 和知野純一、荒川宜親：知っておきたい薬剤耐性菌の特徴『薬剤耐性獲得のメカニズム』. 月刊薬事・臨時増刊号, vol.52, No.9: 113-118, 2010.

2) 松井真理、荒川宜親：海外における多剤耐性アシネトバクターの分離状況. 病原微生物検出情報, Vol. 31: 5-6, 2010 年 7 月号.

3) 筒井敦子、鈴木里和、山根一和、山岸拓也、荒川宜親：JANIS データからみた薬剤耐性菌の分離状況と薬剤耐性菌による感染症の発生状況. 病原微生物検出情報, Vol. 32: 3-4, 2011 年 1 月号.

4) 山根一和、鈴木里和、筒井敦子、山岸拓也、荒川宜親：JANIS 検査部門・データ解析の特徴と有効活用. 病原微生物検出情報, Vol. 32: 3-4, 2011 年 1 月号.

5) 山岸拓也、山根一和、鈴木里和、筒井敦子、荒川宜親：JANIS におけるサーベイランスデータの精度管理について. 病原微生物検出情報, Vol. 32: 3-4, 2011 年 1 月号.

6) 近田俊文（日本薬局方原案審議委員会・抗生物質委

員会）：第十六改正日本薬局方，厚生労働省，2011 年 3 月 24 日（厚生労働省告示第 65 号）.
7) 田中洋輔、佐々木裕子、和田昭仁、安西桃子、秋田博伸：子宮筋腫核出術施行後に *Mycoplasma hominis* による腹膜炎を認めた 1 例．感染症学雑誌, 85：275-279, 2011.
8) 佐々木裕子：マイコプラズマの退行進化：モリキューテスにおける比較ゲノム解析からの考察．日本マイコプラズマ学会雑誌，Vol. 35: 12-15, 2010 年
9) 加藤はる：*Clostridium difficile* 国内外の優勢株・流行株について． 検査と技術，Vol. 38(8): 638-641, 2010 年
10) 大橋一孝、河合裕美、渡邉美菜子、山本詩子、岡崎恵美、高野由喜子、早川希威、佐藤敏夫、大花 昇、山本夏男、今福裕司、塚田泰彦、須釜久美子、小黒祐子、山本明彦、高橋元秀、金光敬二： 臨床情報による的確な検体処理で *Clostridium tetani* の分離に成功した破傷風の一症例．日本臨床微生物学雑誌，Vol. 21: 35-39, 2011 年
11) 高橋元秀：ジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* の感染症． 日本獣医師会雑誌，Vol. 63: 813-818, 2010.
12) 畑中章生、鎌田知子、田崎彰久、本田圭司、山本明彦、小宮貴子、高橋元秀 ： 茨城県で初めて確認されたコリネバクテリウム・ウルセランスによるジフテリア症例． 国立感染症研究所 病原微生物検出情報，Vol.32: 19-20, 2011 年 1 月号.
13) 吉村幸浩、山本明彦、小宮貴子： 飼い猫の排膿に伴って、経皮的に腋窩リンパ節に膿瘍を生じたことが強く疑われる *C. ulcerans* 感染症の例． 国立感染症研究所病原微生物検出情報，Vol.31: 331, 2010 年 11 月号.
14) 高橋元秀：イヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生 *Corynebacterium ulcerans* の保菌調査状況． 国立感染症研究所 病原微生物検出情報，Vol. 31: 203-204, 2010 年 7 月号.
15) 若松正人、人見 徹、成松浩志、緒方喜久代、小河正雄、小宮貴子：大分県におけるイヌ・ネコの C. ulcerans 保菌状況．国立感染症研究所 病原微生物検出情報，Vol. 31: 204-205, 2010 年 7 月号.
16) 烏谷竜哉、浅野由紀子、田中 博、武智拓郎、 土井光徳、佐々木俊哉、木村琴葉、岩崎 靖、 勇 孝徳、望月昌三、豊嶋千俊、小宮貴子：愛媛県におけるイヌ・ネコの *C. ulcerans* 保菌状況． 国立感染症研究所 病原微生物検出情報，Vol. 31: 205-206, 2010 年 7 月号.
17) 中嶋 洋、大畠律子、石井 学、岸本寿男、木本有美、木口 修、赤木敏文、瀧本良幸、鳥越秀二、勝川千尋、小宮貴子： 岡山県におけるイヌ・ネコの C. ulcerans 保菌状況． 国立感染症研究所 病原微生物検出情報，Vol. 31: 206-207, 2010 年 7 月号.
18) 高橋元秀：クロストリジウム属菌感染症と抗毒素療法．日本集中医療学会誌, 17: 253-255, 2010.
19) 一二三亨、高橋元秀、諸熊則 他 6 名： Clostridium perfringens 感染患者に対する治療用ウマ抗毒素製剤の存在を知っていますか？ 日本集中治療医学会誌，17: 287-289, 2010.
20) 蒲地一成：感染症動向 2011，百日咳．メディカル朝日，40: 29-31, 2011.
21) 齋藤良一、蒲地一成：百日咳菌．広範囲 血液・尿化学検査，免疫学的検査．日本臨牀，189-192, 2010.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1) Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Wachino J, Kimura K, Tsutsui A, Yamagishi T, Konda T, and Arakawa Y.: Multilocus Sequence Typing (MLST) of *Acinetobacter baumannii* isolated in Japan. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 2010, Boston, USA.

2) Suzuki S, Le G, Yamane K, Matsui M, Notake S, Yanagisawa H, Konda T, Riley LW, and Arakawa Y.: Prevalence of Extended-Spectrum β-Lactamase (ESBL) Non-Producing ST131 Clone among *Escherichia coli* from Diarrhea Stool Samples in Japan. 50th Interscience Conference on Antimicrobial and Chemotherapy (ICAAC), September 2010, Boston, USA.

3) Sasaki Y, Nagata N, Yamada K, Ami Y, Harashima A, Suzaki Y, Miura H, Matsuda K, and Arakawa Y.: Lymphocyte activation in arthritis model of *Mycoplasma fermentans* and evaluation of *Mycoplasma fermentans* glycolipid-antigen as adiagnostic application tool. 18th Congress of the International Organization for Mycoplasmology (IOM), July 2010, Chianciano Terme, Siena, Italy.

4) Kato H and Arakawa Y. : The use of loop-mediated is othermal amplification method for identification of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027. 3rd International *Clostridium difficile* Sympoium, September 2010, Bled, Slovenia.

5) Ito Y, Matsushita T, Takahashi Y, Nakamura T, Hayash i K, Eri Morita, and Kato H.: Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection at a hospital in Japan. 3rd International *Clostridium difficile* Sympoium, September 2010, Bled, Slovenia.

6) Murabata M, Kato H, Yano H, Wakimoto Y, Kobayashi M, Deguchi T, Kumamoto T, Iwamoto S, and Komada Y.: Transmission of *Clostridium difficile* in the medical treatment environment of pediatric cancer patients. 3rd International*Clostridium difficile* Sympoium, September 2010, Bled, Slovenia.

7) Kaji C, Kato H, Suzuki S, Wakamatsu Y, Nakashima T, Shouji K, and Arakawa Y.: An outbreak of *Clostridium difficile* infections caused by two different PCR ribotypes occurring concurrently at a hospital in Japan. 3rd International *Clostridium difficile* Sympoium, September 2010, Bled, Slovenia.

8) Miura M, Kato H, and Matsushita O.: A novel virulence factor *Clostridium difficile* Srl modulates toxin B sensitivity of intestinal epithelial cells. 3rd International *Clostridium difficile* Sympoium. September 2010, Bled, Slovenia.

9) 金山明子、渋谷理恵、長谷川美幸、池田文昭、木村幸司、荒川宜親、小林寅喆：“Molecular Characterization of Group B Streptococci in Japan with Reduced Susceptibility to Penicillin” 50th ICAAC, 2010 C2-122, Boston.

10) Yamane K, Horino A.: Epidemiological features and molecular typing of *Burkholderia pseudomallei* isolated from Japanese hospital, VIth world Melioidosis Congress, Townsville, Australia. 2010 11/30-12/3

11) Mori S, Shibayama K, Wachino J, and Arakawa Y.: Cloning, purification, and molecular characterization of a novel diadenosine 5′,5′′′–P^1,P^4–tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. The 110th General Meeting of the American Society for Microbiology, 23-27 May 2010, San Diego, CA.

12) Otsuka N, Kamachi K, Nakamura Y, Han HJ, and Arakawa Y.: Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in Japan. 9th International Bordetella symposium, Sept. 2010, Baltimore, USA.

13) Nakamura Y, Kamachi K, Toyoizumi-Ajisaka H, Otsuka N, Saito R, Tsuruoka J, Katsuta T, Nakajima N, Okada K, Kato T, and Arakawa Y.: Marked difference in *Bordetella pertussis* DNA load in nasopharyngeal swabs between adults and children. 9th International Bordetella symposium, Sept. 2010, Baltimore, USA.

14) Kamachi K.: Pertussis vaccine and *Bordetella pertussis*. The 7th Taiwan-Japan symposium on immunization and travel medicine, 2010, Taipei, Taiwan.

２．国内学会

1) 和知野純一、山口佳宏、森茂太郎、黒崎博雅、柴山恵吾、荒川宜親：親アミノグリコシド耐性を付与する 16S rRNA methyltransferase NpmA の構造機能解析．第 39 回薬剤耐性菌研究会，2010 年 11 月，渋川．

2) 松井真理、鈴木里和、山根一和、和知野純一、荒川宜親：日本国内の医療機関で分離された *Acinetobacter baumannii* の分子疫学的解析. 第 39 回薬剤耐性菌研究会，2010 年 11 月，渋川．

3) 松井真理、鈴木里和、山根一和、荒川宜親：日本で分離されたアシネトバクターの分子疫学的解析．第 22 回日本臨床微生物学会総会，2011 年 1 月，岡山．

4) 松井真理：アシネトバクター属と緑膿菌の薬剤耐性機構．第 26 回日本環境感染学会総会，2011 年 2 月，横浜．

5) 筒井敦子：JANIS 検査部門のすべて：医療関連感染対策への活用から研究的解析まで「検査部門の概要と還元情報の活用について」. 第 26 回日本環境感染学会総会，2011 年 2 月，横浜．

6) 山岸拓也：シンポジウム「JANIS の全て」検査部門の長所と短所、および今後の改善点．第 26 回日本環境感染学会総会，2011 年 2 月，横浜．

7) 山岸拓也、尾上泰彦、飯塚典男、今井博久、中尾裕之、大山卓昭、八幡裕一郎：男性性器の状態を問う質問紙の妥当性の検討．第 60 回泌尿器科中部総会，2010 年 12 月，名古屋．

8) 山岸拓也、尾上泰彦、飯塚典男、今井博久、中尾裕之、大山卓昭、八幡裕一郎：男性性器の状態を問う質問紙の妥当性の検討．第 23 回日本性感染症学会，2010 年 12 月，福岡．

9) 山岸拓也、立川夏夫、吉村幸浩、倉井華子、岩室紳也、大山卓昭、八幡裕一郎、今井博久、中尾裕之：日本における HIV 感染症と包茎との関係．第 11 回神奈川性感染症学会，2011 年 1 月，横浜．

10) 佐々木裕子：マイコプラズマとアコレプラズマにおけるゲノムの退行進化と重複遺伝子の特徴から見る寄生戦略．第 5 会日本ゲノム微生物学会年会, 2010 年 3 月，仙台．

11) 佐々木裕子：マイコプラズマの退行進化（シンポジウム：モリキューテスの宿主適応進化とユニークな病態・病原機構）．日本マイコプラズマ学会 第 37 回学術集会, 2010 年 6 月，東京．

12) 加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症における臨床微生物学的アプローチ．第93回日本細菌学会関東支部会 シンポジウム 消化管微生物叢, 2010 年 10 月，東京.

13) Haru Kato : Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Japan and a new strategy to identify epidemic strains. 岡山日韓合同シンポジウム *Clostridium difficile* infection in Japan and Korea. 第 22 回日本臨床微生物学会総会, January 2011, 岡山.

14) 加藤はる： *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査法と国内外における分子疫学．シンポジウム抗菌薬関連下痢症 up to date 第 26 回日本環境感染学会総会, 2011 年 2 月，横浜.

15) 長野則之、長野由紀子、木村幸司、荒川宜親：B群レンサ球菌の病原性クローン(ST-17)におけるペニシリン低感受性株出現の可能性．第22回日本臨床微生物学会総会, 2011年1月8-9日，岡山.

16) 金山明子、小林寅喆、長谷川美幸、雑賀威、池田文昭、木村幸司、荒川宜親、山藤満、佐藤吉壮：日本で分離されるpenicillin低感受性Group B streptococciの遺伝的性状．第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第57回日本化学療法学会東日本支部総会、合同大会，2010年10月21-22日，東京.

17) 長野則之、木村幸司、長野由紀子、荒川宜親：仙骨褥瘡から分離されたペニシリン低感受性B群レンサ球菌の分子学的特性．第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第57回日本化学療法学会東日本支部総会、合同大会, 2010年10月21-22日，東京.

18) 松原康策、木村幸司、荒川宜親、岩田あや、由良和夫、竹内康人、片山和明：2007-08年の膣由来GBSのペニシリン低感受性株サーベイランスと血清型分布の検討. GBS with reduced penicillin-susceptibility and serotype distribution among GBS strains in 2007-2008.第46回日本周産期・新生児医学会, 2010年7月11日−13日 PO-416, 神戸.

19) 木村幸司、長野則之、長野由起子、荒川宜親：ペニシリン低感受性B群連鎖球菌の最新の知見．第58回日本化学療法学会 若手セミナー3, 2010年 6月2日−4日，長崎.

20) 木村幸司、長野則之、長野由起子、荒川宜親：ペニシリン低感受性B群連鎖球菌(PRGBS)の遺伝学的背景に関する解析．第84回日本感染症学会 W16-4, 2010年 4月5日−6日， 京都.

21) 松原康策、木村幸司、山本剛、荒川宜親：2007-08年の膣由来 GBS の薬剤感受性と血清型分布−ペニシリン低感受性菌のサーベイランスと血清型ワクチン導入の考察−. 第 84 回日本感染症学会 W13-5, 2010 年 4 月 5 日−6 日， 京都.

22) 朝倉亜希、柳井徳磨、酒井洋樹、久保正仁、山田章雄、今岡浩一、高橋元秀、安藤秀二、今岡信夫、川端寛樹、木村昌伸：西日本を中心にした猟犬の感染症に関する調査研究．第16回日本野生動物医学会, 2010年9月，福岡.

23) 柳井徳磨、朝倉亜紀、酒井洋樹、高橋元秀、今岡浩一、今泉信夫、安藤秀二、川端寛樹、木村昌伸、山田章雄：猟犬を用いた野外感染症のモニタリング．平成 22 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会，2011 年 2 月，岐阜.

24) 野口佳裕、小宮貴子、山本明彦、高橋元秀、角田篤信： *Corynebacterium ulcerans* 感染症の 1 例．第 111 回日本耳鼻咽喉科学会総会, 2010 年 5 月，仙台.

25) 小川 高、三島浩享、新家俊樹、杉山寛治、神田 隆、高橋元秀： 鼻汁よりジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* を分離した家庭猫の 1 例．第 150 回日本獣医医学会総会, 2010 年 4 月，宮崎.

26) 渡部友芸、伊藤 彩、楠山美保、杉本直樹、小宮貴子、山本明彦、高橋元秀、荒川宜親： *Corynebacterium striatum* による誤嚥性肺炎の一例．第 22 回日本臨床微生物学界総会, 2011 年 1 月，岡山.

27) 一二三亨、山本明彦、井上潤一、加藤宏、小井土雄一、高橋元秀：まむしウマ抗毒素製剤の救命急センターでの使用実態調査．日本救急医学会, 2010 年 10 月,東京.

28) 福田 靖、岩城正昭、小宮貴子、見理 剛、山本明彦、高橋元秀：Hib ワクチンの破傷風トキソイド力価-国内市販ロットについての調査-． 第14回日本ワクチン学会, 2010 年 12 月，東京.

29) 堀野敦子、山根一和：類鼻疽（メリオイドーシス）の診断と同定．細菌学会関東支部会，2010 年 10 月 21—22 日，東京.

30) 森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親：結核菌由来新規 diadenosine 5′,5‴–P^1,P^4–tetraphosphate 加リン酸分解酵素の構造と機能の相関解析．第 92 回日本細菌学会関東支部総会, 2010 年 10 月，東京.

31) 森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親：結核菌由来新規 diadenosine 5′,5‴–P^1,P^4–tetraphosphate 加リン酸分解酵素の機能構造相関解析．第 62 回日本生物工学会大, 2010 年 10 月，宮崎.

32) 森茂太郎、柴山恵吾、和知野純一、荒川宜親：結核菌由来新規 diadenosine 5′,5‴–P^1,P^4–tetraphosphate 加リン酸分解酵素の活性発現に必要な構造的要因．日本農芸化

学会 2011 年度大会, 2011 年 3 月, 京都.
33) 大塚菜緒、蒲地一成、豊泉裕美、中村幸嗣、荒川宜親：百日咳菌における定着因子 Prn 欠損株の細菌学的特性. 第 93 回日本細菌学会関東支部総会, 平成 22 年 10 月, 東京.
34) 中村幸嗣、蒲地一成、豊泉裕美、齋藤良一、鶴岡純一郎、勝田友博、立山悟志、徳竹忠臣、中島夏樹、岡田賢司、加藤達夫、荒川宜親：成人と小児における百日咳保菌量の差異について. 第 84 回日本感染症学会総会, 平成 22 年 4 月, 京都.

講演及び講義（講習会、研修会）

1) 加藤はる： 医療関連感染の制御：注目すべき微生物への対応 *Clostridium difficile* 感染症. 第 117 回 ICD 講習会,
2011 年 2 月, 横浜.
2) 加藤はる： クロストリジウム・ディフィシル（*Clostridium difficile*）感染症とその細菌学的検査. EBM 推進のための大規模臨床研究スタートアップミーティング,
2010 年 6 月, 東京.
3) 加藤はる： *Clostridium difficile*（クロストリジウム・ディフィシル）感染症：診断から感染予防まで. 院内感染対策委員会主催研修会, 2010 年 6 月, 済生会川口総合病院, 川口市.
4) 加藤はる： *Clostridium difficile*（クロストリジウム・ディフィシル）感染症について. 第 8 回救急領域感染対策セミナー（NPO 法人岐阜救急災害医療研究開発機構）, 2010 年 7 月, 岐阜.
5) 加藤はる： *Clostridium difficile* 感染症は、どんな感染症？第 16 回院内感染対策セミナー, 2010 年 9 月, 九州大学病院, 福岡.
6) *Clostridium difficile* の検査法. 日本臨床検査専門学院第 35 期微生物学コース, 2010 年 10 月, 東京.
7) 加藤はる： クロストリジウム・ディフィシル感染症ー診断から治療までー. 平成 22 年度第 2 回感染対策講習会, 2010 年 10 月, 独立行政法人国立病院機構 呉医療センター・中国がんセンター, 呉.
8) 加藤はる： クロストリジウム・ディフィシル感染症の診断・治療及び感染予防のポイント. 滝山・緑風荘病院院内感染対策合同研究会, 2010 年 12 月, 東村山市.
9) 加藤はる： *Clostridium difficile* 感染症について. 院内感染防止対策委員会講演会, 2011 年 1 月, 足利赤十字病院, 足利.
10) 加藤はる：インフルエンザ菌感染症について. 平成 22 年度希少感染症診断技術研修会, 2011 年 2 月, 東京.
11) 加藤はる：インフルエンザ菌 b 型による病気とワクチン ヒブってなーに？ 感染研市民セミナー（第２４回）「くらしに役立つ病気の知識」, 2011 年 3 月, 武蔵村山市.

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、トキソプラズマ・マラリア原虫などの単細胞真核生物である原生生物（原虫）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。これら寄生虫感染症の国内外の現況把握のために、疫学・分子疫学調査を継続的に行った。また、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疫学・分子疫学研究を行った。また赤痢アメーバの病原・代謝機構の統合的解明を目指す研究を展開した。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。更に、トキソプラズマ症の病原機構に関する研究を行った。

第二室においては、食品由来寄生蠕虫症（アニサキス症、肺吸虫症、横川吸虫症・異形吸虫症、裂頭条虫症、テニア症、有鉤嚢虫症など）、ならびに動物由来寄生蠕虫症（エキノコックス症、アライグマ回虫症、トキソカラ症など）を対象とし、遺伝子診断法や血清診断法開発のための基礎的研究、ならびに疫学的研究を展開した。肺吸虫症に関しては、その検査診断法開発に不可欠な寄生虫材料の採取や疫学的情報収集を海外の流行地において行った。わが国には分布しないとされたアジア条虫症の国内集団感染事例が発生し、その実態を調査した。エキノコックス症については馬における感染実態調査、ならびに、食肉衛生検査所職員を対象に分子病理診断に関する研修事業を行った。一方、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体（病理組織標本を含む）について、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、検査・診断のサポートを行った。

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、赤痢アメーバなどを主な研究対象としている。マラリアや住血吸虫は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、いまだ国内にベクターとなる蚊や陸生貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの寄生虫症浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、国内での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行った。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部は、実際に検疫業務や途上国での寄生虫症対策にも応用されている。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する基礎的研究を、赤痢アメーバ原虫やマラリア原虫を対象として進めた。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（インフルエンザ等新興・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、再任用職員として、川中正憲、古屋宏二、朝日博子、客員研究員として影井昇、松田肇、千種雄一、亀井喜世子、協力研究員として佐藤暖、渡辺恒二、高岡紀子、岡田麻美、川原史也、下河原理江子、黒木俊郎、柴田勝優、荒川京子、梅原梓里、Jeelani Ghulam, Ahmad Bilal Andrabi Syed、Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として牧内貴志、青沼

宏佳、坪井久美子、研究生として Afzal Husain, Aleyla Escueta-de Cadiz, Gil Mallari Penuliar, 非常勤職員として、村上裕子、武藤麻紀、桝田京子、中曽根英子、臨時研究補助員として田原美智留、賀川千里、古川敦、福士路花が、実習生として間瀬望、花館有希、丸茂このみ、が在籍し、研究等に従事した。

業　績

調査・研究

I. 検査法・診断法・不活化法の開発

1．原虫症診断法・検出法・不活化法の開発

(1) 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であるジアルジア症の抗原検査用モノクロナル抗体を前年度開発し、本年度はこれらの抗体を用いたマイクロプレート ELISA における特異性ならびに感度を検討した。固相化および検出抗体にはそれぞれエピトープの異なるモノクロ抗体を用い、ヒト原虫感染症例の糞便試料として顕微鏡あるいは DF 法等でジアルジア、クリプトスポリジウム、赤痢アメーバならびにサイクロスポラ陽性であった試料、またこれらの原虫は陰性であった試料を用いて試験を行った。結果は特異性 96.6%、感度 62.5%であり、感度向上が課題であった。検出抗体のビオチン化またポリクロナル抗体の利用が問題解決法として考えられた。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株式会社）]

(2) 畜産排水からのクリプトスポリジウムの簡便な回収法

畜産排水は河川等公共用水のクリプトスポリジウム汚染の主要な汚染源となっており、そこに含まれる原虫の量、および生残性は感染リスクに大きく関連する。この点に関し、畜産排水は原虫を高濃度に含む一方、濁質、挟雑物も高濃度に含むことから原虫を迅速簡便に精製、回収する技術開発は重要である。使用法が簡便で市販試薬として入手可能な高分子凝集剤であるポリグルタミン酸の畜産排水に対する適用を試みた結果、凝集剤濃度を 4mg/10 ml に調整し遠心操作により 10 分程度で 50%の回収率を確保することが可能であることが示され、ポリグルタミン酸凝集剤の原虫回収における有用性が明らかとなった。

[八木田健司、村上裕子]

(3) 河川水試料からのクリプトスポリジウム遺伝子検出法の検証

現行の河川水試料のクリプトスポリジウム検査は顕微鏡検査が行われており、遺伝子検出法の応用が期待されている。衛生研究所、水道事業体、民間検査機関の協力を得て、遺伝子検出法の感度試験、添加回収試験、並びに河川水試料からの顕微鏡法と遺伝子検出法の比較試験を実施した。いずれの協力機関においても使用可能であることを示す結果が得られた。すなわち、RT-LAMP 法、qRT-PCR 法のいずれにおいても、遺伝子検出法が高感度であることが改めて確認された。添加回収実験で添加試料から陽性、未添加試料から陰性と理論どおりの結果が得られた。反応阻害物の混入が心配され、鋳型量を抑えること、あるいは RT-LAMP 法においては阻害を低減する試薬の使用により阻害は回避されることが示された。河川試料からのクリプトスポリジウム等の検出については、顕微鏡陽性試料では遺伝子検出法で概ね陽性が得られ、qRT-PCR 法増幅産物からはクリプトスポリジウム等の塩基配列が確認され、RT-LAMP 法増幅産物の電気泳動パターンに問題なかった。検証に使用した異なるプライマーによる 2 つの遺伝子検出法の判定結果は、概ね一致した。[泉山信司、岸田直裕（国立保健医療科学院水道工学部）、猪又明子（東京都健康安全研究センター）、竹内潤子（愛媛県立衛生環境研究所）、古川一郎（神奈川県衛生研究所）、勝山志乃（神奈川県広域水道企業団）、金見　拓（東京都水道局）、武田万里子（大阪市水道局）、荘司浩史（茨城県企業局水質管理センター）、溝口智子（(財)岐阜県公衆衛生検査センター）、松田信行（(株)環境科学研究所）、百田隆祥（栄研化学（株））、山本純子（タカラバイオ(株)）]

(4) 新規クリプトスポリジウム濃縮法としての粉体ろ過法の検証

新規クリプトスポリジウム濃縮法として開発した粉体ろ過法を、水道事業体の協力を得て検証した。積算ろ過水量、捕捉性能、並びに回収率を評価した結果、いずれ

の担当協力機関においても使用可能であることを示す結果が得られた。すなわち、浄水目的に開発された粉体ろ過法であったが、浄水用の 37mm ユニットに比べて大きな 90mm のろ過ホルダーを使用し、原水への応用も可能であった。原水のろ過水量は 3～63L と濁度によって変動し、原水濁度が 10 度を超える場合は、複数回に分けて濾過を行うことで、現行検査法の 10L をろ過可能と考えられた。浄水のろ過水量は 24 時間で 200～500L となり、濃縮物の一部だけで現行の検査水量 20L が可能で、緊急時の 120L の濃縮に対応できる水量であった。ろ過法単体としての捕捉性能は概ね理論値に近い性能が得られた。[泉山信司、高藤　俊（浜松市上下水道部）、佐々木美江（宮城県仙南・仙塩広域水道事務所）、川口有希子（桐生市水道局）、水野　聰（新潟市水道局）、渡邉洋大（神奈川県企業庁水道水質センター）]

(5) Colloidal dye を利用した抗 *Encephalitozoon* spore wall 抗体の検出に関する基礎的検討

ミクロスポリジア *Encephalitozoon* はヒトを含めた多数の動物種に感染し、診断は血清反応が有用とされている。現在、精製 spore／抽出抗原／遺伝子組換え抗原による ELISA などの酵素抗体法、蛍光抗体法が主流であるが、標識二次抗体を必要とするため疫学的に興味深いすべての動物種に応用できない。そこで、欧米で現在も使用されている carbon immunoassay に注目し、India ink の代わりに繊維染色剤の colloidal dye を利用した抗体測定の基礎的検討を行った。市販の colloidal dye の三種類（dark blue、red、brown）の 5%懸濁液を調製し、dye 液と高抗体価の代表的血清、spore 懸濁液（約 2%）の三者を色々な混合条件で反応させ鏡検下で観察した結果、dye の 1.5～2.25%濃度で一様に spore 壁に対する非常に強い吸着が起こることが分かった。三種類の dye の中では blue 系の判別が最も容易であった。最適条件下で ELISA (+)のウサギ血清 10 例は何れも陽性反応、ELISA (-)のウサギ血清 5 例は陰性反応を示した。本反応は二次抗体が不要、操作が簡単、非特異反応が識別できるなど試験法として有利な面が多いことから、今後、色々な動物種の血清試料に当たるなど診断への応用・疫学的研究のための更なる検討を進めたい。[古屋宏二、織田将貴（帯広畜産大）、五十嵐慎（帯広畜産大）]

(6) マラリア迅速診断キットの検証

原虫抗原を検出するマラリア迅速診断キットは、マラリア原虫の Histidinerich protein-2(HRP-2)か Parasite lactate dehydrogenase(pLDH)のいずれかを検出するタイプに大別されるが、最近、同時に両方を検出するタイプも市販された。そこで、日本の検疫業務やトラベルクリニックで利用される新しいキット、Mal Pf/Pv antigen と Entave Malaria の２つについて、ソロモン諸島のマラリア流行地で、原虫密度 100／μｌ以下の例を中心に検出限界を求め、感度と特異度を検証した。原虫密度 100／μｌ以下の例が、対象の多くを占めるようになっても、特異度は 94.2～99.1%と高かったが、感度は、熱帯熱マラリアで 60～80%、三日熱マラリアで 30%以下となった。また、熱帯熱マラリアについては、原虫密度 50／μｌまで検出できたが、三日熱マラリアの検出限界は、両キットとも原虫密度 100／μｌ程度にとどまった。[大前比呂思、亀井喜世子（平成帝京大学）]

(7) 尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

原虫抗体を検出する検査診断法については、尿中の熱帯熱マラリア原虫抗体を検出する方法について、陰性化までの期間を検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、過去３年間の調査の中で尿中の熱帯熱マラリア原虫 IgG 抗体価が陽性から陰性に転じた 19 例を対象とした。フォローアップの期間間、半年ごとに行われた顕微鏡による血液標本の検査結果の推移とマラリア感染・治療歴の関係について解析しところ、明らかな再感染がなければ、陰性化した例は２年間で 37%、３年間で 68% となった。 [大前比呂思、伊藤誠（愛知医大）、亀井喜世子（平成帝京大学）]

２．蠕虫症診断法・検出法・不活化法の開発

(1) イムノクロマト法による血清診断キットの開発

ア．ヒロクチ肺吸虫の ES 抗原を用いた免疫クロマトグラフィー法に基づく血清診断キットの開発

本邦で人体感染の原因となる肺吸虫種（ウェステルマンあるいは宮崎）から調製した ES 抗原を用い、免疫クロマトグラフィー法に基づく血清診断キットを作製して検討したところ、診断のツールとして極めて有用であることが確認された。そこで、肺吸虫症例が続発するイン

ドでの使用を視野に入れ、現地での原因種（ヒロクチ肺吸虫）から ES 抗原を調製、診断キットを作製して性能を評価した。その結果、喀痰内虫卵の分子同定から原因種がヒロクチ肺吸虫と確定された症例は、いずれも強い反応を示し、確実に診断されることが明らかとなった。一方で、異種のウェステルマン肺吸虫抗原を用いたキットでは、反応強度が弱まる例があった。患者の原因種を抗原として作製したキットを用いることが、正確な結果を得る為には重要と考えられた。[杉山 広，森嶋康之，山﨑 浩,小林行治･小林 薫（アドテック株式会社），シャンティクマール・シン（シッキム医科大学・インド）]

イ．レコンビナント抗原を用いた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トキソカラ症の血清検査はその診断根拠を与えることから重要な tool である。そのキットの臨床応用を前提に、健常人血清とトキソカラ症患者血清に対する特異性、非特異性の出現頻度をさらに評価した。その結果、ELISA では問題にならなかったが、イムノクロマトでは、抗原に用いたレコンビナント抗原のベクター由来のタンパク質部分が非特異的反応を示す場合があることが判明した。現在、このベクター由来タンパク質の特異的吸収剤の検討を行った結果、非特異的反応が消失した。 [山﨑 浩・武藤麻紀，小林行治･小林 薫（アドテック株式　会社）]

ウ．マンソン孤虫症の血清診断キット作成

マンソン裂頭条虫の幼虫（プレロセルコイド）がヒトに寄生することによって惹起されるマンソン孤虫症は血清抗体価が著明に増加することから、抗体検出がその診断に有効である。そこで、前述のトキソカラ症同様、イムノクロマトキットの試作を行った。まず、種々の生化学的手法によって分離精製された 3 種類の抗原（PBS 抽出抗原、パラミオシン、とシステインプロテアーゼ CP)を用いて種特異性を検討したところ、PBS 抽出抗原とパラミオシンは非特異的反応が多く、一方、システインプロテアーゼ（CP）抗原は反応性、特異性とも優れていることが判明した。そこで、CP 抗原を用いたキットを試作し、現在、様々な寄生蠕虫症患者血清に対する評価を継続中である。 [山﨑 浩，武藤麻紀，小林行治･小林 薫（アドテック株式会社），　中村 健（北里大学･医）　]

(2) アニサキス症原因虫の分子鑑別に資する新規プライマーの設計と応用

ア．新規プライマーの設計

長期のホルマリン固定など、保存状態が芳しくない人体症例由来のアニサキス虫体を分子鑑別するために、各種に共通した配列を持ち、210 bp から 260 bp 程度の短い領域を増幅させる新規のプライマーペアを設計した。このプライマーペアの性能について、人体寄生の主要病原種である *A. simplex* sensu stricto、およびこれの同胞種である *A. pegreffii*、また、これらとは幼虫期の形態鑑別が不可能な *A. typica* を用いて評価した。報告例数は少ないが、人体症例の原因となる *A. physeteris* も検討の対象とした。その結果、上述の 4 種の虫体より調製した DNA からは、いずれも予想サイズ・予想配列の PCR 産物が増幅された。今回作製したプライマーペアは、人体寄生性アニサキスを種鑑別する時の有用なツールになることが確認された。[杉山 広，梅原梓里，川上 泰（麻布大）]

イ．臨床材料への適用の可能性検討

アニサキス虫体を分子鑑別するために新たに設計・作製したプライマーペアが、臨床材料に認めるアニサキス虫体の種鑑別に活用できるかを調べた。この検討には、絞扼性イレウス患者の切除回腸・病理組織標本に認めたアニサキス虫体、および食中毒患者の胃から摘出されたアニサキス虫体(何れもホルマリン固定)を対象とした。検討の結果、まずユニバーサルなプライマーペア（NC5 および NC2）で PCR し，次に今回作製したプライマーペアで nested PCR することで PCR 産物が得られることが分かった。この nested PCR の産物の塩基配列を解読したところ､症例の原因種は共に *A. simplex* sensu stricto であることが確認された。 [杉山 広，梅原梓里，川上 泰（麻布大）]

(3) エキノコックス症の遺伝子診断の標準化に関する研究

中国西部はアジア地域のみならず世界的に見ても有数

のエキノコックス症流行地であり、原因種も既知の単包条虫および多包条虫の 2 種に加え、新種の *Echinoocccus shiquicus* が報告されている。これらは形態学的には正確な鑑別が困難であるため、流行地では病原体の種ごとに異なる予防対策や適切な治療法の選択を妨げ、またわが国では輸入症例への対応を難しくしている。そこで今回、簡便な遺伝子鑑別法を確立することを目的として、最適な標的領域の選別を行ってマルチプレックス PCR 法による遺伝子検査システムの開発を試みた。[森嶋康之，山﨑 浩，杉山 広，川中正憲，湯 林華（中国 CDC 寄生虫病予防控制所）、王 虎（青海省 CDC）]

(4) 宿主サワガニの冷凍による肺吸虫感染リスクの除去

市販の食用サワガニを原因に、肺吸虫に感染する事例の報告が続いている。肺吸虫陽性のサワガニを冷凍すれば、非加熱で摂食しても肺吸虫の感染は予防されると予想されたので、その条件を検討した。条件検討に当たっては、昨年度の加熱実験を参照し、冷凍サワガニから分離したウェステルマン肺吸虫（2 倍体型）メタセルカリアの形態を精査すると共に、マウスへの感染試験を実施した。その結果、サワガニを-18℃で 100 分間冷凍すれば、その体内のメタセルカリアは変性し、感染能力を消失することが明らかとなった。より短い 50 分間処理では、変性してもマウスへの感染性が認められ、予防効果は不十分であった。更に低い温度では、より短時間での冷凍で感染予防が可能と考えられたので、検討を進める予定にしている。また、宮崎肺吸虫陽性サワガニを用いての検討も計画している。[杉山 広，森嶋康之，山﨑 浩，柴田勝優，川上 泰（麻布大）]

(5) 病理組織標本を用いた寄生虫の分子同定

ア．免疫組織化学的染色による線虫の同定

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、DNA の増幅は困難である。しかし、DNA の抽出法や PCR 条件を工夫することによって、その寄生虫の種の鑑別が可能になってきた。その実例として、平成 22 年度には、特筆すべき症例として、国内では 5，6 例目と考えられる肝毛細虫（*Capillaria hepatica*）による人体寄生例を確定診断することができた。その他、アメリカ鉤虫(*Necator americanus*)やタヌキ回虫(*Toxocara tanuki*) のホルマリン固定された虫卵 も遺伝子解析によって同定に至るなど、検査依頼検体を活用し、遺伝子鑑別法を網羅的に確立している。[山﨑 浩，武藤麻紀，杉山 広，森嶋康之]

イ．免疫組織化学的染色によるブタ・肝エキノコックス症の評価に関する検討

ブタはエキノコックス流行地である北海道の監視動物の 1 つとして食肉衛生的見地から検査されている。本研究では、1980 年代の食肉衛生検査でエキノコックス感染と疑われた 12 例のブタの肝壊死病変組織パラフィン切片を用いて HE／PAS 染色鏡検により 7 例に病理組織学的マーカーであるクチクラ（Cu）を確認した。けれども、これら HE／PAS 陽性 7 例の組織標本には Cu 内に原頭節の形成は勿論のこと Cu 内層（胚層）の存在を確認できなかった。そこで、免疫組織化学染色（IHC：*Echinococcus multilocularis* 原頭節抽出物に対する家兎特異抗体使用）による Cu 内層（胚層）の検出の有無を検索したところ、PAS 陽性組織標本 7 例のうち、IHC で 3 例が Cu 内層＋(陽性)、2 例が±となった。これら 5 例は何れも IHC 陰性の 3 例に比較し Cu の発育が弱く、感染のより早期のものと示唆された。本結果は食肉衛生検査におけるエキノコックスの興味深い免疫組織化学的知見と考えられ更なる調査研究が期待された。なお、特異抗体の捕捉は biotin 標識抗ウサギ IgG 抗体／streptoavidin-peroxidase 系で行なわれ、反応時間は一次抗体を含めそれぞれ室温 10 分であった。抗原の賦活化にはトリプシンが用いられた。[島田陽一（北海道）、古屋宏二、川中正憲、杉山 広、森嶋康之、山﨑 浩]

II. 疫学・型別・分子疫学的研究

1．原虫症の分子疫学的研究・調査

(1) 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

平成 20－22 年度にわたるアカントアメーバ性角膜炎の全国調査結果をまとめ、近年のアメーバ性角膜炎増加の要因を分子疫学的に解析した。角膜分離 27 株、コ

ンタクトレンズ保存液15株に関して18SrRNA遺伝子配列に基づくタイピングを行い、起因アメーバのほとんどがこれまで角膜炎に密接に関連することが知られる T4 という遺伝子タイプであること、新たなTタイプは確認されなかったこと、また T4 の中のいくつかのシークエンスタイプのアメーバが全国的に分布する傾向が示された。アメーバ角膜炎増加の微生物学的要因としては、これまで環境中に生息しているアメーバの感染リスクが増加した可能性が想定された。[八木田健司、村上裕子、井上幸次（鳥取大）]

(2) アメーバ内共生（寄生）微生物に関する研究

自由生活性アメーバに共生する微生物のヒトへの健康影響に関する研究を進めている。ギムザ染色で細胞内の共生微生物（共生体）が確認された環境分離の共生アメーバのＤＮＡアーカイブ標本を材料として、遺伝子解析による共生体の同定を行った。浴槽水試料ならびにハウスダスト試料からの共生アメーバでは、ヒトの呼吸器疾患との関連性が知られる Parachlamydia 科を含むクラミジアのほか、桿菌様の共生体、細胞内寄生性が知られるリケッチア属の共生体がみられた。ほとんどの共生体との関係において、共生アメーバは安定した共生関係を維持しているものと考えられ、アメーバに対する病原性は極めて低いものと想定された。[八木田健司、村上裕子]

(3) PCR による馬肉からの住肉胞子虫ザルコシスチスの検出

近年問題となっている生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例において、馬肉の生食（馬刺し）、さらには馬肉中に寄生するザルコシスチス *Sarcocystis* の本症との関連性が議論されている。馬肉寄生ザルコシスチスの特定を目的に18SrRNA遺伝子を用いた定性的PCR検査を行い、有症事例残品のみならず市販馬肉製品からも原虫が検出され、それらは遺伝的に同一であり、ヒト感染性の *S. hominis* ならびに *S. suihominis* とは異なること、ウマを宿主とする *S. neurona* とも異なることが示された。BLAST では野生動物のシカ類から検出されたものの配列と最も相同性が高かった。ウマを宿主とする *S. fayeri* ならびに *S. bertrami* は配列情報がないためその相同性は不明であった。従来ウマを宿主とするザルコシスチスによる健康被害は知られておらず、今回検出されたザルコシスチスに関する病原性が大きな課題となる。[八木田健司、村上裕子、鎌田洋一（国立医薬品食品衛生研究所）、小西良子（同）]

(4) 馬肉中のザルコシスチスの定量 PCR 法開発

病因物質不明有症事例で馬肉より検出されるザルコシスチスに関し、その定量 PCR 系を考案した。ケミストリには SYBR Green を用い、Power SYBR Green PCR master Mix（ABI)を用いて PCR 試料を調整した。定性 PCR の 18SrRNA 遺伝子解析に基づく塩基配列情報より馬肉ザルコシスチス特異的プライマーを設計し、定性 PCR 産物をスタンダードとして検量線を作成した。馬肉検体はミンチ状に前処理し、一定量を TE バッファーで懸濁、その上清を市販キットで精製し DNA 試料を作成した。定量検出限界は 1.7×10^3 コピー/g 肉重量と算出され、有症事例残品に関しては $1.2－6.6 \times 10^6$ コピー/g の DNA 量が検出された。[八木田健司、村上裕子]

(5) 飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究（微生物分科会）

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、塩素消毒に依存した微生物対策の見直しが求められている。当該分科会では研究分担者、協力者との研究協力により、耐塩素性病原微生物に関する研究と併せて、水道に関連する細菌・ウイルスの研究についての取りまとめを行っている。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌測定が開始され、その指標性の検討が求められている。全国 2 年分の測定値の比較で、測定地点の多くは安定した測定値が得られていたが、一部に変動や高い測定値が存在し、その理由としては給水栓の汚染が影響しているのではないかと推測された。高度浄水処理過程における従属栄養細菌数は、オゾン処理で減少したものが、生物活性炭処理により増加し、後段の消毒、砂ろ過で減少した。浄水と給水栓水では、検出される菌の比率が異なっていた。ウイルス汚染への対応として浄水処理の有効性の検証として、低い Ct 値での塩素消毒を正確に評価するため、ごく短い接触時間での消毒効果を検証するための処理装置

を開発した。大腸菌を用いた性能試験で接触時間 0.5 秒の消毒を確実に評価することができたことから、ウイルス消毒実験への応用が期待された。クリプトスポリジウム等、耐塩素性病原微生物関連の研究では、試料水の新規濃縮方法としての粉体ろ過法、並びに遺伝子検出法の実用性を検証し、現行試験法への追加を目指した。[泉山信司、秋葉道宏（国立保健医療科学院水道工学部)、片山浩之（東京大学大学院工学研究科)、松下　拓、松井佳彦（北海道大学大学院工学研究科）]

(6) マラリア原虫サルファドキシン耐性遺伝子 dhps の遺伝的多型の解析

サルファドキシンはピリメサミンとの合剤として世界中で使用されてきた。これまでピリメサミン耐性に寄与する dhfr S108N 変異は 1990 年代以降にアフリカで耐性が急速に広まったことをアーカイブ標本を用いて明らかにしてきた。国内外での研究の動向では dhfr 耐性株は東南アジア、南アメリカの限られた場所で発生し、東南アジアの耐性株がアフリカに移入したことが報告されている。一方で、昨年から dhps は東アジアでもアフリカでも耐性に寄与する K540E 変異は多起源であることが報告された。そこで、アーカイブサンプルをもとに dhps K540E 変異を検出したところ、dhfr が野性型のサンプルで dhps K540E 変異を検出した。このことはピリメサミンの dhfr 変異が広まる前よりも前に、サルファドキシンの dhps 変異がアフリカに存在していたことをしめす。現在、dhps の他の変異部位の解析も進めている。

[中野由美子、中曽根英子、美田敏宏（東京女子医大)、田邉和裕（大阪大）]

(7) ガーナ国のマラリア治療薬使用状況調査

アフリカに於ける薬剤耐性マラリア拡散阻止構想の一環として、chloroquine 使用が禁止され、ACT(Artemisinin-based Combination Therapy)が実行されてから 5 年経過したアフリカ　ガーナ国の 11 地区でマラリア治療薬使用状況を調査した。1085 人の感染者および医療従事者の協力を得て調査した結果、artemether-lumefantorine(AL)が 59.2％で最も多く処方されて使用されていた。続いて dihydroartemisinin,sulfadoxine-ptrimethamine(SP),artesunate-amodiaquine(AA) などが使用されていた。Artesunate の monotherapy や chloroquine の継続使用等の問題点が浮き彫りになった。[Kwansa-Bentum,B.,Ay,I.(ガーナ大、野口研)、朝日博子、太田伸生（東京医科歯科大）]

(8) アフリカ　ガーナ国のマラリア薬剤耐性と artemisinin の薬理作用に関する研究

マラリア治療のファーストライン治療薬とされる artemisinin の標的として SERCA-type PfATPase6 が推測とされることから、この原因因子の polymorphisms と薬剤感受性の関連に焦点をあて、ガーナ国で分離された isolates を用いて調べた。加えて従来の主要な治療薬に対する耐性状況を pfctp,pfmdr,および pfcrt の耐性関連配列決定と in vitro 試験法を用いて調べた。SERCA-type PfATPase6 には広範な point mutaion が見いだされたが、artesunate に対する薬剤感受性との関連はなかった。耐性は quinine（19.4％),amodiaquine（29.0％),chloroquine（51.6％）にみられた。[Kwansa-Bentum,B.,Ay,I.(ガーナ大、野口研)、朝日博子、太田伸生（東京医科歯科大）]

2．蠕虫症の分子疫学的研究・調査

（1）．アニサキス症の発生実態と原因の解析

ア．本邦における寄生蠕虫症の発生状況：レセプトデータを用いた解析の試み

株式会社日本医療データセンターが 2009 年 1 月から 12 月の 1 年間に集積した約 75 万人のレセプトデータを対象に、標準傷病名（ICD-10 コード）に具体的な寄生蠕虫の種名を含むレセプトを抽出した。その結果、271 件のデータが抽出された。特に蟯虫症（228 件）とアニサキス症（32 件）は件数が二桁を越えた。そこで全国の人口（2009 年：約 1 億 2800 万人）に基づく拡大推計を行なったところ、年間の患者数は各々約 38,500 名と約 5,100 名と算出された。一方で、エキノコックス症、有鉤条虫症、裂頭条虫症、回虫症、鞭虫症、広東住血線虫症でレセプト請求された症例も抽出された。しかしながら、これらの請求はいずれも 4 件以下に留まり、単純な拡大推計では正確な患者数を把握するのは困難と考えられた。[杉山 広，森嶋康之，窪田邦宏，春日文子（国立衛研)，木村真也（日本医療データセンター）]

イ． ゴマサバに寄生するアニサキス亜科線虫

アニサキス症の感染源として重要なマサバ *Scomber japonicus* の近縁種として、ゴマサバ *S. australasicus* が知られる。本種は，より高温を好み、日本近海では夏季の漁獲量が多いが、アニサキス亜科線虫の寄生状況については、十分に検索されていない。そこで、神奈川県産のマサバ（4 尾）およびゴマサバ（7 尾）を対象にして調べた。

その結果、魚には総てアニサキス亜科線虫が寄生していた。虫体の検出数は，合計 66 匹（マサバ）および 55 匹（ゴマサバ）であった。検出虫体を分子同定したところ、魚種を問わず大部分が人体寄生の主要病原虫である *Anisakis simplex*（65 匹および 53 匹，以下 As）であった。*A. pegreffii*（以下 Ap）の寄生は認められなかった。なお少数の虫体は hybrid genotype（As と Ap の配列を共有する遺伝子型、1 匹および 2 匹）と同定された。両魚種に寄生するアニサキス亜科線虫の種類は良く一致し、従ってゴマサバもアニサキス症の感染源として危険であることが明らかとなった。[杉山 広，武藤麻紀，柴田勝優，吉田大志，平 健介（麻布大）]

（2）．アジア条虫症の発生実態

平成 22 年度 6 月から平成 23 年 2 月にかけて、関東地方の 1 都 5 県で、わが国には分布しないと考えられていたアジア条虫(*Taenia asiatica*)による感染事例 17 例が発生した。アジア条虫は韓国･中国や東南アジアに分布する条虫で、その形態は無鉤条虫に似るが、中間宿主を豚とする条虫である。ヒトへの感染は、その幼虫（＝嚢虫）が寄生した豚レバーの生食による。今回発生したアジア条虫症患者のほとんどは海外渡航歴がなく、関東地方の飲食店で豚レバーを摂取していたことから、国内感染事例と考えられた。虫体の鑑別診断は DNA 検査が最も信頼性があることから、ミトコンドリアゲノムでコードされる cox1 遺伝子に加え、核 DNA の elongation factor 1-α 遺伝子、および ezrin-radixin-moesin 遺伝子の塩基配列からアジア条虫と同定した。さらに、現在、中間宿主である豚における感染実態が不明であるために、関東地方の食肉衛生検査所にアジア条虫幼虫の検査体制の強化を要請し、監視を行っている。 [山﨑 浩，武藤麻紀，杉山 広，森嶋康之，川中正憲]

（3）．野生アライグマのアライグマ回虫寄生の監視

ヒトで重篤な神経障害を引き起こすアライグマ回虫による幼虫移行症の発生を予防する為に、実施可能な地域での野生アライグマの寄生虫保有状況の調査を継続しているが、現在のところアライグマ回虫は検出されていない。埼玉県においては、アライグマの増加が近年非常に目立つ状況になっている。野生アライグマの捕獲数で見ると、平成 16 年度は 31 頭であったのに平成 19 年度は 935 頭を数え、20 年度は 1,346 頭、21 年度は 1,756 頭、そして今年度は 2358 頭になった。今年度は主として埼玉県中部地域で捕獲されたアライグマ 390 頭から直腸便を採取し検査に供した。兵庫県においてもアライグマの増加は激しい。捕獲数は平成 16 年には 94 頭であったものが平成 18 年は 2,059 頭、平成 19 年には 2,612 頭にもなっている。本年度は 85 頭の凍結腸管材料について消化管寄生虫の精査を実施した。同様に島根県では、75 頭の検査を実施した。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が、野生アライグマの寄生虫検査に関してはまだ少数に止まっている。今年度は、長崎県から 20 頭、佐賀県から 45 頭の凍結腸管材料について検査を実施したが、アライグマ回虫卵は検出されなかった。[川中正憲，山本徳栄（埼玉衛研），佐藤 宏（山口大農）]

（4）． エキノコックス症の国内流行地域拡大防止対策に関する調査研究

ア．豚肝多包虫を検出する為の「白色結節病理アトラス」の作成と配布

青森県におけるエキノコックス（多包虫）の浸淫状況を調査する目的で、平成 17 年度から 20 年度まで十和田食肉衛生検査所管内のと畜場に搬入された約 360 万頭の豚から、白色結節が認められた肝臓を対象に精査したところ、北海道産豚（5,291 頭）のうち 6 頭にエキノコックスの感染が確認されたことは既に報告した。更にこの期間に当食検で検出された白色結節 109 例について詳細に病理組織学的な検討を行った結果、少なくとも 14 のカテゴリーに分類される事が明らかとなった。豚はエキノコックス症にとって公衆衛生上「歩哨動物」として

の役割がある。そこでこれらの肝臓病変に関する肉眼・顕微鏡所見をカラーアトラスとして印刷物に纏め、全国の食肉衛生検査所と東日本の衛生研究所及び家畜保健衛生所その他一部の研究者宛に配布した。今後、特に北海道外における活用が期待される. [新井山潤一郎（青森県十和田食検），松井高峯（帯広畜大），川中正憲]

イ. 糞便内抗原検出キットを用いた捕獲犬のエキノコックス感染監視

従来実施されていたのは、放浪犬を対象とした糞便の虫卵検査であるが、多包条虫に関しては検出感度が低い事が知られている。そこで、今年度は、青森県動物愛護センターで、近年、商業的に入手が可能となった糞便内抗原検出キット(「エキット」インビボサイエンス KK)を用いた検査を実施した。検査対象は、愛護センターに収容された感染の可能性の高い中・大型犬に限定し、青森県内での捕獲地が記録されているものとした。結果としては、平成 22 年 6 月から 23 年 2 月までに 70 頭の検査が実施されたが、全例が陰性であった。キットでの検査に当たっては、検査対象犬の腸管を冷凍保存することにより、キットで陽性となった場合に腸内容を剖検により精査出来る体制を整えた。今後とも継続的に実施することが必要である.[藤本道志（青森県動物愛護センター), 森嶋康之, 川中正憲]

ウ. 各地のと畜場に搬入された馬の多包虫感染状況の調査

馬の多包虫症に関しては、これまで北海道以外での報告例は皆無であったが、山形県内陸食検でと畜された軽種馬から高率（約 20%）にその感染が確認された。この成績は、当該食検において従来、馬の肝臓の肝砂粒症又は白色結節として廃棄処理されていた病変組織を精査した結果、得られたものであった。豚や馬での多包条虫の発育は、初期段階に止まり生殖上不妊であり、多包条虫の生活環の成立に役割を持たないとされている。馬は、その多くが短い生存期間でと畜処理される豚と異なり、多包虫感染後の生存期間が比較的長い。その為に、馬が多包条虫の中間宿主としては一般に不適当であるとしても感染期間と個体の条件によっては原頭節形成が起こる可能性を全否定する根拠は現在のところ得られていない。即ち、馬においては、世界的にも多包虫感染事例が我国以外には無い為に、その実態が十分に解明されてはいない。そこで、と畜場に搬入された馬の肝臓病変の精査を通じて、馬の多包虫感染状況を明らかにする事が必要となった。現在、青森県十和田食検、山形県内陸食検、長野県上田食検、山梨県食検、福岡県食検、熊本市食検などの協力を得て調査を実施している。[川中正憲, 山﨑 浩, 杉山 広, 森嶋 康之]

(5). 住血吸虫症の疫学

ア. 2000 年代に発見されたフィリピンの日本住血吸虫症有病地の分析

フィリピンで新しく報告された日本住血吸虫症有病地、Gonzaga, CAGAYAN 州（2002 年）と Calatrava, NEGROS 州（2005 年）で実施した腹部超音波検査と血清検査の結果を照合して解析した。腹部超音波検査で日本住血吸虫症特有の進んだ肝線維化を指摘されながらも、日本住血吸虫卵抗原を用いた ELISA では陰性となった例が、両地域でみられたが、このような例は、比較的低浸淫地ではあるものの、長期間にわたり日本住血吸虫症有病地であった地域でみられることが多い。また、ELISA 検査では、陽性率が 20 歳程度まで年齢とともに増加していく傾向が、CAGAYAN 州と SORSOGON 州でみられた。ベクターの生息という観点でも、新たに確認されたフィリピンの２つの地域の気候・環境条件は、日本住血吸虫の媒介貝である *Oncomelania quadrasi* が生息できる条件にあう。新しく確認された住血吸虫症の浸淫地が、従来からの有病地の発見なのか全く新しい有病地の出現なのかで、対策の方向性は異なる。免疫血清検査と超音波検査を組み合わせることで、個人レベルでの診断や病態把握にとどまらず、新しく報告された日本住血吸虫症の有病地の現状を、的確に評価できることがわかった。

[大前比呂思、桐木雅史（獨協医大)、千種雄一（獨協医大)、Remingo Olveda (RITM, フィリピン)]

イ. メコン住血吸虫症の血清疫学

メコン住血吸虫症の免疫血清診断で、従来の虫卵粗抗原を使った ELISA よりも、過ヨウ素酸ナトリウムで処理した虫卵抗原を用いる SMP-ELISA の方が、偽陽性例も少なく有用であることが、フィールドでも検証された。

そして、実際に村落ごとのSMP-ELISA陽性率をみると、陽性率がそれぞれ26.8%, 50.8%と高い水準にあった村落に500m程度で隣接する村落群で、陽性率は８％程度にとどまった。メコン住血吸虫の感染リスクは、隣接する村でもかなり異なり、流行も局所的に起こることが、SMP-ELISAを利用した調査でより明確になった。また、ラオス旅行中の外国人旅行者の感染例の検査結果からは、従来メコン住血吸虫症の報告がないVan Vieng地域での罹患が強く疑われた例が見いだされた。今後は、同地域を中心に、媒介貝の調査や糞便検査と並んで、広い範囲で住民の血清疫学調査を行うべきと判断された。

[大前比呂思、桐木雅史（獨協医大)、千種雄一（獨協医大)、Duon Socheat (CMPV, カンボジア)]

III. 分類・同定・臨床

１．脳ミクロスポリジオーシスのリスザルの一症例

Encephalitozoon cuniculi は Microsporidia に属し、ITS遺伝子のタイピングから三つの型に分類される。ITS 遺伝子型は動物種と密接な関係があるとされており、リスザルからはstrain III 型の亜型が検出されている。本研究では微生物検査、遺伝子検査から脳ミクロスポリジオーシスと判定した一症例について、組織学的な面から詳細な研究を行い、偽嚢胞の発現部位としてニューロピルの他にニューロンが細胞レベルでの寄生の場であることを明らかにした。本症例は、弱齢リスザルにおける*E. cuniculi* strain III 型感染による脳ミクロスポリジオーシスの代表例と考えられ、また、宿主反応がほとんど認められないなど潜在感染の組織学的特徴を示す貴重な症例と思われた。[古屋宏二、杉山　広、大田真莉子（麻布大)、中村進一（麻布大)、宇根有美（麻布大)、佐々木啓（三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所）]

２．タイ南部で新たに発見されたバンコック肺吸虫

タイ南部・スラータニ県に分布する淡水産のカニ *Phricotelphusa aedes* (Kemp, 1923) には、2型のウェステルマン肺吸虫メタセルカリアが寄生していることを既に報告した。このカニの検索を継続したところ、別種の肺吸虫メタセルカリアが見出された。このメタセルカリアは球形を呈し、直径は平均430μmであった。フェレットに感染させて回収した成虫は、紡錘形を呈し、体長は13.4 mm、体幅は6.3 mmであった。卵巣は腹吸盤の前方片側に位置し、サンゴ状を呈してやや複雑に分岐し、腹吸盤の後方には葉が5-6本に簡単に分岐する精巣を左右に1対認めた。皮棘は群生であった。以上の形態から、この肺吸虫をバンコック肺吸虫 *Paragonimus bangkokensis* と同定した。メタセルカリアと成虫を出発材料に得られたリボソーム DNA・ITS2 領域の配列からも形態同定の結果が支持された。[杉山 広，森嶋康之，武田正倫(帝京科学大学)，アチャリヤ･ラングシルジ （タイ・シーナカリンウィロート大学）]

３．裂頭条虫に関する分類学的研究

(1) チリ産ギンザケに寄生する裂頭条虫属 (*Diphyllobothrium*) 幼虫の cob 遺伝子のハプロタイプ解析

南米チリの南部、プエルト･モン近郊のジャンキウエ湖で捕獲したギンザケ（*Oncorhynchus kisutch*）の胃や筋肉から採取された裂頭条虫の幼虫（プレロセルコイド）60個体はその形態とcox1遺伝子解析から、2個体は広節裂頭条虫(*Diphyllobothrium latum*)と同定された。しかし、58個体についてはcox1遺伝子の塩基配列の相同性から、暫定的に *Diphyllobothrium dendriticum* と同定された。この *D. dendriticum* と同定した個体については、ミトコンドリアDNAのシトクロームｂ遺伝子（cob）の解析も行った。その結果、*D. dendriticum* については少なくとも11個の異なるcob遺伝子のハプロタイプが検出された。前年度に解析したcox1遺伝子と今年度実施したcob遺伝子とあわせて分子系統解析を行った結果、暫定的に *D. dendriticum* と同定された種は、旧北区に分布するいわゆる *D. dendriticum* とは異なるcladeを形成し、新種の可能性も示唆された。[山﨑 浩，武藤麻紀]

(2) *Diphyllobothrium ursi* (ヒグマ裂頭条虫)のミトコンドリアDNA解析に基づく分類学的再検討

裂頭条虫属 *(Diphyllobothrium)* に属する条虫は形態学的に類似する種類が多く、分類上の位置が未だ確定していない種が多く、正確な種数も確定していないことから、DNA解析を含めた分類学的再検討が必要な寄生虫である。その中には、1954年、アラスカ、コディアック島

のヒグマとベニザケから発見され、ヒグマ裂頭条虫*(Diphyllobothrium ursi)*として新種記載された種も 1987 年には *D. ursi* は *Diphyllobothrium dendriticum* のシノニムとされた。そこで、*D. ursi* は *D. dendriticum* のシノニムであるか否かを明らかにする目的で、1954 年の新種記載に用いられた *D. ursi* の完模式標本(holotype)を用いて、ミトコンドリ DNA の cox1 遺伝子の解析を行った。その結果、シノニムとされていた *D. dendriticum* に最も近縁ではあったが、明らかに *D. dendriticum* とは異なる clade を形成し、日本海裂頭条虫や広節裂頭条虫とも異なり、*D. ursi* の種としての独立性が確認された。[山﨑 浩, 武藤麻紀, 有薗直樹（京都府医大）, R. L. Rausch (ワシントン大)]

IV. 生理・生化学・分子生物学

1．原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

(1) 自由生活性アメーバの病原機構・生物学にかかる研究

アカントアメーバ性角膜炎の病理として、角膜実質層内における炎症および潰瘍形成の過程は重要である。前年度確立した実質細胞の CPE を定量的に解析するアッセイ系を用いて T4 タイプのアメーバ分離株の CPE を比較した。その結果シークエンスが異なる株間で CPE の差は顕著ではなく、臨床面での重症度との関連も明らかではなかった。CPE の明らかな実質細胞試料を用いて TUNEL 染色、Annexin V 染色を行った結果では、CPE にアポトーシスが関連することが強く示唆された。[高岡紀子（東京女子医大東医療センター）、八木田健司]

(2) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．比較ゲノミクスを用いた新規赤痢アメーバ病原関連遺伝子の同定

病原性に違いのある赤痢アメーバ国内臨床分離株、KU27（非病原性）、KU50（腸アメーバ症由来）のゲノムを次世代シークエンサーで解析し、非病原性株で特異的に欠損しているゲノム領域を明らかにした。まず各株のゲノムを Illumina 社のゲノムアナライザーで解読しそれぞれ 21,514,383、19,525,688 本のリードを得た。これを既に公開されている HM1 株（腸アメーバ症由来、メキシコ）の ORF データに対してマップし、KU27 由来のリードが全くマップされなかったが KU50 ではマップされている ORF を抽出し 34 の候補 ORF に絞り込んだ。続いて KU27, KU50 のゲノム DNA から PCR を行い 34 の ORF の有無を認したところ、唯一 EHI_176590 が KU27 で増幅されず KU50 で増幅されることが確認された。EHI_176590 は AIG1 family protein をコードしており、これは哺乳動物で免疫細胞の生死にかかわるシグナル伝達に働いていることが知られている。よって、赤痢アメーバでも何らかのシグナル伝達に関与することが予想される。今後この AIG1 ファミリータンパク質の機能解析を行い病原性への関連を明らかにする。[津久井久美子、関塚剛史（病原体ゲノム解析センター）、今田美穂子、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）、野崎智義]

イ．赤痢アメーバ薬剤耐性に関与する遺伝子のトランスクリプトーム解析

現在抗赤痢アメーバ薬としてメタロニダゾールが唯一の薬として使用されているが、特に発展途上国での濫用があり、薬剤耐性株の出現が危惧される。そこで実験室で作成したメタロニダゾール耐性株を用い、トランスクリプトーム解析から、薬剤耐性に関与する遺伝子の特定を試みた。耐性株と親株で、有意に 3 倍以上変動があった遺伝子を抽出したところ、発現が上昇した遺伝子が 51、下降した遺伝子が 31 存在した。最も大きな変動があった遺伝子は EHI_092110（hypothetical protein）であり、83.5 倍発現上昇がみられた。これは 56 アミノ酸からなるペプチドであり、既知のドメインは特定できず機能不明であった。他に発現上昇が見られた遺伝子である dUTP nucleotidehydrolase （ 363.m00051, EHI_062990, EHI_034810）は DNA 修復を行うことが知られている。メタロニダゾールは DNA ダメージを起こすと報告されていることから、ダメージの回避の分子機構が働いていると考えられた。最も発現が下降した遺伝子は EHI_127670 であり 15 倍発現が減少していた。これは 111 アミノ酸をコードする遺伝子であるが、機能不明の遺伝子であった。次に発現減少が大きかった遺伝子は Glutamate synthase beta subunit (EHI_045340)であり、NADPH dependent oxydoreductase(EhNO2)と報告された遺伝子である(Jeelani et al., 2010)。この酵素はメタロ

ニダゾールを活性化することが示されていることから、発現抑制によりメタロニダゾールの活性化を抑制したと考えられる。メタロニダゾール耐性が報告されている膣トリコモナス原虫や腸鞭毛虫ではメタロニダゾールの活性化を行う Pyruvate Ferredoxin Oxidoreductase(PFOR)の発現低下や活性低下が報告されているが、今回 PFOR の発現変化は見いだせなかった。よって、赤痢アメーバでは EhNO2 がメタロニダゾールの活性化に中心的役割を持つことが示唆された。[Gil Penuliar, 津久井久美子、野崎智義]

ウ．赤痢アメーバ膜輸送機構の解明

i. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送機構の解明

我々はこれまでに赤痢アメーバの重要な病原因子であるシステインプロテアーゼ(CP)の輸送と成熟化に関与するレセプター分子：cysteine protease binding protein family 1: CPBF1 を同定した。ゲノム情報から他に 10 の CPBF1 に相同性の高い遺伝子が存在することから機能の類似するファミリー分子として存在することが予想された。そこで以前ファゴソームプロテオームにより貪食胞上に存在することが示唆されていた CPBF6, CPBF8 のリガンドを同定した。CPBF6, CPBF8、それぞれのカルボキシル末端に HA タグを付した融合タンパク質を赤痢アメーバに発現させ、抗 HA 抗体用いた免疫沈降により共沈してきた CPBF 結合分子を同定した。それぞれの株に特異的と思われるバンドを切り出し、LC-MS/MS で解析を行った結果 CPBF6 は α-amylase, glucoside hydrolase と、CPBF8 が β-hexoaminidase, lysozyme と結合することを見いだした。よって CPBF は真核細胞で初めて見出されたリソソーム酵素輸送レセプター分子ファミリーであると考えられる。[古川敦、津久井久美子、坪井久美子、野崎智義]

ii. 赤痢アメーバのシステインプロテアーゼ（CP）分泌制御

赤痢アメーバの CP 阻害ペプチドとして ICP1 と ICP2 が報告されている。CP 分泌のメカニズムを探るために、両者の ICP の発現抑制株（gene-silence：gs 株）を作成した。ICP2gs の発現抑制効果は部分的であったが、ICP1gs は 1 年以上も発現抑制効果のある安定な株を得た。CP の細胞外への分泌効果を解析したところ、ICP1gs 株では細胞外に分泌される CP の量が増大した。ICP1 は赤痢アメーバの細胞質に局在し、どのようにオルガネラの中に存在する CP の分泌に作用するのかを明らかにするのが今後の課題である。また ICP1gs 株は宿主細胞の細胞死を誘導する活性が高いことも明らかになった。

[中野由美子、Young Ah Lee (韓国)、Myeong Heon Shin (韓国)、野崎智義]

エ．赤痢アメーバにおける膜輸送の多様性

i. 赤痢アメーバの Rab7 アイソタイプの機能解析

赤痢アメーバは赤血球やヒトの細胞を貪食し、病原性を発揮する。貪食は細胞内の小胞輸送によって担われており、Rab GTPase が分子スイッチとして制御している。これまで赤痢アメーバのゲノムには 100 種類以上の Rab が存在し、ヒトの 60 種よりも多様化していることが報告されている。そこで赤痢アメーバにおける Rab の多様化を理解するため、最も大きい 9 つのアイソタイプを形成する Rab7 サブファミリーに機能の違いがあるかを解析した。まず 9 つの Rab7 アイソタイプのうち、定常状態で発現が高い 6 種（Rab7A/B/D/E/G/H）に特異的な発現抑制株を作製した。その結果、赤血球の貪食能と接着効率が Rab7G gene silence 株は有意に効率が上昇していた。一方、ラテックスビーズの貪食能は、どの株においても有意な差は得られなかった。よって、赤痢アメーバの Rab7 アイソタイプは貪食の際に異なる機能を持ち、Rab7G は赤血球リセプターの細胞表面への提示に関与していることが推測された。

[花舘有希(東邦大学)、津久井久美子、渡辺直子(東邦大学)、野崎智義、中野由美子]

iii. 赤痢アメーバに特異的な RabX3 の解析

Rab は分子量約 20kDa の GTPase である。しかし、100 種以上ある赤痢アメーバの Rab の中で RabX3 は C 末端が伸長しており、その C 末端領域には GTP 結合領域の一部分と Rab に特有の switch II 配列が存在していた。RabX3 のホモログは他種生物には存在せず、E. dispar と E. invadens に保存していた。RabX3 の赤痢アメーバにおける機能特殊性を解析するために HA-RabX3 を発現する株を作成したところ、45kDa の位置にバンドを認め

た。現在、RabX3 の結晶解析を進めている。
[中野由美子、Sunando Datta (インド)、野崎智義]

iv. 赤痢アメーバのシステインプロテアーゼ輸送に関与する Rab11B の機能制御

Rab11B は過剰発現によりシステインプロテアーゼの細胞外への分泌を上昇させることが示されている。Rab11B のエフェクタータンパク質を同定し、その分泌制御に係る分子機構を明らかにするために、大腸菌組換えタンパク質とのタンパク質相互作用を利用して、赤痢アメーバ祖抽出液中からエフェクタータンパク質を単離した。その結果、Exocyst 複合体を構成する分子が同定された。[Gil Penuliar, 中野由美子、野崎智義]

v. 赤痢アメーバの貪食に関与する Rab の網羅的機能解析

赤痢アメーバのファゴソームのプロテオーム解析により同定された Rab タンパク質の貪食における役割を機能的に理解することを目的として、gene silence 法を用いて、Rab1, Rab5, Rab7A-E, Rab8, Rab11B, RabX17 網羅的ノックダウン株を作成した。[花館有希、中野由美子、野崎智義]

オ．ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* の細胞分化の解明

i. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* のトランスフェクション系の確立

人に感染する赤痢アメーバはシスト化の実験系が確立しておらず、シスト化の分子メカニズム解明への障壁となっている。一方爬虫類をホストとする *Entamoeba invadens* は赤痢アメーバと同じ 4 核のシストを形成し、実験室でシスト化の誘導が可能である。しかし分子生物学的解析に必須である遺伝子導入法が確立していなかった。そこで *E. invadens* 発現ベクターの構築と遺伝子導入法の確立を行った。適当なプロモーターを決定するため、actin, cysteine synthase (CS), protein disulfide isomerase (PDI)の 5’および 3’非翻訳領域をプロモーターとターミネーターとしたベクターを作成、リポフェクション法により一過性に発現させ、転写活性を Renilla luciferase の活性で評価した。その結果 actin と CS のプロモーターで転写活性が確認され、*E. invadens* へ遺伝子導入が可能であることを始めて明らかにした。更に DNA 量、培養時間といった遺伝子導入条件を最適化した。また、G418 耐性遺伝子の導入・発現にも成功し、安定的な transformant 樹立が可能となった。今後この実験系を用い、*E. invadens* シスト化の分子メカニズムの解明を行っていく。[間瀬望、津久井久美子、野崎智義]

ii. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* の嚢子化過程の遺伝子発現の解明

嚢子化は赤痢アメーバを始めとするいくつかの病原性原虫の伝播に不可欠な細胞機能である。*Entamoeba* の細胞分化における遺伝子発現制御を理解するために、嚢子化過程の複数点における網羅的遺伝子発現プロファイリングを行った。その結果、複数の myb 転写因子が各過程で独立した転写制御を行っていること、システインプロテアーゼ、Rab、細胞骨格タンパク質、プロテアソーム、嚢子壁タンパク質など多くの遺伝子制御が時間依存的に発現制御される俯瞰図が獲得された。[Aleyla Escueta-de Cadiz, 津久井久美子, 野崎智義]

カ．赤痢アメーバの代謝に関する研究

i. 酸化ストレス応答のメタボローム解析

赤痢アメーバの酸化応答の代謝制御を理解するために、CE-ToFMS を用いた網羅的代謝物プロファイリングを行った。その結果、システインのデノボ生合成に関与する考えられていた経路が、S-メチルシステインの合成に関与していること、S-メチルシステインがシステイン飢餓時のシステイン（還元力）の貯蔵、或いはアンチオキシダントとして機能することが明らかにされた。また、システイン飢餓により、フォスフォエタノールアミンやそのリン酸化物、更にフォスファチジルエタノルアミンが蓄積することが初めて示され、今後の生理的意義が必要とされた。更に、バイオマーカーとしての利用が期待された。[Ghulam Jeelani, 佐藤暖, Afzal Husain, 曽我朋義（慶應大学）, 末松誠（慶應大学）, 野崎智義]

ii. 新しい NADPH 依存的酸化還元酵素の機能の解明

トランスクリプトーム解析によりシステイン飢餓と負荷により発現調節を受けることが明らかにされた機能

未知の新規 NADPH 依存的酸化還元酵素の機能を酵素学的に解明した。この酵素(EhNO)は２つのアイソエンザイムで構成され、細胞内のフェレドキシン依存的酸化還元反応、鉄やシステインの還元、メトロニダゾールの還元などに機能することが明らかにされた。更に、遺伝子発現抑制により、酸化ストレスへの耐性とメトロニダゾールへの感受性に変化が生じた。[Jeelani Ghulam, 佐藤暖, Afzal Husain, 曽我朋義（慶應大学）, 末松誠（慶應大学）, 野崎智義]

キ．赤痢アメーバの薬剤感受性・耐性に係る研究

トリフルオロメチオニン耐性の分子機構の解明を行った。トリフルオロメチオニン誘導体はメチオニンガンマリアーゼを標的とした有望な新規抗赤痢アメーバ薬剤である。今後の誘導体化を至適化するとともに、薬剤の導入によって生じる薬剤耐性への準備のために、薬剤耐性の分子機構を明らかにすることは重要である。トリフルオロメチオニンの耐性株はインビボロで薬剤濃度を徐々に上昇させることにより獲得された。トランスクリプトーム解析により、野生型株との遺伝子発現プロファイルの変化を調べたところ、メチオニンガンマリアーゼの２種のアイソタイプの発現が選択的に大きく減少していることが確認された。この結果をもとに、メチオニンガンマリアーゼの発現抑制株を作成し、トリフルオロメチオニンに対する感受性を確認したところ、前述のトリフルオロメチオニン耐性株と同様な耐性を示した。以上のことから赤痢アメーバに誘導されるトリフルオロメチオニン耐性はメチオニンガンマリアーゼの発現抑制によることが示された。[Gil Penuliar, 佐藤暖（慶應大学）、野崎智義]

(3) トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．植物ホルモンジベレリン合成阻害薬によるトキソプラズマの増殖阻害効果

我々は最近、トキソプラズマが植物ホルモンであるアブシジン酸を産生し、自身の増殖や分化の調節に用いていることを明らかにした。また、アピコンプレクス門に属する原虫であるトキソプラズマやマラリア原虫がいくつかの植物ホルモン阻害薬により増殖が阻害されることを示した。これらの結果はアピコンプレクス門原虫がアブシジン酸以外の植物ホルモンを産生し、増殖の制御に用いている可能性を示唆している。そこで本研究では、植物ホルモンの一種であるジベレリン生合成阻害剤がトキソプラズマに与える影響について検討をおこなった。

トキソプラズマのタキゾイトをジベレリン生合成阻害剤存在下で培養したところ、その分裂が阻害され、トキソプラズマの増殖が著しく抑制された。この増殖抑制メカニズム解明のため、まず、ジベレリン生合成阻害剤処理したトキソプラズマを電子顕微鏡解析により詳細に観察した。すると、被処理トキソプラズマの lipid body 様の構造の増加と肥大、及び、トキソプラズマミトコンドリアの膨張とクリステの構造の崩壊が観察された。さらに、ナイルレッド染色による蛍光顕微鏡観察では、被処理トキソプラズマは膜構造が染まらず、lipid body のみが強く染色され、その数も増加していた。一方、トキソプラズマは宿主の微小管を再構成し、そのことにより宿主の中性脂質を自身の周りに輸送することが知られているが、ジベレリン生合成阻害剤はこの宿主微小管の再構成を著しく阻害していた。現在これらの現象がトキソプラズマの分裂にどのように関わっているのかについて、解析を進めている。[青沼宏佳、永宗喜三郎]

イ．植物ホルモンサイトカイニンによるトキソプラズマの増殖制御機構の解明

サイトカイニンには植物が自然界で生合成しているものと人工合成されたものに大別でき、いずれも細胞分裂の促進、光合成の活性化、葉緑体の分化・増殖といった作用を持つことが知られている。そこでそれぞれのサイトカイニンをトキソプラズマの培養中に添加し、原虫の増殖率を測定したところ、天然サイトカイニン（trans-zeatin）は、高等植物の知見から期待されるとおり原虫の増殖が促進したが、合成サイトカイニン（thidiazuron）は逆に原虫の増殖を阻害した。この合成サイトカイニンによる原虫増殖抑制はマウスを用いた感染実験においても観察された。また高等植物において、サイトカイニンはある種のサイクリンの発現量を調節することで細胞周期を制御していることが知られている。そこで我々はトキソプラズマのゲノム・データベースから全てのサイクリン様遺伝子を同定し、それらのサイト

カイニン添加による発現量の変化をqPCRにより経時的に観察した。その結果、ある特定のサイクリンの発現量が trans-zeatin 処理により 1,000 倍以上上昇し、thidiazuron処理により約100倍減少していた。また、FACSによる解析から、trans-zeatin は原虫の細胞周期のうちG1 期から S 期への移行を誘導し、thidiazuron は逆に S期への移行を阻害していた。さらに通常原虫内に 1 つしか観察されないアピコプラストが trans-zeatin 処理によりその数が劇的に上昇し、thidiazuron 処理により消失した。これらの結果からトキソプラズマにおいて植物ホルモンであるサイトカイニンは、ある特定のサイクリンの発現を制御することで、原虫の細胞周期自体と、細胞周期の進行と厳密にリンクしているアピコプラストの分裂のタイミングを調節しているものと考えられた。[Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎]

ウ．宿主細胞 GPI がトキソプラズマ感染に与える影響の解析

宿主側 GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響を調べるため、GPI アンカー生合成能欠失変異 CHO 細胞の原虫への感受性を野生株と比較した。その結果、変異株は野生株に対し有意に感受性が上昇していた。また野生株と変異株では感染後期の増殖に差が認められた。これらのことから、宿主の GPI アンカー又は GPI アンカー型蛋白質が、原虫の増殖のうち後期の増殖のみを特異的に阻害している可能性が示唆された。原虫の増殖に影響を与える要因として、ロプトリー蛋白質に着目した。ロプトリー蛋白質は、parasitophorous vacuole 膜（PV膜）の形成に関与することが知られており、原虫の宿主侵入の際に小胞（evacuole）として原虫から宿主に注入される。原虫による ROP1、2 及び 16 のそれぞれを指標に、evacuole 形成能を両細胞間で比較したところ、変異株で明らかに evacuole の形成が過剰になっていた。また、ROP1、2 及び 16 は過剰形成された evacuole 内で、共局在していた。増殖の際、PV 膜に宿主のミトコンドリアや ER がリクルートされ、特にミトコンドリアのリクルートには ROP2 が関与することが報告されている。そこで原虫のミトコンドリア・リクルート能を両細胞間で比較したところ、変異株内でのリクルートが増加していた。これらのことから、GPI 生合成能欠失株では、原虫による evacuole 形成が過剰になり、PV 膜へのミトコンドリア・リクルート能が増加した結果、増殖が増大した可能性が示唆された。現在 evacuole 及び PV 膜内への宿主 GPI の取込みを解析中である。[田原美智留、永宗喜三郎]

エ．トキソプラズマによる宿主細胞機能修飾機構の解明

トキソプラズマが宿主細胞内で増殖する際、宿主の機能を「ハイジャック」し利用していることはよく知られている。このハイジャックは原虫が宿主細胞内に注入するタンパク質群であるロプトリータンパク質によってコントロールされることが知られているが、今回そのうちの一つ、ROP18 が宿主の転写活性化因子 ATF6b を分解することを見出した。ATF6b は宿主の免疫機能を活性化することが知られているので、本現象はトキソプラズマの生き残り戦略に重要な役割を担っている可能性が示唆された。また ROP18 はヒトに急性感染を起こす原虫株にだけ発現していることが知られているので、本知見はヒト急性トキソプラズマ症発症機構の解明にも貴重な知見となることが期待できる。[山本雅裕（大阪大学）、永宗喜三郎]

オ．トキソプラズマをモデルとした抗マラリア薬作用機序の解明

三日熱マラリアは熱帯熱マラリアと比べ、症状は軽いが治療後数ヶ月ー数年後に再発するという特徴があり、この再発は肝臓に形成されるヒプノゾイトが原因である。プリマキンは三日熱マラリアの唯一の根治療薬として、半世紀以上前から今日まで使用され続けている。しかし三日熱マラリア原虫は連続培養系が確立されていないため、プリマキンの原虫に対する作用機序は殆ど解明されていない。そこで三日熱マラリア原虫と近縁なトキソプラズマを用いて、プリマキンが原虫に作用するメカニズムの解明を試みた。プリマキンはトキソプラズマの増殖を有意に抑制した(IC50=25 μM)。またプリマキンはトキソプラズマの運動を有意に阻害した。そこで現在、この運動阻害という現象を手がかりに、プリマキンの作用機序を解明しようと試みている。[福士路花（筑波大学）、永宗喜三郎]

(4) マラリア原虫の病原機構・生物学・代謝に関する研究

ア.マラリア原虫の小胞輸送の解析

赤内期のマラリア原虫は寄生胞膜を介して赤血球細胞質中のヘモグロビンをエンドサイトーシスし、栄養源を摂取する。マラリア原虫のエンドサイトーシスには低分子量 GTPase の PfRab5a が関与することが報告されている。ゲノムの検索により、PfRab5 には３つのアイソタイプが存在し、その中の PfRab5b は膜への結合が N 末端のミリストイル化に依存し、全てのマラリア原虫種と *Toxoplasma gondii* に保存されていることがわかっている。PfRab5b の抗体作製と生化学実験のために大腸菌内でリコンビナント蛋白質の発現を試みた。GST や His 融合蛋白質等、複数の発現条件を検討した結果、pCold1−TF ベクターによる低温条件でのタンパクの発現誘導、かつ大腸菌内でのシャペロンとの共発現では抗体を作製するのに十分な組み換えタンパク質を得ることはできなかった。最終的に、コドンを大腸菌 K12 株に最適した人口遺伝子 PfRab5b を合成し、シャペロン能を持つ pColdTF ベクターで発現を試みた。人工合成遺伝子とゲノム配列のヌクレオチドレベルでの相同性は 75%であった。その結果 400ml の大腸菌培養液から抗体作成に十分な 1.7mg のリコンビナントタンパク質を得た。この人工合成遺伝子で得られたリコンビナントタンパク質は抗体を作成するのに使用されるとともに、in vitro で PfRab5b との結合タンパク質の探索にも使用可能である。

[中野由美子、中曽根英子]

イ．増殖因子による熱帯風マラリア原虫の分化増殖作用の機序

熱帯風マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）の赤内型分化増殖を制御する因子を特定し、その作用機序を解析し、治療薬およびワクチン開発に役立てることを目途とし、先に chemically-defined medium を作出した。これによって完全増殖達成とともなって、ここに見出されたいくつかの必須増殖因子の構成を変化させることによって、各発育段階に発育を制御することが出来るようになった。この培養システムは広範なマラリア研究に応用出来ると考えられる。[朝日博子]

(5) エキノコックス原頭節の分化関連遺伝子に関する研究

エキノコックス属の条虫幼虫は原頭節という特異的な形態を示す。この原頭節は、中間宿主体内では無性増殖・転移してエキノコックス症が示す強い病原性の原因となる一方、終宿主に経口摂取された場合は、同発育ステージである原頭節へと再分化するのではなく、次の発育ステージである成虫へと変化し、有性生殖を行って感染源となる虫卵を産生する。このようなエキノコックス属条虫の各発育ステージに特異的に発現する遺伝子群を網羅的に同定するため、公共データベースに公開されているゲノム情報を用い、トランスクリプトーム解析に使用する DNA マイクロアレイに搭載するプローブの設計と選別を実施した。[森嶋康之，杉山 広，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

第 31 回衛生微生物技術協議会（5 月 25～26 日，鹿児島市）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。施設内赤痢アメーバ症の実態把握に関する研究、及び、国内における消化管寄生原虫症の現状や気候・環境変化に伴う寄生虫症の変容に関し、情報交換を行った。さらに、上記の課題について関連のある地研と議論した。[大前比呂思、山﨑 浩、八木田健司、野崎智義]

II. 原虫類のレファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。更に、海外渡航者および HIV 感染者を中心に、下痢症の確定診断を目的として原因となる原虫の検査を行っている。本年度は 46 検体を検査し、赤痢アメーバ、クリプトスポリジウム、ジアルジア、サイクロスポラを検出した。

また国内で発生する自由生活性アメーバ感染の検査診断を行っており、アメーバ性角膜炎の検体については本年度 23 検体を検査し、アメーバ検出、分離同定を行った。[八木田健司、泉山信司、津久井久美子]

III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成22年度には、計92件の寄生虫症依頼検査があり、うち72件が寄生虫症と確定診断された。

(1) 血清を用いた寄生虫抗体検査（20件、うち6例陽性）

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。7 検体で特異抗体が検出され、内訳は肺吸虫症（2）、有鉤嚢虫症（2）、有鉤条虫症(1)、単包虫症（1）、マンソン住血吸虫症(1)、旋尾旋虫症（1）であった。 [山﨑 浩，武藤麻紀，杉山 広，森嶋康之]

(2) 遺伝子解析による寄生虫の分子同定

自然排出あるいは駆虫された虫体、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は 64 件にも達し、前年度に比べ約3倍増加した。基本的にはミトコンドリアＤＮＡの cox1 遺伝子の解析結果に基づいて種の同定を行った。64件中62例が寄生虫症と診断され、その内訳は、日本海裂頭条虫（30）、アジア条虫(15)、無鉤条虫（8）、有鉤条虫（3）、マンソン孤虫（2）、肝毛細虫(1)、アメリカ鉤虫(1)、*Anisakis simplex* (1)、タヌキ回虫(1)であった。傾向としては、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て、日本海裂頭条虫症が相変わらず多かったが、特筆すべきことは、日本には分布しないと考えられていたアジア条虫による国内感染事例が 17 例確認されたことであった。 [山﨑 浩，武藤麻紀，杉山 広，森嶋康之]

(3) その他

虫体そのものの形態、あるいは病理組織学的検査によって診断された症例が3例あり、内訳は日本住血吸虫症(1)、鞭虫症(1)、セルカリア性皮膚炎(1)であった。[山﨑 浩，武藤麻紀，杉山 広，森嶋康之]

研修

I. 平成 22 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。その他、地研からの要請に対して適宜行った。[八木田健司、泉山信司]

II. 平成 22 年度希少感染症診断技術研修会においてアメーバ性脳炎の疫学・臨床・診断を概説した。[八木田健司]

III. 平成22年度短期研修新興再興感染症技術研修にて、寄生動物（原虫）の実習を行った。寄生虫卵検出法、ならびに病理組織切片を用いた DNA 検査に関する技術研修を行った。 [泉山信司、八木田健司、森嶋康之，杉山 広，山﨑 浩]

IV. 国際協力機構（JICA）の中南米向け研修コース、輸血血液の安全性に協力して、「Malaria and blood donor」に関する研修と実習を行った。[大前比呂思、泉山信司、布施晃（血液・安全性研究部）]

V. 中国からのWHOフェローシップ向け日本の環境衛生監視システム研修にて、水系感染症対策に関して講義した。[泉山信司、片山和彦（ウイルス第二部）、大西 真（細菌第一部）]

VI. 平成 22 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）において、レジオネラと自由生活性アメーバの対策について講義した。[泉山信司、倉文明（細菌第一部）]

VII. 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラムに協力して、「臨床や公衆衛生の現場で問題となる寄生虫症の考え方」に関する研修を行った。[大前比呂思]

VIII. Field Epidemiology Training Program（FETP）初

期研修に協力し、「国際的な寄生虫症対策と疫学の変化」に関する研修を行った。[大前比呂思]

IX. 東京国際空港（羽田空港）の国際便増加による検疫業務の拡充に際し、マラリア検査診断の研修を行うと同時に、同空港における適正な輸入寄生虫症の検疫業務のあり方について、技術的助言を行った。

[大前比呂思]

X. 輸血マラリアのリスクに関する研修を、日本赤十字社東京支部において行うと同時に、献血時のマラリアスクリーニングについて、技術的助言を行った。[大前比呂思]

XI. 国際協力機構（JICA）のアフリカ向け研修コース、地域保健システム強化による感染症対策に協力して、「寄生虫症のサーベイランスと対策」に関する研修を行った。[大前比呂思]

XII. 屠畜馬で検出された多包虫症の DNA 検査･診断に関する研修を実施した。参加者は青森県十和田市食肉検査所、山形内陸食肉検査所、長野県上田市食肉検査所の担当者、計７名. [山﨑 浩, 川中正憲, 武藤麻紀, 森嶋康之, 杉山 広]

国際協力関係業務

１．インド国立コレラ下痢症研究所との連携

インドコルカタの下痢症の原因の多くを占める原虫症である赤痢アメーバ症、ジアルジア症、クリプトスポリジウム症に関する共同研究を継続した。特にクリプトスポリジウムやジアルジアの遺伝子型別を主に行った。[野崎智義、Sandipan Ganguly (National Institute of Cholera and Enteric Diseases)]

２．台湾ＣＤＣとの連携

感染研と台湾国 CDC の関係強化と今後の共同研究の取り組みを協議するため、The 7th Taiwan-Japan Symposium on Immunization and Travel Medicine に出席し、薬剤耐性マラリアの発生と流行について発表した。また、台湾 CDC の寄生虫学教室の研究者達と赤痢アメーバの流行状況と輸入マラリアの検査体勢について協議を行った。台湾と日本に流行する赤痢アメーバ株の遺伝子型のタイピング法について討論を行った。

[中野由美子、津久井久美子、Dar-Der Ji (台湾 CDC)、野崎智義]

３．国立寄生虫症研究所、中国ＣＤＣとの連携

中国寄生虫症研究所と協力して、安徽省における最近の気候・環境変化と、三日熱マラリア発生との関連について分析した。日照時間・気温(最高、最低、平均)・降水量と三日熱マラリア発症者数の相関を分析したところ、５、10 月の平均気温が高いほど発生数も多くなる傾向が確認された。

[大前比呂思、湯林華（中国寄生虫症研究所）、石川洋文（岡山大学）]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説（欧文）

1) Yousuf, M. A., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Localization and targeting of unusual pyridine nucleotide transhydrogenase *in Entamoeba histolytica.* Eukaryot. Cell 9, 926-933, 2010.

2) Nakada-Tsukui, K., Saito-Nakano, Y., Husain, A., and Nozaki, T. Conservation and function of Rab small GTPases in *Entamoeba*: annotation of *E. invadens* Rab and its use for the understanding *of Entamoeba* biology. Exp. Parasitol. 126, 337-347. (Review), 2010.

3) Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Ali, V., Suematsue, M., Soga, T., and Nozaki, T. Two Atypical L-cysteine-regulated NADPH-dependent oxidoreductases involved in redox maintenance, L-cystine reduction, and metronidazole activation in the enteric protozoon *Entamoeba histolytica*. J. Biol. Chem., 285, 26889-26899, 2010.

4) Saito-Nakano, Y., Nakahara, T., Nakano, K., Nozaki, T., and Numata, O. Marked amplification and diversification of Rab GTPases in ciliates *Tetrahymena*

thermophila and *Paramecium tetraurelia* J. Eukaryot. Microbiol. 57, 389-399 2010.

5) Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. (2010) Metabolome analysis revealed increase in S-methylcysteine and phosphatidylisopropanolamine synthesis upon L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. J. Biol. Chem. 285, 39160-39170, 2010.

6) Mukherjee, A. K., Das , K., Bhattacharya, M. K., Nozaki, T. and Ganguly, S. Trend of *Entamoeba histolytica* infestation in Kolkata. Gut Pathogens 2:12doi:10.1186/1757-4749-2-12, 2010.

7) Mishra, V., Ali, V., Nozaki, T., and Bhakuni V. Biophysical characterization of *Entamoeba histolytica* phosphoserine aminotransferase (EhPSAT): role of cofactor and domains in stability and subunit assembly. Eur Biophys J. 40, 599-610, 2011.

8) Yamamoto, M., Ma, J.S., Mueller, C., Kamiyama, N., Saiga, H., Kubo, E., Kimura, T., Okamoto, T., Megumi, Okuyama, M., Kayama, H., Nagamune, K., Takashima, S., Matsuura, Y., Soldati-Favre, D., and Takeda, K. ATF6β is a host cellular target of the *Toxoplasma* virulence factor ROP18. J. Exp. Med., 208, 1533-1546, 2011

9) Taguri T., Oda Y., Sugiyama K., Nishikawa T., Endo T., Izumiyama S., Yamazaki M., Kura F. A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of *Legionella* in bath water. J. Microbiol. Methods, 86, 25-32, 2011

10) Furuya K., Sugiyama H., Ohta M., Nakamura S., Une Y., Sasaki S.: Cerebral microsporidiosis caused by *Encephalitozoon cuniculi* infection in a young squirrel monkey, J. Neuroparasitol., 2,N11071,2011

11) Takeda M., Sugiyama H., Rangsiruji A. Freshwater crabs from Surat Thani, Peninsular Thailand, as intermediate hosts of lung flukes. J. Teikyo Heisei Univ, 21, 149-158, 2010.

12) Umehara A., Kawakami Y., Ooi H.-K., Uchida A., Ohmae H., Sugiyama H. Molecular identification of *Anisakis* type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. Int. J. Food Microbiol., 143, 161-165, 2010.

13) Takamiya S., Fukuda K., Nakamura T., Aoki T., Sugiyama H. *Paragonimus westermani* possesses aerobic and anaerobic mitochondria in different tissues, adapting to fluctuating oxygen tension in microaerobic habitats. Int. J. Parasitol., 40, 1651-1658, 2010.

14) Singh T.S., Sugiyama H., Devi K.R., Singh L.D., Binchai S., Rangsiruji A. Experimental infection with *Paragonimus heterotremus* metacercariae of laboratory animals in Manipur, India. Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health, 42, 34-38, 2011.

15) Singh T.S., Khamo V., Sugiyama, H. Cerebral paragonimiasis mimicking tuberculoma: First case report in India. Trop. Parasitol., 1, 39-41, 2011.

16) Nkouawa A., Sako Y., Itoh S., Kouojip-Mabou A, Nganou C. N., Knapp J., Yamasaki H., Nakao M., Moyou-Somo R., Ito A. Serological studies of neurologic helminthic diseases in Southern Cameroon: toxocariasis, paragonimiasis, cysticercosis. PLoS Negl. Trop. Dis., 4:e723, 2010.

17) Joshi D. D., Yamasaki H. Porcine echinococcosis/hydatidosis in Nepal: histopathological and molecular confirmation. J. Inst. Med., 32:54-58, 2010.

18) Dang T. C., Nguyen T. H., Do T. D., Uga S., Morishima Y., Sugiyama H., Yamasaki H. A human case of subcutaneous dirofilariasis caused by Dirofilaria repens in Vietnam: histologic and molecular confirmation. Parasitol. Res., 107, 1003-1007, 2010.

19) Mercado R., Yamasaki H., Kato M., Munoz V., Sagua H., Torres P., Castillo D. Molecular identification of the *Diphyllobothrium* species causing diphyllobothriasis in Chilean patients. Parasitol. Res., 105, 583-586, 2010.

20) Goto Y., Sato K., Yahagi K., Komatu O., Hoshina H., Abiko C., Yamasaki H., Kawanaka M. Frequent isolation of *Echinococcus multilocularis* from the liver of racehorses slaughtered in Yamagata, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 63, 80-81, 2010.

21）Tanabe K, Mita T, Jombart T, Eriksson A, Horibe S,

Palacpac N, Ranford -Cartwright L, Sawai H, Sakihama N, Ohmae H, Nakamura M, Ferreira MU, Escalante AA, Prugnolle F, Bjorkman A, Farnert A, Kaneko A, Horii T, Manica A, Kishino H, Balloux F. *Plasmodium falciparum* accompanied the human expansion out of Africa. Curr. Biol. 20, 1283-9. 2010

22) Yamauchi T, Nakazawa M, Ohmae H, Kamei K, Sato K, Bakote'e B. Impact of ethnic conflict on the nutritional status and quality of life of suburban villages in the Solomon Islands. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 56, 227-34, 2010

23) Kumagai T, Furushima-Shimogawara R, Ohmae H, Wang TP, Lu S, Chen R, Wen L, Ohta N. Detection of early and single infections of *Schistosoma japonicum* in the intermediate host snail, *Oncomelania hupensis*, by PCR and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay. Am. J. Trop. Med. Hyg., 83, 542-548, 2010.

24) Kirinoki M, Chigusa Y, Ohmae H, Matsumoto J, Kitikoon V, Sinuon M, Saem C, Socheat D, Matsuda H. Efficacy of sodium metaperiodate (SMP)-ELISA for the serodiagnosis of schistosomiasis mekongi. Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Health, 42, 25-33, 2011

25) Asahi, H., Izumiyama, S., Tolba, M.E.M., Kwansa-Bentum, B. *Plasmodium falciparum*: Differing effects of non-esterified fatty acids and phospholipids on intraerythrocytic growth in serum-free medium. Exp. Parasitol., 127, 708–713, 2011.

26) Kwansa-Bentum, B., Ayi, I., Suzuki, T., Otchere, J., Kumagai, T., Anyan, W.K., Osei, J.H.N., Asahi, H., Ofori, M., Akao, N., Wilson, M.D., Boakye, D.A., Ohta, N. *Plasmodium falciparum* isolates from southern Ghana exhibit polymorphisms in the SERCA-type PfATPase6 though sensitive to artesunate in vitro. Malar J. 2011, in press.

27) Kwansa-Bentum, B., Ayi, I., Suzuki, T., Otchere, J., Kumagai, T., Anyan, W.K., Asahi, H., Akao, N., Wilson, M.D., Boakye, D.A., Ohta, N. Compliance to artesunate-amodiaquine regimen: perspectives and practices of health professionals after five years of implementing artemisinin-based combination therapy in Ghana. Trop. Med. Int. Health, 2011, in press.

2．原著論文、総説（和文）

1) 佐藤暖、野崎智義 赤痢アメーバ原虫に対するトリフルオロメチオニン誘導体の有効性 ビタミン 84, 250-254.

2) 永宗喜三郎．トキソプラズマが産生する植物ホルモン，感染症・炎症・免疫, 40, 181-183, 2010

3) 高岡紀子，八木田健司，山上聡，亀井裕子，松原正男．当院で得られたアカントアメーバの遺伝学的分類，眼科, 52, 1811-1817, 2010

4) 八木田健司，アメーバ性脳炎，病原微生物検出情報, 31, 23-24, 2010

5) 八木田健司、泉山信司、レジオネラ属菌とアメーバ/レジオネラ症のリスクマネジメント 4、防菌防黴，38, 167-179, 2010

6) 岸田直裕，古川一郎，黒木俊郎，猪又明子，泉山信司，森田重光，秋葉道宏．リアルタイム RT-PCR 法を用いた河川試料水中のクリプトスポリジウムの高感度定量, 日本水処理生物学会誌, 46, 181-189, 2010

7) 杉山 広，柴田勝優，森嶋康之，山﨑 浩，川上 泰．肺吸虫の感染を予防するためのサ ワガニ加熱条件の検討．Clinical Parasitology（臨床寄生虫学会誌）21: 43-45, 2010.

8) 杉山 広． 食品と寄生虫感染症．食品衛生学雑誌, 51: 285-291, 2010.

9) 小出照子，山﨑 浩，渡辺伸元，木許 泉，河邊太加志．日本海裂頭条虫症の兄妹例．日本小児科学会誌 114: 1065-1068, 2010.

10) 西尾福真理子，吉川正英，王寺幸輝，石坂重昭，笠原 敬，三笠桂一，福井 博，久保里美，平 康二，山﨑浩. 2009 年に経験した日本海裂頭条虫症の 5 例. Clinical Parasitology, 21: 26-28, 2010.

11) 山﨑 浩，杉山 広，森嶋康之，大前比呂思， 椎木創一，奥山久仁男，国島文史．Racemose 型有鉤嚢虫による脳有鉤嚢虫症の 1 例. Clinical Parasitology, 21: 29-32, 2010.

12) 荒木 潤，安部正史，白倉哲郎，田中和生，下間祐，井廻道夫，森本栄治，中村揚介，山﨑 浩．自然排虫

された幼若裂頭条虫の鑑別例．Clinical Parasitology, 21: 37-39, 2010.

13) 安倍正史，木村 聡，白倉哲郎，荒木 潤，山﨑 浩，光谷俊幸，太田秀一，諸星利男，九島巳樹，田中 和生．病理解剖遺体調査で遭遇した寄生虫学的に興味ある 2 症例について． Clinical Parasitology, 21: 50-54, 2010.

14) 山﨑 浩． 免疫血清検査と遺伝子検査で確認できる寄生虫と依頼方法．Medical Practice 27:1527-1531, 2010.

15) 木村有太子，須賀 康，水野優起，松葉祥一，山﨑浩，高宮信三郎，青木 孝．キチマダニ刺咬症の１例．臨床皮膚科, 65: 269-272, 2011.

16) 川中正憲，山﨑 浩，杉山 広，森嶋康之，荒川京子．ペットとして飼養されているアライグマのアライグマ回虫に関する調査．病原微生物検出情報, 31: 212-213, 2010.

17) 後藤芳恵，佐藤 和，矢作一枝，小松 修，保科仁，安孫子千恵子，山﨑 浩，川中正憲． 山形県でと畜された軽種馬の肝臓から高率に検出されたエキノコックス（多包虫）． 病原微生物検出情報, 31: 210-212, 2010.

18) 大前比呂思，千種雄一．：肝住血吸虫症 p. 98-102． 肝・胆道系症候群（第２版）肝臓編（上） 井廻道夫 編集． 日本臨床社，大阪, 2010

19) 大前比呂思: 肝原虫症(マラリアとトキソプラズマ) p. 120-126. 肝・胆道系症候群（第２版）肝臓編（上） 井廻道夫 編集．日本臨床社，大阪, 2010

20) 大前比呂思 ：プラジカンテル，メベンダゾール，アルベンダゾール，トリクラベンダゾール． Medical Practice． 27: 1549-1554. 2010

21) 大前比呂思，千種雄一．：肝外胆道寄生虫症 p. 489-496, 肝・胆道系症候群（第２版）肝臓外胆道編 井廻道夫 編集 日本臨床社，大阪， 2011

3. 書籍（英文）Asahi, H. Intraerythrocytic Plasmodium falciparum growth in serum-free medium with an emphasis on growth-promoting factors. In "Malaria Parasites", published by InTech, in press.

4. 書籍（和文）

1) 山﨑 浩． 抗寄生虫 IgG 抗体．臨床検査ガイド 2011~2012，文光堂, 2011 年 3 月．

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Sato, D., Husain, A., Jeelani, G., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolic analysis of the human enteric parasite *Entamoeba histolytica*: Discovery of unique pathways and potential targets for chemotherapeutics. Metabolomics 2010, Amsterdam, The Netherlands, June 27-July 1, 2010.

2) Jeelani, G., Sato, D., Jusain, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomics of parasite differentiation: metabolomic profiling of the human enteric protozoan parasite *Entamoeba histolyitca* revealed activation of unpredicted pathways during differentiation of the proliferative into dormant stage. Metabolomics 2010, Amsterdam, The Netherlands, June 27-July 1, 2010.

3) Nozaki, T. Unprecedented role of the mitosome in *Entamoba histolytica*. The 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, Kanazawa, Japan, July 2-7, 2010.

4) Nozaki, T. Mitosomes from the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* possess unique functions and minimal import machinery. The XIIth International Congress of Parasitology. Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

5) Saito-Nakano, Y., Okada., M., Penuliar, G., M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, Ni., and Nozaki, T. Diversity and significance of vesicular trafficking in *Entamoeba histolytica*. Amebiasis Workshop 2010, “Molecular Approaches and Clinical Aspects” Montreal, Canada, September 22-24, 2010.

6) Nozaki, T, Husain, A., Jeelni, G, Sato, D., Suematsu, M., and Soga, T. Metabolomic analysis of *Entamoeba*: discovery of unique pathways and potential targets for chemotherapy. Amebiasis Workshop 2010, “Molecular Approaches and Clinical Aspects”, Montreal, Canada, September 22-24, 2010.

7) Penuliar, G. and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. Amebiasis Workshop 2010, “Molecular Approaches and Clinical Aspects”, Montreal, Canada, September 22-24, 2010.

8) Escueta-de Cadiz, A., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. *Entamoeba invadens*: Transcriptome analysis during encystation. 21st Molecular Parasitology Meeting, WoodsHole, Massachusetts, USA.,September 12-16, 2010

9) Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Analysis of the protein import machinery in the *Entamoeba* mitochondrial remnant. Biology of Symbiosis: Memorial Symposiumfor the 26th International Prize for Biology-Celebrating Dr. Nancy A. Moran. Tsukuba, Japan, December 7-8, 2010.

10) Saito-Nakano, Y., Nakano, K., and Nozaki, T. Diversity of vesicular trafficking in phagocytic protozoa and significance of traffic in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

11) Penuliar, G. M., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

12) Escueta-de Cadiz, A., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. *Entamoeba invadens*: transcriptome analysis during encystation. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

13) Jeelani, G., Sato, D., Husein, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomic analysis during differentiation of enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* into the infectious cyst stage. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

14) Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Mi-ichi, F., Ali, V., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomic analysis of sulfur containing amino acid metabolism in *E. histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

15) Andrabi, S. B. A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., and Nagamune, K. Plant hormone cytokinins: elucidating their role in *Toxoplasma gondii*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

16) Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Traffiking mechanisms of phagosomal proteins in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

17) Mi-ichi, F., Yousuf, A., Makiuchi, T., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Gene silencing of mitosomal proteins causes growth inhibition and suggests essentiality of mitosomes in *Entamoeba histolytica*. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

18) Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Analysis of the protein import machinery in the *Entamoeba* mitochondrial remnant. The 45th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan 10-12, 2011.

19) Nagamune, K. Protozoan parasites and plant hormones. International Symposium on Cell functions Mediated by Small Molecules, Tsukuba, Nov. 8, 2010.

20) Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. The effect of plant hormone cytokinins on *Toxoplasma gondii*. The 18th Meeting of the International Society for Evolutionary Protistology, Kanazawa, Japan, Jul. 2-7, 2010.

21) Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. Plant hormone cytokinins: Elucidating their role in *Toxoplasma gondii*. Molecular Parasitology Meeting XXI, Woods Hole, MA, USA, Sep. 12-16, 2010.

22) Fkshi, M., Aonuma, H., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Nagamune, K. Analyzing the mechanism of action of primaquine on *Toxoplasma gondii*. International Symposium on Cell functions Mediated by Small Molecules, Tsukuba, Nov. 8, 2010.

23) Tahara, M., Andrabi,S.B.A., Aonuma, H., Kinoshita, T., and Nagamune, K. The effect of host GPI-anchor to *Toxoplasma gondii* infection. 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan.10-11, 201.1

25) Yagita, K. and Izumiyama, S. 18SrDNA sequence typing on the clinical isolates of *Acanthamoeba* in Japan. 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases, Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program, Tokyo, Jan.10-11, 2011.

26) Izumiyama, S., Inomata, A., Kishida, N., Katsuyama, S., Momoda, T., Usui, K., Akiba, M., Yagita, K. and Endo, T. Development of nucleic acid amplification assays for highly sensitive detection of *Cryptosporidium* in water samples. Intestinal and Free-Living Protozoan Parasites Meeting, Tokyo, Jan. 12, 2011

27) Umehara A, Kawakami Y, Ooi H.-K, Uchida A,

Ohmae H, Sugiyama H. Molecular identification of Anisakis type I larvae isolated from hairtail fish off the coasts of Taiwan and Japan. The XIIth International Congress of Parasitology, Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

28) Yamasaki H., Kawanaka M., Arakawa K., Kato M., Muñoz V., Sagua H., Castillo D., Mercado R. The origin of *Diphyllobothrium latum* from Chile based on mitochondrial DNA analysis. The XIIth International Congress of Parasitology, Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

29) Mercado R.,Yamasaki H., Fredes F.,Maulen N., Ramirez C., Gómez H., Cerva J, L., Gil L. C., Castillo D. Diferenciacion molecular y morfologica de huevos de Diphyllobothrium de casos humanos y animales de Chile. Simposio Internacional XIIth Jornadas Anuales de Parasitologia Chile bicentenario 2010, Santiago, Chile, November 18-19, 2010.

30) Asahi, H. Genome-wide gene expression of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* in different developmental stages of the parasite. XIIth International congress of parasitology, Melbourne, Australia, August 15-20, 2010.

31) Yumiko Saito-Nakano (2010) Genetic identification of drug resistance in *Plasmodium falciparum* using archive blood smears. The 7th Taiwan-Japan Symposium on Immunization and Travel Medicine. Taipei, Taiwan Sep 9-10, 2010.

32) Ohmae H, Bito N, Nakagawa N, Fueda T, Ishikawa H. Risk analysis of *vivax* airport malaria in Japan The 8th international conference on travel medicine in Asia and the Pacific, Nara, Japan, November 8-11, 2010.

33) Ohmae H, Kirinoki M, Suniko LS, Boldeero NP, Viacorte EA, Solon AA, Leonard LR, Leshem E, Chigusa Y. Surveys on newly found endemic foci in Southeast Asian countries 2. The 45th Japan-US Joint Conference on Parasitic Diseases, Tokyo, Japan, January 10-11, 2011.

34) Yumiko Saito-Nakano, Kentaro Nakano, Tomoyoshi Nozaki. Diversity of vesicular trafficking in phagocytic protozoa and significance of traffic in Entamoeba histolytica. The 45th Annual Japan-U.S. Joint Conference on Parasitic Diseases: Intestinal and Free-Living Protozoan Parasites Meeting. Tokyo, Japan, January 10-11, 2011

2. 国内学会

1) 古川敦、津久井久美子、山田陽子、坪井久美子、野崎智義　赤痢アメーバにおける病原性因子輸送機構の分子論的解明：新規システインプロテアーゼレセプターの同定と機能解析　第 79 回日本寄生虫学会大会　旭川　May 20-21, 2010.

2) 見市文香、牧内貴志、モハンマド・アブ・ユースフ、野崎智義　赤痢アメーバ原虫”mitosome”に存在する硫酸活性化経路の生理機能の解明　第 79 回日本寄生虫学会大会　旭川　May 20-21, 2010.

3) 牧内貴志、見市文香、津久井久美子、野崎智義 Entamoebaマイトソームにおけるタンパク質輸送機構の解析　第 79 回日本寄生虫学会大会　旭川　May 20-21, 2010.

4) Nozaki, T., Mi-ichi, F., Makiuchi, T., Yousuf, M. A.,

Nakada-Tsukui, K. Functional diversity of mitochondrion-related organelles in eukaryotes. 第33回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会　神戸、December 7-10, 2010　（WS 進化からみたタンパク質社会）

5) Andrabi, S. B. A.，田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邊和裕、野崎智義　トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖に与える影響　第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会　神戸、December 7-10, 2010　（WS 細胞内共生オルガネラが駆動する生物の進化と多様性）

6) 村野祥子、佐藤暖、唐木剛、岡知宏、亀井加恵子、中沢隆、野崎智義、原田繁春　一連の酵素反応中間体との複合体構造に基づいた Entamoeba histolytica メチオニンガンマリアーゼ 1 の酵素反応機構第 33 回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会　神戸、December 7-10, 2010

7) 永宗喜三郎．The role of plant hormone cytokinins on Toxoplasma gondii，筑波大学「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」若手フェスティバル 2010，長野県上田市, 2010 年 5 月 13-14 日

8) Syed Bilal Ahmad Andrabi，田原美智留，青沼宏佳，遠山知子，田邊和裕，野崎智義，永宗喜三郎．トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖に与える影響，第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会，神戸，2010 年 12 月 7-10 日

9) 永宗喜三郎．トキソプラズマの生存戦略と進化，帯広畜産大学 基礎獣医学研究部門セミナー，帯広, 2011 年 1 月 28 日

10) Andrabi, S.B.A., Tahara, M., Aonuma, H., Toyama, T., Tanabe, K., Nozaki, T., Nagamune, K. The effect of plant hormone cytokinins on Toxoplasma gondii，第 79 回日本寄生虫学会，旭川, 2010 年 5 月 20-21 日

11）青沼宏佳，遠山知子，田原美智留, Andrabi, S.B.A.，田邉和裕，永宗喜三郎．植物ホルモンジベレリン生合成阻害剤はトキソプラズマの増殖を抑制する，第79回日本寄生虫学会，旭川, 2010 年 5 月 20-21 日

12) 遠山知子，永宗喜三郎，川出洋，堀井俊宏，田邊和裕. Inhibitors of gibberellin, a plant hormone, induces swelling and rupture of intraerythrocytic Plasmodium falciparum，第 79 回日本寄生虫学会，旭川, 2010 年 5 月 20-21 日

13) 田原美智留, Andrabi, S.B.A.，青沼宏佳，木下タロウ，永宗喜三郎．宿主細胞側 GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響，第 79 回日本寄生虫学会，旭川, 2010 年 5 月 20-21 日

14) Syed Bilal Ahmad Andrabi，田原美智留，青沼宏佳，遠山知子，田邊和裕，野崎智義，永宗喜三郎．トキソプラズマは植物ホルモン・サイトカイニンを産生し、原虫の増殖調節に用いている，第18回分子寄生虫学ワークショップ，群馬県　2010 年 8 月 2-5 日

15) Syed Bilal Ahmad Andrabi，田原美智留，青沼宏佳，遠山知子，田邊和裕，野崎智義，永宗喜三郎．トキソプラズマが産生する植物ホルモン、サイトカイニンの原虫増殖における影響，第 9 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム，長崎, 2010 年 10 月 8-9 日

16) 川口亜左子，武信二三枝，矢倉慶子，金田周三，宮崎 大，井上幸二，八木田健司．著明な血管侵入を伴う角膜混濁を来たしたアカントアメーバ角膜炎の一例，第３５回日本角膜学会総会・第２７回日本角膜移植学会，東京, 2011 年 2 月 17 日

17) 泉山信司，溝口智子，百田隆祥，遠藤卓郎．クリプトスポリジウム検査の添加回収実験による濃縮精製法の比較と迅速遺伝子検出法の検討，第 10 回環境技術学会，京都市, 2010 年 9 月 10 日

18) 岸田直裕，今野祥顕，秋葉道宏，猪又明子，泉山信司．水道クリプトスポリジウム検査への遺伝子検査法導入に関する研究，　第 4 回保健医療科学研究会，和光，2010 年 12 月 17 日

19)杉山寛治，神田 隆，西尾智裕，八木美弥，田栗利紹，泉山信司，八木田健司，倉　文明，小坂浩司，遠藤卓郎．循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミンの消毒効果、日本防菌防黴学会第３７回年次大会，東京, 2010 年 9 月 28-29 日

20) 神野透人，高橋淳子，竹熊美貴子，香川（田中）聡子，古川容子，泉山信司，遠藤卓郎．モデル浴槽のモノクロラミン消毒副生成物に関する暴露評価，日本防菌防黴学会第３７回年次大会，東京, 2010 年 9 月 28-29.

21) 神田 隆，高橋奈緒美，八木美弥，西尾智裕，杉山

寛治, 泉山信二, 常 彬, 倉文 明, 遠藤卓郎. EMA-qPCR による浴槽水中のレジオネラ生菌検出法の検討、日本防菌防黴学会第３７回年次大会, 東京, 2010 年 9 月 29 日

22) 岸田直裕, 秋葉道宏, 泉山信司, 宮田　亮, 野田尚宏, 関口勇地, 古田篤史, 常田　聡. 新規遺伝子定量手法 ABC-PCR 法を用いた水中の病原微生物の定量, 第 44 回日本水環境学会年会, 福岡, 2010 年 3 月 15-17 日

23) 百田隆祥, 太田嘉則, 神田秀俊, 猪又明子, 泉山信司, 遠藤卓郎. RT-LAMP 法を用いたクリプトスポリジウムの高感度迅速検出, 第 44 回日本水環境学会年会, 福岡, 2010 年 3 月 15-17 日

24) 杉山 広. 食品を介する感染症-身近に潜む寄生虫の話. 平成 22 年度岩手大学獣医学科公開講座, 盛岡, 2010 年 6 月 5 日.

25) 杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山﨑 浩. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ加熱条件の検討. 第 21 回日本臨床寄生虫学会学術年会, 下野, 2010 年 6 月 19 日.

26) 杉山 広. 食品を介して感染する人獣共通寄生虫症としての肺吸虫症, 平成 22 年度日本大学公開国際シンポジウム「アジアにおける食品由来人獣共通感染症の現状と対策」. 藤沢, 2010 年 12 月 18 日.

27) 山﨑 浩, 川中正憲, 荒川京子, 斎藤典子, 加藤恵基, メルカド ルーベン.　南米チリのギンザケに寄生する裂頭条虫属プレロセルコイド. 第 79 回日本寄生虫学会大会、旭川、2010 年 5 月 20 日-21 日.

28) 石井 明, 田中篤太郎, 川路博史, 大橋寿彦, 道伝整, 山﨑 浩. 病理組織標本のミトコンドリア DNA 検査により確定されたアジア型有鉤嚢虫症について. 第 79 回日本寄生虫学会大会、旭川、2010 年 5 月 20 日-21 日.

29) 西尾福真理子, 吉川正英, 王寺幸輝, 石坂重昭, 笠原 敬, 三笠桂一, 福井 博, 久保里美, 平 康二, 山﨑浩. 2009 年に経験した日本海裂頭条虫症の 5 例. 第 21 回日本臨床寄生虫学会学術年会、下野、自治医科大学、2010 年 6 月 19 日.

30) 山﨑 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 大前比呂思, 椎木創一, 奥山久仁男, 国島文史. Racemose 型有鉤嚢虫による脳有鉤嚢虫症の 1 例. 第 21 回　日本臨床寄生虫学会学術年会、下野、自治医科大学、2010 年 6 月 19 日.

31) 荒木 潤, 安部正史, 白倉哲郎, 田中和生,下間 祐, 井廻道夫, 森本栄治, 中村揚介, 山﨑 浩. 自然排虫された幼若裂頭条虫の鑑別例. 第 21 回日本臨床寄生虫学会学術年会、下野、自治医科大学、2010 年 6 月 19 日.

32) 安倍正史, 木村 聡, 白倉哲郎, 荒木 潤,山﨑 浩, 光谷俊幸, 太田秀一, 諸星利男, 九島巳樹, 田中和生. 病理解剖遺体調査で 遭遇した寄生虫学的に興味ある 2 症例について. 第 21 回日本　臨床寄生虫学会学術年会、下野、自治医科大学、2010 年 6 月 19 日.

33) 山﨑 浩. 寄生虫感染症の遺伝子診断における最近の進歩. 静岡県寄生虫症研究会　第 15 回研究総会特別講演、浜松、2010 年 9 月 11 日.

34) 中野由美子, 美田敏宏, 中曽根英子, 田邉和裕. アーカイブ標本による熱帯熱マラリア原虫における薬剤耐性遺伝子型の同定. (Genetic identification of drug resistance in Plasmodium falciparum from Africa using archive blood smears.) 第 79 回日本寄生虫学会大会 2010 年 5 月 20～21 日, 旭川市.

35) 大前比呂思, 中澤港, Suraj Eka 伊藤誠,長岡史晃, 木村英作, 亀井喜世子, 山内太郎, Bernard Bakote’e. ソロモン諸島におけるマラリア疫学調査への尿診断法の応用 -2　第 79 回日本寄生虫学会 2010 年５月 20～21 日, 旭川市

36) 桐木雅史、林尚子、Muth Sinuon、Doung Socheat、Viroj Kitikoon、千種雄一、大前比呂思、松田肇. カンボジア・クラチェ県におけるメコン住血吸虫症疫学調査. 第 79 回 日本寄生虫学会大会 2010 年５月 20 日～21 日, 旭川

37）大前比呂思、千種雄一、 Sy OS, Keang H, Olveda R. 東南アジアの住血吸虫症の超音波検査診断基準の国際的標準化における問題点.　第 70 回 日本寄生虫学会東日本支部大会 2010 年 10 月２日, 栃木県壬生町

38） Kwansa-Bentum B.,朝日博子,熊谷貴,北村圭, William,K.A.,太田伸生.Expression level of *Plasmodium falciparum* chloroguine resistant transporter gene after exposing parasite to chloroguine in vitro

第 79 回　日本寄生虫学会大会　2010 年 5 月 20 日～21 日、旭川市

7．感染病理部

部長　佐多徹太郎

概　要

1. 人事等

感染病理部の職員数は現在 13 名で、内訳は、部長 1 名、室長 3 名、主任研究官 7 名、研究官 2 名である。戸山庁舎に 10 名、村山庁舎に 3 名の職員と再任用職員各 1 名が在籍している。小島朝人と原嶋綾子には平成 22 年度も引き続き時間給再任用職員として部の業務等に貢献していただいた。インフルエンザウイルス研究センターに配置換えとなった長谷川秀樹と研究員の相内章も引き続き感染病理部に併任している。6 月 30 日には第二室の辻隆裕研究員が札幌市立病院に転出した。また非常勤職員として、戸山庁舎の電子顕微鏡室に齋藤典子、金子（田中）恵子が、村山庁舎の電子顕微鏡室に片岡紀代と藤野美穂子が所全体の業務に対応した。戸山では奥田薫、天野朱実子、矢野辰江が業務を補助していたが、矢野辰江は 4 月に、天野朱実子は 5 月に自己都合で退職し、茂住あゆみが 6 月から業務補助に加わった。BSE 検査補助を担当していた黒澤明日香は都合により平成23年3月末で退職した。

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。

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レファレンスとしての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. ヘルペスウイルス感染症に関する研究
4. インフルエンザ感染症に関する研究
5. ウイルス肝炎に関する研究
6. 野兎病菌感染症に関する研究

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. インフルエンザウイルスに関する研究
4. SARS コロナウイルスに関する研究
5. 海外からの侵入が危惧される野生鳥獣媒介性感染症の疫学、診断・予防法に関する研究
6. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究
7. 新規カルジオウイルスの病理学的診断法に関する研究
8. HIV に関する研究
9. JC ポリオーマウイルスに関する研究
10. 狂犬病に関する研究

Ⅲ. ワクチンに関する研究
1. ウエストナイルウイルスワクチンの開発研究
2. HIV-1 ワクチンの開発研究
3. SARS-CoV のワクチンに関する研究

Ⅳ. プリオンに関する研究
1. 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
2. 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. 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. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

品質管理に関する業務
1. 検定検査
2. 行政検査

国際協力関係業務

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レファレンスとしての感染症に関する研究

国内外の医療ならびに医学教育施設との共同研究として生検、手術、剖検組織材料におけるウイルス等の感染症について病理学的に検索している。2010 年度、人体由来検体数は 160 症例であった。検索の結果、インフルエンザウイルス感染症 7 例、メルケル細胞癌 4 例、EB ウイルス感染症 5 例、JC ウイルス感染症 3 例他サイトメガ

ロウイルス、ヘルペスウイルス、日本脳炎ウイルス感染症例のほか野兎病菌やヒストプラズマ感染症例においても分子生物学的、免疫組織化学的に検索し、共同研究レファレンスとして結果を依頼者に報告した。［佐藤由子、片野晴隆、中島典子、菅野隆行、佐多徹太郎］

2. ウイルス感染症の診断に関する研究

（1）携帯用使い捨てカイロを用いた RT-LAMP 法による新型インフルエンザウイルスの検出

ベットサイドで簡便にしかも確実に新型インフルエンザウイルスの検出ができる診断法の確立を目指し、携帯用使い捨てカイロを用いた RT-LAMP 法の開発を行った。反応液を含んだ PCR チューブを携帯用使い捨てカイロではさみ、発泡スチロール箱中で保温することで LAMP 反応を行った。RT-PCR で陽性であった 27 例の患者検体のうち 26 例が陽性となり、RT-PCR とほぼ同様の感度が得られた。本法は、ベットサイドで簡便な病原体検出法になりうると考えられる。［波多野 弁（協力研究員）、福本 瞳（協力研究員）、長谷川秀樹、佐多徹太郎、片野晴隆、自衛隊中央病院との共同研究］

（2）ヒトヘルペスウイルス 8 がコードする miRNA の血清診断への応用

HIV 感染者の血清および健常者の血清において、miR-K12-3 の発現を stem loop real time PCR で検討した。HIV 患者 354 例中 128 例（36.2%）が陽性であり、同一の検体を用いた DNA の PCR では 14 例（4.0%）が、ELISA では 23 例（6.5%）が陽性であり、miR-K12-3 検査は他の方法よりも陽性率が高かった。健常者の血清では全て miR-K12-3 は陰性であった。HHV-8 の miRNA を標的とした検査法はカポジ肉腫の発症予知法として有用であることが示唆された。［福本 瞳（協力研究員）、坂本康太（研究生）、佐多徹太郎、片野晴隆］

3. ヘルペスウイルス感染症に関する研究

（1）ヒトヘルペスウイルス 8 関連疾患におけるウイルス micro RNA の発現

カポジ肉腫などの HHV-8 関連疾患の病変部において HHV-8 がコードする micro RNA (miRNA)の発現について検討した。HHV-8 持続感染細胞株では、miR-K12-3 が潜伏感染状態において高発現しており、miR-K12-10 は溶解感染状態において発現の亢進が見られた。HHV-8 関連疾患の病変部では miR-K12-3 が高頻度に検出された。これまでウイルスがコードする miRNA を標的としたウイルス検査法は報告がなく、miRNA はウイルス感染の新しいバイオマーカーとなりうるものと考えられる。［坂本康太（研究生）、福本 瞳（協力研究員）、佐藤由子、佐多徹太郎、片野晴隆］

4. インフルエンザ感染症に関する研究

（1）2009H1N1 新型インフルエンザウイルス感染症の病理に関する研究

15 医療機関から依頼された 2009H1N1 剖検組織 20 例の病理学的検索を行った。ウイルス抗原が検出された 10 例のうち、5 例は季節性インフルエンザと同様に上部呼吸器官の気管・気管支・気管支腺のみから検出された。20 例の死亡原因は原因不明（臨床的には心筋炎・心筋症などの疑い）が 5 例、ウイルス性肺炎が 4 例、2 次性細菌性肺炎が 4 例、基礎疾患の増悪が 3 例、脳症が 2 例、脳出血が 2 例であった。ウイルス性肺炎で亡くなった例の肺組織は硝子膜を形成し、H5N1 鳥インフルエンザヒト感染例と類似していた。特に肺胞上皮細胞でのウイルスの増殖が顕著であった症例の肺から回収したウイルスのヘマグルチニン（HA）のレセプター結合部位の塩基配列を解析すると、肺胞上皮細胞に強く発現している α2,3 鳥型レセプターに親和性の高い配列を示すクローンがメジャーであった。［中島典子、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎］

（2）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 2003-2008 年に死亡した 5 例のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織についてさらに解析した。In vitro で H5N1 インフルエンザウイルスがアポトーシスを誘導することが報告されているが、これをヒト感染肺組織で Caspase III, TNF-α、COX2、3 NT などを免疫組織化学で解析し、マクロファージおよび肺胞上皮細胞で TNF-α が陽性であり、細気管支上皮細胞で COX2、好中球で 3 NT が陽性であることがわかった。パラフィン包埋組織中の各種サイトカイン・ケモカインなどの炎症に関連する因子の mRNA を定量 RT-PCR で解析した結果、H5N1 感染肺で IL-6、TNFα、IL-8、IP-10、Cox2 が陽性であった。［中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎］

5. ウイルス肝炎に関する研究

（1）HCV 長期持続感染チンパンジーに発症した前癌病変を伴った肝硬変

29 年前に HCV を接種し、その後キャリアに移行した

チンパンジー1 例（34 歳、雄）が突然自然死したので、その剖検所見を観察した。その結果、主な病変は肝臓で認められ、肉眼的に肝硬変が存在した。興味あるのは、組織学的に肝硬変に加えて、前癌病変を示唆する過形成増殖を伴った肝細胞がびまん性に観察されたことである。PCR にて肝内 HCV RNA 陽性を示した。本症例は、ウイルス接種後、肝機能異常をほとんど示さないままキャリアへ移行している。死亡する 14 年前頃から血清 ALT と γ-GTP 値が序々に上昇し、その後特に γ-GTP の上昇が顕著であった。死亡時の血中 α-フェトプロテインは 144 ng/ml と高値を示した。チンパンジー実験で見た C 型肝炎の特徴は、病像は軽度 であるが、高率にキャリアへ移行することである。本症例は、感染後 29 年という長期経過後に、healthy carrier もしくは軽度の慢性肝炎であっても、前癌病変を伴った肝硬変が出現するという極めて貴重な動物モデル症例である。ヒト C 型肝炎の臨床上の問題を提起したい。[阿部賢治、Swan N. Thung（マウントサイナイ医大病理：米国）]

（2）台湾アボリジンにおける HBV ゲノタイプ分布の特徴

アジアにおける HBV の起源を探索する目的で、台湾アボリジンにおける HBV のゲノタイプ同定を行った。方法は、HBV 陽性 27 人から得られた血清から、PCR 法にて HBV pre-S1/pre-S2 領域を増幅し、direct sequence により塩基配列を決定した後、分子系統樹を近隣結合法にて作成し、ゲノタイプ分類を行った。結果は、21 例（77.8%）がゲノタイプ B、6 例（22.2%）がゲノタイプ D に属した。サブゲノタイプ分類では、ゲノタイプ B では全例サブゲノタイプ B2 であったが、ゲノタイプ D の 6 例は、サブゲノタイプ D1、D2 に近縁ではあるが、分類不能であった。更に、ゲノタイプ B の 2 例とゲノタイプ D の 4 例を用いて全長ゲノムを同定したところ、前者の 2 例は各々ゲノタイプ B/G と B/C のレコンビナントを示した。後者の 4 例は、サブゲノタイプ D2 により近縁であったが、やはり分類不能であった。以上の結果から、サブゲノタイプ B2 は東南アジアから中国南部地域に広く分布する HBV 株であるが、ゲノタイプ D は主に中央アジア、インド、ネパール、中近東、ロシアに分布し、台湾近辺では通常見られない株である。アジア人の起源を考える上で、興味深い所見と言える。[阿部賢治、Ming-Lung Yu、Chia-Yen Dai （高雄医大消化器内科：台湾）]

（3）東南アジアに流行する HBV/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、HBV/HCV の分離とその分子疫学、臨床、感染病理学的特徴を継続して検討した。今年度は、120 例の HCV 持続感染患者から、5’UTR-core と NS5B 領域の HCV ゲノムを分離して、その特徴を解析した。ゲノタイプ 6 感染患者の病態と治療効果、宿主要因としての IL28B SNP genotype との関連について、現在長期追跡調査を行っている。[阿部賢治、Pham Hung Van（ホーチミン医薬大医学部バイオメディカルラボ）、Banh Vu Dien （チョーライ病院肝炎治療）、Pham Thi Le Hoa（国立熱帯病病院肝臓病）、Xuan Lien（パスツール研ホーチミン：ベトナム)、Ling Lu (カンサス大医・腫瘍ウイルスセ)、Mindie H. Nguyen（スタンフォード大医・消化器：米国）]

（4）ベトナム・タイにおける各種感染症および肝病理に関する研究

ベトナム・タイ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病理の特徴解明を目的に、共同調査研究を継続的に実施した。各種ウイルス肝炎、巨細胞性新生児肝炎、先天的胆道閉鎖による重症胆汁うっ滞症、肝腫瘍、Wilson 病、慢性胃炎、リンパ節炎、結核、ホジキン・非ホジキンリンパ腫、成因不明脳炎、デング熱、人獣共通感染症などの症例を、臨床・病理・ウイルスの観点から検討した。[阿部賢治、佐藤由子、Pham Hung Van (ホーチミン医薬大)、Banh Vu Dien (チョーライ病院)、Pham Thi Le Hoa（国立熱帯病病院）、Tung Thanh Tran、Phuc Le Hoang（ホーチミン第一小児病院）、Pham Thi Ngoc Tuyet（ホーチミン第二小児病院消化器：ベトナム）、Yong Poovorawan（チュラロンコン大医・臨床ウイルス研究セ：タイ)、Roongroje Thanawongnuwech、Thaweesak Songserm（同獣医学部病理）]

6. 野兎病菌感染症に関する研究

（1）日本国内における野兎病の組織診断と病態の解析

野兎病菌 (*Francisella tularensis*) は米国 CDC のバイオテロに利用されうる病原体等として最も危険なカテゴリー A に分類される。北米に分布する強毒型 *subsp.tularensis* と異なり、日本の亜種 *subsp. holarctica* は多くの場合ヒトにとって致死的ではない。テロが疑われる際の診断に役立てるため、大原研究所に保管されていた 1951 年から 63 年に採取された標本について病理組織学的ならびに免疫組織化学による菌抗原の検出を行った。日本における野兎病の病理組織学的な情報が得られた。（菅野隆行、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎、浅野重之［いわき市立総合磐城共立病院病理科］、棚林 清［獣医科学］、堀田明豊［獣医科学］、藤田 修［獣医科学］、黒田 誠［病原体ゲノム解析研究セ］）

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、BAC system を利用し、感染性 HSV full genome の大腸菌保持に世界で初めて成功し、この大腸菌をもとに、様々な大腸菌内での巨大 HSV genome の改変を試みてきた。現在、あらゆる組換えをかなり効率よく導入できる組換え法の確立も樹立中である。この手法を用いて様々な HSV 病原性因子の解析を行っている。又、分子生物学的実験に留まらず、そこからマウスを用いた病原性の解析にも力を入れていくつもりである。更に、感染病理に保管している貴重なヘルペス脳炎等のパラフィンブロックを用いた解析等、より幅広く HSV 感染症を解析していく予定である。

［田中道子、川口 寧(客員研究員)、佐多徹太郎］

（2）自発的再活性化が亢進した KSHV 感染細胞株の解析

KSHV は通常潜伏感染しているが、再活性化して溶解感染状態へと移行する。この再活性化は腫瘍の発生や病原性に関わっているとされる。KSHV 持続感染細胞株 TY-1 から、ウイルス再活性化細胞と考えられる溶解感染スイッチ蛋白 RTA 発現細胞数の割合が、通常の 5-10 倍高い細胞株を樹立した。PCR やサザンブロットの結果から、この細胞株は RTA 遺伝子とは異なる領域の欠損変異を伴うウイルスゲノムを保持していることが示唆された。再活性化亢進は変異ウイルスゲノムによって引き起こされている可能性が考えられる。［菅野隆行、片野晴隆、佐多徹太郎］

2. ATL (HTLV-1)に関する研究

（1）質量分析計を用いたマウス ATL 幹細胞特異的分子の同定

HTLV-I の調節遺伝子である Tax を lck promoter 下で強制発現させた Tax トランスジェニックマウスを作成した。このマウスはヒト ATL と同様に白血病を発症し、多くの臓器で血管周囲性に腫瘍細胞浸潤を示した。この白血病細胞を免疫不全マウス（SCID マウス）へ移植すると、SCID マウスは１ヶ月程度で白血病を発症する。最近、この白血病細胞中に癌幹細胞(CSC)が存在していることが報告され、新たな治療標的として有望視されている。我々は癌幹細胞で特異的に発現している分子を同定するために白血病細胞の中から癌幹細胞を集め質量分析計による定量解析を行った。その結果、細胞間接着分子であるカドヘリンファミリーのある分子を癌幹細胞特異的分子として同定する事に成功した。［鈴木忠樹、辻 隆裕、梁 明秀（横浜市立大学）、岡山明子(横浜市立大学)、平野 久(横浜市立大学)、佐多徹太郎、長谷川秀樹］

3. インフルエンザウイルスに関する研究

（1）気管支喘息モデル動物における新型インフルエンザウイルス感染の病態解析

新型インフルエンザ H1N1 のウイルスの病原性及び重症化要因に関する基礎研究の一環として、気管支喘息モデル動物における新型インフルエンザウイルス感染の病理学的検討を行った。BALB/c マウスおよび NC/Nga マウスに PR8 株、Narita 株を経鼻接種し、病理学的検索を行った。BALB/c マウスでは、肺胞上皮に PR8 株、Narita 株のウイルス抗原が検出され、軽度の好酸球を混じる炎症細胞浸潤を伴った。NC/Nga マウスでは、Narita 株でのみ軽度の好酸球浸潤を伴う炎症細胞浸潤が認められた。しかしながら、明らかな喘息の病態は観察されず、新型インフルエンザウイルス感染のみでは気管支喘息は惹起されないと考えられた。［鈴木忠樹、相内 章（インフルエンザウイルス研究センター）、佐藤由子、小杉恒裕（東京理科大学）、千葉 丈（東京理科大学）、佐多徹太郎、長谷川秀樹］

4. SARS コロナウイルスに関する研究

（1）SARS 発症マウスモデルにおける IFN-γ の投与効果

SARS-CoV のマウス馴化株の経鼻感染によって、半年齢 BALB/c は SARS 様症状を示し、び漫性肺胞傷害と重度な肺水腫を発症する。このモデルにおける IFN-γ の投与効果について検討した。SARS-CoV の経鼻感染 3, 6 時間までの IFN-γ 投与によって、3 日目以降の症状が改善され、SARS 発症による致死は 100%阻止された。IFN-γ 投与による発症阻止について検討を続けている。［永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎、福士秀悦（ウイルス第一部）、西條政幸(ウイルス第一部)、森川 茂(ウイルス第一部)］

5. 海外からの侵入が危惧される野生鳥獣媒介性感染症の疫学、診断・予防法に関する研究

ハンタウイルスとフラビウイルスの病原性に関する共同研究を行っている。①Puumala 株を皮下接種したシリアンハムスターを解析し、4 週齢動物の腎、副腎組織でウイルス抗原が長期に検出されることを示した。②日本脳炎、ダニ媒介性脳炎あるいはウエストナイルウイルス

感染 BALB/c マウスの病理標本を作製し、各ウイルスの神経向性を比較解析した。［永田典代、岩田奈織子、原嶋綾子、佐藤由子、長谷川秀樹、早坂大輔(長崎大学熱帯医学研究所)、好井健太郎(北海道大学大学院)、苅和宏明(北海道大学大学院)］

6. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

サル痘ウイルス感染カニクイザルを用いて、ポックスウイルス感染後の重症化、劇症化の病理を明らかにすることを目的とした。サル痘ウイルスを経鼻感染後に重症化、劇症化した個体の病変を組織学的に評価した結果、劇症例では脾などのリンパ系組織において強いリンパ球の壊死、脱落が存在することがわかった。劇症例となった個体は共通して組織学的に免疫不全状態に陥っていることが明らかとなった。ただし、その原因については現在のところ不明である。［永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎、西條政幸(ウイルス第一部)、森川 茂(ウイルス第一部)］

7. 新規カルジオウイルスの病理学的診断法に関する研究

新規ヒトカルジオウイルスの病理学的診断法を確立することを目的とした。本年度は、陽性参照標本の作製とウイルス抗原検出のための免疫組織化学法に用いる抗体の検討を行った。その結果、ヒトカルジオウイルス脳内接種後の乳のみマウス脳組織標本では、抗脳心筋炎ウイルス抗体を用いて抗原検出が可能であることが判明した。［永田典代、鈴木忠樹、佐藤由子、清水博之(ウイルス第二部)］

8. HIV に関する研究

（1）HIV-1 Vpu による BST-2/tetherin の機能阻害に関与する cofactor の検索

HIV-1 Vpu 蛋白は、ウイルス粒子放出を抑制する宿主因子 BST-2/tetherin（以下 BST-2）を不活化する。我々は昨年度、Vpu による BST-2 の機能阻害に βTrCP が部分的に関与することを報告したが、本研究ではそれ以外の Vpu の cofactor を検索・同定することを目的とした。βTrCP 結合不全変異体 Vpu 及び BST-2 共発現細胞における免疫沈降後、プロテオーム解析を行った結果、4 種類の候補蛋白が得られた。各候補蛋白について shRNA を作製した結果、いずれの蛋白のノックダウンでも Vpu の抗 BST-2 活性において変化が認められないことから、得られた候補蛋白は何れも BST-2 機能阻害には関与しないことが明らかになった。が、少なくともその内の一つは Vpu との相互作用を示すことから、Vpu の他の機能においてこの蛋白が関与する可能性が考えられた。［岩部幸枝(協力研究員)、藤田英明(九大院・薬・細胞生物)、田中嘉孝(九大院・薬・細胞生物)、佐多徹太郎、徳永研三］

（2）HIV-1 Vpu による細胞表面 BST-2/tetherin の直接的な internalization

我々は昨年度、Vpu が細胞表面 BST-2 を標的とすることを報告したが直接的な証明に至っていない。本研究では、antibody internalization assay により、Vpu が BST-2 を細胞表面から直接 downregulation するか否かを検討することを目的とした。野生型 Vpu と Myc タグ付加 BST-2 の共発現では、抗 Myc 抗体を 4℃で反応させた場合に BST-2 は検出されないのに対し 37℃で反応させると BST-2 が細胞表面で検出された。更にライソゾーム阻害剤存在下での経時的な培養により、野生型 Vpu 発現下では BST-2 が細胞内に取込まれ、最終的に Vpu 及びライソゾームと共局在することが判った。以上より、Vpu が細胞表面の BST-2 を標的とし、生理的なエンドサイトーシスとは異なる経路で直接的にエンドサイトーシスを誘導した後に、BST-2 をライソゾーム分解へと導くことが明らかになった。［徳永研三、岩部幸枝(協力研究員)、藤田英明(九大院・薬・細胞生物)、田中嘉孝(九大院・薬・細胞生物)、佐多徹太郎］

（3）APOBEC3G の抗 Alu レトロ転移活性に関わる責任領域の同定

Alu は non-LTR 型レトロトランスポゾンの一つでヒトゲノムの約 11%を占める。Alu レトロ転移は生殖細胞のみならず体細胞でも起こることが示唆されている。本研究では Alu レトロ転移に対する抗レトロウイルス宿主蛋白 APOBEC3（A3）ファミリーの抑制活性の有無を検証し、その機序を分子レベルで解明することを目的とした。Alu レトロ転移アッセイの結果、全ての A3 ファミリー蛋白は Alu レトロ転移を抑制した。この結果は別のレトロトランスポゾンである LINE-1 に対する抑制活性と一致したことから、A3 ファミリー蛋白、Alu 及び LINE-1 が相互作用する可能性が考えられた。また A3G の抗 Alu 活性に関わる責任領域を検討したところ、N 末 30 アミノ酸欠失変異体では消失していた。更にこの結果は A3G 二量体化能と一致したことから、N 末 30 アミノ酸が二量体化に関与する可能性があること、また A3G の抗 Alu 活性は二量体化能に依存するものであることが明らかになった。［岩部幸枝(協力研究員)、佐多徹太郎、徳永研三］

（4）HIV-1 CRF01_AE Gag がプロテアーゼ（PR）阻害剤に対する感受性を低下させる分子機構

CRF01_AE 株の Gag（AE-Gag）が PR 阻害剤に対する感受性を低下させる現象に、AE-Gag 165 番目のリジン残基 (K165)が関与していることを以前報告したが、今回、K165 が薬剤感受性に影響をおよぼす分子機構について解析した。K165 は in vitro の Gag 切断効率や RTV による Gag 切断の阻害効果には影響しなかったが、AE-Gag62 組換え型ウイルスへの Gag-Pol 前駆体 p160 の取り込み量を上昇させた。これらの結果より、K165 はウイルス粒子内の PR 分子数を増加させる役割を担い、それに伴う Gag の切断効率上昇により PR 阻害剤に対する感受性が相対的に低下する可能性が示唆された。［亀岡正典（阪大微研・タイ感染症共同研究セ）、徳永研三、生田和良（阪大微研・ウイルス免疫）］

9. ポリオーマウイルス（JC ウイルス）に関する研究

（1）JC ウイルス Agnoprotein の機能制御に関わる宿主因子とウイルス因子の相互作用

JC ウイルス（JCV）は、ヒトの脱髄性疾患である進行性多巣性白質脳症の原因ウイルスである。我々は、JCV のコードする Agnoprotein（Agno）が viroporin であることを報告してきた。Agno の持つ viroporin 活性の制御機構を明らかにするために Viroporin 活性を持たない Agno 変異体を作成したところ Agno のグリア細胞内での viroporin 活性が、哺乳類細胞の宿主因子との相互作用により制御されていることが予想される結果が得られた。そこで本研究は、Agno に結合し、viroporin 活性に必須である宿主因子の同定を試みた。その結果、Agno の結合宿主因子として細胞内小胞輸送関連タンパク質を同定する事に成功した。［鈴木忠樹、大場靖子（北海道大学）、牧野吉倫（京都大学）、岡田由紀（京都大学）、寸田裕嗣（北海道大学）、木村享史（北海道大学）、佐多徹太郎、長谷川秀樹、澤洋文（北海道大学））

（2）Natalizumab の JC virus 感染への影響の検討

抗 VLA-4 抗体である Natalizumab は、VLA-4 と VCAM-1 の結合を阻害し、多発性硬化症等の慢性炎症性疾患に効果が認められている。最近、Natalizumab を投与した多発性硬化症患者の 0.1%に PML の発症が認められることが報告され、重大な合併症として注目されている。これまで多発性硬化症に対して PML 合併例の報告はされていないことから、Natalizumab が JCV 増殖に関与している可能性が示唆された。そこで本研究では、JCV 許容培養細胞株を用いて Natalizumab による JCV 感染に対する影響を検討した。その結果、Natalizumab は JCV 増殖に対して直接的な作用は持っていない事を明らかにした。［鈴木忠樹、山内聡子（北海道大学）、寸田祐嗣（北海道大学）、大場靖子（北海道大学）、木村享史（北海道大学）、佐多徹太郎、澤 洋文（北海道大学）］

10. 狂犬病に関する研究

固定毒狂犬病ウイルス及び街上毒狂犬病ウイルスの生体内感染細胞中での抗原局在について解析した。街上毒狂犬病ウイルス感染細胞では、抗原は細胞質中で小さなドット状に分布するが固定毒狂犬病ウイルス感染細胞では細胞質中全域に存在する事が分かった。個々の抗原発現ベクターを構築し解析した結果、街上毒狂犬病ウイルスＮ抗原依存性に感染細胞中でのウイルス抗原局在が決定されることが明らかとなった。現在、Ｎ抗原と相互作用する宿主因子の同定及び局在決定機序について解析を行っている。［飛梅 実、佐藤由子］

Ⅲ．ワクチンに関する研究

1. ウエストナイルウイルスワクチンの開発

フラビウイルスのうち、警戒が必要なウエストナイルウイルス（WNV）、日本脳炎ウイルス（JEV）、輸入症例が急激に増加しているデングウイルス（DENV）について、ウイルス様粒子（VLP）ワクチン開発研究を実施、または新規に開始した。VLP ワクチンを目指し、フラビウイルス VLP 抗原の安定化・アジュバント効果・誘導抗体のアイソタイプ活性の検討を行った。その結果、1）VLP 抗原保存安定化剤に蔗糖が有効であること、2）免疫マウス血清の IgG2a 画分にウイルス特異抗体価が高く誘導されること、3）アラムアジュバントの添加で IgG1 アイソタイプの特異抗体価が増強されること、を示すことができた。［大滝尚広(HS 財団 RR)、高橋秀宗、金子恵子（臨時職員）、小島朝人(再任用職員)、五味康行(阪大微研)、鈴木忠樹］

2. HIV-1 ワクチンの開発

HIV-1 中和抗体をマウスにおいて誘導する抗原の開発を目的とした。小実験動物での抗体誘導は、ワクチン開発における意義があると考えた。広域中和エピトープとして知られている gp41 の脂質膜に近い領域（MPER）を標的とするために、HIV-1 様粒子から脂質膜を取り除いた Core-Env を抗原とした。さらに中和能をエンハンスさせる目的で標的細胞へ Fc レセプターを発現させ中和能を調べた。誘導したモノクローナル抗体の中には、サブ

タイプ A, AE, AG, B, C, D の env を有するシュードウイルスに対し、1 μg/mL で中和能を示すものがあった。Core-Env 抗原は、広域中和抗体誘導抗原として有効な可能性がある。［高橋秀宗、金子恵子（臨時職員）、飛梅 実、巽 正志(エイズ研究センター)］

3. SARS-CoV のワクチンに関する研究

（1）SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について

重症急性呼吸器症候群（SARS）発症マウスモデルを用いて、SARS コロナウイルス（SARS-CoV）不活化ワクチンの免疫効果と副反応について検討している。これまでに UV 不活化 SARS-CoV（UV-V）の皮下免疫マウスではウイルス感染後に肺に高度な好酸球浸潤が引き起こされるが、それは TLR リガンドをアジュバントとして加えることで軽減されることを明らかにした。今回は UV-V 群と TLR リガンドをアジュバントにした UV-V+TLR 群のウイルス攻撃 1 日目の肺での発現遺伝子を調べた。UV-V 免疫群、UV-V+TLR 免疫群も感染後 1 日では、非免疫群と比較して Th2 サイトカインの遺伝子発現が高かったが、UV-V では IL4 が、UV-V+TLR 免疫群では IL10 の発現がより高かった。肺局所の好酸球浸潤軽減は、Th2 サイトカインの中でも IL4 の発現を抑えることで可能となることが推測された。 ［岩田奈織子、永田典代、辻 隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子(免疫部)、宇田晶彦(獣医科学部)、水谷哲也(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)、佐多徹太郎］

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 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

プリオンが持続感染可能な神経芽細胞腫由来細胞株 N2a から再クローニングにより樹立されたプリオン高感受性細胞 N2a-5 と低感受性の N2a-1 の比較 2 次元電気泳動法から、プリオン感染成立に関与すると考えられる生体側因子 peripherin を同定した。この分子を過剰発現するトランスジェニックマウスを作成し BSE 由来プリオン（和歌山株をマウスで 3 代経代したもの）を脳内接種したところ、0.02%脳乳剤接種群では peripherin 過剰発現トランスジェニックでは病期の短縮が認められた。試験管内での解析では、peripherin 過剰発現細胞ではプリオンの細胞内への取り込み効率が増強されることが示唆されており、peripherin トランスジェニックマウスは微量プリオンの病原性評価に有用なマウスと成り得ることが示唆された。現在、peripherin の細胞内へのプリオン取り込みに関する作用機序について解析を行っている。［飛梅 実、佐藤由子、松田潤一郎（基盤研）、佐多徹太郎］

2. ヒトプリオン病の早期診断系の開発

クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）に代表されるプリオン病の診断は、脳組織中よりの異常型プリオンの検出により確定されるが、生検は患者への負担が大きい。CJD では髄液中へ細胞内のシグナル伝達分子である 14-3-3 蛋白質が特異的に放出されることが報告されている。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、同時に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。加えて、BSE 由来プリオンの感染により引き起こされるヒトプリオン病（vCJD）のモデルである BSE 接種サルの経時的な髄液検査から BSE 感染サルモデルにおいても病態の進行に付随し髄液中 14-3-3 蛋白質濃度の上昇が認められることを明らかにしている。［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. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用

平成 22 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 140 検体で、その内訳は感染研内部 84 検体、外部のみ 56 検体であった。

また、見学者の対応は 15 回、86 名であった。公務員が 16 名、学生ら 28 名、外国人 8 名、一般 34 名であった。これは一般公開の折の電顕ツアー（3 回）対応である。東日本大震災の折にはターボポンプ異常により緊急停止したが、特に大きな異常は無く、その後無事に稼働している。［齋藤典子（臨時職員）］

Ⅵ. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡

総依頼数 8 件、樹脂包埋検体数 34 検体（190 ブロック）、ネガティブ染色数 3 検体、ネガティブ免疫染色数 1 検体であった。ネガティブ染色は HIV-1 core について行い継続中である。HPV 感染中和抗体の機能を擬似ウイルス接種細胞で解析することが出来た。

つつが虫病リケッチアの細胞侵入、増殖から脂肪滴形成にいたるまでの細胞の形態変化を解析中である。CMV 感染機構（上皮細胞への細胞―細胞間感染）の解析中である。炭疽菌の増殖ステージ（芽胞→栄養型細胞→莢膜発現細胞）毎の菌体構造の観察において栄養型細胞、莢

膜発現細胞の菌体構造の観察が出来た。試料が出来次第、芽胞の観察も行う予定である［金子恵子（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 32 件であり、透過電子顕微鏡利用は 30 件、走査電子顕微鏡は 2 件であった。うち 1 件は検定業務関連の検索依頼であった。依頼者は感染病理部の他、ウイルス一部、ウイルス二部、ウイルス三部、エイズ研究センター、インフルエンザセンター、ゲノムセンター、昆虫科学部、動物管理室、バイオセーフティ管理室、細菌第二部、血液・安全性研究部であった。［片岡紀代(臨時職員)、藤野美穂子(臨時職員)、鈴木忠樹、永田典代、佐多徹太郎］

品質管理に関する業務

1. 検定検査

経口生ポリオワクチン（3 型）の神経毒力試験（病理試験）を 1 件実施した。また、検定業務に関わる病理あるいは電子顕微鏡検査依頼は合計 3 件で、依頼者は血液安全性研究部（1 件)、インフルエンザ研究センター（2 件）であった。［辻 隆裕、鈴木忠樹、岩田奈織子、永田典代、藤野美穂子(臨時職員)、片岡紀代(臨時職員)、原嶋綾子(再任用職員)、佐多徹太郎］

2. 行政検査

ウイルス行政検査の依頼：大阪市立環境科学研究所から麻しん・風しん疑い患者の病原ウイルス遺伝子検出検査として血清 4 件、咽頭ぬぐい液 4 件が送られ、検査を行った。［中島典子、片野晴隆］

国際協力関係業務

（1）中島典子：ベトナムハノイ小児病院、熱帯感染症研究所附属病院におけるインフルエンザ診断に関する研究・技術指導。

（2）阿部賢治：ベトナム、タイ、ミャンマー、韓国、中国の大学および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研究・技術指導、現地セミナーを実施した。

（3）永田典代、鈴木忠樹：Global Health Security Action Group Laboratory-Network の活動の一環である、第三回目のワークショップ Wet Lab: Rapid Diagnostic EM in Suspected Bioterrorist Attacks and Infectious diseases 2010（平成 22 年 12 月 1、2 日 Robert Koch 研究所主催、ベルリン、ドイツ）に参加した。バイオテロリストによるバイオ攻撃や感染症の病原体の電子顕微鏡的迅速診断法に携わる専門家の技術訓練、技術の向上等を目的としている。日本では扱うことの困難な病原体がサンプルとして提供され、実際に観察したことは非常に有意義であった。

（4）徳永研三：2010 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 22 年 5 月 28 日

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Nakamura T, Sato Y, Watanabe D, Ito H, Shimonohara N, Tsuji T, Nakajima N, Suzuki Y, Matsuo K, Nakagawa H, Sata T, Katano H. Nuclear localization of Merkel cell polyomavirus large T antigen in Merkel cell carcinoma. Virology. 2010. 398:273-9.

2) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. Intern Med. 2010. 49:491-5.

3) Kanno T, Sato Y, Nakamura T, Sakamoto K, Sata T, Katano H. Genotypic and clinicopathological characterization of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in Japan. J Med Virol. 2010. 82(3):400-6.

4) Ainai A, Ichinohe T, Tamura SI, Kurata T, Sata T, Tashiro M, Hasegawa H. Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of poly(I:C) in a nasal influenza vaccine. J Med Virol. 2010. 82(3):476-84.

5) Hatano B, Kojima A, Sata T, Katano H. Virus detection using viro-adembeads, a rapid capture system for viruses, and plaque assay in intentionally virus-contaminated beverages. Jpn J Infect Dis. 2010. 63(1):52-4.

6) Hatano B, Maki T, Obara T, Fukumoto H, Hagisawa K, Matsushita Y, Okutani A, Bazartseren B, Inoue S, Sata T, Katano H. LAMP Using a Disposable Pocket Warmer for Anthrax Detection, a Highly Mobile and Reliable Method for Anti-Bioterrorism. Jpn J Infect Dis. 2010. 63(1):36-40.

7) Nakajima N, Hata S, Sato Y, Tobiume M, Katano H, Kaneko K, Nagata N, Kataoka M, Ainai A, Hasegawa H,

Tashiro M, Kuroda M, Odai T, Urasawa N, Ogino T, Hanaoka H, Watanabe M, Sata T. The First Autopsy Case of Pandemic Influenza (A/H1N1pdm) Virus Infection in Japan: Detection of a High Copy Number of the Virus in Type II Alveolar Epithelial Cells by Pathological and Virological Examination. Jpn J Infect Dis. 2010. 63(1):67-71.

8) Takiyama A, Wang L, Tanino M, Kimura T, Kawagishi N, Kunieda Y, Katano H, Nakajima N, Hasegawa H, Takagi T, Nishihara H, Sata T, Tanaka S. Sudden Death of a Patient with Pandemic Influenza (A/H1N1pdm) Virus Infection by Acute Respiratory Distress Syndrome. Jpn J Infect Dis. 2010. 63(1):72-4.

9) Sato Y, Shimonohara N, Hanaki KI, Goto M, Yamakawa Y, Horiuchi M, Takahashi H, Sata T, Nakajima N. ImmunoAT method: An initial assessment for the detection of abnormal isoforms of prion protein in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. J Virol Methods. 2010. 165(2):261-7. Epub 2010 Feb 10.

10) Kimura T, Ishikawa K, Sakasegawa Y, Teruya K, Sata T, Schätzl H, Doh-Ura K.: GABAA receptor subunit beta1 is involved in the formation of protease-resistant prion protein in prion-infected neuroblastoma cells. FEBS Lett. 2010. 584:1193-8. Epub 2010 Feb 14.

11) Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T, Katano H. Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice. Vaccine. 2010. 28:3325-32.

12) Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. PLoS Pathog. 2010. 6:e1000832.

13) Tatemichi Y, Oikawa H, Maesawa C, Ambo J, Sato M, Koike H, Sata T, Fujioka T, Masuda T. Detection of human papillomavirus in a urothelial carcinoma mimicking urethral caruncle. Int J Urol. 2010. 17:189-91.

14) Serizawa M, Sekizuka T, Okutani A, Banno S, Sata T, Inoue S, Kuroda M. Genomewide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in Bacillus anthracis. Antimicrob Agents Chemother. 2010. 54:2787-92.

15) Takahashi H, Akazawa D, Kato T, Date T, Shirakura M, Nakamura N, Mochizuki H, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Suzuki T, Wakita T. Biological properties of purified recombinant HCV particles with an epitope-tagged envelope. Biochem Biophys Res Commun. 2010. 395:565-71.

16) Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. PLoS One. 2010. 5(4):e10256.

17) Iwamaru Y, Imamura M, Matsuura Y, Masujin K, Shimizu Y, Shu Y, Kurachi M, Kasai K, Murayama Y, Fukuda S, Onoe S, Hagiwara K, Yamakawa Y, Sata T, Mohri S, Okada H, Yokoyama T. Accumulation of L-type bovine prions in peripheral nerve tissues. Emerg Infect Dis. 2010. 16:1151-4.

18) Ueno T, Tanaka K, Kaneko K, Taga Y, Sata T, Irie S, Hattori S, Ogawa-Goto K. Enhancement of procollagen biosynthesis by p180 through augmented ribosome association on the endoplasmic reticulum in response to stimulated secretion. J Biol Chem. 2010. 285:29941-50.

19) Ohtaki N, Takahashi H, Kaneko K, Gomi Y, Ishikawa T, Higashi Y, Kurata T, Sata T, Kojima A. Immunogenicity and efficacy of two types of West Nile virus-like particles different in size and maturation as a second-generation vaccine candidate. Vaccine. 2010. 28:6588-96.

20) Satoh K, Tobiume M, Matsui Y, Mutsukura K, Nishida N, Shiga Y, Eguhchi K, Shirabe S, Sata T. Establishment of a standard 14-3-3 protein assay of cerebrospinal fluid as a diagnostic tool for Creutzfeldt-Jakob disease. Lab Invest. 2010. 90:1637-44.

21) Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. J Med Virol. 2010. 82:1754-61.

22) Yamada S, Kosugi I, Katano H, Fukui Y, Kawasaki H, Arai Y, Kurane I, Inoue N. In vivo imaging assay for the convenient evaluation of antiviral compounds against cytomegalovirus in mice. Antiviral Res. 2010. 88:45-52.

23) Ueno T, Kaneko K, Katano H, Sato Y, Mazitschek R,

Tanaka K, Hattori S, Irie S, Sata T, Ogawa-Goto K. Expansion of the trans-Golgi network following activated collagen secretion is supported by a coiled-coil microtubule-bundling protein, p180, on the ER. Exp Cell Res. 2010. 316:329-40.

24) Shintaku M, Kaneda D, Tada K, Katano H, Sata T. Human herpes virus 6 encephalomyelitis after bone marrow transplantation: Report of an autopsy case. Neuropathology. 2010. 30:50-5.

25) Utachee P, Nakamura S, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Ikuta K, Auwanit W, Kameoka M. Two N-linked glycosylation sites in V2 and C2 regions of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE envelope glycoprotein gp120 regulate viral neutralization susceptibility to the human monoclonal antibody specific for CD4 binding domain. J Virol. 2010. 84:4311-20.

26) Mitsuishi T, Iwabu Y, Tokunaga K, Sata T, Kaneko T, Ohara K, Ohsawa I, Oda F, Yamada Y, Kawana S, Ozaki K, Nakatake M, Yamada O. Combined analysis of cell growth and apoptosis-regulating proteins in HPVs associated anogenital tumors. BMC Cancer. 2010. 10:118.

27) Iwabu Y, Fujita H, Tanaka Y, Sata T, Tokunaga K. Direct internalization of cell-surface BST-2/tetherin by the HIV-1 accessory protein Vpu. Commun Integr Biol. 2010. 3(4):366-9.

28) Kameoka M, Isarangkura-na-Ayuthaya P, Kameoka Y, Sapsutthipas S, Soonthornsata B, Nakamura S, Tokunaga K, Sawanpanyalert P, Ikuta K, Auwanit W. The role of lysine residue at amino acid position 165 of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE Gag in reducing viral drug susceptibility to protease inhibitors. Virology. 2010. 405(1):129-38.

29) Iwabu Y, Kinomoto M, Tatsumi M, Fujita H, Shimura M, Tanaka Y, Ishizaka Y, Nolan D, Mallal S, Sata T, Tokunaga K. Differential anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif proteins derived from different subtypes. J Biol Chem. 2010. 285(46):35350-8.

30) Ward SC, Thung SN, Lim KH, Tran TT, Hong KB, Hoang PL, Jang JJ, Park YN, Abe K: Hepatic progenitor cells in liver cancers from Asian children. Liver Int. 2010. 30:102-11.

31) Htun MM, Kyi KP, Oo KM, Khin M, Tun WM, Oo SS, Lwin KO, Abe K: Presence of hepatitis C virus RNA by nested polymerase chain reaction in plasma-derived hepatitis B vaccine non-responders. Myanmar Health Sciences Research Journal. 2010. 22:101-4.

32) Abe K. Chapter 76: Hepatitis B virus. In: Don Liu eds. Molecular detection of human viral pathogens. Florida, USA, Taylor & Francis CRC Press, pp 847-59, 2010.

33) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Taguchi F. Studies of severe acute respiratory syndrome coronavirus pathology in human cases and animal models. Vet Pathol. 2010. 47:881-92.

34) Matsuyama S, Nagata N, Shirato K, Kawase M, Takeda M, Taguchi F. Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. J Virol. 2010. 84:12658-64.

35) Watanabe S, Masangkay JS, Nagata N, Morikawa S, Mizutani T, Fukushi S, Alviola P, Omatsu T, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Fujii H, Tsuda S, Endoh M, Kato K, Tohya Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y, Akashi H. Bat coronaviruses and experimental infection of bats, the Philippines. Emerg Infect Dis. 2010. 16:1217-23.

36) Iwaki M, Komiya T, Yamamoto A, Ishiwa A, Nagata N, Arakawa Y, Takahashi M. Genome organization and pathogenicity of Corynebacterium diphtheriae C7(-) and PW8 strains. Infect Immun. 2010. 78:3791-800.

37) Hayasaka D, Nagata N, Hasegawa H, Sata T, Takashima I, Koike S. Early mortality following intracerebral infection with the Oshima strain of tick-borne encephalitis virus in a mouse model. J Vet Med Sci. 2010. 72:391-396.

38) Haga S, Nagata N, Okamura T, Yamamoto N, Sata T, Yamamoto N, Sasazuki T, Ishizaka Y. TACE antagonists blocking ACE2 shedding caused by the spike protein of SARS-CoV are candidate antiviral compounds. Antiviral Res. 2010. 85:551-5.

39) Yoshikawa T, Hill TE, Yoshikawa N, Popov VL, Galindo CL, Garner HR, Peters CJ, Tseng CT. Dynamic innate immune responses of human bronchial epithelial cells to severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. PLoS One. 2010. 5(1):e8729.

40) Morrill JC, Ikegami T, Yoshikawa-Iwata N, Lokugamage N, Won S, Terasaki K, Zamoto-Niikura A, Peters CJ, Makino S. Rapid accumulation of virulent rift valley Fever virus in mice from an attenuated virus carrying a single nucleotide substitution in the m RNA. PLoS One.

2010. 5(4):e9986

41) Orba Y, Suzuki T, Makino Y, Kubota K, Tanaka S, Kimura T, Sawa H. Large T antigen promotes JC virus replication in G2-arrested cells by inducing ATM- and ATR-mediated G2 checkpoint signaling. J Biol Chem. 2010. 285(2):1544-54.

42) Suzuki T, Orba Y, Okada Y, Sunden Y, Kimura T, Tanaka S, Nagashima K, Hall WW, Sawa H. The human polyoma JC virus agnoprotein acts as a viroporin. PLoS Pathog. 2010. 6(3):e1000801.

43) Ohtake N, Niikura K, Suzuki T, Nagakawa K, Mikuni S, Matsuo Y, Kinjo M, Sawa H, Ijiro K. Low pH-Triggered Model Drug Molecule Release from Virus-Like Particles. Chembiochem. 2010. 11(7):959-62.

44) Suzuki T, Yamanouchi S, Sunden Y, Orba Y, Kimura T, Sawa H. Natalizumab has no direct biological effect on JC virus infectivity in permissive human neural cell lines. J Med Virol. 2010. 82(7):1229-35.

45) Hasebe R, Suzuki T, Makino Y, Igarashi M, Yamanouchi S, Maeda A, Horiuchi M, Sawa H, Kimura T. Transcellular transport of West Nile virus-like particles across human endothelial cells depends on residues 156 and 159 of envelope protein. BMC Microbiol. 2010. 10:165.

46) Kawaguchi A, Suzuki T, Kimura T, Sakai N, Ayabe T, Sawa H, Hasegawa H. Functional analysis of an alpha-helical antimicrobial peptide derived from a novel mouse defensin-like gene. Biochem Biophys Res Commun. 2010. 398(4):778-84.

47) Ishii Y, Tanaka K, Kondo K, Takeuchi T, Mori S, Kanda T. Inhibition of nuclearentry of HPV16 pseudovirus-packaged DNA by an anti-HPV16 L2 neutralizing antibody. Virology. 2010. 406(2):181-8.

48) Hajj E H, El-Sabban M, Hasegawa H, Zaatari G, Ablain J, Saab TS, Janin A, Mahfouz R, Nasr R, Kfoury Y, Nicot C, Hermine O, Hall WW, de The H, Bazarbachi A. Therapy-induced selective loss of leukemia-initiating cell activity in murine ATL. J Exp Med, 2010 Dec 20;207(13):2785-92.

49) Isawa H, Kuwata R, Hoshino K, Tsuda Y, Sakai K, Watanabe S, Nishimura M, Satho T, Kataoka M, Nagata N, Hasegawa H, Bando H, Yano K, Sasaki T, Kobayashi M, Mizutani T, Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from Culex mosquitoes in Japan. Virus Res 2010 Sep 25. [Epub ahead of print]

50) Watters KM, Dean J, Hasegawa H, Sawa H, Hall W, Sheehy N. Cytokine and growth factor expression by HTLV-1 Lck-tax transgenic cells in SCID mice. AIDS Res Human Retrovir 2010 May;26(5):593-603

51) Tamura S, Hasegawa H, Kurata T. Estimation of the effective doses of nasal-inactivated influenza vaccine in humans from mouse-model experiments. Jpn J Infect Dis 2010 Jan;63(1):8-15

2. 和文発表

1) 片野晴隆、佐多徹太郎：Primary effusion lymphoma 原発性滲出液リンパ腫。癌診療指針のための病理診断プラクティス、リンパ球増殖疾患。中山書店、大阪、2010. 11

2) 片野晴隆 : ポリオーマウイルス感染と病態 ーメルケル細胞ポリオーマウイルスを中心に。化学療法の領域 26:1251-1258, 2010

3) 岡本 尚、木村 宏、片野晴隆、塚田訓久、今井健一、高折晃史：エイズ発症の危険因子としての微生物間相互作用。日本エイズ学会誌 12:59-66, 2010

4) 岡田誠治、片野晴隆、萩原將太郎、永田安伸、安岡彰：HIV-1 感染と悪性腫瘍。日本エイズ学会誌 12: 81-88, 2010

5) 佐多徹太郎、中島典子、永田典代、佐藤由子：新興・再興感染症の病理。病理と臨床 28:381-387, 2010

6) 中島典子、佐多徹太郎、羽田 悟：新型インフルエンザウイルスの病理組織像。Medical Technology 38: 535-536, 2010

7) 中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎：2009 年 H1N1 新型インフルエンザウイルス感染症の病理学的特徴。医学と薬学 63:845-851, 2010

8) 中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎：インフルエンザの病理。臨床と微生物 37:577-583, 2010

9) Ota I, Katsura Y, Yoshida C, Yoshizawa K, Ohtani H, Sata T, Komeno T. [Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in a patient with mantle cell lymphoma]. Rinsho Ketsueki. 2010 Dec;51(12):1786-8. Japanese

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Yukie Iwabu, Hideaki Fujita, Yoshitaka Tanaka, Tetsutaro Sata, Kenzo Tokunaga (presenter): Direct internalization of cell-surface BST-2/tetherin by HIV-1 Vpu. Centennial

Retroviruses Meeting (CRM2010), May 2010, Prague, Czech Republic

2) Katano H, Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T. Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice. 35th International Herpesvirus Workshop, July 2010, Salt Lake City, USA

3) Takahashi H, Tobiume M, Sata T: Immunization with virus-like particles of human immunodeficiency virus type 1 produces neutralizing antibodies against subtype B pseudoviruses. AIDS vaccine 2010 conference, September 2010, Atlanta, USA

4) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Sata T. Pathological findings of autopsy cases infected with 2009 pandemic influenza A virus in Japan. Option for the Control of Influenza VII, September 2010, HongKong, China

5) Hasegawa H, Ainai A, Nagata N, Iwata N, Ami Y, Tamura S, Tanimoto T, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T. Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist, promotes cynomolgus monkey against HPIV challenge. Options for the Control of Influenza VII, September 2010, HongKong, China

6) Hideaki Fujita, Yukie Iwabu, Kenzo Tokunaga, Tetsutaro Sata, Keiko Fujimoto, Ryo Tachiyama, Daisuke Ishikawa, Masaki Matsumoto, Keiichi I Nakayama, and Yoshitaka Tanaka: Targeting of recycling endosomes to the cleavage furrow requires ubiquitylation of membrane proteins. Biochemistry and Cell Biology of ESCRTs in Health and Disease (ASBMB Special Meeting), October 2010, Utah, USA

7) Abe K. Invited lecture: Hepatitis C in experimentally infected chimpanzees: comparison with hepatitis B. 4th Ditan International Conference on Infectious Diseases, July 2010, Beijing, China

8) Abe K. Invited lecture: Molecular-based epidemiology and pathology of hepatitis B virus infection. The National Conference on Medical Molecular Biology and Biochemistry, September 2010, Hanoi, Vietnam

9) Suzuki T, Orba Y, Makino Y, Okada Y, Sunden Y, Kimura T, Hasegawa H, Sata T, Hall WW, Sawa H. Disruption of Intracellular Vesicular Trafficking by Agnoprotein is Essential for Viroporin Activity and JC Virus Replication. The 10th International Symposium in NeuroVirology, October 2010, Italy

10) Kenzo Tokunaga: Battles between Host and Viruses: Molecular Mechanisms of the Inactivation of Antiviral Host Factors by HIV-1 Accessory Proteins. Thai NIH Seminar, National Institute of Health Thailand. October 2010, Bangkok, Thailand（タイ NIH セミナー）

2. 国内学会

1) 片野晴隆、中島典子、辻 隆裕、鈴木良夫、佐多徹太郎：メルケル細胞ポリオーマウイルス large T 抗原の核発現。第 99 回日本病理学会（東京）2010 年 4 月

2) 菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆：日本における KSHV 関連疾患の臨床病理と KSHV サブタイプ解析。第 99 回日本病理学会総会（東京）2010 年 4 月

3) 中島典子、羽田 悟、飛梅 実、片野晴隆、永田典代、相内 章、長谷川秀樹、岩田奈織子、辻 隆裕、渡辺正秀、佐多徹太郎：本邦初の新型インフルエンザウイルス（A/H1N1pdm）肺炎の剖検例。第 99 回日本病理学会（東京）2010 年 4 月

4) 岩田奈織子、永田典代、辻 隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎：SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の免疫効果と副反応について。第 99 回日本病理学会（東京）2010 年 4 月

5) 長谷川秀樹、永田典代、岩田奈緒子、辻 隆裕、佐多徹太郎：新型インフルエンザウイルス A/(H1N1)pdm のフェレットにおける病原性の検討。第 99 回日本病理学会総会（東京）2010 年 4 月

6) 瀧山晃弘、王磊、谷野美智枝、木村太一、西原広史、川岸直樹、國枝保幸、片野晴隆、長谷川秀樹、高木知敬、佐多徹太郎、田中伸哉：新型インフルエンザ(A/H1N1pdm)肺炎によるびまん性肺胞障害により急死した 1 剖検例。第 99 回日本病理学会総会（東京）2010 年 4 月

7) 片野晴隆、坂本康太、福本 瞳、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎：HHV-8 がコードする miRNA の発現とその診断への応用。第 25 回ヘルペスウイルス研究会（浜松）2010 年 6 月

8) 片野晴隆、坂本康太、福本 瞳、菅野隆行、佐藤由子、佐多徹太郎：HHV-8 がコードする miRNA の発現とその診断への応用。第 7 回 EB ウイルス研究会（札幌）2010 年 7 月

9) 田中道子、佐多徹太郎、井出隆広、箕輪敦子、川口 寧：HSV-1 VP22 の新規機能の解明。第 25 回ヘルペスウイルス研究会（静岡）2010 年 7 月

10) 酒井宏治、永田典代、網 康至、岩田奈織子、鈴木忠樹、

水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、西條政幸、長谷川秀樹、山田靖子、倉根一郎、 森川 茂：カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスの性状と実験感染サルでの病原性の解析。第 150 回日本獣医学会学術集会（帯広）2010 年 9 月

11）菅野隆行、佐多徹太郎、片野晴隆：自発的再活性化が亢進した KSHV 感染細胞株の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

12）坂本康太、福本 瞳、佐藤由子、水谷隆太、佐多徹太郎、片野晴隆：ヒトヘルペスウイルス８関連疾患におけるウイルス micro RNA の発現。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

13）片野晴隆、坂本康太、武内恵梨香、菅野隆行、福本瞳、佐多徹太郎：HHV-8 がコードするマイクロ RNA miRK12-3 は RapGef2 の発現を抑制し潜伏感染維持に貢献する。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

14）福本 瞳、坂本康太、佐多徹太郎、片野晴隆：ヒトヘルペスウイルス 8 がコードする miRNA の血清診断への応用。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

15）高橋秀宗、飛梅 実、田中恵子、佐多徹太郎：ウエストナイルウイルス様粒子抗原の形態が免疫原性に与える影響。第 58 回ウイルス学会総会（徳島）2010 年 11 月

16）中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、佐多徹太郎：日本の 2009 年 H1N1 新型インフルエンザウイルス感染症剖検例の病理。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

17）岩部幸枝、藤田英明、田中嘉孝、佐多徹太郎、徳永研三：HIV-1 Vpu による BST-2/tetherin の機能阻害に関与する cofactor の検索。第 58 回日本ウイルス学会総会（徳島）2010 年 11 月

18）徳永研三、岩部幸枝、藤田英明、田中嘉孝、佐多徹太郎：HIV-1 Vpu による細胞表面 BST-2/tetherin の直接的な internalization。第 58 回日本ウイルス学会総会（徳島）2010 年 11 月

19）亀岡正典、Panasda Isarangkura-na-ayuthaya、亀岡陽子、Sompong Sapsutthipas、Bongkot Soonthornsata、中村昇太、徳永研三、Pathom Sawanpanyalert、生田和良、Wattana Auwanit：CRF01_AE Gag 165 番目のリジン残基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。第 58 回日本ウイルス学会総会（徳島）2010 年 11 月

20）Piraporn Utachee、中村昇太、Panasda Isarangkura-na-ayuthaya、徳永研三、Pathom Sawanpanyalert、生田和良、Wattana Auwanit、亀岡正典：Two N-linked glycosylation sites in Env gp120 regulate the susceptibility of CRF01_AE viruses to the CD4 binding domain antibody, IgG1 b12。第 58 回日本ウイルス学会総会（徳島）2010 年 11 月

21）池田輝政、Abd El Galil Khaled Hussein、徳永研三、前田和彦、佐多徹太郎、阪口薫雄、Thierry Heidman、小糸 厚：哺乳類 APOBEC1 による内在性レトロエレメント制御機構の解析。第 58 回日本ウイルス学会総会（徳島）2010 年 11 月

22）岩部幸枝，佐多徹太郎，徳永研三： BST-2/tetherin。第 24 回日本エイズ学会シンポジウム[Restriction Factor]（東京）2010 年 11 月

23）真田崇弘、苅和宏明、永田典代、谷川洋一、Nur Hardy Abu Daud、瀬戸隆弘、吉松組子、有川二郎、好井健太朗、高島郁夫：Puumala ウイルスを感染させたシリアンハムスター（Mesocricetus auratus）の感染動態の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

24）早坂大輔、藤井克樹、永田典代、ディン テュアン デュク、田中香苗、岩田奈緒子、北浦一孝、木下一美、佐多徹太郎、鈴木隆二、森田公一：日本脳炎ウイルス感染における重症化機序の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

25）宇田晶彦、棚林 清、永田典代、藤田 修、堀田明豊、山本美江、山田章雄：SARS コロナウイルス感染 hACE2Tg マウスの肺における初期宿主応答の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

26）永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、森川茂、佐多徹太郎：SARS 発症マウスモデルにおける IFN-γ の投与効果。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

27）渡辺俊平、Masangkay Joseph S、永田典代、森川 茂、水谷哲也、福士秀悦、大松 勉、上田直也、伊波興一朗、谷口 怜、藤井ひかる、津田峻平、加藤健太郎、遠矢幸伸、久和 茂、吉川泰弘、明石博臣：フィリピンにおけるコウモリコロナウイルスの検出および飼育食果コウモリを用いたウイルス感染実験。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

28）酒井宏治、田丸精治、前田 健、永田典代、網 康至、岩田奈織子、鈴木忠樹、水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、長谷川秀樹、西條政幸、山田

靖子、倉根一郎、森川 茂：カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスのサル及びイヌでの病原性の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

29) 李 天成、方 苓、片岡紀代、宮村達男、脇田隆字：日本のブタから分離したブタエンテロウイルス 8 の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

30) 岩田奈織子、永田典代、辻 隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子、宇田晶彦、水谷哲也、西條政幸、森川 茂、佐多徹太郎：SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について。第 58 回日本ウイルス学会（徳島）2010 年 11 月

31) 鈴木忠樹、山内聡子、寸田祐嗣、大場靖子、木村享史、佐多徹太郎、澤 洋文：In vitro における Natalizumab の JC virus 感染への影響の検討。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

32) 李 天成、方 苓、王 澤均、宋 士利、片岡紀代、鈴木哲朗、脇田隆字：ヒューマンボカウイルス様粒子の作製およびその応用。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

33) 長谷川秀樹、相内 章、網 康至、永田典代、田村慎一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎 隆、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によるブースター効果と高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御の検討。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

34) 相内 章、伊藤 良、浅沼秀樹、鈴木忠樹、谷本武史、小田切孝人、田村慎一、佐多徹太郎、田代眞人、長谷川秀樹：2009/10 季節性インフルエンザワクチンの経鼻投与による A/H1N1pdm ウイルスの感染阻害効果の検討。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

35) 山崎達也、二宮大輔、長島麻里亜、荒井由佳、手嶋保智、相内 章、長谷川秀樹、藤本 陽、千葉 丈：インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた遺伝子治療による感染と重症化の阻止。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

36) 伊藤 良、相内 章、浅沼秀樹、鈴木忠樹、千葉 丈、田村慎一、田代眞人、佐多徹太郎、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチにおける抗原性の異なる株による追加免疫時の免疫応答の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

37) 池辺詠美、川口 晶、田口慎也、川嶋太郎、田中勇悦、堀光雄、澤 洋文、西園 晃、長谷川秀樹、伊波英克：分子シャペロン阻害剤による Tax と Tax 結合蛋白質の機能相関性に対する抑制的影響。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

38) 浅沼秀樹、信澤枝里、白倉雅之、許斐奈美、山本典生、中内美奈、網 康至、長谷川秀樹、相内 章、高下恵美、小渕正次、徐 紅、岸田典子、小田切孝人、田代眞人：新型インフルエンザウイルス(H1N1pdm)の増殖性に関する検討。第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島）2010 年 11 月

39) 高橋秀宗、飛梅 実、金子恵子、巽 正志、佐多徹太郎：HIV－1 広域中和抗体誘導抗原の開発。第 14 回ワクチン学会総会（東京）2010 年 12 月

40) 長谷川秀樹：経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンによる高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御と交叉防御の検討。第 14 回日本ワクチン学会学術集会（東京）2010 年 12 月

41) 相内 章：インフルエンザワクチン経鼻接種による成人での血清および鼻腔洗浄液中のウイルス特異的中和抗体の評価。第 14 回日本ワクチン学会学術集会（東京）2010 年 12 月

42) 黒田 誠、片野晴隆、中島典子、飛梅 実、相内 章、長谷川秀樹、佐々木裕子、荒川宣親、佐多徹太郎：次世代シークエンサーによるパンデミック・インフルエンザウイルス A/H1N1/2009 の多種性解析。第 33 回日本分子生物学会年会（神戸）2010 年 12 月

43) 岩部幸枝，佐多徹太郎，徳永研三：APOBEC3G の抗 Alu レトロ転移活性に関わる責任領域の同定。第 33 回日本分子生物学会（神戸）2010 年 12 月

44) 岩部幸枝、藤田英明、田中嘉孝、佐多徹太郎、徳永研三：BST-2/tetherin の downregulation における HIV-1 Vpu の cofactor 要求性。第 33 回日本分子生物学会（神戸）2010 年 12 月

45) Hideaki Fujita, Yukie Iwabu, Kenzo Tokunaga, Tetsutaro Sata, Keiko Fujimoto, Ryo Tachiyama, Daisuke Ishikawa, Masaki Matsumoto, Keiichi I Nakayama, and Yoshitaka Tanaka: The endosomal vesicles carrying ubiquitylated cargos selectively localizes to the cleavage furrow during cytokinesis. 第 33 回日本分子生物学会（神戸）2010 年 12 月

46) Takayoshi Koyama, Kenzo Tokunaga, Tetsutaro Sata, Yukihito Ishizaka: Site-Specific Integration of a Lentiviral Vector in the Human Genome via DNA Double-Strand Breaks. 第 33 回日本分子生物学会（神戸）2010 年 12 月

47) 鈴木忠樹、大場靖子、牧野吉倫、岡田由紀、寸田裕嗣、

木村享史、長谷川秀樹、佐多徹太郎、William W. Hall、澤 洋文：ウイルスタンパク質「Viroporin」の機能制御に関わる宿主因子とウイルス因子の相互作用。BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会（神戸）2010 年 12 月

48) 小林進太郎、鈴木忠樹、大竹範子、永川桂大、新倉謙一、木村享史、澤 洋文：JC ウイルスの粒子形成機構の解析。BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会（神戸）2010 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。「Translational research（橋渡し研究）を推進することにより、研究室で得られた研究成果を医療や社会に還元し、健康増進や感染症によるヒトの健康被害の減少」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. 新規モノクローナル抗体を用いた A 型肝炎ウイルス（HAV）抗原捕捉 ELISA 系および HAV 抗体検出系に関する研究

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

III. 原虫・寄生虫感染症

1. 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

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 22 年 5 月 01 日に免疫部第一室研究員として寺原　和孝（前職：第一室任期付研究員）、平成 22 年 9 月 01 日に免疫部第四室長として高橋　宜聖（前職：主任研究官）が任用された。

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）HIV-1 増殖制御のためのレンチベクターの開発

野生型麻疹は SLAM（CD150）を受容体とし、活性化記憶 T 細胞や樹状細胞に効率よく感染する。そこで、HIV 増殖抑制性レンチウイルスをこのような活性化細胞に選択的に感染させるため、麻疹ウイルス envelope（F タンパクと H タンパクの融合欠損型）被覆レンチウイルスを作製した。この組換えレンチウイルスが SLAM 陽性細胞に選択的に感染すること、汎用されている水疱性口内炎ウイルス（VSV）と比較して、活性化ヒト末梢血単核細胞（PBMC）あるいは樹状細胞から CD4 陽性 T 細胞への感染伝播系における HIV 増殖抑制効果が高いことが示された。[渋沢謙太郎（エイズ予防財団リサーチレジデント）、柳　雄介（九州大学医学研究院）、寺原和孝、小林和夫、横田恭子]

（２）CC ケモカイン受容体（CCR）5 を補助受容体とする HIV-1 の選択的増殖機構の解析

HIV-1 初期感染における R5 型 HIV-1 の選択的増殖機構を明らかにするため、ウイルス粒子との膜融合アッセイ系を用いて X4 型と R5 型 HIV-1 の細胞侵入効率を比較した。膜融合過程は補助受容体の発現頻度とほぼ合致した。更に、$CD4^+$T 細胞を CCR5 陽性細胞に純化して解析した結果、R5 型 HIV-1 が X4 型 HIV-1 よりも侵入過程の進行は早いものの、最終的な侵入効率は同等で、感染 40 時間後の逆転写から integration までの過程に大きな違いはないことが明らかとなった。しかしながら、X4 型・R5 型 HIV-1 を同時に感染させた場合は、それぞれのウイルスの integration までの過程が異なることが示唆されている。[寺原和孝、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター博士課程）、田中勇悦（琉球大医学部）、小林和夫、横田恭子]

（３）HIV 感染 $CD4^+$T 細胞を単一細胞レベルで解析する技術の開発

ヒト体内での $CD4^+$T 細胞は様々な分化活性化段階にあり、HIV-1 の侵入から integration、転写等の感染過程はそれにより大きく左右される。しかしながら、現時点では細胞を集団としてしか解析することができないため、HIV 潜伏感染機構の解明には限界がある。そこで、竹山教授らの開発した Capillary PCR の技術を応用し、単一細胞レベルで HIV 感染の進行状態を検出する系を確立することを目指して共同研究を開始し、予備実験が進行中である。[鈴木元臣（早稲田大学、実習生）、寺原和孝、モリテツシ（早稲田大学理工学術院・国際教育センター、協力研究員）、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）、横田恭子]

（４）$CD4^+$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）は核内前駆体からプロセスされてできる約 22 塩基の小分子 RNA で、PTGS（Post-transcriptional gene silencing）に関与する。これまでに、$CD4^+$T 細胞の分化段階の違いによる miRNA 発現パターンをアレイ解析し、特にナイーブやセントラルメモリー分画の $CD4^+$T 細胞に強発現する miRNA を同定した。そのうち、分化早期に発現の高い miRNA を選択し、レンチウイルスベクターを作製して CEM 細胞に導入した。これらの高度 miRNA 発現 CEM クローンおよび異な

る活性化状態にある初期培養 T 細胞において、明らかな HIV-1 増殖抑制効果を示す分子を検索している。[光木裕也（エイズ予防財団リサーチレジデント)、山本拓也（米国国立衛生研究所ワクチン研究センター、協力研究員)、横田恭子]

（５）HIV-1 感染による麻疹ウイルス感染増悪機構の解析

HIV-1 感染小児で麻疹ウイルス（MV）感染が重篤化することが知られている。我々は、健常人 PBMC に HIV-1 と野生型 MV を重複感染させた時、MV 単独よりも MV 感染細胞の頻度が増加することを観察した。そこで、HIV-1 感染 5 日後の $CD4^+$T 細胞における MV 受容体 SLAM の発現について詳細に検討した結果、HIV-1 感染とその後のウイルス増殖に依存して $CD4^+$T 細胞での SLAM 発現が高まることが明らかとなった。これには、サイトカインよりもむしろ HIV 感染細胞と非感染細胞との相互作用が重要であることが示唆された。[光木裕也（エイズ予防財団リサーチレジデント)、柳　雄介（九州大学医学研究院)、竹田　誠（ウイルス第三部)、寺原和孝、小林和夫、横田恭子]

（６）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

Nef 発現に伴い単球由来マクロファージ（MDMf）の TLR5 と IL-10Rβの mRNA 発現は低下したが、タンパク発現はどちらも低かった。そこで、Nef 欠損あるいは野生型 HIV-1 を MDMf に感染させ、IL-10Rβのシグナル分子 STAT-3 のリン酸化や IL-10 のサイトカイン産生抑制効果について解析した。これらの HIV-1 感染細胞において STAT-3 のリン酸化に差はなく、IL-10 による IL-8 や MIP-1β産生に関しては Nef を欠如した HIV 感染によりその抑制効果を失っていた。従って、HIV-1 感染時の Mf の自然免疫機能は Nef の有無によって様々に修飾されうることが示唆された。[横田恭子、渋沢謙太郎・光木裕也（エイズ予防財団リサーチレジデント)、小林和夫、寺原和孝]

（７）HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明

HIV-Nef 発現による T 細胞免疫への影響を明らかにするため、OVA 特異的 T 細胞抗原受容体トランスジェニックマウス（TGM）と、コクサッキー・アデノウイルス受容体 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 発現アデノウイルスを感染させ、FACS を用いて Nef 発現 T 細胞を分離後個体に移入し、T 細胞機能を検討した。その結果、Nef 発現細胞は、非発現細胞と比べ抗原刺激に対する活性化が低下し、T 細胞遊走活性障害、また、所属リンパ節への移動も抑制された。さらに、Nef 発現により、二次応答における $CD4^+$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り、MHC クラス I 分子および CD28 分子の表面発現に差は認められなかった。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（慶應大学医学部、協力研究員)、阿戸　学、高橋宜聖、横田恭子、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）]

（８）ヒト化マウスを用いた HIV 感染小型動物モデルの確立、ならびに in vivo における HIV 感染機構の解析

重症免疫不全マウス（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、マウス体内でおこるヒト T 細胞の分化と活性化の特徴が明らかとなった。このヒト化マウスに EGFP 発現 X4 型 HIV-1 あるいは DsRed 発現 R5 型 HIV-1 を単独あるいは両者同時にチャレンジして感染細胞の分布を細胞自動解析（FACS）した。X4・R5 型 HIV-1 を同時にチャレンジした場合、X4 型 HIV-1 単独チャレンジ群と比較して、$^{C}XCR4^+CCR5^+$ $CD4^+$ T 細胞における X4 型 HIV-1 の感染・複製が抑制されることを認めた。生体内における X4 型および R5 型 HIV-1 の感染・複製様式、全身分布の違いについては更なる検討が必要である。[石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター博士課程)、池野翔太（東京理科大学、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、寺原和孝]

（９）腸管粘膜における HIV-1 特異的細胞傷害性 T 細胞（CTL）の誘導機構に関する解析

腸管粘膜における HIV-1 抗原特異的 CTL の誘導について、パイエル板の重要性を明らかにすることを目的としている。本解析はマウスを用い、粘膜における抗原特異的 CTL の誘導に有用とされている DNA プライム法、ならびにパイエル板への侵入性の異なる HIV-1 Gag 発現 *Salmonella typhimurium* の経口投与法の併用について検討中である。[寺原和孝、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター博士課程)、渋沢謙太郎（エイズ予防財団リサーチレジデント)、小林和夫、横田恭子]

（１０）サルエイズ（SIV）ワクチンモデルにおけるヘルパーT 細胞機能の解析

新たなエイズ予防ワクチンとして注目を浴びているセンダイウイルスベクターを用いた CTL 誘導型ワクチンの多機能性ヘルパーT 細胞（HTL）誘導効果について解析を進めている。これまで、SIV 感染サルの慢性持続感染期の末梢血リンパ球を用いた解析から、SIV 複製抵抗性を示すハプロタイプ A 共有群では HTL・CTL ともに多機能性レベルは高く、SIV 複製抵抗性を示さないハプロタイプ J 共有群では両 T 細胞ともに多機能性レベルは低いことが明らかとなった。すなわち、HTL の多機能性レベルは、ウイルス複製制御レベルならびに CTL の多機能性レベルと関連することが示された。[寺原和孝、光木裕也(エイズ予防財団リサーチレジデント)、俣野哲朗(東京大学医科学研究所・国立感染症研究所エイズ研究センター)、横田恭子]

（１１）T 細胞疲弊化分子に対するモノクローナル抗体の作成

慢性感染症では持続的抗原刺激によりサイトカイン産生や増殖能が低下した疲弊化 T 細胞が高頻度に出現し、この疲弊化は HIV-1 感染における病態形成に重要な役割を果たす。そこで、代表的な疲弊化マーカーに対するモノクローナル抗体を作製することを目的として、2B4、CD160、BTLA 等の分子を発現する CHO あるいは A20.2J 細胞株を樹立した。これらの細胞を免疫して血中抗体価が上昇したマウスの脾臓よりハイブリドーマを作製した。抗体陽性クローン候補を選択し、その活性について検討中である。[和久津亞弓（北里大学、実習生)、大西和夫、山本拓也（米国国立衛生研究所ワクチン研究センター、協力研究員)、小林和夫、横田恭子]

２．インフルエンザに関する研究

（１）H5N1 高病原性鳥インフルエンザ高感度検出系の確立

免疫部で作成した抗 H5-HA マウスモノクローナル抗体を用いて H5 特異的なサンドイッチ ELISA 法を確立した。標準 HA 抗原をもとにワクチン溶液中の HA 抗原量を定量した結果、この ELISA 法はワクチンの品質管理に有用であると判断された。また、東洋紡（株）が独自の技術で開発した化学発光による抗原検出簡易装置に我々のモノクローナル抗体を応用して H5N1 高病原性鳥インフルエンザ診断キットを共同開発した。その感度や特異性を検討した結果、市販品よりも更に高感度で特異性の高い H5-HA 検出キットであることが明らかとなった（特許申請予定）。[横田恭子、大西和夫、三澤修平（東洋紡敦賀研究所）小林和夫、影山　努・板村繁之（インフルエンザ研究センター）]

（２）新型インフルエンザ（2009 H1N1/pdm）ウイルスを特異的に認識するマウスモノクローナル抗体のエピトープ解析

平成 21 年度において、新型インフルエンザウイルスを特異的に認識するマウスモノクローナル抗体を作製し、メーカーとの共同で迅速診断免疫クロマトキットを開発した。平成 22 年度では、本キットに使用している２種類の抗体について、結合するエピトープ構造の解析を行った。[高橋宜聖、飛梅　実・佐多徹太郎（感染病理部）、小林和夫]

（３）インフルエンザウイルスの感染防御に寄与する肺記憶 B 細胞に関する研究

インフルエンザウイルス経鼻投与後の肺において、記憶 B 細胞が長期に渡り維持され、感染防御に寄与することを見いだした。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分子の存在が明らかとなった。感染防御における機能的役割の解析を行うため、遺伝子欠損マウスを作製した。[高橋宜聖、小野寺大志、阿戸　学、横井勇祐・八村敏志（東京大学農学生命科学研究科、研究生・准教授）、小林和夫]

（４）インフルエンザ不活化全粒子ワクチンに含まれるウイルス RNA による液性免疫記憶の活性化機構に関する研究

インフルエンザ不活化全粒子ワクチンに含まれる一本鎖 RNA は、抗体産生賦活作用を有すると考えられているが、その作用メカニズムは不明である。インフルエンザウイルス RNA が記憶 B 細胞の再活性化に果たす役割を検証するため、Toll-like receptor（TLR）からのシグナルを欠如したマウスを用いて記憶 B 細胞応答の変化を解析した。その結果、野生型の記憶 B 細胞は、T 細胞非存在下でも迅速にウイルス粒子に応答することが可能である一方で、TLR シグナルを欠損した記憶 B 細胞では、T 細胞非存在下でのウイルス粒子への応答性が完全に消失することが明らかとなった。[小野寺大志、相澤竜太郎（日本大学生物資源科学研究科、研究生）、高橋宜聖、小林和夫]

（５）ワクチン接種者で誘導された新型インフルエンザ（2009 A/H1N1pdm）ウイルスに結合するヒトモノクローナル抗体の作製

ワクチン接種で誘導される抗体の結合部位や交差反応性を詳細に解析するため、ワクチン接種者の末梢血細胞から H1N1/pdm に特異的に結合する B 細胞を分離し、この単一 B 細胞から抗体 IgH/L 遺伝子をクローニングした。このヒト抗体遺伝子を細胞株に発現させることにより、H1N1/pdm のヘマグルチニンに結合するヒトモノクローナル抗体を得ることに成功した。[高橋宜聖、福原芳織（玉川大学、実習生）、阿戸　学、西村秀一（国立病院機構仙台医療センター）、信澤枝里（インフルエンザウイルス研究センター）、小林和夫]

（６）ウイルス感染に対する宿主抵抗因子に関する研究

インフルエンザウイルス感染に際し肺胞上皮由来人細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし気管上皮由来細胞株 NCI-H292 は 24 時間で感染ウイルスを排除し回復する。ウイルス感染により interferon(IFN) をはじめ宿主側抵抗遺伝子が誘導される状況を網羅的に解析した。細胞によるウイルス感染に対する反応性の違いを宿主抵抗因子の観点から検討している。[大島正道、戸高玲子（非常勤職員）、清水一史（日大医学部ゲノムセンター、客員研究員）]

（７）インフルエンザ誘導性の劇症肺炎の好中球機能による発症メカニズムの解明

インフルエンザウイルス感染症による致死率の高い劇症呼吸器障害は、感染時において好中球の急激かつ大量の肺への浸潤によって引き起こされる。これまでの研究成果から、劇症肺炎の発症には、好中球の主要因子であるミエロペルオキシターゼ（MPO）の関与が示唆される。そこで感染肺における好中球および MPO 活性に着目して肺炎発症メカニズムの解明を目指している。[菅又龍一（千葉大学大学院医学研究院、協力研究員）、富澤一夫（国立国際医療研究センター、協力研究員）、戸高玲子（非常勤職員）、鈴木和男（千葉大学大学院医学研究院、客員研究員）、大島正道]

（８）インフルエンザウイルス共通エピトープの性状解析

インフルエンザウイルスの型共通抗原を幅広く認識する抗体の存在が最近明らかとなってきている。本研究では、ヘマグルチニン（HA）分子上のエピトープ群をバイオインフォマティクス的手法により網羅的に解析し、有望な型共通エピトープを探索して分子免疫学的な性質を明らかにし、ワクチンや診断薬の設計に寄与する事を目的としている。まず、HA 分子について独自の配列情報および文献情報データベースを構築した。このデータベースについて、立体構造解析、分子動力学的解析、B 細胞エピトープ予測などのバイオインフォマティクス手法を用いることにより候補エピトープ群の網羅的な探索を開始した。その結果、型共通エピトープは HA2 に集中しており、N50-D90 領域に集中する傾向がある事が確認された。今後この領域（HA2:N50-D90）のアミノ酸配列特性・立体構造を精査してインフルエンザウイルスを型共通的に認識するモノクローナル抗体の作製を試みる。これにより、汎用性に富んだ全 HA 型指向型のウイルス検出システムを構築する事が出来、さらに、共通エピトープの性状をワクチン設計に応用する事が期待される。[大西和夫、影山　努（インフルエンザウイルス研究センター）、横田恭子]

３．C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究

（１）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、活動性と逆相関することを明らかにし発表した (J Viral Hepatitis 13(11):746-55, 2006)。この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、

効率よいウイルス細胞培養系を確立する。C 型肝炎治療におけるインターフェロン(IFN)の治療効果判定に short RNA が有用か調べた。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。今後、short RNA の産生メカニズムについて検討する。[大島正道、戸高玲子（非常勤職員)、清水洋子（神戸大学大学院医学研究科、客員研究員)、土方美奈子（国立国際医療研究センター)、吉倉　廣（CODEX）]

（２）HCV 持続感染における RNA 干渉機構の解析

HCV による肝疾患の進行を防ぐ有効手段は、慢性肝炎の段階でウイルスを排除することであるが、HCV 持続感染成立機構が明らかになっていないことが大きな障害となっている。また、ウイルス envelope アミノ酸の易変異領域の存在によって HCV が宿主の免疫監視機構から逃れていると考えられるため、最も有効な予防法と考えられてきた HCV ワクチン開発は暗礁に乗り上げている。一方、ウイルスの抑制や排除機構として、RNA 干渉が機能していることを示唆する結果が Dicer の発現抑制による抗ウイルス応答の低下などの実験から示唆されている。従って、RNA 干渉の研究は HCV 持続感染成立機構を解明する上で最も期待されるアプローチの一つであると考えられる。近年、我々によって発見された Translin/TRAX 複合体が、siRNA を取り込み、相補的な RNA を切断、破壊する RISC (RNA-induced silencing complex) の構成蛋白であることが明らかにされた。このような背景から、HCV 持続感染と RNA 干渉に係る宿主因子の役割に焦点を当てた基盤的研究を実施した。実際、HCV 持続感染株において、Translin/TRAX 複合体の急激な発現上昇が予備実験で確認された。HCV 持続感染の成立は、宿主内でウイルスの増殖が一定の制御を受けている現象と捉えることができるため、持続感染の分子機構が明らかになれば、慢性肝炎の段階でウイルスを排除する戦略が可能になり、肝硬変から肝細胞がんという病態悪化の予防に大きな進展が期待される。[深澤征義（細胞化学部)、石田礼子（協力研究員)、葛西正孝]

４．新規モノクローナル抗体を用いた A 型肝炎ウイルス（HAV）抗原捕捉 ELISA 系および HAV 抗体検出系に関する研究

HAV は糞口感染によって伝播し、飲食店を介した感染や海外渡航者の感染がみられることから HAV 感染予防対策は社会的に重要な問題として認識されている。2009 年から欧州やオーストラリア連邦および大韓民国で HAV 集団感染が急速に増加しており、2010 年には国内においても顕著な増加傾向を認めている。HAV 感染予防対策の基礎となる感染診断法、特に実際の診断の殆どを占める血清 IgM 抗体検査法について、流行 HAV 株に対する診断有用性の科学的根拠を示し、その性能を向上させることが必要である。本研究では、これまで上市されている HAV 抗体診断キット（IgM 型ならびに IgG 型）の一部についてその性能を検討した結果、その良好な成績を確認しているが、新規国内流行株についての感度・特異性についての研究は未だに不十分でありその検討を進めている。また、新規に確立した抗 HAV モノクローナル抗体を用いた HAV エピトープの解析と HAV 抗原捕捉 ELISA 系の構築・改良を進めている。[望月康子（筑波大学大学院生命環境科学科、研究生)、清原知子・石井孝司（ウイルス第二部)、小林和夫、大西和夫]

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 sliding motility と細胞侵入能の関連性

抗酸菌は菌体表面に厚い脂質の層を持ち、これにより増殖に伴って表面を広がる sliding 能を示す。これまで環境常在の抗酸菌で sliding 能が報告されていたが、我々は結核菌群も sliding することを確認した。ランダム変異挿入により sliding 能欠損変異株を複数得たが、これらは全て非貪食系細胞への取り込みが低下しており、sliding を引き起こす菌体表面の性質が細胞接着や侵入においても有利に働いている可能性が考えられる。[岡部真裕子、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科､客員研究員)、藤原永年・中　　崇（大阪市立大学大学院医学研究科)、阿戸　学、小林和夫]

（２）潜在性結核菌感染症

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。休眠期抗酸菌関連蛋白質を抗原として、潜在性結核菌感染の血清診断を試みた。血清抗抗酸菌 DNA 結合蛋白質 1(MDP1)や Ag85-IgG 抗体価は潜在性(治癒後)結核患者で活動性結核に比し、有意に高値を示した。潜在性結核菌感染症の血清診断で結核菌由来 MDP1 や Ag85 抗原は有用と考えられる。[小林和夫、岡　真優子・仁木満美子・松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科)、北田清悟・前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）]

（３）*Mycobacterium avium* complex（MAC）感染症の迅速血清診断

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（１ヵ月以上）を要することが多い。多施設臨床試験結果から、MAC 特異抗原（糖脂質ペプチド)を用いたヒト血清抗体検出による診断の感度:84%、特異度:100%であることが判明し、迅速・簡便血清診断（所要時間：約 3 時間）として有用であり、体外診断用医薬品として製造販売承認された。また、この血清診断は非侵襲性検査として喀痰陰性、気管支内視鏡検査陽性 MAC 感染症の診断にも有用であった（感度:79%、特異度：96%)。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）]

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。主たる劇症型感染起因菌である *Streptococcus 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、ヒトの急性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、劇症型感染患者分離株のみに認められる *csrS* 遺伝子変異によって、病原因子である溶血毒素ストレプトリシン O（SLO）や IL-8 を分解するセリンプロテイナーゼ ScpC の発現が増強し、好中球への直接傷害を増強することと感染局所への好中球走化を抑制することが明らかになった。一方、劇症型感染患者分離株のみに認められる、別の遺伝子発現調節因子をコードする *rgg* 遺伝子の変異によっては、SLO の上昇は認められるが、ScpC の発現上昇は認められず、好中球傷害は起こるが、遊走は抑制しないことが明らかに

なった。マウスモデルを用いて病理学的に解析した結果、*csrS* 変異株の感染によって、感染部位での炎症細胞の欠如と菌の蓄積が認められる一方、*rgg* 変異株の感染組織では、好中球を主とする炎症細胞の浸潤と菌の蓄積が共に認められた。以上より、劇症型レンサ球菌感染症起因菌の遺伝子変化によって、病原因子発現パターンが異なり、感染局所での好中球防御能を様々に障害する結果、感染部位での特異な病態を伴う劇症型感染を惹起する可能性が示唆された。[阿戸　学、松村隆之、池辺忠義・大西　真（細菌第一部）、長谷川秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）、佐多徹太郎（感染病理部）、渡邉治雄（所長）、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好中球傷害の機序として、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。しかし、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示唆された。この仮説を検証するため、green fluorescence protein（GFP）発現劇症株、非劇症株を用いて検討した結果、菌と好中球の接着部に SLO による孔が存在することが示唆された。また、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 と NAD-glycohydrolase (NADase)（Nga）により効果的に好中球障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・大西　真（細菌第一部）、渡邉治雄（所長）、小林和夫]

３．類鼻疽の宿主防御に関する研究：類鼻疽における糖尿病患者由来好中球防御機能異常

類鼻疽は *Burkholderia pseudomallei* によって起こる重篤で治療困難な感染症である。発症の主要な危険因子は糖尿病であるが、その発症機序に関する免疫学的検索はなされていない。本研究では、タイ人糖尿病患者および健常人より精製した好中球の *B. pseudomallei* に対する in vitro 防御機構を解析した。その結果、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、炎症性サイトカイン産生の低下が認められた。また、糖尿病患者好中球は、健常人好中球に比べて貪食非依存性殺菌機構である Neutrophil extracellular traps の生成量の低下を認めた。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、Donporn Riyapa・Chidchamai Kewcharoenwong・Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学、タイ王国）]

III. 原虫・寄生虫感染症

１．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

ヒトの住血吸虫症のワクチン開発を目指して、マンソン住血吸虫感染に対する ICR outbred マウス（実験宿主）の防御実験が行われ、既に高い感染防御を誘導するワクチンシステムが構築された。このワクチンシステムが、これまで用いた感染幼虫（セルカリア）数（50 匹/マウス）ではなく、より少ない数（25 匹/マウス）の感染に対して、どのような防御効果を示すかの実験が行われた。これはフィールドで、少数のセルカリア感染があった時のモデル実験として行われた。結果は、感染のみの群が平均７匹（0~20）の成虫感染に対して、アジュバントを含まない弱毒幼虫感作群が平均 4 匹(0~10)、アジュバントを含むワクチンシステム群が平均１匹（0~4）であった。我々のワクチンシステムはセルカリア 50 匹/マウスの感染時と同様に高い感染防御効果を示したが、この少ないセルカリア感染に対して、ICR outbred マウスすべてに対して完全（100%）な防御は誘導しなかった。[平山中己、朝日博子（寄生動物部）、吉成正裕（横浜市立大学大学院医学研究科）、金澤　保（産業医科大学）]

（２）マンソン住血吸虫感染マウスに対する治療的ワクチン効果に関する研究

マンソン住血吸虫感染に対して強い感染予防効果を誘導する我々のワクチンシステムが、ICR outbred マンソンの住血吸虫症に対して治療効果を持つか否かが調べられた。既に行なわれた治療実験（感作に用いた弱毒化シストソミューラー数；平均 35 匹/マウス）では、治療効果は認められなかった。そこで、この感作シストソミューラー数を増やした。実験は、感染（セルカリア 50 匹/マウス）7 週以降のマウスの虫卵検査が行われ、成虫感染確認後、3 回の感作（平均 150 匹/マウス/回：２週間間隔）が行われ、以降、非感作マウス群との比較生存率が調べられた。結果は、感作群と非感作群の間の平均生存期間は、非感作群 93 日、感作群 129 日で、統計的優位差があった。しかしワクチンシステムには駆虫薬のような完全な治療効果は無く、両群ともすべてのマウスが感染後 230 日前後までに漸時、死亡した。感染に対して強い防御効果を示す我々のワクチンシステムは、感染マウスに対して殺虫的な治療効果は示さなかった。[平山中己、吉成正裕（横浜市立大学大学院医学研究科）]

IV. プリオン病

１．異常型プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播機構の研究

異常型プリオン蛋白質は、いわゆる「コンフォーメーション病」を引き起こし、蛋白質立体構造異常が伝播して海綿状脳症などの疾病を引き起こす。プリオン病の発症過程には神経系と共に免疫系細胞が関与することが知られている。本研究では、免疫系と神経系に共発現して機能する分子のうち、プリオン蛋白質と相互作用することが示唆された S100B 分子に着目し、その相互作用の様式について分子動力学シミュレーションにより解析を行っている。S100B 蛋白質分子表面に存在する陰性荷電コアと陽性荷電コアがプリオン蛋白質の特異領域と相互作用して立体構造の異常を引き起こす現象の諸条件を変えてシミュレーションを続けている。S100B・プリオン蛋白質間結合様式の詳細を解明し、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 細胞の前駆細胞であるプレ B 細胞に発現するプレ B 細胞受容体は、抗体の抗原認識多様性を制御する重要な役割を果たすことが知られている。プレ B 細胞受容体は、Lambda5 と VpreB の 2 分子から構成される代替軽鎖と新しく作られた抗体重鎖から構成されている。代替軽鎖は非免疫グロブリン領域（Non-Ig 領域）と呼ばれる特徴的なドメインを持ち、この構造がプレ B 細胞受容体の機能で中心的な役割を担うことを既に明らかにした。この構造はタンパク質分解酵素に対する感受性が強

いことから結晶構造解析法が行えない。そこで、ホモロジーモデリングおよび分子動力学法による *in silico* 解析を続けている。本研究は、抗体の抗原認識多様性を飛躍的に高める技術の基礎となり、感染症に対するワクチン開発の理論的枠組みの形成に寄与することを目的に行っている。[大西和夫、傅　舟一（筑波大学大学院生命環境科学科、研究生）、Lill Martensson（バブラハム研究所、英国）、Fritz Melchers（マックス・プランク感染生物学研究所、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

抗体産生 B 細胞は骨髄で発生分化し、さらに脾臓やリンパ節などの２次リンパ器官で後期分化が進み、侵入抗原に対して抗体産生応答を行う。我々が発見したリンパ球カドヘリンである BILL カドヘリン（Cdh-17）は、骨髄や２次リンパ器官における分化過程に伴い、厳密な制御を受けて B リンパ球に発現している。この分子の遺伝子欠損マウスでは高親和性抗体産生Ｂ細胞の形成・機能が低下することを既に明らかにしている。カドヘリン分子群は Ca^{2+}依存的細胞接着因子として胚発生や脳機能領野形成に重要な働きを担っていることから、BILL カドヘリンがＢ細胞分化過程を規定するニッチ形成に関与すると考えて研究を進めている。BILL カドヘリンは、記憶 B 細胞にも再帰的に発現することから、記憶Ｂ細胞形成ニッチへの関与を中心に検討し、ワクチン技術に記憶 B 細胞形成促進効果を付与する技術の開発を目指している。[傅　舟一・沼田　治（筑波大学大学院生命環境科学科、研究生・教授）、清水健之（高知大学医学部）、村田英崇・春原正隆（日本歯科大学、協力研究員）、Fritz Melchers（マックス・プランク感染生物学研究所、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分子と病原体の細胞侵入機構に関する研究

腸管は病原体が生体に侵入する主要な部位の一つであり、腸管上皮には細菌やウイルスが標的とする分子が多数存在する。我々がクローニングした BILL カドヘリンは、B リンパ球とともに小腸上皮にも強く発現しており、腸内病原体の細胞侵入標的分子となっている可能性が示唆されていた。この可能性を検討するために、本研究では、BILL カドヘリンを侵入標的とする病原体についてフローサイトメトリー法を応用して網羅的に定量化・スクリーニングする *in vitro* 実験系を構築した。この実験系の陽性対照としては、既知の病原体・標的分子の組み合わせである Listeria と E カドヘリンの相互作用を設定し、その定量的な検出に成功している。この実験系を用いて、各種腸内病原体侵入機構への BILL カドヘリンの関与について検討を進めている。予備的な実験では、BILL カドヘリンまたは E カドヘリンと有意な結合性を持った菌種が複数同定されている。[傅　舟一・沼田　治（筑波大学大学院生命環境科学科、研究生・教授）、大西　真（細菌第一部）、Fritz Melchers（マックス・プランク感染生物学研究所、ドイツ連邦共和国）、小林和夫、大西和夫]

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体制を整備・更新している。HAV 感染予防対策は社会的に重要な問題として認識されており、2010 年春には国内に於いてＡ型肝炎症例数の顕著な増加を認めている。HAV 感染予防対策の基礎となる感染診断法について、流行 HAV 株に対する診断有用性を担保する事が必要であり、この目的のために、国内血清を含む標準パネル血清の整備を続けている。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、高品質の標準検体パネルを作製した。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の上、提供を受け、その品質を管理して HAV 抗体国内血清パネルの整備を続ける。この整備事業は、「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」（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス研究事業）の補助を受けて進めている。[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. 台湾 CDC-抗酸菌センター（センター長、Ruwen Jou 博士）と潜在性結核菌感染症の分子機序や免疫診断について、共同研究計画を策定した。[小林和夫、松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科）、北田清悟・前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）]

II. Khon Kaen 大学（タイ王国）と細菌感染症（特に、類鼻疽）の免疫応答について共同研究を推進した。[阿戸学]

研修業務

I. 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、2010 年 10 月 25 日、講義した。[小林和夫]

II. 高校生を対象としたシンポジウム：アフリカのエイズ、性感染症からインフルエンザまで

国立国際医療研究センター研究所、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‐平成 22 年度－『世界の感染症 2010』を 2010 年 11 月 20 日、主催した。[大島正道]

III. 大学など教育機関における講義や研修

長崎大学熱帯医学研究所や大学院医歯薬学総合研究科（7 月 09 日）、昭和大学医学部（11 月 02 日）、早稲田大学化学・生物総合管理再教育講座（知の市場：感染症総合管理 1b、9 月 28 日）、岡山大学大学院医歯薬総合研究科や歯学部（12 月 07、08 日）などで招請講義した。[小林和夫]

共同利用機器管理

所内・所外の利用者による機器の利用を円滑にするため、機器の定期的な保守、点検を行った。また、故障等のトラブルには早急に対処した。機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存し、平成 22 年度細胞自動解析装置（FACS）の使用実績は、860 回、1,740 時間であった。また、機器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。[泉山枝里子（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) Fujii H, Ato M, Takahashi Y, Otake K, Hashimoto S, Kaji T, Tsunetsugu-Yokota Y, Fujita M, Adachi A, Nakayama T, Taniguchi M, Koyasu S, Takemori T. HIV-Nef impairs multiple T cell functions in antigen-specific immune response in mice. Int. Immunol. In press.
2) Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka NW, Ito T, Takano A, Kawabata H, Ato M, Tajima T, Tajima M, Onuma M, Murata S, Ohashi K. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle and *Ixodes persulcatus* ticks. Vet. Microbiol. In press.
3) Ishida R, Aoki K, Nakahara K, Fukuda Y, Ohhori M, Saito Y, Kano K, Matsuda J, Asano S, Maziarz RT, Kasai M. 2011. Translin/TRAX deficiency affects mesenchymal differentiation programs and induces bone marrow failure. Stem Cells and Human Diseases Springer-Verlag. In press.
4) Terahara, K., Nochi, T., Yoshida, M., Takahashi, Y., Goto, Y., Hatai, H., Kurokawa, S., Ho Jang, M., Kweon, M-N., Domino, S.E., Hiroi, T., Yuki, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y., Kobayashi, K., and Kiyono, H. 2011. Distinct fucosylation of M cells and epithelial cells by Fut1 and Fut2, respectively, in response to intestinal environmental stress. Biochem. Biophys. Res. Commun. 404: 822-828.
5) Tsunetsugu-Yokota, Y. and Yamamoto, T. 2010. Mammalian microRNAs: post-transcriptional gene regulation in RNA virus infection and therapeutic applications. Front. Microbiol. 1: 1-9.
6) Hagiwara, K., Murakami, T., Xue, G. Shimizu, Y., Takeda, E., Hashimoto, Y., Honda, K., Kondoh, Y., Osada, H., Tsunetsugu-Yokota, Y., and Aida, Y. 2010. Identification of a novel Vpr-binding compound that inhibits HIV-1 multiplication in macrophages by chemical array. Biochem. Biophys. Res. Commun. 403: 40-45.
7) Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H. 2010. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. PLoS Pathog. 6: e1000832.
8) Matsumura, T., M. Oyama, H. Kozuka-Hata, K. Ishikawa, T. Inoue, T. Muta, K. Semba, and J. Inoue. 2010. Identification of BCAP-(L) as a negative regulator of the TLR signaling-induced production of IL-6 and IL-10 in macrophages by tyrosine phosphoproteomics. Biochem. Biophys. Res. Commun. 400: 265-270.
9) Yu, L., Aoki, C., Shimizu, Y., Shimizu, K.., Hou, W., Yagyu, F., Wen, X.., Oshima, M., Iwamoto, A., Gao, B., Liu, W., Gao, G. F., Kitamura, K. 2010. Development of a simple system for screening anti-hepatitis C virus drugs utilizing mutants capable of vigorous replication. J. Virol. Methods 169: 380-384.
10) Hori J, Taniguchi H, Wang M, Oshima M, Azuma M 2010. GITR ligand-mediated local expansion of regulatory T cells contributes to immune privilege of corneal allografts. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 51: 6556-6565.
11) Yuki, N., Takahashi, Y., Ihara, T., Ito, S., Nakajima, T., Funakoshi, K., Furukawa, K, Kobayashi, K., Odaka, M. 2010. Lack of antibody response to Guillain-Barre syndrome-related gangliosides in mice and men after novel influenza vaccination. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry Nov 7, 2010. [Epub ahead of print]
12) Kurosaki, T., Aiba, Y., Kometani, K., Moriyama, S., Takahashi, Y. 2010. Unique properties of memory B cells of different isotypes. Immunol. Rev. 237: 104-116.
13) Nakashima, H., Hamaguchi, Y., Watanabe, R., Ishiura, N., Kuwano, Y., Okochi, H., Takahashi, Y., Tamaki, K., Sato, S., Tedder, T.F., Fujimoto, M. 2010. CD22 expression mediates the regulatory functions of peritoneal B-1a cells during the remission phase of contact hypersensitivity reactions. J. Immunol. 184: 4637-4645.
14) Ishiura, N., Nakashima, H., Watanabe, R., Kuwano, Y., Adachi, T., Takahashi, Y., Tsubata, T., Okochi, H., Tamaki, K., Tedder T.F., Fujimoto, M. 2010. Differential phosphorylation of functional tyrosines in CD19 modulates B lymphocyte activation. Eur. J. Immunol. 40: 1192-1204.
15) Ozeki Y., I. Sugawara, T. Udagawa, T. Aoki, M. Osada-Oka, Y. Tateishi, H. Hisaeda, Y. Nishiuchi, N. Harada, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2010. Transient role of $CD4^{+}CD25^{+}$ regulatory T cells in mycobacterial infection in mice. Int. Immunol. 22: 179-189.
16) Sena, C.B.C., T. Fukuda, K. Miyanagi, S. Matsumoto, K. Kobayashi, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Kinoshita, and Y.S. Morita. 2010. Controlled expression of branch-forming mannosyltransferase is critical for mycobacterial lipoarabinomannan biosynthesis. J. Biol. Chem. 285: 13326-13336.
17) Kitada, S., K. Kobayashi, Y. Nishiuchi, K. Fushitani, K. Yoshimura, Y. Tateishi, K. Miki, M. Miki, H. Hashimoto, M. Motone, T. Fujikawa, T. Hiraga, and R. Maekura. 2010. Serodiagnosis of pulmonary disease due to *Mycobacterium avium* complex proven by bronchial wash culture. Chest 138: 236-237.
18) Tomizawa, K., T. Nagao, R. Kusunoki, K. Saiga, M. Oshima, K. Kobayashi, T. Nakayama, M. Tanokura, and K. Suzuki. 2010. Reduction of MPO-ANCA epitopes in SCG/Kj mice by 15-deoxyspergualin treatment restricted by IgG2b associated with crescentic glomerulonephritis. Rheumatology (Oxford) 49: 1245-1256.
19) Kasama, T., M. Sato, T. Odai, T. Isozaki, and K. Kobayashi. 2010. The CX3CL1/CX3CR1 axis is a sensitive marker of the response to anti-tumor necrosis factor therapy in patients with rheumatoid arthritis. J. Clin. Rheumatol. Musculoskel. Med. 1: 19-25.
20) Kasama, T., K. Ohtsuka, M. Sato, R. Takahashi, K. Wakabayashi, and K. Kobayashi. 2010. Macrophage migration inhibitory factor: a multifunctional cytokine in rheumatic diseases. Arthritis 2010: article ID 106202.

2. 和文発表

1) 横田（恒次）恭子、影山　努．2010．ブタ由来インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)、広範囲血液・尿化学検査免疫学的検査―その数値をどう読むか―(第 7 版)、(日本臨床社)、日本臨床 68(6): 385-388.
2) 松村隆之．2010．抗ウイルス免疫応答の新たな担い手：まだまだあるウイルス認識システム．ファルマシア 46(9): 893-894.
3) 岡部真裕子．2010．法令における結核の取り扱い．関節外科 29: 1345-1348.
4) 岡　真優子、前倉亮治、小林和夫．2010．潜在性結核菌感染診断法確立の可能性．Medical Tribune 43：30.
5) 小林和夫．2010．感染症の現状と制圧戦略（第 56 回昭和医学会総会特別講演）. 昭和医会誌　70 : 70-73.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kobayashi, K．2010．Strategies to combat tuberculosis in Japan. Scientific obstacles to control tuberculosis．第 3 回日中科学フォーラム（中華人民共和国湖北省武

漢市、3 月）.

2) Tsunetsugu-Yokota, Y. and Terahara, K. 2010. Factors crucial for the preferential propagation of R5-tropic HIV-1 in the early phase of HIV-1 infection. The 5th Japanese-German HIV-Symposium（東京、5 月）.
3) Shibusawa, K., Mitsuki, Y-y, Terahara, K., Yanagi, Y. Kobayashi, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2010. Inhibition of HIV-1 replication by engineered lentivirus vectors: a potential advantage of SLAM-mediated virus entry. The 5th Japanese-German HIV-Symposium（東京、5 月）.
4) Mitsuki, Y-y, Shibusawa, K., Tsuchiya, T., Terahara, K., Kobayashi, K., Takeda, M., Yanagi, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2010. HIV-1 infection enhances the susceptibility of T cells to measles virus infection by upregulating signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) expression. The 5th Japanese-German HIV-Symposium（東京、5 月）.
5) Matsumura, T., T. Ikebe, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2010. The defensive role of interferon-gamma produced by myeloid cells in invasive group A *Streptococcus* infection. 18th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages（熊本、5 月）.
6) Onodera, T., Aizawa, R., Kobayashi, A., Ato, M., Hosono, A., Kaminiogawa, S., Kobayashi, K., Takahashi, Y. 2010. T-cell independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling. 4th International conference on “B cells and autoimmunity”（奈良、8 月）.
7) Terahara, K., Ishige, M., Mitsuki, Y-y, Shibusawa, K., Watanabe, S., Okada, S., Kobayashi, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2010. Characteristic activation/differentiation phenotype of CD4+ T cells and their distinct susceptibility to X4-type and/or R5-type HIV-1 infection in humanized NOD/SCID/Jak3-null mice. The 14th International Congress of Immunology（神戸、8 月）.
8) Shibusawa, K., Mitsuki, Y-y, Terahara, K., Yanagi, Y. Kobayashi, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2010. Inhibition of HIV-1 replication by engineered lentivirus vectors: a potential advantage of SLAM-mediated virus entry. The 14th International Congress of Immunology（神戸、8 月）.
9) Mitsuki, Y-y, Shibusawa, K., Tsuchiya, T., Terahara, K., Kobayashi, K., Takeda, M., Yanagi, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2010. HIV-1 infection enhances the susceptibility of T cells to measles virus infection by upregulating signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) expression. The 14th International Congress of Immunology（神戸、8 月）.
10) Matsumura, T., T. Ikebe, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2010. Identification of IFN-gamma producing cells in severe invasive group A streptococcal infection. 14th International Congress of Immunology（神戸、8月）.
11) Hikida, M., Kaji, T., Takahashi, Y., Rajewsky, K., Takemori, T. 2010. IgG1 memory B cell compartment undergoes qualitative alteration after its initial generation early in the immune response. 14th International Congress of Immunology（神戸、8月）.
12) Onodera, T., Aizawa, R., Hosono, A., Kaminogawa, S., Kobayashi, K., Takahashi. Y. 2010. T-cell independent activation of virus-specific memory B cells requires Toll-like receptor (TLR) signaling. 14th International Congress of Immunology（神戸、8 月）.
13) Fu, S., M. Kubota, Y. Takahashi, K. Kobayashi, F. Melchers, K. Ohnishi. 2010. Lymphocyte cadherin, BILL-cadherin/Cdh17, is expressed spatiotemporally in B cell development and contributes to B cell differentiation. 14th International Congress of Immunology（神戸、8 月）.
14) Tsunetsugu-Yokota, Y. 2010. The impact of chemokine receptor usage of HIV-1 in the pathogenesis of HIV infection. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity（淡路島、9 月）.
15) Ato, M. Neutrophil dysfunctions by pathogenic bacteria. 2010. Symposium on High Throughput Approaches in Infection & Immunity（Hua Hin, タイ王国、12 月）.
16) Shibusawa, K., Mitsuki,Y-y., Terahara, K., Ishige, M., Yanagi, Y., Kobayashi, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2011. Inhibition of HIV-1 replication by short hairpin RNA is augmented by using lentivirus vector pseudotyped with envelope proteins of wild-type measles virus. Keystone Symposia on HIV Evolution, Genomics, and Pathogenesis（カナダ、3 月）.
17) Mitsuki,Y., Shibusawa, K., Terahara, K., Kobayashi, K., Takeda, M., Yanagi, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2011. HIV-1 infection enhances the susceptibility of T cells to measles virus infection by upregulating signaling lymphocyte activation molecule (SLAM) expression. Keystone Symposia（カナダ、3 月）.

2. 国内学会

1) 大原直也、山本三郎、瀧井猛将、藤原永年、前山順一、小林和夫．2010．DNA マイクロアレイを用いた BCG Tokyo 172-I に存在するサブポピュレーションの遺伝子発現の比較検討．結核 85：407、2010．第 85 回日本結核病学会総会（京都、5 月）.
2) 池辺忠義、阿戸　学、松村隆之、長谷川秀樹、小黒祐子、嶋　智子、奥野ルミ、大屋日登美、勝川千尋、富永　潔、緒方喜久代、佐多徹太郎、小林和夫、大西　真、渡邉治雄．2010．劇症型溶レン菌感染症臨床分離株で高頻度でみられる負の転写制御因子の変異. 第 19 回 Lancefield レンサ球菌研究会および第 42 回レンサ球菌感染症研究会合同学会（東京、6 月）.
3) 石毛真行、寺原和孝、光木裕也、渋沢謙太郎、小林和夫、岡田誠治、横田(恒次)恭子．2010．HIV-1 感染モデルとしてのヒト化マウスの妥当性と X4 および R5 HIV-1 感染．第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島、11 月）.
4) 渋沢謙太郎、光木裕也、寺原和孝、石毛真之、柳　雄介、小林和夫、横田(恒次)恭子．2010．麻疹ウイルスエンベロープを用いた HIV-1 増殖抑制性レンチウイルスベクターの開発とその有効性、第 58 回日本ウイルス学会学術集会（徳島、11 月）.
5) 高橋宜聖．2010．Protective memory B cells against influenza virus infection in the lungs．千葉大学G-COE シンポジウム（Development and maintenance of immune memory）（東京、12月）.
6) 松村隆之、池辺忠義、大西　真、渡邉治雄、小林和夫、阿戸　学．2011. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における環状核骨髄系細胞の保護的役割．第 9 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.
7) 千葉紗由利、永井　武、松村隆之、阿戸　学、小安重夫．2011．*Listeria monocytogenes* 感染における侵入因子 Internalin B の免疫系への関与．第 9 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.
8) 中藤　学、長谷耕二、鈴木道雄、木村昌伸、阿戸　学、新　竜一郎、西田教行、度会雅久、今岡浩一、大野博司．2011．M 細胞に発現する内在性プリオンタンパク質は *Brucella abortus* の取り込み受容体として機能する．第 9 回感染症沖縄フォーラム（沖縄、2 月）.

9) 小林和夫．2011．現代における感染症の脅威と制圧戦略（メインシンポジウム：次世代の予防戦略に果たす衛生学の役割）．日本衛生学会雑誌、66：250-251、2011．第 81 回日本衛生学会学術総会（東京、3 月、Web-IT 開催）．

９．生物活性物質部

部長　宮﨑 義継

概 要

当部は、わが国における真菌感染症の制圧を目標として研究を行っている。また、抗菌化学療法の基盤強化と有効活用を目標とした研究を推進している。真菌症研究では、アスペルギルス症やカンジダ症など主に免疫不全宿主で問題となる真菌症の効果的診断法と治療法開発に関する研究と、クリプトコックス症やヒストプラスマ症など健常者で重症化する場合がある真菌症の疫学や病原因子制御に関する研究を軸としている。本年度は、欧米で流行している新興感染症の一つである高病原性の*Cryptococcus gattii*感染症がわが国でも報告され、本感染症のわが国における疫学調査やゲノム解析による分子疫学研究等を開始した。感染症制御薬に関する研究では、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用による感染症制御と活性評価系開発による創薬研究、及び、ゲノム情報を応用した天然物の生合成経路の解明とそれを利用した天然型新規薬剤の開発と産生効率化に関する研究を行っている。今年度の主たる研究項目は下記のとおりである。

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研究、ならびに、疫学研究

Ⅱ. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

Ⅲ. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究

Ⅳ. 微生物の有用遺伝子探索による感染症治療薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

本年度の研究に対する受賞等は、金子幸弘「第54回日本医真菌学会優秀演題賞」、宮﨑義継「第54回日本医真菌学会優秀ポスター賞」、山越 智「第54回日本医真菌学会優秀ポスター賞」、田辺公一「第12回真菌症フォーラム奨励賞」、金城雄樹「日本生体防御学会奨励賞」であった。

各室が担う業務は、それぞれ以下のとおりである。

第１室は、真菌の病原因子に関する研究と真菌症レファレンス業務を遂行している。昨年度から開始した糸状菌感染症の制圧に関する研究に関しては、アスペルギルス症の病原因子同定とこれらを感染症制御に応用する研究を行っている。カンジダ属を対象とした研究では、エルゴステロール生合成系に着目した薬剤耐性機構と病原因子の解明を継続している。また、不明真菌の同定や診断困難例の確定診断を支援しており、行政検査等を実施した。

第２室は、宿主および病原真菌の細胞内シグナル伝達系の解明とそれを応用した疾病制御に関する研究、ならびに、新規の活性評価系構築による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た。また、検査業務のうち抗菌薬の収去検査を第４室と共同で担っている。

第３室は、宿主因子や免疫機構の制御に基づいた難治性感染症や難病の制圧をめざして基盤研究を開始した。真菌感染症のレファレンス業務のうち、薬剤感受性試験を分担している。

第４室は、ゲノム情報を駆使した二次代謝産物をはじめとする天然物の同定や代謝経路解明、それらに立脚した新規感染症制御薬の創薬研究、及び、放線菌症の病態解明に関する基盤研究を行っている。また、後発医薬品の品質管理業務を担当している。

平成19年度から開始した真菌症レファレンス業務の成果として、今年度はバイオセーフティーレベル３のヒストプラスマ属の分離培養や、エキノキャンディン系耐性カンジダ株の検出、病理標本からのニューモシスチスの遺伝子検出などを行った。同様に品質管理業務については、後発医薬品等の品質管理業務のうち、抗菌薬の力価試験を担当しており、検査実施と共に標準作業手順書の改訂を行った。

行政対応として、真菌に関する行政検査のほか、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門委員、ベトナム国立衛生疫学研究所能力強化計画プロジェクトを推進した。

国際交流では、タイNIHとヒストプラスマに関する環境調査を行い、タイチェンマイ大学とはヒストプラスマやクリプトコックスの診断や分子疫学調査に関する研究を開始した。

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研究、ならびに、疫学研究

1．クリプトコックス症の調査研究

（1）*Cryptococcus gattii* 国内分離株の菌学的性質と実験的病原性解析

日本国内で分離された *C. gattii* 株について *in vitro* での菌学的性質と、マウス感染モデルを使用した病原性等について検討した。供試菌として遺伝子型 VGIIa 型の JP01 株、VGI 型の 5815 株とし、*in vitro* では37℃発育能、発育速度、莢膜の性状、色素産生能等について、また、これら菌株を C57BL/6 マウスに経気管的に感染させ、死亡率や経時的な臓器内菌数、免疫学的検討、病理組織学的検討などを行った。結果として、JP01 株については *C. gattii* 株の中でも極めて強い病原性を持つことが示唆され、更なる病原性の解析や病原因子の同定などを進めている。

[大野秀明、田辺公一、草地弘子、梅山　隆、金子幸弘、山越　智、杉田　隆（明治薬大）、亀井克彦（千葉大）、畠山修司（東京大）、渋谷和俊（東邦大）、金城雄樹、宮﨑義継]

（2）日本国内で分離されたクリプトコックス属の血清型解析と薬剤感受性動向調査

北米で新興感染症として認識されている遺伝子型の *Cryptococcus gattii* 株がわが国でも分離されたことを受けて、国内で分離・保存されているクリプトコックス属約 100 株の血清型再同定を行った。現在まで北米型ではない *C. gattii* 株１株が発見されたが、それ以外のすべての株は血清型 A の *C. neoformans* と同定された。また特定の薬剤に対する感受性の低下は認められなかった。

[大野秀明、草地弘子、大川原明子、田辺公一、梅山　隆、金子幸弘、山越　智、金城雄樹、宮﨑義継]

（3）福岡県筑後地区周辺におけるクリプトコックス症多発発生例の疫学的検討

福岡県久留米市周辺で2008年7月から2009年7月の間に8例のクリプトコックス症の発生を認め、分離培養された *C. neoformans* ７株に対し、MLST（Multi-Locus Sequence Typing）による疫学的解析を行なった。分離された株の間で遺伝子型がほぼ一致しており、この地域における環境からの感染・発病が強く示唆された。

[梅山　隆、大野秀明、草地弘子、田辺公一、山越　智、宮﨑義継、棚町千代子・橋本好司・佐川公矯・渡邊　浩（久留米大）]

（4）*Cryptococcus neoformans* の遺伝子破壊

ハイグロマイシン耐性遺伝子を *Act1* プロモーターおよび *Trp1* ターミネーターに挟んだ *Cryptococcus* 用のハイグロマイシン耐性カセットベクターを作製した。この耐性カセットを用いて、*Agrobacteirum* 法により嫌気条件で発現する遺伝子 *CnHIP1* の遺伝子破壊株を作製した。

[梅山　隆、津村　遼（東京農工大）、山越　智、大野秀明、田辺公一、宮﨑義継]

（5）*Cryptococcus neoformans* の潜伏感染診断系の検討

C. neoformans 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。また SST－REX 法を使用し、低酸素条件下で発現する膜・分泌蛋白を同定し、このうち CnHip1 を新規標的とした *in vitro* 検出系の検討を行っている。

[大野秀明、山越　智、梅山　隆、草地弘子、橋本ゆき、田辺公一、金子幸弘、宮﨑義継]

2．*Aspergillus fumigatus* の新規抗原の探索と基盤・応用研究

（1）Y1 蛋白質の病原性について

Y1 遺伝子の欠損株を作製し性状解析をした。Y1 蛋白質は細胞壁に存在する蛋白質であり、*in vitro, in vivo* の実験により病原性に関与することが明らかとなった。

[山越　智、梅山　隆、橋本ゆき、岡部智也（ACTGen 社）、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継]

（2）B11 蛋白質およびそのホモログ蛋白質の病原性について

Aspergillus fumigatus では、B11 蛋白質のホモログが２種類知られている。そこで、それらの遺伝子欠損株を作製し性状解析をした。*in vitro*、 *in vivo* の実験により、病原性に関与することが明らかとなった。

[山越　智、橋本ゆき、岡部智也（ACTGen 社）、梅山　隆、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継]

（3）B11 に対するモノクローナル抗体の作製

大腸菌で B11 蛋白質およびそのホモログの蛋白質を作製した。それをマウスに免疫し、それぞれの蛋白質に対するモノクローナル抗体産生ハイブリドーマを複数得た。

[山越　智、橋本ゆき、大西和夫（免疫部）、岡部智也（ACTGen 社）、梅山　隆、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継]

（4）B11 蛋白質のサンドイッチ ELISA 系の構築

１次抗体としてモノクローナルと２次抗体としてウサギポリクローナル抗体を用いた B11 およびそのホモログに対するサンドイッチ ELISA の構築をした。数百 pg/ml 程度の感度が得られた。マウス感染モデルで血清中に B11 蛋白質を検出した。

[山越　智、橋本ゆき、大西和夫（免疫部）、岡部智也（ACTGen 社）、梅山　隆、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継]

（5）*Aspergillus fumigatus* の形態と病原性の研究

Ku70 遺伝子欠損株 Afs35 を用い、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 *A. fumigatus* の MPS1 プロテインキナーゼをコードしている遺伝子のプロモーターを *NiiA* プロモーターと置換した遺伝子発現抑制株を作製した。遺伝子発現を抑制すると、生育が顕著に阻害されることが明らかになった。

[梅山　隆、山越　智、大野秀明、田辺公一、宮﨑義継]

３．ヒストプラスマ症の調査・研究

（1）ヒストプラスマ症における各種診断法の有用性検討

ヒストプラスマ症は世界的に広く認められる地域流行型真菌症であるが、臨床検体からの菌の培養成績は極めて悪いことから、血清診断法や抗原検出法などが海外では広く応用されている。当部において *Histoplasma capsulatum* を特異的に検出する PCR 法を作製し、ヒストプラスマ症の診断における遺伝子診断法の有用性について血清診断法や培養法との比較検討を行った。

[大野秀明、草地弘子、田辺公一、梅山　隆、山越　智、宮﨑義継]

（2）ヒストプラスマ属の本邦ならびに東南アジアでの生息状況の調査

ヒストプラスマ症はわが国では輸入真菌症として扱われているが、海外渡航歴のない日本人にも発病が確認されている。また、東南アジアはヒストプラスマ属の生息地域と考えられているが、環境中における生息を確認した例は極めて少ない。このような状況を背景として、日本やタイでの自然環境中に生息すると考えられるヒストプラスマ属を検出し、感染経路の解明や疫学、公衆衛生への寄与を目的とした調査・研究を行なった。

[大野秀明、田辺公一、草地弘子、山越　智、梅山　隆、宮﨑義継、Trepradab Norkaew・Pojana Sriburee（チェンマイ大学）、Natteewan Poonwan（タイ NIH）]

４．真菌症に関する多施設臨床研究

（1）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・解析を継続して行っている。

[大野秀明、宮﨑義継、草地弘子、大川原明子、山越　智、吉田　稔（帝京大）]

（2）慢性肺アスペルギルス症を対象としたアムホテリシン B リポソーム製剤とボリコナゾールの比較試験

臨床的に治療に難渋する慢性肺アスペルギルス症に対して、アムホテリシンＢリポソーム製剤とボリコナゾール注射薬の初期治療における有効性や安全性について非盲検無作為化比較試験で検討を行っており、分離真菌の同定と解析を行っている。

［宮﨑義継、大野秀明、草地弘子、倉島篤行（複十字病院）、小川賢二（東名古屋病院）、鈴木克洋（近畿中央胸部疾患センター）、沖本二郎（川崎医科大）二木芳人（昭和大）、掛屋　弘・河野　茂（長崎大）］

５．　カンジダ属の薬剤耐性機構と病原性因子の解析

（1）　ステロール合成・代謝を調節する転写因子

Candida glabrata のABC蛋白質CgAus1pは細胞外ステロールを取り込む。*CgAUS1* の発現を制御すると予想される転写因子である *UPC2A* 破壊株においては、fluconazoleやlovastatinのようなステロール合成阻害剤に対する感受性が増加しており、血清によるアゾール非感受性化も認められなかった。また、複数のエルゴステロール合成関連遺伝子の発現調節にも *UPC2A* が関与する結果を得た。以上の結果から、*UPC2A* は *C. glabrata* のステロール合成およびステロール輸送を調節する主要な転写因子であると推測された。

［田辺公一、中山浩伸（鈴鹿高専・生物応用化学科）、名木　稔、山越　智、梅山　隆、大野秀明、宮﨑義継］

（2）鉄欠乏条件における遺伝子発現解析

宿主体内は遊離鉄濃度が低いため、*Candida glabrata* の感染が成立するためには鉄欠乏条件下で生存する必要があると推測される。鉄欠乏条件で培養した *C. glabrata* からRNAを抽出し、DNAマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。鉄欠乏条件ではアミノ酸合成関連遺伝子の発現量が減少し、ステロール輸送関連遺伝子の発現量が増加することを見出した。

［田辺公一、中山浩伸（鈴鹿高専・生物応用化学科）、名木　稔、山越　智、梅山　隆、大野秀明、宮﨑義継］

６．黄砂に定着する真菌に関する調査研究

黄砂飛来時の日本海沿岸地域では、気管支喘息などのアレルギー性疾患を増悪させることが報告されている。黄砂飛来時の大気中にどのような真菌が多く含まれるのかを明らかにするために、大気浮遊塵を吸引したろ紙サンプルから真菌の分離を試みた。計30株の真菌が分離されたが、ほとんどが糸状菌あるいは接合菌種であった。通常大気に含まれる菌種がほとんどであったが、アレルギー性疾患との関係が示唆される *Chaetomium* 属が多く含まれていた。

［田辺公一、大野秀明、草地弘子、山越　智、梅山　隆、宮﨑義継］

Ⅱ．新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用

１．プロテインキナーゼ阻害物質の検定

文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動において、プロテインキナーゼ阻害の検定（II）を担当した。前年度まで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で行っていた、NRK細胞をPDGFで刺激し、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に対する阻害効果をウエスタンブロットにより検出する系に加え、293T細胞にチロシンキナーゼを一過性に発現させて、cell-based ELISAにより細胞内ホスホチロシンレベルを測定する系を用い、標準阻害剤キットを中心に化合物評価を行った。

［福山まり、矢守隆夫（癌研）、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

昨年度に引き続き、タモキシフェンや関連SERMのHCV侵入阻害作用について調べた。阻害活性のあった化合物は、遺伝子型1a, 1b, 2a, 2b, 4 をもつHCVシュードウイルスの侵入をすべて阻害したことから、広範なHCV侵入を阻害すると思われた。SERMはHCVの治療薬となる可能性が示された。

［村上裕子、鈴木哲朗、脇田隆字、深澤秀輔］

３．核内受容体作用物質のC型肝炎ウイルス（HCV）の阻害作用

スクリーニングより新たに、レチノイン酸受容体（RAR）、レチノイドX受容体（RXR）の作用物質がいくつか、HCV に阻害作用を示すことを見いだした。これらの受容体は共通した構造を持つクラスII核内受容体である。そこでクラスII核内受容体のアゴニストおよびアンタゴニストについて細胞でのHCV感染系を用いて調

べたところ、調べたすべての化合物がHCV阻害作用を示した。またこれらはレプリコン細胞でも阻害活性を示した。

［村上裕子、鈴木哲朗、脇田隆字、深澤秀輔］

４．*Candida albicans* のバイオフィルムにおける抗真菌薬抵抗性

C. albicans のバイオフィルムにおける治療抵抗性のメカニズムとして、真菌内のストレス応答によると考えられる細胞壁キチン合成が関与していることを示した。今後は、治療への応用を目的として、治療抵抗性を克服するための併用薬剤の探索を行う。

［金子幸弘、深澤秀輔、宮﨑義継］

５．IgA腎症における感染病態との関連

昨年度までに、IgA腎症モデルマウスの腎臓内分子分布を質量顕微鏡で検討し、質量電荷比854.7、856.7、880.7、882.7など複数のピークに、正常マウスと相違を確認した。本年度は、LC-MSにより、これらのピークのうち、多くの分子を同定した。また、尿中物質との比較から、尿中物質の蓄積がIgA腎症の病態に影響を及ぼしている可能性を確認することができた。今後は、感染病態との関連について検討を行う必要がある。

［金子幸弘、宮﨑義継、早坂孝宏・瀬藤光利（浜松医大）、小畑陽子・西野友哉・古巣朗・掛屋弘・河野茂（長崎大）］

Ⅲ. 宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究

１．*Candida albicans* 細胞壁表層のマンナン構造と炎症惹起性の関係の解析

定常状態において、*C. albicans* 細胞壁の表層部はβ-1,2結合型マンノースが存在する。β-1,2結合型マンノースの転移酵素の遺伝子と推定される遺伝子の破壊株及び遺伝子相補株を作製した。破壊株から精製したマンナンを薄層クロマトグラフィーで分画・精製し、質量分析、NMRで構造を解析したところ、β-1,2結合型マンナンを欠失していることが確認された。また、マンナンの構造と炎症惹起能の関係を調べるため、マウス骨髄から精製した樹状細胞をマンナンで刺激し、炎症性サイトカイン産生をELISA法にて測定した。その結果、破壊株から精製したマンナンによるサイトカイン産生誘導は親株と比較して顕著に高く、遺伝子を相補することによって産生誘導は低下した。これらの結果より、β-1,2 結合型マンナンを欠失した*C. albicans* では、生体による認識、応答が変化し、初期感染防御に関与する樹状細胞の反応性が増強することが示唆された。

［大川原明子、金城雄樹、上野圭吾、山越　智、梅山　隆、樽本憲人、中 崇・土江 松美・藤原 永年（大阪市立大）、大野秀明、宮﨑義継］

２．*Candida albicans* の細胞壁蛋白抗体による *in vivo* 増殖抑制効果の検討

SST-REX（signal sequence trap by retrovirus-mediated expression screening）法を用いて得られた*Candida albicans* の細胞膜分泌蛋白のうち、比較的多く発現している抗原を同定し、抗原に対する抗体産生hybridomaを作製した。*in vitro* での増殖抑制効果をもとに、2種類の抗体を精製し、*in vivo* での菌の増殖抑制効果の解析を行った。

［樽本憲人、金城雄樹、山越　智、大川原明子、梶川益紀（ACTGen社）、大野秀明、宮﨑義継］

３．播種性カンジダ症モデルマウスでの炎症反応における糖脂質投与の影響

昨年度、*Candida albicans* 感染マウスに自然免疫を刺激する糖脂質抗原を投与すると、播種性カンジダ症をおこし、生存期間の短縮及び腎臓内菌数の増加を認めることを明らかにした。今年度は、その機序の解析を行い、遺伝子欠損マウスを用いた解析などより、特定のサイトカインが感染増悪に関与していることを明らかにした。このことから、自然免疫の刺激により、*C. albicans* 感染後の炎症反応が増強し、真菌の排除に影響を及ぼすことが考えられた。現在、さらに詳細な機序を解明するため、解析を行っている。

［樽本憲人、金城雄樹、大川原明子、上野圭吾、篠崎　稔・渋谷和俊（東邦大）、宮﨑義継］

４．NKT細胞が認識する肺炎球菌由来糖脂質抗原の同定及び肺炎球菌感染防御における役割の解析

自然免疫に関与するNKT細胞が、肺炎球菌（市中肺炎やインフルエンザ感染後の二次性肺炎の主要な起炎菌）感染において、感染防御に重要な役割を担うことを明らかにした。また、肺炎球菌より精製した糖脂質がNKT細胞のT細胞抗原受容体を特異的に刺激し、サイトカイン産生を誘導することを明らかにした。さらに、抗体

を投与し、NKT 細胞による糖脂質認識を阻害すると、肺炎球菌感染後の肺内菌数の増加を認めた。以上の結果より、肺炎球菌感染において、NKT 細胞が菌由来の糖脂質を認識して、感染防御に貢献することが示唆された。

［金城雄樹、大川原明子、金子幸弘、小川伸子、Petr Illarionov（バーミンガム大）、川上和義（東北大）、Jose Luis Vela・Mitchell Kronenberg（ラホヤアレルギー免疫研究所）、宮﨑義継］

５．細菌糖脂質抗原と NKT 細胞抗原受容体の結合様式の解析

上述のように、肺炎球菌糖脂質が NKT 細胞の T 細胞抗原受容体を特異的に刺激し、サイトカイン産生を誘導することを明らかにした。肺炎球菌糖脂質抗原が抗原提示分子 CD1d 及び T 細胞抗原受容体とどのように結合しているのか分子レベルで明らかにするため、X 線結晶構造解析等の解析を行った。

［金城雄樹、樽本憲人、Petr Illarionov（バーミンガム大）、Enrico Girardi・Dirk M. Zajonc・Mitchell Kronenberg（ラホヤアレルギー免疫研究所）］

６．糖脂質抗原による肺炎球菌ワクチン増強効果の解析

糖脂質抗原による NKT 細胞の活性化は免疫応答の増強をもたらす。この特徴を活かして、糖脂質抗原による肺炎球菌多糖抗原ワクチンの増強効果を解析したところ、糖脂質と肺炎球菌ワクチンの併用投与マウスでは、B 細胞の活性化及び抗体産生増加を認めた。また、ヒトの細胞を用いた解析においても、NKT 細胞が B 細胞からの抗体産生を増強することが示唆された。以上の結果より、NKT 細胞を介した B 細胞の活性化が、肺炎球菌多糖抗原ワクチンの感染防御効果を増強する可能性が示唆された。

［金城雄樹、大川原明子、金子幸弘、小川伸子、宮坂智充・川上和義（東北大）、宮﨑義継］

７．生体防御に関与するサイトカイン LECT2 の解析

昨年度に引き続き LECT2 のレセプターを同定するために、レトロウイルスベクターを用いマウス cDNA 発現ライブラリーを作製し、Ba/F3 細胞に感染後、マウス LECT2-Fc 融合蛋白質の結合を指標に、フローサイトメトリーにて、レセプター遺伝子を発現する Ba/F3 細胞を濃縮した。

［山越　智、岡部智也（ACTGen 社）、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮﨑義継］

IV. 微生物の有用遺伝子探索による感染症治療薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

１．感染症治療薬開発に関する研究

（１） 次世代シークエンサーを用いた *Micromonospora griseorubida* からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

次世代シークエンサーを用いて、mycinamicin を生産する *M. griseorubida* が持つ生物活性物質生合成遺伝子を見出すために、ゲノムスキャニングを行った。その結果、mycinamicin生合成遺伝子以外にも生物活性物質生産に関与すると予想される多くのポリケチド合成酵素、非リボゾーム型ペプチド合成酵素やグリコペプチド抗生物質の生合成遺伝子に類似した遺伝子群が見いだされた。

［石川　淳、安齋洋次郎・加藤文男（東邦大）］

（２） 次世代シークエンサーを用いた糸状菌からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

次世代シークエンサーを用いて、糸状菌の生産する生物活性物質の生合成遺伝子（ポリケチド合成酵素、非リボゾーム型ペプチド合成酵素や酸化酵素等をコードする遺伝子）をゲノムスキャニングの手法を用いて見出した。見出された遺伝子の破壊株を作製し、生物活性物質の生産性をHPLCに確認したところ、その化合物の生産性が消失した。これにより、見出された遺伝子から生物活性物質が生産されていることが明らかになった。この結果、有用遺伝子の探索にゲノムスキャニングの手法を用いることが有効であることが示された。

［星野泰隆、石川　淳、関塚剛史・黒田　誠（ゲノムセンター）］

（３） SARP ファミリー調節遺伝子の人為的発現による二次代謝産物の誘導生産

Nocardia brasiliensis IFM 0406において、ゲノム解析により見出され、通常の培養条件では発現の認められないSARPファミリー調節遺伝子を人為的に発現させた結果、野生株には認められない物質の生産がHPLC解析により確認された。この結果は、SARPファミリー調節遺伝子の発現を人為的にコントロールすることが、新規の二次代謝産物の発見につながる可能性を示唆している。

［石川　淳、星野泰隆］

（4）　ノコバクチン生合成遺伝子の鉄濃度による発現量の変化

Nocardia farcinica IFM 10152 株は、シデロフォアであるノコバクチンを生産し、鉄イオンを獲得している。そこでノコバクチン生合成遺伝子（*nbt*遺伝子）の発現量を、鉄イオン濃度の高い状態と低い状態で定量PCR法によって確認した。その結果、鉄イオン濃度が低い状態で、*nbt*遺伝子の発現量が優位に上昇していることが判明した。したがって、ノカルジアは外界の微量な鉄イオンを効率的に獲得するために、鉄イオン濃度が低い状態において*nbt*遺伝子を大量に発現させ、ノコバクチンを生産していることが明らかになった。

［星野泰隆、石川　淳］

（5）ノカルジアのマクロファージへの細胞傷害関連因子の探索

マクロファージへ細胞傷害性を示す*Nocardia farcinica* IFM 10152 野生株と細胞傷害性を示さない *nbtE* 遺伝子破壊株をそれぞれ J774A.1 細胞に感染させた時の宿主細胞の遺伝子発現変化をマイクロアレイにより解析した結果、野生株と遺伝子破壊株感染時の遺伝子発現に有意差を認めた。特に 121 遺伝子が細胞接着関連遺伝子だったため、定量的 RT-PCR を行なったところ、感染 3 時間で Ncam-1 を含む接着関連遺伝子の発現変化が認められた結果から、ノカルジアの誘導する細胞傷害性のシグナルの１つとして、感染初期に細胞接着分子の遺伝子発現変化を介するメカニズムの存在が示唆され、創薬ターゲットのひとつとなる可能性が考えられた。

［石野敬子、関野山涼介、石川　淳］

２．薬剤耐性機構に関する研究

（1）　リファンピシンモノオキシゲナーゼの構造解析

Nocardia farcinica IFM 10152 株のリファンピシン不活化酵素であるリファンピシンモノオキシゲナーゼに関して、リファマイシン系化合物に対する反応機構の解明を進めるために、本酵素を大腸菌にて発現させ、種々の条件で結晶化を行った。今後、詳細な解析により本酵素の立体構造からリファマイシン系化合物に対する反応機構の解明を進める。

［星野泰隆、額賀路嘉（城西国際大）、石川　淳］

（2）　*Nocardia farcinica* のアミノグリコシドリン酸化酵素の解析

N. farcinica IFM 10152 株のゲノム解析により見出された 3 種のアミノグリコシドリン酸化酵素遺伝子（*nfa31340*、*nfa38480* および *nfa38620*）を大腸菌に発現させ、His タグ融合タンパクとして精製した結果、3 種ともにアミノグリコシドのリン酸化活性を有することが確認され、これらの遺伝子がアミノグリコシドリン酸化酵素をコードすることが生化学的にも証明された。

［石川　淳、藤井匠子］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1)　Miyazaki T, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Roles of calcineurin and Crz1 in antifungal susceptibility and virulence of *Candida glabrata*. Antimicrob Agents Chemother. 54:1639-1643, 2010.

2)　Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y, Miura NN, Ohno N, Ishida-Okawara A, Murata H, Naoe S, Suzuki K. Administration of human immunoglobulin suppresses development of murine systemic vasculitis induced with *Candida albicans* water-soluble fraction: an animal model of Kawasaki disease. Mod Rheumatol. 20:160-167, 2010.

3)　Miyazaki T, Inamine T, Yamauchi S, Nagayoshi Y, Saijo T, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Role of the Slt2 mitogen-activated protein kinase pathway in cell wall integrity and virulence in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 10:343-352, 2010.

4)　Kinjo Y, Pei B. Glycolipid antigen-mediated invariant NKT cell activation in microbial immunity. Curr Immunol Rev. 6:116-122, 2010.

5)　Kaneko Y, Ohno H, Fukazawa H, Murakami Y, Imamura Y, Kohno S, Miyazaki Y. Anti-*Candida*-biofilm activity of micafungin is attenuated by voriconazole but restored by pharmacological inhibition of Hsp90-related stress

responses. Med Mycol. 48:606-612, 2010.

6) Kogure T, Shimada R, Ishikawa J, Yazawa K, Brown JM, Mikami Y, Gonoi T. Homozygous triplicate mutations in three 16S rRNA genes responsible for high-level aminoglycoside resistance in Nocardia farcinica clinical isolates from a Canada-wide bovine mastitis epizootic. Antimicrob Agents Chemother. 54:2385-2390, 2010.

7) Kaneko Y, Ohno H, Kohno S, Miyazaki Y. Micafungin alters the expression of genes related to cell wall integrity in *Candida albicans* biofilms. Jpn J Infect Dis. 63:355-357, 2010.

8) Kohno S, Izumikawa K, Ogawa K, Kurashima A, Okimoto N, Amitani R, Kakeya H, Niki Y, Miyazaki Y. Japan Chronic Pulmonary Aspergillosis Study Group (JCPASG). Intravenous micafungin versus voriconazole for chronic pulmonary aspergillosis: a multicenter trial in Japan. J Infect. 61:410-418, 2010.

9) Dang MH, Kato H, Ueshiba H, Omori-Miyake M, Yamagoe S, Ando K, Imanishi K, Arimura Y, Haruta I, Kotani T, Ozaki M, Suzuki K, Uchiyama T, Yagi J. Possible role of LECT2 as an intrinsic regulatory factor in SEA-induced toxicity in d-galactosamine-sensitized mice. Clin Immunol. 137:311-321, 2010.

10) Ichikawa N, Oguchi A, Ikeda H, Ishikawa J, Kitani S, Watanabe Y, Nakamura N, Katano Y, Kishi E, Sasagawa M, Ankai A, Fukui S, Hashimoto Y, Kamata S, Otoguro M, Tanikawa S, Nihira T, Horinouchi S, Ohnishi Y, Hayakawa M, Kuzuyama T, Arisawa A, Nomoto F, Miura H, Takahashi Y, Fujita N. Genome sequence of *Kitasatospora setae* NBRC 14216T: an evolutionary snapshot of the family Streptomycetaceae. DNA Res. 17:393-406, 2010.

11) Nagi M, Nakayama H, Tanabe K, Bard M, Aoyama T, Okano M, Higashi S, Ueno K, Chibana H, Niimi M, Yamagoe S, Umeyama T, Kajiwara S, Ohno H, Miyazaki Y. Transcription factors *CgUPC2A* and *CgUPC2B* regulate ergosterol biosynthetic genes in *Candida glabrata*. Genes Cells. 16:80-89, 2011.

12) Hoshino Y, Chiba K, Ishino K, Fukai T, Igarashi Y, Yazawa K, Mikami Y, Ishikawa J. Identification of nocobactin NA Biosynthetic Gene Clusters in *Nocardia farcinica*. J Bacteriol. 193:441-448, 2011.

2. 和文発表

1) 金子幸弘, 宮﨑義継. 特集・抗真菌薬の基礎と臨床－今日の考え方－ 1．アゾール系抗真菌薬－その基礎－. 化学療法の領域. 26:540-551, 2010.

2) 金子幸弘, 宮﨑義継. 連載企画・感染対策 真菌感染症に必要な抗菌薬対策～注意すべき真菌症とその治療～ . 難病と在宅ケア. 16:62-65, 2010.

3) 金城雄樹. 特集Ⅱ/自然免疫と呼吸器疾患 NKT 細胞と呼吸器疾患. 炎症と免疫. 18:366-371, 2010.

4) 金子幸弘, 宮﨑義継. 呼吸器感染症に向かう臨床医の決断力－なぜこの治療薬でいくか. 新規治療薬の展望 2)抗真菌薬. 感染と抗菌薬. 13:377-383, 2010.

5) 乾 佐知子, 中村竜也, 田辺公一, 大野秀明, 小池千裕, 奥田和之, 中田千代, 藤本弘子, 大倉ひろ枝, 宮﨑義継, 高橋伯夫. FKS2 遺伝子内変異による Micafungin 低感受性 *Candida glabrata* が検出された 1 例. 感染症誌. 85:49-53, 2011.

6) 樽本憲人, 金城雄樹, 宮﨑義継. 旅行者真菌症. 臨床と微生物. 38:167-172, 2011.

7) 金子幸弘, 宮﨑義継. ◇基礎編◇II 各論 11 耐性真菌：*Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*. 一山 智・山口惠三監修, 飯沼由嗣・舘田一博編. 感染症診療の基礎と臨床～耐性菌の制御に向けて～. p123-134, 2010 年, 医薬ジャーナル社, 大阪.

8) 宮﨑義継. 深在性真菌症の診断と治療の進歩－現在の標準とは. 平潟洋一編. 別冊・医学のあゆみ 感染症と感染制御 Update－診断・治療から地域ネットワークまで. p59-62, 2010 年, 医歯薬出版株式会社, 東京.

9) 金子幸弘, 宮﨑義継. 5 カンジダによる各臓器感染症の推奨治療と予防 3) 慢性播種性カンジダ症の治療. 河野 茂編. 米国感染症学会 IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE～2008-2010 年のアスペルギルス, カンジダ, クリプトコックス IDSA GL 改訂版を踏まえて. p145-150, 2010 年, 医薬ジャーナル社, 大阪.

10) 金子幸弘, 宮﨑義継. 慢性播種性カンジダ症の治療. 河野 茂編. 米国感染症学会 IDSA ガイドライン 真菌症治療の

UP-TO-DATE～2008-2010 年のアスペルギルス，カンジダ，クリプトコックス IDSA GL 改訂版を踏まえて．p145-150，2010 年，医薬ジャーナル社，大阪.

11) 大野秀明．カンジダ属による心血管系感染の治療．河野 茂編．米国感染症学会 IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE～2008-2010 年のアスペルギルス，カンジダ，クリプトコックス IDSA GL 改訂版を踏まえて．p163-168，2010 年，医薬ジャーナル社，大阪.

12) 樽本憲人，宮﨑義継，賀来満夫.V．感染症検査．真菌．真菌薬剤感受性試験（酵母様真菌薬剤感受性試験）．中原一彦監修．パーフェクトガイド検査値事典．p491，2011 年，総合医学社，東京.

13) 宮﨑義継，賀来満夫.V．感染症検査．真菌．アスペルギルス（アスペルギルス抗原、アスペルギルス抗体）．パーフェクトガイド検査値事典．p488，2011 年，総合医学社，東京.

14) 金子幸弘，宮﨑義継，賀来満夫.V．感染症検査．真菌．真菌関連遺伝子検査．中原一彦監修．パーフェクトガイド検査値事典．p492，2011 年，総合医学社，東京.

15) 金子幸弘，宮﨑義継，賀来満夫.V．感染症検査．真菌．クリプトコックス グルクロノキシロマンナン抗原．中原一彦監修．パーフェクトガイド検査値事典．p490，2011 年，総合医学社，東京.

16) 金子幸弘，宮﨑義継，賀来満夫.V．感染症検査．真菌．カンジダ抗原．中原一彦監修．パーフェクトガイド検査値事典．p489，2011 年，総合医学社，東京.

17) 大野秀明.コンサルテーション 2．喀痰の抗酸菌検査についての質問．前﨑繁文・大曲貴夫編．臨床感染症ブックレット．p136-137，2011 年，文光堂，東京.

18) 大野秀明.セミナー7．結核菌検査の進め方．前﨑繁文・大曲貴夫編．臨床感染症ブックレット．p37-42，2011 年，文光堂，東京.

19) 樽本憲人，前崎繁文，宮﨑義継.III 誤嚥性肺炎以外の高齢者肺炎 6．肺真菌症・サイトメガロウイルス感染症．松本慶蔵総監修・佐々木英忠・福地義之助監修，山谷睦雄編．高齢者の肺炎 治療・リハビリテーション・予防．p211-217，2011 年，医薬ジャーナル社，大阪.

20) 掛屋 弘，金子幸弘，亀井克彦，渋谷和俊，宮﨑義継，若山恵，渡辺 哲.輸入真菌症の診断・治療指針．亀井克彦・渋谷和俊・宮﨑義継編．輸入真菌症の診断・治療指針．2011 年，協和企画，東京.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1) Kaneko Y, Ohno H, Kohno S, Miyazaki Y. Voriconazole and micafungin induce chitin synthesis genes and reduce chitinase genes in *Candida* biofilms. 110th General Meeting of the American Society for Microbiology. May 24-27, 2010, San Francisco, USA.

2) Ohno H. Current status and laboratory examination of tuberculosis in Japan. Workshop on biosafety and achievements of JICA-NIHE project. June, 2010, Hanoi, Vietnam.

3) Kaneko Y, Miyazaki Y. Current researches of National Institute of Infectious Diseases. 125th SPbMAPS' Anniversary Joint Conference on Biomedical Sciences. June 10, 2010, Saint Peterburg, Russia.

4) Kinjo Y, Illarionov PA, Pei B, Vela JL, Girardi E, Li XJ, Li Y, Kawakami K, Besra GS, Tsuji M, Zajonc DM, Kronenberg M. Invariant NKT cells detect pathogenic Gram-positive bacteria. 14th International Congress of Immunology. August 22-27, 2010, Kobe.

5) Miyazaki Y. Current Approaches for Traveler's Invasive Fungal Infectious Diseases in NIID. The 7th Taiwan-Japan Symposium on Immunization and Travel Medicine. September 9-10, 2010, Taipei, Taiwan.

6) Cannon RD, Niimi K, Woods M, Hirai A, Umeyama T, Hatakenaka K, Maki K, Lamping E, Niimi M, Monk BC. Echinocandin Resistance in *Candida* Species. IADR Australian/New Zealand Division Golden Jubilee Meeting. September 27-29, 2010, New South Wales, Australia.

7) Miyazaki Y. Management of pulmonary fungal infectious diseases in Japan. 4th 301hospital Respiration Summit Symposium. October 23-24, 2010, Beijing, China.

8) Treepradab N, Pojana S, Piyawan T, Prasit T, Tanabe K, Ohno H, Miyazaki Y. Detection of *Histoplasma capsulatum* in soil contaminated with bat guano by nested PCR. 12th Western

Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases. December 2-5, 2010, Sigapore, Singapore.

9) Ohno H, Tanabe K, Kaneko Y, Umeyama T, Yamagoe S, Miyazaki Y. Evaluation of two-stage PCR for diagnosis of Histoplasmosis. 12th Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases. December 2-5, 2010, Singapore, Singapore.

10) Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y. Antifungal agents alter the expression of genes related to antifungal resistance in *Candida* biofilms. Biofilms in Nosocomial Fungal Infections, ESCMID Postgraduate Education Course. January 31-February 1, 2011, Paris, France.

2. 国内学会

1) 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida glabrata* のステロール取り込みと病原性の関係. 第84回日本感染症学会総会. 4月5-6日, 2010年, 京都.

2) 金子幸弘, 大野秀明, 河野 茂, 宮﨑義継. *Candida albicans* の抗真菌薬治療抵抗性とHsp90関連ストレス応答. 第84回感染症学会総会. 4月5-6日, 2010年, 京都.

3) 大野秀明. レクチャー3 呼吸器感染症の ABC 3. 肺抗酸菌症. 第58回日本化学療法学会総会. 6月2-4日, 2010年, 長崎.

4) 金子幸弘, 今村圭文, 大野秀明, 宮﨑義継, 河野 茂. *Candida albicans* の biofilm に対する抗真菌薬の拮抗作用に関連したHsp90関連ストレス応答に関する検討. 第58回日本化学療法学会総会. 6月2-4日, 2010年, 長崎.

5) 樽本憲人, 金城雄樹, 山越 智, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida albicans* の細胞壁分泌蛋白抗体による in vitro 増殖抑制効果の検討. 第58回日本化学療法学会総会. 6月2-4日, 2010年, 長崎.

6) 宮﨑義継. シンポジウム8 臨床まで到達するか 「 4) ポサコナゾール」. 第58回日本化学療法学会総会. 6月2-4日, 2010年, 長崎.

7) 宮﨑義継. シンポジウム13 深在性真菌症最近の話題「真菌症の診断の現況と望まれる新しい診断法」. 第58回日本化学療法学会総会. 6月2-4日, 2010年, 長崎.

8) 金城雄樹, Petr A. Illarionov, 川原一芳, Mitchell Kronenberg. 自然リンパ球による細菌糖脂質の認識. 第19回内毒素・LPS研究会. 6月26日, 2010年, 横浜.

9) 田辺公一, 名木 稔, 山越 智, 大野秀明, 宮﨑義継. 病原真菌 ABC タンパク質と機能阻害物質との相互作用部位の検討. 第58回日本化学療法学会総会. 6月2-4日, 2010年, 長崎.

10) 金城雄樹, Petr A. Illarionov, Jose Luis Vela, Bo Pei, 川上和義, Mitchell Kronenberg. シンポジウム「細菌由来 iNKT 細胞リガンド」. 第 21 回日本生体防御学会学術総会. 7 月 22-24 日, 2010 年, 仙台.

11) 樽本憲人, 金城雄樹, 大川原明子, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮﨑義継. 播種性カンジダ症マウスモデルにおける糖脂質投与の影響. 第21回日本生体防御学会学術総会. 7月22-24日, 2010年, 仙台.

12) 阿部 譲, 笛 未崎, 石井恵子, 金城雄樹, 仲川清隆, 宮澤陽夫, 川上和義. *Cryptococcus neoformans* による CD1d に依存したNKT細胞の活性化とその脂質画分の解析. 第21回日本生体防御学会学術総会. 7月22-24日, 2010年, 仙台.

13) 石川 淳. 次世代シークエンサーによる *Micromonospora griseorubida* のゲノム解析. 2010年度日本放線菌学会大会. 9月2-3日, 2010年, 東京.

14) 宮﨑義継, 山越 智, 金子幸弘, 福田惠子, 田辺公一, 梅山隆, 大野秀明, 金城雄樹. 真菌感染局所におけるヒト線維芽細胞の炎症への影響と線維化要因についての検討. 第54回日本医真菌学会総会. 10月16-17日, 2010年, 東京.

15) 若山 恵, 大久保陽一郎, 篠崎 稔, 中山晴雄, 蜜田亜季, 大野秀明, 宮﨑義継, 中谷行雄, 亀井克彦, 渋谷和俊. In situ hybridization を用いたヒトヒストプラスマ症の組織診断の検討. 第54回日本医真菌学会総会. 10月16-17日, 2010年, 東京.

16) 高園貴弘, 泉川公一, 行徳 宏, 池田直樹, 神田哲郎, 宮崎泰可, 関 雅文, 掛屋 弘, 山本善裕, 栁原克紀, 大野秀明, 矢口貴志, 宮﨑義継, 亀井克彦, 河野 茂. 軽症の糖尿病患者に発症した *Aspergillus udagawae* による気管支アスペルギルス症の1例. 第54回日本医真菌学会総会. 10月16-17日, 2010年, 東京.

17) 山越 智, 橋本ゆき, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* 分泌蛋白質 Y-1 を標的としたELISA検出系の構築と病原性の検討. 第54回日本医真菌学会総会. 10月16-17日, 2010年, 東京.

18) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. 抗真菌薬投与下における

Candida バイオフィルムのキチン合成・分解酵素遺伝子発現調節. 第54回日本医真菌学会総会. 10月16-17日, 2010年, 東京.

19) 星野泰隆. 新しい抗生物質の探索研究. 第 54 回日本医真菌学会総会. 10月16-17日, 2010年, 東京.

20) 宮﨑義継, 山越 智, 金子幸弘, 金城雄樹, 大野秀明. 感染局所におけるヒト線維芽細胞の線維化と炎症への役割. 第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第57回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会. 10月21-22日, 2010年, 東京.

21) 筋野恵介, 樽本憲人, 山口敏行, 前崎繁文, 大野秀明, 宮﨑義継. ミカファンギン低感受性 *Candida famata* および *fermentati* 血症の3例. 第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第57回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会. 10月21-22日, 2010年, 東京.

22) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. タイにおける自然環境からの*Histoplasma capsulatum*の検出に関する検討. 第59回日本感染症学会東日本地方会・第57回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会. 10月21-22日, 2010年, 東京.

23) 深澤秀輔, 鈴木哲郎, 脇田隆字, 村上裕子. C 型肝炎ウイルス (HCV) に阻害作用を示す物質の探索. 第58回日本ウイルス学会学術集会. 11月7-9日, 2010年, 徳島.

24) 山越 智, 岡部智也, 梶川益紀, 梅山 隆, 田辺公一, 橋本ゆき, 石川 淳, 大野秀明, 宮﨑義継. SST-REX 法による病原酵母・糸状菌の細胞表層および分泌蛋白質の網羅的解析. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会. 12月7-10日, 2010年, 神戸.

25) 名木 稔, 田辺公一, 中山晴雄, 山越 智, 梅山 隆, 大浦隆弘, 梶原 将, 大野秀明, 宮﨑義継. Substrate specificity and transcriptional regulation of a sterol transporter in *Candida glabrata*. BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会. 12月7-10日, 2010年, 神戸.

26) 田辺公一, 名木 稔, 中山晴雄, Martin Bard, 青山俊弘, 新見昌一, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. Transcription factors CgUPC2A and CgUPC2B regulate ergosterol biosynthetic genes in *Candida glabrata*. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会. 12月7-10日, 2010年, 神戸.

27) 梅山 隆, 大野秀明, 棚町千代子, 橋本好司, 佐川公矯, 田辺公一, 山越 智, 宮﨑義継. 福岡県筑後地区周辺におけるクリプトコックス症多発発生例の疫学的検討. 第 22 回日本臨床微生物学会総会. 1月8-9日, 2011年, 岡山.

28) 山越 智, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 橋本ゆき, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の細胞外蛋白質遺伝子の網羅的スクリーニングにより同定された分泌蛋白質 B-11 およびそのホモログの病原性への関与. 真菌症フォーラム第12回学術集会. 2月5日, 2011年, 東京.

29) 宮﨑義継, 山越 智, 金子幸弘, 福田惠子, 田辺公一, 梅山隆, 宮﨑治子, 松本哲哉, 大野秀明, 金城雄樹. 真菌感染の炎症局所における線維化要因についての検討. 第 12 回真菌症フォーラム第12回学術集会. 2月5日, 2011年, 東京.

30) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. ホモセリンラクトナーゼ aiiM による緑膿菌の病原性制御. 第 45 回緑膿菌感染症研究会. 2月4-5日, 2011年, 仙台.

31) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. ヒストプラスマ症の診断における臨床検体を対象とした2段階PCR法の有用性評価 . 真菌症フォーラム第12回学術集会. 2月5日, 2011年, 東京.

32) 細萱直希, 行徳 宏, 田代将人, 高園貴弘, 森永芳智, 宮﨑泰可, 関 雅文, 泉川公一, 掛屋 弘, 山本善裕, 栁原克紀, 池田直樹, 矢口貴志, 大野秀明, 宮﨑義継, 神田哲郎, 亀井克彦, 河野 茂. *Aspergillus udagawae* による気管支肺アスペルギルス症の1例報告と基礎的検討. 真菌症フォーラム第12回学術集会. 2月5日, 2011年, 東京.

33) 深澤秀輔. 細胞を使ったキナーゼ阻害活性評価. 文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動キックオフシンポジウム. 3 月 9 日, 2011年, 京都.

34) 梅山 隆. 新しい抗真菌薬の開発は本当に必要なのか?. 日本農芸化学会2011年度大会. 3月25-28日, 2011年, 京都.

35) 深澤秀輔, 外西紗梨. 3 種の cis-enone resorcylic acid lactones (hypothemycin, L-783,277, 5Z-7-oxozeaenol)のプロテインキナーゼ選択性. 日本薬学会 第 131 年会. 3 月28-31日, 2011年, 静岡.

36) 石野敬子、渋谷健太、星野泰隆、石川淳. 病原性放線菌ノカルジア ltsA 遺伝子産物の機能解析. 日本薬学会 第131年会, 3月28-31日, 2011年, 静岡.

37) 宮﨑義継, 梅山 隆, 田辺公一, 大野秀明. ヒストプラスマ等のアウトブレイク型真菌症への対策. 衛生微生物技術協議会第３１回研究会. 5月26日, 2010年, 鹿児島.

38) 宮﨑義継. 院内感染対策としての深在性真菌症への対応. 感染制御症例カンファランス（ICD認定用講習会）. 6月12日, 2010年, 久留米.

39) 大野秀明. 自然環境と深在性真菌症－地域流行型真菌症も含めて－. 第8回三菱化学メディエンスFORUM’10. 7月3日, 2010年, 東京.

40) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. アスペルギルス症の病原性に関する基盤研究. 第 31 回関東医真菌懇話会. 7月3日, 2010年, 東京.

41) 山越 智, 橋本ゆき, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* 分泌蛋白質を標的にしたサンドイッチELISA法によるアスペギルス症診断系の構築. 第31回関東医真菌懇話会. 7月3日, 2010年, 東京.

42) 金城雄樹. 平成 22 年度日本生体防御学会奨励賞受賞講演「細菌及び真菌感染防御における NKT 細胞の役割の解明」. 第21回日本生体防御学会学術総会. 7月23日, 2010年, 仙台.

43) 宮﨑義継. 国立感染症研究所の真菌症研究. 第 21 回九州深在性真菌症研究会. 8月21日, 2010年, 佐賀.

44) 宮﨑義継. 普通のカビが起こすいろいろな病気. 第 21 回感染研市民セミナー「くらしに役立つ病気の知識」. 9月25日, 2010年, 東京.

45) 大野秀明. ガイドラインをふまえた中枢神経系真菌感染症の治療法. 第17回新潟神経疾患研究会. 9月9日, 2010年, 新潟.

46) 宮﨑義継. 診療上注意すべき真菌症. 第5回北部福岡感染症研究会. 1月12日, 2011年, 北九州.

47) 星野泰隆, 石川 淳. 微生物のゲノムにおける二次代謝産物生合成遺伝子情報の利用. 文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究」(平成22～26年度) 生合成マシナリー:生物活性物質構造多様性創出システムの解明と制御 第 1 回公開シンポジウム. 1月8日, 2011年, 東京.

48) 大野秀明. 集団感染が問題となった侵襲性真菌症. 平成22年度希少感染症診断技術研修会. 2月24-25日, 2011年, 東京.

１０.細胞化学部

部長　花田賢太郎

概　要

細胞化学部の設置目的は､｢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主に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。また､伝達性海綿状脳症(TSE)検査に関する調査・研究も行っている。本年度の研究・業務の概略を以下に記載する。

プリオン病に関する研究では、非定型ウシ海綿状脳症プリオン(L-BSE プリオン)は従来型 BSE プリオン(C-BSE プリオン)とは異なり近交系マウスへの伝播が困難であることを長期経過観察から明らかにした。一方、C-BSE プリオンはマウスへ伝播可能であり、3 代目伝播を経てマウス馴化株を感染研リソースとして得た。また､C-BSE プリオンをカニクイザルへ脳内接種したところ、ヒト変異型クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD)患者脳と共通した異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})の糖鎖型や花弁状沈着などが認められ、モデルとしての有用性が確認できた。さらに、神経細胞で内在性の正常型プリオン蛋白質(PrP^{C})が関わると考えられる情報伝達系の解析や PrP^{Sc} とドミナントネガティブ効果を有する変異体プリオン蛋白質との相互作用の解析を行った。

オートファジーは飢餓に対応するための重要な細胞機能であり、真核細胞に普遍的に備わっていると考えられている。オートファジーは細胞内寄生細菌の排除に関わることもあれば、病原体によってはこの機能を利用するものもある。培養細胞を用いた C 型肝炎ウイルス(HCV)増殖系において、オートファジーを誘導あるいは阻害する薬剤により HCV 増殖が著しく変化することを見出した。

病原体と宿主細胞脂質との関連を解明する研究も従来より継続している。HCV ライフサイクルの中で、少なくともウイルス蛋白質産生から RNA 複製に至るまでに、コレステロール（またはその代謝物）を必要とする過程があることを明らかにした。HCV-Core 蛋白質がホスファチジルイノシトール 3,4-二リン酸（PI-3,4-P2）と結合すること、PI-3,4-P2 産生酵素であるホスファチジルイノシトール 3-キナーゼの発現阻害が HCV の細胞内における増殖を抑制することを見出した。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。過剰発現により Gb3 の発現を低下させる分子として GRINA の C 末端断片(GRINA-C)及びそのホモログ(TMBIM ファミリー)を同定しており、その後の解析から、GRINA-C の過剰発現によりトランスゴルジネットワークマーカー(TGN46) 及び TGN 酵素である Gb3 合成酵素の分布が影響を受けることが明らかとなった。また、偏性寄生細菌 Chlamydia trachomatis の宿主細胞内増殖において、スフィンゴミエリンの前駆体であるセラミドを小胞体からゴルジ体へと非小胞機構によって輸送する分子 CERT が重要な役割をしていることを見出した。

伝達性海綿状脳症(TSE)行政検査に関わる品質管理試験や文献調査を行った。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。

業　績

調査・研究

Ⅰ．プリオン病に関する研究

（１）C-BSE プリオンおよび L-BSE プリオンのマウスへの伝播

5 年間にわたり継続した C-BSE および L-BSE(感染研で摘発）プリオンの近交系マウス 3 系統への感染実験を完了した。L-BSE プリオンについては、長期の経過観察にもかかわらず伝播が確認できたマウスは無かった。一方、C-BSE プリオンはマウスへ伝播可能であり､3 代目伝播を経てマウス馴化株を感染研リソースとして得た。このように、両者は先に示された PrP^{Sc} 糖鎖型の相違だけでなく、その病原性も異なるという結論を得た。[萩原健一、山河芳夫、原英之、中村優子；佐藤由子、佐多徹太郎（感染病理部)]

（２）vCJD の霊長類モデルの研究

vCJD モデルの確立とそれを用いた病態解析、ヒトからヒトへの 2 次感染のリスク解析を目的として、C-BSE プ

リオンをカニクイザルへ脳内接種した。人道的エンドポイントにより安楽殺に処した個体の脳には、vCJD 患者脳と共通した PrP^{Sc} の糖鎖型や花弁状沈着などが認められ、モデルとしての有用性が確認できた。一方、畜産物を介するヒトへの感染モデルである経口投与群では、現在までに発症の兆候は認められていない。[山河芳夫、萩原健一；小野史子（予防衛生協会）；柴田宏昭、寺尾恵司（医薬基盤研）；黒澤明日香、佐藤由子、飛梅実、佐多徹太郎（感染病理部）]

（３）PrP^{C} の機能に関する研究

PrP^{C} の神経細胞における機能を明らかにするため、PrP^{C} ノックアウトマウスおよびジブチリル cAMP で分化を誘導したニューロブラストーマ N2a 細胞を用い解析を行った。まず、ノックアウトマウスおよび PrP^{C} をノックダウンした N2a 細胞で synapsin-I Ser^{553} のリン酸化が増加することが明らかとなった。さらに PrP^{C} ノックダウンによる Cdk5 および p35 の活性化も明らかになった。以上より、PrP^{C} が Cdk5 シグナル伝達系の上流に位置し、Cdk5/p35 の活性および synapsin-I のリン酸化を制御していることが示唆された。[中村優子、原英之、萩原健一]

（４）PrP^{C}→PrP^{Sc} 構造変換を調節する新規プリオン蛋白質ドメインの解析

マウス PrP^{C} の Lys^{100}、Ser^{102}、Lys^{103}、Pro^{104} をアラニンに置換した変異体は、プリオン持続感染細胞 ScN2a に強制発現させても proteinase K 抵抗性の PrP^{Sc} に変換されなく、さらにドミナントネガティブ効果をも有していることはこれまでに報告した。今年度は、構造変換機構の解明を行ったところ、これらの変異体は PrP^{Sc} と共沈すること、この部位を認識する抗体には抗プリオン効果が認められることを明らかにした。［原英之、中村優子、萩原健一］

（５）PrP^{Sc} の糖鎖修飾部位の解析

PrP^{C} および PrP^{Sc} には推定される N 型糖鎖付加部位が 2 ヶ所あり、二糖鎖型、一糖鎖型および無糖鎖型が混在している。C-BSE において検出される PrP^{Sc} は二糖鎖型が多いが、L-BSE においては一糖鎖型が多いという特徴がある。この一糖鎖型において糖鎖修飾が 2 ヶ所の修飾部位のうちのいずれかに偏っているかは明らかにされていないが、病態と関連する可能性があり興味深い。本年度は、糖鎖修飾の程度を定量する方法を確立するため、モデル蛋白質を用いて糖鎖付加部位のアミノ酸を選択的に安定同位体標識し定量的に解析する系を構築した。[大内史子、山河芳夫、萩原健一]

（６）プリオン感染の新規バイオマーカーの探索

プリオン（Obihiro I株）接種後120日目において、非接種マウスと比べて顕著に発現量が増加している蛋白質を2次元電気泳動により探索した。その結果、分子量約50 kDaの複数の未知蛋白質のスポットを確認した。これらは、プリオン感染の新規マーカーの候補として期待できることから、質量分析法により同定を試みた。今回の解析では、約半数のスポットがGFAPと同定できた。残り半数はシグナルが弱く、GFAPの強いスポットに埋没していることなどが障害となり同定に至っていないが、現在、前処理の至適条件を検討中である。［原英之、大内史子、萩原健一、山河芳夫］

II. オートファジーに関わる研究

（１）C型肝炎ウイルス(HCV)粒子産生におけるオートファジーの関与

オートファジーを誘導する制御因子が HCV 産生に影響するかどうかを解析している。オートファジーを誘導あるいは阻害する薬剤による影響を見ているが、薬剤によって、著しく増殖が変化するものが見つかってきている。今後、将来的な応用研究へ向けた分子機序を解析していく。[谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス第二部)]

（２）カフェイン誘導性オートファジーによるアポトーシスの研究

カフェインにより、オートファジーを制御している経路の一つである PI3K/Akt/mTOR/S6K 経路が阻害され、それによりオートファジーが誘導され、その結果、アポトーシスがおこることを示した。[谷田以誠；斉木臣二、佐藤栄人、石川景、服部信孝（順天堂大)]

III. C型肝炎ウイルス(HCV)に関わる研究

（１）HCV に非感染性の Huh7.5.1 細胞変異株の性状解析

HCV に感染できない宿主肝細胞変異株の分離・性状解析を昨年度に引き続き行った。タイトジャンクション分子の細胞内局在に異常が見られた変異株の１つについて詳細な性状解析を行ったところ MPDZ 分子の欠損が見られることが明らかとなった。siRNA 導入実験によっても MPDZ 発現抑制により HCV 感染が有意に低下することが示された。[深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス第二部)；西島正弘(医薬品食品衛生研)；鈴木哲朗(浜松医大)]

（２）HCV 感染における創薬標的としての claudin 1 の

重要性

昨年度までの claudin 1 欠損宿主細胞株の研究等により、HCV 感染に claudin 1 が必須であることがわかった。claudin 1 細胞外第 1 ループドメインに対するウサギポリクローナル抗体を作成し HCV 感染に対する効果を検討した結果、感染が有意に低下することが明らかとなった。以上より HCV 感染に対する創薬標的として宿主の claudin 1 が候補となりうることが強く示唆された。[深澤征義、花田賢太郎；西島正弘(医薬品食品衛生研)；脇田隆字（ウイルス第二部)；鈴木哲朗(浜松医大)]

（３）高感染性 HCV-JFH1 亜株の性状解析

分離した高感染能を有する HCV-JFH1 株由来適応変異株（K74T/I414T）の性状解析をさらに行った。野生株と適応変異株でウイルスゲノムを宿主細胞に人工的に導入した場合にはウイルス産生量に大きな差は見られなかったが、形成されたウイルスの感染能は適応変異株で 1000 倍ほど上昇していた。このことから適応変異株では少なくともウイルス侵入過程が亢進していることが考えられた。この結果は、HCV シュードウイルスを用いた解析でも支持された。[深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；村上裕子、深澤秀輔(生物活性物質部)；脇田隆字（ウイルス第二部)；鈴木哲朗(浜松医大)]

（４）Squalene synthase を標的とした HCV 産生阻害

我々はこれまでに、コレステロール生合成に必須である squalene synthase（SQS）の阻害剤、YM-53601 が、培養細胞における HCV 産生を阻害することを見出している。ヒト肝がん由来 Huh7.5.1 細胞に HCV RNA をエレクトロポレーションで導入後、YM-53601 を添加したところ、RNA 複製に依存するウイルス蛋白質の産生が阻害された。従って、HCV ライフサイクルの中で、少なくともウイルス蛋白質産生から RNA 複製に至るまでに、コレステロール（またはその代謝物）を必要とする過程があると考えられた。また、別の SQS 阻害剤、zaragozic acid A について、培養細胞での HCV 産生に対する効果を見たところ、YM-53601 と同様の抗 HCV 効果があった。従って、SQS 阻害剤は抗 HCV 薬の候補になり得る可能性が考えられた。[齊藤恭子、花田賢太郎、深澤征義；鈴木哲朗、相崎英樹、脇田隆字（ウイルス第二部)；西島正弘（医薬品食品衛生研）]

（５）HCV NS4B 蛋白質結合蛋白質の解析

HCVのNS4B蛋白質は、ウイルスの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。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。HAタグ標識NS4B蛋白質発現細胞を用いてin vivo クロスリンキングを行い、細胞ライセートを抗HA抗体で免疫沈降する方法によりNS4Bと相互作用する蛋白質の探索を行った。その結果、分子量約80 kDa、60 kDa、55 kDaの複合体を見出した。これらの複合体のうち、NS4B（27 kDa）のホモオリゴマーに相当しない分子量であるのは60 kDaの複合体であり、これにはNS4B結合蛋白質が含まれている可能性が考えられた。今後は60 kDa複合体の精製を行い、NS4B結合蛋白質の同定とHCV感染における機能の解析を目指す。[齊藤恭子、深澤征義、大内史子、花田賢太郎]

（６）HCV 産生における宿主 RNA 結合蛋白質の役割

我々は、HCV 感染時に脂肪滴に局在化する因子をプロテオミックに解析し、PABP や IGF2BP 等の幾つかの宿主由来の RNA 結合蛋白質が脂肪滴画分に移行することを明らかにした。免疫染色を行ったところ、これらの RNA 結合蛋白質は実際に HCV 感染に依存して脂肪滴に局在していた。これらの因子の発現量を RNAi によって減少させると、いくつかの因子に関しては HCV の増殖及び産生を促進したことから、HCV 感染に対して抑制的に作用していることが示唆された。[熊谷圭悟、深澤征義、花田賢太郎]

（７）HCV の増殖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。今回我々は HCV-Core 蛋白質がホスファチジルイノシトール 3,4-二リン酸（PI-3,4-P2）と結合すること、PI-3,4-P2 産生酵素であるホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ（クラス２）の発現阻害が HCV の細胞内における増殖を著しく抑制することを見いだし、HCV の増殖に PI-3,4-P2 が必須因子であることを明らかにした。[前濱朝彦、深澤征義、花田賢太郎；伊達朋子、脇田隆字（ウイルス第二部)]

IV. スフィンゴ脂質代謝と病原体に関する研究

（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。以前、過剰発現により Gb3 の発現を低下させる分子として、GRINA の C 末端断片(GRINA-C)及びそのホモログ(TMBIM ファミリー)を同定している。引き続きその作用機構について検討を行ったところ、GRINA-C の過剰発現によりトランスゴルジネットワークマーカー(TGN46) 及び TGN 酵素である Gb3 合成酵素の分布が影響を受けることが明らかとなった。以前に明らかにしたこととあわせ、一連の結果は糖転移酵素に関して、mRNA 量に依らない新たな発現制御機

構の可能性が示唆されるのと同時に、TMBIM ファミリーの新たな機能として細胞内輸送・分解に関与する可能性が示唆された。[山地俊之、花田賢太郎；西川喜代孝（同志社大）]

（２）CERT と VAP の相互作用の制御に関する研究

セラミド輸送蛋白質 CERT は小胞体(ER)の膜蛋白質である VAP と結合することにより、ER-Golgi 間のコンタクトサイトにおいて効率よくセラミドを輸送している。従って、CERT と VAP との相互作用を調節することによって、スフィンゴ脂質の合成量を制御できると考えられるが、両者の相互作用を調節するメカニズムが存在するかどうかは明らかになっていなかった。変異 CERT との共免沈実験を行い、昨年度に同定した CERT の新規のリン酸化サイトがリン酸化されると、CERT-VAP 間の相互作用が増強されることが明らかになった。このリン酸化を通じて、スフィンゴ脂質の合成量を制御している可能性がある。[熊谷圭悟、花田賢太郎]

（３）クラミジア増殖における宿主細胞 CERT の重要性

偏性寄生細菌 Chlamydia trachomatis の宿主細胞内増殖において、宿主細胞由来の脂質スフィンゴミエリン(SM)が重要だと考えられてきた。SM は小胞体で合成された後、Brefeldin A (BFA)で阻害を受ける小胞輸送系で他のオルガネラに運ばれることが知られているものの、感染細胞を BFA 処理しても C.trachomatis 増殖には影響がない。CERT は SM 前駆体セラミドを小胞体からゴルジ体へと非小胞機構によって輸送する分子である。今回、CERT が C.trachomatis 増殖に重要な役割をしていることを見出した。[花田賢太郎；Cherilyn A. Elwell, Joanne N. Engel (UCSF, USA)]

V. 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細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇および mTOR の活性化が細胞密度などの環境に影響されることを明らかにした。またこの Ca^{2+}応答が Gq クラスの三量体型 GTP 結合蛋白質および TRP チャネルを介して起きていることを新たに見いだした。[前濱朝彦、花田賢太郎]

行政検査に関わる業務

（１）TSE 行政検査（ウエスタンブロット法による確認検査）の検査プロトコールの確認、感度評価用の内部標準品および抗体等の試薬の品質の適正管理、検査手技の維持を目的として、BSE 陽性ウシの標準試料を用いて検査要項の方法に即してウエスタンブロット分析を行った（H21 年 10 月、H22 年 3 月）。検査手技レベルと検査試薬等が適正に管理されていることを確認し、データを厚生労働省本省へ報告した。[山河芳夫、萩原健一]

（２）TSE 行政検査の外部精度管理を目的とし、食肉衛生検査所で使用されている BSE 検査キット 3 点について、BSE 罹患ウシ検体に対する反応性およびスクレイピー感染マウスの脳乳剤に対する反応性をウシおよびマウスの標準試料を用いて調査し、そのデータを厚生労働省本省へ報告した。[萩原健一；佐多徹太郎（感染病理部)]

（３）食肉の安全にかかる BSE 関連の文献調査

・諸外国におけるBSEに関するリスク評価、・BSE疫学・発生動向とサーベイランス（passive and active)、・屠場摘発例のウシでの病原体の分布、・BSEの実験的伝播（ウシ、マウス、サル）と実験的伝播例での病原体の分布、・BSEのヒトへの伝播例、・vCJDとヒト遺伝多型の問題、・その他(BSE agentの株、非定型BSEなど)の文献を2005-2010年の過去5年間にわたり調査した。調査・要約リストを厚生労働省本省へ報告した。[萩原健一、中村優子、原英之、山河芳夫；飛梅実、黒澤明日香、佐多徹太郎（感染病理部)]

研修業務

（１） 国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム‘プリオン病について’2010.10.25［萩原健一］

その他

（１）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。また、消耗品の交換、機器の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やハードウエアを管理した。主な利用者は、プロテオーム研究に携わる所内（戸山・村山）の研究者であり、利用者には試料の前処理法、機器の操作法、ソフトウエアの使用法の説明・助言を行った。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 5 時間（Voyager-DE STR）および約 57 時間（AXIMA-QIT）であった。[大内史

子、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) Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Hara, H., Tobiume, M., Nishijima, M., Hanada, K., Hagiwara, K.: Identification and structural analysis of C-terminally truncated collapsin response mediator protein-2 in a murine model of prion diseases. Proteome Sci. 8, 53, 2010

2) Sato, Y., Shimonohara, N., Hanaki, K., Goto, M., Yamakawa, Y., Horiuchi, M., Takahashi, H., Sata, T., Nakajima, N.: ImmunoAT method: An initial assessment for the detection of abnormal isoforms of prion protein in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. J. Virol. Methods 165, 261-267, 2010

3) Iwamaru, Y., Imamura, M., Matsuura, Y., Masujin, K., Shimizu, Y., Shu, Y., Kurachi, M., Kasai, K., Murayama, Y., Fukuda, S., Onoe, S., Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Sata, T., Mohri, S., Okada, H., Yokoyama, T.: Accumulation of L-type bovine prions in peripheral nerve tissues. Emerg. Infect. Dis. 16, 1151-1154, 2010

4) Ono, F., Terao, K., Tase, N., Hiyaoka, A., Ohyama, A., Tezuka, Y., Wada, N., Kurosawa, A., Sato, Y., Tobiume, M., Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Sata, T.: Experimental transmission of bovine spongiform encephalopathy (BSE) to cynomolgus macaques, a non-human primate. Jpn. J. Infect. Dis. 64, 50-54, 2011

5) Ono, F., Tase, N., Kurosawa, A., Hiyaoka, A., Ohyama, A., Tezuka, Y., Wada, N., Sato, Y., Tobiume, M., Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Terao, K., Sata, T.: Atypical L-type bovine spongiform encephalopathy (L-BSE) transmission to cynomolgus macaques, a non-human primate. Jpn. J. Infect. Dis. 64, 81-84, 2011

6) Tanaka, M., Hara, H., Nishina, H., Hanada, K., Hagiwara, K., Maehama, T.: An improved method for cell-to-cell transmission of infectious prion. Biochem. Biophys. Res. Commun. 397, 505-508, 2010

7) Saiki, S., Sasazawa, Y., Imamichi, Y., Kawajiri, S., Fujimaki, T., Tanida, I., Kobayashi, H., Sato, F., Sato, S., Ishikawa, K., Imoto, M., Hattori N.: Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition. Autophagy 7, 176-187, 2011

8) Tanida, I., Waguri, S.: Measurement of autophagy in cells and tissues. Methods Mol. Biol. 648, 193-214, 2010

9) Tanida, I.: Autophagy basics. Microbiol Immunol. 55, 1-11, 2011

10) Tanida, I.: Autophagosome Formation and Molecular Mechanism of Autophagy. Antioxid. Redox. Signal. 14, 2201-2214, 2011

11) Rivier, A.S., Castillon, G.A., Michon, L., Fukasawa, M., Romanova-Michaelides, M., Jaensch, N., Hanada, K., Watanabe, R.: Exit of GPI-anchored proteins from the ER differs in yeast and mammalian cells. Traffic 11, 1017-33, 2010

12) Yamaji, T., Nishikawa, K., Hanada, K.: Transmembrane BAX inhibitor motif containing (TMBIM) family proteins perturb a trans-Golgi network enzyme, Gb3 synthase, and reduce Gb3 biosynthesis. J. Biol. Chem. 285, 35505-35518, 2010

13) Sugiki, T., Takahashi, H., Nagasu, M., Hanada, K., Shimada, I.: Real-time assay method of lipid extraction activity. Anal. Biochem. 399, 162-167, 2010

14) Hanada, K.: Intracellular trafficking of ceramide by ceramide transfer protein. Proc. Jpn. Acad. Ser. B 86, 426-437, 2010

15) Tuuf, J., Kjellberg, M.A., Molotkovsky, J.G., Hanada, K., Mattjus, P.: The intermembrane ceramide transport catalyzed by CERT is sensitive to the lipid environment. Biochim. Biophys. Acta 1808, 229-235, 2011

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Okemoto-Nakamura, Y., De. Jesus, J., Yong, W. H., Chiocca, E. A., Kornblum, H. I., Nakano, I.: Characterization of maternal embryonic leucine zipper kinase in cancer stem/progenitor cells, AACR 101st Annual Meeting 2010, 2010.4.17-21, Washington DC, U.S.A.

2) Iwamaru, Y., Fukuda, S., Imamura, M., Matsuura Y., Masujin, K., Murayama, Y., Shimizu, Y., Kasai, K., Onoe, S., Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Sata, T., Mohri, S., Okada, H., Yokoyama, T.: Atypical BSE, Asia-Oceania Symposium on Prion Diseases, 2010.7.24-25, Sapporo, Japan

3) Hara, H., Okemoto-Nakamura, Y., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Hagiwara, K.: Novel PrP epitope modulating

conformational change from PrP^{C} to PrP^{Sc}, PRION 2010, 2010.9.8-11, Salzburg, Austria

4) Ono, F., Yamakawa, Y., Tobiume, M., Sato, Y., Katano, H., Hagiwara, K., Itagaki, I., Hiyaoka, A., Komatuzaki, K., Emoto, Y., Shibata, H., Murayama, Y., Terao, K., Yasutomi, Y., Sata, T.: Transmission of classical and atypical (L-type) bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to *Cynomolgus macaques*, PRION 2010, 2010.9.8-11, Salzburg, Austria

5) Tanida, I., Hanada, K.: Stability of luciferase activity during autophagy, 50th Annual Meeting of American Society of Cell Biology, 2010.12.11-17, Philadelphia, U.S.A.

6) Tanida, I.: Autophagic Mechanism and Production of HCV Particles, World Congress of Virus and Infection-2010, 2010.7.30-8.4, Busan, Korea

7) Tanida, I., Fukasawa, M., Ueno, T., Kominami, E., Wakita, T., Hanada, K.: Autophagy and mTor-signaling in production of infectious HCV-particles、Gordon Research Conferences "Autophay in Stress, Development and Disease", 2010.4.25-30, Barga, Italy

8) Fukasawa, M., Hanada, K., Nishijima, M.: Isolation and characterization of a mammalian cell mutant defective in lipid droplet biogenesis, FASEB Summer Research Conference, Lipid Droplets: Metabolic Consequences of the Storage of Neutral Lipids, 2010.7.25-30. Steamboat, U.S.A.

9) Arnaud, N. M., Dabo, S. J., Mailard, P., Budkowska, A., Kalliampakou, K. I., Mavromara, P., Garcin, D., Hugon, J., Gatignol, A., Shinkai-Ouchi, F., Fukasawa, M., Akazawa, D., Wakita, T., Meurs, E. F.: Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation, 17th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2010.9.10-14, Yokohama, Japan

10) Saito, K., Suzuki, T., Aizaki, H., Hanada, K., Wakita, T., Nishijima, M., Fukasawa, M.: Inhibition of cellular squalene synthase impairs hepatitis C virus proliferation in cultured cells. 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2010.9.10-14, Yokohama, Japan

11) Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Chiba, J., Fukasawa, M.: Isolation of highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations in hepatic cell culture system, The 50th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, 2010.12.11-15, Philadelphia, U.S.A.

12) Yamaji, T., Nishikawa, K., and Hanada, K.: Globotriaosylceramide (Gb3) is reduced by the expression of hydrophobic polypeptides including TMBIM family: Isolation of Shiga toxin-resistant genes. The 27th Naito Conference on Membrane Dynamics and Lipid Biology [I], 2010.7.1, Sapporo, Japan

13) Yamaji, T., Nishikawa, K., and Hanada, K.: Globotriaosylceramide (Gb3) is reduced by the expression of hydrophobic polypeptides including TMBIM family: Isolation of Shiga toxin-resistant genes. The 28th Naito Conference on Glycan Expression and Regulation [I], 2010.7.29, Kanagawa, Japan

14) Hanada, K.: CERT-dependent trafficking of ceramide, The 27th Naito Conference on Membrane Dynamics and Lipid Biology [I], 2010.6.29-7.2, Sapporo, Japan

15) Kudo, N., Kumagai, K., Matsubara, R., Kobayashi, S., Wakatsuki, S., Hanada, K., Kato, R.: Crystal structures of the CERT START domain in complex with lipid substrates and specific inhibitors provide insights into the molecular mechanisms of ceramide transfer, The 27th Naito Conference on Membrane Dynamics and Lipid Biology [I], 2010.6.29-7.2, Sapporo, Japan

2. 国内学会

1）原英之、中村優子、大内史子、山河芳夫、萩原健一：PrP^{C}→PrP^{Sc}構造変換を調節する新規プリオンタンパク質ドメインの解析、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会合同大会、2010.12.7-10、神戸

2）齊藤恭子、鈴木哲朗、相崎英樹、花田賢太郎、脇田隆字、西島正弘、深澤征義：Squalene synthase阻害剤のC型肝炎ウイルス増殖阻害機構の解析、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会、2010.12.7-10、神戸

3）谷田以誠、花田賢太郎：オートファジー条件におけるプロテアソームの活性化、第83回日本生化学会大会第33回日本分子生物学会大会合同大会、2010.12.7-10、神戸

4）白砂圭祟、齊藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、西島正弘、深澤征義：感染増殖能が上昇したC型肝炎ウイルス変異株の分離と性状解析、第58回日本ウイルス学会学術集会、2010.11.7-9、徳島

5）奈良清光、菅野真由美、三ツ木元章、山地俊之、山口芳樹、和栗聡、橋本康弘：Siglec-7 を介した U937 細胞の細胞死に必要な細胞外領域の同定、日本生化学会東北支部　第 76 回例会・シンポジウム、2010.5.8、福島

6) 奈良清光、三ツ木元章、榎本綾子、菅野真由美、山口芳樹、二川了次、城谷圭朗、山地俊之、山田茜、和栗聡：糖鎖受容体 Siglec-7 を解する細胞死の分子機構の解明、第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会、2010.12.10、神戸

7) 前濱朝彦：イノシトールリン脂質による C 型肝炎ウイルス複製過程の制御、第 9 回生命科学研究会、2010.6.25-26、つくば

8) 河原康一、佐々木雅人、西尾美希、古後龍之介、三森功士、濱田浩一、伊東文祥、佐々木雄彦、前濱朝彦、森正樹、鈴木聡：p53 の制御に関わる新規腫瘍関連遺伝子の同定、第 69 回日本癌学会学術総会、2010.9.22-24、大阪

9) 前濱朝彦：mTORC1 制御に関与する G タンパク質群の解析、第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会合同大会、2010.12.7-10、神戸

１１.昆虫医科学部

部長　小林　睦生

概要

平成 22 年，当該部の研究は，定員９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１名，臨時職員３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ウイルス(WNV)は，北米に完全に定着し，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.また，2011 年にはルーマニア，ギリシャ，ロシアで患者が確認され，小規模な流行が続いている.媒介蚊は主にイエカ属の蚊で,米国では 300 種以上の野鳥からウイルスが検出されている.我が国にも分布してい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.ウイルスの活動が極東ロシアで確認されていることから,渡り鳥によってウイルスが我が国に侵入し,国内で流行が拡大することは否定できない.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,多数の死亡例が報告された.また,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与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,ヒトスジシマカがより重要な媒介蚊となっている.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しており,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現れており,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であ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ため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・同定,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,当該部では世界をリードする研究業績も出ている.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.野外で捕集された蚊類から検出,分離された新しいフラビウイルスが人病原性ウイルスの生態にどのような影響を与えているのか,日本脳炎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維持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)宮崎県日南市における疾病媒介蚊調査（予備調査）

2010 年 5 月末に宮崎県日南市で,ドライアイストラップを用いて疾病媒介蚊の発生状況を調査した.その結果 3 属 8 種類,198 個体が採集された.最も捕獲個体数が多かったのはシロハシイエカで全体の約 59%を占めていた.この結果は,2003 年以降に調査された他の地域の蚊相に比較して著しく異なっていた.シロハシイエカの捕獲個体数が多く,蚊群集の構成割合が非常に高いという特徴が,今回の調査に限ったことであるのか,あるいは毎年同じような発生状況であるのかは不明である.[津田良夫・金京純]

2)霞ヶ浦周辺の疾病媒介蚊調査

2010 年 6 月～8 月に,霞ヶ浦周辺の水田地帯および 4 つの湖沼を対象として,ドライアイストラップによる成虫調査を実施した.その結果 8 属 14 種,12,964 個体が採集された.コガタアカイエカとアカイエカ群が全体の約 93%を占め,ついでカラツイエカ,ヒトスジシマカの順に多く捕獲され,これら 4 種で全体の 98.8%に達した.湖沼を発生源とするアシマダラヌマカとキンイロヌマカが採集され,特にキンイロヌマカは大貫沼で比較的多く採集された.採集場所間で種類構成を比較したところ,コガタアカイエカは河川敷で多く捕獲され,アカイエカ群は集落周辺で多く捕獲される傾向が見られた.[津田良夫・金京純]

3)釧路湿原における疾病媒介蚊調査

2010 年 7 月 6～9 日に釧路湿原で,疾病媒介蚊の成虫調査と幼虫調査を実施した.10 台のドライアイストラップを設置して野生生物保護センターの構内で行った成虫調査では,4 属 9 種類,139 個体が捕獲された.幼虫調査を実施した 6 ヶ所の水域のうち,5 か所でハマダラカ幼虫が採集され,しかもこれら 5 ヶ所のすべてからシナハマダラカあるいはオオツルハマダラカの形態的特徴を有する 2 種類が得られた.これらの結果から,両種が釧路湿原全体に広範囲に生息していることが示唆された.[津田良夫・澤辺京子・金京純・今西望]

4)野鳥由来蚊媒介性病原体の潜在的な感染経路に関する研究

東京都の公園で捕虫網による蚊採集を実施した.採集されたアカイエカの吸血蚊サンプル 220 個体を用いて,吸血源動物の同定と鳥マラリア原虫の検出を行った.分析したアカイエカ吸血蚊は 1 個体を除き,すべて野鳥から吸血しており,もっとも多く吸血していた鳥種はハシブトガラスであった.吸血蚊の腹部から鳥マラリア原虫が検出された個体は合計 53 個体で,原虫陽性個体の吸血源となっていた鳥は,ハシブトガラスなど 5 種類であった.過去に同様の分析によって得られたヒトスジシマカとヤマトクシヒゲカの結果を総合して,野鳥由来蚊媒介性病原体の潜在的な感染ルートについて考察した.[津田良夫・金京純]

5)コガタアカイエカの越冬に関する野外調査（2009 年秋-2010 年春）

東京都の公園で,2009 年 9 月中旬～12 月にコガタアカイエカの集団飛来が確認された.2009 年の飛来個体数は少なく,2007 年の 1/5,2008 年の 1/8.5 であった.飛来個体を解剖して卵巣の形態を観察した結果,経産雌の割合は 6.5%，休眠している個体の割合は 92.5%であった.2007 年,2008 年の調査結果とほぼ同様の結果であった.2008 年と 2009 年の観察結果を集計したところ,経産雌の休眠率は 32%（6/19）で,未経産雌の 98%（401/411）よりも高かった.また,産卵経験がありかつ休眠している個体の割合は,1.4%（6/430）であった.翌春の捕獲個体数は合計 12 雌で,2007 年と同程度,2008 年の 1/18 であった.[津田良夫・金京純]

6)東京都における東洋眼虫の中間宿主となるメマトイ類の調査

東洋眼虫は西日本に多く，ヒトへの寄生例も知られている.東京都においても犬や猫で寄生がみられる.本線虫の中間宿主はメマトイと呼ばれるショウジョウバエ科のハエ類であるが,東京都での情報は無い.そこで都内の公園にてメマトイ類の調査を行った.採集されたメマトイは 2 種で，マダラメマトイ *Amiota okadai* とオオマダラメマトイ *A. magna* であった.55 個体を採集し，現在感染幼虫の探索を行っている.[林　利彦；岡島淳悟・吉川聡一・宗村佳子・三好康子（動物愛護相談センター）]

7)食品工場で発生するフンコバエ相とその周年経過に関する調査

フンコバエ類は食品工場で大量発生する事例が知られており，宇都宮市内の食品工場でフサヒゲフンコバエが大量発生した事例を報告した.そこで，2010 年 1 月－12 月までの 1 年間,関東地方にある食品工場数カ所で粘着トラップを用い，フンコバエ類の発生調査および周年経過を調べた.トータルで 433 個体を採集した.その内訳はフサヒゲフンコバエ *Leptocera caenosa* とチビケブカフンコバエ *Coproica hirtula* の 2 種が多かったが，その他にも比較的多くの種が発生していることが分かった.[林利彦;中山恒友((株)帝装化成)]

8)無弁翅ハエ類の分類学的研究

日本産フンコバエ科で，動物糞から発生するカギヅメフンコバエ属(genus *Opalimosina*)を調べた.従来オオカギヅメフンコバエ（*Opalimosina mirabilis*）1 種のみ知られていたが，6 種が見いだされた.2 種が日本から新たに記録され，3 新種を記載した，また，日本産 6 種の検索表を作成した.[林利彦]

9）東北地方におけるヒトスジシマカの北限について
2010 年に岩手県内における分布を詳細に調査し,盛岡市ほか 3 市 1 町（花巻,大船渡,北上,大槌）の 13 地点でヒトスジシマカの分布が確認された.生息北限は盛岡市玉山区であり,2009 年の北限（盛岡市仙北町）からさらに約 20km 北上した.一方,2010 年 9 月の八戸における調査において,青森県で初めてヒトスジシマカが 1 コロニー確認された.2011 年の調査で再確認がなされた場合に,八戸への定着が確認されたことになる.東日本大震災の津波の影響で,太平洋沿岸地域のヒトスジシマカ北限地域については分布を再調査する必要がある.
[小林睦生, 駒形修, 二瓶直子]

10）岩手県におけるヒトスジシマカの分布調査
東北地方の内陸低地および太平洋沿岸地域におけるヒトスジシマカの北限地域を擁する岩手県で昨年度に引き続き,ヒトスジシマカの生息状況を温度条件等を考慮して,地理情報システムを用いて調査した.2010 年 6 月から 10 月にかけての全県調査では同蚊の生息が確認された地点は盛岡市のほか 3 市 1 町の 13 地点であり,2009 年調査結果とあわせると 7 市 2 町の計 34 地点で同蚊の生息分布が確認されたことになる.さらに今年度は盛岡市玉山区のキャンプ場でヒトスジシマカの侵入が確認され,北限が 20km 北上したことになる.昨年度盛岡市仙北町で侵入が確認された地点を中心に半径約 1km 以内で, 私有地の戸別調査や道路雨水桝調査など発生源を網羅的に調査した結果,複数の地点で生息が認められ,同地域にヒトスジシマカが定着していることが確認された.東日本大震災の津波の影響で,太平洋沿岸地域のヒトスジシマカ北限地域については分布を再調査する必要がある.
［小林睦生, 二瓶直子；佐藤卓, 松本文雄, 安部隆司(岩手県環境保健研究センター)］

11）山形市におけるヒトスジシマカとヤマトヤブカの種間競争
冷涼な地域にパッチ状に生息至適地域すなわち年平均気温 11℃以上の地域があって,2000 年に初めてヒトスジシマカが確認された山形市で,ヒトスジシマカの侵入・定着状況を,人工容器の貯留水の蚊幼虫を採集して調査した.2002 年にはヒトスジシマカが在来種のヤマトヤブカに代わって広域に分布を広げた.しかし 2009 年には同一調査地点内で複数のコロニーの中には夫々の蚊種が混在し,中には同一コロニーに両種が共存する事例もあった.2010 年も 2009 年と同じ傾向が認められた.2009 年の調査地点周辺で,空中写真・衛星画像・国土基本図等を用いて生息推定地域を確定し,面積,植生指数 NDVI など地理情報システム GIS を用いて,ヒトスジシマカの生息地域の予測を試みている.
[小林睦生, 駒形修, 二瓶直子； 望月貫一郎（(株)パスコ）]

12)滋賀県琵琶湖湖東地域における感染症媒介蚊の分布調査とコガタアカイエカとハマダラカの生息状況の予測.
1950 年代までマラリアが発生していた滋賀県琵琶湖周辺の彦根市や近江八幡市の,彦根城の濠,扇頂・扇央・扇端などの水田地域,内湖・河川流域のヨシ原などの湿地および水域など,土地利用の異なる 20 地点を選び,ドライアイスを誘引源とする CDC トラップを設置して主として成虫を捕集した.優占種がコガタアカイエカであることから,ハマダラカのほか,コガタアカイエカについて地形・水・土地利用等の地域差を検討しながら,両種の当該地域における吸血飛来ポテンシャルマップを作成し,昨年度の解析と比較した.この結果を用いて,日本における両種の蚊の生息予測に展開できるように地理情報の整備を行っている.
[渡辺護, 二瓶直子, 津田良夫, 小林睦生;米島万有子（立命館大・院), 中谷友樹（立命館大）]

13）いわゆるマラリア５県における媒介蚊の生息状況
マラリアが本州で最後まで確認されていたいわゆるマラリア 5 県のうち滋賀・石川・富山・福井におけるマラリア文献調査を行い,当時の地形図を用いて,過去のマラリア患者の発生地域の環境を推定した.当時の患者やハマダラカの発生地域と推定される場所にドライアイスを誘引源とする CDC トラップやライトトラップを設置して蚊成虫を捕集し,その周辺で幼虫調査をした.現在ではハマダラカはほとんど捕集できなかった.1950 年代のマラリア消滅の要因を検討している.
[渡辺護, 二瓶直子, 小林睦生 ; 米島万有子（立命館大・院）]

14）衛星画像を用いた感染症監視体制の開発
昆虫医科学部では,陸域地球観測衛星だいち(ALOS)の利用に関するプロジェクトとして,宇宙航空研究開発機構と共同研究を実施している.今年度は最終年度として,衛星画像による感染症のモニタリングの事例として,中国における日本住血吸虫症の有病地の環境解析結果をまとめた.さらに山形県におけるヒトスジシマカの生息環境の解析を空中写真・地図など GIS の手法を用いて検討している.フィリピンにおける新しく発見された日本住血吸虫症浸淫地や,ラオスやカンボジアのメコン住血吸虫症浸淫地の環境解析に用いている.また東日本大震災による津波被災地の衛生動物の監視に ALOS 画像を用いている.
[二瓶直子, 小林睦生, 駒形修； 斉藤康秀（麻布大), 太田伸生（東京医歯大), 望月貫一郎（(株)パスコ）]

15)雨水マスの薬剤処理と周辺環境における蚊の成虫密度
平成１５年から継続して兵庫県西宮市において,蚊の発生状況調査をアカイエカおよびヒトスジシマカに関して行っている.平成１９年からは西宮浜（人工の島）で昆虫発育制御剤を用いた防除実験を,島内の公園で行い,公園内のみの薬剤処理,周辺道路を含む薬剤処理,周辺 150m の雨水マス全ての薬剤処理等を行い,成虫捕集数を調査した.その結果,公園内,周辺での薬剤処

理のみではトラップ捕集成虫数が顕著に減少せず,顕著な防除効果が認められなかった.しかし,周辺 150m 全域の発生源を処理する方法で防除効果が認められたことから,ある程度の範囲に広範に幼虫防除のために薬剤処理を行うこと,また,公園内の植生に月 1 回成虫防除のための薬剤を処理することが防除効果を高めることが示唆された.
［小林睦生, 駒形修；吉田政弘（いきもの研究社), 平良常弘（西宮市）］

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) 2009 年国内捕集コガタアカイエカの日本脳炎ウイルス（JEV）の保有調査
2009 年 5 月～8 月に国内 6 県（福井・山形・兵庫・滋賀・徳島・鹿児島）でコガタアカイエカを捕集し, JEV の保有状況を調査した.その結果, 鹿児島県下の豚舎周辺で捕集されたコガタアカイエカから JEV が検出・分離された. 今回得られた分離株は, 近年東アジア地域で多く見いだされる 1 型に属していた.しかしながら, 2009 年分離株の Envelope 領域の配列情報からは, 2008 年分離株よりも 2007 年分離株により近縁である可能性が示された.また,ウイルスゲノム 3’非翻訳領域の可変領域にいくつかの特徴的な配列欠損が確認されたが,その欠損パターンは2007年分離株と同様の傾向が認められた.
[鍬田龍星, 伊澤晴彦, 星野啓太, 佐々木年則, 津田良夫, 金京純, 小林睦生, 沢辺京子；梁瀬徹, 白藤浩明, 山川睦, 今田忠男（動物衛生研究所九州支所）]

(2) 2006－2008 年ベトナムにおける日本脳炎ウイルス（JEV）および媒介蚊調査
日本国内の JEV 分離株に見られる遺伝子の変異は, JEV が海外から侵入した可能性を示唆しており, 近隣諸国からの情報が必要である.東南アジアにあってベトナムは, 日本に飛来する長距離移動性昆虫の飛来源として重要な地理的場所に位置するとされることから, ベトナムにおいて蚊媒介性ウイルス調査を行った.2006 年から 2008 年の 3 年間に国内 8 省から合計 5 属 21 種 15,225 個体の蚊を捕集し, その 300 プールをウイルス分離に用いた結果, JEV は *Culex tritaeniorhynchus* から 3 株, *Cx. vishnui* から 2 株の合計 5 株, いずれも 1 型が分離された.Envelope 領域を用いた分子系統解析をもとに, アジア諸国に分布する JEV の近縁関係を考察した.
[澤邉京子, 鍬田龍星, 星野啓太, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 津田良夫, 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) 本邦産イエカ属蚊から分離された新規 2 本鎖 RNA ウイルスの性状解析
我々はこれまでに, 外来性アルボウイルスの国内への侵入監視を主な目的として, 本邦産野外捕集蚊を対象としたウイルスの保有状況調査を行ってきた.この調査過程において, 2006 年秋田県捕集のアカイエカおよび 2007 年東京都捕集のイナトミシオカから, 約 7.6 kbp の 2 本鎖 RNA をゲノムとして持つ直径約 40nm の球状ウイルスを分離した.Omono river virus（OMRV）と名付けたこのウイルスは, 遺伝子構造ならびに分子系統解析の結果から, 原虫, 酵母, 真菌類等を宿主とする非分節 2 本鎖 RNA ウイルスであるトティウイルス科（*Totiviridae*）に属する新規ウイルスであることが明らかとなった.
[伊澤晴彦, 鍬田龍星, 星野啓太, 佐々木年則, 津田良夫, 矢野和彦, 斉藤一三, 小林睦生, 沢辺京子； 酒井宏治（動物管理室）；渡辺俊平（東京大）；伴戸久徳（北海道大）；水谷哲也（ウイルス第 1 部）；佐藤朝光, 西村美保（福岡大）片岡紀代,永田典代,長谷川秀樹（感染病理部）]

(4) 国内捕集コガタアカイエカから分離された新規ラブドウイルスの性状解析
国内で捕集したコガタアカイエカからラブドウイルス科に属する新規 RNA ウイルスを分離した.本ウイルス *Culex tritaeniorhynchus* rhabdovirus（CTRV）の 11,190 bp に及ぶゲノム全塩基配列を決定した結果, 一般的なラブドウイルスが持つ 5 種類のウイルスタンパク質（N, P, M, G, L）に対応する各遺伝子が, ゲノム上にこの順序でコードされていることが推定された.また, CTRV ゲノム両末端においてもラブドウイルスを含む (−) 鎖 RNA ウイルスの特徴である, ゲノム両末端にパンハンドル構造をとりうる相補的塩基配列の存在が確認された.詳細な分子系統解析から,本ウイルスはこれまでに報告されたラブドウイルス科のウイルスとは離れた類縁関係にある新規ラブドウイルスであることが支持された.
[鍬田龍星, 伊澤晴彦, 星野啓太, 津田良夫, 佐々木年則, 小林睦生, 沢辺京子]

(5) 本邦産蚊の日本脳炎ウイルス（JEV）感受性
昆虫のウイルスに対する免疫機構はほとんど知られていなかったが, 近年, Toll 経路・RNA 干渉経路・Janus kinase（Jak)-signal transducer and activator of transcription（STAT）経路が報告された.そこで, 蚊のウイルスに対する免疫機構を解析することを目的として, 蚊の日本脳炎ウイルス（JEV）感受性を評価した.JEV の主要な媒介蚊はコガタアカイエカであるが, JEV のウイルス生態を知る目的では, コガタアカイエカ以外の蚊のウイルス媒介能も正確に評価する必要があると考え, 我々が継代飼育している 8 種類の蚊に, 2005 年長崎県捕集のコガタアカイエカから分離された JEV（長崎/37/2005）を経口的に感染させ, その後ウイルス感受性を明らかにした.
[佐々木年則,沢辺京子,鍬田龍星,金京純,津田良夫,

伊澤晴彦，小林睦生]

(6) 国内外のシラミ類における*Bartonella quintana*遺伝子保有状況

日本を含むアジアの都市部において塹壕熱侵襲の実態把握が必要であることから,国内およびフィリピンにおいて，シラミ類からの*B. quintana*遺伝子の検出を行った.大阪市内の11名の路上生活者から得られたコロモジラミの*B. quintana*遺伝子保有率（60%）は，東京（約10%）と比べ極めて高かった.一方,フィリピンLos Banos市内の貧困層が居住する地域においては,50名の未成年者（調査時7－18歳）のうち1名の女児の頭髪に寄生するアタマジラミから*B. quintana*遺伝子が検出され，非衛生的な環境下に生活している若年齢の子供たちに塹壕熱が蔓延している可能性が示唆された.塹壕熱の伝播にコロモジラミのみならずアタマジラミの関与があることは，公衆衛生上だけではなく，深刻な社会問題でもあることを意味している.

[佐々木年則，星野啓太，伊澤晴彦，葛西真治，冨田隆史，小林睦生，沢辺京子；川端寛樹（細菌第1部）；佐々木次雄，久保田眞由美，荒川宜親（細菌第1部）；関なおみ（東京検疫所）；矢口昇（池袋保健所）；平山幸雄（大阪市社会医療センター）；吉田英樹（大阪市保健所）；比嘉由紀子（長崎大熱研），Bertuso AG.（UP-Manila，フィリピン）；Poudel，SK.（Janapriya Multiple Campus，ネパール）]

2.生理学的基礎研究

(1) イエカ類の越冬生理に関する研究

イエカ類に見られる吸血と産卵の抑制は，短日下幼虫期を過ごした成虫に発現することから，秋にJEVを取り込み越冬する雌蚊の数は極めて少ないと考えられた.一方，高温・長日条件下で羽化した成虫を様々な温度と日長条件下に飼育し寿命を比較した結果，アカイエカ，コガタアカイエカともに冬に向かい主要な脂肪酸であるシス型パルミトオレイン酸（C16:1）を増加させたが，前者が15℃（短日）で最長282日生存したのに対し,後者は150日と短命であった.夏季に羽化したアカイエカはJEVを保持し越冬する可能性が示唆されたが，一方，コガタアカイエカが国内で越冬できる地域は限局され，その確率は低いと考えられた.

[沢辺京子,森林敦子,金京純,佐々木年則,葛西真治,津田良夫，小林睦生]

(2) コガタアカイエカの長距離飛翔に関する研究

コガタアカイエカはシス型パルミトオレイン酸（C16:1)を越冬期間中に利用していると推察されたが,冬季の温度条件を想定した5℃下でのコガタアカイエカ成虫は，同様に成虫越冬するアカイエカよりも著しく短命であり，それら脂質類がすべて越冬のために使用されるとは考え難いと結論された.そこでコガタアカイエカのもう一つの大きな特徴である長距離飛翔に関与する脂肪およびグリコーゲン量の変動を経時的に調べた結果，両物質の量的変動は典型的な長距離移動性昆虫の特徴を示していた.フライトミル法により個別に飛翔させたところ，ばらつきは見られたものの，最長25時間（推定約26 km）の自力飛翔が認められ，本種蚊の長距離飛翔が可能であることが確認された.

[沢辺京子，森林敦子，小林睦生；大塚彰，松村正哉（九州沖縄農研センター）]

(3) ミトコンドリア遺伝子が示唆する日本脳炎ウイルス（JEV）媒介蚊の海外からの飛来

JEV分離株の解析から,ウイルスが海外から侵入してくる可能性も示唆されている.我々は,2009年佐賀市および南さつま市の飛来昆虫定点トラップに捕獲された昆虫類にコガタアカイエカが含まれることを確認し,さらに,ウンカ飛来予測日と同時期に捕集されたコガタアカイエカの中に,ミトコンドリア遺伝子の塩基配列が国内に生息する集団ではなく,日本以外のアジア諸国に分布する集団と一致する個体を見出した.本結果は,コガタアカイエカが海外より日本に飛来侵入する可能性を強く示唆するものである.

[沢辺京子，鍬田龍星，Roychoudhury S.，森林敦子，小林睦生；新井智（感染症情報センター）；松村正哉，大塚彰（九州沖縄農研センター）；衞藤友紀（佐賀県農業試験研究センター）;梁瀬徹（動物衛生研究所九州支所）；今西望（明治大）]

(4) 我が国におけるマラリア媒介蚊の分布と分類に関する系統学的研究

我々は，国内における最新のハマダラカ属蚊の分布状況を把握する目的で2001年から生息調査を実施している.捕集した蚊のリボゾームDNA ITS2領域の部分塩基配列を基に系統解析を行った結果，近年の北海道においてシナハマダラカの分布域が極端に減少したことが推察されたが，北海道においてシナハマダラカと同定された捕集蚊は，本州以南に分布するシナハマダラカではなく，2005年に韓国で新しく記載された*Anopheles belenrae*と塩基配列の相同性が高いことから，国内における本種蚊の広範な分布調査が望まれることとなった.また,東北地方より南ではオオツルハマダラカはほとんど確認されておらず，本種の分布域の減少も顕著である.

［沢辺京子，金京純，津田良夫，渡辺護，佐々木年則，斎藤一三，小林睦生；今西望（明治大)]

3.衛生害虫の殺虫剤抵抗性のモニタリング,遺伝学的,分子生物学的解析

(1) トコジラミのピレスロイド系殺虫剤感受性検定

最近，再興しているトコジラミ被害の原因の一つとして，ピレスロイド系殺虫剤抵抗性の発達が指摘されている.そこで，日本で2010年以降に採集されたトコジラミのピレスロイド系殺虫剤に対する感受性を殺虫

試験で検定した.殺虫試験は,米国で Zhu らが行った判定方法に準じて，デルタメスリンを用いたろ紙接触法（0.13mg/cm²)により実施した.その結果,東京,千葉,神奈川，長野，愛媛，広島，大阪の各都府県から採集された個体が，ピレスロイド系殺虫剤抵抗性と判定された.
［駒形修，葛西真治，小林睦生，冨田隆史］

(2) トコジラミのピレスロイド抵抗性遺伝子の分子ジェノタイピング法
2000 年代になり米国・欧州諸国・豪州のトコジラミ集団でピレスロイド抵抗性が発達していることが判明している.米国内の抵抗性コロニーにおいてピレスロイド作用点の感受性低下をもたらすと推定されているナトリウムチャネルの 2 つのアミノ酸置換変異 V419L と L925I を対象にして，QProbe 法に基づく分子検出法を開発した.各座位につきゲノム DNA または合成 DNA を鋳型として用い非対称 PCR を行い，その産物に対する野生型蛍光プローブの融解曲線を解析することにより，遺伝子型判別が可能であることを確かめた.
［冨田隆史，駒形修，葛西真治，糸川健太郎，小林睦生］

(3) 日本産トコジラミのピレスロイド作用点変異遺伝子の頻度
2007 年より 2011 年 3 月までに 1 都 1 道 2 府 11 県より収集した 40 コロニー分（288 頭）のトコジラミ試料につき，QProbe 法によりナトリウムチャネル遺伝子の V419L と L925I のアミノ酸置換変異に関する遺伝子型を推定した.I925 変異を保有するコロニー数は 35 (87.5%)であった.そのうち 34 コロニーにおける遺伝子頻度は「I925 変異型＞L925 野生型」で，I925 のほとんどがホモ接合体として検出された.一方，L419 変異を保有するコロニーは 3 つ（7.5%)であり，L419ー I925 二重変異ハプロタイプとして検出された.
［冨田隆史，駒形修，葛西真治，糸川健太郎，小林睦生］

(4) 感染症媒介蚊の室内淘汰による殺虫剤抵抗性系統の確立
媒介蚊の殺虫剤抵抗性機構を解明する目的で，殺虫剤（ピレスロイド剤）抵抗性系統の確立を試みた.致死率 50-80%程度の permethrin を約 1000 個体に処理し，生存個体をさらに飼育し，淘汰するという作業を繰り返した.これによりネッタイシマカの aegSP 系成虫は 10 世代淘汰の結果，抵抗性比が 1000 倍を超えた.ネッタイイエカ CqSP 系は 8 世代淘汰の結果，抵抗性比が 2606 倍,CqKY 系は 9 世代淘汰の結果,抵抗性比が 2488 倍に達した.これら媒介蚊 3 系統の抵抗性レベルはいずれも世界的にも報告例がないほど高い値であり，今後の抵抗性機構解明に有力な材料となることが期待される.
［葛西真治，駒形修，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史］

(5) アタマジラミからの駆除剤抵抗性遺伝子検出（2010 年調査結果）
駆除剤スミスリン抵抗性に関わるナトリウムチャネル遺伝子変異を指標として抵抗性アタマジラミの調査を行った.2010 年度の調査では全国から 172 コロニー分の試料を試験した.今年度の調査結果で特筆すべきは沖縄県由来のアタマジラミの抵抗性コロニー率が 100%であったことである.これは，沖縄県以外の地域の医療機関等を通じて収集した試料に占める抵抗性率 5.2%と比して著しく高い値であった.
［葛西真治，駒形修，小林睦生，冨田隆史］

(6) ピレスロイド抵抗性マラリア蚊に対するオリセットネットの忌避効果
殺虫剤抵抗性マラリア蚊がピレスロイド剤に忌避行動を起こすかどうかを調べるために，ピレスロイド剤含浸蚊帳オリセットネットを用いた実験を行った.材料として，ノックダウン抵抗性遺伝子（*kdr*）をホモで有するガンビエハマダラカ成虫を用いた.無処理区では 49%の個体がネットを通過して吸血，43%が無吸血のまま，ともに生存していたのに対し，オリセットネット区では 41%がネットに触れて通過せずに死亡，46%がネットを通過したが無吸血のまま死亡した.吸血後，ネットを通過して逃げることに成功した個体は 1 個体もいなかった.以上のことから，*kdr* 遺伝子を有する個体でもピレスロイド剤に忌避行動を示さず，オリセットネットに積極的に触れ，死に至ることが明らかになった.
［葛西真治，駒形修，冨田隆史］

(7) 過剰発現型 *Cyp9m10* 遺伝子の多様性
これまでにネッタイイエカの殺虫剤抵抗性系統（JPal-per）から，抵抗性と強く連鎖するシトクロム P450 の遺伝子，*Cyp9m10* を発見していた.*Cyp9m10* は JPal-per 系統で遺伝子重複し,mRNA の発現量は感受性と比べ約 200 になっている.今回，別の抵抗性系統（JNB)から重複はしていないが *Cyp9m10* を過剰発現する新たなハプロタイプを発見した.高発現型の *Cyp9m10* ハプロタイプにコピー数多型が存在することが分かった.
［糸川健太郎，葛西真治，駒形修，冨田隆史］

(8) 過剰発現型 *Cyp9m10* 遺伝子の分子進化
JPal-per 系統における *Cyp9m10* の過剰発現にはシス作動性変異と遺伝子重複という複数の異なる変異が関与している.この系統の *Cyp9m10* の分子進化の過程を詳しく調べたところ，まずシス作動性変異が先に起こったことが明らかとなった.この一番初めのシス作動性変異は *Cyp9m10* の発現量を約 25-40 倍にし，個体の薬剤への感受性をいくらか低下させた.しかし,その後起こった遺伝子重複と追加的なシス作動性変異が，より強い抵抗性を獲得する上で重要であったと考えられる.
［糸川健太郎，駒形修，葛西真治，冨田隆史］

(9) コガタアカイエカの有機リン抵抗性アセチルコリンエステラーゼ遺伝子(*Ace2*)の中国における分布
抵抗性遺伝子の多様性と分布から本種蚊の農薬選抜影響と移動性を解明する目的で，F455W 変異を有する抵抗性 *Ace2* 遺伝子のハプロタイプを解析しており，今回は中国浙江省建徳市採集試料の解析を行なった．116 遺伝子のすべてが W455 変異を有し，その中でもアジア広範に分布する Toyama 型抵抗性遺伝子ハプロタイプが優勢（113 遺伝子）であった．その他，西表島・石垣島で Toyama 型と並び優勢であるが沖縄本島からは未同定の Iriomote 型，それと 1 塩基異なる Iriomote 亜型（各遺伝子 1 つと 2 つ）とが含まれていた．
［冨田隆史，駒形修，葛西真治，陸紹紅（浙江省医学科学院)］

レファレンス業務

衛生動物同定検査報告
平成 22 年 4 月から平成 23 年 3 月までの間，15 件 141 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，ブユ等）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，フタトゲチマダニの咬着例が各 1 例，海外からの輸入例ではオーストラリアからのマダニ *Ixodes holocyclus* が 1 例あった．依頼者は大学，医療機関，公的研究機関，個人等であった．また，警察からの依頼では，死体から採取されたハエの種・発育状況から死亡推定日時の推定を行った例もあった．［林利彦，津田良夫，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 22 年度疾病媒介蚊防除対策実技講習．2010 年 7 月 29 日．川崎市．
(2) 津田良夫．流行地における疾病媒介蚊調査．平成 22 年度ベクター等検査技術研修．
2010 年 10 月 14 日，神戸市．
(3) 沢辺京子．蚊媒介性感染症の国内外での動向．第 4 回衛生害虫対策セミナー，2010 年 6 月 18 日．東京．
(4) 冨田隆史．殺虫剤抵抗性－日本の現状と対応－世界的動向，(財)日本環境衛生センター第 4 回衛生害虫対策セミナー，2010 年 5 月 28 日，国立感染症研究所／7 月 2 日，大阪リバーサイドホテル．
(5) 葛西真治．Global resurgence of bed bugs and the trend in Japan, JICA 研修，2010 年 7 月 16 日，国立感染症研究所．
(6) 冨田隆史．Insecticide-resistance of vector mosquitoes in Japan, JICA 研修，2010 年 7 月 16 日，国立感染症研究所．
(7) 冨田隆史．沖縄県のアタマジラミ，「皮膚の日」市民公開講座，2010 年 11 月 7 日，沖縄県立博物館．
(8) 冨田隆史．種々の害虫の殺虫剤抵抗性の現状について，(財)日本環境衛生センター第 34 回環境生物新年懇話会，2011 年 1 月 7 日，東京郵便貯金会館．
(9) 葛西真治．デング・チクングニアウイルス媒介蚊対策－防除の実際－，希少感染症研修会，2011 年 2 月 24 日，国立感染症研究所．

発 表 業 績 一 覧

欧文発表

1)Sasaki T. Hiraoka T. Kobayashi M. Hemolytic activity is mediated by the endogenous lectin in the mosquito hemolymph serum. J. Insect Physiol. 56(9): 1032-1039, 2010.

2) Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T. Overexpression of cytochrome P450 genes in pyrethroid-resistant *Culex quinquefasciatus*. Insect Biochem. Mol. Biol. 40:146-152, 2010.

3)Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Okamura, Y., Masada, M., Tomita, T. Genomic structures of *Cyp9m10* in pyrethroid resistant and susceptible strains of *Culex quinquefasciatus*. Insect Biochem. Mol. Biol. 40: 631-640, 2010.

4)Tsuda, Y. and Kim, K.S. Prediapause migration and overwintering of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) observed in a park in urban Tokyo during 2007 and 2009. Med. Entomol. Zool. 61: 69-78 ,2010.

5)Hoshino K., Isawa, H., Tsuda Y. and Kobayashi M. Laboratory Colonization of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) collected in Narita, Japan and biological properties of the established colony. Jpn. J. Infect. Dis. 63: 401-404 ,2010.

6)Kim, KS. and Tsuda Y. Seasonal changes in feeding pattern of *Culex pipiens pallens* govern transmission dynamics of multiple lineages of avian malaria parasite in Japanese wild bird community. Mol. Ecol. 19: 5545-5554,2010.

7)Higa,Y., Toma,T., Tsuda,Y. and Miyagi,I. A multiplex PCR-based molecular identification of five morphologically related, medically important subgenus *Stegomyia* mosquitoes from the Genus *Aedes* (Diptera: Culicidae) found in the Ryukyu Archipelago, Japan. Jpn. J.

Infect. Dis. 63: 312-316,2010.

8)Somboon, P., Rory, A., Tsuda, Y., Takagi, M. and Harbach, R. E. Systematics of *Anopheles* (*Cellia*) *yaeyamaensis* sp. n., alias species E of the *An. minimus* complex in southeastern Asia (Diptera: Culicidae). Zootaxa 2651: 43–51 ,2010.

9)Yotsu, R. R., Tamaki, T., Ujiie, M., Takeshita, N., Kanagawa, S., Kudo, K. and Hayashi, T. Imported tungiasis in a Japanese student returning from East Africa. J. Dermatol. no. doi : 10.1111 /j.1346-8138.2010.00952.x,2010.

10)Hayashi, T. The genus *Opalimosina* Roháček (Diptera, Sphaeroceridae) from Japan. Med. Entomol. Zool. 61: 309-319, 2010.

11)Kuwata R., Isawa H., Hoshino K., Tsuda Y., Yanase T., Sasaki T., Kobayashi M., Sawabe K. RNA splicing in a new Rhabdovirus from *Culex* mosquitoes. J. Virol. 85: 6185-6196, 2011.

12)Isawa H., Kuwata R., Hoshino K., Tsuda Y., Sakai K.,Watanabe S., Nishimura M., Satho T., Kataoka M., Nagata N., Hasegawa H., Bando H., Yano K., Sasaki T., Kobayashi M., Mizutani T. Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from *Culex* mosquitoes in Japan. Virus Res. 155: 147-155, 2011.

13)Sawabe K., Hoshino K., Isawa H., Sasaki T., Kim KS., Hayashi T., Tsuda Y., Kurahashi H. Kobayashi M. Blow flies were one of the possible candidates for transmission of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus during the 2004 outbreaks in Japan. Influenza Res. Treat. 2011: 652652, 2011.

14)Sawabe K., Isawa H., Hoshino K., Sasaki T., Roychoudhury S., Higa Y., Kasai S., Tsuda Y., Nishiumi I., Hisai N., Hamao S. Kobayashi M. Host-feeding habits of *Culex pipiens* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) collected at the urban and suburban residential areas of Japan. J. Med. Entomol. 47: 442-450, 2010.

15)Imura T., Sato Y., Ejiri H., Tamada A., Isawa H., Sawabe K., Omori S., Murata K. Yukawa M. Molecular identification of blood source animals from black flies (Diptera: Simuliidae) collected in the alpine regions of Japan. Parasitol. Res. 106: 543-547, 2010.

16) Hardstone, M.C., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T., Scott, J.G. Use of isogenic strains indicates CYP9M10 is linked to permethrin resistance in *Culex pipiens quinquefasciatus*. Insect Mol. Biol. 19: 717-726, 2010.

和文発表

1)片野理恵, 津田良夫, 斉藤康秀, 小林睦生. イナトミシオカ *Culex inatomii* の生態に関する実験的研究：飼育水の塩分濃度および気温が幼虫発育に与える影響と低温条件下の個体群の繁殖. 衛生動物 61：327-333, 2010.

2)林利彦, 中山恒友. .フサヒゲフンコバエによる食品工場での大量発生の一例とその形態(双翅目, フンコバエ科）. 衛生動物, 61：129-131, 2010.

3)西盛宏, 松本和将, 澤村正之, 中村健, 林利彦, 佐藤威文, 岩村正嗣, 馬場志郎. 包皮マダニ刺咬症の 1 例. 泌尿紀要, 56：185-187, 2010.

4)佐々木年則, 星野啓太, 比嘉由紀子, 伊澤晴彦, 小林睦生, 沢辺京子, 川端寛樹, 佐々木次雄, 久保田眞由美, 荒川宜親, 関なおみ, 矢口昇, 平山幸雄, 吉田英樹. わが国の都市部における路上生活者より採取されたコロモジラミからの*Bartonella quintana* 検出. 病原微生物検出情報31: 354-355, 2010.

5)沢辺京子, 葛西真治, 冨田隆史, 佐々木年則, 小林睦生, Bertuso AG., Poudel SK. 日本と諸外国のアタマジラミにおける*Bartonella quintana* 遺伝子保有状況. 病原微生物検出情報, 31: 355-357, 2010.

6) 矢口昇, 葛西真治. 東京都におけるトコジラミ被害の実態と問題点－保健所の業務を通じて. 衛生動物 61: 231-237, 2010.

7) 冨田隆史.トコジラミの殺虫剤抵抗性. 衛生動物 61: 223-229, 2010.

8) 冨田隆史, 糸川健太郎, 駒形修, 葛西真治.殺虫剤抵抗性蚊におけるシトクロム P450 遺伝子の過剰発現. 日本農薬学会誌 35: 562-568, 2010.

9) 冨田隆史, 葛西真治, 駒形修, 小林睦生, 石井則久, 上里博, 平良清人, 平良勝也, 岡野祥. わが国におけ

るアタマジラミのピレスロイド系駆除剤抵抗性の発達状況.病原微生物検出情報 31: 352-354, 2010.

10) 葛西真治，関なおみ，佐々木年則，駒形修，冨田隆史，小林睦生．人工膜吸血法による塹壕熱病原体のコロモジラミ体内での増殖動態の解明．病原微生物検出情報.31: 357-358, 2010.

11）松本 令以, 植田 美弥 村田 浩一 比嘉 由紀子, 沢辺 京子, 津田 良夫 小林 睦生, 佐藤 雪太 増井 光子 横浜市の動物園における蚊媒介性感染症の媒介蚊生息調査．日本野生動物医学会誌 15(2)：79-86, 2010.

12)小林睦生 ヒートアイランドと昆虫（特集 生活環境と動物問題を考える--管理と共生）
生活と環境 55(6):10-13, 2010.

13）小林睦生, 駒形 修, 二瓶直子 クモ・クモ毒（特集 自然毒--刺傷・咬傷--野外危険生物）
公衆衛生 74(5)：373-376，2010.

14）米島万有子，渡辺 護，二瓶直子，小林睦生，中谷友樹．CDC 型ミニュチュアライトトラップによるコガタアカイエカ捕獲個体数とトラップ周囲の土地利用との関連性．衛生動物 62:13-22，2011.

15）米島万有子，渡辺 護，二瓶直子，津田良夫，中谷友樹，小林睦生．GIS を用いた感染症媒介蚊の生息ポテンシャルの評価．地理情報システム学会講演論文集，19：1-4，2010.

学会発表

1．国際学会

1)1st Nordic Malaria Conference,1-3 September 2010, Lund, Sweden

Tsuda,Y ., Kim, KS. Ecology of avian malaria in urban Tokyo: community structure, larval habitats, biting behavior of mosquitoes inhabiting at a study park.

Kim, KS., Tsuda, Y. Ecology of avian malaria in urban Tokyo: feeding pattern and incidence of avian malaria parasite in *Culex pipiens pallens*

2)「第 8 回アジア・太平洋渡航医学会議, 2010 年 10 月 21 日，奈良市」

Ujiie, M., Takeshita, N., Mizuno, Y., Kanagawa, S., Kato, Y., Yotsu, R., Tamaki, T., Hayashi, T.， Kudo, K. Imported tungiasis: A report of 2 Japanese cases.

3)「キーストーンシンポジウム Molecular Targets for Control of Vector-Borne Diseases : Bridging Lab and Field Research, 2010 年 4 月 11 日～16 日，アメリカ合衆国コロラド州カッパーマウンテン」

Sasaki, T., Hiraoka, T., Kobayashi , M.: Hemolytic activity is mediated by the endogenous lectin in the mosquito hemolymph serum.

4) Fourth International Congress on Phthiraptera, June 15, 2010, Cappadocia, Turkey, Kasai, S., Seki, N., Kobayashi, M., Tomita, T.: Techniques for in-vivo and in-vitro studies on lice: A convenient blood feeding system for body louse.

5) Fourth International Congress on Phthiraptera, June 15, 2010, Cappadocia, Turkey, Kobayashi, M., Seki, N., Kasai, S., Saito, N., Komagata, O., Mihara, M., Sasaki, T., Sawabe, K., Tomita, T.: Explosive multiplication and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus*.

6) 12th International Congress of Pesticide Chemistry, July 5, 2010, Melbourne, Australia, Terada, M., Nabeshima, T., Kozaki, T., Tomita, T., Kono, Y.: Inverting resistance of the green rice leafhopper by an amino acid substitution of acetylcholinesterase.

7) The 4th Joint PI symposium of ALOSD data Nodes, Nov. 15-17, 2010, Tokyo, Nihei, N., Komagata, O., Kobayashi, M., Ohta, N., Saitoh,Y., Mochizuki, K., Chen, R., Lu, S., Wen, L., Wang, T.: Using ALOS satellite images to develop efficient measures against vector-borne diseases – regional differences in outbreak risk for schistosomiasis japonica in China.

２.国内学会

「第 62 回日本衛生動物学会大会,H22 年 4 月 2-4 日,鹿児島市」

1)津田良夫,金京純.徳島県阿南市の水田地帯における疾病媒介蚊調査.

2)津田良夫,金京純.東京都立公園におけるコガタアカイエカの越冬生態調査（2009 年春と秋の調査結果）

3) 金京純.津田良夫, 2007 年および 2008 年に新潟県佐潟湿地で捕集された蚊の発生状況ならびに鳥マラリア原虫の保有状況.

4)江尻寛子,佐藤雪太,津田良夫,村田浩一,原樹子,湯川眞嘉.動物園の特性を活かした鳥マラリアの感染生態調査.

5)児玉達治,亀崎宏樹,上村慎一郎,津田良夫.光センサーを用いたチカイエカの吸血・吸蜜・産卵行動の日周リズムに関する実験的研究.

6)林利彦，中山恒友. フサヒゲフンコバエによる食品工場での大量発生の一例（双翅目，フンコバ科）.

7)鍬田龍星,伊澤晴彦,星野啓太，佐々木年則，津田良夫，金京純，梁瀬徹，白藤浩明，山川睦，今田忠男，小林睦生，沢辺京子.2009 年国内捕集コガタアカイエカの日本脳炎ウイルスの保有調査.

8)沢辺京子，鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，比嘉由紀子，津田良夫，Nguyen Thi Yen，Phan Thi Nga，高木正洋，小林睦生.2006－2008 年ベトナムにおける日本脳炎ウイルスおよび媒介蚊調査.

9)鍬田龍星，伊澤晴彦，星野啓太，津田良夫，佐々木年則，小林睦生，沢辺京子.国内捕集コガタアカイエカから分離された新規ラブドウイルスの性状解析.

10)佐々木年則，澤邉京子，鍬田龍星，金京純，津田良夫，伊澤晴彦，小林睦生.蚊の日本脳炎ウイルス感受性.

11)沢辺京子，佐々木年則，森林敦子，葛西真治，津田良夫，小林睦生.日本脳炎ウイルスのアカイエカ体内での越冬の可能性について.

12)森林敦子，澤邉京子，金京純，津田良夫，小林睦生.コガタアカイエカの休眠導入期から覚醒期における脂質含量と脂肪酸組成の変動.

13)高井憲治（聖マリアンナ医大）；小熊譲（筑波大）；澤辺京子，金京純，津田良夫，小林睦生.*Anopheles* hyrcanus 群ハマダラカ雌成虫の翅脈暗斑・白斑の長さの種間差異への寄与.

14)平尾邦道，伊澤晴彦，鍬田龍星，津田良夫，星野啓太，佐々木年則，糸山享，澤邉京子，小林睦生.ヒトスジシマカによる他種ヤブカに対する繁殖干渉の実験的検討.

15) 冨田隆史，葛西真治，駒形修，夏秋優，石井則久，小林睦生. アタマジラミのピレスロイド系駆除薬抵抗性に関する 2009 年の調査結果.

16) 駒形修，葛西真治，糸川健太郎，二瓶直子，津田良夫，小林睦生，冨田隆史.アカイエカ種群蚊のピレスロイド抵抗性遺伝子 *kdr* の遺伝子型.

17) 葛西真治，駒形修，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史.ネッタイシマカ成虫のピレスロイド剤抵抗性機構(1) .

18) 川田均，前川芳秀，駒形修，葛西真治，冨田隆史，Mwandawiro，C.，Njenga，S.M.，皆川昇，高木正洋.ケニア西部（Gembe East，Mbita）におけるマラリア媒介蚊のピレスロイド感受性に関する調査：(1)発生源調査と幼虫のピレスロイドに対する感受性.

19) 川田均，前川芳秀，駒形修，葛西真治，冨田隆史，Mwandawiro，C.，Njenga，S.M.，皆川昇，高木正洋.ケニア西部（Gembe East，Mbita）におけるマラリア媒介蚊のピレスロイド感受性に関する調査：(2)家屋内で採集した成虫から得られた次世代のピレスロイドに対する感受性.

20) 皆川恵子，数間亨，武藤敦彦，小泉智子，芳村健治，皆川文康，大北英雄，渡辺登志也，浅野和男，葛西真治，佐々木清光，西山峰雄，岩田貴博.液化炭酸ガス製剤のヒトスジシマカに対する野外での効力評価（１）－寺の墓地における効力評価－.

21) 大橋和典，津田良夫，葛西真治，川田均，阿部眞

由美，都野展子，高木正洋．野外の低温条件下におけるアカイエカとチカイエカの吸血活動.

22）米島万有子，渡辺護，二瓶直子，津田良夫，中谷友樹，小林睦生．滋賀県琵琶湖湖東地域における感染症媒介蚊の分布調査とその景観分析.

23）小林睦生，駒形修，森林敦子，米島万有子，蒲田龍星，金京純，斎藤一三,渡辺　護,澤邉京子，津田良夫，二瓶直子．コガタアカイエカの成虫密度の極端な地域差と冬期温度条件との関係.

24）二瓶直子，米島万有子，渡辺護，津田良夫，金京純，澤邉京子，中谷友樹，小林睦生．琵琶湖湖東地域におけるハマダラカ属を中心とした蚊相と戦後の土地利用の変遷.

25）渡辺護，米島万有子，二瓶直子，小林睦生．福井県鯖江市・越前市における蚊の発生調査の成績.

26）佐藤 卓，松本文雄，安部隆司，二瓶直子，小林睦生．　岩手県におけるヒトスジシマカ分布調査.

27）二瓶直子，駒形修，斉藤一三，栗原毅，小林睦生．分布境界領域に位置する山形市におけるヒトスジシマカの定着状況.

28）小林睦生，平良常弘，米正静男，二瓶直子，吉田政弘．都市部公園におけるヒトスジシマカの潜み場所に関する予備的調査.

29）武藤敦彦，芳村健治，小林睦生．液化炭酸ガス製剤のヒトスジシマカ成虫に対する野外での効力評価（２）－民家の庭における効力評価－.

30）吉田政弘，小林睦生，二瓶直子，平良常弘，米正静男．ヒトスジシマカを中心とした蚊防除法の検討.

殺虫剤研究班シンポジウム

1) 冨田隆史．文献から見た世界的な殺虫剤抵抗性発達の状況.

「第 45 回日本脳炎ウイルス生態学研究会,H22 年 5 月 28-29 日,東京」

1)山口幸恵，田島茂，小滝徹，沢辺京子，渡邉治雄，高崎智彦，倉根一郎.日本脳炎ウイルス E 蛋白質の 1 アミノ酸置換（S123N）がウイルス増殖能に及ぼす影響.

2)鍬田龍星，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，津田良夫，金京純，梁瀬徹，白藤浩明，山川睦，今田忠男，澤邉京子，小林睦生.2009 年国内捕集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの分離および遺伝子解析.

3)Bertuso AG., Kuwata R., Higa Y., Mistica MS., Isawa H., Sasaki T., Tsuda Y., Kobayashi M. , Sawabe K. Mosquito survey and isolation of the Japanese encephalitis virus in the Philippines.

4)渡辺護，米島万有子，及川陽三郎，二瓶直子，山内健生，小林睦生．ドライアイス誘引 CDC トラップによる北陸 3 県と滋賀県におけるコガタアカイエカの発生調査.

シンポジウム

1)澤邉京子.コガタアカイエカの長距離移動に関する知見.

2)津田良夫.都市部におけるコガタアカイエカの休眠前移動と越冬生態.

「第 35 回日本比較内分泌学会大会・シンポジウム,2010 年 11 月 18 日～20 日,静岡市」

1)　佐々木年則．蚊の自然免疫学と感染症対策.

「第 9 回分子寄生虫･マラリア研究フォーラム,2010 年 10 月 8 日～9 日，長崎市」

1)　沢辺京子，今西望，金京純，津田良夫，渡辺護，佐々木年則，斎藤一三，小林睦生.我が国のマラリア媒介蚊の分布と分類に関する系統学的研究.

「第 62 回日本衛生動物学会東日本支部大会,H22 年 10 月 16 日,千葉県印旛郡」

1)津田良夫,金京純.イナトミシオカの生態に関する実験的研究(2):幼虫の密度が発育と生存および蔵卵数に与える影響.

2)沢辺京子，森林敦子，大塚彰，松村正哉，小林睦生. 秋に移動するコガタアカイエカの生理的特徴.

3)今西望，高井憲治，金京純，津田良夫，小林睦生，糸山享，沢辺京子． 釧路湿原周辺に生息するハマダラカ成虫の形態的特徴.

4) 葛西真治，駒形修，小林睦生，冨田隆史.ヒトスジシマカから初めて検出された *kdr* 遺伝子.

「第 55 回日本応用動物昆虫学会大会，2010 年 3 月 27 日～29 日，福岡市」

1)沢辺京子，新井智，松村正哉，大塚彰，衞藤友紀，梁瀬徹，今西望，Roychoudhury S.，鍬田龍星，小林睦生.ミトコンドリア遺伝子が示唆する日本脳炎ウイルス媒介蚊の海外からの飛来.

2)鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，津田良夫，佐々木年則，小林睦生，水谷哲也，沢辺京子.国内捕集イエカ属蚊より分離された新規 2 本鎖 RNA ウイルスの性状解析.

3）駒形修，葛西真治，矢口昇，渡辺護，糸川健太郎，冨田隆史. トコジラミのピレスロイド系殺虫剤抵抗性.

4）糸川健太郎，駒形修，葛西真治，川田均，岡村佳香，政田正弘，冨田隆史. ネッタイイエカ *CYP9M10* 遺伝子の分子進化とピレスロイド抵抗性.

「第 36 回日本農薬学会大会, 2010 年 3 月 16～18 日, 町田市」

1）葛西真治，駒形修，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史. Permethrin 抵抗性ネッタイシマカの解毒と作用点変異.

「第 79 回日本寄生虫学会大会， 2010 年 5 月 19～21 日， 旭川市」

1） 二瓶直子，駒形修，小林睦生，熊谷貴，下河原理江子，斎藤康秀，望月貫一郎，陳睿，陸紹紅，聞礼永，汪天平，太田伸生．中国安徽省における日本住血吸虫症中間宿主貝のサーベイランスツールの開発.

2)佐々木年則, 齋藤典子, 星野啓太, 伊澤晴彦, 澤邉京子, 小林睦生. オオクロヤブカにおけるネズミマラリア原虫の感染およびメラニン化作用.

「地理情報システム学会第 19 回研究発表大会, 2010 年 10 月, 京都市」

1） 米島万有子，渡辺護，二瓶直子，津田良夫，中谷友樹，小林睦生．GIS を用いた感染症媒介蚊の生息ポテンシャルの評価.

調査

1）沢辺京子.「アジア諸国における蚊およびシラミ類からの病原体の分離と検出」に関する共同研究打ち合わせおよびシラミ類の採取. 2010 年 12 月 6 日－9 日，フィリピン・ブラカン市.

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ー構築」に関する共同研究. 2010 年 11 月 8 日-12 日, ベトナム.

１２．獣医科学部

部 長　山 田 章 雄

概　要

平成 22 年度はインフルエンザのパンデミックは治まったものの宮崎県で発生した口蹄疫が大きな社会問題化した。獣医科学部は口蹄疫の問題には全く影響は受けなかったが、私達と背景をともにする全国の獣医師ならびに獣医学研究者は非常招集され、その対策に追われたと聞く。感染症には確かに国境はなく、One Health の重要性を確認させられるようなイベントが毎年のように起きている。昨年度政権交代により、このようなイベントへの対応に大きな変化が起きることを期待する様な文章を記したが、獣医科学部にとってはその期待は見事に裏切られた。新政権の誕生によるものか財務官僚の判断によるものかは全く不明であるが、獣医科学部の研究活動の大きな財政基盤であった動物由来感染症に関する事業費が全く認められなかったのである。これまでも事業費は年を追う減額に直面していた。このままではじり貧であるという危機感からこれまでの事業費をスクラップアンドビルドする形で新規事業計画を打ち立てた。これが裏目に出たのである。状況判断に甘い点があったことは否めないかも知れないが、まさに世界が One Health 理念を実行に移すことによって、人獣共通感染症や人の健康に大きな影響を持つ家畜･家禽の疾病さらには野生動物の疾病コントロールに向かおうとしているこの時期にこのような事態となることは想像すらできなかった。Child Health Research Initiative では研究費配分に係る Priority 設定の問題点を指摘し、本当の意味での疾病負荷の軽減に必要な研究費配分の在り方を提言している。我が国の研究費配分の決定は如何なる考え方に基づいているのかしばしば疑問に思うところである。このような状況ではあるが､それぞれが確保した研究費に基づいて、これまでに引き続きブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、狂犬病、ニパウイルス感染症、炭疽、野兎病、高病原性鳥インフルエンザウイルスなどに関する研究が進められた。

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

ブルセラ属菌特異的な抗体検出法を開発するため、ウエスタンブロッティングにより特異的反応を示したタンパクを分離し、そのアミノ酸配列（104aa）を決定した。配列から、このタンパクの抗原部位を解析し、抗原性を持つと考えられる 5 種類のオリゴペプチド、ならびに全長の組換えタンパクを作成し、その抗原性の解析を行っている。新たな in-house の ICA の開発など、より特異性が高く簡便な方法の開発を進めている。[木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄、今岡浩一]

２．国内野生イノシシ・シカにおける抗 *Brucella* 抗体の保有状況に関する研究

国内の野生イノシシおよびシカの血液サンプルを用いたこれまでの調査から、イヌブルセラ菌（*B. canis*）に対する抗体を保有するものが認められている。今回、四国地方を中心に、イノシシにおけるブルセラ属菌に対する抗体の保有状況を検討したところ、これまでと同様、2010-11 年シーズンのサンプルでも 11/109 のイノシシで *B. canis* に対して凝集が認められた。家畜ブルセラ菌（*B. melitensis, B. abortus, B. suis*）に対しても 1/109 で凝集が認められた。また、血液培養により、ブルセラ属菌特異的遺伝子（*bcsp31*）陽性分離株を得たが、これは、*Achromobacter* 属の菌であり、ブルセラに対する抗体とは反応性を持たなかった。したがって、イノシシに見られるブルセラ属菌反応性抗体は、本菌に対する交差反応ではなかった。すなわち、イノシシがブルセラ属菌に感染し、これに対する抗体を獲得している可能性は否定できなかった。[木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、山田章雄（感染研・獣医科学部）、大日本猟友会、四国地区猟友会会員]

３．ブルセラ属菌の感染機序に関する研究

マウス腸管ループ二重結紮試験法およびマウス経口投与によるブルセラ菌の感染実験を行った。いずれの方法でも、*B. abortus* 投与では、プリオンノックアウトマウスでは野生型マウスと比較して、パイエル板、脾臓、腸管膜リンパ節における CFU 値が低かった。一方、*B. suis*

ではそのような傾向は認められなかった。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄（感染研・獣医科学部)、飛梅実（感染研・感染病理部)、阿戸学（感染研・免疫部)、中藤学、長谷耕二、大野博司（理化学研究所）]

４．カプノサイトファーガ属菌に関する疫学的調査・研究

（１）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る。特に *Capnocytophaga canimorsus* が臨床的に重要で、ヒトがイヌやネコに咬傷・掻傷（以下、咬掻傷）を受けた際に傷口から感染する。その患者発生状況が不明な点から、継続して国内症例報告を医中誌、各種学会抄録集などを検索し調査した。その結果、1993 年以降、22 例（イヌ咬傷 12 例、ネコ咬掻傷 7 例、不明 3 例）を把握し、うち 7 例が死亡症例（イヌ咬傷 2 例、ネコ掻傷 4 例、不明 1 例）であった。また、今年度は、雑誌、新聞、テレビ、そして、厚生労働省から Q&A として、これまでの成果等、情報を広く提供した。その効果もあり、医療機関からも患者情報が寄せられるようになってきた。[鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄、今岡浩一]

（２）イヌ・ネコだけでなく、近年、家屋内およびその周辺で多く見られ、有害鳥獣として問題になっているアライグマの同菌保有状況を検討した。その結果、イヌやネコが保有している *C. canimorsus* や *C. cynodegmi* の保菌は認められなかった。ただ、今のところ、その病原性やリスクは不明であるが、別の *Capnocytophaga* 属菌を保菌していることが明らかとなった。[今岡浩一、鈴木道雄（感染研・獣医科学部)、山本祥二、大塚宏美（大阪府家畜保健衛生所）]

５．動物由来感染症のリスク分析

愛玩動物の中でも最も身近なイヌ、ネコの咬・掻傷事故における感染症のリスク分析を行うため、一般者（5 万人）について大規模アンケート調査を実施した。イヌ・ネコ飼育状況、咬・掻傷事故の経験状況、発症状況、医療機関受診状況等を調査した。また、その際、カプノサイトファーガ症だけでなく、同じくイヌ・ネコから感染するパスツレラ症、ネコひっかき病を含めた計 3 疾患について、その認知度・罹患状況等を調査した。犬・猫咬・掻傷の実態については不明な点が多かったが、本調査により、多くの咬・掻傷事例が発生し、かつ感染症を発症していることが明らかとなった。カプノサイトファーガ属菌をはじめ、主な細菌感染症に対する認知はまだまだ不十分であり、なじみの深い犬・猫であっても飼育する上で感染症のリスクがあることを認知してもらうことが必要である。 [今岡浩一、東レリサーチセンター]

６．狂犬病に関する研究

（１）狂犬病の危機管理に関わる調査・研究

動物検疫所、自治体（狂犬病等動物由来感染症担当者）および狂犬病臨床研究会（臨床獣医師）の研究協力により、我が国および海外で報告されている輸入狂犬病事例や疑い事例への対応分析に基づく（１）海外からの侵入リスク調査、（２）公衆衛生リスク回避に必要な輸入狂犬病の摘発とサーベイランス、（３）発生シナリオとリスク検討、タイの赤十字研究所・狂犬病診断部との共同研究による狂犬病の臨床サーベイランスシステムの構築に必要な狂犬病臨床診断フロー（案）の検証、（４）狂犬病を発症したイヌ等の臨床診断が研修可能な映像資料の収集と分析、（５）脳検体の安全・簡便な採取方法の開発等を行った。[井上　智、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄（感染研・獣医科学部）、浦口宏二（北海道立衛生研究所）、深瀬　徹（明治薬科大学）、佐藤克（狂犬病臨床研究会）、村山悠子（さいたま市動物愛護ふれあいセンター）、宗村佳子（東京都動物愛護相談センター)、矢野さやか(徳島県保健福祉部生活衛生課)、児玉晋治（網走保健所）、白井和也（新潟県福祉保健部生活衛生課）、辻沢雅人（新潟市保健所）、田原研司（島根県健康福祉部薬事衛生課）、来待幹夫（島根県隠岐支庁隠岐保健所）、拓植　康（愛知県動物保護管理センター）、伊藤　雅（愛知県衛生研究所）、増田真人（農林水産省動物検疫所）、Tepsumethanon V.（タイ赤十字記念病院・狂犬病診断部）]

（２）侵入・不許可動物等の生態学的リスク評価と管理に関する研究

不法上陸犬や輸入コンテナ貨物等に迷入した動物による感染症リスクについて動物生態学的視点から解析を行った。北海道には本州以南よりも多数のキツネが生息しており港湾区域にアクセスしうる環境であることが示された。過去に不法上陸犬事例があり周辺に野生動物生息可能な港として舞鶴港を選定し環境調査と港湾事務所等への聞き取りを行ったところ、キツネ同様狂犬病を媒介するタヌキやアライグマが周辺に多数生息しており、外国船からの不法上陸犬がこれら野生動物と接触するリスクの検討が必要と考えられた。[浦口宏二（北海道立衛生研究所)、工藤由美子(留萌振興局保健環境部保健福祉室)、関谷紀幸（宗谷総合振興局保健環境部保健福祉室)、竹下日出夫（オホーツク総合振興局保健環境部紋別地域保健室)、児玉晋治（オホーツク総合振興局保健環境部保健福

祉室)、梅澤めぐみ(根室振興局保健環境部保健福祉室)、深瀬　徹（明治薬科大学)、井上　智（感染研・獣医科学部）]

（３）動物由来感染症の感染源動物モニタリング手法に関する研究

狂犬病など人獣共通感染症の潜在的媒介者となりうる野生哺乳動物のリスク評価手法として自動撮影によるモニタリング手法の検討を行いキツネ・タヌキ・アライグマなどの野生哺乳類の生息状況把握に極めて有効であることを明らかにした。調査努力量と結果の安定性、時期による動物活動性の影響考慮、データ蓄積、理論面での検討が残されているが、手法を統一し観測をネットワーク化すれば、広域的な密度分布や分布域の変化も把握できる可能性が示唆された。［浦口宏二（北海道立衛生研究所)、平川浩文(森林総合研究所北海道支所)、深瀬　徹（明治薬科大学)、井上　智（感染研・獣医科学部）]

（４）アジアの研究機関との連携による狂犬病のラボラトリーネットワーク強化に関する研究

平成 22 年度は、RITM、NIHE、China CDC に NIH/KCDC の狂犬病専門家を加えて連携ネットワークの拡大強化を行い、前年度までに確立した遺伝子および抗原検査系と分子疫学等の成果･技術の評価と見直し､課題点の補強、連携研究の方向性等について国立感染症研究所（NIID）で連携機関の担当者を招聘して実技を交えた議論と研修を行った。また、実験的に狂犬病ウイルス（CVS-11 株）感染マウスの脊髄で遺伝子の発現低下を示す遺伝子群（神経疾患関連遺伝、GABA 関連遺伝子、イオンチャネル関連遺伝子）を見いだした。[井上　智、野口　章、杉浦尚子、宇田晶彦、Bazartseren B.、佐藤　豪、加来義浩、奥谷晶子、山田章雄（感染研・獣医科学部)、朴　天鎬、小嶋大亮（北里大学)、黒田　誠、関塚剛史（感染研・病原体ゲノム解析研究センター)、飛梅　実（感染研・感染病理部)、阿戸　学（感染研・免疫部)、井上謙一、(京都大学･霊長類研究所)､Demetria C.､Manalo D.L.､Quiambao B.(RITM)､Nguyen T.K.A.､Nguyen D.V.､Ngo G.C.(NIHE)、Tang Q.（China CDC)、Han M.G.（NIH/KCDCP)]

（５）海外からの侵入が危惧される野生動物媒介性の狂犬病に関する研究

近隣諸国での狂犬病流行拡大は日本への狂犬病侵入リスク増大につながるため、海外研究協力者と共同してユーラシア大陸を中心とした野生獣の狂犬病（リッサウイルス感染症を含む）について流行状況把握、疫学調査、流行様式解明等について調査研究を行った。今年度は、モンゴルの現地専門家の協力を得て流行している狂犬病ウイルス(RABV)の遺伝学的多様性について解析を行い、モンゴルで流行している RABV が２つの遺伝子グループに分けられ、それぞれがロシアで分離される RABV（Steppe 型と Arctic 型）に近縁であることを明らかにした。モンゴル国境沿いのロシア地域では新しいコウモリ由来のリッサウイルスが発見されており、国境を越えた野生動物での流行拡大リスク等について調査の必要性が示唆された。[井上　智、Bazartseren B.、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、杉浦尚子、山田章雄（感染研・獣医科学部)、小滝　徹（感染研・ウイルス一部)、Tuya N.，Dulam P.，Batchuluun D.（モンゴル中央獣医研究所)]

（６）狂犬病の感受性動物の生態把握に関する調査研究

わが国で行われている狂犬病予防は、厚生労働省「衛生行政報告例」によって統計把握されている予防注射頭数、及び、登録犬数に基づいて行われているが、飼育犬頭数の総数を公的統計で把握したものはない。今回、飼育犬頭数の統計にしばしば引用される「全国犬・猫飼育実態調査(一般社団法人ペットフード協会)」に基づく「現在飼育頭数（拡大推計値)」について評価を行い、飼育犬頭数の推計精度を向上させるために（１）補助変量（世帯総数）に国勢調査の一般世帯を利用し、沖縄県、20 歳未満、70 歳以上のみで構成される世帯を考慮すること、（２）1 世帯あたりの平均飼育頭数に補正の必要性は少ないがバイアスの動向等に関する検証継続が必要であることを示した。推計方法の種々不確実要素は改善可能と考えられ、検討の継続が必要であり、政府統計において大規模な無作為抽出標本調査による飼育犬頭数実態把握の実施が望まれた。[石井　太（国立社会保障・人口問題研究所)、井上　智（感染研・獣医科学部)]

（７）狂犬病の中和抗体価測定法に関する研究

RFFIT 法は WHO で推奨されている狂犬病の中和抗体測定法の一つであるが、標準血清の入手が困難であり、かつ､アジアにおいては本測定法の標準化が進んでいない。そこで、中国 CDC・狂犬病研究部の検査担当官を NIID に招聘して両機関で行っている検査手技の詳細・相違点と保存標準血清の力価検証について一緒に直接比較検討を行った。これにより、各実験室の課題点について情報共有と解決策の提案が容易となり、検査手技等の相互検証と標準血清の評価を定期的に連携して行うことの有意性を確認した。[野口　章､井上　智(感染研･獣医科学部)、Pengcheng Y.、Tang Q.（中国 CDC）]

（８）single chain variable fragment (scFv)と Direct,

rapid immunohistochemical test (DRIT) 法による狂犬病ウイルス (RABV) 抗原検出法の開発

Direct, rapid immunohistochemical test (DRIT) 法は、測定が簡便で、高価な蛍光顕微鏡を必要としない RABV 抗原検出法として近年注目されている。そこで、RABV 蛋白質を特異的に認識する single chain variable fragment (scFv)を DRIT の検出抗体として利用し、有効性と課題点を検討した。RABV-N, P 蛋白質を特異的に認識する scFv をビオチン標識し、RABV 感染マウス脳の塗抹標本に反応させたところ全ての scFv はウイルス蛋白質を特異的に認識することができた。しかし、検出された抗原密度は、陽性対照として用いたビオチン標識ポリクローナル抗体よりも低く感度と特異性について改良の必要性が示された。［加来義浩、野口　章、杉浦尚子、山田章雄、井上　智（感染研・獣医科学部）］

（９）狂犬病ウイルス (RABV) 遺伝子検出系に使用する陽性対照 RNA を産生する細胞の作出

現在、遺伝子検出系の陽性対照に合成 RNA を準備しているが、合成 RNA は RNase にさらされやすく長期保存や地方衛研への移送時に分解しやすいリスクがある。この課題を解決するために、陽性対照 RNA をもつ疑似ウイルス粒子の作出を検討した。今年度は、RABV ゲノム両端の Leader 配列と Trailer 配列間に陽性対照 RNA 配列を挿入したプラスミドを作出して RABV 蛋白質を発現するマウス神経芽腫細胞内に導入し、RT-PCR により陽性対照 RNA の増幅を確認した。現在、疑似ウイルス粒子の生産効率を上げるため陽性対照 RNA 配列の再検討を行っている。[加来義浩、野口　章、杉浦尚子、井上　智（感染研・獣医科学部)、井上謙一（京大・霊長研）］

（１０）狂犬病ウイルス (RABV) 固定毒 CVS-26 株の reverse genetics 系の作出

狂犬病ウイルス (RABV) 固定毒 CVS-26 株（米国 CDC 由来)の全ゲノム配列を特定して､狂犬病ウイルス(RABV)の reverse genetics 系を作出した。[井上謙一（京大・霊長研)、佐藤こずえ（長崎大・熱帯研)、加来義浩、杉浦尚子、濱本紀子、野口　章、井上　智（感染研・獣医科学部）］

７．炭疽に関する研究

（１）モンゴル国内分離株の分子遺伝学的解析

モンゴル国内で分離された動物および土壌由来の炭疽菌について Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)による分子疫学的解析を行ったところ、病原性プラスミド由来のタンデムリピートでは多型性がみられたが、解析の主体であるゲノム由来タンデムリピートにおいていずれも遺伝的に近縁であり、アジア由来の炭疽菌株と同じクラスター(A3)に分類されることが明らかとなった。［奥谷晶子、Bazartseren B.、井上　智（感染研・獣医科学部)、Tungalag H., Tserennorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D.(モンゴル･国立生態系感染症センター)］

（２）ベトナムの炭疽発生地域における患者・環境等感染源を利用した炭疽診断と分子疫学的解析に関する研究

ベトナムの国立衛生疫学研究所 (NIHE) との共同研究によって、炭疽の高頻度発生地区であるラオカイ（*Lào Cai*, 老街）省、ハザン（*Hà Giang*, 河江）省、ディエンビエン（*Điện Biên*, 奠邊）省、ライチャウ（*Lai Châu*, 萊州）省で医療センターと獣医系機関との連携を確立し、実際の炭疽発生事例からヒト・動物・環境検体から菌の分離と同定を行って、炭疽を発症した患者および感染源となった環境等検体を利用した菌体の分離・同定法を確立した。[Hoang T. T. H.、Anh D. D. (ベトナム・国立衛生疫学研究所)、奥谷晶子、井上 智（感染研･獣医科学部)]

（３）芽胞形成菌であるバチラス属（炭疽菌等）の環境中（土壌等）における分布と安定性に関する研究

芽胞形成菌である炭疽菌等バチラス属の環境中（土壌等）における分布と安定性を明らかにするために、国内（4 カ所）で採取した土壌を利用してバチラス属選択培地および羊血液寒天培地による菌分離･同定法の確立と、バチラス属および炭疽菌を含むバチラス・セレウスグループに特異性の高い PCR プライマーを使用した土壌抽出 DNA からの菌体遺伝子検出法の開発を行った。今後、野外の土壌採取地域を増やして実験室内で確立した分離・同定・検出法の検証を行いながら土壌中のバチラス属分布について解析を行う。[奥谷晶子、井上 智（感染研・獣医科学部)]

（４）病原性プラスミド上の遺伝子を欠失した炭疽菌変異株の電子顕微鏡による微細形態の比較解析

遺伝子欠失によって弱毒化した炭疽菌（莢膜欠損株、防御抗原欠損株）の微細形態学的な特徴を走査および透過型電子顕微鏡で調べるために培養・固定等の至適条件について検討を行った。現在、変異株間で栄養型、莢膜型、芽胞について微細形態の比較解析を進めている。[奥谷晶子、井上 智（感染研･獣医科学部)、佐多徹太郎（感染研・感染病理部）］

（５）炭疽菌の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括管理システムの構築

炭疽菌は感染症法により二種病原体等に指定されており、バイオセキュリティ上の観点から、法に基づく厳重な保管管理が必要とされている。そこで、炭疽菌の管理に適した「病原体等の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括管理システム」の構築をバイオセーフティ管理室と連携して行った。［奥谷晶子、井上 智（感染研・獣医科学部)、篠原克明（感染研・バイオセーフティ管理室）］

８．野兎病に関する研究

（１）日本分離野兎病菌株の薬剤感受性試験

野兎病菌（*Francisella tularensis*）日本分離株 34 株についてE test により薬剤感受性を比較した。全株が penicillin G 耐性で、erythromycin、ciprofloxacin、gentamycin および doxycycline に高い感受性を示した。cefotaxime（CT）および imipenem（IP）に対する感受性は株間で異なり、CT および IP 感受性（14 株)、CT 耐性 IP 感受性（11 株)、CT および IP 耐性（11 株）の 3 群に分けられた。P/C アーゼテスト（ニッスイ）にて全株がペニシリナーゼ陽性かつセファロスポリナーゼ陰性であった。薬剤感受性において日本分離株は既報の海外由来株と概ね同等であったが、CT などのセフェム系や IP などのカルバペネム系薬剤に対して感受性の株が多いと考えられた。[堀田明豊、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、Neekun Sharma（岐阜大学連合大学院）]

（２）野兎病菌リポ多糖体（LPS）に対する免疫血清の作製

マウスは野兎病菌に高感受性で感染にて多くが斃死する。このため感染回復個体からの血清採取は困難である。一方、野外のノネズミは比較的耐性がありと考えられているが感染個体に遭遇することは極めて稀である。このため、擬似的な野兎病菌感染血清の作製を目的に、精製野兎病菌 LPS をマウス免疫した。日本分離野兎病菌由来の LPS10、50、100 または 200μg 懸濁液と等量の titer max を混合し免疫した。ブースターとして全採血 3 日前に蛋白量 100μg の野兎病菌不活化全菌体を接種した。2 週おきに免疫した結果、12 週後に精製 LPS100 または 200μg を免疫した個体に抗体価上昇が認められ、高い抗体価の血清を得た。[堀田明豊、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、Neekun Sharma（岐阜大学連合大学院）]

（３）野兎病菌感染宿主における病原性と感染細胞の差異

野兎病菌は哺乳類における高い増殖性と病原性を示す細胞内寄生性の細菌である。本研究では、野兎病菌の高い増殖機序を解明する為に、野兎病菌感染宿主における病原性と感染細胞の差異について検討を行った。病原性の異なる 2 種類の株をマウスに経鼻接種後、経時的に肺における感染細胞を解析した結果、強毒性株は主に $CD4^-CD8a^-CD11c^-CD45^+CD205^{low}F4/80^{low}IL1^-IFNg^+$ 細胞に感染するのに対し、弱毒株は $CD4^-CD8a^-CD11c^-CD45^-CD205^{low}F4/80^{low}IL1^-IFNg^+$ 細胞に感染する事が明らかとなった。今後、感染細胞と病原性の関連性について更に検討を行う。[宇田晶彦、藤田修、堀田明豊、棚林清、山田章雄]

（４）パルスフィールドゲル電気泳動法を用いた野兎病菌種および亜種間の鑑別に関する研究

我々が確立した野兎病菌パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法の有用性を検証する目的で、保有する *Francisella* 属菌 3 種計 56 株を検討した。その結果、昨年度明らかにした PFGE 法に有用な 7 種制限酵素のうち 2 種を用いる事で、国内外由来の *Francisella* 属菌の種間、野兎病菌の亜種間、さらに *F. tularensis* subsp. *holarctica* の国内分離株と海外由来株の鑑別が可能であった。しかし、クラスター解析により各クラスター内の菌株の分離場所、分離年、分離宿主、薬剤感受性、繰り返し遺伝子配列、生化学的性状等の関連性は見出されなかった。

［藤田　修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、棚林　清］

（５）野兎病菌におけるグリセロール分解能の簡易検査法の確立

野兎病菌の亜種間(*Francisella tularensis* subsp. *tularensis* と subsp. *holarctica*)の鑑別点の一つとしてグリセロール分解能の有無があげられる。一般的に海外の subsp. *holarctica* はグリセロール分解能が無いが、国内分離株にはグリセロール分解能を有する subsp. *holarctica* が存在する事が知られている。しかしこれまでの検査法は複雑であり、また簡便な検査キットは高額である。今回我々は簡便な野兎病菌のグリセロール分解能を調べる簡易検査法を開発した。この方法を用いて国内分離株を検討した結果、国内にグリセロール分解能を有る株が存在する事が再確認され、さらにグリセロール分解能が非常に弱い菌株でも検出可能となった。

［藤田　修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、棚林　清］

９．鳥インフルエンザに関する研究

鳥由来インフルエンザウイルスの検体輸送培地中での生残性

検体輸送用培地中でのウイルスの生残性を調べるために、組織培養用培地(MEM)、生理食塩水および市販のユニバーサルバイラルトランスポート培地に鳥類由来

H5N1 亜型ウイルス 2 株と H1N3 亜型ウイルス 1 株ならびにヒト由来 H1N1 亜型ウイルスを添加し冷蔵（4℃）と室温（20℃）で保管し感染価を測定した。さらに、ニワトリ糞便を混入した場合についてもその生残性を調べた。冷蔵での感染価の低下は少なかったが、室温保存の MEM 培地では他の培地より低下した。また、糞便の混入、室温保存では感染価の低下が速かった。[山本美江、堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、棚林清]

国際協力

（１）ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）能力強化計画プロジェクト（JICA）への協力

ベトナム NIHE において、短期派遣専門家として JICA 支援で建設された BSL3 実験室で使用する P3 病原体（結核菌、炭疽菌、狂犬病ウイルス、リケッチア、インフルエンザ)のバイオセーフティ/基準微生物実験技術にかかわる GMT の整備･強化について NIHE と国立感染症研究所（NIID）の各病原体専門家と情報共有、意見交換、NIHE バイオセーフティ部が作成中のバイオセーフティ教育・研修用 DVD への助言、実験室での病原体取扱いにおける課題等について支援・提言を行った。［篠原克明（感染研・バイオセーフティ管理室)、影山　勉（感染研・インフルエンザウイルス研究センター)、大野秀明（感染研・生物活性物質部)、安藤秀二（感染研・ウイルス一部)、長谷川秀樹（感染研・感染病理部)、井上　智、奥谷晶子（感染研・獣医科学部）］

（２）狂犬病の遺伝子・抗原検査系に係る研修

狂犬病のラボラトリーネットワーク構築で連携している中国 CDC（Pengcheng Y.）、ベトナム NIHE（Nguyen T.K.A.）、フィリピン RITM（Manalo D.L.）の狂犬病専門家を招聘して国立感染症研究所で研修と研究打ち合わせを行った。［野口　章、加来義浩、井上　智（感染研・獣医科学部)、飛梅　実（感染研･感染病理部)、阿戸　学（感染研・免疫部）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１． 欧文発表

1) Nomura,A., Imaoka,K., Imanishi,H., Shimizu,H., Nagura,F., Maeda,K., Tomino,T., Fujita,Y., Kimura,M. and Stein,G.H. Human *Brucella canis* infection diagnosed by blood culture. Emerg. Inf. Dis., 16(7):1183-1185, 2010

2）Inoue S., Boldbaatar B., Sugiura N., Noguchi A., and Park C.-H. (2010) 10 Rabies. In: Animal Viruses (Maeda A., ed.). Transworld Research Network. p143-153.

3）Hatano B., Maki T., Obara T., Fukumoto H., Hagisawa K., Matsushita Y., Okutani A., Bazartseren B., Inoue S., Sata T., and Katano H. (2010) LAMP Using a Disposable Pocket Warmer for Anthrax Detection, a Highly Mobile and Reliable Method for Anti-Bioterrorism. Jpn.J.Infect.Dis. 63:36-40.

4）Okutani A., Sekizuka T., Bazartseren B., Yamada A., Kuroda M., and Inoue S. (2010) Phylogenetic typing of Bacillus anthracis isolated in Japan by multiple locus variable-number tandem repeats and the comprehensive single nucleotide polymorphism. J.Vet.Med.Sci. 72:93-97.

5）Kojima D., Park C.-H., Tsujikawa S., Kohara K., Hatai H., Oyamada T., Noguchi A., and Inoue S. (2010) Lesions of the Central Nervous System Induced by Intracerebral Inoculation of BALB/c Mice with Rabies Virus (CVS-11). J.Vet.Med.Sci. 72: 1011-1016.

6）Serizawa M., Sekizuka T., Okutani A., Banno S., Sata T., Inoue S., Kuroda M. (2010) Genome-wide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in Bacillus anthracis. Antimicrob Agents Chemother. 54:2787-2792.

7）Kuroda M., Serizawa M., Okutani A., Sekizuka T., Banno S., and Inoue S. (2010) Genome-Wide Single Nucleotide Polymorphism Typing Method for Identification of *Bacillus anthracis* Species and Strains among *B. cereus* Group Species. J. Clin. Microbiol. 48: 2821-2829.

8）Bazartseren B., Inoue S., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D, Sugiura N, Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., Kotaki A., and Yamada A. (2010) Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008**.** Jpn.J.Infect.Dis. 63: 358-363.

9）Inoue K., Kabeya H., Fujita H., Makino T., Asano M., Inoue S., Inokuma H., Nogami S., and Maruyama S. (2010) Serological Survey of Five Zoonoses, Scrub Typhus, Japanese Spotted Fever, Tularemia, Lyme Disease, and Q Fever, in Feral Raccoons (Procyon lotor) in Japan. Vector Borne Zoonotic Dis. 10: 1-5.

10）Nguyen T.K.A., Nguyen vinh D., Ngo C.G., Nguyen van D., Nguyen T.T.H., Pham Q.B., Inoue S., Yamada A., Dinh K.X., Nguyen T.H.H., Nguyen T.H. (2010) Characterization nucleoprotein of isolated rabies virus in Vietnam 2006-2009", Journal of Preventive Medicine, Vietnam. Volume XX, 6:164 - 170.

２． 和文発表

1) 古谷明子, 吉田里美, 久保綾, 山下麻衣子, 伊藤達章, 鈴木道雄, 今岡浩一, 大楠清文. 自動血液培養で陽性シグナルを呈しなかった *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の一症例. 日本臨床微生物学雑誌, 20(3):182-187, 2010

2) 今岡浩一, 木村昌伸. ラットとストレプトバチルス感染症. in：アニテックス, 研成社, 22(3): 47-49, 2010

3) 今岡浩一. 犬を飼うときに気をつけたい感染症. in：チャイルドヘルス, 診断と治療社, 13(8): 567-570, 2010

4) 今岡浩一, 鈴木道雄. *Capnocytophaga canimorsus* 感染症. in：アニテックス, 研成社, 22(11): 23-25, 2010

5) 鈴木道雄, 今岡浩一. *Capnocytophaga canimorsus* による人獣共通感染症. in：皮膚病診療, 丸善, 32(12): 1345-1351, 2010

6) 朴　天鎬、中西　中、畑井　仁、小山田敏文、佐藤久聡、進藤順治、藤田　修、堀田明豊、井上　智、棚林　清。野兎病菌に自然感染したトウホクノウサギ（Lepus brachyurus angustidens）の症例 － 野生動物の病理解剖の意義と感染リスク －。特集 人と動物の共通感染症最前線 7。獣医畜産新報（JVM）、63:197-200、2010

7) 井上　智。話題の感染症 狂犬病（Rabies）。モダンメディア別冊、56:25-31、2010

8)井上　智。リッサウイルス感染症。感染症法改正(2003)で追加された感染症。＜新 4 類＞。25 感染症。健康生活の基礎知識。六訂版 家庭医学大全科。総合監修：高久史麿、猿田享男、北村惣一郎、福井次矢。法研、p2542-2543、2010

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Sato G., Inoue S., Yamada A., Ito F.-H., Silva M. L.-C.-R , Itou T., Sakai T. The rabies viral RNA genomes selectively shifted in quasispecies population after serial passages of street virus in mouse. 44th joint working conferece on viral diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 28-30 June, 2010. Sapporo, Japan.

2) Tanabayashi, K., Uda, A., Sekizuka, T., Fujita, O., Kuroda, M., Hotta, A., Yamamoto, Y., Sugiura, N., Yamada, A. pdpC gene determines the virulence of *Francisella tularensis*. 1st International One Health Congress. 14-16 February, 2011. Melbourne, Australia

２．国内学会

1) 木村昌伸, 今岡浩一, 鈴木道雄, 山田章雄. イヌブルセラ病抗体検査法の評価. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 帯広, 2010 年 9 月

2) 鈴木道雄, 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄. *Capnocytophaga canimorsus* 臨床分離株およびイヌ・ネコ口腔内分離株の性状. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 帯広, 2010 年 9 月

3) 泉田さゆり, 峯田有美子, 浅井蓉子, 長原正静, 今岡浩一. *Brucella melitennsis* による腸腰筋膿瘍の 1 症例. 第 22 回日本臨床微生物学会総会, 岡山, 2011 年 1 月

4) 今岡浩一, 木村昌伸, 鈴木道雄. 犬・猫咬傷・掻傷発生状況と由来感染症に関するアンケート調査. 第 151 回日本獣医学会学術集会, 東京, 2011 年 3 月

5）黒田誠、芹澤昌邦、関塚剛史、奥谷晶子、坂野聡美、井上　智。全ゲノム解読による炭疽菌・キノロン耐性領域の探索。第 83 回日本細菌学会総会、2010 年 3 月、パシフィコ横浜、神奈川県

6）坂野聡美、奥谷晶子、井上　智、黒田　誠。炭疽菌病原プラスミドにコードされる分泌タンパク質の培養細胞への影響。第 83 回日本細菌学会総会、2010 年 3 月、パシフィコ横浜、神奈川県

7）加来義浩、野口　章、奥谷晶子、堀田こずえ、福士秀悦、井上　智、山田章雄。分泌型アルカリフォスファターゼ発現 VSV シュードタイプを利用したニパウイルス中和試験法の確立。第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月、帯広畜産大学、北海道

8）杉浦尚子、宇田晶彦、小嶋大亮、野口　章、奥谷晶子、加来義浩、朴　天鎬、山田章雄、井上　智。狂犬病ウイルス（CVS-11）の末梢感染により麻痺症状を示した C57BL/6J マウスの中枢神経組織における宿主遺伝子のマイクロアレイ解析。第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月、帯広畜産大学、北海道

9）小嶋大亮、朴　天鎬、石田　誠、小原慶子、井上謙一、畑井　仁、小山田敏文、野口　章、井上　智。Macaque 属サルの脳に関する病理学的研究。第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月、帯広畜産大学、北海道

10）佐藤　豪、井上　智、Ito Fumio、Silva Maria、伊藤琢也、酒井健夫、山田章雄。マウスを用いた継代で見られたブラジル狂犬病ウイルスゲノムの選択。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島県郷土文化会館、徳島県

11）加来義浩、野口　章、奥谷晶子、堀田こずえ、福祉秀悦、井上　智、山田章雄。分泌型アルカリフォスファターゼ発現 VSV シュードタイプを利用したニパウイルス多検体中和試験法の確立。第 58 回 日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島県郷土文化会館、徳島県

12）杉浦尚子、宇田晶彦、小嶋大亮、野口　章、奥谷晶子、加来義浩、朴　天鎬、山田章雄、井上　智。狂犬病ウイルス（CVS-11 株）を末梢感染させた C57BL/6J マウ

スの脳脊髄における免疫関連遺伝子のマイクロアレイ解析。第 58 回 日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島県郷土文化会館、徳島県

13）藤田 修、宇田 晶彦、棚林 清、堀田 明豊、山本 美江、山田 章雄。インフルエンザ A ウイルス RNA 増幅法についての検討。 第 150 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月、帯広

14）宇田 晶彦、棚林 清、藤田 修、堀田 明豊、山本 美江、山田 章雄。病原体検出用マイクロアレイの開発。 第 150 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月（帯広）

15）杉浦尚子，宇田晶彦，小嶋大亮，野口章，奥谷晶子，加来義浩，朴天鎬，山田章雄，井上智。狂犬病ウイルス(CVS-11)の末梢感染により麻痺症状を示した C57BL/6J マウスの中枢神経組織における宿主遺伝子のマイクロアレイ解析。第 150 回日本獣医学会学術集会、2011 年 9 月、帯広

16）宇田晶彦、棚林清、永田典代、藤田修、堀田明豊、山本美江、山田章雄。SARS コロナウイルス感染 hACE2Tg マウスの肺における初期宿主応答の解析。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島

17）岩田奈織子、永田典代、辻隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子、宇田晶彦、水谷哲也、西條政幸、森川茂、佐多徹太郎。SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について。第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島

18）宇田晶彦、関塚剛史、藤田修、黒田誠、堀田明豊、山本美江、棚林清、山田章雄。Francisella tularensis subspecies tularensis SCHU 株の強毒性に関わる遺伝子の同定。BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会） 2010 年 12 月、神戸

19）堀田明豊、藤田修、Neekun Sharma、宇田晶彦、棚林清、山本美江、山田章雄。野兎病菌日本分離株の薬剤感受性。 第 151 回日本獣医学会学術集会、2011 年 3 月、東京

３．セミナー・講演等

1) 今岡浩一. わが国における鼠咬症の現状について: 特別講演. 第 45 回ねずみ駆除協議会総会, 東京, 2010 年 7 月

2) 今岡浩一. カプノサイトファーガ感染症について: 講演. 平成 22 年度公衆衛生講習会（日本獣医師会委託事業・関東地区）, 千葉, 2010 年 8 月

3) 今岡浩一. カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症について. 厚生労働省平成 22 年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会, 東京, 2010 年 10 月

4) 今岡浩一, 鈴木道雄. カプノサイトファーガ症の現状: 特別講演. 第 10 回人と動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 2010 年 10 月

5) 鈴木道雄, 今岡浩一. カプノサイトファーガ･カニモルサスの疫学. 第 23 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会, 宇都宮, 2011 年 2 月

5）井上 智。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）を用いた実技演習。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の使用に関する技術講習会。2010 年 2 月 25 日、厚生労働省仮説会議室、東京都

6）井上 智。他国における狂犬病の発生について。平成 21 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 2 月 26 日、三田共用会議所、東京都

7）井上 智。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）の活用について。平成 21 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 2 月 26 日、三田共用会議所、東京都

8）井上 智。準量産型解剖手技モデル（犬解剖手技・骨切断モデル）を用いた実技演習。平成 21 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 2 月 26 日、三田共用会議所、東京都

9）Inoue, S. Good microbiology Technique (GMT) in testing BSL3 infectious pathogen. Workshop on Biosafety and Achievements of JICA-NIHE Project. 22-23 June 2010, Hanoi, Vietnam.

10）井上 智。狂犬病診断のための採材について。平成 22 年度 狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 7 月 29 日、三田共用会議所、東京都

11）井上 智。狂犬病について。神奈川県衛生獣医師会人獣共通感染症勉強会。厚生労働省健康局結核感染症課。2010 年 7 月 29 日、三田共用会議所、東京都

12）井上 智。狂犬病の脅威と予防について。狂犬病予防・動物愛護関係市町村担当者研修会。愛知県健康福祉部健康担当局生活衛生課。2010 年 9 月 13 日、愛知県自治研修所、愛知県

13）井上 智。狂犬病の概要と日本を取り巻く狂犬病事情。第 3 回 世界狂犬病デー（WRD）シンポジウム 2010 JAPAN。世界狂犬病デー実行委員会(狂犬病臨床研究会)。2010 年 9 月 28 日、国際文化会館、東京都

14）井上 智。教育・特別講演 7-2：狂犬病の現状とその課題について。第 10 回 人と動物の共通感染症研究会学術集会。人と動物の共通感染症研究会。2010 年 10 月 30 日、日本大学会館・大講堂、東京都

15）井上　智。人獣共通感染症について知る。動物総合管理１（動物と人の関係学 － 動物から人へのメッセージ）。知の市場。レギュラトリーサイエンス教育講座（WT221 シラバス（01 後期））。早稲田大学、規範科学総合研究所。2010 年 11 月 4 日、早稲田大学、東京都

16）Inoue, S. Rabies in Japan. Rabies prevention and control conference in 2010. Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan. 7-8 December 2010, Taipei, Taiwan.

17）井上　智。今、話題の感染症（狂犬病の脅威）。食物科冬季集中講義（食物科専門科目：公衆衛生）。2010 年 12 月 24 日、東京都立農業高等学校、東京都

18）井上　智。我が国の狂犬病予防について（近隣アジア諸国における狂犬病の発生状況から）。平成 22 年度狂犬病予防注射業務関係者研修会。2011 年 1 月 14 日、新潟県自治会館、新潟県

19）井上　智。狂犬病について。平成 22 年度相模原市動物取扱者研修。2011 年 1 月 25 日、相模原南市民ホール、相模原市、神奈川県

20）井上　智。狂犬病について。平成 22 年度県･市町村狂犬病予防業務及び動物愛護管理業務担当者合同研修会。2011 年 1 月 28 日、島根県松江合同庁舎、島根県

21）井上　智。わが国の狂犬病対策（法律、防疫、発生時体制、技術）。狂犬病を考える～その現状と将来。平成 22 年度 日本獣医師会獣医学術学会年次大会。2011 年 2 月 11 日、長良川国際会議場、岐阜県

22）棚林　清：人獣共通感染症について（Zoonosis）。平成 22 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　2011 年 1 月 21 日、東京

特許

簡便かつ迅速で安全なQ熱診断方法および診断薬　特許第 4614313 号（特願 2004-184260、出願 2004.6.22、登録 2010.10.29）平井克哉、福士秀人、山口剛士、長縄崇、○堀田明豊、小宮智義、荒井節夫

１３.血液・安全性研究部

部長　濵口　功

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（一般毒性試験など）に関わる業務を行っている。

平成２２年度は検定及び研究業務において大きな動きがあった。検定業務においては、ワクチンのロットリリースにサマリーロットプロトコールの審査を導入することが正式に決まった。サマリーロットプロトコールの審査は海外においてはすでに行われているが、導入することによりさらに高度な品質管理につながることが期待される。一方で十分な体制構築の努力が必要となる。また、サマリーロットプロトコールの審査に伴い、国家検定試験のあり方についても検討が必要である。子宮頸がん等ワクチン接種促進事業により、新たなワクチン需要の高まり、それに伴い国家検定数も増大している。このような状況の中、ワクチンの品質の均一性を確認するための試験の充実を図るとともに、その効率化も図らなくてはならない。これらの課題について、現在メーカーと協力して試験法の改良や試験に用いる共通の参照品の整備を進めている。

国際協力業務については、E 型肝炎ウイルス RNA の国際標準品を独ポールエーリッヒ研究所（PEI）と協力して作製した。平成２３年の WHO の生物製剤の標準化に関する会議（ECBS）に本標準品の承認作業が行われる予定で、WHO の国際標準品策定作業報告書に共著者として当部員の名前が掲載されることになった。今回の作業では国際標準品作製と併行して日本の国内標準品の作製を進め、効率的に標準品整備作業が行えたことは有意義であった。

研究業務においては、「感染症」「ワクチン」「血液」の大きな３つのテーマでプロジェクトを進めている。平成２２年度のトピックとして、HTLV-1 に関する疫学研究から日本国内の HTLV-1 感染キャリアの現況を調査し報告した。これに関連し、感染研のホームページ内に「HTLV-1」に関する情報を集約したページを作成し公開を始めた。現在 HTLV-1 の母児感染スクリーニングのための検査法の標準化を進めるとともに、HTLV-1 に関する研究の強化を図っている。なお当部の研究業務は、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費の補助をうけて行われている。

現在建設計画中の１０号棟に部内の研究機能を集約し、基礎研究、応用研究の充実を図るとともに、品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備にも積極的に取り組み、試験の精度および信頼性の向上に努めていきたい。

人事の面では、平成２２年５月１日より楠英樹主任研究官が着任した。また平成２２年１１月２４日に第２室の非常勤職員、佐藤結子が採用された。平成２３年３月１日には、水上拓郎が第４室の室長に着任した。水上室長は主任研究官としてオックスフォード大学に２年間海外出張し、血液の基礎研究において研鑽をつんできた。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤の安全性に関する研究

１．病原体検出に関する研究

（１）輸血用血液のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査（ＮＡＴ）の品質管理に関する研究

献血血液の NAT は NAT ガイドライン（平成 16 年）に基づいて実施されてきた。その後の技術の向上を踏まえて、個別検体当たり HCV と HBV は 2000 IU/mL, HIV は 4000 IU/mL のウイルスゲノムを検出できる感度の NAT を用いることが、平成 22 年度血液事業部会において新たに定められた。平成 20 年に日本赤十字社では新しい試薬を導入し、九州血液センターにおいて NAT を開始した。

そこで、本研究においては新しい基準に照らして、新しい検査体制の下で実施されている HIV-NAT の感度の実情を把握することを目的として、日本赤十字社の４施設を対象に第４回 NAT コントロールサーベイを実施した。全ての施設において HIV-NAT は所定の濃度の HIV ゲノムを検出できることを確認した。

［水澤左衛子、岡田義昭、浜口功］

（２）C 型肝炎ウイルスの超高感度検出系の確立

従来の核酸増幅法では、多くても 500μL 程度の検体から核酸を抽出していたが極微量なウイルスを検出する場合、採取した検体中にウイルスが存在していなければ陰性となる。我々は、Qiagen 社のキットを用いて 5mL の血漿、又は血漿分画製剤から 50μL の核酸を精製･濃縮し、これらを ロシュのアンプリコアを用いて増幅･検出することによって、5mL の血漿または血漿分画製剤中に 3IU の HCV が存在すれば 95％以上の検出が可能な「超」高感度の検出系を確立した。これを用いて原料血漿の NAT 検査が導入されていなかった時代に製造された 59 ロットの血液製剤を検査したが全て陰性であった。

［岡田義昭、野島清子、楠英樹、浜口功］

（３）ジェノタイプの異なる B 型肝炎ウイルス表面抗原（HBsAg）の検出感度比較

本邦で近年増加が見られるジェノタイプ A 型 HBV の感染について、その実態を明らかにするためには、高感度で特異的、かつ HBV ジェノタイプの違いに左右されない HBsAg 検出キットが求められる。本研究では、HBV のジェノタイプが異なることによるただ一カ所のアミノ酸置換により、HBsAg の検出感度が大きく変化することを明らかにした。このことは、HBsAg をそれらのジェノタイプに関わらず漏れなく検出できるようなキットを選択する上で重要な知見である。［水落利明］

（４）新規レトロウイルス XMRV の検出法の開発

新規レトロウイルス XMRV は、前立腺癌から発見され、慢性疲労症候群患者から高率に検出され、しかも健常者からも数％検出されたとの報告から、輸血を始めとする血液製剤の安全性確保のために注目された。我々は、血液由来の RNA や DNA から高感度に XMRV を検出でき、必要に応じて血液のスクリーニングに導入できる系の確立を目指した。これまで報告された XMRV の塩基配列から特徴的な配列に注目し、特異的に XMRV を検出する系を確立した。また、前立腺癌 LN-Cap を用いて感染性ウイルスを増殖･検出できる系も確立した。さらに、文献等から最新の情報を集め、血液対策課等に情報提供した。最近、慢性疲労症候群からの XMRV 検出に関し、信頼性について疑惑が報告されたが、短期間で血液製剤の安全性を脅かす病原体に対処できたことは、今後に役立つと思われた。［岡田義昭、浜口功］

２．標準品整備に関する研究

（１）ウイルス等感染症の体外診断薬の評価のための標準品等の整備に関する研究

WHOのECBS会議とNIBSC主催の第三回SoGAT-CV会議に参加し、体外診断薬のための標準品等の整備に関する情報を収集した。ECBS会議においてCMV DNA国際標準品と*T. cruzi* 国際抗体参照パネルが制定され、HHV-6 NAT、*Adenovirus* NAT及びMycoplasma NATの国際標準品の新規作製、HBV DNAとHCV RNA国際標準品の更新、*Babesia spec* 抗体と *Chikungunya* RNA国際参照パネルの新規作製が承認された。国立感染症研究所では体外診断薬委員会を通じてHEV RNA国際標準品、HIV-1 RNA国際標準品、HBV DNA国際標準品及びHBs抗原国際参照パネル作製のためのWHO国際共同研究に参加した。

［水澤左衛子、水落利明、浜口功、小林和夫（免疫部）］

（２）E 型肝炎ウイルス RNA の国際標準品及び国内標準品作製のための共同研究

従来、E 型肝炎は発展途上国における糞便を介した感染症と考えられていたが、近年になって日本を含む先進国においても E 型肝炎ウイルス（HEV）が常在することが明らかになり、輸血による感染が問題になっている。国際標準品作製のための WHO 国際共同研究において日本の国内標準品候補品の力価を同時に決定するため、昨年に引き続きドイツのポールエーリッヒ研究所と共同研究を進めた。二つの候補品をスイスの同じ施設において凍結乾燥して製造し、共同研究参加施設に配布した。参加した 10 カ国 23 施設から結果が返送された。2011 年 ECBS に共同研究の結果を報告し、承認される予定である。［岡田義昭、水澤左衛子、百瀬暖佳、浜口功］

（３）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

これまでに整備が完了した、国内献血血液による国内標準パネル（HIVAg, HBsAg, HCVAb, HCV RNA, HBV DNA, HAV Ab）について国立感染症研究所国内標準パネル運営委員会規程が作成され、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が既に設置されている。現在、今後のパネル譲渡に関する実務について、引き続き本省審査管理課との調整をはかっている。

［水落利明、加藤孝宣（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）小林和夫（免疫部）］

（４）ジェノタイプ別 HBsAg 国際標準品制定への協力

B 型肝炎ウイルス（HBV）表面抗原（HBsAg）は HBV 感染の有無を初期診断するうえで重要なマーカーのひとつである。HBV には遺伝子配列の相違から様々な遺伝子型（genotype）が知られている。これらの異なる genotype を持つ HBV によりコードされる HBsAg についての国際標準品を制定するプロジェクトが WHO で進められており、我が国にも collaborative study の要請があった。本研究では国内で開発された HBsAg 測定キットである HISCL HBsAg（シスメックス社）を用いて、WHO 国際標準品候補検体について測定を行い、そのデータを WHO に送付した。

［水落利明］

（５）HTLV-1 国内標準品作製に関する研究

これまで HTLV-1 核酸検査は、主に研究目的で様々な研究施設で独自に開発されて来たが、同一検体の測定値には施設間で大きな隔たりがある。そこで、試料中の HTLV-1 のコピー数が明らかである標準品を設定し、施設間の測定値の差を極めて小さくすることを目指して HTLV-1 核酸検査の標準化に取り組んでいる。いくつかの標準品候補を複数の研究施設で検討した結果、HTLV-1 感染細胞株が標準品として最も適していることが考えられた。今後、各施設の補正値の設定、臨床検体を用いた標準化の検討を進める。

［倉光球、大隈和、水澤左衛子、岡田義昭、浜口功］

３．病原体不活化に関する研究

輸血を介する感染を予防するために、病原体の不活化は重要なことだが、赤血球製剤における病原体の不活化法は実用化されていない。我々は、赤血球製剤での病原体の不活化法の開発を進めているが、今年度は紫外線照射による不活化を検討した。従来から紫外線による不活化は不可能であると言われていたが、我々は照射法を改良することで赤血球製剤においても病原体の不活化が可能なことを見いだした。現在のところ、液層が 1.5㎜の赤血球製剤においてウシ下痢症ウイルスを3ー4 Log 不活化した。この照射条件では著明な溶血は観察できなかった。さらに効果的な不活化条件を検討する予定である。

［岡田義昭、野島清子、浜口功］

４．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、輸血製剤による副作用の全数把握を目的とする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情報収集の体制づくりを行ってきた。平成 22 年度に全国の 33 大学病院が新規参加し、システムの構築に向けて順調に進行している。平成 22 年に 45 医療施設から収集された結果を「輸血製剤副反応動向 -2010-」として報告した。平成 23 年度より新たに 10 大学病院が参加することとなり、全国の大学病院の約6割が本サーベイランスシステムに参加することになった。

［小高千加子、岡田義昭、種市麻衣子、大隈和、浜口功］

II．輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

１．プリオンの研究

これまで報告された in vitro のプリオン感染系では培養上清に感染性プリオンは存在しないとされてきたが、我々の系では、培養上清中に高い感染性を有していた。その一方でウエスタンブロットの異常プリオンのパターンが従来報告されているものと異なり、用いた細胞株の違いなのか、培養条件が異なるためなのか不明であった。vCJD の特徴として、糖鎖が 2 つ付いた異常プリオンが主なバンドであることから、我々は培養法を改良し、vCJD を感染させたところ、糖鎖が 2 つ付いたプリオン蛋白のシグナルが検出されるようになった。複数の単クローン抗体を用いて異常プリオンの泳動パターンについて詳細な検討を予定している。

［岡田義昭、水沢左衛子、野島清子、浜口功］

２．HCV 感染による B 細胞機能異常、特に自己免疫疾患との関連についての研究

これまでの研究で 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。今年度は自己免疫疾患に深く関与している CD5 陽性 B 細胞の動態について検討した。その結果、HCV 慢性感染患者の CD5 陽性 B 細胞は自らが産生する IL-10 によりアポトーシス抵抗性となることが示された。このような CD5 陽性 B 細胞の長期生存が自己免疫疾患様の B 細胞機能異常を誘発していることが示唆された。

［伊藤昌彦（山口大学）、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）、水落利明］

３．慢性 C 型肝炎患者の B 細胞における癌化関連蛋白質発現解析と B リンパ腫発症機序の解明に向けた研究

HCV 持続感染から慢性 C 型肝炎発症、更には癌化のメカニズムの解明は非常に重要であるが、未だに不明な点が多い。HCV は肝細胞のほかに、B 細胞の一部に感染し、長期潜伏

の後、B 細胞リンパ腫を形成することが考えられる。そこで、我々は末梢 B 細胞を標的に動物モデルや患者細胞を用いて、HCV による慢性感染および癌化のプロセスの解明を試みている。HCV 慢性感染患者においては末梢血 B 細胞において、癌抑制因子である TNFAIP3（別名 A20）が発現亢進していることを明らかにした。一方で、HCV 持続発現マウスにおける B リンパ腫では、A20 蛋白質発現が顕著に減少していることを見出した。現在、A20 分子の機能異常（細胞内での減少）がどのように起こるのかについて検討しているところである。

［楠英樹、水落利明］

４．組換え VSV を用いた HIV-1 感染症／エイズに対する新規バイオ治療薬の開発

ヒト免疫不全ウイルス１型（HIV-1）感染症／エイズに対する現在の標準的治療法である多剤併用療法は非常に効果的ではあるが、副作用や薬剤耐性ウイルスの出現による治療効果の減弱、ウイルスの完全排除が極めて困難等の重大な問題点もあるため、それを改善し補完する新規薬剤の開発が必要である。そのため、これまでの薬剤にない作用機序を有する新規バイオ薬剤候補である組換え水疱性口内炎ウイルス（VSV）を種々作製し、その有効性を *in vitro* だけでなく、HIV-1 が感染したヒト化マウスを用いて評価し、開発を進めている。

［大隈和、深川耕次、高馬卓也、渡辺哲（エイズ研究センター）、山本直樹（エイズ研究センター）、田中勇悦（琉球大学）］

５．HIV-1 の選択的スプライシング機構に関与する宿主因子の同定と解析

HIV-1 は自己の多様なウイルス蛋白を発現させるために複雑な選択的スプライシングを行っているが、このスプライシング機構には宿主因子が重要な役割を果たしていることが知られている。そこで、HIV-1 ゲノム RNA に結合する宿主因子として HMGA1a を同定したため、選択的スプライシングへの関与を解析した。その結果、HMGA1a は A2 及び D3 のスプライシング部位に特異的に作用し、Vpr mRNA の発現を制御していることが示唆された。

［大隈和、鶴野親是、高馬卓也、倉光球、大江賢治（藤田保健衛生大学）］

６．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

当該研究課題について、厚生労働科学研究班（研究代表者　山口一成）の最終年度の研究活動を行った。ヒトT細胞白血病ウイルス１型（HTLV-1）関連疾患である成人T細胞白血病（ATL）の実態把握を再度別の方法で実施した。また、HTLV-1の診断やATL発症予測に重要な検査法である、プロウイルス量測定のための定量PCR法が各施設において独自に行われているため、全国的なサーベイランスを行う手段として早急に標準化する必要があり、その検査法の確立に向けた検討を開始した。さらに、医療従事者向けの「HTLV-1キャリア指導の手引」を作成後、全国の関係部署に配布し、HTLV-1特命チームの総合対策策定における提言等も行った。

［大隈和、浜口功、山口一成、山田恭暉（長崎大学）、岡山昭彦（宮崎大学）、佐竹正博（日本赤十字社）、出雲周二（鹿児島大学）、望月學（東京医科歯科大学）、渡邉俊樹（東京大学）、徳留信寛（国立健康・栄養研究所）、齋藤滋（富山大学）］

７．ATL モデルマウスを用いたがん幹細胞特性の解明

我々は ATL 様病態のモデルマウス（HTLV-1 Tax-Tg）の脾腫中に存在するがん幹細胞に注目し、がん幹細胞と ATL 発症との関係解明のために研究を進めている。昨年行った発現遺伝子プロファイリングの結果から、がん幹細胞では造血幹細胞や腫瘍関連の遺伝子の多くが高発現していること、逆に癌抑制因子や正常な造血細胞分化に機能する遺伝子の幾つかが抑制されていることが判明し、それらの特徴から ATL 様がん幹細胞がリンパ球系への細胞分化にコミットした幹細胞であることが推察された。現在、これらの特異的発現遺伝子を手掛かりに、がん幹細胞の維持機構や腫瘍細胞の増殖に果たす役割について解析するとともに、がん幹細胞の発生メカニズムついても研究を進めている。

［滝澤和也、水上拓郎、長谷川秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）、浜口功］

III. 品質管理に関する業務、研究

１．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

静注グロブリンにおける本試験は、アナフィラキシーショック等の副反応の原因となるグロブリン重合物含量が 1.0%以下であることを確認する試験である。H22 年度は測定感度に施設間差があることを確認し、各製造所における至適条件下で今まで安全に投与されてきた製剤中の重合物含量を測定し、新基準値案を定めるための基礎データの収集を行った。血液製剤メーカーの品質管理部

との共同研究により、参照品を整備し、試験法の標準化を目指す。現在の分析技術に見合った分析方法で品質管理を実施して製剤の安全性を担保することを目指している。

［野島清子、岡田義昭、浜口功］

２．抗補体性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

静注用グロブリンにおける本試験は、アナフィラキシー等の副反応の原因となるグロブリン凝集体に起因する非特異的な補体活性化能が一定以下であることをバイオアッセイで確認する試験である。

本試験で測定される抗補体価の施設間差を評価する目的で、血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により、同一検体の抗補体価の調査を行い、施設間差が非常に大きい事を確認した。抗補体価を定めた参照品を整備して、施設間差をなくし試験法を標準化することを目指している。［野島清子、斎賀菊江、岡田義昭、浜口功］

３．不活化ワクチン中の核酸の性状解析法

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンについて、製剤中のウイルス核酸の増幅が可能であるかどうかを検討した。2社の製剤を比較したところ、 RT-PCR によるウイルス核酸の増幅効率には、数倍以上の差があった。 1社の製品からは、ホルムアルデヒドで不活化された核酸から PCR を可能にする際に必要と考えられたプロテアーゼ処理なしで、核酸の増幅が可能であり、2kb 以上の増幅も観察された。同社の製品では、最終製品へのホルムアルデヒドの添加が行われておらず、最終濃度が非常に低くなっている。このことが、検出感度に影響している可能性が大きいと考えられた。［田中明子］

４．新型インフルエンザワクチンの品質管理に必要な物理化学試験の開発

インフルエンザ全粒子ワクチンおよび HA ワクチンの性状・形状の管理はワクチンの抗原提示細胞へのデリバリーとそのプロセシングをコントロールする上で重要なファクターである。本年度は両者ワクチン製剤の蛍光標識方法を確立し、ついで、抗原提示細胞が両者ワクチンを取り込む様子の時間変化を調べ、免疫担当細胞への取り込み方が両者ワクチンの間で異なることを明らかにした。［笠井道之］

５．新規ワクチン承認前試験等における物理化学試験

（１）乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン

当該ワクチンにつき、たん白質含量試験、含湿度試験、水素イオン濃度試験、ホルムアルデヒド含量試験の 4 試験を実施した。各試験の測定値は、基準を満たしたが、たん白質含量試験において、製造所の自家試験値との乖離が大きかった。製造所の試験方法が、生物基の一般試験法に記載された方法と異なっていることが原因と考えられたので、そのことを含めて結果を報告した。

［矢野茂生、田中明子、笠井道之、大隈和］

（２）ロタウイルスワクチン

当該ワクチンにつき、アジピン酸二ナトリウム含量試験、及び精製白糖含量試験を実施した。共に HPLC を用いる、生物学的製剤基準の一般試験法には、記載されていない試験である。各試験の測定値は、基準を満たしたが、和文の SOP でなく英文の SOP を参照しなければ試験が行えないことが多く、そのことを含めて結果を報告した。［田中明子、矢野茂生］

6. 平成 22 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。日本薬局方注射用テイコプラニン（静注用、11 社、14 ロット）の結果、注射用テイコプラニンは Actinoplanes teichomycelicus の培養により得られる抗細菌活性を有するグリコペプチド系化合物の混合物である。そこで、試料の吸収スペクトルと標準品の吸収スペクトルを比較した。検体は 4000-400 cm^{-1} の領域で (水に由来する 2400 m^{-1} 付近の領域を除く)、いずれも標準品と同一の波数のところに同様の強度の吸収を認めた。いずれの検体も標準品と同等の成分を含有すると推定される。［笠井道之］

7. 平成 22 年度抗生物質収去品ＮＭＲスペクトル確認試験（^{1}H、^{13}C-スペクトル）

（１）セフジトレンピボキシル（細粒：7 検体、錠：5 検体）の確認

^{1}H-スペクトル：標準品と検体のセフジトレンピボキシルのシグナルは完全に分離され、一次解析ができるスペクトルが得られた。検体は添加物を多量に含む細粒、錠のため、溶媒抽出に本剤以外の成分のシグナルが検出されたが、同定への影響は無視でき、抽出結果は良好と考えられた。すべての検体で薬局方記載の原薬の NMR 確認試験の規格は満たされた。標準スペクトルと検体スペクトルのシフトおよび、パターンは、ほぼ同一で、等量混合スペクトルは全てのシグナルが一致した。

^{13}C-スペクトル：標準品、検体ともに、予想される 23 本のシグナルが観測され、等量混合スペクトルは全てのシグナルが一致

した。［矢野茂生］

(2)リンコマイシン塩酸塩水和物（注射液：16 検体）の確認

^{1}H-スペクトル：標準品と検体のシグナルが分離され、一次解析に適したスペクトルが得られた。検体はメーカー差、ロット差に関わらず、純度が高く、いずれも標準スペクトルとシフト、パターンが非常に類似したスペクトルを与えた。等量混合スペクトルは全てのシグナルが一致した。^{13}C-スペクトル：標準品、検体ともに、リンコマイシンに予想される 18 のシグナル中 17 シグナル(1 つの重複シグナルを含む)が観測された。等量混合スペクトルは全てのシグナルが一致した。［矢野茂生］

(3)テイコプラニン（注射用：11 検体）の確認

^{1}H-スペクトル及び^{13}C-スペクトル：テイコプラニンは、分子量が 2000 近く、C 数が 78～89 で、且つ 7 種類の類縁体の混合物である。この検体を通常の一次元スペクトルで正確に同定確認することは非常に困難であると予想された。^{1}H-スペクトル、^{13}C-スペクトルのシグナルはいずれも重複し、幅広いピークを与えた。(1)、(2)の検体の場合と異なり、スペクトルパターンの類似性のみによる同定確認を実施した。すべての検体について、^{1}H-スペクトル及び^{13}C-スペクトルの標準スペクトル、検体スペクトル、等量混合スペクトルが非常に類似のスペクトルパターンを与えたことから、同定確認とした。［矢野茂生］

８．インフルエンザワクチンの新しい品質管理試験法構築に向けた試み

これまでに我々は、インフルエンザワクチンの新たな品質管理法として、トキシコゲノミクスの技術を応用した新規安全性試験法の構築に取り組んできており、毒性評価のためのマーカー遺伝子を約20同定している。新規製法ワクチンに対して遺伝子発現解析法を適応したところ、一部マーカー遺伝子の発現パターンが異なることが明らかとなった。マーカー遺伝子の発現解析により、質的に異なるワクチンを区別することができたと考えられる。現在試験法の施設間標準化に向けた取り組みを行っている。

［百瀬暖佳、倉光球、水上拓郎、荒木久美子、古畑啓子、浜口功］

９．網羅的遺伝子発現法を用いた経鼻インフルエンザワクチンの安全性試験法の開発

近年、免疫賦活化能を高める目的でアルミニウムアジュバントや MPL、スクワレンなどを添加するワクチンが増加してきた。また接種法も多様化が進む一方で安全性・有効性評価法に関しては従来の試験に依存している。そこで、我々が開発してきた新規試験法によって新規アジュバント(CpG アジュバント K3)を添加した経鼻インフルエンザ HA ワクチン(H1N1)の安全性が評価できるかを検討した。その結果、マウス投与後 1 日目において HA+CpG 投与群において有意な体重減少が認められ、ほぼすべてのバイオマーカーの有意な遺伝子発現上昇が認められた。以上の結果から、接種法の違い、アジュバントの有無によっても本試験法が適用可能である事が明らかとなった。

［倉光球、百瀬暖佳、水上拓郎、益見厚子、荒木久美子、古畑啓子、浜口功］

IV. ワクチン開発および接種に関する研究

１．CTL 誘導型 C 型肝炎ワクチンの開発

C 型肝炎ウイルス（HCV）に対する感染防御効果を示すリポソームワクチンの構成成分として、昨年度は非構造タンパク領域から NS3 について新たなエピトープを検索し、有効な感染防御効果を示すエピトープを２つ同定したが、本年度はさらに 1 つ加わり合計 3 つのエピトープを同定し、特許出願を行った。ペプチド-リポソームワクチンについて検討した結果、１）少なくともデータベースに登録されている HCV 株の約 85%をカバーできること、２）効率が非常に高く、1 回の投与で有意な反応が得られること、３）長期のメモリーT 細胞が誘導され、投与後 12 週においても十分なブースト効果が認められること、等が分かった。

［種市麻衣子、赤塚俊隆（埼玉医科大学)、内田哲也］

２．CTL 誘導型インフルエンザワクチンの開発

細胞性免疫誘導型インフルエンザワクチンの実用化に向け、製剤設計、製造法の確立を目的とした検討を行った。正常ヒト由来 PBMC を用いて、我々がこれまでに同定したインフルエンザウイルス内部タンパク由来の CTL エピトープに対して反応性であることを確認した。これまでに発見された A 型インフルエンザウイルス亜種 2,700 余を用い、ウイルスを構成するタンパクのアミノ酸組成のうちで高度に保存された領域を探索した。この探索によって得られた情報を用いて、長く有効性を維持することの出来るワクチンを創製することが期待された。

［種市麻衣子、高田礼人（北海道大学)、内田哲也］

３．CTL 誘導型エボラワクチンの開発

昨年度同定した 14 種類の HLA-A2 拘束性エボラウイルス由来 CTL エピトープを結合したリポソームによって誘導される CTL がペプチド特異的 killing 活性を示し、内

在性抗原を認識することが確認されたことから、これらのペプチド結合リポソームがエボラウイルス感染防御効果の高いワクチンとなりうることが示唆された。本年度はさらに HLA-A24 拘束性の CTL エピトープを同定した。昨年度および本年度の検討により、エボラワクチンのワクチン抗原となりうる HLA-A2 および HLA-A24 拘束性のエボラウイルス由来 CTL エピトープが同定され、エボラワクチン候補物質が作製された。

［種市麻衣子、松井政則（埼玉医科大学)、内田哲也］

４．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

胸腺内中枢性自己寛容性成立の分子機構：胸腺上皮細胞が発現する自己抗原由来のペプチドと MHC 分子との複合体を未熟Ｔ細胞に提示することは、未熟Ｔ細胞の MHC 拘束性および自己寛容性の獲得過程における重要なステップの一つである。しかし、胸腺上皮細胞に発現する自己抗原の同定とその MHC 分子拘束性提示に関する分子制御機構の解明はいまだ不十分である。

doxycycline 誘導型 Oct-4 遺伝子導入マウス胎児胸腺とアダルトマウス胸腺に由来する上皮細胞株を樹立した。これら細胞株は doxycycline の有無で Oct-4 転写因子発現の on-off が可能であることを RT-PCR 法と免疫蛍光染色法で確認した。さらに、サイトケラチン 5 陽性、サイトケラチン 8 陰性、EpCAM 陽性、UEA-1 陽性、CD80 陽性であり、胸腺髄質上皮に由来する細胞株であることが示唆された。［笠井道之、徳島大学疾患酵素学研究センター］

５．TLR 制御を取り入れた新規 DNA アジュバントの開発

新規 A 型 CpG-DNA である G9.1 について、これまで、ジフテリアトキソイド（DT）をワクチン抗原に用いて、抗原特異的血清 IgG 産生等の増強作用を報告してきたが、この作用に形質細胞様樹状細胞（pDC）が関与しているか検討した。pDC 特異抗体投与による pDC 除去マウスに、G9.1 を DT とともに経鼻投与したところ、血清抗 DT IgG 抗体価は、除去しないマウスの１／１０に低下した。G9.1 経鼻投与による免疫の成立に pDC の重要性が示唆された。

［前山順一、伊保澄子（福井大)、井坂雅徳(名古屋市大)山本三郎(日本ＢＣＧ研究所）］

６．BCG ベクターの開発と応用

（１）HIV-1 Gag 特異的 MHC pentamer assay 法の確立と Gag 高発現型組換え BCG のマウスにおける CTL 誘導能の解析

HIV-1 Gag および Env 特異的 MHC pentamer assay 法での rBCG による CTL 誘導能の評価システムの構築を試み、Gag 高発現型 rBCG のマウスにおける細胞性免疫誘導能を解析した。MHC pentamer assay を適用することにより、DBA/2 マウスでの HIV-1 Gag および Env 特異的な CTL 誘導能評価システムを確立した。今後改良型 BCG ベクターの評価を進める上で有用である。

［前山順一、網康至（動物管理室)、松尾和浩(日本ＢＣＧ研究所)］

（２）BCG ベクターのポテンシャルを増強するための新たな試み

BCG の免疫原性増強を目的として、LLO の発現カセットと HIV-1 Gag 発現カセットを単一のプラスミド（pS0246）に載せ、LLO と Gag の両方を発現する BCG 株の構築に成功した。一方、免疫応答をサイトカイン発現レベルでコントロールすることを目指して、IFN-γなど種々のサイトカインシグナルを負にコントロールしている SOCS1 のアンタゴニストを発現する BCG 株を構築した。

［前山順一、網康至（動物管理室)、松尾和浩(日本ＢＣＧ研究所)］

（３）栄養要求性を指標とする新しい抗酸菌の宿主－ベクター系開発

栄養要求性としてチミン要求性に着目し、チミジル酸合成酵素 ThyA と ThyX を標的にし、ΔThyX をもとに thyA を欠損させることで thyA と thyX の２重欠損株の作製を試みた。菌体内から thyA と thyX の両遺伝子を排除した株を得ることはできなかったが、プラスミド上に thyX を保持させたうえでゲノム上の thyA を欠失させることは可能であった。本方法にはまだ改善の余地が多く残されているが、薬剤耐性遺伝子を含まない宿主－ベクターシステムのひとつの方向性が示された。

［前山順一、大原直也（岡山大)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)］

７．BCG の免疫効果の持続性

BCG ワクチンが成人肺結核発症に対して効果がないという報告が相次いでいるので、その効果の持続性をマウスモデルで検討した。その結果、BCG ワクチン効果の消失はマウスの加齢、Th2 サイトカイン産生量の増加と Th1 サイトカイン産生能の低下、ワクチン株の体内からの排除、これらのいずれによるものでもなく、ワクチン接種後の時間経過に依存することが示された。

［前山順一、松本壮吉（大阪市大)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)］

８．マイクロニードルを使用した新規経皮免疫法の検討

溶解性マイクロニードル(dMNA)の皮膚穿刺性、溶解性および抗原送達率の検討を行い、さらに結核菌抗原であるAg85AおよびAg85Bを含有するdMNAを作製し、マウスの抗原特異的抗体応答についてELISA法を用いて調べた。dMNAは、抗原を皮膚内に送達するデバイスとして、簡便性、確実性、低侵襲性の観点から有用である事がわかり、さらにAg85AおよびAg85B含有dMNAによりマウスに有意な抗体応答が誘導された。

[前山順一、内藤誠之郎（検定検査品質保証室)、松本壮吉（大阪市大)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)]

９．BCGの多様性に関する研究

（１）BCG亜株の抗原提示能の評価

自然免疫の誘導と獲得免疫の誘導との関連性を調べるため、樹状細胞の抗原提示能について検討を行った。前期分与株(Japan、 Sweden)と後期分与株（Connaught、Pastuer）とで比較したところ、前期分与株は後期株と比べて、ナイーブマウス骨髄由来樹状細胞からの強いIL-12産生およびナイーブマウスTリンパ球からの強いIFN-γ産生を示すことから、前期分与株の方が獲得免疫を誘導する活性が高いことが示唆された。

[前山順一、瀧井猛将（名古屋市大)、矢野郁也(日本ＢＣＧ研究所)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)]

（２）日本株BCGであるBCG Tokyo172のサブポピュレーションBCG-IとBCG-IIの比較

BCG-IとBCG-IIについての遺伝子レベルの相違については、今回II型ppsA遺伝子で１塩基挿入と２塩基置換が見いだされた。また、表現型の相異点として、菌体の長さの相異（I＞II)、2-O-メチルラムノースの含有量（I＞II）およびII型でのPGLおよびPDIMの欠失という３点を明らかにした。さらにＩ型で発現するPGLおよびPDIMを同定した。これらのII型での生合成不全は、ppsA遺伝子での変異によると考えられる。

[前山順一、藤原永年（大阪市大)、矢野郁也(日本ＢＣＧ研究所)、山本三郎(日本ＢＣＧ研究所)]

V. 血液に関する研究

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を構成するniche細胞のAng1によって、造血幹細胞のTie2が活性化されることが重要であると考えられている。一方我々は、Tie2シグナルの活性化によって血液細胞でのAng1の発現が亢進し、Tie2の活性がさらに増強されることを明らかにした。また、Tie2シグナルの活性化によりAng1の細胞外への放出も抑制されたことから、Ang1/Tie2シグナルを介したオートクライン制御の可能性が考えられた。

［百瀬暖佳、浜口功］

２．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。リボソームタンパク質遺伝子のヘテロ接合変異が原因として知られる。PCRによる遺伝子コピー数の簡易測定法を構築し、日本のDBA患者検体で試みたところ、変異未同定検体の約26％で遺伝子コピー数異常（片アレルの欠失）を見いだした。また培養細胞やヒト造血幹・前駆細胞を用いてshRNAでRPS19を発現抑制するとオートファジーが誘導されることを見出した。今後、リボソームストレスから赤芽球分化抑制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］

３．IRF-2のマウス造血幹細胞に及ぼす影響について

これまで我々は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と、IRF-2欠損マウスの骨髄細胞におけるKSL(c-kit+, Sca-1+、Lin-）のX線照射マウスへの移植後の生着率が低いことを報告した.IRF-2欠損マウスのKSLにIRF-2をtransductionして同様にX線照射マウスに移植しても生着率は回復しなかった。IRF-2欠損マウスのKSLとして分取されてくる細胞集団は、もはや野生型で見られる造血幹細胞分画を含む細胞集団ではないことが示唆された。

［益見厚子］

４．マウス胸腺の微小環境に関する研究

胸腺は免疫応答の司令塔の役割を果たすＴ細胞の分化誘導器官であり、胸腺が免疫システムにとって最も大切な臓器といえるが、その微小環境の細胞分子機構については不明な点が多い。胸腺微小環境を主に構成する上皮細胞の分化について、ハッサル小体は髄質上皮細胞が最終段階まで分化したもので、マウスでは殆ど認められないとされている。今回、マウスにおいて、髄質上皮細胞でのTGF-β receptor type IIの発現がハッサル小体の発達を制御することを見いだした。　　［小高千加子］

５．MDSにおける腫瘍幹細胞の同定

MDS(骨髄異形成症候群)は慢性に経過する治療抵抗性の貧血・血球減少と前白血病状態を併せもつ予後不良の

骨髄疾患である。その中で 5q-症候群を有する不応性貧血に対してはレナリドミドの有効性が認められているが、完全寛解するものの再発する事が少なくない。我々は 7 人の MDS5q-症候群患者の治療前後及び再発時の骨髄内の腫瘍幹細胞の動態に注目した結果、レナリドミドの投与によって前駆細胞は減少するが、腫瘍幹細胞分画は薬剤に耐性で治療の過程で存在し続ける事を明らかにした。[水上拓郎, P.Woll (Oxford 大),S.E Jacobsen (Oxford 大),浜口功]

国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前検査等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験：94
免疫グロブリン G 重合物否定試験：108
抗補体性否定試験：82
含湿度試験：221 ロット
ホルムアルデヒド定量試験：183 ロット
たん白質定量試験：142 ロット
たん白窒素定量試験：96 ロット
凝固性たん白窒素定量試験：47 ロット
アルミニウム定量試験（スチルバゾ）：1 ロット
アルミニウム定量試験（プラズマ発光）：23 ロット
フェノール定量試験：13 ロット
MPL 含量試験：16 ロット
ヘモグロビン定量試験：7 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
スクワレン含量試験：1 ロット
α トコフェロール及びスクワレン含量試験：2 ロット
異常毒性否定試験：266 ロット
発熱試験：49 ロット

２．収去試験

抗 A 血液型判定用抗体、5 検体(適：5 検体)
抗 B 血液型判定用抗体、5 検体(適：5 検体)
抗 D 血液型判定用抗体、7 検体(適：7 検体)
抗ヒトグロブリン抗体、6 検体(適：6 検体)
赤外線吸収：11 ロット
NMR 試験：39 ロット

３．抜き取り検査

力価試験：4
活性化凝固因子否定試験:4
免疫グロブリン G 含量試験:2
同定試験：2
異種たん白否定試験：2
異常毒性否定試験：6 ロット
発熱試験：6 ロット

４．依頼検査

含湿度試験（水分定量法）：3 ロット
含湿度試験（乾燥減量法）：11 ロット
ホルムアルデヒド定量試験：4 ロット
たん白質定量試験：39 ロット
たん白窒素定量試験：2 ロット
チメロサール定量試験：2 ロット

５．承認前検査

水素イオン濃度試験：3 サンプル
たん白質定量試験：32 サンプル
ホルムアルデヒド定量試験：2 サンプル
含湿度試験（乾燥減量法）：7 サンプル
アジピン酸二ナトリウム含量試験：6 サンプル
精製白糖含量試験：5 サンプル
異常毒性否定試験：1 ロット

６．行政検査

異常毒性否定試験：3 ロット
フィブリン糊からの HCV 遺伝子検出試験:1 ロット

国際協力関係業務

１）2010 年 6 月 25 日 JICA 研修「診断とモニタリングのための HIV 感染検査マネジメント国際研修」において、「日本の血漿分画製剤の安全性確保について」の講義を行った。［水澤左衛子］

２）2010 年 10 月 19 日： JICA 研修「平成 22 年度インドネシア国別研修「医薬品審査」においてインフルエンザワクチンの異常毒性否定試験の講義と実習を行なった。［益見厚子、倉光球、浜口功］

３）2011 年 1 月 29 日 JICA 研修「中米地域血液スクリーニング検査向上」コースで、「ヘモビジランス」の講義を行った。［小高千加子］

４）2011 年 1 月 29 日 JICA 研修「中米地域血液スクリーニング検査向上」コースで、「肝炎ウイルス感染診断キット」の講義を行った。［水落利明］

５）2011 年 1 月 31 日 JICA 研修「中米地域血液スクリーニング検査向上」コースで、「細菌感染症」の講義を行った。［浜口功］

６）2011 年 3 月 9 日：JICA 研修「Prevention and Control Measures of AIDS」コースで、2011 年 3 月 9 日：JICA 研修「Prevention and Control Measures of AIDS」コースで、「肝炎ウイルス感染診断キット」の講義を行った。［水落利明］

７）2011 年 3 月 9 日：JICA 研修「Prevention and Control Measures of AIDS」コースで、「ヘモビジランス」の講義を行った。［小高千加子］

８）2011 年 3 月 9 日：JICA 研修「Prevention and Control Measures of AIDS」コースで、「HIV の感染機構 Mechanism of HIV infection」の講義を行った。［大隈和］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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.*** 30: 243-252, 2010

2) Ito M, Murakami K, Suzuki T, Mochida K, Suzuki M, Ikebuchi K, Yamaguchi K, Mizuochi T: Enhanced expression of lymphomagenesis-related genes in peripheral B cells of chronic hepatitis C patients. ***Clinical Immunology.*** 135:459-465, 2010

3) Ito M, Masumi A, Mochida K, Kukihara H, Moriishi K, Matsuura Y, Yamaguchi K, Mizuochi T: Peripheral B cells may serve as a reservoir for persistent infection of hepatitis C virus. ***J Innate Immun.*** 2: 607-617, 2010

4) Taneichi M, Tanaka Y, Kakiuchi T, Uchida T: Liposome-coupled peptides induce long-lived memory $CD8^+$ T cells without $CD4^+$ T cells. ***PLoS ONE.*** 5:e15091, 2010

5) Tanaka Y, Taneichi M, Kasai M, Kakiuchi T, Uchida T: Liposome-coupled antigens are internalized by antigen-presenting cells via pinocytosis and cross-presented to CD8 T cells. ***PLoS One.*** 5:e15225, 2010

6) Masumi A: The role for Interferon regulatory factor-2 on hematopoietic stem cells in an inflammation state. ***Japanese Society of Inflammation and Regeneration.*** 30: 531-535, 2010

7) Momose H, Mizukami T, Ochiai M, Hamaguchi I, Yamaguchi K: A new method for the evaluation of vaccine safety based on comprehensive gene expression analysis. ***J Biomed Biotechnol.*** 2010: 361841. 2010

8) Ochiai M, Yamamoto A, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I, Horiuchi Y, Yamaguchi K: Applicability of bacterial endotoxins test to various blood products by the use of endotoxin-specific lysates. ***Biologicals.*** 38: 629-636. 2010

9) Uchiumi F, Enokida K, Shiraishi T, Masumi A, Tanuma S-I: Characterization of the promoter region of the human *IGHMBP2* (*Sμbp-2*) gene and its response to TPA in HL-60 cells. ***Gene***. 463: 8-17. 2010

10) Tehranchi R, Woll PS, Anderson K, Buza-Vidas N, Mizukami T, Mead AJ, Astrand-Grundström I, Strömbeck B, Horvat A, Ferry H, Dhanda RS, Hast R, Rydén T, Vyas P, Göhring G, Schlegelberger B, Johansson B, Hellström-Lindberg E, List A, Nilsson L, Jacobsen SE: Persistent malignant stem cells in del (5q) myelodysplasia in remission. ***N Engl J Med.*** 363: 1025-1037. 2010

11) Masumi A: Histone acetyltransferases as regulators of nonhistone proteins: The Role of Interferon Regulatory factor acetylation on gene transcription. ***J Biomed Biotechnol.*** 2011; 640610. 2011

12) Uchida T: Development of a cytotoxic T-lymphocyte-based, broadly protective influenza vaccine. ***Microbiol Immunol.*** 55:19-27. 2011

13) Tsuruno C, Ohe K, Kuramitsu M, Kohma T, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hamaguchi I, Okuma K: HMGA1a is involved in specific splice site regulation of human immunodeficiency virus type 1.***Biochem Biophys Res Commun.*** 406:512-7.2011

14) Mizuochi T, Ito M, Takai K, Yamaguchi K: Resistance of peripheral blood memory B cells to apoptosis in chronic hepatitis C patients. ***Virus Res.*** 155:349-351, 2011.

15) Ito M, Kusunoki H, Mochida K, Yamaguchi K, Mizuochi T: HCV infection and B-cell lymphomagenesis. ***Advances in Hematology*** in press

16) Bravo-Nuevo A, O'Donnell R, Rosendahl A, Chung L-H., Benjamin L, Odaka C: RhoB deficiency in thymic medullary epithelium leads to early thymic atrophy.
Int Immunol. in press
17) Okuma K, Tsuruno C, Takahashi Y, Tanaka R, Tanaka Y, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hamaguchi I, Yamaguchi K: A recombinant vesicular stomatitis virus encoding HIV-1 receptors and human OX40 ligand efficiently eliminates HIV-1-infected CD4-positive T cells expressing OX40.
Hum Immunol. in press
18) Shirahata A, Fukutake K, Higasa S, Mimaya J, Oka T, Shima M, Takamastu J, Taki M, Taneichi M, Yoshioka A, Study Group on Factors Involved in Formation of Inhibitors to Factor VIII and IX Preparations: An analysis of factors affecting the incidence of inhibitor formation in patients with congenital haemophilia in Japan.
Haemophilia. in press.

2. 和文発表

1) 笠井道之、水落利明：オートファジーと抗原提示. メディカルサイエンスダイジェスト、第 36 巻 5 号、10-13、2010
2) 浜口功、倉光球. Diamond-Blackfan 貧血の分子異常、細胞、第 42 巻 7 号、16-19、2010
3) 百瀬暖佳、 倉光球、 山口一成：ヒト T リンパ向性ウイルス 1 型(HTLV-1), HTLV-1 プロウイルス DNA. 日本臨床 第 68 巻増刊 6 号、469-472、2010
4) 浜口功：輸血療法の有害事象の検索：ヘモビジランス-その現状と将来. 医学の歩み、第 235 巻 1 号、32-36、2010
5) 浜口功、山口一生：ワクチンの非臨床安全性試験ガイドライン. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、第 41 巻 7 号、534-539、2010
6) 浜口功：Ribosomal protein と造血障害. 臨床血液、第 51 巻 8 号、638-645、2010

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Okuma K, Tsuruno C, Tanaka R, Hamaguchi I, Tanaka Y: A recombinant vesicular stomatitis virus encoding HIV-1 receptors and OX40 ligand as a novel potential anti-HIV-1 therapeutic agent. XVIII International AIDS Conference. Vienna, Austria, July 2010
2) Maeyama J, Iho S, Komiya T, Takahashi M, Matsuki T and Yamamoto S Newly-identified phospho-diester CpG-DNA exhibits mucosal adjuvanticity by intranasal administration with diphtheria toxoid 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug 2010
3) Kuramitsu M, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, Wang R, Masumi A, Mizukami T, Momose H, Takizawa K, Yamaguchi K, Ito E, Hamaguchi I: New Determination Method for Extensive Gene Deletions in Diamond-Blackfan Anemia. 52nd ASH® Annual Meeting and Exposition, Orlando, Dec 2010
4) Momose H, Takizawa K, Kuramitsu M, Mizukami T, Masumi A, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Ang1 Functions as an Autocrine Activating Factor of Tie2 Signaling in Hematopoietic Stem Cells. 52nd ASH® Annual Meeting and Exposition, Orlando, Dec 2010
5) Maeyama J, Iho S, Osada-Oka M, Matsumoto S, Isaka M and Yamamoto S. Effects of adjuvants on guinea pig and mouse administered with recombinant proteins derived from *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis:Immunology, Cell Biology, and Novel Vaccination Strategies, Part of the Keystone Symposia Global Health Series. Vancouver, Jan 2011

2. 国内学会

1) 浜口功：輸血と感染症. 第 58 回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋、2010 年 5 月
2) 大原直也、岡部真裕子、山本三郎、瀧井猛将、藤原永年、前山順一、佐藤法仁、井上哲圭、小林和夫：BCG Tokyo 172 株に存在するサブポピュレーション間の遺伝子発現の比較検討. 第 80 回実験結核研究会、京都、2010 年 5 月
3) 藤原永年、前田伸司、吉村満美子、大原直也、前山順一、瀧井猛将、矢野郁也、山本三郎：BCG Tokyo 172 type I, II 間の脂質生化学的比較. 第 85 回日本結核病学会総会、京都、2010 年 5 月
4) 大原直也、山本三郎、瀧井猛将、藤原永年、前山順一、小林和夫：DNA マイクロアレイを用いた BCG Tokyo 172-1 に存在するサブポピュレーションの遺伝子発現の比較検討. 第 85 回日本結核病学会総会、京都、2010 年 5 月
5) 笠井道之、池田通：マクロオートファジーは胸腺内 MHC クラス II 抗原提示過程に関与する. 第 20 回 Kyoto T Cell Conference、京都、2010 年 6 月
6) 大江賢治、鶴野親是、倉光球、高浜洋一、浜口功、大隈和、前田明：ヒト免疫不全ウイルス特異的なスプラ

イシングに必要な新しい宿主因子の解析. 第 12 回日本ＲＮＡ学会年会、東京、2010 年 7 月

7) 大隈和、深川耕次、高馬卓也、森下和広、高浜洋一、山本直樹、山口一成、浜口功：ヒト CRTAM を発現する組換えウイルス VSV の HTLV-1 感染細胞及び ATL 細胞に対する殺傷効果. 第 3 回 HTLV-1 研究会、東京、2010 年 8 月

8) Kuramitsu K, Kasai M, Masumi A, Mizukami T, Momose H, Takizawa K, Yamaguchi K, Hamaguchi I：Deficiency of Ribosomal protein associated with Diamond Blackfan anemia induces autophagy.第 72 回日本血液学会、横浜 2010 年 9 月

9) Kuramitsu M, Morio T, Takagi M, Ozeki M, Masumi A, Mizukami T, Momose H, Takizawa K, Etsuro I, Yamaguchi K, Hamaguchi I： A novel method to analyze genomic copy number of Diamond Blackfan anemia responsible genes. 第 72 回日本血液学会、横浜、2010 年 9 月

10) 滝澤和也、水上拓郎、山崎淳平、倉光 球、百瀬暖佳、益見厚子、長谷川秀樹、浜口 功、山口一成：Expression gene profiling of ATL-like cancer stem cells derives from the HTLV-1 tax-transgenic mouse. 第 72 回血液学会総会、横浜、2010 年 9 月

11) 益見厚子、滝澤和也、倉光球、水上拓郎、百瀬暖佳、山口一成、浜口功：インターフェロン制御転写因子(IRF-2)の血液細胞分化における影響について. 第 72 回日本血液学会、横浜、2010 年 9 月

12) 浜口功:感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドラインについて. ワクチンフォーラム 2010、東京、2010 年 9 月

13) 岡田義昭、水沢左衛子、梅森清子、浜口功：新規レトロウイルス XMRV の検出法と性状解析.第 58 回日本ウイルス学会、徳島、2010 年 11 月

14) 下池貴志、野島清子、脇田隆字、岡田義昭：血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討. 第 58 回日本ウイルス学会、徳島、2010 年 11 月

15) 水落利明、伊藤昌彦：慢性 C 型肝炎患者末梢 CD5 陽性 B 細胞のアポトーシス抵抗性.第５８回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

16) 大隈和、深川耕次、高馬卓也、田中礼子、田中勇悦、浜口功：R5 HIV-1 感染を制御する組換え VSV の開発と OX40L 発現による効果増強. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

17) 深川耕次、高馬卓也、田中勇悦、岸浩司、高浜洋一、浜口功、大隈和：活性化 T 細胞免疫刺激分子 OX40 を介した HIV-1 感染抑制効果の検討. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

18) 大隈和、深川耕次、渡辺哲、高馬卓也、田中勇悦、山本直樹、浜口功：ヒト化 NOG マウスを用いた X4 HIV-1 標的組換え VSV の治療効果の検討. 第 24 回日本エイズ学会学術集会、東京、2010 年 11 月

19) 前山順一、井坂雅徳、山本三郎：マウスおよびモルモットに対して結核菌由来タンパク質を投与した場合のアジュバントの効果について. 第 14 回日本ワクチン学会総会、東京、2010 年 12 月

20) 百瀬暖佳、水上拓郎、倉光球、益見厚子、滝澤和也、前山順一、浜口功：遺伝子発現解析を応用したインフルエンザ HA ワクチンの新たな安全性評価法構築へ向けた試み. 第 14 回日本ワクチン学会総会、東京、2010 年 12 月

21) 益見厚子、伊藤昌彦、鈴木哲朗、山口一成：C 型肝炎ウイルス感染患者における血液由来 B 細胞の解析.第 83 回日本生化学、第 33 回分子生物学合同大会、神戸、2010 年 12 月

22) 浜口功：我が国における新規ヒトレトロウイルス XMRV の検査法開発. 第 25 回 Transfusion Medicine Conferance、逗子、2011 年 1 月

１４．国際協力室

室長　谷　伸悦（～H22.7.14）
中嶋建介（H22.7.15～）

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、国立国際医療研究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 22 年 4 月から平成 23 年 3 月までに、62 カ国から 276 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 22 年 4 月から平成 23 年 3 月までに、46 カ国 415 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、その概要は以下のとおりである。

１．外国機関との連携協力

(1)　各国との感染症協力体制

ア　シンポジウム開催

１）平成 22 年 9 月 10-11 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、ワクチンポリシー並びに旅行医学を題材に）

２）平成 22 年 11 月 25 日　日中韓の国立感染症機関（感染研、中国 CDC、韓国 CDC）の第四回共同セミナーの開催(北京において、はしか並びに薬剤耐性及びダニ媒介流行病を題材に)。

イ　外国研究機関との覚書締結

１）平成 22 年 12 月 9 日　インド国立コレラ・腸管感染症研究所と感染症協力に関する覚書を締結（戸山庁舎において）

ウ　外国機関へのワクチン株供与

１）平成 22 年 7 月 National Institute for Control of Biologicals and Vaccine in VietNam へ日本脳炎ワクチン、ポリオウイルス参照品を供与

２）平成 22 年 9 月 PT Bio Farma (Persero), Indonesia へ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を供与

２．国際協力・研修業務

（１）JICA との研修協力

ア　集団研修

１） 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 22 年 6 月 14 日-7 月 16 日・11 名・エイズ研究センター）

２）ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術（平成 23 年 1 月 17 日-2 月 10 日・12 名・ウイルス第二部）

イ　国別研修

1）インドネシア

①「医薬品審査」平成 22 年 8 月 10 日-8 月 20 日・2 名・インフルエンザウイルス研究センター

②「医薬品審査(2)」平成 22 年 10 月 12 日-10 月 21 日・2 名・インフルエンザウイルス研究センター

2）中国

①　「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」平成 23 年 1 月 17 日-2 月 10 日・4 名・ウイルス第二部

3）エルサルバドル・グアテマラ・ホンジュラス・ニカラグア

①シャーガス病媒介虫対策研修（平成 22 年 7 月 13 日-7 月 16 日・4 名・昆虫医科学部）

（2）JICA 技術プロジェクト

ア　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

①平成 22 年 6-7 月　バイオセーフティ/基準微生物実験技術に関する指導を行うためバイオセーフティ管理室、ウイルス第一部、獣医科学部、生物活性物質部、インフルエンザウイルス研究センターの各職員をベトナム NIHE に派遣。

②平成 22 年 8 月　ベトナム国高危険度感染症研究ネットワーク構築プロジェクト詳細計画定調査に係る調査団員としてインフルエンザウイルス研究センター職員とバイオセーフティ管理室の職員をベトナム NIHE に派遣。

2）受入

①平成 22 年 7 月　実験室診断/ウイルス学（インフルエンザ）研修のためベトナム NIHE から研修員をインフルエンザウイルス研究センターに受入(1 名)。

②平成 22 年 8-9 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（1 名)。

③平成 22 年 8-9 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)。

④平成 22 年 8-9 月　バイオセーフティ/基準微生物実験技術（狂犬病）研修のためベトナム NIHE から研修員を獣医科学部に受入（1 名)。

イ　中華人民共和国における JICA 協力（ワクチン予防可能感染症対策支援のための技術協力）

1）派遣

①平成 22 年 6 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。

②平成平成 22 年 8 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。

2）受入

①平成 22 年 11 月　EPI 疫学研修のため保健省、中国 CDC 等の研修員を受入（7 名)。

②平成 23 年 2-7 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に受入（1 名)。

ウ　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

①平成 22 年 7 月　EWARS とコミュニティベース・サーベイランス指導のため感染症情報センター職員を南スラベシ州保健省等へ派遣。

②平成 22 年 8 月　インフルエンザサーベイランスプロジェクト調査団員としてインフルエンザウイルス研究センター職員を保健省等へ派遣。

③平成 22 年 11-12 月　運営指導調査に係る調査団員として感染症情報センター職員を保健省等へ派遣。

エ　ザンビア国における JICA 協力（結核及びトリパノソーマ症の診断法と治療薬開発プロジェクト支援のための技術協力等）

1）　派遣

①平成22年9月　実験室整備調査に係る

調査団員としてバイオセーフティ管理室職員を保健省等へ派遣。

（３）WHO フェロー受入

ア　中国「日本の環境衛生監視システム」
平成 22 年 12 月･4 名･ウイルス第二部･細菌第一部・寄生動物部

イ　中国「症候群サーベイランスや感染症の早期警告」
平成 23 年 1 月･4 名･感染症情報センター

３．国際機関及び外国政府機関等との協力の調整

（１）WHO・WPRO 関連調整

ア　会議等開催

１）Third Workshop on Sentinel Surveillance for drug resistance in Leprosy(平成 22 年 11 月 9-10 日・50 名)

イ　会議等派遣

１)WHO 西太平洋地域事務局長第４回ナショナルインフルエンザセンター会議（平成 22 年 5 月 2～7 日・フィリピン・３名）

２）タジキスタンにおけるポリオワクチン一斉接種キャンペーン活動支援（平成 22 年 6 月 16 日～7 月 9 日・タジキスタン・１名）

３）ワクチン予防可能疾患に関する国際会議（平成 22 年 8 月 22～28 日・フィリピン・２名）

４）新興感染症に関する WHO 臨床ネットワーク会議（平成 22 年 11 月 16～20 日・フィリピン・１名）

５）第四回トレーニングコース「分子生物学的手法を用いた麻疹、風疹の実験室診断技術」受講(平成 22 年 11 月 21～28 日・香港・１名）

６）ポリオ粘膜会議（平成 22 年 12 月 17～21 日・インド・１名）

ウ　実験室査察

１）ポリオ、麻疹・風疹、日本脳炎ラボ（平成 22 年 10 月 4～5 日・３名）

エ　国内会議参加

１)WHO ポリオ撲滅アドバイザリー委員会事前ブリーフィング(平成 22 年 11 月 5 日・１１名）

２)2010-2012 ポリオ撲滅イニシアティブに関するコアドナー国会議事前打合会議（平成 22 年 2 月 16 日・６名）

３）第 128 回 WHO 執行理事会対処方針検討会(ハンセン病)（平成 22 年 11 月 29 日・４名）

（２）海外の要人来訪

ア　平成 22 年 4 月 Dr. Pierre Formenty〔Acting Coordinator, Biorisk reduction for Dangerous Pathogens Unit, Global Alert and Response (HSE/GAR) Department, Health Security and Environment (HSE) Cluster, WHO〕来所。感染症等について意見交換。

イ　平成 22 年 5 月 Dr. Nguyen Tran Hien（ベトナム国立衛生疫学研究所所長）、Dr.Dang Duc Anh（ベトナム国立衛生疫学研究所副所長）来所。感染症等について意見交換。共同研究打合せ。

ウ　平成 22 年 5 月 Dr. Shin Young-soo (World Health Organization’s Regional Director for the Western Pacific)来所。感染症等について意見交換。

エ　平成 22 年 10 月 Dr. Julie Gerberding,（米国メルク社ワクチン部門プレジデント・前 CDC 所長）来所。感染症等について意見交換。感染研セミナー講演。

オ　平成 22 年 11 月 Dr. John Clemens（韓国国際ワクチン研究所長）来所。感染症等について意見交換。感染研セミナー講演。

カ　平成 22 年 12 月 Dr. Balakrish Nair（インド国立コレラ・腸管感染症研究長）来所。感染症等について意見交換。感染研セミナー講演。

（３）感染研セミナー等の開催

ア　平成 22 年 8 月　Dr. Angela Merianos)並びに Dr. Amy Cawthorne（WHO 本部）による「WHO が行うアウトブレイク管理と IHR に基づくリスク評価・対応について」セミナーを開催。
（感染症情報センターとの共催。）

イ　平成 22 年 9 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「パンデミック（H1N1）2009 における臨床および疫学の最新の知見と今後の展望について」セミナーを開催。(感染症

情報センターとの共催。）

ウ　平成 22 年 10 月　Dr. Julie Gerberding,（米国メルク社ワクチン部門プレジデント・前 CDC 所長）による「米国における感染症対策、ワクチン政策における CDC の役割」セミナーを開催。

エ　平成 22 年 11 月　Dr. John Clemens（韓国国際ワクチン研究所長）による「The International Vaccine Institute and Vaccines for the Poorest: Development of an Affordable Vaccine for Cholera」セミナーを開催。（学友会との共催。）

オ　平成 22 年 11 月　Feng Yun（中国衛生部疾控局）、Liu Yan-min（中国 CDC）、多屋馨子（感染研）、染谷健二（感染研）日中麻疹関係者による第 3 回「日中麻疹セミナー」を開催（国立国際医療センターと共催）。

カ　平成 22 年 12 月　Dr. Balakrish Nair（インド国立コレラ・腸管感染症研究長）、野崎智義（感染研）、三戸部治郎（感染研）、片山和彦（感染研）による「インド国立コレラ・腸管感染症研究所（NICED）と感染研の感染症研究分野における連携」セミナーを開催。

Ⅱ．その他の国立感染症研究所所掌事務に係る調整等

１．国際交流事業に係る募集・申請等

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。

２．国際協力連絡・調整等

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、国立国際医療研究センター等との国際協力連絡・調整等を行っている。

３．その他

国際研究活動の情報還元として、所内インターネット上の専用ページで、全ての職員の海外活動（海外出張報告書）を提供している。

15. バイオセーフティ管理室

室 長　杉 山　和 良

概　要

バイオセーフティ管理室は、感染研全体にわたる病原体等の安全な取り扱いに関する管理業務 (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、BSL4 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・バイオセキュリティについての研究およびバイオセーフティ・バイオセキュリティについての教育・訓練･研修並びにバイオセーフティ・バイオセキュリティについての情報収集・提供を行っている。

平成 21 年度に、各部（センター・省令室）でのバイオリスク管理教育のために利用できるようにするという方針で、BSL2 実験室安全操作指針の改定版を作成した。今年度は各部（センター・省令室）での BSL2 実験室における教育訓練記録についての検討を行った。また、BSL3 実験室安全操作指針の全部改定版を作成した。これまで庁舎毎の BSL3 実験室安全操作指針となっていたが、庁舎共通のものを作成し、1 部には原則、方針を示し、2 部に標準作業手重を示す構成とし、庁舎毎の BSL3 実験施設使用マニュアルを用意することとした。

輸送分類青のチェックシート見直しを行い、簡略化した。これに伴い輸送分類赤、黄のチェックシートも一部修正した。

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年間スケジュールに従い 2 ヶ月毎にバイオリスク管理講習会を実施した。二種の特定病原体等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。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､ABSL3 実験室、村山庁舎高度封じ込め実験施設、3 号棟、6 号棟、9 号棟の BSL3 実験室、ABSL3 およびハンセン病研究センター BSL3、ABSL3 実験室の年次点検を実施した。

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、ウイルスを用いた薬剤不活性化効果に関する研究、抗酸菌に関する研究等を行った。

第 53 回米国バイオセーフティ学会総会、第 13 回欧州バイオセーフティ学会総会および第 10 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リスク管理についての最新情報の収集を行った。

宇田川悦子氏が再任用職員として平成 22 年 4 月 1 日付けで着任した。

業　績

調査・研究

I.　バイオセーフティ・バイオセキュリティに関する研究

1. バイオリスク管理の教育および教材等の開発に関する研究

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、引き続き検証実験に基づく教材の作成および教育プログラムの作成と実用化、運用による評価を行うことでバイオリスク管理の強化を図った。

(1) バイオリスク管理の強化と基礎的研究

1) 病原体輸送に対するイメージ調査

病原体を運ぶことが住民に認知された際の風評被害への懸念から、ほとんどの輸送業者は病原体輸送に対し消極的な状況にある。これは今後病原体輸送に支障が生じ

る可能性を示唆している。したがって、住民が病原体輸送の現状についてどのように認識するかなど、住民の意識や考えを知ることを目的として、前年度実施した一般人を対象としたグループインタビューによるイメージ調査の結果を基に､ネット調査による量的調査を実施した。

［伊木繁雄、杉山和良］

2) 病原体輸送容器の消毒･滅菌処理後の強度に関する検討

国内で販売されている病原体輸送容器は再利用が担保されていないが、その根拠は明確ではない。再利用の場合、内装容器は安全性を図るため滅菌等の処理が必要と考えられる。このため、国産品 1 点と輸入品 3 点について汎用性の高い紫外線照射、薬液（80%エタノールによる清拭×10 回または 0.5%次亜塩素酸ナトリウムに 3 時間浸漬）処理または高圧蒸気滅菌処理（121℃,20 分×3 回または 135℃,40min×3 回）後に国連基準に則った強度試験のうち 2 試験（破裂試験及び内圧試験各 2 項目、計 4 項目）を行い、再利用の可否について検討した。

［伊木繁雄、杉山和良］

3) 高圧蒸気滅菌処理の条件と温度に関する検討

病原体の不活化の際汎用されるのが高圧蒸気滅菌器であるが、オートクレーブバッグの性能や被滅菌物の状態によっては水蒸気が十分に行き渡らず、滅菌が不十分となる可能性が懸念される。このため、被滅菌物に実験室用ガウンを用い、10 種類のオートクレーブバッグに対し⑴オートクレーブバッグの口を閉じた状態、⑵オートクレーブバッグの口を開けた状態、⑶オートクレーブバッグ内に水を入れ、口を開けた状態の 3 通りの方法で高圧蒸気滅菌処理を施し、被滅菌物内 4 か所に温度記録計、ケミカルインジケーター及びバイオロジカルインジケーターを設置し、温度分布の調査と滅菌状態の比較を行った。また被滅菌物を手袋や実験器具とし、それぞれオートクレーブバッグと滅菌缶を用いて同様の試験を行った。

［伊木繁雄、杉山和良］

4) 教育用安全キャビネットの検査基準の検討

教育用教材として作成したスケレトン教育用安全キャビネットについて JIS の検査基準とオーストラリアの検査基準にしたがって検査し、安全キャビネットの評価に違いがあるかを検証した。

［重松美加、伊藤健一郎(感染症情報)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)］

5) バイオセキュリティとバイオセーフティリスク評価ツールに関する研究

バイオリスク評価を行う際の、評価の指針となる支援ツールとして Biosecurity Risk Assessment Model Tool (BioRAM) の開発を行ってきた。今年度はインドネシア語、ロシア語、中国語を作成した。

［重松美加 (感染症情報)、Susan Caskey (SLN)、Jennifer Gaudioso (Sandia National Laboratories:SLN)］

(2) バイオリスク管理教育のための教材

1) 安全キャビネットのデモ用机上模型の作成

安全キャビネットを保有していない機関においてもラミナフローによる 1 次バリアを理解できるよう気流が可視化できる机上模型を作成した。また、HEPA フィルター断面モデルも作成した。

［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)］

2) 安全キャビネットの性能評価試験のバイオリスク管理教育プログラムへの参照

教育用安全キャビネット（市販のものと同等の性能）の外国基準による点検・評価を実地観察し、実際の安全キャビネットの教育にいかに生かせるかを検討した。

［藤本秀士(九州大学大学院)、重松美加、伊藤健一郎(感染症情報)］

(3) バイオリスク管理の教育

1) 大学院におけるバイオリスク管理トレーニングコース導入の試み

バイオリスク管理の教育研修をパイロット的に実施し、その内容や方法の受け入れやすさ・改善点などについての意見聴取を行い、今後の導入を検討した。

［藤本秀士(九州大学大学院)、重松美加 (感染症情報)］

2) 大学におけるバイオリスク研修とアンケート調査

大学におけるバイオリスク管理に関する病原体等取扱者の知識や経験の有無および研修の効果について評価す

るためにアンケート調査を行った。

［奈良武司(順天堂大学医学部)、重松美加 (感染症情報)］

3) 結核菌のバイオリスク管理の強化および必要な教材等の開発と実践に関する研究

結核菌を取扱う可能性のある施設担当者を対象とした講習を実施し、スケレトン教育用安全キャビネットを使用した研修を行った。感染症法が適切に理解されているかを調査する目的で、保健所、病院、検査センターを対象としたアンケート調査を実施した。

［御手洗聡、鹿住祐子(結核研)、杉山和良］

4) BSL3 実験室における安全対策の強化および従事者への教育と評価方法

高度封じ込め施設の実験室内での曝露が疑われる体調不良者発生時の模擬救助訓練を行った。

［森川茂、伊波興一朗、谷口怜、水谷哲也(ウイルス 1)、鈴木忠樹、永田典代(感染病理)、高木弘隆］

2. BSL3 実験室空調システムの検証

村山庁舎 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］

3. バイオハザード対策専用防護服に関する研究

(1) 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、継続的に国内外の情報収集（規格、文献、関連学会、施設訪問など）を行っている。

［篠原克明、小野澤哲夫、熊谷慎介］

(2) 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及び飛沫粒子浸透防護性能を総合的に検討するために、試験装置や試験方法などを開発、実際に使用されている防護服素材の性能検証を行っている。

［篠原克明、小野澤哲夫、熊谷慎介、森本美智子］

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

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「病原体等の登録・保管・輸送・廃棄に関する一括管理システムの開発と検証」 （研究代表者篠原克明）

病原体の登録、保管、輸送、廃棄における一括管理システムの構築と実践のために、関連機器、装置の開発、試作と、性能の検証並びにフィールド試験を実施している。特に、実験現場における実用性の検証と改良を行っている。また、国内外の関連情報の収集を行っている。

［篠原克明］

5. 病原体の不活性化に関する研究

(1) 二酸化チタン担持不織布によるウイルス吸着作用に関する研究

様々なコーティング方法により作成された二酸化チタン不織布を用いてインフルエンザウイルスの吸着性について検討した。その結果現行の二酸化チタン不織布のみで、従来の吸着作用が認められ、その他の不織布では認められなかった。今回検討に用いたものは主に外壁材に使用しているものが多く、コーティング材組成も異なることから、インフルエンザウイルスの吸着作用にはコーティング材組成や形成技術が関与していることが示唆された。※本研究は平成 22 年度　旭化成せんい株式会社との共同研究によるものである。

［高木弘隆、杉山和良］

(2) マウスノロウイルス(MNV)のマウス由来培養細胞株での増殖性に関する研究

MNV の主たる培養細胞 RAW264.7(ATCC TIB-81)以外のマウス由来細胞による増殖報告も散見しており、より効率的なウイルス増殖を模索するため、RAW 細胞を含む 3 種類の細胞を用いて MNV 増殖性を検討した。その結果マクロファージ由来 J774A.1(JCRB9108)細胞で MNV 増殖が認められたが、マウス胎児由来 3T3-L1(IFO)細胞では全く増殖しなかった。また J774A.1 細胞では RAW の 1/100 程度の増殖効率に留まり、この差は蛍光免疫染色による MNV 局在性にも反映されていた。マクロファージ指向性ではあるが、細胞侵入や細胞内増殖性が培養

細胞によって異なることが示唆され、この点について今後さらに検討を進める。

［高木弘隆、北島正章(東大)、遠矢幸伸(日大)、岡智一郎(ウイルス第 2 部)、片山浩之(東大)片山和彦(ウイルス第 2 部)、杉山和良］

(3) ウイルスを用いた薬剤不活性化効果検討に関するプロトコール開発の検討

ウイルスに対する各種薬剤の不活性化効果を検討するにあたり、薬剤中和方法及び培養細胞に対する影響回避は必須のものであるが、複合剤による相乗効果など組成が複雑な場合、それらの方法が煩雑化或いは不明な場合が少なくない。そうしたことから効率よくかつ迅速に薬剤と残存ウイルスを分離し、かつ感度への影響が少ない「薬剤除去方法」を検討した。その結果 Sehacryl 系ゲルろ過カラムによる排除限界溶出を用いることで、感度低下の影響を抑え(ウイルス回収 50%前後)、分子量 1000 以下の薬剤をカラム内に捕捉することが可能となった。今後遠心操作などによる条件検討と方法の簡素化について、さらに検討を進める。※本研究は花王株式会社との共同研究によるものである。

［高木弘隆、杉山和良］

6. 感染研におけるバイオリスク管理講習

新規入所者対象に 2 カ月ごとに行われる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た。その結果をグラフ化して各講師に配布し、今後の講義の仕方についての検討材料とした。

［伊木繁雄、杉山和良、高木弘隆、山崎利雄、富田康浩、篠原克明、宇田川悦子］

7. 細胞および再生組織の取扱操作の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を安全キャビネットで無菌的に取り扱いを行う際のトレーサビリティーシステムの改良を行い、引き続き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、作業プロトコール管理、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、を実証した。

［原井基博(富士ソフト)、杉山和良］

II. 抗酸菌に関する研究

1. 公衆浴場から分離される抗酸菌の調査

公衆浴場の浴槽水 100 試料を調べ 8 試料から抗酸菌 9 菌株を検出した。その内訳は、*Mycobacterium avium* 7 株、*M. phlei* 1 株、*M.goodii* 1 株であった。いずれも浴槽水を循環方式で供給する施設であった。非結核性抗酸菌症の原因菌である *M.avium* が最も多く分離され、レジオネラ属菌と共に抗酸菌が存在する場合もあるので、抗酸菌に対する消毒も必要である。

［山崎利雄、磯部順子(富山衛生研究所)］

2. *Mycobacterium avium* の縦列反復数可変領域（VNTR）法の検討

−80℃にて凍結保存した*M. avium* 50株を用いた。その由来内訳は、ヒト22株、鳥11株、象1株、温泉地のホテル、旅館、公衆浴場および社会福祉施設等の循環式浴槽水由来12株、濾材4株である。凍結保存された *M. avium* を継代、増菌後、DNAを抽出し、西森らの報告した *M. avium* のVNTR領域（MATR領域）を増幅させる17組のプライマーを用いて増幅させ、電気泳動を行い増幅バンドの大きさから、反復数（Tandem Repeats;TR）数を算出した。

［山崎利雄、前川純子・倉文明(細菌第一部)、杉山寛治(静岡県環境衛生研究所)］

3. *M. avium* の VNTR 法と minimum spanning tree 法による解析

*M. avium*症患者さんと、患者さんが入浴していた24時間風呂の濾材から分離された*M. avium*3株のTR数が、非常に近いパターンを取っていたことにより、同一菌であると思われた。ヒトおよび浴槽水由来の *M. avium*のTR数によるパターンは複雑であった。Minimum spanning tree法による解析では、3つのグループに大別された。象

1株と鳥由来2株は、全く同じパターンを示したが、これらの株を含むグループにヒト由来株は1例もなかったことは興味深い。ヒト、動物、公衆浴場の浴用水等から分離された*M. avium*について病気との関連性があるかどうかを、更に菌株数を増やし検討して行く必要がある。

［山崎利雄、前川純子・倉文明(細菌第一部)、杉山寛治(静岡県環境衛生研究所)］

4. 結核菌の噴霧感染装置による動物実験

噴霧感染装置を用いて結核菌を噴霧感染させるために、噴霧感染装置の点検項目の整備、噴霧感染時の想定されるリスク及び対応、戸山庁舎 BSL3 動物実験室での結核菌噴霧感染実験手順の整備等の整備を行い、再び噴霧感染装置をもちいて、マウス・モルモットの動物実験が可能となった。この装置を用いて結核菌 H37Rv 株の 1×10^7cfu の菌を噴霧し、翌日解剖したところ、マウスに感染する菌数は 100cfu と算定することができた。

［山崎利雄、水野　悟］

5. 結核のワクチン候補の動物実験

マウス Balb/c と C57BL/6 に現行の結核菌 BCG ワクチンと遺伝子組換え体 BCG を接種し、5 週間後に結核菌 H37Rv 株の単個菌(菌数 5×10^4cfu/ml の 2.5ml)を、噴霧感染装置を用いて吸入感染させた。感染 4 週と 8 週後に解剖し、肺、脾臓の病変の観察と還元培養による菌数の測定を行った。生食水を打った対象に比べ、BCG ワクチン群は優位に菌数が少なく効果が見られたが、BCG と rBCG 間の優位な差はみられなかった。

［山崎利雄、水野　悟、松尾和浩(エイズ研究センター)］

国際協力関係業務

I. ベトナム国 NIHE 能力強化計画プロジェクト

ベトナム国 NIHE（国立衛生疫学研究所）の能力強化計画プロジェクト（第 5 年度）に短期専門家として参加し、NIHE のバイオセーフティ管理室の部員や研究部署担当者に対してバイオセーフティマネージメントの教育と NIHE におけるバイオセーフティ管理に関する規則の作成などの指導、並びに NIHE の 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継続している。また、現地 JICA オフィスと共に次期プロジェクトに関する基本計画、行動計画などの立案を行った。

次期プロジェクトに関する現地調査に参加した。

本邦研修として、BSL-3 実験室維持管理研修生 1 名、バイオセーフティ研修生 1 名を受け入れた。

［篠原克明、杉山和良］

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を 2 ヶ月に一度、6 回実施した。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、バイオリスク管理の考え方について講演した。管理室長がバイオセーフティの実践についての講義を行った。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、20 回開催した。

1. バイオリスク管理講習会受講者数

(1) 平成 22 年度　新規取扱者対象講習会

実施月日	新規受講者数
4 月 6 日	54
6 月 1 日	34
8 月 4 日	26
10 月 5 日	13
12 月 1 日	13
2 月 1 日	29
計	169

(2) 平成 22 年度　外国人対象講習会

4 月 19 日	1
4 月 21 日	1
4 月 27 日	2
5 月 17 日	1
6 月 11 日	1
7 月 13 日	3
8 月 12 日	1
8 月 24 日	3
8 月 26 日	1
9 月 3 日	1
10 月 12 日	1
10 月 13 日	1
12 月 6 日	1
12 月 8 日	1
12 月 21 日	1
1 月 11 日	2
2 月 7 日	1
2 月 14 日	1
3 月 8 日	1
3 月 15 日	2
計	27

2. 二種病原体等取扱者講習会

感染症法の解説および病原体管理に関する講習会を 5 月 18 日戸山･村山庁舎テレビ会議システムにて実施した。SARS コロナウイルスについて永田先生が、野兎病菌について棚林先生が講義した。

［杉山和良、永田典代(感染病理部)、棚林清 (獣医科学部)］

II. 所外研修

特定病原体等の運搬に関する講習会(厚生労働省主催)において、病原体等の輸送時の梱包についての講義及び緊急時対応の実習指導を行った。

［伊木繁雄、杉山和良］

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、富田および山口、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担当した。引き続き、各庁舎 BSL3 実験室の日常の管理・運営、実験室関連設備の点検、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。

平成 22 年度 BSL3 実験室の利用登録者数と BSL3 実験室利用者講習会月別受講者数を表 1、表 2 に示した。

表 1　BSL3 実験室利用登録者数

	登録者数
戸山庁舎	81
村山庁舎	68
ハンセン病研究センター	21
計	170

表 2　BSL3 実験室利用者講習会月別受講者数

	戸　山		村　山		ハンセン	
	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数
4 月	3	3	0	0	0	0
5 月	0	0	1	3	0	0
6 月	0	0	1	1	0	0
7 月	1	1	0	0	0	0
8 月	0	0	2	8	0	0
9 月	1	1	0	0	1	1
10 月	1	3	0	0	0	0
11 月	2	2	0	0	0	0
12 月	0	0	0	0	0	0
1 月	1	1	1	1	0	0
2 月	0	0	0	0	1	1
3 月	0	0	0	0	0	0
計	9	11	5	13	2	2

II. バイオセーフティ教育と情報提供

1. バイオセーフティ教育の一環として、行政機関、大学、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。エイズ国際研修および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。

保守・警備担当者対象の特別管理区域取講習会、新規採用者研修会、地方衛生研究所職員研修等で、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。

厚生労働省、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を行った。

［高木弘隆、篠原克明、山崎利雄、伊木繁雄、富田康浩、杉山和良］

2. バイオセーフティ管理室パンフレット作成

感染研の一般公開にあわせて，バイオセーフティ管理室の一般向けパンフレットを作成した。内容は出来るだけ簡単に一般人でも理解できるよう配慮した。作成枚数は 300 部である。このうち 150 部を参加者に配布した。今後は、同パンフレットの内容を精査して更に簡単で理解し易いものを作成するとともに、既にバイオセーフティの講習を受けて知識のある対象者向けパンフレットを作成する予定である。これとは別に、感染研 BSL2 ラボ、BSL3 ラボの公開用パンフレット作成も検討中である。

［宇田川悦子、杉山和良］

3. 感染研公開用 DVD の作成

感染研は公開用 DVD の作成を行っているが、このうちバイオセーフティ管理室に関する DVD 作成をおこなった。

［山崎利雄、宇田川悦子、杉山和良］

III. バイオセーフティ管理室ホームページの整備

安全管理規程および BSL2,3 実験室の管理運営に用いる書類等をダウンロード利用しやすくするよう、ホームページのデザインを改良した。

また新たに、バイオセーフティ研究関連の学会・シンポジウム・セミナー等の開催情報や（国内外）、バイオセーフティに関するラーニング・コース（海外）の情報をアップするページを設けた。

データベース管理を更に改良したことにより、BSL3 及び特定 BSL2 病原体等とその取扱者、取扱実験室の相互関係を詳細なレベルまで明示することが可能となり、将来的にホームページを介した病原体等取扱申請システムへ移行することも視野に入れた準備が整った。

［杉山和良、中西三季、浅沼みゆき］

IV. 病原体等輸送品チェック業務

感染研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確認業務を引き続き行った。「青」ラベル輸送ではチェック項目を減らしシートを 1 枚とし簡略化を図った。「赤、黄」のチェックシートについても一部見直しを行った。

［伊木繁雄、高木弘隆、山崎利雄、篠原克明、富田康浩、野川加奈、浅沼みゆき、山口安子、杉山和良］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Shihoko,K-Aizawa, Toshio Yamazaki, Shin-ichiro Hattori, Tomoji Miyamoto, Naoki Yamamoto, Shinji Haga, Masahiko Sugitani, Mitsuo Honda1, Satoshi Hayakawa, and Saburo Yamamoto. Influence of advanced age on *Mycobacterium bovis* BCG vaccination in guinea pigs aerogenically infected with *Mycobacterium tuberculosis*. Clinical and Vaccine Immunology, 17,1500-1506,2010

2) Masaaki Kitajima, Tomoichiro Oka, Hirotaka Takagi, Yukinobu Tohya, Hiroyuki Katayama, Naokazu Takada, Kazuhiro Katayama. Development and application of broadly reactive real-time reverse transcription-PCR assay for detection murine norovirues. Journal of Virological Methods 169, 269-273, 2010

3) Tomoichiro Oka, Hirotaka Takagi, Yukinobu Tohya, Kosuke Murakami, Naokazu Takeda, Takaji Wakita, Kazuhiko Katayama. Bioliminescence Technologies to detect calicivirus ptotease activity in cell-free system and in infected cells. Antiviral Research, 90, 9-16, 2011.

2. 和文発表

1) 篠原克明：感染防護具と安全機器　バイオセーフティの原理と実際　（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、106-112, 2011

2) 杉山和良：病原体の適正管理　化学療法の領域 Vol.27, No.1, 105-109, 2011

3) 杉山和良:実験室のバイオセーフティ　必携 バイオセーフティ指針　岡田淳編集　39-67, 2010

4) 篠原克明：バイオハザード対策用防護服. セイフティ・ダイジェスト.（Safety & Health Digest）Vol.56. No.5. 46-52. 2010. 5 月. 社団法人　日本保安用品協会（JSAA）

5) 篠原克明：バイオハザード対策用施設で用いている防護服素材の性能について. セイフティ・ダイジェスト.（Safety & Health Digest）Vol.57. No.6. 31-36. 2011. 6 月. 社団法人　日本保安用品協会（JSAA）

6）伊木繁雄：病原体輸送の現状と課題　化学療法の領域 Vol.27, No.1, 116-124, 2011

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1)Shinohara, K., Protective performance of actual protective clothing materials against Biohazardous agents. Asian Protective Clothing Conference 2010. June 4, 2010, Seoul, Korea.

2) Shinohara, K., Kurata, T., Takada, A., Komatsu, R., How GPS works when your pathogens is transported. 13th Annual Conference of the European Biological Safety Association, June 22-23, 2010, Ljubljana, Slovenia.

3) Shinohara, K., Fukui, T., Fukumoto, K., Obara, K., Ishihara, M., Case study of airflow and pressurization control in BSL-3 facility. 13th Annual Conference of the European Biological Safety Association, June 22-23, 2010, Ljubljana, Slovenia.

4) Shinohara, K., Kurata, T., Takada, A., Komatsu, R., Hayakawa, N., Development of a security padlock. American Biological Safety Association, 53rd Annual Biological safety Conference, October 4-6, 2010. Denver, USA.

5) Shinohara, K., Komatsu, R., Kurata, T., Electric pad lock system. How it works. 14th Annual Conference of the European Biological Safety Association, April 13-15, 2011, Estoril, Portugal.

2. 国内学会

1) 山崎利雄、倉　文明：循環式浴槽における浴用水の抗酸菌の検出調査、第 80 回実験結核研究会総会、2010 年、5 月、京都

2) 高木弘隆、北島正章、遠矢幸伸、岡智一郎、片山浩之、片山和彦、杉山和良：マウスノロウイルス(MNV)のマウス由来培養細胞での増殖性についての検討 第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月、徳島

3) 岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、村上耕介、脇田隆宇、片山和彦：ネコカリシウイルスの新規リバースジェネティク系の構築　第 58 回　日本ウイルス学会学術総会、2010 年 11 月、徳島

4) 岡智一郎、横山勝、高木弘隆、本村和嗣、村上耕介、佐藤裕徳、脇田隆宇、片山和彦：カリシウイルスプロテアーゼ catalytic triad 形成残基のポリプロテイン切断活性への重要性　第 33 回日本分子生物学会年会 2010 年 12 月、神戸

5) 伊木繁雄、杉山和良：高圧蒸気滅菌処理の条件と温度に関する検討　第 10 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2010 年 12 月、横浜

6) 鹿住祐子、伊木繁雄、杉山和良：感染性物質カテゴリーB 輸送用容器使用の現状と課題　第 10 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2010 年 12 月、横浜

7) 伊木繁雄、髙木弘隆、杉山和良：病原体輸送容器に対する消毒・滅菌処理の影響に関する検討　第 10 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2010 年 12 月、横浜

8) 篠原克明、倉田毅、高田礼人、早川成人、梶原唯之、小松亮一、神林敬吾：病原体保管庫用電子南京錠　第 10 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2010 年 12 月、横浜

9) 篠原克明：バイオハザード対策用施設で用いている防護服素材の性能について　第 8 回日本防護服研究会学術総会、2011 年 2 月、東京」

10) 前川純子、菊川紀世己、常　彬、村井美代、山崎利
雄：レジオネラ属菌の菌種同定と遺伝子型別、第 22
回日本臨床微生物学会総会、2011 年 1 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利用に関する研究と指導を行なっている。平成２２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、各部等の使用施設責任者及び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。

平成２３年3月１１日に起きた東日本大地震における被害については、地震発生後放射線管理区域点検の結果、地震発生後、地震発生時管理区域内で実験を行っていた者は速やかに退避を行いその結果負傷した者はなかった。放射能管理室は、地震後施設、放射線測定装置、放射性同位元素等の貯蔵、給水、排水系統、排気系統等を点検した結果、排水系統の一部に漏水を発見した。この漏水の放射性同位元素等の濃度検査を行ったところ、放射性同位元素は検出濃度限度以下であった。他の設備は、すべてが正常であることを確認し特段の異常を認められなかった。このため、地震後も放射線管理区域の立ち入りを制限することはなった。

放射能管理室の室員は、土田耕三、藤本浩文、作道隆、高田直子である。高田直子は平成２２年６月末日で退職し、本田尚子が平成２２年１０月１日から放射能管理室職員として就任し業務及び研究を開始した。また、戸山庁舎の研究補助として湯浅正志が、村山庁舎の放射線管理業務および研究補助として片桐千仭が非常勤職員の業務に就いた。放射線取扱主任者は、戸山が土田耕三・藤本浩文、村山は加藤篤(ウイルス第三部・第三室長、放射能管理室兼任)、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）である。

放射線業務従事者認定に関して、新規者に対する教育訓練（新規者教育訓練）を２カ月おきに年６回、戸山庁舎で行い、継続者に対する教育訓練(継続者教育訓練)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１回行った。また英語で行う外国人向け新規者教育訓練を２回行った。新規者教育訓練受講者は日本語６３名、外国語５名、継続者教育訓練は３６５名であった。新規者教育訓練受講者は終了後、確認テストを行い、全員合格した。継続者教育訓練は、改正した放射線障害予防規程の説明を行い、放射性同位元素の安全取扱の徹底を図った。この他にも、警備、設備保守等に関わり放射線管理区域に立ち入る可能性のある者に対しての教育訓練を開催した。

前年度設置した村山庁舎コバルト－６０を線源とするガンマ線照射装置は、平成２２年４月１日から使用開始を予定していたが、動作確認等の点検のため使用開始を同年５月２４日とし、使用開始前の平成２２年５月１９日に、ガンマ線照射装置の操作方法についての説明会を５回に分けて行い村山庁舎から２３名が参加した。

前年度に行った村山庁舎５号棟放射線使用施設の廃止、放射性同位元素有機液体廃液の廃棄方法の変更や、放射線障害防止法の一部改正に伴い、戸山庁舎、村山庁舎、及びハンセン病研究センターの放射線予防規程の一部を改正し、文部科学大臣に届出を行った。これに伴い、３庁舎の放射性同位元素等取扱規則の変更が必要となり、その準備に入った。

土田、加藤、藤本、作道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。

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、フロリダ国際大学、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.　医学への応用を目指した生体内脂質動態の解明
Ⅲ. 抗酸菌の休眠機構の解析

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	626297	1970250	656665
^{14}C	110702	18537	12354
^{32}P	490620	592000	770875
^{35}S	342325	1230000	885784
^{125}I	74296	296	592

保管量下限数量比合計 3211.9

２．村山

（単位　kBq）

	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	140550	27750	20250
^{14}C	10750	12987	8650
^{32}P	9985	46250	33485
^{35}S	78450	296000	121000

保管量下限数量比合計 231.7

Ⅱ．従事者登録数

１．戸山　　３１０　名
（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山　　９４　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22年 4月 9日	21	新規
5月 11日	142	継続
5月 12日	118	継続
5月 13日	16	継続（ハンセン）
5月 14日	68	継続 （村山）
6月 4日	14	新規
6月 8日	17	継続
6月 17日	4	継続
8月 3日	7	新規
10月 4日	4	新規
12月 3日	6	新規
平成23年 2月 4日	11	新規
合計	428	

２．外国語講習会

日時	受講者数	備考
平成22年 8月 24日	1	新規
平成22年12月 1日	4	新規
合計	5	

業　績

調査・研究

生物学研究における放射性同位元素の利用を図るために、生化学、遺伝学、分子生物学に応用可能な放射性同位元素を用いた研究を展開し、生物機能解析や有用物質の生産等に貢献する研究を行った。

Ⅰ．　放射線によるDNA損傷とその修復機構の解析

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に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。本年度は本手法で塩基欠損部位が検出可能かを検証したところ、塩基除去部位でPCR反応が停止することが判明した。このことから、以前から行ってきた放射線照射したプラスミドDNA試料におけるPCR反応停止の原因が脱塩基である可能性が示唆された。また、熱を加えることで脱塩基化された鎖と相補鎖塩基の部位でPCR反応が停止する場合があることも見出された。

［前川（琉球大），屠（浙江大），斎藤（原子力機構），藤本，高田，作道，土田］

2. Kuタンパクによる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の開始を促すキータンパク質である。Kuを構成するサブユニットであるKu70のN，C両末端側のDNA結合過程における役割を分子動力学シミュレーションによって観察した。これまで特定の構造をとらないと予想されていたKu70のN末端、およびC末端側に存在するドメインと結晶構造で判明している領域とを結ぶリンカー領域にDNAと相互作用する部位があることを新たに見つけた。このことはKu70のN，C両末端領域が、KuとDNAとの結合によってその分子構造を変化させている可能性を示唆している。

［藤本，小池（放医研），斎藤（原子力機構），前川（琉球大），高田，作道，土田］

3. YファミリーDNAポリメラーゼの損傷乗越え修復機構の解析

ヒトの細胞には放射線等によって生じる様々なDNA損傷部位を乗り越えて複製修復を行うDNAポリメラーゼ(pol)が存在する。YファミリーDNAポリメラーゼに分類されるヒトポリメラーゼ κ (Pol κ) はbenzo[a]pyrenediolepoxide-N2-deoxyguanine (BPDE-N2-dG) DNA付加体を乗り越えることができる。このPolκの損傷乗り越え機構を解析するため、活性部位のアミノ酸を置換し、乗り越え効率がどう変わるかを検証した。ヒトPol κや同じYファミリーDNAポリメラーゼに属する大腸菌のDinBで保存されており、付加体の近傍に位置するフェニルアラニン (F171) をアラニンに置換すると、BPDE-N2-dGの相補鎖側にdCMPを組み入れる効率が18倍も上がることが判明した。このアミノ酸置換変異体は通常のdGの相補鎖側にdCMPを組み入れる場合には、合成効率に影響はみられなかったが、BPDE-N2-dGを含むDNAと反応させると、DNAに対する結合能が上がることがわかった。F171にはPolκがBPDE-N2

-dGを乗越える際にブレーキのような作用があるのではないかと考えられる。
［佐々（東薬大），能美（国医衛研），藤本，前川（琉球大），高田，作道，土田］

Ⅱ. 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。動物細胞の外来細菌認識機構やウイルスの複製機構においても多くの役割を果たしており、生体内における脂質動態の解明は感染症の理解と制御において重要である。また、放射線照射によって細胞膜の脂質構成が変化することも報告されおり、脂質動態の解明は放射線が生体に与える影響を理解する上でも重要である。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. CD36遺伝子群の機能解析

CD36 遺伝子群は約 500 アミノ酸からなる膜貫通型遺伝子群であり、哺乳類や昆虫に存在している。近年、CD36 遺伝子群が肝炎ウイルスや黄色ブドウ球菌、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重要な役割を果たす遺伝子として報告されている。しかし、CD36 遺伝子群の分子作用機序については知見が少ない。たとえば、CD36 遺伝子群は、体液リポタンパク質から脂質を選択的に細胞内に取り込む過程に関与することが知られているが、その選択性を生じさせる分子機構はほとんど明らかでない。カイコの突然変異体を利用して、それぞれ異なる脂質を選択的に細胞内に取り込む二つの CD36 遺伝子群に属する遺伝子を同定した。一つの突然変異体については CD36 遺伝子群のシス領域に変異が起こっていることが示唆された。選択性を生じさせる分子機構を解明するため、培養細胞を用いてこの二つの遺伝子の機能再構成系の構築を進めた。

［作道、片桐、湯浅（農工大）、永山（日大）、本田、藤本、土田、飯塚（生物研）、瀬筒（生物研）、山本（生物研）、伴野（九大）、普後（農工大）、岩野（日大）、北村（富士化学工業）］

2. 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全長決定を行った。

［横山（日大）、横山（農工大）、湯浅（農工大）、藤本、作道、高田、土田、濱野（農工大）、岩野（日大）］

3. 新規脂質輸送遺伝子の探索

脂質輸送に関わることが表現型から明らかにされている遺伝子について、その遺伝子がコードする分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進めた。
［作道、本田、藤本、土田、飯塚（生物研）、瀬筒（生物研）、山本（生物研）］

4. 家畜化におけるゲノム構造の変化の解析

家畜は感染症が伝播する要因の一つとなっていると考えられている。家畜化の過程でゲノム中の脂質輸送に関与する遺伝子のコピー数が1コピーから1～20コピーと大きく多様化する場合があることを見出した。すなわち、進化的時間スケールの中においては比較的短い期間においても、家畜の遺伝子は野生種と比較して大きな構造変化を起こす場合があることを示した。塩基配列多型の解析を行ったところ、それぞれのコピーが別々の地域の野生種に由来している場合があることが示唆された。
［作道、中島（信州大）、本田、藤本、土田、嶋田（東大）、伴野（九大）、中垣（信州大）］

III. 抗酸菌の休眠機構の解析

抗酸菌感染症は、日本で年 2 万人、世界で 900 万人が発症する。長期に及ぶ化学療法の後も、休眠状態となって潜伏感染し、免疫力の低下に伴い再活性化する危険を持つ。

潜在感染から再燃にいたる機構を解明するために、迅速発育性の *Mycobacterium smegmatis* およびワクチン株である BCG を用いて、Wayne の低酸素モデルおよび近年報告された複ストレスモデルを参考に *in vitro* において休眠誘導を行った。これらの菌が休眠状態の指標であるリファンピシン非感受性かつメトロニダゾール感受性になることを確認した。休眠導入および再活性化に関わる因子の解析を行っている。
［本田，作道，藤本，土田］

管理業務

Ⅰ．講習会

新規放射線取扱業務従事者、継続者、新規外国人放射線取扱業務従事者、ＲＩを使用しない管理区域立入者に対する教育訓練を実施した。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、他日常の管理及び被曝管理。
平成２３年３月１１日も東日本大地震による津波等によりおきた福島第一原子力発電所の事故等により、原子核燃料の分裂により発生したと考えられる放射性物質が東京にも降下した。これに伴い、平成２３年３月１５日には、戸山庁舎のヨウ素モニタや環境空間線量率の測定値に警報値を超える放射線を検出した。このため、感染研における内部被曝の評価を行った。この後、毎日アロカ製PDR-101ガンマ線測定器によって感染研における環境空間線量を測定しているが、福島第一原子力発電所の爆発前の値よりも数倍高い線量を測定している。
2.放射性同位元素等の在庫管理状況を部等別に調査し、長期保存中の放射性同位元素は廃棄を行った。

3.放射性同位元素等で汚染した保存廃棄物を調査し、廃棄物等を日本アイソトープ協会に払い出した。
4.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) Goto S. G., Udaka H., Ueda C., Katagiri C., Fatty acids of membrane phospholipids in *Drosophila melanogaster* lines showing rapid and slow recovery from chill coma. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **391**, 1251-1254, 2010.
2) Sakudoh T., Nakashima T., Kuroki Y., Fujiyama A., Kohara Y., Honda N., Fujimoto H., Shimada T., Nakagaki M., Banno Y., Tsuchida K., “Diversity in copy number and structure of a silkworm morphogenetic gene as a result of domestication”, *Genetics*. **187**, 965-76. 2011.
3) Sassa A., Niimi N., Fujimoto H., Katafuchi A.,Grúz P.,Yasui M., Gupta R.C., Johnson F., Ohta T. and Nohmi T., "Phenylalanine 171 is a molecular brake for translesion synthesis across benzo[a]pyrene-guanine adducts by human DNA polymerase kappa", *Mut. Res*., **718**, 10-17, 2011.
4) Goto S. G., Katagiri C., Effects of acclimation temperature on membrane phospholipids in the flesh fly *Sarcophaga similis*.. Entomol. Sci., **14**, 224-229, 2011.
5) Ikeno T., Katagiri C., Numata H., Goto S. G., Causal involvement of *mammalian-type cryptochrome* in the circadian cuticle deposition rhythm in the bean bug *Riptortus pedestris. Insect Molec. Biol*., **20**, 409-415, 2011.

2． 和文発表

1) 片桐千仭.昆虫の低温耐性－その仕組みと調べ方－, 積木久明・田中一裕・後藤三千代 編、岡山大学出版会、2010.
2) 片桐千仭． 生物学辞典, 石川統編、東京化学同人, 2010.

II. 学 会 発 表

1． 国際学会等

1) Sakudoh T., “Molecular genetic analysis of carotenoid pigmentation in silkworm cocoons”, Silkworm Genome "KARAOKE" Meeting, Tsukuba, Japan, Nov., 2010.

2． 国内学会等

1) 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 高田直子, 濱野国勝, 土田耕三. カイコ Lipid Transfer Particle cDNA 塩基配列の決定, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
2) 金子文俊,片桐千仭,伴野豊,白井孝治. 熱重量分析法を用いた繭の透湿性測定, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
3) 白井孝治,福島壽斗,片桐千仭,深本花菜. エビガラスズメ緑色幼虫の体色発現機構；色素顆粒中の INS 凝集性分 X について, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
4) 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 伴野豊, 土田耕三. カイコ外層黄繭と内層黄繭を作る分子機構, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
5) 作道隆, 中島健陽, 嶋田透, 伴野豊, 中島裕美子, 中垣雅雄, 高田直子, 藤本浩文, 土田耕三. 繭色を支配するカロテノイド結合タンパク質の遺伝子構造は家畜化の過程で大きく多様化した, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
6) 川西祐一, 伴野豊, 藤本浩文, 三田和英, 味村博, 山本公子, 屠振力, 盧時甲, 中島裕美子, 前川秀彰. 日本列島周辺の地殻変動とリボゾーマル DNA の 5.8S-28S 間 ITS 領域の配列比較に基づく日本産クワコの進化解析, 第 80 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 上田, 4 月, 2010.
7) 平林哲也, 横山浩平, 上野紀子, 池田和貴, 片桐千仭, 田口良, 村上誠. 皮膚に発現する新規脂質代謝酵素の機能解析, 日本脂質生化学会 52 大会, 渋川, 6 月, 2010.
8) 梅村正幸, 岡本祐子, 矢作綾野, 本田尚子, 當眞奈海, 中江進, 岩倉洋一郎, 松﨑吾朗. マイコバクテリア感染肺における IL-17A 依存性肉芽腫形成メカニズムの解析, 第 21 回日本生体防御学会学術総会, 仙台, 7 月, 2010.
9) 土田耕三. カロテノイドノ選択的輸送を支えるマシナリーの分子遺伝学, 双葉電子記念招待講演, 千葉, 7 月, 2010.
10) 北村晃利, 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 土田耕三. カイコ絹糸腺のカロテノイド取り込みに見られる選択性とその識別機構, 日本カロテノイド学会, 徳島, 9 月, 2010 .
11) 梅村正幸, 岡本祐子, 矢作綾野, 本田尚子, 當眞奈海, 松崎吾朗. マイコバクテリア感染肺における IL-17A 依存性肉芽腫形成での CD40/CD40L の関与, 第 63 回日本細菌学会九州支部総会, 宮崎, 9 月, 2010.
12)金子文俊, 片桐千仭, 伴野豊、白井孝治. 蚕の繭の透湿性の品種による違い, 日本昆虫学会 70 大会, 鶴岡, 9 月, 2010.
13)山田大邦, 片桐千仭, 宮下洋子、秋元信. トドノネオオワタムシ(ユキムシ)の綿毛微細繊維の形状と発生の仕方, 日本昆虫学会大会, 鶴岡, 9 月, 2010.
14)後藤慎介, 片桐千仭. ナミニクバエの低温順化と膜脂質, 日本動物学会 81 大会, 東京, 9 月, 2010.
15)平林哲也, 横山浩平, 島村透, 上野紀子, 池田和貴, 山本圭, 片桐千仭, 田口良, 村上誠. 皮脂腺に特異的に発現する新規脂質代謝酵素の機能解析, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会）, 神戸, 12 月, 2010.
16)湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 高田直子, 伴野豊, 土

田耕三. カイコ C 遺伝子の発現時期の違いが、黄色呈色部位の異なる繭を作る, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会）, 神戸, 12 月, 2010.

17)藤本浩文, 樋口真理子, 小池学, Pinak M., Bunta J.K., 根本俊行, 前川秀彰, 作道隆, 高田直子, 土田耕三. 計算化学的手法を用いた Ku タンパク質と DNA の相互作用部位の構造解析, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同 大会）, 神戸, 12 月, 2010

18)Sakudoh T., Tsuchida K. Molecular dissection of carotenoid transport system using silkworm mutants defective in cocoon coloration, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会）, 神戸, 12 月, 2010.

19)横山洋, 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 岩野秀俊, 土田耕三. カイコ脂質転移因子遺伝子の発見と解析, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会）, 神戸, 12 月, 2010.

20)片渕淳, 佐々彰, 新見直子, Peter G., 山田雅巳, 清水正富, 藤本浩文, 益谷央豪, 花岡文雄, 太田敏博, 能美健彦. ヌクレオチドプールの損傷と Y ファミリーDNA ポリメラーゼ, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会）, 神戸, 12 月, 2010.

21) 屠振力, 川西祐一, 藤本浩文, 山田明徳, 及川美代子, 土田耕三, 中島裕美子, 前川秀彰. 放射線による DNA クラスター損傷を解析するためのモデルシステムの構築−リアルタイム PCR と損傷合成オリゴヌクレオチドを組込んだ pBR322 の利用, BMB2010（第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会）, 神戸, 12 月, 2010.

22)八尾泉、片桐千仭. 飛ばないアリ共生型アブラムシの飛翔器官に選択はかかっているか？, 応用動物昆虫学会・昆虫学会北海道支部会, 札幌, 1 月, 2011.

23)八尾泉、片桐千仭. 低移動性を示すアリ共生型アブラムシの脂質分析と飛翔筋について, 日本応用動物昆虫学会, 静岡, 3 月, 2011.

24) 作道隆, 生川潤子, 桑崎誠剛, 山本公子, 飯塚哲也, 伴野豊, 本田尚子, 藤本浩文, 土田耕三. 肉色繭遺伝子についての分子生物学的研究, 第 81 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 東京, 3 月, 2011.

25) 湯浅正志, 作道隆, 藤本浩文, 本田尚子, 伴野豊, 普後一, 土田耕三. カイコ *C* 遺伝子の発現時期の違いが、黄色呈色部位の異なる繭を作る, 第 81 回蚕糸・昆虫機能学 術講演会, 東京, 3 月, 2011.

26) 横山洋, 湯浅正志, 横山健, 藤本浩文, 作道隆, 本田尚子, 岩野秀俊, 土田耕三. カイコ Lipid Transfer Particle の分子実体の解析, 第 81 回蚕糸・昆虫機能学術講演会, 東京, 3 月, 2011.

１７．動物管理室

室長　山田靖子

概　要

動物の愛護及び管理に関する法律（動愛法）は平成 17 年に改正されたが、5 年後に見直されることとなっている。平成 22 年 7 月より中央環境審議会動物愛護部会で見直しの検討が開始された。実験動物に関しても見直しが予定されており、感染研は厚生労働省管轄の機関として各方面と協力して対応している。

平成 22 年に京都大学霊長類研究所のニホンザルコロニーにおいて感染症が疑われる複数固体の死亡が報告され、感染研の研究者を含めて原因究明を行なった結果、サルレトロウイルス(SRV)-4 に起因することが報告された。一方、感染研村山庁舎で実験に供されたカニクイザルでは、SRV-D に起因する免疫異常が動物実験結果に影響を与える可能性が示唆された。どちらのウイルスもヒトへの感染性は認められていないが、今後サルレトロウイルスに対する注意が必要となろう。

平成 23 年 3 月 11 日の東日本大震災に際し、感染研 3 庁舎すべての動物実験施設において、飼育ケージの落下、動物逸走、及び動物施設の破損など不測の事態は認められなかった。

村山庁舎の改修工事の一貫として、運用開始から約 22 年を経過した 2 号棟の動物管理区域の空調機器の更新を行った。更新工事は、外気温およびその変動が少ないことを考慮し 11 月中旬に行い、期間中は、仮設の給排気ファンを設置し、再熱コイルのみによる温度調整を行った。工事期間中、動物実験結果に影響を及ぼすほどの温湿度の変化は認められなかった。

動物管理室は、動物実験施設の管理運営を業務とし、その一環として動物実験施設の定期的微生物検査を行っている。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、以前より行なっているマウス肝炎ウイルス、マウスノロウイルス、*Corynebacterium ulcerans* の研究を進めるとともに、弱酸性次亜塩素酸水の実験動物特有の病原体に対する消毒効果について研究を行なった。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、リフトバレー熱ウイルスの研究を行った。

動物管理室は海外および国内から動物実験施設見学や動物実験管理運営の研修に対応している。平成 22 年度は東京大学獣医学科学生実習、JICA「ワクチン品質管理技術コース」研修であった。

厚生労働省が所管する国立研究機関（独立行政法人を含む）の動物実験施設では、国内の動物実験を取り巻く状況に対応する横の連携を取り合う協議会（名称：厚生労働省関係研究機関動物実験施設協議会）を設立しており、感染研が会長を務めている。

平成 22 年 10 月 1 日、酒井宏治研究員が動物管理室から転出し、ウイルス 3 部に配置換えとなった。

講習会開催及び動物管理区の利用状況

動物管理室は動物実験委員会の事務局を担当し、動物実験講習会を開催している。平成 22 年度は動物実験の継続従事者を対象にした講習会を開催し、動物福祉に関する再教育とともに最近の情勢を学んだ。平成 22 年度に継続者対象及び新規の動物実験従事者を対象にした講習会を受講した人数は平成 23 年 3 月 31 日までに 498 名であった。平成 22 年度に申請された動物実験計画は 371 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 23 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 233 人、村山庁舎 218 人、ハンセン病研究センター24 人である。

実験動物施設利用者講習会（新規）

動物実験講習会（新規及び継続）　受講実績

		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 6 日	戸山	16			26
4 月 21 日	*戸山*				*2*
4 月 27 日	村山		1		
4 月 30 日	村山		7		
5 月 13 日	村山		6		
6 月 1 日	戸山	10			15
6 月 14 日	戸山				292
6 月 24 日	村山				51
6 月 30 日	戸山				63
8 月 4 日	戸山	7			14
9 月 1 日	*戸山*	*1*			*2**
10 月 5 日	戸山	3			7
12 月 1 日	戸山	8			9
1 月 26 日	*戸山*	*1*			*1*
2 月 1 日	戸山				16
2 月 8 日	村山		7		
合計		46 新規	21 新規	0 新規なし	498 全従事者

（斜字は外国人対照講習会

**他に日本語と英語の重複受講者 1 名）*

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。戸山庁舎ではウサギの飼育匹数が減少したため、平成 22 年度はウサギの微生物モニタリングを行なわなかった。モニタリング結果は別表 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、滝本一広、新倉　綾、田原口元子、平井明香、酒井宏治、小川敏雄、須崎百合子、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)マウスは CEACAM1a (1a)を、比較的抵抗性 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検討するために、B6 マウスの 1a 遺伝子上のウイルス結合部位を 1b 遺伝子のものと置換した CEACAM1ba(1ba)を発現する遺伝子改変マウス cB6*1ba* を作製し、これは SJL より高度な MHV 抵抗性を示し感染が認められなかった。本年度は、1b および 1ba がマウス生体内で MHV 受容体として機能しているか検討した。cB6*1ba*、SJL および F1(cB6*1ba*xSJL)マウスに MHV を腹腔接種した時の MHV 感受性と、マウスから分離した腹腔マクロファージ(PM)の MHV 感受性が一致したことから、PM を用いて *ex vivo* で解析を行った。SJL および F1 の PM は MHV に感受性を示し、抗 CEACAM1b 抗体（1ba は認識しない）によりウイルス感染が阻止された。一方、cB6*1ba* の PM では MHV 感染が認められなかった。以上から、1b はマウス生体内で受容体として機能するが、1ba は受容体として機能しない可能性が示唆された。［平井明香、網　康至、田口文広[1]、山田靖子（[1]日本獣医生命科学大学)］

II-2　マウス肝炎ウイルスの病原性に関する研究

マウス肝炎ウイルスの親株 MHV2 とその変異株 MHV-2f の病原性を解明するため、それぞれ 3 段階の濃度（10^1、10^4 および 10^7PFU）を BALB/c マウスに接種後、経時的（1、2、3、5、8、11 日）に臓器等を採材しマウス体内におけるウイルス増殖を検討した。MHV2 を接種したマウスの肝臓において、10^1 接種マウスではウイルス感染力価が 2 日目をピークに 8 日目、11 日目と減少傾向にあるが、10^4 接種マウスでは 2 日目から 5 日目まで上昇傾向にあり、さらに 10^7 接種マウスでは 1 日目から高い数値を示し 5 日目まで、さらに上昇し 10^4 接種マウスの場合より高い数値まで達した。肝臓でのウイルス増殖は、接種量に比例して高い数値を示す結果であった。

（田原口元子、新倉　綾、山田靖子）

II-3 マウスノロウイルスのコントロール法の確立に関するに研究

(1) 実験用マウスコロニーからのマウスノロウイルスの分離と分子系統学的解析

昨年度に引き続き、国内マウスコロニーのマウスノロウイルス（MNV）浸潤状況の把握及び既知の MNV 分離株との遺伝学的な比較を行った。SPF 動物施設のマウス糞便を採材し、抗生物質添加 PBS にて乳剤作製後、RAW 264.7 細胞（マウスマクロファージ由来株化細胞）に接種し、ウイルス分離を試み、MNV 特異的 RT-PCR による同定を実施した。MNV 遺伝子陽性検体については、VP1 及び VP2 遺伝子の配列決定を行い、系統学的解析を実施した。SPF 施設 78 検体のマウス糞便から、12 検体について MNV 分離陽性、55 検体について RT-PCR によりウイルス遺伝子陽性が認められた。同一施設内においても様々なクラスターに分類される分離株が認められたが、これまでの疫学調査同様、既知の MNV と比較して遺伝学的に大きく異なる分離株は認められなかった。本研究により、SPF 施設のマウスコロニーから MNV を分離・同定し、MNV が浸潤していることが明らかとなった。[酒井宏治、網康至、須崎百合子、山田靖子]

（2）迅速・簡便なマウスノロウイルス抗原検出方法の開発

国内実験用マウスコロニーの MNV 浸潤状況の把握は不十分であり、迅速かつ簡便な検査法の検討が必要である。これら検査過程の中で煩雑な作業として糞便からの RNA 精製過程がある。その過程を改良することで迅速・簡便な遺伝子検出系の改良を行った。RNA 精製を行わず、糞便乳剤遠心上清及び感染細胞培養上清から直接を熱処理後、逆転写反応及び遺伝子増幅を行った（以下、ダイレクト法）。MNV S7 株感染細胞培養上清を用いて、至適な条件を検索し、検出感度の検討を行った。RNA 精製が不要なため、判定まで約 4 時間以内に MNV 遺伝子を迅速・簡便に検出することができた（抽出 5 分、逆転写反応 35 分、遺伝子増幅反応 150 分、電気泳動 30 分）。プライマーは ORF1 の 3’末端と ORF2 の 5’末端において MNV で高度に保存されている領域を用い、検出限界は感染培養上清で 1PFU/reaction と比較的高感度であった。ダイレクト法は、通常の方法と比べ、糞便乳剤遠心上清では、感度 91%、特異度 81%、正確度 84%、感染細胞培養上清で感度、特異度、正確度ともに 100%であった。また、これまでウイルス分離できた検体については全てダイレクト法で遺伝子検出しており、迅速・簡便な MNV 遺伝子検出方法として有用であると考えられる。[酒井宏治、中山 博之*、四方田 聡*、網康至、須崎百合子、山田靖子；*(株)島津製作所 分析計測事業部]

（3）マウスノロウイルス不活化の検討

鶏糞をプラントで還元焼結することで炭素を完全に除去して生成される粒子状鶏糞セラミックスを用いて、不活化の検討を行った。ウイルスと室温で転倒混和することで、マウスノロウイルスを 2000 倍以上特異的に不活化した（高力価のウイルスを調整できるサルアデノウイルスでは 10^6 倍以上特異的に不活化）。鶏糞セラミックスは、これまで、*Salmonella Enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* などの細菌にも有効であることを確認している。今後、マウスの床敷きと併用し、長期的効果が期待されるバイオセキュリティ強化資材として、*in vivo* での効果の検討を予定している。[酒井宏治、竹原一明*、網康至、須崎百合子、山田靖子；*東京農工大学]

II-4　弱酸性次亜塩素酸水のモニタリング対象微生物に対する効果について

実験動物特有の病原体に対する弱酸性次亜塩素酸水の不活化効果を他の広く使用されている消毒剤（次亜塩素酸ナトリウムおよびエタノール）と比較して検討を行った。SPF 対象病原体としては、*B. bronchiseptica*、*P. pneumotropica*、*C. kutscheri*、MHV 及び HVJ、免疫不全動物に病原性を示す日和見病原体としては、*S. aureus* および *P. aeruginosa* を用いた。菌液またはウイルス液を 9 倍あるいは 99 倍量の各消毒薬と混合し、30 秒、1 分および 5 分間反応させて生菌数の測定およびウイルス感染力価の測定を行った。その結果、弱酸性次亜塩素酸水においても他の消毒剤である 0.03%次亜塩素酸ナトリウムおよび 70%エタノールと同様に生菌数またはウイルス感染力価は減少あるいは検出限界以下に低下し、十分な効果を認めた。ただし、弱酸性次亜塩素酸水は有機物存在下では効果が減弱することがあるため施設で使用する際は、この点を考慮することが必要であるが、実験動物特有の病原体に対して高い殺菌効果および不活化効果があり、環境や安全の面からも有用であると思われる。
（田原口元子、新倉　綾、山田靖子）

II-5　マウスノロウイルス（MNV）およびリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）に対する弱酸性次亜塩素水の消毒効果

1 vol.の各ウイルス液と 9 vol.の弱酸性次亜塩素水を混和し、一定時間後のウイルス力価を測定することにより、その消毒効果を検討した。MNV（S7 株）の場合、pH6.6、残留塩素 40ppm の弱酸性次亜塩素水では混和 10 分後でもウイルス力価は 10^3 程度しか低下しなかったが、pH6.0、残留塩素 60ppm の弱酸性次亜塩素水では混和 1 分後でウイルス力価が 10^4 低下し、5 分後では検出限界以下になり、

MNV に対する一定の消毒効果が認められた。LCMV（Armstrong 株）の場合、pH6.0、残留塩素 60ppm の弱酸性次亜塩素水と 30 秒混和することで検出限界以下となり、LCMV に対する強い消毒効果が認められた。

（滝本一広）

II-6 サル由来 *Corynebacterium ulcerans* の性状解析

ヒトのジフテリア様疾患の原因菌であるジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* が国内のイヌ、ネコ、ライオン、シャチから分離されている。これまでの調査で国内の異なる２つの繁殖施設から当施設に導入したカニクイザル 68 頭中 9 頭から毒素産生性 *C. ulcerans* が分離された。本年度はこれらの分離株について種々の抗生物質に対する感受性を調べた。その結果、耐性 *C. ulcerans* 株が報告されている erythromycin、clindamycin に対しても感受性を示した。今後は抗生物質を用いてサルから本菌を排除することが可能であるか検討したい。［平井明香、小宮貴子[1]、須崎百合子、網康至、高橋元秀[1]、山田靖子（[1]細菌２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

脳内における麻疹ウイルス持続感染カニクイザルの中枢神経組織から、Vero 細胞との共培養により、分離した麻疹ウイルスは、感染粒子を全く産生せず、また、分離ウイルス感染 Vero 細胞におけるウイルス蛋白の発現は、野外株と比較して H 蛋白の発現は同等であったが、N 蛋白、F 蛋白の発現が著しく低かった。

（網　康至、須崎百合子）

III-2　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。分節型のウイルスがもつ L 蛋白は分子量約２５０ｋDa の大型蛋白質であり、ウイルスゲノムの複製および転写に含まれる各ステップやその他の多様な機能を持つと考えられているが、その詳細は明らかでない。これまでの研究で、RVFV-L の N 末端に存在するロイシンジッパー様モチーフ（Zip）が、L 蛋白のポリメラーゼ機能に重要であり、ウイルスゲノムとのインタラクションに関与していること、また、フレボウイルス属のウイルスに保存されたモチーフであることが示唆された。今年度は、複製機構の詳細を明らかにするため、免疫共沈降および Bi-molecular Fuluorecence Complement Analysis(BiFC)等の方法にて、L の分子間および分子内会合に Zip 領域が関与しているか否かを調べた。ミュータントを用いた免疫共沈降では、wild type との差は認められず、Zip 分子間会合に関与していなかった。一方、ミュータントを用いた BiFC では、L 蛋白のＮおよびＣ末端領域を介した分子内会合が明らかに阻害された。以上のことから、ＲＮＡ複製にはＬ蛋白のＮ、Ｃ末端領域を介した分子内会合が必要であり、Zip が重要な役割を果たしている事が示唆された。[新倉綾、池上徹郎[1]、C.J.Peters[1]、牧野伸冶[1]　森川茂[2]、山田靖子([1]テキサス大学医学部、[2]ウイルス１部)]

発 表 業 績 一 覧

I　誌上発表

I-1　欧文発表

1) Hirai A, Ohtsuka N, Ikeda T, Taniguchi R, Blau D, Nakagaki K, Suzuki MH, Ami Y, Yamada KY, Itohara S, Holmes VK and Taguchi F : Role of mouse hepatitis virus (MHV) receptor mCEACAM1 in the resistance of mice to MHV infection: Studies on mice with chimeric mCEACAM1a and 1b. Journal of Virology. 84: 6654-6666. 2010

2) Shirato K, Maejima M, Hirai A, Ami Y, Takeyama N, Tsuchiya K, Kusanagi K, Nunoya T and Taguchi F : Enhanced cell fusion activity in porcine epidemic diarrhea virus adapted to suckling mice. Archive of Virology. 155: 1989-1995. 2010

3) Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, Hasegawa H : Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. J Med Virol. 82:1754-61. 2010

4) Isawa H, Kuwata R, Hoshino K, Tsuda Y, Sakai K, Watanabe S, Nishimura M, Satho T, Kataoka M, Nagata N, Hasegawa H, Bando H, Yano K, Sasaki T, Kobayashi M, Mizutani T, Sawabe K : Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from Culex mosquitoes in Japan. Virus Research 55: 147-55. 2010

5) Mizutani T, Sayama Y, Nakanishi A, Ochiai H, Sakai K, Wakabayashi K, Tanaka N, Miura E, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Ono S : Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, Anguilla japonica. Virology. 412: 179-87. 2011

6) Abe M, Ito N, Sakai K, Kaku Y, Oba M, Nishimura M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Sugiyama M, Mizutani T : A novel sapelovirus-like virus isolation from wild boar. Virus Genes. in press. 2011

I-2　邦文発表

1) 田口文広、平井明香：マウス肝炎ウイルス（MHV）に対する抵抗性に関する研究. LABIO 21, 42: 24-27. 2010

2) 山田靖子: 実験動物の福祉に関する第三者評価システムに望むこと。LABIO21、42、16-18. 2010

Ⅱ　学会発表

II-1 国際学会

1) Zamoto-Niikura A, Ikegami T, Sasaki Y, Yamada YK, Morikawa S, Peters CJ, and Makino S : Importance of leucine zipper like domain ofr rift valley fever virus L protein for viral RNA synthesis. The 14th International Negative Strand Virus Meeting. June 2010. Brugge, Belgium.

2) Hirai-Yuki A, Ami Y, Yamada KY and Taguchi F. Role of mouse hepatitis virus (MHV) receptor CEACAM1b of less susceptible mouse and chimeric CEACAM1ba of resistant gene-replaced mouse to MHV infection. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Sep 2010. Hyogo, Japan.

3) Zamoto-Niikura A, Ikegami T, Yamada YK, Morikawa S, Peters CJ, and Makino S : Leucine zipper like domain of Rift Valley fever virus L protein is important for viral RNA synthesis. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Sep 2010. Hyogo, Japan.

4) Sakai K, Ike F, Ami Y, Suzaki Y, Urano T, Yabuichi K, Kurosawa T, Oka T, Katayama K, Yamada YK, Kyuwa S : Surveillance of murine norovirus in japan. The 4 th Asian Federation of Laboratory Animal Science Association (AFLAS) Congress Meeting. Nov 2010, Taipei, China.

II-2　国内学会

1) 酒井宏治、池　郁生、浦野　徹、網　康至、平井明香、須崎百合子、岡智一郎、片山和彦、山田靖子：迅速・簡便なマウスノロウイルス抗原検出方法の開発と分離株の分子系統学的解析。第 57 回日本実験動物学会、平成 22 年 5 月、京都。

2) 山田靖子：ヒューマンサイエンス振興財団動物実験実施施設認証。第 106 回関西実験動物研究会：動物実験第三者認証のその後、平成 22 年 6 月、大阪。

3) 酒井宏治、永田典代、網 康至、岩田奈織子、鈴木忠樹、水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、西條政幸、長谷川秀樹、山田靖子、倉根一郎、森川 茂：カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスの性状と実験感染サルの病原性の解析。第 150 回日本獣医学会、平成 22 年 9 月、帯広。

4) 久和　茂、酒井宏治、田中志哉、北川洋大、朴　商鎮、吉川泰弘、池　郁生、浦野　徹、薮内かおり、田島　優、黒澤　努、網 康至、山田靖子：日本の実験用マウスコロニーにおけるマウスノロウイルスの感染状況。第 150 回日本獣医学会、平成 22 年 9 月、帯広。

5) 水谷哲也、酒井宏治、本道栄一、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、前田健 ： コウモリから分離された新規アデノウイルスの分子学的性状決定。第 150 回日本獣医学会、平成 22 年 9 月、帯広。

6) 酒井宏治、田丸精治、前田　健、永田典代、網 康至、岩田奈織子、鈴木忠樹、水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、長谷川秀樹、西條政幸、山田靖子、倉根一郎、森川 茂：カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンパーウイルスのサル及びイヌでの病原性の解析。第 58 回日本ウイルス学会、平成 22 年 11 月、徳島。

7) 木下一美、酒井宏治、永田典代、王麗欣、伊藤（高山）睦代、中道一生、森川茂、倉根一郎、西條 政幸：リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス核蛋白の単クローン抗

体を用いた診断法の開発。第 58 回日本ウイルス学会、平成 22 年 11 月、徳島。

8) 水谷哲也、酒井宏治、本道栄一、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、前田健：コウモリから分離された新規アデノウイルスのゲノム配列の決定および系統学的解析。第 58 回日本ウイルス学会、平成 22 年 11 月、徳島。

9) 新倉　綾、池上徹郎、森川　茂、山田靖子、C.J. Peters、牧野伸治：リフトバレー熱ウイルス L 蛋白のポリメラーゼ機能におけるロイシンジッパー様モチーフの重要性。第 58 回日本ウイルス学会、平成 22 年 11 月、徳島。

１８．検定検査品質保証室

室長　花田　賢太郎

概　要

当室の業務は、生物学的製剤及び抗菌性物質製剤の国家検定・検査における成績の品質保証並びにこれらに必要な調査及び研究を行うことである。さらに、国家検定・検査に必要な基準、検定検査手法の精度管理及び生物学的製剤の品質保証に関する国際的な調整も行っている。

世界保健機関（WHO）は、ワクチンのロットリリース（ロットごとの市場への出荷許可）に際して、国の規制当局による検定試験だけでなく、製造及び品質管理に関する記録の確認を重視しており、ロット毎の製造及び試験の記録等を要約した書類（Summary Lot Protocol; 以下、SLP）を製造販売業者から提出させて、その内容が当該製品の承認内容に適合しているか否かを規制当局が審査することを推奨している。日本では、国家検定対象となる生物学的製剤（ワクチン、血液製剤、抗毒素等）に関して製造販売業者が提出するロット毎の試験記録の精査を感染研が担当機関として検定試験と共に従来から行っていたが、製造工程記録の要約までを提出させて審査する制度はなかった。平成 22 年度は、日本におけるワクチンの国家規制当局（National Regulatory Authority; 以下、NRA）を WHO が評価するための事前調査を受けた年であったため、我が国の NRA である厚生労働省（厚労省）本省から委託されているロットリリース機能及びワクチンの National Control Laboratory（医薬品の規制に関わる試験等を行う国立の又はそれに相当する機関）としての機能を持つ感染研も事前評価の対象となり、いくつかの重要な指摘を受けた。その指摘の中でも最も大きな点は、SLP 審査制度の導入であった。本審査制度を我が国に導入することの意義、導入した場合の審査機関及び審査に関連する法令の整備等について、厚労省本省の担当者を交えながら感染研で討議が重ねられた。平成 22 年秋から 23 年春にかけて、日本におけるワクチンの国家検定の一部として SLP 審査制度を導入することについて検討が進み、審査制度導入に関する説明会がワクチン製造販売業者に対して開催された。これら SLP 審査制度導入に関する一連の流れの中で当室は感染研における事務局・取りまとめ役を室員全員が一丸となって果たした。

来年度（平成 23 年度）は、SLP 審査制度の試行開始が予定されており、WHO による日本 NRA 評価のための本調査も予定されている。これらに対応することは感染研が担う大きな任務の一つであり、当室としても当該任務遂行に貢献すべく室員一同、今後とも鋭意努力したい。

上記以外に、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として、１．国家検定の実施に関わる標準作業手順書（以下、SOP）原本の管理及び作成支援、２．国家検定・検査業務品質管理システム（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及び生物学的製剤基準に関するホームページの運営、４．教育研修小委員会による検定検査教育研修会の開催への協力、５．検定業務評価委員会による定期査察への協力、６．品質マネジメント指針をはじめとする内規等の整備、７．WHO 評価本調査に対応するための資料整備、等が挙げられる。

研究業務としては、内藤を中心に経皮デリバリーワクチンに関する研究、落合を中心に生物学的製剤の品質管理に関する研究が、それぞれ進展した。

本年度の当室の業務は、室長（併任）１名、主任研究官 3 名、技術補助員 1.5 名（１名は、週に 2 日のみ検定コンピュータ管理業務に当たる）で実施された。なお、藤田賢太郎は年度途中である平成 22 年 11 月 1 日に当室の主任研究官として着任した。

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を測定可能な非動物系試験法として百日咳毒素の ADP-リボシル化活性及び糖タンパクに対するレクチン様結合活性を開発し、マウス足蹠モデルで見られる腫脹反応との比較検討を行ったところ、ワクチン中の残存百日咳毒素結合活性と足蹠腫脹反応の関連性が示唆される結果が得られた。[落合雅樹、片岡紀代；山本明彦、堀内善信（細菌第二部）；多屋馨子（感染症情報センター）；Chun-Ting Yuen、Dorothy Xing、Michael J. Corbel（英国 NIBSC）]

２．不活化ポリオ混合ワクチンの品質確保に関する研究

現在開発が進められている不活化ポリオワクチンの力価試験に用いる参照品の更新にあたり、参照品候補品（09A）の抗原濃度を従来の２倍にすることで、試験結果の信頼性向上が図られた。また、参照品候補品の力価をこれまでの参照品（05J）に対する相対力価として算出した。［落合雅樹、藤田賢太郎；白土東子、片山和彦、脇田隆字（ウイルス第二部）］

３．血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

アンチトロンビン製剤は、エンドトキシン試験に対する強い反応阻害作用を示すことから、当該試験を実施するためには反応干渉因子の除去が必要であるが、希釈による反応干渉因子の除去では感度が不足するため、本試験法の適用は不可能であった。そこで、近年開発された高感度エンドトキシン測定法である光散乱方式エンドトキシン測定法によりアンチトロンビン製剤へのエンドトキシン試験の適用可能性について検討した。その結果、反応干渉因子を除去し、エンドトキシン測定が可能となる希釈加熱による前処理条件を見いだすことができた。［落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎；山本明彦、岩城正昭（細菌第二部）］

４．国家検定の品質確保に関する研究

WHOにより国家検定を実施する試験機関に対しては、品質マネジメントシステムが整備され、十分な試験能力があることが求められている。そこで、国際的な試験所の標準規格であるISO/IEC17025に基づき、国立感染症研究所で実施している国家検定の品質マネジメントシステムを評価した。その結果、国家検定の品質マネジメントシステムは、適切かつ有効に実施されていると考えられたが、ISO/IEC17025の考え方を参考に更に改善を図ることは、国家検定の品質及び信頼性を高めていくために有用であり、国際的な調和の観点からも進めていくべきであると考えられた。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、花田賢太郎；高橋元秀（細菌第二部）；渡邉治雄（所長）］

５．国家検定制度に関する研究

国家検定制度と薬事法及び日本薬局方の歴史的変遷について調査し、国家検定制度の問題点と将来に向けての課題について検討した。その結果、昭和54年の薬事法改正により、医薬品の規制は、日本薬局方などの「基準」を中心とする制度から製品ごとに有効性、安全性及び品質を評価・確認する「製造販売承認」を中心とする制度に転換したと考えられた。一方、国家検定制度は、この転換に十分に対応していない部分があり、制度改正を検討する必要があるのではないかと考えられた。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、花田賢太郎；高橋元秀（細菌第二部）；渡邉治雄（所長）］

６．生物学的製剤の品質管理用統計解析ソフトウェア開発に関する研究

生物学的製剤の品質管理に用いられる生物定量法の試験データ解析においては、平行線定量法及びプロビット法がしばしば用いられるが、市販の統計解析ソフトウェアを使用した場合、これらの方法による統計学的解析を行うことはできない。国立感染症研究所で作成され品質管理に用いられてきた統計解析ソフトウェアは、Microsoft Windows Vistaあるいは Windows 7上で正常に動作しないことから、これらのオペレーションシステムで動作可能なソフトウェアの開発及び機能改善を行った。［落合雅樹、片岡紀代、藤田賢太郎、内藤誠之郎、花田賢太郎；堀内善信（細菌第二部）；岡部信彦（感染症情報センター）］

Ⅱ．新規ワクチンに関する研究

１．溶解性マイクロニードルアレイを用いた経皮ワクチンに関する研究

ワクチン抗原として不活化A型肝炎ウイルス抗原及び結核菌 Ag85A、Ag85Bをそれぞれ含有する溶解性マイクロニードルアレイを作成し、マウスに経皮免疫を行った。その結果、いずれの抗原においても血清中に有意な抗原特異的抗体産生が観察され、その抗体産生量は同用量の抗原溶液を皮下注射した群と比較して同等以上であった。［内藤誠之郎、片岡紀代、落合雅樹；清原知子（ウイルス第二部）；前山順一（血液・安全性研究部）；伊藤由佳子、高田寛治（京都薬科大学）］

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の国家検定・検査に関する品質保証業務

１．WHO評価への対応準備

(1) 事前評価への対応

平成22年7月22日にWHO本部の Belgharbi 氏及びWPROの佐藤氏が来所して、感染研のロットリリース機能及びラボアクセス機能に関して事前評価が実施された。あらかじめ提示されていた評価項目に沿った資料を準備し、渡邉所長、倉根副所長、高橋品質保証運営委員長、杉山検定専門官及び当室員；藤岡係長（厚労省医薬食品

局）が対応した。[内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎]

(2) 免疫状況等の調査

事前評価において、検定・検査業務に携わる職員が取扱う病原体のリスクに応じて予防接種を受けていることを示す記録を提示することを求められたことから、予防接種等による職員の免疫状況に関するアンケート調査を行い、評価用資料として取り纏めた。[内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎]

(3) フォローアップ・ビジットへの対応

平成 22 年 12 月 17 日に WPRO の佐藤氏が事前評価のフォローアップのために来所した。渡邉所長、倉根副所長、高橋品質保証運営委員長、杉山検定専門官、及び当室員；藤岡係長、岩瀬技官（厚労省医薬食品局）が対応した。「製品の製造及び試験の記録等を要約した書類（製造・試験記録等要約書）」（Summary Lot Protocol: 以下、SLP）の審査制度導入の見通しについて説明し、前回の事前評価時の指摘にしたがって再度整理した資料の点検を行った。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(4) 資料文書類の英訳化

フォローアップ・ビジットにおいて英訳しておいた方がよいと指摘された資料文書（品質マネジメント指針、SOP 作成要綱、試験法バリデーション指針、試験結果分析・評価に関する指針など）について、英訳化の作業を行った。[藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎]

２．SLP 審査制度の国家検定への導入に関する業務

ワクチンの国家検定において SLP を審査する制度が、新たに導入されることになった。同制度の導入に向けて感染研内に「SLP 迅速対応チーム」（代表：倉根副所長；SLP 関連の迅速に対応すべき問題を検討し、所長に対応案を提示する）、及び「SLP 作成委員会」（委員長：倉根副所長；SLP 様式作成等に関する所内及び各担当部での問題点等の検討を行う）という二つのワーキンググループが編成された。当室員は、双方の委員として、主として事務局機能を担当した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(1) 会議の開催

平成 22 年 10 月 26 日に厚労省本省、感染研及び製造所の関係者による意見交換会が開催され、ワクチンの国家検定に SLP 審査制度を導入することについて合意された。同年 12 月 1 日には、SLP 様式を作成する具体的作業に向けて感染研と製造所の関係者の間で会議がもたれた。平成 23 年 2 月 4 日に本省、感染研及び製造所の関係者による意見交換会が開催され、SLP 制度導入に向けての問題点等について協議した。同年 3 月 1 日に SLP 作成委員会を開催し、SLP 様式の作成等に関して協議した。当室は、これらの会議において、事務局として会議資料の準備及び議事録の作成などを行った。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(2) 対象品目の選定

SLP 審査制度の対象品目は、国家検定の対象となっている予防用ワクチンのうち、現在日本国内で製造販売されている品目とすることに整理し、厚労省本省、感染研及び製造所間での合意形成を図った。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(3) 提言書の原案作成

渡邉所長から厚労省医薬食品局長にあてて、国家検定への SLP 審査制度導入に関する提言書が提出された。当室は、提言書の原案作成を担当した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(4) 「留意事項」及び「カバーページ基本様式」の原案作成並びに「一般試験法基本様式」の取り纏め

作成される SLP 様式に大きな製品間格差が生じないように、「SLP 様式作成にあたっての留意事項」及び「カバーページ基本様式」の作成並びに「一般試験法基本様式」の取り纏めを行い、SLP 作成委員会の承認を経て関係者に周知した。また、必要に応じてこれらの文書の改訂を行った。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(5) 「承認書等取扱規程」の制定

SLP 様式の作成にあたっては、感染研の担当部署が当該製品の製造販売承認に係る資料（以下、承認書等）の一部を確認する必要があるため、厚労省監視指導・麻薬対策課長から（社）細菌製剤協会理事長にあてて、感染研に承認書等を提出するよう、依頼がなされた（薬食監麻発 1105 第 18 号）。承認書等は、製品の製造に関する機密情報を含む文書であることから、セキュリティに配慮した適切な取扱いが求められる。そこで、新たに「承認書等取扱規程」が制定された。当室は、当該規程の原案作成を担当した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(6) 承認書等の管理及び貸出業務

承認書等は、「承認書取扱規程」にしたがって厳重なセキュリティのもとで管理され、また、SLP 様式作成の担当者に貸し出されている。当室は、総務部業務管理課と協力して承認書等の管理及び貸出業務を行った。[内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎]

３．国家検定に関する SOP 原本の一元管理

(1) 平成 22 年度中に、新規作成 19 通、修正 4 通、改訂 38 通、廃止 11 通の SOP を受け付けた。また、初期の回収から漏れていた SOP 原本を 2 通回収した。平成 22 年度末に有効な SOP は 446 通である。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎］

(2) SOP 案へのコメント提出

新規に作成された SOP 及び改訂された SOP のうち、承認前に作成者から確認を依頼されたものについて、内容を精査してコメントを提出した。［藤田賢太郎、落合雅樹、内藤誠之郎、内田孝子、花田賢太郎］

４.「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」の改訂

標記指針の「部等」の項について、新規製剤の承認にともなう記載の追加、また、併せて記載整備を行った改正原案（第 5 版）を当室が作成し、品質保証運営委員会での修正を経て、業務運営委員会及び検定協議会（平成 22 年 7 月 1 日）にて承認された。［落合雅樹、内藤誠之郎、内田孝子、花田賢太郎］

５.「国家検定の実施に関わる標準作業手順書の取扱要領」の改訂

標記取扱要領の改定案を当室が作成し、業務運営委員会及び検定協議会(平成 22 年 5 月 6 日)にて承認された。［内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎］

６.「検定･検査に使用する機器等の適格性に関する指針」の制定

検定及び検査業務に使用される機器、設備等の適格性確認に関する基本的な考え方を示した「検定・検査に使用する機器等の適格性に関する指針」案を当室が作成し、品質保証運営委員会での修正を経て、業務運営委員会及び検定協議会（平成 23 年 5 月 10 日）にて承認された。［藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎］

７.「生物学的製剤の試験法バリデーション指針」の改訂

「生物学的製剤の試験法バリデーション指針」（初版）における適応範囲及び分析パラメータに係る記載の更なる充実化を目的とした改正案を当室が作成し、品質保証運営委員会での修正を経て、業務運営委員会及び検定協議会（平成 23 年 5 月 10 日）にて承認された。［藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎］

８．Expert Committee on Biological Standardization (ECBS) 勉強会の開催

平成 22 年 10 月 18 日～22 日にかけて開催された WHO の ECBS に渡邉所長及び浜口部長が出席するのに合わせて、当会議で審議予定のガイドライン等に関する勉強会が開催された。当室は勉強会の調整役を担当した。［内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、花田賢太郎］

９．検定・検査教育研修会への協力

教育研修小委員会による講習会の開催に協力し、また同講習会の講師を務めた。また、講習会への出席者の記録を作成し、教育研修小委員会に報告した。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎］

１０．検定業務評価委員会による査察への協力

自己点検表に WHO 評価に対応する項目を追加することを検定業務評価委員会に提案し、承認された。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。すべての査察に当室員がオブザーバーとして参加して意見を述べた。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子］

１１．検定検査品質保証室のウェブページの運営

検定検査業務の円滑な遂行に資するために、検定検査品質保証室のウェブページを、随時、最新の状態に更新した。［内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、花田賢太郎］

１２．村山庁舎 10 号棟標準品保管室の設計

平成 23 年度に新たに建設される 10 号棟（仮称）に、生物学的製剤等の品質管理試験に使用される標準品及び参照品等を保管する部屋を設置することになり、当室が設計業者等への対応窓口となった。［内藤誠之郎、落合雅樹、花田賢太郎］

Ⅱ．検定コンピュータシステム関連業務

１．検定コンピュータシステムの管理業務

検定コンピュータシステムの日常メンテナンス業務及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の定例会を開催し、システムに関する情報の共有化及び運営・保守の方針について検討した。［落合雅樹、片岡紀代、内田孝子、藤田賢太郎、内藤誠之郎、花田賢太郎］

２．検定基準の一部改正等に伴うシステム情報の登録業務

検定基準の一部改正（平成 22 年 4 月 19 日告示）に従いシステム情報の変更を行った。また今年度、承認前検査及び収去検査の対象品目として新規に受け付けられた医薬品のシステムへの登録業務を行った。[片岡紀代、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、内藤誠之郎、花田賢太郎]

３．検定コンピュータシステムの更新

平成 23 年度の検定コンピュータシステムの契約更新にあたり、検定コンピュータ小委員会を中心に次期システムの仕様書を作成した。次期システムは、平成 24 年度中に国家検定への導入が予定されている SLP の審査に対応する仕様とした。[落合雅樹、片岡紀代、藤田賢太郎；検定コンピュータ小委員会]

国際協力関係業務

１．JICA「ワクチン品質管理技術コース」研修：標準品の制定について（平成22年11月9日）［落合雅樹］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Momose, H., Imai, J., Hamaguchi, I., Kawamura, M., Mizukami, T., Naito, S., Masumi, A., Maeyama, J., Takizawa, K., Kuramitsu, M., Nomura, N., Watanabe, S., Yamaguchi, K. Induction of indistinguishable gene expression patterns in rats by Vero cell-derived and mouse brain-derived Japanese encephalitis vaccine. Jpn. J. Infect. Dis. 63, 25-30, 2010

2) Yuen, C.T., Horiuchi, Y., Asokanathan, C., Cook, S., Douglas-Bardsley, A., Ochiai, M., Corbel, M.J., Xing, D.K.L. An *in vitro* assay system as a potential replacement for the histamine sensitisation test for acellular pertussis based combination vaccines. Vaccine 28, 3714-21, 2010

3) Momose, H., Mizukami, T., Ochiai, M., Hamaguchi, I., Yamaguchi, K. A new method for the evaluation of vaccine safety based on comprehensive gene expression analysis. J. Biomed. Biotechnol. 2010:361841. Epub 2010

4) Matsumoto, M., Horiuchi, Y., Yamamoto, A., Ochiai, M., Niwa, M., Takagi, T., Omi, H., Kobayashi, T., Suzuki, M.M. Lipopolysaccaride-binding peptides obtained by phage display method. J. Microbiol. Methods 82, 54-8, 2010

5) Ochiai, M., Yamamoto, A., Naito, S., Maeyama, J., Masumi, A., Hamaguchi, I., Horiuchi, Y., Yamaguchi, K. Applicability of bacterial endotoxins test to various blood products by the use of endotoxin-specific lysates. Biologicals 38, 629-36, 2010

6) Suzuki, M.M., Matsumoto, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Horiuchi, Y., Niwa, M., Omi, H., Kobayashi, T., Takagi, T. Molecular design of LPS-binding peptides. J. Microbiol. Methods 83, 153-5, 2010

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1) Horiuchi, Y., Yuen, C., Asokanathan, C., Cook, S., Douglas-Barsley, A., Ochiai, M., Corbel, M., Xing, D. An *in vitro* biochemical assay system alternative to the *in vivo* Histamine sensitisation test for pertussis vaccines. International Workshop on Alternative Methods to Reduce, Refine, and Replace the Use of Animals in Vaccine Potency and Safety Testing: State of the Science and Future Directions, September 14-16, 2010, Bethesda, USA

2) Xing, D., Ochiai, M., Asokanathana, C., Yuen, C., Kataoka, M., Yamamoto, A., Lin, N., Horiuchi, Y. Investigation of pertussis toxin A and B subunits activities in relation to local reactions. 9th International Bordetella Symposium, September 30-October 3, 2010, Baltimore, USA

3) Yamamoto, A., Ochiai, M., Horiuchi, Y., Arakawa, Y. Development of *in vitro* test method which reflects human originated reactivity for peptideglycan and beta-glucan. 2010 Joint Meeting between the Society for Leukocyte Biology & the International Endotoxin and Innate Immunity Society, October 7-9, 2010, Vancouver, Canada

4) Naito, S., Ito, Y., Kiyohara, T., Kataoka, M., Ochiai, M., Takada, K. Antigen-loaded dissolving microneedle array as a novel delivery system for skin vaccination. 4th Vaccine and ISV Annual Global Congress, October 3-5, 2010, Vienna, Austria

２．国内学会

1) 落合雅樹，山本明彦，片岡紀代，堀内善信：百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験代替法の検討，第 14 回日本ワクチン学会学術集会，平成 22 年 12 月 11-12 日，東京

2) 池尻亜砂佳，伊藤由佳子，内藤誠之郎，高田寛治：経皮ワクチン用 2 層、3 層マイクロニードル・アレイの比較，第 14 回日本ワクチン学会学術集会，平成 22 年 12 月 11-12 日，東京

19. 感染症情報センター

センター長　岡部信彦

概　要

感染症情報センター（IDSC）は、感染症法で定められた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、感染症法対象疾患を中心にしたサーベイランスを行っている。血清疫学サーベイランスは、感染症流行予測調査事業の中で行っている。これらの情報は 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）感染症週報（IDWR）などによって、情報還元と提供を行っている。

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、国内外における感染症アウトブレイクへの対応を行うとともに、これにかかわる人材教育（実施疫学調査専門家養成コース(FETP)）も行っている。FETP は平成 22 年度には 12 期生を向かえた。

IDSC は、これらの機能を以下の 6 室で分担し、お互いに協力し合いながら、業務と研究を行っている。

第一室　（感染症対策計画室：谷口清州室長）

感染症対策における技術的な対応として、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とその調査、感染症対策のための計画立案と関係機関への技術的な支援、FETP 養成、国内外における感染症アウトブレイク対応、早期探知・調査手法・健康危機事例への対応になどに関する研究を行っている。

第二室　（感染症情報室：多田有希室長）

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。IDWR、IASR の発行は)、当室の重要業務である。情報解析や還元方法の研究、システム改善、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）

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に関する調査研究、及び今後の我が国における予防接種の有用性に関する総合的研究を行っている。また感染症研究所業務として行われている国内血清銀行の管理運営を行っている。麻疹対策（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アデノウイルスレファレンスセンターを担当している。

第五室　（細菌研修室：伊藤健一郎室長）

第六室　（ウイルス研修室：木村博一室長）

第 5 室においては細菌、第 6 室においては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、 公衆衛生における細菌・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細菌（第 5 室）・ウイルス（第 6 室）検査等に関する講習の立案・遂行、 および病原体新規検査法の開発研究などを行っている。

なお、再任用制度を利用し広報委員会活動ならびに情報センターにおける広報活動を、IDSC で行っている。

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

厚生労働省新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業として「国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能および我が国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究」（研究代表者　谷口清州）を組織し、国際的、あるいは国内における感染症サーベイランスの在り方について研究を行い、今後の戦略的なサーベイランス手法の開発やシステムの改善事業に対して技術的支援を行った。

［谷口清州、多田有希、安井良則、藤本嗣人、山下和予、重松美加、砂川富正、中島一敏、島田智恵、井内田科子、岡部信彦、他所外分担研究者］

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（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能およびわが国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究」（研究代表者　谷口清州）の分担研究として、定点報告疾患については、注意報・警報システム及び全国罹患数推計の検討および検討方法の評価を行った。また、2009 年の新型インフルエンザの流行後、都道府県単位の推計方法、ウイルス型別の患者推計方法を開発した。さらに、発生動向調査システムの改善方法の提案を文書にまとめた。

［多田有希、谷口清州、重松美加、安井良則、島田智恵、永井正規（埼玉医科大学）、太田晶子（埼玉医科大学）、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）、村上義孝（滋賀医科大学社会医学講座医療統計学部門）］

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「国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能およびわが国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究」（研究代表者　谷口清州）の一環として、感染症発生動向調査により収集されているデータの質の確保・向上を図る目的で、「感染症発生動向調査におけるデータの質管理のための地方感染症情報センター向けガイドライン（案）」を作成し、全国の地方感染症情報センター等 102 カ所に配布した。

［多田有希、島田智恵、阿保満（東京都多摩府中保健所）、鈴木智之（群馬県衛生環境研究所）、松舘宏樹（岩手県環境保健センター）］

4.　症候群サーベイランスの実用

感染症早期探知を目的として、「薬局サーベイランス」と「学校欠席情報共有システム」に加えて、「保育園欠席者・発症者情報収集システム」を稼働させた。薬局サーベイランスは 2009 年 4 月から全国で本格運用し、全国約 5800 薬局（2011 年 3 月末現在）の協力を得て、前日の抗インフルエンザウイルス薬情報を毎朝関係者に還元するとともに、国、感染研、都道府県担当者に情報提供を行い、国民一般に対しても情報提供を毎日行った。都道府県では、発生動向調査よりも速い情報として、インフルエンザ対策に活用された。アシクロビル製剤によるバイオテロ対策、抗菌薬による抗菌薬使用量に関しても同時に実用化のレベルにまで整備した。「学校欠席情報収集システム」は、2009 年 2 学期から 9 県の全校において実施し、その情報を保健所・県庁に提供し、対策に貢献し、2011 年 3 月末で 14 県で稼動している。「保育園欠席者・発症者情報収集システム」は、2010 年 4 月から開発運用し、8 月に厚生労働省より通知が発出され、2011 年 3 月末で約 3500 園で稼動している。

［大日康史、菅原民枝、安井良則、谷口清州、岡部信彦］

5.　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 を運用している。サマリーを公開し、予防接種政策のデータとして活用された。

［大日康史、菅原民枝 、多屋馨子 、安井良則 、岡部信彦］

6.　HIB 発生ＤＢの構築・運用

2008 年 12 月から Hib ワクチンが接種可能となり、Hib 感染症発生動向の国内の患者発生動向を把握することが課題となり、DB を運用している。Hib ワクチンの再開の

データとして活用された。
［大日康史、菅原民枝 、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、パンデミック A（H1N1）流行の 2010 年の夏季期間中においても、303 名の有志のご協力、59,565 件のインフルエンザ症例に関する報告を得られた（2011 年 7 月 20 日現在）。この DB は麻疹や百日咳の DB のモデルともなったもので、今後のパンデミックインフルエンザ再流行の検出・推移の把握、および他の新型インフルエンザの検出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］

8. 国際感染症に関する効果的情報収集と分析手法に関する検討

「国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能および我が国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究」（研究代表者　谷口清州）の研究分担として、インターネット上でリアルタイムに公開される情報を収集し、公衆衛生学的な脅威となりえる事例を示唆する情報を分析抽出する仕組みについて、日本語情報の取り扱いに必要な情報選別フィルターの設計と有効性の一次試験を行った。
［重松美加、Jens Linge（Joint Research Centre）］

9. アデノウイルス感染症病原体サーベイランスに関する研究

「国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能およびわが国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究」（研究代表者　谷口清州）において、咽頭結膜熱のサーベイランス案、サーベイランススタンダード案を作成した。
［藤本嗣人、中村雅子、榎本美貴、花岡希、全国地区アデノウイルスレファレンスセンター］

10. アウトブレイク情報管理データベースの構築と運用

アウトブレイク関連情報を系統的に記録、管理し、適切な情報発信及び分析を行うためのデータベースとして、Outbreak Tracking System（OTS）を開発、運用した。
［中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、谷口清州］

11. IHR に準拠したアウトブレイク関連情報のリスク評価と対応に関する研究

公式、非公式を問わず、様々な感染症アウトブレイク関連情報を収集し、系統的に分析、リスク評価を行い、適切な対応を行うためのシステムについて検討した。
［中島一敏、神谷元、八幡裕一郎、砂川富正、大山卓昭、谷口清州］

Ⅱ．パンデミック、バイオテロ、公衆衛生対策に関する研究

1. 新型インフルエンザのパンデミック対策に関する研究

（１）数理モデルを用いて、新型インフルエンザの被害を予測する際に、全国民の移動の情報として国勢調査を活用した。これによって、従来は都市部に限られていたシミュレーションを、全国を一元的に扱うことが初めて可能となった。
（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］

2. 沖縄県宮古島市におけるパンデミックインフルエンザ(H1N1)2009 の罹患率・受診率・入院率の推計と流行像の特徴に関する研究

沖縄県宮古島市におけるインフルエンザの全数報告サーベイランスおよび宮古島市役所職員を対象に行った自記式質問票から得られたデータを元に、新型インフルエンザ（この場合は A/H1pdm まで検出）の罹患率、入院率、重症例などについて調査し、流行像の疫学的特徴について検討した。その結果、宮古島市における推計 ILI 発症者は 7,979 人であり、人口当たりの罹患率は 14.5%（95%CI: 13.5-15.5%）、人口当たりの受診率 11.1％

（95%CI: 10.8-11.4）、ILI 発症者の入院率は 0.6%(95%CI: 0.8-1.2%)と推計された。さらに、年齢調整入院率は人口 10,000 人当たり 7.64 であり、日本全国における同入院率 1.38 に比して高値であった。

［島田智恵、豊川貴生、古謝　由紀子（沖縄県衛生環境研究所）、砂川富正、谷口清州］

3. インフルエンザ（H1N1）2009 にかかわる重症化リスク要因の解析

WHO による多国共同研究プロジェクトとして、各国におけるパンデミック（H1N1）2009 による重症例のデータを解析し、WHO において多国データを用いたグローバルデータとして解析し、国際的な議論を行った。

［谷口清州、砂川富正、島田智恵、高山義浩、中嶋健介、正林督明（厚生労働省新型インフルエンザ対策本部）］

4. 2009 パンデミックインフルエンザの死亡のリスク評価に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）「健康日本２１の中間評価、糖尿病等の「今後の生活習慣病対策の推進について（中間とりまとめ)」を踏まえた今後の生活習慣病対策のためのエビデンス構築に関する研究」（研究代表者　緒方裕光）により、2006 年～2009 年の人口動態統計を用い、インフルエンザに関連する死亡を収集し、2009 パンデミックインフルエンザ A(H1N1)の死亡のリスク評価を年齢階級別に死亡率と致死率で検討した。60 歳以上では死亡率、致死率が低かったが、30 歳代、40 歳代では高くなっていた。30 歳代、40 歳代は過去のインフルエンザ死亡と比べ高いリスクがあることが考えられた。

［八幡裕一郎］

5. 日本公衆衛生協会による広域的健康危機管理対応体制整備事業

事業の技術的助言者の委嘱を受け、今後の地方衛生研究所における地方感染症情報センター業務にかかわる調査と検討を行い、全国 6 ブロックにおけるブロック会議に出席して講義を行い、地域の公衆衛生従事者と議論を行った今後の方針について技術的支援を行った。

［谷口清州、多田有希、岡部信彦］

6. バイオテロ対策の数理モデルの開発

新型インフルエンザ同様に国勢調査を用いての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厚生労働省をはじめ関係部局に提供した。

［大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦］

7. 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、国際指針に基づく研修の作成と実施、翻訳などによる情報の普及、科学的なバイオリスク評価理論の確立、バイオリスク低減に関する管理方法とその継続教育法についての研究成果をまとめ、飛散事故対応の訓練キットの作成、生物学的安全キャビネットの検査基準の比較研究などを実施した。

［重松美加、安藤秀二（ウイルス第一部）、佐多徹太郎（感染病理）、Helmut Prendinger（国立情報学研究所）、Jennifier Gaudioso（Sandia National Laboratories)，Susan Caskey（同）］

（２）バイオリスク管理の国際基準「CEN WORKSHOP AGREEMENT 15793」を背景に、欧州標準化委員会の下で、欧州バイオセーフティ学会のイニシアチヴによる、バイオセーフティ専門家の定義と必要技能の特定および、技能評価と資格認証の仕組み確立へ向けた第 2 回討議と 2 次、3 次案のレビューに協力し、報告文書と技能修得モデルプログラムの完成に協力した。

［重松美加、佐多徹太郎（感染病理）］

8. 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　健康安全・危機管理対策総合研究事業「健康危機管理従事者のリスク／クライシ

スコミュニケーションスキル向上のための研修プログラムの開発と評価」（研究代表者：吉川肇子）の分担研究として、感染症対応の第一線の地方行政や厚生労働省担当者らへ、それぞれ異なる形の複数の研究会の実施に協力し、これまでに発生した複数の大規模感染症事例で不足が指摘されている柔軟性、迅速性、情報共有、協力組織の構築などを養う研修方法のモデルを提案し、リーフレット、ゲーム形式の学習教材、事例等の作成を行った。
［重松美加］

9. 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」（研究代表者：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、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。
APEC の際には症候群サーベイランスを含む感染症情報への監視が行われ、情報センター関係者による本部への要員の派遣が行われた。
［砂川富正、中島一敏、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）］

10. 健康危機情報の迅速な分析と提供によるリアルタイムの対策活用のために必要な人材と仕組みの特定と養成方法に関する研究

厚生労働科学研究費補助金　健康安全・危機管理対策総合事業「積極的健康危機情報の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情報探索機構に関する研究」の研究代表者として、改正国際保健規則にある新しいサーベイランスによる健康危機情報の早期検知の為の人材育成と運用に関して、World Wide Web 上のニュース、ブログ、報道発表、噂等から健康危機情報の早期検知を行っている世界の 6 つのシステムと、国内の県および国立機関の部門について、情報分析人員の活動の面から調査と比較解析を行った。また、Joint Research Centre for European Commission の協力を得て、システム運用の改善についての技術的検討を行った。
［重松美加、谷口清州、Nigel Collier（国立情報学研究所）］

11. 避難所サーベイランスのツールの開発と運用

2011 年 3 月 11 日東日本大震災で被災された方の避難所生活が開始され、子どもから高齢者までを含む集団生活が長期化するに伴って、感染性胃腸炎やインフルエンザ等の感染症の集団発生が危惧される。そこで、避難所を中心に生活をする方を対象とした症候群サーベイランス「避難所サーベイランス」のツールを開発した。インターネット上のデータベースを構築した。入力内容は、症候群情報（急性期の消化器症状、インフルエンザ・インフルエンザ様症状、急性の呼吸器症状、発熱を伴う発疹・水疱、破傷風・髄膜炎・脳炎などの神経症状、皮膚に限局する感染症疾患、けがに関連した感染症、黄疸、死亡）とし、年齢階層（5 歳未満、5-64 歳、65 歳以上）の人数とした。避難所ごとに即時に情報還元が行われ、発症者が増加した場合、自動的に異常探知が表示される。これらの情報は保健所、県庁等の関係者に即時情報共有された。
［大日康史、菅原民枝、安井良則、中島一敏、砂川富正、八幡裕一郎、谷口清州、岡部信彦］

12. パンデミックインフルエンザ 2009 の分子疫学的解析

日本国内の分離株（74 株）の全ゲノムの塩基配列と、公共データベース上の同時期の 164 配列を分子進化学的解析法で解析した。我が国で流行したウイルスは 28 の異なる起源をもっていた。大阪・神戸のクラスターと、福岡アウトブレイクに関連するクラスターに属するウイルスは、共に 6 月以降の国内検体からは検出されなかった。クラスターの共通祖先ウイルスが何時生まれたかを進化学的手法で推測し、その大半が 5 月下旬から 6 月上旬に生じていることを突き止めた。これらのいくつかはその後国内の様々な場所に感染を広げていた。
［椎野禎一郎、岡部信彦、安井良則、砂川富正、田代真人（インフルエンザウイルス研究センター）、小田 切孝人（インフルエンザウイルス研究センター）、藤田信之（製

品評価技術基盤機構)、渡邊治雄（副所長）］

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。特に本年度は新型インフルエンザの死亡へのインパクトの推定が重要であったために、毎月厚生労働省統計情報部からの人口動態調査速報の公表を受けて実施し、厚生労働省と情報共有するとともに、一般公開した。

［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

20 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、谷口清州、厚生労働省健康局結核感染症課、20 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.　食品媒介経路の締める比率や原因食品の寄与率推定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、4 自治体（岩手県、群馬県、東京都多摩地区、熊本市を除く熊本県）の協力を得て、腸管出血性大腸菌の散発感染例に対して、インターネット調査会社の登録者から対照を選び症例対照研究を実施した。多変量解析により有意なリスク食品が特定された。

［八幡裕一郎、大日康史、春日文子、岡部信彦］

5.　広域食中毒事例調査における課題検出の研究

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)「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、国内で発生した広域食中毒事例における自治体の課題について整理し、報告してきたが、今後の広域事例対応を円滑に進めるためのガイドライン作成に着手した。関係者間で骨子まで作成し、次年度以降の本格的な活動に継続して行く予定である。

［砂川富正、多田有希、島田智恵、齊藤剛仁、冨岡鉄平、杉下由行（東京都)、吉田眞紀子、春日文子、八幡裕一郎、岡部信彦］

6.　標準的喫食調査票の自己記入式試用結果からの課題と改善点

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、日本においてアトリビューション調査のための標準的調査票を開発し、質問紙の精度について検討を実施した。多くの質問項目については良好であった。幾つかの質問項目については削除等の見直しが必要であることが分かった。

［八幡裕一郎］

7.　ひらめ喫食と発症の疫学調査

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業)「生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒に対する食品衛生上の予防対策」（研究代表者　小西良子）により、銀行の景品のひらめの喫食者に対して症例対照研究を実施し、ひらめの喫食方法、個人の健康状態等によるリスクを検証するとともに、食中毒の原因である Kudoa septempunctata の発症に至る摂取量をモンテカルロシミュレーションにて推定を行った。

［八幡裕一郎、豊川貴生、中村奈緒美］

8.　広域食中毒事例の原因食品である牛肉の汚染度調査

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、腸管出血性大腸菌 0157 の広域食中毒事例の原因食材（牛肉）の収去品における汚染度調査を行った。
[中島一敏、大島直子（横浜市保健所)]

9. 食中毒及びアウトブレイク疫学研修の遠隔教育システムの教材開発

厚生労働省監視安全課が運用する NESFD システムによる疫学研修遠隔教育システムを用いた教材の開発を行った。
[中島一敏]

10. 3類感染症の発生状況と原因食品の推定に関する研究

2010 年の赤痢の国内発生数は 71 例で、2010 年は 3 月末で 20 例であった。大半がソンネ菌であった。赤痢について国内事例発生の際に使用する簡易標準調査票を改訂した。2010 年の 40 週から 41 週にかけて赤痢の国内発生例が集積し、新簡易標準調査票で調査を行った。ウニを主とする生鮮魚介類が疑われたが、原因食品の特定には至らなかった。
[伊藤健一郎、多田有希、齊藤剛仁、関谷紀貴、上野伸広（鹿児島県)、下島浩幸（鹿児島県)、新川奈緒美（鹿児島県)、森屋一雄（佐賀県)、勢戸和子（大阪府)、村上光一（福岡県)、松﨑充宏（海事検定協会）]

11. 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、2010 年 4 月号 : Hib 侵襲性感染症と Hib ワクチン、5 月号：つつが虫病・日本紅斑熱、6 月号 : 腸管出血性大腸菌感染症、7 月号 : 多剤耐性アシネトバクター、8 月号：HIV/AIDS、9 月号：インフルエンザ、 10 月号：A型肝炎、11 月号：ノロウイルス、12 月号：シラミ症とシラミ媒介感染症、2011 年 1 月号 : JANIS、2 月号：麻疹、3 月号：ロタウイルスである。
[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)、大西真、寺嶋淳、池辺忠義（細菌第一部)、倉根一郎（副所長・ウイルス第一部)、安藤秀二、西條政幸（ウイルス第一部)、脇田隆字、清水博之、石井孝司、清原知子、片山和彦（ウイルス第二部)、竹田誠、駒瀬勝啓（ウイルス第三部)、田代真人、小田切孝人（インフルエンザウイルス研究センター)、荒川宜親、加藤はる、鈴木里和（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)、石井則久（ハンセン病研究センター)、谷伸悦、中嶋建介（国際協力室)、野田衛、山本茂貴（国立衛研)、藤井紀男、桐生康生（企画調整主幹)、渡邉治雄（所長)、吉倉廣（前所長)、江浪武志、林修一郎、中嶋健介、南川一夫、森田剛史、永井しづか、熊谷優子、田中誠、味埜圭祐、堀内直哉、渡辺顕一郎（厚生労働省）]

12. 性感染症（STD）発生動向に関する研究

厚生労働科学研究「性感染症に関する予防、治療の体系化に関する研究」(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）の発生動向について、昨年度までに続き、2010 年報告分を加えて解析した。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、サーベイランスデータの妥当性についての評価が、引き続き今後の課題である。
[岡部信彦、多田有希]

13. 国内感染者集団の大規模塩基排列データに見出される HIV 集団の遺伝的変異に関する研究

日本国内感染者の薬剤耐性データベースに集められた HIV-1 の塩基配列から、HIV-1 CRF01_AE の国内感染動向を推測した。距離行列法と Bayesian Markov chain Monte Carlo 法による系統樹を比較することによって 29 種類の国内感染クラスターを同定した。クラスターの分布は、スケールフリーの様相を呈していた。大きなクラスターは 1990 年初頭に祖先が表れており、IDU の介在があることが明らかとなった。一方、小さなクラスターは 2000 年以降に発生した MSM を中心とするもので、CRF01_AE においても Subtype B と同様に MSM コミュニティにお

ける感染拡大が懸念された。

［椎野禎一郎、貞升健志、長島真美（東京都健康安全研究セ ンター）、服部純子、杉浦亙（名古屋医療センター）］

14. MSM における HIV/AIDS を含む性感染症の発生動向に関する研究

厚生労働科学研究「男性同性間の HIV 感染対策とその介入に関する研究」（研究代表者　市川誠一）の一環として、性的接触により感染し得る HIV/AIDS 以外の感染症についても同時に予防啓発に繋ぐことを目的に、感染症発生動向調査の対象疾患のうち HIV/AIDS、梅毒、A 型肝炎、B 型肝炎、アメーバ赤痢、ジアルジア症について、男性同性間性的接触によるとして報告された症例について解析・検討した。

［多田有希、市川誠一（名古屋市立大学）］

15. 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 2010 年に報告された急性脳炎･脳症 241 例の発生状況を解析しまとめた。

［多田有希、島田智恵、具芳明、安井良則、岡部信彦］

16. インフルエンザ脳症の疫学に関する研究

厚生労働科学研究「インエンザなど重症インフルエンザの発症機序解明とそれに基づく治療法、予防法の確立に関する研究」（研究代表者　森島恒雄）の一環として、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報告を解析し、季節性インフルエンザとインフルエンザ A(H1N1)2009 による脳症の報告数、好初年齢、致死率などを検討した。インフルエンザ A(H1N1)2009 による脳症については、報告自治体を通じ、届出医に追加情報収集を行った結果も含め検討した。

［具芳明、島田智恵、安井良則、多田有希、岡部信彦］

17. B 型ウイルス性肝炎の発生状況と届出状況に関する研究

厚生労働科学研究「B 型肝炎ジェノタイプ A 型感染の慢性化など本邦における実態とその予防に関する研究」（研究代表者　溝上雅史）の一環として、感染症法にもとづく B 型肝炎の発生状況および届出状況を検討した。届出状況については、同研究班の他の分担研究の調査により、多くの未報告の存在が認められている。今後は研究班員と協同して届出の徹底を図る方法を検討する予定である。

［多田有希、伊藤清顕（国立国際医療センター国府台病院）、溝上雅史（国立国際医療センター国府台病院）］

18. 国内における A 型肝炎の疫学情報収集に関する研究

厚生労働科学研究「A 型肝炎についての食品媒介感染症としてのアプローチ」（研究代表者　野田 衛）の一環として、2010 年の A 型肝炎多発時において行った対応をもとに、A 型肝炎アウトブレイクの確認と原因究明のために必要な疫学情報収集方法、ウイルスの分子疫学解析結果との連動方法について検討した。

［多田有希、中島一敏、島田智恵、中村奈緒美、具芳明、古宮伸洋、清原知子（ウイルス第二部）、石井孝司（ウイルス第二部）、野田衛（国立医薬品食品研究所）］

19. 腸管出血性大腸菌感染症による溶血性尿毒症症候群（HUS）症例の発生状況に関する研究

厚生労働科学研究「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）の一環として、HUS 症例の疫学的特徴とリスク因子の把握を目的に、感染症発生動向調査による 2007 年の報告データについて、性、年齢、都道府県、血清型・毒素型、感染経路・感染原因等の集計・解析を行った。

［杉下由行（東京都福祉保健局島しょ保健所小笠原出張所）、齊藤剛仁、冨岡鉄平、島田智恵、砂川富正、多田有希］

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. 定期接種への導入が検討されているワクチンに関する調査

（1）　ファクトシートの作成

国立感染症研究所として水痘ワクチン、おたふくかぜワクチン、ヒブワクチン、肺炎球菌ワクチン（多糖体、

結合型）、ヒトパピローマウイルスワクチン、Ｂ型肝炎ワクチン、成人用百日咳ワクチン、不活化ポリオワクチンに関するファクトシートの作成が行われ、その作成に担当者として携わった。
［岡部信彦、多屋馨子、谷口清州、多田有希］

（２）　作業チーム報告書の作成

ファクトシートを基に、各ワクチンの作業チームが発足し、それぞれの作業チームで報告書をまとめ小委員会に提出した。小委員会から、厚生科学審議会予防接種部会に報告された。
［岡部信彦、多屋馨子、谷口清州、多田有希、砂川富正、中島一敏］

2.　予防接種後副反応に関する研究

（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（新型インフルエンザ等新興・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、予防接種後副反応報告書の内容を検討するための管理システムの構築を行い、直近の予防接種後副反応報告書を紙媒体から電子化した。また、国内の副反応情報について文献検索を行い、海外での予防接種後健康被害救済並びに予防接種後副反応サーベイランスに関する情報収集を行った。
［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、北本理恵、田中敏博（静岡厚生病院）、落合雅樹（検定検査品質保証室）］

（２）　Hib ワクチン、PCV7 ワクチン接種後の死亡に関する調査

2011 年 2 月から 3 月にかけて発生した Hib ワクチン、PCV7 ワクチン、DPT ワクチン同時接種後に発生した死亡例の集積に対して、国内外の情報を収集し、再会に向けた検討を行った。
［多屋馨子、神谷元、大日康史、菅原民枝、佐藤弘、安井良則、和田昭仁（細菌第一部）、岡部信彦］

（３）　新型インフルエンザワクチンの安全性に関する疫学研究

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）「A 型インフルエンザ HA ワクチン H1N1 株（新型インフルエンザワクチン）の安全性に関する疫学研究（研究代表者　山縣然太朗）」の分担研究として、新型インフルエンザワクチン接種による特発性間質性肺炎および COPD 患者の死亡リスクについての症例対照研究を行った。
［横道洋司（山梨大学）、栗原慎太郎（長崎大学）、横山徹爾（国立保健医療科学院）、井上永介（北里大学）、河野茂（長崎大学）、多屋馨子、山縣然太朗（山梨大学）］

3.　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（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「ワクチン戦略による麻疹およびワクチンで予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究（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
－養護教諭のための予防接種・感染症フォーラムの開催

〈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

〈その他の情報提供〉
－麻しんＱ＆Ａの更新
－麻疹の検査診断を啓発するためのリーフレットを作成し、全国の保健所に配布

［岡部信彦、多屋馨子、山本久美、砂川富正、島田智恵、山下和予、多田有希、安井良則、中島一敏、神谷元、谷

口清州、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、佐藤弘、FETP 11&12 期］

（２）　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（新型インフルエンザ等新興・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 2009 年度の委託研究として、麻疹排除を効果的に進めるためのポスターを、TBS ドラマ「JIN−仁−」との協賛により新たに作製した。これらの媒体を使用し、実際の啓発効果の促進、および引き続く有効な社会動員策について検討した。

［砂川富正、安井良則、有賀玲子（文部科学省)、岡部信彦］

（３）　第 4 期麻疹風疹ワクチンにおける接種率向上に向けた学校での取り組みと接種率の関係に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「ワクチン戦略による麻疹およびワクチンで予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究（研究代表者　岡部信彦、研究分担者　多屋馨子)」の研究の一貫として、各学校の第 4 期の麻疹・風疹ワクチンの接種率と接種率向上に向けた学校での取り組みに関して、どの取り組みが接種率の上昇に関与していたかについて統計学的解析を行った。

［多屋馨子、山本久美、前田大久］

（４）　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妊婦を対象に血清疫学調査の計画と実施に対する支援を行った。

［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］

（５）　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（新型インフルエンザ等新興・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（種村ウイ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］

4.　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（研究代表者　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］

5.　海外における予防接種政策のシステムに関する研究

米国 ACIP、WHO SAGE など、外国の予防接種専門家会議に出席し、予防接種の最新情報を収集するとともに、諸外国における予防接種政策のシステムについて調査した。

［神谷元、岡部信彦］

6.　ワクチンの需要予測

ワクチンの安定供給を目的として、季節性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、及び新型インフルエンザ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］

7. ワクチン予防可能疾患における予防接種の費用対効果分析

ワクチン予防可能疾患における予防接種の費用対効果分析をインフルエンザ、水痘、Hib ワクチンなどを対象に実施してきたが、それ以外の任意接種に関しても行い総合的に検討した。評価の視点において、社会的視点の重要性を検討した。

［大日康史、菅原民枝、岡部信彦］

8. 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］

9. フィンランド、デンマーク、韓国における予防接種後健康被害対応体制の実態に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業)「予防接種後健康被害審査の効率化に関する研究（多屋班）として、海外における予防接種後健康被害に対する補償システムの概要、及び副反応事例に対する対応について、WHO や ECDC などの国際機関、韓国の予防接種後健康被害に関する早期探知システム（サーベイランス)、対応、および補償システムについて調査を行ってきた。今年度は予防接種制度が非常に進んでいるデンマーク、フィンランドを訪問した。また昨年に引き続き韓国を訪問し、パンデミックインフルエンザワクチン接種キャンペーン後の予防接種後健康被害の探知システム、補償等の対応の状況について情報収集を行った。各国とも、予防接種歴などとともに副反応の情報がデータベースとして管理されているため、有事においてすぐに評価、解析ができ、安全対策、介入策が実施できる環境が整っていた。

［砂川富正、山本久美、神谷元、多屋馨子］

10. 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（研究代表者　廣田良夫)」の分担研究として、徳島県で発生した百日咳疑い事例の聞き取り調査を行ったほか、高知県において百日咳の全数サーベイランスを実施し、百日咳の実際の疾病負荷の特定に関する研究を行った。また、宮崎県で発生した百日咳の集団発生について積極的疫学調査を行い、特に乳幼児への感染拡大予防策について取り組んだ。また、成人百日咳は診断が困難な疾患であるため、正しい診断方法の検討も同調査で行った。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も目的としている。

［砂川富正、島田智恵、神谷元、土橋酉紀、大平文人、安藤由香］

11. 百日咳の疾病負荷に関する研究

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（研究代表者　廣田良夫)」の分担研究の一環として、高知県庁の協力の下、7－9 月の間、高知全県下で百日咳の全数サーベイランス事業を実施した。その結果、小児科定点サーベイランスからは、3 カ月間の報告患者数は 40 例であったが、全数サーベイランスから推定される患者数の推定は 78.2 例（区間推定 52.4－346.5）となった。報告数が少なく、年齢群により小児科定点からの報告割合が異なることが分かった。また、全数サーベイランス実施期間中に、高知大学にて発生した百日咳集団発生事例に関与する症例は小児科定点からは報告されておらず、現行のサーベイランスシステムでは成人集団発生事例を探知できない可能性が示唆された。今回、現在のサーベイランスシステムが正確な百日咳の現状を把握し、迅速に介入するには十分とは言えない結果であった。

［砂川富正、神谷元、島田智恵、土橋酉紀］

12. 日本脳炎に関する研究

（1） 日本脳炎ワクチンの追加接種に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新

興・再興感染症研究事業)「ワクチン戦略による麻疹およびワクチンで予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究（研究代表者　岡部信彦)」の研究の一貫として、日本脳炎ワクチンの追加接種による有効性安全性の検討を行った。
[多屋馨子、庵原俊昭、中山哲夫、宮崎千明、岡田賢司、神谷　齊、中野貴司、永井崇雄、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの臨床治験実施医療機関、日本外来小児科学会予防接種委員会参加医療機関、佐藤弘、岡部信彦]

（２）　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（新型インフルエンザ等新興・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、研究分担者　多屋馨子）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]

（３）　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（新型インフルエンザ等新興・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、研究分担者　多屋馨子）の分担研究として、日本脳炎ウイルス媒介蚊の遺伝的多様性について検討した。その結果、日本のコガタアカイエカと海外のコガタアカイエカに遺伝的な多様性があることが明らかになった。
[新井智、浜田雅史、多屋馨子、岡部信彦、沢辺京子(昆虫医科学部)、小林睦生(昆虫医科学部)]

（４）　日本脳炎ウイルス感染のリスク評価指標設定および実施に関する研究
2010 年度より、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（高崎班）に研究分担者として参加し、「沖縄本島（特に北部）における日本脳炎ウイルス感染リスク評価」の活動では、計画していた人、蚊に関する調査については、蚊についての調査しか実施できなかった。蚊の調査からは沖縄本島北部においては日本脳炎リスクが引き続き存在することが示唆された。2011 年度以降に、沖縄県北部地域を中心とする日本脳炎ウイルス感染リスクに関する情報収集を、血清疫学を中心に実施予定である。その結果、標準的に使用可能な指標を整理する。その結果を持って、地域レベルのサーベイランスの改良やワクチン接種等の公衆衛生上の提言を行っていく。
[砂川富正、神谷元、斉藤美加（琉球大学）、當間孝子（琉球大学）、伊佐真之（沖縄県立北部病院）、浜端宏英（アワセ第一医院小児科）、高崎智彦（ウイルス第一部）]

13.　亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の発生状況に関する研究
厚生労働科学研究「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究」（研究代表者　水澤英洋）の一環として、麻疹根絶（排除）状態の最終確認となるとも言える SSPE の発生状況を把握することを目的に、特定感染症治療研究事業の下で収集されている臨床調査個人票のデータ解析から、発生数{報告数}、疫学、臨床情報、療養状況等の把握を行った。
[多田有希、水澤英洋（東京医科歯科大学）]

Ⅴ．病原体等の研究

1.　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「ウイルス検出を目的とした体外診断薬の再評価技術基盤に関する研究」(研究代表者　小林和夫、研究分担者　多屋馨子)の分担研究として、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検出感度を A/California/2009 pdm 株を用いて比較検討した。臨床現場で多く用いられている 12 キットについて、デバイスの最小検出感度を調べた。また、キット添付の検体採取用 Swab、検体溶出用容器の比較を行った。
[多屋馨子、荒木和子、佐藤弘、新井智、岡部信彦]

2.　臨床検体におけるインフルエンザ（H1N1）2009 に対する抗体価測定
インフルエンザ（H1N1）2009 の流行後あるいはワクチン接種後の抗体保有状況を検討するため、2010 年 2 月

（9 検体）および 2010 年 11～12 月（18 検体）に採取された血清を用いて赤血球凝集抑制試験により抗体価の測定を行った。
［佐藤弘、多屋馨子］

3. OPV 投与後のポリオウイルスの排出

OPV 接種後、腸管内におけるワクチンウイルスの増殖を調べるため、糞便中のポリオウイルスの排出量を real-timePCR により、経時的、血清型別、に調べた。また、感染性ウイルス量を TCID50 法により測定した。
［荒木和子、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦］

4. トガリネズミ目の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、韓国済州島のコジネズミに Jeju virus の感染を確認した。また、モンゴルのトガリネズミ目動物にも特異的な遺伝子の増幅が確認された。
［新井智、浜田雅史、多屋馨子、岡部信彦、Hong-Shik Oh（韓国済州島国際大学）、田原研司（島根県保環研）、高田伸弘（福井大学）、近真理奈（埼玉衛研）、Jin-Won Song（韓国コリア大学）、Bazartseren, Boldgiv（モンゴル、Natinal Univerisity of Mongolia)、Richard Yanagihara（米国ハワイ大学医学部）］

5. 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および埼玉県のダニ媒介性疾患発生地域における野生動物の病原体保有調査を行った。
［新井智、浜田雅史、多屋馨子、岡部信彦、田原研司（島根県環境衛生研究所）、近真理奈（埼玉衛研）、石原智明（酪農大獣医）］

6. アデノウイルス感染症の病原体サーベイランスのための研究

（1） 新型アデノウイルス 53、54 および 56 型同定法の開発

これまで流行性角結膜炎を引き起こすアデノウイルスの型は 8，9 および 37 型とされてきた。しかし、諸外国と異なり日本においては 8 型がほとんど検出されなくなり、8 型と類似した新型アデノウイルス 53 および 54 型が検出されている。さらに、56 型も流行していることが明らかになった。そこで、これらの同定法開発を行って標準化のために取り組んだ。その一環として、53 および 54 型を検出同定するための LAMP 法を作製した。
［藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希、岡部信彦］

（2） 造血幹細胞移植後の患者血漿からのアデノウイルス検出同定

造血幹細胞移植後に急性出血性膀胱炎を引き起こした患者 7 名について、アデノウイルスを検出してコピー数を測定し、型別を実施した。その結果、11 型が 5 名、34 型および 35 型が各 1 名と同定された。
［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、岡部信彦］

（3） 各種 DNA 検出検査用陽性判断コントロールに関する研究

PCR 法を用いた特異的遺伝子の検出は、様々な感染症において病因を同定する簡便かつ有用な診断ツールである。PCR 法におけるポジティブコントロール(PC)の使用は検査の結果判定での有用性や検査そのものの反応性を保証する重要な試料である。そこで、本課題では、アデノウイルス型別 LAMP 法、マイコプラズマ汚染チェック PCR 法での各種安定供給可能な利便性の高い PC を作製した。作製したプラスミドは実際の検査系において各々良好な結果を示した。
［花岡希、木村愛、小長谷昌未、藤本嗣人］

7. エンテロウイルスの塩基配列に関する研究

重症事例等から採集したエンテロウイルスの塩基配列を調べた。系統解析を行い、エンテロウイルスの伝播状況を考察した。
［宗村徹也、藤本嗣人］

8. 脳炎患者からのエンテロウイルス 71 型遺伝子の検出

2010 年にエンテロウイルス 71(EV71)の全国的な流行があり、その際に脳炎と診断された患者の髄液からエン

テロウイルス遺伝子を検出した。EV71 に対する血清抗体価の上昇を確認した。
［藤本嗣人、花岡希、安井良則、小長谷昌未、岡部信彦、高崎智彦（ウイルス第一部）、清水博之（ウイルス第二部）］

9. コクサッキーウイルスの分離に関する研究

京都市と連携して、過去のコクサッキーウイルス A 群の分離効率を調べた。マウスを用いた方が良いタイプと、細胞を用いた方が良いタイプが明らかになった。
［藤本嗣人、花岡希、岡部信彦、京都市衛生環境研究所］

10. 腸管病原性大腸菌（EPEC）の研究

EPEC の重要な付着因子であるインチミン（*eae*）は多型であることが知られている。Heteroduplex Mobility Assay で多型を確認した菌株について *eae* の全配列を決定した。
［江藤良樹、村上光一（福岡県保健環境研究所）、伊藤健一郎］

11. 喘鳴を呈する小児患者から検出された呼吸器ウイルスの分子疫学に関する研究

種々の呼吸器ウイルス感染は、喘鳴や喘息の増悪因子として重要であることが推定されている。そこで、本研究においては、喘鳴を呈した小児患者から検出された呼吸器ウイルスの分子疫学に関する研究を行った。その結果、喘鳴や喘息の既往のない小児患者から最も多く検出されたのは RS ウイルスであり、喘鳴の既往がある患者から最も多く検出されたのはヒトライノウイルス(HRV)であった。また、検出されたウイルスは遺伝学的に多様であることが推定された。
［藤塚麻子・菅井和子（国立横浜医療センター小児科）、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、岡部信彦、野田雅博（ウイルス第三部）、田代眞人（インフルエンザウイルス研究センター）］

12. 急性呼吸器感染症患者から検出された Saffold cardiovirus (SAFV) の分子疫学に関する研究

Saffold cardiovirus(SAFV)は、ピコルナウイルス科に属するウイルスであるが、未だにその病原性等は明らかになっていない。そこで、山形県及び群馬県で検出された SAFV の分子疫学に関する研究を行った。その結果、SAFV は発熱上気道炎患者や滲出性扁桃炎の原因ウイルスとなりうることが示唆された。また、検出された SAFV は 3 型と 6 型が主体であった。
［水田克巳（山形県衛生研究所）、塚越博之（群馬県衛生環境研究所）、板垣勉（山辺こどもクリニック）、木村博一、秋山美穂、岡部信彦、野田雅博（ウイルス第三部）］

Ⅵ. 学会の中での研究、貢献

1. 日本ワクチン学会

第 14 回日本ワクチン学会学術集会を開催した。
［岡部信彦（会長）、多屋馨子、新井智、佐藤弘、荒木和子、谷口清州、多田有希、藤本嗣人、砂川富正、安井良則、神谷元、稲葉秀子、田村優子、感染症情報センター全員、FETP］

2. 日本感染症学会

ワクチン委員会委員として予防接種に関する検討・啓発を行った。
［多屋馨子］

3. 日本小児科学会

予防接種・感染対策委員会理事、専門委員として予防接種ならびに小児感染症に関して毎月検討を行った。
［岡部信彦、多屋馨子］

4. 日本小児感染症学会

感染症情報委員会委員として活動した。
［岡部信彦（委員長）・山下和予］

研究教育委員会委員として小児感染症分野の教育研究に関する研修会の開催、小児感染症の研究に関する啓発等を行った。
［多屋馨子］

5. 日本ウイルス学会

ワクチン専門委員会委員として予防接種に関する検討・啓発を行った。
［森島恒夫（委員長）、俣野哲朗、奥野良信、小田切孝人、倉根一郎、白木公康、多屋馨子、中野貴司、中山哲夫、

長谷川秀樹、横田恭子］

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

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、平成 17 年 4 月、平成 19 年 4 月・6 月、平成 20 年 1 月・5 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）、地方衛生研究所、国立感染症研究所病原体検査部門、厚生労働省と連携し、感染症発生動向調査事業を実施している。

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

感染症発生動向調査事業において、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げている。

［多田有希、安井良則、島田智恵、齊藤剛仁、富澤伸五、加藤信子、加納和彦、佐藤弘、FETP 研修生 11&12 期生、神谷元、八幡裕一郎、砂川富正、中島一敏、大山卓昭、大竹由里子、前田明日香、岡部信彦］

2. 感染症週報の作成・発行

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」）の主旨のもとに、感染症週報の発行を継続しており、当感染症情報センターのホームページ上に PDF 版と HTML 版とで掲載している。

感染症週報には「発生動向総覧」以外に、「注目すべき感染症」としてその時々で問題となる感染症を 1-2 件取り上げ、詳細な解説を行い、「病原体情報」として、その時々で問題となる感染症の患者からの病原微生物検出状況を掲載している。

また、「速報」においては、主に地方衛生研究所から投稿される、国内で問題となったアウトブレイクに関する最新の記事、個々の疾患の発生動向のまとめなどを掲載し、「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、インフルエンザ流行状況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。

［多田有希、安井良則、島田智恵、齊藤剛仁、大竹由里子、前田明日香、佐藤弘、神谷元、谷口清州、山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、FETP 研修生 11&12 期生、大山卓昭、八幡裕一郎、砂川富正、中島一敏、多屋馨子、山本久美、重松美加、加藤信子、富澤伸五、加納和彦、岡部信彦］

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。2010 年 1 月－2010 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 5,687 件、病原体個票は病原菌（原虫・寄生虫を含む）が地研・保健所 3,596、検疫所 3 件、ウイルス（リケッチア，クラミジアを含む）が地研 21,233 件（うち AH1pdm が 4,362）、検疫所 23 件、集団発生病原体票は病原菌等が地研 205 件、ウイルス等が地研 928 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地研 330 件、ウイルス等が地研 1 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 31 巻）および第 31 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 2008 年年報を、Japan J. Infect. Dis., 2005 Vol.62 Supplement として発行した。

（４） 感染性腸炎研究会に参加する都市立感染症指定医療機関が入力した感染性腸炎患者調査票 664 件につい

てデータの確認と集計を行ない、2010 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（通常火曜日）実施している。また、インフルエンザについては、新型インフルエンザ発生を受け、2009 年第 42 週からはより早い公開（週報の一週間前の金曜日）を実施している。
［前田明日香、大竹由里子、島田智恵、齊藤剛仁、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公開した。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。2010 年度は新型インフルエンザの発生の次年度でもあり、前年度と同様に報告数の少ない時期に休止することはなく、1 年間ホームページへの掲載を続けた。インフルエンザ流行レベルマップは、全国のインフルエンザの最新の発生動向を掲載するものであり、特に新型インフルエンザの流行期間中は、ホームページ上に掲載されるとすぐにメディアに取り上げられ、全国に情報還元されていた。
［安井良則、富澤伸五、加藤信子、多田有希、谷口清州］

6. 麻しん速報（グラフ）の作成・公開

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、①週別報告数（第 1 週～当該週の棒グラフ）、②都道府県別報告数病型別報告数（当該週分の棒グラフ）、③都道府県別病型別累積報告数（第 1～当該週累積分の棒グラフ）、④都道府県接種歴別累積報告数（第 1～当該週累積分の棒グラフ）、⑤年齢群別接種歴別累積報告数（第 1～当該週累積分の棒グラフ）、⑥週別推定感染地域（国内・外）別累積報告数、⑦都道府県別累積報告状況（第 1～当該週累積分の日本地図）、⑧都道府県別報告状況（第 1～当該週の週毎の日本地図）の 8 種類の作成を行った。
［島田智恵、前田明日香、多田有希、阿保満（東京都多摩府中保健所）］

7. 腸管出血性大腸菌感染症速報（表・グラフ・マップ）の作成

感染症発生動向調査により得られた腸管出血性大腸菌感染症報告をもとに表、グラフ、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 2009 年第 19 週から新たに開始したものであり、①週別報告数（第 1 週～当該週の棒グラフ）、②都道府県別・血清型（O157、O26、O111）別報告数（当該週の集計表）、③都道府県別・血清型（O157、O26、O111）別累積報告数（第 1～当該週累積分の集計表）、④都道府県別累積報告数（第 1～当該週累積分の日本地図）、⑤週別・都道府県別報告状況（第 1～当該週の週毎の日本地図）の 5 種類の作成を行った。
［齊藤剛仁、前田明日香、多田有希］

8. 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］

9. 集団発生対応における原因病原体の検索

（1） ライノウイルスアウトブレイク対応

百日咳疾患が疑われたアウトブレイクが発生し、スクリーニング検査の結果、百日咳が否定されたため、原因不明疾患として、網羅的に原因ウイルス等の探索を行った。Cycleave PCR 法や HyperPCR 法、CODEHOP PCR 法

等を組み合わせた探索の結果、ライノウイルスが優位に患者検体より同定された。シークエンス解析の結果、同定されたすべてのライノウイルスの VP1 領域、VP4,VP2 領域の一部が Human rhinovirus A isolate N13 株（GenBank: GQ223229.1）の配列と一致した。ライノウイルスは変異性が高く、これまで同一のライノウイルスによる集団発生事例という報告は日本国内にはなく、貴重な症例となった。

［花岡希、藤本嗣人、小長谷昌未、谷口清州、安井良則］

（２） ワクチン接種後に死亡した幼児からのウイルス検出

肺炎球菌ワクチンを接種後に死亡した患者の咽頭拭い液からウイルス検出を実施した。その結果、ヒューマンメタニューモウイルスが検出された。

［藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希、岡部信彦、近平雅嗣、榎本美貴］

（３） 乳児院でのパラインフルエンザアウトブレーク時の病原体検索

乳児院において発熱を伴う気道感染症が流行し、例年以上にけいれんの合併が多かった。流行原因を特定するためウイルス学的検索を行った。検体採取を行った17例中10例からParainfluenzavirus 1型（Para 1）が検出され（1例は Rhinovirus も同時検出） Enterovirus 68 と Coxsackievirus A（Cox A）が1例ずつ検出された。けいれんは基礎疾患をもつ4例にみられた。1例のみCox Aが検出された。

［藤本嗣人、花岡希、安井良則、岡部信彦、三崎貴子（大阪府済生会中津病院小児科）］

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、再構築することとなり、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。

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、加藤信子、加納和彦、富澤伸五、島田智恵、齊藤剛仁、安井良則、大竹由里子、前田明日香、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について、これまでに改善が必要として挙げられた項目について、2011 年度に予定されている NESID リプレースの仕様書に反映させるための検討作業を行なった。また、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では、2010 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。平成 2009 年の新型インフルエンザの発生に伴い新型インフルエンザワクチン・季節性インフルエンザワクチンの接種情報及び罹患に関する情報をさらに細かく登録できるようにし、新たな解析表を出力するためにシステムの一部改修を行った。同時に、以前から各自治体より要望されていた検体情報の一括登録機能を追加し提供した。しかし作業時間の負担を軽減するための改善はすべて実現されたわけではないのでデータ登録の効率化と確実性を図る改善を今後も検討して

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。また、各種疾患別情報および新着情報についても内容を検討し、維持管理を行った。特に 2010 年度には、疾患別情報について形式の統一を図った。

［前田明日香、大竹由里子、島田智恵、齊藤剛仁、安井良則、多田有希、加藤信子］

2. インターネット等による病原体情報の提供

（１） 「病原微生物検出情報（IASR)」ホームページに、印刷版と平行して毎月 HTML 版の病原微生物検出情報月報を国内外に提供した。また、病原体名、疾病名から検索できる月報特集記事索引（日、英）を毎月更新して掲載した。

（２） 病原体情報報告機関に対して、迅速に情報を還元するために、毎日 NESID の病原体検出情報システムに登録されたデータの還元情報速報閲覧と定型帳票ダウンロードのページを更新した。

（３） オンラインで随時報告されるデータの追加・変更を反映させた速報グラフと集計表および累積データに基づく統計表とグラフを IASR ホームページに掲載した（NESID の病原体検出情報システムで作成される定型帳票のグラフと集計表については毎日更新)。

（４） 地方衛生研究所などから提供された速報記事を随時 IASR ホームページに掲載した。

（５） 地研からの病原体個票によるインフルエンザウイルス分離報告を集計し、日本の週別型別分離数データとして WHO の FluNet へのアップロードを流行期間中毎週行った。またオセルタミビル耐性株検出情報およびインフルエンザウイルス分離･検出状況を速報として IASR ホームページに掲載した。

（６） 地研からの病原体個票による麻疹ウイルス分離・検出報告を集計し、グラフとともに速報として随時 IASR ホームページに掲載した。

（７） 地方衛生研究所と検疫所の検査情報担当者メーリングリストを更新し、毎月の予定やシステム運用の連絡、インフルエンザウイルス研究センターから地研への連絡、速報記事掲載のお知らせ、FluNet・麻疹ウイルス速報更新・オセルタミビル耐性株検出情報更新のお知らせなどウイルス担当者や細菌検査担当者への情報提供を行った。

［山下和予、赤塚昌江、徳永真理子、野地元子、加藤信子］

3. 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･評価した。

［多田有希、島田智恵、齊藤剛仁、神谷元、FETP 研修生 11 期&12 期生、菅原民枝、佐藤弘、花岡希、大日康史、大山卓昭、砂川富正、中島一敏、八幡裕一郎、新井智、安井良則、多屋馨子、藤本嗣人、谷口清州、岡部信彦］

4. 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。特に 2010 年度はインフルエンザ、麻しん、腸管出血性大腸菌感染症、鳥インフルエンザ、百日咳、ノロウイルス感染症等のコーナーに加えて、2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災のコーナーを設けて、被災地における感染症のリスクアセスメント、被災地で発生するリスクの高い感染症の対策等の情報発信や、被災地・避難所における感染症発生情報の探知支援システムについての情報提供等を行った。

［安井良則、多田有希、島田智恵、齊藤剛仁、山下和予、大竹由里子、前田明日香、加藤信子、新井智、佐藤弘、多屋馨子、砂川富正、八幡裕一郎、中島一敏、神谷元、菅原民枝、大日康史、FETP 研修生 11&12 期生、谷口清州、岡部信彦］

5. インエンザ様疾患発生報告、麻疹施設別発生状況の掲載

厚生労働省が事業として実施している、両疾患の学校等における調査（保育園、用地船、小学校、中学校、高等学校等におけるインフルエンザ及び麻疹による欠席者数、休校・学年閉鎖・学級閉鎖のあった施設数）の結果、インフルエンザは実施期間中、麻疹は通年、毎週ホームページ上に掲載した。

［大竹由里子、多田有希］

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 20 年度（2008 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、前田大久、荒木和子、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 22 年度（2010 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（平成 22 年 12 月 7 日と 12 月 16 日の計 2 回）、ブタの日本脳炎 HI 抗体保有状況（平成 22 年 7 月 9 日から 12 月 13 日まで計 17 回）、ならびに調査対象疾患の抗体保有状況、予防接種状況について速報としてホームページに掲載した。

［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 22 年度版を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、前田大久、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

2006 年 4 月に稼働した感染症流行予測調査システムおよび 2010 年度に一部追加･改修した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、対応を行った。

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 2010 年 5 月 26 日に開催し、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．感染症情報の収集、評価及び予防対策の策定

1. 生物学的製剤に起因する感染症に関する安全性関連情報収集業務

移植片、輸血、タンパク製剤など生物由来の医療関連材料によると考えられる感染症を、早期に把握し、情報提供することにより、健康被害の拡大を防ぐことを目的とした情報収集と、そのためのシステム構築し運用した。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、2010 年度の報道機関ニュースと、各国および国際的機関の公式情報を毎日、国内外の文献情報を定期的に収集し、生物学的製剤に関連を検討評価し、データベースに蓄積した上で、事務局として、生物学的製剤由来感染症評価検討委員会へ提出し、その調査、対応の緊急性を評価し、感染症研究所として科学的見知からコメントし、関係諸機関へ報告した。既存の情報検索および蓄積・検索データベースのシステムの改良と、よりよい検出アルゴリズム開発、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進めた。

［谷口清州、重松美加、多屋馨子、柴田博子、岡部信彦、倉根一郎（副所長）］

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 加盟国とメキシコ、WHO、EU による、Global Health Security Initiative の技術的な WG である GHSAG に対し

て、リスク管理ワーキンググループ、リスクコミュニケーションネットワーク、および 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、技術的な立場から国際的な健康危機事例に対する国際的な協力・協同業務に参画した。

［重松美加、谷口清州、Nigel Collier（国立情報学研究所）、国光綾乃（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

（１） WHO におけるグローバルインフルエンザサーベイランスガイドライン作成

パンデミック（H1N1）2009 の教訓から世界レベルのインフルエンザサーベイランスのガイドライン策定に向けて作業部会に参加し、インフルエンザサーベイランスにおける定義、重症サーベイランスの定義などの議論を行った。

［谷口清州］

（２） WHO IHR Review Committee/Pandemic Influenza Review Committee への参加

上記委員会が WHO において構成され、今回のパンデミックインフルエンザ発生とその対策に国際保健規則（IHR）は機能したか、パンデミック対策は適切に行われたかなどの総括が 2010-2011 年にかけて行われた。岡部センター長は同会議委員として参加。委員会は 2011.5 の WHO 総会に報告書を提出した。

［岡部信彦］

（３） WHO 西太平洋地域事務局(WPRO)における活動

岡部センター長は、WPRO におけるポリオ根絶監視委員会委員（副議長）および、WPRO/SEAR(South Easet Asia Region) における Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases (ASPED)委員会のメンバーとして会議に参加、WPRO における活動に貢献した。

［岡部信彦］

3. 途上国の新型インフルエンザに関わる疫学能力強化に関する研究

国際医療協力研究委託事業（蜂矢班）の費用を用いて、インドネシア国南スラウェシ州において、インフルエンザや肺炎のサーベイランス情報の解析を行うと共に、鳥インフルエンザに対する保健従事者の KAP 調査を行った。

［砂川富正、八幡祐一郎、神谷元、谷口清州、蜂矢正彦（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短期専門家として現地の活動を支援している。

［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］

5. JICWELS/JICA 国際感染症研修プロジェクト

研修の受け入れを行った。

［岡部信彦（委員長）・情報センター］

6. 中国 CDC に対する技術的支援

中国 CDC が来所した際に、日本における症候群サーベイランスの運用状況を説明した。また、中国側から上海万博での強化サーベイランスの実施状況の報告を受け、意見交換した。

［大日康史、菅原民枝］

7. モンゴル FETP に対する技術支援

日本の FETP での経験にもとづき、2009 年に開始されたモンゴル FETP に対し、WHO と協力して技術支援を行った。

［大山卓昭］

8. WHO/FETP パートナーシップ会議

アジア地域諸国の FETP 連携のため、WHO が開催した会議に参加し、FETP の活動評価指針などを作成した。

［大山卓昭］

9. タジキスタンにおけるポリオアウトブレイク対策支援

2010 年にタジキスタンで発生したポリオの大規模アウトブレイクに対し、WHO 本部からの依頼に基づいて現地対策支援を行った。

［中島一敏］

10. イエール大学との共同研究

2010 年 11 月から 2011 年 3 月までイエール大学の研究員を受け入れ、日本におけるインフルエンザワクチンの流行抑制の効果と、最適な接種計画についての共同研究を進めた。

［大日康史、菅原民枝］

11. インドネシアに対する技術的支援

JICA インドネシア保健省が来所した際に、日本におけるサーベイランスの運用状況を説明し、意見交換を行った。

［岡部信彦、多屋馨子、中島一敏、多田有希、藤本嗣人、山下和予、大日康史、菅原民枝］

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、国際保健規則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、大山卓昭、中島一敏、神谷元、砂川富正、山下和予、島田智恵、多田有希、多屋馨子］

研修業務

Ⅰ．感染症危機管理およびそれに関わる人材養成（実地疫学専門家養成プログラム：FETP）に関する業務　［研修指導：八幡裕一郎、松井珠乃、中島一敏、砂川富正、大山卓昭、谷口清州、岡部信彦］

1. 全般実施状況

FETP の実施は 12 年目となり、平成 22 年 4 月、12 期生 4 名（阿部信次郎、安藤由香、石川貴敏、関谷紀貴）を迎えた。平成 22 年 3 月には 11 期生 5 名（大平文人、具芳明、小宮伸洋、豊川貴生、中村奈緒美）が研修終了した。

2. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 22 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。

ジフテリア（疑い）対応（神奈川県川崎市）

多剤耐性アシネトバクター感染症集団発生事例（東京都板橋区）

多剤耐性緑膿菌感染症集団発生事例（東京都板橋区）

呼吸器感染症集団発生事例（秋田県北秋田市）

百日咳集団発生事例（宮崎県延岡市）

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）、国立保健医療科学院必修研修（4 月～7 月）、初期導入研修後期（John Kobayashi; 7 月～8 月）とともに、インフルエンザ予防対策セミナー（Tim Uyeki; 9 月）、実地疫学と検査室診断（Lee Riley; 1 月）、実地疫学のための統計手法（Paul Weiss; 3 月）を開催した。

4. 教育研修経験

教育経験のための研修として、全国感染症危機管理研修会での講義、地方自治体の感染症危機管理研修会（栃木県、宮崎県、国立保健医療科学院、独立法人動物衛生研究所）での講義・演習を実施した。

5. 感染症疫学研究

平成22年度に研修終了した10期生が以下の特別論文長期プロジェクトの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た。

「神戸市での新型インフルエンザアウトブレイクの家庭内接触者における 2 次発症率と予防投薬の効果、2009 年 5 月～6 月 」　大平文人

「長野県諏訪地域における抗菌薬使用量と耐性菌の検出頻度について」　具芳明

「A 中学校高等学校における新型インフルエンザ A

（H1N1）感染者の特徴、および感染拡大に関する検討」小宮伸洋

「国内初発の新型インフルエンザ A（H1N1）によるアウトブレイクにおける医療従事者を対象とした血清疫学調査」　豊川貴生

「検疫所職員の職業性ストレスおよびストレス反応に関する研究」　中村奈緒美

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

性感染症の発生動向に基づいた提言

百日咳の発生動向をモニター

麻疹症例増加に対する予防接種推奨

新型インフルエンザの発生動向監視、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（IASR)、感染症発生動向調査週報（IDWR）などを通じて一般住民、公衆衛生従事者などに還元した。

8.　実験室研修

FETP に対し、ウイルス病原診断についての基礎的な実習を戸山庁舎で実施した。ウイルス分離、PCR、リアルタイム PCR、臨床検体の採取法、および実験室診断に関するディスカッションを行った。

[藤本嗣人、花岡希、岡部信彦]

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 15 日、16 日に開催した。2010 年度の事務局は、第四室及び喜瀬清義が担当した。研修内容として、「国の健康危機管理体制について」、「新型インフルエンザパンデミック総括」、「予防接種法改正の動きについて」、「地域における新型インフルエンザ対応：東京都、沖縄県、横浜市、北海道の場合の各論とパネルディスカッション」、「リスクコミュニケーションとメディア対応」、「麻疹排除計画における病原診断の重要性」、「Hib ワクチンおよび肺炎球菌ワクチン」、「HPV ワクチン」、「広域食中毒対策：O157、A 型肝炎」、「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 110 数名が受講した。

［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細菌研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修新興再興感染症技術研修を、2010 年 11 月 9 日から 12 月 1 日まで、感染症研究所村山庁舎で行った。地方衛生研究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 17 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、東京検疫所、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、東京サラヤの協力を得て遂行された。

［伊藤健一郎、木村博一］

2.　国立保健医療科学院によるウイルス研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修ウイルス研修を、2010 年 9 月 27 日から 10 月 22 日まで、国立感染症研究所村山庁舎で行った。本研修は、地方衛生研究所等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、種々のウイルス感染症の新しい知識及び検査診断技術の習得を目的としている。受講生は、定員 20 名に対し、31 名であった（すべて地方衛生研究所所属）。なお、本研修は、感染症情報センターをはじめ、当所関連各部・センター・室及び全国の衛生環境研究所（山形県、群馬県、沖縄県等）の協力を得て遂行された。

［木村博一、伊藤健一郎、秋本遼、佐藤弘、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 22 年度の研修は平成 23 年 2 月 24～25 日に、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た。ウイルス第一部、昆虫医科学部、ウイルス第三部、ウイルス第二部、インフルエンザウイルス研究センター、岡山県環境保健センター、沖縄県衛生環境研究所、生物活性部室部、寄生動物部、細菌第一部、細菌第二部、西神戸医療センターにご協力いただいた。

[情報センター全員(主担当は 4 室)、宮崎義継 (生物活性部室部)]

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に情報センターからも講師として参加した。

[岡部信彦、多屋馨子、多田有希、谷口清州、大山卓昭]

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、神谷元、多田有希、安井良則、島田智恵、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、布施晃、大日康史、菅原民枝]

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、砂川富正、中島一敏、神谷元、多田有希、安井良則、島田智恵、齊藤剛仁、多屋馨子、佐藤弘、山本久美、藤本嗣人、布施晃、大日康史、菅原民枝]

3. メディアへの対応

平成 15 年の SARS 発生以来、メデイア希望者に対して毎月 1 回、情報センター・メデイア感染症情報交換会として、感染症情報の提供、解説、意見交換を行っている。話題として、病原体検出情報（IASR）の特集を取り上げるほか、その都度のトピックスを取り上げている。また緊急的に伝え他た方がよいと考えられた時には、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、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。2010 年度に受け入れた血清は、計 2,895 検体であった。また、血清使用申請があった場合には、血清銀行委員会による審査後、払い出し（血清分与）を行っている。2010 年度は 1 件、1,000 本の血清を払い出した。

[多屋馨子、荒木和子、前田大久、佐藤弘、新井智、岡部信彦]

2. 職員血清の保管業務

2010 年度の職員血清 計 470 本を受け入れ保管し、規定の保管期限を経た血清は抜き出し引き渡した。

[佐藤弘、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 2010 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。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、岡部信彦］

Ⅴ. 検査実施状況

第 3 室：

血清反応　27 検体（研究）、2 検体（診断）

核酸検出　2 検体（研究）、2 検体（診断）

［佐藤弘、荒木和子、多屋馨子］

第 4 室：

行政検査　58 件

（兵庫県10件、付埼玉県1件、和歌山市40件、秋田県5件、相模原市2件）

原因不明疾患における病原体検索　および　アデノウイルス難同定株の同定を実施した。

［藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希、岡部信彦］

Ⅵ. 研修員（実地疫学専門家養成プログラム）

氏　　名	身　　分	期　　間	出　　身
大平　文人	協力研究員	H21.4.1-H23.3.31	大阪府立富田林保健所
具　　芳明	協力研究員	H21.4.1-H23.3.31	静岡県立静岡がんセンター
小宮　伸洋	協力研究員(*)	H21.4.1-H23.3.31	東京都立墨東病院感染症科
豊川　貴生	協力研究員(*)	H21.4.1-H23.3.31	沖縄県立八重山病院
中村　奈緒美	協力研究員	H21.4.1-H23.3.31	名古屋検疫所
阿部　信次郎	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	自衛隊中央病院
安藤　由香	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	岡山赤十字病院小児科
石川　貴敏	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	東京都福祉保健局
関谷　紀貴	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	東京都立駒込病院がん感染症センター

(*) 平成 22 年度は、任期付研究員

発表業績一覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Komiya, N., Gu, Y., Kamiya, H., Yahata, Y., Yasui, Y., Taniguchi, K., Okabe, N. Household transmission of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus in Osaka, Japan in May 2009. Journal of Infection. 61(4): 284-8. 2010.

2) Kawakami, K., Ohkusa, Y., Kuroki, R., Tanaka, T., Koyama, K., Harada, Y., Iwanaga, K., Yamaryo, T., Oishi, K. Effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccine against pneumonia and cost analysis for the elderly who receive seasonal influenza vaccine in Japan. Vaccine. 28(43): 7063-7069. 2010.

3) Okada, K., Komiya, T., Yamamoto, A., Takahahi, M., Kamachi, K., Nakano, T., Nagai, T., Okabe, N., Kamiya, H., Nakayama, T. Safe and effective booster immunization using DTaP in teenagers. Vaccine. 28: 7626-7633. 2010.

4) Collier, N., Doan, S, Goodwin, R. M., McCrae, J., Conway, M., Shigematsu, M., Kawazoe, A. Capter 15. Navigating the Information Storm: Web-Based Global Health Surveillance in BioCaster. In. Biosurveillance. Eds. Taha Kass-Hout, Xiaohui Zhang. Taylor and Francis, USA, 2010

5) Furuya, H., Kawachi, S., Shigematsu, M., Suzuki, K., Watanabe, T. Clinical factors associated with severity in hospitalized children infected with avian influenza (H5N1). Environmental Health and Preventive Medicine. 16(1): 64-68. 2010.

6) Suzuki, Y., Taya K., Nakashima, K., Ohyama, T., Kobayashi, J..M., Ohkusa, Y., Okabe, N. Risk factors for severe hand foot and mouth disease. Pediatr Int. 52(2): 203-207. 2010.

7) Kang, H.J., Arai, S., Hope A.G., Cook, J.A., Yanagihara, R. Novel Hantavirus in the Flat-Skulled Shrew (*Sorex roboratus*). Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 10(6): 593-597. 2010.

8) Ueno-Yamamoto, K., Tanaka-Taya, K., Satoh H., Araki, K., Kaku, M., Okabe, N. The Changing Seroepidemiology of Varicella in Japan: 1977-1981 and 2001-2005. Pediatrics Infectious Disease Journal. 29(7): 667-669. 2010.

9) Enomoto, M., Fujimoto, T., Konagaya, M., Hanaoka, N., Chikahira, M., Taniguchi, K., Okabe, N. Cultivation for 21 days should be considered to isolate respiratory adenoviruses from samples containing small numbers of adenoviral genomes. Jpn J Infect Dis. 63(5): 338-41. 2010.

10) Ando, S., Kurosawa, M., Sakata, A., Fujita, H., Sakai, K., Sekine, M., Katsumi, M., Saitou, W., Yano, Y., Takada, N., Takano, A., Kawabata, H., Hanaoka, N., Watanabe, H., Kurane, I., Kishimoto, T. Human Rickettsia Heilongjiangensis Infection, Japan. Emerging Infectious Disiases. 16(8): 1306-1308. 2010

11) Narimatsu, H., Ogata, K., Makino, Y., Ito, K. Distribution of Non-locus of Enterocyte Effacement Pathogenic Island-Related Genes in *Escherichia coli* Carrying *eae* from Patients with Diarrhaea and Healthy Individuals in Japan. J. Clin. Microbiol. 48: 4107-4114. 2010.

12) Kimura, H., Tsukagoshi, H., Aoyama, Y., Nishina, A., Yamaguchi, T., Iijima, A., Kato, M., Kozawa, K. Relationships between cellular events and signaling pathways in various pesticide-affected neural cells. Toxin Rev. 29(2): 43-50. 2010.

13) Yoshizumi, M., Kimura, H., Okayama, Y., Ryo, A., Nishina, A., Noda, M., Tsukagoshi, H., Kozawa, K., Kurabayashi, M. Relationships between cytokine profiles and signaling pathways in parainfluenza virus-infected lung fibroblasts. Front Microbiol. 1: Article 124: 1-7. 2010.

14) Nakamura, M., Itokazu, K., Taira, K., Kawaki, T., Kudaka, J., Nidaira, M., Okano, S., Kimura, H., Noda, M. Detection and phylogenetic analysis of human rhinoviruses from Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 63(3): 221-223. 2010.

15) Tsukagoshi, H., Masuda, Y., Mizutani, T., Mizuta, K., Saitoh, M., Morita, Y., Nishina, A., Kozawa, K., Noda, M., Ryo, A., Kimura, H. Sequence and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 isolates from children with upper respiratory infection in Gunma, Japan. Jpn J Infect Dis. 63(5):378-380, 2010.

16) Goto-Sugai, K., Tsukagoshi, H., Mizuta, K., Matsuda, S., Noda, M., Sugai, T., Saito, Y., Okabe, N., Tashiro, M., Kozawa, K., Tanaka, R., Morita, Y., Nishina, A., Kimura, H. Genotyping and phylogenetic analyses of major genes in respiratory syncytial virus isolated from infants with bronchiolitis in Japan. Jpn J Infect Dis. 63(6): 393-400. 2010.

17) Mizuta, K., Abiko, C., Aoki, Y., Ikeda, T., Itagaki, T., Katsushima, N., Matsuzaki, Y., Hongo, S., Noda, M., Kimura, H., Ahiko, T. Endemicity of human metapneumovirus subgenogroups A2 and B2 in Yamagata, Japan between 2004 and 2009. Microbiol Immunol. 54(10): 634-638. 2010.

18) Itagaki, T., Abiko, C., Ikeda, T., Aoki, Y., Seto, J., Mizuta, K., Ahiko, T., Tsukagoshi, H., Nagano, M., Noda, M., Mizutani, T., Kimura, H. Detection and phylogenetic analysis of Saffold cardiovirus (SAFV) from children with exudative tonsillitis in Yamagata, Japan. Scand J Infect Dis. 42: 950-952. 2010.

19) Okazaki, K., Matsuki, T., Takashi, K., Unemoto, J., Kondo, M., Kozawa, K., Yoshizumi, M., Shimada, A., Takita, J., Kaneko, T., Kimura, H. Sustained cytokinemia and chemokinemia concomitant with juvenile myelomonocytic leukemia in an infant with Noonan syndrome. Leuk Res. 34: e226-e228. 2010.

20) Okazaki, K., Kondo, M., Kubota, M., Kakinuma, R., Hoshino, A., Kimura, H., Itoh, S. High-dose usage of lorazepam for refractory seizure in a Japanese infant of holoprosencephaly with cortical dysplasia. Pediatr Int. 52(4): e664-667. 2010.

21) Seki, M., Kimura. H., Mori, A., Shimada, A., Yamada, Y., Maruyama, K., Hayashi, Y., Agematsu, K., Morio, T., Yachie, A., Kato, M. Prominent eosinophilia but less eosinophil activation in a patient with Omenn syndrome. Pediatr Int. 52(4): e196-199. 2010.

22) Shiino, T., Okabe, N., Yasui, Y., Sunagawa, T., Ujike, T., Obuchi, M., Kishida, N., Xu, H., Takashita, E., Anraku, A., Ito, R., Doi, T., Ejima, M., Sugawara, H., Horikawa, H., Yamazaki, S., Kato, Y., Oguchi, A., Fujita, N., Odagiri, T., Tashiro, M., Watanabe, H. Molecular Evolutionary Analysis of the Influenza A(H1N1)pdm, May − September, 2009: Temporal and Spatial Spreading Profile of the Viruses in Japan. PLoS ONE 5(6): e11057. doi:10.1371/journal.pone.0011057. 2010.

23) Kaneko, H., Aoki, K., Ishida, S., Ohno, S., Kitaichi, N., Ishiko, H., Fujimoto, T., Ikeda, Y., Nakamura, M., Gonzalez, G., Koyanagi, K.O., Watanabe, H., Suzutani, T. Recombination analysis of intermediate human adenovirus type 53 in Japan by complete genome sequence. J Gen Virol. 92: 1251-1259. 2011.

24) Kaneko, H., Aoki, K., Ohno, S., Ishiko, H., Fujimoto, T., Kikuchi, M., Harada, S., Gonzalez, G., Koyanagi, K.O., Watanabe, H., Suzutani, T. Complete genome analysis of a novel intertypic recombinant human adenovirus causing epidemic keratoconjunctivitis in Japan. J Clin Microbiol. 49(2): 484-90. 2011

25) Eshima, N ., Tokumaru, O., Hara, S., Bacal, K., Korematsu, S., Tabata, M., Karukaya, S., Yasui, Y., Okabe, N., Matsuishi, T.: Sex- and Age-Related Differences in Morbidity Rates of 2009 Pandemic Influenza A H1N1 Virus of Swine Origin in Japan. PLoS ONE 6(4): e19409. doi:10.1371/journal.pone.0019409. 2011.

26) Nakamura, M., Taira, K., Tsukagoshi, H., Itokazu, K., Nidaira, M., Okano, S., Kudaka, J., Noda, M., Takeda, M., Kimura, H. Detection of various respiratory viruses in patients with influenza-like illness before and after emergence of the 2009 Pandemic H1N1 influenza virus in Okinawa. Jpn J Infect Dis. 64(1): 87-89. 2011.

27) Omura, T., Iizuka, S., Tabara, K., Tsukagoshi, H., Mizuta, K., Matsuda, S., Noda, M., Kimura, H. Detection of human metapneumovirus (HMPV) genomes during an outbreak of bronchitis and pneumonia in an old-age home in Shimane, Japan, in autumn 2009. Jpn J Infect Dis. 64(1): 85-87. 2011.

28) Kato, M., Tsukagoshi, H., Yoshizumi, M., Saitoh, M., Kozawa, K., Yamada, Y., Maruyama, K., Hayashi, Y., Kimura, H. Different cytokine profile and eosinophil activation are involved in rhinovirus- and RS virus-induced acute exacerbation of childhood wheezing. Pediatr Allergy Immunol. 22(1Pt 2): e87-94. 2011.

29) Ishioka, T., Kimura, H., Kita, H., Obuchi, M., Hoshino, H., Noda, M., Nishina, A., Kozawa, K., Kato, M. Effects of respiratorysyncytial virus infection and major basic protein derived from eosinophils in pulmonary alveolar epithelial cells (A549). Cell Biol Int. 35: 467-474. 2011.

２．和文発表

1) 大日康史：予防接種の費用対効果分析．臨床検査. 54(11):1290-1297. 2010.

2) 大日康史：感染症対策における地理空間情報の活用事例．人と国土 21. 36(4):22-24. 2010.

3) 大日康史、菅原民枝、増田和貴、灘岡陽子、神谷信行、谷口清州、岡部信彦：オバマ大統領訪日におけるバイオテロ対策のための強化サーベイランス．感染症学雑誌．84(6):708-713. 2010.

4) 菊池清、妹尾千賀子、中村嗣、大日康史、菅原民枝、岡部信彦：新型インフルエンザ流行時の職員対象症候群サーベイランスの有用性について．日本環境感染学会誌．25(6):351-356. 2010.

5) 杉浦弘明、秦正、児玉和夫、及川馨、今村知明、大日康史、岡部信彦：学校欠席者情報システムを用いた新型インフルエンザに対する学級閉鎖の有効性．学校保健研究．52(3):214-218. 2010.

6) 神谷元 :【予防接種 UPDATE】 ACIP とは. 小児内科. 42(12):1921-1924. 2010.

7) 神谷元、岡部信彦：米国の小児予防接種被害法の成立経過．日本医事新報．4515：85-86. 2010.

8) 神谷元 :【新時代のワクチン戦略について考える】 ワクチンの開発に対する欧米の官・民の取り組み方. 臨床検査．54(11): 1247-1254. 2010.

9) 神谷元 :【わが国の予防接種の現状とこれから】 これからの予防接種制度はどうなっていくのか?. 保健の科学．52(8): 544-548. 2010.

10) 神谷元：日本版 ACIP の必要性．感染症．40(4): 148-152. 2010.
11) 神谷元：【感染症専門医がいなくても学べる、身につく感染症診療の基本】 疫学の基礎を学ぶ　感染症を予防するということ．ワクチンの疫学．レジデントノート．12(6): 988-992. 2010.
12) 神谷元：ロタウイルス感染症とロタウイルスワクチン．感染・炎症・免疫．39(4): 358-360. 2010.
13) 大平文人、八幡祐一郎ら：新型インフルエンザのこれまでの発生状況．小児科．51(12) : 1595-1606. 2010.
14) 徳田浩一、五十嵐正巳、山本久美、多屋馨子、中島一敏、中西好子、島史子、寺西新、谷口清州、岡部信彦：関東地方のある高校における麻疹集団発生事例　ー感染拡大防止策とワクチン効果に関する疫学的検討ー．　感染症学雑誌．84(6)：714-720. 2010.
15) 上野正浩、八幡裕一郎、砂川富正：ノロウイルス制御−院内伝播防止に向けてノロウイルス院内アウトブレイクの実地疫学. 感染対策 ICT ジャーナル. 5(4):405-412. 2010.
16) 具芳明、古宮伸洋、砂川富正、松井珠乃、八幡裕一郎、大日康史、谷口清州、岡部信彦：FETP による調査報告　腸管出血性大腸菌 O157 による広域散発食中毒事例．食品衛生研究．60(7): 7-14. 2010.
17) 谷口清州：新型インフルエンザ（パンデミック H1N12009）の現状．　日本内科学会雑誌．99(9)：2080-2086. 2010.
18) 谷口清州：インフルエンザの疫学．臨床と微生物．37：497-502. 2010.
19) 谷口清州：インフルエンザ総括．実験治療．　699: 44-47. 2010.
20) 谷口清州：今年の南半球の新型インフルエンザ流行．日本医事新報．4517: 82-83. 2010.
21) 五十嵐正巳ら：2008 年海上自衛隊における麻疹集団発生の疫学的調査検討．　防衛衛生．57(4,5): 73-81. 2010.
22) 中島一敏： A 型肝炎と A 型肝炎ワクチン．臨床とウイルス．38(5): 415-20. 2010.
23) 中島一敏、岡部信彦：国際感染症サーベイランスとパンデミック感染症(インフルエンザを除く)．日本臨床．68(9): 1743-8. 2010.
24) 安井良則、島田智恵、多田有希、谷口清州、岡部信彦：日本国内におけるインフルエンザの流行について．日本臨床微生物学会雑誌．20(2): 105-112. 2010.
25) 島田智恵：日本における発生動向の調査−感染症サーベイランスの仕組み．レジデントノート増刊．12(6): 993-998. 2010.
26) 多屋馨子：わが国の麻疹排除計画とその実践 2012 年の排除を目指して．ウイルス．60(1): 59-68. 2010.
27) 多屋馨子：疾患 REVIEW　風疹　先天性風疹症候群(CRS)の予防に向けて．SRL 宝函．31(1): 23-33. 2010.
28) 多屋馨子：子どもの予防接種　新しい予防接種を中心に　MR や Hib など．こども医療センター医学誌(0301-2654). 39(2): 61-65. 2010.
29) 五十嵐隆、多屋馨子、神谷齊、和田紀之、飯沼雅朗：小児用肺炎球菌ワクチン接種の意義．日本医師会雑誌(0021-4493). 139(2): PN-17-PN-24. 2010.
30) 衞藤隆、加藤達夫、庵原俊昭、岡田賢司、古賀伸子、三田村敬子、住友眞佐美、多屋馨子、馬場宏一、山口晃史、齋藤昭彦、薗部友良、中島夏樹：正しい知識で予防接種を(座談会)．小児保健研究．69(2): 148-172. 2010.
31) 庵原俊昭、岡田賢司、宇加江進、古賀伸子、住友眞佐美、菅原美絵、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(第 52 号)　ワクチンと免疫．小児保健研究．　69(6)：830-832. 2010.
32) 森岡一朗、野々山恵章、多屋馨子、庵原俊昭、細矢光亮、植田育也、熊谷卓司、岡田賢司、岡部信彦、森島恒雄：オセルタミビル治療を受けた生後 3 ヵ月未満の乳児・新生児のパンデミックインフルエンザ A(H1N1)2009 症例の調査解析．日本小児科学会雑誌．114(8): 1294-1297. 2010.
33) 多屋馨子：日本の予防接種を考える．日本医事新報．2010 年 11 月 6 日号 No.4515「プラタナス」
34) 多屋馨子：【新時代のワクチン戦略について考える】ワクチン行政とサーベイランス．臨床検査．54(11): 1263-1271. 2010.
35) 多屋馨子：風疹（先天性風疹症候群を含む）．今日の診断指針第 6 版. 2010.
36) 多屋馨子：実践予防接種マニュアル改訂 2 版、こどもの発疹のみかた 3 版、保護者に伝えたいこどもの病気・検査のポイント 100．2010.
37) 岡部信彦、多屋馨子：2010 予防接種に関する Q&A 集．細菌製剤協会．2010. 9.
38) 多屋馨子：最新感染症ガイド・アトラス（日本版 R-BOOK ATLAS．翻訳．岡部信彦監修

39） 多屋馨子：風疹、麻疹、ヘルパンギーナ、ムンプス髄膜炎、ライ症候群、ウイルス性髄膜炎、流行性髄膜炎（急性脳脊髄膜炎）・その他の化膿性髄膜炎、流行性耳下腺炎（ムンプス）、かぜ症候群、咽頭結膜熱、突発性発疹、手足口病、伝染性紅斑、水痘. 家庭医学大全科 6 訂版. 2010.

40） 佐藤弘、多屋馨子：日本におけるワクチン接種の現状．小児看護．33(8): 983-986. 2010.

41） 山本久美、多屋馨子、わが国の麻疹排除計画とその実践―2012 年の排除を目指して．医学のあゆみ．234(2)：164-166. 2010.

42） 青木功喜、藤本嗣人：感染性結膜炎サーベイランスの意義と細菌の傾向．結膜炎オールラウンド(中山書店)．66-69. 2010.

43） 榎本美貴、高井伝仕、藤本嗣人、近平雅嗣：兵庫県におけるポリオ感染源調査（2002 年～2009 年）－健常児の糞便からのウイルス分離－．兵庫県立健康生活科学研究所研究報告．1: 5-8. 2010.

44) 藤本嗣人、花岡希、安井良則、小長谷昌未、岡部信彦、高崎智彦、清水博之：エンテロウイルス遺伝子が検出され EV71 抗体上昇が確認された急性脳炎(辺縁系脳炎)症例、2010 年 4 月．病原微生物検出情報．31: 235. 2010.

45） 藤本嗣人，花岡希，岡部信彦，渡部　香，五十嵐郁美，長谷川道弥，中村雅子，加瀬哲男，廣井聡，榎本美貴，秋吉京子，須賀知子，阿部勝彦，山本美和子，三浦美穂，山本正悟：新型アデノウイルス 53 型と 54 型の同定について．病原微生物検出情報．31: 236-237. 2010.

46） 中村雅子、平野映子、小和田和誠、石畝史、望月典郎、藤本嗣人、花岡希、谷口清州、岡部信彦、山岸善也：2004～2009 年の 6 年間における流行性角結膜炎患者 113 名からのアデノウイルス検索―福井県．病原微生物検出情報．31: 237-238. 2010.

47） 古宮伸洋、岡部信彦：食中毒、下痢の集団発生への対応策．日本医師会雑誌．139(5): 1061-1064. 2010.

48） 尾身茂、岡部信彦、河岡義裕、川名明彦、田代眞人：パンデミック(H1N1)2009－我が国の対策の総括と今後の課題．公衆衛生．74(8): 636-646. 2010.

49） 岡部信彦：新型インフルエンザ(A/H1N1 2009)の実態 - 世界の日本の疫学状況 - . 日本医師会雑誌．139(7): 1453-1458. 2010.

50） 岡部信彦：新型インフルエンザ - 今、何がおきているのか - ．大阪保険医学雑誌．10: 4-10. 2010.

51） 岡部信彦：パンデミック(H1N1)2009 対策現場からの検証 - 国立感染症研究所における対策 - ．　公衆衛生．74(8): 671-675. 2010.

52） 岡部信彦：最近の感染症の動向．　診断と治療．98(8): 1228-1234. 2010.

53） 岡部信彦：インフルエンザワクチン接種対象者の選別．小児内科．42(9): 1533-1535. 2010.

54） 岡部信彦：新型インフルエンザ（パンデミック H1N1 2009）発生から 1 年を経て．保険診療．65(9): 89-94. 2010.

55） 岡部信彦：新型インフルエンザ（パンデミック H1N1 2009）発生から 1 年を経て．小児科臨床．63(9): 2033-2041. 2010.

56） 岡部信彦：インフルエンザ - 序文 - ．　日本臨床．64(10): 1771-1773. 2010.

57） 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．P.10-13: 2010. 6.

58） 岡部信彦：次のパンデミックの動向と対応 - 日本．インフルエンザの最新知識Q&A 2011，編・鈴木　宏、松本慶蔵．医薬ジャーナル社．P.166－170: 2010. 8.

59） 岡部信彦：感染症の現状、感染症サーベイランス、予防接種．分子予防環境医学・改訂版，編・分子予防環境医学研究会．本の泉社．P.129-140: 2010. 12.

60） 大日康史、菅原民枝：新型インフルエンザの流行予測モデルは有効であったか．インフルエンザ．12: 71-79. 2011.

61） 菅原民枝、大日康史、川野原弘和、谷口清州、岡部信彦：2009／2010 インフルエンザパンデミックにおけるリアルタイム薬局サーベイランスとインフルエンザ推定患者数．感染症学雑誌．85(1): 8-15. 2011.

62） 菅原民枝、安井良則：保育園の感染症対策、インフルエンザの流行．保育通信．2(669): 30-35. 2011.

63） 冨岡鉄平、島田智恵、藤本嗣人、松井珠乃、佐藤弘、八幡裕一郎、橘とも子、岡部　信彦：日本紅斑熱発生地域および近隣の発生が少ない地域における知識および受診行動．感染症学雑誌．85(2): 180-183. 2011.

64） 岡田賢司、庵原俊昭、菅原美絵、多屋馨子、宇加江進、馬場宏一、古賀伸子、三田村敬子、住友眞佐美、日本小児保健協会予防接種・感染症委員会：感染症・予防接種レター予防接種推進専門協議会設立の経緯と要望書・声明文．小児保健研究．70(1)：76-77. 2011.

65） 山本久美：2012 麻疹排除に向けての最終追い込みに

ついて、メディカル朝日． 40(1)：31-33. 2011.

66） 山本久美、多屋馨子：特集　ワクチンの有効性の安全性　5．ＭＲワクチン．医薬ジャーナル．47(2)：101-106. 2011.

67） 近野真由美，吉岡政純，杉江真理子，馬口敏和，中村剛，木澤正人，梅垣康弘，安武廣，木戸毅，三宅健市，石川和弘，藤本嗣人：14 年間（1996 年～2009 年）におけるコクサッキーA 群ウイルスの乳のみマウス，RD-18S および Vero 細胞による分離状況－京都市．病原微生物検出情報．32: 20-21. 2011.

68） 藤本嗣人、花岡希、谷口清州、岡部信彦：ウイルス感染症　病原体検査のための検体採取 10 原則．小児科．52(4): 471-475. 2011.

69） 岡部信彦：感染症法の概要について．今日の治療指針 2011，総編集・山口　徹、北原光男、福井次夫．医学書院．P.194-197: 2011.

70） 岡部信彦：インフルエンザパンデミック．臨床と微生物学．38(1):74-77. 2011.

71） 岡部信彦：急性脳炎・脳症の疫学．日本臨床．69(3)：411-416. 2011.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Arai S., Asakawa M., Kimura T., Kon M., Nagano M., Tanaka-Taya K., Okabe N., Yanagihara R.: Genetic diversity of Asama virus in the Japanese shrew mole (*Urotrichus talpoides*). VIII International conference on HFRS, HPS & Hantaviruses. International Society for Hantaviruses and Hantaviral Diseases. Athens, Greece. 2010. 5.

2) Kang H.J., Bennett S.N., Arai S., Hope A., Song J.-W., Dizney L., Ruedas L.A., Cook J.A., Yanagihara R.: Evolutionary insights from newly identified hantaviruses harbored by moles (Family Talpidae). VIII International conference on HFRS, HPS & Hantaviruses. International Society for Hantaviruses and Hantaviral Diseases. Athens, Greece. 2010. 5.

3) Shigematsu M., Fujimoto S.: Web-based biorisk management education for co-medical laboratory worker course students. 13th Annual Conference of the European BioSafety Association.Ljubljana, Slovenia. 2010. 6.

4) Shimada T., Sunagawa T., Kamiya H., Taniguchi K., Okabe N.: Description of pandemic influenza A (H1N1) 2009 cases with travel history who entered Japan during enhanced quarantine. Options for the Control of Influenza VII. Hong Kong SAR. 2010. 9

5) Taniguchi K.: Surveillance for Enteric Pathogen and Foodborne Illness in Japan. GSEC US-Japan conference. Washington DC, USA. 2010. 10.

6) Shigematsu M.: Risk Assessment tools and applications. International perspectives on mitigating laboratory biorisks, Istanbul, Turkey. 2010. 10.

7) Gu Y., Shimada T., Yasui Y., et. al: National Surveillance of Influenza A(H1N1)2009-associated Encephalopathy, Japan, 2009-2010. The 6th TEPHINET Global Scientific Conference, Cape Town, South Africa. 2010. 12.

8) Fujimoto S., Kojima F., Harada Y., Higashida S., Shigematsu M.: Molecular epidemiological analysis of Campylobacter isolates in Fukuoka, Japan. 12th Western Pacific Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases, Singapore. 2010.12.

9) Ohkusa Y., Sugawara T., Taniguchi K., Okabe N.: Real-time Estimation and Prediction for Pandemic A/H1N1(2009) in Japan. International Society for Disease Surveillance Conference. Uta, USA. 2010.12.

10) Kanou K., Terashi G., Nakamura Y., Oosawa M., Umeyama H., Takeda-Shitaka M.: Individual comparative modeling server using FAMS-MULTI, CIRCLE and SPLICER. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.

11) Kanou K., Terashi G., Nakamura Y., Oosawa M., Umeyama H., Takeda-Shitaka M.: FAMS-MULTI: An automated homology modeling based upon multiple reference proteins using better pairwise alignments, Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.

12) Terashi G., Kanou K., Oosawa M., Oosawa M., Umeyama H., Takeda-Shitaka M.: Template based modeling server with Model Quality Assessment Program circle, Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.

13) Umeyama H., Komatsu K., Kanou K., Terashi G., Takeda-Shitaka M.: Model selection method based on the side chain environment consensus score. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.

14) Umeyama H., Komatsu K., Kano K., Terashi G., Iwadate M., Takeda-Shitaka M.: FAMS modeling of complex proteins and prediction of ligand binding sites by integrated-FAMSD. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.

15) Terashi G., Kanou K., Oosawa M., Nakamura Y., Umeyama H., Takeda-Shitaka M.: Structure evaluation program using consensus method and circle QA program. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.
16) Takeda-Shitaka M, Oosawa M., Kanou K., Nakamura Y., Terashi G.: United3D: Combination of consensus QA methods. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.
17) Nakamura Y., Kanou K., Terashi G., Oosawa M., Umeyama H., Takeda-Shitaka M.: SPLICER: An autonomous model quality assessment method using non-linear/linear combinations of some potential energies containing statistical potential, physics-based potential and residueresidue distance potential. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.
18) Arai M., Kanou K., Terashi G., Umeyama H., Iwadate M.: Construction of the Function for Protein Structure Prediction and the Homology Modeling System. Ninth CASP Meeting, California, USA, 2010. 12.
19) F. Odaira, T. Shimada, et.al: The incidence rate of travel-associated infectious diseases among Japanese travelers by destination country. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, Vienna, Austria. 2011. 2.
20) F. Odaira, N. Nakamura, Y. Yahata, K. Nakashima, N. Okabe: Investigation of a multi-prefectural outbreak of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157 infection-Japan, 2009 . International Meeting on Emerging Disease and Surveillance, Vienna, Austria. 2011. 2.

２．国内学会

1) 杉浦弘明、大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：新型インフルエンザ対策としての学校欠席者情報収集システム．第 84 回感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
2) 大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：2009／2010 インフルエンザパンデミックの Real-time Estimation. 第 84 回感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
3) 神谷元ら：抗インフルエンザ薬予防内服中に発症した新型インフルエンザ A/H1N1 感染例についての検討. 第 84 回感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
4) 菅原民枝、大日康史、谷口清州、岡部信彦：2009／2010 インフルエンザパンデミックにおける薬局サーベイランスの有用性の検討．第 84 回感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
5) 古宮伸洋、具芳明ら：新型インフルエンザ A（H1N1）による家族内感染、抗インフルエンザウイルス薬予防内服の効果に関する検討．第 84 回感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
6) 具芳明ら：新型インフルエンザ A/H1N1 による急性脳症の臨床像－発生動向調査の基づいた調査報告．第 84 回感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
7) 堀口逸子、重松美加、丸井英二： 新型インフルエンザの国内紙報道の傾向分析．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
8) 重松美加: 感染症情報の収集と解析．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
9) 重松美加, B. Heinecke, A. Nakasone, H. Prendinger: 3D プログラムを活用したバイオセーフティ教材． 第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
10) 藤本秀士，重松美加，小島夫美子: バイオリスク管理教育における Web Based Training の活用．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
11) 藤本秀士，小島夫美子，原田由紀子，重松美加: 福岡におけるカンピロバクター臨床分離株の分子疫学解析． 第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
12) 安井良則: 新型インフルエンザ A/H1N1 の発生動向をふまえた国内におけるインフルエンザの発生状況について －感染症発生動向調査より－．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
13) 島田智恵、砂川富正、神谷元、松井珠代、 谷口清州、岡部信彦: 新型インフルエンザに対して実施された検疫の疫学的評価．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
14) 泉谷秀昌、多田有希、伊藤健一郎、寺嶋淳、渡邊治雄: 渡航者由来 *Shigella sonnei* の解析．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
15) 藤本嗣人: ウイルス疾患（アデノウイルスなど）の迅速診断．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
16) 藤本嗣人、小長谷昌未、清水英明、石丸陽子、谷口清州、岡部信彦: インフルエンザ AH1pdm の新規超高速 PCR(Hyper-PCR)による短時間検出同定．第 84 回日本感染症学会総会．京都府京都市. 2010. 4.
17) 花岡希、川端寛樹、山本正悟、藤田博己、坂田明子、小川基彦、高野愛、渡邉治雄、岸本寿男、白井睦訓、倉根一郎、安藤秀二: In silico 解析から新規に構築し

た日本紅斑熱迅速診断法とその応用. 第 84 回日本感染症学会総会. 京都府京都市. 2010. 4.

18）谷口清州: 新型インフルエンザ（パンデミック H1N1 2009）の現状. 第 107 回日本内科学会総会. 東京都品川区. 2010. 4.

19）鈴木敏弘、野村孝雄、安井洋二、大林幹尚、多屋馨子、豊橋市医師会予防接種委員会：第 3 期・4 期麻疹風疹接種率向上に向けて 保護者に対する麻疹に関する意識調査より. 第 113 回日本小児科学会学術集会. 岩手県盛岡市. 2010. 4.

20）北村祐介、前田明彦、 徳田浩一、山遠剛、佐藤哲也、砂川富正、多屋馨子、藤枝幹也、岡部信彦、脇口宏：成人百日咳流行とワクチン追加接種の必要性. 第 113 回日本小児科学会学術集会. 岩手県盛岡市. 2010. 4.

21）大山卓昭：近代日本の「防疫の制度化」におけるコレラ流行. 第57回日本科学史学会. 東京都港区. 2010. 5.

22）多屋馨子：ワクチン up to date. 第 27 回日本臨床皮膚科医会総会・学術大会. 東京都中央区. 2010. 5.

23）山口展正、岡部信彦、藤本嗣人、多屋馨子、浜本いつき:インフルエンザウイルスおよびアデノウイルスの上咽頭所見とその臨床的意義. 第111回日本耳鼻咽喉科学会. 宮城県仙台市. 2010. 5.

24）多屋馨子：学校における感染症対策. 第 61 回指定都市学校保健協議会「内科・眼科・耳鼻咽喉科合同研修会」. 大阪府大阪市. 2010. 5.

25）佐々木香織、谷中好子、井上真太郎、三舛信一郎：今季のインフルエンザ罹患が疑われた小児の PCR によるウイルス検索結果. 第 250 回日本小児科学会兵庫県地方会・総会. 兵庫県神戸市. 2010. 5.

26）大山卓昭：近代日本の「防疫の制度化」においてコレラ流行は「決定実験」となりえたか？. 第 111 回日本医史学会. 茨城県水戸市. 2010. 6.

27）多屋馨子：小児科領域の感染症とワクチン 麻疹・風疹対策の現状と課題. 第 58 回日本化学療法学会. 長崎県長崎市. 2010. 6.

28）安井良則、島田智恵、多田有希、谷口清州、岡部信彦: 新型インフルエンザの発生動向と入院報告･死亡報告を踏まえた解析について －感染症発生動向調査より－. 第 51 回日本臨床ウイルス学会. 香川県高松市. 2010. 6.

29）佐藤弘、多屋馨子、高崎智彦、倉根一郎、岡部信彦: 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（2009 年度感染症流行予測調査より）. 第 51 回日本臨床ウイルス学会. 香川県高松市. 2010. 6.

30）山本久美、多屋馨子、岡部信彦: 我が国における水痘の血清疫学の変化：1977-1981 年と 2001-2005 年の比較. 第 51 回日本臨床ウイルス学会. 香川県高松市. 2010. 6.

31）具芳明、古宮伸洋、神谷元、安井良則、谷口清州、加瀬哲夫、高橋和郎、岡部信彦：新型インフルエンザ A/H1N1 不顕性感染からの感染性の検討. 第 51 回日本臨床ウイルス学会. 香川県高松市. 2010. 6.

32）高橋和郎、具芳明、安井良則、加瀬哲夫：新型インフルエンザの不顕性感染についての研究. 第 51 回日本臨床ウイルス学会. 香川県高松市. 2010. 6.

33）西藤成雄、砂川富正、谷口清州：新型インフルエンザの流行の特徴～インフルエンザ流行前線情報データベースから～. 第 51 回日本臨床ウイルス学会. 香川県高松市. 2010. 6.

34）古宮伸洋、冨岡鉄平、齊藤剛仁、島田智恵、多田有希: 腸管出血性大腸菌感染症における溶血性尿毒症症候群 2009 年. 第 14 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 宮崎県宮崎市. 2010. 7.

35）山口展正、藤本嗣人：上咽頭アデノウイルス感染症の内視鏡所見. 第 11 回日本アデノウイルス研究会. 東京都新宿区. 2010. 7.

36）藤本嗣人:日本のアデノウイルス感染症サーベイランス. 第 11 回日本アデノウイルス研究会. 東京都新宿区. 2010. 7.

37）多屋馨子：Vaccine preventable diseases (VPD) のサーベイランスと課題－ＶＰＤの現状－平成 22 年度病院感染制御担当者育成講習会「院内感染とワクチン」. 東京都港区. 2010. 7.

38）神谷元:新型インフルエンザ A/H1N1 による家族内感染、抗インフルエンザウイルス薬予防内服の効果に関する検討. 日本外来小児科学会. 福岡県福岡市. 2010. 8.

39）山本久美、若者を取り巻く感染症－麻疹と風疹－、愛知県感染症予防指導者セミナー. 愛知県名古屋市. 2010. 8.

40）多屋馨子:院内感染防止対策としてのワクチン「医療従事者が知っておくべきワクチン接種の重要性と問題点. 第 25 回関西感染予防ネットワーク例会. 大阪府大阪市. 2010. 9.

41）新井智、浜田雅史、多屋馨子、高島郁夫、岡部信彦: 1980 年代に北海道の流産ブタ胎仔から分離された日本脳炎ウイルス. 第 150 回 日本獣医学会学術集会. 北海道帯広市. 2010. 9.

42）大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：「学校欠席者サーベイランス」によるインフルエンザ罹患率のリアルタイムサーベイランス」．第 59 回日本感染症学会東日本地方学術集会．東京都新宿区. 2010. 10.

43）菅原民枝、大日康史、谷口清州、岡部信彦：「薬局サーベイランスにおける抗インフルエンザ薬とアシクロビル製剤の有用性の検討」．第 59 回日本感染症学会東日本地方学術集会．東京都新宿区. 2010. 10.

44）神谷元：「髄膜炎関連ワクチンの導入経緯からワクチンの未来を考える」シンポジウム WS2「ワクチン政策の現在と未来～米国の予防接種システムについて～」．東日本感染症・化学療法合同学会．東京都新宿区. 2010. 10.

45）本井宏尚、菅井和子、藤塚麻子、小林慈典、木村博一、野田雅博：下気道感染症罹患児におけるウイルス検出状況と臨床像．第 59 回日本感染症学会東日本地方会学術集会．東京都新宿区. 2010. 10.

46）中村奈緒美ら： Epidemiological Trends of Imported Dengue Cases in Japan. 第 14 回日本渡航医学会．奈良県奈良市. 2010. 10

47）大平文人ら：Malaria cases in Japan; Changes in the number of reported cases and estimated incidence by destination country. 第 14 回日本渡航医学会．奈良県奈良市. 2010. 10.

48）古宮伸洋ら：Salmonella Typhi and Salmonella Paratyphi A surveillance in Japan, 2007-2009. 第 14 回日本渡航医学会．奈良県奈良市. 2010. 10.

49）関谷紀貴ら：Enteric Fever among Japanese Travelers in an Urban Healthcare Setting. 第 14 回日本渡航医学会．奈良県奈良市. 2010. 10.

50）梅山秀明、小松克一郎、山本理恵、高谷大輔、加納和彦、寺師玄記、岩舘満雄、竹田-志鷹真由子: 複合体タンパク質モデリングと生物情報学的リガンドドッキングの統合:integrated-FAMS. 第 38 回構造活性相関シンポジウム．徳島県徳島市. 2010. 10.

51）大日康史、菅原民枝、岡部信彦：新型インフルエンザ対策としての「学校欠席者情報収集システム」．第 57 回日本学校保健学会．埼玉県坂戸市. 2010. 10.

52）菅原民枝、大日康史、岡部信彦：学校欠席者・保育園欠席者発症者サーベイランスによる記録、連携、早期探知の感染症対策．第 57 回日本学校保健学会．埼玉県坂戸市. 2010. 10.

53）菅原民枝:インフルエンザ流行に備えた薬局サーベイランスと学校欠席者サーベイランスの複合リアルタイムサーベイランスの試み．第 48 回病院管理学会．広島県広島市. 2010. 10.

54）土橋酉紀:特別養護老人ホームにおける肺炎球菌感染症事例．第 69 回日本公衆衛生学会総会．東京都千代田区. 2010. 10.

55）土田賢一:感染症発生動向調査事業における定点医療機関の代表性に関する検討．第 69 回日本公衆衛生学会総会．東京都千代田区. 2010. 10.

56）菅原民枝、大日康史、安井良則、谷口清州、岡部信彦：インフルエンザ流行に備えた記録、連携、早期探知を一元化した発症者サーベイランス．第 69 回日本公衆衛生学会総会．東京都千代田区. 2010. 10.

57）太田晶子，永井正規，橋本修二，川戸美由紀，村上義孝，多田有希，重松美加，安井良則，谷口清州： 感染症発生動向調査に基づく検討　第 1 報　新型インフルエンザ流行時の警報注意報発生．第 69 回日本公衆衛生学会総会．東京都千代田区. 2010. 10.

58）川戸美由紀，橋本修二，太田晶子， 永井正規，村上義孝，多田有希，重松美加，安井良則，谷口清州： 感染症発生動向調査に基づく検討　第 2 報　新型インフルエンザの患者数推計．第 69 回日本公衆衛生学会総会．東京都千代田区. 2010. 10.

59）多屋馨子:ワクチンと VPD(vaccine preventable disease)に関する最近の話題．第 69 回日本公衆衛生学会総会．東京都千代田区. 2010. 10.

60）谷口清州．バイオテロにおける異常事態の早期発見．第 47 回日本犯罪学会総会．東京都新宿区.2010. 11.

61）安井良則、岡部信彦: パンデミックインフルエンザ 2009（疫学調査、発生動向調査結果を踏まえて）．第 58 回日本ウイルス学会学術集会市民公開講座．徳島県徳島市. 2010. 11.

62）新井智、永野昌博、浅川満彦、木村敏之、近真理奈、多屋馨子、森川 茂、岡部信彦、Richard Yanagihara：EVOLUTIONARY INSIGHTS FROM THE GENETIC DIVERSITY OF ASAMA VIRUS IN THE JAPANESE SHREW MOLE (*UROTRICHUS TALPOIDES*). 第 58 回日本ウイルス学会学術集会．徳島県徳島市. 2010. 11.

63）林昌宏、藤本嗣人、小長谷昌未、モイ メンリン、小滝徹、倉根一郎、高崎 智彦：近年のチクングニヤ熱の流行と迅速診断法の検討．第 58 回日本ウイルス学会学術集会．徳島県徳島市. 2010. 11.

64）中村雅子、平野映子、小和田和誠、石畝史、望月典郎、藤本嗣人、花岡希、岡部信彦：アデノウイルス 54 型

と 53 型の福井県への侵淫状況. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会. 徳島県徳島市. 2010. 11.

65）椎野禎一郎、貞升健志、長島真美、服部純子、杉浦亙: 国内感染者集団の大規模塩基配列 1: CRF01_AE の動向と微小系統群の同定. 第 24 回日本エイズ学会学術集会総会. 東京都港区. 2010. 11.

66）山本久美、多屋馨子、岡部信彦: 自治体における水痘ワクチンの公費助成の取り組みに関する調査. 第 42 回小児感染症学会. 宮城県仙台市. 2010. 11.

67）多屋馨子：ご存じですか?こんなに多くの子ども達がワクチンで予防可能な感染症に苦しんでいます！. すべての子どもに希望する予防接種を！ 日本小児科学会主催予防接種フォーラム in 郡山. 福島県郡山市. 2010. 12.

68）花岡希、島田智恵、佐藤弘、岡部信彦、藤本嗣人：リケッチア症の情報発信に関する一考. 第3回日本リケッチア症臨床研究会・第１７回リケッチア研究会合同研究発表会. 滋賀県大津市. 2011. 1.

69）大日康史：APEC・COP10 でのバイオテロ対策としての強化サーベイランス: 集団災害医学会. 大阪府大阪市. 2011. 2.

70）多屋馨子:ワクチンで予防可能ウイルス疾患の抗体検査. 第 26 回日本環境感染学会総会. 神奈川県横浜市. 2011. 2.

２０．エイズ研究センター

センター長　佐多 徹太郎（～H22.10.31）

俣 野 哲 朗（H22.11.1～ ）

概　要

エイズ研究センターは、HIVの属するレトロウイルスに起因する感染症を対象とし、その疾病制圧に向けた研究を推進している。特に、世界三大感染症の一つであるHIV感染症の克服に結びつく研究の推進を主目的とし、わが国のエイズ対策研究において中核的役割を果たしてきた。

1981年、米国でエイズ症例の最初の報告がなされて以来、既に30年の歳月が流れている。この間の科学の進歩はめざましく、抗HIV薬開発も進展したが、未だに世界のHIV感染者数は3000万人を超え、毎年200万人近くの方がエイズにより亡くなっていると推定されている。このように世界のHIV感染拡大は極めて深刻な状況にあるが、国内に目を向けても、HIV感染者数増大は加速する傾向にあり、憂慮すべき事態である。当センターは、このHIV感染症の克服に向けたエイズ対策研究拠点として、総合的な戦略研究を推進している。

HIV感染症対策としては、衛生行政・国民への啓発等の社会的予防活動に加え、ワクチン、抗HIV薬を含めた総合戦略が重要である。症状の潜伏期間の長いHIV感染症では社会的予防活動のみによる封じ込めが困難であることから、グローバルなHIV感染拡大阻止の切り札として予防ワクチン開発は鍵となる戦略である。一方、国内のHIV感染症対策としては、上記のグローバルな視点での取り組みおよび国外の疫学情報収集に基づく国内への感染拡大の抑制に加え、国内の社会的予防活動の強化およびHIV感染者の治療法の向上を中心とする総合的かつ持続的な戦略が求められる。そこで当センターでは、「グローバルなHIV感染拡大阻止に必要な予防エイズワクチン開発」、「HIV感染者に対する治療法の向上」、「国内の施策の基盤となる情報獲得」の３点を主目的とする研究を推進している。

予防エイズワクチン開発を目的とする研究としては、優れたエイズモデルを構築し、この系を用いてHIV持続感染成立阻止に結びつく免疫機序の解明研究を展開するとともに、エイズワクチン開発を進めている。特に、世界有数の優れた細胞傷害性Tリンパ球誘導能を有するセンダイウイルスベクターを用いたワクチンについては、国際エイズワクチン推進構想を中心とする国際共同臨床試験プロジェクトが進展中である。

HIV感染者の治療に関しては、国内の抗HIV薬治療患者検体の解析により、薬剤耐性株の出現・伝播についての調査を進め、臨床へのフィードバックを含め成果を得てきた。これらの解析を継続・発展させるとともに、新規治療薬開発に向けて、HIV複製・感染病態の分子生物学的解析を進め、治療標的となる機序・因子の同定を推進中である。

国内施策の基盤情報獲得に向けては、まず国内の診断・検査技術の向上および精度管理に関して中心的役割を果たしてきており、今後も精度の高い診断体制の確立に貢献していく予定である。さらに、国内外の疫学的調査研究を推進し、これまで特にアジア諸地域の疫学情報を得てきた。また、当センターで構築した感染性分子クローン樹立系は、各HIV株の増殖能等の解析のための基本技術として有用である。一方、HIV流行地域であるアフリカ・アジア等を対象とし、その診断検査技術向上を目的として、国際協力機構の協力によるHIV感染診断技術に関する国際研修を年一回開催している。厚生労働省、文部科学省等の研究費による班研究等にも多数参加している。

以上のように、エイズ研究センターは、研究の推進ならびにその成果の国内外への発信・導入により、わが国における HIV 感染拡大防止および HIV 感染者・エイズ患者の QOL の向上、さらには世界の HIV 感染症の克服に貢献することを目標としている。

なお、平成 22 年 3 月 31 日に前センター長の山本直樹が退職後、4 月 1 日より 10 月 31 日まで佐多徹太郎感染病理部長がエイズ研究センター長を併任し、平成 22 年 11 月 1 日より俣野哲朗がエイズ研究センター長に着任した。これまでのセンターの実績に基づく研究の推進に加え、新たな研究システムを導入した研究体制の構築・発展を進めている。平成 22 年 4 月 1 日に石川晃一主任研究

官が休職より復職し、草川茂主任研究官と藤野真之研究員が休職中である（平成 21 年 4 月 1 日より平成 24 年 3 月 31 日まで)。当センターの運営においては、渡邉治雄所長､倉根一郎副所長､岡部信彦感染症情報センター長、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の方々の協力を得た。

業　績

調査・研究

I. 予防エイズワクチン開発に関する研究

1. HIV 感染免疫動態に関する研究

(1) 抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球(CTL)のウイルス複製制御能の解析

HIV 複製抑制に結びつく免疫機序の同定は、予防エイズワクチンを初めとする新規予防・治療法の開発に重要である。本研究では、HIV 複製抑制に結びつく抗原特異的 CTL の同定に向け、各種抗原特異的 CTL のウイルス複製抑制能の解析を進めることとした。これまでのサルエイズモデルでのワクチン実験で獲得したサル免疫不全ウイルス（SIV）複製制御サル群における SIV 各種抗原特異的 CTL レベルと CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能の相関の有無を検討し、Vif 抗原特異的 CTL レベルが SIV 複製抑制能と相関することを明らかにした。この結果は、有効な CTL の標的抗原として､これまで示唆されてきた Gag 抗原に加え、新たに Vif 抗原も有力候補であることを示唆するものとして極めて重要であり、エイズワクチン至適抗原選択のための基盤確立に結びつくことが期待される。

［岩本 南、石井 洋、高橋尚史、俣野哲朗］

(2) ウイルス複製制御個体における CTL 反応の動的変化の解析

HIV 複製制御維持に関与する CTL 反応動態の解明に向け､我々がこれまでに樹立した SIV 複製制御維持群（ワクチンにより SIV 複製制御に至る MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群）における CTL 反応を解析した。このワクチン接種サル群では、Gag206-216 および Gag241-249 エピトープ特異的 CTL が野生型 SIV の複製制御に中心的役割を担っており、上記 CTL からの逃避変異を有する変異 SIV チャレンジを制御することができない。しかし、ワクチン接種後の野生型 SIV チャレンジを制御できたサルの慢性期に変異 SIV をスーパーチャレンジしたところ感染が防御された。これらのサルではより多様な SIV 抗原を認識しうる広汎な CTL 反応が誘導され､培養細胞系で変異 SIV の複製抑制能力を有する CTL が誘導されることが判明した。この広汎化機序の解明により、広汎な CTL 誘導法の開発に結びつくことが期待される。

［岩本 南、俣野哲朗］

(3) CTL 逃避変異の経時的変化の解析

CTL 逃避変異の解析は、宿主 CTL 反応とウイルス複製との相互作用の理解に重要である。平成 22 年度には、サルエイズモデルの SIV 感染慢性期の解析から、ある Gag エピトープ特異的 CTL 逃避変異の置換という現象を見出した。この結果は、CTL が逃避変異選択の後も間接的にウイルス複製抑制に貢献しうることを示すものとして注目される。なお、この変異は Gag カプシド（CA）蛋白 N ドメインのアミノ酸置換を生じウイルス複製能の低下に結びつくが、その N ドメインのアミノ酸と分子間相互作用する CA 蛋白 C ドメインのあるアミノ酸の置換により、その複製能が回復することが判明した。

［稲垣奈都子（東京大学)､武内寛明（東京大学)､野村拓志、中根 拓、山本浩之、梁 明秀、横山 勝（病原体ゲノム解析研究センター)、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター)、成瀬妙子（東京医科歯科大学)、木村彰方（東京医科歯科大学)、俣野哲朗］

(4) 多様なエイズウイルス株の感染を制御する宿主応答の解析

糖鎖欠失変異によって弱毒化した SIV を生ワクチンとして用い、その感染制御における防御免疫の解析を行った。チャレンジウイルスとしてサブタイプの異なる高病原性の SIVsmE543-3 を用いた。11 頭すべてのワクチン感作サルは、MHC の遺伝子型の多様性にもかかわらず初期感染を制御した。そのうち 7 頭では感染防御が 80 週以上維持された。しかしながら、4 頭では N 型糖鎖付加部位の増加が認められる変異ウイルスが出現した。 7 頭の感染防御群と 4 頭の非感染防御群の解析から、感染防御群では、ワクチン接種前から慢性感染期を通して抗原非存在下で IL-15 に応答して IFN-γ産生や CD107a を発現する CD8+T 細胞と NK 細胞数の頻度が高いという結果が得られた。CD8+細胞をエフェクターとした ex vivo virus inhibition assay でのウイルス増殖抑制は、IL-15 の添加により増強された。この増強は個体差に影響されるが、CD8+T 細胞に対してだけではなく、NK 細胞に対しても認められる結果となった。従って、生ワクチンによる感染防御免疫獲得とその維持には、IL-15 応答性 CD8+細胞（CD8+T 細胞、NK 細胞）が関与しており、その背景には宿主免疫の遺伝的素因が影響していることが示唆された。

［齋藤陽平、森 一泰］

2．HIV 粘膜感染に関する研究

(1) 霊長類 in situ 器官組織培養（直腸・膣・回腸パイエル板等）システムの構築と個体レベルにおける粘膜感染の実態解明に関する研究

既存の霊長類を用いた経膣感染モデルのように cell free virus のみを用いた経膣感染モデルを構築するのではなく、より実際の HIV 感染実態を反映した霊長類経膣感染モデルを本邦において構築し、真の HIV 粘膜感染の実態を明らかにすることを目的としている。これまでにサル膣-子宮組織の形態学的な観察によって、内子宮口組織がウイルス感染に重要な領域であるという結果を得ていたが、本年度は以下の知見を得た。

1) 中国産旧世界サルの性周期に伴って、ヒトと同様に生理的内子宮口ヘルニアがおこることを初めて明らかにできた。
2) 精液を中国産旧世界サルの膣内に導入すると、粘膜直下に SIVmac239 の標的細胞である CD4+CCR5+T 細胞が誘導されることを明らかにできた。
3) 中国産旧世界サル由来の精子は、SIVmac239 と直接結合できることを明らかにした。

［仲宗根正、高橋義博（新日本科学）、高宗暢暁（熊本大学）、庄司省三（熊本大学）、三隅省吾（熊本大学）］

(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頭について頻回のウイルス低量曝露と攻撃曝露を再々度繰り返したが、２頭で CD4 細胞数が保持された。すなわち感染防御免疫あるいは発症予防免疫等が誘導されている可能性を再確認した。この２頭のうち１頭は感染成立が確認されるも、残りの１頭では非感染が完全には証明できていない。すなわちウイルス曝露非感染サルモデルの確立には至っていない。しかしながら、同様にその重要性が認識されているウイルス感染長期未発症サル・モデルを得たと考えている。

［仲宗根正、山本直樹（国立シンガポール大学）］

3．ウイルスベクターを用いたエイズワクチン開発

(1) センダイウイルスベクターワクチンに関する研究

我々が開発してきたセンダイウイルス（SeV）ベクターを用いた CTL 誘導エイズワクチンは、SIV 感染サルエイズモデルで初めて有効性を示した点で注目され、接種者全員への効果は期待できないものの集団レベルでの HIV 感染拡大抑制効果の期待のもと、国際エイズワクチン推進構想（IAVI）を中心とする国際共同臨床試験プロジェクトが進展中である。本研究では、このデリバリーシステムの最適化を目的とした研究を進めている。平成 22 年度には、サルモデルにて、SeV ベクターの接種経路として従来から行ってきた経鼻接種に加えて筋肉内注射（筋注）の検討を行い、筋注の場合、CTL 誘導は可能ではあるが、抗 SeV 抗体存在下では CTL 誘導が妨げられることを示した。一方、経鼻接種では抗 SeV 抗体存在下でも CTL 誘導を認め、SeV ベクターワクチンの接種経路として経鼻接種が有利であることを確認した。この結果から、臨床応用の障壁の一つとして留意すべき抗ベクター抗体の問題については克服できると考えられた。

［守屋智草（東京大学）、栗原京子、井上 誠（ディナベック（株））、飯田章博（ディナベック（株））、原 裕人（ディナベック（株））、朱 亜峰（ディナベック（株））、長谷川護（ディナベック（株））、保富康宏（医薬基盤研究所）、俣野哲朗］

(2) BCG ベクターワクチンに関する研究

ア．HIV Env および Gag 発現組換え BCG 株のマウスでの免疫誘導能評価

組換え BCG エイズワクチンによる HIV 特異的 CD8 陽性 T 細胞誘導能を簡便かつ定量的にモニターできるアッセイ法として、HIV-1 Env (V3 領域)および Gag (p24 領域)特異的 MHC ペンタマーアッセイ法(マウス H2d)を確立した。この系で HIV Gag を高発現する BCG 株を評価したところ、抗酸菌に対する自然抵抗性を持たない Balb/c マウスでは組換え BCG の一回の投与では、Gag 特異的ペンタマー陽性細胞は検出できなかったが、同じ MHC class I と抗酸菌自然抵抗性を持つ DBA/2 マウスでは、投与後２週で有意なペンタマー反応性細胞が検出できることがわかった。組換え BCG の細胞性免疫誘導能評価を短期間でできる点で有用である。

一方、種々の抗酸菌由来シグナル配列に HIV-1 *env* 遺伝子を繋ぎ、BCG で安定に発現できる系を探索したところ、BCG 由来βラクタマーゼ遺伝子のシグナルに gp120 遺伝子を繋いだ場合に、最も安定に発現できることがわかった。この組換え BCG の免疫誘導能を Balb/c マウスでの細胞内サイトカイン染色法で調べたところ、単独の投与では有意な Env 特異的インターフェロンγ産生細胞が検出できなかったが、Env gp140 発現ワクシニア DIs でブーストすることにより、産生細胞が検出され、組換え BCG によるプライミング効果が確認できた。
［堀端重男、横溝香里、森 一泰、松尾和浩］

イ．SIV *env* および *rev-tat-nef* 遺伝子発現組換え BCG 株の構築と、ワクシニア LC16m8Δとのプライムブーストワクチンの免疫誘導能評価

前年度に報告した、コドン至適化 SIV Gag 発現株に加え、さらに広範な CTL エピトープに対する細胞性免疫誘導を目指して、SIV *env* gp120, *pol* RT, 及び Rev-Tat-Nef 融合蛋白質遺伝子をそれぞれ発現する BCG 株の構築を試みた。RT は発現レベルが低く実用的ではなかったが、gp120 および Rev-Tat-Nef については著量発現する BCG 株が取得できた。この２種に加え、既に報告したコドン至適化 SIV Gag 発現株の３種をカクテルにして（0.5 mg ずつ）アカゲザル２頭に皮下接種し、同じ遺伝子を発現するワクシニア LC16m8Δ株（10^7 pfu）を１回ブーストし、Gag および Rev-Tat-Nef 特異的な CD4+および CD8+T 細胞の誘導を確認した。特に免疫群の１頭の CD8+細胞に、非常に強い in vitro SIV suppression 活性が認められた。再度ワクシニアでブースト後、SIVmac 251 の経粘膜チャレンジを行う。
［松尾和浩、横溝香里、堀端重男、森 一泰、五十嵐樹彦（京都大学ウイルス研究所）、志田壽利（北海道大学遺伝子病制御研究所）］

4．粘膜免疫アジュバントに関する研究

(1) キトサンデリバティブの粘膜免疫能に関する研究

これまでに各種キトサンおよびキチン関連物質のアジュバント活性をマウスおよびカニクイサルの経鼻投与の接種実験で解析してきた。その中でキトサン微粒子およびカチオンカキトサンの経鼻免疫アジュバントとしての有効性結果を抗体産生能を指標に確認した。また、マウスおよびカニクイサルにおいて副作用等は認められていない。ただし、その使用量は粘膜免疫アジュバントの陽性コントロールに使用したコレラ毒素（CT）の 20 倍程度が必要であることから、今後、アジュバントとしての投与量の減量化が求められる。さらにキトサン関連物質の細胞性免疫能の誘導能に関しても検討したい。
［石川晃一、小林 丘、福島健司（大日精化工業（株））、滝口泰之（千葉工業大学）］

II．HIV 感染者の治療法に関する研究

1．HIV 複製機序に関する研究

(1) Rab 蛋白質とそのエフェクター蛋白質の HIV-1 複製における機能解析

細胞内小胞輸送を担う蛋白質の一つであるRab蛋白質に着目し、HIV-1複製における機能解析を進行中である。今年度はRab11に焦点を絞り、HIV-1粒子形成における役割について検討した。内在性Rab11恒常的ノックダウン293T細胞にHIV-1分子クローンをトランスフェクトしたところ、ウイルス蛋白質の発現やウイルス放出効率に大きな影響は認められなかったが、産生されたウイルス粒子の感染価の低下が認められた。一方、293T細胞とHeLa細胞を用いてRab11のドミナントネガティブ変異体と恒常活性型変異体を一過性に強制発現した場合においても、ウイルス蛋白質の発現やウイルス放出効率に大きな影響を与えることなしに発現させた変異体の用量依存的に産生ウイルスの感染価の低下が観察された。以上の結果は、Rab11が感染性HIV-1粒子形成に関与することが示唆している。
［竹村太地郎、呉 鴻規、川又美弥子、鶴岡幹大、村上 努］

(2) HIV-1 複製におけるサイクロフィリン A の機能解析

HIV-1 複製における CypA の機能を解明することを目的として、まず CypA 非依存的に増殖可能な変異 HIV-1 の分離と変異の同定を行った。NL4-3、CypA 非結合型 NL4-3 をサイクロスポリン A 存在／非存在下で Jurkat 細胞に感染し継代培養を行った。ウイルス増殖が確認された感染細胞から抽出したウイルス DNA の Gag 領域の塩基配列解析の結果、既報の CypA 結合部位と異なる領域が CypA の機能に関与することが示唆された。現在、得られた変異を NL4-3 のバックボーンに戻して増殖能の解析を行っている。さらに、異性化酵素活性欠失変異 CypA を用いた機能解析も進行中である。異性化酵素活性を欠失した変異体発現プラスミドを作製し、shRNA を用いて内在性 CypA をノックダウンした 293T 細胞株にこれらの変異体を強制発現させ、HIV-1 感染前期過程に及ぼす影響を検討中である。
［竹村太地郎、川又美弥子、村上 努］

(3) T 細胞における HIV-1 抵抗性遺伝子のスクリーニング

HIV-1 複製は多くの宿主−ウイルス相互作用のうえに成立している。HIV-1 複製を制御する宿主因子の同定と作用機序の解明はウイルス学・細胞生物学的観点からも意義深い。我々はこれまでに T 細胞を用いた HIV-1 抵抗性遺伝子の機能的スクリーニング系を樹立し、HIV-1 複製制御メカニズムに関する解析を行ってきた。今回我々はヒト末梢血由来単核球から得られた cDNA ライブラリーの中からウイルス複製後期過程を標的とする新たな宿主因子として ARHGDIB/LyGDI を同定した。複数のヒト CD4 陽性 T 細胞株に ARHGDIB/LyGDI を発現増強させると HIV-1 複製抵抗性が再現された。内在性の ARHGDIB/LyGDI 遺伝子発現を抑制すると HIV-1 複製の効率が増大した。ウイルス感染初期過程が ARHGDIB/LyGDI により抑制され、そのメカニズムは RhoA や Rac1 の機能が阻害されることによりウイルスレセプターの集合および膜融合の過程が障害されるためであることが示唆された。本遺伝子は過去に行われた大規模な遺伝的スクリーニングで抗 HIV-1 活性を持つ遺伝子として同定されていない。これは我々の T 細胞に根ざした実験系が他の実験系を補完できる優れた系である事を示している。ARHGDIB/LyGDI による HIV-1 複製制御メカニズムの解明は宿主−ウイルス相互作用の理解を深めるだけでなく新たな抗 HIV-1 戦略の開発にも役立つと期待される。

［駒野 淳、浦野恵美子、市川玲子、森川裕子（北里大学）、山本直樹、渡部匡史（京都大学）、小柳義夫（京都大学）］

２．HIV 感染病態に関する研究

(1) 遺伝子発現プロファイル解析によるエイズウイルス感染制御に関わる宿主遺伝子の探索

糖鎖修飾変異株Δ5G は、野生株 SIVmac239 によるチャレンジ感染をほぼ完全に制御する防御免疫を誘導する。そのワクチン効果は、ウイルスの多様性および変異性にも対応することから、Δ5G 感染モデルは HIV ワクチン開発研究に必要な防御免疫の解明に重要な役割を果たすことが期待される。本研究は、Δ5G 感染により誘導される宿主応答を解析し、SIV 感染防御に働く宿主応答を理解することを目的とする。これまでの研究から、細胞性免疫、液性免疫のいずれも感染防御との相関が見られなかった。Δ5G 感染により誘導される多様な SIV の感染を抑制する宿主応答は、新たなウイルス感染制御の機序による可能性が考えられる。そこでアカゲザル遺伝子発現プロファイルの解析により、Δ5G 感染ザル、チャレンジ感染を制御したサルに特異的に発現が異なる遺伝子を同定し、感染制御との関係を明らかにする。本年度は、末梢単核球に発現する遺伝子発現の有用性、解析方法の検討を行った。Δ5G 感染、チャレンジ感染防御に伴って誘導される遺伝子プロファイルの解析のために、未感染ザル、ワクチン未接種ザルへの SIVmac239 感染を比較解析群とした。HIV/SIV 感染の発症機構との関連が示唆される感染による自然免疫系の活性化と関連して SIVmac239 感染に特異的な I 型インターフェロン誘導遺伝子群、ケモカイン遺伝子群、TLR 遺伝子群の発現の上昇、Δ5G 感染特異的な発現の相違が明らかとなった。Δ5G 感染の慢性期における非常に低レベルの感染と関連する免疫細胞として Treg の役割が示唆された。さらにウイルス感染制御に働く免疫細胞として NK 細胞の重要性が示唆する結果が得られた。

［佐藤洋隆、森 一泰］

(2) エイズリンパ腫の病態解明と予防法開発に関する研究

HIV-1 感染者やエイズ患者における死因の上位に位置するエイズリンパ腫の約半数が EBV 陽性であるため、リンパ腫の原因となるエプスタイン-バーウイルス(EBV)に対して特異的な分子治療標的の同定は HIV 感染者の予後を改善するために非常に重要である。潜伏感染細胞での EBV ゲノム維持にはウイルスタンパク質 EBNA1 が必須である。我々は、EBV 陰性細胞への野生型 EBV 新規感染における dominant-negative EBNA1(dnE1)の影響について解析した。dnE1 は新規野生型 EBV 感染に際し、悪性形質に関与する主な EBV 遺伝子発現を阻害することが示唆された。一方、リンパ腫の病態形成には腫瘍細胞が産生するサイトカインが大きな役割を持つ。EBV の感染により、発現が誘導されるサイトカインの同定を試みた。我々は I 型感染様式で 5 つのサイトカイン IP-10、IL-10、CCL3/4/22 が誘導されること、Ⅲ型潜伏感染様式ではこれらに加えて IL-8/13、PDGF-AA、CCL5 が誘導されることを明らかにした。これらは診断・予後マーカーとして利用価値が高いだけでなく、病態形成への寄与が強く疑われ、治療標的としての潜在性も秘めている。IP-10、CCL3/22 は EBV 感染が未知のメカニズムで発現誘導する新しい学術的知見である。以上の研究はエイズリンパ腫の病態形成を理解し、その治療・予防法の基盤を提供するものとして期待される。

［駒野 淳、刈屋祐美、宮内浩典、浦野恵美子、浜武牧子、吉山裕規（北海道大学）、清水則夫（東京医科歯科大学）］

(3) 抗 HIV-1 療法中の CTL 反応の解析

抗 HIV 薬多剤併用療法（HAART）により HIV 感染者

の体内ウイルス量は低下するが、CTL 反応もこのウイルス複製抑制に関与している。本研究では、体内抗原量の低下を伴う HAART の HIV 特異的 CTL 反応への影響を、サルエイズモデルにて解析した。SIV 感染サルにおいて抗 HIV 薬投薬システムを導入し、3 ヶ月間の HAART を行って HAART 開始後の体内ウイルス量の低下および HAART 終了後の体内ウイルス量の上昇（ウイルス血症再出現）を確認した。また、SIV 特異的 CTL レベルについても、HAART 開始後の低下ならびに HAART 終了後の上昇を確認した。各抗原特異的 CTL 反応の解析では、HAART 前後で CTL 反応の優位性のパターンに特に変化を認めなかった。

［高原悠佑、中村 碧、松岡佐織、三浦智行（京都大学）、五十嵐樹彦（京都大学）、俣野哲朗］

3. 薬剤耐性に関する研究

(1) 抗 HIV-1 療法中の HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成 8 年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施している。解析を行った検体は平成 23 年 3 月の時点で累積 8624 検体に達している。尚、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、我々のところで実施する検体は、精査目的、経済的理由、そして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 年度以降の解析検体数は保険収載前と比較して大幅に減少した。cART の進歩により薬剤耐性獲得の為に治療に失敗する症例数が減少し、送付される検体の多くは初診時もしくは治療開始時のものが多くなった。また本年度からは薬剤耐性検査に加えて HIV のケモカインレセプター指向性を評価するために gp120 C2V3 領域の配列解析を開始した。

［杉浦 亙、宮崎菜穂子、鈴木寿子、西澤雅子、服部純子（名古屋医療センター）、岩谷靖雅（名古屋医療センター）、正岡崇志（名古屋医療センター）］

(2) 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

ア．高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療患者における微少集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法(高感度法)で新規未治療 HIV/AIDS 症例中の微少集族薬剤耐性変異の検出を試みた。逆転写酵素阻害剤耐性変異の M41L、K65R、K70R、K103N、Y181C、M184V、T215Y/F の 8 変異（CRF01_AE では K65R を除く 7 変異）を解析対象とした。（独）名古屋医療センターで 2008 年～2009 年にかけて薬剤耐性検査を行った 184 例（サブタイプ B : 174 例、CRF01_AE：10 例）について高感度法による微少集族薬剤耐性変異の検出を試みた。2008 年の新規未治療サブタイプ B 患者検体 82 例からは通常法で T215Y 2 個、K219R 1 個、K219Q 1 個が検出され、薬剤耐性変異の検出率は 4.9%だった。この検体を高感度法で検査した結果、M41L が 1 個、K65R が 2 個、K70R が 1 個、M184V が 1 個の計 5 つの薬剤耐性変異が微少集族薬剤耐性変異として新たに検出された。2009 年新規未治療サブタイプ B 患者検体 92 例からは通常法で K103N が 1 個、T215S が 2 個、T215L が 3 個検出され、薬剤耐性変異の検出率は 6.5%だった。同じ検体を高感度法で解析した結果 K65R が 1 個、K70R が 1 個新たに検出された。2008 年新規未治療 CRF01_AE 患者検体 5 例から 3 個の M41L が微少集族薬剤耐性変異として検出された。2009 年の新規未治療 CRF01_AE 患者検体からは通常法でも高感度法でも薬剤耐性変異は検出されなかった。薬剤耐性変異の検出頻度は通常法の結果に高感度法を合わせると、2008 年サブタイプ B では 4.9%から 11.0%に、2009 年サブタイプ B では 6.5%から 8.7%に上昇した。K103N や K65R は、抗 HIV 治療に多く用いられる Efavirenz や Tenofovir に対して高い耐性を与える変異であり、効果的な治療を行う上で抗 HIV 治療開始前に微少集族薬剤耐性 HIV を解析する事は重要と思われる。

［西澤雅子、服部純子（名古屋医療センター）、Jeffrey Johnson（米国疾病対策局）、Walid Heneine（米国疾病対策局）、杉浦 亙］

イ．高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微少集族薬剤耐性 HIV の動態と HAART 治療効果との相関についての研究

長期間に渡って薬剤治療を受け、多剤耐性に陥った HIV/AIDS 症例のサンプル中に微少集族として存在する薬剤耐性変異を高感度法によって解析した。長期間（5 年以上）に渡って HAART を受け、治療途中で薬剤変更と薬剤耐性変異のパターンに変化が見られた症例を検査対象として 10 症例選択し、その中から 1.採血ポイントが 20 点以上、2.各採血ポイントの間隔が半年以内、3.治療途中で薬剤の変更が 1 回以上ある。の条件を満たした 3 症例を選択し、微少集族薬剤耐性変異の検出・経時的変化について解析した。その結果 3 症例中 2 症例から微少集族として存在する薬剤耐性変異を高感度法によって検出した。1 例は抗 HIV 治療途中で Efavirenz を含む HAART が失敗した症例で、Efavirenz 投与開始後すみや

かに K103N が従来法で検出されるようになった。高感度法による解析の結果、Efavirenz の投与を開始する約 1 年前に K103N が微少集族として既に患者血中に存在していた事が明らかになった。別の 1 例では HAART の抗 HIV 薬変更後速やかに T215I が従来法で検出されるようになったが、高感度法による解析から従来法で検出されるより約 1 年前から T215I が微少集族として患者血中に既に存在していた事が示された。高感度法によって得られた T215I amplicon のシーケンス解析によって、従来法で検出されるよりも 1 年前から微少集族として存在していた T215I は、その時点の従来法で検出された T215I の無いシーケンス配列よりも、1 年後に従来法で検出された T215I をもつシーケンス配列と近縁であることが明らかになった。これは患者血中には従来法では検出できない微少集族薬剤耐性変異が既に存在し、薬剤変更によってその微少な耐性変異が主要な集族として増加して薬剤耐性を示す可能性を示している。これらの結果から、高感度法による微少集族薬剤耐性変異解析を行う事でより効果的な ART を選択できる可能性があると考えられる。
［西澤雅子、Jeffrey Johnson（米国疾病対策局）、Walid Heneine（米国疾病対策局）、杉浦 亙］

(3) ラルテグラビル耐性クローンに対するMAGIC 5 細胞を用いた薬剤感受性試験

HIV 多剤耐性患者症例, HXB2 野生株のインテグラーゼ遺伝子に、インテグラーゼ阻害剤ラルテグラビル (RAL) に対する耐性変異（148K,148R,148H,155H）を導入し、耐性クローンを作成した。これらの耐性クローンを用いて RAL に対する薬剤感受性試験を MAGIC5 細胞による X-gal 染色により行なった。逆転写酵素阻害剤(ＡＺＴ、ＥＦＶ)に対する薬剤感受性試験も行ない比較検討した。その結果、ＡＺＴ、ＥＦＶでは多剤耐性患者症例, HXB2 の野生株と耐性クローン間では薬剤感受性に差が認められなかった。しかし RAL では耐性クローンの薬剤感受性が低下し野生株に比べて耐性レベルが上がっていることが認められた。
［鈴木寿子、西澤雅子、杉浦 亙］

4. 新規治療法開発に関する研究

(1) HIV-1 感染症治療薬の開発に関する研究

HIV-1 感染症の治療薬は薬剤耐性ウイルスの発生や長期服薬毒性等の問題があるため、新たな薬剤の開発が望まれている。HIV-1 が持つ酵素の中で阻害剤が開発されていない唯一の酵素活性として、逆転写酵素に内在する RNaseH 活性がある。我々は HIV-1 の逆転写酵素が持つ RNase H 活性を特異的に阻害する小分子化合物の開発を試み 5-Nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester (NACME) 誘導体を同定した。我々は NACME 誘導体を系統的に合成し酵素と化合物の相互作用に関する理解を深めるとともに、より RNase H 活性を強く阻害する誘導体の合成を進めている。一方、HIV-1 が持つ非酵素の中で Gag を標的とする阻害剤は未だに実用化されていない。我々は Gag の重合を阻害する活性を持つ小分子化合物をスクリーニングし、(2-(benzothiazol-2-ylmethylthio)-4-methylpyrimidine, BMMP が CA を分子標的とする抗ウイルス活性を有することを明らかにした。BMMP は HIV-1 の細胞内侵入を特異的に阻害し逆転写過程を阻害することから、この化合物は premature disassembly を誘導する事により抗ウイルス効果を発揮する事が示唆された。RNase H 阻害剤や Gag 阻害剤は既存の抗レトロウイルス薬が標的としないため、これらは次世代抗エイズ薬として貢献することが期待される。また、既に臨床応用されているインテグラーゼ阻害剤ラルテグラビルは大きな成果を上げているが、薬剤耐性ウイルスが出現していることから、ラルテグラビル耐性ウイルスにも効果を持つインテグラーゼ阻害剤の開発が求められている。我々はペプチドライブラリーからこのような活性を持つ誘導体を２種類同定した。これらを非ペプチド化すれば、薬剤耐性ウイルスにも有効な新たなインテグラーゼ阻害剤を開発する事が可能と期待される。
［駒野 淳、浦野恵美子、市川玲子、柳田浩志（千葉大学）、松元輝礁（千葉大学）、星野忠次（千葉大学）、森川裕子（北里大学）、玉村宏和（東京医科歯科大学）］

(2) 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

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。平成 22 年度は、RH-3955 と KRH-3148（対照薬剤として、AMD3100 と AMD070）を用いた PM1/CCR5-NL4-3 の感染系による薬剤耐性誘導実験（耐性誘導約２年）で得られた感染細胞から DNA を抽出し、HIV-1Env 領域全体を PCR 法にて増幅し、この領域に蓄積された変異を解析した。得られた耐性 HIV-1 株の Env 領域中の V3, V4 領域に共通した変異が認められた。また、いずれの CXCR4 阻害剤から誘導された耐性 HIV-1 由来 Env 組換え株もすべての CXCR4 阻害剤に対して同時に耐性を獲得していた。
［竹村太地郎、川又美弥子、熊倉 成（(株)クレハ）、山崎 徹（(株)クレハ）、前田洋助（熊本大学）、山本直樹（国立シン

ガポール大学)、村上 努]

(3) HIV-1 マトリックスタンパク質（MA）部分ペプチド細胞内導入によるウイルス複製制御に関する研究

HIV-1Gag 蛋白質の構成成分である MA の部分ペプチドに細胞膜透過性を付与して細胞内に導入することにより、ウイルス蛋白質同士やウイルス蛋白質と宿主因子の相互作用に影響を与え、その結果 HIV-1 の複製を阻害できるか否かを検討中である。HIV-1NL4-3 の MA 全長の 132 アミノ酸について、5 残基ずつオーバーラップさせながら 15 残基の部分ペプチドライブラリーを設計し、細胞膜透過性を付与するため、膜透過性配列であるオクタアルギニン配列を各ペプチドの C 末端に付加した。計 26 種の部分ペプチドライブラリーについて細胞毒性試験と抗 HIV-1（X4HIV-1 と R5HIV-1 の両方）活性試験を行った結果、micro M のオーダーで HIV-1 複製を顕著に阻害する部分ペプチドを見出した。興味深いことにこれらの部分ペプチドは MA の多量体化に関与する領域と推定されている。現在、ウイルス複製阻害の詳細な作用機序を解析中である。

[川又美弥子、小森谷真央(東京医科歯科大学)、野村 渉(東京医科歯科大学)、鳴海哲夫(東京医科歯科大学)、玉村啓和(東京医科歯科大学)、村上 努]

(4) 糖鎖修飾中空糸による HIV 除去に関する研究

NEDO「糖鎖機能活用技術開発」プロジェクトのテーマの一つである「糖鎖機能分子利用病原体・毒素除去装置の開発」において(株)DICとの共同研究で糖鎖を固定化した中空糸によるHIV-1の除去方法の可否を検討した。その結果、弱いながらHIV-1との相互作用が報告されているGM3、Gb3を固定化した中空糸ではHIV-1をほとんど除去できないことが明らかになった。しかしながら、糖鎖固定化の基盤として使用したアクリル酸グラフト中空糸や硫酸多糖を固定化した中空糸を使用するとウイルスはあまり除去されないが、処理したウイルスの感染能が顕著に減少することを見出した。今後はその作用機序について検討を予定している

[江原 岳((株)DIC)、川又美弥子、三浦 博((株)DIC)、村上 努]

(5) レンチウイルスベクターの改良に関する研究

レトロウイルス Gag タンパク質の N 末端ミリストイル化は 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。我々は Gag 本来のミリストイル化シグナルを異種のタンパク質の細胞膜輸送シグナルに改変しても Gag 機能が維持されることを明らかにした。これをもとに産生効率が従来より約１０倍に増大した改良型レンチウイルスベクターを開発した。また、N 末端に外来タンパク質を融合させて、偽ウイルス粒子内に取り込ませ、標的細胞に外来タンパク質を送達する新規タンパク質輸送システムを開発した。レンチウイルスベクターはヒト遺伝子治療に今後広く使用されることが期待される。ウイルスベクターの工業的産生に際し、ウイルスベクターの産生量を増大させる本技術は、治療にかかる費用と時間を大幅に減らすために大きく役立つと期待される。また、偽ウイルス粒子によるタンパク質送達は細胞のゲノムを障害することがないため、安全な iPS 細胞の導出や細胞分化誘導への応用が期待される。

[駒野 淳、青木 徹、宮内浩典、浦野恵美子、市川玲子、二橋悠子、濱武牧子、清水佐紀、村上 努、山本直樹]

(6) iPS 細胞を用いた新規治療法開発の試み

ア．ヒト腎上皮細胞からの iPS 細胞の作製とその解析

エイズの遺伝子治療において、患者より採取した HIV 標的細胞の前駆幹細胞に HIV 抵抗性を付与し患者体内に戻す方法は、HIV 非感染幹細胞の量的確保等の技術的な困難に直面している。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し、遺伝子操作した幹細胞を大量調製できる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 細胞に酷似した複数の細胞株の樹立に成功した。それらの細胞株はアルカリホスファターゼ染色陽性であること、免疫蛍光染色により未分化細胞特異的抗原が検出できること、免疫不全マウスを用いたテラトーマ形成実験により *in vivo* での３胚葉への分化能が、培養細胞で *in vitro* での分化能が確認され、多能性を有する iPS 細胞であることが証明できた。更に、RT-PCR による未分化細胞特異的遺伝子の発現解析により、皮膚線維芽細胞由来の iPS 細胞とは異なる発現パターンが確認された。

[阪井弘治、武田 哲、網 康至(動物管理室)、須崎百合子(動物管理室)、山本直樹(国立シンガポール大学)、梁 明秀(横浜市立大学)、松村隆紀(首都大学東京)、宮本寛治(首都大学東京)]

イ．HIV-1 抵抗性遺伝子を導入した iPS 細胞の樹立

iPS 細胞はその名の通り、多能性を持っており免疫系の細胞へも分化が可能である。HIV 感染の治療には免疫系の再構築が重要であるが、現行の HAART ではこれを期待することは難しい。そのため、HIV 感染者・エイズ患者の HIV 非感染の自己組織より iPS 細胞を樹立する。つぎに、iPS 細胞の遺伝子を改変、あるいは新規遺伝子を導入することで HIV に対する抵抗性を付与し、感染者・患者に自家移植することを最終目的として実験を開始した。今回は変異型 APOBEC3G 遺伝子の導入をウイルスベクターを用いて行った。薬剤選択の後、RNA およびタンパクを回収し、RT-PCR およびシークエンス、Western blot により実際に APOBEC3G の変異型を発現する iPS 細胞を樹立することができた。今後、HIV-1 が感染する細胞へと in vitro で分化させ感染実験を行う予定である。

［武田 哲、山本直樹（国立シンガポール大学）］

III. 国内のエイズ対策等の施策基盤構築に関する研究

1. 国内外の HIV-1 流行の疫学的研究

(1) わが国およびアジア地域における同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の分子疫学に関する調査分析とその国際比較

わが国の HIV 新規感染者の約 70%が同性間性接触による。世界および近隣のアジア諸国における MSM 新興・再興流行の急速な拡大の大きな流れの中にあると考えられる。わが国では、80 年代はじめ、欧米の MSM 流行が波及し、その結果、流入した欧米型パンデミック B 株による強力なファウンダー効果により、現在なお欧米型サブタイプ B の圧倒的な優位(>95%)が維持されている。このような特徴は、アジアの先進工業国である韓国にも典型的に見られる。一方、アジアの開発途上国の多くでは、地域の流行に大きな影響を受けている。タイでは CRF01_AE が 75%以上を占める。また、台湾、シンガポールなどでは、サブタイプ B が依然優位を占めるが CRF01_AE の割合が 20%あるいはそれ以上に達している。特に中国では、サブタイプ B に換わって CRF01_AE の拡大が急速に進行しつつある（地域によっては、その割合が 50%以上に達している）。

［武部 豊］

(2) 中国における HIV-1 流行株の遺伝子型分布

2010 年の UNGASS (国連総会) カントリー・リポート (2008-2009 年) においても指摘されているように、中国においては、地域毎に流行拡大の速度、感染経路に関して極めて大きな多様性がある。それを反映し、流行株の遺伝子型分布に関しても顕著な地域差が見られる。中国全体では、CRF07_BC, CRF08_BC, B', CRF01_AE の 4 種が主要な流行株である。大まかにみて、前２者が注射薬物乱用者 (IDU), B'がプラズマ供血経験者 (Former plasma donors, FPDs)、CRF01_AE が異性間感染者 (heterosexuals)に分布する主要なウイルスで、地域的には、それぞれ中国北西部 (Xinjiang), 南東部 (Yunnan, Guangxi, Guangdong), 内陸部 (Henan, Hubei など), 中国沿海部に分布する。しかしこのような傾向は、流行の経過と共に急速に変化しつつある。

［武部 豊、He Xiang（中国 CDC）、Shao Yinming（中国 CDC）］

(3) 中国における HIV-1 サブタイプ B' 株によるプラズマ供血経験者 (FPD)間の流行とその一般集団への播種に関する分子疫学研究

90 年代初めから中頃にかけて、河南省を中心とする中国内陸部において、不法買血 illegal plasma collection によりプラズマ供血経験者 (Former plasma donors, FPDs) の間に、数 10 万人に及ぶ大規模な感染爆発が起った。これは、HIV-1 サブタイプ B'（サブタイプ B のタイ型ヴァリアント）によるものであるが、われわれの分子疫学的解析により、FPD 間のウイルスが、先行する東南アジア地域の注射薬物乱用者 (IDU)に由来し、強力なファウンダー効果を示す特別なサブクラスター（B'FPD と命名）を形成することが明らかとなった。さらに、この地域でみられる異性間性接触による感染者の多くに見出されるサブタイプ B'株も同一のクラスターに属することから、流行が一般集団に急速に移行しつつあることが強く示唆される。

［武部 豊、Li Yue（武漢ウイルス学研究所）、Yang Rongge（武漢ウイルス学研究所）、Han Xiaoxu（中国医科大学エイズ研究センター）、Shang Hong（中国医科大学エイズ研究センター）、He Xiang（中国 CDC）、Shao Yinming（中国 CDC）］

(4) アフリカ地域における HIV/AIDS の疫学的、臨床学的解析

ガーナにおける HIV 感染者の ART(抗ウイルス療法) 治療効果と薬剤耐性、蔓延 HIV 株と病態との関連、HIV サブタイプの解析および他の感染症の蔓延状況の調査結果等を解析している。ガーナ中央部に位置するコフォルディアおよび北部に位置するタマレにある州立病院を拠

点に採血を行い、述べ 1000 人以上より血液材料を採取し、血清ウイルス量、CD4 値、遺伝子解析による薬剤耐性遺伝子変異および HIV サブタイプの同定を行っている。これまで得られている結果としては ART 治療者の 8 割以上はウイルス量が制御されており良好な治療効果がみられる。しかしながら一部の患者感染者には薬剤耐性変異が見られると供にウイルス量が高値を示すものも検出されている。また HIV 感染者の中に 10 数パーセントの B 型肝炎ウイルス感染者が存在することも明らかになり、さらに梅毒の感染者も多数検出された。今後ガーナにおいても第 2 世代の ART(プロテアーゼインヒビター等)の導入も予定されているが、薬剤耐性遺伝子解析はまだ十分に行われておらず、さらには他の感染症との混合感染の問題もあり治療指針等の見直しも必要になると思おわれる。今後さらに詳細にデータを検討し、ガーナにおける HIV 感染者およびエイズ患者の QOL 向上にサポートをしていきたいと考えている。

［石川晃一、杉浦 亙、伊部史朗（名古屋医療センター）、感染症研究国際ネットワーク推進プログラム、ガーナ野口記念医学研究所］

(5) 新規 HIV/AIDS 診断患者における変異の解析

多剤併用療法（combination antiretroviral therapy: cART）が普及した今日、HIV に新たに感染し、未治療にもかかわらず既に薬剤耐性変異を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は先進諸国で 10-15%といわれている。我々は日本における薬剤耐性 HIV の伝播の動向を明らかにするために 2003 年より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ている。薬剤耐性検査ではプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼ領域を、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：273 例、04 年：306 例、05 年：429 例、06 年：457 例、07 年：482 例、08 年：626 例、09 年：635 例、10 年：622 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。薬剤耐性症例の頻度は 03 年：5.9%、04 年：5.4%、05 年：8.0%、06 年：7.0%、07 年：9.9%、08 年：8.3%、09 年：8.5%、10 年：12.5%であった。このように検出される耐性変異保有症例の頻度は年々増加している。また、逆転写酵素阻害剤耐性変異 T215X、K103N、プロテアーゼ阻害剤耐性変異 M46I/L は毎年必ず一定の頻度で検出されており、これらの変異を有する HIV 株は既に流行株となっていることが危惧される。

［杉浦 亙、鈴木寿子、西澤雅子、服部純子（名古屋医療センター）、岩谷靖雅（名古屋医療センター）、松田昌和（三菱化学メディエンス（株））］

2. 検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) 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

著しい多様性を示す HIV-1/2 において分離ウイルスから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-1/2 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で分離された HIV-2 ウイルスに応用して感染性分子クローンを樹立した。

［巽 正志］

ア．In-Fusion 酵素による One-Step HIV-1 Cloning Strategy の樹立

当室では現在まで 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たが、この戦略は One –Cut 制限酵素を見出す過程で難儀する検体も希ながら存在する。汎用性のある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 In-Fusion Cloning 系の感染性分子クローン作成への応用を一昨年度から試みている。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-1/2 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 及び HIV-2 Group A/B で保存されている。これらの特徴を利用して作成したい HIV-1/2 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-1/2 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-1/2 クローンを樹立する方法論である。一昨年度はその樹立効率は実用にはまだ低かったが、昨年度は 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。本年度

はさらに HIV-1 での Primer 設計などの実験条件を精査し、ほぼ高効率に HIV-1 では感染性分子クローンを迅速に樹立することが可能になった。今後は HIV-2/SIV にも応用を目指す。
［巽 正志］

イ．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

当室ではこれ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。特に新しいプロテアーゼ阻害剤として治療に用いられつつある Darnavir に対する耐性ウイルス株由来の感染性分子クローンが樹立された。これらのクローンは薬剤耐性 subtype B の解析と耐性試験標準化に有用であると期待される。
［平野利恵、西澤雅子、杉浦 亙、巽 正志］

ウ．本邦で分離された HIV-2 ウイルスの感染性分子クローンの樹立と解析

これまで第２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。昨今、東海地方で２日本人女性から HIV-2 感染が報告され、感染者数は希であるとしても HIV-2 感染診断のレファレンスとして HIV-2 感染者検体とウイルスの整備が必要となる情勢である。本年度は名古屋医療センターで西アフリカ出身者から分離された HIV-2 ウイルス由来の感染性分子クローンを、上記に述べた In-Fusion 酵素による One-Step HIV-2 Cloning Strategy を試みつつ樹立した。本感染性分子クローンは HIV-2 Group A に属しており、現在全ゲノム配列と、その性状を解析の途上である。
［平野利恵、梅木優子、杉浦 亙、巽 正志］

(2) HIV-RT薬剤感受性迅速試験法の開発

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、これまでに耐性遺伝子超高感度定量法を開発した。しかしながら次世代シークエンサーを用いた絶対的定量法の低コスト化が進み、実用的なレベルに達したため、解析データ量で劣る本法の開発は中止した。今年度は、もうひとつの重要課題である HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法の開発について酵素学的な試験法の確立に取り組み、以下の知見を得た。

1) HIV 治療薬 3TC と Nevirapine(NVP)に対する酵素学的 HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法を開発するため、Real-Time-Amp-RT 法を用いた。
2) 本法では、3TC に対する M184I/V、NVP に対する K103N, Y181C/I, G190A/Q といった変異 HIV-RT の抵抗性をそれぞれ迅速に測定可能であった。
3) 本法の感度と特異度は M184I/V でそれぞれ 97.0%と 96.0%であった。
4) K103N らでは、それぞれ 97.4%と 96.2%であった。

以上のように精度の高い酵素学的 HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法が確立された。
［仲宗根正、Walid Heneine（米国 CDC）、杉浦 亙］

品質管理に関する業務

I. 行政検査

1. 体外診断薬承認前試験

本年度は２件の体外診断薬の承認前試験を行った。
［巽 正志］

II. 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第２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改良さ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。この現状を改善するため日赤より 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 パネルとして整備した。また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た。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 23 年度内の運営実用化に向けて努めている。

［巽 正志、水落利明（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. 国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの特性付け

HIV 感染診断キット及び HIV-1 RNA 定量測定キットの性能も技術革新により多様性に富む様々な HIV-1/-2 株に対応すべく年々改良されている。特に HIV-1 RNA 定量測定キットはキットにより HIV-1 ゲノムの標的領域が異なることから、国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの全ゲノムの配列決定を試みている。今年度はパネル構成全検体の p24 gag 領域の塩基配列を決定し系統樹解析をしたところ、既にパネル整備時に行った p17 gag 及び env C2/V3 領域の系統樹解析と相同な成績が得られた。解析した p24 gag 領域は国内で広く用いられている HIV-1 RNA 定量測定キットの標的領域であることから感染研 HIV 標準パネルの標準品としての価値を高めるものと考えられる。今後は更に他のゲノム領域についても配列決定を進める予定である。

［梅木優子、永井美智、巽 正志］

3. コバス TaqMan HIV-1 「オート」ｖ１による低定量検体への対応

これまで HIV-1 治療効果判定に頻用されているウイルス量の定量測定は、ロシュ・ダイアグノスティックス社のコバス　アンプリコア　モニター v1.5 が標準として用いられてきたが、一昨年度から、より検出範囲が広くなった Real-Time RT-PCR 法を測定原理とするコバス TaqMan HIV-1 「オート」ｖ１が市場に導入され、きわめて希であるがコバス　アンプリコア　モニター v1.5 で定量計測出来ていた患者検体が著しく低く計測される、いわゆる「低定量検体問題」が指摘され、ロシュ・ダイアグノスティックス社は、この「低定量検体問題」に対応してコバス TaqMan HIV-1 「オート」ｖ２．０を申請した。改良点を明瞭に判別する性能試験で用いる「低定量検体」の収集が困難なため、国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルでは既にパネル構成全検体でロシュ・ダイアグノスティックス社の定量測定キットの標的領域である p24 gag 領域の塩基配列を決定し系統樹解析をしていたため、両バージョンの定量計測値の統計処理にて対応した。そののち「低定量検体」１検体の入手ができ改良点を確認できた。このことから国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの更なる特性付け、全ゲノムの配列決定が必要となることが示された。なお該当「低定量検体」ウイルスからも今後のレファレンスとすべく既に感染性分子クローンを樹立した。

［永井美智、近藤真規子（神奈川県衛生研究所）、巽 正志］

4. 各種 subtype/CRF 感染性分子クローン由来大腸菌発現 p24 gag 抗原発現の試み

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可能性の目処は立ちつつあるが、これらの抗原濃度はある抗原測定系で計測した濃度であることから検出感度はあくまでも相対的な評価になる。また感染性分子クローンの発現により得られたウイルスを溶解処理してその感染性を除去しても配布に当たっての取扱いは安全上配慮を要する。そこで大腸菌における HIV-1 p24 gag タンパク抗原の発現と精製を試みている。複数の感染性分子クローンを鋳型に HisTag を付加した p24 gag を発現精製して複数の p24 gag 検出 ELISA 測定系で解析検討をしている。今後は主要な subtype/CRF の p24 gag 精製抗原パネルを整備し、第四世代抗原・抗体同時測定系の抗原感度比較試験における標準とすべく進めていく。

［平野利恵、梅木優子、巽 正志］

5. WHO 主催 3rd HIV-1 RNA 国際標準品作製への参加

本年度 WHO 主催の 3rd HIV-1 RNA 定量測定用国際標準品作製のため１１カ国１５機関の研究室が３標準品候補品を測定することになり、日本では当室が参加し In-House Nested RT-PCR 法と Real-Time RT-PCR 法で測定報告した。各国からの測定値がまとめられ次回に開催される Expert Committee on Biological Standard で討議され国際標準単位を取り決めることとなった。

［巽 正志、水澤佐衛子（血液・安全性研究部）］

国際協力関係業務

I. 平成 22 年度 JICE／JICA とエイズ研究センター共催による JICE 研修員受入事業「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 22 年 6 月 14 日 -7 月 16 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。第３フェーズでは、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た。そして平成20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（またはそれに準ずる組織）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21年度は新型インフルエンザ発生の影響で例年より規模を縮小しての実施であったが、平成22年度は規模を戻し、ボツワナ、中国、ケニア、マラウィ、ミャンマー、ナイジェリア、スワジランド、タンザニア、ジンバブエの９カ国１１名の研修員を対象に、５週間にわたって村山庁舎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ー４名ずつ３班に分けて行った。今フェーズの第１回目で試験的に導入した「PCRワークショップ」も３日間実施した。研修員が主体となり希望するPCR関係の実験や塩基配列解析を行い、学習した実験技術・解析方法の確実な習得を目指した。研修員の積極的な参加を得て高い成果をあげることが出来た。

［村上 努、仲宗根正、杉浦 亙、鈴木寿子、西澤雅子、武部 豊、椎野禎一郎、巽 正志、阪井弘治、武田 哲、森 一泰、石川晃一、駒野 淳、竹村太地郎、佐多徹太郎、杉山和良（バイオセーフティ管理室）、伊木繁雄（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）、水澤左衛子（血液・安全性研究部）、梁 明秀（横浜市立大学）、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）、本多美和子（独立行政法人国立国際医療研究センター）、小柳義夫（京都大学ウイルス研究所）、若杉なおみ（筑波大学大学院生命環境科学研究科）、増田道明（獨協医科大学）、内田茂治（日本赤十字社中央血液研究所）］

II. その他

1. 平成 22 年度 JICE／JICA と熊本医療センター共催による「AIDS の予防及び対策」コース　講師（平成 23 年 3 月 8 日）［駒野 淳］

2. 平成 22 年度 JICE／JICA と熊本医療センター共催による「AIDS の予防及び対策」コース　講師（平成 23 年 3 月 14 日）［武部 豊］

研修業務

1. 湘南学園高等学校見学・研修「麻疹ポリオ、エイズ、マラリア」エイズ担当（平成 22 年 6 月 30 日）［石川晃一］

2. 早稲田大学公開講座「知の市場」感染症総合管理 1a 講師「エイズ／HIV の最新知見」（平成 22 年 7 月 27 日）［村上 努］

3.「第 21 回 HIV-1,2 技術研修会」（平成 22 年度 10 月 7−9 日）［杉浦 亙］

4. 高校生対象のシンポジウム「世界の感染症 2010」アフリカの感染症担当（平成 22 年 11 月 20 日）［石川晃一］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Iwamoto N, Tsukamoto T, Kawada M, Takeda A, Yamamoto H, Takeuchi H, Matano T: Broadening of $CD8^+$ cell responses in vaccine-based simian immunodeficiency virus controllers. AIDS 24: 2777-2787, 2010.
2) Naruse TK, Chen Z, Yanagida R, Yamashita T, Saito Y, Mori K, Akari H, Yasutomi Y, Miyazawa M, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaques. Immunogenetics, 62(9): 601-611, 2010.
3) Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, Yamamoto N, Honda M: Intradermal delivery of recombinant vaccinia virus vector DIs induces gut-mucosal immunity. Scand J Immunol 72: 98-105, 2010.
4) Matsuo K, Yamamoto N: Paradigm change in immune correlation: cellular or humoral? Expert Rev Vaccines 9:

985-987, 2010.

5) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Yoshida S, Watanabe D, Minami R, Sadamasu K, Kondo M, Mori H, Ueda M, Tateyama M, Ueda A, Kato S, Ito T, Oie M, Takata N,Hayashida T, Nagashima M, Matsuda M, Ibe S, Ota Y, Sasaki S, Ishigatsubo Y,Tanabe Y, Koga I, Kojima Y, Yamamoto M, Fujita J, Yokomaku Y, Koike T, Shirasaka T, Oka S, Sugiura W: Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. Antiviral Res 88(1): 72-79, 2010.
6) Hirano A, Takahashi M, Kinoshita E, Shibata M, Nomura T, Yokomaku Y, Hamaguchi M, Sugiura W: High performance liquid chromatography using UV detection for the simultaneous quantification of the new non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor etravirine (TMC-125), and 4 protease inhibitors in human plasma. Biol Pharm Bull 33(8):1426-1429, 2010.
7) Bandaranayake RM, Kolli M, King NM, Nalivaika EA, Heroux A, Kakizawa J, Sugiura W, Schiffer CA: The effect of clade-specific sequence polymorphisms on HIV-1 protease activity and inhibitor resistance pathways. J Virol 84(19): 9995-10003, 2010.
8) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: HIV-2 CRF01_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. J Acquir Immune Defic Syndr 54(3): 241-247, 2010.
9) Saeng-aroon S, Tsuchiya N, Auwanit W, Ayuthaya PI, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Rojanawiwat A, Kannagi M, Ariyoshi K, Sugiura W. Drug-resistant mutation patterns in CRF01_AE cases that failed d4T+3TC+nevirapine fixed-dosed, combination treatment: Follow-up study from the Lampang cohort. Antiviral Res 87(1): 22-29, 2010.
10) Matsuyama S, Aydan A, Ode H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T: Structural and energetic analysis on the complexes of clinically isolated subtype C HIV-1 proteases and approved inhibitors by molecular dynamics simulation. J Phys Chem B 114(1): 521-530, 2010.
11) Murakami T, Yamamoto N: The role of CXCR4 in HIV infection and its potential as a therapeutic target (Review). Future Microbiol 5(7): 1025-1039, 2010.
12) Nakahara, T, Nomura W, Ohba K, Ohya A, Tanaka T, Hashimoto C, Narumi T, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura T: Remodeling of dynamic structures of HIV-1 envelope proteins leads to synthetic antigen molecules inducing neutralizing antibodies. Bioconjug Chem 21(4): 709-714, 2010.
13) Suzuki S, Maddali K, Hashimoto C, Urano E, Ohashi N, Tanaka T, Ozaki T, Arai H, Tsutsumi H, Narumi T, Nomura W, Yamamoto Y, Pommier Y, Komano JA, Tamamura T: Peptidic HIV integrase inhibitors derived from HIV gene products: structure-activity relationship studies. Bioorg Med Chem 18(18): 6771-6775, 2010.
14) Suzuki S, Urano E, Hashimoto C, Tsutsumi H, Nakahara T, Tanaka T, Nakanishi Y, Maddali K, Han Y, Hamatake M, Miyauchi K, Pommier Y, Beutler JA, Sugiura W, Fuji H, Hoshino T, Itotani K, Nomura W, Narumi T, Yamamoto N, Komano JA, Tamamura H: Peptide HIV-1 integrase inhibitors from HIV-1 gene products. J Med Chem 53(14): 5356-5360, 2010.
15) Aoki T, Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tamamura H, Terashima K, Murakami T, Yamamoto N, Komano J: Improvement of lentiviral vector-mediated gene transduction by genetic engineering of the structural protein $Pr55^{Gag}$. Gene Ther 17(9):1124-1133, 2010.
16) Hamatake M, Komano J, Urano E, Maeda F, Nagatsuka Y, Takekoshi M: Inhibition of HIV replication by a CD4-reactive Fab of an IgM clone isolated from a healthy HIV-seronegative individual. Eur J Immunol 40(5): 1504-1509, 2010.
17) Urano E, Ichikawa R, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Komano J: T cell-based functional cDNA library screening for cellular regulatory genes of human immunodeficiency virus replication. Vaccine 28 Suppl 2: B68-74, 2010.
18) Kariya Y, Hamatake M, Urano E, Yoshiyama H, Shimizu N, Komano J.: A dominant-negative derivativeof EBNA1 represses EBNA1-mediated transforming gene expression during the acute phase of Epstein-B arr virus infection independent of rapid loss of viral genome. Cancer Sci 40(5): 1124-1133, 2010.
19) Sugimoto C, Watanabe S, Naruse T, Kajiwara E, Shiino T, Umano N, Ueda K, Sato H, Ohgimoto S, Hirsch V, Villinger F, Ansari AA, Kimura A, Miyazawa M, Suzuki Y, Yamamoto N, Nagai Y, Mori K: Protection of macaques with diverse MHC genotypes against a heterologous SIV by vaccination with a deglycosylated live-attenuated SIV. Plos One 5: e11678, 2010.

20) Naruse TK, Chen Z, Yanagida R, Yamashita T, Saito Y, Mori K, Akari H, Yasutomi Y, Miyazawa M, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaques. Immunogenetics 62, 601, 2010.

21) Lee K, Ambrose Z, Martin TD, Oztop I, Mulky A, Julias JG, Vandegraaff N, Baumann JG, Wang R, Yuen W, Takemura T, Shelton K, Taniuchi I, Li Y, Sodroski J, Littman DR, Coffin JM, Hughes SH, Unutmaz D, Engelman A, KewalRamani VN: Flexible use of nuclear import pathways by HIV-1. Cell Host Microbe 7(3): 221-233, 2010.

22) Tee KK, Lam TT, Chan YF, Bible JM, Kamarulzaman A, Tong CY, Takebe Y, Pybus OG: Evolutionary genetics of human enterovirus 71: origin, population dynamics, natural selection, and seasonal periodicity of the VP1 gene. J Virol 84(7): 3339-3350, 2010.

23) Han X, Dai D, Zhao B, Liu J, Ding H, Zhang M, Hu Q, Lu C, Goldin M, Takebe Y, Zhang L, Shang H: Genetic and epidemiologic characterization of HIV-1 infection In Liaoning Province, China. J Acquir Immune Defic Syndr 53 Suppl 1:S27-33, 2010

24) Li Y, Tee KK, Liao H, Hase S, Uenishi R, Li XJ, Tsuchiura T, Yang R, Govindasamy S, Yong YK, Tan HY, Pybus OG, Kamarulzaman A, Takebe Y: Identification of a novel second-generation circulating recombinant form (CRF48_01B) in Malaysia: a descendant of the previously identified CRF33_01B. J Acquir Immune Defic Syndr 54(2): 129-136, 2010.

25) Li Y, Uenishi R, Hase S, Liao H, Li XJ, Tsuchiura T, Tee KK, Yang R, Pybus OG, Takebe Y: Explosive HIV-1 subtype B' epidemics in Asia driven by geographic and risk group founder events. J Virol 402: 223–227, 2010.

26) Takebe Y, Liao H, Hase S, Uenishi R, Li Y, Li XJ, Han X, Shang H, Kamarulzaman A, Yamamoto N, Pybus OG, 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 28 Suppl 2: B39-44, 2010.

27) Arita M, Takebe Y, Wakita T, Shimizu H: A bifunctional anti-enterovirus compound that inhibits replication and the early stage of enterovirus 71 infection. J Gen Virol 91(Pt 11): 2734-2744, 2010.

28) Zhang W, Tong X, Nakasone T, Yue XT, Yamamoto N, Liu XY, Yang RG: Activity of superior interferon a against HIV-1 in severe combined immunodeficient mice reconstituted with human peripheral blood leukocytes. Chin Med J 124(3):396-400, 2011.

29) Matsuo K, Yasutomi Y: *Mycobacterium bovis* bacille Calmette-Guerin as a vaccine vector for global infectious disease control. Tuberculosis Research and Treatment, vol. 2011, article ID 574591, 2011.

30) Ibe S, Sugiura W: Clinical significance of HIV reverse transcriptase inhibitor-resistant mutations. Future Microbiol 6(3): 295-315, 2011.

31) Shibata J. Sugiura W, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F and Tanaka H: Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30 N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. Antiviral Res 90(1): 33-41, 2011.

32) Fujisaki S, Yokomaku Y, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, Sugiura W: Outbreak of hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in cases coinfected with HIV-1 in Japan. J Clin Microbiol 49(3): 1017-1024, 2011.

33) Iwabu Y, Kinomoto M, Tatsumi M, Fujita H, Shimamura M, Tanaka Y, Ishizaka Y, Nolan D, Mallal S, Sata T. Tokunaga T: Differential anti-Apobec 3G activity of HIV-1 vif proteins derived from different subtypes. J Biol Chem 285: 35350-35358, 2011.

34) Tanaka T, Narumi T, Ozaki T, Sohma A, Ohashi N, Hashimoto C, Itotani K, Nomura W, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H: Azamacrocyclic-metal complexes as CXCR4 antagonists. Chem Med Chem 6: 834-839, 2011.

35) Miyauchi K, Urano E, Yoshiyama H, Komano J: Cytokine signatures of transformed B cells with distinct Epstein-Barr virus latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. Cancer Sci 102(6): 1236-1241, 2011.

36) Yanagita H, Urano E, Matsumoto K, Ichikawa R, Takaesu Y, Ogata M, Murakami T, Wu H, Chiba J, Komano J, Hoshino T: Structural and biochemical study on the inhibitory activity of derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid for RNase H function of HIV-1 reverse transcriptase. Bioorg Med Chem 19: 816-825, 2011.

37) Aoki T, Miyauchi K, Urano E, Ichikawa R, Komano J: Protein transduction by pseudotyped lentivirus-like nanoparticles. Gene Ther, in press.

2．和文発表

1) 伊部史朗，杉浦 亙：薬剤耐性 HIV の現状と対策．日本臨牀 68(3): 476-479, 2010.
2) 服部純子，杉浦 亙：我が国における薬剤耐性 HIV の現状．感染・炎症・免疫 39(4), 2010.
3) 吉居廣朗，杉浦 亙：ラルテグラビルの耐性．医薬ジャーナル 46(8), 2010.
4) 杉浦 亙：5th International Workshop on HIV Transmission/ 18th International AIDS Conference、メディカルレビュー社 1(2), 2010.
5) 杉浦 亙：HIV 感染―最新の疫学・臨床・治療，内科 106(5), 2010.
6) 伊部史郎，横幕能行，杉浦 亙：本邦における HIV-2 の疫学動向と新たな組換え流行株 CRF01_AB の同定．IASR 31(8): 232-233, 2010.
7) 宮崎菜穂子，杉浦 亙：わが国における抗 HIV 治療と多剤耐性症例の現状．IASR 31(8): 233-234, 2010.
8) 馬場昌範，中田浩智，朝光かおり，駒野 淳，岡本実佳，杉浦 亙：Perspectives of anti-HIV research. The Journal of AIDS Research. 12(2): 74-80, 2010.
9) 石川晃一，太田伸生，山岡昇司，大野喜久郎：西アフリカ地域に根付いた感染症研究の遂行と今後の展開．化学療法の領域 26(4): 167-172, 2010.
10) 長谷彩希，上西理恵，武部 豊：HIV 感染症と AIDS の疫学: 世界と日本．（満屋裕明編）最新医学別冊 新しい診断と治療の ABC 65，HIV 感染症と AIDS，最新医学社 p18-p33, 2010.
11) 武部 豊：特集 HIV/AIDS −最新の治療研究の進歩− HIV ワクチン開発の最新動向．日本臨床 68 (3): 525-535. 2010.
12) 武部 豊 (分担執筆)：ヒト後天性免疫不全症候群（エイズ）の分子予防医学．分子環境予防医学 (改訂版) 生命科学研究の予防・環境医学への統合（編集責任者・松島綱治）．本の泉社 p165-p188, 2010.
13) 武部 豊：特集どう守る 性の健康．HIV ワクチン開発の可能性：立ちはだかる根幹問題と今後の展望．臨床とウイルス 38 (4): 243-260. 2010.
14) 石川晃一：ガーナを知るための 47 章．分担執筆（病気編），明石書店 2011 印刷中.

II．学会発表

1．国際学会

1) Iwatani Y, Sugiura W: Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals foue lysine residues critical for HIV-1 Vif-mediated ubiquitination near the C-terminal end. 5th German-Japanese HIV-Symposium, May 10-11, 2010, Tokyo, Japan.
2) Yoshii H, Iwatani Y, Sugiura W: Spontaneous APOBEC3G expression which determines permissive phenotype against Vif-deficient HIV-1 replication,is caused by constitutive activation of Stat1 in T-cell lines. 5th German-Japanese HIV-Symposium, May 10-11, 2010, Tokyo, Japan
3) Takemura T, Lee K, Yuen W, Mulky A, Martin TD, Ambrose Z, Bieniasz PD, Hatziioannou T, KewalRamani VN: HIV-1 restriction by a cyclophilin-related factor in human cells. 5th German-Japanese HIV-Symposium, May 10-11, 2010, Tokyo, Japan.
4) Yoshii H, Kitamura S, Sugiura W, Iwatani Y: Constitutive activation of Stat1 causes spontaneos APOBEC3G expression,which determines permissive phenotype against vif-deficient HIV-1 replication in T-cell lines. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
5) Iwatani Y, Liu L, Chan DS, Yoshii H、JG Levin, Gronenborn AM, Sugiura W: Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals four lysine residues critical for HIV-1 Vif-mediated ubiquitimation. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
6) Komano J, Aoki T, Urano E, Ichikawa R, Miyauchi K: Production of GFP-incorporated infectious pseudovirion by the N-terminal modification of HIV-1 Gag. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
7) Urano E, Kuramochi N, Tomoda H, Takebe Y, Miyauchi K, Komano J, Morikawa Y: A novel post-entry inhibitor of HIV-1 replication targeting the capsid domain of Gag. CSHL Meeting on Retroviruses, May 24-29, 2010, Cold Spring Harbor, NY, USA.
8) Suzuki H, Hattori J, Nishizawa M, Ibe S, Iwantani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: Previous antiretroviral exposure enhances accumulation of mutations in the integrase region and affects acquisition of raltegravir resistance. International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies, Jun. 8-12,

2010, Dubrovnik, Croatia.

9) Masaoka T, Sugiura W, Iwatani Y, Sawasaki T, Matsunaga S, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, Ryo A: A high-throughput phenotypic assay for HIV-1 protease drug resistance using a wheat cell-free protein production system. International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies, Jun. 8-12, 2010, Dubrovnik, Croatia.
10) Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato K, Mori H, Minami R, Sugiura W, the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission: analysis of drug resistance in recently and non-recently infected treatment-naive patients in Japan. International HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance Workshop & Curative Strategies, Jun. 8-12, 2010, Dubrovnik, Croatia.
11) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: Molecular epidemiology of HIV-2 in Japan: identification of the first circulating recombinant form of HIV-2, CRF01_AB. 5th International Workshop on HIV Transmission, Jul. 15-16, 2010, Vienna, Austria.
12) Nishizawa M, Hattori J, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W: Sensitive testing identifies a greater prevalence of transmitted HIV drug resistance in Japan. 5th International Workshop on HIV Transmission, Jul. 15-16, 2010, Vienna, Austria.
13) Sugiura W, Hattori J, Yoshida S, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Tateyama M, Ueda M, Kato S, Ito T, Oie M, Ueda A: A nationwide surveillance study on the prevalence of drug-resistance mutations among newly diagnosed individuals in Japan from 2003 to 2008. 5th International Workshop on HIV Transmission, Jul. 15-16, 2010, Vienna, Austria.
14) Ibe S, Yokomaku Y, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: Development of a highly sensitive and reproducible plasma HIV-2 RNA copy quantification method for monitoring antiretroviral treatment. 18th International AIDS Conference, Jul. 18-23, 2010, Vienna, Austria.
15) Miyazaki N, Matsushita S, Fujii T, Iwamoto A, Sugiura W, Japanese HIV-MDR Study Group: Drug-resistant genotyping to guide selection of etravirine, darunavir and raltegravir in salvage therapy for multi-drug-resistant cases improves outcomes. 18th International AIDS Conference, Jul. 18-23 2010, Vienna, Austria.
16) Komano J, Urano E, Hamatake M, Maeda F, Nagatsuka Y, Takekoshi M: Inhibition of HIV replication by a CD4-reactive Fab of an IgM clone isolated from a healthy HIV-seronegative individual. 18th International AIDS Conference, Jul.18-23, 2010, Vienna, Austria.
17) Murakami T, Wu H, Kawamata M, Tsuruoka M, Chiba J, Takemura T: Roles of Rab proteins in HIV-1 assembly. 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep. 7-10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan.
18) Urano E, Kuramochi N, Miyauchi K, Ichikawa R, Tomoda H, Takebe Y, Komano J, Morikawa Y: A novel postentry inhibitor of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication Screened byYeast Membrane-associated Two-hybrid System. 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep.7-10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan.
19) Sugiura W: A nationwide surveillance study on the prevalence of drug-resistance mutations among newly diagnosed individuals in Japan from 2003 to 2009, The US-Japan Cooperative Medical Science Program 23rd Joint Meeting of AIDS Panel, Sep. 10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan
20) Komano J: Study on neutralizing antibodies against two highly variable viruses. The US-Japan Cooperative Medical Science Program 23rd Joint Meeting of AIDS Panel, Sep.10, 2010, Awaji, Hyogo, Japan.
21) Takebe Y, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Liao H, McMahon JB, O'Keefe BR: Effective protection of HCV infection by HCV entry inhibitor griffithsin, newly identified carbohydrate binding protein, in mouse infection model. 7th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Sep. 10-14, 2010, Yokohama, Japan.
22) Matsubara A, Watanabe K, Kawano M, Mizuno S, Tsujimura Y, Inada H, Fukumura M, Nosaka T, Matsuo K, Yasutomi Y. Intranasal immunization with replication-deficient recombinant human parainfluenza type 2 virus-Ag85B showed protective effects against *Mycobacterium tuberculosis* infection. 2nd Global TB Vaccine Forum, Sep. 21-24, 2010, Tallin, Estonia.
23) Komano J: Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latency. 7th Taiwan-Japan Symposium on HIV/AIDS, Center for Disease Control Department of

Health, Oct.6, 2010, National Taiwan University, College of Medicine, Taiwan.

24) Brandful JAM, Barnor JS, Ampofo WK, Aidoo S, Bonney EY, Bonney JHK, Alale MK, Nyarko AK, Ishikawa K, Yamaoka S: Retroviral therapy in Ghana; Are new therapies relevant? International Conference on Antivirals for Neglected and Emerging Viruses-The 9th ICAV Symposium- with a Micro-symposium on Targeting Host Proteins in HIV Therapy, Oct. 10-13, 2010, Lübeck, Germany.

25) Mori K, Watanabe S, Saito Y, Sato H, Sugimoto C: A critical role of NK cells and effector CD8+ T cells for protective host response against heterologous SIV infection in rhesus macaques vaccinated with deglycosylated live attenuated SIV. 28th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Oct. 19-22, 2010, New Orleans, USA.

26) Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Mori H, Minami R, Sugiura W, and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission: analysis of drug resistance in recently and not-recently infected treatment-naïve patients in Japan. 11th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov. 7-10, 2010, Hershey, PA, USA.

27) Ibe S, Yokomaku Y, Hattori J, Iwatani Y and Sugiura W: First case of HIV-2 CRF01_AB infection treated with combination antiretroviral therapy. 11th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov. 7-10, 2010, Hershey, PA, USA.

28) Takebe Y, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Liao H, Lund G, Koshy R, McMahon JB, O'Keefe BR: Characterization of HCV entry inhibitor griffithsin, newly identified carbohydrate binding protein, and its effective protection against HCV infection in mouse infection model. 11th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance: Target and Mechanisms, Nov. 7-10, 2010, Hershey, PA, USA.

29) Sugiura W: Characterization and phylodynamic analysis of Drug-Resistant HIV-1 Transmission in Japan. US-Japan Joint AIDS Panel, HIV/AIDS Resistance: Impact in Asia and Beyond, Dec. 8-10, 2010, Singapore.

30) Komano J, Urano E, Yanagita H, Morikawa Y, Hoshino T: Novel HIV-1 inhibitors targeting the last viral enzymatic activity and the structural protein. US-Japan Joint AIDS Panel, HIV/AIDS Resistance: Impact in Asia and Beyond, Dec. 8-10, 2010, Singapore.

31) Urano E, Kuramochi N, Miyauchi K, Tomoda H, Takebe Y, Komano J, Morikawa Y: A novel HIV-1 inhibitor targeting Gag screened by yeast membrane-associated 2-hybrid system. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 27-Mar. 2, 2011, Boston, MA, USA.

32) Mori K, Saito Y, Sugimoto C: Glycosylation determines tropism of SIV to CD4+ T cell subsets that define pathogenicity and live attenuated vaccine properties. Keystone Symposia, HIV Evolution, Genomics and Pathogenesis, Mar. 20-25, 2011, Whistler, Canada.

2．国内学会

1) 伊部史朗、横幕能行、服部純子、杉浦 亙. 定量 PCR 法を用いた HIV-2 viral load 測定系の確立とその臨床応用． 第 84 回日本感染症学会総会，2010 年 4 月 5-6 日，京都.

2) 星野忠次，柳田浩志，松元輝礁，尾潟将一，浦野恵美子，村上 努，駒野 淳：抗HIV薬RNaseH活性阻害剤の開発. 第8回ナノ学会大会, 2010年5月14日，岡崎.

3) 岩谷靖雅，杉浦 亙：抗 HIV 宿主因子 APOBEC3G の発現制御と分解．第 12 回白馬シンポジウム，2010 年 5 月 14-15 日，徳島.

4) 服部純子，重見 麗，杉浦 亙：ＢＥＤアッセイを用いた未治療ＨＩＶ感染者の動向調査. 第 12 回白馬シンポジウム in 徳島～最先端のエイズ研究を徹底討論する～， 2010 年 5 月 14-15 日，徳島.

5) 小森谷真央，村上 努，鈴木慎太郎，鳴海哲夫，野村渉，山本直樹，玉村啓和：HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出．第 5 回ケミカルバイオロジー学会年会，2010 年 5 月 18-19 日，横浜.

6) 駒野 淳：Development of RNase H inhibitor associated with HIV-1 RT. 鹿児島大学医歯学総合研究科 医学研究講義 特別講演会, 2010 年 8 月 30 日，鹿児島.

7) 北村紳悟，吉居廣朗，前島雅美，横幕能行，杉浦 亙，岩谷靖雅：APOBEC3C における HIV-1Vif に対する感受性を決定する領域の探索．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

8) 正岡崇志，杉浦 亙，澤崎達也，松永智子，遠藤弥重太，巽 正志，Robert Shafer，山本直樹，梁 明秀：酵素活性を指標とした HIV プロテアーゼ薬剤耐性新規検査法の開発．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，

2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

9) 吉居廣朗，北村紳悟，前島雅美，杉浦 亙，岩谷靖雅：リンパ球由来細胞株における vif 欠損 HIV に対する異なる感受性は Stat1 活性化状態に関する．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

10) 竹村太地郎，川又美弥子，村上 努：CypA 非依存的に増殖する HIV-1 変異株の分離．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

11) 村上 努，小森谷真央，鈴木慎太郎，橋本智恵，鳴海哲夫，野村 渉，山本直樹，玉村啓和：細胞膜透過性 MA 部分ペプチドライブラリーを用いた新規抗 HIV-1 ペプチドの探索と創出．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

12) 浦野恵美子, 倉持紀子, 市川玲子, 宮内浩典, 供田 浩, 武部 豊，駒野 淳，森川裕子：HIV-1Gag を標的とする低分子化合物 BMMP によるウイルスエントリー阻害機構．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

13) 星野忠次，柳田浩志，松元輝礁，尾潟将一，高江州善寿，浦野恵美子，市川玲子，村上 努，駒野 淳：新規 HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発．第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

14) 今留謙一，矢島美沙子，川野布由子，市川紗弓，清水則夫，中村浩幸，松田 剛，駒野 淳，山本直樹，藤原製悦：EB ウイルス関連血球貪食症候群モデルマウスの作製と解析．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

15) 宮内浩典，浦野恵美子，駒野 淳：ハイスループットディスアセンブリーアッセイの構築．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

16) 佐藤洋隆，杉本智恵，渡辺哲，齋藤陽平，永井美之，森 一泰:糖鎖欠失変異による SIV の低病原性化のメカニズム．第 58 回日本ウイルス学会学術集会，2010 年 11 月 7-9 日，徳島.

17) 俣野哲朗：エイズワクチン開発：HIV 感染症克服への挑戦．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日，東京.

18) 服部純子, 椎野禎一郎, 潟永博之, 林田庸総, 吉田 繁，千葉仁志，小池隆夫，佐々木悟，伊藤俊広，内田和江，原 孝，佐藤武幸，上田敦久，石ヶ坪良明，近藤真規子，今井光信，長島真美，貞升健志，古賀一郎，太田康男，山元泰之，福武勝幸，加藤真吾，藤井毅，岩本愛吉，西澤雅子，仲宗根正，岡 慎一，伊部史朗，横幕能行，上田幹夫，大家正義，田邊嘉也，渡辺香奈子，渡邉 大，白阪琢磨，小島洋子，森 治代，中桐逸博，高田 昇，木村昭郎，南 留美，山本政弘，松下修三，藤田次郎，健山正男，杉浦 亙：2003-2009 年の新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日，東京.

19) 仲宗根正、熊倉 成、村上 努、山本直樹：KRH-3955 単回内服による SHIV/サルモデルでの長期感染予防効果．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京.

20) 木下枝里，平野 淳，柴田雅章，高橋昌明，野村敏治，脇坂達郎，横幕能行，杉浦 亙：リファンピシン併用下におけるインテグラーゼ阻害剤 ラルテグラビルの投与量に関する検討．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京.

21) 横幕能行，今村淳治，平野 淳，伊部史朗，岩谷靖雅，杉浦 亙:名古屋医療センターにおける etravirine の使用状況と効果および適応に関する検討．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京.

22) 高橋昌明，平野 淳，木下枝里，柴田雅章，野村敏治，横幕能行，杉浦 亙：HPLC using UV detectin for the simultaneous quantification of etravirine(TMC-125), and 4 protease inhibitors in human plasma．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日，東京.

23) 平野 淳，木下枝里，柴田雅章，高橋昌明，野村敏治，横幕能行，杉浦 亙：Tipranavirtide 併用患者に対する TDM の有効例．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京.

24) 吉居廣朗，前島雅美，北村紳悟，横幕能行，杉浦 亙，岩谷靖雅：抗 HIV 宿主因子 APOBEC3 ファミリーの細胞依存的な発現調節機構の解明．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2010 年 11 月 24-26 日，東京.

25) 西澤雅子，服部純子，横幕能行，Jeffrey Johnson，Walid Heneine，杉浦 亙：高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療 HIV/AIDS 症例における微少集族薬剤耐性 HIV 調査研究．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京.

26) 奥村かおる，横幕能行，三和治美，山田由美子，杉浦 亙，岩谷靖雅，平野 淳，木下枝里：ベナンバックス吸入時の苦味の軽減に対するハッカ飴の使用とその効果 第 2 報－他の有効な手段を探すためのハッカの有効性の検証-.第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京.

27) 柴田雅章，平野 淳，木下枝里，高橋昌明，野村敏治，

横幕能行，杉浦 亙：薬剤師のための HIV 研修会開催についての事前アンケート調査結果．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

28) 正岡崇志，杉浦 亙，澤崎達也，松永智子，遠藤弥重太，巽 正志，Shafer Robert，山本直樹，梁 明秀：コムギ無細胞合成 HIV プロテアーゼを用いた薬剤耐性高速検査法の開発．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

29) 椎野禎一郎，貞升健志，長島真美，服部純子，杉浦亙：国内感染者集団の大規模塩基配列解析 1: CRF01_AEの動向と微小系統群の同定．第24回日本エイズ学会学術集会・総会，2010年11月24-26日，東京．

30) 今村淳治，横幕能行，服部純子，岩谷靖雅，杉浦 亙：新規 HIV/AIDS 診断症例におけるトロピズムに関する検討．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

31) 谷 麗君，立川-川名 愛，椎野禎一郎，細谷紀彰，鯉渕智彦，藤井 毅，三浦聡之，杉浦 亙，岩本愛吉：配列特異的オリゴプルーブを用いた HIV-1 薬剤耐性変異検出法の開発．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

32) 木村雄貴，藤野真之，正岡崇志，服部純子，横幕能行，岩谷靖雅，鈴木淳巨，渡邉信久，杉浦 亙：HIV-1 のダルナビル耐性獲得機構の酵素学的構造学的解明．第24回日本エイズ学会学術集会・総会，2010年11月24-26日，東京．

33) 竹村太地郎，村上 努，KewalRamani Vineet：HIV-1 感染における CypA の機能解析．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

34) 小森谷真央，村上 努，鈴木慎太郎，橋本知恵，鳴海哲夫，野村 渉，山本直樹，玉村啓和：HIV-1 マトリックスタンパク質を基にした新規抗 HIV ペプチドの創出．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

35) 村上 努，竹村太地郎，熊倉 成，山本直樹：新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 に対する耐性 HIV-1 の誘導とその解析．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

36) 橋本知恵，鳴海哲夫，野村 渉，中原 徹，田中智博，大庭賢二，相馬 晃，長谷山正樹，村上 努，山本直樹，玉村啓和：HIV-1 侵入過程の動的超分子機構を基にした新規エイズワクチンの創製．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

37) 橋本知恵，田中智博，浦野恵美子，尾崎太郎，新井啓之，鳴海哲夫，野村 渉，Maddli K，Pommier Y，山本直樹，駒野 淳，玉村啓和：HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害剤の創出．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

38) 宮内浩典，浦野恵美子，駒野 淳：HIV 複製を増強する EBV 感染 B 細胞由来のサイトカイン．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

39) 滝澤万里，草川 茂，北村勝彦，長縄 聡，本多三男，村上利夫，山本直樹，駒野 淳：非エピトープ変異による中和抗体感受性制御を指標にした HIV Env 定常状態の構造解析．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

40) 柳田浩志，松元輝礁，尾潟将一，高江州善寿，浦野恵美子，市川玲子，村上 努，駒野 淳，星野忠次：新規 HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤開発における構造活性相関．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

41) 尾崎太郎，田中智博，橋本知恵，宮内浩典，鳴海哲生，山本直樹，駒野 淳，玉村啓和：gp120 の CD4 結合サイトを模倣した新規抗原分子の創製．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

42) 森 一泰，杉本智恵，横田恭子，鈴木康夫，山本直樹，永井美之:ウイルススパイクの糖鎖修飾の減少は SIV の細胞・組織トロピズムを変化させ生ワクチンとして防御免疫を誘導する．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

43) 齋藤陽平，渡辺 哲，杉本智恵，佐藤洋隆，山本直樹，永井美之，森 一泰:糖鎖変異生ワクチンが誘導する防御免疫における CD8+細胞の役割．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

44) 武部 豊：世界からみた日本の HIV 感染症の分子疫学: 我が国の HIV 流行はいかにして始まり、どこに向かおうとしているのか“Molecular Epidemiology of HIV in Japan from Global Point of View: Where Does It Come From? Where Is It Going?" プレナリー講演．第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会，2010 年 11 月 24-26 日，東京．

45) 俣野哲朗：エイズワクチン開発：国際共同臨床試験プロジェクト．第 13 回ヒューマンサイエンス総合研究ワークショップ，2010 年 11 月 25 日，東京．

46) 村上 努，呉 鴻規，川又美弥子，鶴岡幹大，千葉 丈，竹村太地郎：Rab 蛋白質の HIV-1 複製における役割．第33回日本分子生物学会年会，2010年12月7-10日，

神戸.

47) 山吉麻子，林 里衣，福本裕之，小柳義夫，駒野 淳，小堀哲生，村上 章 : Non-coding RNA (7SK) の機能解析と機能性人工核酸としての応用. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会，2010 年 12 月 7-10 日，神戸.

48) Miyauchi K, Aoki T, Urano E, Ichikawa R, Komano J : Protein transduction by pseudo-lentiviral nano particles. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会，2010 年 12 月 7-10 日，神戸.

49) Urano E, Miyauchi K, Komano J : The analysis of novel cyclin T1 splice variant lacking exon 7. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会，2010 年 12 月 7-10 日，神戸.

２１．病原体ゲノム解析研究センター

センター長　脇田　隆字（ー H22.8.31）
黒田　誠（H22.9.1～ ）

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。

人事異動では、平成 22 年 3 月 31 日付で神田忠仁センター長の定年退職に伴い、平成 22 年 4 月 1 日付でウイルス第二部・脇田隆字部長が病原体ゲノム解析研究センター長を併任した。平成 22 年 9 月 1 日付で脇田隆字部長に代わり、第三室長の黒田誠センター長が着任した（引き続き第三室長を併任)。平成 23 年 3 月 1 日付で、第三室に竹内史比古室長が採用された（黒田室長の併任が解除された）。平成 22 年 10 月 1 日付で横山勝任期付研究員（第二室）が、主任研究官に採用された。

第一室では、主に子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルス(HPV)の増殖とそれを支える細胞因子の研究ならびに遺伝子治療に使うウイルスベクターに関する研究を行った。

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 生活環と感染における宿主応答・防御機構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、そのうち 15 の型（ハイリスク型）が子宮頸癌の原因となる。欧米で開発された第一世代 HPV ワクチンは、主キャプシド蛋白質 L1 をワクチン抗原にしており、ハイリスク型 HPV のうち 2 種の感染阻止に限定した予防効果を持つ。我々は、副キャプシド蛋白質 L2 にみられる型共通アミノ酸領域が、幅広い型に有効な中和抗体を誘導することを見出した。この型交差性中和エピトープの解析を進めた。

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ている。第一室は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。さらに、独自に感度と特異性を向上させた新規 HPV タイピング法の開発を行った。

HPV ワクチンの承認前検査、生物学的製剤基準の策定、検定項目の選定を担当した。また、実施に検定を担当した。

遺伝子治療は、マスコミの過熱報道が収まった後も着実に進歩し、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。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、いわば人工のウイルスを多量に、直接患者に投与することになるので、安全の確保が重要となる。海外では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、遺伝子治療臨床試験における安全性の評価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)ベクターの性能向上させるため、インスレーター導入による骨格筋特異的な安定・高発現の改良型 AAV ベクターを開発した。

第二室では、バイオインフォマティクス技術と実験データ、臨床データを活用して、ウイルスの性質を解析する新しい研究戦略の開発を続けた。計算科学を駆使して、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ことから、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。これらの研究戦略を HIV が中和抗体から逃避する分子機構や薬剤耐性獲得機構の解析、ノロウイルスの分子疫学に役立てるとともに、さらに、新規抗ウイルス剤の設計に役立てる研究へと進展させている。

次世代シークエンサーを使って、C 型肝炎ウイルス慢

性感染患者体内に存在するウイルス準種の包括的解析をおこない、インターフェロン治療の感受性に関わるウイルス側因子の探索を進めた。インフルエンザウイルス研究センターに協力し、分離株のシークエンシングと解析を担当した。

第三室は、次世代シークエンサーを使って、WHO 指定バイオテロ病原体（炭疽菌、野兎病菌、ペスト菌）とサルモネラ等の薬剤耐性食中毒菌のゲノム解析を行った。また 2009 パンデミック・インフルエンザウイルス剖検検体から迅速で包括的なシークエンシングを行い、患者に感染しているインフルエンザウイルス・他病原体のゲノム情報を浮かび上がらせる研究手法を開発した。さらに、このダイレクト解析手法を応用して、難治性疾患（川崎病など）や不明疾患（生魚の喫食による不明食中毒）を対象に病原体の検出を試みた。細菌には動物の腸管内原生動物に感染し、感染原生動物とともに他の宿主に感染を拡大するものがある。このような細菌群の研究は殆ど無いので、牛をモデルに腸管内原生動物と細菌の研究を始めた。

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て行った。（竹内隆正、森　清一郎、石井克幸、柊元　巖）

2. インスレーターを用いた高発現 AAV ベクターの開発

(1) インスレーター搭載 AAV ベクターの改良

AAVS1 インスレーター搭載（改良型）AAV ベクターと従来型 AAV ベクターの比較を行った。改良型は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 ベクターに AAVS1 インスレーターを搭載したものを用い､従来型は CMV-IE プロモーターを持つ AAV ベクターを用いた。CMV-IE プロモーターは組織非特異的にもっとも強力な転写活性を示すプロモーターの一つである。両者ともにキャプシドは AAV2 と AAV1 のハイブリッドにチロシン残基置換を加えたものを用いた。骨格筋への直接投与では改良型と従来型は同等の導入遺伝子発現を認めたのに対し、注射部位からの漏出を想定した尾静脈からの投与では改良型の導入遺伝子発現は各臓器で低く、特に肝臓・心臓・肺において従来型よりも有意に減少していた。改良型 AAV ベクターは有効性と安全性が高いと考えられた。（村上　功、竹内隆正）

(2) AAV ベクター組込み部位同定法の検討

遺伝子治療による重大な有害事象として挿入変異による悪性腫瘍の発生がある。AAV ベクターを用いた動物実験でも肝腫瘍発生の報告があり、ベクター投与との因果関係を推定するためには AAV ベクターゲノムの宿主染色体への組込みの有無、さらに組込み部位に関する情報が必要である。簡便な組込み部位同定法として LM-PCR 法を検討した。AAV ベクターが組み込まれた HeLa 細胞クローンをモデル系として用いた実験で、LM-PCR 法により細胞染色体とベクターの接合部位を含む DNA 断片を増幅し塩基配列を解読しうることが分かった。（竹内隆正）

II. HPV に関する研究

1. HPV の感染増殖機構の研究

(1) HPV 感染の初期過程に必要な宿主因子の解析

HPV51 型プロトタイプ（Nu 株）と日本で分離された HPV51 型(Ma 株)の副キャプシド蛋白質 L2 は 2 つの領域でアミノ酸配列が大きく異なり、Ma 株 L2 を含む偽ウイルスを細胞に接種するとレポーター遺伝子が発現するが、Nu 株 L2 を含む偽ウイルスでは発現しない。前年度に同定した Ma 株 L2 に特異的に結合する細胞蛋白質の発現を、HeLa S3 細胞でノックダウンすると、Ma 株 L2 を含む偽ウイルス接種によるレポーター遺伝子の発現が低下した。同様の低下は HPV16 型および 31 型の偽ウイルスの接種でも観察された。この細胞蛋白質は HPV 感染の初期過程に必須であることが示唆される。（石井克幸）

(2) HPV 感染の初期過程における宿主細胞応答の解析

HPV16 型偽ウイルスを HeLa S3 細胞へ接種するとオートファジーが誘導されることが分かった。オートファジー阻害剤で細胞を処理すると、HPV16 型偽ウイルスの感染によるレポーター遺伝子の発現が上昇したことから、HPV 感染の初期過程においてオートファジーは宿主防御応答として働くと考えられる。（石井克幸）

(3) E1 を基質にする細胞チロシンキナーゼの探索

HPV ゲノム複製に働くウイルス蛋白質 E1 の活性や細胞内局在は、E1 のセリン残基のリン酸化により制御される

ことが知られている。一方、293 細胞で FLAG タグ付き HPV16 型 E1（FLAG-E1）を発現させ、FLAG 抗体で免疫沈降して ATP と反応させると、FLAG-E1 がセリンではなくチロシンリン酸化されることが分かった。小麦胚抽出液での無細胞蛋白質合成系とアルファスクリーン検出系を用いて、FLAG-E1 に結合する細胞チロシンキナーゼの網羅的スクリーニングを行い、これまでに 13 種の結合キナーゼを見出した。さらに in vitro リン酸化アッセイにより、その内の 9 種のキナーゼが E1 のチロシンリン酸化を引き起こすことが示された。（松尾理加、澤崎達也[愛媛大学]、柊元　巌）

(4) High-throughput HPV DNA 複製アッセイ系の構築

HPV16 複製起点を含む DNA 断片を組込んだリポータープラスミドを、E1 及び E2 発現プラスミドと同時に細胞に導入して、リポーター活性の上昇を指標に HPV DNA 複製を検出するアッセイ系を構築した。これまでのサザンブロット法やリアルタイム PCR 法と比べて、簡便かつ迅速に大量のアッセイを行うことが可能となり、HPV 複製に影響を与える因子のスクリーニングや機能解析に使える。（柊元　巌）

(5) E1 チロシン変異体の複製活性の解析

HPV16 型 E1 に存在する 23 カ所のチロシン残基の内、15 カ所のチロシンをそれぞれフェニルアラニンに置換した変異 FLAG-E1 の複製活性を、新たに構築した複製アッセイ系で調べた。15 のチロシン変異体の内、379 番の変異体では複製活性が完全に消失したことから、このチロシン残基が E1 の機能上、重要な役割を有していることが示された。今後このチロシン残基が細胞内リン酸化の標的となるか検討する。（松尾理加、柊元　巌）

2. HPV 感染状況についての調査・研究

(1) 我が国の HPV 遺伝子型分布の調査

前年度に開始した我が国の女性に感染している HPV 遺伝子型の調査を継続して行った。NTT 東日本病院婦人科を受診した女性から子宮頸管部細胞を収集し、DNA を抽出して、PGMY リバースブロッティング法を用いて HPV タイピングを行った。2010 年 4 月から 2011 年 3 月までに 1000 検体を解析し、HPV 陽性率は約 50%、その内の約 30%の検体から複数の HPV 型が同時に検出された。検出頻度が最も高いのは HPV52、ついで HPV16、HPV58 であった。（近藤一成[NTT 東日本病院]、神田忠仁[理化学研究所]、松尾理加、柊元　巌）

(2) 新しい HPV タイピング方法の開発

前年度に開発した蛍光ビーズソーターを用いた HPV タイピング方法の改良を行った。HPV DNA の L1 遺伝子領域増幅法を MGP PCR から PGMY PCR に変更して、HPV 型特異的プライマー伸張反応によりビオチン付加ヌクレオチドを取り込ませた。この DNA をマイクロビーズに結合した HPV 型特異的プローブとハイブリダイゼーションさせて蛍光ストレプトアビジンで標識した後、蛍光ビーズソーターにて検出した。従来の MGP PCR を用いた方法と比べて改良法では、タイピングの感度と特異性が全体的に上昇した。（村松祐理[理研ジェネシス]、斉藤　督[理研ジェネシス]、松尾理加、柊元　巌）

3. 交差性中和エピトープをもつワクチンの開発

(1) 抗 HPV16 L2 モノクローナル抗体の分離

現行の HPV 感染予防ワクチンは主キャプシド蛋白質 L1 を抗原としており、子宮頸癌の原因となる高リスク型のうち 16、18 型にしか効果が無い。副キャプシド蛋白質 L2 に型共通の抗原領域（交差性中和エピトープ）が複数見いだされ、次世代ワクチン抗原として開発が進められている。なかでも 16 型 L2 のアミノ酸 56 から 75 領域（56/75)は、最も幅広い型に有効な中和抗体を誘導する。この領域の交差性中和エピトープを詳細に解析するために、56/75 ペプチドを抗原として二種類のモノクローナル抗体(MAb)13B 及び 24B を分離した。（森　清一郎、中尾砂理、神田忠仁[理化学研究所]）

(2) 抗 HPV16 L2 モノクローナル抗体の性状解析

MAb 24B は調べた全ての高リスク型 HPV(16、31、33、35、51、52、58 型)粒子に結合した。MAb 13B は 35 及び 52 型以外の調べた全ての型の粒子に結合した。MAb 13 及び 24B はそれぞれ、16 型及び 58 型の偽ウイルス感染を中和した。また 2 つの MAb を混合すると、より強い中和活性が認められた。変異を導入した 56/75 ペプチドを抗原とするエピトープ解析で、MAb 13B 及び 24B はそれぞれ 56/75 内の異なる領域を認識したことから、少なくとも 2 つの交差性中和エピトープが 56/75 内にあることが分かった。さらにこれらの MAb の HPV 粒子への結合を阻害する抗体の有無を ELISA で調べることにより、ヒト血清中の交差性中和抗体価を測定する方法を開発した。（森　清一郎、中尾砂理、神田忠仁[理化学研究所]）

4. HPV ワクチンの品質管理の研究

HPV ワクチンの力価試験では、酵素免疫測定法(ELISA)を用いて参照ロットワクチンに対する相対力価を測定す

る。参照ロットワクチンは最終小分製品であり、有効期間は４℃で三年間であることから、近い将来その切換えが想定される。2 価ワクチンの現参照ロットと新参照ロットの VLP 含量の比較試験を行い、切換えの妥当性を評価したところ、新たな参照ロットには現在の参照ロットと同等量の VLP が含まれることが示された。(柊元　巌)

III.　病原性ウイルスのゲノム解析

1.RNA ウイルスゲノムの解析

(1)ノロウイルス(NoV)のゲノム解析

2006 年 5 月ー2010 年 3 月の間に全国 20 カ所の衛生研究所で収集した感染者糞便を用い、計 359 の Group II の NoV ゲノム全長の塩基配列(約 2.7x10^6塩基)を得た。2010/2011 秋冬期は、少なくとも GII/2, GII/3, GII/4 の 3 種の遺伝子型が急性胃腸炎の集団発生に関わっていた。2006/07 年秋冬期に大流行した GII/4　2006b 亜株は、その後も主要な流行株ではあったが、流行の規模は年々縮小していた。特定の流行株が流行すると、これに伴ってヒト集団に、その流行株に対する免疫バリアー（集団免疫）が形成されると考えられる。2006b 亜株に対する強固な集団免疫が形成された結果、免疫淘汰圧を逃避できた他の遺伝子型 GII/2, GII/3 が、昨シーズン国内において、流行したと考えている。得られた情報は、ノロウイルスサーベランスに還元した。(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]、片山和彦[ウイルス二部]、武田直和［ウイルス二部]、佐藤裕徳)

糞便試料の収集は以下の 27 名の方々の協力による(敬称略)。田中智之（堺市衛生研究所)、野田衛（国立医薬品食品衛生研究所)、吉澄志磨（北海道立衛生研究所)、三上稔之（青森県環境保健センター)、斉藤博之（秋田県健康環境センター)、植木洋(宮城県保健環境センター)、高橋朱実、蛇口哲夫、高橋知子（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)、阿部勝彦、伊藤文明（広島市衛生研究所生物科学部)、近藤玲子、山下育孝（愛媛県立衛生環境研究所)、増本久人、船津丸貞幸（佐賀県衛生薬業センター)、松岡由美子（熊本市環境総合研究所)、岩切章（宮崎県衛生環境研究所)

(2)インフルエンザウイルス(IFV) のゲノム解析 1

2010 年 9 月から 2011 年 3 月までの期間に、日本、東アジアで流行したインフルエンザウイルス-150 株の NA 遺伝子の配列情報（約 2.3×10^5塩基）を取得した。得られた情報は、2011 年 2 月に WHO で開催された北半球ワクチン株選定会議、ならびに国内のワクチン株選定会議の流行株遺伝子資料として活用された。(本村和嗣、佐藤彩[インフルエンザ研究センター]、中村浩美、神田忠仁、藤崎誠一郎[インフルエンザ研究センター]、金南希[インフルエンザ研究センター]、小田切孝人[インフルエンザ研究センター]、佐藤裕徳)

(3)新型シークエンサーFLX 454 のエラー補正プログラムの構築

新型シークエンサー454 によるシークエンシングでは、特にポリヌクレオチド配列で高頻度のエラーが生じる。既知の配列のシークエンスにより、エラーは主にポリヌクレオチドの 3’末端側に生じることを見出した。相補鎖の配列情報を用いてエラーを修復するプログラムを構築し、シークエンシングの過程で生じる約 1%のエラーを 0.01%未満まで減少させる補正プログラムを作った（大出裕高、本村和嗣、中村浩美、守宏美、佐藤裕徳)。

(4) ヒト免疫不全ウイルス（HIV）のゲノム解析

HIV-1 感染者の体内では、一日に 10^{9-10} 個もの多様な変異ウイルスが産生され選択と進化を続けて薬剤耐性ウイルスの発生、免疫逃避、病態進行などに関わると推測されている。しかし、変異集団の種類とダイナミズム等の実態はよくわかっていない。FLX 454 を用いて未治療感染者血液中の HIV-1 エンベロープ遺伝子全域の配列情報を網羅的に取得し、エラー補正後の配列を解析した結果、Maraviroc（CCR5 受容体　拮抗薬）や T20 耐性関連変異を持つ HIV-1 が治療前に存在しうることがわかった。(本村和嗣、大出裕高、中村浩美、守宏美、神田忠仁、潟永博之[国立国際医療センター　エイズ治療研究開発センター]、佐藤裕徳)

(5)C 型肝炎ウイルス（HCV）のゲノム解析

HIV-1 感染者同様、HCV の持続感染者の体内でも膨大な量の変異集団が発生していると推察されている。それらの変異株と HCV 感染者のインターフェロン治療耐性の関わりを調べた。宿主ゲノムの遺伝子型から治療感受性と予測されながら、PEG-IFN+RBV 治療に不応答であった患

者を含む19名のHCV感染者の血液中に存在するHCVゲノムのcore領域の情報をFLX 454を用いて網羅的に取得した（約 4.0×10^8塩基)。IFN耐性関連変異（R70Q or H）をもつHCV準種(＞1%)は､10名の検体で検出された(SVR: 7/12症例, NR: 3/7症例)。しかし､今回の解析対象では、70 番目のアミノ酸多型と 治療抵抗性の関係は認められなかった。(本村和嗣、大出裕高、杉山真也[国立国際医療センター　肝炎免疫研究センター]､中村浩美､守宏美、横山勝、田中靖人[名古屋市立大学]、神田忠仁、溝上雅史[国立国際医療センター　肝炎免疫研究センター]、佐藤裕徳)

2. 病原性ウイルスゲノムデータベースの構築

新興再興感染症や慢性感染症対策の一環として、病原体ゲノム情報のデータベース化を進めている。現在、病原体ゲノムデータベースには、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、HIV-1 の最新のゲノム情報が、自動更新システムにより蓄積されている。本年度は、アノテーションの修正機能を用いて、病原体ゲノムデータベースに蓄積されているノロウイルスのゲノム情報のアノテーションを修正した。（横山勝、佐藤裕徳）

3. 病原性ウイルスの宿主指向性に関する構造解析

（１）サル指向性HIV-1 CAの一アミノ酸変異によるサル細胞での増殖の促進

MN4S と MN5S は、サル細胞・個体での増殖効率が改善されたウイルスクローンである。アカゲザル由来HSR5.4細胞を用いてMN4S と MN5S の馴化を試みると、キャプシド（CA）のヘリックス６（h6）の一アミノ酸変異（CA-Ad）が増殖促進に寄与した。CA の構造解析により、同様の増殖促進効果が期待される h6 の他の一アミノ酸変異（CA-St）を見出した。CA-St を MN4S および MN5S に導入し､HSR5.4 細胞での増殖特性を調べると､CA-St は CA-Ad よりもさらに増殖効率を増強した。CA-St を導入したウイルスクローン MN4Rh-3(MN4S 由来)および MN5Rh-3(MN5S 由来）は、HSC-F 細胞、HSR5.4 細胞およびカニクイザル末梢血単核球での増殖効率が、親株よりも格段に向上していた。これらの結果は、CA の一アミノ酸変異により、この領域に関わる何らかの因子を回避することで、サル細胞での増殖が促進されることを示唆している。(横山勝、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大]、佐藤裕徳)

（２）アカゲザルに存在する抗 HIV-1 因子 TRIM5α を回避するサル細胞指向性 HIV-1 の構築

アカゲザル（Rh） TRIM5α を回避する HIV-1 の構築を目的として、ターゲットとなるキャプシド（CA）の改変を試みた。Rh TRIM5α による抑制を回避するため、Rh TRIM5α 抵抗性の SIVmac239 CA とのアミノ酸配列比較に基づき、HIV-1 クローン MN4Rh-3 および MN5Rh-3 の CA を遺伝子工学的に改変した。作製した 13 個の CA 変異体ウイルスの増殖特性を Rh 由来細胞株（M1.3S）にて比較した結果、4 個のウイルスクローンで増殖効率の向上が認められた。これら 4 つの CA 変異および SIVmac239 CA と MN4Rh-3/MN5Rh-3 CA との構造比較に基づく変異を適宜組み合わせて、多数のウイルスクローンを構築した。これらの中に、M1.3S 細胞での増殖効率が上記の 13 個の CA 変異体ウイルスよりも向上しているウイルスクローンが見出された。(横山 勝、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大]、佐藤裕徳)

4. 病原性ウイルスの中和逃避に関する構造解析

（１）HIV-1 gp120 outer domain の立体配置への V3 荷電量の影響

HIV-1 外被蛋白質 gp120 の高度可変領域 V3 は感染者の中和抗体の主要な標的であり、電荷によりウイルスの抗 V3 抗体中和感受性が制御される。これまで、V3 配列の荷電量の低下により CD4 結合ループの露出度が低下し、CD4 結合部位を認識する中和抗体による感受性が低下する可能性が示唆してきた。今年度は、gp120 の多様性をエントロピー解析により調べ、V3 の荷電量の低下によって CD4 結合ループ周辺のアミノ酸の多様性が低下していることを明らかにした。これは CD4 結合部位近傍が抗体の選択圧を受けていることを示唆し、構造解析の結果を支持する。また、V3 組換えウイルスを用い中和試験を行うと，V3 配列の荷電量の低下により CD4 結合部位を認識する中和抗体の感受性が低下することが明らかになった。(横山 勝、長縄 聡[横浜市大、臨床研]、松下修三[熊本大]、佐藤裕徳)

5. 病原性ウイルスの薬剤設計に関する構造解析

（１）マウスとヒトのノロ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

ヒトノロウイルスは､培養細胞を用いた増殖系が無い。一方、マウスノロウイルスは培養細胞で増殖できる。本研究では、マウスノロウイルス増殖系をヒトノロウイルス増殖阻害剤のスクリーニングに使う際の基盤情報収集を目的として、ヒトノロウイルスおよびマウスノロウイルスプロテアーゼの基質結合ポケットの構造解析を行い、

共通に基質結合に関わるプロテアーゼのアミノ酸残基の同定を行った。基質認識に関わる可能性が示唆されているP4、P2、P1はそれぞれ、疎水性ポケット、比較的弱い疎水性ポケット、親水性アミノ酸近傍に配置された。ノロウイルスプロテアーゼの基質認識には、P4、P2、P1の疎水性度が重要であることが示唆された。(横山 勝、岡智一郎[ウイルス２部]、遠矢幸伸[日大] 、片山一彦[ウイルス２部] 、佐藤裕徳)

(2) 抗HIV因子の構造解析

ヒト細胞タンパク質テザリンは、HIV粒子の放出を阻害する抗HIV因子として知られる。HIVは、Vpuタンパク質の働きでテザリンの抗HIV活性を中和し、ヒト細胞で増殖できる。京大の小林らは、テザリンのVpu感受性を制御するアミノ酸としてI34, L37, L41の３種を同定した。この制御を司る構造基盤を解析した。分子動力学法などを用いてテザリン膜貫通部位の脂質二重層における構造モデルを構築した。I34, L37, L41、は、脂質中でヘリックス構造をとること、側鎖はヘリックスの同じ表面で脂質中に露出すること、さらにT45の側鎖もこれらのアミノ酸と同一表面に配置すること、これら４種のアミノ酸が変異すると側鎖の配向が崩れることなどを見出した。これら４種のアミノ酸はVpuとの相互作用表面を形成する可能性が高い。この予測結果はさらなる変異導入解析で支持された。(大出裕高[現：国立病院機構名古屋医療センター]、小林朋子[京都大学ウイルス研究所]、小柳義夫[京都大学ウイルス研究所]、佐藤裕徳

IV. 病原性細菌のゲノム解析

１．バイオテロ・新興感染症対策としての超高速ゲノム解読システムの構築

バイオテロ・新興感染症による非常事態に対応するため、“迅速・網羅的・正確”を兼ね備えた次世代シークエンサーによる超高速ゲノム解読システムを構築した。前年度までは、*Bacillus anthracis*炭疽菌を中心にゲノム解読を行い、株系統解析法開発とゲノムワイドなキノロン耐性領域の探索を行った。本年度は他WHO指定バイオテロ病原体である *Yersinia pestis* ペスト菌、*Francisella tularensis* 野兎病菌、*Burkholderia pseudomallei* 類鼻疽菌のゲノム情報解析を行った。

解読した *Y. pestis* Yreka株の素性・由来が不確かであり、ゲノム情報によってその起源が推定できるかどうか検討した。公開ゲノム情報と併せてSNVs比較を行い、アメリカ株である CO92 と非常に近縁であることがわかった（28 SNVs / 4.7 Mb ゲノムサイズ)。公開ゲノム情報から推定されている *Y. pestis* の世界的な伝播経由（Nature Genetics 2010 42:1140-3）に合わせてみると、Yreka株は18世紀後半の中国福建省からハワイ・米国本土への伝播経路に関連した菌株に類することが示唆された。*Y. pestis* は世界的に３回のアウトブレイク が史実から知られており、その史実・ゲノム情報に基づいて由来不明のYreka株の系統関係を明らかにすることができた。バイオテロに使用された株の由来・起源をトレースし発生源を特定することと同じであり、株固有の SNVsが有用な情報源であることを示唆していた。

F. tularensis ゲノム情報に基づいたSNVs系統解析の報告論文(J Bacteriol.191(8):2474-84)を参考にしてNVF株のゲノム情報のSNVs系統比較を行ったところ、NVF株は弱毒性である *japonica* であるFSC022(Ebina)と類縁関係にあり、北米由来の強毒型 *tularensis* や北米・ユーラシア大陸由来の *holarctica* とは全く異なる系統関係を示すことが明らかになった。この結果は、日本分離株固有の遺伝型を示しており、*japonica* は島国日本で隔離された特有の subsp. であることが示唆された。

B. pseudomallei ゲノム情報の報告論文(J Clin Microbiol. 2010 Dec 22)を参考にして、計21株のゲノムSNVs系統比較を行い、計52,837箇所のSNVsサイトを取得した。その系統関係から、*B. pseudomallei* の分離株は分離された大陸に基づいた系統を示すことが明らかになった。アジア、オーストラリア、南米と大陸間で特有のゲノムSNVs系統を示すことから、個々の大陸において固有の環境に根付いた結果と考えられる。これら大陸・国・地域に特徴的な遺伝情報を包括的に取得し、かつ系統分類解析法を整備し、有事において正確な判断を処する基盤を整備した。

（関塚剛史、黒田　誠、高橋英之[細菌第一部]、宇田晶彦[獣医科学部]、棚林清[獣医科学部]）

２．網羅配列解読による病原体検出

2009年はパンデミック・インフルエンザウイルスによる脅威に全世界が不安におののいた年であった。日本においても少数であるが死亡例が散見し、今後のウイルス伝播と高病原性化の予測等、迅速に配列を確定する必要があった。国内のパンデミック・インフルエンザA ウイルスによる死亡例の肺剖検サンプルから抽出した全 RNAを網羅配列解読し、病原体候補を検索した。全解読リード（947 万本）のうち、インフルエンザ A ウイルス配列を約８万本（0.85%）同定することができた。ウイルス配列を平均 x200 以上のカバレージで解読できたことにより、ヘマグルチニン配列（HA, セグメント 4）に３箇所

の塩基変異を同定した。それら変異箇所は混合塩基になっており、２種類のヘマグルチニン配列の存在を明らかにした。それら変異による抗原ドリフトおよび肺上皮細胞のシアル酸（α2-6　及び　α2-3 ）への親和性変化を示唆するデータを得た。この次世代シークエンサーによるダイレクト網羅解読法により、インフルエンザウイルスが１患者体内で抗原性と病原性を変化させた可能性を見出した。偏見のないダイレクト遺伝子検査法として機能し、未知病原体をも検出できるセーフティーネットとして貢献するシステムである。

（黒田　誠、関塚剛史、片野晴隆[感染病理部]、中島典子[感染病理部]、佐多徹太郎[感染病理部]、佐々木裕子[細菌第二部]、荒川宜親[細菌第二部]）

３．薬剤耐性食中毒菌に係るゲノム配列レベルでの検出系開発

薬剤耐性化が懸念されるサルモネラ菌（*Salmonella enterica* Typhimurium, phage type：DT12）の T000240 株のゲノム解読と比較ゲノム解析により、水平伝達により獲得した特有の薬剤耐性因子がアイランド構造になっていることを明らかにした。β-ラクタム剤、アミノグリコシド、スルフォンアミド、キノロン耐性に関与する遺伝子群を内在する Class 1 integron や、テトラサイクリン耐性を伝達するトランスポゾンや、クロラムフェニコール耐性など、多剤耐性化に関与する因子群が集積しているだけでなく、重金属耐性や細菌感染に重要な鉄獲得系(Aerobactin 生合成系)をも近傍に位置していることが示唆された。これら集積には一旦伝達性プラスミドとして構築されたものと推定され、サルモネラ菌プラスミド pUO-StVR2 と浄化槽の活性汚泥から分離されたプラスミド pRSB107 と非常に近縁の塩基配列と構造を示していた。

さらに、全ゲノム情報を活用する有用な解析手法として、coregenome から選別した SNPs を用いた phylo-coregenome 法を行った。上述の T000240 株は 2000 年に日本で分離された ST19 に分類される菌株であるが、phylo-coregenome 法による詳細な分類により、1940 年に分離された LT2 株により近縁であり、1990 年代に伝播分布した DT104 株とは遠い系統であることを示していた。

（黒田　誠、関塚剛史、泉谷秀昌[細菌第一部]、渡邊治雄[細菌第一部]）

４．感染症の関与が疑われる難治性疾患の病原体検索・解析

難治性疾患として登録される所謂“難病” は未だその病因論（etiology）が確立していない。その一つに川崎病が挙げられ、小児（主に 6 ヶ月ー5 歳）の 200 人に１人が川崎病に罹患する。川崎病は小児の急性発熱性疾患のひとつで、その本態は急性全身性血管炎である。

感染症が病態憎悪に関与しているかどうか検討するため、次世代シークエンサーによる網羅配列解読で病原体候補を検索した。はじめに、川崎病患者の血清・咽頭ぬぐい液から共通する病原体候補の探索を試みたが、患者ごとの病歴・治療歴等が影響しているためか、特定の共通因子を見出すことができなかった。患者ごとの固有因子も否定出来ないため、グロブリン治療前後の血清を網羅配列解読し、急性期と回復期における差異を指標にして病原体候補を探索した。免疫グロブリン治療により *Streptococcus* 属の減少傾向が顕著に見られた。*Streptococcus* 属にはスーパー抗原を産生する A 群溶血性レンサ球菌 *S. pyogenes* が知られており、その関与が疑われて久しいが、患者の血液培養等の培養検査では全て陰性であるため、他の *Streptococcus* species を念頭において総合的に解釈する必要があり、現在、川崎病に関連する *Streptococcus* species の分離培養を行っている。

（黒田　誠、関塚剛史、絹巻暁子「東京大」、水谷哲也[ウイルス第１部]、片野晴隆[感染病理部]、佐藤誠一[新潟市民病院]、大場邦弘[公立昭和病院]、森雅亮[横浜市立大]、横田俊平[横浜市立大]）

５.細菌 16S-rDNA 配列を基礎とした細菌フローラの網羅分布解析法の開発

難治性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎（UC）は、個有の遺伝的背景と腸内細菌叢が密接に関連して発症する事が示唆されている。三種の抗菌剤（アモキシシリン／テトラサイクリン／メトロニダゾール）を二週間投薬するだけで、その疾患が１年以上緩解する治療例が報告されている。しかしながら、その患者腸管内の膨大な細菌叢の中で、どの細菌が最もその疾患と相関するのかは不明である。本研究は、UC 発症の環境要因となる細菌叢を抗菌剤治療前後で網羅的且つ定量的に解析を行い、本疾患と密接に関連する細菌の探索を行い、本疾患の発症機序を環境要因の側から理解することを目的とする。これまでに、UC 患者の腸内細菌叢は、T-RFLP、定量 PCR、16S rDNA のシークエンス等の手法で解析されてきた。しかしながら、上記手法は網羅性もしくは定量性のどちらかに特化しており、密接に関連する菌種の特定に至らず、より網羅的且つ定量的解析が必要となる。細菌叢の新解析手法とし

て、パイロシークエンス法による次世代シークエンサーが用いられているが、コストが高いのが難点である。本研究課題により、Illumina 社の次世代シークエンサーを用いて糞便中の minor group（1x103ー4cfu/1g）の細菌の検出も可能な、簡便で安価、網羅的且つ定量的解析手法を開発した。本手法を用いることで、本疾患に密接に関与する細菌が明らかになると期待される。

（関塚剛史、黒田　誠）

６．生鮮食品による不明食中毒の解析

不明感染症疑いのかかる症例は数多く、その中でも生鮮魚による不明食中毒の症例が増加傾向にあった。この不明症例に特徴的な疫学調査結果として、推定される魚の刺身を喫食した平均６時間後に嘔吐・下痢を数回もよおし、その後特に目立った腹痛もない軽微な食中毒であることがわかっている。毒素性もしくは細菌性食中毒とは潜伏時間が異なり、様々な検査（毒素、細菌、ウイルス、マリントキシン）が陰性であることを考慮すると、従来の考え方が全く通用しない可能性を示唆していた。そこで、当該食中毒事例残品を網羅配列解読し、関連する病原体を検索した。

嘔吐・下痢に関連する対象魚の全ゲノム配列が公開されていないため、喫食して問題の無い切り身の網羅配列解読をコントロール配列とし、比較解析を行うことで嘔吐食材からのみ検出される解読リードを選別した。相同性検索の結果、魚病（ジェリーミート）の原因と知られている粘液胞子虫クドア属(Kudoa)の18S, 28S-rRNAの配列が顕著に検出された(2.56%)。切り身の PBS 懸濁液の鏡検により、大量の６極嚢を有する粘液胞子虫を確認した。複数の当該食中毒事例残品とコントロール・サンプルを用いて18S-rRNAに対する定量的RT-PCRを行ったところ、食中毒事例残品では１万倍以上もの Kudoa 属の存在を確認した。

対象魚の食材を煮魚や冷凍保存すると嘔吐活性が消失することから、特徴的な原因物質だと推定される。数多くの疫学調査、網羅配列解読、動物実験により検討すべき原因物質の候補を絞り込むことができた。

（黒田　誠、関塚剛史、大西真[細菌第一部]、野崎智義[寄生動物部]、大西貴弘[国立食品衛生研究所]、小西良子[国立食品衛生研究所]）

７．呼吸器ウイルス遺伝子の網羅解析に関する研究

呼吸器ウイルスは、かぜ様症候群を引き起こすだけでなく、気管支炎や肺炎などの引き起こす重症呼吸器ウイルス感染症の対策はますます重要になっている。本研究は、次世代シークエンサーの解析能力を駆使し、呼吸器ウイルス感染症患者から供試頂いた検体（各種臓器・組織検体）から核酸配列を網羅的に解読し、検体中に内在する微生物を全て抽出して微生物カタログ作製を目的としている。山形県で小流行した呼吸器感染症の疑いのある不明病検体（咽頭・便検体）の網羅配列解読の結果、Human parechovirus（HPeV）の塩基配列を検出し、HPeV 全長配列の決定により HPeV-3 型のウイルス感染の疑いがあることを明らかにした。HPeV-3 の VP1 配列に対する特異プライマーを用いて RT-PCR 検査したところ、他便検体から６検体の陽性バンドを確認し、他咽頭・髄液検体からは検出されなかった。不明病態から病原体と想定されるウイルスを網羅配列解読法により偏見無く検出することができた。多種多様に変異導入する RNA ウイルス全てを検出するためには次世代シークエンサーによる検出・鑑別法は有用と考えられる。手法の簡便化と機器類・検査費用の低価格が実現すれば幅広く病原体検査に適応されると想定されるため、将来の先端的な病原体検査法の開発を視野に入れて広範な感染症対策に貢献するシステムを構築していきたい。

（関塚剛史、黒田　誠、木村博一[感染症情報センター]、水田克己[山形衛研]）

８．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、トロイの木馬のように原生動物をベクターとして継ぎの宿主へ感染することが可能であると知られている。牛糞便中には、新規 *Balantidium* 属の原虫が高頻度に検出された。その原虫のう子中に存在する細菌の 16S rRNA 遺伝子を次世代シークエンサーにて網羅配列解読し、牛糞便全体の細菌叢と比較を行った。糞便細菌叢で主要な割合を占めた偏性嫌気性細菌の全てがのう子内に存在することは無く、糞便細菌叢の解析で検出限界以下であった細菌が、のう子内から検出された。従って、原虫のう子内に特異的に存在する細菌が存在することが示唆された。また、のう子内に存在する細菌を CTC にて染色し、蛍光顕微鏡にて観察を行ったところ、のう子の食胞と思われる形態内に、生菌が観察された。本研究により、牛糞便内にはこれまでに報告ない新規 *Balantidium* 属が存在し、そののう子内の食胞には特異的な細菌が生存した状態で存在することが示唆され、腸内に存在する細菌が過酷な自然環境中においてものう子内で生存可能であり、腸内寄生性原虫をベクターとして利用してい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 ワクチンの国家検定

新規に承認申請された HPV ワクチン（4 価ワクチン）の承認前検査を製剤担当室として、血液安全性研究部･細菌第二部と共に実施した。国内承認に際して、その生物学的製剤基準案を所内で取りまとめた。また前年度に承認された HPV ワクチン（2 価ワクチン）の検定を製剤担当室として担当した。検定試験項目の内、VLP 力価試験を試験担当室として実施した。(松尾理加、石井克幸、森　清一郎、竹内隆正、柊元　巌、黒田　誠)

国際協力関係業務

WHO HPV ラボラトリーネットワーク活動

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。HPV ラボネットが主催する HPV DNA proficiency panel に参加し、十分な能力を持つ HPV ラボとして認定を受けた。また HPV laboratory manual の編集に参加し、出版に携わった。(柊元　巌、松尾理加、森　清一郎、近藤一成[NTT 東日本病院]、川名　敬[東京大学医学部産婦人科教室])

発 表 業 績 一 覧

I.　I. 誌 上 発 表

1.　欧文発表

1) Ishii, Y., Tanaka, K., Kondo, K., Takeuchi, T., Mori, S., and Kanda, T. Inhibition of nuclear entry of HPV16 pseudovirus-packaged DNA by an anti-HPV16 L2 neutralizing antibody. Virology. 406: 181-188, 2010.

2) Kusumoto-Matsuo, R., Opresko, P. L., Ramsden, D., Tahara, H., and Bohr, V. A. Cooperation of DNA-PKcs and WRN helicase in the maintenance of telomeric D-loops. Aging. 2: 274-284, 2010.

3) Kusumoto-Matsuo, R., Kanda, T., and Kukimoto, I. Rolling circle replication of human papillomavirus type 16 DNA in epithelial cell extracts. Genes to Cells. 16: 23-33, 2011.

4) Mori, S., Nakao, S., Kukimoto, I., Kusumoto-Matsuo, R., Kondo, K., and Kanda, T. Biased amplification of human papillomavirus DNA in specimens containing multiple human papillomavirus types by PCR with consensus primers. Cancer Science. 102: 1223-1227, 2011.

5) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Nakamura H, Mori H, Kanda T, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Takeda N, Sato H, the Norovirus Surveillance Group of Japan. Divergent Evolution of Norovirus GII/4 by Genome Recombination over 2006-2009 in Japan. *J Virol*, 84:8085-97, 2010.

6) Kono K, Song H, Yokoyama M, Sato H, Shioda T, Nakayama EE. Multiple sites in the N-terminal half of simian immunodeficiency virus capsid protein contribute to evasion from rhesus monkey TRIM5α-mediated restriction. *Retrovirology*, 7:72, 2010.

7) Inagaki N, Takeuchi H, Yokoyama M, Sato H, Ryo A, Yamamoto H, Kawada M, Matano T. A structural constraint for functional interaction between N-terminal and C-terminal domains in simian immunodeficiency virus capsid proteins. *Retrovirology*, 7:90, 2010.

8) Yokoyama M, Mori H, Sato H. Allosteric regulation of HIV-1 reverse transcriptase by ATP for nucleotide selection.. PLoS One. 5:e8867, 2010.

9) Gatanaga H, Ode H, Hachiya A, Hayashida T, Sato H, Oka S. Combination of V106I and V179D polymorphic mutations in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers resistance to efavirenz and nevirapine but not etravirine. *Antimicrob Agents Chemother*. 54:1596-602, 2010.

10) Gatanaga H, Ode H, Hachiya A, Hayashida T, Sato H, Takiguchi M, Oka S. Impact of human leukocyte antigen-B*51-restricted cytotoxic T-lymphocyte pressure on mutation patterns of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. *AIDS*. 24:F15-22, 2010.

11) Onyango CO, Leligdowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama EE, Shioda T, de Silva T, Townend J, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S, Cotten M. HIV-2 capsids distinguish high and low virus load patients in a West African community cohort. *Vaccine*. 28 Suppl 2:B60-7, 2010.

12) Matsuoka E, Tanaka Y, Kuroda M, Shouji Y, Ohta T, Tanaka I, Yao M. Crystal structure of the functional region of Uro-adherence factor A (UafA) from Staphylococcus saprophyticus reveals participation of the B domain in ligand binding. Protein Sci. 2010 Dec 15. [Epub ahead of print]

13) Izumiya H, Sekizuka T, Nakaya H, Taguchi M, Oguchi A, Ichikawa N, Nishiko R, Yamazaki S, Fujita N, Watanabe H, Ohnishi M, Kuroda M. Whole-genome analysis of Salmonella enterica serovar Typhimurium T000240 reveals the acquisition of a genomic island involved in multidrug resistance via IS1 derivatives on the chromosome. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Feb;55(2):623-30. Epub 2010 Nov 22.

14) Kuroda M, Serizawa M, Okutani A, Sekizuka T, Banno S, Inoue S. Genome-wide single nucleotide polymorphism typing method for identification of Bacillus anthracis species and strains among B. cereus group species. J Clin Microbiol. 2010 Aug;48(8):2821-9. Epub 2010 Jun 16.

15) Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. PLoS One. 2010 Apr 23;5(4):e10256.

16) Serizawa M, Sekizuka T, Okutani A, Banno S, Sata T, Inoue S, Kuroda M. Genomewide screening for novel genetic variations associated with ciprofloxacin resistance in Bacillus anthracis. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Jul;54(7):2787-92. Epub 2010 Apr 12.

2. 和文発表

1) 柊元 巖“子宮頸がんとヒトパピローマウイルス（HPV）感染”アニムス、17-20、2010.

2) 佐藤裕徳：ヒトノロウイルスの生存戦略（総説）、ウイルス、60:21-32、2010.

3) 岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、徐紅、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金南希、菅原裕美、氏家誠、小渕正次、小田切孝人、 本村和嗣、佐藤彩、横山勝、柊元巖、佐藤裕徳、小口晃央、山崎秀司、藤田信之、田代眞人 “2009/10 シーズンの季節性および新型インフルエンザ分離株の解析”病原微生物検出情報月報 Vol. 31 p. 253-260: 2010 年 9 月号

4) 田村務, 田澤崇, 渡邉香奈子, 渡部香, 昆美也子 , 三好龍也, 内野清子, 吉田永祥 松尾光子, 西口智子, 田中智之, 北元憲利 , 本村和嗣, 佐藤裕徳 “ノロウイルス GII/4 の 2008a 亜株の動向とイムノクロマト法の改良” 病原微生物検出情報月報 Vol. 31 p. 316-317: 2010 年 11 月号

5) 松下修三, 横山 勝, 宮内浩典, 松田善衛, 俣野哲朗, 岩谷靖雅. HIV 細胞侵入とその防御機序. 日本エイズ学会誌, 12:67-73, 2010.

6) 黒田 誠 “変貌する感染症研究 -感染症対策に欠かせない網羅配列解読法- ” 医学のあゆみ、236(6): 571-576、2011.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Murakami, I., Takeuchi, T., Kukimoto, I., Nakahara, T., Matsuo, R., Fujii, T., Aoki, D., and Kanda, T. Nucleosome positioning on episomal human papillomavirus DNA in cultured cells. 26th International Papillomavirus Conference (2010 年 7 月、モントリオール)

2) Yokoyama M, Naganawa S, Kitamura K, Sato H. Influence of Net Positive Charge in V3 Sequence on Conformation of HIV-1 gp120 outer domain. 5TH GERMAN-JAPANESE HIV-SYMPOSIUM, Keio University, Tokyo, Japan, 2010.

3) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Sato H, the Norovirus Surveillance Group of Japan. Evolution of Norovirus GII/4 in Japan by Genome Recombination. Fourth International Conference on Caliciviruses, Santa Cruz, Chile, 2010.

4) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kanda T, Sato H. Structural insight into substrate recognition based on P4 and P1 residues by Sapovirus 3C-like protease. Fourth International Conference on Caliciviruses, Santa Cruz, Chile, 2010.

5) Tanaka T, Motomura K, Sato H, Uchino K, Yoshida H, Miyoshi T, and Matsuo M. Genetic characteristics of double infection of Noroviruses not related to oyster consumption. The Forth International Calicivirus Conference, 2010, Santa Cruz, Chile.

2. 国内学会

1) 村上 功、竹内隆正、藤井琢磨、青木大輔、神田忠仁：An Adeno-Associated Virus Vector Efficiently And Specifically Transduce Mouse Skeletal Muscle、第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会（2010 年 7 月、宇都宮）

2) 村松祐理、斎藤　督、柊元　巌、塚原祐輔：VeraCode-Allele Specific Primer Extension（ASPE）法を用いたHuman Papillomavirus（HPV）の型特異的な検出 、第17回日本遺伝子診療学会（2010年8月、津）

3) 石井克幸、田中恵子、近藤一成、竹内隆正、森　清一郎、神田忠仁：高リスク型共通中和抗体によるヒトパピローマウイルス（HPV）感染抑制機構、第58回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

4) 柊元　巌、松尾理加、近藤一成、神田忠仁：PGMYリバースブロッティング法による我が国のHPV遺伝子型分布の調査、第58回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

5) 本村和嗣、野田衛、田中智之，Norovirus Surveillance Group of Japan.ノロウイルスGII/4の生き残り戦略，第84回　日本感染症学会総会、ワークショップ（2010年4月、京都）

6) 本村和嗣.ノロウイルスのゲノム組換えと抗原性変異，第20回　第20回感染研シンポジウム“ゲノム情報と感染症研究”（2010年5月、東京）

7) 佐藤裕徳．HIVの中和抗体逃避機構．第20回感染研シンポジウム“ゲノム情報と感染症研究”(2010年5月、東京）

8) 本村和嗣．ノロウイルスのゲノム解析，第1回新興･再興感染症拠点ゲノムセミナー(2010年5月、仙台）

9) 田中智之、本村和嗣．ノロウイルス，第51回日本臨床ウイルス学会､シンポジウム(2010年6月、香川）

10) 本村和嗣．ゲノミクスと計算科学の手法に基づくノロウイルス進化の研究，第58回　日本ウイルス学術集会　シンポジウム､(2010年11月　徳島）

11) 横山　勝．ゲノミクス，計算科学，実験科学の手法に基づくHIVの中和抗体逃避機構の研究．第58回日本ウイルス学会学術集会，シンポジウム（2010年11月、徳島）

12) 稲垣奈津子，武内寛明，横山　勝，佐藤裕徳，梁明秀，俣野哲朗．SIV CAのNドメインとCドメインの機能的相互作用に関わるアミノ酸残基の同定．第58回日本ウイルス学会学術集会，（2010年11月、徳島）

13) 河野　健，横山　勝，佐藤裕徳，塩田達男，中山英美．アカゲザルTRIM5αはHIV-2/SIVmacキャプシドの複数領域を認識する．第58回日本ウイルス学会学術集会　（2010年11月、徳島）

14) 土肥直哉，齊藤　暁，明里宏文，藤原佐知，三宅在子，横山　勝，大出裕高，佐藤裕徳，足立昭夫，野間口雅子．サル指向性HIV-1 CAの１アミノ酸変異はサル細胞での増殖を促進する．第58回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

15) 野間口雅子，土肥直哉，藤原佐知，三宅在子，横山　勝，大出裕高，佐藤裕徳，足立昭夫．アカゲザルに存在する抗HIV-1因子TRIM5αとtetherinを回避するサル細胞指向性HIV-1の構築．第58回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

16) Wisoot C，横山　勝，Aksara T，Pattara K，小林正明，沖津祥子，牛島廣治．Emergence of a new Norovirus GII.6 Variant among Infants and Children with Acute Gastroenteritis in Shizuoka, Japan during 2008-2009．第58回日本ウイルス学会学術集会，（2010年11月、徳島）

17) 久保嘉直、吉居廣朗、神山陽香、田中勇悦、佐藤裕徳､山本直樹:カテプシンBはCD4非依存性HIV感染感受性の重要な決定因子の一つである．第５８回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

18) 神山陽香、岩尾正倫、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直：TetherinのHIV-1 cell-cell transmissionに及ぼす影響．第５８回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

19) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、本村和嗣、佐藤彩、佐藤裕徳、氏家誠、小渕正次、田代眞人、小田切孝人、全国地方衛生研究所：2009/10 シーズンにおける抗インフルエンザ薬剤耐性 pandemic A/H1N1 株の検出と新規薬剤ペラミビルに対する交叉耐性．第５８回日本ウイルス学会学術集会（2010年11月、徳島）

20) 岸田典子、徐紅、高下恵美、藤崎誠一郎、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金南希、本村和嗣、佐藤彩、佐藤裕徳、網康至、須崎百合子、小口晃央、山崎秀司、藤田信之、小渕正次、氏家誠、田代眞人、小田切孝人、全国地方衛生研究所“2009/10 シーズンのインフルエンザ流行株と平成22年度のワクチン株”第58回　日本ウイルス学術集会（2010年11月、徳島）

21) 田中智之，本村和嗣，内野清子、三好達也、松尾光子、西口智子、佐藤裕徳，吉田永祥：食中毒事例におけるノロウイルス重感染のウイルス遺伝子

学的解析. 第 31 回日本食品微生物学会学術総会（2010 年 11 月、滋賀）

22) 野間口雅子, 齊藤　暁, 明里宏文, 土肥直哉, 藤原佐知, 三宅在子, 横山　勝, 大出裕高, 佐藤裕徳, 足立昭夫. サル細胞で効率良く増殖する HIV-1 の構築―アカゲザル TRIM5α と tetherin による抑制の回避― 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会（2010 年 12 月、東京）

23) 泉　泰輔, 横山　勝, 篠原正信, 松井道志, 井尾克宏, 佐藤裕徳, 高折晃史. 抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3G の N 末端ポケット構造の重要性. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会（2010 年 12 月、東京）

24) 小林朋子、大出裕高、佐藤佳、Gee Peter、山元誠司、蝦名博貴、佐藤裕徳、小柳義夫:Human tetherin transmembrane domain is responsible for HIV-1 Vpu interaction and susceptibility. 第 24 回日本エイズ学会学術集会・総会（2010 年 12 月、東京）

25) 岡　智一郎, 横山　勝, 高木弘隆, 本村和嗣, 村上耕介, 佐藤裕徳, 脇田隆字, 片山和彦. カリシプロテアーゼ catalytic triad 形成残基のポリプロテイン切断活性への重要性. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会（BMB2010）,（2010 年 12 月、神戸）

26) Izumi T, Yokoyama M, Shinohara M, Matsui M, Io K, Sato H, Takaori-Kondo. A Model structure of APOBEC3G N-terminal region reveals a binding pocket modulating HIV-1 Vif interaction and RNA required for encapsidation. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会（BMB2010）（2010 年 12 月、神戸）

27) 黒田誠。次世代シークエンサー網羅配列解読法による川崎病の病原体候補カタログの作製。第 26 回関東川崎病学会　（2010 年 6 月、東京都渋谷区）

28) 黒田誠。次世代シークエンサーによる網羅的且つ定量的なヒト腸内細菌叢解析。第 93 回日本細菌学会・関東支部会　（2010 年 10 月、横浜市）

29) 黒田誠、関塚剛史、絹巻暁子、佐藤誠一、大場邦弘、浜田洋通、寺井勝、緒方昌平、石井正浩、森雅亮、横田俊平、水谷哲也。次世代シークエンサーによる川崎病の原因究明。　第 113 回日本小児科学会学術集会　（2010 年 4 月、盛岡市）

30) 黒田誠。次世代シークエンサーによる川崎病の病原体候補カタログの作製。第 30 回日本川崎病研究会　（2010 年 10 月、京都市）

31) 黒田誠、片野晴隆、中島典子、飛梅実、関塚剛史、相内　章、長谷川秀樹、佐々木裕子、荒川宜親、佐多徹太郎。次世代シークエンサーによるパンデミック・インフルエンザウイルス A/H1N1/2009 の多種性解析。BMB2010 第３３回分子生物学会年会（2010 年 12 月、神戸市）

32) 宇田晶彦、関塚剛史、藤田修、黒田誠、堀田明豊、山本美江、棚林清、山田章雄 *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* SCHU 株の強毒性に関わる遺伝子の同定。BMB2010 第３３回分子生物学会年会　（2010 年 12 月、神戸市）

33) 関塚剛史、黒田誠。次世代シークエンサーを用いた 16S rDNA 配列解読による網羅的且つ定量的な腸内細菌叢解析。BMB2010 第３３回分子生物学会年会　（2010 年 12 月、神戸市）

34) 黒田誠。次世代シークエンサーによるパンデミック・インフルエンザウイルス A/H1N1/2009 の多種性解析。第 151 回日本獣医学会学術集会　（2011 年 3 月、府中市）

III. 学会等（財団等を含む）の学術賞受賞者

大出裕高. *in silico*構造解析のHIV/AIDS研究への応用. ECC山口メモリアルエイズ研究奨励賞受賞者（日本エイズ学会）

IV. 研究助成金等（財団等の競争的資金）獲得者

柊元巌　三菱財団　平成 22 年度自然科学研究助成金

２２．インフルエンザウイルス研究センター

センター長　田 代 眞 人

概　要

当センターは、インフルエンザに関する研究・開発業務及び国の新型インフルエンザ事前準備と緊急対応体制の強化、およびワクチン製剤の品質管理体制の独立を目的として、平成21年4月1日に、6室構成、定員27名で村山庁舎に新設された。業務はインフルエンザの病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファランス業務、細胞培養ワクチン及び経鼻接種方法の開発、ワクチン製剤の品質管理及び国際協力である。第1室(ウイルスサーベイランス)、第2室(診断検査、国内外研修)、第3室(ワクチン製剤品質管理、GMP管理)、第4室(季節性・新型ワクチン製造株の開発)、第5室(細胞培養ワクチン開発)、第6室(経鼻接種ワクチン開発)が業務を分担・協力しながら実施している。

H22年度の人事異動では、平成22年3月31日付で氏家誠(主任研究官)、平成22年5月31日付で小渕正次(主任研究官)が辞職し、平成22年4月1日付で藤崎誠一郎(任期付研究員)、高山郁代(任期付研究員)、7月1日付で松井清彦(主任研究官)、平成23年1月1日付で川口昌(任期付研究員)が採用された。

センター設立直後に始まった(H1N1)2009 パンデミックは平成21年3月までに実質的に終息したため、平成22年度は通常の季節性インフルエンザ対応業務に移行したが、国による新型インフルエンザ終息が宣言された平成23年3月までは、新型インフルエンザ対応体制を維持した。

流行動向調査（サーベイランス）事業等を地衛研、感染症情報センターと協力して進め、流行ウイルスの抗原・遺伝子解析、流行予測、薬剤耐性モニターを継続し、厚労省の依頼に応じて季節性ワクチン製造株を選定した。また、サーベイランス、ワクチン製造に必要な抗原解析及びワクチン品質管理用の各種標準品を製造・配布及び技術支援を行った。

ワクチン品質管理業務では、国家検定（季節性、新型及び緊急輸入ワクチン）、各標準品に関するレファランス業務を担当し、生物学的製剤GMPにも協力した。またワクチン国家検定SOP改定、標準品の開発整備、GMP中心の国際的品質管理体制の確立に努め、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保というNCLの責任を果たした。

国際協力では、WHO監視網（GISN）の基幹であるWHOインフルエンザ協力センターとして、国内外のパンデミック経験、反省、評価に基づいた国際サーベイランス活動及びパンデミック緊急対応の再検討・改善・強化への助言・提言とその実施を担った。一方、通常の活動として、世界各国の分離株・臨床検体の解析、流行予測及び候補ワクチンの効果予測から、南北半球向けのWHOワクチン推奨株を選定した。また、WHO世界インフルエンザ計画（GIP）に参画し、PCR診断、薬剤耐性の各作業班、世界インフルエンザ研究計画の推進、臨床対応指針改訂、ワクチン株選定改良、ワクチン品質管理、培養細胞ワクチン開発などで重要な役割を果たし、またWHO、JICA等の依頼に応じて、周辺諸国への技術指導、研修を行った。一方、WHO H5N1指定研究室として、世界各地の高病原性インフルエンザウイルスの診断、分離、性状解析、技術支援を実施した。また、WHO Essential Regulatory Laboratoryとして、ワクチン製造候補株開発及び参照品の作製、国際標準化、分与及び周辺諸国への技術研修と精度管理試験等を実施した。

国の新型インフルエンザ計画として、平成25年度を目標に、半年以内により有効なワクチンを国民全員に供給できる体制の確立を目標に、細胞培養ワクチン及び経鼻接種方式の実用化に関する開発研究を、WHO及び国内外ワクチンメーカーと協力して推進した。非臨床試験を実施して動物レベルでの安全性、有効性を検証し、今後臨床試験、製造施設の建設を推進することとなった。

業　績

調査・研究

Ⅰ．インフルエンザウイルスに関する研究

1. 抗インフルエンザ薬感受性試験系の新規構築および改良

抗インフルエンザ薬耐性株の検出には遺伝子型解析と表現型解析が用いられる。日本国内における抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスでは、遺伝子型解析として TaqMan RT-PCR 法および NA 遺伝子部分シークエンス法による H275Y 耐性変異の検索が行われている。一方、表現型解析としては抗インフルエンザ薬感受性試験による IC50 値の算出が行われている。インフルエンザの治療には NA 蛋白を標的とする抗インフルエンザ薬オセルタミビルまたはザナミビルが使用されており、日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにおいては、オセルタミビルおよびザナミビルに対する感受性試験が行われてきた。2010 年には新規薬剤ペラミビルおよびラニナミビルの国内販売が新たに開始されたため、感受性試験の対象を 4 薬剤に拡大する必要が出てきた。そこで、ペラミビルおよびラニナミビルに対する感受性試験を新規に構築した。抗インフルエンザ薬感受性試験には主に化学発光法と蛍光法が用いられるが、これまで日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにおいては、化学発光法のみが行われていた。そこで、新たに蛍光法を導入した結果、化学発光法と蛍光法を併用することで、抗インフルエンザ薬耐性株の性状をより詳細に解析することが可能になった。また、化学発光法の改良を行った結果、検出感度を上げることに成功した。［高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金 南希、岸田典子、徐 紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代眞人、小田切孝人］

2. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種により得られるヒト血清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。そこで、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赤血球凝集抑制試験にて評価した。アメリカ、イギリス、オーストラリア、中国から入手したヒト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た。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で議論され、ワクチン株選定の資料として活用された。［岸田典子、徐 紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、金 南希、齋藤玲子*、池松秀之**、田代眞人、小田切孝人：*新潟大学国際感染医学講座、**原土井病院臨床研究部］

3. 2010/11シーズンA/H3およびB型ワクチンの臨床評価に関する研究

日本の 2010/11 シーズン A/H3 および B 型インフルエンザワクチン株は、A/Victoria/210/2009 (H3N2)(X-187) と B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)である。フェレット感染血清を用いた赤血球凝集抑制(HI)試験から、これらのワクチン製造株は、孵化鶏卵への馴化により最近の A/H3 および B/ビクトリア系統流行株とは抗原性が異なっていることが示された。すなわち、A/H3 および B 型ウイルスに対してワクチン効果が低い可能性が示唆されたことから、ワクチン接種者の血清を用いてワクチンの効果を評価した。HI および中和抗体法によるワクチン接種後のヒト血清抗体の流行株との反応性の評価から、2010/11 シーズンインフルエンザワクチンは、A/H3 流行株には効果が期待できたが、B 型流行株に対しては効果が低かったことが示唆された。［岸田典子、藤崎誠一郎、横山 勝*、佐藤裕徳*、齋藤玲子**、池松秀之***、徐 紅、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、金 南希、佐藤彩、田代眞人、小田切孝人：*病原体ゲノム解析研究センター、**新潟国際感染医学講座、***原土井病院臨床研究部］

4. インフルエンザウイルスの遺伝子に基づくタンパク質の機能解析

インフルエンザウイルスの機能的遺伝子解析を感染研病原体ゲノム解析研究センターと協力し進めた。①インフルエンザウイルスに対するワクチン候補株選定の一つの手段となることを目標とし、抗原性変化を予測する系の確立を計画した。A/H3N2 ウイルスは 2007/08 シーズン（ワクチン推奨株：A/Brisbane/10/2007）と 2009/2010 シーズン（ワクチン推奨株：A/Perth/16/2009）では抗原性が大きく異なっている。また、2009/2010 シーズンには、抗原性には差が無いものの遺伝子的には明確に区別される集団が 2 つ（A/Perth/16/2009 クレード、A/Victoria/208/2009 クレード）存在する。このため、A/H3N2 亜型を抗原性変化予測のモデルとし、抗原性解析と遺伝子解析の結果に基づき解析対象株を選定した。現在、対象株につ

いて立体構造を推測し、抗原性の変化について解析を進めている。②A/H1N1pdm09 ウイルスをモデルとし、NA タンパク質内のアミノ酸置換がオセルタミビルとの結合強度に与える影響と、NA 活性に与える影響の予測を実施した。現在 A/H1N1pdm09 ウイルスからは散発的にオセルタミビル耐性株が分離されている。これらの耐性株について実施した遺伝子解析および、薬剤感受性試験結果を利用してアミノ酸置換による NA 立体構造の変化､NA 活性および薬剤感受性への影響を計算上から推測する研究を進めている。[藤崎誠一郎、金南希、佐藤彩、佐藤裕徳*、本村和嗣*、横山　勝*、小口晃央**、山崎秀司**、藤田信之**、田代眞人、小田切孝人: *病原体ゲノム解析センター、**独立行政法人製品評価技術基盤機構]

5. 孵化鶏卵馴化によって起こる変異とウイルス性状の研究

MDCK 由来 H３N２ウイルスを発育鶏卵に馴化し、そのウイルスの遺伝子、増殖性および抗原性を解析した。発育鶏卵への馴化によってウイルスの HA 価が 32～128 上昇した。また馴化したウイルスの HA 蛋白の 194 位のアミノ酸置換（L→P）が認められ、この置換が卵への馴化に関与していることが示唆された。フェレット抗血清を用いた HI 試験による馴化ウイルスの抗原性解析では、MDCK 由来ウイルスと比べ、抗原性の変化は認められなかった。［徐　紅、氏家　誠*、安楽茜、金　南希、高下恵美、藤崎誠一郎、岸田典子、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、田代眞人、小田切孝人：*日本獣医生命科学大学］

6. リアルタイム PCR 法を用いた H275Y オセルタミビル耐性株の検出系の構築

全国の地方衛生研究所において A/H1N1pdm ウイルスの NA 蛋白質が H275Y に変異したオセルタミビル耐性株の出現を迅速に把握するため NA 遺伝子の部分シークエンス法よりも簡便で迅速なリアルタイム PCR 法を用いた H275Y 変異検出法の開発を行った。［中内美名、髙山郁代、影山　努］

7. 高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)遺伝子診断検査の改良

2010 年 10 月以降、日本の野鳥および家禽の間で広まった高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)を高感度に検出するため、リアルタイム RT-PCR 法による高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)の遺伝子診断検出系の改良を行った。改良したプライマー配列および検査マニュアルは全国の地方衛生研究所および検疫所に開示した。［髙山郁代、中内美名、影山　努］

8. シードウイルス分離用細胞としての Per.C6 細胞の検討

Crucell 社（オランダ）が所有する Per.C6 細胞を用いてインフルエンザワクチンの開発研究を行うことを目的とし、MTA の締結と Per.C6 細胞培養系の技術移転を行った。Per.C6 細胞の継代・保存法、ウイルス接種法、ウイルス力価測定法などの技術を Crucell 社での研修で習得し、Per.C6 細胞の高い遺伝子導入効率や基準ウイルス株の良好な増殖性を確認した。Per.C6 細胞培養に必要な試薬・器具の準備や、作業時に使用する記録書を作成し、当該細胞培養系のインフルエンザウイルス研究センターへの導入を行った。[高橋　仁、中村一哉、原田勇一、浜本いつき、板村繁之、田代眞人、山本典生]

9. 培養細胞由来ウイルスの鶏卵における増殖性、遺伝的・抗原的安定性の解析

臨床検体より培養細胞を用いて分離した A 型インフルエンザウイルスの鶏卵におけるウイルス増殖性と、増殖したウイルスの性状解析を行なった。その結果、ウイルスの増殖性については、A/H1 型ウイルス株の増殖効率は良かったが、A/H3 型ウイルスの鶏卵での増殖は困難であった。また、A/H1 型ウイルスは鶏卵による継代を繰り返すと非常に早期に、鶏卵分離ウイルスに頻発する遺伝子点変異が起こることが明らかとなった。しかしながら、鶏卵継代過程において、ウイルスの抗原性に大きな変化は観察されなかった。今後は A/H3 型ウイルスの鶏卵への接種法の検討と、B 型ウイルスに関する解析が必要である。[原田勇一、中村一哉、浜本いつき、高橋　仁、田代眞人、山本典生]

10. リバースジェネティクス法により作製されたワクチン候補ウイルス株の培養細胞における増殖性の検討

現在リバースジェネティクス法により作製されるインフルエンザワクチン製造用種ウイルスは、鶏卵で高増殖性となるよう設計されているが、この組換え体ウイルスの培養細胞で

の増殖性について評価を行った。その結果、用いるウイルスゲノムの組み合わせによっては培養細胞においても増殖するものがあり、培養細胞で継代を繰り返すことによってその増殖性が高くなる傾向が観察された。しかしながら、現段階ではその増殖性は鶏卵には及ばず、今後さらに継代を重ねることで、より増殖性の改善されたウイルスが得られるのか解析を続けるとともに、高増殖性となったウイルスの性状解析を行なう必要がある。[原田勇一、高橋仁、白倉雅之、中村一哉、浜本いつき、山本典生、板村繁之、田代眞人、信澤枝里]

11. シードウイルス分離用細胞としてのMDCK細胞の検討

感染研の所有する細胞株（MDCK-C）と、シードウイルス分離効率評価に供されたワクチンメーカーの細胞株（MDCK-N）ついて、ウイルス分離効率、分離ウイルスの増殖性、遺伝的安定性、抗原的安定性を検証し、両細胞での高い分離効率と良好な増殖性を確認した。分離ウイルスの細胞での継代によってウイルス亜型に特徴的な遺伝子変異が観察され、これらの変異がクローン化したウイルスを継代した場合においても再現されることを示した。本業務によって、MDCK-C及びMDCK-N細胞を細胞基材としてシードウイルスを調製するに際し、ウイルスに与える遺伝的、抗原的な影響について、留意点を明確にした。[中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋　仁、田代眞人、山本典生]

12. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

ヒトに健康危害を起こすウイルスのうち、ワクチンシードへの混入可能性と混入した場合に生じるリスクの大きさを考慮して被検対象ウイルスを絞り込み、リストを作成した。前年度の「迷入ウイルスの選択的排除の評価」に用いた検出キットの検出感度を勘案し、より高い検出感度が見込まれる定量PCRを測定原理とするキットを導入した。この試験系での検出限界の信頼性を、既知感染価の基準ウイルスを用いて検証を進めた。[中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋仁、田代眞人、山本典生]

13. 高いウイルス増殖効率を持つ細胞株の開発に関する研究

短期間に大量のワクチンを製造することを可能とするため、鶏卵培養法に代わり細胞培養法を用いたワクチンの開発が進められている。現在一般的に使用されている細胞株よりも更に効率良くウイルスを増殖させる細胞株を開発するため、I型インターフェロン(IFN)シグナル伝達経路に関連するsiRNAライブラリーを構築し、ウイルス増殖効率を上昇させる標的遺伝子のスクリーニングを行った。siRNAを導入したA549細胞にウイルスを感染させ、その後培養上清中に放出されたウイルス量を定量したところ、ウイルス増殖効率の上昇が認められたものは35種類あり、半数以上がRIG-I/IPS1経路に関連する分子であった。 [浜本いつき、田代眞人、山本典生]

14. 細胞培養インフルエンザワクチンの安全性に関するPoints to Consider（案）の策定

細胞培養ワクチン研究班における幅広いディスカッションの中から、各班員に共通する問題点を「留意すべきポイント」として抽出した。それらについて既存の関連するガイドラインを参照した上でディスカッションを行い、研究班としての見解を「細胞培養インフルエンザワクチンの安全性に関するPoints to Consider（案）」としてまとめた。[山本典生、中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋　仁、田代眞人]

15. シードウイルス製造用MDCKセルバンクの構築

まずATCCから購入したMDCK細胞を無血清培地に馴化させた。この細胞をセルバンク構築用細胞とし、GMPに準拠した条件下でマスターセルバンク及びワーキングセルバンクの構築を行った。さらに、マスターセルバンクの造腫瘍性等を試験するための予備的な検討を行い、セルバンクのバリデーションを行うための基盤整備を進めた。今回構築したセルバンクは臨床検体からのシードウイルスの分離、リバースジェネティクスによるシードウイルス作製などに使用することが出来る。これによって、細胞培養法に適合したワクチンシードウイルス製造体制の構築へ向けて大きく前進した。 [山本典生、田代眞人]

Ⅱ. インフルエンザワクチンに関する研究

1. 新型インフルエンザH1N1pdm09ワクチン候補株の安全性試験

昨年度、感染研で作製した新型インフルエンザH1N1pdm09ワクチン株のうち、増殖性が高かったNIIDRG-7株は、遺伝子構成が7:1 (HA遺伝子のみA/Califomia/7/2009 (Cal7)株由来、

残りの遺伝子は全て PR8 株由来)で、従来用いられているワクチン株の6:2遺伝子構成(HA, NA が新型由来)とは異なるため、フェレットを用いての安全性確認試験を行った。NIIDRG-7、野生株の Cal7 および PR8 株をそれぞれフェレットに感染後、3 日の咽頭拭い液、肺、小腸などの臓器におけるウイルス感染価の測定を行った。その結果、Cal7 感染フェレットでは肺および上気道における高いウイルス感染価が認められたが、NIIDRG-7 感染フェレットでは、感染価は著しく低く、低病原性ウイルス PR8 感染フェレットと同程度であった。また、感染後 14 日間の症状の観察においても、Cal7 感染フェレットでは、体重減少が観察されたのに対し、NIIDRG-7 接種フェレットでは、ほとんど体重減少は観察されなかった。このことから NIIDRG-7 が Cal7 よりもワクチン候補株としての安全性が高いことが示唆された。[長谷川秀樹、永田典代*、相内　章、鈴木忠樹*、浅沼秀樹、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人：*感染病理部]

2. 新型インフルエンザ H1N1pdm09 ワクチン候補株の改良

2009 年 4 月以降、世界的大流行を引き起こした新型インフルエンザウイルス 2009(H1N1)に対するワクチン候補株はウイルス蛋白収量及び HA 含量が季節性ワクチン株に比べ著しく低いことが、問題となっていた。その原因として H1N1pdm09 の遺伝子構成は複雑で4種類のウイルスに由来し、ウイルス蛋白間の相互作用が効率的に行われず、増殖性が落ちている可能性があった。そこで、感染研で作製した NIIDRG (A/California/07/2009(Cal7; H1N1pdm)由来)を基に H1N1pdm09 の HA 遺伝子と同系統の[A/Wisconsin/10/98(WI10; H1N1)]の NA および／または M 遺伝子を有するウイルス 4 種を作製し、増殖性への影響を検討した。その結果、Cal7-HA/WI10-NA の組み合わせのウイルスでは、増殖性の改良がみられたものの、既存の NIIDRG-7(HA:Cal7;他の遺伝子:PR8)と同程度であった。現在、抗原回収量を測定し、より詳細な解析を実施している。[白倉雅之、信澤枝里、田代眞人]

3. Reverse Genetics (RG)法による新型インフルエンザワクチン株作製の改良

インフルエンザウイルスのパッケージングシグナル(非コード領域（NCR）を含む)はウイルスの粒子形成効率を決定する因子の一つである。高増殖の新型ウイルスワクチン株を迅速に作製する手法を確立するため、NCR の影響を検討した。RG 法で新型ウイルスを作製する際は、PR8 株をバックボーンウイルスとして用いるため、PR8 株と当該ウイルス株の NCR が増殖性に及ぼす影響を比較検討した。具体的には、異なる HA 亜型(H1,H5,H9)に属する 3 種類のウイルス、A/California/07/2009(H1N1pdm)(Cal7), A/Vietnam/JP1203/2004 (H5N1)(JP1203), A/swine/Hong Kong/9/98(H9N2)(SwHK9)を対象に、非コード領域（NCR）の配列をバックボーンの PR8 由来の配列、あるいは、そのウイルス株由来の配列（ホモ配列）にした RG ウイルスを作製した。その結果、Cal7 と JP1203 では、HA 価、蛋白回収量、HA 含量に両者の差は認められなかった。一方、SwHK9 では、HA 価は両者とも、同程度であったが、PR8 由来の配列を有するウイルスと比較して、ホモ配列のウイルスの方が、蛋白回収量は約 1.5 倍、HA 含量については、約 2 倍多くなった。以上の結果から、各亜型あるいは株により NCR 配列がウイルス複製あるいは粒子形成に及ぼす影響が異なることが示唆された。今後、ワクチン株作製への影響をさらに検討する。[白倉雅之、信澤枝里、田代眞人]

4. 国内発生 H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスの性状解析と RG ウイルス作製準備

2010/2011 年シーズンに日本国内で鳥（野鳥、家禽）から分離されたウイルス株を入手し、鶏卵で増殖させ、遺伝子解析を行い、RG 法によるリアソータントウイルス作製準備を行った。HA 遺伝子の強毒性に関与する開裂領域を除き、polI ベクターへ組み込んだプラスミドを作製した。

一方、日本で発生した H5N1 ウイルスと同一クレード(2.3.2)に属するワクチン候補株(SJRG166615)とその元株に対する血清を輸入し、国内株との抗原性の比較を行った。用いたウイルス株は A/chicken/ Shimane/1/2010、A/whooper swan/Hokkaido/4/2011、および SJRG166615 で、抗原解析の結果、ワクチン株の抗原性から HI 価で 2~3 管の差が観察された。HI 価の測定は、従来、感染研で用いられてきた七面鳥血球 (TRBC)の他、他の WHOCC で使用されているニワトリ血球 (CRBC)、ヒト血清を用いた抗原解析に使用されるウマ血球(HRBC)を用いて行った。その結果、CRBC>TRBC>HRBC の順に抗原性の差が観察され、今後、H5N1 の抗原解析に用いる血球の統一化が必要となった。[川口　晶、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人]

5. 発育鶏卵およびMDCK細胞を用い、臨床検体からのウイルス分離ならびに高増殖株の性状解析を行っている。検査キットでA型陽性の検体40例についてMDCK細胞で分離を行った結果、28例にHA価が認められた（HA価：2〜128）。一方、同検体を発育鶏卵（E1）で分離した結果、4例にのみHA価が認められ、他の検体のHA価は検出限界以下であった。しかし、HA価が認められなかった36例の漿尿液を鶏卵で継代（E2）したところ、6例にHA価（HA価：2〜128）が認められ、E10まで継代した結果、高いHA価（512）を示した株を獲得した。現在、前年度に分離された株も含め、512以上のHA価を示した鶏卵分離株10株の感染価をはじめとする性状解析を行っている [浅沼秀樹、信澤枝里、白倉雅之、中内美名、小田切孝人、許斐奈美*、田代眞人：*日大・医]

6. アジュバント併用経鼻接種インフルエンザワクチン開発に関する研究

これまでの研究で、インフルエンザ抗原をflt-3リガンドプラスミド（pFL）とCpG-ODN（CpG）をアジュバントとしてマウスに経鼻接種することで免疫増強が誘導できることを示してきた。引き続き誘導された免疫応答が、インフルエンザの変異株に対し有効かどうかを検討した。その結果、PR8の感染に対し、同株で免疫した群だけでなく、A/熊本、A/北京、A/武漢株で免疫した群にも高い防御効果が認められた。また、A/武漢で免疫した群には防御効果と相関して上気道に高いPR8反応性IgA抗体の誘導が認められた。このことからpFLとCpGの混合アジュバントは上気道にIgAを誘導できる有効なアジュバントであることが示唆された。[浅沼秀樹、佐多徹太郎、関根伸一*、藤橋浩太郎**：*大阪大学、**アラバマ大学]

7. 経鼻投与型インフルエンザワクチンにおける抗原性の異なる株による追加免疫の及ぼす影響に関する研究

A/H1N1pdm09に対するワクチンは成人で1回の皮下接種で充分な血清中の中和抗体応答が得られた。これは過去の季節性インフルエンザウイルス感染やワクチン接種による免疫記憶が、A/H1N1pdm09ワクチン接種後の免疫応答に影響を及ぼしたと考えられる。不活化ウイルス粒子の経鼻ワクチンでは感染を伴わずに感染防御に有用な粘膜免疫の誘導が可能であるが初回免疫と追加免疫で抗原性が異なった場合に誘導される免疫応答についてはその交叉応答性について明らかでない。経鼻ワクチン接種において初回免疫と抗原性の異なるワクチン株で追加免疫した場合の免疫応答について血清中の中和抗体、気道粘膜上に分泌されるIgA抗体の反応性、感染防御及び交叉防御能について検討した。A/PR8株全粒子不活化ワクチンの初回接種後、A/PR8株あるいはA/Narita株全粒子ワクチンを追加接種した実験群について解析を行った。A/Narita全粒子ワクチン追加接種により、A/Narita HAに対する血清中のIgG抗体応答が見られた。経鼻ワクチンにおいては抗原性の異なる不活化全粒子ワクチン接種による免疫履歴がある場合には、新規ウイルスの全粒子ワクチンの一回経鼻接種で、新規ウイルスの感染を防御する可能性が示唆された。[相内章、伊藤　良 [研究生]、長谷川秀樹、浅沼秀樹、田村愼一*、佐多徹太郎*、田代眞人：*感染病理部]

8. ヒト鼻腔洗浄液中における中和抗体価の測定法の確立

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンは、感染の場である気道粘膜上に交叉防御能を有する分泌型IgA抗体を誘導する。ヒトで鼻腔粘膜に誘導される分泌型IgA抗体が実際にウイルスを中和する能力があるか、さらには交叉防御能力を持つかどうかは明らかでなかった。本研究では、ヒトにおいて経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される鼻腔洗浄液中の中和抗体の測定を試みた。成人ボランティア5名に季節性インフルエンザウイルス（A/Uruguay/716/2007、H3N2）の三倍濃縮スプリットワクチンを3週間間隔で計5回経鼻接種した。生理食塩水を用いて鼻腔洗浄液を回収し、濃縮操作により生理的濃度に調整した後に中和抗体価を測定した。接種ワクチン株特異的な中和抗体の存在が鼻腔洗浄液中に確認され、中和抗体価の測定に成功した。被験者のこれまでのウイルス抗原への感作履歴を反映し、異なるウイルス株に対しても中和活性を示すことが明らかになった。なお本研究は、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認を得た上で実施した。[相内 章、長谷川秀樹、田村愼一*、伊藤　良[研究生]、鈴木忠樹*、浅沼秀樹、佐多徹太郎*、田代眞人: *感染病理部]

9. インフルエンザワクチンの剤型の違いによる免疫応答の違いに関する研究

インフルエンザ全粒子ワクチンおよびスプリットワクチン

の性状・形状の違いはワクチンの抗原提示細胞へのデリバリーとそのプロセシングをコントロールする上で重要なファクターである。本年度はこれらのワクチン製剤を接種後のウイルス増殖抑制効果及び抗体応答を調べた。全粒子ワクチンによるウイルス増殖抑制効果はスプリットワクチンによるものよりも高いことを確認した。一方、ワクチン接種後にチャレンジウイルスを感染した３日後のワクチン特異的抗体価はスプリットワクチンによる場合の方が高く、その意味については更なる検討が必要である。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、笠井道之*、板村繁之、田代眞人：*血液・安全性研究部]

レファレンス業務

1. サーベイランスキット作製と国内外への配布

A/H1、A/H1pdm09、A/H3、B/Victoria系統、B/Yamagata系統のレファレンスウイルスからフェレット感染血清と不活化抗原を作製して、型／亜型／系統を同定するためのインフルエンザウイルスサーベイランスキットとし、71カ所の地方衛生研究所に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地方衛生研究所で病原体検出情報システムに登録され、そのシステムを通じて当室は地方衛生研究所からウイルスの提供を受けた。それらのウイルスについて詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行いインフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料とした。海外へは中国、台湾、韓国、ミャンマー、モンゴル、ラオス、ネパールの7カ国に配布した。[岸田典子、徐　紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金　南希、小田切孝人、田代眞人]

2. インフルエンザ株サーベイランスコア・サポート地衛研ー感染研共同研究連携網の構築と運用

衛生微生物技術協議会感染症部会から推薦された全国６地方ブロック代表地衛研およびそれらを支援する 5 つの地衛研からなる、インフルエンザ株サーベイランスコア・サポート地衛研を組織し、感染研インフルエンザウイルス研究センターとの検査・サーベイランス技術開発共同研究体制を構築した。初年度の共同研究活動として、TaqMan リアルタイム PCR 法を導入したインフルエンザ A/H1N1pdm09 ウイルス薬剤耐性マーカー変異の検出系の構築、精度評価、複数機種に対応できるマニュアルの作成を行った。これらを全国地衛研へ技術移転し、2010/11 シーズンの薬剤耐性株サーベイランスを実施した。[小田切孝人、影山努、高下恵美、中内美名、高山郁代、田代眞人、皆川洋子*、安井善宏*、長野秀樹**、池田辰也***、川上千春****、林　志直*****、滝沢剛則******、加瀬｣哲男*******、田中智之*******、戸田昌一********、千々和勝己*********、平良勝也**********：*愛知県衛生研究所、**北海道衛生研究所、***山形県衛生研究所、****横浜市衛生研究所、*****東京都健康安全研究センター、******富山県衛生研究所、*******大阪府公衆衛生研究所、********堺市衛生研究所、********山口県環境保健センター、*********福岡県保健環境研究所、*********沖縄県衛生環境研究所]

3. 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

全国 8 カ所の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。本年度は 3 件の分離報告があり、H4N6 及び H8N4 亜型の A 型インフルエンザウイルスをライブラリーに追加保存した。[髙山郁代、松井清彦、中内美名、影山　努、田代眞人]

4. 日本のブタにおける新型インフルエンザウイルスの発生の監視

新型インフルエンザ出現の中間宿主と考えられているブタにおけるインフルエンザウイルスの流行および新型インフルエンザウイルス(ヒトやブタの間でこれまでに流行していない新たな亜型のインフルエンザウイルス)発生の監視を目的として、12 カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行った。本年度は、1 カ所でインフルエンザウイルスが分離され、遺伝子解析を行った結果、本年度ヒトで流行した A/H1N1pdm ウイルスである事が判明した。また、ブタインフルエンザウイルスあるいは鳥インフルエンザウイルスとの新たな遺伝子再集合は認められず、A/H1N1pdm ウイルスに感染したヒトから持ち込まれたと考えられた。[髙山郁代、松井清彦、中内美名、影山 努、田代眞人]

5. インフルエンザワクチンの力価測定用標準抗原の国際キャリブレーション

WHO ERL として、ワクチンの力価測定用標準抗原の国際キャリブレーションを実施した。具体的には、A/California/7/2009 (X-181) (H1N1v) 、 A/Victoria/210/2009 (X-187) (H3N2) 、 A/Wisconsin/15/2009(X-183) (H3N2) 、B/Brisbane/60/2008(BX-35)について、新規ロットの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。[嶋崎典子、河野直子、板村繁之、田代眞人]

6. 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22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/California/7/2009 (X-179A) (H1N1v)、A/Victoria/210/2009 (X-187) (H3N2)、B/Brisbane/60/2008 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、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。[嶋崎典子、河野直子、佐藤佳代子、原田勇一、高橋　仁、板村繁之、田代眞人]

サーベイランス業務

1. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

2009 年に出現し世界的大流行を引き起こしたインフルエンザ A(H1N1)2009 (A/H1N1pdm09) ウイルスは、出現当初から M2 蛋白を標的とする抗インフルエンザ薬アマンタジンに対して耐性を示していた。そのため A/H1N1pdm09 の治療には、NA 蛋白を標的とする抗インフルエンザ薬オセルタミビルまたはザナミビルが WHO により推奨されてきた。世界各国で分離された A/H1N1pdm09 ウイルスのほとんどは、オセルタミビルおよびザナミビルに対して感受性であるが、NA に特徴的なアミノ酸変異 (H275Y) をもつオセルタミビル耐性株が散発的に検出されている。日本は世界最大の抗インフルエンザ薬使用国であることから、薬剤耐性 A/H1N1pdm09 ウイルスの検出状況を逐一把握し、速やかに情報発信することは公衆衛生上極めて重要である。そこで地方衛生研究所と共同で、2009 年 9 月から抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施してきた。2009/10 シーズンには、8,145 株の A/H1N1pdm09 分離株が解析された。その結果、79 株の H275Y 耐性変異株が検出され検出率は 1.0%であった。H275Y 耐性変異株はオセルタミビルおよび新規薬剤ペラミビルに対する感受性が低下していたが、ザナミビルに対しては感受性を保持していた。国内で検出された H275Y 耐性変異株の大半は散発例であり、地域への感染拡大は確認されていない。また H275Y 耐性変異株の多くはオセルタミビルあるいはペラミビルの治療投与または予防投与中に検出された。

薬剤耐性株サーベイランスで得られた結果は、感染症情報センターの IASR ウェブサイトにおいて毎月公表し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。さらに毎月 FluNet を通して日本国内における耐性株検出状況を報告し、WHO Global Influenza Surveillance and Response System(GISRS)への情報提供を行った。［高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐　紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、佐藤　彩、本村和嗣*、佐藤裕徳*、小田切孝人、田代眞人：*病原体ゲノム解析研究センター］

2. 2010/11シーズン国内株サーベイランス

2010年4月から2011年3月の間に、全国の地方衛生研究所よりウイルスの提供を受け、A/H1N1pdm09は249株、A/H3N2は125株、Bは143株について赤血球凝集抑制試験により抗原性解析を行った。旧季節性A/H1N1ウイルスは分離されなかった。A/H1N1pdm09分離株のほとんどはワクチン株であるA/California/7/2009類似株であった。A/H3分離株の大半はワクチン株であるA/Victoria/210/2009類似株であった。B型ウイルスではVictoria系統株が9割以上を占めた。Victoria系統分離株はワクチン株のB/Brisbane/60/2008と抗原性の類似した株が大勢を占めた。［岸田典子、徐　紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金　南希、佐藤　彩、小田切孝人、田代眞人］

3. アジア地域および近隣諸国で分離されたインフルエンザウイルス株の解析

WHO インフルエンザ協力センターとして、東南アジア諸国および近隣諸国から 393 株（中国 155 株、台湾 46 株、ミャンマー91 株、韓国 27 株、ラオス 49 株、モンゴル 25 株、）のインフルエンザ分離株を入手し、遺伝子解析および抗原性解析を行なった。当該国でのインフルエンザ流行はわが国と同様、

H1N1pdm09、A/H3N2 およびB ウイルスが流行し、殆どの国で、H1N1pdm09 の流行が主流だった。モンゴルでは、H3N2 が主流であった。2010/2011 シーズンの H1N1pdm09 株も遺伝的、抗原的にワクチン株 A/California/07/2009 類似株であった。A/H3N2 ウイルスの流行株は前シーズンから抗原性が大きく変わった A/Perth/16/2009 類似株であった。B 型ウイルスについては、Victoria 系統が流行の主流であり、B/Brisbane/60/2008 類似株で、Yamagata 系統のウイルス株は B/Bangladesh/3333/2007 類似株であった。これら解析結果はウイルス提供国へ還元された(23 回／年：中国へ 8 回、台湾 2 回、ミャンマー3 回、韓国 3 回、ラオス 4 回、モンゴル 3 回)。さらに、WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議の資料として活用された。一方、WHO－GISRS メンバーの Cambridge 大学グループにより、ウイルス抗原性変化を２次元的に分析する Cartography 法が開発され、ワクチン株選定会議に応用されている。このため、感染研で解析した流行株 764 株の HI (H1N1pdm09:307 株、H３:193 株、B 型:264 株)と 538 株 (H1N1pdm09:1194 株、H３:141 株、B: 203 株)シーケンスデータを Cambridge 大学へ送り、Cartography での解析に供した。これらの成績も WHO ワクチン株選定会議へ提供され、近隣諸国の株サーベイランスへの貢献および WHO－GISRS へ貢献果した。[徐　紅、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、江島美穂、金　南希、佐藤　彩、小田切孝人、田代眞人]

4. 2010/11 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。このため全国の地方衛生研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）及び感染研病原体ゲノム解析研究センターとの協力のもとに、2010/11 シーズンのヒトインフルエンザウイルス流行株の HA 及び NA 遺伝子について系統樹解析を行った。A/H1N1pdm 亜型の HA 遺伝子のほとんどはアミノ酸置換 S203T を持っており、さらに A197T を持つ株が日本国内の主流であった。また抗原変異を伴うアミノ酸置換（K153E/Q、K154R/Q/E、G155E、N156D、S157T）も散見されたものの、すべての分離株は A/California/7/2009pdm に代表される一連のクレードに属した。NA 内にアミノ酸置換 H275Y を持つオセルタミビル耐性株も散見されたが、遺伝子系統樹上で特定の集団を形成することはなく、耐性株の伝播を示唆する結果はなかった。H3N2 亜型は、HA 遺伝子に E62K、N144K、P162S のアミノ酸置換を持つクレード（A/Perth/16 クレード）および、D58N, Y94H, I230V, E280A または、N312S のアミノ酸置換を持つクレード（A/Victoria/208 クレード）のいずれかに属した。B 型では、ビクトリア系統の多くは N75K、N165K、S172P のアミノ酸置換を持つ B/Brisbane/60/2008 クレードに属した。解析数は限定的だが、山形系統は、S150I, N165Y, G229D のアミノ酸置換を持つ一群（クレード 3）に属した。解析した遺伝子配列は国際インフルエンザウイルスデータベース GISAID へ登録された。[藤崎誠一郎、金　南希、佐藤　彩、佐藤裕徳*、本村和嗣*、横山　勝*、小口晃央**、山崎秀司**、藤田信之**、岸田典子、徐　紅、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、小田切孝人、田代眞人: *病原体ゲノム解析センター、**独立行政法人製品評価技術基盤機構]

品質管理に関する業務

1. インフルエンザワクチン力価測定用標準抗原のキャリブレーションにおける HA 蛋白含量測定に関する検討

力価試験用の標準抗原のキャリブレーション精度を上げることは、世界的に力価が一定のワクチンを供給するために重要である。精度向上のためには、一次標準品である Primary liquid standard (PLS、ウイルス全粒子)の総たん白質含量や、PLS の SDS-PAGE 法による HA 蛋白含有率に関して、ERL ラボ間の誤差を少なくしなければならない。今回、A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-60) (H7N3)と A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-63) (H7N1)の２種類の PLS を用いて標準抗原 A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-60) (H7N3)の国際キャリブレーションを行ったところ、ラボ間で非常に大きな乖離が生じた。原因を検討するために２種類の PLS の SDS-PAGE 上のウイルス蛋白を Mass spectrometry (MS) により同定して HA 含有量を求めたが、PLS の不活化剤が影響しているのか同定確度が充分ではなかった。ウイルス蛋白に対する MS 同定の条件検討が必要であることがわかり、引き続き検討を行っている。[嶋崎典子、佐々木祐子*、原田勇一、板村繁之、田代眞人：*細菌第２部]

2. 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。［嶋崎典子、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、矢野茂生*、福田靖**、田代眞人：*血液安全性研究部、**細菌第２部］

3. 分画試験法の改良

インフルエンザ HA ワクチンの分画試験において､HA 蛋白の検出に生物活性である赤血球凝集活性を利用してきたが、近年ワクチンに使用されているウイルス株によって HA 活性に大きな差があり、検出法の改良が必要とされている。そこで分画試験における HA 蛋白の検出方法としてサンドイッチ ELISA 法により HA 蛋白を同定する方法を開発し、単一ウイルス株に由来する１価ワクチン及び３種類のウイルス株のワクチンを混合した３価のワクチン用いた比較を行い、試験法の妥当性を検討した。新規に開発したサンドイッチ ELISA 法を用いた３価ワクチンに含有されるそれぞれのウイルス株の分画パターンは１価ワクチンを用いた場合と類似しており、３価ワクチンである最終小分製品でも個々の分画パターンを解析できることがわかった。[佐藤佳代子、板村繁之、田代眞人]

4. 新型インフルエンザワクチン株製造のための９号棟施設の GMP 準拠運用

第９号棟をワクチン株製造施設として稼働させるにあたり必要となる基準書や手順書について、昨年に引き続き、設備の運用方法、入退出手順、衛生管理方法について検討し、基準書、標準手順書などの文書整備及び設備管理を実施した。作成した文書に基づき、環境モニタリングの実施及び記録、清浄化作業の実施及び記録、昆虫相診断の実施及び対応策の検討などを行った。より充実した品質管理を行うために必要な文書整備や設備管理について引き続き検討を行っている。また、ワクチン株作製用の細胞を保管するための液体窒素製造機については、モニタリング OQ を検討し、停電中もモニタリング可能な信号や停電後自動復帰する装置が確認できた一方で、中央監視室に通報されない警報信号があることも判明した。［佐藤佳代子、佐々木祐子*、嶋崎典子、白倉雅之、浅沼秀樹、有田知子、篠原克明**、網　康至***、信澤枝里、板村繁之、田代眞人：*細菌第２部、**バイオセーフティ管理室、***動物管理室］

5. GMP 管理区域内における新型インフルエンザワクチン候補株作製のための文書整備

村山庁舎9号棟のGMP準拠施設における新型インフルエンザワクチン株の製造工程、品質管理方法、安全性試験法について、検討を行い、手順書及び製造指図記録書等の変更、改訂を行った。［浅沼秀樹、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人］

6. インフルエンザワクチン候補株の増殖、試験交付

新型インフルエンザワクチン候補株 H1N1pdm09 及び季節性ワクチン候補株を輸入し、GMP 準拠施設内で増殖させ、ワクチン候補株としての適格性を検討し必要に応じてメーカーへの試験交付に供した。［河野直子、川口　晶、佐藤佳代子、白倉雅之、信澤枝里、板村繁之、田代眞人］

国際協力業務

1. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定に関する協議、技術改良への参画

WHO ジュネーブ本部で２月、９月にそれぞれ開催されたインフルエンザワクチン株選定会議へ出席し、国内および日本周辺諸国から収集したウイルスの性状、薬剤耐性株の検出状況、ワクチン接種後の抗体保有状況、交叉反応性などの情報提供をし、次年度のワクチン株選定を他の WHO インフルエンザ協力センターと共に行った。また、６月にマニラで、12 月にチュニジアでそれぞれ開催された WHO ナショナルインフルエンザセンター(NIC)会議で北半球諸国のインフルエンザ流行株の性状とワクチン株および新規に開発した薬剤耐性株検出法について報告した。今年度から始まった WHO のインフルエン

ザワクチン株選定技術改良会議に参加し、株選定のための新規技術開発や今後の選定会議の進め方等について協議した。［小田切孝人、岸田典子、徐　紅、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金　南希、横山　勝*、佐藤裕徳*、小口晃央**、山崎秀司**、藤田信之**、田代眞人：*病原体ゲノム解析研究センター、**独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部］

2. 国際インフルエンザウイルスデーターベース(GISAID) ワーキンググループへの参加およびデータベース改良への貢献

インフルエンザウイルスの国際データベース(Global Initiative on Sharing All Influenza Data: GISAID)は 2006 年 8 月に構築・公開されたデータベースであり、各国の研究者が無償でヒト及びトリインフルエンザウイルスについての情報を収集できることを目的としている。2009 年 5 月からはドイツのマックス・プランク研究所により継続・維持されており、それに伴い GISAID は新規構築されることになった。現在各 WHO CC, NIC の研究者を中心とした GISAID 運営ワーキンググループに参加し、GISAID の問題点、改善点を収集しデータベース改良を進めた。2010 年には、①GenBank への自動登録の廃止、②個人用解析ツールである Workset 機能および、Blast 検索機能の追加が行われた。このうち GenBank への自動登録の廃止については、GISAID 登録遺伝子について特許取得を禁止するなど、ウイルスを分離、解析した機関の権利を保護する目的で行われている。データベースに対する意見交換、情報収集、問題点・改善点の抽出は今後も継続して行われ、GISAID システムの検証と改善が進められる。［藤崎誠一郎、小田切孝人、田代眞人］

3. インフルエンザウイルスの実験室診断法の技術研修

ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）から 2 名の職員を平成 22 年 7 月 12 日から 7 月 23 日まで受け入れ、インフルエンザウイルスの実験室診断法に関する技術研修を行った。[影山　努、中内美名、髙山郁代]

4. 国際協力機構（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

平成 22 年 7 月 12 日から 7 月 30 日に 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いて、1 名の研修生に対して、インフルエンザウイルスの実験室診断法、実験室診断の精度管理および地方衛生研究所におけるインフルエンザウイルス診断の実際について研修を行った。[影山　努、中内美名、髙山郁代]

5. 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参加し、高病原性鳥インフルエンザウイルスの実験室診断を安全に且つ信頼性の高いレベルで実施するためのセミナーおよび技術支援を行った。[影山　努]

6. インフルエンザウイルスの実験室診断法、インフルエンザサーベイランス等の技術研修

台湾疾病管制局（台湾 CDC）から研究者を 1 名平成 22 年 10 月 13 日から 10 月 22 日まで受け入れ、インフルエンザウイルスの実験室診断法、インフルエンザサーベイランスなどに関する技術研修を行った。[影山 努、中内美名、髙山郁代、岸田典子、徐　紅、高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人、田代眞人]

7. モンゴル National Influenza Center (NIC)における薬剤耐性インフルエンザウイルスサーベイランスへの技術支援

WHO 短期コンサルタントとして、当センターで構築し日本において 2010/11 シーズンより全国地方衛生研究所で実施導入されている、A/H1N1pdm タミフル耐性株迅速検出法のモンゴル NIC への技術供与を行った。[中内美名]

8. 海外 NCL からのインフルエンザワクチンの力価測定依頼

豪州の TGA から H1N1pdm 1 価ワクチンの力価が貯蔵中に経時的に低下しているとの懸念があるとのことで力価の国際検査を依頼され、A/Califomia/7/2009 (X-179A) (H1N1v)株および A/California/7/2009 (X-181) (H1N1v)株の H1N1pdm 1 価ワクチン 9 検体について力価試験を実施した。［嶋崎典子、河野直子、板村繁之、田代眞人］

9. インフルエンザワクチンの品質管理に関する国際研修の実施

インドネシアの医薬品食品管理庁のワクチンの品質管理に従事する研修生４名に対して JICA の依頼に基づいてインフルエンザワクチンの力価試験、マウス白血球数減少試験及び異常毒性否定試験について、のべ４週間の研修を実施した。［板村繁之、持田恵子*、益見厚子** : *細菌第２部、**血液・安全性研究部］

10. 新型インフルエンザワクチン候補株

2009(H1N1)pdm(NIIDRG-7)のフェレットを用いた安全性試験結果をワクチン候補株に関する情報として報告した。[信澤枝里、浅沼秀樹、白倉雅之、田代眞人]

11. 組織培養型インフルエンザワクチン製造に用いる種ウイルス分離用培養細胞株の選定に関する国際共同研究への参画

組織培養型インフルエンザワクチン製造に用いる種ウイルス分離用培養細胞株選定のため、多くの国の国立研究機関やワクチンメーカーが参画して国際共同研究が行なわれている。当センターもこの共同研究機関の一員として、ウイルスを培養細胞で分離した後、鶏卵で継代した株の遺伝子解析ならびに抗原性解析を実施した。解析結果は参画共同研究機関の間で共有し、細胞株選定の一助とした。[原田勇一、高橋　仁、中村一哉、浜本いつき、板村繁之、田代眞人、山本典生]

12. インフルエンザワクチンの品質管理に関する WHO 関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

10 月、2 月に開催された WHO のインフルエンザワクチン株選定会議に出席し、次シーズンのワクチン株選定に基づきワクチン候補株の準備状況とワクチンの品質管理試験に使用する標準抗原等の作製準備について協議した。また、WHO　ERL の一員として７月、２月に英国で開催されたインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際会議に出席し、ワクチンの品質管理における課題等について協議した。さらに７月にカナダで開催された WHO、米国 FDA, ヘルスカナダ共催のインフルエンザワクチンの力価試験の代替法に関する会議に出席し、そこで提案された品質管理試験法の改良について検討を始めた。［板村繁之、嶋崎典子、佐藤佳代子、原田勇一、高橋　仁、河野直子、田代眞人］

研修業務

1. WHO-SEARO インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス技術研修会

WHO-SEARO からの要請を受けて、2010 年 8 月にタイの National Influenza Center で開催されたインフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス技術研修会に講師として参加した。本研修会へは WHO 南東アジア地域から 11 ヵ国が参加し、薬剤耐性株サーベイランスに関する講義およびリアルタイム RT-PCR 法、シークエンス法、抗インフルエンザ薬感受性試験等の検査法の実習が行われた。［高下恵美］

2. 地方衛生研究所への技術研修

国内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技術向上を図るため、技術研修希望のあった奈良県保健環境研究センターのウイルス担当職員１名を感染研に招聘し、細胞培養およびウイルス培養技術の研修を行った。［岸田典子、徐　紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人、田代眞人］

3. 海外からの研修生への技術研修 (1)

WHO協力センターとして、他の国への技術をサポートするため、2010年7月 1-23日、ベトナムNICのスタッフ１名を受け入れ、インフルンザの診断および株サーベランスによく使われている抗原性解析法等の研修を行った。［徐　紅、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、小田切孝人、田代眞人］

4. 台湾疾病管制局（台湾 CDC）からの研修生への研修・指導 (2)

平成 22 年 10 月に台湾 CDC より技術習得に訪れた研修生に対し、遺伝子解析に関する一連の技術講習として、ウイルスからの RNA 抽出、RT-PCR 法、シークエンシング、塩基配列のアライメント作成、および遺伝子系統樹解析法、PCR 検査法について説明を行った。さらに、ウイルス抗原性解析や株サーベイランスネットワークについて講義、研修を実施した。［藤崎誠一郎、徐　紅、岸田典子、高下恵美、中内美名、

高山郁代、影山　努、小田切孝人、田代眞人、山下和代*：*情報センター］

5.　新型インフルエンザウイルスに関する研修、講義

毎年 10 月に感染研で実施される医師卒後臨床研修で新型インフルエンザウイルスの性状、ワクチンの効果、今後の流行の見通し等について研修生へ講義した。また、早稲田大学大久保キャンパスで例年実施されている『レギュラトリーサイエンス教育講座』で一般市民へ同様の講義を行った。［小田切孝人］

6.　検疫所へのインフルエンザウイルスの遺伝子検出および亜型同定法についての診断検査技術研修

主要検疫所 13 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、リアルタイム RT-PCR 検査を中心とした A 型インフルエンザウイルスの亜型同定法に関する診断検査技術研修を行った。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、研修成果が現場で反映されるように連携の強化が図られた。［影山　努、中内美名、髙山郁代、松井清彦］

7.　平成 22 年度短期研修ウイルス研修において、インフルエンザウイルスの遺伝子検出および亜型同定法に関する診断検査技術研修を行った。［影山　努、中内美名、髙山郁代、松井清彦］

8.　平成 22 年度希少感染症診断技術研修会において A/H1N1pdm タミフル耐性株迅速検出法および流行状況に関する講義を行った。［中内美名、江島美穂、高下恵美、影山　努、小田切孝人］

その他

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) T.Shiino, N.Okabe, Y.Yasui, T.Sunagawa, M.Ujike, M.Obuchi, N.Kishida, H.Xu, E.Takashita, A.Anraku, R.Ito, T.Doi, M.Ejima, H.Sugawara, H.Horikawa, S.Yamazaki, Y.Kato, A.Oguchi, N.Fujita, T.Odagiri, M.Tashiro, and H.Watanabe. Molecular evolutionary analysis of the influenza A(H1N1)pdm, May-September, 2009: temporal and spatial spreading profile of the viruses in Japan. PLoS One. 5: e11057, 2010

2) Y.Matsuzaki, K.Mizuta, E.Takashita, M.Okamoto, T.Itagaki, F.Katsushima, Y.Katsushima, Y.Nagai, and H.Nishimura. Comparison of virus isolation using the Vero E6 cell line with real-time RT-PCR assay for the detection of human metapneumovirus. BMC Infectious Diseases. 10: 170, 2010

3) M.Okamoto, K.Sugawara, E.Takashita, Y.Muraki, S.Hongo, H.Nishimura and Y.Matsuzaki. Longitudinal course of human metapneumovirus antibody titers and reinfection in healthy adults. Journal of Medical Virology. 82: 2092-2096, 2010

4) Ichinohe T, Ainai A, Nakamura T, Akiyama Y, Maeyama JI, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Tamura SI, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H.　Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia.　J Med Virol. 82(1):128-37. 2010

5) Barr IG, McCauley J, Cox N, Daniels R, Engelhardt OG, Fukuda K, Grohmann G, Hay A, Kelso A, Klimov A, Odagiri T, Smith D, Russell C, Tashiro M, Webby R, Wood J, Ye Z, Zhang W; Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2009-2010.　Epidemiological, antigenic and genetic characteristics of seasonal influenza A(H1N1), A(H3N2) and B influenza viruses: basis for the WHO recommendation on the composition of influenza vaccines for use in the 2009-2010 Northern Hemisphere season.　Vaccine. 2010 Feb 3;28(5):1156-67. Epub 2009 Dec 9.

6) Matsuzaki Y, Mizuta K, Aoki Y, Suto A, Abiko C, Sanjoh K, Sugawara K, Takashita E, Itagaki T, Katsushima Y, Ujike M, Obuchi M, Odagiri T, Tashiro M.　A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir.　Virol J. 2010 Mar 5;7(1):53

7) M.Ujike, K.Shimabukuro, K. Mochizuki, M.Obuchi, T. Kageyama, M. Shirakura, N. Kishida, K. Yamashita, H.Horikawa, Y.Kato, N. Fujita, M. Tashiro, T.Odagiri, and the Working Group for Infl uenza Virus Surveillance in Japan Oseltamivir-Resistant Infl uenza Viruses A (H1N1) during 2007–2009 Infl uenza Seasons, Japan　Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 6, 926-935, 2010

8) Ikeno D, Kimachi K, Kino Y, Harada S, Yoshida K, Tochihara S, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Okada K, Miyazaki C, Ueda K.

Immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1, NIBRG-14) vaccine administered by intramuscular or subcutaneous injection. Microbiol Immunol. 2010 Feb;54(2):81-8.

9) Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. J Med Virol. 2010 Oct;82(10):1754-61.

10) Y.Iwai, H.Takahashi, D.Hatakeyama, K.Motoshima, M. Ishikawa, K.Sugita, Y.Hashimoto, Y.Harada, S.Itamura, T.Odagiri, M.Tashiro, Y.Sei, K.Yamaguchi and T.Kuzuhara Anti-influenza activity of phenethylphenylphthalimide analogs derived from thalidomide Bioorganic & Medicinal Chemistry Volume 18, Issue 14, 15 July 2010, Pages 5379-5390

11) T.Furukawa, Y.Muraki, T.Noda, E.Takashita, R.Sho, K.Sugawara, Y.Matsuzaki, Y.Shimotai and S.Hongo. Role of the CM2 Protein in the Influenza C Virus Replication Cycle. Journal of Virology. 85: 1322-1329, 2011

12) M.Ujike, M.Ejima, A.Anraku, K.Shimabukuro, M.Obuchi, N.Kishida, X.Hong, E.Takashita, S.Fujisaki, K.Yamashita, H.Horikawa, Y.Kato, A.Oguchi, N.Fujita, M.Tashiro, T.Odagiri and Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Monitoring and characterization of oseltamivir-resistant pandemic (H1N1) 2009 virus, Japan, 2009-2010. Emerging infectious diseases. 17: 470-479, 2011

13) M.Nakauchi, M.Ujike, M.Obuchi, E.Takashita, I.Takayama, M.Ejima, K.Oba, N.Konomi, T.Odagiri, M.Tashiro, T.Kageyama and the influenza virus surveillance group of Japan. Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. Journal of Medical Virology. 83: 1121-1127, 2011

14) Nongluk Sriwilaijaroen, A.Kadowaki, Y. Onishi, N. Gato, M.Ujike, T. Odagiri , M.Tashiro, Y.Suzuki. Mumefuralandrelated HMF derivatives from Japanese apricot fruitjuice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic in fluenza A(H1N1) virus Food Chemistry 127, 1-9, 2011

15) K.Fukuzawa, K.Omagari, K.Nakajima, E.Nobusawa, S.Tanaka. Sialic acid recognition of the pandemic influenza 2009 H1N1virus:binding mechanism between human receptor and influenza hemagglutinin. Protein and Peptide letters. 18, 530-539, 2011

16) Yoshioka A, Fukuzawa K, Mochizuki Y, Yamashita K, Nakano T, Okiyama Y, Nobusawa E, Nakajima K, Tanaka S. Prediction of probable mutations in influenza virus hemagglutinin protein based on large-scale ab initio fragment molecular orbital calculations. Journal of Molecular Graphics and Modeling 2011 (in press)

17) Katano H, Kano M, Nakamura T, Kanno T, Asanuma H, Sata T. A novel real-time PCR system for simultaneous detection of human viruses in clinical samples from patients with uncertain diagnoses. J Med Virol. 83: 322-330. 2011

18) Sakamoto K, Asanuma H, Nakamura T, Kanno T, Sata T, Katano H. Immune response to intranasal and intraperitoneal immunization with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in mice. Vaccine 26:3325-3332, 2010

19) Takahashi H, Akazawa D, Kato T, Date T, Shirakura M, Nakamura N, Mochizuki H, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Suzuki T, Wakita T. Biological properties of purified recombinant HCV particles with an epitope-tagged envelope.Biochemical and Biophysical Re search Communications. 395(4):565-571, 2010.

20) Haga S, Nagata N, Okamura T, Yamamoto N, Sata T, Yamamoto N, Sasazuki T, Ishizaka Y. TACE antagonists blocking ACE2 shedding caused by the spike protein of SARS-CoV are candidate antiviral compounds. Antiviral Resarch. 85(3):551-5, 2010

21) Sugiyama R, Hayafune M, Habu Y, Yamamoto N, Takaku H. HIV-1 RT-dependent DNAzyme expression inhibits HIV-1 replication without the emergence of escape viruses.Nucleic Acids Res. 2010 Sep 9. [Epub ahead of print] 2011 Jan;39(2):589-98

22) Yamazaki T, Nagashima M, Ninomiya D, Arai Y, Teshima Y, Fujimoto A, Ainai A, Hasegawa H, Chiba J. Passive immune-prophylaxis against influenza virus infection by the expression of neutralizing anti-hemagglutinin monoclonal antibodies from plasmids. Jpn J Infect Dis. 2011;64(1):40-9.

23) Ainai A, Tashiro M, Hasegawa H. Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal

vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. Human Vaccines. 2011 Jan;7(Supplement):174-182.

24) Isawa H, Kuwata R, Hoshino K, Tsuda Y, Sakai K, Watanabe S, Nishimura M, Satho T, Kataoka M, Nagata N, Hasegawa H, Bando H, Yano K, Sasaki T, Kobayashi M, Mizutani T, Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from Culex mosquitoes in Japan. Virus Res. 2011 Jan;155(1):147-55.

25) El Hajj H, El-Sabban M, Hasegawa H, Zaatari G, Ablain J, Saab ST, Janin A, Mahfouz R, Nasr R, Kfoury Y, Nicot C, Hermine O, Hall W, de Thé H, Bazarbachi A. Therapy-induced selective loss of leukemia-initiating activity in murine adult T cell leukemia. J Exp Med. 2010 Dec 20;207(13):2785-92.

26) Kawaguchi A, Suzuki T, Kimura T, Sakai N, Ayabe T, Sawa H, Hasegawa H. Functional analysis of an alpha-helical antimicrobial peptide derived from a novel mouse defensin-like gene. Biochem Biophys Res Commun. 2010 Aug 6;398(4):778-84.

27) Watters KM, Dean J, Hasegawa H, Sawa H, Hall W, Sheehy N. Cytokine and growth factor expression by HTLV-1 Lck-tax transgenic cells in SCID mice. AIDS Res Hum Retroviruses. 2010 May;26(5):593-603.

28) Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. PLoS One. 2010 Apr 23;5(4):e10256.

29) Ikebe T, Ato M, Matsumura T, Hasegawa H, Sata T, Kobayashi K, Watanabe H. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. PLoS Pathog. 2010 Apr 1;6(4):e1000832.

30) Ohno H, Ogata Y, Suguro H, Yokota S, Watanabe A, Kamei K, Yamagoe S, Ishida-Okawara A, Kaneko Y, Horino A, Yamane K, Tsuji T, Nagata N, Hasegawa H, Arakawa Y, Sata T, Miyazaki Y. An outbreak of histoplasmosis among healthy young Japanese women after traveling to Southeast Asia. Intern Med. 2010;49(5):491-5.

31) Nakauchi M, Yoshikawa T, Nakai H, Sugata K, Yoshikawa A, Asano Y, Ihira M, Tashiro M, Kageyama T. Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. J Med Virol. 83(1):10-15, 2010.

32) Nakauchi M, Yasui Y, Miyoshi T, Minagawa H, Tanaka T, Tashiro M, Kageyama T. One-step real-time reverse transcription-PCR assays for detecting and subtyping pandemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses. J Virol Methods. 171(1):156-162, 2011.

2. 和文発表

1) 高下恵美　インフルエンザワクチンの検定について　インフルエンザ　11：276−280，2010

2) 高下恵美　海外文献紹介　インフルエンザ　11：290−291，2010

3) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代眞人、小田切孝人、川上千春、百木智子、七種美和子、宇宿秀三、野口有三、池淵守、田代好子、上原早苗、高野つる代、蔵田英志、岩田眞美、椎葉桂子、修理淳、豊澤隆弘　ペラミビル治療患者からの H275Y 耐性ウイルス検出事例報告　病原微生物検出情報　32：76−78，2011

4) 山本典生，中村一哉，浜本いつき，田代眞人　パンデミックインフルエンザ(H1N1)2009 に対するワクチンの評価と新ワクチン開発に向けた展望　公衆衛生，74(8)：681−686，2010

5) 山本典生，田代眞人　国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターについての紹介　医学のあゆみ　232(13)：1230−1232，2010

6) 浅沼秀樹、相内　章、田代眞人　新型インフルエンザの登場とその病原性　感染・炎症・免疫 (医薬の門社/羊土社)巻 40(3)：256-266, 2010

7) 信澤枝里、板村繁之：新型インフルエンザに対するワクチン開発．呼吸器内科 17：51−57, 2010

8) 佐藤佳代子、板村繁之 インフルエンザワクチンの開発動向と今後の展望 日本臨床　68：1697−1701, 2010

9) 信澤枝里　新型インフルエンザの流行状況―抗体調査成績から　インフルエンザ　12：49−56，2011

10) 吉川哲史, 中井英剛, 菅田健, 吉川明子, 浅野喜造, 井平勝, 影山努, 中内美名, 仙波晶平, 森安義, 神田秀俊, 納富継宣. RT-LAMP 法による A 型および新型インフルエンザウイルス(AH1 pdm)検出の臨床的検討. 診療と新薬. 48(1):19-26(2011)

11) 影山 努. 動物の感染症から学ぶ(Vol.2) ヒトに感染するインフルエンザウイルスの出現. 医学のあゆみ. 234(4):308-312(2010)

12) 横田(恒次)恭子, 影山 努. 免疫学的検査 感染症関連検査(抗原および抗体を含む)ウイルス感染症 ブタ由来インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm). 日本臨床. 68(3):385-388(2010)

13) 影山 努. インフルエンザ流行の歴史と 2009 年に出現した新型インフルエンザウイルスについて. 化学と教育. 58(11):498-501(2010)

14) 岸田典子 新型インフルエンザ Annual Review 2011 呼吸器 106-110, 2011

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) T. Odagiri Finding of influenza virus surveillance in 2009/10 season in Northern Hemisphere 4th Meeting of National Influenza Centers in the Western Pacific Region, Manila.May 2010.

2) E.Takashita, K.Sugawara, Y.Matsuzaki, S.Hongo, H.Goto, Y.Kawaoka and E.Nobusawa. Compatibility between hemagglutinin and neuraminidase affects the growth of H3N2 influenza A viruses. 14th International Negative Strand Virus Meeting, Bruges, Belgium, June 2010.

3) E.Takashita. Global influenza drug resistance monitoring. Regional workshop on monitoring of drug resistance in influenza viruses, Bangkok, Thailand, August 2010.

4) E.Takashita, M.Ujike, M.Ejima, S.Fujisaki, M.Obuchi, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, M.Tashiro and T.Odagiri. Detection and characterizations of oseltamivir-resistant pandemic influenza A/H1N1 2009 viruses in the 2009/10 season in Japan. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.

5) M.Nakauchi, T.Kageyama, M.Ujike, M.Obuchi, E.Takashita, T.Odagiri, M.Tashiro, K.Oba, N.Konomi and the working group for influenza virus surveillance in Japan. A rapid genotyping of oseltamivir-resistant or -susceptible pandemic A/H1N1 2009 influenza viruses by duplex RT-PCR assay. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.

6) N.Kishida, X.Hong, E.Takashita, M.Obuchi, S.Fujisaki, M.Ujike, R.Ito, T.Doi, H.Sugawara, M.Ejima, N.Kim, Y.Ami, Y.Suzaki, K.Yamashita, Y.Yasui, Y.Tada, N.Okabe, M.Tashiro and T.Odagiri. Characterizations of influenza viruses isolated during the 2009/10 season in Japan and neighboring countries. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.

7) T.Furukawa, Y.Muraki, K.Sugawara, Y.Matsuzaki, E.Takashita, Y.Shimotai and S.Hongo. The role of the CM2 protein in the influenza C virus replication. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.

8) S.Hongo Y.Muraki, T.Furukawa, Y.Kohno, Y.Matsuzaki, E.Takashita, Y.Shimotai and K.Sugawara. Influenza C virus NS1 protein up-regulates viral mRNA splicing. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.

9) J Zhou, Z Li, S Zou, M Wang, J Dong, J Guo, H Wei, L Wen, H Xu, Y Shu. Identification of Two Receptor-binding Specific Strains of Human H5N1. Options for the Control of Influenza VII. P-754. Hong Kong SAR, China. 3-7 Septemer 2010.

10) T. Odagiri, E. Takashita, S. Fujisaki, N. Kishida, H, Xu, M. Ejima, N. Kim, R. Ito, T. Doi, H. Sugawara, M. Nakauchi, I. Takayama, T. Kageyama, M. Tashiro Monitoring and characterizations of antiviral drug resistant pandemic A/H1N1 influenza viruses in Japan 3rd Meeting with National Influenza Centers (NIC) on Strengthening the WHO Global Influenza Surveillance Network (GISN) Tunisia, November 2010.

11) Shirakura M, Nobusawa E, Asanuma H, Kishida N, Ainai A, Iwata N, Nagata N, Hasegawa H, Kageyama T, Odagiri T, Tashiro M. Generation of the novel H1N1 influenza vaccine seed virus by reverse genetics. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, Sep., 2010.

12) E.Nobusawa, K.Nakajima, K.Omagari, S.Nakajima

Mechanism for Selection of Antigenic Variants in the Presence of Human Sera. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong SAR, China. Sep 3-7, 2010.

13) H.Asanuma, S.Sekine, Y.Suzuki, T. Sata, M.Tashiro, K. Fujihashi Nasal Influenza Vaccines Containing pFL and CpG ODN As Mucosal Adjuvant Elicit Cross-Reactive Functional S-IgA Antibody International Congress of Immunology, Kobe, Aug, 2010.

14) S.Sekine, R.Kobayashi, M.Sasaki, Y.Fukuyama, H. Asanuma, Rebekah S. Gilbert, K.Fujihashi, K.Kataoka and K.Fujihashi Characterization of Mucosal Immunosenescence in Nasopharyngeal-Associated Lymphoreticular Tissue International Congress of Immunology, Kobe Aug,2010.

15) A.Ainai, R.Ito, H.Asanuma, J.Chiba, S. Tamura, T.Sata, M.Tashiro, and H.Hasegawa Zymosan increases the production of secretory IgA antibodies against influenza virus by enhancing the mucosal adjuvant activity. 14th International Congress of Immunology, Kobe Aug, 2010.

16) Y. Harada, H. Takahashi, B. Roth, K. Schwarz, V. Horn, B. Grafelmann, R. Wipraechtiger, N. Yamamoto, K. Nakamura,I. Hamamoto, T. Odagiri, S. Itamura, H. Trusheim, S. Blayer, T. Tsai, K. Mizuta, A. Hirata and M. Tashiro. An evaluation of candidate cell lines to isolate influenza virus for cell based influenza vaccine Options for the Control of Influenza VII. Hong Kong SAR, China. 6 September 2010

17) H.Hasegawa, A.Ainai, N.Nagata, N.Iwata, Y.Ami, S.Tamura, T.Tanimoto, T.Odagiri, M.Tashiro, T.Sata, and T.Kurata, Intranasal immunization of H5N1 vaccine with TLR3 agonist protects cynomolgus monkey against HPIV challenge. Options for the control of influenza VII., Hong-Kong, China. September 2009

18) A.Ainai, R.Ito, H.Asanuma, T.Suzuki, T.Tanimoto, T.Odagiri, S.Tamura, T.Sata, M.Tashiro,and H.Hasegawa, Intranasal administration of seasonal influenza vaccine is effective for the reduction of infected pandemic A(H1N1) 2009 virus. Options for the control of influenza VII. Hong-Kong, China. September 2009.

19) N.Nakajima, Y.Sato, H.Katano, H.Hasegawa, and T.Sata, Pathological findings of autopsy cases infected with 2009 pandemic influenza A virus in Japan. Options for the control of influenza VII. Hong-Kong, China. September 2009.

20) K. Sato, H. Asanuma, T. Matsukura, N. Matsumoto, M. Tashiro. KLRG1 expression in the lungs by influenza A virus infection in mice. 14th International congress of immunology, Kobe, August 2010.

21) K. Sato, S. Itamura, M. Tashiro. Development of quantitative ELISA for influenza virus haemagglutinin for the use of quality control test of inactivated influenza split-virus vaccine. Options for the control of influenza VII, Hong Kong, September 2010.

22) N. Kono, Y. Harada, T. Odagiri, M. Tashiro and S. Itamura. Inter-laboratory reproducibility of single-radial-immunodiffusion assay for measuring HA content in the influenza vaccine during 9-year seasons from 2001 to 2009 in Japan. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, September 2010.

23) M.Nakauchi, T.Kageyama, M.Ujike, M.Obuchi, E.Takashita, T.Odagiri, M.Tashiro, K.Oba, N.Konomi, and the working group for influenza virus surveillance in Japan.: A rapid genotyping of oseltamivir-resistant or susceptible pandemic A/H1N1 2009 influenza viruses by duplex RT-PCR assay. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, 3-7 September 2010.

24) T.Kageyama, M.Nakauchi, T.Yoshikawa, H.Nakai, K.Sugata, A.Yoshikawa, Y.Asano, M.Ihira, M.Tashiro, Evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rapid diagnosis of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus. Options for the Control of Influenza VII, Hong Kong, 3-7 September 2010.

2. 国内学会

1) 小田切孝人　新型インフルエンザ A/H1N1 ウイルスとワクチン製造、接種戦略　第 50 回日本呼吸器学会学術講演会 京都、2010 年 4 月

2) 高下恵美、氏家誠、江島美穂、小渕正次、安楽　茜、岸田典子、徐　紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代眞人、小田切孝人、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスワーキンググループ :わが国の抗インフルエンザ薬耐性株の検出状況と新規薬剤耐性株サーベイランス系の構築について　衛生微生物技術協議会第 31 回研究会、鹿児島、2010 年 5 月

3) 小田切孝人　新型インフルエンザウイルスの特徴　第 51 回日本臨床ウイルス学会　高松、2010 年 6 月

4) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、本村和嗣、佐藤　彩、佐藤裕徳、氏家　誠、小渕正次、田代眞人、小田切孝人、全国地方衛生研究所 : 2009/10 シーズンにおける抗インフルエンザ薬剤耐性 pandemic A/H1N1 株の検出と新規薬剤ペラミビルに対する交叉耐性　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

5) 浅沼秀樹、信澤枝里、白倉雅之、許斐奈美、山本典生、中内美名、網康至、長谷川秀樹、相内　章、高下恵美、小渕正次、徐紅、岸田典子、小田切孝人、田代眞人 : 新型インフルエンザウイルス（H1N1pdm）の増殖性に関する検討　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

6) 岸田典子、徐　紅、高下恵美、藤崎誠一郎、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金南希、本村和嗣、佐藤　彩、佐藤裕徳、網　康至、須崎百合子、小口晃央、山崎秀司、藤田信之、小渕正次、氏家　誠、田代眞人、小田切孝人、全国地方衛生研究所 : 2009/10 シーズンのインフルエンザ流行株と平成 22 年度のワクチン株　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

7) 中内美名、高山郁代、高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金　南希、氏家　誠、小渕正次、大場邦弘、許斐奈美、小田切孝人、田代眞人、影山　努、全国地方衛生研究所 : A/H1N1pdm タミフル耐性株の迅速検出法の開発　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

8) 信澤枝里、中島捷久、尾曲克己、中島節子　インフルエンザウイルス抗原変異出現のメカニズム　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

9) 伊藤　良、相内　章、浅沼 秀樹、鈴木忠樹、千葉　丈、田村愼一、田代眞人、佐多徹太郎、長谷川秀樹　経鼻インフルエンザワクチンにおける抗原性の異なる株による追加免疫時の免疫応答の解析　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

10) 相内　章、伊藤　良、浅沼秀樹、鈴木忠樹、谷本武史、小田切孝人、田村愼一、佐多徹太郎、田代眞人、長谷川秀樹 2009/10 季節性インフルエンザワクチンの経鼻投与による A/H1N1 pdm ウイルスの感染阻害効果の検討　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

11) 柳田浩志, 松元輝礁, 山本典生, 原崎一浩, 佐藤人美, 山本陽子, 高久洋, 高橋仁, 原田勇一, 中村一哉, 浜本いつき, 田代眞人, 星野忠次 : 新規インフルエンザウイルス感染阻害化合物の探索と合成. 日本薬学第 131 年会, 31Y-am05、静岡、2011 年 3 月

12) 山本典生、柳田浩志、原崎一浩、佐藤人美、山本陽子、高久　洋、高橋　仁、原田勇一、中村一哉、浜本いつき、田代眞人、星野忠次　新規インフルエンザウイルス感染阻害化合物の計算機探索 Identification of novel anti-influenza virus compounds by computational screening　第 33 回日本分子生物学会　神戸、2010 年 12 月

13) 長谷川秀樹、相内　章、網　康至、永田典代、田村愼一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎　隆、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によるブースター効果と高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御の検討　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

14) 山崎達也、二宮大輔、長島麻里亜、荒井由佳、手嶋保智、相内　章、長谷川秀樹、藤本　陽、千葉　丈 : インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた遺伝子治療による感染と重症化の阻止　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

15) 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、佐藤由子、森川　茂、佐多徹太郎 : SARS 発症マウスモデルにおける IFN-γの投与効果　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

16) 岩田奈緒子、永田典代、辻　隆裕、長谷川秀樹、佐藤由

子、横田恭子、宇田晶彦、水谷哲也、西條政幸、森川　茂、佐多徹太郎：SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応について　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

17) 酒井宏治、田丸精治、前田　健、永田典代、網　康至、岩田奈緒子、鈴木忠樹、水谷哲也、福士秀悦、須崎百合子、緒方もも子、長谷川秀樹、西條政幸、山田靖子、倉根一郎、森川　茂：カニクイザルで致死的感染症を起こしたイヌジステンバーウイルスのサルおよびイヌでの病原性の解析　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

18) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、佐多徹太郎：日本の 2009 年 H1N1 新型インフルエンザウイルス感染症剖検例の病理　第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

19) 相内　章、田村愼一、鈴木忠樹、伊藤　良、浅沼秀樹、谷本武史、五味康行、奥野良信、小田切孝人、田代眞人、佐多徹太郎、倉田　毅、長谷川秀樹：インフルエンザワクチン経鼻接種による成人での血清および鼻腔洗浄液中のウイルス特異的中和抗体の評価　第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010 年 12 月

20) 谷本武史、高野大輔、森本孝一、五味康行、長谷川秀樹、田村愼一、宮崎　隆、真鍋貞夫、石川豊数、奥野良信：経鼻インフルエンザワクチンによる免疫獲得効果検討　第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010 年 12 月

21) 長谷川秀樹、相内　章、網　康至、永田典代、田村愼一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎　隆、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による高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御と交叉防御の検討　第 14 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2010 年 12 月

22) 森　安義、仙波晶平、富田憲弘、神田秀俊、納富継宣、影山　努、中内美名．遺伝子迅速診断としての LAMP 法．第 51 回日本臨床ウイルス学会、高松、2010 年 6 月

23) 仙波晶平、森　安義、富田憲弘、神田秀俊、納富継宣、影山努、中内美名．LAMP 法を用いたインフルエンザウイルスの簡易迅速遺伝子検査法．第 17 回日本遺伝子診療学会大会、津、2010 年 8 月

24) 影山　努、中内美名、田代眞人、吉川哲史、中井英剛、菅田健、吉川明子、浅野喜造、井平勝．Direct RT-LAMP 法を用いたインフルエンザウイルス A/H1N1pdm 検出法の開発．第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島、2010 年 11 月

インフルエンザウイルス研究センター

２３．ハンセン病研究センター

センター長　　石井　則久

概　要

ハンセン病は世界で約25万人の人々が新規に発症し、多剤の抗菌剤による治療(multidrug therapy: MDT)が行われている。しかし治癒しても後遺症や偏見・差別、さらに人権侵害にさらされている人も多数いる。その大半は貧困にあえぐ開発途上国に集中している。

ハンセン病は医療の問題も重要であるが、社会的な問題も大きな比重がある。偏見・差別、人権の問題は国連でも大きな課題となっている。2010年12月には「ハンセン病患者・回復者及びその家族への差別撤廃決議案」が、それに付随する「原則とガイドライン案」とともに日本政府提出の原案通り、ニューヨークの国連総会で承認可決された。この決議案には日本国はもとより日本財団、笹川記念保健協力財団などが強力に議決に向けて動いた。

ハンセン病研究センターはハンセン病の診断、治療、後遺症、予防などの分野にわたりハンセン病に苦しむ人々のために研究を行っている。それにもかかわらず、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。また偏見・差別の問題などにも積極的に取り組み、啓発活動も行っている。

非結核性抗酸菌の研究も行っており、ハンセン病の研究成果を発展させ、ブルーリ潰瘍や新たな抗酸菌症の検査法、治療法、予防法などの研究が進行している。

さらに平成20年に稼働した第二研究棟（BSL3実験施設）では結核菌を用いた研究が軌道にのり、今後の研究の発展が期待されている。なお、第二研究棟を含めた研究センター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」の第3回協議会を平成23年2月23日に開催した。この協議会の委員は周辺住民・ハンセン病療養所入所者組織代表者はじめ関係自治体・行政機関の代表者、有識者などで、有意義な意見を得て、安全な運用を行っている。

ハンセン病に対する一般市民の理解を深め、啓発を行う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22年度科学技術週間にあわせて4月17日に行った。今年は例年と同様、近隣市民に「ハンセン病との戦いーらい菌制御を目指したワクチンの開発ー」の題名で牧野正彦部長が講演した。

第33回を迎えるハンセン病医学夏期大学講座（厚生労働省委託事業、(財)日本科学技術振興財団と夏期大学講座実行委員会の主催）も例年通り国立療養所多磨全生園、同入所者自治会等の協力の下に企画、実行された。医療関係の参加者39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、さらに療養所入所者・社会で生活するハンセン病回復者等との交流なども含めた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・大学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. ベトナム国：ハンセン病の早期診断技術指導及び新しい免疫学的診断法に関する共同研究の打ち合わせと実験を実施するため、さらに薬剤耐性サーベイの解析結果の討議のため、職員2名を派遣した。
2. ミャンマー国：上記同様、共同研究打合せ及びWHOによる薬剤耐性サーベイの討議のため、職員1名を派遣した。
3. 国立感染症研究所とWHOの共同主催で第3回Meeting on Sentinel Surveillance for Drug Resistance in

Leprosy を平成 22 年 11 月 9、10 日に開催した。戸山庁舎共用第 1 会議室で、18 カ国、42 名が参加して活発な討議が行われた。

行政検査実績（石井則久、鈴木幸一、谷川和也）

平成 9 年 7 月から厚生省（当時）通知により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 22 年度（平成 22 年 4 月ー平成 23 月 3 月）の検査件数は表のごとく 22 症例、51 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いるが、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に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、20 件のスメア標本の染色、検鏡を行った。22 症例の最終診断は、6 例は新規にハンセン病と診断、3 例はハンセン病の再発と診断し、13 例はハンセン病でなしと診断した。

各年の検査件数は以下の通りである。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)、平成 20 年度：95 件、平成 21 年度：53 件。平成 22 年度は 51 件であった。ハンセン病新規患者数は平成 22 年では 4 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た。さらに、平成 22 年度の特徴は、PCR 検査陽性例は全て薬剤耐性遺伝子検査を実施し、耐性は 1 例も認められなかったことである。

今後の課題として、行政検査の各医療機関への周知徹底、検査依頼の簡素化、検体送付の迅速化、検査結果の迅速通知、臨床症状を把握したうえでの検査の指導、皮膚スメア検査の指導、知覚検査の指導、治療効果判定への検査利用、検査結果を基にしたコンサルテーション、追跡検査などがあり、患者・主治医に一層有益な検査のあり方が求められている。

平成 22 年度（2010 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	28
総検査件数	51
病理学的検査件数	12
血清抗体価検査件数	8
PCR 検査件数	25
薬剤耐性遺伝子検査件数	6
実症例数	22

らい菌の供給（甲斐雅規・天内 肇・前田百美・宮本友司・牧野正彦）

平成 22 年 4 月より同 23 年 3 月までの 1 年間において、のべ 30 回、95 匹、 5 施設（国内 2、国外 3)、10 名（国内 7、国外 3）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。

２５．総務部総務課図書室

図書室長（総務課長併任）勝又　勝行

編集委員長　　倉根　一郎

概　要

図書室では、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）の編集発行を行っている。

［図書係］

平成 22 年度の資料受け入れ状況は、雑誌 431 タイトル（うち購読 181 タイトル）、単行本 343 冊（うち購入 217 冊）であった。

文献の相互貸借状況は、供与 571 件、依頼 1320 件であった。依頼は年々増加の傾向にあるが、特に平成 20～22 年度にかけて、外部機関のうち厚労省や農水省の協力研究機関への依頼件数の増加が、161 件→363 件→536 件と顕著であった。（下記表参照）

平成 22 年度は、購読する外国雑誌について 3 年に 1 度行っているタイトル見直しの年であった。前年度、図書委員会にて合意を得た選定基本方針に基づいて必要な雑誌を厳選し、戸山 105 誌、村山 31 誌、ハンセン研 9 誌を契約した。

見直しの際、外国雑誌は利便性の高い電子ジャーナル契約の要望が多く、購読タイトルのうち約 7 割は三庁舎で利用できるマルチサイト契約を行った。

研究者の発表論文の散逸を防ぐため、試行として図書室で著者最終稿を収集保存することとなりご協力をお願いした。

文献相互貸借状況	平成20年度		平成21年度		平成22年度	
	供与	依頼	供与	依頼	供与	依頼
総　数	745	751	667	1185	571	1320
三庁舎間	137	137	180	180	152	152
外部機関	608	614	487	1005	419	1168
協力研究機関	585	161	451	363	343	536
国公立大学/機関	12	397	26	558	52	550
私立大学/機関	11	56	10	84	24	82

［編集翻訳係］

平成 22 年度は vol. 63 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。Supplement vol. 62 を発行し PDF ファイルでも公開した。

本年度の編集委員の交代は、宮村達男、山本直樹が退官し、竹田　誠、大西　真、西條政幸、俣野哲朗が加わった。編集方針に変更はない。

国立機関発行の論文誌としてその規程にもあるように「国内外の研究者に感染症に関する研究を発表する機会を供する」役割を担っている。通常の peer review 誌では評価されない論文でも JJID 独自の審査基準を設けている。例えば、発展途上国や地域などの感染症情報等ほかのジャーナルで発表され難い場合でも公衆衛生や疫学情報の視点を重視し掲載の道を考慮する。またホームページで掲載している論文は広く、公平に閲覧できるようにアクセスを限定せずその容量も小さくおさえている。投稿数の増加、impact factor の上昇、アクセスログ数の増加などからこのような編集方針が認知されてきたと考えられる。

第 20 回感染研シンポジウムの演者及び 22 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. 1/81 頁(19 編）、2/74(21)、3/67(18)、4/81(20)、5/79(21)、6/75(14)

発行部数　710→690 部

発送先　　国内―大学、衛研等　　約 190 機関
　　海外―大学、研究所等　約 350 機関
　　（約 75 ヵ国）

投稿論文数　感染研内　25 編
　　国内　　62 編
　　海外　　142 編（21 ヵ国）

採択率　　41%