序

所長　渡邉治雄

2011 年は、激変の年でした。東日本大震災、津波、それに続く福島原子力発電所の大災害で我が国は未曽有の被害を受けました。復旧、復興をめざし、国民が一体となり尽力しておりますが、前途多難なものがあります。今回の災害により「予期せぬこと」を予想することの難しさを学びました。新規感染症の出現においても然りで、いつ何が発生してもおかしくないことを前提に対応をしていかなければならないのでしょう。

我が国の研究機関の状況も変動しています。我が国の財政事情を反映してか、独立行政法人の再見直しが行われ、再編の波が押し寄せています。国研として残っている感染研も例外ではありません。緊縮財政や定員合理化削減の影響を受け、予算、人員で実質的マイナスの時代に入っています。感染研研究評価委員会からは、“感染研のような研究所は、その国民に対する使命の質と大きさに鑑み、「国家公務員削減計画」からの除外対象とするべきである”との意見を頂いておりますが、厳しい状況です。

このような状況の中でも、H5N1 鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染は依然として発生しています。NDM-1 という新規の耐性菌が出現し、治療に効果のある薬がほとんどなくなりつつあります。EU を中心に病原性大腸菌O104 という新しいタイプの腸管出血性大腸菌が出現し、多くの被害をもたらしました。国内では、富山県を中心とする腸管出血性大腸菌O111 の汚染による“ユッケ”の事件で食肉の生食に対する警鐘が鳴らされました。自然界における微生物の変化は留まることを知らず、我々人類に戦いを仕掛けてきています。一方、我が国ではようやくワクチンで予防できる疾患はワクチンを使って防ごうという機運が高まりつつあり、感染研にワクチンの品質管理及びワクチン行政への貢献が強く求められております。

このような時にこそ感染研は、「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」であるべきなのです。2011 年度の主な活動を概要します。

感染研のミッションのひとつであるワクチン等の生物製剤の国家検定の国際化に向けて,2012 年 10 月からの Summary lot protocol(SLP:国家検定における製造･試験記録等要約)のレビューの本格施行を決めました。2004 年に行われた WHO の評価においては、感染研が担当する Lab. access は 96% implemented, Lot release は 50% implemented との評価で、及第点を取れませんでしたが、SLP 導入の意思表示と準備が評価され、2011 年 12 月の WHO 評価では Lab. access は 99% implemented, Lot release は 98 % implemented の合格点をとることができました。WHO からは Recommendation として①内部査察の質と量の向上、②外部査察の必要性,③ＱＡ部門の強化等が示されています。①に対しては、内部監査の強化を検定検査業務評価委員会の任務として位置づけて組織の改組を行いました。②に対しては、PIC/S（医薬品等の試験検査を実施する公的認定試験検査機関に求められる要件）への適応を行うことにしました。③に対しては、検定検査品質保証室の強化（保証室長の専任等）を図ることにしています。感染研の責務としてワクチンの品質管理に所全体として取り組み、国民に安全で有効なワクチンが接種されるように全力を

尽くしています。

HPV ワクチン、Hib ワクチン、小児用肺炎球菌ワクチンの助成基金が平成 24 年度も延長されることが決まりました。また、不活化ポリオワクチン（IPV）の導入が平成 24 年の秋になる予定です。国民のワクチンへの関心が高まり、ワクチンで予防可能な疾患はワクチンで予防すべきとの考えが一般に広がってきています。このような状況で、厚労省等で「先進諸国とのワクチン・ギャップの問題や予防接種施策を総合的かつ恒常的に評価・検討する仕組み」いわゆる米国の ACIP のような組織の設置が考えられており、当組織への感染研の貢献が求められています。ワクチンへの施策から品質管理まで幅広い領域での感染研の関与が期待されているわけで、その責務は決して狭まることはありません。

国内外の感染症発生動向の把握のために、国外の研究機関との連携、地方衛生研究所、保健所をはじめとする国内の研究機関との連携によるネットワークの構築を推し進めてきています。特に国際関係では、WHO 本部および WPRO との持続的な協力体制を強化するため、必要な会議には適切な人材を所として派遣する仕組みを強化しています。また、東アジアとの連携として、感染研と台湾 CDC とのシンポジウム、及び中国 CDC,韓国 CDC/NIH と感染研の３国間によるシンポジウムの定期的開催が軌道に乗ってきています。また、アジアの国立の感染症研究機関との共同研究の輪を広めています。すでに、台湾 CDC,中国 CDC,ベトナム NIHE、インド NICED との組織間での共同研究がスタートし、20 以上の研究プロジェクトを開始しました。2011 年２月には、中国医薬品食品検定研究院とのワクチン関係の共同シンポジウムを開催しました。感染研は、アジアの中でのリーダーとして各国との相互的な、対等な立場での連携を推し進めていく時期に来ています。

感染研が行っているこのような重要な機能および成果を、国民に理解して頂くアウトリーチ活動も今後さらに重要になってきます。広報委員会が中心になり、感染研一般公開日に講演・パネル展示、研究室ツアー・体験型展示などの新しい企画が行われ、一般の入場者数が増加しています。また早稲田大学との共同で開催している「新興感染症」や「ワクチン」に関する市民講座(知の市場)も好評で、３０名近くの職員が講師として参加しています。感染研の活動をわかりやすく国民に伝え、感染研のサポーターを増やすことは、感染研の存在価値を高めるためにも重要なことです。

感染研には、検定、検査、疫学調査、基盤研究等のいろいろな分野で優れた仕事をしているヒトがたくさんおります。それらのヒトを讃える文化を作っていくことは重要です。学友会が中心になり、Brown Bag Meeting を企画し、所内の研究交流の場を設けたことはひとつの良い現れです。ヒトが組織を作ります。感染研を支える人材こそ宝であり、その確保こそ感染研の業務遂行に欠かせないものです。

2011 年度の人事として、柴山恵吾（細菌第二部長,2011.4)、長谷川秀樹(感染病理部長、2011.4)、冨澤一郎（企画調整主幹,2011.4）、宮川昭二（国際協力室長、2011.6）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　　西條　政幸

概　要

本年度，ウイルス第一部において以下の人事異動があった.第四室研究員の山田壮一が平成 23 年 4 月 1 日付けで主任研究官に昇任した.平成 23 年 3 月 1 日付で第一室任期付研究員として採用されていた吉河智城が，平成 24 年 3 月 1 日付で主任研究官として採用され就任した．佐藤正明が第五室研究員として採用され就任した．平成 23 年 9 月 23 日付で主任研究官伊藤美佳子が退職した.

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（VZV），サイトメガロウイルス（CMV），リケッチア，クラミジア等の病原体の研究，血清及び分子疫学，感染症発症機序の解析と診断，治療，予防方法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で開催された学会等において発表された.

第一室においては，ウイルス性出血熱に関連する研究として，各種アレナウイルスの膜蛋白（GP）を表面に被ったシュードタイプ VSV を用いたアレナウイルスの細胞への侵入機構の解析，新興アレナウイルスであるルジョウイルス感染症の診断法（ウイルス抗原検出法），クリミア・コンゴ出血熱ウイルス中国株の L-遺伝子の塩基配列の決定と解析，ナイジェリアにおけるウイルス性出血熱の疫学，霊長類におけるレストンエボラウイルス感染症の病態解析がなされた．致死的症状を呈し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遺伝子の全塩基配列を決定した．最近，中国で確認された死亡率の高い出血熱の原因ウイルス（重症熱性血小板減少症候群ウイルス,Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome virus ，SFTSV）の診断システムを整備し，本疾患の日本における疫学的調査を開始した．高度弱毒化天然痘ワクチン LC16m8 の温度感受性遺伝子同定および遺伝的安定性に関する研究がなされた.

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継続された．FcγR 発現細胞を用いた中和抗体測定法の開発と評価，デングウイルス抗原検出 ELISA キットの診断における有用性の評価，デング熱ワクチン評価のためのモデル動物の確立に関する研究がなされた．フラビウイルス感染症の病態を明らかにするためにデングウイルス 1 型および日本脳炎ウイルス感染が誘導する遺伝子発現プロファイルの解析，日本脳炎ウイルス感染の疫学的調査，デングウイルスやチクングニアウイルス輸入感染例の診断，等の研究がなされた．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解析を継続した．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.

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に関する基礎研究，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継続し，その実態を明らかにした．また，国内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，日本におけるその詳細な疫学を明らかにした．また， PML 患者の脳および脳脊髄液(CSF)に出現する JC ポリオーマウイルス(JCV)のウイルスゲノム転写調節領域の性状を解析した．単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）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 HSV-1 の性質の解析がなされた．アシクロビル治療抵抗性の脳炎を発症した新生児において，それがアシクロビル耐性 HSV-1 による脳炎であることをウイルス学的に世界で初めて証明した.

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 26,348 人について解析した．先天性 CMV 感染児の臨床的な経過観察がなされている．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が継続された．また，マイ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．さらに,GPCMV感染妊娠モルモット動物モデルを用いて，個体レベルでの糖蛋白 B(gB)サブユニットワクチンの効果を評価し，有用性を明らかにした．水痘帯状疱疹ウイルス感染が誘導する特異的細胞性免疫が認識する抗原の探索に関する研究がなされた．

第五室においては，リケッチアに関する研究として，リケッチアの細胞への感染と脂肪滴の関連，リケッチア感染とオートファジーの関連に関する基礎研究がなされた．今年度のリケッチア症（日本紅斑熱）野外疫学研究は福岡県で実施された．北海道のオオトゲチマダニから分離されたリケッチアの遺伝子塩基配列を決定し，分子疫学的解析によりそれがこれまで国内にない紅斑熱群リケッチアの一種であり，ヨーロッパのハンガリーで報告されているものと一致することを明らかにした．リケッチア感染症の迅速診断システムを開発・評価した．野外鳥類におけるオウム病の発生リスクに関する研究が埼玉県で実施された．また，性器クラミジアの分子疫学的解析方法を開発するために，当研究室内に保存されている*C. trachomatis*の標準株17株（serotype A〜L3）の表面抗原タンパク質をコードする遺伝子（OmpA）配列と3箇所の繰り返し配列を有する領域の配列を解析した．

以上の研究活動に対して，厚生労働省，HS財団，文部科学省,環境省等から研究費の助成を受けた.今年度は，日本脳炎ワクチン，狂犬病ワクチン，水痘ワクチンの国家検定と黄熱ワクチンと水痘抗原の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．日本予防医学協会の助成により，2名の流動研究員を受け入れた．また，各室において協力研究員，研究生，実習生を受け入れ，研究の推進と人材育成に貢献した．

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. 各種アレナウイルスのエンベロープ蛋白質の性状解析

アレナウイルスの多くは，BSL4病原体に分類され，現状では日本では取り扱うことができない．アレナウイルスの生活環の一端を理解する方法として，ウイルスの構成蛋白質を細胞に各々発現させてその性状を解析することが求められる．本年度は，ウイルスの細胞への侵入の際に必須のエンベロープ蛋白質の性状解析を行った．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膜絡髄膜炎ウイルス（LCMV），また南米アレナウイルスのフニン，マチュポ，サビア，チャパレ，各ウイルスのエンベロープ蛋白質であるGPを各種哺乳動物細胞に発現させ，低pH緩衝液で曝露させるといずれのGP発現細胞でもシンシチウム形成が認められた．またT7ポリメラーゼとT7プロモーターを用いた細胞融合のレポーターアッセイにおいてもpH依存的な活性が認められた．さらに，これらのGPを外套したシュードタイプ水疱性口内炎ウイルスをpH緩衝液に曝露させ，pH濃度と曝露時間による各種ウイルスの感染におけるGPのpH依存性についても検討したところ，ラッサウイルスのGPが最もpHに対して安定性が高いことが明らかにされた．［谷英樹，福士秀悦，吉河智城，水谷哲也，緒方もも子，西條政幸，森川茂；伊波興一朗，谷口怜（東京大学）］

2. アレナウイルスの受容体に関する解析

南米出血熱の原因ウイルスとして分類されるフニンウイルス,マチュポウイルス,ガナリトウイルス，サビアウイルス，チャパレウイルスは，いずれも細胞への侵入の際に受容体としてトランスフェリン受容体を，また，旧世界アレナウイルスに属するラッサウイルスはαジストログリカンを受容体として利用すると報告されている．しかしながら，種々の細胞への感染実験による解析から他の受容体の存在も否定出来ない．そこで，新規受容体の探索を含めたウイルス-受容体相互作用の解析を試みた．現在まで，各種アレナウイルスのGPを効率良く検出できる抗体が存在しないので，まず，タグを付加したGP発現ベクターの作製を試みた．タグを付加した

GP を作製することで，これまで検出が困難であった各種アレナウイルスの GP をウェスタンブロット法で検出することが可能になり，タグを付加した GP を被った感染性を示すシュードタイプ水疱性口内炎ウイルスを作製した．今後，これらのツールを用いることで，ウイルス GP と既存受容体との相互作用および新規受容体の探索を試みる．［谷英樹，福士秀悦，吉河智城，緒方もも子，西條政幸，森川茂；伊波興一朗，谷口怜（東京大学）］

3. 出血熱を引き起こす新興アレナウイルスの感染機構の解析

2008 年にザンビア共和国で発生したウイルス性出血熱患者および患者搬送先の病院（南アフリカ共和国）で発生した院内感染患者から分離・同定された新規アレナウイルスであるルジョウイルスは，西アフリカ地域のラッサウイルスや南米のフニンウイルスなどと分子系統学的に異なり，その感染機構についてもほとんど明らかにされていない．そこで，水疱性口内炎ウイルスにルジョウイルスのエンベロープ蛋白質（GP）を被らせたシュードタイプウイルス（LUJpv）を作製し，他のアレナウイルスの GP を被らせたシュードタイプウイルス（AREpv）と比較して，細胞侵入機構を解析した．LUJpv は AREpv と同様，様々な哺乳動物細胞に感染性を示す一方，AREpv と異なり CHO，NIH3T3 および Molt-4 細胞には感染性を示さなかった．また，エンドサイトーシス阻害剤処理により LUJpv の感染性は低下するが，他のアレナウイルス GP が示すような pH 依存的な細胞融合活性およびシンシチウム形成能は認められなかった．さらにトランスフェリン受容体は LUJpv の細胞への感染に関与していなかった．ルジョウイルスは，これまで知られているアレナウイルスの細胞侵入機構とは異なる機構で感染することが示唆される．［谷英樹，福士秀悦，西條政幸，森川茂；伊波興一朗（東京大学）］

4. 組換え抗原を用いた新興アレナウイルス性出血熱の実験室診断系の開発

ルジョウイルス（LUJV）は，2008 年に南アフリカで発生したウイルス性出血熱患者から分離された新興アレナウイルスである．アフリカからの帰国者や渡航者が国内で発症したり，輸入動物が感染源となり患者が発生する可能性がある．本研究では，感染の可能性がある動物や感染疑い患者を対象とする実験室診断法を確立するため，LUJV の NP 抗原(LUJV-NP)に対するモノクローナル抗体（MAb）を作製し，エピトープを決定した．これらの MAb を捕捉抗体として用いたウイルス抗原検出法（Ag 検出 ELISA）を開発し，リコンビナント NP（rNP）および LUJV そのものを用いて特異性，検出感度を検討した．作製された 6 種の MAb のうち 3B2 は rNP のアミノ酸領域 69-116 を，MAb3A4 および 6A3 は rNP のアミノ酸領域 88-109 を認識し，他の 3 種の MAb は立体的エピトープを認識した．いずれの MAb を用いた Ag 捕捉 ELISA により，rNP は高感度に検出されたが，3B2 及び 3E8 を用いた Ag 検出 ELISA では，LUJV の NP は検出されなかった．残りの 4 種の MAb を用いた Ag 検出 ELISA は，200 から 500 $TCID_{50}$/reaction の感染性 LUJV を検出した．本研究で開発した抗体検出系及び抗原検出系は，疑い患者の実験室診断だけでなく，輸入齧歯類などの調査にも有用と考えられる．今後，本診断系の有用性を，患者血清を用いて評価する必要がある.［福士秀悦，水谷哲也，谷英樹，吉河智城，水谷哲也，緒方もも子，西條政幸，森川茂；山本貴恵，伊波興一朗，谷口怜（東京大学）；Roger Hewson（Health Protection Agency，UK）］

5. 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遺伝子配列決定

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．流行初期と後期の発症サルから分離された CDV ゲノムをそれぞれ RT-PCR 法によって増幅し，PCR 産物を Roche 社の GS Junior によって解析した．その結果，感染初期と後期の分離株では，その遺伝子配列には複数箇所に違いが見られ，流行後期には変異が蓄積していった可能性が示唆された．これらの変異の蓄積がサルへの病原性や感染性にどのように寄与しているのか，今後の詳細な解析が必要である．［吉河智城，福士秀悦，谷英樹，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）；永田典代，飛梅実，長谷川英樹（感染病理部）；網康至，須崎百合子（動物管理室）；谷口怜，伊波興一朗（東京大学）］

6. レストンエボラウイルス自然感染サルの抗体応答の解析

1996 年時のフィリピンにおけるレストンエボラウイルス（REBOV）感染症流行時に採材された自然感染カニクイザルの血清中の特異抗体とウイルス抗原を，１）バキュロウイルスを用いて発現・精製した組換えREBOV核蛋白(NP)及び膜糖蛋白(GP)を抗原としたIgG-ELISA，２）組換えNP及びGP発現HeLa細胞を用いた間接蛍光抗体法（IFA），３）GP を外套したシュードタイプ水疱性口内炎ウイルスを用いた REBOV 中和試験法，４）NP に対するモノクローナル抗体を用いた抗原検出 ELISA により解析した．また，これらの血清を対象に各種サイトカイン量を測定した．その結果，GP 抗体の上昇は，中和抗体の上昇と血清中のウイルス抗原の消失と相関したことから，REBOV 自然感染カニクイザルにおいて GP 抗体はウイルス排除に重要であることが明らかとなった．ウイルス抗原陰性・中和抗体陽性検体においては，IFNg，IL8，IL12，MIP1a が有意に上昇したことから，これらはREBOV感染からの回復に重要な役割を果たすと考えられた.［福士秀悦，水谷哲也，谷英樹，吉河智城，水谷哲也，緒方もも子，西條政幸，森川茂；永田典代(感染病理部)；谷口怜，伊波興一朗，山本貴恵（東京大学）；池上徹郎（テキサス大学）；Miranda ME（RITM，フィリピン）］

7. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS：重症熱性血小板減少症候群)の実験室診断法の開発に関する研究

2009 年に中国湖北省と河南省の山岳地域の住民の間で，新興ウイルス感染症である SFTS が報告された（致死率約 10%）．SFTS の原因ウイルスは新種のブニヤウイルス(SFTSV) で，このウイルスの感染はマダニ類の一種，フタトゲチマダニによって媒介される．フタトゲチマダニは中国だけではなく，日本を含めアジア，太平洋地域に広く生息していることから，広い地域でSFTSV感染サーベイランスを行う必要性がある．そこで，日本の野外で採取されたマダニ類約 100 匹から RT-PCR により SFTSV の遺伝子検出を試みたが，全て陰性であった．SFTSV-rNP を抗原とした ELISA や IFA では，抗 SFTSV-NP ウサギ血清のみが特異的に反応し，他のブニヤウイルスおよびアレナウイルス NP に対する抗血清は反応しなかった．遺伝的には最も近縁なリフトバレー熱とも血清学的に交差しなかった．日本における SFTSV の存在の有無を明らかにするには，より広域，かつ多数のマダニ類を調査する必要がある．本研究で開発されたSFTSV-rNPを抗原とした血清学的診断法はSFTSV に特異的であり，SFTSV 感染のサーベイランスに有用であると考えられた．［福士秀悦，水谷哲也，谷英樹，吉河智城，水谷哲也，緒方もも子，西條政幸，森川茂；新倉綾(動物管理室)；伊波興一朗，谷口怜，山本貴恵］

8. CCHFウイルスのナイジェリア国内における実態調査

クリミア・コンゴ出血熱（Crimean-Congo Hemorrhagic Fever， CCHF）は，ブニヤウイルス科の CCHF ウイルス感染による出血熱で，致死率（15-30%）が高い．3 分節（S-，M-，L-遺伝子）の RNA ゲノムを有する．CCHF はアフリカ大陸から東ヨーロッパ，中近東，中央アジアなど，媒介ダニの生息域に関連して分布している．疫学研究のためアフリカ西部に位置するナイジェリア国内で採取されたダニからの CCHF ウイルスの遺伝子検出を行った．哺乳動物からダニ（*Hyalomma* 属または *Ixodes* 属）を 48 検体採取し，そこから RNA を抽出し，ランダムプライマーを用いて cDNA を合成し，S-遺伝子領域を増幅するプライマー（Burt et al， 1998）を用いて nested-PCR を行った．調べられた全てのダニ RNA（48 検体）から CCHF ウイルスゲノムは検出されなかった．ナイジェリアでは CCHF の流行が確認されている．今後，ダニの検体数を増やすなど，ナイジェリアにおける疫学調査を続けていく予定である.［木下一美， 森川茂， 林昌宏，倉根一郎， 西條政幸； David N Bukbuk （Maiduguri 大学，ナイジェリア）］

9. 中国で分離された CCHF ウイルスの分子疫学的解析に関する研究

中国新疆ウイグル自治区において1970年から1988

年に CCHF 患者，ダニおよびトビネズミより分離された 7 株の CCHF ウイルスの RNA ポリメラーゼをコードしている L-遺伝子（12 kb）の塩基配列を決定した．分離されたウイルス RNA からランダムプライマーを用いて cDNA を合成した．L-遺伝子のゲノム全長を 5 つの重複する DNA 断片（3-5 kb）に分け PCR で増幅し，全長に対し約 24 ペアのプライマーセットを用いて DNA 断片のシークエンスを調べ，アライメントを行った．シークエンス解析から，7 株のウイルスの L-遺伝子のほぼ全長の塩基配列（12,137 - 12,178）を決定した．すでに決定されている S-および M-遺伝子の塩基配列（それぞれ約 1.5k，5k）と合わせて，同地域で分離されたウイルス株の系統樹解析を行い，また 3 分節遺伝子で遺伝子再集合（リアソートメント）が起こっている可能性について解析を行う予定である．また，これまでにほとんど報告がなかった中国の分離株の L-遺伝子の塩基配列を他の CCHF 流行地域（アフリカ，中近東，中央アジア）で分離された株の遺伝子情報との比較解析を行い，CCHF の分子疫学についても検討する．［西條政幸，木下一美， 森川茂， 林昌宏，倉根一郎，；唐青（中国 CDC)］

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. 地方衛生研究所への RDV 法の導入

鳥取衛生環境研究所の浅野康子氏が中心となり，不明検体を解明するために RDV 法を導入するプロジェクトが立ち上がった（調査研究事業：感染症の原因となる RNA ウイルス羅列的な検出方法の確立)．そこで，鳥取県衛生環境研究所に RDV 法を導入することを目的として，研究所を訪れ RDV 法を指導した．咳など呼吸器症状を示した不明検体を解析したところ，パレコウイルスやマイコプラズマの遺伝子断片が得られたので解析中である．［水谷哲也，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，緒方もも子，西條政幸，森川茂；伊波興一朗，谷口怜，山本貴恵（東京大学）］

2. 細菌の網羅的検出の試み

未知のウイルス探索においてしばしば問題になることは，ウイルスが検出されず細菌の遺伝子断片が得られた場合の解釈である．また，明らかに細菌感染が疑われる検体において，16S リボゾーマル RNA 以外にも遺伝子情報を得る必要がある．このような理由で RDV 法を改良し，細菌を検出する系を確立した．その結果，ウイルスでは 1000 分子のゲノムを検出できる感度であったのに対し，細菌では数十個のゲノムまで検出できることがわかった．実際に，実験動物マウスの糞便や蚊の幼虫から細菌の遺伝子断片を得ることができた．［水谷哲也，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，緒方もも子，西條政幸，森川茂；伊波興一朗，谷口怜，山本貴恵（東京大学）］

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 LC16m8 の親株 LC16m0 の遺伝子安定性の研究

細胞培養痘そうワクチンの製造承認株である LC16m8 株は，Lister 株から低温馴化により LC16 株，LC16m0 株を経由して樹立された株である．LC16m0 株，LC16m8 株のほぼ遺伝子配列を比較すると，両者の遺伝子配列の相違点は，B5R 遺伝子の一塩基欠失変異以外には 5 塩基のみである．その一方で，LC16 系統の親株である Lister 株は塩基配列にバリエーションのある多様なウイルス変異体の集合として存在している．つまり，Lister と LC16 系統はそれぞれ遺伝子に変異が生じやすいのか，それとも安定なのか今まで不明であった．そこで本研究では，Lister 株と LC16m0 からプラーククローニングによって得られたクローンについてそれぞれ複数回継代を行ない，継代前後で塩基配列を比較し遺伝子の安定性を検討した．結果としてどちらの株についても 1 継代目と 7 継代目を比較して変異は全く生じなかったことから，少なくとも Lister 株から選択されたクローンと LC16m0 株の遺伝的安定性は高いことがわかった．［吉河智城，谷英樹，福士秀悦，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）］

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) デングウイルス中和抗体における感染増強活性の解析

デングウイルス感染に対する防御は中和抗体が中心となると考えられている．さらに，デングウイルスの生体内におけるターゲット細胞がFcγRを有する細胞である．しかし，一般的の中和抗体測定法は非FcγR発現細胞により行われている．通常，中和抗体が検出されれば感染に対する防御が存在すると考えられている.一方,デング熱患者血清において，非FcγR発現細胞により感染ウイルスに対する中和抗体が検出される場合がある．そこで，我々は非FcγR発現細胞を用いた中和試験により感染ウイルスに対する中和活性が検出されたデング患者血清を用いてFcγR発現細胞により検討した．その結果，FcγR発現細胞を用いた中和試験においては感染ウイルス血清型に対する中和活性が観察されなかった．FcγR発現細胞を用いた中和試験は生体内における抗体の中和活性をより的確に反映することが示唆された．［モイメンリン，高崎智彦，林昌宏，倉根一郎］

(2)デングウイルス抗原検出ELISAキットの診断における有用性の評価

デングウイルスの非構造タンパクの一つであるNS1抗原は感染細胞の表面に出現するとともに感染細胞から分泌される．デングウイルス感染においては抗体の上昇とともにウイルス血症が速やかに消失するため，解熱後はウイルス遺伝子検出が困難である場合が多い．私たちは，NS1抗原検出ELISAキットおよび迅速NS1抗原検査キットを用いて遺伝子検出法（RT-PCR 法）と比較し，抗原検査法の感度を検討した．NS1抗原はウイルス遺伝子より解熱後でも長く検出される傾向があり，RT-PCR より数日長く抗原が検出された.さらに,少量の検体(血清5μl)を用いても抗原検出が可能であることが明らかとなった．NS1抗原ELISA法と比較するとNS1抗原迅速キットの感度の点でやや劣る場合があるが，迅速キットは迅速（所要時間約 10〜15 分）および簡便性というメリットであり，診断に有用である．［モイメンリン，大松勉，田島茂，小滝徹，高崎智彦，倉根一郎］

(3)デング熱ワクチン評価のためのモデル動物の確立

デング熱・デング出血熱の発症メカニズムを解明するとともにワクチンや治療法の評価のためのモデル動物の確立をマーモセットにより試みた．本モデルにウイルス接種を行ったところ，高ウイルス血症が認められたことからモデル動物として有用であることが示された．さらに，2度目の同血清型の接種においては同血清型に対する高価な中和抗体が誘導されたとともに接種後においてはウイルス遺伝子が検出されなかったことから，本モデルは感染防御メカニズムを解明するためのモデルとして有用であ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；網康至，須崎百合子（動物管理室）；中村紳一朗（滋賀医科大学）；明里宏文（京都大学霊長類センター）;片貝祐子(医薬基盤研究所)］

(4)FcγR発現BHK細胞を用いた新規デングウイルス中和試験に関する使用手順および研修用テキストの作成

FcγR発現BHK細胞を用いた新規抗体依存性感染増強（antibody-dependent enhancement，ADE）および中和試験の使用法を確立した．本法により抗体・デング患者血清における感染増強活性および中和活性を総合的に検出することが可能となる．さらに,デングウイルスの体内におけるターゲット細胞がFcγRを有する細胞であることから，本法により生物的に意義のある中和抗体測定が可能となる．それを解説するための，新規中和試験の使用手順・研修テキスト，FcγR発現BHK細胞および使用手順を作成し国内外の研究機関に提供した．［モイメンリン，高崎智彦，林昌宏，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感染後の網羅的宿主側遺伝子発現プロファイル解析

昨年度までにデングウイルス１型（DENV-1）感染細胞と日本脳炎ウイルス（JEV）感染細胞との間で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，JEV感染細胞の方がより早期かつ顕著に誘導されることが明らかとなった．今年度はIFN関連遺伝子以外の細胞側の遺伝子すべてを対象に，これらのウイルス感染によりどのような遺伝子の発現が顕著に増強するか，あるいは低下するかを網羅的に調べ，さらには両ウイルス間で発現パターンに顕著な差異のある遺伝子を探索するこ

とを目的とした．マウスヘパトーマ由来 Hepa1-6 細胞とヒト肺がん由来 A549 細胞に m.o.i.約 2 で感染させ，感染 24，48，72 時間後に細胞より全 RNA を回収し，これらについて東レ株式会社の「3D-Gene」マイクロアレイ解析を行なった．ウイルスの感染効率が良くないためか，マウス細胞の方がヒト細胞に比べ大きく変動する遺伝子の数が少なかった．変動した遺伝子の多くは，感染性の高い JEV を用いた場合の方がより早期により強く発現量が変化した．一方，DENV-1 感染でのみ顕著に変化する遺伝子も見られた．これら変動（発現上昇）した遺伝子の多くは IFN 関連遺伝子，サイトカイン・ケモカイン，自然免疫関連遺伝子，免疫関連遺伝子であった．今後はこれまであまり注目されてこなかった遺伝子に着目し詳細に解析していく予定である．［田島茂，高崎智彦］

(6) 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，モイ メンリン，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）；松谷隆治（和歌山県立医科大学・生体防御医学研究所）］

(7) 台湾 CDC とのデング熱および地球温暖化に関する共同研究

台湾におけるデング熱国内発生患者数と気象データ（気温，降水量など）の関係を解析した．またデング熱輸入症例から分離されたデングウイルスの遺伝子解析データを相互交換し，フィリピンおよびインドネシアの流行株の分子疫学的解析を行った．［高崎智彦，小滝徹，モイメンリン，田島茂，池田真紀子，谷ヶ崎和美，柴崎謙一，倉根一郎；舒佩芸，黄智雄，鄧華眞（台湾行政院衛生署疾病管制局）］

(8) デング熱輸入症例の実験室診断およびサーベイランス

今年度は，129 件の検査依頼（19 件の行政検査を含む）を受け付け，57 例の輸入症例を実験室診断（病原体検査および血清診断）によりデングウイルス感染であることを確認した．［田島茂，モイメンリン，小滝徹，池田真紀子，谷ヶ崎和美，高崎智彦，倉根一郎，西條政幸］

2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

(1) 日本脳炎ウイルス E 蛋白質上の 1 アミノ酸置換（Ser123Asn）を有する組換え日本脳炎ウイルスのマウスに対する病原性の解析

日本脳炎ウイルス（JEV）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(123Ser)からアルギニンに置換（123Arg）することで有意に病原性が増強することを見出した．一方，近年この部位がアスパラギン（123Asn）である JEV 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 123Asn 株の性状解析は全く行なわれていない．昨年度までに本部位をセリンからアスパラギンに置換した組換え JEV を作製し in vitro における増殖性を検討した結果，123Asn 変異は in vitro でのウイルス性状に影響を及ぼさないことが示唆された．今年度は親株（123Ser），組換え 123Arg 株，および組換え 123Asn 株をマウスへ腹腔接種し，これらのマウスに対する病原性（神経浸潤毒性）を比較した．123Arg 株ほどではないものの，123Asn 株は親株よりも致死性が有意に上昇していた．以上より野外の 123Asn 株は 123Ser 株よりも病原性が高い可能性が示唆された．［田島茂，山口幸恵，高崎智彦］

(2) NS4A 遺伝子に着目した日本脳炎ウイルスの分子疫学的解析

これまでに私たちは日本脳炎ウイルス（JEV）非構造蛋白質 NS4A の 3 番目のアミノ酸が Val(3-Val)である野外株よりも Ile（3-Ile）である株の方がマウスに対する病原性が強いことを見出し，さらにこの部位を Val から Ile へ置換しただけの組換え JEV は親株よりもマウス病原性（神経浸潤毒性）が強いことを見出した．しかし，3-Ile である野外株は国内では私たちが解析した株 1 株が報告・登録されているのみであり，実際野外でどの程度存在しているかは不明である．そこで本年度は当研究室で保有している近年（1994～2010 年）の国内分離 JEV の NS4A 遺伝子の塩基配列を決定した．98 株を解析

したところ 20 株（20.4%）が 3-Ile 型であった．3-Ile 型株のほとんどは分子系統樹上で同一のクラスターに含まれた．3-Ile 型株は 2004～2008 年の間に分離されたもので，分離地域は本州西部～東日本であり，日本脳炎ウイルスが比較的多く分離される九州や四国の株には見出されなかった.以上より，3-Ile 株は我々が同定したものが国内で唯一ではなかったこと，2004～2008 年の間には主要株ではなかったものの本州の広い地域に伝播していたことが明らかとなった．［田島茂，小滝徹，高崎智彦；新井智（感染症情報センター）；沢辺京子（昆虫医科学部)］

(3) 日本脳炎ウイルスのマウスに対する神経毒性解析

私たちは日本脳炎ウイルス（JEV）非構造蛋白質 NS4A の 3 番目のアミノ酸を Val から Ile に置換することによりマウスに対する神経浸潤毒性が強くなることを見出した．一方，JEV のマウス頭蓋内接種による神経毒性についてはこれまで解析していなかった．そこで低病原性親株（Mie41 株），高病原性株(Mie40 株)，高病原性が変化した組換え株(3-Ile 株）をそれぞれ $1x10^3$ および $1x10^2$ pfu/マウス接種し致死性を検討した．$1x10^3$ 群ではいずれのウイルスについても全頭ほぼ同様の期間内に死亡したが，$1x10^2$ 群ではいずれのマウスも死ななかった．これより今回調べた3種類のウイルスは神経毒性についてはほとんど差がないことが明らかとなり，NS4A の差異はウイルスの末梢での動態あるいは中枢神経系への侵入過程に影響している可能性が示唆された.［田島茂，山口幸恵，高崎智彦］

(4) 日本脳炎ウイルスの活動と気象の関連についての解析

日本で 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），降水量と日本脳炎ウイルスとの相関関係を検討し，気温と正の相関をすることを見出した．さらに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.国立環境研究所の解析ソフトを用いて解析した.［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. チクングニアウイルスに関する研究

(1) チクングニア熱輸入症例のサーベイランス

H23 年度は 4 例の輸入症例を確認した．また，平成 23 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，地方衛生研究所に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，IgG-ELISA 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，西條政幸］

(2) チクングニアウイルス遺伝子安定化保存に関する検討

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，地方衛生研究所からのウイルス遺伝子分与依頼が多くなった．ドライアイスを用いた輸送に問題が発生したため，常温で送付できる方法を検討した．RNA stable tube を用いて室温保存状態でチクングニアウイルス遺伝子が安定である期間を確認した．［モイメンリン，小滝徹，田島茂，高崎智彦］

(3) 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，私たち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（CHIKV）に対する感受性について検討した．CHIKV 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．感染 1 日後よりウイルス血症が認められ，感染 7 日後より抗体価の上昇が認められた．また抗体価の上昇とともに血中のウイルス血症は速やかに消失したことから CHIKV 感染に対する宿主の応答が惹起されたことが示唆された．また感染 3 日後においては腹部の発赤が認められ，リンパ組織からウイルス抗原およびウイルス RNA が検出されたことから CHIKV 感染が成立していることが示唆された．［林昌宏，高崎智彦，モイメンリン，藤井克樹，北浦一孝，白井顕治，小滝徹，森川茂，倉根一郎，西條政幸；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)］

4. その他アルボウイルスに関する研究

(1) 昆虫由来フラビウイルス感染性クローンの作製

アカイエカから分離された昆虫特異的フラビウイルス（CxFV）の性状解析を進め，さらに従来のフラビウイルスに関する研究の有用なツールにするために，CxFV 感染性クローンを構築した．［田島茂，高崎智彦；伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，沢辺京子（昆虫医科学部)］

(2) コガタアカイエカ由来細胞の樹立および性状解析

コガタアカイエカから細胞を樹立した．その樹立した細胞（NIID-CTR cell）に関して，培養液の検討および日本脳炎ウイルス，デングウイルスなどフラビウイルスの感受性を解析した．［田島茂，高崎智彦；鍬田龍星，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，沢辺京子（昆虫医科学部)］

(3) 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NS5領域にフラビウイルス共通プライマーを検討したところ，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，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，ヨコセウイルスを検出可能なプライマーを得た．また本法による増幅産物の解析を行った結果，各増幅産物の塩基配列はそれぞれのウイルスに特異的で系統樹解析によりウイルス同定が可能であることが明らかとなった．またデング熱患者の血清パネルを用いて本プライマーの評価を行ったところ，既に確立されているデングウイルス特異的 TaqMan RT-PCR 法と統計学的に高い一致を示した（一致係数 kappa = 0.62，P < 0.00001)．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有用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，西條政幸］

V. 神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

(1) 狂犬病ワクチンの国家検定試験法の改良に関する研究

狂犬病ワクチンの国家検定試験ではマウスの生死を指標とした力価試験を行なっている．この方法は動物に対する苦痛が大きいため，動物愛護の観点からは実験動物の苦痛をより軽減する試験法の実施が望まれている．これまで，生死ではなく体重または症状の程度を指標とする人道的エンドポイントを導入することで，動物が苦痛を感じる期間を短縮する検討を行ってきた．その結果，人道的エンドポイントとして全身麻痺の症状を指標とするのが適当と考えられた．そこで，今年度の国家検定試験について全身麻痺を指標とした場合の苦痛軽減効果について評価したところ，動物が苦痛を感じる期間を約 4 日短縮出来ることが分かった．また，人道的エンドポイントを導入した場合においても，試験結果には影響を与えないことが示された．［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に関する疫学的解析

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脱髄性疾患であり，持続感染したJCポリオーマウイルス(JCV)によって引き起こされる．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 検査が優先される．平成 19～22 年度に引き続き，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た脳脊髄液中のJCVのリアルタイムPCR検査を実施した．平成23年度では，神経学的所見や脳MRI等からPMLが疑われた患者について38都道府県から検査の依頼を受けた．計176検体の検査を実施し，37 検体が JCV-DNA 陽性と判定された．被検者数は144名であり，脳脊髄液 JCV 陽性患者数は 20 名であった．また，検査時の調査

票によって情報提供を受けた被検者の基礎疾患や脳の病変部位，各種検査所見等を PML 疑い患者のデータベースに追加登録した．前年度までの傾向と同様に，今年度においても HIV 感染症もしくは血液疾患を有する患者において陽性例が多くみられた．また，PML と診断された 11 名の患者においてはフォローアップ中の複数回の検査を担当し，治療に伴うウイルス量の変動および患者の経過を解析した．本検査系を用いた医療機関への支援は，PML の診断や治療法の検討，および国内の発生動向の調査において有用であることが示された．［中道一生，林昌宏，西條政幸］

(2) 進行性多巣性白質脳症患者の脳脊髄液中に出現する JC ポリオーマウイルスのゲノム変異の解析

進行性多巣性白質脳症（PML）患者の脳および脳脊髄液(CSF)に出現する JC ポリオーマウイルス(JCV)は，ウイルスゲノムの転写調節領域(Non-coding control region: NCCR)に多様な変異を有しており，末梢部位に持続感染している JCV（アーキタイプ）と大きく異なった NCCR の配列パターンを示す．NCCR の変異は JCV の病態発現に深く関与することが示唆されているが，病態の推移と変異パターンとの関連性はよく分かっていない．そのため，同一の患者から複数回採取された CSF を用いて，病態の進行もしくはその停止に伴う NCCR の変異を経時的に解析した．フォローアップ中に JCV 量が大幅に増大した患者の CSF では，病態の進行に伴ってドミナントな NCCR パターンを有するポピュレーションが変化し，増加前にはほとんど検出されなかった JCV 変異体が増加することが分かった．一方，治療薬候補(メフロキン)もしくは原疾患に対する抗レトロウイルス療法等の治療を受けた後に CSF 中の JCV 量が減少した患者では，その前後において同じ NCCR を有する JCV が高頻度で検出された．これらの結果から，PML の病態が進行する際には CSF 中のドミナントな JCV ポピュレーションが変化すること，および病態の進行が停止する際にはゲノムの変異が抑制されることが示唆された．また，これらの変異様式は PML の治療法を評価する際のウイルス学的マーカーとして有用であることが示された．［中道一生，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 ポリオーマウイルス検出系の開発

進行性多巣性白質脳症（PML）は，JC ポリオーマウイルス（JCV）が免疫不全状態の患者の脳で増殖することによっておこる致死的な中枢神経脱髄疾患である．LAMP 法を用いて，脳脊髄液（CSF）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 検査のため全国の医療機関から送られてきた CSF153 検体を用いた．アジア・アフリカ・ヨーロッパなどに分布する JCV の 12 サブタイプのゲノムシークエンスのアライメントより T 遺伝子領域を増幅するプライマーを設計した．63℃，60 分で反応させ，増幅された JCV ゲノムは，反応液の濁度を測定することにより，陽性対照 DNA を用いた標準曲線を作成して，定量的に検出した．臨床検体においては，反応あたり 20 コピー（3000 GE/mL CSF）のゲノムを 100%の率で検出した．LAMP 法の感度および特異度は，TaqMan-リアルタイム PCR 法と比較して，それぞれ 78%（39/50）と 97%（100/103），陽性的中率および陰性的中率は，93%と 90%であった．また CSF 中のコピー数が>3000/mL の検体(n=33)において，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（$r = 0.882$，$P < 0.0001$）を呈した．また陽性対照 DNA を用いた結果から，DNA テンプレートの熱処理が陽性検出率を上昇させたことから，簡単な方法により感度を上げられる可能性が示された．今回開発された LAMP 法は，PML の診断や治療方針の指標に有用であり，治療薬のモニタリング等の臨床応用に期待できると考えられる．［木下一美，中道一生，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．2010年6月から2012年2月までに採取され，ウイルス分離が完了した咽頭スワブ2369検体のうち89検体から呼吸器ウイルス（パラインフルエンザウイルス2型，同3型，A型インフルエンザウイルス，ライノウイルス,RSウイルス)が検出され,そのうち77検体(81%)をパラインフルエンザウイルス3型が占めた．［西條政幸，垣内五月，王麗欣，伊藤（高山）睦代，林昌宏，木下一美；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）；水口雅，五十嵐隆（東京大学)］

(2)造血幹細胞移植病棟にみられたパラインフルエンザウイルス3型感染症流行の分子疫学的検討

造血幹細胞移植患者における呼吸器ウイルス感染症について前方視的に調査したところ，パラインフルエンザウイルス3型（PIV3）が多く検出された．これら分離株の分子疫学的背景を解析し，感染経路の推定や院内流行予防に役立てることを目的とした．分離されたPIV3のhemagglutinin-neuraminidase遺伝子のうち，多様性に富む前半部分839塩基（35-872）をRT-PCR法で増幅し，この塩基配列に基づいて分子疫学的解析を行った．PIV3検出時に呼吸器感染症状を認めたものは全体の1/3で，残りの患者では無症状であった．PIV3の検出は2010～11年シーズン，2011～12シーズンとも夏場に始まり，冬季まで持続した．分子疫学的解析では，各シーズンの分離株はそれぞれほぼ単一のきわめて近縁なクラスターにおさまることが示された．日本でのPIV3感染症の流行パターンや重症感染症における役割などは十分なデータがなく不明な点が多い．今回の検討では，2シーズンとも市中で流行するとされる夏季から感染患者がみられはじめ，血液内科病棟において市中流行から持ち込まれたものが院内伝播した可能性が考えられた．また，無症候の患者が2/3を占め，院内感染予防の難しさが示された．［西條政幸，垣内五月，王麗欣，伊藤（高山）睦代，林昌宏，木下一美；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）；水口雅，五十嵐隆（東京大学)］

(3)アシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス1型による新生児ヘルペス脳炎についての検討

ウイルス学的にアシクロビル（ACV）耐性が証明された単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1）による脳炎の報告はこれまでにない．臨床的にACVの効果を認めなかった新生児HSV-1脳炎患者の脳脊髄液から増幅されたチミジンキナーゼ遺伝子に点変異がみとめられたため，この変異が耐性の原因であるかを調べた．ウイルス分離は不成功であったので，変異TK発現ベクターを作製し，細胞にトランスフェクションし発現させた．この細胞においてチミジンキナーゼ欠損高度ACV耐性HSV-1の増殖がACVにより抑制されないことから，変異株がACV耐性であることを証明した．ウイルス学的にACV耐性が証明されたHSV-1脳炎としては世界初の報告となる．［西條政幸，垣内五月，井上直樹，王麗欣，木下一美，伊藤（高山）睦代，林　昌宏；若松太，子川和弘，野々山恵章（防衛医大)；水口雅，五十嵐隆（東京大学)］

4. その他の研究

(1)イノシシの被毛より採取されたダニにおけるウイルス分離の検討

ヒトの住環境に出現した兵庫県下のイノシシを中心にその被毛からダニを採取し，ダニにおけるウイルス分離を乳飲みマウスを用いて行った．その結果乳飲みマウスは症状を示さず，これまでのところウイルスも分離されなかった．実験手法が確立されたので，今後さらなるサンプルの解析を行う．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，王麗欣，垣内五月，西條政幸；澤辺京子，小林睦生（昆虫医科学部)］

(2)化学薬剤による未成熟染色体凝縮法（PCC）の確立とその応用

染色体は遺伝情報を正確に保持し次世代に伝えていくため生物が獲得した極めて高度な構造体である．染色体の解析は種や亜種を同定するための手段として古来より極めて重要な手法である．また染色体遺伝情報は放射線や環境変異原物質などにより容易に損傷を受けるが，遺伝子情報の修復傷害による発癌や晩発傷害の解決も医学的に大きな課題であり，染

色体の解析は遺伝子の損傷を評価するための必須の手段である．しかしながら遺伝子の損傷の程度が大きくなると，細胞周期の遅延あるいは停止により従来のコルセミドによる分裂中期染色体を得る方法では染色体そのものを得ることが困難あるいは不可能となり染色体解析そのものが不可能となっていた．未成熟染色体凝縮法はこの限界を克服する技術であり，オカダ酸あるいはカリクリンAなどの蛋白質脱リン酸化酵素阻害剤により極めて簡便で効率的にPCCを誘発する方法を開発した．この方法により従来困難であった染色体の解析に広く利用されることとなり，放射線生物学，環境変異原学，あるいは出生前診断などの広い分野に応用されている．［後藤英介，林昌宏，西條政幸］

(3) 未成熟染色体凝縮法（PCC）を利用した簡便な大線量被曝での生物学的被曝線量計の開発

放射線被曝事故における被曝線量の推定には染色体の損傷を指標とする生物学的線量計が手法も確立され広く使われている．しかしながら従来のコルセミドを用いた分裂中期染色体を得る方法では，被曝線量が大きくなると分裂中期染色体を得ることが困難となり，10Gy を超える被曝線量の算定は事実上不可能であった．1996 年に PCC 法を利用して 40Gy まで被曝線量を算定するプロトコールを発表したが，染色体ペインティング法を使うため，施行できる施設は限られていた．緊急時より簡便に線量の算定を可能とするため，ギムザ染色した染色体標本（G2-PCC）で被曝線量を算定するプロトコール（i）染色体断片数を指標，（ii）染色体断片長の最長/最短の比，を開発し~~4-0~~40Gy までの被曝線量を簡便迅速に算定することを可能とした．1999 年の東海村臨界事故ではこの手法が被曝線量の算定に実用されている．また昨年の福島第一原子力発電所の原子炉破壊事故に伴う被曝事故での，今後の慢性的な被曝線量算定にも応用を試みている．［後藤英介，林昌宏，西條政幸］

(4) 未成熟染色体凝縮法（PCC）を応用した染色体凝縮の動態の視覚化

染色体は分裂中期の極めて短い時間に極めてコンパクトに凝縮し娘細胞に正確に分配される．近年の研究で染色体の凝縮は分裂中期だけでなく，染色体の複製とカップリングして凝縮が進行している知見が分子生物学的に集積してきた．しかしながら通常は染色体は分裂中期のみしか視覚化できず，その過程を追跡することは不可能であった．未成熟染色体凝縮法を応用することにより間期核での染色体の凝縮の過程を視覚化することを可能とし，染色体の凝縮とDNAの複製が緊密にカップリングしたものであることを示した．［後藤英介，林昌宏，西條政幸］

(5) 未成熟染色体凝縮法（PCC）を応用した染色体凝縮機構に関わる遺伝子・蛋白質の同定

染色体の凝縮に関わる遺伝子を同定することは，染色体凝縮機構を解明する上で重要である．近年染色体凝縮に関わる遺伝子群が次第に明らかにされているがその詳細は不明である．未成熟染色体凝縮法とsiRNA法を組み合わせ，染色体凝縮に関わる遺伝子の同定とその機能の解明を試みている．［後藤英介，林昌宏，西條政幸］

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) 水痘帯状疱疹ウイルス特異的細胞性免疫を誘導する抗原の探索

水痘及び帯状疱疹の感染制御にはVZV特異的細胞性免疫（CMI）が重要であることが知られ，VZV 感染細胞抽出液（バルク抗原）を用いたELISPOT法がCMI 応答の定量的解析に用いられてきた．しかし，非特異的反応が一定程度あることや，CMI の指標となる主要なウイルス抗原が明確には決定されていないことなど，実用的にも学術的にも限界がある．本研究では，非特異的反応の低減とCMI応答を誘導する抗原の同定の基礎検討を行った．感染細胞の核画分を抗原として用いることにより，特異的反応の感度を失うことなく非特異反応が低減することを示した．次に，強いCTL応答を引き起こすことが知られる核抗原 IE62 を，遺伝子導入により一過性発現させ，発現細胞の核画分を抗原として用いると，バルク抗原に近い反応が見られる一方，非特異反応をさらに低下できた．しかしながら，IE62 抗原とバルク抗原の結果に乖離がある場合もあり，他の蛋白も

CMI 応答に寄与していることが示唆された．［金井亨輔，谷口留美，井上直樹；湯華民，森康子（医薬基盤研）］

(2) 新規抗水痘帯状疱疹ウイルス化合物の標的蛋白の作用点解析

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，既存薬と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，21 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 年度において，そのひとつ 35B2 と名付けた化合物について，耐性株4 株を，H23 年度にさらに 20 株を作出し，塩基配列解析より全株で主要カプシド蛋白（MCP）をコードするORF40に変異が存在することを示した.さらに，35B2 処理により MCP の核内での局在が変化すること，電子顕微鏡観察においてカプシド形成が阻害されてれいることを明らかにした．［井上直樹，福井良子，津田美穂子，山田壮一；金子恵子，長谷川秀樹(感染病理部)］

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

私たちが開発した尿濾紙スクリーニング法を用いて，前年度に引き続き先天性CMV感染のパイロット調査を行った．前年度までと併せ，26,348 人の新生児中 83 人(0.32%)がCMV陽性，即ち，先天性CMV感染児であった．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，研究事業参加医療機関においてなされている．［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：神戸大 山田秀人）参加医療機関］

(2) 自然免疫に関わるToll 様受容体遺伝子群の遺伝子多型と先天性CMV感染・感染症発症との相関解析

ヒトサイトメガロウイルス（CMV）による胎内感染の頻度は，300 人当りに 1 人である．しかし，胎内感染の成立や症状の重篤度に関する危険因子は明らかでない．近年，Toll 様受容体（TLR）など自然免疫に関わる遺伝子の一塩基多型（SNP）が，様々なウイルスに対する感受性や感染後の臨床経過に関係するという報告が増えている．そこで，87 人の先天性CMV感染の小児を対象として,TaqMan allelic discrimination assay を用いて，TLR2，TLR4，TLR9遺伝子上にあるSNP を解析し，先天性CMV感染・感染症の発症との相関を評価した．その結果，TLR2遺伝子上のSNP rs3804100 について，先天性CMV感染児では，日本人一般人口に比べ，有意に CC 遺伝子型が多かった．一方，同部位の多型は，顕性感染や遅発症状の有無には関連していなかった．TLR4やTLR9遺伝子におけるSNPは，感染・発症には関連していなかった.従って，TLR2遺伝子のSNPは，先天性CMV感染の危険因子である可能性がある.［井上直樹，谷口留美；古谷野伸（旭川医大小児科）；錫谷達夫（福島医大微生物）；五石圭司，五十嵐隆（東大小児科）；伊藤 裕司（成育医療センター新生児科）；森岡一朗（神戸大小児科）；岡明（杏林大小児科）；中村浩幸（成育医療センター研究所）；山田秀人（神戸大産婦人科）］

(3) モルモット妊娠週齢がモルモットCMVの胎盤・胎仔における感染病態に及ぼす影響の解析

モルモットは小動物で唯一先天性感染を起こすことからCMV先天性感染モデル動物として有用である．しかしながら，感染経路となる胎盤や胎児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，前年度に引き続き，妊娠週齢および感染後の期間をさらに詳細に比較し，胎盤や胎仔への感染の影響やその感染時期を検討した．妊娠 2 週齢時 GPCMV 接種後 3 週(妊娠 5 週時)，妊娠 4 週齢時接種後 1 週(妊娠 5 週時)もしくは 3 週(妊娠 7 週時)に剖検し，各妊娠週齢での感染病態を解析した．妊娠初期の感染個体では流産が多く，中期では流産とともに様々な成長ステージの胎仔が認めら

れた．また，胎仔体重変動および胎盤・胎仔からのウイルス DNA の検出結果を比較解析したところ，GPCMV 接種後 1 週では胎仔からウイルス DNA は検出されなかったが，接種後 3 週では高コピー数を示した．非接種と接種モルモット間で，胎仔体重に明らかな差が認められた．一方で，接種群内で，ウイルス DNA が検出限界以下であった個体と検出可能であった個体の間での体重差は認められなかった．胎仔組織にウイルス DNA が検出されても病理解析でウイルス抗原が陰性であることも多く，感染後ウイルス産物が発現されるまでには相当の時間を要すると考えられた．[井上直樹，福地早希，山田壮一，橋本楓；片野晴隆，佐藤由子(感染病理部)；森石恆司（山梨大微生物）]

(4) 胎盤への GPCMV 感染に伴う宿主遺伝子変動の比較解析

前年度作製したモルモットマイクロアレイを用いて，異なる感染妊娠週齢胎盤での宿主遺伝子発現変動を比較解析した．妊娠 2 週齢に接種 3 週後(A 群)に採材した胎盤では，感染・非感染間で変動のみられる遺伝子は 4 遺伝子にすぎなかったが，妊娠 3 週齢に接種 3 週後(B 群)，妊娠 4 週齢に接種 3 週後(C 群)，及び，妊娠 4 週齢に接種 5 週後(D 群)に採材した胎盤では，感染に伴い，それぞれ 88，43 および 9 遺伝子の発現変動が認められた．それぞれの間で共通な変動遺伝子は 3(A-B 群間)，3(B-C 群間)および 1(C-D 群間)遺伝子のみであった．しかしながら，同定された遺伝子の生物学的機能を，IPA ソフトウエア を用いて検索し分類したところ，どの週齢においても主に細胞代謝や分化，また細胞周期等に関わる遺伝子群に属するという共通性があることが明らかになった．[山田壮一，橋本楓，福地早希，福井良子，井上直樹]

(5) 胎盤組織培養系の樹立と蛍光蛋白発現 GPCMV を用いた感染の可視化

In vitro で胎盤組織へのウイルス感染の影響を解析する系の構築を目指し，非感染モルモット胎盤の細切片の培養条件を検討し，胎盤組織培養系を至適化した．この培養系に蛍光蛋白発現組換え GPCMV を接種し，感染の視覚化を行った．培養開始 1 日後にウイルス接種すると，接種後 4 日目ごろから密集した形の蛍光領域が胎盤組織上に散見され，時間とともに拡大していった．10 日後に得た培養上清からはウイルスは分離されなかったが，胎盤組織を回収した乳剤を細胞に接種したところウイルスが分離されたことから，細胞間でウイルスが伝播される様式で増殖していると考えられた．今後，病理解析等による感染細胞種の同定など詳細に解析する.[山田壮一，福地早希，橋本楓，井上直樹]

(6) 妊娠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

GPCMV 感染妊娠モルモットを動物モデルとして，個体レベルでの糖蛋白 B(gB)サブユニットワクチンの評価を行った．GPCMV の gB を発現する E1E4 欠損組換えアデノウイルス(rAd-gB)もしくはコントロールとしてベータガラクトシダーゼを発現するアデノウイルス(rAd-lacZ) を妊娠 1 週のモルモットに接種し，3 週後に GPCMV による攻撃を行うと rAd-lacZ 群でのみ体重減少が見られた．攻撃 3 週後に剖検したところ，rAd-gB 免疫群に比して rAd-lacZ 免疫群の母個体の胎仔の体重は約 20%減少していた．また，rAd-gB 免疫群では，親胎仔ともに gB 抗体価の亢進が見られた．ウイルスゲノムの検出及び特異的抗体を用いた病理解析の結果，rAd-lacZ 免疫群では，75%の胎仔に感染がみられるのに対し，rAd-gB 免疫群では 13%のみであり，gB 免疫による先天性感染防御効果を確認した．また，gB 免疫群で感染が認められた胎仔では，大半の臓器よりウイルス DNA が検出されたことから，抗 gB 抗体による感染防御は，胎盤への感染もしくは胎盤から胎児への感染を制御していると考えられた．現在，病理解析により胎盤での感染部位などの検討を行っている.[井上直樹，橋本楓，山田壮一，福地早希；片野晴隆，佐藤由子(感染病理部)；森石恆司（山梨大微生物)]

VII. リケッチアに関する研究

1. リケッチアに関する基礎的研究

(1) つつが虫病リケッチア感染による細胞内脂肪滴の蓄積に関する研究

つつが虫病リケッチア感染が進むにつれて，感染

細胞に Triglyceride (TG)の蓄積を伴う脂肪滴形成が促進されたことから，リケッチアの病原性との関連を視野に，そのメカニズムの解明を行った．代謝標識実験から，感染によりマウス繊維芽細胞（L929 細胞）で TG 合成が促進されていることが明らかになった．次に，主要な脂質合成酵素の mRNA レベルでの発現解析を行ったが，Diglyceride(DG)から TG の合成に関与する DGAT1，DGAT2 の発現はリケッチア感染および非感染細胞で差がなかった．さらに，DGAT の酵素活性を，*in vitro* で測定したところ，リケッチア感染および非感染細胞間で差は見られなかった．現在，感染の TG 分解系への関与について解析をすすめている．［小川基彦；深澤征義（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）］

(2) 抗菌薬によるつつが虫病リケッチアの細胞培養系からのマイコプラズマ汚染の除去に関する研究

偏性細胞内寄生細菌の感染に関する研究を進める上で，培養系がマイコプラズマ（Myco）に汚染されていないことは必須であるが，長い継代の間に Myco 類に汚染された菌株も多い．リンコマイシンの Myco およびつつが虫病リケッチアに対する最小発育阻止濃度に着目し，つつが虫病リケッチア強毒 Ikeda 株からの Myco 類の除去に成功したことから，同様の方法で弱毒 Kuroki 株からの除去を試みた．Kuroki 株からの Myco 類の除去にも成功した．これまで，汚染されたリケッチアからの Myco 類の唯一効果的な方法は，マウスを用いて継代することであったが，弱毒株は一般的にマウスでの増殖が悪いことから，良い結果がえら得ないことが多かった．新規に有用な方法を確立できた．［小川基彦，安藤秀二；内山恒夫(徳島大･院･ヘルスバイオサイエンス研究部)］

(3) つつが虫病リケッチア感染とオートファジーの関係に関する研究

オートファジーは細胞内免疫システムとして，細胞内侵入細菌の排除に機能していることが知られているが，菌の種類によってはオートファジーによる排除システムを巧みにエスケープする．しかしながら，つつが虫病リケッチア感染において，オートファジーは細胞防御的に働くのかどうかは明らかになっていない．そのため，現在，リケッチア感染細胞において，オートファジーが誘導されるかどうか，リケッチアがオートファジーによって分解されるかどうか，生化学的･細胞生物学的解析を行っている．また，オートファジー機能欠損マウス胎児繊維芽細胞を用いてリケッチア感染時のリケッチア増殖能の解析を行っている．［小川基彦；谷田以誠（細胞化学部）］

(4) 非病原性紅斑熱群リケッチアの哺乳動物細胞における増殖抑制に関する研究

非病原性および病原性の紅斑熱群リケッチアを用い，哺乳動物における病原性発現の細胞レベルでの機序を明らかにする目的で解析を行った．非病原性株 *R. montanensis* あるいは LON-13 の単独感染では増殖抑制を受けており，3 日目に病原性株 *Rickettsia japonica* を重感染すると，その増殖に伴って，非病原性株の増殖が惹起された．*R. montanensis* 感染細胞のウエスタンブロット法および電子顕微鏡観察においてオートファジーが誘導されていることが示された．また，*R. japonica* の重感染によりオートファジーが抑制され，リケッチア増殖が増大することが示唆された．［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）；藤田博己（大原綜合病院附属大原研究所）］

2. リケッチアの野外調査研究

(1) 日本紅斑熱患者発生地域における調査支援：(2011 年福岡市)から得られたリケッチア生息情報

H23 年 6 月に福岡市において日本紅斑熱患者の発生が確認されたことに伴い，感染推定地域の調査を同年 7 月に実施した．この調査により，各研究機関ならびに地域の公衆衛生機関の施設間の技術共有，連携を試み，患者発生に即応できる情報の集積とリケッチア症の地域における情報発信のあり方について検討した．感染推定地域で採取されたマダニ類は日本紅斑熱群リケッチア *R. japonica* を含む紅斑熱群リケッチアを高率に保有しており，今後も同地域を感染推定地域とする日本紅斑熱の患者発生が再び起こる可能性がある．地域におけるリケッチアに関する情報を，地域の医師会，公衆衛生機関等の関係者と共有し，生息情報，リケッチア保有情報の蓄積

を行いつつ，検査診断体を構築することが，患者発生時の迅速な対応の流れを可能とすると考える.[安藤秀二，小笠原由美子；藤田博己（大原綜合病院附属大原研究所）；御供田睦代（鹿児島県環境保健センター）；宮代守，梶山桂子（福岡市保健環境研究所）；石橋哲也（福岡県保健環境研究所)]

(2) オオトゲチマダニから分離されたリケッチアの遺伝子解析

オオトゲチマダニ *Haemaphisalis megaspinosa* は国内に広く分布するマダニである．近年，日本国内に生息するマダニが多様なリケッチアを保有することが明らかになってきたが，北海道で採取された *H. megasupinosa* から分離されたリケッチアについてその遺伝子について解析したところ，これまで国内にない紅斑熱群リケッチアの一種であり，ヨーロッパのハンガリーで報告されているものと，遺伝子配列が一致した．マダニは，その種によって，気候的条件，地理的条件などから分布域が決まっているものが多いが，今回確認されたリケッチアは，地理的にきわめて離れた異なる地域のマダニにおいて保有されていたことから，リケッチアの分布と進化には気象的条件が影響している可能性がある．本リケッチアのヒトへの病原性は確認されていないものの，マダニ類の分布とともに，リケッチアの分布は，さまざまな環境因子の影響を受けているといえる.[安藤秀二，小笠原由美子；藤田博己（大原綜合病院附属大原研究所）；伊東拓也（北海道衛生研究所)]

3. リケッチアの実験室診断に関する研究

(1) 汎用されているリケッチア用 PCR 法に関する確認

国内の公的研究機関で用いられている紅斑熱群リケッチア用 PCR 法に関し，その使用にあたっての留意点について再確認した．マニュアルに掲載されている R1 と R2，Rj5 と Rj10 のプラマーセットを用いた PCR を行う場合，その用い方によっては，複数のバンドが検出されるなど，判定にできない場合がある．これは，プライマーの位置関係が，nested PCR にも供することができるような位置関係にみえるため，実際に R1 と R2 の内側のプライマーとして Rj5 と Rj10 による nested PCR を行った場合，R1/R2/Rj5/Rj10 のそれぞれのプライマーの Forward と Reverse が外側と内側で組み合わさった遺伝子も増幅されるためである．このことに留意してこれらの PCR プラマーを使用する必要がある．また，国内外において，リケッチア属の多様性が広がっており，日本紅斑熱リケッチア *R. japonica* 特異的とされていた Rj5/Rj10 のプラマーでも増幅されるリケッチアが確認されている．さらに，リケッチアの多様性のために，種特異的な PCR プラマーの設計が難しくなっており，感染したリケッチアを PCR によって同定する際には，シークエンス解析が必須のものとなると考えられる．[安藤秀二，小笠原由美子]

(2) リケッチア・クラミジアの迅速検出法の開発～リケッチアの多様性への対応の必要性に関する考察

バイオテロに使用される可能性のあるとして，米国でセレクトエージェントに指定されているロッキー山紅斑熱リケッチア R*ickettsia ricketsii* を含む紅斑熱群リケッチアには，多様なリケッチア種があることが知られている．輸入症例から分離されたリケッチアは，これまで報告のない遺伝子配列を示していたことから，紅斑熱群リケッチアに関しては，今後もその多様性が広がる可能性がある．バイオテロを想定した場合，多様な臨床症状をも示すリケッチア症に対し，どれだけの感度，特異性をもって迅速診断系を準備するべきか考慮する必要がある.[安藤秀二，小笠原由美子；藤田博己（大原綜合病院附属大原研究所）]

VIII. クラミジアに関する研究

1. オウム病クラミジアに関する研究

(1) 野外鳥類におけるオウム病の発生リスクに関する研究

オウム病の原因となる *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り，オウム病の患者がパラレルに発生すると考えられている．野性鳥類における *C. psittaci* 排泄の季節的な変動を把握するため，埼玉県内の *C. psittaci* 保有ドバト群について排泄状況を長期にわたって追っている．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，H23 年度も引き続き同群の調査を継続した．2010 年 12 月～2011 年 11 月の間，毎月 20 検体，計 240 検体について検討したところ，6 月の 2 件と 8 月の 1 件について *C. psittaci* 陽性となった．過去 3 年間の検出状況と並べて検討すると，夏場（6～8 月）に検出され，冬季（12～2 月）には検出されていない．単年度のみの特定の気象条件等によるバイアス回避を考慮し，長期間にわたる検討を行った結果，野外の鳥類においては一般に考えられるより，排泄期間が長いことが示唆された．しかしながら，患者発生が減少する 7 月以降にもドバトから *C. psittaci* が検出されたことから，日本の気候的特徴である梅雨期後には，排泄された *C. psittaci* が温度，湿度，紫外線強度などによる物理的自然環境の圧力が，開放系の環境と相まって，野外でのオウム病感染リスクに影響を及ぼしている可能性もある．しかし，愛玩鳥のように閉鎖空間で人と密接に接する鳥類と，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．感染源不明のオウム病疑い患者が確認された際は，従来の発生時期の傾向にこだわらず，屋外の周辺環境の把握も考慮したオウム病への注意が必要であると考えられる．［安藤秀二；近真理奈，山本徳栄(埼玉県衛生研究所)］

2. 性器クラミジアに関する研究

(1) 分子生物学的解析手法による性器クラミジア解析法の検討

Chlamydia trachomatis（*C. trachomatis*）の病態は，トラコーマ，性病クラミジア，性病性リンパ肉芽腫（LGV）の 3 つに大別され，わが国を含め世界的に最も多い性行為感染症の原因である．クラミジアの分類は血清型に基づいた手法がとられてきたが，特定の膜表面タンパク質をコードする遺伝子配列を用いて血清型と相関したタイプ分けが可能なことから，PCR を使ったタイプ分けが行なわれている．また，ゲノム内に存在している反復配列の数で血清型間の詳細な分類，クラミジア感染の感染経路，また地理的，経時的なクラミジアの性状解析が可能となっている．今回私たちは国内の性器クラミジアの感染状況把握のため，それらの手法を応用し，当研究室内に保存されている *C. trachomatis* の標準株 17 株（serotype A～L3）の表面抗原タンパク質をコードする遺伝子（OmpA）配列と 3 箇所の繰り返し配列を有する領域の配列を解析，世界中で報告されている株との比較を行ない，今後の臨床株の解析のための指標の確立を試みた．［佐藤正明，安藤秀二］

レファレンス業務

1. フラビウイルスに関する行政検査

デングウイルス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 19 件について実施した．［田島茂，モイメンリン，小滝徹，高崎智彦，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，西條政幸］

3. 地方衛生研究所へのヒトヘルペスウイルス(HHV)-6 及び HHV-7 検出用試薬及びプロトコールの配布

血清学検査結果のみから麻疹が疑われた低年齢小児症例において，血清学的検査における何らかの交差性のため，HHV-6 や HHV-7 による突発性発疹症例が紛れ込んでしまうことが明らかになっている．このため，排除診断として両ウイルスの検出を行う目的で，要請のあった地方衛生研究所に必要なリアルタイム PCR 試薬及びプロトコールを配布した．［井上直樹］

4. 病原体マニュアル改訂

水痘，B ウイルス，性器ヘルペスに対する各病原体マニュアルを改訂をした．［井上直樹，山田壮一，西條政幸；棚林清(獣医科学部)；片野晴隆，長谷川秀樹(感染病理部)；皆川洋子（愛知県衛生研究所)；佐多徹太郎（富山県衛生研究所)；長島真美（東京都健康安全研究センター)］

5. リケッチアならびにクラミジアに関する検査業務

リケッチアならびにクラミジアに関する病原体診断と血清診断を，行政検査依頼に基づき，リケッチア症（つつが虫病，日本紅斑熱を含む紅斑熱群リケ

ッチア症，発疹チフス群リケッチア症等輸入症例も含む）21 症例，オウム病 3 症例，Q 熱 4 症例について実施した．また，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した.[安藤秀二，小笠原由美子]

品質管理に関する業務

1. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

   H23 年度は88 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し，81 ロットを合格と判定し，7 ロットを再試験とし，その内 2 ロットを不合格と判定した.［田島茂，モイメンリン，小滝徹，池田真紀子，谷ヶ崎和美，伊藤睦代，林昌宏，中道一生，高崎智彦，西條政幸］

2. 黄熱ワクチンの依頼検査

   H23 年度は 3 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.［モイメンリン，小滝徹，田島茂，高崎智彦，西條政幸］

3. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

   H23 年度は，2 ロット(RB15，RB16)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，中道一生，林昌宏，王麗欣，垣内五月，木下一美，小滝徹，高崎智彦，西條政幸］

4. 水痘ワクチンの検定

   乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定 9 ロット，輸出用ワクチン依頼検査 15 ロット，合計 24 ロットを実施し，全ロットとも合格であった．また，乾燥弱毒生水痘ワクチンの SLP 様式を作成した.［井上直樹，山田壮一，金井亨輔，福井良子，西條政幸］

5. クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験

   Chlamydia trachomatis の遺伝子検出系 3 件の承認前試験申請書について検討を行うとともに，2 件の承認前試験を実施した.［安藤秀二，小笠原由美子，西條政幸］

国際協力関係業務

1. 世界保健機関日本脳炎 Global Specialized Laboratory としての委託業務

   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 10 検体を評価した．また，ベトナム NIHE から 135 検体，ホーチミン市パスツール研究所から 148 検体，ラオスから 100 検体，カンボジアから 150 検体，シンガポールから 1 検体の日本脳炎患者・急性脳炎患者検体総計 543 検体に関して確認検査を実施した．また，韓国で開催された第 3 回 WHO 西太平洋地域内日本脳炎実験室診断トレーニングコースに臨時アドバイザーを 1 名派遣し協力した.［高崎智彦，モイメンリン，池田真紀子，谷ヶ崎和美，小滝徹，田島茂，倉根一郎，西條政幸］

2. 世界保健機関西太平洋域内デング熱 international External Quality Assessment (EQA) pilot project

   世界保健機関西太平洋域内デング熱international External Quality Assessment (EQA) pilot project に協力し，デング熱パネル血清を選定し，フィリピン Research Institute for Tropical Medicine およびベトナムホーチミン市のパスツール研究所に検体を送付し，結果を集計解析し，世界保健機関西太平洋地域事務局に送付した.[高崎智彦,モイメンリン，池田真紀子，谷ヶ崎和美，小滝徹，田島茂，西條政幸，倉根一郎］

3. Global Health Security Action Group-Laboratory Netowork (GHSAG-LN) への参画

   G7 国およびメキシコの関係当局で構成されている GHSAG-LN の委員として,その運営に関わり,GHSAG-LN の開催したフィロウイルス診断ワークショップ（ローマ，イタリアで開催）に出席して，フィロウイルス感染症診断技術交流に貢献した［福士秀悦，吉河智城，谷英樹，森川茂，西條政幸］

4. Global Emerging and Dangerous Pathogen Laboratory Network (EDPLN) への参画

   WHO が主催する EDPLN がアフリカおよび先進国の感染症研究機関で立ち上げられているがを，SEAR 地域にも同様の活動を立ち上げる計画がなされ，それに感染研が対応するための会議に出席した.[西條政幸]

5. WHO による痘瘡ウイルス研究専門家会議への参画

   WHO が主催する痘瘡ウイルス研究専門家会議の委員として同委員会に出席して、今後の痘瘡ウイルス研

究のあり方について提言した.［森川茂］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Tani, H., Morikawa, S., Matsuura, Y. (2011): Development and applications of VSV vectors based on cell tropism. Front. Microbiol., 2, 272.

2) Kataoka, C., Kaname, Y., Taguwa, S., Abe, T., Fukuhara, T., Tani, H., Moriishi, K., Matsuura, Y. (2011): Baculovirus GP64-mediated entry into mammalian cells. J. Virol., 86, 2610-2620.

3) Yoshida, T., Takayama, K., Kondoh, M., Sakurai, F., Tani, H., Sakamoto, N., Matsuura, Y., Mizuguchi, H., Yagi, K. Use of human hepatocyte-like cells derived from induced pluripotent stem cells as a model for hepatocytes in hepatitis C virus infection. (2011): Biochem. Biophys. Res. Commun., 416, 119-124.

4) Fukuhara, T., Tani, H., Shiokawa, M., Goto, Y., Abe, T., Taketomi, A., Shirabe, K., Maehara, Y., Matsuura, Y. (2011): Intracellular delivery of serum-derived hepatitis C virus. Microbes Infect., 13, 405-412.

5) Kambara, H., Tani, H., Mori, Y., Abe, T., Katoh, H., Fukuhara, T., Taguwa, S., Moriishi, K., Matsuura, Y. (2011): Involvement of cyclophilin B in the replication of Japanese encephalitis virus. Virology, 412, 211-219.

6) Taniguchi, S., Watanabe, S., Masangkay, J.S., Omatsu, T., Ikegami, T., Alviola, P., Ueda, N., Iha, K., Fujii, H., Ishii, Y., Mizutani, T., Fukushi, S., Saijo, M., Kurane, I., Kyuwa, S., Akashi, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S. (2011): Reston ebolavirus antibodies in bats, the Philippines. Emerg. Infect. Dis., 17, 1559-1560.

7) Sayama, Y., Eshita, Y., Yamao, T., Nishimura, M., Satho, 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 mosquitoes. J. Parasitol. Vector Biol, 3, 19-21.

8) Kennedy, J.S., Gurwith, M., Dekker, C.L., Frey, S.E., Edwards, K.M., Kenner, J., Lock, M., Empig, C., Morikawa, S., Saijo, M., Yokote, H., Karem, K., Damon, I., Perlroth, M., and Greenberg, R.N. (2011): Safety and immunogenicity of LC16m8, an attenuated smallpox vaccine in vaccinia-naive adults. J. Infect. Dis., 204(9), 1395-1402.

9) Shirato, K., Maeda, K., Tsuda, S., Suzuki, K., Watanabe, S., Shimoda, H., Ueda, N., Iha, K., Taniguchi, S., Kyuwa, S., Endoh, D., Matsuyama, S., Kurane, I., Saijo, M., Morikawa, S., Yoshikawa, Y., Akashi, H., Mizutani, T. (2012): Detection of bat coronaviruses from Miniopterus fuliginosus in Japan. Virus Genes, 44, 40-44.

10) Abe, M. Ito, N. Sakai, K. Kaku, Y. Oba, M. Nishimura, M. Kurane, I. Saijo, M. Morikawa, S. Sugiyama, M. Mizutani, T. (2011): A novel sapelovirus-like virus isolated from wild boar. Virus Genes, 43, 243-248.

11) Shiota, T., Wang, L., Takayama-Ito, M., Iizuka, I., Ogata, M., Tsuji, M., Nishimura, H., Taniguchi, S., Morikawa, S., Kurane, I., Mizuguchi, M., Saijo, M. (2011): Expression of herpes simplex virus type 1 recombinant thymidine kinase and its application to a rapid antiviral sensitivity assay. Antiviral Res. 91, 142-149.

12) Shiota, T., Kurane, I., Morikawa, S., Saijo, M. (2011): Long-term observation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infection in a child with Wiskott-Aldrich syndrome and a possible reactivation mechanism for thymidine kinase-negative HSV-1 in humans. Jpn. J. Infect. Dis., 64:121-126.

13) 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(1), 179-187.

14) Moi, M.L., Lim C.K., Tajima S., Kotaki A., Saijo M., Takasaki T., Kurane I. (2011): Dengue virus isolation relying on antibody-dependent enhancement mechanism using FcγR-expressing BHK cells and a monoclonal antibody with infection-enhancing capacity. J. Clin. Virol. 52(3), 225-230.

15) Omatsu, T., Moi, M.L., Hirayama, T., Takasaki, T., Nakamura, S., Tajima, S., Ito, M., Yoshida, T., Saito, A., Katakai, Y., Akari, H., Kurane, I. (2011): Common marmoset (Callithrix jacchus) as a primate model of dengue virus infection: development of high levels of viremia and demonstration of protective immunity. J. Gen. Virol., 92, 2272-2280.

16) Ujiie, M., Moi, M.L., Takeda, N. (2011): Dengue maculopathy in a traveler. Am. J. Trop. Med. Hyg. 85(6), 965-966.

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(10), 1405-1414.

18) Yamaguchi, Y., Nukui, Y., Tajima, S., Nerome, R., Kato, F., Watanabe, H., Takasaki, T., Kurane, I. (2011): An amino acid substitution (V3I) in the Japanese encephalitis virus NS4A protein increases its virulence in mice, but not its growth rate in vitro. J. Gen. Virol., 92, 1601-1606.

19) Kato, F., Kotaki, A., Yamaguchi, Y., Shiba, H., Hosono, K., Harada, S., Saijo, M, Kurane, I., Takasaki, T., Tajima, S. (2012): Identification and characterization of the short variable region of the Japanese encephalitis virus 3' NTR. Virus Genes, 44, 191-197.

20) Ooi, Y., Daitoku, E., Wu, H., Aoki, H., Morita, C., Nakano, T., Kohno, T., Takasaki, T., Sano, K. (2011): Morphology and infectivity of virus that persistently infected an AGS cell line. Med. Mol. Morphol., 44(4), 213-220.

21) 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(2):163-164.

22) Matsutani, T., Fujii, Y., Kitaura, K., Suzuki, S., Tsuruta, Y., Takasaki, T., Ogasawara, K., Nishimoto, N., Kurane, I., Suzuki, R. (2011): Increased positive selection pressure within the complementarity determining regions of the T-cell receptor β gene in New World monkeys. Am. J. Primatol., 73(10), 1082-1092.

23) Fujii, Y., Hayasaka, D., Kitaura, K., Takasaki, T., Suzuki, R., Kurane, I. (2011): T cell clones expressing different T cell receptors accumulate in the brains of dying and surviving mice following peripheral infection with Far Eastern strain of tick-borne encephalitis. Viral Immunol., 24(4):291-302.

24) Srisawat, R., Komalamisia, N., Phanphoowong, T., Takasaki, T., Runtuwene, L.R., Kurane, I., Narita, H., Eshita, Y. (2011): Present status of the insecticide susceptibility of Aedes mosquitoes in Thailand. J. Jpn. Red Cross Yoyota College of Nrusing, 6(1), 31-37.

25) Yoshida, T., Omatsu, T., Saito, A., Katakai, Y., Iwasaki, Y., Iijima, S., Kurosawa, T., Hamano, M., Nakamura, S., Takasaki, T., Yasutomi, Y., Kurane, I., Akari, H. (2012): CD16+ natural killer cells play a limited role against primary dengue virus infection in tamarins. Arch. Virol., 157, 363-368.

26) Kitaura, K., Fujii, Y., Hayasaka, D., Matsutani, T., Shirai, K., Nagata, N., Lim, C.K., Suzuki, S., Takasaki, T., Suzuki, R., Kurane, I. (2011): High

clonality of virus-specific T lymphocytes defined by TCR usage in the brains of mice infected with West Nile virus. J. Immunol., 187, 3919-3930.

27) Takasaki, T., Kotaki, A., Tajima, S., Omatsu, T., Harada, F., Lim, C.K., Moi, M.L., Ito, M., Ikeda, M., Kurane, I. (2012): Demographic features of imported dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Japan from 2006 to 2009. WHO Dengue Bulletin, 35, 217-222.

28) Takasaki, T. (2011): Imported dengue fever/dengue hemorrhagic fever cases in Japan. Trop. Med. Health, 39 (4 Suppl), 13-15.

29) Kurane, I., Matsutani, T., Suzuki, R., Takasaki, T., Kalayanarooj, S., Green, S., Rothman, A.L., Ennis F.A. (2011): T-cell Responses to dengue virus in humans. Trop. Med. Health, 39 (4 Suppl), 45-51.

30) Mizuno, Y., Kato, Y., Kano, S., Takasaki, T. (2012): Imported malaria and dengue fever in returned travelers in Japan from 2005 to 2010. Travel Med. Infect. Dis., 10, 86-91.

31) Isawa, H., Kuwata, R., Tajima, S., Hoshino, K., Sasaki, T., Takasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K. (2012): Construction of an infectious cDNA clone of Culex Flavivirus, an insect-specific flavivirus from Culex mosquitoes. Arch. Virol., 157, 975-979.

32) 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(6), 1073-1077.

33) 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.

34) Nakamichi, K., Kurane, I., Saijo, M. (2011): Evaluation of a quantitative real-time PCR assay for the detection of JC polyomavirus DNA in cerebrospinal fluid without nucleic acid extraction. Jpn. J. Infect. Dis., 64, 211-216.

35) Gotoh, E. (2011): Visualize dynamic chromosome. Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology (Online publishing Journal) January. (http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/VisuDynChID20093.html)

36) Moi, M.L., Lim, C.K., Chua, K.B., Takasaki, T., Kurane, I. (2012): Dengue virus infection-enhancing activity in serum samples with neutralizing activity as determined by using Fc γ R-expressing cells. PLoS Negl. Trop. Dis., 6(2), e1536.

37) Matsui, T., Ogawa, H., Yamada, N., Baba, Y., Suzuki, Y., Nomoto, M., Suzutani, T., Inoue, N., Omori, K. (2012): Outcome of cochlear implantation in children with congenital cytomegalovirus infection or GJB2 mutation. Acta Oto-Laryngolol., 132, 597-602.

38) Ikuta, K., Ishioka, K., Sato, Y., Imamura, T., Asano, K., Koyano, S., Inoue, N., Suzutani, T. (2012): A novel real-time PCR method for the determination and quantification of each cytomegalovirus (CMV) gH-subtype in clinical samples. J. Clin. Microbiol., 50, 499-501.

39) Koyano, S., Inoue, N., Oka, A., Moriuchi, H., Asano, K., Ito, Y., Yamada, H., Yoshikawa, T., Suzutani T., for the Japanese Congenital Cytomegalovirus Study Group. (2011): Screening for congenital cytomegalovirus infection using newborn urine samples collected on filter paper: feasibility and outcomes from a multi-centre study. BMJ Open, 1, e00118.

40) Kashiwagi, Y., Nakajima, J., Ishida, Y., Nishimata, S., Kawashima, H., Miyajima, T., Takekuma, K., Hoshika, A., Inoue, N. (2011): Prolonged valganciclovir therapy for congenital cytomegalovirus infection. J. Infect. Chemother.,

17, 538-540.

41) Imamura, T., Suzutani, T., Ogawa, H., Asano, K., Momoi, N., Ikuta, K., Inoue, N., Hosoya, M. (2011): Oral valganciclovir treatment for congenital cytomegalovirus infection in a five month old girl with progressive hearing loss. Pediatr. International, 53, 249-252.

42) Ishibashi, K., Tokumoto, T., Shirakawa, H., Hashimoto, K., Ikuta, K., Kushida, N., Yanagida, T., Shishido, K., Aikawa, K., Toma, H., Inoue, N., Yamaguchi, O., Tanabe, K., Suzutani, T. (2011): The lack of antibodies against the AD2 epitope of cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B (gB) is associated with CMV disease after renal transplantation in recipients having gH serotypes same as their donors. Transplant. Infect. Dis., 13, 318-323.

43) Katoh, H., Yamada, S., Hagino, T., Ohya, K., Sakai, H, Yanai, T., Masegi, T., Yamaguchi, T., Fukushi, H. (2011): Molecular genetic and pathogenic characterization of psittacid herpesvirus type 1 isolated from a captive galah (Eolophus roseicapillus) in Japan. J. Vet. Med. Sci., 73, 1341-1345.

44) Kanai, K., Yamada, S., Yamamoto, Y., Fukui, Y., Kurane, I., Inoue, N. (2011): Re-evaluation of guinea pig cytomegalovirus complete genome sequence. J. Gen. Virol., 92, 1005-1020.

45) Kanai, K., Kato, K., Sano, H., Nagata, K., Okuno, K., Kuwamoto, S., Higaki, H., Sugihara, H., Kato, M., Murakami, I., Hayashi K. (2011): In vitro Epstein-Barr virus infection model of rabbit lymphocytes from peripheral blood or spleen. Intervirology, 54, 17-24.

46) Nagata, K., Fukata, S., Kanai, K., Satoh, Y., Segawa, T., Kuwamoto, S., Sugihara, H., Kato, M., Murakami, I., Hayashi, K., Sairenji, T. (2011): The influence of Epstein-Barr virus reactivation in patients with Graves' disease. Viral Immunol., 24, 143-149.

47) Kuwamoto, S., Higaki, H., Kanai, K., Iwasaki, T., Sano, H., Nagata, K., Kato, K., Kato, M., Murakami, I., Horie, Y., Yamamoto, O., Hayashi, K. (2011): Association of Merkel cell polyomavirus infection with morphologic differences in Merkel cell carcinoma. Hum. Pathol., 42, 632-640.

48) Fujisawa, T., Kadosaka, T., Fujita, H., Ando, S., Takano, A., Ogasawara, Y., Kawabata, H., Seishima, M. (2012): *Rickettsia africae* infection in a Japanese traveler with many tick bites. Acta Dermato-Venereologica, doi: 10.2340/15555-1313

49) Uchiyama, T., Kishi, M., Ogawa, M. (2012): Restriction of the growth of a nonpathogenic spotted fever group rickettsia. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 64, 42-47.

50) 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.

51) 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.

著書

1) Gotoh, E.: Visualize dynamics of chromosome structure formation and DNA repair/recombination coupled with DNA replication: tight coupled role of DNA replication in chromosome compaction and DNA recombination, Chapter 8 Fundamental Aspects of DNA Replication, p 119-144, Jelena Kusic-Tisma (Ed.), ISBN: 978-953-307-259-3, InTech,

September 2011.

2) Yamada, S., Taniguchi, R., Kosugi, I., Inoue, N. (2012): Cytomegalovirus, *In:* (Eds) Singh SK & Ruzek D. "Neuroviral Infection" Taylor & Francis CRC Press.

2. 和文発表

1) 水澤英洋，岸田修二，西條政幸，雪下基弘，宍戸-原由紀子，澤洋文，長島和郎，奴久妻聡一，山田正仁. 難治性神経感染症 update：進行性多巣性白質脳症. 臨床神経学 51:1051-1057, 2011

2) 谷英樹：ウイルスベクターの開発とウイルスの感染機構解析への応用. ウイルス 61:99-107, 2011.

3) 森川茂. 痘瘡. 小児感染症学（改定第２版), 診断と治療社, pp518-522, 2011

4) 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－」. 日本臨床（増刊） 68：410-413, 2010

5) モイメンリン，高崎智彦，岩越一，坂本光男，小林謙一郎，氏家無限. アフリカからのデング熱輸入症例. Infectious Agents Surveillance Report 32(6): 164-165,2011

6) モイメンリン. クロアチアにおけるデング熱の流行. Infectious Agents Surveillance Report 32(6): 165-167, 2011

7) 高崎智彦. 急性発疹症：最新の情報-昆虫媒介性ウイルスによる発疹性輸入感染症. 日本皮膚科学会雑誌 121(13):2869-2871, 2011

8) 高崎智彦. フラビウイルス脳炎とその病態. Neuroinfection 16(1):13-18, 2011

9) モイメンリン，高崎智彦. 感染症迅速診断キットの有用性と限界：デング熱. 小児科 53：457-465, 2011

10) 井上直樹，橋本楓，福地早希. 新規抗ヘルペスウイルス薬開発の現状. 日本臨床 70:642-648, 2012

11) 山田秀人，谷村憲司，森岡一朗，森實真由美，園山綾子，平久進也，蛯名康彦，井上直樹，古谷野伸，峰松俊夫. 周産期感染におけるカウンセリング-トキソプラズマとサイトメガロウイルス. 産婦人科の実際 60:1309-1321, 2011

12) 田原研司，川端寛樹，安藤秀二，新井智，板垣朝夫，渡邉治雄. 島根県におけるつつが虫病の疫学的検討. 日本獣医師会獣医学術学会誌（2012, in press)

13) 安藤秀二. 日本紅斑熱. 獣医公衆衛生研究 14:13-17, 2012

14) 大竹映香，稲富徹，馬場俊一，川端寛樹，高野愛，小笠原由美子，安藤秀二，照井正. 臨床像からライム病が強く疑われた１例. 臨床皮膚科 66：362-366, 2012

15) 成田雅，鵜沼菜穂子，伊藤文人，佐藤憲行，星野智祥，井上実，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媒介性つつが虫病. 日本内科学会誌 101:164-167, 2012

16) 大屋賢司，黒田誠，関塚剛史，Garry MEYERS，岸本寿男，安藤秀二，奥田秀子，福士秀人. オウム病クラミジア集団発生事例分離株ゲノム配列決定とその意義. 獣医畜産新報 63:804-806, 2011

17) 安藤秀二. 最近の輸入発疹熱事例について. 人と動物の共通感染症研究会のニューズレター 10:4-6, 2011

18) 川端寛樹，高野愛，大西真，安藤秀二，小笠原由美子，藤田博己，角坂照貴，和田康夫，馬場俊一，清島真理子：マダニ刺咬例の調査. 病原微生物検出情報 32:226-268, 2011

19) 安藤秀二. 病原体等の保存・保管と輸送. 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，医学評論社 pp112-121, 2011

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Morikawa, S., Sayama, Y., Taniguchi, S., Fukushi, S., Kurane, I., Saijo, M.: Serological survey of Reston ebolavirus infection in the Philippines. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Disease, Palo Alto (Stanford University), CA, June 2011

2) Moi, M.L., Lim, C.K., Ito, M., Takasaki, T., Kurane, I.: Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection: revisit of antibody response and viremia in dengue patients using Fc γ R-expressing cells. 45th Joint Working

Conference on Immunology and Viral Disease, Palo Alto (Stanford University), CA, June 2011

3) Ando, S.: Trend of rickettsioses in Japan. 6th International Meeting of Rickettsiae and Rickettsial Diseases, Crete, Greece, June 2011
4) Saijo, M.: Highly containment laboratory in the National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan: activities, circumstances, and future challenges. Anticipating Biosecurity Challenges of the Global Expansion of High Containment Biological Laboratories, Istanbul, Turkey, July 2011
5) Saijo, M., Ami, Y., Suzaki, Y., Nagata, N., Yoshikawa-(Iwata), N., Hasegawa, H., Fukushi, S., Mizutani, T., Sata, T., Kurane, I., Morikawa S.: Immune responses against EEV and IMV in non-human primates infected with monkeypox virus or vaccinated with a highly attenuated smallpox vaccine LC16m8 and protection from letha monkeypox. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
6) Kambara, H., Tani, H., Mori, Y., Abe, T., Katoh, H., Fukuhara, T., Taguwa, S., Moriishi, K., Matsuura, Y.: Involvement of cyclophilin B in the replication of Japanese encephalitis virus. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
7) Iha, K., Nakauchi-Hori, M., Taniguchi, S., Fukushi, S., Mizutani, T., Ogata, M., Kyuwa, S., Saijo, M., Romanowski, V., Enria, D.A., Morikawa, S.: Establishment of serological diagnosis of Argentine hemorrhagic fever using recombinant antigens. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
8) Taniguchi, S., Watanabe, S., Iha, K., Fukushi, S., Mizutani, T., Saijo, M., Kurane, I., Kyuwa, S., Akashi, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S. The Detection of Reston ebolavirus antibodies in wild bats in the Philippines. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
9) Fukushi, S., Iwata-Yoshikawa, N., Yoshikawa, T., Hill, T.E., Cristi, L.G., Garner, H.R., Chan, T., Peters, C.J., Tseng, C.K.: Early and dynamic innate antiviral responses via IRF-3-independent pathway triggered by SARS-CoV infection. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
10) Sayama, Y., Fukushi, S., Saito, M., Taniguchi, S., Iizuka, I., Mizutani, T., Kurane, I., Saijo M., Oshitani H., Morikawa S.: A serologicalL survey of Reston ebolavirus infection in swine during epizootic in 2008 in the Philippines. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
11) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Sato, Y., Morikawa, S., Sata, T.: Interferon gamma protects adult balb/c mice from lethal respiratory illness after mouse-adapted SARS-CoV infection. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
12) Sakai, K., Nishio, Y., Nagata, N., Ami, Y., Komase, K., Shimojima, M., Maeda, K., Takeda, M., Saijo, M., Morikawa, S.: Characterization of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 epizootic in japan. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
13) Arai, S., Gu, S.H., Baek, L.J., Tabara, K., Oh, H.S., Takada, N., Kang, H.J., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Okabe, N., Yanagihara, R., Song, J.W.: Expanded evolutionary insights from Jeju virus, a newfound hantavirus harbored by the Asian lesser white-toothed shrew (crocidura shantungensis). XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011
14) Mizutani, T., Abe, M., Ito, N., Sakai, K., Kaku, Y., Oba, M., Ogata, M., Kurane, I., Saijo, M., Morikawa, S., Sugiyama, M.: An isolated virus homologus to porcine sapelovirus from wild boar.

XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011

15) Moi, M.L., Lim, C.K., Kotaki, A., Takasaki, T., Kurane, I.: Detection of higher levels of dengue viremia using Fc γ R-expressing BHK-21 cells than Fc γ R-negative cells in secondary infection but not in primary infection. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011

16) Yamaguchi, Y., Kotaki, A., Sawabe, K., Watanabe, H., Kurane, I, Takasaki, T., Tajima, S.: Effects of a single amino acid substitution (S123N) of the Japanese encephalitis virus E protein on its growth in vitro. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011

17) Lim, C.K., Ami, Y., Fujii, Y., Moi, M.L., Kitaura, K., Kotaki, A., Morikawa, S., Saijo, M., Suzuki, R., Kurane, I., Takasaki, T.: Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in nonhuman primates. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011

18) Nakamichi, K., Kurane, I., Saijo, M.: Detection of JC polyomavirus DNA in cerebrospinal fluids collected from patients suspected as having progressive multifocal leukoencephalopathy in Japan. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011

19) Wang, L., Tsuji, M., Taniguchi, S., Nishimura, H., Ito-(Takayama), M., Yamaguchi-(Kinoshita), H., Saijo, M.: Shedding of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and emergence of drug-resistant HSV-1 in patients with hematopoietic stem cell transplantation in Japan. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September 2011

20) Inoue, N., Matsushita, M., Fukui, Y., Tsuda, M., Higashi, C., Yamaguchi, T.: Identification of an antiviral compound that targets the varicella-zoster virus major capsid protein (ORF40). XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011

21) Kiao, H., Lee, J.H. Inoue, N., Miyado, K., Fujiwara, S., Nakamura, H.: Characterization of human cytomegalovirus UL136 gene product. XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011

22) Ikuta, K., Ishioka, K., Imamura, T., Asano, K., Yoshikawa, T., Moriuchi, H., Fujiwara, S., Kubo, T., Koyano, S., Inoue, N., Suzutani, T.: A genotypic and serologic study of cytomegalovirus (CMV) reinfection in mothers and neonates with congenital CMV infection in Japan. XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011

23) Moriuchi, M., Koyano, S., Inoue, N., Moriuchi, H.: Neonatal mass-screeninig on congenital cytomegalovirus infection in Nagasaki, Japan: a pilot study. XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011

24) Ohya, K., Ibrahim, E., Kuroda, M., Meyers, G., Kishimoto, T., Ando, S., Fukushi, H.: Chlamydia psittace specific genes, which are identified by comparative genomic analysis, can be used for differential diagnosis of Chlamydia species. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, September 2011

25) Ogawa, M., Fukasawa, M., Uchiyama, T.: Infection with the obligated intracellular bacterium Orientia tsutsugamushi, a causative agent of scrub typhus facilitates formation of lipid droplets in L-929, mouse fibroblast cells. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, September 2011

26) Uchiyama, T., Ogawa, M., Fukasawa, M.: Coinfection of pathogenic and nonpathogenic rickettsiae. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, September 2011

27) Takayama-Ito, M., Lim, C.K., Saijo, M: Humane Endpoints in potency testing of rabies vaccine

for human use in Japan. International Workshop on Alternative Methods for Human and Veterinary Rabies Vaccine Testing: State of the Science and Planning the Way Forward, IA, USA, October 2011

28) Saijo, M.: Antiviral treatment for drug-resistant herpesvirs. The 8th Japan-Taiwan Symposium on Antibiotics Resistance and Foodborne Diseases, Tokyo (NIID), October 2011

29) Inoue, N., Matsushita, M., Fukui, Y., Tsuda, M., Higashi, C., Yamaguchi, T.: Identification and characterization of an antiviral compound that targets major capsid protein (ORF40) of varicella zoster virus. 15th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Italy, October 2011

30) Saijo, M.: Medical biodefense research in Japan: highly pathogenic organisms. 2011 US-Japan Medical Biodefense Research Symposium, Bethesda, MD, November 2011

31) Lim, C.K., Takasaki, T., Moi, M.L., Kotaki, A. Kurane, I., Saijo, M.: Molecular diagnosis and analysis of imported chikungunya virus strains, Japan, 2006-2010. The 60 Annual Meeting of the American Society for Tropical Medicine and Hygine, Philadelphia, PA, December 2011

2. 国内学会

1) 高崎智彦．基礎から臨床へーデング熱，デング出血熱の基礎と臨床ー．第 85 回日本感染症学会総会学術講演会，東京，2011 年 4 月

2) 成田雅，星野智祥，山本正悟，安藤秀二，藤田博己．11月熱　福島県郡山市周辺のタテツツガムシ感染症．第 85 回日本感染症学会，東京，2011 年 4 月

3) 山内健生，佐藤雅彦，伊東拓也，藤田博己，高田伸弘，川端寛樹，安藤秀二，坂田明子，高野愛．利尻島のマダニ相とマダニ保有病原微生物．第 63 回日本衛生動物学会，東京，2011 年 4 月

4) 高橋守，三角仁子，亀田和成，藤田博己，角坂照貴，高田伸弘，平良勝也，山本正悟，安藤秀二，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，岸本寿男．宮古島のつつがむし病患者発生地に生息するカニ寄生ツツガムシ．第 63 回日本衛生動物学会，東京，2011 年 4 月

5) 川端寛樹，高野愛，中尾稔，増沢俊幸，高田伸弘，矢野泰弘，石畝史，藤田博己，伊東拓也，及川陽三郎，川森文彦，熊谷邦彦，三上稔之，花岡希，安藤秀二，本田尚子，Kyle Taylor，坪田敏男，今内覚，渡邉治雄，大西真．マダニ媒介性のライム病病原体 *Borrelia garinii* の維持伝播サイクルに関する研究．第 63 回日本衛生動物学会，東京，2011 年 4 月

6) 西條政幸．臓器移植患者と薬剤耐性ヘルペスウイルス感染症．第 21 回感染研シンポジウム，東京（国立感染症研究所），2011 年 5 月

7) 王麗欣，辻正徳，谷口修一，西村秀一，伊藤（高山）睦代，山口（木下）一美，西條政幸．造血幹細胞移植患者における単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）の口腔内への排出状況と薬剤耐性 HSV-1 の出現．第 21 回抗ウイルス療法研究会，金沢，2011 年 5 月

8) 高崎智彦．特別講演「日本脳炎ー世界と日本ー」．第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，金沢，2011 年 5 月

9) 左一八，田島茂，高崎智彦，倉根一郎，森田公一，鈴木隆．病原性の異なる日本脳炎ウイルス株の硫酸化糖鎖認識.第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，金沢，2011 年 5 月

10) 木下一美，中道一生，伊藤（高山）睦代，王麗欣，飯塚愛恵，倉根一郎，林昌宏，西條政幸．LAMP 法を用いた PML 患者の脳脊髄液中の JC ウイルスの検出および定量試験．第 15 回日本神経ウイルス研究会，金沢，2011 年 5 月

11) 松下実理，福井良子，津田美穂子，東知寿香，山口十四文，井上直樹．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．第 23 回抗ウイルス療法研究会，金沢，2011 年 5 月

12) 福地早希，山田壮一，片野晴隆，佐藤由子，橋本楓，山口十四文，藤室雅弘，井上直樹．モルモット妊娠週齢とモルモット CMV（GPCMV）の先天性感染病態の関係．第 26 回ヘルペスウイルス研究会，大阪，2011

年 6 月

13) 山田壮一，福地早希，橋本楓，福井良子，井上直樹．マイクロアレイを用いたモルモットサイトメガロウイルス感染胎盤における宿主遺伝子動態解析．第 26 回ヘルペスウイルス研究会，大阪，2011 年 6 月

14) 橋本楓，山田壮一，加藤みなみ，福地早希，山口十四文，藤室雅弘，井上直樹：モルモット CMV（GPCMV）膜糖蛋白 B を用いた新規ヒト CMV ワクチン開発評価系の陽性コントロールの確立．第 26 回ヘルペスウイルス研究会，大阪，2011 年 6 月

15) 生田和史，石岡賢，佐藤友香，石橋啓，浅野仁覚，今村孝，藤原成悦，久保隆彦，中井英剛，吉川哲史，森内浩幸，古谷野伸，井上直樹，錫谷達夫．リアルタイム PCR 法によるサイトメガロウイルスの型別定量判別．第 26 回ヘルペスウイルス研究会，大阪，2011 年 6 月

16) 松下実里，福井良子，津田美穂子，東知寿香，山口十四文，井上直樹．耐性変異株の解析による新規抗 VZV 化合物の標的蛋白の同定．第 26 回ヘルペスウイルス研究会，大阪，2011 年 6 月

17) 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．カニクイサルから分離した新しいサルアテノウイルスの性状解析．第 152 回日本獣医学会微生物学分科会，大阪，2011 年 9 月

18) 岡本宗裕，小野文子，藤本浩二，高野淳一朗，濱野正敬，森川茂，永田典代，水谷哲也，酒井宏治，堀井俊宏，中屋隆明，中村昇太，宮沢孝幸，松井淳．ニホンザル血小板減少症の原因ウイルスの同定．第 152 回日本獣医学会学術集会，大阪，2011 年 9 月

19) Ibrahim RABIA，大屋賢司，黒田誠，関塚剛史，安藤秀二，福士秀人．Rapid multiplex PCR assay for simultaneous detection of Chlamydophila causing abortion in ruminants ．第 152 回日本獣医学会学術集会，大阪，2011 年 9 月

20) 高崎智彦.感染症の診断と対策【シンポジウム】注目される感染症－ウエストナイル熱およびアルボウイルス感染症－．第 28 回日本医学会総会，2011 年 4 月 8 日～10 日は中止のため 9 月 Web 開催

21) 高崎智彦．デング熱・チクングニア熱．国立国際医療研究センター 第 6 回輸入感染症講習会,東京,2011 年 9 月

22) 藤澤智美，角坂照貴，藤田博己，高野愛，小笠原由美子，安藤秀二，川端寛樹，清島真理子．*Rickettsia africae* による旅行者感染症の 1 例．日本皮膚科学会東部支部会学術大会，前橋，2011 年 9 月

23) 安藤秀二．リケッチア症．第 6 回輸入感染症講習会，東京，2011 年 9 月

24) 氏家無限，小林泰一郎，竹下望，加藤康幸，金川修三，高崎智彦，大曲貴夫．西アフリカ（ベナン共和国）から帰国後に発症したデング熱の 1 例．第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会，山形，2011 年 10 月

25) 坂本直也，中村（内山）ふくみ，小林謙一郎，岩淵千太郎，安藤秀二，高崎智彦，小泉信夫，松岡裕之，大西健児．タイから帰国後，ショック，呼吸不全を合併した重症発疹熱の 1 例．第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会，山形，2011 年 10 月

26) 高崎智彦．海外から侵入が懸念される蚊媒介性ウイルス感染症．平成 23 年度地方感染症情報センター担当者向け東海・北陸ブロック疫学研修会及び連携会議，名古屋，2011 年 10 月

27) 井上直樹．わが国における先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染の現状と今後の対策の方向性（シンポジウム「わが国におけるウイルス母子感染の現況と今後の展望」）．第 81 回日本感染症学会西日本地方会学術集会，北九州，2011 年 10 月

28) 大迫英夫，古川真斗，徳岡英亮，松尾繁，松本一俊，八尋俊輔，本田俊郎，山本正悟，安藤秀二，齋藤亨，藤澤哲郎，猪熊壽，原田誠也．熊本県における日本紅斑熱の疫学調査．第 60 回九州地区獣医公衆衛生学会，長崎，2011 年 10 月

29) 阪口直也，中村(内山)ふくみ，小林謙一郎，岩淵千太郎，安藤秀二，高崎智彦，小泉信夫，松岡裕之，大西健児．タイから帰国後，ショック，呼吸不全を合併した重症発疹熱の 1 例．第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会，山形，2011 年 10 月

30) 小笠原由美子，伊東拓也，藤田博己，安藤秀二．北

海道日高地方で採取されたオオトゲ地まだ二から分離されたリケッチアの分子生物学的解析．第 57 回日本衛生動物学会北日本支部会，山形，2011 年 10 月

31) 伊東拓也，高田伸弘，藤田博己，川端寛樹，中本敦，赤松達也，安藤秀二，大久保梢，高野愛，小笠原由美子．礼文島におけるマダニ類及びダニ媒介性病原体の調査．第 57 回日本衛生動物学会北日本支部会，山形，2011 年 10 月

32) 水沼廣，吉田典行，藤田博己，川端寛樹，高野愛，安藤秀二，小笠原由美子．福島県でライム病病原体を検出し得たマダニ刺咬症の 1 例．第 57 回日本衛生動物学会北日本支部会，山形，2011 年 10 月

33) 藤田博己，青山信子，大竹秀男，安藤秀二．宮城県仙台平野におけるイスカチマダニの 2011 年度の生息調査.第 57 回日本衛生動物学会北日本支部会,山形，2011 年 10 月

34) 藤田博己，赤松達矢，高瀬欽庸，矢野泰弘，高田伸弘，及川陽三郎，川端寛樹，安藤秀二．香川県におけるマダニ相とマダニ保有リケッチア調査の 2007 年から 2011 年までの成績．第 66 回日本衛生動物学会西日本支部大会，金沢，2011 年 10 月

35) 鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，田島茂，高崎智彦，佐々木年則，小林睦生，沢辺京子．イエカ属蚊の初代培養．第 18 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会．東京．2011 年 11 月

36) 西條政幸.ヘルペスウイルスによる中枢神経感染症．第 16 回日本神経感染症学会，東京，2011 年 11 月

37) 中道一生，林昌宏，倉根一郎，西條政幸．進行性多巣性白質脳症患者の脳脊髄液中に出現する JC ポリオーマウイルスゲノムの転写調節領域における変異パターンの解析.第 16 回日本神経感染症学会学術集会，東京，2011 年 11 月

38) 直井為任，森田光哉，齊藤寛大，嶋崎晴雄，藤本健一，中道一生，中野今治．髄液 PCR 陰性であったが脳生検で確定診断した進行性多巣性白質脳症の 1 例．第 16 回日本神経感染症学会学術集会，東京，2011 年 11 月

39) 仲田かおり，石垣里紗，高橋阿起子，堀川達弥，山本剛，安藤秀二．日本紅斑熱の 1 例．第 62 回皮膚科学会中部支部学術集会，四日市，2011 年 11 月

40) 御供田睦代，山本正悟，安藤秀二，北野智一，平良勝也　岡野祥,宮代守,梶山桂子,石橋哲也,高野 愛,角坂照貴，高橋守，藤田博己，高田伸弘．九州地域のリケッチア症の動向．第 19 回ダニと疾患のインターフェース SADI，広島，2011 年 11 月

41) 北野智一，平良勝也，岡野祥，角坂照貴，藤田博己，高田伸弘，高橋守，安藤秀二，高野愛，川端寛樹，御供田睦代，本田俊郎，林哲也，山本正悟．宮古島の恙虫病に関する調査(2011 年)－池間島のネズミとツツガムシから検出された病原体－．第 19 回ダニと疾患のインターフェース SADI，広島，2011 年 11 月

42) 藤田博己，青山信子，赤松達矢，高田伸弘，矢野泰弘，安藤秀二，川端寛樹，高野愛，小笠原由美子，伊東拓也，大竹秀男．北日本のマダニ類からのリケッチア検出状況．第 19 回ダニと疾患のインターフェース SADI，広島，2011 年 11 月

43) Kataoka, C., Tani, H., Kaname, Y., Taguwa, S., Abe, T., Fukuhara, T., Moriishi, K., and Matsuura, Y. Baculovirus GP64-mediated entry into mammalian cells.　第 34 回日本分子生物学会年会，横浜，2011 年 12 月

44) 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．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．第 15 回日本ワクチン学会学術集会，東京，2011 年 12 月

45) 橋本楓，井上直樹．モルモット感染動物モデルを用いたサイトメガロウィルスワクチン開発の基礎検討．第 15 回日本ワクチン学会学術集会，東京，2011 年 12 月

46) 三木田馨，前田卓哉，藤倉雄二，神崎裕二，原悠，叶宗一郎，岸田修二，中道一生，川名明彦：cART および塩酸メフロキンはどこまで PML の予後を改善できるのか？第25回日本エイズ学会学術集会･総会，東京，2011 年 12 月

47) 安藤秀二．ズーノーシスとしての偏性細胞内寄生細菌の自然界おけるリスク．第 11 回日本バイオセーフティ学会，つくば市，2011 年 12 月

48) 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に関する紅

斑熱群リケッチアの疫学的役割．私立大学戦略的研究基盤形成推進事業「人獣共通感染症の戦略的国際疫学研究の推進と若手研究者の実践的育成」平成 23 年度 公開シンポジウム「野生動物における人獣共通感染症の実態と研究の取り組み」，神奈川県藤沢市，2011 年 12 月

49) 安藤秀二．宮古島のつつが虫病の国内外における位置づけと今後の検査対応について．つつが虫病に関する調査報告会，沖縄県宮古島市，2012 年 1 月

50) Saijo M. Preparedness for highly pathogenic emerging virus infections in the NIID, Tokyo, Japan: from the basic research to the public health. Nagasaki Symposium on Emerging Viral Diseases, Nagasaki, February 2012

51) 安藤秀二，小笠原由美子．2011 年に経験した多様な輸入リケッチア症.第 18 回リケッチア研究会,大阪，2012 年 2 月

52) 小川基彦．つつが虫病リケッチア感染とオートファジーの関係に関する研究～第一報～．第１８回リケッチア研究会，大阪，2012 年 2 月

53) 山本徳栄，近真理奈，増田純一郎，森芳紀，河原泰伸，油井香織，前野直弘，小山雅也，斉藤利和，黒﨑嘉子，藤田博己，小川基彦，岸本寿男，安藤秀二．埼玉県内のイヌ，ネコにおける *Coxiella* 属および *Rickettsia* 属に対する血清抗体価－第２報－．第 18 回リケッチア研究会，大阪，2012 年 2 月

54) 北野智一，平良勝也，岡野　祥，角坂照貴，藤田博己，高田伸弘，高橋　守，安藤秀二，高野愛，川端寛樹，御供田睦代，本田俊郎，林哲也，山本正悟．宮古島の恙虫病に関する調査（２０１１年）－池間島のネズミとツツガムシから検出された病原体－．第 18 回リケッチア研究会，大阪，2012 年 2 月

55) 藤田博己，青山信子，赤松達矢，伊東拓也，大竹秀男，高田伸弘，矢野泰弘，安藤秀二，川端寛樹，高野愛，小笠原由美子，及川陽三郎，角坂照貴，中本敦．北日本におけるマダニ媒介 *Rickettsia* 感染リスクの地域的特性．第 18 回リケッチア研究会，大阪，2012 年 2 月

56) 阿戸学，安藤秀二，松村隆之，川端寛樹，角坂照貴．*Orientia tsustugamushi* 株間におけるマウス感染様式および宿主応答の比較解析．第 18 回リケッチア研究会，大阪，2012 年 2 月

57) 高田伸弘，山本正悟，藤田博己，高橋守，平良勝也，岡野祥，安藤秀二，角坂照貴，御供田睦代，北野智一，川端寛樹，本田俊郎．宮古島における東南アジア系恙虫病の症例続発について －環境，ベクターの絡みから－ ．第 18 回リケッチア研究会，大阪，2012 年 2 月

58) 西條政幸．新興ウイルス感染症の現況と国際的検査診断ネットワーク．一類感染症ワークショップ（公開セミナー），東京，2012 年 3 月

59) 西條政幸．ウイルス性出血熱患者の治療（Recent topics in the studies on viral hemorrhagic fevers: Ebolavirus and Marburgvirus）．バイオセキュリティワークショップ「日本のバイオディフェンスの現状と今後の課題」(長崎大学国際連携研究戦略本部)，東京，2012 年 3 月

60) 安藤秀二，藤田博己．多彩な紅斑熱群リケッチア症を媒介するマダニ類と病原体の対応．第 64 回日本衛生動物学会，長野県上田市，2012 年 3 月

61) 北野智一，平良勝也，岡野祥，角坂照貴，藤田博己，高田伸弘，高橋守，安藤秀二，高野愛，川端寛樹，御供田睦代，本田俊郎，林哲也，山本正悟．宮古列島における *Orientia tsutsugamushi* の分離および遺伝子解析.第 64 回日本衛生動物学会,長野県上田市，2012 年 3 月

62) 本井祐太，鈴木正嗣，安藤秀二，川端寛樹，高野愛，猪熊壽，田原研司，金森弘樹．島根半島部のイノシシ再分布による紅斑熱群リケッチアへの影響．第 98 回日本獣医学会，東京，2012 年 3 月

63) 小川基彦，内山恒夫，安藤秀二．抗菌薬によるつつが虫病リケッチアおよびQ熱コクシエラの細胞培養系からのマイコプラズマ汚染の除去．第 85 回日本細菌学会総会，長崎，2012 年 3 月

64) 内山恒夫，小川基彦，藤田博己．非病原性紅斑熱群リケッチアの哺乳動物細胞における増殖抑制．第 85 回細菌学会総会，長崎，2012 年 3 月

２．ウ イ ル ス 第 二 部

部 長　脇 田 隆 字

概　要

当部が対応するウイルスは主として消化器系疾患の原因ウイルスであり，A，B型肝炎ワクチン，経口生ポリオワクチンを検定，検査対象としてきたが，今年度はさらに，弱毒生ロタワクチンの承認前検査を実施し，さらに不活化ポリオワクチンの承認前検査も開始した.

第１室は下痢症ウイルスを担当するとともに，ポリオワクチン，ロタワクチンの検定，検査を担当する．本年度は経口生ポリオワクチンの中間バルク１件，小分製品１件の検定をおこなった．また，二種の経口生ロタワクチンの承認前検査が終了した．さらに，不活化ポリオワクチンの承認前検査が開始された．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，ロタウイルスの基礎研究も開始している.

ノロウイルスに関しては,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.カリシウイルスに関する基礎研究が進展している．X線解析，クライオ電顕による構造解析に関する研究が進んだ.

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.西太平洋地域では2000年以来ポリオフリーを維持してきたが，今年度は中国の新疆ウイグル自治区で野生型ポリオの流行が確認された.流行は終息したが今後も注視していく必要がある.JICAとの共催で実施した第21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2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.

ポリオウイルスの基礎研究として，ウイルス複製に関わる新規宿主因子を同定した.今後の解析が期待される.また，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．エンテロウイルス71の感染受容体，ヒトPSGL-1に関する解析を進めている．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．B型肝炎ウイルス産生細胞を用いた研究によりウイルスの生活環の各過程の解析を開始している．C型肝炎ウイルス研究では遺伝子型３などの新たなウイルス感染増殖モデル系の構築が進んだ．また，予防的ワクチン開発も進行している．肝炎研究基盤整備事業の３年度目となり，研究シンポジウムを開催した．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５件の検定をおこなった.

2011年には千葉県でA型肝炎が流行した．ウイルス遺伝子解析から日本に常在するウイルス株の流行と考えられた．またE型肝炎ウイルスの研究が進んだ.ウイルス培養系を利用したウイルス学的解析や，ワクチン開発，ラット・サルのＥ型肝炎ウイルス解析を進めている.

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～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 23 年 6 月に藤井克樹研究員が，同年 10 月にパク・ヤンビン研究員が採用された．さらに平成 24 年 3 月にフセイン・アリ主任研究員が採用された．新職員の皆さんの活躍に大いに期待する．平成 24 年 3 月に村山麻子研究員が退職された．

平成 23 年 9 月より岡智一郎主任研究官と政木隆博主任研究官が研究休職し，岡主任研究官は米国オハイオ州立大学の Linda Saif 教授の研究室に留学し，政木主任研究官は米国ノースカロライナ大学医学部感染症学教室，Stanley M. Lemon 教授の研究室に留学した．平成 24 年 4 月より西村順裕主任研究官も研究休職し，米国ペンシルバニア大学医学部付属フィラデルフィア小児病院（感染症部門）の Bergelson 教授研究室に留学予定である．留学した職員の皆さんの飛躍を期待する．

業　績

調査・研究

I. 下痢症ウイルスに関する研究

１．ノロウイルス (NoV) に関する研究

（1）ノロウイルス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するとともに, 粒子形成の確認を行った.

[片山和彦, 岡智一郎, 村上耕介, 戸高玲子, 脇田隆字]

（2）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. ゲノムの変異集積部位は, 構造タンパク質領域の P ドメインに限らず, 非構造タンパク質領域にも認められることが明らかになった. 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, 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]

（3）ノロウイルス GII の組織血液型抗原物質 (HBGA) の結合を阻害する低分子化合物の 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ている. P 領域を大腸菌で発現し, 高度に生成した後, 低分子化合物と混合して結晶を作成し, X 線結晶構造解析を行った. P 領域のα1-2fucose 結合領域にクエン酸が競合して結合可能である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. クエン酸もしくは, それと同様の骨格を持つ低分子は, NoV 粒子のα1-2fucose 結合部位を塞ぐことで, 腸管粘膜へのウイルス粒子のコンタクトを阻害する可能性がある.

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

（4）X 線結晶構造解析を用いた全ての GII ノロウイルス に結合するモノクローナル抗体 5B18 の結合様式の研究

ノロウイルス VLP を免疫して作出されたモノクローナル抗体 (MoAb)5B-18 は, 全ての GII ノロウイルス (NoV) VLP に結合可能であり, VLP 上に存在する共通のエピトープを認識している可能性がある. そこで, 5B-18 とノロウイルス GII の P 領域を共結晶化し, X 線構造解析を行った. また, クライオ電子顕微鏡による VLP の構造解析も行った. MoAb 5B-18 は, P 領域の下部に結合しており, 3 次構造上に直列に並んだアミノ酸残基と結合していた. ノロウイルス GII のクライオ電子顕微鏡による構造解析の結果, GII の P 領域は, GI に比べ粒子のシェル部分から高く立ち上がっており, 抗体が P 領域下部から結合可能な十分なスペースを持つことが確認された.

[Hansman, GS, Taylor DW (エール大学), McLellan JS, Smith TJ, Georgiev, Tame JR (NIH), Park SY (横浜市立大学), Yamazaki M, Gondaira F, Miki M (デンカ生研), Katayama K, Murata K (岡崎統合バイオサイエンスセンター), Kwong PD (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, 12 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, 三瀬勅治 (札幌医大), 戸高玲子, 脇田隆字]

（6）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）の細胞への結合を明らかにするため，ヒト腸上皮様細胞株Caco-2にHuNoV VLPを加えた後，抗 VLP 抗体を使用して細胞表面の VLP を共焦点レーザー顕微鏡で検出した．その結果，VLP が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 を分化させると，VLP 結合細胞の割合が増加することを明らかにした．このことから，Caco-2 の分化に伴い発現が亢進する分子が HuNoV の結合に関与していることが予想された．

[村上耕介，戸高玲子，岡智一郎，松田　幹（名大院生命農学），片山和彦]

（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，4 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，朴　英斌，戸高玲子，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実施し，全国のノロウイルス，サポウイルスによる食中毒事例を探知した．その結果，昨年度から今年度にかけて GII.4 の流行は全報告例の約 60%に減少し，GII.2，GII.3 の流行拡大の傾向が検出された．

[野田　衛（国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部），片山和彦，岡智一郎，山下和予（感染症情報センター），ノロウイルスリサーチグループジャパン]

（9）電子顕微鏡観察を用いたノロウイルス不活化評価方法の研究

ノロウイルス VLP をモデルに，各種不活化剤候補（エタノール，次亜塩素酸ナトリウム，界面活性剤）による粒子崩壊を電子顕微鏡で観察し，画像による不活化評価を行った．さらに，感染性マウスノロウイルス：MuNoV，ネコカリシウイルス：FCV を用いて，同様の検討を行った．VLP は，次亜塩素酸ナトリウム処理，界面活性剤処理により，効果的な崩壊が認められた．また pH 変化による粒子変形と崩壊が起きることが明らかになった．この現象は感染性粒子（MuNoV，FCV）においても観察された．崩壊が観察された感染性粒子は，明らかな感染力価の低下を認めた．電子顕微鏡による粒子形状の崩壊の評価は，ノロウイルス，FCV の不活化を予測に有用である．

[佐藤　惇（花王），三木元博，高木弘隆（バイオセーフティ管理室），岡智一郎，村上耕介，片岡紀代（感染病理），片山和彦]

（10）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解明のため Raw264.7 培養細胞で増殖する MuNoV 蛋白質，ゲノム dsRNA（複製中間体二本鎖 RNA），nsRNA（新規合成された RNA）の細胞内局在を，蛍光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 N-terminal protein，VPg，dsRNA と，ウイルス粒子主構成成分 VP1 は主に細胞膜周辺に nsRNA と共局在した．MuNoV の複製は核周辺部位，粒子形成は細胞膜で起こり，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（バイオセーフティ），岡智一郎，村上耕介，脇田隆字，片山和彦]

（11）マウス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

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目指し，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，感染性 MuNoV 粒子を産生可能であった．トランスポゾンによるスキャンを行った結果，ORF1 領域に外来性シーケンスを挿入可能な領域を見いだした．

[中西　章（国立長寿医療研究センター），片山和彦，村上耕介，高木弘隆（バイオセーフティ管理室），戸高玲子，脇田隆字]

（１２）新規マウスノロウイルス(MNV)の分離とアルコール，ポピドンヨードによる不活性化

実験室飼育マウスノロウイルス糞便より RAW 細胞を用いて MuNoV を分離培養して，全塩基配列を決定したところ，遠矢らによって分離されたS7株とは遺伝的に異なるクラスターに属する株であった．本 MuNoV 株を RAW 細胞で増殖させ，アルコール，ポピドンヨードによる不活性化試験を行った．MuNoV は，アルコールに感受性であり，50%以上のアルコール濃度で効果的に不活化可能であった．ポピドンヨードに対しても高い感受性を示した．新規分離株とS7の両薬剤に対する感受性に差はなかった．MuNoV は，これまでヒトノロウイルスのモデルとして用いられてきた FCV に比べ，アルコールが不活化に有効であることが示された．

[村上省一（明治製菓），高木弘隆（バイオセーフティ管理室），遠矢幸伸（日大），岡智一郎，北島正章，片山和彦]

（１３）ノロウイルス 3C 様プロテアーゼによる 3C/3D 切断へのアミノ酸置換の効果

ノロウイルスChiba407株（GI/4）の3C/3D切断部位に種々のアミノ酸置換を導入し，3C 様プロテアーゼによる切断が起こるかどうかを見た．3C 様プロテアーゼ C 末端の Glu181 のみ保持され，それより上流の9アミノ酸残基がGlyあるいはAlaに置換されていても 3C/3D 切断が生じた．この結果は，切断部位の P1 部位の Glu （あるいは Gln）が 3C 様プロテアーゼによる基質認識に最も重要であることを示している．

[染谷雄一]

（１４）ノロウイルス様中空粒子の立体構造解析

これまで遺伝子型GI/1に属するNorwalk株のVLPの三次元立体構造が明らかにされている．ノロウイルスは多様な遺伝子型があり，組織血液型抗原結合パターンも多様である．これはウイルス粒子表層の構造が多様であることを示唆する．これを明らかにするために，昆虫細胞で発現させたChiba407株(GI/4)の VLP を昆虫細胞で発現させ，精製した後，三次元結晶化を行った．現時点で約４Åの分解能の X 線回折データを得ている．

[染谷雄一，長谷川和也（高輝度光科学研究センター），熊坂崇（高輝度光科学研究センター）]

（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．昨年度までに 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．今年度は，α1,4 Fuc 結合に寄与しているアミノ酸の置換により結合特異性の変化を確認することが出来た．このことはウイルスのトロピズムが1アミノ酸置換で容易に変化することを示していて，ウイルスの多様性を生み出す構造要因の１つであると想像される．

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

（１６）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

多数の抗 NoV 抗体とそれらが認識するエピトープの同定は，中和能を有する抗体の選別や，ウイルスワクチンの設計，さらに，ウイルスレセプターや増殖機序の解明に寄与するところが大きい．本研究では，ヒト由来ファージ抗体ライブラリーから多数の抗 NoV 抗体を単離・解析し，交叉反応性抗 NoV 中和抗体の作製を試みる．今年度は，ファージ抗体ライブラリーから，NoV GII/4 株 VLP を抗原として，パニング法で NoV 特異的抗体を得た．ファージ抗体の NoV に対する反応性は，固相化した VLP にファージ抗体を反応させ，二次抗体にウサギ抗 cpIII 抗体を使用し，ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギ IgG 抗体を用いた ELISA 法で解析した．その結果，genotype 特異的，genogroup 内交叉反応性，そして genogroup 間交叉反応性のヒト型抗HuNoVファージ抗体を単離することが出来た．今後，抗原エピトープの同定を行う予定である．

[守口匡子（藤田保健衛生大学），染谷雄一，白土東子，奥野良信（阪大微研），黒澤良和（藤田保健衛生大学），谷口孝喜（藤田保健衛生大学）]

（１７）ノロウイルス遺伝子型分類の国際標準化への試みと，レファレンスプラスミドの構築

ノロウイルス（NoV）には5つのジェノグループが存在する．ジェノグループI,II,IV（GI,GII,GIV）がヒトに感染する．GI，GIIにはそれぞれ20を超えるジェノタイプが報告されており，遺伝的に多様であることが知られている．これまでNoVの分類は，ORF2にコードされる構造タンパク質VP1の配列に基づいて行われてきた．しかし，NoVは非構造タンパク質をコードするORF1とORF2のジャンクション領域で高頻度に遺伝子組換えを起こし，キメラウイルスが出現することが明らかにされており，ORF1のジェノタイプも考慮に入れた新しい遺伝子型分類法の構築が望まれていた．我々の所属する国際的ノロウイルスサイエンティフィックコミッティーにより，キメラウイルスに対応した新しい遺伝子型分類法の構築が始まった．これに対応するため，本年度はORF1後半（約4100nt position）からVP1 Nterminal region（約5500nt position）までを含むGI,GII用コントロールプラスミドを構築し，ノロウイルスレファレンスセンターを通じて配布を開始した．本コントロールプラスミドは，これまで同様リアルタイムRT-PCR，コンベンショナルなRT-PCRに使用できると共に，新規遺伝子型分類にも利用可能である．

[村上耕介，朴　英斌，戸高玲子，片山和彦]

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

（１）下記のSaV VLPsを新規発現し、VLPライブラリに加えた。GII 4株、GIV１株、合計５株

[岡智一郎，李　天成，片山和彦]

（２）新規プライマーセットを用いた食用貝からのサポウイルス核酸検出系の評価

昨年度、食品からのサポウイルス核酸の検出系評価のため、サポウイルスによる集団食中毒事例の原因食材として同定した複数のサポウイルス遺伝子を含むアサリ中腸腺60個について、従来法と新規法の２つのPCR系を用いてサポウイルス核酸を増幅したところ、新規法の方が高い陽性率を示した。今年度は2つの検出系で増幅されたPCR産物の塩基配列解析を行い、いずれの系でも同様の遺伝子型配列が検出されることを確認した。

[戸高玲子,飯塚節子（島根県保健環境科学研），岡智一郎，片山和彦]

（３）サポウイルス再感染急性胃腸炎事例の同定

2002年から2009年度に 熊本県内の３つの小児科を受診したサポウイルス陽性の感染性胃腸炎患者のうち、２名が、異なる遺伝子型のサポウイルスに再感染していることが明らかとなった。このうち１名はサポウイルス以外の急性胃腸炎病原因しが検出されなかったため、サポウイルスもノロウイルスなどと同様、同一人物が複数回感染し、急性胃腸炎を引き起こすことを初めて明らかにした。

[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）SaV プロテアーゼ活性阻害化合物の同定

サポウイルスプロテアーゼの基質認識メカニズム検証のため、化合物ライブラリーデータベース(139369化合物）を用いたin silico screeningを行い、151化合物をサポウイルスプロテアーゼ活性阻害候補物質として選択した。in vitroにおけるプロテアーゼ活性阻害の評価を行ったところ、３化合物が実際にサポウイルスプロテアーゼ阻害活性を有することを見いだした。今回用いた手法は今後、他のカリシウイルスプロテアーゼ活性阻害化合物検索への応用が期待される。

[横山　勝（病原体ゲノム解析研究センター),神田忠仁,佐藤裕徳,岡　智一郎,片山和彦,小島宏建,長野哲雄,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)]

（５）クライオ電子顕微鏡，インシリコモデリングの融合によるサポウイルス粒子構造の解析

ノロウイルスのVLPの3D構造は，クライオ電子顕微鏡，X線構造解析などにより，GI，GII共に詳細に解析が行われている．一方，サポウイルス（SaV）の粒子構造は，VLPの発現が困難であるため，未だ十分に明らかにされていない．我々の研究室で発現に成功したSaVのVLPを用い，クライオトモグラフィー，位相差，in silicoモデリングを融合させた解析方法により，3D構造の解析を行った．現在，8Åの解像度での再構築，in silicoでの構造補正，構造に基づくアミノ酸アライメントが進行している．本研究では，アミノ酸配列と粒子構造の関係を明らかにし，NoVのようなP-dimer，P-粒子のように，粒子の抗原性を維持した構造タンパク質の部分発現を目指している．このようなタンパク質の部分発現に成功すれば，SaVの

抗原・抗体パネルの構築が容易になる.

[宮崎直幸（岡崎統合バイオサイエンスセンター), 村上耕介, Hansman GS, Taylor DW（エール大学), 脇田隆字, 片山和彦, 村田和義（岡崎統合バイオサイエンスセンター)]

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）は培養細胞を用いた増殖が可能であるため，ノロウイルスなど培養細胞で増殖させることができないウイルスのモデルとして利用されている．FCV ゲノムの複製，翻訳メカニズムの詳細はいまだ不明であるが，これまでに，1)*in vitro* で合成した capped RNA を培養細胞に transfection する方法，2)T7 RNA polymerase 遺伝子を保有する組換えワクチニアウイルス感染細胞に plasmid を transfection する方法で FCV が産出できることが報告されている．しかし，いずれの手法も操作が煩雑である．そこで，従来の手法より簡便な系として，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 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.

本研究により新たに構築した 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，従来法と比較して，簡便であり，また 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．現在293T細胞を用いたユニバーサルシステムを開発中である.

[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]

４．カリシウイルスに関する研究

（１）カリシウイルスプロテアーゼ 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，切断効率がわずかでも低下すると，progeny virus 産生効率が大きく低下する傾向が観察され，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.現在リバースジェネティックスを用いた検証を行っている.

[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．全セグメントを RT-PCR によって増幅し，全長の塩基配列を解析するため，各セグメントの 5’端および 3’端またはその近傍に universal primer set をデザインした．代表的な 7 種類のロタウイルス株（Wa，DS-1，Hochi，69M，WI61，M37，SA11-S1)について，PrimeScript® cDNA Synthesis Kit（タカラ）および PrimeSTAR® GXL DNA polymerase（タカラ）を用いて RT-PCR を行った結果，全ての株で全 11 セグメントを特異的に増幅させることができた．また，この PCR 産物から全セグメントの塩基配列を解析可能であることを確認した．今後，この primer set を用いて，我が国におけるロタウイルスの分子疫学研究を進める予定である.

[藤井克樹，下池貴志，片山和彦]

（２）ロタウイルスの RNA-PAGE によるパターン解析

ロタウイルスは患者便検体からゲノム RNA を抽出し，ポリアクリルアミドゲルで電気泳動（PAGE）を行うことで，ゲノム RNA のバンドパターンを解析することができる．この方法は A 群以外のロタウイルスも検出可能であり，疫学調査において

流行株の傾向を判定する際にも有用である．ロタウイルス実験室標準株（Wa，Hochi，69M，WI61，SA11-S）および臨床分離株についてPAGE解析を行った結果，それぞれの株に特徴的なバンドパターンを検出することができた．ロタクロン®（TFB）を用いたELISA法の結果と照合したところ，PAGEで陽性，ELISAで陰性だった検体や，PAGEで陰性，ELISAで陽性だった検体が存在していたことから，ELISAによる定量結果とPAGEにより検出されるゲノムRNA量は必ずしも一致しないことが示唆された．

［藤井克樹，下池貴志，片山和彦］

（3）ロタウイルス分離培養法の研究

ロタウイルスは，MA104細胞などを用いてトリプシン存在下で増殖が可能である．しかし，その成功率は低く，安定しない．我々はMA104,CV-1細胞をクローニングし，ロタウイルスのラボラトリー株に感受性の高いクローンを作製することで，効率の良いロタウイルス分離培養法の確立を目指した．従来のMA104,CV-1と比較し，それぞれ2～10倍の増殖効率を示すクローンが得られた．現在，さらに高効率なクローンの確立を目指している．

［藤井克樹，高木弘隆（バイオセーフティ管理室），下池貴志，片山和彦］

（4）5価のロタウイルスワクチン株のウイルス含量試験の開発と，検定への応用

ロタウイルスワクチンの一つである，5価のロタウイルスワクチン；ロタテックは，ワクチンに含まれる5種類のウイルスを免疫蛍光抗体法などで，分別することができないため，5価それぞれの力価を求めるのは困難である．そこで，それぞれのウイルスに特異的なリアルタイムRT-PCR法を確立し，高精度なウイルス定量法を確立し，国家検定に採用した．

［下池貴志，藤井克樹，片山和彦］

（5）単価弱毒生ロタウイルスワクチンのウイルス含量試験法の開発と，検定への応用

ロタウイルスの感染力価は，ウイルス液を段階希釈し，MA104細胞に接種，数日間のインキュベーションの後，細胞を固定し，ロタウイルス構造タンパク質に対する抗体を用いた免疫蛍光抗体法によってCCID50を計算することで求める．96ウェルプレートのスキャン，自動撮影，蛍光シグナル鑑別・カウントプログラムをオリンパスと共に開発し，データ保存と力価測定を自動化した．電動ステージによる自動撮影により，96ウェルプレートの各ウェルを分割撮影し，重複領域を用いて，プレート画像を再構築する．その後，各ウェルに含まれる細胞数をDAPIの蛍光ドット数で算出する．蛍光抗体によるロタウイルスの蛍光スポットは面積の規格値に入る物をカウントし，細胞数との比率を算出し，CCID50を算出する．本自動測定，判定システムは，迅速かつ高精度な力価測定を可能とした．

［村上耕介，戸高玲子，下池貴志，藤井克樹，朴　英斌，片山和彦，オリンパス工業］

6．その他

（1）食品検体のノロウイルス，サポウイルス，HAV検出のためのパンソルビン・トラップ法の改良

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．さらに，グロブリン製剤は，試験的に食品に混入させたポリオウイルス，A型肝炎ウイルスなども検出可能であることが示された．本方法は，食品からの効果的なウイルス濃縮，検出法として広く利用できる．

［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），村上耕介，岡智一郎，片山和彦］

（2）初代細胞を使用しないOPV試験法の新規開発

OPVの国家検定において，検体の弱毒性保持を確認する試験としてrct/40マーカー試験およびdマーカー試験がある．この試験では，ウイルスの増殖にカニクイザルの初代腎細胞を使用することから，動物の個体差が結果に影響する可能性があった．また，実験動物使用数削減の観点からも，初代細

胞を使用しない試験法が求められていた．そこで，初代細胞の代替として，アフリカミドリザル腎由来のGL37細胞を使用した試験法の開発を試みた結果，従来法と同様に検体を評価することができ，またアッセイ間変動の小さい新規試験法を開発することができた．

［村上耕介，岡智一郎，戸高玲子，片山和彦］

（3）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

わが国においては，独自に開発された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)，ならびにこれと現在製造市販されている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おり，一刻も早い実用化が必要である．ウイルス第二部では，平成15年度よりはDPT-sIPV 4混ワクチンの安全性と有効性を評価するための国内参照品についての検討を行っている．今年度は，旧ロット#05Jと平行した新ロット#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行った．

［染谷雄一，白土東子，下池貴志，岡智一郎，村上耕介，藤井克樹，戸高玲子，柴山恵吾（細菌第二部），加藤はる（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），内藤誠之郎（品質保証室），片山和彦，脇田隆字］

（4）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の不活化の評価はなされていない．5%アルブミン製剤にHCVを添加後1時間の液状加熱（一般的に60時間）によって(10^{5})に不活化された．一方，8%エタノール処理ではHCVは不活化されなかったが，40%エタノール処理では不活化（$10^{4.6}$）された．この結果はモデルウイルス；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64日間は不活化されなかった．種々の不活化法に対する不活化効率の相違を明らかにしたい．

［下池貴志，野島清子*，脇田隆字，岡田義昭*（*血液･安全性研究部）］

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．2011年度は，エンテロウイルス単味抗血清67種類，ポリオウイルス標準血清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．［吉田　弘，有田峰太郎，西村順裕，清水博之］

（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21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2回目)を実施した．研修期間は2012年1月16日～2月11日，研修参加者は，ミャンマー，パキスタン，インドネシア，フィジーから各1名，ナイジェリア，中華人民共和国から各2名の計8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実習および講義を実施した．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．［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）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180検体およびラオス61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．

［吉田　弘，有田峰太郎，西村順裕，和田純子、清水博之］

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，当該地域におけるポリオフリーの維持を確認した．

ウ)2011年4月27－29日に，フランス，パリのパスツール研究所で開催されたWHO *Ad Hoc* Small Working Group discussion on Development and Evaluation of New Diagnosis Reagents and Approaches to Testingへの参加し，簡便なポリオウイルス同定法，ポリオウイルス直接検出のためのアプローチ，新

たな中和抗体測定法の開発について情報提供を行った.［清水博之］

エ）2011 年 9 月 5−7 日に，マニラの WHO/WPRO で開かれた Third Meeting on Vaccine Preventable Disease Laboratory Network in the Western Pacific Region に参加し，ポリオ実験室の現状およびエンテロウイルスサーベイランスについての情報提供を行った.［清水博之］

オ）2011 年 9 月 21−24 日に，WHO 本部で行われた The 17th Informal Consultation on the Global Polio Laboratory Network に参加し世界ポリオ根絶計画の現状，WPRO ポリオ実験室ネットワークの現状および課題，ポリオ実験室における精度管理・バイオセーフティ等についての報告・討議に参加した.［清水博之］

（4）国際協力活動

ア）新疆自治区で発生した野生株ポリオ流行対策助言のため 2011 年 11 月 20 日-11 月 28 日に中国新疆ウイグル自治区ポリオ実験室へ環境ウイルスサーベイランス実施計画策定を目的とし JICA 専門家として参加した.［吉田　弘］

イ）2011 年 11 月 4〜5 日に台湾で開催された National Institute of Infectious Diseases and Vaccinology Scientific Advisory Board Committee Meeting に，Advisory Board Committee メンバーとして参加し，研究内容および研究計画の外部評価を行った.［清水博之］

ウ）2011 年 11 月 16 日〜22 日にベトナム，パスツール研究所（ホーチミン市）で行われた Pasteur Institute in Ho Chi Minh City-120 Years for Control and Prevention of Communicable Diseases に参加し，手足口病流行とエンテロウイルス 71 研究の現状について Keynote Speech を行った．ハノイ NIHE を訪問し，エンテロウイルス 71 および手足口病に関する共同研究に関する研究打合せを行った.［清水博之］

２．西太平洋地域の 2011 年のポリオウイルス分離状況

2011 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 241 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．ラオス，カンボジア，ベトナム，モンゴルにおいて AFP および非 AFP 検体から分離されたポリオウイルスの型内鑑別あるいは塩基配列解析を行なった．当該地域では，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た.

［有田峰太郎，清水博之］

（2）ヒト血清中の抗ポリオウイルス(PV)中和抗体価の新規測定法の開発

野生株のカプシドを持った 1,2,3 型 PV 擬似ウイルスを作製し，ヒト血清中の抗 PV 中和抗体価の測定法を開発した．この新規法は Sabin 1,2,3 株に対する中和抗体価測定結果とよい相関を示したが，Sabin 1 に対する中和抗体価との相関が比較的低かった．低年齢層で Sabin 1，高齢者で 1 型野生株に対する抗体価が高かった．この新規法は，従来法と異なり感染性ウイルスを用いないため，特に安全面で優れている．そのため，PV 根絶計画の中で重要な役割を果たしていくと考えられた.

［有田峰太郎，岩井雅恵（富山衛生研究所），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 1 回目及び 2 回目，BCG，DPT1〜4 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．2010 年の調査では，生後 24 ヵ月おける累積接種

率は，それぞれ，96.3%および85.4%であった．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］

（4）不活化ポリオワクチン接種者数に関する調査

不活化ポリオワクチン接種の実態を把握する目的で，インターネット上で公開されている不活化ポリオワクチン接種医療機関リストに挙げられた医療機関のうち，不活化ポリオワクチン接種が確認できた医院ないし病院を対象にして，不活化ポリオワクチン含有ワクチン接種総件数及び初回接種件数を調査票により問い合わせた．IPV 含有ワクチン接種医療機関における 2011 年 10 月の不活化ポリオワクチン報告接種件数は，全体で 16,339 件であった．都道府県別の接種件数では，東京都が 6,098 件で全体の 37.3%を占めていた．不活化ポリオワクチン接種件数および接種医療機関数は 2010 年と比較して大幅に増加していた．

［髙山直秀（都立駒込病院），清水博之］

（5）不活化ポリオワクチンの円滑な導入に関する調査・研究

不活化ポリオワクチンを含めたポリオワクチンに関する基本的情報について，「不活化ポリオウイルスワクチンの円滑な導入に関する検討会」構成員として情報提供を行うとともに，不活化ポリオワクチン含有ワクチン導入にあたっての諸課題について検討を行った．

［清水博之］

（6）成人に対する不活化ポリオワクチン追加接種の有効性と安全性の検討

わが国においても2012年の秋を目途に不活化ポリオワクチン（inactivated polio vaccine, IPV）が導入される見込みである．成人に対して IPV の追加接種を行い，免疫原性と安全性の検討を行うため，成人に対する IPV 接種に関する臨床研究プロトコルを作成し，倫理委員会での承認を経て，海外から IPV を輸入し，被験者を募集し接種を開始した．

［中野貴司（川崎医大），福島慎二（東京医大），清水博之］

（7）ポリオワクチン停止後の再流行のリスク推定

生ポリオワクチン（OPV）は効果的にポリオ制圧に貢献しており，ワクチン接種により世界中の野生株根絶が期待されている．本研究ではOPV停止後，OPV由来株による流行の可能性を確率モデルに基づき議論した．ワクチンを接種した宿主はOPV由来強毒株を排泄するため，接種自体がリスクとなる．ワクチン停止後，感受性宿主密度が疫学閾値を越え，強毒株が集団に出現するのに十分な宿主密度の場合，流行の危険性がある．感染率，回復率，変異率等のパラメーター依存的に流行の可能性が 90%を超えることもある．また少数の長期排泄者が存在すると，流行リスクが高まる．OPV 停止後，不活化ワクチンを導入したとしても，地球上からポリオ根絶を達成するには疫学パラメーターによる制約があることを示した．

［佐々木顕（総研大），吉田　弘］

（8）新規ポリオウイルス（PV）宿主因子 VCP/p97 の同定

膜輸送に関わる宿主遺伝子を標的とした siRNA スクリーニングを行いVCP/p97 をPV の複製に関わる新規宿主因子として同定した．VCP/p97 は，ウイルスタンパクの 3BC および 3AB と結合し，特に 2BC との相互作用の重要性が VCP ノックダウン耐性 PV 変異株の解析から示唆された．この耐性変異(2C-E253G) は，PV 感染細胞における宿主タンパクの分泌を抑制しない変異として知られていることから，VCP/p97 は PV 感染における宿主タンパクの分泌経路に関与していることが示唆された．

［有田峰太郎，脇田隆字，清水博之］

（9）ナイジェリアで伝播している 2 型 VDPV の病原性の解析

1 型および 3 型野生株ポリオウイルス伝播が継続しているナイジェリア北部では，2005 年から発生した 2 型ワクチン由来ポリオウイルス（2 型 VDPV）伝播が長期間継続している．2005-2011 年にかけて分離された 2 型 VDPV の遺伝子解析の結果，ナイジェリアの 2 型 VDPV は，多くの独立した遺伝子型(lineage) を有することが示された．異なる複数の遺伝子型に属する 2 型VDPV 株について，ウイルス学的性状の解析を行ったところ，多くの 2 型VDPV 株は，野生株ポリオウイルス株と類似したウイルス学的性状，とくに，2 型野生株ポリオウイルス株と同程度の神経病原性を示すことが，ポリオウイルス受容体発現トランスジェニックマウス感染実験により明ら

かとなった.

[清水博之, Cara Burns, Olen Kew (米国CDC)]

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）受容体PSGL-1結合性エンテロウイルス71の感染性cDNAクローンの作製

エンテロウイルス71, 1095株, SK-EV006株, C7-Osaka株の感染性cDNAクローンを作製した．まず，プラスミドpBR322にマルチクローニングサイトを含むオリゴDNA断片を挿入し，cDNAクローン作製用のプラスミドpBR322Yを作製した．T7プロモーターとウイルス5'非翻訳領域を含むセンスプライマーと，ウイルス3'非翻訳領域を含むアンチセンスプライマーを用いて，エンテロウイルス71のゲノム全長をRT-PCRで増幅した．このゲノム全長をpBR322Yのもつ適当な制限酵素サイトにクローニングした．プラスミドを精製し，T7プロモーターによるin vitro transcriptionによりウイルスゲノムRNAを合成した．ゲノムRNAをRD細胞にトランスフェクションしたところ，感染性をもつウイルスが回収できた．これらのウイルスがPSGL-1に結合することを確認した.

[西村順裕, 脇田隆字, 清水博之]

（2）受容体PSGL-1非結合性エンテロウイルス71の感染性cDNAクローンの作製

エンテロウイルス71, Nagoya株および02363株は受容体PSGL-1に結合しない．これら2株の感染性cDNAクローンを作製した．T7プロモーターと5'非翻訳領域を含むセンスプライマーと，3'非翻訳領域を含むアンチセンスプライマーを用いて，エンテロウイルス71のゲノム全長をPCRで増幅した．このゲノム全長をpBR322Yのもつ適当な制限酵素サイトにクローニングした．プラスミドを精製し，T7プロモーターによるin vitro transcriptionによりウイルスゲノムRNAを合成した．ゲノムRNAをRD細胞にトランスフェクションしたところ，感染性をもつウイルスが回収できた．これらのウイルスがPSGL-1に結合しないことを確認した.

[西村順裕, 脇田隆字, 清水博之]

（3）受容体結合に重要なエンテロウイルス71キャプシドアミノ酸の絞り込み

エンテロウイルス71分離株には，受容体PSGL-1に結合する株，結合しない株が存在する．この結合性は，ウイルスキャプシド蛋白質の4つのアミノ酸のいずれかで規定されるものと予想されていた．代表的なエンテロウイルス71のキャプシド領域のアミノ酸配列をアライメントし，結合性を規定するアミノ酸の絞り込みを試みた．エンテロウイルス71分離株（PSGL-1結合株5株，PSGL-1非結合株3株）のキャプシド領域をRT-PCRにて増幅し，ダイレクトシークエンス法により塩基配列を同定した．アライメントしたところ，PSGL-1結合株ではVP1-98E/145Gがみられ，PSGL-1非結合株ではVP1-98K/145Eが多くみられることがわかった．つまり，VP1-98/145によりPSGL-1結合性が規定されているものと考えられた.

[西村順裕, 脇田隆字, 清水博之]

（4）受容体PSGL-1結合性を規定するエンテロウイルス71アミノ酸の同定

エンテロウイルス71感染性cDNAクローンをもとに，VP1-98/145アミノ酸に変異導入し，これらアミノ酸とPSGL-1結合性について検討した．VP1-98E/145GをもつPSGL-1結合株に，VP1-98K/145Eのアミノ酸変異を導入したところ，PSGL-1に結合しなくなった．また，VP1-98K/145EをもつPSGL-1結合株に，VP1-98E/145Gのアミノ酸変異を導入したところ，PSGL-1に結合するようになった．つまり，PSGL-1結合性はVP1-98/145により規定されていることが明らかとなった.

[西村順裕, 脇田隆字, 清水博之]

（5）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受容体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．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(NagoyaおよびTaiwan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 結合性・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]

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

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 の発現レベルは低い．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 発現とカプシドアミノ酸解析（VP1-98 および VP1-145）を行った．手足口病患者等の臨床検体から，直接 VP1 部分領域を増幅し，PSGL-1 結合性に関与するアミノ酸部位を解析したところ，被検検体は，すべて PSGL-1 非結合性 EV71 を含むことが示唆された．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．RD 等の細胞で分離した EV71 株を Jurkat 細胞で継代すると，PSGL-1 結合型 EV71 variant が選択的に増殖した．RD 細胞でも，5～6 代のウイルス継代により PSGL-1 結合型 EV71 variant が優位に増殖する傾向が認められた．培養細胞におけるウイルス継代により，PSGL-1 結合型 EV71 variant が選択的に分離されることが示唆され，また，細胞により PSGL-1 結合型 variant 増殖効率に差があることが明らかとなった.

[Rifqiyah Nur Umami，西村順裕，清水博之，細見卓司（高知県食肉衛生研究所）]

（7）エンテロウイルス 71 脳炎の病理学的解析

エンテロウイルス 71 感染症重症化のメカニズムを解明するため，重症エンテロウイルス 71 感染事例(エンテロウイルス 71 脳炎)の中枢神経組織の病理学的比較解析を行った．エンテロウイルス 71 脳炎の一般的な特徴として，脊髄，脳幹，視床下部，小脳歯状核に強い炎症像が認められたが，橋，視床，海馬，小脳皮質等には明らかな炎症は認められなかった．日本脳炎とエンテロウイルス 71 脳炎の病理像は明らかに異なることから，本研究成果は，エンテロウイルス 71 脳炎の病理学的鑑別診断に応用可能である.

[Wong Kum Thong（マラヤ大学），永田典代（感染病理部），清水博之]

（8）エンテロウイルス 71 感染の数理学的解析

ヒト RD 細胞の倍加時間を，細胞数計数および数理科学解析により推定した．EV71 1095 株，KED005 株，02363 株のウイルス液を MOI 0.01 で感染させ，i)培養上清中のウイルス量，ii)感染細胞数，iii)非感染細胞数をそれぞれ算出し，数理科学解析に用いた．1095 株，KED005 株，02363 株に感染した細胞の寿命は，ほとんど差異がなかった．バーストサイズおよび基本再生産数において，1095 株と KED005 株は，02363 株と比較して統計的に有意かつ顕著な差異が認められた．本手法を用いることにより，通常の実験科学に基づいた解析では求めることができない，各ウイルス株の複製における動的なパラメーターを定量的に算出することができ，EV71 の流行・伝播効率を示すものであることが推察された.

[佐藤　佳，小柳義夫（京都大学），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た．全国の病院の小児科から，層化無作為抽出法にて病床規模別に選定した．一次調査票を用いて入院症例数と死亡症例数の情報を収集し，患者数を推定した．二次調査では調査個人票により臨床疫学特性に関する情報を収集した．全国の小児科 2507 科から 760 科を抽出して調査を実施し，521 科(68.6%)から回答を得た．「症例あり」と回答した 126 科より 1094 例（うち死亡 5 例）の入院症例数が報告された．2011 年 6 月に二次調査を開始し，86 科(68.3%)より 365 例(うち死亡 2 例)の情報を収集した.

[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）2010 年中国広東省で報告された急性出血性結膜炎の流行像

広東省では CA24v（HEV-C）による急性出血性結膜炎のアウトブレークが 2007 年と 2010 年に報告された．2010 年流行時の患者の約 7 割は成人に至るまで幅広く報告され，9 歳以下で患者

数のピークが見られた．2007 及び 2010 年に分離された代表株について全ゲノム配列を比較したところ，22 か所でアミノ酸が異なっていた．VP1 塩基配列を用いた系統解析の結果，2007 年，2010 年分離株とも 2000 年以降アジア地域で報告されているゲノタイプ 4 に属していることを示し，クラスター内で変異が蓄積していることを示唆した．

[Zheng Huangying(広東省 CDC)，吉田　弘]

（１１）中国山東省 2 地域における環境ウイルスサーベイランスにて検出された Echo11 型の分子疫学解析

環境サーベイランスにより，2010 年に E11 は Jinan, Linyi 市で各々22, 32 株検出された．系統解析の結果，山東省由来 E11 は 1-4 クラスターに分かれ，クラスター1 には Jinan, Linyi 株が属し，通年検出，クラスター4 に属した Linyi 株の一部は，4-8 月に検出された．このように監視を継続することで E11 の伝播様式が地域で異なっていることを明らかにした．なお疾患サーベイでは E11 起因と考えられるエンテロウイルス感染症と考えられる流行の報告はされていない．即ち E11 感染の多くは不顕性であったことが示唆される．このように下水中のウイルスモニタリングは E11 の疫学を理解する上でベースラインデータとして有用であると考えられる．

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

（１２）国内外における手足口病流行に関与するコクサッキーウイルス A6 型の遺伝子解析

わが国で 2011 年春から夏にかけて検出/分離された手足口病患者由来 CA6 は，回復後，約 1 カ月後に爪甲脱落症が見られることから，同シーズン分離株の塩基配列情報と過去の国内外株と比較を行った．その結果，2008 年に欧州で爪甲脱落症が報告された株と 2011 年の国内分離・検出株は一つのクラスターを形成しており，遅くとも 2009 年には存在していたことを示した．解析した領域は VP1 部分領域であり，今季の特徴である強い発疹像，爪甲脱落症との関係については詳細な検討が必要となろう．

[増本久人（佐賀県衛生薬業センター），中田恵子（大阪府立公衆衛生研究所），高尾信一（広島県県立総合技術研究所），Tao Zexin（山東省 CDC），Zhang Yong（中国 CDC），藤本嗣人，花岡　希，小長谷昌未（感染症情報センター），吉田　弘，清水博之]

（１３）ベトナムにおける手足口病流行の解析

ベトナムでは，2005 年以来，死亡例・重症例を含む手足口病あるいはエンテロウイルス 71（EV71）感染症の流行が報告されており，2011 年には，150 例以上の手足口病死亡例が発生し，公衆衛生上の大きな問題となっている．ベトナム NIHE と感染研ウイルス第二部とのあいだの疫学および実験室診断技術に関する情報共有を基盤として，ベトナムで近年伝播している EV71 分離株の分子疫学的解析を行ったところ，2011 年の EV71 株の多くが，ベトナム固有の遺伝子型 C5 ではなく遺伝子型 C4 に属することが明らかとなった．ベトナムでは，近年，主要な EV71 遺伝子型が C5 から C4 に入れ替わった可能性が示唆された．

[Nguyen Thi Hien Thanh（NIHE），清水博之]

（１４）中国における手足口病の疫学とエンテロウイルス遺伝子解析

中国本土では，2008 年以来，多数の死亡例を含む手足口病あるいはエンテロウイルス 71（EV71）感染症の流行が報告されている．2010 年には，中国全土で 850 例以上の手足口病死亡例が発生し，公衆衛生上の大きな問題となっている．中国 CDC および感染研ウイルス第二部とのあいだの疫学および実験室診断技術に関する情報共有体制を基盤として，中国で近年伝播している EV71 分離株の分子疫学的解析を行ったところ，すべての EV71 株が，中国本土固有の遺伝子型 C4 に属することが明らかとなった．日本を含む東アジア他の地域では，異なる EV71 遺伝子型の流行・伝播が頻繁に認められるのに対し，中国本土で検出される EV71 株は，ほとんどすべて遺伝子型 C4 しか検出できない点は，今後の EV71 ワクチン開発にとって重要な疫学的特徴と考えられる．

[Zhang Yong，Xu Wenbo（中国 CDC），清水博之]

（１５）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 B3 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．コクサッキーウイルス B3 は担癌マウスを用いた in vivo モデルでも高い抗腫瘍活性を示し，抗腫瘍免疫を効果的に誘導することにより抗腫瘍効果を発現することが示唆された．

[宮本将平，井上博之，谷憲三朗（九州大学），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（高知県食肉衛生研究所），Naeem Asif，清水博之]

（１７）Saffold virus 感染の血清疫学的解析

Saffold virus（SAFV）は，小児の気道炎，胃腸炎，無菌性髄膜炎患者の咽頭ぬぐい液，ふん便，髄液の検体からの検出されており，脳炎による単徴候性運動失調患者の髄液・ふん便，および何の疾病もなかった突然死患者の髄液・血液・心筋からも検出されている．しかし，SAFV 感染と特定の疾患との関連性については解明されてはいない．SAFV-2,3 の流行状況を調査するため，血清中の SAFV-2,3 に対する中和抗体保有状況を調査し，また，感染症発生動向調査の検体について SAFV の検出を行った．SAFV-2，3 に対する中和抗体陽性率は，8-9 才で上昇し，10-11 才～18-20 才でピークに達した後，その後緩やかに減少していった．抗体保有率のピークは，SAFV-2，3 それぞれ 83.5%，83.3%であった．

[細見卓司（高知県食肉衛生研究所），Naeem Asif，清水博之]

（１８）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．パキスタンおよびアフガニスタンにおける 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 は多様な遺伝子型を有し，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．

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

（１９）Saffold virus 全塩基配列解析によるゲノム遺伝子組換えの解析

新たなヒトカルジオウイルスとして注目されている Saffold virus の遺伝的多様性とゲノム遺伝子組換えについて解析するため，新たに同定した遺伝子型を含む 11 遺伝子型すべての Saffold virus 全塩基配列を解析し，様々な解析手法を用いた遺伝子組換えの解析を行った．異なる遺伝子領域における分子系統解析，ゲノム遺伝子組換え領域のマッピング等の解析により，異なる遺伝子型の Saffold virus においては，非カプシド領域で頻繁にゲノム遺伝子組換えが生じていることが示された．一方，他のカルジオウイルスと Saffold virus との遺伝子組換えの可能性は低いことが明らかとなった．多様な遺伝子型を有する Saffold virus では，

ヒトに恒常的に伝播する過程で頻繁かつ多様なゲノム遺伝子組換えを生じていること，また，分子系統学的解析結果と自然感染における宿主域を考慮した場合，Saffold virus は他のカルジオウイルスと独立した単独の species に属するヒトカルジオウイルスに分類されることが示唆された.
[Naeem Asif，清水博之]

（２０）ヒトカルジオウイルス（Saffold virus；SAFV）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（高知県食肉衛生研究所），Naeem Asif，清水博之]

（２１）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，参照標本を用いて，免疫組織化学染色法に用いるための抗体の作製，選別を行った．また，鑑別診断のための各種エンテロウイルス抗体，カルジオウイルス抗体の交差反応性について検討した．その結果，ホルマリン固定標本パラフィン包埋切片上の SAFV3 抗原を検出するシステムを確立した．sABC 法において，SAFV3 抗原と抗 EMCV 抗体との交差反応性がみられたため，特異性に関しては更に検討が必要である.
[小谷　治，永田典代（感染病理部），Naeem Asif，清水博之]

（２２）タイ国の小児下痢症便からのサフォールド・カルジオウイルスの検出

サフォールドウイルスはピコルナウイルス科のカルジオウイルス属に属する．呼吸器疾患および胃腸炎に関係があるとされている．サフォールドウイルスは日本を含め幾つかの国で報告されている．ここでは2007年，チェンマイ150名の小児胃腸炎児において分子疫学的手法で調べた．4名（2.7%）が陽性であった．すべてに他の下痢症ウイルスとの混合感染であった．分子系統解析では1～9の型に分かれるが1，2型がそれぞれ2株検出された.
[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．2011 年度は，前年度に行われたポリオウイルス関連文献サーベイにより抽出された研究施設及び国立感染症研究所ウイルス第二部等にポリオウイルス分与あるいは移動に

ついて照会あるいは問い合わせのあった施設に対し，野生株ポリオウイルス新規保有の可能性を有するため保有状況調査を実施し，保有施設データベースを更新した.

[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]

（2）国際的なバイオリスク管理基準に基づくポリオウイルス実験室封じ込めの研究

WHO 本部ポリオ実験室ネットワーク事務局から提供されたポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用 DVD の内容を確認し，本教育訓練資料を用いたWHOバイオセーフティワークショップ(WHO/WPRO，マニラ）に参加した．WHO ポリオ実験室教育訓練 DVD は，すでに一般的なバイオセーフティに関する教育訓練を終了し，ポリオウイルスを含む病原体や臨床検体の取扱いに従事している検査担当者あるいはバイオセーフティに関する教育訓練を担当する教育訓練指導者を対象としており，実験室・検査室で実際に発生する可能性のある多くの問題点が，過不足なく取り上げられている．取り上げられている問題点の多くは実験室のバイオセーフティに関わる事例だが，機器の維持管理，情報セキュリティ，バイオセーフティ以外の実験室安全管理，実験室のアレンジメント，等多様な事例が具体的に取り上げられており，病原体を取扱う実験室の安全管理の全体像を理解するうえで有用な教育訓練資料といえる．国際的に標準化されたバイオセーフティ教育プログラムのひとつとして，ポリオ実験室のみならず，臨床検体や病原体を取扱う国内外の実験室・検査室における教育研修への活用が期待できる.

[伊木繁雄（バイオセーフティ管理室)，清水博之]

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（2）

昨年に引き続き，ビクトリー・ミリタリー・ホスピタル(スリランカ軍病院)における急性肝炎患者検体(新規 98 検体)の確定診断を行った.今回もほとんどがA型肝炎と診断された.今後，さらに詳細な疫学的検討を行う.

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

（2）日本における 2011 年の A 型肝炎の分子疫学的解析

2011 年の急性 A 型肝炎は，国立感染症研究所感染症情報センターの集計では第 47 週時点で 174 例が報告されているが，そのうち合計 52 検体について地方衛生研究所などとの協力により配列解析を行うことができた．その半分以上に当たる 34 検体は１月から２月にかけての千葉市を中心とする大きな流行によるもので，配列はすべて同一であり，昨年の解析で IA-1 と名付けた日本に常在すると考えられるクラスターに属していた．昨年の広域流行の原因の１つとなった東南アジア由来と考えられるIA-2に相当する株は１株のみであり，本クラスターに属する株は日本に定着せずほぼ消失したものと考えられた．韓国由来と考えられる genotype IIIA に属する株は５株が検出され，しかも地域的な偏りが見られないことから，日本に定着したことが懸念される．また，近年報告のなかった genotype IIIB が１株検出された.

[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，**上間　匡，**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]

（3）日本で検出された Genotype IIIA の HAV の由来

韓国では 2006 年から A 型肝炎の大流行が報告され，その際に主要な Genotype が IA から IIIA にシフトしていることが判明している．日本でも IIIA の検出が増えつつあるため，韓国からの流入の可能性を検討した．韓国から 2009 年に検出された HAV40 株（IA２株，IIIA３８株）の配列情報の提供を受け，日本で 2010 年に検出された株との比較を行ったところ，IIIA はほとんどが韓国株と同一のクラスターに分類され，韓国からの流入の可能性を強く示唆する結果となった.

[石井孝司，清原知子，吉崎佐矢香，佐藤知子，千　斗城(韓国 CDC)，野田　衛（国立衛研食品衛生管理部)，脇田隆字]

（4）HAV 増殖阻害に関する研究

IFN-α，IL-29 の HAV-IRES 依存性翻訳および増殖に対する効果を検討した．IFN-α，IL-29 いずれも in vitro reporter

assays では強い HAV 増殖阻害作用を示したが,培養細胞 GL37 と馴化 HAV を用いた増殖阻害試験では,IL-29 の増殖阻害作用は認められなかった.両者の作用機序の差違について研究を進めている.
[清原知子, 神田達郎（千葉大学大学院), 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）HBV 産生細胞の解析

HBV 産生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 HBs タンパク質および HBV DNA を経時的にELISAおよびリアルタイムPCRにより測定した. またこれらの株のラミブジン感受性を調べた.
[渡士幸一, 脇田隆字]

（2）HBV 吸着, 侵入等初期過程を阻害する生理活性物質の同定

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, HBV 感染を阻害する生理活性物質をスクリーニングした.
[渡士幸一, 内田奈々子, 脇田隆字]

（3）B 型肝炎の血清疫学調査

感染症情報センター血清バンクの検体を用いて HBs 抗原陽性率を調査した. 12 府県から集められた4-6 歳児の血清1000 検体について HBs 抗原を測定したところ, 3 検体（0.3%）から HBs 抗原が検出された. 従来日本で報告・推定されてきた当該年齢の抗原陽性率より高く,このことについて検証を行うとともに, 更に検体を増やした調査を計画している.
[清原知子, 石井孝司, 脇田隆字]

（4）B 型肝炎ワクチンの試験管内試験法の検討および in vivo 試験との相関

HBs 抗原測定系, Binding ELISA と Inhibition ELISA を構築し, その有用性について検討を行った.Binding ELISA は繰り返し試験のばらつきが Inhibition ELISA より小さく, より安定した試験と考えられた. 次に, 通常のワクチンと, それを加温変性した低力価ワクチンについて in vivo 試験と Binding ELISA で相対力価を測定した. In vivo 相対力価と Binding ELISA による in vitro 相対力価の相関は, メーカーによって異なった. この点について, 原因の解明, 及び, 運用面での対応に関して更に検証が必要である.
[清原知子, 塩田智之, 李　天成, 吉崎佐矢香, 佐藤知子, 石井孝司, 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. 5’ UTR, NS3 ヘリカーゼ領域, NS5B 領域, 3’ UTR を JFH-1 株に置換したキメラ遺伝子に長期培養により得られた 5 つの適応変異を加えることにより,遺伝子型2b の株は培養細胞で増殖し, JFH-1 株より効率よく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）遺伝子型 2b の HCV のインターフェロン感受性の評価

非構造領域が JFH-1 株由来の配列を持つ MA キメラ株（MA/JFH-1）と, JFH-1 の最少領域を持つ MA キメラ株（MA/N3H+5BX-JFH1/5am）を用いて, インターフェロン感受性を評価した. Huh-7.5.1 細胞を用いた検討では, JFH-1 はインターフェロン耐性を示した. 2 種類の MA キメラ株はいずれも JFH-1 よりもインターフェロン感受性であったが, MA/N3H+5BX-JFH1/5am は, JFH-1 の領域が多い MA/JFH-1 よりもさらにインターフェロンに感受性を示したことから, 遺伝子型 2b の MA 株は JFH-1 株よりもインターフェロン感受性であることが示唆された.
[村山麻子, 加藤孝宣, 脇田隆字]

（3）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．ヒト肝細胞キメラマウスにこのウイルスを接種したが，感染は成立しなかった．
[村山麻子，加藤孝宣，脇田隆字]

（4）新規細胞株を用いた効率の良いHCV培養系の作製

HuH-7細胞からクローニングした細胞株，HuH-7T1細胞を利用すると従来使われているHuh-7.5.1細胞と比較して約10倍のウイルスが得られた．この細胞では細胞内での感染性ウイルス粒子形成の効率が高かった．またHuh-7.5.1細胞はHCV複製により細胞周期が停止し，細胞増殖が阻害されるが，HuH-7T1細胞ではHCV感染により細胞周期に影響を受けなかった．
[村山麻子，菅野美津子（東芝RDC），吉村斉湖（東芝RDC），三代俊治（東芝病院），杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（5）HCVライフサイクルに重要な宿主因子の発現量測定パネルの作製と評価

HCVのライフサイクルに関与する34種類の宿主因子の発現量を測定できるパネル(宿主因子発現測定パネル)を作製した．この宿主因子発現測定パネルを用いてHuH-7T1細胞およびHuh-7.5.1細胞の宿主因子の発現量を測定し，比較した．HuH-7T1細胞ではCD81の発現量がわずかに低く，これはFACSで細胞表面のCD81の発現を解析した結果と一致していた．また，粒子形成に関わる宿主因子の発現は全体的にHuH-7T1細胞の方が高かったが，突出して発現の高いものは見られなかった．
[村山麻子，菅野美津子（東芝RDC），吉村斉湖（東芝RDC），三代俊治（東芝病院），杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（6）HuH-7細胞以外の培養細胞を用いたHCV粒子産生系の検討

HuGK-14細胞，MRC-5細胞，およびHEK293細胞のHCV産生能を検討した．それぞれの細胞に全長JFH-1 RNAを導入し，HCVのゲノム複製およびウイルス産生を検討したが，いずれの細胞でもHCVのゲノム複製，ウイルス産生は観察されなかった．
[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（7）HuH-7以外の細胞株における宿主因子の発現量測定

HuGK-14細胞，MRC-5細胞，およびHEK293細胞のHCVライフサイクルに重要な宿主因子の発現量を，宿主因子発現測定パネルを用いて測定した．その結果，HuGK-14細胞では複製に関わるCKB，粒子形成に関わるApoE，cPLA2の発現量がHuh-7.5.1と比べて低かった．MRC-5細胞ではEntryに関わるClaudin-1，複製に関わるCKB，粒子形成に関わるApoEの発現量が低かった．HEK293細胞では，Entryに関わるClaudin-1，粒子形成に関わるApoEの発現量が低かった．
[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（8）HCVの生活環に関与するプロテインキナーゼの同定と機能解析

Alpha Screen解析，in vitroリン酸化アッセイを行い，NS5Aの高リン酸化を制御し，感染性HCV産生に関与する新規プロテインキナーゼを同定した．細胞分画解析及び蛍光顕微鏡観察により，同定プロテインキナーゼのノックダウンがNS5Aの細胞内局在を変化させることを見出した．
[政木隆博，村山麻子，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]

（9）NS5Aの高リン酸化に関与するアミノ酸残基の同定

NS5Aの高リン酸化はHCV複製，粒子形成の制御，並びに両者間のスイッチングに関与することが想定されている．また，近年開発されたNS5A阻害剤の作用標的としても注目されているが，NS5Aの高リン酸化に関与するアミノ酸残基は未だに確定していない．我々は，NS5Aの高リン酸化に関与するプロテインキナーゼをノックダウンしたHCV RNA導入細胞からNS5A蛋白質を精製後，質量分析法による解析を行い，NS5Aの高リン酸化に関わるアミノ酸残基を同定した．
[政木隆博，村山麻子，野村文子（横浜市大），平野　久（横浜市大），鈴木哲朗（浜松医大），加藤孝宣，脇田隆字]

（１０）プロテインキナーゼ阻害剤のHCV増殖抑制効果の検討

HCV感染細胞を用いてプロテインキナーゼ阻害剤のHCV増殖抑制効果を検討した．4種類のカゼインキナーゼ阻害剤においてHCV増殖抑制効果が認められた．現在それらの作用機序の解析を行っている．
[政木隆博，村山麻子，加藤孝宣，脇田隆字]

（１１）NS5A結合ペプチドのHCV増殖抑制効果の検討

大腸菌発現システムを利用し，JFH-1株NS5A蛋白質を発現，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，村山麻子，菅裕明(東大先端研)，鈴木哲朗(浜松医大),加藤孝宣，脇田隆字］

（１２）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］

（１３）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］

（１４）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］

（１５）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］

（１６）クローン化されたHuH-7細胞株のIL-28BのSNPの検討

医薬基盤研 JCRB 細胞バンクから入手したオリジナルのHuH-7細胞を用い，限界希釈法によるクローニングを行うことでいくつかの細胞株を得た．それらの中から，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において，IFN治療の感受性に関わるIL-28BのSNPの検討を行った．既報のIL-28BのSNP領域(rs8099917)を増幅するプライマーを用い，これらの細胞のゲノムDNAをテンプレートとしてPCRを行い，ダイレクトシーケンス法でSNP領域の塩基配列を確認した．その結果，オリジナルのHuH-7細胞ではSNPがG/Tのヘテロであったが，HuH-7T5と7T10はT/Tのホモであり，親細胞とは異なっていた．

［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，poly I:Cと同程度の誘導が認められた．そこで，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]

（１８）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]

（１９）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]

（２０）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株の全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]

（２１）コア領域のアミノ酸変異がHCVの複製に与える影響の解析

HCVコア領域アミノ酸70及び91の変異は，インターフェロン治療に対する抵抗性と肝発癌に関与していることが知られているが，その機序の詳細は不明である．そこでHCV genotype 1b株の構造領域を持ったキメラウイルスを用いてHCVの複製・粒子形成・IFN感受性に与える影響を検討した．その結果，コア領域アミノ酸70番の変異は細胞内での感染性ウイルス生成を低下させHCV蛋白質の細胞内への蓄積を引き起こしていた．この細胞内へのHCVの蓄積がIFN感受性と肝発癌に関与している可能性が考えられた．

[藤田めぐみ，杉山奈央，村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣]

（２２）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．

[村山麻子，杉山奈央，政木隆博，渡士幸一，鈴木亮介，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），水落利明（血液安全性研究部），脇田隆字，加藤孝宣]

（２３）HCV院内感染における感染源同定についての検討

某医療施設より院内感染が疑われるC型急性肝炎患者について，感染源となり得る他の患者血清中のHCVと遺伝子配列比較の依頼があり検討を行った．急性感染を発症した患者血

清，および感染源となり得ると考えられた他の患者２例の血清からRNAを抽出し，HCVコア領域に設定したプライマーを用いPCRを行った．増幅されたフラグメントのシーケンスの結果，これらの患者に感染しているHCVは相同性が低く，これらの患者間で感染が起こった可能性は低いと考えられた．
[杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

（２４）HCV 遺伝子型3aを用いた抗HCV阻害剤の作用の検討

遺伝子型3a（S310）と遺伝子型2a（JFH-1/4-1）のサブジェノミックレプリコンを使用し，抗HCV阻害剤の薬剤効果を検討した．ヌクレオシドNS5Bポリメラーゼ阻害剤PSI-6130とインターフェロンを添加した細胞では遺伝子型2aと遺伝子型3aの場合，いずれも感受性がみられた．一方，NS3 プロテアーゼ阻害剤BILN2061を添加した細胞では，遺伝子型3aでは非感受性であったが遺伝子型 2a では感受性であった，非ヌクレオシドNS5B ポリメラーゼ阻害剤 JTK-109 で処理した結果，遺伝子型2aでは非感受性であったが，遺伝子型3aでは阻害作用が見られた．以上の結果から，それらの遺伝子型を使用することで臨床の効果を予測することが期待できると考えられた．
[ススムエー，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（２５）全長 JFH-1/Con1 キメラウイルスの作製とウイルス粒子産生の検討

遺伝子型2aのJFH1株の非構造タンパク質であるNS5Bの470アミノ酸を遺伝子型 1b の con1 株のアミノ酸に置換したJFH1/NS5BSLcon1キメラプラスミドを作製し，合成したRNA をHuh7.5.1 細胞にトランスフェクションし，細胞内と上清中のHCV core を測定したが増殖が認められなかった．
[ススムエー，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（２６）JFH1/con1 mutant キメラウイルスの作製と粒子の産生に関する適応変異の同定

ネオマイシン耐性遺伝子を持つ遺伝子型2aのJFH1株サブジェノミックキメラレプリコンのNS5Bを遺伝子型1b のcon1株の NS5B と置換したキメラレプリコンを作製し，コロニー形成アッセイを行った．JFH-1株のNS5Bにcon1株のNS5Bを置き換えた全長キメラに，得られたNS5AとNS5Bの変異を導入したコンストラクトを作製した．適応変異を導入することでより粒子産生ができ，感染効率の良い遺伝子型2a/1bの全長のキメラウイルスが得られた．以上から，NS5AとNS5Bの適応変異が複製に重要なことが明らかになった．
[ススムエー，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（２７）C 型肝炎ウイルスの一過性感染性粒子を用いた細胞内侵入機構の解析

HCV の trans-complemented particles（HCVtcp）を用いて，Huh7 細胞と Huh7.5.1 細胞へのHCV の侵入機構を，エンドサイトーシス経路に関与する宿主因子のノックダウンにより解析した．Huh7 細胞およびHuh7.5.1 細胞へは，レセプターを介した pH 依存性エンドサイトーシス経路により侵入することが確認されたが，Huh7.5.1細胞への侵入には，クラスリンに依存性しない未知のエンドサイトーシス経路の存在が示唆された．
[松田麻未，鈴木亮介，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），脇田隆字]

（２８）トランスパッケージング型HCV粒子産生系の開発

HCV のトランスパッケージング型粒子(HCVtcp)は，本来のHCV と同様の粒子構造を持つと考えられ，シュードタイプウイルスに比べてHCVにより近い細胞侵入様式を示す１回感染性粒子である事から，感染初期過程の解析に適している．このHCVtcp 産生系を，レプリコンのゲノムの改変や，感染性粒子形成能を高めるNS3領域中の新たな適応変異を同定する事によりさらに効率を高め，複数の遺伝子型の HCVtcp 粒子の産生に成功した．
[鈴木亮介，斎藤憲司，鈴木哲朗（浜松医大），斎藤　泉（東大），鐘ヶ江裕美（東大），相崎英樹，脇田隆字]

（２９）昆虫細胞を用いたvirus like particle（VLP）の産生

S2 細胞に JFH-1 株のコア領域（1-191）を発現させ，上清中のコアタンパク量を測定したところ，培養上清中に放出されていることがわかった．それらの性状を解析するため，ショ糖密度勾配法で分画を行い，コアタンパク質の密度を測定したところ1.06g/mlを示し，Triton X-100処理することで1.15g/mlを示した．これはTriton処理で脂質が除かれたことで密度が変化したと考えられ，脂質との親和性が高いコアタンパク質の特徴を表す結果であると言える．
[渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（３０）HCV ライフサイクルにおける E2 糖鎖の役割

NQ 変異（Asn を Gln に置換）してもウイルスの生活環に影響のない E2 の糖鎖修飾部位アミノ酸の 4 部位（N1, N5, N6, N9）について変異を同時に組み合わせることは可能なのかを調べた．2 部位，3 部位で組み合わせたところ，72 時間後のコアの放出については大きな変化はなかったが，感染性について調べたところ，N1 と N6 を同時に置換した組み合わせでは感染性が著しく減少した．

[渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（３１）E2dHVR タンパク質の機能解析

E2 タンパク質の Hyper variable region(HVR)の機能を解析するために，drosophila S2 細胞を用いて E2dHVR タンパク質（411-714）の産生，精製を行った．S2 細胞に発現させてウエスタンブロットにて 45kDa のバンドを検出した．アフィニティー精製を行い，銀染色で E2dHVR タンパク質の精製度を確認して E2 タンパク質と同様に単量体の割合が高いことを確認した．E2dHVR タンパク質を用いて HCVcc の感染阻害実験を試みた．その結果，E2dHVR は感染阻害活性を有していなかった．

[渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字]

（３２）E2 タンパク質の中和抗体誘導について

S2 細胞を用いて作製した E2 タンパク質は，マウスに免疫することで E2 抗体を誘導するが，HCVcc の感染実験で中和活性を示さなかった．S2 細胞で作製した E2 タンパク質は感染阻害をすることから正常な立体構造を有していると考えられ，この構造が中和エピトープを隠している．つまり HVR 配列が中和エピトープを塞ぐ構造をとると予想し，S2 細胞で作製した E2dHVR タンパク質で免疫を試みた．その結果，E2dHVR タンパク質でも中和抗体は誘導されず，HVR 以外の構造が重要であると考えられる．

[渡邉則幸，伊達朋子，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とその作用メカニズム

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スクリーニングし，さらにそれらの宿主因子の発現を，siRNA を用いてノックダウンさせる事により，ウイルスの増殖に重要な役割を担う宿主因子を同定した．この因子が HCV の生活環のどの過程に，どのようなメカニズムで関与しているのかを明らかにした．

[鈴木亮介，鈴木哲朗（浜松医大），松田麻未，相崎英樹，脇田隆字]

（３４）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，および siRNA screening を行ったところ，翻訳，複製過程に関与している蛋白として ELVL1 を見出し，そのメカニズムについて解析した．

[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（浜松医科大学），相崎英樹，脇田隆字]

（３５）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および 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．HSD11 は NS5A に結合し，NS5A を脂肪滴上に導く作用が示された．

[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（浜松医科大学），脇田隆字]

（３６）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，HCV 感染細胞の代謝物質の網羅的解析（メタボロミクス）を行ったところ，蛋白核酸合成等は低下し，エネルギー代謝は更新，および解糖系は著名に亢進していた．代謝変化のメカニズムの解明を目指し，構造蛋白を恒常的に発現する細胞株，サブゲノムレプリコン細胞でも同様のメタボロミクス解析を行っている．

[松田麻未，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），脇田隆字]

（３７）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，特に感染性粒子放出に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]

（３８）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．この化合物は会合から放出に至るHCV生活環後期過程を阻害すると考えられたが，その詳細な抗HCVメカニズムを解析している．

[内田奈々子，渡士幸一，脇田隆字]

（３９）シクロフィリン阻害剤の抗HCV機構の解析

シクロフィリン阻害剤はHCV NSタンパク質機能を修飾することによりHCV RNA複製を直接阻害することが知られているが，シクロフィリン阻害剤のこれ以外の機能を，HCV粒子産生系を用いて調べている．

[大東卓史，渡士幸一，脇田隆字]

（４０）HCV複製細胞におけるATP局在の解析

生細胞内のATP濃度を可視化するプローブ(ATeam)を用いた解析で，HCV複製細胞の細胞質におけるATP濃度は2 mMから1 mMに半減する一方，複製複合体と考えられる顆粒状の発現部位は5 mMと大幅に亢進していることを確認した．複製阻害剤を添加したところ，10分間の阻害では細胞質／顆粒部分ともにATP濃度が亢進した．2時間阻害した場合，どちらも非複製細胞同等レベルまで低下した．HCV複製細胞におけるATP分布の撹乱はHCV複製に関連していることが示された．

[安東友美，今村博臣（京大），鈴木亮介，相崎英樹，脇田隆字，鈴木哲朗（浜松医大）]

（４１）HCV複製細胞におけるATP制御機構の解析

HCV複製複合体におけるATP濃度の亢進メカニズムを考察するために，ATP濃度を可視化するプローブ（ATeam）を融合したHCV複製系を発現させた細胞の，活性化状態にあるミトコンドリアを染色した．高いATP濃度を示す顆粒状の発現部位は，活性化状態にあるミトコンドリアと近接していた．ミトコンドリアからHCV複製複合体への直接的なATP流入の可能性が示唆された．

[安東友美，今村博臣（京大），鈴木亮介，相崎英樹，脇田隆字，鈴木哲朗（浜松医大）]

（４２）薬剤感受性予測因子のウイルスゲノム上での存在様式

昨年度までに血清中に存在するHCVゲノム配列を全長にわたり決定する手法を開発した．これを用いてHCV陽性患者の血清を経時的に解析し，それぞれ３種類の独立したウイルスゲノム配列を決定した．インターフェロンに対する治療感受性予測因子として報告されているcore 70番のアミノ酸とNS5Aに存在するIRRDR領域について，感受性予測因子が同一のウイルスゲノム上に共存することを初めて確認した．

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

（４３）患者血清内に共存するウイルスゲノムの系統樹解析

HCV陽性患者の血清を経時的に解析し，それぞれ３種類の独立したウイルスゲノム配列を決定した．近縁なHCVゲノム配列をデータベース上から選択し併せて系統樹を作成したところ，患者由来の全ての配列が単一のクラスターを形成したことから，複数回感染の機会があったわけではないことが示唆された．その中でインターフェロンに対する感受性予測因子を持つゲノム配列あるいは持たないゲノム配列は，それぞれ単一のクラスターを形成した．感受性株と非感受性株が，患者内で独立して進化している可能性が示唆された．

[安東友美，相崎英樹，脇田隆字]

（４４）クロマトグラフィー法を用いたC型肝炎ウイルス粒子精製方法の検討

HCVワクチンを開発するためにHCV粒子の細胞培養上清からの効率的な分離精製が大きな課題となっている．そこでスケールアップが容易な精製方法として，クロマトグラフィー法を用いたHCV粒子の精製方法を考案し，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]

（４５）動物モデルを用いたＣ型肝炎ウイルス粒子ワクチンの安全性および免疫誘導効果の検討

培養細胞由来HCV粒子を免疫抗原とする不活化HCV粒子ワクチンの有用性を評価するために，マウスにおいて抗体産生を中心としたＢ細胞の免疫誘導能について，またCD4 T細胞およびCD8 T 細胞に対する免疫誘導能について検討した．さらに，ヒトにより近縁であるマカク属サルを用いてHCV粒子ワクチンの安全性と免疫誘導能を評価した．

[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]

４．Ｅ型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

（１）HEVの細胞吸着・侵入過程を規定する宿主因子の探索

HEV 感染に感受性または非感受性の PLC/PRF/5 サブクローン細胞がそれぞれ複数樹立され，細胞内複製に問題がないことが確認されてきた．更に，感受性と細胞表面の HEV 結合分子の存在には必ずしも相関がないことが判明した．つまり，複数の非感受性サブクローンの存在は，複数の吸着・侵入過程関連宿主因子の存在を示唆している．これら関連因子を同定するため，感受・非感受性サブクローンの二次元電気泳動比較解析に続き，相違構成因子に対する質量分析を行って，複数の感染性規定宿主因子の候補を同定した．更に，マイクロアレイ比較解析を実施し，前者の知見と総合して吸着・侵入過程への関連を解析している．

[塩田智之，石井孝司，吉崎佐矢香，李　天成，脇田隆字]

（２）HEV生活環における構造蛋白Ｃ端領域の必須性

HEV 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 された RNA には全く増殖性がなく，stop codon（TAA）の導入により欠損させたRNA（*amut*）には，一過性のORF2分泌能が確認された．*amut*の粒子形成を確認するため，上清を濃縮・密度勾配遠心した結果，野生株と同一分画に不完全復帰変異体（GTT 他）が見いだされた．更に，長期観察時には，一過性増殖後に完全復帰変異体（GTC）の増殖が確認された．つまり，当該領域はHEV 生活環において必須である．

[塩田智之，石井孝司，吉崎佐矢香，李　天成，脇田隆字]

（３）HEV構造蛋白Ｃ端領域のウイルス粒子形成への役割

野生株との progeny 産生量の比較によって，*amut* には３桁以上の RNA パッケージング効率の低下が推定された．経時的な遺伝子解析によって判明した復帰変異体出現以前での大量培養によって，*amut* のパッケージングを確認した．蛋白質配列・免疫学的解析から，*amut* 粒子のＣ端側での更なるプロセシングが示唆された．また，大半の *amut* 粒子が，感染性の無いRNA取込み異常粒子であることが確認された．つまり，Ｃ端52アミノ酸は正確なパッケージングを促進し，粒子の安定性を向上させている．

[塩田智之，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）HEVの非構造蛋白中の複製能を規定する残基の解析

HEV の構造蛋白（ORF1）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，１つのアミノ酸変異のみで複製能を喪失するアミノ酸を複数同定した．これらのアミノ酸残基はHEVの複製に重要な働きを担っていると推察される．また，システインプロテアーゼの活性中心のシステインに変異を導入すると複製能がなくなることから，本プロテアーゼはウイルス複製に必須であることが示された．今後，複製能を喪失するアミノ酸変異が及ぼしている影響について解析する．

[石井孝司，吉崎佐矢香，李　天成，脇田隆字]

（５）HEVのレプリコン構築の試み

HEV の複製機構を解析するためにレプリコンの構築を試みた．HEVの感染性クローンの構造蛋白を発現するORF2領域を，HCV IRES とその下流に各種レポーター遺伝子を連結したもので置換した．全長RNA を合成して PLC/PRF/5 細胞に導入してレポーター遺伝子の発現の確認を行っている．

[石井孝司，吉崎佐矢香，李　天成，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 1:1,600～25,600 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．現在ウイルスの精製条件を検討し，サルを用いて不活化ワクチンの効果を観察している．

［李　天成，*網　康至，*須崎百合子，**武田直和，脇田隆字（*動物管理室，**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）］

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

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 の抗原性と比較した．その結果は G5 と G6 HEV の抗原性が G1, G3, G4 HEV と非常に類似するし，抗 G5, G6 HEV 抗体は G3HEV の培養細胞への感染を阻止した．

［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 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は 16%であったが，Rat HEV 陽性検体が見つからなかった．

［李　天成，*安田俊平，*吉松組子，*有川二郎，脇田隆字（*北海道大学）］

（9）ラット HEV 全長ゲノムのクローニング及び配列の解析

Rat HEV RNA 陽性であるベトナム野生ラット肺組織の 10%乳剤を尾静脈内から実験用ラット（Wistar）に接種し，経時的に採血と採便をし，ウイルス遺伝子を測定した．Rat HEV RNA 陽性便サンプルから RNA を抽出し，RT-PCR 法を用いて Rat HEV 全長配列の増幅に成功した．塩基及びアミノ酸の解析により，ベトナム野生ラット由来の rat HEV はこれまで報告されたもののホモロジーは 77%にとどまり，新しい遺伝子型であることが示唆された．

［李　天成，*網　康至，*須崎百合子，**武田直和，脇田隆字（*動物管理室，**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）］

（１０）E 型肝炎ウイルスに対するラットの感受性

ラット HEV は遺伝子構造上ではヒト HEV と類似するウイルスであり，その病原性やヒトへの感染性などの情報が少なく，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した．その結果は Genotype 1, 3, 4 HEV はラットに感染しないが，Rat HEV は実験用ラットへの感染が成立した．

［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た．N 末端から

100個のアミノ酸を欠失させた上に，C末端から593番目まで52個のアミノ酸を欠損させても粒子の形成には影響を与えなかったが，これ以上欠失させると粒子は形成されなくなった．したがって，粒子形成にはC末端は593番目のアミノ酸までが必須であった．N末端の解析は進行中である．

[李　天成，片岡紀代（感染病理部），脇田隆字]

（１２）中国広州におけるラット疫学調査

これまでにRat HEVはドイツ，アメリカ，ベトナムから分離された．rat HEVの感染は世界範囲に広がっている可能性がある．今回我々，中国広東省で野生ラットの血清及び糞便検体を採取し，ELISA法を用いて抗ラットHEV IgGおよびIgMを検査した．これまでに169血清検体を検査した結果32検体は抗体陽性であり，抗体保有率は18.9%であった．これから，さらに検体を採取し，rat HEV遺伝子を検査して新しい遺伝子型の存在の有無を同定する．

[李　天成，*黎　薇，*柯　昌文，脇田隆字（*中国広東CDC）]

（１３）サル由来HEVの感染性および全長配列の解析

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．現在，M-HEVの全長配列は解析され，Ｇ３に属することが明らかになった．

[李　天成，*網　康至，*須崎百合子，脇田隆字（*動物管理室）]

Ⅳ．その他のウイルスに関する研究

（１）ヒトポリオマーウイルス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る．現在までTSVの増殖細胞系は確立されておらず，TSVの複製や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．372人健常日本人血清を調べた結果，日本における TSV 抗体保有率は50%であることが明らかになった．

[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＞

第１室：

承認前検査

（１）弱毒生ロタウイルスワクチン（ロタリックス）の承認前検査

[村上耕介，戸高玲子，朴　英斌，片山和彦，脇田隆字]

（２）弱毒生５ロタウイルスワクチン(５価)のロタテック承認前検査

メルク萬有社が申請したロタウイルスワクチン（ロタテック）の承認前検査を実施した．

[藤井克樹，下池貴志，村上耕介，戸高玲子，朴　英斌，片山和彦，脇田隆字]

（３）不活化ポリオワクチン（ソークワクチン）の承認前試験

サノフィパスツール社が申請した不活化ポリオワクチン（ソークワクチン）の承認前試験を行った．

[染谷雄一，白土東子，ハンスマン・グラント，朴　英斌，片山和彦，脇田隆字]

（４）DPT-sIPV化血研（クアトロバック）の承認前検査

[染谷雄一，白土東子，朴　英斌，下池貴志，白土東子，村上耕介，藤井克樹，戸高玲子，他ウイルス第二部職員，片山和彦，脇田隆字]

（５）DPT-sIPV化血研（テトラビック）の承認前検査

[染谷雄一，白土東子，朴　英斌，下池貴志，村上耕介，藤井克樹，戸高玲子，他ウイルス第二部職員，片山和彦，脇田隆字]

第２室：

平成23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．ポリオ感染源調査由来糞便検体から長野県で分離されたポリオウイルス分離株抽出 RNA について，ポリオウイルス同定リアルタイム RT-PCR を行ったところ，ポリオウイルス 2 型(Sabin-like)と同定され，塩基配列解析の結果，ポリオウイルス 2 型ワクチン株と同定された．他のポリオウイルス分離株は，型内鑑別あるいは塩基配列解析の結果，すべてワクチン株と同定された．

第３室：

行政検査

C型肝炎　　1件

行政検査として岡山市より HCV 遺伝子配列同定の依頼があった。院内感染が疑われる C 型急性肝炎の症例と、その感染源の可能性がある慢性C型肝炎症例の血清よりRNAを抽出し、RT-PCR 法にて HCV ゲノムを増幅した後に塩基配列を比較検討した。その結果、得られた HCV ゲノムの配列は相同性が乏しく、院内感染とは考えにくい結果であった。

第５室：

検定業務

（1）A型肝炎ワクチン及びB型肝炎ワクチンのサマリー・ロット・プロトコル（SLP）の作成

A型肝炎ワクチン１社，B型肝炎ワクチン２社の SLP を作成した．現行の自家試験記録に加えて各処理日付・温度等の製造工程パラメーターや工程管理試験の結果も検討できるように考慮した．現在，A型肝炎ワクチンとB型肝炎ワクチンそれぞれ１社が SLP 様式を用いた試行に入っている．残る１社についても試行期間中に最低１ロット分の SLP 提出が見込まれている．

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）　　5件

行政検査

A型肝炎　　10件

E型肝炎　　7件

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Matsuhira T, Kaji C, Murakami S, Maebashi K, Oka T, Takeda N, Katayama K. Evaluation of four antiseptics using a novel murine norovirus. Exp Anim 61(1): 35-40, 2012.

2) 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 90(1): 9-16, 2011.

3) Oka T, Mori K, Iritani N, Harada S, Ueki Y, Iizuka S, Mise K, Murakami K, Wakita T, Katayama K. Human sapovirus classification based on complete capsid nucleotide sequences. Arch Virol 157(2): 349-52, 2012.

4) Kitaura K, Fujii Y, Hayasaka D, Matsutani T, Shirai K, Nagata N, Lim CK, Suzuki S, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. High clonality of virus-specific T lymphocytes defined by T cell receptor usage in the brains of mice infected with West Nile virus. J Immunol 187: 3919-30, 2011.

5) Matsutani T, Fujii Y, Kitaura K, Suzuki S, Tsuruta Y, Takasaki T, Ogasawara K, Nishimoto N, Kurane I, Suzuki R. Increased positive selection pressure within the complementarity determining regions of the T-cell receptor beta gene in New World monkeys. Am J Primatol 73: 1082-1092, 2011.

6) Fujii Y, Hayasaka D, Kitaura K, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. T cell clones expressing different T cell receptors accumulate in the brains of dying and surviving mice following peripheral infection with Far Eastern strain of tick-borne encephalitis virus. Viral Immunology 24:291-302, 2011.

7) Someya Y, Shirato H, Hasegawa K, Kumasaka T, Takeda N. Assembly of homogeneous norovirus-like particles accomplished by amino acid substitution. J Gen Virol 92(10): 2320-2323, 2012.

8) Someya Y. From head to toe of the norovirus 3C-like protease. BioMol Concepts 3(1): 41-56, 2012.

9) Shirato H: Norovirus recognition sites on histo-blood group antigens. Frontiers in Virology 3: 177, 2012.

10) Sakaidani Y, Nomura T, Matsuura A, Ito M, Suzuki E, Murakami K, Nadano D, Matsuda T, Furukawa K, Okajima T: O-Linked-N-acetylglucosamine on extracellular protein domains mediates epithelial cell-matrix interactions. Nature Communications, 2: 583, 2012.

11) Hansman GS, Shahzad-Ul-Hussan S, McLellan JS, Chuang GY, Georgiev I, Shimoike T, Katayama K, Bewley CA, Kwong PD. Structural basis for norovirus inhibition and fucose mimicry by citrate. J Virol 86: 284-92, 2012.

12) Hansman GS, Taylor DW, McLellan JS, Smith TJ, Georgiev I, Tame JR, Park SY, Yamazaki M, Gondaira F, Miki M, Katayama K, Murata K, Kwong, PD. Structural basis for broad detection of genogroup II noroviruses by a monoclonal antibody that binds to a site occluded in the viral particle. J Virol 86(7): 3635-46, 2012.

13) De W, Huanying Z, Hui L, Corina M, Xue G, Leng L, Hanri Z, Ling F, Yanling M, Huiqiong Z, Huan Z, Jing K, Caiyun L, Yoshida H, Changwen K. Phylogenetic and molecular characterization of Coxsackievirus A24 variant isolates from a 2010 acute hemorrhagic conjunctivitis outbreak in Guangdong, China. Virology J 9: 41, 2012.

14) Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto M, Abe K, Yamashita K, Hanaoka N, Okabe N, Yoshida H, Yasui Y, Kobayashi M, Fujii Y, Tanaka H, Yamamoto M, Shimizu H: Hand, foot, and mouth disease caused by coxsackievirus A6, Japan, 2011. Emerg Infect Dis 18: 337-339, 2012.

15) Kataoka C, Kaname Y, Taguwa S, Abe T, Fukuhara T, Tani H, Moriishi K, Matsuura Y. Baculovirus GP64-mediated entry into mammalian cells. J Virol 86: 2610-20, 2012.

16) Nishimura Y, Shimizu H: Cellular receptors for human enterovirus species A. Front Microbiol 3: 105, 2012.

17) Sasaki J, Ishikawa K, Arita M, Taniguchi K. ACBD3-mediated recruitment of PI4KB to picornavirus RNA replication sites. EMBO J 31: 754-766, 2011.

18) Jiang H, Weng L, Zhang N, Arita M, Li R, Chen L, Toyoda T. Biochemical characterization of enterovirus 71 3D RNA polymerase. Biochim Biophys Acta 1809: 211-219, 2011

19) Arita M, Iwai M, Wakita T, Shimizu H. Development of poliovirus neutralization test with poliovirus pseudovirus for measurement of neutralizing antibody titer in human serum. Clin Vaccine Immunol 18: 1889-1894, 2011.

20) Arita M, Masujima S, Wakita T, Shimizu H. Particle Agglutination Method for Poliovirus Identification. J Vis Exp 50, doi: 10.3791/2824, 2011.

21) Konno M, Yoshioka M, Sugie M, Maguchi T, Nakamura T, Kizawa M, Umegaki Y, Yasutake H, Ishikawa Y, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi T, Shimizu H, Fujimoto T: Fourteen years' surveillance of coxsackievirus group A in Kyoto 1996-2009 using mouse, RD-18S, and Vero Cells. Jpn J Infect Dis 64: 167-168, 2011.

22) Iwai M, Horimoto E, Obara M, Obuchi M, Kurata T, Kawagoshi K, Nakamura S, Shimizu H, Yoshida H, Takizawa T: Endemic transmission of echovirus 30 in Toyama, Japan in 2010 is verified by environmental surveillance. Jpn J Infect Dis 64: 165-167, 2011.

23) Murayama A, Kato T, Akazawa D, Sugiyama N, Date T, Masaki T, Nakamoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Yokosuka O, Nomoto A, Wakita T: Production of infectious chimeric hepatitis C virus genotype 2b harboring minimal regions of JFH-1. J Virol 86(4): 2143-2152, 2012.

24) Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Masaki T, Tomonaga M, Muhammad A, Kato T, Matsuura Y, Watanabe H, Wakita T, Suzuki T. Role of the endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) pathway in degradation of hepatitis C virus envelope proteins and production of virus particles. J Biol Chem 286: 37264-37273, 2011.

25) Saeed M, Shiina M, Date T, Akazawa D, Watanabe N, Murayama A, Suzuki T, Watanabe H, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Choi Y, Krawczynski K, Liang TJ, Wakita T, Kato T. In vivo adaptation of hepatitis C virus in chimpanzees for efficient virus production and evasion of apoptosis. Hepatology 54: 425-433, 2011.

26) Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Munakata T, Nomoto A, Nakamoto S, Yokosuka O, Watanabe H, Wakita T, Kato T. Development of recombinant hepatitis C virus with NS5A from strains of genotypes 1 and 2. Biochem Biophys Res Commun 410: 404-409, 2011.

27) Tomomi Ando, Hiromi Imamura, Ryosuke Suzuki, Hideki Aizaki, Toshiki Watanabe, Takaji Wakita, Tetsuro Suzuki. Visualization and measurement of ATP levels in living cells replicating hepatitis C virus genome RNA. PLoS Pathogens 8(3): e1002561, 2012.

28) Morohashi K, Sahara H, Watashi K, Iwabata K, Sunoki T, Kuramochi K, Takakusagi K, Miyashita H, Sato N, Tanabe A, Shimotohno K, Kobayashi S, Sakaguchi K, Sugawara F. Cyclosporin A associated helicase-like protein facilitates the association of hepatitis C virus RNA polymerase with its cellular cyclophilin B. PLoS One 6: e18285, 2011.

29) Salim MT, Aoyama H, Sugita K, Watashi K, Wakita T, Hamasaki T, Okamoto M, Urata Y, Hashimoto Y, Baba M. Potent and selective inhibition of hepatitis C virus replication by novel phenanthridinone derivatives. Biochem Biophys Res Commun 415: 714-719, 2011.

30) Winkelmann ER, Widman DG, Suzuki R, Mason PW. Analyses of mutations selected by passaging a chimeric flavivirus identify mutations that alter infectivity and reveal an interaction between the structural proteins and the nonstructural glycoprotein NS1. Virology 421: 96-104, 2011.

31) Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. The structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. J Gen Virol 92: 2082-7, 2011.

32) Li TC, Ochiai S, Ishiko H, Wakita T, Miyamura T and Takeda N. A retrospective study on imported hepatitis E in Japan. Travel Med Infect Dis 10(2): 80-85, 2012.

33) Li TC, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Koma T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Mai LT, Hoa NT, Yamashiro T, Hasebe F, Takeda N, Wakita T. Characterization of self-assembled virus-like particles of rat hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. J Gen Virol 92: 2830-2837, 2011.

34) Iwasaki Y, Mori K, Ishii K, Maki N, Iijima S, Yoshida T, Okabayashi S, Katakai Y, Lee YJ, Saito A, Funai H, Kimura N, Ageyama N, Yoshizaki S, Suzuki T, Yasutomi Y, Miyamura T, Kannnagi M, Akari H. Long-term persistent GBV-B infection and development of a chronic and progressive hepatitis C-like disease in marmosets. Front Microbiol 2: 240, 2011.

35) Ishii K, Miyamura T, Kanda T, Tawada A, Sekimoto T, Wu S, Nakamoto S, Arai M, Fujiwara K, Imazeki F, Kiyohara T, Wakita T, Yokosuka O. Possible widespread presence of hepatitis A virus subgenotype IIIA in Japan: recent trend of hepatitis A causing acute liver failure. Hepatol Res 42: 248-253, 2012.

36) Ishii K, Li TC, Yoshizaki S, Shiota T, Kato T, Takeda N, Wakita T. Cloning of permissive and nonpermissive human hepatoma cell lines for hepatitis E virus infection. Hepato Inter 6: 292, 2012.

37) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Wakita T, Shimada T, Nakamura N, Nakashima K, Tada Y, Noda M. Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. J Clin Virol 53: 219-224, 2012.

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

39) Li TC, Song S, Yang Q, Ishii K, Takeda N, Wakita T. A cell culture system for hepatitis E virus. Hepato Inter 5: 202, 2011.

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

41) Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. PLoS One. 6(10): e26620, Epub Oct 25, 2011.

42) Arnaud N, Dabo S, Akazawa D, Fukasawa M, Shinkai-Ouchi F, Hugon J, Wakita T, Meurs EF. Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. PLoS Pathog. 7(10): e1002289 2011.

43) Kamada K, Shoji I, Deng L, Aoki C, Ratnoglik SL, Wakita T, Hotta H. Generation of a recombinant reporter hepatitis C virus useful for the analyses of virus entry, intra-cellular replication and virion production. Microbes Infect 14(1): 69-78, 2012.

44) Tamura R, Kanda T, Imazeki F, Wu S, Nakamoto S, Tanaka T, Arai M, Fujiwara K, Saito K, Roger T, Wakita T, Shirasawa H, Yokosuka O. Hepatitis C Virus nonstructural 5A protein inhibits lipopolysaccharide-mediated apoptosis of hepatocytes by decreasing expression of Toll-like receptor 4. J Infect Dis 204(5): 793-801, 2011.

45) Ikeda M, Kawai Y, Mori K, Yano M, Abe K, Nishimura G, Dansako H, Ariumi Y, Wakita T, Yamamoto K, Kato N. Anti-ulcer agent teprenone inhibits hepatitis C virus replication: potential treatment for hepatitis C. Liver Int. 31(6): 871-80, 2011.

46) Wakita T, Suzuki T, Evans MJ, Shimotohno K, Chayama K, Matsuura Y, Hijikata M, Moriishi K, Seya T, Enomoto N, Koike K, Kato N, Kanto T, Hotta H. Will there be an HCV meeting in 2020? Summary of the 17th international meeting on hepatitis C virus and related viruses. Gastroenterology 141(1): e1-5, 2011.

47) Hikosaka K, Noritake H, Kimura W, Sultana N, Sharkar MT, Tagawa Y, Uezato T, Kobayashi Y, Wakita T, Miura N. Expression of human factors CD81, claudin-1, scavenger receptor, and occludin in mouse hepatocytes does not confer susceptibility to HCV entry. Biomed Res 32(2): 143-50, 2011.

48) Honda M, Takehana K, Sakai A, Tagata Y, Shirasaki T, Nishitani S, Muramatsu T, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S. Hokuriku Liver Study Group. Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C. Gastroenterology. 141(1): 128-40,140.e1-2, 2011.

49) Aly HH, Oshiumi H, Shime H, Matsumoto M, Wakita T, Shimotohno K, Seya T. Development of mouse hepatocyte lines permissive for hepatitis C virus (HCV). PLoS One. 6(6): e21284, 2011.

2. 和文発表

1) 藤井克樹, 片山和彦: IASR 特集, ロタウイルス感染症.

2) 増本久人, 南 亮仁, 野田日登美, 江口正宏, 古川義朗, 鶴田清典, 中田恵子, 左近（田中）直美, 山崎謙治, 高尾信一, Tao Zexin, Xu Aiqiang, Zhang Yong, Xu Wenbo, 藤本嗣人, 花岡 希, 小長谷昌未, 吉田 弘, 清水博之: 国内外における手足口病流行に関与するコクサッキーウイルスA6型の遺伝子解析. 病原微生物検出情報 33: 60-61, 2012.

3) 藤本嗣人,花岡 希, 小長谷昌未, 岡部信彦, 榎本美貴, 小林正明, 吉田 弘, 清水博之: 2011 年に手足口病患者から検出されたコクサッキーウイルスA6型の遺伝子配列. 病原微生物検出情報 33: 61-62, 2012.

4) 武知茉莉亜, 乾 未来, 福島若葉, 中野貴司, 清水博之: 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 (2010 年分) ―中間集計結果. 病原微生物検出情報 33: 63-64, 2012.

5) 清水博之: 手足口病（エンテロウイルス 71）ワクチン開発の現状. 病原微生物検出情報 33: 65-66, 2012.

6) 清水博之: 手足口病の問題点. 小児科 53: 751-758, 2012.

7) 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, 清水博之, 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 感染症の 7 例. 日本小児科学会雑誌 115: 1418-1422, 2011.

8) 榎本美貴, 高井伝仕, 岡藤輝夫, 飯尾 潤, 田中一宏, 近平雅嗣, 花岡 希, 岡部信彦, 谷口清州, 清水博之, 藤本嗣人: 兵庫県における2010～2011年の手足口病患者からのコクサッキーウイルス A6 の検出状況. 病原微生物検出情報 32: 196, 2011.

9) 高山直秀, 崎山 弘, 岡部信彦, 清水博之, 宮村達男, 梅本 哲: BCG ワクチン, ジフテリア・百日咳・破傷風 3 種混合ワクチン, 経口生ポリオワクチン, 麻疹・風疹混合ワクチン 1 期の全国累積接種率 -2009 年度調査報告-. 小児科臨床 64: 963-971, 2011.

10) 清水博之: 不活化ポリオワクチン導入の現状と移行期の問題点. 愛知県小児科医会会報 95: 14-17, 2012.

11) 清水博之: ポリオ. 綜合臨牀 60: 2225-2232, 2011.

12) 清水博之: Sabin 株由来不活化ポリオワクチン開発の必要性と問題点. Bio Clinica 26: 19-23, 2011.

13) ナイーム アシフ, 清水博之: ヒトカルジオウイルス感染症. 臨床とウイルス 39: 132-138, 2011.

14) 清水博之: 不活化ポリオワクチン. 日本臨牀 69: 1604-1608, 2011.

15) 有田峰太郎：ポストポリオシンドローム. 臨床と微生物 38: 069-072: 2011.

16) 加藤孝宣: HCV 培養細胞モデルの進歩:Replicon, HCVpp, HCVcc. 特集“C 型肝炎のすべて 2012” 肝胆膵 63: 899-903, 2011.

17) 藤田めぐみ, 加藤孝宣, 坂本直哉: HCV による自然免疫系の抑制機構: NS3, NS4B. 特集“C 型肝炎のすべて 2012” 肝胆膵 63: 1107-1111, 2011.

18) 田中純子, 小山富子, 相崎英樹: C 型肝炎ウイルス (HCV)による感染. 日本臨床ウイルス学会 臨床とウイルス 臨床とウイルス別冊 日本臨床ウイルス学会 40: 28-35, 2012.

19) 相崎英樹, 脇田隆字: HCV 感染における脂質代謝の変化とメタボロミクス解析, 肝胆膵, 東京, 2011: 948-953.
20) 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, 日本臨床社, 大阪, 2011: 59-63.
21) 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 日本ウイルス学会雑誌ウイルス 60: 87-92, 2011.
22) 石井孝司, 脇田隆字: 海外における A 型肝炎集団発生 −わが国への警鐘− 化学療法の領域 印刷中
23) 石井孝司: 2010 年春季の A 型肝炎の diffuse outbreak の分子疫学的解析 消化器内科 54: 233-238, 2012.
24) 石井孝司: B 型肝炎の現状とワクチン 愛知県小児科医会会報 94: 38-46, 2011.
25) 石井孝司, 清原知子: A 型肝炎の血清保有状況と最近の流行状況 小児科 52: 1819-1825, 2011.
26) 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 52: 497-502, 2011.
27) 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.
28) 李 天成: 我が国における E 型肝炎の疫学と最近の動向 日本臨床 69:573-578, 2011.
29) 石井孝司, 李 天成: E 型肝炎 公衆衛生 75: 43-46, 2011.

3.その他

1) Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status, Japan: WHO report, 2011.
2) 清水博之: 「ポリオワクチン」「予防接種」の項を担当, 免疫の事典, 282-283, 425, 朝倉書店, 2011.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Oka T, Hansman GS, Murakami K, Wakita T, Katayama K, SaV study group of Japan: Human sapovirus classification scheme based on pairwise distance analysis of entire capsid nucleotide sequences. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
2) Harada S, Nishimura K, Okada M, Katayama K, Oka T: Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenteritis and genetic analysis of Sapovirus strains between 2002 and 2010 in Kumamoto prefecture, Japan. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
3) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Kanda T, Sato H: Structural features for the substrate recognition by sapovirus 3C-like protease. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
4) Motomura K, Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Sato H, Norovirus Surveillance Group of Japan: Structural dynamics of norovirus GII/4 genome in nature. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
5) Murakami K, Oka T, Todaka R, Wakita T, Matsuda T, Katayama K: Microscopic analysis of human norovirus-like particles bound to Caco-2 cells. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
6) Hayasaka D, Fujii Y, Nagata N, Duc DT, Takamatsu Y, Kitaura K, Tanaka K, Sata T, Suzuki R, Morita K: Multiple mechanisms of severe disease following Japanese encephalitis virus infection. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
7) Lim CK, Ami Y, Fujii Y, Moi ML, Kitaura K, Kotaki A, Morikawa S, Saijo M, Suzuki R, Kurane I, Takasaki T : Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in nonhuman primates. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.
8) Higo-Moriguchi K, Horikoshi-Shirato H, Someya Y, Okuno Y, Kurosawa Y, Taniguchi K: Isolation of cross-reactive human monoclonal antibodies against human noroviruses. IUMS2011 Sapporo, XV

International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

9) Someya Y, Shirato H, Kumagai A, Ito H, Furukawa S, Wakita T, Ishii K, Narimatsu H, Kubota T: Structural basis for recognition of Lewis a antigen by Norovirus. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

10) 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 antipoliovirus activity. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

11) Nishimura Y, Wakita T, Shimizu H: Analysis of amino acid determinants of enterovirus 71 responsible for the PSGL-1-binding phenotype. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

12) Mistry N, Inoue H, Jamshidi F, Storm R, Nishimura Y, Shimizu H, Koike S, Arnberg N: Coxsackievirus A24 variant uses O-Linked glycoconjugates with terminal sialic acid as cellular receptors on human ocular cells. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

13) Asif N, Hosomi T, Nishimura Y, Alam MM, Oka T, Zaidi S, Shimizu H: Comprehensive full length sequence analysis of saffold viruses: Reevaluating classification. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

14) Iwai M, Yoshida H, Obara M, Horimoto E, Obuchi M, Kurata T, Takizawa T: Efficient elimination of polioviruses in sewage water after activated sludge process, evaluated by cell culture and newly developed real time PCR. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

15) Watanabe N, Murayama M, Date T, Kato T, Aizaki H, Wakita T: Identification and analysis of envelope N-glycans required for HCV lifecycle. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

16) Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Nomoto A, Wakita T, Kato T: Strain Specific Susceptibility to The Hepatitis C Virus NS5A Inhibitor. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

17) Murayama A, Sugiyama N, Yoshimura S, Ishihara-Sugano M, Wakita T, Kato T: HuH-7 subclone that supports high HCV production due to high virus assembly. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

18) Suzuki R, Suzuki T, Saito K, Matsuda M, Watashi K, Matsuura Y, Wakita K, Aizaki H: Identification of host factor that interacts with hepatitis C virus NS2 protein and is involved in the viral assembly. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

19) K.Watashi, N.Uchida, R.Suzuki, H.Aizaki, T.Wakita: Identification of small molecules affecting late steps of hepatitis C virus life cycle. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

20) Ando T, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, Sekizuka T, Kuroda M, Wakita T: Characterization of HCV viral population by using multiple sequencing technologies. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

21) Matsumoto Y, Watashi K, Suzuki R, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Wake K, Wakita T, Aizaki H: Antiviral activity of glycyrrhizin against hepatitis C virus in vitro. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

22) Li TC, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Ami Y, Suzaki Y Kataoka M, Takeda N, Wakita T: Characterization of Self-Assembled Virus-Like Particles of Rat Hepatitis E Virus Generated by Recombinant Baculoviruses cell culture. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

23) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Wakita T, Shimada T, Nakamura N, Tada Y, Noda M: Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

24) Noda M, Tada Y, Uema M, Nakashima K, Shimada T, Nakamura N, Kiyohara T, Ishii K: Food hygienic investigation on hepatitis A cases in the spring of 2010, Japan. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

25) Akari H, Iwasaki Y, Mori K, Ishii K, Maki N, Iijima S, Yoshida T, Okabayashi S, Katakai Y, Lee YJ, Saito A: Long-term persistent GBV-B infection and development of a progressive chronic hepatitis C-like disease in marmosets. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

26) Uema M, Aoki N, Aoki S, Furuya Y, Nishio O, Shibata S, Kodaira A, Ishii K, Noda M: Role of imported seafood as a vehicle of hepatitis A viruses. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

27) T Shimoike, H Takagi, T Oka, K Murakami, T Wakita, K Katayama: Visualization of murine Norovirus replication complex in RAW264.7 cells. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

28) T Shimoike, K Nojima, T Wakita, Y Okada: Evaluation of HCV-inactivation in blood products. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

29) H Aizaki, Y Matsumoto, K Goto, K Watashi, R Suzuki, M Fukasawa, K Hanada, S Sato, N Takahashi, Y Matsuura, K Motojima, T Miyamura, T Suzuki , T Wakita, Identification of lipid droplet-associated membrane proteins that are involved in HCV production. IUMS2011 Sapporo, XV International Congress of Virology, Sapporo, 2011.9.11-16.

30) Yoshida H: Environmental surveillance and polio eradication, Hosted by Shandong CDC. Jinan, China, 2012.3.26.

31) Shimizu H: Poliovirus Vaccines; Current Status in Japan. The 5th International Vaccinology Workshop in Japan 2012, Tokyo, 2012.2.19.

32) Shimizu H: Hand, foot, and mouth disease outbreaks in the Asia-Pacific region. Pasteur Institute in Ho Chi Minh City 120 Years for Control and Prevention of Communicable Diseases, Ho Chi Minh City, 2011.11.17.

33) Shimizu H: PSGL-1-dependent and -independent replication of enterovirus 71. The 1st International Symposium of Vaccine Development against Human Hand-Foot-and-Mouth Diseases, ZhuNan, Taiwan. 2011.9.4.

34) Okamoto Y, Masaki T, Murayama A, Wakita T, Kato T: Development of recombinant hepatitis C virus with NS5A from strains of genotypes 1 and 2: virus production and susceptibility to NS5A inhibitor. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

35) Murayama A, Sugiyama N, Yoshimura S, Ishihara-Sugano M, Wakita T, Kato T: Efficient HCV production system using HuH-7 subclone with high virus assembly efficiency. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

36) Moriyama M, Yokokawa H, Akazawa D, Nishimura K, Nakamura N, Mochizuki H, Kato T, Ishii K, Wakita T: Immunological memory response to induce neutralizing immunoglobulin in HCV particles-immunized mice. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

37) Yokokawa H, Akazawa D, Moriyama M, Nakamura N, Kato T, Ishii T, Wakita T: Development of purification method for HCV particles using chromatographic technique. 18th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA,

2011.9.8-12.

38) Aizaki H, Matsumoto Y, Goto K, Watashi K, Suzuki R, Fukasawa M, Hanada K, Sato S, Takahashi N, Matsuura Y, Motojima K, Miyamura T, Suzuki T, WakitaT: Identification of lipid droplet-associated membrane proteins that are involved in HCV production. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

39) Watashi K, Uchida N, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T: Identification and functional analysis of small molecules inhibiting the late step of hepatitis C virus life cycle. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

40) Ando T, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, Sekizuka T, Kuroda M, Wakita T: Discovery of full-length HCV genome quasispecies by deep sequencing. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

41) Goto K, Kimura T, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Miyamura T, Moriya K, Yotsuyanagi H, Koike K, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H: Identification of novel NS5A-associated proteins in the host-cell membrane fraction and their role in HCV life cycle. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

42) Uchida N, Watashi K, Suzuki R, Aizaki H, Chiba J, Wakita T: Halopemide inhibited a post-assembly step in hepatitis C virus life cycle. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

43) Suzuki R, Suzuki T, Saito K, Matsuda M, Watashi K, Matsuura Y, Wakita T, Aizaki H: Signal peptidase complex 1 participates in the assembly of hepatitis C virus through an interaction with NS2. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

44) Watanabe N, Futai K, Suga H, Wakita T: E2 binding peptide identified by RAPID system inhibited HCV infection, 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

45) K.Watashi, H.Sahara, K.Morohashi, K.Iwabata, T.Sunoki, K.Kuramochi, K.Takakusagi, H.Miyashita, N.Sato, A.Tanabe, K.Shimotohno, S.Kobayashi, K.Sakaguchi, F.Sugawara: Identification of a novel cellular RNA helicase-like protein as a target for cyclosporin A that is involved in hepatitis C virus genome replication. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

46) Takebe Y, Uenishi R, Tani H, Suzuki R, Takagi M, Hase S, Liao H, Tsuchiura T, Shinya K, Wakita T, Matsuura Y, Patel A: Small molecules that elicit strong anti-HCV activity through down-modulation of HCV entry receptor. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

47) Fukasawa M, Shirasago Y, Saito K, Murakami Y, Fukazawa H, Suzuki T, Suzuki R, Wakita T, Hanada K, Chiba J: Isolation of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

48) J Law, D Hockman, S Frey, R Khoshy, T Wakita, J Bukh, C Rice, M Houghton, Does a vaccine derived from a single HCV strain elicit broadly cross-neutralising antibodies in humans? 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

49) M Esumi, S Kikuta, H Yamaguchi, S Nakajima, M Ishibashi, T Wakita, Serum and trypsin inhibitors inhibit the early step of hepatitis C virus infection. 18th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Seattle, USA, 2011.9.8-12.

50) Matsumura T, Kato T, Tasaka-Fujita M, Murayama A, Masaki T, Wakita T, Imawari M: 25-hydroxy- vitamin

D inhibits hepatitis C virus replication and production of the infectious viruses. The 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, USA 2011.11.4-8.

51) Watashi K, Uchida N, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T: Screening of small molecules affecting the production of hepatitis B virus. International meeting of molecular biology of hepatitis B virus, Florida, USA, 2011.

52) Shimoike T, Takagi H, Oka T, Murakami K, Wakita T, Katayama K:Sub-localization of Murine Norovirus proteins and its genome RNA: 51st Annual meeting of The American Society for Cell Biology, Denver, Colorado, USA, 2011.12.3-7.

53) Ishii K, Li TC, Yoshizaki S, Shiota T, Kato T, Takeda N, Wakita T: Cloning of permissive and nonpermissive human hepatoma cell lines for hepatitis E virus infection. Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Taipei, Taiwan, 2012.2.16-19.

54) Li TC, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Ami Y, Suzaki Y Suzuki T, Takeda N, Wakita T: Expression of rat HEV virus capsid protein and generation of the virus-like particles. The 22th Conference of the Asian Pacific Association for the studay of the liver, Taipei, Taiwan, 2012.2.16-19.

55) Nakamura N, Shimada T, Tada N, Okabe N, Kiyohara T, Ishii K, Noda M: Diffuse outbreak of hepatitis A suspected by national case based surveillance in Japan, 2010. International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance (IMED 2011), Vienna, Austria, 2011.2.4-7.

56) 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.

57) 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.

58) T Wakita. Hepatitis C Virus Infection and Replication, annual meeting of Prof. Juei-Low Sung's Research Foundation, Taipei, Taiwan, 2011.8.6.

59) T Wakita. HCV RNA replication and drug development. The 8th APASL Single Topic Conference Beijing, China, 2011.10.7.

60) T Wakita. Hepatitis C virus replication in vitro and persistent infection in vivo: mechanistic analysis and antiviral development. Singapore-Japan Forum on Emerging Concepts in Microbiology, National University of Singapore, Singapore, 2011.11.15-16.

61) T Wakita. Hepatitis C virus replication in vitro and persistent infection in vivo: mechanistic analysis and antiviral development, Challenges to overcome Emerging Infectious Diseases in South-eastern Asia. Siran Kaikan, Kyoto Uninversity. Kyoto, 2012.1.13.

62) T Wakita. Hepatitis C virus replication models and anti-viral development, The 1st International Symposium on Latent TGF-beta Activation Reaction. RIKEN Kobe Inst, Ctr. For Delop Biol, Auditorium, Kobe, 2012.2.25.

2. 国内学会

1) 村上耕介, 岡智一郎, 下池貴志, 脇田隆字, 松田 幹, 片山和彦: Immunofluorescence microscopic analysis of human norovirus VLP bound to differentiated Caco-2 cells. 日本農芸化学会 2012 年度大会, 京都, 2012.3.23-25.

2) 岡智一郎: サポウイルスの分子系統解析. 衛生微生物技術協議会, 第32回研究会, 2012.6.3O.

3) 藤井克樹: ロタウイルスの新知見. ウイルス性下痢症研究会, 札幌, 2011.9.10.

4) 村上耕介: カリシウイルスの新知見. ウイルス性下痢症研究会, 札幌, 2011.9.10.

5) 片山和彦, 藤井克樹: ロタウイルス感染症について.

希少感染症診断技術研修会, 東京, 2012.2.22.

6) 白土東子: カリシウイルスと血液型抗原. 第 153 回日本獣医学会学術集会, 2012.3.

7) 宗村徹也, 藤本嗣人, 吉田 弘 , 清水博之, 岡部信彦: SupraMap により作成したエンテロウイルス 71 時空系統樹の解析. 日本感染症学会, 山形, 2011.10.

8) 岡上 晃, 野島康弘, 菊野理津子, 嶋崎典子, 吉田 弘, 篠原克明: 浮遊微生物に対するバイオハザード対策用防護服素材の防護性能評価に関する研究. 第38回日本防菌防黴学会(大阪) 2012.8.30-31.

9) 片岡周子, 要祐喜, 田鍬修平, 阿部隆之, 福原崇介, 谷英樹, 森石恆司, 松浦善治: Baculovirus GP64-mediated entry into mammalian cells. 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011.12.13-16.

10) 川西祐一, Raj Gurung, 山田明徳, 片岡周子, 松浦善治, 中島裕美子, 前川秀彰: バキュロウイルスを用いたカイコゲノムへのトランスポゾン転移実験系の構築. 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011.12.13-16.

11) 坂田幸大郎, 原 詳子, 鈴木哲朗, 渡邊則幸, 相崎英樹, 髙谷大輔, 松本武久, 井本正哉, 脇田隆字, 小嶋聡一: HCV NS3 Protease Mimics TGF-b2 and Activates TGF-b Signals via Type I Receptor. 第 34 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011.12.13-16.

12) 脇田隆字: 新型シーケンサで展開するウイルスゲノム研究. ランチョンセミナー, 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011.12.14.

13) 横川 寛, 森山正樹, 赤澤大輔, 中村紀子, 加藤孝宣, 石井孝司, 脇田隆字: クロマトグラフィー法を用いたC型肝炎ウイルス粒子の精製法の構築. 第34回日本分子生物学会年会, 横浜, 2011.12.13-16.

14) 姫田敏樹, 細見卓司, Naeem Asif, 清水博之, 大桑孝子, 村木 靖, 大原義朗: ヒトカルジオウイルス (Saffold ウイルス)感染性クローンの作製第15回 日本神経ウイルス研究会. 金沢市, 2011.5.

15) 加藤孝宣, 村山麻子, 政木隆博, 相崎英樹, 脇田隆字: 国内献血検体を用いた C 型肝炎ウイルス陽性血漿パネルの作製とウイルス量測定法の評価. 第 47 回 日本肝臓学会総会, 東京, 2011.6.

16) 武田 緑、池田正徳、有海康雄、脇田隆字、加藤宜之: 2種類のヒト肝細胞株を用いたHCV感染レポーターアッセイ系の開発. 第 47 回 日本肝臓学会総会, 東京, 2011.6.

17) 相崎英樹, 多田有希, 松本善弘, 後藤耕司, 渡士幸一, 鈴木亮介, 田中純子, 鈴木哲朗, 岡部信彦, 脇田隆字: 1999 年から 2009 年における日本の C 型急性肝炎の発生状況, 第47回 日本肝臓学会総会, 東京, 2011.6.

18) 相崎英樹, 鈴木哲朗, 脇田隆字: HCV 感染に伴う宿主細胞の脂質代謝の変化と代謝産物のメタボロミクス解析, 第47回 日本肝臓学会総会, 東京, 2011.6.

19) 松浦知和, 丸島秀樹, 前橋はるか, 大川 清, 松本善弘, 永妻啓介, 田中 賢, 高木一郎, 石井雄二, 斎藤勝也, 政木隆博, 相崎英樹: ヒト肝細胞癌細胞の３次元培養系は“肝癌モデル”なのか, “肝臓モデル”なのか?-glucose 代謝からの検討-, 第 47 回 日本肝臓学会総会, 東京, 2011.6.

20) 石井孝司, 清原知子, 島田智恵, 中村奈緒美, 多田有希, 野田 衛, 脇田隆字 : 2010 年春季の A 型肝炎の diffuse outbreak の分子疫学的解析, 第 47 回 日本肝臓学会総会, 東京, 2011.6.

21) 加藤孝宣, 政木隆博, 脇田隆字: 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. シンポジウム 10: C 型肝炎ウイルスの性状と治療の新たな展開. 第15回日本肝臓学会大会, 福岡, 2011.10.

22) 松村卓哉, 加藤孝宣, 井廻道夫: Vitamin D とその代謝産物の抗 HCV 作用の検討. シンポジウム 10: C 型肝炎ウイルスの性状と治療の新たな展開. 第15回日本肝臓学会大会, 福岡, 2011.10.

23) 加藤孝宣, 椎名正明, 脇田隆字: HCV JFH-1 株のチンパンジー感染実験で得られた適応変異株の機能解析. パネルディスカッション４: 肝疾患動物モデルと Translational Research. 第 15 回日本肝臓学会大会, 福岡, 2011.10.

24) 村山麻子, 三代俊治, 脇田隆字, 加藤孝宣: C型肝炎ウイルス粒子の産生効率の良い HuH-7 細胞サブクローンの分離と同定. 第 15 回日本肝臓学会大会, 福岡, 2011.10.

25) 渡士幸一: 数理モデルと肝炎ウイルス解析. 第8回生物数学の理論とその応用, 京都, 2011.

26) 坂田幸大郎, 原詳子, 鈴木哲朗, 渡邊則幸, 相崎英樹, 髙谷大輔, 松本武久, 井本正哉, 脇田隆字, 小嶋聡一: C 型肝炎ウイルス NS3 プロテアーゼによる TGF-βI 型受容体を介した TGF-β シグナルの活性化. 第 25 回肝類洞壁細胞研究会, 東京, 2011.

27) 相崎英樹: C 型肝炎ウイルス研究の進歩と展望, 第 58 回日本感染症学会総会・学術講演会・教育講演, 東京, 2011.

28) 道免和文, 田中博文, 春野政虎, 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, 第 39 回日本肝臓学会西部会, 岡山, 2011.12.

29) 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: Genotype 5 HEV 構造蛋白の発現および抗原性の解析, 第 152 回日本獣医学会学術集会, 堺, 2011.9.

30) 田中聖一, 山本 博, 万年和明, 李 天成: ニッポンザルにおける E 型肝炎ウイルス感染状況. 第 152 回日本獣医学会学術集会, 堺, 2011.9.

31) 上間 匡, 石井孝司, 小原真弓, 田中俊光, 増本久人, 入谷展弘, 斎藤哲也, 吉田徹也, 山下育孝, 柴田伸一郎, 田中智之, 内野清子, 野田 衛: A型肝炎ウイルス検出PCRの高感度化の検証. 第32回日本食品微生物学会, 東京, 2011.10.

32) 野田 衛, 多田有希, 田中智之, 石井孝司: 2010 年の A 型肝炎の分子疫学と食品衛生上の原因究明. 第 32 回日本食品微生物学会, 東京, 2011.10.

33) 山下育孝, 青木紀子, 青木里美, 土井光徳, 古屋由美子, 西尾 治, 石井孝司, 野田 衛: A型肝炎の国内発生における輸入生鮮魚介類の関与. 第32回日本食品微生物学会, 東京, 2011.10.

34) 西村浩一, 原田誠也, 李 天成, 石井孝司, 田中智之, 野田 衛: 熊本県におけるイノシシ, ブタ及びシカの E 型肝炎ウイルス保有状況に関する実態調査. 第 32 回日本食品微生物学会, 東京, 2011.10.

3. その他

1) 村上耕介: ノロウイルスはどんなウイルス？. 第13回静岡ライフサイエンスシンポジウム, 静岡県立大学, 2012.3.17.

2) 西村順裕: 手足口病をおこすエンテロウイルスの感染機構. 日本ウイルス学会北海道支部 第45回夏季シンポジウム, 登別, 2011.7.23-4.

3) 西村順裕: ヒトにおける“口蹄疫!?”手足口病研究の最前線. 山口大学農学部附属中高温微生物研究センター病原微生物部門シンポジウム, 山口, 2012.3.2.

4) 清水博之: ポリオ流行のリスクとポリオワクチン. 第 41 回国立感染症研究所安全連絡協議会, 東京, 2012.3.6.

5) 清水博之: ポリオ根絶とポリオワクチン. 感染研市民セミナー, 東京, 2012.2.25.

6) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画とポリオの疫学. 第 21 回トラベラーズワクチンフォーラム研修会, 東京, 2012.2.18.

7) 清水博之: 不活化ポリオワクチン導入と移行期対策. 第 15 回 日本ワクチン学会学術集会. 東京, 2011.12.11.

8) 清水博之: 不活化ポリオワクチン. 平成23年度感染症危機管理研修会, 東京, 2011.10.13.

9) 清水博之: エンテロウイルス感染症の現状とポリオワクチンについて. 愛知県小児科医会, 弥富市, 2011.9.25.

10) 清水博之: アジア地域におけるエンテロウイルス71感染症の流行. 第 52 回日本臨床ウイルス学会, 津市, 2011.6.

11) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画の現状とポリオワクチンについて. 栃木県小児科医会 学術講演会, 宇都宮市, 2011.5.14.

12) 加藤孝宣: 培養細胞感染増殖系を用いた HCV ライフサイクルの評価とその応用. 大阪大学大学院消化器内科学セミナー, 大阪, 2011.11.28.

13) 渡士幸一: 低分子化合物を利用した肝炎ウイルス学解析. 感染・免疫・炎症・発癌, 札幌, 2011.

14) 渡士幸一: 低分子化合物を利用した肝炎ウイルス学解析. 東京大学医科学研究所第一回感染症国際研究センターシンポジウム, 東京, 2012.

15)　片山和彦、藤井克樹：ロタウイルス感染症について．希少感染症診断技術研修会，東京，2012. 2. 22.

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23年4月1日付で、安部昌子研究員（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）が採用された。

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も通用する品質管理法を導入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一層高まる中で、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、正確な実験室診断技術の開発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や細胞性免疫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。犬ジステンパーウイルス（CDV）は、麻疹ウイルスの近縁ウイルスであり、近年、サルに致死性のアウトブレイクを起こすことが問題になっている。そのため、CDV のヒトに対する危険性についての研究を実施している。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、細胞性免疫に関する研究を行っている。さらに風疹ウイルス増殖の詳細な分子機構の解析を行い、そのことを通じて風疹ウイルスの増殖を抑える治療法の開発を目指している。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、ワクチンの弱毒機構に関する研究を実施している。また、国内、海外の流行株の解析などを実施し、国際的にも貢献するとともに、ムンプスウイルスのさらなる流行実態の解明に努力している。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、感染症を包括的に理解し、また、新しい生命現象の解明を通じて広く人類に貢献することを目指している。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、麻疹ならびに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、麻疹、風疹のみならずムンプスウイルスなどに関して周辺諸国（中国ならびにモンゴル）への診断技術の研修、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や風疹の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。麻疹排除状況が認定されるため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。民間検査センターによる IgM 抗体検査と地方衛生研究所での RT-PCR 法による検査体制が整備されつつあるが、IgM 検査で偽陽性例がある頻度おこることが明らかになった。麻疹類似の発熱発疹性疾患である伝染性紅斑や突発性発疹患者血清の一部が麻疹 IgM 陽性になる事が判明し、これらが麻疹報告数を増加させている事が考えられた。麻疹が減少した現在では RT-PCR 法の併用や臨床経過、疫学情報等を考慮した診断が重要と考えられた。また、RT-PCR 法の実施数が増加したこともあり麻疹報告数の約 40%で麻疹ウイルスの遺伝子型解析がなされた。検出された遺伝子型は D4、D9、D8、G3 であり、ほとんどが海外からの輸入株かそれらからの関連株である可能性が考えられた。また 2006-2008 年の麻疹流行の主流であった D5 株は検出されず、D5 型麻疹ウイルスの伝播はほぼ遮断されたと考えられた。今後はより精度の高い診断ができる体制を検討していく。[駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、竹田誠、麻疹、風疹レファレンスセンター、地方衛生研究所]

2. 小児臓器移植児にたいするワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

継続的に免疫抑制剤を服用するために免疫機能が低下している生体肝移植児は、感染症に対する抵抗性が低下しているために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が、現在までのところ、患者へのワクチンスケージュール、免疫応答に関しての研究報告は極めて少ない。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細胞性免疫能について IFN-γELISPOT、 Real time PCR 法を用いた解析進めている。予備実験として行った成人男子の末梢血リンパ球を用いた試験では、ELISPOT 法、Real time PCR 法ともにマイトジェン刺激による IFN-γ陽性反応を検出ができた。今後、さらに予備実験を重ねて実験系の最適条件を決定し、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、宮田一平、宮入烈、福田誠：生育医療センター、斉藤昭彦：新潟大学医学部小児科]

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

麻疹ウイルスをベースとした組換えワクチンに関する研究は、インフルエンザ、SARS、マラリア、B 型肝炎、RSV など、様々な感染症について報告されている。本研究は、本邦で使用されているワクチン株、AIK-C をベースとした 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 遺伝子をそれぞれ単独、または組み合わせた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。現在のところ、HIV 遺伝子を組み込んだ組換え麻疹プラスミドが構築できており、リバースジェネティクスによるウイルスの回収を行っている。[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. SSPE 患者由来SI 株の組換えウイルス作製とそのエンベロープタンパク質の解析

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）は、麻疹ウイルスの持続感染により生じる。SSPE 患者より分離されたSI 株をもとにAcGFP を発現する組換えウイルスおよびそのエンベロープタンパク質 M、F、H 発プラスミドを作製し、麻疹野外分離株に由来するIC 株との比較を行った。M タンパク質発現プラスミドの細胞内分布の解析から、SI 株では、SSPE 患者分離株に特徴的な M タンパク質の機能不全を持つことが推測された。また、組換えウイルスによる感染細胞の解析と発現プラスミドの細胞融合解析からF タンパク質の細胞質内 tail の変異にくわえ、F タンパク質 300 番目のアミノ酸変異による細胞融合能の低下と H タンパク質のアミノ酸変異によるウイルス受容体利用能の変化が生じていることが明らかになった。

［關文緒、染谷健二、田原舞乃、中津祐一郎、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によりこれまでに作製した、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を用いた。これらの組換えウイルスを細胞に感染させた後、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特定のエンドソームと共に細胞内で移動し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. 麻疹ウイルス単一血清型決定の分子基盤

本研究では、Hタンパク質の構造解析のデータをもとに、組換えウイルスを用いた詳細なウイルス学的解析ならびにタンパク質相互作用の生化学的解析を実施し、Hタンパク質上の６つのエピトープを同定するとともに、麻疹ウイルスの単一血清型の分子基盤を明らかにした。解析結果から、保存されているエピトープについての重要な知見は、（1）受容体結合に直接関与する多くのアミノ酸自身が、ひとつの保存エピトープを構成していること、（2）また、別の保存エピトープは、Hタンパク質二量体同士が相互作用して四量体を形成する接触面、ならびに、Fタンパク質との相互作用に関係する領域の双方に位置すること、すなわち、ともに機能的構造的にアミノ酸変化を許容し難いということが明らかになった。ただし、ウイルスの増殖性の大幅な低下、ならびに受容体利用能の一部消失を伴うことにより、６つの全エピトープにアミノ酸変異を導入し、全エピトープの抗原性（モノクローナル抗体への反応性）を変化させることができた。しかし、このような（ウイルスの高度な弱毒化を伴う）自然界では起こり得ないと想定される大幅な改変によってもワクチン血清による中和の程度に変化はなかった。これらの結果から、Hタンパク質の抗原エピトープがアミノ酸変異を許容し難いことに加えて、ワクチンにより得られる抗体が、保存エピトープ３カ所を含む多くのエピトープに対して同時に、しかも強力に働いていると考えられ、今後も麻疹ウイルスの抗原性変化は生じ得ないであろうことを、科学的に立証した。[田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠]

7. カニクイザルから分離されたジステンパーウイルス（dV株）のSLAM及びNectin4指向性の解析

イヌ、ヒト、サルのSLAM発現Vero細胞及びイヌ、ヒト、サルのNectin4 発現Vero細胞を用いて、dV株の各細胞でのウイルス増殖能および巨細胞形成能を解析した。SLAMのアミノ酸相同性は、ヒトとサルで97%、ヒトとイヌでは64%、サルとイヌでは67%であった。イヌ及びサルのSLAMにおいてdV株は共に効率よく増殖したが、ヒトのSLAMでは効率よく増殖しなかった。Nectin4のアミノ酸相同性は、ヒトとサルで99%、ヒトとイヌでは94%、サルとイヌでは94%であった。各動物種において顕著な差は認められなかった。dV株はサルのSLAMならびにサルNectin4を効率良く使え、サルの免疫系細胞に効率よく感染し増殖することができ、その後上皮系細胞にも効率よく感染したと考えられ、これら結果はサル感染実験の結果と一致した。興味深いことにdV株はヒトのSLAMを介した感染効率は低いことから、このままではヒトへの脅威とはならないと考えられた。[酒井宏治、關文緒、田原舞乃、中津祐一郎、大槻 紀之、染谷健二、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、西條政幸*、森川茂*：*ウイルス第一部]

8. 野外分離イヌジステンパーウイルスの上皮細胞での増殖性に関する研究

我々はイヌジステンパーウイルス（CDV）が麻疹ウイルスと同様にnectin4を受容体として利用可能であるか検討するため、イヌ及びヒトnectin4発現Vero細胞（Vero/dNectin4、Vero/hNectin4細胞）を作製し、両細胞での野外分離CDV株の増殖および巨細胞の形成能を調べた。この結果通常のVero細胞ではCDVは巨細胞を形成しないが、Vero/dNectin4細胞では効率よく巨細胞を形成し、CDVにおいてもnectin4を受容体として利用できることが示された。しかし、ヒトnectin4を発現するヒト肺胞上皮細胞であるH358細胞ではCDVの増殖は強く抑制されていた。CDVをH358細胞で８継代することにより、H358細胞で効率よく増殖するよう馴化させることに成功した。H358細胞馴化CDVのH遺伝子の配列をPCRダイレクトシークエンスで決定し親株との配列を比較したところ、H遺伝子の変異は認められず、馴化の仕組みが受容体の特異性の変化によるものでないことを確認した［大槻紀之、關文緒、酒井宏治、Watanyoo Pratakpiriya[1]、伊藤由梨[2]、福原秀雄[2]、前仲勝実[2]、黒田誠[3]、山口良二[1]、竹田誠：1:宮崎大学獣医病理学研究室、2:北海道大学薬学研究院生体分子機能学、3:病原体ゲノム解析センター］。

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に関する研究

日本で承認されている風疹ワクチン株５株は、いずれも低温馴化によって樹立された温度感受性株（高温で増殖しない）である。これまでにTO-336およびKRTワクチン株のプロテアーゼ領域内のアミノ酸置換が温度感受性に関与していることを示してきた。今回は松浦株の温度感受性獲得機構について検討した。その結果、松浦株においてはプロテアーゼの変異は単独では温度感受性に影響を与えず、TO-336およびKRT株とは異なった機構で温度感受性を獲得していることが判明した。また松浦ワクチン株においてはMT,Pro,RdRpおよび構造タンパクのアミノ酸配列を親株のそれに同時に置換すると39℃で増殖したことより本ワクチン株の温度感受性獲得には複数のウイルスタンパクが関与していることが強く示唆された。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、阿保均、駒瀬勝啓、竹田誠、森嘉生]

2. 風疹ウイルス遺伝子検出RT-PCR法の改良

病原体検出マニュアル「風疹」に記載されているRT-PCR法において、プライマーA-Dセットを用いた方法ではプライーのミスマッチがあり、2011年に地方流行を引き起こした遺伝子型2Bウイルスを検出できない可能性があることを明らかにした。そこで、新たにNS領域を増幅するプライマーを設計し、遺伝子型1a, 1Eおよび2Bウイルスの検出感度を検討した。その結果、NS領域増幅プライマーセットは、いずれの遺伝子型ウイルスに対しても、病原体検出マニュアル記載のプライマーA-Dセットおよび E1P5-E1P8 より感度良く検出できることが明らかとなった。さらにプライマーNS増幅部位に150塩基を挿入した陽性コントロールRNAを作製した。このコントロールRNAをプライマーセットNSで増幅すると予想されるサイズの増幅産物が認められ、容易に野生型ウイルス由来の増幅産物と判別可能であり、検査時の実験室コンタミネーションの危険性を低減できるものと期待できる［森嘉生、阿保均、後藤慶子、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、駒瀬勝啓］。

3. 風疹ウイルス遺伝子検出RT-LAMP法の検討

すべての遺伝子型の風疹ウイルス遺伝子を特異的に検出でき、臨床検査に使用可能なRT-LAMP法の確立を目指し、検討をおこなった。昨年までに非構造蛋白質コード領域の3’末端側を増幅するRT-LAMP法を構築できたため、RT-nested PCRで風疹ウイルス陽性が確認されている臨床検体からの検出を試みた。しかし、8検体中1検体でしか検出ができず、RT-nested PCRより感度が悪いことが示唆された。また、新たに非構造蛋白質コード領域の5’末端側を増幅するRT-LAMP法を設計した。さらに、米国CDCへ出張し、RT-LAMP法で、すべての遺伝子型の風疹ウイルスが検出可能であることを明らかにした。すべての遺伝子型の風疹ウイルスは米国CDCより分与を受けた［岡本貴世子、阿保均、倉田貴子*、加瀬哲男*、大槻紀之、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、森嘉生：*大阪府立公衆衛生研究所］。

4. 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

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。本研究ではこのような児に対して効果的で安全なワクチン接種を行うための基礎的データを収集することを目的とし、風疹に対する細胞性免疫機能の評価を移植前後の患者について評価できるようにELISPOT法の条件検討を行った。MRワクチン接種後のHLA-A24/A2の健常ヒト末梢血単核球（PBMC）を用いたT cell proliferation assayでは、不活化精製ウイルス濃度依存的にT cellの増殖が認められた。既報の知見も考え合わせ、ウイルス抗原の至適濃度を決定した。また、ワクチン接種前後のPBMCを用いたIFN-γ ELISPOTアッセイでは1-2×10^5cells/wellの条件で良好な結果が得られた。さらに検体数を増やして検討を行った上で、臨床検体PBMCを用いた検討を行う予定である。[岡本貴世子、竹田誠、斉藤昭彦*：*国立生育医療センター]

5. 風疹ウイルスのcapsid蛋白質とp150蛋白質の相互作用に関する解析

風疹ウイルスの構造蛋白質capsidと非構造蛋白質p150は感染細胞内で共局在するが、その生物学的意義は不明である。本研究ではcapsid蛋白質におけるp150との共局在に重要な責任部位の同定を試みた。N末端50アミノ酸を欠損させたcapsid変異体は、p150との共局在が失われた。さらにN末端領域のアラニン置換変異体を用いた検討では、アミノ酸９位、12位、16位および23位のメチオニン、ロイシン、ロイシン

およびロイシンが重要であることが明らかとなった。Capsid 蛋白質の構造予測から、N 末端領域は coiled-coil 構造を取り、特に共局在に重要なアミノ酸残基は coiled-coil 構造の疎水性面を形成することが示唆された。これらのことから capsid 蛋白質と p150 蛋白質の相互作用には、capsid 蛋白質の coiled-coil 構造が重要であることが示唆された。[坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、森嘉生]

6. 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。昨年度までに風疹ウイルスのメチルトランスフェラーゼ／プロテアーゼである p150 蛋白質およびゲノム複製中間体の二本鎖 RNA は形質膜で共局在することを明らかにし、形質膜が風疹ウイルスゲノム複製の場であることを示唆した。本年度は RNA dependent RNA polymerase である p90 蛋白質を大腸菌で発現させ、得られた精製 p90 を免疫して特異抗体を作製した。抗 P90 抗体を用いた間接蛍光抗体法では、p90 蛋白質は感染細胞の細胞質内に拡散して存在していたが、一部の p90 は、形質膜に局在する二本鎖 RNA の局在部位近傍に集合していることが明らかとなった。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強く示唆された。[森嘉生、後藤慶子、坂田真史、岡本貴世子、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で 2010～2011 年の間に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。16 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 cDNA の配列を決定したところ、9 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、3 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 9～17 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. リバースジェネティクスによって作製したムンプスウイルスの病原性復帰と遺伝的多様性との関連性に関する研究

ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する上でも、また新規ワクチンの開発や既存のワクチンの品質管理においても重要である。我々は、リバースジェネティクス法を確立し、強毒株 Y213 から組換えウイルス rY213 を作成した。しかし、rY213 は高度に弱毒化しており原株の性状を反映していなかった。その原因は rY213 の遺伝的多様性の低下によるものと推定された。そこで r213 の遺伝的多様性を変異原(リバビリン)処理によって人為的に増加させたところ r213 の病原性が原株と同程度に回復した。リバビリンによる病原性復帰の原因を調べるために、この病原復帰ウイルスのより詳細なゲノム解析を行った。その結果、病原復帰ウイルスには全てのクローンに共通して P 遺伝子と L 遺伝子内に 1 ヶ所ずつアミノ酸置換が存在することが判明した。そこで、これらの変異を 1 つずつ、あるいはその両方を rY213 に導入した組換えウイルスを作製したところ、いずれの組換えウイルスにおいても新生ラットに対する病原性が復帰した。これらの結果から、rY213 の病原性復帰にはゲノムの多様性ではなく、P 遺伝子と L 遺伝子内の変異が直接関与していることが証明された。[木所稔、齋加志津子*、加藤　篤、*千葉県衛生研究所]

3. 日本国内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

国内で流行するムンプスウイルスの経時的な分子疫学的解析は、国内での流行動態を深く理解するためにも、ワクチン対策上においても重要である。我々は 1993 年から 2011 年にかけて三重県内で分離されたムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行い、流行株の経年変化について解析した。

1990 年代 (1993-1998 年) は B 型と J 型がほぼ拮抗する状態で流行の主流を占めていたことが明らかになった。しかし、1999 年になって突然 G 型と L 型に取って代わられ、2000 年以降は G 型が流行の主流を占め、その傾向は現在まで継続していることが判明した。結局 L 型の流行は 1999 年の 1 年間で途絶えていた。1999 年以降流行している G 型は大きく 2 つの系

統に分かれ、年によって流行する系統が一方から他方へと入れ替わることが判明した。全く同じ配列を持ったウイルスが首都圏でも分離されていることから、2 系統の G 型の流行は全国的な傾向と考えられる。こうした G 型の流行は全世界的な傾向でもあるが、日本国内で流行している G 型ウイルスと欧米各国でアウトブレイクを引き起こしているウイルスとでは系統学的に異なっており、国内流行株の由来は不明である。［木所稔、庵原俊昭*、*国立病院機構三重病院］

4. 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

生ワクチンの品質管理のために、弱毒化の分子的要因を探ることは重要である。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)の性状を比較したところ、原株はVero 細胞で大きなプラックを形成し、増殖力が高い特徴があった。ゲノムの塩基配列から 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)にアミノ酸置換が同定された。クローン化したF遺伝子による融合像で原株が大きいとは言えず、F のアミノ酸変異だけでは二つのウイルスの違いを説明できなかった。[加藤篤、永田志保、木所稔、*竹内薫、**永田典代、竹田誠: *筑波大学、**感染病理部]

VI. インターフェロン、サイトカインに関する研究

1. 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．急性呼吸器ウイルス（パラインフルエンザ、センダイウイルス）の病原性発現機構の解析

膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、複数の呼吸器ウイルスを活性化することが報告されている。小児呼吸器感染症の重要な原因の一つであるヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)の解析、加えてマウスパラインフルエンザウイルス(センダイウイルス:SeV)感染における TMPRSS2 の影響を検討した。HPIV1~4 型及び SeV は、trypsin 非存在下で、Vero 細胞ではplaque を形成せず、ウイルスの増殖も確認できなかった。これに対し、TMPRSS2 発現 Vero (Vero/TMPRSS2) 細胞では明瞭なplaque を形成し、上清中のウイルス感染価は経時的に上昇した。感染Vero/TMPRSS2 細胞からはF 蛋白の開裂産物であるF1 が検出された。以上の結果から、HPIV1~4 型及び SeV も TMPRSS2 によって活性化されることが明らかとなった。TMPRSS2 の基質となるウイルス膜蛋白質の開裂部位におけるアミノ酸配列を比較したところ、P1~P3 位の配列(QSR↓)が高度に保存されていることがわかった。そこで、遺伝子操作系を用いて、この部位に変異を導入した SeV 変異株を作出した。また、TMPRSS2 ノックアウトマウスを作製した。今後は、これら SeV 変異株と TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた解析により、呼吸器ウイルスの病原性発現における TMPRSS2 の重要性を明らかにしていく予定である。［安部昌子、酒井宏治、白戸憲也、松山州徳、川瀬みゆき、田原舞乃、*加納和彦、*木村博一、*野田雅博、**水田克巳、***網康至、竹田誠: *感染症情報センター、**山形県衛生研究所、***動物管理室］

２．風邪の病原体、ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構について

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、ヒトコロナウイルス 229E(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、松山州徳]

３．風邪の病原体、ヒトコロナウイルスNL63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。その結果、セリンプロテアーゼ阻害剤（Camostat）は肺胞上皮由来の Calu-3 細胞により効率良くウイルスの細胞侵入を阻害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．日本国内に生息する日本ユビナガコウモリからのコウモリコロナウイルスの検出

SARSは発生当初、野生動物マーケットに存在していたハクビシンなどが感染源として疑われた。しかし近年の研究成果により、SARS-CoVはキクガシラコウモリが持つコウモリコロナウイルスを起源とすることが示唆された。現在、全世界でコウモリ由来コロナウイルスの検出が行われているが、日本国内での検出報告はなかった。そこで和歌山県田辺市において疫学調査を行い、ニホンユビナガコウモリ(Miniopterus fuliginosus)由来の糞便サンプルを採取し、15プールに分けて RT-PCR 法によってコウモリコロナウイルスの検出を行った。RNA-dependent-RNA-polymerase領域のプライマーを用いた結果では 73%(11/15)、スパイク蛋白質領域のプライマーを用いた結果では40%(6/15)のプールで陽性であった。得られたPCR産物の塩基配列を解読し、系統解析を行ったところ、SARS とは異なるアルファ(グループ 1)コロナウイルスに属することが明らかとなり、香港や福建省由来のウイルスと近縁であることが明らかとなった。今後はウイルス分離を試み、ヒト細胞への感受性等を検討する予定である。[白戸憲也]

サーベイランス業務

1. 平成 23 年度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.風しんワクチン中間段階 2 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 3 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 5 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 1 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 70 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、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、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、荻野利夫、竹田誠］

2.人免疫グロブリン製剤190ロットの検定（麻疹抗体測定試験）を行った。［荻野利夫、松山州徳、關文緒、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠］

3. PHA用標準抗麻しん血清（非修飾用）を1ヵ所、PHA用標準抗麻しん血清（修飾用）を1ヵ所に配布した。［關文緒、駒瀬勝啓］

4. インターフェロン製剤 13 ロット(α-2b_3 ロット、pegα-2b_3 ロット、αLys_3 ロット、recβ-1b_1 ロット、天然型β_3ロット)の収去検査を行った。[安部昌子、松山州徳]

レファレンス業務

1. 5 件の麻疹の行政検査を実施した。[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓]

2. 10 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、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓]

4. 風疹の行政検査 2 件および依頼検査 3 件を実施した。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生]

5. 2件のムンプスの依頼検査を実施した。[加藤篤、木所稔]

国際協力業務

1. Consultation on measles elimination and hepatitis B control （2012 年 4 月：フィリピン、マニラ市）に参加し、西太平洋地域各国の麻疹、風疹、B 型肝炎の発生状況、対策の進捗、今後の行動計画について協議した。[竹田誠]

2. 20th Meeting of the technical advisory group (TAG) on immunization and vaccine preventable diseases (VPD) in the western pacific region (WPR) (2011 年 8 月：フィリピン、マニラ市) に参加し、西太平洋地域各国の麻疹、風疹、ポリオ、B 型肝炎等のワクチン予防可能疾患の発生状況、対策の進捗、今後の行動計画について協議した。[竹田誠]

3. 3rd Meeting on Vaccine preventable diseases laboratory networks in the Western Pacific Region (2011 年 9 月：フィリピン、マニラ市) に参加し、日本の麻疹、風疹の排除状況の進捗について報告し、検査診断法について協議した。[駒瀬勝啓、竹田誠]

4. 9th Global measles and Rubella Laboratory network meeting (2011 年 9 月：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]

5. Mumps nomenclature meeting (2011 年 9 月：スイス、ジュネーブ市) に参加し、世界各国のムンプスウイルスの流行状況に関して議論し、加えて命名法について検討した [駒瀬勝啓、竹田誠]

6. The 5th Korea-Japan-China forum for communicable disease control and prevention (2011 年 11 月：韓国、五松市) に参加し、災害時感染症対策、野生型ポリオ対策について会議を行った。また、韓国 NIH の Kisson Kim 博士と会談し、今後の共同研究について討議した [竹田誠]

7. JICA プロジェクト「安全な医薬品を届けるプロジェクト」による National Quality control laboratory of drug and food (インドネシア共和国ジャカルタ) での研修に参加し、ワクチン検定試験に関する講義並びに実習指導を行った [大槻紀之、加藤篤]。

8. アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化を目的に、中国 CDC インフルエンザセンター、麻疹 National Laboratory を訪れ、Yuelong Shu センター長、Xu Wenbo 博士と会議を行い、お互いの研究状況について意見交換を行った。(平成 24 年 3 月：中国、北京市) [松山州徳、竹田誠]

9. WHO の短期派遣員 (STC) として、モンゴル国健康省国立感染症センター(NCCD) ウイルス研究部門の機能強化のためにムンプスウイルス実験室診断の技術指導を行った。モンゴル国、ウランバートル、国立感染症センター (NCCD)、2011 年 7 月 24 日～8 月 6 日 [木所　稔]

研修業務

1. 「平成 23 年度短期研修 新興再興感染症技術研修」コースにおいて、「海外の麻疹排除に向けた動き」について講義を行った。[竹田誠] 2011 年 10 月

2. 「平成 23 年度感染症危機管理研修会」において、麻疹ウイルス総論の講義を行った。[竹田誠] 2011 年 3 月

3. 「平成 23 年度臨床・衛生検査技師研修会 (長野)」において、「麻しんについての最前線」についての講義を行った。[竹田誠] 2011 年 10 月

4. 「平成 23 年度医師卒後研修」において、「麻疹、風疹等について」の講義を行った。[竹田誠] 2011 年 10 月

5. 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８名に麻疹抗体測定法、PCR 法の実習を行った。[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓] 2012 年 1 月-2 月

6. 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のおいて中国人研修生 1 名を 3 ヶ月間研修した。[田原舞乃、中津祐一郎、染谷健二、關文緒、酒井宏治、藤井薫、駒瀬勝啓] 2011 年 7 月-9 月

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、並びに麻疹、風疹ワクチンの講義を行った [駒瀬勝啓]

8. 平成 23 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. 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、アジアおよびアフリカ諸国の研修生８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、森嘉生]

10. 平成 23 年度希少感染症診断技術研修会において風疹診断法の講義を行った。[森嘉生]

11. JICA インドネシア研修　「安全な医薬品を届けるプロジェクト」の一環として、麻疹・風疹・おたふくかぜ混合ワクチンの品質管理技法実習を行った。国立医薬品食品検査所 (National Quality Control Laboratory of Drug and Food: NQCL-DF)、 ジャカルタ、インドネシア 10 月 24～28 日, 2011

［大槻紀之、加藤　篤］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Takeda M, Tahara M, Nagata N, Seki F. (2011) Wild-type measles virus intrinsically dual-tropic. Front Microbiol. 2. 279
2. Seki F, Yamada K, Nakatsu Y, Okamura K, Yanagi Y, Nakayama T, Komase K, Takeda M. The SI Strain of Measles Virus Derived From an SSPE Patient Possesses Typical Genome Alterations and Unique Amino Acid Changes that Modulate Receptor Specificity and Reduce Membrane Fusion Activity. J Virol. 2011 85(22):11871-82.
3. Mori Y, Matsuura Y. Structure of hepatitis E viral particle. Virus Res 161(1):59-64. 2011.
4. 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).
5. Kidokoro M., Tuul R., Komase K., Nymadawa P. Characterization of mumps viruses circulating in Mongolia: identification of a novel cluster of genotype H. J Clin Microbiol 2011, 49, 1917-1925.
6. 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)
7. Shirato K, Matsuyama S, Ujike M, and Taguchi F (2011). Role of proteases in the release of porcine epidemic diarrhea virus from infected cells. J Virol. 85:7872-7880
8. Shirato K, Maejima M, Matsuyama S, Ujike M, Miyazaki A, Takeyama N, Ikeda H, and Taguchi.F. (2011). Mutation in the cytoplasmic retrieval signal of porcine epidemic diarrhea virus spike (S) protein is responsible for enhanced fusion activity. Virus Res. 161(2):188-193.
9. Shirato K, Maeda K, Tsuda S, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kyuwa S, Endoh D, Matsuyama S, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa Y, Akashi H, Mizutani T. (2012). Detection of bat coronaviruses from Miniopterus fuliginosus in Japan. Virus Genes. 44(1):40-44
10. Shirato K, Ujike M, Kawase M, and Matsuyama S. (2012). Increased replication of respiratory syncytial virus in the presence of cytokeratin 8 and 18. J Med Virol. 84(2):365-370
11. Bankamp B, Takeda M, Zhang Y, Xu W, Rota PA. (2011) Genetic characterization of measles vaccine strains. J Infect Dis. 204. S533-48.
12. Tanaka T, Yokoi H, Kobayashi K, Iwanade H, Noguchi Y, Mitsui Y, Okamoto A, Saitoh M, Noda M, Takeda M, Okabe N, Kimura H. (2011) First detection of measles_virus_genotype G3 in a Japanese woman: an imported case. Jpn J Infect Dis. 64. 262-3.
13. 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.
14. Rota PA, Brown K, Mankertz A, Santibanez S, Shulga S, Muller CP, Hübschen JM, Siqueira M, Beirnes J, Ahmed H, Triki H, Al-Busaidy S, Dosseh A, Byabamazima C, Smit S, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Bukenya H, Wairagkar N, Ramamurty N, Incomserb P, Pattamadilok S, Jee Y, Lim W, Xu W, Komase K, Takeda M, Tran T, Castillo-Solorzano C, Chenoweth P, Brown D, Mulders MN, Bellini WJ, Featherstone D. Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology. J Infect Dis. 2011 Jul; 204. Suppl 1: S514-23.
15. Mitsuki YY, Terahara K, Shibusawa K, Yamamoto T, Tsuchiya T, Mizukoshi F, Ishige M, Okada S, Kobayashi K, Morikawa Y, Nakayama T, Takeda M, Yanagi Y, Tsunetsugu-Yokota Y. (2012) HIV-1 Infection Ex Vivo Accelerates Measles Virus Infection by Upregulating Signaling Lymphocytic Activation Molecule (SLAM) in

CD4+ T Cells. J Virol. 86. 7227-34.

16. Tran DN, Vu MP, Ha MT, Giang TPL, Komase K, Mizuguchi M, Ushijima H. Viral molecular characterization of the first congenital Rubella syndrome case in Vietnam. Clin Lab. 2011;57(5-6): 397-401.

17. Abernathy ES, Hübschen JM, Muller CP, Jin L, Brown D, Komase K, Mori Y, Xu W, Zhu Z, Siqueira MM, Shulga S, Tikhonova N, Pattamadilok S, Incomserb P, Smit SB, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Lim WW, Woo GK, Triki H, Jee Y, Mulders MN, de Filippis AM, Ahmed H, Ramamurty N, Featherstone D, Icenogle JP. Status of global virologic surveillance for rubella viruses. J Infect Dis. 2011 Jul;204 Suppl 1:S524-32.

18. Featherstone DA, Rota PA, Icenogle J, Mulders MN, Jee Y, Ahmed H, de Filippis AM, Ramamurty N, Gavrilin E, Byabamazima C, Dosseh A, Xu W, Komase K, Tashiro M, Brown D, Bellini WJ, Strebel P. Expansion of the global measles and rubella laboratory network 2005-09. J Infect Dis. 2011 Jul;204 Suppl 1:S491-8.

19. Phengxay M, Hayakawa Y, Phan TG., Tanaka-Taya K, Ueno-Yamamoto K., Vongphrachanh P, Komase K, Ushijima H. Seroprevalence of rubella and measles virus antibody in Lao PDR. Clin Lab.2011; 57(3-4);237-244.

20. Ito C, Ohgimoto S, Kato S, Sharma LB, Ayata M, Komase K, Takeuchi K, Ihara T, Ogura H. Remarkable similarity in genome nucleotide sequences between the Schwarz FF-8 and AIK-C measles virus vaccine strains and apparent nucleotide differences in the phosphoprotein gene. Microbiol Immunol. 2011 Jul;55(7):518-24.

21. 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)

22. 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)

23. Katoh H, Mori Y, Kambara H, Abe T, Fukuhara T, Morita E, Moriishi K, Kamitani W, Matsuura Y. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2 participates in the replication of Japanese encephalitis virus through an interaction with viral proteins and RNA. J Virol. 85(21):10976-10988. 2011.

24. Oikawa N., Okumura A., Oyama S., Baba H. Shimizu T., Kato A. A 15-month old boy with reduced consciousness and convulsion. 53:276-279 (2012)

25. Hikichi M., Kidokoro M., T. Haraguchi, H. Iba, H. Shida, H. Tahara, T. Nakamura, MicroRNA regulation of glycoprotein B5R in oncolytic vaccinia virus reduces viral pathogenicity without impairing its antitumor efficacy. Molecular Therapy 2011,19, 1107-1115.

26. 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

27. Nomura R, Kashiwazaki H, Kakizaki M, Matsuyama S, Taguchi F, Watanabe R. Receptor-independent infection by mutant viruses newly isolated from the neuropathogenic mouse hepatitis virus srr7 detected through a combination of spinoculation and ultraviolet radiation. Jpn J Infect Dis. 2011;64(6):499-505.

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, 33-34 (2011)
2. 竹田誠、駒瀬勝啓、社会情勢の中で変わりゆく麻疹という感染症、 BIO Clinica、26、1198-1202 (2011)
3. 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)
4. 駒瀬勝啓、竹田誠　ヨーロッパの麻疹の状況と今後の日本の課題、病原微生物検出情報 33(2); 29-30 (2012)
5. 駒瀬勝啓　麻疹排除の進捗と麻疹輸入例の増加 -麻疹排除に向けた今後の課題-　小児科 金原出版 53 (1):105-112 (2012)

6. 駒瀬勝啓　麻疹、風疹、ムンプス、臨床と微生物　近代出版 38 (6) 655-660 (2011)
7. 駒瀬勝啓　麻疹検査診断法とその問題点、小児科 金原出版 52 (9):1273-1280 (2011)
8. 田原舞乃、竹田誠、 (2011) 野生型麻疹ウイルスの二つのレセプター、ウイルス、61、249-256
9. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠 風疹ウイルスの遺伝子解析、病原微生物検出情報、32、260-262 (2011)
10. 森嘉生、大槻紀之、坂田真史、岡本貴世子。「トガウイルスのウイルス学」 ウイルス、211-220, 2011
11. 加藤 篤　ウイルス感染症の検査・診断　スタンダード　羊土社　ムンプスウイルス　田代眞人、牛島廣治　編集　pp71-75 羊土社　2011 年 7 月 15 日発行
12. 加藤 篤　第十六改正日本薬局方解説書　乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン 廣川書店　G:48-50　2011年6月26日発行
13. 加藤 篤　シンプル微生物学　改訂第5版　コロナウイルス　東 匡伸、小熊恵二 編集　pp320-323　南江堂　2011 年 4 月 10 日発行
14. Matsuyama S. [Protease-dependent cell entry mechanism of coronaviruses]. Uirusu. 2011 Jun;61(1):109-16. Review.
15. 藤本嗣人、竹田誠、中村雅子、榎本美貴、岡部信彦、(2011) RS ウイルスの検査診断、RS ウイルス感染症対策 up to data、小児科、52、1463-1469。
16. 倉田貴子、井澤恭子、西村公志、加瀬哲男、高橋和郎、大平文人、松井陽子、梯和代、熊井優子、久保英幸、改田厚、後藤薫、長谷篤、内野清子、三好龍也、田中智之、森嘉生、大槻紀之、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、大阪府内における2011年の風疹患者発生状況、病原微生物検出情報、32、255-257 (2011)
17. 多屋馨子、佐藤弘、新井智、北本理恵、岡部信彦、森嘉生、竹田誠、2010 年度感染症流行予測調査事業風疹感受性調査担当　2010 年度風疹血清疫学調査ならびに予防接種率調査-2010 年度感染症流行予測調査中間報告（2010 年 8 月現在速報）　病原微生物検出情報、32(9):14-17, (2011)

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Seki F, Nakatsu Y, Someya K, Tahara M, Komase K, Takeda M. The SI Strain of Measles Virus Derived from an SSPE Patient Exhibits Altered Receptor Specificity and Reduced Membrane Fusion Activity. International Union of Microbiological Societies 2011Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
2. Seki F, Yamada K, Nakatsu Y, Okamura K, Yanagi Y, Komase K, and Takeda M. (2011 July 15. Mayo Clinic, Rochester, MN) Analyses of recombinant SSPE-derived SI strain generated from cloned cDNAs usuing an efficient reverse genetics system. 2011 Measles Virus Mini-Symposium.
3. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Komase K, Takeda M, Saijo M, and Morikawa S. Virulence of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 epizootic in Japan. MEASLES VIRUS MINI-SYMPOSIUM, Rochester, MN, USA, July 15, 2011.
4. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Komase K, Takeda M, Saijo M, and Morikawa S. Virological and pathological analyses of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 epizootic in Japan. American Society for Virology 30th Annual Meeting, Minnesota, MN, USA, July 16-20, 2011.
5. Sakai K, Nishio Y, Nagata N, Ami Y, Komase K, Shimojima M, Maeda K. Takeda M, Saijo M, and Morikawa S. Characterization of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 epizootic in Japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
6. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Komase K, Takeda M. Intracellular trafficking of the measles virus L protein occurs independently of the viral M protein and is related to microtubule network and recycling endosome. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
7. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Komase K, Takeda

M. The ribonucleoprotein complex of measles virus is transported via microtubule network and recycling endosome system without the support of the matrix protein. Atlanta, GA, USA, December 2, University of Georgia, 5th Atlanta Area Paramyxer

8. Tahara M, Komase K, Ma XM, He JL, Yanagi Y, Maenaka K, Rota PA and Takeda M. Antigenic Determinants of Measles Virus Hemagglutinin associated with single serotype. Measles virus mini-symposium, Rochester, MN, USA, July 15, 2011.
9. Tahara M, Komase K, Yanagi Y, Maenaka K, Rota, PA, Takeda M. Conserved and variable antigenic sites on the measles virus hemagglutinin protein. American society for virology 30th annual meeting, Minnesota, MN, USA, July 16-20, 2011.
10. Tahara M, Komase K, Ma XM, He JL, Yanagi Y, Maenaka K, Rota PA and Takeda M. Identification of conserved neutralizing epitopes of the measles virus hemagglutinin protein located in proximity and distal to the receptor-binding site. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
11. Tahara M, Ma XM, He JL, Ito Y, Fukuhara H, Brindley MA, Sakai K, Yanagi Y, Komase K, Plemper RK, Rota PA, Maenaka K, Takeda M. Measles virus escapes from neutralization at the cost of SLAM-binding activity. Atlanta, GA, USA, December 2, University of Georgia, 5th Atlanta Area Paramyxer
12. Mori Y, Okamoto K, Sakata M, Otsuki N, Abo H, Takeda M. The plasma membrane is the genome replication site for rubella virus. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, 11-16 Sep. 2011.
13. Otsuki N, Abo H, Kubota T, Mori Y, Okamoto K, Komase K, Takeda M. Reduced thermal stability of the P150 protease domain by N1159S mutation makes the TO-336 rubella vaccine strain temperature-sensitive. The American Society for Virology 30th Annual Meeting, Minneapolis, Mnnesota, USA. 16-20 July 2011
14. Otsuki N, Sakata M, Okamoto K, Fujii K, Abo H, Kanou K, Komase K, Takeda M, Mori Y. Molecular Mechanisms of the temperature-sensitive phenotype of live attenuated Japanese rubella vaccines. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, 11-16 Sep. 2011.
15. Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Abo H, Takeda M, Mori Y. The short N-terminal region of the rubella virus capsid protein is critical to co-localize with the nonstructural p150 protein. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, 11-16 Sep. 2011.
16. Kato A, Nagata S, Maedera T, Takeda M. Molecular basis on mumps virus pathogenicity: Comparison of live attenuated vaccine and its parent (Miyahara strain) XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan 11-16 September 2011
17. Kubota T, Otsuki N, Takeda M, Kato A, Chag TH, Matsuoka M. (2011 September 11-16. Sapporo, Japan) C-terminal region of IKKε is required for host antiviral response. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress.
18. Shirato K, Matsuyama S, Ujike M, and Taguchi F. Role of proteases in porcine epidemic diarrhea virus infection in cultured cells. (2011). The XIIth Nidovirus International Symposium, Acme, Michigan, June 4-9.
19. Abe M, Okadera K, Ito N, Masatani T, Nakagawa K, Yamaoka S, Sugita S, Sugiyama M. Full-genome analyses suggest that group A rotaviruses undergo frequent reassortment of several gene segments in asymptomatic cattle. XV International Congress of Virology, Sappro, Japan, 11-16 September 2011
20. Mitsuki Y, Shibusawa K, Terahara K, Kobayashi K, Morikawa Y, Nakayama T, Takeda M, Yanagi Y, Yokota YT. (2011 September 11-16. Sapporo, Japan) HIV-1 infection enhances the susceptibility of T cells to measles virus infection by upregulating signaling lymphocyte activation molecule (slam) expression. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress.

21. Ayata M, Ohgimoto S, Kuwamura M, Tanaka M, Takaeuchi K, Takeda M, Ogura H. (2011 September 11-16. Sapporo, Japan) Determinants of neurovirulence of the Osaka-1 strain of measles virus derived from a case of subacute sclerosing panencephalitis. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress.
22. Ose T, Sako M, Kajikawa M, Hashiguchi T, Ito Y, Fukuhara H, Takeda M, Yanagi Y, Maenaka K. (2011 September 11-16. Sapporo, Japan) Protein preparation and preliminary X-ray crystallographic study of hemagglutinin from canine distemper virus. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress.
23. Minagawa H, Yamashita T, Yasui Y, Hata M, Kobayashi S, Adachi H, Mizutani E, Ito M, Fujiwara N, Fujiura A, Komase K. Collection/preservation condition of samples for measles virus detection to improve laboratory diagnosis for case-based measles surveillance. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
24. Ohkura T, Kikuchi Y, Kono N, Itamura S, Komase K, Momose F, Morikawa Y. Epitope mapping of neutralizing antibody in avian Influenza A H5N1 virus hemagglutinin and construction of its single chain variable fragment. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
25. Sawada A, Komase K, Nakayama T. AIK-C Measles vaccine expressing fusion protein of respiratory syncytial virus induces protective antibodies in cotton rats. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
26. Mizutani T, Abe M, Ito N, Sakai K, Kaku Y, Mami Oba M, Ogata M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Sugiyama M, An isolated virus homologus to porcine sapelovirus from wild boar. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan. Sept 11-16, 2011.
27. Katoh H, Mori Y, Kambara H, Kamitani W, Matsuura Y. Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein A2 participates in the replication of Japanese encephalitis virus through the interation with viral proteins and RNA. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, 11-16 Sep. 2011.
28. Kambara H, Tani H, Mori Y, Abe T, Katoh H, Fukuhara T, Taguwa S, Moriishi K, Matsuura Y. Involvement of cyclophilin B in the replication of Japanese encephalitis virus. XV International Congress of Virology, Sapporo, Japan, 11-16 Sep. 2011.

2. 国内学会

1. 竹田誠、駒瀬勝啓、田原舞乃、麻疹対策−病原体検索の重要性−国立感染症研究所の立場から、ウイルス学的分析、衛生微生物技術協議会　第32回研究会、2011年6月29-30日、東京
2. 駒瀬勝啓、山本久美、牛島廣治　ラオス、ビエンチャン市における妊娠可能年齢女子の風疹抗体保有状況、第15回日本ワクチン学会学術集会　東京、2011年12月
3. 關文緒、中津祐一郎、染谷健二、田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠 SSPE患者由来SI株の組換えウイルス作製とそのエンベロープタンパク質の解析: 第16回日本神経感染症学会学術集会、東京、2011年11月
4. 酒井宏治、永田典代、水谷哲也、網康至、吉河（岩田）奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、竹田誠、森川茂：カニクイザルから分離した新しいサルアデノウイルスの性状解析、第152回日本獣医学会学術集会、大阪、2011年9月
5. 酒井宏治、關文緒、田原舞乃、大槻紀之、山口良二、伊藤由梨、福原秀雄、前仲勝実、駒瀬勝啓、西條政幸、森川茂、竹田誠、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（CDV）のレセプター指向性の解析：CDV はヒトへの脅威となり得るのか？First Negative Strand Virus-Japan Symposium、長崎、2012年1月
6. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠　麻疹ウイルスの単一血清型の分子機構ならびにワクチン効果減弱の可能性について、第15回日本ワクチン学会、東京　2011年12月

7. 田原舞乃、駒瀬勝啓、柳雄介、前仲勝実、Paul A. Rota、竹田誠、麻疹ウイルスの単一血清型を説明するHタンパク質上のエピトープについて、First Negative Strand Virus-Japan Symposium、長崎、2012年1月
8. 大槻紀之、坂田真史、阿保均、駒瀬勝啓、竹田誠、森嘉生、風疹松浦ワクチン株の温度感受性には複数のウイルスタンパクが関与している、第15回日本ワクチン学会、東京、2011年12月
9. 大槻紀之、關文緒、酒井宏治、Watanyoo Pratakpiriya、伊藤由梨、福原秀雄、前仲勝実、黒田誠、山口良二、竹田誠、野外分離イヌジステンパーウイルスはイヌおよびヒトnectin4を受容体として利用できるが、麻疹ウイルスと異なりヒト上皮細胞では増殖できない、First Negative Strand Virus-Japan Symposium、長崎、2012年1月
10. 坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、後藤慶子、竹田誠、森嘉生、風疹ウイルスの非構造タンパク質(p150)と共局在する構造タンパク質(capsid)の責任領域の同定 第18回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、東京、2011年11月
11. 加藤 篤、永田志保、前寺知弥、竹田 誠、おたふくかぜ生ワクチン(ミヤハラ株)とその親株の比較第15回日本ワクチン学会学術集会 東京 2011年12月、東京
12. 木所 稔、齋加志津子、加藤 篤、リバースジェネティクスによって作製したムンプスウイルスの病原性復帰と遺伝的多様性との関連性に関する研究、第15回日本ワクチン学会、東京、2011年12月
13. 安部昌子、加藤篤、酒井宏治、網康至、加納和彦、水田克巳、河岡義裕、白戸憲也、福原秀雄、前仲勝実、松山州徳、竹田誠 パラインフルエンザウイルス及びインフルエンザウイルス感染における膜貫通型セリンプロテアーゼTMPRSS2の生体内での役割解明. 第1回First Negative Strand Virus-Japan Symposium. 長崎 2012年1月
14. 橋口隆生、酒匂幸、尾瀬農之、上敷領淳、伊藤由梨、福原秀雄、梶川瑞穂、竹田誠、柳雄介、前仲勝実、モルビリウイルスの細胞侵入機構、First Negative Strand Virus-Japan Symposium. 長崎 2012年1月
15. 伊藤由梨、福原秀雄、酒匂幸、尾瀬農之、橋口隆生、梶川瑞穂、竹田誠、柳雄介、前仲勝実、犬ジステンパーウイルスワクチンの有効性の分子基盤、First Negative Strand Virus-Japan Symposium. 長崎 2012年1月
16. 加瀬哲男、倉田貴子、高橋和郎、田中智之、駒瀬勝啓、竹田誠、平成22年度に地研近畿ブロック内で行われたウイルス学的および血清学的麻疹検査の結果について、第15回日本ワクチン学会学術集会 東京、2011年12月
17. 倉田貴子、井澤恭子、西村公志、加瀬哲男、高橋和郎、大平文人、松井陽子、梯和代、久保英幸、改田厚、後藤薫、長谷篤、内野清子、三好龍也、田中智之、駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠、大阪府内における2011年の風しん発生状況、第15回日本ワクチン学会学術集会 東京、2011年12月
18. 倉田貴子、加瀬哲男、高橋和郎、田中智之、駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠、2011年大阪府内における風しん発生状況、第15回日本ワクチン学会、東京、2011年12月
19. Pratakpiriya W, Seki F, Sakai K, Otsuki N, Takeda M, Katamoto H, Hirai T, Techangamsuwan S, Hguyen LT, Yamaguchi R. Nectin-4 is the newly demonstrated cellular receptor for canine distemper virus. 第153回日本獣医病理学会、2012年3月27-29日、大宮
20. Tran Nguyen、駒瀬勝啓、早川智、牛島廣治、Phylogenic analysis of rubella viruses found in Vietnam in 2009-2010 第52回日本臨床ウイルス学会、津、2011年6月
21. 小川知子、堀田千恵美、小倉惇、福嶋得忍、平野憲朗、小山早苗、駒瀬勝啓、中山哲夫、和山行正、MRワクチン接種後、約4ヶ月を経て麻疹ワクチン株が検出された症例について、第15回日本ワクチン学会学術集会 東京、2011年12月
22. 岡本宗裕、小野文子、藤本浩二、高野淳一朗、濱野正敬、森川茂、永田典代、水谷哲也、酒井宏治、堀井俊宏、中屋隆明、中村昇太、宮沢孝幸、松井淳：ニホンザル血小板減少症の原因ウイルスの同定、第152回日本獣医学会学術集会、大阪、2011年9月

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

ウイルス第三部

2. 竹田誠（原案監修）（学術協力：中津祐一郎、森嘉生、松山州徳）（2012）DVD 目で見る微生物学 vol. 6 ウイルス感染症、医学教育シリーズ、医学映像教育センター

4.細菌第一部

部長　大西　真

概　要

当部では、肺炎球菌ワクチンならびに 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検査あるいは依頼検査、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。

国内外で大規模な腸管出血性大腸菌の集団事例が発生した。特に、最も高頻度で分離される血清群 0157 ではない腸管出血性大腸菌（0111）を主因とする、国内集団事例に関連して、分離株間の同一性解析、さらには過去に分離された菌株との比較解析等、大きく貢献することとなった。海外では極めて稀な血清群 0104 の EHEC の大規模集団事例がドイツにおいて発生したことから、より広範な EHEC を対象とした事前準備が必要であることが示された。データベースの構築とその利用に関して地方衛生研究所との共同作業の重要性が再認識され、加えて感染症情報センターとの情報共有と共同作業が重要であることが示された。腸管出血性大腸菌のみならず、赤痢菌、髄膜炎菌等の集団事例対応においても、当部において蓄積されてきた知見が有効に活用された。これまで進めてきた multilocus variable number tandem repeat analysis (MLVA)法や、塩基配列比較による各種の分子疫学的手法の実際の事例において利用可能であることが示された。解析可能な菌種を拡大することも、今後の課題として挙げられる。

7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチンが広く利用されるようになり、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。ワクチンには含まれない血清型の肺炎球菌による侵襲性感染症の広がりを着実にモニターするとともに、咽頭に常在する肺炎球菌の血清型の検討を進めた。

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、薬剤耐性淋菌に関するサーベイランスも進められ、感染症対策における基盤的情報の蓄積が進められている。

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。

所内各部との共同研究、さらには地方衛生研究所、国内、国外（ベトナム、台湾、インド、フィリピン、スリランカ、中国、ラオス等）の研究機関との連携、共同研究も積極的に行なわれた。これらの共同研究や技術支援等で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。

業　績

調査・研究

Ⅰ．腸管感染症原因細菌に関する研究

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）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2011 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 1207 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 943 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。2011 年にヒトから分離された O157 については、XbaI 消化により 667 種類の PFGE パターンが観察され、多様なクローンの存在が継続していることが示唆された。一方、多くの都府県（6～17 ヶ所）から分離されたパターンとして、Type No.(TN) c272, c57, d483, d580, f93 の 5 種類があった。これらの 5 種類のパターンを示す株は、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　腸管出血性大腸菌 O157 の Multiple-Locus VNTR Analysis による解析

PFGE により TN c272, c57, d483, d580, f93 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。TN f93 及び c272 を示す株は、リピート数の一致する株の集合体であるが、その他の株ではリピート数が少しずつ異なっている株が集合して構成されていた。特に過去から断続的に分離されている TN c57, d483 及び d580 の株では、多数の変異株が集合しており、多様な遺伝子型の株が含まれていることが示唆された。TN f93 及び c272 を示す株については、変異株があるものの、大部分が、集団発生由来株で報告されているわずかなリピート数の変異、すなわち、1 遺伝子座について繰返し数が一つ異なる変異を示す株であった。
［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 及び IS-printing system 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。また、腸管出血性大腸菌 O157 については、IS-printing system の解析結果をデータベース化し jpulsenet のサーバーを利用して公開するシステムを構築した。「PulseNet Japan」と同様、ユーザ名とパスワード管理下で公開する予定である。
［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　血清型別

平成 23 年に送付された STEC は総計 3,003 株で、このうち、ヒト由来の 2,876 株について分離頻度の高い順に、0157（約 59.9%：H7 または H-），026（約 19.2%: H11, H-など），0145（約 5.2%：H-），0111（約 5.0%:H-など），0103（約 3.3%：H2 など），0121（約 1.3%:H19 など），091（約 1.1%:H51 など），05（約 0.5%:H-），0165（約 0.3%:H-）となっており、その他（約 4.2%）は少なくとも 57 種類の O 血清群（64 種類の血清型）に分類された［伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、石原朋子、寺嶋淳、大西真］。

（２）溶血性尿毒症症候群（HUS）補助診断法の確立

ア　HUS 発症者血清中の抗大腸菌抗体価の測定

EHEC が不分離の HUS 症例において、患者血清中に EHEC として分離頻度の高い O 血清群（0157, 026, 0111, 0103, 0145, 0121, 0165：国内で HUS の原因となる EHEC の 90%以上を占める）に対する抗体価を検出することが可能である。依頼があった 18 件中、0157 が 6 件、 0111 が 5 件、 0165, 0145 および 0121 がそれぞれ 1 件ずつ陽性例があり（陽性率 77%）、いずれも 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、三戸部治郎、石原朋子、泉谷秀昌、齊藤剛仁（情報セ）、寺嶋淳、大西真］

イ　血清診断プロトコールの作成と配布

2011 年 4-6 月に富山県・福井県を中心に発生した、焼き肉チェーン店を原因とする 0111 の集団発生事例では、EHEC が分離されない重症例が多発した。これを受けて上記ウの血清診断を行い、いずれも 0111 による感染事例であることを明らかにした。その後、地方衛生研究所等への技術移転を目的に、感染研・細菌第一部と大阪府立公衆衛生研究所・細菌課で行われている血清診断プロトコールの摺り合わせを行った。完成したプロコールは厚生労働科研費補助金研究事業（代表：寺嶋淳）を通じて地方衛生研究所に配布した。
［伊豫田淳、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所）、寺嶋淳、大西真］

（３）病原機構解明に関する研究

ア　LEE の発現制御遺伝子 *pch* のフィードバック制御

EHEC が保有する病原性遺伝子群 LEE は、3 型蛋白質輸送装置や宿主作用因子などをコードし、これらの機能は EHEC の腸管上皮細胞への初期接着過程に必須である。LEE の発現は LEE 領域外にコードされている PchA, B, C 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であることが我々の研究から明らかとなっている。*pch* の発現制御機構を詳細に解析した結果、転写レベルで負のフィードバッグ制御を受けることが明らかとなった。
［伊豫田淳、本田尚子（放射能管理室）、寺嶋淳、大西真］

イ　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 型分泌装置を介して上皮細胞内に分泌され、RhoA GEF 活性を持つ EspM2 と相互作用することによって 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明らかとなった。EspO1-2 の C 末端領域には EspM2 結合領域が存在することが示唆された。この領域はゲノム配列が決定された腸管出血性大腸菌 O157、O26、O111 の EspO1-2 ホモログによく保存される一方、EspO1-1 ホモログには保存されないことが明らかとなった。

［石原朋子、伊豫田淳、寺嶋淳、泉谷秀昌、大西真］

2. 赤痢菌に関する研究

（１）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　赤痢菌の分子疫学解析

2011 年に依頼、送付された赤痢菌 206 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）による分子疫学解析を行った。集団事例が 7 件含まれ、それぞれの事例においてクラスターが確認された。また飲食チェーン店を原因施設とする集団事例や散発事例同士の解析において、MLVA による分子疫学解析が有効であった。なお、*Shigella sonnei* では 2011 年に 80 の MLVA 型が検出された。［泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真］

（２）病原機構解明に関する研究

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、環境の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（VirB）が、細菌の主要な RNA 結合蛋白である Hfq の作用で転写後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 YfgA 遺伝子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］

3. サルモネラ属菌に関する研究

（１）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　サルモネラのファージ型別

2011 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、233 株であった。検出されたファージ型（PT）の上位 5 の分布は以下の通りであった：PT1, 60; PT47, 53; PT14c, 40; PT13, 20; PT4, 14。

同じく 2011 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、34 株であった。検出されたファージ型（DT）は、DT40、DT193、U302、DT66A および DT104B であった。［泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真］

イ　サルモネラの血清型別

2011 年に当研究所で血清型別を行った菌株は 63 株であった。爬虫類からの分離株が多かったので亜種 IIIb、IV が多かったが、亜種 I では、血清型 Enteritidis, Itami, Litchfield, Oranienburg, Pomona, Poona, Weltevreden などが検出された。［泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真］

4. ビブリオ属菌に関する研究

（１）菌株の型別、分子疫学解析、多様性形成機構に関する研究

ア　コレラ菌の分子疫学解析

2010 年にラオスで流行したコレラの起因菌の解析を行った。パルスフィールドゲル電気泳動法および MLVA による解析の結果から、同流行が単一の菌株によるものであり、また、2007 年の流行菌型とは異なることが示唆された。［N. Sithivong（ラオス、NCLE）石原朋子、大西真、泉谷秀昌］

イ　ビブリオ属菌の環境調査

沿岸海水を採取し、*Vibrio vulnificus, V. parahaemolyticus, V. cholerae* の分布状況を調べた。*V. parahaemolyticus* は多くの地点で検出され、水温が高い地方ほど多く検出される傾向にあった。他の菌種については塩分濃度などによる影響も観察されたが、地域ごとに異なる傾向があることも窺えた。［泉谷秀昌、森田昌知、八柳潤（秋田県健康環境センター）、宮﨑麻由（宮城県保健環境センター）、石原ともえ（神奈川県衛生研究所）、磯部順子（富山県衛生研究所）、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所）、矢端順子（山口県環境保健センター）、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）、古川真斗（熊本県保健環境科学研究所）、久高潤（沖縄県衛生研究所）、

荒川英二、山本章治、大西真]

ウ　*Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株の同定および血清型別

平成 23 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 93 株で *Vibrio cholerae*、*V. fluvialis*、*Photobacterium damselae* および *Aeromonas* spp. が含まれ、78 株は国内、15 株は海外からの依頼であった。国内株の内 10 株は、家畜の敗血症由来 *V. cholerae* non-01/non-0139 で同一の O 血清型によるものであった。また国内 1 事例 2 株は、ヒト敗血症からの分離株で、血液及び便から同一の O 血清型の *V. cholerae* non-01/non-0139 が分離されたが、下痢症状の無い事例であった。その他の国内株は *P. damselae* による下痢症由来株 1 株と、9 株の食中毒由来の *Aeromonas* spp.、由来不明の *V. cholerae* non-01/non-0139 が 56 株であった。海外からの型別依頼株は全て Bangladesh からの株で *V. cholerae* non-01/non-0139 と *V. fluvialis* であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

エ　*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、改良を行った。市販魚介類を用いて検出を試みたところ、アルカリペプトン水による 10 倍乳剤の一晩培養液からは、選択分離培地を用いた培養法とほぼ同等の感度で、腸炎ビブリオを特異的に検出することができた。

(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))

オ　*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。O141 およびそれと交差反応のある O 血清群について O 抗原合成遺伝子領域の全塩基配列を決定した。また、国内でコレラ様症状から分離された事例もある O8 およびそれと交差反応のある O 血清群 O128 について病原体ゲノム解析センターとの共同研究により、次世代シークエンサーを利用して O 抗原合成遺伝子領域の全塩基配列決定を試みている。[荒川英二、関塚剛史、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)、大西真]

カ　コレラ菌のキチン誘導型形質転換におけるシグナル伝達機構の解析

コレラ菌はキチン誘導型の形質転換能を有しており，我々はその制御機構について研究を行ってきた。本年度はキチンのシグナル伝達に関与する蛋白質として TfoS を同定した。TfoS は内膜局在型の転写因子であり，その遺伝子を欠失させるとキチン誘導性の形質転換能が失われるとともに，形質転換に関わる遺伝子群の発現も起こらなくなった。現在キチンのシグナル伝達における TfoS の役割について解析中である。[山本章治、三戸部治郎、大西真、渡辺治雄、泉谷秀昌]

キ　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。2010-2011 年に検査した 121 件中 79 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、 赤痢菌、*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）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　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。[常　彬、和田昭仁（与那国島診療所)、庵原俊昭（国立病院機構三重病院)]

イ　小児侵襲性感染および肺炎由来肺炎球菌の解析

PCV7 導入される前の小児侵襲性感染および肺炎由来肺炎球菌の血清型分布を明らかにするため、新潟県立新発田病院に就診した小児患者から分離された肺炎球菌の血清型別、薬剤感受性試験およびシークエンスタイピン

グを行った。［常　彬、和田昭仁（与那国島診療所）、大石智洋（新潟大学）］

2. 溶血性レンサ球菌に関する研究

（１）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　日本における2010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

2010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、1002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 (202/1002, 20.2%)、T1 (199/1002, 19.9%)、TB3264 (126/1002, 15.3%)であった。T12、T1型は1992年以降、毎年、高い分離頻度を示している。TB3264型の分離比率は、2010年、急激に上昇した（2009年, 5.3%、2010年, 12.6%）。［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　日本において2010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

STSSの確定診断例51例中、*emm1* 型(M1型)が31例(60.8%)と最も多く、次いで *emm3* 型(M3型)、*emm89* 型(M型別不能)がそれぞれ4例(7.8%)と多かった。*emm4* (M4), *emm12* (M12), *emm113* (M型別不能)型による症例はそれぞれ2例(3.9%)であり、*emm11* (M型別不能)、*emm28* (M型別不能)、*emm58* (M型別不能)、*emm87* (M型別不能)、*emm90* (M型別不能)、*emm112* (M型別不能)型による症例はそれぞれ1例(2.0%)であった。［池辺忠義、大西真、千葉一樹（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

2010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59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、59.3%（35/59）の株が、耐性を示し、昨年（2009年, 50.0%）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、5.08%(3/59)の株が耐性を示し、昨年（2009年, 16.1%）より分離率が低下した。［池辺忠義、大西真、千葉一樹（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］

エ　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

2010年、19症例報告があり、17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* 遺伝子型別を行った結果、*stG6792* 型が8例、*stG2078* 型が2例、*stC74a, stG6, stG10, stG245, stG485, stG4974, stG5420* 型がそれぞれ1例であった。［池辺忠義、大西真、千葉一樹（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］

オ　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

2010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、Ia型とII型であった。［池辺忠義、大西真、千葉一樹（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）病原機構解明に関する研究

ア　劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株でみられるmucoid株の解析

劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株において、*csrR*/*csrS* 遺伝子以外に、*rgg* 遺伝子のような毒素遺伝子の発現を負に制御する制御因子に変異が起きており、この変異は、臨床分離株の約45%でみられた。臨床分離株のうち、ムコイド型のコロニーを形成するものがある。多くは、*csrS/csrR* 遺伝子に変異が見られる。しかしながら、一部の株において、*csrS/csrR* 遺伝子に変異がないが、ムコイド型のコロニーを形成するものが存在する。このうち、1株において転写制御因子である *rocA* 遺伝子に変異があるものを見出した。この変異株は、好中球の遊走能を阻害し、また、好中球殺傷能を増大することが明らかとなった。［池辺忠義、大西真、阿戸学、松村隆之、小林

和夫（免疫部）］

III．レジオネラ感染症に関する研究

1. レジオネラ属菌に関する研究

（１）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　*Legionella pneumophila* 臨床分離株の SBT (sequence-based typing) 法による解析

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* 42 株（分離年は 2006 年 1 月から 2011 年 2 月で、血清群 1 が 35 株、血清群 3、5、6 が各 2 株、血清群 10 が 1 株）について遺伝子型別を行った。2000 年以前に多く、それ以降は 2008 年に 1 例のみだった ST1 が、2010 年に 3 株分離された。ほとんどが温泉感染事例と考えられる ST138 は 2010 年度も複数株分離された。国内臨床分離例で多い ST120、国内固有遺伝子型の ST384 も複数株収集された。同一県内で分離されている ST93（血清群 3）は 2010 年度に 4 例目、5 例目が分離された。国内固有遺伝子型の ST876 も 2 株収集された他は、1 株ずつの遺伝子型であった。血清群 5 のうち 1 株と、血清群 10 の 1 株は *neuA* 遺伝子が PCR により増幅せず、遺伝子型が決まらなかった。残りの 41 株は 27 種類の遺伝子型に分けられた。新規遺伝子型は 7 つあり、EWGLI のデータベースに登録され、ST 番号が付与された。［前川純子、千葉久子（仙台市衛研）、渡辺祐子（神奈川衛研）、磯部順子（富山衛研）、飯島義雄（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）、阿部信次郎、三崎貴子、田原寛之、島田智恵、多田有希（感染症情報センター）、倉　文明、大西　真、Working Group for *Legionella* in Japan］

イ　*Legionella pneumophila* 環境分離株の SBT (sequence-based typing) 法による解析

2001 年から 2007 年に環境から採取された *L. pneumophila* 血清群 1（公園の噴水などの修景水由来 11 株、シャワー水由来 3 株、河川水由来 1 株）について遺伝子型別を行った。ST1 が 11 株（73%）を占め、残りの 4 株の遺伝子型（修景水 2 株、シャワー水 2 株）はそれぞれ異なっていた。1 つの新規遺伝子型以外は臨床分離株での報告例のある遺伝子型だった。［前川純子、吉田英弘（福岡市保険環境研）、山本一成（新潟市衛生環境研）、吉野修司（宮崎県衛生環境研）、渡辺祐子（神奈川衛研）、倉　文明］

ウ　*Legionella pneumophila* の MLVA 法による型別

新しい遺伝子型別法である MLVA (multiple-locus variable number tandem repeat (VNTR) analysis) 法を用いて *L. pneumophila* の型別を行った。前年度までに 128 株の VNTR 解析を行ったが、さらに 35 株を追加した。一部の株について、増幅されない locus があったので、一部プライマーについて改良を行ったところ増幅できるようになった。臨床分離株 41 株は、33 種類に型別され、環境分離株 122 株は 68 種類に型別された。全体では 163 株は 96 種類に分類された。MLVA 法の分解能は SBT 法と比較して同等以上であり、手法も簡便だが、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。［王　岩、前川純子、倉　文明］

エ　アスファルト道路上水溜まりからの *Legionella pneumophila* の検出

アスファルト道路上の水溜まりがレジオネラ症の感染源となりうるか検証するため、2011 年 5 月から 9 月中に埼玉県、東京都、千葉県各地で採取したアスファルト道路上の水溜まり 40 検体から、直接培養法、リアルタイム PCR 法にて *L. pneumophila* の検出を試みた。直接培養法では *L. pneumophila* は検出できなかったが、レジオネラ属菌で共通の 5S rRNA 遺伝子を検出するリアルタイム PCR においては 40 検体中 33 検体が 10 CFU/100 ml 相当以上で、最高 83,167 CFU/100 ml 相当を検出した。さらに 1 検体についてはアカンソアメーバを用いたアメーバ内増菌法を行ったところ、血清群別不能の *L. pneumophila* が分離された。［前川純子、銘釵　彩、村井美代（埼玉県立大学、健康開発学科）、倉　文明］

オ　*Legionella londiniensis* の血清群

日本の 12 県から分離された環境分離株 20 株、臨床分離株 1 株についてデンカ生研に委託して作製した免疫血清により血清群を検索した。17 株は血清群 1（内 4 株の反応は弱い）で、1 株が血清群 2，3 株が UT であった。*L. lonnidiensis* であることは、16S RNA 遺伝子と *mip* 遺伝子の塩基配列決で確認し、それぞれ 5 つ、3 つの遺伝子型があった。［倉　文明、前川純子］

（２）レジオネラ属菌検査法の開発に関する研究

ア　浴槽水のレジオネラ汚染リスクをモニターするフローサイトメトリーを用いた迅速検査法

少量の浴槽水の注入により 2 分で自動的に菌を検出する方法を開発した。ろ過した温泉水に既知数の種々の菌を添加して作成した試料により、この検査法の定量的検

出下限は 3.0×10^3 個/mL であった。モデル浴槽では、増殖する従属栄養細菌と塩素消毒後のその菌数の減少をモニターできた。149 浴槽水試料で、この検査による菌数（3.0×10^3 個/mL 以上、未満）とレジオネラ汚染の有無との関係をみたところ、感度 95%、特異性 84%であった。この方法は入浴施設のレジオネラ管理に利用できる。[田栗利紹（長崎県環境保健研究センター）、小田康雅（シスメックス）、杉山寛治（静岡県環境衛生科学研究所）、西川　徹（長崎県環境保健研究センター）、遠藤卓郎、泉山信司（寄生動物部）、山崎雅之（日産化学工業）、倉　文明]

イ　液体培養（Liquid Culture, LC）定量 RT-PCR 法を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の改良

従来の 2 step 法よりも迅速、簡便、安価でかつ定量性に優れた 1 step 法を作成した。検量線の作成及びコピー数の算出を簡素化するため、レジオネラ 5S rRNA を合成しコントロール RNA として用いた。*Legionella pneumophila* 1 CFU 当たりの 5S rRNA コピー数は 8,000 コピーで、18 時間培養後に 400,000 コピーに増加することを明らかにし、検水中の rRNA コピー数から CFU に換算することを可能とした。ATP を指標として微生物汚染の進んだ検体の前処理を追加することで、改良 LC 法は通常の平板培養法と比較して感度 77.3%、特異度 89.1%（108 試料）となった。平板培養法と LC 法の定量値は高い相関を示した（R^2=0.76）。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、死菌量から潜在的な汚染リスクが評価可能であった。[烏谷竜哉（愛媛県立衛環研）、荒井桂子（横浜市衛生研）；磯部順子、金谷潤一（富山県衛生研）；田栗利紹（長崎県保健環境研究センター）、八木田健司（寄生動物部）、矢崎知子（宮城県保健環境センター）、倉　文明]

ウ　Multiplex PCR が有用であったレジオネラ肺炎の一例

原因不明の重症肺炎による入院症例において、第 2 入院病日の喀痰の Multiplex PCR 検査を行い、第 4 入院病日に *L. pneumophila* 陽性の結果をえた。第 11 入院病日には、入院時喀痰の培養にてコロニーの発育を認め、これまで症例数の稀な *L. pneumophila* serogroup 10 と同定された。本症例では、尿中レジオネラ抗原検査は経過を通じて一貫して陰性であり、喀痰培養は 3 日間で陽性となった。喀痰の Multiplex-PCR 検査にて 1 日以内にレジオネラ肺炎の確定診断が得られ、感度と迅速性とに優れていた。[原田義高、吉嶺裕之（春回会井上病院）；諸角美由紀、生方公子（北里大学北里生命科学研究所）；前川純子、倉　文明；渡辺貴和雄、森本浩之輔、有吉紅也（長崎大学感染症内科）]

（３）レジオネラ属菌の消毒に関する研究

ア モデル浴槽水におけるモノクロラミン生成・注入・測定の自動化の検証

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。当該研究では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、モデル循環式と営業施設の浴槽の消毒が可能であること、現場で次亜塩素酸ナトリウムと塩化アンモニウムの混合でモノクロラミンを作成できることを示してきた。本年度は現場での自動注入によるモノクロラミン消毒の例数を増やすために、遊離塩素消毒が難しいアルカリ性の井戸水を用いたモデル循環式浴槽において自動注入による消毒を試みた。次亜塩素酸ナトリウム 0.6%と塩化アンモニウム 1%を水道水に順に混合することで自動生成したモノクロラミンを、ろ過器前に注入した。全塩素計を用いてモノクロラミン濃度を全塩素として測定し、2.5mg/L 未満で注入開始、2.8mg/L 以上で注入停止させる制御を自動的に行なった。試験した 12 日間にわたってモノクロラミン濃度とレジオネラ属菌陰性を維持できた。[杉山寛治、神田 隆（静岡県環境衛生科学研究所）、市村祐二、江口大介（ケイ・アイ化成（株））、小坂浩司（国立保健医療科学院）、泉山信司、八木田健司（寄生動物部）、遠藤卓郎、倉 文明]

イ　自動化モノクロラミン消毒による入浴施設の衛生管理（長崎県の実施例）

昨年度に営業施設において手投入で行ったモノクロラミンの生成・消毒を全自動化、半自動化し、その有効性を検証した。当該施設の原水はアンモニア態窒素等を含み、塩素が大きく消費されて、当初モノクロラミンが十分に残留しなかった。実験室で原水の莫大な塩素消費量が大きいことを確認したので、注入点を原水から水道水で希釈されている循環水に変更し、まず 20t 規模浴槽で自動化を行った。これは全塩素濃度を自動計器で測定し、フィードバック制御でモノクロラミンの注入を全自動で行った。次いで露天風呂とジャグジーに半自動でモノクロラミン消毒を適用した。すなわち、全塩素濃度を DPD で測定後、注入装置の薬液吐出量を手動で微調整して一

定量で注入した。浴槽水の入れ替わりが常に一定であることから浴槽水中の濃度維持が可能であった。最終的に、いずれの浴槽においてもモノクロラミンの濃度を一定に維持し、レジオネラ属菌を不検出に抑えられた。モノクロラミン自動調製注入装置の設置により、用事調製を必要とする管理方法の弱点が改善され、今後の普及が強く期待された。[田栗利紹(長崎県環境保健研究センター)、縣　邦雄（アクアス株式会社)、小坂浩司（国立保健医療科学院)、杉山寛治（静岡県環境衛生科学研究所)、泉山信司（寄生動物部)、倉　文明]

ウ　フローサイトメトリー法における不連続点を超えた塩素消毒の清浄化判定

フローサイトメトリー法を消毒の難しい温泉等に応用した結果、同法のレジオネラリスクの陰性ステージ（清浄化判定）が塩素要求量と関係し、塩素要求量を超えて消毒を行えば、陰性ステージに達することが判明した。フローサイトメトリー法によるステージ判定とレジオネラ属菌検査結果はよく対応した。レジオネラリスクを低減するためには、遊離塩素を用いた温泉等の消毒においては、不連続点塩素管理が要求されることが示唆された。［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)、泉山信司（寄生動物部)、小田康雅（シスメックス(株))、山崎雅之（日産化学工業(株))、倉　文明]

IV. ライム病に関する研究

1. ライム病ボレリアに関する研究

（1）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　病原体 *Borrelia* の MLST 型別データベースの整備

国内でのライム病ボレリアの高感度 DNA 型別解析法による遺伝子データベース構築作業を継続的に行った。本年度は新たに 26 株についてデータベースへの登録を行った。また、中国、モンゴルを含むアジア地域で共通の DNA 型が存在することも明らかとなった。

［川端寛樹，佐藤梢，杉森千恵子，高野愛，大西真（細菌第一部)，藤田博己（馬原アカリ医学研究所)，高田伸弘（福井大学)，伊東拓也（北海道立衛生研究所)，今内覚（北海道大学)，中本敦（岡山県環境保健センター)］

イ　猟犬を歩哨動物としたライム病ボレリアの血清疫学調査

猟犬を歩哨動物としたライム病ボレリアの血清疫学調査を行った。ライム病非流行地と考えられている南九州などにおいても猟犬から抗ボレリア抗体が見出された。一方、ウエスタンブロット法による抗体検索では、猟犬の在住地域により反応する抗原が異なる傾向が見られた。これは猟犬が感染したボレリア種が地域によって異なるためと考えられた。

［川端寛樹，佐藤梢，杉森千恵子，高野愛，大西真（細菌第一部)，後藤みなみ，村井厚子，柳井徳磨（岐阜大学)］

3.　輸入回帰熱とその実験室診断

感染症法四類に規定される回帰熱の輸入感染例を見出した．ウズベキスタンでの *Borrelia percica* 感染例で有った。我が国ではこれまで回帰熱症例が報告されていなかったことから，周期性の発熱を示した患者の内，海外渡航歴があった場合にはマラリアの鑑別が第一に行われる．しかしながら，本症例が示すように，マラリアの実験室診断が陰性の場合には回帰熱を鑑別対象として調べることが重要であると考えられた．また，地方衛生研究所等でも実施可能な高感度でかつ簡易な検査法の開発が急務である．

［川端寛樹，高野愛，杉森千恵子，佐藤梢，大西真（細菌第一部)，忽那賢志（国際医療センター)，笠原敬，三笠桂一（奈良県立医科大学)］

V. 侵襲性髄膜炎菌感染症に関する研究

1. 髄膜炎菌に関する研究

（1）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア　髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

2011 年度 1 年間に感染研に収集された 25 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 B 群：16 株、Y 群 8 株、29E 群；1 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-687：9 株、ST-23：5 株、ST-32：4 株、ST-2057：1 株、ST-60：1 株、ST-3015：3 株、未同定：2 株であった。本年度は 2011 年 5 月の宮崎での集団感染事例があったため、単離株の絶対数が増えている。一方で、全国の臨床の先生方に積極的にご協力頂いた成果の賜物であるとも考えている。今年度の分離株の中では血清群 29E の ST-60 の株が注目される。この臨床分離株は発熱治療の外来患者の喀痰から分離された。今回のように珍しい血清型および ST 株が検出されるということは日本国内には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る。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］

イ　髄膜炎菌性感染症の集団感染事例の解析

2011 年 5 月に宮崎県の高校の寮で発生した髄膜炎菌の集団感染（一名死亡、四名入院）及び健康保菌者から

分離された計８株の髄膜炎菌株に関して分子疫学的解析を行なった。その結果、すべての分離株は血清群 B で遺伝子型 687 であった。PFGE 解析も行ない、８株中では 1 本のバンドに相違が認められたが巨視的解釈により単一株による同一集団中での感染拡大であることが推測された。

［高橋英之、川端寛樹、島村友子、大西真（感染研)、安藤由香、田原寛之、関谷紀貴（FETP)、砂川富正、谷口清洲（感染症情報センター)］

（２）病原機構解明に関する研究

ア　髄膜炎菌の線毛のマイナータンパク PilV の宿主細胞感染における遺伝学的及び物理化学的手法を用いた機能解析

過去に行なった signature tag mutagenesis の変法を用いた髄膜炎菌の病原性因子の網羅的探索によって得られた変異株の中に線毛構成マイナータンパク（*pilV*）遺伝子に挿入変異を持つ株が得られたのでその変異株に関してさらに解析を進めた。その結果、そ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 /10 程度に低下していたが、その侵入能は 1/100 にまで低下していた。LC-ESI MS/MS 及び MALDI-TOF MS による解析から *pilV* 変異株において線毛のメジャータンパク PilE の糖鎖修飾に変化が認められる一方で PilE の phosphoglycerol 修飾及び phosphocholine 修飾は *pilV* 変異によって変化しないことが明らかとなった。また PilE の糖鎖修飾されるセリン残基をアラニンに置換した変異体及び糖鎖転移酵素挿入変異株のヒト培養細胞への感染能は *pilV* 変異株と同レベルまでは低下しなかった。以上のことから、髄膜炎菌の接着因子として知られる線毛においてそのマイナータンパク PilV 自体が挿入されることにより endocytosis を促進するシグナルを宿主細胞へ与える機構が存在している可能性が示唆された。また、病原性因子の接着因子と侵入因子としての機能が PilV タンパクによって切り替えられている興味深い事実が推測された。［高橋英之、大西真（感染研)、柳沢達男、横山茂之（理研)、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ)］

イ　髄膜炎菌の培養細胞における接着の研究

尿道炎由来髄膜炎菌の細胞接着性に着目し、髄膜炎菌性尿道炎の発症メカニズム実態解明に努めている。昨年度までに尿道炎由来株と非尿道炎由来株の培養細胞に対する接着に有意差があることを明らかにした。本年度はその有意差の原因を解明するために、形質転換及びバイオパンニング法によって得られた HeLa 細胞に対して低接着型から高接着型に形質転換した非尿路由来 *N.meningitidis* の解析を行い、その高接着型を示す責任遺伝子の決定を試みたところ、外膜タンパク質である Opa がその原因の一つとして関与していることが示された。

［志牟田　健、高橋　英之、大西　真］

VI. レプトスピラ症に関する研究

1. レプトスピラに関する研究

（１）検出系、菌株の型別、および分子疫学解析に関する研究

ア　LAMP 法による尿からの簡便なレプトスピラ検出法の開発

DNA 精製を必要としない尿からの簡便なレプトスピラ DNA 検出法（Lepto-*rrs* LAMP）の開発を行った．Lepto-*rrs* LAMP は病原性レプトスピラを特異的に検出し，レプトスピラ生菌を尿に懸濁し，ボイル後の上清をテンプレートとした場合の感度は，反応系あたりレプトスピラ 2 細胞であった．野外のドブネズミ，ブタおよび水牛の尿から Lepto-*rrs* LAMP の検出感度をおよび *flaB*-nested PCR による DNA 検出ならびにドブネズミ腎臓の培養を比較した結果，Lepto-*rrs* LAMP の検出感度は *flaB*-nested PCR あるいは培養よりも高いことが明らかとなった．

［小泉信夫，大西真、中島千絵，鈴木定彦（北大 CZC)，春成常仁，谷川力（イカリ消毒技術研究所)，常盤俊大（東京医歯大)，内村江利子（鹿児島中央家畜保健衛生所)，古谷徳次郎（ファイザー)，Mingala CN，Villanueva MA（フィリピン）］

イ　MLVA によるレプトスピラ国内分離株の分子タイピング

国内で分離されたレプトスピラ *L. interrogans* の分子タイピングを，multiple locus variable-number tandem repeats analysis（MLVA）により行った．その結果，これまでの分子タイピング法では同じタイプと分類された異なる血清群分離株を，MLVA により区別することが可能となった．また同じ血清群内の遺伝的多様性が明らかとなり，さらに動物種特異的な血清群の存在が明らかになった．

［小泉信夫，武藤麻紀，大西真］

ウ　各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

イヌから *L. interrogans* serogroup Australis および Hebdomadis を分離した（分離率 18.5%）．小型哺乳動物

から は , *L. borgpetersenii* serogroup Hebdomadis/Sejroe（エゾヤチネズミ）および serogroup Javanica(エゾヤチネズミおよびオオアシトガリネズミ), *L. interrogans* serogroup Autumnalis（アカネズミ）および serogroup Icterohaemorrhagiae（ドブネズミ）および *L. kirschneri*（オオアシトガリネズミ）を分離した（8.5%）. 東京都の引き取り・収容ネコからレプトスピラを分離することはできなかった.

[小泉信夫, 武藤麻紀, 大西真, 春成常仁, 谷川力（イカリ消毒技術研究所), 水谷浩志（東京都動物愛護相談センター城南島出張所), 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）]

VII. 泌尿生殖器感染症に関する研究

1. 淋菌に関する研究

（1）菌株の型別および分子疫学解析に関する研究

ア 薬剤耐性淋菌のサーベイランス

2011年4月から2012年3月の間に、京都市の2箇所及び大阪府の2箇所のクリニックより輸送された臨床検体のうち、本研究所にて淋菌と分離同定した169株についてCPFX 、PCG、CFIX、 AZM、CTRXの5薬剤に対するMIC測定を行った。その結果、それぞれ上記の薬剤に対して41株(24.7%)、9株(5.3%)、62株(36.7%)、133株(78.7%)、152株(89.9%)が感受性株であった。更に、分離株における流行株の特定の試みを2種類の分子型別を用いて行った。その結果、Multi-locus sequence typing法解析ではMLST 1901が最も高頻度で分離され、*Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing (NG-MAST)解析ではNG-MAST 1407が最も高頻度で分離された。

［志牟田 健、中山 周一、大西 真］

イ *penA* 遺伝子 501 位のアラニンへの変異導入の試み

penA 遺伝子変異はβ-lactam 剤耐性の責任変異の１つである。β-lactam 剤の中でも第３世代セフェムであるセフトリアキソン耐性は当該薬剤が事実上、最後の有効薬剤となっている淋菌感染症治療で大きな問題である。*penA* はその配列から、様々な種類に分類されているが、多くの種類で501位のアラニンがプロリンに変異することと第３世代セフェムに対する MIC 上昇とがリンクしている。ところが、*penA* のうち、*penA-X* に限ってはこの残基の変異が報告されていない。*penA-X* のバックボーンでは、この変異が逆にセフェム MIC を降下させる可能性も考えられる。そこで、*penA-XXXIV*、*penA-X*、*penA-CI* の３バックボーンそれぞれの 501 位がアラニン、プロリン、バリンの３種の Variant *penA* をまず、plasmid 上で作製することを試みている。この際に、通常行われる変異導入用 primer による plasmid 周回 PCR が効率的に進行しなかったため、変異導入用 primer 部位の上流側断片と下流側断片とを融合 PCR で連結する新しい方法を考案した。［中山周一、志牟田健、大西真］

ウ タイにおける PPNG の解析

ペニシリナーゼ産生淋菌（PPNG）は日本では稀だが、ペニシリンが淋菌治療に使用される地域では多数を占める。ペニシリナーゼの TEM 変異のうち、あるものは基質特異性が広がり、セフトリアキソン耐性となるもの（基質拡張型 TEM）も腸内細菌では報告がある。淋菌ではプロトタイプの TEM-1 以外のものはこれまで報告がなかったが、今回タイの 2005 年から 2007 年までに分離された PPNG の 96 株を解析したところ、TEM-1 は 87 株、他の 9 株は変異型の TEM-135 であった。TEM-135 は 1 塩基置換のみで基質拡張型 TEM の１つ、TEM-20 になり得る構造である。TEM-135 が約 10%のプレバレンスを持つタイの現状から、これらからの TEM 変異による機構での新規なセフトリアキソン耐性出現が危惧され、今後の監視の必要性が提起された。また、菌株の分子タイピングから、検出された TEM-135 保持株は TEM-1 保持株から派生したと考えられるものと独立したものとの両方が存在していた。［中山周一、志牟田健、大西真、C Tribuddharat、S Prombhul、S Srifuengung（タイ、マヒドール大学)、M Unemo（スェーデン、オレブロ大学病院)］

VII. 口腔細菌感染症に関する研究

1. *Streptococcus mutans* に関する研究

（1）多様性形成機構に関する研究

ア 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。この多様性の中で特に Smooth 型 Colony 形成は、酸や抗生物質などによるストレス応答に起因して出現することが明らかになり、さらにこれらのストレス応答に起因して起こる遺伝子取り込みも Smooth 型 Colony の出現に影響していることが明らかになった。

［成澤直規、大西 真、泉福英信］

（2）病原機構に関する研究

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として、Fructanase(FruA)を分泌することが明らかとなった。FruA は、*S. mutans* が産生する Competence stimulating peptide(CSP)と結合しその活性を抑制することを見出した。FruA が sucrose を分解し、glucan を合成させなくすることに加えこの CSP の活性阻害もバイオフィルムの病原性を低下させるために有効であると考えられた。

［泉福英信、大西　真］

イ *Streptococcus mutans* における CSP 依存新規病原性関連遺伝子の検討

S. mutans は、Biofilm（BF）形成、酸耐性、competence などが病原性に関わることが明らかとなっている。これらの病原性の発現に関わる CSP 依存的 Com 経路に制御される 6 つの遺伝子変異株を作製し、それらの影響について検討した。SMU574 および SMU940 変異株は病原性に影響はみられなかった。SMU1013 および SMU1598 変異株は、4 時間での BF 形成が野生株に比較し約 40%低下した。また SMU2066 変異株は、酸性条件下での発育は低下し、さらに competency は 40%低下した。SMU1013、SMU1598 及び SMU2066 は膜タンパクをコードすると推測される為、膜構造の変化が *S. mutans* の病原性に影響すると考えられた。

［鈴木奈央未、成澤直規、落合邦康（日本大学歯学部）、泉福英信］

エ　Extracellular DNA による *Streptococcus mutans* 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。この Com に依存して SunL は発現し、SunL の下流の PknB の発現量に影響し、耐酸性、extracellular DNA の放出、遺伝子の取り込みに関わることが明らかとなった。耐酸性、extracellular DNA の放出は、初期のバイオフィルム形成に関与することも明らかとなった。

［泉福英信、成澤 直規、大西　真］

（3）口腔感染症のモデル動物を用いた検討

ア　唾液分泌低下マウス(NOD/SCID.*e2f1*)を用いた *S. muatns* 口腔バイオフィルム形成モデルの作成

唾液分泌低下マウス(NOD/SCID.*e2f1*-)の口腔にヒト唾液を処理して、PBS にて洗浄後、0.2%のクロルヘキシジンにて口腔常在菌を除菌し、*S. mutans* を接種すると、NOD/SCID マウスに比べ 180 分後で有意な歯表面におけるコロニー形成が認められた。さらに菌接種後、固形食を食べさせて 1%スクロースを飲ませると、NOD/SCID マウスに比べ有意なコロニー形成が認められるようになった。このコロニー形成はバイオフィルム形成によるものであると考えられた。

［伊藤龍朗、成澤直規、大西　真、泉福英信］

イ　*S. muatns* 口腔バイオフィルム形成モデルを用いた SspB ペプチドの効果

NOD/SCID.*e2f1*-マウスの口腔にヒト唾液を処理し、その歯表面に SspB390-T400K-402 ペプチドや SspB390-A393K-T400K-402 ペプチド溶液を用いて口腔を処理した。その後、*S. mutans* を接種し、上述の口腔バイオフィルム形成実験を行った。口腔バイオフィルム形成におけるそれらペプチドの効果を検討した。その結果、ペプチドによるバイオフィルム阻害効果を観察することができた。これらのペプチドは、*S. mutans* のマウス歯表面への付着を阻害することによりバイオフィルム形成を阻害することが考えられた。

［泉福英信、伊藤龍朗、成沢直規、大西　真］

ウ　マウス歯表面における *S. mutans* の口腔バイオフィルム形成における遺伝子の役割

S. mutans UA140.*ciaX*-の歯表面定着量は、マウス歯表面において接種してから 120 分後、親株 *S. mutans* UA140 に比べ多く認められた。*S. mutans* UA140.*mut IV*-の歯表面定着量は、親株に比べ少く認められた。他の遺伝子変異株では、大きな影響が認められなかった。*cia*X は抗菌物質である mutasin 分泌を抑える ciaR の制御に関わり、*cia*X mutant は、mutacin の過剰産生に傾くことになる。この結果、マウス常在菌を破壊することになりマウス歯表面での定着量が上昇したことが考えられる。一方、mutacin IV の欠損は、*S. mutans* の歯表面定着量を減少させたことから、*S. mutans* の mutacin IV 遺伝子は本菌のマウス口腔内への定着性に影響することが明らかとなった。

［成沢直規、伊藤龍朗、Justin Merritt（オクラホマ州立大学）、大西　真、泉福英信］

2. 歯周病源細菌 *P. gingivalis* に関する研究

（1）歯周病予防ワクチンの開発

ア *P. gingivalis* の外膜ヴェシクル（OMV）ワクチンのマウスへの投与条件の検討

昨年度に引き続き、主たる歯周病原細菌である *P. gingivalis* の外膜ヴェシクル（OMV）を精製し、マウスへの免疫実験に利用している。今年度は、*P. gingivalis* 特異的血清 IgG と唾液 s-IgA の誘導能を指標に、OMV の最適な投与ルートと投与量を検討した。結果、皮下あるいは腹腔内注射によるワクチンによって血清 IgG を誘導できるが、唾液 s-IgA を誘導することはできなかった。一方、経鼻投与では両者ともに誘導することできたが、舌下投与では良好な結果は得られなかった。また、投与量 0.5μｇ以上の経鼻投与で、血清 IgG および唾液 s-IgA を誘導できることが明らかとなった。［中尾龍馬、白東英、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］

イ 歯周病患者血清を用いた *P. gingivalis* の OMV の抗原性に関する研究

P. gingivalis 野生株、および OMV 低産生株の全菌体を固相化した ELISA において、歯周病患者血清の抗 *P. gingivalis* 抗体価を調べたところ、野生株よりも OMV 低産生株で有意に低い値を示した。また、患者血清を OMV で吸収すると全菌体に対する反応性が減弱した。さらに OMV に対する患者血清のウエスタンブロットを行うと強い反応性が見られた。患者血清間で反応するバンドは様々であったが、約 70 および 45kDa のバンドは共通して検出された。以上、*P. gingivalis* の OMV の強い抗原性が示され、OMV が歯周病の免疫学的マーカーとして診断に利用できる可能性が示唆された。［中尾龍馬、高柴正悟（岡山大学）、渡邉治雄、大西真、泉福英信］

ウ *P. gingivalis* OMV のタンパクプロファイリングと病原因子の同定

SDS-PAGE で展開された OMV タンパクを液体クロマトグラフィー質量分析に供したところ、*P. gingivalis* のジンジパインを含む様々な病原因子が同定された。また *P. gingivalis* の培養上清や精製された OMV には、口腔扁平上皮細胞株 HSC-2 をプレートから脱離させる活性が認められたが、熱処理により不活化するとその活性は完全に失われた。以上より、OMV はジンジパインなどの病原因子を運び、歯周病の発症や増悪の病理に関与する可能性が示唆された。［中尾龍馬、古園さおり（東京大学）、大西真、泉福英信］

エ 唾液中抗 *P. gingivalis* OMV 抗体価の検討

P. gingivalis の外膜ヴェシクル（OMV）に対するヒト唾液中 IgA の抗体価を ELISA 法を用いて評価した。96 穴プレートに OMV を固相し、採取したヒトの唾液を添加して結合させた。洗浄後、酵素標識抗体を用いてラベル化し、抗体価を比色法にて評価した。その結果、*P. gingivalis* W83 株から調整した OMV を固相したプレートを用いた場合、歯周病の病態の臨床的な指標である CPI コードが大きくなるにつれ、唾液中に含まれる抗 OMV-IgA 抗体価が高くなる傾向が見られた。このことより、歯周病の病態と抗 OMV 抗体価に関連性が推察された。［中尾龍馬、高山和人（株式会社 GC）、大西真、泉福英信］

3. 口腔常在菌に関する研究

ア マウス口腔における *Candida albicans* と口腔常在菌のとの関係

ヒト口腔には、年齢とともに *C. albicans* の感染が見られるようになってくる。この *C. albicans* の出現が、口腔の健康な微生物叢が破壊されていく指標として考えられている。高齢者は唾液分泌量が低下していることが多い。そこで唾液分泌低下モデルである NOD/SCID.*e2f*-マウスに *C. albicans* を接種して、*C. albicans* の口腔感染の成立が唾液分泌低下と関わるか検討を行った。その結果、*C. albicans* は唾液の分泌低下に関係なく口腔感染が認められた。時間経過とともに、マウス常在菌の増加するとともに、*C. albicans* の感染量が減少していった。常在菌の量が、C. albicans の感染量に影響した可能性が考えられた。

［金口紀彦、成沢直規、伊藤龍朗、大西　真、泉福英信］

4. 歯科医療における院内感染対策導入に関する調査

（1）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

少子高齢化とともに様々な感染症が流行する昨今，唾液や血液が飛び散る可能性の高い歯科医療において，全身感染症を有する患者に対してどのような指標のもと，歯科医療を提供していけばよいのか明確な基準が示されていない。そこで本研究は、歯科医療における院内感染対策の評価指標を開発しそれを応用していくことを目的として研究を行った。

平成 19～21 年度の研究事業により確立した 11 の院内感染対策の評価項目の中で，院内感染対策の講習会への参

加、院内感染対策のスタッフへの教育とスタッフへの B 型肝炎ワクチン接種が比較的に容易に 1 年以内にできる項目であった。これらを重要課題とし, 意識、行動に一番影響を与える患者ごとのタービンヘッドの交換を次に導入すべき最重要課題であると考えられた。

［泉福英信、多田章夫（兵庫大学)、小森康雄（東京医科大学)］

レファレンス業務

Ⅰ. 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

1. 市販されていないレジオネラ免疫血清の作成と配布

6 支部センターにレジオネラ免疫血清ロングビーチ 1 群、レジオネラ免疫血清ロングビーチ 2、レジオネラ免疫血清ロングビーチ 2253、レジオネラ免疫血清ハッケリー1 群＆2 群、レジオネラ免疫血清フィーレイ 1 群、レジオネラ免疫血清フィーレイ 2 群、レジオネラ免疫血清ロンディニエンシス 1 群、レジオネラ免疫血清ロンディニエンシス 2 群、レジオネラ免疫血清アニサを配布した。また陽性対照となる加熱死菌を 6 支部センターに配布した。［倉　文明、前川純子、大西　真］

2. 平成 23 年度は、臨床分離株 46 株、環境分離株 71 株合計 117 株を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 38 株、Lp SG3 および Lp SG6 の各 2 株、Lp SG2 と Lp SG9 と Lp SG12 と Lp UT 各 1 株であった。津波で溺水した事例 4 株、スポーツ施設で集団感染事例 1 株を含んだ。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 34 株、Lp SG3 の 8 株、Lp SG6 の 7 株、Lp SG5 の 6 株、Lp SG UT の 4 株；Lp SG12、Lp SG8、Lp SG10 と推測される株、同一施設由来で既存の菌種とは異なる L. spp.各 2 株； *L. feeleii* SG1 と *L. quinlivanii* と Lp SG2 と Lp SG9 の各 1 株であった。この環境分離株中には、まれな環境水由来株（シャワー水 26 株、噴水 7 株、修景水 2 株、河川水 1 株、加湿器 1 株の合計 37 株)、症例調査に関連した株（9 株）を含んだ。なお、収集された株は、必ずしも平成 23 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. 今年度、厚生労働省の依頼により承認前検査を行ったものは 2 件で、いずれも、特例的に行うクラミジア・トラコマティス 遺伝子と淋菌遺伝子との同時鑑別検出試薬である。いずれもリアルタイム PCR をその検出原理としている。いずれも規格試験に合格した。[中山周一]

国際協力関係業務

Ⅰ. ベトナム NIHE に対する技術支援

1) コレラ菌の分子タイピング法の指導、2011 年 8 月［泉谷秀昌］

2) ペスト菌の迅速診断法の指導、2011 年 11 月［高橋英之］

3) ベトナム NIHE からの JICA 研修生ペスト菌およびコレラ菌に関する講習会、東京、2012 年 2 月 ［泉谷秀昌、荒川英二、森田昌知、高橋英之］

II ラオス NCLE に対する技術支援

下痢原性細菌の分離同定法に関する指導、2011 年 9 月［泉谷秀昌、大西　真］

III 中南米血液スクリーニング講習会

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、2012 年 1 月。［中山周一］

研修業務

1) 病原性ナイセリア属菌に関して、平成 22 年度希少感染症・細菌・初級コース（国立保健医療科学院主催)、東京、2011 年 11 月。［高橋英之］

2) 国立感染症研究所で開催された地方衛生研究所等において病原細菌に関する検査業務に従事する方を対象とした「平成 23 年度短期研修細菌研修」において、溶血性レンサ球菌に関する講義を 1 時間行った。［池辺忠義］

3) 平成 23 年度短期研修細菌研修(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 37 名に対して 2 時間の講義を行った。12 月 2 日、東京都。［倉文明、前川純子］

4) レジオネラ症対策の各種講習会（文京区文京保健所)

レジオネラ感染症防止のための衛生管理講習会 6 月 8 日および 6 月 10 日（サウナ、スポーツクラブ、旅館、

ホテル、銭湯の営業者及び施設担当者向け合計 36 名)、介護保険施設内浴場におけるレジオネラ症対策衛生管理講習会 11 月 8 日 (施設管理者及び担当者向け 22 名)、公衆浴場等におけるレジオネラ症発生防止対策 11 月 10 日 (23 区の環境衛生監視員向け 33 名)、東京都。[倉文明、前川純子]

5) 平成 23 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)講義を行った。申込み受講者は 346 名であった。2 月 17 日、東京都 [前川純子、泉山信司 (寄生動物部)、倉　文明]

6) 平成 23 年度希少感染症診断技術研修会
細菌性下痢症「腸管出血性大腸菌の O 血清群：分離状況と検査法について」 平成 24 年 2 月 23 日 [伊豫田淳]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Ramstedt M, Nakao R, Wai SN, Uhlin BE, Boily JF: Monitoring surface chemistry changes in the bacterial cell wall - multivariate analysis of Cryo-X-ray photoelectron spectroscopy data. J Biol Chem 2011, 286: 12389-96.

2) Nakao R, Hasegawa H, Ochiai K, Takashiba S, Ainai A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H : Outer Membrane Vesicles of *Porphyromonas gingivalis* Elicit a Mucosal Immune Response. PLoS One 2011, 6: e26163.

3) Matsumura T, Ato M, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kazuo Kobayashi: Interferon-γ-producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections. Nat Commun 2012, 3:678 doi: 10.1038/ncomms1677.

4) Nahar S, Sultana M, Naser MN, Nair GB, Watanabe H, Ohnishi M, Yamamoto S, Endtz H, Cravioto A. Sack RB, Hasan NA, Sadique A, Huq A, Colwell RR, Alam M: Role of shrimp chitin in the ecology of toxigenic *Vibrio cholerae* and cholera transmission. Front Microbiol 2012, 2:260.

5) Oishi T, Wada A, Chang B, Toyabe S, Uchiyama M: Serotyping and multilocus sequence typing of *Streptococcus pneumoniae* isolates from the blood and posterior nares of Japanese children prior to the introduction of 7-Valent pneumococcal conjugate vaccine. Jpn J Infect Dis 2011, 64: 341-344.

6) Izumiya H, Matsumoto K, Yahiro S, Lee J, Morita M, Yamamoto S, Arakawa E, Ohnishi M: Multiplex PCR assay for identification of three major pathogenic *Vibrio* spp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio vulnificus*. Mol Cell Probes 2011, 25: 174-176.

7) Shahada F, Sekizuka T, Kuroda M, Kusumoto M, Ohnishi D, Matsumoto A, Okazaki H, Tanaka K, Uchida I, Izumiya H, Watanabe H, Tamamura Y, Iwata T, Akiba M: Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates harboring a chromosomally encoded CMY-2 β-lactamase gene located on a multidrug resistance genomic island. Antimicrob Agents Chemother 2011, 55: 4114-4121.

8) Sugawara M, Shahada F, Izumiya H, Watanabe H, Uchida I, Tamamura Y, Kusumoto M, Iwata T Akiba M: Change in antimicrobial resistance pattern in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates in a beef cattle farm. J Vet Med Sci 2012, 74: 93-97.

9) Sithivong N, Morita-Ishihara T, Vongdouangchanh A, Phouthavane T, Chomlasak K, Sisavath L, Khamphaphongphane B, Sengkeopraseuth B, Vongprachanh P, Keosavanh O, Southalack K, Lee J, Tsuyuoka R, Ohnishi M, Izumiya H: Molecular subtyping in cholera outbreak, Laos, 2010. Emerg Infect Dis 2011, 17: 2060-2062.

10) Tada A, Senpuku H: Attitudes towards HIV-infected patients, knowledge related to HIV/Universal precautions, and infection control practices of Japanese dentists. J Dent Health 2011, 61: 273-281.

11) Narisawa N, Kawarai T, Suzuki N, Sato Y, Ochiai K, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H: Competence-dependent endogenous DNA rearrangement and uptake of extracellular DNA gives a natural variant of *Streptococcus mutans* without biofilm formation. J Bacteriol 2011, 193: 5147-5154.

12) Ito T, Maeda T, Senpuku H: Roles of salivary components in *Streptococcus mutans* colonization in a new animal model using NOD/SCID.*e2f1*- mice. PLoS ONE 2012, 7: e32063.

13) Taguri T, Oda Y., Sugiyama K., Nishikawa T, Endo T, Izumiyama S, Yamasaki M., Kura F: A rapid detection method using flow cytometry to monitor the risk of legionellosis in bath water. J Microbiol Methods 2011,

86:25-32.

14) Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Konnai S, Tajima T, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H: Characterization of Reptile-associated borrelia in the vector tick, *Amblyomma geoemydae*, and its association with Lyme disease and Relapsing fever *Borrelia* spp. Environmental Microbiology Report 2011, 3: 632-7.

15) Takano A, Nakao M, Masuzawa 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, Taylor K, Tsubota T, Konnai S, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H: Multi-locus sequence typing implicates rodents as the main reservoir host of human pathogenic *Borrelia garinii* in Japan. Journal of Clinical Microbiology 2011, 49: 2035-9.

16) Tabara K, Kawabata H, Arai S, Itagaki A, Yamauchi T, Katayama T, Fujita H, Takada N: High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick. Journal of Veterinary Medical Science 2011, 73, 507-10.

17) Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka WN, 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. Veterinary Microbiology 2011, 149: 504-7.

18) Lee K, French N P, Hara-Kudo Y, Iyoda S, Kobayashi H, Sugita-Konishi Y, Tsubone H, Kumagai S: Multivariate analyses revealed distinctive features differentiating human and cattle isolates of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in Japan. Journal of Clinical Microbiology, 49, 1495-1500, 2011.

19) Iyoda S, Honda N, Saitoh Y, Shimuta K, Terajima J, Watanabe H, Ohnishi M: Coordinate control of the locus of enterocyte effacement and enterohemolysin genes by multiple common virulence regulators in enterohemorrhagic *Escherichia coli*.
Infection and Immunity, 79, 4628-4637, 2011.

20) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, M. Ohnishi M; EHEC Study Group: Emergence of a novel Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O serogroup cross-reacting with *Shigella boydii* type 10. Journal of Clinical Microbiology, 49, 3678-3680, 2011.

21) Lee K, French NP, Jones G, Hara-Kudo Y, Iyoda S, Kobayashi H, Sugita-Konishi Y, Tsubone H, Kumagai S: Variation in stress resistance patterns among stx genotypes and genetic lineages of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157. Applied Environmental Microbiology. 78, 3361-3368, 2012.

22) Rajkumar S, Joseph Ratnam VP, Narmada N, Arakawa E, Sundararaj T. Enterotoxigenicity screening of viable environmental *Vibrio cholerae* strains from rainwater pools in a university campus in Chennai, South India. Scand J Infect Dis. 2011 May;43(5):325-8.

23) Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Kitawaki J, Unemo M: Is Neisseria gonorrhoeae initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. Antimicrob Agents Chemother. 2011, 55:3538-45.

24) Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, Kuroda M. Complete Sequencing of the bla_{NDM-1}-Positive IncA/C Plasmid from *Escherichia coli* ST38 Isolate Suggests a Possible Origin from Plant Pathogens. PLoS One. 6: e25334, 2011

25) Goire N, Ohnishi M, Limnios A, Lahra M, Lambert S, Nimmo G, Nissen M, Sloots T, Whiley D. Enhanced gonococcal anti-microbial surveillance in the era of ceftriaxone resistance: a real-time PCR assay for direct detection of the Neisseria gonorrhoeae H041 strain. J. Antimicrobial Chemotherapy. 67: 902-905, 2012

26) Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant N. gonorrhoeae in Europe (France): novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. Antimicrob Agents Chemother Antimicrob Agents Chemother 56: 1273-1280. 2012

27) Golparian D, Eernandes P, Ohnishi M, Jensen J, Unemo M: In vitro activity of the new fluoroketolide solithromycin (CEM-101) against a large collection of clinical Neisseria gonorrhoeae isolates and international reference strains including those with

various high-level antimicrobial resistance - potential treatment option for gonorrhea? Antimicrob Agents Chemother 56: 2739-2742, 2012.
28) Amilasan AT, Ujiie M, Suzuki M, Salva E, Belo MC, Koizumi N, Yoshimatsu K, Schmidt W, Marte S, Dimaano EM, Villarama JB, Ariyoshi K: Outbreak of Leptospirosis after Flood Caused by Typhoon Ketsana in Metro Manila, the Philippines, 2009. Emerg Infect Dis. 2012, 18: 91-4.
29) Masuzawa T, Uchishima Y, Fukui T, Okamoto Y, Muto M, Koizumi N, Yamada A. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* from wild boars and deer in Japan. Jpn J Infect Dis. 2011, 64: 333-6.
30) Gamage CD, Koizumi N, Muto M, Nwafor-Okoli C, Kurukurusuriya S, Rajapakse JRPV, Kularatne SAM, Kanda K, Lee RB, Obayashi Y, Watanabe H, Tamashiro H. Prevalence and Carrier Status of Leptospirosis in Smallholder Dairy Cattle and Peridomestic Rodents in Kandy, Sri Lanka. Vector Borne Zoonotic Dis. 2011, 11: 1041-7.

2. 和文発表

1) 高橋英之、大西真：病原菌の今日的意味、髄膜炎菌、医薬ジャーナル社、2011 年 11 月
2) 川端寛樹、高橋英之：感染症辞典、3-27　ペスト、オーム社、2012 年 2 月
3) 関谷紀貴、安藤由香、田原寛之、高橋英之、川端寛樹、大西真、砂川富正、谷口清州、藤本茂紘、甲坂直美、相馬宏敏、古家隆、日高政典：和田陽市宮崎県における髄膜炎菌感染症集団発生事例 IASR 2011,32: 298-299
4) 松原康策、仁紙宏之、岩田あや、内田佳子、山本剛、常彬、和田昭仁。小児侵襲性肺炎球菌感染症の季節変動と集団保育との関連。 感染症学雑誌、86：7-12、2012
5) 泉谷秀昌：卵による食中毒－サルモネラとは。健康教室、2012, 63: 59-61
泉福英信、歯科領域と口腔感染症について、バムサジャーナル、2011, 23: 3-6.
6) 西山明宏, 石田直, 興梠陽平, 小西聡史, 坪内和哉, 伊賀知也, 國政啓, 岩破将博, 福山一, 仲川宏昭, 伊藤明広, 生方智, 吉岡弘鎮, 橘洋正, 有田真知子, 橋本徹, 前川純子：*Legionella pneumophil*a serogroup3 による呼吸器感染症の 4 症例. 感染症学雑誌 2011, 85:373-379
7) 倉　文明: 浴場や環境中からのレジオネラ感染、公衆衛生 2011,75:460-464.
8) 浅井紀夫、中島智子、杉浦伸明、柳瀬杉夫、伊豫田淳：京都府内で分離された腸管出血性大腸菌 O157:H7 株のクレード解析に関する調査、京都府保環研年報、2011, 56, 18-2.
9) 荒川英二: 生食のリスクー魚介類の生食と感染症・食中毒　p.37-39　公衆衛生　76 巻 1 号(2012)
10) 寺嶋　淳；生食と腸管出血性大腸菌　特集　生食のリスク。公衆衛生　2012, 76: 19-23.
11) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原明子、大西　真;腸管出血性大腸菌感染症の最近の動向。食品衛生研究、2011, 61; 7-15.
12) 寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原明子、大西　真、渡辺治雄；腸管出血性大腸菌サーベイランス　感染症サーベイランス―その役割と展望。臨床と微生物、2011, 38: 59－63.
13) 寺嶋　淳；質疑応答　腸管出血性大腸菌の血清型と毒性。日本医事新報、2011, 4555: 64-65.

Ⅱ. 学　会　発　表

1. 国際学会

1) Mitobe J, Yanagihara I, Ohnishi K, Yamamoto S, Ohnishi M, Ishihama A and 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
2) Ramstedt M, Nakao R, Wai SN, Uhlin BE, Boily JF: Characterizing Bacterial Cell Wall Composition using cryo-XPS and Multivariate Analysis. MRS Spring Meeting and Exhibit. San Francisco, CA. Apr. 2011.
3) Nakao R, Ramstedt M, Wai SN, Uhlin BE: Dose-dependent effect of the *kil* gene on biofilm formation of *Escherichia coli*. Eurobiofilms 2011. Copenhagen, Denmark. Jul, 2011.
4) Nakao R, Bai D, Hasegawa H, Ainai A, Ohnishi M, Senpuku H: Feasibility of intranasal vaccine for periodontal diseases using outer membrane vesicles. Gordon Research Conference: Periodontal Diseases, Davidson, NC. Jul, 2011.
5) Nakao R, Hasegawa H, Ainai A, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H: Immunological properties of outer membrane vesicles from *Porphyromonas gingivalis*. International Union of Microbiological Societies

2011 Congress. Sapporo, Tokyo. Sep, 2011.

6) Nakao R, Hasegawa H, Ainai A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H: Immunological properties of outer membrane vesicles from *Porphyromonas gingivalis*. 5th National Infection Biology Meeting (NIBM). Umeå, Sweden. Nov, 2011

7) Ramstedt M, Nakao R, Wai SN, Uhlin BE, Boily JF: Monitoring bacterial cell wall composition using cryo-XPS and multivariate analysis. 5th National Infection Biology Meeting (NIBM) Umeå, Sweden. Nov, 2011.

8) Nakao R: I. Effect of deletion of LPS core oligosaccharides on Biofilm formation and OMV formulation. II. Role of Outer Membrane Vesicles of *Porphyromonas gingivalis*. 1st Cell Adhesion Workshop. Umeå, Sweden. Dec, 2011.

9) Ikebe T, Katsukawa C, Ohya H, Suzuki R, Oguro Y, Tominaga K, Shima T, Isobe J, Ogata K, Okuno R, Fujimoto T, Tada Y, Okabe N, Ohnishi M, Watanabe H, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan: Molecular Epidemiology of group A *Streptococcus* isolated from patients with severe invasive infections in Japan during 2004-2010. XVIII Lancefield International Symposium. Palermo, Italy, Sep, 2011.

10) Matsumura T, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M: The protective role of a novel population of interferon-γ producing cells in severe invasive Group A streptococcal infections. XVIII Lancefield International Symposium. Palermo, Italy, Sep. 2011.

11) Ato M, Ikebe T, Matsumura T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K: Contact with group A *Streptococcus* isolated from severe invasive infections induces rapid necrosis of human neutrophils. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan, Sep. 2011.

12) Matsumura T, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M: A novel interferon-γ-producing subpopulations of immature myeloid cells confers protection from severe invasive group A *Streptococcus* infections. The Joint International Meeting of The 76th Annual Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research, and The 19th International Symposium of Macrophage Molecular and Cell Biology, Osaka, Japan, May 2011.

13) Chang B, Hosoya M, Toyabe S-I, Ishiwada N, Nakano T, Oda M, Maeda A, Okada K, Nishi J, Akeda H, Kamiya H, Wada A: Surveillance of pneumococcal invasive disease in Japanese children before and after introduction of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine. The international Union of Microbiological Society 2011, Japan, Sep. 2011.

14) Takahashi Y, Oikawa J, Tanaka J, Hishiki H, Ishiwada N, Chang B, Wada A: The serotypes distribution for *Streptococcus pneumoniae* isolated from pediatric respiratory specimens after introduction of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. US-Japan Cooperative Medical Science Program Acute Respiratory Infections Panel, 14th Annual Meeting, Japan, Nov. 2011.

15) Kuroda M, Izumiya H, Sekizuka T, Taguchi M, Watanabe H, Ohnishi M: *IS*1-mediated horizontal acquisition of multiple antibiotics resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. 51st ICAAC Annual Meeting, Sep. 2011, Chicago, USA.

16) Izumiya H: Antimicrobial resistance in food borne pathogens. The 8th Japan-Taiwan Symposium, Oct. 2011, Tokyo, Japan.

17) Ishihara T, Masashi Miura, Iyoda S, Izumiya H, Watanabe H, Ohnishi M, Terajima J: An EHEC type 3 effector EspO1-2 controls EspM2-mediated RhoA signaling pathway by protein-protein interaction to prevent detachment of EHEC-infected host cells. The International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. Hokkaidou, Japan. Sep. 2011

18) Suzuki N, Narisawa N, Kiuchi M, Morokuma M, Ishigami T, Ochiai K, Senpuku H: Roles of novel biofilm-associated genes on virulence expression in *Streptococcus mutans.* 4th Congress of European Microbiologist, Geneva, Switzerland, Jun, 2011.

19) Narisawa N, Suzuki N, Sato Y, Ochiai K, Senpuku H: Appearance mechanisms of naturally-derived biofilm-deficient mutant in *Streptococcus mutans* under stress environment. Poster, Eurobiofilm 2011, Copenhagen, Denmark, Jul, 2011.

20) Kanaguchi N, Ito T, Zhang X, Kinoshita Y, Narisawa N, Hayashi N, Shinozuka O, Senpuku H: Evaluation of *Candida albicans* colonization in oral cavity of NOD/SCID.*e2f1*$^{-/-}$ mice. Poster, Eurobiofilm 2011,

Copenhagen, Denmark, Jul, 2011.

21) Nakao R, Ohnishi M, Senpuku H: Gordon Research Conferences, Adhesion Science of Gordon-Kenan Research Center, Lewiston, ME, USE, Jul, 2011.

22) Zhang Xi, Narisawa N, Ito T, Kinoshita Y, Kanaguchi N, Maeda T, Senpuku H: Dynamic change of the colonization of *Actinomyces naeslundii* and *Streptococcus gordonii* in new animal model. Poster, XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, Japan, Sep, 2011

23) Amemura-Maekawa J, Kaneko A, Kuroki T, Isobe J, Nukina M, Nakajima H, Kawano K, Tada Y, Kura F: *Legionella* isolates from patients in Japan. Annual Meeting of the European Working Group for *Legionella* Infections, Vienna, Austria. May 2011.

24) Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Helbig JH, Furuhata K, Ichinose M, Suzuki-Hashimoto A, Chang B, Murai M, Kura F: Analysis of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from bath water, cooling tower water, and soil in Japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan, September 2011.

25) Murai M, Amemura-Maekawa J, Ohnishi M: The correlation between sequence types of the A region of fibronectin-binding proteins and staphylocoagulase types in *Staphylococcus aureus*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, Japan, September 2011.

26) Kura F, Amemura-Maekawa J, Kaneko A, Kuroki T, Isobe J, Nukina M, Nakajima H, Kawano K, Tada Y, Helbig JH: Analysis of *Legionella pneumophila* serogroup 1 from patients in Japan. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, IUMS2011. Sapporo, Japan. Sep. 2011.

27) Tabara K, Kawabata H, Itagaki A, Yamauchi T, Fujita H, Takada N: High incidence of rickettsiosis correlated with the prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick associated with Japanese deer density in Shimane Peninsula, Shimane Prefecture, Japan. 3th International Meeting on Emarging Deseases and Surveillance. Austria, Feb. 2011.

28) Iyoda S: Regulatory interactions of genes encoding protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Symposium BA-4 "Bacterial Gene Regulatory System" International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2011 Congress, Sapporo, Japan, September, 2011.

29) Terajima J, Iyoda S, Izumiya H, Saitoh T, Mitobe J, Morita-Ishihara T, Ohnishi M, Watanabe H: Molecular Epidemiological Investigation of Enterohemorrhagic *E. coli* Isolates in Japan IUMS Sapporo, Sep. 2011

30) Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Kitawaki J, Unemo M: *The New Superbug Neisseria gonorrhoeae Makes Gonorrhea Untreatable? - First High-Level Ceftriaxone Resistance Worldwide and Public Health Importance.* 19th International Society for sexually transmitted diseases Research. Quebec, Canada. Jul. 2011.

31) Koizumi N, Muto M, Akachi S, Okano S, Yamamoto S, Horikawa K, Harada S, Ohnishi M: Serological and molecular investigation of canine leptospirosis in Japan, VIIth Meeting of the International Leptospirosis Society, Mexico, Sep 2011.

32) Koizumi N, Muto M, Akachi S, Horikawa K, Harada S, Ohnishi M: Serological and molecular investigation of canine leptospirosis in Japan, IUMS 2011, Hokkaido, Sep 2011.

33) Gamage CD, Koizumi N, Perera C, Muto M, Rajapakse JRPV, Kanda K, Lee RB, Obayashi Y, Ohnishi M, Umemura T, Tamashiro H: An Investigation of carrier status of leptospirosis among cattle in Sri Lanka, 2010, , IUMS 2011, Hokkaido, Sep 2011.

2. 国内学会

1）高橋英之、大西真：髄膜炎菌の線毛のマイナータンパク PilV の宿主細胞感染における遺伝学的及び物理化学的手法を用いた機能解析、第 85 回日本細菌学会総会、長崎、2012 年 3 月

2) 中尾龍馬、大西真、渡邉治雄、泉福英信:*Porphyromonas gingivalis* 外膜ヴェシクルに反応するヒト血清抗体、第 5 回日本細菌学会総会、長崎県長崎市、2012 年 3 月

3) 池辺忠義:溶血性レンサ球菌による劇症型感染症の細菌学的解析、平成 23 年度第 21 回学会賞受賞者特別講演会、東京、2012 年 1 月

4) 池辺忠義:劇症型 A 群レンサ球菌感染症臨床分離株における遺伝子発現制御因子の変異.第 94 回日本細菌学会

関東支部総会-若手対象ワークショップ： 細菌学の新たな潮流-、東京、2011 年 10 月.

5) 池辺忠義、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、大西真、渡邉治雄：劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離株でみられたクリンダマイシン耐性株の増加. 第 20 回 Lancefield レンサ球菌研究会および第 43 回レンサ球菌感染症研究会合同学会、愛知、2011 年 6 月.

6) 山本章治、泉谷秀昌、森田昌知、荒川英二、三戸部治郎、大西真、渡辺治雄：自然形質転換の誘導に関与する制御因子 TfoX の翻訳制御機構, 第 85 回日本細菌学会総会（ワークショップ：細菌における遺伝子発現の普遍性と特異性)、長崎, 2012 年 3 月.

7) 山本章治、泉谷秀昌、大西真、渡辺治雄：コレラ菌における形質転換カスケードの活性化を担う新規転写因子の同定、第 45 回腸炎ビブリオシンポジウム、東京、2011 年 10 月.

8) 金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁: 5 日齢新生児および 1 ヵ月齢乳児における上咽頭保菌調査。第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、山形、2011 年 10 月。

9) 芦苅圭一、藤本夕季、金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁、諸角美由紀、千葉菜穂子、生方公子: 新生児仮死にて入院となった血清型 11A/E による新生児肺炎球菌感染症の 1 例。第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会、奈良、2011 年 11 月。

10) 藤本夕季、芦苅圭一、金高太一、成相昭吉、常彬、和田昭仁: 血清型 15A による重症肺炎球菌感染症 2 回繰り返した重症心身障害の 14 歳女児。第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 59 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会、奈良、2011 年 11 月。

11) 久保徳彦、鳴海篤志、岡崎友里、大石一成、吉河康二、澤部俊之、中本貴人、村武明子、金内弘志、井本達也、酒井浩徳、常彬、和田昭仁、武藤庸一: 脾摘歴のない健康成人に発症し急激な経過で死亡した劇症型肺炎球菌敗血症の 1 例。第 4 回日本病院総合診療医学会学術総会、岡山、2012 年 2 月。

12) Okada Y, Monden S, Izumiya H, Nakama A, Igimi S, Yamamoto S: Charasteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from the retailed foods in Japan. 第 84 回日本細菌学会総会、XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology、2011 年 9 月、北海道札幌市。

13) Shahada F, Sekizuka T, Kuroda M, Kusumoto M, Ohishi D, Matsumoto A, Okazaki H, Tanaka K, Uchida I, Izumiya H, Watanabe H, Tamamura Y, Iwata T, Akiba M: Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates harboring a chromosomally encoded CMY-2 β-lactamase gene located on a genomic island involved in multidrug resistance. 第 84 回日本細菌学会総会、XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology、札幌市、2011 年 9 月

14) Kuroda M, Izumiya H, Sekizuka T, Taguchi M, Watanabe H, Ohnishi M: Whole-genome analysis of Salmonella enterica serovar Typhimurium T000240 reveals the acquisition of a genomic island involved in multidrug resistanve via IS1 derivatives on the chromosome. 第 84 回日本細菌学会総会、XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology、札幌市、2011 年 9 月

15) 泉谷秀昌：分子生物学総論。国立保健医療科学院平成 23 年度特別課程、東京都、2011 年 11 月

泉谷秀昌：赤痢菌等の分子疫学解析について。第 24 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会、土浦市、2012 年 2 月

16) 泉谷秀昌：赤痢菌の分子タイピング。平成 23 年度希少感染症診断技術研修会、2012 年 2 月、東京都。

泉谷秀昌：WHO-AGISAR について。動物用抗菌剤研究会第 39 回シンポジウム、東京都、2012 年 3 月

17) 石原朋子、三浦雅史、伊豫田淳、泉谷秀昌、渡邉治雄、大西真、寺嶋淳：Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 delivers a type 3 effector EspO1-2 into host cells to suppress RhoA activity enhanced by another type 3 effector EspM2 which acts as a RhoA GEF、第 34回日本分子生物学会年会、横浜市、2011年12月

18) 石原朋子、三浦雅史、伊豫田淳、泉谷秀昌、渡邉治雄、大西真、寺嶋淳：タイプ 3 エフェクターEspO1-2 は、腸管出血性大腸菌の感染細胞内において EspM2 を介した RhoA 活性を制御する、第 94 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2011 年 10 月

19) 泉福英信：（特別講演）口腔における日和見感染と多剤耐性菌のインパクトおよび除菌効果について、第 12 回日本口腔機能水学会学術大会、東京、2011 年 7 月

20) 泉福英信：（シンポジウム）ＨＩＶをはじめとする感染症の口腔ケアー口腔微生物叢に対する口腔ケアの効果ー、第 8 回日本口腔ケア学会、東京、2011 年 6 月

21) 泉福英信：（シンポジウム）口腔ケアによる口腔微生物バリアー構築と免疫活性化の可能性、第 20 回日本口腔

感染症学会、横浜、2011 年 11 月

22）泉福英信: バイオフィルム形成における死細胞､DNA と凝集の意義、第 20 回日本口腔感染症学会、横浜、2011 年 11 月

23）鈴木奈央未、成澤直規、落合邦康、泉福英信: *Streptococcus mutans* における CSP 依存新規病原性関連遺伝子の検討、第 53 回歯科基礎医学会、岐阜、2011 年 10 月

24）泉福英信、伊藤龍朗、渡邉治雄、大西真: Effects of salivary components on *Streptococcus mutans* biofilm in NOD/SCID. *e2f1*$^{-/-}$ mice、第８５回日本細菌学会総会、長崎、2012 年 3 月

25）中尾龍馬、大西　真、渡邉治雄、泉福英信: *Porphyromonas gingivalis* 外膜ベジクルに反応するヒト血清抗体、第８５回日本細菌学会総会、長崎、2012 年 3 月

26）原田義高、吉嶺裕之、諸角美由紀、前川純子、生方公子、倉　文明、渡辺貴和雄、森本浩之輔、有吉紅也：MultiplexPCR が有用であった *Legionella pneumophila* serogroup 10 によるレジオネラ肺炎．日本感染症学会、東京都、2011 年 4 月

27）山崎利雄、杉山寛治、前川純子、泉山信司、遠藤卓郎、倉　文明: 臨床および循環式浴槽水等から分離された *Mycobacterium avium* の縦列反復数可変領域（VNTR）を用いた解析第 1 回実験結核研究会、東京都、2011 年 6 月

28）倉　文明：第一回レジオネラ講習会、レジオネラ感染症防止のための衛生管理講習会（文京区文京保健所)、東京都、2011 年 6 月

29）杉山寛治、神田　隆、西尾智裕、八木美弥、縣　邦雄、泉山信司、小坂浩司、遠藤卓郎、倉　文明：掛け流し式浴槽水に対するモノクロラミン消毒方法の導入.日本防菌防黴学会第 38 回年次大会、豊中市、2011 年 8 月

30）高橋淳子、竹熊美貴子、香川（田中）聡子、古川容子、泉山信司、倉　文明、神野秀人：レジオネラ属菌対策における消毒副生成物に関する研究.日本防菌防黴学会第 38 回年次大会、豊中市、2011 年 8 月

31）田栗利紹、杉山寛治、小坂浩司、泉山信司、倉　文明：循環ろ過式浴槽水におけるモノクロラミン消毒の有効性．日本防菌防黴学会第 38 回年次大会、豊中市、2011 年 8 月

32）倉　文明：公衆浴場等におけるレジオネラ症発生防止対策（文京区文京保健所)、東京都、2011 年 11 月

33）倉　文明:レジオネラ基礎､国立保健医療科学院　平成 23 年度短期研修細菌研修、武蔵村山市、2011 年 12 月

34）神田　隆、高橋奈緒美、八木美弥、西尾智裕、杉山寛治、縣　邦雄、久保田　明、泉山信司、小坂浩司、遠藤卓郎、倉　文明：アルカリ泉掛け流し式浴槽に対するモノクロラミン消毒の導入.第 24 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会・研究会、土浦市、2012 年 2 月

35）猪熊 壽,藤塚淳史,前谷茂樹,増澤俊幸,川端寛樹. 北海道における犬の *Borrelia garinii* 感染症の発生. 第 64 回日本衛生動物学会大会．上田、2012 年 3 月.

36）高野 愛, 坪川理美, DeMar Taylor, 川端寛樹. マダニとボレリアの共種分化説におけるパラダイム･シフト. 第 64 回日本衛生動物学会大会．上田、2012 年 3 月.

37）本井祐太,鈴木正嗣,安藤秀二,川端寛樹,高野 愛, 猪熊 壽, 田原研司, 金森弘樹. 島根半島部のイノシシ再分布による紅斑熱群リケッチアへの影響．第 153 回日本獣医学会学術集会．大宮、2012 年 3 月.

38）佐藤 梢,後藤みなみ,村井厚子,柳井徳磨,高野 愛, 川端寛樹. 猟犬における抗ライム病ボレリア抗体の保有状況．第 153 回日本獣医学会学術集会．大宮、2012 年 3 月.

39）川端寛樹, 多田有希, 高野 愛, 佐藤梢, 大西真. 我が国におけるライム病の現状と疫学解析．第 153 回日本獣医学会学術集会．大宮、2012 年 3 月.

40）Kyle Taylor, 高野 愛, 川端寛樹, 下鶴倫人, 坪田敏男. Rodent dynamics and *Borrelia* spp. infection rates in Hokkaido. 第 153 回日本獣医学会学術集会．大宮、2012 年 3 月.

41）伊東拓也, 高田伸弘, 藤田博己, 川端寛樹, 中本敦, 赤松達矢, 安藤秀二, 大久保（佐藤）梢, 高野 愛, 小笠原由美子．礼文島におけるマダニ類及びダニ媒介性病原体の調査.第 57 回日本衛生動物学会北日本支部大会．山形、2011 年 10 月.

42）高野 愛, 石畝史, 増澤俊幸, 井上智, Sergey E. Tkachev, 苅和宏明, Viacheslav G. Morozov, 矢野泰弘, 高田伸弘, 藤田博己, Xiaohang Ma, 川端寛樹. 欧州型 *Borrelia* の大陸分布に関する調査研究．第 57 回日本衛生動物学会北日本支部大会． 2011 年 10 月.

43）水沼廣, 吉田典行, 藤田博己, 川端寛樹, 高野 愛, 安藤秀二, 小笠原由美子．福島県でライム病病原体を検出し得たマダニ刺咬症の 1 例.第 57 回日本衛生動物学会北日本支部大会．山形、2011 年 10 月.

44）山内健生, 佐藤雅彦, 伊東拓也, 藤田博己, 高田伸弘, 川端寛樹, 安藤秀二, 坂田明子, 高野 愛. 利尻島のマダニ相とマダニ保有リケッチア.第 63 回日本衛生動物学会大会．東京、2011 年 4 月.

45）馬原文彦，藤田博己，赤松達矢，矢野泰弘，藤田信子，川端寛樹，小泉信夫，徳島県大島における日本紅斑熱媒介マダニ調査.第 63 回日本衛生動物学会大会.東京、2011 年 4 月.

46）高橋守，三角仁子，亀田和成，藤田博己，角坂照貴，高田伸弘，平良勝也，山本正悟，安藤秀二，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，岸本壽男.宮古島のつつがむし病患者発生地に生息するカニ寄生ツツガムシ．第 63 回日本衛生動物学会大会．東京、2011 年 4 月.

47）川端寛樹，高野 愛，中尾稔，増沢俊幸，高田伸弘，矢野泰弘，石畝史，藤田博己，伊東拓也，及川陽三郎，川森文彦，熊谷邦彦，三上稔之，花岡希，安藤秀二，本田尚子，カイルテイラー，坪田敏男，今内覚，渡邉治雄，大西真．マダニ媒介性のライム病病原体 *Borrelia garinii* の維持伝播サイクルに関する研究.第 63 回日本衛生動物学会大会．東京、2011 年 4 月.

48）高野 愛，関塚剛史，黒田誠，大西真，川端寛樹．マダニ媒介性の新型ボレリア *Borrelia turcica* の比較ゲノム解析．第 63 回日本衛生動物学会大会．東京、2011 年 4 月.

49）高野 愛，藤田博己，角坂照貴，高橋守，山内健生，大西真，川端寛樹．日本国内に生息するマダニのミトコンドリア 16S rRNA.データベース構築とマダニ遺伝子同定の試み．第 63 回日本衛生動物学会大会．東京、2011 年 4 月.

50）忽那賢志，笠原敬，高野 愛，大西真，川端寛樹．ウズベキスタンからの輸入回帰熱の 1 例.第 63 回日本衛生動物学会大会．東京、2011 年 4 月.

51）忽那賢志，笠原敬，三笠桂一，高野 愛，川端寛樹.本邦初の回帰熱症例.第 85 回日本感染症学会総会.東京、2011 年 4 月.

52）勢戸和子、田口真澄、原田哲也、河原隆二、伊豫田淳、寺嶋淳：大阪府におけるSTEC O157 クレード8の分離状況、第86回日本感染症学会総会、東京、2011年4月

53）井口純、伊豫田淳、勢戸和子、大西真：既存の血清型では分類できない腸管出血性大腸菌の解析、第 15 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、大阪、2011 年 7 月

54）伊豫田淳：緊急セミナー：腸管出血性大腸菌の今、「非典型的な腸管出血性大腸菌が保有する病原性因子の解析」、日本細菌学会関東支部・ICD 制度協議会共催、東京、2011 年 8 月

55）井口純、伊豫田淳、勢戸和子、大西真：既存の血清型では分類できない腸管出血性大腸菌の解析、第 32 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2011 年 10 月

56）齊藤泰一、須藤直樹、相馬亜希子、伊豫田淳、新谷育子、大島拓、戸邉亨、関根靖彦：病原性大腸菌 O157 株に存在する non-coding RNA #41 の機能解析、第 34 回日本分子生物学会年会、横浜、2011 年 12 月

57）勢戸和子、田口真澄、河原隆二、原田哲也、伊豫田淳、寺嶋淳：近畿ブロック IS データベースを用いた STEC O157 の流行株の探知、第 85 回日本細菌学会総会、長崎、2012 年 3 月

58）伊豫田淳：ワークショップ・「細菌における遺伝子発現制御の普遍性と特異性」，Regulatory network of virulence-related gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. 第 85 回日本細菌学会総会、長崎、2012 年 3 月

59）寺嶋　淳：人における腸管出血性大腸菌検出とその疫学　平成 23 年度獣医師会獣医学術学会年次大会、札幌、2012 年 2 月

60）寺嶋　淳：最近の腸管出血性大腸菌感染症について、川崎市感染症危機管理研修会　川崎市、2011 年 10 月

61）寺嶋　淳：最近の腸管出血性大腸菌感染症の動向について　第 32 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2011 年 10 月

62）寺嶋　淳：生食と食中毒、岩手大学農学部 FAMS 第 9 回研修会、東京、2011 年 10 月

63）寺嶋　淳：腸管出血性大腸菌食中毒・感染症の特徴と動向　鹿児島県獣医公衆衛生講習会、鹿児島市、2011 年 9 月

64）寺嶋　淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、三戸部治郎、石原朋子、大西　真：2010 年の腸管出血性大腸菌感染症の動向について　第 15 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、大阪市、2011 年 7 月

65）寺嶋　淳：食肉の生食にひそむ危険－腸管出血性大腸菌 食中毒とその対応－　食品衛生特別講演会、東京、2011 年 6 月

66）志牟田 健、飛田 収一、伊東 三喜雄、藤原 光文、石川 和弘、上田 朋宏、亀岡 博、古林 敬一、安本 亮二、川畑 拓也、中山 周一、大西 真：京都府と大阪府における 2010 年-2011 年に分離された淋菌株の MLST 及び NG-MAST 型別を用いた系統解析と淋菌の薬剤耐性の傾向について，日本性感染症学会 第２４回学術大会，東京都、2011 年 12 月

67）保科 眞二、 志牟田 健、雜賀　威、大西 真、岩破一博、北脇　城：抗菌薬に対する口腔内常在性ナイセリア属の薬剤感受性測定による淋菌薬剤耐性化傾向予測の試み，日本性感染症学会 第２４回学術大会，東京都、2011

年 12 月

68) Koizumi N, Ohnishi M: A New Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Detection of *Leptospira* spp. in Urine, 第 85 回日本細菌学会総会, 長崎, 2012 年 3 月.

69) 小泉信夫, 中島千絵, 春成常仁, 谷川力, 常盤俊大, 内村江利子, 古谷徳次郎, Mingala CN, Villanueva MA, 大西真, 鈴木定彦 : Loop-mediated isothermal amplification 法による尿からの簡便なレプトスピラ検出法, 第 49 回レプトスピラシンポジウム, 長崎, 2012 年 3 月.

70) Koizumi N, Yasutomi I: Prevalence of Leptospirosis in Farm Animals, 平成 23 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 北海道, 2012 年 2 月.

71) 阪本直也, 中村(内山)ふくみ, 小林謙一郎, 岩渕千太郎, 安藤秀二, 高崎智彦, 小泉信夫, 松岡裕之, 大西健児：タイから帰国後, ショック, 呼吸器不全を合併した重症発疹熱の 1 例,第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会, 山形, 2011 年 10 月.

72) 小泉信夫, 武藤麻紀, 赤地重宏, 岡野祥, 山本正悟, 堀川和美, 原田誠也, 大西真：国内のイヌから分離されたレプトスピラの性状解析,第 48 回レプトスピラシンポジウム, 札幌, 2011 年 9 月.

73) Gamage CD, Koizumi N, Perera C, Muto M, Nwafor-Okoli C, Ranasinghe S, Rajapakse JRPV, Kanda K, Obayashi Y, Ohnishi M, Tamashiro H: Prevalence and carrier status of bovine leptospirosis in Sri Lanka, 第 48 回レプトスピラシンポジウム, 札幌, 2011 年 9 月.

５.細菌第二部

部長　柴山恵吾

概　要

細菌第二部では、呼吸器系感染症、毒素産生細菌感染症、日和見感染症及び薬剤耐性菌に起因する感染症に関し、細菌学的な基礎、応用研究、レファレンス業務、及び関連する生物学的製剤､抗生物質製剤の品質管理業務、研究を行っている。その他、厚生労働省医政局指導課が実施する厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS 事業)の実務を担当している。研究は、厚生労働行政上特に調査研究が必要なものを対象とし、感染症コントロールに寄与することを目標としている。細菌第二部は、歴史的経緯から特に品質管理業務を多く担当している。研究業務、レファレンス業務、品質管理業務をお互いに効率的に連携させつつ、厚生労働行政へ科学的支援を行い、国民の保健医療の向上に貢献することを目指している。

H23 年度は呼吸器系感染症で特記すべきこととして、マイコプラズマ肺炎の大流行が挙げられる。今回流行したマイコプラズマは、マクロライド耐性菌がほとんどを占めていた。この状況を踏まえ、細菌第二部では結核感染症課と連絡を取りながら全国の医療機関に協力を得て緊急実態調査を行った。病原体と臨床情報を収集し、部内では室を超えて連携体制を組み、また情報センター等内外の専門家の協力を得つつ解析を行った。また他に特記すべきものとして近年、中高生や大学生等の若年層で百日咳が流行し問題となっているが、国内の流行地域での調査の結果、百日咳菌ではなくその類縁菌 *Bordetella holmesii* が起炎菌である症例があり、またその菌が実際に人-人感染を起こしていることを初めて明らかにした。

品質管理業務では、SLP の導入準備が本格的に始まったことが特記すべきこととして挙げられる。担当している製剤が非常に多く､極めて大変な労力を伴う作業だが、部員が一丸となって準備を進めた。なお、品質管理業務については、所内各部で業務の分担量を平均化していくことが決まったことを受け、精製ツベルクリン製剤をハンセン病研究センター感染制御部へ、はぶ抗毒素製剤、まむし抗毒素製剤を免疫部に移管する作業を開始した。また部内においても、検定業務が多い室に他室の職員が支援に回るなど、室を超えた協力体制を組んだ。このように部内の品質管理業務について、適正分担化に向けた作業を進めた。

細菌第二部は、ジフテリア、ボツリヌス、百日咳のレファレンスセンターとなっている。またこれら以外の病原体についても行政検査の依頼を多く受けている。行政検査については PCR コンタミによるミスを防ぐために、部内で体制作りを進めている。各地方衛生研究所との連携強化も図った。ボツリヌスの検査に関しては、国立医薬品食品衛生研究所と連携し、食材と患者検体の検査が円滑に実施されるような体制を組んだ。

JANIS 事業は、参加医療機関数が増加して H23 年に合計 1000 になった。H24 年 3 月 16 日に、柴山恵吾が JANIS 運営委員会会長に就任した。運営委員会の委員も大幅に入れ替わり、新体制が発足した。厚生労働省医政局指導課の所管の下、事業の運営方針を決定する主体を、それまで研究班だったのを運営委員会に移し、運営方針の決定プロセスも明確化して、事業内容の改善、推進を行っていくこととした。また JANIS 事業を参加医療機関に積極的に活用して頂けるように、参加医療機関、地方衛生研究所、自治体に積極的に働きかけを行った。

人事では、H23 年 4 月 1 日に柴山恵吾が第 4 室長から部長に昇格した。H23 年 6 月 1 日に加藤はる室長が第 2 室から第 3 室に異動した。H23 年 7 月 1 日に第 4 室に林原絵美子研究員が採用された。H24 年 1 月 1 日に第 3 室に妹尾充敏研究員が採用された。H23 年 6 月 30 日に第 2 室の木村孝司主任研究官が名古屋大学に転出した。H24 年 3 月 31 日に第 1 室の近田俊文室長が定年退官した。

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、

Clostridium difficile (165 株)、*Pseudomonas* spp. (57 株)、*Enterococcus* spp. (32 株)、大腸菌 (29 株)，*Klebsiella* spp. (20 株)、*Staphylococcus* spp. (9 株)、*Enterobacter* spp. (5 株)、*Streptococcus* spp. 4 株、*Citrobacter* spp. (4 株)、*Serratia marcescens* (3 株)、*Morganella morganii*，*Pantoea* sp. *Proteus* sp. *Leuconostoc* sp. 各 1 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、鈴木里和、和知野純一、妹尾充敏、加藤はる、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、筒井敦子、山岸拓也、網中眞由美、近田俊文、柴山恵吾〕

2.新型メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の X 線結晶構造解析

高純度に精製した SMB-1 酵素を用いて、結晶作製を行った。作製した結晶を用いて、放射光科学研究施設にて回折データの回収を行った。その結果、1.6Åの分解能でデータを回収することができた。回収したデータを用い、分子置換法にて位相を決定した。構造の精密化を行い、最終的にモデル構築まで行った。SMB-1 の 3 次元構造は、これまでに報告されたメタロ-β-ラクタマーゼと全体像は似ているものの、個々の loop 部分が大きく異なることがあきらかとなった。〔和知野純一〕

3. 日本国内の医療機関で分離された *Acinetobacter baumannii* のタイピングと流行株の簡易検出法構築に向けた検討

2000 年から 2010 年に日本国内の医療機関で分離されたアシネトバクター属 77 株のうち、遺伝子学的手法で *A. baumannii* と菌種同定された 33 株の MLST を Bartual らの手法で行った。15 株が世界流行株とされる clonal complex 92 に属し、他 18 株のうち 17 株が新規 Sequence type であった。$bla_{OXA-51-like}$ 遺伝子は、*A. baumannii* のみで検出され、他の種では検出されなかった。その塩基配列は MLST と高い相関が認められた。本研究で分類した流行株と非流行株を用いて、流行株を検出できる簡易手法を引き続き検討中である。〔松井真理、鈴木里和、荒川宜親、柴山恵吾〕

4. IMP-6 型メタロβラクタマーゼ産生大腸菌の解析

2010 年に実施した「我が国における多剤耐性菌の実態調査」において収集された菌株の解析により、わが国において IMP-6 と CTX-M-2 を保有する incN タイプのプラスミドが腸内細菌科の細菌に広まっていることを明らかにした。特に、国内の複数の都道府県より分離された同プラスミドを保有している大腸菌の多くが世界流行株である ST131 であることも明らかとなった。〔鈴木里和、松井真理、和知野純一、荒川宜親、柴山恵吾〕

II. 鼻疽菌・類鼻疽菌に関する研究

1. 迅速検出系の検討

(1) 鼻疽菌の LAMP 法の検討

これまでに鼻疽菌 *Burkholderia mallei* の LAMP 法は報告されていない。また、迅速で簡便な核酸検出法もこれまでに報告がない。このため、鼻疽菌に特異的な遺伝子を標的として LAMP 法プライマー群の設計を行った。設計した 3 組のプライマー群のうち 1 組は感度、特異度ともに使用可能と考えられた。現在、鼻疽菌の検出系としての最適な条件検討を行っている。[堀野敦子]

(2) 類鼻疽菌の LAMP 法の検討

類鼻疽流行地域にあるタイ・コンケーン大学にて類鼻疽菌の LAMP 法について条件の再検討を行った。類鼻疽疑い患者検体からのゲノム DNA の抽出法を変更することで検出感度を向上させることができた。[堀野敦子、KKU: Ganjana Lertmemongkolchai]

III. インフルエンザ菌ならびに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)ワクチン導入後の、*H. influenzae* 髄膜炎等の疫学調査の一環として、全国 9 県において小児侵襲性感染症例から分離された *H. influenzae* 100 株について、莢膜型、薬剤感受性試験等の解析を行った。肺炎等からの Non-typable *Haemophilus influenzae* (NTHi)が分離される例が複数認められた。[佐々木裕子、木村幸司、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、増田まり子、見理 剛、加藤はる、近田俊文、柴山恵吾]

2. 細菌性髄膜炎疑い症例の髄液における細菌遺伝子の検出

細菌性髄膜炎が疑われた症例の髄液中の細菌遺伝子の検出法の改良を実施した。*Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Streptococcus agalactiae, Mycoplasma pneumoniae* ならびに *Mycoplasma hominis* 等についての Real-time PCR 法を含めた遺伝子検出法を準備し、実際の症例における解析を行った。[佐々木裕子、柴山恵吾]

IV. 抗菌薬関連下痢症に関する研究

1. *Clostridium difficile* 臨床分離株における疫学的調査

(1) 日本の医療機関における endemic 菌株の収集解析を開始した。

(2) *Clostridium difficile* 感染症重症例やアウトブレイク事例における分離株を解析した。

(3) ウマ由来株における解析を行い、ヒト由来株と比較検討した。

2. *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査法に関する検討

ベトナムにおいて実行可能な *Clostridium difficile* 細菌学的検査システムの構築を目的に、ベトナムの共同研究者と準備を開始した。[加藤はる、妹尾充敏、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江]

V. マイコプラズマに関する研究

1. 肺炎マイコプラズマ 2a 型菌（*M. pneumoniae* variant 2a）のゲノム解析

1998 年に日本で分離され、新型菌であることを報告した *M. pneumoniae* の 2a 型菌、309 株の全ゲノム配列を次世代型 DNA シークエンサーを使用して解読した。解読結果を DDBJ/EMBL/GenBank データベースに登録した（Accession No. AP012303)。 [見理 剛、堀野敦子、松井真理、佐々木裕子、鈴木里和、柴山恵吾]

2. マイコプラズマ比較ゲノム解析

マイコプラズマにおける新規病原因子の探索等を目指して、マイコプラズマならびに近縁種における比較ゲノム解析を行った。種の比較と共に、株間での病原因子の動態を理解するため *Mycoplasma penetrans* ゲノムのドラフト配列を得た。[佐々木裕子、松井真理、見理 剛、鈴木里和、柴山恵吾]

3. *Mycoplasma pneumoniae* の研究

(1) マイコプラズマ肺炎と *M. pneumoniae p1* 遺伝子型との関連性について

これまでに地方衛生研究所と共同で *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型に基づく型別を行ってきた。我々のこれまでの研究でマイコプラズマ肺炎と遺伝子型の間には何らかの関連があるのではないか、という可能性が示唆されている。2011 年には肺炎マイコプラズマの大きな流行があり、流行前から流行中に収集された *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型を解析した。その結果、流行年には 1 型が検出される割合のみが増加していることが示された。〔堀野敦子、見理 剛、谷口清州、藤戸亜紀（高知衛研)、勝川千尋（大阪府衛研)、松本純子（愛媛衛研)〕

(2) マイコプラズマ肺炎患者の疫学的及び臨床的特徴の分析、病原体の薬剤耐性の解析に関する研究

流行期の肺炎マイコプラズマ疑い入院患者由来の咽頭もしくは鼻咽頭スワブ検体由来 *M. pneumoniae* の菌株解析を行った。検体採取期間は 2011 年 2 月。陽性検体は LAMP 法、培養法ともに 27 株、検出率は 57%であった。またマクロライド耐性の原因となる 23S rRNA 遺伝子の点変異が確認された株は 22 件で、耐性率は 81.5%であった。今回の臨床分離株について薬剤感受性試験を行った結果、既報から逸脱した MIC 値は見られなかった。〔堀野敦子、見理 剛、鈴木里和、谷口清州、柴山恵吾、本研究協力医療機関〕

4. マイコプラズマの臨床疫学研究

2011 年のマイコプラズマの大流行を受け、流行期間中にマイコプラズマ肺炎と診断された入院患者の症例情報を収集し、患者の臨床経過や合併症の有無、投与された抗菌薬による治療予後の比較を行った。14 都道府県 47 医療機関（小児科 38 施設、内科・呼吸器科 9 施設）から診断基準を満たした *Mycoplasma pneumoniae* 感染症患者 763 例の臨床情報が収集された。入院例の臨床像は過去の報告と明らかな違いは無く、重症例や死亡例の増加は認めなかった。一方で、マクロライド系抗菌薬の効果はミノサイクリンに比較して低下しており、マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の蔓延が臨床的な予後に影響している事が示唆された。〔鈴木里和、堀野敦子、見理剛、佐々木裕子、柴山恵吾〕

VI. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

1. ボツリヌストキソイドの臨床試験

ボツリヌス毒素は、もっとも強力な致死活性をもつ生物毒素でテロへの使用の危険を有するものである。その防疫は、医療関係者や警察、自衛隊など直接現場で対応を行う関係者にとって必要である。ところが、現代までそのワクチン製剤が作成されていない。そこで有事に備えての日本国内での多価ボツリヌストキソイドワクチン試験製造品について、その臨床試験を計画した。第一年目は、9 人のボツリヌス毒素関連の製造にかかわるヒトに対して 3 回の免疫を行った。その血清抗体価を ELISA 法にて測定したところ、いずれかの型に対する免疫が成

立した。[山本明彦、銀永明弘、原川哲弘（化血研）、小崎俊司、幸田知子（大阪府立大学）、杉本　央（大阪大学）政策創薬研究事業]

VII. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

1. 犬における *Corynebacterium ulcerans* の検討

2001 年以降に国内の動物から分離された *Corynebacterium ulcerans* の細菌学的および分子生物学的性状解析結果は、ヒトおよび動物から分離された *C. ulcerans* は、*C. diphtheriae* が産生する毒素とは異なるが、本菌に感染した動物由来菌とヒト患者由来菌は遺伝学的に類似していることを確認した。また、583 頭の犬の調査結果、大阪府犬管理指導所の 7.5%にあたる 44 頭の犬から毒素産生性 *C. ulcerans* が分離された。[小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、勝川千尋（大阪府公衛研）、幸田知子、小崎俊司（大阪府立大学）：厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業]

2. *Corynebacterium ulcerans* 国内初分離株のゲノム解析

2001 年に千葉県でジフテリア様症状を呈する患者から分離された *Corynebacterium ulcerans* 0102 株の全ゲノム塩基配列を決定した。ゲノムは *Corynebacterium pseudotuberculosis* と高い相同性を示したが、ジフテリア菌 *Corynebacterium diphtheriae* とはより低いの相同性を示した。0102 株ゲノム中には３つのプロファージ領域が見出され、そのうち１つにはジフテリア毒素遺伝子がコードされていた。*C. diphtheriae* の場合、プロファージの誘発・感染により毒素遺伝子が菌株間に伝播すると考えられており、*C. ulcerans* においてもファージが同様の役割を担うと考えられるが、*C. ulcerans* のプロファージには、毒素遺伝子を除いて *C. diphtheriae* のファージとの間に相同性がほとんど認められず、起源が異なると考えられた［関塚剛*、山本明彦、小宮貴子、見理剛、竹内史比古*、柴山恵吾、高橋元秀、黒田誠*、岩城正昭（*病原体ゲノム解析研究センター）］

VIII. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素に関する研究

(1) 本酵素を標的とする新規抗結核薬の開発

本酵素の機能構造相関解析の結果に基づいてドッキングシミュレーション解析を行い、複数の新規抗結核薬候補化合物を見いだした。さらに、これらの候補化合物が本酵素に対して阻害活性を示すことを明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾]

(2) 本酵素の変異体作製とその機能構造相関解析

本酵素の基質結合部位に存在するアミノ酸残基を置換、または削除した変異体を作製し、その機能と構造を解析した。その結果、本酵素に特有のループ構造が基質特異性に関与していることを明らかにした。〔森茂太郎、和知野純一、柴山恵吾〕

2. 抗結核薬ピラジナミドの作用機序に関する研究

ピラジナミドの活性型であるピラジン酸が酸性条件下において結核菌由来ニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの酵素活性を阻害することを明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾]

IX. ヘリコバクター属菌に関する研究

1. *Helicobacter cinaedi* の分子疫学的解析と薬剤感受性に関する研究

H. cinaedi は院内感染が疑われる事例が報告されているが、これまでに分子疫学的解析は行われていない。そこで、*H. cinaedi* の Multilocus Sequence Typing（MLST）法を開発した。また、薬剤感受性を調査した結果、すべてがクラリスロマイシン耐性およびシプロフロキサシン耐性であり、その耐性はそれぞれ 23S rRNA および GyrA 変異によるものであることを明らかにした。〔林原絵美子、柴山恵吾〕

2. *Helicobacter pylori* のγ-gulutamyl transpeptidase（GGT）と Asparaginase（AnsB）に関する研究

ΔGGT 株およびΔAnsB 株を用いた AGS 細胞の *in vitro* 感染実験を行い、GGT によるグルタミンの枯渇が *H. pylori* 感染による AGS の IL-8 産生誘導に寄与していることを明らかにした。〔林原絵美子、柴山恵吾〕

X. 百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

1. 百日咳菌

(1) 新規百日咳血清診断法の開発に関する研究

百日咳患者の新規血清診断法として、IgM-capture ELISA 測定系の開発を行った。測定抗原には百日咳菌に特異的な protein X（組換え protein X-maltose binding protein）を使用し、発色系には高感度なビオチン-アビジンシステムを用いた。百日咳遺伝子検査により確定された患者血清（n = 21）と健常成人血清（n = 20）の抗 protein X IgM 抗体価を測定したところ、両者の抗体価分布に有意差を認めた（$p < 0.01$）。ROC 解析により、本法の感度は 86%、特異度 89%と評価され、本測定法は感染早期の血清診断に有用と考えられた。[大塚菜緒、中村

幸嗣、新庄正宜（慶應大学)、権平文夫（デンカ生研)、荒川宜親、柴山恵吾、蒲地一成]

(2) 大学における百日咳流行の予防・制御に関する研究

昨年度に引き続き、医学部生を対象とする百日咳保菌調査を実施した。第3回調査は百日咳の流行シーズンである5月に実施し、2大学の医学部生100名について遺伝子検査を行った。その結果、第1回、第2回調査と同様に百日咳菌の保菌者は0名であった。これまでの調査結果から、平常時に医学部生が百日咳保菌者となる可能性は低く、大学等で発生する集団感染は百日咳菌の施設侵入により引き起こされることが指摘された。なお、第3回調査では百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の遺伝子検査を実施し、1名から同菌遺伝子を検出した。[蒲地一成、鯵坂裕美、大塚菜緒、竹内啓晃（高知大)、八木哲也（名古屋大)]

(3) 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

百日咳疑い患者802名について百日咳LAMP検査を実施し、97名(12.1%)から百日咳菌遺伝子を検出した(2009年9月～2011年11月)。検査陽性例は2011年7～10月に多く認められ、その陽性率は 17.9～25.0%であった。患者検体からの菌タイピングでは ST1（56.4%）が最も多く、次いでST2（29.1%)、ST4（10.9%)、ST7（3.6%)の順であった。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、遺伝子検査に基づくサーベイランスの必要性が指摘された。[蒲地一成、鯵坂裕美、大塚菜緒、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)、松本純子（愛媛衛研)、藤戸亜紀（高知衛研)]

2. 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii*

(1) *B. holmesii* の水平伝播に関する研究

2010-2011年にA県で中学生を中心とした百日咳地域流行が発生した。IS*481* または *recA* を標的としたreal-time PCR による病原体検査を実施した結果、百日咳様症状を呈する患者の中に *B. holmesii* 感染者が含まれることが判明した。76名の百日咳疑い患者のうち、29名が百日咳菌感染者、6名が *B. holmesii* 感染者であった。6名の *B. holmesii* 感染者のうち5名に疫学的な関連性が見いだされ、世界で初めて *B. holmesii* のヒト-ヒト感染の可能性が指摘された。[神谷元、大塚菜緒、安藤由香、大平文人、吉野修司、河野喜美子（宮崎衛研)、高橋博和(高橋医院)、西田敏秀、日高良雄(延岡保健所)、鯵坂裕美、柴山恵吾、蒲地一成、砂川富正、谷口清州、岡部信彦]

(2) *B. holmesii* に特異的な遺伝子検出系の開発

わが国では *B. holmesii* 感染症は稀であると認識されていたため、十分な検査体制が整っていなかった。近年、わが国を含め世界的に *B. holmesii* 感染症例が報告されており、簡便かつ高感度な検査方法として *recA* 遺伝子を標的としたLAMP法を構築した。*Bordetella* 属5菌種16株を用いて本検出系の特異性を評価した結果、*B. holmesii* のみが増幅され、その検出感度は 50 fg DNA/tube を示した。さらに、百日咳疑い患者の臨床検体を用いた評価では、*B. holmesii* 患者のみが陽性と判定された。[大塚菜緒、吉野修司、河野喜美子（宮崎衛研)、鯵坂裕美、柴山恵吾、蒲地一成]

XI. 破傷風菌に関する研究

1. 日本国内の土壌での破傷風菌分離

破傷風は、*Clostridium tetani* が産生する神経毒素により、強直性痙攣をひき起こす疾患である。その芽胞が土壌中に広く常在し、創傷部から体内に侵入・感染が起こる。破傷風菌の土壌中の国内分布については、最近の全国的な調査は無い。そこで、昨年より32都道府県から480検体の土壌を採取し、昨年220検体から、本年度は土壌42検体について菌分離を行い、本年は7カ所から破傷風菌が分離された。［山本明彦、岩城正昭、見理　剛、小宮貴子]

2. 破傷風患者からの破傷風菌臨床分離

臨床的症状から診断される破傷風が、病原体診断されることは稀である。福島県立医科大学病院検査室にて、患者傷部より破傷風菌の分離に成功した。感染研にて同定を行い確認した。[大橋一孝、須釜久美子、小黒祐子(福島県)、山本明彦]

3. 破傷風トキソイドの免疫原性に関する研究

(1) 人工エラスチン蛋白による破傷風トキソイドの免疫原性に対する研究

ア. 人工エラスチン蛋白とアルミニウムアジュバントによる破傷風トキソイドの免疫原性に対する影響の比較

エラスチン結合破傷風トキソイドとアルミニウムアジュバントを結合した沈降破傷風トキソイドをともにトキソイド抗原として0.4 Lf/mouse をマウスに免疫し、4週後の血中抗体価を比較した。その結果、沈降破傷風トキソ

イドの平均抗体価が 2.78 U/mL であったのに対して、エラスチン結合破傷風トキソイドではマウス10匹中9匹で抗体価が検出されなかった。この結果より、実験に使用されたエラスチンには、破傷風トキソイドの免疫原性をアルミニウムアジュバント程の増強する効果はない可能性がある。[福田 靖]

イ．人工エラスチン蛋白による破傷風トキソイドと破傷風トキソイドとの比較

エラスチン結合破傷風トキソイドとアジュバントを含まない破傷風トキソイドをマウスに免疫(トキソイド抗原量：4 Lf/mouse)し、4 週後の血中抗体価を比較した。その結果、破傷風トキソイドの平均抗体価が 0.014 U/mL であったのに対して、エラスチン結合破傷風トキソイドでは 0.018 U/mL であった。この結果より、実験に使用されたエラスチンには、破傷風トキソイドの免疫原性に影響を与えない可能性がある。[福田 靖]

XII. マムシ毒素に関する研究

1. マムシ抗毒素の市販後調査

マムシ抗毒素の市販後調査は､ほとんど行われていた。そこで咬傷の対処に臨床の現場でマムシ抗毒素がどのように使用されているのかを調査するために、全国 219 施設の救命救急センターについてアンケート調査を実施した。その結果、マムシ抗毒素は重症のマムシ咬傷への対応薬として用いられているが、セファランチンがよく用いられていることが明らかとなった。[一二三　亨、小井戸雄一（国立病院帰国災害医療センター)、山本　明彦]

XIII. バルトネラ菌に関する研究

１．*Bartonella quintana* に特異性の高い血清診断法確立

高 IFA IgG 抗体価を示すホームレス血清では、*B. quintana* Hemin-binding protein (Hbp)D 抗体を産生し、本菌由来心内膜炎患者血清では HbpB 及び HbpD 抗体を産生していた。Hbp を抗原とした血清診断法において、*Coxiella burnetii* との交差反応を調べた結果､ELISA とウエスタンブロットで高い反応性は認められなかった。[久保田眞由美、佐々木裕子、柴山恵吾]

レファレンス業務

Ｉ．薬剤耐性菌関係

1. 薬剤耐性遺伝子の解析および薬剤耐性菌の分子疫学解析の為のコントロール株（抽出 DNA 含む)、および標準作業手順書の提供

地方衛生研究所および医療機関における薬剤耐性菌解析に協力するため、メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子、プラスミド性キノロン耐性遺伝子、16S　r RNA メチラーゼ遺伝子、基質拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子、OXA 型β-ラクタマーゼ遺伝子のコントロール株または抽出 DNA を提供した。*Acinetobacter* 属についてはタイピング解析のための参照株を提供した。また、*Acinetobacter* 属の薬剤耐性菌解析のための標準作業手順書の提供も行った。

II. 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 32 施設に百日咳 LAMP 診断キット（14 キット）ならびに *Bordetella holmesii*-LAMP キット（38 キット）を供与した。また、百日咳陽性コントロール DNA を 15 施設に供与した。[鯵坂裕美、大塚菜緒、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 24 年 2 月現在、国内の 1000 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 24 年度は 1220 件の問い合わせ対応を行った。また、システム改善として、集計アルゴリズムの確認集計作業、ICU 部門の入力支援ソフト更新、還元情報・公開情報のレイアウト刷新・参加医療機関との情報共有を促進するための年 4 回のニュースレター（JANIS 通信）の発行を開始、閲覧促進のためのイラスト集の作成、等を行った。〔山岸拓也、筒井敦子、網中眞由美、鈴木里和、小川(宮永)由弥子、瀧世志江、柴山恵吾〕

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

ア．全入院患者部門の罹患率と施設特性との相関

入院期間に影響されない罹患密度で比較した場合、持ち込み例の割合を考慮しても､急性期医療機関のほうが、長期療養型病床を中心とした医療機関よりも薬剤耐性菌感染症の罹患密度が高い事が明らかになった。さらに現在、急性期医療機関と長期療養型病床を中心とした医療機関とを比較する事の有用性は乏しく、将来的には層別

化したうえでの施設間比較が必要と考えられた。[鈴木里和、網中眞由美、筒井敦子、山岸拓也、柴山恵吾、荒川宜親]

イ. JANIS 検査部門 2010 年年報のための精度管理から判明した疑義データの検討

検査部門に提出されたデータの精度管理を行った結果、疑義データを検体提出なしや大腸菌報告なし、または特殊な耐性を示す菌の報告とした場合、すべての報告が誤りであり、入力ミスなどがほとんどであった。そのため、該当するデータを報告した医療機関に警告メールを送信するシステムを稼働したところ、これらの誤報告が減少した。JANIS のデータ精度を高めるためには、参加医療機関への注意喚起と共に警告システムの導入が有用と考えられた。[山岸拓也、鈴木里和、網中眞由美、筒井敦子、柴山恵吾、荒川宜親]

ウ. JANIS 全入院患者部門におけるデータ提出状況と病床数、サーベイランス担当者の職種の関係についての検討

JANIS 全入院患者部門参加医療機関の病床数とサーベイランス担当者の職種、およびデータ提出状況の関連について検討した。病床数はデータ提出状況と関連はなく、患者発見のきっかけとなる微生物検査にかかわる検査技師の協力が重要であることが示唆された。その上で全入院患者部門におけるサーベイランスシステム構築には、検査技師をはじめ組織的に多職種が連携していく必要があると考えられた。[網中眞由美、山岸拓也、鈴木里和、筒井敦子、柴山恵吾、荒川宜親]

II. 百日咳関係

1. 百日咳の病原体診断

医療機関（9 施設）からの依頼を受けて、百日咳患者の病原体診断を 14 件実施した。[鯵坂裕美、大塚菜緒、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. Hib ワクチンのエンドトキシン試験における自家試験と検定の乖離について

2010年後半より出検されたHibワクチンのエンドトキシン試験において自家試験成績と検定成績の乖離が 2～3倍と顕著になった（検定成績が高い）。この原因を明らかにするため自家試験と検定の SOP を比較し、検体の調製、攪拌、調製後の保存法について検討したが乖離の原因を明らかにすることはできなかった。そこで自家試験担当者と手技の手合わせを実施し、SOP には明記されていなかった検体の攪拌法および攪拌時間に乖離の原因があることを明らかにした。[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・収去検査（後発医薬品品質確保対策）は、抗生物質医薬品の注射剤（注射用ホスホマイシンナトリウム：14 ロット／先発品と後発品を栃木県で収去）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（セフォチアム塩酸塩：3 ロット／注：東日本大震災の影響により一部後発品のみ福島県で収去）について力価試験（HPLC 定量法）、確認試験（IR 及び NMR 解析）、エンドトキシン試験を、経口剤（セフカペンピボキシル塩酸塩錠：16 ロット／細粒：9 ロット／先発品と後発品を大分県で収去）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。セフカペンピボキシル塩酸塩細粒の力価試験で 2 ロットが「不適合（含量過多 1 ロット、含量不足 1 ロット）」と判定された。なお、それ以外のロットの全ての試験は「適合」と判定された。[近田俊文・鈴木里和・松井真理・和知野純一・柴山恵吾・南條友子・粕谷裕子（細菌第二部）、宮崎義継・村上裕子・金子幸弘・深澤秀輔・石川 淳・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. 収去検査でのセフカペンピボキシル塩酸塩錠・細粒の含量結果について

収去検査のセフカペンピボキシル塩酸塩錠（含量規格 90.0～105.0%）・細粒（含量規格 90.0～110.0%）の HPLC 定量法について、日局各条に完全には準拠しない方法（標準品の採取量を規定量の半量とした場合、試料の溶解を規定時間より約 6 倍に長くした場合）による結果を最終判定に用いることができるか否かを検討した。試験担当部（生物活性物質部）では、結果は試験精度などを根拠に科学的には正しいと判断したが、厚生労働省からは日局通則 13（規定の方法以上の真度及び精度がある場合）に該当するか？との回答を得たことの理由により、試験担当部では完全に日局準拠する方法で全ての収去検体について「再試験」を行うことに決定した。日局準拠での細粒の結果は、長生堂製薬株式会社（製造番号 VJ023）で含量過多（111.1%）、辰巳化学株式会社（製造番号 VACB）で含量不足（88.5%）となり「不適合」と判定し、

不適合の理由書の「報告書」を作成した。一方、日局準拠での錠の結果は、全て「適合」であったが、後発品 1 ロットで 90.6%と含量規格の下限に近いこと等から同「報告書」にも特記した。これらの「報告書」及び全ての生データを含む結果は、所内決裁後、厚生労働省監視指導・麻薬対策課宛に提出された。[宮崎義継・村上裕子・深澤秀輔・金子幸弘・石川 淳・星野泰隆（生物活性物質部)、柴山恵吾・近田俊文・鈴木里和・松井真理・和知野純一（細菌第二部)、渡邉治雄（所長)、倉根一郎（副所長)、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課]

III. 標準品の整備並びに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

日局アムホテシリンＢ標準品のロット更新について、標準候補品 3 ロット（Lot D、Lot E、Lot F）の日局各条準拠・純度試験（アムホテリシン A 含量）を行った。昨年度の Bioassay 法による日局標準品 Lot C に対する力価キャリブレーション試験結果、今年度の純度試験結果及びその他の品質評価試験結果を総合的に評価して、アムホテリシン A を含有しない標準候補品 Lot F を日局標準品とすることに決定し、ロット更新を完了した。なお、標準候補品 Lot D、Lot E（各々アムホテリシン A を数%含有）は品質管理用・参考品とした。[近田俊文、南條友子、鈴木里和、松井真理、森茂太郎、粕谷裕子]

2. 日本薬局方抗生物質標準品の新規ロットの品質評価に関する業務研究

日局抗生物質標準品の新規ロットについて、各種の品質評価試験（Lot to Lot 力価キャリブレーション試験を含む）の結果から総合的に判定を行い、14 品目（アムホテリシンＢ、テイコプラニン、アジスロマイシン、セフメタゾール、クラリスロマイシン、スルバクタム、ブレオマイシン A_2 塩酸塩、エピルビシン塩酸塩、アンピシリン、メロペネム、ジノスタチンスチマラマー、ペプロマイシン硫酸塩、コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム、バンコマイシン塩酸塩）でロット更新が完了し、新規ロットで製品交付を開始した。[近田俊文、鈴木里和、松井真理、森茂太郎、和知野純一、南條友子、粕谷裕子]

3. 日本薬局方抗生物質標準品の現行ロットの品質再評価に関する業務研究

日局抗生物質標準品の現行ロットの品質再評価について、HPLC 定量法による 9 品目（テトラサイクリン塩酸塩、リンコマイシン塩酸塩、セフェピム塩酸塩、アモキシシリン、ドキソルビシン塩酸塩、セフジニル、リファンピシン、セフタジジム、クリンダマイシンリン酸エステル）及び Bioassay 法による 3 品目（フラジオマイシン硫酸塩、エリスロマイシン、ゲンタマイシン硫酸塩）を行い、品質上に問題ないことを確認した。[近田俊文、松井真理、森茂太郎、和知野純一、鈴木里和、南條友子、粕谷裕子]

4. BCG ワクチン国際参照品株候補品の試験

BCG ワクチン国際参照品の選定に関わる国際共同研究として、候補品である BCG Moreau 株の力価測定と mPCR による菌株同定を行った。力価は従来のコロニー数測定による方法と、代替法の ATP 定量による方法により測定を行った。[森茂太郎、堀野敦子、持田恵子、和知野純一、林原絵美子、柴山恵吾]

IV. 国家検定、国家検査、収去検査、承認前検査、依頼試験について

1. 国家検定、検査、抜取検査について

(1) 第三室:製剤担当室として、沈降精製ジフテリア破傷風トキソイド、沈降精製破傷風トキソイド、成人用沈降ジフテリアトキソイド、沈降精製ジフテリア破傷風トキソイドに用いるジフテリアトキソイド原液、沈降精製ジフテリア破傷風トキソイドに用いる破傷風トキソイド原液、および乾燥ウマボツリヌス抗毒素(A, B, E, F 型)、試験担当室として、沈降精製百日せきジフテリア破傷風トキソイドおよび抗破傷風人免疫グロブリンの国家検定を行った。[加藤はる、岩城正昭、山本明彦、小宮貴子、見理剛、妹尾充敏、岡宮洋子]

(2) 第四室：製剤担当室として、乾燥 BCG ワクチン、乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)、乾燥 BCG 膀胱内用(コンノート株)、及び精製ツベルクリンの国家検定を実施した。また、試験担当室として、経口生ポリオワクチンに係る国家検定のうちモルモット腹腔内接種試験を行った。〔森茂太郎、堀野敦子、持田恵子、和知野純一、林原絵美子、森修一（感染制御部)〕

(3) 第五室：沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（最終段階)、百日せき力価試験、マウスヒスタミン増感試験、エンドトキシン試験 [福田靖、久保田眞由美、持田恵子、大塚菜緒、鯵坂裕美、蒲地一成]
インフルエンザ HA ワクチン、マウス白血球減少試験 [福田靖、久保田眞由美、持田恵子、大塚菜緒、鯵坂裕美、蒲地一成]
細菌製剤ならびに血液製剤、エンドトキシン試験 [持田

恵子、久保田眞由美、蒲地一成〕

2. 国家検査（行政検査）の実績

(1) 薬剤耐性遺伝子および薬剤耐性菌のタイピング解析のを以下の通り実施した。さいたま市健康科学研究センター（*K. pneumoniae* ）、新潟県保健環境科学研究所（*P. aeruginosa* 、*P. aeruginosa* ）、青森県環境保健センター（*K. pneumonia* ）、群馬県衛生環境研究所（*E. coli* ）

(2) マイコプラズマ関連

ア．平成23年5月　佐賀県衛生薬業センターより肺炎マイコプラズマ検査の依頼を受けた。本件は知的障害者施設で入所者､職員を含めて 72 名が発症した集団発生事例であり､感染研に送付された患者の咽頭拭い液検体から、肺炎マイコプラズマの遺伝子が LAMP 法と PCR 法で検出された。〔堀野敦子、見理　剛〕

イ．平成 23 年 5 月　埼玉県衛生研究所より､肺炎マイコプラズマ検出に関する行政検査の依頼を受けた。結果は陰性だった。〔見理　剛、堀野敦子〕

(3) 第三室：ボツリヌス症関連

平成２３年４月名古屋市（乳児ボツリヌス疑い）患者便（陰性)、４月さいたま市（ボツリヌス菌疑い菌）菌株（陰性)、５月栃木県（乳児ボツリヌス疑い）患者便、血清（陰性)、５月岐阜県（ボツリヌス疑い（成人））患者便、血清（陰性)、６月岡崎市（乳児ボツリヌス）患者便他 陽性（A 型)、６月福山市（乳児ボツリヌス疑い）患者便他(陰性)、7 月横浜市(菌株同定依頼) 菌株(陰性)、９月神奈川県（乳児ボツリヌス疑い）患者便（陰性）９月愛媛県（乳児ボツリヌス疑い）患者便（陰性）平成２４年１月愛知県(乳児ボツリヌス疑い) 患者便、血清(陰性)［担当：見理剛、山本明彦、岩城正昭、加藤はる］

(4) 第三室：破傷風関連

平成24年1月鹿児島県(患者創部より分離された菌株) 破傷風毒素原性陽性［担当：山本明彦、岩城正昭、加藤はる］

(5) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン

ア．依頼試験として、ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）の力価試験を行った。〔森茂太郎、堀野敦子、持田恵子、和知野純一、林原絵美子〕

イ．ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）40 ロットの書類審査を行った。〔森茂太郎、堀野敦子、和知野純一、林原絵美子〕

(6) 鼻疽・類鼻疽菌関係

ア．鼻疽菌の分離同定；H24 年 1 月 4 日受付、依頼者；高知県衛生研究所長。尿路感染症患者の検体を病院検査室で全自動細菌検査装置にて同定したところ鼻疽菌との判定がでたため、同定検査依頼を受けた。尿検体と咽頭ぬぐい液検体について培養法と 16S rRNA 遺伝子塩基配列解析を行った結果、この菌は *Providencia* 属であった。（細菌行政検査；第 17209 号）〔担当；堀野敦子〕

イ．類鼻疽菌の分離同定 ; H24 年 3 月 1 日受付、依頼者；札幌市保健所長。類鼻疽流行地域であるオーストラリアに渡航歴のある原因不明熱患者の血液検体について、類鼻疽菌検出の依頼を受けた。培養法と検体から抽出したゲノム DNA を用いた類鼻疽菌の遺伝子に特異的な核酸検査法の結果、いずれの方法でも検体から類鼻疽菌は検出されなかった。（細菌行政検査；第 17247 号）〔担当；堀野敦子〕

3. 収去検査の実績

(1) 第一室：抗生物質医薬品

注射剤(注射用ホスホマイシンナトリウム)､注射剤(注射用セフォチアム塩酸塩)､経口剤 (セフカペンピボキシル塩酸塩錠)､ 経口剤（セフカペンピボキシル塩酸塩細粒)について収去検査を実施した｡〔近田俊文､鈴木里和、松井真理、和知野純一〕

4. 承認前検査の実績

(1) 承認前試験における無菌試験法ならびにマイコプラズマ否定試験法の書類精査

承認前試験において、不活化ポリオワクチン（ソーク株）製剤の無菌試験法の標準作業手順書（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。また、不活化ポリオならびに DPT 製剤について、CTD におけるマイコプラズマ否定試験法の精査を実施した。［佐々木裕子、柴山恵吾］

(2) 第三室：沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株由来）混合ワクチンの承認前検査が開始され、ジフテリアトキソイドおよび破傷風トキソイド関連の書類審査や試験の準備を行った。［加藤はる、岩城正昭、山本明彦、小宮貴子、妹尾充敏、岡宮洋子］

5. 標準品、参照品の制定

ジフテリア試験毒素（培養細胞法用）平成 23 年 4 月制定、標準沈降破傷風トキソイド平成 23 年 4 月制定、参照沈降破傷風トキソイド平成 23 年 4 月制定

国際協力関係業務

Ⅰ．WHO 関連

1. WHO 西太平洋事務局が主催した、災害医療と薬剤耐性菌に関する会議に出席し、意見交換を行った〔鈴木里和〕

2. WHO の生物製剤（ジフテリア、破傷風関連）に関する recommendation 制定作業

DT、DPT、DPT-IPV など D と T を基本成分として含む混合ワクチン（DT-based combination vaccines）の WHO recommendation 制定作業、および D と T それぞれの WHO minimum requirement の見直し(recommendation 制定)が現在行なわれている。この作業を行なうため、2011 年 6 月の Drafting Group（ジュネーブ）および 11 月の WHO informal consultation（北京）に WHO テンポラリーアドバイザーとして参加した［岩城正昭］

3. WHO 西太平洋事務局が主催した西太平洋地域における新興感染症研究所強化に関する会合に出席し、日本における感染研と地方衛生研究所とのネットワークについて紹介し、また各国の状況について意見交換を行った。[柴山恵吾]

II. JICA 関係

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（2011 年 11 月）。［岩城正昭、久保田眞由美、佐々木裕子、落合雅樹］

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

1. 薬剤耐性遺伝子の検出および分子疫学解析の手法に関する研修を、地方衛生研究所の解析担当職員および感染症情報センター実地疫学専門家養成プログラム研修生に対して行った。〔松井真理、和知野純一、鈴木里和、近田俊文、柴山恵吾〕

2. 第 32 回衛生微生物協議会において、NDM-1 産生多剤耐性腸内細菌についての講演を行った。(2011 年 6 月，東京）〔和知野純一〕

3. 平成 23 年度希少感染症診断技術研修会において、NDM-1 等カルバペネマーゼ産生菌についての講演を行った。(2012 年 2 月，東京）〔和知野純一〕

4. 平成 23 年度希少感染症診断技術研修会において、薬剤耐性菌総論についての講演を行った。（2012 年 2 月，東京）〔鈴木里和〕

5. 第 25 回公衆衛生情報研究協議会において、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)公開･還元情報の活用方法についての講演を行った。(2012 年 1 月、埼玉）〔鈴木里和、柴山恵吾〕

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 23 年 5-6 月）。［佐々木裕子、加藤はる］

III. マイコプラズマに関する研修

1. 国立医療科学院細菌研修でマイコプラズマの講義を行った。（平成 23 年 11 月）〔見理　剛〕

2. 希少感染症技術研修会でマイコプラズマの講義を行った。（平成 24 年 2 月）〔見理　剛]

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）の新規収載案及び既収載改正案の審議に従事した。［近田俊文］

2. 抗生物質医薬品の試験法についての対応:日本薬局方、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)の規格及び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. 生物学的製剤基準の改正に向けて、「一般試験法、マイコプラズマ否定試験法に関する実態ならびに意識調査」を実施し、その結果を研究班員に報告した（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)。その後、当該試験法の生物基改正案を

作成した。[佐々木裕子、岩城正昭、柴山恵吾]

4. 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)解説書の作成に携わった。[佐々木裕子、他指針作成委員]

5. 薬事・食品衛生審議会薬事分科会　動物用医薬品等部会　動物用生物学的製剤調査会が４回開催され出席した〔山本　明彦〕

6. 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、承認申請された診断薬の審査を行った。[柴山恵吾]

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：薬剤耐性菌の検査診断等に関する相談窓口として taiseikin@nih.go.jp（メーリングリスト）を開設し、医療機関や地方衛生研究所等からの質問、相談に個別に対応し、回答を行った。[鈴木里和、松井真理、和知野純一、近田俊文、柴山恵吾]

2．医療施設や地域の勉強会において *Clostridium difficile* 感染症に関する講演を行う、電話や email で個々の相談に対応する等の対応をした。

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1．欧文発表

1）Wachino J, Yamaguchi Y, Mori S, Yamagata Y, Arakawa Y, Shibayama K. Crystallization and preliminary X-ray analysis of the subclass B3 metallo-β-lactamase SMB-1 that confers carbapenem resistance. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2012 Mar 1;68(Pt 3):343-6.

2）Wachino J, Yoshida H, Yamane K, Suzuki S, Matsui M, Yamagishi T, Tsutsui A, Konda T, Shibayama K, Arakawa Y. SMB-1, a novel subclass B3 metallo-b-lactamase, associated with IS*CR1* and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov;55(11):5143-9.

3）Wachino J, Yamane K, Arakawa Y. Practical disk-based method for detection of *Escherichia coli* clinical isolates producing the fluoroquinolone-modifying enzyme AAC(6')-Ib-cr. J Clin Microbiol. 2011 Jun;49(6):2378-9.

4）Tsutsui A, Suzuki S, Yamane K, Matsui M, Konda T, Marui E, Takahashi K, Arakawa Y. Genotypes and infection sites in an outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.J Hosp Infect. 2011 Aug;78(4):317-22.

5）Oie S, Obayashi A, Yamasaki H, Furukawa H, Kenri T, Takahashi M, Kawamoto K, Makino S. Disinfection methods for spores of *Bacillus atrophaeus, B. anthracis, Clostridium tetani, C. botulinum and C. difficile*. Biol Pharm Bull. 2011; 34(8):1325-9.

6）Kenri T, Horino A, Matsui M, Sasaki Y, Suzuki S, Narita M, Ohya H, Okazaki N, Shibayama K. Complete genome sequence of *Mycoplasma pneumoniae* type 2a strain 309, isolated in Japan. J Bacteriol. 2012 Mar; 194(5):1253-4.

7）Miura M, Kato H, Matsushita O. Identification of a novel virulence factor in *Clostridium difficile* that modulates toxin sensitivity of cultured epithelial cells. Infect Immun. 2011 Sep;79(9):3810-20.

8）Kawada M, Annaka M, Kato H, Shibasaki S, Hikosaka K, Mizuno H, Masuda Y, Inamatsu T. Evaluation of a simultaneous detection kit for the glutamate dehydrogenase antigen and toxin A/B in feces for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. J Infect Chemother. 2011 Dec;17(6):807-11.

9）Kato H, Arakawa Y. Use of the loop-mediated isothermal amplification method for identification of PCR ribotype 027 *Clostridium difficile*. J Med Microbiol.2011 Aug;60:1126-30.

10）Tierney R, Stickings P, Hockley J, Rigsby P, Iwaki M, and Sesardic D.: Collaborative study for the calibration of a replacement international standard for tetanus toxoid adsorbed.Biologicals 39: 404-416, 2011.

11）Katsukawa C, Komiya T, Yamagishi H, Ishii A, Nishino S, Nagahama S, Iwaki M, Yamamoto A, and Takahashi M.: Prevalence of Corynebacterium ulcerans in dogs in Osaka, Japan. J. Med. Microbiol. 61: 266-273, 2012.

12）Hifumi T, Yamamoto A, Morokuma K, Ogasawara T, Kiriu N, Hasegawa E, Inoue J, Kato H, Koido J, and Takahashi M,　Surveillance of the clinical use of mamushi (*Gloydius blomhoffii*) antivenom in tertiary care centers in Japan. JJID. 2011;　64(5): 373-6.

13）Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, Sasatsu M. Fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: role of mutations at position 87 and 91 of GyrA on the level of resistance and identification of a resistance conferring

mutation in GyrB. Helicobacter. 2012 Feb;17(1):36-42.

14） Li Y, Rimbara E, Thirumurthi S, Trespalacios A, Reddy R, Sabounchi S, Attumi TA, Graham DY. Detection of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* following noncryogenic storage of rapid urease tests for 30 days. J Dig Dis. 2012 Jan;13(1):54-9.

15）Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Structural insights into the novel diadenosine 5',5'''-P^1,P^4-tetraphosphate phosphorylase from Mycobacterium tuberculosis H37Rv. J Mol Biol. 2011 Jul 1;410(1):93-104.

16）Ito M, Kusunoki H, Mochida K, Yamaguchi K, Mizuochi T. HCV infection and B-cell lymphomagenesis. Adv Hematol. 2011;2011:835314.

17）Otsuka N, Han HJ, Toyoizumi-Ajisaka H, Nakamura Y, Arakawa Y, Shibayama K, Kamachi K. Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in Japan. PLoS One. 2012;7(2):e31985.

2. 和文発表

1）鈴木里和，山根一和，和知野純一，松井真理，近田俊文，荒川宜親我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査.日本臨床(0047-1852)70 巻 2Page187-191(2012.02)

2）鈴木里和,荒川宜親【感染症サーベイランス-その役割と展望】厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業．臨床と微生物(0910-7029)38 巻 4 号 Page329-334(2011.07)．

3）近田俊文：抗生物質の微生物学的力価試験法、日本薬局方技術情報（JPTI）2011、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス編、168-175、じほう、2011 年 8 月.

4）近田俊文：抗生物質の微生物学的力価試験法、必携日本薬局方試験法ガイド<日局 16 対応>、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団、313-323、じほう、2011 年 12 月.

5）近田俊文、加藤はる、鈴木里和：抗生物質の微生物学的力価試験法、第 16 改正 図説 日本薬局方微生物試験法の手引き、坂上吉一監修、36-45、文教出版、2012 年 2 月.

6）佐々木裕子、講座；こうすればできる日本薬局方微生物試験（無菌試験法)、防菌防黴、vol. 40, 51-60、2012.

7）見理 剛：バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験，第 16 改正 図説 日本薬局方微生物試験法の手引き、坂上吉一 監修，文教出版 2012 年 2 月

8）佐々木裕子、講座；こうすればできる日本薬局方微生物試験(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験)、防菌防黴、vol. 40, 247-258、2012.

9）加藤はる：Chapter 2 集中治療医編 7. *Clostridium difficile* 腸炎に対する診断と抗菌薬治療. 竹末芳生、山田芳嗣 編集 麻酔・集中治療医のための抗菌薬使用と感染対策. 京誠堂出版株式会社, p120-126. 2012.

10）加藤はる：3-6 クロストリジウム・ディフィシル感染症. 感染症事典 オーム社 p80-85. 2012.

11）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, No.1: 35-39, 2011.

12）中野朋美、中村進一、山本明彦、高橋元秀、宇根有美： 飼育下ニホンザル（Macaca Fuscata）群における破傷風の集団発生、獣医畜産新報、vol.64, No.10: 809-811、2011.

13）蒲地一成、中村幸嗣、岡田賢司：百日咳 最近の話題. Vita, 116:1-15, 2011.

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1） Suzuki S : Molecular epidemiology of drug-resistant bacteria in Japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011 Sappro.

2）Suzuki S， Yamane K, Tsutsui A, Yamagishi T, Arakawa Y,: Japan Nosocomial Surveillance System (JANIS), a national surveillance system of antimicrobial resistance and nosocomial infections in Japan 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)/27th International Congress ofChemotherapy (ICC)(2011 Milan, Italy).

3）Sasaki Y, Ishikawa J,: A study of comparative genomics in mycoplasma and acholeplasma; different parasitic strategies in different host ranges. The 5th meeting of Asian Organization for Mycoplasmology, October 2011, Nagasaki.

4）Kenri T, Yamamoto A, Iwaki M, Shibayama T, Takahashi M. : Genetic characterization of *Clostridium botulinum* strains isolated from infant botulism cases in Japan in 2011 48th Annual Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, October 5-7, 2011, Santa Fe, NM, USA.

5）Kato, H. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile*

infection in Japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo Japan.

6) Ishiwa A, Iwaki M, Nishiyama T, Miura H, Arakawa Y, Hatanaka K, and Takahashi M. Adsorption of botulinum toxin B (16S toxin) to sugar-coupled hollow fiber. 15th European Workshop Meeting on Bacterial Protein Toxins. June 2011, Oslo, Norway.

7) Ishiwa A, Iwaki M, Nishiyama T, Miura H, Arakawa Y, Hatanaka K, and Takahashi M. Attempt for removal of type B botulinum 16S toxin from biological fluid by sugar-couples hollow fiber. 2011 Interagency Botulinum Research Coordinating Committee, October 2011, Santa Fe, USA.

8) Yamamoto A, Kenri T, Iwaki M, Komiya T, Takahashi M, and Shibayama K: *Clostridium tetani* clones identified by multilocus variable-number tandem-repeat analysis. 7th International Conference on Basic and Therapeutic Aspects of Boturinum and Tetanus Toxins, October 2011, Santa Fe, USA.

9) Rimbara E, Shibayama K.: Molecular Epidemiology of *Helicobacter cinaedi* isolates in Japan. XIII International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS), September 2011, Sapporo, JAPAN.

10) Mori S, Shibayama, K, Wachino J, Arakawa Y.: Structural Insights into the Novel Diadenosine Tetraphosphate Phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. XIII International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS), September 2011, Sapporo, JAPAN.

11) Shibayama K, Takeuchi H, Wachino J, Mori S, Arakawa Y. Pathophysiological Role of Helicobacter pylori Asparaginase. XIII International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS), September, 2011, Sapporo, Japan.

2. 国内学会

1) 和知野純一、吉田弘之、山根一和、松井真理、鈴木里和、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 新型メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の機能解析. 第 40 回薬剤耐性菌研究会, 2011 年 12 月, 渋川.

2) 和知野純一、鈴木里和、山根一和、松井真理、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 我が国におけるカルバペネマーゼ産生多剤耐性菌の実態に関する研究. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 2012 年 1 月, 横浜.

3) 和知野純一、吉田弘之、鈴木里和、松井真理、山根一和、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 臨床分離カルバペネム耐性 *Serratia marcescens* より発見された新規メタロ-β-ラクタマーゼ SMB-1 の解析. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 2012 年 1 月, 横浜.

4) 和知野純一、柴山恵吾、荒川宜親. プラスミド性 16S rRNA メチルトランスフェラーゼによるアミノグリコシド高度耐性機構. 第 85 回日本細菌学会総会, 2012 年 3 月, 長崎.

5) 松井真理、鈴木里和、山根一和、和知野純一、山岸拓也、筒井敦子、近田俊文、柴山恵吾、荒川宜親. 我が国における多剤耐性腸内細菌科菌種のカルバペネマーゼ遺伝子保有実態調査. 第 40 回薬剤耐性菌研究会, 2011 年 12 月, 渋川.

6) 松井真理、鈴木里和、山根一和、山岸拓也、荒川宜親. 我が国におけるカルバペネマーゼ産生多剤耐性腸内細菌の実態に関する研究. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月, 福岡.

7) 山岸拓也, 網中眞由美, 鈴木里和, 荒川宜親. JANIS 検査部門の提出データの精度管理に関する検討. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月、福岡

8) 鈴木里和, 山岸拓也, 網中眞由美, 荒川宜親. JANIS 全入院患者部門の病院特性に基づく層別化解析に関する検討. 第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月、福岡

9) 網中眞由美, 山岸拓也, 鈴木里和, 荒川宜親. JANIS 全入院患者部門におけるデータ提出状況と病床数、サーベイランス担当者の職種の関係についての検討第 27 回日本環境感染学会総会, 2012 年 2 月、福岡

10) 本間操, 鈴木里和, 鈴木智一, 根岸久実子, 柏谷淳, 浦邦子, 稲葉千絵, 野村勝美, 常松範子, 柴山恵吾　白血病患者の血液培養で分離された多剤耐性 *Klebsiella pneumoniae*. 第 23 回日本臨床微生物学会総会 2012 年 1 月、横浜

11) 佐々木裕子: The reductive evolution and gene duplication to create new functions in the genome of mycoplasma. 第 85 回日本細菌学会総会、2012 年 3 月、長崎

12) 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、日本ゲノム微生物学会ワークショップ、2011 年 8 月、仙台.

13) 加藤はる: *Clostridium difficile* による医療関連感染と感染管理. 第８５回日本感染症学会総会, 2011 年 4 月, 東京.

14) 加藤はる: *Clostridium difficile* の流行株・優勢株. 第１４回日本臨床腸内微生物学会総会学術総会,

2011 年 9 月，東京.

15）加藤はる：タイピング解析からみる *Clostridium difficile*感染症．第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会，2011 年 10 月，山形.

16）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症(CDI)の細菌学的検査に関して．第 54 回日本感染症学会中日本地方会学術集会．2011 年 11 月，奈良.

17）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査と結果の解釈．第 23 回日本臨床微生物学会総会．2012 年 1 月，横浜.

18）加藤はる：*Clostridium difficile* 感染症について．第 27 回日本環境感染学会総会．2012 年 2 月福岡.

19）加藤はる：*Clostridium difficile* infections in Japan．第 5 回インターナショナルワクチンワークショップ 2012 年 2 月，東京.

20）吉村幸浩、山本明彦、小宮貴子： *Corynebacterium ulcerans* による腋窩リンパ節膿瘍の一例．第 85 回日本感染症学会総会、2011 年 4 月，東京.

21）三井一賢、伏見拓矢、吉澤定子、細野なつ絵、舘田一博、山本明彦、小原　明、舘野昭彦、関根孝司、山口恵三、佐地　勉： 明らかな外傷歴がなく診断に苦慮した破傷風の幼児例．第 85 回日本感染症学会総会、2011 年 4 月，東京.

22）一二三亨，山本明彦，金村剛宗，長谷川栄　寿、加藤宏，井上潤一，小井土雄一，高橋元秀：まむし咬傷の臨床像と治療薬の有効性に関する調査報告． 日本救急医学会　2011 年 10 月， 東京.

23）水野泰孝、竹下　望、金川修造、高崎智彦、山本明彦、小宮貴子、高橋元秀： 海外渡航者における年齢別に見た破傷風及び日本脳炎ワクチン追加接種の効果．第 15 回日本ワクチン学会学術集会、2011 年 12 月， 東京.

24）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関わる構造的要因の解明．第 63 回日本生物工学大会. 2011 年 9 月．東京.

25）森茂太郎、柴山恵吾、荒川宜親：結核菌由来ニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの機能解析とピラジン酸による抗結核菌活性との関連性．日本農芸化学会 2012 年度大会. 2012 年 3 月．京都.

26）堀野敦子：肺炎マイコプラズマの検出法. 第 85 回日本細菌学会総会. 2011 年 3 月. 長崎.

27）大塚菜緒、柴山恵吾、蒲地一成：百日咳菌に認められる自己凝集能の解析．第 95 回日本細菌学会総会、2012 年 3 月、長崎.

28）蒲地一成：百日咳の実験室診断、困難な青年・成人患者の診断. 第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同地方会、2011 年 10 月、山形.

29）大塚菜緒、吉野修司、豊泉（鯵坂）裕美、大平文人、蒲地一成：百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* に特異的な LAMP 検出系の開発．第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同地方会、2011 年 10 月、山形.

30）大塚菜緒、吉野修司、河野喜美子、豊泉（鯵坂）裕美、柴山恵吾、蒲地一成：LAMP 法を用いた百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* 検出系の開発．第 94 回日本細菌学会関東支部総会、2011 年 10 月、東京.

3．その他（紀要・ホームページ等）

1）Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Crystal structure of a novel diadenosine 5′,5‴-P^1,P^4-tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Photon Factory Activity Report 2010 #28 Part B (2011), P260.

2）Mori S, Shibayama K, Wachino J, Arakawa Y. Crystal Structure of a Novel Diadenosine 5′,5‴-P^1,P^4-Tetraphosphate Phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do PDB ID: 3ANO.

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、アニサキス・トキソカラ・肺吸虫・条虫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や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、これらの寄生虫症に関する依頼検査、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・ザルコシスチス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。また、トキソプラズマの感染機構や植物様代謝経路の解明を行った。同時に、原虫特異的代謝経路を標的とした創薬研究を行った。また、自由生活性アメーバの起こす角膜炎ならびにこれに媒介される細菌感染症に関する疫学・分子疫学・病因学的な研究を行った。

第二室においては、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行った。アニサキス症に関しては、東アジア地域で感染源となる海産魚類に寄生するアニサキス種の地理的分布を調査した。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。裂頭条虫症に関連しては、わが国において輸入量の多いチリ産養殖サケ・マスに寄生する裂頭条虫の寄生状況調査をチリにおいて実施した。さらに、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本年度も相次いで発生したために、その発生動向を監視した。エキノコックス症の対策研究に関しては、前年度に引き続き、各地の食肉衛生検査所の協力を得て、北海道外への競争馬を通じての伝播可能性について調査研究を行った。また、エキノコックスの病原機構に関する基盤的研究も行った。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）については、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ている。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ている。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（新興・再興研究事業、顧みられない病気に関する研究等）、文部科学省科学研究費補助金（新学術領域「マトリョーシカ型進化原理」、基盤研究）、日本学術振興会二国間交流事業費、ヒューマンサイエンス財団政策創薬総合研究事業費、日本予防医学協会委託事業費等を取得した。

人事面では、再任用職員として朝日博子、客員研究員として影井 昇、川中正憲、松田肇、千種雄一、亀井喜世子、武田正倫、協力研究員として佐藤暖、渡辺恒二、高

岡紀子、川原史也、下河原理江子、黒木俊郎、岡本憲明、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、海老根一生、坪井久美子、研究生・実習生として Afzal Husain, Aleyla Escueta-de Cadiz, Gil Mallari Penuliar, 古川敦、松原立真、福士路花、間瀬望、花館有希、村上佳隆、丸茂このみ、山野安規徳、渡辺なつきが在籍し、研究等に従事した。、非常勤職員として、中川玲子、村上裕子、武藤麻紀、臨時研究補助員として佐藤映美、中曽根英子、田原美智留、賀川千里が在籍し、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）馬肉からのザルコシスティス検査法（暫定法）通知

2011 年 6 月に厚生労働省より発出された通知「生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例への対応について（食安発 0617 第 3 号）」により、ヒラメ食中毒のクドアとともに馬刺しのザルコシスティス *Sarocystis fayeri* が病因物質として指定された。これに合わせて今後、食中毒事例における病因究明のための検査として馬肉内のザルコシスティスを検出する方法(暫定法)が必要となった。これまでに開発した定性ＰＣＲを遺伝子検査法として暫定法に組み入れるため、3 ヶ所の地方衛生研究所の協力を得て本法の validation を行い、検査法としての妥当性を確認した。本法は 8 月 23 日付で「*Sarcocystis fayeri* の検査法について（暫定版）」として通知された（食安監発 0823 第 1 号)。[八木田健司、長澤由美子（横須賀市健康安全研究センター)、原田誠也（熊本県保健環境科学研究所)、小黒祐子（福島県衛生研究所）]

（2）糞便検体からの *S. fayeri* 検出法の開発

食中毒事例では残品検査が不可能な場合が多い。馬刺し食中毒においても同様のことが想定されることから、検便検体の使用を想定した *S. fayeri* の検出法を開発した。ザルコシスティスを含まない糞便試料に濃度を変えて *S. fayeri* ＤＮＡをスパイクし、キットを用いて全ＤＮＡを抽出した。定性 PCR（1 stPCR）で得られた産物をテンプレートに、*S. fayeri* 特異的プライマーを用いて Nested-PCR を行った。その結果、検出感度は抽出前の糞便上清 200 μl あたり 1000 コピーという条件であった。定量 PCR 法の応用も検討中である、また今後、実際の患者検体を用いてその有用性を検証する。[村上裕子、八木田健司]

（3）消化管寄生原虫検出のための蛍光抗体試薬の開発

消化管寄生性原虫であるジアルジアならびにクリプトスポリジウムの検査診断の普及、拡大を図るため、両原虫に対するモノクロナル抗体を作製し、蛍光標識抗体としての迅速診断用試薬の開発を行った。ジアルジアならびにクリプトスポリジウムと、その他主要な消化管寄生性原虫類（シスト/オーシスト）との交差反応性、またヒト糞便試料を用いた場合の感度、特異性を検討し、臨床検査目的に適う性能を確認し、またその性能は市販の輸入試薬と同等であることも確認した。国内の検査試薬開発により検査コストの低減化と原虫検査・診断の一般化が期待される。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）]

（4）神奈川県原水浄水を使用したクリプトスポリジウム粉体ろ過濃縮法の検証

神奈川県の水道原水（河川表流水）に対して粉体ろ過濃縮を実施した。ろ過水量は濁度によって変動し、原水が高濁度の場合にろ過水量は 10L に達しなかったが、複数回に分けて濃縮することで対応できると考えられた。原水における捕捉性能、回収率ともに良好な結果が得られた。浄水においても、十分なろ過水量が得られ、捕捉性能に問題はなかった。利便性が高く、「水道におけるクリプトスポリジウム等対策指針」の応急対応用の浄水を大量に処理可能となると示唆された。ろ過ユニット内でフィルターが浮く問題が昨年度に指摘されていたが、改善され、捕捉性能も上昇した。ケーキ層を安定して形成することが捕捉性能の維持に重要であることが判明した。

［渡邉洋大、齊藤巧介、上村郁子、北村壽朗（神奈川県企業庁水道水質センター)、泉山信司］

（5）浜松市原水浄水を使用したクリプトスポリジウム粉体ろ過濃縮法の改善

粉体ろ過濃縮法を検討していくなかで、37mm フィルターカートリッジに支持体が浮き上がる不具合が指摘された。支持体の変更と締め付け圧力の改善により不具合が解消され、従来品と同等のろ過水量があることが確認できた。粉体ろ過の流路の洗浄方法では、0.3%Tween80 を用いた洗浄方法で流路の汚れを効果的に洗浄できることが確認できた。一方で、0.3%Tween80 の洗浄を行い、さらに装置を大量の水で通水洗浄したり、取り外し可能な部品を洗剤で手洗いしても細かな汚れは残留し完全には除去できないことも明らかとなった。同じ試料を繰り返しろ過する場合には問題は少ないかもしれないが、特に試料間のクロスコンタミネーションが問題となる場合は、分解洗浄できる装置やディスポーザブルな部品の使用、吸引ろ過などの汚れを最小限に抑える工夫が望ましいと考えられた。粉体ろ過濃縮後の遠心沈殿で生成する固いペレットは、100％PET の使用、50mL 遠心管の使用、チューブを叩いて沈殿物を浮かせること、より強いミキサーで攪拌することが、懸濁方法としては最善と考えられた。

［高藤俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、泉山信司］

（6）浜松市原水を使用した国内産クリプトスポリジウムおよびジアルジ蛍光抗体染色試薬の染色評価試験

顧みられない病気に関する研究班で開発された国産蛍光抗体試薬を用いて、水試料中のクリプトスポリジウムとジアルジアへの適用を検討した。河川水に添加回収したクリプトスポリジウム等でも問題はなかった。水道事業体などで通常行われる原水を対象としたクリプトスポリジウム検査に活用されると期待された。ジアルジアが明るく染色され、観察が容易であった。試験した範囲で、クリプトスポリジウム等検査の障害になるような、想定外の粒子が染色されることは無かった。［高藤俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、八木田健司、泉山信司］

（7）クリプトスポリジウム等検査における遺伝子検査法の定量に関する検討

クリプトスポリジウムとジアルジアの遺伝子検出法では、定性的に汚染の有無を検知するだけでなく、定量的に汚染量を把握できることも期待されている。当該研究では、リアルタイム PCR 法におけるクリプトスポリジウムとジアルジアの定量について検討した。検量線の作成に使用可能なクリプトスポリジウムのオーシスト、あるいはジアルジアのシストを入手するのは容易ではないことから、人工的に作成された陽性対照の遺伝子断片より検量線を作成した。その結果、クリプトスポリジウム 1 オーシストに含まれる 18S rRNA 量は、TaqMan 法で 26,000 コピー、サイクリングプローブ法で 18,000 コピーに相当すると計算され、18S rDNA の 20 コピーのおよそ 1,000 倍だった。ジアルジア 1 シストあたりでは、サイクリングプローブ法で 1,600 コピーに相当すると計算された。

［泉山信司、岸田直裕、秋葉道宏（国立保健医療科学院）、岸田小百合（タカラバイオ（株）製品開発センター）］

（8）クリプトスポリジウム検査における遺伝子検査法の導入に関する検討～水道原水 30 箇所への適用～

水道事業体の協力を得て，30 箇所の水道原水よりクリプトスポリジウム試験を行った。遺伝子検査法は，顕微鏡観察と同程度の検出率であった。方法間に結果の不一致が見られたが，低濃度のクリプトスポリジウム検出は確率論的な問題を含むことを計算で示し，頻回の試験がその解消に有効と考えられた。遺伝子検出法の結果が一致し，塩基配列はクリプトスポリジウムの配列が得られ，遺伝子検出法の特異性に問題はなかった。クリプトスポリジウムの遺伝子型は多様で，ヒトへ感染する可能性のある型も確認された。［岸田直裕、秋葉道宏（国立保健医療科学院）、原本英司（山梨大学大学院医学工学総合研究部）、猪又明子（東京都健康安全研究センター）、岸田小百合（タカラバイオ（株）製品開発センター）、百田隆祥（栄研化学（株）生物化学研究所）、泉山信司］

（9）LAMP 法及び RT-PCR 法と検鏡法によるクリプトスポリジウム及びジアルジア測定結果の比較

河川水と畜産排水を用いて、検鏡法と、LAMP 法及び RT-PCR 法の 3 方法の原虫類試験結果を比較した。検鏡法と遺伝子試験法は、クリプトスポリジウム及びジアル

ジアともに河川水試料は 60%、畜産試料は 80%程度の一致率であった。遺伝子検出法同士の一致率は高く、RT-PCR からはクリプトスポリジウムとジアルジアの配列が得られており、遺伝子検出法の特異性に問題はなかった。3 方法で結果が一致しなかった原因については、1:原虫類の存在密度の低いサンプルで生じる試料採取時のばらつき、2:検鏡法と遺伝子試験法の検出感度の差の影響、3:遺伝子試験阻害物質の影響等が考えられた。[勝山志乃、大谷喜一郎(神奈川県内広域水道企業団)、岸田小百合(タカラバイオ(株)製品開発センター)、百田隆祥（栄研化学（株）生物化学研究所)、泉山信司]

（１０）モノクロラミンの *Acanthamoeba* に対する不活化効果

レジオネラ属菌汚染防止対策における宿主アメーバの衛生管理に関して、*Acanthamoneba* に対するモノクロラミン（結合型塩素）の効果を実験的に調べた。*Acanthamoeba* 浴槽水分離株を用いて、大腸菌培養で調整したシストおよび無菌培養で調整した栄養体を試料として、モノクロラミンの濃度と作用時間を変えてアメーバの生残性を培養法で調べた。その結果、モノクロラミンの実用的濃度とされる 3mg/L の条件で、栄養体は 15 分間（Ct 値：47）で、またシストは 24 時間（Ct 値：3700）で 3log の生残性低下が認められた。以上の結果から、浴槽水の衛生管理手法としてのモノクロラミン消毒が宿主アメーバに対しても実用性があることが示唆された。[八木田健司、泉山信司]

（１１）尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

マラリア原虫に対する尿中抗体を検出する検査診断法については、尿中熱帯熱マラリア原虫抗体価と、血中抗体価との関連について検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、2011 年に採取された血液と尿を用い、熱帯熱マラリア原虫に対する IgG 抗体価の相関を求めた。56 人を対象として求めたが、相関係数 0.65 となり有意な相関を認めた。また、尿蛋白の定性試験紙を用いて、尿中の抗体価と蛋白排泄傾向の関係を調べたが、定性反応での尿蛋白と熱帯熱マラリア原虫に対する尿中 IgG 抗体価との間には全く関係がなかった。[大前比呂思、伊藤誠(愛知医大)、亀井喜世子（平成帝京大学）]

（１２）熱帯熱マラリア原虫の薬剤感受性試験法に関する研究

ア．新規薬剤感受性試験法の開発

従来の試験法に比較して、より安全、正確、迅速でさらに多数の検体を処理出来る薬剤感受性試験法を開発するために、原虫の培養法と感染 RBC 検出法を検討した。培養法としては、従来使用されているヒト血清に代わり広く用いられている GFS あるいは AlbuMAX を加えた無血清培地と CDM (chemically defined medium)の三種培養液と、代表的な抗マラリア薬として chloroquine および dihydroartemisinin を用いて薬剤感受性を比較した。感染程度の検出は、SYBR Green I を flow cytometry でトラッキングして評価した結果を、giemsa 染色法、原虫の lactate dehydrogenase (pLDH) 測定法、および histidine-rich protein (HRPII) 測定法と比較した。96h 培養（２サイクル）法で増殖抑制を評価した結果、いずれの培養法および検出法の組み合わせでも同様な５０％抑制濃度を得た。特に CDM と flow cytometry の組み合わせでは既存の薬剤感受性試験法に伴う多くの欠点を改善すると思われた。[Kwansa-Bentum, B. (ガーナ大)、朝日博子、泉山信司]

イ．流行地のマラリア薬剤調査に適した in vitro 薬剤感受性試験法の開発

アフリカ　ガーナ国に於ける薬剤耐性調査を継続して実施している。こうした状況では、出来るだけ少量の感染者血液をもちいて、より短時間に、正確迅速に試験する事が不可欠である。この事から、無血清培地を用いた短時間培養法による microplate 試験法の開発を試みた。その結果 flow cytometry で評価できる schizont 形成抑制法（培養２５h 後判定）及び merozoite 測定法（培養４５h 後判定）が特に適している事が見いだされた。[Kwansa-Bentum, B. (ガーナ大)、朝日博子、泉山信司、太田伸生（東京医科歯科大）]

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．マンソン孤虫症の迅速血清診断キットの開発

マンソン裂頭条虫の幼虫（マンソン孤虫）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、検査診断に抗体検出が有効である。そこで、前年度に試作したマンソン孤虫症キットの評価を日本とタイにおいて実施した。日本人とタイ人を対象に、健常者、マンソン孤虫症患者はもとより、顎口虫症患者を含む他の寄生虫症患者の血清を用いてキットの評価を行った。タイにおける評価試験では、計８０サンプルについて検討した。その結果、健常者ではすべて陰性であり、マンソン孤虫症患者血清では 2 例中 1 例は陽性であったが、もう 1 例は陰性であった。この陰性となった症例は感染初期の眼部マンソン孤虫症であった。マンソン孤虫症と臨床症状が類似する顎口虫症患者血清とは基本的には交差反応は見られなかったが、高抗体価を示した血清では陽性反応が見られた。日本人の血清を用いた評価試験でも反応性は酷似し、マンソン孤虫症キットの有用性が証明された。[山﨑 浩，武藤麻紀，小林行治･小林 薫・高山勝好（アドテック株式会社），中村 健（北里大学･医・予防医学），松岡裕之（自治医大･医動物）, Wanchai Maleewong･Pewpan Maleewong (タイ･コンケーン大･医･寄生虫)]

イ．顎口虫症の迅速血清診断キットの開発

顎口虫症は顎口虫幼虫がヒトに感染して引き起こされる寄生虫症であり、本邦では、輸入症例も含めて散発的な発生が見られる。顎口虫症による臨床症状は皮膚の移動性線状爬行疹や腫瘤であるが、しばしばマンソン孤虫症の症状に類似する。化学療法では投与される薬剤が異なることから、マンソン孤虫症との鑑別診断が求められる。検査・診断には血清中の抗体検出法が有効であるために、前項のマンソン孤虫症にならい、レコンビナント抗原を用いたイムノクロマトキット開発を目的とした研究を行った。顎口虫の mRNA はタイ・コンケーン大学医学部寄生虫学教室にて凍結保存された有棘顎口虫（*Gnathostoma spinigerum*）第 3 期後期幼虫から調製された。cDNA ライブラリーの構築は 1μg 程度の微量の total RNA から構築することが可能な SMART（Switching Mechanism At 5’end of RNA Template）法を用いて行った。結果的には、ライブラリーサイズ約 1.0×10^7 cfu の cDNA が構築され、タイ人顎口虫症患者血清を用いたイムノスクリーニングによって血清診断抗原遺伝子をクローニングした。多数の陽性クローンの選別、解析を行った。[山﨑 浩，森嶋康之，武藤麻紀，杉山 広，Wanchai Maleewong･Pewpan Maleewong･Penchom Janwan･ (タイ･コンケーン大･医･寄生虫), Tongjit Thanchomnang（タイ・マハサラカム大・医）]

（２）本邦産人体寄生性肺吸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と鑑別法の開発

人体感染時の病態像が異なるウェステルマン肺吸虫の 2 倍体型と 3 倍体型は、ミトコンドリア 16S リボゾーム RNA 遺伝子の配列に基づく相違で分子鑑別される。我が国に分布するもう一つの人体寄生種は宮崎肺吸虫なので、本虫の当該遺伝子を解読し、共通部分の配列に基づく新規のプライマーペアを作製して、2 種 3 型を包括的に種鑑別する方法の確立を試みた。その結果、新規プライマーペアを用いた nested PCR で、各種何れも微量のテンプレートから増幅産物（約 500 bp）が得られる事が分かった。増幅産物は制限酵素 SnaBI（2 倍体型）、BsrDI（3 倍体型）および HhaI（宮崎）により種特異的に切断された。今回構築した方法は、本邦産の人体寄生性肺吸虫を各発育期で種鑑別する際に、極めて有用なツールになると考えられた。[杉山 広，武藤麻紀，柴田勝優]

イ．臨床材料への適用の可能性検討

上述の方法を臨床材料に応用し、原因肺吸虫種の同定を試みた。症例は 40 歳代の帰化中国人女性で、スーパーでサワガニを購入、酔蟹を調理し、非加熱で食して発症した事例である。好酸球増多からステロイドが投与され、喀痰検査と気管支鏡検査では肺吸虫卵が確認できず、真菌感染疑いで胸腔鏡下に肺生検が施行された。病理組織標本に肺吸虫卵が検出され、これを出発材料に DNA を調製、上述の新規プライマーペアで nested PCR して、産物の PCR-RFLP によりウェステルマン肺吸虫（3 倍体型）と同定、塩基配列の解読結果からこれを確認した。新規に開発した鑑別法は、臨床例にも適用できることが明らかとなった。[杉山 広，佐藤 亮（横浜市民病院）]

（３）宿主サワガニの加熱・冷凍による肺吸虫感染リスク除去の再検討

サワガニを-80℃で 50 分間冷凍（過去の検討では-18℃で 100 分間）、あるいは 75℃で 2 分間加熱（過去の検討では 55℃で 5 分間）すれば、カニ体内のメタセルカリアは変性し、マウスへの感染能力が消失することを明らかにした。従来の検討条件よりも短い処理時間で感染予防することができた。今後は宮崎肺吸虫陽性サワガニを用いて、感染予防条件の検討を進める予定にしている。[杉山 広, 森嶋康之, 山﨑 浩, 柴田勝優, 川上 泰（麻布大）]

（4）病理組織標本を用いた寄生虫の分子同定

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 の増幅は困難な場合がある。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 23 年度に特筆すべき症例として、国内感染例としては 2 例目となる動物寄生性フィラリア（*Dirofilaria repens*）による人体寄生例を確定診断することができた。また、トルコの医療機関から鑑別依頼のあった結膜部腫瘤に検出された寄生虫は世界で 3 例目となる動物寄生性フィラリアである(*Onchocerca lupi*)の症例を診断するに至った。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, 森嶋康之, 杉山 広]

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）生食用国内と畜馬肉および輸入馬肉の *S. fayeri* 汚染実態調査

国内で生食用にと畜処理された馬肉および国外からの生食用輸入馬肉について、定量 PCR を用いて *S. fayeri* 量を測定することにより汚染度調査を行った。国内と畜場 8 ヶ所から軽種馬（サラブレッド）39 頭、他にポニー、道産子各 1 頭を調べた。輸入馬肉はカナダ産冷蔵馬肉で 9 検体であった。検体より DNA 試料を調整し、食中毒残品から検出される *S. fayeri* 特異的定量 PCR を行った。その結果、検体の *S. fayeri* 量は国内と畜馬肉では食中毒事例残品よりは低い一方、輸入馬肉では事例残品と同等あるいはそれ以上の場合がみられた。輸入馬肉は専ら重種馬肉と考えられることから、国内で生産、飼育されている重種馬に関する汚染実態の必要性が示された。[八木田健司、村上裕子]

（2）アカントアメーバ性角膜炎全国サーベランスと分子疫学的研究

平成23年度より引き続きアカントアメーバ性角膜炎の全国調査が継続された。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することを目的とする。本年度は主として中部地域(愛知県)のデータが集められたが、角膜株 21 株を解析、BLAST より既知角膜分離株とほぼ一致し、遺伝子型はT4タイプであった。中でも ATCC50497 と一致の株が 7 株（33.3%）と多く、ATCC50497 タイプの AC の検出頻度は全国的に高い傾向にあることが示唆された。[八木田健司、村上裕子、井上幸次（鳥取大）]

（3）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。東日本大震災の対応を通じて、水道水の微生物学的安全性について検討した。宮城県では取水・導水・浄水施設に大きな被害はなく浄水処理は可能な状態にあったが、送水管の漏水の復旧に最大 21 日間を要した。水源上流にある下水処理施設の被害が少なく通常の処理が行われ、水道水の微生物学的な安全性に直接の影響が出なかった。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌の研究では、一部に変動や高い測定値の存在を見出した。ろ過なし塩素消毒のみの浄水処理、硝酸態窒素との関連が示唆され、これらを追求することで水質の向上、配水系の改善が期待された。ウイルス汚染への対応として浄水処理の有効性の検証が続けられている。昨年度開発のプラグフロー装置を用い、大腸菌ファージ Qβ の塩素消毒とポリオウイルスのオゾン処理で最短接触時間 0.7 秒より精度良い不活化曲線が得られた。ノロウイルス粒子検出系として immuno-PCR 法を改良し、従来の ELISA 法より 1,000 倍の高感度が得られ、活用が期待された。クリプトスポリ

ジウム等の耐塩素性病原微生物では、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、その成果としてこれら方法は現行試験法に追加反映された。[泉山信司、秋葉道宏（国立保健医療科学院)、片山浩之（東京大学大学院工学研究科)、松下　拓（北海道大学大学院工学研究科)]

（4）マラリアの疫学

ア. マラリア原虫 ピリメサミン耐性遺伝子 dhfr の遺伝的多型の解析

ピリメサミン（Pyr）はクロロキンに代わる抗マラリア薬として 1990 年代からアフリカで広く使用されている。ピリメサミン耐性の広まりを解析し、今後の対策に役立てるために、1984 年から 1998 年までのアフリカのサンプルから Pyr 耐性遺伝子(*dhfr*)の遺伝子型を決定した。PCR により増幅した断片をプラスミドにクローン化し、複数のクローンをシークエンスすることにより、Pyr の遺伝子型を正確に同定することができた。つまり NRSI, ICSI, IRSI の遺伝子型が 1980 年代のアフリカに存在していたことを示した。このような遺伝子型は東南アジアでは同定されず、アフリカ独自の感受性型の多型であろうと考えられる。また、多くのサンプルで異なる耐性型の混合感染が発見された。[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）]

イ. 三日熱マラリアに流行が移りつつある地域でのマラリア対策に Artemisinin-based combination therapy の果たす役割

世界的にマラリア対策で使用されることが多くなった Artemisinin based combination therapy(ACT)の導入前後で、ソロモン諸島の対象地域におけるマラリア感染状況を比較し、その意義を検討した。対象となったガダルカナル島北東岸の 7 村落群では、2009 年の ACT 導入前から、ソロモン諸島の対象地域ではマラリアの減少傾向はみられていたが、ACT 導入後、2010 年、2011 年の乾季で熱帯熱マラリア原虫の生殖母体保有率は減少した。ACT 導入後、三日熱マラリア原虫の感染率は、かえって増加したが、これには蚊帳の使用状況が関与していると思われた。しかし、Coatem（artemerher/lumefantrine の合剤）パックは、 Chloroquine より服用しやすく、無症状の三日熱マラリアでは、服薬コンプライアンスの上昇が期待できることがわかった。[大前比呂思、亀井喜世子（平成帝京大)、中澤港（群馬大)、Bernard Bakote'e (SIMTRI, ソロモン諸島国)]

2．蠕虫症の分子疫学的研究・調査

（1）ゴマサバの筋肉からのアニサキス検出

アニサキス症の感染源としてマサバは重要であるが、その近縁種のゴマサバにおける本虫の寄生状況はほとんど知られていない。そこで、駿河湾（静岡県）のマサバ（5 尾）とゴマサバ（7 尾）を対象に、アニサキスの寄生状況を調べた。その結果、マサバは全尾陽性であった。検出された計 151 匹の I 型幼虫を分子同定したところ、*Anisakis simplex* sensu stricto（As）が 147 匹，*Anisakis pegreffii*（Ap）は 4 匹で、筋肉由来の 25 匹は総て As であった。ゴマサバも全尾陽性で計 79 匹の I 型幼虫を検出したが、総て As であり、22 匹が筋肉に由来した（Ap は検出されず)。この結果から、ゴマサバもアニサキスの感染源として、極め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]

（2）アジア条虫症の発生実態

2010 年 6 月以降、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*)による感染事例が平成 23 年度も関東地方 1 都 4 県で 6 例の発生が感染研で確認され、累積で 23 例に達した。患者より得られた虫体のミトコンドリ DNA（cox1 遺伝子）解析に加え、核 DNA の elongation factor 1-α遺伝子、および ezrin-radixin-moesin like protein 遺伝子の塩基配列から、関東地方で発生しているアジア条虫は少なくとも 4 個体以上の異なる感染源が存在することが明らかになった。さらに、感染源と推定された豚における感染実態について、関東地方の食肉衛生検査センターと共同でアジア条虫幼虫の感染状況を調査しているが、まだ豚からアジア条虫幼虫の検出には至っていない。検査体制を強化し、監視を行っている。[山﨑 浩，森嶋康之，杉山 広，武藤 麻紀，斎藤守弘（埼玉県食肉衛生検査センター）]

（3）南米チリにおける裂頭条虫の調査研究

南米チリは世界有数の養殖サケ･マスの生産国であり、その養殖サケ・マスにはヒトに健康被害を及ぼす裂頭条虫属（*Diphyllobothrium* spp.）条虫の幼虫が寄生していることが知られている。わが国はそのチリ産養殖サケ・マ

スの主要な輸入国であることから、チリに分布する裂頭条虫による感染が懸念されている。現在、チリには少なくとも3種の裂頭条虫が分布するが、DNA解析による種の再検討の必要があった。今回の調査では、チリ南部のプエルトモン近郊にあるジャンキウエ湖（Lago Llanquihue）に生息する裂頭条虫の第2中間宿主として重要と考えられるギンザケ（*Oncorhynchus kisutch*）やギンザケの餌となるトウゴロウイワシ（*Odonthestes mauleanum*）など複数の魚類における裂頭条虫幼虫の感染実態を調査するとともに、形態とDNA両方の解析を行うため研究材料の収集を試みた。一方、サンチアゴにあるチリ大学医学部寄生虫学教室では、チリ人の裂頭条虫症患者から得られた条虫材料を入手し、ミトコンドリアDNA解析に基づいた種の鑑別を実施した。その結果、チリ産サケ・マスにはヒトに感染する広節裂頭条虫の幼虫寄生が確認され、cox1遺伝子やcytochrome b遺伝子のハプロタイプ解析から、チリの広節裂頭条虫は人為的な理由によって北半球（欧州やロシアなど）からチリに持ち込まれた、いわゆる外来性の寄生虫であることが強く示唆された。一方、ギンザケに多数寄生が見られた裂頭条虫幼虫は分子系統的には北半球に分布する*Diphyllobothrium dendriticum*に近縁な種、あるいは*D. dendriticum*の一遺伝子型である可能性が示唆されたことから、今後、北米に分布する*D. dendriticum*との比較解析が必要と考えられた。[山﨑 浩, 倉持利明（国立科博・動物）, 武藤麻紀, Ruben Mercado（チリ大・医・寄生虫）]

（4）中国における裂頭条虫症調査

H23年度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「中国における食品由来新興寄生虫症に関連した寄生蠕虫の分子同定法の標準化と症例発生の実態解明に向けた共同研究」の一環として、食品由来寄生蠕虫症として発生が懸念される裂頭条虫症について発生状況を調査した。中国では、近年の急速な経済発展に伴う国民生活の変化や国際輸送システムの急速な進歩に伴う生鮮海産魚介類（とくにサケなど）の市場拡大に伴い、都市部における食料消費構造の変化が見られ、今やサケは健康食品として魚の生食文化が定着しつつある。裂頭条虫症に関しては、上海と黒竜江省ハルピン市でそれぞれ4名と1名の患者から得られた虫体についてDNA解析に基づいた鑑別診断を行った。その結果、裂頭条虫症の原因となった裂頭条虫は、中国では今までに知られていなかった新顔の日本海裂頭条虫(*Diphyllobothrium nihonkaiense*)によることが初めて明らかになった。また、日本海裂頭条虫のヒトへの感染源と推定された黒竜江産のシロザケにおける裂頭条虫幼虫の寄生状況も調査したが、シロザケの検査頭数が2頭と少なく、裂頭条虫幼虫は検出できなかった。

わが国で頻発する日本海裂頭条虫症の感染源は黒竜江を母川として、オホーツク海～日本近海を回遊するシロザケと考えられているが、日本海裂頭条虫の生活史の一部は謎に包まれている。黒竜江産シロザケに寄生する幼虫とヒトから得られる成虫におけるミトコンドリアDNAのハプロタイプ解析は日本海裂頭条虫の起源、分布や生活史を解明する上で、今後、不可欠な研究であると考えられた。[山﨑 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之, 周 暁農・許 学年・除 家旭・除 韶虹・艾 淋・陳 穆新・張 永年（中国 CDC、寄生虫病研究所）, 張 唯哲・李 懿宏（ハルピン医大・寄生虫]

（5）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(*Baylisascaris procyonis*）による幼虫移行症の発生を予防する為に、埼玉、神奈川地域での監視の為の調査を継続した。埼玉県における野生アライグマの捕獲数は、平成2004年度は31頭であったが、2007年度は935頭を数え、2008年度は1,346頭、2009年度は1,756頭、2010年度は2358頭、そして2011年度は1,999頭であった。今年度は、アライグマ218頭を検査し、そのうち53検体に原虫類と蠕虫類の虫卵及び虫体が認められたが（2.3 %）、アライグマ回虫卵は検出されなかった。1999年以来実施している神奈川県でのアライグマの検査数は1,653例にのぼったが、今年度は64例の検査数でアライグマ回虫卵は検出されなかった。アライグマ回虫に関しては、もし感染獣が出現したときは、家屋天井裏での生息や駆除作業の過程でも健康上の被害を及ぼす恐れがある。現時点では、野生化コロニー全てのチェックを終了したとは考えられないので、まだ暫くは、全国的な野生アライグマに関する監視作業を継続する必要があると考えられた。[川中正憲, 近真理奈, 山本徳栄（埼玉衛研）]

（6）北海道外へのエキノコックス症伝播の監視

ア. 各地のと畜場に搬入された馬への感染状況の調査

馬のエキノコックス（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、最近、山形県米沢市のと畜場に搬入された馬から高率（約 20%）にその感染が確認された。そこで、全国的に馬のと畜数の多い食肉衛生検査所(食検)に委託して実態調査を実施した。その結果、検出率に大きな差は認められるものの、協力が得られた全ての食検（山形県内陸、青森県十和田、長野県上田市、福岡県、熊本市）で、北海道由来と思われる馬の肝臓から多包虫が検出された。今年度は希望する食肉衛生検査所の検査員に PCR を用いた遺伝子検査の研修を実施し､病理組織学的手法との併用を推進してきた。しかしながら、現在のところ、PCR を用いた遺伝子検査と病理組織学的手法との間で検査結果の食い違いがあることや食検による検査装備や経験の差異の存在など、今後に残された課題も明らかとなった｡[川中正憲, 山﨑 浩, 杉山 広, 森嶋康之, 武藤麻紀]

イ. 馬多包性エキノコックス症のウエスタンブロット法による血清抗体検出の試み

馬肝臓の結節病巣の病理組織検査と遺伝子検査により確定した多包虫感染馬 23 頭について､市販のウエスタンブロット法キットにより特異的血清抗体の検出を試みた。23 頭の感染馬は､2011～2012 年に山形県米沢市のと畜場に搬入されたもので、年齢 4～9 歳、肝臓内の結節数は 1～20＜で､病巣の大きさは直径 1～25 mm の範囲にあり、25 mm の病巣が検出された馬は 2 頭存在した。抗体検査の結果､これら 23 頭の血清はヒト患者血清で特異的とされる抗原バンド(7 , 16, 18, 26-28 kDa) に対していずれも陰性であった。しかし、25 mm の病巣が検出された 2 頭からは、それぞれ 22 kDa と 30 kDa バンドに陽性反応を認め、全体としては 22 kDa バンドに 23 例中 7 例(30%)、30 kDa バンドに 23 例中 6 例(26%)が陽性であった。[上野正博, 黒田伸彦, 矢作一枝, 大滝俊彦（山形内陸食検）, 川中正憲]

（7）横浜市内で発生した水田皮膚炎の疫学調査

横浜市内の自然公園にある田園体験区域において、農作業体験参加者に鳥類住血吸虫のセルカリアによると推定される皮膚炎が発生し、原因種の解明を目的とした調査を行った。皮膚炎発症者が作業を行った圃場を中心にヒメモノアラガイをはじめとする巻貝類を採取し、遊出法および破砕法によって得たセルカリアについて精査したところ、住血吸虫類の岐尾セルカリアはヒメモノアラガイのみから回収された。このセルカリアは、炎細胞式ならびに ITS-2 領域の塩基配列から *Trichobilharzia* sp.と同定されたが、体各部計測値ならびに塩基配列はいずれも従来報告されている種と完全に一致はしなかった。発生規模を推定するため質問票調査を行い、今回の水田皮膚炎の発生規模を推定した。[森嶋康之, 川中正憲, 武藤麻紀, 杉山 広, 山﨑 浩]

（8）住血吸虫症の疫学

メコン住血吸虫症の集団治療失敗例に関する検討を行った。カンボジアのメコン住血吸虫症流行地では、乾季に 1 回投与、用量 40 ㎎/kg でプラジカンテルの集団治療を行っており、2007－09 年は、学童の一斉検査で虫卵陽性者が確認されなかった。しかし、2010 年以降再び虫卵陽性者が見つかるようになった。そこで、2010、11 年の乾季、一斉治療後に虫卵陽性となった 21 例について、再度総用量 60 ㎎/kg での 2 分投与でのプラジカンテル治療を行ったところ､全例で駆虫が確認された｡また、2010 年の感染貝から得たセルカリアをネズミに感染させて得た成虫で、プラジカンテルへの感受性を、in vitro 検査手法を用い、実験室内で継代されている日本住血吸虫と比較したところ、違いはなかった。エジプトや中国など、集団治療が先行して行われたところでは、プラジカンテル耐性を疑わせる例も報告されており、今後は、メコン住血吸虫症でも監視体制を強める必要がある｡[大前比呂思、桐木雅史（獨協医大）、千種雄一（獨協医大）、Muth Sinuon (CMPV, カンボジア)]

III. 分類・同定・臨床

1．HIV に伴う日和見感染症の実態調査

過去に国立国際医療研究センターACC でフォローアップされた 170 件の HIV 症例に関して、赤痢アメーバを始めとする腸管原虫症の感染状況、治療応答性、分離原虫の遺伝子型などに関して調査を行った。HIV の陽性者で

の赤痢アメーバ症の臨床症状は同等の重症度を示した。腸管外赤痢アメーバ症では高熱、白血球増多、CRP 上昇が顕著に見られた。メトロニダゾールまたはチニダゾールによる治療は 165 件で成功した。83 の腸炎例ではメトロニダゾールまたはチニダゾールによる治療の後、腸管内の嚢子を殺滅する薬剤を使用した。しかし、そのうち 6 例では赤痢アメーバ症の再感染または再燃が見られ、殺嚢子薬剤の非投与群との有意差は見られなかった。赤痢アメーバ症の再感染・再燃は HCV 抗体の陽性率と高く相関していた。分離された 14 株の遺伝子型が解析されたが、臨床型のと明瞭な有意な相関は、症例数が不十分であり、発見されなかった。[渡辺恒二, 潟永博之, 田沼順子, 岡慎一（国立国際医療研究センター）, Aleyla Escueta-de Cadiz, 野崎智義]

２．インド東部の酪農場におけるジアルジア症の実態調査

インド西ベンガル州コルカタの周辺地域での乳牛と酪農労働者におけるジアルジア症の感染実態を調査した。2 ヶ所の酪農場の 180 のウシと 51 の労働者の糞便検体から分離された *Giardia duodenalis* 由来核酸から、beta Giardin 遺伝子の PCR-RFLP 解析を行った。ウシにおける感染率は 12.2% (22/180)であり、成ウシより仔ウシに感染率が高かった。過去の報告から動物での感染に主として発見される *G. duodenalis* Assemblage A1 やこれまで報告のない Assemblage E subgenotype が高頻度で観察された。この地域で動物から人への感染が起こっていることが示唆された。 [Khan, S. M., Debnath, C., Pramanik, A. K., Ganguly, S. (国立インド下痢症研究所), Xiao, L. (米国 CDC), 野崎智義]

３．インド東部で発見したスクリアビン肺吸虫

インド東部・マニプール州に分布する淡水産のカニ (*Potamiscus manipuriensis* Aock, 1909) から，既報のヒロクチ肺吸虫*(Paragonimus heterotremus*)に次いで、スクリヤビン肺吸虫(*P. skrjabini*)のメタセルカリアが検出された。メタセルカリアは大型球形で（直径・平均 381 μm）、ネコへの投与で得られた成虫は紡錘形，体長（平均）は 12.8 mm，体幅は 6.0 mm であった。卵巣はサンゴ状を呈してやや複雑に分岐し、精巣は虫体後方左右に 1 対認めた（葉は 5-6 本に分岐）．皮棘は単生であった。虫体はいずれも本種に典型的な特徴を備えていた．メタセルカリアを出発材料に解読したリボソーム DNA･ITS2 領域の配列も，本虫のものであった．インドを本虫の分布国として新たに加えたい。[杉山 広，柴田勝優，武田正倫（帝京科学大学），シャンティクマール・シン（インド・シッキム医科大学）]

４．ヒグマ裂頭条虫に関する分子系統学的研究

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、ミトコンドリア DNA 解析に基づいた分子系統学的再検討が必要な寄生虫である。その中には、1954 年、アラスカのヒグマとベニザケから発見されたヒグマ裂頭条虫 (*Diphyllobothrium ursi*)が含まれている。本種は、1987 年に *Diphyllobothrium dendriticum* のシノニムとされたが、*D. ursi* が *D. dendriticum* のシノニムであるか否か、あるいは独立種であるか否かについて DNA レベルで明らかにされることはなかった。そこで、ヒグマ裂頭条虫を記載したワシントン大学の Prof. Rausch より、新種記載に用いられ、約 60 年以上ホルマリン液に浸漬されていた *D. ursi* の完模式標本(holotype)と副模式標本（paratype）を入手し、ミトコンドリア DNA の cox1 遺伝子の解析を行った。その結果、分子系統学的には、シノニムとされた *D. dendriticum* に最も近縁であったが、*D. dendriticum* とは明らかに異なる clade を形成した。さらに、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・山田 稔（京都府医大）， Robert L. Rausch (ワシントン大)]

IV. 生理・生化学・分子生物学

１．原虫症の生物学・ゲノム・病原機構・代謝・膜輸送に関する研究

（１）*S. fayeri* の全ゲノム解析

馬肉生食による食中毒の病因物質と考えられている *S. fayeri* に関して、その毒性関連因子を中心とした遺伝子情報を網羅的に得るために、次世代シークエンサーを用いた全ゲノム解析を行った。食中毒事例残品馬肉より回収したザルコシストより DNA、RNA ならびにタンパ

ク質を抽出し、DNA に関して illumina GAIIx を用いて解析を行った。馬肉等からの混入核酸由来のリードを除くと、S. fayeri 由来のリード数は、総数 18,163,062 の 96.8%、17,582,622 と算出され、得られたライブラリーのほとんどが *S. fayeri* 由来と想定された。得られた解析結果からは GC 含量が約 50%、ゲノムサイズは 50～70 Mb と推定された。de novo assemble によるドラフトゲノム解析を進めているが、総 contig 長が想定ゲノムサイズよりも少なく、リード数不足を解決する必要性が示された。[関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、八木田健司、野崎智義]

（2）赤痢アメーバの生物学・病原機構・代謝に関する研究

ア. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送機構の解明

i. CPBF8 の機能解析

我々は以前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。CPBF8 は CPBF1 のファミリー分子であり、β-hexoaminidase, lysozyme と結合した。CPBF8 の遺伝子発現抑制株の解析より CPBF8 が β-hexoaminidase, lysozyme を貪食胞へ輸送する受容体として働くことが示された。また、CPBF8 のセリン残基に富む領域がリガンドとの結合に関与することが明らかとなった。以上より、CPBF は多様な加水分解酵素を輸送する分子群であることが明らかとなった。[古川敦、津久井久美子、野崎智義]

ii. CPBF に対するリガンドの特定

赤痢アメーバゲノムからは合計 11 の CPBF 分子が見つかっている。そこで各分子のリガンドをカルボキシル末端に HA タグを付した CPBFs-HA 融合タンパク質の抗 HA 抗体用いた免疫沈降と質量分析により同定した。この結果、CPBF2, 7, 10 がそれぞれ α-amylase, β-hexoaminidase と amoeba pore B, α-amylase と結合することが示唆された。CPBF2 と CPBF10 は異なる α-amylase を結合する。また CPBF6 は上記と異なる α-amylase をリガンドとすることも明らかであり、赤痢アメーバで 3 種の α-amylase の輸送が異なる CPBF により制御されていることが明らかとなった。[丸茂このみ、今田美穂子、津久井久美子、野崎智義]

iii. 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、昨年に引き続き、ICP1 と ICP2 の機能解析を進めている。GFP-ICP1 大量発現形質転換株の解析により、ICP1 の局在は細胞質であることが分かった。また、GFP-ICP1 株では細胞外への CP の分泌量が抑制されることが分った。反対に、ICP1 発現抑制株は細胞外に分泌される CP の活性が増大し、さらにラミニンコートプレートへの接着が促進することも分った。野生型株がラミニンコートプレートへ接着する活性は、CP1 抗体や CP5 抗体の添加によって低下した。よって赤痢アメーバが細胞外に分泌する CP は、宿主細胞の細胞外マトリックスへの接着に重要な役割を担っていることが分った。[中野由美子、Young Ah Lee (韓国)、Myeong Heon Shin (韓国)、野崎智義]

イ．赤痢アメーバにおける膜輸送の機能解析

i. 赤痢アメーバのファゴソームに局在する Rab の解析

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、赤痢アメーバのファゴソームプロテオーム解析により、14 種の Rab が計時的に局在することが報告されている。そこで、ファゴソームに局在する Rab の発現抑制株を作成した。現在までに 5 種の Rab の発現抑制株を作成することに成功し、２種の発現抑制株で顕著な表現型を得た。そのうちの Rab8 発現抑制株では、ラテックスビーズや赤血球の貪食効率が低下した。細胞表面のビオチン化実験により、Rab8 発現抑制株では 170kDa の表面タンパク質が細胞表面への提示に障害があることが示された。現在、170kDa の表面タンパク質の同定を進めている。[花舘有希(東邦大学)、津久井久美子、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 の細胞内局在は細胞内の小胞であり、その遺伝子発現抑制株はシステインプロテアーゼの分泌が上昇する表現型を示した。組換え精製タンパク質を用いた生化学実験により、全長の RabX3 はヌクレオチド結合能があることが分かった。現在、RabX3 の詳細な細胞内局在を観察するとともに、C 末端ドメインの意義について構造学的解析を進めている。[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 複合体とアダプチンコートタンパク質を構成する分子が同定された。それらの機能解析を目指して、それぞれのサブユニットの発現抑制株の作成を試みた。また生化学的に結合能を検証するために、大腸菌で組換えタンパク質の発現を試みた。[Gil Penuliar, 中野由美子、野崎智義]

v. 赤痢アメーバの肝膿瘍形成に関与する Arf GTPase の解析

肝膿瘍から単離された病原株と、in vitro で長期間維持した非病原株の比較トランスクリプトーム解析により、病原株で発現が上昇している遺伝子として Arf GTPase の一つのアイソタイプ（ArfA2）を得た。これまで、ArfA2 がどのようにして細胞内輸送に関与しているかの解析を継続してきた。今回は ArfA2 の形質転換株を YIMDHA 培地とクリシジア存在下で遺伝子導入ならびに薬剤選択を行うことにより、形質転換株がハムスターの肝膿瘍モデルに使用できることが分った。形質転換株の病原性は薬剤選択後３ヶ月以上経過しても維持していた。ArfA2 の不活性化型の形質転換株は、肝膿瘍の形成効率が低下することが分った。よって、ArfA2 は肝膿瘍形成に重要な細胞内膜輸送を担っていること推測された。[中野由美子、花館有希、岡田麻美、中曽根英子、William Petri (米国)、野崎智義]

イ. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* の細胞分化の解明

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。さらに以前行ったシスト化の経時変化に伴うトランスクリプトーム解析より、シスト化誘導初期（0.5、2 時間）で発現上昇がみられる遺伝子について赤痢アメーバ、*E. invadens* 双方で強発現株の作成を行いシスト化初期に関わる機能解析を行った。[間瀬望、津久井久美子、野崎智義]

ウ. 比較ゲノミクスから明らかとなった新規赤痢アメーバ病原関連遺伝子の解析

i. AIG1 family protein の機能解析

赤痢アメーバ国内分離株の比較ゲノミクスから見出し、非病原性株で特異的に欠損していることが明らかとなった AIG1 family protein について、機能解析を行った。C-末端側に HA タグを付した強発現株を作成し、局在を検討すると予想通り細胞全体に広がる局在を示したことから細胞質に存在するたんぱく質であることが確認された。しかし予想に反し、細胞内小胞の周囲に集積するような像も見られた。今後病原性への検討を行っていく。さらにこれら国内分離株についてより詳細な発現変化の検討を行うため、mRNA-seq の準備的解析を行った。[津久井久美子、佐藤映美、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]

ii. AIG1 family protein 遺伝子の国内・国外株での分布

国内分離株の比較ゲノミクスから見出した非病原性赤痢アメーバ株で欠損していた AIG1 family protein 遺伝子の ORF について、PCR を用いて 6 種類の国内分離株（病原株）での存在を確認した。これらの株では存在していることが確認され病原性との関連が示唆された。また台湾 CDC からの協力により、台湾株での検討を行った。無症候性株を中心に 34 サンプルについて検討したところ、無症候性株では 86%、腸アメーバ症株では 60%で AIG1 family protein の欠損が見られた。よってこの ORF の存否が広くアジアに存在する赤痢アメーバ株に存在する特徴であることが確認された。[津久井久美子、Dar-der Ji (台湾 CDC)、野崎智義]

エ. 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（MTZ）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 MTZ 耐性株を用い、トランスクリプトーム解析を行った。ゲノムデータベースで遺伝子名が決定していた遺伝子から 35 遺伝子の発現上昇と 20 遺伝子の発現抑制が見られた。しかしこの中にこれまで MTZ 耐性の鍵となる遺伝子として知られる PFOR 遺伝子は含まれていなかった。一つはこの MTZR 株が 12 μM という他種生物で知られる耐性濃度 500 μM に比べると低濃度の MTZ に対する耐性株であることを反映している可能性がある。しかし以前報告された 40 μM MTZ 耐性株の赤痢アメーバの解析でも PFOR の変化は起きていない。もしくは赤痢アメーバは pyruvate dehydrogenase や pyruvate decarboxylase を持たないため PFOR が必須でないことが考えられた。今回作成した MTZR 株の解析から耐性株がストレスに耐性となるような変化を起こしていること、単一の遺伝子ではなく協調的な作用で耐性を獲得していることが明らかとなった。[Gil Penuliar、津久井久美子、野崎智義]

エ. 赤痢アメーバの細胞分化における代謝の解析

Entamoeba の細胞分化過程における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。栄養型が嚢子に細胞分化する過程で、糖代謝は抑圧され、解糖経路の代謝産物は枯渇した。同時に、アミノ酸や ATP, GTP など核酸も枯渇した。一方、嚢子壁の合成に不可欠なキチン生合成に係る経路の中間代謝産物が蓄積した。またこれまでゲノム情報から存在しないと考えられていたポリアミンの代謝経路の中間体者産物が多く見られ、嚢子化過程に蓄積が見られた。また、主要なアミノ酸の脱炭酸代謝産物であるバイオジェニックアミンが分化の早期段階で一過性に上昇を示すことが示された。以上、赤痢アメーバ症の伝播に不可欠な嚢子化過程の代謝変化が俯瞰的に代謝レベルで解明された。[Ghulam Jeelani, 佐藤暖, Aleyla Escueta-de Cadiz, Afzal Husain, 曽我朋義（慶應大学）, 末松誠（慶應大学）, 野崎智義]。

オ. 赤痢アメーバの薬剤耐性機構の解析

トリフルオロメチオニン耐性のトランスクリプトーム解析を行った。トリフルオロメチオニン(TFM)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。インビボロで薬剤濃度を徐々に上昇させることにより昨年度獲得されたトリフルオロメチオニンの耐性株を用いて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詳細に解析した。TFM の直接の標的であるメチオニンガンマリアーゼの２種のアイソタイプ遺伝子の発現が大きく減少している他に、複数の遺伝子の発現抑制或いは上昇が確認された。そのうち Bsp1 などの遺伝子の過剰発現株を作成し、薬剤耐性、細胞接着などに対する役割を解明した。[Gil Penuliar, 佐藤暖, 古川敦, 津久井久美子, Afzal Husain, 野崎智義]

カ. 嫌気的ミトコンドリアの形態と機能に関する研究

赤痢アメーバは嫌気的環境に適応し、酸素を電子受容体とする酸化的リン酸化によるミトコンドリアでの ATP 合成を行うことができない。赤痢アメーバのミトコンドリアはマイトソームと呼ばれ、その構成タンパク質、輸送機構、代謝機能は、他種生物と大きく異なる。赤痢アメーバにおけるマイトソームの局在・形態・数を明らか

にするために、マイトソームのマトリックスの構成タンパク質であり、主要代謝機能である硫酸活性化に係る 3 酵素 ATP sulfurylase, APS kinase, inorganic pyrophosphatase、及び ATP/ADP 輸送体、シャペロン Cpn60 の細胞内局在を免疫電子顕微鏡により明らかにした。更に、これらの遺伝子の gene silence 法による遺伝子発現抑制により、赤痢アメーバの増殖における必須性を明らかにした。[見市文香（佐賀大学）, 牧内貴志, 佐藤暖, 古川敦, 津久井久美子, 野崎智義]

（3）トキソプラズマの生物学・病原機構・代謝学に関する研究

ア. 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。昨年度までの研究により、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トキソプラズマの増殖を促進させたが、合成サイトカイニン（thidiazuron）は逆に原虫の増殖を阻害させることを明らかにした。この結果はトキソプラズマと高等植物とでサイトカイニン・レセプターの構造が異なっている可能性を示唆している。そこで本年度はアンチサイトカイニンと呼ばれる一群の trans-zeatin アナログのトキソプラズマ増殖に及ぼす影響について検討した。4 種類のアンチサイトカイニンをトキソプラズマ培養中に添加し、原虫の増殖能を測定したところ、そのうちの 3 種類において原虫の増殖を有意に阻害したが 1 種類では増殖抑制が認められなかった。現在この感受性の違いがレセプターの構造によるものなのかどうかを詳細に検討中である。［Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎］

イ．トキソプラズマ感染における evacuole 形成機序の解析

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が、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ている。ロプトリータンパク質は、原虫の宿主侵入の際に、原虫とは独立して小胞（evacuole）として原虫から宿主に注入される。今回トキソプラズマによる evacuole 形成機序を解析するため、GPI シグナルを付加した GFP を発現する CHO 細胞を用い、evacuole と PV への GPI の取込みを観察した結果、GPI はそれらの両方に取り込まれた。一方、GPI が存在しているラフトの構成蛋白質の 1 つである caveolin-1 は、evacuole にも PV にも取り込まれなかった。これらのことから、先行研究で報告されている PV 形成時の、PV への宿主膜分子の選択的取り込みが、evacuole 形成時においても行われている可能性が示唆された。また、Methyl-β-Cyclo-Dextrin によりラフト構造を破壊すると、evacuole 形成が有意に減少した。このことから、原虫は、ラフトからロプトリー蛋白質を注入している可能性が示唆された。［田原美智留、永宗喜三郎］

ウ．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～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)。そこで今回その第一歩として、トキソプラズマに化学変異を導入することでプリマキン耐性トキソプラズマ株の分離を試みた。その結果、複数の有意な耐性株の分離に成功した。現在この変異の任遺伝子について解析中である。［福士路花（筑波大学）、永宗喜三郎］

エ．宿主細胞外トキソプラズマにのみ特異的に形成されるリソソーム様オルガネラについての解析

これまでトキソプラズマにはリソソームがないとされてきた。しかし最近次第に宿主細胞外のトキソプラズマ

にのみ PLV (plant-like vesicle) や VAC(Vacuolar compartment)と呼ばれる、酸性でプロテアーゼを含みタンパク質のプロセシングに関わると考えられるリソソーム様のオルガネラがあることが明らかにされてきた。今回我々は改めてトキソプラズマにおけるリソソームの有無を確認するために、哺乳細胞においてリソソーム指示薬として使用されるライソトラッカーを用いて宿主細胞外のトキソプラズマを染色した。すると細胞外トキソプラズマは宿主細胞内寄生虫には認められない、ライソトラッカーで染まりかつ多量のカルシウムイオンを含むオルガネラがあることがわかった。また、免疫蛍光観察によりライソトラッカーのシグナルは前述のPLVと共局在するが、時間が経つとライソトラッカーシグナルポジティブとネガティブのオルガネラに分割することがわかった。現在、種々のタンパク質に対する抗体を用いて、更にこのオルガネラの詳細を検討中である。[福士路花（筑波大学)、永宗喜三郎]

（4）マラリアの生物学・病原機構・細胞内膜輸送にかかる研究

ア. 熱帯熱マラリア原虫の赤内型分化増殖機構に関する研究

熱帯熱マラリア原虫(*Plasmodium falciparum*) の赤内型分化増殖を制御している因子を特定し、治療薬およびワクチン開発に役立てる為の研究を継続して行っている。先に作出したCDM(chemically defined medium)では構成成分を僅かに変化させることで分化増殖を異なる段階に制御出来る事が判明した。初期発育ステージであるring formからtrophozoiteおよびschizontへの分化以降を抑止する系を用いて、この分化抑止に関与する考えられる因子をgenome-wide gene expression 解析でプロファイルした。その結果、5つの蛋白因子（MSP2, SERA3, Ctr, PAT, SRP RNP）が特定された。[朝日博子、Tolba, M.E.M. (エジプト国　アシット大学)]

イ. マラリア原虫の小胞輸送の解析

Rabは小胞輸送における膜融合の鍵因子の一つである。マラリア原虫のゲノムにある11種のRabのうち、Rab5bは他のRabと脂質修飾が異なるなど特徴的な構造を有しており、マラリア原虫やトキソプラズマ原虫など一部のアピコンプレクス門原虫にのみ保存されていることから、これらの原虫種特有の小胞輸送経路に関与していると考えられる。ネズミマラリア *Plasmodium berghei* を用いた *PbRab5b* knock out 原虫の解析から、Rab5b が赤内期のマラリア原虫に必須な遺伝子であることが確認された。また、熱帯熱マラリアでの解析を目指して、PfRab5b の機能解析のために必要なオルガネラマーカーとなる抗体の作製を行い、特異的に反応する抗体を得た。

[海老根一生、平井誠（群馬大)、中曽根英子、中野由美子]

２．蠕虫症の生物学・病原機構に関する研究

(1) 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し、その制御機構を解析することを目的として、マイクロアレイを用いた解析に適用可能な品質の RNA サンプルを得るための人工培養法を開発した。[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32回衛生微生物技術協議会（6月29～30日, 東京）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。クドア、ザルコシスティス、アジア条虫症を中心に、相次いで発生が確認されたことに関する話題を提供した。また、病原体検出マニュアルの改訂に伴う説明や要望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, 杉山広, 森嶋康之, 八木田健司, 野崎智義]

II. 病原体検出マニュアル「クリプトスポリジウム症・ジアルジア症等の原虫性下痢症」を改定した。[阿部仁

一郎（大阪市立環境科学研究所、吉田永祥（堺市衛生研究所)、鈴木淳（東京都健康安全研究センター)、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所)、八木田健司、泉山信司］

III. 病原体検出マニュアルの「エキノコックス症」を改訂するとともに、「消化管寄生蠕虫類の虫卵検出を目的とした糞便検査法」に関するマニュアルを新たに追加した。［山野公明・八木欣平（北海道立衛生研究所感染症センター感染症部)、森嶋康之、杉山 広、山﨑 浩］

IV. 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。［八木田健司、泉山信司、津久井久美子、永宗喜三郎］

V. 蠕虫類のレファレンス活動

平成23年度には、計59件の寄生虫症依頼検査があり、うち41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

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る。通常、ELISA（酵素抗体法）を実施しているが、寄生虫症によってはウェスタンブロット法（有鉤嚢虫症、エキノコックス症)、また、感染研で開発した迅速血清診断イムノクロマトキット（トキソカラ症、肺吸虫症、マンソン孤虫症）を用いた検査も行った。血清検査22検体のうち8検体で特異抗体が検出され、内訳は肺吸虫症（3)、トキソカラ症（2)、有鉤嚢虫症（1)、マンソン孤虫症(1)、多包虫症（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

自然排出された虫体や駆虫された虫体、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が39件あった。基本的にはミトコンドリア DNA の cox1 遺伝子解析結果に基づいて種の同定を行った。その結果、39 件中33 例が寄生虫症と診断され、その内訳は、日本海裂頭条虫（11)、アジア条虫(7)、アニサキス *Anisakis simplex* sensu stricto (6)、無鉤条虫（4)、ウェステルマン肺吸虫（2)、広節裂頭条虫（1)、マンソン孤虫 (1)、 *Dirofilaria repens* (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く、またアジア条虫による国内感染事例の発生も相次いだ。広節裂頭条虫症の 1 例は渡航歴のない邦人患者であり、感染源不明の興味ある症例であった。さらに、動物寄生性フィラリアの一種 *D. repens* によるヒト感染例はわが国では第 2 例目になる症例であった。[山﨑 浩, 森嶋康之, 武藤麻紀, 杉山 広]

（3）その他

虫体そのものの形態によって診断された症例が 2 例、診断に至らなかった症例が 1 例あり、内訳はノミの幼虫(1)、鞭虫(1)、線虫未同定（1）であった。[森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩, 武藤麻紀]

研修業務・審議会など

I. 平成 23 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（2月)。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 23 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)］

III. 全国の 7 国際空港合同の研修会で、マラリア検査診断技術に関する研修を行う一方、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、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 、中野由美子]

IV. 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]

V. 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]

VI. 平成 23 年度､新興再興感染症技術研修にて｢原虫」を講義した。(11 月）［八木田健司］

VII. 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、中野由美子]

VIII. 国際協力機構（JICA）の研修コース、地域保健システム強化による感染症対策に協力して､｢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]

IX. 豚の肝臓で検出された条虫幼虫の分子診断に関する研修

平成 23 年の 5 月頃から、兵庫県西宮市食肉検査所で、同県で生産された豚の肝臓に寄生虫（条虫の幼虫）が原因と考えられる白色結節が多数検出されたことから、その寄生虫の分子同定を目的とした研修を実施した。(2012 年 7 月 6 日-7 日、感染研・戸山庁舎）[山﨑 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之, 岡本康幸（西宮市食検）]

X. 平成 23 年度新興再興感染症技術研修として、寄生虫に関する講義を行った。(2011 年 11 月 25 日、感染研･戸山庁舎）[森嶋康之, 杉山 広]

XI. 平成 23 年 4 月 25 日開催の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会、食中毒・乳肉水産食品合同部会にて馬肉中のザルコシスティス遺伝子検査ならびに馬肉のザルコシスティス汚染実態調査に関して報告した。

［八木田健司］

XII. 韓国 FDA 専門家に対し、韓国での食中毒対策推進協力を目的に、日本における寄生虫による食中毒発生時における役割、および寄生虫による食中毒に関する研究を講義した（9 月)。［八木田健司］

XIII. 中国､安徽省保健衛生部から依頼された寄生蠕虫症対策に関する研修で、住血吸虫症を中心に、日本で行われた対策と現在途上国で行われている対策を比較して講義した。[大前比呂思，山崎浩]

国際協力関係業務

１．アジア連携

（１）厚生労働科研費指定研究の一環として、インド National Institute of Cholera and Enteric Diseaes と腸管原虫症の共同研究を行った。東インド西ベンガル州におけるジアルジア症・クリプトスポリジウム症・赤痢アメーバ症の感染実態の調査と研究提携を行った。[野崎智義, Sandipan Ganguly（インド NICED）]

（２)厚生労働科研費指定研究の一環として､台湾 CDC と赤痢アメーバの分子疫学、ゲノム解析に関する共同研究を行い、分離株の確立、遺伝子型別を行った。[津久井久美子, 野崎智義, Darder Ji（台湾 CDC）]

（３）H23 年度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「中国における食品由来新興寄生虫症に関連した寄生蠕虫の分子同定法の標準化と症例発生の実態解明に向けた共同研究」の一環として、中国における食品由来寄生蠕虫症（裂頭条虫症・アニサキス症）の発生状況を調査した。[山﨑 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋康之, 周 暁農・許 学年・除 家旭・除 韶虹・艾 淋・陳 穆新・張 永年（中国 CDC、寄生虫病研究所）, 張 唯哲・李 懿宏（ハルピン医大・寄生虫）]

（４）中国国立寄生虫症研究所、中国ＣＤＣとの連携を行った。安徽省では、気候環境変化に伴い、マラリア流行が、日本住血吸虫症流行地にまで拡大することが懸念されている。そこで、中国寄生虫症研究所・安徽省衛生局と協力して、既存の住血吸虫症モニタリング体制を利用して、三日熱マラリア監視を行えるよう発熱症状を

中心としたマニュアルを作成した。

[大前比呂思、湯林華（中国寄生虫症研究所）]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説（欧文）

1) Husain, A., Jeelani, G., Sato, D., and Nozaki, T. Global Analysis of gene expression in response to L-cysteine deprivation in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. BMC Genomics 12, 275, 2011.

2) Penuliar, G. M., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T. Mechanism of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. J. Antimicrob. Chemother. 66, 2045-2052, 2011.

3) Mi-ichi, F., Makiuchi, T., Furukawa, A., Sato, D., and Nozaki, T. Sulfate activation in mitosomes plays a crucial role in the proliferation of *Entamoeba histolytica*. PLoS Negl. Trop. Dis. 5, e1263, 2011.

4) Watanabe, K., Gatanaga, H., de Cadiz, A.E., Tanuma, J., Nozaki, T., Oka, S. Amebiasis in HIV-1-Infected Japanese men: clinical features and response to therapy. PLoS Negl. Trop. Dis. 5:e1318, 2011.

5) Khan, S. M., Debnath, C., Pramanik, A. K., Xiao, L., Nozaki, T., and Ganguly, S. Molecular evidence for zoonotic transmission of *Giardia duodenalis* among dairy farm workers in West Bengal, India. Vet. Parasitol. 178, 342-345, 2011.

6) Penuliar, G. M., Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., Husain, A., Sato, D., and Nozaki, T. Transcriptional and functional analysis of trifluoromethionine resistance in *Entamoeba histolytica*. J. Antimicrob. Chemother. 67, 375-386, 2012.

7) Mishra, V., Kumar, ., Ali, V., Nozaki, T., Zhang, K. Y. J., Bhakuni, V. Role of conserved active site tryptophan-101 in functional activity and stability of phosphoserine aminotransferase from an enteric human parasite. Amino Acids 43, 483-491, 2012.

8) Mishra, V., Kumarb, A., Ali, V., Nozaki, T., Zhang, K. Y. J., and Bhakuni, V. Glu-108 is essential for subunit assembly and dimer stability of D-phosphoglycerate dehydrogenase from *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol. 181, 117-124, 2012.

9) Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Novel transmembrane receptor involved in phagosome transport of lysozymes and β-hexosaminidase in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. PLoS Pathogens 8: e1002539. doi:10.1371/journal.ppat.1002539, 2012.

10) Kishida, N., Miyata, R., Furuta, A., Izumiyama, S., Tsuneda, S., Sekiguchi, Y., Noda, N., Akiba, M. Quantitative detection of *Cryptosporidium* oocyst in water source based on 18S rRNA by alternately binding probe competitive reverse transcription polymerase chain reaction (ABC-RT-PCR). Water Res. 46, 187-94, 2012

11) Asahi, H., Izumiyama, S., Tolba, M.E., Kwansa-Bentum, B. *Plasmodium falciparum*: differing effects of non-esterified fatty acids and phospholipids on intraerythrocytic growth in serum-free medium. Exp. Parasitol. 127, 708-13, 2011

12) 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

13) Nakatani, F., Morita, Y.S., Ashida, H., Nagamune, K., Maeda, Y., and Kinoshita, T. Identification of a second catalytically active trans-sialidase in *Trypanosoma brucei*. Biochem. Biophysic. Res. Comm. 415, 421-5, 2011

14) Toyama, T., Tahara, M., Nagamune, K., Arimitsu, K., Hamashima, Y., Palacpac, N.M.Q., Kawaide, H., Horii, T., and Tanabe, K. Gibberellin Biosynthetic Inhibitors Make Human Malaria Parasite *Plasmodium falciparum* Cells Swell and Rupture to Death. PLoS ONE 7, e32246, 2012

15) 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*. Malaria J., 10, 187-95, 2011.

16) 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. Internat. Health, 16, 1215-24, 2011.

17) Abe, M., Fukuomi, H., Shirakura, T., Zhao, W-H., Asahi, H., Kushima, M., Shiokawa, A., Yagita, K., Tanaka, K., Kimura, S. A pilot study for the detection of protozoan

infections of the gut at autopsy. Showa Univ. J. Med. Sci., 23, 227-235, 2011.

18) Doi, M., Tanabe, K., Tachibana, S., Hamai, M., Tachibana, M., Mita, T., Yagi, M., Zeyerk, FY., Ferreira, MU., Ohmae, H., Kaneko, A. Worldwide sequence conservation of transmission -blocking vaccine candidate Pvs230 in *Plasmodium vivax.* Vaccine 29, 4308-4315, 2011.

19) Bitoh, T., Fueda, K., Ohmae, H., Watanabe, M., Ishikawa, H. Risk analysis of the e-emergence of *Plasmodium vivax* malaria in Japan using a stochastic model. Environ Health asn Preve Med. 16, 171-7, 2011.

20) Saito, C., Uemura, T., Awai, C., Tominaga, M., Ebine, K., Ito, J., Ueda, T., Abe, H., Morita, MT., Tasaka, M., and Nakano, A. The occurrence of 'bulbs', a complex configuration of the vacuolar membrane, is affected by mutations of vacuolar SNARE and phospholipase in *Arabidopsis*. Plant J., 68, 64-73, 2011.

21) Ebine, K., Fujimoto, M., Okatani, Y., Nishiyama, T., Goh, T., Ito, E., Dainobu, T., Nishitani, A., Uemura, T., Sato, MH., Thordal-Christensen, H., Tsutsumi, N., Nakano, A., and Ueda, T. A membrane trafficking pathway regulated by the plant-specific RAB GTPase ARA6. Nat. Cell Biol. 13, 853-859, 2011.

22) Ito, E., Fujimoto, M., Ebine, K., Uemura, T., Ueda, T., and Nakano, A. Dynamic behavior of clathrin in *Arabidopsis thaliana* unveiled by live imaging. Plant J., 69, 204-216, 2011.

23) Uemura, T., Kim, H., Saito, C., Ebine, K., Ueda, T., Schulze-Lefert, P., and Nakano, A. Qa-SNAREs localized to the trans-Golgi network regulate multiple transport pathways and extracellular disease resistance in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 109, 1784-1789, 2012.

24) Ebine, K., Miyakawa, N., Fujimoto, M., Uemura, T., Nakano, A., and Ueda, T. Endosomal trafficking pathway regulated by ARA6, a RAB5 GTPase unique to plants. Small GTPases 3, 23-27, 2012.

25) Saito-Nakano, Y., Tanabe, K., Mita, T. Identification of pyrimethamine- and chloroquine-resistant Plasmodium falciparum in Africa between 1984 and 1998: genotyping of archive blood samples. Malaria J., 10, 388, 2011

26) Takeda M., Sugiyama H., Singh T.S. Some freshwater crabs from northeast India bordered on Myanmar. J. Teikyo Heisei Univ., 23, 199-213, 2012.

27) Chen F., Li J., Sugiyama H., Weng Y.-B., Zou F.-C., Lin R.-Q., Yuan Z.-G., Song H.-Q., Zhu X.-Q., Zhao G.-H. Comparative analysis of 18S and 28S rDNA sequences of *Schistosoma japonicum* from mainland China, the Philippines and Japan. J. Anim. Vet. Adv., 10, 2010-2015, 2011.

28) Zhao G.-H., Li J., Chen F., Zou F.-C., Yang J.-F., Sugiyama H., Xu M.-J., Lin Q., Lin R.-Q., Zhu X.-Q. Variability in intron sequences of housekeeping and antigen-coding genes among *Schistosoma japonicum* isolates in mainland China. Parasitol. Int., 60, 170-174, 2011.

29) Zhao G.-H., Blair D., Li X.-Y., Li J., Lin R.-Q., Zou F.-C., Sugiyama H., Mo X.-H., Yuan Z.-G., Song H.-Q., Zhu X.-Q. The ribosomal intergenic spacer (ITS) region in *Schistosoma japonicum*: structure and comparisons with related species. Infect, Genet. Evol., 11, 610-617, 2011.

30) 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, 1-5, 2011.

31) Sopunnarat W., Sugiyama H., Rangsiruji A. Morphological and molecular characterization of *Paragonimus paishuihoensis* from Chantaburi Province. Srinakharinwirot Univ. Sci. J., 27, 193-206, 2011.

32) Yamasaki H., Ohmae H., Kuramochi T. Complete mitochondrial genomes of *Diplogonoporus balaenopterae* and *Diplogonoporus grandis* (Cestoda: Diphyllobothriidae) and clarification of their taxonomic relationships. Parasitol. Int., 61, 260-266, 2012.

33) Koonmee S., Intapan P.M., Yamasaki H., Sugiyama H., Muto M., Kuramochi T., Kularbkeaw J., Kanpittaya J., Maleewong W., Nawa Y. Molecular identification of a causative parasite species using formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissues of a complicated human pulmonary sparganosis case without decisive clinical diagnosis. Parasitol. Int., 60, 460-464, 2011.

34) Yamasaki H., Muto M., Yamada M., Arizono N., Rausch R.L. Validity of the bear tapeworm *Diphyllobothrium ursi* (Cestoda: Diphyllobothriidae) based on morphological and molecular markers. J. Parasitol., 2012, in press.

35) Ikeda T., Tamura D., Sato Y., Ichihashi K., Matsuoka H., Yamasaki H. Two pediatric cases of *Diphyllobothrium nihonkaiense* Infection in Summer 2010. Pediatr. Int., 54, 163-165, 2012.

36) Ueno M., Kuroda N., Yahagi K., Ohtaki T., Kawanaka M. Analysis of antibody responses by commercial western blot assay in horses with alveolar

echinococcosis. J. Vet. Med. Sci., 76, 813-815, 2012.

2. 原著論文、総説（和文）

1) 井上幸次, 大橋裕一, 江口洋, 杉原紀子, 近間泰一郎, 外園千恵, 下村嘉一, 八木田健司, 野崎智義. わが国のアカントアメーバ角膜炎関連分離株の分子疫学多施設調査(中間報告)、あたらしい眼科、29, 397-402, 2012

2) 猪又明子, 百田隆祥, 泉山信司, 勝山志乃, 岸田直裕, 秋葉道宏, 遠藤卓郎、RT-LAMP によるクリプトスポリジウム検出法の改良、日本水処理生物学会誌、46, 9-18, 2011

3) 山﨑浩、森嶋康之、八木田健司. 食肉・野生動物の生食と寄生虫症、公衆衛生、76, 30-36, 2012

4) 泉山信司、八木田健司、永宗喜三郎、生水と原虫症（生水のリスク)、公衆衛生、76, 50-53, 2012

5) 永宗喜三郎. アピコンプレクス門原虫が産生する植物ホルモン様物質とその作用, 日生研たより, 58, 24-28, 2012

6) 大前比呂思, 桐木雅史, 千種雄一. 住血吸虫症に対するプラジカンテル投与に関する１考察－１回投与か分割投与か？－Clin Parasitol, 22, 49-54, 2011.

7) 水野泰孝, 竹下 望, 加藤康幸, 森嶋康之, 山﨑 浩. パモ酸ピランテル単回投与による駆虫に抵抗性を示したアメリカ鉤虫症の１例. Clin Parasitol, 22, 65-67, 2011.

8) 中村(内山)ふくみ, 小林謙一郎, 岩渕千太郎, 山﨑浩, 大西健児. 当院で経験した４例のアジア条虫症について. Clin Parasitol, 22, 72-74, 2011.

9) 山﨑 浩, 武藤麻紀, 森嶋康之, 杉山 広, 川中正憲, 中村（内山）ふくみ, 大亀路生, 小林謙一郎, 大西健児, 川合 覚, 奥山 隆, 斎藤一幸, 宮平 靖, 野内英樹, 松岡裕之, 春木宏介, 三好洋二, 赤尾信明, 秋山純子,荒木 潤. 2010年に関東地方で発生が相次いだアジア条虫症について. Clin Parasitol, 22, 75-78, 2011.

10) 中島直樹, 南口早智子, 山田 稔, 宮川 文, 谷岡未樹, 手越達也, 山﨑 浩, 羽賀博典. 皮膚マンソン弧虫症の１例. 診断病理 29, 164-167, 2012.

11) 山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 武藤麻紀. 2010 年 6 月以降に続けて関東地方で発生が確認された新興寄生虫感染症としてのアジア条虫症. 病原微生物検出情報 32, 106-107, 2011.

12) 中村(内山)ふくみ, 小林謙一郎, 岩渕千太郎, 大西健児, 山﨑 浩. 豚あるいは牛レバー刺し摂食によるアジア条虫症の 4 例. 病原微生物検出情報 32,107-108, 2011.

13) 太田和義, 山﨑 哲, 高井哲成, 本城裕美子, 吉井重人, 影山富士人, 山田正美, 記野秀人, 武藤麻紀, 山﨑浩. マス生食によると思われた日本海裂頭条虫症の１例. 日本内科学会雑誌, 100, 3336-3338, 2011.

14) 青笹直彦, 常深祐一郎, 大藤由佳, 甲斐浩道, 森村壮志, 柿沼 誉, 玉置邦彦, 佐藤伸一, 前田卓哉, 山﨑 浩. 有棘顎口虫による幼虫移行症の 1 例. 皮膚科の臨床, 53, 887-890, 2011.

15) 杉山 広, 森嶋康之, 山﨑 浩, 春日文子. 食用として販売されていたサワガニからの肺吸虫メタセルカリアの検出（続報）. 病原微生物検出情報 32, 172-173, 2011.

3. 書籍（英文）

1) Kumiko Nakada-Tsukui and Tomoyoshi Nozaki. Genomic and post-genomic approaches to understand the pathogenesis of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. In "Genomes of Food- and Water-borne Pathogens" Editted by Pina Fratamico, Sophia Kathariou, and Yanhong Liu. ASM Press, Washington, D.C. ISBN: 978-1-55581-457-1, 2011.

2) Asahi, H. Intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* growth in serum-free medium with an emphasis on growth-promoting factors. In "Malaria Parasites", Omolade O. Okwa (Ed.), InTech, ISBN 978-953-51-0326-4, pp. 73-90, 2012.

3) Sugiyama H., Singh T.S. and Rangsiruji A. *Paragonimus* (chapter 39). In Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens, Liu, D.Y., ed., CRC press, Boca Raton, 2012, 421-433.

4. 書籍（和文）

1) 大前比呂思, 千種雄一. 肝外胆道寄生虫症　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, p. 489-496,大阪, 2011.

2) 大前比呂思. 鞭虫症.今日の治療指針, 医学書院, 511－512, 2012.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Nozaki, T. A novel class of hydrolase receptors involved in the lysosomal trafficking of virulence factors in *Entamoeba histolytica*. The Second Cross-Straits and Asia Pacific International Conference on Parasites, August 31-September 2, 2011, Tainan, Taiwan. (Invited lecture)

2) Nozaki, T. A novel import machinery of the highly divergent mitochondrion-related organelle from the anaerobic parasitic protist *Entamoeba histolytica*. International Union of Microbiological Societies. September 8-10, 2011, Sapporo, Japan. (Symposist and Convenor)

3) Nakada-Tsukui, K., Tsuboi, K., Furukawa, A., Yamada, Y., and Nozaki, T. Novel receptor family proteins mediate transport of lysosomal enzymes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. International Union of Microbiological Societies. September 8-10, 2011, Sapporo, Japan. (Symposist)

4) Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Trafficking mechanisms of phagosomal proteins in *Entamoeba histolytica*. International Union of Microbiological Societies. September 8-10, 2011, Sapporo, Japan.

5) Nozaki, T. Function and transport of the highly divergent mitochondrion-related organelle from the anaerobic parasitic protist *Entamoeba histolytica*. The 1st Asian Conference of Prosistology, October 3-6, 2011, Jeju, Korea (Plenary Lecture)

6) Nozaki, T., Nakada-Tsukui, K., and Furukawa, A. A novel class of hydrolase receptors involved in the lysosomal trafficking of virulence factors in *Entamoeba histolytica*. The 1st Asian Conference of Prosistology, October 3-6, 2011, Jeju, Korea (Workshop).

7) Nozaki, T. Protozoan metabolism and drug development: discovery and targeting a novel pathway in the enteric parasite. Singapore-Japan Joint Forum on Emerging Concepts in Microbiology. November 15-16, 2011, Singapore.

8) Nozaki, T. A novel class of hydrolase receptors involved in the lysosomal trafficking of virulence factors in *Entamoeba histolytica*. Joint International Tropical Medicine Meeting, December 1-2, 2011, Bangkok, Thailand.

9) Nozaki, T. Divergent evolution of mitochondrion-related organelles under anaerobic conditions: Function and transport of mitosomes in *Entamoeba histolytica*. The 33rd Japanese Society of Molecular Biology, December 13-16, 2011, Yokohama.

10) Nozaki, T. Evolutionary divergence of function and import of the mitochondria. JST Vinnova Japan-Sweden Joint Workshop, Multidisciplinary BIO, January 25, 2012, Tokyo.

11) Nozaki, T. Metabolism and metobolomics in *Entamoeba histolytica*. EMBO Global Lecture Course and Symposium on ‘Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*’ March 2-3, 2012, Delhi, India. (Invited lecture)

12) Nozaki, T. Metabolism, drug resistance, vesicular trafficking, virulence, and mitochondria evolution in *Entamoeba histolytica*. EMBO Global Lecture Course and Symposium on ‘Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*’ March 4-7, 2012, Khajuraho, India. (Plenary Lecture)

13) Nakada-Tsukui, K., Furukawa, A., Tsuboi, K., Yamada, Y., and Nozaki, T. A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal transport in *Entamoeba histolytica.* EMBO Global Lecture Course and Symposium on ‘Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*’ March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

14) Lee, Y. A., Kim, S. H., Min, A., Song, K.-J., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T., Mirelman, D., and Shin, M. H. Cysteine protease activity of *Entamoeba histolytica* is closely involved in amoebic adherence and host cell apoptosis. EMBO Global Lecture Course and Symposium on ‘Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*’ March 4-7, 2012,

Khajuraho, India.

15) Mukherjee, A. K., Das, K., Nozaki, T., and Ganguly, S. Evolutionary divergence and tRNA repeat polymorphism in *Entamoeba histolytica* – Are they correlated? EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

16) Sato, E., Nakada-Tsukui, K., Escueta-de Cadiz, A., Kuroda, M., Sekizuka, T., and Nozaki, T. Identification and analysis of virulence-associated genes in Japanese clinical isolates. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

17) Jeelani, G., Sato, D., Husain, A., Escueta-de Cadiz, A., Suematsu, M., Soga, T., and Nozaki, T. Metabolomics of parasite differentiation: metabolomic profiling of the protozoan parasite *Entamoeba* revealed activation of unprecidented pathways during encystation. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

18) Penuliar, G. M., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Phenotypic and transcriptional profiling in *Entamoeba histolytica* revealed costs to fitness and adaptive responses associated with metronidazole resistance. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

19) Marumo, K., Nakada-Tsukui, K., Watanabe, N., and Nozaki, T. Identification of ligands and regulatory/accessory proteins associated with cysteine protease binding protein family in *Entamoeba histolytica*. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

20) Mase, N., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Establishment of a transfection system for *Entamoeba invadens*. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

21) Ali, V., Patel, P., Anwar, S., Roushan, R., Kumar, A, Das, P, and Nozaki, T. Purification of ferredoxin isoforms of *Entamoeba histolytica* and their in silico homology modeling and protein-ligand interaction. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

22) Moonson, S., Thima, K., Khomkhun, N., Leetachewa, S., Roytrakul, S., Kobayashi, S., Nozaki, T., and Petmitr, P. Subcellular profiles of *Entamoeba histolytica* compared to *Entamoeba moshkovskii.* EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

23) Anwar, S., Patel, P., Roushan, R., Das, P., Nozaki, T., and Roy, A. K., and Ali, V. Purification, characterization, and homology modeling of EhNbp and EhCfd proteins involved in Fe-S clusters assembly in *Entamoeba histolytica*. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

24) Murakami, Y., Makiuchi, T., and Nozaki, T. Analysis of the targeting mechanism of mitosomal protein in *Entamoeba histolytica*. EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

25) Hanadate, Y., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., and Saito-Nakano, Y. Regulation of phagocytosis by Rab8 and Rab7B in *Entamoeba histolytica.* EMBO Global Lecture Course and Symposium on 'Amoebasis: Exploring the Biology and the Pathogenesis of *Entamoeba*' March 4-7, 2012, Khajuraho, India.

26) Nagamune, K. and Andrabi, S.B.A. Plant hormone cytokinins: Elucidating the role in *Toxoplasma gondii*. International Union of Microbiological Societies 2011

Congress, Sapporo, September 6-10, 2011 (Symposium)

27) Nagamune, K. Apicomplexan parasites and plant hormones. The 3rd International Young Researcher Seminar for Zoonosis Control, Sapporo, September 16-17, 2011 (Keynote lecture)

28) Kishida, N., Miyata, R., Furuta, A., Izumiyama, S., Morita, S., Tsuneda, S., Sekiguchi, S., Noda, N., Akiba, M. Quantitative detection of *Cryptosporidium* oocyst in water source by alternatively binding probe competitive polymerase chain reaction (ABC-PCR). 16th International Symposium on Health-Related Water Microbiology, WaterMicro 2011. Rotorua, September 2011.

29) Nakada-Tsukui, K., Unique genomic features of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain found in Japan, The eighth Japan-Taiwan symposium on Antibiotics resistance and foodborne diseases, Tokyo, October 13-14, 2011.

30) Fkshi, M., Aonuma, H., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., and Nagamune, K. Analyze of the mechanism of action of primaquine on *Toxoplasma gondii*. 11th International Congress on Toxoplasmosis, Ottawa, Canada, June 25-29, 2011.

31) 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*. 11th International Congress on Toxoplasmosis, Ottawa, Canada, June 25-29, 2011.

32) Fkshi, M., Aonuma, H., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., and Nagamune, K. Analyzing of the mechanism of action of primaquine on *Toxoplasma gondii*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, September 6-10, 2011

33) Saptarshi, S.R., Sun, S., Kamath, S., Norbury, L.J., Shamsi, S., Beveridge, I., Gasser, R.B., Sugiyama, H. and Lopata, A.L. Fish parasite of the genus *Anisakis*- A public health risk? 2011 Australian Society for Parasitology Annual Conference, Cairns, July 10-13.

34) Sugiyama, H., Umehara, A., Kawakami, Y., Ohmae, H., Ooi, H.-K., Uchida, A. Molecular identification of *Anisakis* type I larvae from hairtail fish in Taiwan and Japan. World Association for Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP 2011), Buenos Aires, August 21-25, 2011.

35) Yamasaki H. Present status of *Taenia asiatica* infection as an emerging parasitic disease in Japan. 1st Symposium on current perspectives of *Taenia asiatica* researches. Osong, Chungbuk Province, Korea, October 25－27, 2011.

36) Asahi, H., Title: Chemically-defined media for intraerythrocytic growth of *Plasmodium falciparum* and exploitation in elucidating factors controlling the development.1st Annual World Congress of Microbes (WCM-2011), 1st Annual Symposium of Antiparasites (SAP), Beijing, China, July 30-August 1, 2011.

37) Ohmae, H., Kirinoki, M., Sunico, LS., Boldero, NP., Villacorte, EA., Solon, AA., Rivera, PT., Leonardo, LR., Lesham, E., Chigusa, Y. :Surveys in newly found schistosomiasis endemic foci. The 11th Regional Meeting on Asian Schistosomiasis and Other Helaminthiasis, Phnompenh, Cambpdia, Oct 14-15, 2011.

38) Ohmae, H., : How to integrate Malaria into NTDs & other health system strengthening activities? The 11th Regional Meeting on Asian Schistosomiasis and Other Helaminthiasis, Phnompenh, Cambpdia, Oct 14-15, 2011.

39) Yumiko Saito-Nakano, Kazuyuki Tanabe, Toshihiro Mita . Identification of pyrimethamine- and chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* in Africa between 1984 and 1998: genotyping of archive blood samples. Nagasaki Symposium on Malaria Biology 2011 (II). Nov 16-17. 2011, Nagasaki. Japan.

40) Yumiko Saito-Nakano, Kazuyuki Tanabe, Toshihiro Mita. Identification of pyrimethamine- and chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* in Africa between 1984 and 1998: genotyping of archive blood samples. Molecular Approaches to Malaria 2012. Feb 19-23. 2012, Lorne, Victoria, Australia.

2. 国内学会

1) Andrabi Syed Bilal Ahmad, 田原美智留、青沼宏佳、遠山知子、田邉和裕、野崎智義、永宗喜三郎 Plant hormone cytokinins: elucidating their role in Toxoplasma gondii. 第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

2) 中野由美子、中曽根英子、野崎智義 赤痢アメーバのエンドサイトーシスとエキソサイトーシス 第80回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

3) 古川敦、津久井久美子、野崎智義 赤痢アメーバにおけるファゴソームタンパク質輸送機構の解明第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

4) 花館有希、津久井久美子、渡辺直子、野崎智義、中野由美子 赤痢アメーバにおける Rab サブファミリーの機能解析第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

5) 間瀬望、津久井久美子、渡辺直子、野崎智義 *Entamoeba invadens* におけるトランスフェクション系の確立第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

6) 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 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

7) 遠海重裕、坂元君年、後藤美穂、松本淳、八木欣平、片倉賢、奥祐三郎、藤田修、野崎智義、北潔 エキノコックスミトコンドリア呼吸鎖複合体II assembly factorのクローニング第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17-18 日, 東京.

8) 中野由美子、津久井久美子、野崎智義 赤痢アメーバの病原性に関与する膜輸送系遺伝子の解析、分子寄生虫ワークショップ XIX, 2011 年 10 月 21-23 日、神戸.

9) 花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子 赤痢アメーバのファゴサイトーシスにおける Rab の機能解析、分子寄生虫ワークショップ XIX, 2011 年 10 月 21-23 日、神戸.

10) 古川 敦、津久井久美子、野崎智義 赤痢アメーバにおけるファゴソームタンパク質輸送機構の解明、分子寄生虫ワークショップ XIX, 2011 年 10 月 21-23 日、神戸.

11) 丸茂このみ、津久井久美子、野崎智義 赤痢アメーバにおけるシステインプロテアーゼの輸送機構解明、分子寄生虫ワークショップ XIX, 2011 年 10 月 21-23 日、神戸.

12) 津久井久美子、佐藤映美、黒田誠、関塚剛史、野崎智義 国内分離株のゲノム比較による新規病原機構の探索、分子寄生虫ワークショップ XIX, 2011 年 10 月 21-23 日、神戸.

13) 野崎智義 マトリョーシカ型進化原理 分子寄生虫ワークショップ XIX, 2011 年 10 月 21-23 日、神戸.

14) 牧内貴志, 見市文香, 津久井久美子, 野崎智義 高度に進化した *Entamoeba* マイトソームのタンパク質輸送機構 第 81 回日本寄生虫学会大会兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日.

15) 佐藤暖, Afzal Husain, Ghulam Jeelani, 曽我朋義, 野崎智義 赤痢アメーバが L-システイン欠乏下で特異的に賛成するアミノ酸とリン脂質の同定、及びその生合成経路の解明 第81回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012年3月 23-24 日.

16) 畑昌幸, 見市文香, 渡辺志郎, 岡田麻美, 野崎智義, 狩野繁之, 三田村俊秀 赤内型ステージにおける熱帯熱マラリア原虫の stearyl-CoA delta9-desaturase の解析第 81回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012年3月23-24 日.

17) 間瀬望, 津久井久美子, 野崎智義 Entamoeba invadensにおける安定発現株の樹立 第81回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日.

18) 津久井久美子, 坪井久美子, 古川敦, 山田陽子, 野崎智義 A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal transport. 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日.

19) 古川敦, 津久井久美子, 野崎智義 赤痢アメーバにおけるファゴソームへのタンパク質輸送に関与する受容体の機能解析 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日.

20) 花館有希, 津久井久美子, 野崎智義, 中野由美子 赤痢アメーバの貪食の特異性に関与するRabの機能解析第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日.

21) 八木田健司, 村上裕子, 馬ザルコシスティスが病因物

質とされる食中毒とその馬肉汚染、第 81 回日本寄生虫学会大会シンポジウム「新寄生虫病学」, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日（シンポジウム）

22) 永宗喜三郎, アピコンプレクス門原虫が産生する植物ホルモン様物質とその作用, 日本生物科学研究所 第二研究会, 東京, 2011 年 6 月 7 日（招待講演）

23) 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, Plant hormone cytokinins: Elucidating their role in *Toxoplasma gondii*, 第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会合同大会, 東京, 2011 年 7 月 29-30 日（Best Presentation Award ノミネート）

24) 永宗喜三郎, 新しい抗マラリア薬への期待：トキソプラズマをモデルとした発信, 第 52 回日本熱帯医学会大会・第 26 回日本国際保健医療学会学術大会合同大会, 東京, 2011 年 11 月 4-6 日（シンポジウム）

25) 福士路花、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎, 細胞外トキソプラズマにおける未知の酸性オルガネラについて, 第 44 回日本原生動物学会大会 若手の会ワークショップ, 奈良, 2011 年 11 月 11 日（ワークショップ）

26) Nagamune, K. and Andrabi, S.B.A., *Toxoplasma gondii* and plant hormones, 第 34 回日本分子生物学会, 横浜, 2011 年 12 月 13-16 日（シンポジウム）

永宗喜三郎, マトリョーシカ型進化原理, 第 34 回日本分子生物学会, 横浜, 2011 年 12 月 13-16 日

27) 永宗喜三郎、Andrabi, S.B.A.、福士路花、松原立真, トキソプラズマのオルガネラ分子細胞生物学, 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日（シンポジウム）

28) 永宗喜三郎, 「新寄生虫」病学, 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日

29) 村上裕子、八木田健司、食中毒原因究明を目的とした糞便検体からの Sarcocystis DNA の検出法、第 81 回日本寄生虫学会大会、2012 年 3 月、兵庫

30) 泉山信司、八木田健司、森田重光、宮崎誠生、蛍光抗体染色用の抗クリプトスポリジウムモノクロナール抗体の開発、第 81 回日本寄生虫学会大会、2012 年 3 月、兵庫

31) 八木田健司、環境中のアメーバとヒトの健康について、平成 23 年度レジオネラ属菌汚染防止対策講習会、宮崎県福祉保健部、2012 年 2 月、宮崎

32) 八木田健司、野崎智義、鎌田洋一、小西良子、原因不明食中毒に関連した生食用馬肉中の住肉胞子虫 *Sarcocystis* 遺伝子検査、第 44 回原生動物学会大会、2011 年 11 月、奈良

33) 八木田健司、泉山信司、宮崎誠生、迅速診断を目的とした抗ジアルジアモノクロナール抗体の作製、 第 80 回日本寄生虫学会大会、2011 年 7 月、東京

34) 井上幸次、大橋裕一、外園千恵、江口洋、近間泰一郎、高岡紀子、八木田健司、野崎智義、わが国のアカントアメーバ角膜炎関連分離株の分子疫学多施設調査、第 48 回日本眼感染症学会、2011 年 7 月、京都

35) 岸田直裕、吉本泰士、佐藤逸人、泉山信司、秋葉道宏、遠藤卓郎、クリプトスポリジウム検査における遺伝子検査法の作業性に関する検討、第 63 回全国水道研究発表会、2012 年 5 月、島根県松江市

36) 岸田直裕、今野祥顕、浅見真理、秋葉道宏、原本英司、泉山信司、水道水源における原虫汚染の全国実態調査、第 46 回日本水環境学会年会、2012 年 3 月、東京都

37) 泉山信司、岸田直裕、秋葉道宏、遠藤卓郎、クリプトスポリジウム等検査への遺伝子検出法導入の課題について、第 11 回 環境技術学会研究発表大会、2011 年 9 月、大阪市

38) 杉山寛治、神田 隆、縣 邦雄、久保田明、泉山信司、小坂浩司、遠藤卓郎、倉 文明、アルカリ泉掛け流し式浴槽に対するモノクロラミン消毒の導入、日本防菌防黴学会 第 38 回年次大会、2011 年 8 月、大阪府

39) 高橋淳子、竹熊美貴子、香川（田中）聡子、古川容子、泉山信司、倉 文明、神野透人、レジオネラ属菌対策における消毒副生成物に関する暴露評価、日本防菌防黴学会 第 38 回年次大会、2011 年 8 月、大阪府

40) 田栗利紹、杉山寛治、小坂浩司、泉山信司、倉 文明、温泉利用循環ろ過式浴槽水におけるモノクロラミン消毒の有効性、日本防菌防黴学会 第 38 回年次大会、2011 年 8 月、大阪府

41) 山崎利雄、杉山寛治、前川純子、泉山信司、遠藤卓郎、倉文明、臨床および循環式浴槽水等から分離された *Mycobacterium avium* の縦列反復数可変領域（VNTR）を用いた解析、第 81 回実験結核研究会、2011 年 6 月、

東京都

42) 高藤俊、泉山信司、粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮法の検討、第 62 回全国水道研究発表会、平成 23 年 5 月、大阪市

43) 津久井久美子、国内分離株のゲノム比較による新規病原機構の探索, 第 19 回分子寄生虫学ワークショップ, 神戸市, 2011 年 10 月 21-23 日

44) Tsukui, K., Tsuboi, K., Furukawa, A., Yamada, Y., and Nozaki, T. A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal targeting. 第 34 回日本分子生物学会年会, 横浜市, 2011 年 12 月 13-16 日

45) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎, 宿主 GPI アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響, 第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会合同大会, 東京, 2011 年 7 月 29-30 日

46) 福士路花、青沼宏佳、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎, トキソプラズマにおけるプリマキンの作用機序の解明, 第 80 回日本寄生虫学会大会・第 22 回日本臨床寄生虫学会大会合同大会, 東京, 2011 年 7 月 29-30 日

47) 福士路花、青沼宏佳、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎, 細胞外トキソプラズマに見られる新規オルガネラについて, 第 19 回分子寄生虫学ワークショップ, 神戸, 2011 年 10 月 21-23 日

48) 永宗喜三郎, トキソプラズマと自由生活性二次植物のプラスチド輸送シグナルについて, 第 19 回分子寄生虫学ワークショップ, 神戸, 2011 年 10 月 21-23 日

49) Ybanez Rochelle, 西村麻紀、永宗喜三郎、西川義文, ネオスポラ感染に対する植物ホルモン阻害剤フルリドンの治療効果の検証, 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日

50) 福士路花、青沼宏佳、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、永宗喜三郎, 宿主細胞外トキソプラズマにおける未知の酸性オルガネラについて, 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日

51) 田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎, 宿主 GPI がトキソプラズマ感染に及ぼす影響, 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日

52) 松原立真、Micheal Behnke、青沼宏佳、福士路花、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、川原史也、L. David Sibley、永宗喜三郎, トキソプラズマ RH 株の *in vitro* シスト誘導系確立と分子生物学的解析, 第 81 回日本寄生虫学会大会, 兵庫, 2012 年 3 月 23-24 日

53) 西川義文、Ybanez Rochelle, 西村麻紀、玄学南、永宗喜三郎, ネオスポラ感染に対する植物ホルモン阻害剤フルリドンの治療効果の検証, 第 153 回日本獣医学会学術集会, 大宮, 2012 年 3 月 27-29 日

54) 梅原梓里, 川上 泰, 黄 鴻堅, 内田明彦, 大前比呂思, 杉山 広. タチウオから検出されたアニサキス幼虫の分子同定. 第 151 回日本獣医学会学術集会・日本獣医寄生虫学会, 2011 年 3 月 30 日- 4 月 1 日, 府中.

55) 杉山 広. 我が国のアニサキスとアニサキス症 : 主要原因虫種と患者発生数の解析. 第 151 回日本獣医学会学術集会・公衆衛生学分科会シンポジウム, 2011 年 3 月 30 日- 4 月 1 日, 府中.

56) 山﨑 浩, 武藤麻紀, 森嶋康之, 杉山 広, 川中正憲, 中村（内山）ふくみ, 大亀路生, 小林謙太郎, 大西健児, 川合 覚, 奥山 隆, 斎藤一幸, 宮平 靖, 野内 英樹, 松岡裕之, 春木宏介, 三好洋二, 赤尾信明, 秋山純子, 荒木 潤. 2010 年に関東地区で集団発生したアジア条虫症について. 第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17－18 日, 東京.

57) 中村（内山）ふくみ, 小林謙太郎, 岩渕千太郎, 山﨑 浩, 大西健児. 当院で経験した 4 例のアジア条虫症. 第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17－18 日, 東京.

58) 水野泰孝, 竹下 望, 加藤康幸, 森嶋康之, 山﨑浩. パモ酸ピランテル単回 投与による駆虫に抵抗性を示したアメリカ鉤虫症の一例. 第 22 回日本臨床寄生虫学会大会, 2011 年 7 月 17－18 日, 東京.

59) 小野陽子, 藪添賢二, 藪添敦史, 杉山 広, 森嶋康之, 福本真一郎. 喀痰内虫卵の塩基配列から種同定した飼い猫における宮崎肺吸虫感染の一例. 平成 23 年度獣医学術近畿地区学会, 2011 年 10 月 16 日, 泉佐野.

60) 上野正博, 黒田伸彦, 矢作一枝, 大滝俊彦, 川中正憲. 馬多包性エキノコックス症のウエスタンブロット法による血清抗体検出の試み. 平成 23 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 2012 年 2 月 4 日, 札幌.

61) 山﨑 浩. 最近、関東地方で発生が相次いだアジア条虫症. 第 81 回日本寄生虫学会大会シンポジウム, 2012 年 3 月 23-24 日, 西宮.

62) 山﨑 浩, 武藤麻紀, 杉山 広, 森嶋 康之, 張 唯哲, 李 懿宏, 除 家旭, 除 韶虹, 艾 淋, 張 永年, 許学年, 周 暁農. 中国で発生した裂頭条虫症の原因種に関する分子同定. 第 81 回日本寄生虫学会大会, 2012 年 3 月 23-24 日, 西宮.

63) 杉山 広, 武藤麻紀, 大前比呂思, 森嶋康之, 山﨑浩. 沖縄のタチウオから検出されたアニサキスⅠ型幼虫の分子同定. 第 81 回日本寄生虫学会大会, 2012 年 3 月 23-24 日, 西宮.

64) 杉山 広, 武藤麻紀, 大前比呂思, 森嶋康之, 山﨑浩, 銭 宝珍. 中国のタチウオから検出されたアニサキス I 型幼虫の分子同定. 第 153 回日本獣医学会学術集会・日本獣医寄生虫学会, 大宮, 2012 年 3 月 27 日-29 日.

65) 杉山 広. アニサキスを原因とする食中毒. 第 153 回日本獣医学会学術集会・公衆衛生学分科会シンポジウム, 大宮, 2012 年 3 月 27 日-29 日.

66) 朝日博子. 赤内型熱帯熱マラリア原虫の初期分化を制御する因子の特定, 第 81 回日本寄生虫学会大会、2012 年 3 月 22－24 日, 兵庫

67) 大前比呂思, 中川祐希, 笛田薫, 石川洋文. 石垣島を対象とした熱帯熱マラリア侵入に関する数理モデル解析 2, 第80回日本寄生虫学会大会 2011年7月16-18日, 東京

68) 大前比呂思, 桐木雅史, 千種雄一. 住血吸虫症に対するプラジカンテル投与に関する 1 考察－1 回投与か分割投与か？－第 22 回日本臨床寄生虫学会 2011 年 7 月 16-18 日, 東京

69) 大前比呂思, 亀井喜世子, 中澤港, 山内太郎, Andrew Darcy, Frida Pitakaka, Bernard Balote'e. ソロモン諸島のマラリア対策での Artemisinin-based combination therapy の意義. 第 81 回日本寄生虫学会大会、兵庫、2012 年 3 月 22-24 日

70) 大前比呂思, 中澤港, 伊藤誠, 亀井喜世子, Bernard Bakote'e. ソロモン諸島におけるマラリア対策の進展と評価. 第 51 回日本熱帯医学会 2011 年 11 月 4-6 日, 東京.

71) 海老根一生, 平井誠, 中野由美子 (2011) PbRab5b の機能解析. 第 19 回分子寄生虫学ワークショップ. 2011 年 10 月 21-23 日. 神戸.

72) 海老根 一生, 藤本 優, 郷 達明, 井藤 純, 齋藤知恵子, 植村 知博, 中野 明彦, 上田 貴志 液胞膜の融合を制御する 2 つの SNARE 複合体の解析 日本植物学会第 75 回大会 東京 2011 年 9 月 17-19 日.

73) 恵良厚子、 海老根一生、 石崎公庸、 河内孝之、中野明彦、 上田貴志、液陸上植物における RAB5 グループの機能の多様性.日本植物学会第 75 回大会 東京 2011 年 9 月 17-19 日.

74) 恵良厚子、 海老根一生、 石崎公庸、 河内孝之、中野明彦、 上田貴志 陸上植物における膜交通経路の多様性 第 53 回日本植物生理学会年会 京都 2011 年 5 月 16-18 日.

7．感　染　病　理　部

部長　長谷川秀樹

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 8 名、研究員 1 名である。戸山庁舎に 10 名の職員と再任用職員 1 名、村山庁舎に 3 名の職員が在籍している。4 月 1 日より長谷川秀樹が部長に着任した。小島朝人は平成 23 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た。インフルエンザウイルス研究センター研究員の相内章は引き続き感染病理部に併任している。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、茂住あゆみが業務補助を行った。

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ウイルス等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. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究
6. 腸管出血性大腸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. 狂犬病に関する研究
10. 風疹ウイルスに関する研究

Ⅲ. ワクチンに関する研究
1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
2. フラビウイルスワクチンの開発
3. HIV-1 ワクチンの開発
4. 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ウイルス等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。2011 年度、人体由来検体数は 85 症例であった。検索の結果、JC ウイルス感染 4 例、インフルエンザウイルス感染 2 例、ヘルペスウイルス 1 型感染 2 例他 EB ウイルス、肝炎ウイルスやクロイツフェルト・ヤコブ病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、飛梅 実、長谷川秀樹）

2. ウイルス感染症の診断に関する研究

（1） 血清・臓器中のメルケル細胞ポリオーマウイルスおよびヒトポリオーマウイルス 6,7 DNA の検出

メルケル細胞ポリオーマウイルス（MCPyV）と近年皮膚から発見されたヒトポリオーマウイルス 6 と 7（HPyV6, -7）について、HIV 陽性血清、および、各種疾患臓器中の DNA 陽性率をリアルタイム PCR 法で検討した。MCPyV は HIV 陽性血清 349 例の 9 割に検出され、一方、HIV 陰性血清 111 例では 9%の陽性率であった。この結果から、MCPyV の複製は宿主の免疫能と関連している可能性が示唆された。HPyV6 と HPyV7 の検出はまれであった。（福本 瞳［協力研究員］、佐藤由子、長谷川秀樹、片野晴隆）

（2）進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal leukoencephalopathy, PML）の病理組織解析

PML 確定例 10 例を用いた免疫組織化学の結果、VP1, VP2, Agno のそれぞれの抗体が異なる染色パターンを採ることが明らかになった。VP1 の局在は感染細胞の核内であったが病変の中心部付近では感染細胞が明瞭に染色されない傾向があった。一方、VP2 の局在は感染細胞の核内のみで、病変中心部でも明瞭な陽性所見を示した。また、Agno は、VP1 と同様に病変中心部では感染細胞にほとんど陽性とならなかった。脳生検検体をもちいた JCV 感染の確定診断にはウイルス感染細胞の同定が不可欠であるが、VP1、VP2、Agno の３つのウイルスタンパク質に対する抗体を用いることにより、確度の高い診断ができることが考えられた。（鈴木忠樹、片野晴隆、佐藤由子、澤 洋文［北海道大学］、長谷川秀樹）

3. ヘルペスウイルス感染症に関する研究

（1）KSHV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現

カポジ肉腫などの臨床サンプルで次世代シークエンサーを用い、KSHV の miRNA を検出した。カポジ肉腫では全 miRNA の中の 0.6-9.2%を KSHV の miRNA が占めていた。統計学的な解析から、カポジ肉腫では miRK12-3 が高発現すること、miRK12-8 の発現が抑制されることが示され、KSHV 関連疾患における miRNA の発現プロファイルを明らかになった。（片野晴隆、坂本康太［研究生］、吉岡妙子［協力研究員］、関塚剛［病原体ゲノム解析研究センター］、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田 誠［病原体ゲノム解析研究センター］）

（2）EBV 関連腫瘍における EBV がコードする miRNA の発現

エイズ関連リンパ腫を含む Epstein-Barr virus (EBV)関連腫瘍での EBV miRNA の発現とその制御について検討した。DLBCL はホジキンリンパ腫、胃癌とは異なる EBV miRNA の発現プロファイルを示した。エイズ関連 DLBCL では健常者 DLBCL と比較し、EBV miRNA の発現レベルが亢進し、EBV miRNA の発現がアトランダムであった。これらの結果から、EBV miRNA の発現は腫瘍のタイプや免疫状態の影響を受けることが分かった。（坂本康太［研究生］、吉岡妙子［協力研究員］、比島恒和［がん・感染症センター都立駒込病院病理科］、長谷川秀樹、片野晴隆）

（3）日本人 MSM における KSHV/HHV-8 抗体保有率

カポジ肉腫はエイズの代表的な合併症であり、男性同性愛者（MSM）のみに発症するという、疫学的に大きな特徴がある。無料匿名 HIV 検査会に来場した MSM を対象にカポジ肉腫の原因ウイルスである KSHV に対する抗体を調査した。KSHV の陽性率は 12%で、コントロール（5%）と比べ有意に高率であり、日本でも KSHV は MSM の間で広く感染していることが予想された。（片野晴隆、横幕能行［名古屋医療センター］、菅野隆行、福本 瞳［協力研究員］、中山智之［名古屋医療センター］、新ヶ江章友［名古屋市立大学］、杉浦 亙［名古屋医療センター］、市川誠一［名古屋市立大学］、安岡 彰［長崎大学］）

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

昨年度から引き続き、15 医療機関から依頼された A(H1N1)pdm09 感染剖検組織 20 例の病理学的検索を行い論文にまとめた。ウイルス性肺炎で亡くなった一例で、気管と肺胞領域から回収された HA（hemagglutinin）遺伝子領域の塩基配列をダイレクトシークエンス法で解析した結果、HA 領域の 222 番目のアミノ酸が異なる 2 種類のクローンが気管からも肺胞領域からも回収された。気管ではヒト型レセプター（α2,6Gal-シアル酸）に親和性が強いクローンが、肺胞領域では、鳥型レセプター（α2,3Gal-シアル酸）に親和性が強いアミノ酸変異（D222G）を有したクローンが major であった。本症例の体内ではレセプター親和性が異なるクローンが同時に存在しており、アミノ酸変異（D222G）を有した A(H1N1)pdm09 クローンが肺胞上皮細胞に感染し、重症肺炎を引き起こしたと考えられた。（中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷

川秀樹）

（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、5 例の H5N1 感染症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。肺局所での H5N1-RNA 量と炎症性サイトカイン・ケモカイン mRNA 量をリアルタイム定量 RT-PCR 法で定量し、ウイルス量とサイトカイン・ケモカインの発現量が相関していることを明らかにした。病日 8 日目の症例では二重蛍光免疫組織化学により TNF-α、IL-6、IL-8、IP-10 は肺胞マクロファージのみならず、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞（IL-6）でも陽性だった。H5N1 の肺胞上皮細胞への直接傷害と H5N1 感染によって誘導されたサイトカイン・ケモカインの作用により致死率 60%にも及ぶ劇症型の ARDS が引き起こされると考えられた。（中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹）

5. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

（1）台湾アボリジニにおける HCV 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、台湾の先住民族（アボリジニ）における HCV のゲノタイプ同定を行った。方法は、血中 HCV 抗体陽性 18 人から得られた血清を用いて、PCR 法にて HCV NS5B 領域を増幅し、ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した、HCV sequence database (http://hcv.lanl.gov/content/sequence/BASIC_BLAST/basic_blast.html)にアクセスして、ゲノタイプを同定した。結果は、18 例中サブゲノタイプ 1b が 14 例（78%）と最も多く、次いでサブゲノタイプ 2b が 3 例（17%）、3a が 1 例（5%）であった。この成績は、東アジアにおける HCV ゲノタイプ分布とほぼ一致するものであった。今回台湾アボリジニから分離された HCV の遺伝子情報は、共有の財産とするために遺伝子銀行（アクセス番号 AB555523～AB555540）に登録し、即公開とした。（阿部賢治、Ming-Lung Yu、Chia-Yen Dai［高雄医大消化器内科：台湾］）

（2）中国東北部に発生した胆管癌の病理と発生要因に関する研究

最近、HBV が肝細胞癌以外に胆管癌の発生にも関与を示唆する研究報告がある。そこで、HBV 浸淫国の一つである中国における胆管癌と HBV の関係について、中国・ハルビン医科大学病理学教室と共同で検索した。対象としたのは、中国東北部黒龍省近辺に住む中国人に発生した胆管癌症例 66 例（肝内胆管癌 23 例＋肝外胆管癌 43 例）である。またコントロールとして、非肝疾患患者 52 例も併せて比較検討した。血中 HBsAg 陽性例は、胆管癌 66 例中 18 例（27.3%）であったのに対し、非肝疾患群では 52 例中 2 例（3.9%）と胆管癌群で有意（P <0.05）に高値を示した。さらに PCR 法にて癌組織内 HBV DNA（HBx gene）を検索した結果、肝内胆管癌の 8 例（34.8%）で陽性を示したのに対し、肝外胆管癌群と非肝疾患群の肝組織では全例陰性であった。また肝内 HBV DNA 陽性を示した 8 例は、免疫染色にて 7 例で肝内 HBsAg 陽性が確認できた。肝内 HBV DNA 陽性を示した 8 例の組織病理学的所見は、非癌部において 4 例では非癌部の門脈域にリンパ球浸潤、2 例では肝硬変、2 例では脂肪変性が観察された。肝内胆管癌の組織分類は、高分化型（1 例）、中等度分化型（5 例）、低分化型（2 例）であった。胆管癌患者の HBV 感染と非感染例において、両者に臨床的所見の差異は認められなかった。以上の所見から、肝内胆管癌の発生要因の一つとして、HBV の関与が示唆された。今後更に両者の因果関係について、発生機序も含めた詳しい研究が必要である。（Yiqi Wu、Tianzhen Wang、Xiaoming Jin［ハルビン医大病理学：中国］、阿部賢治）

（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、90 例の HCV 持続感染患者から、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：ベトナム］、Banh Vu Dien［チョーライ病院肝炎治療科］、Pham Thi Le Hoa［国立熱帯病病院肝臓病科］、Xuan Lien［パスツール研究所ホーチミン］、Ling Lu［カンサス大医学部腫瘍ウイルスセンター：米国］）

（4）東南アジアにおける各種感染症の実態と病理に関する研究

東南アジアにおけるエマージング感染症を含む各種感染症および病理の特徴解明を目的に、ベトナムとタイの大学・医療機関との間で、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、風疹、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[ホーチミン医科薬科大学医学部バイオメディカルラボ:ベトナム]、Banh Vu Dien、Ho Tan Phat[チョーライ病院肝臓病科]、Pham Thi Le Hoa［国立熱帯病病院肝臓病科]、Tung Thanh Tran［ホーチミン第一小児病院病理科]、Phuc Le Hoang[同消化器科]、Pham Thi Ngoc Tuyet［ホーチミン第二小児病院消化器科]、Yong Poovorawan［チュラロンコン大学医学部臨床ウイルス研究センター：タイ]、Roongroje Thanawongnuwech[チュラロンコン大学獣医学部病理学]

6. 腸管出血性大腸菌感染症に関する研究

腸管出血性大腸菌は腸管上皮細胞に付着後増殖し、ベロ毒素を産生する。ベロ毒素はそのレセプターGb3 を表出する腸管、腎臓および脳の血管内皮細胞に結合し細胞内に取り込まれ、細胞のタンパク合成を障害する。腸管出血性大腸菌感染症の重症例では、腹痛、下痢、嘔吐、血便に加え、溶血性尿毒症症候群（HUS）や急性脳症を併発し、救命されても腎不全、脳神経障害など重症の後遺症が残る場合がある。腸管出血性大腸菌 O-157 感染で死亡したホルマリン固定パラフィン包埋剖検組織中にベロ毒素を検出できるかウサギ抗ベロ毒素ポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学で検討した結果、より特異性の高いモノクローナル抗体の作成が必要であることがわかった。(中島典子、佐藤由子、長谷川秀樹、佐多徹太郎[富山県衛生研究所]、倉園久生[帯広畜産大学]、吉田恭太郎、山下憲一[公立学校共済組合近畿中央病院]、田中智之[堺市衛生研究所])

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。これまでの vitro の実験に加え、マウス動物実験にも解析の幅を広げ病理学的解析も行い、更に幅広い研究成績の達成に心がけている。(田中道子、川口 寧［客員研究員]、長谷川秀樹)

（2）KSHV の cell-associated virus infection 実験系の開発

KSHV キャリアの血液中ウイルス価が上昇しないことから、reservoir である潜伏感染 B 細胞からカポジ肉腫発生母地である血管内皮細胞への cell-associated virus infection の存在が想定されている。そのメカニズム解明のため、KSHV 感染細胞と HeLa 細胞の共培養による実験系を構築した。Cell-free の virion による感染実験との比較検討では感染阻害物質の影響が異なる傾向が見いだされた。(菅野隆行、片野晴隆、長谷川秀樹)

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-1 感染により引き起こされる成人 T 細胞白血病（ATL）のモデルマウスである Tax トランスジェニックマウスで起こる白血病の腫瘍細胞（mATL 細胞）にはがん幹細胞が存在する。がん幹細胞を標的とした新規 ATL 治療法の基礎を確立するため、マウスモデルの mATL がん幹細胞に特異的に発現する治療標的候補分子となる細胞膜タンパク質を質量分析計による定量的解析法により同定した。そこで、抗体を用いてこの膜タンパク質発現細胞除去による In vivo 白血病形成能の検討を行った所、処理群において血中異型リンパ球数が低下する傾向が見られたが、有意な差が見られなかった。今後、特異的なモノクローナル抗体を作製し、持続投与による治療実験を試みる必要性があると考えられた。(鈴木忠樹、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]、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

インフルエンザウイルス H1N1pdm09 の病原性及び重症化要因の解析に関する基礎研究の一環として、アレルギー素因を有する近交系マウスを用いて新型インフルエンザウイルス感染により喘息発作が悪化するという病態モデルの作製を試みた。OVA-Alum 腹腔内接種により感作した NC/Nga マウス(気管支喘息モデル)に H1N1pdm09 ウイルスを感染させ、感染後に OVA を気道内に負荷し喘息発作を誘発し、その病態を病理組織学的、免疫学的に検討した。喘息発作誘発後の病理組織では、H1N1pdm09 感染群において喘息発作誘発による病態の

悪化が認められた。これらの結果は、気管支喘息発作とH1N1pdm09 感染が相乗的に働き病態を悪化させることを示唆しており、この病態モデルは、気管支喘息に関連する H1N1pdm09 重症化例の感染病態を反映していると考えられた。(鈴木忠樹、川口 晶[インフルエンザウイルス研究センター]、佐藤由子、長谷川秀樹)

(2)蛍光タンパク質再構成法を用いたインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ形成機構の解析

インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス薬は実用化されているが、容易に耐性ウイルスが出現することが問題となっている。これらの抗ウイルス薬はウイルスの細胞内侵入と放出過程を標的としており、ウイルス増殖の別の過程を標的とした新たな薬剤が望まれている。ウイルス RNA ポリメラーゼはウイルス増殖過程で、ウイルスゲノム複製と転写に関わる重要な分子であり、この分子の機能発現機構を理解する事は、インフルエンザウイルスの増殖サイクルを標的とした治療薬開発に直接的につながる可能性が考えられる。そこで本研究では蛍光タンパク質再構成（BiFC）法を用いてインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ形成を生きた細胞内で可視化するバイオプローブを作成し、ポリメラーゼ形成過程をリアルタイムでモニタリングするシステムを構築した。このシステムは特異性の高いポリメラーゼの機能阻害薬のスクリーニングや、ポリメラーゼ三量体形成に関わる新たな宿主因子の探索に有用であると考えられる。(鈴木忠樹、相内 章、永田典代、澤 洋文[北海道大学]、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 投与群では対照群に比べて肺内に CD4 および CD8+細胞が多く誘導され、炎症性サイトカイン・ケモカインの発現が抑制された。さらに、IL-10 発現 CD11b 細胞が誘導されることが明らかとなった。(永田典代、岩田奈織子、佐藤由子、佐多徹太郎、長谷川秀樹、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。今年度は、Hantaan ウイルス感染症の動物モデル開発を目的として、Hantaan ウイルス実験的感染マウスの病理学的検討を行った。Hantaan ウイルス AA57 株の皮下接種後の発症個体の半数では胸水の貯留、肺血管周囲の中等度の水腫、好中球、単核系細胞浸潤を認めた。また、病変部の血管内皮細胞にウイルス抗原陽性細胞が存在した。これらの所見から、ウイルス感染、増殖によって血管内皮細胞が傷害され、肺水腫と胸水貯留が引き起こされたと示唆された。臨床症状と病理所見から、本感染実験系はハンタウイルス肺症候群の動物モデルとして有用であると考えられた。(永田典代、岩田奈織子、原嶋綾子［臨時職員］、佐藤由子、長谷川秀樹、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

オルソポックスウイルス感染症における劇症化の機序を解明する目的で、サル痘ウイルス感染後のカニクイザルの病態解析を行った。Liberia 株を皮下接種後に発痘し回復した 2 例と 10 日目に瀕死となった 1 例の血中サイトカインの動態を比較したところ、劇症例では瀕死期に TNF-α, IFN-α, IFN-γ, IL-13, IL-6 の上昇が見られた。病理学的検索の結果､劇症例ではリンパ節のマクロファージ、皮膚の上皮細胞に加えて、肺胞、肝細胞などの全身組織におけるウイルス感染と増殖が、免疫組織化学的あるいは電子顕微鏡学的に証明された。さらに、リンパ系組織ではリンパ球の強い壊死、脱落が存在し、免疫不全状態であることが組織学的に明らかとなった。宿主側の免疫応答の低下と全身性の強い炎症性サイトカインの反応がサル痘劇症化の一因となっていると考えられた。(永田典代、佐藤由子、岩田奈織子、鈴木忠樹、佐多徹太郎、長谷川秀樹、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

2007 年に報告されたヒト由来の新規の Cardiovirus 属（1981 年、発熱した新生児の便から分離）である Saffold virus（SAFV）臨床分離株の細胞、動物における感受性の検討と検出・評価系の構築を行っている。日本で分離された髄膜炎患者由来株を乳飲みマウスと成マウスに接種し、パラフィン切片参照標本を作製すると同時に病原性を評価した。乳飲みマウスに脳内接種すると小脳性の

運動失調を特徴とした臨床所見が一過性にみられ、その後、回復することを確認した。また、脳（特に小脳）のウイルス抗原陽性細胞を同定した。一方、成マウスでは腹腔内、静脈内、および脳内接種後に中和抗体価の上昇が確認され、感染の成立が示唆された。（永田典代、小谷治[研究生]、鈴木忠樹、岩田奈織子、佐藤由子、長谷川秀樹、清水博之[ウイルス第二部]）

8. HIV に関する研究

（1）HIV-1 Vpu の抗 BST-2 機能を制御する補助因子の探索

Vpu の抗 BST-2 活性の約半分はβTrCP に依存しているが、残り半分には未知の宿主因子が関与していると考えられる。今回まずβTrCP 結合不全変異型及び CT 欠失変異型 Vpu レンチベクターウイルスを作製し、それらを用いて HeLa 細胞を transduce することにより安定発現細胞を樹立、その細胞の大量培養後の免疫沈降反応により、Vpu と相互作用する蛋白を大量に回収した。Cy3/Cy5 ラベリングによる二次元電気泳動を行い、βTrCP 結合不全変異型 Vpu で特異的に検出される 67 種類のスポットを候補蛋白と見なしてゲルから切り出した。現在、ハイスループット MS 解析システムによる候補蛋白の同定が進行中である。（Juan F. Arias［協力研究員］、徳永研三）

（2）HIV-2 Vpx に不活化される抗ウイルス宿主因子の探索

樹状細胞の HIV-1 に対する低感受性は HIV-2/SIV アクセサリー蛋白 Vpx 発現により高感受性へと変わることから、樹状細胞における宿主抗ウイルス蛋白の存在が示唆されてきた。今回我々は Vpx 発現樹状細胞において特異的に分解される蛋白のスクリーニングを行い、プロテオーム解析により 8 種類の候補蛋白を同定した。これら候補蛋白の cDNA から発現ベクターを作製して蛋白発現を確認、HIV-2 Vpx との共発現により全ての蛋白が Vpx により分解を受けることが分かった。更に Vpx との免疫沈降反応を行なった結果、候補のうちの 6 つまでが Vpx との結合能を有していることを明らかにした。（Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三）

（3）インテグレース阻害剤存在下での HIV-1 DNA の宿主 DNA2 本鎖切断部位への挿入

染色体 DNA 2 本鎖切断（DSB）部位にアデノ随伴ウイルスや B 型肝炎ウイルスの DNA が挿入されることが知られている。今回、我々は HIV-1 DNA が人為的に導入した宿主 DSB 部位に挿入するか否かを検討した。まず染色体中に存在しない制限酵素サイト I-SceI を導入したヒト単球細胞株 THP-1 細胞に I-SceI 酵素発現アデノウイルスベクターを感染させ PMA で分化させた。その細胞にインテグレース酵素活性が欠如した変異型 HIV-1 を感染させたところ、ウイルス DNA が DSB 部位に挿入されることが判った。その結果に矛盾せず、インテグレース阻害剤ラルテガビルの存在下でも野生型 HIV-1 は DSB 部位に挿入された。これらより HIV-1 はインテグレース活性非依存的かつ DSB 部位特異的な挿入が可能であることが判った。この知見はインテグレース阻害剤を用いた抗 HIV 療法において注意を喚起するものである。（小山貴芳[国立国際医療セ]、徳永研三、石坂幸人[国立国際医療セ]）

（4）膜蛋白 MARCH8 によるトランスフェリン受容体のユビキチン化とダウンレギュレーションの分子機構

トランスフェリン受容体（TfR）は細胞内に鉄を取り込むために細胞膜・エンドソーム間を活発にリサイクルしている。先頃、膜結合型ユビキチンリガーゼであり HIV-1 の複製制御にも関与すると言われる MARCH ファミリー蛋白質による TfR のダウンレギュレーションが報告されたが、今回その分子機構について検討した。FACS 解析により MARCH1 及び MARCH8 の過剰発現で実際に TfR が細胞表面からダウンレギュレーションされること、抗ユビキチン抗体を用いた免疫沈降により MARCH8 の過剰発現はユビキチン化された TfR の増加を引き起していること、MARCH8 の RING-CH モチーフ及び C 末側細胞質領域が TfR のダウンレギュレーションに必要なドメインを有する事が判った。また MARCH8 は TfR の膜貫通領域を認識してユビキチン化・ダウンレギュレーションすることが示唆された。（藤田英明[九大院・薬・細胞生物]、徳永研三、田中嘉孝[九大院・薬・細胞生物]）

9. 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。これは、街上毒狂犬病ウイルス N 抗原により誘導されることが明らかとなった。固定毒狂犬病ウイルスを用いたマウスへの感染実験では街上毒感染での病態を再現する事は出来ない。現在、街上毒狂犬病ウイルス N 抗原の感染動物モデルの病態に与える影響について解析を継続している。（飛梅実、佐藤由子）

10. 風疹ウイルスに関する研究

（1）風疹ウイルス感受性動物の検討

先天性風疹症候群（CRS）の動物モデルは未だ開発されていないため､その発生機序が明らかとなっていない。そこで機序解明のため動物モデルの開発を目的とし、感受性動物の検討を行った。5 週齢 BALB/c マウスと F344 ラットに風疹ウイルス（RV）を経鼻接種した。各動物ともに臨床症状はなく、諸臓器の病理学的変化も見られなかった。また肺の RV の real-time-PCR で､ウイルス RNA はほとんど検出されなかった。若齢マウスとラットでは RV の感受性が低いことが推測された。そこで、半年齢以上の BALB/c マウスを用いて同様の接種を行ったところ、体重減少が見られ、肺局所にも病変が見られた。RV は成マウスで感受性が高いことが示された。(岩田奈織子、永田典代、岡本希代子[ウイルス 3 部]、佐藤由子)

Ⅲ. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発

ヒトでの経鼻ワクチンの有効性について検討してきた。成人ボランティア 50 名に季節性インフルエンザウイルス（A/Victoria/210/2009 (H3N2)）の全粒子不活化ワクチンを 2 回経鼻接種し継時的に採血と鼻腔洗浄液の回収を行い、ワクチン株に対する中和抗体価及び HI 価を測定し評価した。(国立感染症研究ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認済み。)季節性インフルエンザ不活化全粒子ワクチンの成人への経鼻接種により、ウイルス株特異的な中和抗体が血清だけではなく鼻腔洗浄液中に誘導される事が示され HI 価は血清でも鼻腔洗浄液でも中和抗体価に相関した。中和反応を担う抗体のサブタイプは鼻腔洗浄液及び血清の分画により鼻腔洗浄液では IgA 抗体､血中では IgG 抗体である事が明らかとなった。（相内章（併任)、鈴木忠樹、田村愼一（客員研究員)、伊藤良（研究生)、長谷川秀樹）

2. フラビ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した。その結果、1）DENV 中和エピトープを含むフラビウイルスキメラ prM/E VLP 発現ベクターを 5 種作成し、ウエスタンブロットによって発現を確認した。2）DENV 1～4 のウイルスストックを調製した。3）DENV 認識単クローン抗体 ELISA を作成することができた。（高橋秀宗、小島朝人［再任用職員]、鈴木忠樹、飛梅 実、五味康行［阪大微研]、金子恵子[臨時職員])

3. HIV-1 ワクチンの開発

免疫抗原として gag 及び env 発現ベクター由来ウイルス様粒子の脂質膜を除いて Core-env 抗原を作成した。トランスジェニックラットへ免疫し、抗血清を得た。異なるサブタイプ env を有する、HIV-1 シュードウイルスを使用し中和試験を行った。サブタイプ A, B, D, AG env シュードウイルスに対し､希釈倍率 100 倍以上で ID50 (50% inhibitory dose)以上の阻害を示す血清を見出した。Core-env 抗原のラットへの免疫でも、マウス同様、異なるサブタイプに対する有効性が確認できた。（高橋秀宗、飛梅 実、金子恵子[臨時職員]、巽 正志［エイズ研究センター]、志田壽利［北海道大学遺伝子病制御研究所])

4. SARS-CoV のワクチンに関する研究

（1）UV 不活化 SARS-CoV(UV-V)の副反応機序の研究

UV-V 免疫で産生された抗体がウイルスチャレンジ後、肺局所での好酸球浸潤に関与するか調べた。UV-V 免疫マウス血清および SARS-CoV 感染マウス血清をウイルスチャレンジ数時間前にナイーブマウスに腹腔内投与した。また UV-V 免疫したマウスには SARS-CoV 感染マウス血清を同様に投与した。ウイルス感染 3, 10 日後に肺の病理を調べた結果、UV-V 免疫マウス血清を投与したマウスの肺に好酸球浸潤は見られなかった。また SARS-CoV 感染マウス血清を投与した UV-V 免疫マウスの肺には好酸球の浸潤が見られ、浸潤抑制は起こっていなかった。UV-V 免疫により産生された抗体がウイルス感染後の好酸球誘導に関与する可能性は低いと考えられるが、血清の投与量を検討し、再実験を行う必要がある。(岩田奈織子､永田典代､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]、西條政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[ウイルス第一部])

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では BSE 由来プリオン（和歌山株をマウスで3代経代したもの)感染脳乳剤0.02%、

20ul を脳内接種したところ、健常マウスに比べ優位なプリオン病発症期間の短縮がみとめられた。さらに低濃度の脳乳剤を接種した場合、コントロールマウスと比べ顕著な発症時間の短縮を認めた。この結果より微量なプリオンの病原性評価系尾として peripherin トランスジェニックマウスが有効であることを示した。(飛梅 実、佐藤由子、松田潤一郎[基盤研])

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 ではプリオン感染に伴い神経細胞中に存在する 14-3-3 蛋白質が髄液中に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定量的髄液中 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、各種プリオン病において 14-3-3 濃度測定系が有効であるか否かについて、サルを用いたプリオン病感染モデル系での 14-3-3 濃度測定を行っている。この結果、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、佐藤由子)

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 23 年度も順調に運用された。前半は東日本大震災や節電の影響で、出される検体は少なかったが、後半は通常の依頼があった。

本年度中に処理した検体数は 227 検体で、その内訳は感染研内部 58 検体、共同研究 161 検体、外部のみ 8 検体であった。

また、見学者の対応は 9 回、57 名であった。公務員が 10 名、学生ら 12 名、一般 35 名であった。一般は一般公開の折の電顕ツアー（3 回）対応である。

（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 3 件、樹脂包埋検体数 8 検体 (90 ブロック)、ネガティブ染色数 6 検体であった。依頼者は、免疫部・ウイルス第一部・細菌第一部であった。(金子恵子[臨時職員])

2. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の総依頼件数は 26 件であり、透過電子顕微鏡利用は 22 件、走査電子顕微鏡は 4 件であった。うち 1 件は行政依頼であった。また、本年度より Robert Koch 研究所主催の電子顕微鏡学的ウイルス診断の外部評価 (External Quality Assurance Scheme in EM Virus Diagnosis EQA-EMV)に参加し、これを検査実施者の教育訓練の一環とすることとした。依頼者は感染病理部の他、ウイルス第一部、ウイルス第二部、インフルエンザウイルス研究センター、病原体ゲノム解析研究センター、バイオセーフティ管理室、細菌第二部であった。(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、長谷川秀樹)

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（2 型）の神経毒力試験（病理試験）を 1 件実施した。(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 [臨時職員]、長谷川秀樹)

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・技術指導を行った。

(2) 阿部賢治：ベトナム、タイ、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) 鈴木忠樹、岩田奈織子、永田典代：インドネシア保健省 NQCL より依頼のあった次の内容の研修を行った。「Training Program on analyzing of histopathology for Monovalent Polio bulk　ポリオ単価ワクチンバルク生産における病理組織学的検査の教育訓練プログラム」（平成 23 年 11 月 14 日-19 日、対象 2 名）。本研修の実施はおよそ 15 年ぶりであったので、国際研修における教育訓練プログラムと資料の大幅な改善を行った。

(4) 永田典代：JICA 研修「Laboratory diagnosis techniques for the control of vaccine preventable diseases, including poliomyelitis and measles ポリオ及び麻疹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」。ワクチン品質評価における動物実験の内容を紹介した。

(5) 飛梅 実：ベトナム NIHE 研究所、ベトナム地方衛生

担当官向けの狂犬病診断技術講習会講師

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１． 欧文発表

1) Yanagita H, Yamamoto N, Fuji H, Liu X, Ogata M, Yokota M, Takaku H, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Hoshino T. Mechanism of drug resistance of hemagglutinin of influenza virus and potent scaffolds inhibiting its function. ACS Chem Biol. 2012 Mar 16;7(3):552-62.

2) Ainai A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. J Med Virol. 2012 Feb;84(2):336-44.

3) Nakao R, Hasegawa H, Ochiai K, Takashiba S, Ainai A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H. Outer membrane vesicles of Porphyromonas gingivalis elicit a mucosal immune response. PLoS One. 2011;6(10):e26163.

4) Kato A, Liu Z, Minowa A, Imai T, Tanaka M, Sugimoto K, Nishiyama Y, Arii J, Kawaguchi Y. Herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 and major tegument protein UL47 reciprocally regulate their subcellular localization in infected cells. J Virol. 2011 Sep;85(18):9599-613.

5) Yamamoto K, Ishikawa C, Katano H, Yasumoto T, Mori N. Fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol, induce apoptosis of primary effusion lymphomas. Cancer Lett. 2011 Jan 28;300(2):225-34.

6) Nakai H, Sugata K, Usui C, Asano Y, Yamakita T, Matsunaga K, Mizokuchi Y, Katano H, Iwatsuki K, Yoshikawa T. A case of erythema multiforme associated with primary Epstein-Barr virus infection. Pediatr Dermatol. 2011 Jan-Feb;28(1):23-5.

7) 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. 2011 Feb;83(2):322-30.

8) Kaibuchi-Noda K, Yokota K, Matsumoto T, Sawada M, Sakakibara A, Kono M, Tomita Y, Watanabe D, Fukumoto H, Katano H, Akiyama M. Detection of Merkel cell polyomavirus in cutaneous squamous cell carcinoma before occurrence of Merkel cell carcinoma. J Am Acad Dermatol. 2011 Nov;65(5):e152-4.

9) Hatano B, Goto M, Fukumoto H, Obara T, Maki T, Suzuki G, Yamamoto T, Hagisawa K, Matsushita Y, Fujii T, Imakiire T, Kikuchi Y, Takahashi R, Kanai M, Tamura K, Izumi T, Takahashi Y, Iwamoto Y, Mimura S, Mukai Y, Takita K, Takeo H, Kitamura R, Shimizu E, Fukushima K, Hakozaki Y, Uehata A, Sakai M, Ohshima S, Shirotani T, Oba K, Hasegawa H, Sata T, Katano H. Mobile and accurate detection system for infection by the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus with a pocket-warmer reverse-transcriptase loop-mediated isothermal amplification. J Med Virol. 2011 Apr;83(4):568-73.

10) Fukumoto H, Kanno T, Hasegawa H, Katano H. Pathology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection. Front Microbiol. 2011;2:175.

11) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iizuka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasegawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. Mod Pathol. 2012 Jan;25(1):1-13. (Epub 2011 Aug 26.)

12) Sugamata R, Dobashi H, Nagao T, Yamamoto K, Nakajima N, Sato Y, Aratani Y, Oshima M, Sata T, Kobayashi K, Kawachi S, Nakayama T, Suzuki K. Contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in the early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. Microbiol Immunol. 2012 Mar;56(3):171-82. (Epub 2011 Dec 30.)

13) Sasaki M, Hasebe R, Makino Y, Suzuki T, Fukushi H, Okamoto M, Matsuda K, Taniyama H, Sawa H, Kimura T. Equine major histocompatibility complex class I molecules act as entry receptors that bind to equine herpesvirus-1 glycoprotein D. Genes Cells. 2011 Apr;16(4):343-57.

14) Suzuki T, Ainai A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. Biochem Biophys Res Commun. 2011 Nov 4;414(4):719-26.

15) Pham VH, Nguyen HD, Ho PT, Banh DV, Pham HL, Pham PH, Lu L, Abe K. Very high prevalence of

hepatitis C virus genotype 6 variants in southern Vietnam: large-scale survey based on sequence determination. Jpn J Infect Dis. 2011;64(6):537-9.

16) Chao DT, Abe K, Nguyen MH. Systematic review: epidemiology of hepatitis C genotype 6 and its management. Aliment Pharmacol Ther. 2011 Aug;34(3):286-96.

17) Wu Y, Wang T, Ye S, Zhao R, Bai X, Wu Y, Abe K, Jin X. Detection of hepatitis B virus DNA in paraffin-embedded intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma tissue in the northern Chinese population. Hum Pathol. 2012 Jan;43(1):56-61.

18) Theamboonlers A, Abe K, Thongmee C, Poovorawan Y. Complete coding sequence and molecular analysis of hepatitis A virus from a chimpanzee with fulminant hepatitis. J Med Primatol. 2012 Feb;41(1):11-7.

19) Fu Y, Qin W, Cao H, Xu R, Tan Y, Lu T, Wang H, Tong W, Rong X, Li G, Yuan M, Li C, Abe K, Lu L, Chen G. HCV 6a prevalence in Guangdong province had the origin from Vietnam and recent dissemination to other regions of China: phylogeographic analyses. PLoS One. 2012;7(1):e28006.

20) Sanada T, Kariwa H, Nagata N, Tanikawa Y, Seto T, Yoshimatsu K, Arikawa J, Yoshii K, Takashima I. Puumala virus infection in Syrian hamsters (Mesocricetus auratus) resembling hantavirus infection in natural rodent hosts. Virus Res. 2011 Sep;160(1-2):108-19.

21) Kitaura K, Fujii Y, Hayasaka D, Matsutani T, Shirai K, Nagata N, Lim CK, Suzuki S, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. High clonality of virus-specific T lymphocytes defined by TCR usage in the brains of mice infected with West Nile virus. J Immunol. 2011 Oct 15;187(8):3919-30.

22) 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.

23) Taneichi D, Iijima K, Doi A, Koyama T, Minemoto Y, Tokunaga K, Shimura M, Kano S, Ishizaka Y. Identification of SNF2h, a chromatin-remodeling factor, as a novel binding protein of Vpr of human immunodeficiency virus type 1. J Neuroimmune Pharmacol. 2011 Jun;6(2):177-87.

24) Sapsutthipas S, Kitagawa Y, Tokunaga K, Ikuta K, Kameoka M. Viral factors involved in adapter-related protein complex 2 alpha 1 subunit-mediated regulation of human immunodeficiency virus type 1 replication. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2011 Mar;42(2):311-9.

25) Ikeda T, Abd El Galil KH, Tokunaga K, Maeda K, Sata T, Sakaguchi N, Heidmann T, Koito A. Intrinsic restriction activity by apolipoprotein B mRNA editing enzyme APOBEC1 against the mobility of autonomous retrotransposons. Nucleic Acids Res. 2011 Jul;39(13):5538-54.

26) Shimura M, Toyoda Y, Iijima K, Kinomoto M, Tokunaga K, Yoda K, Yanagida M, Sata T, Ishizaka Y. Epigenetic displacement of HP1 from heterochromatin by HIV-1 Vpr causes premature sister chromatid separation. J Cell Biol. 2011 Sep 5;194(5):721-35.

27) Arias JF, Iwabu Y, Tokunaga K. Structural Basis for the Antiviral Activity of BST-2/Tetherin and Its Viral Antagonism. Front Microbiol. 2011;2:250.

28) Ohtaki N, Takahashi H, Kaneko K, Gomi Y, Ishikawa T, Higashi Y, Todokoro M, Kurata T, Sata T, Kojima A. Purification and concentration of non-infectious West Nile virus-like particles and infectious virions using a pseudo-affinity Cellufine Sulfate column. J Virol Methods. 2011 Jun;174(1-2):131-5.

29) 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. 2011;64(1):50-4.

30) 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. 2011;64(1):81-4.

２．和文発表

1) 片野晴隆、佐多徹太郎：Kaposi 肉腫。浅田秀夫編　ウイルス性皮膚疾患ハンドブック、中山書店（大阪）145-149, 2011.

2) 片野晴隆、佐多徹太郎：Kaposi 肉腫以外の HHV-8

関連疾患。浅田秀夫編　ウイルス性皮膚疾患ハンドブック 中山書店（大阪）150-151, 2011.

3) 片野晴隆：伝染性単核球症。桂 義元、河本 宏、小安重夫、山本一彦編　免疫の事典　朝倉書店（京都）312, 2011.

4) 片野晴隆:カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV, HHV-8)とカポジ肉腫。臨床と微生物 38: 233-240, 2011.

5) 長谷川宏美、片野晴隆、佐多徹太郎、長谷川秀樹：特集／皮膚科医のための感染症最新マニュアル ウイルス感染と発癌 Monthly Book Derma 183: 12-18, 2011.

6) 土松純子, 山中新也, 神谷秀喜, 北島康雄, 松永研吾, 佐多徹太郎, 片野晴隆, 菅野隆行：皮膚に生じた Kaposi 肉腫を契機に AIDS の診断に至った 1 例 皮膚科の臨床 53:1818-1822, 2011.

7) 中島典子、佐多徹太郎：鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染とその病態。鶏病研究会会報 47:71-77, 2011.

8) 永田典代、長谷川秀樹、佐多徹太郎：田代眞人、牛島廣治編　第 11 章電子顕微鏡/病理組織学的検査、ウイルス感染症の検査・診断スタンダード、pp410-439、羊土社, 2011

9) 永田典代、長谷川秀樹：田代眞人、牛島廣治編　第 2 章ウイルス分離培養　第 3 項　実験動物、等。ウイルス感染症の検査・診断スタンダード、pp257-268、羊土社, 2011

10) 徳永研三、足立昭夫、高折晃史、中山英美、岩部幸枝、岩谷靖雄:HIV-1 感染阻害因子（HIV-1 Restriction Factors）。日本エイズ学会誌　The Journal of AIDS Research. 13: 56-62, 2011.

11) 天野冨美夫、齋藤典子、工藤(原)由紀子、熊谷進：サルモネラの調理器具材への付着および洗剤による洗浄効果の評価法に関する研究。Bacterial Adherence & Biofilm 24: 93-98, 2010.

12) 天野冨美夫、北村香南子、藤森 功、齋藤典子：サルモネラ（*Salmonella* Weltevreden）の培養で見出された凝集・付着性の特徴。 Bacterial Adherence & Biofilm 25: 47-52, 2011.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1) Tadaki Suzuki, Akiko Okayama, Takahiro Tsuji, Akihide Ryo, Hisashi Hirano, Tetsutaro Sata, William W. Hall, Hideki Hasegawa: Comparative proteomic analysis of cancer stem cells in a Tax-transgenic (Tax-Tg) mouse model of adult T-cell leukemia/lymphoma. The 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Retroviruses, June 2011, Belgium.

2) Abe K: Invited lecture: Hepatitis B and C in Asia. National Conference of Vietnamese Association for Hepatology, August 2011, Dalat, Vietnam.

3) Sasaki J, Ueno T, Katano H, Sata T, Ogawa-Goto K: Analysis for cell-to-cell spread of HCMV in epithelial cells by using the PML assay. The IUMS2011 Congress, XV, International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.

4) Akira Ainai, Ryo Ito, Hideki Asanuma, Tadaki Suzuki, Takeshi Tanimoto, Takato Odagiri, Shin-ichi Tamura, Tetsutaro Sata, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: Intranasal administration of 2009/10 annual influenza vaccine induce the cross-protection against 2009 pandemic influenza virus infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.

5) Elly van Riet, Akira Ainai, Ryo Ito, Tadaki Suzuki, Shin-Ichi Tamura, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: INFLUENZA SPECIFIC IGA PRODUCING SERUM MEMORY B CELLS CORRELATE TO PROTECTIVE ANTIBODIES IN THE SERUM AS WELL AS LOCAL IGA RESPONSES. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.

6) Ryo Ito, Akira Ainai, Hideki Asanuma, Tadaki Suzuki, Joe Chiba, Sin-ichi Tamura, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa: Analysis of the immune responses after intranasal booster influenza vaccine with heterologous virus priming. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.

7) Hideki Hasegawa, Akira Ainai, Elly van Riet, Tadaki Suzuki, Ryo Ito, Takeshi Tanimoto, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Takeshi Kurata, Shin-Ichi Tamura: INTRANASAL ADMINISTRATION OF AN INACTIVATED WHOLE-VIRION INFLUENZA VACCINE EFFECTIVELY INDUCES THE NEUTRALIZING ANTIBODIES BOTH IN THE

SERUM AND THE NASAL WASH IN HUMAN. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.

8) Hideki Asanuma, Mina Nakauchi, Kayoko Sato, Eri Nobusawa, Akira Ainai, Norio Yamamoto, Nami Konomi, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro: COMPARISON OF INFLUENZA A/H1N1 PDM09 VACCINE PRODUCTIONS IN EGGS VERSUS CELL CULTURES AND THE PROTECTIVE IMMUNE RESPONSES INDUCE IN MICE. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
9) Tadaki Suzuki, Akira Ainai, Noriyo Nagata, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa: Role of the N-Terminal Region of the PA Subunit in Nuclear Import and Assembly of Influenza A Virus RNA Polymerase. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
10) Tatsuya Yamazaki, Yasutomo Teshima, Daisuke Ninomiya, Maria Nagashima, Yuka Arai, Akira Fujimoto, Akira Ainai, Hideki Hasegawa, Joe Chiba: PASSIVE IMMUNOTHERAPY AGAINST INFLUENZA VIRUS INFECTION USING THE EXPRESSION OF NEUTRALIZING ANTI-HEMAGGLUTININ MONOCLONAL ANTIBODIES FROM PLASMIDS BY HYDRODYNAMICS-BASED PROCEDURE. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
11) Hidekatsu Iha, Emi Ikebe, Akira Kawaguchi, Shinya Taguchi, Akira Nishizono, Yuetsu Tanaka, Hirofumi Sawa, Masao Ogata, Mitsuo Hori, Jun-Ichi Fujisawa, Hideki Hasegawa. MOLECULAR CHAPERON INHIBITOR-BASED TREATMENT AGAINST ATL:ITS IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
12) Masayuki Saijo, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Noriyo Nagata, Naoko Yoshikawa (Iwata), Hideki Hasegawa, Momoko Ogata, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Tetsutaro Sata, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa: Immune response against EEV and IMV in non-human primates vaccinated with a highly attenuated smallpox vaccine LC16m8 and protection from lethal monkeypox. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
13) Kobayashi S, Suzuki T, Igarashi M, Ohtake N, Nakagawa K, Niikura K, Kimura T, Kasamatsu H, Sawa H: Cys80 of JC virus capsid protein, VP1 is essential for pentamer formation. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
14) Yuichiro Nakatsu, Xuemin Ma, Fumio Seki, Tadaki Suzuki, Masaharu Iwasaki, Yusuke Yanagi, Katsuhiro Komase, Makoto Takeda: Intracellular trafficking of the measles virus L protein occurs independently of the viral M protein and is related to microtubule network and recycling endosome. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
15) Seto T, Nagata N, Yoshikawa K, Ichii O, Sanada T, Saasa N, Kon Y, Yoshii K, Kariwa H: Development of the lethal animal model of human hantavirus infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
16) Noriyo Nagata, Naoko Iwata, Hideki Hasegawa, Yuko Sato, Shigeru Morikawa, Tetsutaro Sata: Interferon gamma protects adult BALB/c mice from lethal respiratory illness after mouseadapted SARS-CoV infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
17) Kotani O, Shirato K, Nagata N, Miyazaki A, Ikeda H, Taguchi F, Takahashi K: Neuropathogenesis of mouse-adapted porcine epidemic virus infection in suckling mouse. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
18) Sakai K, Nishio Y, Nagata N, Ami Y, Komase K, Shimojima M, Maeda K, Takeda M, Saijo M, Morikawa S: Characterization of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 Epizootic in japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
19) Takeuchi K, Kato S, Nagata N, Suzuki T, Ami Y, Mori K, Tsunetsugu-Yokota Y, Nagata K: Infection of cynomolgus monkeys with recombinant wild-type

measles virus bearing vaccine H protein. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.

20) Sato K, Asanuma H, Kataoka M, Nagata N, Tashiro M, Itamura S: Morphological characterization of a/h1n1pdm09 viruses isolated in egg from clinical specimens. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.

21) Nii-Trebi N, Kinomoto M, Brandful J, Barnor J, Tatsumi M, Sata T, Ampofo W, Osei-Kwasi M, Tokunaga K: Infectivity of HIV-1 Subtypes Isolated from Ghanaian Patients . WSU Joint International Conference. September 2011, East London, South Africa.

22) Takayoshi Koyama, Kenzo Tokunaga, Tetsutaro Sata, Yukihito Ishizaka: HIV-1 DNA integration into host chromosomal double-strand break sites is not attenuated by raltegravir, an integrase inhibitor. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.

23) Yukie Iwabu, Juan F. Arias, Masaru Yokoyama, Hironori Sato, Tetsutaro Sata and Kenzo Tokunaga: Homodimerization of APOBEC3G is required for inhibition of Alu retrotransposition. Frontiers of Retrovirology Conference 2011. October 2011, Amsterdam, The Netherlands.

２．国内学会

1) 長谷川秀樹：成人 T 細胞性白血病(ATL)モデルマウスを用いた新規治療法の試み。第 100 回日本病理学会総会（横浜）2011 年 4 月

2) 片野晴隆：KSHV 関連疾患の病理とウイルスがコードする miRNA。第 100 回日本病理学会総会（横浜）2011 年 4 月

3) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、熊坂利夫、羽田悟、田中伸哉、笠井孝彦、鄭子文、飯塚利彦、仲里巌、樋野陽子、濱松晶彦、堀内尚、田中智之、長谷川章雄、尾矢剛志、佐多徹太郎：2009H1N1 パンデミックインフルエンザウイルス感染症 20 剖検例の臨床病理学的解析。第 100 回日本病理学会総会（横浜）2011 年 4 月

4) 松永達也、新倉謙一、鈴木忠樹、永川桂大、小林進太郎、澤 洋文、居城邦治：金ナノ粒子を用いたウイルスワクチン作製と免疫付与能に及ぼすサイズ・形状効果。第 60 回高分子学会年次大会（大阪）2011 年 5 月

5) 永川桂大、新倉謙一、鈴木忠樹、松尾保孝、澤 洋文、居城邦治：ウイルス粒子の再集合における金属ナノ粒子内包条件の検討。ナノ学会第 9 回大会（札幌）2011 年 6 月

6) 鈴木忠樹、相内 章、永田典代、澤 洋文、佐多徹太郎、長谷川秀樹：蛍光タンパク質再構成法を用いたインフルエンザ RNA ポリメラーゼの 3 量体形成機構の解析。第 25 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム（富山）2011 年 6 月

7) 佐々木純、上野智規、片野晴隆、佐多徹太郎、後藤希代子：PML 法を用いた上皮細胞間における HCMV 臨床分離株の感染経路の検討: 第 26 回ヘルペスウイルス研究会（大阪）2011 年 6 月

8) 長谷川秀樹、中島典子、佐多徹太郎：インフルエンザウイルス A/H1N1pdm 感染症の病理学的解析。衛生微生物技術協議会第 32 回研究会（東京）2011 年 6 月

9) 片野晴隆、坂本康太、関塚剛史、黒田 誠：KSHV がコードしている 16 base の unusual small RNA の発現。第 8 回 EB ウイルス研究会（大阪）2011 年 7 月

10) 永川桂大、新倉謙一、野村尚生、鈴木忠樹、松尾保孝、澤 洋文、居城邦治：糖鎖認識を利用した金属ナノ粒子の集合化によるウイルス検出。第 21 回バイオ・高分子シンポジウム（吹田）2011 年 7 月

11) 松永達也、新倉謙一、鈴木忠樹、永川桂大、小林進太郎、山口宏樹、澤 洋文、居城邦治：様々な形状の金ナノ粒子ワクチンの作製とワクチン活性の形状依存性。2011 年度北海道高分子若手研究会（壮瞥町）2011 年 8 月

12) 松永達也、新倉謙一、鈴木忠樹、永川桂大、小林進太郎、山口宏樹、澤 洋文、居城邦治：様々な形状の金ナノ粒子をコアとした擬似ウイルス粒子の作製とワクチン活性の評価。第 5 回バイオ関連化学シンポジウム（筑波）2011 年 9 月

13) 新倉謙一、永川桂大、武蔵裕介、鈴木忠樹、澤 洋文、居城邦治：ウイルスタンパクの自己集合を利用したナノ材料の創製。第 60 回高分子討論会（岡山）2011 年 9 月

14) 藤田英明、岩部幸枝、佐多徹太郎、徳永研三、田中嘉孝：膜結合型ユビキチンリガーゼ MARCH8 によるトランスフェリン受容体のユビキチン化およびダウンレギュレーションの分子機構. 第 84 回日本生化学会大会（京都）2011 年 9 月

15) 長谷川秀樹、中島典子：パンデミックインフルエンザウイルス H1N1/09 感染症の病理学的解析。第 43 回日本小児感染症学会総会・学術集会（岡山）2011

年 10 月

16) 片野晴隆、横幕能行、菅野隆行、福本 瞳、中山智之、新ヶ江章友、杉浦 亙、市川誠一、安岡 彰：日本人 MSM におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV/HHV-8)抗体保有率について。第 25 回　日本エイズ学会学術集会総会（東京）2011 年 11 月

17) 長谷川秀樹 : 感染防御に効くインフルエンザワクチンを目指して。第 15 回日本ワクチン学会学術集会（東京）2011 年 12 月

18) 相内 章、浅沼秀樹、谷本武史、小田切孝人、田村愼一、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/H1N1pdm09 ウイルスの感染防御。第 15 回日本ワクチン学会学術集会（東京）2011 年 12 月

19) Takayoshi Koyama, Kenzo Tokunaga, Yukihito Ishizaka: HIV-1 integraion into host DNA double-strand break sites is the majority event in integrase inhibitor-treated cells. 第 34 回日本分子生物学会（横浜）2011 年 12 月

III. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得（出願）

特許第 4817625 号　粘膜免疫誘導アジュバントを含む新規ワクチン　登録日平成 23 年 9 月 9 日

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 medical research（橋渡し医学研究）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、細菌や原虫・寄生虫など、多種多様な病原体感染症に関する研究や免疫機能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. A 型肝炎ウイルス（HAV）特異的抗体産生 B 細胞の動態解析
5. ワクチンに関する基礎的研究

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. 内蔵リーシュマニア症における慢性感染機序に関する研究
2. マンソン住血吸虫感染マウス血清の抗体測定実験

Ⅳ. 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の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

平成 23（2012）年 3 月 31 日に免疫部第四室研究員　平山中己（感染研在職：20 年以上）が定年退職した。

業　績

調査・研究

I. ウイルス感染症

１．ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の増殖制御と病態に関する研究

（１）HIV-1 増殖制御のためのレンチベクターの開発

Signaling lymphocyte activation molecule（SLAM）陽性細胞に選択的に感染する野生型麻疹ウイルス 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(MV Lenti)を作製し、未刺激 T 細胞においては、汎用されている vesicular stomatitis virus（VSV）Lenti と比較して遺伝子導入効率が良いことを確認した。そこで、siRNA により HIV 増殖抑制活性を有する MV Lenti shNef366 を作製したところ、SLAM 陽性の成熟樹状細胞から 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 VSV Lenti shNef366 よりも高いことが示唆されたため、ヒト化マウス HIV 感染モデル系でその有効性を確認している。[渋沢謙太郎（エイズ予防財団リサーチレジデント)、石毛真行・岡田誠治（熊本大学エイズ学研究センター)、寺原和孝、小林和夫、柳　雄介（九州大学大学院医学研究院)、横田恭子]

（２）C-C chemokine receptor type 5（CCR5）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 CCR5 指向性（R5 型）HIV-1 の C-X-C chemokine receptor type 4（CXCR4）指向性（X4 型）に対する優位な増殖性は昔から知られているが、その機構は不明である。ヒト末梢血から純化した $CCR5^{+}CD4^{+}$ T 細胞に対して X4 型あるいは R5 型をそれぞれ単独で感染させた結果、膜融合、逆転写、integration に至る過程で X4 型よりも R5 型の方が早く進行する可能性が示唆された。現在は、X4 型･R5 型を同時に感染させた場合について確認している。[石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター)、寺原和孝、田中勇悦（琉球大学医学部)、岡田誠治（熊本大学エイズ学研究センター)、小林和夫、横田恭子]

（３）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

重度免疫不全マウス（NOD/SCID/Jak3 KO）の肝臓にヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植してヒト化マウスを作製した。マウス体内でのヒト T 細胞の分化と活性化の特徴について解析した結果、加齢に伴い、活性化メモリー phenotype を示す $CD4^{+}$ T 細胞の割合が上昇することが明らかとなった。ヒト化マウスに R5 型 HIV-1 を接種したところ、$CD4^{+}$ T 細胞のナイーブ／メモリーphenotype の割合に応じて感染性が異なることが明らかとなった。すなわち、ナイーブ $CD4^{+}$ T 細胞の割合が高いヒト化マウスでは安定した血中ウイルス量が持続するのに対し、メモリー$CD4^{+}$ T 細胞の割合が高いヒト化マウスでは 10 倍程度高い血中ウイルス量を示した。以上の結果から、ヒト化マウスを HIV-1 感染モデルとして適用する際、$CD4^{+}$ T 細胞の性状を十分に勘案することが重要であると考えられる。[寺原和孝、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター)、池野翔太（北里大学生命科学研究所、研究生)、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]

（４）単一細胞解析技術を用いた HIV 感染進行の解析

早稲田大学　竹山教授らの開発した Capillary PCR の技術を応用し、単一 T 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的として、条件検討を行った。用いたビーズのバックグラウンドが高く、期待される定量性は得られなかった。単一細胞のレベルで PCR 増幅を行うための装置を変更して現在条件検討中である。[鈴木基臣（早稲田大学大学院先端理工学研究科、研究生）、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]

（５）CD４$^{+}$T 細胞の分化段階におけるマイクロ RNA による HIV 増殖抑制あるいは増進

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、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 をいくつか同定し、レンチウイルスベクターを作製して HIV-1 潜伏感染細胞（U937 および ACH-2）に導入した。GFP 発現をもとに確立した miRNA 分子発現細胞クローンを用いて HIV-1 増殖抑制効果の有無を検討中である。[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]

（６）HIV-1 感染による麻疹ウイルス感染増悪機構の解析

健常人末梢血単核細胞（PBMC）に HIV-1 と野生型麻疹ウイルス（MV）を重複感染させると、MV 単独よりも MV 感染細胞の頻度が増加した。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、サイトカインでなく DR 陽性細胞が関与しており、共刺激分子阻害抗体を用いた実験から、HIV に感染あるいは粒子を取り込んだ抗原提示細胞と T 細胞との相互作用が重要であることが明らかとなった。[光木裕也（エイズ予防財団リサーチレジデント）、寺原和孝、森川裕子・中山哲夫（北里大学生命科学研究所）、柳　雄介（九州大学大学院医学研究院）、竹田　誠（ウイルス第三部）、小林和夫、横田恭子]

（７）ヒト化マウスにおける enhanced green fluorescent protein（EGFP）発現麻疹ワクチン株の増殖と免疫応答の解析

我々が作製したヒト化マウスにおいて麻疹ウイルスに対する T 細胞応答が検出できるかどうかを明らかにするため、green fluorescent protein（GFP）発現麻疹ワクチン株ウイルス（AIK-C）をヒト化マウスに静脈投与し、感染動態、感染細胞の分布と同定を行った。10 の 5 乗 pfu 接種により麻疹感染細胞は 3 日より出現し、10 日目には特に CD4 陽性 T 細胞が減少した。[池野翔太（北里大学生命科学研究所、研究生）、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター）、寺原和孝、駒瀬勝啓（ウイルス第三部）、中山哲夫・森川裕子（北里大学生命科学研究所）、横田恭子]

（８）T 細胞疲弊化分子に対する単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、いわゆる疲弊化 T 細胞が高頻度に出現する。これらの疲弊分子の抑制シグナルを阻害する単クローン抗体を得るため、昨年に引き続きサル 2B4 やヒト CD160 発現 A20.2J 細胞株をマウスに免疫し、血中抗体価が上昇したマウスの脾臓より得られたハイブリドーマ由来抗体を一部精製した。しかしながら、これまでに得られた抗体は親和性が弱く、阻害活性は期待できなかった。再度免疫方法を変更して継続している。[傅舟一（筑波大学大学院生命環境科学科、研究生）、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）、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

免疫部が作成した抗 H5-HA 単クローナル抗体を、東洋紡（株）が開発した化学発光による抗原検出簡易装置に応用すべく、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。市販品よりも感度や特異性に優れた検出キットであることが示された。そこで、ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)の Mai ウイルス部長の協力を得て、H5N1 感染者検体を用いた試験を実施した。東洋紡の装置はインフルエンザ A/B 型診断感度に関しては市販品より優れていたものの、臨床検体はかなり希釈されているためウイルス量が少なく、H5 亜型診断の実用化にはより感度を高める工夫が必要であることが明らかとなった。[横田恭子、大西和夫、西村研吾（東洋紡敦賀研究所）小林和夫、影山　努・板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）]

（２）新型インフルエンザ（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

昨年度までに、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、メーカーと共同で新型インフルエンザウイルス鑑別用の迅速診断免疫クロマトキットを開発した。本キットに使用している２種類の抗体について、NP タンパクを認識することを見いだすとともに、エピトープ構造に重要な NP アミノ酸配列を同定した。[高橋宜聖、飛梅　実（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感染後の肺において、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。また、肺記憶 B 細胞は、脾臓記憶 B 細胞に比べて感染防御能が高く、これは気管内への抗体産生供給能力に優れていることが、その要因の１つであった。[高橋宜聖、小野寺大志、横井勇祐（東京大学大学院農学生命科学研究科、研究生）、阿戸　学、八村敏志（東京大学大学院農学生命研究科、協力研究員）、小林和夫]

（４）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 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。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、自然免疫受容体である 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、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/H1N1/pdm）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（臨時研究補助員）、西村秀一（東北大学）、萩原温久（萩原医院）、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ヒト細胞株 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、その中に多重感染にも関わらず死滅しない細胞集団を得て株化した。インフルエンザウイルス感染抵抗性株 A549-3S はその表現形や増殖において A549 細胞株と違いは見られない。ウイルス吸着から核移行までの間に抵抗性が発揮されることが明らかとなった。その抵抗性メカニズムを解明し宿主側を標的にした耐性ウイルスの生じにくい治療法の開発へと繋がることを目指している。[戸高玲子（非常勤職員）、大島正道、清水一史（日本大学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が関わっていることが示唆される。そこで感染肺における好中球および myeloperoxidase（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（千葉大学医学部、協力研究員）、長尾朋和（千葉大学医学部、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）、鈴木和男（千葉大学医学部、客員研究員）、戸高玲子（非常勤職員）、大島正道]

（８）インフルエンザウイルス亜型共通エピトープの性状解析

インフルエンザウイルス構成分子の一部に亜型間で共通したエピトープが存在することが明らかになって来ている。我々は、インフルエンザウイルスのヘムアグチニン（HA）分子について独自のデータベースを構築し、バイオインフォマティクス的手法を用いて型共通および型特異的エピトープを探索した。HA 分子の表面に露出する事から抗体のアクセシビリティーの高い領域の立体構造を考慮した候補エピトープを同定した。これらのエピトープ特性を表現するペプチド抗原を複数設計し、モノクローナル抗体の作製を進めている。HA2 上の型共通エピトープを認識するモノクローナル抗体を捕捉抗体とし、型特異的 HA1 領域に対する検出抗体を組み合わせる事によって、検出システムの汎用性（全 HA 亜型指向性）と型特異性検出感度の両方を合わせ持つ優れたウイルス検出システムを構築することを目的としている。[大西和夫、影山　努（インフルエンザウイルス研究センター）、田中仁喜（早稲田大学大学院基幹理工学研究科）、藤　博幸（産業技術総合研究所）、横田恭子]

３．C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究

（１）HCV 感染に見られる short RNA に関する研究

C 型肝炎患者血液中及び肝組織内に HCV ウイルス short RNA が存在しその量比がウイルスの感染性、活動性と逆相関することを明らかにした。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、現在確立されている特殊な細胞培養系ではなく一般的なウイルス genotype における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。さらに 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研究所）、吉倉　廣（CODEX）]

（２）HCV 持続感染における RNA 干渉機構の解析

我々が発見した DNA, RNA 結合タンパク質、Translin およびその類似タンパク質である TRAX は、Translin/TRAX 複合体を形成し、miRNA（siRNA）の取り込み・相補的 RNA の切断に関わる RISC (RNA-induced silencing complex)の構成タンパク質として近年注目されている(Science 2009, Nat Struct Mol Biol 2011a,b, 2012)。本研究では、RNA ウイルスである HCV 持続感染において、Tarnslin/TRAX の関与する RNA 干渉（RNAi）の役割に着目して検討を行った。まず、HCV 感染が可能であるヒト肝培養細胞 Huh7.5.1 を用いて、Translin および TRAX 分子の siRNA によるノックダウンや発現ベクターによる過剰発現を検討した結果、TRAX 分子は単独では細胞内で存在できないことが明らかとなった。詳細な解析の結果、TRAX は Translin と複合体を形成できない状況で速やかに分解を受けることが判明した。またこの分解過程は mRNA レベルではなく、タンパク質レベルで行われ、TRAX のポリユビキチン化とプロテアソーム分解系が関与していることが示唆された。さらに、TRAX の C 末 82 アミノ酸を除去すると分解が抑制されることから、C 末端側のポリユビキチン化が分解に重要であるという結論に至った。[深澤征義（細胞化学部）、石田礼子（協力研究員）、葛西正孝]

４．A 型肝炎ウイルス特異的抗体産生 B 細胞の動態解析

A 型肝炎は B 型・C 型肝炎と異なり、キャリア化・慢性化しないことから、A 型肝炎ウイルス(HAV)感染後に誘導される免疫応答によるウイルス排除が強力・効果的に起こると考えられており、この過程で獲得された免疫記憶も長期に渡って保持されることが示唆されている。本研究の目的は、A 型肝炎免疫記憶形成における B 細胞分化の解析を行うことである。これまでに、HAV に対する特異的抗体や免疫記憶解析のためのモノクローナル抗体（mAbs）の作製、特異的抗体価定量のための ELISA 系の確立を行った。さらに、これらの mAbs を使ったフローサイトメトリーにより HAV 特異的な抗体産生 B 細胞を検出することに成功した。HAV ワクチン免疫マウス/非免疫マウス由来の B 細胞に HAV を反応させた時、HAV 特異的な抗体産生 B 細胞（$HAV^{+}B220^{+}$細胞）は HAV 免

疫マウスでのみ有意に検出された。HAV^+B220^+細胞中には HAV 特異的抗体産生メモリー様 B 細胞（$HAV^+B220^+CD38^+IgM^-IgD^-$細胞）も含まれていた。[望月康子・陳　富（筑波大学大学院生命環境科学研究科、研究生）、山口沙由里(非常勤職員)、小林和夫、大西和夫]

５．ワクチンに関する基礎的研究

（１）サルエイズ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、センダイウイルスベクターを用いた細胞傷害性 T 細胞（CTL）誘導型ワクチンが注目を浴びている。このワクチン効果における作用機序の解明の一端として、ウイルス抗原特異的ヘルパーT 細胞反応の解析を進めている。ワクチン接種・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、IL-2 発現能を有するサル免疫不全ウイルス（SIV）特異的ヘルパーT 細胞の頻度が SIV 複製抵抗性に対して有意な関連性を示した。現在は、本サルエイズモデルにおいて、感染時期（ワクチン接種後／感染前、感染急性期、感染慢性期）ごとのウイルス抵抗性に関連するヘルパーT 細胞の機能パラメータの同定を進めている。[寺原和孝、横田恭子、光木裕也（エイズ予防財団リサーチレジデント）、俣野哲朗（エイズ研究センター）]

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、増殖に伴って表面を広がる sliding 能を示す。作製した sliding 能欠損変異株を細胞に感染させたところ、貪食細胞および非貪食細胞の両方で取り込みが低下していることが分かった。これにより sliding を引き起こす菌体因子や分子機構が、細胞へアプローチする際にも貢献すると推察される。[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。休眠菌に高発現する抗酸菌 DNA 結合蛋白質 1（MDP1）は鉄代謝（Fe^{2+}の還元や蓄積）にも関与していた。その結果、活性酸素の生成を抑制し、抗酸菌の DNA 損傷を回避することにより、菌の生存に関与していた。[高塚正樹・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、客員研究員）、小林和夫]

また、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 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 抗原は有用な候補抗原と考えられる。[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、客員研究員）、北田清悟・前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）、小林和夫]

結核高蔓延国であるケニア共和国において、潜在性結核菌感染率の把握と感染リスクの特定を目的とし、学生を対象に調査を行った。結核菌特異的抗原に対する免疫応答を調べ結核菌感染者の検出を行ったところ、地域により感染率は大幅に異なることが分かった。また多重ロジスティック回帰分析によるリスク検討を行い、結核菌感染との関連が示唆される複数の検査項目を特定した。[岡部真裕子、小林和夫、阿戸　学、尾関百合子・井上学・松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科、客員研究員）]

（３）薬剤依存性結核菌の遺伝学的解析

潜在性結核菌感染における結核菌の休眠・再燃を解析するツールとして、ストレプトマイシン（SM）の存在下でのみ増殖する SM 依存性結核菌 18b 株が使用されている。18b 株の 16S リボソーム RNA（rRNA）遺伝子解析を行った結果、18b 株には３つの異なるサブタイプが存在することが明らかとなった。これら３種類の 16SrRNA を持つ遺伝子組換え BCG を作成して SM 依存性を解析した結果、塩基配列 512 位の後ろに C が挿入される（512CC）と、SM 依存性になり、13 位が G に、あるいは 555 位が A になると、512 位の C 挿入の有無にかかわらず、SM 依存性が消失し、耐性となることが判明した。[阿戸　学、松村隆之、本田尚子（放射能管理室）、山崎利雄（バイオセーフティ管理室）、佐藤法仁・大原直也（岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員）、小林和夫]

（４）*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）として有用である。体外診断用医薬品として製造販売承認後、薬価収載され、2011 年 8 月から保険医療における検査対象項目となった。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）]

（５）*Mycobacterium bovis*（bacillus Calmette-Guérin 、BCG）に関する研究

結核ワクチンである BCG 東京株には集落の形状から 2 亜株が存在する。各亜株の形態、細胞壁脂質構成や宿主応答を解析した。その結果、細胞壁脂質構成の相異が形態や宿主免疫応答に関与していることが判明した。[中崇・仁木満美子・藤原永年（大阪市立大学大学院医学研究科）、前田伸司（結核研究所抗酸菌レファレンス部）、大原直也（岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員）、前山順一（血液・安全性研究部）、山本三郎・矢野郁也（日本 BCG 研究所）、小林和夫]

成人結核における BCG の効果は疑問視されているが、幼弱および高齢マウスを用い、その機序の解明を試みた。その結果、効果は加齢に依存せず、ワクチン接種後の期間、すなわち、長期間で減弱することが判明した。[尾関百合子・平山幸雄・松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科、客員研究員）、山本三郎（日本 BCG 研究所）、小林和夫]

２．劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究

（１）劇症型溶血性レンサ球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、劇症株と好中球が接触することが SLO による孔形成に必須であることが明らかとなった。その機序として、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、接触面で分泌が増強された 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]

（2）劇症型溶血性レンサ球菌感染症における新規 IFN-γ産生未成熟骨髄系細胞の役割

劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関わる宿主因子については不明な点が多い。今回、ヒト劇症型感染例および劇症型感染マウスの血中サイトカイン量を測定した結果、種々のサイトカインの中でも特に interferon (IFN)-γ量が増大していることが判明した。IFN-γ中和抗体投与マウスや IFN-γ欠損マウスを劇症型感染させると、コントロールマウスと比べ急速に死亡したことから、劇症型感染における IFN-γは宿主防御因子の一つであると考えられた。これまで GAS 感染における IFN-γは A 群レンサ球菌（GAS）由来スーパー抗原により活性化された T 細胞や、種々の感染症において IFN-γを産生する NK 細胞から産生されると考えられてきたが、劇症型感染早期において IFN-γは、T 細胞や NK 細胞からではなく未成熟骨髄系細胞の新たなサブセットから産生されることを見出した。さらに、劇症型感染マウスの生存率と菌のクリアランスは本サブセットを養子細胞移入することにより改善された。以上の結果から、IFN-γを産生する新規未成熟骨髄系細胞は劇症型溶血性レンサ球菌感染症において宿主防御に貢献していると考えられた。[松村隆之、阿戸　学、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

（１）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。*B. pseudomallei* は貪食された後、細胞質へエスケープして殺菌を逃れ、菌体の尾部に宿主のアクチンを再重合させて細胞質内を移動しながら増殖し、さらに、近隣の細胞に感染を広げると考えられている。しかし、好中球に感染した場合、細胞内 *B. pseudomallei* 数は、時間とともに減少することから、好中球では *B. pseudomallei* のエスケープ機構が障害されていることが考えられた。共焦点顕微鏡を用いて、詳細に解析した結果、好中球に感染した *B. pseudomallei* は、菌の尾部にアクチンの重合と、細胞質内の菌を認めないことから、好中球にとりこまれた *B. pseudomallei* は、細胞質にエスケープできないことが示唆された。[阿戸　学、Darawan Rinchai（研究生）・Donporn Riyapa・Chidchamai Kewcharoenwong・Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学医療学部、タイ王国）、谷田以誠（細胞化学部）]

III. 原虫・寄生虫感染症

１．内蔵リーシュマニア症における慢性感染機序に関する研究

（１）CD4+Foxp3+レギュラトリーT 細胞の役割

内蔵リーシュマニア症を起こす原虫 *Leishmania donovani* のマウス感染において、肝臓の感染は、獲得免疫系の活性化により肉芽腫が形成され、一過性であることが知られている。しかし、NIK 突然変異によりリンパ節を欠損する *aly/aly* マウスに *L. donovani* を感染させると、肉芽腫の形成が阻害され、持続感染となることが判明した。*aly/aly* マウスでは,慢性感染期肝臓の未成熟な肉芽腫内に多数の $CD4^{+}Foxp3^{+}$レギュラトリーT 細胞（Treg）が存在しており、抗体の投与によってこれらの Treg を除去すると、野生型マウスとほぼ同程度の感染の改善を認めた。以上より、*aly/aly* マウスにおける *L. donovani* 感染の持続は、増加した Treg の免疫抑制によることが明らかとなった。[阿戸　学、Saruda Tiwananthagorn・櫻井達也・片倉　賢（北海道大学大学院獣医学研究科）、岩渕和也（北里大学大学院医療系研究科）]

２．マンソン住血吸虫感染マウス血清の抗体測定実験

（１）マンソン住血吸虫感染マウス血清の抗体測定実験

弱毒化シストソミューラとアジュバント併用感作で強い感染防御効果を得た実験マウスの血清抗体価を測定する目的で、シストソミューラ（感作抗原）に対する抗体価測定を試みた。シストソミューラ可溶化抗原の作成は多数のシストソミューラを必要とする為、少ない抗原での測定として、シストソミューラの免疫染色を行った。生きたシストソミューラの免疫染色は体表コレステロール存在の為、染色されず、シストソミューラを脱コレステロール（アラキドン酸処理）後、固定することで免疫染色が可能となった。この方法による感作感染防御マウスの抗体価測定が可能かを調べる為、初めに感染のみ（実験対照群）のマウスの段階希釈血清を用いた力価が蛍光顕微鏡で観察・測定された。結果は、極めて弱い免疫染色で、力価測定は困難であった。次に、感作後、感染を受けたマウスで測定し、強い免疫染色が得られ、この群での力価測定が可能となった。[平山中己、吉成正裕（横浜市立大学大学院医学研究科）]

（２）マンソン住血吸虫感染防御実験マウス血清の抗体価測定実験

弱毒化シストソミューラとアジュバント併用感作後、強い感染防御効果を示した実験マウス群内の個体で、完全（100%）防御と不完全（75%)防御を示した各 2 個体（計 4 個体）間での血清抗体価に差が有るか否かが調べられた。測定した抗体は IgG、IgA、IgM、IgE と IgG の 4-サブクラスで、感作抗原（シストソミューラ）に対する免疫染色法による相対的力価測定が行われた。結果は、IgG, IgM 抗体価の測定が可能で、両個体間での差は認められなかった。IgG サブクラスでの力価測定では、すべてのサブクラスの力価測定が可能で、両個体間での力価に差は認められなかった。これらの結果は、上記感作による強い防御効果を示した実験群マウスの個体で、完全防御と不完全防御の個体間の感染防御効果の強弱とシストソミューラ体表抗原（感作抗原）に対する抗体価との間に相関関係の無いことを示唆するものであった。[平山中己、吉成正裕（横浜市立大学大学院医学研究科）]

Ⅳ. 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

感染症に対する液性免疫の主要な機能分子である抗体を産生する B リンパ球には、分化初期の抗体遺伝子 VDJ 再構成に伴って細胞表面にプレ B 細胞受容体を発現する。プレ B 細胞受容体は、VDJ 遺伝子再構成の結果発生した抗体分子の抗原認識多様性が免疫系に組み込まれる経路の品質管理を行い、個体免疫系における抗体の抗原認識

レパートリーの構築を制御する。本研究では、プレB細胞受容体立体構造のホモロジーモデリングと分子動力学シミュレーションを行うことにより、当該受容体を特徴づける分子構造である Non-Ig 領域の構造予測モデルの構築と評価を行っている。このことは、感染症などにより引き起こされる抗体分子の抗原認識レパートリーの動態変化を予測することに役立ち、感染症学をはじめ、自己免疫関連分野、ワクチン学など、抗体分子が関与する各方面の問題解決に広く寄与すると考える。[大西和夫、野口　保（産業技術総合研究所）、藤本浩文（放射能管理室）、藤　博幸（産業技術総合研究所）、傅　舟一（筑波大学大学院生命環境科学研究科、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）]

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

ワクチンにより誘導される免疫記憶の形成・発動過程を知ることは、ワクチン効果の最適化につながる。我々が同定・クローニングした BILL-cadherin（cadherin-17）は、免疫担当Ｂ細胞及び小腸上皮細胞等粘膜免疫関連組織に強く発現する分子で、この遺伝子を欠損させたマウスでは免疫記憶機能にも異常がある。BILL-cadherin は記憶Ｂ細胞に再帰的に発現することから免疫記憶の形成過程に働く細胞接着分子である可能性が示唆される。BILL-cadherin の作用機序を分子レベルで明らかにすることにより、免疫記憶形成に秀でた新しいワクチン技術の開発を目指している。[傅　舟一（筑波大学大学院生命環境科学研究科、研究生）、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）、沼田治（筑波大学大学院生命環境科学研究科）、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（研究生）・沼田　治（筑波大学大学院生命環境科学科）、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

体外診断薬承認前検査担当項目として、承認申請のあった A 型肝炎ウイルス（HAV）抗体測定用キットについて、標準血清パネルを用いて感度・特異性及び再現性試験を行う。また、この検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を行う。すなわち、国内で発生する HAV 集団感染などに際して IgM 型 HAV 抗体陽性血清を収集し、抗体価を測定評価して血清パネルを拡充する。これまでに日本赤十字社の協力を得て、IgG 型 HAV 抗体陽性血清多数について公的標準パネルの整備を行った。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で血清検体の提供を受け、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」（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）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-抗酸菌センターおよび国立台湾大学医学院附設医院内科部と肺 MAC 感染症の血清診断について、共同研究計画を策定した。[小林和夫、周　如文（台湾行政院衛生署疾病管制局）、王　振源（国立台湾大学医学院附設医院内科部）、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、4 月から 12 月まで Khon Kaen 大学の博士課程大学院生 1 名を研究生として受け入れ、実験手技と共同研究の指導にあたった。[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、2011 年 10 月 24 日、講義した。[小林和夫]

Ⅱ．大学など教育機関における講義や研修

慶應義塾大学医学部（11 月 07 日）で招請講義した。[阿戸　学]

長崎大学熱帯医学研究所や大学院医歯薬学総合研究科（6 月 21、22 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、10 月 04 日）、昭和大学医学部（11 月 11 日）、岡山大学大学院医歯薬総合研究科や歯学部（2012 年 1 月 18 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、点検を行い、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 23 年度の使用実績は、798 回、1,704 時間であった。また、新規使用者や、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) Terahara, K., Yamamoto, T., Mitsuki, Y-y, Shibusawa, K., Ishige, M., Mizukoshi, F., Kobayashi, K., and Tsunetsugu-Yokota, Y. 2012. Fluorescent reporter signals, EGFP and DsRed, encoded in HIV-1 facilitate the detection of productively infected cells and cell-associated viral replication levels. Front. Microbiol. 2: 1-11.
2) Salaun, B., Yamamoto, T., Bardran, B.,

Tsunetsugu-Yokota, Y., Roux, A., Baitsch, L., Rouas, R., Fayyad-Kazan, H., Baumgaertner, P., Devevre, E., Ramesh, A., Braun, M., Speiser, D., Autran, B., Martiat, P., Appay, V., and Romero, P. 2011. Differentiation associated regulation of microRNA expression in vivo in human CD8+ T cell subsets. J. Transl. Med. 9: 44-52.

3) Matsumura, T., M. Ato, T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, and K. Kobayashi. 2012. Interferon-γ-producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A *Streptococcus* infections. Nat. Commun. 3: 678. doi: 10.1038/ncomms1677.
4) 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, and Takemori T. 2011. HIV-Nef impairs multiple T cell functions in antigen-specific immune response in mice. Int. Immunol. 23: 433-441.
5) Murase Y, Konnai S, Hidano A, Githaka NW, Ito T, Takano A, Kawabata H, Ato M, Tajima T, Tajima M, Onuma M, Murata S, and Ohashi K. 2011. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in cattle and *Ixodes persulcatus* ticks. Vet. Microbiol. 149: 504-507.
6) Shi G., Yagyu F., Shimizu Y., Shimizu K., Oshima M., Iwamoto A., Gao B., Liu W., Gao G. F., Kitamura Y. 2011. Flow cytometric assay using two fluorescent proteins for the function of the internal ribosome entry site of hepatitis C virus. Cytometry Part A 79A: 653-660.
7) Sugamata R., Dobashi H., Nagao T., Yamamoto K., Nakajima N., Sato Y., Aratani Y., Oshima M., Sata T., Kobayashi K., Kawachi S., Nakayama T., and Suzuki K. 2012. Contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in the early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. Microbiol. Immunol. 56: 171-182.
8) Harada, Y., Ninomiya-Mori, A., Takahashi, Y., Shirakura, M., Kishida, N., Kageyama, T., Tada, Y., Tashiro, M., and Odagiri, T. 2011. Inactivated and adjuvanted whole-virion clade 2.3.4 H5N1 pre-pandemic influenza vaccine possesses broad protective efficacy against infection by heterologous clades of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in mice. Vaccine 29: 8330-8337.
9) Onodera, T., Takahashi, Y., Yokoi, Y., Ato, M., Kodama, Y., Hachimura, S., Kurosaki, T., and Kobayashi, K. 2012. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 109: 2485-2490.
10) Ohnishi K, Takahashi Y, Kono K, Nakajima N, Mizukoshi F, Misawa S, Yamamoto Y, Mitsuki Y, Fu S, Hirayama N, Ohshima M, Ato M, Kageyama T, Odagiri T, Tashiro M, Kobayashi K, Itamura S, and Tsunetsugu-Yokota Y. 2012. Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies. Jpn. J. Infect. Dis. 65: 19-27.
11) Knoll M, Yanagisawa Y, Simmons S, Engels N, Wienands J, Melchers F, and Ohnishi K. 2012. The non-Ig parts of the VpreB and λ5 proteins of the surrogate light chain play opposite roles in the surface representation of the precursor B cell receptor. J. Immunol. 188: 6010-6017.
12) Ishida R, Aoki K, Nakahara K, Fukuda Y, Ohhori M, Saito Y, Kano K, Matsuda J, Asano S, Maziarz RT, Kasai M. 2012. Translin/TRAX deficiency affects mesenchymal differentiation programs and induces bone marrow failure. Stem Cells and Human Diseases Springer-Verlag. Chapter 21, p468-476.
13) Hirai S, Miwa A, Ohtaka-Maruyama C, Kasai M, Okabe S, Hata Y, and Okado H. 2012. RP58 controls neuron and astrocyte differentiation by downregulating the expression of Id1-4 genes in the developing cortex. EMBO J. 31: 1190-1202.
14) Kobayashi, K., M. Ato, and S. Matsumoto. 2011. Global threats and the control of multidrug-resistant tuberculosis. J. Disaster Res. 6: 443-450.
15) Takatsuka, M., M. Osada-Oka, E. F. Satoh, K. Kitadokoro, Y. Nishiuchi, M. Yoshimura-Niki, M. Inoue, K. Iwai, T. Arakawa, Y. Shimoji, H. Ogura, K. Kobayashi, A. Rambukkana, and S. Matsumoto. 2011. A histone-like protein of mycobacteria possesses ferritin superfamily protein-like activity and protects against DNA damage by Fenton reaction. PLoS One 6: e20985.
16) Naka, T., S. Maeda, R. M. Niki, N. Ohara, S. Yamamoto, I. Yano, J.-i. Maeyama, H. Ogura, K. Kobayashi, and N. Fujiwara. 2011. Lipid phenotype of two distinct subpopulations of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin Tokyo 172 substrain. J. Biol. Chem. 286: 44153-44161.
17) Ozeki, Y., Y. Hirayama, T. Takii, S. Yamamoto, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2011. Loss of anti-mycobacterial efficacy in mice over time following vaccination with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin. Vaccine 29: 6881-6887.
18) Naka, T., N. Nakata, S. Maeda, R. Yamamoto, M. Doe, S. Mizuno, M. Niki, K. Kobayashi, H. Ogura, M. Makino, and N. Fujiwara. 2011. Structure and host recognition of serotype 13 glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol. 193: 5766-5774.

2. 和文発表

1) 阿戸　学. 2012.「寄生虫」「原虫」「リケッチア」「リーシュマニア症」127, 167, 395, 431, 432. 大西　真、阿戸　学.「性感染症／性行為感染症」、267-268. 免疫の事典、朝倉書店、桂　義元・河本　宏・小安重夫・山本一彦　編.
2) 高橋宜聖、小野寺大志、小林和夫. 2011. ウイルス感染局所における記憶 B 細胞応答、実験医学増刊、羊土社、81-86、vol.29, No.17.
3) 大西和夫. 2011. 免疫の事典 -Dictionary of Immunology-. 朝倉書店、桂　義元・河本　宏・小安重夫・山本一彦　編
4) 大西和夫. 2012. 免疫学・感染症. 生物小事典（電子辞書化）. 三省堂. 猪川倫好監修、三省堂編修所.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Matsumura, T., T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2011. A novel interferon-γ-producing subpopulation of immature myeloid cells confers protection from severe invasive group A *Streptococcus* infections. Joint International Meeting of The 76th Annual Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 19th International Symposium of Macrophage Molecular and Cell Biology (泉佐野、5 月).
2) Matsumura, T., T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2011. The protective role of a novel population of interferon-γ-producing cells in severe invasive group A streptococcal infections. XVIII Lancefield International Symposium (Palermo、Italy、9 月).
3) Mitsuki, Y-y., Shibusawa, K., Terahara, K., Kobayashi, K., Moriakwa, Y., 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. International Union of

Microbio-logical Societies 2011 Congress XV International Congress of Virology. (札幌、9 月).

4) Shimizu, K., Shibata, T., Nishikawa, T., Toyosawa, K., Sasaki, Y., Tanaka, T., Kuroda, K., Todaka, R., Oshima, M., Yamamoto, T. 2011. Loss-of-function mutation on NS1 gene enhances the virulence of influenza virus in mice. IUMS 2011 XV, International Congress of Virology. (札幌、9 月).
5) Ato, M., T. Ikebe, T. Matsumura, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi. 2011. Contact with group A *Streptococcus* isolated from severe invasive infections induces rapid necrosis of human neutrophils. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9 月).
6) Chiba, S., T. Nagai, T. Matsumura, M. Ato, A. Abe, and K. Koyasu. 2011. Role of internalin B in the gastrointestinal infection of and host immune response to *Listeria monocytogenes*. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9 月).
7) Satoh, N., M. Ato, T. Matsumura, T. Yamazaki, T. Sekizuka, M. Kuroda, N. Honda, M. Nakayama, K. Tsuchida, K. Kobayashi, and N. Ohara. 2011. Idenification of the novel mutations in16S rRNA gene of the substrains of a streptomycin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* 18b which confer streptomycin resistance in *Mycobacterium*. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9 月).
8) Okabe M, Ohara N, Fujiwara N, Naka T, Ato M, and Kobayashi K. 2011. Sliding-defect mutants of Mycobacterium smegmatis have lower ability to enter nonphagocytic cells. International Union of Microbiological Societies Congresses (札幌、9 月).
9) Tsunetsugu-Yokota, Y. 2011. HIV-1 transmission through immunological synapse and T-cell activation: How can we control virus replication? US-Japan AIDS Panel Meeting. (Atlanta, アメリカ合衆国、9 月).
10) Ato M. 2011. Regulatory genes of multiple virulence factors involved in severe invasive group A streptococcus infection. 2011. Singapore-Japan Joint Forum in Emerging Concepts in Microbiology (Singapore、シンガポール共和国 11 月).
11) Tsunetsugu-Yokota, Y, Ishige, M., Mitsuki, Y-y., Shibusawa, K., Okada, S., Terahara, K. 2011. Impact of selective infection and expansion of CCR5-utilizing HIV-1 in CD4+CXCR4highCCR5+ memory T cells in humanized mouse model. 8th German-Japanese HIV-Symposium. (Bochum, ドイツ連邦共和国、11 月).
12) Takahashi, Y., Onodera, T., Yokoi, Y., Ato, M., Hachimura, S., Kurosaki, T., Kobayashi, K. 2012. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection. Keystone Symposia, Viral Immunity and Host Gene Influence(招待講演)(Keystone,アメリカ合衆国、3 月).

2. 国内学会

1) 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. 第 81 回日本衛生学会学術総会（東京、3 月->Web-IT 開催）.
2) 小林和夫、光山正雄．2011．結核研究の最先端（シンポジウム 10-S-4）．学術講演要旨 246．第 28 回日本医学会総会（東京、4 月->誌上開催）
3) 松本壮吉、岡 真優子、北田清悟、前倉亮治、小林和夫．2011．結核研究の最先端（シンポジウム 10-S-4）．学術講演要旨 246．第 28 回日本医学会総会（東京、4 月->誌上開催）.
4) 小林和夫．2011．潜在性抗酸菌感染症における橋渡し研究．第 4 回結核研究会．結核予防会結核研究所（東京、4 月）.
5) 森田康裕、松本壮吉、小林和夫、木下タロウ．2011．マンナン生合成の異常は結核菌細胞壁のバリア機能を弱め、結核菌をβ-ラクタム系薬剤感受性にする．結核、86 : 372．第 86 回日本結核病学会総会（東京、6 月）.
6) 佐藤法仁、山崎利雄、小林和夫、大原直也．2012．ストレプトマイシン依存性結核菌 18b 株の依存性に関与する遺伝子変異の解明と新たなストレプトマイシン耐性を誘導する遺伝子発見の発見．結核、87 : 231．第 87 回日本結核病学会総会（広島、6 月）.
7) Saruda Tiwananthagorn、岩渕和也、阿戸 学、櫻井達也、片倉 賢．2011. CD4+Foxp3+ regulatory T cells in the persistent infection of Leishmania donovani in the liver of immunodeficiency aly/aly mice．第 80 回日本寄生虫学会大会（東京、7 月）.
8) 小林和夫．2011．感染症における宿主免疫応答と橋渡し研究（Workshop 7 感染症、免疫不全・免疫異常症）．日臨免誌、34 : 268．第 39 回日本臨床免疫学会総会（東京、9 月）.
9) 松本壮吉、小林和夫．2011．結核菌の休眠現象と潜在性結核（Symposium 1S9s 再考 VNC : viable but not-culturable cells! 細菌に学ぶ生残戦略）．生化学、83 : 47．第 84 回日本生化学会大会（京都、9 月）.
10) 佐藤法仁、阿戸 学、松村隆之、本田尚子、山崎利雄、関塚剛史、黒田 誠、中山真彰、土田耕三、小林和夫、大原直也．2011．Streptomycin 依存性結核菌における遺伝子変異の解明と Streptomycin 耐性を誘導する新たな遺伝子変異. 第 64 回日本細菌学会中国・四国支部総会（岡山、10 月）.
11) 松村隆之、小林和夫、阿戸 学. 2011. IFN-γ-producing immature myeloid cells confer protection against severe invasive group A streptococcal infections in mice. 第 40 回 日本免疫学会総会・学術集会（千葉、11 月）.
12) 横井勇祐、小野寺大志、八村敏志、阿戸 学、小林和夫、高橋宜聖．2011．Localization and reactivation of virus-specific memory B cells at the site of virus infection．第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉、11 月）.
13) 中藤 学、長谷耕二 、鈴木道雄、西田教行、堀内基宏 、阿戸 学、大野博司. 2011. Cellular prion protein on Peyer’s patch M cells serve as invasive receptor of a zoonotic pathogen *Brucella abortus*．第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉、11 月).
14) Takahashi, Y., Onodera, T., Yokoi, Y., Kurosaki, T., Kobayashi, K. 2011. Protective memory B cell responses to influenza virus infection. 第 40 回日本免疫学会学術集会（招待講演）（千葉、11 月）.
15) 小野寺大志、相澤竜太郎、細野 朗、上野川修一、小林和夫、高橋宜聖．2011．ウイルス特異的な記憶 B 細胞の形成、再活性化における Toll-like receptor の役割．第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉、11 月）.
16) Yingqian Li, Xiang Gao, Yoshimasa Takahashi, Ji-Yang Wang. 2011. The ELL-associated factor 2 negatively regulates the survival of germinal center B and memory B cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉、11 月）.
17) FU Shuichi, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2011. B Lymphocyte Cadherin,

BILL-cadherin/Cadherin-17, Contributes to the Maintenance of Antibody Affinity. 第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉、11 月）.

18) MOCHIZUKI Michiko, FU Shuichi, KOBAYASHI Kazuo, OHNISHI Kazuo. 2011. Detection and Flow Cytometric Analysis of Hepatitis A Virus-specific B Cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉、11 月）.
19) 佐藤法仁、阿戸　学、山崎利雄、黒田　誠、松村隆之、関塚剛史、中山真彰、本田尚子、土田耕三、小林和夫、大原直也．2011．Analysis of the 16S rRNA gene of the streptomycin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* strain 18b and phenotypic revertant strains. 第 34 回日本分子生物学会年会（横浜、12 月）.
20) 渋沢謙太郎、寺原和孝、石毛真行、光木裕也、横田（恒次）恭子．2011．麻疹ウイルス偽型化 HIV-1 抑制性 shRNA 発現レンチウイルスベクターのヒト化マウスにおける in vivo 評価．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会（東京、12 月）.
21) 石毛真行、寺原和孝、渋沢謙太郎、光木裕也、池野翔太、小林和夫、岡田誠治、横田（恒次）恭子. 2011. R5 および X4 HIV-1 同時感染ヒト化マウスモデルによる感染早期のウイルス優位性の解析. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会（東京、12 月）.
22) 阿戸　学、松村隆之、池辺忠義、大西　真、渡邉治雄、小林和夫．2011．劇症型レンサ球菌感染症分離株による好中球ネクローシス誘導分子機構．感染症若手フォーラム（長崎、2 月）.
23) Okabe M., Ohara N., Fujiwara N., Naka T., Ato M., Kobayashi K. 2012. Interaction between mycobacterial surface translocation and entry into non-phagocytic cells. 第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
24) 松本壮吉、岡　真優子、西内由紀子、仁木満美子、尾関百合子、立石善隆、小林和夫. 2012. Mycobacterial DNA-binding protein 1（MDP1）に見いだされた ferritin-superfamily 蛋白質様活性．日本細菌学会雑誌、67：71．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
25) 岡　真優子、合田亘人、曽我朋義、尾関百合子、小林和夫、松本壮吉、岩尾　洋．2012．マクロファージのグルコース代謝と宿主内結核菌の増殖．日本細菌学会雑誌、67：104．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
26) 立石善隆、小椋義俊、平山幸雄、尾関百合子、西内由紀子、仁木満美子、林　哲也、小林和夫、松本壮吉．2012．高病原性 *Mycobacterium intracellulare* 臨床分離株のドラフトゲノム解析．日本細菌学会雑誌、67：119．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
27) 井上　学、岡　真優子、仁木満美子、尾関百合子、一瀬休生、小林和夫、松本壮吉．2012．ケニアの学生における、結核菌タンパク質に対する免疫応答の解析．日本細菌学会雑誌、67：129．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
28) 仁木満美子、仁木　誠、小林和夫、松本壮吉．2012．休眠時における抗酸菌の遺伝子発現．日本細菌学会雑誌、67：150．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
29) 尾関百合子、平山幸雄、岡　真優子、立石善隆、瀧井猛将、山本三郎、小林和夫、松本壮吉．2012．マウスモデルにおける BCG ワクチン効果の減衰に関する研究．日本細菌学会雑誌、67：158．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
30) 仁木　誠、仁木満美子、小林和夫、松本壮吉．2012．定常期抗酸菌にみられるイソニアジド抵抗性の解析．日本細菌学会雑誌、67：150．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.
31) 岡部真裕子、大原直也、藤原永年、中　　崇、阿戸学、小林和夫．2012．抗酸菌の表面移動と非貪食系細胞への取り込みの関連性．日本細菌学会雑誌、67：164．第 85 回日本細菌学会総会（長崎、3 月）.

9. 生物活性物質部

部長　宮﨑 義継

概 要

われわれは、わが国における真菌感染症の制御、ならびに、感染症制御薬の基盤強化と応用を目標とした調査研究を推進している。真菌症研究では、emerging fungal infectionとして注目されている*Cryptococcus gattii*感染症や四類感染症であるコクシジオイデス症をはじめとする地域流行型真菌症と、アスペルギルス症やカンジダ症など移植医療等に関連し免疫不全宿主に発症する深在性真菌症を主な研究対象としている。真菌の病原因子や分子疫学、免疫原生に関する基盤研究と共に、疫学や臨床介入研究・病原体診断に関して調査研究を行った。

感染症制御薬に関しては、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用、活性評価系開発による新しい薬効の探索、免疫制御分子の探索と応用による感染症制御、ゲノム情報を応用した生合成経路の解明に基づく天然型新規薬剤の探索・産生効率化に関する研究等を行った。

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・治療法開発の研究、ならびに、疫学研究

II.　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

III.　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

IV.　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

各室の行った主な業務は、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担当している。免疫不全宿主にみられる糸状菌感染症で最も多いアスペルギルス症に関して、病原因子同定と治療への応用に関する研究を行った。深在性真菌症として最多の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治療や薬剤耐性機構と病原因子の解明を継続した。また、不明真菌の同定や診断困難例の確定診断に関する共同研究や行政検査等に対応した。

第2室は、宿主および病原微生物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や、新規の活性評価系を開発して新しい薬物活性や薬物相互作用の探索を行った。また、検査業務のうち抗菌薬の収去検査を第4室と共同で実施した。

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た基盤研究を行った。真菌感染症に関する検査業務では、薬剤感受性試験を担当した。

第4室は、ゲノム情報を応用して、二次代謝産物等の天然物や代謝経路の解明や新規感染症制御薬の研究、新興感染症の分子疫学に関する研究を行った。検査業務として後発医薬品の収去検査について第2室を補佐した。

行政対応として、真菌に関する各種行政検査、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実施した。

国際交流では、タイNIH、チェンマイ大学、ベトナムNIHEとヒストプラスマ症、クリプトコックス症に関する疫学研究や診断に関する研究を実施した。

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.　地域流行型真菌症の研究

(1)　日本国内で分離されたクリプトコックス属の菌種同定と薬剤感受性調査

北米で新興感染症として認識されている遺伝子変異型*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・保存されていたクリプトコックス属の菌種同定を行った。113株の解析を行い、変異型ではない*C. gattii*株（VGI型）1株、旧血清型分類ではA型とD型のハイブリッド株（AD型）と推測される1株が同定されたが、それ以外のすべての株は旧血清型Aに属すると考えられる*C. neoformans*と同定し*C. gattii*の増加は確認されなかった。また特定の抗真菌薬に対する耐性化も認められなかった。

［大野秀明、梅山 隆、大川原明子、田辺公一、草地弘子、金子幸弘、山越 智、金城雄樹、宮﨑義継］

⑵　国内分離*Cryptococcus gattii*株の分子疫学研究

海外渡航歴の無い国内在住患者から分離され、かつ、北米で流行している遺伝子型VGIIと同定された*C. gattii*株について起源の推定や北米分離株との比較対象を目的に次世代シークエンサーを用いたゲノム解析を行った。北米由来とは違う遺伝子変異が多数認められたため、日本国内で独自に変異を獲得した株である可能性について解析を継続している。

［宮﨑義継、石川 淳、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、山越 智、大野秀明、杉田 隆（明治薬大）、関塚剛史・黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

⑶ *Cryptococcus gattii*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*株を中心に*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JP02株（VGIIc型）、R265株（VGIIa型：北米分離株）、5815株（VGI型：日本分離株）、北大株（VGI型：日本分離株）とし、対照株として*C. neoformans* H99株を用いた。*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、JP02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、病理組織学的に*C. neoformans*と異なり肺での炎症性反応に乏しいこと、解剖学的肺構造の著しい破壊像が特徴的と考えられた。またこの病原性には37℃における成長速度と莢膜が関与していると考えられる結果が得られた。

［大野秀明、田辺公一、草地弘子、梅山 隆、金子幸弘、上野圭吾、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］

⑷ *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］

⑸ 日本国内で分離された*Cryptococcus neoformans*（var. *grubii*）の分子疫学解析

全国の10医療施設から分離培養された*C. neoformans*（var. *grubii*）44株に対し、それぞれの株の7つの遺伝子座の塩基配列を解析し、MLST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、日本由来の*C. neoformans*はほぼ均一の遺伝子型集団から成ることが示唆された。

［梅山 隆、大野秀明、草地弘子、田辺公一、山越 智、宮﨑義継］

2.　アスペルギルス症に関する研究

⑴ Y1蛋白質の性状解析

データベースによると推定されるY1遺伝子の分子量は約30kDaであるが、細胞壁画分をSDS-PAGEで分離しウエスタンブロットにより60-70 kDa付近にY1のバンドを検出した。糖鎖修飾の可能性があったのでtunicamycin存在下*Asperugillus fumigatus*を培養し、同様にY1について調べた。その結果、分子量の変化は観察されなかったが、濃度依存的な蛋白質の発現の上昇が見られた。

［山越 智、梅山 隆、梶川益紀（ACTGen社）、田辺公一、大野秀明、橋本ゆき、宮﨑義継］

⑵ B11に対するモノクローナル抗体の性状解析

B11は、3つのホモログからなる。それをB11a, B11b, B11cとして解析を行っている。昨年度、大腸菌でB11a蛋白質およびB11b蛋白質をマウスに免疫し、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマをB11aでは6種類、B11bでは9種類得たので、今年度はビアコアを用いて得られたモノクローナル抗体のアフィニティの強さ、エピトープの競合について調べた。

［山越 智、大西和夫（免疫部）、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、橋本ゆき、宮﨑義継］

⑶ B11b蛋白質のサンドイッチELISA系の再構築

昨年度、1次抗体としてモノクローナル抗体と2次抗体としてウサギポリクローナル抗体を用いたB11bのサンドイッチELISA

の構築をした。ビアコアから得られた抗体の情報、および緩衝液、ブロッキング剤等の検討をもとにELISA系の再構築を行った。その結果数十pg/ml程度の感度が得られた。

［山越 智、大西和夫（免疫部）、梅山 隆、田辺公一、大野秀明、橋本ゆき、宮﨑義継］

(4) *Aspergillus fumigatus* のMps1プロテインキナーゼの研究

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にアミノ酸置換を導入し、ATPアナログ1NM-PP1感受性となる変異株を作製した。1NM-PP1を変異株培養中に添加すると、出芽および菌糸成長が阻害されたことから、Mps1のキナーゼ活性が生育に必須であることが示唆された。

［梅山 隆、山越 智、大野秀明、田辺公一、宮﨑義継］

(5) アスペルギルス感染症における呼気揮発性ガスの測定に関する検討

アスペルギルス感染症の早期診断法の開発を目的として、肺感染マウスにおける呼気中の揮発性ガスを、ガスクロマトグラフィー質量分析装置を用いて測定した。

［金子幸弘、岩口伸一（奈良女子大学）、横山耕治（千葉大学）、宮﨑義継］

3. カンジダ症に関する研究

(1) 薬剤耐性メカニズムとしてのステロール合成・代謝に関連する膜トランスポーター

Candida glabrata の ABC 蛋白質 CgAus1p は細胞外ステロールを取り込む。これまでに *C. glabrata* が感染時に細胞外ステロールを利用して増殖する可能性を示唆する結果が報告されてきた。*AUS1* 遺伝子を破壊したステロール取り込みができない *C. glabrata* を用いてマウス感染実験を行い、臓器定着率を調べた。*AUS1* 破壊株は野生型株と比較して、腎臓における臓器定着率に著しい低下が認められたことから、細胞外ステロール取り込みが *C. glabrata* の播種性感染において重要な役割を果たしていることが示唆された。

［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。ステロール輸送関連遺伝子の上流配列を用いたレポーター遺伝子アッセイにより、鉄欠乏による遺伝子の発現誘導に必要な領域を決定し、同様に鉄欠乏で発現量が上昇する遺伝子の上流域に相同性の高い配列が存在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］

(3) フローシステムを用いた *Candida albicans* のバイオフィルム形成能と抗真菌薬の効果に関する検討

カテーテル感染症に類似した *C. albicans* のバイオフィルムを、フローシステムを用いて再現した。バイオフィルムの形成過程及び抗真菌薬の効果を連続撮影にて解析しバイオフィルムは等速度で成長することを見出した。

［金子幸弘、宮川 進（株式会社アイカム）、宮﨑義継］

4. ヒストプラスマ症に関する国際共同研究

(1) ヒストプラスマ症各種診断法の有用性検討および技術移転

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低いことから、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 法を作成し、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。また海外共同研究の一つとして遺伝子診断法の移転を行い、補助的診断法としての活用を試みている。

［大野秀明、田辺公一、草地弘子、梅山 隆、山越 智、宮﨑義継、Pojana Sriburee（チェンマイ大学）、Hoang Thi Thu Ha（ベトナム国立衛生疫学研究所）］

(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症の流行地域でありヒストプラスマ属の侵淫地域と考えられているが、環境中における菌の存在を証明した例はない。このような状況を背景として、日本やタイ、ベトナム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。タイ・チェンマイにおける検討からヒストプラスマ属はクリプトコックス属と同様家禽類の糞に存在することが認められ、これが一般的な感染源となっている可能性が示唆された。さらに、タイ・バンコクでの調査から比較的広範囲にヒストプラスマ症の感染源となりうる土壌が存在することが推定された。

［田辺公一、大野秀明、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）、Hoang Thi Thu Ha（ベトナム国立衛生疫学研究所）］

5. 侵襲性真菌症に関する多施設臨床研究

(1) 血液疾患に合併するアスペルギルス症の多施設コホート研究

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」のうち分離真菌の同定と薬剤感受性を行った。

［宮﨑義継、大野秀明、大川原明子、金城雄樹、梅山 隆、山越 智、金子幸弘、草地弘子、谷口修一・荒岡秀樹（虎ノ門病院）、吉田 稔（帝京大学）ほか］

(2) 慢性肺アスペルギルス症に対するアムホテリシン B リポソーム製剤とボリコナゾールの多施設無作為化臨床試験

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関する非盲検無作為化比較試験で、病原真菌の同定と薬剤感受性試験を実施した。

［大野秀明、大川原明子、金城雄樹、金子幸弘、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（川崎医科大学）、掛屋 弘・河野 茂（長崎大学）、藤内 智（旭川医療センター）、宮﨑義継ほか］

(3) 発熱性好中球減少症に対するイトラコナゾールとエキノキャンディンの多施設無作為化臨床試験

本試験で病原真菌の同定と薬剤感受性試験を実施した。

［金子幸弘、大野秀明、大川原明子、金城雄樹、田辺公一、梅山 隆、山越 智、草地弘子、吉田 功（四国がんセンター）、宮﨑義継、ほか］

II. 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* の細胞壁抗原 β-1,2-マンノシド

マンナンは、真菌における細胞壁の必須成分である一方で病原体関連分子パターン(Pathogen-Associated Molecular Patterns = PAMPs)の一つである。我々は、マンナンの中でも *Candida albicans* に特異的な β-1,2-マンノシドに着目し、その特異的構造パターンが樹状細胞のサイトカイン産生に与える影響を解析した。まず、β-1,2-マンノシドを合成できない遺伝子欠損株を作出し、β-1,2-マンノシドを含まないマンナンの精製をした。このマンナンを以降の解析に使用するために、β-1,2-マンノシドが含まれていないことを核磁気共鳴法 (NMR)などの種々の生化学的な解析で証明した。次いで、マウス由来の樹状細胞を野生型マンナンまたは、β-1,2-マンノシドを含まないマンナンで刺激したところ、後者のマンナンで刺激した場合に、IL-6, IL-23, IL-12p40 などの炎症性サイトカインが強く誘導されることが明らかになった。これらの解析から、マンナンに含まれる β-1,2-マンノシドに、サイトカイン産生を減弱する新しい作用を見出した。

［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（大阪市立大学）、大野秀明、宮﨑義継］

2. カンジダ菌血症の経過に及ぼす自然免疫活性化の影響

Candida albicans 感染マウスに糖脂質抗原を投与して自然免疫を刺激すると、カンジダ感染が増悪することを明らかにした。その病態には、IFNγとよばれる蛋白が関与して、好中球の減少を引き起こすことが重要であることが分かった。このことから、カンジダ感染の早期に自然免疫の強い活性化が起こると、真菌の排除に重要な免疫細胞に影響を及ぼすことが考えられた。

［樽本憲人、金城雄樹、大川原明子、上野圭吾、笹井大督・篠崎 稔・渋谷和俊（東邦大学）、宮﨑義継］

3. T 細胞に認識される *Cryptococcous gattii* の蛋白質抗原

Cryptococcous gattii の蛋白質抗原はこれまでに報告がない。抗原を特定することは診断法やワクチンの開発に寄与することから重要性の高い研究として位置づけられている。本研究では、本菌の免疫において T 細胞応答が重要であることに着眼して、T 細胞の分化を誘導する抗原を探索している。今年度は、蛋白質

の精製方法について検討を行った。その結果、TCA 沈殿法で不純物を効率良く除去できることが明らかになった。次に、TCA 沈殿で回収した培養上清蛋白質をワクチンとしてマウスに予防投与したところ、肺における菌体排除効果を有意に促進することが確認された。この培養上清蛋白質の中には、T 細胞に認識される抗原が含まれていると推定されるため、現在この蛋白質の分画を行い、各画分の活性評価を行っている。

［上野圭吾、大川原明子、金子幸弘、金城雄樹、宮﨑義継］

4. *Cryptococcus gattii* 感染症における免疫応答の検討

高病原性の*C. gattii* における免疫応答と病原性の関連を検討した。マウス呼吸器感染モデルを用いて、*C. neoformans* H99 株と *C. gattii* 高病原性株の免疫抑制状態における生存率の相違を比較した。その結果、免疫抑制状態において、*C. neoformans* の生存率が低下したが、*C. gattii* 高病原性株では生存率は変わらなかった。また、*in vitro* の検討において、*C. neoformans* と比較し、*C. gattii* 高病原性株は樹状細胞の免疫応答を誘導しにくいことが判明した。

［金子幸弘、大野秀明、金城雄樹、宮﨑義継］

5. 生体防御に関与するサイトカイン LECT2 の解析

（1）マウス LECT2 レセプターの同定

LECT2 のレセプターを同定することを試みた。昨年、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。その Ba/F3 細胞からクローニングした独立した 9 株の細胞を用いてレトロベクターに保持されている cDNA を PCR にて解析したところ、すべて同じ遺伝子を持つことがわかりそれを X 蛋白質とした。X は、膜蛋白質であり LECT2 のレセプターである可能性が高いと考えられた。

［山越 智、梶川益紀（ACTGen 社）、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮﨑義継］

（2）LECT2 の亜鉛の結合

LECT2 はホモロジーから M23 プロテアーゼファミリーに属している。そのファミリーは多くが亜鉛を結合することから、LECT2 も亜鉛結合蛋白質であることが予想された。そこで、Electrospray ionization mass spectrometry, X-ray absorption fine structure の解析を行った。その結果、亜鉛が非共有結合していることが明らかとなった。

［山越 智、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮﨑義継］

（3）LECT2 の多量体形成

LECT2 は 37℃で *in vitro* でインキュベーションすることで多量体形成をすることがわかった。この反応は、EDTA 等金属イオンのキュレート剤により促進され、亜鉛の添加により抑制された。カルシウム、マグネシウムの 2 価金属イオンではその効果が見られなかった。また、dithiothreitol 等の還元剤処理によって反応は促進された。LECT2 は 3 個の disulfide 結合をもつことから、これが多量化形成に関与し、亜鉛の結合により分子が安定化し多量体形成が阻害されたと考えられた。

［山越 智、奥村彰規、橋本ゆき、大野秀明、宮﨑義継］

6. NKT 細胞による細菌糖脂質抗原の認識と感染防御における役割

肺炎は日本人の主要な死因である。肺炎球菌は、その起炎菌として最も頻度の高い細菌の一つである。自然免疫に関与する NKT 細胞が、肺炎球菌糖脂質を認識することを初めて明らかにした。NKT 細胞による糖脂質認識を阻害すると、肺炎球菌感染後早期において、NKT 細胞によるサイトカイン産生が低下し、肺内菌数の増加を認めた。また、NKT 細胞による肺炎球菌糖脂質抗原への反応性はマウスのみならず、ヒトでも保存されていた。さらに、B 群レンサ球菌も肺炎球菌とほぼ同じ糖脂質を持っており、NKT 細胞が B 群レンサ球菌の糖脂質も認識することを明らかにした。このことから、NKT 細胞は肺炎球菌や B 群レンサ球菌などの特定の細菌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。さらに、NKT 細胞が齧歯類から霊長類まで保存されているのは、特定の微生物に対する感染防御に重要な役割を担うためであ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、Petr Illarionov（バーミンガム大学）、川上和義（東北大学）、Jose Luis Vela・Mitchell Kronenberg（ラホヤアレルギー免疫研究所）、宮﨑義継］

7. 肺炎球菌糖脂質抗原と NKT 細胞抗原受容体の結合様式の解析

X 線結晶構造解析により、肺炎球菌糖脂質抗原と抗原提示分子 CD1d 及び T 細胞抗原受容体との結合様式を分子レベルで解明した。また、T 細胞抗原受容体が抗原・抗原提示分子に結合した状態と結合していない状態を比較することにより、NKT 細胞の T 細胞抗原受容体が結合する際には、抗原と抗原

提示分子の位置がずれることが分かった。このことから、NKT 細胞の T 細胞抗原受容体は、抗原と結合する際に、抗原の位置を少し移動させることで、抗原受容体の抗原認識に重要な部位に抗原を結合させて、認識していることが分かった。

［金城雄樹、樽本憲人、Petr Illarionov（バーミンガム大学)、Enrico Girardi・Dirk M. Zajonc・Mitchell Kronenberg（ラホヤアレルギー免疫研究所）］

8. 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。糖脂質抗原を併用することで、新規の肺炎球菌蛋白抗原ワクチンの効果を増強させることができるか解析を行った。蛋白抗原ワクチンと糖脂質抗原の併用接種群では、蛋白抗原ワクチン単独接種群または無処置群と比較して、生存率が高く、肺内菌数も少ないという結果を得た。そのことから、糖脂質抗原の併用による NKT 細胞の活性化は、肺炎球菌蛋白抗原ワクチンの感染防御効果を増強することが示唆された。また、成人用肺炎球菌ワクチンを接種したヒトの血中抗体価の上昇と NKT 細胞の数を比較したところ、抗体価の上昇と NKT 細胞の一群の増加が相関することが分かった。このことより、ヒトにおいても NKT 細胞が B 細胞の抗体産生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、朴 貞玉・大石和徳（大阪大学微生物病研究所)、宮坂智充・青柳哲史・川上和義（東北大学）、宮﨑義継］

III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症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放線菌からの生物活性物質生合成遺伝子の探索

種々の放線菌が持つ生物活性物質生合成遺伝子を見出すために、次世代シークエンサーを用いて 6 株の放線菌のゲノムシークエンシングを行った。

［石川 淳、関塚剛史・黒田 誠（病原体ゲノム解析センター）］

(2) 生物活性物質生合成遺伝子探索ツールの開発

放線菌ゲノムに含まれる生物活性物質生合成遺伝子クラスターを効率的に見出すために、生物活性物質生合成に与るタンパクに頻繁に見出されるドメインを指標としたウェブベースの探索ツール（2ndFind）を開発した。

［石川 淳］

(3) 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

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還元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、さらに、これらの遺伝子の機能予測を行い、最終産物の部分構造を生合成している酵素を予測した。さらに、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 LC-MS にて確認した結果、その化合物の生産性が消失することが判明した。これらにより、見出された遺伝子は、生物活性物質の生産に関与していることを明らかにした。

［星野泰隆、石川 淳、関塚剛史・黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター)］

(4) 糸状菌の高効率な遺伝子操作系の開発

糸状菌の野生株では、相同組換えの頻度は著しく低いことから、相同組換え能の高い株の確立を行った。非相同組換えに関わるヘテロダイマータンパク質（Ku70/80）や Lig4 ホモログを破壊することで糸状菌でも高い頻度で相同組換えが起こることが示されており、我々は、DNA ligase 4 をコードする遺伝子（*ligD*）を破壊し非相同組み換え能を落すことにより、相同組み換えの効率を上げる事を行った。アグロバクテリウムを用いた形質転換系を利用し *ligD* の破壊株を作製した結果、その相同組換え能は、野生株の 10 倍程度に向上した。また、高効率株の生物活性物質の生産性は、野生株と変わりないことを LC-MS により確認した。

［星野泰隆、石川 淳］

2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) キャンディン系抗真菌化合物を生産する糸状菌の自己耐性因子の探索

キャンディン系抗真菌化合物を生産する菌株の自己耐性機構を解明するために、耐性因子の探索を行った。キャンディン系抗真菌薬への耐性は、ターゲットである β-1,3-glucan synthase（FKS1）のアミノ酸変異によることが報告されていることから、ゲノム解析の結果を用いて FKS1 のアミノ酸変異の有無を解析した。その結果、耐性を付与すると考えられる変異はなく、感受性型のままであった。このことから、生産菌の自己耐性機構は、薬剤のターゲットである FKS1 の変異ではなく、他の機構が

存在する可能性が示された。

［星野泰隆、石川 淳］

(2) 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（Rox）に関して、結晶化による立体構造を明らかにすることにより、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た。本酵素を大腸菌で発現させるために、いくつかの発現ベクターを用いて発現等の条件検討を行い、単離精製後、結晶化を行った。今後、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］

IV. 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。前年度に引き続き、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、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、依頼サンプル、理研化療パイロットライブラリー、標準阻害剤キット等の化合物評価を行った。

［深澤秀輔、福山まり、矢守隆夫（癌研）］

2. SERM (Selective Estrogen Receptor modulator)のC型肝炎ウイルス(HCV)の侵入阻害作用

タモキシフェンや関連 SERM の抗 HCV 作用について調べた。阻害活性のあった SERM は、HCV シュードウイルスの侵入を阻害したので、侵入をウイルス粒子の細胞への接着、細胞内への侵入前期（エンドサイトーシス）、侵入後期の 3 つのステップに分けて、どこに作用するかを調べた。その結果 SERM はこれらのステップをいずれも同等に阻害して特定できなかった。また SERM は感染細胞内の HCV RNA を細胞外の HCV RNA より強く阻害したことから複製後の過程（粒子形成、放出等）も阻害していると考えられた。これまでの結果を総合すると SERM は接着、侵入、複製、複製後と HCV の生活環の多くの過程を阻害すると思われた。

［村上裕子、鈴木哲朗（浜松医大）、脇田隆字（ウイルス 2 部）、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

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 HCV に阻害作用を示すことを見いだした。阻害作用はアゴニストのみならずアンタゴニストにもあったので、レチノイン酸依存のシグナル伝達には関連がないことが示唆された。HCV シュードウイルスの侵入はほとんど阻害されなかったことから侵入過程は阻害しないと思われた。さらに作用機序を調べている。

［村上裕子、鈴木哲朗（浜松医大）、脇田隆字（ウイルス 2 部）、深澤秀輔］

4. *Candida albicans* に対する併用療法に関する検討

FDA approved drug 640 薬剤と FLCZ を併用し、相加相乗あるいは拮抗作用を検討した。シクロオキシゲナーゼ阻害剤の拮抗作用に関して、プロスタグランジン E2 との関連性を検討し、細胞膜の変化を薄層クロマトグラフィーにて比較した。

［金子幸弘、深澤秀輔、宮﨑義継］

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に対する相談業務などを行った。平成 23 年度は、真菌症疑いならびに診断困難例等の臨床検体からの真菌検出、血清診断、培養真菌の同定不能例における菌種同定依頼など計 34 件（菌株 30 株、臨床検体 20 検体）、ならびに行政検査 2 件の対応にあたった。また感染症法に関連する病原体として、三種病原体である *Coccidioides* 属 1 株が分離され医療機関側へ情報のフィードバックを行い、その他輸入真菌症として *Penicillium marneffei* 1 株を分離した。

［大野秀明、草地弘子、梅山 隆、田辺公一、金子幸弘、大川原明子、山越 智、金城雄樹、宮﨑義継］

品質管理に関する業務

後発医薬品等の収去検査として、セフカペンピボキシル塩酸塩錠 16 製剤、ならびに、セフカペンピボキシル塩酸塩細粒 9 製剤、注射用セフォチアム塩酸塩 3 製剤について力価試験を実施した。

［村上裕子、石川 淳、金子幸弘、深澤秀輔、星野泰隆、宮﨑義継］

国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所の高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクトのうち、ヒストプラスマ症診断能力、ヒストプラスマ属取扱技術の向上を目的に、JICA 短期派遣専門家として現地での指導、助言を行なった。

［大野秀明、田辺公一、宮﨑義継］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Tomita H, Muroi E, Takenaka M, Nishimoto K, Kakeya H, Ohno H, Miyazaki Y, Utani A. *Rhizomucor variabilis* infection in human cutaneous mucormycosis. Clin Exp Dermatol. 36:312-314, 2011.

2) Nakayama H, Ueno K, Uno J, Nagi M, Tanabe K, Aoyama T, Chibana H, Bard M. Growth defects resulting from inhibiting ERG20 and RAM2 in *Candida glabrata*. FEMS Microbiology letters. 317:27-33, 2011.

3) Tsuda K, Nishiya N, Umeyama T, Uehara Y. Identification of LY83583 as a specific inhibitor of *Candida albicans* MPS1 protein kinase. Biochem Biophys Res Commun. 409:418-423, 2011.

4) Takahashi S, Toyoda A, Sekiyama Y, Takagi H, Nogawa T, Uramoto M, Suzuki R, Koshino H, Kumano T, Panthee S, Dairi T, Ishikawa J, Ikeda H, Sakaki Y, Osada H. Reveromycin A biosynthesis uses RevG and RevJ for stereospecific spiroacetal formation. Nat Chem Biol. 7:461-468, 2011.

5) Kinjo Y, Ueno K. iNKT cells in microbial immunity: recognition of microbial glycolipids. Microbiol Immunol. 55:472-482, 2011.

6) Miyazaki T, Izumikawa K, Yamauchi S, Inamine T, Nagayoshi Y, Saijo T, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Yasuoka A, Kohno S. The glycosylphosphatidylinositol-linked aspartyl protease Yps1 is transcriptionally regulated by the calcineurin-Crz1 and Slt2 MAPK pathways in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 11:449-456, 2011.

7) Kobayashi T, Kakeya H, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Ohno H, Yamamoto Y, Tashiro T, Kohno S. Synergistic antifungal effect of lactoferrin with azole antifungals against *Candida albicans* and a proposal for a new treatment method for invasive candidiasis. Jpn J Infect Dis. 64:292-296, 2011.

8) Ueno K, Matsumoto Y, Uno J, Sasamoto K, Sekimizu K, Kinjo Y, Chibana H. Intestinal Resident Yeast *Candida glabrata* Requires Cyb2p-Mediated Lactate Assimilation to Adapt in Mouse Intestine. PLoS One. 6:e24759, 2011.

9) Kinjo Y, Illarionov PA, Vela JL, Pei B, Girardi E, Li X, Li Y, Imamura M, Kaneko Y, Okawara A, Miyazaki Y, Gomez-Velasco A, Rogers P, Dahesh S, Uchiyama S, Khurana A, Kawahara K, Yashilkaya H, Andrew PA, Wong CH, Kawakami K, Nizet V, Besra GS, Tsuji M, Zajonc DM, Kronenberg M. Invariant natural killer T cells recognize glycolipids from pathogenic Gram-positive bacteria. Nat Immunol. 12:966-974, 2011.

10) Kohno S, Izumikawa K, Kakeya H, Miyazaki Y, Ogawa K, Amitani R, Niki Y, Kurashima A. Clinical efficacy and safety of micafungin in Japanese patients with chronic pulmonary aspergillosis: a prospective observational study. Med Mycol. 49:688-693, 2011.

11) Kaneko Y, Obata Y, Nishino T, Kakeya H, Miyazaki Y, Hayasaka T, Setou M, Furusu A, Kohno S. Imaging mass spectrometry analysis reveals an altered lipid distribution pattern in the tubular areas of hyper-IgA murine kidneys. Exp Mol Pathol. 91:614-621, 2011.

12) Tanabe K, Lamping E, Nagi M, Okawada A, Holmes AR, Miyazaki Y, Cannon RD, Monk BC, Niimi M. Chimeras of *Candida albicans* Cdr1p and Cdr2p reveal features of pleiotropic drug resistance transporter structure and function. Mol Microbiol. 82:416-433, 2011.

13) Girardi E, Yu ED, Li Y, Tarumoto N, Pei B, Wang J, Illarionov PA, Kinjo Y, Kronenberg M, Zajonc DM. Unique Interplay between Sugar and Lipid in Determining the Antigenic Potency of Bacterial Antigens for NKT Cells. PLoS Biol. 9:e1001189, 2011.

14) Miyazaki T, Izumikawa K, Nagayoshi Y, Saijo T, Yamauchi S, Morinaga Y, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Functional characterization of the regulators of calcineurin in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 11:621-630, 2011.

2. 和文発表

1) 金子幸弘, 宮﨑義継. 新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使い方のすべて VI. 主な感染症に対する実地医科の抗菌薬使用の実際／A. 主要感染症から見た抗菌薬の選択と使用の実際 43. カンジダ症, アスペルギルス症, クリプトコックス症. M. P. Medical Practice 臨時増刊号. 28:483-490, 2011.

2) 宮﨑義継, 金子幸弘. 新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使い方のすべて II. 抗菌薬の特徴とそれに基づいた使い方のコツとポイント 11. 抗真菌薬. M. P. Medical Practice 臨時増刊号. 28:137-141, 2011.

3) 大野秀明. 新版 感染症診療実践ガイド 有効な抗菌薬の使い方のすべて VI. 主な感染症に対する実地医科の抗菌薬使用の実際／A. 主要感染症から見た抗菌薬の選択と使用の実際 19. 髄膜炎, 脳炎. M. P. Medical Practice 臨時増刊号. 28:352-358, 2011.

4) 大野秀明. 中枢神経系真菌感染症における最近の動向. 最新医学. 66:997-1004, 2011.

5) 宮﨑義継. 各論 II. 各病原体別にみた病態, 診断, 治療 H. 真菌感染症 1. カンジダ症. 社団法人日本化学療法学会編. 感染症専門医テキスト 第I部 解説編. p1073-1076, 2011年, 南江堂, 東京.

6) 宮﨑義継. 各論 II. 各病原体別にみた病態, 診断, 治療 H. 真菌感染症 2. クリプトコッカス症. 社団法人日本化学療法学会編. 感染症専門医テキスト 第 I 部 解説編. p1077-1079, 2011年, 南江堂, 東京.

7) 宮﨑義継. 第II章 中級編 20.腎炎治療中に肺異常陰影を呈した症例. 社団法人日本化学療法学会編. 感染症専門医テキスト 第II部 ケーススタディ編. p239-244, 2011年, 南江堂, 東京.

8) 金城雄樹. インバリアントナチュラルキラーT 細胞による病原性のグラム陽性細菌のもつ糖脂質の認識. ライフサイエンス新着論文レビュー. 10月4日, 2011年.

9) 大野秀明. 多剤耐性結核感染症. 呼吸器内科. 20:507-513, 2011.

10) 金子幸弘, 宮﨑義継. 特集・病原真菌と真菌症の新たな理解に向けて 臨床 4. 深在性真菌症診断の現状と今後の展望. 化学療法の領域. 28:89-97, 2012.

11) 金子幸弘, 宮﨑義継. 4章 真菌感染症 4-3 コクシジオイデス症. 感染症事典編集委員会編. 感染症事典. p251-254, 2012年, オーム社, 東京.

12) 金城雄樹. 特集 I ／NKT 細胞の多様性とその機能 「NKT 細胞と感染免疫」. 炎症と免疫. 20:3-9, 2012.

13) 金子幸弘, 宮﨑義継. 内科医にとって必ず知っておくべき感染症を診る IV. 緊急性の高い感染症を診る 2. 血液培養陰性でも敗血症(severe sepsis). 前崎繁文・大曲貴夫・山口敏行編. 臨床感染症ブックレット 5巻. p62-71, 2012年, 文光堂, 東京.

14) 宮﨑義継. 2章 深在性真菌症における臨床的課題. 久米光、渋谷和俊監修. 深在性真菌症 病理診断アップデートレビュー. p17-22, 2012年, 協和企画, 東京.

15) 堀内一宏, 山田萌美, 白井慎一, 高橋育子, 加納崇裕, 金子幸弘, 秋沢宏次, 梅山 隆, 宮﨑義継, 矢部一郎, 佐々木秀直. 脳室内抗真菌薬投与が奏功した *Cyptococcus gattii* による脳および肺クリプトコックス症の一例. 臨床神経学. 52:166-171, 2012.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kinjo Y, Illarionov PA, Vela JL, Pei B, Li XJ, Kaneko Y, Miyazaki Y, Nizet V, Kawakami K, Tsuji M, Kronenberg M. NKT cells recognize glycolipids from *Streptococcus pneumoniae* and GBS. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.

2) Ishino K, Shibuya K, Hoshino Y, Ishikawa J. A role of LtsA in virulence of *Nocardia farcinica*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.

3) Ueki M, Koshiro N, Takahashi S, Oowada E, Ishikawa J, Toyoda A, Osada H. Biosynthetic pathway of new polyketides produced by *Streptomyces* sp. RK95-74. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.

4) Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y. Farnesol attenuates the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress (IUMS2011). September 6-10, 2011, Sapporo.

5) Kinjo Y, Tarumoto N, Ueno K, Okawara A, Shinozaki M, Shibuya K, Miyazaki Y. *Candida* sepsis induced by iNKT cell

activation. The 6th International Symposium on CD1 and NKT. September 23-27, 2011, Chicago, USA.

6) Li Y, Girardi E, Yu ED, Wang J, Tarumoto N, Pei B, Painter GF, Illarionov PA, Kinjo Y, Kronenberg M, Zajonc DM. Microbial glycolipid antigen recognition by invariant Natural killer T cells. The 6th International Symposium on CD1 and NKT. September 23-27, 2011, Chicago, USA.

7) Hoshino Y, Chiba K, Ishino K, Ishikawa J. Nocobactin NA Biosynthesis Gene Clusters in *Nocardia farcinica*. The 16th International Symposium on the Biology of Actinomycetes. December 11-15, 2011, Puerto Vallarta, Mexico.

8) Umeyama T, Yamagoe S, Tanabe K, Ohno H, Miyazaki Y. Mps1 kinase is essential for the growth in *Aspergillus fumigatus*. 5th Advances Against Aspergillosis. January 26-28, 2012, Istanbul, Turkey.

2. 国内学会

1) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida albicans* の代償機構の解明とその制御による治療の可能性. 第 108 回日本内科学会. 4 月 17-18 日, 2011 年, 東京.

2) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. カンジダバイオフィルムにおけるストレス応答とその阻害効果. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.

3) 金城雄樹, 金子幸弘, 樽本憲人, 大川原明子, 川上和義, 宮﨑義継. 自然リンパ球による肺炎球菌認識機構の解析. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.

4) 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. 遺伝子診断法を用いた土壌中に生息するヒストプラスマ属検出の試み. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.

5) 梅山 隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越 智, 渡邊 浩, 宮﨑義継. 福岡県筑後地区周辺におけるクリプトコッカス症多発発生例からの分離株の MLST による疫学的検討. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.

6) 筋野恵介, 樽本憲人, 山口敏行, 前崎繁文, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. *Rothia* 属菌により出血性脳梗塞を合併した感染性心内膜炎の 1 例. 第 85 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 21-22 日, 2011 年, 東京.

7) 宮﨑義継, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 渋谷和俊, 大野秀明. 診断ワークショップ 5 深在性真菌症の病理 深在性真菌症における臨床的課題. 第 100 回日本病理学会総会. 4 月 28-30 日, 2011 年, 横浜.

8) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida* バイオフィルムにおける抗真菌薬耐性関連遺伝子の発現調節. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5 月 21 日, 2011 年, 東京.

9) 徳山承明, 眞木二葉, 竹村 弘, 高木妙子, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継, 亀井克彦, 長谷川泰弘. 日本人 AIDS 患者に発症したマルネッフェイ型ペニシリウム症の一例. 第32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5 月 21 日, 2011 年, 東京.

10) 金城雄樹, 樽本憲人, 上野圭吾, 大川原明子, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮﨑義継. カンジダ敗血症マウスモデルにおける炎症反応の解析. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5 月 21 日, 2011 年, 東京.

11) 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* 属分泌蛋白質を標的にしたサンドイッチ ELISA 法によるアスペルギルス症診断系構築の試み. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5 月 21 日, 2011 年, 東京.

12) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 宮﨑義継. 国立感染症研究所における地域流行型真菌症への対応と現状. 第 32 回関東医真菌懇話会学術集会. 5 月 21 日, 2011 年, 東京.

13) 田辺公一. 薬剤耐性真菌のメカニズムと今日的課題. 第 21 回感染研シンポジウム. 5 月 20 日, 2011 年, 東京.

14) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の Mps1 キナーゼの新たな抗真菌薬ターゲットとしての可能性の検討. 第 59 回日本化学療法学会総会. 6 月 23-25 日, 2011 年, 札幌.

15) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida albicans* の biofilm における抗真菌薬に対する代償性の遺伝子発現. 第 59 回日本化学療法学会総会. 6 月 23-25 日, 2011 年, 札幌.

16) 大野秀明, 田辺公一, 杉田 隆, 畠山修司, 金子幸弘, 梅山隆, 山越 智, 亀井克彦, 宮﨑義継. 国内で初めて分離された VGIIa 型 *Cryptococcus gattii* 株の薬剤感受性と病原性についての検討. 第 59 回日本化学療法学会総会. 6 月 23-25 日, 2011 年, 札幌.

17) 大野秀明, 田辺公一, 梅山 隆, 金子幸弘, 山越 智, 宮﨑義継. クリプトコックス・ガッティ（*Cryptococcus gattii*）. 衛

生微生物技術協議会第32回研究会. 6月29-30日, 2011年, 東京.

18) 樽本憲人, 金城雄樹, 大川原明子, 上野圭吾, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮﨑義継. 糖脂質投与マウスの播種性カンジダ症増悪における免疫学的解析. 第 22 回日本生体防御学会. 6月29-7月1日, 2011年, 那覇.

19) 宮﨑義継. わが国における地域流行型真菌症の現況. 第三回長崎メディカルシンポジウム. 7月9日, 2011年, 長崎.

20) 宮﨑義継. 最近話題の真菌症―*Cryptococcus* 症など―. 臨床微生物研究会. 9月16日, 2011年, 岡山.

21) 宮﨑義継. 教育講演「抗真菌薬耐性の基礎と臨床」. 第 81 回日本感染症学会西日本地方会学術集会. 10月6-8日, 2011年, 小倉.

22) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida albicans* に対する既存薬と抗真菌薬との併用効果についての検討. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.

23) 金城雄樹, 樽本憲人, 大川原明子, 上野圭吾, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 宮﨑義継. 自然免疫の活性化による播種性カンジダ症マウスモデルの解析. 基礎・臨床シンポジウム 4「真菌と感染防御」. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10 月21-22 日, 2011年, 東京.

24) 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. アスペルギルス属の病原性制御にむけたアプローチ. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.

25) 三原 智, 泉川公一, 井手昇太郎, 平野勝治, 峰松明日香, 細萱直希, 永吉洋介, 田代将人, 中村茂樹, 今村圭文, 宮﨑泰可, 掛屋 弘, 山本善裕, 栁原克紀, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継, 田代隆良, 河野 茂. 長崎大学における *Cryptococcus* の Multilocus Sequence Typing (MLST)を用いた分子疫学調査. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10 月21-22 日, 2011年, 東京.

26) 梅山 隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越 智, 宮﨑義継. 標準化 MLST 解析法を用いたわが国のクリプトコックス属臨床分離株の分子疫学解析. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.

27) 大川原明子, 金城雄樹, 上野圭吾, 山越 智, 梅山 隆, 樽本憲人, 大野秀明, 新見昌一, 宮﨑義継. β 結合型マンノースを欠失したカンジダマンナンは樹状細胞の炎症性サイトカイン産生を増強する. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.

28) 村山琮明, 山田 剛, 槇村浩一, 星野泰隆. *Arthroderma vanbreuseghemii* の核型解析. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.

29) 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* の分泌蛋白質 B-11 およびそのホモログの検出系と病原性について. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10月21-22日, 2011年, 東京.

30) 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 杉田隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮﨑義継. 本邦初の北米流行型 *Cryptococcus gattii* 臨床分離株の実験的病原性解析. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10 月21-22 日, 2011年, 東京.

31) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. 日本とタイにおける遺伝子検出法を用いた環境生息ヒストプラスマ属の検出. 第 55 回日本医真菌学会学術集会. 10 月21-22 日, 2011年, 東京.

32) 大野秀明, 宮﨑義継. 真菌症診断の現状と課題. 第 128 回 ICD 講習会. 10月22日, 2011年, 東京.

33) 大野秀明. 高病原性クリプトコックス症の現状とその病態. ワークショップ 3 深在性真菌症の新たな展開－重症例、難治症例の病態と治療－. 第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.

34) 大野秀明, 大川原明子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 泉川公一, 藤井 毅, 竹村 弘, 岸 一馬, 河野 茂, 宮﨑義継. 日本国内で分離された *Cryptococcus* 属臨床分離株の血清型解析と抗真菌薬に対する感受性動向. 第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.

35) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. フルコナゾール感受性調整物質の探索. 第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.

36) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* Mps1 キナーゼの化学的・遺伝学的アプローチによる解析. 第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.

37) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄

樹, 杉田 隆, 畠山修司, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* 国内分離株の病原因子解析. 第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会合同集会. 10月26-28日, 2011年, 山形.

38) 堀内一宏, 山田萌美, 加納崇裕, 金子幸弘, 秋本幸子, 秋沢宏次, 梅山 隆, 大野秀明, 矢部一郎, 宮﨑義継, 佐々木秀直. *Cryptococcus gattii* によるクリプトコッカス症の1例. 第16回日本神経感染症学会学術集会. 11月4-5日, 2011年.

39) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 宮﨑義継. *Candida glabrata* 臨床分離株におけるキャンディン感受性と FKS 遺伝子の解析. 真菌分子細胞研究会. 11月12-13日, 2011年, 香川.

40) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 知花博治, 梶原 将, 大野秀明, 宮﨑義継. 病原真菌 *Candida glabrata* の細胞外ステロール獲得機構の解明. 真菌分子細胞研究会. 11 月 12-13 日, 2011年, 香川.

41) 樽本憲人, 大川原明子, 上野圭吾, 金城雄樹. iNKT 細胞の活性化による真菌感染の致死的病態の解析. 第 40 回日本免疫学会学術総会. 11月27-29日, 2011年, 千葉.

42) 石川 淳. 放線菌ゲノム解析と二次代謝産物生合成遺伝子情報の効果的利用. 「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3回公開シンポジウム. 12月3日, 2011年, 東京.

43) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. 抗真菌併用薬探索を目的とした既知化合物ライブラリースクリーニング. 2011年インターラボセミナー（日本細菌学会関東支部）. 12月10日, 2011年, 東京.

44) 星野泰隆. *Nocardia farcinica* のゲノム情報から見出したシデロフォア. 2011年インターラボセミナー（日本細菌学会関東支部）. 12月10日, 2011年, 東京.

45) 名木 稔, 大野秀明, 宮﨑義継. 病原真菌 *Candida glabrata* の鉄欠乏ストレス応答. 2011年インターラボセミナー（日本細菌学会関東支部）. 12月10日, 2011年, 東京.

46) 永松麻希, 高木妙子, 黒沢未希, 積田奈津希, 竹村 弘, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継, 亀井克彦. 邦人 AIDS 患者より *Penicillium marneffei* が分離された1例. 第23回日本臨床微生物学会総会. 1月21-22日, 2012年, 横浜.

47) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. 緑膿菌における quorum sensing 欠損株とホモセリンラクトナーゼ AiiM 誘導株の病原性比較. 第53回緑膿菌感染症研究会. 2月17-18日, 2012年, 東京.

48) 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. アゾール薬との併用薬の探索. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

49) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 宮﨑義継. キャンディン耐性 *Candida glabrata* 株の遺伝子解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

50) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* Mps1 キナーゼのケミカルジェネティクスによる解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

51) 三原 智, 泉川公一, 井手昇太郎, 平野勝治, 岩永直樹, 峰松明日香, 細萱直希, 田中章貴, 永吉洋介, 田代将人, 中村茂樹, 今村圭文, 宮﨑泰可, 掛屋 弘, 山本善裕, 栁原克紀, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継, 田代隆良, 河野 茂. 長崎大学における *Cryptococcus* の Multilocus Sequence Typing (MLST)を用いた分子疫学調査. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

52) 金城雄樹, 樽本憲人, 笹井大督, 篠崎 稔, 大川原明子, 上野圭吾, 前崎繁文, 渋谷和俊, 宮﨑義継. 自然リンパ球の活性化を介した播種性カンジダ症マウスモデルの免疫学的解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

53) 上野圭吾, 大川原明子, 山越 智, 中 崇, 梅山 隆, 樽本憲人, 大野秀明, 土江松美, 藤原永年, 金城雄樹, 宮﨑義継. *Candida albicans* の細胞壁マンナンによる炎症性サイトカインの誘導-β胞 1,2-マンノシドの抑制的関与について-. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

54) 大野秀明, 田辺公一, 杉田 隆, 畠山修司, 大久保陽一郎, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮﨑義継. マウス感染モデルを用いたアウトブレイク型 *Cryptococcus gattii* 株の病原性ならびに病原因子の解析. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

55) 大野秀明, 宮﨑義継. シンポジウム「深在性真菌症、病像の背景を探る」、ミニレクチャー「注意したいクリプトコックス症」. 真菌症フォーラム第13回学術集会. 2月18日, 2012年, 東京.

56) 井口光孝, 杉浦奈々, 杉浦一充, 大野秀明, 宮﨑義継, 八木

哲也. 院内発症の蜂窩織炎として顕在化した全身性クリプトコックス症の一例. 真菌症フォーラム第 13 回学術集会. 2 月 18 日, 2012 年, 東京.

57) 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎 稔, 宮﨑義継, 若山 恵, 笹井大督, 中山晴雄, 石渡誉郎, 職 玉珠, 田辺公一, 金子幸弘, 山越 智, 梅山 隆, 渋谷和俊. *Cryptococcus gattii* 感染症におけるマウス肺の病理組織学的解析. 真菌症フォーラム第 13 回学術集会. 2 月 18 日, 2012 年, 東京.

58) 大野秀明. 結核の現状と院内感染対策. 第 11 回感染対策カンファレンス. 2 月 24 日, 2012 年, 久留米.

59) 曹 志生, Yosi Nindita, 片岡憂祐, 荒川賢治, 田上道平, Alexander Lezhava, 志波 優, 吉川博文, 石川 淳, 木梨陽康. *Streptomyces rochei* 7434AN4 株の線状染色体の塩基配列解析. 日本農芸化学会 2012 年度大会. 3 月 22-26 日, 2012 年, 京都.

60) 槇村浩一, 山田 剛, 佐藤一朗, 村山琮明, 黒田 誠, 星野泰隆, 石川 淳. Draft genome analysis of tinea pathogen: *Trichophyton mentagrophytes*. 第 85 回日本細菌学会総会. 3 月 27-29 日, 2012 年, 長崎.

61) 村山琮明, 山田 剛, 槇村浩一, 星野泰隆, 石川 淳. Electrophoretic Karyotyping of *Trichophyton mentagrophytes sensu lato*. 第 85 回日本細菌学会総会. 3 月 27-29 日, 2012 年, 長崎.

62) 深澤秀輔, 益見厚子. クロマチン結合タンパク質 BET ファミリーによる細胞機能調節. 日本薬学会第 132 年会. 3 月 28-31 日, 2012 年, 札幌.

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生体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。

プリオン病研究においては、マウス・プリオン蛋白質(PrP)のアミノ酸領域 100-104 番目が異常型プリオン蛋白質 (PrP^{Sc}) への構造変換に必須であることを示し、謎の多い PrP^{Sc} 構造変換の分子モデル構築に資した。一方で、非定型 L-BSE プリオンのヒトへの経口感染のリスク評価等を目的としてサルを用いた感染実験を含む研究を継続して行った。

C 型肝炎ウイルス(HCV)感染に関する細胞レベルでの研究においては、RNA 干渉法を用いた網羅的探索により HCV 複製に必要な宿主因子を複数同定し、そのいくつかは HCV 感染との関わりにおいて新規な因子であった。宿主細胞のスクアレン合成酵素や自食作用オートファジーの機能に絞って HCV 増殖への影響を解析することも行い、それぞれに興味深い結果を得た。

ヒトパピローマウイルス(HPV)エピソーム様ゲノム 7.9 kbp の全長を増幅する方法を新たに開発した。偏性寄生クラミジア菌 Chlamydia trachomatis が自己の増殖する寄生胞へとセラミドを宿主細胞小胞体から運んで利用していること、さらに、これに関与する宿主細胞の鍵因子を明らかにした。

以上概説した研究の多くは所内外の病原体専門研究部との共同研究として遂行した。

当部では、感染症に関わる宿主細胞の遺伝学を積極的に展開している。本年度は昨年度に引き続いて、最新の方法論の導入や当部独自の手法の開発に取り組んだ。

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。また、所内外の委員会活動などにより医薬品の規制や品質管理・保証についてソフト面で貢献した。質量分析器を用いた蛋白質解析を通じての所内横断的業務も行った。

業　績

調査・研究

I. プリオン病に関する研究

（１）マウス・プリオン蛋白質（PrP）のアミノ酸領域 100-104 番目が異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）への構造変換に果たす役割の解析

プリオンが持続感染したマウス神経芽細胞腫（ScN2a 細胞）にマウス PrP の Lys^{100}、Ser^{102}、Lys^{103}、Pro^{104} をアラニンに置換した変異体を発現させると、変異体は ScN2a 細胞の内因性 PrP^{Sc} と会合するものの PrP^{Sc} 型へ変換されない。今年度は、当該領域の精査を進め、分子シミュレーション法などから提唱されている PrP^{Sc} 凝集体の推定構造に対して、生化学実験に基づく解釈を新たに付加することができた。[原英之､中村優子､大内史子､萩原健一]

（２）非定型 L-BSE プリオンのヒトへの経口感染のリスク評価等を目的とした研究

カニクイザルへの脳内接種実験から、L-BSE プリオンは霊長類へ伝播可能であることが明らかになっている。この知見を踏まえ、L-BSE プリオンに汚染された畜産物などをヒトが経口摂取した場合のリスク評価、ならびに経口感染が起こる場合のプリオンの体内分布や病理・生化学的特徴を孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）や変異型 CJD と比較することを目的として、L-BSE プリオンを含むウシ脳乳剤をカニクイザル（2 頭）へ経口投与し、経過の追跡を開始した。[萩原健一；柴田宏昭（医薬基盤研）；大藤圭子、小野史子（予防衛生協会)]

（３）ヒト神経細胞株を用いた従来型 BSE（C-BSE）および L-BSE プリオンの研究

変異型 CJD は C-BSE プリオンがヒトへ伝播したものである。一方､カニクイザルへの脳内接種実験の結果から、

L-BSE プリオンはヒト神経細胞にも感染すると推測されるが、ヒト由来の細胞を用いた実証例はこれまで無い。今回、ヒト・ニューロブラストーマを用いてC-ならびにL-BSE プリオンに対する感染の感受性を調べた。結果、複数の細胞株でC-／L-BSE プリオンの感染が確認され、それぞれの PrP^{Sc} の糖鎖型はBSE 罹患ウシの脳組織に検出されるC-／L-BSE プリオンに類似することが明らかとなった。[中村優子、萩原健一]

（４）PrP の糖鎖修飾部位の解析

PrP は２ヶ所の糖鎖付加部位を有し、二糖鎖、一糖鎖および無糖鎖型の PrP^{Sc} が病変部に蓄積する。C-BSE プリオンの PrP^{Sc} は二糖鎖型が多く、L-BSE プリオンの PrP^{Sc} は一糖鎖型が多いという生化学的な違いがある。糖鎖付加の相異がプリオンの物理的性状に関わる可能性が高く、興味深い。糖鎖付加部位を解明するため、今回、質量分析法による解析を試みたが、糖鎖付加部位をもつペプチド断片の溶解性が低く、解析困難であることがわかった。そこで、酵素消化したPrP 断片の電気泳動パターンから糖鎖付加部位を帰属する方法を新たに考案し、現在解析を進めている。[大内史子、萩原健一]

（５）プリオン感染の指標となる新規バイオマーカーの探索

プリオン（Obihiro I株）を脳内接種したマウスについて、接種後120日目において発現量に増減がある脳内蛋白質を検索した結果、分子量約50 kDaの蛋白質が顕著に増加していることを認めた。感染・発症の指標となる蛋白質候補として期待できることから、プロテオーム解析によりその同定を試み、α-internexinおよびvimentin（Vim）が候補として絞り込まれた。さらにVimについては、2次元電気泳動の結果から、発症に伴い等電点が負電荷側にシフトするような翻訳後修飾を受けていることがわかった。［原英之、大内史子、萩原健一］

（６）プリオン蛋白質遺伝子ノックアウト（*prnp*$^{-/-}$）マウスの小脳のプロテオーム解析

これまでに作出された複数系統の*prnp*$^{-/-}$マウスの中には、加齢に伴う運動失調や小脳プルキンエ細胞の脱落を生じるものがある。運動失調を示す*prnp*$^{-/-}$マウス(Nature, 400, 225-6, 1999）について、小脳のプロテオーム解析を行った。18ヶ月齢の*prnp*$^{-/-}$マウスと野生型コントロールの比較解析の結果、プルキンエ細胞に局在するcalbindinなどに量的な相異を認めた。しかし、SYPRO Rubyにより検出可能な蛋白質の大半については、量的に顕著な差が無いことがわかった。[大内史子、萩原健一]

II. C 型肝炎ウイルス（HCV）に関わる研究

（１）遺伝学的手法を用いたHCV に非感染性のHuh7.5.1 細胞変異株の分離

これまでにHCV に感染できない宿主肝細胞変異株の分離の系を確立し、CD81 欠損やClaudin1 欠損など各種細胞を分離してきた。この系を利用し、より効率的にHCV ライフサイクルに関与する宿主因子を同定するために、shRNA ライブラリを導入した細胞ライブラリを用いる方法を新たに試みた。分離されたHCV 非感染細胞から、導入されたshRNA を同定し、当該shRNA を導入した細胞を確立し確認実験を行った。その結果、PI4KIIIαなど複数の宿主因子が同定され、これらがHCV ライフサイクルに重要であることが明らかとなった。[深澤征義、山地俊之、花田賢太郎]

（２）HCV 感染におけるコリンの重要性

培養細胞を用いたHCV 感染系において、培地中からコリンを欠乏させると、HCV 感染が有意に低下することを見いだした。この結果は、HCV 持続感染細胞を用いても同様に見られた。コリンの取り込み阻害剤であるHemicholinium-3 によってもHCV 感染は（一過性感染の系および持続感染の系ともに）有意に低下することから、細胞内へのコリンの取り込みがHCV 感染に重要であることが考えられた。[深澤征義、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス２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進めた。その結果、野生型ウイルスであるJFH1 株が37℃において急速に感染性を消失していくのに対し、K74T あるいはI414T 単独変異ウイルスでは有意に感染性の低下が少なかった。K74T/I414T 変異ウイルスではさらに感染能が維持されていた。以上より、K74T、I414T 変異は、HCV 感染能の温度感受性にも重要であり、感染能の上昇に寄与していることが明らかとなった。[深澤征義、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２部）；鈴木哲朗(浜松医大)；白砂圭崇、千葉丈(東京理科大)]

（４）Squalene synthase を標的としたHCV 産生阻害

コレステロール生合成に必須であるsqualene synthase の阻害剤、YM-53601 は、培養細胞におけるHCV 産生を阻害する。コレステロールと脂肪酸からコレステリルエステルを合成する酵素の特異的阻害剤（Sandoz

58-035）の HCV 産生への効果を調べたところ、YM-53601 のような抗 HCV 効果は見られなかった。この結果から、コレステリルエステルレベルの低下は HCV 産生に影響しないと考えられた。YM-53601 は、細胞のコレステロールレベルとコレステリルエステルレベルを低下させるが、上記の結果から、コレステロールレベルが HCV 産生により重要であると示唆された。また、これまでに HCV の RNA 複製または翻訳過程に YM-53601 が作用する結果を得ていたが、今回、HCV internal ribosome entry site 下流にルシフェラーゼ遺伝子を配したレポーターRNA を用いて、同薬剤が HCV の翻訳を阻害しないことを示唆する結果を得た。従って、RNA 複製過程にコレステロールが関与すると考えられた。[齊藤恭子、花田賢太郎、深澤征義]

III. オートファジーに関わる研究

（1）オートファジーに関わる Atg7 の機能領域の解析

オートファジーを誘導する鍵酵素 Atg7（E1 酵素）の N 末端にある FAP 領域が、オートファゴソーム形成に必須の LC3 脂質化におけるユビキチン様修飾反応の E2 反応を介する酵素 Atg3 と基質 LC3 の反応に特異的に重要であることを示した。この領域は、同じ Atg7 が介するオートファジーの初期段階の隔離膜形成に必至な Atg12-Atg5 結合反応、Atg7 の 2 量体形成、ミトコンドリア特異的オートファジーに必要な Atg12-Atg3 結合体形成には影響がなく、LC3 反応に特異的に必須であった。[谷田以誠；山崎　学（微化研）；小松雅明（医学研）；上野　隆（順天堂大)]

（2）肝臓におけるオートファジーにおける血中アミノ酸代・グルコースレベルの研究

肝臓においてはオートファジーはグルコース産生・遊離アミノ酸生成・脂肪滴形成に関与している。マウス成体の肝オートファジーについては，さらにアミノ酸から糖新生によってグルコースを作りだし、血糖の維持にあずかることがわかってきた。オートファジーは血漿インスリンレベル低下が引き金になって誘導され、アミノ酸レベルの上昇（アミノ酸バースト）として起こり、糖新生鍵酵素である PEPCK が活性化される。アミノ酸バーストとこれに伴う糖新生系亢進は肝特異的オートファジー欠損マウスではみられず、血糖は野生型マウスに比べて有意に低下していた。[谷田以誠;江崎淳二、松元直美、竹田-江崎光江、高橋勝幸、平岡由佳、高ひかり、藤村努、岩田淳一、古屋徳彦、辺　澤華、多田 昇弘、木南英紀、上野隆（順天堂大）；小松雅明、田中啓二（医学研）；竹鼻健司（味の素)]

（3）脂肪肝とオートファジーの研究

C 型肝炎ウィルスは脂肪滴近傍でウィルス粒子のアセンブリをおこなうことが知られており、また C 型慢性肝炎患者には脂肪肝が多いことは知られている。そのため、脂肪肝におけるオートファジーの活性異常・変化を解析することは、オートファジー活性制御による脂肪肝抑制および C 型肝炎ウィルス抑制治療をめざした基礎研究として重要である。本研究においては、脂肪肝によりオートファゴソームの酸性化およびリソソーム内プロテアーゼ、カテプシン、の発現量が低下することにより、オートファジーによるタンパク質分解が阻害されることがわかった。[谷田以誠；稲見義宏、山科俊平、上野　隆、池嶋健一、渡辺純夫（順天堂大)]

（4）糸球体硬化における GABARAP の機能

GABARAP は LC3 のホモログとしてオートファジーに関わっていると考えているが、その生理的機能についてはほとんど解明されていない。今回、GFP-GABARAP トランスジェニックマウスを作成したところ、腎糸球体に顕著な GFP シグナルが認められた。ドキソルビシンを用いて糸球体障害を誘導したところ、GABARAP トランスジェニックマウスは野生型に比べ、顕著なタンパク尿と糸球体硬化が認められた。この時、GABARAP はオートファゴソームには局在せず、p62 と相互作用して凝集体を形成した。このことは腎糸球体において GABARAP はオートファジー以外の糸球体障害・回復に関わる機能を有していることを示唆している。[谷田以誠；高木美幸、浅沼克彦、多田昇弘、オリバ・トレホ ファン・アレハンドロ、浅沼悦子、木南英紀、上野隆、木南英紀、富野康日己 （順天堂大）；小松雅明 （医学研)]

IV. 細胞外環境変化を感知し応答する細胞内情報伝達システムの研究

（1）がん制御因子 PICT1 による核小体ストレス感知機構の解明

リボソーム生合成を制御する核小体タンパク質 PICT1 がリボソーム構成タンパク質 RPL11 と結合し、RPL11 の核小体への局在を制御することを見いだした。また PICT1 が様々なストレスに応答して分解されることによって RPL11 の核質への遊離を促し、その結果として MDM2 の不活性化を介して癌抑制因子 p53 の活性化を引き起こすことを見いだした。また PICT1 の発現量が食道癌、大腸癌の予後に影響することを見いだした。[前濱朝彦、花田賢太郎；鈴木聡（九州大）]

V. ヒトパピローマウイルスに関する研究

（1）PCR を用いた HPV16 エピソームの新規検出法の開

発

Long PCR に適した PCR 酵素を用いた Inverse PCR によって 7.9 kbp の HPV16 エピソームの全長を増幅する方法を新たに開発した。また本手法によって増幅された PCR 産物を HPV16 の包括的な変異解析等に利用できることを見いだした。[前濱朝彦、花田賢太郎；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター)]

VI. スフィンゴ脂質代謝と病原体に関する研究

（１）TMBIM ファミリーの機能に関する研究

スフィンゴ糖脂質 Gb3 は腸管出血性大腸菌の外毒素である志賀毒素（ベロ毒素）の受容体である。以前より複数回膜貫通タンパクの TMBIM ファミリータンパクが､Gb3 を低下させることで毒素による細胞死を抑制することを明らかにしている。本年度はこのファミリーのうち FAIM2 に着目し、その分子機構について解析を行ったところ以下の新たな知見を得た。(1)FAIM2 の細胞質領域と結合するタンパクとしてユビキチン E3 リガーゼの一種を同定した。 (2)FAIM2 の複数回膜貫通ドメインのうち TMBIM ファミリー間で保存されているアミノ酸に変異を入れると Gb3 発現低下能も失われた。[山地俊之、花田賢太郎]

（２）レンチウイルス shRNA ライブラリーによる志賀毒素関連因子の探索

レンチウイルス shRNA ライブラリーは、網羅的な宿主因子を同定するためのツールの１つとして期待される。以前ライブラリーを用いて志賀毒素関連因子の探索を行い、受容体 Gb3 の生合成に必須な酵素を同定している。ただし網羅性の観点から不十分であったことより、本年度ではより多くの因子を同定するため、以下の対策を講じた。(1)shRNA 効果の増強を狙い、shRNA 経路に関与する因子を過剰発現させた安定発現株を作製した。(2)上記と異なるレンチウイルス shRNA ライブラリーを新たに導入し、その条件検討を行った。今後これらを用いてスクリーニングを行う予定である。[山地俊之、花田賢太郎]

（３）培養細胞における遺伝子ノックアウト法の構築

RNAi による遺伝子発現抑制法はその簡便性より、培養細胞に対して広く用いられているが、その一方で発現が残るため表現型が出ない可能性も残される。このことは培養細胞においても遺伝子破壊の必要性・有用性を示すものである。以前遺伝子トラップ法による志賀毒素関連因子の探索について報告したが、この場合使用出来る細胞株が限られるため、より汎用性の高いシステムが求められる。これらの経緯を踏まえ、(1)Forward genetics として新たな遺伝子突然変異導入法の開発、(2)Reverse genetics として人工ヌクレアーゼによる遺伝子編集法の導入及び改良、を本年度より開始した。[山地俊之、花田賢太郎]

（４）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 はセラミドを小胞体からゴルジ体へと輸送するタンパク質である。CERT は小胞体膜蛋白質である VAP と結合し、この相互作用によって小胞体膜中に存在するセラミドの認識効率を上げていると考えられている。しかしながら、CERT と VAP の相互作用を調節するメカニズムについては分かっていなかった。これまでに当部では、CERT の特定の部位がリン酸化されると、CERT-VAP 間の結合が強化されることを明らかにしていたが、本年度はこの部位のリン酸化状態によって、実際にスフィンゴ脂質の生合成量が変化すること、即ち、セラミドの輸送量が変化することを明らかにした。また、この部位のリン酸化状態が各種刺激によって変化することを明らかにした。[熊谷圭悟、花田賢太郎]

（５）クラミジア増殖における宿主細胞 CERT の重要性

偏性細胞内寄生細菌 Chlamydia trachomatis の宿主細胞内増殖において、宿主細胞由来の CERT が重要であることを昨年度までに見出していた。CERT がゴルジ体へセラミドを輸送する際には、当該タンパク質中のプレクストリン相同(PH)ドメインの持つ phosphatidylinositol 4-monophosphate (PI4P)結合能が必要である。今年度は、C. trachomatis の寄生胞・封入体(inclusion)へ宿主細胞の小胞体からセラミドを運ぶように CERT が転用されていること、CERT PH ドメインの PI4P 結合能を欠いても inclusion へのセラミド輸送は起こることを示唆した。[花田賢太郎;Cherilyn A. Elwell, Joanne N. Engel (UCSF, USA)]

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（H23 年 8、9 月、H24 年 1、3 月)。また、試験薬 1 品目が平成 23 年末をもって製造販売中止となったことから、同等代替品の評価を行い、代替品を用いて従来の検査感度が達成可能であることを確認した（H24 年 2 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。[萩原健一、中村優子]

（２）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、・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、・その他（BSEプリオンの株、非定型BSEなど）の文献を2005-2011年の過去6年間にわたり調査し、厚生労働省本省からの資料収集の要請に対応した。[萩原健一、中村優子、原英之、大内史子；飛梅実（感染病理部）]

所内研修業務および所外委員会業務

（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’2011.10.24［萩原健一］

（２）(独)医薬品医療機器総合機構　**平成２３年度** GLP 評価委員会委員および医療機器 GLP 評価委員会委員[花田賢太郎]

国際的ガイドラインの策定

（１）2011 年 10 月 12-14 日にかけてスイス国ジュネーブ市で開催された世界保健機構(WHO)本部主催のワクチン規制制度強化の国際諮問：戦略的方向性、評価過程と指標(International consultation on vaccine regulatory system strengthening: strategic directions, assessment process and indicators, WHO/HQ)に参加して、WHO が世界中のワクチン NRA (National Regulatory Authority: 国家規制当局)を評価するための項目およびその内容を改訂する作業に携わり、ロットリリースおよびラボラトリーアクセスの機能に関するワーキンググループの一員として改訂案を策定した。［花田賢太郎］

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（AXIMA-QIT）の保守、運用を行った。今夏の節電対策要請時には、機器の稼働停止および再稼働による不測の故障を避けるために、必要とされる予防措置・点検を行った。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を管理した。機器およびソフトウエアは、所内（戸山・村山）の複数部のプロテオーム研究に携わる研究者が利用した。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 122 時間だった。［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) Hara, H., Okemoto-Nakamura, Y., Shinkai-Ouchi, F., Hanada, K., Yamakawa, Y., Hagiwara, K.: Mouse prion protein (PrP) segment 100 to 104 regulates conversion of PrP^{C} to PrP^{Sc} in prion-infected neuroblastoma cells. J. Virol. 86, 5626-5636, 2012

2) Nakano, I., Joshi, K., Visnyei, K., Hu, B., Watanabe, M., Wexler, E., Saigusa, K., Nakamura, Y., Laks, D.R., Mischel, P.S., Viapiano, M., Kornblum, H.I.: Siomycin A targets brain tumor stem cells partially through a MELK-mediated pathway. Neuro. Oncol. 13, 622-634, 2011

3) Yamamoto, M., Aizaki, H., Fukasawa, M., Teraoka, T., Miyamura, T., Wakita, T., and Suzuki, T.: The structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. J. Gen. Virol. 92, 2082-87, 2011

4) Arnaud, N., Dabo, S., Akazawa, D., Fukasawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Hugon, J., Wakita, T., and Meurs, E.F.: Hepatitis C virus reveals a novel early control in acute immune response. PLoS Pathogens 7, e1002289, 1-17, 2011

5) Tanida, I., Yamasaki, M., Komatsu, M., Ueno, T.: The FAP motif within human ATG7, an autophagy-related E1-like enzyme, is essential for the E2-substrate reaction of LC3 lipidation. Autophagy, 8, 88-97, 2012

6) Ezaki, J., Matsumoto, N., Takeda-Ezaki, M., Komatsu, M., Takahashi, K., Hiraoka, Y., Taka, H., Fujimura, T., Takehana, K., Yoshida, M., Iwata, J., Tanida, I., Furuya, N., Zheng, D.M., Tada, N., Tanaka, K., Kominami, E., Ueno, T.: Liver autophagy contributes to the maintenance of blood glucose and amino acid levels. Autophagy, 7, 727-736, 2011

7) Inami, Y., Yamashina, S., Izumi, K., Ueno, T., Tanida, I., Ikejima, K., Watanabe, S.: Hepatic steatosis inhibits autophagic proteolysis via impairment of autophagosomal acidification and cathepsin expression. Biochem Biophys Res Commun. 412, 618-625, 2011

8) Takagi-Akiba, M., Asanuma, K., Tanida, I., Tada, N., Oliva Trejo, J.A., Nonaka, K., Asanuma, E., Kominami, E., Ueno, T., Tomino, Y.: Doxorubicin-induced glomerulosclerosis with proteinuria in GFP-GABARAP transgenic mice. Am J Physiol Renal Physiol. 302, F380-389, 2012

9) Yamaji, T., Yamaguchi, Y., Mitsuki, M., Takashima, S., Waguri, S., Hashimoto, Y., Nara, K.: 3D modeling of a natural killer receptor, Siglec-7: Critical amino acids for glycan-binding and cell death-Inducing activity. Modeling and Simulation in Engineering, InTech, 103-116, 2012

10) Miyazaki, K., Sakuma, K., Kawamura, Y. I., Izawa, M., Ohmori, K., Mitsuki, M., Yamaji, T., Hashimoto, Y., Suzuki, A., Saito, Y., Dohi, T., Kannagi, R.: Colonic epithelial cells express specific ligands for mucosal macrophage immunosuppressive receptors siglec-7 and -9. J. Immunol. in press

11) Kumagai, K., Nishijima, M., Hanada, K.: Reconstitution assay system for ceramide transport with semi-intact cells. Methods Cell Biol. 108, 117-129, 2012

12) Abe, M., Makino, A., Hullin-Matsuda, F., Kamijo, K., Ohno-Iwashita, Y., Hanada, K., Mizuno, H., Miyawaki, A., and Kobayashi, T.: A role for sphingomyelin-rich lipid domains in the accumulation of phosphatidylinositol-4,5-bis-phosphate to the cleavage furrow during cytokinesis. Mol. Cell. Biol. 32, 1396-1407, 2012

13) Sasaki, M., Kawahara, K., Nishio, M., Mimori, K., Kogo, R., Hamada, K., Itoh, B., Wang, J., Komatsu, Y., Yang, Y.R., Hikasa, H,, Horie, Y., Yamashita, T., Kamijo, T., Zhang, Y., Zhu, Y., Prives, C., Nakano, T., Mak, T.W., Sasaki, T., Maehama, T., Mori, M., Suzuki, A.: Regulation of the MDM2-P53 pathway and tumor growth by PICT1 via nucleolar RPL11. Nat. Med. 17, 944-51, 2011

14) Yamaoka, Y., Yu, Y., Mizoi, J., Fujiki, Y., Saito, K., Nishijima, M., Lee, Y., Nishida, I.: Phosphatidylserine synthase 1 is required for microspore development in Arabidopsis thaliana. Plant J. 67, 648-661, 2011

2. 和文発表

1) 谷田以誠:オートファジー-リソソーム分解系～疾患・生理機能との関わりと分子機構、内分泌・糖尿病・代謝内科 33、319-325、2011

2) 谷田以誠、上野隆、和栗聡：オートファジーの評価方法、実験医学 29、2054-2062、2011

3) 花田賢太郎: 巻頭言　ワクチンの国家検定の国際調和, 厚生科学 WEEKLY, 498 号、2011

4) 内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、花田賢太郎：ワクチンの国家検定への SLP 審査制度の導入、日本ワクチン学会ニュースレター、21, 4-5、2012

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Okemoto-Nakamura, Y., Hara, H., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Hanada, K., Hagiwara, K.: Analysis of synaptic protein and cyclin-dependent kinase 5 in prion protein-deficient cells, PRION 2011, 2011.5.16-19, Montreal, Canada

2) Hara, H., Okemoto-Nakamura, Y., Shinkai-Ouchi, F., Yamakawa, Y., Hanada, K., Hagiwara, K.: Identification of novel PrP epitope modulating conformational change from PrP^{C} to PrP^{Sc}, Asian Pacific Prion Symposium 2011, 2011.7.10-11, Karuizawa, Japan

3) Ono, F., Kurosawa, A., Yamakawa, Y., Tobiume, M., Sato, Y., Katano, H., Hagiwara, K., Itagaki, I., Komatuzaki, K., Emoto, Y., Hamano, M., Shibata, H., Yasutomi, Y., Sata, T.: Quantitative analysis of histopathological changes and brain atrophy using volumetric MRI in transmission of classical and atypical (L-type) bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to cynomolgus macaques, Asian Pacific Prion Symposium 2011, 2011.7.10-11, Karuizawa, Japan

4) Fukasawa, M., Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Suzuki, R., Wakita, T., Hanada, K., Chiba, J.: Isolation of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, The 18th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2011.9.8-12, Seattle, USA

5) Aizaki, H., Matsumoto, Y., Goto, K., Watashi, K., Suzuki, R., Fukasawa, M., Hanada, K., Sato, S., Takahashi, N., Matsuura, Y., Motojima, K., Miyamura, T., Suzuki, T., Wakita, T. : Identification of lipid droplet-associated membrane proteins that are involved in HCV production, The 18th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2011.9.8-12, Seattle, USA

6) Ogawa, M., Fukasawa, M., and Uchiyama, T.: Infection with the obligated intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi*, a causative agent of scrub typhus facilitates formation of lipid droplets in L-929, mouse fibroblast cells, IUMS2011, 2011.9.6-16, Sapporo, Japan

7) Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Chiba, J., Fukasawa, M. : Isolation and characterization of a highly infectious hepatitis C virus with adaptive mutations, IUMS2011, 2011.9.6-16, Sapporo, Japan

8) Fukasawa, M., Anai, R., Shirasago, Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., Chiba, J., Hanada, K.: Isolation of a hepatitis C virus mutant adapted to mouse CD81 in hepatic cell culture system, The 51th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, 2011.12.3-7, Denver, USA

9) Tanida, I., Koike, M., Ueno, T., Uchiyama, Y.: Ubiquitin modifies an autophagic modifier to inhibit ALIPS formation、Gordon Research Conferences "Autophay in Stress, Development and Disease", 2012.3.11-17, Ventura, CA, USA

10) Tanida, I.: FAP motif within human ATG7 is essential for the E2-substrate reaction of LC3 lipidation, The Second Japan-Sino Autophagy Symposium, 2011.10.5-7, Shonan, Japan

11) Hanada, K.: Intracellular trafficking of ceramide by the ceramide transfer protein CERT, The Annual Fall Scientific Conference of the Korean Society of Lipidology and Atherosclerosis, 2011.9.2-3. Seoul, Korea

2. 国内学会

1) 原英之、中村優子、大内史子、山河芳夫、花田賢太郎、萩原健一:PrP^{C}→PrP^{Sc}構造変換を調節するマウスプリオンタンパク質95-104領域の役割、第34回日本分子生物学会年会、2011.12.13-16、横浜

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：スクワレン合成酵素を標的としたC型肝炎ウイルス産生阻害、第53回日本脂質生化学会、2011.5.12-13、東京

3)前濱朝彦、深澤征義、伊達朋子、脇田隆字、花田賢太郎:イノシトールリン脂質によるC型肝炎ウイルス増殖の制御、第84回日本生化学会大会、2011.9.21-24、京都

4) 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：培養細胞およびヒト肝キメラマウスのC型肝炎ウイルス感染モデルを用いたスクアレン合成酵素阻害剤の抗ウイルス効果の解析、第84回日本生化学会大会、2011.9.21-24、京都

5) 白砂圭崇、穴井凉、花田賢太郎、葛西正孝、深澤征義：ヒトTRAX蛋白質の発現量の制御、日本薬学会第132年会、2012.3.29-31、札幌

6)山地俊之、西川喜代孝、花田賢太郎：TMBIM ファミリーの糖脂質生合成への影響とその制御機構、第 84 回日本生化学会大会、2011.9.21-24、京都

7) 櫻井祐介、山地俊之、花田賢太郎、樺山一哉：糖脂質再構成細胞における受容体活性と膜流動性の関連性の解析、第 84 回日本生化学会大会、2011.9.21-24、京都

8) 谷田以誠、小池正人、上野隆、内山安男: 新奇構造体 ALIPS 形成抑制のためのユビキチン・プロテアソームによる ATG12 分解制御, 第３４回日本分子生物学会年、2011.12.15、横浜

9) Françoise Hullin-Matsuda、冨重斉生、牧野麻美、石塚玲子、石井久美子、Elad Lavee Laviad、Anthony Futerman、Michel Lagarde、Hubert Vidal、花田賢太郎、小林俊秀:抗がん性リモノイドは CERT による小胞体からのセラミドの引き抜きを阻害することによりスフィンゴミエリン合成を阻害する、第６回スフィンゴテラピー研究会、2011.7.15-16、米子

10) 花田賢太郎: 日本におけるワクチン国家検定制度、バイオロジクスフォーラム第９回学術集会、2012.2.22、東京

11. 昆虫医科学部

部長　小林　睦生

概　要

平成 23 年度, 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 3 名，流動研究員 2 名，研究生 2 名，実習生 1 名，臨時職員 2 名の協力で推進された．当部は 3 室で構成されるが，室間の積極的な相互協力の下に，以下の業務・研究活動が遂行された．I.衛生昆虫の分布に関する調査・研究，および媒介生態に関する研究（第 1 室），II.衛生昆虫類からの病原体の分離と検出, および媒介生理に関する基礎的研究（第 2 室），III.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（第 3 室）．

平成 23 年 3 月 11 日，東北地方太平洋沖を震源とした巨大地震が発生し，その直後に大津波が福島・宮城・岩手・青森の 4 県約 400km^2 の地域を襲った．地表面に存在した建造物のほとんどすべてが破壊され，河川流域の水田地帯は, 地盤沈下や津波がもたらした瓦礫が集積し，塩水の侵入により完全に耕作不適となった．その後，瓦礫内に放置された冷凍魚貝類等の腐敗によるハエ類の大発生が 5 月上旬から顕在化し，夏季の疾病媒介蚊の発生を危惧する報道も増加した．これに対して昆虫医科学部は，6 月 2 日に「被災地・避難所の感染症対策における衛生昆虫の問題点」を発表し，その後の環境省，厚生労働省からの通知に繋がった．このような状況を鑑み，平成 23 年度の調査・研究課題に，地震や津波が疾病媒介昆虫類の分布と発生状況に及ぼす影響を評価するための調査・研究を新たに加えるべきと考えた．調査地として選んだ多くの地域において過去の資料は少なく，地震・津波の影響を正確に過去と比較することは不可能であるが, 少なくともこの未曽有の大規模自然災害の被災地の現状と，崩壊した自然環境が今後どのように回復していくのかを，ハエ・蚊を中心とした衛生昆虫類の発生状況調査として記録に残す必要があると考えた．これまでの調査結果は学会，学会誌等で発表された．また，掲載論文の抜き刷りを中心に構成した「東日本大震災被災地における衛生害虫の発生状況調査と対策に関する記録」が厚生労働省科学研究費補助金により発行された．

平成 23 年度, 部員は多くの時間を東北地方被災地での調査と解析に費やしたが，国内における調査・研究の継続にも努めた．例えば，平成 22 年度は口蹄疫の問題で豚舎への立ち入りが困難であったことから日本脳炎媒介蚊調査は実施できなかったが，平成 23 年度は，定点の一つである熊本県において媒介蚊調査とウイルス分離を再開した．日本脳炎ウイルス媒介蚊の国内越冬と海外飛来に関しては, 蚊の飛翔能力, ウイルス感受性評価等を加え，生理・生態学的観点から解明を試みている．昆虫特異的フラビウイルスのリバースジェネティクス系の確立は新たな成果であった．デング熱・チクングニア熱の我国への侵入の危険性が年々高まっていることから，国内での主要な媒介蚊と想定されるヒトスジシマカの調査は継続し，本州北部への分布域拡大を温暖化との関連性から考察した．ヒトスジシマカの殺虫剤抵抗性に関しては，*in vivo* ペルメトリン代謝試験や過剰発現するピレスロイド剤抵抗性遺伝子の探索等の基礎的研究成果も蓄積されてきており，ハエ類，アタマジラミ，トコジラミ等のピレスロイド系，有機リン系殺虫剤に対する抵抗性の全国モニタリングも継続した．一方，医療機関，地方自治体，警察等から昆虫・ダニ等の同定依頼を受け，レファレンス業務の一環として適切に結果報告を行った．

アジアネットワークの協力体制の下に平成 23 年度は，フィリピンの捕集蚊からウイルス分離を行い，数種類の感染性因子の存在を確認した．また，デング熱患者の住居周辺で成虫を捕集し，ネッタイシマカが優先種であること，ネッタイシマカのピレスロイド系殺虫剤感受性はヒトスジシマカよりも低いことを明らかにした．ベトナムでは, 幼稚園児を対象にアタマジラミ保有率を調査し，シラミからの塹壕熱バルトネラ属菌遺伝子検出法に関する技術提供を行った．新たに開始した台湾 CDC との協力研究により渡り鳥飛来地で媒介蚊調査を行った．ネッタイイエカの薬剤抵抗性の原因となる *CYP9M10* ハプロタイプの進化と分布に関する研究，ならびにハエ類を主とした分布調査はアジア全域を視野に入れた研究である．

以上の研究活動の多くは，各種研究費の補助を受けて実施されたが，地方自治体およびアジアネットワークの

の研究協力機関との連携により遂行することができた．昆虫医科学部は少ない人員ではあるが，国内の媒介昆虫対策の基盤となる情報を発信するとともに，アジアの中核と言える研究の拠点となることを目標としている．

業　績

調査・研究

Ⅰ．衛生昆虫の分布に関する調査・研究，および媒介生態に関する研究

1.　衛生昆虫の分布に関する調査・研究

(1) 東日本大震災の被災地における疾病媒介蚊調査（宮城県南部水田地帯）

宮城県南部の水田地帯を対象として，津波による環境破壊が蚊の発生量と分布にどのような影響を与えているかを明らかにするために現地調査を行った．4 属 9 種類 6,542 個体の成虫が採集され，アカイエカ，イナトミシオカ，コガタアカイエカ，ヒトスジシマカが優占種であった．ヒトスジシマカ以外の優占種はみな，津波被害を受けた地域での密度の方が被害を受けなかった地域よりも有意に高かった．

［津田良夫，金京純；長谷山路夫（成田空港検疫所）；石田恵一（仙台検疫所）；新妻淳（東京検疫所）；柳大樹（成田空港検疫所）；渡邉希（成田空港検疫所)］

(2) 東日本大震災の被災地における疾病媒介蚊発生状況調査：福島県北部と宮城県南部沿岸部の比較

東日本大震災の地震と津波による環境破壊が疾病媒介蚊の発生にどのような影響を与えているかを明らかにするために，福島県北部海岸沿いの水田地帯を対象として 2011 年 9 月に幼虫調査を実施した．津波被災地には様々な塩分濃度の水域が形成され，その約 80%に蚊の幼虫が発生していた．発生が確認された種類は，イナトミシオカ，コガタアカイエカ，シナハマダラカ/エセシナハマダラカ，アカイエカであった．水域の塩分濃度が 0～1%程度であれば，イナトミシオカやコガタアカイエカ，シナハマダラカの幼虫発生源として利用されることが示唆された．

［津田良夫］

(3) 岩手県におけるヒトスジシマカの分布調査（2011 年)

2010 年の岩手県環境保健研究センターによる岩手県内 10 市 6 町の計 146 カ所のヒトスジシマカ生息調査で，2009 年の盛岡市仙北地区の 1 カ所の発生源から周辺の半径 150m 以上にわたって分布域が拡がっていたこと，その他同市内玉山区 1 カ所でも分布が確認された．2010 年に釜石市の北約 15km に位置する大槌町の寺院の墓地でヒトスジシマカが確認された．津波によって墓地が激しく破壊されたが，2011 年の調査で，寺社裏山斜面にある墓地の花立てからヒトスジシマカが確認された．また，盛岡市内では大慈寺町内の寺院に隣接する墓地および下ノ橋町の駐車場において多数のコロニーが確認された．

［小林睦生，駒形修，二瓶直子，沢辺京子；千崎則正，松本文雄，安部隆司（岩手県環境保健研究センター)］

(4) 東日本大震災による津波被災市街地における蚊幼虫の発生状況

2011 年 3 月 11 日の東日本大震災で発生した大津波は，福島県・宮城県・岩手県・青森県など 4 県の約 400km^2 の地域に甚大な被害をもたらし，地表面に存在した建築物の多くは流出した. しかし, これら建築物跡地の基礎, 多数の浄化槽, 浄化槽関連のタンク等の構造物が点在し, 高率に水が溜まっていた．これらの構造物の蚊幼虫の発生状況調査を 7 月から 9 月にかけて宮城県および岩手県の被災地で試みた．また，塩類濃度と蚊幼虫の種類との関係も検討した．浄化槽等の塩分濃度は 0－2.5%と幅があり，0.1－2.5%の水域にはトウゴウヤブカ，0－1.4%の水域にはアカイエカ・ヤマトヤブカ・シナハマダラカが発生していた．現在，被災地にはほとんど人が住んでいないが, 蚊の刺咬被害が発生する可能性は否定できない. 大量発生した蚊の多くは越冬したと考えられ，翌春からの大量発生に結びつくことが予想され，抜本的な防除対策が必要と考えられる．

［小林睦生，葛西真治，冨田隆史，沢辺京子，二瓶直子，林利彦；渡辺登志也（防疫殺虫剤協会）；橋本知幸，武藤敦彦（日本環境衛生センター）；吉田政弘（いきもの研究社)］

(5) 京都市市内における感染症媒介蚊の発生状況の特徴

ウエストナイル熱等蚊媒介性感染症侵入に備えて，都市部住宅地域に生息する蚊種とその密度の情報収集を，歴史的建造物も多く現存し，国内外の観光客が多く訪れる京都市市内で実施した．京都特有の町屋を含む個人住

宅 20 軒と世界遺産に登録されている古刹の 2 寺で，6 月～11 月にドライアイス 1kg を誘引源とする CDC トラップおよび 8 分間人囮法により成虫を捕集した．その結果，アカイエカ群，ヒトスジシマカ，コガタアカイエカ，シナハマダラカその他計 11 種類が捕集された．CDC トラップでは一晩に最大 272 個体のアカイエカ群が捕集された町屋定点があり，また 8 分間スウィーピング法では，一回平均 12.5 個体であるのに対し，最大 103 個体のヒトスジシマカが捕集された寺院内の定点もあった．定点間の捕集数や蚊種の違いを，トラップ周囲の環境条件から説明するため，緑被分布図および下水道台帳などを資料とし，GIS および回帰分析をして検討している．

［二瓶直子，津田良夫，小林睦生，渡辺護；米島万有子（立命館大院），中谷友樹（立命館大），大西修（京都市衛研），前田秋彦（京都産業大）］

(6) 釧路湿原周辺で捕集された *Anopheles belenrae* の形態的特徴および系統解析

北海道釧路湿原において，2004 年以降ほぼ毎年捕集され，定着が示唆されている *Anopheles belenrae* の遺伝子情報ならびに形態的特徴に基づき，国内に分布する近縁のハマダラカの遺伝学的関係を整理した．2010 年 7 月 6－9 日，釧路湿原周辺の 6 地点で採集されたハマダラカ幼虫の蛹期において形態分類学上重要な鑑別点となる剛毛式の観察を行った．本種の各剛毛の分岐数の計測値では，近縁の 2 種（シナハマダラカ，エンガルハマダラカ）との種間差を示すような部位は見出せなかったが，ITS2 および COI 領域を基に行った系統解析の結果では，上記 3 種類の分類が可能であることが示唆された．

［沢辺京子，金京純，津田良夫，小林睦生；今西望，糸山享（明治大院）；高井憲治（聖マリアンナ医大）］

(7) 国内におけるアカイエカ種群の分布調査

欧米諸国においてウエストナイルウイルスの重要な媒介蚊とされるアカイエカ種群（*Culex pipiens* グループ）のアジアにおける分布域はあまりはっきりしていない．我々はこれまでに，2009 年および 2010 年に九州各県に設置された移動性昆虫捕獲トラップにアカイエカ種群が含まれていたことを報告してきたが，PCR 法を基にそれらの遺伝子解析を行った結果，アカイエカ種群の中に，これまで奄美諸島や小笠原諸島以外での分布報告がなかったネッタイイエカが，鹿児島県や長崎県壱岐市で捕集されていたことが判明した．ネッタイイエカの分布北限を考察する上で重要な情報となることが期待される．

［Sudipta Roychoudhury，沢辺京子，渡辺護，小林睦生；松村正哉，大塚彰（九州沖縄農研センター）；衛藤友紀（佐賀県農試センター）；梁瀬徹（動衛研・九州）］

(8) 台湾および石垣島の渡り鳥飛来地における疾病媒介蚊調査

渡り鳥飛来地に生息する疾病媒介蚊に着目して，台湾と石垣島の水田地帯で媒介蚊採集を行った．台湾の調査地では 13 種類，石垣島の調査地では 18 種類の蚊が採集され，うち 9 種類が共通していた．媒介蚊相の違いは調査地の周辺環境の違いを反映しており，集落が隣接する台湾の調査地では，人工容器に発生するヒトスジシマカとネッタイイエカが多かった．台湾調査地に隣接する水田地帯で *Cx. annulus* と思われるサンプルが 2 サンプル得られた．幼虫の形態は *Cx. vishnui* と区別できず，分子生物学的手法を用いた詳しい検討が必要である．

［津田良夫，金京純］

(9) 震災後の石巻市内におけるハエ類成虫の捕獲成績

東日本大震災後のハエ類の発生に関して，宮城県石巻市で調査を行った．ハエの捕獲は，30×30cm の粘着トラップを市内の避難所食堂の内外壁に 7～10 日間設置し，捕集されたハエ数を種ごとに算出した．平均捕獲数は 6 月 8～17 日は 35 頭/トラップ/日で，6 月 24～30 日には 128 頭/トラップ/日と明らかに増加した．最高捕獲数は，7 月 13～19 日の 248 頭/トラップ/日であった．食堂内のハエの種構成は，90%以上がイエバエ科であり，屋外のトラップではイエバエ以外にクロキンバエなどクロバエ類の比率が 50%に達し，屋内と屋外での種構成に大きな差が認められた．これらの違いがイエバエの病原体伝播に関係していると考えられる．7 月下旬から 10 月下旬までハエの捕獲数は増加しなかった．

［小林睦生；橋本智彦，武藤敦彦（日本環境衛生センター）；渡辺登志也（防疫殺虫剤協会）］

(10) 東日本大震災および津波被災地におけるハエ類大発生に関する調査研究

東日本大震災による津波被災地でハエ類が大量発生し，付近住民に被害を及ぼした事に関しては多くの報道で知らされた．我々は 4 月から 11 月まで，被災地を訪れ発生

状況を調査した．大量発生し，住民に被害を与えた種は季節と共に変化し，5 月から 6 月中旬まではオオクロバエ, 6 月から 7 月にはクロキンバエ, 7 月以降はイエバエが多く発生した．津波により散乱した魚類からはオオクロバエ・クロキンバエが発生し，魚の処理が終了した 7 月中旬頃には発生がほぼ終息したが，瓦礫周辺ではその後もイエバエの発生が観察された．

［林利彦，渡辺護，小林睦生］

(11) 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

昨年に引き続き東洋眼虫の中間宿主の調査を行った．調査地は東京都野鳥公園で, 4 月から 10 月まで定期的にマダラメマトイ属のショウジョウバエ類を採集した．採集されたのはマダラメマトイ *Amiota okadai* とオオマダラメマトイ *A. magna* の 2 種のみで, これらの種が東洋眼虫を媒介しているものと考えられるが，現在までに虫体内から感染幼虫を発見することはできていない．

［林利彦；三好康子（動物愛護相談センター）］

(12) 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

東洋区産フンコバエ科で，台湾から 2 新種を含む *Paralimosina* 属 4 種を記録した．本属は台湾からは従来知られていなかった．また，中国・ラオス・ベトナム産 *Eximilimosin*a 属の 1 新種を記載した．*Minialula poeciloptera* を日本から初めて記録し，*Eulimosina dudai* をスリランカ, ネパール, インドネシア・スラウェシ島, 日本から初めて記録した．

［林利彦］

2. 衛生昆虫の媒介生態に関する研究

(1) コガタアカイエカの越冬に関する野外調査（2010 年秋－2011 年春）

コガタアカイエカの集団飛来が 2010 年 9 月中旬～12 月の期間，東京都の都市域にある公園で再確認された．2010 年の飛来密度は 2007 年と同レベルで, 2008 年の 1/3 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 2.4%，休眠している個体の割合は 90.5%で，2007 年～2009 年の調査結果とほぼ同様の結果であった. 2008 年～2010 年の解剖結果を集計したところ, 経産雌の休眠率は 29%（7/27）で，未経産雌の 96%（590/616）よりも低く，統計的に有意であった．また，産卵経験があり，且つ休眠している個体の割合は 1.0%（7/640）と推定された．翌春の捕獲個体数は合計 29 雌であった．

［津田良夫，金京純］

(2) 疾病媒介蚊の移動分散範囲に関する研究

上野動物園で 2009 年に採集されたアカイエカの吸血蚊を用いて，吸血源動物の同定を行った．131 個体のサンプルを分析し, DNA の塩基配列の類似性によって鳥類 17 種と哺乳類 5 種が吸血源となっていると推定された．これらの吸血源動物の中で飼育場所が特定できるものについて飼育場所と吸血個体が採集された場所の距離を測定し，吸血後のアカイエカの移動分散距離を求めた．その結果，アカイエカは吸血後数日間に少なくとも 350m を移動すると結論した．

［津田良夫；江尻寛子，佐藤雪太，村田浩一（日本大）；原樹子（上野動物園）］

(3) 西宮市公園の植生に潜むヒトスジシマカの捕集

ヒトスジシマカの都市部における発生源として, 道路, 公園，マンション，公共施設等に多数存在する雨水マスが重要である．雨水マスで発生した成虫は，マス内には留まらず，周辺環境に存在する種々の植生に速やかに移動し，戸建て住宅や公園の植生に潜んで吸血源動物を待つと考えられている．そこで，西宮市内の公園で 2×2.5×1.9m の蚊帳を個々の植生に被せ，その中に採集者が入って成虫を捕集し，潜んでいる蚊の数と植生の関係を評価した．その結果，ヒペリカム，サザンカ，オカメズタ，ヨモギでは成虫捕集率（陽性植生/調査植生）が 60%を越え，その他に，ツツジ，ユキヤナギ，クチナシ，ナンテンも 40%を越えた．捕集数は 1－120 頭と大きな差が認められ，1 カ所の植生当り 5 頭以上の捕集数を示す植生の平均は 5.0－70.5 頭となった．公園の植生には相当数のヒトスジシマカが潜んでいることが明らかとなった．

［小林睦生，二瓶直子，駒形修；吉田政弘（いきもの研究社）；平良常弘（西宮市環境衛生課）］

(4) 西宮市市街地の雨水枡における蚊の発生と地表面傾斜との関係

効果的な感染症媒介蚊の防除法を開発するために，西宮市において，雨水枡に生息する幼虫の地域差をもたら

す要因の一つとして地表面傾斜を検討した．地表面傾斜の角度については，調査地域全域の国土基本図から標高差と距離を計測して算出する方法と，調査地を含む広域を GIS を用いて電子地図から傾斜分布図を作成し読み取る方法によった．有水雨水桝の数，有水率，有水雨水桝の幼虫発生率は傾斜が小さいほど高い傾向が認められ，地表面傾斜は，蚊防除対策の優先順位の重要な基準となると考えられる．

［二瓶直子，駒形修，小林睦生；吉田政弘（いきもの研究社），平良常弘（西宮市環境衛生課）；望月貫一郎（パスコ)］

Ⅱ．衛生昆虫類からの病原体の分離と検出，および媒介生理に関する基礎的研究

1．節足動物からの病原体の分離と検出

(1) 蚊捕集調査および蚊が保有するウイルスの検出と分離

フィリピンにおいて 2009 年 6 月から 2010 年 4 月にかけて捕集された合計 13 種 10,039 頭の蚊をウイルス分離に供した．日本脳炎ウイルスは分離されなかったが，18 プールに CPE を認め，電子顕微鏡的観察により少なくとも 5 種類の感染性因子の存在が示唆された．遺伝子解析および性状解析を実施中である．2010 年 10 月にデング熱の流行が報告されたルソン島中央部の患者宅周辺 4 地点において成虫調査を行い，合計 7 種 1,861 頭を捕集した．本地域におけるデング熱の主要な媒介蚊はヒトスジシマカではなくネッタイシマカであると推察された．また，野外にてピレスロイド系殺虫剤感受性簡易試験を行った結果，ネッタイシマカの感受性はヒトスジシマカよりも低かった．

［鍬田龍星，伊澤晴彦，佐々木年則，小林睦生，沢辺京子；Arlene G. Bertuso（フィリピン大マニラ校，フィリピン）；比嘉由紀子（長崎大熱研)］

(2) 日本脳炎ウイルスの国内越冬に関する実験的検証

本研究では，日本の冬季に日本脳炎ウイルス（JEV）がどのような生態をなしているのかを明らかにすることを目的とし，JEV を蚊に感染させ，越冬を想定した飼育条件で蚊を飼育し，蚊のウイルス感受性を検討した．その結果，冬季にイノシシから JEV が分離された報告があり，JEV は国内では，イノシシや蚊の体内で越冬する可能性が高いことが示唆された．

［佐々木年則，鍬田龍星，伊澤晴彦，星野啓太，津田良夫，小林睦生，沢辺京子；小滝徹，高崎智彦（ウイルス第 1 部）；平良常弘 （西宮市環境衛生課）］

2．媒介生理に関する基礎的研究

(1) Culex flavivirus 感染性 cDNA の構築

本邦 *Culex* 属蚊から初めて発見された昆虫特異的フラビウイルスの一種 Culex flavivirus（CxFV）は，近年世界各地の *Culex* 属蚊にも広く分布していることが明らかになってきた．本研究では，CxFV の感染性 cDNA クローンによるリバースジェネティクス系を確立し，昆虫特異的フラビウイルスの増殖・病原性・宿主特異性など解析に有用な新たな実験系の構築を試みた．その結果，低コピープラスミドである pMW119 を用いることで CxFV の感染性 cDNA クローンの構築に成功し，昆虫特異的フラビウイルスのリバースジェネティクス系が初めて確立された．

［伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，沢辺京子；田島茂，高崎智彦（ウイルス第 1 部)］

(2) 蚊類の飛翔能力の解析と評価

2009 年および 2010 年に九州各地に設置された飛来昆虫定点トラップに捕獲されたウンカ類の中にアジア型コガタアカイエカが存在した．フライトミルによる飛翔実験から，コガタアカイエカの長距離飛翔が明らかになり，25℃ で飼育し 20℃ 下で飛翔させた場合にもっとも長く飛翔した（最高 38 時間連続で飛翔）ことから，本種蚊が上空約 800－1,000m の下層ジェット気流で運ばれる可能性が示唆された．NOAA が提供する気象情報を基に後方流跡線解析を行った結果，例えば，2009 年 7 月 11 日に佐賀市で捕集されたアジア型コガタアカイエカは，その 36－24 時間前に中国大陸，あるいは東シナ海上で発生した風に乗って飛来した可能性が高いと推察された．

［沢辺京子，Sudipta Roychoudhury，鍬田龍星，小林睦生；今西望（明治大院）；新井智，多屋馨子，岡部信彦（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（佐賀県農試センター）；梁瀬徹（動衛研九州)］

(3) 東日本大震災被災地において捕集されたアカイエの吸血パターン

2011 年 3 月に発生した東日本大震災後の 7 月に，宮城県の津波被災地 3 地点において，吸血アカイエカを合計 42 頭捕集した．遺伝子解析によりそれらの吸血源動物種の推定を行った結果，吸血蚊の 93%が鳥類（主にスズメ）を吸血し，哺乳類（ヒト，ネコ，イヌ等）を吸血していた個体は僅かに 7%であったことが示唆された．これまでに報告された大都市住宅地で捕集されたアカイエカは，鳥類と哺乳類を同程度に吸血していたが，一方，路上生活者が多い大阪城公園では，94%が哺乳類（ヒトとネコ）を吸血し，鳥類は 27%（主にカラスとスズメ）（重複吸血が約 20%）であった．これらの結果は，アカイエカは環境に適応して吸血源動物を選択し得る蚊であると推察される．

［Sudipta Roychoudhury，沢辺京子，渡辺護，金京純，津田良夫，小林睦生］

(4) ハマダラカ属とイエカ属蚊の脂肪酸組成の特徴について

これまでにハマダラカの幼虫・蛹・成虫の脂肪酸組成を調べ，ハマダラカでは，変態に伴い高度高級不飽和脂肪酸である EPA（エイコサペンタエタン，C20:5），アラキドン酸（C20:4），リノール酸（C18:2）等が増加することを報告した．一方，アカイエカ種群（アカイエカ，チカイエカ）に多く検出される脂肪酸は上記脂肪酸ではなく，パルミチン酸（C16:0），パルミトオレイン酸（C16:1），オレイン酸（C18:1）の飽和脂肪酸であり，特に C16:1 は乾燥体重の 50%近くまで増加することが示唆された．以上の結果から，ハマダラカとアカイエカ種群の脂肪酸組成は大きく異なり，特に EPA はハマダラカにおいて，幼虫から蛹への変態時に重要であると推察された．

［森林敦子，沢辺京子，津田良夫，小林睦生，；内田桂吉（順天堂大・生物）；當間孝子（琉球大学）；都野展子（金沢大）］

III. 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. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性のモニタリング

(1) アタマジラミからのスミスリン抵抗性遺伝子検出（2011 年調査結果）

第三室では日本で上市されている唯一のアタマジラミ用駆除薬スミスリンの抵抗性遺伝子検出調査を 2006 年より継続して行っている．2011 年は全国から 97 名分のアタマジラミを収集し解析を行った結果，22.7%にあたる 22 コロニーから抵抗性遺伝子が検出された．しかし，22 コロニーのうち 19 コロニーは沖縄県由来であり，昨年の結果に引き続き沖縄県で採集されたアタマジラミは 90.5%と高い割合で抵抗性遺伝子を保有している実態が明らかになった．沖縄県以外に限ると抵抗性率は 3.3%であり，調査を 2006 年に開始して以来，抵抗性遺伝子頻度の上昇傾向は認められなかった．

［葛西真治，駒形修，小林睦生，冨田隆史］

(2) トコジラミのピレスロイド系殺虫剤感受性検定（2011 年度）

ろ紙継続接触法（デルタメスリン 0.13mg/cm^2）により栃木県，東京都，大阪府で採集した 9 コロニー分のトコジラミ（75 頭）の殺虫剤感受性を試験した結果，91%の個体が抵抗性と判定された．本種のピレスロイド抵抗性機構には解毒代謝の増強も含まれるとの報告があるが，殺虫試験による生残個体のすべてがピレスロイド作用点であるナトリウムチャネルの変異 I925 を保有していたことから，作用点の分子ジェノタイピングを実施することにより，ピレスロイド抵抗性コロニーの分布を簡易に監視できる可能性を示した．

［駒形修，葛西真治，小林睦生，冨田隆史］

(3) 東日本大震災被災地で発生したイエバエの殺虫剤感受性

東日本大震災被災地で大量発生したイエバエの殺虫剤感受性について調査した．イエバエは石巻市と気仙沼市の被災地から採集した．殺虫剤の感受性はフェニトロチオン，ペルメトリン，エトフェンプロックスを用いて局所施用法により調べた．各薬剤に対する LD_{50}（μg/♀）は，石巻 1.6, 0.26, 0.40，気仙沼 1.0, 0.12, 0.49 であった．過去の報告に記載されている感受性系統と比較すると，各々 11, 5, 6 倍，7, 2, 8 倍感受性が低かった．この結果は，林ら（1990）が 1988, 1989 年に宮城県を含む各地で採集された野外コロニーのうち，防除可能であると報告されているコロニーの感受性と同程度であった．

［駒形修，葛西真治，糸川健太郎，冨田隆史］

(4) 東日本大震災被災地で発生したイエバエにピレスロ

イド抵抗性をもたらす *kdr* 遺伝子の頻度

東日本大震災被災地で大量発生したイエバエを用いて，ピレスロイド殺虫剤の作用点感受性の低下をもたらす *kdr* 遺伝子の有無について調査した. 殺虫試験と同じく，イエバエは石巻市と気仙沼市の被災地から採集した個体を用いた．各個体よりゲノム DNA を抽出し，ピレスロイド殺虫剤抵抗性をもたらす変異において，世界的に最も典型的な変異である L1029F 及び，L1029F の効果を増強する効果のある *super kdr* 変異(M933I)に関して，その有無を調べた．その結果，*kdr* 変異をもつ遺伝子の頻度は石巻が約 32%，気仙沼が 21%であった．また，*kdr* 変異をもつ個体のほとんどが *super kdr* 変異を併せもつ二重変異体であった．

［駒形修，葛西真治，糸川健太郎，冨田隆史］

2. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性に関する遺伝学的, 分子生物学的解析

(1) 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 （2011 年度）

12 都道府県より収集した 25 コロニー分（146 頭）のトコジラミ試料につき, QProbe 法によりピレスロイド抵抗性の原因となる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. 23 コロニー(92%)が I925 変異を保有し，該当コロニーの供試虫は高率(98%)で I925 変異のホモ接合体であった. L419 変異は 3 つのコロニーで同定されたが, この変異はすべて L419-I925 の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］

(2) デング熱媒介蚊の *in vivo* ペルメトリン代謝試験

ネッタイシマカの殺虫剤抵抗性機構を明らかにする目的で *in vivo* 代謝試験を行った．^{14}C で標識した殺虫剤ペルメトリンをマイクロシリンジで成虫に滴下し，体内薬量および排泄量の変化を経時的に測定した．その結果，抵抗性系統では体内薬物量が処理後 5 時間でピークを迎えたのち，急速に減少したのに対し，感受性系統では処理後約 15 時間まで上昇し続けたのち, 徐々に減少していった．これにともない，体外への排泄速度は抵抗性系統の方が感受性系統より速く，抵抗性系統では処理後 24 時間に 80%以上が排泄されたのに対し，感受性系統では 30%程度の排泄にとどまっていた．これにより，抵抗性系統ではペルメトリンが速やかに親水性の化合物に代謝されたのち，排泄されることで抵抗性を維持していることが明らかになった.

［葛西真治，駒形修，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史］

(3) ピレスロイド剤抵抗性ネッタイシマカで過剰発現する遺伝子の探索と抵抗性との連関解析

ピレスロイド剤で 10 世代淘汰して確立したネッタイシマカの抵抗性系統（SP 系）は解毒酵素の活性増大により抵抗性を獲得していることがわかっている．この抵抗性に関与している代謝酵素を同定する目的で, SP 系統体内で過剰発現する解毒酵素遺伝子をマイクロアレイ法によりスクリーニングすることを試みた．その結果，6 種のシトクロム P450 遺伝子が感受性系統との比較で有意に過剰発現していることが明らかになった. このうち, 2 種の P450 は成虫期における相対発現量が高く，抵抗性への関与の可能性が高いと考えられた．そのため，戻し交雑によって得られた *BC1* 成虫に対し，これらの遺伝子について連関解析を行った．その結果，2 つの遺伝子はともにピレスロイド剤に対する抵抗性に強く連関していることが明らかになった.

［葛西真治，駒形修，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史］

(4) 殺虫共力剤ピペロニルブトキシドの皮膚透過性に及ぼす影響

ピペロニルブトキシド（PBO）は酸化酵素シトクロム P450 の阻害剤で, 本酵素の殺虫剤抵抗性への関与を調べるときに用いられる. ネッタイシマカ成虫に PBO を前処理後，^{14}C で標識したペルメトリンを微量滴下し，ペルメトリンの体内浸透性への影響を調べた. その結果, PBO を処理した個体ではペルメトリンの透過性が大きく減少することが明らかになった. その一方で PBO 処理した個体では体内に浸透したペルメトリンの排泄も大きく阻害されていた. これらの結果は PBO が皮膚透過性を増大させることにより殺虫剤の共力効果を示すのではなく，むしろ透過性を減少させているにもかかわらず，その酵素阻害活性により殺虫剤の親水性化合物への代謝が阻害された結果，殺虫剤の毒性を上昇させていることが明らかになった.

［葛西真治，駒形修，糸川健太郎，冨田隆史］

(5) *CYP9M10* の過剰発現型ハプロタイプの世界的な分散

これまでの研究結果から，シトクロム P450 遺伝子 *CYP9M10* の過剰発現がネッタイイエカのピレスロイド抵抗性に関わっていると考えられる．過剰発現型ハプロタイプには遺伝子重複を起こした重複型（D-Cu(+)）と非重複型（Cu(+)）型が見つかっており，いずれも転写開始点の上流直ぐの部位に共通のトランスポゾンの挿入が見られる．ベトナム，シンガポール，ケニアから入手したネッタイイエカのコロニーを調べたところ，それぞれのコロニーから Cu(+)と D-Cu(+)型の *CYP9M10* ハプロタイプを見つけた．この結果は，薬剤抵抗性の原因となる *CYP9M10* の過剰発現型ハプロタイプが薬剤による淘汰を受けながら世界的に広まっていることを示唆している．

［糸川健太郎，葛西真治，駒形修，冨田隆史］

(6) *CYP9M10* 過剰発現型ハプロタイプの多様性と分子進化

D-Cu(+)と Cu(+)型の二つのハプロタイプは塩基配列の相同性が極めて高く，非常に最近の共通祖先ハプロタイプを共有していて，過剰発現に関する共通のシス作動性変異を少なくとも一つ以上共有していると考えられる．世界中の異なる地域から採取したネッタイイエカの D-Cu(+)型を調べたところ，発現量は最も高く一様で，塩基配列にも全く多型はなかった．一方で Cu(+)型のハプロタイプには塩基配列に幾らかの多様性が存在し，発現量も中間的でばらつきがあった．興味深いことに，系統学的な解析から D-Cu(+)型とより近縁と思われる Cu(+)型ハプロタイプはそれ以外の Cu(+)型ハプロタイプと比べ発現量が明らかに高いことが判った．この結果は Cu(+)型の中でシス作動性変異が複数回起こり，遺伝子重複はその後に起こった最も派生的な変異であることを示唆している．

［糸川健太郎，葛西真治，駒形修，冨田隆史］

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 23 年 4 月から平成 24 年 3 月までの間，23 件 552 個体の昆虫・ダニ等の同定依頼を受けた．多くの個体はハエ類であった．東北津波被災地で発生したハエ類の同定依頼が約半数を数えた．ヒトへの被害例ではロシアで咬着された輸入例のシュルツェマダニ，お好み焼き粉で発生し，食した際にアナフィラキシーショックを引き起こしたコナヒョウヒダニの例，ウガンダで寄生されたスナノミの輸入例，皮膚癌に発生したヒロズキンバエによるハエ幼虫症などがあった．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依頼された例もあった．

［林利彦，津田良夫］

研修業務

1) 流行地における疾病媒介蚊調査．平成 23 年度ベクター等検査技術研修．H23 年 6 月 1 日．神戸市．

［津田良夫］

2) 蚊の分類実習．日本環境衛生センター平成 23 年度疾病媒介蚊防除対策実技講習．H23 年 7 月 28 日．川崎市．

［津田良夫］

3)トコジラミのピレスロイド作用点変異調査報告，(社)大阪府ペストコントロール協会平成 23 年度秋期研修会．H23 年年 10 月 13 日．大阪市．

［冨田隆史］

(4) アルボウイルス感染症とそのベクター．平成 23 年度医師卒後臨床研修プログラム．H23 年 10 月 24 日．東京．

［沢辺京子］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Tsuda Y., Haseyama M., Ishida K., Niizuma J., Kim KS., Yanagi D., Watanabe N., Kobayashi M. After-effects of Tsunami on distribution and abundance of mosquitoes in rice-field areas in Miyagi Prefecture, Japan in 2011. Medical Entomology and Zoology, 63: 21–30, 2012.

2) Oka K., Ohtaki N., Kasai S., Takayama K., Yokozeki H. Two cases of eruptive pseudoangiomatosis induced by mosquito bites. Journal of Dermatology, 39: 301–305, 2012.

3) Hoshino K., Takahashi-Nakaguchi A., Isawa H., Sasaki T., Higa Y., Kasai S., Tsuda Y., Sawabe K., Kobayashi M. Entomological Surveillance for flaviviruses at migratory bird

stopover sites in Hokkaido, Japan, and a new insect flavivirus detected in *Aedes galloisi* (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology, 49: 175–182, 2012.

4) Isawa H., Kuwata R., Tajima S., Hoshino K., Sasaki T., Takasaki T., Tsuda Y., Kobayashi M., Sawabe K. Construction of an infectious cDNA clone of Culex flavivirus, an insect-specific virus from *Culex* mosquitoes. Archives of Virology, 157: 975–979, 2012.

5) Ejiri H., Sato Y., Kim KS., Hara T., Tsuda Y., Imura T., Murata K., Yukawa M. Entomological study on transmission of the avian malaria parasite in a zoological garden in Japan: Blood-meal identification and detection of avian malaria parasite DNA from blood-fed mosquitoes. Journal of Medical Entomology, 48: 600–607, 2011.

6) Ejiri H., Sato Y., Kim KS., Tamashiro M., Tsuda Y., Toma T., Miyagi I., Murata K., Yukawa M. First record of avian *Plasmodium* DNA detection from mosquitoes collected in Yaeyama Archipelago, southwestern border of Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 73: 1521–1525, 2011.

7) Ejiri H., Sato Y., Kim KS., Tsuda Y., Murata K., Saito K., Watanabe,Y., Shimura Y., Yukawa M. Blood-meal identification and prevalence of avian malaria parasite in mosquitoes collected at Kushiro Wetland, a subarctic zone of Japan. Journal of Medical Entomology, 49: 904–908, 2011.

8) Hayashi T. Occurrence of the genus *Minialula* PAPP (Diptera, Sphaeroceridae) in Japan. Japanese Journal of Systematic Entomology, 17: 69–70, 2011.

9) Hayashi T. Taxonomic studies on the Oriental species of the genus *Paralimosina* Papp (Diptera, Sphaeroceridae) excluding *eximia* species group. III. The species from Taiwan. Japanese Journal of Systematic Entomology, 17: 71–76, 2011.

10) Hayashi T. A remarkable new species of the genus *Eximilimosina* Papp (Diptera, Sphaeroceridae) from China, Laos and Vietnam. Medical Entomology and Zoology, 62: 181–184, 2011.

11) Hayashi T. Notes on the distribution of *Eulimosina dudai* (Papp) (Diptera, Sphaeroceridae). Japanese Journal of Systematic Entomology, 17: 297–298, 2011.

12) Tsuda Y., Suwonkerd W., Takagi M. Mark-release-recapture studies on flight distance and survival of anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Northern Thailand. Medical Entomology and Zoology, 62: 85–92, 2011.

13) Yamauchi T., TsudaY. Sato Y., Murata K. Pigeon Louse Fly, *Pseudolynchia canariensis* (Diptera: Hippoboscidae), collected by dry-ice trap. Journal of the American Mosquito Control Association 27: 441–443, 2011.

14) Kasai S., Ng LC., Lam-Phua SG., Tang CS., Itokawa K., Komagata O., Kobayashi M., Tomita T. First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. Japanese Journal of Infectious Diseases, 64: 217–221, 2011.

15) Itokawa K., Komagata O., Kasai S., Masada M., Tomita T. *Cis*-acting mutation and duplication: History of molecular evolution in a P450 haplotype responsible for insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus*. Insect Biochemical and Molecular Biology. 41: 503–512, 2011.

16) Niwa R., Sakudoh T., Matsuya T., Namiki T., Kasai S., Tomita T., Kataoka H. Expressions of the cytochrome P450 monooxygenase gene *Cyp4g1* and its homolog in the prothoracic glands of the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) and the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Applied Entomology and Zoology, 46: 533–543, 2011.

17) Kawada H., Futami K., Komagata O., Kasai S., Tomita T., Sonye G., Mwatele C., Njenga SM., Mwandawiro C., Minakawa N. Distribution of a knockdown resistance mutation (L1014S) in *Anopheles gambiae* ss and *Anopheles arabiensis* in western and southern Kenya. PLoS ONE. 6: e24323, 2011.

18) Kawada H., Dida GO., Ohashi K., Komagata O., Kasai S., Tomita T., Sonye G., Maekawa Y., Mwatele C., Njenga SM. Multimodal pyrethroid resistance in malaria vectors, *Anopheles gambiae* ss, *Anopheles arabiensis*, and *Anopheles funestus* ss in western Kenya. PLoS ONE. 6: e22574, 2011.

19) Takagi H., Itoh M., Kasai S., Yahathugoda TC., Weerasooriya MV., Kimura E. Development of a loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Wuchereria bancrofti* DNA. Parasitology International, 60:

493–497, 2011.

2. 和文発表

1) 林利彦，渡辺はるな，渡辺護，小林睦生．2011 年東日本大震災津波被災地におけるハエ類の大量出現とその種構成の変遷．衛生動物，63: 85–89, 2012.

2) 葛西真治，小林睦生．東北の津波被災地で大発生した衛生害虫の写真による記録．衛生動物，63: 39–49, 2012.

3) 野口佳恵，高柳たかね，稲富徹，古川誠，丹正勝久，林利彦，照井正．お好み焼き粉に混入したダニによるアナフィラキシーショックの 1 例．皮膚科の臨床，53: 427–430, 2011.

4) 津田良夫. 蚊の疾病媒介生態に関する野外研究 : 特に都市域における最近の研究. 衛生動物, 62: 211–224, 2011.

5) 小林睦生. 震災レポート　大規模自然災害の被災地における衛生害虫対策－東日本大震災から何を学ぶか．生活と環境，56: 25–32, 2011.

6) 葛西真治，小林睦生．宮城県の津波被災地における衛生害虫発生状況の視察報告. 生活と環境, 56: 25–32, 2011.

7) 小林睦生．衛生害虫と昆虫媒介感染症（特集　基礎から学ぶ環境衛生）．公衆衛生，75: 452–455, 2011.

8) 葛西真治．アタマジラミ，感染経路と見分け方，そして対処法．保育通信，675: 16–20, 2011.

9) 葛西真治．アタマジラミ症．小学保健ニュース，941: 付録 1, 2011.

10) 冨田隆史, 葛西真治. ヒトに寄生する 3 種のシラミ．モダンメディア，57: 119–123, 2011.

11) 冨田隆史，葛西真治，駒形修，小林睦生．アタマジラミのピレスロイド系薬剤抵抗性の発達と有効な駆除対策．日本皮膚科学会雑誌，121: 2898–2899, 2011.

12) 冨田隆史．トコジラミの発生と殺虫剤抵抗性・有効な駆除法．日本医事新報，4549: 60–61, 2011.

3. その他

1) Kobayashi M. Unexpected outbreak of flies in the disaster areas by tsunami in 2011 earthquake. Vector Ecology, SOVE Newsletter: December, 2011. (http://www.sove.org/Society_for_Vector_Ecology/Unexpected_outbreak_of_flies_in_Japan_2011.html)

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Tsuda Y. Invasion ecology of mosquito-borne diseases. The Eighth Japan-Taiwan Symposium on Antibiotics Resistance and Foodborne Diseases, 2011年10月13–14日, 東京.

2) Kim KS. and Tsuda Y. Annual changes in vector density of *Culex inatomii* population and avian malaria parasites. 5th Workshop on Asian Society of Zoo and Wildlife Medicine, 2011 年 10 月 20–25 日，カトマンズ，ネパール.

3) Kobayashi M. Climate change and vector-borne infectious diseases: future prospect of northern expansion of *Aedes albopictus*. Osong Symposium on Infectious Diseases, 2011 年 11 月 1–3 日，ソウル，韓国.

4) Kobayashi M. Vector surveillance in the area affected by the tsunami of the Earthquake. The 5th China-Korea-Japan Forum on Communicable Disease Control and Prevention, 2011 年 11 月 16–18 日，ソウル，韓国.

2. 国内学会

1) 江尻寛子，佐藤雪太，金京純，津田良夫，澤辺京子，村田浩一，斉藤慶輔，渡辺有希子，志村良治，湯川眞嘉．釧路湿原周辺に生息する蚊の吸血源動物の推定．第 63 回日本衛生動物学会大会，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

2) 大橋和典，津田良夫，高木正洋．アカイエカにおける栄養生殖分離：休眠成虫に吸血行動を引き起こす要因．第 63 回日本衛生動物学会大会，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

3) 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ポテンシャルマップの検証. 第 63 回日本衛

生動物学会大会，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

4) 新井智，沢辺京子，浜田雅史，多屋馨子，津田良夫，富田隆史，小林睦生．日本脳炎ウイルス媒介蚊の遺伝的多様性. 第 63 回日本衛生動物学会大会, 2011 年 4 月 14–16 日，東京.

5) Arlene G. Bertuso, Yukiko Higa, Mutsuo Kobayashi and Kyoko Sawabe. Distribution and abundance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in selected dengue endemic areas in the Philippines.第 63 回日本衛生動物学会大会，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

6) 今西望，高井憲治，金京純，津田良夫，小林睦生，糸山亨，沢辺京子．釧路湿原周辺で採集された *Anopheles belenrae* の形態的特徴および系統解析．第 63 回日本衛生動物学会大会，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

7) 川田均，前川芳秀，駒形修，葛西真治，冨田隆史，Mwandawiro C，Njenga SM，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(3)　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．第 63 回日本衛生動物学会大会，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

8) 沢辺京子. コガタアカイエカの長距離飛翔と越冬生理に関する最近の知見. 第 63 回日本衛生動物学会大会シンポジウム，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

9) 冨田隆史．トコジラミにおける殺虫剤抵抗性の発達. 第 63 回日本衛生動物学会大会ワークショップ, 2011 年 4 月 14–16 日，東京.

10) 津田良夫．蚊の疾病媒介生態に関する一連の野外研究. 第 63 回日本衛生動物学会大会学会賞受賞講演，2011 年 4 月 14–16 日，東京.

11) 小林睦生，二瓶直子，駒形修，平良常弘，吉田政弘．チクングニア熱の主要媒介蚊であるヒトスジシマカ成虫の潜み場所．第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2011 年 5 月 20–21 日，金沢市.

12) 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．ドライアイス誘因 CDC トラップによる費区陸 3 件と滋賀県におけるコガタアカイエカの発生調査，2010 年の成績．第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2011 年 5 月 20–21 日，金沢市.

13) 鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，小林睦生，沢辺京子. イエカ属蚊の初代培養. 第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2011 年 5 月 20–21 日，金沢市.

14) 沢辺京子，新井智，松村正哉，大塚彰，衞藤友紀，梁瀬徹，今西望，Sudipta Roychoudhury，鍬田龍星，多屋馨子，岡部信彦，小林睦生．日本脳炎ウイルス媒介蚊の海外飛来を検証する. 第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2011 年 5 月 20–21 日，金沢市.

15) 佐久間朋，篠島由一，稲富徹，照井正，馬場俊一，林利彦，久住一郎．頭部転移性皮膚腫瘍上に生じた偽性ハエ症の 1 例．日本皮膚科学会 836 回東京地方会城西地区，2011 年 6 月 18 日，東京.

16) 沢辺京子．アジアにおける昆虫媒介性感染症とそのベクター．昆虫科学連合シンポジウム，2011 年 7 月 16 日，名古屋市.

17) Toshinori Sasaki and Mutsuo Kobayashi. Hemolytic activity is mediated by the lectin in the mosquito, *Armigeres subalbatus.* 第 84 回日本生化学会大会, 2011 年 9 月 21–24 日，京都市.

18) 粟澤遼子，冨田隆史，葛西真治．スミスリンの効かないアタマジラミの台頭. 第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会，2011 年 10 月 8–9 日，宜野湾市.

19) 渡辺護，林利彦，渡辺はるな，平尾素一，田原雄一郎，川端健人，石川善大，菅野格朗．東日本大震災被災地の陸前高田市と気仙沼市におけるハエ多発生の実態. 第 66 回日本衛生動物学会西日本支部大会，2011 年 10 月 9 日，石川.

20) 沢辺京子．日本脳炎ウイルス媒介蚊コガタアカイエカの長距離移動. 第 27 回日本個体群生態学会企画シンポジウム，2011 年 10 月 14–16 日，岡山市.

21) Sudipta Roychoudhury, 沢辺京子, 渡辺護, 小林睦生. Distribution of *Culex pipiens* complex mosquitoes in Japan. 第 63 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2011 年 10 月 22 日, 東京.

22) 倉橋弘, Tarinee Chaiwong. タイ国産エダガタニクバエ属の 1 新種（双翅目：ニクバエ科）. 第 63 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2011 年 10 月 22 日, 東京.

23) 林利彦. 東日本大震災被災地におけるハエ類の大発生. 第 63 回日本衛生動物学会東日本支部大会シンポジウム, 2011 年 10 月 22 日, 東京.

24) 橋本知幸, 武藤敦彦, 渡辺登志也, 小林睦生. 震災後の石巻市内におけるハエ類成虫の捕獲成績. 第 63 回日本衛生動物学会東日本支部大会シンポジウム, 2011 年 10 月 22 日, 東京.

25) 渡辺護. 震災被災地の気仙沼市と陸前高田市における蚊の発生調査成績. 第 63 回日本衛生動物学会東日本支部大会シンポジウム, 2011 年 10 月 22 日, 東京.

26) 津田良夫, 長谷山路夫, 石田恵一, 新妻淳, 金京純, 柳大樹, 渡邉希, 小林睦生. 津波が疾病媒介蚊の分布と発生数に与えた影響に関する調査結果. 第 63 回日本衛生動物学会東日本支部大会シンポジウム, 2011 年 10 月 22 日, 東京.

27) Pujiyati E, Sunahara T, Kawada H, Kawashima E, Kasai S, Minakawa N. Resistance status of *Aedes albopictus* in Nagasaki. 第 61 回日本衛生動物学会南日本支部大会, 2011 年 11 月 3–4 日, 宮崎市.

28) 伊澤晴彦, 星野啓太, 鍬田龍星, 高橋（中口）梓, 津田良夫, 矢野和彦, 小林大介, 平尾邦道, 糸山享, Ngo Dinh Binh, 浅野眞一郎, 伴戸久徳, 佐々木年則, 小林睦生, 沢辺京子. 昆虫特異的フラビウイルスの多様性と宿主蚊との関係. トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 2011 年 11 月 11 日, 東京.

29) 鍬田龍星, 星野啓太, 伊澤晴彦, 田島茂, 高崎智彦, 佐々木年則, 小林睦生, 沢辺京子. イエカ属蚊の初代培養. トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 2011 年 11 月 11 日, 東京.

30) 冨田隆史. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性. 第 27 回日本ペストロジー学会大会シンポジウム, 2011 年 11 月 17–18 日, 千葉市.

31) 糸川健太郎, 駒形修, 葛西真治, 川田均, 冨田隆史. 殺虫剤抵抗性 *CYP9M10* ハプロタイプの分子進化と拡散. 第 56 回日本応用動物昆虫学会大会, 2012 年 3 月 26–28 日, 奈良市.

32) 比嘉由紀子, Arlene Garcia Bertuso, 徳久晃弘, 永田典子, 沢辺京子. フィリピン・ルソン島における古タイヤから発生するデング熱媒介蚊の分布調査. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

33) 渡辺護, 山内健生. 富山県の山間キャンプ場における最近 10 年間のイヨシロオビアブの発生状況. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

34) 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. *Anopheles belenrae* の北海道における分布と形態的特徴. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

35) 米島真万有子, 大西修、渡辺護, 二瓶直子、津田良夫、小林睦生, 前だ秋彦, 中谷友樹. 京都市市街地の住宅における疾病媒介蚊密度の場所間変動－密度調査と環境分析. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

36) 小林睦生, 千崎則正, 松本文雄, 安部隆司, 駒形修, 二瓶直子, 沢辺京子. 岩手県におけるヒトスジシマカの分布調査（2011 年）. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

37) 二瓶直子, 吉田政弘, 平良常弘, 駒形修, 望月貫一郎, 小林睦生. 西宮市市街地の雨水枡における蚊の発生と地表面傾斜との関係. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

38) 小林睦生, 二瓶直子, 吉田政弘, 平良常弘, 駒形修.

西宮市内公園の植生に潜むヒトスジシマカの捕集. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

39) 吉田政弘，芝生幸夫，平良常弘，小林睦生．シリコン膜による蚊幼虫防除の試み. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

40) 小林睦生，葛西真治，冨田隆史，渡辺登志也，二瓶直子，林利彦，橋本知幸，武藤敦彦，吉田政弘，沢辺京子．東日本大震災による津波被災市街地における蚊幼虫の発生状況．第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

41) 津田良夫．東日本大震災・特に津波被災地におけるイナトミシオカの大発生について. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

42) Sudipta Roychoudhury，Kyoko sawabe，Mamoru Watanabe，Kyeong Soon Kim，Yoshio Tsuda，Mutsuo Kobayashi．Blood feeding pattern of *Culex pipiens pallens* in Miyagi prefecture after the great east Japan earthquake disaster. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

43) 林利彦．日本産ミギワフンコバエ属（新称）（Gunus *Opacifrons*）について（双翅目，フンコバエ科）．第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

44) 倉橋弘，Siew Hwa Tan, Moi Ung Leh．マレーシア産ツマグロキンバエ属の 1 新種. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

45) 渡辺護，谷口敬敏，山内健生．国内 6 カ所で 2010 年に採集したトコジラミの殺虫剤感受性. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

46) 大橋和典，津田良夫，高木正洋．野外におけるアカイエカとチカイエカの種間交雑. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

47) 沢辺京子，新井智，大塚彰，松村正哉，衞藤友紀，梁瀬徹，井上栄明，今西望，Sudipta Roychoudhury，鍬田龍星、多屋馨子，岡部信彦，小林睦生．コガタアカイエカの海外からの飛来とその飛翔能力. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

48) 津田良夫，金京純．新潟県佐潟湿地におけるイナトミシオカの吸血生態に関する研究. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

49) 森林敦子，澤辺京子，津田良夫，内田桂吉，當間孝子，小林睦生．ハマダラカ属とイエカ属蚊の脂肪酸組成の特性について．第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

50) 佐々木年則，鍬田龍星，伊澤晴彦，小滝徹，高崎智彦，星野啓太，平良常弘，小林睦生，沢辺京子．日本脳炎ウイルスの国内越冬に関する実験的検証. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

51) 江尻寛子，佐藤雪太，金京純，津田良夫，村田浩一，湯川眞嘉．蚊由来原虫遺伝子解析で明らかとなった国内鳥マラリア原虫の遺伝的多様性. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

52) 川田均，二見恭子，駒形修，葛西真治，冨田隆史，Mwandawiro C，Njenga SM，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(6)　南部および西部ケニアにおける *An. gambiae* s.s.および *An. arabiensis* の *kdr* 遺伝子の分布について．第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

53) 駒形修，葛西真治，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史．石巻市および気仙沼市の東日本大震災被災地で発生したイエバエの殺虫剤感受性および *kdr* 遺伝子頻度．第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

54) 冨田隆史，駒形修，葛西真治，糸川健太郎，渡辺護，矢口昇，足立雅也，吉田政弘，木村悟朗，小林睦生．トコジラミのピレスロイド感受性に関する全国調査．第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

55) 橋本知幸，武藤敦彦，佐藤英毅，數間亨，葛西真治，

冨田隆史．被災地から採集したイエバエ・アカイエカの殺虫剤感受性. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

56) 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 (2)：*in vivo* 代謝試験．第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

57) 川島恵美子，砂原俊彦，Pujyati E，比嘉由紀子，二見恭子，葛西真治，川田均，皆川昇．ヒトスジシマカのナトリウムチャンネル遺伝子におけるイントロン配列の解析. 第 64 回日本衛生動物学会大会, 2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

58) Pujiyati E, Sunahara T, Kawada H, Kawashima E, Kasai S, Minakawa N. Insecticide resistance status of *Aedes albopictus* in Japan. 第 64 回日本衛生動物学会大会，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

59) 橋本知幸，武藤敦彦，佐藤英毅，數間亨，葛西真治，冨田隆史．被災地から採集したイエバエ・アカイエカの殺虫剤感受性. 第 64 回日本衛生動物学会大会ワークショップ，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

60) 小林睦生．寄主と寄生体とお相互関係、特に媒介能の解析に関する一連の研究. 第 64 回日本衛生動物学会大会学会賞受賞講演，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

61) 田原雄一郎，菅野格朗，川端健人，石川善大，田中康次郎，渡辺護，平尾素一．東北被災地におけるハエ類の大発生とその防除. 第 64 回日本衛生動物学会大会ワークショップ，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

62) 渡辺護，渡辺はるな，田原雄一郎、平尾素一，川端健人，石川善大，菅野格朗．東日本大震災の津波被災地における蚊の発生状況と駆除対応. 第 64 回日本衛生動物学会大会ワークショップ, 2012 年 3 月 29–31 日, 上田市.

63) 橋本知幸，武藤敦彦，佐藤英毅，數間亨，葛西真治，冨田隆史．被災地から採集したイエバエ・アカイエカの殺虫剤感受性. 第 64 回日本衛生動物学会大会ワークショップ，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

64) 二瓶直子．日本のミヤイリ貝を中心に　その分布と GIS による監視. 第 64 回日本衛生動物学会大会シンポジウム，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

65) 第 64 回日本衛生動物学会大会シンポジウム，2012 年 3 月 29–31 日，上田市.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　山 田 章 雄

概　要

当部は、戸山庁舎に配置され、第１室、第２室、第３室で構成される。現在、第１室はブルセラ症とカプノサイトファーガ感染症を、第２室は狂犬病、ニパウイルス感染症、炭疽を、第３室は野兎病、鳥インフルエンザ等に関するリファレンス業務、研究業務を行っている。平成23年度は､新規事業費の申請が認められなかったが、競争的資金により研究業務等を遂行した。第１室は、ブルセラ症の血清診断法として凝集法による抗体検出法が開発済みで台湾などに技術移転している。また、国内のイノシシなどの抗体調査を実施している。さらに、より特異度の高い抗体検出法を開発するために陽性血清に特異的に認識される蛋白のアミノ酸配列から遺伝子を同定し、その組換え蛋白を用いた抗体検出の特異度を検討している。また、ブルセラ属菌の経口感染における感染機構の解析を行っている。カプノサイトファーガ感染症では、臨床検査室で広く用いられている簡易同定キットの有用性を明らかにした。第２室は、狂犬病のアジアでのネットワーク形成に重要な役割を果たしている。また、動物等を介した海外からの狂犬病ウイルスの侵入のリスク評価と侵入した場合の迅速対応法の整備を行っている。このためにより簡便で感度・特異度の高い診断法を開発している。一方、炭疽では、全ゲノム網羅的 SNP 解析から菌株特異的な SNP を同定した。また、土壌からの *Bacillus* 属菌､特にセレウス群の遺伝的多様性を解析し、炭疽菌の遺伝子検査法の特異度の向上に繋がる基礎データを構築している。第 3 室は、野兎病菌の血清診断法、遺伝子診断法の開発・整備を行っている。また、野兎病菌の病原性発現機構、病原性と細胞内増殖能との関係などの基礎研究等を行っている。これらの研究活動に対して、厚生労働省科学研究費、文部科学省科学研究費、科学技術戦略推進費の研究費の援助を受けた。

学会等での活動としては、第153回日本獣医学会学術集会を山田章雄が会長として国立感染症研究所が司宰し、平成 24 年 3 月に埼玉県で開催された。獣医科学部が事務局を担当し、部員 7 名がプログラム委員に参加して、「One Health-コンセプトから実践へ-」のシンポジウムを企画し、FAO, WHO, OIE からの参加者が動物由来感染症対策に関して発表し､One Health の重要性を確認、周知できた。

当該年度は、協力研究員５名（水谷浩志、下長根藍（東京都動物愛護相談センター)、田口由紀（東京大学・大学院総合文化研究科）、望月信之（日本大学生物資源学部獣医学科）、畠山薫（東京都健康安全研究センター)）および、研究生１名（濱本紀子（岐阜大学大学院連合獣医学博士課程)）が入所した。また、研究生 2 名（杉浦尚子（岐阜大学大学院連合獣医学博士課程）、小嶋大亨（北里大学大学院獣医畜産学研究科博士課程）が年度末をもって退所した。当部は、岐阜大学大学院連合獣医学研究科の連携大学院講座（教授：山田章雄、准教授：井上智）として、当該年度は３名の博士課程大学院生が所属した。うち杉浦尚子が「狂犬病ウイルスの発症病理に関わる宿主遺伝子応答に関する研究」で獣医学博士号を授与された｡山田章雄は当該年度をもって定年退官した。

業　績

調査・研究

I. ブルセラ症及びカプノサイトファーガ感染症に関する研究

１．ブルセラ症の診断法の開発に関する研究（1）

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。*Brucella canis* 感染イヌ血清を使用し、作成した組み換えタンパクを抗原としてウェスタンブロッティングを実施した。試験管内凝集反応（TAT）陽性のイヌ血清にのみ作成タンパクの分子量 11.5kDa 付近にバンドが出現した。ただ、組換えタンパクは使用したプラスミドの特徴により Trigger Factor が付随する形で回収されるが、その後の反応に非特異的な影響を与えている可能性も見受けられ

た。TF を含まないプラスミドを作成し、新たな組換えタンパクを作成、その特異性の検討中である。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. ブルセラ症の診断法の開発に関する研究（2）

日本－台湾における共同研究の端緒として、台湾 CDC におけるブルセラ症検査体制構築のために、抗体検出法として日本で標準的に用いられている試験管内凝集反応（TAT）と我々の作成したマイクロプレート凝集反応（MAT）を、遺伝子検出法として同じく我々の作成した Combinatorial PCR を技術移転し、診断法の共有を行った。また、本方法を用いて、すでに報告されていた 3 例の輸入患者の検証と新たに確認された 2 名の患者について台湾 CDC により同定された。台湾 CDC におけるブルセラ症の検査診断体制の構築および、患者診断に寄与した。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、山田章雄（感染研・獣医科学部）、慕蓉蓉（台湾 CDC）]

3. 国内野生イノシシ・シカにおける抗 *Brucella* 抗体の保有状況に関する研究

野生イノシシの血液サンプルを用いたこれまでの調査から、国内野生イノシシのイヌブルセラ菌（*B. canis*）に対する抗体保有が疑われている。本年度も、四国地方を中心に、イノシシ血液サンプルを収集した。MAT 法によりブルセラ属菌に対する抗体保有を検討したイノシシ血液は、前年までと合計で 543 サンプルとなった。イヌブルセラ菌（*B. canis*）に対しては、全国で 11.0%（60/543）、うち四国では 15.4%（47/305）、家畜ブルセラ菌（*B. melitensis, B. abortus, B. suis*）に対しては、全国 0.6%で（3/543）、うち四国では 0.7%（2/305）が、それぞれ陽性であった。さらに、MAT 法により血清陽性となったサンプルについて PCR 法によりブルセラ特異的遺伝子の検出を行ったところ、25 サンプルが、陽性を示し、そのうち 5 サンプルがイヌブルセラ菌（*B. canis*）型の陽性パターンを示した。しかし、ブルセラ SE 抗原を用いたウェスタンブロッティング法では、明らかに陽性と判定されるものは無かった。遺伝子検出の結果から、一部のイノシシはイヌブルセラ菌に感染していたと考えられうる。しかし、MAT 陽性例は、より高感度で特異性の高い WB 法では検出されず、現時点では、他のグラム陰性菌との交叉反応によるものである可能性を否定できない。さらなる検討が必要と考える。[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]

4. ブルセラ属菌の感染機序に関する研究

B. abortus は、菌表面に発現する Hsp60 がマクロファージ膜の PrPc と結合後、マクロピノサイトーシスにより細胞内に侵入する。しかし、ブルセラ属菌が経口感染する際の消化管での感染経路は不明である。そこで、*B. abortus* と抗 Hsp60 抗体をあらかじめインキュベートし、その後、*in vitro* でプレート上の PrPc と菌との結合を検討した。その結果、抗体の濃度依存的に結合が阻害されることが示された。また、*in vivo* においてマウス腸管ループを作成し、パイエル板への取込を見たところ、抗体処理により取込が減少した。*B. abortus* がパイエル板の microfold 細胞（M 細胞）を介して感染する際には、M 細胞上の PrPc と細菌の Hsp60 がインターラクトすることが確認された。[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）]

5. カプノサイトファーガ感染症の調査研究

カプノサイトファーガ属菌はイヌやネコの口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。特に *Capnocytophaga canimorsus*（*C. 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ている。その結果、1993 年に 1 例、イヌ咬傷による敗血症例が最初の報告としてあり、2002 年以降 2011 年末までに、30 例（イヌ咬傷 16 例、ネコ咬掻傷 10 例、不明 4 例）を把握し、うち 8 例が死亡症例（イヌ咬傷 3 例、ネコ掻傷 4 例、不明 1 例）であった。中でも、これまでの調査研究成果を、雑誌、新聞、テレビ、厚生労働省から Q&A などにより広報して以降、医療機関からも患者情報が寄せられるようになり、2010 年は 5 例、2011 年は 7 例と認知度は上がってきていると思われる。[鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄、今岡浩一]

6. *C. canimorsus* の同定における簡易同定キットの有効性の検討

臨床検査室では、臨床分離菌株の同定に、生化学的性状検査による簡易同定が実施されている。そこで、*C. canimorsus* 同定における、簡易同定キット（ID テスト・HN-20 ラピッド）の有効性を検討した。国内の患者から分離された 12 株を含む計 24 株の *C. canimorsus* を用いて検討した。*C. canimorsus* の増菌に適しているとされる、5%ウサギ血液加ハートインフュージョン寒天培地

（自家作製）による増菌後の検査では、国内の患者から分離された 12 株を含む 24 株中 18 株が *C. canimorsus* と同定され、また 5 株で *C. canimorsus* が鑑別候補菌種と判定された。糖の分解能に変異のあった 1 株は *C. cynodegmi* と同定された。*C. canimorsus* の菌種レベルでの確実な同定には遺伝子検査が必要であるが、簡易同定キットを用いた生化学的性状検査は検査室で簡便に実施することが可能であり、検査前に適切な増菌培養を行えば、*Capnocytophaga* 属菌をかなり高率に同定できることを明らかにした。[鈴木道雄、木村昌伸、山田章雄、今岡浩一]

7. 愛玩動物由来感染症のリスク分析

雑多なイヌ・ネコと接する機会が多く、咬掻傷を受けるリスクが高い推測された臨床開業獣医師におけるイヌ・ネコ咬掻傷状況、発症経験について、アンケート調査により情報を収集した。その結果、イヌ・ネコ咬掻傷後の発症経験（疑いを含む）については、イヌ咬傷で 25%、ネコ咬傷で 45%、ネコ掻傷で 19%と多かった。しかし、確定診断まで至った例はそれぞれ、1 例（パスツレラ症）、1 例（猫ひっかき病）、3 例（猫ひっかき病）と少なかった。カプノサイトファーガ症については、イヌ咬傷で 1 件、ネコ掻傷で 1 件の自己診断を行った 2 例があった。疾患に関連する認知としては、カプノサイトファーガ症については、最近（ここ 1-2 年頃）知ったという人がおよそ 6 割と多かったが、アンケートを行うまで知らなかったという回答が、およそ 1/4 を占め、認知度をさらに上げていくことが、疾患リスクを低下させるためにも必要であると考えられた。 [今岡浩一、吉川泰弘（北里大学）、佐野文子（琉球大学）、吉崎理華、早麻里穂（東レリサーチセンター）]

II. 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

自治体（狂犬病等動物由来感染症担当者）、狂犬病臨床研究会（臨床獣医師）等、専門家の協力を得て「狂犬病の発生から清浄化宣言を行うまでの対応マニュアル（素案）」を作成した。また、狂犬病が疑われる犬の臨床診断を支援するための「狂犬病を発症したイヌ等の臨床診断のための研修用 DVD」を作製して、ベトナムの国立衛生疫学研究所が主催する狂犬病担当者研修でその実効性や有効性について検討を行い、実際的で有益性が高いとの評価を得た。[井上　智、野口　章、加来義浩、奥谷晶子、（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）、白井和也（新潟県福祉保健部生活衛生課）、桶渡清美（大阪府健康医療部）、栗原八千代（東京都福士保健局）、佐竹浩之（東京都動物愛護相談センター）、木村顕輔（東京都動物愛護相談センター）、船越公威（鹿児島国際大学）、原田正史（大阪市立大学大学院）、河合久仁子（北海道大学北方生物圏フィールド科学センター）、木上照子（京都府保健環境研究所）、小野敏夫（群馬県高崎市保健医療部生活衛生課）、Nguyen Thi Kieu Anh（ベトナム国立衛生疫学研究所）、Veera Tepsumethanon（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

北海道は本州以南の地域と比べ多数のキツネが生息しており、埠頭にアクセスすることが知られている。特にロシア船が多く寄港する港で報告される不法上陸犬による狂犬病の侵入リスクが指摘されてきている。そこで、これらの港で狂犬病を発症したイヌにキツネが咬まれた想定で狂犬病の伝搬シミュレーションを行ったところ、キツネの生息密度に応じて北海道内の狂犬病定着確率が変化することが明らかとなり、地域の密度推定の精度を上げるために、根室半島のキツネの巣穴探索を行い、個体数推定値の補正を行った。 [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）、安生浩太（北海道大学院環境科学院）、深瀬　徹（明治薬科大学）、井上　智（感染研・獣医科学部）]

3. 翼手目におけるリッサウイルス等のリスク調査に関する研究

狂犬病ウイルスはリッサウイルス属に含まれるが、近年、海外では新しい遺伝子型のリッサウイルスがコウモリから分離されている。そこで、わが国および近隣のアジア諸国に生息するコウモリについて、リッサウイルス等の調査を行うために、翼手目（コウモリ）と公衆衛生（動物行政等）の専門家で、国内外における翼手目の分布と生活史・生態の現状把握、及び、わが国における公衆衛生に関わる公衆衛生上の課題と現状について意見交換を行った。[井上　智、野口　章、加来義浩、奥谷晶子（感染研・獣医科学部）、浦口宏二（北海道立衛生研究所）、船越公威（鹿児島国際大学）、原田正史（大阪市立大学大学院）、河合久仁子（北海道大学北方生物圏フィールド科学センター）、木上照子（京都府保健環境研究所）、小野敏夫（群馬県高崎市保健医療部生活衛生課）]

4. コウモリ類の移動による人獣共通感染症の侵入に関する検討

北海道東部におけるコウモリの個体数､ねぐらの分布、海外からわが国への侵入可能性を、捕獲調査および文献調査により検討した。北海道東部での捕獲調査により、種による捕獲環境の違いが明らかになったが、捕獲困難な種もあり、個体数推定のためにはさらなるデータの蓄積が必要であった｡海外からのコウモリの侵入について、海上を飛行するコウモリの生態の一部が明らかになり、これまでに知られている各種コウモリの移動距離のデータから、中国、韓国、ロシア等から北海道への飛来が不可能でないことが示された。[浦口宏二（北海道立衛生研究所)、近藤憲久（根室市歴史と自然の資料館)、深瀬　徹（明治薬科大学)、井上　智（感染研・獣医科学部）]

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・予防法等に関する研究

ユーロアジア（Euro-Asia）における狂犬病の流行様式を明らかにするために、モンゴルとベトナムの狂犬病専門家と分子疫学的な系統解析を行って犬等家畜や野生動物を介して隣国のロシアや中国との間でウイルスが行き来していることを示した。また、ロシアの狂犬病専門家から、シベリア地区とモンゴル・中国間での野生動物等を介した狂犬病の流行が課題となっており、北海道に近いハバロフスク地区についても狂犬病の感染リスクが高い疫学知見を得た。野生鳥獣等を介したロシアからわが国への狂犬病の侵入リスクについて調査・研究の必要性が示された。[井上　智（感染研･獣医科学部)、Nguyen T.K.A.、Nguyen D.V.、Ngo G.C.（NIHE･ウイルス部)、Bazartseren Boldbaatar（日本大学生物資源科学部)、Elena Poleshchuk（オムスク自然環境感染症研究所）]

6. Single chain variable fragment (scFv)と Direct, rapid immunohistochemical test (DRIT) 法による狂犬病ウイルス抗原検出法の開発

狂犬病ウイルス蛋白質を特異的に認識する single chain variable fragment (scFv)を使用した DRIT 法の変法確立を行うために、4 クローンの抗 RABV-P scFv、1 クローンの抗 RABV-N scFv の当該遺伝子をビオチン融合蛋白質発現プラスミドにクローニングした。検出感度の向上を図るために抗 RABV-P および N 蛋白質 scFv にビオチンを融合させた蛋白についてその発現効率を検討している。 [加来義浩、野口　章、杉浦尚子、井上　智]

7. RABV 中和代替法に利用する VSV シュードタイプの構築

現在一般的に行われている狂犬病ウイルス（RABV）の中和試験は、1) 感染性ウイルスを用いる必要がある、2) 蛍光抗体および蛍光顕微鏡を必要とする、3) 測定に手間がかかる、等の課題がある。そこで、安全かつ簡便に中和抗体が測定できる分泌型アルカリフォスファターゼ（SEAP）発現シュードタイプを利用した中和試験法を確立するために､HEK293T 細胞に RABV 固定毒 CVS 株の表面糖蛋白質 (RABV-G)発現プラスミドを導入して RABV-G を外套した SEAP 発現 VSV シュードタイプを作製した。[加来義浩、野口　章、濱本紀子、井上　智（獣医科学部)、佐藤　豪（日本大学獣医微生物学研究室）]

8. 狂犬病野外株接種マウスの中枢神経系に関する病理学的研究

ブラジルの吸血コウモリ由来のヒツジ分離株 (P-18 株)、ウシ分離株（P-17 株）および食虫コウモリ分離株（MP 株）をマウスの筋肉内および脳内に接種し、CNS および頭蓋末梢神経（PNS）における病理組織学的変化 (ネグリ小体の出現有無) を株間で比較した。P-18 株を接種したマウスの CNS では、光学顕微鏡レベルにおいて脊髄神経節、脊髄、延髄、中脳、海馬および大脳皮質に小型から大型なネグリ小体が多数観察されたが、MP 株および P-17 では殆ど認められなかった。PNS ではいずれの株においても明瞭なネグリ小体は観察されなかった。CNS および PNS におけるネグリ小体の有無、ウイルス抗原の分布は株間において大きく異なることが明らかとなり、また、頭蓋の唾液腺以外の分泌腺や末梢神経組織でウイルス抗原の陽性像が多数観察されたことから唾液腺以外の排泄門戸が存在する可能性が示唆された。[朴　天鎬 (北里大学獣医病理学研究室)、佐藤　豪（日本大学獣医微生物学研究室)、井上　智（獣医科学部）]

9. アジアにおける狂犬病ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制強化に関する研究

ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Hygiene and Epidemiology; NIHE）と国立感染症研究所･獣医科学部で進めている狂犬病に関する共同研究体制を強化するために、NIHE のウイルス部・Dr.Nguyen Thi Kieu Anh 室長と、NIID 所有 5 株（RV、EBLV-1、Duvenhage virus, Mokola virus, Lagos bat virus）を利用した簡易中和抗体検出系を作出して､ベトナムに生息する翼手目（コウモリ）の血清について調べた結果、RV と EBLV-1 に対して感染中和（90% reduction）を示す血清が 30%あった。現在、 検出系の特異性と感度

について検証を行っている。[野口　章、井上　智（感染研・獣医科学部)、Hoang Thi Thu Ha、Luong Minh Hoa（NIHE・細菌部)、Nguyen T.K.A., Nguyen D.V., Ngo G.C.（NIHE・ウイルス部）]

10.　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」の予防注射頭数、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。そこで、ペットフード協会が行っている比推定（「全国犬・猫飼育実態調査」）による飼育犬頭数の推計精度を向上させるために、補助変量として使用されている「世帯総数」と「1 世帯あたりの平均飼育頭数」について評価を行い、（1）世帯総数に国勢調査の一般世帯を利用し、沖縄県を含め、20 歳未満や70歳以上のみで構成される世帯も考慮すること、（2）1世帯あたりの平均飼育頭数は現時点で補正を行う必要性は少ないがバイアスの動向等に関する検証の継続が必要であることを明らかにした。今後、政府統計で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る。[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）]

III. 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、全ゲノム網羅的 SNP 解析(80 tag SNP)を行い、主要な 3 つの遺伝学的クラスターを明らかにした。さらに、各クラスターから代表的な菌株についてフルゲノム解析を行い、モンゴル国内分離株に特異的な SNP を 12 箇所選択することに成功した。［奥谷晶子、Bazartseren B.、山田章雄、井上 智（感染研・獣医科学部)、黒田　誠、関塚剛史（病原体ゲノム解析センター)、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.　アジアにおける炭疽ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制強化に関する研究

ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Hygiene and Epidemiology; NIHE）と国立感染症研究所・獣医科学部で進めている炭疽に関する共同研究体制を強化するために、細菌部・Dr.Hoan Thi Thu Ha 室長と野外検体等を利用した当該病原体の検査・同定法の開発及び分子疫学的解析を行い、ベトナム北部で発生した皮膚炭疽由来菌株が西ヨーロッパで分離される炭疽菌株と同じ A1 クラスターに分類されることを明らかにした。アジアで分離される炭疽菌の多くが A3b クラスターに分類されることから、異なる遺伝学的背景をもつ菌株がベトナム北部に存在すると考えられた。［奥谷晶子、山田章雄、井上　智（感染研・獣医科学部)、黒田　誠、関塚剛史（病原体ゲノム解析センター)、Hoang Thi Thu Ha、Luong Minh Hoa（NIHE・細菌部）]

3.　土壌検体からの炭疽菌および近縁菌種群の分離同定方法の検討

国内 11 都府県から収集した土壌から *Bacillus cereus* group 菌種群に属する菌株を分離して、炭疽菌あるいは炭疽菌と最も近縁な *Bacillus cereus* group に属する *Bacillus cereus* および *Bacillus thuringiensis* 特異的な PCR プライマーを用いて菌種の分類を行った。これまでに炭疽菌は分離されていない。現在、7 箇所の house keeping genes を用いた Multilocus Sequence Typing (MLST)によって、国内土壌中の *Bacillus cereus* group の遺伝学的多様性について調べている。［奥谷晶子、山田章雄、井上 智（感染研・獣医科学部)]

4.　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。特定病原体の専門家として、BSL3 管理区域内に保管されている炭疽菌株のより簡易な登録・保管および閲覧を可能にするソフトウェアの開発支援を行い、当該病原体の登録と長期保管に特化したデータベース運用、作業者の精神的・肉体的負荷の軽減を可能にした。また、炭疽発生国であるモンゴルにおける菌株管理の現状と課題を視察して、安全かつ高度に管理された分離炭疽菌株の簡便かつ一元的な登録・保管システムをわが国で確立するためには、発生国と連携した実際的な知見の共有を可能にする共同研究が必要であると考えられた。[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)]

IV. 野兎病に関する研究

1. 抗野兎病菌抗体検出用競合 ELISA の開発

野生動物における野兎病の疫学調査を目的に、多種の動物由来血液検体から野兎病菌特異抗体検出を可能とする競合 ELISA 法を開発した。野兎病菌主要抗原である LPS を抗原、抗 LPS モノクローナル抗体を標準抗体とし

た。ウサギ、マウスおよびヒト由来の抗野兎病菌陽性および陰性血清を用い、アッセイ法を検討し、東北地方由来の計 18 動物種由来 510 検体について抗野兎病菌抗体の検出を試みた。計 16 検体が標準抗体の反応を 30%以上阻害したため抗野兎病菌抗体陽性と考えられた。微量凝集反応陽性数 7 と比較して多くの検体が陽性となったこと、また陽性と判定された検体がウエスタンブロット法においても陽性であったことから、開発した本競合 ELISA 法は、多数の動物種の抗野兎病菌抗体のスクリーニング法として有効であると考えられた。 [Neekun Sharma（岐阜大学連合大学院)、堀田明豊、棚林清、山本美江、宇田晶彦、藤田修、山田章雄]

2. 国内に分布する野兎病菌の 16S rRNA 遺伝子の比較

我々が以前実施した日本国内に分布する野兎病菌の Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)およびパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) の結果、国内株は遺伝的多様性が高い事が示唆された。本研究では、国内に分布する野兎病菌の系統進化を知る基本情報として各菌株が保有する 16S rRNA 遺伝子の全長を解読し､比較検討を行った｡その結果､MLVA と PFGE で海外株のクラスターに入った 2 株を除いた全株が同一の塩基配列を示し株間の差は全く認められなかった。即ち、日本国内に分布する野兎病菌の起源は同一である事が示唆された｡[藤田修､宇田晶彦､堀田明豊､山本美江、山田章雄、棚林清]

3. 病原性の異なる野兎病菌の発現タンパク質の解析

野兎病菌SCHU株はマウス致死性の強毒性株として知られているが、我々が保有する同菌株はマウスに大量接種してもマウスが長期間生存し、弱毒化していることが明らかとなった。この弱毒株をマウス継代した結果、9 代目でマウスに対し明らかな強毒化が観察された。本研究では、野兎病菌の病原性発現機序の解明の為に、これら病原性の異なる 2 菌株の発現タンパク質の差異について検討を行った。培養した両菌株を溶解後、二次元電気泳動法にて発現タンパク質の比較を行った。さらに両者間で異なるスポットを採材し、MALDI-TOF/MS法にてプロテオーム解析を行った。その結果、同定できた殆どのタンパク質が核酸に関連のあるタンパク質だった。今後さらに手技を改良し病原性と発現タンパク質の関連について検討を行う。[藤田修、宇田晶彦、堀田明豊、山本美江、山田章雄、棚林清]

4. 野兎病菌の病原性とインターフェロン抵抗性に関する研究

遺伝的背景が同一でマウスに対して弱毒性および強毒性野兎病菌株を樹立した。本研究では、野兎病菌の病原性メカニズムを明らかにすることを目的とし、様々なサイトカイン、ケモカイン、インターフェロン前処理したマクロファージに､弱毒および強毒性野兎病菌を接種し、菌の生存性を観察した。この結果、インターフェロンγで前処理したマクロファージにおいてのみ差異が観察され、弱毒性株は感染後 24 時間以内に殺菌されたが、一方の強毒性株はマクロファージ内で生存していた。このことから、インターフェロンγに対する抵抗性が、野兎病菌の病原性を決定している可能性が示唆された。 [宇田晶彦、棚林清、藤田修、堀田明豊、山田章雄]

5. 野兎病菌の病原性と免疫抑制に関する研究

病原体はヒトの体内に侵入すると、貪食細胞に捕捉され貪食・排除される。しかし野兎病菌は貪食細胞に取り込まれた後、細胞内で増殖し敗血症を引き起こすことが知られている。本研究では、弱毒性および強毒性野兎病菌感染後のマクロファージに与える影響を、マイクロアレイを用いて解析し、病原性発揮機序を明らかにすることを目的とした。弱毒性株との比較解析において、強毒性野兎病菌株感染後 1 時間では 3 種類のサイトカイン（Tnf、Il1a、Il12b）と他 3 遺伝子のみが抑制されていることが明らかとなった。このことから、野兎病菌病原性発揮には、この 6 遺伝子の抑制が重要であることが明らかとなった。[宇田晶彦、棚林清、藤田修、堀田明豊、山田章雄]

6. 野兎病菌の細胞内増殖性と病原性に関する研究

当部保有の野兎病菌（*F. tularensis* ）43 株の病原性比較のため J774.1 細胞における増殖性を検討した。各株を moi 1 から 10^2 で細胞へ接種し、接種後 2 時間と 24 時間の感染価(cfu)を比較したところ、cfu が 10 倍から 100 倍に増殖する高増殖性 5 株、大きく変化しない低増殖性 8 株、1/10 以下に減少する非増殖性 30 株の 3 群に分けられた。マウス腹腔内に非増殖性の 9 株を接種したところ、いずれの株もマウスに非致死的であった。一方、低および高増殖性株の供試 3 株および 5 株はマウスに致死的であった。またマウスへ皮内接種したところ、供試低増殖性 3 株はマウスを体重減少させたが、高増殖性 5 株は 10^2cfu 接種群において致死的であった。特に NVF1、KU-1、Kato および Sami 株は病原性が強く、それら被接種マウスは接種後 7 日程で斃死した。以上より *F. tularensis* の細胞内増殖性は本菌の病原性の指標に有効と考えられた。[堀田明豊、宇田晶彦、Neekun Sharma（岐阜大学連合大

学院)、藤田修、棚林清、山本美江、山田章雄]

7. 野兎病菌 NVF1 株の人工培地継代による病原性変化に関する研究

2009 年に新規に分離された *F. tularensis* NVF1 株を Eugon チョコレート培地にて 40 代継代し、各継代菌の性状を比較解析した。J774.1 細胞を用いた感染実験にて接種後 2 および 24 時間の感染価（cfu）を比較した。moi 10 で接種すると、接種後 2 時間の cfu は 10 代継代菌では元株である 3 代継代菌と同等であったが、20、30 および 40 代継代株は低値であり、細胞内侵入率が低下したと考えられた。接種後 2 時間と 24 時間の cfu をそれぞれ比較したところ、3 代、10 代および 20 代継代菌は 10 倍から 100 倍増加した。30 代以降の継代菌では細胞内増殖性が認められなくなり、接種後 24 時間の cfu は検出限界（50 cfu）以下であった。これより本菌は、人工培地における 10 代以上の継代により細胞侵入性が低下し、30 代以上の継代により細胞内増殖性が変化して病原性がさらに低下する可能性が考えられた。[堀田明豊、宇田晶彦、Neekun Sharma、藤田修、棚林清、山本美江、山田章雄]

V. 鳥インフルエンザに関する研究

1. 鳥類由来インフルエンザ A ウイルス哺乳類細胞での感染機構の解析

哺乳類での高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染機構を明らかにすることを目標として、ネコ、ウサギ、イヌ、ヒト由来細胞での鳥類由来ウイルスとヒト由来ウイルスについて増殖性を比較した。ネコ、イヌ、ヒト由来細胞で高病原性インフルエンザウイルス株はよく増殖した。また、ネコ由来細胞では実験に供したウイルス株は増殖したが、ヒト由来細胞では増殖できないウイルス株があった。今後、各種動物由来細胞への吸着侵入、複製等の各過程におけるウイルス増殖に及ぼす差異について解析する必要がある。[山本美江、堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、Neekun Sharma、山田章雄、棚林清]

レファレンス業務

1. 衛生微生物技術協議会動物由来感染症レファレンスセンター業務

ブルセラ症の実験室診断方法の整備等のために、病原体ゲノム検出法(PCR)の試薬・マニュアルなどを提供し、参加可能地研でモデル検体を用いた検査を試行し、検査法・手技等の検証を行った。また、名古屋市衛生研究所から狂犬病ウイルスの抗原検出に必要な陽性対照コントロールの分与依頼があり抗原スライドを送付した。

2. 行政検査・依頼検査等

今年度は以下の行政検査・依頼検査等を実施した。

ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査：4 件
カプノサイトファーガ感染症疑い患者由来菌株の同定依頼検査：5 件
鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：1 件
狂犬病疑い患者の共同研究・依頼検査：1 件
炭疽疑い患者の行政検査：1 件
不明疾患診断ネットワーク経由で依頼された患者血清のヘニパウイルス中和抗体試験：1 件
野兎病疑い患者検体の行政検査 2 件、依頼検査 2 件
野兎病菌疑い確認検査：依頼検査 1 件

国際協力関係業務

I. JICA 協力

1. ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）能力向上強化計画プロジェクト

H23 年 7 月 24 日～30 日に開催された当該プロジェクトに奥谷主任研究官が参加して、BSL3 実験室における炭疽菌の SOP に基づいた good microbiological techniques (基準微生物実験技術、GMT)の作成・評価を行った。

H23 年 7 月 27 日～8 月 6 日に開催された当該プロジェクトに井上第 2 室長が参加して、BSL3 実験室における狂犬病の SOP に基づいた GMT の作成・評価と、ベトナム地域ラボに対する GMT 研修に参加して助言・指導を行った。

II. タイ協力

1. コンケーン大学と国立感染症研究所で結ばれた MOU に基づいて行われている「共同研究合同プロジェクト」の合同セミナー（Participation to the research project on "Epidemiological and Microbiological Surveillance of Common Infections in Thailand: North vs. Northeastern Regions"）

H23 年 8 月 19 日～28 日に開催された当該セミナーに井上第 2 室長が参加して、狂犬病に関するわが国の知見と研究等に関して発表し、タイ北部・北東部・バンコク周辺地域における狂犬病の発生状況と実態について現地専門家とともに調査および課題点等について意見交換を行った。

III. ベトナム協力

1.　ベトナム国内の狂犬病ラボラトリーネットワーク構築のための研修プログラム（狂犬病流行地域の検査ラボ･病院･獣医研究所等）

H23 年 9 月 25 日～10 月 1 日にベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）で行われた当該研修プログラムに井上第 2 室長が参加して、感染源動物である狂犬病疑い犬の臨床診断、検体の取扱、解剖手技、実験室内検査法等について講義と実技指導を行った。

2. ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）へのブルセラ属菌の遺伝子検査法の技術移転

NIHE で当該遺伝子検査を実施可能とするために、第 1 室で行っている combinatorial-PCR 用のプライマーおよび PCR コントロールの分与依頼を受け、今岡第 1 室長が分与した。

IV. 台湾協力

1. 台湾行政院衛生署疾病管制局（台湾 CDC）におけるブルセラ症検査体制構築

H23 年 8 月に、台湾 CDC におけるブルセラ症検査体制を構築するために、今岡第 1 室長と鈴木主任研究官が訪台し、抗体検出法として試験管内凝集反応と第 1 室で開発したマイクロプレート凝集反応を、遺伝子検出法として第 1 室で開発した combinatorial PCR を､台湾 CDC において研修し技術移転した。また、今岡がブルセラ症の現状に関して、鈴木がカプノサイトファーガカニモルサス感染症の講演を行った。

研修業務

I. JICA 協力

1. ベトナム国高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクトの本邦研修への協力

H23 年 11 月 13 日～12 月 10 日に国立感染症研究所で開催された当該研修で、野口主任研究官と井上第 2 室長が Nguyen Tuyet Thu 氏（NIHE・ウイルス部職員、狂犬病ウイルス実験室研究者）に GMT / 狂犬病の GMT トレーニングとして高度安全実験室におけるバイオセーフティー(BS)技術と狂犬病ウイルス取扱いの研究リーダーとして必要な訓練を行った。また、奥谷主任研究官と井上第 2 室長が Dao Hoang Anh 氏（NIHE・細菌部職員、炭疽菌担当研究者）に GMT / 炭疽の GMT トレーニングとして BS 技術と炭疽菌の取扱研究リーダーとして必要な訓練を行った。

2. ベトナム国別研修（バイオセーフティ/GMT コレラ研修）への協力

H24 年 2 月 19 日～3 月 17 日に国立感染症研究所で開催された当該研修で、奥谷主任研究官と井上第 2 室長が GMT 研修の一環として、炭疽と狂犬病について病原体取扱方法についてそれぞれ講義を行った。

II. その他の協力

1. 国内の獣医系大学の学部生の学生実習

平成 23 年 8 月 29 日～9 月 2 日に動物由来感染症の検査法に関する学生実習を希望者 8 名（日大、麻布大、岐阜大、北里大）を対象として実施した。

競争的外部資金

厚生労働省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

1)　「ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究」（H22-新興-一般-010）（山田章雄）研究分担：今岡浩一、井上　智、棚林　清
2)　「アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究」（H23-新興-指定-020）（倉根一郎）研究分担：今岡浩一、井上　智
3)　「生物テロに使用される可能性の高い細菌・ウイルス等による感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究」（H20-新興-一般-006）（倉根一郎）　研究分担：井上　智
4)　「動物由来感染症のリスク分析手法等に基づくリスク管理のあり方に関する研究」（H21-新興-一般-004）（吉川泰弘）研究分担：今岡浩一、井上　智
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、予防法等に関する研究」（H22-新興-一般-009）（苅和宏明）研究分担：井上　智
6)　「野兎病菌亜種間の病原性相異および動物種間の野兎病感受性の相異に関する研究」（H23-新興-若手-022）（堀田明豊）
7)　地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）「ウイルス感染症の診断、疫学および予防に関する研究」(H23-国医-指定 003)（中込　治）研究分担：井上　智

文部科学省

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金（若手研

究 B)「野兎病菌病因子 PdpC タンパク質の機能解析に関する研究」（23790489）（宇田晶彦）

科学技術戦略推進費
地域社会における危機管理システム改革プログラム（各種感染症への対応)「鳥インフルエンザ防疫システムの構築（西藤岳彦)」（分担課題名）One Health の実践による感染症制御の新戦略（山田章雄）

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

１． 欧文発表

1) Kaku Y., Noguchi A., Hotta K., Yamada A. and Inoue S. (2011) Inhibition of rabies virus propagation in mouse neuroblastoma cells by an intrabody against the viral phosphoprotein. Antiviral Res. 91:64-71.
2) Okutani A., Tungalag H., Bazartseren B., Yamada A., Tserennorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D. and Inoue S. (2011) Molecular epidemiology of *Bacillus anthracis* isolated in Mongolia by Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis with 8 loci (MLVA 8). Jpn. J. Infect. Dis. 64:345-348.
3) Nguyen A.K.T., Nguyen vinh D., Ngo G.C., Nguyen T.T., Inoue S., Yamada A., K.X.D., Nguyen van D., Phan T.X., Pham B.Q., Nguyen H.T. and Nguyen H.T.H. (2011) Molecular epidemiology of rabies virus in Vietnam (2006-2009). Jpn. J. Infect. Dis. 64:391-396.
4) Sato S., Kabeya H., MakinoT., Suzuki K., Asano M., Inoue S., Sentsui H., Nogami S. and Maruyama S. (2011) Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in Feral Raccoons (Procyon lotor) in Japan. J. Parasitol. 95:956-957.
5) Sugiura N., Uda A., Inoue S., Kojima D., Hamamoto N., Kaku Y., Okutani A., Noguchi A., Park C.-H. and Yamada A. (2011) Gene Expression Analysis of Host lnnate lmmune Responses in the Central Nervous System following Lethal CVS-11 lnfection in mice. Jpn. J. Infect. Dis. 64:463-472.
6) Park C.-H., Kojima D., Hatai H., Inoue S. and Oyamada T. (2011) A case report of traumatic neuroma of cervical spinal cord in a dog. J.Vet.Med.Sci. 18:536-537.
7) Abe M., Ito N., Sakai K., Kaku Y., Oba M., Nishimura M., Kurane I., Saijo M., Morikawa S., Sugiyama M. and Mizutani T. (2011) A novel sapelovirus-like virus isolation from wild boar. Virus Genes. 43:243-8
8) Kaku Y., Noguchi A., Marsh G.A., Barr J.A., Okutani A., Hotta K., Bazartseren B., Fukushi S., Broder C.C., Yamada A., Inoue S. and Wang L.-F. (2012) Second generation of pseudotype-based serum neutralization assay for Nipah virus antibodies: Sensitive and high-throughput analysis utilizing secreted alkaline phosphatase. J. Virol. Methods 179:226-232.
9) Hasebe F., Thuy N.T., Inoue S., Yu F., Kaku Y., Watanabe S., Akashi H., Dat D.T., Maile T.Q. and Morita K. (2012) Serologic evidence of nipah virus infection in bats, Vietnam. Emerg. Infect. Dis. 185:536-537.
10) Hotta A., Tanabayashi K., Yamamoto Y., Fujita O., Uda A., Mizoguchi T. and Yamada A. (2012) Seroprevalence of tularemia in wild bears and hares in Japan. Zoonoses and Public Health 59: 89-95.
11) Masuzawa T., Uchishima Y., Fukui T., Okamoto Y., Muto M., Koizumi N. and Yamada A. (2011) Detection of Anaplasma phagocytophilum from wild boars and deer in Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 64, 333-336.

２． 和文発表

1) 鈴木道雄，木村昌伸，今岡浩一，山田章雄. *Capnocytophaga canimorsus* および *Capnocytophaga cynodegmi* 国内分離株の簡易同定キットを用いた同定法の検討. 日本臨床微生物学雑誌, 21(4):276-280, 2011
2) 今岡浩一, 鈴木道雄. *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の現状. in：獣医畜産新報, 文永堂, 64(7): 557-562, 2011
3) 井上 智、二宮 清。5 狂犬病、第 3 章 中枢神経症候群。第 I 部 臨床編。2 ウイルス感染症の検査・診断 スタンダード。編集：田代眞人、牛島廣治。羊土社、p80-86、2011
4) 井上 智。狂犬病の現状とその課題。特集 ズーノーシス - 各論編 -。獣医畜産新報（JVM）、64:551-555、2011

5) 井上　智。18. ラブドウイルスと感染症。第３章 II. ウイルス学各論。獣医微生物学（第３版）。監修：見上　彪。編集：関崎　勉、高井伸二、堀本泰介、望月雅美。文永堂出版、p231-238、2011
6) 井上　智。狂犬病（シリーズ 8）。日本の警戒すべき感染症（感染症から身を守るために）。月刊「クリネンス」、11 月号、p8-9、2011
7) 井上　智。狂犬病の対策を考える（学術）。宮城県獣医師会会報（Miyagi Veterinarian）。第 64 巻、第 4 号、10 月号、p162-166、2011
8) 井上　智。事例 3：狂犬病の発生様式、5：感染症の疫学事例、16 章：感染症の疫学。獣医疫学・第 2 版（Veterinary Epidemiology 2nd edition）。獣医疫学会編。近代出版。p131、2011

II. 学　会　発　表

１．国際学会

1) Nishizono A.., Yamada K., Ito N., Inoue S., and Park C.-H. Pathogenesis and immune evasion of rabies virus in the mouse. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 20-22 June, 2011. Stanford University, California, USA.
2) Park C.-H. and Inoue S. Neuropathological studies of the mouse experimentally inoculated three bat rabies viruses isolated in Brazil. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 20-22 June, 2011. Stanford University, California, USA.
3) Park C.-H., Ishida M., Kojima D., Sato G., Ito F.H. and Inoue S. Neuropathological studies of the mouse experimentally inoculated three bat rabies viruses isolated in Brazil. Global Conference o Rabies Control. 7-9 Sep, 2011. Incheon, Republic of Korea.
4) Inoue S., Bazartseren B., Tuya N., Dulam P., Batchuluun D., Sugiura N., Okutani A., Kaku Y., Noguchi A., and Kotaki A. Molecular Epidemiology of Rabies Virus in Mongolia, 2005-2008. Current Issues on Zoonotic Diseases. International Scientific Congerence, 80th anniversary of establishment of the national center for infectious diseases with natural foci in Mongolia. 15 Sep, 2011. Ulaanbaatar, Mongolia.
5) Okutani A., Sekizuka T., Bazartseren B., Kuroda M. and Inoue S. Phylogenetic typing of Bacillus anthracis isolated in Japan. Current Issues on Zoonotic Diseases. International Scientific Congerence, 80th anniversary of establishment of the national center for infectious diseases with natural foci in Mongolia. 15 Sep, 2011. Ulaanbaatar, Mongolia.
6) Tungalag H., Okutani A., Bazartseren B., Yamada A., Tserennorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D. and Inoue S. Molecular epidemiology of *Bacillus anthracis* isolated in Mongolia by Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis with 8 loci (MLVA 7). Current Issues on Zoonotic Diseases. International Scientific Congerence, 80th anniversary of establishment of the national center for infectious diseases with natural foci in Mongolia. 15 Sep, 2011. Ulaanbaatar, Mongolia.
7) Inoue, S. The clinical signs and diagnosis of animal rabies. Training Program for Rabies Laboratory Diagnosis. ESRM in NIHE, 26-30 September 2011, Hanoi, Vietnam.
8) Inoue, S. Brain operation of rabies suspected dog for taking samples, packaging and transporting to the laboratory. ESRM in NIHE, 26-30 September 2011, Hanoi, Vietnam.
9) Marissen W.E., Ellison J., Niezgoda M., Kuzmin I., Kuzmina N., Franka R., Weverling G., Meijer J., Rasuli A., Sodoyer R., Laffly L., Quiamboa B., Kamigaki T., Oshitani H., Saito M., Inoue S., Tang Q., Rahman S.A., Rupprecht C.E. and Goudsmit J. Global evaluation of neutralizing activity of CL184, a monoclonal antibody combination against rabies. 22nd International Conference on Rabies in the America. 16-21 Oct, 2011. Puerto Rico.
10) Orbina J.R., Saito M., Inoue S., de Guzman A., Kamigaki T., Demetria C., Sugiura N., Noguchi A., Sekizuka T., Kuroda M., Bajaro J.D., Manalo D., Quiambao B.P., Segubre-Mercado E., Olveda R. and Oshitani H. Molecular epidemiology of rabies in the Philoppines. Rabies in Asia Conference (RIACon). 28-29 Nov., 2011. Sri Lanka.
11) Sharma N., Hotta A., Tanabayashi K., Yamamoto

Y., Fujita O., Uda A., Mizoguchi T., Shindo J., Park C-H., Kudo N., Hatai H., Oyamada T. and Yamada A. Development of competitive ELISA for serosurvey of tularemia among various animal species. The 5th Asian Meeting on Zoo and Wildlife Medicine/Conservation, Oct. 2011. Kathmandu, Nepal

２．国内学会

1) 阿部良伸, 鈴木道雄, 山本夏男, 高野由喜子, 大花昇, 今福裕司, 今岡浩一, 金光敬二. 遺伝子学的検査にて *Capnocytophaga canimorsus* が起因菌と考えられた敗血症の１例. 第 60 回日本感染症学会総会東日本地方会学術集会, 山形, 2011 年 10 月
2) 福地剛英, 小田智三, 佐藤峰子, 高橋希, 浦牛原孝治, 吉良有二, 横澤隆行, 鈴木道雄, 今岡浩一, 青木茂行. *Capnocytophaga gingivalis* 菌血症の１例. 第 583 回日本内科学会関東地方例会, 東京, 2011 年 11 月
3) 中藤学, 長谷耕二, 鈴木道雄, 西田教行, 堀内基広, 阿戸学, 大野博司. M 細胞に発現する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 40 回日本免疫学会学術集会, 千葉, 2011 年 11 月
4) 栗山由貴子, 芳賀由美, 廣永道隆, 鈴木道雄, 今岡浩一. 検査室間の連携と臨床情報により分離に成功した *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の１例. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 横浜, 2012 年１月
5) 南谷英夫, 栗木潤介, 鈴木道雄, 今岡浩一. SIADH を合併した *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の一例. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 横浜, 2012 年１月
6) 鈴木道雄, 今岡浩一. *Capnocytophaga canimorsus* および *Capnocytophaga cynodegmi* 国内分離株の簡易同定キットを用いた同定法の検討. 第 23 回日本臨床微生物学会総会, 横浜, 2012 年１月
7) 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宿主遺伝子のマイクロアレイ解析。第 10 回 狂犬病研究会、2011、3 月、ホテル湯布院倶楽部、大分県
8) 小嶋大亮、朴　天鎬、石田　誠、佐藤　豪、野口　章、小宮尚之、久保達也、畑井　仁、小山田敏文、井上智。狂犬病野外株接種マウスの中枢神経系に関する病理学的研究並びに免疫組織化学的診断法の確立。第 10 回 狂犬病研究会、2011、3 月、ホテル湯布院倶楽部、大分県
9) 石井　太、井上　智。インターネット調査を利用したわが国の飼育犬頭数推計手法に関する研究。統計関連学会連合大会、2011、9 月、アクロス福岡、福岡市
10) 高野　愛、石畝　史、増澤俊幸、井上　智、Sergey E. Tkachev、苅和宏明、Viacheslav G. Morozov、矢野泰弘、高田伸弘、藤田博己、Xiaohang Ma、川端寛樹。欧州型 *Borrelia* の大陸分布に関する調査研究。日本衛生動物学会北日本支部（第 57 回）、2011、10 月、山形大学・医学部交流会館、山形県
11) 奥谷晶子、井上　智。アジアにおける炭疽の発生状況と遺伝学的タイピングについて。第 11 回人と動物の共通感染症研究会学術集会、2011、11 月 5 日、国立感染症研究所、東京都
12) 佐藤　克、杉山和寿、村山悠子、山下千恵、宗村佳子、水谷浩志、Veera Tepsumethanon、井上　智。狂犬病の疑われたイヌの臨床診断に関する研究。第 11 回人と動物の共通感染症研究会学術集会、2011、11 月 5 日、国立感染症研究所、東京都
13) 李　松熹、河原正浩、、加来義浩、井上 智、上田 宏、長棟 輝行。キメラ受容体を用いた抗狂犬病ウイルス P 蛋白質抗体の細胞内選択。化学工学会 第 75 年会、2012、3 月 18 日-20 日、鹿児島大学、鹿児島県
14) 高須賀仁、河原正浩、グエン・トゥイ・ズオン、加来義浩、井上　智、上田 宏、 長棟輝行。増殖誘導型キメラ受容体を用いたイントラボディー選択法の開発。化学工学会 第 75 年会、2012、3 月 18 日-20 日、鹿児島大学、鹿児島県
15) 藤田修、堀田明豊、宇田晶彦、棚林清、山本美江、Sharma Neekun、山田章雄。日本で分離された野兎病菌のパルスフィールドゲル電気泳動法を用いた分子疫学的解析。第 153 回日本獣医学会学術集会、2012 年 3 月　大宮ソニックシティ、埼玉県
16) 堀田明豊、宇田晶彦、 Sharma Neekun、藤田修、棚林清、山本美江、山田章雄。培養細胞を用いた野兎病菌の病原性比較。 第 153 回日本獣医学会学術集会、 2012 年 3 月　大宮ソニックシティ、埼玉県
17) 佐藤　克、村山志朗、増川洋史、杉山和寿、小林元郎、今林　徹、南　尚人、渡辺智之、鈴木綾香、重松美加、井上　智。獣医療と公衆衛生の連携による即時的・逐次的な動物の疾病サーベイランスネットワークの確立とその試行。第 32 回獣医疫学会学術

集会、2012 年 3 月、大宮ソニックシティ、埼玉県

３．セミナー・講演等

1) 鈴木道雄, 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄. 「カプノサイトファーガ」シンポジウム：話題の新興・再興感染症. 衛生微生物技術協議会第32回研究会, 東京, 2011 年 6 月

2) Koichi Imaoka. Brucellosis in Japan. 8th Japan-Taiwan Symposium on Antibiotics resistance and Foodborne Disease, Tokyo, Oct. 12-14, 2011

3) Koichi Imaoka. Bacterial infection from dogs and cats – Brucellosis and *Capnocytophaga canimorsus* infection-. Workshop I: Zoonoses transmitted from pet animals in daily life. The 2nd International Conference on Animal Care in KOBE 2012, Kobe, Feb. 18-19, 2012

4) 藤田修. 「国内における野兎病の現状」平成 23 年度　動物医科学研究センターセミナー. 日本大学生物資源科学部, 藤沢, 2011 年 6 月

5) 堀田明豊「野兎病についてのフィールドワークから得られたもの」 学友会　第 1 回 Brown Bag Meeting, 国立感染症研究所, 2011 年 11 月

6) 井上　智。人獣共通感染症について知る（社会人として知っておいて欲しいズーノーシス）。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）。早稲田大学、規範科学総合研究所。2011 年、10 月 27 日、早稲田大学、東京都

7) 井上　智。狂犬病の国内発生時対応マニュアルの検討について。平成 23 年度 動物由来感染症対策（狂犬病を含む）技術研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2011 年、11 月 4 日、東京都

8) 井上　智。狂犬病の国内発生時対応マニュアル等について。狂犬病予防技術研修会。徳島県保健福祉部生活衛生課。2011 年、11 月 8 日、徳島県

9) 井上　智。狂犬病の現状と対策。鳥取県動物由来感染症対策連絡会議。鳥取県福祉保健部課。2011 年、11 月 24 日、鳥取県

10) 井上　智。狂犬病予防の鍵：連携と役割分担。平成 23 年度狂犬病予防に関する市町村担当者研修会。岐阜県健康福祉部。2011 年、12 月 13 日、岐阜県

11) 井上　智。狂犬病の現状と予防対策の必要性。平成 23 年度狂犬病予防対策会議。長崎県及び長崎県獣医師会。2012 年、1 月 20 日、長崎県

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２３年度は震災および原発事故に伴う電力不足のために、これまで以上に節電に取り組んだ。フリーザーの使用停止をはじめ徹底した節約により目標を達成することができた。今後、電力消費を抑えながら、業務のアクティビティを恒常的に維持できる体制を構築しなければならない。また、災害に対する備えも重要で、本年度作成された業務に関する行動継続のための計画が実践できるようにしておかねばならない。

検定業務においては、子宮頸がん等ワクチン接種促進事業等により新たなワクチン需要が高まり、国家検定数も増大している。このような状況の中、不活化ポリオワクチンの導入が開始され、多くの承認前試験および検定の準備を行った。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。すなわち、試験のスリム化を目指す一方で、新規に導入されたワクチンについては十分なチェックを行っていきたい。また試験精度の向上を目指し、感染研とメーカー間の同一試験法における試験結果のズレを極力小さなものにすべく、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る。

平成２３年１０月には当部が担当している検定業務においてミスを犯していた事が判明した。平成２０年及び平成２２年に行った発熱試験で、本来よりも過剰に希釈を行った検体を用いて試験を行ったため、緩い基準で判定していた。なお、本内容は報道発表された。検体の内容に関する記載を正確に認識していなかった事が原因であり、国家検定への信頼を裏切ることとなった。大いに反省しなければならない。このような事態を受け、部内での検定業務についての再確認を行った。今後、透明性を高めるとともに、教育訓練の拡充を図る。

国際協力業務については、多くの部員が JICA の研修事業において講師をつとめた。また、国際標準品制定に関し 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。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。今後も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る。

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２３年度の「感染症」に関するトピックとしては、HTLV-1 の母児感染スクリーニングのための標準品の作製を行うとともに、検査法の標準化を進めた。また「ワクチン」においては、アジュバント含有ワクチンの安全性評価法の開発に着手した。こうした当部の研究業務は、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。また、建設中であった１０号棟が平成２４年３月に完成し、研究員室および研究室が移動した。今後、部内の研究機能を集結させ、生物学的製剤の安全性に関する基礎研究、応用研究のさらなる充実を図る。

人事の面では、平成２３年３月１２日に斎藤益満主任研究官が熊本大学エイズセンターより着任した。また平成２３年３月末日には水落利明室長、水澤左衛子主任研究官が定年退官された。両名ともに長期にわたり血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。なお、水澤主任研究官には再任用として当部でご活躍いただくこととなった。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤のウイルス安全性に関する研究

１.病原体検出法の研究

（１）血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査のコントロールサーベイ事業

NAT ガイドライン（平成 16 年）に基づいて血漿分画製剤メーカーと献血血液のスクリーニング実施施設においてウイルス核酸増幅検査（NAT）が実施さている。第三者機関による NAT の精度管理の実情把握を目的として、平成１７年から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によってNAT コントロールサーベイを実施してきたが､今年度から厚生労働省の NAT コントロールサーベイ事業として実施することになった。今年度は HCV-NAT の感度と特異性の実情把握を目的として、ブラインド化したHCV 遺伝子型パネルを用いた NAT コントロールサーベイを実施した。血漿分画製剤メーカー5 施設と献血血液のスクリーニング実施施設 4 施設が参加し、結果を国立感染症研究所に提出する事になっている。

[水澤左衛子、岡田義昭、浜口功]

（２）新規レトロウイルス XMRV の検出法の開発

XMRV は前立腺癌組織から発見されたウイルスであり、その後に慢性疲労症候群の原因ウイルスの候補として注目されたウイルスである。我々は、山形大学から提供された前立腺癌患者 26 人の末梢リンパ球と血漿からそれぞれ DNA と RNA を精製し､PCR 法にて XMRV 遺伝子の検出を試みたが､全ての症例から XMRV 遺伝子は検出されなかった。一方、米国における献血血を用いた大規模な共同研究の結果、XMRV 遺伝子が 1 例も発見できなかった。また、発端となった感染細胞株を継代していたマウスから内因性ウイルスとして XMRV 類似のウイルスが発見されたことから XMRV は実験室内で生じたコンタミであると結論された。我々としては、XMRV が輸血を介して感染する可能性のあるウイルスとして報告された直後から精力的に情報を集め、検査法を確立することができた。短期間で血液製剤の安全性を脅かす病原体に対応できたことは、今後に役立つと思われた。　　[岡田義昭、浜口功]

（３）HBV 関連体外診断用医薬品の性能比較調査

HBV 感染動態の重要な指標となる３種のマーカー：HBs 抗原、抗 HBs 抗体、抗 HBc 抗体について、それらを検出／測定する体外診断用医薬品の性能比較調査を国内で承認を受け販売されている高感度キットについて実施している。なお、本調査には日本赤十字社中央血液研究所より譲渡を受けた献血由来の実検体を用いた。本年度は抗 HBs 抗体と抗 HBc 抗体測定キットについての調査結果を報告する。

［水落利明、溝上雅史（国立国際医療研究センター）］

（４）HTLV-1核酸検査法の標準化

ATL発症の危険因子の１つとして末梢血中のHTLV-1プロウイルス量(PVL)が上げられる。PVLは定量PCR法によって測定されるが、施設毎に独自の測定方法を採用しているため測定結果には大きな差があることが知られる。そこで、HTLV-1感染細胞TL-Om1のPBMC希釈系列を標準品に用いて国内8施設の測定方法の標準化を試みた。標準品の測定結果から各施設の補正係数を算出し､臨床検体のPVLの測定結果を補正したところ､施設間差は7.4倍(補正前)から3.4倍（補正後）となり、標準品を用いることで標準化が可能であることが明らかとなった。

［倉光球、大隈和、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2011年ESCS会議における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。EBV-DNA、第３次HIV-RNA、HEV-RNA、第３次HBV-DNA及び第４次HCV-RNAの国際標準品とHBsAg genotypeパネルが制定された。新たに第２次HAV-RNA、HBeAg、及びHBe抗体（Ig）の国際標準品とHEV、第２次HIV-1、及びHIV-1 CRF のgenotypeパネルを作製することが承認された。国立感染症研究所は今回制定された国際標準品等と同様に、引き続き、新たな国際標準品とgenotypeパネル作製のための国際共同研究に参加することになった。

［水澤左衛子、水落利明、浜口功、小林和夫(免疫部)］

（２）国内献血血液を用いた血清／血漿パネル（国立感染症研究所国内標準パネル）の整備

国内献血血液による国内標準パネル（HIVAg, HBsAg, HCVAb, HCV RNA,HBV DNA, HAVAb）について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。しかしながら本省審査管理課からの運用開始に向けた取り組みが遅滞したままであるため引き続き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)]

（３）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

ドイツのポールエーリッヒ研究所が組織する HEV RNA 国際標準品作製のための国際共同研究に共同研究者として参画し、国際標準品候補品（遺伝子型 3a）と日本の国内標準品候補品(同 3b)を同時に評価した。二つの候補品は日本の献血由来の HEV 陽性血漿を原料とし、ISO13485:2003 を取得した施設で製造した凍結乾燥品である。日本の 6 施設を含む 24 施設が参加し、主に自家開発の Real Time PCR 法を用いて測定した。14 組の定量法と 20 組の定性法の測定結果に基づいて国際標準品候補品の力価は 250,000 IU/ml と決定され、2011 年 ECBS で第 1 次 HEV RNA 国際標準品（6329/10）が制定された。国内標準品候補品は国際標準品と同等の品質、同じ力価（250,000 IU/ml）であることが示され、2012 年第 1 回薬事・食品審議会血液事業部会安全技術調査会血液製剤の安全性確保対策に関する検討小委員会で HEV RNA 国内標準品が制定された。

［岡田義昭、水澤左衛子、百瀬暖佳、浜口功］

（４）第２次 HBV-DNA 国際標準品の更新のための国際共同研究への参加

イギリスの NIBSC が組織する第２次 HBV-DNA 国際標準品の更新のための国際共同研究に参加した。共同研究には 12 施設が参加して候補品の力価を測定し、15 組の測定結果が報告された。共同研究の結果は 2011 年 ECBS に報告され、力価 850,000IU/mL の第３次 HBV-DNA 国際標準品（code 10/264）が制定された。　［水澤左衛子］

（５）HTLV-1 国内標準品作成に関する研究

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、施設間の測定方法の標準化を行った。国内８施設での評価の結果、HTLV-1 感染細胞株 TL-Om1 の希釈系列を標準品に設定した。臨床検体を用いて核酸検査の測定方法の標準化の検討をした所、測定値は補正できる事を確かめた。

［倉光球、大隈和、水澤左衛子、岡田義昭、浜口功］

３．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

英国では、輸血による vCJD 感染を防ぐために白血球除去フィルターが導入されている。導入以後、発症前に献血したドナーがいたが、それらのドナー由来の血液製剤を輸血された受血者からの vCJD 発症の報告はない。血漿中にも異常プリオンタンパクが存在しているため、白血球除去フィルターで細胞を除去しても理論的には感染性が残存していることになる。我々は、フィルターに異常プリオンがトラップされるために感染性がなくなる、との仮説の基に白血球除去フィルターによる異常プリオン除去を培養系を用いて検討した。生理食塩水に異常プリオンを添加し、白血球除去フィルターで濾過した場合、ろ液から効率良く除去できることが示された。血漿については、検討中である。

［岡田義昭、水澤左衛子、野島清子、浜口功］

（２）パルボウイルス B19 の研究

パルボウイルス B19（以下 B19）は、一過性に非常に高いウイルス血症を呈するが、多くの感染者は不顕性感染となる。献血者の 40～50％が抗体を保有しているとされるため原料血漿の基準は、10^4～10^5 IU/mL に設定されていることが多い。しかし、この基準は臨床の経験から設定されたもので科学的に決定された数値ではない。我々は、独自に開発した B19 培養系を用いてこの数値について検討した。数万人の血漿プールから製造されるグロブリン製剤は、均一な B19 中和抗体価を反映していると推定できるため、製剤中の IgG の量とその B19 中和活性を検討した。その結果、血漿 1mL に含まれる IgG は 10^4 IU/mL の B19 を完全に中和できることを明らかにできた。培養と臨床からそれぞれ得られた数値は、類似した値であった。　［岡田義昭、野島清子、浜口功］

（３）HCV 感染による B 細胞機能異常、特に B 細胞腫発症機序についての研究

A20 は腫瘍壊死因子-α刺激後急速に誘導されるタンパク質として同定された tumor necrosis factor-α induced protein 3 (TNFAIP3)の別名で、NF-κB 経路の負の調節因子である。最近の報告で、A20 の機能欠損によって引き起こされる NF-κB シグナル伝達の制御異常が、一部の成熟 B 細胞リンパ腫の病因に関与していることが示唆されている。一方慢性 C 型肝炎患者では B 細胞リンパ腫の発症頻度が高いことが疫学的データから示唆されている。本研究では慢性 C 型肝炎患者 B 細胞における A20 分子の発現動態を解析し、B 細胞リンパ腫発症機序について考察した。

[楠英樹、持田恵子（細菌第２部）、小原恭子（鹿児島大学）、水落利明]

（４）組換え VSV を用いた HIV-1 感染症／エイズに対す

る新規治療法の開発

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創出が必要である。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、新規治療法の開発を進めている。

［大隈和、渡辺哲（国立シンガポール大学）、山本直樹（国立シンガポール大学）、田中勇悦（琉球大学）］

（５）組換え VSV 等を用いた HTLV-1 感染症／ATL に対する新規治療法の開発

ヒト T 細胞白血病ウイルス１型(HTLV-1)感染によって引き起こされる成人 T 細胞白血病(ATL)は、予後不良の疾患であり、現在も有効な治療法は開発されていない。最近、ATL 細胞に特異的に高発現する接着分子 TSLC1 等が同定され、有効な治療法や早期発症診断法開発のための表面マーカーとして注目されている。そこで、腫瘍溶解能を有することが知られている VSV 等を用いて、TSLC1 分子等を標的とした新規治療法の開発を進めている。

［大隈和、舘山誠司（株式会社マイクロン）、森下和広（宮崎大学）、山本直樹（国立シンガポール大学）、広瀬国孝（株式会社マイクロン）、山口一成、浜口功］

（６）HTLV-1感染症の診断法の標準化と発症リスクの解明に関する研究

HTLV-1キャリアフォローの充実化を図るため、キャリアの病態の進行度や重症度を判定し、ATL 発症予測に応用可能なバイオマーカーを探索することを目的に、ATL 患者で高値を示すことが報告されているHGF、sFas、およびOPN について予備検討を行った。HTLV-1 キャリア血漿中のHGF量は健常者より有意に高かった。また、sFasおよびOPN量はATL患者検体でHTLV-1キャリアより有意に高い結果が得られ、HGF、sFas、OPNがバイオマーカーとして利用できる可能性が示唆された。

［大隈和、巽正志（エイズ研究センター）、百瀬暖佳、浜口功］

（７）病原体不活化に関する研究

昨年度、紫外線照射による赤血球製剤の病原体不活化の可能性を見いだした。今年度は、血小板製剤で紫外線照射用に CE マークを取得した血液バッグの形態から液の厚さが、4.1mm の赤血球製剤に添加した病原体の不活化効率を検討した。C 型肝炎ウイルスのモデルウイルスであるウシ下痢症ウイルス（BVDV）を用いて検討したところ、全血とほぼ同じヘマトクリット（Ht）40%に調整した赤血球製剤を約 4 Log 不活化することが可能であった。また、Ht を 10、20、40%に調整し、同量の紫外線照射したところ、Ht が低い程不活化効率は指数的に大きくなることが判明した。なお、これらの照射では著明な溶血は観察できなかった。

［岡田義昭、野島清子、浜口功］

（８）日本における血液製剤の副作用サーベイランス制の確立に関する研究

2007 年 11 月に輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムを構築し、オンライン登録による副作用収集の体制づくりの検討を行っている。7 つの大学病院から開始したパイロットスタディは、2009 年度に 300 床以下の 6 病院が加わり、さらに 2010 年度より新たに全国の大学病院の 34 施設がパイロットスタディに参加し、今年度 6 大学病院が新規参加した。今年度までに現在全国の大学病院の半数以上がシステムに参加し、全国網羅のシステムの構築に向けての基盤作りが順調に進行している。

［小高千加子、岡田義昭、種市麻衣子、大隈和、浜口功］

II. 品質管理に関する業務、研究

１．血液製剤

（１）WHO による乾燥濃縮人血液凝固第 VII 因子の第 2 世代国際標準品制定 collaborative study

第 2 世代の乾燥濃縮人血液凝固第 VII 因子国際標準品制定のための collaborative study に参加し、候補品の力価測定作業を行った。11 ヶ国 24 研究機関からのデータを NIBSC が解析を行い、今後第 2 世代の乾燥濃縮人血液凝固第 VII 因子国際標準品の力価が決定されることになっている。［種市麻衣子］

（２）WHO による乾燥濃縮人血液凝固第 II 因子、第 X 因子の第 4 世代国際標準品制定 collaborative study

第 4 世代の乾燥濃縮人血液凝固第 II 因子、第 X 因子国際標準品制定のための collaborative study に参加し、候補品の力価測定作業を行った。14 ヶ国 28 研究機関からのデータを NIBSC が解析を行い、今後第 4 世代の乾燥

濃縮人血液凝固第 II 因子、第 X 因子国際標準品の力価が決定されることになっている。　［種市麻衣子］

（３）重合物否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションついての研究

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。現在試験法標準化を進めており、H23 年度は、グロブリンモノマー、ダイマー、オリゴマー、ポリマーを一定量含む分析参照品を定めた。抗体医薬の品質管理に必須とされる超遠心分析法を用いてグロブリン凝集体を解析し、高速液体クロマトグラフ法と比較検討し、新基準値案を定めるための基礎データの収集を行った。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］

（４）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。

H23 年度は、抗補体価を定めた参照品の作製を開始し、血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により、抗補体価を定めた。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］

２．ワクチン・抗生物質

（１）乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンのたん白質含量試験（ローリー法）における乖離の原因と解決に向けた研究

乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの全たん白質含量は生物学的製剤基準（生物基）の一般試験法に基づいたたん白質含量試験（ローリー法）によって決定されている。当該ワクチンのたん白質含量は、これまでに生物基で規定されている合格基準を十分満たしているものの、メーカ自家試験値と感染研試験値の間である一定の乖離が生じていた。そこで、この乖離の原因と解決策を検討した。その結果、乖離の原因は、当該ワクチンに添加剤として含まれる乳糖水和物がトリクロロ酢酸煮沸沈殿と洗い後の沈殿たん白質と一緒に上澄み液に残っていたためであった。その解決方法として、この残存液量を0.05 mL以下にすることが有効であることを明らかにした。本研究成果により、当該ワクチンのたん白質含量をより正確に決定できるようになった。　［楠英樹、大隈和、浜口功］

（２）不活性化ポリオワクチンの承認前試験等における物理化学試験

当該ワクチンにつき、たんぱく質含量試験、ホルムアルデヒド含量試験、水素イオン濃度試験、2-フェノキシエタノール含量試験の４試験を実施した。前２試験の SOP は、生物基一般試験法に収載されている試験法と多少異なっていたが、どちらの方法でも基準を満たした。2-フェノキシエタノール含量試験は、一般試験法には記載されていない試験であるが、製造所からの情報が少なく、測定値は基準を満たしたものの、試験の実施に支障があった。　［楠英樹、田中明子、大隈和、ウイルス第二部］

（３）平成 23 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 及び KCl ディスク法を実施し、標準品と検体のスペクトル比較から同定確認を試みた。(I) セフォチアム塩酸塩（2 社、3 ロット）の結果:　全ての検体は標準品と同一のスペクトルを与え、同一物と判断できた。(II) ホスホマイシンナトリウム（6 社、14 ロット）の結果：ホスホマイシン標準品はフェネチルアンモニウムであるため、ナトリウム塩である検体とのスペクトル比較では同定確認ができなかった。一方で、日局方に記載されているホスホマイシンナトリウムの参照スペクトルと検体 14 ロットのスペクトルを比較した場合、ほぼ同一であることが確認された。14 ロット全ての検体はホスホマイシンナトリウムと同等成分を含有すると推定された。

［楠英樹］

（４）平成 23 年医薬品製造業一斉監視指導抜き取り試験検査品（抗生物質）の核磁気共鳴（NMR）スペクトル法による確認試験

(a) セフカペンピボキシル塩酸塩（錠剤：１６検体、細粒：９検体）の確認

サンプル（標準品、検体）は Methanol-d4（TMS）で抽出した。^{1}H-スペクトル：標準品と錠剤では、セフカペンピボキシルのシグナルは完全に分離していた。錠剤中の賦形剤由来のピークは小さく、同定への影響は無視できる程度であり、一次解析ができるスペクトルが得られた。細粒は賦形剤のピークが大きく、５ｐｐｍ～７ｐｐｍの領域の分離ピークが同定に利用できた。薬局方記載の

原薬確認試験にある面積強度比（B/A=1）は 0.36～0.77 で、規格を満たさなかった。標準品スペクトルと錠剤の検体スペクトルはシフト、パターンがほぼ同一で、等量混合スペクトルは全てのシグナルが標準品と一致した。細粒の等量混合スペクトルでは５ｐｐｍ～７ｐｐｍの領域のシグナルが一致した。^{13}C-スペクトル：標準品とすべての検体の１次元スペクトルでは、セフカペンピボキシル塩酸塩由来の 21 本中、20 本のピークが検出され、１ピークが溶媒（MeOH-d4）ピークに含まれていた。等量混合スペクトルは全てのシグナルが標準品と一致し、２４検体の同定確認を完了した。

（b）ホスホマイシンナトリウム（注射用：１４検体）の確認

^{1}H-スペクトル及び^{13}C-スペクトル：非常に単純な構造の化合物であることから、^{1}H-及び^{13}C-スペクトルは標準品とすべての検体について、完全にピークが分離したスペクトルを与えた。同定は容易であり、等量混合スペクトルのシグナルは全てのシグナルが標準品と一致した。すべての検体に 10%mol（対ホスホマイシン）程度のクエン酸が認められた。

（c）セフォチアム塩酸塩（注射用：３検体）の確認

^{1}H-スペクトル及び^{13}C-スペクトル：標準品とすべての検体について、同定が可能な、分離したシグナルを与えた。各検体スペクトルは標準スペクトルと非常に類似しており、等量混合スペクトルでは全てのシグナルが標準品と一致した。［矢野茂生］

（５）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遺伝子発現解析法の導入を試み、毒性評価のための17のマーカー遺伝子を同定した。本年度は財団法人 食品薬品安全センター 秦野研究所と共同し、ワクチン接種に伴うマーカー遺伝子の発現パターンにおける施設間差の検討を行った。その結果、実際の測定値には乖離が見られたが、発現パターンには高い相関が確認された。

［百瀬暖佳、安藤栄里子(秦野研)、立花滋博(秦野研)、永田伴子(秦野研)、倉光球、水上拓郎、荒木久美子、古畑啓子、浜口功］

（６）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。また、各種遺伝子について発現を調べたところ、血球系と肺胞上皮細胞、血球および上皮のみに発現している遺伝子をそれぞれ同定した。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、水上拓郎、百瀬暖佳、益見厚子、荒木久美子、古畑啓子、浜口功］

III. ワクチン開発および接種法に関する研究

１．CTL 誘導型Ｃ型肝炎ワクチンの開発

CTL 誘導型Ｃ型肝炎ワクチンに用いる HCV 由来 CTL エピトープの検索、および有効性に関する検討を行った。ペプチド結合リポソームワクチンは従来のペプチドを用いた免疫法やウイルス感染などとは異なる免疫原性をペプチドに与えることを示唆する結果が得られた。この性質を用いて、慢性ウイルス感染症の治療ワクチンの創製が可能になると考えられた。

［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

献血由来末梢血単核球（PBMC）を用いた検討、および、2 次免疫におけるアジュバント要否の検討を行った。献血由来 PBMC につき HLA タイピングを行った結果、88%が HLA-A2 あるいは HLA-A24 陽性であった。また、高頻度でインフルエンザウイルス由来 M1 あるいは NP タンパクに反応性であった。ペプチドライブラリを用いた検索の結果、NP、PA、PB1、PB2 の中から新規 CTL エピトープが同定された。アジュバント存在下で低容量のリポソーム結合ペプチドを 1 次免疫したマウスに 2 次免疫を行ったところ、アジュバントなしで顕著に CTL が誘導されることが確かめられた。

［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

前年度までに同定したHLA-A2およびA24拘束性エボラ

ウイルス由来 CTL エピトープにつき、このエピトープによる CTL 誘導およびペプチド特異的 killing 活性を検討した。9 種類のエボラウイルス由来 HLA-A24 拘束性ペプチドを結合させたリポソームすべてにおいて、killing 活性の誘導が認められた。HLA-A2 拘束性 CTL エピトープのうち 2 種類、HLA-A24 拘束性 CTL エピトープのうち 7 種類のペプチドを結合したリポソームによって誘導された CTL が、内在性抗原を認識することが明らかとなり、ワクチン抗原として適していると考えられた。

［種市麻衣子、松井政則（埼玉医科大学）、内田哲也］

４．免疫原性増強法の開発とワクチンへの応用

SOCS1 アンタゴニスト発現型 BCG 株は、INF-γ，TNF-α，RANTES などの種々のサイトカインおよびケモカインの産生を、親株の BCG 東京株と比較して増強し、強毒結核菌 H37Rv 株の噴霧感染系において、脾臓での bacterial load を有意に低下させることができることがわかった。このような手法で自然免疫を活性化することにより、抗結核特異免疫が増強され、結果として結核菌の脾臓での増殖を抑制できたことは、HIV（SIV）特異的な免疫応答における同様の効果を期待させるものである。

［前山順一、網康至（動物管理室）、松尾和浩（日本ＢＣＧ研究所）］

５．結核ブースターワクチンの開発

（１）ワクチン候補用抗原の選択

未発症結核菌感染者における抗体応答および結核菌蛋白質発現を検討した。23 種の休眠期および増殖期抗原に対する抗体レベルにおいて、未発症結核菌感染者群で最も高い値を示したのは、Antigen85A、MDP1 の 2 種であった。次に、これらの特異抗体を用いて結核腫の肺組織切片の免疫染色を行った。その結果、抗 MDP1 および抗 Antigen85 抗体はともに結核腫中央部を染色した。この 2 種類の抗原は、宿主免疫誘導能があり共に防御抗原であることから、内因性再燃を防止し、成人の肺結核の発症を予防するワクチン候補抗原分子であると期待される。

［前山順一、松本壮吉（大阪市大）、山本三郎（日本ＢＣＧ研究所）］

（２）結核菌組換えタンパク質およびアジュバントの評価

プライム免疫である BCG の効果を増強し、成人期以降の低下した結核免疫を増強するブースターワクチンの開発を目指している。今回は、結核菌組換えタンパク質をマウスおよびモルモットに投与し、マウスを用いて抗体価を、モルモットを用いて遅延型過敏反応（DTH）などの免疫応答を評価した。マウスにおいては、G91 を用いた群では、アジュバント非添加群等と比べ、Th1 免疫を示す IgG2c 抗体価の増強が認められた。一方、弱い DTH 反応を示す BCG 投与モルモットモデルを作成したところ、ブースターによる DTH の増強が認められた。このワクチン候補によって結核免疫が増強される可能性が示された。

［前山順一、伊保澄子（福井大）、岡真優子（大阪市大）、松本壮吉（大阪市大）、井坂雅徳（名古屋市大）、山本三郎（日本ＢＣＧ研究所）］

６．皮内投与デバイスとしてのマイクロニードルの開発と評価

中実針型については、その形状により皮膚への穿刺性能が異なっていた。また、穿刺性能の優れている形状のものほど、皮膚穿刺の過程で破損しやすい傾向が認められた。すなわち、穿刺性能と堅牢性のバランスを考慮してマイクロニードルを設計することが必要と考えられた。中空針型については、マイクロニードルが皮膚を穿刺しているにもかかわらず、排出した色素液の大部分が皮膚表面に漏れた。皮内への穿刺深度を安定して制御・維持するための方法・器具が必要となると考えられる。

［前山順一、内藤誠之郎（検定検査品質保証室）、加藤洋行（凸版印刷（株））］

７．BCG の多様性に関する研究

（１）各国 BCG 亜株の比較

生後まもなく接種するプライムワクチンとしての BCG について、現在、各国使用されている亜株の中でより有用な株を評価するため、および品質管理に有用な情報を得るために比較検討している。マウスで検討したところ日本株を含む前期分与株はメモリー細胞の誘導能が高いことが示された。一方モルモットを用いた場合、検討した BCG ワクチン株の間には結核菌感染防御効果に差は検出されなかった。

［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 Tokyo 172 株 I 型および II 型菌について脂質免疫学的な観点から解析し、宿主応答機序の一部を解明した。総脂質画分は TLR2 依存的に宿主認識され、その反応性は I 型菌に比べ II 型菌由来が優位であった。PGL は総脂質画分の宿主応答を抑制的に制御した。また抗酸菌に特異

的な TDM は mincle 分子、GMM は TLR2 分子をレセプターとして限定的に宿主認識されることが明らかになった。
[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)]

IV. 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の過剰発現によって血液細胞でのAng1の発現量が増加し、Tie2のチロシンリン酸化が亢進することを明らかにした。Ang1のプロモーター活性は、Tie2のkinase-dead体で阻害されたことから、Tie2のキナーゼ活性がAng1の発現調節に重要であることが示唆された。

［百瀬暖佳、浜口功］

２．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欠損マウス由来の骨髄細胞全体をX線照射マウスに移植するとき､移植細胞数を多くするとある程度の細胞生着が認められた。このことからKSL以外の分画に骨髄再建能を持つ細胞が存在している可能性を考えている｡またIRF-2欠損マウスにおいて骨髄造血幹細胞に対する一型IFNによる影響以外のメカニズムの検索も行なっている。

［益見厚子］

３．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。片アレルの欠損例（全７例）では、共通して成長遅延が認められ、日本における DBA の遺伝子変異のタイプと病態との関連が示唆された。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］

４．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。また、ATL 細胞を NOD/SCID マウスに接種したところ、16 時間後に脾臓および骨髄に定着が認められ､更に 14 日までは当該臓器で細胞の増殖像が認められた。また、免疫組織学的検索から、ATL 癌幹細胞ニッチの同定に成功した。

[水上拓郎､滝澤和也､長谷川秀樹(感染病理部)､浜口功]

５．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殆ど解明されていない。胸腺微小環境を主に構成する上皮細胞は皮質部ではケラチン８、髄質部ではケラチン５が発現しているが、その役割について不明である。今回、マウスにおいて、胸腺上皮細胞でのケラチン８の発現が皮質上皮細胞のアポトーシスを抑制し、組織構築を保持することを見いだした。

［小高千加子］

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：96 ロット
免疫グロブリン G 重合物否定試験：111 ロット
抗補体性否定試験：78 ロット
含湿度試験：245 ロット
ホルムアルデヒド定量試験：222 ロット
たん白質定量試験：170 ロット
たん白窒素定量試験：107 ロット
凝固性たん白窒素定量試験：53 ロット

アルミニウム定量試験（スチルバゾ）：2 ロット
アルミニウム定量試験（プラズマ発光）：18 ロット
フェノール定量試験：14 ロット
MPL 含量試験：33 ロット
ヘモグロビン定量試験：6 ロット
クエン酸ナトリウム定量試験：6 ロット
ヒスタミン定量試験：2 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：4 ロット
抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット
乾燥抗 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 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット
異常毒性否定試験：336 ロット
発熱試験：59 ロット

2. 収去検査
抗 A 血液型判定用抗体、4 検体(適：4 検体)
抗 B 血液型判定用抗体、4 検体(適：4 検体)
抗 D 血液型判定用抗体、6 検体(適：6 検体)
抗ヒトグロブリン抗体、5 検体(適：5 検体)
赤外吸収試験：17 ロット
NMR 試験：42 ロット

3. 抜き取り検査
力価試験：7 ロット
活性化凝固因子否定試験:7 ロット
免疫グロブリン G 含量試験:2 ロット
同定試験：2 ロット
異種たん白否定試験：2 ロット
異常毒性否定試験：9 ロット
発熱試験：9 ロット

4. 依頼検査
含湿度試験（水分定量法）：10 ロット
たん白質定量試験：24 ロット
たん白窒素定量試験：7 ロット
アルミニウム定量試験（スチルバゾ）：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：5 サンプル
ホルムアルデヒド定量試験：4 サンプル
2-フェノキシエタノール試験：15 サンプル
異常毒性否定試験：8 サンプル

６．行政検査
異常毒性否定試験：2 ロット

７．総合判定
（国家検定）
乾燥フィブリノゲン:6 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子:47 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビン III:36 ロット
人ハプトグロビン:6 ロット
筋注用人免疫グロブリン:4 ロット
静注用人免疫グロブリン:185 ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：3 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：3 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：3 ロット
人血清アルブミン：242 ロット
加熱人血漿たん白：18 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン:4 ロット
抗 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット
乾燥抗 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 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット

（抜き取り試験）
第Ⅸ因子(複合体含む):7 ロット
ヒスタミン加人免疫グロブリン:2 ロット

国際協力関係業務

1) 2011 年 9 月 21 日:台湾国防医学研究所、国立防衛医学センター 職員に対する研修で、「Quality control test for biologics in Japan」の講義を行った。 ［浜口功］
2) 2011 年 9 月 21 日:台湾国防医学研究所、国立防衛医学センター職員に対する研修で、「General safety test」の講義を行った。 ［益見厚子］
3) 2011 年 9 月 21 日:台湾国防医学研究所、国立防衛医学センター職員に対する研修で、「Development of new abnormal toxicity test」の講義を行った。 ［倉光球］
4) 2012 年 1 月 27 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］
5) 2012 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、「B 型と C 型肝炎ウイルス検査」の講義を行った。 ［水落利明］
6) 2012 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、「ウイルスの不活化・除去」の講義を行った。［岡田義昭］

7）2012 年 2 月 1 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］

8）2012 年 3 月 8 日: JICA 研修「AIDS の予防及び対策」コースで、「ヘモビジランス」の講義を行った。［小高千加子］

9）2012 年 3 月 8 日: JICA 研修「AIDS の予防及び対策」において、「HIV の感染機構 Mechanism of HIV infection」の講義を行った。［大隈和］

10）2012 年 3 月 8 日: JICA 研修「AIDS の予防及び対策」において、「肝炎ウイルス感染の診断キット」の講義を行った。［水落利明］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Naka T, Maeda S, Ohara N, Yamamoto S, Yano I, Maeyama J, Ogura H, Kobayashi K and Fujiwara N : Lipid phenotype of two distinct subpopulations of *M. bovis* BCG Tokyo 172. ***J Biol Chem,*** 286: 44153-44161, 2011

2) Ito M, Kusunoki H, Mochida K, Yamaguchi K, Mizuochi T: HCV infection and B-cell lymphomagenesis. ***Adv Hematol,*** 2011: 835314, 2011

3) Iho S, Osawa Y, Takatsuka H, Maeyama J, Takauji R, Horiguchi S, Kitagawa H, Matsuki T and Yamamoto S. Unique characteristics of palindromic CpG oligodeoxynucleotide, p157-176, In: Takii T, Maeyama, J, Yamamoto S (eds) ***BCG---Vaccine and Adjuvant.*** Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, 2011

4) Maeyama J, Mucosal adjuvants, p177-192, In: Takii T, Maeyama, J, Yamamoto S (eds) ***BCG---Vaccine and Adjuvant.*** Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, 2011

5) Ito M, Kusunoki H, Mizuochi T: Peripheral B cells as reservoirs for persistent HCV infection. ***Front Microbiol.*** 2: 177, 2011

6) 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.*** 72: 295-304. 2011

7) Bravo-Nuevo A, O'Donnell R, Rosendahl A, Chung JH, Benjamin LE, Odaka C: RhoB deficiency in thymic medullary epithelium leads to early thymic atrophy. ***Int Immunol***, 23: 593-600, 2011

8) Morokuma K, Kobori N, Fukuda T, Uchida T, Sakai A, Toriba M, Ohkuma K, Nakai K, Kurata T, Takahashi M: Experimental manufacture of equine antivenom against yamakagashi (Rhabdophis tigrinus). ***Jpn J Infect Dis***, 64: 397-402, 2011

9) 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,*** 17: 771-776, 2011

10) Masumi A. NS5A interacting proteins and progress in anti-hepatitis C virus research. ***Curr. Topics in Virology***, Research Trend, Vol. 9, 2011

11) Baylis SA, Mizusawa S, Okada Y, Hanschmann K-M O: Collaborative Study to Establish a World Health Organization International Standard for Hepatitis E Virus RNA for Nucleic Acid Amplification Technology (NAT)-Based Assays. ***WHO/BS/2011.2175***, 2011

12) Luc S, Luis TC, Boukarabila H, Macaulay IC, Buza-Vidas N, Bouriez-Jones T, Lutteropp M, Woll PS, Loughran SJ, Mead AJ, Hultquist A, Brown J, Mizukami T, Matsuoka S, Ferry H, Anderson K, Duarte S, Atkinson D, Soneji S, Domanski A, Farley A, Sanjuan-Pla A, Carella C, Patient R, de Bruijn M, Enver T, Nerlov C, Blackburn C, Godin I, Jacobsen SE. The earliest thymic T cell progenitors sustain B cell and myeloid lineage potential. ***Nat Immunol.***, 13: 412-419. 2012

13) Masumi A, Miyatake S, Kohno T, Matsuyama T: Interferon regulatory factor-2 regulates hematopoietic stem cells in mouse bone marrow, ***Advanced Hematopoietic Stem Cell***, 91-112, In Tech Book, 2012

14) Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M,Toki T, Terui K, RuNan W, Kanno H, Ohga S,Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H,Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I: Extensive gene deletions in

Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia. ***Blood***, 119: 2376-84, 2012

15) Sun X, Saito M, Sato Y, Chikata T, Naruto T, Ozawa T, Kobayashi E, Kishi H, Muraguchi A, Takiguchi M. Unbiased analysis of TCRα/β chains at the single-cell level in human CD8(+) T-cell subsets. ***PLoS One***, in press, 2012

16) Murayama A, Sugiyama N, Watashi K, Masaki T, Suzuki R, Aizaki H, Mizuochi T, Wakita T, and Kato T: The Reference Panel of Japan for Evaluation of Hepatitis C Virus RNA and Core Antigen Quantitative Assays. ***J Clin Microbiol***, in press, 2012

17) Kusunoki H, Okuma K, Hamaguchi I: Estimation of lactose interference in vaccines and a proposal of methodological adjustment of total protein determination by the Lowry method. ***Jpn J Infect Dis***, in press, 2012

18) Odaka C, Kato H, Otsubo H, Takamoto S, Okada Y, Taneichi, Okuma K, Kimitaka Sagawa K, Hoshi Y, Tasaki T, Fujii Y, Yonemura Y, Iwao N, Tanaka A, Okazaki H, Momose S, Kitazawa J, Mori H, Matsushita A, Nomura H, Yasoshima H, Ohkusa Y, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Online reporting system for transfusion-related adverse events to enhance recipient haemovigilance in Japan: a pilot study. ***Transfus Apher Sci***, in press, 2012

2. 和文発表

1）浜口功:輸血療法の有害事象の検索:ヘモビジランス、2011. 別冊・医学の歩み「輸血療法・細胞療法−現状と課題」、医歯薬出版、 32−36、2011

2）内田哲也、種市麻衣子：Drug Delivery System としてのリポソーム類、アジュバント開発研究の新展開：次世代ワクチンの産業応用技術、監修：石井健、山西弘一、シーエムシー出版、180−185、2011

3）野島清子、水上拓郎、浜口功：輸血・血液製剤と感染症 医薬品の品質管理とウイルス安全性、文光堂、 20−28、2011

4）滝澤和也、倉光球、浜口功：チップを利用した安全性試験 医薬品の品質管理とウイルス安全性、文光堂、256−265、2011

5）浜口功：輸血と感染症、小児感染症学第２版、編集：岡部信彦、診断と治療社、142−145、2011

6）浜口功:血液製剤総論、第十六改正日本薬局方解説書、廣川書店、 G104−116、2011

7）山口一成、倉光球、佐竹正博：2. HTLV−1/ATL の疫学、血液フロンティア, 第 22 巻 2 号、29−35、2012

8）益見厚子、西島正弘：ワクチンアジュバントーその有効性と安全性について一薬学的視点から考える、薬学雑誌、第 131 巻 12 号 、2011

9）益見厚子：耐性菌と抗生物質−薬学者が取り組むべき今後の課題はなにか？−富薬（富山県薬剤師会広報誌)、第 33 巻 261 号、33−26、 2011

10）前山順一、山本三郎：核酸アジュバント：ＣｐＧ−ＤＮＡの粘膜アジュバント効果、アジュバント開発研究の新展開、監修 :石井健、山西弘一、シーエムシー出版、132−142、2011

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Okuma K, Tanaka R, Hamaguchi I, Rose JK, Tanaka Y: Development of a Recombinant Vesicular Stomatitis Virus That Targets CCR5-Tropic HIV-1-Infected Cells and Inhibits HIV-1 Infection. ASV 2011. Minneapolis, U.S.A., Jul. 2011

2) Okuma K, Buonocore L, Fukagawa K, Kohma T, Kusunoki H, Rose JK, Mizuochi T, Hamaguchi I: Development of a Novel Infectious HCV Surrogate Virus Based on a Recombinant Virus Expressing HCV Envelope Glycoproteins. IUMS (ICV) 2011. Sapporo, Japan, Sep. 2011

3) Ito M, Masumi A, Mizuochi T, Suzuki T. HCV NS3 and NS5B induces IRF-2 expression in B cell line, IUMS (International Union of Microbiological Sciences)2011 Congress、Sapporo, Japan, Sep. 2011

4) Naka, T., Maeda S., Yamamoto R., Niki M., Ohara N., Yano I., Yamamoto S., Maeyama J., Ogura H., and Fujiwara N. Comparative phenotypes in two subpopulations of Bacillus Calmette-Guerin (BCG) Tokyo 172 substrain. International Unions of Microbiological Societies 2011 Congress. Sapporo, Japan, Sep. 2011

5) Maeyama J, Iho S, Osada-Oka M, Matsumoto S, Isaka M, Yamamoto S: Immune responses in gunea pig administered with anti-tuberculosis booster vaccine candidate consisting of recombinant proteins of *Mycobacterium tuberculosis* and adjuvants. International Unions of Microbiological Societies 2011 Congress. Sapporo, Japan, Sep. 2011

6) Baylis S, Mizusawa S, Okada Y, C. Nubling M, Hanshmann K-M: Laboratory performance for hepatitis E virus RNA detection and development of a WHO International Standard. 14th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology, Madeira, Sep. 2011

7) Okuma K, Fukagawa K, Kohma T, Morishita K, Yamamoto

N, Yamaguchi K, Hamaguchi I: A novel potential anti-ATL therapeutic based on a vesicular stomatitis virus targeting TSLC1. IACRLRD 2011. Tokyo, Japan, Sep. 2011

8) Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Mausmi A, Yamazaki J, Hasegawa H, Hall WW, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Identification and Characterization of Bone Marrow-derived Leukemic Stem Cells in a Tax-transgenic Mouse Model of Adult T-Cell Leukemia / LymphomaThe XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases. Tokyo, Japan, Sep. 2011

2. 国内学会

1) 益見厚子、持田恵子、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、森　茂太郎、柴山恵吾、濱口功 Mycobacterium Avium 感染マウスの造血幹細胞の解析、第 32 回第日本炎症、再生医学学会、京都、2011 年 6 月

2) 野島　清子、岡田　義昭、浜口　功：過去の血漿分画製剤に対する核酸増幅法による HCV 遺伝子検査について、第 59 回日本ウイルス学会、札幌、2011 年 9 月

3) 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、第 59 回日本ウイルス学会、札幌、2011 年 9 月

4) 大隈和、舘山誠司、森下和広、広瀬国孝、山本直樹、山口一成、浜口功:腫瘍溶解性ウイルス VSV を用いた ATL に対する TSLC1 分子標的療法の開発. 第 4 回 HTLV-1 研究会. 東京、2011 年 9 月

5) 水上拓郎、滝澤和也、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　HTLV-1 Tax トランスジェニックマウスを用いた ATL 癌幹細胞及びそのニッチの同定　第 152 回日本獣医学会　大阪、2011 年 9 月

6) 益見厚子、倉光球、水上拓郎、滝澤和也、百瀬暖佳、山口一成、濱口功。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 73 回日本血液学会、名古屋、2011 年 10 月

7) Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Yamazaki J, Masumi A, Hasegawa H, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Identification of cancer stem cell niche in Adult T-Cell Leukemia / lymphoma (ATL) model mouse. 第 73 回日本血液学会、名古屋 、2011 年 10 月

8) Kuramitsu M, Matsubara A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, Wang R, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Masumi A, Momose H, Mizukami T, Takizawa K, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I　: Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond Blackfan anemia,　第 73 回日本血液学会、名古屋、2011 年 10 月

9)小高千加子：輸血製剤副作用情報収集システム。平成23年度全国大学病院輸血部会議、さいたま、2011年10月

10) 種市麻衣子、内田哲也：リポソーム結合抗原による液性免疫と細胞性免疫の誘導におけるTLRリガンド依存性の相違　第40回日本免疫学会学術集会、2011年11月　千葉

11) 小高千加子：Development of Hassall's corpuscles in mouse thymus.　第40回日本免疫学会総会、千葉、2011年11月

12) 大隈和、深川耕次、高馬卓也、渡辺哲、田中勇悦、山本直樹、浜口功：ヒト化 NOG マウスを用いた R5 HIV-1 標的組換え VSV の薬効性評価. 第 25 回日本エイズ学会学術集会. 東京、2011 年 11 月

13) 高馬卓也、鶴野親是、大江賢治、倉光球、高浜洋一、浜口行雄、浜口功、大隈和：HMGA1a は HIV-1 特異的な選択的スプライシングの制御に関与している. 第 25 回日本エイズ学会学術集会. 東京、2011 年 11 月

14) Ito M, Masumi A, Mizuochi T, Suzuki T：Enhanced expression of IRF-2 in HCV-infected B cells, 第 34 回日本分子生物学会, 横浜、2011 年 12 月

15) 水上拓郎, 倉光球, 百瀬暖佳, 滝沢和也, 益見厚子, 石井健, 浜口功. 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 第 15 日本ワクチン学会、東京、 2011 年 12 月

16) 前山順一、伊保澄子、小宮貴子、井坂雅徳、高橋元秀、山本三郎。新規 A 型 CpG-DNA の粘膜アジュバント作用における形質細胞様樹状細胞の役割、第１５回日本ワクチン学会学術集会、東京、2011 年 12 月

17) Mizukami T: Identification and characterization of cancer stem cells in a Tax-transgenic mouse model of adult T-cell leukemia/lymphoma. グローバル COE リエゾンラボ研究会、熊本、 2012 年 2 月

18) 深澤秀輔、益見厚子：クロマチン結合蛋白質 BET ファミリーによる細胞機能調節、第 132 回日本薬学会、札幌 2012 年 3 月

19) 前山順一、伊保澄子、井坂雅徳、山本三郎：粘膜アジュバントとしての新規 A 型 CpG-DNA の作用機序：形質細胞様樹状細胞の関与、第８５回日本細菌学会総会、長崎、2012 年 3 月

１４．国際協力室

室長　中嶋建介（～H23.6.26）
宮川昭二（H23.6.27～）

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、独立行政法人国際協力機構(JICA)、社団法人国際厚生事業団(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、世界保健機関(WHO)・世界保健機関西太平洋地域事務局(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 23 年 4 月から平成 24 年 3 月までに、54 カ国から 243 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 23 年 4 月から平成 24 年 3 月までに、48 カ国 429 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

(ｱ) 平成 23 年 10 月 13-14 日　公益法人台湾交流協会からの依頼に基づく第８回日台シンポジウムの開催（戸山庁舎において、ウイルスの耐性並びに食品媒介疾患及び共同研究を題材に。)。

(ｲ) 平成 23 年 11 月 17 日　日中韓の国立感染症機関〔感染研、中国国立疾病対策予防センター(CDC)、韓国国立感染症対策センター(CDC)〕の第５回共同シンポジウムの開催(韓国 Osong において、公衆衛生における気候変動及び自然災害の影響、公衆衛生における現状と課題を題材に。)。

(ｳ) 平成 24 年 2 月 20 日　中国食品医薬品検定研究院(NIFDC)との第１回日中シンポジウムの開催（北京において、ワクチン品質管理及び研究を題材に。)。

イ　外国機関へのワクチン株供与

(ｱ) 平成 23 年 6 月韓国食品医薬品安全庁(KFDA)へ安全性試験用並びに力価試験用参照百日咳ワクチンを供与。

２．国際協力・研修業務

(1) JICA との研修協力

ア　集団研修

(ｱ) 平成 23 年 6 月 13 日-7 月 16 日　HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検査技術（8 カ国・12 名・エイズ研究センター)。

(ｲ) 平成 24 年 1 月 16 日-2 月 10 日　ポリオ及び麻疹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（6 カ国・8 名・ウイルス第二部)。

(2) JICA 技術プロジェクト

ァ ベトナムにおける JICA 協力(高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクト支援のための技術協力等)。

(ァ) 派遣

① 平成 23 年 6 月 12-24 日 バイオセーフティに関する指導を行うためバイオセーフティ管理室職員 1 名をベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)に派遣。

② 平成 23 年 7 月 24-30 日 GMT（炭疽）に関する指導を行うため獣医科学部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

③ 平成 23 年 7 月 27 日-8 月 6 日 GMT（狂犬病）に関する指導を行うため獣医科学部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

④ 平成 23 年 8 月 1-10 日 GMT(コレラ)に関する指導を行うため細菌第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑤ 平成 23 年 11 月 2-9 日 GMT(ペスト)に関する指導を行うため細菌第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑥ 平成 23 年 11 月 2-12 日 GMT（鳥インフルエンザ）に関する指導を行うためインフルエンザウイルス研究センター職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑦ 平成 23 年 11 月 14-25 日 バイオセーフティに関する指導を行うためバイオセーフティ管理室の職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑧ 平成 24 年 2 月 5-14 日 GMT(コレラ)に関する指導を行うため細菌第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑨ 平成 24 年 2 月 27 日-3 月 6 日 GMT（ヒストプラズマ症）に関する指導を行うため生物活性物質部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

(ｲ) 受入

① 平成 23 年 11 月 15 日-12 月 9 日 バイオセーフティ/実験室維持管理研修のため、「バイオセーフティトレーニングコース」にベトナムタイグエン衛生疫学研究所並びにニャチャン・パスツール研究所から研修員 2 名をバイオセーフティ管理室及びインフルエンザウイルス研究センターに受入。

② 平成 23 年 11 月 15 日-12 月 9 日 バイオセーフティ/実験室維持管理研修のため、「実験室維持管理トレーニングコース」にベトナム NIHE 並びにホーチミン・パスツール研究所から研修員 2 名をバイオセーフティ管理室に受入。

③ 平成 23 年 11 月 15 日-12 月 9 日 バイオセーフティ/実験室維持管理研修のため、「GMT/狂犬病 トレーニングコース」にベトナム NIHE から研修員 1 名をバイオセーフティ管理室及び獣医科学部に受入。

④ 平成 23 年 11 月 15 日-12 月 9 日 バイオセーフティ/実験室維持管理研修のため、「GMT/炭疽（病）トレーニングコース」にベトナム NIHE から研修員 1 名をバイオセーフティ管理室及び獣医科学部に受入。

⑤ 平成 24 年 2 月 21 日-3 月 16 日 バイオセーフティおよび GMT/コレラ研修のため、「バイオセーフティコース」にベトナム NIHE 並びにホーチミン・パスツール研究所及びニャチャン・パスツール研究所、タイグエン衛生疫学研究所から研修員 4 名をバイオセーフティ管理室に受入。

⑥ 平成 24 年 2 月 21 日-3 月 16 日 バイオセーフティおよび GMT/コレラ研修のため、「コレラコース」にベトナム NIHE から研修員 2 名をバイオセーフティ管理室及び細菌第一部に受入。

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のサーベイランス及びコントロールプロジェクト支援のための技術協力等)。

(ァ) 派遣

① 平成 23 年 11 月 20-28 日 ポリオ実験室診断技術アドバイス等のためウイルス第二部職員 1 名を中国新疆自治区 CDC へ派遣。

(ｲ) 受入

① 平成 23 年 7 月 5 日-9 月 25 日 「麻疹実験室診断」研修のため中国 CDC か

ら研修員1名をウイルス第三部に受入。
② 平成23年8月24日　カウンターパート（EPI疫学）研修のため保健省、中国CDC等の研修員7名を受入。

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のための技術協力等）。
(ア) 派遣
① 平成23年7月24-30日　プロジェクト運営指導調査に係る調査団員(FETP)として感染症情報センター職員1名を南スラベシ州保健省等へ派遣。
② 平成23年8月7-17日　サーベイランス強化のため感染症情報センター職員1名を南スラベシ州保健省等へ派遣。

エ インドネシアにおけるJICA協力（感染症の早期警戒対応システム強化プロジェクト支援のための技術協力等）。
(ア) 派遣
① 平成24年3月11-17日　プロジェクト詳細計画策定調査に係る調査団員として感染症情報センター職員1名を保健省等へ派遣。

オ インドネシアにおけるJICA協力（安全な医薬品を届けるプロジェクト支援のための技術協力等）。
(ア) 派遣
① 平成23年10月23-29日　ワクチン検定試験に関する指導を行うためウイルス第三部職員2名を国家医薬品食品監督庁へ派遣。

カ エチオピア国におけるJICA協力（アムハラ州感染症対策強化プロジェクト支援のための技術協力等）。
(ア) 派遣
① 平成23年8月8-19日　プロジェクト運営指導調査に係る調査団員（感染症サーベイランス）として感染症情報センター職員1名を保健局等へ派遣。

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
(ア) 平成23年9月21日　WPRO TAG Meetings報告会（戸山庁舎・25名）。

イ 会議等派遣
(ア) 平成23年4月26-30日　ポリオ実験室診断小委員会会合（フランス・1名）。
(イ) 平成23年5月29日～6月2日　第3回WHO西太平洋地域の日本脳炎に関する会議（ラオス・1名）。
(ウ) 平成23年8月8～13日　第20回予防接種ならびにワクチン予防可能疾患に関する対策策定グループ会議(フィリピン･5名)。
(エ) 平成23年8月9～13日　西太平洋地域での制圧に向けたマラリア対策マネージャー会議（フィリピン・1名）。
(オ) 平成23年9月4～10日　第3回西太平洋地区におけるワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議（フィリピン・4名）。
(カ) 平成23年9月11～14日　アジア地域各国の診断ラボ構築指針作成準備会議(フィリピン・1名)。
(キ) 平成23年9月19～27日　抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス体制の新規構築のための技術指導（ベトナム・2名）。
(ク) 平成23年9月20～25日　ポリオ実験室診断小委員会会合および第17回世界ポリオ実験室ネットワーク非公式会合（スイス・1名）。
(ケ) 平成23年10月11～16日　ワクチン規制制度強化の国際諮問「戦略的方向性、評価過程と指標」会議（スイス・1名）。
(コ) 平成23年10月16～22日　生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（スイス・2名）。
(サ) 平成23年10月18～23日　西太平洋地域における新興感染症研究所強化に関する会議（マレーシア・1名）。
(シ) 平成23年11月22日～12月4日　ブルーリ潰瘍蔓延地域における視察および情報収集（ガーナ・1名）。
(ス) 平成23年11月27日～12月1日　新興感染症サーベイランスと対応部門の会議および緊急時/災害時における薬剤耐性菌対策に関する非公式協議(フィリピン･1名)。
(セ) 平成24年2月12～16日　WHO西太平洋地域ハンセン病対策官会議（フィリピン・1名）。

ウ WHOによる査察
(ア) 平成23年12月5～8日 VACCINE

REGULATORY SYSTEM 評価（２名）。

ｴ　国内会議参加

(ｱ) 平成 23 年 9 月 21 日　世界のポリオ対策に関する意見交換会（2 名）。

(ｲ) 平成 24 年 2 月 10 日　PIP アドバイザリーグループ会議（3 名）。

ｵ　WHO から厚生労働省国際課を経由した対処方針案コメント依頼への対応等。

４．その他協力、調整

(1) 国際会議支援(所内開催)

ｱ　平成 23 年 11 月 9-10 日　GHSI１・健康危機情報早期探知システムプロジェクト会議(19 名)。

(2)　国内会議支援(所内開催)

ｱ　平成 23 年 7 月 20 日　GPEI 独立モニタリング委員会会合の報告会(13 名)。

(3)　海外の要人来訪

ｱ　平成 23 年 4 月 12 日　葛西健 WHO 西太平洋地域事務局健康危機管理部長来所。感染症等に関する意見交換並びに被災地における感染症サーベイランスについて情報交換。

ｲ　平成 23 年 7 月 27 日　李雲龍中国食品薬品検定研究院長来所。ワクチン検定業務等について意見交換。

ｳ　平成 23 年 11 月 9 日　Dr. David Salsbury(英国保健省予防接種部長)来所。Joint Committee on Vaccination and Immunisation(JCVI)紹介等セミナー講演。

ｴ　平成 23 年 11 月 22-28 日　Prof. Pagvajav Nyamdavaa(モンゴル医科学アカデミー所長・ナショナルインフルエンザセンター科学顧問・元保健大臣）来所。インフルエンザに関する共同研究、意見交換等。

ｵ　平成 23 年 12 月 1 日　Dr Shin Young-soo (WPRO 事務局長)、Dr Samlee Plianbangchang〔WHO 東南アジア地域事務局長(SEARO)〕来所。感染症等について意見交換。

(4)　感染研セミナー等の開催

ｱ　平成 23 年 7 月 19 日　Dr Gyanendra Gongal（SEARO 人獣共通感染症技術担当役員）による「南東アジアにおける狂犬病、二パウイルス、クリミア・コンゴ出血熱、炭疽、鳥インフルエンザ等新興・再興感染症の現状と対策」セミナーを開催（獣医科学部との共催。）。

ｲ　平成 23 年 8 月 24 日　李全楽（中国衛生部疾控局）、王新華（中国甘粛省衛生部）、駒瀬勝啓（感染研）、砂川富正（感染研）等日中麻疹関係者による第 4 回「日中麻疹セミナー」を開催（国立国際医療研究センターとの共催。）。

ｳ　平成 23 年 9 月 21 日　渡邉治雄（感染研)、倉根一郎（感染研)、吉倉廣（厚生労働省参与、元所長）による「WPRO TAG Meetings 報告会」セミナーを開催。

ｴ　平成 23 年 12 月 16 日　吉倉廣（厚生労働省参与、元所長)、矢野安重（仁科記念財団理事・元理化学研究所仁科加速器研究センター長)、賀来満夫（東北大学感染制御・検査診断学教授、東北大学病院感染管理室部長）による「科学技術の社会への貢献と役割」セミナーを開催（学友会との共催。）。

ｵ　平成 23 年 12 月 21 日　宮村達男（感染研前所長）、岡部信彦（感染研）、吉田弘（感染研）による「WHO 西太平洋地域ポリオ根絶証明委員会(RCC)ほか報告会」を開催。

ｶ　平成 24 年 2 月 28 日　Dr. RODNEY E. WILLOUGHBY, JR.（ウィスコンシン医科大学小児科学、准教授)、井上智（感染研）、飛梅実（感染研）による「狂犬病を発症した患者の脳脊髄液における免疫応答とそのメタボローム解析について」セミナーを開催（獣医科学部との共催。）。

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

感染研インターネット上の専用ページ「国際協力」において、国際研究活動の情報を提供している。また、所内専用ページにおいて、全ての職員の海外活動情報（海外出張報告書）を還元している。

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 22 年度に各部（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い、平成 23 年 10 月以降の新規入所者から各部において教育訓練記録書の作成を開始した。これらの記録書は BSL3 病原体取扱申請時の資料とすることとした。

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、国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究、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研究、ウイルス、細菌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。

ゆうパックを利用し地方衛生研究所から感染研へ送られた梱包容器がドライアイスの誤混入により輸送途中で破裂するという事故が起こった。厚生労働省の現地調査および再発防止対策の実施のための輸送研修会等に協力した。感染研においても輸送に関する教育訓練を実施した。職員向け、また外部機関から感染研へゆうパックを利用して病原体等を送付する場合の注意事項、適切な梱包法についての資料を作成するなどして再発防止に努めた。

感染症法に基づく立入検査が戸山庁舎（1 月 24 日)、ハンセン病研究センター（2 月 1 日）および村山庁舎（2 月 7 日）にて実施された。厚生労働省担当官および警察関係者の立ち会いのもと、施設のセキュリティ体制および適正な病原体管理について現地確認が行われた。

平成 23 年 10 月より、家畜伝染病予防法の改正により家畜伝染病病原体の所持規制が開始された。申請および届出を行ったが、それに伴う現地立入調査が戸山庁舎（1 月 11 日）および村山庁舎（1 月 12 日）で実施された。

第 54 回米国バイオセーフティ学会総会、第 14 回欧州バイオセーフティ学会総会、第 6 回アジア太平洋バイオセーフティ学会総会および第 11 回日本バイオセーフティ学会（つくば）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。

業　績

調査・研究

I.　バイオセーフティに関する研究

1. 病原体取扱いと管理のモデル総合システムに関する研究

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「国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究」(研究代表者　杉山和良）として、バイオリスク管理のモデル、教育および病原体等の運搬方法に関する研究を行った。

(1) バイオリスク管理のモデルについての研究

1) 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、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 2 着を用い、これらを市販のオートクレーブバッグに詰め、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。またオートクレーブバッグ内部で発生または外部から取り込まれた水蒸気量を重量にて求め、滅菌状態との関連性を検討した。

［伊木繁雄、杉山和良］

2) 病原体取扱い基本実験室モデルプランの試作

国際的なバイオリスク管理基準を踏まえた病原体取扱実験室の構築を見据え、WHO 指針を参照に BSL2 実験室モデルプランを試作した。

［藤本秀士(九州大学大学院)、重松美加 (感染症情報)、杉山和良］

3) ポリオウイルス実験室封じ込めの研究

野生株ポリオウイルス保有施設の更新のための予備的調査を行った。WHO から提供されたポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用 DVD を用いた WHO バイオセーフティワークショップでの教育訓練方法について調査研究した。

［清水博之 (ウイルス第二部)、伊木繁雄］

4) 実効的な株単位での病原体管理の検討

電子的に在庫管理を行うことを目的として、二次元バーコードシステムによる株単位での病原体管理システムの構築を試行した。プロセス上必要なアイテムをリスト化し、各運用ステップとの相関でフロー図化した。

［御手洗聡、鹿住祐子(結核研)、杉山和良］

5) 国際的資格認証に関する研究

バイオリスクの適正管理に不可欠なバイオセーフティの専門家には、国際的に統一の基準にて資格があることが望まれる。欧州標準化委員会のワークショップ合意文書 CWA16335 は専門家に求められる能力、技能、使命などを対象とした。合意に至る議論と仕組みについて調査した。

［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)、杉山和良］

(2) 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教育

バイオリスク管理教育プログラムの短期的・長期的な教育効果を判定するために、大学院学生対象のバイオリスク管理教育コースにおいてコース受講前後にアセスメントを行い、学習効果について検討した。

［藤本秀士(九州大学大学院)、重松美加 (感染症情報)、杉山和良］

2) 米国のバイオリスク管理教育の調査

米国バイオセーフティ学会主催のトレーニングコース「Principle & Practices of Biosafety」について、コースの項目と内容および時間、トレーニングの手法、受講者への対応方法など、教育訓練技術全般および運営に関する調査を実施した。

［伊木繁雄、杉山和良］

3) 成人教育設計に関する研究

社会人の教育は、成人教育として受講者の特異性に配慮し、アプローチする必要がある。プログラム設計と研修進行における手法について、専門家による研修プログラムから情報収集と分析を行い、作成中の自習プログラムにその手法の導入を試みた。

［重松美加 (感染症情報)、杉山和良］

(3) 病原体等の運搬方法に関する研究

1) 新たな運搬方法に関する研究

検体の運搬中に発生した輸送容器の破裂事故に関する調査および再発防止対策の検討および民間輸送業者からの要望を満たすための容器の検討を行った。

病原体輸送容器のうち二次容器へのドライアイスの誤梱包による破裂であったためドライアイス誤梱包時における一次容器の内容物飛散防止策として、一次容器を様々な材質の容器で覆い、これをドライアイスとともに二次容器に入れて密封し、二次容器破裂時の内容物の飛散防止状況を検証した。

厚生労働省、健感発 0315 第 1 号（23 年 3 月 5 日）の別添、遵守事項の 4 重包装に用いる容器の要件を満たす容器を作成した。

［伊木繁雄、杉山和良、宇田川悦子、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)］

2) 病原体等安全輸送

一般的な微生物学的知識があることを前提に、過程を追いながら病原体等の輸送準備を実施できるよう作業フローをまとめた。

［御手洗聡、鹿住祐子(結核研)、杉山和良］

3) 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、これまで実施してきた消毒・滅菌処理後に再利用の可能性が見込まれた国産品 1 点と輸入品 1 点について、汎用性の高い紫外線照射（254nm, 120μW/cm^2 の線量で 3 時間）、薬液処理（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）または高圧蒸気滅菌処理（135℃,40 分×5 回または 20 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、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)］

4) 地方衛生研究所における病原体等輸送に関するバイオリスクの低減

一地方衛生研究所の現状を把握し、病原体等の運搬に関するルールを再整理し、教育研修用の効果的資料の作成に必要な事項の検討を行った。

［佐多徹太郎(富山県衛生研)、杉山和良］

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の防護性能に関する調査

(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）を行い、その結果を ISO 規格の審査や JIS 規格の制定に反映している。

［篠原克明、小野澤哲夫、熊谷慎介］

(2) バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する研究

バイオハザード対策専用防護服の防護性能を総合的に検討するために、専用に開発した試験装置や試験方法などを用いて新機能素材を含む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、嶋崎典子］

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「病原体の登録、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、国内数箇所に一括管理システムの実用配備を行った。また、国内外の関連情報の収集を行い、システムに反映した。

［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バクテリア吸着作用に関する研究

新規コーティング技術により作成された二酸化チタン不織布を用いて、2 種のバクテリアの吸着性について検討した。今回は院内感染制御を鑑み、*A.bumannii*(ATCC19606)及び *S.aureus*(ATCC12598)を用いて既報の方法に従い試験を行った。その結果両者において吸着効果が認められた。今後さらに菌種を増やし、同様の検討を継続してゆく。※本研究は平成 23 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)及びネコカリシウイルス(FCV)に対するエタノール処理によるウイルス粒子崩壊機構に関する研究

MNV と FCV は共にヒトノロウイルス(HNoV)の代替ウイルスとして様々に汎用されているが、消毒剤感受性について極端な相違を示す場合があり、その代表格がエタノール製剤である。前者は非常に感受性が高い半面、後者は感受性があるものの作用は緩慢であり、どちらが HNoV を反映しているかは未だ議論の対象となっている。今回両者に対してエタノール処理を施したものを経時的にサンプリングし、その virion 形状変化を電子顕微鏡により観察したところ、両者とも経時的 virion 崩壊が観察され、感染価測定限界以下に至っては同様の崩壊像が得られた。このことから各々の virion 安定性に対してエタノールは「不安定化因子」となるが、反応速度等に大きく差が生じていることが示唆された。

［高木弘隆、岡智一郎(ウイルス第 2 部)、遠矢幸伸(日大)、杉山和良、片山和彦(ウイルス第 2 部)、研究協力:片岡紀代(電顕室)］

(3) FCV 臨床分離株を用いたエタノール低感受性株の自然発生に関する研究

FCV は分離株による消毒剤感受性が異なることを以前より見出しているが、これがどういった機構かは明らかになっていない。今回 FCV 臨床株のうち、塩素系薬剤に対してやや感受性の低い ITO 株を用いて、エタノール処理による耐性株選定を試みた。当該株を 50%あるいは

60%エタノールで 5 分間処理後、処理サンプルを CRFK 細胞に接種し、残留する FCV を分離するという手法を 2 回繰り返し、60%エタノール処理における各 FCV の感染価減衰 time-course を比較した。その結果初発の ITO 株と比較して、分離 1 回目より処理 1-2 分後の感染価減衰が明らかに緩慢となり、分離 2 回目では処理 5 分後の感染価が明らかに残留するようになった。これら「エタノール低感受性株」の出現はおおよそ $1/10^5$ 程度の割合で出現する計算となった。今後これら一連の分離株について、分生物学的手法により低感受性化の機構について解析を進める。

［高木弘隆、杉山和良、片山和彦(ウイルス第 2 部)］

6. 国立感染症研究所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

引き続き、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、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］

8. ハンドドライヤーに付着したウイルスの除去対策

三菱電機工業の協力のもと､北里環境科学センターとの共同研究でハンドドライヤーに付着したウイルスの除去対策に関する研究を行った。市販されている機種と同じハンドドライヤーに使用している器材からの付着ウイルスの除去法を検討した結果、次亜塩素酸による拭き取りが他の薬剤や除去法と比べてより効率の良い結果となった。

［原正幸（北里環境科学センター)、宇田川悦子］

II. 抗酸菌に関する研究

1. 浴槽水等から分離される抗酸菌の調査

中部、北陸、関東、九州の各地方にある温泉・公衆浴場等の浴槽水、濾材などから分離される抗酸菌の調査を行った。全部で 259 施設を調査し、466 の浴槽や源泉から採取した 482 検体について調べた。抗酸菌は、63 検体から検出され、感染研にて純化後、同定試験を行い、75 株が検出された。浴槽水や濾材から、レジオネラ属菌と共に抗酸菌が検出する場合もあるので、消毒・清掃が大切である事がわかった。

[山崎利雄、磯部順子（富山県衛生研究所)、縣　邦雄（アクアスつくば総合研究所)、杉山寛治（静岡県環境衛生科学研究所)、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）]

2.浴槽水等から分離された抗酸菌の同定

1 で検出された抗酸菌 75 株について､生化学的検査法、DDH 法、シークエンス法を用いて同定をおこなった。*M. kansassi* 6 株、*M. simiae* 2 株、*M. gordonae* 15 株、 *M. avium* 27 株、*M. intracellulare* 3 株、*M. terrae* 6 株、*M. fortuitum* 3 株、*M. peregrinum* 2 株、*M. phlei* 5 株、*M. asiaticum* 1 株、*M. intermedium* 1、*M. scrofulaceum*、*M. paraffinicum*、*M. celatum*、*M. mucogenicum* は各 1 株ずつであった。結核菌は、検出されなかった。

[山崎利雄、磯部順子（富山県衛生研究所)、縣　邦雄（アクアスつくば総合研究所)、杉山寛治（静岡県環境衛生科学研究所)、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）]

3. 結核のワクチン候補の動物実験

結核菌 H37Rv 株の単個菌(菌数 4×10^6cfu/ml の 2.5ml)を噴霧感染させて、4 週と 8 週間後に解剖し、肺の生菌数より、サイトカインシグナル制御型組換え BCG (rBCG-SOCS1dn)による抗結核免疫効果を、既存の BCG と比較した。BALB/C の方が C57BL/6 より強い免疫効果が見られた。rBCG-SOCS1dn は、既存の BCG と比べより高い抗結核感染効果が示唆された。しかしながら、ワクチンに使用した rBCG-SOCS1dn は結核感染防御において Type I 型よりも劣ると言われている Type II 型の BCG-Tokyo であったので、rBCG-Type I-SOCS1dn を作成して再実験を行う必要がある。

[山崎利雄、水野　悟、松尾和浩（エイズ研究センター）]

4. 結核菌感染後の動物飼育ケージ内の結核菌存在の有無の検討

結核菌 H37Rv 株を約 100cfu 吸入させたマウスの 4､8、12、24 週間まで飼育中に、結核菌がマウスの体内から、

ケージ内に排出されるかどうかを調べた。各々解剖日に糞便、尿をマウスから直接採取した。床敷は、床替えした糞便、尿を入れないようにして採取した。各群 15 匹のマウスの肺には、それぞれ 10^5〜10^6cfu の菌が存在したが、24 週であっても糞便、尿、床敷には、結核菌を検出しなかった。また、それぞれについて PCR を行ったが、全て陰性であった。したがって、ケージにフィルターキャップを被せなくとも現在の BSL3 動物実験設備で十分安全に結核菌感染実験ができることを確認した。

[山崎利雄、水野　悟]

II. レジオネラに関する研究

1. *Legionella pneumophila* の subspecies 同定法の確立

L. pneumophila は、*L. pneumophila* subsp. *pneumophila*、*L. pneumophila* subsp. *fraseri* 、*L. pneumophila* subsp. *pascullei* の3亜種に分類されることが知られている。市販DDHでは、*L. pneumophila*までしか同定できないので、簡便なＤＮＡ－ＤＮＡハイブリダイゼーション法により、3亜種の鑑別が可能かどうかの検討をおこなった。各亜種の基準株を固相させた自家製プレートを作成し、55-57℃、90分間のハイブリダイゼーションの条件で*L. pneumophila*の3亜種は、肉眼でも明確に鑑別できる同定法になった。

[山崎利雄、前川純子・倉文明(細菌第一部)]

国際協力関係業務

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 6 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、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、昨年度よりベトナム国における地方衛生研究所のバイオセーフティの実態調査と指導を継続している。

本邦研修として、ベトナムハノイ、ホーチミン、ニャチャンおよびタイグエンからの、バイオセーフティ、BSL-3 実験室維持管理および BSL3 病原体研究に関する研修生 6 名を 2 回受け入れた。（合計 12 名）

［篠原克明、杉山和良］

研修業務

Ⅰ．バイオリスク管理講習会

1. 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、5 回実施した(表 1)。(8 月は節電のため中止)

脇田隆字ウイルス第二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。管理室長が安全管理規程等の規則について、管理室研究官がバイオセーフティの実践についての講義を行った(表 2)。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、9 回開催した(表 3)。

表 1 平成 23 度新規・継続取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数	継続受講者数
4 月 6 日	42	
5 月 12 日		181
5 月 17 日		227
5 月 18 日		160
5 月 27 日		32
6 月 9 日	45	
6 月 17 日		13
10 月 3 日	39	
12 月 7 日	16	
2 月 1 日	16	
計	158	613

表 2 バイオリスク管理講習会内容、講師

講演内容	講師
バイオリスク管理の考え方	脇田隆字(ウイルス第二部)
病原体等安全管理規程及び運営規則等の説明 家畜伝染病予防法の説明 実験室安全管理の実際	杉山和良
組換え DNA 実験のすすめ方の基本	俣野哲朗(エイズ研究センター)
バイオセーフティの実践 (病原体等安全取扱の基本)	山崎利雄
バイオセーフティの実践 (安全キャビネットの使い方)	伊木繁雄
バイオセーフティの実践 (消毒・不活性化の実践)	高木弘隆
バイオセーフティの実践 (病原体等の輸送について)	富田康浩

表 3　平成 23 度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 19 日	1
5 月 31 日	1
7 月 5 日	3
9 月 13 日	2
10 月 25 日	1
11 月 15 日	6
11 月 22 日	1
2 月 10 日	1
2 月 21 日	6
計	22

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 25 日戸山･村山庁舎テレビ会議システムにて実施した。ペスト菌について高橋先生が、炭疽菌について奥谷先生が講義した。

［杉山和良、高橋英之(細菌第一部)、奥谷晶子 (獣医科学部)］

3. 特別管理区域講習会

保守・警備担当者対象の講習会を実施した。

［杉山和良］

4. ゆうパック講習会

3 月 30 日に職員対象のゆうパック送付時の注意事項と適切な梱包法に関する講習会を実施した。

［杉山和良、伊木繁雄、山崎利雄、宇田川悦子］

II.　研修用講義・実習（感染研にて実施）

感染研が受け入れている研修生に対し、バイオセーフティについての講義・実習を行った。

1.　ポリオ国際研修

WHO 作製の DVD を用いたバイオセーフティトレーニング、生物学用安全キャビネットの正しい使用方法および病原体輸送についての実習を行った。

2. エイズ国際研修

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を行った。

3. 保健科学院研修

細菌コース

［伊木繁雄、高木弘隆、富田康浩、杉山和良］

III.　所外研修

1. 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］

2. 警察庁より依頼を受け、危険物処理担当者に対する研修の中で微生物に関する基礎的内容について講義を行った。

［伊木繁雄］

3．マニラにて開催された THIRD MEETING ON VACCINE PREVENTABLE DISEASE LABORATORY NETWORK IN THE WESTERN PACIFIC REGION に Biosafety officer として参加し、WHO 作製の DVD を用いたバイオセーフティトレーニングにおける講師役を担った。

［伊木繁雄］

4. 茨城県衛生部におけるゆうパック輸送講習会

茨城県衛生部主催のゆうパックの輸送に関する講習会にて、適切な輸送に関する講義と実習を実施した。

［伊木繁雄、重松美加 (感染症情報)、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和良、山崎利雄、伊木繁雄、宇田川悦子および藤井弘毅､浅沼みゆき非常勤職員が担当した。村山庁舎においては篠原克明、高木弘隆、富田康浩および山口安子､野川加奈､佐藤真弓非常勤職員が担当した。ハンセン病研究センターにおいては向井徹および原田幸衣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 BSL3 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 23 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	69
村山庁舎	56
ハンセン病研究センター	13
計	138

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	0	0	3	10	1	1
5 月	0	0	2	2	0	0
6 月	0	0	0	0	1	1
7 月	0	0	0	0	0	0
8 月	1	1	1	2	0	0
9 月	0	0	0	0	0	0
10 月	1	1	0	0	0	0
11 月	3	6	1	2	0	0
12 月	0	0	0	0	0	0
1 月	0	0	1	3	0	0
2 月	1	1	0	0	0	0
3 月	2	3	1	1	0	0
計	8	12	9	20	2	2

II.　バイオセーフティ教育と情報提供

バイオセーフティ教育の一環として､行政機関､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。

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。

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］

III.　研究所一般公開

平成 23 年 10 月 1 日毎年恒例の所一般公開が開催された。緊急時対応のテント式実験室を所の駐車場内に設置し、模擬実験室を作った。来所者に、個人防護着（マスク、帽子、手袋、前着）などを実際に着用してもらい、BSL3 実験区域での実験操作等を体験してもらった。屋外でのテント設置の為、暑さ対策に苦慮した。屋内での模擬実験室が望ましいと考える。また、恒例の手洗い実習も行ったが、参加者各位には大変好評であった。

［伊木繁雄、山崎利雄、杉山和良、宇田川悦子］

IV.　管理データベースシステムの改良

BSL3 および特定 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なデータベースシステムに、あらたに BSL3 実験室使用者の種々情報を組み込み、より一層管理の強化をはかることができるようになった。

また、ゲート登録システムとデータベースシステムの連動をはかり、主軸となる二つのシステム間で、データの一部を共有することができるようになった。

引き続き、管理ニーズに応じた様々な検索が可能となるよう、データベースシステムのクオリティを上げていきたい。

［杉山和良、中西三季、浅沼みゆき］

V.　病原体等輸送品のチェック業務

感染研から発送される病原体および臨床検体の輸送品が、適切に梱包されているかを輸送分類“赤”、“黄”のチェックシートを用いて確認業務を行った。

［伊木繁雄、高木弘隆、山崎利雄、篠原克明、富田康浩、野川加奈、杉山和良］

VI.　知の市場・連携市民セミナー

平成 24 年 1 月より国立感染症研究所では、知の市場・連携市民セミナー（早稲田大学規範科学総合研究所との共催『知の市場』の市民公開講座）を開設する為の運営補助を行った。

平成 24 年度は 4 月から、前期 15 回　感染症総合管理 1a「感染症との闘い―現在問題となっている感染症―」、後期 15 回感染症総合管理 1b「感染症対策―ワクチンを中心に―」の講義を、午後 6 時半から午後 8 時半迄の 2 時間毎週一回実施する事になった。募集人員は 35 名以内で，24 年度受講希望者数は 33 名となった。

［布施明(感染症情報)、宇田川悦子］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

なし

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 : 実験室におけるバイオハザード、リスク評価、病原微生物のリスク分類、組織管理と健康管理　バイオセーフティの原理と実践　（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、39-45,50-54,54-58,73-85, 2011

3) 高木弘隆、杉山和良　新規技術により作成した二酸化チタン(TiO_2)不織布の光触媒反応によるウイルス不活性化効果についての検討、感染症学雑誌　第 85 巻　第 3 号、244-249、2011

4) 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）

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1）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) Shinohara, K., Shimasaki, N., Yoshida, H., Okaue, A., Nojima, Y., Kikuno, R., Kumagai, S., Onozawa, T., Nagasawa, H., Sato, K., Study on performance evaluation and usage standard of protective clothing against biological hazardous agents. The 2nd Asian Protective Clothing Conference 2011. Dec.7-8, 2011, Ueda, Nagano, Japan.

3) Norito SATOH, Manabu ATOTakayuki, MATSUMURA, Naoko HONDA, Toshio YAMAZAKI, Tsuyoshi SEKIZUKA, Makoto KURODA, Masaaki NAKAYAMA, Kozo TSUCHIDA, Kazuo KOBAYASHI, Naoya OHARA, Analysis of the 16S rRNA gene of the streptomycin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* strain18b and phenotypic revertant strains, 第 34 回日本分子生物学会、2011 年 12 月、横浜

4) Hirotaka Takagi, Tomoichiro Oka, Yukinobu Thoya, Kazuyoshi Sugiyama, Kazuhiko Katayama Feline calicivirus and Murine norovirus showed different sensitivity with ethanol treatment, IUMS 2011 Sep, Sapporo

5) Takashi Shimoike, Hirotaka Takagi, Tomoichiro Oka, Koske Murakami, Takaji Wakita, Kazuhiko Katayama Visualization of Murine norovirus replication complex in RAW264.7 cells, IUMS 2011 Sep, Sapporo

2. 国内学会

1) 山崎利雄、臨床、動物、公衆浴場の浴用水等から分離された *Mycobacterium avium* における VNTR 法による検討、第 86 回日本結核病学会総会、2011 年 6 月、東京

2) 山崎利雄、杉山寛治、前川純子、泉山信司、遠藤卓郎、倉　文明、臨床および循環式浴槽水等から分離された *Mycobacterium avium* の縦列反復数可変領域（VNTR）を用いた解析、第 81 回実験結核研究会、2011 年 6 月、東京

3) 佐藤法仁, 阿戸 学, 松村隆之, 本田尚子, 山崎利雄, 関塚剛史、黒田 誠、中山真彰、土田耕三、小林和夫、大原直也、Streptomycin 依存性結核菌における遺伝子変異の解明と Streptomycin 耐性をもたらす新たな遺伝子変異、第 64 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2011 年 10 月、岡山

4) 篠原克明、嶋崎典子、吉田弘、岡上晃、野島康弘、菊野理津子、熊谷慎介、小野澤哲夫、長澤秀俊、佐藤清:バイオハザード対策用防護服素材の性能について。第 28 回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会、2011 年 7 月、東京

5) 篠原克明、嶋崎典子、森本美智子、池原弘展、東知宏、熊谷慎介、小野澤哲夫、菊野理津子 : バイオハザード対策用防護服の微生物防護性能評価に関する研究。日本防菌防黴学会第 38 回年次大会、2011 年 8 月、大阪

6) 岡上晃、野島康弘、菊野理津子、嶋崎典子、吉田弘、篠原克明:浮遊微生物に対するバイオハザード対策用防護服素材の防護性能評価に関する研究。日本防菌防黴学会第 38 回年次大会、2011 年 8 月、大阪

7) 篠原克明、綿引正則、神林敬吾、長谷川元則、小松亮一、早川成人、梶原唯行、高田礼人、倉田毅 : ICBS 病原体管理システムの運用提案と適用例。第 11 回

日本バイオセーフティ学会学術総会・学術集会、2011 年 12 月 1-2 日、つくば

8) 篠原克明 : BSL-2,3,4 の実験室の構造と機能はどう異なるのか。第 11 回　日本バイオセーフティ学会学術総会・学術集会、2011 年 12 月 1-2 日、つくば

9) 伊木繁雄、杉山和良：高圧蒸気滅菌処理の条件設定に対する検討、第 11 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2011 年 12 月、つくば

III.　その他

特許取得

1) 篠原克明、阪井弘治、本多三男 : 後天性免疫不全症候群の非ヒト霊長類モデル　特許第 4709968 号　平成 23 年 4 月 1 日。

2）篠原克明、山本次郎、小暮一俊 : バイオセキュリティシステム　特許第 4769000 号　平成 23 年 6 月 24 日

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２３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。

放射能管理室の室員は、土田耕三、藤本浩文、作道隆、本田尚子である。非常勤職員湯浅正志（戸山庁舎）片桐千仭(村山庁舎)が放射線管理業務および研究補助として勤務した。放射線取扱主任者は、戸山庁舎が土田耕三・藤本浩文、村山庁舎が加藤篤(ウイルス第三部・第三室長、放射能管理室併兼任)、ハンセン病研究センターが中永和枝（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５回（８月は節電の影響で中止）、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５７名、外国語２名、継続者教育訓練は３５８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。

村山庁舎は、平成２３年５月２６日に放射線障害の防止に関する法令に基づく文部科学大臣の定期検査ならびに定期確認を受け合格した。

３庁舎の放射性同位元素等取扱規則のうち、主として個人被曝線量計の貸与にかかわる定めを追加する改定を行い、平成２３年５月から適用した。

土田、藤本、作道、本田、加藤、中永、鈴木は主任者部会年次大会あるいは講習会に参加し、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(ユタ大)、フロリダ国際大学、琉球大学(琉大)、日本大学（日大)、九州大学（九大)、東京農工大学（農工大)、東京大学（東大)、岡山大学、農業生物資源研究所（生物研)、国立医薬品食品衛生研究所(衛研)、放射線医学総合研究所(放医研)、日本原子力研究開発機構（原子力機構)、富士化学工業株式会社(富士化学工業)と協力して、以下の研究を行った。

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）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	1,939,882	1,028,600	1,641,685
^{14}C	116,885	57,720	27,270
^{32}P	311,745	647,500	617,863
^{35}S	686,541	57,000	562,581
^{125}I	74,000	37,000	111,000

保管量下限数量比合計 3431.7

2. 村山

（単位 kBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	148,050	55,500	64,000
^{14}C	15,087	0	15,050
^{32}P	22,750	74,000	63,635
^{35}S	253,450	148,000	253,450

保管量下限数量比合計 332.8

3. ハンセン病研究所

（単位 kBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{14}C	148,560	0	12,400
^{125}I	29,600	37,000	59,200

保管量下限数量比合計 21.0

Ⅱ．従事者登録数

１．戸山　　３３９名
（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山　　１０３名

３．ハンセン　１６名

Ⅲ．講習会受講者数

1.　新規・継続者講習会

日　時	受講者数	備　考
平成 23 年 4 月　8 日	31	新規
5 月　9 日	129	継続
5 月 11 日	123	継続
5 月 13 日	75	継続 (村山)
5 月 19 日	18	継続（ハンセン）
6 月 10 日	15	新規
6 月 16 日	10	継続
6 月 28 日	3	継続
10 月　4 日	9	新規
12 月　2 日	1	新規
平成 24 年 2 月　3 日	1	新規
合計	415	

2.　外国語講習会

日　時	受講者数	備　考
平成23年 4月 18日	1	新規
11月　9日	1	新規
合計	2	

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

1. Kuタンパク質によるDNA二重鎖切断の認識・結合機構の 解明

放射線が生物へ与える影響のうち、最も影響が大きいと考えられるのがDNAの損傷である。これらの損傷は修復されなければ強力な突然変異原となり、細胞がガン化する一因となると考えられている。当室では、放射線照射されたDNAがどの程度の頻度で損傷を受けるのか、また、損傷を受けたDNAはどのように修復されているのかに注目して研究を行っている。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。２つのサブユニット（Ku70, Ku80）から構成されるKuタンパク質には結晶構造解析からでは位置が特定できない領域が存在する。このうちKu70のN末端側33残基，C末端側71残基を補完した分子モデルを構築し、分子動力学シミュレーションを行い、DNAとの結合能に関与するアミノ酸部位を予測した。一昨年までの結果からKu70のN末端、およびC末端側のSAPドメインと結晶構造で判明している領域とを結ぶスペーサー領域にDNAと相互作用する部位がある事が示唆された。このDNA相互作用部位には3つのリジン残基（K539、K542、K544）が含まれており、これらのリジン残基がDNA分子と相互作用していると考えられる。昨年度は予想されたDNA相互作用部位の挙動を観察する為に、SAPドメイン、およびスペーサー領域の位置を変えた分子モデルを作成し、それらを初期構造としてナノ秒オーダーのシミュレーションを行った。その結果、3つのリジン残基が存在する領域は、DNAだけでなくKu80上のアスパラギン酸残基（D369、D370）とも相互作用する可能性が示唆された。

［藤本、小池（放医研）、ピナック（原子力機構）、能美(衛研)、前川（琉大）、本田、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

生体にとって脂質は細胞膜構成成分や生理活性物質として必須である。脂質は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生体内の脂質構成が変化することも報告されていることから、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。ポジショナルクローニング法によって、モデル生物から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。この二つの遺伝子をそれぞれ個体内の上皮性の細胞に強制発現させたところ、脂質の選択的な取り込みがそれぞれ観察された。また、培養細胞に細胞内の脂質結合因子と共に遺伝子導入し、リポタンパク質から細胞への脂質の取り込み量を定量したところ、脂質の取り込みが見られる実験条件を予備的ではあるが見出した。この二つのキメラ遺伝子の解析から*CD36*遺伝子群において脂質の選択性を担う部位を同定することを考えている。

[作道、永山・岩野(日大)、湯浅(農工大)、本田、藤本、土田、飯塚・瀬筒・山本・桑崎・生川(生物研)、伴野(九大)、普後(農工大)、北村(富士化学工業)、片岡・嶋田(東大)、Law(アリゾナ大)、Bernstein(ユタ大)、Noriega (フロリダ国際大)]

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・湯浅・普後(農工大)、藤本、作道、本田、土田、岩野(日大)]

III. 抗酸菌の休眠機構の解析

1. 抗酸菌の休眠機構の解析

抗酸菌感染症は、日本で年間 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の低酸素モデルを用いて*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ストレプトマイ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遺伝子のスクリーニングを行い、候補遺伝子について解析を行っている。

[本田、作道、藤本、土田]

2. ストレプトマイシン要求性結核菌18b株の解析

1950年代に臨床分離株から分離された18b株は、ストレプトマイシン要求性を示し、ストレプトマイシン存在下で増殖し非存在下では増殖を停止する。16S rRNAに塩基挿入があることから、18b株より抽出したリボソームを用いて、ストレプトマイシン依存的に翻訳が起きるか解析した。

[本田、 作道、藤本、松村・阿戸・小林(免疫部)、佐藤・大原（岡山大学）、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。
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。
5. 放射線源登録管理制度に基づき戸山と村山庁舎の線源固有情報等を６月に電子登録した。

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) Fujimoto H, Higuchi M, Koike M, Ode H, Pinak M, Bunta JK, Nemoto T, Sakudoh T, Honda N, Maekawa H, Saito K, Tsuchida K, "A possible overestimation of the effect of acetylation on lysine residues in KQ mutant analysis", *J. Comput. Chem.*, **33**: 239-246, 2012.
2) Ryusuke N, Sakudoh T, Matsuya T, Namiki T, Kasai S, Tomita T, Kataoka H. Expressions of the cytochrome P450 monooxygenase gene *Cyp4g1* and its homolog in the prothoracic glands of the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) and the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Appl. Entomol. Zool*. **46**: 533-543, 2011.
3) Takano A, Nakao M, Masuzawa 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, Taylor K, Tsubota T, Konnai S, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H. Multilocus sequence typing implicates rodents as the main reservoir host of human-pathogen *Borrelia garinii* in Japan. *J. Clin. Microbiol.* **49**: 2035-2039, 2011.
4) Iyoda S, Honda N, Saitoh T, Shimuta K, Terajima J, Watanabe H, Ohnishi M. Coordinate control of the locus of enterocyte effacement and enterohemolysin genes by multiple common virulence regulators in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* **79**: 4628–4637, 2011.

2. 和文発表

無し

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会等

1) Fujimoto H, Higuchi M, Koike M, Ode H, Pinak M, Bunta JK, Nemoto T, Sakudoh T, Honda N, Maekawa H, Saito K, Tsuchida K, "Structural analysis of the interaction between the Ku protein and DNA", The 14th International Congress of Radiation Research (ICRR2011), Warsaw, Czech Republic, Aug., 2011.
2) Sakudoh T, Yuasa M, Iizuka T, Sezutsu H, Narukawa J, Yamamoto K. Molecular machinery for the delivery of specific carotenoids to specific tissues in silkworm. The 8th International Congress on Comparative Physiology and Biochemistry (ICCPB 2011), Nagoya, Japan, Jun., 2011.
3) Sakudoh T, Iizuka T, Honda N, Fujimoto H, Yamamoto K, Tsuchida K. Molecular machinery for the tissue specific uptake of specific carotenoid in the silkworm. Molecular Carotenoids and AMD, Cambridge, England, July, 2011.
4) Satoh N, Ato M, Matsumura T, Yamazaki T, Sekizuka T. Kuroda M, Honda N, Nakayama M. Tsuchida K, Kobayashi K, Ohara N. Identification of the novel mutations in 16S rRNA gene of the substrains of a streptomycin dependent *Mycobacterium tuberculosis* strain 18b which confer streptomycin resistance in *Mycobacterium*. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, Sep., 2011.

2. 国内学会等

1) **作道隆**, 飯塚哲也, **本田尚子**, **藤本浩文**, 山本公子, **土田耕三**. SR-BI ファミリータンパク質が血液リポタンパク質から細胞へ移行するカロテノイドを識別する. カロテノイド研究談話会, つくば, 9月, 2011.
2) **作道隆**. カイコ繭色変異系統を利用したカロテノイドの体内輸送を担う遺伝子の同定 : 肉色繭遺伝子(*F*)と黄血抑圧遺伝子(*I*)について. 昆虫ポストゲノム研究会, 福岡, 9月, 2011.
3) **湯浅正志**, **作道隆**, **藤本浩文**, **本田尚子**, 普後一、**土田耕三**. カイコ黄繭遺伝子の組織特異的発現を制御するシス領域の解析, 日本蚕糸学会支部合同大会, 盛岡, 11 月, 2011.
4) **横山洋, 湯浅正志**, **藤本浩文**, **作道隆**, **本田尚子**, 普後一, **土田耕三**. カイコ Lipid Transfer Particle は成虫期に高い発現を示す. 日本蚕糸学会支部合同大会, 盛岡, 11 月, 2011.
5) **永山春菜, 作道隆**, **湯浅正志, 横山洋**, **本田尚子**, **藤本浩文**, 岩野秀俊, **土田耕三**. Cameo2とCBP発現S2細胞によるルテインの取り込み. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 福岡, 3月, 2012.
6) **作道隆**, 飯塚哲也, 内野恵郎, 瀬筒秀樹, 桑崎誠剛, 生川潤子, 山本公子, 伴野豊, **本田尚子**, **藤本浩文**, **土田耕三**. クラスBスカベンジャー受容体相同遺伝子の強制発現による繭の着色. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 福岡, 3月, 2012.
7) **横山洋**, **湯浅正志**, **藤本浩文**, **作道隆**, **本田尚子**, 普後一, **土田耕三**. カイコLipid transfer particleの分子性質、アポタンパク質mRNA発現の発育変動. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 福岡, 3月, 2012.
8) **湯浅正志**, **作道隆**, **藤本浩文**, **本田尚子**, 普後一, **土田耕三**. カイコ黄繭遺伝子*Cameo2*の転写を制御する*Cameo2*上流域の探索. 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会, 福岡, 3月, 2011.

１７．動 物 管 理 室

室 長　山 田 靖 子

概　要

平成 22 年度に開始された動物の愛護及び管理に関する法律（動愛法）の見直しが引き続き検討され、動物実験施設の届出制が見直しの焦点となった。環境省中央環境審議会動物愛護部会はこの点に関する結論を出さず、議員立法の場で検討することとなった。

平成 23 年 3 月 11 日の東日本大震災後、大幅な夏の節電の必要が生じたが、動物実験施設では動物に直接関わらない部分で節電に協力した。また、地震等大災害発生時の BCP を整備した。

戸山庁舎動物実験施設はヒューマンサイエンス振興財団による動物実験実施施設の認定を取得しているが、平成 23 年 9 月に 3 年目の更新のための調査を受け、認定を更新した。

村山庁舎では、インフルエンザウイルスワクチンの研究のため、9 号棟 ABSL3（動物バイオセーフティレベル３）施設においてフェレット、ニワトリの飼育が開始され、動物管理室はその体制整備に尽力した。

動物管理室は、動物実験施設の管理運営を業務とし、その一環として動物実験施設の定期的微生物検査を行っている。平成 23 年 8 月に戸山庁舎で、免疫不全動物室において、日和見病原体 *Pneumocystis carinii* の汚染が発生し、感染動物の同定、検疫区への移動、コロニーのクリーニングを行った。村山庁舎では、マウスの精巣膿瘍から *Proteus mirabilis* を分離した。

また、昨年度に引き続き、実験動物に関する研究を行なった。実験動物の感染症に関する研究では、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* の研究を進めた。モデル動物の開発研究として、麻疹ウイルス病態モデルとしてのカニクイザル、人獣共通感染症の研究として、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 23 年度はソウル大学、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、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、動物管理室長が会長を務めている。また、国内では現在、動物実験施設の第３者評価が３つの異なる団体で実施されているが、動物管理室長はそのうち２つの第３者評価システムに協力している。その他、国内の微生物モニタリングに関する委員会委員などを担っている。

平成 23 年 7 月以降、２名の研究員が同時期に育児休業となったが、他の職員の協力で業務に支障はなかった。平成 24 年 3 月末で、須崎百合子の再任用が終了した。

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。講習会では実技の研修が行えないため、新規に動物実験を行う従事者に対して、国内の団体が作成した動物取扱および投与方法のビデオで実技の基本を学ぶ機会を提供することとした。平成 22 年度に開催した動物実験の継続従事者を対象にした講習会後、継続及び新規の受講者数は平成 24 年 3 月 31 日までに 562 名であった。平成 23 年度に申請された動物実験計画は 398 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 24 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 226 人、村山庁舎 212 人、ハンセン病研究センター35 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）　　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	14			24
6月9日	戸山	11*			12
8月2日	戸山	中止			中止
10月3日	戸山	8*			13
10月18日	*戸山*				*2*
11月1日	村山		14		
11月2日	村山		3		
12月7日	戸山	5			4
2月1日	戸山	9			9
合計		47 新規	17 新規	0 新規なし	64 年度内受講者

（斜字は外国人対照講習会

*登録済みの再受講者1名を含む）

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がなかったため、平成23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、小川敏雄、須崎百合子、山田靖子）

I-2　免疫不全動物室（戸山）における *Pneumocystis carinii* 汚染について

戸山庁舎の免疫不全動物室（Rm184）ではモニター動物を配置することによる汚染のリスクを考慮し、定期検査は行わず、必要に応じて利用者の動物を検査している。8月に利用者の申し出により検査を行ったところ、*P. carinii* 汚染が確認された。他の利用者の協力により飼育されている動物の汚染状況を確認し、感染動物の殺処分または検疫区への移動を行った。Rm184 は消毒後、ヌードマウスをモニターとして配置して *P. carinii* が感染しないことを確認後、通常の運用を再開した。

（滝本一広、田原口元子、山田靖子）

I-3　村山庁舎微生物モニタリングにてマウスより分離された *Proteus mirabilis*

定期的微生物モニタリングにて、マウス(ddy 半年齢)に精巣膿瘍が見つかり、原因菌の同定を試みた。膿瘍はマンニットに黄色ブドウ球菌、DHL にプロテウス様のコロニーを形成した。DHL のコロニーを純培養後、定法にて DNA を抽出、細菌の 16SrRNA 遺伝子を広く増幅するプライマ 515Fmix と 1492Rmix を用いて PCR を行ったところ、約 1kb の単一の増幅産物を得た。ダイレクトシークエンスにて PCR 産物の配列を決定し、Blast にてホモロジー検索した結果、*Proteus mirabilis*（NC_010554）の 80-1460 と 100％一致していた。*P. mirabilis* は、ヒトの腸管常在菌で、ウレアーゼを産生し、しばしば尿路感染を起こす。また、免疫不全マウスにおいて、敗血症を起こすことが報告されている。マウスへの感染経路は不明であるが、適切な防護により、ヒトの常在菌等が実験動物に感染しないよう、改めて注意する必要があろう。

（新倉綾、平井明香、網康至、須崎百合子）

II　実験動物の感染症に関する研究

II-1　マウス肝炎ウイルス感受性差に関する研究

マウス肝炎ウイルス受容体は CEACAM1 である。感受性 C57BL/6 の CEACAM1a のウイルス結合部位を比較的抵抗性 SJL の CEACAM1b 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* は、SJL より高度な抵抗性を示し MHV-A59 に感染しなかった。本年度は 1ba の受容体機能を検討するために BHK、HeLa、Vero などの株化細胞に発現させて受容体活性を調べたところ、CEACAM1b と同程度の受容体活性を示した。今後はマウスから分離した細胞に発現させた時の受容体活性を調べる。［平井明香、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 それぞれ 3 段階の濃度（10^1、10^4 および 10^7PFU）

を BALB/c マウスに接種し経時的（1、2、3、5、8、11 日）に採材後、感染マウスの肝臓および脳におけるウイルス増殖を検討した。MHV2 を接種したマウスにおいて、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、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 日目まで高い推移を示した。また、MHV-2f を接種したマウスでは 2、3、5 日目にわずかな増殖を認めたが、その後 8、11 日目では増殖を認めなかった。いずれも、接種量に比例してウイルス感染力価は高い数値を示した。　（田原口元子、新倉綾、山田靖子）

II-3　塩素系消毒薬のマウスノロウイルス（MNV）除去効果について

MNV に対して in vitro で消毒効果の認められた塩素系消毒薬により、MNV 感染マウスから MNV を除去できるかを検討した。MNV 感染マウスに弱酸性次亜塩素酸水を飲水として 4 週間与え、糞便への MNV 排出および腸管の MNV 感染をプラックアッセイおよび RT-PCR にて調べたところ、上部小腸の MNV が排除された可能性が示唆された。しかし、盲腸の MNV には効果は認められず、糞便中への MNV 排出を抑制することはできなかった。また、MNV 感染マウスに弱酸性次亜塩素酸水または次亜塩素酸 Na 溶液を各 5 回経口投与したが、MNV 排除効果は認められなかった。

（滝本一広、山田靖子）

II-4 サル由来 *Corynebacterium ulcerans* の性状解析

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 頭からジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* が分離された。本年度は分離株の毒素遺伝子塩基配列(1,683bp)を解析した。全株で塩基配列が一致し(GenBank accession no. AB610405)、データベース上の *C. ulcerans* 株(FJ858272)と 1 塩基、*C. diphtheria*(K01722)と 29 アミノ酸の違いがみられた。このことから毒素遺伝子は *C. ulcerans* 株間で保存性が非常に高いと考えられた。[平井明香、小宮貴子 [1]、須崎百合子、網康至、山本明彦 [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分離した麻疹ウイルスの遺伝子解析を行っている。接種ウイルスの遺伝子解析から得られたプライマーを用いて、分離ウイルス持続感染細胞から抽出した RNA を RT-PCR 法で増幅を試みたところ、一部増幅されるものの、ウイルス構造タンパク遺伝子の増幅は認められず、量的にわずかであるか、変異によるものと考えられた。（網　康至、須崎百合子）

Ⅳ　人獣共通感染症に関する研究

Ⅳ-1　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は反芻動物とヒトが感染し、蚊が媒介する人獣共通感染症で、アフリカが主な流行地である。リフトバレー熱ウイルスのＬ蛋白（RVFV-L）は多量体を形成し、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼとして N 蛋白とともにウイルスゲノムの複製と転写を行う。RVFV-L の N 末端領域 200-221 位にはロイシンジッパー様のモチーフ（Leu-6-Leu-6-Leu-6-Leu）（L-zip）が存在する。本研究ではその生物学的機能の解明に取り組んでいる。今年度はモチーフ内の各ロイシン残基のポリメラーゼ機能における重要性を調べた。ロイシンを類似アミノ酸あるいは強力なロイシンジッパーブレーカーであるプロリンに置換した変異Ｌ蛋白発現プラスミドを作製し、ミニゲノムアッセイにて評価した。200 及び 207 位のロイシンをバリンに置換するとポリメラーゼ機能は著しく低下し、特に転写機能は完全に消失した。一方、214 及び 221 位のロイシンをバリン或いはイソロイシンに置換してもポリメラーゼ機能には殆ど影響がなかった。しかし、214 及び 221 位のロイシンがプロリンに置換した変異 L 蛋白のポリメラーゼ機能は著しく低下していた。他のフレボウイルスでも 200/207 位は Leu で保存されていることから、L-zip の特に 200/207 位がフレボウイルスＬ蛋白のポリメラーゼ機能に重要であると考えられた。

[新倉綾、池上徹郎 [1]、C.J.Peters[1]、牧野伸治 [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) Taguchi F, Hirai-Yuki A：Mouse Hepatitis Virus Receptor as a Determinant of the Mouse Susceptibility to MHV Infection. Frontiers in Microbiology. 68: 1-4. 2012

2) Fujisawa K, Nakajima R, Jinnai M, Hirata H, Zamoto Niikura A, Kawabuchi Kurata T, Arai S and Ishihara C：Intron sequences from the CCT7 gene exhibit diverse evolutionary histories among the four lineages within the *Babesia microti*-group, a genetically related species complex that includes human pathogens.Japanese journal of infectious diseases.64.403-410. 2011

3) Suzuki O, Kanai T, Nishikawa T, Yamamoto Y, Noguchi A, Takimoto K, Koura M, Noguchi Y, Uchio-Yamada K, Tsuji S, Matsuda J : Adult onset cardiac dilatation in a transgenic mouse line with Gal β 1,3GalNAc α 2,3-sialyltransferase II (ST3Gal-II) transgenes: a new model for dilated cardiomyopathy. The Proceedings of the Japan Academy, Series B. 87: 550-562. 2011

4) Li TC, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Koma T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Mai le TQ, Hoa NT, Yamashiro T, Hasebe F, Takeda N, Wakita T : Characterization of self-assembled virus-like particles of rat hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. J Gen Virol. 92:2830-7. 2011

I-2　邦文発表

1) 山田靖子: 実験動物感染症の現状―マウス肝炎ウイルス―。実験動物ニュース、60: 17-19. 2011

2) 山田靖子:バイオセーフティの原理と実際－動物実験におけるバイオセーフティー。バイオメディカルサイエンス研究会　編、みみずく舎、135-144. 2011

Ⅱ　学会発表

II-1 国際学会

1) Hirai-Yuki A, Yamada YK and Taguchi F：Difference in MHV receptor activity between CEACAM1b and CEACAM1ba expressed in mice but not in cultured cell lines. The XIIth International Nidovirus Symposium. June 2011. Michigan.

II-2　国内学会

1) 田原口元子、滝本一広、新倉綾、山田靖子：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。第 58 回日本実験動物学会総会、平成 23 年 5 月、東京。

2) 山田靖子：人獣共通感染症の感染防御対策。第 58 回日本実験動物学会総会、平成 23 年 5 月、東京。

3) 山田靖子：パネルディスカッション「実験動物と動物実験の適正化について」(指名追加発言者)。第 58 回日本実験動物学会総会、平成 23 年 5 月、東京。

１８．検定検査品質保証室

室長　花田　賢太郎

概　要

検定検査品質保証室（以下、保証室）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。

昨年の平成 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 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。平成 22 年秋から 23 年春にかけて、我が国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、本省より審査制度開始に必要なパブリックコメントの募集も行われた。平成 23 年 7 月 4 日には、薬事法施行規則の一部改正が発布されて、国家検定に SLP 審査制度を導入することが決められた。同改正により、厚生労働大臣の指定する生物学的製剤については、製造販売業者は、感染研が製品ごとに定めた様式にしたがって SLP を作成し、検定申請書に添付することになった。また、検定基準を定めている告示が改正されて、SLP を検定の審査対象とすることが規定された。さらに、予防用のワクチンを SLP 審査の対象とすることが告示された。以上の改正の施行日は来年度の平成 24 年 10 月 1 日とされており、それまでは、試行期間と位置づけられた。これら SLP 審査制度導入に関する一連の流れの中で保証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。さらに、所内横断的に SLP 様式案をチェックする業務や進捗状況を把握する業務も行った。

平成 23 年 12 月 5－8 日は、WHO による日本 NRA 評価のための本調査が行われた。保証室長は副所長とともに本省での全体会議に対応するとともに、保証室全員で当所内での主に書類調査対応において中心的な役割を担った。ラボツアーでは、事前の所内模擬調査を企画実施し、当日も進行調整役を果たした。本省の担当者、所の首脳部、試験部門そして事務部門とも協力して入念な準備を全所的に行ったことが結実し、無事調査を終了することができた。公開される正式な評価点はまだ決定していないが、当研究所が担当しているロットリリース機能とラボラトリーアクセス機能（NRA が NCL などの公的機関に依頼して医薬品の品質を試験検査できる機能）の両者ともに極めて高い評価点案をいただいている。WHO 調査において高評価を得ることは、保証室設置の経緯を鑑みるに当室に与えられた当面の最重要任務であったと思われる。この任務を果たせたことに室員一同安堵した。

WHO 調査対応をしている間に、当研究所には医薬品試験機関としてもう一つの外部調査対応案件が持ち上がってきた。The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S)は、GMP 調査結果の国際的相互認証に資する制度であり、日本も加盟すべく本省が中心となって作業が進められている。我が国が PIC/S 加盟国として承認されるには、公的機関による医薬品の収去検査機能が備わっているという要求項目に適合しなければならず、地方自治体の医薬品検査部門などとともに当研究所もこの要求項目に適合しなければならない。本年度の WHO 調査はワクチン規制に限ったものであったが、PIC/S は全てのヒト向け医薬

品を対象とする制度である。よって、上記の要件を満たすレベルの信頼性管理体制を、ワクチン国家検定試験だけではなく、他の国家検定試験および医薬品収去検査で早急に確立することが不可欠となった。WHO 調査終了の余韻に浸る間もなく、所長や保証室長を中心としてこの課題の対応にも着手した。平成 24 年 3 月に国は PIC/S 加盟申請をすでに出しており、来年度中に公的収去試験機関としての国内認定調査を第三者機関から受けることになるであろうし、さらに PIC/S 調査団が来日する可能性もある。当室には WHO 調査対応を機会に培った知見や経験があるので、それらを利用して効率的に本件へも対応することになろう。

検定成績の信頼性保証に重要な位置を占める検定コンピュータシステムは、本年度が 4 年に一度の更新時期であった。更新の際に改善すべき機能の策定だけでなく仕様書など入札に関する基礎資料の作成、および更新後のバリデーションや所内教育などで当室員が中心的役割を果たした。

ワクチンなどの国家検定に関して全所的または本省も含めた課題として浮上した他の案件についても保証室が事務局担当もしくは中心的な対応担当の業務を担った。例えば、検定基準値と承認規格値が完全一致していないことに起因する課題、専門委員および承認前検査を進める手順の課題、WHO collaborating center に関わる課題、10 号棟新設に伴う検定検査標準品の保管場所のデザインや分配調整の課題、などである。これらの課題のいくつかは本年度中に解決の方向性を定めることができたが、いくつかは来年度以降も検討の継続が必要である。関連するいくつかの委員会や研究班の事務局機能も果たした。

来年 10 月から本格施行される SLP 審査に対するさらなる準備や PIC/S 要件適合体制の確立など、医薬品の信頼性を維持向上するために法令的な背景を持って行う行政支援活動は感染研が担う大きな責務の一つである。この活動は、日々の細かい注意や工夫の積み重ねによって適切に達成できるものと思われる。保証室は所の責務の遂行に貢献すべく、今後とも鋭意努力したい。

本年度は上述したように複数の重大案件が一度に押し寄せた特別な年度であったため、保証室員全員が一年を通じて極めて多忙かつ大きな緊張のなかで多様な全所的案件に対応せねばならず、室員の研究業務遂行に大きな支障をきたした。また、併任人事で保証室の責任者となっていた室長は、本来業務であるべき細胞化学部長として当該研究部の運営を業務時間内に適切に行うことが通年して不可能な事態に陥った。このような状況は早期に改善されることを望む。

なお､細胞化学部長と併任して平成 21 年 4 月 1 日から当室長であった花田賢太郎は､平成 24 年 3 月末をもって併任解除となり、来年度からは新室長が着任する予定である。

業　績

調査・研究

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する研究

１．残存百日咳毒素活性測定法に関する研究

DPT ワクチン中の残存百日咳毒素活性を測定する非動物系試験法として開発した ADP-リボシル化活性及びレクチン様結合活性試験法を用いて、長期保存したワクチンを測定した結果、ワクチンの保存中に見られる残存百日咳毒素活性の毒性復帰には ADP-リボシル化活性に比較して結合活性の関与が大きいことを示唆する結果が得られた。[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の算出に用いる計算用シートにおいて、平行線定量法モデルへの適合性を危険率 5%に加え、危険率 1%で検定することにした。[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．国家検定制度と副反応報告制度の連携に関する研究

国家検定への SLP 審査の導入により、感染研はワクチンのロット毎の品質に関わる多くの情報を得ることになることから、予防接種後副反応報告の調査・評価に協力するとともに、副反応報告から得られた情報を活用しワクチンの品質に係る改良等の検討を進めることで、ワクチンのさらなる品質向上に貢献していくことが重要と考えられた。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、花田賢太郎；渡邉治雄（所長）]

４．国家検定の品質保証と SLP 記載事項の検討

ワクチンの国家検定に、SLP を審査する制度が導入される。そこで、適正な SLP 審査を実施する上で必要となると考えられる SLP 記載事項について、関連する法令等及び WHO ガイドラインに基づいて検討した。SLP に記載すべき事項は、製剤種の特性も考慮に入れながら、当該品目の承認書の記載事項から品質管理上の重要項目（品質に重大な影響のある項目、製造の一貫性を示す項目、製造のトレーサビリティに関わる項目）について、

製品ごとに選択する必要があると考えられた。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、花田賢太郎；渡邉治雄（所長）]

５．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試験のデータ解析に用いられる平行線定量法及びプロビット法に対応した統計解析ソフトウェア（Microsoft Windows Vista、Windows 7 対応版）を開発した。従前バージョンとの比較等に基づき解析結果の妥当性を確認し、検定・検査業務等で使用可能なソフトウェアとして提供を開始した。[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

不活化A型肝炎ウイルス抗原を含有する溶解性マイクロニードルアレイを作製し、マウスの皮膚への投与前後のアレイチップ上の抗原量をELISA法により測定し、正味の抗原投与量を見積もった。その結果、アレイチップ上の80%以上の抗原が皮膚に移行していることが確認された。[内藤誠之郎；清原知子（ウイルス第二部）；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によるNRAアセスメントへの対応

(1) 自己点検用の資料の作成と配布

NRA アセスメントの評価指標への適合性を所内各部署が事前に自己点検する際に使用する材料として、各評価指標の要点、点検すべき項目、整備すべき文書等をまとめた資料を作成し、各部署に配布した。[藤田賢太郎、落合雅樹、内藤誠之郎、花田賢太郎]

(2) 概要説明用の資料作成

我が国のワクチンロットリリース機能及びラボアクセス機能に関する概要説明用の資料を当室で作成し、WHOによる NRA アセスメントの全体概要説明において倉根副所長から WHO アセスメント担当官に対して説明された。[落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、内田孝子、花田賢太郎]

(3) 模擬査察の実施

実験室への立ち入り調査を想定して、自己点検用の資料を用いて各試験室において模擬的な質疑応答を行い、WHO アセスメントの評価指標に対する適合性の状況を点検した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、花田賢太郎；倉根一郎（副所長）]

(4) アセスメント当日の対応

WHOより2名の査察官が村山庁舎を訪れ、3日間に渡って文書の調査と試験室への立ち入り調査が行われた。ロットリリース機能及びラボアクセス機能に関するNRA アセスメントの各評価指標への適合状況について、順次、査察官の求めに応じて根拠文書を提示して説明し、質疑応答を行った。[花田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎；杉山厚一（検定業務専門官）；倉根一郎（副所長）；渡邉治雄（所長）；坪井隆（厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課]

(5) 所内報告会の開催等

アセスメントに査察官との間で交わされた質疑応答の内容等について、報告書を取り纏めた。平成 23 年 1 月 17 日に所内向けの報告会を開催し、アセスメントの内容について説明した。[花田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎；駒瀬勝啓（ウイルス第三部）；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター；倉根一郎（副所長）；渡邉治雄（所長）]

２．SLP 審査制度の国家検定への導入に関する業務

(1) 事務局業務

「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）の事務局として、SLP 審査制度の国家検定への導入に係わる問題点の整理と所内担当部局間の調整並びに厚労省監視指導・麻薬対策課（監麻課）及び製販業者からの照会等への対応を担当した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎]

(2) 対象品目の選定

SLP 審査の対象品目は、厚労省監麻課、感染研及び製造所間の合意に基づき、「ワクチン（専ら疾病の治療に使用されることが目的とされているものを除く。）」（厚生労働省告示第二百二十五号）とされた。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、花田賢太郎]

(3) 薬事法施行規則等の改正案に対する意見の取り纏め

SLP 審査の制度化に向け、厚労省監麻課より提示された「薬事法施行規則」の改正案、「薬事法第四十三条第一項の規定に基づき検定を要するものとして厚生労働大臣の指定する医薬品等」の改正案等に対し、「SLP 迅速対応チーム」を中心とした感染研の意見の取り纏め及び監麻課への回答を行った。平成 23 年 7 月 4 日にこれらの法令等が発出され、平成 24 年 10 月 1 日からワクチンの国家検定に SLP 審査が導入されることになった。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、花田賢太郎]

(4) SLP 様式の確認業務

品目間、製販業者間で SLP 様式の整合性を図り、適正に SLP 審査業務を遂行するために、作成された全ての SLP 相当様式について、製販業者に通知する前の段階で内容を精査し、必要に応じて担当部署に修正等を依頼した。[藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、花田賢太郎]

(5) SLP 相当様式の製販業者への通知

薬事法施行規則第197条の9を準用して、「薬事法施行規則の一部を改正する省令等の公布に伴う試行期間の設置について」（平成23年薬食監麻発0708第6号）に基づいてSLP相当様式を製販業者に通知するための文書の準備を、検定業務専門官と協力して行った。平成23年度に感染研から製販業者に発出されたSLP相当様式は、計46通であった。［内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、花田賢太郎；杉山厚一（検定業務専門官）］

(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；杉山厚一（検定業務専門官）]

３．承認前検査等に係る業務の円滑化／迅速化に向けた検討

医薬品の承認審査の迅速化に対応し、円滑かつ迅速に承認前検査業務、その他承認審査への協力等を遂行するために、当該業務に関連する問題点の整理、対応策の検討、所内関連部署との協議、厚労省審査管理課及び医薬品医療機器総合機構との協議等を行った。[藤田賢太郎、落合雅樹、内藤誠之郎、花田賢太郎；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）；片山和彦（ウイルス第二部）；高崎智彦（ウイルス第一部）；加藤篤（ウイルス第三部）]

４．検定合格証紙の見直しに関する検討

国家検定の対象医薬品への検定合格証紙貼付の廃止に向け、検定に合格していない医薬品が市場に流通することを防ぐために必要な制度の見直し等について検討し、厚労省監麻課との協議等を行った。[落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、花田賢太郎；永田幸子、杉山厚一（業務管理課）]

５．検定基準と承認規格の比較調査

国家検定に SLP 審査が導入されることにより、ワクチンの承認規格に関する情報が制度的に得られることになった。そこで、原則として生物学的製剤基準に基づく検定基準と承認規格の異同について調査を行った。その結果、複数の項目について検定基準と承認規格が異なる場合があることが明らかになった。検定基準と承認規格が異なる場合には、検定の試験結果を評価するにあたって、この点に留意する必要があると考えられた。[内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、花田賢太郎]

６．国家検定に関する SOP 原本の一元管理

(1) 受付件数

平成 23 年度中に、新規作成 27 通、修正 0 通、改訂 78 通、廃止 3 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 8 通回収した。平成 23 年度末に有効な SOP は 478 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]

７.「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」の改正

SLP 審査の試行開始に対応した記載追加、生物学的製剤基準が制定されずに検定基準に基づき検定が実施される事例に対応するための記載追加及び 3.2 項（教育研修）の一部修正等について改正した原案（第 6 版）を当室で作成し、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 7 月 4 日）で承認された。さらに新規製剤の承認にともない「部等」の項に対

する記載を追加した原案（第 7 版）を当室で作成し、品質保証運営委員会での審議を経て、業務運営委員会及び検定協議会（平成 23 年 8 月 4 日）で承認された。［落合雅樹、内藤誠之郎、内田孝子、花田賢太郎；品質保証運営委員会］

８．「製造・試験記録等要約書の審査に関する実施要綱」の制定

SLP の審査を適正かつ円滑に実施するため、その実施手順を示した「製造・試験記録等要約書の審査に関する実施要綱」案を当室が作成し、業務運営委員会及び検定協議会（平成 23 年 7 月 7 日）にて承認された。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎］

９．「製造・試験記録等要約書審査に関する機密電子書類のセキュリティ方針」の制定

セキュリティに十分配慮し、適切に SLP に関連する機密電子書類を取り扱う方法を示した「製造・試験記録等要約書審査に関する機密電子書類のセキュリティ方針」案を当室が作成し、業務運営委員会（平成 23 年 8 月 25 日）にて承認された。［花田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子］

１０．WHO Expert Committee on Biological Standardization（ECBS）勉強会の開催

WHO の ECBS（平成 23 年 10 月 17 日～21 日）で審議予定のガイドライン等に関する勉強会の企画・運営を担当した。［落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、内田孝子、花田賢太郎］

１１．検定・検査教育講習会への協力

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］

１２．検定業務評価委員会による査察への協力

事前に査察対象室の SOP ファイルを準備して、査察委員に資料として提出するなどして、査察の実施に協力した。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］

１３．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］

１４．生物学的製剤基準ウェブページの運営

生物学的製剤基準のウェブページを、生物学的製剤基準の改正告示に対応して、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］

１５．村山庁舎 10 号棟標準品保管室関連業務

10 号棟に新たに設置されることになった標準品保管室の設計及び使用に関する所内調整を担当した。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、花田賢太郎］

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。またシステム保守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用・保守の方針に関する検討を行った。［落合雅樹、片岡紀代、藤田賢太郎、内田孝子、内藤誠之郎、花田賢太郎］

２．検定告示の一部改正等に伴うシステム情報の登録業務

検定告示の一部改正に伴うシステム情報の登録業務を実施した。また今年度、新たに承認前検査及び収去検査の対象品目として受け付けた医薬品のシステムへの登録作業を行った。［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 24 年 10 月に開始される SLP 審査に対応するための機能追加、データモニタリング機能等の向上を図った新システムを導入するため、システム開発業者との定例会を開催し、システムの仕様、開発の進捗状況等について、情報共有及び調整を行った。平成 24 年 1 月にシステム切り替え作業を行い、新システムの運用を開始した。［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］

４．検定コンピュータシステム等の免震対応

大規模地震等の発生に備えて、検定コンピュータシステム及び温度監視システムのサーバ群に対する免震対応

を行った。［落合雅樹、藤田賢太郎、片岡紀代；杉山厚一（業務管理課）］

５.「国家検定・検査業務品質管理システム利用者教育実施要綱」の制定

国立感染症研究所情報セキュリティポリシー及び国立感染症研究所情報セキュリティ教育実施手順書に基づき、「国家検定・検査業務品質管理システム利用者教育実施要綱」の原案を当室が作成し、検定コンピュータ小委員会での審議を経て、業務運営委員会（平成 24 年 3 月 27 日）で承認された。［藤田賢太郎、落合雅樹、片岡紀代］

国際協力関係業務

Ⅰ．研修等

１．台湾 FDA：ワクチンの品質管理について（平成 23 年 6 月～7 月）［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎；高崎智彦（ウイルス第一部）；多屋馨子、岡部信彦（感染症情報センター）；板村繁之、田代眞人（インフルエンザウイルス研究センター）；倉根一郎（副所長）］

２．中国医薬集団総公司等：ワクチンの品質管理について（平成 23 年 12 月）［落合雅樹；網康至（動物管理室）］

Ⅱ．講演

１．「生物学的製剤の品質管理に関するワークショップ」:生物学的製剤の統計解析及び情報マネジメントシステムについて（平成 23 年 7 月、台湾 FDA）［落合雅樹］

２．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 23 年 11 月）［落合雅樹］

Ⅲ．国際会議参加

１．精製百日せきワクチン安全性試験の動物代替法に関する国際会議（平成 23 年 8 月、モントリオール）［落合雅樹］

２．WHO ワクチン規制制度強化の国際諮問：戦略的方向性、評価過程と指標（平成 23 年 10 月、ジュネーブ WHO 本部）［花田賢太郎］

３.WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（平成 23 年 10 月、ジュネーブ WHO 本部）［落合雅樹；浜口功（血液・安全性研究部）］

研修業務

１．国立保健医療科学院が実施した短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて、「生物学的製剤の品質保証の現状」について講義した（平成 23 年 6 月 6 日、埼玉県和光市、国立保健医療科学院）［内藤誠之郎］

２．国立保健医療科学院における専門課程Ⅲ地域保健臨床研修専攻科の研修生に対する医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「生物学的製剤の国家検定」について講義した（平成 23 年 10 月 27 日）［内藤誠之郎］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Horiuchi, Y., Ochiai, M., Kataoka, M., Yamamoto, A., Yuen, C.T., Asokanathan, C., Corbel, M., Kurata, T., Xing, D. Strategic approaches for developing alternative tests for safety and potency of vaccines. Procedia Vaccinol., 5, 156–63, 2011

2) Naito, S., Ito, Y., Kiyohara, T., Kataoka, M., Ochiai, M., Takada, K. Antigen-loaded dissolving microneedle array as a novel tool for percutaneous vaccination. Vaccine, 30 (6), 1191–7, 2012

3) Kataoka, M., Ochiai, M., Yamamoto, A., Horiuchi, Y. A need for careful evaluation of endotoxin contents in acellular pertussis-based combination vaccines. Biologicals, 40, 49-54, 2012

２．和文発表

1) 花田賢太郎: 巻頭言　ワクチンの国家検定の国際調和, 厚生科学 WEEKLY, 498 号, 2011

2) 高田寛治，内藤誠之郎：ワクチン DDS 技術の開発動向～マイクロニードル～，ワクチン，（株）技術情報協会，2012

3) 内藤誠之郎，落合雅樹，藤田賢太郎，花田賢太郎：ワクチンの国家検定への SLP 審査制度の導入，日本ワクチン学会ニュースレター，22, 4-5, 2012

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1) Naito S, Ito Y, Kiyohara T, Kataoka K, Ochiai M, Takada K, Epidermal vaccination of hepatitis A using a dissolving microneedle array. 5th Vaccine and ISV Annual Global Congress, 2 - 4 October 2011, Seattle, USA

２．国内学会

1) 落合雅樹，浅野貴春，藪崎克己，廣野泰亮：光散乱法を用いたアンチトロンビンⅢ製剤中のエンドトキシン測定，第 17 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会，2011 年 12 月，兵庫
2) 花田賢太郎:　日本におけるワクチン国家検定制度，バイオロジクスフォーラム第 9 回学術集会，2012.2.22、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実施している。ワクチンで予防できる疾患に対する血清疫学サーベイランスは、感染症流行予測調査(NESVPD)の中で行っている。これらの情報は感染症サーベイランスシステム(NESID)、IDSC ホームページ(http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-idsc.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。

また、感染症発生に対応するために実地疫学調査が重要である。IDSC では国内外の感染症アウトブレイクに対応する人材教育として実地疫学調査専門家養成コース(FETP)を実施しており、平成 23 年度には 13 期生を迎えた。さらに、病原微生物診断法の開発、細菌・ウイルス検査の技術向上を支援している。IDSC はこれらの業務および研究を以下の 6 室で、お互いに協力し合いながら実施している。

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学的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、健康危機事例への対応とともに、早期探知・調査手法、あるいは感染症危機管理、インフルエンザ等の疫学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)

感染症法のもとで実施されている感染症発生動向調査データの収集・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、メディ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、第一・二・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。全国衛生微生物技術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、警報・注意報の発生、罹患数の推計、インフルエンザの型別罹患数の推計、都道府県別罹患数を推計するためのインフルエンザ定点設計、補助変量を用いた罹患数推計等について検討した。

[多田有希、谷口清州、重松美加、安井良則、島田智恵、山下和予、加藤信子、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、2010 年度に「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。2011 年度はこれに必要な追加・更新・修正等を加え、改訂版として全国 104 カ所に配布した。

[多田有希、島田智恵、阿保満(東京都大田区保健所)、鈴木智之(岐阜医療科学大学保健学部)、松舘宏樹(岩手県保健福祉部)]

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。特に本年度は病原体診断との連携、地方感染症情報センター担当者での活用調査を行った。

(１)「薬局サーベイランス」

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。また、地方感染症情報センター担当者に活用調査を行った。

(２)「学校欠席情報収集システム」

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、2012 年 3 月末で 18 県 4 政令指定都市の全校をはじめ 15000 校以上で稼動している。また、学校及び学校医での活用調査を行った。

(３)「保育園欠席者・発症者情報収集システム」

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、2012 年 3 月末で約 4000 園稼動している。また、保育所での活用調査及び保育課担当者での活用例の調査を行った。

(４)強化サーベイランス

東京都健康安全研究センターと共同で、日中韓サミットおよび韓国大統領訪日の際に、強化サーベイランスを

実施した。
[大日康史、菅原民枝、安井良則、谷口清州、岡部信彦、杉下由行]

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 の運用を今年度も行い、2009 年のパンデミック A(H1N1)流行以降、夏季期間中においても継続している。2011 年度末現在において、200 名以上の有志医師のご協力、70,000 件以上のインフルエンザ症例に関する報告を得られた。この DB は麻疹や百日咳の DB のモデルともなったもので、今後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実効性を感度、特異度、正解率等から分析した。
[重松美加、JensLinge(JointResearchCentre)、JasMantero(ECDC)]

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。加えて、アデノウイルスレファレンスセンターとして咽頭結膜熱、流行性角結膜炎の病原体検出マニュアルを改訂し国立感染症研究所ホームページで公開した。
[藤本嗣人、中村雅子、榎本美貴、秋吉京子、松島勇紀、清水英明、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開発

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)につき、バックアップ機能等の機能強化を行い、バージョンアップした。
[中島一敏、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

感染症サーベイランスデータ等の公式情報、メディア情報等の非公式情報など、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、国際保健規則(IHR)のリスク評価基準に基づきリスク評価を行い、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、FETP 一同、八幡裕一郎、神谷元、砂川富正、大山卓明、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. 東日本大震災における感染症対策に関する研究

(１) 東日本大震災被災地域における感染症の発生動向に関する研究

東日本大震災被災地域における感染症発生動向の実態把

握及び感染症危機管理対応の検証に関する研究班(研究代表者賀来満夫)の分担研究として、被災地域における感染症発生動向の把握及びサーベイランス体制の検証に関する研究を行った。発災後からリスクアセスメントを行うとともに避難所におけるサーベイランスを支援し、最終的にそれらを評価・検討した。

[谷口清州、大日康史、菅原民枝、神谷元、砂川富正、中島一敏、安井良則、八幡裕一郎]

(２)東日本大震災後の感染症対策に関する研究

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」として、2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災後の感染症対策のあり方について検討し、また、複数の現場で自治体等と共に実施した。例えば、震災後直ぐの週明け(3 月 14 日)には被災地・避難所におけるリスクアセスメントを実施し、それぞれの時期ごとの重要な疾患についての解説と共に、感染研 HP 上に公開する活動を主導した。以降、ほぼ 2 週間ごとにリスクアセスメントと行った。また、避難所サーベイランスの開始を主導し、福島県下の複数保健所(県南保健所、郡山市保健所など)においては実際に運用された。概念的なところとしては茨城県にて情報を伝達し、さらに岩手県では岩手医大を中心とする ICAT による避難所サーベイランスとの情報交換を行った。同サーベイランスは各地の避難所が閉鎖されるまで継続された。震災発生後 1 年の頃には、岩手県、福島県、茨城県の関係機関を訪問し、災害後の感染症モニタリングおよび対策に関する情報収集を行った。

[砂川富正、関谷紀貴、具芳明、八幡裕一郎、神谷元、安井良則、中島一敏、大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦]

(３)東日本大震災における感染症情報の収集と対策

東日本大震災より 1 年を経て、各自治体における震災直後から感染症情報の収集と対策を振り返り、1)今後災害発生時における課題を探ること、2)国立感染症研究所感染症情報センターがホームページ上で提供した被災地における感染症リスクアセスメントや、ツールとしての避難所サーベイランス等の自治体側からの災害時の有用性について情報を収集し、今後の災害発生時における感染症情報の収集や対策の方法に関する備えを明らかにすることを目的とした。自治体(保健所単位等)の被害状況に応じて、超急性期(以下 WHO 定義－地元のリソースのみによる対応)・急性期(外部からの援助が入る時期)・復興期(外部援助の撤退や内部復興開始)などの規定に関する考え方が異なった。当センター提供の感染症リスクアセスメントについては、レファレンスとして有用との声が多かった。データの外部的な監視役が設けられていた点などの評価は高く、集団発生事例の検出に結びついた例があった。

[砂川富正、安井良則、八幡裕一郎、谷口清州、岡部信彦]

(４)東日本大震災に伴う感染症対策に関する研究

東日本大震災に関連した感染症のリスクアセスメント、被災地の視察とニーズ評価、避難所単位での症候群サーベイランスである避難所感染症サーベイランスの開発と被災自治体での運用支援、感染症対策情報の提供等を通じ、災害と関連した感染症対策について検討した。

[FETP 一同、中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、砂川富正、大日康史、菅原民枝、島田智恵、安井良則、多田有希、谷口清州、岡部信彦]

(５)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に情報共有され

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]

2. 日米バイオデフェンス

共同研究文部科学省安心安全プロジェクトの一つである日米バイオデフェンス研究事業において、日米双方で Biodefence に関わる情報交換を継続して行っている。本年度は食品テロとともに、福島原発の事故より放射線障害に関する最新研究状況についてシンポジウムを行った。

[谷口清州]

3. 新型インフルエンザのパンデミック対策に関する研究

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。

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]

4. 国際保健規則(IHR)の実施に関連する新型インフルエンザへの備えに関する研究

厚生労働科学研究費補助金「新型インフルエンザに対する公衆衛生対応に関する研究」(研究代表者押谷仁)により、インフルエンザの公衆衛生対応として、パンデミック時における有効性の高い検疫の在り方、および関連する IHR の国内外の活用について現場の状況を把握することを目的として、主に国内外の検疫体制について調査した。国内においては羽田空港検疫所、また国外においてはインドネシアにおけるマカッサル海港検疫所、スカルノハッタ空港検疫所を訪問し、インドネシアでは IHR に準拠した新型インフルエンザ対応が行なわれていることを見出した。我が国においては 2012 年 6 月が期限となっているコアキャパシティー評価についても、現場では行われていないことにより、世界的に標準な IHR の調査項目を元に、新型インフルエンザ対策を主眼とした調査を来年度計画している。

[砂川富正、八幡裕一郎、神谷元、河野有希、谷口清州、阪口洋子(北里大学・東京検疫所羽田空港支所)]

5. 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

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」として、前年度までに、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ており、宮古島市における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。さらに宮古島市職員のうち同意の得られた 404 人の血清を採取し、年齢群別の抗体陽性率および不顕性感染率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、A(H1N1)pdm09 含有ワクチンの接種歴のない 274 例中における抗体陽性率は 88 人(32.1%)であり、年代別の抗体陽性率はそれぞれ 20 代 55.1%,30 代 41.2%,40 代 46.3%,50 代 26.4%,60 代 0%であった。またワクチン接種が無い抗体陽性者 88 人のうちインフルエンザ様患者(ILI:Influenza like illness)の症例定義に合致する、顕性感染者は 28 人(31.8%)であり、これはワクチン接種歴のない者全体 274 例の 10.2%であった。これらのことから宮古島市の 20-50 代の集団のなかでは、2009-2010 年の A(H1N1)pdm09 流行期間中、不顕性感染者が約 10%存在すること、不顕性感染者が顕性感染者の 2 倍程度存在する可能性が示唆された。

[島田智恵、豊川貴生、佐藤弘、多屋馨子、平良勝也・古謝由紀子(沖縄県衛生環境研究所)、砂川富正、谷口清州]

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健康安全・危機管理対策総合研究事業「健康危機管理における効果的な医療体制のあり方に関する研究」(主任研究者：大友康裕)の分担研究として、感染症医療体制と災害・救急医療体制の連携方法に関する研究、特に、バイオテロ関連疾患、新型インフルエンザについて情報を収集し、救急や災害医療の役割について検討を行った。得られた情報を、同研究班の DMAT 研修の場で現場の医師等に還元し、協議を行った。また、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、大日康史、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)]

(２)厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究」(研究代表者：杉山和良)の研究分担として、バイオリスク評価理論の確立、同テキストの制作、バイオリスク評価理論の研修の設計とその継続教育法について研究を実施した。

[重松美加、安藤秀二(ウイルス第一部)、藤本秀士(九州大学)、HelmutPrendinger(国立情報学研究所)、JennifierGaudioso(SandiaNationalLaboratories),SusanCaskey(同)]

(３)欧州標準化委員会の下において、欧州バイオセーフティ学会のイニシアチヴによる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に貢献した。バイオセーフティ専門家のコンピテンシー「CENWORKSHOPAGREEMENT16335」として完成し、発効した。

[重松美加、佐多徹太郎(富山衛生研究所)]

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実施した異なる形の複数の研究会の成果をもとに、研修方法のモデルを選定し、参考資料として編纂を行った。リーフレット、ゲーム形式の学習教材、事例等の作成も行い、感染症調査を下敷きとした、食中毒の調査方法を通じて、組織編成、コミュニケーションの重要性、陥りやすい失敗などを学ぶ教材について、日英両言語での制作に貢献した。

[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」(主任研究者：大友康裕)の分担研究として、感染症医療体制と災害・救急医療体制の連携方法に関する研究、特に、バイオテロ関連疾患について検討を行った。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。

[中島一敏、砂川富正、大日康史谷口清州、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結果から、人材育成の重要性と情報分析における医療・科学に偏らない人材の登用の必要性を提言した。また、Joint Research Centrefor European Commission の協力を得て、情報重複の排除、合目的な情報トリアージプログラムの検討を行った。

[重松美加、谷口清州、山下和予、NigelCollier(国立情報学研究所)]

17. 1 類感染症発生時の疫学調査手法に関する研究

「我が国における一類感染症の患者発生時に備えた診断・治療・予防等の臨床的対応及び積極的疫学調査に関する研究」(主任 : 加藤康幸国立国際医療研究センター国際医療支援室医長)の分担研究者として、ウイルス出血熱事例が発生した際の疫学調査手法について検討した。エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、ラッサ熱を対象とし、先進国における発生時対応、ヒトーヒト感染のリスクに関するシステマティックレビューを行った。また、ドイツロバート・コッホ研究所(RKI)、英国健康保護局(HPA)、スウェーデン感染症研究所(SMI)、欧州 CDC、WHO 本部、英国ロイヤルフリー病院、マンチェスター大学を視察し、ウイルス出血熱輸入例の臨床対応、公衆衛生対応、ガイドラインの開発と運用、ラボ、情報共有等につき情報収集、検討した。

[中島一敏、牛澤洋人]

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公表した。

[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、東京都多摩地区、静岡県[静岡市、浜松市を除く]、静岡市、岡山市、熊本県[熊本市を除く))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、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継続して取り組み、先行して質問票としては、自治体に活用可能な形として NESFD に掲載した。本文については、収集した情報が食中毒行政に関する課題を取り上げているものが多かったことから、別項としてまとめた。ガイドライン自体は今後、実用面に重きを置くマニュアル的なものとして整理する予定で

ある。

[砂川富正、八幡裕一郎、多田有希、島田智恵、齊藤剛仁、杉下由行(東京都)、春日文子、岡部信彦]

6. 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]

7. 生鮮食品を共通職とする原因不明食中毒に関する疫学的研究

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒の発症機構の解明に係る調査研究」(研究代表者大西貴弘)により、国内で発生したひらめを喫食し、消化器症状を呈した事例について発生状況の把握を行った。把握はベースラインデータの収集(地域、産地、季節等の検討のため)、臨床像の検討として症状、潜伏期、症例定義等の検討、発症のリスク因子、予防因子の検討を行うことを目的とした。喫食量が多いと潜伏期が短くなり、クドアに汚染されたヒラメの喫食が発症と関連していた。また、仕入日別で調整したオッズ比がクドアに汚染されたヒラメの喫食で発症と関連しており、ロットによるクドア汚染の違いが考えられた。クドアの汚染を出来るだけ少なくすることが対策として考えられた。本研究の結果は平成 23 年度食中毒部会で報告を行い、行政的な対策へとつながった。

[八幡裕一郎]

8. 3類感染症の発生状況と原因食品の推定に関する研究

2011 年の赤痢の発生数は 299 例で、調査を始めて最小を記録した 2009 年以来、2 年連続して増加した。国内発生数は 156 例であった。大半がソンネ菌であった。2011 年の集団事例は福岡県の幼稚園と広島市の保育園に関連した小規模の集団事例についで、34 週から東北地方の飲食チェーン店を中心とした広域事例が起きた。保健所等の調査により共通食品は判明したが、菌が検出されず特定には至らなかった。2012 年には、第 8 週に山梨県で、第9週に和歌山県及び千葉県でフレキシネル2bの感染例が報告され、簡易調査票や情報収集により同一チェーン店の回転寿司で喫食したことが明らかになった。

［伊藤健一郎、多田有希、齊藤剛仁、涌井拓、松﨑充宏（海事検定協会）］

9. 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、2011 年４月号：コレラ、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：デング熱・デング出血熱とチクングニア熱、7 月号：ウイルス性出血熱、8 月号：ライム病、9 月号：風疹・先天性風疹症候群、10 月号：HIV/AIDS、11 月号：インフルエンザ、12 月号：ノロウイルス食中毒、2012 年 1 月号：下痢原性大腸菌、2 月号：麻疹、3 月号：手足口病である。

[山下和予、赤塚昌江、加藤信子、徳永真里子、野地元子、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、荒川英二、川端寛樹、伊豫田淳(細菌第一部)、倉根一郎(副所長)、西條政幸、安藤秀二、高崎智彦、森川茂(ウイルス第一部)、脇田隆字、清水博之、片山和彦(ウイルス第二部)、竹田誠、駒瀬勝啓、森嘉生(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)、柴山恵吾、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)、長谷川秀樹(感染病理部)、石井則久(ハンセン病研究センター)、俣野哲朗(エイズ研究センター)、中嶋建介、宮川昭二(国際協力室)、野田衛、山本茂貴(国立衛研)、富澤一郎(企画調整主幹)、渡邉治雄(所長)、吉倉廣(前所長)、林修一郎、中嶋健介、南川一夫、森田剛史、温泉川肇彦、松岡隆介、石丸歩、堀内直哉、黒羽真吾、平賀紀行(厚生労働省)]

10. 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、2011 年報告分を加えて解析した。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は本研究班全体の引き続きの課題である。
[岡部信彦、多田有希]

11. 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-1SubtypeB の国内感染動向を推測した。距離行列法と Bayesian Markovchain Monte Carlo 法による系統樹を比較することによって 249 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。SubtypeB は、血友病患者を除けば主に 2000 年代にクラスターを形成し始め、クラスターの主要なリスク因子は MSM であることが明らかとなった。また、クラスターのメンバーが例外なく男性であることから、リスク行動として異性間交友を上げた感染者でも、実際は同性間交友による感染が起こっていることが強く疑われた｡これらのクラスターは、弱い地域との相関がある一方で、大都市間の相互作用もあり、地域内での流行と、大都市間の交流の２つが作用した高次構造をとっていることがわかった。
[椎野禎一郎]

12. 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｢MSM の HIV 感染対策の企画､実施､､評価の体制整備に関する研究」(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)]

13. 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急性脳炎届出からインフルエンザを原因とするものを抽出して解析を行なっている｡2011/2012 年シーズンは 2012 年第 17 週までに 86 例(男性 50 例、女性 36 例)のインフルエンザ脳症の届出があり、年齢分布、ウイルスの型別等について検討を行った。
[安井良則、島田智恵、多田有希、岡部信彦]

14. B 型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。
[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)]

15. 腸管出血性大腸菌感染症に併発した脳症患者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、腸管出血性大腸菌感染症に併発した脳症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 2006 年から 2010 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(東京都健康安全研究センター)、齊藤剛仁、冨岡鉄平、島田智恵、砂川富正、多田有希]

17. 耐性菌サーベイランスの評価に関わる研究

「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)の分担の一つとして、現状の VRE サーベイランスと MRSA サーベイランスの系統的評価を行った。いずれも多くの課題が挙げられ、報告書としてまとめた。
[具芳明、谷口清州]

Ⅳ．予防接種ならびに予防接種で予防可能疾患における今後の感染症対策に関する研究

1. 予防接種後副反応サーベイランスならびに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)「予防接種後副反応サーベイランスの効果的な運用とその行政的な活用のあり方に関する研究(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、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、神谷元、安井良則、新井智、佐藤弘、北本理恵、落合雅樹(検定検査品質保証室)、田中敏博(静岡厚生病院)、齋藤昭彦(新潟大学医学部小児科)、永井利三郎(大阪大学医学部保健学科)]

2. 麻疹、風疹ワクチンに関する研究

(１)麻疹排除に向けた対策の構築ならびに実施

厚生労働科学研究費補助金(新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

－都道府県を対象とした麻疹対策に関する調査の集計と解析

〈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〉

－「最近の知見に基づく麻疹検査診断の考え方」作成

－麻しん排除に向けた積極的疫学調査ガイドライン第三版の作成

－医師による麻しん届け出ガイドライン第三版の作成

－医療機関での麻疹対応ガイドライン第三版の作成

－国の麻しん対策推進会議用に資料作成・発表

[岡部信彦、多屋馨子、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、FETP12&13 期]

(２)麻疹排除に向けた対策の構築ならびに実施

麻疹対策技術支援チームの一員として、麻疹排除に向けた戦略の構築、発生時対応について検討した。

[FETP 安藤由香、三崎貴子、涌井拓、中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、安井良則、多田有希、多屋馨子、谷口清州、岡部信彦]

(３)わが国における麻疹排除の地域レベルの指標に関する研究

2012 年度末に迫った我が国の麻疹排除について、各自治体において進捗状況を示す他の指標を整備するための情報収集を行い、実際に沖縄県などにおいて進捗状況に関する情報を確認した。同県においては、2011 年度末に、WHO が求める全ての麻疹排除の指標を満たしていたことから、他地域のモデル的な意味を含めて、さらに情報の整理を進めている。

また、国レベルの麻疹排除に関する状況については、WHO における会議にて発表をした(2012 年 3 月)。

[砂川富正、多屋馨子、平良勝也(沖縄県衛生研究所)、知念正雄(知念小児科)、岡部信彦]

(４)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」(研究代表者山田正仁)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]

(５)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]

(６)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]

3. イギリス、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

現在構築中の予防接種後健康被害報告と同被害救済申請に関する電子化システムに資するために、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、今年度は公衆衛生発祥の地であるイギリス HPA、同国における副反応対応体制およびヨーロッパ全体のネットワーク(EMA)、さらには予防接種に関するリスクコミュニケーション(ロンドン大学)などを訪問した。また東アジア地域で最も先進と言われる韓国を訪問し、副反応に対する協議の実際の場を見学させてもらう機会を得た。隣国である韓国を含め、世界で最も先進的な予防接種体制を構築している国々から学ぶべき点は多く、今後も情報交換を密に行い、我が国の体制への参考情報とすべきである。

[砂川富正、神谷元、多屋馨子]

4. 予防接種間違い防止に資する研究

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)「予防接種後副反応サーベイランスの効果的な運用とその行政的な活用のあり方に関する研究(研究代表者多屋馨子)の一環として、予防接種間違い事例に関する調査を行った。ワクチンの接種間隔や種類を間違えた事例が多く、分かりやすいマニュアル作成などの対策が必要と考えられた。

[佐藤弘、多屋馨子、新井智、荒木和子]

5. 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)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(研究代表者庵原俊昭・神谷齊)の協力研究者として、三重県下 2 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。

さらに、外来における疾病負荷を調査するため千葉県いすみ市、三重県津市、川崎医科大学にてロタウイルス感染性胃腸炎患者の積極的サーベイランスを実施した。

[浅田和豊、菅秀(国立三重病院)、中野貴司、田中孝明(川崎医科大学小児科)、東川正宗(山田日赤病院小児科)、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)、梅本敏和(うめもとこどもクリニック)、伊東宏明、黒木春郎(外房こどもクリニック)、神谷元]

(２)ワクチンの副反応に関する研究

平成 23 年度に導入されたロタウイルスワクチンの副反応の 1 つに挙げられている腸重積症に関してこれまでわが国には体系化された全国規模のサーベイランスは実施されていなかった。今年度全国 13 道県における腸重積症の積極的サーベイランスを構築し、2007 年から

2011 年までの過去 5 年間の腸重積症、並びに 2012 年に関しては腸重積症患者を診断するたびにサーベイランスに報告してもらった。現在情報収集中である。

[岡部信彦、大石和徳、多屋馨子、砂川富正、大日康史、菅原民枝、神谷元]

6. 海外における予防接種政策のシステムに関する研究

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(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]

7. ワクチンの需要予測

ワクチンの安定供給を目的として、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]

8. 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]

9. 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]

10. 百日咳の血清診断向上に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)「インフルエンザ及び近年流行が問題になっている呼吸器感染症の分析疫学研究(主任研究者廣田良夫)」の分担研究として、宮崎県延岡市において発生した百日咳の集団発生の実地疫学調査を元に、菌凝集素価と抗 PT 抗体価の比較を行い、診断精度向上に努めるべく分析を行った。さらに、高知県においては、次年度からの全数強化調査に関する準備を行った。今後の我が国における重要な百日咳の基礎データを蓄積することを目的としている。

[砂川富正、神谷元、大平文人、安藤由香、松本道明(高知県衛生研究所)]

11. 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

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」として、「沖縄本島における日本脳炎ウイルス感染リスク評価」の活動を行った。すなわち、沖縄本島北部・中部の各医療機関 2 か所より得られた血清 189 検体より、沖縄本島北部および中部地域の医療機関において、5 歳以下の小児における日本脳炎抗体価保有状況を標準的な質問票と共に調べた。本調査において、3 歳以上のワクチン接種率(不明を省く)は 54.3％と算出された。ワクチン接種は抗体価の上昇に有効であり、接種回数が多くなるに従い、ラボラトリー株ではない沖縄株に対する抗体保有率、GMT 共に高くなった。ワクチン接種歴無群の抗体保有状況は、低い月齢で北京株、中山株に対する抗体の保有率、高い抗体価が認められ、母親からの移行抗体を反映していると考えられる。1-3 歳頃は、殆んどの株に対する抗体価は上昇しておらず、この間における感染リスクが高いことが推察される。ワクチンスケジュールを考慮する上で重要な情報である。本調査において、1 歳以上でワクチン接種歴の無いものを対象に、≧1:10 の抗体価を有するものを Case としたところ、20 例が該当した。本調査における自然感染率は、暫定的に 18.7%と高く算出された。日本脳炎ウイルスへの曝露に関するリスク行動を算出することは出来なかった。今後、さらなる分析を行う予定である。日本脳炎の疫学を考える上で、沖縄においても限局しつつあると言われるコガタアカイエ

カ分布の情報、水田の分布、吸血源(豚、牛、鳥等)の分布についても考慮し､ワクチン接種状況から考えられる感受性者の分布と共に、その感染リスクを評価し、公衆衛生上の提言を行っていく必要がある。

[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)、谷口清州]

Ⅴ．病原体等の研究

1. 日本脳炎ウイルスに関する研究

東南アジアおよび日本に生息する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、荒木和子、佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦(感染症情報センター)、沢辺京子(昆虫医科学部)、小林睦生(昆虫医科学部)]

2. インフルエンザウイルスの検出法ならびに検出部位に関する臨床的検討

厚生労働科学研究費補助金医薬品･医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「ウイルス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/2009pdm 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]

3. OPV 投与後のポリオウイルスの排出

OPV 接種後、腸管内における血清型別ワクチンウイルスの増殖を明らかにすることを目的とし、糞便中のポリオウイルス量を real-timePCR により、経時的、血清型別に調べた。また、糞便中の各血清型別中和抗体価を 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、モンゴルおよび日本のトガリネズミ型目動物に新しいハンタウイルスを発見した。

[新井智、浜田雅史、佐藤弘、荒木和子、多屋馨子、岡部信彦(感染症情報センター)、森川茂(ウイルス一部)、KyleTaylor(北大),西澤次訓(北大)、坪田敏男(北大)、大館智志(北大)、Jin-WonSong(韓国コリア大学)、Bazartseren,Boldgiv(モンゴル、Natinal Univerisity of Mongolia)、RichardYanagihara(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、佐藤弘、荒木和子、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、山本徳栄(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。論文報告した。

また、これらの型が迅速診断キットで陽性になることを確認し、論文報告した。

[藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希、岡部信彦]

(２)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、マルチプレックス 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、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

手足口病患者から採集したエンテロウイルスがコクサッキーウイルス A 群 6 型と同定し、塩基配列を調べた。2011 年に手足口病の大規模流行の全塩基配列を決定した。

[花岡希、清水博之(ウイルス第二部)、岡部信彦、小林正明(小林小児科)、小長谷昌未、飯塚節子(島根県保健環境科学研究所)、榎本美貴(兵庫県立健康生活科学研究所)、菅原民枝、大日康史、藤本嗣人]

8. コクサッキーウイルスの分離に関する研究

2011 年のコクサッキーウイルス A 群 6 型の分離効率を調べた。RD-A 細胞を用いることで効率良くウイルス分離が出来ることが明らかになった。

[花岡希、藤本嗣人、岡部信彦、木村愛、京都市衛生環境研究所、小林正明]

9. ヒトパラインフルエンザ 1 型(HPIV-1)の *HN* 遺伝子解析に関する研究

山形県で 2002-09 年に分離された HPIV-1 の *HN* 遺伝子の詳細な遺伝子解析を行った。NJ 法(近隣結合法)による系統樹解析により、分離株は 3 つのクレードに分類された。ML 法(最尤法)による系統樹解析で、分離株は、1950 年から分岐を始め、1980 年代後半に 3 つのクレードを形成したことが推定された。*HN* 遺伝子の塩基置換速度は、7.7×10^{-4}substitutionspersiteperyear であることも推定された。解析部位に、positive selectionsite はなかった。さらに、株間の遺伝学的距離はライノウイルスなどに比べ短いことが示唆された。

[水田克巳、安孫子千恵子、池田辰也、青木洋子、阿彦忠之(山形県衛生研究所)、齋藤美香、小林美保、塚越博之、小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)、野田雅博、岡部信彦、木村博一]

10. 2009/10 シーズンに国内で検出された RS ウイルス *G* 遺伝子解析に関する研究

2009/10 シーズンに国内(青森県・群馬県・熊本県)で検出された RS ウイルス(RSV)50 株の *G* 遺伝子の詳細な解析を行った。NJ 法による系統樹解析により、検出株は、RSV-A は GA2、RSV-B は BA にすべて分類された。解析部位にいくつかの、positive selectionsite があることが推定された。また、株間の遺伝学的距離は比較的短かった。さらに、解析部位の塩基置換速度は、2.4×10^{-3}substitutionspersiteperyear と推定され、インフルエンザウイルス A 型の H 遺伝子とほぼ同じ速度で進化していることが示唆された。

[吉田綾子(青森県環境保健センター)、清田直子、西村浩一、原田誠也(熊本県保健環境科学研究所)、小林美保、塚越博之、小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)、水田克巳(山形県衛生研究所)、梁明秀(横浜市立大学)、森田幸雄(東京家政大学)、山本典夫、野田雅博、岡部信彦、田代眞人、木村博一]

11. 大腸菌の研究

(１)感染症発生動向調査届出票(大腸菌)の検討

感染症発生動向調査届出表の大腸菌については改訂がしばらく行われなかったことから現状に合わないところがある。レファレンス関連会議事前打合せで改定案を検討して、2011 年度の衛生微生物技術協議会で改定案を示し、討議した。その結果以下のように決定した、(1)EPEC は O 群ではなく eae （インチミン遺伝子）陽性の大腸菌、(2) EAggEC を新しい分類として追加し、aggR（総合的制御因子）陽性の大腸菌とする。また、NESID に登録された大腸菌の発生状況や地方衛生研究所への大腸菌検査のアンケート結果をまとめて IASR に掲載した。

[伊藤健一郎、伊豫田淳（細菌第一部)、八柳潤（秋田県健康環境センター)、甲斐明美（東京都健康安全研究センター)、磯部順子（富山県衛生研究所)、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所)、中嶋洋(岡山県環境保健センター)、村上光一（福岡県保健環境研究所)、上野伸広（鹿児島県立薩南病院検査部）]

(２)侵入性大腸菌(EIEC)検査用 invE-PCR の検討

EIEC の検査法として invE を対象とした PCR がよく用い

られているが、非特異が多いと指摘されている。市販のプライマーセット(INV-1 と INV-2)を用いて得られた増幅産物の塩基配列を決定し、Blast 検索を行ったところ，プロテアーゼ(yfhR)遺伝子と判明した，その配列からプライマー対を設計し検査した結果，大腸菌と赤痢菌の全株が遺伝子を保有していた。EIEC をより正確に同定するための新たな invE プライマー及び PCR 法が必要と思われる。

[伊藤健一郎、山本新也(豊橋市保健所衛生試験所)、青木日出美、山崎貢(愛知県衣浦東部保健所)]

Ⅵ. 学会の中での研究、貢献

1. 日本ワクチン学会

2008-2011 年度理事として学会活動を行った。

[岡部信彦、谷口清州]

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。

[岩田敏(委員長)、岩本愛吉、大石和徳、岡田賢司、小島俊行、多屋馨子、中野貴司、二木芳人、渡辺彰]

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(主担当理事)、細矢光亮(委員長)、多屋馨子、他]

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。

[森内浩幸(委員長)、小田慈、金兼弘和、木村宏、坂田宏、田中敏博、多屋馨子、堤裕幸、成相昭吉、横田俊平]

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]

日本小児保健協会

予防接種・感染症委員会委員として予防接種に関する検討・啓発を行った。

[庵原俊昭(委員長)、岡田賢司(副委員長)、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、津川毅]

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いでいる。

[多田有希、安井良則、島田智恵、齊藤剛仁、加納和彦、富澤伸五、加藤信子、佐藤弘、FETP 研修生 12&13 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、加納和彦、大竹由里子、前田明日香、佐藤弘、谷口清州、山下和予、赤塚昌江、徳永真里子、FETP 研修生 12&13 期生、神谷元、八幡裕一郎、砂川富正、中島一敏、大山卓昭、多屋馨子、重松美加、加藤信子、富澤伸五、岡部信彦]

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」では、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。

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。2011 年 1 月－2011 年 12 月の病原体検出報告数は、病原菌検出報告(3 A : 地研・保健所)は 5,937 件、病原体個票は病原菌(原虫・寄生虫を含む)が地研・保健所 3,822、検疫所 2 件、ウイルス(リケッチア，クラミジアを含む)が地研 26,404 件(うち AH1pdm09 が 5,284)、検疫所 16 件、集団発生病原体票は病原菌等が地研 213 件、ウイルス等が地研 651 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地研 287 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 32 巻)および第 32 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 2005 年年報を、JapanJ.Infect.Dis.,2006Vol.59Supplement として編集中である。

(4)感染性腸炎研究会に参加する都市立感染症指定医療機関が入力した感染性腸炎患者調査票 514 件についてデータの確認と集計を行ない、2011 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、佐藤弘、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。2011 年度は 2011 年第 26 週までで一旦終了とし、その後 2011/2012 年シーズンとして 2011 年第 45 週から再開した。2011/2012 年シーズンのインフルエンザは 5 シーズンぶりに A/H3 亜型が流行の主流を占め、流行の規模は季節性インフルエンザとしては大きかった。流行のピークは 2012 年第 5 週であり、その後 B 型インフルエンザの報告の増加がみられた。これらのインフルエンザ流行に関する情報について、インフルエンザ流行レベルマップ上で迅速に情報発信を行なっていった。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・マップ)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年齢群別累積報告数割合(第1～当該週累積報告分の円グラフ)(2011年第17週より追加)、⑦週別推定感染地域(国内・外)別累積報告数(第1～当該週累積分の棒グラフ)、⑧都道府県別累積報告状況(第1～当該週累積分の日本地図)(2011年第13週より中止)、⑨都道府県別人口100万人あたり報告数(第1～当該週累積分の棒グラフ)(2011年第13週より追加)、⑩都道府県別報告状況(第1～当該週の週毎の日本地図)を作成した(2012年3月現在9種類のグラフ・マップ)。

[島田智恵、加納和彦、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、加納和彦、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. 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]

10. サーベイランスのデータ分析と還元

サーベイランスデータの分析、アウトブレイクの検出とリスク評価、対応、情報発信等を実施した。

[FETP一同、中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、砂川富正、大山卓明、島田智恵、齊藤剛仁、安井良則、多田有希、谷口清州、岡部信彦]

11. サーベイランスシステム評価

米国CDCや世界保健機関(WHO)のガイドラインに則り、感染症サーベイランスのシステム評価を実施した。

[FETP12期、中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、大山卓明、砂川富正、島田智恵、多田有希、谷口清州]

Ⅱ．感染症発生動向調査のシステムに関する業務

「感染症の患者の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく、感染症発生動向調査は、1999年4月の法制定以降、厚生労働行政総合情報システム(WISH)上に構築され運用されていたが、システム稼動後の法改正に未対応の部分がある等の課題があったことから、再構築することとなり、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いる。2012年4月には大幅な改修が予定され、2011年度には地方感染症情報センターとも連携してその要件定義書を作成した。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、灘岡陽子(東京都健康安全研究センター)]

2. 病原体検出情報システム

2012年4月に運用開始するNESIDリプレースのため、病原体検出情報サブシステムについて、地研・感染研から改善が必要として挙げられた項目を反映した仕様書に基づいて要件定義書を作成し、運用開始前に動作確認テストを行なった。2012年3月に開催された自治体への研修会テキストを作成した。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年度にシステムを一部改修し運用を行ってきたが、2012年4月新NESID稼働に向けて現行システムの改善項目を検討し、改修の仕様を決定した。また、現在は感受性調査のみがシステム化されているが、将来的には感染源調査もシステム化し、セントラルデータベースでデータの一元管理ができるよう実現化に向けて検討を重ねている。

[北本理恵、佐藤弘、新井智、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。

[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Flu Net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、ノロウイルス検出報告を集計し、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・インフルエンザウイルス検出速報・麻疹ウイルス検出速報・ノロウイルス検出速報・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。

[FETP 研修生 12 期&13 期生、島田智恵、齊藤剛仁、菅原民枝、佐藤弘、花岡希、多田有希、砂川富正、中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、大山卓昭、新井智、大日康史、安井良則、加納和彦、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 2011 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。東日本大震災の感染症対策に関する情報は、殆どの避難所が閉鎖された 2011 年 8 月末まで続けられた。

[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 12&13 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、幼稚園、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毎週、麻疹は通年実施だが報告があった時のみ、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 21 年度(2009 年度)報告書を作成した。

[多屋馨子、佐藤弘、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の発信

平成 23 年度(2011 年度)感染症流行予測調査のうち、インフルエンザ抗体保有状況(平成 23 年 11 月 18 日から 12 月 27 日の計 3 回)およびブタの日本脳炎抗体保有状況(平成 23 年 7 月 12 日から 11 月 25 日まで計 18 回)について速報としてホームページに掲載した。また、ポリオ、インフルエンザ、日本脳炎、風疹、麻疹の抗体保有状況および上記 5 疾病、百日咳、ジフテリア、破傷風の予防接種状況についてグラフをホームページに掲載した。

[佐藤弘、多屋馨子、新井智、荒木和子、北本理恵、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 23 年度版を作成した。

[多屋馨子、佐藤弘、前田大久、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 2011 年度データ登録のサポート、およびトラブルに対する調査、対応を行った。また、登録され確定した

データは集計を迅速におこない報告書作成の資料とした。
[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2011年6月30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、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、2011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)]

2. 内閣府新型インフルエンザ法制化に関わるコンサルテーション

内閣府における新型インフルエンザに関する法制化に際して、これまでの新型インフルエンザにおける日本における対応の評価をまとめ、法制化に関して重要な事項を議論した。
[谷口清州、岡部信彦]

3. 東日本大震災被災地域における感染症状況把握に関するコンサルテーション

東日本発災後約1ヶ月後に、岩手、宮城において、厚生労働省対策本部、地方自治体と協力して、実地調査を行い、現状の感染症発生に関するリスクアセスメントを行い、国に対して報告した。また、WHO 神戸センターにおける災害時の感染症対策に関する国際シンポジウムに出席して、これまでのまとめと議論を行った。
[中島一敏、藤本嗣人、谷口清州]

Ⅵ．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血清提供者から得られた血清を受け入れ、血清銀行で保管している。2011年度に受け入れた血清は、計3365検体であった。また、内外研究者からの保管血清使用申請に応じ、血清銀行運営委員会による審査を行い承認が得られた研究に対し、血清分与を行っている。2011年度は4件の申請があり、これら4件に対し計3400本の血清を分与した。
[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]

国際協力関係業務

Ⅰ．国際的調査協力及び支援

1. 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)の活動の一環として、インドネシア国南スラウェシ州における、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

インフルエンザや重症のインフルエンザ感染症(人ー人感染を含む)発生時の情報伝達の方法についての調査を行った。次年度から実施予定の重症急性呼吸器疾患(SARI：特に重症ウイルス性肺炎)に関する強化サーベイランスの基礎としての情報収集に努めた。

[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)]

2. 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(EARProject)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をすると共に、11 月に作成し閣僚級会議へ提出した「WhitePaper」の作成、欧州疫学学会および ICEID での学会発表、活動の紹介リーフレットおよび現在投稿中のシステムパフォーマンスに関する学術論文に協力した。

また、厚生労働省大臣官房厚生科学課に協力し、11 月 8 日―10 日の間に同 WG 会議を日本主催で開催した。

[重松美加、NigelCollier(国立情報学研究所)、斎藤智也(厚生労働省大臣官房厚生科学課)]

3. IHR の Entrypoint における Core capacity requirement の実地疫学調査と評価

台湾 CDC と協力して、台湾の桃園国際空港、高雄港において、WHO による Corecapacity Checklist に準拠した達成度の実地調査および機能評価を行い、報告書を作成した。

[谷口清州]

4. 生物兵器禁止条約における信頼醸成措置の評価と対応

生物兵器禁止条約(Biological Weapon Convention：BWC)に関わる信頼醸成措置(Confidence Building Measures：CBM)に対する我が国における対応について、CBM の内容を検討し、その実効性と現実性を評価して報告した。

[谷口清州]

5. 世界保健機関における国際的な感染症対策のネットワークの評価と運営

世界保健機関(WHO)における Global Outbreak Alertand Response Network(GOARN)の運営委員会委員として、2000 年の開始後 10 年間の評価を行い、今後のあり方について検討し、報告書を作成した。

[谷口清州]

6. 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きたが、プロジェクトの終了を迎え、次期プロジェクトの立ち上げのために、プロジェクトの評価及びインドネシアにおける FETP の状況と今後の展開の可能性について調査を行った。

[谷口清州、砂川富正]

7. WHO 西太平洋地域事務局(WPRO)における活動

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]

8. ベトナムにおける抗ウイルス薬耐性インフルエンザサーベイランスシステム構築のための提言

WPRO の shorttermconsultant としてベトナムの Pasteur Institute HoChiMinh City の疫学部門・インフルエンザ検査部門とともに、抗ウイルス薬耐性インフルエンザサーベイランスについての調査・報告を行った。

[島田智恵]

9. 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、検査

診断体制の調整及び整備等を行った。
[砂川富正、八幡裕一郎、神谷元、谷口清州、蜂矢正彦(国立国際医療センター)]

10. 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きたが、2011 年度も 2 回の現地支援を行った。
[砂川富正、神谷元、田中好太郎、谷口清州、岡部信彦]

11. 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)、谷口清州、藤本嗣人、多屋馨子、山下和予、大山卓昭、大日康史、島田智恵]

12. ラオス FETP に対する評価ミッション(平成 23 年 5 月 8 日～13 日)

2010 年に開始されたラオス FETP に対する評価ミッション(WHO 主催)に参加し、将来的な課題について提言を行った。
[大山卓昭]

13. モンゴル FETP に対する技術支援

モンゴル FETP に対する技術支援(平成 23 年 9 月 18 日～10 月 9 日、平成 24 年 2 月 26 日～3 月 10 日)
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]

14. WHO/FETP パートナーシップ会議

WHO/FETP パートナーシップ会議(平成 23 年 11 月 6 日～9 日)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]

15. 国際的な感染症アウトブレイクに関する国際連携

国際的な感染症アウトブレイク発生に際し、適宜 WHO 本部や西太平洋地域事務局と情報交換を行った。
[中島一敏、砂川富正、谷口清州、岡部信彦]

16. ASEAN+3 実地疫学研修ネットワーク(FETN)における国際連携強化

2010 年 7 月に開催された ASEAN+3 保健大臣会合にて、新興感染症等の感染症危機管理に連携して取り組むため、各国の実地疫学研修プログラムのネットワーク強化が決定され、実地疫学ネットワーク(FETN)が設立された。2011 年 10 月の第一回運営会議(Steeringcommittee)に運営委員として参加し、運営方針の決定、活動計画の策定を行った。さらに、電話会議等を通じ課題について議論を重ねると共に、FETN の人的交流や共同研究推進を進めた。
[中島一敏、岡部信彦]

17. 世界的な FETP 連携強化

世界中の FETP から構成される TEPHINET の国際学術会議への参加や、プログラム代表者会議へ参加し、各プログラムの成果や課題について相互理解を深めた。恒常的なプログラム強化や FETP の認定のあり方等について議論を行った。また、EU 共同で運営する EPIET 事務局を訪問し、連携強化を行った。
[中島一敏]

18. エチオピアにおける JICA の感染症サーベイランス強化プロジェクト支援

JICA プロジェクト支援のため、エチオピアアムハラ州感染症対策プロジェクトを訪れ、プロジェクト進捗、サーベイランス運用等の評価を行った。
[中島一敏]

Ⅱ. 国際研修

1. 海外からの来所者への感染症情報センターの活動および感染症対策に関する情報提供と広報

国立国際医療センター海外研修生、JICA 留学生、各国保健医療および政府関係者などの来所時に、感染症情報センターの活動、国内感染症の発生動向、国内および国際連携による感染症対策の現状、予防接種、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、椎野禎一郎、島田智恵、多田有希、多屋馨子]

2. TAQASTREATAsia 研修プログラムへの協力

2011 年 12 月 5～7 日にマレーシア・クアラルンプールで開催された“Workshopon HIV Drug Resistance Sequence Data Management”(amfAR の支援で行われているアジア地域の医療・研究従事者対象の HIV/AIDS 対策のための Training program である TREATAsia の研修)に moderator の一人として参加し、プログラムの全体構成の構築に携わるとともに、HIV ウイルス遺伝子配列の解析法・系統樹作成法・薬剤耐性変異の検出法の実習と、分子進化学と系統樹作成の基礎についての講義を行なった。
[椎野禎一郎]

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 13 年目となり、平成 23 年 4 月、13 期生 6 名(柳樂真佐実、涌井拓、田原寛之、三崎貴子、牛澤洋人、難波江功二)を迎えた。平成 22 年 3 月には 12 期生 4 名(阿部信次郎、安藤由香、石川貴敏、関谷紀貴)が研修修了した。

2. FETP の運営

(１)研修生の指導

2010 年度に開発した実地疫学コンピテンシー評価システムを用い、FETP の研修指導を実施した。
FETP の保健医療科学院(NIPH)との連携コースに関しては、NIPH と協議を重ね、次年度は開催しない事となった。

(２)アウトブレイク疫学調査指導

アウトブレイク発生に際し、FETP の疫学調査の現地調査指導を行った。
[中島一敏、神谷元、八幡裕一郎、砂川富正、大山卓昭、谷口清州]

3. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 23 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。
避難所施設内ノロウイルス感染症集団発生事例(福島県郡山市)
病原性大腸菌感染症広域集団発生事例(富山県その他)
腸管出血性大腸菌 O157 感染症集団発生事例(山形県山形市)
施設内髄膜炎菌感染症集団発生事例(宮崎県小林市)
麻疹集団発生事例(岡山県津山市)
医療施設内多剤耐性アシネトバクター集団発生事例(茨城県東茨城郡)

4. 研修活動

FETP のトレーニングの一環として、初期導入研修(John Kobayashi；4 月)、とともに、医療施設における感染症予防対策(MikeBell；11 月)、実地疫学のための統計手法(Paul Weiss;3 月)、台湾における感染症予防対策(Angela Song-EnHuang；3 月)を開催した。

5. 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(宮崎県、兵庫県、富山県、神奈川県、熊本県、国立保健医療科学院)での講義・演習を実施した。

6. 感染症疫学研究

平成 23 年度に研修終了した 11 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。

阿部信次郎「陸上自衛隊東ティモールへの海外派遣におけるデングウイルス感染症血清疫学調査」

安藤由香「Hib ワクチン及び小児肺炎球菌ワクチン接種に関しての保護者への質問紙調査と今後のワクチン接種のあり方の検討」
石川貴敏「マイクロブログを用いたインフルエンザサーベイランスの有効性」
関谷紀貴「多剤耐性アシネトバクターのリスク因子解析を目的とした症例対照研究の方法論に関する研究」

7. 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
麻疹および風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

8. 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。

9. 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 10 月 12 日、13 日に開催した。2011 年度の事務局は、第三室及び長橋秀和が担当した。研修内容として、「厚生労働省の健康危機管理対策」、「感染症対策・予防接種行政の最近の動向について」、「国の食中毒関連対策について」、「薬剤耐性菌の院内感染対策」、「鳥インフルエンザ～最新の話題～」、「サルモネラ集団食中毒事例の対応について」、「腸管出血性大腸菌 O111 等による集団食中毒事件への対応について」、「岩手県における東日本大震災津波時の感染症対策について」、「宮城県の状況」、「福島県での対応」、「避難所における感染性胃腸炎の集団発生」、「東日本大震災の被災地における感染症対策と保健衛生システムの復興」、「不活化ポリオワクチン」、「Hib ワクチン、肺炎球菌(7 価)ワクチンと同時接種」、「百日咳アウトブレイク事例」、「百日咳の検査診断」、「東京都における 2011 年の麻しん流行」、「海外の麻しん排除に向けた動き」、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細菌研修を、2011年11月14日から12月2日まで、感染症研究所村山庁舎で行った。地方衛生研究所及び保健所において細菌検査業務に従事する中級者を対象として、細菌学の体系的な理解と新しい知識及び技術の習得を目的としている。保健所・地方衛生研究所合計37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短期研修新興再興感染症技術研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修新興再興感染症技術研修を、2011 年 10 月 3 日から 10 月 7 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、麻疹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、

21 名であった。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、山下葉子、野田雅博、岡部信彦]

3. 国立保健医療科学院国際保健コースの研修

国立保健医療科学院による長期研修である国際保健コースの Infectious disease epidemiology の講義を行った。

[八幡裕一郎]

4. 国立保健医療科学院食品衛生危機管理研修

国立保健医療科学院による短期研修である食品衛生危機管理研修で食中毒の疫学調査及び大規模事例についての講義を行った。

[八幡裕一郎]

平成 23 年度健康危機管理研修実務編第 2 回講師．2012．2.

[多屋馨子]

平成23年度短期研修健康危機管理研修実務編第1回講師．2011．10.

[多屋馨子]

平成 23 年度専門課程教育計画講師．2011．7.

[多屋馨子]

Ⅳ．その他の研修の実施

1. 希少感染症診断技術向上事業に関する業務

平成 23 年度の研修は平成 24 年 2 月 22～23 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。血液安全性研究部、ウイルス第二部、山形大学、ウイルス第三部、バイオセーフティ管理室、細菌第二部、細菌第一部、富山県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、国立医薬品食品衛生研究所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、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、新井智、佐藤弘、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、山下和予、島田智恵、齊藤剛仁、多屋馨子、佐藤弘、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、riskcommuninication 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]

4. 予防接種情報公開に関する業務

日本の定期/任意予防接種スケジュール(20 歳未満)2011 年 4 月 1 日～

日本の定期/任意予防接種スケジュール(20 歳未満)2011 年 5 月 20 日～

日本の定期/任意予防接種スケジュール(20 歳未満)2011 年 9 月 1 日～

乳幼児予防接種スケジュール(0～6 歳)

小学生～高校生相当年齢の予防接種スケジュール

感染症情報センターHP 予防接種情報のページを更新した。

[多屋馨子、前田明日香、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 404 検体(研究)、2 検体(診断)

核酸検出 10 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 43 件

(兵庫県37件、埼玉県1件、大分県1件、福井県3件、相模原市1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､エンテロ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）

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
難波江功二	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	東京検疫所
三崎貴子	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	大阪府済生会中津病院
涌井拓	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	千葉県衛生研究所
田原寛之	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	防衛省
柳楽真佐美	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	島根県
牛澤洋人	協力研究員	H22.4.1-H23.3.31	東京医科歯科大学救命救急センター

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Okabe N.: Understanding of emerging and re-emerging diseases. J Disaster Research .6(4):372-380, 2011.

2) Okabe N.: Epidemiological situation on pandemic influenza H1N1 in the world and in Japan. Jap Med AssocJ. 54(5):277-283.2011.

3) 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

4) Takayana N, Sakiyama H, Okabe N, Umemoto S.: Cumulative vaccination coverage for the 1st, 2nd, and booster doses of stage 1 Japanese encephalitis vaccination in Japan: Results of year 2009 nationwide survey. Jap Med Assoc J . 54(3):186-190, 2011.

5) Inaida S, Yasui Y, Tada Y, Taniguchi K, Okabe N. Geographic Trends and Spread of the Pandemic (H1N1) 2009 in the Metropolitan Areas of Japan Studied from the National Sentinel Data. Jpn J Infect Dis. Nov; 64(6):473-81. 2011.

6) Ohkusa Y, Sugawara T, Taniguchi K, Okabe N. Real-time estimation and prediction for pandemic A/H1N1(2009) in Japan. J Infect Chemother. 17:468-472. 2011.

7) Sugawara T, Ibuka Y, Ohkusa Y, Kawanohara H, Taniguchi K , Okabe N : Real-time Prescription Surveillance and its Application to Monitoring Seasonal Influenza Activity in Japan, J Med Internet Res, 14(1), 1-9, 2012.

8) Van Kerkhove MD, Vandemaele KAH, Shinde V, Jaramillo-Gutierrez G, Koukounari A, Taniguchi K, et al. Risk Factors for Severe Outcomes following 2009 Influenza A (H1N1) Infection: A Global Pooled Analysis. PLoS Med 8(7): e1001053. doi:10.1371/journal.pmed.1001053, 2011

9) Sugiura H, Ohkusa Y, Akahane M, Sano T, Okabe N, Imamura T : Development of a web-based survey for monitoring daily health and its application in an epidemiological survey, J Med Internet Res, 13(3), 1-9, 2011.

10) Kamiya H, Nakano T, Kamiya H, Yui A, Taniguchi K, Parashar U; Rotavirus Epidemiology Study Group. Rotavirus-associated acute gastroenteritis hospitalizations among Japanese children aged <5 years: active rotavirus surveillance in Mie Prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis.; 64(6):482-7. 2011.

11) Gu Y, Komiya N, Kamiya H, Yasui Y, Taniguchi K, Okabe N. Pandemic (H1N1) 2009 transmission during presymptomatic phase, Japan. Emerg Infect Dis. Sep; 17(9):1737-9. 2011.

12) Ishii, K., T. Kiyohara, Yoshizaki, S., Wakita, T., Shimada, T., Nakamura, N., Nakashima, K., Tada, Y., Noda, M. "Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. J Clin Virol. 2011.

13) Kawai T, Sekizuka T, Yahata Y, Kuroda M, Kumeda Y, Iijima Y, Kamata Y, Sugita-Konishie Y, Ohnishi T. Identification of Kudoa septempunctata as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of Paralichthys olivaceus in raw. Clin Infect Dis. (in press)

14) Tsuchihashi Y, Sunagawa T, Yahata Y, Takahashi H, Toyokawa T, Odaira F, Ohyama T, Taniguchi K, Okabe N. Association Between Seasonal Influenza Vaccination in 2008-2009 and Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 Infection Among School Students From Kobe, Japan, April-June 2009. Clin Infect Dis. Feb 1;54(3):381-3. 2012

15) Toyokawa T, Sunagawa T, Yahata Y, Ohyama T, Kodama T, Satoh H, Ueno-Yamamoto K, Arai S, Araki K, Odaira F, Tsuchihashi Y, Takahashi H, Tanaka-Taya K, Okabe N. Seroprevalence of antibodies to pandemic (H1N1) 2009 influenzavirus among health care workers in two general hospitals after first outbreak in Kobe, Japan. J Infect.;63(4):281-7. 2011.

16) Davaalkham J, Unenchimeg P, Baigalmaa C, Erdenetuya G, Nyamkhuu D, Shiino T, Tsuchiya K, Hayashida T, Gatanaga H, Oka S. Identification of a current hot spot of HIV type 1 transmission in Mongolia by molecular epidemiological analysis. AIDS Res Hum Retroviruses. Oct;27(10):1073-80. Epub 2011 May 25. 2011.

17) Ishii H, Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Matsuoka S, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Naruse TK, Kimura A, Takiguchi M, Matano T. Impact of vaccination on cytotoxic T lymphocyte immunodominance and cooperation against simian immunodeficiency virus replication in rhesus macaques. J Virol. Nov 9. [Epub ahead of print] 2011.

18) Nomura T, Yamamoto H, Shiino T, Takahashi N, Nakane T, Iwamoto N, Ishii H, Tsukamoto T, Kawada M, Matsuoka S, Takeda A, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Sata T, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of major histocompatibility complex class I haplotypes with disease progression after simian immunodeficiency virus challenge in Burmese rhesus macaques. J Virol. Apr 4. [Epub ahead of print] 2012.

19) Iyoda, S., Honda, N., Saitoh, T., Shimuta, K,. Terajima, J., Watanabe, H., Ohnishi, M. Coordinate control of the locus of enterocyte effacement and enterohemolysin genes by multiple common virulence regulators in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Infect Immun. 79(11):4628-4637. 2011.

20) Tabara, K., Kawabata, H., Arai, S., Itagaki, A., Yamauchi, T., Katayama, T., Fujita, H., Takada, N. High incidence of Rickettsiosis correlated to prevalence of Rickettsia japonica among Haemaphysalis longicornis tick. J Vet Med Sci. 73: 507-510. 2011.

21) Fujisawa, K., Nakajima, R., Jinnai, M., Hirata, H., Zamoto-Niikura, A., Kawabuchi-Kurata, T., Arai, S., and Ishihara, C. Intron sequences from the CCT7 gene exhibit diverse evolutionary histories among the four lineages within the Babesia microti-group, a genetically related species complex that includes human pathogens. Jpn J Infect Dis. 64: 403-410. 2011.

22) Kobayashi D, Kogawa K, Imai K, Tanaka T, Hiroi S, Satoh H, Tanaka-Taya K, Nonoyama S. : Quantitation of human herpesvirus-6 (HHV-6) DNA in a cord blood transplant recipient with chromosomal integration of HHV-6. Transpl Infect Dis. 13(6):650-3. 2011.

23) Phengxay M, Hayakawa Y, Phan TG, Uneno-Yamamoto K, Tanaka-Taya K, Vongphrachanh P, Komase K, Ushijima H. : Seroprevalence of rubella and measles antibodies in Lao PDR. Clin Lab. 57(3-4):237-44. 2011.

24) Baba K, Okuno Y, Tanaka-Taya K, Okabe N. : Immunization coverage and natural infection rates of vaccine-preventable diseases among children by questionnaire survey in 2005 in Japan. Vaccine. 29(16):3089-92. 2011.

25) Fujimoto T, Matsushima Y, Shimizu H, Ishimaru Y, Kano A, Nakajima E, Adhikary AK, Hanaoka N, Okabe N. A molecular epidemiologic study of human adenovirus type 8 isolates causing epidemic keratoconjunctivitis in kawasaki city, Japan in 2011. Jpn J Infect Dis. May; 65(3):260-3. 2012.

26) Nakamura M, Hirano E, Kowada K, Ishiguro F, Yamagishi Z, Adhikary AK, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi K, Fujimoto T. Surveillance of adenovirus D in patients with epidemic keratoconjunctivitis from Fukui Prefecture, Japan, 1995-2010. J Med Virol. Jan; 84(1):81-6. 2012.

27) Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto M, Abe K, Yamashita K, Hanaoka N, Okabe N, Yoshida H, Yasui Y, Kobayashi M, Fujii Y, Tanaka H, Yamamoto M, Shimizu H. Hand, foot, and mouth disease caused by coxsackievirus A6, Japan, 2011. Emerg Infect Dis. Feb; 18(2):337-9. 2012.

28) Adhikary AK, Banik U, Okabe N, Fujimoto T. Molecular characterization of human adenovirus type 8 (HAdV-8), including a novel genome type detected in Japan. Jpn J Infect Dis.; 64(6):493-8. 2011.

29) Adhikary AK, Fujimoto T, Okabe N. Human adenovirus species C (HAdV-C) fiber protein. Virology. Mar 1; 424(1):1. 2012.

30) Akiyoshi K, Suga T, Fukui K, Taniguchi K, Okabe N, Fujimoto T. Outbreak of epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus type 54 in a nursery school in Kobe City, Japan in 2008. Jpn J Infect Dis.; 64(4):353-5. 2011.

31) Konno M, Yoshioka M, Sugie M, Maguchi T, Nakamura T, Kizawa M, Umegaki Y, Yasutake H, Ishikawa Y, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi K, Shimizu H, Fujimoto T. Fourteen years' surveillance of coxsackievirus group A in Kyoto 1996−2009 using mouse, RD-18S, and Vero cells. Jpn J Infect Dis. 64(2):167-8. 2011.

32) Takano A, Nakao M, Masuzawa 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, Taylor K, Tsubota T, Konnai S, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H. Multilocus sequence typing implicates rodents as the main reservoir host of human-pathogenic Borrelia garinii in Japan. J Clin Microbiol. May;49(5):2035-9. 2011.

33) Fujimoto T, Hanaoka N, Adhikary AK, Okabe N. Adenovirus surveillance in Japan, 2000-2007. Proceedings of the second international workshop on human adenovirus.; 17-20. 2011.

34) Ikeda, T., Mizuta, K., Abiko, C., Aoki, Y., Itagaki, T., Katsushima, F., Katsushima, Y., Matsuzaki, Y., Fuji, N., Imamura, T., Oshitani, H., Noda, M., Kimura, H., Ahiko, T. Acute respiratory infections due to enterovirus 68, in Yamagata, Japan between 2005 and 2010. Microbiol Immunol. 56(2): 139-143. 2012.

35) Arakawa, M., Okamoto-Nakagawa, R., Toda, S., Tsukagoshi, H., Kobayashi, M., Ryo, A., Mizuta, K., Hasegawa, S., Hirano, R., Wakiguchi, H., Kudo, K., Tanaka, R., Morita, Y., Noda, M., Kozawa, K., Ichiyama,

T., Shirabe, K., Kimura, H. Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. J Med Microbiol. 61(Pt 3): 410-419. 2012.

36) Nishina, A., Kimura, H., Kozawa, K., Sommen, G., Nakamura, T., Heimgartner, H., Koketsu, M., Furukawa, S. A superoxide anion-scavenger, 1,3-selenazolidin-4-one suppresses serum deprivation-induced apoptosis in PC12 cells by activating MAP kinase. Toxicol Appl Pharmacol. 257(3): 388-395. 2011.

37) Mizuta, K., Saitoh, M., Kobayashi, M., Tsukagoshi, H., Aoki, Y., Ikeda, T., Abiko, C., Katsushima, N., Itagaki, T., Noda, M., Kozawa, K., Ahiko, T., Kimura, H. Detailed genetic analysis of hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein gene in human parainfluenza virus type 1 isolates from patients with acute respiratory infection between 2002 and 2009 in Yamagata prefecture, Japan. Virol J. 8(1): 533. 2011.

38) Sakano, C., Morita, Y., Goto, K., Yokota, Y., Annaka, H., Fujita, M., Kobatake, S., Ishioka, T., Hoshino, T., Boonmar, S., Pulsrikarn, C., Nishina, A., Kozawa, K., Yamamoto, S., Kimura, H. Prevalence and genotype of Salmonella Choleraesuis in Gunma Prefecture, Japan. Thai J Vet Med. 41(3): 321-326. 2011.

39) Nishina, A., Kimura, H., Kozawa, K., Sommen, G., Favero, F., Heimgartner, H., Koketsu, M., Furukawa, S. 3-(2,6-Dimethylphenyl)-2-selenoxo-1,3-thiazolidin-4-one suppresses hydrogen peroxide-induced cytotoxicity on PC12 cells via activation of MAPK. Int J Toxicol. 30(6): 690-699. 2011.

40) Itagaki, T., Abiko, C., Aoki, Y., Ikeda, T., Mizuta, K., Noda, M., Kimura, H., Matsuzaki, Y. Saffold cardiovirus infection in children associated with respiratory disease and the similarity to coxsackievirus infection. Pediatr Infect Dis J. 30(8): 680-683. 2011.

41) Tsukagoshi, H., Mizuta, K., Abiko, C., Itagaki, T., Yoshizumi, M., Kobayashi, M., Kuroda, M., Kozawa, K., Noda, M., Ryo, A., Kimura, H. The impact of scaffold cardiovirus (SAFV) in patients with acute respiratory infection in Yamagata, Japan. Scand J Infect Dis. 43(8): 669-671. 2011.

42) Tazaki, E., Shimizu, N., Tanaka, R., Yoshizumi, M., Kamma, H., Imoto, S., Goya, T., Kozawa, K., Nishina, A., Kimura, H. Serum cytokine profiles in patients with prostate carcinoma. Exp Ther Med. 2(5): 887-891.2011.

43) Fujitsuka, A., Tsukagoshi, H., Arakawa, M., Goto-Sugai, K., Ryo, A., Okayama, Y., Mizuta, K., Nishina, A., Yoshizumi, M., Kaburagi, Y., Noda, M., Tashiro, M., Okabe, N., Mori, M., Yokota, S., Kimura, H. A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. BMC Infect Dis. 11: 168. 2011.

44) Nishi, M., Akutsu, M., Masui, S., Kondo, A., Nagashima, Y., Kimura, H., Perrem, K., Shigeri, Y., Toyoda, M., Okayama, A., Hirano, H., Umezawa, A., Yamamoto, N., Sam, W., Lee, S.W., Ryo, A. A distinct role for Pin1 in the induction and maintenance of pluripotency. J Biol Chem. 286(13): 11593-11603. 2011.

45) Arima Y, Matsui T, J Partridge and T Kasai: The Great East Japan Earthquake: a need to plan for post-disaster surveillance in developed countries, Western Pacific Surveillance and Response, WPSR 2(4):3-6, 2011.

46) Arima Y , Matsui T: Epidemiologic update on the dengue situation in the Western Pacific region, 2010, WPSR 2(2):4-8, 2011.

47) Nakamura N, Arima Y Shimada T, Matsui T, Tada Y, Okabe N: Incidence of dengue virus infection among Japanese travellers, 2006 to 2010, WPSR 3(2):39-45, 2012.

２．和文発表

1) 岡部信彦、多田有希、安井良則：急性脳炎・脳症の疫学．日本臨床．69(3)：411-416．2011.

2) 岡部信彦、多田有希：発生動向調査から見た性感染症の最近の動向 日本性感染症会誌(ガイドライン 2011)．22(1):suppl 126-141．2011.

3) 岡部信彦(監修・分担）：日本版 Red Book –最新感染症ガイド 2009-．編集・米国小児科学会日本小児医事出版社．2011.

4) 岡部信彦：Hib ワクチン、肺炎球菌ワクチン(PCV7)の一時停止と再開．小児科．52(8):1191-1198, 2011.

5) 岡部信彦：新型インフルエンザ(パンデミックインフルエンザ A/H1N1 2009)．感染症の疫学．小児科診療 69(9):1329-1335．2011.

6) 岡部信彦（編集）：小児感染症学. 診断と治療社　2011.

7) 岡部信彦：感染症概論．2-8．小児感染症学．編集・岡部信彦．診断と治療社．2011.

8) 岡部信彦：感染症法．37-46．小児感染症学．編集・

岡部信彦．診断と治療社．2011.

9) 岡部信彦：皮膚発疹症症候群(麻疹・風疹・水痘帯状疱疹・突発性発疹症・伝染性紅斑・エンテロウイルス発疹症・ウイルス性出血熱・天然痘) ．87-123．ウイルス感染症の検査・診断スタンダード．編集・田代眞人、牛島廣治．羊土社．2011.

10) 岡部信彦：近年の予防接種の動向と今後の方向性．保健師ジャーナル．67(12):1048-1053．2011.

11) 岡部信彦：予防接種の陰と陽―経口生ポリオワクチンと不活化ポリオワクチン．小児科 52(13):1955-1961．2011.

12) 岡部信彦：インフルエンザ．235-241．薬剤師のための感染制御マニュアル第 3 版．監修・日本病院薬剤師会．薬事日報社．2011.

13) 岡部信彦：ポリオ．今日の治療指針 2011．総編集・山口徹、北原光男、福井次夫．184-185．医学書院．2012.

14) 岡部信彦：ポリオ．今日の小児治療指針第 15 版．総編集･大関武彦,古川漸,横田俊一郎,水口雅 ．357-358 医学書院．2112.

15) 岡部信彦：生物テロ(バイオテロ) 災害医療．149:649-662．2012.

16) 高山直秀、崎山弘、岡部信彦、清水博之、宮村達男、梅本哲：BCG ワクチンン、ジフテリア・百日咳・破傷風 3 種混合ワクチン、麻疹・風疹混合ワクチン 1 期の全国累積接種率調査から見た各ワクチンの接種順序．小児科臨床．64(11):2389-2392．2011.

17) 高山直秀、崎山弘、岡部信彦、清水博之、宮村達男、梅本 哲：全国 BCG ワクチン、DPT3 種混合ワクチン、経口生ポリオワクチン累積接種率-2010 年の調査結果-．小児科臨床．64(11):2393-2400．2011.

18) 高山直秀、崎山弘、岡部信彦、梅本哲:日本脳炎ワクチン第 1 期 1, 2 回目および追加接種の全国累積接種率：2010 年の調査結果．日本医師会雑誌．140(4):829-832．2011.

19) 多田有希、佐藤弘、高山直秀、岡部信彦：感染症発生動向調査にみるズーノーシスの現状．獣医畜産新報．64(4):295-302．2011.

20) 高山直秀、崎山弘、岡部信彦、梅本哲：全国 MR ワクチン I 期および 2 期の累積接種率 - 2010 年の調査結果― 日本医事新報 No.4558:82-86．2011.

21) 谷口清州：感染症法・感染症の分類とは．INFECTIONFRONT．21:28-29．2011.

22) 大日康史、菅原民枝：症候群サーベイランス．臨床と微生物．38(4)：335-340．2011.

23) 大日康史、菅原民枝：「学校欠席サーベイランス」と急性感染症流行の把握. 小児科臨床. 64：1540-1556. 2011.

24) 大日康史、菅原民枝：学校の業務簡素化と有効な活用に向けてーアンケート報告「学校欠席者情報収集システム」の活用状況ー．学校保健. 292：9 ．2012.

25) 大日康史、菅原民枝：RS ウイルス感染症対策の医療経済学．小児科 ．52(11):1529-1534．2011.

26) 大日康史、菅原民枝、三谷真利、杉浦弘明、岡部信彦：学校欠席者情報収集システムの構築と評価．学校保健研究．53(4):312-319．2011.

27) 加藤栄史、高本滋、大日康史、他：パイロット研究による輸血副作用の解析ー我国における包括的なヘモビジランスの構築に向けて．日本輸血細胞治療学会誌．57(3)：2011.

28) 菅原民枝、大日康史、川野原弘和、谷口清州、岡部信彦：薬局サーベイランスによるバイオテロ対策のためのアシクロビル製剤モニタリング．感染症誌．85(6)：632-637．2011.

29) 具芳明、岡本悦司、大山卓昭、谷口清州、岡部信彦：長野県諏訪地域における外来抗菌薬使用量と薬剤耐性菌の検出頻度についての検討．感染症誌．85:494-500．2011.

30) 徳田浩一、五十嵐正巳、山本久美、多屋馨子、中島一敏、中西好子他：関東地方のある高校における麻疹集団発生事例感染拡大防止策とワクチン効果に関する疫学的検討．感染症誌．84(6)：714-20．2011.

31) 中島一敏：途上国における小児感染症対策ポリオ根絶計画の現地対策の経験から ．小児科. 52(2)：231-7 . 2011.

32) 冨岡鉄平、島田智恵、藤本嗣、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．感染症誌．85(2)：180-183．2011.

33) 多屋馨子：ワクチンの最新情報麻しん風しん混合ワクチン風しんワクチンを中心に(Q&A)．小児科学レクチャー．2(2):351-359．2012.

34) 多屋馨子：病態・治療 Q&A 予防できる感染症とワクチン．水痘予防の目的とワクチン導入により期待される効果についてお教えください(Q&A).臨床のあゆみ．91:15-16．2012.

35) 多屋馨子：各ワクチンの現状と話題 MR ワクチン 2012 年麻疹排除に向けて目指すべき目標．小児科診

療．75(4) ：631-638．2012.
36) 多屋馨子：ワクチン update．小児感染免疫．23(4) ：445-449．2012.
37) 多屋馨子：感染症今月の話題 2012 年麻疹排除にむけて．小児科臨床．65(2) ：335-346．2012.
38) 多屋馨子：成人男性での風疹の流行と風疹ワクチン接種の啓発．臨床と微生物．38(6) ：710-713。2011.
39) 多屋馨子：予防接種のいま保健師に知ってもらいたい予防接種の最新情報麻疹排除プロジェクトの総括と今後の課題.保健師ジャーナル.67(12)：1063-1070. 2011.
40) 多屋馨子：VPD を制御するためのわが国の課題ワクチンプログラム.綜合臨床.60(11)：2176-2183.2011.
41) 多屋馨子：大きく変わってきた!ワクチンを用いた日本の感染症対策わが国のワクチンへの取り組みここが足りてて、ここが足りない．チャイルドヘルス．14(10) ：1604-1611．2011.
42) 多屋馨子：「海外渡航者への麻疹ワクチン接種の必要性」第 20 回トラベラーズワクチンフォーラム(TVF)研修会より.バムサジャーナル.23(3)：141-148.2011.
43) 多屋馨子：今日のワクチン事情 MR ワクチン 2012 年麻疹排除へ向けた現状は?．薬局．62(8)：3018-3026. 2011.
44) 加來浩器、大山卓昭、多屋馨子、岡部信彦：茨城県北茨城市のある中学校を発端とした麻疹アウトブレイク事例での実地疫学調査について感染症誌．85(3) ：256-262．2011.
45) 多屋馨子:よくみる子どもの感染症 Q&A ウイルス感染症にどう対処するか麻疹．小児科学レクチャー．1(2) ：285-294．2011.
46) 多屋馨子：職員と患者の安全を守る!抗体検査とワクチンプログラムワクチンと行政．INFECTIONCONTROL．20(6)：609-613．2011.
47) 岡部信彦､多屋馨子:予防接種に関する Q&A 集 2011. 1-178．一般社団法人日本ワクチン産業協会．2011.
48) 藤本嗣人、花岡希：アデノウイルス感染症の病原体迅速診断．小児科．52(12):1923-29．2011.
49) 小林正明、藤本嗣人、岡部信彦：コクサッキーウイルス A6 ウイルス感染が明らかになった手足口病．小児科．52(11):1443-1444．2011.
50) 藤本嗣人、竹田誠、中村雅子、榎本美貴、岡部信彦：RS ウイルスの検査診断.小児科.52(11):1463-1469. 2011.
51) 山口展正、藤本嗣人、岡部信彦：アデノウイルスを中心に耳鼻咽喉科領域よりアデノウイルスを診る．耳鼻咽喉科・頭頸部外科．83(5):195-200．2011.
52) 榎本美貴、高井伝仕、藤本嗣人、岡藤輝夫、飯尾潤、吉田真策、近平雅嗣：兵庫県の手足口病患者から検出したエンテロウイルス 71 型の分子疫学解析(2008-2010)．兵庫県立健康生活科学研究所研究報告．2:10-14．2011.
53) 伊藤健一郎、伊豫田淳、八柳潤、甲斐明美、磯部順子、勢戸和子、中嶋洋、村上光一：病原大腸菌血清型と「他の下痢原性大腸菌」の検出報告状況、2001 年～2011 年 8 月.病原微生物検出情報.33:3-4.2012.
54) 上野伸広、吉國謙一郎、浜田まどか、蓑田祥子、上村晃秀、御供田睦代、藤崎隆司、伊藤健一郎：下痢原性大腸菌に関するアンケート調査結果報告．病原微生物検出情報．33：4-5．2012.
55) 伊藤健一郎、伊豫田淳、八柳潤、甲斐明美、磯部順子、勢戸和子、中嶋洋、村上光一：下痢原性大腸菌の分類の見直しについて．病原微生物検出情報．33：5-7.2012.
56) 土屋祐司、秦なな、加藤和子、紅野芳典、小粥敏弘、小杉国宏、林浩孝、伊藤健一郎：腸管凝集付着性大腸菌 0126:H27 による有症苦情事例―浜松市．病原微生物検出情報．33：7-8．2012.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) OhkusaY, Sugawara T. et.al. Operation of Evacuation Site Surveillance for the Great East Japan Earthquake in 2011, ISDS 2011, Atlanta.
2) Nakamura N, Abe N, Yahata Y, Okabe N: Influenza A/H3N2 outbreak in a mental hospital located in an underpopulated area, Japan, 2010 (poster) The 6th TEPHINET Bi-regional Scientific Conference, 2011, Indonesia
3) Nakasone A., Tang S., Shigematsu M., Heinecke B., Fujimoto S., Prendinger H.: OpenBioSafetyLab: A Virtual World based Biosafety Training Application for Medical Students. 8th International Conference on Information Technology : New Generations. Las Vegas, USA. 2011.7.
4) Kikkawa T., Kato F., Nakamura M., Shigematsu M., Sugiura J., Nagaoka T.: Games for health professionals to improve crisis communication skills: “The Ghost Map” and “The Mystery of Wai-Wai Nursing Home”. The 42nd

Conference of the International Simulation and Gaming Association. Warsow, Poland. 2011. 7.

5) Shigematsu M.: “The Mystery of Wai-Wai Nursing Home”: Training based on real world example for Local Health Professionals. The 42nd Conference of the International Simulation and Gaming Association. Warsow, Poland. 2011. 7.

6) Nakamura M., Kikkawa T., Shigematsu M., Sugiura J., Kato F., Nagaoka T.: How To Apply “Learning By Gaming” To The Worksite: Training Program For City Officials On Communication In Health Crises. The 42nd Conference of the International Simulation and Gaming Association. Warsow, Poland. 2011. 7.

7) Fujimoto S., Kojima F., Shigematsu M.: Campylobacter outbreak at a skewered grilled chicken restaurant in Fukuoka, Japan. 16th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter & Related Organisms. Vancouver, Canada. 2011. 8.

8) Riccardo F., Dente M.G., Shigematsu M., Barker M., Doherty B., Linge J., Hiley M., Declich S., Thinus G., Lightfoot N.: An experimental collaborative platform for the early detection of CBRN threats-the GHSI Early Alerting and Reporting (EAR) Project. The 5th European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology. Stockholm, Sweden. 2011. 11.

9) Odaira F, Nakamura N, Yahata Y, Nakashima K, Okabe N. Investigation of a multi-prefectural outbreak of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157 infection-Japan, 2009. 2011 International Meeting on Emerging Disease and Surveillance. Vienna, Austria 2011.2.

10) Shiino T, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y Yokomaku Y, Sugiura W: Molecular phylogenetic analysis of nationwide HIV-1 infection in Japan: Spreading dynamics of the epidemic estimated from surveillance data from 2003 to 2009. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, 17-20 July 2011, Roma, Italy.

11) Terajima, J., Iyoda, S., Izumiya, H., Saitoh, T., Mitobe, J,. Morita-Ishihara, T., Ohnishi, M., Watanabe, H. Molecular Epidemiological Investigation of Enterohemorrhagic E. coli Isolates in Japan. IUMS2011, Sapporo Japan. 2011. 9.

12) Arai, S., Gu, S. H., Baek, L. J., Tabara, K., Oh, H.-S., Takada, N., Kang, H. J., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Okabe, N., Yanagihara, R., Song, J.-W. Expanded evolutionary insights from Jeju virus, a newfound hantavirus harbored by the Asian lesser white-toothed shrew (Crocidurashantungensis). XV International Congress of Virology. Sapporo, Hokkaido Japan. 11-16 September 2011.

13) Araki, K., Tanaka-Taya, K., Satoh H., Murakami Y., Sugawara T., Kinetic distribution of replication of each serotype of poliovirus after oral polio vaccine administration .XV International Congress of Virology. Sapporo, Hokkaido Japan. 11-16 September 2011.

14) Fujimoto, T., Hanaoka, N., Adhikary, AK., Okabe, N.: Adenovirus surveillance in Japan, 2000-2007. IUMS, Sapporo, 2011.

15) Kaneko H, Aoki K, Ohno S, Fujimoto T, Kikuchi M, Hanada S, Gonzalez G, Koyanagi KO, Watanabe H, Suzutani T: Complete genome analysis of intertypes recombinant human adenovirus causing epidemic keratoconjunctivitis in Japan. Workshop on human adenovirus (IUMS-affliated events), Sapporo, 2011.

２．国内学会

1) 大日康史、菅原民枝、岡部信彦：「学校欠席者情報収集システム」の普及状況と学校保健における危機管理. 第 58 回日本学校保健学会. 愛知県名古屋市. 2011 . 11.

2) 大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：2010APEC 横浜, COP10 名古屋でのバイオテロ対策としての強化サーベイランス. 第 85 回感染症学会総会. 東京. 2011. 4.

3) 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、谷口清洲、岡部信彦：2011 年東日本大震災における「避難所サーベイランス」の開発と運用. 第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会. 山形県山形市. 2011. 10.

4) 菅原民枝、具芳明、大日康史、川野原弘和、谷口清州、岡部信彦：薬局サーベイランスの抗菌薬モニタリングによる 1 年間の抗菌薬使用量の都道府県比較の検討. 第 27 回日本環境感染学会総会. 福岡県福岡市. 2012. 2.

5) 菊池清、中村嗣、妹尾千賀子、大日康史、菅原民枝、岡部信彦：職員対象症候群サーベイランスの運用実績と課題. 第 27 回日本環境感染学会総会. 福岡県福岡市. 2012. 2.

6) 菅原民枝、大日康史、安井良則、谷口清州、岡部信彦：記録、連携、早期探知を一元化した保育園サーベイラ

ンス.第85回感染症学会総会.東京.2011.4.
7) 菅原民枝、多屋馨子、大日康史、安井良則、谷口清洲、岡部信彦:保育園サーベイランスを用いての保育園での麻疹対策の有用性の検討.第 60 回日本感染症学会東日本地方学術集会.山形県山形市.2011.10.
8) 菅原民枝:薬局サーベイランスの抗菌薬モニタリングによる抗菌薬使用量の検討.第49回病院管理学会.東京都.2010.10.
9) 中島一敏、災害時の感染症対策、第63回日本衛生動物学会大会緊急企画「大規模自然災害発生時における衛生動物学会の役割」.2011.4.
10) 中島一敏、地震・津波と感染症-大震災から学ぶこと-、第32回衛生微生物技術会研究会パネルディスカッションII「大震災から学べること」. 2011. 6.
11) 中島一敏、災害時の感染症対策、専門機関、地域大学、拠点病院、公衆衛生機関の連携、第27回日本環境感染学会総会特別シンポジウム「東日本大震災における感染制御を振り返る」. 2012. 2.
12) 中島一敏、特別講演「大規模災害と感染症」、第 46 回ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会(ペストコントロールフォーラム) . 2012. 2.
13) 関谷紀貴、金谷泰宏、高橋邦彦、中島一敏:多剤耐性アシネトバクターのリスク因子解析を目的とした症例対照研究の方法論に関する検討(ポスター)、第 27 回日本環境感染学会総会. 福岡県. 2012. 2.
14) 安井良則:被災地避難所での感染症サーベイランスー東日本大震災を踏まえてー.第 70 回日本公衆衛生学会自由集会. 秋田. 2011. 10.
15) 安井良則、大日康史、菅原民枝、中島一敏、砂川富正、八幡裕一郎、谷口清州、岡部信彦:2011 年東日本大震災における「避難所サーベイランス」の開発と運用.東日本感染症学会. 山形. 2011. 10.
16) 椎野禎一郎、服部純子、潟永博之、吉田繁、伊藤俊広、上田敦久、近藤真規子、貞升健志、藤井毅、横幕能行、上田幹夫、田邊嘉也、渡邉大、森治代、藤井輝久、南留美、健山正男、杉浦:亙国内感染者集団の大規模塩基配列解析2:SubtypeBの動向と微小系統群の同定第25回日本エイズ学会学術集会総会. 東京. 2011. 12.
17) 齊藤剛仁、島田智恵、砂川富正、多田有希、岡部信彦:腸管出血性大腸菌感染症における溶血性尿毒症症候群 2010 年.第 15 回腸管出血性大腸菌感染症研究会.大阪. 2011. 7.
18) 島田智恵、佐藤弘、豊川貴生、古謝由紀子、平良勝也、砂川富正、多屋馨子、谷口清州:沖縄県宮古島市における A(H1N1)pdm2009 の流行像の特徴と罹患率・受診率・入院率の推計、および A(H1N1)pdm2009 抗体価についての考察.第43回沖縄県公衆衛生大.沖縄.2011.11.
19) 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.
20) 多屋馨子:シンポジウム「感染症ワクチン日本人におけるワクチンマネージメント」研究者の立場から. 第 81 回日本感染症学会西日本地方会学術集会. 福岡県北九州市. 2011. 10.
21) 多屋馨子:今日の予防接種. 第23回日本臨床微生物学会総会. 神奈川県横浜市. 2012. 1.
22) 鈴木葉子,志田洋子,安田菜穂子,鈴木悠,高畑かほり,杉原茂孝,佐藤弘,多屋馨子:同シーズンに2回新型インフルエンザに罹患した症例の血中抗体価. 第43回日本小児感染症学会.岡山県岡山市. 2011 . 10.
23) 佐藤弘、多屋馨子、岡部信彦:パンデミックインフルエンザの流行初期と流行後の抗体保有状況の推移(感染症流行予測調査事業より).第52回日本臨床ウイルス学会.三重県津市. 2011 . 6.
24) 多屋馨子:検査診断に基づいた麻疹排除の達成をめざして現状と課題麻疹の流行状況について. 第52回日本臨床ウイルス学会.三重県津市. 2011 . 6.
25) 新井智、沢辺京子、浜田雅史、多屋馨子、津田良夫、冨田隆史、小林睦生、岡部信彦. 日本脳炎ウイルス媒介蚊の遺伝的多様性. 日本衛生動物学会. 東京都新宿区. 2011. 4.
26) 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、多屋馨子、岡部信彦,、小林睦生:日本脳炎ウイルス媒介蚊の海外飛来を検証する.第 46 回日本脳炎ウイルス生態学研究会. 石川県金沢市. 2011. 5.
27) Kang,H.J.、新井智、Song,J.-W.、Cook,J.A.、YanagiharaR:Evolutionary Insights from Newfound Soricomorph-Borne Hantaviruses.日本哺乳類学会2011年度大会.宮崎県宮崎市.2011. 9.
28) 新井智、KangH.J.、大館智志、Cook,J.A.、多屋馨子、森川茂、岡部信彦、YanagiharaR.A :Newfound Hantavirus Harbored by Sorexcaecutiensin Russiaand Japan.日本哺乳類学会2011年度大会.宮崎県宮崎市. 2011. 9.

29) 佐藤弘、多屋馨子、高崎智彦、岡部信彦:小児における日本脳炎抗体保有状況の推移(感染症流行予測調査より).第 43 回日本小児感染症学会.岡山県岡山市.2011. 10.

30) 荒木和子,多屋馨子,佐藤弘、岡部信彦:インフルエンザ迅速診断キットの A(H1N1)PDM09 に対する検出感度の比較検討.第 43 回日本小児感染症学会.岡山県岡山市. .2011. 10.

31) 藤本嗣人 : PCR 法による呼吸器感染症診断. 臨床ウイルス学会(シンポジウム 3). 津市、2011. 6.

32) 藤本嗣人、花岡希、岡部信彦、牛島廣治、谷口清州 : マイクロチップ電気泳動と超高速 1step-RT-PCR を組み合わせた髄膜炎患者からのエンテロウイルス高感度検出. 臨床ウイルス学会. 津市、2011. 6.

33) 宗村徹也、藤本嗣人、吉田弘、清水博之、岡部信彦 : SupraMap により作成したエンテロウイルス 71 時空系統樹の解析.感染症学会東日本地方会.山形市、2011. 10.

34) 藤田秀昭、ファンジェーン、小沢昌彦、吉冨秀亮、世良暢之、鬼木信乃夫、花岡希、岡部信彦、藤本嗣人、内尾英一 : 新型アデノウイルス 56 型による流行性角結膜炎の 1 例. 第 65 回日本臨床眼科学会. 東京都. 2011. 10.

２０．エイズ研究センター

センター長　俣 野 哲 朗

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」、「施策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。

施策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23年４月１日付で松岡佐織研究員、山本浩之研究員が着任した。平成24年3月31日付で駒野淳主任研究官が退職した。草川茂主任研究官と藤野真之研究員は休職中である（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. HIV 感染免疫動態と予防エイズワクチンに関する研究

1. HIV 感染免疫動態に関する研究

(1) HIV 感染免疫動態の解析に結びつくエイズモデルに関する研究

HIV 複製抑制において細胞傷害性 T リンパ球（CTL）反応は中心的役割を果たしている。これまで我々を含む複数の研究グループが、特に Gag を標的抗原とする CTL 反応の有効性を指摘しているが、さらに最近、我々は Vif を標的抗原とする CTL 反応の有効性を示唆する結果を得ている。これら Gag および Vif 抗原特異的 CTL 反応を誘導するワクチンの効果を知るためには、サルエイズモデルにおける検証が重要であるが、その際、もともとワクチン非接種の状況でウイルス曝露後、Gag・Vif 抗原特異的 CTL 反応が誘導される個体群と誘導されない個体群の両方での検討が必要となる。本研究では、これまで確立を進めてきた各種 MHC-I ハプロタイプ共有アカゲサル群の解析を進展させ、SIV 感染急性期に Gag・Vif 抗原特異的 CTL 反応が優位に誘導される MHC-I ハプロタイプ W あるいは S 共有群、および SIV 感染急性期に Gag・Vif 抗原特異的 CTL 反応が優位に誘導されない E 共有群を獲得した。これらの SIV 感染系は、エイズワクチン開発における Gag・Vif 抗原特異的 CTL 反応を誘導効果の検証に極めて有用なモデルとなる。

［中村 碧、高原悠祐、石井 洋、阪脇廣美（京都大学）、堀池麻里子（京都大学）、三浦智行（京都大学）、五十嵐樹彦（京都大学）、明里宏文（京都大学）、保富康宏（医薬基盤研究所）、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、松岡佐織］

(2) 宿主細胞性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

エイズワクチン開発においては、ワクチン誘導免疫がウイルス感染防御に結びつく機序を知ることが重要である。本研究では、予防ワクチンによるCTLメモリー誘導がウイルス曝露後のCTL反応の有効性に及ぼす影響をサルエイズモデルにて検討した。MHC-Iハプロタイプ A共有サル群において、Gag206-216特異的CTLメモリーを誘導すると、SIV曝露後の感染急性期にメモリー由来のGag206-216特異的CTL反応が優位となり、ナイーブ由来のGag241-249特異的CTL反応誘導が遅延することが判明した。その結果、Gag206-216特異的CTL反応からの逃避変異の選択が加速し、場合によってはSIV複製制御に至らない個体が数頭みられた。一方、Gag241-249特異的CTLメモリーを誘導すると、SIV曝露後の感染急性期にメモリー由来のGag241-249特異的CTL反応が優位となり、ナイーブ由来のGag206-216特異的CTL反応誘導が遅延した。その結果、Gag241-249特異的CTL反応からの逃避変異選択は認められず、Gag206-216特異的CTL反応からの逃避変異選択も遅延して、安定なSIV複製制御が認められた。本研究結果は、CTLメモリー誘導が、ウイルス曝露後のワクチン抗原特異的CTL反応と非ワクチン抗原特異的CTL反応の協調作用に与える影響を明らかにし、CTL誘導予防エイズワクチンの抗原選択に極めて重要な論理基盤を与えるものである。

［石井 洋、松岡佐織、山本浩之、関紗由里、椎野禎一郎、武田明子、寺原和孝（免疫部）、三浦聡之（東京大学）、森川裕子（北里大学）、成瀬妙子（東京医科歯科大学）、木村彰方（東京医科歯科大学）、滝口雅文（熊本大学）、俣野哲朗］

(3) 宿主液性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ア．SIV 中和抗体の感染個体レベルにおける防御機序の解析

エイズウイルス中和抗体（NAb）は感染急性期の受動免疫により著明な持続感染阻止効果を示し得、機序として抗原提示修飾を介した特異的T細胞応答亢進が関わる可能性を我々は近年見出している。本研究では、受動免疫中和抗体およびそれに誘導される細胞性免疫による相乗的なエイズウイルス防御機構の解明を目標とした。これまでに NAb の抗原提示能に関わる DC 受容体を検索中、NAb 存在下における抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の直接的な CCL4 産生亢進を認めた。平成 23 年度は、抗体による CD8 直接誘導の知見に基づき抗体の中和能の必要性を検証することを最重要視し、①非・中和抗体（nNAb）の大量精製を行い、②不活化 SIV 全粒子を抗原とする ELISA 法のスクリーニング系を立ち上げ、③背景研究で使用した NAb と同じ粒子結合能を有する nNAb を選抜し、④SIV 感染急性期のサル受動免疫実験を開始した。結果、持続感染の阻止には至らない可能性が示唆された。これは感染急性期における特異的 CD4 陽性 T 細胞保護が不十分な場合、抗エイズウイルス抗体による個体レベルの防御効果が発揮され得ないことを示唆しており、抗エイズウイルス抗体による感染成立阻止にも中和能が必要と示す別報告と機序的に異なりうる。本研究成果は、SIV 感染初期の受動免疫中和抗体によるウイルス制御の必要十分条件の解明に結び付くもので、中和抗体誘導型予防エイズワクチン開発への論理基盤に寄与するものである。

［山本浩之、中根 拓、野村拓志、岩本 南、高橋尚史、俣

野哲朗］

イ．SIV 感染細胞に対する抗体依存性細胞性ウイルス複製抑制機構の解析

サル末梢血単核球（PBMC）をエフェクター細胞、サル CD4 陽性 T 細胞株を標的細胞とする抗体依存性細胞性ウイルス複製抑制（ADCVI）アッセイ系を確立した。生理的濃度の中和抗体による高い ADCVI 能を確認し、同程度の濃度の非・中和 SIV 特異抗体においては高い ADCVI 能を認める群と認めない群に分かれた。非中和抗体の 2 群では、ELISA 法で評価したウイルス粒子結合性と照応の結果、結合性と ADCVI 能に比例傾向が認められた。粒子結合性及び ADCVI 能が高い SIV 特異的非・中和抗体を誘導するサル個体は、初期に一定以上の体内ウイルス量を示し、後に高度にウイルス量を抑制した個体に限られた。即ち T 細胞応答主体に有効な SIV 制御に至る個体でも、中和能で検出し得ない充分な液性免疫応答が認められる可能性が示唆された。抗 SIV・非中和抗体の感染サル受動免疫モデルを解析した結果、急性期血中ウイルス量の削減への受動免疫の寄与を認めず、血漿中 SIV エンベロープ領域において ADCC エスケープに類する変異選択は認めなかった。即ち、選択圧がかかる水準の ADCVI 能を発揮するには極めて高い力価が求められることが分かった。以上から、中和抗体によるエイズウイルス持続感染成立阻止における ADCVI の寄与は、有効な細胞性免疫応答の誘導に至るまでの補助作用に留まる可能性が示唆された。

［中根 拓、山本浩之］

(4) 生ワクチンにより誘導される感染防御

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貢献することが期待される。Δ5G 感染により誘導される宿主応答から SIV 感染防御に関わる免疫応答を解析し、糖鎖変異 SIV 感染が誘導する防御免疫に関し新たな知見が得られた。１）多様な変異ウイルスに対する高い感染抑制効果が確認された。２）慢性感染期の感染制御に働くエフェクター細胞について SIV 特異性に関する知見が得られた。３）HIV 感染防御に最も重要と考えられる初期感染期の防御免疫について、感染標的細胞の供給抑制が感染抑制の機構として働いている可能性を示唆する結果が得られた。これらの研究を進展させることにより HIV ワクチン・治療法の開発研究に新たな方向性・戦略を提案することが可能となる。

［Nursarat Ahmed、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。モデルを作製するにあたり、インド産と比べ中国産のアカゲザルが SIV に対して感染抵抗性を示すことを考慮し評価した上で、本年度は以下の知見を得た。

1) ヒトの性周期と類似することやアカゲザルのように限定的に発情期（11-2 月頃）があるわけではないため、性周期の観点から経膣感染モデル用霊長類としては、カニクイザルが適していると思われた。
2) Medroxyprogesterone acetate (15 mg)筋注を行うことにより、個体の性周期を同調させ、さらに生理的子宮口びらんを誘導した状態で攻撃接種を行うことで、系全体のバラツキを抑える事が可能となった。
3) SIV の攻撃接種に関しては、ウイルス 10000 $TCID_{50}$/ml（1ml）を感染細胞及び精液とともに複数回接種するモデルが妥当である。

［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)、俣野哲朗］

3. ワクチンデリバリーシステムに関する研究

(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 23 年度には、前年度に得られた研究成果をさらに確認する方向で研究を進め、抗 SeV 抗体存在下での SeV ベクターワクチン経鼻接種による抗原特異的 CTL 誘導能を明らかにした。

［守屋智草(東京大学)、栗原京子、高原悠佑、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)) 、俣野哲朗]

(2) DNA ワクチンに関する研究

本研究では、我々が開発してきた DNA ワクチンによる CTL メモリー誘導が、ウイルス曝露後の宿主 CTL 反応に及ぼす影響を、サルエイズモデルを用いて解析した。ワクチン接種によっても SIV 複製制御に至らない系を用いた解析を行い、曝露後急性期には、ワクチン抗原特異的 CTL 反応が優位となり、非ワクチン接種個体で誘導されるような非ワクチン抗原特異的 CTL 反応の誘導が遅れることを確認した。本研究結果は、ワクチン抗原デザインにおいて考慮すべき重要なポイントである。

[高原悠佑、松岡佐織、山本浩之、石井 洋、仲宗根正、武田明子、阪脇廣美(京都大学)、堀池麻里子(京都大学)、三浦智行(京都大学)、五十嵐樹彦(京都大学)、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. ワクチン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てきた。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(大日精化)、福島健司(大日精化)、滝口泰之(千葉工大)]

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

HIV-1 粒子の主要な構造タンパク質である Gag タンパク質や、宿主細胞表面のレセプターに結合することでウイルスの侵入に関与する Env タンパク質のウイルス形成部位への輸送や、その分解がどのような宿主因子によって制御されているかについては不明な点が多い。そこで本研究では、エンドサイトーシスやエキソサイトーシスといった細胞内小胞輸送を担う Rab タンパク質に着目した。H23 年度は、主に Rab11a の HIV-1 粒子形成への関与の可能性を想定し、検討した結果を報告する。Rab11a の発現抑制や機能阻害における、HIV-1 粒子形成への影響を検討した。293T 細胞において、shRNA 導入により内在性 Rab11a タンパク質のノックダウン、または Rab11a の野生型(WT)およびドミナントネガティブ変異体(DN)を一過的に過剰発現した細胞を作製した。引き続き細胞に HIV-1 分子クローンを導入し、ウイルスタンパク質産生やプロセッシング、ウイルス粒子への取り込みをウエスタンブロッティングによって解析した。また、ELISA 法によりウイルス放出量の測定、TZM－bl 細胞を用いた感染価の測定も行った。内在性 Rab11a のノックダウンおよび Rab11a DN 過剰発現の両方において、Gag のプロセッシングやウイルス放出量に影響は見られなかった。一方で、Env のプロセッシングおよびウイルス粒子への取り込みの低下が認められ、産生ウイルスの感染価が低下した。低下した感染価は VSV-G pseudotype によって回復が認められた。したがって、Rab11a が Env のプロセッシングまたは輸送に関与することによって Env のウイルス粒子への取り込み量を制御し、感染性 HIV-1 の粒子形成において一定の役割を演じている可能性を示唆している。

[竹村太地郎、呉 鴻規、川又美弥子、村上 努]

(2) HIV とサイクロフィリン A の相互作用に関する研究

ア. HIV-1 複製におけるサイクロフィリン A（CypA）の機能解析

宿主因子 CypA は HIV-1 複製をその前期過程においてサポートするが、その作用機序は未だ明らかにされていない。本研究ではこの作用機序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、または 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い、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を行った。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。得られた変異の１つである N121K 変異は CypA への依存性を野生型と大きく異にしており、現在 CypA 非依存的な HIV-1 複製機構について解析を行っている。さらに、CypA の異性化酵素活性欠失変異体を用いた機能解析も行った。異性化酵素活性を欠失した変異体発現プラスミドを４種類作製し、shRNA を用いて内在性 CypA 発現を抑制した

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した。その結果、全ての異性化酵素活性欠失変異体は HIV-1 複製能を復帰させず、HIV-1 複製に CypA の異性化酵素活性が必要であることが示唆された。
［竹村太地郎、川又美弥子、卜部美帆、村上 努］

イ. HIV と SIV のサイクロスポリン A への感受性の相違に関する研究

ヒト細胞における HIV 複製においてサイクロフィリン（Cyp）A は促進的に働くことから、Cyp 阻害剤であるサイクロスポリン A は HIV 複製に阻害的に働く。本研究で我々は、ヒト細胞における SIV 複製にはサイクロスポリン A が促進的に働くことを明らかにした。一方、サル細胞における SIV 複製には、サイクロスポリン A は阻害的に働くことが判明した。これらの結果は、ウイルスと宿主因子の密接な相互作用を示すものとして重要である。
［武内寛明（東京医科歯科大学）、明里宏文（京都大学）、石井 洋、俣野哲朗］

(3) 宿主染色体への SIV プロウイルス組込み部位に関する研究

近年、次世代シークエンサーを用いた宿主染色体への HIV プロウイルス組込み部位の網羅的解析法が開発された。そこで我々は、各感染細胞においてこれら組込み部位の違いがどのように反映されるのかを、エイズモデルを用いて個体レベルで明らかにすることを目標として、まず、培養細胞レベルでの SIV プロウイルス組込み部位の網羅的解析系の確立を進めた。SIV で得られた結果を、HIV の報告と比較したところ、染色体ごとの組込み部位指向性に類似性が認められた。本解析系は、組込み部位決定に関与する宿主因子に関する研究に結びつくとともに、エイズモデルへの応用が期待される。
［竹村太地郎、村上 努、本村和嗣（病原体ゲノム解析研究センター）、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）、俣野哲朗］

2. HIV 感染病態に関する研究

(1) 初期感染において感染病態を決定するウイルス糖鎖の役割

HIV/SIV の糖鎖はウイルス-標的細胞の相互作用を調節している。SIVmac239 の gp120 の N 型糖鎖の一部を欠失した変異株Δ5G は、生ワクチンの性質を示すが、初期感染におけるウイルス増殖は SIVmac239 と同レベルである。両ウイルスの病原性の違いは、感染免疫組織の違いによる。SIVmac239 の主要感染組織は、2 次リンパ組織（インダクティブ部位）であり、感染により CXCR3+CCR5+ transitional memory CD4+T 細胞が消失した。Δ5G の主要感染組織は、小腸粘膜組織で、感染細胞は、小腸の粘膜固有層（エフェクター部位）に局在した。SIVmac239 感染では、感染細胞は孤立リンパ小節（インダクティブ部位）に局在していた。これらの結果から、ウイルス糖鎖は、免疫組織に局在する CD4+T 細胞サブセットへのターゲッティングを調節し病原性を決定する。2 次リンパ組織の Th1 細胞の感染は、病原性感染の原因となる。一方、小腸粘膜組織 Th17 細胞の感染は、非病原性であることが示唆された。
［森 一泰］

(2) 抗 HIV 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、HAART 中に低下する HIV 特異的 CTL 反応の増強を目的として、HAART 中の治療ワクチンとしての SIV 抗原発現センダイウイルス（SeV）ベクター接種による抗原特異的 CTL 反応誘導効果を、サルエイズモデルにて検証した。SIV 感染サルにおいて抗 HIV 薬投薬開始後 3 ヶ月目に、Gag・Vif 発現 SeV ベクターを接種したところ、Gag・Vif 特異的 CTL 反応の誘導・増強を認めた。この治療ワクチンシステムは、HIV 感染症だけでなく HTLV 感染症への応用も期待できる。
［高原悠佑、中村 碧、松岡佐織、阪脇廣美（京都大学）、三浦智行（京都大学）、五十嵐樹彦（京都大学）、長谷川秀樹（感染病理部）、俣野哲朗］

3. 薬剤耐性に関する研究

(1) 抗 HIV-1 療法を受けている HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成 8 年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施してきた。薬剤耐性遺伝子検査の結果は約 3 週間で主治医に報告され、治療薬剤選択の指標として活用されてきた。解析を行った検体は平成 24 年 3 月の時点で累積 8951 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、検査は民間の検査会社にゆだねられることになり、我々のところで実施する検体は、精査を目的とするもの、経済的な理由により検査が困難なもの、そして次項に述べる疫学調査を目的としたものに限

られるようになった。このため平成 18 年度以降は保険収載前と比較して解析検体数は大幅に減少した。更に 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、我々の調査では治療の約 1.5%程度、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 CCR５阻害剤の使用に対応するために Env C2V3 領域の遺伝子配列解析による指向性検査を開始した。平成 24 年３月の時点で、626 検体の指向性検査を実施した。その結果 21.6%が X4 指向性と判定された。

［杉浦 亙、服部純子（名古屋医療センター）、松田昌和（名古屋医療センター）、岩谷靖雅（名古屋医療センター）、宮崎菜穂子（東京大学）］

(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

これまでに CDC で開発された定量 PCR を応用した Subtype B の逆転写酵素阻害剤(RTI)に対する高感度薬剤耐性検査法（高感度法）と CDC・感染研の共同研究で開発された CRF01_AE の RTI 耐性変異を検出する高感度法に加え、プロテアーゼ阻害剤(PI)に対する耐性変異の M46I/L を検出する高感度法の確立を行った。臨床検体での検出限界を解析した結果、M46I で 0.54%、M46L で 4.01%を検出限界として微少集族薬剤耐性変異を検出可能だった。CDC で既に開発されている PI 耐性変異の L90M 検出法と合わせて、（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 149 例について微少集族薬剤耐性変異を高感度法で解析した。その結果、ダイレクトシーケンス法（従来法）では M46I は 14 例から検出され検出率は 9.4%だったのに対し、高感度法では 15 例が微少集族として検出され、全体として 29 例から M46I を検出した。全体での薬剤耐性検出率は 19.46%に上昇した。また M46L、L90M は従来法では検出されなかったが高感度法では各々5 例、4 例から検出された。RTI 耐性変異は 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ており、薬剤耐性変異の検出率は高感度法によって従来法の 12.08%から 32.21%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、また M46I/L, L90M は複数の PI に対して耐性を与える。従来法ではこれらの変異を正確に検出できない可能性があり、高感度法による正確な薬剤耐性検査は効果的な治療を行う上で重要と考えられる。

［西澤雅子、服部純子（名古屋医療センター）、Jeffrey Johnson（米国 CDC）、Walid Heneine（米国 CDC）、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

5 年以上に渡って抗 HIV 治療(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 6 症例(Case1~Case6)を選択し、患者血中に微少集族として存在する逆転写酵素阻害剤(RTI)とプロテアーゼ阻害剤(PI)に対する耐性変異を高感度で検出可能な高感度薬剤耐性検査法（高感度法）によって解析した。その結果、6 症例全てから PI 耐性変異が微少集族として検出された。これらの変異はダイレクトシーケンス法（従来法）で検出されるよりも 3 カ月～数年前から存在しているものもあった。また従来法で検出されなくなった後も数カ月に渡り患者血中に存在していた。Case2、Case4 では微少集族として検出された M46I に、やはり従来法では検出されていない薬剤耐性変異が M46I とリンクする形で微少集族として存在していた(Case2: I54V、A71V, Case4: G48V)。Case 6 では RTI 耐性変異の T215I と K103N が従来法で検出される 1 年～3 年前からすでに微少集族として患者血中に存在していた事が高感度法によって示された。従来法による薬剤耐性検査では、T215I と K103N は HAART を Zidovudine, Lamivudine, Indinavir を含むレジメから Efavirentz, Lamivudine, Tenofovir を含むレジメに変更した直後に検出された。微少集族として検出された T215I と K103N についてそれぞれ系統樹解析を行った結果、これらの T215I と K103N は治療変更後に主要な集団として出現した HIV と近縁にあり、これらの変異は治療変更前から既に患者血中に微少集族として潜在していて治療変更とともに主要な HIV 集団として顕在化した事が明らかになった。これらの結果から、高感度法を用いた薬剤耐性検査を行う事でより正確な耐性変異の把握が可能になり、より効果的なレジメを選択できる可能性を示した。

［西澤雅子、Jeffrey Johnson（米国 CDC）、Walid Heneine（米国 CDC）、杉浦 亙］

(3) ラルテグラビル耐性遺伝子143C及び140S+148Hに対する耐性クローンの薬剤感受性試験

HIV 多剤耐性患者の治療にはインテグラーゼ阻害剤、ラルテグラビル（RAL）が使用されるようになった。これまで RAL の主な耐性変異は 148H 及び 155H であった。

最近、新たに 143C が加わった。また 148H には２次変異（140S）が出現することがわかった。今回は 143C 及び 140S+148H を HIV 多剤耐性患者 3 症例、HXB2 のインテグラーゼに導入し８種類の耐性クローンを作成した。前年度に引き続き、MAGIC5 細胞で薬剤感受性試験を行なった結果、143C、140S+148H は野生株（WT）に比べて薬剤感受性が低下した。特に 140S+148H では、WY の 25～308 倍の IC_{50} 値を示し、前回の 148K/R/H 及び 155H を含む全クローン中、最も高い耐性レベルであった。
［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 構造タンパク質 Gag を標的とした抗レトロウイルス薬の開発

現在 HIV-1 感染症に対する治療には多剤併用療法(Highly Active Anti-retroviral Therapy、HAART)が用いられている。しかし、薬剤耐性ウイルスの出現等の問題点が指摘されている。多剤耐性ウイルスに対抗するためには、既存の治療薬と作用機序の異なる新規抗エイズ薬の開発が求められる。HIV-1 の構造タンパク質 Gag を標的にした抗レトロウイルス薬は未だ実用化されておらず、研究開発の余地がある。そこで我々は Gag 機能を阻害する抗レトロウイルス薬のリード化合物の同定を試みた。yeast membran-associated two-hybrid assay を利用した Gag-Gag 相互作用測定系を構築し、Gag 多量体化を阻害する活性を有する化合物のスクリーニングを行った。結果、多様な化学構造を有する 20000 種類の chemical library から、６種類の候補化合物を同定した。これらの候補化合物による HIV-1 複製抑制をヒト T 細胞株及び PBMC で検証したところ、2-(benzothiazol-2-ylmethylthio)-4-methylpyrimidine(BMMP)が 25uM にて細胞障害性を示さず HIV-1 複製阻害効果を示した(TD_{50}≧50)。HeLa 細胞にて BMMP の作用機序を解析したところ、Gag の発現量、細胞内局在および形質膜輸送に影響を与えなかったが、HIV-1 粒子産生の抑制が観察された。In vitro viral core disassembly assay にて BMMP が成熟ウイルスコアの不安定化を誘導することが示唆された。本化合物は次世代 HIV-1 感染症治療薬の候補として有用かもしれない。
［浦野恵美子、市川玲子、宮内浩典、武部 豊、駒野 淳、供田 浩（北里大学）、倉持紀子（北里大学）、村山山縣琮明（北里大学）、森川裕子（北里大学）］

(2) 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

本研究の最終目的は、新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 を材料として試験管内で薬剤耐性誘導を行い、耐性変異のパターンや耐性機構を解析することにより、より耐性の出にくい薬剤を設計し、耐性変異パターンを予測することである。H22 年度は KRH-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抽出した DNA について 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。その結果、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、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ることが判明した。今年度は、得られた CXCR4 阻害剤耐性 HIV-1 株の HIV-1 コレセプター利用能の変化の有無について検討した。今回得られた変異を有する CXCR4 阻害剤耐性 HIV-1 についてはコレセプター利用能の変化は認められなかった。
［竹村太地郎、川又美弥子、熊倉 成（クレハ）、山崎 徹（クレハ）、前田洋助（熊本大学）、山本直樹（国立シシンガポール大学）、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

ペプチド化学的手法による HIV-1 CA 部分ペプチドの細胞内導入による HIV 複製制御の可能性を検証する準備段階として行ってきた MA 部分ペプチドの細胞内導入実験において Octa-Arg を付加した細胞内導入可能な MA 部分ペプチドの一部は、EC_{50}=数 uM で X4、R5 の両方のタイプの HIV-1 の複製を阻害することを明らかにした。さらに蛍光標識した MA 部分ペプチドを用いて Octa-Arg 付加によって実際に細胞内に取込まれていることも示すことができた。しかしながら、導入したペプチドの細胞内エンドソームからの脱出効率が悪いため、細部毒性と抗 HIV-1 活性の濃度に十分な差異を出すことができないという問題が残っていた。この課題に対しては、細胞にエンドソーム酸性化阻害剤クロロキンを 5 uM 添加することによって細胞毒性に影響を与えずに抗 HIV-1 活性のみ数倍増強することに成功した。
［川又美弥子、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 との共同研究の延長上の研究

として、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。H22年度には、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。今年度は、さらに種類の異なる陰電荷リガンドを固定化した中空糸を用いて同様の実験を行った。その結果、陰電荷リガンドがHIV-1 Envに作用し、その膜融合能を低下させることが処理したウイルスの感染能の低下をもたらしている可能性が示唆された。
［江原 岳((株)DIC)、川又美弥子、三浦 博((株)DIC)、村上 努］

(5) iPS 細胞を用いた新規治療法開発の試み

ア．iPS 細胞に HIV 抵抗性を付与

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。

昨年度、我々はヒト腎上皮細胞からの iPS 細胞の作製とその解析結果について報告した。今年度は、この iPS 細胞に遺伝子操作を施して HIV 抵抗性を付与する試みを開始した。第 1 歩として、HIV のコレセプターであるヒト CCR5 遺伝子に着目して、HIV 感染抵抗性遺伝子である CCR5Δ32 変異遺伝子を iPS 細胞の正常遺伝子と交換して、安定細胞株を樹立することを計画した。両遺伝子座共 CCR5Δ32 の iPS 細胞株を得ることを目標として遺伝子導入の技術的改良を進めている。
［阪井弘治、武田 哲、網 康至(動物管理室)、須﨑百合子(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．再生医療に根ざした HIV/AIDS 治療法開発にむけた技術基盤の構築

HIV 感染は宿主免疫を機能不全に陥らせるため、HIV 感染症の治療において免疫系の再構築は重要な要素を占める。しかし、現行の HAART では免疫再構築を達成することが困難であることが知られている。iPS 細胞は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。我々は、HIV 感染者・エイズ患者の HIV 非感染の組織より iPS 細胞を樹立し、iPS 細胞に HIV 抵抗性を付与し、感染者・患者に自家移植する治療法の開発にむけた基盤研究を開始した。昨年度は、HIV 抵抗性因子として知られる変異型 APOBEC3G を恒常的に発現する iPS 細胞の樹立に成功した。さらに、HIV 複製実験を行うため、iPS 細胞を HIV 複製許容細胞であるマクロファージへ分化させる技術の確立を試みた。ES 細胞で構築された分化プロトコールを適応したところ、iPS 細胞からマクロファージの表面マーカーの一つである CD14 や HIV-1 の co-receptor でもある CCR5 陽性細胞への誘導が確認できた。今後、マクロファージ分化プロトコールを系統的に試験し、HIV 複製実験を可能にする技術基盤を確立し、新たな HIV/AIDS 治療戦略の概念検証を進めたい。
［武田 哲、駒野 淳］

(6) プロウイルスゲノム破壊による革新的 HTLV-1 関連疾患発症遅延法の開発

本研究では Zinc Finger Nuclease (ZFN)を応用して HTLV-1 プロウイルスを破壊する治療分子を開発し、HTLV-1 感染症に対する根本的な治療法の開発に対する可能性を示す。Double Strand Break は宿主細胞の修復系により再結合されるが、修復後の核酸配列は元の配列から変化する。この特性を生かして HTLV-1 プロウイルスの機能を不可逆的に破壊するような治療分子を開発する。標的配列にはウイルス遺伝子発現を担う唯一のウイルスプロモーターである LTR が理想的である。今年度はこの治療分子の一次機能評価を行うため、LTR 標的配列内の最小配列を利用してヒト細胞に一過性発現させた治療分子によって導入される核酸改変の効率と改変配列決定にかかる評価系のデザインと構築を試みた。今後、一次評価系の構築を進め、治療分子による活性を実際に評価する予定である。
［武田 哲、田中 淳(群馬大学)、駒野 淳］

III．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 流行の疫学的研究

(1) 中国を中心とする東アジア地域における HIV 流行に関する研究

ア．中国における男性同性愛者 (MSM)間の HIV-1 流行の分子疫学と我が国への波及に関する新知見

MSM 間の HIV-1 流行の拡大は、全世界的傾向であり、我が国を含むアジア諸国も例外ではない。中でも中国においては、新規感染者報告に占める MSM の割合は 2.5% (2006 年)から 13.0% (2011 年前期)と 5 倍以上に急昇して

いる。解析の結果、中国における MSM 間の HIV-1 流行に関与する最も主要なウイルス株は CRF01_AE であり、全体の~60%を占める。しかも、CRF01_AE 株の 95%以上は、明確な 2 種のクラスター (CN.MSM.01-1 と CN.MSM.01-2)に分類された。この 2 種の variants は、その他の地域には見出されない中国の MSM 流行に固有のものと考えられる。一方、我が国（首都圏）の MSM およびリスク因子不明の集団に流布する HIV-1 株の 97%以上は欧米型サブタイプ B であるが、ごく少数 (~2-3%) の CRF01_AE 株が検出され、さらに興味深いことに、この稀な CRF01_AE 株の約 1/4 は、中国 MSM 間の流行に特徴的な CRF01_AE variant の一つである CN.MSM.01-1 に属することを明らかになった。本研究の成果は、中国における MSM 間流行の動因となっているウイルス variant が、既に世界播種を開始している可能性を示すはじめての知見と考えられる。

［Minghui A（中国医科大学）、Han X（中国医科大学）、Shang H（中国医科大学）、Feng Y（中国 CDC）、He X（中国 CDC）、Shao Y（中国 CDC）、近藤真規子（神奈川衛研）、武部 豊］

イ．中国における HIV-1 流行に関する包括的な分子疫学解析

中国における HIV 感染者数は約 78 万人、年間感染者数は約 4.8 万人と推定され (2011 年末)、HIV 流行は依然拡大傾向にある。中国における HIV 流行の動因となる HIV-1 流行株の遺伝子型分布に関して、中国全土（海南省を除く 30 省）にわたり世界でも例を見ない大規模解析を行った。解析結果の概要は次のようである。1) 中国の分布する主要な HIV-1 genotype は、CRF07_BC, CRF01_AE, CRF08_BC, B’であり、この 4 種の遺伝子型が全体の 80%近くを占める。2) 遺伝子型分布にはリスク集団および地理的に著しい特徴が見られる。CRF07_BC, CRF08_BC は注射薬物乱用者 (IDU), B'はプラズマ供血経験者 (FPD), CRF01_AE は異性間性感染者 (Heterosexual), IDU により多く分布しているという一般傾向が見られる。しかし、3) 今後、大きなしかも急速な変化の兆候が見られる。そのような急速且つ顕著な変化が、FPD 間のサブタイプ B'による流行の一般集団 (Heterosexuals) への波及であり、また都市部を中心とする MSM 間の流行の急速な拡大に対応して欧米起源のサブタイプ B に代わって、CRF01_AE が急速に感染を拡大しているなどの新知見が得られつつある。

［He X（中国 CDC）、Shao Y（中国 CDC）、武部 豊］

(2) 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）における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］

(3) HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

ア．インドにおける感染者 HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

多種多様な宿主遺伝子の中で、最も HIV 複製への影響が大きい因子として HLA 遺伝子型が知られている。これまで数多くの研究で、HLA 遺伝子型と HIV 病態進行との相関が報告され、いくつかの protective HLA class I アレル（病態進行遅延と相関する HLA class I アレル）では、その HLA 拘束性エピトープ特異的 CTL 反応が HIV 複製抑制、病態進行遅延に中心的役割を担っていると考えられている。HIV 感染症では、CTL の HIV 複製抑制圧を反映して、CTL エピトープ領域のアミノ酸置換を引き起こす CTL 逃避変異の選択が認められることも知られている。これら逃避変異の有無が各々の HIV 感染者の HIV 感染動態に及ぼす影響をしることは重要である。また、集団全体として、HIV ゲノムに CTL 逃避変異が選択されてくる可能性も継続的に追求する必要がある。近年、これら CTL 逃避変異をある程度反映するものとして、

HLA 関連変異の同定の重要性が指摘されつつある。HIV 感染者数百人の HLA 情報とその体内 HIV ゲノム情報を収集して、統計的手法により各 HLA アリルに相関するウイルスアミノ酸変化を検出する方法である。各 HLA アリルの頻度は人種間で大きく異なっているため、世界の各地域において流行 HIV 株の HLA 関連変異を同定することは重要である。そこで我々は、アジア・アフリカのいくつかの地域における HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析を進めることとした。平成 23 年度はまず、アジアの HIV 流行地域の一つであるインドを対象とした研究を推進することとし、国立コレラ下痢症研究所（NICED）との共同研究を開始した。インド人の HLA タイピング系を確立し 10 数名について結果を得た。本研究の進展は、HIV と宿主 CTL 反応の相互作用の理解に結びつくことに加え、世界の HIV の HLA 関連変異動向把握への貢献が期待される。なお、HIV の HLA 関連変異解析研究の拡大に向け、西アフリカのガーナ共和国の野口記念医学研究所等との共同研究を検討中である。

［石川晃一、Sekhar Chakrabarti（National Institute of Cholera & Enteric Diseases）、William Ampofo（Noguchi Memorial Institute for Medical Research）、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) 新規 HIV/AIDS 診断患者の動向調査

HAART が普及した今日、HIV/AIDS に新たに感染し、治療前にもかかわらず既に薬剤耐性を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は 10-20%ともいわれている。日本では新規 HIV 感染者数およびエイズ患者数報告数が年々記録を更新する勢いで増加しており、また治療を受けている患者数も増加を続けている。このことから本邦においても新規 HIV/AIDS 診断確定未治療患者への薬剤耐性 HIV の拡大が大きな関心をもたれている。我々は 2003 年から 2009 年にかけて全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規 HIV/AIDS 診断患者を対象に耐性検査を実施した。薬剤耐性検査ではプロテアーゼおよび逆転写酵素領域を、サブタイピングでは *env* C2/V3 領域を RT-PCR にて増幅し、その配列解析を行った。対象症例は 03 年：273 例、04 年：306 例、05 年：429 例、06 年：457 例、07 年：482、08 年：626 例、09 年：617 例、10 年：656、11 年：672 検体であった。いずれの年においても調査対象となった症例は 30-40 歳代の男性が中心で（>90%）、感染経路は同性間性的接触が 65-72%を占めていた。サブタイプは、いずれの年も 70%以上が B であり、次いで CRF_01AE であった。また少数ながらサブタイプ A、C、AG、G も観察された。薬剤耐性症例の頻度は 03 年 : 5.9%、04 年 : 5.4%、05 年 : 8.0%、06 年 : 7.0%、07 年 : 9.9%、08 年 : 8.3%、09 年 : 8.6%、10 年 : 11.9%、11 年 : 9.1%であった。クラス別に見るとヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性の頻度は 03 年 : 4.0%、04 年 : 4.0%、05 年 : 5.0%、06 年 : 5.2%、07 年 : 5.7%、08 年 : 3.7%、09 年 : 3.5%、10 年 : 5.5%、11 年 : 5.3%であった。非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤では 03 年 : 0.4%、04 年 : 0.7%、05 年 : 0.5%、06 年 : 0.7%、07 年 : 0.8%、08 年 : 1.3%、09 年 : 0.7%、10 年 : 2.8%、11 年 : 1.2%であった。同プロテアーゼ阻害剤では 03 年 : 1.5%、04 年 : 0.7%、05 年 : 2.6%、06 年 : 1.6%、07 年 : 3.3%、08 年 : 3.8%、09 年 : 4.3%、10 年 : 4.6%、11 年 : 3.0%であった。インテグラーゼ阻害剤耐性変異に関しては 2007 年の登場から 5 年が経っているが、現在のところ新規 HIV/AIDS 診断患者からは見いだされていない。

［杉浦 亙、鈴木寿子、西澤雅子、服部純子（名古屋医療センター）、松田昌和（名古屋医療センター）、岩谷靖雅（名古屋医療センター）］

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 設計をさらに検討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検出された複数の 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

これまで 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。この戦略は HIV-1/2 ゲノムに特異的な 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。より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試みてきた。この酵素は Vector と組込む Insert 両末端に 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 でそれぞれ保存されている。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ほど遠く低かったが、昨年度は Primer 設計の改良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-1/2 での Primer 設計などの実験条件を精査し、さらに増幅酵素の検討を行い、ほぼ高効率に HIV-1 のみならず HIV-2 でも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。

［梅木優子、永井美智、巽 正志］

イ．HIV-2 標準品整備：本邦で検出された HIV-2 ウイルス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。一方で昨今、東海地方において２名の日本人女性を含む５例の HIV-2 感染症例が報告され、現在感染者数は希であるとしても確実な HIV-2 感染診断のためレファレンスとして HIV-2 国内感染者検体とウイルスの整備が必要となる情勢である。遺伝子構造上 HIV-2 は HIV-1 より多様性を示すが、Los Alamos HIV Database によれば Near Full-genome 配列情報はこれまで 25 例ほどのウイルスで得られているのみで、感染性分子クローンに至っては Group A では ROD, GH1 など Prototype HIV-2 の５例、Group B では UC1 などしか報告されておらず、確定的な遺伝子診断のための標準品整備がなされていない状況である。これらの現況に鑑み、本年度は名古屋医療センターで近年検出された５例の HIV-2 感染者血漿検体から MAGIC-5A 細胞と磁気パーティクルを用いてウイルス分離を試み、ウイルス血症を示した４例の感染者血漿検体からウイルスが分離できた。これらのウイルス感染 MAGIC-5 細胞ゲノムを鋳型に HIV-2 provirus 増幅を試み In-Fusion 酵素による One-Step HIV Cloning Strategy により全例から感染性分子クローンを樹立した。２名のナイジェリア出身感染者（NMC307:2004 年保存血漿、NMC716:2007 年保存血漿）と１名の邦人女性感染者（NMC842:2008 年保存血漿）から樹立した感染性分子クローンの塩基配列解析により全例 Group B を Backbone に env 領域に同じ Breakpoint で Group A の配列が組換わっている HIV-2 で初めて報告された組換体 HIV-2 CRF01_AB であり、Nigeria を含む西アフリカでは少なくとも１０数年前既に、この組換体が流行し始めていたことが判明した。予備実験ではウイルス増殖能も一般的な HIV-2 よりも高い傾向があり、今後国内での流行の危険性があり、西アフリカでの浸淫状況を究める必要性があることを示している。この組換体ウイルスに感染した邦人女性の同意を得て 10mL の血漿が得られ、HIV 感染体外診断薬承認前試験パネルに追加することが出来た。また１名のガーナ人感染者（NMC786:2008 年保存血漿）から樹立した感染性分子クローンは HIV-2 Group A に属していた。これらのウイルスの性状を解析の途上である。

［伊部史朗（名古屋医療センター）、杉浦 亙、梅木優子、永井美智、巽 正志］

(2) HIV-RT薬剤感受性迅速試験法の開発と技術移転

昨年度までに CDC と共同開発した HIV-RT 薬剤感受性迅速試験法の実用化を目指して海外技術移転を開始した。具体的には、厚生科学研究・地球規模保健課題推進研究事業「サハラ以南のアフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワーク構築に関する研究」の分担課題として、サハラ以南のアフリカ諸国（ガーナ、ケニア、ザンビア、南アフリカ）への技術移転の可能性について検討した。これらの国から感染者血液検体を日本国内に輸送し、感染研で HIV-RT 薬剤感受性迅速試験を実施するにはいくつかの障壁がある。最大の障壁は、倫理面を含めた研究ルールの確立、特にヒト試料の有効活用のための国際的な標準ルールの確立である。これらの確立を模索するとともに、これによらない方法、すなわち現地で測定実施するべく技術移転の可能性について南アフリカ・ダーバンにおいて各国研究者と検討した。初年度は問題点の洗い出しを行いつつ、研究交流を開始した。

アフリカ諸国においては標準的多剤併用療法が導入されつつあり、早晩、先進国同様の薬剤耐性問題が顕在化すると予想されている。問題克服のための優先課題として本研究を推進していく。

［仲宗根正、Walid Heneine（米国 CDC）、服部俊夫（東北大学）、俣野哲朗］

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４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 24 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、柚木久雄、日野 学、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 PR, RT, IN 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 IN 領域は 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. 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。本年度は主要な 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。

［梅木優子、永井美智、巽 正志］

4. WHO 主催 2nd HIV-1 subtype Panel 国際標準品作製への参加

本年度 WHO 主催の 2nd HIV-1 subtype Panel 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 HIV-1 subtype 10 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 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。

［梅木優子、巽 正志］

国際協力関係業務

I. 平成 23 年度 JICA とエイズ研究センター共催による JICA 研修員受入事業「HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検査技術」（平成 23 年 6 月 13 日-7 月 15 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4フェーズ（各フェーズ5年間、前フェーズから3年間）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3年間実施した。本年度からは3年計画で前回のコースとほぼ同じ目的や到達目標を設定した「HIV感染診断とモニタリングのための実験室検査技術」の第1回を実施した。平成23年度は、中国、ガーナ、インドネシア、ケニア、ミャンマー、スリランカ、タンザニア、ジンバブエの8カ国12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4名ずつ3班に分けて行った。前回のコースで導入し研修員に好評を博した「PCRワークショップ」も2日半実施した。これまでと同様に、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、鈴木寿子、西澤雅子、武部 豊、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、松岡佐織、山本浩之、俣野哲朗、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）、椎野禎一郎（感染症情報センター）、岡部信彦（感染症情報センター）、Jintana Ngamvithayapong-Yanai（財団法人結核予防会結核研究所）、渡辺恒二（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）、若杉なおみ（筑波大学）、吉田レイミント（長崎大学）、増田道明（獨協医科大学）、鈴木 光（日本赤十字社中央血液研究所）］

II. その他

1. 平成 23 年度 JICA と国立病院機構熊本医療センター共催による「次の 10 年に向けての AIDS の予防と対策」コース　講師（平成 24 年 3 月 12 日）［武部 豊］

研修業務

1. MPJ ユース（ミレニアムプログラムジャパン、ユース） ガーナにおける感染症および医療に関する講義（平成 24 年 2 月 17 日）［石川晃一］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Takahara Y, Matsuoka S, Kuwano T, Tsukamoto T, Yamamoto H, Ishii H, Nakasone T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Sakawaki H, Horiike M, Miura T, Igarashi T, Naruse TK, Kimura A, Matano T: Dominant induction of vaccine antigen-specific cytotoxic T lymphocyte responses after simian immunodeficiency virus challenge. Biochem Biophys Res Commun 408:615-619, 2011.
2) Naruse TK, Okuda Y, Mori K, Akari H, Matano T, Kimura A: ULBP4/RAET1E is highly polymorphic in the Old World monkey. Immunogenetics 63:501-509, 2011.
3) Matsuoka S, Matano T: Strategy for prevention of HIV-1 transmission. Journal of Disaster Research 6:421-425, 2011.
4) Nakamura M, Takahara Y, Ishii H, Sakawaki H, Horiike M, Miura T, Igarashi T, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Matsuoka S: Major histocompatibility complex class I-restricted cytotoxic T lymphocyte responses during primary simian immunodeficiency virus infection in Burmese rhesus macaques. Microbiol Immunol 55:768-773, 2011.
5) Moriya C, Horiba S, Kurihara K, Kamada T, Takahara Y, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Matano T: Intranasal Sendai viral vector vaccination is more immunogenic than intramuscular under pre-existing anti-vector antibodies. Vaccine 29:8557-8563, 2011.
6) Hoffmann D, Garcia A. Harrigan R, Johnston I, Nakasone T, Garcia Lerma JG, Heneine W. Measuring Enzymatic HIV-1 Susceptibility to Two Reverse Transcriptase Inhibitors as a Rapid and Simple Approach to HIV-1 Drug-Resistance Testing. PLoS ONE 6(7): e22019, 2011.

7) Fujisaki S, Yokomaku Y, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, Sugiura W: Outbreak of infections by hepatitis B virusgenotype A and transmission of genetic drug resistance in patients coinfected with HIV-1 in Japan. J Clin Microbiol 49(3): 1017-1024, 2011.
8) Ibe S, Sugiura W: Clinical significance of HIV reverse-tanscriptase inhibitor-resistance mutations. Future Microbiology 6(3): 295-315, 2011.
9) Shibata J, Sugiura W, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F, Tanaka H: Within-host Co-evolution of gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. Antiviral Res 90(1): 33-41, 2011.
10) Yoshida I, Sugiura W, Shibata J, Ren F, Yang Z, Tanaka H: Change of positive selection pressure on HIV-1 envelope gene inferred by early and recent samples. Plos One 6(4): e18630, 2011.
11) Yotsumoto M, Sinozawa K, Yamamoto Y, Sugiura W, Miura T, Fukutake K: Mutations to the probe of cobas taqman HIV-1 ver. 1.0 assay causing undetectable viral load in a patient with acute HIV-1 infection. J Infect Chemother 17(6): 863-865, 2011.
12) 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.
13) Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S: Novel mouse xenograft models reveal a critical role of CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. PLoS Pathog 7(10): e1002326, 2011.
14) Takizawa M, Miyauchi K, Urano E, Kusagawa S, Kitamura K, Naganawa S, Murakami T, Honda M, Yamamoto N, Komano J: Regulation of the susceptibility of HIV-1 to a neutralizing antibody KD-247 by nonepitope mutations distant from its epitope. AIDS 25(18): 2209-2216. 2011.
15) Urano E, Kuramochi N, Ichikawa R, Murayama SY, Miyauchi K, Tomoda H, Takebe Y, Nermut M, Komano J, Morikawa Y: Novel postentry inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 replication screened by yeast membrane-associated two-hybrid system. Antimicrob Agents Chemother 55(9): 4251-4260. 2011.
16) Miyauchi K, Urano E, Yoshiyama H, Komano J: Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. Cancer Sci 102(6): 1236-1241, 2011.
17) Aoki T, Miyauchi K, Urano E, Ichikawa R, Komano J: Protein transduction by pseudotyped lentivirus-like nanoparticles. Gene Ther 18(9): 936-941, 2011.
18) 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.
19) Li Y, Takebe Y, Yang J, Zhang W, Yang R: High prevalence of HIV-1 subtype B' among heterosexuals in western Hubei, Central China: bridging the epidemic into general population. AIDS Res Hum Retrovirus 27: 1025-1028, 2011.
20) Nakamura Y, Arai A, Takebe Y, Masuda M: A chemical compound for controlled expression of nmt1-driven gene in the fission yeast Schizosaccharomyces pombe. Anal Biochem 412(2): 159-164, 2011.
21) Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S; WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterisation (as a collaborator): Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. AIDS 25(5): 679-689, 2011.
22) Saito Y, Naruse TK, Akari H, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I haplotypes in cynomolgus macaques. Immunogenetics 64:131-141, 2012.
23) Ishii H, Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Matsuoka S, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Naruse TK, Kimura A, Takiguchi M, Matano T: Impact of vaccination on cytotoxic T lymphocyte immunodominance and cooperation against simian immunodeficiency virus replication in rhesus macaques. J Virol 86:738-745, 2012.
24) Seki S, Matano T: CTL escape and viral fitness in HIV/SIV infection. Front Microbiol 2:267, 2012.
25) Takeuchi H, Ishii H, Kuwano T, Inagaki N, Akari H, Matano T: Host cell species-specific effect of cyclosporine A on simian 1 immunodeficiency virus

replication. Retrovirology 9:3, 2012.

26) Narumi T, Komoriya M, Hashimoto C, Wu H, Nomura W, Suzuki S, Tanaka T, Chiba J, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: Conjugation of cell-penetrating peptides leads to identification of anti-HIV peptides from matrix proteins. Bioorg Med Chem 20: 1468-1474, 2012.

27) Ablordey A, Amissah DA, Aboagye IF, Hatano B, Yamazaki T, Sata T, Ishikawa K, Katano H: Detection of Mycobacterium ulcerans by the loop mediated isothermal amplification method. PLoS Negl Trop Dis. 6(4): e1590, 2012.

28) Takeuchi K, Nagata N, Kato S, Ami Y, Suzaki Y, Suzuki T, Sato Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Mori K, Van Nguyen N, Kimura H, Nagata K: Wild-type measles virus with the hemagglutinin protein of the Edmonston vaccine strain retains wild-type tropism in macaques. J Virol 86: 3027-3037, 2012.

29) Raghwani J, Thomas XV, Koekkoek SM, Schinkel J, Molenkamp R, van de Laar T, Takebe Y, Tanaka Y, Mizokami M, Rambaut A, Pybus OG: The origin and evolution of the unique HCV circulating recombinant form 2k/1b. J Virol 86(4): 2212-2220, 2012.

30) Ambrose Z, Lee K, Ndjomou J, Xu H, Oztop I, Matous J, Takemura T, Unutmaz D, Engelman A, Hughes SH, KewalRamani VN: Human immunodeficiency virus type 1 capsid mutation N74D alters cyclophilin A dependence and impairs macrophage infection. J Virol 86(8): 4708-4714, 2012.

31) Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Amioka K, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W: Lack of correlation between UGT1A1*6,*28 genotypes, and plasma raltegravir concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients. AIDS Res Hum Retroviruses, in press.

32) Watanabe T, Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Hamatake M, Misawa N, Sato K, Ebina H, Koyanagi Y, Komano J: The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDIB/D4GDI limits HIV type 1 replication. AIDS Res Hum Retroviruses, in press.

2. 和文発表

1) 高原悠佑, 俣野哲朗 : HIV-1 感染症とワクチン開発. Pharma Medica. メディカルレビュー社 29(4): 37-41, 2011.

2) 俣野哲朗 : Cutting Edge : エイズワクチン開発. Medical Science Digest. ニューサイエンス社 37(5): 171-172, 2011.

3) 俣野哲朗 : ワクチン開発の理論. 連載 : ウイルスの今日的意味 17, 基礎ウイルス学の観点から(9). 化学療法の領域. 医薬ジャーナル社 27(7): 1575-1582, 2011.

4) 石井 洋, 俣野哲朗 : 予防エイズワクチン開発の現状. 日本臨床 特集 : ワクチン. 日本臨床社 69(9): 1622-1627, 2011.

5) 栗原京子, 俣野哲朗 : HIV ワクチン―近年の臨床試験から. 綜合臨床 特集 : Vaccine preventable diseases を制御するためのわが国の課題. 永井書店 60(11): 2204-2206, 2011.

6) 服部純子, 杉浦 亙 : 薬剤耐性検査の現状と課題. 化学療法の領域 27(3):78-84, 2011.

7) 杉浦 亙 : HIV の指向性検査 (トロピズムアッセイ). Confronting HIV 40:1-3, 2011.

8) 杉浦 亙, 服部純子 : HIV 薬剤耐性変異の動向 2003～2010 年. 病原微生物検出情報 32(10):8-9, 2011.

9) 岡 慎一, Calvin Cohen, 松下修三, 髙折晃史, 杉浦亙 : HIV 感染症/AIDS 治療のマネジメント―国際エイズ学会 (IAS) 2011 から最新情報. HIV 感染症と AIDS の治療 2(2) : 22-30, 2011.

10) 渡邊綱正, 杉浦 亙, 田中靖人 : HIV 合併例を含めた B 型急性肝炎症例の検討. 肝臓 52(3):A733, 2011.

11) 村上 努, 高橋秀実 : HIV と闘う宿主防御因子 序論. The Journal of AIDS Research 14(1): 1-2, 2012.

12) 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.

13) 駒野 淳 : 止まらないエイズウイルス流行の拡大. 中央論評 63(4): 130-137, 2012.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Miyazaki N, Fujii T, Iwamoto A, Matsushita S, Sugiura W: Potential of recent antiretroviral treatments in controlling treatment-naive and drug-resistant HIV cases in Japan. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies, Jun 6, 2011, Los Cabos, Mexico.

2) Murakami T, Wu H, Kawamata M, Chiba J, Takemura T: Role of Rab11a in HIV-1 assembly. CSHL Meeting on Retroviruses, May 23-28, 2011, Cold Spring Harbor, NY, USA.

3) Takemura T, Kawamata M, Murakami T: Selection and characterization of the mutant HIV-1 that can replicate

without cypa in the cypa-dependent jurkat cell. CSHL Meeting on Retroviruses, May 23-28, 2011, Cold Spring Harbor, NY, USA.

4) Komano J: Inhibition of leukemic cell growth and HIV-1 propagation by HIV-1 protease-activable CASP3. CSHL Meeting on Retroviruses, May 23-28, 2011, Cold Spring Harbor, NY, USA.
5) Hattori J, Shao W, Shigemi U, Hosaka M, Okazaki R, Yokomaku Y, Iwatani Y, Maldarelli F, Sugiura W: Molecular epidemiology of transmitted drug-resistant HIV among newly diagnosed individuals in Japan. 6th International Workshop on HIV Transmission, July 14-15, 2011, Rome, Italy.
6) Nishizawa M, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W: Highly-sensitive allele-specific PCR demonstrated that minority-population of drug resistance mutations may affect ART in ART-treated patients. 6th International Workshop on HIV Transmission, July 14-15, 2011, Rome, Italy.
7) Nomura T, Iwamoto N, Inagaki N, Matsuoka S, Yamamoto H, Matano T. Dynamics of viral CTL escape mutations toward higher viral replicative ability in vivo. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jul. 17-20, 2011, Rome, Italy.
8) Suzuki H, Maejima M, Hattori J, Nishizawa M, Ibe S, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W: Effects of HIV integrase polymorphisms on raltegravir-resistance susceptibility. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jul. 17-20, 2011, Rome, Italy.
9) Shiino I, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: Molecular phylogenetic analysis of nationwide HIV-1 infection in Japan: spreading dynamics of the epidemic estimated from surveillance data from 2003 to 2009. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jul. 17-20, 2011, Rome, Italy.
10) Barnor J, Brandful J, Ampofo W, Yamamoto N, Bonney K, Bonney E, Alale M, Ntim A, Amoah Y, Ofori S, Addo A, Nyarko A, Ido E, Ishikawa K, Yamaoka S: Establishment of in-house quantative real-time RT-PCR assay for monitoring HIV-1 viral loads and efficacy evaluation of ART in Ghanaian AIDS patients in an urban setting. 6th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jul. 17-20, 2011, Rome, Italy.
11) Takebe Y, Uenishi R, Tani H, Suzuki R, Akazawa D, Takagi M, Tsuchiura T, Hase S, Suzuki T, Shinya K, Wakita T, Matsuura Y, Patel A: Small molecules that elicit strong anti-HCV activity through down-modulation of HCV entry receptors. HCV2011, Sep. 8-12, 2011, Seattle, WA, USA.
12) Takahashi N, Saito A, Nomaguchi M, Iwamoto N, Adachi A, Akari H, Matano T: Viral recovery from cynomolgus macaques controlling a simian-tropic HIV-1 challenge. XV International Congress of Virology (VI-PO21-7), Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
13) Takahara Y, Nakamura M, Higashi R, Horiike M, Miura T, Igarashi T, Naruse T, Kimura A, Matano T: Matsuoka S. Cytotoxic T lymphocyte responses during highly active antiretroviral therapy in simian immunodeficiency virus-infected macaques. XV International Congress of Virology (VI-PO35-37), Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
14) Nakane T, Matano T, Yamamoto H: Post-infection passive immunization of SIVmac239-specific, non-neutralizing antibodies does not control virus replication in vivo. XV International Congress of Virology (VI-PO51-16), Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
15) Nomura T, Yamamoto H, Shi S, Iwamoto N, Matano T: Analysis of viral genome sequences in SIV controllers. XV International Congress of Virology (VI-SY41-4), Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
16) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Yoshida T, Yasutomi Y, Matano T, Adachi A, Akari H: Genotypic variation of cynomolgus monkey TRIM5alpha determines the susceptibility to monkey-tropic HIV-1 infection. XV International Congress of Virology (VI-SY41-5), Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
17) Ishii H, Iwamoto N, Matsuoka S, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Naruse T, Kimura A, Matano T: Efficacy of single epitope-specific cytotoxic T lymphocyte induction by vaccination against a simian immunodeficiency virus challenge. XV International Congress of Virology (VI-SY51-3), Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.
18) Hattori J, Shigemi U, Hosaka M, Okazaki R, Sugiura W: Characteristics of drug-resistant HIV-1 transmission: analysis of drug resistance in recently and not-recently infected treatment-naive patients in Japan. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

19) Ibe S, Masaoka T, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W: Identification of novel drug-resistance mutations selected during Abacavir + Lamivudine + Lopinavir/r therapy in HIV-2 CRF01_AB infection. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

20) Kitamura S, Nakasima M, Ode H, Saito A, Yoshii H, Yokomaku Y, Sugiura W, Iwatani Y: Identification of critical residues in APOBEC3C/F for HIV-1 Vif-mediated degradation. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

21) Iwatani Y, Kitamura S, Nakashima M, Ode H, Saito A, Yokomaku Y, Sugiura W: HIV-1 NC facilitates formation of efficient initiation complex for reverse transcription. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

22) Murakami T, Wu H, Kawamata M, Chiba J, Takemura T: Role of Rab11a in Virus Assembly of HIV-1. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

23) Takemura T, Kawamata M, Murakami T: Selection and Sequencing Anaysis of the Mutant HIV-1 that can Replicate without CypA in Jurkat Cell. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

24) Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Takizawa M, Komano J: HIV-1 protease-activable CASP3 as a therapeutic gene against HIV-1 infection. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

25) Watanabe T, Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Hamatake M, Sato K, Ebina H, Koyanagi Y, Komano J: The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDIB/D4GDI limits HIV-1 replication. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

26) Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Ito M, Komano J, Fujiwara S: Novel mouse xenograft models of CAEBV and EBV-HLH reveals a critical role of CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

27) Yanagita H, Hoshino T, Ogata M, Urano E, Ichikawa R, Murakami T, Komano J: Development of the compounds inhibiting RNase H enzymatic activity of HIV-1 reverse transcriptase. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

28) Miyauchi K, Urano E, Komano J: Induction of innate anti-viral response by XMRV infection. XV International Congress of Virology, Sep. 11-16, 2011, Sapporo, Japan.

29) Matsuoka K, Masaoka T, Tanabe F, Morishita R, Sawasaki T, Iwatani Y, Sugiura W: Development of in vitro enzymatic method for assessing susceptibility to HIV-1 reverse transcriptase inhibitors using a wheat-germ cell-free translation system. Protein Island Matsuyama International Symposium, Sep. 22, 2011, Matsuyama, Japan.

30) Matano T: Post-challenge SIV-specific CTL responses in vaccinated macaques. Bridging the Sciences, 25th Joint Meeting of the United States-Japan Cooperative Medical Science Program AIDS Panels, Sep.23, 2011, Atlanta, GA, USA.

31) Matano T: Impact of prophylactic vaccination with Sendai viral vectors on post-challenge CTL responses in a macaque AIDS model. 5th Vaccine and ISV Annual Global Congress, Oct. 2, 2011, Seattle, WA, USA.

32) Matano T: Impact of prophylactic vaccination on post-exposure CTL cooperation against SIV replication in rhesus macaques. 12th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 19-21, 2011, Kumamoto, Japan.

33) Takahara Y, Nakamura M, Sakawaki H, Miura T, Igarashi T, Koyanagi Y, Naruse T, Kimura A, Matano T, Matsuoka S. Impact of therapeutic vaccination during HAART on CTL immunodominance in SIV infection. 12th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 19-21, 2011, Kumamoto, Japan.

34) Kurihara K, Takahara Y, Matano T. Combination of intranasal and intramuscular Sendai virus vector immunization. 12th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 19-21, 2011, Kumamoto, Japan.

35) Takebe, Y: Reconstructing the epidemic history of HIV-1 subtype B' that is responsible for explosive blood-borne epidemics in Asia: its public health implications and the relevance for future vaccine strategies. 12th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 19-21, 2011, Kumamoto, Japan.

36) Takahashi N, Saito A, Nomaguchi M, Iwamoto N, Adachi A, Akari H, Matano T: Virus recovery from cynomolgus macaques controlling viremia in the chronic phase after a simian-tropic HIV-1 challenge. 29th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Oct 25-28, 2011, Seattle, USA.

37) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T,

Yoshida T, Yasutomi Y, Takahashi N, Matano T, Adachi A, Akari H: Susceptibility of cynomolgus monkeys to monkey-tropic HIV-1 infection is determined by TRIM5α genotypes. 29th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Oct 25-28, 2011, Seattle, USA.

38) Mori K, Sato H, Saito Y, Ahmed N, Sugimoto C: Potent protective response against highly diverse and pathogenic SIV elicited with deglycosylated SIV vaccine wanes due to strict containment of SIV infection. 29th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Oct 25-28, 2011, Seattle, USA.

39) Suzuki K, Ode H, Fujino M, Kimura Y, Masaoka T, Hattori J, Yokomaku Y, Iwatani Y, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W: Enzymatic and structural analyses of DRV-resistant HIV-1 protease. 12th Annual Symposium on Antiretroviral Drug Resistance, Nov. 6-9 2011, Hershey Pennsylvania, USA.

40) Ibe S, Yokomaku Y, Maejima M, Iwatani Y, Sugiura W: Drug-resistance profiles of HIV-2 CRF01_AB-infected case during Abacavir + Lamivudine + Lopinavir/r therapy. 6th German-Japanese HIV Symposium, Nov. 21-22, 2011, Bochum, Germany.

41) Takebe Y: Reconstituting the epidemic history of HIV-1 expansion in Asia: Understanding the genesis of Asia's AIDS epidemic, BIT's 2nd Annual World Congress of HIV. World AIDS Day, Dec 1-3, 2011, Beijing, China.

42) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Matano T: Analysis of cytotoxic T lymphocyte responses under HAART in a macaque AIDS model. 3rd Korea-Japan Joint Symposium on HIV/AIDS, Dec. 10, 2011, Seoul, Korea.

43) Matano T: HIV vaccine development. Symposium on Research and Quality Control of Vaccines, Feb. 20, 2012, Beijing, China.

44) Suzuki K, Ode H, Fujino M, Masaoka T, Hattori J, Yokomakku Y, Iwatani Y, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W: Unique flap conformation of darunavir-resistant HIV-1 protease. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Mar. 3-5, 2012, Seattle Washington, USA.

45) Iwatani Y, Yoshii H, Kitamura S, Nakashima M, Naganawa Y, Imahashi M, Sugiura W: Constitutive JAK-stat activation is correlated to spontaneous APOBEC3G expression, which determines permissive phenotype against Vif-deficient HIV-1 replication in T-cell lines. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infection, Mar. 3-5, 2012, Seattle Washington, USA.

46) Matano T: Progress in HIV vaccine research. Nekken Research Conference: HIV patient care and research in southeast Asia, Mar. 23, 2012, Nagasaki, Japan.

2. 国内学会

1) 伊部史朗，横幕能行，服部純子，杉浦 亙：抗レトロウイルス治療中の HIV-2 CRF01_AB 感染症例に認めた薬剤耐性変異．第 85 回日本感染症学会総会，2011 年 4 月 21-22 日，東京．

2) 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 85 回日本感染症学会総会，2011 年 4 月 21-22 日，東京．

3) 平野 淳，池村健治，横幕能行，杉浦 亙：ラルテグラビル投与に伴う副作用発現並びに遺伝子多型と血中濃度に関する検討．第 85 回日本感染症学会総会，2011 年 4 月 21-22 日，東京．

4) 伊部史朗，正岡崇志，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦 亙：抗レトロウイルス療法中の HIV-2 CRF01_AB 感染例に認めた薬剤耐性変異．第 13 回白馬シンポジウム in 札幌－最先端のエイズ研究を徹底討論する-，2011 年 5 月 19-20 日，札幌．

5) Chie Hashimoto, Wataru Nomura, Aki Ohya, Kosuke Miyauchi, Tetsuo Narumi, Jun Komano, Naoki Yamamoto, Hirokazu Tamamura: Synthesis of Trimeric Peptide Based on Gp41-C34 and its Anti-HIV effects(HIV 外被タンパク質 gp41-C34 3 量体の合成とその抗 HIV 作用)．日本ケミカルバイオロジー学会第 6 回年会，2011 年 5 月 23-25 日，東京．

6) Jun Komano: Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. シンポジウム「ガン・免疫・代謝研究を加速する Multiplex Assay とその応用」，2011 年 6 月 7 日，東京．

7) 杉浦 亙：～難治性疾患の治療にむけて～「HIV/AIDS 治療の現状とこれからの課題」．第 3 回富山ライフサイエンスシンポジウム, 2011 年 7 月 23 日，富山．

8) 松永智子，澤崎達也，小島良績，森下 了，佐藤裕徳，大出裕高，古川亜矢子，片平正人，杉浦 亙，梁 明秀：コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた Xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) プロテアーゼの解析．日本ヒトプロテオーム機構第 9

回大会，2011 年 7 月 28-30 日，新潟.

9) 滝口康之，西河七恵，横山真基，福島健司，小林 丘，山南隆徳，石川晃一：キトサンの経鼻免疫アジュバントとしての利用．第 25 回キチン・キトサンシンポジウム，2011 年 8 月 30-31 日，奈良.

10) 俣野哲朗：サルエイズモデル：MHC-I 遺伝子型と病態の関連について．難治疾患共同研究拠点研究集会「霊長類動物モデルを用いた難治疾患研究」，2011 年 10 月 7 日，東京.

11) 横幕能行，鈴木奈緒子，杉浦 亙：医療現場における HIV 暴露事故への対策と課題．第 65 回国立病院総合医学会，2011 年 10 月 7-8 日，岡山.

12) 俣野哲朗：HIV 感染症の克服に向けて．練馬医師会学術部主催学術講演会，東京．11/17/2011.

13) 高橋尚史，齊藤 暁，野間口雅子，松岡佐織，足立昭夫，明里宏文，俣野哲朗：サル指向性 HIV-1 感染慢性潜伏期のカニクイサルからの感染性ウイルスの回収．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

14) 中村 碧，高原悠佑，阪脇廣美，堀池麻里子，三浦智行，五十嵐樹彦，成瀬妙子，木村彰方，俣野哲朗，松岡佐織：サルエイズモデル感染初期における MHC クラス I ハプロタイプ別の CTL 反応優位パターンの解析．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

15) 栗原京子，高原悠佑，原 裕人，井上 誠，飯田章博，朱 亜峰，長谷川護，俣野哲朗：センダイウイルスベクターワクチンの経鼻接種と筋肉内接種の併用効果の解析. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

16) 中根 拓，山本浩之，俣野哲朗：サル免疫不全ウイルス感染急性期における非中和結合抗体の受動免疫の影響．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

17) 齊藤 暁，河野 健，中山英美，足立昭夫，野間口雅子，保富康宏，俣野哲朗，塩田達雄，明里宏文：サル指向性 HIV-1 への感受性に影響を与えるマカクサル TRIM5 遺伝子の多様性．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

18) 西澤雅子, Jeffrey A. Johnson, Walid Heneine, 杉浦 亙. 定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法による抗 HIV 治療患者からの微少集族薬剤耐性変異検出の試み．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

19) 田中勇悦，児玉 晃，西澤雅子，杉浦 亙，田中礼子：CXCR4 架橋による CXCR4 および CCR5 親和性 HIV-1 の感染制御. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

20) 杉浦 亙：インテグラーゼ阻害剤の臨床における耐性発現の実際. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

21) 杉浦 亙：HIV 薬剤耐性検査と耐性 HIV の現状．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

22) 北村紳悟，中島雅晶，大出裕高，前島雅美，伊部史朗，横幕能行，渡邉信久，鈴木淳巨，杉浦 亙，岩谷靖雅 : HIV-1 Vif 感受性に関する APOBEC3C/F のアミノ酸残基の同定．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

23) 伊部史朗，近藤真規子，今村淳治，岩谷靖雅，横幕能行，杉浦 亙：ウエスタンブロット法により HIV-1/HIV-2 重複感染が疑われた症例の精査解析．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

24) 岩谷靖雅，北村紳悟，前島雅美，伊部史朗，横幕能行, 杉浦 亙 : HIV-1 NC は逆転写開始反応を促進する．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

25) 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，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，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，白坂琢磨，小島洋子，森 治代，中桐逸博，藤井輝久，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：新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV の動向. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

26) 椎野禎一郎，服部純子，潟永博之，吉田 繁，伊藤俊広，上田敦久，近藤真規子，貞升健志，藤井 毅，横幕能行，上田幹夫，田邊嘉也，渡邉 大，森 治代，藤井輝久，南 留美，健山正男，杉浦 亙，日本薬剤耐性 HIV 調査研究グループ：国内感染集団の大規模塩基配列解 2: SubtypeB の動向と微少系統群の同定．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

27) 片野晴隆，横幕能行，菅野隆行，福本 瞳，中山智之，

新ヶ江章友，杉浦 亙，市川誠一，安岡 彰：日本人 MSM におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV/HHV-8)抗体保有率について．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

28) 渡邉綱正，横幕能行，今村淳治，杉浦 亙，田中靖人：HBV 新規感染における HIV 重感染の影響についての検討．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

29) 吉田 繁，伊部史朗，服部純子，松田昌和，橋本 修，岡田清美，和山行正，巽 正志，杉浦 亙：HIV 薬剤耐性検査の外部精度管理．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

30) 今村淳治，横幕能行，服部純子，岩谷靖雅，杉浦 亙：薬剤耐性変異を認めた新規未治療 HIV/AIDS 症例の治療と予後の検討．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

31) 柴田雅章，福島直子，高橋昌明，野村敏治，今村淳治，横幕能行，杉浦 亙：リトナビルソフトカプセルから錠剤への切り替えに伴うダルナビル血中農度の変化に関する検討．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

32) 大久保奈美，高橋昌明，木下枝里，柴田雅章，福島直子，野村敏治，泉田真生，今村淳治，横幕能行，杉浦 亙：抗結核薬リファンピシンが中止となった患者のラルテグラビル(RAL)の血中濃度推移をみた一症例．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

33) 横幕能行，鬼頭優美子，今村淳治，大出裕高，服部純子，伊部史朗，岩谷靖雅，杉浦 亙：HIV プロテアーゼ表現型検査法である VLP ELISA 法の実臨床への応用．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

34) 福島直子，柴田雅章，木下枝里，大久保奈美，高橋昌明，野村敏治，横幕能行，杉浦 亙：薬剤師のための HIV 研修会開催に関するアンケート調査について．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

35) 桑原 健，矢倉裕輝，吉野宗宏，上平朝子，白坂琢磨，杉浦 亙：エトラビリン，ダルナビル，ラルテグラビルの血中トラフ値と海外データとの比較．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

36) 丸山笑里佳，横幕能行，松岡亜由子，服部純子，杉浦 亙：服薬アドヒアランスの低さに関連する要因の検討．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

37) 竹村太地郎，川又美弥子，村上 努：サイクロフィリン A 非依存的に増殖可能な新規 HIV-1 変異株の解析．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

38) 橋本智恵，鳴海哲夫，野村 歩，村上 努，山本直樹，玉村啓和：HIV-1 第二受容体 CXCR4 の細胞外ドメインを基にしたエイズワクチンの開発研究．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

39) 呉 鴻規，竹村太地郎，川又美弥子，千葉 丈，村上努：HIV-1 粒子形成過程における Rab11a 蛋白質の機能解析. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

40) 柳田浩志，横田瑞穂，尾潟将一，浦野恵美子，市川玲子，村上 努，駒野 淳，星野忠次：HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日, 東京.

41) 森 一泰，佐藤洋隆，Nursarat Ahmed，武田 哲，宇田昌彦，永井美之：低病原性糖鎖修飾変異 SIV の初期感染，生ワクチン感作ザルに誘導される宿主遺伝子発現の解析. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

42) Nursarat Ahmed，齋藤陽平，渡辺 哲，山本直樹，永井美之，森 一泰：高い多様性と高病原性を示す SIV に対する感染防御に有効な防御免疫．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

43) 浦野恵美子，宮内浩典，滝澤万里，市川玲子，駒野淳：HIV プロテアーゼ活性型 CAPS3 による HIV 複製抑制．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

44) 尾崎太郎，浦野恵美子，鳴海哲夫，野村 渉，Maddali Kasthuraiah，Pommier Yves，山本直樹，駒野 淳，玉村啓和：Vpr 由来インテグラーゼ阻害剤の構造活性相関．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

45) 武部 豊：分子疫学的視点からみたアジアにおけるエイズ流行の最新動向の分析:中国における特定リスク集団から一般集団への急速なウイルス播種．第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会，2011 年 11 月 30-12 月 2 日，東京.

46) Matsuoka K, Masaoka T, Tanabe F, Morishita R, Sawasaki T, Iwatani Y, Sugiura W: Development of in

vitro enzymatic method for assessing susceptibility to HIV-1 reverse transcriptase inhibitors using a wheat-germ cell-free translation system. 第34回日本分子生物学会年会，2011年12月13-16日，横浜.

47) 北村紳悟，中島雅晶，大出裕高，前島雅美，伊部史朗，横幕能行，渡邉信久，鈴木淳巨，杉浦 亙，岩谷靖雅：Structure-Guided Mutagenesis を用いたAPOBEC3C/F の HIV-1 Vif 感受性に関するアミノ酸残基の同定．第34回日本分子生物学会年会，2011年12月13-16日，横浜.

48) Murakami T, Wu H, Kawamata M, Hayashi K, Chiba J, Takemura T: Functional analysis of Rab11a in HIV-1 Replication. 第 34 回日本分子生物学会年会，2011 年 12 月 13-16 日，横浜.

49) Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Mari Takizawa, Reiko Ichikawa, Jun Komano: Therapeutic potential of CASP3 engineered to be activated by HIV-1 protease. 第34回日本分子生物学会年会，2011年12月13-16日，横浜.

50) 齊藤達哉, 駒野 淳, 斎藤愛記, 山岡昇司, 山本直樹：好中球は Neutrophil extracellular traps により Human immunodeficiency virus-1 を排除する．第34回日本分子生物学会年会，2011年12月13-16日，横浜.

51) Jun Komano, Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Yoshiaki Okada, Cheng Kui, Yin Hang. Activation of TRL3-mediated innate immune response by retroviral infection in human cells. 第34回日本分子生物学会年会，2011年12月13 -16日，横浜.

52) 齊藤達哉, 駒野 淳, 斎藤愛記, 山岡昇司, 山本直樹, 審良静男：Zinc finger antiviral protein はガンマレトロウイルスに対する感染防御応答を制御する．第34回日本分子生物学会年会, 2011年12月13 -16日, 横浜.

53) 俣野哲朗：サルモデルを用いたエイズワクチン開発研究．第 4 回滋賀医科大学サルシンポジウム「サル類と感染症、最近の話題」，2011年12月19日，大津.

54) Yaw O. Amoah, Afia A. Ntim, Jacob Barnor, James A.M. Brandful, William K. Ampofo, Samson B. Ofori, Koichi Ishikawa, Alexander K. Nyarko, Shoji Yamaoka, Eiji Ido: Evaluation of the Current First-Line ART for AIDS Patients in Ghana. 文部科学省「新興・再興感染症研究拠点形成プログラム」新興・再興感染症に関するアジアリサーチフォーラム-2012．Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infections – 2012．2012年1月11-12日，神戸.

55) 俣野哲朗：HIV 感染症の克服に向けて．市民公開シンポジウム「エイズ克服への挑戦—エイズの治療と予防の最先端—」，2012年1月28日，名古屋.

２１．病 原 体 ゲ ノ ム 解 析 研 究 セ ン タ ー

センター長　　黒田　誠

概　要

病原体ゲノム解析研究センターは、ウイルス感染症の発症に係わる宿主遺伝子の探索・解析を行う第一室、病原性ウイルスのゲノム解析を行う第二室、病原性細菌のゲノム解析を行う第三室から構成されている。

第一室では、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、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ており、この抗 L2 抗体の性状解析を進めた。

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おり、我が国の HPV 遺伝子型分布の調査を行った。また Virus-like particle（VLP）を用いた新たな HPV16/18 抗体価測定系を確立した。

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、SLP 作成を担当した。また、これら HPV ワクチンの国家検定を担当した。

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。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。臨床応用が期待されるアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターの性能をインスレーター導入と骨格筋特異的な安定・高発現の改良型として向上させた。また、ベクター挿入変異による悪性腫瘍の発生が想定されることから、次世代シークエンサーを活用したベクター組込み部位の同定法の確立を試みた。

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。サポウイルスプロテアーゼに基質が結合した複合体の分子モデルを構築し、プロテアーゼ活性阻害物質のスクリーニングから有効なリード化合物を見いだした。

2009-2011 シーズン富山県で見られたパンデミックインフルエンザ（H1N1）は、低ヘマグルチニン（HA）価つまり赤血球凝集能が低く、阻害アッセイが困難であった。このシーズンの HA 遺伝子解析と構造解析の結果、HA 蛋白質の 197 番目のスレオニンのアラニンへのアミノ酸置換が HA 価の減少に影響していること明らかにした。また、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、様々な感染症の研究を行っている。方法論からは、ゲノム解析と

メタゲノム解析の二つに大別できる。ゲノム解析においては、単一病原体の全ゲノム配列を解読して、その生物の全貌から感染症を理解することを目指す。一方、病原体が不明の場合に有効なのがメタゲノム解析であり、ここでは病原体と非病原体が混在する検体の核酸配列を網羅的に解読し、情報解析により病原体を同定することを目指す。

ゲノム解析としては、薬剤耐性が問題になっている NDM-1 陽性大腸菌やジフテリア類似新興感染症の *Corynebacterium ulcerans* の解析を行い、薬剤耐性遺伝子や毒素遺伝子の伝播様式を明らかにした。また食中毒を引き起こすナナホシクドアの解析により、検査系開発の基礎情報を得た。

メタゲノム解析が威力を発揮する分野の一つに、不明病原体の迅速同定がある。バイオテロ病原体を想定した事例として野兎病の同定と系統解析を行い、O111 食中毒事例において、患者便そのままの核酸解読による病原体同定を行った。一方で、メタゲノム解析は、感染症が疑われる難病の病因同定にも有効であり、その観点から潰瘍性大腸炎や川崎病の解析を行った。

ワクチンの品質管理業務として、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、SLP 作成を担当した。また、これら HPV ワクチンの国家検定を担当した。

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) AAVS1 インスレーター機能の解析

ヒトゲノム上の AAVS1 インスレーター内の ZNF143 結合配列以外の機能配列の検索を行った。ZNF143 結合配列以外の部位に 20bp の塩基置換を導入した変異 AAVS1 インスレーターを作成し、それを搭載したルシフェラーゼ発現 AAV ベクターを作成した。これらの AAV ベクターを分化 C2C12 細胞に感染させルシフェラーゼ活性を測定したが、単独で有意な活性低下を示す変異配列は見つからなかった。ZNF143 単独で発現増強効果を示す可能性、あるいは ZNF143 同様に複数の結合配列が冗長に機能している可能性が考えられた。(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り、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る。次世代シークエンサーを活用した組込み部位同定法の予備実験を行った。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。Nextera DNA Sample Prep Kit を用いた DNA の断片化およびアダプター配列の付加に続いて 3 回の PCR による増幅を行うことにより、片側を AAV ベクター内の配列に固定した次世代シークエンサーでの解読に適した増幅産物が得られた。(竹内隆正、関塚剛史)

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

HPV キャプシドの副構成蛋白質 L2 は HPV 感染の初期過程で重要な役割を果たすことから、L2 に特異的に作用する宿主蛋白質を探索し、HPV 感染における役割を調べた。Transport protein particle complex subunit 8 (Trappc8) が同定され、siRNA により Trappc8 の発現が抑制された上皮細胞は、複数の型の HPV 偽ウイルスおよび authentic virion の感染に抵抗性を示した。Trappc8 は核、細胞質、細胞表面に局在し、細胞表面の Trappc8 のみが L2 と相互作用した。細胞表面の Trappc8 は HPV 偽ウイルス接種後速やかに増加した。HPV 偽ウイルスは Trappc8 の発現が抑制された細胞の表面に結合するが、侵入することは無かった。HPV は Trappc8 に依存したエンドサイトーシス機構を利用して、細胞内に侵入する可能性が示唆された。(石井克幸)

(2) 三次元培養表皮を用いた HPV 増殖系の確立

ヒト角化細胞に HPV ゲノムを導入し、三次元培養により分化誘導することで、HPV を産生する方法を確立した。loxP 配列に挟まれるようにベクターにクローニングした HPV16 または 58 ゲノムを、Cre 組換え酵素発現プラスミドとともに初代ヒト角化細胞にトランスフェクションし、Cre/loxP 組換えによりベクター配列が除かれ環状化

したHPVゲノムをもつ角化細胞を作成した。これらの細胞を、コラーゲンと繊維芽細胞からなるマトリックス上で20日間三次元培養し、分化誘導した。分化層からHPV粒子を抽出、精製した。HPV16及び58ともに、約10^6個の細胞から約10^7 genome copyのウイルスが得られた。HPV16または58を接種した角化細胞株で、ウイルス初期遺伝子転写産物がRT-PCRにより検出されたことから、これらのウイルスは感染性をもつことがわかった。HPV16及び58の細胞への感染は、抗HPV16L1抗体及び抗HPV58L1抗体でそれぞれ中和された。三次元培養表皮を用いたHPV増殖系は、HPVの増殖や中和機構の解析に有用である。(森　清一郎、中原知美[国立がん研究センター])

(3) チロシンキナーゼによるHPV DNA複製の抑制

FLAG-E1に結合してリン酸化するチロシンキナーゼとして前年度に同定したFRK (Fyn-related kinase) は上皮細胞に発現が見られる非受容体型チロシンキナーゼで、細胞質に存在する通常の非受容体型チロシンキナーゼと異なり、核内に局在するというユニークな特徴をもつ。HPV複製の場が核内であることから、細胞内でのリポータープラスミドの発現を指標にしたHPV DNA複製アッセイを用いて、FRKがHPV複製に及ぼす効果を検討した。その結果、HEK 293細胞およびC33A細胞において、FRK発現によりHPV DNA複製の顕著な阻害が認められた。一方、FRKのキナーゼ活性を欠失させたアミノ酸変異体K262Rでは、HEK 293細胞での複製阻害は部分的に弱まったが、C33A細胞では変わらず阻害が見られた。従って、FRKはそのキナーゼ活性を介さずに、E1依存性のHPV複製を阻害している可能性が示唆される。(松尾理加、柊元巌)

(4) HPV DNA複製に対するPTENの効果

FRKは癌抑制蛋白質であるPTENとの結合およびリン酸化を介して、PTENの細胞内での安定性を高めることが示されている。FRKによるHPV DNA複製抑制のメカニズムを調べるために、PTENの強制発現がHPV DNA複製に及ぼす効果を検討した。HEK293細胞でのHPV DNA複製アッセイで、PTENの過剰発現によりHPV DNA複製が抑制された。角化細胞の分化の際にPTEN量が減少することから、PTENが分化依存的なHPV複製の制御に関わっている可能性が示唆された。(柊元　巌、前濱朝彦[細胞化学部])

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。細胞診陽性の326検体の内、HPV DNA陽性は307検体 (94%)、その内の30%から複数のHPV型が同時に検出された。HPV DNAの検出率はASC-USで83% (49/59)、ASC-Hで91% (20/22)、LSILで97% (130/134)、HSILで99% (85/86)だった。HSILで検出頻度が高いのはHPV16 (36%)、HPV52 (24%)、HPV58 (14%) であった。(近藤一成[NTT東日本病院]、松尾理加、柊元　巌)

(2) Virus-like particle(VLP)を用いた新たなHPV16/18抗体価測定系の確立

HPVに対する血清抗体価の測定は、HPVの自然感染歴やHPVワクチン接種の効果を検討する上で重要である。VLPを用いた、ELISA法による簡便で信頼性の高いHPV16/18抗体価測定系を確立した。HPV16および18のL1/L2キャプシド蛋白質をHEK293FT細胞で発現させ、HPV16および18のVLPを調製した。VLPを96穴プレートに固相化して、VLP-ELISA法により血清サンプル中のHPV16/18抗体価を測定した。VLP-ELISA法で得られた抗体価は、HPV偽ウイルスの細胞への感染阻害を調べる中和抗体測定系で得られた抗体価と高い相関を示した。本アッセイ系はハイスループット化が可能なことから、多検体でのHPV抗体の疫学調査が可能になる。今後は他の発癌性HPV(HPV31, 33, 35, 51, 52, 58) の抗体価測定についても、VLP-ELISA法を確立する。(森　清一郎、松尾理加、石井克幸、近藤一成[NTT東日本病院]、柊元　巌)

3. 交差性中和エピトープに対する抗HPV-L2抗体の解析

HPVのキャプシド蛋白質L2には、複数の交差性中和エピトープがあり、型共通のワクチン抗原として開発されている。抗L2抗体の各HPV型に対する中和活性は、これまで主にHPV偽ウイルスを使用して調べられてきた。三次元培養表皮由来のHPV16、31、58を用いて、抗L2抗体の中和活性を調べた。HPVを角化細胞株 (HaCaT) に接種し、ウイルス初期遺伝子の発現をRT-PCRで検出することで感染をモニターした。交差性エピトープを含むHPV16 L2のアミノ酸56から75に対する抗血清、および同領域を認識するモノクローナル抗体は、HPV16、31、58の感染を中和した。三次元培養表皮由来HPVでも、抗L2抗体が複数の型に有効であることが確認された。(森　清一郎、神田忠仁[理化学研究所])

III. 病原性ウイルスのゲノム解析

1.ノロウイルス(NoV)のゲノム解析

2006 年 5 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、計 382 の NoV 遺伝子型 GII/4 のゲノム全長の塩基配列を得た。2006 年来、流行の主流となっている亜株（GII.4 2006b）について、パンデミック発生時からの進化様式を解析した。BEAUti and BEAST を用いて、ベイズ推定に基づく分岐年代を推測した。2006b は、世界的流行がおきた 2006 年の 2-3 年前には存在し、2006/07 パンデミック発生後 1 年内に 30 以上のマイクロクレードに分岐したと推測された。パンデミック発生とともに感染者個々の体内環境に適応して、急速な適応放散がおきたと推察される。

（本村和嗣、横山勝、大出裕高、中村浩美、岡智一郎[ウイルス二部]、片山和彦[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. 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、昨年度同様引き続き、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. 病原性ウイルスの中和に関わる領域の構造解析

HIV-1 gp120 が抗 V3 抗体中和を逃避するしくみを理解するため、V1/V2 ドメインを含む糖鎖付 HIV-1 gp120 三量体分子モデルの構築を行い、gp120 の抗 V3 抗体中和における V1/V2 ドメインの影響を検討した。HIV-1 gp120 三量体分子モデルより、V1/V2 ループは、ウイルス粒子の最外殻に配置され、まるで傘のように gp120 を覆う。さらに、糖鎖が gp120 外側ドメインおよび V1/V2 ドメインにあるため、gp120 はほぼ全体が糖鎖に覆われる。中和抵抗性株である gp120 三量体分子モデルは、同一の gp120 内の V1/V2 ドメインによる V3 エピトープのマスキングを示唆していた。したがって、V1/V2 ドメインと V3 の相対的配置が、中和逃避に重要な役割を果たしていると考えられる。

（横山勝、佐藤裕徳）

4.病原性ウイルスの薬剤設計に関する構造解析

サポウイルスプロテアーゼに基質が結合した複合体の分子モデルを構築し、基質結合に関わるプロテアーゼのアミノ酸残基を予測した。この領域に結合するサポウイルスプロテアーゼ活性阻害物質のスクリーニングを行った。サポウイルスプロテアーゼの基質認識に重要な基質側の構造的特徴を持つ化合物を、化合物データベース（139369 化合物）から 151 化合物を抽出した。これらの化合物を用いて、化合物存在下における ^{35}S 標識 ORF1 ポリプロテインの切断産物パターンを SDS-PAGE によって解析すると、3 化合物に阻害効果が見られた

（横山勝、岡智一郎[ウイルス２部]、片山一彦[ウイルス２部] 、小島宏建[東大創薬オープンイノベーションセンター]、岡部隆義[東大創薬オープンイノベーションセンター]、長野哲雄[東大創薬オープンイノベーションセンター]、佐藤裕徳）

5. 病原性ウイルスの性質変化に関わる領域の構造解析

(1)2010/11 シーズンに急増した低 HA 価の A(H1N1)2009 ウイルス分離株 HA の構造解析

2009-2011 シーズン富山県で見られたパンデミックインフルエンザ（H1N1）は、低ヘマグルチニン（HA）価を示し、赤血球凝集阻害アッセイが困難である。このウイルスは著しく 2010 年から 2011 年シーズンに増加した。遺伝子解析の結果、HA 蛋白質の 197 番目のスレオニンのアラニンへのアミノ酸置換が低い HA 価に影響していると考えられた。この変異の役割を理解するため、HA

蛋白質の構造解析を行った。その結果、A197T は HA1 の 190 ヘリックス近傍に位置していた。190 ヘリックスはレセプタ結合に関与することから、A197T は間接的にレセプタ結合に影響する可能性が示唆された。

（横山勝、小渕正次[富山衛研]、堀元栄詞[富山衛研]、小原真弓[富山衛研]、岩井雅恵[富山衛研]、滝澤剛則[富山衛研]、佐多徹太郎[富山衛研]、佐藤裕徳）

（2）GAG-Pol 前駆体切断に重要である HIV-1 逆転写酵素のアミノ酸残基の同定

HIV-1 GAG-Pol の効率的なプロセッシングは、プロテアーゼだけでなく、逆転写酵素（RT）およびインテグラーゼによっても影響する。RT の Thr128 および Tyr146 の Ala への置換は著しく MA/CA、p66/p51 及び RT/IN のプロセッシングに影響を与え、これらの変異は in vitro での RT 二量体形成にも影響を与えた。この RT 二量体形成にも影響する理由を理解するため RT の構造解析を行った。その結果、T128 および Y146 は RT 二量体形成に関与するβ7-β8 ループの根元に位置し、この位置の変異は RT 二量体形成に影響すると考えられる。

（横山勝、西辻裕紀［千葉工大］、高久　洋［千葉工大］、佐藤裕徳）

IV. 薬剤耐性食中毒菌に係るゲノム配列レベルでの解析

ニューデリーメタロベータラクタマーゼ (NDM-1)陽性大腸菌による感染症事例が、国内で発生した。本菌（NDM-1_Dok01 株）の特徴を理解するために、全ゲノム解析を行った。本菌株は、multilocus sequence typing type: ST38 に属しており、IncA/C 型の 195.5 kb のプラスミドを有していた。本プラスミド(pNDM-1_Dok01)は、*bla*$_{CMY-2}$ 遺伝子を有する IncA/C 型の大腸菌 AR060302 株および *Salmonella* Newport のプラスミドに類似していた。*bla*$_{NDM-1}$ 遺伝子は、このプラスミド内に IS*903* に挟まれた状態で存在しており、composite transposon を形成していた。近傍には *drfA12, aasA2, sul1* を有する class 1 integron 及び、*armA, mel* および *mph2* の薬剤耐性遺伝子が存在していた。*bla*$_{NDM-1}$ を含む他の plasmid 配列との比較解析の結果、*bla*$_{NDM-1}$ はそれぞれの plasmid 内に異なる形式で挿入されてきた事が明らかとなった。また、pNDM-1_Dok01 の NDM-1 composite transposon には、分子シャペロンである *groEL* および *groES* が存在していた。これら分子シャペロンの系統解析および GC 含量の比較解析の結果、NDM-1_Dok01 株の染色体上に存在する物とは異なる、α-プロテオバクテリアの植物病原細菌(*Pseudoxanthomonas* および *Xanthomonas*)に近い事が明らかとなった。本研究により、NDM-1 は、環境中に存在する細菌から composite transposon を介して水平伝播された事が示唆された。

（関塚剛史、黒田誠、竹内史比古、松井真理[細菌二部]、山根一和[細菌二部]、大西真[細菌第一部]、荒川宜親[名古屋大]、菱沼昭[獨協医大]）

V. 新興感染症に係る病原細菌のゲノム解析

ジフテリア類似の症状を呈する *Corynebacterium ulcerans* による感染症が国内でも発生している。本菌の特徴を理解し、ジフテリア毒素がどのように獲得されたかを明らかにするため、*C. ulcerans* 0102 株の全ゲノム配列決定を行った。0102 株は、2,579,188 bp の環状染色体を持ち、plasmid は存在しなかった。近縁種である *C. pseudotuberculosis* FRC41 および *C. diphtheriae* NCTC 13129 株のゲノム比較解析の結果、synteny は同じであり、0102 株は FRC41 株と高い相同性を示した。染色体上には 3 つの prophage が存在し、そのうちの 1 つ (ΦCULC0102-I)にジフテリア毒素をコードする *tox* 遺伝子が存在した。ΦCULC0102-I と *C. diphtheriae* NCTC 13129 株の *tox* を有する prophage およびその近傍領域の比較解析の結果、phage integrase および *tox* は塩基配列レベルで約 90%の相同性を有し、prophage の挿入位置は同様な位置であった。prophage 内に存在するファージ骨格に関連する遺伝子の構成は、2 者間で類似していたが、塩基配列の相同性は低く、異なる物であった。本研究により、ジフテリア症状を呈する *C. ulceranse* は、ジフテリア毒素を *C. diphtheriae* から phage を介して直接水平伝播で獲得したのではなく、異なる由来から毒素を獲得してきた事が示唆された。

（関塚剛史、黒田誠、竹内史比古、岩城正昭[細菌二部]、山本明彦[細菌二部]、見理　剛[細菌第二部]、柴山恵吾[細菌第二部]、小宮貴子[細菌二部]、高橋元秀[医薬品医療機器総合機構]）

VI. 生鮮食品中に含まれる *Kudoa* 属の遺伝学的解析

ヒラメ生食による食中毒が近年増加しており、その多くでヒラメに寄生する粘液胞子虫 *Kudoa septempunctata*（ナナホシクドア）が検出されている。ナナホシクドアと食中毒の関連は疫学的には立証されているが、食中毒発症の生物学的機序は未解明である。ゲノム解読による生物の全遺伝子の一覧を作ることにより、食中毒の作用機序と関連因子の探索するうえの基盤情報となる。

ナナホシクドアにはミトコンドリアゲノムと核ゲノムがあり、本年度はミトコンドリアゲノムを解読した。食

中毒の作用機序を理解することと同時に、検査システムの充実には核ゲノムおよびミトコンドリア・ゲノム情報は欠かせない。ナナホシクドアの全ミトコンドリア・ゲノム配列を解読した結果、最も近縁の真核生物と比べてゲノム退化していることが示唆され、5 つのタンパク遺伝子と 2 つのリボソーム RNA 遺伝子しかなかった。*Kudoa* 属は形態的にはクラゲなどの刺胞動物に類すると想定されていたが、ミトコンドリア遺伝子配列による系統解析を行ったところ、ナナホシクドアはより高等な生物である左右相称動物に分類されるべき系統関係であることが分かった。

本年度の成果の応用として、解読したミトコンドリア遺伝子を標的にしたナナホシクドアの高感度かつ高精度の検出系開発のための基盤情報を得ることができた。ミトコンドリアゲノムは細胞中に大量に存在するため、18S-rRNA などの核ゲノムを対象とした検査系よりも高感度な PCR 検出が可能である。また、ミトコンドリア・ゲノムの変異導入率が高いことから、18S-rRNA よりも明確な *Kudoa* 属の分類法を確立することが可能だと思われる。他種のミトコンドリア遺伝子を同定して比較することにより、食中毒に起因する種のみの検出系も開発できると考えている。

（竹内史比古、関塚剛史、黒田誠、野崎智義[寄生動物部]、大西真[細菌第一部]、小西良子[国立医薬品食品衛生研究所]、大西貴弘[国立医薬品食品衛生研究所]）

VII. 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既に構築してきた。これまでに、*Bacillus anthracis* 炭疽菌のゲノム解読、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、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てきた。本年度では、患者病巣を用いて網羅配列解読を行い、病原体の検出のみならず、病原体の系統関係および病原性の評価も行った。野兎病感染症を発症した一人の患者の生検組織標本(膿瘍)から得られた核酸を、次世代シークエンサーを用いて病原体およびヒトゲノム配列を含む核酸配列を網羅的に解読した。得られた 38,285,502 本の配列中に、833 の細菌由来の配列が存在していた。これら配列は、全て *F. tularensis* 由来の物であった。得られた配列を用いて、検体中に含まれていた *F. tularensis* の SNP を用いた系統解析を行ったところ、66 箇所の SNP 系統解析に使用可能な配列が抽出され、弱毒型の *F. tularensis* subsp. *holarctica* (biovar *japonica*, Type B) に属するものであった。海外から持ち込まれた強毒型の *F. tularensis* subsp. *tularensis* ではなく、日本に土着している弱毒型の野兎病菌による感染事例である事が明らかとなった。

（黒田誠、関塚剛史、竹内史比古、菅野隆行[感染病理部]、佐多徹太郎[富山県衛生研究所]、浅野重之[いわき市立総合磐城共立病院]、新谷史明[いわき市立総合磐城共立病院]）

VIII. 集団食中毒事例に係る病原細菌のゲノム解析および腸内細菌叢のメタゲノム解析

2011 年に富山県、福井県および神奈川県で腸管出血性大腸菌（EHEC）血清型 O111 を中心とする重症化の傾向が高い集団食中毒事例が発生した。本事例分離菌株の特徴を俯瞰的かつ包括的にゲノムレベルで解明するため、過去に分離された O111 菌株も含めた、ゲノム配列情報による系統解析と比較解析を行った。本事例の大腸菌分離株は、O111 血清型の系統であることがゲノム配列を用いた SNP 解析によっても明らかとなった。また、本事例分離菌 3 株は、分離地域およびベロ毒素(verotoxin: VT)2 を有するファージ(VT2 ファージ)の有無に関わらず同一クローン由来であり、本事例以前に分離された他の O111 分離株とは同一ではなかった。VT2 ファージとそのゲノム挿入部位の比較解析の結果、溶血性尿毒症症候群(HUS)発症株 3 株の VT2 ファージは O157 clade8 の VT2 ファージに類似性が認められたが、同一ではなかった。本事例分離菌株は 3 つのプラスミドを有し、それら完全長配列を決定したが、既知の病原性因子の存在は見いだせなかった。また、本事例の患者糞便検体中の実態を調べるため、患者糞便中の DNA を網羅配列解読にて解析した。供試した全患者検体は、非常に類似した細菌叢を構成していた。血清型と相関する遺伝情報を用いた系統解析の結果、本食中毒事例は大多数の血清型 O111 の大腸菌による事例であることを示唆していた。さらに、本事例は O111 と O157 の両方が分離されているが、患者糞便中の存在比率を定量的に解析したところ、O111 が圧倒的に O157 よりも多く、主に O111 による事例であることが示唆された。

（関塚剛史、黒田誠、竹内史比古、大西真[細菌第一部]、綿引正則[富山県衛生研究所]、磯部順子[富山県衛生研究所]、佐多徹太郎[富山県衛生研究所]）

IX. 難治性腸疾患患者の腸内細菌フローラの網羅解析

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。本研究では、UC 発症の環境要因となる細菌叢を抗菌剤治療前後で 16S rRNA 遺伝子を用いた網羅解析およびメタゲノム解析を行い、本疾患と密接に関連する細菌の探索を行なった。治療前、治療一ヶ月後および三ヶ月後の腸内フローラの比較解析を行ったところ、治療後に減少する細菌の候補が幾つか認められた。*Bifidobacterium* 属細菌が治療後に増加しており、抗菌剤治療により UC 患者の腸内環境が改善している事が示唆された。

（関塚剛史、黒田誠）

X. 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〜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」、片野晴隆[感染病理部]）

XI. 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]）

XII 所内ゲノムプロジェクト

H22, 23 年度に渡り、所内の連携強化のためのゲノムプロジェクト 7 課題を遂行中である。

- C型肝炎ウイルスゲノムの quasispecies 解析（ウイルス第二部　脇田隆字）
- 淋菌の Panmictic population と耐性化機構との関連−セフトリアキソン耐性淋菌のゲノム解析−（細菌第一部　大西真）
- 高病原性の新型クリプトコックスのゲノム情報解析　（生物活性物質部　宮崎義継）
- ゲノム・EST 解析による原虫病原機構の解明　（寄生動物部　津久井久美子）
- High through-put のシークエンサーによる病理組織検体を用いた未知、あるいは、既知の病原体遺伝子の検出とウイルス感染症の病態の解明　（感染病理部　片野晴隆）
- サルエイズモデルにおける MHC 遺伝子型別ウイルスゲノム変異およびプロウイルス挿入部位の解析

（エイズ研究センター　竹村太地郎）

- 比較ゲノムによるらい菌の増殖能・病原性に関する遺伝子解析　（感染制御部　甲斐雅規）

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの国家検定

HPV ワクチン（2 価ワクチンおよび 4 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。また HPV ワクチンの製造･試験記録等要約書(summary lot protocol)の様式を作成し、審査試行を開始した。(竹内隆正、石井克幸、森　清一郎、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 HPV18 抗体国際標準品の collaborative study に参加し、VLP-ELISA による抗体価データを WHO に返した。(柊元　巌、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)　Murakami, I., Takeuchi, T., Mori-Uchino, M., Mori, S., Fujii, T., Aoki, D., Nakagawa, K., and Kanda, T. An adeno-associated virus vector efficiently and specifically transduces mouse skeletal muscle. Mol Biotechnol. 49(1):1-10, 2011.

2)　Enomoto, T., Kukimoto, I., Kawano, M. A., Yamaguchi, Y., Berk, A. J., and Handa, H. In vitro reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer. Virology. 420:1-9, 2011.

3)　Kitamura-Muramatsu, Y., Kusumoto-Matsuo, R., Kondo, K., Mori, S., Saito, S., Tsukahara, Y., and Kukimoto, I. Novel multiplexed genotyping of human papillomavirus using a veracode-allele specific primer extension method. Microbiol Immunol. 56: 128-133, 2012.

4)　Ode H, Yokoyama M, Kanda T, Sato H. Identification of folding preferences of cleavage junctions of HIV-1 precursor proteins for regulation of cleavability. *J. Mol. Model*., 17:391-9, 2011.

5)　SahBandar IN, Takahashi K, Motomura K, Djoerban Z, Firmansyah I, Kitamura K, Sato H, Pohan HT, Sato S. The indonesian variants of CRF33_01B: Near-full length sequence analysis. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 27:97-102, 2011.

6)　Kobayashi T, Ode H, Yoshida T, Sato K, Gee P, Yamamoto SP, Ebina H, Strebel K, Sato H, Koyanagi Y. Identification of amino acids in the human tetherin transmembrane domain responsible for HIV-1 Vpu interaction and susceptibility. J. Virol. 85:932-45, 2011.

7)　Shibata J, Sugiura W, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F, Tanaka H. Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. Antiviral Res. 90:33-41, 2011.

8)　Yoshii H, Kamiyama H, Goto K, Oishi K, Katunuma N, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y. CD4-independent human immunodeficiency virus infection involves participation of endocytosis and cathepsin B. PLoS One. 6(4):e19352, 2011.

9)　Miyamoto T, Yokoyama M, Shioda T, Sato H, Nakayama E. A single amino acid of human immunodeficiency virus type 2 capsid protein affects conformation of two external loops and viral sensitivity to TRIM5α　PLoS One 6(7):e22779, 2011.

10)　Takanashi S, Chen N, Shen Q, Jung K, Zhang Z, Yokoyama M, Lindesmith L, Wang Q, Saif LJ. Characterization of the emerging GII.g/GII.12 norovirus from a gastroenteritis outbreak in US in 2010. *J. Clin. Microbiol.*, 49:3234-44, 2011.

11)　Obuchi M, Yokoyama M, Horimoto E, Obara M, Iwai M, Sato H, Sata T, Takizawa T. Low hemagglutinin-titer strains of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus circulated in Toyama Prefecture, Japan, during the 2009-2011 influenza seasons. Jpn J Infect Dis. 64:448-50, 2011.

12)　Nishitsuji H, Yokoyama M, Sato H, Yamauchi S, Takaku H. Identification of amino acid residues in HIV-1 reverse transcriptase that are critical for the proteolytic processing of Gag-Pol precursors. FEBS Lett. 585:3372-7, 2011.

13)　Kamiyama H, Kubo Y, Sato H, Yamamoto N,

Fukuda T, Ishibashi F, Iwao M. Synthesis, structure-activity relationships, and mechanism of action of anti-HIV-1 lamellarin α 20-sulfate analogues. Bioorg Med Chem. 19:7541-50, 2011.

14) Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Mwimanzi P, Ueno T, Adachi A, Ode H, Sato H, Fackler OT, Okada S, Suzu S. The Identification of a Small Molecule Compound That Reduces HIV-1 Nef-Mediated Viral Infectivity Enhancement. PLoS One. 6(11):e27696, 2011.

15) Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, Kuroda M. Complete sequencing of the *bla*$_{NDM-1}$-positive IncA/C plasmid from *Escherichia coli* ST38 isolate suggests a possible origin from plant pathogens. PLoS One. 2011;6(9):e25334. Epub 2011 Sep 23. PubMed PMID: 21966500; PubMed Central PMCID: PMC3179503.

16) Shahada F, Sekizuka T, Kuroda M, Kusumoto M, Ohishi D, Matsumoto A, Okazaki H, Tanaka K, Uchida I, Izumiya H, Watanabe H, Tamamura Y, Iwata T, Akiba M. Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates harboring a chromosomally encoded CMY-2 beta-lactamase gene located on a multidrug resistance genomic island. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Sep;55(9):4114-21. Epub 2011 Jun 27. PubMed PMID: 21709089; PubMed Central PMCID: PMC3165313.

17) 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. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by *Streptococcus salivarius* FruA. Appl Environ Microbiol. 2011 Mar;77(5):1572-80. Epub 2011 Jan 14. PubMed PMID: 21239559; PubMed Central PMCID: PMC3067281.

18) Sekizuka T, Yamamoto A, Komiya T, Kenri T, Takeuchi F, Shibayama K, Takahashi M, Kuroda M, Iwaki M. *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage. BMC Microbiol. 2012 May 14;12(1):72. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22583953.

19) Kuroda M, Sekizuka T, Shinya F, Takeuchi F, Kanno T, Sata T, Asano S. Detection of a possible bioterrorism agent, Francisella sp., in a clinical specimen by use of next-generation direct DNA sequencing. J Clin Microbiol. 2012 May;50(5):1810-2. Epub 2012 Feb 15. PubMed PMID: 22337979; PubMed Central PMCID: PMC3347159.

20) Kawai T, Sekizuka T, Yahata Y, Kuroda M, Kumeda Y, Iijima Y, Kamata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T. Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. Clin Infect Dis. 2012 Apr;54(8):1046-52. Epub 2012 Jan 26. PubMed PMID: 22281845.

2. 和文発表

1) 森清一郎、神田忠仁“ヒトパピローマウイルス(HPV)のタイピング” SRL 宝函、32: 51-54、2011.

2) 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. ウイルス, 61:49-58, 2011.

3) 大出裕高. バイオインフォマティクスに基づく HIV-1 の薬剤耐性研究. ウイルス, 61:35-48, 2011.

4) 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, 佐藤 彩, 今井正樹, 小田切孝人, 田代眞人, 本村和嗣, 横山 勝, 柊元 巖, 佐藤裕徳, 小口晃央, 山崎秀司, 藤田信之, 地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2010／11 シーズンのインフルエンザ分離株の解析. 病原体微生物情報(IASR), 32:317-323, 2011.

5) 黒田誠 医学のあゆみ Vol.236 No.6 2011 次世代シークエンサーで変わる臨床ゲノム学 “変貌する感染症研究”

6) 黒田誠 化学療法の領域 9月号 Vol.27 No.9 2011. 「超高速シークエンサーによる病原体検索」

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Enomoto, T., Yamaguchi, Y., Kukimoto, I., Berk, A. J., and Handa, H. In vitro reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer. ICGEB DNA Tumour Virus Meeting（2011 年 7 月、トリエステ）

2) Kukimoto, I. Genotyping of HPV DNA in Japanese women with abnormal cervical cytology using PGMY-Lineblot assay. 27th International Papillomavirus

Conference（2011 年 9 月、ベルリン）

3) Mori, S., Nakao, S., Kondo, K., Yoshikawa, H., and Kanda, T. Monoclonal antibodies recognizing cross-neutralization epitopes in HPV16 L2 aa56-75 region. 27th International Papillomavirus Conference（2011 年 9 月、ベルリン）

4) Sakuragii J, Ode H, i Sakuragi S, Shioda T, and Sato H. A proposal of new structural model of HIV-1 DLS. 8th International Retroviral NC Symposium, Sep 18-21. 2011, Barcelona, Spain.

5) Kobayashi T, Ode H, Yoshida T, Sato K, Gee P, Yamamoto S, Ebina H, Strebel K, Sato H, and Koyanagi Y. Mutagenesis and molecular modeling studies reveal structural insights into human tetherin recognition by HIV-1 vpu. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb 27-Mar 2. 2011.

6) Yokoyama M, Naganawa S, Yoshimura K, Matsushita S, and Sato H. V3 region-regulated conformations of HIV-1 gp120 outer domain bring insights into structural mechanisms of immune evasion. XV International Congress of Virology (The IUMS 2011 Sapporo Congress, Virology). 11-16 September 2011, Sapporo.

7) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Kanda T, Sato H. Structural features for the substrate recognition by sapovirus 3C-like protease. XV International Congress of Virology (The IUMS 2011 Sapporo Congress, Virology). 11-16 September 2011, Sapporo.

8) Motomura K, Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Sato H. Structural dynamics of norovirus GII/4 genome in nature. XV International Congress of Virology (The IUMS 2011 Sapporo Congress, Virology). 11-16 September 2011, Sapporo.

9) Miyamoto T,Yokoyama M,Kono K,Shioda Sato H, and Nakayama EE. A single amino acid of human immunodeficiency virus type 2 capsid protein affects conformation of two external loops and viral sensitivity to TRIM5α. CAXV International Congress of Virology (The IUMS 2011 Sapporo Congress, Virology). 11-16 September 2011, Sapporo.

10) Izumi T, Io K, Yokoyama M, Shinohara M, Shirakawa K, Matsui M, Uchiyama T, Sato H, Sindo K, and Takaori-kondo A Arginine at position 122 of APOBEC3G might be involved in interaction to Vif, but not to RNA required for encapsidation. XV International Congress of Virology (The IUMS 2011 Sapporo Congress, Virology). 11-16 September 2011, Sapporo.

11) Kamiyama H, Kubo Y, Sato H, Yamamoto N, Fukuda T, and Iwao M. Structure-activity relationship of anti-HIV-1 compound, lamellarin sulfates. XV International Congress of Virology (The IUMS 2011 Sapporo Congress, Virology). 11-16 September 2011, Sapporo.

12) Makoto Kuroda , Tsuyoshi Sekizuka. Characterization of Quasispecies of Pandemic 2009 Influenza A Virus (A/H1N1/2009) by *de novo* Sequencing using a Next-generation DNA Sequencer. 111th American Society for Microbiology (2011 年 5 月)

13) Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda. A Comprehensive And Quantitative 16S rDNA Deep-sequencing Analysis For Microbial Flora Using Next-generation Sequencer. 111th American Society for Microbiology (2011 年 5 月)

14) M. KURODA1, M. IZUMIYA 1, T. SEKIZUKA 1, M. TAGUCHI 2, H. WATANABE 1, M. OHNISHI. Is*1*-mediated Horizontal Acquisition Of Multiple Antibiotics Resistance In *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. 17-21 September 2011, Chicago USA.

15) Makoto Kuroda, Hidemasa Izumiya, Tsuyoshi Sekizuka, Masumi Taguchi, Haruo Watanabe, Makoto Ohnishi. 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. IUMS 2011 (2011 年 9 月)

16) Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda. A comprehensive and quantitative 16S ribosomal DNA deep-sequencing analysis for microbiota using next-generation sequencer. IUMS 2011 (2011 年 9 月)

17) Shizunobu Igimi, Akiko Ishiwa, Shuko Monden, Yumiko Okada, Hiroshi Asakura, Tetsuo Asai, Akemi Kai, Masumi Taguchi, Yoshikazu Ishii, Makoto Kuroda and Haruo Watanabe. Antimicrobial Susceptibility Profiles and PFGE Typing of *Campylobacter jejuni* Isolated from Various Sources in Japan. Vancouver August 28 - September 1, 2011. the 16th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter, and Related Organisms.

18) Makoto Kuroda, Yoshimichi Hamada, Seiichi Sato, Kunihiro Oba, Harutaka Katano, Tsuyoshi Sekizuka, Akiko Kinumaki, Masaaki Mori, Masaru Terai, Tetsuya Mizutani. The 10th International Kawasaki Disease Symposium 第

１０回国際川崎病シンポジウム (京都市 2012 年 2 月 7-9 日)

19) Akiko Kinumaki, Tsuyoshi Sekizuka, Masaru Takamizawa, Takashi Igarashi, Makoto Kuroda. Longitudinal analysis of gut flora in Kawasaki disease patients using next generation DNA sequencing The 10th International Kawasaki Disease Symposium 第 10 回国際川崎病シンポジウム (京都市 2012 年 2 月 7-9 日)

2. 国内学会

1) 柊元 巖、近藤一成、森 清一郎、石井克幸、竹内隆正、神田忠仁：本邦における細胞診陽性検体の PGMY ラインブロット法による解析：HPV 検出頻度と遺伝子型、第 70 回日本癌学会学術総会（2011 年 10 月、名古屋）

2) 中尾砂理、森 清一郎、近藤一成、吉川裕之、神田忠仁: HPV16 副キャプシドタンパク質 L2 の交叉性中和エピトープを認識するモノクローナル抗体の分離と解析、第 70 回日本癌学会学術総会（2011 年 10 月、名古屋）

3) 柊元 巖：HPV 侵入･複製の新規メカニズム、「感染・免疫・炎症・発癌」北海道大学遺伝子病制御研究所共同研究集会（2011 年 12 月、札幌）

4) 佐藤裕徳. 病原性ウイルス研究と計算科学. MOE フォーラム 2011、7 月 13 日、2011 年、東京.

5) 佐藤 裕徳、本村 和嗣、大出 裕高、横山 勝. In vivo directed evolution of HIV-1 through immune escape（免疫逃避を介しての生体内指向進化）：日本蛋白質科学会 ワークショップ「分子認識・ネットワーク解析の新たなキーワードとしての分子共進化」 6 月 7－9 日、2011 年、大阪.

6) 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 年 12 月 7-10 日（火-金）, 神戸.

7) 松永智子、澤崎達也、小島良績、森下了、佐藤裕徳、大出裕高、古川亜矢子、片平正人、杉浦亙、梁明秀：コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた Xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) プロテアーゼの解析. 日本プロテオーム学会 2011 年大会、7 月 28-29 日、2011 年、新潟.

8) 小渕正次、堀元栄詞、小原真弓、岩井雅恵、滝澤剛則、横山勝、佐藤裕徳、佐多徹太郎. 2010/11 シーズンに急増した低 HA 価の A(H1N1)2009 ウイルス分離株について. 第 25 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、2011 年 6 月 2 日（木）－ 4 日（土)、2011 年、富山.

9) 佐藤裕徳：ヒト免疫不全ウイルスの免疫逃避と進化を司る構造基盤. ハイテクリサーチセンター公開セミナー、明治薬科大学、9 月 5 日、2011 年、東京.

10) 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、江島美穂、金南希、佐藤彩、田代眞人、小田切孝人：インフルエンザワクチン接種後のヒト血清抗体の交叉反応性をもとに評価した 2010/11 シーズン A/H3 および B 型ワクチンの効果. 第 15 回日本ワクチン学会学術集会. 12 月 10-11、2011 年、東京.

11) 櫻木淳一、大出裕高、櫻木小百合、塩田達雄、佐藤裕徳:HIV-1 ゲノム二量体化シグナルの新規構造モデル. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日（水-金)、東京.

12) 大出裕高、本村和嗣、横山勝、潟永博之、佐藤裕徳：Roche-454 genome sequencer FLX Titanium による HIV 準種解析系の構築. 第 25 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日(水-金)、東京.

13) 久保嘉直、神山陽香、鹿子木桂、田中勇悦、林日出喜、松山俊、佐藤裕徳、山本直樹：エンドソームに局在する宿主自然免疫因子による HIV-1 増殖抑制. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2011 年 11 月 30-12 月 2 日（水-金)、東京.

14) 佐藤裕徳：病原体ゲノム解析研究センターと HIV/AIDS 研究. HIV カンファレンス、名古屋医療センター、2011 年 12 月 13 日、名古屋.

15) 高野 愛、関塚剛史、黒田誠、杉森千恵子、大西真、川端寛樹。マダニ媒介性の新型ボレリア *Borrelia turcica* の比較ゲノム解析。第 63 回日本衛生動物学会（新宿区 2011 年 4 月）

16) 関塚剛史、黒田誠。動物腸管内の原生動物に内在する細菌と細菌叢と原生動物叢の共生関係。第 80 回日本寄生虫学会（港区 2011 年 7 月）

17) 片野晴隆、坂本康太、関塚剛史、黒田誠。KSHV がコードしている 16 base の unusual small RNA の発現。第 8 回 EB ウイルス研究会（大阪市 2011 年 7 月）

18) 関塚剛史。腸炎起病性菌のゲノム解析の現状と今後の展望。第 4 回日本カンピロバクター研究会（相模原市　2011 年 12 月）

19) 朝倉宏、江川智哉、関塚剛史、黒田誠、五十君靜信。*Campylobacter jejuni* 国内分離株の遺伝学的多様性。第 4 回日本カンピロバクター研究会（相模原市　2011 年 12 月）

20) 関塚剛史、松井真理、山根一和、竹内史比古、大西真、荒川宜親、黒田誠。国内初の NDM-1 陽性大腸菌 ST38 分離株の bla_{NDM-1} 陽性 IncA/C プラスミドの完全長配列と植物病原細菌との関連性。第 85 回日本細菌学会（長崎市　2012 年３月）

21) 黒田誠、関塚剛史、竹内史比古。Deep sequencing 法による野兎病菌 *Francisella* 感染症の腋窩部膿瘍の網羅的病原体検索。第 85 回日本細菌学会（長崎市　2012 年３月）

22) 黒田誠　Deep sequencing で得られた解読リードの各種解析法。 第 85 回日本細菌学会(長崎市　2012 年３月）

23) 佐藤法仁，阿戸 学，松村隆之，本田尚子，山崎利雄，関塚剛史，黒田 誠，中山真彰，土田耕三，小林和夫，大原直也．Streptomycin 依存性結核菌における遺伝子変異の解明と Streptomycin 耐性をもたらす新たな遺伝子変異 第 64 回日本細菌学会・中国四国支部会（岡山市　2011 年 10 月 22-23 日）

24) 大西　真、黒田　誠　網羅的ゲノム解析によるヒラメ喫食に関連する嘔吐下痢症の原因物質の探索 第 16 回日本神経感染症学会（東京都千代田区　2011 年 11 月 4-5 日）

25) 佐藤法仁，阿戸 学，松村隆之，本田尚子，山崎利雄，関塚剛史，黒田 誠，中山真彰，土田耕三，小林和夫，大原直也 Analysis of the 16S rRNA gene of the streptomycin-dependent *Mycobacterium tuberculosis* strain18b and phenotypic revertant strains. 第34回分子生物学会年会（横浜市　2011 年 12 月 13-16 日）

26) Hoshino Y, Kai M, Nakanaga K, Nakata N, Sekizuka T, Kuroda M, and Makino M.　Whole genome sequence of *Mycobacteirum massiliense* 日米医学協力計画　結核・ハンセン病専門部会　第 46 回日米合同会議（大宮市　2011 年 7 月 20-22 日）

27) Francis Shahada、関塚剛史、黒田誠、楠本正博、大石大樹、松本敦子、岡崎ひづる、田中聖、内田郁夫、泉谷秀昌、渡邉治雄、玉村雪乃、岩田剛敏、秋庭正人　多剤耐性ゲノミックアイランドを保有するセファロスポリン耐性 *Salmonella Typhimurium* の出現 第 152 回日本獣医学学会　（大阪府立大学　2011 年 9 月 19-21 日）

28) 黒田誠、関塚剛史、片野晴隆、絹巻暁子、佐藤誠一、大場邦弘、浜田洋通、寺井勝、緒方昌平 、森雅亮、水谷哲也　次世代シークエンサーによる川崎病の病原体候補の探索　第31回日本川崎病学会（横浜　2011 年 9 月 30 日−10 月 1 日）

29) 大場邦弘、絹巻暁子、水谷哲也、黒田誠、上村茂 川崎病診断時における血清免疫グロブリンの検討 第 31 回日本川崎病学会　（横浜　2011 年 9 月 30 日−10 月 1 日）

30) 絹巻暁子、高見沢勝、五十嵐隆、黒田 誠　川崎病患児における細菌叢の経時的変動解析　第31回日本川崎病学会　（横浜　2011 年 9 月 30 日−10 月 1 日）

31) 大槻紀之、關文緒、酒井宏治、Watanyoo Pratakpiriya、伊藤由梨、福原秀雄、前仲勝実、黒田誠、山口良二、竹田誠　野外分離イヌジステンパーウイルスはイヌおよびヒト nectin4 を受容体として利用できるが、麻疹ウイルスと異なりヒト上皮細胞では増殖できない　マイナス鎖 RNA ウイルス研究会（長崎　2012 年 1 月 20-22 日）

32) 黒田誠　新下痢原性寄生虫クドアの発見　第81回日本寄生虫学会　（西宮市　2012 年 3 月 23-24 日）

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、及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。

人事異動では、平成23年4月1日付で長谷川秀樹第6室長が感染病理部長に昇任、平成23年6月1日付で今井正樹主任研究官が採用、平成24年3月31日付で松井清彦主任研究官が辞職した。

センター設立直後に始まった(H1N1)2009パンデミックは1年後には終息したが、国による終息宣言が平成23年3月まで延びたため、ようやく平成23年度から、センター本来の研究業務である通常の季節性インフルエンザ対応、ワクチン品質管理および新型インフルエンザへの事前準備を本格的に開始した。この間に、国内外での研究・業務が増え続ける一方で、定員削減・採用抑制・予算削除が実施され、当初の新型インフルエンザワクチン開発研究計画の実施に大きな支障が生じている。

流行動向調査（サーベイランス）事業を地衛研、感染症情報センター、海外機関と協力して進めた。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、WHO及び厚労省の依頼に応じて季節性及びH5N1プレパンデミックワクチン製造株を開発・選定・供給した。また、サーベイランスとワクチン製造に必要な抗原解析及び品質管理用の各種標準品の製造・配布及び技術支援を行った。更に、迅速で効率のよい各種検査法を開発して国内外に普及し、また一部の地衛研に対して診断検査の品質管理試験を実施した。ワクチン品質管理業務では、ワクチン国家検定と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、新たなWHOパンデミックインフルエンザ基本構想（PIP-Framework）に基づく世界インフルエンザ監視対応体制（GISRS）の基幹であるWHOインフルエンザ協力センターとして、サーベイランス活動及びパンデミック緊急対応計画の再検討・改善・強化への助言・提言とその実施を担った。通常世界各国の分離株・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。WHO世界インフルエンザ行動計画に参画し、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、細胞培養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、海外への技術指導、研修を行った。WHO H5N1指定研究室として、世界各地の高病原性H5N1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の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年度までに、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を、WHO及び国内外メーカーと協力して推進した。臨床試験を実施して、また製造施設の建設を推進した。また、細胞培養ワクチン製造用シードウイルスの作製法、品質確保の確立を進めた。

業　績

調査・研究

Ⅰ．　インフルエンザウイルスに関する研究

1.　　インフルエンザワクチンの臨床評価に関する研究

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30名からワクチン接種前後のペア血清検体を収集し、流行株に対する交叉反応性を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、今井正樹、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、金南希、佐藤彩、齋藤玲子*、田代眞人、小田切孝人：*新潟大学国際感染医学講座］

2. 孵化鶏卵馴化によって起こる変異の研究

発育鶏卵に馴化したMDCK由来H3N2ウイルスのHA遺伝子を解析し、馴化したウイルスにはHA蛋白に194位のアミノ酸置換（L→P）を同定した。その後、さらに数を増やして馴化ウイルスの遺伝子解析をおこなった。前回と同様に、８つのウイルスのうち６つについて、HA蛋白の194位のアミノ酸置換（L→P）が認められた。また２つのウイルスにおいて、HA蛋白に156位のアミノ酸置換（H→R）が認められた。この２箇所の置換がインフルンザウイルスの卵馴化に関与していると考えられた。［徐紅、金南希、藤崎誠一郎、高下恵美、伊東玲子、菅原裕美、土井輝子、田代眞人、小田切孝人］

3. 新規抗インフルエンザ薬感受性試験系の構築

2011年3月に新規抗インフルエンザ薬ファビピラビルが日本で承認申請され、現在審査が行われている。ファビピラビルは既存の抗インフルエンザ薬とは異なる新規機序をもつため、現行の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにおいて実施されている薬剤感受性試験系は利用できない。したがって、ファビピラビル耐性株の検出には新たな試験系の構築が必要である。そこで、ファビピラビルに対する感受性試験系を新規に構築した。さらに、構築した試験系を用いて、ファビピラビルの臨床試験において採取されたファビピラビル投与前後の検体から分離されたウイルスを解析し、ファビピラビル耐性株のスクリーニングを行った。［高下恵美、江島美穂、土井輝子、田代眞人、小田切孝人］

4. ノイラミニダーゼ阻害剤感受性低下を示したインフルエンザウイルスの性状解析

インフルエンザウイルスB型分離株に、ノイラミニダーゼ（NA）阻害剤に対して感受性の低下を示す2株を検出した。これら2株は既知の薬剤耐性アミノ酸置換を有していなかったが、NA内に他の流行株には見られないアミノ酸置換(E105K, P139S/P)をそれぞれ有していた。これらのアミノ酸置換が薬剤感受性低下の原因であるかを確認するため、分離株を用いてプラーク純化ウイルス、およびリバースジェネティクス法を用いたリコンビナントウイルスを作製し、上記アミノ酸置換を持つウイルスが薬剤感受性低下を示すことを確認した。これによりE105K, P139SがNA阻害剤に対し感受性低下を引き起こすことが明らかとなった。［藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、江島美穂、金南希、佐藤彩、田代眞人、小田切孝人］

5. 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既知の薬剤耐性アミノ酸置換を持たないにもかかわらず、NA阻害剤感受性試験で感受性低下を示すB型インフルエンザウイルスを検出した。このウイルスについて、NA立体構造の予測および薬剤結合強度の変化を解析し、感受性低下を引き起こす機構について解析を進めた。②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亜型で、抗原性が異なる2007/08シーズンと2009/2010シーズン、および、抗原性には差は無いが遺伝子的には明確に区別される2009/2010シーズンの2集団をモデルとし、立体構造の推測と抗原性変化の予測を進めた。③A/H1N1pdm09亜型をモデルとし、NA阻害剤感受性試験の結果を利用して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。［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］

6. 外部精度管理の実施

全国11ヶ所のコア・サポート地方衛生研究所において、インフルエンザウイルス核酸診断検査法(リアルタイムRT-PCR法)に対する外部精度管理を実施した。各所から報告された結果をもとに解析を行い、検査法で何らかの問題点があった場合はトラブルシューティングを個別に行い、検査系の改善に向けた助

言等を行った。［影山努、松井清彦、髙山郁代、中内美名、高下恵美、小田切孝人］

7. ブタ由来 A/H3N2インフルエンザウイルス遺伝子診断検査の構築

2011年7月以降、北米ブタ由来H3N2インフルエンザウイルス(H3N2v)のヒトへの感染が北米で相次いで確認された。季節性A/H3亜型インフルエンザウイルス(香港型)と区別して、リアルタイムRT-PCR法によりH3N2vを特異的に検出するための遺伝子診断検出系の構築を行い、この株が日本で流行した場合でも直ぐに検査できる体制を確立した。［中内美名、田代眞人、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

Per.C6細胞を用いて、A(H1N1)pdm09ウイルス、又はA/H3N2ウイルス陽性の臨床検体からウイルス分離と継代を行い、MDCK 細胞を用いた場合の成績と比較した。A(H1N1)pdm09ウイルスの分離効率はMDCK細胞で100%であったのに対して、Per.C6 細胞では10%と顕著に低かった。H3N2 ウイルスの分離効率はMDCK細胞で100%、Per.C6細胞で83%であったが、分離時のHA価はPer.C6細胞を用いた場合に高値を示した。Per.C6 細胞での分離効率について亜型の違いによる差異を明らかにした。［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

臨床検体から培養細胞を用いて分離したB型インフルエンザウイルスの鶏卵での増殖性と、鶏卵継代後の性状変化を検討した。ウイルスの増殖性は継代を重ねるごとに高まり、3～4 継代後に、10^7 以上の鶏卵感染価を示した。しかし、HA価については、7回継代を経たのちも32HA 価程度の低値に留まっていた。また、鶏卵継代の早い段階で、HA蛋白質の糖鎖付加に関わる部位に遺伝子変異が導入されており、これにより継代株の抗原性も影響を受けていた。B 型ウイルスの鶏卵馴化による抗原性変化に留意が必要である一方、培養細胞でのB型ウイルス分離の有用性が示唆された。［中村一哉、原田勇一、高橋仁、浜本いつき、田代眞人、山本典生］

10. リバースジェネティクス（RG）法により作製されたワクチンシード候補株の長期培養細胞継代による遺伝的・抗原的変化の解析

昨年度の解析により、鶏卵で高増殖性を示すよう設計されたワクチンシード候補 RG ウイルスであっても、培養細胞で継代を繰返すことによって増殖性が高くなることが明らかとなった。そこで増殖性の改善された培養細胞長期継代 RG ウイルス株の遺伝子解析ならびに抗原性解析を行ったところ、ごく限られた遺伝子変異しか起こさず、抗原性も変化しない株の存在が明らかとなった。これらウイルス株の内部タンパク遺伝子配列は培養細胞用 RG バックボーンとして有用である可能性があり、今後RG系を構築して評価する必要がある。［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

2009年に発生し、現在季節性ウイルスとなったA（H1N1）pdm09 ウイルスについて、そのワクチンシードウイルスが候補細胞を用いて分離・増殖できるか解析した。その結果、臨床検体からのウイルス分離効率は良好であったが、連続継代によるウイルスの増殖性はそれほど高くなかった。さらに細胞分離株の性状解析を行ったところ、遺伝的安定性は悪く、全ての分離株で継代過程での遺伝子変異が観察されたが、抗原的安定性は比較的良好であった。それ故、今後ウイルス増殖性の改善と遺伝的安定性を確保するための方策を検討する必要がある。［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. 高いウイルス増殖効率を持つMDCK細胞の開発に関する研究

従来の MDCK 細胞よりもさらに高いウイルス増殖効率を示す細胞を樹立するために、I 型インターフェロン(IFN)産生を制御する遺伝子群をスクリーニングした結果、ウイルス増殖効率を上昇させる標的遺伝子を同定した。今回、同定した遺伝子に対する siRNA を導入した MDCK 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結果、ウイルス増殖効率が約 2~4 倍上昇した。また、標的遺伝子に対する shRNA 発現安定細胞株を樹立し、ウイルス感染した結果、コントロール細胞と比較してウイルス増殖効率が約3~5倍まで上昇した。［浜本いつき、田代眞人、山本典生］

13. シードウイルス分離用細胞としての無血清培地馴化MDCK 細胞(MDCK-NIID)の検討

無血清培地に馴化させた MDCK 細胞(MDCK-NIID)を用いてマスターセルバンク、ワーキングセルバンク(WCB)を構築し、WCB 由来の細胞株におけるインフルエンザウイルスの最適な培養条件を設定した。同条件で、一般に広く研究で使われている MDCK 細胞(MDCK-C)と MDCK-NIID において A(H1N1)pdm09 型陽性検体を接種し、ウイルスの分離効率、分離ウイルスの増殖性、遺伝的安定性について比較検討を行った。その結果、ウイルス分離効率については両細胞において高く、ほぼ同程度であったが、ウイルスの増殖性についてはMDCK-NIID ではMDCK-C と比較して継代とともに高い増殖性を示した。継代培養を繰り返すと MDCK-C では全ての株において遺伝子変異が認められたが、MDCK-NIID ではMDCK-C と比較すると変異導入率は低かった。両細胞分離株ともに遺伝子変異は HA 遺伝子の抗原部位に集中していた。［浜本いつき、原田勇一、中村一哉、高橋仁、田代眞人、山本典生］

14. LLC-MK2 細胞を用いて分離されたインフルエンザウイルスの性状解析

LLC-MK2 細胞での臨床検体からのインフルエンザウイルス分離効率は、MDCK 細胞に比べ 10 倍程度低く、分離ウイルスも分離直後は HA 力価が低く、MDCK 細胞とは異なるウイルス性状を示した。この違いが何に起因するかを解明することで、ウイルス分離･産生効率を高めるための知見が得られると考えられる。そのために、各細胞内でのウイルスタンパク質の発現量の変化を調べたところ、LLC-MK2 細胞での HA および M1 タンパク質の発現開始時期は MDCK 細胞に比べ 4 時間程度遅く、各細胞でのウイルス複製効率に差があることが示された。［高橋仁、原田勇一、嶋崎典子、中村一哉、浜本いつき、山本典生、小田切孝人、板村繁之、田代眞人］

15. 発育鶏卵から分離された A/H1N1pdm09 ウイルス株の解析

2009 年に発生したパンデミックに引き続く 2009/2010 シーズンの A/H1N1pdm09 臨床分離株において、発育鶏卵で分離され継代初期のウイルス株の電子顕微鏡による解析を実施したところ、球形に近い形状をしていることを見いだした。今後遺伝子解析等を実施することにより、ウイルスの発育鶏卵への馴化のしくみとウイルス粒子形状との関連性について解析を行う予定である。［佐藤佳代子、浅沼秀樹、永田典代*、片岡紀代*、板村繁之、田代眞人：*感染病理部］

Ⅱインフルエンザワクチンに関する研究

1. Reverse Genetics (RG)法を用いたワクチン製造用種ウイルス作製法の改良

新型インフルエンザ対策では、迅速に安全かつ有効なワクチンを開発し、供給することが重要な課題である。しかしながら、Reverse Genetics（RG）法によって作製されたワクチン製造株は、必ずしも増殖性、ウイルス総タンパク収量が高いとは限らない。そこで、本研究では、増殖性が高くウイルス総タンパク収量の高いワクチン製造株を迅速に作製することを目的とし、パッケージングシグナル（非コード領域、Signal peptide、Transmembrane、Cytoplasmic tail）領域の配列をバックボーンウイルスである PR8 株の配列に改変した RG ウイルスの作製を試みた。対象ウイルスは、H5N1, H7H7, H9N2 亜型に属するワクチン株または低病原性株とした。その結果、改変した RG ウイルスのウイルス総タンパク収量は、亜型あるいは株によって異なり、パッケージングシグナル領域の影響が、コード領域の配列に左右されることが示唆された。種株作製の改良法として、このような手法は、種株の改良に応用することが可能であると同時に、効果が低かった株での原因を検討する必要がある。高増殖性のワクチン株を計画的に作成するには今後、どのようなメカニズムによって抗原蛋白量が増加したのか、詳細な解析が必要であると考えられる。［白倉雅之、信澤枝里、田代眞人］

2. 新型インフルエンザ H1N1pdm09 ワクチン候補株の改良

H1N1pdm09 のワクチン株は、従来の季節性インフルエンザのワクチン株と比べて、増殖性が悪い事が問題となっている。H1N1pdm09 ウイルスは 4 種類のウイルスの遺伝子交雑により出現し、そのゲノム構成も複雑である。現行のワクチン株の HA, NA, PB1 遺伝子は、この H1N1pdm09 に由来し、各遺伝子が由来するウイルスの系統が異なる。そのため、HA, NA, PB1 間の相性が最適ではない可能性がある。これまでの鶏卵培養季節性インフルエンザワクチン株では、HA、NA に加え PB1 遺伝子が流行株に由来することが多い。従って、3 遺伝子の由来が一致することが、ウイルスの増殖に有利であることが

示唆される。NA と PB1 を HA と同じ系統である classical swine 系統のウイルス由来に揃えたウイルスを、RG 法により作製した。しかし、ウイルスの増殖性、ウイルス総タンパク収量において有意な上昇は認められなかったことから、収量の改善には、他の手法が必要と考えられた。そこで、1. と同様の手法により、パッケージングシグナルを PR8 株由来とした HA を有するウイルス(7:1)を作製し、総蛋白収量の検討を行った。その結果、H1N1pdm09 の A/California/07/2009(Cal7)株由来のパッケージングシグナルを有するウイルスに比べ、漿尿液 10ml 当たりの総ウイルス蛋白収量は、約 1.2~1.3 倍、HA 抗原収量は、1.5 倍上昇した。一方、HA 配列内に鶏卵におけるウイルス増殖を左右する領域（レセプター結合領域等）が存在すると仮定し、Cal7HA と PR8HA との間でキメラ HA を作製し、増殖性に関わる領域の検討を行っている。[川口晶、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人]

3. 細胞培養ワクチン製造用種ウイルスの母体ウイルスの開発

RG 法を用いて、細胞培養インフルエンザワクチン製造用種株を作製する際の母体ウイルスの検討は、まだなされていない。細胞培養ワクチンの生産性を考慮した、高増殖性、高タンパク収量を示す種株開発は、急務の課題である。鶏卵培養で用いられている PR8 株に相当する母体ウイルスの作製を試みた。現在、鶏卵培養インフルエンザ生ワクチンの母体ウイルスとして使用されている、A/Ann Arbor/6/60 (H2N2)の低温馴化株の MDCK 細胞における増殖性を検討した。MDCK 細胞における増殖性を鶏卵培養用 PR8 株と比較したが、著しく高い増殖性は認められなかった。今後は他の候補株についても同様の検討を行う予定である。[川口晶、信澤枝里、田代眞人]

4. H5N1 インフルエンザワクチン製造用種株候補の HA 収量の検討

ワクチン製造用種株は鶏卵での増殖性が高く、HA 収量が多いことが望ましい。H5N1 プレパンデミックワクチンの株選定の一助とするため、当センターが保有するクレード 1、1.1、2.1.3.2、2.2、2.2.1、2.2.1.1、2.3.2.1、2.3.4、7.1 に属する種株候補株 13 株について、孵化鶏卵（10 日卵）にウイルスを接種後、48 時間培養の後、ウイルスを精製し、蛋白収量及び HA 収量を測定した。その結果、クレード 1.1、2.1.3.2、2.3.2.1、2.3.4 に属する 4 株のタンパク収量は、17.2～26.7 μg/mL 漿尿液、HA 収量は 7.1～12.2 μg/mL 漿尿液で、旧季節性 H1N1 ワクチン株(IVR-148)の HA 収量 (8.4 μg /mL 漿尿液)と同等あるいはそれ以上であった。一方、クレード 2.2、2.2.1 に属する 4 株の蛋白収量、HA 収量は、収量が低いとされる A/H1N1pdm09 のワクチン株 X-179A より、さらに低く 9.4～10.6 μg／mL 漿尿液(タンパク収量)、3.8～5.2 μg／mL 漿尿液(HA 収量)であった。収量の改善を行うため、孵化鶏卵（11 日卵）にウイルス接種後、72 時間培養し、HA 収量を測定した結果、収量に改善が見られ、6.8～9.4 μg／mL に上昇した。今後、低 HA 収量の候補株については、培養条件等の検討により、収量の改善を行い、ワクチン製造種株としての妥当性を引き続き検討することが重要である。 ［有田知子、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人］

5. 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

2010/11 シーズンに国内において家禽あるいは野鳥から分離された H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス [A/chicken/Shimane/1/2010 (Shimane 株) と A/chicken/Miyazaki/11/2011 (Miyazaki 株)、A/whooper swan/Hokkaido/4/2011 (Hokkaido 株) と A/peregrine falcon/Tochigi/15/2011 (Tochigi 株)]を入手し、発育鶏卵で増殖させ、遺伝子解析、HI 試験に供する不活化抗原の作製を行った。また、分離された株と同じクレードのワクチン製造株（SJRG-166615 [A/common magpie/HK/5052/2007 (H5N1)]）とそのフェレット抗血清を海外から入手し、抗原性が一致するかどうかを調べるために、抗原性解析を行った。その結果、ワクチン候補株である Common magpie 株の抗血清に対して、上記国内分離株の反応性は、ホモ価と比較して 4 倍減少した。また、Shimane 株に対するニワトリ抗血清に対する反応性は、SJRG-166615 株はホモ価と比較して 16 倍低かったが、他の株については、ホモ価と同程度の反応性を示した。以上の結果から、2010/11 シーズンに日本国内で分離されたウイルス株は、既存の同クレードのワクチン製造株である SJRG-166615 と抗原性が異なることが示唆された。[白倉雅之、有田知子、信澤枝里、田代眞人]

6. ニワトリを用いた弱毒化確認試験系の確立

高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するワクチン株を作製した際は、安全性を評価するため、ニワトリを用いた弱

毒化確認試験が行うことが、必要である。今後、インフルエンザセンターにおいても、当該ワクチン株の開発を行う可能性があることから、試験系の確立を行った。9 号棟 ABSL3 実験室(3)には、ABSL3 実験用のグローブボックスが設置されている。実際の試験に用いる週令（4〜8 週令）のニワトリを用いて、インフルエンザウイルス PR8 株の静脈注射による接種実験を行い、接種後の観察、飼育、安楽殺までの、各ステップを確認した。設置するグローブの種類の検討等により、ウイルス接種を、処置ボックス内で行うことが可能になり、全ての作業が、グローブボックス内で完結する系として、確立することができた。今後必要に応じて、弱毒化確認は行える状況にある。［川口晶、白倉雅之、有田知子、岸田典子、信澤枝里、 田代眞人］

7. 国内で最初に分離された A/H1N1pdm09（A/Narita/1/2009 株）の性状解析

日本国内で初めて分離された 2009 年のパンデミック株（A/Narita/1/2009; A/N）を発育鶏卵、MDCK 細胞およびマウスで馴化させ、各宿主の違いにおける性状の変化を検討した。鶏卵および MDCK で分離・継代した A/N は継代が進むに従って、HA 価の上昇とそれぞれの宿主における感染性（EID_{50} および $TCID_{50}$）の増加が認められた。このとき鶏卵で継代した A/N は MDCK に対しても高い感染性が認められたが、MDCK で継代した A/N は鶏卵に対する感染性に変化がなかった。またマウスで継代した A/N は、マウスに対する感染性だけでなく、鶏卵と MDCK に対する高い感染性が認められた。それぞれで継代した A/N-HA の遺伝子解析および抗原性解析を行った結果、鶏卵では G155E および Q223R、MDCK では G155E および N355N/T、マウスでは N156D および D222G、各宿主における異なる変異が認められ、継代した全ての A/N に抗原性の著しい低下が認められた。現在、各宿主における馴化との相関性を明確にするために、HA 以外の分子における遺伝子解析を試みている。［浅沼秀樹、相内章、佐多徹太郎、白倉雅之、信澤枝里、小田切孝人、長谷川秀樹、田代眞人］

8. 細胞培養もしくは鶏卵培養で作製したインフルエンザワクチンに関する研究

発育鶏卵もしくは MDCK 細胞で分離・増殖させた A/H1N1pdm09 株で作製した不活化ワクチンをマウスに接種し、免疫応答および防御効果を検討した。患者検体から鶏卵もしくは MDCK でウイルス分離・継代し、高い増殖性を認め、さらに抗原性の変化が認められなかった株を種ウイルスとしてワクチンを作製した。それぞれのワクチンを、用量を変えてマウスに２回皮下接種後、A/Narita 株を感染させ防御効果を検討した結果、鶏卵および MDCK で作製したワクチンともに高い防御効果が認められた。また、血中の抗原特異的抗体応答を ELISA で検討した結果においても、ともに高い抗体の誘導が認められた。このことは細胞培養で作製したワクチンも、免疫誘導能および防御効果は現行の鶏卵で作製したワクチンと同等であることを示唆している。しかし、現行の SRD 試験を同一の血清で行った場合には、細胞培養ワクチンの定量が困難であったため、検査法に関する問題点も明らかになった。現在、B 型における免疫増強効果ならびに防御効果を検討している。［浅沼秀樹、信澤枝里、白倉雅之、中内美名、佐藤佳代子、相内章、山本典生、小田切孝人、許斐奈美*、田代眞人：*日大・医］

9. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

ワクチンシードへの混入可能性が高く、ヒトに健康危害を起こすウイルスのうち、パラインフルエンザウイルス、コクサッキーウイルス、ライノウイルスについて、定量 PCR を測定原理とする市販キットでの検出感度を既知感染価の基準ウイルスを用いて評価した。検出限界量のウイルスの培養細胞への接種試験を行った結果、3 型パラインフルエンザウイルスの検出感度に改善の必要性が認められたため、当該ウイルス検出に用いるプライマー、プローブの再設計を行った。その他ウイルス検出系の検出感度評価や遺伝子データベース利用による検出に至適な遺伝子領域の再選定も進めている。
［中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋仁、田代眞人、山本典生］

10. 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）2011 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 2011 年度までに出されている最新の関連ガイドラインを参照し、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）2011」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］

11. シードウイルス製造用 MDCK セルバンクの安全性・特性についての解析

ATCC から購入した MDCK 細胞を無血清培地に馴化させ、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、シードウイルス製造終了時の細胞の状態を反映したEOPC(End of Production Cell)を作製し、これらの細胞に対して安全性試験・特性試験を実施した。これらの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、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に大きく寄与するものである。［山本典生、田代眞人］

12. 経鼻インフルエンザワクチンに用いるアジュバントの投与時期と特異的 IgA 誘導の相関性

pFL と CpG の両アジュバントの効果的な接種方法を検討するため、異なるタイミングでアジュバントと抗原を経鼻接種し、上気道における抗体産生細胞応答を検討した。その結果、アジュバントと抗原を同時に経鼻接種した場合には、鼻腔関連リンパ組織（NALT）に特異的 IgA 産生細胞（IgA-AFCs）の増加が認められたが、マウスにあらかじめ pFL と CpG をマウスに経鼻接種し、48、24 もしくは 6 時間後にインフルエンザ抗原のみを経鼻接種した場合には、IgA-AFCs の誘導が認められなかった。このことから pFL と CpG の併用アジュバントは、抗原とともに経鼻接種することで、有意に特異的抗体産生細胞を誘導でき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］

13. 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/H1N1pdm09ウイルスの感染防御

合成二本鎖RNAであるAmpligenを粘膜アジュバントとして用いた2009/10季節性インフルエンザワクチン経鼻接種によるA/H1N1pdm09ウイルス感染に対する防御効果を検討した。6週齢のBALB/cマウスもしくはIgA抗体の粘膜分泌に必須であるPoly Ig受容体を欠損させた（pIg R KO）マウスに、2009/10季節性三種混合スプリットインフルエンザワクチンに含まれるA/Brisbane/59/07 (H1N1)、A/Uruguay/716/07 (H3N2)あるいはB/Brisbane/60/08ワクチンをそれぞれ単独でAmpligenと共に3週間間隔で2回、経鼻あるいは皮下接種した。最終免疫より2週間後にマウス馴化A/H1N1pdm09ウイルスを感染させ、3日目の鼻腔洗浄液および血清を回収し、各ワクチン抗原に対するIgGおよびIgA抗体の反応性、中和抗体価、およびウイルス価を測定した。その結果、A/Brisbane/59/07 あるいはA/Uruguay/716/07をワクチン抗原とした群において、A/H1N1pdm09ウイルス感染3日後の鼻腔洗浄液中ウイルス価が有意に減少することが明らかになった。一方、皮下接種をした群、および経鼻接種を施したpIg R KOでは、ウイルスの増殖を抑制することができず、鼻腔洗浄液中にA/H1N1pdm09ウイルスに対して反応性を示す分泌型IgA抗体の産生は認められなかった。この結果は、粘膜アジュバントを併用した季節性インフルエンザウイルスのスプリットワクチンの経鼻接種により、抗原性の異なるA/H1N1pdm09ウイルスの感染を阻止できることが示唆された。［相内章、伊藤良（研究生）、浅沼秀樹、鈴木忠樹*、田村愼一*、佐多徹太郎*、田代眞人、長谷川秀樹* : *感染病理部］

14. 健常人ボランティアにおける経鼻投与型インフルエンザワクチンの有効性

経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの有効性を、健康成人のボランティアを募った臨床研究により検討した。成人ボランティア50名に季節性インフルエンザウイルス（A/Victoria/210/09、H3N2）の全粒子不活化ワクチン(45 μg HA/dose)を3週間間隔で2回経鼻接種し、血清ならびに鼻腔洗浄液中の中和抗体価を測定した。鼻腔洗浄液は、生理食塩水を用いて鼻腔を洗浄することで回収し、濃縮操作により生理的濃度に調整し測定に用いた。その結果、感染の場となる上気道粘膜上にも中和活性を有する機能的な抗体応答が強く誘導されることが明らかになった。また、本ワクチン接種により誘導される血清中HI抗体価は、EMA (European Medicines Agency)の定める現行ワクチンの有効性判断基準全てを満たした。このことから、感染あるいはワクチン接種により基礎免疫を有する健康成人に対する全粒子不活化ワクチンの経鼻接種は、インフルエンザの流行を阻止するための有効なワクチン接種法になりうる。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、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、長谷川秀樹*: *感染病理部］

15. 経鼻投与型インフルエンザワクチン接種により誘導される記憶B細胞の評価

健康成人のボランティアを募った経鼻投与型インフルエンザワクチンの臨床試験において、ワクチン接種後に誘導される末梢血中の特異的B細胞メモリーについて検討した。免疫には季節性インフルエンザウイルス（A/Victoria/210/09, H3N2）の全粒子不活化ワクチンを用い、３週間隔で２回経鼻接種を行った。最終免疫３週後、末梢単核球（PBMC）を採取し、試験管内で抗原刺激を行った後、ELISPOT法を用いて特異的IgAおよびIgG抗体産生細胞（AFC）数を測定した。その結果、鼻腔洗浄液中ならびに血中における中和抗体およびHI抗体の誘導と相関して、ワクチン特異的IgAおよびIgG抗体産生細胞メモリーの誘導が認められた。このことから、全粒子不活化経鼻ワクチンは、ヒトにおいても有意に特異的AFCが誘導可能であり、特異抗体はこのAFC誘導と相関していることが明らかとなった。［Elly van Riet（流動研究員)、相内章、田村愼一*、鈴木忠樹*、浅沼秀樹、佐多徹太郎*、田代眞人、長谷川秀樹*: *感染病理部］

16. インフルエンザワクチンの SRD 力価経時安定性に関する研究

H1N1pdm09 ウイルスに対する A/California/7/2009(X-179A) 株由来の１価ワクチンに関して、カナダや豪州で SRD 力価の大幅な低下が見られワクチンの有効期限を短縮したとの報告があった。本研究では、ワクチンの品質管理として SRD 力価の安定性に関する管理基準を作成するための知見を収集することを目的とし、X-179A 株で製造された日本の参照ワクチンや他のワクチン製造株で作製したワクチンのSRD力価の経時安定性を調べた。また、ワクチンに含有される主要有効成分である HA 蛋白のアミノ酸変異と安定性の関係についても解析を行った。その結果、ワクチンの安定性がウイルス株によっては HA 蛋白のアミノ酸変異によって大きく影響を受け、インフルエンザワクチンの品質管理としてワクチンの抗原性の保持以外に，ワクチンの安定性の観点からもワクチン製造株の変異は重要な品質管理項目であることを明らかにした。［嶋崎典子、高橋仁、矢野茂生*、板村繁之、田代眞人：*血液安全性研究部］

17. モノクローナル抗体を使用したパンデミックインフルエンザワクチンの新規力価試験法の開発

A/H5N1 ウイルスをモデルに、HA 蛋白に対するモノクローナル抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA 法によるパンデミックインフルエンザワクチンの新規力価試験法の開発を行った。新規に開発した方法と従来の試験法である SRD 試験法で同一の検体について測定を実施したところ、比較的一致した測定値が得られた。但し、試験間での誤差が従来法よりも大きく、試験間でのばらつきを低減させることが課題である。今後、測定された力価と免疫原性との関連を検討していく計画である。［板村繁之、河野直子、横田恭子*、田代眞人：*免疫部］

18. 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差異に関する研究

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・形状の管理はワクチンの効果と副反応に関連する生体応答をコントロールする上で重要と考えられる。これらのワクチン製剤の抗体応答を、初回免疫のみの場合と追加免疫を実施した場合でどのように変化するか検討したところ、全粒子ワクチンでは初回免疫の場合の抗体価は高いものの、追加免疫後の抗体価はスプリットワクチンの方が高くなることがわかった。このようにして得られた知見はワクチンの品質管理を行う上で、よりワクチンの効果や副反応に関連する特性を明らかにするのに役立つことが期待される。［佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之、田代眞人］

レファレンス業務

1. サーベイランスキット作製と国内への配布

A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、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、70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。［岸田典子、徐紅、今井正樹、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］

2. インフルエンザ診断マニュアルおよび高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアルの改訂

全国の地方衛生研究所と感染研の共同作業として、平成14年に病原体検査マニュアルが作成された。しかし、初版刊行以来10年近く経過したことから、その後の検査技術の進歩を踏まえ、内容の一部を更新して改訂することになった。インフルエンザウイルス研究センターでは、インフルエンザ診断および高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアルの改訂を担当した。今回の改訂版では、インフルエンザウイルスの遺伝子解析法や薬剤耐性インフルエンザウイルスの検出法を新たに盛り込むとともに、初版後明らかになった検査法の問題点とその改善法についての記述を追加した。［今井正樹、高下恵美、岸田典子、藤崎誠一郎、徐紅、中内美名、高山郁代、松井清彦、影山努、小田切孝人、押部智宏*、小渕正次**、加瀬哲男***、川上千春****、高橋雅輝*****、平良勝也******、安井善宏*******、皆川洋子*******、調恒明********：*兵庫県立健康生活科学研究所、**富山県衛生研究所、***大阪府立公衆衛生研究所、****横浜市衛生研究所、*****岩手県環境保健研究センター、******沖縄県衛生環境研究所、*******愛知県衛生研究所、********山口県環境保健センター］

3. 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・サポート地衛研と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が稼働2年目を迎えた。今年度は、TaqManリアルタイムPCR検査系の外部精度評価試験（EQA）をコア・サポート地衛研で試験的に実施し、試験成績に応じて個別にトラブルシューティングを行い、PCR系の見直しと改善を行った。［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］

4. 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が、本年度は、A型インフルエンザウイルスの分離がなかった。［髙山郁代、中内美名、影山努、田代眞人］

5. 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

全国10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、2カ所でA型インフルエンザウイルスが分離され、これらの分離株について全セグメントの遺伝子解析を行った。その結果、1件は、A/H1N1pdmに由来したウイルス(7株とも)である事が判明し、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なかった。また、もう1件は、A/H1N2亜型のブタインフルエンザウイルス(1株)である事が判明し、全セグメントの遺伝子解析の結果、NA以外の遺伝子はA/H1N1pdm亜型に由来し、NA遺伝子はH1N2亜型ブタインフルエンザウイルスに由来しており、遺伝子交雑によって新たに出現したH1N2亜型ブタインフルエンザウイルスであると考えられた。［髙山郁代、影山努、田代眞人］

6. ヒトから分離されたH5N1インフルエンザウイルスの解析

2011年にインドネシアでヒトから分離された2株の高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1) をインドネシア共和国国立保健研究開発研究所(NIHRD)より入手し、全セグメントについて遺伝子解析を行った。［髙山郁代、白倉雅之、田代眞人、影山努］

7. インフルエザワクチンの力価測定用標準抗原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に関する国際キャリブレーションを実施した。具体的には、A/Brisbane/10/2010 (H1N1)-cell derived、B/Brisbane/60/2008、B/Hubei-Wujiagang/158/2009(BX-39)、A/mallard/Netherlands/12/2000 (NIBRG-60)(H7N3)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、原田勇一、高橋仁、板村繁之、田代眞人］

8. 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23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) (H1N1pdm09)、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、佐藤佳代子、原田勇一、高橋仁、板村繁之、田代眞人］

9. 標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)の作製

使用期限をむかえる標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)について、新規ロットを作製し、含有される抗原の CCA 価を測定し、本年度国内標準品として制定した。［嶋崎典子、高橋仁、岸田典子、板村繁之、田代眞人］

サーベイランス業務

1. 2011/12シーズン国内株サーベイランス

全国の地方衛生研究所より、A(H1N1)pdm09は9株、A(H3N2)は257株、B/Victoria系統は131株、 B/Yamagata系統106株の提供を受け、これら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。2011/12シーズンの流行の主流はA(H3N2)ウイルスであり、A(H1N1)pdm09は、9株のみが散発的に分離された。A(H1N1)pdm09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(H3N2)分離株について解析した結果、ワクチン株のA/Victoria/210/2009に類似し、MDCK細胞で分離した代表株（A/Niigata/403/2009）の抗血清に対する反応性で集計すると、ワクチン類似株は12.2%、HI価が4倍低下した株は、42.2%であった。一方、変異株として分類されるHI価が8倍以上低下した株は45.6%であり、同様の抗血清で集計した前シーズンの3〜8月までの結果に比べて、変異株の割合が増加している傾向が見られた。B型ウイルスではVictoria系統株とYamagata系統株の流行の割合は2:1であった。B/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。B/Yamagata系統について解析した結果、WHOが2012/13シーズン北半球用ワクチン株として推奨したB/Wisconsin/01/2010に抗原性が類似した株は90.9%で、抗原性が大きく変化した株は9.1%であった。［岸田典子、徐紅、今井正樹、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］

2. 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)pdm09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(H1N1)pdm09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(H1N1)pdm09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(H1N1)pdm09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。2010/11シーズンには、オセルタミビルおよびザナミビルに加えて新規薬剤ペラミビルおよびラニナミビルを含む４薬剤を対象として3,844株のA(H1N1)pdm09分離株が解析された。その結果、78株のH275Y耐性変異株が検出され検出率は2.0％であった。2009/10シーズンにおける耐性変異株検出率は1.0％であり、わずかながら上昇傾向が認められた。H275Y耐性変異株はオセルタミビルおよびペラミビルに対する感受性が低下していたが、ザナミビルおよびラニ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が、薬剤未投与例からの検出が、サーベイランス開始当初の2008/09シーズンには全耐性株中20%であったのに対し、2010/11シーズンには44%にまで上昇しており、引き続き注意深い監視が必要である。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、佐藤彩、岸田典子、徐紅、菅原裕美、伊

東玲子、土井輝子、今井正樹、田代眞人、小田切孝人］

3. 2011/12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とNA遺伝子の変化に関する情報は、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時の基盤となり、公衆衛生上極めて重要な役割を担っている。このため、現在流行しているA(H1N1)pdm09亜型, A(H3N2)亜型, B型分離株について、全国の地方衛生研究所、および独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）の協力の元に、HA及びNA遺伝子の系統樹解析を行っている。A(H1N1)pdm09亜型は今シーズンの流行レベルが低いものの解析株は全て、HA遺伝子系統樹上でA197Tを持つクレード7に属していた。A(H3N2)亜型は、HA遺伝子系統樹上で、ほとんどの株がクレード3B (N145S, A198S, N312S), 3C (S45N, T48I, A198S, N312S)に属した。また一部、クレード5 (D53N, Y94H, I230V, E280A), 6 (D53N, Y94H, I230V, E280A, S199A)に属する株も検出された。なお、次シーズンのワクチン株はクレード3Cに属するA/Victoria/361/2011株である。B型では、ビクトリア系統は全て2011/12シーズンのワクチン株B/Brisbane/60/2008に代表されるクレード1 (N75K, N165K, S172P)に属した。山形系統は、クレード2 (I248V), 3 (A68T, T125K, K186R, D340N)にそれぞれ約半数ずつ分かれて属した。次シーズンのワクチン株B/Wisconsin/01/2010はクレード3に属している。NA解析では、今シーズンはいずれの株からも薬剤耐性アミノ酸置換は検出されていない。なお、解析した遺伝子配列はインフルエンザウイルスデータベースGISAIDへ登録している。［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**、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］

4. サーベイランスキット作製と海外への配布

A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、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、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て、サーベイランスに連携している東南アジア国7カ所（中国、台湾、韓国、ミャンマー、モンゴル、ラオス、ネパール）に配布した。各国より本キットにて同定されたウイルスの提供を受け、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。［徐紅、岸田典子、今井正樹、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、金南希、佐藤彩、江島美穂、田代眞人、小田切孝人］

5. 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238株（中国85株、台湾36株、ミャンマー29株、韓国10株、ラオス44株、シリア６株、ネパール28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、A(H3N2)が主流であり、次いでBウイルス、およびA(H1N1)pdm09がわずかという流行状況だった。A(H3N2)ウイルスの流行株は前シーズンから抗原性に大きな変化はなかった。しかしA/Perth/16/2009参照株の血清に対する反応が４倍低下した株が増加していた。今シーズンのA(H3N2)ウイルス流行株の抗原性はA/Perth/16/2009に対して、変化しつつあった。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類似株であった。Yamagata系統のウイルス株は去年と比べて、増加傾向にあり、その抗原性はB/Wisconsin/1/2010類似株であった。A(H1N1)pdm09株は、2010/2011シーズンのA(H1N1)pdm09のワクチン株であるA/California/07/2009類似株であった。また、2010/11シーズンから、東南アジア諸国および近隣諸国からの株について抗インフルエンザ薬耐性の解析を行なっている。これら抗原性解析、遺伝子解析および抗インフルエンザ薬耐性解析の結果はウイルス提供国へ還元され、近隣諸国のインフルエンザサーベイランスへの向上に貢献した。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。

［徐紅、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、今井正樹、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、江島美穂、金南希、佐藤彩、田代眞人,小田切孝人］

品質管理に関する業務

1. 新型インフルエンザワクチン候補株の弱毒化確認試験に関する文書整備

平成21年4月より、村山庁舎9号棟のGMP準拠施設の稼働が開始し、新型インフルエンザワクチン株の製造およびその品質管理、安全性試験が可能になった。今年度は、ニワトリを用いた弱毒化確認試験の確立を行い、手順書の作成を行った。［川口晶、有田知子、信澤枝里、田代眞人］

2. 季節性インフルエンザワクチン製造用種株候補の増殖、保管、交付

2012/2013 シーズン用インフルエンザワクチン製造用種株候補、計16株（A/H3N2—10株, B型—6株）の増殖をGMP準拠施設内で行い、GMP管理区域内のフリーザーに保管した。各株の増殖性の検討を行った後、品質管理室に品質管理試験を依頼した。このうち12株は、ワクチン製造所へ試験交付あるいは仮交付し、ワクチン製造株としての妥当性の検討に供した。［川口晶、有田知子、白倉雅之、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人］

3. A/H5N1 インフルエンザワクチン製造用種株候補の増殖、保管

A/H5N1 ワクチン製造用種株候補7株の増殖をGMP準拠施設内で行い、GMP管理区域内のフリーザーに保管した。品質管理試験は、品質管理室に依頼した。［有田知子、川口晶、白倉雅之、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人］

4. 季節性インフルエンザワクチン製造用候補ウイルス株の品質管理試験の実施

2011-12 年シーズンのインフルエンザワクチン製造用候補ウイルス株　A/H1N1亜型2株、A/H3N2亜型1株、B型3株の試験交付、仮交付株のべ10株について、抗原分析及びHA遺伝子の遺伝子解析を実施して、ワクチン製造用株としての適性を確認した。また、インフルエンザワクチン製造用シードウイルスとして作製、保存したウイルス検体の無菌試験を実施し、シードウイルスの品質の確認を行った。［佐藤佳代子、河野直子、板村繁之、田代眞人］

5. A/H5N1 型インフルエンザワクチン製造用シードウイルス品質管理試験用抗血清の反応性解析

インフルエンザワクチン製造用ウイルス株の品質管理の一環として、海外より入手したA/H5N1型インフルエンザワクチン製造用ウイルス株の抗原性解析に用いるフェレット抗血清について、複数のcladeのA/H5N1型ウイルス抗原を用いて反応性を検証した。得られた結果は関係部署と共有し、今後のワクチン製造用ウイルス株の開発に資する。［原田勇一、高橋仁、白倉雅之、有田知子、田代眞人、信澤枝里、板村繁之］

6. 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、楠英樹*、福田靖**、田代眞人：*血液安全性研究部、**細菌第2部］

7. 分画試験法のバリデーションの実施

インフルエンザHAワクチンの分画試験において、1価のワクチン原液を用いて遠心条件及びショ糖溶液の組成等の検討を実施した。今後、全ワクチンメーカーの全粒子ワクチン・スプリットワクチンの評価を順次実施し、その結果をもとに分画試験の試験条件等の見直しを行う予定である。［佐藤佳代子、板村繁之、田代眞人］

8. 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改訂を行った。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の保管、清浄化作業の実施及び記録の保管、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。［佐藤佳代子、佐々木祐子*、小堺小由紀、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］

国際協力業務

1. WHO-GISRSにおけるグローバルインフルエンザ流行株の２次元的抗原性分析への参加と協力

WHO-GISRS(Global Influenza Surveillance Response System)メンバーであるCambridge大学グループは、ウイルス抗原性変化を２次元的に分析するCartography法を開発し、ワクチン株選定会議に貢献している。国内分離株を同手法で解析するため、感染研で解析した流行株793株のHI (H3:264株、B型:323株、H1N1pdm09:206株)と535株(H３:179株、B: 232株、H1N1pdm09:124株)のシーケンスデータをCambridge大学へ提供した。Cartographyによる解析成績はWHOワクチン株選定会議へ提供され、WHO－GISNへの貢献を果たした。［徐紅、岸田典子、藤崎誠一郎、高下恵美、今井正樹、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、金南希、江島美穂、佐藤彩、小田切孝人、田代眞人］

2. 中国遼寧省CDCからの研修生への研修

国際協力室の依頼により、H23年10月25日、中国遼寧省CDCの研修生を受け入れ、インフルエンザセンターの施設見学およびインフルエンザウイルスサーベイランスに関する技術研修、情報交換を行った。［徐紅、小田切孝人、田代眞人］

3. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの国際的標準化のための指針作成への参画

2011年7月に結成されたWHO GISRSの抗インフルエンザ薬耐性ワーキンググループに参加し、WHOインフルエンザ協力センターの研究者を中心としたメンバーとの電話会議等を通じて、抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの国際的標準化のための指針を作成した。指針は世界各国のナショナルインフルエンザセンターにおいて抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施する際の基本方針となるもので、WHOウェブサイトでの公開に向けて準備が進められている。また11月11日にリオデジャネイロで行われた第1回会議において、耐性株サーベイランスの方法に関する情報交換や耐性株判定基準についての問題点の共有をはかり、今後の継続的な活動について協議した。［高下恵美、高山郁代、小田切孝人、田代眞人］

4. 国際インフルエンザウイルスデータベース(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、ヒト及び鳥インフルエンザウイルスについての情報を各国の研究者に無償で提供することを目的としている。2011年には、ドイツで開催されたシンポジウム “Breaking Through Influenza Information Walls” で行われたGISAID技術者会議に参加し、現行のGISAIDに対する要望、変更点を提示し、他の参加者と共に具体的な改善方法について議論した。現在、検討された項目に基づき順次、GISAIDのアップデートが進められている。［藤崎誠一郎、小田切孝人、田代眞人］

5. 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月にラオスビエンチャンで開催されたWHOナショナルインフルエンザセンター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、わが国の流行株の性状と薬剤耐性株検出状況について報告した。また、第2回WHO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、藤崎誠一郎、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、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］

6. WHO A型インフルエンザウイルス亜型検出PCRプロトコールに関するWorking Group Meetingへの出席

平成23年6月14日～15日にジュネーブで開催されたWHO A型インフルエンザウイルス亜型検出PCRプロトコールに関するWorking Group Meetingに出席し、WHOのA型インフルエンザウイルス亜型検出PCRプロトコールのアップデートについてと諸外国のナショナルインフルエンザセンターに対して行っているインフルエンザウイルスのPCR亜型診断の精度管理およびその継続性について、他のWHOインフルエンザ協力センター、WHO H5リファレンスラボラトリー、ナショナルインフルエンザセンター、OFFLU と協議した。［影山努］

7. 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

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、平成23年11月30日より2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についての研修を行った。［影山努］

8. 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、NIHE及びRLs（ホーチミン・パスツール研究所、ニャチャン・パスツール研究所、タイグエン衛生疫学研究所）の職員を対象としたワークショップ「Meeting program on Laboratory Assessment of Influenza diagnostic capacity」に出席し、各研究所における鳥インフルエンザウイルスの実験室検査の詳細および地方との連携について提起された問題について協議するとともに、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］

9. H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するフェレット感染血清の作製

インドネシア国立保健研究開発研究所(NIHRD)から当センターに分与された高病原性鳥インフルエンザウイルス2株(A/Indonesia/NIHRD11771/2011, A/Indonesia/NIHRD11767/2011)の抗原解析のために、フェレット感染血清の作製を行った。ABSL3 施設において A/Indonesia/NIHRD11771/2011 株を 5 頭のフェレットに軽鼻感染させ、24 日後再感染を行った。試採血を行った結果、HI 抗体価の上昇が良くない 3 頭に対しては不活化ウイルスをアジュバントと共に接種し、ブーストを行った。結果、ホモ抗原に対する HI 価は高く、また特異性の高い反応性を示す抗血清が得られた。このうち HI 価が最も高い血清を用いて A/Indonesia/NIHRD11771/2011 と A/Indonesia/NIHRD11767/2011 株の抗原解析を行った。[有田知子、白倉雅之、今井正樹、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人]

10. インドネシアにおいてヒトから分離された H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原解析

インドネシア国立保健研究開発研究所（NIHRD）から当センターに分与された H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス 2 株（A/Indonesia/NIHRD11771/2011, A/Indonesia/NIHRD11767/2011）について抗原解析を行った。その結果、NIHRD11767 と NIHRD11771 株は、同様な抗原性を示した。また、これらのウイルス株と同クレードのワクチン候補株である A/Indonesia/5/2005 に対する抗血清と、今回、作製した NIHRD11771 株に対する抗血清との反応性から、今回分与されたウイルス株（NIHRD11767 および NIHRD11771）は、抗原性が異なっているとことが示された。今後、同クレードの分離ウイルス株の抗原性がどのように変化していくか監視していく必要がある。[白倉雅之、有田知子、今井正樹、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人]

11. インドネシア共和国国立保健研究開発研究所（NIHRD）におけるインフルエンザウイルスの遺伝子解析法の技術支援

インドネシア共和国国立保健研究開発研究所（NIHRD）においてヒトより分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1）の遺伝子解析を NIHRD と共同で行うために、NIHRD に赴き遺伝子解析に関する技術支援を行った。［白倉雅之、影山努］

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

9 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、 1 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。［板村繁之］

13. WHO 関連ワークショップ (知的所有権を留意したインフルエンザリバースジェネティックス法の検討に関して) への参加

現在、新型インフルエンザワクチン製造用種株作製に使用されている Reverse Genetics 法(RG 法)には、パテント、知的所有権に関わる使用制限がかかっている。このような制約の中で、今後各 RG 法をワクチン株開発にどのように使用していくのかに関し、協議した。［信澤枝里］

14. 細胞培養法により分離された組織培養型インフルエンザワクチン製造用種ウイルスの鶏卵培養系への適合性に関する国際共同研究への参画

細胞培養ワクチン実用化の動きと連動して、細胞培養法による種ウイルス開発のための体制が整えられつつあるが、一方で鶏卵培養法による大量製造システムも世界的視野で見れば存続していくと思われる。そこで、細胞培養法により分離された組織培養型インフルエンザワクチン製造用種ウイルスが、鶏卵培養系に適合するかどうかを検証するため、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に参画し、試験デザインの立案等を行い、プロジェクトの推進に貢献した。［山本典生、原田勇一、高橋仁、中村一哉、浜本いつき、板村繁之、田代眞人］

15. ベトナム南部における抗インフルエンザ薬耐性株サーベイラスシステム確立のための技術研修会

WHO-Viet Namからの要請を受けて、ベトナム南部における抗インフルエンザ薬耐性株サーベイラスシステムの確立をサポートするために、2011年9月にベトナムのNational Influenza Centre, Pasteur Institute Ho Chi Minh Cityで開催された抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス技術研修会にInternational Consultantとして参加した。本研修会へはNational Influenza Centreのスタッフ8名が参加し、薬剤耐性株サーベイランスに関する講義および抗インフルエンザ薬感受性試験、シークエンス解析等の検査法の実習が行われた。研修会終了後、WHO-Viet Namに対して、ベトナム南部における抗インフルエンザ薬耐性株サーベイラスシステムの確立に向けたRecommendationを提出した。［高下恵美］

研修業務

1. 平成23年度国立感染症研究所医師卒後臨床研修

10月24～28日に感染研で実施されたH23年度の医師卒後研修にて、インフルエンザの講義を担当した。［小田切孝人］

2. 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7ヶ所の検査担当職員に対し、羽田空港の東京空港検疫所支所にて、検疫所に新規に導入されたプレートタイプのリアルタイム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。研修では各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、高山郁代］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1. M. Ujike, M. Ejima, A. Anraku, K. Shimabukuro, M. Obuchi, N. Kishida, Xu Hong, E.Takashita, S. Fujisaki, K. Yamashita, H. Horikawa, Y. Kato,A. Oguchi, N. Fujita, M. Tashiro, T. Odagiri, and the Infl uenza Virus Surveillance Group of Japan1. Monitoring and Characterization of Oseltamivir- Resistant Pandemic (H1N1) 2009 Virus, Jpan, 2009–2010. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 17, No. 3, March 2011
2. 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(7),1121-1127,2011
3. M.Ozawa, ST.Victor, AS.Taft, S.Yamada, C.Li, M.Hatta, S C.Das, E.Takashita, S.Kakugawa, EA.Maher, G.Neumann and Y.Kawaoka. Replication-incompetent influenza A viruses that stably express a foreign gene. Journal of General Virology,92,2879-2888,2011
4. Dapat C, Suzuki Y, Kon M, Tamura T, Saito R, Dapat I C, Yamazaki O, Odagiri T, Fujisaki S, Suzuki H. Phylogenetic analysis of an off-seasonal influenza virus A (H3N2) in Niigata, Japan, 2010. Jpn J Infect Dis. 2011;64(3):237-41.
5. Imai M, Kawaoka Y. The role of receptor binding specificity in interspecies transmission of influenza viruses. Current Opinion in Virology, 2:160–167, 2012
6. Watanabe T, Shinya K, Watanabe S, Imai M, Hatta M, Li C, Wolter BF, Neumann G, Hanson A, Ozawa M, Yamada S, Imai H, Sakabe S, Takano R, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Ito M, Fukuyama S, Kawakami E, Gorai T,

Simmons HA, Schenkman D, Brunner K, Capuano SV 3rd, Weinfurter JT, Nishio W, Maniwa Y, Igarashi T, Makino A, Travanty EA, Wang J, Kilander A, Dudman SG, Suresh M, Mason RJ, Hungnes O, Friedrich TC, Kawaoka Y. Avian-Type Receptor-Binding Ability Can Increase Influenza Virus Pathogenicity in Macaques. Journal of Virology, 85:13195-13203, 2011.

7. Harada Y, Ninomiya-Mori A, Takahashi Y, Shirakura M, Kishida N, Kageyama T, Tada Y, Tashiro M, Odagiri T. Inactivated and adjuvanted whole-virion clade 2.3.4 H5N1 pre-pandemic influenza vaccine possesses broad protective efficacy against infection by heterologous clades of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in mice. Vaccine. 29(46):8330-8337, 2011
8. Ikeno D, Kimachi K, Ibaragi K, Kudo Y, Goto S, Odoh K, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Kino Y.Differences in the priming effect of various clades/subclades of inactivated H5N1 vaccine for booster injection with heterologous clades of vaccine strains Vaccine. :29: 4156-4161, 2011
9. Nongluk Sriwilaijaroena, A.Kadowaki,Y.Onishi, N.Gato, Mak.Ujike, T.Odagiri, M.Tashiro,Y.Suzuki Mumefuraland related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemicin flue nza A(H1N1) virus FoodChemistry 127, 1-9, 2011
10. Fukushi S, Nakauchi M, Mizutani T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S; Antigen-capture ELISA for the detection of Rift Valley fever virus nucleoprotein using new monoclonal antibodies. Journal of Virological Methods. 180(1-2);68-74, 2012
11. Nobusawa E, Omagari K, Nakajima S, Nakajima K. Reactivity of human convalescent sera with influenza virus hemagglutinin protein mutants at antigenic site A. Microbiol Immunol. 2012 Feb;56(2):99-106
12. 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. J Mol Graph Model. 2011 Sep;30:110-9.
13. A. Yoshioka, K. Takematsu, I. Kurisaki, K. Fukuzawa, Y. Mochizuki, T. Nakano, E. Nobusawa, K. Nakajima, and S. Tanaka, "Antigen-Antibody Interactions of Influenza Virus Hemagglutinin Revealed by the Fragment Molecular Orbital Calculation", Theor. Chem. Acc. 130 (2011) pp. 1197-1202.
14. Fukuzawa K, Omagari K, Nakajima K, Nobusawa E, Tanaka S. Sialic acid recognition of the pandemic influenza 2009 H1N1 virus: binding mechanism between human receptor and influenza hemagglutinin. Protein Pept Lett. 2011 May;18(5):530-9.
15. Yuasa N, Ogawa H, Koizumi T, Tsukamoto K, Matsumoto-Takasaki A, Asanuma H, Nakada H, Fujita-Yamaguchi Y. :Construction and expression of anti-Tn-antigen-specific single chain antibody genes from hybridoma producing MLS128 monoclonal antibody J Biochem. 151(4):371-81. 2012
16. Ainai A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H.:Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. J Med Virol. 84(2):336-44. 2012
17. Asanuma H, Zamri NB, Sekine S, Fukuyama Y, Tokuhara D, Gilbert RS, Fukuiwa T, Fujihashi K, Sata T, Tashiro M, Fujihashi K. :A novel combined adjuvant for nasal delivery elicits mucosal immunity to influenza in aging. Vaccine. 17;30(4):803-12. 2012
18. Nakao R, Hasegawa H, Ochiai K, Takashiba S, Ainai A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* elicit a mucosal immune response. PLoS ONE 6(10): e26163, 2011
19. Suzuki T, Ainai A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. Biochemical and Biophysical Research Communications. 14(4):719-26, 2011
20. Meguro S, Tomita M, Katsuki T, Kato K, Oh H, Ainai A, Ito R, Takeda S, Kawai T, Atsumi Y, Itoh H, Hasegawa H. Plasma 25-hydroxyvitamin D is independently associated with hemoglobin concentration in male subjects with type 2 diabetes mellitus. International Journal of Endocrinology. 2011:362981, 2011
21. Nakauchi, M., Yasui, Y., Miyoshi, T., Minagawa, H., Tanaka, T., Tashiro, M., Kageyama, T. One-step, real-time rev

erse transcriptase-PCR assays for detecting and subtyping p andemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1 N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses.J. Virol. Meth ods. 171:156–162, 2011.

22. Nakauchi, M., Yoshikawa, T., Nakai, H., Sugata, K., Yosh ikawa, A., Asano, Y., Ihira, M., Tashiro, M., Kageyama. T.:Evaluation of reverse transcription loop-mediated isother mal amplification assays for rapiddiagnosis of pandemic inf luenza A/H1N1 2009 virus. J. Med. Virol. 83:10–15, 2011
23. Fujitsuka, A., Tsukagoshi, H., Arakawa, M., Goto-Sugai, K., Ryo, A., Okayama, Y., Mizuta, K., Nishina, A., Yoshi zumi, M., Kaburagi, Y., Noda, M., Tashiro, M., Okabe, N., Mori, M., Yokota, S., Kimura, H. A molecular epide miological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness BMC Infect. Dis. 1 1: 168 (2011); doi:10.1186/1471-2334-11-168 (2011)
24. Hurt, A., Chotpitayasunondh, T., Cox, N., Daniels, R., Fry, A., Gubareva, L., Hayden, F., Hui, D., Hungnes, O.,Lack enby, A., Lim, W., Meijer, A., Penn, C., Tashiro, M., Uy eki, T., Zambon, M. Antiviral resistance during the A(H1 N1) 2009 influenza pandemic: public health, laboratory, an d clinical perspectives Lancet Infect. Dis. doi:10.1016/S147 3-3099(11)70318-8 (2011)
25. WHO Writing Group, William K. Ampofo, W. K., Baylor, N., Cobey, S., Cox, N., Daves, S., Edwards, S., Ferguson, N., Grohmann, G., Hay, A., Katz, J., Kullabutr, K., Lambert, L., Lewandowski, R., Mishra, A. C., Monto, A., Sequeira, M., Tashiro, M., Waddell, A. L., Wairagkar, N., Wood, J., Zambon, M., Zhang, W. Improving influenza vaccine virus selection. Report of a WHO informal consultation held at WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 14–16 June 2010. Influenza and Other Resp. Virus. 6: 142-152, 2012. (DOI:10.1111/j.1750-2659.2011.00277x (2011))
26. Yanagita, H., Yamamoto, N., Fuji H., Liu, X., Takaku, H., Hasegawa, H., Odagiri, T., Tashiro, M., Hoshino, T. A mechanism of drug resistance of hemagglutinin of influenza virus and potent scaffolds inhibiting its function. ACS Chem.Biol.7(3):552-62, 2012
27. Ohnishi, K., Takahashi, Y., Kono, N., Nakajima, N., Mizukoshi, F., Misawa, S., Yamamoto, T., Mitsuki, Y. Fu, S., Hirayama, N., Ohshima, M., Ato, M., Kageyama, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Kobayashi, K., Itamura, S., Tsunetsugu-Yokota, Y. Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies Jpn. J. Infect. Dis.: 65, 19-27, 2012
28. Kishida, N., Fujisaki, S., Yokoyama, N., Sato, H., Saito, R., Ikematsu, H., Xu, H., Takashita, E., Tashiro, M., Takao, S., Yano, T., Suga, T., Kawakami, C., Abe, K., Kajiyama, K., Saito, H., Shimada, S., Watanabe, S., Aoki, S., Taira, K., Yamada, T., Lin, J.-H., Odagiri, T. Evaluation of influenza virus A/H3N2 and B vaccines on the basis of cross-reactivity of postvaccination human serum antibodies against influenza viruses A/H3N2 and B isolated in MDCK cells and embryonated hen eggs Clin. Vaccine Immunol. 19: 897-908, 2012.
29. Yoshida, A., Kiyota, N., Kobayashi, M., Nishimura, K., Tsutsui, R., Tsukagoshi, H., Hirano, E., Yamamoto, N., Ryo, A., Saitoh, M., Harada, S., Inoue, O., Kozawa, K., Tanaka, R., Noda, M., Okabe, N., Tashiro, M., Mizuta, K., Kimura, H.Molecular epidemiology of attachment glycoprotein (*G*) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009-2010 J. Med. Microbiol. 61: 820–829, 2012.
30. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Continued evolution of highly pathogenic avian influenza A (H5N1): updated nomenclature. J. Influenza. Other Resp. Virus. 6:1-5, 2012
31. Sriwilaijaroen, N., Fukumoto, S., Kumagai, K., Hiramatsu, H., Odagiri, T., Tashiro, M., Suzuki, Y. Antiviral effects of Psidium Guajava Linn. (guava) tea on the growth of clinical isolated H1N1 viruses: its role in viral hemagglutination and neuraminidase inhibition.Antiviral Research 94 :139-146, 2012.
32. Members of the Western Pacific Region Global Influenza Surveillance and Response System Epidemiological and virological characteristics of influenza in the Western Pacific Region of the World Health Organisation, 2006-2010. PloS One. 7: e37568, 2012. 29 May 2012 10.1371/journal.pone. e37568 (2012)
33. Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Ishii K, Suzuki T, Wakita T. Production and characterization of HCV particles from serum-free culture. Vaccine. 29:4821-4828, 2011
34. Harvey R, Hamill M, Robertson JS, Minor PD, Vodeiko GM,

Weir JP, Takahashi H, Harada Y, Itamura S, Bamford P, Dalla Pozza T, Engelhardt OG. Application of deglycosylation to SDS PAGE analysis improves calibration of influenza antigen standards. Biologicals. 40(1):96-99, 2012

35. Sato K, Iwai A, Nakayama Y, Morimoto J, Takada A, Maruyama M, Kida H, Uede T, Miyazaki T. Osteopontin is critical to determine symptom severity of influenza through the regulation of NK cell population. Biochem. Biophys. Res. Commun. 417(1): 274-279, 2012

36. Morimoto J, Sato K, Nakayama Y, Kimura C, Kajino K, Matsui Y, Miyazaki T, Uede T. Osteopontin modulates the generation of memory CD8+ T cells during influenza virus infection. J Immunol. 187(11): 5671-83, 2011

2. 和文発表

1. 高下恵美 : Pandemic(H1N1)2009ウイルスと耐性　インフルエンザ　12: 273-278, 2011
2. 高下恵美 : Q&A耐性ウイルスは日本中に拡がっているのでしょうか　インフルエンザ　13: 30, 2011
3. 藤崎誠一郎、田代眞人 : インフルエンザの歴史と疫学　呼吸と循環 59: 961-971, 2011
4. 影山　努. : 【インフルエンザ-その現状と対応】 インフルエンザ検査法の現状と動向. 化学療法の領域. 27(12):2678-2683. 2011.
5. 大場邦弘, 小林匠, 甘利昭一郎, 生田陽二, 石川涼子, 滝有希子, 内山健太郎, 吉田知広, 野田絵理, 河野寿夫, 松井清彦, 高山郁代, 中内美名, 影山努. : Reverse transcription-Loop-mediated Isothermal Amplification(RT-LAMP)法を用いたA型およびH1 pdm 2009インフルエンザウイルス検出キットの臨床的有用性の検討. 小児科臨床. 65(2):275-279. 2012.
6. 白倉雅之、田代眞人 : 序「One flu の概念に基づいたインフルエンザ対策」化学療法の領域 27 (12): 2638-2640. 2011
7. 相内章、長谷川 秀樹 : 経鼻投与型インフルエンザワクチンの開発とその有効性　化学療法の領域、27(12):2702-2708、2011
8. 原田勇一、板村繁之 : インフルエンザワクチン　日本臨牀, 69 (9): 1567-1570, 2011
9. 山本典生 : 細胞培養インフルエンザワクチンの開発　化学療法の領域, 27(12):78-84, 2011
10. 山本典生 : 新型インフルエンザ　クリンネス, 313:8-9, 2011
11. 山本典生 : HIV ワクチンと新規抗HIV 薬の開発状況　治療, 93(11):2290-2293, 2011
12. 篠原克明, 嶋崎典子. : バイオハザード対策用防護服材料の性能評価. クリーンテクノロジー 22(6) :58-64,2012
13. 板村繁之 : パンデミックインフルエンザワクチン. 綜合臨床　60: 2215-2217 ,2011
14. 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 : 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)

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1. E.Takashita, M.Ejima, S.Fujisaki, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, M.Tashiro and T.Odagiri Surveillance of antiviral drug-resistant pandemic influenza A(H1N1)2009 viruses in Japan Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Pathogenesis of Influenza: Virus-Host Interactions, Hong Kong, May 2011.
2. E.Takashita, M.Ejima, I.Takayama, M.Nakauchi, S.Fujisaki, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, T.Kageyama, M.Tashiro and T.Odagiri Detection of antiviral-resistant pandemic influenza A(H1N1)2009 (A/H1N1pdm09) viruses by a combination of chemiluminescent and fluorescent neuraminidase inhibitor susceptibility assays in Japan XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011.
3. H.Xu, N.Kishida, E.Takashita, S.Fujisaki, R.Ito, T.Doi, H.Sugawara, M.Ejima, N.Kim, M.Tashiro, T.Odagiri, and the influenza virus surveillance group of Japan Antigenic and genetic characterizations of influenza viruses isolated in 2010/11 season in Japan XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011.
4. E.Takeda, A.Sakurai, E.Takashita and J.Yasuda Tetherin/bst-2 functions as an antiviral cellular factor against influenza virus XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011.

5. N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Ito, T.Doi, E.Takashita, S. Fujisaki, M.Ejima, N.Kim, R.Saito, H.Ikematsu, M.Tashiro and T.Odagiri Cross-reactivity of human serum antibodies elicited by trivalent influenza vaccine for 2010/11 season against influenza A/H3N2 and B viruses isolated in embry onated eggs and MDCK cells XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011.
6. C.Kawakami, E.Takashita, M.Ejima, S.Fujisaki, N.Kim, S.U suku, E.Kurata, M.Iwata, T.Toyozawa, T.Odagiri and M.Tashiro Neuraminidase inhibitor-resistant influenza A virusesdetected in the 2010/11 season in Yokohama, Japan XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011.
7. M.Nakauchi, E.Takashita, M.Tashiro, H.Nishimura and E.Nobusawa Analysis of antigenic sites on the HA protein of Pandemic influenza H1N1pdm09 virus, recognized by human antibody XV International Congress of Virology, Sapporo, September 2011.
8. I.Takayama, E.Takashita, M.Ejima, M.Nakauchi, S.Fujisaki, N.Kim, N.Kishida, H.Xu, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, T.K ageyama, T.Odagiri and M.Tashiro Improved surveillance system to detect antiviral-resistant influenza A/H1N1pdm09 viruses in Japan Influenza Antivirals: Efficacy and Resist ance, Rio de Janeiro, Brazil, November 2011.
9. I. Takayama, S. Shimada, M. Nakauchi, T. Minegishi, M. Tashiro, T. Kageyama: A quantitative definition of the 27 5H and 275Y proportion in neuraminidase of the pandemi c influenza A/H1N1 2009
   virus by real-time duplex RT-PCR assay. XV International Congress of Virology, Sapporo, September, 2011
10. H. Asanuma, M. Nakauchi, K. Sato, E. Nobusawa, A. Ai nai, N. Yamamoto, N. Konomi, H. Hasegawa, M. Tashiro: Comparison of influenza A/H1N1pdm09 vaccine productio ns in eggs versus cell cultures and the protective immune responses induce in mice. XV International Congress of V irology, Sapporo, September, 2011
11. K. Iha, M. Nakauchi, S. Taniguchi, S. Fukushi, T. Mizuta ni, M. Ogata, S. Kyuwa, M. Saijo, Victor Romanowski, Delia A Enria, S. Morikawa: Establishment of serological diagnosis of Argentine hemorrhagic fevr using recombinant antigens. XV International Congress of Virology, Sapporo, September,2011
12. K. Sato, H.Asanuma, M. Kataoka, N. Nagata, M.Tashiro, S. Itamura :Morphological characterization of A/H1N1pdm09 viruses isolated in egg from clinical specimens International Union of Microbiological Societyies, 2011 July, Sapporo
13. A.Ainai, R. Ito, H. Asanuma, T. Suzuki, T. Tanimoto, T.Odagiri, S. Tamura, T. Sata, M. Tashiro, H.Hasegawa : Intranasal administration of 2009/10 annual influenza vaccine induce the cross-protection against 2009 pandemic influenza virus infection International Union of Microbiological Societyies, 2011 July, Sapporo
14. R.Ito, A. Ainai, H. Asanuma, T. Suzuki, J. Chiba, S. Tamura, M.Tashiro, T. Sata, H. Hasegawa :Analysis of the immune responses after intranasal booster influenza vaccine with heterologous virus priming International Union of Microbiological Societyies, 2011 July, Sapporo
15. Y. Harada, H. Takahashi, M. Shirakura, E.Nobusawa, N. Yamamoto, K. Nakamura, I. Hamamoto, H. Asanuma, T. Odagiri, M. Tashiro, S. Itamura : Growth ability of reverse genetically generated influenza A/H1N1pdm09 viruses in MDCK and LLC-MK2 cell lines International Union of Microbiological Societyies, 2011 July, Sapporo
16. H. Asanuma, S. Sekine, Y. Fukuyama, A. Ainai, H. Hasegawa, M. Tashiro, K. Fujihashi :Effectiveness of Pre-administered Nasal Adjuvants for the Induction of Influenza-specific IgA Antibody Responses in the Upper Respiratory Tract. International Congress of Mucosal Immunology, 2011 July, Paris
17. K. Sato, H. Asanuma, M. Kasai, S. Itamura, M. Tashiro : Evaluation of the Incorporation of Influenza Vaccines by Antigen Presenting Cells. International Congress of Mucosal Immunology, 2011 July, Paris
18. A. Ainai, S. Tamura, E. Riet, T. Suzuki, R. Ito, H. Asanuma, T. Tanimoto, Y. Gomi, T. Odagiri, M. Tashiro, T. Sata, T. Kurata, H. Hasegawa : Intranasal Administration of an Influenza Vaccine Effectively Induces the Neutralizing Secretory IgA Antibodies on the Surface of Nasal Mucosa in Human. International Congress of Mucosal Immunology, 2011 July, Paris
19. Kawaguchi, A, Nakamura, I, Thomas, Y, Bernard Hang ombe,

Aaron Mweene, Kimura, T, David Wang, Sawa, H, Ishii, A Surveillance of retroviruses in Zambian primates (monkeys and baboons) International Union of Microbiological Societies 2011 congress, Sapporo, Hokkaido, November, 2011

20. Iha, H, Ikebe, E, Kawaguchi, A, Taguchi, S, Hishizono, A, Tanaka, Y, Sawa, H, Ogata, M, Hori, M, Hujisawa, J, Hasegawa, H.: Molecular shaperon inhibitor-based treatment against ATL: Its in vitro and in vivo evaluation. International Union of Microbiological Societies 2011 congress, Sapporo, Hokkaido, November, 2011
21. Yamazaki T, Teshima Y, Ninomiya D, Nagashima M, Arai Y, Fujimoto A, Ainai A, Hasegawa H, Chiba J. Passive immunotherapy against influenza virus infection using the expression of neutralizing anti-hemagglutinin monoclonal antibodies from plasmids by hydrodynamics-based procedure. IUMS2011 15th International Congress of Virology, Sapporo, 2011
22. Hasegawa H, Ainai A, van Riet E, Suzuki T, Ito R, Tanimoto T, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Tamura S. Intranasal administration of an inactivated whole-virion influenza vaccine effectively induces the neutralizing antibodies both in the serum and the nasal wash in human. IUMS2011 15th International Congress of Virology, Sapporo, 2011
23. Van Riet E, Ainai A, Ito R, Suzuki T, Tamura S, Tashiro M, Hasegawa H. Influenza specific IgA producing serum memory B cells correlate to protective antibodies in the serum as well as local IgA responses. IUMS2011 15th International Congress of Virology, Sapporo, 2011
24. Suzuki T, Ainai A, Nagata N, Sata T, Hasegawa H. Role of the N-terminal region of the PA subunit in nuclear import and assembly of influenza A virus RNA polymerase. IUMS2011 15th International Congress of Virology, Sapporo, 2011
25. Nakao R, Hasegawa H, Ainai A, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H. Immunological properties of outer membrane vesicle from *Porphyromonas Gingivalis*. IUMS2011 13th International Congress of BAM and Mycology, Sapporo, 2011
26. Ainai A. The protective effects of intranasal vaccination on influenza virus infection in mice, monkeys, and humans. 5th Vaccine and ISV, Seattle, 2011
27. Van Riet E, Ainai A, Ito R, Suzuki T, Tamura S, Tashiro M, Hasegawa H. Intranasal influenza vaccination in healthy human volunteers induces both systemic and local neutralizing antibodies as well as humoral memory responses. NVVI Annual Meeting 2011 (Dutch Society of Immnology), Noordwijkerhout, 2011
28. H. Takahashi, Y. Harada, N. Shimasaki, K. Nakamura, I.Hamamoto, N.Yamamoto, T.Odagiri, S.Itamura, M. Tashiro : Inefficient ability of LLC-MK2 cells in supporting the growth of influenza viruses isolated from clinical specimens: Analysis of adaptation of viruses to LLC-MK2 cells and underlying mechanism. 8th International Congress of Virology, Sapporo, September 2011
29. K. Nakamura, Y.Harada, H.Takahashi, I.Hamamoto, M. Tashiro, N.Yamamoto: Applicability of plaque-cloning method to a prevention against genetic alteration of influenza vaccine-seed. 8th International Congress of Virology, Sapporo, September 2011
30. I.Hamamoto, N.Yamaguchi, S.Ogishima, K.Miyaguchi, Y.Harada, H.Takahashi, M.Tashiro, and N.Yamamoto. Analysis of influenza virus infection in human nasopharyngeal and oropharyngeal cells. The Fourth ESWI Influenza Conference. 11 September 2011, Malta
31. T.Hoshino, H.Yanagita, H.Fuji, Xinli Liu, N.Yamamoto Development of the anti-viral agents blocking the function of hemagglutinin of influenza virus: 8th International Congress of Virology, Sapporo, September 2011
32. N.Simazaki, H.Takahashi, S.Itamura, M.Tashiro, Comparison of antigenic stability of influenza viruses and vaccines among different vaccine viruses. XV International Congress of Virology, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, September 2011.
33. T.Ohkura, Y.Kikuchi, N.Kono, S.Itamura, K.Komase, F.Momose, Y.Morikawa: Epitope mapping of neutralizing antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin and construction of its single-chain variable fragment. XV International Congress of Virology, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, September 2011.

2. 国内学会

1. 小田切孝人、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、江島美穂、金南希、田代眞人　国内外で分離された2010/11シーズンのインフルエンザ流行株について　第25回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　富山、2011年6月
2. 江島美穂、高下恵美、藤崎誠一郎、金南季、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グループ　抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスおよび耐性株検出状況について　第25回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　富山、2011年6月
3. 川上千春、百木智子、七種美和子、宇宿秀三、岩田真美、豊澤隆弘、高下恵美、江島美穂、小田切孝人、田代眞人　2010/2011シーズンに横浜市で検出した抗インフルエンザ薬耐性ウイルス　第25回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　富山、2011年6月
4. 高下恵美、本村和嗣　2010/11シーズンにおける日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株検出状況　第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会　山形、2011年10月
5. 川上千春、七種美和子、岩田眞美、高下恵美　横浜市におけるA型インフルエンザウイルスの薬剤耐性株サーベイランス　第60回日本感染症学会東日本地方会学術集会　山形、2011年10月
6. 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、江島美穂、金南希、佐藤彩、田代眞人、小田切孝人「インフルエンザワクチン接種後のヒト血清抗体の交叉反応性をもとに評価した2010/11シーズンA/H3およびB型ワクチンの効果」第15回日本ワクチン学会学術集会、東京、2011年12月
7. 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金南希、岸田典子、徐紅、今井正樹、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、佐藤彩、田代眞人、小田切孝人　抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの検出と性状解析　First Negative Strand Virus-Japan Symposium　長崎、2012年1月
8. 小田切孝人　インフルエンザワクチン株選定プロセスとワクチンの問題点　First Negative Strand Virus-Japan Symposium　長崎、2012年1月
9. 小田切孝人　ヒトのサイドから見た高病原性鳥インフルエンザの流行とワクチン開発　第153回日本獣医学会学術集会　大宮、2012年3月
10. 相内章、浅沼秀樹、谷本武史、小田切孝人、田村愼一、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/H1N1pdm09ウイルスの感染防御　第15回日本ワクチン学会学術集会、東京、2011年12月
11. 相内章：粘膜免疫を利用した経鼻インフルエンザワクチン　第１回 家畜感染症学会シンポジウム、東京、2011年6月
12. 不動聡志, 石井和彦, 小川博史, 松浦崇晃, 柳田浩, 額賀路嘉, 山本典生, 鈴木優章, 根矢三郎, 星野忠次　インフルエンザエンドヌクレアーゼ活性部位の計算機解析と阻害化合物の探索　日本薬学会 132 年会、札幌 2012 年 3 月
13. Kayoko Sato, Atsushi Iwai, Yosuke Nakayama, Junko Morimoto, Ayato Takada, Hiroshi Kida, Toshimitsu Uede, and Tadaaki Miyazaki： Distinct involvement of osteopontin in the infection of different types of influenza viruses. 第 10 回オステオポンチン研究会、札幌、2011 年 6 月
14. Kayoko Sato, Michiyuki Kasai： Trafficking and delivery of influenza vaccines by antigen presenting cells. 第 41 回日本免疫学会学術集会、千葉、2011 年 11 月
15. 小渕正次、高下恵美、堀元栄詞、小原真弓、岩井雅恵、江島美穂、小田切孝人、小西道雄、佐多徹太郎、滝澤剛則：富山県におけるノイラミニダーゼ阻害薬耐性インフルエンザ A(H1N1)2009 ウイルスの検出、第 48 回細菌学会中部支部総会、2011 年 10 月
16. Itsuki Hamamoto, Nobumasa Yamaguchi, Soichi Ogishima, Ken Miyaguchi, Yuichi Harada, Hitoshi Takahashi, Masato Tashiro, and Norio Yamamoto. Analysis of influenza virus infection in human nasopharyngeal and oropharyngeal cells. 第 34 回日本分子生物学会、横浜、2011 年 12 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22万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安全な運用について協議する「安全連絡協議会」の第4回協議会を平成24年3月14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23年度科学技術週間にあわせて4月16日に行った。今年は例年と同様、近隣市民に「新しい結核・ハンセン病ワクチンの開発に向けた取り組み」の題名で田村敏生室長が講演した。さらに11月12日には「感染症に関する市民公開講座」として渡邉治雄所長が「感染症への対応～国立感染症研究所の役割」と題して講演を行った。市民と感染研との意思疎通を密にし、感染症に対する知識の普及に努めている。

毎夏開催のハンセン病医学夏期大学講座は東日本大震災による電力不足の為、中止せざるをえなかった。

最後になるが、平成23年3月11日の東日本大震災に被災された方々に心よりお見舞い申し上げます。当センターは大震災による直接の被害はなかったものの、電力不足によって研究活動などに支障がおこった。

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。

行政検査実績（石井則久、鈴木幸一、石藤雄子）

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、薬剤耐性遺伝子検査である。

平成 23 年度（平成 23 年 4 月～平成 24 月 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 23 症例、60 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 1 件であった。 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。なお、平成 19 年度から薬剤耐性遺伝子検査を開始した。

23 症例の最終診断は、4 例は新規にハンセン病と診断、4 例はハンセン病の再発と診断し、15 例はハンセン病でなしと診断した。

また皮膚スメア検査のサポートも行い、平成 23 年度は 27 件のスメア標本の染色、検鏡を行った。

各年度の検査件数は表 2 の通りである。本邦のハンセン病新規患者数は平成 23 年は 5 名であった。

ハンセン病の発生動向と検査件数を対比すると、近年は鑑別診断のために行政検査を利用する傾向がみられる。さらに、平成 23 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（再発患者）あり、リファンピシン、DDS、キノロンの 3 剤に耐性（多剤耐性）を示した。

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。

表 1. 平成 23 年度（2011 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	35
総検査件数	60
病理学的検査件数	14
血清抗体価検査件数	13
PCR 検査件数	28
薬剤耐性遺伝子検査件数	5
実症例数	23

表 2. 行政検査実績の推移

年度	受付数（番号）	総検査数	病理件数	血清件数	PCR件数	薬剤耐性件数	実症例数
H9 年度	22	27	7	13	7	0	22
H10 年度	23	31	5	21	5	0	31
H11 年度	21	33	10	13	10	0	21
H12 年度	31	50	19	12	19	0	17
H13 年度	693	737	27	657	53	(2)	671
H14 年度	195	261	43	138	80	0	154
H15 年度	27	54	13	21	20	(3)	23
H16 年度	55	98	23	40	35	(4)	37
H17 年度	82	104	15	64	25	(3)	72
H18 年度	35	62	18	12	32	(10)	29
H19 年度	119	163	30	68	47	18	99
H20 年度	64	95	14	22	47	12	44
H21 年度	32	53	9	9	30	5	25
H22 年度	28	51	12	8	25	6	22
H23 年度	35	60	14	13	28	5	23

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23年4月より同24年3月までの1年間において、のべ 26 回、62 匹、 5 施設（国内 3、国外 2）、11 名（国内 9、国外 2）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

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　　西條　政幸

概　要

図書室は二係あり、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］

図書係においては、上記業務のほか、平成 23 年度より総務部として研究成果の収集保存を行うこととなり図書係が業務を担当した。

また三庁舎図書委員会の事務局を担当しており、委員会所掌事務の取り纏めや調整を行った。

今年度の資料受入状況および文献相互貸借状況は以下のとおりである。

資料受入状況			洋	和	合計
雑　誌			195	188	383
	購　入		144	36	180
		電子版	106	0	106
	交　換		26	5	31
	寄　贈		25	147	172
単行本			209	102	311
	購　入		134	36	170
	寄　贈		75	66	141

文献相互貸借状況			供与	依頼	合計
総　数			514	977	1,491
	三庁舎間		130	130	260
	外部機関総数		384	847	1,231
		協力機関	310	350	660
		国公立大学/機関	59	407	466
		私立大学/機関	15	90	105

［編集翻訳係］

編集翻訳係では、平成 23 年度は JJID vol. 64 no. 1-6 を刊行し、JJID ホームページでも全論文の PDF ファイルを公開した。

本年 4 月に編集委員長が倉根一郎から西條政幸に替わった。編集委員は、佐多徹太郎、荒川宜親が退官し、長谷川秀樹、柴山恵吾が加わった。和田昭仁が辞め、10 月には黒田誠が加わった。編集方針に変更はない。

JJID にとって大きな節目となる方針が決まった年であった。第一に、印刷体の原則廃止である。従来通り掲載論文の PDF ファイルをホームページで公開し、印刷体は感染研図書館、国会図書館、米国医学図書館などで学術雑誌として保管するために少数部数のみ残すことに決まった。第二に、現在紙媒体で行っている投稿・審査などを費用負担の発生しないオンライン化システムに変更するため、科学技術振興機構（JST）が運営する電子ジャーナル共同利用センター（J-STAGE)に参加し、そのシステムを利用することに決まった。その方針に即して平成 24 年度から活動することになる。

今年度の JJID の発行概略は以下の通りである。

発行頁数（掲載論文数）　no. 1/94 頁(21 編）、2/80(19)、3/90(19)、4/94(21)、5/96(19)、6/102(18)

発行部数　690→650 部

寄贈先　　国内―大学、衛研等　　約 180 機関
　　海外―大学、研究所等　約 340 機関
　　（約 75 ヵ国）

投稿論文数　感染研内　18 編
　　国内　　85 編
　　海外　　126 編（21 ヵ国）

採択率　　40%

２４．ハンセン病研究センター

感染制御部

部長　牧野正彦

概　要

感染制御部においては、らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌に起因する疾病の病態生理・発症機構の解明ならびに診断・治療・予防に関する研究業務とハンセン病に関する行政検査を行っている。今年度は、3 月 11 日に発生した東日本大震災及び福島第 1 原発の事故による影響で夏期期間中大規模な節電を余儀なくされ、オートクレーブ及び冷房の使用制限、フリーザーの運転中止など大規模な電力使用制限を行った。種々の研究業務を事実上制限せざるを得なかったが、幸いにも熱中症などの病人は出なく何とか夏を乗り切ることができた。また、12 月にさいたま市大宮区の大宮ソニックシティで開催された日米医学協力計画結核･ハンセン病専門部会第 46 回日米合同会議を牧野が主催し、日米双方から興味深い演題が報告され、活発な討議が繰り返された。日米のメンバーならびに御協力を頂いた関係諸氏にこの場を借りて厚く御礼申し上げたい。ハンセン病の研究においては、らい菌の代謝系に関する研究が新たに開始され、日本国内外から大きく評価された。試験管内で培養できないらい菌の特殊性が反映されるものと考えられるが、他の抗酸菌とは明らかに異なる代謝産物が菌体内に蓄積されていた。今後、様々の研究に応用可能であり、ハンセン病の研究が益々進展するものと期待される。また、WHO の薬剤耐性監視事業に参加し、アジア諸国の再発患者から採取された薬剤耐性らい菌の DNA を検索し、地球規模での薬剤耐性菌の出現状況に関する疫学調査に貢献した。さらに、当部で開発したハンセン病の早期発見技術の技術移転を中国及び台湾へ図り、これらの国々におけるハンセン病制圧計画の進展に大きな貢献を果たした。昨年度まで行ってきたハンセン病のワクチン開発及び免疫療法の開発に関する研究は本年度も引き続き行われ、ワクチン開発の研究では一定の効果を有するリコンビナント BCG 接種の後に追加免疫用ワクチンとして用いられるべき蛋白の開発が主な研究テーマとして設定された。ハンセン病の末梢神経障害は、化学療法により生きたらい菌を死滅させた後も悪化することから、らい菌抗原を保持する抗原提示細胞の生体外排除法の開発が免疫療法の中心となるが、当部で発見したらい菌由来のリポ蛋白に由来するリポペプチドが､CD4 陽性キラーT 細胞及び CD8 陽性キラー T 細胞の分化誘導に極めて有用な役割を果たし、これらの T 細胞は細胞内らい菌を効率的に殺戮することが明らかにされた。

結核の研究では、ワクチン開発が中心として展開された。日本の結核発症者の多くは高齢者であるため、高齢者の結核発症を予防するための基礎研究が主に行われた。キラーCD8 陽性 T 細胞へ分化し得る長期生存型メモリー CD8 陽性 T 細胞の機能維持が極めて重要となるが、樹状細胞との相互作用によって活性化したタイプ 1 CD4 陽性 T 細胞が産生する IL-17F が、初回免疫ワクチンにより産生されたメモリーT 細胞からキラーT 細胞への分化誘導に必須であることが明らかとなった。今後 IL-17F を産生する具体的ワクチンの作出への展開が期待される。また、初回免疫用ワクチンとして用いる新規リコンビナント BCG の作製が行われた。これまで開発してきたハンセン病用リコンビナント BCG の作製で得られた知見をもとに、新しいリコンビナント BCG を作出した。得られた新規リコンビナント BCG はヒト未感作 CD4 陽性 T 細胞および未感作 CD8 陽性 T 細胞を強く活性化した。今後、マウスなどの小動物を使ったワクチンとしての有用性の検討が待たれる。

非結核性抗酸菌の研究では、昨年度に引き続きブルーリ潰瘍の研究が中心に行われた。

最後に人事であるが、4 月 1 日付で松岡正典と儀同政一が再度再任用職員として採用され、3 月 2 日には全生園の内科医師下袴田陽子が併任者として採用された。

業績

調査・研究

Ⅰ．抗酸菌の病原性因子と病変発症機構に関する研究

１．シュワン細胞を用いた神経障害機構の解明

らい菌のシュワン細胞への感染がヒト末梢神経障害

の誘導に深く関与しているが、その障害機構は未だに不明である。らい菌感染ヒト由来シュワン細胞を用いて、heterologous T 細胞の活性化能を *in vitro* で検討した結果、T 細胞からの IFNγ産生が見られた。このことから、らい菌感染シュワン細胞は T 細胞を活性化する可能性が示唆された。

［前田百美、遠藤真澄、牧野正彦］

２．らい菌の宿主細胞内寄生機構に関する研究

らい菌は宿主のマクロファージに感染した後にファゴゾーム内に潜伏する。そのファゴゾーム内には豊富な脂質が蓄積しており、それが菌の細胞内寄生を可能にする重要な役割を果たすと考えられる。脂質の蓄積のためには感染後の ADRP の発現誘導が必要で、蓄積された脂質の異化作用抑制には HSL の発現抑制とともに、リン酸化も抑制されることを明らかにした。多菌型ハンセン病患者皮膚病片では、実際に HSL 発現が低下しており、薬剤治療後には回復することを明らかにし、HSL が治療効果や予後判定の指標として有用である可能性を示した。

［鈴木幸一］

３．抗酸菌代謝系の動態解析

抗酸菌の代謝機構が病原性に与える影響を解明するため、結核菌、*M. bovis BCG*、*M. avium* complex 及び *M. smegmatis* から菌体内代謝成分を抽出し、そこに含まれる化合物の構成・量比を抗酸菌間で比較した。その結果、一部の代謝系関連物質についてその構成・量比が抗酸菌間で異なる傾向を示すことが判明した。この結果は、抗酸菌の菌種間においても代謝系の仕組みに違いが存在することを示しており、病原性等の抗酸菌の特徴に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

［宮本友司、向井　徹、牧野正彦］

４．抗酸菌の katG 遺伝子の解析

カタラーゼ-パーオキシダーゼをコードする katG 遺伝子は結核菌の病原性因子の一つであり、イソニアジド耐性に強くかかわっているが、非結核性抗酸菌 *M. smegmatis* のゲノムには３種類の異なる katG 配列が同定されている。katGI、katGII に次いで第三の katG である katGIII の破壊株を作成し、過酸化水素感受性、およびイソニアジド感受性を調べたが、変化が見られず、この遺伝子を強制発現させても両酵素活性は見られなかったことから、*M. smegmatis* は katGI、katGII により活性酸素を処理していることが示唆された。

［中田登、甲斐雅規、鈴木幸一、牧野正彦］

II. 生体防御機構とワクチン開発に関する研究

１．らい菌由来リポ蛋白 LpK の免疫学的な解析

らい菌由来 LpK の合成リポペプチド LipoK は、樹状細胞の成熟化を誘導し、らい菌抗原を T 細胞に提示することによって免疫応答を引き起こすことを明らかにしてきた。今回詳細にマイクロアレイ３D-Gene Human Oligo chip 25 を用いて樹状細胞の遺伝子発現を検討した。らい菌感染樹状細胞を LipoK で刺激した細胞と CD40 リガンドで刺激後の遺伝子発現を比較すると IL-12, IL-1β, IL-6, TNF-SF7, NF-kB12 等の発現は LipoK 刺激後の樹状細胞では 8 倍増加していた。同様にケモカイン CCL2, CCL7,CCL8,CCL20 等の発現も高く見られた。

［前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦］

２．ハンセン病のワクチン開発に関する研究

三種類の抗原からなる 2 種類の融合蛋白を大腸菌で作成し、C57BL/6J マウスを用いてらい菌の増殖制御を検討した。アジュバント存在下で３回蛋白抗原を皮下接種したのち、らい菌を footpad に接種した。らい菌の増殖を７ヶ月後に調べた結果、これら新しく作製した融合蛋白はらい菌増殖を抑えることが明らかとなった。

［前田百美、田村敏生、Malcolm Duthie (Infectious Disease Research Institute, Seattle),松岡正典、牧野正彦］

３．らい菌感染モデルサルの樹立

ハンセン病を発症する動物は、現在ヒトとサル以外に知られていない。そのためワクチン候補の効果判定・安全性確認のため、サルの感染系が必要になる。幼若および新生仔カニクイザルにらい菌を接種し、その経過解析を進めている。これまでに、新生仔接種において、散発的に鼻腔洗浄液よりらい菌 DNA 検出個体が確認された。

［向井　徹、松岡正典、片貝裕子（予防衛生協会）、牧野正彦］

４．効率的な抗原発現を行う BCG の開発

M.bovis BCG を宿主としたハンセン病ワクチン開発のため、抗酸菌ファージプロモーター領域を用い、らい菌抗原と BCG 抗原の融合蛋白分泌する遺伝子を *Urease C* 遺伝子部位と置換した。さらに、組換え菌選択に用いた薬剤耐性遺伝子の除去を行い、安全性の高い菌各種組換え BCG の調整を進めている。ワクチン開発に有用と考えられた。

［向井　徹、福富康夫、宮本友司、前田百美、牧野正彦］

５．新規結核ワクチン開発のための基礎研究

(1)結核菌分泌蛋白による Th1 分化誘導機序の解析-

結核菌分泌蛋白由来のペプチド(Peptide-25)は、転写調節因子 TAF7 の発現を誘導し、ifn-γ 遺伝子のクロマチンリモデリングを誘導することで Th1 細胞への分化を開始し、さらに CD4 と会合している Lck などのチロシンキナーゼを介して STAT4 の活性化を誘導し IL-12 に対する反応性を獲得することで Th1 細胞への分化を決定させる活性を有していることを示した。

［田村敏生、牧野正彦］

(2) 結核菌分泌蛋白による機能的細胞傷害性 T 細胞の分化誘導機序の解析-

結核菌分泌蛋白由来のペプチド(Peptide-25)は、細胞傷害性 T 細胞の活性化調節作用を有するサイトカインである IFN-γ を産生する Th1 細胞と樹状細胞の活性化誘導作用を有する可能性があるサイトカインである IL-17F を産生するヘルパーT 細胞亜集団への分化を誘導することで機能的細胞傷害性 T 細胞の分化・活性化を強力に誘導することを示した。

［田村敏生、牧野正彦］

６．組み換え BCG を用いた結核菌新規ワクチン開発

（1）HSP70-MMP-II 融合蛋白質発現組み換え BCG の作製

これまでの組み換え BCG の研究から、シャペロン分子 HSP70 およびらい菌由来膜蛋白質 MMP-II の融合蛋白質を発現させた組み換え BCG をワクチンとしてマウスに投与するとらい菌の増殖を抑制することが明らかになっている。結核菌の新規ワクチン開発のため、HSP70 と結核菌由来膜蛋白質 MMP-II の融合蛋白質を発現する組み換え BCG を作製し、解析を開始した。

［塚本裕美子、牧野正彦］

（2）HSP70-MMP-II-CysO 融合蛋白質発現組み換え BCG の作製

結核菌の活動期に強く発現する遺伝子である CysO を HSP70-MMP-II 融合蛋白質に更に融合させた HSP70-MMP-II-CysO を発現する組み換え BCG を作製し、結核菌に対するワクチン効果についての解析を開始した。

［塚本裕美子、牧野正彦］

７．噴霧感染器を使用したマウスへの結核菌感染方法の確立

結核菌は主に飛沫感染することが知られているため、実験動物をモデル系として使用する場合にも飛沫感染により結核菌を感染させることが望ましい。そこで噴霧感染器を使用したマウスへの結核菌感染の条件検討を行い、安定的に結果を再現できる条件を決定した。さらに、先行研究と比較しやすい条件を得るため詳細な条件検討を行い、実験に使用できる条件を決定した。

［塚本裕美子、牧野正彦］

III.　病原性抗酸菌症の診断および治療に関する研究

１．ハンセン病の新しい血清診断の開発

これまでに血清診断用の抗原として、Major Membrane Protein-II（MMP-II）の有用性を検討してきた。ハンセン病流行地である、インドネシア、ベトナムの患者血清中の抗 MMP-II 抗体値を測定した結果、抗 MMP-II 抗体の陽性率は高く、血清診断に有用であることが示唆された。前回中国の患者血清はインドネシアと比べて比較的低い抗体値(OD)を示したことを報告した。プロトコールを改善した結果、多菌型患者（n=45）では 82％と高い陽性率を示した。

［前田百美、Wang Hongsheng (Chinese Academy of Medical Sciences),甲斐雅規、牧野正彦］

２．ハンセン病の血清診断

先行研究により、らい菌由来膜蛋白質 MMP-II を使用したハンセン病の血清診断は従来のものよりも高感度にらい菌への感染を検出できることが明らかになっている。らい菌膜由来蛋白質 MMP-I は MMP-II よりも多量にらい菌の膜画分に存在し、より高感度に血清診断を行える可能性がある。そこで、らい菌由来膜蛋白質 MMP-I を抗酸菌 *M. smegmatis* に発現させ、His タグを用いて精製し ELISA 法によりハンセン病の血清診断を試みた。

［塚本裕美子、牧野正彦］

３．ハンセン病の有効な検査法の開発改良

らい菌は試験管内培養が出来ないために、菌の同定には PCR 法が用いられているが必ずしも感度および特異性が十分では無い。そこで、様々な PCR プライマーを設計し、他の抗酸菌と交叉反応が無く、かつ感度良く検出できる方法について検討を行い、RLEP に対する nested PCR の有用性を確認した。また、侵襲性の低い皮膚スメア検査材料から、菌や宿主の遺伝子発現レベルから病態を反映する指標を検討するために、多くのプラマーを用いて臨床材料でのデータを集積した。

［鈴木幸一］

４．肺結核症の新規診断法の開発

結核症はツベルクリン皮内反応などで診断されてきたが、BCG 菌との交差反応などの問題点があった。最近は結核菌特異的抗原を使用するクォンティフェロン(QFT)検査などのインターフェロンガンマ放出アッセイ(IGRA)が臨床の場に使用されているが、IGRA は新規感染と既感染を区別することはできない。そこで QFT 陽性者の末梢血単核球の中で結核菌特異的タンパクのみを認識するリンパ球を識別する解析法(テトラマーアッセイ)を開発し、新規感染と既感染を鑑別できるかどうか検討中である。

［星野仁彦、工藤翔二（複十字病院）、永井英明（国立病院機構東京病院）、牧野正彦］

５．潜在性肺結核症診断法の開発

結核菌は治療後も患者肺内に潜伏し細胞性免疫の減弱と共に再活性化し活動性結核を再燃することがある。潜在性結核症の活動性を評価する方法として、結核菌が潜伏期に発現するとされるタンパク質を使用し、患者末梢血単核球を用いたアッセイで潜在性結核の活動性を評価できないか検討中である。

［星野仁彦、永井英明（国立病院機構東京病院）、工藤翔二（複十字病院）、横田恭子（免疫部）、松本壮吉（大阪市立大学細菌学）、有吉紅也（長崎大学熱研内科）、牧野正彦］

６．病原性抗酸菌の分離･同定・薬剤感受性に関する研究

培養や同定が困難な病原性抗酸菌について、1. 培養条件の検討、2. 菌の生化学的性状、3.各種遺伝子の配列解析､による分離･同定および薬剤感受性に関して検討し、これまで報告のない皮膚疾患および肺疾患由来の新種抗酸菌の分離･同定に成功し､症例を収集中である。また、一般の方法では鑑別できない *M. abscessus* と *M. massiliense* 症を鑑別する簡便なマルチプレックス PCR 法を開発した。また、水棲動物の非結核性抗酸菌症について、人への感染性を検討中である。

［中永和枝、深野華子（日本獣医生命科学大学）、和田新平（日本獣医生命科学大学）星野仁彦、牧野正彦、石井則久］

７．抗酸菌のフルオロキノロンの耐性変異に関する研究

M. smegmatis の *gyrB* 遺伝子、および *gyrA* 遺伝子をそれぞれ単独で結核菌のものと交換することにより、これら遺伝子上の変異とフルオロキノロン耐性の関係を直接試験できる実験系を開発済みであるが、*gyrBA* 遺伝子を一括して交換する系を新たに開発した。さらに *M. bovis* BCG をホスト菌として用い、*gyrBA* 遺伝子導入ベクターを改良することによってさらに正確な試験が可能となった。開発した試験系を用いて *gyrBA* 遺伝子変異とフルオロキノロン耐性の関係について詳細に検討している。

［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

８.らい菌 の薬剤耐性菌遺伝子変異の迅速検出法に関する研究

ハンセン病治療薬に対する耐性と遺伝子変異の検出で、より簡便、迅速な新しい検査法確立を目指した。ダプソン耐性で folP1 の 53 位と 55 位の変異、リファンピシン耐性では rpoB の 410 位、420 位、425 位、427 位の変異、キノロン耐性は gyrA の 89 位、91 位の変異に関し、各変異部位を Forward プライマーの 3’末端とし、末端塩基のみ異なる 4 種のプライマーを設計しそれらと共通の Reverse プライマーによるリアルタイム PCR 法により増幅効率の違いから末端塩基を同定し変異の有無を知る方法を確立した。また、ベトナムのハンセン病患者由来臨床サンプルを用いて､通常の PCR 法及びシーケンスによる結果と比較した結果、その有効性が示めされた。

［甲斐雅規、中田　登、松原久美子、牧野正彦］

９．研究蛍光色素を利用したマクロファージ内抗酸菌の生死鑑別

Cyano-tetrazolium chloride CTC は還元反応を受けると蛍光を発する分子であり、呼吸活性を有する生菌の検出に利用できる試薬として注目されている。そこで､*in vitro* 培養におけるマクロファージ内抗酸菌の生死判別への利用を試みた。マウスから腹腔細胞を回収して培養し、ガラス付着性マクロファージを得て *M. avium* complex (MAC)を感染させて培養を継続した。CTC 添加後共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、IFN-γ で刺激したマクロファージ中の MAC の蛍光強度が対照培養マクロファージ中の MAC に比べて著明に低下していたことから、抗菌活性を発現している細胞を検出できる有用な試薬であることが分かった。

［福富康夫、星野仁彦、前田百美、牧野正彦］

１０．ヒトマクロファージの抗らい菌活性発現機構の解明

M-CSF 存在下で培養して得られた末梢血単球由来マクロファージに oregon green で標識したらい菌を添加し貪食させた後、48 時間培養した。IFN-γ 存在下で培養すると、ウエスタンブロット法のより NADPH オキシダー

ゼを構成する phox タンパクの発現が著明に増強することが分かった。また、共焦点レーザー顕微鏡による観察により、IFNγマクロファージではらい菌周囲への phox タンパクの集積が観察され、さらに、CTC の蛍光分子への還元反応が低下したことからもらい菌の呼吸活性の低下が認められた。よって、スーパーオキサイド産生酵素である NADPH オキシダーゼの発現がらい菌に対する殺菌作用を増強している可能性が示唆された。

［福富康夫、前田百美、松岡正典、牧野正彦］

Ⅳ.らい菌の生理機能及び遺伝情報に関する研究

１．らい菌ゲノムの次世代シークエンス解析

次世代ゲノムシーケンサーにて、増殖速度が標準株 Thai-53 と比べ遅い株である Kyoto-2 の全シーケンスが決定した。現在 DNA データバンクへの登録中である。全ゲノムシークエンスが解明されているらい菌 TN 株、Br4923 株との相互比較を行ない、Kyoto-2 株から、らい菌の増殖に関与する遺伝子もしくは遺伝子群の検索を行っている。これまでに、Kyoto-2 株で特徴的であり、増殖能に関与することが疑われる箇所を 4 か所同定した。また、これまで同定してきた SNPs 情報より、らい菌の分子疫学に利用できそうな SNPs パターンを発見したので、検討を行っている。

［甲斐雅規、中田　登、松岡正典、牧野正彦］

Ⅴ．抗酸菌の抗原性および補助因子に関する研究

１．ミコール酸合成系に関する研究

ミコール酸合成系のうち mmaA4 及び mmaA2 遺伝子の破壊株を BCG 菌コンノート株で作成した。破壊株の構成ミコール酸を調べたところ mmaA4 破壊株がらい菌のミコール酸と類似していることがわかった。変異株の電子顕微鏡観察を行ったところコード形成に違いが見られた。そこで、破壊した元の遺伝子を持つプラスミドを、破壊株に戻した復帰変異株を作成し、電子顕微鏡像とコード形成能について解析を行っている。コード形成能を電顕によらず簡便し測定する方法が確立したので、現在コード形成に関与する各遺伝子機能を解析している。

［甲斐雅規、宮本友司、向井　徹、牧野正彦］

Ⅵ.ブルーリ潰瘍および近似疾患に関する研究

1.　*Mycobacterium　ulcerans* 感染症に関する研究

M.ulcerans によるブルーリ潰瘍は難治性の皮膚疾患である。これまでに、マウス実験感染モデル系を用い Rifalazil の有効性や末梢神経傷害と毒性脂質マイコラクトンの関係を明らかにした。また日本のブルーリ潰瘍（“*M. ulcerans subsp. shinshuense*”感染症）34 症例を収集し、世界のブルーリ潰瘍との比較研究、近縁菌 *M. marinum, M. pseudoshottsii* などマイコラクトン産生抗酸菌との比較研究を展開中である。

［中永和枝、星野仁彦、四津里英（国立国際医療研究センター）、牧野正彦、石井則久］

Ⅶ．ハンセン病の疫学に関する研究

１．日本のハンセン病疫学の歴史的研究

日本におけるハンセン病の流行とその終焉への過程は未だ明らかではない。また、感染症対策としてのハンセン病政策がハンセン病の流行と終焉にどのような役割を果たしたのかも不明である。本研究ではハンセン病を疑われるヒト骨化石から、らい菌の DNA を検出し、その SNPs を調べ､各時代にどの地域でハンセン病の流行があったのか、その菌は世界のどこから伝搬したのか、埋葬の形式などにハンセン病特有の文化的扱いがあるのかなどを調べた。現在はこの事例を増やしている。また、明治末に始まる感染症対策としての日本のハンセン病政策が新規患者の減少にどのような影響を与えたのかを、ハンセン病療養所の統計記録や、諸外国のハンセン病政策研究、諸外国のハンセン病療養所の統計記録などから考証している。

［森　修一、鈴木幸一、石井則久］

らい菌の供給

平成 23 年 4 月より同 24 年 3 月までの間において、26 回、62 匹、 5 施設（国内 3、国外 2)、11 名（国内 9、国外 2）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。［甲斐雅規・天内肇］

らい菌感染ヌードマウス足蹠の分与

（平成 23 年 4 月より平成 24 年 3 月）

Ｎｏ．	年月日	分与先		マウス匹数
	平成 23 年	Thai53		
１）	4.19	前田	ハンセン研	2
２）	4.26	前田	ハンセン研	1
３）	5.26	前田	ハンセン研	1
４）	5.26	宮本	ハンセン研	1
５）	6.7	天児	九大	1
６）	6.8	前田	ハンセン研	1
７）	6.8	中田	ハンセン研	1
８）	6.24	甲斐	ハンセン研	2
９）	6.24	甲斐	ハンセン研	2
１０）	7.20	前田	ハンセン研	1
１１）	8.11	前田	ハンセン研	1
１２）	8.29	松岡、WHO	ハンセン研	2
１３）	9.1	甲斐	ハンセン研	8
１４）	9.12	松岡、福富	ハンセン研	3
１５）	10.18	天児	九大	1
１６）	11.9	甲斐	ハンセン研	1
１７）	11.10	前田	ハンセン研	1
１８）	11.21	増澤	北里大	2
１９）	12.1	前田	ハンセン研	1
２０）	12.22	甲斐	ハンセン研	10
２１）	平成 24 年 1.31	D.Williums（松岡）	ルイジアナ州立大	12
２２）	2.2	前田	ハンセン研	1
２３）	2.29	松岡、WHO(Cambau)	フランス	2
２４）	3.1	藤村	北里大	2
２５）	3.7	前田	ハンセン研	1
２６）	3.16	前田	ハンセン研	1

40+22(外部)=62

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Tsukamoto Y., Endoh M., Mukai T., Maeda Y., Tamura T., Kai M., and Makino M. 2011. Immunostimulatory activity of major membrane protein II from *Mycobacterium tuberculosis*. Clin. Vaccine Immunol. 18:235-242.

2) Nakata N., Kai M., and Makino M. 2011. Mutation analysis of the *Mycobacterium leprae folP1* gene and dapsone resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 55:762-766.

3) Kai M., Nguyen Phnc N. H., Nguyen H. A., Pham T. H., Nguyen K. H., Miyamoto Y., Maeda Y., Fukutomi Y., Nakata N., Matsuoka M., Makino M., and Nguyen T. T. 2011. Analysis of drug-resistant strains of *Mycobacterium leprae* in an endemic area of Vietnam. Clin. Infect. Dis 52:e127-e132.

4) Nakanaga K., Hoshino Y., Era Y., Matsumoto K., Kanazawa Y., Tomita A., Furuta M., Washizu M., Makino M., and Ishii N. 2011. Multiple cases of cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection in a “hot spa” in Japan. J. Clin. Microbiol. 49:613－617.

5) Fukutomi Y., Maeda Y., and Makino M. 2011. Apoptosis-inducing activity of clofazimine in macrophages. Antimicrob. Agents Chemother. 55:4000-4005.

6) Naka T., Nakata N., Maeda S., Yamamoto R., Doe M., Mizuno S., Niki M., Kobayashi K., Ogura H., Makino M., and Fujiwara N. 2011. Structure and host recognition of serotype 13 glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. J. Bacteriol. 193:5766-5774.

7) Nakanaga K., Hoshino Y., Yotsu R. R., Makino M., and Ishii N. 2011. Nineteen cases of Buruli ulcer diagnosed in Japan from 1980 to 2010. J. Clin. Microbiol. 49:3829-3836.

8) Maeda Y., Tamura T., Fukutomi Y., Mukai T., Kai M., and Makino M. 2011. A lipopeptide facilitate induction of *Mycobacterium leprae* killing in host cells. PLoS Neglected Tropical Diseases 5:e1401.

9) Nakamura T., Ito T., Oono T., Igarashi H., Fujimori N., Uchida M., Niina Y., Yasuda M., Suzuki K., and Takayanagi R. 2011. Bacterial DNA promotes proliferation of rat pancreatic stellate cells thorough toll-like receptor 9: potential mechanisms for bacterially induced fibrosis. Pancreas 40:823-831.

10) Suzuki K., Akama T., Kawashima A., Yoshihara A., Yotsu R. R., and Ishii N. 2011. Current status of leprosy: epidemiology, basic science and clinical perspectives. J. Dermatol. 38:1-9.

11) Kobayashi H., Nolan A., Naveed B., Hoshino Y., Segal L., Fujita Y., Rom W. N., and Weiden M. D. 2011. Neutrophils activate alveolar macrophages by producing caspase-6 mediated cleavage of interleukin-1 receptor associated kinase-M. J. Immunol. 186:403-410.

12) Aye K. S., Matsuoka M., Kai M., Kyaw K., Win A. A., Shwe M. M., Thein M., Htoo M., and Htoon M. T. 2011. FTA card utility for PCR detection of *Mycobacterium leprae*. Jpn. J. Infect. Dis. 64:246-248.

13) Kobashi Y., Mouri K., Obase Y., Miyashita N., Nakanaga K., and Oka M. 2011. Pulmonary *Mycobacterium massiliense* disease with septicemia during immunosuppressive treatment. Internal Medicine 50:1069-1073.

14) Ariga H., Nagai H., Kurashima A., Hoshino Y., Shoji S., and Nakajima Y. 2011. Stratified Threshold Values of QuantiFERON Assay for Diagnosing Tuberculosis Infection in Immunocompromised Populations. Tuberculosis Research and Treatment Article ID 940642.

15) Suzuki K., Tanigawa K., Kawashima A., Miyamura T., and Ishii N. 2011. Chimpanzees used for medical research shed light on the pathoetiology of leprosy. Future Microbiol. 6:1151-1157.

16) Yokoyama K., Kim H., Mukai T., Matsuoka M., Nakajima C., Suzuki Y. 2012. Amino acid substitutions at position 95 in GyrA can add fluoroquinolone resistance to *Mycobacterium leprae*. Antimicrob. Agents Chemother. 56: 697-702.

17) Li W., Matsuoka M., Kai M., Thapa P., Khadge S., Hagge D. A., Brennan P. J., Vissa V. 2012. Real-time PCR and high resolution melt analysis for rapid detection of *Mycobacterium leprae* drug resistance mutations and strain types. J. Clin. Microbiol.50: 742-53.

18) Rocha A.S., Cunha M. G., Diniz L., Salgado C., Aires M. A., Nery J. A., Gallo E., Miranda A., Magnanini M., Matsuoka M., Sarno E., Sufys P. and Oliveira M. 2012. Drug and multiple-drug Resistance Among Mycobacterium leprae isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. J. Clin. Microbiol. 50: 1912-1917.

19) Ito A., Yoshida Y., Higaki-Mori H., Watanabe T., Nakanaga K., Ishii N., Yamamoto O. 2012. Multiple skin lesions caused by *Mycobacterium scrofulaceum* infection. European J. Dermatology 21:1014-1015.
20) Nakanaga K., Hoshino Y., Hattori Y., Yamamoto A., Wada S., Hatai K., Makino M., Ishii N. 2012. *Mycobacterium pseudoshottsii* isolated from 24 farmed fishes in western Japan. J. Veterinary Medical Science 74:275-278.
21) Kamijo F., Uhara H., Kubo H., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., Okuyama R. 2012. A Case of Mycobacterial Skin Disease Caused by *Mycobacterium peregrinum*, and a Review of Cutaneous Infection. Case Rep. Dermatol. 4:76-79.
22) Nakanaga K., Hoshino Y., Wakabayashi M., Fujimoto N., Tortoli E., Makino M., Tanaka T., Ishii1 N. , 2012. *Mycobacterium shigaense sp. nov*., a novel slowly growing scotochromogenic mycobacterium that produced nodules in an erythroderma patient with severe cellular immunodeficiency and a history of Hodgkin's disease. J. Dermatol. 39:389-396.
23) Takeo N., Hatano Y., Okamoto O., Saruwatari K., Nakanaga K., Ishii N., Yokoyama S., Fujiwara S. 2012. *Mycobacterium haemophilum*, Japanese, renal transplant, immunocompromised host, cutaneous infection. J. Dermatol, in press.
24) Otsuki T., Izaki S., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., and Osamura K. 2012. Cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection: a sporadic case in Japan. J. Dermatol, in press.
25) Onoe H., Yotsu R., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., and Takeuchi T. 2012. Buruli ulcer accompanied by pain in a Japanese patient. J. Dermatol, in press.
26) Yotsu R. R., Nakanaga K., Hoshino Y., Suzuki K., and Ishii1 N. 2012. Buruli ulcer and current situation in Japan: a new emerging cutaneous Mycobacterium infection. J. Dermatol, in press.

2. 和文発表

1) 儀同政一. 2011. 新しい抗ハンセン病薬の現状と展望. 国立ハンセン病資料館研究紀要2:39-42.
2) 石井則久、鵜殿俊史、藤澤道子、伊谷原一、谷川和也、宮村達男、鈴木幸一. 2011. .チンパンジーとハンセン病. 日本ハンセン病学会誌80:29-36.
3) 森修一、鈴木幸一、スマナバルア、石井則久. 2011. 2010年における世界のハンセン病の現況について. 日本ハンセン病学会誌80:37-46.
4) 四津里英、鈴木幸一、森修一、石井則久. 2011. ハンセン病の診断. 日本ハンセン病学会誌80:59-70.
5) 石井則久、鵜殿俊史、藤澤道子、伊谷原一、谷川和也、宮村達男、鈴木幸一. 2011. チンパンジーとハンセン病.日本ハンセン病学会誌80:29-36.
6) 鈴木幸一. 2011.「ハンセン病は遺伝病」ではない. 日本ハンセン病学会誌80:244
7) 鈴木幸一. 2011. 遺跡発掘と感染症の可能性. 日本医事新報 No.4550, 62-63.
8) 四津里英、中永和枝、石井則久. 2011. 皮膚科医のための感染症マニュアル:アフリカの抗酸菌症が日本にもーブルーリ潰瘍ー MB Derma 183:41-49.
9) 湊はる香、若狭朋子、松村由美、中永和枝、星野仁彦、石井則久. 2011.多剤併用療法が奏効したブルーリ潰瘍（Mycobacterium ulcerans subsp. shinshuense 感染症）の一例皮膚科の臨床 53:1301-1304 , 1219-1220.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Ishii, N., K. Suzuki. Overview of Mycobacterioses. 22nd World Congress of Dermatology, Mycobacterial Skin Disease Symposia, May 24-29, 2011, Seoul, Korea.
2) Matsuoka M. WHO drug resistance screening and surveillance program in leprosy. International Symposium on Mycobacteria and Drug resistance. July 2011 Uberandia., Brazil.
3) Tamura, T., and M. Makino. Peptide-25 of Ag85B induces Th1 differentiation in a T-bet-independent manner. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.
4) Maeda, Y., T. Tamura, M. Kai, Y. Fukutomi, and M. Makino. Induction of intracellular killing of *Mycobacterium leprae* in human dendritic cells by a lipopeptide-mediated activation of T cells. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.
5) Nakata, N., M. Matsuoka, M. Makino, and M. Kai. Whole-genome comparison of *Mycobacterium leprae* strains differing in growth rate. XIII International

Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

6) Matsunaga I, S. Maeda, N. Nakata, T. Naka, N. Fujiwara, and M. Sugita. Biosynthesis of Mycoketide and the related compounds in mycobacteria. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

7) Mukai, T., M. Matsuoka, Y. Maeda, Y. Miyamoto, Y. Fukutomi, and M. Makino. Identification of novel promoter of mycobacteriophage TM4 to obtain fluorescent-*Mycobacterium leprae*. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

8) Miyamoto, Y., M. Matsuoka, Y. Fukutomi, T. Mukai, M. Kai, Y. Maeda, and M. Makino. Characterization of intracellular metabolites from *Mycobacterium leprae*. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

9) Kai, M., H. Yamada, N. Fujiwara, S. Maeda, Y. Miyamoto, T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, I. Yano, and M. Makino. Establishment and characterization of knockout mutants of *Mycobacterium bovis* BCG gene involved in mycolic acid synthesis pathway. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

10) Tsukamoto, Y., M. Endoh, T. Mukai, Y. Maeda, T. Tamura, M. Kai, and M. Makino. Activation of human naïve T cells of both CD4 and CD8 subsets by *Mycobacterium tuberculosis* major membrane protein II. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

11) Suzuki, K., T. Udono, M. Fujisawa, K. Tanigawa, G. Idani, T. Miyamura and N. Ishii. Infection during infancy and long incubation period of leprosy: A West African chimpanzee shows signs of leprosy after 30 years in Japan. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

12) Uhara H, F. Kamijyo, H. Kubo, K. Nakanaga, Y. Hoshino, N. Ishii, R. Okuyama. A case of Mycobacterial skin disease caused by *Mycobacterium peregrinum*. XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. 6-10 September, 2011, Sapporo, Japan.

13) Nakata, N., M. Kai, and M. Makino. Mutation analysis of the *Mycobacterium leprae* rpoB gene and rifampicin resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 17-20 September, 2011, Chicago, USA.

14) Makino, M., Y. Maeda, T. Tamura, M. Matsuoka, Y. Tsukamoto, and T. Mukai. Naïve T cell activation by urease-deficient recombinant BCG that produces HSP70-MMP-II fusion protein. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

15) Miyamoto, Y., M. Matsuoka, Y. Fukutomi, T. Mukai, M. Kai, Y. Maeda, and M. Makino. Metabolome analysis of mycobacteria. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

16) Tamura, T., and M. Makino. The role of *Mycobacterium tuberculosis* secreted protein in the induction of Th1 immune response. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

17) Mukai, T., Y. Maeda, Y. Fukutomi, Y. Miyamoto, M. Matsuoka, and M. Makino. Development of a stable and high recombinant protein expression system in mycobacterium. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

18) Fukutomi, Y., Y. Maeda, M. Matsuoka, and M. Makino. Anti-*M. leprae* activity and phox localization in human macrophages. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

19) Maeda, Y., T. Tamura, M. Kai, T. Mukai, Y. Fukutomi, and M. Makino. Increased expression of cytolytic effector proteins in human T cells co-cultured with dendritic cells by stimulation with *Mycobacterium leprae* lipopeptide. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama,

Japan.

20) Kai, M., H. Yamada, N. Fujiwara, S. maeda, Y. Miyamoto, T. Mukai, N. Nakata, Y. Maeda, I. Yano, and M. Makino. Functional analysis of *mmaA2* and *mmaA4* in *Mycobacterium bovis* BCG Connaught. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

21) Nakanaga, K., Y. Hoshino, R. Yotsu, N. Ishii, and M. Makino. Nineteen cases of Buruli ulcer diagnosed in Japan, 1980-2010. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 46th Tuberculosis and Leprosy Research Conference, 7-9 December, 2011, Saitama, Japan.

2. 国内学会

1) 永岡譲、鈴木幸一、谷川和也、石井則久. 1 型らい反応で再発したハンセン病の 1 例. 第 74 回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 2011 年 2 月 東京

2) 桜井準也、佐宗亜衣子、星野敬吾、谷川和也、森修一、石井則久、鈴木幸一、平田和明. 鍋被り葬と分子古病理学－らい菌ＤＮＡの検出－. 日本考古学協会第 77 回（2011 年度）総会. 2011 年 5 月 東京

3) 松尾英一、坂井哲雄、野間口博子、鈴木幸一、脇坂晟、藤岡保範、神谷茂. らい菌人工培養の完成報告、並びに派生する周辺医学知識拡大の展望. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

4) 甲斐雅規, 松岡正典, 宮本友司, 中田 登, 牧野正彦. 増殖能の異なるらい菌株間のゲノム比較解析. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

5) 福富康夫, 前田百美, 松岡正典, 牧野正彦. ハンセン病におけるマクロファージのらい菌に対する殺菌機構の解明. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

6) 向井 徹, 松岡正典, 前田百美, 宮本友司, 福富康夫, 牧野正彦. 蛍光蛋白発現らい菌構築のための検討. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

7) 中田 登, 甲斐雅規, 牧野正彦. 培養可能抗酸菌を利用したらい菌リファンピシン耐性変異の解析. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

8) 中永和枝, 星野仁彦, 四津里英, 牧野正彦, 石井則久. 日本のブルーリ潰瘍 : 確定診断のための検査に関する検討. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

9) 松尾英一、坂井哲雄、野間口博子、鈴木幸一、脇坂晟、藤岡保範、神谷茂. らい菌人工培養の完成報告、並びに派生する周辺医学知識拡大の展望. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

10) 松岡正典. WHO Global Leprosy Programme による薬剤耐性拠点監視事業における我々の役割. 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、シンポジュウム 2011 年 5 月 岡山市

11) 森 修一、石井則久. 世界のハンセン病政策に関する研究 - ハワイのハンセン病政策の変遷 - . 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市

12) 四津里英、中永和枝、石井則久. 日本のブルーリ潰瘍 : 19 症例の検討 第 84 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2011 年 5 月 岡山市.

13) 田村敏生、下袴田陽子、牧野正彦. 結核菌分泌蛋白由来 Peptide-25 による T-bet 非依存的 Th1 分化誘導機構の解析. 第 40 回日本免疫学会総会 2011 年 11 月 千葉市

14) 塚本裕美子、田村敏生、牧野正彦. Immunostimulatory activity of major membrane protein II from Mycobacterium tuberculosis. 第 40 回日本免疫学会総会 2011 年 11 月 千葉市

15) 鈴木幸一. 古病理学における感染症証明への分子病理学の応用。第 65 回日本人類学会大会、シンポジウム 5「古病理学の新たな展開」.2011 年 11 月 那覇市

16) 藤本徳毅、若林麻記子、植西敏浩、中永和枝、星野仁彦、石井則久、田中俊宏. 新菌種"*Mycobacterium shigaense*"感染症の 1 例. 第 62 回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2011 年 11 月 四日市市

17) 高木 肇、奥村優香、松山かなこ、浅野裕子、大楠清文、黒川 景、中永和枝、石井則久. *Mycobacterium ulcerans subsp. shinshuense* 感染症の 1 例. 第 62 回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 2011 年 11 月四日市市