序

所長　渡邉治雄

感染研は、「重要物品の不適切な管理」により、国民からの叱責を受けました。感染研ばかりでなく他の国研においても同じような管理をしていたことが判明しており、国研は税金の無駄使いをしているのではないかと国民から思われています。国民からの信託を受けて研究を行っている感染研としては、所長としては勿論ですが、所全体としても反省し、二度とこのようなことが起こらないように気を引き締めて、“全員で力を合わせて”改善しているところです。感染研の創立以来の“膿”を出し切る良い機会であるとポジティブに捉えて、取り組んでいきます。

政府の予防接種対策の強化により Hib, IPV, 小児用肺炎球菌ワクチンなど新しいワクチンの導入が進んでいます。現在使用されている 27 種類のワクチンの内、この 8 年間に新しく導入されたワクチンの増加は 10 種類にもなります。さらに 2012 年 10 月から製造・試験記録等の要約書の審査、いわゆるサマリーロット・プロトコール(SLP)の審査が開始されています。所としては 、業務量の増加に見合う増員の確保に向けて最大限の努力をしてきておりますが、総務省のH25 年度の査定では公務員数の削減の煽りを受け実質的な定数の削減になりました。このような厳しい状況においては、感染研の仕事量の全体のバランスを取るため、平成 21 年に作成しました「国家検定における試験項目の廃止に関する考え方」に基づき、廃止できる検定項目があるかどうかの検討を行い、検定項目の削減を進めていきます。ワクチンの品質を確保することを優先し、予想される厳しい局面を乗り切って行かなければなりません。

次に優先的に進めているのは感染研と同じような機能を持つ国立の研究機関との連携強化です。2012 年 9 月には台湾 CDC と、11 月には中国 CDC 及び韓国 CDC/NIH と, 2013 年の 2 月末には、ベトナム NIHE との共同研究発表会を行いました。また、11 月に来所しました米国 CDC Frieden 長官との話し合いでは、今まで以上に米国 CDC との連携を深めていくことで合意しています。特に FETP プログラムの連携の強化を確認したところです。世界的には WHO, WPRO との協力も進んでいます。主なものとして、EPI 関係の TAG 会議、IHR 関係の APSED 会議、ワクチンの品質管理に関する ECBS 会議、および各病原体の collaboration Center 等があり、感染研の貢献度は非常に高いものがあります。日本としての、特に感染研としての国際貢献に対するアジア及び世界からの期待は大きなものがあります。感染研が今まで培ってきた研究面における成果および経験を今まで以上に世界に向けて発信する時期であり、さらに強化していきます。

感染研の業務として重要なものに、感染症法などによって収集される情報の還元があります。わが国で現在どのような感染症が発生しているのかが分かる「感染症発生動向調査週報 IDWR」, 及び　わが国で分離される病原体の解析結果がわかる「病原微生物検出情報 IASR」があり、それらの情報は感染研の“顔”としてホームページにで

ています。これらの情報のまとめは、感染症情報センターが中心になって行ってきておりますが、今後は、特に病原微生物検出情報誌の作成に関しては、今まで以上に各病原体担当部の協力が不可欠です。専門的立場でのコメント及びまとめをしてもらうことにより、より一層の質の向上を図り、国民に利用してもらうようにしていきます。

病原微生物検出情報のデーターの多くは地方衛生研究所(地研)等の現場における検査および解析によってもたらされています。しかし、昨今　地研の職員数および予算の減少 、自前での人材育成機能の低下 、および地研間の検査診断技術の格差の拡大が指摘され、情報の質の低下が危惧されています。それらを補うため、病原体診断技術研修・講習の必要性・重要性が高まってきているところです。感染研は、国立保健医療科学院の委託を受け、地研に対して、1-2ヶ月間の細菌研修、ウイルス研修、及び10日間の新興再興感染症技術研修を行って来ています。情報の質が確保されなければ、感染症の疫学解析および科学的な感染症対策への支援を行うことに支障がでます。そのため、これらの技術研修の強化が感染研にとっても重要なことになります。地方衛生研究所全国協議会と連携して研修委員会を設置し、地研のニーズに合わせた研修が行えるように改善を図ってきています。地研への研修に対する全所員の一層の取り組みを強化しています。

アウトリーチ活動として感染研が行っている研究等の成果を国民に発信していくことは、感染研への理解を高め、サポーターを増やすことにとっても重要なことです。現在行われている主な活動としては、一つ目として：問題となっている感染症の実態や病気を起こすメカニズムおよび予防法を分かりやすく一般の方に紹介する「市民セミナー」、二つ目として：各部等が行った研究成果を大学生等に紹介する研究発表会、三つ目として：感染研の業務内容を分かりやすく紹介する「感染研一般公開」があります。特に、9月29日に開催した感染研一般公開の新しい試みは圧巻でした。感染研職員が創意工夫をこらして作成した展示、体験ゲーム、講演会などを450人にも及ぶ一般の来場者の方々が十二分に楽しまれました。これらの地道な努力は、感染研の行事として確実に定着し、地域の人々や医学を志す若者に大きな影響を及ぼしています。今後もさらに強化をしていきたいと考えております。

感染研の果たすべき業務、それを達成するための国際および国内での連携、および得られた成果の発信に向けたアウトリーチ活動の重要性は、全ては“感染研の全員で力を合わせて取り組む”ことによって成し遂げられるものです。感染研に期待されている業務を全員で取り組むこと、その姿を国民に示すことにより、感染研への理解も深まり、信頼が増します。今後も感染研が大きな花を咲かせられるように一丸となって歩みたいと思います。

2012年4月の人事として、大石和徳（感染症情報センター長)、澤邉京子(昆虫医科学部長)、森川茂（獣医科学部長)、加藤篤(放射能管理室長、検定検査品質保証室長（併))、坂本浩享（総務部長）がそれぞれの役職に就任しました。

1．ウイルス第一部

部　長　　西條　政幸

概　要

ウイルス第一部において，本年度，以下の人事異動がウイルス第一部において，本年度，以下の人事異動があった．下島昌幸が平成 24 年 11 月 1 日付けで第一室長として採用され就任した.中山絵里が平成 24 年 4 月 1 日付けで第二室研究員として採用された．第四室研究員金井享輔が平成 24 年 9 月 30 日付で，主任研究官後藤英介が平成 25 年 3 月 31 日付で退職した.

研究業務としては，出血熱ウイルス，ポックスウイルス，日本脳炎ウイルス，デングウイルス，チクングニアウイルス，狂犬病ウイルス，JC ウイルス，ヘルペスウイルス（単純ヘルペスウイルス，水痘帯状疱疹ウイルス，サイトメガロウイルス)，リケッチア，クラミジア等の病原体の基礎研究，血清及び分子疫学，感染症発症機序の解析と診断，治療，予防方法に関する研究を行った．それぞれの研究成果は科学雑誌及び国内外の学会等において発表された.

第一室においては，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を解析し，また，これらシュードタイプを用いた中和抗体測定システムの開発のための基盤を整備した．特にルジョウイルスの細胞への感染機構を詳細に解析た.

ナイジェリア国の研究者と共同して，リフトバレー熱ウイルス（RVFV）に対する，組換え核蛋白や膜蛋白を用いた抗体検出システムを開発し,さらに同国における RVFV 感染症の血清疫学を明らかにした.

2011 年に中国での流行が確認された新規ウイルス（重症熱性血小板減少症候群ウイルス，severe fever with thrombocytopenia syndrome virus，SFTSV）の膜蛋白を被った VSV シュードタイプを作製し，中和抗体測定システムや SFTSV の細胞への侵入機構の解析のための基盤を整備した.

平成 25 年 1 月に重症熱性血小板減少症候群（SFTS）が日本において流行していることが明らかにされた．後方視的に SFTS の流行状況について調査した.発熱等の症状を呈し,急激な経過で亡くなられた患者の血液から SFTS ウイルスが分離され,日本で初めて SFTS 患者が発生していることが明らかにされた．平成 24 年 12 月までに計 12 名の SFTS 患者が発生していたことが明らかにされた.各都道府県等で SFTS の診断が可能になるように，SFTSV の遺伝子増幅検査キットを整備して，そのマニュアルとともに各都道府県等の地方衛生研究所に配布した.

高度弱毒化天然痘ワクチン LC16m8 の安全性および有効性についてウイルス学的に解析する研究が継続された．高度弱毒化天然痘ワクチン LC16m8 の温度感受性遺伝子同定および遺伝的安定性の解析に必須で，かつ，簡便で高効率の組換えワクチニアウイルス作製システムを確立した.

第二室においては，デングウイルス，日本脳炎ウイルス，チクングニアウイルス等のアルボウイルス感染症に関する研究がなされた．デングウイルス感染症に関する研究では，FcγR 発現細胞を用いた中和抗体測定法の改良とその評価，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（マーモセット）感染モデルの開発に関する研究が継続された．また，新たにデングウイルス感染症の診断(抗原検出)のための検体として，尿検体も有用であることを明らかにした．日本脳炎ワクチン接種によってフラビウイルス属に分類されるデングウイルスに反応する抗体が誘導される場合があること，しかし，それがデングウイルスを中和したり，逆に，感染増強を誘導したりしないことを明らかにした．デングウイルス感染が誘導する遺伝子発現プロファイルを解析し，発現が増強される遺伝子の中の補体因子 C1s に着目した．C1s の発現増強は RT-PCR により遺伝子発現レベルでも確認された．また蛋白質レベルでもデングウイルス感染にける発現の方が，日本脳炎ウイルス感染の場合のそれより高いことも明らかとなった．C1s の発現はウイルス増殖速度に依存することが示唆された．デングウイ

ルスやチクングニアウイルス輸入感染事例の検査が今年度も継続された．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．

以下の日本脳炎ウイルスに関する研究がなされた．日本脳炎ワクチンの遺伝子型と異なる遺伝子型の日本脳炎ウイルス分離株に対する日本脳炎ワクチンの免疫誘導能を評価した．また，マウス感染モデルを用いて日本脳炎ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側要因を，ウイルス株間,炎症性サイトカイン,matrix metalloproteinases（MMP）の遺伝子定量的発現等を指標に解析した．

チクングニアウイルスの基礎的研究として，レクチン介在性細胞侵入効率，滑膜細胞への感染性等の研究がなされた．これまで報告のあった DC-DIGN，DC-SIGNR に加え，LSECtin がチクングニアウイルスの細胞侵入に関与することを明らかにした．病原性の高いウイルス株で滑膜細胞への感染性がより高いことが示唆された．

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引き続き実施された.リンパ球脈絡髄膜炎ウイルスの抗原蛋白質(GPC)の遺伝子を組込んだ非増殖性組換え狂犬病ウイルスの作出に成功し，蛍光抗体法により感染培養細胞における GPC 発現されることを確認した．

進行性多巣性白質脳症（PML）患者の脳脊髄液(CSF)に出現する JC ウイルスのウイルスゲノム定量によるウイルス学的検査を国内からの医療機関から依頼を受け，日本における PML の診断および治療に貢献した．また，PML 疑い患者におけるヘルペスウイルスによる中枢神経感染症の実態を明らかにするために，CSF 中の各種ヘルペスウイルスの存在およびそのレベルを定量的 PCR 法で解析した．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，特にウイルス感染と予後との関係について解析した．

フラビウイルス共通プライマーを用いた迅速診断法，5’-Flap 付加 primer を用いた高感度診断評価システムを開発してその診断における有用性を評価した．

造血幹細胞移植患者から分離された単純ヘルペスウイルス 1 型の各種抗ヘルペス剤への感受性およびアシクロビル（ACV）耐性 HSV-1 分離陽性患者と予後との関連について解析した．移植 100 日後の生存率は ACV 耐性 HSV-1 出現患者では 36%（4/11）で，ACV 耐性 HSV-1 非出現患者（69%）に比べ有意に低かった（Fisher 検定，P=0.04）．

ACV による治療に抵抗性を示したヘルペス脳炎患者の CSF 中の HSV-1 のウイルス性チミジンリン酸化酵素(vTK)遺伝子の塩基配列を決定して，ACV 耐性株の出現の有無について解析した．ACV 耐性株は出現していないことが明らかにされた．また，vTK における 41 番目のアルギニンがヒスチジンに変異している株による ACV 耐性 HSV-1 による脳炎患者報告がなされたが，ウイルス学的にはその変異は ACV 耐性を誘導しないことを証明した．

第四室においては，主に水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）およびサイトメガロウイルス（CMV）感染症の研究がなされた．

VZV 特異的細胞性免疫を誘導する抗原を，潜伏期もしくは活性化最初期に発現する蛋白の中から 13 種の蛋白を選択してそれぞれ 293T 細胞で強制発現させ,その核画分を抗原として，20 人の水痘既往歴のある健常人末梢血単核球検体を対象に ELISPOT 法により解析した．ORF8，61，62，63，66 の 5 種の蛋白質に対して 80%以上（16/20 人以上）に細胞性免疫応答が誘導されていることが見出された．本研究により水痘ワクチンにより誘導される細胞性免疫の標的となるエピトープ解析が可能になった．

水痘ワクチンの長期保管による物理化学的組成（総蛋白量，抗原量，ウイルス力価，ウイルス粒子中 DNA 量，フリーの DNA も含めたウイルス DNA 量，混入している細胞由来の DNA 量）の経年変化を解析し，これらの指標に変化はなく，その安定性が確認された．

CMV に関する研究では，先天性 CMV 感染スクリーニングに基づくパイロット調査と感染児のフォローアップ，NK 細胞の標的細胞認識に関わる遺伝子多型と先天性 CMV 感染症の相関，モルモット CMV(GPCMV)の BAC システムの構築，培養胎盤組織片での GPCMV 感染病態解析，マイクロアレイ解析により変動の見られた遺伝子の解析，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等の課題について研究がなされた．

第五室においては，リケッチア感染症およびクラミジア感染症に関する研究がなされた．リケッチア症の診断が各都道府県で効果的に実施されるようにするために，各都道府県等の衛生研究所とのネットワーク構築を強化した．また，紅斑熱患者等から分離されたリケッチアの

中で新規リケッチアについて，その分子生物学的特徴を解析した．基礎研究として，リケッチアの細胞への感染と感染細胞内における脂肪滴形成の関連に関する研究がなされ，リケッチア感染細胞では脂肪滴の主要構成脂質の triglyceride（TG）量が有意に増加するものの，diglyceride(DG)から TG の合成に関与する DGAT1,DGAT2 の発現および DGAT の酵素活性にはリケッチア感染および非感染 L929 細胞で差がないことが明らかにされた．このことは TG の合成系が活性化されていないことを示唆する．さらにつつが虫病リケッチアのマクロファージ内での増殖の違いと病原性が密接な関係があることを示唆する論文が発表されたことから，この機序を解明するための研究が開始された．この様にリケッチア感染症対策のための総合的研究から基礎研究まで，幅広い研究がなされた．

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，当研究室に保存されている *C. trachomatis* の標準株 17 株（serotype A〜L3），および，多くの臨床分離株について，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が存在する領域の配列を標準株および分離株について解析し，その分子疫学研究への応用における有用性を評価した．

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，細胞培養痘そうワクチン，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，1 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，実習生を大学や研究機関等から受け入れ，人材育成と研究の推進に従事した．

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. 出血熱等ヒトに致死的な病気を引き起こす新興ウイルスのリスク評価に関する研究

2008 年ザンビアおよび南アフリカで新種のアレナウイルス（ルジョウイルス）による出血熱が発生した．さらに中国で致死率約 10%の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）が報告され，2011 年にその原因ウイルスとして新種のブニヤウイルス（SFTS ウイルス）が同定された．日本においても，2013 年 1 月に初めて SFTS 患者発生が確認された．本研究では最近発見された新興ウイルスのうち，出血熱等ヒトに致死的な病気を引き起こすルジョウイルスおよび SFTS ウイルスのヒトへの感染性，感染経路，臨床像，自然宿主の解明の有無などについて情報収集した．これらのウイルスの性質や感染症の病態等を研究することにより，新興ウイルスのリスクの管理上の評価や管理システムに重要な知見を提供するものと考えられる．［福士秀悦，福間藍子，吉河智城，谷英樹，緒方もも子；谷口怜（東京大学）；下島昌幸，西條政幸］

2. 重症熱性血小板減少症候群の実験室診断法に関する研究

SFTS の原因ウイルスは新種のブニヤウイルス(SFTSV)はマダニ（フタトゲチマダニ等）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．日本においても，2013 年 1 月に SFTS 患者の存在が初めて確認された．SFTSV 遺伝子増幅法（RT-PCR 法），抗体検出法を開発し，SFTS 行政検査のための基盤を整備した．本 RT-PCR 法および抗体検出法により FTSV 感染を特異的かつ高感度に検出できることが明らかにされた．国内における SFTS 流行の全体像を把握するための調査研究に有用である．［福士秀悦，福間藍子，吉河智城，谷英樹，緒方もも子；谷口怜（東京大学）；下島昌幸，西條政幸，森川茂(獣医科学部)］

3. 新興アレナウイルスに対応可能なウイルス抗原検出法の開発に関する研究

2008 年に致死率が 80%(患者 5 名中 4 名が死亡)のウイルス性出血熱がザンビアと南アフリカで発生し，その患者から旧世界アレナウイルスに分類される新種ウイルス（ルジョウイルス）が分離同定された．ヒトに高い病原性を示すアレナウイルスは BSL4 病原体に分類される．輸入動物や患者を介して国内にウイルスが侵入する可能性がある．さらに，2011 年ザンビアの

げっ歯類から新種アレナウイルス,Luna(ルナ)ウイルス,が分離された．アレナウイルス科の未知のウイルスがいまだ数多く存在する可能性がある.本研究では,このような新種アレナウイルスなども検出可能な方法を開発するために,アレナウイルス間で広く保存されているN蛋白質領域のペプチド抗体を作製した．アレナウイルスのNPペプチドに対する抗体（抗peptide 311-324抗体）はLCMV以外のアレナウイルスNPに反応し,新種の旧世界アレナウイルスであるルナウイルスにも強く反応した．本領域を抗体作製の標的とすることは,新種アレナウイルスを広く検出できる技術の確立につながると期待される.[福士秀悦,福間藍子,吉河智城,谷英樹,緒方もも子,西條政幸;谷口怜(東京大学);森川茂(獣医科学部);下島昌幸]

4. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスエンベロープ蛋白質を外套するシュードタイプウイルスの作製

SFTSはブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される新規ウイルス（SFTSウイルス，SFTSV）によるダニ媒介性感染症として新たに命名された．2011年にこのウイルスによる中国におけるSFTSについて報告されて以来,中国国内の調査から7つの省で患者発生が確認された．日本においても,原因宿主であるマダニ類（フタトゲチマダニ等）が広く存在することから,サーベイランスおよび輸入感染症対策の一環として実験室診断法の開発が急務である．そこで,SFTSVに関する研究を簡便に且つ安全に操作出来る手法として,SFTSVエンベロープ蛋白質（GP）を外套したシュードタイプVSVを作製した．このウイルスは様々な哺乳動物細胞に感染すること明らかにされた．今後,このシュードタイプは感染患者血清中の中和抗体測定といった実験室診断法に応用できるだけでなく,SFTSVの細胞侵入機構の解析にも有用なツールになる．[谷英樹,福士秀悦,福間藍子,吉河智城,緒方もも子,西條政幸;森川茂(獣医科学部);谷口怜(東京大学);下島昌幸]

5. 水疱性口内炎ウイルスを用いたアレナウイルス感染中和抗体開発に関する基盤研究

アレナウイルス科のウイルスは,重篤で致死率の高い疾患を引き起こすものが多いため,ワクチン及び有効な治療法の開発が必要である．しかしながら,出血熱ウイルスの多くは生物学的封じ込めレベル4(BSL4)病原体に指定されているために,本国はもとより世界的にも研究への取り組みが難しい状況にあり,有効な治療薬の開発は進んでいない．本研究では,細胞侵入阻害薬の開発に向けての基礎研究として,ラッサ熱の原因ウイルスであるラッサウイルス,および各種南米アレナウイルスの感染を中和する血清を得る目的で,免疫抗原として水疱性口内炎ウイルス(VSV)を基盤としたアレナウイルスGPシュードタイプVSVを抗原としてエンベロープ蛋白質(GP)に対するモノクローナル抗体の作製を試みた．ラッサウイルスのGPを外套したシュードタイプVSVを大量調整し,マウスへ免疫し,その血清に対してラッサウイルスGPシュードタイプVSVの感染阻害活性を調べた．その結果，コントロールとしてVSVGを外套したシュードタイプVSVを免疫したマウスの血清において，VSVGのシュードタイプウイルスにおける感染性は中和されたのに対し,ラッサウイルスGPシュードタイプウイルスの場合，中和活性は認められなかった．ウイルス粒子中のGPの取り込み量を比較するとVSVGに比べラッサウイルスGPは極端に少なく免疫する抗原量が問題であることが示唆された．ラッサウイルスのみならず,南米アレナウイルス各種,新規アレナウイルス種においても,こうした感染中和抗体の存在については報告されておらず,作製できればアレナウイルス感染症の基礎研究を行う際に有用なツールになるだけでなく,治療薬の開発においても有用である.[谷英樹,福間藍子,福士秀悦,吉河智城，緒方もも子；谷口怜（東京大学）；森川茂（獣医科学部）；西條政幸，下島昌幸]

6. ルジョ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,受容体を含め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（VSV）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，これまで報告されているアレナウイルス受容体との関与，および細胞侵入機構の解析を行った．その結果，南米アレナウイルスの主要受容体として知られるトランスフェリン受容体および旧世界アレナウイルスの主要受容体として知られるα-ジストログリカンのどちらも LUJpv の細胞への感染には関与していなかった．また，リピドーシスを誘発するような阻害剤で細胞処理することで，LUJpv の感染性が失われ，他のアレナウイルスのエンベロープ蛋白質と異なり，細胞表面膜上で膜融合が起こさないことからエンドソーム内に存在する何らかのエンドゾーマル受容体を利用して膜融合から脱核へと進んで行くことが示唆された．［谷英樹，下島昌幸，福士秀悦，西條政幸，森川茂（獣医科学部）；谷口怜（東京大学）］

7. カニクイザルから分離されたイヌジステンパーウイルスのリバースジェネティクスシステムの確立

従来イヌ等，食肉類のみが罹患すると考えられていたイヌジステンパーウイルス（CDV）感染症が 2008 年にサルコロニーで集団発生した．この感染症の病原性解析にはウイルス遺伝子を直接操作する系の確立が必要である．その集団発生の際にサルから分離された CDV の遺伝子を元に感染性ウイルスを in vitro で作製するためのリバースジェネティクスシステムを確立する．本年度はウイルスゲノム RNA を産生するための完全長ゲノム発現プラスミドを作製した．RT-PCR によって増幅した遺伝子断片をそれぞれプラスミドベクターにクローニングし，それぞれの PCR 産物がオーバーラップする領域に存在するユニークな制限酵素サイトを利用してそれらを接続し，ウイルス完全長ゲノムを作製した．今後はこのウイルス完全長ゲノム発現プラスミドとウイルスタンパク質N,P,L発現プラスミドを，T7 polymerase を恒常的に発現する細胞にトランスフェクトし感染性を持つウイルス粒子を得る．［吉河智城，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，倉根一郎，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；酒井宏治，關文緒，竹田誠（ウイルス第三部）；谷口怜（東京大学）；下島昌幸］

8. 全国地方衛生研究所への重症熱性血小板減少症候群の検査キットの配布

これまで中国でのみ発生報告があった重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は国内でも発生していることが明らかとなった．国内における SFTS の全体像を把握するため，SFTSV 感染を特異的かつ高感度に検出できる RT-PCR 法（前述）を全国地方衛生研究所に配布した．［福士秀悦，福間藍子，吉河智城，谷英樹，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂(獣医科学部)］

II. ポックスウイルスに関する研究

1. 簡便，高効率の組換えワクチニアウイルス作製システムの確立

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安全性の非常に高いワクチン株である．近年この長所を生かして，組換えワクチニアウイルスを用いたワクチン開発のためのベクターとしての応用も期待されている．本研究はワクチニアウイルスに容易に外来の遺伝子を導入する組換えウイルス作製システムの確立を目的とした.本システムでは，ワクチニアウイルスと外来遺伝子を保持する組換えベクタープラスミドを同時に感染／トランスフェクションした後，薬剤耐性タンパク質遺伝子と蛍光タンパク質遺伝子の発現によって組換え中間体ワクチニアウイルスを選択し，その後薬剤非存在下で薬剤耐性遺伝子と蛍光タンパク質遺伝子を相同組換えにより脱落させる．これにより LC16m0,8 株の任意の領域に効率よく外来遺伝子を導入し，且つ不必要となった遺伝子が残らない組換えシステムである．今後は本システムを利用して，有効なワクチンの存在しないアレナウイルスなどに対するワクチン開発に応用する．［吉河智城，谷英樹，福士秀悦，福間藍子；谷口怜（東京大学）；森川茂（獣医科学部）；倉根一郎，西條政幸，下島昌幸］

III. 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) 新規抗体依存性感染増強［antibody-dependent enhancement（ADE)］活性および中和活性アッセイ法の改良と評価

FcγR 発現細胞はデングウイルスの重要な標的細

胞である．私たちは，FcγR の一種であるヒト FcγRIIA を恒常的に BHK 細胞発現する，FcγRIIA 発現 BHK 細胞を樹立し，デング患者血清を用いて ADE 活性および中和活性を測定する上での有用性を評価した．さらに，本細胞を用いて ADE 現象における抗体―ウイルス比率を検討した．ADE 現象は，攻撃ウイルス量より抗体の希釈倍率（抗体量）の影響を受けることが明らかとなった．私たちは本研究で得られた結果を基づいて，本細胞を用いて抗体および患者検体における ADE 活性の検出アッセイ法手順を作成した．［モイメンリン，高崎智彦，齋藤悠香，倉根一郎］

2) 日本脳炎ワクチン接種者におけるデングウイルス感染増強活性の解析

フラビウイルス属の日本脳炎ウイルス（JEV），黄熱ウイルスやウエストナイルウイルス感染に誘導された抗体はデングウイルス(DENV)と交叉性を示す．交叉性抗体の役割を明らかにすることにより DENV 感染の重症化メカニズムを解明できる可能性がある．さらに，DENV 流行地では DENV とともに JEV が流行している．本研究では，JE ワクチン接種により誘導された抗体の DENV に対する中和および感染増強活性を解析した．2009 年～2011 年にワクチン接種者 87 人から採取されたワクチン接種前 87 検体およびワクチン接種後 87 検体を用いて抗 DENV IgG 抗体を測定した．ワクチン接種前 87 検体中，3 検体(3/87, 3%)は DENV IgG 抗体陽性を呈した．一方，ワクチン接種後 87 検体中，7 検体(7/87, 8%)が DENV IgG 陽性を呈した．いずれの DENV IgG 陽性検体においても DENV IgM は陰性であった．このことから，IgG 陽転は DENV 感染により誘導されたことによる陽転ではないと考えられた．さらに IgG 陽性検体を用いて DENV-2 に対する中和抗体活性を BHK 細胞および FcγR 発現 BHK 細胞を用いて検討したところ，DENV-2 に中和活性を示したものはなかった．本研究では，JE ワクチン接種により誘導された抗体は，DENV 抗原と交叉反応を示したが，交叉反応による中和活性は誘導されないことが示唆された．［モイメンリン，高崎智彦，林昌宏，齋藤悠香，倉根一郎；竹下望（国立国際医療研究センター）］

3) 尿検体中のデングウイルス抗原検出による診断:NS1 抗原 ELISA 診断キット診断の有用性評価

デングウイルス(DENV)感染時に患者血清中には非構造タンパクの一つである NS1 抗原が出現し，それを検出することで診断することが可能である．しかし，重症患者または小児では採血が困難な場合があることから，私たちは 2008 年～2012 年に DENV 感染患者 96 人から採取された血清 158 検体および尿 115 検体を用いて，NS1 抗原 ELISA キットによる NS1 抗原検出法の感度と特異度を評価した．158 血清検体中 124 検体(78%)が NS1 抗原陽性であった．一方，尿検体では 115 検体中 40 検体(35%)が NS1 抗原陽性であった．17 病日まで NS1 抗原が検出された尿検体があった．RT-PCR 法による場合よりやや長く抗原が検出された．以上の結果によりデング熱患者の尿中にも NS1 抗原が存在し，診断用検体として尿も有用であることが証明された．［モイメンリン，齋藤悠香，小滝徹，倉根一郎，高崎智彦］

4) デング熱に対する治療・ワクチン評価のためのモデル動物の確立

本研究では，デング熱に対する治療・ワクチン評価のためのモデル動物開発を目的とした．新世界ザル（マーモセット）15 個体を用いて，そのデング熱感染モデルとしての有用性を検討した．DENV-1 感染マーモセット 6 個体および DENV-3 感染マーモセット 2 個体において，ウイルス血症，IgG/IgM 抗体上昇および攻撃 DENV 血清型に対する中和抗体が認められた．DENV-1 初感染マーモセット 2 個体においては，高ウイルス血症が認められたが，FcγR 発現細胞を用いた解析によりウイルス-抗体複合体は認められなかった．DENV に感染したマーモセットにおけるウイルス血症，IgG/IgM 抗体上昇はヒト DENV 感染時のそれと類似することから，本モデルは治療法やワクチン開発における評価において有用である．［モイメンリン，高崎智彦，林昌宏，中山絵里，倉根一郎；網康至，須崎百合子（動物管理室）；白井顕治，北浦一孝，鈴木隆二（国立病院機構相模原病院）］

5) 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製

FcγR発現BHK細胞を用いた抗体依存性感染増強（antibody-dependent enhancement, ADE）活性および中和活性測定法を改良した．さらに，新規中和試験の使用手順・研修テキストを作成し，FcγR発現 BHK 細胞および使用手順を国内外の研究機関(Mahidol University, Osaka University, University of Berkeley, California)に提供・技術移転した．［モイメンリン,高崎智彦，倉根一郎］

6) コモンマーモセットにおける免疫関連遺伝子定量リアルタイムPCR解析系の開発

蚊媒介性ウイルス感染症のうち，デングウイルスは，代表的な実験動物であるげっ歯類（マウス）への感染が成立しないことから，他の感染動物モデル開発が必要である.コモンマーモセット(Callithrix jacchus，マーモセット）は,非ヒト霊長類の代表的な実験動物のひとつであり，これまでにデングウイルス感染が成立することが報告されている．しかしながら免疫学的解析系が確立しておらず，抗体やゲノム情報も限定される.定量リアルタイムPCR(qPCR)解析系を用いて mRNA を標的にした種々の免疫関連遺伝子発現量を定量的に評価する方法を開発した．また，信頼できる qPCR 法を開発するため，多種類の組織におけるハウスキーピング遺伝子発現の安定性について *geNorm* ソフトを用いて評価した．さらに末梢血リンパ球における CD 抗原，サイトカイン発現量についてもマーモセットとヒトで比較した．［高崎智彦，モイメンリン，倉根一郎；北浦一孝，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2012年の輸入デング熱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について分子疫学的に解析した．［高崎智彦，柴崎謙一，小滝徹，モイメンリン，田島茂，池田真紀子，谷ヶ崎和美，倉根一郎；舒佩芸，鄧華眞（台湾行政院衛生署疾病管制局）］

8) デングウイルス感染細胞における細胞側遺伝子発現動態の網羅的解析

デングウイルスと日本脳炎ウイルスでは，増殖速度や宿主病態が異なる．ウイルス間のこのような差異が宿主側の応答にどのような差異をもたらすかを調べることを目的とし，ウイルス感染細胞における細胞側遺伝子発現動態をマイクロアレイ法により網羅的に比較解析した．日本脳炎ウイルス感染細胞の方が多種類の,また,変動量の大きい遺伝子が感染早期に観察されたが，これら変動（発現上昇）した遺伝子の多くはインターフェロン（IFN）関連遺伝子やサイトカイン・ケモカイン等の免疫関連遺伝子であった.その原因として日本脳炎ウイルスの増殖速度が，デングウイルスのそれよりも速いためと考えられた．一方でデングウイルス感染でより顕著に変化する遺伝子も観察された．本年度はこれらの遺伝子の中から特に顕著であった補体因子C1sについてより詳細に解析した．C1s の発現上昇は RT-PCR により遺伝子発現レベルでも確認された．また蛋白質発現レベルでも日本脳炎ウイルス感染より発現量が高いことも明らかにされた．デングウイルスは4種の血清型が存在するが，いずれにおいても発現上昇がみられた．なぜデングウイルスの発現量が多日本脳炎ウイルスのそれよりも高いのか，その機序を明らかにするため，日本脳炎ウイルスの中でもプラークサイズが極度に小さい株を用いて同様に解析した．デングウイルス感染時と類似したパターンでC1sの発現上昇が観察された．このことから，C1s の発現量の高低はウイルスの種類によるのではなくウイルスの増殖速度の違いに依存する可能性が示唆された．［田島茂，モイメンリン，高崎智彦］

9) デング熱・出血熱輸入症例の実験室診断およびサーベイランス

2012年の感染症法に基づくデング熱報告数は220例でそのうち 15 例がデング出血熱であった．当室への依頼件数は 332 件でこのうち陽性例は 101 例（30.4%）であり，全報告数の 46%を占めた．［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］

10) デングウイルス遺伝子安定化保存に関する検討

地方衛生研究所にデングウイルス遺伝子を分与する機会が多いが，ドライアイスによる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，37℃保存状態でデングウイルス遺伝子が半年以上安定であることが確認された.［モイメンリン，小滝徹，田島茂，高崎智彦］

2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

1) 日本脳炎ワクチン製造株と異なる遺伝子型日本脳炎ウイルスに対する中和能誘導に関する解析

国内外を問わず日本脳炎ワクチンは遺伝子型 III 型の株から製造されている．その理由は開発当時，日本脳炎の流行が III 型のウイルスによるものであったからである．しかし日本，韓国やベトナムでは 1990 年代初めから分離される株の遺伝子型が変化し,現在分離されるウイルスはほとんどⅠ型である．同様の変化は今なお多数の患者が発生しているインドや中国など他の地域にも広がっている．本研究では，ワクチン株と流行株での遺伝子型の齟齬がワクチン接種による日本脳炎予防効果に影響するかについて，不活化日本脳炎ワクチンを接種したマウスの血清を用いて検討した．北京株由来ワクチンを接種したマウス血清の場合，北京株および中山株ウイルスに対する中和能が高かった．分離株間での差異は顕著ではなかったものの，III 型株の方がやや低い傾向にあった.一方中山株ワクチンを接種した場合，他の株に比べ中山株に対する中和活性が顕著に高かった．また北京株由来ワクチンと同様，III 型分離株に対する中和能が少し低い傾向にあった．また中山株ワクチンよりも北京株ワクチンの方が分離株に対する中和能が高く誘導される傾向があった．今後も分離株の数をさらに増やして解析を継続する予定である．［田島茂，小滝徹，高崎智彦］

2) NS4A 3-Ile 型日本脳炎ウイルス野外株の性状解析

これまでに私たちは日本脳炎ウイルス非構造蛋白質 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 へ置換したのみの組換えウイルスも親株よりもマウス病原性（神経侵襲毒性）が強いことを見出してきた．また，私たちは Mie/40/2004 株が 3-Ile 型であり，さらに 3-Ile 型の株は国内分離株の中で他にも同定されたこと，2004～2008 年の間には主要株ではなかったものの本州の広い範囲に伝播していたことを明らかにした．本年度は Mie/40/2004 株以外の 3-Ile 型株の in vitro における増殖性およびマウス病原性を調べた．新たに 4 株の 3-Ile 型株を選択し，Vero 細胞におけるプラーク形態，マウス神経芽細胞腫由来細胞株，マウス脳血管内皮細胞株および蚊由来細胞株における増殖能を比較したが,顕著な差異は見いだされなかった．一方マウス腹腔にウイルスを接種し経過観察したところ，4 株中 3 株は Mie/40/2004 株と同様の強毒性を示したが，1 株は有意に病原性が低かった．今後はこれらの株の詳細なゲノム解析を進め，病原性の差異を示した要因を探る．［田島茂，小滝徹，高崎智彦］

3) 日本脳炎ウイルスの活動と気象の関連に関する解析

日本では 1965 年以来，ブタにおける日本脳炎感染源調査（抗体調査）が実施されている．そ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の活動性との相関関係を検討し，気温と正の相関があることを見出した．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）］

4) 日本脳炎ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側要因の解析

日本脳炎ウイルスの病原性決定機構を解明する目的で，神経侵襲性の異なる日本脳炎ウイルス 2 株をマウスに感染させ，マウス体内におけるウイルス動態や免疫応答を比較することにより日本脳炎ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側要因について解析した．その結果 2 株の神経毒性はほぼ同程度であるにも関わらず Nakayama 株の神経侵襲性は JaTH160 株に比べて低く，ほとんどが発症しなかった．脳内

における Nakayama 株のウイルス増殖はほとんど認められず，認められた場合においても JaTH160 株に比べて遅かった.炎症性サイトカインおよびmatrix metalloproteinases（MMP）についても，Nakayama 株を感染させた未発症マウスにおいてはコントロール群と有意な差は認められなかった．これに対して Nakayama 株により発症したマウスにおいてはウイルス増殖および炎症性サイトカイン，MMP の遺伝子発現はJaTH160株により発症したマウスとほぼ同様の結果が得られた．［林昌宏，山口幸恵，伊藤（高山）睦代，垣内五月，田島（白鳥）茂，高崎智彦，倉根一郎，渡邉治雄，西條政幸］

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

チクングニア熱の届け出患者数は9例であったが，当室で 5 例を検査した．5 例の内 9 月に 1 例が，10 月に 2 例が，11 月に 1 例が，12 月に 1 例が発症していた．3 例でウイルス遺伝子が検出された．［高崎智彦，中山絵里，モイメンリン，小滝徹，林昌宏，倉根一郎，西條政幸］

2) チクングニアウイルス抗体検出法の開発

チクングニアウイルスに対する特異抗体検出法の抗原として，ウイルスの膜蛋白質発現細胞溶解物，ウイルス様粒子，膜蛋白質の膜貫通領域と細胞質内領域を欠失させたヒスチジンタグが付加された分泌型組換え膜蛋白質を用いた．それぞれの抗原を用いて，マウス免疫血清中の特異的 IgG 抗体の ELISA 法による検出を試みたところ，ウイルス様粒子および組換え膜蛋白質を抗原とした場合，細胞溶解物を抗原とした場合に比較して検出感度が高かった.また，これらの蛋白質を ELISA 抗原として用い，チクングニアウイルスに対するマウスモノクローナル抗体のスクリーニングを行い，膜蛋白質特異的モノクローナル抗体を得ることができた．今後，患者血清を用いてこれら抗原を用いた抗体検出法の有用性を評価する予定である.［中山絵里，谷ヶ崎和美，林昌宏，高崎智彦］

3) チクングニアウイルスのレクチン介在性細胞侵入効率の解析

チクングニアウイルスの標的細胞であるマクロファージに発現する C 型レクチンは，ウイルスの感染効率を高める分子として報告されている．チクングニアウイルスのエンベロープ蛋白質を被ったシュードタイプ水疱性口内炎ウイルスを作製し，シュードウイルスのC型レクチン介在性細胞侵入機構を解析した.本研究では，これまで報告のあった DC-DIGN，DC-SIGNR に加え，LSECtin がチクングニアウイルスの細胞侵入に関与することが明らかにされた．近年の流行チクングニアウイルス株は従来の流行ウイルス株に比較して病原性が高いと報告されているが，病原性を決定する因子については解明されていない．病原性の異なるチクングニアウイルス株を用いて，C 型レクチン発現細胞への感染性を比較した．病原性の高いウイルス株でC型レクチン発現細胞への感染性が高いことが明らかとなった．C 型レクチンを発現する細胞への感染がチクングニアウイルスの病原性発現に関与する可能性が示唆された．［中山絵里，谷英樹，下島昌幸；高田礼人（北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター）；高崎智彦］

4) チクングニアウイルスの滑膜細胞への感染性

チクングニアウイルスは関節に長期間感染し，慢性関節炎を起こす．実験感染サルの関節組織では 1.5ヶ月後までウイルス RNA が陽性であったと報告されている．また，患者の滑膜組織中のマクロファージは 18 ヶ月後でもウイルス感染が持続していることが確認されている．本研究では，近年の臨床分離株を用い，滑膜細胞へのウイルスの感染性について検討した．高力価のウイルスを感染させた場合，Vero 細胞でのウイルス産生が感染後 3 日でピークに達した後，減少するのに対し，滑膜細胞では 8 日目から 14 日目まで約 10^6 pfu/ml のウイルスを産生し続けた．また，病原性の異なるウイルス株を用いて，滑膜細胞への感染性を比較したところ，病原性の高いウイルス株で滑膜細胞への感染性が有意に高いことが明らかにされた．［中山絵里，小滝徹，田島茂，高崎智彦］

5) 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適した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．その結果，CHIKV接種1日後よりウイルス血症が認められ，接種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．このことからウイルスの感染に対する宿主の応答が惹起されたことが明らかにされた．またCHIKV接種マーモセットを病理学的に解析した．その結果CHIKV接種4～21日の長期に渡り脾臓および腋窩リンパ節にウイルス遺伝子が検出された．また肝臓および脾臓において特異的抗原が検出され，肝臓においては肝のシングルセルネクローシス，細胞浸潤，脾臓においては二次濾胞の形成およびstarry sky像が観察された．これらの結果からマーモセットにおいてCHIKVの感染が成立することが明らかにされた．[林昌宏，モイメンリン，中山絵里，藤井克樹，伊藤（高山）睦代，北浦一孝，白井顕治，小滝徹，倉根一郎，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；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）；高崎智彦]

IV. 神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

1) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における3Rsの導入

狂犬病ワクチンの検定試験のうち力価試験および不活化試験においては，多くの動物（マウス）を使用すること，動物に与える苦痛が大きいことが問題となっている．世界的にもより動物愛護に配慮して3Rs（「Replacement（代替）」「Reduction（削減）」「Refinement（改善）」）を導入するべきだとの議論がある．狂犬病ワクチンの力価試験では現在マウスの生死をその評価の指標として用いているが，この方法は動物に与える苦痛が大きい．そこで，これまでに私たちは体重または症状を指標とした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の短縮効果を検討してきた．その結果，人道的エンドポイントとして麻痺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RB17では平均4.0日，RB18では平均3.5日短縮されることが明らかにされた．また，人道的エンドポイントを導入した場合においても，試験結果には響を与えないことが示された．[伊藤（高山）睦代，西條政幸，林昌宏]

2) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における統計学的解析手法の検討

狂犬病ワクチン検定試験の力価試験成績の統計学的解析としてはReed-Muench法が用いられている．その他の統計学的解析手法のひとつとしてProbit法を用いた場合における解析結果について検討した．この時，同時に使用匹数の検討も行った．[林昌宏，伊藤（高山）睦代，垣内五月，小瀧徹，西條政幸]

3) 非増殖性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研究

ウイルス性出血熱のひとつであるラッサ熱にはいまだ有効なワクチンがない．さらにその感染防御には液性免疫だけではなく細胞性免疫も非常に重要である．そこで，本研究ではラッサウイルスの感染防御ワクチンとして，非増殖性狂犬病ウイルスベクターが有効な手段となりうるかについて，リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）のモデル系を用いて個体レベルの解析を行うことを目的とした．これまでに，LCMVの抗原蛋白質(GPC)の遺伝子を組込んだ非増殖性組換え狂犬病ウイルスの作出に成功し，蛍光抗体法により感染培養細胞におけるGPC蛋白質の発現を確認した．今後マウスを用いた感染防御試験および免疫反応の解析を行う．[伊藤（高山）睦代，林昌宏，垣内五月，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発生動向に関する臨床・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，JCウイルス(JCV)によって引き起こされる．その診断では，脳脊髄液中のJCVゲノムDNAのPCR検査が有効

である．平成 19～23 年度に引き続き，医療機関への診断支援およびサーベイランスを目的として本検査を実施した．平成 24 年度では PML 疑い患者について計 211 件の検査を実施し，22 検体を JCV-DNA 陽性と判断した．被験者の情報をデータベースに登録し解析した．近年では自己免疫疾患等を有する患者において PML が増加傾向にあった．本実験室サーベイランスはPMLの発生動向の調査において有用である．［中道一生，林昌宏，西條政幸］

2) 進行性多巣性白質脳症が疑われた患者の脳脊髄液におけるヘルペスウイルスの出現に関する臨床的解析

JC ウイルス(JCV)によって引き起こされる進行性多巣性白質脳症(PML)の診断では，他のウイルス性脳炎・脳症との鑑別が重要である．PML が疑われた患者 255 名を対象として，脳脊髄液における 5 種類のヘルペスウイルス(HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV)の出現頻度および陽性者の情報を解析した．脳脊髄液 JCV が陽性もしくは陰性の PML 疑い患者の一部において，脳脊髄液中にヘルペスウイルスが検出されること，およびヘルペスウイルス陽性者の基礎疾患や脳 MRI での病変部位や症状等は PML 患者と類似していることが明らかにされた．PML に対する鑑別診断におけるヘルペスウイルス脳炎・脳症の重要性が示唆された．［中道一生，井上直樹，林昌宏，西條政幸］

3) LAMP 法を用いた PML 患者の脳脊髄液中の JC ウイルス診断

進行性多巣性白質脳症（PML）は，JC 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，反応時間等の改良や，反応の特異性についてさらに検討した．プライマーはT遺伝子領域を増幅するように設計し，プライマーが認識し LAMP の増幅領域に目印を導入した標準 DNA を作成した．リアルタイム濁度装置で 63℃，120 分反応させ，濁度 0.1 以上を陽性としたところ，プライマーのターゲット領域をコードする標準 DNA を反応あたり 5 コピーまで検出した．この反応時間でも LAMP 法では，他のポリオーマウイルスのゲノム（BKV，SV40，MPyV）や他の脳炎を引き起こすウイルス（HSV-1，VZV，麻疹ウイルス，日本脳炎ウイルス，西ナイルウイルス）やプロウイルス（HIV-1，subtype B & C）に非特異的な濁度の上昇を示さず，反応交差反応を示さなかった．また，JCV 検査のため全国の医療機関から送られてきた153検体の CSF を用いて，改良 LAMP 法（63℃，120 分）をTaqMan-リアルタイムPCR法と比較し，感度は84%（42/50)，特異度は 97%(100/103)，κ係数は 0.83，陽性的中率および陰性的中率はそれぞれ 93%と 93%であった．本 LAMP 法の有用性が示された．[木下一美，中道一生，伊藤睦代，王麗欣，飯塚愛恵，倉根一郎，林昌宏，西條政幸］

3. その他の研究

1) 造血幹細胞移植患者における呼吸器ウイルス感染症に関する研究

造血幹細胞移植病棟内での呼吸器ウイルス感染症の流行を把握し，造血幹細胞移植患者におけるその予後等に与える影響について検討した．虎ノ門病院血液内科で造血幹細胞移植を受けた患者から，術前 1 週間前から毎週ウイルス分離用に咽頭スワブを採取し，HEL 細胞，HEp-2 細胞，Vero 細胞，および，MDCK 細胞を用いてウイルス分離を試みた．2010 年 6 月から 2012 年 5 月までに採取され，ウイルス分離が完了した咽頭スワブ 2849 検体のうち 95 検体から呼吸器ウイルス（PIV2，PIV3，A 型インフルエンザ，ライノ，RS ウイルス）が検出され，そのうち 77 検体(81%)を PIV3 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（東京大学医学部)］

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．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（東京大学医学部)]

3) 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

マダニ類はウイルス，細菌，リケッチア，原虫等の病原体を媒介することが知られている．またこれまでに多くのダニ媒介性アルボウイルスが報告されている．しかしながら日本におけるダニ媒介性アルボウイルスの分布状況は明らかにされていない．そこで兵庫県六甲山系で捕獲されたイノシシおよびイノシシの生息域周辺から採取されたダニにおけるウイルス保有状況の調査を行った．その結果細胞培養を用いたウイルス分離において細胞変性効果(CPE)が観察された．また乳飲みマウスを用いたウイルス分離においては成長不良を示す個体が認められ採脳を行った．よって今後これらサンプルについて詳細な検討を行う必要性が示唆された．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，木下一美，山口幸恵，垣内五月，西條政幸；澤辺京子，伊澤晴彦，江尻寛子，鍬田龍星，小林睦生（昆虫医科学部)］

4) 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，多くの種類のフラビウイルスを検出可能なプライマーをデザインし得た．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学的解析によりウイルスの同定が可能であることも明らかとなった．さらに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（κ 係数 0.62，P＜0.00001)．［林昌宏，高崎智彦，モイメンリン，大松勉，小滝徹，倉根一郎，西條政幸］

5) 5’-Flap 付加 primer を用いた高感度診断評価システムの開発

近年 5’-Flap 付加 primer 法を用いることにより診断法の感度の向上が報告された．そこで本研究においてリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)，狂犬病ウイルス(RV)，チクングニアウイルス(CHIKV)に対する既知のプライマーを用いた 5’-Flap 付加 primer 法の検討を行った．その結果 LCMV 特異的プライマーに 5’-Flap 付加 primer 法を用いたときその感度の向上が観察された．しかしながら RV，CHIKV に対してはその効果は認められなかった．Flap 配列の付加によるプライマー感度の向上のメカニズムは不明であるが，既存のプライマーに対するその効果の検討は有用であることが示唆された．[林昌宏，伊藤（高山）睦代，木下一美，倉根一郎，西條政幸]

V. 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水痘帯状疱疹ウイルス（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．本研究では，CMI 応答を誘導する抗原蛋白を同定した．予備的な検討で，感染細胞の核蛋白を抗原として用いることで，非特異的反応が少なく定量が容易となることを示した．これにより，核に局在することが予想され，潜伏期もしくは活性化最初期に発現する蛋白質の中から 13 種の蛋白質を 293T 細胞で強制発現させ，その核画分抗原を用いて，20 人の水痘既往歴のある健常人末梢血単核球検体を対象に ELISPOT 法による解析を行った．結果，ORF8，61，62，63，66 の 5 種の蛋白質が 80%以上（16/20 人以上）に CMI 応答を誘導することを見出した．このうち ORF63 に対する特異的 CMI 応答は最も高頻度（19/20）であった．次に，ORF61，66 のエピトープ領域が未同定であるため，予備検討として両蛋白質を断片化し核移行シグナルを付加した組換え蛋白質を発現させ，核抗原として ELISPOT を行った．ORF66 では，高い抗原性を示す領域を同定できなかったが，ORF61 では C 末端側領域に高い抗原性が見られた．これにより，ORF61 の抗原ペプチドを用いた抗原エプトープのスクリーニングを行うことが可能となった．［金井亨輔，谷口留美，井上直樹；湯華民，森康子（神戸大学)］

2）水痘ワクチンの物理化学的組成の経年変化解析

水痘ワクチン接種後の抗体陽転率の低下が疑われているが，その要因としては，①製剤そのものが何らかの形で変化した可能性，②抗体陽転率を求めるための血清学的方法の感度が低下した可能性，③接種対象者の質的変化，例えば年齢層の若年化，などが考えられる．本年度は，水痘ワクチン製剤が承認・販売開始されて以降の 25 年間に，物理化学的に質的な変化があるかを検討した．1 ドーズ中の総蛋白量，抗原量，ウイルス力価，ウイルス粒子中 DNA 量，フリーの DNA も含めたウイルス DNA 量，混入している細胞由来の DNA 量が，これまで製造に用いられた 6 つのワーキングシード由来の小分け製品で，どの程度変化しているかを解析した．検討したいずれの項目においても，ほぼ 2 倍以内の増減の範囲であり，特段の減少もしくは増加するトレンドは見られなかった．アジュバントとして作用する可能性のある細胞 DNA 量も少なく，量的変化もなかった．従って，製剤が要因である可能性は否定的である．［井上直樹，金井亨輔，福井良子，津田美穂子，山田壮一］

2. サイトメガロウイルスに関する研究

1）先天性サイトメガロウイルス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サイトメガロウイルス（CMV）感染のパイロット調査を行った．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．また，長崎大学及び神戸大学に対してスクリーニング法の技術移転を行った．［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）NK 細胞の標的細胞認識に関わる遺伝子多型と先天性 CMV 感染症の相関

CMV は胎内感染を高い頻度で起こるが，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，自然免疫に関わる遺伝子の多型が，様々なウイルスに対する感受性や臨床経過に関係するという報告が増えている．昨年度までの研究で，TLR2 遺伝子上の一塩基多型(SNP)の頻度が先天性 CMV 感染児と日本人一般で異なっている可能性が示唆された．今回，NK 細胞の活性化受容体である NKG2D 遺伝子の SNP や NKG2D のリガンドであり，CMV 感染により制御を受ける MICA の遺伝子座位と先天性 CMV 感染症の相関について解析した．87 人の先天性 CMV 感染児について，NKG2D 上の非同義置換 SNP rs2255336 の遺伝子型を TaqMan allelic discrimination assay を用いて決定し，MICA については，Exon2 及び 3 の一部をシークエンシングすることで多型を決定した．次に，NKG2D 上の SNP の遺伝子型の違いによる，NKG2D への MICA の結合及び下流シグナルの変化を FACS，イムノブロッティングで検討した．NKG2D 上の SNP について，無症候性感染児に比べ症候性感染児では有意に GG 遺伝子型が少なかった．また，MICA の遺伝子型と先天性

CMV 感染症との相関は見られなかった．次に FACS で NKG2D と MICA との結合の差を調べたが，野生型と変異型で有意差はなかった．下流シグナルの変化について，検討中である．[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 CMV（GPCMV）の BAC の構築

GPCMV の全ゲノムは，240kb と大きいことから，特定の遺伝子の機能を検討するためには，全ゲノムを有する BAC を構築し，大腸菌内で変異を導入し，培養細胞に大腸菌から精製した BAC を遺伝子導入して，変異ウイルスを回収することが求められる．これまでの試行錯誤の結果，3kb 以上の外来遺伝子を全ゲノムの GPCMV に相同組換えにより導入しようとすると，組換え部位周辺や GP129-132 領域に欠失が生じることが明らかとなった．そこで，GPCMV の非コード領域 9kb を置換する形で，GFP 発現カセットを有する BAC を GPCMV ゲノムに導入した．得られた組換え GPCMV を GFP 発現に基づきプラーク精製後ストックを作製し，感染細胞の核を分離し，核より環状 DNA を Hirt 法により精製後，大腸菌に遺伝子導入することで，9kb 領域が BAC と置換された GPCMV ゲノムとしてクローニングされた約 240kb の pBAC-GPCMVΔ9K の作製に成功した．この BAC クローンの DNA を精製後，線維芽細胞に遺伝子導入すると元のウイルスが回収できた．この系を用いることで今後様々な変異ウイルスの培養細胞での増殖性の検討が可能となった．[山田壮一，福地早希，井上直樹；森石恆司（山梨大微生物）]

4) 培養胎盤組織片でのモルモット CMV(GPCMV)感染病態解析

モルモットは，先天性 CMV 感染モデル動物として有用であるが，感染経路となる胎盤におけるウイルス動態や病態に関してはほとんど明らかになっていない．そこで，前年度に構築した GPCMV 感染可能な胎盤組織培養系を用いて，in vitro での胎盤におけるウイルス感染病態像を解析した．妊娠 4 週齢胎盤をスライス培養し，GPCMV-RFP または SG を感染後，経時的に胎盤片を回収し，DNA 抽出を行い，ウイルス DNA の増加を確認したところ，GPCMV-RFP 及び SG ともに感染 3 日目ごろからウイルス DNA の増加が確認された．感染胎盤片の病理組織学的解析により，ウイルス抗原は，syncytiotrophoblast，spongiotrophoblast layer 及び parietal trophoblast giant cell 等に認められた．また，GPCMV-SG 感染胎盤片においては，一部に血管内皮細胞への感染も認められた．GPCMV は培養胎盤片で良く増殖することが確認され，その胎盤組織片上における感染像は，感染個体胎盤における像と良く似ていた．一方で，この系においては血流がないことから，胎盤組織への最初の感染に関しては個体における感染様式と異なっていると思われる．今後，細胞培養系と共にこの胎盤組織培養系を用いることにより，CMV 感染による胎盤の機能的な側面への影響に関して in vivo に近い条件での詳細な解析が可能になると考えられる．[山田壮一，福地早希，橋本楓，井上直樹；片野晴隆，佐藤由子（感染病理部）]

5) マイクロアレイ解析により変動の見られた遺伝子の解析

GPCMV 感染モルモット胎盤のマイクロアレイ解析結果より，遺伝子発現の上昇が認められた 2 遺伝子(CCNB3，TNKS2)について，培養細胞を用いてその発現変動を解析した．胎盤を用いた RT real-time qPCR ではマイクロアレイ解析と同様な遺伝子発現の上昇が確認された．モルモット胎仔肺線維芽細胞(GPL)に野生型である GPCMV-SG を感染させ，その発現を確認したところ，非感染と比較して十数倍の発現上昇を示した．胎盤と比較して，発現比が大きいのは，感染細胞数の違いに起因していると考えられた．ウイルス感染後，経時的に遺伝子発現変動を調べたところ，両遺伝子ともに感染約 48h 後から発現量が増加していた．今後，感染培養胎盤片を用いたマイクロアレイや siRNA 及び蛋白局在等の詳細な解析と共に，ヒト由来細胞を用いた比較解析を行うことにより，これら遺伝子と CMV 感染との関連が明らかになると考えられる．[山田壮一，福地早希，橋本楓，福井良子，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 は小動物で唯一経胎盤感染を起こすため，ワクチン戦略の評価に有用である．組換えアデノウイルスを用いた gB 免疫により一定の感染防御が可能であることを前年度までに実証した．今年度は，血清学的解析により，GPCMV 感染と同等な抗体価・avidity レベルの gB 抗体の誘導があっても GPCMV 感染に匹敵する中和能は形成されないこと，十分な gB 抗体存在下で同腹の胎仔であっても先天性感染を防御できない場合があることなどを明らかにした．病理学的解析により，gB を免疫した妊娠モルモットの胎盤では，ウイルス抗原陽性となる胎盤が少ないこと，抗原陽性細胞の局在が spongiotrophoblast 層にほぼ限定され cell-to-cell でフォーカスとしての増殖が見られること，gB 免疫によりフォーカスのサイズが小さくなることはないことを示した．従って，gB 免疫は胎盤への感染を抑制するが，胎盤内や胎盤から胎仔への感染を完全に制御することはできないと考えられた．gB 免疫の限界を克服できる新たなアプローチが求められる．［山田壮一，橋本楓，福地早希，井上直樹；片野晴隆，佐藤由子（感染病理部）；森石恆司（山梨大微生物）］

3. 単純ヘルペスウイルスに関する研究

1) 造血幹細胞移植患者から分離された単純ヘルペスウイルス1型の抗ヘルペス剤への感受性および予後との関連の検討

造血幹細胞移植治療においては細胞性・液性免疫とも極度に障害され，単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）の再活性化および難治化がおきすい．アシクロビル（ACV）の予防投与が行われるが，ACV 耐性 HSV-1 による重篤な感染症も起きうる．造血幹細胞移植患者において，ACV 耐性 HSV-1 の出現頻度，遺伝子変異および他の抗ウイルス剤への感受性を調べ，さらにそれらと予後との関連を明らかにすることを目的とした．その結果，全 278 名のうち 42 名（15%）で少なくとも1回以上 HSV-1 が検出された．このうち 11 名において ACV 耐性 HSV-1 が出現した（耐性化率 26%）．この中では ACV 耐性 HSV-1 による重篤な感染症は見られなかったが，移植 100 日後の生存率は 36%（4/11）で，ACV 耐性 HSV-1 非出現患者（69%）に比べ優位に低かった（Fisher 検定，P=0.04）．造血幹細胞移植においては，免疫低下により ACV 耐性 HSV-1 が排除されにくくなり高率に出現することが示され，薬剤感受性モニタリングの重要性が認識された．［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）］

2) 成人および小児ヘルペス脳炎患者における検討

アシクロビル（ACV）治療に抵抗性を示した HSV-1 によるヘルペス脳炎患者の脳脊髄液から nesTed PCR 法によりウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）遺伝子を増幅し，その塩基配列を決定した．増幅された vTK 遺伝子を基に組換え vTK を発現し，その ACV のリン酸化能を評価した．増幅された vTK 遺伝子は ACV 耐性を誘導しないことが証明された．［西條政幸，垣内五月，伊藤（高山）睦代，林　昌宏；蒲ひかり，東裕哉，大澤由記子（みなと赤十字病院小児科）；木村聡，津川潤，坪井義夫（福岡大学病院神経内科）；水口雅，五十嵐隆（東京大学医学部）］

3) 単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）のウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）変異による薬剤への影響の解析

HSV-1 感染症の治療には ACV が第一選択薬として用いられるが，ACV に対する耐性株出現が問題となっている．この耐性は vTK 活性の欠損や変異によって誘導されることが知られている．ACV 耐性に関与すると提唱されたウイルス性チミジンリン酸化酵素の 41 番目のアミノ酸変異をもつ ACV 耐性 HSV-1 によるヘルペス脳炎患者の報告が発表された．この 41 番目のアルギニンからヒスチジンへのアミノ酸変異が ACV に対して耐性を誘導するか否かをウイルス学的に解析した．その結果この変異は ACV 耐性を誘導しなかった．そのアミノ酸変異は ACV 耐性を誘導しない．［佐藤正明，垣内五月，伊藤（高山）睦代，木下一美，林昌宏，西條政幸］

VI.　リケッチアに関する研究

1. リケッチア症対策の総合的研究

1) ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究

ダニ媒介性細菌感染症は多様で，総合的な診断・治療対応のための国内体制が整備される必要がある．本研究は，臨床，病原体，媒介ダニ，動物からなる複雑な感染環をもつ疾患群に対応する恒久的な体制構築を目的とした．本年度は，リケッチア症の診断治療体制ネットワークを強化・恒久的なものとする試みを開始した．まず，地域特性に対応する診断ネットワークの必要要件，課題の洗い出し，医療機関に提供する検査体制の把握と年度毎のデータ更新のためのアンケート調査を実施した．次に，複数県参加のネットワーク構築活動を試行しながら，地域毎に異なる感染環特性・多様性を考慮し，適切な診断，リスク評価の基礎資料となる疫学情報収集を実施・支援した．実験室診断と臨床の迅速な連携を可能とする試みを始めた．［安藤秀二；岸本壽男（岡山県環境保健センター）］

2) 新規リケッチアの分子生物学的解析

バイオテロに使用される可能性のある病原体として，セレクトエージェントに指定されている紅斑熱群リケッチアの一部には，多様なリケッチア種がある．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た．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．そのため新規分離リケッチア株の全ゲノム解析をこころみ，既存のリケッチア種と比較し，バイオテロを想定した場合の多様な臨床症状をも示すリケッチア症に対し，SNPs 解析による迅速診断系の可能性について検討した．［安藤秀二，安藤匡子；藤田博己(馬原アカリ医学研究所)，黒田誠，小笠原由美子(感染研・病原体ゲノム解析研究センター)］

2. リケッチア症の基礎的研究

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

これまでにつつが虫病リケッチア感染が進むにつれて，感染細胞内で脂肪滴形成が促進されることを報告した．また，脂肪滴の主要構成脂質の triglyceride（TG）量が有意に増加した．そこで，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 L929 細胞で差が認められなかった．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．これらの結果から，TG の合成系が活性化されている証拠は得られなかった．一方で牛胎児血清（FCS）無添加の培地でも脂肪滴が形成されることが分かり，TG の合成に用いられる脂質が培養液中の FCS など細胞外からでなく，細胞自身から供給されている可能性が考えられた．今後，リン脂質のリモデリング不全による結果として，余剰になった脂肪酸が TG に流れている可能性を検証する予定である．［小川基彦；深澤征義（感染研・細胞化学部）；内山恒夫（徳島大・院・ヘルスバイオサイエンス研究部）］

2) つつが虫病リケッチアのマクロファージ系細胞における増殖に関する研究

つつが虫病リケッチアのマクロファージ内での増殖の違いが病原性と密接な関係がある可能性が示唆された．そこで，つつが虫病リケッチア強毒株および弱毒株の Raw264.7，一酸化窒素(NO)の産生の制御が異なる Raw NO-，Raw264.7 細胞を LPS で刺激した細胞，J774，および LPS で刺激した J774 細胞における増殖性を比較した．強度株および弱毒株いずれも，LPS 刺激 Raw264.7 および J774 細胞＞Raw NO-＞Raw264.7 および J774 細胞の順に増殖性が高かった．しかし，論文報告にあるような，強度株と弱毒株の顕著の増殖の差は，いずれの細胞でも感染初期にはみられず，後期に若干の差がみられる程度であった．今後は，LPS によるマクロファージの刺激とリケッチア増殖の関連に注目し，そのメカニズムの解明を計画している．［小川基彦，佐藤正明，安藤秀二］

3) マウスにおける *Orientia tsutsugamushi* 血清型の病原性比較

Orientia tsutsugamushi は，つつが虫病の起因リケッチアであり，複数の血清型が存在するが病態

との関連は未解明である．そこで，マウスにおいて血清型特異的病態の有無を検討した．B6 マウスおよび IFN・または NOS 遺伝子を欠損した（KO）マウスも使用し，Kaisei 株（JG 型）および Kuroki 株（Kuroki 型）を 10^6 ゲノムコピー腹腔内接種した．Kuroki 株は体重に著変はなく，Kaisei 株は，B6 マウスで体重が増加し，KO マウスでは著しく減少した．Kuroki 株よりも Kaisei 株のほうがマウスに対して病原性が高いことが示された．［安藤秀二，安藤匡子；松村隆之，阿戸学］

VII. クラミジアに関する研究

1. クラミジアに関する研究

1）クラミジア・トラコマーティスの分子系統解析に関する研究

Chlamydia trachomatis（*C. trachomatis*）はグラム陰性の偏性細胞内寄生細菌で，ヒトを宿主とする．その病態は(1)トラコーマ，(2)クラミジアによる性感染症，(3)性病性リンパ肉芽腫（LGV）の 3 つに大別され，日本を含め世界的に最も多い性行為感染症がクラミジアによるものである．クラミジアの分類は血清型にもとづいた手法がとられてきたが，近年 PCR を用いた膜表面タンパク質である ompA の遺伝子配列にもとづいたタイプ分けが行なわれている．その一方でゲノム内に存在している反復配列の数 VNTR（valuable number tandem repeat）で同一血清型株間の詳細な分類 MLVA（multi locus VNTR analysis）が可能となっている．今回私たちは当研究室で保有している *C. trachomatis* 臨床分離株について *ompA*-MLVA による詳細な分類を試みた．その結果，ompA 遺伝子解析では既知の株と一致している血清型と国内で独自に変異した血清型に分けられたが，VNTR の解析によってより詳細な株の同定が可能になった．［佐藤正明，安藤秀二］

VIII. その他の研究

1. バイオセーフティに関する研究

1）地方衛生研究所におけるバイオリスク管理ならびに病原体等の輸送に関する現状

平成 19 年 6 月の感染症法改正により，いくつかの病原体が法の下での厳しく取り扱われることになった．また，臨床検体の搬送中の破裂事故により，運搬時の取り扱いはさらに厳しい要件が求められるようになった．各自治体において，感染症対策の科学的拠点となる地方衛生研究所におけるこれらの状況について現状をアンケート調査し，今後の課題について考察した．病原体管理に関するハード面は，多くの施設において向上し，管理規則，委員会などの運営面も改善されていた．ただし，輸送時の検体損傷などの具体的な面でのスキルを補う手順書，マニュアル等の準備が課題と考えられ，経過とともに個々の課題の再考を行うシステムが必要と考えられた．［安藤秀二；重松美加(感染研・感染症疫学センター)］

レファレンス業務

1. SFTS に関する行政検査

SFTS に関する病原体診断，血清診断を行政検査依頼に基づき，52 件について実施した．［下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，緒方もも子；森川茂（獣医科学部）；西條政幸］

2. 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 25 件について実施した．［田島茂，モイ メンリン，中山絵里，小滝徹，池田真紀子，谷ヶ崎和美，高崎智彦，西條政幸］

3. 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,中山絵里,田島茂，高崎智彦，西條政幸］

4. リケッチア臨床分離株の収集および標準抗原の分与

リケッチア関連の臨床分離株を収集するとともに血清診断用標準抗原を配布した．［安藤秀二］

サーベイランス業務

1. 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）55 症例，オウム病 3 症例，Q 熱 6 症例の疑い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，安藤匡子］

品質管理に関する業務

1. 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

平成24年度は1ロットの痘そうワクチンの国家検定を実施し合格と判定した．［福士秀悦，吉河智城，谷英樹，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸］

2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

平成 24 年度は 69 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し，68 ロットを合格と判定し，１ロットを再試験とし，その内１ロットを不合格と判定した．［田島茂，モイメンリン，中山絵里，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］

3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成24年度は2ロットの黄熱ワクチンの依頼検査を実施し，いずれも適と判定した．［モイメンリン，小滝徹，中山絵里，田島茂，高崎智彦，西條政幸］

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成 24 年度は，２ロット(RB17, RB18)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，林昌宏，垣内五月，木下一美，小滝徹，高崎智彦，西條政幸］

5. 水痘ワクチンの検定

乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定 11 ロット，水痘抗原国家検定１ロット，輸出用ワクチン依頼検査 17 ロット，合計 29 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］

6. 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１件の承認前試験を実施した．［安藤秀二，安藤匡子，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，ベトナム NIHE から 52 検体，ホーチミン市パスツール研究所から 80 検体，ラオスから 46 検体，カンボジアから 76 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．［高崎智彦，池田真紀子，モイメンリン，谷ヶ崎和美，小滝徹，中山絵里，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

6 月 19-20 日に国立感染症研究所（戸山庁舎）において INFORMAL CONSULTATION TO PREPARE A DRAFT ACTION PLAN FOR THE ESTABLISHMENT OF AN EXTERNAL QUALITY ASSURANCE (EQA) PROGRAMME FOR THE DIAGNOSIS OF DENGUE VIRUS AND OTHER EMERGING INFECTIOUS DISEASES 会議を開催した．出席者は，WHO から Franciscus Konings 博士，Chin Kei Lee 博士，香港から Janice Lo 博士，シンガポールから Ng Lee Ching 博士，Mr Pok Kwoon Yong 博士，マレーシアから Sazaly AbuBakar 博士，オーストラリアからは John Aaskov 博士，ベトナムからは Futoshi Hasebe 博士が参加した．［高崎智彦，モイメンリン，中山絵里，池田真紀子，谷ヶ崎和美，稲垣紀子，小滝徹，田島茂，西條政幸，倉根一郎；大石和徳（感染症疫学センター）；松井香保里，今井みどり，宮川昭二（国際協力室)］

3. ベトナム国における JICA プロジェクトへの参画

JICA 短期専門家として，ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)ウイルス部リケッチア実験室スタッフに対し，リケッチアの実験診断操作の開始のための指導・助言を行うことを第一の目的とした研修指導を行った．［安藤秀二］

4. 韓国全北大学によるつつが虫病に関する情報収集の支援

近年，患者の増加が著しい韓国のつつが虫病対策として，日本国内の状況やそれらの対策に資するための情報提供と日本国内の地域対策の情報を交換するための調整支援を行った．[安藤秀二]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1) Ishioka, K., Ikuta, K., Sato, Y., Kaneko, H., Sorimachi, K., Fukushima, E., Saijo, M., Suzutani, T. (2013): Herpes simplex virus type 1 virion-derived US11 inhibits type 1 interferon-induced protein kinase phosphorylation. Microbiol. Immunol., 57(6),426-436.

2) Katano, H., Sato, S., Sekizuka, T., Kinumaki, A., Fukumoto, H., Sato, Y., Hasegawa, H., Morikawa, S., Saijo, M., Mizutani, T., Kuroda, M.(2012): Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. International J. Clin. Exp. Pathol., 5(8), 814-823,

3) Satho, T., Nagano, Y., Eshita, Y., Hisatomi, Y., Sakata, A., Miyata, T., Kashige, N., Miyake, F., Runtuwene, L.R., Fukushi, S., Saijo, M., Kurane, I., Morikawa, S., Mizutani, T. (2013): Inhibitory effects of JNK on Aedes albopictus early larval development. Urban Pest Management, 2:7-13.

4) Watanabe, M., Suyama, K., Hashimoto, K., Sato, M., Ohara, S., Abe, Y., Kawasaki, Y., Yamaguchi, S., Saijo, M., Hosoya, M. (2013): Mumps virus associated acute encephalopathy: case report and review of the literature. J. Child Neurol., 28 (2), 243-245.

5) Fukushi, S., Tani, H., Yoshikawa, T., Saijo, M., Morikawa, S. (2012): Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. Viruses, 4, 2097-2114.

6) Sakai, K., Nagata, N., Ami, Y., Seki, F., Suzaki, Y., Iwata-Yoshikawa, N., Suzuki, T., Fukushi, S., Mizutani, T., Yoshikawa, T., Otsuki, N., Kurane, I., Komase, K., Yamaguchi, R., Hasegawa, H., Saijo, M., Takeda, M., Morikawa, S. (2013): Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. J. Virol., 87(2), 1105-1114.

7) Taniguchi, S., Sayama, Y., Nagata, N., Ikegami, T., Miranda, M.E., Watanabe, S., Iizuka, I., Fukushi, S., Mizutani, T., Ishii, Y., Saijo, M., Akashi, H., Yoshikawa, Y., Kyuwa, S., Morikawa, S. (2012): Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. BMC Vet. Res., 8, 189.

8) Sayama, Y., Demetria, C., Saito, M., Azul, R.R., Taniguchi, S., Fukushi, S., Yoshikawa, T., Iizuka, I., Mizutani, T., Kurane, I., Malbas, F.F. Jr, Lupisan, S., Catbagan, D.P., Animas, S.B., Morales, R.G., Lopez, E.L., Dazo, K.R., Cruz, M.S., Olveda, R., Saijo, M., Oshitani, H., Morikawa, S. (2012): A seroepidemiologic study of Reston ebolavirus in swine in the Philippines. BMC Vet. Res., 8, 82.

9) Lihoradova, O., Kalveram, B., Indran, S.V., Lokugamage, N., Juelich, T.L., Hill, T.E., Tseng, C.T., Gong B., Fukushi S., Morikawa S., Freiberg A.N., Ikegami, T. (2012): The dominant-negative inhibition of double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR increases the efficacy of Rift Valley fever virus MP-12 vaccine. J. Virol., 86(14), 7650-7661.

10) Ujiie, M., Moi, M.L., Kobayashi, T., Takeshita, N., Kato, Y., Takasaki, T., Kanagawa, S. (2012): Dengue virus type-3 infection in a traveler returning from Benin to Japan. J. Travel Med., 19,4,255-257.

11) Omatsu, T., Moi, M.L., Takasaki, T., Nakamura, S., Katakai, Y., Tajima, S., Ito, M., Yoshida, T.,

Saito, A., Akari, H., Kurane, I. (2012): Changes in hematological and serum biochemical parameters in common marmosets (Callithrix jacchus) after inoculation with dengue virus. J. Med. Primatol., 41, 5, 289-296.

12) 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 FcγR-expressing cells. PLoS Negl. Trop. Dis., 6(2), e1536.

13) 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. Dengue Bull., 35, 217-222.

14) Kikuchi, T., Shimizu, S., Okame, M., Koibuchi, T., Moi, M.L., Kotaki, A., Takasaki, T. (2012): Dengue-importations into Japan from East Timor-3 cases-DENV-3. ProMed, promed archive no. 20120319.1074013,

15) 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.

16) Kuwata, R., Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., Tajima, S., Sasaki, T.,Takasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K. (2012):Establishment and characterization of a cell line from the mosquito Culex tritaeniorhynchus (Diptera: Culicidae). In Vitro Cell Dev Biol Anim., 48(6):369-376.

17) Wong, K.T., Ng, K.Y., Ong, K.C., Ng, W.F., Shankar, S.K., Mahadevan, A., Radotra, B., Su, I.J., Lau, G., Ling, A.E., Chan, K.P., Macorelles, P., Vallet, S., Cardosa, M.J., Desai, A., Ravi, V., Nagata, N., Shimizu, H., Takasaki, T. (2012): Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA. Neuropathol. Applied Neurobiol., 38, 443-453.

18) Hirayama, T., Mizuno, Y., Takeshita, N., Kotaki, A., Tajima, S., Omatsu, T., Sano, K., Kurane, I., Takasaki, T. (2012): Detection of dengue virus genome in urine by real-time reverse transcriptase PCR: a laboratory diagnostic method useful after disappearance of the genome in serum. J. Clin. Microbiol., 50(6):2047-2052

19) Moi, M.L., Omatsu, T., Tajima, S., Lim, C.K., Kotaki, A., Ikeda, M., Harada, F., Ito, M., Saijo, M., Kurane, I., Takasaki, T. (2013): Detection of dengue virus nonstructural protein 1 (NS1) by using ELISA as a useful laboratory diagnostic method for dengue virus infection of international travelers. J. Travel Med.,20(3):185-193.

20) Kitaura, K., Fujii, Y., Matsutani, T., Shirai, K., Suzuki, S., Takasaki, T., Shimada, S., Kametani, Y., Shiina, T., Takabayashi, S., Katoh, H., Ogasawara, K., Kurane, I., Suzuki, R. (2012): A new method for quantitative analysis of the T cell receptor V region repertoires in healthy common marmosets by microplate hybridization assay. J. Immunol. Methods, 384(1-2):81-91

21) Yamaguchi, Y., Nukui, Y., Kotaki, A., Sawabe, K., Saijo, M., Watanabe, H., Kurane, I., Takasaki T., Tajima, S. (2013): Characterization of a serine-to-asparagine substitution at position 123 in the Japanese encephalitis virus E protein. J. Gen. Virol., 94(1):90-96.

22) Shimoda, H., Inthong, N., Noguchi, K., Terada, Y., Nagao, Y., Shimojima, M., Takasaki, T., Rerkamnuaychoke, W., Maeda, K. (2013): Development and application of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for serological survey of Japanese encephalitis

virus infection in dogs. J. Virol. Methods, 187(1):85-89.

23) Sakamoto, N., Nakamura-Uchiyama, F., Kobayashi, K., Takasaki, T., Ogasawara, Y., Ando, S., Iwabuchi, S., Ohnishi, K. (2013): Severe murine typhus with shock and acute respiratory failure in a Japanese traveler after returning from Thailand. J. Travel Med., 20(1):50-53.

24) Fujii, Y., Kitaura, K., Matsutani, T., Shirai, K., Suzuki, S., Takasaki, T., Kumagai, K., Kametani, Y., Shiina, T., Takabayashi, S., Katoh, H., Hamada, Y., Kurane, I., Suzuki, R. (2013): Immune-related gene expression profile in laboratory common marmosets assessed by accurate quantitative real-time PCR using selected reference genes. PLoS One, 8(2), e56296.

25) Kurane, I., Shibasaki, K., Kotaki, A., Hijioka, Y., Takasaki, T. (2013): The effect of precipitation on the transmission of Japanese encephalitis (JE) virus in nature: A complex effect on antibody-positive rate to JE virus in sentinel pigs. Int. J. Environ. Res. Public Health, 10, 1831-1844.

26) Kajihara, M., Marzi, A., Nakayama, E., Noda, T., Kuroda, M., Manzoor, R., Matsuno, K., Feldmann, H., Yoshida, R., Kawaoka, Y., Takada, A. (2012): Inhibition of Marburg virus budding by nonneutralizing antibodies to the envelope glycoprotein. J. Virol., 86(24), 13467-13474.

27) Nidom, C.A., Nakayama, E., Nidom, R.V., Alamudi, M.Y., Daulay, S., Dharmayanti, I.N., Dachlan, Y.P., Amin, M., Igarashi, M., Miyamoto, H., Yoshida, R., Takada, A. (2012): Serological evidence of Ebola virus infection in Indonesian orangutans. PLoS One, 7(7), e40740.

28) Marzi, A., Yoshida, R., Miyamoto, H., Ishijima, M., Suzuki, Y., Higuchi, M., Matsuyama, Y., Igarashi, M., Nakayama, E., Kuroda, M., Saijo, M., Feldmann, F., Brining, D., Feldmann, H., Takada, A. (2012): Protective efficacy of neutralizing monoclonal antibodies in a nonhuman primate model of Ebola hemorrhagic fever. PLoS One, 7(4), e36192.

29) Nakamichi, K., Kishida, S., Tanaka, K., Suganuma, A., Sano, Y., Sano, H., Kanda, T., Maeda, N., Kira, J.I., Itoh, A., Kato, N., Tomimoto, H., Kurane, I., Lim, C.K., Mizusawa, H., Saijo, M. (2013): Sequential changes in the non-coding control region sequences of JC polyomaviruses from the cerebrospinal fluid of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. Arch. Virol., 158, 639-650.

30) Kobayashi, Z., Akaza, M., Numasawa, Y., Ishihara, S., Tomimitsu, H., Nakamichi, K., Saijo, M., Morio, T., Sanjo, N., Shintani, S., Mizusawa, H. (2013): Failure of mefloquine therapy in progressive multifocal leukoencephalopathy: report of two Japanese patients without human immunodeficiency virus infection. J. Neurol. Sci., 324,190-194.

31) Nukuzuma, S., Kameoka, M., Sugiura, S., Nakamichi, K., Nukuzuma, C., Takegami, T. (2013): Suppressive effect of PARP-1 inhibitor on JC virus replication in vitro. J. Med. Virol., 85, 132-137.

32) Nakamichi, K., Mizusawa, H., Yamada, M., Kishida, S., Miura, Y., Shimokawa, T., Takasaki, T., Lim, C.K., Kurane, I., Saijo, M. (2012): Characteristics of progressive multifocal leukoencephalopathy clarified through internet-assisted laboratory surveillance in Japan. BMC Neurol., 12, 121.

33) Nukuzuma, S., Kameoka, M., Sugiura, S., Nakamichi, K., Nukuzuma, C., Miyoshi, I., Takegami, T. (2012): Exogenous human immunodeficiency virus-1 protein, Tat, enhances replication of JC virus efficiently in neuroblastoma cell lines. J. Med. Virol., 84, 555-561.

34) Kakiuchi, S., Nonoyama, S., Wakamatsu, H., Kogawa, K., Wang, L., Kinoshita-Yamaguchi, H., Takayama-Ito, M., Lim, C.K., Inoue, N., Mizuguchi,

M., Igarashi, T., Saijo, M. (2013): Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir-resistant simplex virus 1 strain. J. Clin. Microbiol., 51(1), 356-359.

35) Kobayashi, F., Yamada, S., Taguwa, S., Kataoka, C., Naito, S., Hama, Y., Tani, H., Matsuura, Y., Sugahara, K. (2012): Specific interaction of the envelope glycoproteins E1 and E2 with liver heparin sulfate involved in the tissue tropismatic infection by hepatitis C virus. Glycoconjugate J., 29, 211-220.

36) Koyano, S., Inoue, N., Nagamori, T., Moriuchi, H., Azuma, H. (2013): Newborn screening of congenital cytomegalovirus infection using saliva can be influenced by breast feeding. Arch. Dis. Child. Fetal, 98, F182.

37) Inoue, N., Matsushita, M., Fukui, Y., Yamada, S., Tsuda, M., Higashi, C., Kaneko, K., Hasegawa, H., Yamaguchi, T. (2012): Identification of an antiviral compound that targets the varicella-zoster virus major capsid protein (ORF40) and inhibits the normal capsid maturation. J. Virol., 86, 12198-12207.

38) Fukushi, H., Yamaguchi, T., Yamada, S. (2012): Complete genome sequence of equine herpesvirus type 9 (EHV-9). J. Virol., 86,13822.

39) Tabata, T., Petitt, M., Fang-Hoover, J., Rivera, J., Nozawa, N., Shiboski, S., Inoue, N., Pereira, L. (2012): Cytomegalovirus impairs CTB-induced lymph-angiogenesis and vascular remodeling in an in vivo human placentation model. Am. J. Pathol., 181, 1540-1559.

40) Sonoyama, A., Ebina, Y., Morioka, I., Tanimura, K., Morizane, M., Tairaku, S., Minematsu, T., Inoue, N., Yamada, H. (2012): Low IgG avidity and ultrasound fetal abnormality predict congenital cytomegalovirus infection. J. Med. Virol., 84, 1928-1933.

41) 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 DermatoVenereol., 92(4), 443-444.

42) Gaowa, Ohashi, N., Aochi, M., Wuritu, D., Wu, D., Yoshikawa, Y., Kawamori, F., Honda, T., Fujita, H., Takada, N., Oikawa, Y., Kawabata, H., Ando, S., Kishimoto, T. (2013): Rickettsia in ticks, Japan, Emerg. Infect. Dis., 19(2), 338-340.

43) Ohashi, N., Gaowa, Wuritu, D., Kawamori, F., Wu, D., Yoshikawa, Y., Chiya, S., Fukunaga, K., Funato, T., Shiojiri, M., Nakajima, H., Hamauzu, Y., Takano, A., Kawabata, H., Ando, S., Kishimoto, T. (2013): Human granulocytic anaplasmosis, Japan, Emerg. Infect. Dis., 19(2), 289-292.

44) Yamauchi, T., Satô, M., Ito, T., Fujita, H., Takada, N., Kawabata, H., Ando, S., Sakata, A., Takano, A. (2013): Survey of tick fauna and tick-borne pathogenic bacteria on Rishiri Island, off north Hokkaido, Japan, Int. J. Acarol., 39(1), 2-3.

45) Murase, Y., Konnai, S., Githaka, N., Hidano, A., Taler, K., Ito, T., Takano, A., Ando, S., Kawabata, H., Tsubota, T., Murata, S., Ohashi, K. (2013): Prevalence of Lyme borrelia in Ixodes persulcatus ticks from an area with a confirmed case of Lyme disease. J. Vet. Med. Sci., 75(2), 215-218.

46) Ogawa, M., Uchiyama, T., Satoh, M., and Ando, S. (2013): Decontamination of mycoplasma-contaminated *Orientia tsutsugamushi* strains by repeated passages through cell cultures with antibiotics. BMC Microbiol., 13, 32.

47) Motoi, Y., Asano, M., Inokuma, H., Ando, S., Kawabata, H., Takano, A., Suzuki, M. (2013): Detection of *Rickettsia tamurae* DNA in ticks and wild boar (Sus scrofa leucomystax) skins in Shimane Preecture, Japan. J. Vet. Med. Sci., 75(3), 263-267.

48) Sashida, H., Sasaoka, F., Suzuki, J., Fujihara, M., Nagai, K., Fujita, H., Kadosaka, T., Ando, S.,

Harasawa, R. (2013): Two clusters among *Mycoplasma haemomuris* strains, defined by the 16S-23S rRNA intergenic transcribed spacer sequences. J. Vet. Med. Sci., 75(5), 643-648.

著書

1) Yamada, S., Taniguchi, R., Kosugi, I., Inoue, N.: Cytomegalovirus, pp.273-312. *In:* (Eds) Singh SK & Ruzek D. "Neuroviral Infection" Taylor & Francis CRC Press, 2013.

2. 和文発表

1) 西條政幸. エボラウイルス感染症. 化学療法の領域 29S-1:169-175, 2013
2) 西條政幸. バイオテロによる災害. 内科 110(6):1063-1067, 2013
3) Moi Meng Ling, 西條政幸. 抗アルボウイルス薬. 臨床と微生物 40(1):69-73, 2013
4) 谷英樹, 福士秀悦, 吉河智城, 西條政幸, 森川茂. アレナウイルス感染症. ウイルス 62:229-238, 2012
5) Moi ML, 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(4):457-465, 2012
6) 高崎智彦, 倉根一郎. RNA ウイルスによる感染症；フラビウイルス感染症-デング熱／黄熱／日本脳炎／ウエストナイルウイルス. カラー版内科学 p1858-1861 (西村書店) 2012 年
7) 中山絵里, 高崎智彦. 新興・再興感染症 up to date; チクングニアウイルス感染症. 化学療法の領域 29S-1:1063-1070, 2013
8) 高崎智彦. 警戒しないといけない輸入感染症の話題「デング熱,チクングニア熱」.公衆衛生 77(1):72-74, 2013
9) 白鳥 (田島) 茂, 高崎智彦. ワクチンの品質管理－日本脳炎ワクチンの品質管理.臨床とウイルス 40(5):297-305, 2012
10) 高崎智彦「感染症ワクチン：最近の話題」日本脳炎. BioClinica 365:332-336, 2013
11) 高崎智彦. 日本脳炎の感染・発症と妊婦・胎児への影響. 日本医事新報 4633:55, 2013
12) 井上直樹, 谷口留美, 古谷野伸. サイトメガロウイルス, Epstein-Barr ウイルス, ヒトヘルペスウイルス-6, -7, -8. 特集：抗ウイルス療法の現状と今後の展望 臨床と微生物 40:36-42, 2013.
13) 三木田馨,藤倉雄二,前田卓哉,三沢和央,原伸子,原悠,叶宗一郎,曽根原亘, 岸田修二,西條政幸,中道一生,川名明彦. JC ウイルスに対するメフロキン塩酸塩の臨床効果を示唆する 1 例. HIV 感染症と AIDS の治療 3:38-41,2012
14) 安藤秀二, ペストコントロール技術セミナー「怖いダニ類媒介性感染症～地域毎の情報を発信することが大事」, ペストコントロール 160:27-31, 2012
15) 安藤秀二, 佐多徹太郎, 重松美加, 杉山和良, 中嶋建介. 感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2011-2012 (WHO 出版物翻訳), 2012 年 9 月
16) 島崎綾子, 濱口陽, 原口康平, 里龍晴, 白川俊彦, 中富明子, 中嶋有美子, 森内浩幸, 安藤秀二, 安藤匡子. 新生児の日本紅斑熱症の一例～長崎県.病原微生物検出情報 33:20-21, 2012 (http://www.nih.go.jp/niid/ja/jsf-m/jsf-iasrs/2746-pr3931.html)
17) 安藤秀二. 発疹熱・発疹チフス・日本紅斑熱, 今日の治療と看護. 改定第３版, 総編集：永井良三, 大田健, 南江堂 (東京) pp935-937, 2013
18) 安藤秀二, 藤田博己. 国内における紅斑熱群リケッチア症を媒介するマダニ類と病原体との多様な関係. 日本衛生動物学会誌 64(1):5-7, 2013
19) 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
20) 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(4):362-366, 2012
21) 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 65:535-541, 2012
22) 藤田博己, 矢野泰弘, 高田伸弘, 安藤秀二, 川端寛樹, 藤田信子. 2012 年までに確認できた福島県のマダニ類とマダニ媒介リケッチア. 日本衛生動物学会

誌 64(1):37-41, 2013

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kakiuchi, S., Wakamatsu, H., Kogawa, K., Nonoyama, S., Inoue, N., Wang, L., Mizuguchi, M., Saijo, M.: Neonatal herpes caused by an acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1. The 25th International Conference on Antiviral Research, Sapporo, Japan, April 2012

2) Saijo, M.: How to promote a local journal to an international journal as central infectious diseases journal in Asia. International Scientific Journal Conference: Current status and Future of KCDC Journals, Osong, Korea, May 2011

3) Ujiie, M., Moi, M.L., Kato, Y., Kanagawa, S., Ohmagari, N., Takeshita, N., Takasaki, T.: Ocular complications associated with imported dengue fever. 9th Asia Pacific Travel Health Conference in conjunction with the 5th Regional Meeting of the International Society of Travel Medicine, Singapore, May 2012

4) Moi, M.L., Omatsu, T., Tajima, S., Lim, C.K., Saijo, M., Kurane, I., Takasaki, T.: Application of the dengue non-structural protein 1 (NS1) ELISA for the detection of dengue virus infection in travelers. 9th Asia Pacific Travel Health Conference in conjunction with the 5th Regional Meeting of the International Society of Travel Medicine, Singapore, May 2012

5) Saijo, M.: Crimean-Congo hemorrhagic fever in three locations: Xinjiang-China, Turkey, and Nigeria. Mini-symposium on Emerging and Re-emerging Viral Diseases in Asia, 46th Joint Working Conference on Viral Diseases, The Japan-US Cooperative Medical Science Program, Beppu, Ohita, Japan, June 2012

6) Saijo, M., Kakiuchi, S.: Drug-resistant herpes simplex virus type 1 infections in children. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan, June 2012

7) Lim, C.K., Moi, M.L., Kotaki, A., Saijo, M., Kurane, I., Takasaki, T.: Molecular diagnosis and analysis of imported chikungunya virus strains, Japan, 2006-2011. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan, June 2012

8) Ando, S., Ogasawara Y.: Traveler's rickettsioses and domestic rickettsioases in Japan. 15th International Congress on Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, June 2012

9) Takajo, I., Matsuda, M., Kariya, Y., Sakaguchi, S., Kawaguchi, T., Miyauchi, S., Umekita, K., Ueno, S., Kusumoto, N., Nagatomo, Y., Ogasawara, Y., Ando, S., Okayama, A.: Novel spotted fever group rickettsiosis? In a Japanese traveler returned from India. 15th International Congress on Infectious Diseases, Bangkok, Thailand, June 2012

10) Yoshikawa, T., Fukushi, S., Peters, C.J., Tseng, C.T.: IPS - 1 - dependent innate immune response is indispensable for limiting the SARS - CoV propagation in airway epithelial cell. 9th Japan - China International Conference of Virology. Sapporo, Japan. July 2012

11) Tani, H., Iha, K., Fukushi, S., Taniguchi, S., Yoshikawa, T., Saijo, M., Morikawa, S.: Characterization of pseudotype VSV possessing New and Old World arenavirus envelope proteins. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Japan, September 2012

12) Yamamoto, K., Iha, K., Bruce, C., Dowall, S.D., Taniguchi, S., Fukushi, S., Tani, H., Yoshikawa, T., Ishii, Y., Kyuwa, S., Hewson, R., Saijo, M., Morikawa, S.: Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of viral hemorrhagic fevers caused by arenaviruses. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Rio de Janeiro, Brazil,

September 2012

13) Tani, H., Iha, K., Fukushi, S., Taniguchi, S., Yoshikawa, T., Saijo, M., Morikawa, S.: Analysis of cell entry of New and Old World arenaviruses using pseudotyped viruses bearing their envelope proteins. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria. Rio de Janeiro, Brazil, September 2012

14) Lim, C.K., Kotaki, A., Kurane, I., Takasaki, T., Saijo, M.: A rapid non-nested reverse transcriptase-PCR assay for vertebrate flavivirus subgroups using a novel universal single primer pairbased on a conserved region of NS5 gene sequences. ICTMM 2012 - XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Rio de Janeiro, Brazil, September 2012

15) Yamada, S., Fukuchi, S., Hashimoto, K., Katano, H., Sato, Y., Fukui, Y., Inoue, N.: Effect of cytomegalovirus infection on placenta in a guinea pig model. International Federation of Placenta Association Meeting 2012, Hiroshima, Japan, September 2012

16) Takasaki, T.: Development of an animal model for evaluation of vaccine and therapeutics against dengue virus infection. 9th Japan-Taiwan Symposium, Taipei, Taiwan, September 2012

17) Yamada, S.: Congenital CMV infection. International Federation of Placenta Association Meeting 2012, Hiroshima, Japan, September 2012

18) Takasaki, T.: Dengue vaccine development in the world: overview and status update. Scientific Meeting on Infectious Diseases, Advance Update on Pathogenesis of Viral Infection: Hepatitis, Dengue, Coxsackie, Epstein Barr, and HIV. FMUI, Jakarta, October 2012

19) Azami, N.A.M., Moi, M.L., Takasaki, T., Salleh, S.A., Neoh, H.M., Othman, Z., Shah, S.A., Kurane, I., Jamal, R.: Serological evidence of the co-circulation of multiple dengue virus serotypes in Kuala Lumpur, Malaysia. 13th Asia-Pacific Congress on Clinical Microbiology and Infection, Beijing, China, October 2012

20) Hashimoto, K., Yamada, S., Fukuchi, S., Katano, H., Sato, Y., Kato, M., Moriishi, K., Inoue, N.: Immunization of pregnant guinea pigs with glycoprotein B (gB). 4th Congenital CMV Conference & 14th International CMV/beta-herpesvirus Workshop, San Francisco, October 2012

21) Yamada, S., Fukuchi, S., Hashimoto, K., Katano, H., Sato, Y., Inoue, N.: Establishment of an ex vivo culturing method for guinea pig placental tissues and analysis of virus spread in the tissues. 4th Congenital CMV Conference & 14th International CMV/beta-herpesvirus Workshop, San Francisco, October 2012

22) Koyano, S., Inoue, N., Moriuchi, H., Nagamori, T.: Timing of specimen collection is critical for saliva-based screening programs for congenital cytomegalovirus infection. 4th Congenital CMV Conference & 14th International CMV/beta-herpesvirus Workshop, San Francisco, October 2012

23) Tabata, T., Petitt, M., Fang-Hoover, J., Rivera, J., Nozawa, N., Shiboski, S., Inoue, N., Pereira L.: Congenital cytomegalovirus infection identified in pregnancies complicated by idiopathic intrauterine growth restriction. 4th Congenital CMV Conference & 14th International CMV/beta-herpesvirus Workshop, San Francisco, October 2012

24) Shigematsu, M., Fujimoto, S., Ando, S.: Total approach of the training for graduate and ungraduate students in medical related area in Japan. 55th Annual Biological Safety Conference, Orkando, Florida, USA, October 2012

25) Saijo, M.: Preparedness for the sporadic outbreaks of emerging dangerous pathogens-associated infectious diseases in NIID, Japan. Japan-China-Korea Infectious Disease

Conference (NIID), Tokyo, Japan, November 2012

26) Moi, M.L., Lim, C.K., Saijo, M., Takasaki, T., Kurane, I.: Re-assessment of dengue neutralizing antibody and viremia titers in dengue patients using FcγR-expressing cells. The 61st Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Atlanta, USA, November 2012

27) Ujiie, M., Moi, M.L., Kato, Y., Kotaki, A., Takeshita, N., Kanagawa, S., Takasaki, T., Ohmagari, N.: Dengue fever outbreak among Japanese construction workers returning from India. The 61st Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Atlanta, USA, November 2012

28) Takasaki, T.: Inactivated Japanese encephalitis vaccine and vaccination in Japan. Workshop on Current Epidemiology and Vaccine Quality Control of Japanese Encephalitis Virus in East Asia Area, Taipei, Taiwan, December 2012

29) Takasaki, T.: The story on Vero cells established in Japan by Professor Yasumura. Workshop on Current Epidemiology and Vaccine Quality Control of Japanese Encephalitis Virus in East Asia Area, Taipei, Taiwan, December 2012

30) Saijo, M.: Preparedness for possible outbreak of high dangerous pathogen-associcated infectious diseases in NIID, Japan. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections 2013, Tokyo, Japan, January 2013

31) Saijo, M., Taniguchi, S., Morikawa, S.: Review of Reston virus studies in NIID. 6th Japan-USA Medical Biodefence Symposium, Nagasaki, Japan, February 2013

2. 国内学会

1) 伊藤（高山）睦代，中道一生，山口（木下）一美，王麗欣，林昌宏，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 11 回狂犬病研究会，東京，2012 年 4 月

2) 垣内五月，若松太，子川和宏，野々山恵章，水口雅，五十嵐隆，西條政幸．ウイルス学的に証明された新生児アシクロビル耐性 1 型単純ヘルペス脳炎．第 115 回日本小児科学会学術集会，福岡県，2012 年 4 月

3) Moi, M.L., Lim, C.K., Saijo, M., Kurane, I., Takasaki, T. デング熱診断サーベイランスのための NS1 抗原検出診断キット．第 86 回日本感染症学会，長崎市，2012 年 4 月

4) 安藤秀二，山内悠子，竹下望，藤澤智美，清島真理子，堀田剛，清水恒広，高城一郎，岡山昭彦，阪本直也，中村ふくみ，大西健児．実験室診断で経験した多様なリケッチア症．第 86 回日本感染症学会，長崎市，2012 年 4 月

5) 高城一郎，金子裕美，坂口翔太，川口剛，宮内俊一，梅北邦彦，上野史朗，楠本規生，長友安弘，安藤秀二，岡山昭彦．インドからの輸入感染症と考えられた新規リケッチア症の一例．第86回日本感染症学会，長崎市，2012 年 4 月

6) 中島隆弘，清水恒広，堀田剛，安藤秀二．南アフリカ滞在中に感染し来日後に発症した地中海紅斑熱のブラジル人症例．第 86 回日本感染症学会，長崎市，2012 年 4 月

7) 山口幸恵，小滝徹，新井智，沢辺京子，倉根一郎，西條政幸，高崎智彦，田島茂．非構造蛋白質 NS4A に着目した日本脳炎ウイルスの分子疫学的解析．第 47 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熊本市，2012 年 5 月

8) 井上直樹．シンポジウム「抗ウイルス薬」抗ヘルペス薬:先天性 CMV 感染児の治療及び新規薬剤開発状況を中心として．第 53 回日本臨床ウイルス学会シンポジウム，大阪市，2012 年 5 月

9) 高崎智彦．デング熱など昆虫媒介ウイルス感染症．第 111 回日本皮膚科学会総会，京都市，2012 年 6 月

10) 高崎智彦．チクングニアウイルスの生態と病原性．第 53 回日本臨床ウイルス学会，豊中市，2012 年 6 月

11) 谷口留美，古谷野伸，錫谷達夫，五石圭司，伊藤裕司，森岡一朗，岡明，中村浩幸，山田秀人，五十嵐隆，井上直樹，Toll 様受容体(TLR)遺伝子の一塩基多型と先天性 CMV 感染・感染症発症の相関: 第 27

回ヘルペスウイルス研究会，愛知，2012 年 6 月

12) 橋本楓，山田壮一，福地早希，片野晴隆，佐藤由子，加藤みなみ，森石恆司，井上直樹．モルモット妊娠動物モデルを用いたサイトメガロウイルスワクチン開発の基礎検討．第 27 回ヘルペスウイルス研究会，愛知，2012 年 6 月

13) 山田壮一，福地早希，金井亨輔，片野晴隆，佐藤由子，井上直樹．モルモット胎盤組織培養系の樹立とウイルス局在解析.第27回ヘルペスウイルス研究会，愛知，2012 年 6 月

14) 小川基彦，深澤征義，内山恒夫．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．第 54 回脂質生化学会，福岡市，2012 年 6 月

15) 安藤秀二，小笠原由美子．輸入リケッチア症～2011 年の症例を中心に（過去の症例もリストアップ）．第 20 回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

16) 石畝史，中村雅子，山田克則，吉川昌範，高橋伸行，南部浩孝，藤田博己，安藤秀二，高田伸弘．福井県奥越地区におけるマダニ分布調査―1991 年と 2011 年の比較．第 30 回北陸病害動物研究会，坂井市（福井県），2012 年 6 月

17) 岡野祥，平良勝也，山本正悟，北野智一，藤田博己，高田伸弘，高野愛，川端寛樹，安藤秀二．宮古島のつつが虫病患者発生概要と住民の血清疫学調査．第 20 回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

18) 岡野祥，平良勝也，藤田博己，高田伸弘，高野愛，川端寛樹，安藤秀二．沖縄本島における日本紅斑熱の発生状況,第20回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

19) 山本正悟,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．宮古島の鼠から回収したデリーツツガムシからの *Orientia tsutsugamushi* 検出状況．第 20 回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

20) 馬場俊一，高野愛，川端寛樹，小笠原由美子，安藤秀二.スウェーデンで感染した,輸入ライム病の母，娘例．第 20 回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

21) 藤澤智美，藤田博己，角坂照貴，安藤秀二，高野愛，小笠原由美子，川端寛樹，清島真理子．Rickettsia africae による旅行者感染の一例，第 20 回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

22) 高城一郎，金子裕美，坂口翔太，川口剛，宮内俊一，梅北邦彦，上野史朗，楠本規生，長友安弘，岡山昭彦，藤田博己，小笠原由美子，安藤秀二．インド旅行者のリケッチア症,第 20 回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

23) 矢野泰弘，山本正悟，藤田博己，安藤秀二．ヤマアラシチマダニ若虫の体内における紅斑熱リケッチアの存在様式.第20回ダニと疾患のインターフェース，阿南市（徳島県），2012 年 7 月

24) 安藤秀二，小笠原由美子，伊東拓也，藤田博己．*Haemaphysalis megaspinosa* の分布と保有リケッチア.20 回ダニと疾患のインターフェース,阿南市(徳島県)，2012 年 7 月

25) 高崎智彦．デング，チクングニア，WNV 等昆虫媒介性ウイルス感染症の現状と今後について．H24 年度日本赤十字社　感染症定期報告情報検討会，東京，2012 年 8 月

26) 酒井宏治，關文緒，網康至，福士秀悦，西條政幸，森川茂，山口良二，駒瀬勝啓，竹田誠．カニクイザルで致死的感染症を起こしたシステンパーウイルスのサル SLAM ならひに Nectin4 の効率的な利用．第 154 回日本獣医学会学術集会，盛岡市，2012 年 9 月

27) 大屋賢司，黒田誠，関塚剛史，奥田秀子，安藤秀二，福士秀人;動物クラミジアを検出する LAMP 法の開発．第 30 回日本クラミジア研究会，東京，2012 年 9 月

28) 佐藤正明，小川基彦，安藤秀二．*Chlamydia trachomatis* の MLST 解析に関する検討．第 30 回日本クラミジア研究会，東京，平成 24 年 9 月

29) 大屋賢司，黒田誠，関塚剛史，奥田秀子，安藤秀二，福士秀人.動物クラミジアを検出する LAMP 法の開発．第 154 回日本獣医学会，盛岡市，2012 年 9 月

30) 原崎多代，大屋賢司，関塚剛史，奥田秀子，安藤秀二，黒田誠，福士秀人.クラミジア肺炎およびオウム病を鑑別するマルチプレックス PCR 法の開発.第 154

回日本獣医学会，盛岡市，2012 年 9 月

31) 矢野泰弘，高田伸弘，藤田博己，御供田睦代，安藤秀二．ヤマアラシチマダニ若虫体内における紅斑熱リケッチアの存在様式．第 21 回日本ダニ学会，松江市，2012 年 9 月

32) 西條政幸．神経ウイルス感染症の遺伝子診断とその応用．第 17 回日本神経感染症学会総会・学術集会，京都市，2012 年 10 月

33) 中道一生,井上直樹,倉根一郎,林昌宏,西條政幸．進行性多巣性白質脳症が疑われた患者の脳脊髄液におけるヘルペスウイルスの出現プロファイルの解析．第 17 回日本神経感染症学会学術集会,京都市,2012 年 10 月

34) 田中淳,小杉雅史,藥師寺祐介,雪竹基弘,中道一生,西條政幸,原英夫．HAART 療法及び mefloquine 投与が有効であった後天性免疫不全症候群(AIDS)患者における進行性多巣性白質脳症(HIV-PML)の一例．第 17 回日本神経感染症学会学術集会,京都市,2012 年 10 月

35) 田中こずえ,中道一生,大橋一輝,津田浩昌,西條政幸,岸田修二．造血幹細胞移植後に発症した進行性多巣性白質脳症 2 症例に対するメフロキンの使用経験．第 17 回日本神経感染症学会学術集会,京都市,2012 年 10 月

36) 高崎智彦．デング熱，チクングニア熱など昆虫媒介性ウイルス感染症の現状と今後．平成 24 年度新興再興感染症講演会，名古屋市，2012 年 10 月

37) 岸田直樹，安藤秀二，久保光司．北海道で初めての診断となった国内 5 例目となる African Tick Bite Fever の一例．第 61 回日本感染症学会東日本地方会学術集会，東京，2012 年 10 月

38) 矢野泰弘，高田伸弘，藤田博己，御供田睦代，安藤秀二．ヤマアラシチマダニ若虫体内における紅斑熱リケッチアの存在様式．第 67 回日本衛生動物学会西日本支部大会，伊勢市（三重県），2012 年 10 月

39) 石畝史，山田克則，吉川昌範，高橋伸行，南部浩孝，藤田博己，安藤秀二，高田伸弘，福井県奥越地区におけるマダニ分布調査―1991 年と 2011 年の比較，第 67 回日本衛生動物学会西日本支部大会，伊勢市（三重県），2012 年 10 月

40) 藤田博己，高田伸弘，矢野泰弘，角坂照貴，及川陽三郎，川端寛樹，安藤秀二．淡路島のマダニ相とマダニ保有リケッチアの 1989 年から 2011 年までの調査成績．第 67 回日本衛生動物学会西日本支部大会，伊勢市（三重県），2012 年 10 月

41) Moi，M.L.，Lim，C.K.，Saijo，M.，Takasaki，T.，Kurane，I.：Dengue vaccine development: re-assessment fo dengue neutralizing antibody and viremia titers using FcγR-expressing cells. The 34th Naito Conference: Infection，Immunity and Their Control for Health，Sapporo，October 2012

42) 今内覚，川端寛樹，伊東拓也，高野愛，安藤秀二，村田史郎，大橋和彦．シュルツェマダニにおける病原体伝播関連因子の同定．第 58 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会,旭川市,2012 年 10 月

43) 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．イスカチマダニ採取を主目的とした北海道東部から北部にかけてのマダニ類調査．第 58 回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会，旭川市，2012 年 10 月

44) 吉河智城，飯塚愛恵，谷英樹，福士秀悦，倉根一郎，西條政幸，森川茂：細胞培養痘そうワクチンの製造株であるワクチニアウイルス LC16m8 の親株 LC16m0 の遺伝子安定性．第16回日本ワクチン学会学術集会，横浜市，2012 年 11 月

45) 新村靖彦，上村千草，丸野真一，森川茂，西條政幸，Jeffry Kennedy，Kevin Karem，Inger Damon，横手公幸．米国臨床試験における弱毒痘そうワクチン LC16m8 による液性免疫及び細胞性免疫の評価．第 16 回日本ワクチン学会総会，横浜市，2012 年 11 月

46) 金井亨輔，谷口留美，湯華民，森康子，井上直樹．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．第 16 回日本ワクチン学会学術集会，横浜市，2012 年 11 月

47) 田島茂，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．デングウイルスおよび日本脳炎ウイルス感染細胞における細胞側遺伝子発現動態の網羅的解析．第 19 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会，大阪市，2012 年 11

月

48) 高崎智彦．マーモセットを用いたチクングニアウイルス，デングウイルス感染病態解析．シンポジウム 2 熱帯感染症．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

49) 田島茂，山口幸恵，小滝徹，新井智，沢辺京子，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．日本脳炎ウイルス NS4A 分子疫学的解析．第60回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

50) 白井顕治，北浦一孝，早坂大輔，高崎智彦，鈴木隆二，倉根一郎．日本脳炎ウイルス感染マウスにかかわる脳内浸潤 T 細胞の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

51) 下田宙，木村菜穂，野口慧多，寺田豊，長尾裕美子，高橋慧，高崎智彦，近藤高志，下島昌幸，前田健．日本脳炎ウイルス遺伝子 1 型に対する単クローナル抗体の性状解析とその応用．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

52) Moi, M.L., Omatsu, T., Nakamura, S., Takasaki, T., Ami, Y., Katakai, Y., Suzaki, Y., Akari, H., Kurane, I.: Role of antibodies in dengue infection and protective immunity during secondary infection of marmosets. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

53) 小滝徹，モイメンリン，田島茂，高崎智彦．ウイルス RNA 安定保存キットの評価，第60回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

54) 林昌宏，網康至，藤井克樹，北浦一孝，モイメンリン，白井顕治，小滝徹，須崎百合子，森川茂，西條政幸，鈴木隆二，倉根一郎，高崎智彦．マーモセットを用いたチクングンニヤウイルスの霊長類モデルの検討，第60回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

55) 野依修，松野啓太，梶原将大，中山絵里，五十嵐学，磯田典和，吉田玲子，高田礼人．フィロウイルス糖蛋白質による宿主細胞表面分子の立体的遮蔽現象の解析，第60回ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

56) 吉田玲子，Marzi Andrea，宮本洋子，石島麻理，鈴木定彦，五十嵐学，中山絵里，黒田誠，Feldmann Heinz，高田礼人．アカゲザルモデルを用いたエボラ出血熱に対する中和モノクローナル抗体の防御効果，第 60 回ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

57) 梶原将大，Marzi Andrea，中山絵里，野田岳志，黒田誠，Manzoor Rashid，Feldmann Heinz，吉田玲子，河岡義裕，高田礼人．抗体によるマールブルグウイルスの出芽阻害．第 60 回ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

58) 大場靖子，石井秋宏，トーマス由佳，小川寛人，中村一郎，木村亨史，森川茂，西條政幸，澤洋文．ザンビアの野生動物におけるオルソポックスウイルス感染症の疫学調査．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

59) 谷英樹，伊波興一朗，谷口怜，吉河智城，福士秀悦，西條政幸，森川茂：シュードタイプ VSV を用いたルジョウイルスの細胞侵入機構の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

60) 岩田奈織子，永田典代，鈴木忠樹，佐藤由子，横田恭子，西條政幸，森川茂，長谷川秀樹．SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応発生機序について．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

61) 谷口怜，佐山勇輔，永田典代，飯塚愛恵，谷英樹，吉河智城，福士秀悦，西條政幸，久和茂，森川茂：レストンエボラウイルス自然感染カニクイザルにおける免疫応答の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

62) 福士秀悦，新倉綾，谷英樹，吉河智城，伊波興一朗，谷口怜，緒方もも子，西條政幸，森川茂：日本のマダニ類における新種のブニヤウイルス（SFTSV）保有調査と SFTSV 血清学的診断法の開発．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

63) 酒井宏治，關文緒，網康至，田原舞乃，中津祐一郎，大槻紀之，福原秀雄，福士秀悦，吉河智城，西條政幸，森川茂，前仲勝実，山口良二，駒瀬勝啓，竹田 誠．カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか？第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012

年 11 月

64) 伊藤（高山）睦代，中道一生，林昌宏，山口（木下）一美，垣内五月，王麗欣，倉根一郎，西條政幸．乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における 3Rs の導入．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

65) 垣内五月，木下一美，伊藤睦代，西村秀一，林昌宏，西條政幸．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解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪府，2012 年 11 月

66) 山口（木下）一美，中道一生，伊藤睦代，垣内五月，林昌宏，倉根一郎，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 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

67) 林昌宏，網康至，藤井克樹，北浦一孝，モイメンリン，白井顕治，小滝徹，須崎百合子，森川茂，西條政幸，鈴木隆二，倉根一郎，高崎智彦．マーモセットを用いたチクングニアウイルスの霊長類モデルの検討，第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

68) 中道一生，林昌宏，西條政幸．進行性多巣性白質脳症患者の脳脊髄液中に検出された JC ポリオーマウイルスの経時的なゲノム変異パターンの解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

69) 奴久妻聡一，亀岡正典，杉浦重樹，中道一生，奴久妻智代子，竹上勉：HIV-1 Tat による神経芽細胞腫での JC ウイルス増殖促進．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

70) 橋本楓，山田壮一，片野晴隆，福地早希，佐藤由子，森石恆司，井上直樹．モルモット妊娠動物モデルを用いたサイトメガロウイルス糖蛋白Ｂサブユニットワクチンの効果機序の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

71) 福地早希，山田壮一，橋本楓，片野晴隆，佐藤由子，森石恆司，井上直樹．モルモットサイトメガロウイルス（GPCMV）を用いた先天性感染病態の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

72) 山田壮一，福地早希，金井亨輔，片野晴隆，佐藤由子，井上直樹．モルモット胎盤組織培養系の樹立とウイルス局在解析，第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

73) 中村浩幸，廖華南，南佳ほり，阿久津英憲，梅沢明弘，井上直樹，藤原成悦．ヒト人工多能性幹細胞を用いた神経幹細胞への実験的 HCMV 感染系の確立．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪市，2012 年 11 月

74) 金井亨輔，谷口留美，湯華民，森康子，井上直樹．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．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012 年 11 月

75) 高崎智彦．教育講演－我が国の日本脳炎の現状－特に小児においてー．第 44 回小児感染症学会総会・学術集会，北九州市，2012 年 11 月

76) 安藤秀二．リケッチア感染症について～つつが虫病，日本紅斑熱を中心に，輸入症例（海外のトピックス）を含めて．平成 24 年度動物由来感染症技術研修会，東京，2012 年 11 月

77) 安藤秀二：WHO Biosafety train the trainer の概要．第 12 回日本バイオセーフティ学会，東京，2012 年 11 月

78) 安藤秀二．マダニと感染症の話．ペストコントロール協会講習会講演，東京，2012 年 11 月

79) 小川基彦，深澤征義，内山恒夫．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～第 2 報～．第 19 回リケッチア研究会合同発表会，大津市（滋賀県），2012 年 12 月

80) 矢野浩司，御供田睦代，岸本壽男，安藤秀二．九州地域におけるリケッチア症診断のラボネットワーク構築の試み．第 5 回日本リケッチア症臨床研究会・第 19 回リケッチア研究会合同発表会，大津市（滋賀県），2012 年 12 月

81) 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* の解析状況と今後の研究方針について．第 5 回日本リケッチア症臨床研究会・第 19 回リケッチア研究会合同発表会，大

津市（滋賀県），2012 年 12 月

82）山本徳栄，近真理奈，増田純一郎，大山龍也，大山通夫，藤田博己，岸本寿男，安藤秀二．埼玉県のハクビシンにおけるリケッチア類の保有状況調査．第 5 回日本リケッチア症臨床研究会・第 19 回リケッチア研究会合同発表会，大津市（滋賀県），2012 年 12 月

83）西條政幸. 東アジアに忍び寄る新興感染症　−クリミア・コンゴ出血熱−. 長崎大学熱帯医学研究所市民公開特別講座，長崎市，2013 年 1 月

84）西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群. 平成 24 年度稀少感染症診断技術研修会，東京（国立感染症研究所），2013 年 2 月

85）安藤秀二. リケッチア感染症について，平成 24 年度鳥取県動物由来感染症対策連絡会議，米子市（鳥取県）2013 年 2 月

86）角田梨沙，藤尾由美，大方詩子，齋藤昌孝，谷川瑛子，井上直樹，高橋愼一．大山学．メトトレキサート内服中の関節リウマチ患者に生じた両下肢に瘍形成を伴う重症汎発性帯状疱疹. 第 76 回日本皮膚科学会東京支部学術大会，東京，2013 年 2 月

87）西條政幸．インフルエンザウイルス感染症を例に，ヒト由来ウイルス感染症と動物由来感染症のリスクとその管理を考える．春期討論会（化学生物総合管理学会），東京 2013 年 3 月

88）西條政幸．重症熱性血小板減少症候群．SFTS 講習会（山口県・山口医師会共催），山口市，　2013　年　3　月

89）西條政幸．緊急セミナー：重症熱性血小板減少症候群．第 28 回日本環境感染症学会総会，横浜市，2013 年 3 月

90）安藤秀二．マダニと感染症の話. 東京都平成 24 年度区市町村ねずみ・衛生害虫担当職員及び都保健所環境衛生担当職員講習会，東京，2013 年 3 月

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，不活化ポリオワクチン,弱毒生ロタワクチンを検定，検査対象としている.

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.本年度はポリオ単独不活化ワクチン（サノフィ：イモバックスポリオ）の承認前試験が終了し,小分け製品 37 件の検定を行った.また,沈降精製百日せき破傷風不活化ポリオ（セービン株）混合ワクチン DPT-sIPV,2 種類（一般財団法人阪大微生物病研究会：テトラビック皮下注シリンジ,一般財団法人化学及血清療法研究所：クワトロバック皮下注シリンジ）の承認前検査が終了し,中間段階 3 件,小分け製品 10 件の検定を行った.ロタウイルスワクチンの GSK:ロタリックスについては,2 件の検定を行った.MSD:ロタテックに関しては,承認前試験が終了した.サノフィー社のポリオ単独ワクチンを第一三共社の DPT と混合した沈降精製百日せき破傷風不活化ポリオ混合ワクチン DPT-cIPV,サノフィー第一三共：スクエアキッズ皮下注シリンジ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が進行している.

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に加え,ノロウイルスが細胞に結合するメカニズム関する研究進展があった.

第２室はＷＨＯ世界ポリオ根絶計画に参画している.ＷＨＯの指定をうけて，世界の特殊専門ラボとして,また西太平洋地域の指定ラボとして世界各地で分離されるポリオウイルスの性状解析を続けた.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、2011 年には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 22 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 3 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，行政検査をおこなった.

エンテロウイルス 71 は手足口病の原因ウイルスであり，脳炎を併発することがある.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.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型肝炎ウイルスの行政研究および基礎研究をおこなった．行政研究としては、肝炎ウイルス感染の予防、肝炎ウイルスキャリア対策、肝癌死亡の減少に貢献することを目的として、肝炎情報の収集とウイルス第二部のホームページにおいてデータベース構築および情報発信をおこなっている。さらに、肝炎ウイルス検査陽性者の予後向上は医療費抑制に大きく貢献できると期待できるので、全国レベルでの肝炎ウイルス検査陽性者追跡システムの構築を目指している。基礎研究促進を目的に、肝炎研究基盤整備事業で肝炎セミナーを５回開催した。さらに、12 月には国内の肝炎ウイルス研究者による肝炎ウイルス研修会を開催し、若手研究者の育成に努めた。基礎研究としては、Ｂ型肝炎ウイルス研究が軌道にのり、ウイルス感染や複製増殖に関わる宿主因子などの同定が進んだ．Ｃ型肝炎ウイルス研究も様々な研究課題が展開されている。遺伝子型３のＣ型肝炎ウイルス複製系の構築と予防的ワクチン開発について報告した.

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４件，Ｂ型肝炎ワクチン１５件の検定をおこなった．ともに検定数は増加傾向にある．Ｂ型肝炎ワクチンの定期接種化も見据えて検定数のさらなる増加に備える必要がある．このために動物を用いた力価試験から試験管内力価試験への切り替えが望まれる．Ｅ型肝炎ウイルスの研究では感染性 cDNA クローンを樹立し報告した。また、ラットやフェレットのＥ型肝炎ウイルスの解析が進んだ．

以下のような国際的技術協力をおこなった．

第五室

楊 婷婷（中国，山東省青島市疾病予防控制センター）＜日中笹川奨学金制度研究者＞平成 24 年 9 月 6 日～平成 25 年 8 月 26 日，E 型肝炎分子生物学に関する研究．

人事面では、平成 24 年 4 月に片岡周子研究員が採用された。さらに平成 24 年 9 月に藤井克喜任期付研究員が研究員に採用された。新職員の皆さんの活躍に大いに期待する．

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に応用して構築したプラスミドを用い,ウイルスタンパク質の細胞内挙動を解析した.ヒトノロウイルスタンパク質の細胞内挙動は株間で類似しており,核周辺部に大きなドット様構造物を形成すること,細胞質全体にポリメラーゼ,プロテアーゼが検出されるなどの共通の特徴が認められた.

[片山和彦,戸高玲子,村上耕介,脇田隆字]

(2)ノロウイルスを利用した経口ワクチン用ベクター作製の試み

経口ワクチンに特化した腸管特異的な導入が可能なベクターとしてヒトノロウイルスに加え、マウスノロウイルスを利用した遺伝子導入ベクターの作製を行った。pKS-U201F のヒトノロウイルス遺伝子領域をマウスノロウイルスと交換したpKSF-MuNoV-S7,マウスノロウイルスゲノム RNA を T7 RNA polyerase promoter で転写可能な pT7-MuNoV-S7 を構築した。インビトロで合成した MuNoV RNA は、RAW 細胞、293T 細胞の双方で感染性 MuNoV 粒子を産生可能であった。そこでプラスミドによるゲノム供給を可能とするよう、pKS-U201F を用いたリバースジェネティックスシステムを応用して、pKSF-MuNoV-S7 を構築した。RAW 細胞、293T 細胞の双方で感染性粒子作出が確認された。

[中西章(国立長寿医療研究センター)、片山和彦、戸高玲子、村上耕介、脇田隆字]

(3) ノロウイルス(NoV)のゲノム解析

2010 年 4 月～2011 年 3 月の間に全国 20 カ所の衛生研究所で収集した感染者糞便を用い、NoV 遺伝子型 GII/4GII/3, GII/2 のゲノム全長の塩基配列の解析を試みた。少なくとも７種の GII/4 の単系統亜株が急性胃腸炎の集団発生に関わっていた。ゲノム組換え点として、ORF1/ORF2 境界の高度保存領域を見いだした。北海道、大阪の検体から、これまでの GII/4 のサブクラスターのいずれにも属さない新たな GII/4 変異株が検出された。また、GII/2, GII/3 にも新たなサブクラスターを形成する変異株が検出された。今後、これらの変異株が主要流行株となる可能性がある。

［片山和彦, 戸高玲子、村上耕介、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）］

(4) ノロウイルス GII に対する組織血液型抗原物質（HBGA）の結合ポケットに競合結合するクエン酸の X 線構造解析による研究

ノロウイルス（NoV）VLP 表面に突出する P 領域には,様々なタイプの HBGA が結合することが報告され,HBGA は,NoV の受容体候補と考えられている.P 領域を大腸菌で発現し,高度に生成した後,様々な HBGA,クエン酸と混合して結晶を作成し,X 線結晶構造解析を行った.改正に成功した HBGA のすべてが,α1-2fucose によって P 領域に結合していた.また,クエン酸はα1-2fucose と競合的に結合可能で有り,NoV の腸管粘膜中のα1-2fucose への結合を阻害できることを明らかにした.

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

(5) X 線結晶構造解析を用いたノロウイルス GII にブロードレンジに反応するモノクローナル抗体 5B18 と VLP との結合様式の研究

ヒトノロウイルスの GII をブロードレンジに検出可能なモノクローナル抗体 5B18 は,デンカ生研によって開発され,イムノクロマトグラフィー,ELISA 等の市販検出システムに用いられている.我々は,デンカ生研との共同研究により,5B18 の Fab 部分とノロウイルス GII の

P-domain を混合して共結晶化し,X 線結晶構造解析の手法を用いて抗体のエピトープを解析した.解析の結果,5B18 は,P 領域の下部に結合していることが明らかになった.抗体の結合部分（エピトープ）は,P1 領域と P2 領域にまたがっており,立体構造上直列に並んだアミノ酸残基を認識していることが明らかになった.しかし,ノロウイルス粒子が,これまでに GI NV68 プロトタイプウイルスで予測されている粒子構造をとる場合,P 領域下部は,ウイルス粒子のコア部分に埋まっており,抗体が結合するスペースがないと考えられた.そこで,GII VLP のクライオ電子顕微鏡観察を行い,GII の粒子モデル構築を行った結果,P 領域がウイルス粒子のシェル領域から高く持ち上がった構造をしており,P 領域がフレキシブルにひねり構造をとることで,下部に抗体の腕が入り込むスペースができることが予測された.本研究により,ノロウイルス GII の粒子は,P 領域構造がフレキシブルに変化すること,5B18 がそれを利用して P 領域下部に結合することが明らかになった.

[Grant S. Hansman, Christian Biertu¨mpfel (NIH), Ivelin Georgiev (NIH), Jason S. McLellan (NIH), Lei Chen (NIH), Tongqing Zhou (NIH), Kazuhiko Katayama and Peter D. Kwong (NIH), 三木元博（デンカ生研）, 村田和義（岡崎生理研）, 脇田隆字, 片山和彦]

(6) ブロードレンジモノクローナル抗体 5B18 のエピトープ解析

ノロウイルス GII にブロードレンジに反応可能なモノクローナル抗体 5B18 のエピトープ結合部分のアミノ酸は,三次構造上直列に配置されていた.この三次構造上直列に配置されたアミノ酸残基は,一次構造上では,互いに離れた 3 箇所のアミノ酸残基で構成されていた.そこで,これらを順に欠失させたミュータントを大腸菌で発現させ,ウエスタンブロッティングを用いてマッピングを行った.その結果,5B18 は,最も C 末端側に位置するアミノ酸配列に強く結合することが可能であるが,他の 2 箇所のアミノ酸も 5B18 の結合に関与することが示された.これらの結果は,構造解析で得られた構造上のエピトープが真のエピトープである事を支持していた.

[三木元博（デンカ生研）, 片山和彦]

(7) 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.これまでの我々の研究により,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 80%に到達した.本年度は,新規に 3 種類の genotype の全塩基配列を決定した.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た.

[三木元博（デンカ生研）, 小沢一弘（中部衛生検査センター）, 片山和彦, 戸高玲子, 村上耕介, 三瀬敬治（札幌医大）, 脇田隆字]

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

ヒトノロウイルス（NoV）の ORF1 にコードされる非構造蛋白質 3A-like protein (p22)に ER リテンションシグナル配列が存在することを明らかにした.p22 は,細胞内の小胞体からトランスゴルジ間のタンパク質の膜輸送システムに影響を与え,狭間に NoV の複製の場を形成する機能があることが示唆された.これは,プロトタイプ NoV である NV68 ばかりでなく,NoV GII.3, GII.4 でも同様に観察される普遍的な現象であることが明らかになった.

[Sue E. Crawford, Tyler M. Sharp (BCM), Susana Guix (BCM), 片山和彦, Mary K. Estes (BCM)]

(9) 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,3種類の新たなVLP,抗血清を作製した.

[朴英斌,三木元博(デンカ生研),小沢一弘(中部衛生検査センター),片山和彦,戸高玲子,村上耕介,李天成,脇田隆字]

(10)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する中で,同一塩基配列を持つNoV遺伝子型GII.4株が,北海道,大阪府の登録から見いだされた.これらの株は,2011年までに主要流行株であったGII.4 2006b, 2008a, 2009, 2010亜株とは異なるクラスターを形成しており,今後の主要流行株となる可能性が示唆された.

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

(11) マウスノロウイルス (MuNoV) のウイルス蛋白質間とそのゲノムRNAとの相互作用

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) 間の細胞内相互作用を,免疫沈降法を用いて調べた. 複製に必須のポリメラーゼは,N-terminal protein, NTPase, VPg, dsRNAと, ウイルス粒子主構成成分VP1はVP2, VPg, nsRNAと相互作用することを示唆する結果を得た.

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

(12)ヒトノロウイルスVLPの細胞への結合様式の解析

ヒトノロウイルス (HuNoV) の細胞への結合様式を詳細に解析する事を目的として, 共焦点レーザー顕微鏡を用いた解析を行った. ヒト腸上皮様細胞株Caco-2にHuNoV VLPを加えて反応させた. VLPは細胞の分化誘導に伴って結合効率が上昇することが明らかになった.しかし,H1H2, H3型HBGA, Le a, bに対する抗体を用いて, VLPとHBGAの局在を解析したところ,HBGA と VLP の局在が必ずしも一致せず, HBGAを発現していない細胞にもVLPが結合することが明らかになった. Caco-2にはH1以外のHBGAもしくは,未知の分子を利用して細胞に結合し,感染する可能性がある.次に、ヒト腸管のバイオプシサンプルを用いて同様の検討を進めたところ,腸管表面のムチン層には,部分的にHBGAとVLPの共局在が認められた.しかし,この現象はHBGAに結合しない485株のVLPでも同様に認められた.また,細胞に侵入したVLPのほとんどはHBGAとの共局在が観察できなかった.さらにゴブレット細胞への侵入も認められた.

上記の現象から,ヒトノロウイルスは,ムチン層に存在する何らかの分子上に存在するα1-2Fucoseに結合し,ムチン層に引っかかり,その後,HBGAとは独立した未知の分子により細胞内に速やかに取り込まれることが考えられた.現在,この未知の分子の検索が進行している.

[村上耕介, 岡智一郎, 戸高玲子,朴　英斌,藤井　克樹,松田幹 (名大院生命農学), 栗原千枝,穂刈 量太 (防衛医科大学第2内科),三浦総一郎 (防衛医科大学学長),メアリー・エステス (米国ベイラー医科大学),片山和彦]

(13) ノロウイルスキャプシドタンパク質サブドメインの大腸菌での発現

ノロウイルスChiba407株 (GI.4) およびNarita104株 (GII.4) の VLP に対するヒト型モノクローナル抗体のエピトープを特定するための材料として,それぞれのキャプシドタンパク質 (VP1 タンパク質) を5つのサブドメイン (N 末領域,S ドメイン,P1N ドメイン,P2 ドメイン,P1C ドメイン) に分け,SUMOプロテアーゼとの融合タンパク質遺伝子を作成し,大腸菌で発現させる系を構築した.SUMO 融合タンパク質を生成し,SUMO プロテアーゼ領域を除去した後,それぞれのサブドメインを用いて,ヒト型抗体の反応性を今後調

べる.

[染谷雄一,守口匡子（藤田保健衛生大学医学部）]

(14) 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

NoV の糖鎖認識の多様性を理解するため，これまでに，ルイス a 抗原（Le-a）結合能を有する GI.2 のキャプシド P ドメインと Le-a 複合体の X 線結晶構造解析を行い，Le-a のα1,4 Fuc の認識に寄与する残基（Gln389）を明らかにしてきた．今年度は，Q389 の重要性を確認するために Q389N 変異体を作成し，その性状を解析した．Q389N 変異型のウイルス様中空粒子（VLP）を作成し，ELISA によりその結合特性を解析したところ，野生型に比べ Le-a との結合量が減少すると同時にルイス b 抗原（Le-b）との結合量が増加した．次に,変異型 P ドメインの立体構造解析を行った．野生型と変異型の間にはタンパク質部分の構造に違いは認められなかった．野生型における Q389 の機能は，変異型では N389 と水分子により代替されており，その結果，変異型では Le-a に対する親和性が低下していると考えられた．一方で Le-b との複合体では，変異型では Le-b のα1,2 Fuc の位置が結合部位から遠距離にシフトしており，野生型で見られる低親和性の要因（立体障害）が解消されていた．以上の結果は，NoV の感染指向性が 1 アミノ酸置換で容易に変化することを示しており，NoV の感染多様性を生み出している要因の 1 つであると予測される.

[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，脇田隆宇，成松　久（産総研），白土東子]

(15) ヒト型抗ノロウイルス抗体のウイルス-血液型抗原吸着阻害活性の検討

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.これまでに，ウイルス様空粒子（VLP）を抗原に用い，遺伝子型特異的，遺伝子群内交叉反応性，そして遺伝子群間交叉反応性のヒト型抗 NoV ファージ抗体を単離してきた．今年度は，それら抗体による血液型抗原（HBGA）への NoV VLP 吸着に対する阻害活性を検討した．Narita 104 株(GII.4)の VLP を抗原に用いて単離した 3 種のヒト型抗体（12A2，12A11，12B10）と Chiba 株（GI/4）の VLP を抗原に用いて単離した 3 種のヒト型抗体(CV-1A1，CV-1A5，CV-2F5)を使用した．12A2，12A11，12B10 について，Narita 104 株との吸着活性が高い H，A，B，および Le-b 抗原への吸着阻害活性を,Carbohydrate-VLP binding assay の系を用いて検討した.CV-1A1，CV-1A5，CV-2F5 について，Chiba 株との吸着活性が高い Le-a と Le-b 抗原への吸着阻害活性を同様に検討した.その結果，12A2，12B10，CV-1A1，および CV-1A5 には，HBGA への VLP 吸着に対し高い阻害活性が認められ，これらが中和抗体である可能性が示唆された.

［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）］

(16)マウスノロウイルス（MuNoV）の細胞内局在

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

[下池貴志,高木弘隆（バイオセイフティー）,村上耕介,戸高玲子,脇田隆宇,片山和彦]

(17) マウスノロウイルス（MNV）感染性粒子の粒子構造の研究

ノロウイルスの感染性ウイルス粒子は,構造タンパク質（VP1）180 分子と,VP2，VPg，genome RNA で構成されていると考えられている.また,ウイルス粒子の外部構造は,ウイルス様中空粒子と同等であると考えられている.ヒトノロウイルス（HuNoV）では,VLP の構造は良く解析されているが,感染性粒子の外部並びに内部構造は明らか

にされていない.また、MNV では,感染性粒子の外部構造が VLP とは若干異なる形状を示していることが報告されている.我々はノロウイルスの感染性粒子構造を明らかにするため,クライオ電子顕微鏡観察,クライオ位相差トモグラフィーを用いた,感染性ウイルス粒子の外部,内部構造を研究している.本年度は,増殖させた感染性 MNV を効率良く精製し,分散させる方法を開発し,クライオ電子顕微鏡用サンプルの調製,電子顕微鏡像の取得に成功した.

[村上耕介,戸高玲子,朴　英斌,高木弘隆（バイオセイフティー）,村田和義（岡崎生理研）,脇田隆宇,片山和彦]

(18)ヒトノロウイルス・マウスノロウイルスのウイルスタンパク質の結晶構造解析の試み

ノロウイルスで,タンパク質翻訳因子,ゲノム合成開始因子などの機能が予測されている VPg,構造タンパク質と非構造タンパク質としての機能を併せ持つと予測されている VP2,以上の二つの分子は,未だ結晶構造が解かれていない.そこで,これらのタンパク質の安定した発現と,結晶化を試みた.ヒトノロウイルス U201 株と,マウスノロウイルス S7 株の VPg, VP2 は,コドンを大腸菌に最適化した後,pCold ベクターと BL21 大腸菌を用いて 10mg 以上の大量発現に成功した.以降,横浜市立大学のモスキート結晶化スクリーニング装置を用いて 100-1000 の種類の結晶条件下,結晶化を試みている.

[朴　英斌,朴　三用（横浜市立大学）,戸高　玲子,下池貴志,脇田隆宇,片山和彦]

２．サポウイルス（SaV）に関する研究

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

2008～2009 年度に,熊本県内の４つの小児科から搬入された感染性胃腸炎患者の糞便 455 検体について,NoV,SaV,アストロウイルス（AstV）,アイチウイルス（AiV）,ロタウイルス（RV）,アデノウイルス（AdV）,エンテロウイルス（EntV）と細菌培養検査を行った.SaV 陽性の場合,キャプシド領域のシークエンスにより genogroup を決定した.SaV の系統樹解析の結果,熊本県内では SaV genogroup の年次変化が続いていること,GI,GII 株については年度によって異なるクラスターを形成することが示され,遺伝的に異なる SaV 株が毎年,新たに感染性胃腸炎を引き起こしていることが明らかとなった.本年度は,2009 年度以降の調査継続結果をまとめた.

[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),片山和彦,岡智一郎]

(2)バキュロウイルスタンパク質発現系を用いたサポウイルス様中空粒子の作製とクライオ電子顕微鏡による構造解析

近年,急性胃腸炎の原因ウイルスとしてクローズアップされてきたサポウイルスは,いまだに培養細胞での増殖ができない.ウイルス様中空粒子を用いた我々の研究により,サポウイルスはノロウイルスと同様,多様な抗原性を有することが明らかになってきた.サポウイルス GI の Akita 株の VLP を作出し,クライオ電子顕微鏡観察により構造を解析した.サポウイルスの粒子表面の突起は,ホック状の構造物で有り,球状の粒子シェル部分からヒンジを介して大きく立ち上がっていることが明らかになった.この構造にサポウイルス VP1 の一次構造をフィッティングさせ,ホモロジーモデリングにより,これまで明らかにされていなかったサポウイルスの P-domain を決定した.今後,P-domain の大腸菌による発現と P-dimer, P-particles の作製を試みる.

[岡智一郎,李天成,村上耕介,片山和彦]

(3)サポウイルス抗原検出系構築を目指したモノクローナル抗体の作出

迅速,簡便でかつ多検体検出が可能なウイルス抗原検出法を開発することを目的として,サポウイルス様中空粒子（SaV-VLPs）に対する単クローン抗体を作製している.得られたクローンの中には各 Genogroup に特異的な単クローン抗体に加え,すべての Genogroup の株に交叉反応性を示す抗体も複数得られている.本年度は,ペプチド合成によって作製した VP1 ペプチドパネルより,これらの

抗体のエピトープマッピングを行った.異なる genotype に対して公差反応性のあるブロードバンド単クローン抗体は,VP1 の一次構造の 2-3 箇所の離れたエピトープを認識することが明らかになった.ホモロジーモデリングによって,これらのエピトープの位置決定を行い,3D エピトープの解析を継続している.

[北元憲利　(兵庫県立大),岡智一郎,Hansman GS,田中智之（堺市衛生研究所）,村田和義（岡崎生理研),三木元博（デンカ生研),村上耕介,片山和彦]

(4)原因不明の集団食中毒事例より次世代シーケンサーで検出されたサポウイルスの研究

ヒト由来のサポウイルスは,４つの genogroup（GI, GII, GIV, GV)に分別できる.原因不明の食中毒事例より,次世代シーケンサー（イルミナ MiSeq）で検出されたサポウイルスは,過去に報告された GV と近縁であったが、塩基配列の相同性は 70%を下回り、新たな genotype である可能性が示された.また,既存のプライマーで検出不可能な株である事が明らかになった.コンティグ結合後のドラフト配列より,プライマーをデザインし,配列の確認と,ゲノム全長に渡る分子系統解析を行った結果,この株は,genogroup V に属する genotype 2 として独立したクラスターを形成することが明らかになった.今後,新規デザインプライマーを用いて GV.2 の流行を追う必要がある.

[柴田伸一郎（名古屋市衛生研究所),黒田誠（ゲノムセンター),岡智一郎,村上耕介,脇田隆字,片山和彦]

3. ネコカリシウイルスに関する研究

(1)ネコカリシウイルスの新規リバースジェネティクス系の構築

ネコカリシウイルス（FCV）の複製,翻訳メカニズムの詳細はいまだ不明である.リバースジェネティクス系は過去に構築されているが,いずれも煩雑な操作が必要,ヘルパーウイルスを必要とするなど問題点を抱えている.本年度,我々は FCV ゲノム cDNA をコードする plasmid を培養細胞に transfection するだけで FCV 感染性粒子を回収できる single step リバースジェネティクス系の構築に成功した.本 FCV のリバースジェネティクス系は,ホストレンジを超えて,ヒト腎由来培養細胞 HEK293T でも,感染性粒子を産出可能で有ることが明らかになった.今後,ホストレンジを規定する因子の検索に応用可能である.

[戸高玲子,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),村上耕介,佐藤裕徳(病原体ゲノム解析センター),片山和彦]

４．ロタウイルスに関する研究

（１）我が国におけるロタウイルスのVP7遺伝子型分布

我が国におけるロタウイルスの網羅的分子疫学調査を実施するため,全国6病院から5歳未満の急性胃腸炎による入院症例の便検体を収集した.2012年2月から2012年7月の間に合計165検体を収集し,ELISA法にてスクリーニングを行ったところ,121検体がロタウイルス陽性であった.その内訳は苫小牧市立病院（北海道）5検体,由利組合総合病院（秋田県）42検体,公立昭和病院（東京都）3検体,江南厚生病院（愛知県）54検体,公立南丹病院（京都府）14検体,山口大学医学部付属病院（山口県）3検体であった.VP7の遺伝子型はG1が75検体（62%),G3が9検体（7%),G9が37検体（31%）であった.

[藤井克樹,下池貴志, デニス・フランシス,片山和彦]

（２）全遺伝子型構成解析によるロタウイルス分子疫学研究

2012 年に収集したロタウイルス陽性検体について、全 11 セグメントの塩基配列を解析し、全検体の遺伝子型構成を決定した。G1（75 検体） のうち、21 検体（28％）は典型的な Wa-like 遺伝子型構成（G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1）であったが、54 検体(72%)は外殻タンパク質以外が DS-1-like 遺伝子型構成（G1-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2）を示す遺伝子分節再集合体であった。また、G3 と G9 の検体は全て Wa-like 遺伝子型構成であった。DS-1-like G1 タイプが主流行株となったのは世界的に見ても異例である。

[藤井克樹、下池貴志、片山和彦]

（３）ロタウイルス遺伝子型別の流行分布と重症度との相関性に関する研究

2012 年に収集したロタウイルス陽性検体について、その VP7 遺伝子型と、発生時期や流行地域との間に偏りがあるか検討した結果、2012 年シーズンの前半（2 月から 4 月）は G9 が多く、後半（5 月から 7 月）は G1 が多く検出される傾向があった。G9 には lineage3 と lineage6 の 2 種類が存在していたが、lineage6 は京都と愛知からのみ検出され、秋田からは 1 株も検出されなかった。G1 の Wa-like 株と DS-1-like 株の分布については明確な地域差は認められなかった。また、遺伝子型と重症度（Vesicari score および中枢神経症状の有無）の間に明らかな偏りは認められなかった。

[藤井克樹、下池貴志、片山和彦]

（４）ロタウイルスゲノムRNAの電気泳動によるパターン解析

ロタウイルスは、患者便検体からRNAを抽出し電気泳動（PAGE）を行うことで、ウイルスRNAのバンドパターンを解析して流行株の傾向を把握することができる。この解析法について、より簡便かつ再現性の高い手法を確立するため、核酸自動電気泳動装置MultiNA（島津）またはQIAxcel（QIAGEN）を利用できるか否か検討した。結果として、MutiNAでは再現性は高いが分離能が低く、逆にQIAxcelでは分離能は良いが再現性が低いことが明らかとなった。実用稼働させるためには、いずれの装置の場合も改良が必要であると考えられた。

[藤井克樹、村上耕介、デニス・フランシス、下池貴志、片山和彦]

５．その他

（1）セービン株由来不活化ポリオワクチンを含む 4 種混合ワクチンの D 抗原量試験法の確立

大阪大学微生物病研究会のテトラビック，および，化学及血清療法研究所のクアトロバックには免疫賦活剤としてアルミニウムが含まれるので，D 抗原量を測定する際，何らかの方法でアルミニウムの影響を除く必要がある．今回の検討で，抗原抗体反応時に EDTA を終濃度 50 mM を加えることでほぼアルミニウムの影響を回避させることができた．クアトロバックの場合，抗原抗体反応は通常通り 4 ºC で問題なく結果が得られたが，テトラビックでは抗原抗体反応の温度を 25 ºC で行う必要があった．

[染谷雄一]

セービン株由来不活化ポリオワクチンを含む 4 種混合ワクチンの承認前試験

大阪大学微生物病研究会および化学及血清療法研究所が製造し承認申請したセービン株由来不活化ポリオワクチンを含む 4 種混合ワクチン，および，その減益となる 3 価混合不活化ポリオワクチン原液の承認前検査を行った．4 種混合ワクチンは力価試験としてラット免疫原性試験を，ポリオワクチン原液はウイルス生残否定試験と D 抗原量試験を行った．

[染谷雄一ほかウイルス第二部]

（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）により効率よく不活化され，感染価が 10^3 減少した．しかしこの処理で HCV RNA は分解されなかった．感染価の減少はゲノム RNA の分解ではなく，ウイルス蛋白質の変化（変性，分解など）と考えられる．今後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(血液･安全性研究部)，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

ア）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．2012 年度は，エンテロウイルス単味抗血清 30 種類，細胞 30 本等を配布した．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，片岡周子，清水博之］

イ）ポリオ、手足口病、無菌性髄膜炎、ヘルパンギーナ病原体検査マニュアルの改訂を行った。改訂内容につき第 33 回衛生微生物技術協議会（横浜）エンテロリファレンスセンターでも報告を行った。

［飯塚節子（島根県保環研）、板持雅恵(富山衛研)、世良暢之、石橋哲也（福岡県保環研）、中田恵子（大阪府公衛研）、林志直（東京健安研セ）、山下照夫（愛知県衛研）、吉田弘、西村順裕、清水博之］

ウ）2012 年 10 月 15 日および 19 日に地方衛生研究所職員を対象としたウイルス短期研修に協力し、ポリオウイルス検査研修を実施した。

［吉田弘、有田峰太郎、片岡周子、清水博之］

エ）2013 年 2 月 26 日に実施された平成 24 年度希少感染症診断技術研修「不活化ポリオワクチン導入後のポリオサーベイランス」「ポリオウイルスの環境サーベイランス」「エンテロウイルス感染症」について講義を行った。

［吉田弘］

(2) 不活化ポリオワクチン(IPV)導入後の環境水サーベイランス導入準備

わが国における 2012 年 9 月のＩＰＶ導入に伴い、①ポリオワクチン株消失の確認、②輸入ポリオウイルス検知、を行う必要があることから、地方衛生研究所との協力のもと、環境水調査に関するネットワークを構築すべく準備を行った。なお実施面では環境水調査のためには自治体内の様々なステークホルダーとの調整の必要性が認められた。そして SOP 作成、手法の評価を行い、ポリオ検出時のガイドラインを検討した。2013 年度より全国 8 か所は感染症流行予測調査事業で、5 か所は各衛研独自の調査研究によりポリオ環境水調査を開始することとなった。

［滝澤剛則(富山県衛研)、世良暢之(福岡県保環研)、山崎謙治、中田恵子（大阪府公衛研)、高橋雅輝（岩手県環保研セ)、筒井理華（青森県環保セ）内野清子（堺市衛研)、宇宿秀三（横浜市衛研)、岩切章（宮崎県衛環研)、神保達也（浜松市保環研)、下野尚悦（和歌山県環衛研セ)、北川和寛（福島県衛研)、葛口剛（岐阜県保環研)、山下照夫（愛知県衛研)、山下育孝（愛媛県衛環研）、堀田千恵美（千葉県衛研）、吉田弘］

(3) 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 22 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 3 回目）を実施した。 研修期間は 2013 年 1 月 14 日～2 月 8 日，研修参加者は，ミャンマー，インドネシア,ベトナム、ジンバブエ、中華人民共和国から各 1 名，ナイジェリア,コンゴ民主共和国から各 2 名の計 9 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。

［清水博之，吉田 弘，有田峰太郎，片岡周子，和田純子，脇田隆字］

(4) 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 201 検体およびラオス 92 検体の AFP 由来糞便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，片岡周子，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。ベトナムで 2 株の 2 型 VDPV が検出されたが、いずれも孤発例であり、ポリオ流行を伴う VDPV の広範な伝播は認められなかった。

[吉田 弘，有田峰太郎，片岡周子，和田純子、清水博之]

ウ）2012 年 4 月 30 日－5 月 4 日に米国 CDC で行われた Polio Sequencing Accreditation Workshop および Ad Hoc Small Working Group Discussion on Development and Evaluation of New Diagnostic Reagents and Approaches to testing に参加し、ポリオウイルス実験室ネットワークにおける技術的課題につい検討した。

[清水博之]

エ）2012 年 6 月 27 日－6 月 29 日にスイス WHO 本部で行われた Ad hoc Small Working Group Discussion on development and evaluation on new diagnostic reagents and approached to testing および 18th Informal Consultation on the Global Polio Laboratory Network に参加し、ポリオウイルス実験室ネットワークにおける実験室診断精度管理等について検討した。

[清水博之]

オ）2013 年 2 月 26 日－2 月 27 日にヘルシンキで行われた WHO Ad Hoc Small Working Group Discussion on Development and Evaluation of New Diagnostic Reagents and Approaches to testing に参加し、検体からのポリオウイルス直接検出法について情報提供を行った。

[清水博之]

カ）2013 年 3 月 11 日－3 月 12 日に WHO/WPRO(マニラ)で行われた The 4th Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region に参加し WHO 西太平洋地域におけるポリオ実験室ネットワークの技術的課題と日本のポリオサーベイランスの現状についての情報提供を行った。

[清水博之]

(5) 国際協力活動

ア）2012 年 5 月 8 日－9 日に行われた台湾 National Health Research Institute Scientific Review meeting に外部評価委員として参加し、研究成果および研究計画に関する外部評価を行った。

[清水博之]

イ）2012 年 8 月 15 日－16 日に行われた JICA「国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト」による予防接種セミナーに講師として参加し「日本のポリオ対策の現状と課題」に関する講義を行った。

[清水博之]

ウ）2012 年 8 月 30 日－31 日にアジア及び国内の EV71 研究者を感染研戸山庁舎に招聘し、”Current Progress in Enterovirus 71 Research in the Asia-Pacific Region“を開催し、EV71 の分子疫学、病原性発現機構、ワクチン開発等に関する研究成果発表を行った。

[清水博之，有田峰太郎，片岡周子，小池 智(東京都医学総合機構)]

エ）2012 年 9 月 2 日－7 日に行われた、「国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト」によるポリオ実験室レビューに参加し、WHO および中国 CDC 専門家とともに新疆ウイグル自治区 CDC ポリオ実験室査察を実施した。

[清水博之]

オ）国際協力機構からの依頼により 2013 年 2 月 8 日から 2 月 28 日まで中国新疆ウイグル自治区 CDC ポリオ実験室 Ms.Tang HaiShu へ環境水サーベイランスに関する技術研修を行った。

[吉田弘]

2. WHO 西太平洋地域の 2012 年のポリオウイルス分離状況

(1) WHO 西太平洋地域のポリオウイルス分離状況

2012 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 293 検体について、ウイルス分離検査及びポリオウイルスの型内株鑑別を行なった。ベトナム、カンボジアにおいて AFP 検体から分離されたポリオウイルスの型内鑑別あるいは塩基配列解析を行なった。野生株ポリオウイルスは検出されなかった。

[清水博之、吉田弘、有田峰太郎、片岡周子、和田純子、脇田隆字]

(2) ベトナムで 2012 年に検出された 2 型 VDPV のウイルス学的性状の解析

2012 年 2 月に発症した Soc Trang 省の AFP 患者由来糞便検体からポリオウイルス様分離株が検出され、型内鑑別および塩基配列解析試験の結果、分離株は VP1 領域に 6 個所の塩基置換を有する 2 型 VDPV と同定された。Dong Nai 省の AFP 症例からも、VP1 領域に 5〜6 個所の塩基置換を有する 2 型 VDPV 株が分離同定された。分離株間の塩基配列相同性を確認したところ共通した塩基置換部位は 1 個所のみであった。2012 年にベトナムの 2 例の急性弛緩性麻痺症例から分離された 2 型 VDPV は、それぞれ、独立した VDPV 孤発例と考えられ、長期にわたり 2 型 VDPV 伝播が継続している可能性は低いことが示唆された。

[清水博之、吉田弘、有田峰太郎、片岡周子、遠田耕平 (WHO ベトナム)、Nguyen Thi Thanh Thao (パスツール研究所)]

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、ポリオウイルス受容体ナノビーズを用いた特異的濃縮法等)の開発を試みている。

[有田峰太郎、清水博之]

(2) 抗 PV 化合物 AN-12-H5 の標的の同定

PI4KB 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、AN-12-H5 の標的として OSBP および OSBP2 を同定した。AN-12-H5、および、新たに同定した抗 PV 化合物 T-00127-HEV2 は、OSBP のリガンドである 25-ハイドロキシコレステロールと同じ性質を有し、ヒト由来 RD 細胞のゴルジ体におけるホスファチジルイノシトール 4-リン酸を減少させた。このことから、これらの化合物は、ウイルスの複製の場におけるホスファチジルイノシトール 4-リン酸の産生あるいは蓄積を阻害することで抗ポリオウイルス活性を示すことが示唆された。

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

(3) ナイジェリアの 2 型 VDPV の病原性解析

2005-2011 年にかけて分離された 2 型 cVDPV 株の遺伝子解析と分子系統解析によると、ナイジェリアの 2 型 cVDPV は、同一の genetic lineage には属しておらず、異なる genetic lineage が頻繁に消長を繰り返し、そのうち、7 つの genetic lineage が、比較的長期間伝播したことが明らかとなった。異なる genetic lineage に属する代表的 2 型 cVDPV 6 株について、PVR 発現トランスジェニックマウスを用いた神経病原性の解析を行った。対照として、2 型弱毒 Sabin 2 株および強毒株 MEF-1 株を用いた。解析した 6 株の 2 型 cVDPV のうち 3 株は、野生株と同程度の高い神経病原性を有し、明らかな毒性復帰を示した(PD_{50}=2.1〜2.4)。これら 3 株と比較すると 11195 株および 11199 株は、若干弱い神経病原性を示したが(PD_{50}=3.3〜3.8)、親株である Sabin 2 株と比較すると神経病原性は顕著に高かった。C 群エンテロウイルスとの組換えウイルスではない 11200 株の神経病原性は、弱毒 Sabin 2 株と強毒株 MEF-1 株の中間に位置していた(PD_{50}=5.9)。PVR 発現トランスジェニックマウスを用いた神経病原性試験の結果は、神経細胞由来 HEK293 細胞でのウイルス増殖効

率、および、RD 細胞における温度感受性試験の結果と、よく相関していた。
[Cara Burns, Olen Kew (米国CDC)、Asif Naeem, Rifqiyah Nur Umami、西村順裕、清水博之]

(4) 2 型 VDPV 分離株の中和抗原性解析

ナイジェリアおよびベトナムで分離された 2 型 VDPV 分離株と親株である Sabin 2 型とのアミノ酸配列の比較によると、2 型 VDPV 分離株は、抗原性決定部位にアミノ酸変異を有していたため、2 型 VDPV 株の中和抗原性の変化について検討した。本試験に用いたヒト血清検体は、日本の健常成人 32 名に由来する血清検体で、イモバックスポリオ(conventional IPV; cIPV)追加接種前後の血清を用いた。1 型と 3 型ポリオウイルスに対する平均中和抗体価は、Sabin 株と強毒株で違いが認められ、強毒株に対する中和抗体価は、Sabin 株に対する抗体価より低い傾向が認められた。2 型ポリオウイルスに対する平均中和抗体価は、Sabin 株と強毒株で大きな違いは認められなかった。2 型 VDPV 株に対する中和抗体価も、Sabin 株に対する中和抗体価と、ほぼ同等であり、抗原性の変化は認められなかった。
[福島慎二(東京医大)、中野貴司(川崎医大)、片岡周子、清水博之]

4. 日本におけるポリオフリーの維持に関わる研究

(1) ポリオ生ワクチン接種率全国累積調査

全国から 5,000 人の 2 歳児を無作為に抽出し、居住する市区町村に、ポリオ生ワクチン(OPV)1 及び 2 回目、BCG, DPT1～4 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。2012 年の調査では、OPV 1 回目と 2 回目の累積接種率曲線は，生後 3，6 ヵ月から立ち上がり，生後 12 ヵ月でそれぞれ 78.9%および 39.8%、生後 24 ヵ月でそれぞれ 85.8%および 71.9%であった。1 回目，2 回目とも、前年 2011 年調査時の生後 24 ヵ月での累積接種率、96.3%および 85.2%より大幅に低下していた。2012 年 9 月に IPV が定期接種に導入されて以降、ワクチン未接種者が接種を受けたかについて今後の検証が必要とされる。
[髙山直秀 (都立駒込病院)、清水博之]

(2) 成人における IPV 追加接種の安全性と有効性の検討

IPV の追加接種を行う機会がある健康成人 32 名を登録し、IPV を 2 回接種した結果、過去に接種歴がある場合はほとんど全例で、IPV1 回接種後に良好な抗体価の上昇が確認された。中和抗体価は、Sabin 株と野生株標準株で大きな違いは認められなかったが、3 型に対する抗体誘導は、他の型よりも少し弱い傾向があった。1975-77 年生まれとその他の世代を比較するには、OPV 接種歴の確認ができた症例数が十分ではなかった。安全性については、接種後認められた有害事象は主に接種局所の疼痛であり、重篤なものはなかった。
[福島慎二(東京医大)、中野貴司(川崎医大)、片岡周子、清水博之]

(3) 我が国の不活化ポリオワクチン導入に向けた調査・研究

日本における IPV 導入・移行期に際し、「不活化ポリオワクチンの円滑な導入のための検討会」「日本ポリオ根絶会議」等の活動を通じて、IPV 導入時・移行後に必要な基盤的情報をまとめ整理・公開した。
［清水博之］

5. 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) GenBank データベースにおける EV71 キャプシドアミノ酸の解析

PSGL-1 結合性は VP1-98/145 により規定されていることが示唆されていた。そこで、VP1-98/145 にどのようなアミノ酸が存在しうるのか、分離株のシークエンスを元に解析した。GenBank に登録されている VP1-98 および VP1-145 の両方を含む配列を検索したところ、のべ約 1700 株の情報が得られた。VP1-98/145 アミノ酸の組合せは 4 つに大別でき、E/G (約 9%)、E/Q (約 9%)、E/E (約 70%)、K/E (約 9%) となっていた。これ

らの組合せのうち、E/G および E/Q は PSGL-1 結合性 EV71、E/E および K/E は PSGL-1 非結合性 EV71 と予想されるので、PSGL-1 非結合性 EV71 が GenBank データベース登録株の大部分（約 80%）を占めると推測された。

［西村順裕、脇田隆宇、清水博之］

(2) 受容体 PSGL-1 への結合性を規定するエンテロウイルス 71 アミノ酸（VP1-145）の同定

エンテロウイルス 71 Nagoya 株、02363 株、1095 株、C7-Osaka 株、75-Yamagata 株の感染性 cDNA クローンを用い、VP1-98/145 に E/G、E/Q、E/E、または K/E のアミノ酸変異を導入した。いずれのウイルス株を用いた場合にも、VP1-98/145 が E/G または E/Q の場合は PSGL-1 に結合し、E/E または K/E の場合は PSGL-1 に結合しなかった。また、1095 株を用い、VP-98E を K に置換した変異体を作製したが、PSGL-1 結合性には影響しなかった。したがって、VP-145 のアミノ酸により PSGL-1 結合性が規定されていることが明らかになった。EV71 のジェノグループに関係なく、VP1-145 が G または Q の EV71 は PSGL-1 に結合し、E の EV71 は PSGL-1 に結合しないことが推測された。

［西村順裕、脇田隆宇、清水博之］

(3) リンパ球におけるエンテロウイルス 71-02363 株の増殖とキャプシドアミノ酸（VP1-145）の解析

エンテロウイルス 71 の 02363 株を元にした変異体で、PSGL-1 結合性変異体（VP1-98/145 が E/G または E/Q）および PSGL-1 非結合性変異体（VP1-98/145 が E/E または K/E）用い、Jurkat 細胞でのウイルス増殖を検討した。02363 株を用いた場合、PSGL-1 結合性変異体は Jurkat 細胞で増殖したが、PSGL-1 非結合性変異体は増殖しなかった。さらに PSGL-1 結合性変異体の増殖は、抗 PSGL-1 抗体で阻害された。したがって、02363 株の Jurkat 細胞における PSGL-1 依存性ウイルス増殖は VP1-145 により規定されることが明らかとなった。

［西村順裕、脇田隆宇、清水博之］

(4) リンパ球におけるエンテロウイルス 71-1095 株の増殖とキャプシドアミノ酸（VP1-145）の解析

エンテロウイルス 71 の 1095 株を元にした変異体で、PSGL-1 結合性変異体(VP1-98/145 が E/G または E/Q)、PSGL-1 非結合性変異体(VP1-98/145 が E/E または K/E)用い、Jurkat 細胞でのウイルス増殖を検討した。1095 株を用いた場合、02363 株とほぼ同様な結果が得られたが、PSGL-1 非結合性変異体（E/E）が Jurkat 細胞で増殖するように見受けられ、その増殖は抗 PSGL-1 抗体で阻害された。Jurkat 細胞で増殖した E/E ウイルスの塩基配列を解析したところ、VP1-145E が G への復帰変異を起していた。つまり、Jurkat 細胞で増殖したウイルスは、PSGL-1 結合性を獲得していることが示された。

［西村順裕、脇田隆宇、清水博之］

(5) エンテロウイルス 71 結晶構造に基づいた VP1-145 機能の解析

2012 年にエンテロウイルス 71 の結晶構造が二種類発表された。それらの VP1-145 アミノ酸を確認したところ、ひとつは Q、もう一方は E であったことから、それぞれ PSGL-1 結合株、非結合株と推測された。結晶構造において、VP1-145 はウイルス表面に位置し、5 回転軸近辺に整列していた。5 回転軸周辺にはリシン（VP1-242K および VP1-244K）が集合しており、EV71 ウイルス表面全体のなかでも、特に塩基性に富んだ領域をなしていた。VP1-145 は VP1-244K と隣接しており、VP1-145 が Q の場合、VP1-244K の側鎖は外向きであったが、VP1-145 が E の場合、VP1-244K の側鎖は内向きであった。EV71 と PSGL-1 受容体の結合には、PSGL-1 アミノ末端領域のチロシン硫酸化が必須である。したがって、PSGL-1 と EV71 の結合には、PSGL-1 の硫酸基と、外向きになった VP1-244K 側鎖が関与するものと推測した。

［西村順裕、Hyunwook Lee（ペンシルバニア州立大）、Susan Hafenstein（ペンシルバニア州立大）、片岡周子、脇田隆宇、Jeffrey M. Bergelson（フィラデルフ

ィア小児病院)、清水博之]

(6) CHO 細胞での一過性増殖エンテロウイルス 71 作製

エンテロウイルス 71 の VP1-242K および VP1-244K の、PSGL-1 結合における役割の解析を試みた。これらリシンをアラニンに置換したウイルスを一度 RD 細胞で増殖させたところ、回収されたウイルスはこれらのリシンや VP1-145 に高率に変異を起していた。そこで復帰変異をもたないウイルスを作製するために、CHO 細胞を用いることを試みた。CHO 細胞では EV71 がほとんど増殖しない。したがって、CHO 細胞にウイルス RNA をトランスフェクションして作製されたウイルスは、近隣の CHO 細胞に感染増殖しないため、復帰変異を起しにくいと考えられた。

[西村順裕、脇田隆宇、清水博之]

(7) リアルタイム RT-PCR を用いたエンテロウイルス 71 と PSGL-1 の結合アッセイの確立

CHO 細胞で作製したエンテロウイルス 71(CHO-EV71) と PSGL-1 の結合を検討した。CHO-EV71 と可溶性 PSGL-1-Fc を反応させ、プロテイン G 磁気ビーズで共沈させた。共沈したウイルスからゲノム RNA を放出させるため、95 度で 5 分間加熱した。リアルタイム RT-PCR にてウイルスゲノム検出を行ったところ、ウエスタンブロッティングでの VP1 蛋白質検出と同様に、ウイルスの PSGL-1 結合性を検出することができた。

[西村順裕、脇田隆宇、Jeffrey M. Bergelson (フィラデルフィア小児病院)、清水博之]

(8) エンテロウイルス 71 の VP1-244 リシンと PSGL-1 結合性の解析

VP1-242 リシンおよび VP-244 リシンのいずれかまたは両方をアラニンに置換した変異体 (EV71-K242A, EV71-K244A, EV71-K242A-K244A) を CHO 細胞で作製した。EV71-K244A と可溶性 PSGL-1-Fc との結合を、リアルタイム RT-PCR で検出した。元株にくらべ、EV71-K242A は約 1/100 の結合力に低下し、EV71-K244A および EV71-K242A-K244A は PSGL-1-Fc に結合しなかった。したがって、これらのリシンが PSGL-1 との結合に重要と考えられた。

[西村順裕、脇田隆宇、Jeffrey M. Bergelson (フィラデルフィア小児病院)、清水博之]

(9) PSGL-1 の立体障害効果による抗細胞接着性

PSGL-1 により、細胞の接着性が制御されるかどうか検討した。PSGL-1 を 293T 細胞に過剰発現したところ、細胞は丸くなり、浮遊するようになった。PSGL-1 の過剰発現によりインテグリン、HLA、CD25 に対する抗体反応が低下した。PSGL-1 の細胞外領域の大部分を欠損させた変異体では、細胞は丸くなったが浮遊しなくなった。したがって、PSGL-1 の立体障害効果には多大な *O* 型糖鎖付加が予想される細胞外領域が関与し、細胞の形態変化には PSGL-1 の細胞内領域が関与していることが明らかとなった。

[梅城沙織 (山口大)、鈴木綾一 (山口大)、江馬康夫 (山口大)、下島昌幸 (ウイルス第一部)、西村順裕、奥田優 (山口大)、水野拓也 (山口大)]

(10) PSGL-1 結合性 EV71 と非結合性 EV71 のカニクイザルへの感染

これまでの解析で、エンテロウイルス 71 は, PSGL-1 を介して T 細胞に感染する PSGL-1 結合 (PB 型) 株と PSGL-1 非結合 (non-PB 型) 株が存在し、その結合性は VP1 タンパクの 145 番目のアミノ酸に依存することを明らかにしている。 これらの EV71 の感染・病原性発現機構について比較解析するため、感染性クローンに由来する PB 及び non-PB 型株をそれぞれ感染動物モデルであるカニクイザルに接種し中枢神経症状等の臨床症状の発現を観察した。感染後 0・3・7・10 日目に直腸拭い液、咽頭拭い液、CSF の採取及び採血を行なった。感染 10 日目に解剖し、心臓・肝臓・脾臓などの主要臓器や脳・脊髄などの神経組織を採取した。

[片岡周子、清水博之、西村順裕、網康至(動物管理室)、永田典代(感染病理部)]

(11) EV71 感染カニクイザルのウイルス学的解析

臨床症状は non-PB 型接種群において振戦などの中枢神経症状が見られたが PB 型接種群においては見られなかった。また感染後 0,3,7,10 日目の血中のリンパ球数の変動を FACS 解析したところ PB 型接種群は EV71 感染前の数とあまり変化は無かったが、non-PB 型接種群においては変動が大きかった。さらに EV71 に対する血中抗体価を測定したところ、PB 型接種群では PB 型に対する抗体は検出され non-PB 型に対する中和抗体は検出されなかった。一方、non-PB 接種群では感染 10 日目でも non-PB 型 EV71 に対する中和抗体は検出されなかったが、PB 型に対する中和抗体が検出された。さらに、直腸拭い液、咽頭拭い液、剖検採材からのウイルス分離及び CODEHOP-PCR にてウイルスの検出を行ない CODEHOP-PCR 陽性サンプルでは VP1 全領域のシークエンスを行なった。ほぼ全ての CODEHOP-PCR 陽性サンプルにおいて、その VP1 アミノ酸配列は non-PB 型に変異していることが分かった。

[片岡周子、清水博之、西村順裕、網康至(動物管理室)、永田典代(感染病理部)]

(12) EV71 感染カニクイザルの病理学的解析

EV71 感染カニクイザルの神経組織（脊髄・延髄・橋・中脳・小脳・視床下部・視床・大脳皮質）における病理解析を行なった。PB 接種群及び non-PB 接種群の神経組織ではどちらも炎症や神経変成がみられたが、ウイルス抗原は検出されなかった。

[片岡周子、清水博之、西村順裕、網康至(動物管理室)、永田典代(感染病理部)]

(13) 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 株の選択的分離

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。ウイルス分離過程における、PSGL-1 結合性および PSGL-1 結合に関与するカプシドアミノ酸の変化を検討するため、臨床検体そのもの、および、臨床検体を接種した後の、RD、Vero、Jurkat の各細胞における CPE 発現とカプシド遺伝子解析を行った。エンテロウイルス 71 陽性臨床検体を接種した Jurkat 細胞では、ウイルス増殖は認められなかった。RD 細胞では顕著な PSGL-1 発現は認められないが、RD 細胞での EV71 分離・継代培養において、多くの分離株の PSGL-1 結合部位(VP1-145)に PB 型への変異が認められた。EV71 臨床分離株の培養細胞での分離・継代に際しては、カプシド遺伝子変異を有する PB 型 variant の選択的分離の可能性に留意する必要がある。

[Rifqiyah Nur Umami、西村順裕、清水博之]

(14) ヒト中枢神経組織におけるエンテロウイルス 71 受容体発現の解析

PSGL-1 等エンテロウイルス 71 受容体分子の局在・分布と神経病変との関連性を解析することにより、エンテロウイルス 71 脳炎を含む手足口病流行における神経病原性発現の分子機構を明らかにすることを目的として、急性エンテロウイルス 71 脳髄膜炎患者の中枢神経組織における、特異的エンテロウイルス 71 受容体分子の組織分布を解析し、エンテロウイルス 71 脳炎と日本脳炎の病理学的異同を明らかにした。また、エンテロウイルス 71 脳炎患者および対照例の中枢神経組織を用いて、エンテロウイルス 71 抗原、組織病変と PSGL-1 および SCARB2 受容体分子の分布・局在および病理学的特徴についての比較解析を行っている。

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

(15) 咽頭拭い液からのエンテロウイルス 71 の新規迅速検出法の開発

手足口病もしくはヘルパンギーナの患者の咽頭拭い液から、エンテロウイルス 71（EV71）を特異的かつ迅速に検出する Transcription-Reverse Transcription Concerted Reaction (TRCR)法を開発した。この TRCR 法は、これまでに知られている EV71 の全てのジェノタイプの代表株を 10 から 10^3 コピーの範囲の検出限界で検出することができる。細胞培養法により EV71 が同定された EV71 陽性咽頭拭い液検体を、TRCR 法によ

り正確に同定することができた。

［中島直人（東ソー）、北森有加（東ソー）、大仲悟（東ソー）、三苫恵民（東ソー）、水田克己（山形衛研）、脇田隆字，清水博之、有田峰太郎］

(16) 手足口病の疫学とエンテロウイルス 71 およびコクサッキーウイルス A16 の遺伝子解析

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900 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、ほとんどのEV71 分離株が，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。中国の遺伝子型C4 は1998-2013 年にかけて検出されているが、より詳細にはC4b(1998-2004 年)C4a(2003-2012 年)に分類される。中国本土で検出されるEV71 株のほとんどすべてが遺伝子型C4 である点は、中国および東アジア地域における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]

(17) 北部ベトナムにおける手足口病の疫学とウイルス遺伝子解析

ベトナムでは、近年、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感染症の流行が報告されている。2011-2012 年には、ベトナム全土で多くの死亡例を含む大規模な手足口病流行が発生し、公衆衛生上の大きな問題となっている。2011 年の手足口病流行期における、北部ベトナムにおける手足口病患者由来検体から、エンテロウイルスの検出・同定を行った。エンテロウイルス陽性検体の半数弱からエンテロウイルス71 が検出され、その他のエンテロウイルスの中ではコクサッキーA6 型およびA16 型が比較的多く検出された。2011 年のエンテロウイルス71 分離株の分子疫学的解析を行ったところ、遺伝子型C4 が高頻度に検出されたが、遺伝子型B5 とC5 も同時期に伝播していた。

[Nguyen Thi Hien Thanh (NIHE)、清水博之]

(18) 手足口病、ヘルパンギーナ、および関連合併症の入院症例に関する全国調査

手足口病、ヘルパンギーナ、および関連合併症による入院症例の臨床疫学像を把握するために全国調査を実施している。一次調査により、全国の入院症例数および死亡症例数を推計し、二次調査により、各症例の臨床症状、検査値、病原検索結果などの詳細情報を収集する。一次調査では、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（回答率 68.6%）から回答を得た。二次調査では、85 診療科から 365 例について情報を得た（回答率 68%）。調査対象期間の入院患者数は、3,500 人（95%CI：1,350－7,200）と推定された。二次調査で報告された 46 症例を除外し、306 例を解析対象とし 2010 年の HFMD 流行期であった、4 月 1 日～9 月 30 日の入院患者数は、3,500 人（95%信頼区間：1,350－7,200）と推計された。CNS 合併症の関連因子を検討した結果、「Complication あり」に対する「入院時の発熱≥39℃」の OR（95%CI）は 2.07（1.00-4.28)、「Severe complication あり」に対する「高血糖」の OR（95%CI）は 10.6（1.63-68.5)、「白血球増多」の OR（95%CI）は 2.36（0.61 - 9.17）であった。

[福島若葉(大阪市立大学)、中野貴司(川崎医科大学)、清水博之]

(19)数理モデル解析によるエンテロウイルス 71 分離株の特性解明

数理モデルを起点とした解析法により、エンテロウイルス 71 の増殖複製を定量的に把握する実験手法の開発を目的とした。解析の結果、EV71 の 3 つの分離株のウイルス複製におけるパラメーターである、EV71 分離株感染細胞の寿命、バーストサイズ、基本再生産数が算出され、分離株間で異なることがわかった。RD 細胞の倍加時間は、10.58 ± 0.11 時間 / 日 であった。

EV71 分離株のウイルス減衰率は分離株ごとに異なっており、KED005 株は安定性が低かった。ウイルス感染増殖数理モデルを構築したところ、1095 株、KED005 株、02363 株に感染した細胞の半減期に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では、1095 株と KED005 株では、02363 株のそれと比較して統計的に有意かつ顕著な差異が認められた。EV71 分離株毎のウイルス産生率と伝播効率が推定され、その株間で異なることがあること、一方その細胞死滅効率には差異は見られないことがわかった。

[福原充子, 佐藤 佳, 小柳義夫(京大), 西村順裕, 清水博之]

(20)コクサッキーウイルス A6 型による手足口病流行

2011 年、感染症発生動向調査開始以来最大規模の手足口病流行が発生し、主要な原因ウイルスはコクサッキーウイルス A6 型(CVA6)および A16 型であった。2011 年の手足口病流行時には、四肢末端だけでなく大腿部や臀部にも発疹を呈する手足口病非典型例が報告され、また、爪甲脱落症を呈する症例が認められた。2011 年に検出された CVA6 について分子疫学的解析を行った結果、2011 年流行株の VP1 遺伝子は、2008 年フィンランドの手足口病症例から検出された CVA6 株との相同性が高いことが示された。CVA6 は、我が国では従来、他のコクサッキーA 群ウイルスとともに、ヘルパンギーナの主要な原因ウイルスであったが、2008 年以降、手足口病症例からの検出が増加し、2011 年の大規模な手足口病の主要な原因ウイルスとなった。手足口病および爪甲脱落症の発症に関与する最近の CVA6 と、従来、ヘルパンギーナ発症に関与していた CVA6 は、異なる病原性を有することが示唆される。

［藤本嗣人(感染症疫学センター)、清水博之］

(21) 検体輸送用 FTA elute カードを用いたエンテロウイルス RNA の回収条件検討

エンテロウイルスを FTA elute カード(ワットマン、WB120401)へ吸着し、各種抽出バッファーを用いて抽出効率をリアルタイム PCR 法にて比較したところ、TE-1(ｐH8.0)による回収効率が高いことを示した。また HEV-A-D 群の代表株 4 種類を 10 段階希釈し回収効率を調べたところ、平均回収率はで 6.1%に過ぎず、低ウイルス濃度では著しくばらつきが生じた。このため FTA elute カードを用いて RT-PCR による検出を行う場合、結果の解釈を慎重に行う必要性がある。

［Li Yan（山東省 CDC）、吉田弘］

(22) 中国山東省の 2 地区でのエコーウイルス 6 型の地域内伝播解析

中国山東省内 Jinan 市および Linyi 市において 2008-2011 年の間、継時的に流入下水より検出された下水由来 E6 型分離株の塩基配列を用いて、共通祖先配列の推定、及び伝播時期の推定を試みた。その結果 2010 年 8 月から 12 月の間に、Jinan 地区から Linyi 地区にウイルスの伝播が起こったことが推定された。このように分離時期が明確なウイルス塩基配列を用い、分子進化的解析（ベイズ推定）を行うことで、環境ウイルスサーベイランスは腸管系ウイルスの伝播解析に貢献する可能性を示唆している。

[Tao Zexin（山東省 CDC）、Zhang Yong（中国 CDC）、吉田弘]

(23) 浄化センター流入水における環境ウイルスサーベイランス

九州北部地区の浄化センターで採取した流入水においてエンテロウイルスを中心とする環境サーベイランスを行った. ポリオウイルスに関しては、平成 24 年 4 月に 1 型が 3 株, 5 月に 2 型が 2 株および 3 型が 1 株分離された. VP1 全領域の塩基配列を解析した結果, 全て, 変異数が WHO 基準以下のワクチン株（Sabin-like）であった. また, エンテロウイルスの分離においては, コクサッキーウイルス B 群が中心であった. 特に, 平成 24 年度は夏場を中心にコクサッキーウイルス B5 型の検出が大部分を占めた. 一方, エコーウイルスの分離は少数にとどまり, 例年に比べて分離数・ウイルス種数ともに減少した. 一方, 比較的新しく見出された組換え株であるアデノウイルス 56 型やレオウイルスも分離された. 広範なウイルス分離

能は環境ウイルスサーベ-ランスの有用性を示すものであった.
[中村朋史, 吉冨秀亮*, 石橋哲也*, 前田詠里子*, 世良暢之*(*福岡県保健環境研究所), 吉田弘]

(24) 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 28 種類のウイルスを各種ヒト癌細胞株及び腎臓、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 型(CVB3)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。CVB3 による抗腫瘍活性は受容体(CAR および DAF)依存性であった。CVB3 による特異的抗腫瘍活性はマウス担癌モデルにおいても示されたことから、新たな腫瘍溶解性ウイルス療法としての応用が期待できる。
[宮本将平、井上博之、谷憲三朗(九州大学)、清水博之]

(25) 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

近年、カルジオウイルス属に分類される新たな腸管ウイルス(Saffold virus)の検出が世界各地で報告されている。パキスタンにおける AFP サーベイランスにより採取された糞便検体のうち、パキスタン NIH にてポリオウイルスおよびエンテロウイルスを検出した糞便検体以外の検体から、Saffold virus 遺伝子検出およびウイルス分離を試みた。Saffold virus 特異的 RT-PCR およびリアルタイム PCR システムにより、Saffold virus 遺伝子が高頻度に検出された。LLC-MK2 細胞および HeLa 細胞を用いたウイルス分離を試みたところ、多数の CPE 因子が検出されたが、解析の結果、ほとんどが非ポリオエンテロウイルスによる CPE であった。。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。
[Naeem Asif、西村順裕、清水博之、Syed Sohail Zahoor Zaidi (パキスタン NIH)]

(26) Saffold virus 全遺伝子によるゲノム遺伝子組換え解析

パキスタン・アフガニスタンの急性弛緩性麻痺患者由来糞便 943 検体から直接 Saffold virus 遺伝子を増幅し、遺伝子解析を行ったところ、71 検体が SAFV 陽性であり、新たに同定された 3 つの遺伝子型を含む多様な遺伝子型(11 genotypes)の Saffold virus の存在が明らかとなった。すべての遺伝子型の代表株について、全ゲノム遺伝子解析を行ったところ、Saffold virus 非カプシド領域において頻繁かつ広範に遺伝子組換えが起きていることが示唆された。一方、齧歯類を宿主とするカルジオウイルスと Saffold virus 間の遺伝子組換えの可能性は低く、Saffold virus は従来のカルジオウイルスとは固有のヒトカルジオウイルスとして、独立したウイルス種(species)に分類されることが示唆された。
[Naeem Asif、清水博之]

(27) 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 SAFV の神経および膵臓に対する病原性に注目し、神経疾患患者の末梢血単核球を対象にしたウイルス遺伝子の検出、およびⅠ型糖尿病、剖検例のパラフィン包埋膵臓組織切片を用いたウイルス抗原の検出を行った。SAFV の遺伝子・抗原が検出され、ウイルス持続感染の可能性が示された。持続感染細胞の解析により SAFV 持続感染は受容体発現密度に依存した維持型持続感染であることを明らかにした。
[小谷治、永田典代(感染病理部)、清水博之]

(28) ウイルス性髄膜炎の病理学的診断法に関する研究

髄膜炎の原因として知られている主なピコルナウイルスの参照標本を作製し、免疫組織化学法による各種抗体の交差反応性について検討し、ホルマリン固定標本パラフィン包埋切片における SAFV3 および各種エンテロウイルス抗原を検出するシステムを確立した。抗 SAFV 抗体は特異性を示し、エンテロウイルス A 型、B 型に交差反応性は示さなかった。抗 EV71 抗体はエンテロウイルス A 型、B 型に交差反応性を示した。抗 PV 抗体はいずれのウイルスにも交差反応性を示さなかった。抗 CVB3 抗体はエンテロウイルス A, B 型に交差反応性を示した。抗 EV-2C 抗体は SAFV 以外のエンテロウイルス抗原を検出することが可能であった。

［小谷治、永田典代(感染病理部)、清水博之］

(29)日本の下痢症患者からの Saffold virus の検出と遺伝子解析

日本の下痢症患者由来 454 検体から Saffold virus 遺伝子検出を試みたところ、7 検体(1.5%)が陽性であった。Saffold virus 陽性検体のうち、5 検体は Saffold virus 2 型と同定され、2 株は Saffold virus 3 型であった。Saffold virus 陽性下痢症患者 4 例は、他のウイルスとの共感染であった。日本でも、2 型および 3 型 Saffold virus の伝播が確認されたが、Saffold virus の下痢症を含め、Saffold virus の特定の疾患への関与については、さらに検討が必要である。

［牛島廣治(日本大学)、清水博之］

6. 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 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した。その後、WHO 西太平洋地域ポリオ根絶認定委員会からの勧奨に基づき、ポリオウイルス保有施設リストのアップデートを継続している。

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

(2) WHO ポリオ実験室ネットワーク DVD を用いたバイオセーフティ教育訓練

WHO本部ポリオ実験室ネットワーク事務局で作成したポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用DVDを、外国人研修生に対するバイオセーフティ教育訓練に使用した。WHOポリオ実験室教育訓練DVDは、実験室のバイオセーフティ、機器の維持管理、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、実験室・検査室の運用・安全管理・教育訓練に関する具体的な事例が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である。本研修資料を日本におけるバイオセーフティ教育訓練に用いるため和訳資料を作成した。ポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用DVDは、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。
［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］

7. その他

平成 24 年度は 2 件の行政検査依頼があり、型内株鑑別試験等を実施した。型内鑑別試験を行ったポリオウイルスは、すべてワクチン株と同定された。

III. 肝炎ウイルスに関する研究

１．A 型肝炎ウイルス（HAV）に関する研究

(1) 2011 年の A 型肝炎流行の疫学的解析

2011 年は合計 52 株について配列解析を行なった。その結果、今年の流行株は genotype IA が 46 株、IIIA が 5 株、IIIB が 1 株であり、IA の大部分は千葉市における集団食中毒事例のものであり、この株は IA-1 に属した。2011 年の流行の原因の１つであった IA-2 のクラスターに属する株は１株（他に類似株が２例）のみであり、これらのクラスターに属さない IA 株として、パプアニューギニアおよびブラジルでの感染と考えられる株がそれぞれ１株ずつ検出された。IIIA は 2011 年も５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、**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］

(2)日本における Genotype IIIA A 型肝炎の検出と韓国での流行との関連

日本において Genotype IIIA の HAV は輸入例を除きほとんど報告されていなかったが、2010 年の流行では約 1/4 が Genotype IIIA であり、この傾向は 2011 年も継続している。韓国で 2008 年から A 型肝炎の大流行が報告されており、その主体は IIIA であることが明らかにされている。日本の IIIA について韓国で解析されているのと同じ部位の配列を決定し系統樹解析を行ったところ、日本と韓国の IIIA は同じクラスターに属し、韓国での流行と近年の日本の IIIA には密接な関係があることが明らかになった。
［石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、佐藤知子、*島田智恵、*中村奈緒美、*多田有希、**野田　衛、脇田隆字（*感染症情報センター、**国立衛研食品衛生管理部）、他 26 地方衛生研究所との共同研究］

(3) 千葉市における A 型肝炎集団食中毒事例の解析

千葉市での集団食中毒事例は、最終的には確定診断で患者数 49 名という大きな流行となった。分子疫学的解析を行ったところ、解析可能であった検体はすべて genotype IA に分類され、2010 年の解析で IA-1 と呼んだクラスターに属し、2010 年に日本で広域的に流行した IA-2 や IIIA に属する株とは異なることが明らかとなった。また、その遺伝子配列は患者 2 検体（99.7%）を除く 34 検体が 100%一致し、同一感染源に由来する株であることが強く示唆された。これらの患者の 2010 年 11 月下旬～12 月中旬における喫食状況等の調査を実施したところ、患者は市内寿司店で調理、提供された食事を喫食していたことが明らかとなった。
［+横井　一、+田中俊光、+小林圭子、石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、佐藤知子、*島田智恵、*中村奈緒美、*多田有希、**野田　衛、脇田隆字（*感染症情報センター、**国立衛研食品衛生管理部、+千葉市環境保健研究所）］

(4) A型肝炎のリスクアセスメント

A型肝炎は感染症法の４類感染症としてすべての医師は患者が発生するたびに最寄りの保健所に届け出ることが義務づけられている．2008-2012 年のA型肝炎届出数を集計し，患者の性別，年齢，渡航歴などから，A型肝炎感染リスクを調査した．その結果，リスクファクターとして外食頻度と海外旅行が指摘された．外食については，食品取扱従事者へのより一層の衛生管理指導が必要である．海外旅行対策としては，渡航前に余裕を持ってワクチン接種を完了できるような，疾病対策も含む旅行形態の提案が望ましい．また，A型

肝炎は全数報告疾病であるが，届け出の不徹底による過小評価が危惧されている．診察医による届け出の徹底および聞き取り調査やサンプリングへの協力も今後のリスクアセスメントに不可欠である．
[清原知子， 多田有希（国立感染症研究所感染症疫学センター)， 石井孝司， 脇田隆字]

(5) Ａ型肝炎血清疫学調査実施計画及び準備

当室で定期的に実施しているＡ型肝炎の血清疫学調査の準備を始めた．サンプリングに必要な倫理委員会承認を得た．
[清原知子，石井孝司， 脇田隆字]

(6) スリランカのＡ型肝炎流行における疫学調査

2010 年 1 月 11 日から 9 月 23 日にかけてサンプリングした，総計 223 検体について確定診断，遺伝子解析を行った結果，初期は集団生活（トレーニングセンター）から拡散するＡ型肝炎の流行パターンが見られたが，サンプリング後期の流行は特定の拡散パターンを示さなかった．感染ウイルスは優勢な遺伝子型が時間とともに変化していくことが観察された．ワクチン接種は実施されなかったが徐々に患者発生頻度は低下しており，衛生管理等の感染対策に加えて，不顕性感染による感受性者の減少が流行阻止に役立っていると考えられる.しかしながら，集団生活と感受性者の増加が継続的に行われる軍隊のような環境では流行の遷延化は免れない．適切なワクチン使用が望まれる．
[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]

(7) 化合物および物理的条件等に対する新規 HAV 不活化能評価系構築に向けた予備的検討

HAV の各種不活化条件は WHO により既に詳細に検討されている。そこで、提示された加熱条件にて確実に HAV が不活化されることを $TCID_{50}$ アッセイで確認した。

今後、$TCID_{50}$ アッセイをゴールドスタンダードとして培養上清に出にくいと考えられている HAV の上清中での蛋白並びにゲノムレベルでの検出の検討や、細胞ごと回収・溶解しての抽出ゲノム最短検出時間の決定等によって HAV 新規不活化能評価系の構築を目指す。
[塩田智之，清原知子，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) 培養細胞での HBV 複製評価系の構築

HBV の 1.3 倍長ゲノムを持つ発現プラスミドを細胞にトランスフェクションすることで，一過性に HBV を発現させ，HBV の複製を評価する系を構築した．サザンブロット及び real-time PCR により，HBV core particle に内包される HBV ゲノム DNA 量を検討した結果，高い相関性を示した．HBV core particle は，HBV ライフサイクルの後期過程で産生されることから，この系を用いることで，HBV ライフサイクルにおける後期過程の複製を評価することが出来ると考えられる．
[杉山隆一，山田典栄，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(2) B 型慢性肝炎症例におけるエンテカビル治療に対する反応不良例の検討

B 型慢性肝炎に対するエンテカビル反応不良例 3 例の解析を行った．患者血清より HBV 株を分離し塩基配列を確認した．得られた HBV 株には既報のエンテカビル耐性変異は認めず，RT 領域の他の部位に変異を認め，これらの変異がエンテカビル耐性に関与している可能性が考えられた．2 症例のコンストラクトを構築し，培養細胞に導入する事により HBV の複製が確認された．今後このコンストラクトを用い，エンテカビル耐性機序の解析を行う．
[山田典栄，杉山隆一，四柳宏(東京大学)，脇田隆字，加藤孝宣]

(3) HBV genotype H による B 型急性肝炎症例の解析

型急性肝炎 92 例の患者血清より HBV 株を分離し genotype(gt-)を決定した．そのうち報告例が極めて少ない gt-H を 1 例認めた．その他の gt は gt-A 62

例, gt-B 14 例, gt-C 15 例であった. gt-H 症例の全長の塩基配列を解析したところ, basal core promoter 領域 nt 1762/1764, PreC 領域 nt 1896 は野生型であり, RT 領域に核酸アナログ耐性として知られる変異はなかった. S 領域の a determinant region に F134L の変異を認めた.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(4) B 型急性肝炎症例における HBs 領域のアミノ酸変異の検討

B 型急性肝炎症例の中和エピトープとなる S 領域のアミノ酸変異を検討した. S 領域全体 (aa 1-227) では 91 例中 19 例 (20.9%), hydrophilic region (aa 110-160) では 9 例 (9.9%), a determinant 領域 (aa 124-147) では 6 例 (6.6%) に変異を認めた. ワクチンエスケープ変異として知られる T126S と, これまでに報告のない T131P/A, M133L, F134Y, P135H を認めた.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(5) 人工ヌクレアーゼ TALEN による HBV 複製抑制効果の検討

人工ヌクレアーゼである TALEN はゲノムを改変するツールとして最近開発された. 一方, HBV は複製過程において cccDNA とよばれる mini chromosome 構造をとることで治療を困難にしている. そこで HBV cccDNA を標的として HBV 特異的 TALEN を設計し HBV 複製抑制効果を検討した. HepG2 細胞に HBV 発現プラスミド及び TALEN 発現プラスミドをコトランスフェクションし, サザンブロットにより評価した結果,TALEN により HBV 複製の抑制が確認できた.
[杉山隆一, 山田典栄, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(6) Screening of Human Kinases regulating HBV life cycle

Protein kinases are key regulators of cell function. By adding phosphate groups to substrate proteins, they direct the overall function of many proteins. We performed a functional screening analysis using siRNA library targeting 501 human kinase gene. The effect of knocking down these kinases on HBV replication is studied. Hits were identified, and mechanistic analysis is undergoing.
[Hussein H Aly, Kazuaki Chayama, Takaji Wakita]

(7) Establishing cell line highly permissive to HBV infection

Only primary human hepatocytes can support HBV infection efficiently. We are trying to establish efficient HBV infection in other cell lines. We isolated liver progenitor cells After conditional immortalization, we already establish a stable cell line. Cellular differentiation study is recently undergoing to establish functional, differentiated hepatocytes that can be used for HBV infection analysis.
[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(8) Screening of Human Helicases regulating HBV cccDNA formation

Human helicases play important role in HBV-DNA repair to form cccDNA. Using shRNA library targeting 136 human helicase genes, we performed a functional assay and monitoring its effect on HBV replication in Hep38.7-Tet cells. The effect of knocking down these Helicases on HBV replication is studied. Hits were already identified, its function on the formation of HBV cccDNA is confirmed and the mechanistic analysis is undergoing.
[Hussein H Aly, Takaji Wakita]

(9) HBV 感染評価系の樹立と、感染感受性を変化させるサイトカインのスクリーニング

HepaRG 細胞を用いて HBV 感染を評価できる実験系を樹立した。この系において，これまでに HBV 吸着を阻害することが報告されているヘパリンやポリリジンが HBV 感染を阻害することが確認された。この実験系を用いて HBV 感染感受性を変化させるサイトカインのスクリーニングをおこなった結果、IL-1beta の前処理によって HBV 感染が低下することが認められた。

[渡士幸一，脇田隆字]

(10) HBV 侵入を阻害する低分子化合物のスクリーニング

前述 HepaRG 細胞を用いた HBV 感染評価系を用いて、HBV 侵入を阻害する化合物をスクリーニングした。その結果、7 種類の化合物を HepaRG 細胞に前処理した場合、HBV 感染が有意に低下することが認められた。

[渡士幸一，脇田隆字]

(11) 高効率 HBV 複製細胞系の樹立とその解析

単一細胞クローニング法により、HBV を恒常的に産生する細胞株として HepG2.2.15.7 細胞を、またテトラサイクリン除去によって HBV 産生を誘導できる細胞株 Hep38.7-Tet 細胞を樹立した。HepG2.2.15.7 細胞は高レベルの HBs 抗原を、Hep38.7-Tet 細胞は高い HBV DNA 量を産生していることがわかった。

[渡士幸一，岩本将士，脇田隆字]

(12) HBV 複製を阻害する低分子化合物のスクリーニングとその機能解析

前述 Hep38.7-Tet 細胞を用いて、HBV 複製を抑制する低分子化合物のスクリーニングをおこなった。その結果、HBV DNA 量を 1/10 以下に低下させるものとして 10 化合物を得た。これらのうち、3 化合物は核酸アナログ誘導体であった。

[岩本将士，渡士幸一，脇田隆字]

(13) 酵母発現 B 型肝炎ウイルス(HBV)粒子を用いた細胞表面結合蛋白質の探索

組換え酵母由来 HBV L 蛋白質により形成されるウイルス粒子を用いて、ヒト肝臓由来細胞やマウス肝臓由来細胞、さらにヒトの肝臓以外の組織由来の細胞株等に対する結合を解析した。その中でウイルスが最も良く結合する細胞とほとんど結合を示さない細胞について、異なる安定同位体標識アミノ酸含有培地で培養した後に、細胞表面蛋白質をビオチン標識し、精製を行った。さらに質量分析法を用いて発現レベルの異なる蛋白質を同定した。

[鈴木亮介，松田麻未，黒田俊一（名古屋大），岡本徹（阪大微研），松浦善治（阪大微研），脇田隆字]

(14) 増殖効率の向上したウイルス感染系及びモニターの簡便な評価系の構築

9 人の HBV 患者血清から HBV 遺伝子をクローニングし、HBV 遺伝子配列を同定した。次に、患者配列の HBV 発現プラスミドを構築、Huh-7 細胞に導入して HBV 複製活性（HBV DNA 量、HBsAg 量）を評価した。患者配列の細胞内外 HBV DNA 量は実験室株と同等若しくはわずかな低下に留まった。一方、患者配列の細胞外 HBsAg 量は実験室株と同等若しくは顕著に増加していた。

[小倉直樹（JT 医総研），渡士幸一，脇田隆字]

(15) Ｂ型肝炎の血清疫学調査（２）

国立感染症研究所国内血清銀行に保管されている血清のうち，小児（4-9 歳）血清 2000 検体（2005-2011 年採血）について HBs 抗原検査を行った．サンプリング地域は 15 府県，男児 1085 検体であった．Enzygnost HBsAg5.0（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社）を用い，疑陽性を避けるためカットオフは 100mIU/ml に設定した．HBs 抗原陽性検体は遺伝子型別も実施した．2000 検体中，6 検体が HBs 抗原陽性であった．年齢は 5-9 歳で，採血年や地域的な偏りは見られなかった．2 検体は同地域から得られた検体で，シークエンスから共通の感染源を持つことが疑われた．過去に行われた調査結果から，小児における慢性Ｂ型肝炎は少ない（0.05%以下）と予測されていた

が，我々の調査では HBs 抗原陽性率 0.3%と予測より高い結果になった．現行の母子感染防止対策は有効な手段であるが，感受性者の増加，外国由来の遺伝子型ウイルスの増加,患者の若年化等の状況変化を考慮し，水平感染リスクを再検討する必要がある．

［清原知子，石井孝司， 脇田隆字］

(16) B型肝炎ワクチンの試験管内試験法の実用化に向けて

市販のワクチンとそれらを加温変性した低力価ワクチンについて,*in vivo* 及び *in vitro* 力価試験を行い，力価検出傾向の差を比較した．メーカーA のワクチンは *in vitro* 試験で 50%以上の抗原量減少にもかかわらず *in vivo* 試験では抗体誘導能がほとんど落ちなかった．これは，現行の *in vivo* 試験で充分な力価があっても *in vitro* 試験では低力価と判定されることを意味する．一方，メーカーB のワクチンは *in vivo* 試験と in vitro 試験で同じ傾向を示した．今回の結果により，*in vivo* 試験から *in vitro* 試験への移行は試験法だけでなく,各メーカー別の新参照ワクチンの制定，力価の合格範囲を検討する必要があることが明確になった．今後は検体数を増やして各メーカーのワクチンの反応性を確認する．また，実用化に向けてワクチンメーカーとともに試験法や規格値の設定を協議する場を設ける．

［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) ビタミン D により誘導される抗菌ペプチドの抗 HCV 作用の解析

ビタミン D により免疫担当細胞において誘導される抗菌ペプチドによる抗 HCV 作用の検討を行った．抗菌ペプチドを培養細胞に前処理する事により，HCV の感染増殖は著明に抑制された．この抗菌ペプチドの HCV ライフサイクルに与える影響を詳細に検討した結果，HCV の感染過程を阻害している事がわかった．

［松村卓哉(昭和大),井廻道夫(新百合ヶ丘総合病院),椎名正明(新百合ヶ丘総合病院),杉山奈央,村山麻子,藤田めぐみ，脇田隆字，加藤孝宣］

(2) NS5A 領域を置換した HCV キメラウイルスの作製と複製能の評価

HCV JFH-1 株の NS5A 領域を，H77 株(1a 型)，Con1 株(1b 型)，J6CF 株(2a 型)，JCH-1 株(2a 型)，JCH-4 株(2a 型)，MA 株(2b 型)，NDS 株(2b 型)，J8 株(2b 型)に入れ換えた NS5A キメラ株を作製し，増殖複製能を検討した.作製した NS5A キメラ株はすべて Huh-7.5.1 細胞で増殖複製が可能であり，HCV RNA 導入後の細胞内のコア抗原量はほぼ同レベルであった．培養上清中のコア抗原量は遺伝子型 1a の株は JFH-1 株と同レベルであり，1b の株は JFH-1 株より低く，2a，2b の株はすべて JFH-1 株より高い値を示した．

［村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣］

(3) HCV NS5A キメラウイルスを用いた第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性の評価

第一世代の NS5A 阻害剤は，内服投与により HCV 複製を強力に抑制するが，JFH-1 株以外の遺伝子型 2 の HCV 株に対しては効果が低かった．最近，第二世代の NS5A 阻害剤が開発された.そこで HCV JFH-1 株の NS5A 領域を他の HCV 株に入れ換えたキメラ株を用いて，第二世代の NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性を評価した．これらの化合物は JFH-1 株および遺伝子型 1 (H77, Con1)の NS5A を持つキメラ株のウイルス複製を低濃度で抑制した．同様に，遺伝子型 2 (J6CF, MA, J8)の NS5A を持つキメラ株のウイルス複製も抑制した．

［村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣］

(4) NS5A-ISDR アミノ酸変異が HCV 増殖に与える影響の検討

これまで ISDR アミノ酸変異が IFN 治療反応性に影響を与えることが報告されてきたが，培養細胞での HCV 感染複製系に対する ISDR アミノ酸変異による影響は明らかにされていない．そこで，*in vitro* における ISDR アミノ酸変異による HCV 増殖への影響を検討した．

ISDRアミノ酸変異がIFN治療反応性に与える影響は主に遺伝子型 1b の症例で検討されてきたことから，構造領域が遺伝子型 2a（JFH-1 株由来）で NS5A が 1b (Con1株由来) の組換えウイルスを用い検討した結果，ISDR アミノ酸変異により感染性ウイルス粒子の産生効率が低下することが示唆された.

[杉山隆一，杉山奈央，藤田めぐみ，山田典栄，脇田隆字，加藤孝宣]

(5) 293T 細胞における HCV の複製の検討

Claudin-1，miR-122 を恒常的に発現する 293T-CLDN/miR-122 細胞(阪大微研 松浦善治先生より供与)に全長 HCV RNA をトランスフェクションすると，細胞内のコア抗原量は Huh-7.5.1 細胞と同レベルまで増加した. 培養上清中のコア抗原量は Huh-7.5.1 細胞に比べると低く，培養上清に感染性はなかった. ApoE を発現するプラスミド DNA をトランスフェクションしてから 2 日後に，HCV RNA をトランスフェクションすると，細胞内のコア抗原量には変化がなかったが，培養上清中のコア抗原量がわずかに上昇し，さらに培養上清に感染性があることが確認できた.

[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(6) HEK293 細胞における HCV の複製の検討

HEK293 細胞に miR-122 をレンチウイルスベクターを用いて発現させ，さらに全長 HCV RNA をトランスフェクションすると，細胞内のコア抗原量は継時的に増加したことから，この細胞内で HCV RNA は複製できることが明らかとなった. しかし，複製効率は Huh-7.5.1 細胞の 1/10-1/100 程度であった.

[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(7) HCV コア領域のアミノ酸変異によるインターフェロン(IFN)感受性の評価

構造領域が HCV Genotype 1b 由来，非構造領域が 2a 由来のキメラウイルスを作成し(TH/JFH1)，更に aa 70 (R/Q)と aa 91(L/M)の変異を導入した(TH/JFH1-RL, RM, QL, QM). それぞれの RNA を Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションし，IFN を添加した後細胞中，培養上清中の core 抗原量を定量したが，いずれの変異株においても core 抗原量は同様に減少し，変異株間での差は認めなかった.

[藤田めぐみ，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(8) HCV コア領域のアミノ酸変異が MHC 発現誘導に与える影響の解析

Huh7.5.1 細胞に HCV を感染させたところ，MHC 発現誘導は確認されなかった. Huh7.5.1 細胞に IFN-α，β，γを添加したところいずれの IFN でも MHC の発現誘導が見られた. 最も強い誘導がみられた IFN-γを用いて，TH/JFH1-RL, RM, QL, QM をトランスフェクションした細胞で誘導される MHC 量を比較した. その結果 QL, QM で MHC 量が低く，Core 領域 70 番アミノ酸に変異を有するウイルスは，宿主細胞内に蓄積し抗原提示能を抑制することで宿主リンパ球による細胞障害を逃れ，IFN 治療に対して抵抗性を獲得するものと考えられた.

[藤田めぐみ, 杉山奈央, Eui-Cheol Shin (韓国 KAIST), Wonseok Kang (韓国 KAIST)，脇田隆字，加藤孝宣]

(9) JFH-1 株のコア領域アミノ酸変異がウイルス蛋白蓄積に与える影響の検討

JFH-1 株のコア領域に aa70 (R/Q) と aa91 (L/M) の変異を導入した (TH/JFH1-RL, RM, QL, QM) 株を作成した. これらの細胞内の HCV 蛋白と HCV 陽性細胞数について FACS を用いて解析したところ，いずれのクローンでも同様の値を示し変異による HCV 蛋白の蓄積を認めなかった.

[藤田めぐみ，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(10) Establishing Hepatitis C genotype-4a (HCV-4a) in-vitro model

We are aiming to establish a model supporting HCV-4a life cycle. The entire HCV-4a genome is sequenced and cloned. The major replicating clone is identified, and a replicon plasmid expressing

the non-structural region is constructed. HCV replication analysis is performed. Work is going on for establishing infectious clone.
[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(11) 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得られた halopemide の抗 HCV 作用メカニズムの解析をおこなった。halopemide の既存の作用のうち dopamine 阻害、phospholipase D (PLD) 阻害のうちどちらが抗 HCV 作用に関連しているかを、これらに対する別の阻害剤および siRNA によるノックダウン解析で検討したところ、PLD が感染性 HCV 産生に重要であることを示唆する結果を得た。
[内田奈々子, 渡士幸一, 脇田隆字]

(12) cyclophilin 阻害剤のインターフェロン経路への影響に関する解析

HCV 感染細胞において cyclophilin 阻害剤のインターフェロン(IFN)情報伝達経路への影響を調べた。HCV 感染細胞では IFN-alpha による IFN stimulated genes のタンパク質発現誘導が非感染細胞よりも明らかに低下していたが、cyclophilin 阻害剤によりそれが解除されることが観察された。
[大東卓史, 渡士幸一, Ann Sluder (SCYNEXIS), Katyna Borroto-Esoda (SCYNEXIS), 脇田隆字]

(13) 感染性 HCV 粒子産生系を用いた天然化合物生理活性の同定

真菌抽出物より単離された天然有機化合物の生理活性を同定するために、感染性 HCV 粒子産生系を用いた。天然有機化合物ライブラリーより感染性 HCV 粒子の産生を低下させるものとして 19 化合物を得た。またこれらのうち 3 化合物は用量依存的な強い HCV 粒子産生阻害効果を有していた。これらの構造をもつ化合物は HCV 産生を低下させるものとしては報告がないものである。
[中嶋翔, 渡士幸一, 紙透伸治（東京理科大）, 菅原二三男（東京理科大）, 脇田隆字]

(14) HCV 潜在性肝炎の肝臓組織、細胞内小器官の形態変化

HCV 潜在性肝炎とは、過去 HCV に感染したことがあり、治療あるいは自然治癒で血液中のウイルスは排除されたが、肝障害が残る症例であり、原因としてウイルスが肝臓内に潜んでいることも考えられる。そこで、HCV 潜在性肝炎患者の肝臓生体検査サンプルを電子顕微鏡で観察し、ウイルス様粒子やオルガネラの変化を観察した。初めに、HCV 感染患者の肝臓生体検査サンプルを電子顕微鏡で観察し、正常の肝臓と比較したところ、Myelin figures(同心円層状封入体)が、HCV 感染患者生体検査サンプルで主に見られ、脂肪滴が蓄積した星細胞が多く観察された。
[松田麻未, 市野瀬志津子（東京医科歯科大）, 和氣健二郎（ミノファーゲン製薬）, 相崎英樹, 脇田隆字]

(15) HCV ライフサイクルにおける E2 糖鎖の役割

NQ 変異解析（Asn を Gln に置換）の結果、単一 NQ 変異で影響のない 4 ヶ所の N 型糖鎖修飾部位のうち 3 ヶ所については同時に置換してもウイルスの生活環に影響のない組み合わせがあった。その変異型は E2NQ159（1 番、5 番、9 番）と E2NQ569（5 番、6 番、9 番）であり、これらの変異型ウイルスの性状について解析を行った。CD81-LEL との結合性、感染中和抗体との反応性を調べたとろ、どちらの変異型についても野生型のウイルスと比較して反応性が上昇していた。
[渡邉則幸, 伊達朋子, 相崎英樹, 脇田隆字]

(16) E2 タンパク質を免疫することで誘導された中和抗体の性状について

S2 細胞または 293T 細胞を用いて HCV E2 タンパク質（それぞれ S2-E2、293-E2）を作製した。これらをマウスに免疫し誘導される E2 抗体の性状を解析した。どちらの精製 E2 タンパク質についても E2 抗体を誘導したが、感染中和効果について血清を用いて解析した

ところ 293-E2 抗体で優位に HCV 感染に対する阻害効果がみられた。また、血清から精製した IgG についても同様の結果であった。2 種の E2 タンパク質は構造が異なるようである。

［渡邉則幸，伊達朋子， Hussein Aly，相崎英樹，脇田隆字］

(17) E2 ペプチドを用いた E2 抗体の認識領域の探索

293-E2 抗体の感染中和に重要な領域を調べるため、それぞれの E2 抗体の認識領域の探索を行った。E2 領域のすべてをカバーする 20 アミノ酸のペプチド（36 種類）を用いてペプチドをコートしたプレートを作製した。プレートと 2 種の E2 抗体を反応させて抗体の認識する領域を検出した。それぞれの E2 抗体の認識部位は一部では共通に反応したが、一方の E2 抗体しか反応しない領域もあった。反応の異なる領域は構造が異なるうえ感染中和に関与する領域であると予想できる。

[渡邉則幸，伊達朋子， Hussein Aly，相崎英樹，脇田隆字]

(18) 昆虫細胞を用いた virus like particle (VLP) の産生および精製

S2 細胞に JFH-1 株の構造領域（1-755）を発現させたところ、コア領域だけを発現させたものと同様に培養上清中に放出された。ショ糖密度勾配法で分画し密度を測定したところ 1.06 g/ml を示しており、コア領域だけを発現させたものと同様に VLP として分泌されることが分かった。樹立した安定 VLP 産生 S2 細胞を用いて大量発現を行い幾つかの精製方法を試みた。精製法については検討中である。

［渡邉則幸，伊達朋子，相崎英樹，脇田隆字］

(19) 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 の細胞侵入機構を 1 回感染性トランスパッケージング型粒子(HCVtcp)を用いて解析した。HCVtcp は、レセプターを介した pH 依存性エンドサイトーシスにより Huh7 細胞と Huh7.5.1 細胞へ侵入し、Huh7 細胞へは、従来の報告通りクラスリン依存性エンドサイトーシス経路を使って侵入していたが、Huh7.5.1 細胞を含め、複数のヒト肝臓由来細胞において、クラスリン非依存性経路による HCV の侵入が認められた。

[松田麻未，鈴木亮介，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医大），脇田隆字]

(20) HCVtcp 産生系の改良と中和抗体の評価

これまでに HCVtcp 産生系を確立したが、さらに HCV レプリコンのレポーター遺伝子を改変し、検出感度を約１００倍高める事に成功した。これまで感染価が認められなかった株を用いた HCVtcp の作製が可能となり、遺伝子型 1a、1b、2a、3a 由来の７つの株の感染性 HCVtcp が得られた。さらにエンベロープ蛋白質である E1 および E2 に対する抗体あるいは抗血清の中和活性評価を行い、遺伝子型の異なる HCVtcp に対して中和活性を示すモノクローナル抗体を見いだした。

[鈴木亮介，松田麻未，相崎英樹，小原道法（医学総合研），脇田隆字]

(21) 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、siRNA screening を行ったところ、翻訳、複製過程に関与するタンパクとして ELAVL1 を見出した。ELAVL1 は HCV RNA と結合して、ウイルスタンパク質翻訳を誘導し、さらに、NS タンパク質と結合して、HCV RNA を複製複合体へリクルートするものと考えられた。

[後藤耕司（東大感染症内科，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）

(22) 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、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。HSDはNS5Aと結合し、脂肪滴へ導くことが示された。さらに、HSDは脂肪滴の産生にも影響を与えることが判明した。

［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］

(23) HCV感染細胞のメタボローム解析

HCV感染に伴う細胞内代謝の変化を理解するため、代謝物質の網羅的解析（メタボロミクス）を行った。HCV感染により、TCA回路、プリン・ピリミジン合成系など蛋白核酸合成等は低下し、ATP、GTP、phosphocreatine等のエネルギー供与体は減少し、一方解糖系は著名に亢進していた。糖代謝には構造タンパクが、その他の代謝には非構造タンパクが影響を与えている可能性が示唆された。

[松田麻未，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医科大学），脇田隆字]

(24) HCV感染が宿主細胞のリポ蛋白の代謝に与える影響

HCV感染による肝脂肪化の原因のひとつとして、超低比重リポ蛋白(VLDL)分泌低下が報告されている。一方、VLDLはHCVの感染性に必須と報告されており、これらの矛盾点を解明するため生体での脂質輸送の中心を担っているリポ蛋白を解析した。HCV感染後、培養上清中のVLDLが増加し、低比重リポ蛋白(LDL)が低下することを見出し、その原因としてHCV感染細胞でのVLDL分解酵素であるHepatic lipase(HL)の発現低下を見出した。HCVのHL代謝に与える影響について解析している。

[相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医科大学），脇田隆字]

(25) Radial-flow bioreactor(RFB)を用いた，3次元高密度培養法によるHCV感染機構の解析

RFBはヒト肝癌細胞株を3次元高密度培養できる装置である．このシステムを用いてヒト肝癌由来細胞株（FLC-4）にHCV-2a株（JFH-１株）の感染実験を行ったところ、培養上清中のHCV-RNA量は感染後5日目に最大１０^{6}copiesに達し，以後７週間以上にわたり持続的に検出できた.平皿培養では感染が成立しなかった事より,細胞を三次元培養する事で感染・増殖が成立したと考えられた。HCVの生活環の場である生体膜に注目し、三次元と二次元で比較プロテオーム解析を行っている。

［松本喜弘（慈恵医大消化器内科），相崎英樹，永森収志（阪大医学部），松浦知和（慈恵医大中央検査），脇田隆字］

(26) 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

慢性C型肝炎患者に用いられている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生活環のうち、特に感染性粒子形成おいて強い阻害効果を示した。その阻害効果はPLA2の抑制とautophagy亢進によるものの可能性が示唆された。

[松本喜弘（慈恵医大消化器内科），青柳春代，相崎英樹，松浦知和（慈恵医大病院中央検査部），和氣健二郎（ミノファーゲン製薬），脇田隆字]

(27) 肝繊維化における肝星細胞の役割の解析

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

[渡邉則幸，青柳春代，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医科大学），脇田隆字]

(28)霊長類モデルを用いた培養細胞由来HCV粒子ワクチンの有効性の検討

HCV ワクチンとしてのヒトにおける効果を類推する上では，ヒトにより近い霊長類モデルを用いた検討が重要である．そこで霊長類モデルとしてアカゲザルを選択し，培養細胞由来 C 型肝炎ウイルス粒子 (HCVcc) の免疫原性及の解析を行った．不活化 J6/JFH-1 HCVcc をアジュバントと共にアカゲザルに投与したところ，Alum を用いて免疫したアカゲザル血清より精製した抗体は，J6 だけでなく遺伝子型の異なる TH の E2 タンパク質をも認識し，J6 HCVpp の感染を濃度依存的に阻害する事を見出した．また，生化学的血液検査および病理学的組織解析の結果，HCVcc ワクチンに起因する異常は認められなかった．

［横川寛，森山正樹（東レ医薬研），中村紀子（東レ医薬研），東濃篤徳（京大霊長類研），明里宏文（京大霊長類研），石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字］

(29) ファージディスプレイ法により見出したヒト抗 E2 抗体の HCV に対する感染中和活性の検討

HCV 感染患者より得た脾細胞から total RNA を抽出し，抗体遺伝子ライブラリーを作製してファージディスプレイ法にて HCV E2 エンベロープタンパク質に親和性を示す抗体をスクリーニングした．スクリーニングにて見出した 3 種の IgG 抗体に関して，HCVpp に対する感染中和活性を検討した．その結果，遺伝子型 1b である TH HCVpp および遺伝子型 2a である J6 HCVpp に対する感染中和活性が強い抗体であることを見出した．また，J6/JFH-1 HCVcc に対しても強い感染中和活性を示し，内２つの抗体クローンでは細胞側受容体 CD81 に対する抗体よりも感染中和活性が強いという結果となった．

［横川寛，赤澤大輔（東レ医薬研），中村紀子（東レ医薬研），篠原みどり（抗体研究所），石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字］

(30) 高純度 HCV 粒子精製方法の構築

近年，C 型肝炎ウイルスは感染性粒子の細胞培養系が確立され，その不活化粒子は中和抗体を産生しうる抗原としてワクチン開発への利用が期待されている．本研究では，簡便にスケールアップが可能であるイオン交換クロマトグラフィー法を用いた HCV 粒子の精製方法を選択し，その精製効率を検討した．イオン交換精製の検討の結果，核酸溶出ピークに HCV 粒子が共溶出し，核酸が精製効率の低下を招いている可能性が示唆されたため，Benzonase nuclease を用いて精製前サンプルを処理した．その結果，Benzonase 処理により HCV 粒子の回収量が増加し，精製効率が改善した．

［横川寛，森山正樹（東レ医薬研），中村紀子（東レ医薬研），石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字］

(31) 患者血清中のminorな株の存在を解析

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HCVゲノム配列を決定した。３種類以外のminorな株の存在比を解析するために、３種類を識別可能なcore～E1領域の500bp程度の領域を増幅し、454 GS Jr.で解析した。３種類に含まれない株が経時的に存在したがその割合は10%未満であり、主に存在する株の全長配列を同定できていることが確認できた。

［安東友美，相崎英樹，*杉山真也，*溝上雅史，脇田隆字（*国立国際医療センター）］

(32) HCVゲノム上に存在する薬剤感受性予測因子の血清中での存在様式

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ゲノム上に共存することを確認した。感受性予測因子保有株と非保有株は独立して進化することが系統樹解析から示唆された。これまでcore 70番のアミノ酸の変化は変異に依ると考えられてきたが、感受性予測因子保有株と非保有株の存在比の変化である可能性が示された。

［安東友美，相崎英樹，脇田隆字］

(33) 複数の検体を用いたHCV多種性の解析

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番のアミノ酸が、グルタミン(Q:非感受性)とアルギニン(R:感受性)の混合となっている４検体について、core～E1領域の500bp程度の領域を増幅しクローニングを行ない、１２クローンずつシークエンスを解析した。core 70番がQのクローンとRのクローンとに分類したところ、各検体について２グループ間の配列は明らかに異なり、非同義置換をも含んでいた。core 70番のアミノ酸が異なる複数の独立した株が、患者血清中に共存することが示唆された。

[安東友美, 相崎英樹, 脇田隆字]

(34) 複数の検体を用いたHCV多種性の解析２

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番のアミノ酸が単一の４検体について、core～E1領域の500bp程度の領域を増幅しクローニングを行ない、１２クローンずつシークエンスを解析した。各クローンのアミノ酸配列を基準に分類したところ、明らかに配列の異なる複数のクローンが存在した。core 70番のアミノ酸が単一であっても、患者血清中に複数の独立した株が共存する場合があることが示唆された。

[安東友美, 相崎英樹, 脇田隆字]

(35) JFH-1/Con1 キメラウイルス感染増殖系を用いたNS5B ポリメラーゼ阻害剤の作用の検討

NS5A と NS5B の領域に適応変異を投入したゲノム複製や感染性ウイルス産生可能な感染増殖系JFH-1/Con1(2a/1b 型)キメラウイルスと JFH-1 株(2a型), con1 株(1b 型)を利用して HCV ポリメラーゼ阻害剤に対するの感受性について検討した。2’CMeA とPSI-6130 を添加した細胞では同様な阻害効果が認めた。非核酸系 NS5B ポリメラーゼ阻害剤 HCV796 の投与により用量依存的に複製阻害が認めた。一方、JTK-109 を添加した細胞では、遺伝子型 1b と 2a/1b では十分な阻害効果がみられたが, 遺伝子型 2a では JTK-109 に対して非感受性であった。

[ススムエー, 伊達朋子, 相崎英樹, 脇田隆字]

(36) 複製効率の良い遺伝子型 2b の構築の検討

細胞培養で複製効率の良い遺伝子型 2b のウイルス株は未だに存在しない。複製効率が上昇すると報告された適応変異 S2208I と A2217S を NS5A 領域にを投入した。ネオマイシン耐性遺伝子を持つサブジェノミックレプリコンでは複製は認められなっか。そこで、複製効率を上昇すると知られた NS3,NS4A と NS5B の領域に適応変異をに投入し、複製が出来るかを検討してる。

[ススムエー, 伊達朋子, 相崎英樹, 脇田隆字]

(37) 全長の JFH-1/Con1 キメラウイルスの感染性粒子産生能の解析

全長の JFH-1 をバックボーンとして NS3 プロテアーゼ領域を Con1 に入れ替えたコンストラクトにサブジェノミック・レプリコンから同定した適応変異を導入した. 全長キメラウイルスの合成 RNA を Huh7.5.1 細胞に導入し, 経時的に上清及び細胞を回収し, HCV コア蛋白質量を測定した. その結果, 細胞内のコア蛋白質は RNA 導入後, 72-96 時間で JFH-1 とほぼ同じレベルまで増加した. その一方, 上清中のコア蛋白質は 96 時間後に少量検出されたが, JFH-1 と比べてかなり低かった.

[金ソルイ, 伊達朋子, 加賀美奈子, 相崎英樹, 脇田隆字]

(38) 全長 JFH-1/Con1 キメラウイルスの性質の解析

上清中に分泌された HCV 蛋白質がウイルス粒子であるかを確かめるため, ショ糖密度勾配遠心で解析すると, キメラウイルスは JFH-1 より軽い密度までブロードなピークを示した. また免疫染色で HCV コアと脂肪滴の局在を観察すると, JFH-1 の場合, コア蛋白質は脂肪滴周囲に局在したが, キメラウイルスは脂肪滴周囲には局在せず, 脂肪滴のサイズも小さいことが観察された.

[金ソルイ, 伊達朋子, 加賀美奈子, 相崎英樹, 脇田隆字]

(39) 異なる遺伝子型由来のNS3プロテアーゼによる切断効率変化の解析

NS3 プロテアーゼの切断効率を確かめるため， NS3 プロテアーゼにより切断される IPS-1 の領域を含む Huh7OK1/TG-Luc 細胞を用いてルシフェラーゼ活性でその効率を測定した．その結果， キメラウイルスのプロテアーゼ切断効率は JFH-1 に比較して 3 倍程度低下していた．NS3 プロテアーゼは感染性ウイルス粒子産生に重要なことが示されたが， プロテアーゼ活性の低下がその原因である可能性を示唆した．

[金ソルイ， 伊達朋子， 加賀美奈子， 相崎英樹， 脇田隆字]

(40) 全長 JFH-1/Con1 キメラウイルスを用いて NS3 プロテアーゼ阻害剤の効果を解析

JFH-1 と JFH-1/Con1 キメラウイルスそれぞれに NS3 プロテアーゼ（VX-950）を処理後， 細胞内の HCV コア蛋白質量を測定した．その結果， 遺伝子型 2a の JFH-1 より NS3 プロテアーゼ領域を遺伝子型 1b の Con1 に置き換えたキメラウイルスに対する阻害効果が大きかった．このことから， 本研究で作製されたキメラウイルスを用いた実験系は，遺伝子型 1b 特異的な NS3 プロテアーゼ阻害剤の効果を検証可能であることが示された．

[金ソルイ， 伊達朋子， 加賀美奈子， 相崎英樹， 脇田隆字]

(41) HCV 遺伝子型 3a の培養細胞におけるウイルス感染実験系の確立

適応変異を導入した S310 株の全長 HCV RNA を合成し， Huh7.5.1 細胞に導入して経代培養した．その結果， 異なる適応変異を持つそれぞれのクローンが上清中にウイルス蛋白質を分泌した．分泌された S310 ウイルス粒子をショ糖密度勾配遠心と感染実験より解析すると， 感染性の粒子が増殖可能なことが確認され， 更に S310 ウイルスの Huh7.5.1 細胞への感染が CD81 等の抗体により阻害されることが分かった．この実験系は遺伝子型 3a の研究に役に立つと考えられる．

[金ソルイ， 伊達朋子， 横川寛， 河野環， 相崎英樹， 脇田隆字]

(42) 肝炎検査陽性者の追跡システムの構築

肝炎検査陽性者の追跡システムの構築と治療勧奨が必要であり、肝炎検査陽性者の予後向上は医療費抑制に大きく貢献できるものと期待できる。自治体によって肝炎検査陽性者リストの扱い方が大きく異なることが判明したので、それぞれの自治体に適した肝炎検査陽性者の追跡システムの構築を目指している。

[相崎英樹，脇田隆字]

(43) 肝炎情報の収集とデータベース構築及び情報発信

肝炎ウイルス感染の予防、肝炎ウイルスキャリア対策、肝癌死亡の減少に貢献することを目的として、肝炎ウイルス感染、病態等を含む国内外の情報等の収集とデータベースの構築、および情報の提供を行って来た。感染研ウイルス第二部のホームページから、一般のヒト、家庭医、専門家向けに、それぞれ適切な内容の情報を発信している。

［相崎英樹，田中純子（広島大），脇田隆字］

４．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

(1) HEV 感染感受性 PLC/PRF/5 サブクローン cDNA ライブラリの構築

HEV 感染に感受性・非感受性の PLC/PRF/5 サブクローン細胞群は，HEV 細胞内複製の正常性，また非感受性細胞における細胞表面の HEV 結合分子の存在相関により、吸着・侵入過程の障害が示唆される．これら感染性規定宿主因子を同定するため，感受性サブクローンから抽出した mRNA より全体で 100 万個以上の cDNA を含む独立コロニーが存在する cDNA ライブラリをレトロウイルスベクターベースで作製した。しかし、それ

ぞれの独立コロニーに挿入された遺伝子サイズが小さい傾向があることから、来年度は目的の遺伝子の ORF 全体が含まれるような各挿入遺伝子サイズの大きい、さらに品質の高いライブラリの構築を目指す。

[塩田智之，李 天成，吉崎佐矢香，西村順裕，清水博之，＊下島昌幸，＊西條 政幸，脇田隆字，石井孝司（＊ウイルス第一部）]

(2) HEV 感染感受性 PLC/PRF/5 サブクローン cDNA ライブラリのスクリーニング

(1)で作製した cDNA ライブラリレトロウイルスベクターをパッケージング細胞に導入することで、パントロピックな宿主指向性を持ちライブラリを内包する単回感染性レトロウイルスを作製し、非感受性の細胞に導入する。続いて、HEV 感染細胞培養上清コーティングプレートに播種することで、当該上清中の成分に対して相互作用を示すライブラリ発現細胞のみがコロニーを形成する為、当該コロニーを増幅、ベクター特異的プライマーで配列確認をした (Panning 法)。その中で極めて興味深い感染性規定宿主因子を見いだした。既に実施した網羅的遺伝子発現比較解析との間に矛盾が見いだされていないことから現在詳細な解析を進めている。

[塩田智之，李 天成，吉崎佐矢香，西村順裕，清水博之，＊下島昌幸，＊西條 政幸，脇田隆字，石井孝司（＊ウイルス第一部）]

(3) E 型肝炎ウイルスレプリコンの構築

感染性クローン 83-2 の構造蛋白である ORF2 領域をレポーター遺伝子と置き換えることにより HEV レプリコンを構築した。レポーターとしては Neomycin、GFP、Luciferase を用いた。レポーター遺伝子の上流に HCV IRES を挿入した場合にレプリコンは機能することが明らかとなったが、Luciferase をレポーターとして用いた場合には HCV IRES を持つ場合にも機能しなかった。一方、サイズが小さい SecNanoLuc（分泌型の Luciferase）をレポーターとして導入した場合にはレプリコンは機能した。

［石井孝司、吉崎佐矢香、李　天成、脇田隆字］

(4) HEV レプリコン包埋 VLP 作成の検討

構造蛋白（ORF2）を発現する細胞に、IRES-GFPNeo を持つレプリコンを導入した細胞を作成したところ、構造蛋白の分泌が良好なクローンがあった。これらのクローンの培養上清を濃縮しショ糖遠心密度勾配で分析したところ、構造蛋白は一定の密度に収束し、粒子構造をとっている可能性が示唆された。上記のフラクションを RNase A 処理後に RNA を抽出し、構造、非構造それぞれの領域の RT-PCR を行ったところ、本フラクションの RNA は RNase A 抵抗性であり、構造領域のみが PCR で増幅されたことから、粒子中にレプリコンが包埋された粒子である可能性が示唆された。

［石井孝司、吉崎佐矢香、李　天成、脇田隆字］

(5) 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。ウイルスを含めている培養上清をカニクイザルに接種により中活性を持つ抗体が誘導され、ウイルス感染性を阻止した。

［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)］

(6) スペインからの E 型肝炎輸入感染症例の解析

スペイン旅行から帰国してから急性肝炎を発症した患者血清から抗 HEV IgM、IgG 抗体、HEV RNA が検出された。HEV の遺伝子型は３型であった。この株の配列は日本固有の HEV 株配列と異なり、フランスとスペイン由来 HEV と類似していることが判明し、本患者は旅行先のスペインで HEV に感染し

たと推測された。組換えバキュロウイルス発現システムで作製したウイルス様粒子を用いた抗原性を比較したところ、スペイン由来 HEV の抗原性は他のヒト由来 HEV と極めて類似していることが明らかになった。急性期血清を PLC/PRF/5 に接種することにより HEV の分離に成功した。わが国における E 型肝炎の輸入感染は、途上国だけではなく先進国からの可能性もあることが示唆された。

［李　天成、Tingting Yang、*落合　香織、吉崎　佐矢香、石井　孝司、脇田　隆字、(*東京北社会保険病院)］

(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 は抗 G1, G3, G4 HEV 抗体と反応し、抗 G5、G6 HEV 抗体は G3HEV の培養細胞への感染を中和した。G5 と G6 HEV は G1, G3, G4 HEV との抗原性が類似することが分かった。

［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。現在、日本における Rat HEV の遺伝子の調査を行っている。

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

(9) 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。さらに rat HEV が経口感染することを明らかにした。

［李　天成、*網　康至、*須崎百合子、脇田隆字 (*動物管理室)］

(10) G3 HEV はヌードラットに感染しない

ヌードラット(Long Evans rnu/rnu)を用いて、rat HEV と G3 HEV に対する感受性を検討した。Rat HEV を接種したことにより、ヌードラットの血中および便中から持続的に Rat HEV RNA が検出された。また、ウイルスは主に肝臓に検出されることにより、rat HEV は主に肝臓で増殖することが明らかにした。これに対して、ヌードラットに $5x10^5$-$4x10^6$ の G3 HEV を接種してもウイルスの増殖は見られなかった。免疫欠損したヌードラットにウイルスを大量に接種してもウイルス増殖しないことはラットが HEV に対する感受性を持たない

ことが示唆された。

［李　天成、*網　康至、*須崎百合子、脇田隆字（*動物管理室)］

(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 末端は123 番目まで必須である。

［李　天成、片岡紀代（感染病理部)、脇田隆字］

(12) 中国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713 血清検体を検査した結果、166 検体はIgG 抗体陽性であり、抗体保有率は23.3%であった。IgM 抗体の陽性率は8.3%であった。さらにIgM 抗体陽性検体からrat HEV 遺伝子が検出され、中国で流行しているrat HEV 遺伝子型はベトナム分離株に類似することが明らかになった。

［李 天成、*黎薇、*管大偉、*柯昌文、**武田直和、脇田隆字（*中国広東CDC、**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)］

(13) スンクスはrat HEV の宿主である。

Rat HEV はラット以外の動物に感染するかどうかまだ分からない。今回我々、中国広東省で野生スンクスの血清検体を採取し、ELISA 法を用いて抗ラットHEV IgG およびIgM 抗体、RT-PCR 法でウイルス遺伝子を検査した。260 スンクス血清検体を検査した結果、10.4%(27/260)検体はIgG 抗体陽性であり、IgM 抗体の陽性率は4.6% (12/260)であった。さらにIgM 抗体陽性検体からrat HEV 遺伝子が検出され、塩基配列はこの地域に棲息していたラットから検出したrat HEV と一致している。この結果によりスンクスがrat HEV のもう一つの宿主であることが明らかとなった。

［李　天成、黎薇、*管大偉、*柯昌文、**武田直和、脇田隆字（*中国広東CDC、**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)］

(14) フェレットE 型肝炎ウイルス様粒子の作製およびその応用

フェレットE 型肝炎ウイルス（Ferret HEV）は最近オランダのフェレットから検出された新型 HEV であり、遺伝子配列以外、Ferret HEV に関する情報がほとんどない。本ウイルスの疫学調査、病原性と抗原性解析のため、本研究では Ferret HEV の構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現し、ウイルス様粒子の作成を試みた。全長およびNあるいはC 末端、さらに両端を欠失したferret HEV ORF2 をRT-PCR 法で増幅した。定法どおり作製した組換えバキュロウイルスを昆虫細胞Tn5 細胞に感染させ、構造蛋白を発現し、ウイルス様粒子（ferret HEV-LPs）を作製した。ferret HEV-LPs を用いて抗体検出ELISA 法を樹立し、ferret HEV の抗原性を従前既知のG1, G3, G4 およびrat HEV の抗原性と比較したうえ、ferret HEV に関する疫学調査を行った。

[李天成、楊ていてい、*片岡紀代、網康至、須崎百合子、**岸田典子、**白倉　雅之、**今井正樹、**浅沼秀樹、***武田直和、脇田隆字　(*感染病理部、**インフルエンザセンター、***大阪大学微生物病研究所、日本・タイ感染症共同研究センター)

(15) フェレットHEV 全長ゲノムのクローニング及び配

列の解析

Ferret HEV RNA 陽性であるアメリカ輸入ラットの糞便を出発材料として、ウイルス遺伝子を解析した。Ferret HEV RNA 陽性便を 10%便乳剤に作成し、RNA を抽出した。RT-PCR 方を用いて ferret HEV 全長配列の増幅を試みた。現在一部領域の遺伝子の増幅に成功した。部分塩基及びアミノ酸の解析により、アメリカ輸入フェレット由来の ferret HEV はこれまで報告されたもののホモロジーは 81%にとどまり、ferret HEV 遺伝子型の多様性が示唆された。

［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)］

Ⅳ．その他のウイルスに関する研究

(1) 日本脳炎ウイルスを用いたトランスパッケージングシステムの構築

抗原を効率良く大量に調製する方法として、日本脳炎ウイルスレプリコンを用いたトランスパッケージング型粒子の産生系を構築した。さらにこのウイルス粒子上に、粒子形成や細胞外への分泌を阻害する事なく外来遺伝子由来のペプチドを挿入可能な部位の探索を行ったところ、ほとんどがタグ配列の挿入により E 抗原の分泌が抑制されたものの、一部ではタグ配列の挿入にも関わらず粒子の上清への分泌が認められた。

[鈴木亮介、小西英二（阪大微研)、石川知弘（独協医大)、松田麻未、高崎智彦（ウイルス第一部)、加藤孝宣、脇田隆字]

(2) HBoV のウイルス様粒子の作製

ヒトボカウイルス(HBoV)は 2005 年、呼吸器疾患小児患者から分離されたもので HBoV2,3,4.それぞれ下痢などの患者糞便から分離された。いずれにして、ヒトボカウイルスは小児下気道感染症や腸管感染症などの病気の発症とは関連すると考えられているが、これらの疾患との明確的関連は未だ確認されていない。組換えバキュロウイルス発現システムを用いて HBoV1-4 のウイルス様粒子（VLP）の作製をして、抗体検出法を確立した。また、HBoV の VP1 と VP2 を共発現により VP1 と VP2 二種類構造蛋白を含む粒子の作成に成功した。これはウイルス立体構造の研究に有用である。

［李　天成、*片岡紀代（感染病理部)、脇田隆字、**鈴木哲朗（*感染病理部、**浜松医大)］

＜別＞　検査業務

第１室：

検定業務

- 4 種混合ワクチンの力価試験（ラット免疫原性試験）10 ロット
- 3 価混合不活化ポリオワクチン原液の不活化試験 3 ロット
- イモバックスポリオの力価試験（D 抗原量試験）37 ロット
- ロタリックス検定　2件

承認前検査

スクエアキッズ皮下注シリンジ（平成23年2月から継続中）

ロタテック（平成22年4月から平成23年7月）

行政検査

第一室

ノロウイルス・サポウイルス・ロタウイルス

合計 13 件

第２室：

平成 24 年度は 2 件の行政検査依頼があり、ウイルス分離同定、塩基配列解析等による型内株鑑別試験等を実施した。型内鑑別あるいは塩基配列解析を行ったポリオウイルスは、すべてワクチン株と同定された。

第５室：

検定業務

ウイルス第二部

乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン　　４件

組換沈降 B 型肝炎ワクチン（酵母由来）　　１５件

行政検査

A 型肝炎　11 件

E 型肝炎　５件

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Ando T, Imamura H, Suzuki R, Aizaki H, Watanabe T, Wakita T, Suzuki T. Visualization and measurement of ATP levels in living cells replicating hepatitis C virus genome RNA. PLoS Pathog. 2012;8(3):e1002561.

2) Arita M, Wakita T, Shimizu H. Valosin containing protein (VCP/p97) is required for poliovirus replication and involved in cellular protein secretion pathway in poliovirus infection. J Virol 86(10): 5541-53, 2012.

3) Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M and Wakita T. Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious clone. J Virol, 86 (19): 10805-20, 2012.

4) Date T, Morikawa K, Tanaka Y, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Mizokami M, Wakita T. Replication and infectivity of a novel genotype 1b hepatitis C virus clone. Microbiol Immunol. 2012. 56(5):308-17.

5) Fujii Y, Kitaura K, Matsutani T, Shirai K, Suzuki S, Takasaki T, Kumagai K, Kametani Y, Shiina T, Takabayashi S, Katoh H, Hamada Y, Kurane I, Suzuki R: Immune-Related Gene Expression Profile in Laboratory Common Marmosets Assessed by an Accurate Quantitative Real-Time PCR Using Selected Reference Genes. PLoS ONE 2013, 8(2): e56296.

6) Fujii Y, Shimoike T, Takagi H, Murakami K, Todaka-Takai R, Park Y, Katayama K: Amplification of all 11 RNA segments of group A rotavirus based on reverse transcription polymerase chain reaction. Microbiol Immunol. 2012, 56:630-8

7) Fukazawa H, Suzuki T, Wakita T, Murakami Y. A cell-based, microplate colorimetric screen identifies 7,8-benzoflavone and green tea gallate catechins as inhibitors of the hepatitis C virus. Biol Pharm Bull. 2012;35(8):1320-7.

8) Fukuhara M, Iwami S, Sato K, Nishimura Y, Shimizu H, Aihara K, Koyanagi Y. Quantification of the dynamics of enterovirus 71 infection by experimental-mathematical investigation. J Virol 87(1): 701-5, 2013.

9) Hansman GS, DW. Taylor, JS. McLellan, TJ Smith, I Georgiev, JRH Tame, S-Y Park, M Yamazaki, F Gondaira, M Miki, K Katayama, K Murata, PD. Kwong. Structural Basis for Broad Detection of Genogroup II Noroviruses by a Monoclonal Antibody That Binds to a Site Occluded in the Viral Particle Journal of virology vol. 86, 3635-46, 2012.

10) Harada S, Oka T, Tokuoka E, Kiyota N, Nishimura K, Shimada Y, Ueno T, Ikezawa S, Wakita T, Wang Q, Saif LJ, Katayama K. A confirmation of sapovirusre-infection gastroenteritis cases with different genogroups and genetic shifts in the evolving sapovirus genotypes, 2002-2011. Arch Virol. 2012 157(10):1999-2003.

11) 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. 2012 53, 219-24.

12) 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. Hepatology International. 6: 292 (2012)

13) 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. Hepatology Research, 42: 248-53 (2012)

14) Jariyapong P, Xing L, van Houten NE, Li TC, Weerachatyanukul W, Hsieh B, Moscoso CG, Chen CC, Niikura M, Cheng RH. Chimeric hepatitis E virus-like particle as a carrier for oral-delivery. Vaccine. 2013, 31:417-24

15) Kanda T, Wu S, Kiyohara T, Nakamoto S, Jiang X, Miyamura T, Imazeki F, Ishii K, Wakita T, Yokosuka O. Interleukin-29 suppresses hepatitis A and C viral internal ribosomal entry site-mediated translation. Viral Immunol. 2012 25(5):379-86.

16) Kato K, Yazawa T, Taki K, Mori K, Wang S, Nishioka T, Hamaguchi T, Itoh T, Takenawa T, Kataoka C, Matsuura Y, Amano M, Murohara T, Kaibuchi K. The inositol 5-phosphatase SHIP2 is an effector of RhoA and is involved in cell polarity and migration. Mol Biol Cell 23(13): 2593-604, 2012.

17) Khamrin P, Chaimongkol N, Malasao R, Suantai B, Saikhruang W, Kongsricharoern T, Ukarapol N, Okitsu S, Shimizu H, Hayakawa S, Ushijima H Maneekarn N. Detection and molecular characterization of cosavirus in adults with diarrhea, Thailand. Virus Genes 44 (2): 244-6, 2012.

18) Khamrin P, Thongprachum A, Kikuta H, Yamamoto A, Nishimura S, Sugita K, Baba T, Kobayashi M, Okitsu S, Hayakawa S, Shimizu H, Maneekarn N, Ushijima H. Three clusters of Saffold viruses circulating in children with diarrhea in Japan. Infect Genet Evol 13 (Jan): 339-43, 2013.

19) Khamrin P, Thongprachum A, Shimizu H, Okitsu S, Mizuguchi M, Hayakawa S, Maneekarn N Ushijima H. Detection of human bocavirus 1 and 2 from children with acute gastroenteritis in Japan. J Med Virol 84 (6): 901-5, 2012.

20) Kitamoto N, Oka T, Katayama K, Li TC, Takeda N, Kato Y, Miyoshi T, Tanaka T. Novel monoclonal antibodies broadly reactive to human recombinant sapovirus-like particles. Microbiol Immunol. 2012 56 (11):760-770.

21) Kitaura K, Fujii Y, Matsutani T, Shirai K, Suzuki S, Takasaki T, Shimada S, Kametani Y, Shiina T, Takabayashi S, Katoh H, Ogasawara K, Kurane I, Suzuki R: A new method for quantitative analysis of the T cell receptor V region repertoires in healthy common marmosets by microplate hybridization assay. J Imm Method 2012, 384:81-91

22) Kobayashi F, Yamada S, Taguwa S, Kataoka C, Naito S, Hama Y, Tani H, Matsuura Y, Sugahara K. Specific interaction of the envelope glycoproteins E1 and E2 with liver herparan sulfate involved in the tissue tropismatic interaction by hepatitis C virus. Glycoconj J 29(4): 211-20, 2012.

23) Koma T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Li TC, Amada T, Shimizu K, Isozumi R, Mai LT, Hoa NT, Nguyen V, Yamashiro T, Hasebe F, Arikawa J. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild Rattus spp. in Northern Vietnam. Epidemiology and Infection. Epidemiol Infect. 2012 1:1-9.

24) Kubota T, Kumagai A, Ito H, Furukawa S, Someya Y, Takeda N, Ishii K, Wakita T, Narimatsu H,

Shirato H. Structural basis for the recognition of Lewis antigens by genogroup I norovirus. J Virol. 2012 86(20):11138-50.

25) Kuroki M, Ariumi Y, Hijikata M, Ikeda M, Dansako H, Wakita T, Shimotohno K, Kato N. PML tumor suppressor protein is required for HCV production. Biochem Biophys Res Commun. 2013 430(2):592-7.

26) Law JL, Chen C, Wong J, Hockman D, Santer DM, Frey SE, Belshe RB, Wakita T, Bukh J, Jones CT, Rice CM, Abrignani S, Tyrrell DL, Houghton M. A Hepatitis C Virus (HCV) Vaccine Comprising Envelope Glycoproteins gpE1/gpE2 Derived from a Single Isolate Elicits Broad Cross-Genotype Neutralizing Antibodies in Humans. PLoS One. 2013;8(3):e59776.

27) Li TC, Ami Y, Suzaki Y, Yasuda S, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, and Wakita T. Full-Genome Characterization of a Rat Hepatitis E Virus Strain Isolated in Vietnam. EID. 2013 19(1):115-8.

28) Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Yasuda SP, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, Wakita T. Susceptibility of laboratory rats against genotypes 1, 3, 4, and rat hepatitis E viruses. Vet Microbiol. 2013, 163:54-61.

29) Li Y, Yoshida H, Wang L, Tao Z, Wang H, Lin X, Xu A. An optimized method for elution of enteroviral RNA from a cellulose-based substrate. J Virol Methods 186 (1-2) : 62-7, 2012.

30) Liu HM, Aizaki H, Machida K, Ou JH, Lai MM. Hepatitis C virus translation preferentially depends on active RNA replication. PLoS One. 7:e43600, 2012.

31) 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. vol. 61, 35-40, 2012.

32) 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, vol157, 349-52, 2012.

33) Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, Tasaka-Fujita M, Murayama A, Masaki T, Wakita T and Imawari M. 25-hydroxyvitamin D(3) suppresses hepatitis C virus. Hepatology, 56 (4): 1231-9, 2012.

34) Miyamoto S, Inoue H, Nakamura T, Yamada M, Sakamoto C, Urata Y, Okazaki T, Marumoto T, Takahashi A, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H Tani K. Coxsackievirus B3 is an oncolytic virus with immunostimulatory properties that is active against lung adenocarcinoma. Cancer Res 72 (10): 2609-21, 2012.

35) Miki M, Katayama K. *In silico* 3D structure analysis accelerates the solution of a real viral structure and antibodies docking mechanism. Frontiers in Microbiology 3: Article 387, 1-6, 2012

36) Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. Microbes Infect. 2013 15(1):45-55.

37) Murayama A, Sugiyama N, Watashi K, Masaki T, Suzuki R, Aizaki H, Mizuochi T, Wakita T and Kato T. Japanese reference panel of blood specimens for evaluation of hepatitis C virus RNA and core antigen quantitative assays. J Clin Microbiol, 50 (6): 1943-9, 2012.

38) Murayama A, Sugiyama N, Yoshimura S, Ishihara-Sugano M, Masaki T, Kim S, Wakita

T, Mishiro S and Kato T. A subclone of HuH-7 with enhanced intracellular hepatitis C virus production and evasion of virus related-cell cycle arrest. PLoS ONE. 7 (12): e52697, 2012.

39) Nakajima N, Kitamori Y, Ohnaka S, Mitoma Y, Mizuta K, Wakita T, Shimizu H, Arita M. Development of a Transcription-Reverse Transcription Concerted Reaction Method for Specific Detection of Human Enterovirus 71 from Clinical Specimens. J Clin Microbiol 50(5): 1764-8, 2012.

40) Nakamura T, Ichinose H, Wariishi H. Flavin-containing monooxygenases from *Phanerochaete chrysosporium* responsible for fungal metabolism of phenolic compounds. Biodegradation 23 (3): 343-50,2012.

41) Rau SJ, Hildt E, Himmelsbach K, Thimme R, Wakita T, Blum HE, Fischer R. CD40inhibits replication of hepatitis C virus in primary human hepatocytes by c-Jun N terminal kinase activation independent from the interferon pathway. Hepatology.2013 57(1):23-36.

42) Saeed M, Gondeau C, Hmwe S, Yokokawa H, Date T, Suzuki T, Kato T, Maurel P and Wakita T. Replication of Hepatitis C Virus Genotype 3a in Cultured Cells. Gastroenterology, 144 (1): 56-8, 2012.

43) Sekiguchi S, Kimura K, Chiyo T, Ohtsuki T, Tobita Y, Tokunaga Y, Yasui F, Tsukiyama-Kohara K, Wakita T, Tanaka T, Miyasaka M, Mizuno K, Hayashi Y, Hishima T, Matsushima K, Kohara M. Immunization with a recombinant vaccinia virus that encodes nonstructural proteins of the hepatitis C virus suppresses viral protein levels in mouse liver. PLoS One. 2012;7(12):e51656.

44) Sharp TM, SE Crawford, NJ Ajami, F Neill, RL Atmar, K Katayama, B Utama, MK Estes. Secretory pathway antagonism by calicivirus homologues of Norwalk virus nonstructural protein p22 is restricted to noroviruses. *Virology Journal* 2012, 9:181

45) Suzuki R, Saito K, Kato T, Shirakura M, Akazawa D, Ishii K, Aizaki H, Kanegae Y, Matsuura Y, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Trans-complemented hepatitis C virus particles as a versatile tool for study of virus assembly and infection. Virology. 2012 432(1):29-38.

46) Takeda M, Ikeda M, Ariumi Y, Wakita T, Kato N. Development of hepatitis C virus production reporter-assay systems using two different hepatoma cell lines. J Gen Virol. 2012 93(Pt 7):1422-31.

47) Tao Z, Song Y, Wang H, Zhang Y, Yoshida H, Ji S, Xu A, Song L, Liu Y, Cui N, Ji F, Li Y, Chen P, Xu W. Intercity Spread of Echovirus 6 in Shandong Province, China: Application of Environmental Surveillance in Tracing Circulating Enteroviruses. Appl Environ Microbiol 78 (19): 6946-53,2012.

48) Tominaga A, Kanda T, Akiike T, Komoda H, Ito K, Abe A, Aruga A, Kaneda S, Saito M, Kiyohara T, Wakita T, Ishii K, Yokosuka O, Sugiura N. Hepatitis A outbreak associated with a revolving sushi bar in Chiba, Japan: Application of molecular epidemiology. Hepatol Res. 2012 42(8):828-34.

49) Umeki S, Suzuki R, Ema Y, Shimojima M, Nishimura Y, Okuda M, Mizuno T. Anti-adhesive property of P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) due to steric hindrance effect. J Cell Biochem 114 (6): 1271-85, 2012.

50) Weng L, Kohara M, Wakita T, Shimotohno K, Toyoda T. Detergent-induced activation of the hepatitis C virus genotype 1b RNA polymerase. Gene. 2012 496(2):79-87.

51) Weng L, Tian X, Gao Y, Watashi K, Shimotohno K, Wakita T, Kohara M, Toyoda T. Different mechanisms of hepatitis C virus RNA polymerase activation bycyclophilin A and B in vitro. Biochim Biophys Acta. 2012 1820(12):1886-92.

52) Wong KT, Ng KY, Ong KC, Ng WF, Shankar SK, Mahadevan A, Radotra B, Su JI, Lau G, Ling AE, Chan KP, Macorelles P, Desai AS, Ravi V, Nagata N, Shimizu H, Takasaki T. Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA in the central nervous system. Neuropathology and Applied Neurobiology 38 (5): 443-53. 2012.

53) Yamamoto H, Suzuki J, Matsuda A, Ishida T, Ami Y, Suzaki Y, Adachi I, Wakita T, Takeda N, Li TC. Hepatitis E Outbreak in Monkey Facility, Japan. EID 2012,18 (12) 2032-4.

54) Yokoyama M, Oka T, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Katayama K, Wakita T, Kanda T, Sato H. Structural basis for specific recognition of substrates by sapovirus protease. Frontiers in Microbiology 3: Article 312, 1-10, 2012.

2. 和文発表

1) 相崎英樹、HCV 粒子形成に関与する脂肪滴周辺蛋白の同定と機能解析、Liver Forum in Kyoto 第14回学術集会記録集、メディカルトリビューン、30-33, 2012.

2) 相崎英樹、C 型肝炎ウイルスの生活環、細胞、ニューサイエンス社、44:419-422, 2012.

3) 石井孝司 A 型肝炎/E 型肝炎ウイルス 小児科臨床 65: 1380-1390, 2012.

4) 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.

5) 石井孝司、清原知子 A 型肝炎ワクチン BIO Clinica 28: 25-29, 2013.

6) 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 28: 984-992, 2012.

7) 片山和彦 微生物学 ノロウイルス（ノーウォークウイルス）の GII.4 2012 変異株 日本医事新報 No4637 p60-61, 2013.

8) 片山和彦 感染症ワクチン 最近の話題・課題 ロタウイルス感染症とロタウイルスワクチン BIO Clinica 臨時増刊号 Vol.28, 30-35, 2013.

9) 片山和彦 特集；ワクチン製造をめぐる規制・製造技術の最新動向、沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチンの品質管理 PHARM TECH JAPAN vol.28, 39-41, 2012.

10) 加藤孝宣. C 型肝炎の病因と発症機序. インフォームドコンセントのための図説シリーズ；肝炎ウイルス-B 型・C 型, 60-63, 2012.

11) 加藤孝宣. ビタミンDの抗HCV作用. 肝臓フォーラム ’12記録集 56-61, 2012.

12) 加藤孝宣, 岡本有加, 村山麻子, 政木隆博, 脇田隆字. HCV JFH-1キメラウイルスを用いたNS5A阻害剤の株特異的抗ウイルス作用の評価. 特集“C型肝炎治療の新たな展開”消化器内科 54(4): 510-515, 2012.

13) 加藤孝宣, 松村卓哉, 井廻道夫. Vitamin DとC型肝炎. 特集“ウイルス肝炎-治療の最前線-” Modern Physician 33(4): 507-510, 2012.

14) 清水博之: ポリオウイルスの病原体管理、JBSA Newsletter 2: 11-14, 2012.

15) 染谷雄一、清水博之: ポリオウイルスワクチンの品質管理. 臨床とウイルス 40 (5): 306-313, 2012.

16) 高山直秀,清水博之,梅本哲: 不活化ポリオワク

チン接種件数に関する調査：2011 年の調査結果. 日本医学会雑誌 141 (5): 1052-1058, 2012.

17) 高山直秀, 崎山弘, 岡部信彦, 清水博之, 梅本哲: 2011 年度全国 BCG ワクチン,経口生ポリオワクチン,DPT3 種混合ワクチン累積接種率調査報告. 日本医学会雑誌 141 (7): 1549-1555, 2012.

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、40:28-35, 2012.

19) 筒井理華,東海林彰,古川紗耶香,三上稔之,沖栄真,吉田弘: 一過性の麻痺を呈した患者からのエンテロウイルス 71 型の検出―青森県. . 病原微生物検出情報 33: 310-311, 2012.

20) 中島淳, 緒方健, 中村朋史, 須田隆一: 過去 10 年間（平成 14-23 年度）における生物同定試験結果. 福岡県保健環境研究所年報 39: 113-114, 2012.

21) 中村朋史, 中島淳, 河村真紀子: 福岡県内で違法飼育個体として保護されたメジロの遺伝子解析. 福岡県保健環境研究所年報 39: 110-112, 2012.

22) 中村朋史: 白色腐朽菌の芳香族化合物代謝に関与する酵素群の同定および機能評価. 木科学情報. 19(1): 11-14, 2012.

23) 西村順裕: エンテロウイルス 71 の感染機構に関する研究（平成 23 年度杉浦賞論文）. ウイルス 62 (1): 121-128, 2012.

24) 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. 特集“C型肝炎治療の新たな展開”消化器内科 54(4): 504-509, 2012.

25) 吉冨秀亮, 石橋哲也, 中村朋史, 世良暢之: 教育施設で発生したＣ群ロタウイルスによる集団胃腸炎事例―福岡県. 病原微生物検出情報 33: 271, 2012.

26) 李 天成 E 型肝炎. 化学療法の領域 増刊号 Vol.28 S-1. 93-100, 201２.

27) 脇田 隆字: C 型肝炎ウイルス(HCV)の研究, Annual Review 消化器 94-8, 2013.

28) 脇田 隆字: 肝炎ウイルス, 臨床と微生物 39: 585-590, 2012.

29) 脇田 隆字: B 型肝炎ウイルスの生活環, 肝・胆・膵 65(4): 563-569, 2012.

30) 脇田 隆字: C 型肝炎ウイルス培養系の確立と治療薬開発への応用, BIO Clinica 27(8) : 728-732, 2012.

31) 渡士幸一:HBV 培養細胞系による新規抗ウイルス化合物のスクリーニング, 肝胆膵 65: 611-617, 2012.

3.その他

1) 板持雅恵、飯塚節子、山下照夫、中田恵子、石橋哲也、清水博之、西村順裕、吉田弘 ： 手足口病病原体検査マニュアル(改訂版) , 2012

2) 板持雅恵、山下照夫、石橋哲也、清水博之、西村順裕、吉田弘 ： ヘルパンギーナ病原体検査マニュアル(改訂版) , 2012

3) 板持雅恵、世良暢之、石橋哲也、林志直、山下照夫、清水博之、西村順裕、吉田弘 ： ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル(改訂版) , 2012

4) 片山和彦食中毒予防必携 第３版 社団法人 日本食品衛生協会 ノロウイルス p215-225, 2013

5) 片山和彦、岡智一郎臨床検査ガイド 2013-2014 文光堂 ノロウイルス･サポウイルス ｐ769-771、2013.

6) 清水博之: 手足口病、特集「感染症動向 2013」、メディカル朝日 42(1): 28-30, 2012.

7) 清水博之: ポリオの病態とポリオワクチン. 小児科臨床 65 (11): 2281-2287, 2012.

8) 清水博之: 不活化ポリオワクチンの導入と今後の課題. 日本医事新報 4613, 70-75, 2012.

9) 清水博之: 感染症担当者が知っておきたい不活化ポリオワクチンの最新状況. INFECTION CONTROL 21: 1, 2012.

10) 清水博之: 不活化ポリオワクチン(IPV)と経口

生ポリオワクチン(OPV). 小児内科 44 (7): 1234-1237, 2012.
11) 清水博之: ポリオウイルスワクチン. ウイルス 62 (1): 57-66, 2012.
12) 清水博之: 手足口病の問題点. 小児科 53 (6): 751-758, 2012.
13) 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.
14) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画とポリオの疫学. バムサジャーナル 24 (3): 32-36, 2012.
15) 清水博之: 東アジア地域を中心とした手足口病流行の現状. 感染症 43 (2): 10-19, 2013.
16) 清水博之: 不活化ポリオワクチン導入の現状と今後の課題、Bio Clinica 3 月臨時増刊号, 2013.
17) 清水博之: 不活化ポリオワクチンの現状. ファルマシア 49 (3), 211-216, 2013.
18) 清水博之(分担執筆): Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status, Japan: WHO report; Aannual WHO report, 2012
19) 清水博之: 「ポリオ(急性灰白髄炎)」の項を担当、今日の治療と看護 (改訂第３版) p920, 南江堂, 2013.
20) H. ブランズウェル、清水博之(監修): 根絶計画詰めの一手. 日経サイエンス 7 月号: 98-105, 2012.
21) 山下照夫、中田恵子、石橋哲也、清水博之、西村順裕、吉田弘: 無菌性髄膜炎病原体検査マニュアル(改訂版), 2012

片山和彦　指導、監修 (新聞記事)

1) 日経メディカル 2013 年 1 月号 p33「ノロウイルス変異株が猛威」
2) HOTERES2013 年 2 月 8 日号 p57-60 「猛威をふるったノロウイルスを検証」
3) 徳洲新聞 2013 年 1 月 14 日号 緊急特別企画「ノロウイルス感染対策；今冬は過去 10 年で 2 番目の高水準 感染ピークは 12～1 月で警戒厳重に」
4) 日本経済新聞 2013 年 1 月 13 日号夕刊 7 面「遺伝子変異、感染しやすく　ノロウイルスなお警戒」
5) 朝日新聞 2012 年 11 月 27 日号夕刊 14 面 「ノロウイルス流行の兆し」
6) 毎日新聞 2012 年 12 月 8 日号夕刊 1 面 「ノロウイルス 06 年に次ぐ流行　変異型猛威」
7) 読売新聞 2012 年 12 月 15 日号夕刊 14 面 「ノロウイルス患者急増　感染研　遺伝子変異流行の恐れ」
8) 朝日新聞 2012 年 12 月 24 日 37 面 「ノロウイルス　院内　6 人死亡」
9) 朝日新聞 2013 年 1 月 12 日号夕刊 14 面 ノロウイルス流行ピーク過ぎる　インフルは患者数急**増**

II. 学 会 発 表

国際学会

1) Abe Y, Aly HH, Imamura M, Wakita T, Shimotohno K, Chayama K, Hijikata M. Thromboxane A2 synthase plays a key role in production of infectious HCV particles. Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.
2) Akazawa D, Moriyama M, Yokokawa N, Watanabe N, Date T, Morikawa K, Aizaki H, Ishii K, Kato T, Nakamura N, Wakita T. Neutralizing Antibodies Induced by Cell Culture-Derived Hepatitis C Virus Was Effective Both *In Vitro* and *In Vivo*, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.
3) Aly HH, Watashi K, Watanabe N, Kato T, Wakita T. Construction of Hepatitis C virus genotype 4a clone. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.
4) Aly HH, Shimotohno K, Wakita T, Oshiumi H, Seya T. HCV particles production from mouse hepatocytes. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.

5) Aly HH, Suzuki R, Oshiumi H, Wakita T, Seya T. Overcoming hostrestriction barriers for HCV infection in mouse. The 34th Infection,immunity and their control for health: Mucosal barrier, pathogen and vaccine. Sapporo, Japan. 2012. 10.16-19.

6) Aly HH, Wakita T. New HCV genotype 4a genotype clone, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan. 2012. 11. 21-22.

7) Ando T, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, Kuroda M, Wakita T. Independent evolution of multi-dominant viral genome species observed in a single HCV carrier. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

8) Arita M, Wakita T, Shimizu H: Valosin containing protein (VCP/p97) is required for poliovirus replication and involved in cellular protein secretion pathway in poliovirus infection. EUROPIC 2012: XVIIth Meeting, Saint Raphael, France, 2012.6.3-7.

9) Asif N, Hosomi T, Nishimura Y, Alam AA, Oka T, Zaidi S, Shimizu H. Genetic diversity and recombination in circulating Saffold viruses: Re-evaluating classification as a new species. Current Progress in Enterovirus 71 Research in the Asia-Pacific Region, Tokyo, 2012.8.30.

10) Fukasawa M, R Anai, Y shirasago, K Saito, Y Murakami, H Fukazawa, T Suzuki, T Wakita, J Chiba, K Hanada, Isolation and characterization of a mutant Hepatitis C virus adapted to mouse CD81, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

11) Ishii K, Kanda T, Sugiura N, Kiyohara T, Yoshizaki S, Nakamura N, Shimada T, Nakashima K, Tada Y, Yokosuka O, Wakita T. Noda M. Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A between 2010 and 2011 in Japan. 14th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases. Shanghai, China. 2012. 6.22-25.

12) Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A virus infection in Japan. 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim. Singapore. 2013. 3.10-14.

13) Ito M, Suzuki R, Wakita T, Suzuki T. Permissivity of HuH-7-derived oval-like cells to HCV infection and replication. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

14) Ito M, Suzuki R, Wakita T, Suzuki T. Epigenetic reprogramming of HuH-7 cells shift cellular permissivity to HCV. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan. 2012. 11. 21-22.

15) Kato T, Matsumura T, Sugiyama N, Murayama A, Wakita T, Imawari M. Anti-Hepatitis C virus effect of 25-hydroxyvitamin D3 targeting infectious virus production. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.

16) Kim S, Date T, Aizaki H, Watanabe H, Wakita T. NS3 protease derived from genotype 1b Con1 attenuates viral replication. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.

17) Kim S, Date T, Aizaki H, Watanabe H, Wakita T. NS3 protease derived from genotype 1b Con1 attenuates viral replication. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C ：Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

18) Kubota T., Kumagai A., Ito H., Furukawa S., Someya Y., Ishii K., Wakita T., Takeda N., Shirato H. and Narimatsu H. X-ray crystallographic studies on binding specificity of norovirus to Lewis antigens. 4th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology. Jeju, Korea, 2012. 10.28-31.

19) Lee H, Cifuente JO, Carnegie MS, Markoff A, Conway J, Shimizu H, Tano Y, Nishimura Y, Hafenstein S: The cryoEM structure of EV71 bound by fragments of neutralizing antibody predicts a mechanism of neutralization by crosslinking and competition with PSGL-1.The 17th Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses. Saint Raphaël, France, 2012.6.3-7.

20) Li T.C., Yoshimatsu K., Yasuda S., Arikawa J., Kataoka M., Ami Y., Suzaki Y., Ishii K., Takeda N. and Wakita T. Antigenicity and infectivity of rat hepatitis E virus. The 9th Japan-China International Conference of Virology. Sapporo, Japan, 2012. 6.12-13.

21) Li T.C., Yoshimatsu K., Yasuda S., Arikawa J., Ami Y., Suzaki Y., and Wakita T. Characterizations of the infectivity of genotype 1, 3, 4 and rat hepatitis E viruses in laboratory rats. 14th international Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease (14th ISVHLD). China Shanghai. 2012. 6.22-25.

22) Matsuda M, Suzuki R, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. An alternative endocytosis pathway for the infectious entry of hepatitis C virus. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C ： Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

23) Matsumoto Y, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Matsuura T, Suzuki T, Miyamura T, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Antiviral activity of glycyrrhizin against hepatitis C virus in vitro. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan. 9.11-14, 2012.

24) Matsumoto Y, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Matsuura T, Suzuki T, Miyaura T, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Antiviral activity of glycyrrhizin against Hepatitis C virus in vitro. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

25) Matsumoto Y, Matsuura T, Suzuki T, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Antiviral activity of glycyrrhizin against Hepatitis C virus in vitro. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C ： Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

26) Murayama A, Kato T, Sugiyama N, Wakita T. Infectious Virus Production with Hepatitis C Virus Genotype 2b Genome Harboring Minimal Regions of JFH-1. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.

27) Murayama A, Sugiyama N, Yoshimura S, Ishihara-Sugano M, Wakita T, Mishiro S, Kato T. Efficient hepatitis C virus production associated with enhanced virus assembly and evasion of cell cycle arrest. 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, USA. 2012.

11. 9-13.

28) Muroi A, S Takahama, M Arimoto, R Morishita, T Suzuki, T Wakita, Y Endo, T Sawasaki, Comprehensive screening of host proteins cleaved by HCV protease using wheat cell-free protein synthesis system, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

29) Nakajima N, Kitamori Y, Ohnaka S, Mitoma Y, Mizuta K, Wakita T, Shimizu H, Arita M: Development of a Transcription-Reverse Transcription Concerted Reaction Method for Specific Detection of Human Enterovirus 71 from Clinical Specimens. Current Progress in Enterovirus 71 Research in the Asia-Pacific Region, Tokyo, Japan, 2012. 8.30-31.

30) Nakajima S, Watashi K. Identification of natural products inhibiting hepatitis C virus infection: The 1st International Symposium on Chemical Biology of Natural Products, Kyoto, Japan, 2012.10.31-11.1.

31) Shimizu H. Genetic and Phenotypic Diversity of Enterovirus 71. Current Progress in Enterovirus 71 Research in the Asia-Pacific Region, Tokyo, 2012.8.30.

32) Shimizu H: Hand, foot, and mouth disease and Enterovirus 71 infection. NIID-China CDC meeting on Collaborative Research meeting, Tokyo, 2012.11.21.

33) Shimoike T, Takagi H, Oka T, Murakami K, Todaka-Takai R, Park YB, Fujii Y, Wakita T, and Katayama K: Visualization of Murine Norovirus proteins and its genome RNA: 52nd Annual meeting of The American Society for Cell Biology, San Francisco, USA.2012. 12.15-19.

34) Shimura S, Ishima M, Ota I, Tsutsui E, Kamisuki S, Murata H, Yamazaki T, Suzuki T, Kuramochi K, Takeuchi T, Watashi K, Kobayashi S, Sugawara F: Synthetic studies of MA026, a novel antiviral lipocyclodepsipeptide. International Congress on Natural Products Research 2012, New York,USA, 2012.7.28-8.1.

35) Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Takeda N, Wakita T, and Ishii K: Characterization of Hepatitis E Virus Capsid C-terminal 52 Amino Acids in the Viral Life-Cycle. The 34th Naito Conference on Infection, Immunity and their Control for Health: Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine, Sapporo, Japan, 2012.10.16-19.

36) Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Identification of the signal peptidase complex subunit 1 as a novel host factor that participates in the assembly of hepatitis C virus. The 11th Awaji international forum on infection and immunity. Awaji, Japan. 9. 11-14, 2012

37) Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. An alternative endocytosis pathway for the productive entry of Hepatitis C virus. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

38) Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Identification of a host factor that interacts with hepatitis C virus NS2 protein and participates in the assembly of the virus through an interaction with E2 and NS2. The 34th Infection, immunity and their control for health: Mucosal barrier, pathogen and vaccine. Sapporo, Japan. 2012. 10. 16-19.

39) Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Identification of a host factor that interacts with hepatitis virus NS2 protein and participates in the viral assembly. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

40) Uchida N, Watashi K, Suzuki R, Aizaki H, Chiba J, Wakita T. Phospholipase D regulates membrane trafficking during Hepatitis C virus egress. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Venice, Italy 2012.10.5-9.

41) Umami RN, Hosomi T, Nishimura Y, Shimizu H: Genetic analysis of PSGL-1-tropic enterovirus 71 isolates from clinical samples. The 17th Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses. Saint Raphaël, France, 2012. 6.3-7.

42) Wakita T. Hepatitis C Virus Replication Models and Anti-viral Development. The 25th International Conference on Antiviral Research (ICAR) Sapporo, Japan. 2012. 4. 16-19.

43) Wakita T. Basic concepts of Hepatitis C, 1st Asian Conference on Hepatitis B and C, HIV and Influenza, Beijing Marriott Hotel City Wall, Beijing, China. 2012. 5. 18-19.

44) Wakita T. Production of cell culture adapted HCV strain, International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Cancer, Peking University Center for Infectious Diseases Research, Beijing, China. 2012. 6. 21.

45) Wakita T, T Date, S Kim, T Kato, Novel Cell Culture-Adapted Hepatitis C Virus Infectious Clone, 198th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Palazzo del Cinema, Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

46) Wakita T. Independent Evolution of Multi-dominant Viral Genome Species of Hepatitis C Virus, The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

47) Watanabe N, Date T, Aly HH, Aizaki H, Wakita T. Neutralization antibody induction by immunization with E2 proteins purified from different cells. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.

48) Watanabe N, Date T, Aizaki H, Wakita T. The role of envelope N-glycans in HCV lifecycle. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis C : Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

49) Watashi K, Uchida N, Daito T, Kiyohara T, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T: Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha suppressed hepatitis B virus infection through NF-kappaB signaling pathway. 2012 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B viruses, Oxford, England, 2012. 9.22-25.

50) Watashi K, Uchida N, Saeed M, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T. Characterization of anti-HCV release inhibitors targeting phospholipase D. 19th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Lido-Venice, Italy, 2012. 10. 5-9.

51) Watashi K, Uchida N, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T. Phospholipase D is a cellular regulator during hepatitis C virus egress and a possible target for antiviral strategy. The 10th JSH Single Topic Conference, “Hepatitis

C : Best Practice Based on Science“ Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan 2012. 11. 21-22.

2. 国内学会

1) 青野光子, 三輪誠, 岡崎淳, 武田麻由子, 小松宏昭, 山神真紀子, 中島寛則, 岡村祐里子, 須田隆一, 中村朋史, 古川誠, 柳沼圭吾, 渡邉稔, 横山仁, 久保明弘, 佐治光: 遺伝子発現による植物のストレス診断はどこまで出来るか？. 第53回大気環境学会年会, 横浜, 2012.9.12-14.

2) 阿部雄一, アリ・ハッサン・フセイン, 今村道雄, 脇田隆字, 下遠野邦忠, 茶山一彰, 土方誠: C型肝炎ウイルス(HCV)の感染性粒子形成において重要な宿主因子、トロンボキサンA2(TXA2)合成酵素の同定と機能解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

3) Aly HH, Kunitada Shimotohno, Hiroyuki Oshiumi, Takaji Wakita, and Tsukasa Seya. HCV particles production from mouse hepatocytes. 第34回内藤カンファレンス、札幌、2012.10.16-19.

4) アリ・ハッサン・フセイン, 加藤孝宣, 渡邉則幸, 田中靖人, 溝上雅史, 脇田隆字. Cloning of HCV4a full length genome (EJ1) from a chronic HCV carrier. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

5) 有田峰太郎: Valosin containing protein (VCP/p97) is required for poliovirus replication and involved in cellular protein secretion pathway in poliovirus infection. 第34回内藤カンファレンス、札幌、2012.10.16-19.

6) 有田峰太郎: 抗エンテロウイルス化合物群の探索とそのウイルス感染阻害機構の解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-16.

7) 有田峰太郎,脇田隆字, 清水博之: VCP/p97はポリオウイルスの複製に必要とされる新規宿主因子であり、ウイルス感染における細胞タンパク質分泌経路に関与する. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-16.

8) 安東友美、相崎英樹、杉山真也、溝上雅史、黒田誠、脇田隆字: C型肝炎ウイルスのquasispecies解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-16

9) 石田雄二、柳愛美、吉美康美、山崎ちひろ、横道博、渡士幸一、脇田隆字、茶山一彰、立野知世. ヒト肝細胞キメラマウス由来の初代培養ヒト肝細胞へのＨＢＶ感染、第４８回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、2012. 6.7-8.

10) 石橋哲也, 吉冨秀亮, 前田詠里子, 中村朋史, 前田詠里子, 世良暢之, 千々和勝巳: 福岡県におけるA群ロタウイルス遺伝子解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

11) 伊藤昌彦、鈴木亮介、福原崇介、松浦善治、脇田隆字、鈴木哲朗: HuH-7由来オーバル様細胞におけるHCV感受性の解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

12) 林昌宏、網康至、藤井克樹、北浦一孝、モイメンリン、白井顕治、小滝徹、須崎百合子、森川茂、西條政幸、鈴木隆二、倉根一郎、高崎智彦：マーモセットを用いたチクングニアウイルスの霊長類モデルの検討　第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012. 11. 13-15.

13) 小倉大直, 君塚圭亮, 杉山隆一, 日紫喜隆行, 下遠野邦忠, 高久洋. C型肝炎ウイルス(HCV)複製制御に係る宿主因子Hsp70の機能解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

14) 川西 祐一, Raj Gurung, 山田 明徳, 片岡 周子, 伴戸 久徳, 松浦 善治, 中島 裕美子, 前川 秀彰： バキュロウイルスをベクターに用いたDNAトランスポゾンの水平伝播機構解明に向けたモデル実験系の構築. 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012.12.11-14.

15) 清原知子、脇田隆字、石井孝司：B 型肝炎ワクチン力価測定法の比較：第１６回日本ワクチン学会， 横浜， 2012，11.17-18

16) 清原知子、Niroshana Dahanayaka、脇田隆字、石井孝司：スリランカにおける A 型肝炎の流行（2009-2010 年)、第１６回日本渡航医学会、大阪，2012.7.21-22.

17) 久保田智巳、熊谷安希子、伊藤浩美、古川早苗、染谷雄一、石井孝司、脇田隆字2、武田直和、成松久、白土東子「Ｘ線結晶学によるノロウイルスのルイス抗原結合特異性解析」第31回日本糖質学会年会、鹿児島，2012.9.17-20.

18) 小谷治、鈴木忠樹、Naeem Asif，岩田奈織子、中島典子、片野晴隆、田口文広、長谷川秀樹、清水博之、永田典代：新生仔マウスにおける新規ヒトカルジオウイルス(Saffold virus)の神経病原性の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

19) 坂田幸大郎、原詳子、鈴木哲郎、相崎英樹、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-β疑似活性の発現、第４８回日本肝臓学会総会、ホテル日航金沢、2012． 6.7-8.

20) 塩田智之，李 天成，吉崎佐矢香，武田直和，脇田隆字，石井孝司：E 型肝炎ウイルス生活環におけるカプシド蛋白 C 末端 52 アミノ酸の機能解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

21) 清水博之：不活化ポリオワクチン導入-日本の課題・世界の課題．第 59 回 日本小児保健協会 学術集会、岡山市、2012． 9.28.

22) 清水博之：WHO ポリオ実験室ネットワークにおけるバイオセーフティ教育訓練．第 12 回日本イオセーフティ学会学術集会.東京、2012． 11.7.

23) 清水博之：不活化ポリオワクチン導入とポリオワクチンの将来．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

24) 清水博之：ポリオ根絶計画とポリオワクチンの将来．第１６回日本ワクチン学会，横浜，2012，11.17-18.

25) 清水博之：ポリオワクチン．シンポジウム「ウイルス感染症とワクチン」．第 28 回 日本環境感染学会総会.横浜市,2013． 3.1.

26) 清水博之：世界ポリオ根絶計画と不活化ポリオワクチン．長崎ウイルス感染症フォーラム．大村市，2013.3.26

27) 清水博之：エンテロウイルス感染症の現状と問題点．長崎ウイルス感染症フォーラム．大村市，2013.3.26

28) 下池貴志、高木弘隆、岡智一郎、村上耕介、戸高玲子、朴英斌、藤井克樹、脇田隆字、片山和彦：マウスノロウイルス感染細胞内のウイルス蛋白質とそのゲノム RNA の局在．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

29) 下池貴志、野島清子、脇田隆字、岡田義昭、血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討． 第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

30) 白砂圭崇、齊藤恭子、村上裕子、 深澤秀輔 、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、千葉丈、安部良、深澤征義、高感染能を有する HCV JFH-1 適応変異株の性状解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

31) 杉山隆一，西辻裕紀，長沼晴樹，脇田隆字，高久洋．HIV-1 Nef は HSP70 を介した Tat 活性化を抑制する.第 60 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2012.11.13-15.

32) 杉山隆一,西辻裕紀,村上優子,武内寛明,脇田隆字,高久洋．HSP70 誘導剤：Prostaglandin A_1 は HIV-1 Vif による APOBEC3G 分解を抑制することで HIV-1 複製を阻害する．第 26 回日本エイズ学会学術集会,横浜，2012.11.24-26.

33) 染谷雄一、 守口匡子、白土東子、武田直和、奥野良信、黒澤良和、谷口孝喜：ヒト型抗ノロウイルス抗体のウイルス-血液型抗原吸着阻害活性の検討． 日本薬学会第133年会，2013.3.27-30.

34) 高木弘隆、藤井克樹、村上耕介、戸高玲子、下

池貴志、小林宣道、片山和彦：A 群ロタウイルス（RVA）の分離・増殖における感受性細胞株のクローニングによる検討. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

35) 田中聖一、山本　博、万年和明、李　天成。ニホンザルにおける E 型肝炎ウイルス感染状況. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

36) 戸高玲子、村上耕介、岡智一郎、高木弘隆、朴英斌、下池貴志、藤井克樹、脇田隆字、中西章、片山和彦：カリシウイルスのユニバーサルなプラスミドベースリバースジェネティックスシステム. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

37) Todaka R, T Oka, K Murakami, T Shimoike, Y Fujii, YB Park, H Takagi, T Wakita, A Nakanishi, K Katayama : Development of plasmid DNA transfection-based reverse genetics system for murine norovirus and feline calicivirus 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012. 12. 11-14.

38) 中井 正人, Hussein H Aly, 松本 美佐子, 坂本直哉, 瀬谷 司. B 細胞における HCV 感染・複製. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

39) 中島淳, 小早川みどり, 中村朋史, 高久宏佑, 鹿野雄一, 乾隆帝, 大石敏, 鬼倉徳雄: ヒナモロコの系統地理と福岡県における保全方針の提案. 第 45 回日本魚類学会年会, 山口, 2012.9.21-24.

40) 中村朋史, 吉冨秀亮, 石橋哲也, 前田詠里子, 世良暢之: 下水流入水からのエンテロウイルス分離. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

41) Park YB, R Todaka, T Shimoike, K Murakami, Y Fujii, T Wakita, K Katayama : Evaluation of two newly developed human norovirus detection system direct RT-PCR and BLEIA 第35 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012. 12. 11-14.

42) 原田誠也、西村浩一、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、シカ及びブタの E 型肝炎ウイルス汚染実態調査と分子疫学的解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

43) 藤井克樹：ロタウイルスゲノム解析と分子疫学　衛生微生物技術協議会第 33 回研究会, 横浜, 2012. 6. 28-29.

44) 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第 24 回学術集会, 大阪, 2012. 11. 12.

45) 藤井克樹、下池貴志、高木弘隆、Dennis Francis、村上耕介、朴英斌、戸高玲子、脇田隆字、片山和彦：RT-PCR による A 群ロタウイルスの全 11 セグメントの増幅法の構築. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

46) 藤田めぐみ, 脇田隆字, 加藤孝宣: HCV genotype 1b 株キメラウイルスを用いた HCV core 領域アミノ酸 70/91 変異株の解析. ワークショップ 18：C 型肝炎ウイルスの制御を目指した基礎戦略, 第 48 回日本肝臓学会総会, 金沢, 2012.6.7-8.

47) 町田早苗、清水博之: 小児無菌性髄膜炎患者から検出されたエンテロウイルスの分子疫学的解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

48) 松田麻未、鈴木亮介、渡士幸一、相崎英樹、松浦善治、鈴木哲朗、脇田隆字: 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. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

49) 松本喜弘, 渡邉則幸, 渡士幸一, 鈴木亮介, 松浦知和, 鈴木哲朗, 宮村達男, 和氣健二郎, 脇田隆字, 相崎英樹、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. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

50) 宮本将平、井上博之、王 倍倍、安成啓佑、坂本千香、成澤 慈、中村貴史、山田明子、浦田泰生、

高山浩一、中西洋一、清水博之、谷憲三朗: 非小細胞肺癌に対する免疫刺激性腫瘍溶解性コクサッキーウイルス B3 型. 日本癌学会学術総会、2012. 9.19-9.21.

51) 村上耕介、岡智一郎、下池貴志、藤井克樹、朴英斌、戸高玲子、脇田隆字、松田幹、片山和彦：ノロウイルスVLPのCaco-2細胞への結合に関与するタンパク質の探索. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

52) Murakami K, T Oka, T Shimoike, Y Fujii, YB Park, R Todaka, T Wakita, T Matsuda, K Katayama：Screening for candidate receptor on Caco-2 involved in norovirus binding by mass spectrometry from different approaches 第35回日本分子生物学会年会, 福岡, 2012. 12. 11-14.

53) 村山麻子、三代俊治、脇田隆字、加藤孝宣. C型肝炎ウイルス産生効率の良い HuH-7 細胞サブクローンの同定と解析.第19回肝細胞研究会.札幌. 2012.6.29-30.

54) 村山麻子, 加藤孝宣, 杉山奈央, 脇田隆字. C型肝炎ウイルス遺伝子型2b株とJFH-1株のキメラウイルスを用いた抗ウイルス薬評価系の樹立. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

55) 村山麻子, 杉山奈央, 岡本有加, 政木隆博, 脇田隆字, 加藤孝宣. NS5A領域置換HCV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. 第 35 回日本分子生物学会年会.福岡.2012.12.11-14.

56) 守口匡子、白土東子、染谷雄一、武田直和、奥野良信、黒澤良和、谷口孝喜: ファージディスプレイ法により単離したヒト型抗ノロウイルス抗体の、ウイルス-血液型抗原吸着阻害活性の検討. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

57) 横川寛, 森山正樹, 赤澤大輔, 中村紀子, 石井孝司, 加藤孝宣, 脇田隆字: イオン交換クロマトグラフィーを用いた C 型肝炎ウイルス粒子精製の検討. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

58) 横川寛, 森山正樹, 赤澤大輔, 中村紀子, 石井孝司, 加藤孝宣, 脇田隆字: イオン交換クロマトグラフィーを用いた C 型肝炎ウイルス粒子精製の検討. 第 35 回日本分子生物学会年会.福岡.2012.12.11-14.

59) 吉冨秀亮, 前田詠里子, 中村朋史, 石橋哲也, 前田詠里子, 世良暢之, 松田健太郎: 乳幼児の遷延喘鳴に関与する呼吸器ウイルス. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

60) 李　天成、片岡紀代、網　康至、須崎百合子、安田俊平、吉松組子、有川二郎、武田直和、脇田隆字。ラット E 型肝炎ウイルス様粒子の作製および粒子形成に必須な領域の同定. 第60回日本ウイルス学会学術集会,大阪,2012.11.13-15.

61) 渡士幸一: 数理モデルを用いた肝炎ウイルスの解析. 第 22 回数理生物学会, 岡山, 2012.9.10-12.

62) 渡士幸一、内田奈々子、大東卓史、清原知子、鈴木亮介、相崎英樹、脇田隆字, IL-1およびTNF-alphaのB型肝炎ウイルス感染阻害効果. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

63) 渡邉則幸、伊達朋子、Aly Hussein、相崎英樹、脇田隆字: 異なる細胞を用いて作成したE2タンパク質の中和抗体誘導効果. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2012.11.13-15.

III. その他

1) 相崎英樹、HCV感染に伴う宿主の代謝の変化-脂質代謝、エネルギー代謝を中心に-、The 11th Hepatitis Expert Meeting・学術講演会・教育講演、東京、2012. 8.

2) 相崎英樹、HCV粒子形成に関与する脂肪滴周辺蛋白の同定と機能解析、Liver Forum in Kyoto第14回学術集会、京都、2012.4.

3) 相崎英樹、HCV粒子形成に関与する宿主因子の同定と解析、平成24年度遺伝子病制御研究所研究集会、感染・免疫・炎症・発癌、北海道、2012.6.
4) 有田峰太郎: ポリオ根絶を目指す近年のポリオウイルス研究と治療の可能性について. 日本ポリオの会, 東京, 2012.7.14.
5) 加藤孝宣. ビタミンDによる抗HCV効果. 第25回肝臓フォーラム. 東京. 2012.6.30.
6) 加藤孝宣.C 型肝炎ウイルス感染増殖系とその応用. 第14回仙台リバーミーティング. 仙台. 2012.7.7.
7) 清水博之: 新しいポリオワクチン; 不活化ポリオワクチン導入と移行期の問題点. 第 3 回北里感染症教育フォーラム、東京, 2012. 5.12.
8) 清水博之: ポリオ対策の現状と課題- 日本における不活化ポリオワクチン導入の現状と問題点 -中華人民共和国 「国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト」 EPIセミナー、北京, 2012. 8.16.
9) 清水博之: 不活化ポリオワクチンの導入と課題. 東大和市立保健センター、東大和市、2012. 8.27.
10) 清水博之: 不活化ポリオワクチンと移行期の課題. 相模原市小児科医会講演会、相模原市, 2012. 9.19.
11) 清水博之: 世界のポリオ根絶とポリオワクチン. 理化学研究所 横浜研究所一般公開セミナー、横浜市, 2012. 9.29.
12) 清水博之: 不活化ポリオワクチンの導入と今後の課題. 平成 24 年度感染症機器管理研修会. 東京,2012. 10.17.
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. 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, 2012.3.
14) 渡士幸一: 抗HBV剤探索とHBV感染増殖機構の解析. LIVER2012 第8回肝免疫・ウイルス・フロンティア 肝疾患研究の新潮流, 東京, 2012.4.

（テレビ放送）出演、指導、監修

1) 片山和彦：日本テレビ；バンキシャ！, 2012.12.2.
2) 片山和彦：TBS；ひるおび！, 2012.12.4.
3) 片山和彦：日本テレビ news every, 2012. 12.13.
4) 片山和彦：日本テレビ Oha!4NEWS LIVE, 2012. 12.14.
5) 片山和彦：テレビ朝日 モーニングバード！, 2012. 12.21.
6) 片山和彦：NHK 情報 LIVE ただイマ！, 2012. 12.21.
7) 片山和彦：日本テレビ NEWS ZERO, 2012. 12.24.
8) 片山和彦：日本テレビ Oha!4NEWS LIVE, 2012. 12.25.

（ラジオ番組）出演

1) 片山和彦： NHKラジオ 私も一言 「ここに注目 感染性胃腸炎を起こすノロウイルスの正体」, 2013. 2.1.

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24年4月1日付で、加藤篤（第3室）室長が、放射能管理室長（品質保証室長併任）に異動（昇格）した。平成24年10月1日付で、木所稔（第3室）主任研究官が（第3室）室長に昇格した。平成25年3月31日付で、荻野利夫研究員（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）が退職した。

当部は、麻疹、風疹、おたふくかぜ（ムンプス）の各ワクチン、γ-グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定のSOPや標準品の整備等を進め、GMPを中心とする品質管理体制と、国際協調の観点から国際的に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。平成24年10月1日には、薬事法施行規則の一部を改正する省令等によって、ワクチン製剤の国家検定に製造・記録等要約書の審査が導入された。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、全国的ならびに国際的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、臓器移植等により免疫抑制状態にある患者へのワクチン接種の有効性や安全性に関する研究、麻疹ウイルスのベクターとしての応用研究を進めている。また、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ウイルスの細胞内病態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、弱毒生ワクチンの性質決定の分子基盤を明らかにするための研究、麻疹ワクチンと同じく臓器移植等により免疫抑制状態にある患者へのワクチン接種の有効性や安全性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細胞内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、ムンプスウイルスの遺伝子操作手法の開発や改良に関する研究、神経病原性の分子メカニズムに関する研究、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、中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス、SARSコロナウイルスの病態や診断法に関する研究、その他のヒトコロナウイルスの抗原性や増殖機構に関する研究を行っている。コロナウイルスの他にも、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の増殖機構や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、ムンプスウイルスなどに関しても周辺諸国（中国ならびにモンゴル）の診断技術の向上のための研究協力を実施している。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

日本が所属する WHO 西太平洋地域では可能な限り早く麻疹排除を達成し、かつ 2015 年までに風疹を人口 100 万人当たり 10 人未満、CRS を 100 万出生数当たり 10 人未満まで制御する事を目指している。麻疹排除の定義は、質の高いサーベイランス体制の下で「常在する麻疹ウイルスによる麻疹の伝播が１年間以上ないこと」としている。質の高いサーベイランス体制には精度管理された施設において80%以上の麻疹疑い症例検体が検査診断される事が求められている。また、麻疹ウイルスのゲノム解析により、原因ウイルスが国外に由来するのか常在のウイルスによるのかを鑑別していく必要がある。2007 年以降、地方衛生研究所を中心とした RT-PCR 法による麻疹検査体制の整備を進めてきた。昨年度は麻疹検査診断例の約 30%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海外から侵入したと考えられる D4、D9、D8、H1 であり、日本の常在株と考えられている遺伝子型 D5 は検出されず、2011 年以降、常在性麻疹ウイルスによる麻疹の伝播は遮断されていると考えられた。一方、感度が高い PCR 法による検査を実施する上で、陽性対照によるクロスコンタミを減らすために、増幅によるサイズが異なる組換え陽性対照 RNA を作製し、全地衛研に配布した。今後も検査診断数の増加、並びに検査精度の向上を目指した検査診断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. 小児臓器移植児に対するワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

生体肝、腎移植児は継続的に免疫抑制剤を服用するため、感染症に対する免疫応答が減弱している。そのため、これら小児への感染症対策として、ワクチン接種による防御免疫能を誘導することが必要と考えられているが、現在までのところ、これら患者へのワクチン接種による免疫応答の機序が明らかになっておらず、ワクチン接種スケージュール等のガイドラインは確立されていない。本研究では、生体肝、腎移植児へのワクチン接種の有効性の確認とガイドラインの作成のため、麻疹含有ワクチンを接種した小児患者の細胞性免疫応答について、IFN-γELISPOT 法を用いて解析を進めている。これまでに 246 検体について解析を行い、うち、61 検体から IFN-γの産生が確認できた。今後は、本試験成績と共同研究者が解析している諸データと合わせた解析を行い、細胞性免疫の面からワクチンの有効性を評価する予定でいる。[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、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

弱毒化生ワクチンの開発が容易ではないある種の感染症に対しては、様々なタイプの遺伝子組換え技術を用いた細菌ワクチン、ウイルスワクチンが研究されている。麻疹ウイルスをベクターとした組換えワクチンに関する研究も、インフルエンザ、SARS、マラリア、B 型肝炎、RSV など、の感染症について報告されている。本研究では、本邦で使用されている麻しんワクチン株、AIK-C を用いた組換え生ワクチンの開発を進めている。現在、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ウイルスの回収を試みている。現段階では、HIV env 遺伝子を発現している組換え麻疹ウイルスを作出できたので、今後、その免疫原生、細胞指向性等の性状を解析していく。[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. モルビリウイルスにおける Nectin4 分子利用能に関する研究

Nectin4 は、極性を持つ細胞に形成される接着結合部位に存在する分子であり、麻疹ウイルス感染における上皮細胞への感染に利用されている。このことについて理解を深める目的で同じモルビリウイルスに属するイヌジステンパーウイルス（以下 CDV）について解析を行った。Vero 細胞にイヌ Nectin4 分子を発現させた Vero/dNectin4 細胞を樹立し、CDV を感染させたところ、用いた CDV 株の全てで合胞体の形成が認められた。この合胞体の形成は抗 Nectin4 抗体で阻止することができた。また、Nectin4 分子の利用能の解析に用いる目的で他にヒト Nectin4 を発現する Vero 細胞（Vero/hNectin4）およびマカカ属のサル由来の Nectin4 を発現する Vero 細胞（Vero/mNectin4）を樹立した。また、麻疹ウイルスワクチン株はニワトリ胚由来繊維芽細胞（CEF）で増殖することから、ニワトリ Nectin4 分子の関与が考えられる。現在、ニワトリ Nectin4 のクローニングを試みている。[關　文緒、酒井宏治、駒瀬勝啓、Watanyoo Pratakpiriya*、山口良二*、竹田誠：*宮崎大学獣医学科]

5. 麻疹ウイルス L 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、L タンパク質がリサイクリングエンドソームのマーカーである Rab11 と共に細胞内輸送される事が明らかとなった。また、Rab11 のドミナントネガティブ体を細胞に発現させると、L タンパク質の局在が変化し、細胞表面からの子孫ウイルス粒子の出芽が阻害されることが明らかになった。[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. iPS作製用麻疹ウイルスベクターの開発

iPS 細胞は複数の転写因子（Klf4, Oct3, c-Myc, Sox2 など）を同時に繊維芽細胞に導入する事で誘導される。導入方法はレトロウイルスベクターやプラスミドが用いられるが、DNA 性の因子を使う限り、宿主ゲノムへの外来性 DNA の挿入の可能性が排除できないことが問題となっている。そこで RNA ウイルスである麻疹ウイルスを用いたベクター開発を試みている。以前報告したウイルスゲノムの分節化の技術、及び F 遺伝子を欠損させる技術を用いて、１、宿主ゲノムに影響しない、２、伝播能力のない、３、細胞障害性の少ない、４、複数の外来遺伝子搭載が可能、な理想的なベクターが開発可能であると考えている。麻疹ウイルスを２分節化し、一方の分節に麻疹ウイルス（N,P,M）遺伝子と転写因子（Klf4,Oct3,Glis1）、もう一方の分節にウイルス遺伝子（H、L）と転写因子（Sox2,Pin1）と蛍光タンパク質 EFPF を導入した組替えウイルスの作製に成功した。感染細胞にすべての外来遺伝子の発現を確認したが、iPS 細胞作製には至っていない。[田原舞乃、三浦由恵*、谷憲三朗*、竹田誠、*九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学]

7. サルから分離された犬ジステンパーウイルスのヒト受容体利用能獲得に必要な変異

カニクイザルのコロニーにおいて肺炎、消化器症状等を主徴とする致死的感染症が発生し、イヌジステンパーウイルス（CDV）が分離された（CYN07-dV 株）。CYN07-dV 株はヒト SLAM を効率よく利用することが出来なかったが、容易にヒト SLAM に馴化した（CYN07-hV 株）。プラッククローニングにより得られたヒト SLAM 馴化クローンについては、塩基配列の決定及び、イヌ、ヒト、サルの SLAM 発現 Vero 細胞、Nectin4 発現 Vero 細胞を用いた性状解析を実施した。また、得られたヒト SLAM 馴化に関連した変異を、野生型 CDV イヌ分離株の H 蛋白質に変異導入して、Fusion assay を行いサル分離株同様にイヌ分離株もヒト SLAM 利用能を獲得できるか、を解析した。ヒト SLAM への馴化に伴う 3 つの変異（H 蛋白質の P541S、D540G、R519S 変異）パターンが認められた。これらクローンはいずれも、親株である CYN07-dV 株の

性状を有しつつ、さらにヒトSLAMも利用できるようになっていた。興味深いことに、P541Sを野生型CDVイヌ分離株（MAS5株及びAc96I株）のH蛋白質に変異導入すると、ヒトSLAMが使えないばかりか、イヌSLAMやサルSLAMの利用能が低下した。したがって、この変異はサル分離株であるCYNO7-dV株に独特なヒトSLAM利用能獲得機序であると考えられた。[酒井宏治、關文緒、田原舞乃、染谷健二、中津祐一郎、大槻 紀之、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、西條政幸*、森川茂**、網康至***、山口良二****:*ウイルス第一部、**獣医科学部、***動物管理室、****宮崎大学獣医病理学研究室]

8. 野生型犬ジステンパーウイルスイヌ分離株の霊長類受容体利用能の解析

イヌから分離された野生型犬ジステンパーウイルス（CDV）、９株をイヌ、ヒト、サル（マカク属）のSLAM発現Vero細胞、Nectin4発現Vero細胞に感染させ性状解析を実施した。SLAMに関しては、用いた全てのイヌ分離CDVはサルSLAMを利用することはできたが、イヌSLAMほど効率的に利用できなかった。一方、これらはヒトSLAMを効率よく利用することは出来なかった、もしくはほとんど利用することはできなかった。Nectin4に関しては、イヌ、ヒト、サルNectin4の全てを同程度に利用できた。興味深いことに、用いたいくつかの株において、容易にヒトSLAMへの馴化が認められた。以上より、野生型CDVイヌ分離株は、サルSLAMとサルNectin4両方の受容体を元来利用することが出来るため、特に実験用ならびに展示用のサルにおいては、麻しんウイルス同様にCDVにも注意する必要があると考えられた。また、野生型CDVイヌ分離株のヒトへの感染の可能性についても、今後詳細に検討する必要がある。[酒井宏治、關文緒、田原舞乃、染谷健二、中津祐一郎、大槻 紀之、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、網康至*、山口良二**：*動物管理室、**宮崎大学獣医病理学研究室]

9. IFIT遺伝子ノックアウトマウスにおけるセンダイウイルス感受性に関する研究

IFIT遺伝子（IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFIT1b、IFIT1c, IFIT3b）はmRNAのcap構造の違いを認識して自然免疫を賦活化する遺伝子である。この遺伝子のうち*in vitro*の解析でウイルス感染に影響が認められたIFIT1遺伝子の有無が、センダイウイルス感染のマウス生体内における感受性に影響を与えるか否かを検討した。センダイウイルス感染後のWT群とKO群の体重変動に有意な差は認められなかった。また、WT群とKO群の生存率は同程度であったが、致死が認められるまでの時間はWTに比べKOの方が短い傾向が認められた。しかし、IFIT1遺伝子単独では、*in vivo*でのウイルス感染に顕著な影響は認められないと考えられた。今後、IFIT2、IFIT3、IFIT1b、IFIT1c, IFIT3b 遺伝子についても解析を行い、IFIT遺伝子がウイルス感染における影響を明らかにする。[酒井宏治、中津祐一郎、關文緒、田原舞乃、染谷健二、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、網康至*、喜村大志**、竹田潔**：*動物管理室、**大阪大学医学部免疫制御学教室]

II. 風疹ウイルスに関する研究

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

日本で承認されている風疹ワクチン株５株は、高温(39℃)で増殖できず（増殖温度感受性を有する）、モルモットへの皮下接種において抗体産生を誘導しない、という特徴があるが、両者の直接的な関連は明らかになっていない。後者の現象を利用して、生物学的製剤基準に風しんワクチンのマーカー試験が定められ、ワクチン製造時の試験および国家検定として実施されている。そこでTO-336 Vaccine株とその親株のTO-336.GMK5株の感染性クローンを用いて増殖温度感受性およびモルモットにおける抗体産生誘導能に関連した遺伝子を同定することで、両者の関係性を明らかにすることを目的に実験を行った。その結果、TO-336 Vaccine株の増殖温度感受性は非構造タンパク質領域の1159番目のアミノ酸によってほぼ決定されていることが示された。モルモット皮下接種における抗体産生はウイルスの増殖温度感受性と相関していた。[岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

2. 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、検討をおこなっている。昨年までに非構造蛋白質コード領域の5’末端側を増幅するRT-LAMP法を構築できた。そこ

で、今年度はすべての遺伝子型の風疹ウイルスについての検出感度を、既報の Real-time RT-PCR と比較を行った。その結果、RT-LAMP 法では遺伝子型 2C ウイルスのみ感度よく検出できなかったが、この遺伝子型ウイルスは現在出現していないウイルスであるため、大きな問題はないと考えられる。Real-time RT-PCR 法との比較では RT-LAMP 法では感度が悪いことがわかった。しかしながら、高度な設備の整っていない施設等では簡易な試験として実施可能であると考えられる。[岡本貴世子、阿保均、安楽正輝、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] 。

3. 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 法の至適条件を整備し、移植児の検体を測定した。これまでに 139 の小児肝移植患者検体を測定したところ、陰性は 126 検体、陽性は 6 検体、細胞数が少なく測定不可能と考えられたものが 1 検体であった。一方、陰性と判定された検体の中には、ネガティブコントロールで、比較的多数のスポット（7-30 スポット）が出現したものが 6 検体存在した。また、陰性検体には、風疹ワクチン接種後 2 ヶ月の患者検体が少なくとも 3 検体含まれていた。この結果より、検体由来患者の年齢、健康状態によって細胞性免疫の反応性が異なる可能性が示唆された。［岡本貴世子、竹田誠、斉藤昭彦*：*国立生育医療センター］

4. 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。これまでに我々は capsid 蛋白質の N 末端領域が、coiled-coil 構造をとる可能性ことを示唆し、その構造に重要と考えられる疎水性アミノ酸が非構造蛋白質 p150 との結合に非常に重要であることを示してきた。今年度は相互結合がウイルスの増殖性に関与するかを、同定したアミノ酸への変異を感染性クローンに導入することで、検討をおこなった。その結果、capsid タンパク質と p150 タンパク質の結合が失われるようなアミノ酸変異を導入した場合にウイルス増殖性の著しい減少が認められた。ウイルス増殖性の減少の原因としては、ウイルス粒子内へのゲノム取り込みの低下が一部関与していたが、それだけでは完全に説明をすることは出来ず、今後の検討が必要であると考えられた。「坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、森嘉生」

5. 風疹ウイルス感受性細胞の検討

風疹ウイルスはヒトを自然宿主とするウイルスでありながら、多くのヒト由来の培養細胞に対して感染性が低いことが知られている。感受性の高いウサギ由来 RK-13 細胞、アフリカミドリザル由来 Vero 細胞およびハムスター由来 BHK 細胞と同程度の感受性を持つヒト細胞の探索を行った。加えて上記３細胞についてもどの細胞が最も感受性が高いか検討した。蛍光発現風疹ウイルスを接種し、蛍光の発現によって感受性を検討したところ、RK-13 細胞、Vero 細胞、BHK 細胞の順で感受性が高かった。15 種のヒト培養細胞について検討したところ、胎盤絨毛由来培養細胞３株において BHK 細胞程度の感受性を示すことが明らかとなった。「安楽正輝、森　嘉生、坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠」

6. 風疹ウイルス p150 蛋白質のアクチンとの相互作用に関する解析

風疹ウイルスの非構造蛋白質 p150 はウイルスゲノム複製に関与する。一方で感染後期においては、その多くが感染細胞内でゲノム複製に直接関与しないと考えられるフィラメント状構造体として存在する。このフィラメント状構造体には、細胞の形態、運動、増殖等に重要なアクチンが共局在していることが示されている。しかしながら、この共局在のウイルス増殖および病態への関与は不明のままである。本研究ではその生物学的意義を明らかにするため、アクチンとの共局在に重要な p150 のアミノ酸の同定と、そこに変異を導入した風疹ウイルスの性状解析を行った。こ

の共局在には、1301 アミノ酸残基からなる p150 の N 末 551 アミノ酸領域が必要であった。さらに 547 位のアスパラギン酸をアラニンに置換した p150 は、フィラメント状構造体が正常に形成されるものの、F-アクチンとの共局在が認められなくなった。この変異を導入した風疹ウイルスは野生型ウイルスと比較して増殖性が低下していることが明らかとなった。p150 と F-アクチンは細胞内で非常に安定した複合体を形成し、効率的なウイルス増殖に重要であることが示唆された。今後さらにそのメカニズムについて詳細を検討していく予定である。[森嘉生、坂田真史、安楽正輝、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. 授乳婦に対するムンプスワクチン接種後の母乳におけるワクチンウイルスの検出

授乳婦に対する予防接種は敬遠される傾向にある一方、ワクチンの添付文書には，授乳婦に対する接種は禁忌ではなく，接種すべきか明確ではない。そこで，ムンプス IgG 陰性の授乳婦に対するワクチン接種例を経験したので、母乳と児の唾液からの継続的なワクチンウイルスゲノムの検出を試みた。ワクチン（タケダ,G302）接種後から本人への説明・同意の元に母乳と児の唾液の採取を開始した。母乳は接種後 15、22、29、42、49 日で、児の唾液は 42、49 日の 2 ポイントで採取した。Mumps virus 検出は RT-LAMP 法ならびに RT-PCR 法にて行った。その結果、母乳では接種後 29 日と 42 日でゲノムが検出されたが、児の唾液からは検出されなかった。検出されたゲノムの塩基配列はワクチン株に一致した。授乳は検出後も継続されたが、児は無症状で経過した。CDC ガイドラインによれば、授乳中の女性への授乳はいかなるワクチン接種も禁忌にはならないとしている（天然痘ワクチンを除く）。ワクチンの安全な運用を図る上で、こうしたデータの蓄積は重要である。[木所　稔 *新妻隆広：*越谷市立病院小児科]

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に関する研究

強毒株 Y213 由来 cDNA から作製したにもかかわらず高度に弱毒化していた組換えウイルス rY213 は、変異原処理（リバビリン存在下での継代）によって病原性復帰した。この病原復帰は P 遺伝子と L 遺伝子内の 1 ヶ所ずつアミノ酸置換によることが、これらの変異を rY213 に導入した組換えウイルスの病原性が復帰することで証明された。そこで、これらの変異がどのような機構で病原復帰に関わるかを調べるために、それぞれの変異を導入した P 遺伝子と L 遺伝子のヘルパープラスミドを作製し、ルシフェラーゼを組み込んだミニレプリコンによるレポーター解析を行った。細胞は 293T、BHK/T7、A549、SK-N-SH 細胞について検討した。その結果、予想に反して変異を導入した P 遺伝子と L 遺伝子のいずれか、もしくは両方を導入した細胞においては野生型に比べて、ルシフェラーゼ活性が低下していた。ミニレプリコンによるレポーターアッセイは必ずしもウイルス増殖における現象を反映しない場合があることが知られており、これらの結果をそのまま当てはめることはできない。しかし、例えば 2 ヶ所の変異によってウイルスの複製効率が下がり 2 本鎖 RNA 量が減少することによって宿主の RNA センサーから逃れられることが結果としてウイルスの病原性を高める可能性が有るのかもしれない。[木所稔、齋加志津子*、網康至**、須崎百合子**、竹田　誠：*千葉県衛生研究所、**動物管理室]

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および抗原性に関する研究

国内で流行するムンプスウイルスの経時的な分子系統学的解析は、疫学上もワクチン対策においても重要である。我々は昨年に引き続き 2012 年に三重病院で分離された 20 株に加え、2006 年から 2012 年に水島中央病院（岡山県）において分離された分離ウイルス 16 株について分子系統学的解析を行い、流行株の経年変化について解析を行った。また、国内で流行する様々な遺伝子型に対して現行のワクチンが有効であることを確認するため、ウサギ高度免疫血清を用いて国内で流行した遺伝子型(B, I, J, L, H, G)に対する中和曲線から、その抗原性についても解析を行った。

2012 年の三重県内における流行株はそれ以前同様 G 型のみであった。岡山県においても、三重県同様、2006 年以降の流行は G 型のみであり、東日本における分離例を含めると、G 型の流行は全国的な規模で現在まで継続していることが示唆された。1999 年以降流行している G 型は大きく 2 つのクレードに分かれることが分かっているが、依頼検査

等の結果から、一方(Ge型)は首都圏を含む東日本に多く、他方(Gw型)は三重県と岡山県で主流を占めることが明らかとなった。また、GeとGwは年によって流行する主流が一方から他方へと入れ替わり、2010年においてのみ三重県内でGe型が半数以上を占めた。また、首都圏の分離例からもGwが認められ、全国的にこれら２つのクレードが並行して流行している実態が示唆された。

抗A型(Endars株)高度免疫血清と国産ワクチン株星野株(遺伝子型B)に対する高度免疫血清を用いた中和曲線の解析から、A型で誘導される中和抗体の中和活性はより遺伝子型の影響を受けやすくLとHが最も中和されにくいことが判明した。一方、抗B型血清では遺伝子型による中和活性の差が小さくHを除く遺伝子型は効率よく中和された。[木所稔、庵原俊昭*、中山哲夫**、名木田章***、竹田　誠:*国立病院機構三重病院**北里生命科学研究所***水島中央病院]

4.ムンプスウイルスのリバースジェネティクス法の改良に関する研究

ムンプスウイルスの病原性発現の分子的基盤を解明する上で、ウイルスの組み換え技術であるリバースジェネティクス法は不可欠である。しかし、我々が構築したリバースジェネティクス法の効率は決して高いとは言えず、コンストラクトによっては全く組換えウイルスが回収できない場合がある。これは実験を効率良く進める上で、大きな障害である。そこで、回収効率に大きく関わるcDNAからのRNA効率を向上させる試みとして、ミニレプリコンを用いて以下の試みを行った。1)T7プロモーターより転写効率の高いSP6プロモーターを用いる.2)T7プロモーターの転写効率を高めるために転写開始点に3G配列を付加する。

1)の試みではSP6プロモーターが挿入されたミニレプリコンは大腸菌に致死的であるために、コンストラクトが取れず、取れてきたものには必ず変異が挿入されていた。そのうちの1つについて従来のT7プロモーター型のミニレプリコンとの比較を行ったが、レポーター活性は従来型の1/2以下であった。2)についてはミニレプリコンの発現効率従来型の1/4にとどまった。[木所稔]

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．中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの国内検査環境の整備

平成２４年９月に見つかったMERSコロナウイルスは、重症肺炎を引き起こす致死率５０％以上の病原体である。感染経路が不明であることや、不顕性感染の人も見られること、さらにヨーロッパ、アフリカの中東への旅行者に感染したことから、日本への侵入が懸念されている。厚生労働省からの指示を受けて、本研究室ではリアルタイムPCRによる遺伝子診断法を開発し、プライマーとプローブを国内の衛生研究所と保健所、計７２箇所に配布した。さらに現在、LAMP法、血清診断法の開発をおこなっている。さらに報道への対応、医学雑誌への執筆を通して、国民への適切な情報の説明に務めている。

２．中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの細胞侵入機構について

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。TMPRSS2発現Vero細胞(Vero-TMPRSS2)では非発現Vero細胞と較べて１００倍MERSコロナウイルスに対する感染効率が高く、さらに、非常に大きい細胞融合を形成することがわかった。この細胞はコロナウイルスの分離に有用であるといえる。さらにMERSコロナウイルスの細胞侵入をリアルタイムPCRによる方法にて検出し、TMPRSS2の阻害剤セリンプロテアーゼ阻害剤(Camostat)による感染阻止効果を調べた。MERSコロナウイルスのTMPRSS2発現

細胞への感染価は非発現細胞と比較して、１０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 Camostat は肺胞上皮由来の Calu-3 細胞において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。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

３．2004 年および 2008 年に分離されたヒトコロナウイルス(HCoV)229E の国内分離株と ATCC 株との間の抗原性の違いについて

ヒトコロナウイルス 229E (HCoV-229E)はヒトに鼻風邪を引き起こす。HCoV-229E は 1966 年に初めて報告された株であり、当時の分離株が ATCC 株(VR-740)として利用されている。我々は 2004 年に仙台市、2008 年に新潟市において HCoV-229E の臨床分離株を得た。そこでこれらの臨床分離株について、ATCC 株である VR-740 との比較解析を中和試験によって行った。VR-740 は抗 VR-740 血清で中和されるが抗仙台株血清では中和されず、仙台株および新潟株は抗仙台株血清で中和されるが抗 VR-740 血清で中和されないことが明らかとなった。またこの違いは S 蛋白質の S1 サブユニットに依存している事が明らかとなった。次に健康な小児および成人ボランティアから得られたヒト血清を用いて中和試験を行ったところ、小児のほうが仙台株に対して、成人のほうが VR-740 に対して陽性が高いことがわかった。従って現在国内で流行している HCoV-229E は ATCC 株の VR-740 とは異なる抗原性をもち、小児が VR-740 よりも仙台株およびその近縁株に対して感染機会が高い事が示唆された。また 2 種類の抗原性の異なる HCoV-229E が同時に存在し、それぞれが別の機会に感染する可能性が示され、これが HCoV-229E の再感染が起こる原因である可能性が示唆された。[白戸憲也、松山州徳]

４．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

ヒトコロナウイルス 229E は細胞侵入にエンドソーム内に存在するカテプシン L を利用することがわかっているが、最近分離された臨床分離 229E 株はカテプシン感受性が低く、一方 1966 年に分離された ATCC 株はカテプシン感受性が高いことがわかった。この原因を明らかにするために、S タンパクに変異を導入し、VSV シュードタイプを用いて細胞侵入効果、及びプロテアーゼ阻害剤による細胞侵入阻止効果を調べた結果、S タンパクの複数の変異が、カテプシン感受性に影響をおよぼすことが明らかになった。これらの変異は S タンパクの構造変化の時、カテプシン感受性部位に影響を与えると予想される。本研究はヒトの間に蔓延しているコロナウイルスの近年の機能変化を解析する研究である。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

５．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]

サーベイランス業務

1. 平成 24 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22年度に得られた成績をまとめ報告した。［大槻紀之、感染症情報センター、森　嘉生］

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階3ロット、風しんワクチン中間段階1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4ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン46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175ロットの検定（麻疹抗体測定試験）を行った。［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5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4ロット(pegα-2b_1ロット、αLys_1ロット、recβ-1b_1ロット、天然型β_1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. 麻疹の行政検査2件、および依頼検査2件を実施した［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. 7ヵ所の地方衛生研究所にVero/hSLAM細胞を配布した。［關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓］
3. 77カ所の地方衛生研究所に麻疹ウイルス検出用のRT-PCR用陽性対照を配布した。［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. 風疹および先天性風疹症候群の病原体検出マニュアルを改訂した。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
5. 全国の地方衛生研究所に風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照RNAを配布した。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
6. 風疹の行政検査2件および依頼検査8件を実施した。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
7. 2件のムンプスの依頼検査を実施した。［木所稔］

国際協力業務

1. Consultation on measles elimination and hepatitis B control （2012年4月18～20日：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. 10th Global measles and rubella laboratory network meeting(2011年6月25～27日:スイス、ジュネーブ)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、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、竹田誠］
3. 中華人民共和国「国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト」予防接種事業セミナー（2012年8月15～16日：中国、北京）に参加し日本の麻疹対策の現状と課題について講演を行った。［竹田誠］
4. 21st Meeting of the Technical Advisory Group on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in the Western Pacific Region（2012年8月21～23日：フィリピン、マニラ）に参加し、西太平洋地域各国の麻疹、風疹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］
5. （独）国際協力機構の依頼で、中華人民共和国・国家級公衆衛政策計画管理プロジェクトに短期派遣専門家として参加し、安徽省と海南省の省レベル研究所の麻疹風疹実験室のレビューを行った。［駒瀬勝啓］（2012年8月～9月）
6. 2nd meeting of the SAGE working group on measles and rubella（2012年9月20～21日、米国、ワシントンD.C.）に参加し、世界の麻疹風疹対策について討議した。［竹田誠］
7. Osong Symposium on Infectious Diseases (OSID2012)（2012年9月25～26日、韓国、オソン）に参加して、

麻疹ウイルスの抗原性について発表するとともに、インフルエンザウイルス等の感染症について討議した。［竹田誠］

8. ベトナムハノイの NIHE を訪問し、麻疹ウイルス、風疹ウイルスの遺伝子解析法について研修し、共同研究について検討した。［駒瀬勝啓］（2012 年 10 月）
9. WPRO が主催した 5th Regional Hands-on Training Workshop on the Laboratory Diagnosis of Measles and Rubella Focusing on Molecular Diagnosis(2012 年 10 月、中国、香港)にテンポラリーアドバイザーとして参加し、WPRO 地域の研修生に研修を行った。［駒瀬勝啓］
10. 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、急性呼吸器ウイルス全般の高感受性細胞の樹立を行なっている。H24 年 11 月 21 日に行われた、日中協同研究発表会に参加し、中国担当者と意見交換を行った。［松山州徳、竹田誠］
11. 来日した韓国 KNIH の Dr. Kim と Dr. Yang にムンプスウイルスのリバースジェネティクス法及び日本国内でのムンプスウイルスの流行状況についてレクチャーを行うとともに韓国におけるムンプスウイルスの流行状況について情報交換を行った。（2012 年 12 月）［木所　稔］
12. 4th Meeting on Vaccine preventable diseases laboratory networks in the Western Pacific Region（2013 年 3 月 11～15 日：フィリピン、マニラ）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、森嘉生、竹田誠］

研修業務

1. 「平成 24 年度短期研修 新興再興感染症技術研修」コースにおいて、「発疹症ウイルス総論-麻疹ウイルスについて-」について講義を行った。［竹田誠］2012 年 10 月 5 日
2. 「平成 24 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］2012 年 10 月 25 日
3. JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生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］2013 年 1 月-2 月
8. 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 9 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］2013 年 1-2 月
9. 平成 24 年度　検定・検査教育講習会　第三回継続者向け講習会で「疫学とワクチン施策と検定の連鎖」について講義をおこなった。［森嘉生］2012 年 12 月

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Pratakpiriya W*, Seki F*, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. (* these authors equally contributed to this work) Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in neurovirulence. J Virol. 86(18):10207-10, 2012
2. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. Journal of Virology, 87, 1105-1114. 2013
3. Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. (2013) Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. J Virol. 87:7170-5.
4. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota PA, Plemper RK,

Maenaka K and Takeda M. Functional and Structural Characterization of Neutralizing Epitopes of Measles Virus Hemagglutinin Protein. J Virol. 87(1):666-675, 2013

5. Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K,, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. The Receptor-binding Site of the Measles Virus Hemagglutinin Protein Itself Constitutes a Conserved Neutralizing Epitope. J Virol. 87:3583-6. 2013
6. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. (2013) Intracellular transport of the measles virus ribonucleoprotein complex is mediated by Rab11A-positive recycling endosomes and drives virus release from the apical membrane of polarized epithelial cells. J Virol. 87:4683-93.
7. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine distemper virus with the intact C protein has the potential to replicate in human epithelial cells by using human nectin4 as a receptor. Virology 2013; 435:485-492
8. 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
9. 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
10. Shirato K, Kawase M, Watanabe O, Hirokawa C, Matsuyama S, Nishimura H, Taguchi F. (2012). Differences in neutralizing antigenicity between laboratory and clinical isolates of HCoV-229E isolated in Japan in 2004-2008 depend on the S1 region sequence of the spike protein. J Gen Virol. 93(9):1908-17.
11. Kawase M, Shirato K, van der Hoek L, Taguchi F, Matsuyama S. (2012). Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. J Virol. 86(12):6537-45.
12. Brindley MA, Takeda M, Plattet P, Plemper RK. (2012) Triggering the measles virus membrane fusion machinery. Proc Natl Acad Sci U. S. A. 109:E3018-27.
13. Ito M, Iwasaki M, Takeda M, Nakamura T, Yanagi Y, Ohno S. (2013) Measles virus non-structural C protein modulates viral RNA polymerase activity by interacting with a host protein SHCBP1. J Virol. 2013 Jun 26 [Epub ahead of print]
14. 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.
15. Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. (2012) Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. PLoS One. 7:e50660.
16. Nakayama T, Sawada A, Kubo H, Kaida A, Tanaka T, Shigemoto N, Komase K, Takeda M. Simple method to differentiate measles vaccine from wild-type strains using loop - mediatied isothermal amplification (LAMP). Microbiol immunol. 57(3): 246-51, 2013.
17. Watanabe K, Watanabe K, Tazawa T, Kon M, Tamara T, Komase K. Imported cases of measles in Niigata, Japan in 2011. Jpn J Infect Dis. 65(3) 268-70,2012
18. Tran DN, Pham NT, Tran TT, Khamrin P, Thongprachum A, Komase K, Hayakawa Y, Mizuguchi M, Ushijima H. Phylogenic analysis of rubella viruses in Viet Nam during 2009-2010. J Med Virol. 84(4):705-10, 2012

19. Ohkura T, Kikuchi Y, Kono N, Itamura S, Komase K, Momose F, Morikawa Y. Epitope mapping of neutralizing monoclonal antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin. Biochem Biophys Res Commun. 3; 418(1): 38-43, 2012
20. Tripathi LP, Kambara H, Moriishi K, Morita E, Abe T, Mori Y, Chen YA, Matsuura Y, Mizuguchi K. Proteomic analysis of hepatitis C virus (HCV) core protein transfection and host regulator PA28gamma knockout in HCV pathogenesis: a network-based study. J Proteome Res. 2012; 11(7):3664-3679.
21. 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)
22. Ujike M, Huang C, Shirato K, Matsuyama S, Makino S, Taguchi F. (2012). Two palmitylated cysteine residues of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike (S) protein are critical for S incorporation into virus-like particles, but not for M-S co-localization. J Gen Virol. 93(4):823-8.
23. Kotani O, Shirato K, Nagata N, Ikeda H, Takahashi K, and Taguchi F. (2013). Neuropathogenesis of a mouse-adapted porcine epidemic 1 diarrhea virus infection in suckling mice. J. Gen Virol. 94:831-6

和文発表

1. 駒瀬勝啓、麻疹ワクチン、風疹ワクチンの品質管理、臨床とウイルス 40(5):334-341, 2012.
2. 駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状、臨床と微生物 39(6): 656-662, 2012
3. 駒瀬勝啓 Q&A 麻疹検査診断法 日本医事新報 4605: 57-59.2012
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、染谷健二、竹田誠、日本における麻疹ウイルス流行株の変遷 2009-2011、病原体検出情報 34(2);36-7.(2013)
8. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠、2012 年の海外の麻疹情報、病原体検出情報 34(2);24-5.(2013)
9. 關文緒、竹田誠、麻疹のウイルス型、週刊日本医事新報 4613:58-59 (2012)
10. 關文緒、竹田誠、モルビリウイルス：麻疹ウイルス、イヌジステンパーウイルスなど、ウイルス 62(2):175-182 (2012)
11. 酒井宏治, 水谷哲也 「原因不明疾患への RDV 法の適用」 臨床とウイルス, 40, 192-200. 2012
12. 森 嘉生。「風疹ウイルスと遺伝子型解析」p1165-1172, 小児科、2012.
13. 白戸憲也 松山州徳 2012 年新型コロナウイルス (HCoV-EMC) 重症肺炎の発生について 病原微生物検出情報 33(11); 303-304 (2012)
14. 塚田敬子、北川和寛、門馬直太、二本松久子、金成篤子、佐藤弘子、泉 隆子、佐々木瞳、佐藤明絵、鈴木広幸、石井修、遠藤幸男、駒瀬勝啓、福島県における麻疹患者発生について、病原体検出情報 33: 242-44. (2012)
15. 安井善宏、小林慎一、山下照夫、平松礼司、皆川洋子、森嘉生 麻疹疑い症例からの風疹ウイルス検出と遺伝子解析－愛知県 病原微生物検出情報、33(6):167-168, (2012)

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Takeda M, Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Fukuhara H, Komase K, Yanagi Y, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K. Structural and functional constraints on the measles virus hemagglutinin protein prevent escape from neutralization The 34th Naito Conference 2012 Oct 16-19
2. Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Saijo M, Yamaguchi R, Komase K, Takeda M and Morikawa S. Canine distemper virus intrinsically uses monkey receptors and readily adapts to use human

receptors as well. 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim. Singapore, march, 2013.

3. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, and Takeda M Generation of a novel non-transmissible and cytosol-replicating RNA virus vector that encodes five iPS cell-inducing genes and a reporter gene. International Society for Stem Cell Research 2012 June 13-16, Yokohama, Japan
4. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, and Takeda M A novel non-transmissible measles virus vector with five iPS cell-inducing genes and a reporter gene. American society for virology 31th annual meeting 2012 July 21-25, Madison, USA
5. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. A structural and biochemical basis for the single serotype nature of MV. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, 2012 Sept. 11-14.
6. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. Virological, Structural and Molecular Bases for the Unchanged Antigenicity of Measles Virus. Osong Symposium on Infectious Disease 2012 Sept. 25-26
7. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. Measles virus utilizes the cellular microtubule network and specific endosomes for transport of the RNP complex, matrix protein and H glycoprotein. American society for virology 31st Annual meeting, USA, 2012
8. Mori Y, Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Takeda M. Rubella virus undergoes genome synthesis at the plasma membrane with induction of filopodia. 34th Naito Conference. Sapporo, Oct 2012
9. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine distemper virus possesses an ability to use human nectin4 as a receptor. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity Sept 2012
10. Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Anraku M, Takeda M, Mori Y. N-terminal hydrophobic amino acid residues of the capsid protein are critical for co-localization with the p150 protein and production of rubella virus. The 11th Awaji international forum on infection and immunity, Sep 2012
11. Abe M, Kato A, Tahara M, Sakai K, Kanou K, Shirato K, Noda M, Kimura H, Ami Y, Matsuyama S, Mizuta K, Takeda M. Importance of the P3 glutamine residue for proteolytic activation of the fusion protein of parainfluenza viruses by TMPRSS2. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, 2012 Sept. 11-14.
12. Abe M, Kato A, Sakai K, Kanou K, Mizuta K, Shirato K, Matsuyama S, Takeda M. Proteolytic activation of the fusion protein of human and murine parainfluenza viruses by the type II transmembrane serine protease TMPRSS2. American society for virology 31th annual meeting 2012 July 21-25, Madison, USA
13. Khamla Lerdsaway K. Thammavongsa P. Ounnaphone B. Khamphaphongphanh V. Somoulay P. Vongphrachanh K. Komase K. Yamamoto S. Archkhawong P. Ketmayoon M. Phengxay T. Chanthapaseuth K. Feldon J. Denny H. Lewis. Rubella Susceptibility Study among Women of Child-bearing Age – Vientiane Capital, Lao PDR, 2010, 15th International Congress on Infectious Diseases, Bangkok, 2012 June 13-16.

国内学会

1. 竹田誠（基調講演）2012 年麻しんの現状と実験室の役割。第 53 回日本臨床ウイルス学会、大阪、2012 年

6月16-17日。

2. 駒瀬勝啓、高崎智彦、竹田誠　デング熱患者における麻疹IgM抗体の検出、第86回日本感染症学会学術講演会　長崎　2012年4月24日～25日
3. 駒瀬勝啓、秋吉京子、伊藤正寛、麻疹 IgM 抗体価測定による麻疹検査診断-偽陽性と感度の関係-、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺　2012年6月16日～17日
4. 駒瀬勝啓（シンポジウム）、麻疹の疫学、実験室検査診断、衛生微生物技術協議会第 33 回研究会　横浜　2012年6月28日～29日
5. 駒瀬勝啓（シンポジウム）、麻疹、風疹ウイルスと検査診断について、第 26 回公衆衛生情報研究協議会、研究会　沖縄　2013年1月24日～25日
6. 駒瀬勝啓（講演）、麻疹、風疹発生状況、ウイルス検査の概要と精度管理、平成24年度地方衛生研究所東海、北陸ブロック微生物部門専門家会議　名古屋　2012年10月18日～19日
7. 關文緒、Pratakpiriya Watanyoo、大槻紀之、酒井宏治、福原秀雄、前仲勝実、山口良二、竹田誠、イヌジステンパーウイルスの上皮および中枢神経感染におけるイヌNectin4の利用：第60回に本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月
8. 酒井宏治、關文緒、網康至、福士秀悦、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、「カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサル SLAM ならびに Nectin4 の効率的な利用」、第154回日本獣医学会学術集会、盛岡、2012年9月
9. 酒井宏治、關文緒、網康至、田原舞乃、中津祐一郎、大槻紀之、福原秀雄、福士秀悦、吉河智城、西條政幸、森川茂、前仲勝実、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠 カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか? 第60回日本ウイルス学会学術集会2012年11月
10. 酒井宏治、「犬ジステンパーウイルスの霊長類レセプターの利用について」、2nd Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2013年1月
11. 田原舞乃、**Melinda A. Brindley**、福原秀雄、酒井宏治、大野真治、駒瀬勝啓、**Paul A. Rota**、**Richard K. Plemper**、前仲勝実、竹田誠 麻疹ウイルス単一血清型決定の分子基盤 第60回日本ウイルス学会学術集会2012年11月
12. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹ウイルス H 蛋白質全エピトープの詳細な解析、第16回日本ワクチン学会学術集会　横浜 2012年11月17日～18日
13. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, and Takeda M. SIX IN A SINGLE PARTICLE: NOVEL NON-TRANSMISSIBLE MEASLES VIRUS VECTOR FOR DELIVERY OF SIX GENES ALL TOGETHER 第 18 回日本遺伝子治療学会 熊本　2012年6月
14. 中津祐一郎、鈴木忠樹、駒瀬勝啓、竹田誠、極性上皮細胞におけるリサイクリングエンドソーム経路を利用した麻疹ウイルスRNP複合体の細胞膜への輸送と感染性ウイルス粒子の産生、第60回日本ウイルス学会, 大阪, 2012
15. 大槻紀之、関塚剛史、關文緒、酒井宏治、久保田耐、福原秀雄、前仲勝実、山口良二、黒田誠、竹田誠　野外イヌジステンパーウイルスはヒトNectin4を受容体として利用できる。第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日
16. 岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、森　嘉生、竹田誠。風疹ウイルスワクチン株の温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の関連性。第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日
17. 坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、安楽正輝、竹田誠、森　嘉生。風疹ウイルスC蛋白質とp150蛋白質の共局在がウイルス産生に及ぼす影響。第６０回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月
18. 木所　稔、齋加志津子、網　康至、須崎百合子、加藤　篤、竹田　誠：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60回日本ウイルス学会総会、大阪、2012年11月
19. 白戸憲也、川瀬みゆき、渡邊王志、広川智香、松山州徳、西村秀一、田口文広「2004年および2008年に分離されたヒトコロナウイルス(HCoV)229E の国内分

離株とATCC株との間の抗原性の違いについて」第60回日本ウイルス学会学術集会　2012年11月　(大阪)

20. 安部晶子、加藤篤、田原舞乃、酒井宏治、加納和彦、白戸憲也、野田雅博、木村博一、網康至、松山州徳、水田克巳、竹田誠 膜貫通型セリンプロテアーゼTMPRSS2はパラインフルエンザウイルスF蛋白を活性化し増殖を促進する 第 60 回日本ウイルス学会学術集会2012年11月
21. 江角 眞理子、田井 雄飛、山口 裕美、中島 聡美、竹田 誠、脇田 隆字　細胞膜セリンプロテアーゼがC型肝炎ウイルス感染感受性に関与する。第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日
22. 伊藤 美菜子、岩崎 正治、竹田 誠、中村 崇規、柳 雄介、大野 真治　麻疹ウイルスの複製に関わる新規宿主因子の同定。第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日
23. 中山哲夫、改田厚、駒瀬勝啓、麻疹ウイルス野生流行株とワクチン株との鑑別、第53回日本臨床ウイルス学会、堺　2012年6月16日～17日
24. 渡辺正博、駒瀬勝啓、庵原俊昭、点状出血で発症したパルボウイルス感染症の臨床とウイルス学的検討～麻疹IgM抗体との交叉反応について～、第53回日本臨床ウイルス学会、堺　2012年6月16日～17日
25. 内野　清子、三好　龍也、森　嘉生、駒瀬勝啓、田中　智之、いわゆる臨床検体三点セットを用いた風疹ウイルス検出状況：第６０回ウイルス学会学術集会　大阪、2012年11月13日～15日
26. 秋山今日子、西尾陽平、田丸精治、長尾裕美子、下田宙、酒井宏治、永田典代、森川茂、下島昌幸、前田健、「自然宿主を用いた犬ジステンパーウイルス感染実験系の構築」、第 154 回日本獣医学会学術集会、盛岡、2012年9月
27. 加藤大志、岡本徹、福原崇介、寒原裕登、森田英嗣、森　嘉生、神谷　亘、松浦善治。日本脳炎ウイルスコア蛋白質による Stress Granule 抑制機構の解明。第６０回日本ウイルス学会学術集会、2012年11月
28. 新妻隆広、木所　稔：授乳婦に対するムンプスワクチン接種：接種後の母乳におけるワクチンウイルス検出、第16回日本ワクチン学会総会、横浜、2012年11月
29. 加藤　篤、永田志保、前寺知弥、木所　稔、永田典代、竹内　薫、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 16 回日本ワクチン学会総会、横浜、2012年11月
30. 氏家誠、白戸憲也、松山州徳、田口文広　「SARS-CoVの粒子形成におけるS蛋白質のER retrieval signalの役割について」　第60回日本ウイルス学会学術集会　2012年11月　(大阪)

III. そ の 他

1. 竹田誠、第５回小児感染症専門医育成フォーラム（東京）2012年7月28日「麻疹制圧、麻疹ウイルス研究の今」
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
3. 竹田誠、第32回ヒューマンサイエンス基礎研究抗集会　麻疹ウイルスのベクターとしての応用　2012 年 6 月 15 日
4. 竹田誠、栃木県小児科医会、小山地区医師会講演会わが国の麻疹風疹対策−麻疹風疹検査診断と注意点世界の麻疹風疹事情と日本の取り組み　2013 年 2 月 19 日
5. 竹田誠、第33回広島小児アレルギー研究会　麻疹の国内、世界最新事情−流行、ワクチン、研究　2013年2月21日
6. 竹田誠、国立感染症研究所FETP講義　ウイルス感染症（麻しん風しんを中心に）2013年4月8日
7. 竹田誠（監修）知ってほしい麻しん、風しん Q & A（改訂版）2013年3月25日

4.細菌第一部

部長　大西　真

概　要

当部では、多様な病原細菌に対する菌種内多様性の解析、病原機構の解明、新規検査法の開発を行ってきている。また、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、13価肺炎球菌コンジュゲートワクチンの承認前検査、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。

野菜を原因とする大規模な腸管出血性大腸菌の集団事例が発生した。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。特に、地方自治体の検査機関においてIS-printing による迅速な型別が普及してきた現状で、さらに詳細な型別と、そこから得られるデータの解析等で、果たすべき役割が増している。特に、重症度にかかわる因子が十分にあきらかになされていない現状で、細菌学的な知見と疫学的な解析との統合をめざし、リスクアセスメントを実施するための検討がなされた。また、血清群O157以外の他の血清群に属するEHECを対象とした研究の必要性が高まっている。特に，血清群O157以外の EHEC を原因とする溶血性尿毒症症候群の原因菌の同定のための検査系の開発および普及が重要な課題であり、精力的に進められた。

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。また、7 価ワクチンに含まれない多糖体からなる莢膜を産生する肺炎球菌による侵襲性感染症の増加が危惧され、１３価ワクチン導入後の原因菌株の動向を注視する必要がある。

劇症型溶血性連鎖球菌感染症、レジオネラ症に関するレファレンス活動が進められ、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、薬剤耐性菌の疫学・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。

なお平成24年4月より小川道永が第３室長として着任し、ワクチンの検定検査を担当するとともに、主に肺炎球菌の病原性解明に関する研究に着手している。

業　績

調査・研究

Ⅰ．腸管感染症に関する研究

1. 腸管出血性大腸菌：EHEC（志賀毒素産生性大腸菌：STEC）に関する研究

(1)菌株の多様性解析

ア　血清型別

平成24年に送付されたSTECは総計2,840株で、このうち､ヒト由来の2,766株について分離頻度の高い順に、O157（約62.2%：H7 または H-），O26（約14.4%：H11, H-など），O111（約7.6%:H-など），O145（約5.2%：H-など），O103（約4.1%：H2,　H11など），O121（約3.1%:H19など），O91(約0.8%:H14, H21など），O165(約0.47%:H-)

となっており、その他（約 2.1%）は少なくとも 31 種類の O 血清群(51 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］。

イ　健常者糞便由来 STEC の血清学的解析

健常者から分離されるSTECの特徴を調査する目的で、調理従事者らの業態者検便において分離された菌株400菌株の血清型を決定した。354株は分離頻度の高い順に091(88株)、0103（21株:H2および1株:H-）、08（15株）、0113（15株）、0128（15株）、0110（13株）、0157（10株:H7および3株:H-）、0146（10株）となり、その他は60種類のO血清群に分類された。［石原朋子、高井信子、伊豫田淳、佐藤人美、佐藤寿夫（日本微生物研究所）、大西真］

ウ　腸管出血性大腸菌の PFGE による DNA 型別

2012 年に国内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 のうち 1431 株および O26, O111 等を含むその他の血清型 909 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。2012 年にヒトから分離された O157 については、XbaI 消化により 691 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（6～19 ヶ所）から分離されたパターンとして、Type No.(TN) e807, g255, h62, h88, h128, h150 の 6 種類があった。また、O26 では、XbaI 消化により 188 種類の PFGE パターンが観察され、そのうち、TN h13 を示す株は、8 ヶ所の府県から分離された。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 あるいは O26 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］

エ　腸管出血性大腸菌 O157 の Multiple-Locus VNTR Analysis による解析

PFGE により TN e807, g255, h62, h88, h128, h150 を示す腸管出血性大腸菌 O157 及び TN 13 を示す O26 について、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 h88 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 e807 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。一方、2012 年に発生した集団事例の一つでは、既報のとおり、大部分が同一リピート数を示したが 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が含まれていた。［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］

オ　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、「PulseNet Japan」と同様、ユーザ名とパスワード管理下で部分的な公開を行った。［寺嶋　淳、中島雪絵、斉藤康憲、菱谷　愛、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、三戸部治郎、石原朋子、大西　真］

(2)病原機構解明に関する研究

ア　LEE の発現制御遺伝子 Ler による LEE 外部の病原性遺伝子の発現制御機構

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エフェクターなどをコードし、これらの機能は腸管への初期接着過程に必須である。LEE の発現は内部にコードされる Ler によって正の制御を受けている。LEE 外部にコードされるエフェクター遺伝子と *lacZ* の融合遺伝子を用いた遺伝学的な解析から、LEE 外部のエフェクター遺伝子の大部分は Ler によって正に制御される一方、転写レベルで負に制御されるエフェクター遺伝子が存在することが明らかとなった［伊豫田淳、谷千尋（東京医科歯科大学・修士 1 年)、寺嶋淳、大西真］。

イ　エフェクタータンパク質Esp01-2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。EspO1-2 は潜在的に integrin-linked kinase(ILK)結合活性を有するが、その活性の有無にか

かわらず EspM2 に相互作用した。また、EspM2 非存在下で感染細胞内の EspO1-2 は Focal adhesion への局在を増加したが有意な差は認められず、細胞内においても EspM2 が EspO1-2-ILK 結合活性にほとんど影響し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]

（３）検査法に関する研究

ア　溶血性尿毒症症候群（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 12 件中、0157 が 8 件、 0165 が 1 件ずつ陽性例があり（陽性率 75%）、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、石原朋子、齊藤剛仁（情報セ）、寺嶋淳、大西真]。

イ　血清診断の迅速診断法としての有用性について

2012 年 7 月に K 大学病院で菌不分離（VT 陰性の O74 のみ分離）の HUS 症例が報告された。患者血清を解析したところ、0157 抗体陽性（抗体価 640 倍）であることが判明した。同時に検査依頼のあった同一患者の血便から、0157 特異的免疫磁気ビーズを用いた菌分離を試みたところ、*stx1* および *stx2* 陽性の O157:H7 が分離された。血清診断の結果に基づいて効率よく菌分離が行うことが可能となった事例であった[伊豫田淳、高井信子、石原朋子、寺嶋淳、大西真]。

ウ　EHEC 分離濃縮法の改良

腸管出血性大腸菌を検体から効率的に分離濃縮するための検査法を改良・開発することを目的として、免疫磁気ビーズ法に利用可能な標的抗原を検索し、菌体表層の病原因子を候補として抗体を作成した。得られた抗血清に関して、標的抗原に対する抗体が含まれることを確認し免疫磁気ビーズ結合処理を行った。［石原朋子、大西真］

2. 赤痢菌に関する研究

(1)菌株の多様性解析

ア 赤痢菌の分子疫学解析

2012 年に当研究所に送付された赤痢菌 135 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。2012 年 8 月に発生したトルコツアーの事例など、集団事例および家族内感染事例が 9 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。また渡航歴のない散発事例において複数県にまたがって同じ、もしくは類似した遺伝子型を示す株も認められた。なお、*Shigella sonnei* では 2012 年に 59 の MLVA 型が新たに検出された。[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。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、翻訳レベルで Type III 分泌装置のレギュレーターである InvE（VirB）蛋白の発現が増加し、温度による発現調節が消失していた。YfgA は近年、桿菌の桿状構造を形成するバクテリア細胞骨格蛋白 RodZ として同定されているが、これらの表現型は RodZ に細胞骨格以外の機能があることを示唆していた。

InvE の mRNA の分解を野生型と比較したところ、*rodZ* 変異体では *invE* の mRNA が大きく安定化していることが示された。また、高度に精製した RodZ 蛋白は *invE*-RNA と強く結合することが分かった。さらに RNA 結合能は塩基性ドメイン部分に依存すること、多量体を形成することが必須なことが分かり、RodZ の細胞骨格以外の機能として、RNA 結合能を初めて明らかにした。

［三戸部治郎］

3. サルモネラ属菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア サルモネラのファージ型別

2012 年に当研究所にファージ型別のために送付されたサルモネラ株は 162 株であった。うち 116 株は血清型 Enteritidis であり、S 県で発生した食中毒事例に関連した RDNC 株が 45 株と最多であり、次いでファージ型(PT)47 が 38 株、PT1 が 12 株、PT55 が 7 株、その他 14 株であった。

同じく Typhimurium は 46 株送付された。検出されたファージ型(DT)は、DT104 が 25 株、DT40 が 14 株、その他 7 株であった。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真]

イ チフス菌、パラチフス A 菌のファージ型別

2012 年に国内で分離され、地方衛生研究所・保健所から送付されたチフス菌、パラチフス A 菌についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 29 株、パラチフス

A 菌 23 株であり、前年の菌株数と同程度であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が多く、その他には A、B1、D2、E9、M1 等が検出された。パラチフス A 菌ではファージ型 1、2 で大半を占めたが、5、6 も検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

ウ サルモネラの血清型別

2012 年に当研究所で血清型別を行った菌株は 14 株であった。同定された血清型は、Albany、Kentucky、Newport、Thompson、I 4:i:-、I 7:l,v:-、IIIb 61:l,v:1,5,7 などであった。[泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真]

エ *Salmonella* Infantis に関する研究

Salmonella Pathogenicity Island など、種々の病原因子に関連した遺伝子の分布をサルモネラ分離株を用いて調べた。その結果、血清型によって遺伝子分布に差があることが示唆された。また、*S.* Infantis においては *irp2* 遺伝子の有無によって 2 グループに分かれることが示唆された。*S.* Infantis についてはさらに SNP 解析によって、上記グループと相関した SNV グループがあることが示唆された。[泉谷秀昌、李志英、黒田誠、大西真]

オ チフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2012 年に国内で分離されたチフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性を検討した。ニューキノロン系薬剤 3 薬剤、第 3 世代セフェム系薬剤 2 剤、その他従来の治療薬等合計 16 剤を用いた。感受性試験の結果、チフス菌で 69.0%、パラチフス A 菌で 87.0%がナリジクス酸に対して耐性であった。また、ニューキノロン系薬剤に耐性を示すチフス菌が 2 株検出された。一方、第 3 世代セフェム系抗菌薬に耐性を示すチフス菌・パラチフス A 菌は検出されなかった。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

4. ビブリオ属およびその類縁細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア コレラ菌の分子疫学解析

2007-2009 年にベトナムでコレラ流行が発生した際のコレラ菌の解析を行った。MLVA による解析の結果から、比較的類似したコレラ菌株が多様な MLVA 型に派生しつつ、流行を起こしていた可能性が示唆された。[Nguyen Binh Minh(ベトナム、NIHE)、泉谷秀昌、大西真]

イ *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生するものがあり、近年我が国や米国、欧州で散発例から分離された O141 や米国の散発例から分離された O141 と交差関係のある O75 では、コレラ様の激しい下痢症状も認められる。すでに O141 およびそれと交差反応のある O53、O75、O162 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。このうち O141、O75 に特異的な領域を標的とした PCR を設計し、*V. cholerae* の全 O 血清群について探索を行った所、いくつかの O 血清群の菌株が陽性となった。これらの血清群についてもその O 抗原合成遺伝子領域の解析を行い、その類似性について検討を行なっている。また、国内での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]

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

平成 24 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 96 株で *Vibrio cholerae* および *Aeromonas* spp. が含まれ、36 株は国内、60 株は海外からの依頼であった。国内株の内 8 株は、家畜の下痢症由来 *V. cholerae* non-O1/non-O139 で同一の O 血清型によるものであった。また国内 5 事例 9 株は、患者由来の *V. cholerae* non-O1/non-O139 によるもので、うち 1 事例 5 株は敗血症から、4 事例 4 株は下痢症からの分離株であった。下痢症事例のうち 1 事例は激しい下痢症の後、腸管壊死から死亡に至った事例であった。その他の国内株は *Aeromonas* spp. による敗血症由来株 16 事例 19 株(平成 24 年度以前の分離株を含む)であった。海外からの型別依頼株はクロアチア、ベトナムの敗血症由来株各 1 株とイタリアの下痢症患者と環境からの分離株 58 株で、いずれも *V. cholerae* non-O1/non-O139 であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

(2) 病原機構解明に関する研究

ア コレラ菌のIII型分泌装置遺伝子群のコレラ菌株間での水平伝播

III 型分泌装置(T3SS)遺伝子群のコレラ菌株間での水平伝播を明らかにするため、T3SS 遺伝子領域にクロラムフェニコール耐性遺伝子を挿入した T3SS 陽性株のゲノム DNA をキチン存在下で培養した T3SS 陰性株の培養液に添加した。得られた形質転換体について境界領域を標的とした PCR を行い、形質転換体に T3SS 遺伝子群が取り込まれていることを確認した。[森田昌知、泉谷秀昌、荒川英二、山本章治、大西真]

イ　コレラ菌のキチン誘導型コンピテンスに関わるシグナル伝達因子 TfoS の機能解析

コレラ菌は自然宿主由来のキチン［$(GlcNAc)_{n\geqq 2}$］を分解し、栄養源として利用することができる。また、キチンの分解産物$(GlcNAc)_2$はコレラ菌の DNA コンピテンスを誘導するシグナル分子としてはたらく。現在までにキチン誘導型コンピテンスを支配する遺伝子発現制御機構について解析を行い、1) $(GlcNAc)_2$はコンピテンスレギュロンのアクティベーター遺伝子 *tfoX* の翻訳を活性化すること、2) その翻訳活性化には、$(GlcNAc)_2$誘導性の non-coding RNA である TfoR が関わること、3) $(GlcNAc)_2$による TfoR の発現誘導には、推定上の膜貫通型転写因子 TfoS が必要とされることを明らかにしてきた。本年度は、遺伝学的・生化学的手法を用いて TfoS の機能を詳細に解析した。TfoS は、N 末端側にリガンド結合ドメイン、C 末端側に DNA 結合ドメイン、および両者の間に膜貫通ドメインをもち、リガンド結合ドメインがペリプラズム側に、DNA 結合ドメインが細胞質側に位置していることが予測されていた。この予測は、細胞分画解析と膜トポロジー解析によって実験的に示された。各ドメインの役割を欠失解析によって調べたところ、DNA 結合ドメインは TfoR の発現に必須であった。これに対してリガンド結合ドメインは、$(GlcNAc)_2$が存在しない場合に TfoS の活性を負に調節する役割をもつことが示唆された。精製した TfoS (DNA 結合ドメインを含む領域のみ) は *tfoR* のプロモーター領域に特異的に結合し、その転写を活性化した。また、DNase I フットプリンティングによって TfoS が結合する塩基配列を特定した。[山本章治]

(3) ビブリオ属菌の環境調査

夏季を中心に沿岸海水を採取し、*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温度および塩分濃度によって異なる影響があることが示唆された。[泉谷秀昌、森田昌知、宮﨑麻由(宮城県保健環境センター)、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)、古川真斗(熊本県保健環境科学研究所)、荒川英二、山本章治、大西真]

５．原因不明食中毒事例に関する研究

国内で発生した原因不明食中毒事例において、原因病原体として大腸菌が疑われるが既知の病原性大腸菌の病原因子を保有しない大腸菌に関して、その病原性（細胞付着性および細胞侵入性）の評価を行った。原因不明食中毒事例由来の大腸菌は、非病原性大腸菌と比較して明らかな細胞付着性の増加が認められたが、細胞侵入の有無は確認できなかった。また、この細胞付着パターンは腸管出血性大腸菌や腸管病原性大腸菌による diffuse-adherence pattern とは異なることが示唆された。［石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所）、大西真］

II. 呼吸器感染症およびレンサ球菌感染症に関する研究。

１．レンサ球菌属に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

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

2011 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、1161 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、T1 (361/1161, 31.1%)、T12 (250/1161, 21.5%)、TB3264 (129/1161, 11.1%)であった。T1、T12 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。特に T1 型が、2011 年増加している(2010 年, 19.9%、2011 年, 31.1%)。TB3264 型の分離比率は、2010 年、急激に上昇し、2011 年も 10%台を維持していた (2009 年, 5.3%、2010 年, 12.6%、2011 年, 11.1%)。[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 (東京健安研セ)、嶋智子 (富山衛研)、勝川千尋 (大阪公衛研)、富永潔 (山口環保セ)、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 76 例中、*emm1* 型(M1 型)が 54 例(71.1%)と最も多く、次いで *emm89* 型(M 型別不能)が 7 例(9.2%)、*emm12* 型(M12)が 6 例(7.9%)、*emm28*(M28、型別不能)が 5 例(6.6%)と多かった。*emm4* (M4)、*emm9* (M 型別不能)、*emm106* (M 型別不能)、*emm118* (M 型別不能)型による症例はそれぞれ 1 例(1.3%)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（東京健安研セ)、嶋智子（富山衛研)、勝川千尋（大阪公衛研)、富永潔（山口環保セ)、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

2011 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 76 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、76.1%（51/76）の株が、耐性を示し、昨年（2010 年, 59.3%）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て 6.58%(5/76)の株が耐性を示し、昨年（2010 年, 5.08%）より分離率が上昇した。［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（東京健安研セ)、嶋智子（富山衛研)、勝川千尋（大阪公衛研)、富永潔（山口環保セ)、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

2011 年、24 症例報告があり、22 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、*stG245*, *stG652*, *stG6792*型がそれぞれ 4 例と最も多く、次いで、*stG6* が 3 例、*stG485* が 2 例と多かった。そのほか、*stG10*, *stG653*, *stG2078* 型, *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（東京健安研セ)、嶋智子（富山衛研)、勝川千尋（大阪公衛研)、富永潔（山口環保セ)、緒方喜久代（大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

オ A 群、G 群以外の劇症型レンサ球菌感染症のサーベイランスと起因株の血清型

2011 年、2 例の B 群レンサ球菌、2 例の C 群レンサ球菌、および 1 例の F 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。菌種は、B 群は 2 例とも *S. agalactiae*、C 群は 1 株が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*、もう 1 株が *S. constellatus* ssp. *pharyngis*、F 群は *S. anginosus* 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]

カ 小児侵襲性感染由来肺炎球菌の疫学調査。

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業（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、庵原俊昭(国立病院機構三重病院]）

キ 健常児に定着する肺炎球菌の解析。

2008 年に佐渡島で出生した健常小児を対象とし、生後 4、7、10、18 ヵ月、および 36 ヵ月に上咽頭培養検査より分離された肺炎球菌の血清型別およびシークエンスタイピングを行い、肺炎球菌保菌に関する危険因子などを解析した。[常 彬、大塚岳人(佐渡総合病院)]

２．レジオネラ属細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア Sequence-based typing (SBT) 法による解析-臨床分離株の解析

レジオネラ・レファレンスセンターで前年度に収集した *L. pneumophila* は 45 株で 38 人の患者から分離された。分離株数に対して患者数が少ないのは、3 人の患者から、それぞれ 4 株（4 種類の血清群）、4 株（すべて血清群 1 だが、4 種類の遺伝子型）、2 株（2 種類の血清群）の *L. pneumophila* が分離されたためである。3 人とも溺水事例だった。感染源が入浴施設と推定されているのが 12 例（32%）で、例年半数近くが入浴施設であるのに比べ少なかった。血清群の内訳は血清群 1 が 37 株、血清群 3、6 が各 2 株、血清群 2、9、12、型別不能が各 1 株だった。臨床分離株 45 株は 32 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち新規遺伝子型は 13 種類であった。［前川純子；渡辺ユウ（仙台市衛研)；渡辺祐子（神奈川衛研)；磯部順子（富山衛研)；田中 忍（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)；倉 文明、大西 真；Working Group for *Legionella* in Japan］

イ Sequence-based typing (SBT) 法による解析-環境分離

株の解析

L. pneumophila 血清群 1 の分離株について、冷却塔関連株 13 株、シャワー水 3 株、加湿器 2 株、浴槽関連株 20 株、計 38 株について遺伝子型別を行った。一部は感染源調査に付随して分離されたものだが、患者分離株と遺伝子型が一致する場合もしない場合もあった。冷却塔水由来株は ST1 が多いことが知られているが、今年度の調査でも半数が ST1 だった。浴槽水は多様性に富んでいた。加湿器やシャワー水についてはさらに検査数を増やす必要がある。［前川純子、縣 邦雄・井上浩章（アクアス株式会社）、江川 武・佐々木林子（文京保健所）、猪又明子（東京都健康安全研究センター）、山本一成（新潟市衛生環境研）、渡辺祐子（神奈川衛研）、渡辺祐子（神奈川県衛生研究所）、倉　文明］

ウ　SBT 遺伝子型の minimum spanning tree 解析

今までに解析した *L. pneumophila* 環境分離株 225 株（感染源調査で分離され患者分離株と遺伝子型が一致した事例の 10 株を含む）は 78 種類の遺伝子型に分けられた。臨床分離株でも見られた ST は 23 種類だったが、そのうち 6 種類は感染源と確定した環境分離株のみで見られた ST だった。したがって、環境に生息する一部の菌が感染すると考えられた。菌株間の遺伝子型による近縁度を解析するため minimum spanning tree を作成したところ、10 のグループが形成されたが、どのグループに属するかは菌株の由来と相関があった。すなわち浴槽水分離株の大部分は B1、B2、B3 の 3 つのグループに、土壌分離株のほとんどは S1、S2、S3 のいずれかのグループに、冷却塔水分離株はほとんどが C1、C2 の 2 つのグループに属した。さらに少数の株からなる由来がさまざまなグループ U が形成された。今までに解析した *L. pneumophila* 血清群 1 の臨床分離株 217 株について minimum spanning tree 解析を行うと、環境分離株の遺伝子型によるグループと対応させることができた。浴槽水分離株が多いグループに属する臨床分離株は実際に浴槽水が感染源のものが多かった。また、土壌分離株が多いグループに属する臨床分離株は感染源不明のものが多く、土埃などからの感染、あるいは土壌が混入している水からの感染が考えられた。グループ U に属する菌株も多く、まだ認識されていない感染源があることも示唆された。［前川純子；渡辺ユウ（仙台市衛研）；渡辺祐子（神奈川衛研）；磯部順子（富山衛研）；田中　忍（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）；倉　文明、大西　真；Working Group for *Legionella* in Japan］

エ　富山県で分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の分子疫学解析

2005〜2012 年に分離された臨床分離株 17 株及び環境分離株 56 株（公衆浴場分離株 51 を含む）をパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）と sequence-based typing（SBT）で比較した。SBT で 43 の sequence type（ST）、PFGE で 52 遺伝子型に分かれた。その内 14 ST は富山に固有だった。ST505 は患者から 4 株、公衆浴場から 5 株分離され、PFGE 型は 2 つに分かれ、県西部の川沿いに分布した。さらに、浴槽水とは関連しない臨床分離株 7 株からなるクローナルグループが見出され、未解明の感染源が示唆された。［金谷潤一、磯部順子、木全恵子、嶋　智子、清水美和子（富山県衛生研究所）；倉　文明；佐多徹太郎、綿引正則（富山県衛生研究所）］

(2)　検査法の開発に関する研究

ア　DNA-DNA ハイブリダイゼーション法による *Legionella pneumophila* 亜種の同定

レジオネラ症の主要な起因菌である *L. pneumophila* は subsp. *pneumophila*、subsp. *fraseri*、subsp. *pascullei* の 3 亜種に分類されることが知られている。マイクロプレートでの比色による DNA-DNA ハイブリダイゼーション（DDH）法を用いたこれらの鑑別法を確立した。3 亜種の基準株および ATCC 株、計 18 株（血清群毎に各 1 株、血清群 5 のみ 4 株）を用いてこの鑑別法の正確さを確認できた。次に国内分離株 128 株について同様に DDH 法を実施したところ、1〜15 の全血清群に *L. pneumophila* subsp. *pneumophila* が分布し、血清群 1、3、4、11 で subsp. *fraseri* の存在が確認され、複数の血清群に分布することが分かった。subsp. *pasucullei* は見出されなかった。遺伝子型別法である sequence-based typing (SBT) 法と亜種との相関を見ると、SBT 法で用いられる遺伝子のうち、特定の *pilE* の遺伝子配列をもつものが DDH 法により、*L. pneumophila* subsp. *fraseri* と同定される可能性が出てきた。　［山崎利雄（バイオセーフティ管理室）前川純子、小谷野路子・村井美代（埼玉県立大学・健康開発学科）、倉　文明］

イ　*Legionella anisa* のスライド凝集反応

L. anisa は冷却塔水からよく分離される。日本の *L. anisa* 株は、ビオメリューのラテックス凝集同定キット（BLx）に対して感度が悪い。そこで DDH キットと 16S rRNA 遺伝子の塩基配列により *L. anisa* と同定済みの 24 株に対して、デンカ生研により作製されたレジオネラ免

疫血清アニサの反応性を検索した。作製された免疫血清は、BLx 陽性 12 株はすべて凝集させ、BLx 陰性 12 株は 4 株凝集、8 株は遅く凝集させた。[倉　文明、前川純子]

III　ボレリア属、レプトスピラ属、髄膜炎菌感染症に関する研究

1. ボレリア感染症に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 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. 本年度までに解析が終了した国内分離株は計 88 株に達した. またこれら解析結果から, 国内患者由来株の大多数を占める *Borrelia garinii* では, ST128, ST131, ST362 の 3 つの ST 型が患者分離株の 43%を占有すること, またこれら ST は自然界では *Myodes rufocanus bedfordiae, Apodemus speciosus, A. argenteus* から見出されることが明らかとなった. 特に *M. rufocanus bedfordiae* から分離された 9 株は, いずれも患者から分離された株と一致することが明らかとなった. [川端寛樹, 佐藤梢, 大西真 (細菌第一部), 高野愛 (山口大学), 伊東拓也 (北海道立衛生研究所), 今内覚, カイルテイラー, 坪田敏男 (北海道大学), 石畝史 (福井県衛生環境研究センター), 中尾稔 (旭川医科大学)]

(2) ボレリア属感染症に関する疫学研究

ア 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継続的に行った。ライム病を伝播するシュルツェマダニが生息する東北地方では供試した猟犬血清のうち、ウエスタンブロット法によりその 48.8%で抗ライム病抗体陽性と判定された。北信越地方以南の抗体陽性率は 23.5%以下であることから、マダニの曝露機会が高いと考えられる猟犬を歩哨動物とする血清疫学調査は、病原体浸潤地域を調べる上で有用であると考えられる。[川端寛樹, 佐藤梢, 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), 高野愛 (山口大学)]

イ *Borrelia miyamotoi* による回帰熱に関する研究

回帰熱の国内感染例は 1950 年代より 1 例も報告されていない. 他方, 1995 年に我が国で発見された *Borrelia miyamotoi* が, 2011 年に, ロシアで回帰熱様感染症の病原体として新たに同定された. このことから本研究では, 医療従事者向け啓発パンフレットを作成配布するとともに, その国内実態解明を目的として, 媒介が疑われるマダニの *B. miyamotoi* 保菌調査などを開始した. [川端寛樹, 佐藤梢, 大西真 (細菌第一部), 高野愛 (山口大学), 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)]

2. レプトスピラ属菌感染症に関する研究

(1) 菌株多様性解析

ア MLVA によるレプトスピラ分離株の分子タイピング

日本, フィリピンおよびベトナムで分離された *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. MLVA は, これまでの分子タイピング法で同じタイプと分類された異なる血清群分離株を識別できることが明らかとなった. またこれらの国に分布する *L. interrogans* と保有動物の多様性および普遍性が明らかとなった. [小泉信夫, 武藤麻紀, 大西真 (細菌第一部)]

(2) 病原機構解明に関する研究

ハムスターを用いた *Leptospira interrogans* 2 血清型の病原性の比較

レプトスピラは血清型により病原性が異なることが知られているが, そのメカニズムは明らかになっていない. レプトスピラ症モデル動物ハムスターに対し, *L. interrogans* 血清型 Hebdomadis は 10^7 細胞を感染させても致死には至らなかったが, 血清型 Manilae は 10 細胞で致死感染を引き起こした. 肺臓, 肝臓, 腎臓の病理像は Manilae のほうが重篤であったが, 血中の菌数は両血清型で有意差はみとめられなかった. したがって, 菌血症レベルはハムスターの病型に関連しないことが明らかとなった. [小泉信夫, 大西真 (細菌第一部) 藤田理恵 (東京農工大学)]

(3) 保有動物調査

ア　各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

10 都県 39 頭のレプトスピラ症疑いイヌのうち 6 頭からレプトスピラが分離され, すべて *L. interrogans* serogroup Hebdomadis と同定された. 静岡県および東京都のドブネズミから L.interrogans serogroup Icterohaemorrhagiae および Pomona を分離した (分離率：静岡県 22%, 東京都 18%). [小泉信夫, 武藤麻紀, 大西真 (細菌第一部), 春成常仁, 谷川力 (イカリ消毒技術研究所), 小松謙之 (シー・アイ・シー)]

3. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株多様性解析

ア　髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

本年度は例年に比べて臨床分離株の収集数が少なく、2012年度1年間に感染研に収集された株は3株のみであった。その3株の髄膜炎菌の疫学的解析を行なった。それらの髄膜炎菌株の血清型はW-135群、B群、及び型別不能（莢膜多糖体非合成株）であった。MLST法による分子疫学的解析の結果はST-184株、ST-687、ST-198であった。今年度の分離株の中では血清群 W-135 の ST-184の株が注目される。過去の疫学解析から日本の臨床分離株はB群及びY群が大勢を占めており、海外で多く認められるA群、C群及び今回のW-135群は極めて稀で、認められた場合の多くは海外渡航歴があることが多い。この臨床分離株は敗血症患者の血液から分離され、患者には渡航歴がないため、国内での感染が推測され、日本国内の髄膜炎菌の分布に関しては全体像が掴み切れていないことを示唆する一例と判断された。本年度までは髄膜炎菌性髄膜炎としてしか報告義務のない中で臨床検査の先生のご高配によって菌株の解析をする事が出来た。来年度からは髄膜炎のみならず敗血症症状も含めた「侵襲性髄膜炎菌感染症」として感染症法で改訂されるため臨床分離株の分離数も増える事が予想される。積極的に国内の臨床分離株の解析をしていく必要性があろう。[高橋英之、大西真]

(2) 病原機構解明に関する研究

ア　*gltT-gltM* グルタミン酸トランスポーターを介した髄膜炎菌の細胞侵入時に発生する転写制御のRNA seqによる網羅的解析

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細胞侵入の際に GltT を介した髄膜炎菌のグルタミン酸の一過的な取り込みが髄膜炎菌及び宿主細胞へのシグナルとなって髄膜炎菌の細胞侵入が起こる機構の存在を見出した。しかし、グルタミン酸の一過的な取り込みが髄膜炎菌にどう作用しているかは不明であるため、転写制御、翻訳制御、代謝制御をすべて網羅的に解析する事にした。ヒト脳血管内皮細胞(HBMEC)に髄膜炎菌野生株及び*gltT-gltM* 変異株を感染させ、そこから細菌の全RNAを回収してRNA-seqによる発現差異を解析した。結果は現在解析中であり、差異のある遺伝子群が髄膜炎菌の細胞侵入に関与する因子として考えられ、髄膜炎菌の感染機構に関する新たな展開が期待される。[高橋英之、大西真（感染研）、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ）]

(3)　検査法の開発に関する研究

ア　咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康保菌者の検出方法の開発

2011年5月の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）を機に髄膜炎菌の健康保菌者の割合に関しての疑問が再出した。10年前に実施された、高校生約2000人を対象とした小規模の疫学解析では約0.4%であると推定されている。しかし、髄膜炎菌検出の困難さと解析結果のアップデートの必要性を加味すると再度健康保菌者の調査は必要であると考えられた。そこで咽頭うがい液中の髄膜炎菌DNAを検出する事により健康保菌者の検出する系の構築を試みた。鋭敏で簡便なLAMP法を適用して髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子及び莢膜多糖体合成遺伝子の一部である *ctrB* 遺伝子をターゲット遺伝子とした検出系を構築した。その結果、ナイセリア属菌検出用として選定した髄膜炎菌 *ggt* 遺伝子及びそのホモログの淋菌 *ggh* 遺伝子をターゲットとした検出系に関してはナイセリア属菌の中でも淋菌及び髄膜炎菌に特異的に反応し、反応液中に10 pgのゲノムDNAがあれば検出できた。一方で *ctrB* は病原性のある血清群の髄膜炎菌(A,B,C,Y,W-135,X)の6群のみに陽性反応を示し、反応液中に1pgのゲノムDNAがあれば陽性反応を示した。以上の結果から髄膜炎菌においては検体中の髄膜炎菌DNAを1～10 pgのレベルで1時間以内に検出する系が構築された。今後はこの系を用いて咽頭うがい液を用いた健康保菌者の保菌率について更に解析する予定である。[高橋英之、大西真]

IV 泌尿生殖器感染症に関する研究

1. 淋菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 首都圏の臨床分離株のレトロスペクティブ分子タイピング

淋菌の分子タイピングとしてクローナリティ検知に優れたNG-MAST法が多用される。最近の傾向として国内でも海外でもNG-MAST型がST1407及びST2958のものが主流を占めることが多数報告されているが。これらの型の最初の出現時期などは分かっていない。今回、我々は東京保健会病体生理研究所細菌検査室にストックされていた2005～2011年に首都圏に於いて分離された計147株にアクセスできる機会を得て、レトロスペクティブなNG-MAST解析及びMIC測定を行った。

結果、ST1407、ST2958型はいずれも2005年には検出できず、2006年に初例がある事、また、その後2008年にPrevalence rateのピークを迎え、その後も他の型とは違い、持続して検出が続いていること、などを明らかに

した。また、2011 年分離 ST1407 型株中に国内では現時点では多くない、アジスロマイシン MIC=16 μg/ml の株を２株発見した。また、危惧されたセフトリアキソン耐性株はこの時期の首都圏分離株からは見いだされなかった。[中山周一、高山美奈子*、志牟田健、鈴木和馬**、島村友子**、大西真]（*：東京保健会病態生理研究所細菌検査室、**：北里大学薬学部）

イ　京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

2012 年 4 月から 2013 年 3 月の間に、京都市の 2 箇所及び大阪府の 3 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 235 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 62 株(26.4%)、25 株(10.6%)、110 株(46.8%)、179 株(76.2%)、231 株(93.3%)が感受性株であった。近年危惧されている CTRX 耐性株は分離されなかった。[志牟田　健、石原朋子、中山　周一、大西　真]

ウ　*penA* 遺伝子 501A 位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501AlaがPro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 残基が Ala、Pro、Val の３種の Variant *penA* をまず、plasmid 上で作製し、単一の感受性株に導入した。都合９実験区から得られた第３世代セフェムへの MIC が４倍以上上昇した Transformants について、導入した各タイプの *penA* を保持しているかを確認中である。[中山周一、志牟田健、大西真]

(2) 病原機構解明に関する研究

髄膜炎菌の培養細胞における接着の研究

淋菌と髄膜炎菌との組織トロピズムの違いに着目して、尿道炎の発症メカニズムを詳細に説明し予防戦略構築を目指すため、本研究では主に尿道炎由来髄膜炎菌の細胞接着性に着目している。これまでに尿道炎由来株と非尿道炎由来株の HeLa 細胞感染時における初期接着に有意差があることを明らかにし、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。本年度は、高接着型を示す株の HeLa 細胞感染時における *opa* の関与について検討した。これまでの知見により Opa タンパク質とホスト細胞の相互作用には Heparin sulfate proteoglycan(HSPG)もしくはCEACAM分子が必要であるとされている。ヘパリン存在下では HPSG 依存的な接着を示す菌株とホスト細胞との相互作用が阻害され、感染実験時における菌株の細胞接着性が低下する。そこで、ヘパリン存在下における高接着型を示す 2 株の HeLa 細胞に対する細胞接着性を確認したところ、ヘパリン非存在下と比較し、1 株は HeLa 細胞に対する明らかな接着能の低下が見られた。このことより、HeLa 細胞に対して高接着型を示す髄膜炎菌は HSPG 依存的、非依存的な株に分かれることが示された。また髄膜炎菌は 4 つの *opa*(A,B,D,J)を保持しているが、この内どの opa が HeLa 細胞に対する細胞接着に関与しているのかを明らかにするために、現在それぞれの *opa* の欠失株の作製を試みている。[志牟田　健、高橋　英之、大西　真]

2. 梅毒トレポネーマの研究

(1) 菌株の多様性解析

ア　梅毒トレポネーマの分子タイピング

１つの STI クリニックと共同で、皮膚病変が有り、初期梅毒を疑う場合の病変漿液からの梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子タイピングとを実施した。

PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 8 例で、このうち４例は海外でも最頻とされる 14/d/f、ついで 2 例が 14/d/c で、11/o/c と 14/b/c が 1 例ずつであった。今後データ蓄積が必要であるが、国内初の梅毒トレポネーマ分子タイピング結果を提出できた。[中山周一、井戸田一朗*、石原朋子、大西真]（*：しらかば診療所）

(2)検査法に関する研究

ア　梅毒の核酸診断

梅毒トレポネーマは、現在 in vitro 培養不可能な菌であり、病原体ベースの直接的診断が困難である。近年、感度・特異性に優れた PCR 検出系が提案されている。初期梅毒を疑う場合の病変漿液を直接鋳型とする簡便 PCR での梅毒トレポネーマ DNA 検出系の評価をした。

今年度は、18 件の疑い症例を検討し、12 例で PCR 陽性結果を得た。６例の陰性群中で血清学的には梅毒と診断されたものは２例で、そのうち１例は病変検体採取１週間前から治療先行していた例であった。これらのことから、

PCR 法がかなりの感度を有しており、特に血清抗体陽転前の皮膚病変からの病原体診断として非常に有用であると判断した。[石原朋子、中山周一、井戸田一朗（しらかば診療所)、大西真]

イ　直接蛍光抗体法とＰＣＲ法の比較検討

顕症梅毒疑い症例由来臨床検体から梅毒トレポネーマの有無を確認する検査法を比較検討する目的で、Tp 特異抗体を用いた直接蛍光抗体法および PCR 法を行った。20 検体中、直接蛍光抗体法陽性は 11 検体、PCR 法陽性は 14 検体であった。また、PCR 法陽性の 14 症例は、梅毒血清反応等による確定診断において梅毒と診断された。

［石原朋子、中山周一、井戸田一朗（しらかば診療所)、大西真]

3. 尿路病原性大腸菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア　血清学的解析

尿路病原性大腸菌の市中伝播の程度を明らかにすることを目的として、膀胱炎患者から分離される大腸菌株の解析を行った。急性膀胱炎の患者から得られた大腸菌株172株のO血清群を決定した。108株は分離頻度の高い順に、O1（約14%）、O2（約10%）、O25（約10%）、O18（約8%）となり、その他は12種類のO血清群に分類された。[石原朋子、高井信子、伊豫田淳、松川雅則（滝川市民病院）、大西真]

イ　PFGEによる分子疫学解析

急性膀胱炎の患者から得られた大腸菌株172株について、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）による分子疫学解析を行った。いくつかのO血清群においてクラスターが確認された。O血清群O1においてPFGEパターン類似株(6株）が存在し、市中において類似菌株群が存在している可能性が示唆された。［寺嶋 淳、中島雪絵、斉藤康憲、高井信子、石原朋子、伊豫田淳、松川雅則（滝川市民病院）、大西 真]

Ⅴ　口腔内細菌感染症に関する研究

1. う蝕原因菌に関する研究

(1)　病原機構解明に関する研究

ア *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を抑制する小豆成分の同定

Streptococcus mutans は、口腔バイオフィルムを形成する主な細菌でありう蝕原因菌として考えられている。このバイオフィルムを阻害する分子を検討するために様々な植物由来成分の検討を行った。その結果、小豆成分に抑制物質が存在することが明らかとなった。この抑制物質は熱処理することにより活性を失うことからタンパク質であることが明らかとなった。さらにイオン交換クロマトグラフィーを用いて抑制蛋白質の精製を行うと 50kDa の分子であることがわかり、LC-MS/MS 解析により 7S グロブリンである可能性が高まった。現在、この抑制蛋白質が 7S グロブリンであるかどうかの検討を行っている。[泉福英信、荒井俊明、大西　真]

イ　*Streptococcus mutans*の病原性発現に関わる遺伝子の探索

S. mutans の病原性因子に関与する重要を探索するために、バイオフィルム形成の高い臨床分離株（FSC-3）および低い株（FSC-4）それぞれのバイオフィルムを用いたマイクロアレイ解析によって，FSC-3 において発現量の高かった 43 個の遺伝子を同定した。それら遺伝子の中から、遺伝子情報データベースにおいて機能が推測されている遺伝子から 7 個をランダムに選択し研究対象にした。7 個の候補遺伝子（SMU*574*, SMU*940*, SMU*1013*, SMU*1596*, SMU*1598*, SMU*2065* および SMU*2066*）それぞれの遺伝子変異株を作製した後，バイオフィルム形成および形質転換能について評価を行った。SMU*1013* および SMU*1598* 変異株のバイオフィルム形成量は野生株に比較し有意に低下した。形質転換効率を調べた結果，SMU*2065* および SMU*2066* 変異株の形質転換効率は有意に減少した。これらの遺伝子は、*S. mutans* の病原性に関与している可能性が考えられた.[鈴木奈央未、泉福英信、成澤直規、大西　真]

ウ　*Streptococcus mutans* における凝集性に関わる遺伝子の検討

S. mutans UA159 の SMU940 変異株は、親株に比べ凝集性が高まる。そこで、この変異株の凝集性上昇のメカニズムを明らかにするために、*S. mutans* UA159 の SMU940 と gbpC のダブル変異株を作製し検討を行った。gbpC は、ストレス環境下においてグルカンを介して凝集する際に最も関わるグルカン結合蛋白質(GbpC)をコードする遺伝子である。その結果、*S. mutans* UA159 の SMU940 と gbpC のダブル変異株は、凝集性を失った。よって、SMU940 変異株の凝集性の上昇は表層に発現するグルカン結合蛋白質(GbpC)の発現に影響していることが明らかとなった。[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* と

Staphylococcus aureus との複合バイオフィルム形成

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 の放出の調節、遺伝子の取り込みに関わることが明らかとなった。*S. mutans* UA159.*sunL* 変異株は、glucoseの含まれたToryptic soy broth 存在下で培養すると、耐酸性の低下、extracellular DNA(eDNA)の放出に影響を受けバイオフィルム形成が上昇した。このバイオフィルムに *S. aureus* を加えると、さらにバイオフィルム形成が上昇した。eDNAを介して *S. mutans* と *S. aureus* の複合バイオフィルムが形成されたことが示唆された。［泉福英信、大西　真］

オ Extracellular DNA による *Streptococcus mutans* バイオフィルム形成へのフルクタナーゼへの影響

S. mutans UA159.*sunL* 変異株や *S. mutans* UA159.*pknB* 変異株は、glucoseの含まれたToryptic soy broth存在下で培養すると、親株よりもバイオフィルム形成が上昇する。このバイオフィルム形成の上昇は、DNase を加えると抑制される。砂糖あるいはフルクタンを分解する酵素であるフルクタナーゼをバイオフィルム形成実験に加えると *S. mutans* UA159.*sunL* 変異株のバイオフィルム形成を抑制するが *S. mutans* UA159.*pknB* 変異株のバイオフィルム形成は抑制されなかった。よって、*S. mutans* UA159.*sunL* 変異株のバイオフィルム形成の上昇には、eDNA と多糖体の存在が関わり、*S. mutans* UA159.*pknB* 変異株のバイオフィルム形成の上昇には、eDNAは関与するが多糖体は関与しない可能性が考えられた。[泉福英信、大西　真］

2. 歯周病に関する研究

(1)　病原機構解明に関する研究

ア　歯周病患者血清を用いた *Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェシクル（OMV）の免疫学的解析

P. gingivalis が産生するOMVの強力な粘膜免疫原性が明らかとなっている。本研究では、20名の歯周病患者血清を用いてOMVのイムノブロット解析を行った。その結果、血清間で共通する45および70 kDaのバンドが認められた。この抗原プロファイルは、アルギニンジンジパイン(Rgp)抗体を用いたイムノブロットで現れるバンドパターンに相似していた。このバンドに相当するタンパクをLC-MS/MS解析に供試したところ、Rgpと同定された。以上より、実際の患者の生体内においても、OMVが運ぶRgpタンパクと血清抗体との複合体形成を介して、免疫反応がおきている可能性が示唆された。[中尾龍馬、古園さおり（東京大学)、高柴正悟（岡山大学)、渡邉治雄、大西真、泉福英信]

イ　Rgpに依存した *P. gingivalis* のOMVによる口腔扁平上皮細胞の脱離活性

P. gingivalis のOMVには、口腔扁平上皮細胞株をプレートから脱離させる活性が認められ、その活性は熱処理により完全に失われる。このOMVによる口腔扁平上皮細胞の脱離に、OMV に含まれるタンパク分解酵素であるジンジパインが関与するかどうかを検討した。そのジンジパインの一つであるRgpの触媒ドメインに対する抗体でOMVを前処理すると、OMVによる細胞の脱離は完全に阻害された。以上より、OMVによる細胞脱離活性は、OMV の表層にある Rgp に依存することが明らかとなった。このことは、*P. gingivalis* の OMV が運ぶ Rgp を介して歯周組織が破壊される可能性を示唆している．[中尾龍馬、渡邉治雄、大西真、泉福英信]

ウ　密度勾配遠心法により精製された *P. gingivalis* の OMV の解析

P. gingivalis の OMV は菌培養上清を超遠心して得られる沈渣として回収されるが、それには線毛も混入している。本研究では OMV をより高度に精製すること目的に、粗精製を Optiprep 密度勾配遠心に供試した。その結果、OMV は比重の軽い複数の分画に、そして線毛のほとんどは最も重い分画にそれぞれ回収され、両者を分離することができた。さらに、OMV が含まれている複数の分画のうち、大きな粒径の OMV ほど軽い分画に回収されていた。また、線毛を含む重い分画には上皮細胞をプレートから脱離させる活性はなかったが、OMV を含む分画には、その活性が認められた。[中尾龍馬、尾花望、白東英、大西真、泉福英信]

エ　磁性ビーズを用いた *P. gingivalis* のOMVの高度精製法

OMV が市販の磁性ビーズに結合する特性を見出したので、これを利用し、菌培養上清の超遠心後の沈渣である OMV をさらに精製できるか試みた。粗精製 OMV を磁性ビーズと混和後、ビーズと結合しないものを洗浄で取り除き、得られた結合画分と非結合画分に含まれる内容物を、SDS-AGE やイムノブロット等で調べた。結果、OMV はビーズに結合したが、混入していた線毛はビー

ズに結合しなかったため、線毛を短時間かつ効果的に取り除くことができた。OMV とビーズの解離には、酸処理や高塩濃度処理では効果はなく、２M 尿素が効果的であった。尿素処理後も OMV はその形態と活性を保持していることが確認された。 [中尾龍馬、尾花望、白東英、大西真、泉福英信]

3 口腔感染症のモデル動物を用いた検討

(1) マウス口腔における*Candida albicans*菌糸形成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*- マウスに菌糸形成した *C. albicans* を接種して、*C. albicans* の初期口腔定着の成立が唾液分泌低下と口腔常在菌とどのように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 *C. albicans* 菌糸形成菌の口腔定着が認められた。また、砂糖水を飲ませた後口腔常在菌の菌量の増加にも *C. albicans* 菌糸形成の口腔定着は影響しなかった。*C. albicans* 口腔への初期定着には唾液分泌量が低下や口腔常在菌の菌量は影響しないことが考えられた。[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) 歯科医療機関における効果的な院内感染対策の促進に関する研究

現在の歯科医療機関は、研修会によりスタンダードプレコーションの理解度は高まっているが、HIV のような特殊な感染症患者の歯科治療を自分の歯科医院にて受け入れるまでには到達できてなかった。年齢が 50 歳以上、口腔外科の標榜しない、一日の患者数が 35 名以下の歯科医療機関は、院内感染対策の導入が難しいことが統計学的に明らかになった。これらのグループに対して、いかにスタンダードプレコーションを理解させていくかが、院内感染対策を普及していく上で鍵となる。そのためには、目で見る、耳に入れる機会を増やす対策としてホームページを作成した。また統一された内容の一般歯科医院対象の研修会および指導者育成の講習会の開催を企画した。[泉福英信、多田章夫（兵庫大学）]

レファレンス業務

Ⅰ. レジオネラ症に関するレファレンス業務

平成 24 年度は、臨床分離株 62 株、環境分離株 50 株合計 112 株を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 57 株、Lp SG2 と Lp SG3 と Lp SG5 と Lp SG9 と Lp SG10 の各 1 株であった。温泉旅館で感染した 3 事例（内 1 事例は溺水）4 株、温泉付き健康福祉施設で感染した事例 1 株、公衆浴場で 2 名集団感染疑いの事例 2 株を含んだ。Lp の遺伝子型別（SBT）を検査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 30 株、Lp SG10 の 5 株、Lp SG6 の 4 株、Lp SG5 の 1 株、*Legionella jamestowniensis* 2 株、同一施設の浴槽水由来で既存の菌種とは異なる L. spp. 8 株であった。この環境分離株中には、まれな環境水由来株（道路の水溜まり 5 株、シャワー水 1 株の合計 6 株)、症例調査に関連した株（15 株）を含んだ。なお、収集された株は、必ずしも平成 24 年度に分離された株ではない。[倉　文明、前川純子、大西　真]

II. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた劇症型/重症レンサ球菌感染症患者分離菌株の血清型別、*emm* 遺伝子の塩基配列による型別、*spe* 遺伝子の保有状況等の検査及び結果および流行状況の報告、および、患者分離株の血清型別の流行に関する全国集計を行っている。[池辺忠義、大西真、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

サーベイランス業務

品質管理に関する業務

I. 肺炎球菌に対するワクチンに関する検定検査業務

SLP 導入のための書類整備を実施し、検定検査業務を実施した。[小川道永、常　彬、前川純子、池辺忠義]

II. 体外診断薬

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無かったが、現在申請中の梅毒抗体検出薬に関して、抗原のうち１分子種を省略したものが有り、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の担当者からの相談を受ける形で、試薬構成の妥当性を担保する方法について検討を重ねた。［中山周一］

国際協力関係業務

Ⅰ. ベトナムにおける JICA プログラムに関する業務

1. ベトナム地方衛生研究所へのペスト菌の迅速診断法

の指導、ベトナム、2012 年 8 月（高橋　英之）
2. ベトナム地方衛生研究所へのコレラ菌の分離培養、同定法の指導、ベトナム、2013 年 2 月（泉谷秀昌）

II. 中南米血液スクリーニング講習会
今年度も JICA 主催の中南米検査関係者等に表記講習会で梅毒の講義を行った（H25 年 1 月 23 日、当所)。[中山周一]

研修業務

Ⅰ. 新興再興感染症技術研修
1. 平成24年度・短期研修・新興再興感染症技術研修（国立保健医療科学院）において、下痢原性大腸菌検査診断について地衛研及び保健所の担当職員19名に対して実習を行った。東京、2012年11月。[伊豫田淳、伊藤健一郎、泉谷秀昌、石原朋子、三戸部治郎、森田昌知、寺嶋淳、大西真]

2. 平成 24 年度新興再興感染症技術研修会
平成 24 年度新興再興感染症技術研修会(国立保健医療科学院)「下痢原性大腸菌検査診断実習」平成 24 年 11 月 5-9 日（伊豫田　淳）

Ⅱ. 希少感染症診断技術研修会

平成 24 年度希少感染症診断技術研修会＜消化器感染症＞「腸管出血性大腸菌の分離状況と血清診断」 平成 25 年 2 月 27 日（伊豫田　淳）

II. レジオネラ属菌に関する講習会
1. 平成 24 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）で、レジオネラ属菌の特色、検査および消毒について講演し、集団感染事例をふりかえった。公衆浴場・旅館業の営業施設、福祉施設及び医療施設の衛生管理者をはじめ、それらの施設を指導・所管する県・市町村の職員その他空調設備、給湯設備等の施設管理者等、964 人他を対象とした。2012 年 7 月、宮崎。[倉　文明]

2. 平成 24 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）で、最近のレジオネラ症の動向と *Legionella pneumophila* の遺伝子型のグループ化と生息環境の対応について、都道府県等の公衆浴場等生活衛生関係技術担当職員等 351 名に講演した。2013 年 3 月、東京都 [倉　文明、前川純子]

3. 平成 24 年度郡山市レジオネラ症防止対策講習会（郡山市保健所）で、公衆浴場及び旅館業の営業者・管理者、遊泳用プールの営業者・衛生管理者、特定建築物の維持管理権原者及び建築物環境衛生監理技術者、ビル管理登録業者、市関係部署の 73 名他に対しレジオネラ症防止のための衛生管理について講演した。2013 年 3 月、郡山市。[倉　文明]

その他

埼玉の温泉施設の集団感染事例に関連して、FM ラジオ局 J-WAVE からレジオネラ症について電話取材があった。起因菌・症状・感染経路・季節・近年の増加傾向の有無・予防法・治療法について解説した。2012 年 12 月。[倉　文明]

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ. 誌　上　発　表

1.　欧文発表

(1) Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Helbig JH, Kaneko S, Suzuki-Hashimoto A, Furuhata K, Chang B, Murai M, Ichinose M, Ohnishi M, Kura F. Working Group for *Legionella* in Japan. 2012. Distribution of monoclonal antibody subgroups and sequence-based types among *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates derived from cooling tower water, bathwater, and soil in Japan. Appl Environ Microbiol. 12:4263-70.

(2) Awasthi SP, Asakura M, Chowdhury N, Neogi SB, Hinenoya A, Golbar HM, Yamate J, Arakawa E, Tada T, Ramamurthy T, Yamasaki S. Novel Cholix Toxin Variants, ADP-Ribosylating Toxins in *Vibrio cholerae* Non-O1/Non-O139 Strains, and Their Pathogenicity. Infect Immun. 2013 Feb;81(2):531-41.

(3) Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, Holden MTG, Zhang C, Jiang X, Koizumi N, Taylor K, Galloway R, Hoffmaster AR, Craig S, Smythe LD, Hartskeerl RA, Day NP, Chantratita N, Feil EJ, Aanensen DM,Brian G. Spratt BG, Peacock SJ. A single multilocus sequence typing (MLST) scheme for seven pathogenic *Leptospira* species. PLoS Neglected Trop Dis. 2013, 7: e1954.

(4) Chowdhury G, Pazhani GP, Dutta D, Guin S, Dutta S, Ghosh S, Izumiya H, Asakura M, Yamasaki S, Takeda Y, Arakawa E, Watanabe H, Mukhopadhyay AK, Bhattacharya MK, Rajendran K, Nair GB, and

Ramamurthy T. *Vibrio fluvialis* in patients with diarrhea, Kolkata, India. Emerg Infect Dis. 2012; 18: 1868-71.

(5) Fujioka K, Arakawa E, Kita J, Aoyama Y, Manome Y, Ikeda K, Yamamoto K. Detection of *Aeromonas hydrophila* in Liquid Media by Volatile Production Similarity Patterns, Using a FF-2A Electronic Nose. Sensors (Basel). 2013 Jan 7;13(1):736-45.

(6) Fujisawa T, Kadosaka T, Fujita H, Ando S, Takano A, Ogasawara Y, Kawabata H, Seishima M. *Rickettsia africae* Infection in a Japanese Traveller with Many Tick Bites. Acta Dermato-Venereologica. 2012. 92: 443-444.

(7) Fukumatsu, M., Ogawa, M., Arakawa, S., Suzuki, M., Nakayama, K., Shimizu, S., Kim, M., Mimuro, H. & Sasakawa, C. *Shigella* Targets Epithelial Tricellular Junctions and Uses a Noncanonical Clathrin-Dependent Endocytic Pathway to Spread Between Cells. Cell Host Microbe, 11:325-336. (2012)

(8) Fukumatsu, M., Ogawa, M., Kim, M., Mimuro, H., Sasakawa, C. Uptake of Shigella-containing pseudopodia by neighboring epithelial cells at tricellular junctions via non-canonical clathrin-dependent trafficking pathway. Virulence, 3:515-517 (2012)

(9) Gamage CD, Tamashiro H, Ohnishi M, Koizumi N. Epidemiology, Surveillance and Laboratory Diagnosis of Leptospirosis in the WHO South-East Asia Region. In Zoonosis, edited by Jacob Lorenzo-Morales (ISBN 978-953-51-0479-7), InTech, Croatia, 2012.

(10) Gaowa, Wuritu, Wu D, Yoshikawa Y, Ohashi N, Kawamori F, Sugiyama K, Ohtake M, Ohashi M, Yamamoto S, Kitano T, Takada N, Kawabata H. Detection and characterization of p44/msp2 transcript variants of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected ticks and wild deer, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2012. 65: 79-83.

(11) 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

(12) 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.

(13) Hoang TH, Wertheim H, Minh NB, Duong TN, Anh DD, Phuong TT, Son TH, Izumiya H, Ohnishi M, Shibayama K, and Hien NT. Carbapenem resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* containing New Delhi Metallo-Beta-Lactamase isolated from two patients in Vietnam. J Clin Microbiol. 2013 Jan; 51(1): 373-4.

(14) Iguchi A, Iyoda S, Ohnishi M; EHEC Study Group.Molecular characterization reveals three distinct clonal groups among clinical Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains of serogroup O103.Journal of Clinical Microbiology, 50, 2894-2900, 2012.

(15) Kanaguchi N, Natisawa N, Ito T, Kinoshita Y, Kusumoto Y, Shinozuka O Senpuku H. Effects of salivary protein flow and indigenous microorganisms on initial colonization of *Candida albicans* in an *in vivo* mode. BMC Oral Health. 2012, 12: 36.

(16) Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, and Watahiki M: Molecular epidemiology of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates identify a prevalent sequence type, ST505, and a distinct clonal group of clinical isolates in Toyama prefecture, Japan. J Infect Chemother, in press. Published online: 27 December 2012.

(17) Katagiri N, Shobuike T, Chang B, Kukita A, Miyamoto H. The human apoptosis inhibitor NAIP induces pyroptosis in macrophages infected with *Legionella pneumophila*. Microbes Infect 2012, 14:1123-1132.

(18) Klionsky, DJ. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. Autophagy, 8: 445-544. (2012), 著者 1252 人中 804 番目（Ogawa, M.,）

(19) Kobayashi, T., Ogawa, M., Sanada, T., Mimuro, H., Kim, M., Ashida, H., Akakura, R., Yoshida, M., Kawalec, M., Reichhart, J., Mizushima, T. & Sasakawa, C. A bacterial caspase inhibitor antagonizes inflammatory cell death and promotes epithelial infection. Cell Host Microbe, 13:570-583. (2013)

(20) Koizumi N, Nakajima C, Harunari T, Tanikawa T,

Tokiwa T, Uchimura E, Furuya T, Mingala CN, Villanueva MA, Ohnishi M, Suzuki Y. A new loop-mediated isothermal amplification method for rapid, simple, and sensitive detection of *Leptospira* spp. in urine. J Clin Microbiol. 2012, 50: 2072-2074.

（21）Koizumi N, Yasutomi I. Prevalence of leptospirosis in farm animals. Jpn J Vet Res. 2012, 60: S55-S58.

（22） Konnai S, Yamada S, Imamura S, Nishikado H, Githaka N, Ito T, Takano A, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. Identification of TROSPA homologue in *Ixodes persulcatus*, Schulze, the specific vector for human Lyme borreliosis in Japan. Ticks and Tick-borne Diseases. 2012. 2: 75-77.

（23） 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.

（24） Miyashita A, Iyoda S, Ishii K, Hamamoto H, Sekimizu K, Kaito C. Lipopolysaccharide O-antigen of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is required for killing both insects and mammals. FEMS Microbiol Lett. 2012 333, 59-68. 2012.

（25） Morita-Ishihara T, Miura M, Iyoda S, Izumiya H, Watanabe H, Ohnishi M, Terajima J. EspO1-2 regulates EspM2-mediated RhoA activity to stabilize formation of focal adhesions in enterohemorrhagic Escherichia coli-infected host cells. PLoS One, 8:e55960, 2013.

（26） 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 and Alam M. Role of shrimp chitin in the ecology of toxigenic Vibrio cholerae and cholera transmission. Front. Microbio. 2:260, 2012.

（27） Nakao R, Ramstedt M, Wai SN, Uhlin BE : Enhanced biofilm formation of *Escherichia coli* LPS mutant defective in Hep biosynthesis. PLoS One 2012, 7(12):e51241.

（28） Nakayama S, Tribuddharat C, Prombhul S, Shimuta K, Srifuengfung S, Unemo M, Ohnishi M. Molecular analyses of TEM genes and their corresponding penicillinase-producing Neisseria gonorrhoeae isolates in Bangkok, Thailand. Antimicrob Agents Chemother 2012, 56:916-20.

（29） Nwafor-Okoli C, Koizumi N, Kularatne SA, Rajapakse J, Gamage CD, Muto M, Suzuki M, Lee RB, Kanda K, Obayashi Y, Tamashiro H. *Leptospira* infection at the University of Peradeniya Teaching Hospital, Sri Lanka: clinical and laboratory investigations. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2012, 43: 943－950.

（30） Oishi T, Ishiwada N, Matsubara K, Nishi J, Chang B, Tamura K, Akeda Y, Ihara T, Nahm MH, Oishi K, the Japanese IPD Study Group. Low opsonic activity to the infecting serotype in pediatric patients with invasive pneumococcal disease. Vaccine, 2013, 31: 845–849.

（31）Otsuka T, Chang B, Shirai T, Iwaya A, Wada A, Yamanaka N, Okazaki M, on behalf of the SADO-study Working group. Individual risk factors associated with nasopharyngeal colonization with *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*: A Japanese birth cohort study. Pediatr Infect Dis J, 2013, 2, doi:10.1097/INF.0b013e31828701ea.

（32） Sanada, T., Kim, M., Mimuro, H., Suzuki, M., Ogawa, M., Oyama, A., Ashida, H., Kobayashi, T., Koyama, T., Nagai, S., Shibata, Y., Gohda, J., Inoue, J., Mizushima, T. & Sasakawa, C. The *Shigella flexneri* effector OspI deamidates UBC13 to dampen the inflammatory response. Nature, 483:623- 626. (2012)

（33） Sanada, T., Kim, M., Mimuro, H., Ashida, H., Ogawa, M., Mizushima, T., Sasakawa, C. A bacterial effector targets the TRAF6-NFκB pathway to modulate the acute inflammatory response to bacterial invasion of epithelial cells. Virulence, 3:518-520 (2012)

（34） Satoh K, Narita T, Matsuki-Fukushima M, Okabayashi K, Ito T, Senpuku H, Sugiya H. E2f1-deficient NOD/SCID mice have dry mouth due to a change of acinar/duct structure and the down-regulation of AQP5 in the salivary gland. Pflugers Arch. 2013, 465: 271-281.

（35） Senpuku H. (2012) A quick statistically accurate diagnosis system using salivary IgA for oral disease. Chapter 2, pp27-43, Book: Current Trends in Biotechnology, Editted by Tiwari Santosh. Lambert Academic Publishing, Germany.

（36） Takahashi H, Yanagisawa T, Kim KS, Yokoyama S, Ohnishi. M: Meningococcal PilV potentiates *Neisseria meningitidis* type IV pilus-mediated internalization into human endothelial and epithelial cells. *Infect Immun.*

2012, 80(12): 4154-4166.

(37) Takano A, Sugimori C, Fujita H, Kadosaka T, Taylor K, Tsubota T, Konnai S, Tajima T, Sato K, Watanabe H, Ohnishi M, Kawabata H. A novel Relapsing fever *Borrelia* sp. infects the salivary glands of the molted hard-bodied tick, *Amblyomma geoemydae*.. Ticks and Tick-borne Diseases. 2012. 3: 259-261.

(38) Tanaka J, Ishiwada N, Wada A, Chang B, Hishiki H, Kurosaki T, Kohno Y. Incidence of childhood pneumonia and serotype and sequence-type distribution in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Japan. Epidemiol Infect 2012, 140:1111-1121.

(39) Tokiwa T, Harunari T, Tanikawa T, Komatsu N, Koizumi N, Tung KC, Suzuki J, Kadosaka T, Takada N, Kumagai T, Akao N, Ohta N. Phylogenetic relationships of rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*, isolated from different geographical regions revealed widespread multiple lineages. Parasitol Int, 2012, 61: 431-436.

(40) Ueno M, Ishii Y, Tateda K, Anahara Y, Ebata A, Iida M, Inamura S, Takahata K, Suzuki Y, Chang B, Wada A, Sugita M, Tanaka T, Nishiwaki Y. Prevalence and risk factors of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children in Japan. Jpn J Infect Dis 3013, 66:22-25.

(41) 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 56: 1273-1280. 2012

(42) Unemo M, Golparian F, Limnios A, Whiley D, Ohnishi M, Lahra M, Tapsall J. In vitro activity of ertapenem vs. ceftriaxone against Neisseria gonorrhoeae isolates with highly diverse ceftriaxone MIC values and effects of ceftriaxone resistance determinants-ertapenem for treatment of gonorrhea? Antimicrob Agents Chemother 56: 3603-3609, 2012.

(43) Yamauchi T, Takano A, Maruyama M, Kawabata H. Human infestation by *Amblyomma testudinarium* (Acari: Ixodidae) tick in Malay Peninsula, Malaysia. Journal of the Acarological Society of Japan. 2012. 21(2): 143-148.

(44) Zhang X, Senpuku H. Dynamic changes in the initial colonization of *Actinomyces naeslundii* and *Streptococcus gordonii* using a new animal model. Japanese Journal Infectious Diseases, Jpn J Infect Dis. 2013, 66: 11-16..

2. 和文発表

(1) 荒川英二：小児の中毒 II. 各論:食中毒 1. 細菌性食中毒 1)感染型 2)腸炎ビブリオ p. 1321-1326 小児科臨床 65巻増刊号(2012)

(2) 泉谷秀昌:WHO-AGISAR について。動物用抗菌剤研会報、第 34 号、13-18、2012 年 11 月

(3) 大竹映香，稲冨 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．2012．66(4)：362-366.

(4) 小川道永、病原細菌を標的とした選択的オートファジーの分子メカニズム，生物工学学会誌，90:200. (2012)

(5) 小川道永、病原細菌を標的としたオートファジーにおける新規認識機構，化学と生物，50:160-162. (2012)

(6) 小川道永、細胞侵入性細菌のオートファジーによる認識機構，炎症と免疫，20：151-156. (2012)

(7) 木村亜矢子、米山 啓、岸 宏久、小豆畑康児、角坂照貴、高野 愛、川端寛樹．フタトゲチマダニの幼虫および若虫による多発刺咬症の 2 例．臨床皮膚科．2012．66(10)：817-821.

(8) 倉 文明、前川純子：レジオネラ症とは http://www.nih.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/530-legionella.html、2013 年 2 月.

(9) 小泉信夫，大西真．人獣共通感染症としてのレプトスピラ症．養豚界．2012，47：43-45.

(10) 小泉信夫，大西真．レプトスピラ症の現状と診断および治療について．日本医事新報．2012，4622：48-49.

(11) 志牟田 健、飛 田 収一、伊東 三喜雄、藤原 光文、上田 朋宏、亀岡 博、古林 敬一、川畑 拓也、大 西 真: 京都府と大阪府における 2010 -2011 年に分離された淋菌株の性状解析.日本性感染症学会誌.2012,23:83-89.

(12) 勢戸和子、伊豫田淳、寺嶋 淳；小児の感染症診断 Update－迅速診断法を中心に 腸管出血性大腸菌の確定診断と迅速診断法 小児科臨床、日本小児医事出版社、65、2583-2587、2012

(13) 高野 愛、川端寛樹．輸入爬虫類に寄生する吸

血マダニのリスク．地球環境．2012. 17(2): 167-174.

(14) 高橋英之、髄膜炎菌性髄膜炎菌、Medical Technology、Vol.40 No.4, 351-352,2012

(15) 高橋英之、大西真、侵襲性髄膜炎菌感染症の最近の問題点、小児科、Vol.53 No.5,615-621、2012.

(16) 田原研司，川端寛樹，安藤秀二，新井 智，板垣朝夫，渡邊治雄．島根県におけるつつが虫病の疫学的検討．日本獣医師会雑誌．2012. 65: 535-541..

(17) 寺嶋 淳； 腸管出血性大腸菌食中毒 特集 食中毒 臨床とウイルス、日本臨床ウイルス学会、41, 81-89, 2013

(18) 寺嶋 淳；腸管出血性大腸菌食中毒の細菌学的な解析からわかること 獣医公衆衛生研究 全国公衆衛生獣医師協議会、15, 11-16, 2013

(19) 寺嶋 淳；肉の生食と消化管感染症 特集 感染症:診断と治療の進歩 日本内科学会雑誌、101, 3154-3161, 2012

(20) 寺嶋 淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、齊藤剛仁、三戸部治郎、石原明子、大西 真；最近の腸管出血性大腸菌感染症の動向について 日本食品微生物学会雑誌 29、88-93, 2012

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

(1) Chinen, I., Stroika, S.G., Terajima, J., Zolezzi, G., Iyoda, S., D´Astek, B., Ohnishi, M., Watanabe, H., Gerner-Smidt, P., Rivas, M. International clones of STEC O157 studied by PFGE and virulence profile in three Pulsenet countries : USA, Japan and Argentina. 8th International Symposium on Shiga Toxin Producing Escherihia coli Infections, Amsterdam, 2012, May

(2) Cogger N, Kadohira M, Koizumi N, Toyokawa T. Leptospirosis exposure in workers involved in rice production in Japan – an example of BBN model. Joint 61st WDA/10th Biennial EWDA Conference, Lyon Jul, 2012.

(3) Dongying Bai, Nakao R, Hiroshi Uematsu, Hidenobu Senpuku: Humoral immunity against *Porphyromonas gingivalis* in mice intranasally vaccinated with outer membrane vesicles. First International Conference on *Porphyromonas gingivalis* and Related Bacterial Species. 2012. Nagasaki, Aug, 2012.

(4) Inaba T, Sakaguchi A, Yawata Y, Senpuku H, Uchiyama H, and Nomura N, Sucrose Induces the Extracellular DNA release in *Streptococcus mutans* Biofilm, Biofilm 5, Paris, France, December 12, 2012.

(5) Junko Amemura-Maekawa, Fumiaki Kura, Hiroyuki Tawara, Yuko Watanabe, Junko Isobe, Shinobu Tanaka, Hiroshi Nakajima Shuji Yoshino, Shinjiro Abe, Takako Misaki, Tomoe Shimada, Taku Wakui, Yuki Tada, Makoto Ohnishi. Grouping of clinical isolates of *Legionella pneumophila* SG1 in Japan, using SBT analysis and environmental habitats. ESGLI 2012 (1st Meeting of the ESCMID Study Group for *Legionella* Infections), Dresden, Germany, Sep. 2012.

(6) Kinoshita Y, Kanaguchi N, Narisawa N, Ito T, Tominaga A, Kusumoto Y, Shinozuka O and Senpuku H、Effects of salivary protein flow and indigenous microorganisms on initial colonization of *Candida albicans* in an animal model, Biofilm 5, Paris, France, December 12, 2012.

(7) Koizumi N, Gamage CD, Rajapakse JRPV, Kularatne SAM, Muto M, Tamashiro H, Ohnishi M. Serological and genetic analysis of human and animal leptospirosis in Sri Lanka. Conference on Sri Lanka Japan Collaborative Research 2013, Sri Lanka, Mar 2013.

(8) Kreth J, Senpuku H, and Merritt J. Novel bioluminescence reporter systems in oral streptococci, 91th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Seattle, USA. March. 2013.

(9) Matsumura T, Ikebe T, Ohnishi M, Watanabe H, Kobayashi K, Ato M. The defensive role of a novel interferon-γ-producing subpopulation of immature myeloid cells in severe invasive group A Streptococcus infections. 99th Annual meeting The American Society of Immunologists. USA, Boston. May 2012

(10) 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

(11) Morita M.: Antimicrobial resistance of typhoidal *Salmonella* in Japan. The 9th Taiwan-Japan symposium on preparedness, surveillance and response to new emerging, re-emerging infectious diseases and infectious diseases associated with disaster. Taipei, Taiwan. Sep. 2012

(12) Ogawa M、Selective autophagy for intracellular bacteria、11th Korea-Japan International Symposium on Microbiology (XI-KJISM), Buyeo, Korea, September 13-14, 2012

(13) Senpuku H and Nakao R, Roles of outer vesicles of *Porphyromonas gingivalis* for a mucosalimmune response. First International Conference on *Porphyromonas gingivalis*. Nagasaki, Japan, August. 2012.

(14) Senpuku H, Maeda T and Ito T. *Streptococcus mutans* biofilm formation in a new NOD/SCID.e2f1$^{-/-}$ mouse model, 90th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Iguas Fall, Brazil. July. 2012.

(15) Senpuku H, Yoneda S, Suzuki N. Regulator genes of dextran-independent aggregation and biofilm in *Streptococcus mutans*, 91th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Seattle, USA. March. 2013

(16) Senpuku H, Fujimaru T, Arakawa T, Ishizaki T, Hayman R, Kono Y, Sekine S, Suzuki H, anf Ikemi T. Reduction in Oral MS ratio by NanoHydroxyapatite ; a clinical trial, 91th general session and exhibition of the International Association for Dental Research, Seattle, USA. March. 2013.

(17) 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. 8th International Symposium on Shiga Toxin Producing Escherihia coli Infections, Amsterdam, 2012, May

2. 国内学会

(1) 秋吉充子、井口純、伊豫田淳、大西真：大腸菌の 0 抗原合成遺伝子を標的とした PCR 法と LAMP 法の開発 第 33 回日本食品微生物学会学術総会、福岡、2012 年 10 月

(2) 井口純、伊豫田淳、秋吉充子、大西真：大腸菌の 0 抗原合成遺伝子領域の網羅的解析と菌株分類法への利用の検討 第 33 回日本食品微生物学会学術総会、福岡、2012 年 10 月

(3) 井口 純、伊豫田淳、大西真：大腸菌 0 血清群を判定するマルチプレックス PCR 法の開発 第 86 回日本細菌学会総会、千葉、2013 年 3 月

(4) 池辺忠義．劇症型溶血性レンサ球菌感染症の細菌学的解析．第 21 回 Lancefield レンサ球菌研究会および第 44 回レンサ球菌感染症研究会合同学会、大阪、2012 年 6 月．

(5) 池辺忠義、奥野ルミ、緒方喜久代、嶋智子、大屋日登美、渡邉治雄、大西真．2006-2010 年に分離された劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離株の遺伝子型と薬剤感受性．第 86 回日本感染症学会総会、長崎、2012 年 4 月．

(6) 泉谷秀昌、多田有希、伊藤健一郎、齊藤剛仁、大西真：*Shigella sonnei* における分子疫学解析について。第 86 回日本感染症学会総会、2012 年 4 月、長崎県長崎市。

(7) 泉谷秀昌：サルモネラの疫学。第 61 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2012 年 10 月、東京都。

(8) 泉谷秀昌、Noikaseumsy Sithivong、石原朋子、森田昌知、大西真：ラオスで発生したコレラアウトブレイクの分子疫学解析 第 46 回腸炎ビブリオシンポジウム、大分、2012 年 11 月

(9) 泉谷秀昌：分子疫学概論 II。国立保健医療科学院平成 24 年度新興再興感染症技術研修、2012 年 11 月、東京都。

(10) 泉谷秀昌、Noikaseumsy Sithivong、石原朋子、森田昌知、大西真：ラオスで発生したコレラアウトブレイクの分子疫学解析。第 46 回腸炎ビブリオシンポジウム、2012 年 11 月、大分県湯布院。

(11) 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．イスカチマダニ採集を主目的とした北海道東部から北部にかけてのマダニ類調査．第 58 回日本衛生動物学会北日本支部大会．2012 年 10 月．旭川．

(12) 井戸田一朗、中山周一、石原朋子、志牟田健、大西 真.梅毒トレポネーマの DNA 検出法と蛍光抗体法検出法の検討。日本性感染症学会第２５回学術大会 ２０１２年１２月 岐阜。

(13) 今内 覚，川端寛樹，伊東拓也，高野 愛，安藤秀二，村田史郎，大橋和彦．シュルツェマダニにおける病原体伝播関連因子の同定．第 58 回日本衛生動物学会北日本支部大会.2012 年 10 月.旭川.

(14)　伊豫田淳、勢戸和子、井口純、泉谷秀昌、石原朋子、小西典子、尾畑浩魅、甲斐明美、中嶋洋、木全恵子、磯部順子、寺嶋淳、大西真、EHEC ワーキンググループ：LEE 非保有型 STEC に存在する病原性遺伝子の解析　第 16 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、秋田、2012 年 7 月

(15)　伊豫田淳、石原朋子、寺嶋淳、大西真、EHEC ワーキンググループ：シンポジウム・腸管出血性大腸菌感染症の現況と保有する接着因子について 第 95 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2012 年 10 月

(16)　伊豫田淳、石原朋子、勢戸和子、泉谷秀昌、小西典子、甲斐明美、中嶋洋、木全恵子、磯部順子、大西真：重症者由来 LEE 非保有型 EHEC の病原性因子の解析 第 86 回日本細菌学会総会、千葉、2013 年 3 月

(17)　大石和徳、田村和世、明田幸宏、Chang B、庵原俊昭。小児侵襲性肺炎球菌感染症における感染血清型に対する血清抗体応答。第 16 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2012 年 11 月

(18)　小川道永、病原細菌と宿主との攻防 ～感染生物学のススメ～、第35回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2012年12月13日

(19)　小川道永、Tecpr1 による選択的オートファジー認識機構、第 86 回日本細菌学会総会、千葉(幕張)、2013 年 3 月 18 日

(20)　カイル テイラー，川端寛樹，今内 覚，下鶴倫人，高野 愛，坪田敏男．北海道の野生下におけるボレリア種の維持，小型哺乳類とダニの関係について．第 58 回日本衛生動物学会北日本支部大会．2012 年 10 月．旭川．

(21)　川端寛樹，多田有希，高野 愛，佐藤梢．ライム病・回帰熱の現状と課題．第 20 回 SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）．2012 年 7 月．阿南．

(22)　金京純，井上快，壁谷英則，高田朋恵，Decha Pangjai，邱詩惠，藤田博己，川端寛樹，高田伸弘，苅和宏明．アジアの野生小型哺乳類における *Bartonella* 属菌の保有状況．第 18 回野生動物医学会大会．2012 年 8 月．十和田．

(23)　組田恵理、相馬亜希子、須藤直樹、伊豫田淳、大島拓、安藤昭一、関根靖彦：病原性大腸菌 O157 株特異的 non-coding RNA による翻訳制御機構の *in vitro* 解析　第 35 回日本分子生物学会年会、福岡、2012 年 12 月

(24)　倉　文明：レジオネラ属菌の特色、検査および消毒、集団感染事例をふりかえる．平成 24 年度レジオネラ属菌汚染防止対策講習会．宮崎、2012 年 7 月

(25)　倉　文明：生息環境に対応したレジオネラ・ニューモフィラのグループ化と感染リスク．シンポジウム環境改変と微生物生態系、招請講演、第 28 回日本微生物生態学会大会（JSME 2012）、豊橋市、2012 年 9 月

(26)　倉　文明：最近のレジオネラ症の動向．平成 24 年度生活衛生関係技術担当者研修会、東京都、2013 年 3 月

(27)　倉　文明：レジオネラ症　防止のための衛生管理．平成 24 年度郡山市レジオネラ症防止対策講習会、郡山市、2013 年 3 月

(28)　小泉信夫．レプトスピラ症の現状．第 12 回人と動物の共通感染症研究会学術集会．東京，2012 年 11 月．

(29)　小林泰良、小川道永、三室仁美、笹川千尋、赤痢菌の上皮細胞内生存戦略としてのパイロプトーシス抑制機構、第 95 回日本細菌学会関東支部総会、東京(お台場)、2012 年 10 月 11 日

(30)　小林泰良，小川道永，真田貴人，三室仁美，笹川千尋、赤痢菌の感染戦略～宿主細胞の感染性細胞死に抗うカスパーゼ阻害エフェクター～、第 86 回日本細菌学会総会、千葉(幕張)、2013 年 3 月 19 日

(31)　小林泰良，小川道永，三室仁美，笹川千尋、赤痢菌の感染戦略　～宿主細胞の炎症性細胞死に抗うカスパーゼ阻害エフェクター～、第 35 回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、2012 年 12 月 12 日

(32)　後藤みなみ，濱野剛久，水主川剛賢，酒井洋樹，高島康弘，柳井徳磨，今岡浩一，川端寛樹，山本明彦，小泉信夫，野上貞雄．猟犬を指標とした野外感染症調査：島嶼部，半島部における調査．第 18 回野生動物医学会大会．2012 年 8 月．十和田．

(33)　佐藤慶太郎、成田貴則、福島美和子、伊藤達郎、泉福英信、杉谷博士、ドライマウス病態モデルとしてのE21欠損型NOD/SCIDマウスの可能性、第54回歯科基礎医学会サテライトシンポジウム、東京、2012年9月14日．

(34)　真田貴人 、Kim Minsoo、三室仁美、鈴木仁人、小川道永、小山晃穂、芦田浩、小林泰良、小山智洋、長井伸也、柴田佑里、合田仁、井上純一郎、水島恒

裕、笹川千尋、赤痢菌 III 型分泌 OspI による炎症抑制機構の新規メカニズムの解明、第 95 回日本細菌学会関東支部総会、東京(お台場)、2012 年 10 月 11 日

(35) 島田敬司、芦野可奈、太田順司、吉田信一郎、田中廣行、浅尾努、泉谷秀昌：運動性を利用した ISO のサルモネラ検出法の有用性。第 33 回日本食品微生物学会学術総会、2012 年 10 月、福岡県福岡市。

(36) 清水有紀子，阪本直也，相野田祐介，彦根麻由，岩渕千太郎，小泉信夫，大西健児．海外渡航歴のない都内発症ワイル病の 1 例．第 61 回感染症学会東日本地方会学術集会，東京，2012 年 10 月．

(37) 杉山寛治、神田隆、佐原啓二、市村祐二、江口大介、泉山信司、八木田健司、小坂浩司、遠藤卓郎、倉　文明：モノクロラミン生成・注入・測定を自動化した循環式浴槽モデルにおける消毒効果の検証.日本防菌防黴学会第 39 回年次大会、東京都、2012 年 9 月

(38) 須藤直樹、相馬亜希子、伊豫田淳、齊藤泰一、大島拓、戸邉亨、関根靖彦：病原性大腸菌 O157:H7 Sakai 株に存在する non-coding RNA #41 の機能解析　第 35 回日本分子生物学会年会、福岡、2012 年 12 月

(39) 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 の流行株の解析　第 85 回細菌学会総会、長崎市、2012 年、3 月

(40) 泉福英信、バイオフィルム形成に関与するセンサー分子の役割、第26回Bacterial Adherence & Biofilm学術集会、大阪、2012年7月13日

(41) 泉福英信、歯学領域におけるバイオフィルムとその制御法の開発、第８６回日本細菌学会総会、千葉、2013年3月

(42) 泉福英信、伊藤龍朗、NOD/SCID.*e2f1*マウスを用いた口腔バイオフィルム形成モデルの検討、第61回日本口腔衛生学会・総会、神奈川、2012年5月.

(43) 高野 愛，佐藤 梢，中尾 稔，伊東拓也，Kyle Taylor,今内 覚，坪田敏男，高田伸弘,川端寛樹．回帰熱病原体 *Borrelia miyamotoi* の検出法の確立・検証，および *Ixodes* 属ダニからの病原体検出への応用．第 58 回日本衛生動物学会北日本支部大会．2012 年 10 月．旭川．

(44) 高野 愛，杉森千恵子，佐藤 梢，藤田博己，角坂照貴，川端寛樹．Amblyomma geoemydae より検出された Borrelia sp. AGRF のマダニ感染動態の解析．第 21 回日本ダニ学会大会．2012 年 9 月．島根．

(45) 高野愛，杉森千恵子，藤田博己，角坂照貴，Kyle Taylor，坪田敏男，今内覚，田島朋子，佐藤梢，渡邉治雄，大西真，川端寛樹．カメキララマダニより検出された回帰熱群ボレリアの経ステージ感染様式．第１５４回日本獣医学会学術集会．2012 年 9 月．岩手．

(46) 多田章夫、泉福英信、日本人歯科医師の感染症患者に対する態度、知識、院内感染防止対策　－3年間の比較―、第61回日本口腔衛生学会・総会、神奈川、2012年5月

(47) 谷千尋、伊豫田淳、本田尚子、寺嶋淳、大西真：腸管出血性大腸菌の LEE 遺伝子活性化因子 Ler による LEE 領域外 3 型エフェクター遺伝子 *espM1/M2* の転写抑制機構　第 86 回日本細菌学会総会、千葉、2013 年 3 月

(48) 千葉一樹、渡邉奈々子、菅野奈美、遠藤嘉子、小黒祐子、佐藤弘子、池辺忠義．溶血性レンサ球菌レファレンスセンターの活動について．第44回福島医学検査学会、福島、2012年5月．

(49) 常彬。日本国内における小児侵襲性感染症由来肺炎球菌の疫学的解析。第 16 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2012 年 11 月。

(50) 寺嶋　淳；VTEC 2012 Amsterdam からの特別報告 － 疫学の話題を中心として　第 16 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、秋田市、2012、7 月

(51) 中川俊正，川端寛樹，藤田博己，伊東拓也．北海道の離島におけるマダニ咬症関連慢性皮膚炎の発見と根絶．第 59 回日本臨床検査医学会学術集会．2012 年 11 月．京都．

(52) 中尾龍馬、高柴正悟、古園さおり、渡邉治雄、大西真、泉福英信、*Porphyromonas gingivalis*の外膜ベジクルは様々な抗原と病原因子を運ぶ、第54回歯科基礎医学会、郡山、2012年9月

(53) 中尾龍馬、大西真、泉福英信、*Porphyromonas gingivalis* の外膜ベジクル経鼻免疫のマウスにおける免疫グロブリン応答、第８６回日本細菌学会総会、千葉、2013 年 3 月

(54) 中尾龍馬、泉福英信：Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* carry a variety of antigens and virulence factors. 第 54 回歯科基礎医学会学術集会・総会、2012 年 9 月、郡山市

(55) 中尾龍馬、高柴正悟、長谷川秀樹、渡邉治雄、大西真、泉福英信：Role of outer membrane vesicles

of *Porphyromonas gingivalis* in immunopathology of periodontitis in human. 第34回内藤カンファレンス　感染・炎症・免疫、2012年10月、札幌市

(56)　中尾龍馬、白東英、大西真、植松宏、相内章、長谷川秀樹、泉福英信：Humoral immunity against *Porphyromonas gingivalis* in mice intranasally vaccinated with combination of outer membrane vesicles and synthetic double-stranded RNA. 第16回日本ワクチン学会学術集会、2012年11月、横浜市

(57)　中尾龍馬、大西真、泉福英信：Ig responses in mice after intranasal immunization of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles.第86回日本細菌学会総会,幕張,2013年3月.

(58)　中西典子、田中忍、志牟田健、飯島義雄、白井千香、岩本朋忠、大西真: 神戸市内分離淋菌株を用いた薬剤耐性淋菌モニタリングシステム構築への試み,日本性感染症学会 第25回学術大会、岐阜市、2012年12月

(59)　成相昭吉、常彬。7価肺炎球菌結合型ワクチン接種普及による乳幼児下気道感染症例の上咽頭から検出された肺炎球菌株における血清型および遺伝子型の変化。第16回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2012年11月。

(60)　松本裕子、小川敦子、小泉充正、山田三紀子、山本芳郎、太田嘉、泉谷秀昌：長期に渡って同一加工者の鶏肉から分離されたESBL産生性サルモネラについて。第33回日本食品微生物学会学術総会、2012年10月、福岡県福岡市

(61)　村井美代、前川純子：黄色ブドウ球菌のファイブロネクチン結合タンパク配列タイプとMLSTとの相関、第86回日本細菌学会総会、千葉、2012年3月

(62)　毛利彰太、津金貴則、佐伯洋二、荒井俊明、泉福英信、落合邦康、*Actinomyces naeslundii*のバイオフィルム形成を抑制するミズナ抽出物の開発、第８６回日本細菌学会総会、千葉、2013年3月

(63)　森田昌知、泉谷秀昌、渡辺治雄、相楽裕子、大西真：2009、2010 年に分離されたチフス菌・パラチフスA菌の各種薬剤感受性の検討 第86回日本感染症学会総会、長崎、2012年4月

(64)　森田昌知、泉谷秀昌、大西真：2012 年に日本国内で分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種薬剤感受性の検討、第 52 回感染性腸炎研究会総会、東京、2013年3月

(65)　山本章治、三戸部治郎、大西真、渡辺治雄、泉谷秀昌:コレラ菌のキチン誘導型コンピテンスに関わる新規転写因子の同定、第 86 回日本細菌学会総会、幕張, 2013年3月.

(66)　安田俊平, Chandika D. Gamage, 小泉信夫, 西尾佐奈恵, 五十棲理恵, 清水健太, 駒貴明, 天田貴子, 鈴木仁, 吉松組子, 有川二郎. スリランカ産 *Rattus rattus* および *Bandicota bengalensis* の系統学的位置. 日本哺乳類学会 2012 年度大会. 神奈川県. 2012年9月.

(67)　山崎利雄、前川純子、磯部順子、縣　邦雄、杉山寛治、緒方喜久代、倉　文明：温泉等の浴槽水の抗酸菌検出調査と分離された *Mycobacterium avium* の VNTR 法による解析.第 82 回実験結核研究会総会、広島、2012年5月

(68)　山本正悟, 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. 沖縄県池間島のネズミから回収したデリーツツガムシにおける *Orientia tsutsugamushi* の検出状況. 第20回SADI（ダニと疾病のインターフェイスに関するセミナー）. 2012年7月. 阿南.

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。研究では、厚生労働行政上特に必要な課題を対象とし、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。

H24 年度はワクチン関係で大きな出来事として、DPT-IPV が導入されたことが挙げられる。このワクチンは市場への供給が急がれていたため、承認に向けて担当室が総力を挙げて専門委員協議、承認前検査を短期間に実施した。担当者が一丸となって滞りなく業務を終了させたが、大変な労力を伴う作業だった。DPT-IPV の基準のうち、百日せきワクチンの一部の試験で IPV が混合されたことで影響をうけるものがあり、基準が従来の DPT のものより引き上げられた。IPV を混合することによる影響については、その現象を科学的に検証する必要があると考えられたが、制度上承認前検査で確認を行うことは出来ないので、研究班の課題として検討を行うこととした。その他ワクチン関係で特記すべきこととして、Hib ワクチン接種の公的補助が普及して接種率が向上したことに伴い、Hib による小児の髄膜炎の症例が劇的に減少したことが挙げられる。病原体サーベイランス、JANIS 両方で、この事実が確認され、Hib ワクチンの導入効果が証明された。

品質管理業務では、PIC/S 対応に向けて各室で体制の整備が進められた。文書整備等、多岐にわたる膨大な作業を各室の研究者が着実に進めた。一方、これらの作業は必然的に研究業務を少なからず圧迫した。各研究者が研究に十分な時間を確保できるような配慮が今後ますます重要になってくると思われる。なお、一部の国家検定において、長年にわたり試験が検定基準に準拠していない形で実施されていたことが明らかになったため、逸脱処理を行い、是正した。品質管理業務は、実質的な業務内容の向上を得ることを目標として、合理化、効率化していくことが重要であろう。

薬剤耐性菌では、H25 年 3 月に米国 CDC がカルバペネム耐性の腸内細菌科細菌が全米で拡散していることを発表し、注意喚起した。それを受けて細菌第二部ではその概略と関連情報を感染研ホームページに掲載し、また同時に指導課及び結核感染症課から自治体宛に医療機関への注意喚起の事務連絡を発出して頂いた。細菌第二部では、自治体や医療機関からの依頼に応じて耐性菌の解析を行っている。JANIS は､H24 年度に総務省行政評価局が実施した医療安全対策に関する行政評価・監視の対象事業として、書類及びヒアリングによる評価を受けた。総務省行政評価局への説明のため、業務内容の詳細や予算に関する資料を準備し、総務部、厚生労働省医政局指導課とともに対応を行った。

細菌第二部では各部員がこれらを含む品質管理業務、サーベイランス、レファレンス業務など多様で大変な業務を行いながら、研究に精力的に取り組んでいる。

人事では H24 年 4 月 1 日に森茂太郎が第四室長に着任し、金玄が第四室研究員に着任した。6 月 1 日に、鈴木仁人が第一室研究員に着任した。4 月 1 日に再任用職員として近田俊文が第一室に着任した。6 月 30 日に、和知野純一主任研究官が退所した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌に関する菌株・検体等の解析依頼の概要

医療機関などから依頼を受けた菌株について、薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査、菌種同定及び菌株タイピング解析を実施し、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、*Acinetobacter* spp. (104 株)、*Pseudomonas* spp.(18 株)， *Enterococcus* spp. (7 株)、大腸菌(10 株)，*Klebsiella* spp.(19 株)、*Staphylococcus* spp. (6 株)、*Enterobacter* spp. (4 株)、*Citrobacter*

spp. (10 株)、その他 (10 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、鈴木仁人、鈴木里和、和知野純一、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、柴山恵吾〕

2. $bla_{OXA-51-like}$ の一塩基多型解析を用いたアシネトバクター流行株の簡易識別方法の検討

アシネトバクター属菌の中でも臨床上最も問題となる遺伝子型株(流行株)を識別可能な遺伝子領域を見出した。*Acinetobacter baumannii* 染色体上にコードされる遺伝子 $bla_{OXA-51-like}$ の 106-108 塩基の配列が、流行株では GAT であるのに対し、他の遺伝子型株では GAC、GAA、AAA であったことを利用し、パイロシークエンサーを用いた検出系を確立した。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、柴山恵吾]

3. ベトナムで分離された NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の解析

ベトナム NIHE との共同研究を行い、ベトナムで分離された NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生アシネトバクター属菌は、非産生株とは異なる遺伝子型株であったことを明らかにした。その他、NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ腸内細菌科の細菌の検出法の検討・菌株解析も共同で進めている。[松井真理、鈴木里和、柴山恵吾]

4. 日本国内の医療機関で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析

アシネトバクター属菌の多剤耐性化や院内感染事例増加が問題となっているが、抗菌薬感性株や院内感染が認められない医療機関の分離株を含む解析はほとんどなされていない。本菌の分子疫学を明らかにするため、国立病院機構の医療機関に、平成 24 年 10 月から平成 25 年 3 月にかけて通常診療中に分離されたアシネトバクター属菌の収集を依頼した。42 都道府県に分布する 86 医療機関の協力が得られ、804 名の患者より分離された 998 株が送付された。平成 25 年度に解析実施予定である。また、平成 14 年から平成 24 年までに国内の医療機関で分離された *Acinetobacter baumannii* 約 30 株のゲノム配列を解析した。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、甲斐久美子、瀧世志江、柴山恵吾]

5. TMB-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の解析

国内の異なる 2 医療機関より分離された *Acinetobacter* spp. より、これまで臨床検体からの報告が無く、2012 年にリビアでの病院環境株から分離された株より報告のあった TMB-1 型メタロ-β-ラクタマーゼと 1 アミノ酸異なる、TMB-2 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子を検出、報告した。〔鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、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

これまでに類鼻疽菌 *Burkholderia pseudomallei* と鼻疽菌 *B. mallei* の LAMP 法の検討を行ってきたが、昨年度検討中であった *B. mallei* の LAMP 法に適したプライマー群と反応条件を決定した。この条件に合わせて *B. pseudomallei* の反応条件も調整し、同じ反応条件で検出が行えることを示した。これらの方法は実際の検査時に使用可能であると考えられる。[堀野敦子]

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 Hib ワクチン普及前後の解析

小児における髄膜炎等の侵襲性感染症患者の髄液あるいは血液由来 *Haemophilus influenzae* の解析を *H. influenzae* 莢膜 b 型株 (Hib)ワクチンの導入前後で実施した。全国 9 県における解析結果から、緊急ワクチン接種促進事業による全国的公費補助の開始以降、Hib 分離数の大幅な減少が示唆された。一方、少数ながら、Non-typable *H. influenzae* (NTHi)が若干の増加傾向を示すことが示唆された。非 b 型の他の莢膜型株の出現は、平成 24 年度中、対象 9 県では報告されなかった。他県から Hib ワクチン 3 回接種歴を有する髄膜炎患者から、莢膜 f 型(Hif)の分離が 1 例報告された。薬剤感受性試験結果は、Hib ワクチン導入による変化は認められなかった。〔厚生労働科学研究：新興・再興感染症研究事業〕[佐々木裕子、増田まり子、見理　剛、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で、かつ、髄液の一般細菌培養結果陰性例について、髄液中の細菌遺伝子の検出を行っている。汎細菌の 16S rRNA 遺伝子、*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma pneumoniae* ならびに *Mycoplasma hominis* 等の遺伝子検出法を実施するとともに、より広範な起因菌の検出法を検討している。(厚生労働科学研究：新興・再興感染症研

究事業）［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) 日本の医療機関から 1 機関あたり 5-10 株の *C. difficile* 菌株を収集し解析したところ、多くの医療期間で優勢株となっているタイプが認められた。

(2) *Clostridium difficile* 感染症重症例からの分離株を解析した。

2．*Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査法に関する検討

(1) RT-PCR 法を用いた病原性 *C. difficile* の新しい細菌学的検査法を開発した。純培養した *C. difficile* を用いた実験において、本法は栄養型 *C. difficile* のみを特異的に検出することが可能であった。また、添加実験から、本法は便検体から直接抽出した RNA を用いても、純培養した *C. difficile* を用いた実験と同等の結果が得られた。

(2) 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とし、ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE)共同研究者に *C. difficile* 細菌学的検査の技術講習を行った。さらに、研究分担者が NIHE およびハノイ市内の病院を訪問し打ち合わせを行った。

3．*Clostridium difficile* の腸管定着因子に関する研究

(1) *C. difficile* は、腸管上皮細胞への定着に関与する因子（定着因子）を複数保有している。毒素産生性株と毒素非産生性株で定着因子の保有数が異なるか否か検討した。

(2) 新規定着因子の機能解析を行うため、大量発現系の構築を開始した。［加藤はる、妹尾充敏、吉村由美子、甲斐久美子、瀧世志江、Vu Thi Thu Huong ］

Ⅴ．マイコプラズマに関する研究

1．マイコプラズマ感染による肺外発症についての基礎的解析

マイコプラズマ感染症における血栓、梗塞、塞栓等の形成は稀な症例とはいうものの複数の症例報告がありながら、発生機序は不明である。自己抗体の抗リン脂質抗体のタイプについて、マイコプラズマ感染症患者における抗体価測定を実施している。［佐々木裕子、柴山恵吾］

2．2b 型の *p1* 遺伝子をもつ *Mycoplasma pneumoniae* の同定

神奈川県衛生研究所で収集された *M. pneumoniae* 株の中に、従来と PCR-RFLP 法の *p1* 遺伝子型別結果が異なるものがあり、これを共同で分析した。塩基配列を調べたところ、subtype 2b の *p1* 遺伝子であることがわかった。2b 型の *p1* 遺伝子は過去に海外で報告されていたが、全長の塩基配列が報告されたのは今回が初めてである。2b 型の *p1* 遺伝子をもつ菌株は、2004 年から 2005 年に国内で分離された 48 株の中に 3 株存在していた。［見理　剛、堀野敦子、柴山恵吾、大屋日登美（神奈川県衛生研究所）］

3．*M. pneumoniae* 分離株の薬剤耐性分析

2008 年から 2012 年の間に倉敷中央病院で分離された *M. pneumoniae* 株 70 株のマクロライド耐性変異の有無を調べた、その結果 70 株中 46 株（65.7%）が 23S rRNA 遺伝子に A2063G 変異を持つ耐性菌だった。また *p1* 遺伝子の型別では 63 株（90%）が 1 型だった。［見理　剛、堀野敦子、柴山恵吾、藤井寛之（倉敷中央病院）、中嶋 洋（岡山県環境保健センター）］

4．*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

地方衛生研究所との共同研究である *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型別を今年度も継続した。2011-2012 年のマイコプラズマ肺炎流行を反映し 2012 年に提出された検体数は大きく増加した。増加分の多くは Subtype 1 型であり、今回の流行時に優位な型であったのは Subtype 1 であることが示された。今後も流行後の遺伝子型の推移状況を引き続きモニタリングする予定である。［堀野敦子、谷口清州（感染症疫学センター）、藤戸亜紀（高知衛研）］

(2) 肺炎マイコプラズマ流行時の *M. pneumoniae* の菌株性状解析

初発例の肺炎マイコプラズマ患者を対象とし、*M. pneumoniae* の遺伝子学的検出(LAMP)法と培養法による菌株の分離を試みた。得られた菌株についてマクロライド耐性に関与する 23S rRNA 遺伝子の点変異を確認し、抗菌薬の最小増殖抑制濃度を測定した。検体数は 22 件で、陽性率は培養法、LAMP 法いずれの方法でも 31％であった。また、23S rRNA 遺伝子中に A2063G の変異が確認された株が 4 株あり、耐性率は 57.1％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 値はみられなかった。［堀野敦子、見理剛、谷口清州（感染症疫学センター）、本研究協力医療機関］

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。第二年目は、45 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（化血研）、小崎俊司、幸田知子（大阪府立大学）、杉本　央、鳥居恭司（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. 滋賀県内のイヌ･ネコにおけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 分布調査

2011 年に滋賀県にてジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* による感染症例が認められた。その環境調査を目的に滋賀県内でのイヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 分布調査をおこなった[小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、河野智美、須藤正之、佐野哲也、梅原成子、青木佳代、石川和彦（滋賀県環境科学センター）: 厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業]

2. 大阪市内のイヌ･ネコにおけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 分布調査

大阪市内でのイヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生性 *Corynebacterium ulcerans* 分布調査を行った。その結果、以前に行った大阪府での汚染状況と同等であることが判明した。［小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、畠山理沙、梅田薫、阿部拓人、松村国彦、小笠原準、長谷篤、真田秀一、大阪市立環境科学研）: 厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業]

Ⅷ. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素に関する研究

(1) *Mycobacterium avium* 由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素（MAV3489）、並びに *M. smegmatis* 由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素（MSMEG2932）の発現と精製

新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素である *M. avium* 由来 MAV3489 と *M. smegmatis* 由来 MSMEG2932 を大腸菌内でそれぞれ大量発現させた後、FPLC を用いて精製を行い、その活性を確認した。その結果、両酵素ともに溶液中では 4 量体を形成してヌクレオチド加リン酸分解活性を保持していることが示された。

[森茂太郎、柴山恵吾]

(2) 新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素を標的とした新規抗菌薬の開発に関する研究

結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の機能構造相関解析に基づいて、インシリコスクリーニングを行った。その結果、抗酸菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の活性を特異的に阻害する化合物を特定した。[森茂太郎、柴山恵吾]

2. 結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼに関する研究

(1) 結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの機能解析

キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼは生物の生体内において重要な役割を果たしている NAD の生合成に関与する酵素である。最近、結核菌の NAD 生合成に関与する酵素は新規抗結核薬の標的として考えられている。そこで本研究では、結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼを大腸菌内で大量発現させた後、SDS-PAGE 上で単一バンドになるまで精製を行ない、その酵素学的諸性質を決定した。さらに、抗結核薬のピラジナミドが本酵素の酵素活性を阻害することを明らかにした。[金玄、森茂太郎、柴山恵吾]

(2) 結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼとピラジナミドの共結晶化

結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼとピラジナミドの詳細な結合様式を明らかにすることを目的として共結晶化を試みた。共結晶化条件のスクリーニングで得られた結晶を用いて、X 線回折データの収集を行った。X 線回折データの収集は、物質構造科学研究所において放射光共同利用実験として行った。現在、得られた回折データを基に立体構造解析を進めている。[金玄、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* および *H. fennelliae* の分子疫学的解析

同一病院で分離された *H. cinaedi* について MLST および PFGE により分子疫学的解析を行った結果、*H. cinaedi* の院内感染を裏付ける結果を得た。また同一病院より分離された *H. cinaedi* 類似の *H. fennelliae* についても、同様な解析により人から人へ伝播を示唆する結果を得た。[林原絵美子、柴山恵吾]

2. *H. fennelliae* のゲノム解析

H. fennelliae のゲノムは未解読であったことから、次世代シーケンサーを用いて日本で分離された *H. fennelliae* のゲノム解析を行った。[林原絵美子、柴山恵吾]

3. *H. pylori* のγ-gulutamyl transpeptidase（GGT） と Asparaginase（AnsB）に関する研究

臨床分離 *H. pylori* 株の GGT および AnsB 活性を測定した結果、胃がん患者由来株では十二指腸患者由来株および慢性胃炎患者由来株より GGT 活性が有意に高い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. 2008～2010 年に発生した百日咳流行の細菌学的解析

わが国では 2008～10 年に成人患者を中心とした大規模な百日咳流行が発生した。流行の発生原因を考察することを目的に、2002～12 年に国内で臨床分離された百日咳菌 134 株について細菌学的解析（遺伝子アレル、病原因子、遺伝子型）を実施した。その結果、流行時に繊毛 *fim3B* アレルの一時的な増加が認められ、流行との関連が指摘された。一方、その他のアレル（*ptxP*、*ptxA*、*prn*）には経年的な変化を認めたものの、流行との相関を認めなかった。同様に病原因子 Prn と Fim2/3 の発現にも相関を認めなかった。これまでに *fim3B* 株は高い自己凝集能を持つことが判明しており、流行と自己凝集能の関係について継続的な研究が必要である。[宮地悠輔、大塚菜緒、鯵坂裕美、蒲地一成]

2. 百日咳サーベイランスの精度向上に関する研究

百日咳菌と百日咳類縁菌を同時に検出可能な triplex リアルタイム PCR 法の開発を行った。百日咳菌の標的遺伝子には挿入配列 IS*481*、パラ百日咳菌には IS*1001*、*Bordetella holmesii* には *recA* を使用し、本法の感度を既報のリアルタイム PCR 法と比較した。その結果、IS*481* と *recA* に対する分析感度は既報の duplex リアルタイム PCR 法と等しく、マルチプレックス化による感度低下を認めなかった。一方、IS*1001* に対する分析感度は、非蛍光クエンチャー（NFQ）の採用により約 10 倍程度上昇した。臨床検体を用いた評価では、百日咳菌 IS*481* に対する検出感度は duplex リアルタイム PCR 法と等しく、百日咳菌検出に十分な感度を持つことが示された。[蒲地一成、鯵坂裕美、大塚菜緒]

3. 百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の流行調査と病原性解析

アジアにおける *B. holmesii* の流行状況を台湾 CDC と共同して調査した。百日咳様患者を対象に *B. holmesii* の遺伝子検査を実施した結果、日本における検査陽性者は 487 名中 0 名であったが、台湾では 1 名の *B. holmesii* 感染者を確認した。また、*B. holmesii* の呼吸器症例の増加原因を考察するため、呼吸器と血液由来株の蛋白発現を比較解析した。その結果、呼吸器由来株に特異的に発現する高分子タンパク質（FHA-like protein）が認められ、本蛋白質が繊維状赤血球凝集と異なることを確認した。今年度の調査では *B. holmesii* 陽性者が少なかったことから、本菌は百日咳菌と同様に周期的な流行を持つ可能性が指摘された。[蒲地一成、鯵坂裕美、大塚菜緒、藤戸亜紀、鍋島民、松本道明（高知衛研）、岡田賢司（福岡歯科大）、姚淑滿、江春雪（台湾 CDC）、渡邉峰雄（北里大）]

XI．破傷風菌に関する研究

1. 破傷風毒素活性の *in vitro* アッセイ系に関する研究

破傷風毒素とその中和抗体の定量にはマウスを用いた *in vivo* 試験が一般的であるが、動物福祉の観点から *in vitro* 検出法の開発が望まれている。そこで、プロテアーゼである破傷風毒素の標的蛋白質 VAMP2 の特異的切断を指標とした検出系の構築を行なった。まず、VAMP2-GST 融合蛋白質を基質として約 1000 マウス LD_{50} の毒素を検出できる系を構築した。今後感度の上昇を目指し条件検討を行なう。[岩城正昭、見理剛]

2. 破傷風トキソイドを用いた人工エラスチン蛋白の徐放効果を応用した免疫持続性の検討-1

人工エラスチン蛋白は、そのゲル化により抗がん剤などの薬剤を取り込める事から、薬剤除放担体としての可能性がある。そこで、そのゲル化作用を利用し、ワクチンの免疫持続性を、破傷風トキソイドを用いて検討している。エラスチン蛋白結合破傷風トキソイドの免疫原性（15 Lf/mouse）を、アジュバントを含まない破傷風トキソイドと、マウスの血中破傷風抗体価として比較した。エラスチン蛋白結合破傷風トキソイドで免疫したマウスの抗体価は、アジュバントを含まない破傷風トキソイドよりも 100 倍程度高い傾向を示し、免役後 5 カ月以上持続した。[福田 靖]

3. 破傷風トキソイドを用いた人工エラスチン蛋白の徐放効果を応用した免疫持続性の検討-2

人工エラスチン蛋白のゲル化を利用し、ワクチンの免疫持続性を検討している。エラスチン蛋白結合破傷風ト

キソイドで 3 回免疫（5 Lf/mouse×3 回）したマウスの血中破傷風抗体価は、1 回のみ免疫（15 Lf/mouse）したマウスよりも高値を示し、追加免疫によるブースター効果を確認した。しかし、2 回目のブースター効果の程度は 1 回目よりも低く、マウスの抗体産生の上限に達している可能性があり、免疫で用いる破傷風トキソイドの抗原量を再考する必要が示唆された。[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

昨年に引き続き、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。本年はセファランチンの治療効果に関しての情報を得る目的で行った。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、セファランチンそのものには治療効果のないことが明らかとなった。[一二三　亨、小井戸雄一（国立病院機構災害医療センター）、山本　明彦]

XIII. バルトネラ菌に関する研究

1. *Bartonella quintana* の血清診断法に関する研究

B. quintana 感染疑いの路上生活者由来血清では、*B. quintana* Hemin-binding protein (Hbp)D 抗体を産生し、*B. quintana* 感染による心内膜炎患者血清では HbpB 及び HbpD 抗体を産生するという結果をもとに、 現在の IFA 血清診断法より特異性の高い診断法の確立をめざし大阪西成地区からのホームレス血清について *B. quintna* 感染の有無を調べた。10 検体中、シラミ検出 4 検体、HbpD/B ELISA で陽性と判断したもの 3 検体、バルトネラ PCR 陽性 1 検体であった。[久保田眞由美、佐々木裕子、柴山恵吾、佐々木年則、沢辺京子]

2. 東京都済生会中央病院との共同研究

バルトネラ菌の媒介生物であるシラミから菌の検出を目的とし救急搬送される患者より臨床検体および衣類に付着したシラミを採取。HbpD の ELISA、ウエスタンブロット、PCR 検出及びシラミ中のバルトネラ菌検出を試みる。現在までにシラミ検出は 5 検体、血培からのバルトネラ検出は 5 検体とも陰性であった。[久保田眞由美、佐々木裕子、柴山恵吾、佐々木年則、沢辺京子、山岸拓也、足立 智英*、伊藤 航人* (*東京都済生会中央病院)]

XIV. その他の研究

1. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）データを用いた市中感染症の罹患率推計に関する研究

(1) 我が国におけるリステリア症罹患率の推定

全医療機関における JANIS 参加医療機関が占める割合と、2008-2011 年に JANIS 検査部門に報告された血液または髄液より分離された *L. monocytogenes* のデータより、本邦におけるリステリア症の推定罹患率を算出した。リステリア症の推定罹患率は 1.06～1.57/100 万人で、4 年間の平均年間罹患率は 1.40/100 万人であった。
[山根一和（川崎医科大学）、鈴木里和、柴山恵吾]

(2) 髄液からの *Heamophilus influenzae* 分離患者数の推移

髄液からの *Heamophilus influenzae* 分離患者数は、2002 年～2011 年までは JANIS 参加医療機関あたり 0.5 前後を推移していたが、2011 年には 0.17 となり、2012 年は 9 月までのデータで、さらに減少していた。これは、2010 年 11 月ワクチン接種緊急促進事業により Hib ワクチンが普及した効果であると考えられた。[涌井拓（実地疫学専門家養成コース、FETP）、鈴木里和、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、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陽性コントロール株または抽出 DNA を提供した。また、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。〔松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、和知野純一、甲斐久美子、吉村由美子、瀧世志江、柴山恵吾〕

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 7 施設に *Bordetella holmesii*-LAMP 診断キット（8 キット）を供与した。また、百日咳菌陽性コントロール DNA を 4 施設、百日咳類縁菌陽性コントロール DNA を 5 施設に供与した。[鰺坂裕美、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（JANIS）事業の運営

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業

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25年2月現在、国内の1080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、ニュースレター(JANIS通信)を発行、1267件の医療機関等からの問い合わせに対応した。そのほかに、還元情報・公開情報の改訂(還元情報へのアンチバイオグラム追加、菌名のイタリック表記など)、海外向け情報発信のため英文ホームページを開設した。また、平成24度総務省行政局の「医療安全対策に関する行政評価・監視調査」の一環として調査を受けた。[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、大木留美、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

(1) 療養型医療機関における細菌検査の提出状況および院内感染対策の現状について実地調査およびJANISデータを用いて検討した。療養型医療機関の年間検体提出数は188.8/100床に対し、急性期では850.7/100床と約4.5倍の差異があった。療養型では検体提出患者あたりの薬剤耐性菌分離率は高いものの、感染症発症者は限定的であった。検査部門においても施設特性別の集計が必要と考えられた。[筒井敦子、鈴木里和、網中眞由美、山岸拓也、柴山恵吾]

(2) 腎臓手術におけるSSI発生率層別化の検討

JANIS SSI部門では米国NNIS(現NHSN)が規定した算出方法によるリスクインデックスを用いてリスク調整を行ってきた。しかしJANISデータを用いた解析により、腎臓手術では、NNISのリスクインデックスよりも、内視鏡手術の有無であらかじめ分けた上で、年齢、創分類、ASAスコア、手術時間によりリスク調整することがより適切と考えられた。[山岸拓也、筒井敦子、鈴木里和、網中眞由美、柴山恵吾]

Ⅱ. 百日咳関係

1. 百日咳の病原体診断

医療機関(13施設)からの依頼を受けて、百日咳様患者の病原体診断を42件実施した。[鰺坂裕美、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. 「生物学的製剤基準、一般試験法、マイコプラズマ否定試験法」の改正案作成:平成23年度に実施した「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」(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)の結果を参考にし、当該試験法の改正案を作成し提出した。[佐々木裕子、見理 剛、柴山恵吾]

2. ATP測定法による乾燥BCGワクチンの力価測定

現在行われている生菌数カウント法にかわる新しいBCG力価測定法としてATP法が使用可能か検討を行った。その結果、ATP法でも乾燥BCGワクチンの力価測定が可能であることが示された。[森茂太郎、柴山恵吾]

Ⅱ. 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) ユニセフ向け乾燥BCGワクチン(皮内用0.5mg)36ロットの書類審査を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎]

2. 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、肺炎球菌13価ワクチン、L-プロリン含有高濃度人免疫グロブリン製剤、細胞培養全粒子インフルエンザワクチン(H5N1)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、細胞培養インフルエンザワクチン(H5N1株)について、マイコプラズマ否定試験法の生物学的製剤基準案作成に関与した。[佐々木裕子、見理 剛、柴山恵吾]

(2) 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)混合ワクチンの承認前試験で、ジフテリアトキソイドおよび破傷風トキソイド関連の試験と書類審査を担当した。[加藤はる、岩城正昭、山本明彦、小宮貴子、妹尾充敏、岡宮洋子]

(3) 第五室:沈降13価結合型肺炎球菌ワクチン、沈降新型インフルエンザワクチン(H5N1株)について、エンドトキシン試験を担当した。[持田恵子、蒲地一成]

3. 標準品、参照品の制定

(1) 日本薬局方抗生物質標準品について、以下のロット更新、サブロット更新を行った。
ア. ロット更新（6 品目）
ピペラシリン標準品、セファゾリン標準品、フロモキセフトリエチルアンモニウム標準品、パニペネム標準品、セフポドキシムプロキセチル標準品、カナマイシン一硫酸塩標準品［鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、和知野純一、粕谷裕子、吉村由美子、柴山恵吾］

イ. サブロット更新（7 品目）
クラリスロマイシン標準品､セフォチアム塩酸塩標準品、アミカシン硫酸塩標準品、セファクロル標準品、セファレキシン標準品、ロキシスロマイシン標準品、アムホテリシンＢ標準品［鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、和知野純一、粕谷裕子、吉村由美子、柴山恵吾］

(2) ジフテリア試験毒素（ウサギ試験用）平成 24 年 7 月制定、ジフテリア試験毒素（モルモット試験用）平成 24 年 7 月制定、はぶ試験毒素（出血Ⅱ）平成 24 年 11 月制定。［小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、岡宮洋子］

国際協力関係業務

Ⅰ．WHO 関連

1. マイコプラズマ否定試験、核酸（増幅）法(nucleic acid (amplification) test: NAT 法)に関する WHO のマイコプラズマ等モリキューテス標準種制定に向けた国際 study に参加し、マイコプラズマならびにアコレプラズマ数種についての評価を実施した。
［佐々木裕子、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に DPT ワクチンの品質管理について講義した。(2012 年 11 月)
［岩城正昭、久保田眞由美、佐々木裕子］

2. 平成 25 年 2 月（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の集団研修）において DPT ワクチンに関する講義を行なった。
［岩城正昭］

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

1. 薬剤耐性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対して行った。［松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、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「微生物管理と試験法」について講義した。(平成 24 年 5 月)。〔佐々木裕子〕

Ⅲ．マイコプラズマに関する研修

1. 平成 24 年度、希少感染症技術研修会でマイコプラズマ検査法の講義を行った。(平成 25 年 2 月)
［見理　剛］

2. 地研全国協議会･関東甲信支部細菌研究部会でマイコプラズマの講義を行った（2013 年 2 月)。［堀野敦子］

Ⅳ．百日咳に関する研修

1. 平成 24 年度希少感染症診断技術研修会において、百日咳の検査法を解説した（2013 年 2 月）［大塚菜緒、蒲地一成］

その他

Ⅰ．行政科学等に対する対応

1. 「日本薬局方の試験法等に関する研究」への参加:「日本薬局方、参考情報、バイオテクノロジー応用医薬品/生物基原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」の PCR 法改良に向けた検討を実施し､特に評価用マイコプラズマ株の調整に携わった(平成 24 年レギュラトリーサイエンス財団研究事業)。[佐々木裕子]

2. 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］

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、鈴木仁人、和知野純一、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った。電話や email で個々の相談に対応する等の対応をした。［加藤はる〕

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1）Rimbara E, Mori S, Matsui M, Suzuki S, Wachino J, Kawamura Y, Shen Z, Fox JG, Shibayama K. Molecular epidemiologic analysis and antimicrobial resistance of Helicobacter cinaedi isolated from seven hospitals in Japan. J Clin Microbiol. 2012 Aug;50(8):2553-60.

2）Kenri T, Ohya H, Horino A, Shibayama K. Identification of *Mycoplasma pneumoniae* type 2b variant strains in Japan. J. Med. Microbiol. 2012 61, 1633-1635.

3）He, M, Miyajima F, Roberts P, Ellison L, Pickard DJ, Martin MJ, Connor TR, Harris SR, Fairley D, Bamford KB, D'Arc S, Brazier J, Brown D, Coia JE, Douce G, Gerding D, Kim HJ, Koh TH, Kato H, Senoh M, Louie T, Michell S, Butt E, Peacock SJ, Brown NM, Riley T, Songer G, Wilcox M, Pirmohamed M, Kuijper E, Hawkey P, Wren BW, Dougan G, Parkhill J, Lawley TD. Emergence and global spread of epidemic healthcare-associated *Clostridium difficile*. Nat Genet. 2013 Jan;45(1):109-13.

4）Senoh M, Ghosh-Banerjee J, Ramamurthy T, Colwell RR, Miyoshi S, Nair GB, Takeda Y. Conversion of viable but nonculturable enteric bacteria to culturable by co-culture with eukaryotic cells. Microbiol Immunol. 2012 May;56(5):342-5.

5）Miyoshi S, Wang J, Katoh K, Senoh M, Mizuno T, Maehara Y. An extracellular serine protease produced by *Vibrio vulnificus* NCIMB 2137, a metalloprotease-gene negative strain isolated from a diseased eel. World J Microbiol Biotechnol. 2012 Apr;28(4):1633-9.

6）Naha A, Chowdhury G, Ghosh-Banerjee J, Senoh M, Takahashi T, Ley B, Thriemer K, Deen J, Seidlein LV, Ali SM, Khatib A, Ramamurthy T, Nandy RK, Nair GB, Takeda Y, Mukhopadhyay AK. Molecular characterization of high-level-cholera-toxin-producing El Tor variant *Vibrio cholerae* strains in the Zanzibar Archipelago of Tanzania. J Clin Microbiol. 2013 Mar;51(3):1040-5.

7）Sekizuka, T. Yamamoto, A. Komiya, T. Kenri, T. Takeuchi, Shibayama, K. Takahashi, M. Kuroda, M. and Iwaki, M. *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheria*e NCTC 13129 prophage. BMC Microbiology 2012 May 12:72

8）Nakano T, Nakamura S, Yamamoto A, Takahashi M, Une Y. Mass die-off due to Tetanus in a colony of captive Japanese Macaca (Macaca fuscata). EID journal 2012, 18(10): 1633-1635.

9）Hifumi T, Yamamoto A, Morokuma K, Okada I, Kiriu N, Ogasawara T, Hasegawa E, Inoue J, Kato J, Koido J, and Takahashi M. Clinical efficacy of antivenom and cepharanthine for the treatment of Mamushi (Gloydius blomhojJIl) bites in tertiary care centers in Japan. JJID 2013; 66(1): 26-31

10）Hirai Y, Yamamoto A, Yaguchi A, Totsuka K.: Lockjaw occurring after attending a small kitchen garden. Intern Med. 2012; 51(20): 2991

11）Suzuki T, Kataoka H, Ida T, Kamachi K, Mikuniya T. Bactericidal activity of topical antiseptics and their gargles against *Bordetella pertussis*. J Infect Chemother. 2012 Apr; 18:272-5.

12）Kamiya H, Otsuka N, Ando Y, Odaira F, Yoshino S, Kawano K, Takahashi H, Nishida T, Hidaka Y, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K, Sunagawa T, Taniguchi K, Okabe N. Transmission of *Bordetella holmesii* during Pertussis Outbreak, Japan. Emerg Infect Dis. 2012 July;18:1166-9.

13）Otsuka N, Yoshino S, Kawano K, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K. Simple and specific detection of *Bordetella holmesii* by using a loop-mediated isothermal amplification assay. Microbiol Immunol. 2012 July;56: 486-9.

14）Fukuda T, Iwaki M, Komiya T, Shibayama K, Takahashi M, Nakashima H. Effects of simultaneous immunization of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine and diphtheria–tetanus–acellular pertussis vaccine on anti-tetanus potencies in mice, guinea pigs, and rats. Jpn J Infect Dis. 2013 6(1):41-5.

15）Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Suzuki S, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y. High frequency of fluoroquinolone- and macrolide-resistant streptococci among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. J Antimicrob Chemother. 2013 68(3):539-42.

16）Wachino J, Yamaguchi Y, Mori S, Kurosaki H, Arakawa Y, Shibayama K. Structural insights into the subclass B3 metallo-β-lactamase SMB-1 and the mode of inhibition by the common metallo-β-lactamase inhibitor mercaptoacetate. Antimicrob Agents Chemother. 2013 57(1):101-9.

2．和文発表

1）柴山恵吾，荒川宜親．海外帰国患者より新型カルバペネマーゼ（OXA-48 型）産生肺炎桿菌等の分離．病原微

生物検出情報 Vol. 33, 336-7, 2012 年 12 月号
2) 鈴木里和,松井真理,鈴木仁人,甲斐久美子,吉村由美子 瀧世志江,柴山恵吾.わが国における NDM 型および KPC 型カルバペネマーゼ産生菌分離状況、2012 年現在. 病原微生物検出情報 Vol.34(8-9),2013 年 1 月号
3) 鈴木里和. PCR によるβ-ラクタマーゼの遺伝子検出法 化学療法の領域 Vol28 (10) 2071-2075 2012 年 9 月
4) 山根一和、鈴木里和、柴山恵吾.厚生労働省院内感染対策サーベイランス検査部門データを用いた本邦におけるリステリア症罹患率の推定.病原微生物検出情報 Vol. 33(247-284),2012 年 9 月
5) 鈴木里和. 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 保健医療科学 Vol.61(324-330),2012 年 8 月
6) 鈴木里和 堀野敦子 見理剛 佐々木裕子 柴山恵吾 安井良則 谷口清州.2011 年流行時における *Mycoplasma pneumoniae* 感染症による入院患者の臨床的検討 病原微生物検出情報 Vol.33(162-163),2012 年 6 月
7) 佐々木裕子､モリキューテス綱マイコプラズマ目とアコレプラズマ目の種における比較ゲノム解析、日本マイコプラズマ学雑誌、36：4-7, 2012
8) 佐々木裕子、マイコプラズマのゲノム解析、月刊 Mebio Vol. 29, No. 10, p.16-23, 2012
9) 佐々木裕子、参考情報 A4、p. 299-305, 無菌製造法に関する製造指針と品質管理 第２版､監修 齋藤 泉、じほう社、2012 年
10) 加藤はる BI/NAP1/027 クロストリジウム・ディフィシル感染症について. 感染と消毒 19 (2) 25-27. 2012.
11) 栗本真起子、入江由美、杉村 悟、山本明彦、高橋元秀、大里絵美、山磨達郎： 瘡蓋より菌の分離された破傷風の一症例、岡山医学検査、49(1), 19-22、2012.
12) 蒲地一成. 百日咳の迅速診断法. 小児科臨床. 2012 65(12):2559-63.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shibayama K., Kato H.: Molecular epidemiology of Clostridium difficile infections (CDI) in Japan. The 9th Taiwan-Japan symposium, September 21, 2012, Taipei, Taiwan.
2) Shibayama K., Mori S.: Structural and functional analyses on Mycobacterium tuberculosis proteins. The 9th Taiwan-Japan symposium, September 21, 2012, Taipei, Taiwan.
3) Shibayama K., Matsui M., Suzuki M., Suzuki S.: NDM-1. NIID-NIHE meeting on Collaborative Research Programme, 1st March 2013, Shinjuku, Tokyo.
4) Matsui M, Suzuki S, Shibayama K, Arakawa Y: Application of pyrosequencing assay for rapid detection of epidemic clonal lineage of *Acinetobacter baumannii*. 52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents Chemotherapy, September 2012, San Francisco, USA.
5) Kenri T, Horino A, Matsui M, Sasaki Y, Suzuki S, Narita M, Ohya H, Okazaki N, Shibayama K. Complete Genome Sequence of *Mycoplasma pneumonia*e Subtype 2 Variant Strain 309. 19th International Congress of International Organization for Mycoplasmology (IOM), Toulouse, France, July15-20, 2012
6) Nakane D, Kenri T, Matsuo , Miyata M. Systematic Identification and Localization of Component Proteins Based on Isolated Cytoskeletal Structure of *Mycoplasma pneumoniae*. 19th International Congress of International Organization for Mycoplasmology (IOM), Toulouse, France, July15-20, 2012
7) Kenri T and Shibayama K. Current Status of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Japan. United States – Japan Cooperative Medical Sciences Program Acute Respiratory Infections Panel Meeting, Singapore March 13, 2013
8) Kato H., R. Tachibana, E. Yamada, M. Senoh, K. Adachi, C. Inoue, T. Inamatsu Bacteremia and splenic abscess due to *Clostridium difficile* without intestinal infections: a case report. 4th International *Clostridium difficile* Symposium. September 2012, Bled, Slovenia.
9) Niwa Hidekazu, Haru Kato, Mitsutoshi Senoh, Seiji Hobo, Yuta Kinoshita, Kazuhisa Hariu, Kazuomi Oku, Taisuke Kuroda, Kenji Nakai. Isolation of PCR ribotype 078 *Clostridium difficile* from five cases of fulminant colitis in Thoroughbred Racehorses. 4th International *Clostridium difficile* Symposium. September 2012, Bled, Slovenia.
10) Tagashira Yasuaki, Akira Nakamura, Mitsutoshi Senoh, Haru Kato. Two cases of fulminant colitis due to binary toxin-positive *Clostridium difficile*, which was neither PCR ribotype 027 nor type 078. 4th International *Clostridium difficile* Symposium. September 2012, Bled, Slovenia.
11) Murabata Mayumi, H Kato, H Yano, and K Oinishi. Evaluation of culture media for *Clostridium difficile* isolation from environmental surfaces. 4th International *Clostridium difficile* Symposium. September 2012, Bled, Slovenia.
12) Senoh M, Mizuno T, Ghosh-Banerjee J, Colwell RR, Nair

GB, Takeda Y. A factor that converts VBNC *Vibrio cholerae* to culturable state from human colonic epithelial cell HT-29: identification as Catalase. 112th General Meeting American Society for Microbiology, June 2012, San Francisco, California

13) Senoh M, Kato H, Shibayama K. Rapid detection method of live *Clostridium difficile*. 4th International *Clostridium difficile* Symposium, September 2012, Bled, Slovenia.

14) Senoh M, Ghosh-Banerjee J, Colwell RR, Nair GB, Takeda Y. Identification of a converting factor for VBNC *Vibrio cholerae* to culturable state from human colonic epithelial cell HT-29. 34th Naito Conference, October 2012, Sapporo, Japan

15) Rimbara E, Mori S, Matsui M, Suzuki S, Wachino J, Kawamura Y, Shen Z, Fox JG, Shibayama K.: Molecular epidemiologic analysis and antimicrobial resistance of *Helicobacter cinaedi* isolated from 7 hospitals in Japan. XXVth International Workshop of the Helicobacter Study Group. September 2012, Ljubljana, Slovenia.

16) Horino A, Kenri T, Matsumoto J, Fujito A, Katsukawa C, and Taniguchi K.: Genotyping of *Mycoplasma pneumoniae p1* genes detected in Japan from 2009 to 2012. The 19th meeting of International Organization of Mycoplasmology. July 2012, Toulouse, France.

18) Otsuka N.: *Bordetella holmesii*: a newly recognized human respiratory pathogen in Japan. The 9th Taiwan-Japan symposium, September 2012, Taipei, Taiwan.

2. 国内学会

1) 松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、柴山恵吾、荒川宜親. パイロシークエンスを用いた *Acinetobacter baumannii* 流行株の迅速検出方法の検討. 第 41 回薬剤耐性菌研究会, 2012 年 10 月, 岐阜県下呂

2) 松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、荒川宜親、柴山恵吾. パイロシークエンスによる一塩基多型検出法を用いたアシネトバクター流行株の新規スクリーニング方法の検討. 第 86 回日本細菌学会総会, 2013 年 3 月, 千葉

3) 板野綾、今村梓、榊原勝、鈴木里和、柴山恵吾. VanD5 型バンコマイシン耐性 *Enterococcus faecium* の 1 症例第 24 回日本臨床微生物学会総会, 2013 年 2 月, 横浜

4) 村田正太、渡邉正治、斎藤知子、宮部安規子、瀬川俊介、佐海知子、外山雅美、長野則之、鈴木里和、柴山恵吾、菅野治重、野村文夫. 熱傷患者より分離された多剤耐性 *Klebsiella pneumonia*e について. 24 回日本臨床微生物学会総会, 2013 年 2 月, 横浜

5) 鈴木里和、堀野敦子、安井良則、谷口清州、柴山恵吾 2011 年流行時における *Mycoplasma pneumoniae* 感染症による入院患者の臨床的検討. 第 61 回日本感染症学会東日本地方会学術集会, 2012 年 10 月, 東京

6) 佐々木裕子、モリキューテス綱マイコプラズマ目とアコレプラズマ目の種における比較ゲノム解析、第 39 回日本マイコプラズマ学会、2012 年 5 月 23-25 日、盛岡

7) 見理　剛　次世代型 DNA シークエンサーによるマイコプラズマゲノムの解析研究　日本マイコプラズマ学会第 39 回学術集会　2012 年 盛岡　5 月 24 日-25 日

8) 川北祥人、中根大介、松尾里沙、見理　剛、宮田真人　ヒト肺炎　*Mycoplasma pneumoniae* の滑走運動装置と構成タンパク質の構造解析　日本生物物理学会　第 50 回年会　2012 年　9 月 22～24 日　名古屋

9) 川北祥人、中根大介、松尾里沙、見理　剛、宮田真人　ヒト肺炎　*Mycoplasma pneumoniae* の滑走運動装置と構成タンパク質の構造解析　日本細菌学会　第 86 回総会　2013 年　3 月 18～20 日　千葉

10) 加藤はる：「特別講演」*Clostridium difficile* 感染症について. 平成 24 年度馬防疫検討会「馬感染症研究会・研究部会」. 2012 年 10 月、栃木県.

11) 加藤はる：CDI について. 第 2 回感染性腸炎研究会症例検討会. 2013 年 1 月、東京.

12) 加藤はる：シンポジウム 5　やるべき検査・やめるべき検査、*Clostridium difficile* の培養検査. 第 24 回日本臨床微生物学会総会. 2013 年 2 月、横浜.

13) 加藤はる: シンポジウム 9　感染症の隔離基準と解除基準、*Clostridium difficile* 感染症の感染管理. 第 28 回日本環境感染学会総会. 2013 年 3 月、横浜.

14) 加藤はる：イブニング・セミナー　最近の *Clostridium difficile* 感染症例から. 第 43 回日本嫌気性菌感染症研究会. 2013 年 3 月、名古屋.

15) 妹尾充敏, 加藤はる: 栄養型毒素産生性 *Clostridium difficile* の新規検査法. 第 28 回日本環境感染学会総会, 2013 年 3 月, 横浜

16) 水野環, 今村大輔, 妹尾充敏, 三好伸一, 竹田美文, 篠田純男: インドコルカタ市における環境水からの VBNC *Vibrio cholerae* の単離. 第 86 回日本細菌学会総会, 2013 年 3 月, 千葉

17) 河野智美、須藤正之、佐野哲也、山本明彦、梅原成子、青木佳代、石川和彦、滋賀県内のイヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランスの分布調査結果公衆衛生学会 2013 年 2 月, 滋賀.

18) 畠山理沙、梅田薫、阿部拓人、松村国彦、小笠原準、小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、長谷篤、真田秀一、大

阪市のイヌ・ネコにおけるジフテリア毒素産生性コリネバクテリウム・ウルセランス保菌状況調査、日本獣医公衆衛生学会(近畿) 2012 月 10 月, 大阪.

19) 林原絵美子、柴山恵吾:*Helicobacter cinaedi* の分子疫学的解析と薬剤感受性. 第１８回日本ヘリコバクター学会学術集会. 2012 年 6 月. 岡山.

20) 林原絵美子、森茂太郎、金玄、柴山恵吾: Role of γ-glutamyl transpeptidase and asparaginase in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. 第８６回日本細菌学会. 2013 年 3 月. 幕張.

21) 森茂太郎、金玄、林原絵美子、柴山恵吾：*Mycobacterium avium* 由来 MAV_3489 と *M. smegmatis* 由来 MSMEG_2932 の機能解析. 日本農芸化学会 2013 年度大会. 2013 年 3 月. 仙台.

22) 森茂太郎、金玄、林原絵美子、荒川宜親、柴山恵吾：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. 第 86 回日本細菌学会総会. 2013 年 3 月. 幕張.

23) 金玄、森茂太郎、林原絵美子、柴山恵吾：メタボリズムに関与する結核菌のキノリン酸ホスフォリボシルトランスフェラーゼの機能解析. 第 86 回日本細菌学会総会. 2013 年 3 月. 幕張.

24) 堀野敦子：2012 年のマイコプラズマ流行を考える. 日本マイコプラズマ学会第 40 回学術集会. 2013 年 5 月. 盛岡.

25) 堀野敦子、山根一和、柴山恵吾、阿戸　学：LAMP 法による *Burkholderia pseudomallei* と *Burkholderia mallei*の検出. 日本細菌学会第86回総会. 2013年3 月. 幕張.

26) 金玄、福富康夫、向井徹、横山和正、中島千絵、森茂太郎、柴山恵吾、鈴木定彦：らい菌由来 DNA ジャイレースの性状解析. 第85回ハンセン病学会総会. 2012 年6 月. 札幌.

27) 渡邉峰雄、山口哲矢、大塚菜緒、蒲地一成. *Bordetella holmesii* に対する新規ワクチンの開発. 第 86 回日本細菌学会総会, 2013 年 3 月, 幕張

28) 渡邉峰雄、山口哲矢、大塚菜緒、蒲地一成. 国内で分離された *Bordetella holmesii* に対する DPT ワクチンの効果. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会, 2012 年 11 月, 横浜

29) 砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、松本道明、羽賀將衛、蒲地一成. 強化サーベイランスにより得られるわが国の百日咳の姿. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会, 2012 年 11 月, 横浜

30) 蒲地一成、池田徹也、伊瀬郁、松本昌門、石畝史、烏谷竜哉、江藤良樹、山下和予、柴山恵吾、多屋馨子、岡部信彦. 百日咳菌凝集素価法の診断精度について. 第 86 回日本感染症学会総会, 2012 年 4 月, 長崎

31) 久保田眞由美、佐々木裕子、柴山恵吾、荒川宜親. バルトネラ感染症における血清診断用抗原としてのヘミン結合タンパク質. 第 86 回日本細菌学会総会, 2013 年 3 月, 幕張

32) 浅井大輔、金本大成、福田靖、寺久保繁美、諸熊一則、柴山恵吾、中島秀喜. 次世代医用材料の開発：薬物徐放のための生体吸収性注射ゲル. 第 72 回神奈川県感染症医学会, 2012 年 9 月, 横浜

33) 福田靖、柴山恵吾、中島秀喜. 日本で接種されている DPT ワクチンと Hib ワクチンの混合化による影響：破傷風の免疫原性に関して. 第 73 回神奈川県感染症医学会, 2013 年 3 月, 横浜

3. その他（紀要・ホームページ等）

1) 森茂太郎、和知野純一、荒川宜親、柴山恵吾. 結核菌由来 Rv2613c タンパク質の Ser147Gln 変異体における結晶学的諸性質. Photon Factory Activity Report 2011 #29 Part B (2012), p333.

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アピコンプレスサ類原虫を含む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・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、キンカジュウ回虫症、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に関連して、豚レバーにおけるアジア条虫の幼虫（＝嚢虫）の寄生状況を調査した。また、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、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た。マラリアや住血吸虫は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、いまだ国内にベクターとなる蚊や陸生貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの寄生虫症浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、国内での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行った。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部が、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た。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する基礎的研究を、赤痢アメーバ原虫やマラリア原虫を対象として進めた。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、顧みられない寄生虫病の効果的監視法の確立と感染機構の解明に関する研究、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、海外学術）、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、内閣府食品安全委員会委託費等を取得した。

人事面では、人事面では、再任用職員として朝日博子、客員研究員として川中正憲、武田正倫、荒木 潤、影井 昇、松田肇、千種雄一、亀井喜世子、協力研究員として佐藤

暖、渡辺恒二、高岡紀子、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、海老根一生、研究生・実習生として松原立真、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、岡崎隆三が在籍し、研究等に従事した。更にメキシコ CINVESTAV から Jesus Flores Valdes が派遣教授として 10 月より 1 年間共同研究に従事した。また、メキシコ心臓病研究所から Erika Pineda が 10 月より 4 ヶ月、モンゴル国立健康科学大学から Narankhajid Myadagsuren が 12 月より 3 ヶ月半、共同研究に従事した。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、原将子が在籍し、研究等に従事した。客員研究員であった影井 昇が 2013 年 3 月 26 日に逝去された。

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）消化管寄生原虫検出のためのイムノクロマトキット開発

これまでに開発した抗ジアルジアモノクロ抗体を活用して、ジアルジア抗原検出のためのイムノクロマト検査キットを試作し、その反応性を従来品と比較した。キット形態はストリップ型で、単純に試料に浸漬する簡便な使用方法を考案した。感度・特異性の面で従来品（市販キット）とほぼ同様の成績を得られ、ホルマリン固定試料にも使用が可能であることを確認した。検査時間は試料前処理を含め２０分程度であり、迅速性は良好であった。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）]

（2）神奈川県の水試料におけるクリプトスポリジウム等遺伝子検出法（qRT-PCR）の導入

クリプトスポリジウム等検査は顕微鏡を使った方法(検鏡法）で行われてきたが、新たに通知された遺伝子検出法では操作が比較的容易で、核酸抽出した試料の一部を用いて検査を行なうので、同じ核酸抽出物から再検査が可能である等の利点が期待される。この遺伝子検出法の導入を目的とし、qRT-PCR 法の感度と添加回収試験、実試料試験を行った。感度試験からは、遺伝子検出法はオーシスト、シスト共に 10L 試料水中に 1 個あれば、当該 RNA の存在を検出可能と評価された。神奈川県内の河川表流水を試料とした添加回収試験では、qRT-PCR での回収率は約 80%程度であり、検鏡法の回収率と比較しても良好であった。実試料試験では、クリプトスポリジウムの場合、検鏡法と遺伝子検出法の結果は概ね一致したが、ジアルジアで不一致が生じた。ジアルジアは保存中の分解が考えられ、採水後直ちに試料の前処理を行い、遺伝子抽出を行う必要があると考えられた。遺伝子検出法は、高感度で再検査も可能など利便性が高い方法であるが、定性性、定量性の確保には注意が必要と考えられた。

［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］

（3）吸引ろ過方式による粉体ろ過法の検討

クリプトスポリジウム濃縮法の一つである粉体ろ過法は、専用の装置とポンプの使用も可能で利便性が高まった。ただし、加圧ろ過方式であることから、ろ過の前に粉体の混合槽、レギュレーター、電磁弁といった構造があり、交換ができないことが問題とされた。装置の汚染は、適切な洗浄を行えば除去できることがわかっている一方で、どれだけ丁寧に洗浄しても汚れの完全除去が困難なことも実験的に確かめられている。今回、分解洗浄やディスポーザブルな部品の使用ができて、汚れを最小限に抑えることが可能な吸引ろ過方式で粉体ろ過法を試みた。吸引ろ過であれば、ろ過前に設置される装置は最小限、ガラス製ファネルだけで済む。ろ過ケーキ層の状態、蛍光ビーズによる捕捉性能評価、原水ろ過水量の確認を行った結果、吸引ろ過方式も加圧ろ過方式と同様の性能であり実際に使用可能であった。[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]

（4）DyLight488 標識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試験

クリプトスポリジウムの検査は検鏡法と遺伝子検査法

で行われているが、検鏡法に使用される蛍光抗体染色試薬は古典的な FITC 標識が主流である。一方、近年の新規な蛍光色素は、FITC と同じアップルグリーンの蛍光色を発するが、退色しづらく長時間の励起光に耐える性質があり、検査への活用が期待される。当該研究では従来の FITC 標識または新規の一例として DyLight488 標識された蛍光抗体試薬を用いて純水や原水に添加したクリプトスポリジウムやジアルジアを染色し、染色性能や B 励起光に長時間暴露したときの退色具合を蛍光顕微鏡観察とデジタルカメラによる写真で比較した。DyLight488 標識蛍光抗体のほうが明るく退色しづらく、観察が容易であった。FITC 標識蛍光抗体では、退色でクロスチェックが困難になる問題もあったが、解消されると考えられた。［高藤　俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、大西卓宏（(株) 環境科学研究所）、宮﨑　誠生（アーク・リソース（株））、八木田健司、泉山信司］

（５）LAMP 法及び qRT-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

河川水及び畜産排水等を試料水として、原虫類の遺伝子試験法（LAMP 法及び qRT-PCR 法）と現在普及している顕微鏡を用いる方法（検鏡法）の測定結果を比較した。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 80％以上、特にクリプトスポリジウムでは 100％の一致率となった。一方、畜産試料では、クリプトスポリジウムは 66％、ジアルジアは 81％の一致率であった。遺伝子試験法同士の一致率は高く、qRT-PCR 法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、遺伝子試験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原虫の少な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、③遺伝子試験阻害物質の影響、などが考えられた。実際、糞便が多く含まれる畜産排水試料では、検鏡法のみ陽性となる試料が河川水より多く、阻害物質の影響と推測された。河川水から qRT-PCR 法で得られた増幅産物の塩基配列を決定したところ、クリプトスポリジウムはブタ等畜産由来の型が、ジアルジアは動物由来の型とヒトが感染する可能性がある型が検出された。qRT-PCR 法では原虫類の定量値が、ほとんどの試料で検鏡法の値より低く、特に畜産排水試料でその傾向が顕著であった。［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）ドラゴンジェノミクスセンター）、百田　隆祥（栄研化学（株）生物化学研究所）、泉山　信司］

（６）ジアルジア遺伝子検査法の検討～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ジアルジア試験を行った。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、異なる遺伝子増幅法間では結果が一致し、遺伝子増幅産物からジアルジアの配列が得られた。10L の河川水を濃縮・精製した後、試料を 2 つに分離して顕微鏡観察とリアルタイム RT-PCR 法に供しているため、特に元の試料中のシスト濃度が数個と低い場合、片方の検査試料にしかシストが入らない可能性があった。ジアルジア検査の意義を鑑みれば、低い汚染の濃度を正確に測定することが求められるのではなく、汚染の有無を確実に定性的に判定すること、一時的な高濃度汚染の定量的検出を目的とした頻回の検査が重要と考えられた。ヒトへ感染する可能性のあるジアルジアの遺伝子型の存在が確認された。［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）、岸田小百合（タカラバイオ(株) ドラゴンジェノミクスセンター）、百田隆祥（栄研化学（株）生物化学研究所）、泉山信司］

（７）馬肉生食による食中毒の病因物質とされるサルコシスティスのゲノム解析

馬肉生食による食中毒の病因物質と考えられている Sarcocystis fayeri に関して、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行った。生鮮馬肉からザルコシストを得てライブラリを作成し、Illumina HiSeq2000 シーケンサーを用いてリードを取得した。結果として 1.67 億リード、16.7Gbase の配列が得られた。CLC Genomics Workbench を用いて de novo assemble を行った結果、N50 が 3,349bp、最大コンティグ長が 220,145bp、総塩基長が 126Mbp、コンティグ数 68,209 本が得られた。近縁の S. neurona の 124Mbp に対して、同等のデータ量が取得できた。カバレッジは 50 倍あり、ペアードエンドリードのペアーがよく維持されており、ゲノム全域の配列がほぼ取得できた

と考えられた。得られた配列には、下痢症状の誘発が推測される 15kDa タンパク質の配列や、近縁の Toxoplasma のアピコプラストに相同性の高い配列が含まれていた。

［泉山信司、八木田健司、竹内史比古、関塚剛史、黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター）、野崎智義］

（８）尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

尿中抗体検出によるマラリア検査診断法については、尿中熱帯熱マラリア原虫抗体価が陰性化するまでの期間について検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、2007 年から 2011 年に採取された尿を用い、熱帯熱マラリア原虫に対する尿中 IgG 抗体価の経年的変化をみた。2007 年に熱帯熱マラリア感染が確認された後、病歴の聴取や顕微鏡的検索から、マラリア罹患の可能性がないと判断された 37 人を対象とすると、感染後３年で約 62%（23/37）、感染後４年では 80%以上（30/37）が陰性化していた。個人及び集団で、熱帯熱マラリア感染状況の経年的変化をみるうえで、尿中抗体の検出は有効な方法となることがわかった。[大前比呂思、伊藤誠（愛知医大）、亀井喜世子（平成帝京大学）]

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と評価

ア．マンソン孤虫症の迅速血清診断キットの評価

マンソン裂頭条虫（*Spirometra erinaceieuropaei*）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、平成23年度に試作したマンソン孤虫症キットの検出感度と特異性について酵素抗体法と比較検討した。比較にはマンソン孤虫の虫体が確認され、マンソン孤虫症と確定診断された患者血清（11 検体）を用いてイムノクロマトキットにおけるバンドの強度と ELISA における吸光度との関係を調べた。その結果、イムノクロマトキットによる強度は ELISA の吸光度とほぼ相関し、相関関係を示す Spearman 係数（*Rs*）は 0.8433 と高い値を示した。さらに、上記マンソン孤虫症患者に加え、マンソン孤虫症以外の寄生虫症患者血清（143 検体）ならびに健常人血清（60 検体）、計 214 検体について感度と特異性を比較した。その結果、感度は両検査法とも 90.9%であったが、特異性については ELISA では 79.3%であったのに対して、イムノクロマトキットでは 94.6%であった。また、推定有病率においてはイムノクロマトキットの推定陽性率と推定陰性率が優っていたことから、イムノクロマトキットの有用性が示された。現在、本キットは当該部で保管管理しており、必要に応じて分与できる体制を取っている。[山﨑 浩・武藤麻紀・森嶋康之、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（*Gnathostoma* spp.）の幼虫がヒトに寄生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マンソン孤虫症の症状に類似し、両者は治療薬が異なることから、マンソン孤虫症との鑑別診断が求められる。また、顎口虫症の検査・診断には血清中の抗体検出法が有効であるために、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。平成 23 年度に作製した有棘顎口虫第 3 期後期幼虫由来の cDNA ライブラリー（1.0 x 10^7 cfu）を用いて、顎口虫症の免疫診断用抗原分子をコードする遺伝子の単離（クローニング）を確定診断されたタイ人顎口虫症患者血清を用いて行った。一次スクリーニングで得られた 73 個の陽性コロニーについてさらに二次スクリーニングを行った結果、強陽性シグナルを示した 7 クローンが得られた。これら 7 クローンを用いて、大腸菌でタンパク質として発現させたところ、3 クローンが顎口虫症患者血清と特異的に反応することが判明したために、現在、大腸菌における大量発現系を構築している。[山﨑 浩・武藤麻紀, 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）]

ウ．トキソカラ症の迅速血清診断キットの評価

トキソカラ症はトキソカラ属のイヌ回虫（*Toxocara canis*）やネコ回虫（*Toxocara cati*）の幼虫がヒトに寄生することによって惹起される幼虫移行症の一つで、世界中で患者発生が見られる。トキソカラ症の診断はこれらの寄生虫に対する特異的

IgG 抗体を検出する血清検査が有効であることから、レコンビナント抗原を用いた、簡易、かつ迅速なイムノクロマトデバイスを用いた血清検査キットをすでに開発した。平成 24 年度には、トキソカラ症例が多いブラジルにおいて、サンパウロ大学熱帯医学研究所血清免疫部門の協力を得て、イムノクロマトキットと ELISA による評価を比較検討した。ブラジル・サンパウロ大学で血清学的、ならびに臨床的にトキソカラ症と診断された患者血清 30 検体、血清学的にボーダーラインの血清 12 検体、それにブラジル人健常者血清 7 検体を用いて、イムノクロマトキットにおけるバンドの強度と ELISA による吸光度との相関について検討した。その結果、トキソカラ症と診断された患者血清については、イムノクロマトキットによるバンドの強度と ELISA における吸光度とはよく相関し、相関関係を表す Spearman 係数(*Rs*)は 0.799 と高い値を示した。ELISA でボーダーラインと判定された血清や陰性と判定された健常者血清においても、相関関係が示され、ブラジルにおいてもキットの有用性が示された。[山﨑 浩・武藤麻紀, Guita Rubinsky Elefant（ブラジル・サンパウロ大学熱帯医学研究所), 松岡裕之(自治医大・医動物)]

（２）人体寄生性肺吸虫の分子鑑別に資するプライマーの評価と応用

ア．ヒロクチ肺吸虫の鑑別法開発

本邦産の人体寄生性肺吸虫（ウェステルマンおよび宮崎）の鑑別にミトコンドリア・16S リボゾーム DNA の塩基配列がマーカーとして有効であることは報告した。当該領域を効率的に増幅する特異プライマーを作製したので、H24 年度はこのプライマーが東南アジアの主要人体寄生種であるヒロクチ肺吸虫（*Paragonimus heterotremus*）の鑑別にも適用できるかを検討した。その結果、ヒロクチ肺吸虫の DNA からも予想サイズ(464 bp）の増幅産物が得られ、その配列も予想と一致した。また、制限酵素 *Ape*KI はヒロクチ肺吸虫の配列だけを認識し、この酵素を用いた PCR-RFLP も鑑別診断に有効であることが分かった。[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 28 歳のミャンマー人男性、来日 1 年後に血痰を自覚し、その検査で多数の虫卵が検出され、胸部 X 線でも結節影を認めた肺吸虫症例である。血痰中の虫卵を出発材料に DNA を調製、PCR 産物の制限酵素処理によりヒロクチ肺吸虫と同定、塩基配列の解読結果からこれを確認した。我々が確立した鑑別法は輸入症例にも適用できることが明らかとなった。[杉山 広, 中鉢正太郎（東京歯大市川病院）]

（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

ウェステルマン肺吸虫（2 倍体型）では、感染サワガニを-18℃で 100 分間冷凍すれば、マウスへの感染が予防できた。今回の検討により、-18℃のサワガニ冷凍による宮崎肺吸虫の感染予防には、100 分間では不十分で、200 分間の処理が必要であった。宮崎肺吸虫に関しては、より低い温度での処理、あるいは 100 分以上、200 分以下の冷凍処理を行い、感染予防に有効なサワガニの処理条件を絞り込みたいと考えている。 [杉山 広・森嶋康之・山﨑 浩・柴田勝優, 川上 泰（麻布大）]

（4）寄生蠕虫の遺伝子検査

寄生蠕虫症における原因種の正確な鑑別や同定は、確定診断の根拠を与え、適切な治療を行うためにきわめて重要である。しかし、形態学的鑑別は、形態が類似した寄生虫の鑑別に高度な専門知識が要求される。また、虫体が変性、あるいは石灰化した場合には、寄生虫の形態的特徴が失われ、鑑別は一層困難となる。そこで、遺伝子解析に基づき寄生虫種を同定・鑑別する方法が最も正確であるために、臨床検体を研究材料として、網羅的な遺伝子鑑別法の確立を目的として実施した。標的遺伝子はミトコンドリアゲノムにコードされる cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子(cox1 遺伝子)や 12S rRNA 遺伝子とし、塩基配列に関する基礎的な情報を蓄積した。研究材料は当該部に依頼検査目的で送付された臨床検体(虫体や病理組織標本)を用いた。さらに、ホルマリン固定病理組織標本中に検出される寄生虫の鑑別法についても、寄生虫の種類ごとにプライマーの設定を含めた PCR 条件を詳細に検討した。解析した寄生虫の詳細はレファレンスの項に記載した。[武藤麻紀・森嶋康之・杉山 広・ 山﨑 浩]

II. 疫学・型別・分子疫学的研究

１．原虫症の分子疫学的研究・調査

（１）生食用国内産重種馬肉のサルコシスチス汚染実態調査

平成23年より食品衛生法により病因物質と定められた馬肉に寄生するサルコシスチス(*S. fayeri*)の生食用馬肉の汚染実態調査を目的として、国内で誕生し肥育されたことが明らかな重種馬を対象に定量 PCR 法により *S. fayeri* 汚染を調べた。調査対象とした馬は 150 頭で約 93%が北海道産、残りは九州産であった。北海道産の子馬の肥育地は約 80%が熊本はじめ九州地域であった。と畜時に横隔膜を採取（生食用）、その一部を検体とした。定量 PCR からは国産重種馬肉の汚染量は全般的に低く、食中毒事例残品の 1/10～ 1/100 程度で、１検体にのみ残品同等の汚染を認めた。現状では国内での飼育管理また環境上の原虫感染リスクは低い状況であることが推測された。[八木田健司、村上裕子、内田雄治（株式会社千興ファーム）]

（２）*S. fayeri* の輸入馬肉における汚染とその遺伝子型別

カナダ以外の馬肉生産国からの輸入馬肉（冷凍品）に関して定量 PCR 法を用いて *S. fayeri* 汚染実態を調べた。生食用馬肉ではベルギー産、アルゼンチン産は残品以下のレベルであったが、メキシコ産において残品同等の食中毒リスクレベルの汚染が見られた。またペットフード用馬肉においてもメキシコ産で同様な汚染が認められた。これらの *S. fayeri* が検出された試料に関して、これまでの国内と畜馬や輸入馬肉また国内事例残品の試料と合わせ、ITS-1 領域を PCR 増幅し、その制限酵素切断多型を調べた。その結果、制限酵素 Hpa2 により多型がみられたが同領域内の変異は少ないことが想定された。[八木田健司]

（３）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。3 施設からの 9 分離株(角膜 4、患者使用の保存液 5)を解析し、角膜株には検出頻度の高い ATCC30461 タイプ、ATCC50370 タイプ等の T4 に加え、T3 タイプも今回検出された。保存液からの分離株はいずれも患者角膜と同じシークエンスを示した。T3 の角膜検出例は少ないことが知られるが、これは。前年度検出された T11 同様、これらのタイプの環境中での割合が低いからである。今年度調査より国内でも T4 以外に T3 や T11 のアメーバも角膜炎に関連することが明らかとなった。[八木田健司、村上裕子、井上幸次（鳥取大）]

（４）レジオネラ属菌遺伝子型とアメーバ感受性

Legionella pneumophila SG1 株の土壌および冷却塔由来の計 5 グループ、また土壌、温泉浴槽あるいは冷却塔からの *Acanthamoeba* sp.および *Vannella* sp.を用いて実験感染を行い、菌の遺伝子型とアメーバ感染性の関係を調べた。*Acanthamoeba* においては菌の特定のグループが特定の環境の *Acanthamoeba* と関連している傾向は認められず、菌の遺伝子型分布に *Acanthamoeba* が関連する証左は得られなかった。また *Vannella* においては浴槽分離の株に菌の特定遺伝子型と関連していることを示唆する結果が得られた。レジオネラ属菌感受性の *Vannella* に関しては、同アメーバがシスト化しない性質から実際の環境における宿主としての重要性が高いことが想定された。[八木田健司、泉山信司]

（５）飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究（微生物分科会）

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、塩素消毒に依存した微生物対策の見直しが求められている。当該分科会では研究分担者、協力者との研究協力により、耐塩素性病原微生物と併せて、水道に関連する細菌・ウイルスの研究についての取りまとめを行っている。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌の有効活用例として、災害時対応用貯水槽（飲料水兼用耐震性貯水槽）の衛生管理に活用した。膜ろ過におけるウイルス処理性を、遺伝子組換えノロウイルス Virus-like particles と immuno-PCR による検出法を組み合わせて評価した。単独ではウイルスを除去できない孔径 0.1 μm の MF 膜であっても、前処理として凝集処理を導入することでノロウイルスの除去率は 4-Log 以上が得られた。耐塩素性病原微生物では、粉体ろ過法のろ過濃縮装置に残る汚染を回

避する目的で吸引ろ過方式を検討し、加圧ろ過方式と同等の性能が得られた。遺伝子検出法の導入を目的とした検討が、新たな事業体で行われた。水道事業体の協力を得て 30 箇所の水道原水よりジアルジア試験を行い、遺伝子検査法と顕微鏡観察は同程度の検出率であった。適切に管理されたブタの畜舎排水処理でも、年間を通してのオーシスト排出が調査から明らかとなった。豚舎毎の排出状況では 3 ヵ月齢以下の離乳したばかりの畜舎が最も多く、排出低減化が今後の課題と考えられた。顕微鏡検査用の FITC 標識蛍光抗体は退色する性質があるが、近年は退色しづらい新規の蛍光色素が開発されており、検査に有用と考えて検討した。[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)]

（6）従属栄養細菌による飲料水兼用耐震性貯水槽の管理について

飲料水兼用耐震性貯水槽において、設置当初から定期的に水質検査を行ってきたが、従属栄養細菌が管理目標設定項目に追加された平成 20 年からは、水質検査項目に従属栄養細菌を追加した。この間の水質に問題はなく、すべての検査において一般細菌、大腸菌は不検出であるが、一部の施設で従属栄養細菌が数百のオーダーで検出された。残留塩素が 0.2mg/L 程度に低下しており、貯水槽内部での滞留発生が疑われた。滞留発生防止策として貯水槽底部からの定期的または常時放水を実施するなどの対策をとった。加えて、貯水槽内面の劣化に伴う生物・微生物の繁殖防止のため、内面防水塗装の更新も進めた。最終的には対策が奏功し、平成 24 年 9 月の従属栄養細菌数は全施設で 1 桁程度となり、緊急貯水槽の衛生状態は改善された。従属栄養細菌は、一般細菌では判断できない緊急貯水槽内の滞留を説明し得た。今後も、緊急貯水槽内の衛生管理に従属栄養細菌の検査を活用して行きたい。[泉山　信司、水野　聰　（新潟市水道局技術部水質管理課)、川口有希子（桐生市水道局水質センター)、及川　智　（東京都水道局)]

（7）日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア．沖縄ヤギ由来トキソプラズマの分子型別の同定

従来トキソプラズマには基本的に 3 つのクローン（タイプ 1-3）しか存在せず、またこれらのクローンはクローンごとにそれぞれ病原性や分離場所が異なっていることが報告され、トキソプラズマにおける分子タイピングの重要性の根拠となっていた。しかしながらこれらは北米および欧州のヒトや家畜から分離された株のみを用いた解析結果である。最近南米を始め世界各地の分離株を用いた解析から、トキソプラズマは今まで考えられていたよりもう少し多様性が高いことが明らかになるなど、トキソプラズマの分子タイピング研究は新たなステージを迎えている。一方で、南北米および欧州以外の地域、特に日本を含むアジア地域のトキソプラズマの分子タイピングはほとんど解析されておらず、数少ない報告も古典的な 3 タイプを区別できるレベルに留まっており、充分なものとはいえない。そこで今回我々は本邦、特に沖縄で分離されたトキソプラズマの、グローバルな視点での議論に耐えうるレベルでの分子タイピングを始めた。その結果、沖縄のトキソプラズマは世界的に見てかなり独特な進化を遂げている可能性が示唆された。[喜屋武向子（沖縄県衛生環境研究所)、永宗喜三郎]

イ．埼玉県のネコにおけるトキソプラズマの保有状況調査

埼玉県内のネコにおけるトキソプラズマの保有状況について調査した。トキソプラズマに対する血清抗体は，1,293 検体中 71 検体（5.49%）が陽性であった。その中で，トキソプラズマのオーシストが検出されたのは，1 検体（0.08%）のみであったが、当該ネコの血清抗体価は陰性であった。得られたオーシストの分子タイピングを行ったところこの原虫はタイプ 2 に分類されることが明らかとなった。[山本徳栄（埼玉衛研)、森嶋康之、永宗喜三郎]

（8）尿中抗体検出によるマラリア診断法の検証

尿中抗体検出によるマラリア検査診断法については、尿中熱帯熱マラリア原虫抗体価が陰性化するまでの期間について検討した。ソロモン諸島のマラリア流行地で、2007 年から 2011 年に採取された尿を用い、熱帯熱マラリア原虫に対する尿中 IgG 抗体価の経年的変化をみた。2007 年に熱帯熱マラリア感染が確認された後、病歴の聴取や顕微鏡的検索から、マラリア罹患の可能性がないと

判断された 37 人を対象とすると、感染後 3 年で約 62%（23/37）、感染後 4 年では 80%以上（30/37）が陰性化していた。個人及び集団で、熱帯熱マラリア感染状況の経年的変化をみるうえで、尿中抗体の検出は有効な方法となることがわかった。[大前比呂思、伊藤誠（愛知医大）、亀井喜世子（平成帝京大学）]

２．蠕虫症の分子疫学的研究・調査

（１）キンメダイにおけるアニサキスの寄生状況調査

東京では最近、キンメダイを刺身で喫食する機会が増えていることから、静岡で漁獲され、東京の鮮魚店で販売されていたキンメダイ 11 尾を検査し、アニサキスの寄生状況を調べた。このうち 10 尾がアニサキス陽性であった。検出虫体の総数は 135 隻で、その大半の 121 隻（90%）は*Anisakis physeteris* と同定された。これに次いで、*Anisakis paggiae* が 7 隻、*Anisakis simplex* sensu stricto が 3 隻, *Anisakis brevispiculata* が 2 隻検出された。虫体はいずれも体腔・内臓に寄生し、筋肉は陰性であった。 [杉山 広・武藤麻紀・柴田勝優]

（２）肺吸虫に関する疫学調査

ア．肺吸虫の待機宿主であるイノシシの生息状況・捕獲状況と食用としての利用状況調査

イノシシは肺吸虫の待機宿主となり、ヒトへの感染源として重要な役割を果たしている。そこで環境省の「鳥獣関係統計（2009 年度、狩猟者登録を受けた者による捕獲鳥獣数）」を用い、2007 年度～2009 年度の 3 年間におけるイノシシの捕獲状況を調査した。その結果、2009 年度では、イノシシの捕獲数は全国で約 16 万頭を数えた。捕獲頭数を地方別にまとめると、近畿が約 23,000 頭、中国が約 26,000 頭、四国が約 18,000 頭、九州・沖縄が約 59,000 頭であった。これらの合計は約 13 万頭弱で、イノシシの約 8 割が西日本で捕獲されていた。しかも、西日本の半数が九州での捕獲であった。この傾向は 2007 年度以降の 3 年間で全く変化がなかった。イノシシは西日本、中でも九州を中心に捕獲されていることを確認した。[杉山 広・森嶋康之・山﨑 浩・柴田勝優]

イ．イノシシ肉における肺吸虫汚染の実態調査

野生イノシシ肉を入手し、筋肉から肺吸虫幼虫の検出を試みた。検体の総数は 14 で、内訳は佐賀から 2 検体、大分から 6 検体、宮崎から 6 検体であり、検体肉の重量（体幹部筋肉）は平均 649g（440g～1,100g）であった。検査の結果、大分の 4 検体から平均 3.8 隻（1 隻～11 隻）の肺吸虫幼虫が検出された。虫体の形態を観察し、DNA を抽出して遺伝子配列を解読、種同定を試みた。その結果、何れもウェステルマン肺吸虫（2 倍体型：人体寄生種）と同定された。従来、ウェステルマン肺吸虫の幼虫がイノシシの筋肉から検出された報告があるのは宮崎産のイノシシだけであったが、大分県にも肺吸虫陽性のイノシシが多数分布し、しかも、多数の肺吸虫幼虫が可食部の筋肉に寄生している事が明らかとなった（最高は 650g の肉に 11 隻が寄生）。[杉山 広・荒川京子・柴田勝優・森嶋康之・山﨑 浩]

（３）豚レバーにおけるアジア条虫の汚染実態調査

豚のレバーを感染源とするアジア条虫症感染者が群馬、埼玉、栃木県を中心に発生したことから、これらの地域で生産された豚におけるアジア条虫の幼虫（＝嚢虫）の汚染実態調査を行った。豚のレバーは毎週 5～10 頭分、食肉検査所や食肉卸業者より購入して検査を実施した。豚レバーの表面、ならびにレバーを厚さ 5 ㎜程度にスライスして肝実質部における白色病巣の有無を目視検査した。目視で確認された白色病巣は DNA 検査によってアジア条虫による病巣か否かを確認した。群馬、埼玉、栃木県産の豚、それぞれ 160、50、10、計 220 頭を検査したところ、計 44 個の白色顆粒状病巣が検出された。これらすべての白色顆粒状病巣についてミトコンドリア DNA 解析を行ったが、アジア条虫の感染を裏付ける証拠は得られなかった。[荒川京子・武藤麻紀・森嶋康之・杉山 広・山﨑 浩]

（４）裂頭条虫に関する疫学調査研究

ア．南米チリにおける裂頭条虫の調査研究

南米のチリは世界有数の養殖サケ・マスの生産国であり、日本はその養殖サケ・マスの主要な輸入国である。このチリ産サケ・マスに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確認されており、わが国でもそのチリ産養殖サケ・マスを原因とする裂頭条虫による感染が懸念されている。

今回の調査では、チリ南部の Puerto Montt 近郊で養殖された大西洋サケや Puerto Montt 近郊の養殖地であるジャンキウエ湖（Llanquihue Lake）とその周辺河川、またチリ南部 Valdivia 近郊のパンギプジ湖（Panguipulli Lake）とその周辺河川に生息するサケ・マスにおける裂頭条虫幼虫の感染実態を調査した。Puerto Montt の水産市場では大西洋サケとトウゴウロイワシをそれぞれ 1 頭と 12 頭調べたが、裂頭条虫幼虫の検出には至らなかった。

一方、ジャンキウエ湖周辺で捕獲したニジマス 3 頭とギンザケ 17 頭から計 42 隻の裂頭条虫幼虫が得られ、寄生率は 50%であった。また、パンギプジ湖周辺では、捕獲数制限のためニジマスとブラウントラウトそれぞれ 7 頭と 1 頭しか調査できなかったが、計 357 隻もの裂頭条虫幼虫が主に内臓から得られた。可食部である筋肉内からも少数の幼虫が検出され、寄生率は 100%であった。現在、DNA 解析に基づいた裂頭条虫種の鑑別を行っているが、これまでの調査結果から、多くは *Diphyllobothrium latum*、あるいは *D. dendriticum* に近縁の種である可能性が示唆された。今後、北米やアジアに分布する *D. dendriticum* との比較解析が必要と考えられた。[山﨑 浩・武藤麻紀, 倉持利明（国立科博・動物研究部）, Ruben Mercado（チリ大・医・寄生虫）]

イ．中国における裂頭条虫症調査

H24 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、食品由来の新興寄生虫症として裂頭条虫症に関連した人体症例発生の状況調査、ならびに感染源と考えられるサケにおける裂頭条虫幼虫の感染状況を上海において調査した。H23 年度の調査研究では、上海市内の水産市場や百貨店でシロザケが販売され、同地で発生した裂頭条虫症の原因種が日本海裂頭条虫（*Diphyllobothrium nihonkaiense*）であったことから、原因食材はシロザケと推定された。そこで、H24 年度も同様、上海市においてシロザケを調査したが、シロザケはどの水産市場でも販売されておらず、店頭に並ぶのはノルウエー産の養殖大西洋サケ（現地では三文魚と書く）だけであった。大西洋サケからはヒトに健康被害を及ぼす裂頭条虫の幼虫寄生は報告されていないが、大西洋サケ 2 頭を購入し、裂頭条虫幼虫の寄生状況を調査してみたが、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中国とロシア国境の黒竜江（＝アムール川）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、シロザケが裂頭条虫にどの海域で感染するのかなど生活史の一部は未だ謎に包まれている。したがって、今後、日本海裂頭条虫の起源、分布や生活史を解明する上で、黒竜江産シロザケに寄生する日本海裂頭条虫の幼虫とヒトから得られる成虫のミトコンドリア DNA のハプロタイプ解析が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 木新･張 永年（中国 CDC、寄生虫病研究所）]

（５）中国におけるアニサキス調査

タチウオは中国人が嗜好する魚種であること、またサケも中国において刺身として最も良く提供される魚種であることから、アニサキスの寄生状況を調べた。タチウオは合計 336 尾（青島市，上海市，寧波市および深圳市の魚市場で購入）を調べたところ、73 尾からアニサキス I 型虫体が検出された（寄生率：81.3%）。特に深圳での寄生率が最も高かった（89.4%）。検出虫体は計 1,884 隻におよび、このうちの 407 隻について分子同定を行った。その結果、本邦での人体主要病原種である *Anisakis simplex* sensu stricto は少なく、*A. pegreffii*（特に青島）や *A. typica*（他の 3 都市）が主に寄生していた．一方、シロザケは 2 尾を調べたに留まったが、1 尾が陽性で、検出された 10 隻は総て *A. simplex* sensu stricto であった。日本人が中国でサケの刺身を喫食し、アニサキスに感染する危険性が示唆された。[杉山 広・森嶋康之・山﨑 浩・柴田勝優，川上 泰（麻布大），艾 淋・陳 木新（中国疾病予防対策センター寄生虫病研究所・土源性食源性寄生虫病室），朱興全（中国農業科学院蘭州獣医学研究所）]

（６）アライグマなど移入動物の動物由来寄生虫調査

アライグマなど移入動物が伝播する動物由来寄生虫症の監視を目的として、神奈川県内 3 市（横須賀市・鎌倉市・藤沢市）で捕獲駆除された野生動物から採取された糞便を用いて調査を行った。対象となった動物種とその

頭数はアライグマ 82 頭とハクビシン 9 頭で、そのうちアライグマ 2 頭とハクビシン 1 頭から回虫卵が検出された。虫卵の分子同定を行ったところ、すべてタヌキ回虫卵と同定された。その他の寄生虫種としてアライグマ 3 頭からマンソン裂頭条虫卵も検出された。[森嶋康之・武藤麻紀・杉山 広・山﨑 浩]

（7）キンカジューの回虫汚染状況調査

都内で伴侶動物として飼育中のキンカジューからアライグマ回虫近縁の回虫種(以下、キンカジュー回虫)が検出された。そこで国内における本虫の汚染状況を明らかにするため、先ず 7 箇所の展示施設で飼育されているキンカジュー19 頭を対象に本虫の寄生状況を糞便内寄生虫卵検査により調査した。結果はすべて陰性であったが、このうちの 4 頭が回虫駆除を目的に駆虫剤投与の経歴を有していた。次に、業者保管の輸入直後の個体と既に一般家庭で飼育中の個体の合計 33 頭も同様に検索した。その結果、6 頭が回虫陽性で、駆虫で得た虫体の塩基配列解読（リボソーム DNA・ITS2 領域）により、すべてキンカジュー回虫であることが分かった。以上の結果から、本虫がキンカジューの輸入を介して既に何度も国内に持ち込まれていることが明らかとなった。本虫の病害性がアライグマ回虫と同様に激烈であるのかを評価するために、現在、各種の実験動物を用いた感染実験を実施中である。[杉山 広・武藤麻紀・柴田勝優・森嶋康之・山﨑 浩, 平 健介・宇根有美（麻布大）]

（8）統計資料に基づいた寄生虫感染の実態調査

ア．食肉における寄生虫汚染の実態調査

内閣府食品安全委員会からの委託研究として、と畜場法に基づいた食肉検査統計資料を基に、豚と牛における寄生虫症の検出頻度や発生の地域集積性について、最近の 11 年間にわたって調査した。豚は全国で年間約 1,600 万頭がと殺され、検査対象である嚢虫症は毎年数例検出されていた。しかし、そのほとんどはヒトには感染しない胞状条虫（*Taenia hydatigena*）の幼虫と推察された。トキソプラズマ症は年間 78～88 例が沖縄県で検出され、他の都道府県での検出例はなかった。また、「その他の寄生虫症」と診断された例は年間約 240,000 件もあったが、原因となった寄生虫の種類は不明であった。

一方、牛は全国で年間約 120 万頭がと殺され、検査対象としての嚢虫症は毎年 2～18 例検出されていた。嚢虫種は特定されていないが、豚同様、多くはヒトへの感染性のない胞状条虫（*Taenia hydatigena*）の幼虫による感染と考えられた。ただ、平成 23 年、埼玉県でヒトに感染しうる無鉤嚢虫（*Taenia saginata*）による感染事例が 1 例報告されていた。さらに、ヒトに感染しうる肝蛭(*Fasciola* spp.)による寄生例が北海道、神奈川県、鹿児島県などを中心に年間 5,000～7,000 頭も検出されている実態が明らかになった。［山﨑 浩・森嶋康之・荒川京子・杉山 広］

イ．食肉を原因とするヒトの健康被害例の文献調査

わが国におけるアジア条虫症を含むテニア症や嚢虫症の発生状況に関して、医学中央雑誌をもとに平成 2 年～平成 24 年まで過去 23 年間に報告された症例数や当該部への検査依頼によって確認された症例をもとに、地域別発生数、感染源食品、国内・海外感染などを精査した。その結果、テニア症は 104 例が報告され、内訳は無鉤条虫症が 68 例、有鉤条虫症 5 例、アジア条虫症 31 例(疑診例 4 例含む)であった。無鉤条虫症患者 60 例は邦人患者でほとんどは海外（特にアフリカ、東南アジアなど）における感染事例であった。海外渡航歴のない国内感染と考えられる症例が 6 例あった。有鉤条虫症では邦人患者が 4 例で、感染地は東南アジアと推定された。アジア条虫症については現在のところ、関東地方（群馬、埼玉、栃木、東京、千葉）に限局した地域集積性が見られているが、その理由は不明である。

一方、有鉤嚢虫症は食肉が直接的な感染源ではないが、最近の 23 年間に 69 例報告され、うち邦人患者は 42 例で、その多くは東南アジアで感染したと考えられた。国内感染と推定された日本人症例 14 例のうち 5 例は沖縄での発生例であった。国内感染と考えらる症例については感染源や感染経路は不明である。[山﨑 浩・森嶋康之・杉山 広・荒川京子]

ウ．文献検索による本邦肺吸虫症の発生状況調査

医学中央雑誌を中心に 1991 年以降の肺吸虫症に関連した報告を抽出し、原著を検索して本症の地域別・人種別・原因虫種別の発生状況を解析した。抽出された文献資料のうち、患者の居住地・人種および原因虫種などが

明らかなものは 119 報で、この中に 363 症例が含まれていた。患者の発生数は九州（沖縄を含む、以下同様）が 61%と他の地域に比較して圧倒的に多かった。しかも、九州では患者の約 3 分の 2 を日本人男性が占め、次いで日本人女性（51 例、23%）、更に外国人女性（19 例、9%）の順であった。一方、九州に次いで発生数の多い関東では、九州と同様に患者の多くは日本人男性であったが(20 例、43%)、僅差で外国人女性が続いた（17 例、37%)。なお、外国人女性の主たる出身国を見ると、九州では中国(68%)、関東ではタイ（76%）であった。原因虫種は全体ではウェステルマン肺吸虫が 88%を占め、宮崎肺吸虫は 12%に過ぎなかった（原因種不明・未同定の事例を除く)。しかしながら、関東では宮崎肺吸虫による症例の割合が高くなり、38%に達した。これは東京など大都市に滞在する東南アジア出身の外国人女性が鮮魚店で食用サワガニを購入し、これを使った出身国の料理を加熱なしで摂食して、宮崎肺吸虫に感染したためと推定された。また、九州に多い日本人男性の症例は、地元の食習慣であるイノシシ肉の非加熱摂食が原因で、ウェステルマン肺吸虫に感染したものと考えられた。［杉山 広・賀川千里・柴田勝優・森嶋康之・山﨑 浩］

（９）日本とカンボジアにおける蠕虫症治療薬使用状況と治療効果の比較、

約 100 万人のレセプトデータの解析を中心に、日本国内における寄生蠕虫症の診療実態を、診断病名と処方薬の面から調査した。国内での寄生蠕虫症診療での対象疾患では蟯虫症が多かった。使用薬剤ではパモ酸ピランテルが殆どで、国際的には消化管寄生線虫の第 1 選択薬とされるアルベンダゾールやメベンダゾール、或いは吸虫症や条虫症の第 1 選択となるプラジカンテルの処方例は少なかった。一方、カンボジアでのメベンダゾール集団治療（投与量 500mg での 1 回投与）後に、鉤虫卵陽性となった例について、アルベンダゾールによる再治療(投与量 400mg での 1 回投与）を行ったところ、全例で虫卵の陰性化が確認された。日本国内でも、国際標準に即した、ベンズイミダゾール系薬剤やプラジカンテルの適応拡大が、検討されるべきである。［大前比呂思・杉山広・山﨑浩、千種雄一（獨協医大)、Muth Sinuon (CMPV, カンボジア)］

III. 分類・同定・臨床

（１）チリの野生鳥獣に寄生する裂頭条虫

チリにおける裂頭条虫症の生活環や感染経路に関する調査研究の一環として、チリ産の野生鳥獣（オタリアやアデリーペンギン）やイヌ・ネコなどペット動物から得られた裂頭条虫（9 検体）について、チリにおける裂頭条虫の生活史解明のために、形態とミトコンドリア DNA 解析に基づいた種の鑑別を実施した。その結果、3 頭のオタリアから得られた条虫 3 隻のうち太平洋裂頭条虫（*Adenocephalus pacificus*）が 1 隻、2 隻が広節裂頭条虫（*Diphyllobothrium latum*）とそれぞれ同定された。しかし、広節裂頭条虫については再確認のための精査を行っている。一方、1 頭のアデリーペンギンから採取された条虫 1 隻については現在、精査中である。イヌやネコから得られた 4 隻の条虫は広節裂頭条虫と同定された。[山﨑 浩・ 武藤麻紀, 倉持利明（国立科博・動物研究部）, Ruben Mercado（チリ大・医・寄生虫）, Fernando M. Fredes (チリ大・獣医・寄生虫)]

（２）アジア嚢虫の豚レバーにおける発育と病理組織学的検索

アジア条虫はわが国には分布しない寄生虫であったことから、病態に関する情報が不足していた。そこで、3 頭のクラウン系ミニブタを用いて感染実験を行い、肉眼、ならびに組織学的所見を得た。実験は、群馬県在住の患者から駆虫されたアジア条虫の片節をミニブタ 1 頭当たり 4 個（約 10 万個の虫卵を含む）経口投与し、投与後 9 日目、20 日目、30 日目に剖検して、肝臓、心臓、横隔膜、大網、舌など諸臓器における寄生状況や病理所見を精査した。その結果、感染後 9 日目では、アジア嚢虫による病巣は直径 1 ㎜程度、表面に凹凸のある不規則な白色円形の腫瘤として観察された。また、病巣の割面からは乳白色の膿汁が流出したが、顕微鏡観察では幼虫の発育と生存が確認された。肝臓以外の臓器ではアジア嚢虫の寄生は認められなかった。さらに、感染後 20 日目、30 日目の肝臓では、病巣は互いに融合して径 2～3 ㎜ほどの白色腫瘤として観察されたが，病理組織学的には虫体の変性、あるいは死滅を示す所見が得られた。［森嶋康之・

杉山 広・山﨑 浩・荒川京子, 岩永健裕・鳥取潤一（株ジャパンファーム クラウン研究所）］

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

赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

赤痢アメーバリソソーム酵素輸送機構の解明

ア. 赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体 CPBF6 の機能解析

我々は以前に赤痢アメーバ(*Entamoeba histolytica*)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。CPBF6 は CPBF1 のファミリー分子であるがリガンドとしてα-, γ-amylase と結合すること、CPBF6 の遺伝子発現抑制株の解析より CPBF6 が amylase 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、CPBF6 の細胞内ドメインを欠損させた変異体の解析から細胞内ドメインのN末端側 1/2 の領域に局在を制御する機能があることが明らかとなった。以上より、CPBF が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]

イ. ヘビアメーバ *Entamoeba invadens* の細胞分化の分子機構の解明

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いないため、爬虫類をホストとする *Entamoeba invadens* のシスト化をモデルとして解析を行った。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として見出された Major Facilitator Superfamily (MFS)輸送体, Na/H exchanger (NHE)について解析を行った。それぞれ HA-タグを付した強発現株を樹立し局在を解析したところ MFS 輸送体は小胞体に NHE はリソソームに局在した。今後、各発現抑制株の作成や in vitro での活性測定を行い機能解析を進める。[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 3 種類の AIG1 family protein（AIG-15, 17, 37）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、細胞の形態を観察すると AIG-17 強発現株で細胞突起の形成が有意に促進されていた。また AIG-37 遺伝子発現はシステイン枯渇培地で発現上昇が起こることから酸化ストレスに応答することが明らかとなった。AIG-15, 17, 37 は非病原株ですべて欠損しているため、細胞運動や酸化ストレス応答など、多様な細胞機能が変化し、病原性を低下させていると考えられた。[津久井久美子、佐藤映美、今田美穂子、野崎智義]

ii. 病原性の異なる赤痢アメーバ国内分離株の RNA-seq 解析

腸アメーバ症由来 KU50 株、アメーバ肝膿瘍由来 KU48 株、非病原株 KU27 の 3 株について RNA-seq 解析を行った。ScriptSeq v2 RNA-seq library preparation kit (Epicentre)でライブラリーを作成し、MySeq (Illumina)で解析を行った。取得されたデータは CLC genomics workbench (CLC bio)により品質管理(トリム処理)とリファレンスゲノム(HM-1 株, AmoebaDB)へのマッピングを行い、赤痢アメーバゲノムデータベースに存在する ORF の発現量情報(reads per kilobase of exon model per million mapped reads = RPKM 値の scaling 方法による normalized expression value)として解析を行った。先ず KU27 で発現が無くそのほかの株で有意に発現している遺伝子を抽出したところ以前の比較ゲノミクスで見出された AIG1-17 が再度検出された。次に KU27 に対し KU48、KU50 で発現量が 2 倍以上上昇もしくは下降している遺伝子を抽出したところもっとも変動が多かったのは注釈情報の無い遺伝子で、上昇、下降どちらも 35%がこのカテゴリーであった。KU27 で発現上昇傾向があると考えられる遺伝子群は aa-rich, AIG1, cytoskeleton, surface、KU27 で発現抑制傾向があるのは ribosome, ubiquitine-proteasome に関与する遺伝子群と考えられた。今後これらの遺伝子と病原機構への関与を明らかにしていきたい。[津久井久美子、

佐藤映美、泉山信司、関塚剛史（病原体ゲノム解析センター)、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）野崎智義]

エ．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

ヒトなどの他種生物では Rab8 は細胞膜への輸送を担っており、細胞極性の維持を担っている。一方で、赤痢アメーバでは EhRab8a がファゴソームに局在することが報告されている。そのため、貪食における EhRab8a の機能を解析した。EhRab8a 発現抑制株を作製したところ、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。また、EhRab8a の細胞内局在を観察するとともにエフェクター分子の単離も試みている。 [花舘有希(東邦大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

ii. 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、Entamoeba 属に保存していた。RabX3 の細胞内局在は大部分が可溶性画分であるが、一部分の RabX3 は脂質修飾部位を持たないのにも関わらず、弱く膜に結合していることが分かった。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り、さらに GTPase 活性は他の Rab GTPase に比べて非常に遅いことが分かった。現在、RabX3 の 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]

iii. 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。ArfA2 の不活性化型の形質転換株をハムスターの肝膿瘍モデルに接種すると、肝膿瘍の形成効率が低下することが分った。さらに ArfA2 の不活性化型株は、酸化ストレスではなく、一酸化窒素ストレスに感受性があることが分かった。よって、ArfA2 は肝臓でのアメーバ免疫系に抵抗して生存するのに重要な経路を担っていることが分かった。[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]

ォ．赤痢アメーバの高度に変化したミトコンドリアの解析

i. 赤痢アメーバのマイトソームの代謝と生理機能の解析

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主な代謝の役割は硫酸の活性化であり、硫酸化脂質の合成である。赤痢アメーバにおける硫酸化脂質の合成に係る酵素を同定し、その感染における役割を詳細を明らかにするために、赤痢アメーバの硫酸転移酵素をゲノムから同定し、その遺伝子発現抑制株を確立するとともに、硫酸化された脂質をコレステロール硫酸と同定した[見市文香（佐賀大学），牧内貴志，津久井久美子，野崎智義]

ii. 赤痢アメーバのマイトソームのタンパク質輸送機構の解析

赤痢アメーバのマイトソームへのタンパク質輸送機構は全く未知であり、その解明はミトコンドリアタンパク質輸送機構の進化への知見を与えると予想される。ゲノム情報から他種生物との間で保存されたミトコンドリア外膜輸送体の中心穴コンポーネントである Tom40 を同定した。これをもとに生化学的手法により Tom40 と結合する新規タンパク質 Tom60 を同定した。Tom60 は他種生物で保存しない全く新規のタンパク質であり、細胞質内で合成されたマイトソームタンパク質に結合し、マイトソーム外膜への誘導する輸送体分子であることが示された。[牧内貴志，見市文香（佐賀大学），津久井久美子，野

崎智義]

（３）トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．トキソプラズマやマラリア原虫の産生する植物ホルモンの解析

i. 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式措置由来オルガネラであるアピコプラストの分裂を促進させたが、合成サイトカイニン（thidiazuron）は逆に原虫からアピコプラストを消失させることを明らかにした。本年度は trans-zeatin 処理によるアピコプラスト分裂の経時的変化を観察した。その結果、原虫内のアピコプラスト分裂は培養開始後徐々に顕著になっていく様子が観察された。また、アピコプラストの分裂に関与していることが報告されているセントリンやDynamin-related protein A (DrpA)もアピコプラストの分裂に付随してアピコプラストへの局在が上昇／消失していた。[田原美智留、永宗喜三郎]

ii. トキソプラズマやマラリア原虫の産生する植物ホルモンの網羅的探索

トキソプラズマやマラリア原虫の産生する植物ホルモンの網羅的探索を行った。その結果、特にマラリア原虫においてある種のホルモンが非常に高濃度で蓄積していることが判明した。そこで、そのホルモンの分解酵素を導入した組換えネズミマラリア原虫を作製しその表現型を解析したところ、ネズミマラリアの致死活性や脳マラリア発症など重症化に影響を与えていることが判明した。現在、マラリア発症におけるこのホルモンの意義をより詳細に検討中である。[松原立真（筑波大学)、永宗喜三郎]

iii. シストにも有効な抗トキソプラズマ薬シード候補の探索

トキソプラズマは宿主体内に組織シストの形で存在し続ける。シスト壁に囲まれている組織シスト内には宿主の免疫反応も届かず、有効な薬剤も存在しない。一方、トキソプラズマは植物ホルモンの一種であるアブシジン酸を産生しており、原虫はこのホルモンにより組織シストへの分化を制御している事を明らかにしてきた。すなわちトキソプラズマの組織シストの生存にも今まで明らかにしてきた、植物ホルモンの情報が適用できる可能性が考えられた。そこで、各種の植物ホルモンや生合成阻害剤、その他の物質を in vitro で分化させた組織シストに添加し、その影響を調べた。その結果、抗シスト効果を持つ物質がいくつか見出された。現在、その詳細を確認中である。[山野安規徳（筑波大学)、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, eV）として原虫から宿主に注入される。一方で、細胞膜上には、コレステロール、スフィンゴ糖脂質などの特定の脂質成分や、GPI アンカー型タンパク質などが濃縮して局在化する、動的な脂質領域（脂質マイクロドメイン）が存在する。そこで今回、トキソプラズマ感染における宿主細胞の脂質マイクロドメインの役割について解析した。まず、コレステロールが原虫の parasitophorus vacuole (PV)及び eV 形成に及ぼす影響を調べた。細胞膜からコレステロールを引き抜く作用がある methyl-□-cyclodextrin（MβCD）で宿主細胞を処理し、細胞のコレステロール含量を減少させることで脂質マイクロドメインの構造を破壊したところ、原虫の侵入効率、すなわち PV 形成能力は変化しなかったが、eV 形成は明らかに減少した。また、昨年度見出した GPI 欠損変異細胞における eV の過剰形成は MβCD により相補できなかった。これらのことから、宿主の脂質マイクロドメインに存在するコレステロールと GPI は、原虫による eV の形成に対してそれぞれ独立的に作用し、正常な eV 形成にはこの 2 種類の脂質のバランスが重要であるが、PV 形成には両者は関与していない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。前年度に確立したプリマキン耐性トキソプラズマ株より RNA を抽出し、次世代シークエンサーで RNA-seq を行った。その結果、得られた 4 クローンは全て共通の遺伝子に変異が入っており、この遺伝子がプリマキン耐性の責任遺伝子である可能性が強く示唆された。現在この遺伝子による耐性メカニズムについて詳細を解析中である。[福士路花（筑波大学)、田原美智留、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 vacuole) 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。このオルガネラの詳細を検討した結果、この酸性オルガネラは既報の PLV であることが判明した。しかし、このオルガネラについてより詳細に観察した結果、今まで同一のオルガネラであると考えられてきた VAC と PLV は別のオルガネラで、さらに PLV は酸性度の違いやタンパクの局在の違いにより PLV0、PLV1 および PLV2 の 3 種類に分類できることが明らかとなった。現在これら 4 種類の宿主細胞外ステージのトキソプラズマに特異的なオルガネラの存在意義についてさらに詳細に検討中である。[福士路花（筑波大学)、永宗喜三郎]

(1) マラリア原虫の生物学・病原機構・代謝に関する研究

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

ⅰ．輪状体から分裂体への分化抑止に関与する因子解析

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事から、輪状体（ring form）から分裂体（schizont）への分化抑止に関与する考えられる因子を genome-wide gene expression analysis でプロファイルした。その結果、26 の蛋白分子が選択でき、それらは 6 つのカテゴリーに分類できた。[朝日博子、Tolba, M.E.M. (エジプト国　アシット大学)、田邊将信（慶応大学）]

ⅱ．copper homeostasis perturbation　によって生じる分裂体への分化抑止

ring form から schizont への分化抑止に関与する考えられる因子として 26 の蛋白分子が選択でき、その中で 5 の蛋白分子は特に ring form から trophozoite への分化抑止に関与すると考えられた。この中に copper homeostasis に関連する分子(copper channel)が認められた事から、chelating method を用いて、copper homeostasis perturbation と *P. falciparum* の分化増殖の関連を調べた。その結果、還元型 copper ion の除去によって、schizont への分化は完全に抑止され、すべての原虫が ring form に止まる事が判明した。酸化型 copper ion には作用は認められなかった。[朝日博子、Tolba, M.E.M.　(エジプト国　アシット大学)]

ⅲ. non-esterified fatty acids (NEFA) による分裂体への分化抑止と回復

P. falciparum の赤内型原虫は,16 炭素長の飽和型 NEFA

によって ring form から schizont への激しい分化抑止が生じる。この現象は、copper homeostasis perturbation によって引き起こされる分化抑止と類似する事から、*P. falciparum* の copper homeostasis に寄与すると考えられる４つの分子（copper channel, Ctr Cu transporter, cytochrome C oxidase copper chaperone, P1B ATPase）の発現を qRTPCR で解析した。その結果、前者２分子に顕著な低下が認められ、これによって copper ion の機能不全が誘導され、原虫の分化抑止が生じているものと推測された。[朝日博子、Tolba, M.E.M. (エジプト国　アシット大学)、田邊将信（慶応大学)、菅野純夫（東京大学）]

イ　熱帯熱マラリア原虫の有性生殖期への分化に関する研究

マラリア原虫では媒介蚊に感染を移行させる為に必須となる有性生殖体（生殖母体）への分化機構は全く不明のまま取り残されている。この難問に取り組むために東南アジアにおけるマラリア流行地域で、細胞学的・分子疫学的調査を行ってきた。その結果、インドネシア国で全て生殖母体に転換する野性株を見出した。東南アジアの大陸部(カンボジア・ベトナム・ミャンマー)と島嶼部（インドネシア）に分布する熱帯熱マラリア原虫の差異について、人工培養適応性による細胞生物学的検討と遺伝子解析によってさらに詳細に検討する。[朝日博子、Kawamoto F.（インドネシア国、ITD）]

ウ　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。Rab5b の局在解析から，Rab5b が未知のオルガネラに局在すること，感染赤血球内に運ばれていることが明らかになった。また，マラリア原虫では Rab5b の脂質修飾が感染赤血球内の TVN と呼ばれる膜構造への局在シグナルとして機能することが示された。[海老根一生、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し、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、原頭節が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、成虫へと分化し、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、今年度は成虫型へ分化誘導したエキノコックス原頭節についてマイクロアレイによる遺伝子発現量の変化を測定し、分化の決定がなされる時期を明らかにした。［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 33 回衛生微生物技術協議会（6 月 28～29 日, 横浜）において寄生虫レファレンスセンター会議を行い、クドア、サルコシスチス、アジア条虫症を中心に、寄生虫による食中毒の傾向をまとめた。アジア条虫症は 2010 年のような発生はみられなかったが、2011 年、2012 年も散発的は発生が続いた。冷凍処置に関する厚生労働省からの通知が出た後、サルコシスチスの報告数は大きく減少したが、クドアについては、明らかな減少傾向はみられず、引き続くサーベイランス強化の必要が指摘された。［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の改訂、情報公開

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」「赤痢アメーバ症」「エキノコックス症」を改定した。また、地方衛生研究所から要望のあった「寄生虫卵の検査法」についても検査マニュアルを新たに作成した。[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、津久井久美子、森嶋

康之、杉山 広、山﨑 浩]

III. 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。マラリアについては、外部の医療機関からマラリア原虫の種同定の検査依頼を 3 件受け入れ、携帯検査の再確認と遺伝子検査を併用して同定した。[八木田健司、泉山信司、津久井久美子、永宗喜三郎、中野由美子、大前比呂思]

IV. 蠕虫類のレファレンス活動

平成 24 年度には、計 88 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 76 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。有鉤嚢虫症とエキノコックス症については、それぞれ市販のウェスタンブロット法によるキットを用いて検査した。トキソカラ症、肺吸虫症、およびマンソン孤虫症に関しては、当該部で開発したイムノクロマト迅速血清検査キットを用いた。旋尾線虫症については免疫染色法を、その他の寄生蠕虫症については plate-ELISA を適用した。血清検査依頼件数 30 のうち 15 検体で特異抗体が検出された。内訳は *Anisakis simplex* によるアニサキス症(4)、ウェステルマン肺吸虫症(4)、マンソン孤虫症(2)、有鉤嚢虫症(2)、宮崎肺吸虫症（1)、ヒロクチ肺吸虫症(1)、旋尾線虫症(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遺伝子鑑別依頼数は 60 件あった。基本的にはミトコンドリア DNA の cox1 遺伝子の塩基解析結果に基づいて種の同定を行った。その結果、最も多かった寄生虫は日本海裂頭条虫(23)、次いで無鉤条虫(14)、*Anisakis simplex* (10)、アジア条虫(4)、ウェステルマン肺吸虫・３倍体型(3)、マンソン裂頭条虫近縁種 (1)、宮崎肺吸虫(1)、有鉤嚢虫(1)、クジラ複殖門条虫(1)、ヒロクチ肺吸虫(1)、有鉤嚢虫(1)であった。傾向としては、サケ･マスの刺身や寿司を好む日本人の食生活習慣を反映して、日本海裂頭条虫症が相変わらず多く、輸入症例として無鉤条虫症も多くみられた。H23 年度に関東地方で頻発したアジア条虫症は H24 年には激減した。[山﨑 浩・武藤麻紀・森嶋康之・杉山 広]

（３）その他

ヒトから得られたハエ蛆の鑑別依頼が 1 例あった。この幼虫は飼育によって羽化した成虫の形態からヒロズキンバエと同定された。 [森嶋康之・杉山 広・山﨑 浩, 林利彦（感染研・昆虫医科学）]

研修業務・審議会など

I. 平成 24 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習（国立保健医療科学院主催）にて、水道源水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った（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 24 年度、希少感染症診断技術研修会において「トキソプラズマ」をテーマに講演を行った。（2 月）[永宗喜三郎]

国際協力関係業務

１．アジア等海外の研究機関との連携

i. インド国立コレラ腸管感染症研究所(National Institute of Cholera and Enteric Diseases, NICED)、インド国立科学教育研究研究所(Indian Institute of Science Education and Research, IISER)との共同研究

NICED と腸管原虫症、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の分子疫学、寄生適応に関する共同研究を継続して行った。[Ghulam Jeelani,、野崎智義、Avik Mukhajee, Koushik Das, Sandipan Ganguly (NICED)]

IISER と赤痢アメーバの低分子量 GTP 結合タンパク質 Rab の構造と機能の解析に関して共同研究を行った。[中野由美子、野崎智義、Sunando Dutta (IISER)]

ii. 台湾 CDC との共同研究

赤痢アメーバの疫学、分子疫学研究を継続して行った[津久井久美子、野崎智義、Dar-der Ji (Taiwan CDC)]

iii. 中国 CDC との共同研究

H24 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・杉山 広・武藤麻紀・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）]

iv. メキシコ中央科学研究所(CINVESTAV)及び心臓病研究所(INC)との共同研究

赤痢アメーバの病原性機構、RNA スプライシングの分子機構に関して CINVESTAV と共同研究を行った。また、INC とは赤痢アメーバの中心エネルギー代謝の共同研究を行った。両方の研究施設からは 4-12 ヶ月の人的交流を受けた。[津久井久美子、野崎智義、Mineko Shibayama、Victor Tsutumi、Guillermo Perez Ishiwara、Jesus Flores Valdes (CINVESTAV)、Erika Pineda、Emma Saavedra (INC)]

２．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]

３．国際協力機構（JICA）の中米向け研修コース、輸血血液の安全性に協力して、マラリアと輸血に関する講義を行うと同時に、アクリジン・オレンジ染色法や LAMP 法による遺伝子検査法の講義との実習を行った。[大前比呂思、中野由美子、泉山信司、布施晃（血液・安全性研究部）]

４．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]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1．原著論文、総説（欧文）

1)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.

2)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.

3)Mishra, V., Kumar, 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.

4)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, 2012.

5)Christy, N., Hencke, J., Escueta-De Cadiz, A., Nazib, F., Thien, H., Yagita, K., Ligaba, S., Haque, R., Nozaki, T., Tannich, E., Herbein, J., and Petri, W. Multi-site performance evaluation of an ELISA for the detection of *Giardia, Cryptosporidium,* and *Entamoeba histolytica* antigens in human stool. J. Clin. Microbiol. 50, 1762-1763, 2012.

6)Nakada-Tsukui, K., Tsuboi, K., Furukawa, A., Yamada, Y., and Nozaki, T. A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal transport. Cell. Microbiol. 14, 1299-317, 2012.

7)Jeelani, G,, Sato, S., Husain, A., Escueta-de Cadiza, A., Sugimoto, M., Soga, T., Suematsu, M., and Nozaki, T.

Metabolic profiling of the protozoan parasite *Entamoeba* revealed activation of unpredicted pathway during encystation. PLoS ONE 7, e37740, 2012.

8)Mishra, V., Kumar, A., Ali, V., Nozaki, T., Zhang, K. Y., and Bhakuni, V. Novel protein-protein interactions between *Entamoeba histolytica* D-phosphoglycerate dehydrogenase and phosphoserine aminotransferase. Biochimie. 94, 1676-1686, 2012.

9)Husain, A., Sato, D., Jeelani, G., Soga, T., and Nozaki, T. Dramatic increase in glycerol biosynthesis upon oxidative stress in the anaerobic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. PLoS Negl. Trop. Dis. 6, e1831, 2012.

10)Klionsky D. J., Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. Autophagy 8, 445-544, 2012.

11)Jeelani, G., Husain, A., Sato, D., Soga, T., Suematsu, M., Nozaki, T. Biochemical and functional characterization of novel NADH kinase in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Biochimie 95, 309-319, 2013.

12)Makiuchi, T., Mi-ichi, F., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Novel TPR-containing subunit of TOM complex functions as cytosolic receptor for Entamoeba mitosomal transport. Sci. Rep. 3, 1129, 2013.

13)Furukawa, A., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Cysteine protease-binding protein family 6 mediates the trafficking of amylases to phagosomes in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. Inf. Immun. 81,1820-1829, 2013.

14)Takaoka-Sugihara, N., Yamagami, S., Yokoo, S., Matsubara, M., Yagita, K., Cytopathic effect of *Acanthamoeba* on human corneal fibroblasts, Mol. Vision, 18, 2221-2228, 2012

15)Ikeda, Y., Miyazaki, D., Yakura, K., Kawaguchi, A., Ishikura, R., Inoue, Y., Mito, T., Shiraishi, A., Ohashi, Y., Higaki, S., Itahashi, M., Fukuda, M., Shimomura, Y., Yagita, K., Assessment of real-time polymerase chain reaction detection of acanthamoeba and prognosis determinants of acanthamoeba keratitis. Ophthalmol. 19, 1111-1119, 2012

16)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, 187-194, 2012

17) Izumi, T., Yagita, K., Izumiyama, S., Endo, T., Itoh, Y., Depletion of *Cryptosporidium parvum* oocysts from contaminated sewage by using freshwater benthic pearl clams (Hyriopsis schlegeli). Appl. Environ. Microbiol. 78, 7420-8, 2012

18) Nakada-Tsukui, K., Tsuboi, K., Furukawa, A., Yamada, Y., Nozaki, T., A novel class of cysteine protease receptors that mediate lysosomal transport. Cell. Microbiol. 14, 1299-1317, 2012

19) 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

20)Takeda M., Sugiyama H., Singh T.S. Some freshwater crabs from northeast India bordered on Myanmar. J. Teikyo Heisei Univ., 23, 199-213, 2012.

21)Singh T.S., Devi K.H.R., Singh S.R., Sugiyama H. A case of cutaneous paragonimiasis presented with minimal pleuritis. Trop. Parasitol., 2, 142-144, 2012.

22)Singh T.S., Sugiyama H., Rangsiruji A. *Paragonimus* and paragonimiasis in India. Ind. J. Med. Res., 136, 192-204, 2012.

23)Taira K., Saitoh Y., Okada N.,Sugiyama H., Kappel C.M.O. Tolerance to low temperatures of *Toxocara cati* larvae in chicken muscle tissue. Vet. Parasitol., 189, 383-386, 2012.

24)Li J., Zhao G.H., Zhou D.H., Sugiyama H., Nisbet A.J., Li X.Y., Zou F.C., Li H.L., Ai L., Zhu X.Q.

Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism, an electrophoretic approach for studying genetic variability among *Schistosoma japonicum* geographical isolates. Electrophoresis, 33, 2859-2866, 2012.

25)Sugiyama H., Shibata K., Morishima Y., Muto M., Yamasaki H., Kawakami Y. Current status of lung fluke metacercarial infection in freshwater crabs in the Kawane area of Shizuoka Prefecture, Japan. J. Vet. Med. Sci., 75, 249-253, 2013.

26)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.

27)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., 98, 1243-1247, 2012.

28)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.

29)Nonomura Y., Otsuka A., Endo Y., Fujisawa A., Nakajima N., Minamiguchi S., Miyagawa-Hayashino A., Yamada M., Tegoshi T., Yamasaki H., Kabashima K., Miyachi Y., Tanioka M. Sparganosis mansoni on abdominal skin, mimicking folliculitis and diagnosed by analysis of the mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit 1 gene, using polymerase chain reaction. Eur. J. Dermatol., 22, 806-807, 2012.

30)Yamasaki H. Current status and perspectives of cysticercosis and taeniasis in Japan. Korean J. Parasitol., 51, 19-29, 2013.

31)Yamasaki H. Current status and perspectives of food-borne cestodiasis in Japan. Proceedings of International Workshop: Emerging parasitic zoonoses:epidemiology, diagnosis and prevention in Asian countries, 2012.

32)Asahi, H., Tolba, M.E.M., Tanabe, M., Ohmae H. Molecular factors that are associated with early developmental arrest of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum*. Canad. J. Microbiol., (in press)

33)Asahi, H., Tolba, M.E.M., Tanabe, M., Sugano S. *Plasmodium falciparum*: Regulation of the early developmental stage by lipid growth-promoting factors through copper homeostasis. Exp. Parasitol., (in press)

34)Choi, SW., Tamaki, T., Ebine, K., Uemura, T., Ueda, T., Nakano, A. RABA members act in distinct steps of subcellular trafficking of the Flagellin Sensing2 receptor. Plant Cell. 25, 1174-87. 2013

35)Ebine, K., Uemura, T., Nakano, A., and Ueda, T. Flowering time modulation by a vacuolar SNARE via FLOWERING LOCUS C in *Arabidopsis thaliana*. PLoS One. 7:e42239, 2012

36)Higaki, T., Kutsuna, N., Hosokawa, Y., Akita, K., Ebine, K., Ueda, T., Kondo, N., and Hasezawa, S. Statistical organelle dissection of Arabidopsis guard cells using image database LIPS. Sci Rep. 2:405, 2012.

37)Kwansa-Bentum, B., Izumiyama, S., Kei Kitamura, K., Obata-Ninomiya, K., Ohta, N., Asahi, H. (2013) Comparative studies of serum-free media and detection techniques for in vitro drug sensitivity assessment of *Plasmodium falciparum*. Special Issue, Vector-Borne Infectious Disease of OJCD, in press.

2．原著論文、総説（和文）

1)八木田健司､食品による寄生動物感染③原虫感染症(1) ザルコシスティス・クドア、防菌防黴、40, 705－714, 2012

2)八木田健司、寄生虫、知って防ごう食中毒、食と健康、665, 10-18, 2012

3)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

4)泉山信司、遠藤卓郎、粉体ろ過によるクリプトスポリジウム濃縮保存法の開発、水道協会雑誌、81, 14-22, 2012

5)黒木俊郎、泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、岸田直裕、島崎大、秋葉道宏、水道クリプトスポリジウム試験法の検査体制維持・向上に係る技術研修の役割、保健医療科学、61, 454－463, 2012

6)泉山信司、八木田健司、黒木俊郎、クリプトスポリジウムとサイクロスポラによる食中毒､日本食品微生物学会雑誌、29, 189-196, 2012

7)泉山信司、八木田健司、食品による寄生動物感染症④原虫感染症（2）クリプトスポリジウム・ジアルジア、

防菌防黴、40, 779-785, 2012

8)福士路花、松原立真、永宗喜三郎、Toxoplasma gondii ～三日月に恋してる～、原生動物園、3, 3-7, 2012

9)永宗喜三郎（写真提供、監修）、原生生物 151～大系統分類から眺める原生生物の世界、原生動物園、3, 41-72, 2012

10)永宗喜三郎、トキソプラズマ症とは、感染研 HP、2012
永宗喜三郎、妊婦さんおよび妊娠を希望されている方へ、感染研 HP、2012

11)喜屋武向子、松原立真、永宗喜三郎、食品による寄生動物感染症⑤原虫感染症（3）トキソプラズマ症と沖縄県におけるトキソプラズマの流行状況について、防菌防黴、41, 19-28, 2013

12)永宗喜三郎、オモロいのは名前だけじゃない！ ～マトリョーシカ型進化原理～、細胞工学、32, 226-231, 2013

13)永宗喜三郎、トキソプラズマ症、IDWR 感染症発生動向調査 感染症週報、15, 20-25, 2013

14)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．獣医寄生虫学会誌，11，31，2012.

15)杉山 広．食品による寄生動物感染症 7．蠕虫感染症（2）肺吸虫．防菌防黴，41，165−171，2013.

16)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.

17)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.

18)山﨑 浩．ペットからの感染症 10 イヌ・ネコ回虫症（トキソカラ症）小児科, 54, 65-72, 2012.

19)藤森俊二，武藤麻紀，山﨑 浩，坂本長逸．カプセル内視鏡で遭遇した小腸寄生虫の2例．Clin. Parasitol.，23, 20-22, 2012.

20)物部寛子，野村 務，出月健夫，郡司真理子，堀内啓，森嶋康之，武藤麻紀，杉山 広，山﨑 浩．*Dirofilaria repens*感染による皮下結節例．Clin.Parasitol., 23, 49-52, 2012.

21)佐藤 亮，三角祐生，上見葉子，下川恒生，檜田直也，岡本浩明，加志崎史大，石井真理，相佐好伸，神谷一徳，吉津 晃，吉田幸子，武藤麻紀，山﨑 浩，杉山広．特発性好酸球増多空洞陰影を呈したウェステルマン肺吸虫症の一例．Clin. Parasitol., 23, 53-56, 2012.

22)杉山 広，柴田勝優，森嶋康之，山﨑 浩，川上 泰．肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ冷凍条件の検討．Clin. Parasitol., 23, 57-59, 2012.

23)荒井俊夫，赤尾信明，常盤俊大，熊谷 貴，太田伸生，日向 眞，山口俊和，柴田信光，下 正宗，中谷信一，松田隆秀，高井憲治，鈴木 登，山﨑 浩．アニサキス症の2例－*Pseudoteraanova azarasi* 幼虫感染例と糞便内に幼虫の排泄をみた例． Clin. Parasitol.，23，60-63，2012.

24)三木田馨，前田卓哉，藤倉雄二，三沢和央，河野修一，原 悠，叶宗一郎，小野岳史，宮平 靖，山本哲久，武藤麻紀，山﨑 浩，川名明彦．埼玉県で再び発生したアジア条虫症の一例と本邦での感染が強く疑われた無鉤条虫症の一例．Clin. Parasitol., 23, 99-101, 2012.

25)大前比呂思．輸入寄生虫病，日本獣医学会雑誌 65：101-105, 2012

26)大前比呂思．食品媒介寄生虫症－旅行医学における本症．防菌防黴雑誌 40：649-656, 2012.

3. 書籍（和文）

1)山﨑 浩．感染症・免疫血清診断(34)抗寄生虫 IgG 抗体．臨床検査ガイド 2013−2014．pp. 878−880，文光堂，東京．2013 年 3 月．

2)山﨑 浩（分担執筆）．食中毒予防必携 第 3 版．蠕虫症．pp. 325−337，340−348．社団法人 日本食品衛生協会，東京．2013 年 1 月 31 日．

3)大前比呂思．住血吸虫症.今日の治療指針，医学書院，265-266，2013.

II. 学会発表

1. 国際学会

1)Nozaki, T. Evolution of function and import machinery of the mitochondria under anaerobic conditions: Highly divergent mitochondrion-related organelles in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. Mito 21012, Heraklion, Greece, May 9-13, 2012.

2)Nozaki, T. Mitosomal transport system in *Entamoeba*

histolytica. Protist 2012, International Society of Evolutionary Protistology Meeting, Oslo, Norway, July 29-Aug 3, 2012.

3)Jeelani, G., Dan, S., Husain, A., Escueta-de Cadiz, Sugimoto, M., Soga, T., Suematsu, M., and Nozaki, T. Metabolome of encystation in *Entamoeba histolytica*. Metabolomics of Protozoan parasites. Glasgow, U.K., Sep 10-14, 2012.

4)Chiba, Y., Dan, S., Makiuchi, T., Jeelani, G., Soga, T., and Nozaki, T. Organelle metabolomics of *Entamoeba histolytica*. Metabolomics of protozoan parasites. Glasgow, U.K., Sep 10-14, 2012.

5)Nozaki, T. Evolution of the mitochondria under anaerobic conditions: Function and import machinery of the highly divergent mitochondrion-related organelle in the parasitic protozoan *Entamoeba histolytica*. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Japan, Sep 11-14, 2012.

6)Nozaki, T., Nakada-Tsukui, K., Furukawa, A., and Marumo, K. A novel class of transporters that mediate lysosomal trafficking in *Entamoeba histolytica*. International Coference of Tropical Medicine and Malaria. T. Rio de Janeiro, Brazil, Sep 23-27, 2012.

7)Nozaki, T. Potential areas of collaboration on parasitic infections. e-ASIA JRP symposium, Japan Science and Technology Agency. Singapore, Dec 4-5, 2012.

8)Nozaki, T. Evolution of the mitochondria under anaerobic conditions: Function and import machinery of the highly divergent mitochondrion-related organelle in *Entamoeba histolytica*. Joint International Tropical Medicine Meeting. Bangkok, Thailand, Dec 12-14, 2012.

9)Hanadate, Y., Nozaki, T, Kobayashi, S. and Samie, A. Polymorphism of tRNA-linked short-tandem repeats (STR) of South African *Entaemoeba histoltyica* isolates. International Workshop on Enteric Protozoan Infection (supported by National Research Foundation, South Africa, and Japan Science and Technology Agancy, Japan). Tokyo, Feb 22, 2013.

10)Das, K., Mukherjee, A., Kobayashi, S., Nozaki, T., and Ganguly, S. Genetic polymorphism of *Entamoeba histolytica* isolates in India. International Workshop on Enteric Protozoan Infection (supported by National Research Foundation, South Africa, and Japan Science and Technology Agancy, Japan). Tokyo, Feb 22, 2013.

11)Nakada-Tsukui, K., Sekizuka, T., Makoto, K., Sato, E., and Nozaki, T. Genomic features of *Entamoeba histolytica* Japanese clinical isolates. International Workshop on Enteric Protozoan Infection (supported by National Research Foundation, South Africa, and Japan Science and Technology Agancy, Japan). Tokyo, Feb 22, 2013.

12)Nozaki, T. A novel beta barrel transporter in the mitosome of *Entamoeba histolytica*. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.

13)Nakada-Tsukui, K., Tomii, K., Marumo, K., Sato, E., Takashima, E., Shiba, T., Horton, P., Tsuboi, T., Harada, S., and Nozaki, T. Unique lysosomal targeting system in *Entamoeba histolytica*. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.

14)Mori, M., Masuda, Y., Kasai., R., Masuma, R., Takahashi, Y., Nozaki, T., Shiomi, K., Omura, S. Inhibitors of *Entamoeba histolytica* cysteine synthase and serine acetyltransferase discovered from secondary metabolites of microorganisms. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.

15)Saito-Nakano, Y., Okadaa, M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, N., and Nozaki, T. Role of Arf GTPase and traffic to lysosomes in *Entamoeba* pathogenesis. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.

16)Samie, A., Mahlaule, L., Mbati, P., and Nozaki, T. Molecular detection of *Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar,* and *Entamoeba moshkovskii* from HIV positive and HIV negative patients in the Limpopo province, South Africa. XVII Seminar on Amebiasis 2013, Merida, Mexico, Mar 1-5, 2013.

17)Nagamune, K., Andrabi, S.B.A., Matsubara, R. Apicomplexan parasites and plant hormones. Protist 2012, Oslo, July 2012.

18)Nagamune, K., Tahara, M., Andrabi,S.B.A., Aonuma, H., Kinoshita, T. The effect of host GPI to Toxoplasma gondii infection. Molecular Parasitology Meeting XXIII, Woods Hole, MA, USA, September 2012

19)Fkshi, M., Aonuma, H., Matsubara, R., Tahara, M., Andrabi, S.B.A., Nagamune, K. The acidic organelle in extracellular Toxoplasma gondii. Molecular Parasitology Meeting XXIII, Woods Hole, MA, USA, September 2012

20)Sugiyama H. Current status of paragonimiasis in Japan: Infections associated with exotic eating habits. The 7th seminar on food- and water-borne parasitic zoonoses (Symposium). December 13-14, 2012, Bangkok, Thailand.

21)Yamasaki H., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H. Current status and perspectives of food-borne cestodiasis in Japan. International Workshop on "Emerging parasitic zoonoses: epidemiology, diagnosis and prevention. June 25-26, 2012, Hanoi, Vietnam.

22)Yamasaki H., Muto M., Kuramochi T., Mercado R. Genetic polymorphisms of *Diphyllobothrium* species found in fishes from Lake Llanquihue, sourthern Chile. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria, and XLVIII Congress of the Brazilian Society of Tropical Medicine. September 23-27, 2012, Rio de Janeiro, Brazil.

23)Yamasaki H., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H., Okamoto M. Outbreak of *Taenia asiatica* infection in Japan. International Symposium on Cestode Zoonoses Control. October 29-30, 2012, Shanghai, China.

24)Asahi, H., *Plasmodium falciparum*: Intra-erythrocytic growth in serum-free medium with an emphasis on growth-promoting factors. 8th Annual BioMalPar | EVIMalaR Conference Biology and Pathology of the Malaria Parasite, in Heidelberg, Germany, May 2012.

25)Asahi, H., *Plasmodium falciparum*: Developmental regulation on the early intra-erythrocytic stage by lipid growth-promoting factor via copper homeostasis. XVIII International Congress for Tropical Medicine and Malaria (ICTMM), in Rio de Janeiro, Brazil, September 2012.

26)Saito-Nakano, Y., Okada, M., Hanadate, Y., Gilchrist, C. A., Crasta, O., Petri, Jr., W. A., Fei, Z., Trapaidze, N., and Nozaki, T. Role of Arf GTPase and traffic of lysosome in *Entamoeba histolytica* pathogenesis. XXVII Seminar on Amoebiasis, Merida, Mexico. Feb 28- Mar 4, 2013.

27)Ohmae H, Morishima Y, Yamasaki H, Kironoki M, Chigusa H. Screening and monitoring of helminthiasis in Japan －a comparison of schistosomiasis and echinococcosis －12th International Workshop of Regional Network Asian Schistosomiasis,+Octover 2012, Hanoi, Vietnam

国内学会，サイエンスカフェ

2.

1)野崎智義 寄生生物ミトコンドリアの特性～嫌気環境下における多様化. J-mit,"Mitochondrial Diversity: shall we find out her multiple faces"(日本ミトコンドリア学会), Tsukuba, Ibaraki, Dec 19-21, 2012.

2)永宗喜三郎、あなたの知らない寄生虫のセカイ ～トキソ、マラリア、マトリョーシカ～、第 63 回バイオ e カフェ 2012 年 9 月、つくば

3)松原立真、永宗喜三郎、アピコンプレクサ生物の植物ホルモンとその生理機能、第 45 回日本原生動物学会大会 2012 年 11 月、兵庫県姫路市

4)永宗喜三郎、福士路花、アピコンプレクサ生物の滑走運動とカルシウム・シグナリング、第 45 回日本原生動物学会大会 2012 年 11 月、兵庫県姫路市

5)永宗喜三郎、トキソプラズマ、希少感染症診断技術研修会、2013 年 2 月、東京

6)田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、トキソプラズマ感染における宿主細胞膜マイクロドメインの役割、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京

7)永宗喜三郎、喜屋武向子、山本徳栄、山野安規徳、Asis Khan、L. David Sibley、本邦におけるトキソプラズマ分離株の分子タイピング、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京

8) 八木田健司、内田雄治、国産重種馬における *Sarcocystis fayeri* 汚染実態調査、第 82 回日本寄生虫学会大会、2013 年 3 月、東京

9)泉山信司、岸田直裕、岸田小百合、秋葉道宏、八木田健司、クリプトスポリジウムとジアルジア計数を目的とした定量逆転写PCRの検量線作成、第 82 回日本寄生虫学会大会、2013 年 3 月、東京

10)八木田健司、国内と畜馬肉および輸入馬肉中における Sarcocystis 汚染実態調査、第 45 回原生動物学会大会、 2012 年 11 月、兵庫

11)三田村さやか、江口 洋、三田村佳典、八木田健司、Colpoda 属が検出された コンタクトレンズ関連角膜炎の 1 例、第 49 回日本眼感染症学会、2012 年 7 月、横浜

12)八木田健司、原因不明食中毒と寄生虫、第 22 回感染症研究所シンポジウム、2012 年 5 月

13)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

14)泉山信司、佐々木美江、東日本大震災における水道水の微生物学的安全性、第 12 回 環境技術学会年次大会、2012 年 9 月、滋賀県草津市

15)勝山志乃、泉山信司、百田隆祥、岸田小百合、河川表流水における原虫類の遺伝子検査法と検鏡による従来法の比較、日本水処理生物学会第 49 回大会、2012 年 11 月、東京

16)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の意義、第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会、2012 年 7 月、東京

17) 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おける未知の酸性オルガネラについて、第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会、2012 年 7 月、東京

18)田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主アンカーがトキソプラズマ感染に及ぼす影響、第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会、2012 年 7 月、東京

19) 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おける未知の酸性オルガネラについて、第 20 回分子寄生虫学ワークショップ 2012 年 8 月、神戸

20)田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主マイクロドメインがトキソプラズマ感染に及ぼす影響、第 20 回分子寄生虫学ワークショップ 2012 年 8 月、神戸

21)田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主細胞膜マイクロドメインがトキソプラズマ感染に与える影響、第 72 回日本寄生虫学会東日本支部会・第 10 回分子寄生虫学・マラリアフォーラム合同大会 2012 年 10 月、前橋

22)松原立真、永宗喜三郎、マラリア原虫が持つ植物ホルモンの網羅的検出と機能解析、第1回日本細胞共生学会若手の会 2012 年 11 月、下田

23)田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎、宿主細胞膜マイクロドメインがトキソプラズマ感染に及ぼす影響、第1回日本細胞共生学会若手の会 2012 年 11 月、下田

24)松原立真、川原史也、小嶋美紀子、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、福士路花、山野安規徳、榊原均、永宗喜三郎、マラリア原虫における植物ホルモンの網羅的検出と機能解析、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京

25)山本徳栄、近 真理奈、増田純一郎、小山雅也、斉藤利和、Asis Khan、L. David Sibley、森嶋康之、山野安規徳、永宗喜三郎、埼玉県のネコにおける Toxoplasma gondii の保有状況調査、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京

26) 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特異的なイオン貯蔵オルガネラ、第 82 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、東京

27)杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之, 山﨑 浩, 川上 泰. 肺吸虫の感染を予防するためのサワガニ冷凍条件の検討. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.

28)佐藤 亮, 三角裕生, 上見葉子, 下川恒生, 檜田直也, 岡本浩明, 加志崎史大, 石井真理, 相佐好伸, 神谷一徳, 吉津 晃, 吉田幸子, 武藤麻紀, 山崎 浩, 杉山 広. 特発性好酸球増多症候群としてステロイド

投与中に両肺多発空洞陰影を呈したウェステルマン肺吸虫症の一例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.

29)杉山 広. 食習慣を背景に発生する我が国の寄生虫性食中毒:実態と対応. 静岡県寄生虫症研究会. 第 17 回研究総会特別講演. 2012 年 9 月 8 日, 浜松.

30)杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 武藤麻紀, 森嶋康之, 山﨑 浩. 静岡県島田市川根町に分布するサワガニの肺吸虫寄生状況調査. 第 155 回日本獣医学会学術集会・日本獣医寄生虫学会. 2013 年 3 月 28-30 日, 東京.

31)杉山 広, 柴田勝優, 坂西梓里, 川上 泰, 武藤麻紀, 大前比呂思, 森嶋康之, 山﨑 浩. ゴマサバを対象としたアニサキス同胞種の寄生状況調査. 第 82 回日本寄生虫学会大会. 2013 年 3 月 28-31 日, 東京.

32)藤森俊二, 武藤麻紀, 山﨑 浩, 坂本長逸. カプセル内視鏡で遭遇した小腸寄生虫の 2 例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.

33)物部寛子, 野村 務, 出月健夫, 郡司真理子, 堀内啓, 森嶋康之, 武藤麻紀, 杉山 広, 山﨑 浩. *Dirofilaria repens* 感染による皮下結節例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.

34)荒井俊夫, 赤尾信明, 常盤俊大, 熊谷 貴, 太田伸生 ,日向 眞, 山口俊和, 柴田信光, 下 正宗, 中谷信一, 松田隆秀, 高井憲治, 鈴木 登, 山﨑 浩. アニサキス症の 2 例 一 *Pseudoterranova azarasi* 幼虫感染例と糞便内に幼虫の排泄をみた例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.

35)三木田馨, 前田卓哉, 藤倉雄二, 三沢和央, 河野修一, 原 悠, 叶宗一郎, 小野岳史, 宮平 靖, 山本哲久, 武藤麻紀, 山﨑 浩, 川名明彦. 埼玉県で再び発生したアジア条虫症の一例と本邦での感染が強く疑われた無鉤条虫症の一例. 第 23 回日本臨床寄生虫学会大会. 2012 年 6 月 23 日, 東京.

36)高宮信三郎, 橋本宗明, 藤村 務, 上野 隆, 山﨑 浩. 自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* の F58B4.2 は偽遺伝子化した回虫分泌型シトクロム b_5のホモログである. 第 6 回蠕虫研究会. 2012 年 7 月 27-28 日, 宮崎.

37)高宮信三郎, 橋本宗明, 藤村 務, 上野 隆, 山﨑 浩. 自活性線虫 *Caenorhabditis elegans* およびブタ回虫 *Ascaris suum* のシトクロム b_5(様)蛋白の比較解析:*C. elegans* F58B4.2 は回虫分泌型シトクロム b_5の偽遺伝子化したホモログである. 第 72 回日本寄生虫学会東日本支部大会. 2012 年 10 月 13 日, 前橋市.

38)Yamasaki H., Nakamura T., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H., Intapan P.M., Maleewong W., Matsuoka H., Kobayashi K., Takayama K., Kobayashi K. Development of a simple and rapid diagnostic kit to detect antibodies in human sparganosis. 第 82 回日本寄生虫学会大会, 2013 年 3 月 29-31 日, 東京.

39)吉田彩子, 辻 尚利, 山﨑 浩, 丸山治彦. 組換えタンパク質抗原を用いたブタ回虫症とトキソカラ症の血清診断. 第 82 回日本寄生虫学会大会, 2013 年 3 月 29-31 日, 東京.

40)Kwansa-Bentum, B., Asahi, H., Izumiyama, S., Ohta, N., Comparative studies of serum-free media and detection techniques for *in vitro* drug sensitivity assessment of *Plasmodium falciparum*. 第 82 回日本寄生虫学会大会、東京、2013 年 3 月

41)海老根一生、平井誠、中野由美子 Plasmodium の ARA6 様遺伝子,Rab5b の機能解析 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 September 14-16, 2012

42)海老根一生 植物固有の膜融合制御因子の解析 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 September 14-16, 2012

43)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 ARA6 の機能の多様性 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 September 14-16, 2012

44)花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子（2012）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 20 回分子寄生虫学ワークショップ. 2012 年 8 月 26 日-29 日. 神戸

45)中野由美子, 中曽根英子, 美田敏宏（2013）アーカイブ血液スメア標本による熱帯熱マラリア原虫 Sulfadoxine/Pyrimethamine 耐性遺伝子型の同定. Genetic identification of *dhfr/dhps* genotypes in *Plasmodium falciparum* using archive blood smears 第 82 回 日本寄生虫学会大会. 2013 年 3 月

28 日-31 日. 東京

46) 桐木雅史、林尚子、Muth Sinuon, Duong Socheat,Cahr Meng Chour, 大前比呂思、千種雄一、松田肇 (2013) メコン住血吸虫の中間宿主および保虫宿主に関する基礎調査 第82回 日本寄生虫学会大会. 2013 年 3 月 28 日-31 日. 東京

47)大前比呂思、杉山広、山崎浩、Muth Sinuon, Duong Socheat (2013) 日本における抗寄生蠕虫薬の使用状況とその問題点 －国際的潮流との比較－第 82 回日本寄生虫学会大会. 2013年3月28日-31日. 東京

48)林尚子、菊池未穂子、Muth Sinuon, Duong Socheat, Cahr Meng Chour, 大前比呂思、春木宏介、千種雄一(2013)尿中の住血吸虫遊離型DNAを標的とした活動性感染の検出. 2013 年 3 月 28 日-31 日. 東京

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 2 名、主任研究官 8 名、研究員 2 名である。戸山庁舎に 9 名の職員と、村山庁舎に 4 名の職員が在籍している。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、片岡紀代が、村山庁舎の電子顕微鏡室に原嶋綾子と竹内佳子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、小林和泉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. 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. 肝炎・肝癌に関する研究
6. 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

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. 経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析
3. フラビウイルスワクチンの開発
4. HTLV-1 ワクチンの開発
5. 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。2012 年度、人体由来検体数は 146 症例であった。検索の結果、EB ウイルス 8 例、B 型肝炎ウイルス 2 例、他アデノウイルス、JC ウイルス、BK ウイルス、ヒトヘルペスウイルス 2 型などウイルス以外にも梅毒トレポネーマやアスペルギルス等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. 感染症の診断に関する研究

（1）使い捨て携帯用カイロを用いた *Mycobacterium ulcerans* の新たな検出法

*Mycobacterium ulcerans (M. ulcerans)*はブルリ潰瘍の原因となる非結核性抗酸菌であり、WHO はブルリ潰瘍を「顧みられない熱帯病」のひとつとして、特にアフリカなどの発展途上国で、重要視している。われわれは電気などのインフラ整備ができていない地域での診断を想定し、使い捨て携帯用カイロを熱源として、LAMP キットを使用することにより、*M. ulcerans* の DNA を検出可能とする系を開発した。ガーナ共和国の臨床サンプルを用い、その感度と特異性を確認した。（片野晴隆、 波多野弁、石川晃一[エイズ研究センター]、山崎利雄[バイオセーフティ管理室]、Ablordey A[ガーナ野口研]）

（2）川崎病の微生物学的原因の究明に関する研究

川崎病は発熱、眼球結膜の充血、イチゴ舌、発疹、リンパ節腫脹などの血管炎の症状を示す、乳幼児の疾患であり、年間約 1 万人が発症する。われわれは、川崎病のリンパ節生検例につき、微生物学的解析を行なった。網羅的ウイルス解析では有意なウイルスは検出されず、次世代シークエンサーでは、Streptococcus 属の核酸断片が DNA, RNA ともに検出された。（片野晴隆、佐藤誠一[新潟市民病院]、関塚 剛[病原体ゲノム解析研究センター]、絹巻暁子[病原体ゲノム解析研究センター]、福本 瞳[協力研究員]、佐藤由子、長谷川秀樹、森川 茂[獣医科学部]、西條政幸[ウイルス 1 部]、水谷哲也[東京農工大]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]）

（3）進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal leukoencephalopathy, PML）の病理組織解析

昨年度から引き続き、PML 確定例 15 例を用いて免疫組織化学による病原体診断の改良を試みた。これまでの研究により、PML の原因である JC ウイルスのコードするウイルスタンパク質 VP1, VP2/3, Agno は、PML 病変部において異なる分布を示すことが明らかになった。病変部に存在するウイルス量は PML の病勢を示すと考えられることから、どの抗体を用いた免疫組織化学が最も PML の病勢評価に適しているかを検討するために、病変部に存在するウイルスコピー数と各抗原の染色性の比較解析を行った。その結果、VP2/3 の免疫組織化学が最もウイルスコピー数と相関性が高いことが明らかになった。以上の結果から、VP2/3 抗体を用いた免疫組織化学を行うことにより、PML の病理学的確定診断だけでなく病気の進行度も評価することができると考えられた。（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）

（4）病理切片上での in situ 核酸検出法の検討

我々が開発した in situ hybridization AT tailing(ISH-AT) 法を迅速化し、市販の分岐 DNA プローブを用いた方法（bDNA-ISH 法）と比較検討した。感度はほとんど同等であった。どちらも 40 塩基長のオリゴヌクレオチドプローブを用いる。bDNA-ISH 法では 20 種類の混合プローブを用いており、ISH-AT では 2 種類の混合プローブを用いることが多い。なおプローブ 1 個が検出する感度は ISH-AT 法の方が高かった。よって標的核酸の塩基長や細胞中のコピー数によってどちらの検出法を選択するか決めている。デングウイルス（1~4 型）、SFTS ウイルス、MERS コロナウイルスの ISH-AT プローブを作製した。SETS ウイルス感染

症の剖検組織でISH-AT法でウイルス核酸を検出した。（中島典子、佐藤由子、鈴木忠樹、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がコードするMIP-I, II の発現

KSHV はカポジ肉腫、primary effusion lymphoma（PEL）や muticentric Castleman's disease（MCD）などの原因となる。そのウイルス遺伝子にはヒトのサイトカインや細胞増殖因子のホモログがコードされている。われわれは KSHV がコードする macrophage inflammatory protein（MIP）-I, II の発現をカポジ肉腫などの臨床サンプルで解析した。MCD では vMIP-I, II 共に発現が認められたが、カポジ肉腫では vMIP-II の発現のみが認められた。（片野晴隆、佐藤由子、上田啓次［大阪大学］）

4. インフルエンザ感染症に関する研究

（1）重症インフルエンザの病態の病理学的解析

2000 年から 2012 年まで国立感染症研究所・感染病理部に病理学的検索を依頼されたインフルエンザ死亡例のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）標本から核酸を抽出し、ウイルス核酸とサイトカイン mRNA のリアルタイム RT-PCR 法による定量解析を試行した。インフルエンザウイルス核酸は呼吸器官に限定して検出され、インフルエンザ脳症の剖検例では脳組織切片からはウイルス核酸も抗原が検出されないことが再確認された。ウイルス性肺炎から ARDS を併発し死亡した剖検肺では肺胞上皮細胞にインフルエンザウイルス抗原が検出された。血液および髄液中の IL-6 値が非常に高かった脳症例では、パラフィン包埋肺組織と脳組織における IL-6　mRNA 量を比較すると脳組織で発現がより高いことがわかった。（中島典子、佐藤由子、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

我々はベトナムハノイ国立小児病院で 2003-2008 年に H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス感染症で死亡した 5 症例のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織ブロックを解析してきた。5 症例とも劇症型 ARDS による呼吸不全で亡くなっている。重症肺炎の病態を明らかにするために肺局所でのサイトカイン・ケモカインの発現を解析した結果、肺局所での H5N1-RNA 量と炎症性サイトカイン・ケモカイン mRNA 量が相関していることがわかり、局所の免疫応答の亢進が示唆された。さらに 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）でも発現していることを明らかにした。'重症新型インフルエンザ診断と治療の手引'を出版した。（中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹）

5. 肝炎・肝癌に関する研究

（1）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

ベトナム南部地域とカンボジアを中心として、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、110 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、現在継続して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：ベトナム］、Banh Vu Dien［チョーライ病院肝炎治療科：ベトナム］、Ling Lu［カンサス大医：米国］）

（2）小児肝癌に関する研究

小児原発性肝癌の新たな症例をベトナムで 3 例、日本で 1 例検索することができた。全例の肝癌組織から PCR 法にて HBV DNA が検出されたが、HCV RNA は全例陰性であった。HBV pre-S1/pre-S2 のシークエンス解析から、塩基の部分欠損が pre-S2 遺伝子のホットスポット領域（nt 4~57）内に全例で観察された。日本の女児例は、ゲノタイプ H という日本では極めて稀な HBV に感染していた。非癌部の肝組織には、ground-glass hepatocytes が 2 例で出現していた。

（阿部賢治、保科隆之［九大小児科］、Tung Thanh Tran［小児第一病院：ベトナム］）

（3）異なったゲノタイプを示す HBV の薬剤感受性にする研究

異なった HBV ゲノタイプ由来の全長 HBV クローンを用いて、*in vitro* と *in vivo* での実験系を確立し、インターフェロン（IFN）- 2a or Peg-IFN- 2a に対する HBV 増殖抑制効果を検討した。その結果は、*in vitro* 及び *in vivo* 両者においてゲノタイプ C, D, I がゲノタイプ A と B に比して IFN 感受性が低下していた。（Zhang Yuhua、Xiaoming Jin［ハルビン医大病理学：中国］、阿部賢治）

（4）成因不明肝癌に関する研究

臨床的に成因不明肝癌（非 B 非 C 型肝癌）と診断された 125 例の米国人肝癌組織から、HBV DNA が 3 例（2.4%）、HCV RNA が 4 例（3.2%）で検出できた。非 B 非 C 型肝癌例における occult B/C の存在を明らかにすることができた。HCV RNA 陽性例のうち 2 例が NASH に起因する肝癌と診断された症例だったことは、注目すべき成績である。（阿部賢治、Hongfa Zhu、Swan N. Thung［マウントサイナイ医大：米国］）

6. 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

ベトナムハノイ国立小児病院における ARDS 死亡例の病理解析

H5N1 非感染の重症肺炎 3 例(2008 年)の剖検組織を解析した。1 例はカリニ肺炎とサイトメガロウイルス（CMV）肺炎を併発していたことがわかり免疫不全状態にあったと予測された。残りの 2 例では、気管吸引物からはライノウイルス（A 型）が検出されたが、ホルマリン固定パラフィン組織切片からは CMV－DNA が検出された。組織学的には肺、腎臓、肝臓に CMV 封入体がみとめられ、免疫組織化学で CMV 抗原が陽性であった。肺はび慢性肺胞傷害を呈していた。年齢は生後 2 か月と 3 か月であり、周産期の母子感染あるいは孤児院での水平感染が考えられ、低栄養状態による免疫低下が推測された。ベトナムにおける母の抗体保有率、児の抗体（CMV-IgG,IgM）児の免疫などについて調査する必要があると考えられた。（中島典子、佐藤由子、長谷川秀樹）

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。HSV の基礎研究は進んでいると言われるが、まだその機能が未知である因子は多く残されている。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やワクチン開発も念頭に入れ、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 96 well plate を用いた cell-to-cell 感染実験系

GFP 発現組換え KSHV 感染 B 細胞株と HeLa 細胞の共培養による cell-to-cell 感染実験を 96 well plate を用いて行うことにより定量的に検討することが可能となった。KSHV ワクチンの標的分子候補である K8.1 蛋白や KSHV cell-free virus のレセプターであるエフリン受容体 A2 蛋白存在下では cell-to-cell 感染が抑制された。K8.1 やエフリン受容体 A2 が KSHV の cell-to-cell 感染に関与していることが示唆された。（菅野隆行、片野晴隆、長谷川秀樹）

（3）抗血管新生薬による KSHV 再活性化に関する研究

抗血管新生薬フマギリンにより KSHV 感染 B 細胞株の再活性化スイッチ蛋白 RTA が誘導されることを見

いだした。転写産物、翻訳産物の誘導はそれぞれフマギリン添加後 12 時間後、36 時間後より認められ、48 時間後には全ウイルス遺伝子の転写産物が誘導され溶解感染状態にあると考えられた。血管内皮細胞腫瘍、カポジ肉腫の原因ウイルスである KSHV 再活性化が血管新生と関連している可能性を示唆しており興味深い。（菅野隆行、上原妙子[協力研究員]、福本 瞳[協力研究員]、片野晴隆、長谷川秀樹）

2. ATL（HTLV-1）に関する研究

質量分析計を用いたマウス ATL 癌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）には癌幹細胞が存在する。癌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 癌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。本年度は、同定された分子を標的とした治療実験を行うために特異的なモノクローナル抗体の作製を試みた。本標的分子は巨大な膜タンパク質であり抗原を得ることが難しいことから、活性に重要な N 末領域のみをコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて合成した。条件を至適化し、大量合成をして最終的に 3.6mg の精製タンパク質を得た。さらに、このタンパク質をマウスに免疫し、常法によりモノクローナル抗体を作成した。その結果、計 12 クローンのモノクローナル抗体を得ることに成功した。これらのモノクローナル抗体は mATL 発症を抑制することが期待され、癌幹細胞を標的としたヒト ATL の新たな治療法の開発につながる可能性が考えられた。（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を用いた喘息発作によるインフルエンザ感染症増悪化モデルの作製

喘息発作とインフルエンザウイルス H1N1pdm09 の感染との関係性を明らかにすることを目的として、アレルギー素因を有する近交系マウス（NC/Nga マウス）に対して、ウイルス感染と喘息発作を行い、その後の病態を病理学的、免疫学的に解析した。ウイルス感染後に OVA 負荷により喘息を誘導した際には、体重減少の増悪化が見られるなど、病態が悪化した。しかし、喘息発作誘導後に感染を行うと、体重減少の緩和が見られ、肺洗浄液中のウイルス量も減少した。また、肺洗浄液中の種々のサイトカイン・ケモカインの産生量を見ると、MCP-1/CCL2 の産生量が病態の悪化と相関して増加、病態の緩和と相関して減少していた。これらの結果から、インフルエンザウイルスの感染と喘息発作の生じる順番が、その後の病態に影響すること、その病態の指標として MCP-1/CCL2 の定量が有用である可能性が考えられた。（川口 晶、鈴木忠樹、佐藤由子、長谷川秀樹）

（2）インフルエンザウイルス HA−抗体複合体構造解析に向けた研究

A/Narita/1/09(H1N1pdm)の HA 膜外領域とそれを認識する抗体の結晶構造解析により、抗原と抗体の相互作用の詳細を明らかにすることを目指した。Bromelain 処理により切り出した A/Narita 株由来の HA の膜外領域と、マウス腹水から精製した抗 Narita 単一抗体との複合体の結晶解析、および高速 AFM（原子力顕微鏡）を用いた観察を試みた。結晶化可能な量の HA を得ることが難しいことから、結晶構造解析には至らなかったが、AFM により複合体が観察された。また同様の手法で A/Aichi/6/68(H3N2)の膜外領域を切り出し、結晶構造解析を行った結果、これまでに報告をされていない巨大な複合型糖鎖に相当する電子密度が観察され、これを Protein data Bank へ登録した。（川口 晶、鈴木忠樹、安武義晃[産業技術総合研究所]、長谷川秀樹）

4. SARS コロナウイルスに関する研究

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、引き続き検討した。BALF 中の浸潤細胞とサイトカインの解析から、好中球が病態の増悪、T リンパ球の浸潤が促進と IL-10 産生が発症阻止に関与していることが示唆された。(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[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、ダニ媒介性脳炎ウイルス感染後の脳炎発症機序の解明と新規ワクチン評価系の確立を目的として、BALB/c を用いたウイルス血症モデルにおける神経病原性を解析した。その結果、ダニ媒介性脳炎ウイルス Sofjin 株感染早期には腸管、胸腺、脾臓、脳に感染性ウイルスが存在し、非常に強い神経親和性を示すことが判明した。本研究によって、BALB/c を用いたダニ媒介性脳炎ウイルスのウイルス血症モデルを確立し、そのウイルス動態と病理像を明らかにした。(永田典代、岩田奈織子、原嶋綾子 [非常勤職員]、佐藤由子、長谷川秀樹、早坂大輔[長崎大学熱帯医学研究所]、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

症型サル痘の発症機序を明らかにする目的で、これまでに実施したサル痘ウイルス実験的感染カニクイザルのうち、劇症化した 2 個体のリンパ系組織における病理像の特徴を明らかにした。いずれの個体も、リンパ節・胸腺においてリンパ球は減少し、特に、脾の B 領域を中心とした濾胞全体の壊死は重度であった。強い免疫不全状態が、病態に大きく関与することが病理学的に明らかになった。(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[獣医科学部])

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）の病理学的診断法を確立することを目的としている。髄膜炎の原因として知られている主なピコルナウイルスの参照標本を作製し、免疫組織化学法による各種抗体の交差反応性について検討した結果、ホルマリン固定標本パラフィン包埋切片における SAFV3 および各種エンテロウイルス抗原を検出するシステムを確立した。パラフィン切片を用いた場合に、これらの抗体を用いて、SAFV とその他のエンテロウイルスの鑑別診断は可能である。(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 感染者における抗ウイルス宿主因子の発現レベルと病態進行との相関性の有無

近年、HIV-1 複製を抑制するヒト特異的な抗ウイルス宿主因子として報告されてきた APOBEC3G、BST-2/tetherin、SAMHD1 の mRNA 発現量について、日豪の HIV-1 感染者の無刺激の末梢血単核球 56 人分から抽出したトータル RNA を用いてリアルタイム RT-PCR により解析した。その結果、いずれの宿主因子の発現レベルにおいても CD4 陽性細胞数および血中ウイルス量との相関関係は認められなかった。これについては無刺激の細胞を用いたのが原因と考え、現在、末梢血単核球をマクロファージに分化、更に IFN-α 処理の有無による実験で再検討している。(張 延昭[研究生]、立川愛[東大医科研]、中村仁美[東大医科研]、David Nolan[王立パース病院]、Simon Mallal[王立パース病院]、山岡昇司[東京医科歯科大]、岩本愛吉[東大医科研]、徳永研三)

(2) HIV-1 Vpu 蛋白による抗 BST-2/tetherin 作用機序に関する研究

抗ウイルス宿主因子 BST-2/tetherin を不活化する

HIV-1 Vpu 蛋白の補助因子としてはこれまでにユビキチン複合体構成蛋白 βTrCP が報告されているが、それ以外に未知の宿主因子が関与する可能性が示唆されている。今回我々は Vpu の補助因子の探索を行い、Vpu 安定発現細胞の溶解液を用いた免疫沈降法後に、昨年とは異なるプロテオーム解析によって 9 種類の候補蛋白を同定した。候補蛋白の発現ベクターを作製しそれらを用いて、既知の Vpu 結合蛋白 Scamp3 を含めた免疫沈降実験を行った結果、2 種類の候補蛋白が Scamp3 と同程度に Vpu と相互作用を示すことが明らかになった。細胞内局在性実験で Scamp3 のみが Vpu と共局在した。現在、候補蛋白のジーンサイレンシング実験を行い、抗 BST-2/tetherin 活性における要求性を検討している。(小山貴芳[協力研究員]、Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三)

(3) 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 (DC) の HIV-1 に対する低感受性は新規抗ウイルス宿主因子 SAMHD1 の発現に規定されることが先頃報告されたが、SAMHD1 のみでは説明できない部分が依然として多い。今回我々は Vpx 発現 DC 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、SAMHD1 以外の Vpx 標的分子を探索した。昨年までに同定した 8 種類の候補蛋白の過剰発現実験を行った結果、いずれも HIV-1 の感染性に影響を与えることはなかった。免疫沈降実験により候補蛋白 8 種類のうち 3 種類が強力に Vpx と結合していることが明らかになった。この 3 種類の遺伝子を標的とする shRNA レンチベクターを構築、ジーンサイレンシング実験を行った結果そのうちの 1 つが Vpx の補助因子である可能性が示唆された。(小山貴芳[協力研究員]、Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三)

(4) HIV-1 elite controller における HIV-1 Vif の抗 APBEC3G 活性の低下

抗 HIV 治療無しで血中ウイルス量を不検出レベルに長期制御できる elite controller (EC) と呼ばれる患者群が存在するが、その成立要因は不明である。今回、抗ウイルス宿主因子 APOBEC3G (A3G) を不活化する HIV-1Vif 蛋白の抗 A3G 活性について、米国及び独国の EC・急性期 (AI)・慢性期 (CP) 患者由来 Vif 発現ベクターを作製し、レポーターアッセイ系により比較検討した。EC 由来 Vif は CP・AI 由来と比べて有意に抗 A3G 活性が低下していた。EC 関連因子として既知の HLA-B*57 及び HLA-B*27 保有者を除いた解析でも同様であった。他の HLA class I とも有意な相関性も認められなかった。EC 由来 Vif に共通する変異型もないことから、個々の患者において起きる多様な変異が Vif の機能を低下させている可能性が考えられた。(菊地正[研究生] [東大医科研]、立川 愛[東大医科研]、Z.L. Brumme [Simon Fraser Univ]、B.D. Walker [Harvard, Univ]、岩本愛吉[東大医科研]、徳永研三、三浦聡之[長崎大])

(5) APOBEC3G による Alu 転移抑制の分子生物学的および構造学的解析

我々はこれまでに、稀に癌を引き起こす原因にもなる LINE-1 及び Alu レトロトランスポゾンの転移が、抗レトロウイルス宿主因子 APOBEC3 (A3)ファミリーにより抑制を受けること、A3G の抗 Alu 活性に関わる責任領域は N 末 30 アミノ酸であること、更にその領域が二量体化に関与することを見出した。今回、構造解析により、A3G の二量体化に重要なアミノ酸は 24-28 番目のアミノ酸であることを新たに予測し、それに基づき変異体を作製した結果、実際に二量体化能が失われ Alu 転移抑制能が消失することが明らかになった。更に A3G の二量体化能が LINE-1 転移の抑制にも重要であることから、A3G による Alu 及び LINE-1 レトロ転移抑制は共通のメカニズムによるものである可能性が示唆された。(Juan F. Arias [協力研究員]、小山貴芳[協力研究員]、横山 勝[病原体ゲノム解析研セ]、佐藤裕徳[病原体ゲノム解析研セ]、徳永研三)

9. 狂犬病に関する研究

ヒトへ狂犬病を伝播する感染動物の多くはイヌであ

るが、イヌ体内での狂犬病ウイルスの局在に関する報告は少ない。街上毒野外感染イヌ頭部をベトナム国NIHE研究所・Dr. Kieu Anh博士より分与頂いた。抗狂犬病ウイルス抗体を用いた免疫組織化学的手法により、イヌ頭頚部におけるウイルス抗原分布を検討した。街上毒感染イヌ脳組織ではヒト症例と同様に、広範にウイルス抗原は分布しているが炎症反応に乏しかった。また、顎下腺では、腺房細胞にウイルス抗原が豊富に認められ、電子顕微鏡を用いた観察により成熟したウイルス粒子が確認された。しかしながら、マウス感染実験例では固定毒、街上毒ともに唾液中からウイルス遺伝子が検出されるが、大唾液腺にウイルス抗原は認められない。また、ヒト症例でも大唾液腺にはウイルス抗原は認められない。以上から、狂犬病ウイルスの宿主動物内局在は動物種により規定されていることが示唆された。（飛梅 実、佐藤由子、Kieu Anh［ベトナム・NIHE 研究所］）

10. 風疹ウイルスに関する研究

・風疹ウイルスに対するポリクローナル抗体作製

風疹ウイルス（RV）に対する抗体は市販の抗体を含め、ホルマリン固定組織切片で使用できるものがない。そこで、ニュージーランドホワイト種のウサギに不活化 RV を抗原として免疫をし、ポリクローナル抗体の作製を試みた。タンパク量として 1 回につき 100μg を 4 回皮下免疫し、ウエスタンブロットで血清中の RV 抗体産生を確認した。現在、まだ検出可能な抗体は確認できておらず、定期的に免疫を続けている。（岩田奈織子、永田典代）

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。経鼻インフルエンザワクチンは、インフルエンザウイルスの感染阻止に働く気道粘膜上の分泌型 IgA 抗体を誘導することから、血清中の IgG 応対のみを誘導する現行の注射によるワクチンと比べて有効性が高いことが期待されている。現在、実用化に向けた健康人ボランティアを募った臨床研究を行っている。本研究では、全粒子不活化ワクチン経鼻接種を施された健康人ボランティアにおいて、ワクチン接種に伴う副反応の評価、また年齢あるいは性別が抗体応答に与える影響を明らかにすることを目的とした。その結果、経鼻インフルエンザワクチンにより、鼻水、鼻づまりなど軽微な副反応を生じるものの重篤な副反応は認められなかった。さらに、誘導される抗体応答は年齢とともに減弱し、女性において高い傾向にあった。（相内 章［併任］、鈴木忠樹、田村愼一［客員研究員］、池田千将［研究生］、長谷川秀樹）

2. 経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析

気道粘膜上に存在する分泌型 IgA は主に二量体 IgA(dIgA)から構成されるが、より大きな多量体 IgA(pIgA)から成る分泌型 IgA も存在することが知られている。本研究では、ヒトに経鼻インフルエンザワクチン接種後誘導される鼻腔中の pIgA のウイルス感染防御における役割を検討した。成人ボランティア 5 名にインフルエンザウイルスの全粒子不活化ワクチンを経鼻接種し、最終接種から 1 週間後に鼻洗浄液を回収した。鼻腔洗浄液から IgA を精製し生化学的解析を行った。その結果、鼻腔洗浄液中の IgA は単量体、二量体、多量体から成ることが明らかになった。いずれの抗体もウイルスを中和することが出来たが、pIgA は dIgA と同程度かそれ以上の中和能を有しており、pIgA は dIgA と同様にウイルス感染防御に寄与していることが示唆された。（鈴木忠樹、川口 晶、相内 章［併任］、田村愼一［客員研究員］、長谷川秀樹）

3. フラビウイルスワクチンの開発

（1）デングウイルス様粒子発現ベクターの開発

フラビウイルスのうち、輸入症例が急激に増加しているデングウイルス（DENV）を中心にウイルス様粒子（VLP）ワクチン開発研究を推進した。その結果、1）DENV1~4 型ウイルスの plaque/focus 定量法を確立した。2）DENV1~4 型 prM/E 蛋白質の抗原 ELISA 法を単ク

ローン抗体の組合せで樹立し、感染性 DENV も感度良く検出できる事を示した。3）Cellufine カラム法と Sephacryl ゲル濾過法の組合せで、効率良い粒子様抗原精製法が示唆された。4）昨年報告した DENV 中和 domain を含む prM/E VLP 発現ベクター系で以下の成績を得た。①DENV prM-E の発現・分泌に他のシグナル配列が有効に作用する。②分泌 DENV 抗原では E と prM が相互作用をしている。③DENV E の膜貫通 domain は他の膜貫通 domain と置換可能である。④DENV 主要中和 domain は他の prM-E バックボーンでも発現可能である。（小島朝人［客員研究員］、鈴木忠樹、飛梅 実、高橋秀宗［武蔵村山病院］、五味康行［阪大微研会］、畠山昌和［JNC］、長谷川秀樹）

（2）デングウイルス感染動物実験系とその病理学的評価系の確立

デングウイルス様粒子を用いたワクチン開発を目標として、感染動物実験系とその病理学的評価系の確立を目的としている。今年度は、分与された 4 つの血清型のデングウイルスを Vero 細胞に継代、馴化を行い、新生仔マウスにおける病原性を確認した。一方で、感染培養細胞およびマウス組織を用いて参照標本を作製し、ホルマリン固定およびパラフィン包埋標本におけるウイルス特異的モノクローナル抗体の交差反応性と至適条件の検討を行い、組織切片上のウイルス抗原検出系を確立した。（永田典代、小島朝人［客員研究員］、鈴木忠樹、小谷 治、岩田奈織子、長谷川秀樹、高崎智彦［ウイルス第一部］）

4. HTLV-1 ワクチンの開発

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型（Human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1）の主な感染経路は母乳を介した母子感染である。粘膜を介して感染する感染症には粘膜上で働く特異的分泌型 IgA 抗体が有効であり、母乳中にも積極的に分泌される事が知られている。母親に対してワクチン接種を行い母乳中に分泌型 IgA 抗体を誘導することで、授乳を介した感染リスクを低減できる可能性がある。本研究では、マウスを用いてワクチン接種により母乳中に誘導される抗体応答の評価をおこなった。その結果、皮下ワクチン接種は経鼻ワクチン接種と比較して、血清中に抗 HTLV-1 gp46 にたいする IgG 抗体を強く誘導し、それを反映する形で母乳中へ特異的な IgG 抗体が誘導されることが明らかになった。（泉地恭輔［研究生］、鈴木忠樹、長谷川秀樹）

5. 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との関連性について昨年度行った実験の確認を行った。UV-V 免疫マウス血清、UV-V と Toll-like receptor リガンドをアジュバントとして一緒に免疫したマウス血清（UV-V+TLR）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 感染マウス血清あるいは UV-V+TLR 免疫マウス血清を同様に投与した。ウイルス感染 3 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。（岩田奈織子、永田典代、佐藤由子、横田恭子［免疫部］、森川 茂［獣医科学部］、長谷川秀樹）

（2）UV 不活化 SARS-CoV（UV-V）の副反応機序の研究

UV-V ワクチン免疫後の感染肺における好酸球浸潤とメモリーT 細胞の関連性について調べた。UV-V を BALB/c マウスに 6 週間隔で 2 回皮下免疫し、最終免疫 7 日後に免疫群および非免疫群それぞれに抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体あるいは Isotype control を一日おきに 3 回腹腔内投与し、CD4 枯渇群、CD8 枯渇群、対照群とした。抗体の最終投与 1 日後にマウス馴化

SARS-CoV を経鼻接種し、10 日間の臨床観察を行った。組織学的に UV-V 免疫群は急性肺障害の像を呈しなかったが、血管周囲に好酸球を含む炎症細胞の浸潤が見られた。この細胞浸潤はいずれの枯渇群でも認められ、その浸潤細胞数も対照群と有意差はなかった。サイトカイン発現は UV-V 免疫群 3 群の中で有意差はなかった。これらの結果から、感染後の肺の好酸球浸潤にメモリーT 細胞は、関与していないと考えられた。

（岩田奈織子、永田典代、佐藤由子、横田恭子［免疫部］、森川 茂［獣医科学部］、長谷川秀樹）

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）

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 24 年度も順調に運用された。4 月 28 日（土）に上の階より水漏れがあり（水道管破裂）、本体キーボード部分が水を被ったが、発見が早かった為、大きなトラブルにならずに済んだ。

本年度中に処理した検体数は 132 検体で、その内訳は感染研内部 111 検体、共同研究 8 検体、外部のみ 13 検体であった。そのうち 8 検体は免疫 SEM の依頼であった。また、見学者の対応は 11 回、90 名であった。公務員が 12 名、学生ら 24 名、一般 28 名（一般公開の見学者）、外国人 26 名であった。

（齋藤典子［期間業務職員］）

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 21 件、樹脂包埋検体数 42 検体（320 ブロック）、ネガティブ染色数 52 検体であった。依頼者は、細菌第一部・獣医科学部・病原体ゲノム解析研究センター・ウイルス第一部・感染病理部であった。

（片岡紀代［期間業務職員］）

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 25 件であり、透過電子顕微鏡利用は 20 件、走査電子顕微鏡は 5 件であった。また、本年度も 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、ウイルス第三部､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、感染症疫学センター、細菌第二部であった。(片岡紀代[期間業務職員]、竹内佳子[非常勤職員]、藤野美穂子[期間業務職員]、鈴木忠樹、岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

なし。

2. 行政検査

伝達性海綿状脳症（TSE）スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーピー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した（平成 24 年 8 月～平成 25 年 3 月。33 機関について実施）。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。(飛梅 実、長谷川秀樹[感染病理部]萩原健一、中村優子、花田賢太郎[細胞科学部])

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、カンボジア、タイ、ミャンマー､中国の大学および医療機関における病理､血清、ウイルス、遺伝子診断に関する研究・技術指導、現地セミナーを実施した。

（3）永田典代：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。(平成 25 年 1 月 22 日)

（4）飛梅 実：ベトナム NIHE 研究所、ワクチン接種後に狂犬病ウイルスに感染、狂犬病を発症したイヌの病理学的診断並びにウイルス分離を行った。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Katano H: Frequent detection of Merkel cell polyomavirus DNA in sera of HIV-1-positive patients. Virol J 2013 Mar 13;10:84.
2) Shimodaira K, Okubo Y, Ochiai E, Nakayama H, Katano H, Wakayama M, Shinozaki M, Ishiwatari T, Sasai D, Tochigi N, Nemoto T, Saji T, Kamei K, Shibuya K: Gene expression analysis of a murine model with pulmonary vascular remodeling compared to end-stage IPAH lungs. Respir Res 2012, 13:103.
3) Ogawa-Goto K, Ueno T, Oshima K, Yamamoto H, Sasaki J, Fujita K, Sata T, Taniguchi S, Kanda Y, Katano H: Detection of active human cytomegalovirus by the promyelocytic leukemia body assay in cultures of PBMCs from patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. J Med Virol 2012, 84:479-486.
4) Nakano K, Katano H, Tadagaki K, Sato Y, Ohsaki E, Mori Y, Yamanishi K, Ueda K: Novel monoclonal antibodies for identification of multicentric Castleman's disease; Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded vMIP-I and vMIP-II. Virology 2012, 425:95-102.
5) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iiduka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasagawa 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, 25:1-13.
6) Katano H, Sato S, Sekizuka T, Kinumaki A, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Morikawa S, Saijo M,

Mizutani T, Kuroda M: Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. Int J Clin Exp Pathol 2012, 5:814-823.

7) Kamiyama T, Ohshima N, Satoh H, Fukumoto H, Katano H, Imakado S: Metachronous merkel cell carcinoma on both cheeks. Acta Derm Venereol 2012, 92:54-56.
8) Ishiwada N, Takada N, Okunushi T, Hishiki H, Katano H, Nakajima N, Kohno Y: Rhabdomyolysis associated with influenza A/H1N1 2009 infection in a pediatric patient. Pediatr Int 2012, 54:703-705.
9) Goto H, Kariya R, Shimamoto M, Kudo E, Taura M, Katano H, Okada S: Antitumor effect of berberine against primary effusion lymphoma via inhibition of NF-kappaB pathway. Cancer Sci 2012, 103:775-781.
10) 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 2012, 6:e1590.
11) 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):171-182. (Epub 2011 Dec 30.)
12) Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Diep PH, Kumasaka T, Thuy NT, Hasegawa H, San LT, Kawachi S, Liem NT, Suzuki K, Sata T : Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam. Mod Pathol. 2012 Nov 23. [Epub ahead of print]
13) Ohnishi K, Takahashi Y, Kono N, Nakajima N, Mizukoshi F, Misawa S, Yamamoto T, Mitsuki YY, Fu S, Hirayama N, Ohshima M, Ato M, Kageyama T, Odagiri T, Tashiro M, Kobayashi K, Itamura S, Tsunetsugu-Yokota Y: Newly established monoclonal antibodies for immunological detection of H5N1 influenza virus. Jpn J Infect Dis. 2012;65(1):19-27.
14) Tokunaga K: HIV-1 Vpu and BST-2/tetherin: Enemies at the Gates. Current HIV Res. 2012, 10: 275-276.
15) Arias JF, Iwabu Y, Tokunaga K: Sites of action of HIV-1 Vpu in BST-2/tetherin downregulation. Current HIV Res. 2012, 10: 283-291.
16) Fujita H, Fujimoto K, Tokunaga K, Tanaka Y: Intracellular Logistics of BST-2/Tetherin. Current HIV Res 2012, 10: 321-326.
17) Arias JF, Koyama T, Kinomoto M, Tokunaga K: Retroelements versus APOBEC3 family proteins: No great escape from the magnificent seven. Front Microbiol 2012, 3:275.
18) Zheng Y-H, Jeang K-T, Tokunaga K: Host Restriction Factors in Retroviral Infection: Promises in Virus-Host Interaction. Retrovirology 2012, 9:112.
19) Koyama T, Sun B, Tokunaga K, Tatsumi M, Ishizaka Y: DNA damage aids HIV-1 infection of macrophages by overcoming integrase inhibition. Retrovirology 2012, 10:21.
20) Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Hiyoshi-Yoshidomi Y, Hashimoto M, Tokunaga K, Suzu S: Characteristics of IFITM, the newly identified IFN-inducible anti-HIV-1 family proteins. Microbes Infect 2012, 15:280-290.
21) Fujita H, Iwabu Y, Tokunaga K, Tanaka Y: Membrane-associated RING-CH (MARCH) 8 mediates the ubiquitination and lysosomal degradation of the transferrin receptor. J Cell Sci. in press
22) 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):336-344.

23) Nagakawa K, Niikura K, Suzuki T, Matsuo Y, Igarashi M, Sawa H, Ijiro K: Virus Capsid Coating of Gold Nanoparticles via Cysteine–Au Interactions and Their Effective Cellular Uptakes. Chemistry Letters 2012, Jan 41(1):113-115.

24) Takeuchi K, Nagata N, Kato SI, 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 2012, Mar 86(6):3027-3037.

25) Suzuki T, Semba S, Sunden Y, Orba Y, Kobayashi S, Nagashima K, Kimura T, Hasegawa H, Sawa H: Role of JC virus agnoprotein in virion formation. Microbiol Immunol 2012, Sep 56(9):639-646.

26) van Riet E, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H: Mucosal IgA responses in influenza virus infections; thoughts for vaccine design. Vaccine 2012, Aug31 30(40):5893-5900.

27) Sasaki I, Hoshino K, Sugiyama T, Yamazaki C, Yano T, Iizuka A, Hemmi H, Tanaka T, Saito M, Sugiyama M, Fukuda Y, Ohta T, Sato K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H, Toyama-Sorimachi N, Kohara H, Nagasawa T, Kaisho T: Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. Blood 2012, Dec6 120(24):4733-4743.

28) Muto NA, Yoshida R, Suzuki T, Kobayashi S, Ozaki H, Fujikura D, Manzoor R, Muramatsu M, Takada A, Kimura T, Sawa H: Inhibitory effects of an M2-specific monoclonal antibody on different strains of influenza A virus. Jpn J Vet Res 2012, Aug 60(2-3):71-83.

29) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S: Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. J Virol 2013, Jan 87(2):1105-1114

30) Okamoto S, Yoshii H, Matsuura M, Kojima A, Ishikawa T, Akagi T, Akashi M, Takahashi M, Yamanishi K, and Mori Y: Poly-γ-glutamic acid nanoparticles and aluminum adjuvant used as an adjuvant with a single dose of Japanese encephalitis virus-like particles provides effective protection from Japanese encephalitis virus. Clin Vaccine Immunol 2012, 19: 17-22.

31) 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, 50(5):1810-1812.

32) Asano S, Mori K, Yamazaki K, Sata T, Kanno T, Sato Y, Kojima M, Fujita H, Akaike Y, Wakasa H: Temporal differences of onset between primary skin lesions and regional lymph node lesions for tularemia in Japan: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 19 skin cases and 54 lymph node cases. Virchows Arch 2012, 460(6):651-658

33) Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, Newman PC, Garron T, Atmar RL, Peters CJ, Couch RB: Immunization with SARS Coronavirus Vaccines Leads to Pulmonary Immunopathology on Challenge with the SARS Virus. PLoS One 2012, 7(4):e35421. Epub 2012 Apr 20.

34) 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 2012, Jun 86(12):6481-6490.

35) Wang H, Yuan Z, Barnes E, Yuan M, Li C, Fu Y, Xia X, Li G, Newton P, Vongsouvath M, Klenerman P, Pybus OG, Murphy D, Abe K, Lu L: Eight novel hepatitis C

virus genomes reveal the changing taxonomic structure of genotype 6. J Gen Virol 2013, 94: 76-80.

36) Zhang Y, Wu Y, Ye S, Wang T, Zhao R, Chen F, Abe K, Jin X: The response to interferon is influenced by hepatitis B virus genotype in vitro and in vivo. Virus Res 2013, 171: 65-70.

37) Pham VH, Nguyen TV, Nguyen TT, Dang LD, Hoang NH, Nguyen TV, Abe K: Rubella epidemic in Vietnam: characteristic of rubella virus genes from pregnant women and their fetuses/newborns with congenital rubella syndrome. J Clin Virol 2013, 57: 152-156.

38) Taniguchi S, Sayama Y, Nagata N, Ikegami T, Miranda ME, Watanabe S, Iizuka I, Fukushi S, Mizutani T, Ishii Y, Saijo M, Akashi H, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Morikawa S: Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. BMC Vet Res 2012, Oct 11;8:189

39) Abe Y, Fujii K, Nagata N, Takeuchi O, Akira S, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T, Koike S: The toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. J Virol 2012, Jan 86(1):185-194.

40) Seto T, Nagata N, Yoshikawa K, Ichii O, Sanada T, Saasa N, Ozaki Y, Kon Y, Yoshii K, Takashima I, Kariwa H: Infection of Hantaan virus strain AA57 leading to pulmonary disease in laboratory mice. Virus Res 2012, Jan 163(1):284-290.

41) Wong KT, Ng KY, Ong KC, Ng WF, Shankar SK, Mahadevan A, Radotra B, Su IJ, Lau G, Ling AE, Chan KP, Macorelles P, Vallet S, Cardosa MJ, Desai A, Ravi V, Nagata N, Shimizu H, Takasaki T: Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA. Neuropathol Appl Neurobiol 2012, Aug 38(5):443-453.

42) Nakato G, Hase K, Suzuki M, Kimura M, Ato M, Hanazato M, Tobiume M, Horiuchi M, Atarashi R, Nishida N, Watarai M, Imaoka K, Ohno H: Brucella abortus exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. J Immunol 2012, Aug 15;189(4):1540-1544.

43) Inoue N, Matsushita M, Fukui Y, Yamada S, Tsuda M, Higashi C, Kaneko K, Hasegawa H, Yamaguchi T: Identification of a varicella-zoster virus replication inhibitor that blocks capsid assembly by interacting with the floor domain of the major capsid protein. J Virol 2012, Nov 86(22):12198-12207.

44) Tanaka M, Kato A, Satoh Y, Ide T, Sagou K, Kimura K, Hasegawa H, Kawaguchi Y. Herpes simplex virus 1 VP22 regulates translocation of multiple viral and cellular proteins and promotes neurovirulence. J Virol 2012, May 86(9):5264-5277.

2. 和文発表

1) 長谷川秀樹: 基礎医学とのダイアローグ 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発. THE LUNG perspectives 2012, 20(4): 418-422.

2) 相内 章, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 経鼻投与型インフルエンザワクチンの実用化に向けて. インフルエンザ 2012, 13(3): 199-204.

3) 大田泰徳, 比島恒和, 望月 眞, 児玉良典, 片野晴隆: カレントトピックス エイズ関連リンパ腫の病理診断. 病理と臨床 2012, 30: 195-203.

4) 片野晴隆, 佐藤由子, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: 病原体の同定. 病理解剖マニュアル 病理と臨床 2012, 30: 269-277.

5) 片野晴隆:ヒトヘルペスウイルス８とカポジ肉腫. 感染症 2012, 42: 38-43.

6) 片野晴隆:「臓器移植患者における感染病理学的診断」臓器移植患者の予後および QOL の向上のための真菌やウイルス感染症の予防・診断・治療に関する研究班 編集 臓器移植患者におけるヘルペスウイルス感染症の診断・治療・予防マニュアル

2012, 3 p73-83.

7) 山本真由美, 渋谷佳直, 加納宏行, 清島真理子, 荒木麻里, 和泉智子, 福本瞳, 片野晴隆: メルケル細胞ポリオーマウイルスが検出されたメルケル細胞癌の 3 例. 皮膚科の臨床 2012,8 54 巻 p1152-1157.
8) 中島典子, 長谷川秀樹: インフルエンザウイルス感染症の病理. 医学のあゆみ 2012, 241 巻 1 号:4/7,
9) 鈴木忠樹, 長谷川秀樹: HTLV-1 と白血病・リンパ腫. 病理と臨床 2013, 31(2): 146 -150.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tobiume M, Sata T, Hasegawa H: Over expression of Peripherin enhances progression of prion disease in mice. Prion 2012, Amsterdam, Netherland, May, 2012
2) Katano H, Sakamoto K, Sekizuka T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M: Expression profiles of KSHV-encoded miRNAs in KSHV-associated diseases 2012 International Congress on Oncogenic Herpesviruses and Associated Diseases. Philadelphia, USA, July, 2012
3) Kikuchi T, Iwabu Y, Kawana-Tachikawa A, Koga M, Hosoya N, Nomura S, Brumme ZL, Jessen H, Kelleher A, Markowitz M, Pereyra F, Trocha A, Walker BD, Iwamoto A, Tokunaga K, Miura T: Anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif protein from elite controllers is attenuated compared to those from untreated chronic progressors or those from individuals with acute infection. XIX International AIDS Conference, Washington D.C., USA, July, 2012
4) Sakamoto K, Hishima T, Sato Y, Hasegawa H, Katano H: Expression profiles of Epstein-Barr virus (EBV)-encoded miRNAs in EBV-associated lymphomas. International Herpesvirus Workshop 2012, August, 2012
5) Abe K: Invited lecture: Animal models for human hepatitis B. 7th National Conference of Vietnamese Association for Hepatology. Danang, Vietnam, August, 2012
6) Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Pho Hong Diep, Kumasaka T, Nguyen Trung Thuy, Hasegawa H, Luong Thi San, Kawachi S, Nguyen Thanh Liem, Suzuki K and Sata T: Pathological study of formalin-fixed paraffin-embedded lung tissues with H5N1 influenza infection in Vietnam. Severe Influenza: Burden, Pathogenesis and Management (Second isirv Antiviral Group Conference), Hanoi, Vietnam, October, 2012
7) Suzuki T, Orba Y, Makino Y , Sunden Y, Okada Y, Kimura T, Sata T, Hasegawa H, Hall WW, Sawa H: Disruption of AP-3 complex mediated vesicular trafficking by the JC polyomavirus agnoprotein is fundamental to viroporin activity and virus replication The 34th NAITO CONFERENCE on Infection, Immunity and their Control for Health: Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine, Sapporo, Japan, October, 2012
8) Nagata N, Kataoka M, Sato Y, Sakai K, Iwata N, Suzuki T, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Sata T, Hasegawa H: Case reports with diagnostic electron microscopy and pathology for infectious diseases. The past five years experience, from 2007 to 2011. Glienicke Workshop on Electron Microscopy in Infectious Diseases - Diagnostics and Research 2012, Berlin, Germany, October, 2012
9) Inui A, Fuijisawa T, Tsunoda T, Kawamoto M, Ijichi S, Sogo T, Komatsu H, Ih-Jen Su, Abe K: Hepatitis B virus associated hepatocarcinogenesis in Asian children. 4th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (WCPGHAN), Taipei, Taiwan, November, 2012

2. 国内学会

1) 片野晴隆, 比島恒和, 佐藤由子, 長谷川秀樹: EBV 関連腫瘍における EBV がコードする miRNA の発現. 第 101 回 日本病理学会総会（東京）2012 年 4 月

2) 中島典子, 佐藤由子, 片野晴隆, 熊坂利夫, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染症で死亡したベトナム小児例の病理学的解析. 第 101 回日本病理学会総会（東京）2012 年 4 月
3) 鈴木忠樹, 片野晴隆, 佐藤由子, 澤　洋文, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: 進行性多巣性白質脳症における JC ウイルス後期蛋白質発現動態の免疫組織化学的検討. 第 101 回日本病理学会総会（東京）2012 年 4 月
4) 永田典代, 佐藤由子, 岩田奈織子, 鈴木忠樹, 倉田毅, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: サル痘ウイルス感染後カニクイザルにおける劇症化の病態解析. 第 101 回日本病理学会（東京）2012 年 4 月
5) 鈴木忠樹: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ三量体形成機構の解析. ナノバイオ国際共同研究教育拠点第 1 回若手国内シンポジウム（神戸）2012 年 6 月
6) 鈴木忠樹: 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. 第 32 回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会（東京）2012 年 6 月
7) 乾あやの, 角田知之, 十河　剛, 小松陽樹, 藤澤知雄, 阿部賢治: 小児期の HBV 関連肝細胞癌の発生に関する検討. 第 48 回日本肝臓学会総会（金沢）2012 年 6 月
8) 片野晴隆, 坂本康太, 関塚剛, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 黒田誠: KSHV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現. 第 9 回 EB ウイルス研究会（鳥取）2012 年 7 月
9) Nagata Noriyo: Pathological study of enterovirus 71 in animal models. Current Progress in Enterovirus 71 Research in the Asia - Pacific Region. 第 16 回日本神経ウイルス研究会シンポジウム（東京）2012 年 8 月
10) 片野晴隆: エイズ剖検例における日和見感染症と腫瘍の実態. 第 26 回　日本エイズ学会学術集会総会（横浜）2012 年 11 月
11) 長谷川秀樹: 次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチン. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
12) 山本典生, 浅沼秀樹, 佐藤佳代子, 中内美奈, 高橋仁, 許斐奈美, 相内　章, 長谷川秀樹, 田代眞人: 細胞培養もしくは鶏卵で製造されたインフルエンザワクチンの品質管理試験および免疫応答への影響. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
13) 菅野隆行, 長谷川秀樹, 片野晴隆: KSHV 細胞間感染のメカニズムの探索. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
14) 佐々木純, 上野智規, 片野晴隆, 佐多徹太郎, 後藤希代子: HCMV 臨床分離株の上皮細胞-細胞間感染の PML 法による機構解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
15) 福本　瞳, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 片野晴隆: 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. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
16) 橋本　楓, 山田壮一, 片野晴隆, 福地早希, 佐藤　由子, 森石恆司, 井上直樹: モルモット妊娠動物モデルを用いたサイトメガロウイルス糖蛋白 B サブユニットワクチンの効果機序の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
17) 山田壮一, 橋本　楓, 福地早希, 片野晴隆、佐藤由子, 金井亨輔, 井上直樹: 胎盤組織培養系の樹立とウイルス感染動態の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
18) 藤田和将, 上野智規, 片野晴隆, 後藤希代子: リアルタイム PCR 法を用いた HCMV UL144 遺伝子の遺伝子型識別および定量法の開発. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
19) 福地早希, 山田壮一, 片野晴隆, 橋本　楓, 佐藤由子, 森石恆司, 井上直樹: モルモットサイトメガロウイルス（GPCMV）を用いた先天性感染病態の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012

年 11 月

20) 鈴木忠樹, 片野晴隆, 大場靖子, 小林進太郎, 佐藤由子, 佐多徹太郎, 澤 洋文, 長谷川秀樹: JC ウイルス後期蛋白質に対する特異抗体を用いた進行性多巣性白質脳症の免疫組織化学的診断法の比較検討. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪)2012 年 11 月

21) 小谷 治, 鈴木忠樹, Naeem Asif, 岩田奈織子, 中島典子, 片野晴隆, 田口文広, 長谷川秀樹, 清水博之, 永田典代: 新生仔マウスにおける新規ヒトカルジオウイルス (Saffold virus) の神経病原性の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

22) 張 延昭, 岩部幸枝, 立川(川名)愛, 中村仁美, David Nolan, Simon Mallal, 長谷川秀樹, 山岡昇司, 岩本愛吉, 徳永研三: HIV-1 感染者における抗ウイルス宿主因子の発現レベルと病態進行との相関性の有無. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会 (大阪) 2012 年 11 月

23) 小山貴芳, Juan F. Arias, 岩部幸枝, 徳永研三: HIV-2 Vpx に不活化される抗ウイルス宿主因子の探索. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

24) Juan F Arias, 小山貴芳, 岩部幸枝, 横山 勝, 佐藤裕徳, 長谷川秀樹, 徳永研三: APOBEC3G による Alu 転移抑制の分子生物学的および構造学的解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

25) 菊地 正, 岩部幸枝, 立川(川名)愛, 古賀道子, 野村滋, 細谷紀彰, Zabrina L. Brumme, Heiko Jessen, Anthony D. Kelleher, Martin Markowitz, Florencia Pereyra, Alicja Trocha, Bruce D. Walker, 岩本愛吉, 徳永研三, 三浦聡之: HIV-1 elite controller における HIV-1 Vif の抗 APOBEC3G 活性の低下. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

26) 永田典代, 岩田奈織子, 早坂大輔, 佐藤由子, 小島朝人, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: BALB/c マウスを用いた脳炎関連フラビウイルスの病原性の比較. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

27) 岩田奈織子, 永田典代, 鈴木忠樹, 佐藤由子, 横田恭子, 西條政幸, 森川 茂、長谷川秀樹: SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応発生機序について. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

28) 泉地恭輔, 相内 章, 鈴木忠樹, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 経鼻投与型インフルエンザワクチンによるマウス母子免疫の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

29) 池田千将, 伊藤 良, 相内 章, 鈴木忠樹, 田村愼一, 田代眞人, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 基礎免疫を有する個体に対する経鼻投与型インフルエンザワクチン効果. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

30) 川口 晶, 鈴木忠樹, 相内 章, 佐藤由子, 信澤枝里, 田代眞人, 長谷川秀樹: 喘息発作誘発モデルを用いたインフルエンザウイルス感染症の病態解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

31) 中津祐一郎, 鈴木忠樹, 駒瀬勝啓, 竹田 誠: 極性上皮細胞におけるリサイクリングエンドソーム経路を利用した麻疹ウイルス RNP 複合体の細胞膜への輸送と感染性ウイルス粒子の産生. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

32) 藤井 健, 永田典代, 山吉誠也, 島貫碧, 設楽浩志, 多屋長治, 小池 智: EV71 感受性マウスモデルの作出と解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

33) 谷口 怜, 佐山勇輔, 永田典代, 飯塚愛恵, 谷 英樹, 吉河智城, 福士秀悦, 西條政幸, 久和 茂, 森川 茂: レストンエボラウイルス自然感染カニクイザルにおける免疫応答の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

34) 駒 貴明, 永田典代, 吉松組子, 佐藤由子, 清水健太, 天田貴子, 西尾佐奈恵, 長谷川秀樹, 有川二郎: 肺水腫を呈すハンタウイルス感染 SCID マウスに

於ける好中球の役割. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月

35) 竹内 薫, 加藤誠一, 永田典代, 網 康至: 麻疹ウイルス感染カニクイザルにおけるインターフェロン産生の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月

36) 早坂大輔, 青木康太郎, 北浦一孝, 白井顕治, Dash Sima Simanti, 永田典代, 高松由基, 鈴木隆二, 森田公一: 日本脳炎ウイルス感染においてTNFαは免疫応答を調節し重症化の抑制に働く. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月

37) 鈴木忠樹, 川口　晶, 相内　章, 田村愼一, 伊藤良, 小田切孝人, 田代眞人, 長谷川秀樹: インフルエンザワクチン経鼻接種により鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

38) Hideki Hasegawa, Akira Ainai, Tadaki Suzuki, Shin-ichi Tamura, Masato Tashiro, Takeshi Kurata: Analysis of protective immune responses after intranasal administration of an inactivated whole-virion influenza vaccine in human. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

39) Elly van Riet, Akira Ainai, Ryo Ito, Kyosuke Senchi, Tadaki Suzuki, Shin-ichi Tamura, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: Characteristics of IgA versus IgG human monoclonal antibodies cloned from human plasma cells induced upon intranasal H5N1 vaccination. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

40) 相内　章, 池田千将, 伊藤　良, 鈴木忠樹, 泉地恭輔, 田村愼一, 田代眞人, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 感染あるいはワクチン接種歴が経鼻投与型インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に対して与える影響. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

41) 浅沼秀樹, 相内 章, 佐藤佳代子, 許斐奈美, 岸田典子, 長谷川秀樹, 山本典生, 田代眞人: 野外株より細胞培養インフルエンザワクチンの種候補株を選定する基準の検討. 第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月

42) 山崎達也, 二宮大輔, 長島麻里亜, 荒井由佳, 手嶋保智, 長谷川秀樹, 相内 章, 藤本 陽, 千葉 丈: インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた受動免疫法の応用研究～長期的なウイルス防御効果と免疫不全マウスへのウイルス防御効果の検討～. 第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月

43) 加藤 篤, 永田志保, 前寺知弥, 木所 稔, 永田典代, 竹内 薫, 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 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

44) 小山貴芳, Juan F Arias, 横山 勝, 佐藤裕徳, 徳永研三: APOBEC3G の抗 Alu レトロ転移活性に寄与するアミノ酸の同定. 第 35 回日本分子生物学会（福岡）2012 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 5027106 号　「日本脳炎ウイルス抗原」　登録日：平成 24 年 6 月 29 日

特許第 519028 号 「混合免疫賦活剤を含む新規ワクチン」　登録日：平成 25 年 2 月 8 日

特許第 490264 号　「経鼻ワクチン」　登録日：平成 24 年 1 月 20 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 2 名、主任研究官 8 名、研究員 2 名である。戸山庁舎に 9 名の職員と、村山庁舎に 4 名の職員が在籍している。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、片岡紀代が、村山庁舎の電子顕微鏡室に原嶋綾子と竹内佳子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、小林和泉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. 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. 肝炎・肝癌に関する研究
6. 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

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. 経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析
3. フラビウイルスワクチンの開発
4. HTLV-1 ワクチンの開発
5. 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。2012 年度、人体由来検体数は 146 症例であった。検索の結果、EB ウイルス 8 例、B 型肝炎ウイルス 2 例、他アデノウイルス、JC ウイルス、BK ウイルス、ヒトヘルペスウイルス 2 型などウイルス以外にも梅毒トレポネーマやアスペルギルス等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. 感染症の診断に関する研究

（1）使い捨て携帯用カイロを用いた *Mycobacterium ulcerans* の新たな検出法

*Mycobacterium ulcerans (M. ulcerans)*はブルリ潰瘍の原因となる非結核性抗酸菌であり、WHO はブルリ潰瘍を「顧みられない熱帯病」のひとつとして、特にアフリカなどの発展途上国で、重要視している。われわれは電気などのインフラ整備ができていない地域での診断を想定し、使い捨て携帯用カイロを熱源として、LAMP キットを使用することにより、*M. ulcerans* の DNA を検出可能とする系を開発した。ガーナ共和国の臨床サンプルを用い、その感度と特異性を確認した。（片野晴隆、 波多野弁、石川晃一[エイズ研究センター]、山崎利雄[バイオセーフティ管理室]、Ablordey A[ガーナ野口研]）

（2）川崎病の微生物学的原因の究明に関する研究

川崎病は発熱、眼球結膜の充血、イチゴ舌、発疹、リンパ節腫脹などの血管炎の症状を示す、乳幼児の疾患であり、年間約 1 万人が発症する。われわれは、川崎病のリンパ節生検例につき、微生物学的解析を行なった。網羅的ウイルス解析では有意なウイルスは検出されず、次世代シークエンサーでは、Streptococcus 属の核酸断片が DNA, RNA ともに検出された。（片野晴隆、佐藤誠一[新潟市民病院]、関塚 剛[病原体ゲノム解析研究センター]、絹巻暁子[病原体ゲノム解析研究センター]、福本 瞳[協力研究員]、佐藤由子、長谷川秀樹、森川 茂[獣医科学部]、西條政幸[ウイルス 1 部]、水谷哲也[東京農工大]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]）

（3）進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal leukoencephalopathy, PML）の病理組織解析

昨年度から引き続き、PML 確定例 15 例を用いて免疫組織化学による病原体診断の改良を試みた。これまでの研究により、PML の原因である JC ウイルスのコードするウイルスタンパク質 VP1, VP2/3, Agno は、PML 病変部において異なる分布を示すことが明らかになった。病変部に存在するウイルス量は PML の病勢を示すと考えられることから、どの抗体を用いた免疫組織化学が最も PML の病勢評価に適しているかを検討するために、病変部に存在するウイルスコピー数と各抗原の染色性の比較解析を行った。その結果、VP2/3 の免疫組織化学が最もウイルスコピー数と相関性が高いことが明らかになった。以上の結果から、VP2/3 抗体を用いた免疫組織化学を行うことにより、PML の病理学的確定診断だけでなく病気の進行度も評価することができると考えられた。（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）

（4）病理切片上での in situ 核酸検出法の検討

我々が開発した in situ hybridization AT tailing(ISH-AT) 法を迅速化し、市販の分岐 DNA プローブを用いた方法（bDNA-ISH 法）と比較検討した。感度はほとんど同等であった。どちらも 40 塩基長のオリゴヌクレオチドプローブを用いる。bDNA-ISH 法では 20 種類の混合プローブを用いており、ISH-AT では 2 種類の混合プローブを用いることが多い。なおプローブ 1 個が検出する感度は ISH-AT 法の方が高かった。よって標的核酸の塩基長や細胞中のコピー数によってどちらの検出法を選択するか決めている。デングウイルス（1~4 型）、SFTS ウイルス、MERS コロナウイルスの ISH-AT プローブを作製した。SETS ウイルス感染

症の剖検組織でISH-AT法でウイルス核酸を検出した。（中島典子、佐藤由子、鈴木忠樹、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がコードするMIP-I, II の発現

KSHV はカポジ肉腫、primary effusion lymphoma（PEL）や muticentric Castleman's disease（MCD）などの原因となる。そのウイルス遺伝子にはヒトのサイトカインや細胞増殖因子のホモログがコードされている。われわれは KSHV がコードする macrophage inflammatory protein（MIP）-I, II の発現をカポジ肉腫などの臨床サンプルで解析した。MCD では vMIP-I, II 共に発現が認められたが、カポジ肉腫では vMIP-II の発現のみが認められた。（片野晴隆、佐藤由子、上田啓次［大阪大学］）

4. インフルエンザ感染症に関する研究

（1）重症インフルエンザの病態の病理学的解析

2000 年から 2012 年まで国立感染症研究所・感染病理部に病理学的検索を依頼されたインフルエンザ死亡例のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）標本から核酸を抽出し、ウイルス核酸とサイトカイン mRNA のリアルタイム RT-PCR 法による定量解析を試行した。インフルエンザウイルス核酸は呼吸器官に限定して検出され、インフルエンザ脳症の剖検例では脳組織切片からはウイルス核酸も抗原が検出されないことが再確認された。ウイルス性肺炎から ARDS を併発し死亡した剖検肺では肺胞上皮細胞にインフルエンザウイルス抗原が検出された。血液および髄液中の IL-6 値が非常に高かった脳症例では、パラフィン包埋肺組織と脳組織における IL-6　mRNA 量を比較すると脳組織で発現がより高いことがわかった。（中島典子、佐藤由子、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

我々はベトナムハノイ国立小児病院で 2003-2008 年に H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス感染症で死亡した 5 症例のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織ブロックを解析してきた。5 症例とも劇症型 ARDS による呼吸不全で亡くなっている。重症肺炎の病態を明らかにするために肺局所でのサイトカイン・ケモカインの発現を解析した結果、肺局所での H5N1-RNA 量と炎症性サイトカイン・ケモカイン mRNA 量が相関していることがわかり、局所の免疫応答の亢進が示唆された。さらに 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）でも発現していることを明らかにした。'重症新型インフルエンザ診断と治療の手引'を出版した。（中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹）

5. 肝炎・肝癌に関する研究

（1）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

ベトナム南部地域とカンボジアを中心として、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、110 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、現在継続して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：ベトナム］、Banh Vu Dien［チョーライ病院肝炎治療科：ベトナム］、Ling Lu［カンサス大医：米国］）

（2）小児肝癌に関する研究

小児原発性肝癌の新たな症例をベトナムで 3 例、日本で 1 例検索することができた。全例の肝癌組織から PCR 法にて HBV DNA が検出されたが、HCV RNA は全例陰性であった。HBV pre-S1/pre-S2 のシークエンス解析から、塩基の部分欠損が pre-S2 遺伝子のホットスポット領域（nt 4~57）内に全例で観察された。日本の女児例は、ゲノタイプ H という日本では極めて稀な HBV に感染していた。非癌部の肝組織には、ground-glass hepatocytes が 2 例で出現していた。

（阿部賢治、保科隆之［九大小児科］、Tung Thanh Tran［小児第一病院：ベトナム］）

（3）異なったゲノタイプを示す HBV の薬剤感受性にする研究

異なった HBV ゲノタイプ由来の全長 HBV クローンを用いて、*in vitro* と *in vivo* での実験系を確立し、インターフェロン（IFN）- 2a or Peg-IFN- 2a に対する HBV 増殖抑制効果を検討した。その結果は、*in vitro* 及び *in vivo* 両者においてゲノタイプ C, D, I がゲノタイプ A と B に比して IFN 感受性が低下していた。（Zhang Yuhua、Xiaoming Jin［ハルビン医大病理学：中国］、阿部賢治）

（4）成因不明肝癌に関する研究

臨床的に成因不明肝癌（非 B 非 C 型肝癌）と診断された 125 例の米国人肝癌組織から、HBV DNA が 3 例（2.4%）、HCV RNA が 4 例（3.2%）で検出できた。非 B 非 C 型肝癌例における occult B/C の存在を明らかにすることができた。HCV RNA 陽性例のうち 2 例が NASH に起因する肝癌と診断された症例だったことは、注目すべき成績である。（阿部賢治、Hongfa Zhu、Swan N. Thung［マウントサイナイ医大：米国］）

6. 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

ベトナムハノイ国立小児病院における ARDS 死亡例の病理解析

H5N1 非感染の重症肺炎 3 例(2008 年)の剖検組織を解析した。1 例はカリニ肺炎とサイトメガロウイルス（CMV）肺炎を併発していたことがわかり免疫不全状態にあったと予測された。残りの 2 例では、気管吸引物からはライノウイルス（A 型）が検出されたが、ホルマリン固定パラフィン組織切片からは CMV－DNA が検出された。組織学的には肺、腎臓、肝臓に CMV 封入体がみとめられ、免疫組織化学で CMV 抗原が陽性であった。肺はび慢性肺胞傷害を呈していた。年齢は生後 2 か月と 3 か月であり、周産期の母子感染あるいは孤児院での水平感染が考えられ、低栄養状態による免疫低下が推測された。ベトナムにおける母の抗体保有率、児の抗体（CMV-IgG,IgM）児の免疫などについて調査する必要があると考えられた。（中島典子、佐藤由子、長谷川秀樹）

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。HSV の基礎研究は進んでいると言われるが、まだその機能が未知である因子は多く残されている。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やワクチン開発も念頭に入れ、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 96 well plate を用いた cell-to-cell 感染実験系

GFP 発現組換え KSHV 感染 B 細胞株と HeLa 細胞の共培養による cell-to-cell 感染実験を 96 well plate を用いて行うことにより定量的に検討することが可能となった。KSHV ワクチンの標的分子候補である K8.1 蛋白や KSHV cell-free virus のレセプターであるエフリン受容体 A2 蛋白存在下では cell-to-cell 感染が抑制された。K8.1 やエフリン受容体 A2 が KSHV の cell-to-cell 感染に関与していることが示唆された。（菅野隆行、片野晴隆、長谷川秀樹）

（3）抗血管新生薬による KSHV 再活性化に関する研究

抗血管新生薬フマギリンにより KSHV 感染 B 細胞株の再活性化スイッチ蛋白 RTA が誘導されることを見

いだした。転写産物、翻訳産物の誘導はそれぞれフマギリン添加後 12 時間後、36 時間後より認められ、48 時間後には全ウイルス遺伝子の転写産物が誘導され溶解感染状態にあると考えられた。血管内皮細胞腫瘍、カポジ肉腫の原因ウイルスである KSHV 再活性化が血管新生と関連している可能性を示唆しており興味深い。（菅野隆行、上原妙子[協力研究員]、福本 瞳[協力研究員]、片野晴隆、長谷川秀樹）

2. ATL（HTLV-1）に関する研究

質量分析計を用いたマウス ATL 癌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）には癌幹細胞が存在する。癌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 癌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。本年度は、同定された分子を標的とした治療実験を行うために特異的なモノクローナル抗体の作製を試みた。本標的分子は巨大な膜タンパク質であり抗原を得ることが難しいことから、活性に重要な N 末領域のみをコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて合成した。条件を至適化し、大量合成をして最終的に 3.6mg の精製タンパク質を得た。さらに、このタンパク質をマウスに免疫し、常法によりモノクローナル抗体を作成した。その結果、計 12 クローンのモノクローナル抗体を得ることに成功した。これらのモノクローナル抗体は mATL 発症を抑制することが期待され、癌幹細胞を標的としたヒト ATL の新たな治療法の開発につながる可能性が考えられた。（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を用いた喘息発作によるインフルエンザ感染症増悪化モデルの作製

喘息発作とインフルエンザウイルス H1N1pdm09 の感染との関係性を明らかにすることを目的として、アレルギー素因を有する近交系マウス（NC/Nga マウス）に対して、ウイルス感染と喘息発作を行い、その後の病態を病理学的、免疫学的に解析した。ウイルス感染後に OVA 負荷により喘息を誘導した際には、体重減少の増悪化が見られるなど、病態が悪化した。しかし、喘息発作誘導後に感染を行うと、体重減少の緩和が見られ、肺洗浄液中のウイルス量も減少した。また、肺洗浄液中の種々のサイトカイン・ケモカインの産生量を見ると、MCP-1/CCL2 の産生量が病態の悪化と相関して増加、病態の緩和と相関して減少していた。これらの結果から、インフルエンザウイルスの感染と喘息発作の生じる順番が、その後の病態に影響すること、その病態の指標として MCP-1/CCL2 の定量が有用である可能性が考えられた。（川口 晶、鈴木忠樹、佐藤由子、長谷川秀樹）

（2）インフルエンザウイルス HA−抗体複合体構造解析に向けた研究

A/Narita/1/09(H1N1pdm)の HA 膜外領域とそれを認識する抗体の結晶構造解析により、抗原と抗体の相互作用の詳細を明らかにすることを目指した。Bromelain 処理により切り出した A/Narita 株由来の HA の膜外領域と、マウス腹水から精製した抗 Narita 単一抗体との複合体の結晶解析、および高速 AFM（原子力顕微鏡）を用いた観察を試みた。結晶化可能な量の HA を得ることが難しいことから、結晶構造解析には至らなかったが、AFM により複合体が観察された。また同様の手法で A/Aichi/6/68(H3N2)の膜外領域を切り出し、結晶構造解析を行った結果、これまでに報告をされていない巨大な複合型糖鎖に相当する電子密度が観察され、これを Protein data Bank へ登録した。（川口 晶、鈴木忠樹、安武義晃[産業技術総合研究所]、長谷川秀樹）

4. SARS コロナウイルスに関する研究

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、引き続き検討した。BALF 中の浸潤細胞とサイトカインの解析から、好中球が病態の増悪、T リンパ球の浸潤が促進と IL-10 産生が発症阻止に関与していることが示唆された。(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[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、ダニ媒介性脳炎ウイルス感染後の脳炎発症機序の解明と新規ワクチン評価系の確立を目的として、BALB/c を用いたウイルス血症モデルにおける神経病原性を解析した。その結果、ダニ媒介性脳炎ウイルス Sofjin 株感染早期には腸管、胸腺、脾臓、脳に感染性ウイルスが存在し、非常に強い神経親和性を示すことが判明した。本研究によって、BALB/c を用いたダニ媒介性脳炎ウイルスのウイルス血症モデルを確立し、そのウイルス動態と病理像を明らかにした。(永田典代、岩田奈織子、原嶋綾子 [非常勤職員]、佐藤由子、長谷川秀樹、早坂大輔[長崎大学熱帯医学研究所]、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

症型サル痘の発症機序を明らかにする目的で、これまでに実施したサル痘ウイルス実験的感染カニクイザルのうち、劇症化した 2 個体のリンパ系組織における病理像の特徴を明らかにした。いずれの個体も、リンパ節・胸腺においてリンパ球は減少し、特に、脾の B 領域を中心とした濾胞全体の壊死は重度であった。強い免疫不全状態が、病態に大きく関与することが病理学的に明らかになった。(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[獣医科学部])

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）の病理学的診断法を確立することを目的としている。髄膜炎の原因として知られている主なピコルナウイルスの参照標本を作製し、免疫組織化学法による各種抗体の交差反応性について検討した結果、ホルマリン固定標本パラフィン包埋切片における SAFV3 および各種エンテロウイルス抗原を検出するシステムを確立した。パラフィン切片を用いた場合に、これらの抗体を用いて、SAFV とその他のエンテロウイルスの鑑別診断は可能である。(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 感染者における抗ウイルス宿主因子の発現レベルと病態進行との相関性の有無

近年、HIV-1 複製を抑制するヒト特異的な抗ウイルス宿主因子として報告されてきた APOBEC3G、BST-2/tetherin、SAMHD1 の mRNA 発現量について、日豪の HIV-1 感染者の無刺激の末梢血単核球 56 人分から抽出したトータル RNA を用いてリアルタイム RT-PCR により解析した。その結果、いずれの宿主因子の発現レベルにおいても CD4 陽性細胞数および血中ウイルス量との相関関係は認められなかった。これについては無刺激の細胞を用いたのが原因と考え、現在、末梢血単核球をマクロファージに分化、更に IFN-α 処理の有無による実験で再検討している。(張 延昭[研究生]、立川愛[東大医科研]、中村仁美[東大医科研]、David Nolan[王立パース病院]、Simon Mallal[王立パース病院]、山岡昇司[東京医科歯科大]、岩本愛吉[東大医科研]、徳永研三)

(2) HIV-1 Vpu 蛋白による抗 BST-2/tetherin 作用機序に関する研究

抗ウイルス宿主因子 BST-2/tetherin を不活化する

HIV-1 Vpu 蛋白の補助因子としてはこれまでにユビキチン複合体構成蛋白 βTrCP が報告されているが、それ以外に未知の宿主因子が関与する可能性が示唆されている。今回我々は Vpu の補助因子の探索を行い、Vpu 安定発現細胞の溶解液を用いた免疫沈降法後に、昨年とは異なるプロテオーム解析によって 9 種類の候補蛋白を同定した。候補蛋白の発現ベクターを作製しそれらを用いて、既知の Vpu 結合蛋白 Scamp3 を含めた免疫沈降実験を行った結果、2 種類の候補蛋白が Scamp3 と同程度に Vpu と相互作用を示すことが明らかになった。細胞内局在性実験で Scamp3 のみが Vpu と共局在した。現在、候補蛋白のジーンサイレンシング実験を行い、抗 BST-2/tetherin 活性における要求性を検討している。(小山貴芳[協力研究員]、Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三)

(3) 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 (DC) の HIV-1 に対する低感受性は新規抗ウイルス宿主因子 SAMHD1 の発現に規定されることが先頃報告されたが、SAMHD1 のみでは説明できない部分が依然として多い。今回我々は Vpx 発現 DC 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、SAMHD1 以外の Vpx 標的分子を探索した。昨年までに同定した 8 種類の候補蛋白の過剰発現実験を行った結果、いずれも HIV-1 の感染性に影響を与えることはなかった。免疫沈降実験により候補蛋白 8 種類のうち 3 種類が強力に Vpx と結合していることが明らかになった。この 3 種類の遺伝子を標的とする shRNA レンチベクターを構築、ジーンサイレンシング実験を行った結果そのうちの 1 つが Vpx の補助因子である可能性が示唆された。(小山貴芳[協力研究員]、Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三)

(4) HIV-1 elite controller における HIV-1 Vif の抗 APBEC3G 活性の低下

抗 HIV 治療無しで血中ウイルス量を不検出レベルに長期制御できる elite controller (EC) と呼ばれる患者群が存在するが、その成立要因は不明である。今回、抗ウイルス宿主因子 APOBEC3G (A3G) を不活化する HIV-1Vif 蛋白の抗 A3G 活性について、米国及び独国の EC・急性期 (AI)・慢性期 (CP) 患者由来 Vif 発現ベクターを作製し、レポーターアッセイ系により比較検討した。EC 由来 Vif は CP・AI 由来と比べて有意に抗 A3G 活性が低下していた。EC 関連因子として既知の HLA-B*57 及び HLA-B*27 保有者を除いた解析でも同様であった。他の HLA class I とも有意な相関性も認められなかった。EC 由来 Vif に共通する変異型もないことから、個々の患者において起きる多様な変異が Vif の機能を低下させている可能性が考えられた。(菊地正[研究生] [東大医科研]、立川 愛[東大医科研]、Z.L. Brumme [Simon Fraser Univ]、B.D. Walker [Harvard, Univ]、岩本愛吉[東大医科研]、徳永研三、三浦聡之[長崎大])

(5) APOBEC3G による Alu 転移抑制の分子生物学的および構造学的解析

我々はこれまでに、稀に癌を引き起こす原因にもなる LINE-1 及び Alu レトロトランスポゾンの転移が、抗レトロウイルス宿主因子 APOBEC3 (A3)ファミリーにより抑制を受けること、A3G の抗 Alu 活性に関わる責任領域は N 末 30 アミノ酸であること、更にその領域が二量体化に関与することを見出した。今回、構造解析により、A3G の二量体化に重要なアミノ酸は 24-28 番目のアミノ酸であることを新たに予測し、それに基づき変異体を作製した結果、実際に二量体化能が失われ Alu 転移抑制能が消失することが明らかになった。更に A3G の二量体化能が LINE-1 転移の抑制にも重要であることから、A3G による Alu 及び LINE-1 レトロ転移抑制は共通のメカニズムによるものである可能性が示唆された。(Juan F. Arias [協力研究員]、小山貴芳[協力研究員]、横山 勝[病原体ゲノム解析研セ]、佐藤裕徳[病原体ゲノム解析研セ]、徳永研三)

9. 狂犬病に関する研究

ヒトへ狂犬病を伝播する感染動物の多くはイヌであ

るが、イヌ体内での狂犬病ウイルスの局在に関する報告は少ない。街上毒野外感染イヌ頭部をベトナム国NIHE研究所・Dr. Kieu Anh博士より分与頂いた。抗狂犬病ウイルス抗体を用いた免疫組織化学的手法により、イヌ頭頚部におけるウイルス抗原分布を検討した。街上毒感染イヌ脳組織ではヒト症例と同様に、広範にウイルス抗原は分布しているが炎症反応に乏しかった。また、顎下腺では、腺房細胞にウイルス抗原が豊富に認められ、電子顕微鏡を用いた観察により成熟したウイルス粒子が確認された。しかしながら、マウス感染実験例では固定毒、街上毒ともに唾液中からウイルス遺伝子が検出されるが、大唾液腺にウイルス抗原は認められない。また、ヒト症例でも大唾液腺にはウイルス抗原は認められない。以上から、狂犬病ウイルスの宿主動物内局在は動物種により規定されていることが示唆された。（飛梅 実、佐藤由子、Kieu Anh［ベトナム・NIHE 研究所］）

10. 風疹ウイルスに関する研究

・風疹ウイルスに対するポリクローナル抗体作製

風疹ウイルス（RV）に対する抗体は市販の抗体を含め、ホルマリン固定組織切片で使用できるものがない。そこで、ニュージーランドホワイト種のウサギに不活化 RV を抗原として免疫をし、ポリクローナル抗体の作製を試みた。タンパク量として 1 回につき 100μg を 4 回皮下免疫し、ウエスタンブロットで血清中の RV 抗体産生を確認した。現在、まだ検出可能な抗体は確認できておらず、定期的に免疫を続けている。（岩田奈織子、永田典代）

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。経鼻インフルエンザワクチンは、インフルエンザウイルスの感染阻止に働く気道粘膜上の分泌型 IgA 抗体を誘導することから、血清中の IgG 応対のみを誘導する現行の注射によるワクチンと比べて有効性が高いことが期待されている。現在、実用化に向けた健康人ボランティアを募った臨床研究を行っている。本研究では、全粒子不活化ワクチン経鼻接種を施された健康人ボランティアにおいて、ワクチン接種に伴う副反応の評価、また年齢あるいは性別が抗体応答に与える影響を明らかにすることを目的とした。その結果、経鼻インフルエンザワクチンにより、鼻水、鼻づまりなど軽微な副反応を生じるものの重篤な副反応は認められなかった。さらに、誘導される抗体応答は年齢とともに減弱し、女性において高い傾向にあった。（相内 章［併任］、鈴木忠樹、田村愼一［客員研究員］、池田千将［研究生］、長谷川秀樹）

2. 経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析

気道粘膜上に存在する分泌型 IgA は主に二量体 IgA(dIgA)から構成されるが、より大きな多量体 IgA(pIgA)から成る分泌型 IgA も存在することが知られている。本研究では、ヒトに経鼻インフルエンザワクチン接種後誘導される鼻腔中の pIgA のウイルス感染防御における役割を検討した。成人ボランティア 5 名にインフルエンザウイルスの全粒子不活化ワクチンを経鼻接種し、最終接種から 1 週間後に鼻洗浄液を回収した。鼻腔洗浄液から IgA を精製し生化学的解析を行った。その結果、鼻腔洗浄液中の IgA は単量体、二量体、多量体から成ることが明らかになった。いずれの抗体もウイルスを中和することが出来たが、pIgA は dIgA と同程度かそれ以上の中和能を有しており、pIgA は dIgA と同様にウイルス感染防御に寄与していることが示唆された。（鈴木忠樹、川口 晶、相内 章［併任］、田村愼一［客員研究員］、長谷川秀樹）

3. フラビウイルスワクチンの開発

（1）デングウイルス様粒子発現ベクターの開発

フラビウイルスのうち、輸入症例が急激に増加しているデングウイルス（DENV）を中心にウイルス様粒子（VLP）ワクチン開発研究を推進した。その結果、1）DENV1~4 型ウイルスの plaque/focus 定量法を確立した。2）DENV1~4 型 prM/E 蛋白質の抗原 ELISA 法を単ク

ローン抗体の組合せで樹立し、感染性 DENV も感度良く検出できる事を示した。3）Cellufine カラム法と Sephacryl ゲル濾過法の組合せで、効率良い粒子様抗原精製法が示唆された。4）昨年報告した DENV 中和 domain を含む prM/E VLP 発現ベクター系で以下の成績を得た。①DENV prM-E の発現・分泌に他のシグナル配列が有効に作用する。②分泌 DENV 抗原では E と prM が相互作用をしている。③DENV E の膜貫通 domain は他の膜貫通 domain と置換可能である。④DENV 主要中和 domain は他の prM-E バックボーンでも発現可能である。（小島朝人［客員研究員］、鈴木忠樹、飛梅 実、高橋秀宗［武蔵村山病院］、五味康行［阪大微研会］、畠山昌和［JNC］、長谷川秀樹）

（2）デングウイルス感染動物実験系とその病理学的評価系の確立

デングウイルス様粒子を用いたワクチン開発を目標として、感染動物実験系とその病理学的評価系の確立を目的としている。今年度は、分与された 4 つの血清型のデングウイルスを Vero 細胞に継代、馴化を行い、新生仔マウスにおける病原性を確認した。一方で、感染培養細胞およびマウス組織を用いて参照標本を作製し、ホルマリン固定およびパラフィン包埋標本におけるウイルス特異的モノクローナル抗体の交差反応性と至適条件の検討を行い、組織切片上のウイルス抗原検出系を確立した。（永田典代、小島朝人［客員研究員］、鈴木忠樹、小谷 治、岩田奈織子、長谷川秀樹、高崎智彦［ウイルス第一部］）

4. HTLV-1 ワクチンの開発

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型（Human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1）の主な感染経路は母乳を介した母子感染である。粘膜を介して感染する感染症には粘膜上で働く特異的分泌型 IgA 抗体が有効であり、母乳中にも積極的に分泌される事が知られている。母親に対してワクチン接種を行い母乳中に分泌型 IgA 抗体を誘導することで、授乳を介した感染リスクを低減できる可能性がある。本研究では、マウスを用いてワクチン接種により母乳中に誘導される抗体応答の評価をおこなった。その結果、皮下ワクチン接種は経鼻ワクチン接種と比較して、血清中に抗 HTLV-1 gp46 にたいする IgG 抗体を強く誘導し、それを反映する形で母乳中へ特異的な IgG 抗体が誘導されることが明らかになった。（泉地恭輔［研究生］、鈴木忠樹、長谷川秀樹）

5. 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との関連性について昨年度行った実験の確認を行った。UV-V 免疫マウス血清、UV-V と Toll-like receptor リガンドをアジュバントとして一緒に免疫したマウス血清（UV-V+TLR）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 感染マウス血清あるいは UV-V+TLR 免疫マウス血清を同様に投与した。ウイルス感染 3 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。（岩田奈織子、永田典代、佐藤由子、横田恭子［免疫部］、森川 茂［獣医科学部］、長谷川秀樹）

（2）UV 不活化 SARS-CoV（UV-V）の副反応機序の研究

UV-V ワクチン免疫後の感染肺における好酸球浸潤とメモリーT 細胞の関連性について調べた。UV-V を BALB/c マウスに 6 週間隔で 2 回皮下免疫し、最終免疫 7 日後に免疫群および非免疫群それぞれに抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体あるいは Isotype control を一日おきに 3 回腹腔内投与し、CD4 枯渇群、CD8 枯渇群、対照群とした。抗体の最終投与 1 日後にマウス馴化

SARS-CoV を経鼻接種し、10 日間の臨床観察を行った。組織学的に UV-V 免疫群は急性肺障害の像を呈しなかったが、血管周囲に好酸球を含む炎症細胞の浸潤が見られた。この細胞浸潤はいずれの枯渇群でも認められ、その浸潤細胞数も対照群と有意差はなかった。サイトカイン発現は UV-V 免疫群 3 群の中で有意差はなかった。これらの結果から、感染後の肺の好酸球浸潤にメモリーT 細胞は、関与していないと考えられた。

（岩田奈織子、永田典代、佐藤由子、横田恭子［免疫部］、森川 茂［獣医科学部］、長谷川秀樹）

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）

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 24 年度も順調に運用された。4 月 28 日（土）に上の階より水漏れがあり（水道管破裂）、本体キーボード部分が水を被ったが、発見が早かった為、大きなトラブルにならずに済んだ。

本年度中に処理した検体数は 132 検体で、その内訳は感染研内部 111 検体、共同研究 8 検体、外部のみ 13 検体であった。そのうち 8 検体は免疫 SEM の依頼であった。また、見学者の対応は 11 回、90 名であった。公務員が 12 名、学生ら 24 名、一般 28 名（一般公開の見学者）、外国人 26 名であった。

（齋藤典子［期間業務職員］）

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 21 件、樹脂包埋検体数 42 検体（320 ブロック）、ネガティブ染色数 52 検体であった。依頼者は、細菌第一部・獣医科学部・病原体ゲノム解析研究センター・ウイルス第一部・感染病理部であった。

（片岡紀代［期間業務職員］）

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 25 件であり、透過電子顕微鏡利用は 20 件、走査電子顕微鏡は 5 件であった。また、本年度も 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、ウイルス第三部､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、感染症疫学センター、細菌第二部であった。(片岡紀代[期間業務職員]、竹内佳子[非常勤職員]、藤野美穂子[期間業務職員]、鈴木忠樹、岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

なし。

2. 行政検査

伝達性海綿状脳症（TSE）スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーピー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した（平成 24 年 8 月～平成 25 年 3 月。33 機関について実施）。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。(飛梅 実、長谷川秀樹[感染病理部]萩原健一、中村優子、花田賢太郎[細胞科学部])

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、カンボジア、タイ、ミャンマー､中国の大学および医療機関における病理､血清、ウイルス、遺伝子診断に関する研究・技術指導、現地セミナーを実施した。

（3）永田典代：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。(平成 25 年 1 月 22 日)

（4）飛梅 実：ベトナム NIHE 研究所、ワクチン接種後に狂犬病ウイルスに感染、狂犬病を発症したイヌの病理学的診断並びにウイルス分離を行った。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Katano H: Frequent detection of Merkel cell polyomavirus DNA in sera of HIV-1-positive patients. Virol J 2013 Mar 13;10:84.
2) Shimodaira K, Okubo Y, Ochiai E, Nakayama H, Katano H, Wakayama M, Shinozaki M, Ishiwatari T, Sasai D, Tochigi N, Nemoto T, Saji T, Kamei K, Shibuya K: Gene expression analysis of a murine model with pulmonary vascular remodeling compared to end-stage IPAH lungs. Respir Res 2012, 13:103.
3) Ogawa-Goto K, Ueno T, Oshima K, Yamamoto H, Sasaki J, Fujita K, Sata T, Taniguchi S, Kanda Y, Katano H: Detection of active human cytomegalovirus by the promyelocytic leukemia body assay in cultures of PBMCs from patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. J Med Virol 2012, 84:479-486.
4) Nakano K, Katano H, Tadagaki K, Sato Y, Ohsaki E, Mori Y, Yamanishi K, Ueda K: Novel monoclonal antibodies for identification of multicentric Castleman's disease; Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded vMIP-I and vMIP-II. Virology 2012, 425:95-102.
5) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iiduka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasagawa 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, 25:1-13.
6) Katano H, Sato S, Sekizuka T, Kinumaki A, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Morikawa S, Saijo M,

Mizutani T, Kuroda M: Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. Int J Clin Exp Pathol 2012, 5:814-823.

7) Kamiyama T, Ohshima N, Satoh H, Fukumoto H, Katano H, Imakado S: Metachronous merkel cell carcinoma on both cheeks. Acta Derm Venereol 2012, 92:54-56.
8) Ishiwada N, Takada N, Okunushi T, Hishiki H, Katano H, Nakajima N, Kohno Y: Rhabdomyolysis associated with influenza A/H1N1 2009 infection in a pediatric patient. Pediatr Int 2012, 54:703-705.
9) Goto H, Kariya R, Shimamoto M, Kudo E, Taura M, Katano H, Okada S: Antitumor effect of berberine against primary effusion lymphoma via inhibition of NF-kappaB pathway. Cancer Sci 2012, 103:775-781.
10) 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 2012, 6:e1590.
11) 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):171-182. (Epub 2011 Dec 30.)
12) Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Diep PH, Kumasaka T, Thuy NT, Hasegawa H, San LT, Kawachi S, Liem NT, Suzuki K, Sata T : Pathological study of archival lung tissues from five fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam. Mod Pathol. 2012 Nov 23. [Epub ahead of print]
13) Ohnishi K, Takahashi Y, Kono N, Nakajima N, Mizukoshi F, Misawa S, Yamamoto T, Mitsuki YY, Fu S, Hirayama N, Ohshima M, Ato M, Kageyama T, Odagiri T, Tashiro M, Kobayashi K, Itamura S, Tsunetsugu-Yokota Y: Newly established monoclonal antibodies for immunological detection of H5N1 influenza virus. Jpn J Infect Dis. 2012;65(1):19-27.
14) Tokunaga K: HIV-1 Vpu and BST-2/tetherin: Enemies at the Gates. Current HIV Res. 2012, 10: 275-276.
15) Arias JF, Iwabu Y, Tokunaga K: Sites of action of HIV-1 Vpu in BST-2/tetherin downregulation. Current HIV Res. 2012, 10: 283-291.
16) Fujita H, Fujimoto K, Tokunaga K, Tanaka Y: Intracellular Logistics of BST-2/Tetherin. Current HIV Res 2012, 10: 321-326.
17) Arias JF, Koyama T, Kinomoto M, Tokunaga K: Retroelements versus APOBEC3 family proteins: No great escape from the magnificent seven. Front Microbiol 2012, 3:275.
18) Zheng Y-H, Jeang K-T, Tokunaga K: Host Restriction Factors in Retroviral Infection: Promises in Virus-Host Interaction. Retrovirology 2012, 9:112.
19) Koyama T, Sun B, Tokunaga K, Tatsumi M, Ishizaka Y: DNA damage aids HIV-1 infection of macrophages by overcoming integrase inhibition. Retrovirology 2013, 10:21.
20) Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Hiyoshi-Yoshidomi Y, Hashimoto M, Tokunaga K, Suzu S: Characteristics of IFITM, the newly identified IFN-inducible anti-HIV-1 family proteins. Microbes Infect 2013, 15:280-290.
21) Fujita H, Iwabu Y, Tokunaga K, Tanaka Y: Membrane-associated RING-CH (MARCH) 8 mediates the ubiquitination and lysosomal degradation of the transferrin receptor. J Cell Sci. in press
22) 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):336-344.

23) Nagakawa K, Niikura K, Suzuki T, Matsuo Y, Igarashi M, Sawa H, Ijiro K: Virus Capsid Coating of Gold Nanoparticles via Cysteine–Au Interactions and Their Effective Cellular Uptakes. Chemistry Letters 2012, Jan 41(1):113-115.

24) Takeuchi K, Nagata N, Kato SI, 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 2012, Mar 86(6):3027-3037.

25) Suzuki T, Semba S, Sunden Y, Orba Y, Kobayashi S, Nagashima K, Kimura T, Hasegawa H, Sawa H: Role of JC virus agnoprotein in virion formation. Microbiol Immunol 2012, Sep 56(9):639-646.

26) van Riet E, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H: Mucosal IgA responses in influenza virus infections; thoughts for vaccine design. Vaccine 2012, Aug31 30(40):5893-5900.

27) Sasaki I, Hoshino K, Sugiyama T, Yamazaki C, Yano T, Iizuka A, Hemmi H, Tanaka T, Saito M, Sugiyama M, Fukuda Y, Ohta T, Sato K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H, Toyama-Sorimachi N, Kohara H, Nagasawa T, Kaisho T: Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. Blood 2012, Dec6 120(24):4733-4743.

28) Muto NA, Yoshida R, Suzuki T, Kobayashi S, Ozaki H, Fujikura D, Manzoor R, Muramatsu M, Takada A, Kimura T, Sawa H: Inhibitory effects of an M2-specific monoclonal antibody on different strains of influenza A virus. Jpn J Vet Res 2012, Aug 60(2-3):71-83.

29) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S: Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. J Virol 2013, Jan 87(2):1105-1114

30) Okamoto S, Yoshii H, Matsuura M, Kojima A, Ishikawa T, Akagi T, Akashi M, Takahashi M, Yamanishi K, and Mori Y: Poly-γ-glutamic acid nanoparticles and aluminum adjuvant used as an adjuvant with a single dose of Japanese encephalitis virus-like particles provides effective protection from Japanese encephalitis virus. Clin Vaccine Immunol 2012, 19: 17-22.

31) 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, 50(5):1810-1812.

32) Asano S, Mori K, Yamazaki K, Sata T, Kanno T, Sato Y, Kojima M, Fujita H, Akaike Y, Wakasa H: Temporal differences of onset between primary skin lesions and regional lymph node lesions for tularemia in Japan: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 19 skin cases and 54 lymph node cases. Virchows Arch 2012, 460(6):651-658

33) Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, Newman PC, Garron T, Atmar RL, Peters CJ, Couch RB: Immunization with SARS Coronavirus Vaccines Leads to Pulmonary Immunopathology on Challenge with the SARS Virus. PLoS One 2012, 7(4):e35421. Epub 2012 Apr 20.

34) 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 2012, Jun 86(12):6481-6490.

35) Wang H, Yuan Z, Barnes E, Yuan M, Li C, Fu Y, Xia X, Li G, Newton P, Vongsouvath M, Klenerman P, Pybus OG, Murphy D, Abe K, Lu L: Eight novel hepatitis C

virus genomes reveal the changing taxonomic structure of genotype 6. J Gen Virol 2013, 94: 76-80.

36) Zhang Y, Wu Y, Ye S, Wang T, Zhao R, Chen F, Abe K, Jin X: The response to interferon is influenced by hepatitis B virus genotype in vitro and in vivo. Virus Res 2013, 171: 65-70.

37) Pham VH, Nguyen TV, Nguyen TT, Dang LD, Hoang NH, Nguyen TV, Abe K: Rubella epidemic in Vietnam: characteristic of rubella virus genes from pregnant women and their fetuses/newborns with congenital rubella syndrome. J Clin Virol 2013, 57: 152-156.

38) Taniguchi S, Sayama Y, Nagata N, Ikegami T, Miranda ME, Watanabe S, Iizuka I, Fukushi S, Mizutani T, Ishii Y, Saijo M, Akashi H, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Morikawa S: Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. BMC Vet Res 2012, Oct 11;8:189

39) Abe Y, Fujii K, Nagata N, Takeuchi O, Akira S, Oshiumi H, Matsumoto M, Seya T, Koike S: The toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. J Virol 2012, Jan 86(1):185-194.

40) Seto T, Nagata N, Yoshikawa K, Ichii O, Sanada T, Saasa N, Ozaki Y, Kon Y, Yoshii K, Takashima I, Kariwa H: Infection of Hantaan virus strain AA57 leading to pulmonary disease in laboratory mice. Virus Res 2012, Jan 163(1):284-290.

41) Wong KT, Ng KY, Ong KC, Ng WF, Shankar SK, Mahadevan A, Radotra B, Su IJ, Lau G, Ling AE, Chan KP, Macorelles P, Vallet S, Cardosa MJ, Desai A, Ravi V, Nagata N, Shimizu H, Takasaki T: Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA. Neuropathol Appl Neurobiol 2012, Aug 38(5):443-453.

42) Nakato G, Hase K, Suzuki M, Kimura M, Ato M, Hanazato M, Tobiume M, Horiuchi M, Atarashi R, Nishida N, Watarai M, Imaoka K, Ohno H: Brucella abortus exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. J Immunol 2012, Aug 15;189(4):1540-1544.

43) Inoue N, Matsushita M, Fukui Y, Yamada S, Tsuda M, Higashi C, Kaneko K, Hasegawa H, Yamaguchi T: Identification of a varicella-zoster virus replication inhibitor that blocks capsid assembly by interacting with the floor domain of the major capsid protein. J Virol 2012, Nov 86(22):12198-12207.

44) Tanaka M, Kato A, Satoh Y, Ide T, Sagou K, Kimura K, Hasegawa H, Kawaguchi Y. Herpes simplex virus 1 VP22 regulates translocation of multiple viral and cellular proteins and promotes neurovirulence. J Virol 2012, May 86(9):5264-5277.

2. 和文発表

1) 長谷川秀樹: 基礎医学とのダイアローグ 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの開発. THE LUNG perspectives 2012, 20(4): 418-422.

2) 相内 章, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 経鼻投与型インフルエンザワクチンの実用化に向けて. インフルエンザ 2012, 13(3): 199-204.

3) 大田泰徳, 比島恒和, 望月 眞, 児玉良典, 片野晴隆: カレントトピックス エイズ関連リンパ腫の病理診断. 病理と臨床 2012, 30: 195-203.

4) 片野晴隆, 佐藤由子, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: 病原体の同定. 病理解剖マニュアル 病理と臨床 2012, 30: 269-277.

5) 片野晴隆:ヒトヘルペスウイルス８とカポジ肉腫. 感染症 2012, 42: 38-43.

6) 片野晴隆:「臓器移植患者における感染病理学的診断」臓器移植患者の予後および QOL の向上のための真菌やウイルス感染症の予防・診断・治療に関する研究班 編集 臓器移植患者におけるヘルペスウイルス感染症の診断・治療・予防マニュアル

2012, 3 p73-83.

7) 山本真由美, 渋谷佳直, 加納宏行, 清島真理子, 荒木麻里, 和泉智子, 福本瞳, 片野晴隆: メルケル細胞ポリオーマウイルスが検出されたメルケル細胞癌の 3 例. 皮膚科の臨床 2012,8 54 巻 p1152-1157.
8) 中島典子, 長谷川秀樹: インフルエンザウイルス感染症の病理. 医学のあゆみ 2012, 241 巻 1 号:4/7,
9) 鈴木忠樹, 長谷川秀樹: HTLV-1 と白血病・リンパ腫. 病理と臨床 2013, 31(2): 146 -150.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tobiume M, Sata T, Hasegawa H: Over expression of Peripherin enhances progression of prion disease in mice. Prion 2012, Amsterdam, Netherland, May, 2012
2) Katano H, Sakamoto K, Sekizuka T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M: Expression profiles of KSHV-encoded miRNAs in KSHV-associated diseases 2012 International Congress on Oncogenic Herpesviruses and Associated Diseases. Philadelphia, USA, July, 2012
3) Kikuchi T, Iwabu Y, Kawana-Tachikawa A, Koga M, Hosoya N, Nomura S, Brumme ZL, Jessen H, Kelleher A, Markowitz M, Pereyra F, Trocha A, Walker BD, Iwamoto A, Tokunaga K, Miura T: Anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif protein from elite controllers is attenuated compared to those from untreated chronic progressors or those from individuals with acute infection. XIX International AIDS Conference, Washington D.C., USA, July, 2012
4) Sakamoto K, Hishima T, Sato Y, Hasegawa H, Katano H: Expression profiles of Epstein-Barr virus (EBV)-encoded miRNAs in EBV-associated lymphomas. International Herpesvirus Workshop 2012, August, 2012
5) Abe K: Invited lecture: Animal models for human hepatitis B. 7th National Conference of Vietnamese Association for Hepatology. Danang, Vietnam, August, 2012
6) Nakajima N, Van Tin N, Sato Y, Thach HN, Katano H, Pho Hong Diep, Kumasaka T, Nguyen Trung Thuy, Hasegawa H, Luong Thi San, Kawachi S, Nguyen Thanh Liem, Suzuki K and Sata T: Pathological study of formalin-fixed paraffin-embedded lung tissues with H5N1 influenza infection in Vietnam. Severe Influenza: Burden, Pathogenesis and Management (Second isirv Antiviral Group Conference), Hanoi, Vietnam, October, 2012
7) Suzuki T, Orba Y, Makino Y , Sunden Y, Okada Y, Kimura T, Sata T, Hasegawa H, Hall WW, Sawa H: Disruption of AP-3 complex mediated vesicular trafficking by the JC polyomavirus agnoprotein is fundamental to viroporin activity and virus replication The 34th NAITO CONFERENCE on Infection, Immunity and their Control for Health: Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine, Sapporo, Japan, October, 2012
8) Nagata N, Kataoka M, Sato Y, Sakai K, Iwata N, Suzuki T, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Sata T, Hasegawa H: Case reports with diagnostic electron microscopy and pathology for infectious diseases. The past five years experience, from 2007 to 2011. Glienicke Workshop on Electron Microscopy in Infectious Diseases - Diagnostics and Research 2012, Berlin, Germany, October, 2012
9) Inui A, Fuijisawa T, Tsunoda T, Kawamoto M, Ijichi S, Sogo T, Komatsu H, Ih-Jen Su, Abe K: Hepatitis B virus associated hepatocarcinogenesis in Asian children. 4th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (WCPGHAN), Taipei, Taiwan, November, 2012

2. 国内学会

1) 片野晴隆, 比島恒和, 佐藤由子, 長谷川秀樹: EBV 関連腫瘍における EBV がコードする miRNA の発現. 第 101 回 日本病理学会総会（東京）2012 年 4 月

2) 中島典子, 佐藤由子, 片野晴隆, 熊坂利夫, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染症で死亡したベトナム小児例の病理学的解析. 第 101 回日本病理学会総会（東京）2012 年 4 月
3) 鈴木忠樹, 片野晴隆, 佐藤由子, 澤　洋文, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: 進行性多巣性白質脳症における JC ウイルス後期蛋白質発現動態の免疫組織化学的検討. 第 101 回日本病理学会総会（東京）2012 年 4 月
4) 永田典代, 佐藤由子, 岩田奈織子, 鈴木忠樹, 倉田毅, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: サル痘ウイルス感染後カニクイザルにおける劇症化の病態解析. 第 101 回日本病理学会（東京）2012 年 4 月
5) 鈴木忠樹: インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ三量体形成機構の解析. ナノバイオ国際共同研究教育拠点第 1 回若手国内シンポジウム（神戸）2012 年 6 月
6) 鈴木忠樹: 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. 第 32 回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会（東京）2012 年 6 月
7) 乾あやの, 角田知之, 十河　剛, 小松陽樹, 藤澤知雄, 阿部賢治: 小児期の HBV 関連肝細胞癌の発生に関する検討. 第 48 回日本肝臓学会総会（金沢）2012 年 6 月
8) 片野晴隆, 坂本康太, 関塚剛, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 黒田誠: KSHV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現. 第 9 回 EB ウイルス研究会（鳥取）2012 年 7 月
9) Nagata Noriyo: Pathological study of enterovirus 71 in animal models. Current Progress in Enterovirus 71 Research in the Asia - Pacific Region. 第 16 回日本神経ウイルス研究会シンポジウム（東京）2012 年 8 月
10) 片野晴隆: エイズ剖検例における日和見感染症と腫瘍の実態. 第 26 回　日本エイズ学会学術集会総会（横浜）2012 年 11 月
11) 長谷川秀樹: 次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチン. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
12) 山本典生, 浅沼秀樹, 佐藤佳代子, 中内美奈, 高橋仁, 許斐奈美, 相内　章, 長谷川秀樹, 田代眞人: 細胞培養もしくは鶏卵で製造されたインフルエンザワクチンの品質管理試験および免疫応答への影響. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
13) 菅野隆行, 長谷川秀樹, 片野晴隆: KSHV 細胞間感染のメカニズムの探索. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
14) 佐々木純, 上野智規, 片野晴隆, 佐多徹太郎, 後藤希代子: HCMV 臨床分離株の上皮細胞-細胞間感染の PML 法による機構解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
15) 福本　瞳, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 片野晴隆: 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. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
16) 橋本　楓, 山田壮一, 片野晴隆, 福地早希, 佐藤　由子, 森石恆司, 井上直樹: モルモット妊娠動物モデルを用いたサイトメガロウイルス糖蛋白 B サブユニットワクチンの効果機序の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
17) 山田壮一, 橋本　楓, 福地早希, 片野晴隆、佐藤由子, 金井亨輔, 井上直樹: 胎盤組織培養系の樹立とウイルス感染動態の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
18) 藤田和将, 上野智規, 片野晴隆, 後藤希代子: リアルタイム PCR 法を用いた HCMV UL144 遺伝子の遺伝子型識別および定量法の開発. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月
19) 福地早希, 山田壮一, 片野晴隆, 橋本　楓, 佐藤由子, 森石恆司, 井上直樹: モルモットサイトメガロウイルス（GPCMV）を用いた先天性感染病態の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012

年 11 月

20) 鈴木忠樹, 片野晴隆, 大場靖子, 小林進太郎, 佐藤由子, 佐多徹太郎, 澤 洋文, 長谷川秀樹: JC ウイルス後期蛋白質に対する特異抗体を用いた進行性多巣性白質脳症の免疫組織化学的診断法の比較検討. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪)2012 年 11 月

21) 小谷 治, 鈴木忠樹, Naeem Asif, 岩田奈織子, 中島典子, 片野晴隆, 田口文広, 長谷川秀樹, 清水博之, 永田典代: 新生仔マウスにおける新規ヒトカルジオウイルス (Saffold virus) の神経病原性の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

22) 張 延昭, 岩部幸枝, 立川(川名)愛, 中村仁美, David Nolan, Simon Mallal, 長谷川秀樹, 山岡昇司, 岩本愛吉, 徳永研三: HIV-1 感染者における抗ウイルス宿主因子の発現レベルと病態進行との相関性の有無. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会 (大阪) 2012 年 11 月

23) 小山貴芳, Juan F. Arias, 岩部幸枝, 徳永研三: HIV-2 Vpx に不活化される抗ウイルス宿主因子の探索. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

24) Juan F Arias, 小山貴芳, 岩部幸枝, 横山 勝, 佐藤裕徳, 長谷川秀樹, 徳永研三: APOBEC3G による Alu 転移抑制の分子生物学的および構造学的解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

25) 菊地 正, 岩部幸枝, 立川(川名)愛, 古賀道子, 野村滋, 細谷紀彰, Zabrina L. Brumme, Heiko Jessen, Anthony D. Kelleher, Martin Markowitz, Florencia Pereyra, Alicja Trocha, Bruce D. Walker, 岩本愛吉, 徳永研三, 三浦聡之: HIV-1 elite controller における HIV-1 Vif の抗 APOBEC3G 活性の低下. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

26) 永田典代, 岩田奈織子, 早坂大輔, 佐藤由子, 小島朝人, 佐多徹太郎, 長谷川秀樹: BALB/c マウスを用いた脳炎関連フラビウイルスの病原性の比較. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

27) 岩田奈織子, 永田典代, 鈴木忠樹, 佐藤由子, 横田恭子, 西條政幸, 森川 茂、長谷川秀樹: SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応発生機序について. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

28) 泉地恭輔, 相内 章, 鈴木忠樹, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 経鼻投与型インフルエンザワクチンによるマウス母子免疫の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

29) 池田千将, 伊藤 良, 相内 章, 鈴木忠樹, 田村愼一, 田代眞人, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 基礎免疫を有する個体に対する経鼻投与型インフルエンザワクチン効果. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

30) 川口 晶, 鈴木忠樹, 相内 章, 佐藤由子, 信澤枝里, 田代眞人, 長谷川秀樹: 喘息発作誘発モデルを用いたインフルエンザウイルス感染症の病態解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

31) 中津祐一郎, 鈴木忠樹, 駒瀬勝啓, 竹田 誠: 極性上皮細胞におけるリサイクリングエンドソーム経路を利用した麻疹ウイルス RNP 複合体の細胞膜への輸送と感染性ウイルス粒子の産生. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

32) 藤井 健, 永田典代, 山吉誠也, 島貫碧, 設楽浩志, 多屋長治, 小池 智: EV71 感受性マウスモデルの作出と解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

33) 谷口 怜, 佐山勇輔, 永田典代, 飯塚愛恵, 谷 英樹, 吉河智城, 福士秀悦, 西條政幸, 久和 茂, 森川 茂: レストンエボラウイルス自然感染カニクイザルにおける免疫応答の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会(大阪) 2012 年 11 月

34) 駒 貴明, 永田典代, 吉松組子, 佐藤由子, 清水健太, 天田貴子, 西尾佐奈恵, 長谷川秀樹, 有川二郎: 肺水腫を呈すハンタウイルス感染 SCID マウスに

於ける好中球の役割. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月

35) 竹内 薫, 加藤誠一, 永田典代, 網 康至: 麻疹ウイルス感染カニクイザルにおけるインターフェロン産生の解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月

36) 早坂大輔, 青木康太郎, 北浦一孝, 白井顕治, Dash Sima Simanti, 永田典代, 高松由基, 鈴木隆二, 森田公一: 日本脳炎ウイルス感染においてTNFαは免疫応答を調節し重症化の抑制に働く. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪）2012 年 11 月

37) 鈴木忠樹, 川口　晶, 相内　章, 田村愼一, 伊藤良, 小田切孝人, 田代眞人, 長谷川秀樹: インフルエンザワクチン経鼻接種により鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

38) Hideki Hasegawa, Akira Ainai, Tadaki Suzuki, Shin-ichi Tamura, Masato Tashiro, Takeshi Kurata: Analysis of protective immune responses after intranasal administration of an inactivated whole-virion influenza vaccine in human. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

39) Elly van Riet, Akira Ainai, Ryo Ito, Kyosuke Senchi, Tadaki Suzuki, Shin-ichi Tamura, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: Characteristics of IgA versus IgG human monoclonal antibodies cloned from human plasma cells induced upon intranasal H5N1 vaccination. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

40) 相内　章, 池田千将, 伊藤　良, 鈴木忠樹, 泉地恭輔, 田村愼一, 田代眞人, 浅沼秀樹, 長谷川秀樹: 感染あるいはワクチン接種歴が経鼻投与型インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に対して与える影響. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

41) 浅沼秀樹, 相内 章, 佐藤佳代子, 許斐奈美, 岸田典子, 長谷川秀樹, 山本典生, 田代眞人: 野外株より細胞培養インフルエンザワクチンの種候補株を選定する基準の検討. 第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月

42) 山崎達也, 二宮大輔, 長島麻里亜, 荒井由佳, 手嶋保智, 長谷川秀樹, 相内 章, 藤本 陽, 千葉 丈: インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた受動免疫法の応用研究～長期的なウイルス防御効果と免疫不全マウスへのウイルス防御効果の検討～. 第 16 回日本ワクチン学会学術総会（横浜）2012 年 11 月

43) 加藤 篤, 永田志保, 前寺知弥, 木所 稔, 永田典代, 竹内 薫, 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 16 回日本ワクチン学会学術集会（横浜）2012 年 11 月

44) 小山貴芳, Juan F Arias, 横山 勝, 佐藤裕徳, 徳永研三: APOBEC3G の抗 Alu レトロ転移活性に寄与するアミノ酸の同定. 第 35 回日本分子生物学会（福岡）2012 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 5027106 号　「日本脳炎ウイルス抗原」　登録日：平成 24 年 6 月 29 日

特許第 519028 号 「混合免疫賦活剤を含む新規ワクチン」　登録日：平成 25 年 2 月 8 日

特許第 490264 号　「経鼻ワクチン」　登録日：平成 24 年 1 月 20 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. 麻疹に関する研究
3. インフルエンザに関する研究
4. C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究
5. A 型肝炎ウイルス（HAV）抗体検出キット再評価のための基盤技術に関する研究
6. 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

Ⅳ. 免疫機能に関する研究

1. 抗原認識多様性獲得の分子機構におけるプレ B 細胞受容体の機能に関する研究
2. 免疫記憶形成過程における BILL カドヘリン分子の機能に関する研究
3. RP58 遺伝子の造血及び免疫担当細胞に於ける機能解析

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 24（2012）年 4 月 01 日に免疫部主任研究官として寺原　和孝（前職：免疫部第一室研究員）と小野寺大志（前職：免疫部第四室研究員）が、また、免疫部第三室任期付研究員として池尻　藍が任用された。平成 25（2013）年 3 月 31 日に免疫部長　小林　和夫が定年退職した。

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）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 CCR5 指向性（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血中ウイルス量の変動が著しく、ピーク値は前者のヒト化マウスと比べて 10 倍程度高かった。さらに、血中ウイルス量の変動に対して、セントラル／エフェクターメモリー CD4+ T 細胞の絶対数が有意な正の相関、ナイーブ CD4+ T 細胞の絶対数が有意な負の相関を示した。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た。[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]

（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 CXCR 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、ヒト化マウスに 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）HIV 潜伏感染 in vitro 解析系モデルの開発

先進国で慢性疾患となった HIV 感染症において、HIV の潜伏感染・持続感染の問題は最も関心が高い。試験管内で HIV が潜伏する機構を解明するため、既存の BSL2 レベルのレンチウイルスベクターの 3'側に我々の開発した蛍光発現 HIV-1 の一部を組み込んで、GFP と Nef が LTR 制御下に発現するレンチウイルスベクターを作製した。このレンチウイルス（Lenti GFP-Nef-LTR）は *tat* 遺伝子を欠いているが、T 細胞の一部は Tat 非依存性に GFP を発現しうることを確認した。[横田恭子、和田　倭（早稲田大学、実習生）寺原和孝、Muhsen Mahmod（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）]

（４）単一細胞解析技術を用いた HIV 感染進行の解析

BSL3 レベルの感染細胞中のウイルスや多様な細胞 RNA 発現動態を同時に解析することを可能にするため、単一細胞のレベルで PCR 増幅を行う簡易装置の開発や改良を行う共同研究が現在進行中である。一方、デジタル PCR の手法をレンチウイルスの感染初期過程（逆転写過程）の解析に応用する試みも開始した。[鈴木基臣（早稲田大学先進理工学部、研究生)、和田倭（早稲田大学、実習生）寺原和孝、モリテツシ（早稲田大学理工学術院・国際教育センター、協力研究員)、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科)、横田恭子]

２．麻疹に関する研究

（１）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

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等、基礎的な条件検討を行った。麻疹感染細胞は 3 日目より出現するが、ウイルス増加とともに CD4 陽性 T 細胞が減少する。そこで今後 T 細胞応答を解析するため、CD4 陽性 T 細胞の数を保持できるウイルス接種量を決定した。また、末梢血細胞中のウイルス RNA を測定する QPCR 法を確立し、ヒト化マウスにおける麻疹感染をモニターすることが可能となった。[池野翔太（北里大学生命科学研究所、研究生)、鈴木元臣（早稲田大学先進理工学部、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・竹田誠（ウイルス第三部)、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科)、中山哲夫・森川裕子（北里大学生命科学研)、横田恭子]

３．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

免疫部作成の抗 H5HA 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して H5N1 高病原性鳥インフルエンザ診断キットを共同開発した（特許申請中)。昨年度ベトナムの臨床検体を用いて検証したが、感度が不十分であることが判明した。今年度はキットの条件検討を重ね、以前の 10 倍の感度増強に成功した。そこでベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）の Mai ウイルス部長とホーチミン市のパスツール研究所インフルエンザセンター Long 博士の協力を得て、H5N1 感染者検体を用いた再試験を実施した。その結果、臨床検体（咽頭ぬぐい液等）において高感度にインフルエンザを検出し、H5 亜型診断も可能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（東洋紡株式会社敦賀研究所）高山郁代・影山　努・板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター)、小林和夫]

（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

新型インフルエンザウイルスを特異的に認識するマウスモノクローナル抗体を作製し、メーカーとの共同で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 タンパクの特定のアミノ酸配列を認識していることを明らかにした。[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への交差防御に寄与する記憶 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、この記憶 B 細胞は、脾臓記憶 B 細胞に比べて交差反応性が高く、ウイルス再刺激後に交差結合性中和抗体を産生することを見いだした。[高橋宜聖、福原芳織（臨時研究補助員)、宮台拡（玉川大学、実習生)、小野寺大志、阿戸　学、築地　信（星薬科大学)、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、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、迅速にウイルス粒子に応答し高親和性抗体を産生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、ウイルス粒子への応答速度や抗体の親和性が低下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（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し、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作製したところ、複数の亜型に交差結合する抗体が含まれていることが判明した。[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人細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし、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）インフルエンザウイルス感染における樹状細胞での HIF-1αの役割

転写因子である HIF-1αは、炎症による低酸素状態やウイルス感染により誘導され、サイトカイン産生を制御する。しかし、インフルエンザウイルス感染における HIF-1αの役割は明らかになっていない。そこで HIF-1αを欠損した樹状細胞にウイルスを感染させると炎症性サイトカインである IL-6 の産生が MAPK 依存的に上昇したことから、HIF-1αを標的とした新規治療方法の開発へ繋げることを目標としている。[池尻藍、大島正道、小安重夫・永井重徳・藤猪英樹（慶應義塾大学）]

（８）インフルエンザウイルス血球凝集素抗原（HA）の立体構造予測に基づく型特異的および型共通エピトープの解析と亜系判別診断法の確立

現在、A 型インフルエンザの亜型を類別する事ができる診断キットは限られている。我々は、H1、H3、H5 の各亜型を正確に迅速かつ簡便に同時判別するキットの開発を目指している。その目的のために、インフルエンザ HA 分子の型特異的ならびに型共通エピトープについて、独自のバイオインフォマティクス的手法、特に、エピトープ立体構造シミュレーションを通して探索し、その性状解析を行っている。この方法に基づいて型特異的および型共通抗体モノクローナル抗体を作製する事により診断性能を飛躍的に高める事が期待できる。トリ由来 H5 だけでなく、ブタ由来 H1 やその他季節性 H1・H3 を鑑別できる免疫学的診断法を開発する。臨床的実用性の高いインフルエンザ亜型診断キットが開発できれば、我が国での輸入感染症に対する防疫や発展途上国での様々な感染症対策にも役立てることができ、医療面での国際協力にも大きく貢献することになる。[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）、西村研吾（東洋紡株式会社）、藤　博幸（産業技術総合研究所）、横田恭子]

（９）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再活性化機構に関する研究

インフルエンザワクチンは以前に受けた感染やワクチン接種等によって形成された記憶 B 細胞を再活性化させることにより機能している。しかし、その記憶 B 細胞に対する奏功機序はほとんど明らかになっていない。現在我が国で使用されている 2 種類のインフルエンザワクチンの記憶 B 細胞に対する再活性化機能を解析した結果、不活化全粒子ワクチンに含まれるウイルス RNA が記憶 B 細胞内因性の TLR シグナルを誘起させることにより、その抗体産生応答の迅速性、親和性、また中和活性の向上に寄与している事を明らかとした。[小野寺大志、高橋宜聖、小林和夫]

（１０）インフルエンザワクチン接種により形成される長期生存型抗体産生細胞の CD4 陽性細胞による制御機構の解析

インフルエンザワクチン等によって形成された長期抗体産生細胞は数ヵ月～数十年に渡り骨髄で維持され、特異抗体を長期間に渡り供給している。この長期に渡る維持機構を解明する一端として、インフルエンザワクチン接種後のこれらの細胞群の性状解析を行った。その結果、細胞表面上に CD80、MHCclassII、CD40 といった分子群が発現し、CD4 陽性細胞により細胞の維持、抗体産生量に制限がかけられていることを明らかとした。この制御メカニズムの解明によりワクチンの持続効果の改善に貢献すると期待される。[小野寺大志、高橋宜聖、阿戸　学]

（１１）骨髄における長期生存型抗体産生細胞の生体イメージング技術による維持機構の解明

骨髄の長期生存型抗体産生細胞（LLPC）はこれまでストローマ細胞や顆粒球等によって IL-6、APRIL 等が供給されることによって生存が維持されていることが示されている。しかし、これまで生体において視覚的にこれらの細胞群との相互作用を解明した例はない。今回我々は 2 光子レーザー顕微鏡を用いた生体イメージング技術と YC3.60（細胞内 Ca++ FRET sensor）トランスジェニックマウスを用いることにより LLPC の生体内における細胞の挙動、シグナル伝達過程を動的に捉えることに成功した。現在これらの技術を用いてインフルエンザワクチン接種後の LLPC の維持機構の解明を行っている。[小野寺大志、安達貴弘・鍔田武志・烏山一（東京医科歯科大学）、石井　優・菊田順一（大阪大学）、高橋宜聖、阿戸　学]

４．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している。short RNA によるウイルス由来のペプチドの存在が蛍光抗体法等により示唆されており、ウイルス持続感染と癌化に関わる可能性も考えて検討している。[清水洋子（神戸大学大学院医学研究科、客員研究員）、大島正道、戸高玲子（非常勤職員）、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）C 型肝炎感染患者から分離した二種類のモノクローナル抗体の解析

C 型肝炎感染患者血清から採取したリンパ球を Epstein-Barr ウイルス法により不死化し二種類のモノクローナル抗体(#37,#55)を得た。エピトープマッピングではそれぞれ 429 から 652,508 から 607 であった。#37 は中和活性を示さなかったが、#55 は全ての genotype に対して中和活性を示したため#55 は抗体治療に発展する可能性が示唆された。[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）、大島正道、吉倉廣(CODEX)、Alter HJ・Purcell RH（アメリカ国立衛生研究所(NIH)）、堀田　博（神戸大学）]

（３）HCV 持続感染における RNA 干渉機構の解析

我々が発見した TSN および TRAX は、TSN/TRAX 複合体を形成して miRNA（siRNA）の取り込み・相補的 RNA の切断に関わる RISC（RNA-induced silencing complex）の構成成分として、近年注目されている DNA,RNA 結合蛋白質である。そこで本研究では、C 型肝炎 RNA ウイルス（hepatitis C virus, HCV）の持続感染成立に関わる分子機構の一端を明らかにするために、TSN/TRAX の関与する RNA 干渉（RNAi）の役割に着目して研究を実施した。昨年度までに、(1)TRAX 分子単独では肝培養細胞内で存在できないこと、(2)TSN と複合体を形成できないとプロテアソーム分解系によりタンパク質レベルで分解を受けることを明らかにした。本年度はまず、様々な TRAX 欠損変異体を作製し、分解に重要な部位の検討を行った。その結果、TRAX の C 末領域が分解に重要であることがわかった。しかし、C 末領域のリジン残基全てに変異を入れた場合でもプロテアソーム依存性の分解が見られたことから、ポリユビキチン化とは異なるメカニズムが分解に関与している可能性が示唆され、TRAX 分子の細胞内制御系についてはさらなる検討が必要と考えられた。抗 TRAX 抗体については、これまで C 末端側を認識する抗体しか有していなかったが、上記の検討を進めるためにも N 末端側を認識する抗体が必要と考え、当該ポリクローナル抗体を樹立した。また、HCV 感染が可能である複数のヒト肝培養細胞系を用いて、TRAX 分子の siRNA によるノックダウンを行い HCV 感染･増殖を検討した結果、すべての場合で有意に HCV 増殖が抑制された。今後、TRAX 分子に着目して HCV 増殖との関連をさらに検討していきたい。[深澤征義(細胞化学部)、石田礼子(協力研究員)、葛西正孝]

５．A 型肝炎ウイルス（HAV）抗体検出キット再評価のための基盤技術に関する研究

HAV は糞口感染によって伝播し、その発生状況は衛生環境に左右されることから、急性 A 型肝炎の感染予防対策は社会的に重要な問題として認識されている。HAV 感染予防対策の基礎となる急性 A 型肝炎体外診断薬として、現行では血清中の抗 HAV 抗体を検出するキットが複数市販されている。これらのキットは数年ごとに感度・特異性の向上が図られて新しいバージョンに置き換わっており、これらの改良の技術的基礎を把握することが市販されるキットの品質を担保する上で必要不可欠である。特に近年の国内流行株に対する検出能を再評価するための技術基盤を整備し、今後上市が予測される HAV 抗原検出新世代キットなどの評価技術を確立して再評価を進めることにより、市販される急性 A 型肝炎体外診断薬の品質を科学的根拠に基づいて担保することができる。[孫琳・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)、大西和夫]

６．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 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 CTL 誘導型ワクチンが注目を浴びている。このワクチン奏功機序の解明の一端として、SIV 感染サルモデルにおいてウイルス制御と関連性のあるウイルス抗原特異的 T 細胞反応の同定を進めている。抗原特異的 T 細胞反応について、5 種類のエフェクター因子の発現能に基づく量的（頻度）および質的（多機能性）評価を行った結果、感染時期（急性期、慢性期）によってウイルス制御と関連性を示す抗原特異的 T 細胞反応が異なることを認めた。[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）]

（２）ワクチン免疫に応答する抗体レパートリーの網羅的解析に関する基礎研究

ワクチンの免疫原性を測定するうえで、ワクチン免疫により誘導される抗体分子全ての抗原認識特異性（抗体レパートリー）とその存在量を網羅的かつ定量的に解析する事が出来れば理想的である。本研究では、近年急速な進展を見た次世代シークエンサ技術を応用し、独自の方法を開発してワクチンなどの抗原免疫で惹起される抗体応答の全体像を網羅的に解析する方法の開発を試みた。その結果、マウスモデルにおい

て、抗体レパートリー全体像の網羅的に解析する新規手法の確立に成功した。本方法を用いて、ワクチンやワクチン製造株の特性に応じた性能を評価する品質管理試験を確立すれば、ワクチンが一定の品質で供給され国民の健康や医療費の抑制などに貢献できる。[大西和夫、河野直子・板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）]

（３）インフルエンザワクチン安全性試験としての白血球減少試験の免疫学的検証

インフルエンザワクチン検定の白血球減少試験における白血球減少活性の免疫学的意義を解析するため、ワクチン投与後のマウス白血球動態とその機序を解析した。その結果、全粒子ワクチン内に安定した状態で存在するウイルス RNA が、白血球の RNA センサーである Toll-like Receptor-7 と、そのシグナルのアダプター分子である Myd-88 を介したシグナルによって IFNα の産生を誘導し、大量に産生された IFNα が、ワクチン投与後の白血球減少を引き起こす因子であることが明らかとなった。

さらに、この白血球減少の機序は、走化因子による白血球の体内移動ではなく、アポトーシスの誘導による白血球の細胞死によって起こることが示唆された。以上のことから、不活化全粒子インフルエンザワクチンの投与は，末梢血白血球の低下をもたらし、その後の免疫応答に影響を及ぼす可能性が示された。[阿戸　学、高橋宜聖、藤猪英樹（慶応大学医学部、協力研究員）、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）、堀内善信・荒川宜親（細菌第二部）、橋本修一（㈱カイオム）、加地友弘・竹森利忠（理化学研究所）]

II. 細菌感染症

１．抗酸菌感染症に関する研究

（１）抗酸菌の sliding 能欠損株における細胞への取り込みの減少

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。作成した sliding 能欠損変異株では、細胞における菌の取り込みが減少することが分かった。変異株の一つでは非結核性抗酸菌に特異的な糖脂質の GPL が欠落していた。既に GPL は sliding 能に貢献することが示唆されており、これと同様もしくは類似の機構が細胞へアプローチする際にも働いていると推察される。[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。Prodrug であるイソニアジド（INH）は抗酸菌保有 catalase（*katG*）により抗菌活性が誘導される。休眠抗酸菌は高分子合成を阻害する抗酸菌 DNA 結合分子（MDP1）を高発現し、MDP1 は *katG* 遺伝子を負に制御することにより、catalase 発現を抑制し、イソニアジド耐性を獲得することが判明した。[仁木　誠・仁木満美子・尾関百合子・松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科）、立石善隆（国立病院機構刀根山病院）、切替照雄（国立国際医療研究センター研究所）、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）、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）]

（３）*Mycobacterium avium* complex（MAC）感染症の迅速血清診断

MAC 感染症は「臨床所見（画像、経過）および微生物学的検査」を総合的に考慮し診断される。このため、確定診断に長期間（１ヵ月以上）を要することが多い。多施設臨床試験結果から、MAC 特異抗原（糖脂質ペプチド）を用いたヒト血清抗体検出による診断の感度：84%、特異度：100%であることが判明し、迅速・簡便血清診断（所要時間：約 3 時間）として有用である。体外診断用医薬品として製造販売承認後、薬価収載され、2012 年 9 月から一般臨床検査機関（BML）における受託検査対象項目となった（キャピリア MAC 抗体 ELISA）。加えて、台湾におけるキャピリア MAC 抗体 ELISA の臨床性能評価試験を開始した。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治（国立病院機構刀根山病院）]

２．劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究

（１）劇症型溶連菌感染症における新規未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防御因子については不明な点が多い。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インターフェロンγ（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。細胞表面抗原の詳細なフローサイトメトリー解析から、感染初期の IFN-γは T 細胞や NK 細胞由来ではなく、リング状の核を有する新規未熟骨髄系細胞　（IFN-γ-producing immature

myeloid cells; γIMCs）から産生されることを見出した。さらにγIMCs を養子細胞移植したマウスは劇症型感染に抵抗性を持つことが示され、劇症型溶血性レンサ球菌感染症においてγIMCs が宿主防御的に機能していることが明らかとなった。しかしながら、IFN-γ投与マウスでは菌クリアランスは改善されるものの生存率の改善は認められず、γIMCs が産生する IFN-γ以外の宿主防御因子の存在が示唆された。[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の NETs 防御機能異常

類鼻疽は類鼻疽菌 *Burkholderia pseudomallei* の感染よって起こる重篤で治療困難な感染症である。本感染症の第一線防御細胞である好中球は、*B. pseudomallei* を貪食して殺菌するだけでなく、自身の核酸を顆粒内タンパク分解酵素などとともに細胞外へ放出し、核酸網に捕えられた細菌を殺菌する機構（Neutrophil exudating Traps:NETs）が知られている。*B. pseudomallei* は、III 型分泌機構および莢膜によって NETs の放出を負に制御していることが判明した。さらに、類鼻疽発症危険因子である糖尿病のコントロール不良患者から採取された好中球は、健常人好中球に比べ、NETs の放出は抑制されていることが明らかになった。以上より、NETs 放出機構の修飾が、類鼻疽の病態と関連していることが示唆された。 [阿戸　学、Donporn Riyapa・Darawan Rinchai・Chidchamai Kewcharoenwong（研究生）・Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学医療学部、タイ王国）]

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、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。さらに、組織切片中の肉芽腫領域の mRNA 発現を解析した結果、*aly/aly* マウスにおいて Foxp3 および抑制性サイトカイン IL-10mRNA の発現増加が認められた。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）]

Ⅳ．免疫機能に関する研究

１．抗原認識多様性獲得の分子機構におけるプレ B 細胞受容体の機能に関する研究

抗体の抗原認識多様性獲得の分子機構を知る目的でプレ B 細胞受容体の機能を解析している。プレ B 細胞受容体は抗体 VDJ 遺伝子再構成の品質管理をする受容体で、非免疫グロブリン領域（Non-Ig 領域）と呼ばれる特徴的なドメインが受容体の活性化に重要な働きを担うことを明らかにしてある［Nature Immunology 4, 849-856, 2003］。当該分子の分子動力学法および機能不全突然変異体による解析を行っている。この研究は、抗体の抗原認識多様性を飛躍的に高める技術の基礎となり、感染症に対するワクチン開発の理論的枠組みの形成に寄与する。[大西和夫、野口保・藤　博幸（産業技術総合研究所）、藤本浩文（放射能管理室）、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．免疫記憶形成過程における BILL カドヘリン分子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（Eur. J. Immunol.35:957-963 (2005)）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 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試みる。[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）、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）、大西和夫]

３. RP58 遺伝子の造血及び免疫担当細胞に於ける機能解析

RP58 は我々によって発見された転写抑制蛋白 RP58 をコードする遺伝子である（EMBOJ. 2001, J Biol Chem 1998)。 また、KO マウスを用いた解析によって、RP58 が basic HLH 型転写因子の Inhibitor である Id1-Id4 の発現を抑制して神経前駆細胞の分裂能を抑えていることを明らかにした（Cell Reports 2013, EMBOJ. 2012, Dev Cell 2009, Dev Biol 2009)。しかし、RP58KO マウスが neonatal lethal（新生致死）であるため、RP58 遺伝子の造血/免疫担当細胞における機能は不明のまま残されている。そこで、RP58KO マウス（Ly5.2）の Fetal Liver 細胞を致死量放射線照射した C57BL/6（Ly5.1）マウスや RAG-1KO マウスに骨髄移植して、免疫担当細胞の再生に及ぼす影響を明らかにする予定である。[山崎　聡・中内啓光、（東京大学医科学研究所）、石田礼子(協力研究員)、葛西正孝]

品質管理に関する業務

I. 急性 A 型ウイルス（HAV）肝炎診断薬承認前審査業務体外診断薬委員会業務

体外診断薬委員会に提出された体外診断薬の承認前検査申請について審査を行う。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感度、特異性及び再現性試験を標準血清パネルを用いて行う。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、双方のヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会で承認後、キャピリア MAC 抗体 ELISA の臨床性能評価試験を開始した。[小林和夫､阿戸　学､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 月に Khon Kaen 大学の博士課程（後期）大学院生 1 名を研究生として、博士課程（前期）大学院生 2 名を実習生として 2013 年 1 月に受け入れ、実験手技と共同研究の指導にあたった。[阿戸　学、横田恭子、高橋宜聖]

III. 「HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検査技術」に関する JICA 国際研修でウイルス感染免疫の講義を担当した。[横田恭子]

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、10 月 22 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

大阪市立大学医学部（5 月 2 日)、慶応大学医学部（5 月 25 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 1a、6 月 5 日)、鳥取大学医学部生命科学科（11 月 16 日）などで招請講義した。[阿戸　学]

早稲田大学先進理工学部（6 月 25 日、7 月 2 日、9 日）で講義を行った。[松村隆之]

長崎大学熱帯医学研究所や大学院医歯薬学総合研究科（5 月 24 日)、大阪市立大学医学部講義（5 月 31 日)、早稲田大学化学・生物総合管理再教育講座（知の市場：感染症総合管理 1b、9 月 25 日)、昭和大学医学部（10 月 25 日）・薬学部（11 月 5 日)、岡山大学歯学部（12 月 12 日）などで招請講義した。また、栃木県地域保健福祉職員研修（結核など抗酸菌感染症の現状と対策）を担当した（10 月 17 日)。[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 24 年度の使用実績は､884 回､1915 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., Ishige, M., Ikeno, S., Mitsuki, Y-y, Okada, S., Kobayashi, K. and Tsunetsugu-Yokota, Y. 2013 Expansion of activated memory CD4+ T cells affects infectivity of CCR5-tropic HIV in humanized NOD/SCID/JAK3. PLoS One 8:e53495.
2) Takeuchi, K., Nagata, N., Kato, S., Ami, Y., Suzaki, Y., Suzuki, T., Sato, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y., Mori, K., Nguyen, V. N., Kimura, H., and Nagata, K. 2012 Wild-type measles virus with the hemagglutinin protein of the Edmonston vaccine strain retains wild-type tropism in macaques. J. Virol. 86:3027-3037.
3) Mitsuki,Y-Y., Terahara, K., Shibusawa,K., Yamamoto, T., Tsuchiya,T., Ishige, M., Kobayashi, K., Morikawa, Y., Nakayama, T., Takeda, M., Yanagi, Y., and 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. 86:7227-7234.
4) Nomura, T., Yamamoto, H., Shiino, T., Takahashi, N., Nakane, T., Iwamoto, N., Ishii, H., Tstukamoto, T., Kawada, M., Matsuoka, S., Takeda, A., Terahara, K., Tsunetsugu-Yokota, Y., Iwata-Yoshikawa, N., Hasegawa, H., Sata, T., Naruse, T.K., Kimura, A., Matano, T. 2012 Association of major hitocompatibility complex class I haplotypes with disease progression after simian immunodeficiency virus challenge in Burmese rhesus macaques. J. Virol. 86:6481-6490.
5) Sugimoto,C., Nakamura,S., Hagen,S.I., Tsunetsugu-Yokota,Y., Villinger,F., Ansari,A.A., Suzuki, Y., Yamamoto,N., Nagai,Y., Picker,L.J., Mori, K. 2012 Glycosylation of SIV influences immune-tissue targeting during primary infection that leads to immunodeficiency or viral control. J. Virol. 86:9323-9336.
6) Tsunetsugu-Yokota, Y. and Terahara, K. 2012 Receptor usage and the pathogenesis in acute and

chronic virus infections. Editorial, Front. Microbiol. 3:289.

7) Ato M, Takahashi Y, Fujii H, Hashimoto S, Kaji T, Itamura S, Horiuchi Y, Arakawa Y, Tashiro M, Takemori T. 2013. Influenza A whole virion vaccine induces a rapid reduction of peripheral blood leukocytes via interferon-α-dependent apoptosis. Vaccine. In Press.
8) Matsumura T, Kobayashi K, Ato M. 2013. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and their related cell subpopulations. The Research and Biology of Cancer Ⅰ. iConcept Press. ISBN: 978-1477554-99-9.In Press
9) Riyapa D, Buddhisa S, Korbsrisate S, Cuccui J, Wren B, Stevens M, Ato M, Lertmemongkolchai G. 2012. Neutrophil extracellular traps exhibit antibacterial activity against Burkholderia pseudomallei and are influenced by bacterial and host factors. Infect. Immun. Nov;80(11):3921-3929.
10) Tiwananthagorn S, Iwabuchi K, Ato M, Sakurai T, Kato H, Katakura K. 2012. Involvement of CD4+ Foxp3+ regulatory T cells in persistence of leishmania donovani in the liver of alymphoplastic aly/aly mice. PLoS Negl Trop Dis. 6(8): e1798.
11) Nakato G, Hase K, Suzuki M, Kimura M, Ato M, Hanazato M, Tobiume M, Horiuchi M, Atarashi R, Nishida N, Watarai M, Imaoka K, Ohno H. 2012. *Brucella abortus* exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. J Immunol. 189(4):1540-1544.
12) Onodera T, Takahashi Y, Yokoi Y, Ato M, Kodama Y, Hachimura S, Kurosaki T, Kobayashi K. 2012. Memory B cells in the lung participate in protective humoral immune responses to pulmonary influenza virus reinfection. Proc Natl Acad Sci U S A. 109(7): 2485-2490. d
13) Shimizu YK, Hijikata M, Oshima M, Shimizu K, Alter HJ, Purcell RH, Yoshikura H, Hotta H. 2013. Isolation of human monoclonal antibodies to the envelope e2 protein of hepatitis C virus and their characterization. PLoS One. 8(2):e55874.
14) Sugamata, R. H. Dobashi, T. Nagao, K. Yamamoto, N. Nakajima, Y. Sato, Y. Aratani, M. Oshima, T. Sata, K. Kobayashi, S. Kawachi, T. Nakayama, and K. Suzuki. 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.
15) Kurebayashi, Y., Nagai, S., Ikejiri, A., Ohtani, M., Ichiyama, K., Baba, Y., Yamada, T., Egami, S., Hoshii, T., Hirao, A., Matsuda, S., and Koyasu, S. 2012. PI3K-Akt-mTORC1-S6K1/2 axis controls Th17 differentiation by regulating Gfi1 expression and nuclear translocation of RORγ. Cell Reports 19: 360-373.
16) Kurebayashi, Y., Nagai, S., Ikejiri, A., and Koyasu, S. 2012. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells. Genes Cells 18: 247-265.
17) Kaji, T., Ishige, A., Hikida, M., Taka, J., Hijikata, A., Kubo, M., Nagashima, T., Takahashi, Y., Kurosaki, T., Okada, M., Ohara, O., Rajewsky, K., Takemori, T. 2012. Distinct cellular pathways select germ-line encoded and somatically mutated antibodies into immunological memory. J. Exp. Med., 209: 2079-2097.
18) Yanagibashi, T., Hosono, A., Oyama, A., Tsuda, M., Suzuki, A., Hachimura, S., Takahashi, Y., Morose, Y., Itoh, K., Hirayama, K., Takahashi, K., Kaminogawa, S. 2013. IgA production in the large intestine is modulated by a different mechanism than in the small intestine: *Bacteroides acidifaciens* promotes IgA production in the large intestine by inducing germinal center formation and increasing the number of IgA+ B cells. Immunobiol. 218: 645-651.
19) Knoll M, Yanagisawa Y, Simmons S, Engels N, Wienands J, Melchers F, 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.
20) Ohnishi K., Takahashi Y., Kono N., Noriko 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. and Tsunetsugu-Yokota Y. 2012. Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies. Jpn. J. Infect. Dis. 65: 19-27.
21) Ohtaka-Maruyama C, Hirai, S., Miwa, A., Heng, JI., Shitara, H., Ishii, R., Taya, C., Kawano, H., Kasai, M., Nakajima, K., and Okado, H. 2013. RP58 regulates the multipolar-bipolar transition of newborn neurons in the developing cerebral cortex. Cell Reports. 21: 458-471.
22) Ishida, R., Aoki, K., Nakahara, K., Fukuda, Y., Ohhori, M., Saito, Y., Kano, K., Matsuda, J., Asano, S., Maziarz, RT., and 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).
23) 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.
24) Niki, M., M. Niki, Y. Tateishi, Y. Ozeki, T. Kirikae, A. Lewin, Y. Inoue, M. Matsumoto, J. I. Dahl, H. Ogura, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2012. A novel mechanism underlying growth phase-dependent tolerance to isoniazid in mycobacteria. J. Biol. Chem.

287: 27743-27752.
25) Tamaru, A., C. Nakajima, T. Wada, M. Inoue, R. Kawahara, R. Maekura, Y. Ozeki, H. Ogura, K. Kobayashi, Y. Suzuki, and S. Matsumoto. 2012. Dominant incidence of multidrug and extensively drug-resistant specific *Mycobacterium tuberculosis* clones in Osaka prefecture, Japan. PLoS One 7: e42505.
26) Tateishi, Y., S. Kitada, K. Miki, R. Maekura, Y. Ogura, Y. Ozeki, Y. Nishiuchi, M. Niki, T. Hayashi, K. Hirata, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2012. Whole-genome sequence of the hypervirulent clinical strain *Mycobacterium intracellulare* M.i.198. J. Bacteriol. 194: 6336.
27) Osada-Oka, M., Y. Tateishi, Y. Hirayama, Y. Ozeki, M. Niki, S. Kitada, R. Maekura, K. Tsujimura, Y. Koide, N. Ohara, T. Yamamoto, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2013. Antigen 85A and mycobacterial DNA-binding protein 1 are targets of immunoglobulin G in individuals with past tuberculosis. Microbiol. Immunol. 57: 30-37.
28) Fukuda, T., T. Matsumura, M. Ato, M. Hamasaki, Y. Nishiuchi, Y. Murakami, Y. Maeda, T. Yoshimori, S. Matsumoto, K. Kobayashi, and Y. S. Morita. 2013. Critical roles for lipomannan and lipoarabinomannan in cell wall integrity of mycobacteria and pathogenesis of tuberculosis. mBio 4: e00472-00412.
29) Fujiwara, N., S. Porcelli, T. Naka, I. Yano, S. Maeda, H. Kuwata, S. Akira, S. Uematsu, T. Takii, H. Ogura, and K. Kobayashi. 2013. Bacterial sphingophospholipids containing non-hydroxy fatty acid activate murine macrophages via Toll-like receptor 4 and stimulate bacterial clearance. Biochim. Biophys. Acta 1831: 1177-1184.
30) Kasama, T., H. Furuya, R. Yanai, K. Ohtsuka, R. Takahashi, N. Yajima, Y. Miwa, and K. Kobayashi. 2012. Correlation of serum CX3CL1 level with disease activity in adult-onset Still's disease and significant involvement in hemophagocytic syndrome. Clin. Rheumatol. 31: 853-860.

2. 和文発表

1) 松村隆之、阿戸　学、小林和夫．2012．結核および非結核性抗酸菌感染症の診断．リウマチ科 47(4) 427-435.
2) 小林和夫、松村隆之、阿戸　学．2012．結核や非結核性抗酸菌感染症の動向と最近の話題．JBSA Newsletter 2(3) 6-10.
3) 松本壮吉、尾関百合子、小林和夫．2012．新しい結核ワクチン開発の展望．臨床と微生物　39：131-136.
4) 小林和夫、松村隆之、阿戸　学．2012．解説．結核や非結核性抗酸菌感染症の動向と最近の話題．JBSA Newsletter　2 (3)：6-10.
5) 池尻　藍、永井重徳、小安重夫. 2012. HIF-1αと低酸素がもたらすT細胞分化への影響、実験医学、羊土社、30 (8) 1264-1269
6) 池尻　藍、永井　重徳、小安　重夫. 2012. 低酸素環境下での Th17 細胞の分化、臨床免疫・アレルギー科、科学評論社、58 (6) 728-735.
7) 大西和夫．2012．免疫学・感染症の項目担当．「生物小事典（電子辞書化）」猪川倫好監修、三省堂編修所編、三省堂.
8) 小野寺大志、高橋宜聖、小林和夫. 2012. B 細胞内因性 TLR シグナルによる B 細胞応答の制御機構. 臨床アレルギー科、科学評論社、58(3) 275-282.
9) 小野寺大志．2013．Ca2+イオンは細胞膜脂質の荷電状態を調節する事により T 細胞抗原受容体の活性化を制御する．細胞工学、秀潤社、32 (3) 323.
10) 小野寺大志．2013．腸内細菌叢は CX3CR1hi 細胞による腸間膜リンパ節への細菌の移送を制限している．細胞工学、秀潤社、32 (4)448.

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Kasai, M., Ishida, R., Strominger, JL., and Asano, S. 2013. The role of Translin/TRAX complex in mesenchymal differentiation programs. AsiaCORD2013: New Perspectives in Mesenchymal Stem Cell Research （招待講演）（神戸、4 月）.
2) Matsumura, T., T. Ikebe, M. Ohnishi, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2012. The defensive role of interferon-γ-producing immature myeloid cells in severe invasive group A *Streptococcus* infections. IMMUNOLOGY 2012, 99th Annual Meeting The American Association of Immunologists （Boston、アメリカ合衆国、5 月）.
3) Ikeno, S., Terahara, K., Ishige, M., Suzuki, M., Mitsuki, Y-y, Morikawa, Y., Nakayama, T., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2012. Application of humanized mice for the evaluation of measles virus vector. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity （淡路、9 月）.
4) Tsunetsugu-Yokota, Y., Ishige, M. Ikeno, S., and Terahara, K. 2012. Humanized mice as an animal model for human-tropic virus infection, in Immunological Mechanisms of Vaccination, Keystone Symposium （Ottawa、カナダ、12 月）.
5) Onodera, T., Aiba, Y., Kurosaki, T., Kobayashi, K., Takahashi, Y.: B-cell intrinsic Toll-like receptor signaling accelerates memory B cell response to booster influenza vaccination. Keystone Symposia, B cell development and function （Keystone、アメリカ合衆国、2 月）.
6) Taishi Onodera, Yuichi Aiba, Tomohiro Kurosaki, Kazuo Kobayashi, Yoshimasa Takahashi.2013 B-cell intrinsic Toll-like receptor signaling accelerates memory B cell response to booster influenza vaccination. Keystone symposia(B cell development and function) (Keystone、 アメリカ合衆国、2 月）.
7) Tiwananthagorn S, Iwabuchi K, Ato M, Sakurai T, Kato H and Katakura K. 2013. CD4+ Foxp3+

Regulatory T Cells in Persistence of Leishmania donovani in the Liver of Immunocompromi Mice. JST-Crest International symposium Frontier in Immunology and Inflammation: From Molecules to Disease. （東京、2 月）.

8) Ato M. 2013. Toward understanding of pathophysiology of severe invasive bacterial infections. -From host immune evasion to disturbance of microcirculation- 2013. International Workshop on Biointerface and Biomedical Engineering （岡山、3 月）.

2. 国内学会

1) 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 sliding motility と非貪食細胞への取り込みの関連性. 第 82 回実験結核研究会 （広島、5 月）.
2) 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、2012．第 87 回日本結核病学会総会（広島、6 月）.
3) 松村隆之、池辺忠義、大西　真、渡邉治雄、小林和夫、阿戸　学．2012．劇症型 A 群レンサ球菌感染症における IFN-γ産生未成熟骨髄系細胞の役割. 第 6 回細菌学若手コロッセウム （東京、8 月）.
4) 池野翔太、寺原和孝、石毛真行、鈴木基臣、光木裕也、森川裕子、中山哲夫、横田恭子．2012．ヒト化マウスの麻疹ウイルスベクター評価系への応用．第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪、11 月）.
5) 岩田奈緒子、永田典代、鈴木忠樹、佐藤由子、横田恭子、西條政幸、森川茂、長谷川秀樹．2012．SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応発生機序について. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会（大阪、11 月）.
6) Takahashi, Y., Onodera, T., Tsuiji, M., Kobayashi, K. 2012. Increased affinity maturation in lung memory B cells following influenza virus infection. 第 41 回日本免疫学会総会 （神戸、12 月）.
7) Onodera, T., Kurosaki, T., Kobayashi, K., Takahashi, Y. 2012. B-cell intrinsic Toll-like receptor signaling accelerates memory B cell response to booster influenza vaccination. 第 41 回日本免疫学会総会（神戸、12 月）.
8) Sato, K., Takahashi, Y., Ato, M., Asanuma, H. 2012. Split influenza vaccines induce high levels of virus-specific antibodies at the booster immunization. 第 41 回日本免疫学会総会 （神戸、12 月）.
9) CHEN Fu, FUNAKOSHI Shuichi, SUN Lin, OHNISHI Kazuo. 2012. Detection and characterization of influenza virus vaccine-reactive B cells. （「インフルエンザウイルス・ワクチン特異的な B 細胞の検出と評価」）第 41 回日本免疫学会総会（神戸、12 月）.
10) FUNAKOSHI Shuichi, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2012. Regulation of Late Stages of B Cell Differentiation by BILL-cadherin/cadherin-17.（B 細胞後期分化過程の BILL-cadherin/cadherin-17 による調節）第 41 回日本免疫学会総会（神戸、12 月）.
11) 小野寺大志、饗庭祐一、黒崎知博、小林和夫、高橋宜聖．2012．B-cell intrinsic Toll-like receptor signaling accelerates memory B cell response to booster influenza vaccination. 第 41 回日本免疫学会総会（神戸、12 月）.
12) 岡部真裕子、大原直也、藤原永年、中　崇、阿戸学、小林和夫．2013．抗酸菌の sliding 能欠損株における細胞への取り込みの低下（PA-090）．日本細菌学会雑誌、68 : 147、2013．第 86 回日本細菌学会総会（千葉、3 月）.
13) 立石善隆、平山幸雄、尾関百合子、西内由紀子、仁木満美子、小椋義俊、林　哲也、小林和夫、松本壮吉．2013．高病原性非結核性抗酸菌臨床菌株のゲノムシーケンス（PB-208）. 日本細菌学会雑誌、68 : 176. 第 86 回日本細菌学会総会（千葉、3 月）.
14) 岡　真優子、立石善隆、平山幸雄、尾関百合子、小林和夫、松本壮吉．2013．潜在性結核患者の血清中での結核菌抗原に対するイムノグロブリン g（PB-358）．日本細菌学会雑誌、68 : 214．第 86 回日本細菌学会総会（千葉、3 月）.
15) 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．2013．ケニア共和国における学生の結核菌感染と hookworm 感染の関連（PA-380）．日本細菌学会雑誌、68 : 219. 第 86 回日本細菌学会総会（千葉、3 月）.
16) 鈴木道雄、中藤　学、度会雅久、木村昌伸、堀内基宏、長谷耕二、飛梅　実、阿戸　学、森川　茂、山田章雄、大野博司、今岡浩一．2013．Brucella abortus は腸管パイエル板からの侵入に M 細胞上のプリオン蛋白質(PrPc)を利用する. 第 155 回日本獣医学会学術集会（東京、3 月）.

9. 生物活性物質部

部長　宮崎 義継

概 要

当研究部は、真菌感染症の病原因子の解明と宿主免疫制御、ならびに、感染症制御薬やワクチン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。真菌症としては、*Cryptococcus gattii* によるemerging fungal infectionや、わが国では渡航者感染症としてみられるコクシジオイデス症やヒストプラスマ症、また移植医療等に関連し免疫不全宿主に発症するアスペルギルス症やカンジダ症などの深在性真菌症を主な研究対象としている。

各種真菌に関する病原因子解明に関する基盤研究、クリプトコックス属やアスペルギルス属の分子疫学や治療法に関する研究、疫学や臨床介入研究・病原体診断に関する調査研究を行った。宿主因子制御に関しては、病原体の認識分子や自然免疫機構の役割、ワクチン応用に関する研究を実施した。感染症制御薬に関しては、バイオインフォーマティクスを応用した新規薬剤の探索や薬剤耐性機構の研究、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用に基づく新規薬剤のシード探索、既存薬の新規薬効の応用等に関する研究を行った。

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・治療法開発と疫学研究

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検査業務、真菌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に多いアスペルギルス症やムーコル症に関して、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、新規あるいは既存薬の未知の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の病態研究やワクチンに関する基盤研究を行った。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、バイオインフォーマティクスを応用して、放線菌や真菌の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診断や分子疫学調査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・治療法開発と、疫学研究

1. 地域流行型真菌症の研究

（1） 国内分離 *Cryptococcus gattii* 株の分子疫学研究

H24 年度に新たに入手した、国内分離された *C. gattii 株*について、北米分離株や前年度までの国内分離との比較対照を目的にゲノム解析を行った。これまで分離された国内株、あるいは北米株の VGI～IV とは遺伝学的に異なるクラスターに分類可能な株であることが示され、日本国内で分離される株は独自に変異を獲得し土着している可能性が示された。

［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）、大楠清文（岐阜大）、川本進（千葉大真菌医学研究センター）、関塚剛史・黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

（2） 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

国内で分離・保存されているクリプトコックス属や臨床分離株で検査依頼のあった株についての血清型再同定を行った。現在まで 114 株解析を行い、昨年度以降 *C. neoformans* 以外では、*C. liquefaciens*1 株が同定された。また血清型 A 型の *C. neoformans* の薬剤感受性をみると、アゾール系、5-FC の各薬剤に対する感受性は良好であったが、幾何平均値では米国の報告と比較し amphotericin B の値が高値であった。

［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］

（3）*Cryptococcus gattii* 株の実験的病原性解析

C. gattii 株は JP01 株（VGIIa 型: 日本分離株）、JP02 株（VGIIc 型：日本分離株）、R265 株（VGIIa 型：北米分離株）、5815 株（VGI 型：日本分離株）、対照として *C. neoformans* H99 株を用いた。結果として、R265 株、JP02 株についてはクリプトコックス属の中でも比較的強い病原性を持つことが認められた一方、JP01 株は病原性の低い株であることが伺われた。また、*C. gattii* 株では病理組織学的に *C. neoformans* と異なり肺での炎症性反応に乏しく、とくに R265 株、JP02 株では解剖学的肺構造の著しい破壊像が特徴的と考えられた。さらに、この病原性には従来クリプトコックス属の病原因子とされるものとの相関が低いことが示された。

［大野秀明、山本修平（日本大）、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］

（4）*Cryptococcus neoformans* の潜伏感染診断系の検討

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。SST-REX 法を使用し、低酸素条件下で発現する膜・分泌蛋白として同定された CryN1 が、細胞外に分泌されることや細胞壁成分にも存在することが確認された。一方、CryN1 に対して 6 種類の抗体が得られ、これらを利用し CryN1 を標的とした ELISA 検出系を構築中である。

［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］

（5）日本国内で分離された *Cryptococcus neoformans* （var. *grubii*）の分子疫学解析

平成 23 年度までに解析した *C. neoformans* （var. *grubii*） 44 株の株の MLST による疫学的解析結果には含まれていなかった新たな MLST 型の日本由来の *C. neoformans* の報告を行った。

［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

(1) *Asperugillus fumigates* Y1 及び B11 蛋白質の性状解析

Y1 及び B11 遺伝子（3 種類のホモログが存在する）の蛋白質は、細胞から抽出した蛋白質でウエスタンブロットを行うと期待される分子量より大きい分子量にブロードに検出される。糖鎖修飾の可能性を検討するために、Tri-fluoro-methane-sulfonic acid (TFMS)による化学的な分解、NGaseF, O-glycosidase, Neuraminidase, N-glycosidase 等による酵素処理を行い糖鎖修飾について検討した。一部の蛋白質について糖鎖修飾について確認した。残りの不明な蛋白質については条件を変えて解析を進めている。

［山越 智、梅山 隆、橋本ゆき、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継］

(2) 免疫染色による *Asperugillus fumigates* B11 蛋白質の細胞局在についての解析

B11 蛋白質は、3 つのホモログ（B11a, B11b, B11c）からなり、生化学的解析により、分泌蛋白質であり細胞壁に存在することが判明している。免疫染色により、それを確認することを試みた。その結果、B11b では、細胞外マトリックスと考

えられるところに、ドット状のシグナルが確認できた。分泌後、その部分に集積する可能性が示唆された。他の蛋白質についても検討を続けている。

［山越　智、梅山　隆、橘本ゆき、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継］

(3) *Aspergillus fumigatus* の Mps1 プロテインキナーゼの研究

昨年までに Ku70 遺伝子欠損株 Afs35 から作製した、ATP アナログ 1NM-PP1 感受性となる変異株を使用した。この株に核小体マーカーNopA-mCherry を導入し、4D ライブイメージングを行うことによって、Mps1 のキナーゼ活性が正常な核分配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］

(4) *A. fumigatus* の Polo-like キナーゼの研究

A. fumigatus 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 Polo-like キナーゼ *PLK1* の遺伝子破壊株を作製した。さらに、*PLK1* 遺伝子およびピリチアミン耐性遺伝子を含む DNA 断片を選択マーカーとして使い、遺伝子相補株を作製した。遺伝子破壊株は、親株と比べて生育が 6 割程度に遅くなり、分生子形成効率が顕著に低下していることから、*PLK1* 遺伝子は生育と分化に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

［梅山　隆、山越　智、大野秀明、田辺公一、宮﨑義継］

(5) *A. fumigatus* の接着因子の候補の探索

Candida albicans の接着因子 Als3 の相同遺伝子 3 種類について、*A. fumigatus* 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 遺伝子破壊株・過剰発現株を作製した。いずれの遺伝子破壊株・過剰発現株も、生育・分化・肺胞上皮細胞への接着能に関して、親株と顕著な差が認められなかったことから、これら 3 種類の遺伝子は接着因子でないことが示唆された。

［石戸健一（日本大）、梅山　隆、山越　智、大野秀明、田辺公一、宮﨑義継］

(6) 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。本年度の検討では、十分な結果が得られなかったため、今後、条件の調整が必要である。

［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) *Candida* 属臨床分離株の疫学解析

国内の主要医療機関において侵襲性感染を引き起こした *Candida* 属、特に分離頻度の高い *C. albicans* を収集し、遺伝子型解析結果と感染症発生動向および薬剤感受性との関連を明らかにすることを目的とした。臨床分離株の解析の準備段階として、コロニーダイレクト PCR 法や塩基配列解析法について検討し、多数の臨床分離株の遺伝子解析を効率よく進めることを可能にした。

［田辺公一、中山靖子、名木　稔、山越　智、梅山　隆、大野秀明、宮﨑義継］

(2) 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た。抗真菌薬の種類により、バイオフィルムに対する動的な作用の違いが明らかになった。

［金子幸弘、宮川 進（株式会社アイカム）、宮﨑義継］

(3)　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

アゾール耐性に関与する細胞外ステロールの供給源が血清中に存在すると考え、*C. glabrata* の血清への応答を調べた。血清添加は、*AUS1* の発現を強力に誘導し、細胞外ステロール取り込みを誘導した。実際に細胞外ステロールの取り込みはステロール合成阻害剤による抗真菌作用を減弱させた。また、リポタンパク質を除去した血清は *AUS1* の発現を誘導したが、ステロール合成阻害剤の効果を減弱させなかった。以上の結果より、血清中のリポタンパク質が *C. glabrata* にとってステロール供給源となりうること、また血清中のリポタンパク質以外の何らかの因子が細胞外ステロール取り込みを活性化することを明らかにした。

［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、宮崎義継］

4. ヒストプラスマ症に関する国際共同研究

(1) タイ北部におけるヒストプラスマ症の調査

昨年度から続いてタイ・チェンマイ大学とチェンマイ地方におけるヒストプラスマ症の発生動向に関する調査を行った。結核症疑いで、喀痰塗抹法抗酸菌陰性の症例から得られ、臨床検査に供された喀痰などの臨床検体を対象に、ヒストプラスマ属を検出する PCR 法を行ったところ、約 1%の症例でヒストプラスマ属 PCR 法が陽性を示し、臨床的にもヒストプラスマ症と矛盾しないことがわかった。このように、結核疑い症例にヒストプラスマ症が含まれることが判明したことは、今後診療において両者を常に鑑別する必要性を示した。

［大野秀明、田辺公一、草地弘子、山越 智、梅山 隆、宮崎義継、Trepradab Norkaew、Pojana Sriburee（チェンマイ大）］

(2) タイにおけるヒストプラスマ症の感染源ならびにヒストプラスマ属生息状況調査

タイ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。タイ・チェンマイにおける遺伝子検出法を用いた検討から、ヒストプラスマ属はクリプトコックス属と同様、家禽類の糞で汚染された土壌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伺われた。

［大野秀明、田辺公一、草地弘子、山越 智、梅山 隆、宮崎義継、Trepradab Norkaew、Pojana Sriburee（チェンマイ大）、Natteewan Poonwan（タイ NIH）］

(3) 北部ベトナム地域におけるヒストプラスマ症の疫学

ハノイ市を中心とする北部ベトナムにおけるヒストプラスマ症の疫学研究、ヒストプラスマ属の環境中生息状況調査を行った。ハノイ市における医療機関で呼吸器感染症が疑われた症例を対象にしたヒストプラスマ症の疫学調査では、培養法からヒストプラスマ症の確定診断が得られた症例は現時点まで確認できなかったが、抗ヒストプラスマ抗体の陽性率は約 18%であった。また環境検体については約 120 検体を採取しヒストプラスマ属検出の検討に供した。今回の我々の結果から、ベトナムにおいてもヒストプラスマ属感染は稀な事象ではないことが推定され、ベトナムにおける本症に関する初めての疫学的情報の一端と考えられた。

［大野秀明、田辺公一、草地弘子、山越 智、梅山 隆、宮崎義継、Hoang Thi Thu Ha（ベトナム国立衛生疫学研究所）、Nguyen Van Tien（ハノイ・バクマイ病院）］

5. 侵襲性真菌症に関する多施設臨床研究

(1) 慢性肺アスペルギルス症を対象とした無作為化臨床試験

確立した治療法が無い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臨床試験を実施し、菌種同定と薬剤感受性試験も実施した。

［宮崎義継、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（川崎医大）、藤内 智（旭川医療センター）、泉川公一・河野 茂（長崎大）ほか］

(2) 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。本年度は、肝膿瘍由来の 1 件の真菌を同定した。

［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）、宮崎義継、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. カンジダ菌血症の経過に及ぼす細菌感染の影響

真菌・細菌共感染マウスモデルを用いて、共感染した細菌が真菌排除に及ぼす影響を解析した。マウスに *Candida albicans* の単独感染または腸管内常在菌の *Novosphingobium* 属細菌と共感染させたところ、共感染群では腎臓内の真菌数および炎症性サイトカイン産生の増加を認めた。その病態に

は、NKT 細胞などのリンパ球が産生する IFNγとよばれる蛋白が関与することが分かった。また、緑膿菌と *C. albicans* の共感染においても真菌感染の増悪を認めた。このことから、カンジダと細菌の重複感染では、細菌による自然免疫の活性化が真菌の排除に影響を及ぼすことが示唆された。

［樽本憲人、金城雄樹、北野尚樹、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］

2. 真菌感染免疫における LMIR3 の役割

免疫グロブリン様受容体 LMIR3 (leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor 3)は、細胞内ドメインに抑制型モチーフを有する抑制型受容体であるが、感染応答における機能は明らかでない。野生型マウスと LMIR3 欠損マウスを用いて、*Candida albicans* (*Ca*) に対する応答性を比較した。LMIR3 欠損マウスは、*Ca* の致死的感染において生存率が有意に高く、臓器内菌数も少ない傾向にあった。また、骨髄由来の CD11c 陽性樹状細胞を各種抗原で刺激し、IL-6 の産生性を比較したところ、LMIR3 が欠損した樹状細胞では、*Ca* の菌体やマンナン刺激では IL-6 の産生性は増加したが、LPS 刺激では IL-6 の産生性は有意に低下した。LMIR3 欠損マウスが感染抵抗性になる要因や *Ca* が LMIR3 を悪用して感染を有利に展開している可能性について検証を続けている。

［上野圭吾、金城雄樹、大川原 明子、北浦次郎・伊沢久未 (東京大学医科学研究所) 、宮﨑義継］

3. クリプトコックス属に対する免疫応答の研究

(1) *Cryptocccous gattii* に対する Th1 応答の解析

C. gattii (*Cg*)は、*C. neoformans* (*Cn*)に比べると感染時に Th1 応答を殆ど誘導しないことが本菌の高病原性をもたらす可能性がある。今年度は、*Cg* による Th1 応答を評価する *in vitro* の実験系を構築した。*Cg* または *Cn* を感染マウスから回収した脾臓細胞を *Cg* または *Cn* で再刺激し、培地上清中の IFN-γを評価した。どちらで免疫した場合も、*Cn* で再刺激すると IFN-γの産生を認めたのに対し、*Cg* で再刺激した場合はどちらの脾臓細胞からも IFN-γの産生を認めなかった。この結果は *Cg* の場合、*Cn* 刺激とは異なり、抗原特異的 T 細胞が何らかの要因で再誘導されなかったことを示唆している。T 細胞の誘導には抗原提示細胞のはたらきが必須であることから、今後 *Cg* が樹状細胞の活性化に及ぼす影響を解析する予定である。

［上野圭吾、大川原 明子、金子幸弘、金城 雄樹、宮﨑義継］

(2) 高病原性クリプトコックス症の免疫原性および病原性に関する研究.

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、金城雄樹、上野圭吾、大野秀明、宮﨑義継］

4. 糖脂質抗原による肺炎球菌ワクチン増強効果の解析

肺炎球菌は成人肺炎の最も頻度の高い起炎菌である。本研究では新規の肺炎球菌ワクチン開発を目指した基礎的検討を行った。マウスに肺炎球菌蛋白抗原と糖脂質抗原の新規併用ワクチンを接種することにより、蛋白抗原に対する IgG 抗体価が上昇し、肺炎球菌の排除が促進され、高い生存率をもたらした。併用ワクチン接種マウスでは、蛋白抗原に対する特異的な CD4T 細胞の誘導を示す結果を得た。そのことから、糖脂質抗原の併用による NKT 細胞の活性化により、CD4T 細胞の誘導が増強し、抗体産生を増強させることが示唆された。

［金城雄樹、井澤 由衣奈、大川原 明子、金子幸弘、上野圭吾、小川伸子、朴 貞玉（大阪大学微生物病研究所）、川上和義（東北大学）、竹山春子（早稲田大学理工学術院）、大石和徳（感染症情報センター）、宮﨑義継］

5. 肺炎球菌多糖ワクチン抗原認識機構の解析

現行の成人用肺炎球菌ワクチンは胸線非依存性抗原である多糖抗原であることから、メモリー細胞が誘導されず、ブースター効果が期待できない。その効果を増強する方法を模索するため、肺炎球菌多糖抗原ワクチンによる抗体産生機序の解析を行った。その結果、肺炎球菌多糖ワクチン

抗原の認識に Dectin-2 という分子が重要な役割を担うことを見出した。Dectin-2 を欠損したマウスでは、肺炎球菌多糖抗原ワクチンによる抗体産生の障害を認めたが、糖脂質抗原による NKT 細胞の活性化により抗体産生が回復した。そのことより NKT 細胞が抗体産生に影響を与える可能性が示唆された。

［金城雄樹、宮﨑義継、宮坂智充・川上和義（東北大学）］

6. 生体防御に関与するサイトカイン LECT2 の解析

LECT2 のレセプター候補 X 発現細胞株数種類および抗 X 蛋白質抗体を用い、フローサイトメトリーにより LECT2 結合の特異性の検討を行った。その結果、LECT2 が X 蛋白質と特異的に結合すること、さらにその結合がそれぞれの蛋白質の性質によると考えられる特徴を有することが示唆された。

［山越　智、橋本ゆき、梶川益紀（ACTGen 社）、梅山　隆、田辺公一、大野秀明、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

種々の放線菌や真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 2 株の放線菌のゲノムシークエンシングを行い、4 株の真菌ゲノムシークエンスの比較を行った。

［石川 淳、関塚剛史・黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

（2）生物活性物質生合成遺伝子探索ツールの開発

感染症治療薬のシードとなる生物活性物質の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て、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のウェブツール（2ndFind, http://biosyn.nih.go.jp/2ndfind/）の開発において、アミノグリコシド系抗生物質の生合成遺伝子の検出効率を向上させる改良を行った。

［石川 淳］

(3) キャンディン系抗真菌化合物の生合成遺伝子の解析

糸状菌の生産するキャンディン系抗真菌化合物の生合成を明らかにすることを目的とし、これまでに次世代シークエンサーを用いたゲノム解析・ゲノム情報を用いた生合成遺伝子の探索を行ってきた。本年度は、見出された酸化還元酵素をコードする遺伝子の破壊株を作製し、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、相補実験により生産性が回復した。これらの結果から、見出された遺伝子は、キャンディン系抗真菌化合物の生産に関与していることを明らかにした。

［星野泰隆、荒井裕太郎、石川　淳］

(4) キャンディン系抗真菌化合物の生合成遺伝子の改変による新規抗真菌物質の創製

キャンディン系抗真菌化合物の環状ペプチド鎖部分を構成するアミノ酸の部分構造を変異させるために、取り込まれるアミノ酸の生合成に関与すると予想される遺伝子の破壊株を用いて、環状ペプチド鎖部分の異なる新規キャンディン系化合物の生産を試みた。結果、遺伝子破壊株において、野生株では生産されていない化合物を生産していることが判明した。しかし、この培養菌体抽出物においては、抗真菌活性が認められなかった。今後、生合成経路の改変による新たな化合物の生産する方法を用いて、抗真菌活性を有する化合物生産を目指す。

［星野泰隆、荒井裕太郎、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の生産性とキャンディン系抗真菌化合物耐性の関係

臨床におけるキャンディン系抗真菌薬への耐性にはFKSIのアミノ酸配列の変異が関与すると報告されているが、キャンディン系抗真菌化合物生産株のFKSIにはそのような変異が存在しないことがゲノム解析から判明している。そこで、生産株の自己耐性機構の解明ならびに耐性の付与による生産性の向上を目的に、FKSIに耐性変異を導入し耐性化を試みた。その結果、キャンディン系抗真菌化合物（ミカファンギン、キャスポファンギン等）に対する耐性度が野生株と比較して向上した。キャンディン系抗真菌化合物の生産性に関しては、現在検討中である。

［星野泰隆、清野優花、石川　淳］

(2) LC-MS を用いたアミノグリコシドリン酸化酵素の活性測定法の開発

アミノグリコシドリン酸化酵素のカイネティクスアッセイを行うために、リン酸化物をHILICカラムを用いたHPLCで分離し、続いて MS によって定量検出する方法を開発した。反応生成物を直接定量する点が従来法とは異なる。

［滝野有花、星野泰隆、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（アッセイ系１）、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（アッセイ系２）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。今年度支援班より依頼された 88 サンプルのうち、アッセイ系１において何らかの阻害活性があると判定されたものは 29 サンプルあったが、アッセイ系２では陽性サンプルはなかった。

［福山まり、旦　慎吾・矢守隆夫（癌研）、深澤秀輔］

2. *Candida albicans* に対する併用療法に関する検討

FDA approved drug 640薬剤とFLCZの併用効果をin vitroで検討した。640薬剤のうち、相加・相乗的に作用する薬剤、拮抗的に作用する薬剤の構造活性相関についての知見が得られた。また、拮抗作用を示す薬剤のうち、シクロオキシゲナーゼ阻害剤の拮抗するメカニズムについて、排出ポンプとの関連性を見いだした。

［金子幸弘、深澤秀輔、大野秀明、梅山 隆、田辺公一、宮﨑義継］

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およびレチノイドX受容体のリガンド、レチノイドおよびレキシノイドは JFH-1 感染細胞で HCV 阻害作用を示したが、レプリコン細胞でもその RNA と NS5A 蛋白質を阻害した。このことにより HCV の RNA 複製を阻害することが示唆された。また、これらは HCV 持続感染細胞でも HCV RNA 阻害を示した。さらにインターフェロンと同時に作用させたところ併用効果があり、臨床応用への可能性が示唆された。

［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］

4. BET ファミリータンパク質に関する研究

bromodomain は、ヒストンテールのアセチル化リジンと相互作用する約 110 アミノ酸のモチーフである。BET ファミリータンパク質は２つの bromodomain と ET（extra-terminal）domain と呼ばれる領域を特徴とするクロマチン結合タンパク質群であり、ヒストンコードの読み取りを行うエピジェネティックス制御因子として、様々な遺伝子の発現制御に関わっている。BET ファミリーには bromodomain、ET domain 以外にも、機能不明の保存された領域がある。今回 BET ファミリーの２つの bromodomain 間に、12 アミノ酸からなる保存された配列があることを見いだし、その配列が BET ファミリータンパク質の核局在シグナルの一部であることを明らかにした。

［深澤秀輔］

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁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、真菌症に関するする相談業務などを行った。平成 24 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 37 件（菌株 35 株、臨床検体 28 検体）、ならびに行政検査 1 件の対応にあたった。これらの検査の結果、感染症法の対象となる真菌の分離、検出は認めなかったが、アスペルギルス症の原因

真菌として non *fumigatus* による感染症例が比較的多く認められた。

［大野秀明、中山靖子、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

収去検査による抗生物質医薬品の力価試験

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）においては、抗生物質医薬品 2 品目 40 ロット（メロペネム注射用 24 ロット、ミノサイクリン塩酸塩注射用 5 ロット、顆粒 2 ロット、錠剤 6 ロット、カプセル 3 ロット）について力価試験を担当し、日局各条収載の液体クロマトグラフィー法に準拠した定量法により行った。いずれの収去品も含有量は規格範囲内にあり、すべて「適合」と判定された。

［村上裕子、石川　淳、深澤秀輔、星野泰隆、金子幸弘、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 の協力のもと現地担当者と情報交換を行った。

［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） Miyasaka T, Aoyagi T, Uchiyama B, Oishi K, Nakayama T, Kinjo Y, Miyazaki Y, Kunishima H, Hirakata Y, Kaku M, Kawakami K. A possible relationship of natural killer T cells with humoral immune response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in clinical settings. Vaccine. 30:3304-3310, 2012.

2） Kimura M, Araoka H, Uchida N, Ohno H, Miyazaki Y, Fujii T, Nishida A, Izutsu K, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A. *Cunninghamella bertholletiae* pneumonia showing a reversed halo sign on chest computed tomography scan following cord blood transplantation. Med Mycol. 50:412-416, 2012.

3） Miyazaki H, Kobayashi R, Ishikawa H, Awano N, Yamagoe S, Miyazaki Y, Matsumoto T. Activation of COL1A2 promoter in human fibroblasts by Escherichia coli. FEMS Immunol Med Microbiol. 65:481-487, 2012.

4） Gyotoku H, Izumikawa K, Ikeda H, Takazono T, Morinaga Y, Nakamura S, Imamura Y, Nishino T, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Yasuoka A, Yaguchi T, Ohno H, Miyazaki Y, Kamei K, Kanda T, Kohno S. A case of bronchial aspergillosis caused by *Aspergillus udagawae* and its mycological features. Med Mycol. 50:631-636, 2012.

5） Fukazawa H, Suzuki T, Wakita T, Murakami Y. A cell-based, microplate colorimetric screen identifies 7,8-benzoflavone and green tea gallate catechins as inhibitors of the hepatitis C virus. Biol Pharm Bull. 35:1320-1327, 2012.

6） Nagao JI, Cho T, Uno J, Ueno K, Imayoshi R, Nakayama H, Chibana H, Kaminishi H. Candida albicans Msi3p, a homolog of the *Saccharomyces cerevisiae* Sse1p of the Hsp70 family, is involved in cell growth and fluconazole tolerance. FEMS Yeast Res. 12:728-737, 2012.

7） Iwamura C, Shinoda K, Endo Y, Watanabe Y, Tumes DJ, Motohashi S, Kawahara K, Kinjo Y, Nakayama T. Regulation of memory CD4T cell pool size and function by NKT cells in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A. 109:16992-16997, 2012.

8） Fukazawa H, Masumi A. The conserved 12-amino acid stretch in the inter-bromodomain region of BET family proteins functions as a nuclear localization signal. Biol Pharm Bull. 35:2064-2068, 2012.

9） Tarumoto N, Sujino K, Yamaguchi T, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y, Maesaki S. A first report of *Rothia aeria* endocarditis complicated by cerebral hemorrhage. Intern Med. 51:3295-3299, 2012.

10） Yamamura H, Ohnishi Y, Ishikawa J, Ichikawa N, Ikeda H, Sekine M, Harada T, Horinouchi S, Otoguro M, Tamura T, Suzuki K, Hoshino Y, Arisawa A, Nakagawa Y, Fujita N, Hayakawa M. Complete genome sequence of the motile actinomycete *Actinoplanes missouriensis* 431(T) (= NBRC 102363(T)). Stand Genomic Sci. 7:294-303, 2012.

11） Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life

cycle. Microbes Infect. 15:45-55, 2013.

12） Umeyama T, Ohno H, Minamoto F, Takagi T, Tanamachi C, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Kishi K, Fujii T, Takemura H, Watanabe H, Miyazaki Y. Determination of Epidemiology of Clinically Isolated *Cryptococcus neoformans* Strains in Japan by Multilocus Sequence Typing. Jpn J Infect Dis. 66:51-55, 2013.

13） Tanaka AR, Noguchi K, Fukazawa H, Igarashi Y, Arai H, Uehara Y. p38MAPK and Rho-dependent kinase are involved in anoikis induced by anicequol or 25-hydroxycholesterol in DLD-1 colon cancer cells. Biochem Biophys Res Commun. 430:1240-1245, 2013.

14） Zheng H, Miyakawa T, Sawano Y, Yamagoe S, Tanokura M. Expression, high-pressure refolding and purification of human leukocyte cell-derived chemotaxin 2 (LECT2).. Protein Expr Purif. 88:221-229, 2013.

15） Nagi M, Tanabe K, Nakayama H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y. Serum cholesterol promotes the growth of *Candida glabrata* in the presence of fluconazole. J Infect Chemother. 19:138-143, 2013.

16） Sugiura K, Sugiura N, Yagi T, Iguchi M, Ohno H, Miyazaki Y, Akiyama M. Cryptococcal cellulitis in a patient with bullous pemphigoid. Acta Derm Venereol. 93:187-188, 2013.

17） Okumura A, Suzuki T, Miyatake H, Okabe T, Hashimoto Y, Miyakawa T, Zheng H, Unoki-Kubota H, Ohno H, Dohmae N, Kaburagi Y, Miyazaki Y, Tanokura M, Yamagoe S. Leukocyte cell-derived chemotaxin 2 is a zinc-binding protein. FEBS Lett. 587:404-409, 2013.

18） Niimi K, Woods MA, Maki K, Nakayama H, Hatakenaka K, Chibana H, Ikeda F, Ueno K, Niimi M, Cannon RD, Monk BC. Reconstitution of high-level micafungin resistance detected in a clinical isolate of *Candida glabrata* identifies functional homozygosity in glucan synthase gene expression. J Antimicrob Chemother. 67:1666-1676, 2012.

19） Tarumoto N, Kinjo Y, Ueno K, Okawara A, Watarai H, Taniguchi M, Maesaki S, Miyazaki Y. A limited role for iNKT cells in controlling systemic *Candida albicans* infection. Jpn J Infect Dis. 65:522-526, 2012.

20） Kohno S, Izumikawa K, Yoshida M, Takesue Y, Oka S, Kamei K, Miyazaki Y, Yoshinari T, Kartsonis NA, Niki Y. A double-blind comparative study of the safetyand efficacy of caspofungin versus micafungin in the treatment of candidiasis and aspergillosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 32:387-397, 2013.

2. 和文発表

1） 金城雄樹. iNKT 細胞による細菌糖脂質の認識および肺炎球菌感染防御における重要性. 医学のあゆみ. 241:601-602, 2012.

2） 抗真菌薬臨床評価委員会. 日本化学療法学会抗真菌薬臨床評価委員会　指針. 日本化学療法学会雑誌. 60:348-353, 2012.

3） 宮﨑義継, 河野 茂. 特集：真菌と免疫・アレルギー 3. アスペルギルス属と免疫・アレルギー. アレルギーの臨床. 32:615-618, 2012.

4） 宮﨑義継, 金子幸弘, 梅山 隆, 田辺公一, 大野秀明. *Cryptococcus gattii* 感染症. 感染症. 42:172-175, 2012.

5） 宮﨑義継, 大野秀明. 特集 感染症医薬品開発の現況 真菌症に関する診断法の現状と展望. 最新医学. 67:2566-2571, 2012.

6） 金城雄樹. 肺におけるインバリアント NKT 細胞による糖脂質抗原認識と細菌感染防御. 実験医学. 30:152-157, 2012.

7） 宮﨑義継. 第20回呼吸器疾患・感染症研究会 わが国の深在性真菌症、特にクリプトコックス症. Progress in Medicine. 32:2737-2744, 2012.

8） 宮﨑義継. ＜特集＞真菌症 2012 年現在. 病原微生物検出情報. 34:1-2, 2013.

9） 大野秀明, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. ＜特集関連情報＞*Cryptococcus gattii* によるクリプトコックス症. 病原微生物検出情報. 34:4-5, 2013.

10） 金子幸弘, 宮﨑義継. 新薬の最近の話題 カスポファンギン. 分子呼吸器病. 17:107-110, 2013.

11） 上野圭吾, 松本靖彦, 関水和久, 金城雄樹, 知花博治. 腸管常在性真菌が腸管に定着する仕組みを探る -*Candida glabrata* の乳酸脱水素酵素 Cyb2 は腸管定着に

必要な因子-. 日本農芸化学学会会誌 化学と生物. 50:320-321, 2012.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1） Ohno H, Tanabe K, Kaneko Y, Umeyama T, Yamagoe S, Miyazaki Y. Nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

2） Umeyama T, Ohno H, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Multi-locus sequence typing epidemiology of *Cryptococcus neoformans* strains clinically isolated in Japan. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

3） Tanabe K, Ohno H, Umeyama T, Yamagoe S, Chibana H, Miyazaki Y. Genetic analysis of echinocandin-resistant *Candida glabrata* isolated in Japan. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

4） Niimi M, Tanabe K, Niimi K, Lamping E, Nagi M, Holmes AR, Keniya MV, Monk BC, Cannon RD. Milbemycins are broad-spectrum fungal multidrug efflux pump inhibitors that interact directly with the transmembrane domains of *Candida albicans* Cdr1p and Cdr2p. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

5） Murayama S, Yamada T, Makimura K, Hoshino Y, Ishikawa J, Kuroda M, Hirose D, Ogawa Y, Watanabe S. Electrophoretic karyotyping of *Trichophyton mentagrophytes* sensu lato. 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. June 11-15, 2012, Berlin, Germany.

6） Ishikawa J. 2ndFind: a Web-Based Support Tool to Find Secondary Metabolite Biosynthetic Gene Cluster. International Conference of Natural Products Biosynthesis. June 17-22, 2012, Awaji.

7） Kaneko Y, Miyagawa S, Takeda O, Hakariya M, Ohno H, Miyazaki Y. Fungicidal effectiveness against biofilms of *Candida albicans*. 6th ASM conference of biofilms. September 29October 4, 2012, Miami, USA.

8） Fukasawa M, Anai R, Shirasago Y, Saito K, Murakami Y, Fukazawa H, Suzuki T, Wakita T, Chiba T, Hanada K. Isolation and characterization of a mutant hepatitis C virus adapted to mouse CD81. 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 5-9, 2012, Venice, Italy.

2. 国内学会

1） 金子幸弘, 小畑陽子, 西野友哉, 掛屋 弘, 瀬藤光利, 宮﨑義継, 古巣 朗, 河野 茂. 質量顕微鏡による IgA 腎症モデルの病態解析. 第109回日本内科学会. 4月13-15日, 2012年, 京都.

2） 泉川公一, 三原 智, 森永芳智, 中村茂樹, 今村圭文, 宮崎泰可, 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. 長崎大学病院における *Cryptococcus* の Multilocus Sequence Typing を用いた分子疫学調査. 第52回日本呼吸器学会学術講演会. 4月20-22日, 2012年, 神戸.

3） 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. 新規抗真菌併用薬の探索. 第86回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月25-26日, 2012年, 長崎.

4） 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, 渋谷和俊, 亀井克彦, 宮﨑義継. 北米流行型 *Cryptococcus gattii* 株の病原性、病原因子の解析-国内臨床分離株を中心に-. 第86回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月25-26日, 2012年, 長崎.

5） 渋谷和俊, 大久保陽一郎, 大野秀明, 宮﨑義継, 田辺公一, 金子幸弘, 山越 智, 梅山 隆, 安藤常浩, 若山 恵. *Cryptococcus gattii* 感染症における病理組織学的解析. 第86回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月25-26日, 2012年, 長崎.

6） 名木 稔, 田辺公一, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. 病原真菌 *Candida glabrata* はユニークなステロールトランスポーターによりアゾール耐性となりうる. 第86回日本感染症学会総会・学術講演会. 4月25-26日,

2012 年, 長崎.

7) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. 侵襲性肺アスペルギルス症の主要原因菌 *Aspergillus fumigatus* による肺胞上皮細胞への接着と侵入. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 25-26 日, 2012 年, 長崎.

8) 山越 智, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* 分泌蛋白質 B-11 の病原性の解析とサンドイッチ ELISA 系の構築. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 25-26 日, 2012 年, 長崎.

9) 金城雄樹. Meet the Expert 4「自然リンパ球による感染防御～感染免疫における NKT 細胞の役割とワクチンへの応用の可能性～」. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 25-26 日, 2012 年, 長崎.

10) 樽本憲人, 金城雄樹, 大川原明子, 前﨑繁文, 渋谷和俊, 宮﨑義継. マウスモデルにおける自然免疫の活性化によるカンジダ症増悪の免疫学的解析. 第 86 回日本感染症学会総会・学術講演会. 4 月 25-26 日, 2012 年, 長崎.

11) 田辺公一, 大野秀明, 梅山 隆, 知花博治, 宮﨑義継. Candida 臨床分離株におけるミカファンギン感受性と FKS 遺伝子の解析. 第 60 回日本化学療法学会学術集会. 4 月 26-27 日, 2012 年, 長崎.

12) 右山洋平, 栁原克紀, 金子幸弘, 原田陽介, 山田康一, 長岡健太郎, 森永芳智, 宮崎泰可, 中村茂樹, 今村圭文, 泉川公一, 掛屋 弘, 山本善裕, 田代隆良, 上平 憲, 河野 茂. N-Acyl homoserine lactonase （AiiM）による緑膿菌の病原性制御. 第 60 回日本化学療法学会学術集会. 4 月 26-27 日, 2012 年, 長崎.

13) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* プロテインキナーゼの特異的阻害による病原性制御. 第 60 回日本化学療法学会学術集会. 4 月 26-27 日, 2012 年, 長崎.

14) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の肺胞上皮細胞への接着と侵入機構. 第 33 回関東医真菌懇話会学術集会. 5 月 26 日, 2012 年, 東京.

15) 金城雄樹, 樽本憲人, 笹井大督, 大川原明子, 上野圭吾, 井澤由衣奈, 篠崎 稔, 竹山春子, 前﨑繁文, 渋谷和俊, 宮﨑義継. NKT 細胞の活性化によるカンジダ症増悪機序の免疫学的解析～マウスモデルを用いた解析～. 第 33 回関東医真菌懇話会. 5 月 26 日, 2012 年, 東京.

16) 金子幸弘. 感染症総合管理 1a 「カビが起こす重篤な感染症」. 知の市場. 6 月 15 日, 2012 年, 東京.

17) 石川 淳. 二次代謝産物研究における次世代シークエンサーの利用. 平成 24 年度日本農芸化学会東北支部シンポジウム. 6 月 30 日, 2012 年, 秋田.

18) 樽本憲人, 金城雄樹, 笹井大督, 大川原明子, 上野圭吾, 井澤由衣奈, 篠崎 稔, 竹山春子, 前﨑繁文, 渋谷和俊, 宮﨑義継. NKT 細胞の活性化によるマウスカンジダ症増悪機序の解析. 第 23 回日本生体防御学会. 7 月 9-11 日, 2012 年, 東京.

19) 金城雄樹, 朴 貞玉, 大石和徳, 川上和義. 肺炎球菌感染防御における NKT 細胞の役割の解析及び NKT 細胞の活性化を応用した肺炎球菌ワクチン開発. 第 5 回感染病態研究フロンティア. 8 月 4 日, 2012 年.

20) 金子幸弘. シンポジウム 10 バイオフィルム研究をめぐる最近の潮流 （学際企画） 4) 真菌バイオフィルム. 第 61 回日本感染症学会東日本地方回学術集会/第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会/第 95 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 10-12 日, 2012 年, 東京.

21) 宮﨑義継, 荒岡秀樹, 梅山 隆, 田辺公一, 山越 智, 大野秀明. シンポジウム 2 症例から考える真菌症 :診断・治療の難しさ、感染症としての面白さ 4) 接合菌症を疑うときに何をするか. 第 61 回日本感染症学会東日本地方回学術集会/第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会/第 95 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 10-12 日, 2012 年, 東京.

22) 金城雄樹, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. カンジダ細胞壁マンナンの構造と炎症性サイトカイン誘導の関係. 第 61 回日本感染症学会東日本地方回学術集会/第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会/第 95 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 10-12 日, 2012 年, 東京.

23) 町田安孝, 福島康次, 三好祐顕, 吉田 敦, 奥住捷子, 亀井克彦, 宮﨑義継, 福田 健. 気管支鏡検査（TBLB および BAL）にて診断された肺コクシジオイデス症の一例.

第 61 回日本感染症学会東日本地方回学術集会/第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会/第95回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 10-12 日, 2012 年, 東京.

24) 田辺公一, 名木 稔, 梅山 隆, 金子幸弘, 山越 智, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida glabrata* の鉄欠乏における遺伝子発現調節. 第 61 回日本感染症学会東日本地方回学術集会/第 58 回日本化学療法学会東日本支部総会/第 95 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 10-12 日, 2012 年, 東京.

25) 星野泰隆, 石野敬子, 石川 淳. *Nocardia farcinica* のゲノム情報から見出したシデロフォア. 第 61 回日本感染症学会東日本地方回学術集会/第58回日本化学療法学会東日本支部総会/第 95 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 10-12 日, 2012 年, 東京.

26) 石野敬子, 渋谷健太, 星野泰隆, 井口光孝. 病原性放線菌ノカルジアの LtsA の宿主細胞応答への関与. 第 56 回日本薬学会関東支部大会. 10 月 13 日, 2012 年, 東京.

27) 宮﨑義継, 梅山 隆, 田辺公一, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明. 教育講演-4 肺真菌症をいかに診断するか. 第 49 回日本臨床生理学会総会. 10 月 18-19 日, 2012 年, 長崎.

28) 宮﨑義継. 侵襲性真菌症への対応について. 平成 24 年度医師卒後臨床研修. 10 月 23 日, 2012 年, 東京.

29) 田辺公一, 名木 稔, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. 病原真菌 *Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込み活性化機構. 第 41 回薬剤耐性菌研究会. 10 月 25-26 日, 2012 年, 下呂.

30) 宮﨑義継. 真菌症について. 平成 24 年度動物由来感染症対策技術研究会. 11 月 2 日, 2012 年, 東京.

31) 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. COX 阻害剤による *Candida albicans* の抗真菌薬感受性変化と排出ポンプ発現誘導. 第 56 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 10-11 日, 2012 年, 東京.

32) 木村雅友, 大野秀明, 梅山 隆, 宮﨑義継. アスペルギルスとクリプトコックスによる肺混合感染の 2 手術例. 第 56 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 10-11 日, 2012 年, 東京.

33) 大久保陽一郎, 大野秀明, 篠崎 稔, 宮﨑義継, 根本哲生, 若山 恵, 栃木直文, 笹井大督, 石渡誉郎, 中山晴雄, 下平佳代子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 職玉珠, 北原加奈子, 山本慶郎, 渋谷和俊. マウス肺クリプトコッカス症モデルを用いた感染防御ならびに構築変換の解析. 第56回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 10-11 日, 2012 年, 東京.

34) 田辺公一, 梅山 隆, 金子幸弘, 山越 智, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida glabrata* の生体内における病原因子; 鉄欠乏における遺伝子発現調節. 第 56 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 10-11 日, 2012 年, 東京.

35) 山越 智, 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 橋本ゆき, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の細胞壁、分泌蛋白質 B-11 の機能解析. 第 56 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 10-11 日, 2012 年, 東京.

36) 石川 淳. 次世代シークエンサーによる「とりあえずゲノム」解析のすすめ. 第 56 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 10-11 日, 2012 年, 東京.

37) 白砂圭崇, 齋藤恭子, 村上裕子, 深澤秀輔, 鈴木哲郎, 脇田隆字, 花田賢太郎, 千葉 丈, 安部 良, 深澤征義. 高感染能を有する HCV JFH-1 適応変異株の性状解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 11 月 13-15 日, 2012 年.

38) 宮坂智充, 青柳哲史, 内山美寧, 國島広之, 賀来満夫, 石井恵子, 中山俊憲, 植村靖史, 大石和徳, 金城雄樹, 宮﨑義継, 川上和義. 23 価肺炎球菌ワクチン接種後の抗体産生における NKT 細胞の役割に関する臨床免疫学的検討. 第16回日本ワクチン学会学術集会. 11 月 17-18 日, 2012 年, 横浜.

39) 宮坂智充, 外山真彦, 赤堀ゆきこ, 石井恵子, 金城雄樹, 宮﨑義継, 中山俊憲, 岩倉洋一郎, 西城 忍, 大石和徳, 川上和義. 23 価肺炎球菌多糖体ワクチンによる血清型特異的 IgG 産生における NKT 細胞と Dectin-2 の役割. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会. 11 月 17-18 日, 2012 年, 横浜.

40) Norihito Tarumoto, Keigo Ueno, Akiko Okawara, Yuki Kinjo. A limited role for iNKT cells in controlling systemic *Candida albicans* infection. 第 41 回日本免疫学会学術集会. 12 月 5-7 日, 2012 年, 神戸.

41） 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」. 文部科学省科学研究費補助金「新学術領域研究」 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 4 回公開シンポジウム. 12 月 7-8 日, 2012 年, 東京.

42） 田辺公一, 名木 稔, 中山浩伸, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. 病原真菌 *Candida glabrata* における細胞外ステロール取り込み. 第 35 回日本分子生物学会年会. 12 月 11-14 日, 2012 年, 福岡.

43） 上野圭吾, 金城雄樹, 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, 宮﨑義継. サイトカイン産生誘導における *Candida albicans* マンナン抗原の作用・β-1,2-マンノシドがもたらす抑制的作用について. 真菌症フォーラム 第 14 回学術集会. 2 月 16 日, 2013 年, 東京.

44） 右山洋平, 栁原克紀, 金子幸弘, 賀来敬仁, 原田陽介, 山田康一, 長岡健太郎, 森永芳智, 宮崎泰可, 中村茂樹, 今村圭文, 泉川公一, 掛屋 弘, 田代隆良, 河野 茂. マウス緑膿菌性肺炎モデルにおける N-アシルホモセリンラクトナーゼ aiiM の効果. 第 47 回緑膿菌感染症研究会. 2 月 22-23 日, 2013 年, 札幌.

45） 大野秀明, 宮﨑義継. 真菌感染症について. 平成 24 年度希少感染症診断技術研修会. 2 月 27 日, 2013 年, 東京.

46） 大野秀明.真菌感染症制御のポイント（Meet the expert4）. 第 28 回日本環境感染学会総会.3 月 1-2 日,2013 年,横浜

47） 田辺公一. 抗真菌薬耐性機構と対策. 第 86 回日本細菌学会総会. 3 月 18-20 日, 2013 年, 幕張.

48） 石川 淳. De novo アセンブリーの最適化と二次代謝生合成遺伝子発見ツールの開発. 第 86 回日本細菌学会総会. 3 月 18-20 日, 2013 年, 幕張.

49） 湯川清孝, 森 梢, 金子幸弘, 高木瑛実子, 秦田勇二. 酸性バチルス溶菌酵素の探索. 日本農芸化学 2013 年度大会. 3 月 24-28 日, 2013 年, 仙台.

50） 友常久実子, 土田美帆, 春日 和, 小林正之, 上松 仁, 池田治生, 石川 淳, 小嶋郁夫. セルラーゼ分泌性 *Streptomyces* 属放線菌からのセルラーゼ遺伝子群の単離・解析および異種放線菌と大腸菌における発現. 日本農芸化学会 2013 年度大会. 3 月 24-28 日, 2013 年, 仙台.

51） 片岡憂祐, 曹 志生, , 石川 淳, 木梨陽康, 荒川賢治. 放線菌 *Streptomyces rochei* の PQQ 破壊株が生産する抗カビ化合物ペンタマイシンの解析. 日本農芸化学会 2013 年度大会. 3 月 24-28 日, 2013 年, 仙台.

52） 佐藤圭創, 大門美保, 簗島謙太郎, 尾仲宏康, 石川 淳, 大利 徹. ペプチド系抗生物質、ボトロマイシン生合成機構の解明. 日本農芸化学会 2013 年度大会. 3 月 24-28 日, 2013 年, 仙台.

53） 野池基義, 雄谷洸一, 佐藤圭創, 丸山千登勢, 濱野吉十, 石川 淳, 大利 徹. ペプチド系抗生物質、フェガノマイシン生合成機構の解明. 日本農芸化学会 2013 年度大会. 3 月 24-28 日, 2013 年, 仙台.

54） 深澤秀輔, 益見厚子. BET ファミリータンパク質の局在と機能に関与する領域の解析. 日本薬学会第 133 年会. 3 月 27-30 日, 2013 年, 横浜.

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、病原体の感染において重要な役割を担っている生体膜に関連する研究には力を入れており、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。主に生化学、細胞生物学および遺伝学的な手法を駆使して研究を推進している。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、昨年度に引き続いて非定型 BSE（L-BSE）プリオンと定型 BSE（C-BSE）プリオンの感染性の違いをマウスおよびカニクイザルを用いた感染実験から比較検討し、両者の違いを明らかにした。また、プリオンタンパク質に存在する二か所の糖鎖付加部位間で一糖鎖型プリオンにおける付加部位優先性があるのか否かを決定する解析を始めた。

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､HCV 感染に必須な細胞受容体の一つである Claudin-1 の細胞外ドメインに対する抗体をさまざまな試行錯誤を経て作製することに成功した。また、HCV 産生を阻害する物質をコーヒー抽出成分から見出した。一方で、昨年度に見出したヒトパピローマウイルス（HPV）エピソーム検出法の改良を行った。さまざまな病原体感染と関連の深い宿主細胞膜脂質であるスフィンゴ脂質の研究についても、最近急速に注目を集めているオルガネラ膜接触部位の観点からの新たな進展があった。

当部では、哺乳動物培養細胞を用いた研究に遺伝生化学的手法を積極的に取り入れている。本年度は昨年度に引き続いて、人工ヌクレアーゼを利用したゲノム編集技術の導入と改良に取り組み、ヒト培養細胞のゲノム遺伝子を効率的に破壊する条件を見出し、核型染色体が疑似三倍体である HeLa 細胞において複数の目的遺伝子を破壊した変異細胞株を作製することに成功した。また、病原体の感受性に関わる宿主遺伝子を広範に見出す実験系の開発を目指して、レンチウイルスベクターshRNA ライブラリーを利用した発現抑制により志賀毒素耐性を与える遺伝子群の効率的同定システムを構築することにも成功しつつある。

TSE 行政検査の全国的な精度管理を行うために、試験標準品の調製と配送および試験結果の取りまとめと解析を行い、厚労本省へ報告した。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。世界保健機構（WHO）を通じたワクチンの国際的な品質規制支援活動も行った。

業　績

調査・研究

I. プリオン病に関する研究

（１）ヒト神経細胞株を用いた従来型ウシ海綿状脳症（C-BSE）および非定型 BSE（L-BSE）プリオンの研究

これまでに C-BSE とともに L-BSE プリオンがヒト培養神経芽腫細胞への感染性を有することを明らかにしており、ヒト・プリオン病モデルの樹立を目指す。これら感染細胞において、感染成立直後の異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）の糖鎖型は BSE 罹患ウシの脳組織に検出される C-ならびに L-BSE プリオンに類似していた。一方、継代を重ねた細胞では糖鎖型パターンが変化する兆候が観察された。しかし、詳細な検討には持続感染細胞株等のより安定した解析系の確立が必要であり、現在引き続き検討中である。［中村優子、萩原健一］

（２）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

L-BSE プリオンがヒトへ感染した例は見出されていないが、カニクイザルへの脳内接種実験の結果やヒト培養神経芽腫細胞を用いた研究から、L-BSE プリオンがヒトへ感染する可能性は否定できない。ヒトが経口的に L-BSE プリオンを摂取した場合の感染リスクの評価、ならびに経口感染したサルのプリオンの体内分布や病理・生化学的特徴を調べ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）へ経口投与した。約 16 ヶ月経過し､神経症状等は未だ呈していない。

［萩原健一；柴田宏昭（医薬基盤研）；大藤圭子、小野文子（予防衛生協会)］

（３）カニクイザルへ伝播後の L-BSE プリオンに関する研究

カニクイザルや神経芽腫細胞を用いた研究からヒトが L-BSE プリオンに感染する可能性が考えられているが、ヒトへの感染・伝播後を想定したプリオンの病原性等については未だ研究が進んでいない。そこで、先の研究で得た C-BSE プリオンを伝播させたカニクイザル（=変異型クロイツフェルト･ヤコブ病のモデル)ならびに L-BSE プリオンを伝播させたカニクイザルについて、サル脳に蓄積したプリオンを近交系マウスへ接種し、病原性の特性などの比較解析を開始した。［萩原健一；佐藤由子（感染病理部）；小野文子（予防衛生協会）；柴田宏昭（医薬基盤研)］

（４）プリオン蛋白質（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。一糖鎖型は､「2 ヶ所の糖鎖付加部位のどちらか一方に糖鎖が付加した」と多くの文献に記されているが、どちらの部位にどのような割合で糖鎖が付加しているのかについて詳細な解析は無い。そこで､酵素消化によって断片化した PrP の電気泳動パターンから一糖鎖型 PrP^{Sc} の糖鎖付加部位を帰属する方法を新たに考案した。本年度は、糖鎖付加部位を人為的に改変したリコンビナント PrP を昆虫細胞で発現させ、この分析法が有効であることを示した。今後、PrP^{Sc} の分析へ適用する。［萩原健一］

II. C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

（１）Claudin-1 の細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体の作製

これまでに Claudin-1 欠損肝細胞変異株の分離を通じて、C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に Claudin-1 が必須の因子であることを遺伝学的に示してきた。このことから Claudin-1 が抗 HCV 創薬の標的になり得る可能性を考え､Claudin-1 の細胞外ドメインに対する抗体の作製を各種試みてきた。今回、DNA 免疫法、そして、樹立した Claudin-1 欠損肝細胞変異株をスクリーニング系に用いることで､4 種のマウス抗ヒト Claudin-1 モノクローナル抗体の樹立に成功した。［深澤征義、花田賢太郎；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬)］

（２）C 型肝炎ウイルス感染におけるコリントランスポーターの重要性

これまでに培養細胞を用いた 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てきている。本メカニズムを解析するために、今回、各種コリントランスポーターの関与を検討した結果、CTL1 を介した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示された。［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。特にウイルスの侵入に関わる宿主因子について解析した結果、野生型ウイルスである JFH1 株では SRBI に依存性を示すのに対し、K74T あるいは I414T 単独変異ウイルスおよび K74T/I414T 変異ウイルスでは SRBI 依存性が見られなかった。以上の検討より、K74T、I414T 変異を有するウイルスでは､HCV 感染時に受容体依存性の制限が低下しており、そのことが感染能の上昇に一部寄与している可能性が考えられた。［深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；村上裕子、深澤秀輔（生物活性物質部）；脇田隆字（ウイルス２部）；鈴木哲朗（浜松医大)］

（４）NS4B 蛋白質の細胞内分布の解析

HCV の RNA 複製に関与する生体膜の生化学的特徴を明らかにするため、RNA 複製複合体形成の足場となる HCV の NS4B 蛋白質の細胞内分布を解析した。NS4B 蛋白質を恒常的に発現するヒト培養肝細胞を分画したところ、同蛋白質は粗ミトコンドリア画分に濃縮された。現在、さらに分画を進めている。［齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎］

（５）液体クロマトグラフィー・質量分析法（LC/MS）によるステロール定量系の確立

HCV 複製に関与する生体膜等の脂質組成を明らかにするため､LC/MS による主要脂質定量系の確立を目指している。島津製作所の液体クロマトグラフと AB sciex 社の質量分析計 3200QTRAP を用い、主要ステロールを分離・同定する条件を見出した。［齊藤恭子、花田賢太郎］

（６）コーヒー抽出成分の HCV 産生における影響

大規模コホート研究から、コーヒー摂取群と非摂取群では有意にコーヒー摂取群のほうが肝がん発症率の低いことが報告されている。日本においては特に C 型肝炎がウイルス性肝炎の主因である。そこで、コーヒー抽出成分において HCV 産生に影響を与えるかどうかを培養細胞への HCV 感染実験系をもちいて検討し、HCV 産生を阻害するコーヒー抽出成分を見出した。［谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス２部)］

（７）HCV 粒子産生における mTOR キナーゼの関与

肝移植後の HCV 感染・増殖は潜在的に重要な問題であるので、C 型肝炎ウイルス増殖への免疫抑制剤の影響を検討した。免疫抑制剤であるラパマイシンは mTORC1 を阻害し、オートファジーを誘導する。培養細胞への HCV 感染実験系を用いて、ラパマイシンによる HCV 産生における効果について調べたところ、治療時の血中ドース濃度に相当する濃度のラパマイシンを添加すると、HCV 産生に顕著な影響が認められた。この効果は FK506 では全く認められなかった。［谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス２部)］

（８）HCV 感染培養細胞に適した発現ベクター系の検討

HCV 感染培養細胞においては、HCV 感染により細胞内での CMV プロモーターの活性が抑制される。そのため一過的発現には HCV 感染細胞では CMV プロモーターを用いた発現ベクターはあまり有効ではない。そこで、HCV 感染培養細胞に適した一過的発現系を検討し、HCV 感染培養細胞により適したプロモーターを見出した。［谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス２部)］

III. 感染症に関わる宿主細胞因子の遺伝学的研究

（１）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

志賀毒素はスフィンゴ糖脂質 Gb3 を受容体として細胞内に侵入し、最終的に細胞死を引き起こす。本年度は新たに導入したレンチウイルス shRNA ライブラリーを用いて、発現抑制で志賀毒素に耐性を示す遺伝子の探索を行った。ライブラリーを HeLa 細胞に導入した後、志賀毒素に対し耐性を示す細胞群を回収した。ゲノム DNA に挿入されている配列を次世代シークエンサーで網羅的に解読したところ、最終的におよそ 90 の遺伝子を候補として絞ることが出来た。今後それぞれの遺伝子に対して、二次スクリーニングを行う予定である。［山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、竹内史比古、黒田誠（病原体ゲノム解析センター)］

（２）培養細胞における遺伝子ノックアウト法の構築

近年人工ヌクレアーゼを利用したゲノム編集技術の開発により、様々な生物や細胞に対して標的遺伝子の改変が可能となった。本年度は人工ヌクレアーゼの１種 TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) 法を導入し、モデルケースとして培養細胞におけるスフィンゴ脂質関連遺伝子群の遺伝子破壊を試みた。ゲノム編集の効率を増加させた結果、HeLa 細胞においても、セラミド輸送タンパク CERT をはじめ、種々の糖脂質関連遺伝子を破壊することに成功した。今後感染症対策に有用な細胞株を樹立する際のテクノロジーとして、大きく貢献するものと考えている。［山地俊之、花田賢太郎］

IV. スフィンゴ脂質に関する研究

（１）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。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きた。本年度は、この現象について、疑似的リン酸化によらない方法を用いて検証を行った。また、この部位に変異を入れた CERT は細胞内に斑点上の構造物を形成することが明らかになり、この構造物についての特性解析を行った。［熊谷圭悟、花田賢太郎］

（２）CERT と IncD の相互作用に関する研究

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 が重要な役割を果たしている。CERT は C. trachomatis 由来の IncD タンパク質の作用によって寄生胞へと局在化することが報告されているが、当部においても CERT と IncD の相互作用を免疫沈降実験によって確認した。脂質輸送と C. trachomatis の増殖との関連性に関する研究を更に推進するために、ウイルス１部の安藤室長の指導のもとに C. trachomatis を細胞に感染・増殖させたのち、これを保存する技術を導入した。［熊谷圭悟、花田賢太郎；安藤秀二（ウイルス１部)］

（３）スフィンゴミエリンと CERT との共進化に関する考察

ゲノミクスやメタボロミクスの発展により、スフィンゴ脂質の生物分布や代謝経路の解明がこの 10 年間に大きく進展したが、これらの知見を統合して生命進化の観点からスフィンゴ脂質を議論する試みはほとんどされていなかった。脂質進化に関する国際シンポジウムが理化学研究所で開催されたことを機会とし、スフィンゴミエリンの構造や代謝酵素および CERT が生物進化上に出現した時期を文献調査や遺伝子系統樹解析によって考察してスフィンゴミエリンと CERT との共進化を提唱した。［花田賢太郎］

V. オートファジーに関わる研究

（１）ホスホリパーゼ C 関連タンパク質 PRIP とオートファジーの関与

ホスホリパーゼ C 関連タンパク質 PRIP がオートフジー関連タンパク質 LC3 および GABARAP と相互作用することを発見し、細胞内でも PRIP と LC3 は共局在した。PRIP ノックアウトマウス線維芽細胞においては、オートファゴソームのマーカーである GFP-LC3 のドット形成が亢進していた。このことは PRIP がオートファゴソーム形成の抑制的制御因子であることを示唆している。［谷田以誠；梅林久範、溝上顕子、松田美穂、竹内弘、平田雅人（九大）、原田佳枝、兼松隆（広大）］

（２）神経細胞における GABARAP と LC3 の局在部位の違い

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、飢餓誘導オートファジーにおいて GFP-LC3 がドット形成をするとの報告がある臓器（肝臓、心臓等）において、GFP-GABARAP は飢餓条件下でドット形成の亢進がほとんど認められなかった。このことは個体レベルにおいて GABARAP は飢餓誘導オートファジーに関与する可能性が低いことを示している。GABARAP は神経細胞の GABA 受容体と相互作用することから、神経細胞における細胞内局在を調べたところ、神経細胞内に LC3 が局在せず、GABARAP が優先的に蓄積している領域があることを発見した。［谷田以誠；小池正人、七尾友久、上野隆、木南英紀、内山安男（順天堂大）］

VI. 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

癌抑制因子 p53 の活性化を制御する核小体タンパク質 PICT1 の核小体ストレスに応答した分解が、ユビキチン化非依存性プロテアソーム依存性に進行することを明らかにした。また PICT1 の C 末端約 100 アミノ酸からなる領域がこのストレス誘導性分解に必要なことを見いだした。［前濱朝彦、花田賢太郎；鈴木聡（九州大）］

VII. 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

前年度の研究で新たに開発した Long-Inverse PCR による HPV16 エピソームの検出法に関して、DNA exonuclease V による前処理等を組み合わせることによって、宿主細胞ゲノムにインテグレートした HPV16 ゲノムを分解し、エピソーム DNA に対する選択性を向上させた改良法を開発した。［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）］

レファレンス業務

Ⅰ．伝達性海綿状脳症（TSE）検査

（１）TSE スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーピー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した（H24 年 8 月～H25 年 3 月。33 機関について実施）。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。［萩原健一、中村優子、花田賢太郎；飛梅実、長谷川秀樹（感染病理部）］

（２）TSE 行政検査（ウエスタンブロット法による確認検査）業務の担当

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分析を行った（H24 年 10 月、H25 年 3 月）。検査手技レベルと検査試薬等が適正に管理されていることを確認し、データを厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課へ報告した。［萩原健一、中村優子］

品質管理に関する業務

Ⅰ．検定検査業務における内部監査の強化と効率化

平成 23 年 12 月に WHO が実施した我が国のワクチン規制当局に対する調査で、国家検定試験に対する内部監査を強化することが推奨された。また、平成 24 年（西暦 2012 年）3 月に日本が加盟申請した PIC/S 査察に対応するには、ワクチンだけでなく他の医薬の収去試験機能の強化も急務となった。検定検査業務に対する内部監査の強化と効率化という当所の要請にこたえるべく、検定検査業務評価委員会は、「室長や主任研究官も監査員となる内部監査員制度」を新たに設置するとともに、「検定検査業務自己点検表」や「内部監査に関する各種規定書・手順書」の大幅な改訂を行い、新制度での内部監査を実施した。細胞化学部長は本委員会の委員長としてこれら業務の中心的な役割を担った。［花田賢太郎：検定検査業務評価委員会、検定検査内部監査員、検定検査品質保証室、総務部業務管理課］

国際協力関係業務

Ⅰ．WHO 関連業務

（１）WHO 西太平洋領域（WPR）ワクチン規制強化のための領域連携

2012 年 5 月 31 日から 6 月 1 日のあいだオーストラリア国キャンベラ市において開催された WHO 主催の WPR ワクチン規制当局の領域連携について公式文書化する特別委員会の非公式会議（Informal Meeting of the Taskforce for Formulating the Regional Alliance for NRAs in the Western Pacific）に厚労省本省の担当者とともに参加し、今後の方針を検討した。また、本件に関する所内対応にも参画した。［花田賢太郎］

（２）ワクチンの安定性評価について

2013 年 1 月 28 日から 2 月 2 日のあいだタイ国バンコク市において開催された WHO 主催の生物製剤国際カンファレンス（International Conference on Biological Products: Advances in Vaccines and Biotherapeutic Products）およびワクチン安定性評価に関する第 3 回 WHO 実施ワークショップ（3rd WHO Implementation Workshop on Stability Evaluation of Vaccines）に参加し、討議に加わった。［花田賢太郎］

国際的ガイドラインの策定

Ⅰ．WHO 関連文書の策定

WHO 主催の Informal Meeting of the Taskforce for Formulating the Regional Alliance for NRAs in the Western Pacific に参加し、会議初日の座長を務め、concept paper 原稿の大幅改訂を行った。［花田賢太郎］

研修業務

（１）国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラムの講師

‘プリオン病について’2012.10.22［萩原健一］

‘クラミジア・トラコマチス　先進国における STD の主要病原体’2012.10.22［花田賢太郎］

（２）新規者向け検定・検査教育講習会の講師

‘公的試験機関の品質マネジメントシステムについて’2012.5.10［花田賢太郎］

（３）感染研・平成 24 年度第 1 回学友会 Brown Bag Meeting 講師

‘脂質学メッセンジャーとセラミド輸送タンパク質 CERT’2012.5.24［花田賢太郎］

その他

（１）（独）医薬品医療機器総合機構　平成 24 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］

（２）厚生労働省医薬食品局食品安全部　牛海綿状脳症の検査に係る専門家会議委員［萩原健一］

（３）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、所内研究者（戸山・村山）が利用した。［萩原健一、桶本和男、花田賢太郎］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Hagiwara, K., Hara, H., Hanada, K.: Species-barrier phenomenon in prion transmissibility from a viewpoint of protein science. (Review)　J. Biochem. 153, 139-145, 2013

2) Matsuura, Y., Ishikawa, Y., Somerville, R.A., Yokoyama, T., Hagiwara, K., Yamakawa, Y., Sata, T., Kitamoto, T., Mohri, S.: A rapid bioassay for classical and L-type bovine spongiform encephalopathies. Open J. Vet. Med. 3, 79-85, 2013

3) Gu, C., Banasavadi-Siddegowda, Y.K., Joshi, K., Nakamura, Y., Kurt, H., Gupta, S., Nakano, I.: Tumor-specific activation of the C-JUN/MELK pathway regulates glioma stem cell growth in a p53-dependent manner. Stem Cells 31, 870-881, 2013

4) 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. 188, 4690-4700, 2012

5) Sugiki, T., Takeuchi, K., Yamaji, T., Takano, T., Tokunaga, Y., Kumagai, K., Hanada, K., Takahashi, H., Shimada, I.: Structural basis for the Golgi association by the pleckstrin

homology domain of the ceramide trafficking protein (CERT). J. Biol. Chem. 287, 33706-33718, 2012

6) Hullin-Matsuda, F, Tomishige, N., Sakai, S., Ishitsuka, R., Ishii, K., Makino, A., Greimel, P., Abe, M., Laviad, E. L., Lagarde, M., Vidal, H., Saito, T., Osada, H., Hanada, K., Futerman, A. H., Kobayashi, T.: Limonoid compounds inhibit sphingomyelin biosynthesis by preventing CERT protein-dependent extraction of ceramides from the endoplasmic reticulum. J. Biol. Chem. 287, 24397-24411, 2012

7) Pratt, S., Wansadhipathi-Kannangara, N. K., Bruce, C. R., Mina, J. G., Shams-Eldin, H., Casas, J., Hanada, K., Schwarz, R. T., Sonda, S., Denny, P. W.: Sphingolipid synthesis and scavenging in the intracellular apicomplexan parasite, Toxoplasma gondii. Mol. Biochem. Parasitol. 187, 43-51, 2013

8) Murakami, Y., Fukasawa, M., Kaneko, Y., Suzuki, T., Wakita, T. and Fukazawa, H.: Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus lifecycle. Microbes and Infection 15, 45-55, 2013

9) Suzuki, A., Kogo, R., Kawahara, K., Sasaki, M., Nishio, M., Maehama, T., Sasaki, T., Mimori, K., Mori, M.: A new PICTure of nucleolar stress. Cancer Sci. 103, 632-637, 2012

10) Umebayashi, H., Mizokami, A., Matsuda, M., Harada, K., Takeuchi, H., Tanida, I., Hirata, M., Kanematsu, T.: Phospholipase C-related catalytically inactive protein, a novel microtubule-associated protein 1 light chain 3-binding protein, negatively regulates autophagosome formation. Biochem Biophys Res Commun. 432, 268-274, 2013

11) Klionsky, D.J., Tanida, I.（1274 人中 1082 人目）, *et al*.: Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. Autophagy 8, 445-544, 2012

2. 和文発表

1) 中村優子、萩原健一: BSE 問題におけるリスク管理とその変遷、ファルマシア、49、48-51、2013

2) 西尾美希、河原康一、佐々木雅人、前濱朝彦、佐々木雄彦、三森功士、森正樹、鈴木聡：核小体を起点とし p53 を制御する新規分子 PICT1 による細胞増殖制御機構、実験医学増刊、31、127-134、2013

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hanada, K.: Introductory remarks for the session of Sphingolipid Metabolism and Pathology, Gordon Research Conference on Glycolipid and Sphingolipid Biology, April, 2012.4.21-27, Rucca, Italy

2) Hanada, K.: A model of intracellular trafficking of the lipid ceramide, 2012 American Society of Photobiology, 2012.6.23-27, Montreal, Canada

3) Hanada, K., Sugiki, T., Takeuchi, K., Tokunaga, Y., Terasawa, H., Kumagai, K., Yamaji, T., Takahashi, H., Shimada, I.: Structural basis for the preferential recognition of phosphatidylinositol 4-monophosphate by the pleckstrin homology domain of the ceramide trafficking protein CERT, 2012 ASBMB Special Symposium, Frontiers in Lipid Biology, 2012.9.4-9, Banff, Canada

4) Hanada, K.: Co-evolution of SM and CERT: Diverse lipids may require co-evolution of enzymes and trafficking system, Riken Symposium, Evolution of Lipids, 2012.11.8-10, Saitama, Japan

5) Hanada, K.: Intracellular trafficking of ceramide by the ceramide trafficking protein CERT, Commemorative Symposium on the 20th Anniversary of the Mizutani Foundation for Glycoscience, Glycoscience: Diversity and Integration, 2012.11.26-27, Tokyo, Japan

6) Hanada, K.: Molecular architecture of CERT for inter-organelle transport of ceramide at the ER-Golgi membrane contact sites, The 14th International Membrane Research Forum, 2013.3.15-17, Kyoto, Japan

7) 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, Asian Pacific Prion Symposium 2012, 2012.7.29-30, Yokohama, Japan

8) Ono, F., Shibata, H., Kurosawa, A., Yamakawa, Y., Tobiume, M., Sato, Y., Katano, H., Hagiwara, K., Saito, N., Komatuzaki, K., Emoto, Y., Hamano, M., Yasutomi, Y., Sata, T.: Assessment of memory disorder by using retrieval task test in classical and atypical (L-type) bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions transmitted cynomolgus macaques, Asian Pacific Prion Symposium 2012, 2012.7.29-30, Yokohama, Japan

9) Fukasawa, M., Anai, R., Shirasago,Y., Saito, K., Murakami, Y., Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., Chiba, J., Hanada, K.: Isolation and characterization of a mutant hepatitis C virus adapted to mouse CD81, The 19th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2012.10.5-9, Venice, Italy
10) Kukimoto, I., Maehama, T., Mori, S., Kusumoto-Matsuo, R., Kondo, K., Sekizuka, T., Kuroda, M.: A novel method to determine the full-genome sequence of human papillomavirus type 16 using full-circle PCR followed by deep sequencing, 28th International Pipillomavirus Conference, 2012.11.30-12.6, San Juan, Puerto Rico
11) Maehama, T., Kawahara, K., Nishio, M., Suzuki, A.: Nucleolar stress induces ubiquitin-independent proteasomal degradation of PICT1, 10th International Conference on Protein Phosphatase, 2013.2.7-9, Tokyo, Japan

2. 国内学会

1) 花田賢太郎、チェリリン・エルウェル、ジョアン・エンゲル：クラミジア菌の宿主細胞内増殖にセラミド輸送タンパク質 CERT は重要である、第 54 回日本脂質生化学会大会、2012.6.7-8、福岡
2) 小川基彦、深澤征義、内山恒夫: 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、第 54 回脂質生化学会、2012.6.7-8、福岡
3) 花田賢太郎 : セラミド輸送タンパク質 CERT の分子解析、セラミド研究会第 5 回学術集会、2012.10.11-12、東京
4) 柊元巌、前濱朝彦、松尾理加、関塚剛史、黒田誠 : 次世代シークエンサーによる HPV16 ゲノム解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012.11.13-15、大阪
5) 前濱朝彦：mTORC1 制御に関与する G タンパク質群の解析、第 84 回日本生化学会大会、2012.12.14-16、福岡
6) 熊谷圭悟､花田賢太郎 :セラミド輸送タンパク質 CERT と小胞体膜タンパク質 VAP との相互作用制御、第 84 回日本生化学会大会、2012.12.14-16、福岡
7) 花田賢太郎、杉木俊彦、竹内恒、山地俊之、高野等覚、徳永祐二、熊谷圭吾、高橋栄夫、嶋田一夫：セラミド輸送タンパク質 CERT のプレクストリン相同ドメインによるホスファチジルイノシトール４-リン酸認識の構造基盤、第 85 回日本生化学会大会、2012.12.14-16、福岡
8) 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膜流動性と成長因子受容体の関連、第 85 回日本生化学会大会、2012.12.14-16、福岡
9) 南部今日子、橋本登、伊藤静香、山地俊之、橋本康弘、古川圭子、古川鋼一：podocalyxin 上の O-glycan は癌の免疫逃避を促進する、第 85 回日本生化学会大会、2012.12.14-16、福岡
10) 花田賢太郎：哺乳動物細胞における膜脂質選別輸送、理化学研究所・基幹研究所・細胞システムコロキウムシリーズIII 膜から探る生命秩序、2013.1.25、埼玉
11) 白砂圭崇、齊藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、 鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、千葉丈、安部良、深澤征義: 高感染能を有する HCV JFH-1 適応変異株の性状解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012.11.13-15、大阪
12) 深澤征義: Claudin-1を標的としたC型肝炎ウイルス感染阻害、日本薬学会第133年会、2013.3.27-30、横浜
13) 白砂圭崇、齊藤恭子、村上裕子、深澤秀輔、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、千葉丈、安部良、深澤征義: 高感染能を有する2a型C型肝炎ウイルスJFH-1由来変異株の性状解析、日本薬学会第133年会、2013.3.27-30、横浜
14) 長瀬翔太郎、山下真代、飯田愛未、渡利彰浩、近藤昌夫、深澤征義、八木清仁: Claudin を標的とした創薬基盤技術の開発第 1 報～claudin-1 特異的 binder の創製～、日本薬学会第 133 年会、2013.3.27-30、横浜
15) 平垣有史、李相儒、清水芳美、渡利彰浩、近藤昌夫、深澤征義、八木清仁: Claudin を標的とした創薬基盤技術の開発　第 2 報～claudin-4 特異的 binder の創製～、日本薬学会第 133 年会、2013.3.27-30、横浜
16) 清水芳実、近藤昌夫、渡利彰浩、深澤征義、八木清仁: タイトジャンクションによる薬物代謝活性制御の可能性 Effect of claudin on cytochrome P450 activity、日本薬学会第 133 年会、2013.3.27-30、横浜
17) 谷田以誠、深澤征義、脇田隆字、花田賢太郎: Contribution of mTORC1 complex in the production of infectious HCV particles、第 35 回日本分子生物学会年会、2012.12.11-14、福岡

11. 昆虫医科学部

部長　澤邉　京子

概　要

平成 24 年度，当該部の研究は，定員 8 名以外に再任用 1 名，客員研究員 8 名，協力研究員 2 名，流動研究員 2 名，研究生 1 名，実習生 1 名，臨時職員 2 名の協力で推進されたが，定員削減により現員数は前年より 1 名少なくなり，業務の充実を図ることが困難になりつつある．当部は 3 室で構成されているが，さらに室間の相互協力を行うことでこの局面に対処する. 平成 24 年度に実施された業務・研究活動の一部を以下に紹介する．

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) 東日本大震災被災地での調査では，震災直後に大きな問題となったハエ類の大量発生は顕在化せず，復興対策が行われる事がハエ類の発生対策に重要であると結論された．一方で，蚊の発生は今後も監視を必要とし，ネズミの増加が新たな問題になりつつあることを指摘したが，これまでに捕集蚊やネズミからヒトに感染性のある病原体は検出されていない．これらの成果はホームページに掲載し，学会や学会誌等でも報告された．

2) 8 月 8 日成田空港に設置した産卵トラップに国内には生息しないネッタイシマカの幼虫と蛹が採集された．トラップ設置場所周辺（半径 400 m 以内）の調査を継続し，発生源となりうる水域に殺虫剤処理を行った結果，周辺地域でその後本種蚊の発生は確認されなかった．本件は成田空港検疫所との協力研究として高く評価された．

3) 晩秋に都内の公園に飛来したコガタアカイエカの多くは未経産（5 年間の集計 94%）であり，越冬に入る個体であると推察された．また，蚊の捕集結果を NOAA の気象データと照合し，流跡線解析から本種の国内での移動と分散を推測した．日本脳炎ウイルスの感染環を媒介蚊の越冬と飛来の両面から解明しようと考えている．

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) 国内で初めてダニ媒介性ウイルス感染症 SFTS による死亡例が報告され，マダニ対策への迅速な対応が望まれている．当部では，平成 20 年より西宮市の協力の下に六甲山系においてマダニ分布調査とダニ媒介性ウイルスの保有調査を行ってきた．この経験は近年問題になっているダニ媒介性疾患への対応に貢献している．

2) 長崎県において日本脳炎媒介蚊調査を再開し，コガタアカイエカから日本脳炎ウイルスを分離した．東日本大震災被災地と首都圏の捕集蚊からは 3 種類の昆虫特異的ウイルスと未同定ウイルス 2 株が分離され，アカイエカからは鳥マラリア原虫遺伝子の増幅も確認された．

3) 異なる 2 種のフラビウイルスの蚊体内での重複感染の影響を知るために，昆虫特異的フラビウイルスを持続感染させた培養細胞に日本脳炎ウイルスを接種し，日本脳炎ウイルスの増殖を確認した．また，昆虫特異的フラビウイルスは高い確率で経卵巣伝播することを明らかにし，フラビウイルスの基礎的研究の進展が期待された．

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) アタマジラミ，日本産トコジラミ，成田空港に着陸した旅客機内で捕獲されたネッタイイエカはいずれもピレスロイド系殺虫剤抵抗性遺伝子を高率に有していた．一方で，ケジラミや東日本大震災被災地のイエバエの抵抗性レベルは現時点では深刻ではないことが示唆された．

2) ピレスロイドに対する感受性低下をもたらす作用点変異の分子ジェノタイピング法を開発し，全国調査を行った．その結果，国内のトコジラミの約 90%は抵抗性であり，トコジラミの防除にはピレスロイド剤以外の殺虫剤の使用が望ましいことを勧告した．

3) ネッタイシマカのピレスロイド抵抗性系統の網羅的な遺伝子発現量解析に基づき，ペルメトリン代謝性を有する抵抗性系統において，遺伝的に高い過剰発現性を示す 2 つのシトクロム P450 分子種（CYP6BB2, CYP9M6）がペルメトリン代謝抵抗性の主要因となっていることを初めて明らかにした．

当部では，疾病媒介動物を対象とした基礎研究に加えて，実際の防除対策に寄与する情報の提供等，社会への貢献も心がけている．これらの活動の多くは，各種研究費の補助を受けて実施されたが，他部，外部の研究機関や地方自治体の協力の下に遂行することができた．今後もさらに連携を深め，協力体制を維持していきたい．

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) 東日本大震災の津波被災地における疾病媒介蚊発生状況調査：宮城県南部水田地帯と福島県 2 地域における 2012 年の状況

2011 年に起きた東日本大震災の津波による環境破壊が疾病媒介蚊の発生に与えた影響を昨年度の調査地（宮城県南部水田地帯）に加え福島県南相馬市といわき市で調査した．宮城県南部水田地帯におけるアカイエカとイナトミシオカは，昨年同様に，津波被災地で多く発生していることが示された．同様の傾向は南相馬市でも認められたが，いわき市では認められなかった．宮城県南部水田地帯におけるイナトミシオカ，コガタアカイエカ，ヒトスジシマカ成虫の平均密度は，昨年に比べて有意に低かった．

[津田良夫; 石田恵一, 山内　繁（仙台検疫所）; 新妻　淳, 岡本徳子（東京検疫所）; 助廣那由，梅澤昌弘，柳　大樹（成田空港検疫所）]

(2) 成田空港に侵入したネッタイシマカの調査と防除

2012 年 8 月 8 日，成田国際空港に設置してあった産卵トラップの 1 つからヤブカ幼虫と蛹が採集され，我国に生息していないネッタイシマカ（27 個体）が羽化した．そのため，トラップ設置場所の周囲半径 400 m 以内を調査実施区域として，侵入・定着防止を目的とした調査及び防除対策を行った．ドライアイストラップを用いた成虫調査，産卵トラップを用いた幼虫調査及び国際線航空機の機内調査に加え，発生源となりうる水域への殺虫剤処理を行った．その結果，マニラから来航した航空機 1 機からネッタイシマカ（雄 1 個体）が採集されたが，他の調査ではネッタイシマカは採集されなかった．

[助廣那由，木田　中，梅澤昌弘，村上隆行，荒井直子，神内恒貞，稲垣俊一，土屋英俊，丸山浩（成田空港検疫所）; 津田良夫]

(3) 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

2010 年と 2011 年に東京都野鳥公園で定期採集して得られた *Amiota* 属のショウジョウバエから東洋眼虫の感染幼虫の検出を試みた．採集されたのはマダラメマトイとオオマダラメマトイの 2 種で，解剖の結果，いずれの種からも感染幼虫は検出されなかった．九州ではこの 2 種から感染幼虫が検出されていることから，東京都における媒介種もこの 2 種であることが考えられる．

[林　利彦；三好康子，岡村淳吾，吉川聡一，宗村好子，水谷浩志（東京都動物愛護相談センター）]

(4) 岩手県の震災瓦礫集積所におけるハエ類発生調査

2011 年の東日本大震災および津波被災地では，その後ハエ類の大量発生が起こり，避難所で暮らす人々や周辺住民に大きな被害を与えた．流出した有機物はその後処理されたが，瓦礫中には処理されずに有機物が残され，その後のハエ発生の可能性が危惧された．我々は 2012 年に再びこのような発生が起こるかどうかを調べるために，粘着トラップを用いて瓦礫集積所でハエ類の発生に関する調査を行った．調査地は岩手県の 2 カ所（陸前高田市および大槌町）の大規模瓦礫集積所で 5 月から 10 月まで，月に 1 度粘着トラップを 1 週間設置して行った．その結果，2012 年には 2011 年に起こったようなハエ類大発生は見られなかった．自然災害でハエ類が大量発生しても次の年に問題が続くことは無いと判断された．

[林　利彦，小林睦生，澤邉京子；菊池恭志（大船渡保健福祉環境センター）; 木村文彦（岩手県保健福祉環境部）]

(5) 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

ベトナム産フンコバエ科の *Paralimosina* 属を調べ，2 新種を含む 9 種を記録した．本属はベトナムからは初記録であった．また，東洋区産 *Achaetophorax* 属と *Metaborborus* 属を調べ，*Achaetophorax* では 1 新種を記載し，*A. malayensis* をスリランカ，インド，バングラデシュから初めて記録し，*Metaborborus schumanni* が *M. saliens* の同物異名であることが判明した．

[林　利彦]

(6) 中央高地型気候地域におけるヒトスジシマカの分布とその要因．1) 長野県上田市，長野市の調査結果に焦点をあてて

長野県は，標高差が地域によって大きく異なり，感染症媒介蚊にとっても多様な生息環境が提供されている．媒介蚊に関する分布報告はほとんどないことから，今回，

ヒトスジシマカの生息調査を上田市（標高 460 m）と長野市（標高 370 m）で行った．種々の小容量の水溜りから幼虫を採集し，実験室内で成虫まで飼育して種の同定を行った．その結果，上田市と長野市で採集された幼虫から高率にヒトスジシマカが確認され，両市において同蚊が定着していることが確認された．

[小林睦生，二瓶直子，澤邉京子；平林公男，武田昌昭（信州大）]

(7) 京都市におけるアカイエカとチカイエカの捕集数および構成比の空間差

京都市内におけるアカイエカ種群の生息密度，アカイエカとチカイエカの構成比の空間的な違いがどのような環境条件に関係するか明らかにするために市内 25 箇所に CDC 型トラップを設置し，蚊の捕集を行った．アカイエカの平均捕集数は 28.3 個体/トラップ/一晩で，最高は左京区の民家における 353 個体であった．チカイエカの比率は 2.3%と低い値を示した．

[津田良夫，渡辺　護，二瓶直子，小林睦生；米島万有子，中谷友樹（立命館大）；前田秋彦，福田美樹，伊藤亜希，Igor Velado Fernandes（京都産業大）]

(8) 東日本大震災の津波被災市街地における蚊幼虫および成虫の発生状況

2012 年 8 月上旬および 9 月中旬に，前年と同様に，山田町と大槌町の津波被災地で蚊の幼虫調査と 30 分間の人囮法による成虫調査を行った．幼虫は両町ともトウゴウヤブカの比率が高く，その他，アカイエカ，ヤマトヤブカが確認された．人囮法では 8 月の大槌町で 1 時間当たり 64－84 頭の蚊が捕集され，78－93%がアカイエカで，残りはトウゴウヤブカであった．この捕集数は，兵庫県都市部の平均捕集数の約 50 倍であった．9 月の調査では，捕集数が約 1/5 に減少した．

[小林睦生，斉藤一三，津田良夫，澤邉京子]

(9) 山形市におけるヒトスジシマカの生息予測に関する衛星画像による解析

山形市においては，温暖化に伴いヒートアイランド状に感染症媒介蚊のヒトスジシマカの生息適地が形成され，2000 年には生息が確認され同蚊が定着した．その後の 10 年にわたる我々の追跡調査で，気温の年較差にともない，在来種のヤマトヤブカとの種間競争を確認している．この現象は同蚊の生息気温の境界領域では，共通して観察される可能性があることから，植生指数や GIS を用いて同蚊や在来種の生息地域を推測し，特にデータ獲得時期の異なる複数の衛星画像から，植生指数を用いて，広葉樹と針葉樹の区分や，都市的土地利用の開発と蚊相の関係を検討している．

[二瓶直子，駒形　修，小林睦生，望月貫一郎（株 パスコ）]

(10) GIS などを用いたマラリア媒介蚊の分布域に関する監視体制の開発

節足動物媒介性感染症の監視体制の一貫として当部や協力者により捕獲されたマラリア媒介蚊ハマダラカ属の種別生息環境の解析法を検討している．ハマダラカ属は北海道から沖縄まで，地形・気温等の異なる環境で生息しており，GIS や RS を用いて現在の生息地の特性を明らかにして，非調査地での分布予測を試みている．

[二瓶直子，小林睦生，津田良夫，澤邉京子]

(11) 成田で捕獲されたネッタイシマカの由来推定

2012 年に成田空港で数匹のネッタイシマカが捕獲された．この種は現在日本には生息していないが，温暖化による気温上昇に伴い我が国に侵入・定着する恐れがある．マイクロサテライト遺伝子座の遺伝子型をもとにこれらのネッタイシマカがどの地域から運ばれてきたのか推定を試みた．ベイズクラスター解析のアルゴリズムである STRUCTURE によると，これらの個体はアフリカ以外の世界中に広く分布する都市型の亜種（*Aedes aegypti aegypti*）であることが分かった．さらに細かいクラスターに分類して解析したところ，調べた 4 個体全てで，アメリカとオーストラリアの集団に多く見られるクラスターへ帰属する事後確率が最も高かった．

[糸川健太郎，津田良夫，澤邉京子；助廣那由（成田空港検疫所）]

(12) 2 種トコジラミを対象とした分子分類法の確立

日本本土など温帯地域ではトコジラミ *Cimex lectularius* が，亜熱帯・熱帯地域ではネッタイトコジラミ *C. hemipterus* が分布するといわれているが，年間を通じ室温の変動が少ないホテル客室では両種が併存する場合があり，形態が類似した両種を分子分類で判別する必要があった．Mt COI 遺伝子配列を対象としサイズの異な

るマルチプレックス PCR 産物を判定することにより，両種の分子分類を可能にした．
[冨田隆史，駒形　修，葛西真治，糸川健太郎]

(13) 日本における疾病媒介昆虫標本の整備

戦後本州にも常在したマラリアは，現在では輸入マラリア症例のみ報告されている．しかしマラリア媒介蚊であるシナハマダラカやオオツルハマダラカ等は現在でも捕集される．戦後は成虫・幼虫や卵の形態により同定・分類され，現在の遺伝子解析による分類法と異なることから，分類の再検討をするため，大鶴正満（前 琉球大学医学部教授）らの遺品の中から発見当時の日本，中国，台湾，韓国からの標本や分類の資料を収集し整理した．その際ハマダラカ以外の双翅目標本も収集できた．
[二瓶直子，小林睦生，林利彦，澤邉京子；飯島 渉（青山学院大）；今西　望（明治大院）]

2. 衛生昆虫の媒介生態に関する研究

(1) 新潟県佐潟湿地における媒介蚊と野鳥由来病原体の調査：4 年間（2007 から 2010 年）の調査結果

新潟県佐潟湿地で疾病媒介蚊の発生密度と鳥マラリア原虫感染率の年変動を調べた．11 種類の蚊が採集されイナトミシオカとアカイエカが全体の 60%と 35%を占めていた．蚊の発生密度，種類構成および原虫感染率には年変動がみられ，これら 2 種が鳥マラリア原虫の主要な媒介蚊であると推察された．PCR によって 4 つの鳥マラリア原虫系統が両種から検出され，異なる媒介蚊が伝播する 2 つの感染サイクルで維持されていることが示唆された．生態的性質が異なる 2 種の媒介蚊が関与することによって，鳥マラリア原虫の安定的な存続が可能になっていると考察した．
[金　京純（日本大）；津田良夫]

(2) 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と採集蚊からの鳥類由来病原体の検出

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 2011 年と 2012 年に各 2 回媒介蚊採集を行った．ドライアイストラップを用いた成虫調査によって，合計 31 種類の疾病媒介蚊が採集された．このうち両地域で共通して採集された種類は 12 種類で，いずれも生息密度の高い主要な種類であった．鳥由来の蚊媒介性病原体である鳥マラリア原虫の検出を行ったところ 7 系統が検出され，このうち 1 種類（*P. rouxi*）が共通していた．今回の調査で鳥マラリア原虫が検出された蚊の種類は台湾で 5 種類，石垣島では 2 種類で，共通する種類は認められなかった．
[津田良夫；金　京純（日本大）]

(3) アカイエカの鳥マラリア原虫感染に関する野外調査

東京都の公園で 2012 年 5 月から 9 月に捕虫網による蚊の採集を行い，合計 491 個体のアカイエカ成虫を採集した．成虫を解剖し中腸と唾液腺を顕微鏡で観察して，鳥マラリア原虫のオオシストとスポロゾイトの有無を調べた．オオシストあるいはオオシスト様の構造が 33 個体（6.7%）で，またスポロゾイトが 9 個体（1.8%）で観察された．オオシスト/オオシスト様構造が観察されたサンプルを用いて PCR による原虫検出を行ったところ，14 サンプルで原虫 DNA が検出され，塩基配列によって 3 つの遺伝的系統が区別された．2 つの系統は過去の調査でも高頻度で検出されている系統で，残りの 1 系統は初めて検出された．
[津田良夫；金　京純（日本大）]

(4) 個眼数の違いに基づくアカイエカとチカイエカの判定の信頼性について

アカイエカとチカイエカの個眼数の個体変異が既知であるとき，個眼数が 8 個の個体をチカイエカと判定した場合，この判定がどの程度信頼できるのかを確率的に示す方法を考察した．2005 年に得られた個眼数の頻度分布の季節変化に基き，2007 年の東京港野鳥公園のアカイエカ群成虫を例として，4 月から 7 月の成虫を個眼数によって判定したときの信頼度を計算した．個眼数が 8 個の個体をチカイエカと判定した場合の信頼度は，平均気温が 25℃以下である 4 月，5 月，6 月にはいずれも 90%以上であった．しかし，気温が 25℃よりも高くなる 7 月には判定の信頼度は 54%に低下した．
[津田良夫；金　京純（日本大）]

(5) コガタアカイエカの越冬に関する野外調査（2011 年秋－2012 年春）

コガタアカイエカの集団飛来が 2011 年 9 月から 12 月の期間，東京都の都市域にある公園で再確認された．2011 年の飛来密度は過去 4 年間でもっとも低かった 2009 年とほぼ同レベルで，もっとも飛来密度が高かった 2008 年の

約 1/10 であった．飛来個体の卵巣の形態観察の結果，経産雌の割合は 10.7%と高く，休眠している個体の割合は 79%と過去 5 年間で最も低かった．5 年間の解剖結果を集計したところ，経産雌の休眠率は 22%（10/46）で，未経産雌の 94%（749/799）よりも低く，統計的に有意であった．また，産卵経験がありかつ休眠している個体の割合は，1.2%（10/845）と推定された．翌春の捕獲個体数は合計 5 雌であった．

[津田良夫]

(6) 気象解析に基づく日本脳炎ウイルス媒介蚊コガタアカイエカの移動と分散に関する研究

2010 年，2011 年に新潟県佐潟周辺の豚舎，および富山県下の牛舎においてドライアイストラップによるコガタアカイエカの捕集調査を行い，得られた蚊の捕集成績を基に NOAA が提供する気象情報を用いた流跡線解析結果から，コガタアカイエカの国内移動を考察した．2010 年，2011 年共に，富山県で観察された 8 月の捕集ピークの 1 日後に新潟県でもコガタアカイエカが多数捕集され，後方流跡線解析から 24 時間前の気流を推定したところ，前日に富山県で捕集されたコガタアカイエカは，その後同じ気流により新潟県に飛翔した可能性が高いことが示唆された．

[田中　淳，井川　穣（新潟市保健衛生部保健所）；齊藤哲也（新潟市保健衛生部衛生環境研究所）；山内健生（富山県衛生研究所）；澤邉京子，渡辺　護，小林睦生；松村正哉，大塚　彰（九州沖縄農研センター）]

(7) 吸血飛来するヒトスジシマカの寿命，移動分散範囲に関する基礎研究

ヒトスジシマカの移動分散範囲を 1 日当たりの移動距離と蚊の寿命の積によって推定した．吸血に飛来した個体の 1 日の平均移動距離は，個別にマークした雌を放逐して行ったマーキング実験の結果から推定した．1 日当たりの平均移動距離は 10.1±10.6 m，最大移動距離は 44 mと推定された．東京都の公園で採集したヒトスジシマカ雌成虫の余命を実験室で調べたところ，平均余命は 9 月の採集雌で最も短く 13.8 日，6 月の採集雌で最も長く平均 40.8 日だった．これらの値によって，一生の間に移動分散する範囲は平均 200 m（平均余命が 20 日の場合）から平均 400 m（平均余命が 40 日の場合）と推定された．

[津田良夫]

Ⅱ．衛生昆虫類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) 最近のシラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* 疫学研究

日本における路上生活者の数は約 2 万人と言われ，東京 23 区では 5 千人前後と報告されている．世界中の路上生活者の間でグラム陰性桿菌である *Bartonella quintana*（*B. quintana*）による塹壕熱が再興感染症として報告されている．我々は，東京都を中心に 1999 年から路上生活者由来コロモジラミや血液から *B. quintana* 遺伝子を検出し，路上生活者の約 10%に *B. quintana* 遺伝子を保有するコロモジラミが寄生していることを明らかにした．今回，大阪市西成区の簡易宿泊施設利用者から採取されたコロモジラミから *B. quintana* 遺伝子を検出した結果，東京より非常に高い遺伝子保有率が得られた．酵素結合免疫吸着法（ELISA）により *B. quintana* に対する抗体価を測定した結果，抗体価と遺伝子検出が関係する傾向が認められ，また，検出した *B. quintana* から薬剤耐性遺伝子が検出された．

[佐々木年則，澤邉京子，鍬田龍星，伊澤晴彦，小林睦生；久保田眞由美，柴山恵吾（細菌第 2 部）；平山幸雄，針原重義（大阪社会医療センター）]

(2) 長崎県における日本脳炎ウイルス媒介蚊の捕集とウイルス分離

近年の日本脳炎ウイルス（JEV）の遺伝子情報等を得ることを目的として，野外捕集蚊から JEV の分離を行った．2012 年 9 月に長崎県の畜舎においてスイーピングにより，また吸虫管を用いて，2 晩でコガタアカイエカ雌成虫 1,000 個体以上，その他にシナハマダラカ雌成虫数 100 個体を捕集した．捕集されたコガタアカイエカから JEV 1 株を分離し，現在遺伝子解析を進めている．

[佐々木年則，江尻寛子，小林大介，伊澤晴彦，澤邉京子；砂原俊彦，二見恭子，皆川　昇（長崎大熱研）；松本文昭，吉川　亮，吾郷昌信（長崎県環境保健研究センター）]

(3) 東日本大震災被災地で発生した疾病媒介蚊の捕集とウイルス保有状況調査

東日本大震災の被災地では，津波による浸水によって形成された水域を中心に疾病媒介蚊の発生が確認されている．これら蚊によるアルボウイルスの感染リスクを把握する目的で，宮城県で捕集した蚊のウイルス保有状況調査を実施した．これまでに平成 23 年 7 月～8 月に捕集

されたコガタアカイエカからは Culex tritaeniorhynchus rhabdovirus，平成 24 年 5 月～6 月に捕集されたアカイエカからは Culex flavivirus，ヒトスジシマカからは Aedes flavivirus といった昆虫特異的ウイルスがそれぞれ分離されたが，ヒトに感染する日本脳炎ウイルスや外来性の蚊媒介性ウイルス（デングウイルス，チクングニアウイルス等）は検出されなかった．蚊の集中的な発生は今後も続くことが予想されることから，継続的に調査を行っていく必要があると考えられる．

[江尻寛子，伊澤晴彦，鍬田龍星，津田良夫，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；石田恵一（仙台検疫所）]

(4) 東日本大震災の被災地で捕集された蚊の鳥マラリア原虫保有状況調査

東日本大震災の被災地における蚊と野鳥間での病原体伝播の現状を把握することを目的とし，宮城県内の被災地で捕集された蚊の鳥マラリア原虫保有状況を調査した．その結果，解析した 3 種 272 個体 13 サンプルのうち，アカイエカ種群蚊の 4 サンプルから鳥マラリア原虫遺伝子の増幅が認められ，同地域で発生した蚊と野鳥間で吸血を介した病原体の伝播が起きている可能性が示唆された．今後，被災地における環境回復の経過に伴う蚊の生息状況の変化や病原体保有状況の推移を経時的にモニタリングすることにより，環境変化と蚊媒介性感染症の流行動態との関連性を考察する上で重要な情報が収集できると期待される．

[江尻寛子，伊澤晴彦，津田良夫，鍬田龍星，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；石田恵一（仙台検疫所）]

(5) 首都圏における疾病媒介蚊の捕集とウイルス保有状況調査

首都圏におけるアルボウイルスの感染リスクを把握する目的で，東京都下で捕集した疾病媒介蚊のウイルス保有状況調査を実施した．その結果，平成 23 年 10 月～11 月に林試の森公園（品川区・目黒区）と感染研戸山庁舎構内（新宿区）で捕集された蚊から昆虫特異的ウイルスである Culex tritaeniorhynchus rhabdovirus と Aedes flavivirus が分離されたが，ヒトに感染する日本脳炎ウイルスや外来性の蚊媒介性ウイルス（デングウイルス，チクングニアウイルス等）は検出されなかった．そのほか 2 株の未同定ウイルスが分離され，現在同定のための解析を進めている．

[江尻寛子，伊澤晴彦，鍬田龍星，津田良夫，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子]

2．媒介生理に関する基礎的研究

(1) Culex flavivirus 持続感染コガタアカイエカ細胞に対する蚊媒介性フラビウイルスの重複感染

蚊媒介性アルボウイルスと昆虫特異的フラビウイルスの蚊体内での重複感染の影響を調べる目的で，昆虫フラビウイルスの一種 Culex flavivirus（CxFV）を持続感染させたコガタアカイエカ由来培養細胞 NIID-CTR に日本脳炎ウイルス（JEV）を接種して，重複感染による JEV の増殖様態を調査した．その結果，接種後 4 日目までは，対照区と比べてウイルスの増殖様態に顕著な差はみられなかったが，接種後 4 日目から重複感染区において細胞変性効果が確認され，培養上清中の JEV 濃度が対照区に比べて上昇した．今後，フラビウイルスの重複感染が蚊個体にどのような影響を与えるか調査する必要がある．

[鍬田龍星，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子]

(2) Aedes flavivirus（AEFV）ベトナム分離株の遺伝子構造解析ならびに AEFV の伝播様式の解析

フラビウイルスの多くは節足動物媒介性ウイルス（アルボウイルス）であるが，昆虫（蚊）のみを宿主とする昆虫特異的フラビウイルスの存在も知られており，これまで日本国内においては，ヤブカ属蚊から Aedes flavivirus（AEFV）が分離されている．今回，2008 年にベトナム北部で採集された *Aedes* spp.の幼虫からも AEFV が分離され，遺伝子解析を行い国内分離株との類縁関係について検討した．また，国内のヒトスジシマカ個体群を用いて AEFV の伝播様式について調査した結果，本ウイルスが経卵巣伝播により維持されていることが示唆された．

[小林大介，糸山　享（明治大）；伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；Ngo Dinh Binh（ベトナム科学技術院）；浅野眞一郎，伴戸久徳（北海道大）]

(3) ヒトスジシマカ乾燥卵の低温耐性

アジアを起源とするヒトスジシマカは日本国内にも広く分布しており，特に都市域においてその生息数は非常

に多い．デング熱が日本国内に侵入した際には，これら在来のヒトスジシマカ成虫によるウイルスの媒介と卵越冬によるウイルスの越年が危惧される．そこで，神奈川県内で捕集した本種成虫から卵を採取し，4℃，15℃，20℃，25℃温度下での生存率と羽化率を調査した．その結果，乾燥卵はいずれの温度条件下でも 3 ヶ月は生存し，20℃と 4℃下では 4 ヶ月生存が確認された（羽化率は 4℃>20℃）. 4°C の低温下に 4 ヶ月維持されても羽化成虫が得られたことで，乾燥卵内にウイルスが保持されて越冬する可能性が示唆された．

[澤邉京子，斎藤一三；今西　望（明治大院）]

(4) 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（2012 年）

東日本大震災 2 年目の被災地 2 カ所（陸前高田市および気仙沼市）において捕集された吸血アカイエカ合計 40 個体の吸血源動物種を推定した．吸血蚊の 82.5%が鳥類，17.5%が哺乳類（1 個体がドブネズミ，それ以外はすべてヒト）を吸血していた．被災直後の哺乳類吸血蚊は 7%（ヒト，ネコ，イヌを吸血）であったことから，2 年目の被災地の人口が増加してきたこと，ドブネズミの個体数も増加していることが考えられる．また，気仙沼市の鳥類吸血蚊は，1 年目，2 年目ともにスズメを最も多く吸血していたが，震災直後は合計 3 種類の鳥類を吸血していたのに対し，2 年目は 7 種類と増加したことから，被災地の自然環境が回復しつつあることも示唆された．

［澤邉京子，渡辺　護；今西　望（明治大院)］

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) アタマジラミのスミスリン抵抗性遺伝子検出調査

スミスリンは我が国で唯一市販されているアタマジラミ駆除薬の有効成分である．当部ではアタマジラミのスミスリン抵抗性遺伝子検出調査を 2006 年より継続して行なっている．2012 年は 10 都道県より 26 名由来，40 個体のアタマジラミを収集し，遺伝子解析を行った．その結果，11.5%にあたる 3 コロニーから抵抗性遺伝子が検出された．抵抗性のアタマジラミは神奈川県，埼玉県，沖縄県から確認された．

[葛西真治，駒形　修，小林睦生，冨田隆史]

(2) 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（2012 年度）

1 都 1 府 3 県より収集した 8 コロニー分（65 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．7 コロニーが I925 変異を保有し，該当コロニーの供試虫はすべて（47 供試虫）I925 変異のホモ接合体であった．

[冨田隆史，駒形　修，葛西真治，糸川健太郎，小林睦生]

(3) 国際線航空機内で捕獲された疾病媒介蚊の殺虫剤抵抗性遺伝子の保有状況

地球規模での人・物の移動に伴って疾病媒介昆虫も世界中に運ばれているが，殺虫剤抵抗性遺伝子もこの流れに乗って移動しうる．このような知見は，共通起源を持つ殺虫剤抵抗性原因変異が世界中の疾病媒介昆虫の集団に見られる事例が多いことから示唆されていたが，直接それを確かめた調査はない．今回，2008 年と 2010 年に成田空港に着陸した国際線旅客機で捕獲されたネッタイイエカの個体から，薬剤抵抗性変異の保有状況を調査したところ，ほとんどのサンプルでこれまでに知られている殺虫剤抵抗性変異を検出した．

[糸川健太郎，津田良夫，葛西真治，駒形　修，冨田隆史；助廣那由（成田空港検疫所）]

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) トコジラミの殺虫剤感受性検定

前年度より引き続きトコジラミのピレスロイド系殺虫剤感受性をろ紙継続接触法（デルタメスリン 0.13 mg/cm^2）により調べた．千葉県 1 コロニー，兵庫県 2 コロニーで採集したトコジラミの殺虫剤感受性を試験した結果，全てのコロニーは抵抗性と判定された．また，山口県において採集された現場での防除の効果が低かったと報告されたコロニーを日本環境衛生センターが飼育系統化したものについて，有機リン殺虫剤（フェニトロチオン 0.05 mg/cm^2）を用いて同様に試験を行った結果，感受性が低下していることが再確認された．

[駒形　修，葛西真治，冨田隆史]

(2) 有機リン抵抗性トコジラミに初めて見出された作用点遺伝子の変異

2011 年に山口県で採集されコロニー化された有機リン抵抗性コロニー(HOF)のアセチルコリンエステラーゼ遺伝子(*p-Ace*)配列を感受性系統といくつかのピレスロイド抵抗性系統に対し比較した．HOF *p-Ace* の cDNA 配列は，本酵素の活性ゴルジ内の機能部位である acyl-binding 座位の一つ Phe348(331)の Tyr への置換，ならびに翻訳開始点の上流近傍に 221 塩基配列の欠失という変異を伴っていた．

[冨田隆史, 駒形　修, 葛西真治, 糸川健太郎, 數間　亨, 武藤敦彦（財 日本環境衛生センター）]

(3) ネッタイシマカのピレスロイド抵抗性に関与する解毒酵素の生化学・分子生物学的研究

ネッタイシマカの SP 系統のペルメトリン抵抗性にはシトクロム P450 による解毒が関与していることが明らかになっている．マイクロアレイ解析の結果，SP 系統では複数の P450 分子種遺伝子が過剰に発現している．連関解析によって抵抗性への関与が疑われる 2 つの P450 分子種（CYP6BB2，CYP9M6）をバキュロウィウルスを介して *Sf9* 細胞中で発現させ，ペルメトリンの代謝能を解析した．その結果，両分子種からペルメトリンを 4'HO ペルメトリンへと解毒する活性が認められた．これにより, CYP6BB2 と CYP9M6 がともに SP 系統においてペルメトリン抵抗性に関与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) ピレスロイド抵抗性ネッタイシマカのナトリウムチャネル遺伝子の全長解析

ピレスロイド剤に抵抗性を発達させた害虫では，作用点ナトリウムチャネル（VSSC）上に変異が生じ，殺虫剤に対し感受性が低下することが知られている．ピレスロイド剤の一種ペルメトリンで淘汰して確立した抵抗性系統（SP 系）と感受性系統（SMK 系）より VSSC 遺伝子全長（約 6,000 bp）を増幅し，pTA2 ベクターへクローニングした後，その構造解析を行った．その結果，SP 系統で S989P, V1016G, F1534C の３つの変異が確認された．このうち S989P と V1016G は同一のハプロタイプ上に生じた変異であると予想された．今後は，これらのアミノ酸変異を単独で，もしくは複数を同時に有するチャネルを異種細胞発現系で発現させ，薬剤応答性の違いを観察する予定である．

[葛西真治，駒形　修，小林睦生，糸川健太郎，冨田隆史]

(5) ピレスロイド剤抵抗性ネッタイシマカに対するオリセットネットの忌避効力

オリセットネットはピレスロイドを含浸させた蚊帳である．マラリア対策として開発されたが，デング熱媒介蚊であるネッタイシマカへの応用も検討されている．そこで，オリセットネットのピレスロイド剤抵抗性ネッタイシマカへの吸血抑制効果を調べた．感受性系統である SMK 系統では供試した雌の 85%がネットに触れて死亡し，吸血も 100%阻害したのに対し，抵抗性系統では死亡率が 0%であった．また，抵抗性系統において，ピレスロイドを含まない対照区では 60%がネットを通過して吸血に成功したのに対し，オリセットネット区では 19%の吸血率にとどまった．以上のことから，抵抗性ネッタイシマカに対して，オリセットネットは吸血を完全には阻害しなかったものの，無処理区に比べて有意に吸血を阻害することが明らかになった．以上の結果は，ピレスロイドに対する抵抗性機構と忌避行動を促す官能性機構が完全には一致しない可能性を示唆した．

[葛西真治，駒形　修，糸川健太郎，冨田隆史]

(6) ケジラミの殺虫剤抵抗性に関する研究

前年度より引き続きケジラミに対する駆除剤の有効性を調査した．入手時に生存していた個体に関しては，フェノトリン原体のアセトン希釈液を処理したろ紙を用いるろ紙継続接触法による生物検定を行った．8 コロニーを生物検定した結果，抵抗性を示したものはなかった．生物検定後，もしくは入手時に死亡していた個体に関しては，RNA を抽出後に逆転写し，合成した cDNA でナトリウムチャンネルの塩基配列を解析した．アタマジラミのタンパク質配列を基に縮重プライマーを設計し部分コード配列を決定した後，3'RACE と 5'RACE を行い，ナトリウムチャンネル全コード配列を決定した．ピレスロイド抵抗性をもたらすことが疑われるナトリウムチャンネルの構造変異は確認されなかった．

[駒形　修，葛西真治，冨田隆史]

(7) 東北大震災被災地におけるイエバエの殺虫剤の有効性の検定

東日本大震災被災地で大量発生したイエバエ成虫は，

ピレスロイド系殺虫剤に関する感受性が若干低下していた．今回，感受性低下の主要な要因の一つである解毒代謝酵素であるシトクロム P450 に関して調査した．イエバエではシトクロム P450 の *CYP6D1* の上流に 15 bp 挿入配列があると解毒代謝能が増加し感受性が低下する可能性があることが報告されている．そこで被災地で採集したイエバエにおいて，挿入配列の有無を調べた．その結果，ヘテロ個体と挿入配列のないホモ個体のみが検出された．挿入配列の頻度は 24%であった．

[駒形　修，葛西真治，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 24 年 4 月から平成 25 年 3 月までの間，12 件 66 個体の昆虫・ダニ類の同定依頼を受けた．このうち行政検査として受けたものは 2 件であった．ヒトへの被害例ではカモシカマダニ・ヤマアラシチマダニ・ヤマトマダニの咬着例，コンゴ共和国でのロダインコブバエの皮膚寄生，入院患者に発生したヒロズキンバエによるハエ症例があった．

[林　利彦，津田良夫]

研修業務

(1) 感染症と昆虫．2012 年度「知の市場」，2012 年 7 月 12 日，東京．

[澤邉京子]

(2) 駆除薬の効かないアタマジラミの台頭．第 9 回新潟市ねずみ・昆虫等研究会，2012 年 8 月 24 日，新潟市．

[冨田隆史]

(3) 蚊媒介性感染症の国内外での動向および東日本大震災におけるハエ・蚊の発生状況．第 5 回衛生害虫セミナー，2012 年 10 月 11 日，東京．

[澤邉京子]

(4) 蚊媒介性感染症の国内外での動向および東日本大震災におけるハエ・蚊の発生状況．第 5 回衛生害虫セミナー，2012 年 10 月 30 日，大阪市．

[小林睦生]

(5) 蚊媒介性感染症の国内外での動向および東日本大震災におけるハエ・蚊の発生状況．第 5 回衛生害虫セミナー，2012 年 11 月 6 日，大野城市．

[澤邉京子]

(6) アルボウイルス感染症とそのベクター．平成 24 年度医師卒後臨床研修プログラム. 2012 年 10 月 22 日. 東京．

[伊澤晴彦]

(7) トコジラミの殺虫剤抵抗性と防除対策．平成 24 年度環境衛生業務研修会，2013 年 2 月 22 日，大阪市．

[冨田隆史]

(8) ウイルス感染症の媒介蚊について．H24 年度希少感染症診断技術研修会．2013 年 2 月 26 日，東京．

[津田良夫]

(9) H24 年度蚊類調査に係る技術研修，2013 年 2 月 28 日－3 月 1 日，東京．

[津田良夫，小林睦生，澤邉京子]

(10) 衛生動物に関わる最近の話題．第 48 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，2013 年 3 月 13 日，川崎市．

[澤邉京子]

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, K.S., 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) Kim, K.S., Tsuda, Y. Avian *Plasmodium* lineages found in spot surveys of mosquitoes from 2007 to 2010 at Sakata wetland, Japan: do dominant lineages persist for multiple years? Molecular Ecology, 21: 5374－5385, 2012.

3) Tsuda, Y., Kim, K.S. Ecology of mosquitoes inhabiting a park in urban Tokyo, Japan: Density of biting *Aedes albopictus* and laboratory estimation of the residual longevity. Medical Entomology and Zoology, 63: 223－230, 2012.

4) Kobayashi, M., Kasai, S., Isawa, H., Hayashi, T., Sawabe, K., Tsuda, Y. Overwintering site of *Culex pipiens pallens* in an urban environment of Saitama Prefecture in Japan. Medical Entomology and Zoology, 63: 319－323, 2012.

5) Hayashi, T. Taxonomic studies on the Oriental species of the genus *Paralimosina* Papp (Diptera, Sphaeroceridae) excluding *eximia* species group. IV. The species from Vietnam. Japanese Journal of Systematic Entomology, 18: 415－420, 2012.

6) Hayashi, T. Taxonomy and distribution on the genera *Achaetothorax* Hedicke and *Metaborborus* Vanshuytbroeck (Diptera, Sphaeroceridae) from the Oriental Region. Japanese Journal of Systematic Entomology, 18: 35－40, 2012.

7) Kuwata, R, Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., Tajima, S., Sasaki, T., Takasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K. Establishment and characterization of a cell line from the mosquito *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). In Vitro Cellular and Developmental Biology－Animal, 48: 369－376, 2012.

8) 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.

9) Isawa, H., Kuwata, R., Tajima, S., Hoshino, K., Sasaki, T., Takasaki, T., Kobayashi, M. and Sawabe, K. Construction of an infectious cDNA clone of Culex flavivirus, an insect-specific flavivirus from *Culex* mosquitoes. Archives of Virology, 57: 975－979, 2012.

10) Komagata, O., Kasai, S., Kobayashi, M., Tomita, T. Potential efficacy of olyset mosquito netting against *Calliphora nigribarbis* (Diptera: Calliphoridae) invasion into livestock barns. Journal of Economic Entomology, 105: 1796–1800, 2012.

2. 和文発表

1) 津田良夫．都市域の公園における蚊の生態研究：雨水マスにおける幼虫の発生消長．衛生動物，63: 95－101, 2012.

2) 佐藤　卓, 松本文雄, 安部隆司, 二瓶直子, 小林睦生．岩手県におけるヒトスジシマカの分布と GIS を用いた生息条件の解析．衛生動物，63: 195－204, 2012.

3) 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.

4) 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集成績．衛生動物，63: 55－58, 2012.

5) 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，吉田正弘，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（2011 年）．衛生動物，63: 49－54, 2012.

6) 小林睦生．室内環境の変化と衛生害虫．生活と環境，57: 1, 2012.

7) 江尻寛子．日本の蚊が保有する鳥マラリア原虫の遺伝的多様性ならびに地理的分布に関する研究．動物の原虫病，27: 14－20, 2012.

8) 冨田隆史．衛生害虫の殺虫剤抵抗性．ペストロジー，27: 19－27, 2012.

3. その他

1) 小林睦生．地球温暖化と感染症－いま，何が分かっているのか－感染症，42: 70－86, 2012.

2) 澤邉京子．トコジラミの再興と危惧される感染症．生活と環境，674: 1, 2012.

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T. Genetic variability of *Culex Cyp9m10* and insecticide susceptibility. 11th International Symposium on Cytochrome P450 Biodiversity & Biotechnology, 2012 年 6 月 22－26 日，トリノ市，イタリア．

2) Sasaki, T., Kobayashi, M. Cytolytic factor in the mosquito. 12th Congress of International Society of Developmental & Comparative Immunology, 24th Japanese Association for Developmental & Comparative Immunology, 2012 年 7 月 9－13 日，福岡市

3) Kuwata, R., Isawa, H., Hoshino, K., Tsuda, Y., Yanase, T., Sasaki, T., Kobayashi, M., Sawabe, K. A new insect rhabdovirus from *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes utilize host's nuclear splicing machinery. 第 45 回国際無脊椎動物病理学会，2012 年 8 月 5－9 日，ブエノスアイレス市，アルゼンチン.

4) Kobayashi, M., Komagata, O., Nihei, N. Future prospect of northern expansion of *Aedes albopictus* in Japan. Symposium S1303 Impact of climate change and natural disaster in arthropod vector, XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

5) Kasai, S., Tabaru, Y., Kobayashi, M. Outbreak of medically important pest insect in Tsunami affected areas in Tohoku Distric, Japan. Symposium S1303 Impact of climate change and natural disaster in arthropod vector, XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

6) Itokawa, K., Komagata, O., Kawada, H., Tomita, T. Spread of overexpressing *CYP9M10* (cytochrome P450) haplotypes in southern house mosquito and its possible implication for vector control. Symposium S1306 Insecticide Resistance in Medically Important Insects, XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

7) Komagata, O, Kasai, S, Itokawa, K., Tomita, T. Proliferation of pyrethroid-resistant bed bugs in Japan. Symposium S1306 Insecticide Resistance in Medically Important Insects, XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

8) Bertuso, A.G., Kobayashi, M., Sawabe, K. Molecular evidence of *Bartonella quintana* in Pediculus humanus capitis (Pediculidae: Anoplura) infesting young people in selected villages in Laguna province, Philippines. S1307 Bartonella in arthropod vectors, XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

9) Sasaki, T., Kobayashi, M. Cytolytic activity in the mosquito, *Armigeres subalbatus*. XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

10) Imanishi, N., Takai, K., Kim, K.S., Tsuda, Y., Kobayashi, M., Itoyama, K., Sawabe, K. Morphological and molecular phylogenetic studies on a novel anopheline species collected in Kushiro wetland, northern Japan. XXIV International Congress of Entomology, 2012 年 8 月 19－25 日，テグ広域市，韓国.

11) Mizutani, H., Matsumura, A., Okajima, J., Soumura, Y., Yoshikawa, S., Iwaki, T., Hayashi, T. Surveys of the parasitic status of *Thelazia callipaeda* on dogs and cats in Tokyo and *Amiota* spp. as an intermediate hosts. 17th Federation of Asian Veterinary Associations Congress,
2013 年 1 月 4 日，台北市，台湾.

2. 国内学会

1) 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，津田良夫，小林睦生，澤邉京子．蚊の体内における日本脳炎ウイルスの国内越冬に関する実験的検証. 第 47 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2012 年 5 月 25－26 日，阿蘇市.

2) 小林大介，伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，Ngo Dinh Binh，浅野眞一郎，伴戸久徳，佐々木年則，小林睦生，糸山　享, 沢辺京子. ベトナム産ヤブカ幼虫からの Aedes flavivirus の分離ならびに性状解析．第 47 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2012 年 5 月 25－26 日，阿蘇市.

3) 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．Culex flavivirus 持続感染コガタアカイエカ細胞に対する蚊媒介性フラビウイルスの重複感染．第 47 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2012 年 5 月 25－26 日，阿蘇市.

4) 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，Roychoudhury, S.，鍬田龍星，多屋馨子，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の評価. 第 47 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2012 年 5 月 25－26 日，阿蘇市.

5) 津田良夫，金　京純．個眼数の違いに基づくアカイエカとチカイエカの判定の信頼性について. 第 64 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2012 年 10 月 20 日, 川崎市.

6) 鍬田龍星，津田良夫，金 京純，佐々木年則，伊澤晴彦, 葛西真治, 今西 望, 小林大介, 小林睦生, 沢辺京子. 東京都内におけるコガタアカイエカの野外越冬の検証. 第 64 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2012 年 10 月 20 日，川崎市.

7) 小林睦生，斉藤一三，津田良夫，沢辺京子．東日本大震災の津波被災市街地における蚊幼虫および成虫の発生状況（予報 2012 年）. 第 64 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2012 年 10 月 20 日，川崎市.

8) 葛西真治, 駒形修, 糸川健太郎, 小林睦生, 冨田隆史, ネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性機構(3)マイクロアレイおよび連関解析. 第 64 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2012 年 10 月 20 日，川崎市.

9) 渡辺　護，渡辺はるか，沢辺京子．陸前高田市と気仙沼市における 2011 年と 2012 年の蚊発生状況の比較．第 64 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2012 年 10 月 20 日，川崎市.

10) 渡辺　護，渡辺はるか，沢辺京子．被災地においてなぜ 2012 年はハエの発生が少なかったのか？第 67 回日本衛生動物学会西日本支部大会, 2012 年 10 月 20－21 日, 伊勢市.

11) 小林睦生．現在問題となっている感染症媒介昆虫について．第 28 回日本ペストロジー学会，2012 年 11 月 8－9 日，神戸市.

12) 糸川健太郎. シトクロム P450 による薬剤抵抗性機構. NIAS シンポジウムポストゲノム時代の害虫防除研究のあり方ー第 5 回殺虫剤抵抗性問題の最前線，2012 年 11 月 15 日，東京.

13) 葛西真治，駒形修，糸川健太郎，小林睦生，冨田隆史．デング熱媒介蚊のピレスロイド剤抵抗性機構，第 38 回日本農薬学会大会, 2013 年 3 月 14－16 日, つくば市.

14) 小林大介，伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，Ngo Dinh Binh，浅野眞一郎，伴戸久徳，糸山　享，沢辺京子．昆虫特異的フラビウイルス Aedes flavivirus（AEFV）ベトナム分離株の遺伝子構造解析ならびに AEFV の伝播様式の解析．第 57 回日本応用動物昆虫学会大会，2013 年 3 月 27－29 日，藤沢市.

15) 鍬田龍星，伊澤晴彦，星野啓太，佐々木年則，沢辺京子．コガタアカイエカ由来ラブドウイルスは宿主の RNA スプライシング機構を利用して成熟 mRNA を発現する．第 57 回日本応用動物昆虫学会大会，2013 年 3 月 27－29 日，藤沢市.

16) 江尻寛子，伊澤晴彦，津田良夫，佐藤雪太，沢辺京子．東日本大震災の被災地で捕集された蚊の鳥マラリア原虫保有状況．第 155 回日本獣医学会学術集会，2013 年 3 月 28－30 日，東京.

17) 冨田隆史．害虫の殺虫剤抵抗性機構，第 155 回日本獣医学会学術集会／日本比較薬理・毒性学会，企画シンポジウム「薬剤耐性の分子メカニズム」，2013 年 3 月 30 日，東京.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　森川 茂

概　要

平成 23 年度で退官した山田章雄前部長の後任の部長として国立感染症研究所ウイルス第一部より森川茂が赴任した。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。これまで、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、研究業務を行ってきた。平成 24 年度は、新規事業費として「新たな動物由来感染症の事前対応型防御に向けた基礎的・応用的研究事業費」が認められ、競争的資金と併せて研究業務等を遂行した。平成 25 年に重症熱性血小板減少症候群（SFTS）患者が発生したことを受け、全室が分担して SFTS ウイルスの動物、マダニでの生態に関する研究業務を開始した。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ずみで台湾などに技術移転し,これを用いて犬の血清疫学調査を実施している。また、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。さらに、ブルセラ属菌の経口感染における感染機構の解析を行い、*Brucella abortus* が Hsp60 を用いてM細胞表面の PrPC を利用し宿主に感染･侵入することを示唆した。カプノサイトファーガ感染症では、患者の発生状況調査と､菌種の同定に *gyrB* 遺伝子が有用であることを示した。第 2 室は、国内では困難な動物由来感染症について海外の研究機関と連携した研究を進めており、狂犬病および炭疽を中心にアジアにおけるラボラトリーネットワークの構築を展開している。狂犬病については、ベトナム・フィリピン・タイ等との連携構築が進展しており、並行して国内でも動物等を介した海外からの侵入リスク評価と侵入した場合の迅速対応法の整備、より簡便で感度・特異度の高い診断法等の開発について自治体・大学の関係専門家と共同で調査研究を行っている。一方、炭疽では全ゲノム網羅的 SNP 解析を利用したアジアの流行株の分子疫学が可能となり、これを利用した海外機関（ベトナム・モンゴル）との連携研究を進めながら、国内の土壌由来 *Bacillus* 属菌について遺伝的多様性解析を行い、炭疽菌の遺伝子検査法の特異度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・整備等を行っている。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。

当該年度は、協力研究員１０名（宮地一樹・高橋由加里（麻布大学)、久保田菜美・山本智美（東京都動物愛護相談センター)、増野功章（名古屋市衛生研究所)、尾家重治（山口大学病院薬剤部)、山崎博史（山口労災病院薬剤部)、山田健太郎（大分大学全学研究推進機構)、二和岳史（千葉県衛生研究所)、山田文也（埼玉県衛生研究所）が入所した。また、研究協力者 6 名、及び研究生 1 名（伊波興一朗（東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程）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：森川茂、准教授：井上智）及び東京大学大学院農学生命科学研究科（連携教授：森川茂）として、当該年度は 4 名の博士課程大学院生が所属した。東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程の伊波興一朗が「水疱性口内炎ウイルスのシュードタイプを用いたアレナウイルスの細胞侵入過程の解析とアルゼンチン出血熱の血清診断法への応用」で博士号を取得した。

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。感染イヌ血清では十分な特異性が見られた。ブルセラ属菌以外のグラム陰性菌で免疫したウサギ血清では、大腸菌由来のタンパクによると考えられる非特異反応が見られた。そこで、あらためて SE 抗原を二次元電気泳動により展開し、確認したところ、サイズが同一で PI 値の異なるところ（PI 値=8）に交差反応を示すタンパクが見つかった。ただ、PI 値=6 付近にブルセラ感染イヌ血清特異的なものが認められたことから、本タンパクに焦点を絞り検討を継続している。また、大腸菌を用いない発現系を用いた検討も行っている。[木村昌伸、鈴木道雄、森川茂、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･台湾ともに家畜ブルセラ菌は国内の家畜では清浄化している。一方、イヌブルセラ菌（*Brucella canis*）は、日本と同様に、台湾国内のイヌでも *B. canis* 感染報告が過去にあることから、ヒトへの感染も起きていることが懸念される。そこで、同一手技により、日本･台湾のイヌ抗体保有状況を検討、比較することとした。日本では、これまでに検討していた結果と併せて、国内のイヌは、4.9%が抗体陽性、すなわち感染歴を持つことがわかった。また、神奈川県の 2.5%に比較して、栃木県は 6.5%、東京都は 7.9%と陽性率が高くなっていた。ただ、栃木県、東京都とも近年は、陽性率の低下傾向が認められるようであった。 [今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、森川茂（感染研･獣医科学部）、水谷浩志、山本智美、久保田菜美（東京都動物愛護相談センター）、岡本その子（栃木県保健環境センター）、山本明彦（感染研･細菌第 2 部）、柳井徳麿（岐阜大学･獣医病理学教室）慕蓉蓉（台湾 CDC）]

3．ブルセラ属菌の感染機序に関する研究

Brucella abortus は主に乳･乳製品を介し経口感染するが、生体内での感染経路は不明である。腸管の M 細胞の管腔側に強く発現する PrPC が *B. abortus* の抗原受容体として機能することにより M 細胞が感染経路となっている可能性を考えた。実際に、パイエル板を含むマウス腸管結紮法により *B. abortus* が M 細胞からのみ侵入すること、経口感染では PrPC 欠損マウス（Prnp-/-）で *B. abortus* のパイエル板への取込みが低下することを見出した。さらに、組換え PrPC による *in vitro* 実験や腸管結紮法において、*B. abortus* を抗 Hsp60 抗体で前処理すると、それぞれ結合や感染が低下した。以上より、*B. abortus* は Hsp60 を用いて M 細胞表面の PrPC を利用し宿主に感染･侵入することを示唆した。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、森川茂（感染研・獣医科学部）、飛梅実（感染研・感染病理部）、阿戸学（感染研・免疫部）、中藤学、長谷耕二、大野博司（理化学研究所）]

4．カプノサイトファーガ感染症の調査研究

カプノサイトファーガ・カニモルサス（*Capnocytophaga canimorsus*）は、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。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計 35 例（うち死亡 9 例）を把握し、患者が中高年齢者中心であること、基礎疾患が無くても発症することが少なくないこと、国内ではネコ咬傷・掻傷を感染原因とする割合が海外より高いことなどを明らかにした。また、遺伝子配列比較による *C. canimorsus* の菌種同定の検討を行い、*gyrB* 遺伝子が有用であることを見いだした。さらに、従来の報告では *C. canimorsus* は補体抵抗性であると言われていたが、*in vitro* での検討を行い、ヒトの補体に対して感受性であることを明らかにした。[鈴木道雄、木村昌伸、森川茂、今岡浩一]

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、日本国内において狂犬病発生の疑いがある場合の対応を取りまとめている『狂犬病対応ガイドライン 2001』の補遺的な位置づけとして、『狂犬病対応ガイドライン 2013 －日本国内において狂犬病を発症した犬が認められた場合の危機管理対応－』をとりまとめた。[井上智、野口章、加来義浩、奥谷晶子、森川茂；深瀬　徹（林屋生命科学研究所）、佐藤克（狂犬病臨床研究会）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）、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）、矢野さやか（徳島県保健福祉部生活衛生課）]

2．ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Health and Environments：NIHE)との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の強化に関する研究

NIHE の狂犬病ラボ（ウイルス部・Dr.Nguyen Thi Kieu Anh）と共同して、ベトナムで流行しているウイルス株を簡易かつ迅速に検出できる LAMP 法の確立、診断ラボ

のネットワーク強化に必要となる検査系の検証法検討、NIHE と地域ラボとのネットワーク強化を目的に、北部の流行地域で狂犬病の臨床・検査・疫学等を網羅したモデル研修を試みた。［井上智、野口章、加来義浩、森川茂；飛梅　実（感染病理部）、阿戸　学（免疫部）、Bazartseren Boldbaatar （モンゴル獣医学研究所）、Nguyen Thi Kieu Anh（NIHE）］

3. 狂犬病ウイルス抗原を簡易に検出する single chain variable fragment (scFv)を利用した Direct, rapid immunohistochemical test (DRIT) 法の確立に関する研究

大腸菌を利用してビオチン融合タンパク化した抗 RABV-P タンパク scFv を発現できるクローン（scFv-P19-biotin）の作出に成功し、これを利用した DRIT 法の確立を進めている。[加来義浩、野口章、森川茂、井上智]

4. シュードタイプ VSV を用いた RABV 中和代替法の反応性の検証

より安全かつ簡便に狂犬病の中和抗体測定ができるように、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の開発を行い、イヌ・ヒトの RABV ワクチン接種／未接種血清を用いて感度・特異性を従来法（RFFIT）と比較した。イヌ血清 111 検体に対して、感度 100%／特異性 96.9%、ヒト血清 32 検体に対して感度 100%／特異性 96.9%の結果が得られた。[加来義浩、野口　章、濱本紀子、森川茂、井上　智]

5. 狂犬病ウイルスの街上毒（野生株）と固定毒（実験株）の比較解析に関する研究

狂犬病ウイルスの感染および防御抗体産生に重要な役割を持つ G 蛋白質について街上毒と固定毒の G 蛋白発現系によって比較解析を行ったところ、街上毒の G 蛋白質が核周囲の細胞内小胞体に局在する一方で、固定毒の G 蛋白質は細胞膜に強く発現することを明らかにした。同 G 蛋白質の発現機序を比較解析することで街上毒と固定毒で異なる感染後の宿主病態や免疫応答が明らかになることが期待された。[濱本紀子、加来義浩、野口章、森川茂、井上智]

6. マイクロニードル(MN)を用いた狂犬病ワクチンの開発に関する研究

MN は表皮の抗原提示細胞を利用した高い免疫誘導と痛みの軽減が期待できる。そこで、MN を利用した狂犬病ワクチンの開発に必要な抗原塗布量について現行ワクチンを利用したマウスの皮下接種実験系を確立した。現在、MN への抗原塗布とその有効性について検証を行っている。

[野口　章、加来義浩、奥谷晶子、森川茂、井上 智、内藤誠之郎（検定検査品質保証室）]

7. マイクロアレイを利用した狂犬病の病態解析に関する研究

狂犬病を発症すると特徴的な麻痺症状が見られる。そこで、CVS-11 株をマウスに末梢感染させて確立した麻痺を誘導する感染実験モデルによって、マウスの神経組織について遺伝子の発現レベルをマイクロアレイで網羅的に解析したところ、マイクログリアに係るケモカイン等とこれらを制御している転写因子が有意に発現しており、組織病理学的にマイクログリアの活性が見られたことから、麻痺症状に対するマイクログリアの関与が強く示唆された。[宇田晶彦、濱本紀子、杉浦尚子、森川茂、井上智； 朴天鎬（北里大学）]

III. 炭疽に関する研究

1. ベトナムにおける炭疽菌分離株の分子遺伝学的解析

ベトナム北部で 2012 年に発生した皮膚炭疽散発事例において患者より分離された炭疽菌株 DNA の 80 tag SNP 解析を行った。その結果、これらの菌株は A1 クラスターに分類された。昨年度に解析した 2011 年発生事例とは発生場所および発生日時も異なるものの同様に A1 クラスターに分類されたことから、同じクラスターに属する炭疽菌が、ベトナム北部山岳地帯の複数箇所で分布している可能性が示唆された。［奥谷晶子、森川茂、井上 智（感染研・獣医科学部）；Hoang Thi Thu Ha（NIHE）］

2.　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

国内各地の土壌を収集し、土壌中の *Bacillus cereus* group 菌種群の分布状況の調査を引き続き行っている。今年度は国内 21 都道府県から収集した土壌から *Bacillus cereus* group 菌種群に属する *Bacillus cereus* (セレウス菌)および *Baillus thuringiensis*(チュリンゲンシス菌)と思われる菌株を多数分離した。昨年度同様、生化学性状を確認した後、これらの菌株から DNA を抽出し、セレウス菌・チュリンゲンシス菌・炭疽菌に特異的な *gyrB* 遺伝子領域の PCR を行い菌種の同定を行った。これまでに炭疽菌は分離されていない。[奥谷晶子、森川茂、井上智]

3. 土壌検体から分離された近縁菌種群の遺伝学的解析

炭疽菌あるいは炭疽菌と最も近縁な *Bacillus cereus* group について、7 箇所の house keeping genes を用いた Multilocus Sequence Typing (MLST) を国内土壌中の *Bacillus cereus* group について行っている。これまでに、（1）土壌由来チュリンゲンシス菌、（2）土壌由来セレウス菌および（3）食中毒由来あるいは臨床で分離されるセレウス菌と非常に近縁な土壌由来のセレウス菌という 3 つのグループに分類されることが明らかとなった。現在、患者由来の病原性を保持するセレウス菌と、環境から分離されたセレウス菌について、保有遺伝子の網羅的な比較解析を行っている。[奥谷晶子、森川茂、井上 智]

IV. 野兎病に関する研究

1. VNTR 法を用いたヒトへの野兎病菌の伝播経路の検討

2008 年福島県で発生した野兎病患者の臨床材料と患者本人が解体したノウサギの残骸を用いて野兎病菌の患者への伝播経路の検討を行った。両材料から抽出した DNA を鋳型に、野兎病菌特異的遺伝子の検出と反復配列多型(VNTR)法による分子疫学的解析を実施した結果、両材料から全野兎病菌特異的遺伝子の増幅が認められ、更に VNTR 解析により同一パターンを示した事より、患者は解体したノウサギから感染した可能性が非常に高いと結論づけた。

［藤田修、堀田明豊、宇田晶彦、山本美江、藤田博己（藤田保健衛生大）、新谷史明（総合磐城共立病院）、浅野重之（総合磐城共立病院）、棚林清、森川茂、山田章雄（東大）］

2. 日本分離野兎病菌のラットに対する病原性

低力価（4 cfu）の皮内接種にてマウスに致死的である野兎病菌 NVF1 株の、F344/N および SD ラットに対する病原性を解析した。両系統ラットとも 10^3cfu 皮内接種では無症状で接種後 21 日以上生残した。腹腔内接種したところ、F344/N は 10^4cfu 接種で全 4 匹が斃死、10^{1-3}cfu 接種で各 1 匹が生残した。SD は 10^{5-7}cfu 接種で 1 匹、10^4cfu 接種で 3 匹、10^3cfu 接種で 5 匹中 3 匹が生残した。野兎病菌感染にラットはマウスと比較して抵抗性であり、さらに SD ラットは F344/N ラットと比較して抵抗性であることが示された。[堀田明豊, 山本美江, 藤田修, 宇田晶彦, 棚林清, 森川茂]

3. 継代による野兎病菌の性状変化に関する研究

Eugon チョコレート培地にて NVF1 株を継代し、その性状を解析した。本菌株は継代 10 代以上でゲンタマイシン感受性が高まり、30 代以上で細胞内増殖性が低下、60 代までの間に CDM 培地における増殖性が欠落した。120 代継代菌では個々の細胞の大型化が観察されたが、補体感受性およびリポ多糖体構造における変化は認められなかった。本菌の細胞内増殖性試験にはゲンタマイシン感受性や CDM 培地における増殖性の相異が関与する可能性が示唆され、補体感受性およびリポ多糖体の関与は少ないと考えられた。[堀田明豊, 藤田修, 宇田晶彦, 棚林清, 山本美江, 森川茂]

4. 野兎病菌病原因子の同定

野兎病菌はヒトに対して極めて高い感染性と致死性を有するグラム陰性桿菌である。これまでに、野兎病菌 SCHU 株由来の弱毒（マウス非致死性；SCHU P5）株および強毒性（マウス致死性；SCHU P9）株を作出し、全ゲノム解析を行ったところ *pdpC* 遺伝子がこの病原性に関与していることが明らかとなった。そこで、強毒性株の *pdpC* 遺伝子破壊株およびその破壊株にプラスミドで *pdpC* 遺伝子を相補した株（相補株）を新たに作出し、マウスを用いて病原性を評価した。この結果、*pdpC* 遺伝子破壊株は病原性を消失したが、その相補株は病原性が復帰していた。以上の結果より、野兎病菌 *pdpC* 遺伝子は極めて重要な病原遺伝子であることが明らかとなった。[宇田晶彦、藤田修、堀田明豊、シャルマニークン、棚林清、森川茂]

5. マクロファージ細胞内で生育に必要な野兎病菌遺伝子の同定

野兎病菌の病原性発揮機序を解明するために、野兎病菌 SCHU 株由来の弱毒（マウス非致死性；SCHU P5）株および強毒性（マウス致死性；SCHU P9）株の全遺伝子発現比較解析を、野兎病菌マイクロアレイを用いて行った。この結果、21 遺伝子の発現量に有意な差が認められた。更に qRT-PCR を用いて発現量解析で有意に発現量の上昇していた 6 遺伝子のノックアウト株を作製した。その結果、3 遺伝子のノックアウト株は作製できず、3 遺伝子（*pulB*、*rpmI*、*pilO*）のノックアウト株が作製できた。これらの菌生育能を試験したところ、マクロファージ細胞内増殖能が低下していた。この結果から、*pulB*、*rpmI*、*pilO* 遺伝子は野兎病菌がマクロファージ細胞内で効率的に増殖するために必要な遺伝子であることが明らかとなった。一方、ノックアウト株の作製できなかった 3 遺伝

子は野兎病菌に必須な遺伝子であると考えられた。[シャルマニークン、宇田晶彦、藤田修、堀田明豊、棚林清、森川茂]

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ウイルス A 型の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ウサギ、ネコ、イヌ、ヒト由来細胞で鳥類由来とヒトインフルエンザ由来ウイルスの増殖性の比較を行った。鳥類由来インフルエンザウイルス株の中でも高病原性鳥インフルエンザウイルス株はどの由来細胞でもよく増殖したが弱毒株鳥インフルエンザウイルス株とヒト由来インフルエンザウイルス株は増殖できない細胞があった。[山本美江、堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、Neekun Sharma、棚林清、森川茂]

2. One Health の実践による感染症制御の新戦略

鳥インフルエンザを想定した One Health 理念における感染症の制御法を検討するため、環境省主体で行っている全国の渡り鳥飛来調査を 2 地点で視察し、WHO および FAO のズーノーシスへの取り組みについて調査した。また全国 14 自治体の鳥インフルエンザ対策や関連情報についてアンケート調査を実施した。さらに、これら自治体の畜産、保健衛生および環境部門の職員、農水、厚労および環境省の職員、ならびに大学および研究機関の鳥インフルエンザ研究者一同で会議を開き、One Health の考え方、アンケート結果について討議し、それぞれの取り組み、問題点について整理した。[堀田明豊, 棚林清]

VI. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスに関する研究

1. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出法開発

SFTS ウイルス(SFTSV) 保有マダニの疫学調査のためのリアルタイム RT-PCR 法による SFTSV 検出法の確立を試みた。SFTSV の S セグメントを標的とする 10 種類のリアルタイム RT-PCR 用プライマーおよび MGB プローブを設計した。Prof. Mifang Liang (中国 CDC)から分与された SFTSV HB29 株から抽出された RNA を、ダニから抽出された RNA にスパイクすることによりリアルタイム RT-PCR の性能試験を行った。この結果、10 種類のうち 1 種類のプライマー&プローブセットによるリアルタイム RT-PCR が、ダニ由来 RNA に対する非特異反応がないこと、ダニ RNA による検出感度への影響がなかった。本リアルタイム RT-PCR は、1TCID50 の SFTSV を検出でき、10 コピーのウイルスゲノムを検出できることが明らかとなった。 [宇田晶彦、加来義浩、藤田修、鈴木道雄、森川茂；福士秀悦、吉河智城、下島昌幸、安藤秀二、西條政幸（ウイルス第一部）；新倉綾（動物管理室）；川端寛樹（細菌第二部）；澤邉京子（昆虫医科学部）；高野愛、前田健（山口大学）]

2. 動物からの SFTSV 抗体の検出系の開発

中国の流行地では、反芻類、イヌ等から SFTSV に対する抗体が高率に検出されている。そこで、国内での SFTSV の分布を調査するための SFTSV 抗体検出系を開発した。ウイルス第一部第一室で作製された組換えバキュロウイルスにより昆虫細胞で発現、精製された核蛋白(nucleocapsid protein; NP)と SFTSV HB29 株を感染させた各種細胞のライセートを抗原とする IgG-ELISA を比較した結果、SFTSV 感染 Huh7 細胞のライセートが最も抗原価が高かった。組換え抗原では感度が低く、さらに非特異反応が動物血清では認められた。間接蛍光抗体法(IF)では、SFTSV NP を発現させた HeLa 細胞と SFTSV 感染各種細胞を比較した。その結果、SFTSV 感染 HeLa 細胞を用いた IF が最も高感度に抗体を検出できた。シカ、イノシシ、イヌなどの抗体調査に適した二次血清を検討した結果、ELISA では proteinA/G-HRPD が各種動物に対する HRPD 標識抗血清よりも高感度に濃い歌いが検出できることが明らかとなった。これまでに予備的な調査を行った結果、シカ、イヌ、イノシシから SFTSV 特異的抗体が検出された。[森川茂、木村昌伸、加来義浩、野口章、鈴木道雄、今岡浩一；福士秀悦、下島昌幸、西條政幸（ウイルス第一部）；前田健（山口大学）]

VII. その他の細菌感染症に関する研究

1. *Listeria monocytogenes* の遺伝子型別法の比較検討

通常 *Listeria monocytogenes* (*Lm*) の遺伝子型別法にはパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法が用いられている。我々は *Lm* の *iap* 遺伝子の部分的塩基配列に基づく系統樹解析とゲノム DNA の制限酵素切断解析を組み合わせた遺伝型別法を開発した。今回国内で分離された *Lm* 31 株を用いて PFGE 法での結果との比較検討し、この方法の有用性を調べた。両遺伝子型別法とも同様の型別結果が得られた事より、我々が開発した遺伝子型別法は PEGF 法と同等の分類能力を有することが示唆された。［落合由嗣（日獣大）、藤田修、Otgonchimeg BATMUNKH

（日獣大)、望月眞理子（日獣大)、高野貴士（日獣大)、山田文也（埼玉衛研)、棚林清、本藤良（日獣大)、植田富貴子（日獣大)］

2. 細菌性動物由来感染症の発生動向調査について

炭疽菌等、公衆衛生上の影響が大きいと思われる細菌性動物由来感染症の発生状況調査を、1. PubMed 文献ベース探索、2. ProMed、OIE、WHO 報告を利用して行いリスク分類を試みた。ヒトへの病原性がある細菌性ズーノーシスの発生件数は少ないが多くの菌種で報告があった。既存の監視対象疾病から外れている病原性の高い感染症は PubMed の症例報告や論文報告で拾い上げることができた。感染に関与する動物種としては伴侶動物である犬から感染した報告が多く、国内発生も複数あることから国内の発生動向を継続監視する必要があると思われた。家畜を中心とした細菌性ズーノーシスの発生調査は、即時性はないが OIE の発生報告が高精度で、ProMed のメールアラートシステムも有用な媒体であると思われた。［奥谷晶子、森川茂、井上 智]

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（奥谷晶子、森川茂、井上　智）

ブラインド・テスト方式による炭疽菌の遺伝子検査を行った。炭疽菌および近縁菌から抽出した DNA および陽性対照 DNA を各衛生研究所に送付し、衛研が所有している機器、プライマーおよびプロトコルで炭疽菌遺伝子が特異的に検出されるかについての確認を行った。検査の結果、全ての衛生研究所において炭疽菌遺伝子の検出に成功した。次年度への検討課題として、陽性対照 DNA の取り扱い方法（PCR 反応の対照として用いるか、陽性検体のサイズ対照として用いるか）について各衛生研究所との間で綿密に確認する必要性があることが明らかとなった。遺伝子検査と同時に炭疽菌芽胞が含まれていると想定される「白い粉」の検査経験などのアンケートを行い、各衛生研究所における炭疽菌の検査体制や整備の状況の把握を行った。

参加衛生研究所：山形県衛生研究所、東京都健康安全研究センター、愛知県衛生研究所、京都府保健環境研究所、長崎県環境保健研究センター

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：１件[木村昌伸、今岡浩一]

カプノサイトファーガ感染症疑い患者由来菌株の行政検査および依頼検査：１件(行)、４件(依)[鈴木道雄、今岡浩一]

鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：２件[木村昌伸、今岡浩一]

・野兎病疑い患者検体の行政検査 1 件[藤田、堀田]

・野兎病菌疑い検体の行政検査 1 件[藤田、堀田]

国際協力関係業務

Ⅰ．ベトナム協力

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･支援

NIHE で当該遺伝子検査を実施可能とするために、前年度提供した combinatorial-PCR の実施に関する技術支援・情報提供および陽性コントロールの提供を、今岡第 1 室長が行った。

Ⅱ．台湾協力

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

日本･台湾のイヌ抗体保有状況を検討､比較するために、検査技術(マイクロとプレート凝集反応)の検証を行い、共有化した。またそのための抗原の提供を、今岡第 1 室長が行った。

Ⅲ. JICA 協力

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

H24 年 7 月 1 日～14 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、１．PCPM を対象とした狂犬病の病原体検査に係る GMT 実験室診断の研修の指導助言。２．PCPM を対象とした狂犬病の病原体検査に係る GMT 実験室診断の SOP、研修マニュアルの現状調査と開発の指導助言。３．PCPM を対象とした狂犬病の病原体の取り扱いに係るリスク評価の指導助言。４．狂犬病の病原体検査に係るラボラトリーネットワークの構築強化の指導助言を行った。

H23 年 7 月 8 日～7 月 14 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、１．PCPM を対象とした炭疽の病原体検査に係る GMT 実験室診断の研修の指導助言。２．PCPM を対象とした炭疽の病原体検査に係る GMT 実験室診断の SOP、研修マニュアルの現状調査と開発の指導助言。３．PCPM を対象とした炭疽の病原体の取り扱いに係るリスク評価の指導助言。４．炭疽の病原体検査に係るラボラトリーネットワークの構築強化の指導助言を行った。

Ⅳ．タイ協力（平成 24 年 4 月 24 日～30 日）
タイ国・チェンマイ大学とコンケーン大学が共催して行う、人獣共通感染症および狂犬病に関する会議（Conference and Workshop on“From zoonosis to the Chiang Mai model towards rabies free zone”）において、第二室の井上室長が狂犬病の専門家として講演と狂犬病プロジェクトへの助言等を行った。

Ⅴ．中国協力（平成 24 年 5 月 16 日～19 日）
中国予防医学協会から招聘を受けて「2012 年中国狂犬病会議」に参加して、わが国の狂犬病予防に関わる研究等について第二室の井上室長が発表を行った。同会議では、隣国である中国の狂犬病流行拡大による公衆衛生学的な脅威の現状把握とわが国の輸入狂犬病対策に関わるリスク等の知見を意見交換・共有し、同会議に招へいされた WHO、フランス・パスツール研、フィリピン、タイの狂犬病専門家とアジアにおける狂犬病の課題と課題解決に必要となる研究等について意見交換および共同研究について打ち合わせ等を行った。

Ⅵ．台湾協力（平成 24 年 8 月 20 日～23 日）
台湾 CDC が、平成 24 年 7 月 23 日に報告した中国本土から輸入されたヒトの狂犬病を受けて、急きょ開催された「2012 年狂犬病予防制御国際検討会議」に参加して感染経路、感染源、医療対応、危機管理対応等について、第二室の井上室長が担当医師、台湾 CDC 専門家、検疫関係者等と最新の情報と現状に関する意見交換を行った。会議中に台湾 CDC の新興再興ウイルス感染症部を訪問して検査担当者と直接に検査法や課題点等についても意見交換を行い、また、台湾の行政院農業委員会家畜衛生試験所が中心に進めている陸生動物および翼手目(コウモリ)の狂犬病を含むズーノーシスサーベイランスについてその実績と課題点、ヒトに病原性のあるズーノーシス起因病原体の解析とリスク分類に関する知見等についても意見交換を行った。

Ⅶ．フィリピン協力（平成 25 年 1 月 6 日～10 日）
フィリピン(マニラ)・熱帯医学研究所（RITM）のズーノーシス研究部と共同して進めているリッサウイルス（狂犬病）等の簡易診断法の確立を行うために、地域ラボとのネットワークを利用した野外検体によるモニタリング・サーベイランス構築の進捗状況についての確認と課題・改良点について議論および研究の展開方法等について打ち合わせ等を第二室の井上室長が行った。

研修業務

1) 千葉市平成 24 年度動物取扱責任者研修（2012 年 8 月 31 日および 2013 年 2 月 13 日）において、講師として人獣共通感染症の講習を行った。[今岡浩一]
2) 感染研－メディア情報交換会（2012 年 7 月 30 日）において、ブルセラ症の総論と現状を紹介した。[今岡浩一]
3) 井上　智。動物由来感染症。平成 23 年度集団研修「獣医技術研究」コース。独立行政法人国際協力機構・筑波国際センター（JICA 筑波）。2012 年、4 月 9 日、（独）農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所、筑波
4) 井上　智。狂犬病の臨床診断と対応ガイドライン(発生時における対応）について。平成 24 年度獣医公衆衛生講習会。熊本県健康福祉部健康危機管理課。2012 年、5 月 25 日、熊本市、熊本県
5) 井上　智。公衆衛生における動物由来感染症（ズーノーシス）と狂犬病が発生した場合に想定される課題について。人獣共通感染症（狂犬病を含む）に関する講演会。名古屋市健康福祉局健康部食品衛生課。2012 年、10 月 25 日、名古屋市動物愛護センター、愛知県
6) 井上　智。狂犬病予防対応ガイドライン等について。平成 24 年度宮崎県狂犬病予防業務研修会。宮崎県福祉保健部。2012 年 12 月 9 日、宮崎保健所、宮崎県
7) 井上　智。感染症対策におけるズーノーシスについて（狂犬病の予防-危機管理対応-から学ぶ）。感染症情報センター研修会。埼玉県衛生研究所。2013 年 1 月 1 7 日、埼玉県衛生研究所、埼玉県
8) 井上　智。狂犬病対応ガイドライン 2013 について。平成 24 年度狂犬病予防業務担当者会議。厚生労働省健康局結核感染症課。2013 年 2 月 7 日、三田共用会議所、東京、東京都
9) 井上　智。狂犬病対応ガイドライン 2013 について。平成 24 年度狂犬病予防業務担当者会議。兵庫県立健

康生活科学研究所。2013 年 2 月 13 日、健康科学研究センター、兵庫県

Ⅷ. 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 24 年 8 月 27 日～9 月 3 日に文部科学省「口蹄疫等家畜伝染病に対応した獣医師育成環境の整備事業」「獣医学生のための実習・インターンシッププログラム」平成 24 年度人獣共通感染症･食品由来感染症実習を実施した。実習参加者は 9 名（帯広畜産大学、北海道大学、岩手大学、東京大学、日本大学）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) 「現在、国内で分離・同定できないウイルス性出血熱等の診断等の対応方法に関する研究」（H22-新興-一般-006）（加藤康之）研究分担：森川　茂
2) 「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」（H23-新興-一般-006）（森川　茂）
3) 「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
4) 「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：森川 茂、今岡浩一、井上　智、
5) 「バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究」（H23-新興-一般-007）(倉根一郎)　研究分担：森川 茂、井上 智
6) 「動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究」（H24-新興-一般-006）（吉川泰弘）研究分担：今岡浩一、井上　智
7) 「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
8) 「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）
9) 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」（H24-国医-指定 003）（中込治）研究分担：森川茂

文部科学省

科学研究費助成事業（学術研究助成基金情勢金（若手研究 B)「野兎病菌病因子 PdpC タンパク室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（棚林清）

ヒューマンサイエンス振興事業

政策創薬マッチング研究事業「細胞培養弱毒生痘そうワクチンの有効性、安全性の評価と生産性向上に関する総合研究」（KHC1216）（倉根一郎）研究分担：森川　茂

国際特許の取得

金原友美、横手公幸、大隈邦夫、倉永雅彦（化血研)、森川茂.　痘瘡生ワクチンの製造方法.　中国特許登録番号 200780037547.7

発 表 業 績 一 覧

I. 誌　上　発　表

１．　欧文発表

1) Nakato,G., Hase,K., Suzuki,M., Kimura,M., Ato,M., Hanazato,M., Tobiume,M., Horiuchi,M., Atarashi,R., Nishida,N., Watarai,M., Imaoka,K. and Ohno,H. Cutting Edge: Brucella abortus exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. J. Immunol., 189:1540-1544, 2012
2) Sharma, N., Hotta, A., Yamamoto, Y., Fujita, O., Uda, A., Morikawa, S., Yamada, A. and Tanabayashi, K. (2013) Detection of *Francisella tularensis*-specific antibodies in patients with tularemia by a novel competitive enzyme-linked immunosorbent assay. Clin. Vaccine Immunol., 20, 9-16.
3) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M,

Morikawa S. Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. J Virol. 2013, 87 (2): 1105-1114

4) Taniguchi S, Sayama Y, Nagata N, Ikegami T, Miranda ME, Watanabe S, Iizuka I, Fukushi S, Mizutani T, Ishii Y, Saijo M, Akashi H, Yoshikawa Y, Kyuwa S and Morikawa S. Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. BMC Veterinary Research, 2012 8(1):189.
5) Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M, Morikawa S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. Viruses, 2012 4(10):2097-114. (special issue: Arenaviruses).
6) Katano H, Sato S, Sekizuka T, Kinumaki A, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Morikawa S, Saijo M, Mizutani T, Kuroda M. Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. Int J Clin Exp Pathol 2012;5(8):814-823
7) Sayama Y, Demetria C, Saito M, Azul RR, Taniguchi S, Fukushi S, Yoshikawa T, Iizuka I, Mizutani T, Kurane I, Malbas FF Jr, Lupisan S, Catbagan DP, Animas SB, Morales RG, Lopez EL, Dazo KR, Cruz MS, Olveda R, Saijo M, Oshitani H, Morikawa S. A seroepidemiologic study of Reston ebolavirus in swine in the Philippines. BMC Vet Res. 2012, Jun 18;8:82.
8) Lihoradova O, Kalveram B, Indran SV, Lokugamage N, Juelich TL, Hill TE, Tseng CT, Gong B, Fukushi S, Morikawa S, Freiberg AN, Ikegami T. The dominant-negative inhibition of double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR increases the efficacy of Rift Valley fever virus MP-12 vaccine. J Virol. 2012, 86 (14) : 7650-61.
9) 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. J Virol Methods. 2012, 180(1-2): 68-74.
10) Arai S, Gu SH, Baek LJ, Tabara K, Bennett SN, Oh HS, Takada N, Kang HJ, Tanaka-Taya K, Morikawa S, Okabe N, Yanagihara R, Song JW. Divergent ancestral lineages of newfound hantaviruses harbored by phylogenetically related crocidurine shrew species in Korea. Virology. 2012, 424(2): 99-105.
11) Kaku Y., Noguchi A., Marsh G.A., Barr J.A., Okutani A., Hotta K., Bazartseren B., Fukushi S., Broder C.C., Yamada A. and Inoue S., 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.
12) Yamada K., Park C.-H., Noguchi,K., Kojima D., Kubo T., Komiya N., Matsumoto T., Mitsui M.T., Ahmed K., Morimoto K., Inoue S., Nishizono A. (2012) Serial passage of a street rabies virus in mouse neuroblastoma cells resulted in attenuation: potential role of the additional N-glycosylation of a viral glycoprotein in the reduced pathogenicity of street rabies virus. Virus Res. 165:34-45.
13) Kaku, Y., Noguchi, A., Marsh, A.G., Barr, A.J., Okutani, A., Hotta, K., Bazartseren, B., Broder, C.C., Yamada, A., Inoue, S., and Wang, L.-F. (2012) Antigen capture ELISA system for henipaviruses using polyclonal antibodies obtained by DNA immunization. Arch.Virol. 157:1605-1609.
14) Kaku, Y., Noguchi, A., Okutani, A., Inoue, S., Tanabayashi, K., Yamamoto, Y., Hotta, A., Suzuki, M., Sugiura, N., and Yamada, A. (2012) Altered specificity of single-chain antibody fragments bound to pandemic H1N1-2009 influenza virus after conversion of the phage-bound to the soluble form. BMC Res. Notes 157:1605-1609.
15) Yu, P.-C., Noguchi, A., Inoue, S., Tang, Q., Rayner, S. and Liang, G.-D. (2012) Comparison of RFFIT Tests with Different Standard Sera and Testing Procedures. VIROLOGICA SINICA, 27:187-193.

２． 和文発表

1) 斎藤洋子, 丹野大樹, 吉田詠子, 渡辺洋子, 伊藤真弘, 菅野喜久子, 田中京子, 大花昇, 三浦里織, 阿部良伸, 山本夏男, 今福裕司, 鈴木道雄, 今岡浩一, 金光敬二. 血液像所見が早期診断に有効であった *Capnocytophaga canimorsus* 敗血症の一症例. 福島県臨床衛生検査技師会誌, 50:135-140, 2012
2) 麻生さくら, 渡部信栄, 中村望, 細貝みゆき, 今岡浩一, 野本優二, 手塚貴文, 塚田弘樹. 血液培養から分離された *Brucella melitensis* の一症例. 医学検査, 61(5): 902 -907, 2012
3) 内藤亮, 瀧口恭男, 秋葉容子, 駿河洋介, 鈴木道雄,

今岡浩一. *Capnocytophaga sputigena* による肺化膿症の１例. 日本呼吸器学会誌, 2(2):157-161, 2013

4) 今岡浩一, 木村昌伸. 日本におけるブルセラ症－感染症法施行前（1999 年 3 月 31 日）までー. in：病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 33(7): 186-187, 2012
5) 今岡浩一, 鈴木道雄, 慕蓉蓉. 台湾におけるブルセラ症－33 年ぶりの患者報告と届出疾患へー. in:病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 33(7): 193-194, 2012
6) 今岡浩一, 木村昌伸, 勝川千尋. ブルセラ症–ブルセラ症検査マニュアル–2012. in：病原体検査マニュアル（国立感染症研究所、地方衛生研究所全国協議会）, [http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/brucellosis_2012.pdf], 2012
7) 今岡浩一. ブルセラ症の現状. in：化学療法の領域, 医薬ジャーナル社, 28(12): 138-148, 2012
8) 今岡浩一, 鈴木道雄. カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症－特集・ペットからの感染症. in：小児科, 金原出版, 54(1): 49-56, 2013
9) 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。特集：人と動物の共通感染症最前線 9。獣医畜産新報（JVM)。65:374-376、2012

II. 学　会　発　表

１．国際学会

1) Gaku Nakato, Koji Hase, Michio Suzuki, Masanobu Kimura, Manabu Ato, Misaho Hanazato, Minoru Tobiume, Motohiro Horiuchi, Ryuichiro Atarashi, Noriyuki Nishida, Masahisa Watarai, Koichi Imaoka, Hiroshi Ohno. Cellular prion protein on Peyer's patch M cells could serves as an invasive receptor for Brucella abortus. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Sep. 11-14, 2012
2) Hotta, A., Fujita, O., Sharma, N., Uda, A., Yamamoto, Y., Yamada, A., Morikawa, S. and Tanabayashi, K. Intracellular growth and virulence of newly isolated Francisella tularensis in Japan. 7th International conference on Tularemia, Breckenridge Colorado, USA, September 2012 年 9 月
3) Sharma, N., Hotta, A., Yamamoto, Y., Fujita, O., Uda, A., Mizoguchi, T., Shindo, J., Park, C-H., Kudo, N., Hatai, H., Oyamada, T., Yamada, A., Morikawa, S. and Tanabayashi, K. Serosurveillance of tularemia among various wild animals in Japan using a novel competitive enzyme-linked immunosorbent assay. 7th International conference on Tularemia, Breckenridge Colorado, USA, September 2012 年 9 月
4) Morikawa, S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of viral hemorrhagic fevers caused by Lujo viruses. 6th US-Japan medical biodifence symposium. Nagasaki, 4 June 2012
5) Morikawa, S. Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. 46th US-Japan Cooperative Medical Science Program. Beppu, 19-20 June 2012
6) Morikawa, S. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) in Japan. 15th International Conference on EID in the Pacific Rim & 47th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Singapore, 11-13 March 2013.
7) Tani H, Iha K, Shimojima M, Taniguchi S, Yoshikawa T, Fukushi S, Saijo M and Morikawa S. Characterization of New and Old World arenavirus glycoprotein-mediated entry. 15th International Conference on EID in the Pacific Rim & 47th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Singapore, 11-13 March 2013.
8) Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Saijo M, Yamaguchi R, Komase K, Takeda M and Morikawa S. Canine distemper virus intrinsically uses monkey receptors and readily adapts to use human receptors as well. 15th International Conference on EID in the Pacific Rim & 47th US-Japan Cooperative Medical Science Program, Singapore, 11-13 March 2013.
9) Manalo D.L., Tuason L., Jarilla B., Avenido E., Demetria C., Quiambao BP., Acosta L.P., Noguchi A., Bazartseren B., Suguira N., Kaku Y. and Inoue S. Optimization Procedures of the Production of Rabies Polyclonal Antibodies as Reagent for Direct Rapid Immunohistochemical Test (DRIT). Conference for Laboratory Animal Sciences and Technologies 2012. 24-26 May, 2012. . Beppu international convention center, Japan.
10) Inoue S., Shigematsu, M., Sato M., Muranaka S., Masukawa H., Sugiyama K., Kobayashi M., Imabayashi A., Watanabe T., Suzuki A., Minami, H. Surveillance: Encompassing public health to your animal companion! 15th International Congress on Infectious Diseases. Organized by the International Society for Infectious

Diseases. 13-16 June, 2012. Bangkok, Thailand.

11) Inoue S., Uda A., Sugiura N., and Park C.-H. Microarray analysis of central nervous system in CVS-11 infected mice showing signs of paralysis. 46th Joint Working Conference on Viral Diseases. The Japna-US Cooperative Medical Science Program. 19-20 June, 2012. Beppu, Japan.
12) Inoue S., Uda A., Sugiura N., and Park C.-H. Microarray analysis of CNS in mice showing signs of paralysis after the intramuscular inoculation of RV (CVS-11 strain). The 16th Annual Meeting of Japanese Society for Neurovirology. Symposium "Current Progress in Enterovirus 71 Research in The Asia-Pacific Region". 30-31 Aug, 2012. NIID, Tokyo, Japan.
13) Hamamoto N., Kaku Y., Noguchi A., Morikawa S., and Inoue S. Difference in intracellular localization and expression level of recombinant rabies G-proteins of street virus (Kyoto strains) and fixed virus (CVS-26 strain) expressed in HEK293T cells. XXIII RITA (Rabies in the Americas). 14-18 Oct, 2012. Sao Paulo, Brazil.
14) Inoue S., Uda A., Sugiura N., Hamamoto N., and Park C.-H.. Microarray analysis of central nervous system associated with the infiltration of microglia in mice showing signs of paralysis after the intramuscular inoculation of RV (CVS-11 strain). XXIII RITA (Rabies in the Americas). 14-18 Oct, 2012. Sao Paulo, Brazil.
15) Thi Thu Ha Hoang, Satoshi Inoue, Akiko Okutani, Dang Duc Anh, Thanh Hai Pham, Thuy Tram Nguyen, and Tran Hien Nguyen. Anthrax cases report in Vietnam - An update. 1-2 Dec, 2012. SAOHUN (The southeast Asian One Health university network) executive board meeting supported by RESPOND-USAID, Bali, Indonesia.
16) Petsophonsakul W., Khuernrart W., Pornvisedsirikul S., Srichan M., Jaisuda S., Sripanya T., Khaoplod P., Munepo M., Witunrakul C., Anukul W., and Inoue S. Learning about a case of imported rabies to establish a rabies control area. 15-18 Feb, 2013. IMED 2013, Vienna, Austria.

２．国内学会

1) 鈴木道雄, 木村昌伸, 今岡浩一, 山田章雄. 犬・猫咬・掻傷感染から重症敗血症や DIC に至ることもある *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の現状. 第 86 回日本感染症学会総会, 長崎, 2012 年 4 月
2) 鈴木道雄, 中藤学, 度会雅久, 木村昌伸, 堀内基広, 長谷耕二, 飛梅実, 阿戸学, 森川茂, 山田章雄, 大野博司, 今岡浩一. *Brucella abortus* は腸管パイエル板からの侵入に M 細胞上のプリオン蛋白質（PrPc）を利用する. 第 155 回日本獣医学会学術集会, 東京, 2013 年 3 月
3) 落合由嗣、藤田修、Batmunkh Otgonchimeg、望月眞理子、高野貴士、山田文也、棚林清、本藤良、植田富貴子、*Listeria monocytogenes* の遺伝子型別法の比較検討、第 155 日本獣医学会学術集会、2013 年３月
4) 酒井宏治、關文緒、網康至、福士秀悦、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬 勝啓、竹田 誠. カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサル SLAM ならびに Nectin4 の効率的な利用. 第 154 回日本獣医学会学術集会、盛岡、2012 年 9 月 14−15 日
5) 秋山今日子、西尾陽平、田丸精治、長尾裕美子、下田宙、酒井宏治、永田典代、森川 茂、下島昌幸、前田健. 自然宿主を用いた犬ジステンパーウイルス感染実験系の構築. 第154回日本獣医学会学術集会、盛岡、2012 年 9 月 14−15 日
6) 森川 茂. 日本国内におけるウイルス性出血熱や新興ウイルス感染症の検査体制と BSL4 施設の現状. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13−15 日、大阪
7) 林昌宏、網康至、藤井克樹、北浦和孝、モイメンリン、白井顕治、小滝徹、須崎百合子、森川茂、西條政幸、鈴木隆二、倉根一郎、高崎智彦. マーモセットを用いたチクングニアウイルスの霊長類モデルの検討. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13
8) 谷英樹、伊波興一朗、谷口怜、吉河智城、福士秀悦、西條政幸、森川茂. シュードタイプ VSV を用いたルジョウイルスの細胞侵入機構の解析. 第60回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13
9) 岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹、佐藤由子、横田恭子、西條政幸、森川茂、長谷川秀樹. SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の副反応発生機序について. 第60回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13
10) 谷口怜、佐山勇輔、永田典代、飯塚愛恵、谷英樹、吉河智城、福士秀悦、西條政幸、久和茂、森川茂. レストンエボラウイルス自然感染カニクイザルにお

ける免疫応答の解析.　第60回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13

11) 福士秀悦、新倉綾、谷英樹、吉河智城、伊波興一朗、谷口怜、緒方もも子、西條政幸、森川茂. 日本のマダニ類における新種のブニヤウイルス（SFTSV）保有調査と SFTSV 血清学的診断法の開発.　第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13

12) 大場靖子、石井秋宏、トーマス由佳、小川寛人、中村一郎、木村享史、森川 茂、西條政幸、澤洋文. ザンビアの野生動物におけるオルソポックスウイルス感染の疫学調査.　第60回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13

13) カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか？

14) 酒井宏治、關 緒、網康至、田原舞乃、中津祐一郎、大槻紀之、福原秀雄、福士秀悦、吉河智城、西條政幸、森川茂、前仲勝実、山口良二、駒瀬 勝啓、竹田誠.　第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13

15) 杉下摩由璃、山田健太郎、小宮尚之、久保達也、小嶋大亮、Boonsriroj Hassadin、井上　智、西園　晃、朴　天鎬。病原性の異なる狂犬病ウイルス（強毒株 1088-N0 と弱毒株 1088-N30）を筋肉内接種した ddY マウスの末梢神経系（脳を除く頭部）に関する比較病理学的研究。第 154 回日本獣医学会学術集会、2012、9 月、岩手大学、岩手県

16) 朴　天鎬、山田健太郎、小宮尚之、久保達也、小嶋大亮、井上　智、西園　晃。病原性の異なる狂犬病ウイルス（強毒株 1088-N0 と弱毒株 1088-N30）を筋肉内接種した ddY マウスの中枢神経系に関する比較病理学的研究。第 154 回日本獣医学会学術集会、2012、9 月、岩手大学、岩手県

17) 加来義浩、野口章、濱本紀子、Boldbaatar Bazartseren、佐藤 豪、森川 茂、井上 智。分泌型アルカリフォスファターゼ発現 VSV シュードタイプを利用した狂犬病ウイルス中和試験法の開発。第 154 回日本獣医学会学術集会、2012、9 月、岩手大学、岩手県

18) 李　松熹、河原　正浩、加来義浩、井上　智、上田宏、長棟輝行。細胞増殖を指標とした抗狂犬病ウイルス P 蛋白質細胞内抗体の直接選択（Direct selection of intracellular antibodies against rabies virus phosphoprotein based on cell proliferation）。第 64 回日本生物工学会大会、2012 年 10 月 23 日-26 日、神戸国際会議場、神奈川県

19) 飛梅　実、井上　智、野口　章、濱本紀子、長谷川秀樹。狂犬病ウイルス抗原の口腔内局在の病理学的探索。第 60 回ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月 13 日-15 日、大阪国際会議場、大阪府

３．セミナー・講演等

1) 森川 茂.　新興・再興ブニヤウイルス感染症.　第 22 回国立感染症研究所シンポジウム.　2012 年 5 月 21 日、東京

2) 森川 茂.　ウイルス性出血熱患者発生に備えた検査診断技術.　第２回バイオセキュリティワークショップ「バイオディフェンスに資する日米科学協力の新たな可能性」（文科省委託事業「バイオセキュリティ分野の国際連携協力に関する研究調査（研究総括：竹内勤）」）2012 年 7 月 21 日、東京

3) 森川 茂.　最近の新興感染症発生事例について.　平成 24 年度動物由来感染症対策技術研究会.　2012 年 11 月 2 日、東京

4) 井上　智。狂犬病研究を通して感じていること。第５回 世界狂犬病デー JAPAN シンポジウム（狂犬病のない国であり続けるために）。東京都獣医師会・狂犬病臨床研究会。2012 年、9 月 28 日、アリミノビル地下ホール、東京都

5) Inoue, S. Zoonosis: Rabies. Conferaence and workshop on "From zoonosis to the Chiang Mai model towards rabies free zone", 26-27 April 2012, Chiang Mai University, Thailand.

6) Inoue, S. "The prevention of rabies in Japan". A Contingency Plan of Rabies in Japan. 2012 Rabies Conference in China, 17-18 May 2012, Beijin, China.

7) Inoue, S. Clinical signs and symptoms of rabies in animals (Theory and video on dog rabies, the notes of clinical diagnosis). Enhancement of quality of rabies control and prevention. National program for rabies control and prevention - NIHE and JICA project on enhancement of communicable disease control and prevention for PMS with NIID and WHO experts. 4-6 July 2012, Thai Nguyen Province, Vietnam.

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・検査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。

検定業務においては､新たなワクチンの需要が高まり、国家検定に関する業務も増大している。このような状況の中、平成２４年度は不活化ポリオワクチン、沈降精製 DPT 不活化ポリオ混合ワクチン、沈降インフルエンザワクチン（H5N1 株)、沈降 13 価肺炎球菌ワクチン、細胞培養インフルエンザワクチン(H5N1 株)の承認前検査を行うとともに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、その効率化を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。こうした中、平成２４年度に生物学的製剤基準の組換え沈降 B 型肝炎ワクチンに対する異常毒性否定試験の実施回数の検討を行ったことは大きな動きといえよう。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乖離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に加え、試験法の開発を積極的に図っていく。

体外診断用医薬品においては、B 型肝炎ウイルス表面抗原試薬、C 型肝炎ウイルス抗体試薬および血液型判定試薬の製造販売承認に係る承認前試験を当部が担当している。平成２４年度は抗 HCV 抗体検査試薬２件、 HBs 抗原検査試薬 4 件の申請があった。また、B 型肝炎ウイルスおよびC 型肝炎ウイルスの感染症国内検体パネルの整備をウイルス２部と協力して進め、平成２５年４月より厚生労働省の感染症検体パネル事業の枠組みで感染研からの配布に至った。今後、承認申請および審査の一層の効率化が期待される。さらに、平成２４年度は体外診断用医薬品の試薬間の検出感度や特異性を客観的に検討する目的で、B 型肝炎ウイルスに関連した体外診断用医薬品の性能比較調査を実施した。今後も定期的に実施したいと考えている。

国際協力業務については、多くの部員が JICA 等の研修事業において講師をつとめた。また、生物学的製剤に関する WHO の会議に出席するとともに、WHO 国際標準品制定に関し B 型肝炎ウイルスの HBe 抗原、抗 HBe 抗体の国際標準品候補品の共同測定を行った。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｡「感染症」においては、HTLV-1 感染症の診断、感染予防、ATL の治療に関する研究を重点的に推進している。この他にも、血液を介する感染症に関する情報を幅広く収集し、関連する研究を行っている。また「ワクチン」においては、品質向上を目指した試験、研究に加え、平成２４年度よりアジュバント含有ワクチンの安全性評価のためのデータベース構築の研究を医薬基盤研と協力して実施している。新しい安全性評価法の開発に結びつけたい。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等の補助のもと行われている。

人事の面では、平成２５年１月に平松竜司研究員が大阪府立母子保健総合医療センターより着任した。また平成２４年４月には日吉真照研究員が熊本大学エイズ学研究センターより着任した。一方、平成２５年３月には内田哲也主任研究官、矢野茂生主任研究官が定年退官された。種市麻衣子主任研究官が平成２５年３月に退職された。３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。

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) HTLV-1核酸検査法の標準化

HTLV-1キャリアからATL発症の予後予測因子として末梢血中のHTLV-1プロウイルス量(PVL)が注目されているが、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。そこでこれまでに、HTLV-1感染細胞標準品に用いて測定値の標準化を行った。施設の最小検出感度を、感染細胞を低濃度にスパイクしたHTLV-1陽性検体を用いて確認した。その結果、各施設でPVL値約0.04 (%)まで検出出来た。さらにDNA量を500ng-1000ngに増加させると約0.004(%)まで感度が上がることを確かめた。日本赤十字社の協力で、献血血液のHTLV-1抗体検査でWB法とIF法の結果が不一致となった約150検体を用いてHTLV-1核酸検査をしたところ､WB判定保留群では約40%で核酸陽性となった。このことから核酸検査は、WB判定保留例の確認検査として有効であることが明らかとなった。　　[倉光球、大隈和、濵口功]

2) DNAマイクロアレイを用いた献血血液における新規病原体検出法の開発

献血血液においてはHIV, HCV, HBV、PvB19などの病原体のスクリーニングが抗体検査及び核酸増幅検査(NAT)によって実施されている。近年、様々な新興・再興感染症が発生し、献血血液に関しても喫緊の対応が求められる事が多い。また、種々の変異株などへの対応を鑑みると、より迅速で多種多様なウイルス検出法の開発が望まれていた。そこで、我々は、HIV, HCV, HBV, PvB19, WNVのゲノム情報を解析し、より多くの株間で検出可能なプライマーをCoCoMo法によって作製した｡更にそれらの産物をDNAマイクロアレイで検出するプラットフォームを開発し、HIV (1000IU/mL), HCV (1IU/mL), HBV(1IU/mL), PvB19(1IU/mL), WNV(1IU/mL)の感度で検出する事が可能となった。

[滝澤和也、水上拓郎、中島龍生(日本パーカーライジング広島工場)、遠藤大仁(酪農学園大)、山口一成、濵口功]

3) 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(1) HCV-NATの感度と特異性の実情把握

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）を実施している。第三者機関によるNATの品質管理の実情把握を目的として､NATコントロールサーベイを実施してきた。平成 23 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 施設に送付し、平成24年度に結果の解析を行った。全施設においてHCV-NATの品質管理が適切に行われていることを確認した。　　[水澤左衛子、岡田義昭、佐藤結子、濵口功]

4) 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(2) HBV-NATの感度と特異性の実情把握

血液製剤等に係る遡及調査ガイドライン（平成17年）に基づいて民間の衛生検査所においてHBV-NATを実施している。本邦では報告されていない遺伝子型のHBVが海外から持ち込まれた場合の検出能力をあらかじめ検討することを目的として、世界中で報告された遺伝子型をほぼ網羅しているWHO国際標準HBV DNA遺伝子型パネルを用いてNATコントロールサーベイを実施した。民間の衛生検査所6施設が参加し、体外診断薬メーカー2社がオブザーバー参加した。結果を解析中である。

[水澤左衛子、岡田義昭、佐藤結子、濵口功]

5) 簡便なウイルス濃縮法の開発

血液製剤の安全性確保のためには混入する可能性のあるウイルスをモニターすることは重要である。しかし、原料プールや最終製品から検出するとなると濃度的には従来の核酸増幅法では検出は不可能に近い。そこで､10mLの製剤や血漿から 100μL 程度までウイルスを濃縮する方法を考案した。本濃縮法は、どこの実験室にもある遠心機で効率良くウイルスが濃縮できる特徴がある。

市販のエンドソーム精製試薬を血漿や血漿分画製剤に添加し、低速の遠心機で1500g、30分の遠心によってC型肝炎ウイルス、XMRV、パルボウイルスB19がほぼ100%回収することができた。さらにウシ下痢症ウイルスを用いて感染価を測定したところ、感染性を保持したまま濃縮できることが明らかとなった。

[岡田義昭、野島清子、濵口功]

6) 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た。なお、本調査には日本赤十字社中央血液研究所より譲渡された献血由来の実検体を用いた。各メーカーに対し全調査結果を報告し、特にHBs抗原キットについては調査結果説明会を開催した。

[大隈和、百瀬暖佳、水落利明、溝上雅史（国立国際医療研究センター)、濵口功]

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2012年ECBS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。第二次HIV-1 NAT genotypeパネルが承認された。新たに第三次HBsAg国際標準品と第三次パルボウイルスB19-DNA国際標準品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HIV-1 NAT genotypeパネルに引き続き、新たな国際標準品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、濵口功、小林和夫(免疫部)］

2) HBV感染症体外診断用医薬品の国際標準品制定に関する研究

WHO（ポールエーリッヒ研究所）からの依頼により、第１次HBe抗原及び抗HBe抗体国際標準品の制定に向けた国際共同研究に参加した。HBe抗原及び抗HBe抗体の候補品をWHOから受領し、メーカーの協力を得てそれぞれのキットを用いて検査した。研究結果はHBe抗原、抗HBe抗体ともにWHOに報告した。　　［大隈和、百瀬暖佳、濵口功］

3) 体外診断用医薬品の承認申請のための国内検体を用いた血漿パネル（感染症検体パネル）の整備

国内検体を用いた体外診断用医薬品の既承認品との相関性試験に使用する目的で、感染症検体パネルが平成24年4月から交付されることが決定した。そこで交付開始に備え、日本赤十字社中央血液研究所より譲渡された国内献血血液を用いて、HBV 及び HCV の感染症検体パネルをウイルス第二部と協同で整備した。

［大隈和、百瀬暖佳、水落利明、加藤孝宣(ウイルス第二部)、巽正志(エイズ研究センター)、濵口功、小林和夫(免疫部)］

３．輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1)病原体不活化に関する研究

赤血球製剤の病原体不活化法として、これまで紫外線照射を検討してきた。紫外線照射による赤血球のダメージを低減することを目的としてビタミン C(VC)添加の有用性と不活化効果への影響を検討した。赤血球にウシ下痢症ウイルス（BVDV）をスパイクし、VC 添加直後に紫外線照射するとウイルス不活化効果が認められなくなることから、紫外線照射による不活化のメカニズムは定説である病原体遺伝子の破壊ではなく活性化酸素によるものであること可能性が示唆された。BVDV をスパイクした赤血球製剤に VC を取り込ませた後に紫外線を照射したところ、不活化能の回復がみられた。VC は紫外線照射による赤血球不活化において赤血球の保護剤として有用であることが示された。　　［岡田義昭、野島清子、濵口功］

2)パルボウイルス B19 の研究

ヒトパルボウイルス B19（以下 B19）は培養が困難なウイルスであり、ヒト人赤芽球細胞に親和性を示す。我々が構築した B19 の *in vitro* 感染系では B19 RNA の転写はされるが、B19 構造タンパク質の発現や娘ウイルスの産生は確認できない。Filippone らの報告を基に末梢単核球細胞から赤芽球細胞を誘導し、B19 を感染させたところ、ウイルス抗原の発現と細胞内でのウイルス核酸の複製を認めた。さらに誘導した赤芽球は凍結・保存できること、凍結末梢単核細胞を解凍して誘導した赤芽球も B19 に高感受性であることが明らかになった。

［岡田義昭、野島清子、濵口功］

3) HTLV-1 感染 *in vivo* イメージング解析法の開発

HTLV-1 は主に血液の白血球の一種であるリンパ球のうちの T 細胞(T リンパ球)に感染するウイルスである。この HTLV-1 感染者（キャリア）の一部が ATLL（Adult T-cell leukemia, lymphoma: 成人 T 細胞白血病・リンパ腫）や HAM（HTLV-1 associated myelopathy:HTLV-1 関連脊髄症）などを発症する。主要な HTLV-1 感染ルートは母乳を介した母子感染と考えられており、6 ヶ月以上の長期授乳による母子感染は 15～20% 程度といわれている。しかしながらその生体内での感染メカニズムや感染後の HTLV-1 潜伏組織（部位）については未だ解明されていない。そこで本研究では蛍光遺伝子（mCherry）を組み込んだ HTLV-1 を作製し、HTLV-1 感染細胞を *in vivo* で解析可能なシステムの開発を行っている。

［斎藤益満、大隈和、倉光球、荒木久美子、濵口功］

4) 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンを用いた革新的感染予防法の開発

HTLV-1 は T 細胞に感染し、T 細胞同士の接触によって感染・伝達する。母子感染を予防する目的で、人工栄養あるいは短期母乳との併用による感染予防策が講じられてきたが、完全人工栄養法を選択しても約 3-5%において感染が認められる為、ワクチンや抗 HTLV-1 抗体など新たな感染予防策が必要である。そこで我々は、抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤を開発しその有用性を検討することを目的とした。まず、HTLV-1 の cell to cell 感染を in vitro で再現できるスクリーニング系を開発した。次に、日本赤十字社より供与された 30 種類の検体を用い、その

有効性を検討した所、PVL%が高値(PVL>4%)の献血者由来の抗体は強い感染抑制効果を示すことが明らかとなった（p<0.001)。今後はPVL%高値血漿をプールし、血液製剤の製造工程と同様な形で実験室レベルの抗体製剤を作製し、PBMCでの感染抑制能、ヒト化マウスを用いた*in vivo*における感染抑制効果を検討する。

[野島清子、水上拓郎、倉光球、佐藤結子、松本千恵子（日本赤十字社)、佐竹正博（日本赤十字社)、田所憲治（日本赤十字社)、大隈和、濵口功]

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細胞マーカーとしてTSLC1等が同定され、有効な治療法や早期発症診断法への応用が期待されている。そこで腫瘍溶解能を有するVSV等を用いて、TSLC1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)、広瀬国孝(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)、山口一成、濵口功]

6) HBV関連B細胞性リンパ腫に関する研究

HBVは肝細胞のみならず、B細胞等のリンパ球にも感染することが報告されている。また、慢性B型肝炎患者ではB細胞性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。これらのことから、HBVはB細胞に感染し、B細胞性リンパ腫発症機序に関わっている可能性が高い。本研究では、HBV感染によるB細胞リンパ腫発症機序の解明に向けて以下の研究を進めいている。

(1) 肝癌発症に極めて重要であるX蛋白質（HBx）遺伝子をヒト化マウスのB細胞で発現させ、HBV関連B細胞性リンパ腫モデルマウスの樹立を開始している。(2) B細胞性リンパ腫発症に関わるHBx結合分子の同定を試みている。(3) HBxの構造基盤構築のため、HBx全長及びHBx機能ドメインの調製を行い、HBx機能ドメインの一部に関してNMR解析を進めている。

［楠英樹、斎藤益満、益見厚子、大隈和、濵口功]

7) 組換えVSVを用いたHCV代理ウイルスの開発

C型肝炎ウイルス(HCV)の*in vitro*感染アッセイ系を確立する目的で、HCVエンベロープ蛋白とGFPを発現する組換えVSVを作製した。この組換えウイルスがHCVの代理ウイルスとして応用できるか検証した。その結果、本組換えVSVはHCVに感受性のある肝細胞株に特異的に感染し、その感染はHCVエンベロープ蛋白や受容体に対する種々の抗体により効率的に抑制された。このことは、HCVの*in vitro*感染アッセイ系に本組換えVSVをHCV代理ウイルスとして応用できることを示唆した。また、HCVのB細胞トロピズムを解析するために、ヒト末梢血リンパ球から精製したB細胞を用いて、この細胞への本代理ウイルスの感染性の有無を検討している。

［大隈和、舘山誠司(株式会社マイクロン)、広瀬国孝(株式会社マイクロン)、水落利明、濵口功]

8) 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がある。そのため、それらを改善する新規薬剤の開発が望まれている。そこで新規薬剤候補として、従来の薬剤にない作用機序を有する組換え水疱性口内炎ウイルス（VSV）を作製し、その有効性を*in vitro*やHIV-1が感染したヒト化マウスを用いて評価している。

［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)]

9)ヒト化マウスを用いたヒト感染症モデルの構築

ヒトの感染症の病態をヒト細胞を生着させたマウスにおいて再現し、解析することを目的とする。まずはじめとして、ヒト臍帯血の単核細胞から造血幹細胞(CD34陽性細胞)を単離し、重度免疫不全マウスであるNOG(NOD/SCID/IL2RγKO)、又はNOJ(NOD/ SCID/JAK3KO)マウスへ移植することで、ヒト化マウスの作製を行った。成体NOGマウスの尾静脈経由で移植した場合、概ね移植後３ヶ月から４ヶ月目には末梢血リンパ球細胞のおよそ17～80%がヒトCD45陽性細胞と置き換わり、分化したヒトB細胞（CD19陽性）及び、T細胞（CD3陽性CD4陽性、またはCD3陽性CD8a陽性）の生着も認められた。同様にしてNOJマウスの新生児肝臓にヒト造血幹細胞を移植した場合でも、移植後４ヶ月目には同程度のヒトCD45陽性細胞と分化したヒトB細胞、T細胞の生着成績を得られたことから、以後、病原体を用いた感染実験行うためのヒト化マウス作製環境が整った。

[滝澤和也、大隈和、水上拓郎、斎藤益満、建石幸子、浜口功]

10) 日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究

2007 年 11 月に輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムを構築し、オンライン登録による副作用収集の体制づくりの検討を行っている。7 つの大学病院から開始したパイロットスタディは、今年度までに全国の大学病院の半数以上 (47 大学病院)と 300 床以下の 5 病院がシステムに参加している。その結果、日本赤十字社が全国の医療機関への供給した約 11%の血液製剤について監視できるようになり、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、濵口功］

II. 品質管理に関する業務、研究

１．血液製剤

1) 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。平成 24 年度は、抗補体価を定めた参照品を作製し、血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により、試験ごとに参照品の抗補体価を測定するプロジェクトを開始した。平成 25 年度にこれらの結果を評価し、参照品の整備と運用を開始する。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、濵口功］

2) 血液製剤の SLP 導入に関する研究

血液製剤の安全性確保に関しては薬事法により「特定生物由来製品」に指定されており、GMP や GVP の遵守に加え、国立感染症研究所において検定を実施し、合格したもののみが市場への出荷を許可(ロットリリース)されている。ロットリリースは WHO などでもその必要性が強調され、ワクチンにおいて規制当局によるロットリリースに際し、Lot Protocol(SLP)を製造販売業者から提出させ、その内容が当該製品の承認事項に適合しているかを審査する事を必須としている。本邦においても 2011 年 7 月 4 日に薬事法施行規則の一部改正が発布され、国家検定に SLP 審査制度を導入する事が決められた。そこで、血液製剤に関し、SLP 導入に向けた調査を行い、その意義及び導入した場合の審査機関及び審査に関連する法令の準備について検討する事を研究目的とした。その結果、米国では CBER が Lot Release を承認しており、Lot release protocol は CBER により審査・承認されていた。EU においては European Pharmacopoeia 内の Monograph で規定されており、検定試験も NCL での実施が求められている。以上の事からも欧米諸国では SLP 審査が血液製剤のロットリリースに必須で有る事が明らかとなった。また、本邦も主要メンバーとして加盟している WHO 機関の Blood Regulators Network (BRN)に関しては規制当局の基準として SLP 審査の実施を求めており、今後、本邦においても SLP 審査の実施の意義及び導入した場合の審査機関及び審査に関連する法令の準備について検討する必要が有る。

［水上拓郎、濵口功］

２．ワクチン・抗生物質

1) 新規ワクチン承認前検査における物理化学試験(1) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン

当該ワクチンにつき、たん白窒素含量試験、pH 試験、アルミニウム含量試験、ホルムアルデヒド含量試験の 4 試験を実施した。たん白窒素含量試験については、原液では、製造所の自家試験値と近似した測定値が得られたが、小分け品に関しては、多少の乖離があり、アジュバントの存在によるものと推定された。

［矢野茂生、田中明子、楠英樹、斎藤益満、大隈和］

2) 新規ワクチン承認前検査における物理化学試験(2) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン

当該ワクチンにつき、たん白窒素含量試験、pH 試験、アルミニウム含量試験、ホルムアルデヒド含量試験の 4 試験を実施した。アルミニウム含量試験については、製造所の SOP では、溶解に用いる硝酸の濃度が生物基と異なるため、2 つの方法を実施したが、製造所の方法だと、測定値がばらつきやすい傾向があった。また、以上２製剤に関しては、混合するポリオ原液に関してたん白質含量試験も実施した。

［矢野茂生、田中明子、楠英樹、斎藤益満、大隈和］

3) 新規ワクチン承認前検査における物理化学試験(3) 新型インフルエンザワクチン H5N1

当該ワクチンにつき、たん白質含量試験、浸透圧試験、アルミニウム含量試験、チメロサール含量試験、ホルムアルデヒド含量試験の 5 試験を実施した。製造所の SOP に大きな問題点はなく、自家試験値との乖離も小さかった。

［矢野茂生、田中明子、楠英樹、斎藤益満、大隈和］

4) 新規ワクチン承認前検査における物理化学試験 (4)13 価肺炎球菌ワクチン

当該ワクチンにつき、原液については、遊離サッカライド試験の一部と遊離たん白質試験を、小分け品については、総たん白質及び結合たん白質含量試験とアルミニウム含量試験(ICP)を実施した。遊離たん白質試験において、一部で用いる試薬の適合性に問題があったケースもあったが、おおむね製造所の自家試験値と乖離のない結果が得られた。

［矢野茂生、田中明子、楠英樹、斎藤益満、大隈和］

5) 平成２４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

3 つの製剤に関して、標準品、検体、標準品と検体の混合物の３種類の１次元 ^{1}H-NMR スペクトル解析を実施し、各製剤の同定確認を実施した。(1) メロペネム（24 ロット）の結果：全ての検体は、標準品とほぼ同じスペクトルを与えたことにより、同一であることが確認された。(2) バンコマイシン塩酸塩（10 ロット）の結果：全ての検体において、バンコマイシン由来の NMR シグナルは標準品の NMR シグナルとほぼ全て一致したことにより、同一であることが確認された。(3) ミノサイクリン塩酸塩（16 ロット）の結果：全検体において、ミノサイクリン塩酸塩由来の NMR シグナルは標準品の NMR シグナルとほぼ全て一致したことにより、同一であることが確認された。［楠英樹］

6) 平成 24 年医薬品製造業一斉監視指導抜取り試験検査品（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) ミノサイクリン塩酸塩内服（顆粒：2 社、2 ロット)、ミノサイクリン塩酸塩内服（錠剤：5 社、6 ロット)、ミノサイクリン塩酸塩内服（カプセル：3 社、3 ロット)、ミノサイクリン塩酸塩注射（5 社、5 ロット）の結果:全ての製剤が標準品と同じ波数に吸収を認められたことから、標準品と同等の成分を含有すると推定された。(II) メロペネム注射（0.25ｇ力価/バイアル：10 社、10 ロット)、メロペネム注射（0.5ｇ力価/バイアル：10 社、10 ロット)、メロペネム注射（0.5ｇ力価/キット：4 社、4 ロット）の結果：全ての製剤が標準品と同じ波数に吸収を認められたことから、標準品と同等の成分を含有すると推定された。(III) バンコマイシン塩酸塩注射(10 社、10 ロット)の結果：全ての製剤が標準品と同じ波数に吸収を認められたことから、標準品と同等の成分を含有すると推定された。［斎藤益満］

7) 網羅的遺伝子発現解析による革新的アジュバント安全評価法の開発

近年、新規ワクチン開発にはアジュバントの存在が欠かせないものにありつつある。しかしながら、アジュバントはその起源や作用機序などが多岐にわたり、他の創薬に比べその有効性そして安全性の指標（マーカー）が未開拓という点が挙げられる。そこで我々はアジュバント含有ワクチンの有効性と安全性の新規評価法の開発を目的に、まず生体内におけるアジュバントの免疫細胞への影響が有効性と安全性のマーカーとして有用であると考え、それについて検討を行った。２種類のアジュバント、水酸化アルミニウムゲル（Alum)、FCA(Freunds Complete Adjuvant)をそれぞれラットの腹腔内に接種し、接種 6 時間後と 24 時間後のラットから脾臓を摘出した。この脾臓における単核球を精製した後、各種免疫細胞の表面抗原に特異的な抗体を用いてアジュバント接種群とコントロール群（無処置と生理食塩水接種）における免疫細胞の増減の変化を比較検討した。その結果、アジュバント接種群とコントロール群の間に優位な差を認めることが出来なかった。本研究成果からアジュバントのみでは免疫細胞への影響がほとんどないと考えられるため、今後はワクチン（抗原）とアジュバントを同時に接種したラットにおいて免疫細胞への影響について検討し、アジュバント含有ワクチンの有効性と安全性の新規評価法の開発を目指す。

[斎藤益満、水上拓郎、百瀬暖佳、倉光球、滝澤和也、荒木久美子、古畑啓子、濵口功]

III. ワクチン開発および接種法に関する研究

1) 細胞性免疫誘導型リポソームワクチンの開発

当初開発された細胞性免疫誘導型インフルエンザワクチンはウイルス感染防御誘導能に優れ、異なるウイルス亜型に対しても奏功することから新型インフルエンザウイルスの発生時対応としても有効であると期待されたが、その一方で、ペプチドワクチンに特有の、HLA 拘束性、低免疫原性という２つの解決すべき課題があった。これらの課題を解決すべく本年度行われた検討の結果、ペプチドの代わりにインフルエンザウイルスを構成するタンパクのアミノ酸組成情報に基づいて作製された合成タンパクをワクチン抗原として使用することにより、グロー

バルに奏功し、かつ安全性の高いインフルエンザワクチンの創製が可能であることが明らかになった。

［種市麻衣子、内田哲也］

2) 結核ブースターワクチンの開発

(1) ワクチン候補用抗原である結核菌組換えタンパク質の DTH による評価

昨年度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結果から、Ag85 および MDP-1 を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と期待される抗原分子として選択した。その組換えタンパク質を、BCG 投与モルモットモデルにブースターとして条件を変えて投与し、免疫応答を遅延型過敏反応（DTH）で評価した。その結果各抗原および PPD に対する DTH 反応で増強が認められたので、ブースターワクチン抗原候補とした。

[前山順一、岡真優子（大阪市大）、松本壮吉（大阪市大）、山本三郎（バイオセーフティ管理室、日本ＢＣＧ研究所）]

(2) 結核菌組換えタンパク質の結核菌感染防御効果によるブースターワクチンとしての評価

ワクチン候補評価のために三回の噴霧感染実験を行った。実験手順の共有化、安全性の確認、および手技の習熟からブースターワクチン候補評価までを目的とした。動物モデルとしての BCG 投与モルモットに対し、ワクチン候補として、広く知られる結核菌抗原 Ag85B、DNA 結合性タンパク質 MDP-1 および CpD-DNA アジュバントである G9.1 を用い、免疫条件を変えて追加免疫し、強い DTH を示す群を選択した。続いてコントロール群および実験群に強毒結核菌を噴霧感染し、5 週後に採取した肺・脾臓の残存菌数を培養法にて算定し、ブースターワクチンの結核防御効果の指標として評価したところ、良好な免疫賦活効果が得られたので、さらに投与法・投与量等の最適条件について検討を続けている。

[前山順一、山崎利雄（バイオセーフティ管理室）、網康至（動物管理室）、松本壮吉（大阪市大）、伊保澄子（福井大学）、山本三郎（バイオセーフティ管理室、日本ＢＣＧ研究所）]

IV. 血液に関する研究

1) 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。新規開発した q-PCR を用いた DBA 欠失遺伝子同定法等によって遺伝子異常が明らかとなった DBA 患者末梢血から多能性幹細胞の樹立のため、熊本大学、担当医師・患者等の連携が構築できるよう整備を進めた。熊本大学発生医学研究所の協力により 2 症例の DBA 患者から多能性幹細胞の樹立に成功した。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、江良拓実（熊本大学）、濵口功］

2) 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細胞が産生する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。一方で我々は、血液細胞でのAng1過剰発現によってTie2のチロシンリン酸化が亢進することを見出した。血液細胞内におけるAng1の発現亢進はTie2の過剰発現によっても誘導されたが、培養液中へのAng1の放出は抑制された。以上の結果から、オートクラインによるAng1/Tie2の活性化経路が存在する可能性が示された。

［百瀬暖佳、濵口功］

3) ATL モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の解明

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癌幹細胞に注目し、ATL 癌幹細胞と ATL 発症との関係解明のために研究を進めている。ATL 進行時の各種ストローマ細胞や微小環境の変化を FACS 及び組織学的に検討した所、脾臓では血管内皮が、骨髄では Fibroblastic reticular cells や血管内皮細胞の顕著な増加が認められた。また骨髄では破骨細胞の異常な増加と活性化が認められ、高カルシウム血症の原因となっている可能性が示唆された。これらのニッチ細胞を標的とした治療薬の開発を試みている。

[水上拓郎、滝澤和也、長谷川秀樹（感染病理部）、William Hall（University College Dublin）、濵口功]

4) T 前駆細胞の分可能に関する研究

初期の T 前駆細胞(ETP)の分化能に関して、特に胎生期に胸腺に移動する時期の ETP の能力については不明な点が多かった。そこで我々は胎生期・出生後の ETP の能力を Single cell level で解析し、初期の ETP が granulocyte-monocyte 及び T リンパ球&B リンパ球への分可能を持ち、megakaryocyte-erythroid への分可能は有していない事を明らかにし、骨髄から胸腺への移動の過程にどのような変化が起こっているかを分子レベルで

明らかにした。[Luc S, 水上拓郎、Sten eirik Jacobsen]

5) 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試みている。 [益見厚子]

6) 発生初期の造血システムの解析

血球系細胞の供給元である造血幹細胞は胎生期初期に形成されるが、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。特に一次造血の開始以前についてはほとんど解析がなされていない。そこで、造血幹細胞の運命決定機構の解明に向け、妊娠初期のマウス胎児における造血幹細胞発生に関わる遺伝子の発現パターンを、免疫組織化学により解析した。[平松竜司、水上拓郎、濵口功]

7) 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 8/18、髄質部ではタイプⅠのケラチン 5/14 と 1/10 が発現しているが、その役割について不明である。今回、マウス胸腺上皮細胞において、タイプⅠケラチンがデスモゾームの構造とβ-カテニンの発現を制御し、胸腺の組織構築を保持することを見いだした。 [小高千加子]

Ⅴ. 生物学的製剤の国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前試験等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験：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：213 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：186 ロット
たん白質含量試験（ローリー法）：153 ロット
たん白窒素含量試験：19 ロット
凝固性たん白質含量及び純度試験：21 ロット
アルミニウム含量試験（スチルバゾ）：5 ロット
アルミニウム含量試験（ICP）：29 ロット
フェノール含量試験：11 ロット
ヘモグロビン含量試験：5 ロット
異常毒性否定試験：265 ロット
不活化ポリオワクチンの異常毒性否定試験（参考試験）：22 ロット
発熱試験：72 ロット

２．収去試験

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、4 検体(適：4 検体)
NMR 試験：50 ロット
赤外吸収試験：50 ロット

3. 抜き取り検査

たん白窒素含量試験：7 ロット
含湿度試験：2 ロット
pH 試験：2 ロット
ヒスタミン含量試験：2 ロット
異常毒性否定試験：7 ロット
発熱試験：7 ロット
セルロースアセテート膜電気泳動試験：２ロット
熱安定性試験：2 ロット
同定試験：2 ロット
異種たんぱく質否定試験：2 ロット

4. 依頼検査

たん白質含量試験（ローリー法）：44 ロット
たん白窒素含量試験：1 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：2 ロット
チメロサール含量試験：2 ロット

5. 承認前検査

たん白質含量試験：10 サンプル
たん白窒素含量試験：25 サンプル
ホルムアルデヒド含量試験：7 サンプル
アルミニウム含量試験（スチルバゾ）：7 サンプル
アルミニウム含量試験（ICP）：3 サンプル

pH 試験：6 サンプル
チメロサール含量試験：1 サンプル
浸透圧試験：1 サンプル
遊離サッカライド試験：3 サンプル
遊離たん白質試験：13 サンプル
異常毒性否定試験：4 サンプル
発熱試験：2 サンプル

６．行政検査

異常毒性否定試験：1 ロット

７．総合判定

(国家検定)

乾燥フィブリノゲン：5 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：21 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビン III：31 ロット
人ハプトグロビン：5 ロット
筋注用人免疫グロブリン：7 ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
乾燥 pH４処理人免疫グロブリン：7 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：5 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン：25 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン：22 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：2 ロット
人血清アルブミン：239 ロット
加熱人血漿たん白：7 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：2 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：2 ロット
ポリエチレングリコール抗 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)：5 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) 2012 年 5 月 11 日：韓国 Chung-Ang University 及び Tonsei University の研究者に対し「感染研の業務」の講義を行った。［濵口功］

2) 2012 年 5 月 11 日：韓国 Chung-Ang University 及び Tonsei University の研究者に対し「HCV-RNA、HBV-DNA、HIV-RNA の国内標準品」の講義を行った。［岡田義昭］

3) 2012 年 5 月 11 日：韓国 Chung-Ang University 及び Tonsei University の研究者に対し「HEV-RNA の国内標準品」の講義を行った。［水澤左衛子］

4) 2012 年 5 月 11 日：韓国 Chung-Ang University 及び Tonsei University の研究者に対し「HTLV-1 検出システムの標準化」の講義を行った。［倉光球］

5) 2012 年 5 月 11 日：韓国 Chung-Ang University 及び Tonsei University の研究者に対し「日本におけるヘモビジランス」の講義を行った。［小高千加子］

6) 2013 年 1 月 28 日：JICA 研修「安全な血液医療」(中米地域) コースで、「細菌感染症」の講義を行った。［濵口功］

7) 2013 年 1 月 29 日：JICA 研修「安全な血液医療」(中米地域) コースで、「ウイルスの不活化・除去」の講義を担当した。［岡田義昭］

8) 2013 年 1 月 29 日：JICA 研修「安全な血液医療」(中米地域)コースで、「ヘモビジランス」の講義を担当した。［小高千加子］

9) 2013 年 3 月 7 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］

10) 2013 年 3 月 7 日：JICA 研修「次の 10 年に向けての 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］

研修業務

1) 2012 年 6 月 30 日：感染研市民セミナーにおいて、「HTLV-1 感染症について」の講義を行った。［濵口功］

2) 2012 年 10 月 23 日：知の市場において、「血液製剤の品質管理」の講義を行った。［濵口功］

審議会等への参加

医薬品第二部会［濵口功］
血液事業部会［岡田義昭、濵口功］
医療機器・体外診断薬部会［濵口功］
安全技術調査会［岡田義昭、濵口功］
血液製剤の安全性確保対策に関する検討小委員会［岡田義昭］
血液事業部会運営委員会［岡田義昭］
移植用臍帯血基準検討会［濵口功］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Dominguez-Sola D, Victora GD, Ying CY, Phan RT, Saito M, Nussenzweig MC, Dalla-Favera R. The proto-oncogene MYC is required for selection in the germinal center and cyclic reentry. ***Nature Immunol.*** 13:1083-1091, 2012

2) 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***. 7:e40386, 2012

3) Fukazawa H. and Masumi A. The conserved 12-amino acid stretch in the inter-bromodomain region of BET family proteins functions as a nuclear localization signal. ***Biol Pharm Bull***. 35: 2064-2068, 2012

4) 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***, 50: 1943-1949, 2012

5) Miyauchi K, Urano E, Takeda S, Murakami T, Okada Y, Cheng K, Yin H, Kubo M, and Komano J. Toll-like receptor(TLR)3 as a surrogate sensor of retroviral infection in human cells. ***Biochem Biophys Res Commun.***.424: 519-523, 2012

6) 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***, 65: 489-494, 2012

7) Uchiumi F., Larsen, S. Masumi A. and Tanuma S. The putative implications of duplicated GGAA-motifs located in the human interferon genes (ISGs). Sequence and Genome Analysis I – Humans, Animals and Plants. ***iConcept Press.*** 2012

8) Krayukhina E,Uchiyama S,Nojima K,Okada Y,Hamaguchi I, and Fukui K.: Aggregation analysis of pharmaceutical human immunoglobulin preparations using size-exclusion chromatography and analytical ultracentrifugation sedimentation velocity. ***J.Biosci Bioeng.*** 115: 104-110, 2013

9) Odaka C, Kato H, Ostubo H, Takamoto S, Okada Y, Taneich M, Okuma K, 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, and Hamaguchi I.: Online reporting system for transfusion-related adverse events to enhance recipient haemovigilance in Japan,A pilot study. ***Transfusion Apheresis Science.*** 48: 95-102. 2013

10) Takagi A, Kobayashi N, Taneichi M, Uchida T, Akatsuka T. Coupling to the surface of liposomes alters the immunogenicity of hepatitis C virus-derived peptides and confers sterile immunity. ***Biochem Biophys Res Comm***, 430: 183-189, 2013

11) Harikae K, Miura K, Shinomura M, Matoba S, Hiramatsu R, Tsunekawa N, Kanai-Azuma M, Kurohmaru M, Morohashi KI, Kanai Y. Heterogeneity in sexual bipotentiality and plasticity of granulosa cells in developing mouse ovaries. ***J Cell Sci,*** 126: 2834-2844, 2013

12) Masumi A. Hematopoietic stem cell and response to interferon. “Stem cell biology in normal life and human diseases.” p65-77, In Tech Book, 2013

13) Tanio M, Kusunoki H, KohnoT: ^{1}H, ^{13}C and ^{15}N backbone resonance assignments of the monomeric human M-ficolin fibrinogen-like domain secreted by Brevibacillus choshinensis. ***Biomol NMR Assign,*** *in press*

14) Takizawa K, Nakashima T, Mizukami T, Kuramitsu M, Endoh D, Kawauchi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta RA, Yamaguchi K, Hamaguchi I.Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening. ***Transfusion***. in press

15) Baylis A, Blümel J, Mizusawa S, Matsubayashi K, Sakata H, Okada Y, C. Nübling M, Hanschmann K, and the HEV Collaborative Study Group: World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA. ***Emerging Infectious Disease***s, in press

16) Odaka, H-H. Mathias, K. Takizawa, Y. Nishikawa, M. Yano, M. Matsumoto, R. Boyd, G. A. Holländer. TGF-beta type II receptor expression in thymic epithelial cells inhibits their development of Hassall’s corpuscle in mouse. ***Int Immunol***, in press.

2. 和文発表

1）内田哲也：次世代ワクチン開発の方向性−細胞性免疫誘導型インフルエンザワクチンの開発、呼吸器内科、第 22 巻 6 号、538−544、2012

2) 水澤左衛子、岡田義昭： 肝炎ウイルスの核酸増幅試験法のための標準品、臨床化学. 第 41 巻、日本臨床化学会、234-239、2012

3) 浜口功 : XMRV と輸血、日本輸血細胞治療学会誌、第 58 巻 5 号、699-703. 2012

4) 浜口功:輸血と感染症、臨床病理、第61巻5号、414-417. 2013

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kitazawa J, Kato H, Odaka C and the Hemovigilance Research Group supported by Japan's Ministry of Health, Labour and Welfare. Hemovigilance in Japan: an interim report. AABB Annual Meeting, Boston, MA, Oct. 2012

2) Okuma K, Watanabe S, Tanaka Y, Yamamoto N, Rose JK, Hamaguchi I. Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Targeting HIV-1-Infected Cells Control HIV-1 Infection in a Humanized Mouse Model. American Society for Virology, 31st Annual Meeting. Madison, Wisconsin, Jul. 2012

3) Masumi A, Takizawa K, Mizukami T, Kuramitsu M, Momose H, Yamaguchi K and Hamaguchi I, Interferon regulatory factor-2 regulates hematopoietic stem cell in mouse bone marrow. International Society of Interferon and Cytokine Research. Geneva, Swiss, Sep. 2012

4) Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Momose H, Yamazaki J, Masumi A, Hall WW, Hasegawa H, Yamaguchi K and Hamaguchi I. Identification of Leukemic Stem Cells and Their Niche in Adult T Cell Leukemia Using the Tax-Transgenic Mouse Model. 54th Annual meeting of American Society of Hematology meeting, Atlanta GA, December 8-11, 2012

2. 国内学会

1) 浜口功：XMRV と輸血. 第 60 回日本輸血・細胞治療学会、郡山、2012 年 5 月

2) 水澤左衛子、岡田義昭：核酸増幅検査のための E 型肝炎ウイルスの WHO 国際標準品の制定のための共同研究と日本の国内標準品の作製について、第 60 回日本輸血・細胞治療学会総会、郡山、2012 年 5 月

3) 益見厚子、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、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、日本生化学会関東支部会、前橋、2012 年 6 月

4) 倉光球、大隈和、矢持忠徳、山岸誠、水上拓郎、百瀬暖佳、滝沢和也、菅村和夫、山口一成、渡邉俊樹、浜口功：HTLV-1 核酸検査標準品としての HTLV-1 感染細胞株 TL-Om1 の性状解析、第 5 回 HTLV-1 研究会、東京、2012 年 8 月

5) 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 に対する新規治療法の開発、第 5 回 HTLV-1 研究会、東京、2012 年 8 月

6) 水上拓郎：動物モデルを用いた ATL 癌幹細胞及びそのニッチの同定、第 5 回 HTLV-1 研究会、東京、2012 年 8 月

7) 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、山口一成、浜口功：動物モデルを用いた ATL 癌幹細胞及びそのニッチの解析、第 154 回日本獣医学会学術集会、岩手、2012 年 9 月

8) Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Madoka Kuramitsu, Haruka Momose, Jumpei Yamazaki, Atsuko Mausmi, Hideki Hasegawa, William W Hall, Kazunari Yamaguchi, Isao Hamaguchi.: Identification of cancer stem cell niche in Adult T-Cell Leukemia / lymphoma (ATL) model mouse, 第 74 回日本血液学会学術集会、京都、2012 年 10 月

9) 百瀬暖佳、水上拓郎、倉光球、滝澤和也、益見厚子、浜口功：遺伝子発現解析による安全性評価法の新規製法インフルエンザ HA ワクチンへの適応に向けた試み、第 16 回日本ワクチン学会、横浜、2012 年 11 月

10) 斎藤益満、水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、石井健、浜口功：網羅的遺伝子発現解析を用いたアジュバント含有ワクチン安全性評価法の開発と展開、第 16 回日本ワクチン学会、横浜、2012 年 11 月

11) 前山順一、伊保澄子、岡真優子、松本壮吉、山本三郎：結核ブースターワクチンとしての結核菌組換えタンパク質およびアジュバントの評価、第 16 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、2012 年 11 月

12) 岡田義昭、野島清子、浜口功：末梢血単核球から誘導した赤芽球のヒトパルボウイルス B19 に対する感受性の解析. 第 60 回ウイルス学会、大阪、2012 年 11 月

13) 下池貴志、野島清子、脇田隆字、岡田義昭：血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化の検討、第 60 回ウイルス学会、大阪、2012 年 11 月

14) 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：TSLC1 分子を標的とする腫瘍溶解性ウイルス VSV を用いた新規抗 ATL 療法の開発、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月

15) 岡田義昭：血液製剤のウイルス感染症対策、第 60 回日本ウイルス学会、大阪、2012 年 11 月

16) 小高千加子：輸血製剤副作用情報収集システム、平成24年度全国大学病院輸血部技師会議、岡山、2012年11月

17) 浜口功：輸血と感染症. 第 59 回日本臨床検査医学会学術集会、京都、2012 年 11 月

18) 小高千加子, Anne Loranger , Normand Marceau:Ke

ratin 8 is required for integrity of network architecture.第41回日本免疫学会総会、神戸、2012年12月
19) 浜口功：HTLV-1 総合対策、第 59 回日本輸血細胞治療学会九州支部会総会、別府、2012 年 12 月
20) 浜口功：ヘモビジランスを推進する輸血副作用のオンライン報告システム、第 27 回 Transfusion Medicine Conferenc,葉山、2013 年 1 月
21) 前山順一、伊保澄子、岡真優子、井坂雅徳、松本壮吉、山本三郎：BCG Tokyo 株のサブポピュレーション BCG-II を用いた結核ブースターワクチン候補の評価、第 86 回日本細菌学会総会、千葉、2013 年 3 月
22) 野島清子、岡田義昭、内山進、浜口功：血漿由来静注用グロブリン製剤中のグロブリン凝集体の検出法の改良、第 133 回日本薬学会、横浜、2013 年 3 月
23) 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、横浜、2013 年 3 月
24) 内藤幹彦、益見厚子：臨床応用をめざした薬学の基礎研究（シンポジウム）、第 132 回日本薬学会、横浜 2013 年 3 月
25) 平松竜司、松岡俊樹、吉田千春、高山秀一、松尾 勲：マウス着床後胚発生における外的因子の影響について、第 155 回日本獣医学会、東京、2013 年 3 月

１４．国際協力室

室長　宮川昭二

概　要

現在、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、短期間のうちに我が国国内に侵入する可能がある。ＳＡＲＳ、鳥インフルエンザなど新たな病原体による感染症が見つかる一方、未だ 多くの感染症が我が国及び周辺国において流行を繰り返している。このような状況のなか国民を感染症から守るため適切な対応を取っていくには、 世界規模での情報収集、研究・技術面での国際貢献等、世界保健機関（WHO)や諸外国の研究機関や国内関係機関等との連携調整が重要である。

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 24 年 4 月から平成 25 年 3 月までに、53 カ国から 225 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 24 年 4 月から平成 25 年 3 月までに、46 カ国 430 名の派遣を行った(別表 2)。

また外国政府機関との協力については、関係国との国際シンポジウムの開催、新興・再興感染症の発生地域への緊急職員派遣等を行っており、その概要は以下のとおりである。

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 24 年 9 月 20-21 日　公益法人台湾交流協会からの依頼に基づく第９回日台シンポジウムの開催（台湾 CDC において、新興・再興感染症と災害に関連した感染症への準備、サーベイランス対応を題材に。)。

(ｲ) 平成 24 年 11 月 20 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６回共同シンポジウムの開催(日本において、予防接種・腸管感染症・感染症等に対する危機管理及び最近の感染症対策等を題材に。)。

ｲ　外国研究機関との覚書締結

平成 24 年 7 月 10 日　モンゴル国医科学アカデミーと感染症協力に関する覚書 （モンゴル国ウランバートル医科学アカデミーにおいて)。

ｳ　外国機関へのワクチン株供与

平成 24 年 8 月タイ保健省医科学局生物学的製剤研究所へ日本脳炎参照標準ワクチンを供与。

ｴ　共同研究報告会

(ｱ)　平成 24 年 11 月 21 日　日中共同研究・研究班会議における研究発表会を開催。

(ｱ)　平成 25 年 2 月 28 日-3 月 1 日　日越共同研究・研究班会議を開催。

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 24 年 6 月 11 日-7 月 13 日　HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検

査技術（7 カ国・12 名・エイズ研究センター)。

(ｲ) 平成 25 年 1 月 15 日-2 月 8 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（7 カ国・9 名・ウイルス第二部)。

ｲ　集団研修フォローアップ

(ｱ) 平成 24 年 8 月 5-18 日　HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検査技術に係る調査団派遣（ガーナ・タンザニアエイズ研究センター　2 名）

(2) JICA 技術プロジェクト

ｱ　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)。

(ｱ) 派遣

① 平成 24 年 7 月 17-31 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 24 年 7 月 1-14 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。

③ 平成 24 年 8 月 5-11 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。

④ 平成 24 年 11 月 18 日-12 月 1 日 GMT（細菌）に関する指導を行うため、ウイルス第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑤ 平成 24 年 11 月 20 日-12 月 1 日 GMT（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。

⑥ 平成 25 年 1 月 13 日-26 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。

⑦ 平成 25 年 2 月 25 日-3 月 9 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。

(ｲ) 受入

① 平成 24 年 10 月 10 日-11 月 2 日 バイオセーフティ研修のため、国立衛生疫学研究所及びホーチミン・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。

② 平成 24 年 10 月 10 日-11 月 2 日　バイオセーフティ研修のため、ナチャン・パスツール研究所及びダイグエン研究所から研修員 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。

ｲ　中華人民共和国における JICA 協力(国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト予防接種事業等)。

(ｱ) 派遣

① 平成 24 年 8 月 14-17 日予防接種事業セミナー出席（麻疹対策）のためウイルス第三部職員 1 名を北京へ派遣。

② 平成 24 年 8 月 15-17 日予防接種事業セミナー出席（ポリオ対策）のためウイルス第二部職員 1 名を北京へ派遣。

③ 平成 24 年 9 月 2-7 日ポリオ実験室レビュー２のためウイルス第二部職員 1 名を北京へ派遣。

④ 平成 24 年 8 月 29 日-9 月 7 日　麻疹風疹実験室レビューのためウイルス第三部職員 1 名を北京へ派遣。

(ｲ) 受入

① 平成 25 年 2 月 12-28 日　「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」研修のため中国 CDC から研修員 1 名をウイルス第二部に受入。

ｳ　インドネシア国高病原性鳥インフルエンザおよび新興・再興感染症対策のための国立及び州検査室強化計画協力準備調査

(ｱ) 派遣

① 平成 24 年 7 月 23 日-8 月 4 日　インフルエンザウイルス研究センター職員 1 名

(3)WHO・WPRO フェロー受入

ｱ　平成 24 年 10 月 22 日-11 月 8 日　細胞培養とウイルス分離等研修（1 カ国・2 名）

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 24 年 6 月 19-20 日　WHO デング熱ラボネットワーク EQA 会議(戸山庁舎・13 名)。

(ｲ)平成 24 年 10 月 22-24 日　WHO　FETP 勉強会（戸山庁舎・18 人）

ｲ　会議等派遣

(ｱ) 平成 24 年 4 月 23-28 日　ワクチンと治療用生物学的製剤の標準化と皮質企画の評価方法に関する WHO 共同セミナー第一回会議（スイス・2 名）

(ｲ) 平成 24 年 5 月 27 日-6 月 1 日　第 6 回西太平洋・東南アジア地域ナショナルインフルエンザセンター会議（ベトナム・3 名）

(ｳ) 平成 24 年 5 月 26-30 日　第 4 回 WHO 非公式日本脳炎実験室ネットワーク会議（中国・2 名)。

(ｴ) 平成 24 年 5 月 29 日-6 月 3 日　西太平洋地域ワクチン規制当局の地域協調について公式文書化する特別委員会の非公式会議（オーストラリア・1 名）

(ｵ) 平成 24 年 6 月 19-23 日　世界アウトブレイク対策ネットワークの運営会議（スイス・1 名）

(ｶ) 平成 24 年 6 月 23-27 日　食品由来抗菌薬使用と耐性に関する会議（フランス・1 名）

(ｷ) 平成 24 年 6 月 24～28 日　第 10 回 WHO 麻疹風疹実験室診断グローバルネットワーク会議（スイス・2 名)。

(ｸ) 平成 24 年 6 月 25 日～7 月 5 日　第 5 回インフルエンザ A ウイルス亜型同定のための PCR プロトコルに関する WHO ワーキンググループ会議及び第 2 回 GISRS のための抗ウイルス薬感受性サーベイランスに関する WHO 専門家グループ会議（スイス・2 名)。

(ｹ) 平成 24 年 6 月 26 日-7 月 1 日　世界ポリオ実験室ネットワーク作業部会、第 18 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)。

(ｺ) 平成 24 年 7 月 9-13 日　第 2 回アジア太平洋諸国新興感染症にタイする戦略諮問グループ会議（フィリピン・1 名）

(ｻ) 平成 24 年 8 月 20-24 日　第 21 回予防接種並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・3 名）

(ｴ) 平成 24 年 9 月 2-9 日　FAO/WHO 食品媒介寄生虫症に関する専門家委員会（イタリア・1 名)。

(ｼ) 平成 24 年 9 月 4-8 日　Vi 腸チフスワクチンの品質管理に関する KFDA/WHO 合同会議（韓国・2 名)。

(ｽ)　平成 24 年 9 月 16-22 日　2013 年南半球用インフルエンザワクチン株選定会議（中国・4 名）

(ｾ) 平成 24 年 10 月 15-19 日　WHO 痘瘡ウイルスに関する会議（スイス・2 名)。

(ｿ) 平成 24 年 10 月 21-24 日　第一回西太平洋地域における季節性インフルエンザワクチンに関する会議（フィリピン・1 名)。

(ﾀ) 平成 24 年 12 月 2-6 日　インフルエンザワクチンの有効性に関する国際会議（スイス・1 名）

(ﾁ) 平成 24 年 12 月 5-9 日　世界アウトブレイク対策ネットワーク運営会議（スイス・1 名）

(ﾂ) 平成 24 年 12 月 8-11 日　WPRO 季節性インフルエンザワクチン政策非公式会議（フィリピン・1 名)。

(ﾃ) 平成 25 年 1 月 23-27 日　WHO インフルエンザワクチン研究計画の策定に関する専門家会議（中国・1 名)。

(ﾄ) 平成 25 年 2 月 17 日-3 月 2 日　2013-2014 年北半球用インフルエンザワクチン推奨株選定会議（スイス・4 名)。

(ﾅ) 平成 25 年 3 月 10-15 日　WPRO 地域規制当局作業委員会及び第 2 回 WPRO 地域ワクチン規制当局ワークショップ（フィリピン・2 名)。

(ﾆ) 平成 25 年 3 月 12-16 日　第 4 回ワクチン予防可能疾患の西太平洋地域における研究室ネットワーク会議（フィリピン・5 名）

(ﾇ) 平成 25 年 3 月 19-23 日　第 2 回太平洋地域麻疹根絶承認委員会（フィリピン・2 名）

(ﾈ) 平成 25 年 3 月 23-30 日　ブルーリ潰瘍の制圧と研究に関する WHO 会議出席（スイス・2 名)。

(ﾉ) 平成 25 年 3 月 24-28 日　WHO 西太平洋事務局及び FAO アジア太平洋地域事務局のアジア地域での鳥インフルエンザ対策活動に関する研究打合せ（フィリピン、タ

イ・2名)。

ウ　WHOによる査察

平成24年8月29日-9月7日　ラボ視察（中国・3名）

エ　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)

なし

(2)　国内会議支援(所内開催)

なし

(3)　海外の要人来訪

ア　平成24年5月21日　Gerald W.Parker（米国国防省国防副次官補）及び Dr.Ali S.Khan(CDC 健康危機管理室長)来所。意見交換。

ウ　平成25年5月24日　Dr.Wang Yu(中国CDC所長)来所。我が国のHIV/エイズ対策の調査、意見交換。

エ　平成25年6月6日　Dr.Charles Gore(世界肝炎連盟会長)来所、施設見学及び意見交換。

カ　平成24年6月15日　Dr.Keiji Fukuda(WHO本部事務局長補)来所、感染症等について意見交換。

キ　平成24年9月28日　TZOU, Meir-Chyun及びFU, YING-HSIEN(台湾FDA(行政院衛生署食品薬物管理局))薬品及び新興バイオ医薬品組組長等来所。生物製剤の国家検定、ロットリリースについて概要説明、意見交換。

ク　平成24年11月19日 Dr.Thomas R. Frieden及びDr.Kimberly Dills(米国CDC所長等)来所。感染症対策及び研究、米国CDCと感染研との連携協力等に関する意見交換。

ケ　平成25年1月25日 Dr. Jean Jacques Muyembe-Tamfum(コンゴ民主共和国保健省国立生物医学研究所所長)来所。ウイルス性出血熱に関するセミナー講演、意見交換。

コ　平成25年1月28日　Dr.Gerald W.Parker(米国国防副次官補)来所。意見交換。

サ　平成25年3月1日 Dr.Li,Ailan(WPRO/WHO危機管理部長)来所。意見交換。

(4)　感染研セミナー等の開催

ア　平成24年8月30―31日　第16回日本神経ウイルス研究会研究集会、シンポジウムを開催（ウイルス第二部との共催。）。

イ　平成25年2月5日　Dr.Hervé Bourhy(フランスパスツール研究所狂犬病研究部門長)による「狂犬病に関するセミナー講演」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。

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。

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 実験室の日常の維持管理に努めるとともに施設整備の年次総合点検を実施した。

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、ウイルス除去、抗酸菌に関する研究等を行った。

平成 23 年 10 月にゆうパックを利用して地方衛生研究所から感染研へ送られた感染症発生動向調査事業での検体容器がドライアイスの誤混入のため輸送途中で破裂し、検体が漏出するという事故が起こった。厚生労働省は郵便事業会社との協議を経て、感染症発生動向調査事業等においてゆうパックにより検体を送付する際の留意事項を平成 24 年 3 月に結核感染症課長通知として出した。その内容は、基本的３重包装の運搬容器をさらにジュラルミン等の堅牢な金属容器に入れることおよび組織として安全対策を導入すること、具体的には都道府県の衛生主管部が認定する包装責任者を置くというものであった。厚生労働省は衛生微生物協議会のブロックごとに衛生主管部関係者を対象とした、本通知の徹底と適切な梱包法の実習を行う研修会を主催した。本研修の企画並びに各ブロックで開催された研修での実習指導を担当した。

感染研においても本通知の徹底をはかった。輸送分類”赤“、”黄“の見直しを行いそれぞれカテゴリーA とカテゴリーB に変更した。輸送ルール説明会を実施した。また、輸送にかかわる HP も修正し、職員への周知をはかり感染研において同様の事故を起こさないように努めた。感染研へゆうパックで送付される研究材料についても同等の対応をすることになり、送付元の組織の包装責任者の確認を行った。戸山庁舎、村山庁舎およびハンセン病研究センターをそれぞれ所管する牛込郵便事業会社、武蔵村山郵便事業会社および東村山郵便事業会社の担当者への説明を行った。

感染症法の改正により SFTS ウイルスが三種病原体になったことで、三種病原体取扱いの届け出を行った。

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。給・排気設備関係の書類提出、病原体取扱実験室の追加等の届出を行った。本年度は所持・取り扱いに関する規則の理解と遵守にかかわる講習会を戸山庁舎および村山庁舎で実施した。

第 55 回米国バイオセーフティ学会総会、第 15 回欧州バイオセーフティ学会総会、第 7 回アジア太平洋バイオセーフティ学会総会および第 12 回日本バイオセーフティ学会（東京）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、バイオリスク管理システムのモデル、教育および病原体等の運搬方法等に関する研究を行った。

(1) バイオリスク管理システム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 着と実験用グローブを用い、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 121～132℃、10～150 分高圧蒸気滅菌処理を施し、被滅菌物内 8 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 指針を参照に既存の実験室をベースにとして BSL2 実験室モデルを試作した。バイオリスク管理面でのポイントと問題解決に必要な事項を検討した。換気システム、セキュリティ等の課題があった。

［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) 実効的な株単位での病原体管理の検討

四種あるいは三種特定病原体を取り扱う実験室を想定し､結核菌を取り扱う実験室のワークフローを検討して、受領、培養、保管、継代、分与、廃棄等のプロセスをフローとして一次的に設定した。これを元にして一般的な二次元バーコードシステムを検討したが要求する性能が得られないため、オープンソースであることを前提としてプログラム開発を行った。今後、試験的運用とプログラム修正を実施する。

［御手洗聡 (結核研)、杉山和良］

4)　バイオリスク管理基準に関する国際的動向に関する研究

欧州標準化委員会のワークショップ合意文書 CWA16335 は CWA15793 の国際的管理基準の導入を支援するための、専門家に求められる能力、技能、使命などを対象としたガイダンスとして策定され、試行期間中である。人材育成や資格認証制度と並行して進められている国際的管理基準の導入の推奨に関する国際動向について調査した。

［重松美加 (感染症情報)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)、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、昨年度に引き続き、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って本コースの学習効果について検討するとともに、コース受講後 1 年経過した受講生にもアセスメントを行い、教育効果の持続を検討した。

［藤本秀士(九州大学大学院)、重松美加 (感染症情報)、杉山和良］

2) ポリオウイルス実験室バイオセーフティ教育

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 を日本におけるバイオセーフティ教育訓練に用いるため、本 DVD および添付資料の和訳資料を作成した。ポリオ実験室のみならず、臨床検体や病原体を取り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。JICA 集団研修[ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の実験室診断技術]でのバイオセーフティ教育訓練に導入した。

［清水博之 (ウイルス第二部)、伊木繁雄］

3) 地方衛生研究所等の病原体取扱いに関する教育プログラムの研究と評価

臨床現場で行われているヒヤリ・ハット事例の収集と解析・評価し、教育研修用の資料ファイルの試作を行った。今後は実際に使ってその効果を評価し、改良し完成させていく。

［佐多徹太郎 (富山県衛生研究所)、杉山和良］

(3) 病原体等の運搬方法に関する研究

1) 地方衛生研究所におけるバイオリスク管理ならびに病原体等の輸送に関する現状

臨床検体の運搬中の破裂事故により、運搬時の取り扱いはさらに厳しい要件を求められようになった。地方衛生研究所における運搬の状況について現状をアンケート調査した。運搬時の具体的な面でのスキルを補う手順書、マニュアル等の準備が課題と考えられる。改善のためのシステムが必要であると考えられる。

［重松美加(感染症情報)、安藤秀二(バイオセーフティ・

ウイルス 1)、杉山和良］

2) 病原体輸送容器の消毒・滅菌処理後の強度に関する検討

国内で販売されている病原体輸送容器は再利用が担保されていないが、その根拠は明確ではない。再利用の場合、内装容器は安全性を図るため滅菌等の処理が必要と考えられる。このため、これまでの研究実績から消毒・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（落下試験及び積み重ね試験）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)］

3) 病原体輸送容器へのドライアイス誤梱包時の安全対策に関する検討

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内容物が飛散するという事故が問題となっている。この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。

［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)］

2. BSL3 実験室空調システムの検証

村山庁舎 BSL3 実験関連施設の空調制御システムや室圧安定性などについて総合的に継続観察中である。

［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

バイオハザード対策専用防護服の防護性能や試験方法や国際規格などについて、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］

4. バイオセキュリティに関する一括管理システムの検討

病原体の登録、保管、輸送、廃棄における一括管理システムの構築と実践のために、関連機器、装置の開発、試作と、性能の検証並びにフィールド試験を実施している。国内数箇所に一括管理システムの実用配備を行い、有用性検証を継続している。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(TiO_2-F)によるバクテリア吸着効果の検討

インフルエンザウイルスに認められた吸着効果に引き続き、「微生物捕捉」として重要と考えられる同様の効果が各種バクテリアにおいて認められるか否かを検討した。対象バクテリアとして院内感染制御を想定し *A.baumannii*、*S.aureus*、*S.marcescens* の 3 種類を試験に供した。12well-plate に 1cm^2 の TiO_2-F 試験片を並べ、約 10^6CFU/10μl を滴下して一定時間ごと回収し BPW 1ml にて洗い出し溶出してきた各菌体の濃度を測定した。その結果 *A.baumannii* と *S.aureus* において顕著な吸着を確認したが、溶出菌体量の減衰率が 99%程度に留まったため、ウイルスと比べ単位面積あたりの吸着容量が低いと考えられた。*S.marcescens* においても吸着は認められたが、非常にその効果は非常に弱かった。

※本研究は平成 24 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、山崎 斉(旭化成せんい)、小川達也(旭化成せんい)］

(2) ヒトノロウイルス(hNoV)代替としてのネコカリシウイルス(FCV)及びマウスノロウイルス(MNV)を用いた汎用薬剤による不活性化効果検討

昨今 hNoV 代替として FCV 及び MNV を併用しての汎用薬剤による不活性化効果の検討において、エタノールをはじめとしていくつかの薬剤で顕著な感受性差が認められた。炭酸 Na(衣類洗剤主成分)は FCV 不活性化に非常に有効(5 分で $5\log_{10}TCID_{50}$↓)であったが、MNV において 15 分反応でも約 $1\log_{10}TCID_{50}$ の感染価減衰に留まったため、衣類に付着した hNoV の除去に対し単純な洗剤の使用は更なる検証が必要となった。しかしながら過炭酸 Na(酸素系漂白剤の主流)では FCV よりやや時間を要するが有効な不活性化効果(10 分で $4\log_{10}TCID_{50}$↓)が認められた。今後も代替ウイルスとして両ウイルスを併用しての検証を続けてゆく。

※本研究は平成 24 年度花王株式会社との共同研究によるものである。

［高木弘隆、杉山和良、人見 潤(花王)、日置祐一(花王)］

(3) A 群ヒトロタウイルス(hRVA)の臨床検体から直接分離・培養における培養細胞クローニングによる改良の試み

A 群ヒトロタウイルスは乳幼児のウイルス性下痢症の主たる原因であり、脳炎や腸重積など重症化するケースもあるため、ワクチンも導入されている。当該ウイルスは患者糞便中に大量に排出されるが、これを培養細胞にて分離・増殖する系は良いものがなく、分離率も 5 割程度にとどまっている。ワクチンの有効性と流行株変化に関する調査は今後非常に重要となるが、有限である患者検体の継続使用には限界があり、流行株に対する汎用的な中和能試験システムなどの構築も必要となってくる。こうした背景から当該ウイルスに感受性がある MA104 細胞を用いて細胞クローニングによる培養系改善を試みた。

その結果、: 札幌医大分譲 MA104 より 2 クローン、有用と考えられるものが見つかった。しかしながら両者において細胞変性効果はほとんど認められず、バディングによるウイルス放出が走査電顕像により認められた。今後培養条件等含め更に検討を行う。

※本研究は厚生労働科学研究費補助金(H23-新興-一般-005、班長：片山和彦)により実施した。

［高木弘隆、藤井克樹(ウイルス 2)、齋藤典子(戸山・電顕室)小林宜道(札医大)、片山和彦(ウイルス 2)］

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。研修業務 Ⅰ. バイオリスク管理講習会の表 2 の内容で講義を行った。

［伊木繁雄、杉山和良、高木弘隆、山崎利雄、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った。再生医療における細胞培養作業についてトレーサビリティーシステムに接続されている細胞投与システム内蔵型アイソレーターの実機を使用して無菌操作の実証実験を実施し、評価を行った。

［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

昨年と同様、三菱電機工業の協力の下、北里環境科学センター及び神奈川科学技術アカデミ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。次亜塩素酸は器材に対する腐食等の劣化を招く恐れが大きいので、代用となる消毒薬が必要である。この新しい代用消毒薬の開発の為に、本年度は次亜塩素酸に匹敵する消毒が出来る可能性のある種々の消毒薬を入手し、次亜塩素酸との消毒効果の比較検討を行っている。

［原正幸(神奈川科学技術アカデミー)、野島康弘（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. *Mycobacterium avium* の縦列反復数可変領域（VNTR）法と Minimum spanning tree（MST）法による解析

*M. avium*と同定し、−80℃にて凍結保存した*M. avium* 89 株を用いた。その内訳は、ヒト29株、鳥11株、象1株、温泉地のホテル、旅館、公衆浴場および社会福祉施設等の循環式浴槽水由来36株、冷却塔水3株、濾材9株である。*M. avium* 間のVNTRのMST法による解析では、ヒトおよび浴槽水由来の *M. avium*のTR数によるパターンは複雑であったが、3つのグループに大別された。浴槽水36株、冷却塔水3株、濾材9株の計48株間では、2つのグループに大別された。象 1 株と鳥由来11株のグループにヒト由来株は1例もなかった。ヒト由来29株と環境水由来菌48株間に明確な違いは見られなかった

［山崎利雄；前川純子・倉文明（細菌第一部）、磯部順子（富山衛生研究所）縣　邦雄（アクアスつくば総合研究所)、杉山寛治（株式会社　マルマ)、緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）］

2. 結核のワクチン候補の動物実験

ワクチン候補評価のために２回の噴霧感染実験を行った。ブースターワクチン候補評価までを目的とした。動物モデルとしての BCG 投与モルモットに対し、ワクチン候補として、広く知られる結核菌抗原 Ag85B、DNA 結合性タンパク質 MDP-1 および CpD-DNA アジュバントである G9.1 を用い、免疫条件を変えて追加免疫し、強い DTH を示す群を選択した。続いてコントロール群および実験群に結核菌 H37Rv 株の単個菌(菌数 1×10^5cfu/ml の 5.0ml）を噴霧感染し、5 週後に採取した肺・脾臓の残存菌数を培養法にて算定し、ブースターワクチンの結核防御効果の指標として評価したところ、良好な免疫賦活効果が得

られたので、さらに投与法・投与量等の最適条件について検討を続けている。

［山崎利雄、山本三郎、山本十糸子、林大介；前山順一、（血液・安全性研究部）、網康至（動物管理室）］

III. レジオネラに関する研究

1. DNA-DNA ハイブリダイゼーション法による *Legionella pneumophila* 亜種の同定

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亜種の鑑別が可能な方法を昨年度確立したので、今年度は多数の株について亜種の鑑別を行った。3亜種の基準株およびATCC株、計18株（血清群毎に各1株、血清群5のみ4株）を用いてこの鑑別法の正確さを確認できた。次に国内分離株128株について同様にDDH法を実施したところ、1～15の全血清群に*L. pneumophila* subsp. *pneumophila*が分布し、血清群1、3、4、11でsubsp. *fraseri*の存在が確認され、複数の血清群に分布することが分かった。subsp. *pasucullei*は見出されなかった。

［山崎利雄；前川純子・小谷野路子・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７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部員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、NIHE に設置した可搬式 BSL3 をホーチミン市のパスツール研究所に移転し、その作業管理と移転後の性能評価などを行った。さらに、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、ベトナムのハノイ、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 4 名を受け入れた。

［篠原克明、杉山和良、伊木繁雄］

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、6 回実施し 155 名の受講者があった(表 1)。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、17 回開催し 29 名の受講者があった(表 3)。

表 1 平成 24 度新規取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数
4 月 4 日	57
6 月 6 日	16
8 月 1 日	34
10 月 2 日	18
12 月 4 日	17
2 月 1 日	13
計	155

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)	伊木繁雄

表 3　平成 24 年度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 6 日	3
5 月 9 日	1
5 月 14 日	1
5 月 30 日	1
7 月 3 日	1
7 月 30 日	1
8 月 3 日	1
9 月 11 日	1
10 月 3 日	1
10 月 10 日	6
10 月 29 日	2
11 月 26 日	1
12 月 3 日	1
12 月 10 日	3
1 月 16 日	2
1 月 21 日	2
2 月 27 日	1
計	29

2. 二種病原体等取扱者講習会

感染症法の解説、病原体管理および感染研の立入検査結果に関する講習会を 5 月 24 日、6 月 21 日に戸山庁舎で、6 月 18 日に村山庁舎にて実施した。

［杉山和良］

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎および村山庁舎の保守・警備担当者対象の講習会を実施した。

［杉山和良］

4. 輸送ルール説明会

7月 10 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および輸送分類赤、黄色をそれぞれカテゴリーＡ、Ｂに変更することに関する講習会を実施した。

［脇田隆字、杉山和良］

5. 家畜伝染病講習会

家伝法の病原体所持規制に関する講習会を3月 18 日と 3 月 25 日に戸山庁舎・村山庁舎にて実施した。

［杉山和良］

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（JICA Training Course）

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指導を行った。

［伊木繁雄、杉山和良］

2. エイズ国際研修（JICA Training Course：Laboratory Techniques for Diagnosis and Monitoring of HIV Infection）

8 カ国 14 名（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）の研修生に対し、生物学用安全キャビネットの正しい使用方法についての実習指導を行った。

［伊木繁雄、杉山和良］

3．保健科学院研修

ウイルスコース

［伊木繁雄、高木弘隆、篠原克明、杉山和良］

4. 検疫所職員研修

検疫所職員を対象としたバイオセーフティ研修を実施した。

［高木弘隆、伊木繁雄、山崎利雄、宇田川悦子］

III.　所外研修

1. 感染症発生動向調査においてゆうパックにより検体を送付するための都道府県衛生所管部を対象とした研修会（厚生労働省主催）において、病原体等の輸送時の梱包と表示についての実技指導を行った（全国６か所、計８回）。

［伊木繁雄、杉山和良］

2. 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および緊急時対応の実習指導を行った。

［伊木繁雄、杉山和良］

安全管理、教育および情報提供等に関する業務

I.　BSL3 実験室の管理・運営および利用状況

BSL3 の実験室の一元的な管理・運営を行った。戸山庁舎においては杉山和良、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 24 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	77
村山庁舎	54
ハンセン病研究センター	19
計	150

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	2	2	1	1
5 月	2	7	2	3	0	0
6 月	1	2	1	1	0	0
7 月	1	4	0	0	0	0
8 月	0	0	2	2	0	0
9 月	0	0	2	2	1	1
10 月	0	0	0	0	0	0
11 月	0	0	3	4	0	0
12 月	0	0	0	0	1	1
1 月	2	2	0	0	0	0
2 月	1	1	0	0	1	1
3 月	0	0	2	2	0	0
計	7	16	14	16	4	4

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、JICA 研修生､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等を対象とした講義を行った。

衛生微生物協議会、希少感染症診断技術研修会において、病原体輸送に関する講義を行った。

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。

東京消防庁および戸山庁舎を管轄する牛込消防署の職員を対象とする講義を行った。また、牛込消防署の病原体取扱施設における消防対応に関する研究に協力した。

［高木弘隆、篠原克明、山崎利雄、伊木繁雄、杉山和良］

III.　研究所一般公開

平成 24 年 9 月 29 日、所の一般公開が開催された。1 階ホール会議室を模擬実験室として使用し、DNA 抽出、PPE の着用および安全キャビネットでの取り扱い体験を行った。オートクレーブと病原体輸送容器の展示などを行った。また、恒例の手洗い実習も行った。模擬実験室には多数の入場者がありバイオセーフティの実際を体験していただいた。本年度の一般公開来場者数は、昨年と比較して大幅な増加で、400 名を超える来所者が種々のイベントに参加し、感染研業務や研究の一端を見聞して頂く事が出来た。

［宇田川悦子、山崎利雄：広報委員会、高木弘隆、伊木繁雄、杉山和良］

IV.　管理データベースシステムの改良とホームページ管理

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明示できるデータベースシステムに、取扱者の健康診断受診の有無を反映させ、管理区域への入室資格をより多角的にチェックできるシステムへと発展させた。

また、ホームページ管理では、病原体等曝露事故応急対応マニュアルや輸送関連のページをリニューアルさせ、アップデートした内容をより詳細にわかりやすく掲載する作業に着手した。

［杉山和良、中西三季、浅沼みゆき］

V.　梱包責任者、病原体等輸送品のチェック業務

感染研へ発送する病原体および臨床検体の発送元の梱包担当者へ遵守事項等の確認を依頼し、確認の済んだ者

を感染研への梱包責任者とした。

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カテゴリーA、カテゴリーB 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、野川加奈、杉山和良］

VI. 知の市場・連携市民セミナー

平成 23 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講した。

昨年に引き続き平成 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「感染症対策ーワクチンを中心にー」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 名以内であったが応募者数が多く毎回出席可能を条件として選択を行った。24 年度前期受講希望者数は 33 名、後期は 47 名であった。

［宇田川悦子、布施明：広報委員会］

発　表　業　績　一　覧

I. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Iki, S., Horiguchi, I., Shigematsu, M., Sata T., and Sugiyama K. Qualitative analysis by focus group interviews of the image and acceptability among housewives of pathogen transport. Japanese Journal of Infectious Diseases 65:403-409, 2012.

2) Ablordey, A., Amissah, D.A., Frimpong, I.A., Hatano, B., Yamazaki, T., Sata, T., Ishikawa, K., and Katano , H. Detection of *Mycobacterium ulcerans* by the Loop mediated Isothermal Amplification method. PLOS Negl Trop Dis 6:e1590, 2012

3)Fujii Y., Shimoike, T., Takagi, H., Murakami, K., Todaka-Takai, R., Park Y., and Katayama K. Amplification of all 11 RNA segments of group A rotavirus based on reverse transcription polymerase chain reaction Microbiol and Immun, 56:630-638, 2012.

4) Oka, T., Takagi, H., Saif, L. J., and Wang, Q. Complete Genome Sequence of Feline Calicivirus 2280 Strain from the American Tissue Culture Collection, GenomeA in print.

2. 和文発表

1)　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．Vol.22. No.6.58-64.2012

2)　福本啓二、篠原克明 : 高い安全性を要する実験室の設計手法の提案．クリーンテクノロジー．Vol.22. No.11.44-48.2012

3) 高木弘隆：ノロウイルス感染制御における可能性と課題　ー代替モデルによる評価と限界ー　日本臨床 第 70 巻 第 8 号、1289-1292, 2012

II. 学　会　発　表

1.　国際学会

1）Shinohara, K., Kurata, T., Ikeda, K., Komatsu, R., Hayakawa, N., Variation of data intake methods on pathogen inventory management system. 15th Annual Conference of the European Biological Safety Association, June 12-13, 2012, Manchester, UK.

2) Shinohara, K., New containerized TB laboratory at University Teaching Hospital in Lusaka Zambia. International Federation of Associations. Biosafety Global Biosafety and Biosecurity: Building Sustainable Capacity, June 28-29, 2012, Johannesburg, South Africa.

3) Shinohara, K., Kurata, T., Takada, A., Watahiki, M., Ikeda, K., Hayakawa, N., Komatsu, R., Integration of pathogen inventory system and storage control system. American Biological Safety Association, 55th Annual Biological Safety Conference, October 19-24, 2012. Orlando, USA.

4) Iki, S and Sugiyama, K. An examination of autoclave conditions and the resultant effectiveness of sterilization. American Biological Safety Association, 55th Annual Biological Safety Conference, October 19-24, 2012. Orlando, USA.

2.　国内学会

1) 篠原克明、島崎典子：浮遊粒子に対する防護服素材の防護性能評価、日本防菌防黴学会第 39 回年次大会、2012 年 9 月、東京

2) 小野恵一、小暮一俊、篠原克明：BSC 使用時の前面開口部と腕の高さについて、第 12 回　日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2012 年 11 月、東京

3) 伊木繁雄、杉山和良：病原体輸送容器へのドライアイス誤梱包時の病原体漏洩防止策に関する検討、第 12 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2012 年 11 月、東京

4) 杉山和良：病原体及び臨床検体輸送について、第 56 回日本医真菌学会総会・学術集会シンポジウム、2012 年 11 月、東京
5) 杉山和良：日本バイオセーフティ学会の活動について、第 28 回日本環境感染学会総会シンポジウム、2013 年 3 月、東京
6) 山崎利雄、前川純子、磯部順子、縣邦雄、杉山寛治、緒方喜久代、倉文明：温泉等の浴槽水の抗酸菌検出調査と分離された *Mycobacterium avium* の VNTR 法による解析、第 82 回実験結核研究会総会、2012 年 5 月、広島
7) 水野悟、渡邉健太、川原守、伊奈田宏康、山崎利雄、保富康宏、松尾和浩：新規結核ワクチン候補：SOCS1 アンタゴニスト発現型組換え BCG の評価、第 82 回実験結核研究会総会、2012 年 5 月、広島
8) 佐藤法仁、山崎利雄、小林和夫、大原直也：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変異の発見、第 87 回日本結核病学会総会、2012 年 5 月、広島
9) 櫻田紳策、赤川清子、山崎利雄、慶長直人：M-CSF 及び GM-CSF によって分化したヒト末梢血単球由来マクロファージにおける osteopontin の異なる発現調節、第 87 回日本結核病学会総会、2012 年 5 月、広島
10) 水野悟、渡邉健太、川原守、伊奈田宏康、山崎利雄、保富康宏、松尾和浩：新規結核ワクチンとしての rBCG-SOCS1dn の作成と評価、第 87 回日本結核病学会総会、2012 年 5 月、広島
11) 花村葉月、堀田康弘、小川賢二、八木哲也、西森敬、大原直也、藤原永年、前田伸司、山崎利雄、伊藤佐生智、瀧井猛将：*Mycobacterium avium* 亜種（*avium, hominissuis*）間での酸性環境下における菌体外 pH 上昇に関するアンモニア産生経路の研究、第 87 回日本結核病学会総会、2012 年 5 月、広島
12) 山崎剛、相澤志保子、山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、本多三男：BCG-specific IFN-γ producing CD4+T cell plays an intrinsic role in the protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*、第 35 回日本分子生物学会、2012 年 11 月、福岡
13) 小川翔太、瀧井猛将、花村葉月、宮田江里加、筑比地慧、山本龍二、堀田康弘、伊藤佐生智、小川賢二、八木哲也、西森敬、大原直也、藤原永年、前田伸司、山崎利雄、後藤義孝、小野寄菊夫：*Mycobacterium avium* の低 pH 環境下でのアンモニア産生について、第 83 回実験結核研究会総会、2013 年.3 月、千葉
14) 櫻田紳策、Panadda Dehpakson、赤川清子、山崎利雄、慶長直人：M-CSF 及び GM-CSF により分化したヒト単球マクロファージにおける活性化ビタミン D3 関連遺伝子の発現解析、第 83 回実験結核研究会総会、2013 年 3 月、千葉
15) 戸高玲子、村上耕介、岡 智一郎、高木弘隆、朴英斌、下池貴志、藤井克樹、脇田隆宇、片山和彦：カリシウイルスのユニバーサルなプラスミドベースリバースジェネティックスシステム、第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月、大阪
16) 高木弘隆：ウイルスの化学的消毒・不活性化 －消毒剤の実効性と現場での応用－、第 28 回 日本環境感染学会、2013 年 3 月、横浜

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　加藤　篤

概　要

放射能管理室の業務は、放射線取扱い施設及び機器の適正な維持と管理、並びに放射線障害防止法に則った適切な放射性同位元素等の取り扱いに関する教育訓練を行う一方で、生物学的な事に関する研究等を行なうことである。放射能管理室は平成4年に品川区目黒庁舎から戸山庁舎に移転するときに技術部から分かれて設置された放射線管理を専らの業務とした室である。初代室長の前川秀彰が平成 18 年で退職したのに伴い、平成 19 年から土田耕三が引き継ぎ、平成24年で定年退官した。平成24年4月から加藤篤(検定検査品質保証室との併任)が新室長として就任した。当室は、室長（併任）1 名、主任研究官の藤本浩文、作道隆の 2 名、研究官の本田尚子の 1 名の 4 名に、再任用職員として動物管理室員となった土田耕三が放射能管理室と併任する形で村山庁舎の放射線管理業務を行った。放射線取扱主任者は、戸山庁舎では加藤篤・藤本浩文が、村山庁舎では石井孝司（ウイルス第二部・第五室長、放射能管理室併任）が、ハンセン病研究センターでは中永和枝（生体防御部・主任研究官）・鈴木幸一（生体防御部・第三室長）が務めた。

平成24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適切におこなわれ、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、正常に稼働していることを確認した。

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）をバイオセーフティ管理講習会、動物実験講習会と同様に 2 カ月おきに年 6 回、戸山庁舎で行った。新規者講習会は放射線障害防止法に則り、午前・午後を使った 6 時間の講習を行っている。継続者に対する教育訓練（継続者教育訓練）は、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、これに加えて英語で行う外国人向け新規者教育訓練を 2 回行った。ここ数年の新規者受講者数は60名を下回っており、10年前に比べておよそ半数に減少している。これは、アイソトープを使わなくても同程度の実験ができる近年の状況を反映したものと考えられる。平成25年度から動物実験講習会も新規者用が午前・午後を使った講習になるのに合わせて、動物実験講習会と放射線取扱い講習会は、年 6 回の講習から 4 回の講習回数を減らすことにした。講習者数が 4 月と6月に集中していることから、講習会は4月、6月、10月、2月に実施することを決定した。

再従事者登録のための午後のみ受講した者を含めて新規者教育訓練受講者数は日本語64名、外国人向け英語講習が2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。継続者教育訓練では、放射線障害防止法の改正点の説明および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。継続者教育訓練の受講者は 355 名であった。これらに加えて、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戸山庁舎と村山庁舎で開催した。

戸山研究庁舎(国立感染症研究所の戸山庁舎と独立行政法人国立健康・栄養研究所を合わせた施設)は放射線障害の防止に関する法令に基づき平成 24 年 4 月 20 日原子力安全技術センターの検査を受け、定期確認証と定期検査合格証が発行された。しかし、検査の過程で施設の現状と承認申請書の間に違いがあることが明らかになったため、放射能管理室において改めて承認申請書と施設の現状とを照らし合わせた結果、定期検査において発見された箇所以外にも誤記が確認された。また同時に、戸山研究庁舎における ^{32}P の使用量が 10 年前の 5 分の 1 以下に減少していることから ^{32}P の貯蔵能力を半減させることを決定し、それらを合わせて変更承認申請を行った。申請は平成25年3月15日に承認された。戸山研究庁舎は放射線障害防止法により 3 年を超えない期間に文部科学大臣が指定する機関による定期検査ならびに定期確認を受けなければならない施設であったが、今回の変更に伴い定期確認・定期検査の実施間隔が 3 年を超えない期間から5年を超えない期間へと変更になった。

加藤、石井、中永は選任された放射線取扱主任者に対する定

期講習を受講、藤本は放射線安全管理研修会に参加、
本田は第一種放射線取扱主任者講習を受講して放射線安全管理に対する新たな知識の習得を行った。

本年の当室の研究は経常研究費、文部科学省からの研究費によって、またアリゾナ大学、琉球大学(琉大)、九州大学（九大)、岡山大学、農業生物資源研究所（生物研)、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)、畜産草地研究所（畜草研）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 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	1,326.797	9.250	119.220
^{14}C	147.335	14.800	22.712
^{32}P	341.382	434.750	471.925
^{35}S	180.960	0.000	0.793

保管量下限数量比合計 **3059.03**

2. 村山

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	139.550	0.000	16.000
^{14}C	0.037	0.000	0.000
^{32}P	33.115	55.500	67.710
^{35}S	148.000	333.000	270.450

保管量下限数量比合計 **211.28**

3. ハンセン病研究所

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{14}C	136.160	0.000	22.200
^{125}I	7.400	0.000	7.400

保管量下限数量比合計 **11.40**

Ⅱ．従事者数*

(*昨年度までの従事者登録者数から表記を改めた)

１．戸山　　２３０名

（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山　　３６名

３．ハンセン　１０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24年 4月　9日	32	新規
5月 14日	142	継続
5月 15日	110	継続
5月 17日	76	継続 (村山)
5月 18日	18	継続（ハンセン）
6月　1日	9	新規・継続
6月 22日	8	継続
8月　3日	10	新規
10月　5日	4	新規
12月　7日	6	新規
平成25年 2月　5日	4	新規
合計	419	

*新規者講習会には、再従事者登録のための受講を含む

2.　外国語講習会

日　時	受講者数	備　考
平成24年 4月 18日	1	新規
10月 24日	1	新規
合計	2	

3.　特別講習会

平成24年 5月 16日	戸山 TBS、防災センター
12月 13日	村山 TBS、警備室

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はDNA2本鎖切断（DSB）末端を認識・結合し、DSB修復経路の一つであるnon- homologous end-joining過程（NHEJ）を開始するタンパク質である。DSBにおいて、DNA末端の形状は平滑末端とは限らず、切断時の状況よって様々なバリエーションが考えられる。そこで種々の末端形状を持つDNAとKuタンパク質との相互作用を分子シミュレーションによって解析し、実験結果と比較する事でKuタンパク質が認識しうるDNA末端形状の特徴を明らかにしたいと考えた。DSBが生じる原因には、1本の電離放射線から生じるラジカル等によって2本鎖が同時に切断される場合も考えられるが、生体内においては1本鎖切断（SSB）の近傍に別のSSBが生じることでDSBが生じる場合が多いと考えられている。そこで本年度は、DSBの末端構造として2塩基対離れた位置にβ-SSB（塩基が脱落し五炭糖が開環したSSB）、もしくはβ−δ-SSB（塩基が五炭糖ごと脱落したSSB）が2塩基対離れて生じた場合を想定しDNAのモデリングを行った。［藤本、小池（放医研）、樋口、渡辺、ピナック（原子力機構）、前川（琉大）、土田、加藤］

2. 転移因子マリナー様配列の水平伝播についての考察

*Drosophila mauritiana*で同定されたDNA型のトランスポゾン*marinar*は、多くの生物種のゲノム中で相同配列（MLEs）が見つかっており、種を超えて水平伝播するトランスポゾンの有望なモデルである。我々はMLEsの分布を*Drosophila*属*obscura*種群内で調査し、互いに近縁な種群内に*mariner*がいつ侵入し、どのように伝播していったのかについて考察を行った。その結果、ある特定の*mariner*が*obscura*種群*affinis*亜種群の祖先種に水平伝播によって侵入し、その後転移活性を失いゲノム中に固定された可能性が高い事が示された。

［藤本、木村（畜草研）、Kidwell（アリゾナ大）、前川（琉大）、作道、本田、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。野生型の発現部位と異なる部分にこの二つの*CD36*遺伝子群を強制発現させても、取り込む脂質の特異性は同様に観察された。すなわち、取り込む脂質の特異性は*CD36*遺伝子群のみで決定されていることが示唆された。また、これらの*CD36*遺伝子群による脂質の取り込みに必要な共因子は、野生型の発現部位のみに局在するものではないことが示唆された。

[作道、加藤、飯塚・瀬筒・山本・桑崎・生川(生物研)、伴野(九大)]

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、候補遺伝子の選定と解析を行っている。

[本田、加藤]

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。また*in vivo*において、ストレプトマイシン依存的にタンパク質合成が起こるか放射性同位元素を用いて解析した。

[本田、加藤、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. 放射性同位元素等で汚染した保管廃棄物を日本アイソトープ協会に払い出した。
3. 戸山、村山、ハンセン研の各管理状況報告書を厚生労働大臣名で文部科学省に6月に研究支援係を経由して提出した。
4. 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月に研究支援係が電子登録するのに協力した。

III. その他

1. 放射能委員会、RI3施設協議会等の開催
2. 選任された放射線取扱主任者に対する定期講習および放射線安全管理研修会に出席し、管理業務に関わる情報収集を行った。
3. 戸山研究庁舎の定期検査・定期確認を受けて適合した。
4. 戸山研究庁舎の承認書の変更承認申請を行い、承認された。
5. 厚生労働大臣の交代に伴う3施設の施設使用者の変更を文部科学省に行った。
6. 管理区域にしばらく立ち入る可能性の無い者に対して個人被爆線量計の貸与休止制度を平成23年度に設けた。この主旨に賛同して多くの休止届けが出された。平成25年3月現在で、従事者数に対する届け数の割合は戸山庁舎17.8%、村山庁舎60.7%、ハンセン研50.0%である。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Fujimoto H, Richardson AO, Maekawa H, Yoshiyama M, Kidwell MG, Honda N, Sakudoh T, Tsuchida K, Kimura K. "Molecular evolution of mariner-like elements in the genus *Drosophila*: the *obscura* species group", *J. Insect Biotech. Seric.*, **80**: 93-99, 2011. Released: August 01, 2012

2) Oikawa N., Okumura A., Oyama S., Baba H. Shimizu T., Kato A. "A 15-month old boy with reduced consciousness and convulsion. " *J. Clin. Virol.*, **53**: 276-279, 2012.

3) Wood D, Elmgren L, Li S, Wilson C, Ball R, Wang J, Cichutek K, Pfleiderer M, Kato A, Cavaleri M, Southern J, Jivapaisarnpong T, Minor P, Griffiths E, and Sohn Y. "A Global Regulatory Science Agenda for Vaccines." *Vaccine*, **31**: 163-175, 2013.

4) Sakudoh T, Kuwazaki S, Iizuka T, Narukawa J, Yamamoto K, Uchino K, Sezutsu H, Banno Y, Tsuchida K. "CD36 homolog divergence is responsible for the selectivity of carotenoid species migration to the silk gland of the silkworm *Bombyx mori*", *J. Lipid Res.*, **54**: 482-95, 2013.

2. 和文発表

1) **加藤篤** ムンプス ハリソン内科学第 4 版 黒川清、福井次矢 日本語監修 8 章感染症 日本語訳 1：pp1405−1408 メディカル・サイエンス・インターナショナル 2013 年 3 月 15 日発行

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会等

無し

2. 国内学会等

1) **作道隆、中島健陽、伴野豊、土田耕三.** 繭色遺伝子*CBP*の家畜化による構造多様化. 新学術領域研究「複合適応形質進化の遺伝子基盤解明」平成24年度 公開シンポジウム、東京、9月、2012

2) **加藤篤、永田志保、前寺知弥、木所稔、永田典代、竹内薫、竹田誠.**おたふくかぜ生ワクチン(ミヤハラ株)とその原株との比較。第16回日本ワクチン学会学術集会、横浜、11月、2012.

3) **谷千尋、伊豫田淳、本田尚子、寺嶋淳、大西真.** 腸管出血性大腸菌のLEE遺伝子活性化因子LerによるLEE領域外3型エフェクター遺伝子espM1/M2の転写抑制機構. 第86日本細菌学会総会、千葉、3月、2013

１７．動 物 管 理 室

室長　山 田 靖 子

概　要

「動物の愛護及び管理に関する法律（動愛法）」は５年に一度見直しが行われることになっており、平成 24 年 9 月 5 日に改正された。改正前には動物実験施設の届出制が議論されたが、今回の見直しでは実験動物に関する記載は改正されなかった。感染研においては機関による自主管理をますます推進していくこととする。

村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調査を平成 24 年 8 月 27 日に受け、同 9 月 28 日に認定された。戸山庁舎の動物実験施設はすでに平成 23 年に同財団から認定の更新を受けている。

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、ヒトバベシア症の研究を行った。

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 24 年度は東京大学獣医学科学生実習、JICA「ワクチン品質管理技術コース」研修であった。

厚生労働省が所管する国立研究機関（独立行政法人を含む）の動物実験施設では、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、平成 24 年度は動物実験に関わる国内情勢の報告会を感染研で開催した。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、実験動物学会の常務理事、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。

村山庁舎では今まで 1 研究室の中を実験室と居室部分に区切って使用していたが、独立した居室が配分されたので、今後は研究活動がさらに活発になることが期待される。

平成 24 年度には、動物管理区内で動物に使用した注射針を誤って指に刺した事故、カニクイザルによる咬傷がそれぞれ 1 件発生した。

平成 24 年 4 月から土田耕三が再任用職員として当室所属となった。平成 25 年 1 月から平井明香主任研究管が米国ノースカロライナ大学へ留学し、研究休職となった。平成 25 年 1 月、永年に渡り飼育業務に従事してきた小川敏雄が辞職した。

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、実験動物及び動物実験に関する法規制、機関内規程、また動物実験の 3Rs を実践するための基本的な事項を受講者に解説する。講習会の会場では実技の研修を実施できないため、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している。平成 24 年 8 月の HS 財団による認定調査時のコメントに対応して、機関内規程及び動物実験委員会の見解を改正したので、改正点を周知するため、平成 24 年 12 月末から平成 25 年 1 月にかけて継続従事者を対象にした講習会を行った。この改正後に講習会を受講した人数は継続及び新規を合わせて平成 25 年 3 月 31 日までに 406 名であった。平成 24 年度に申請された動物実験計画は 390 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 25 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 226 人、村山庁舎 247 人、ハンセン病研究センター19 人である。感染研の 3 庁舎で飼養保管している動物の合計は平成 25 年 3 月 31 日現在、マウス 7,215 匹、ラット 38 匹、モルモット 183 匹、ウサギ 40 羽、ハムスター12

匹、スナネズミ 16 匹、コットンラット 1 匹、フェレット 24 匹、ネコ 9 匹、霊長類 108 匹、ニワトリ 13 羽である。

施設利用及び動物実験講習会　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 11 日	戸山	26			29
4 月 19 日	ハンセン			1	
4 月 24 日	村山		1		
5 月 8 日	村山		2		
6 月 5 日	戸山	6			9
7 月 31 日	村山		7		
7 月 31 日	戸山				7
8 月 1 日	戸山	3			
8 月 1 日	村山		2		
8 月 24 日	ハンセン			1	
10 月 3 日	戸山	6			9
10 月 22 日	*戸山*	*1*			*1*
12 月 5 日	戸山	6			8
12 月 27 日	戸山				298
1 月 9 日	村山				82
2 月 6 日	戸山	4			17
2 月 15 日	*戸山*				*1*
合計		52 新規	12 新規	2 新規なし	406 改正後受講者

（太線は規程改正，斜字は外国人対照講習会）

業　績

調査・研究

I　動物実験施設の管理

I-1　微生物モニタリング定期検査

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 24 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　胚操作業務

感染研の動物実験施設では遺伝子改変マウスおよび突然変異マウス等の特殊な系統マウスの系統維持・繁殖が増加傾向にある。そこで、繁殖による飼育スペース、維持費の削減および不必要に系統維持繁殖を継続することを避けることを目的として、精子および受精卵の凍結保存を実施可能な体制を整えた。利用者の依頼に応じて精子の凍結保存業務から開始し、受精卵の凍結保存業務の開始に向けて技術の習得を行った。

（田原口元子、山田靖子）

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(MHV)受容体に関する研究

MHV 高感受性 C57BL/6(B6)マウスのウイルス受容体 CEACAM1a のウイルス結合部位を低感受性 SJL マウスの CEACAM1b のものと置換した CEACAM1ba を発現する B6 マウス(B6*1ba*)は、MHV-A59 に感染しない。そこで B6*1ba* マウスの MHV 抵抗性機構を解析している。CEACAM1ba と CEACAM1b を株化細胞や SJL マウス胎児繊維芽細胞(MEF)にそれぞれ発現させると両者は同程度の受容体活性を示すが、B6*1ba* マウスの MEF では CEACAM1ba の受容体活性は CEACAM1b より著しく低いことから、B6 マウスに CEACAM1ba の受容体活性を阻害する因子が存在する可能性が示唆された。

[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 をマウスに接種し感染実験を行った結果では、MHV2 感染マウスでは高い致死率を示したのに対し、MHV-2f 感染マウスでは全て生存し病原性の著しい相違を示していた。そこで MHV2 と MHV-2f の病原性の相違を詳細に解明するため、経時的に採取した感染マウスの肝臓、脳および大腸のウイルス増殖を検討した。これらの臓器において MHV2 の方が MHV-2f よりウイルス価(PFU)が 10^3 から 10^5 以上も高く MHV2 接種マウス体内で顕著な増殖を示していることが分かった。特に MHV2 接種マウスの肝臓と脳内においては、接種後 2 日でウイルス価が

急激に上昇し、その後も高い値を示し続けたことにより死に至ったと考えられた。

（田原口元子、新倉綾、山田靖子）

II-3　有機物存在下におけるマウスノロウイルス（MNV）に対する弱酸性次亜塩素酸水の消毒効果

ウイルス液 50μl にマウス糞便乳剤 50μl を有機物として加え、900μl の弱酸性次亜塩素酸水（pH6.0, 残留塩素 60ppm）を混和し、一定時間後のウイルス力価を測定することにより、その消毒効果を検討した。弱酸性次亜塩素酸水は有機物存在下でも MNV に対し次亜塩素酸 Na 溶液（残留塩素 70～100ppm）とほぼ同等の不活化効果を示した。また、有機物存在下でも、反応時間を長くすることでウイルス力価を 10^5 以上低下することができた。

（滝本一広、山田靖子）

II-4　塩素系消毒薬の MNV 感染防御効果について

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、マウスへの MNV 感染を防御できるかを検討した。マウスに弱酸性次亜塩素酸水または次亜塩素酸 Na 溶液（残留塩素 10ppm）を飲水として 2 または 4 週間与えた後、MNV 感染マウスを同居させた。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、同居 1 週目で全マウスの糞便中に MNV の排出が確認され、同居 4 週目の盲腸のウイルス力価もコントロールと差はなく、感染防御効果は認められなかった。

（滝本一広、山田靖子）

II-5　Tyzzer 菌（*Clostridium piliforme*）の鞭毛蛋白を抗原として用いた ELISA について

H4IIE 細胞で増殖した Tyzzer 菌（RT 株）を回収し、遠心分離により鞭毛を単離した。単離した分画について SDS-PAGE での分子量から鞭毛であることを確認した。この鞭毛分画を抗原として ELISA を行ったところ、Tyzzer 菌陽性血清と強い反応を示し、鞭毛が ELISA 抗原として使用できることが示唆された。

（滝本一広）

II-5 サル由来 *Corynebacterium ulcerans* の性状解析

国内の繁殖施設から導入した実験用カニクイザルから分離されたジフテリア毒素産生性 *C. ulcerans* の薬剤感受性を調べた。*C. ulcerans* 感染患者ではクリンダマイシンおよびエリスロマイシン耐性株が報告されている。サル由来株はクリンダマイシンに中間(intermediate)であったが、エリスロマイシンを含め広範囲の薬剤に感受性を示した。抗生剤投与により実験用カニクイザルから *C. ulcerans* を排除できる可能性があるが、一方 *C. ulcerans* 感染イヌでは抗生剤投与による菌の排除が困難であったと報告されていることや薬剤耐性菌の出現を誘導する可能性があることから、実験用サルから本菌を排除する効果的な方法を確立することが今後の課題である。

[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を病理組織学的に解析したところ、感染細胞接種部位である視床に、軽度のグリア細胞の増生が認められたが、いずれの部位においても免疫組織学的に麻疹ウイルス抗原は認められなかった。これは、持続感染中のウイルス遺伝子の翻訳がきわめて低いことを示唆し、分離ウイルスの培養細胞での挙動に一致する。

（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（ブニヤウイルス属）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ある。RVFV のＲＮＡポリメラーゼであるＬ蛋白質には N 末端領域にロイシンジッパー様のモチーフ（LZIP）が存在し、本研究では、その生物学的機能を調べている。今年度は LZIP と相互作用する因子の探索を行い、MC-LS(LCQ)によるペプチド解析と MASCOT によるホモロジーサーチ等により DDX3X、Myosin-Ic AP-2α が L と特異的に結合していることを示唆する結果が得られた。さらに、BIFC（Bimolecular Fluorescence Complement）アッセイによって ZIP が L の内部（特に C 末端領域）とも相互作用することが明らかとなった。以上の結果から LZIP は細胞内因子や、L の N,C 末端領域を介した分子内会合に関与していることが強く示唆された。

[新倉綾、佐々木祐子 [1]、池上徹郎 [2]、C.J.Peters[2]、牧野伸冶 [2]、山田靖子([1]細菌二部、[2]テキサス大学医学部]

Ⅳ-2 ヒトバベシア症に関する研究

Babesia divergens(B.d) によるヒトバベシア症は、ヨ

ーロッパを流行地とするマダニ媒介性の人獣共通感染症である。健常なヒトでは無症状であることが多いが、患者の 83%を占める脾臓摘出者では重篤になるリスクが高い。我々はこれまで、北海道のマダニ(*Ixodes persulcatus*)(以下 I.p)から日本で初めて B. d を検出し、遺伝的に欧州や米国と同じクラスターに属する原虫であることを明らかにしている。本研究では、自然宿主を探索する目的で、全国で捕獲されたシカから nestedPCR による B.d の検出を試みた。15 都道府県で捕獲されたシカ、合計 96 匹のうち、遺伝的にシカと I.p 由来のものは一致していた。本原虫による患者発生は報告されていないが、近年新型原虫によるヒトのバベシア症の発生報告が続いており、今後、この原虫について注意深く監視してゆく必要がある。

[新倉綾、今岡浩一[1]、森川茂[1]、山田靖子([1]獣医科学部)]

発 表 業 績 一 覧

I 誌上発表

I-1 欧文発表

1) Yamamoto H, Suzuki J, Matsuda A, Ishida T, Ami Y, Suzaki Y, Adachi I, Wakita T, Takeda N, Li TC. Hepatitis E virus outbreak in monkey facility, Japan. Emerg Infect Dis. 18:2032-4. 2012

2) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. J Virol. 87:1105-14. 2013

3) Zamoto-Niikura A, Tsuji M, Qiang W, Nakao M, Hirata H, Ishihara C.Detection of two zoonotic Babesia microti lineages, the Hobetsu and U.S. lineages, in two sympatric tick species, ixodes ovatus and Ixodes persulcatus, respectively, in Japan. Appl Environ Microbiol. 78:3424-30. 2012

4) Hirai-Yuki A, Komiya T, Suzaki Y, Ami Y, Katsukawa C, Takahashi M, Yamamoto A and Yamada YK. Isolation and characterization of toxigenic Corynebacterium ulcerans from two closed colonies of cynomolgus macaques (Macaca fascicularis) in Japan. Comparative medicine. 63:1-7. 2013

I-2 邦文発表

1) 板垣伊織、山田靖子(2012): 実験動物感染症の現状―結核―。実験動物ニュース、61、64-66.

II 学会発表

II-1 国内学会

1) 山田靖子：マウス肝炎ウイルスの昔と今。シンポジウム「実験動物感染症の現状」。第 59 回日本実験動物学会総会、平成 24 年 5 月、別府。

2) 新倉 綾、平田晴之、石原智明：我が国におけるシュルツマダニからの *Babesia divergens* 様遺伝子の検出。第 154 回日本獣医学術集会、平成 24 年、9 月、大阪。

１８．検定検査品質保証室

室長　加藤　篤

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信頼性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。初代室長の山口一成（血液・安全性研究部長との併任）が平成 21 年で定年退官、その後を花田賢太郎（細胞化学部長との併任）が引き継ぎ、平成 24 年 4 月からは加藤篤（放射能管理室長との併任）が新室長として就任した。これに伴い花田賢太郎は当室への併任が解かれた。当室は、室長（併任）1 名、主任研究官の内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎の 3 名に今年度から再任用職員として近田俊文が加わり、さらに技術補助員の内田孝子、熊谷友望（業務管理課所属）の 2 名を含めた 7 名で業務に臨んでいる。

平成 24 年 3 月に日本が The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme （PIC/S:医薬品査察協定および医薬品査察協同スキーム）に正式に加盟を申請したのに合わせて、公的医薬品試験検査機関（OMCL: Official Medicines Control Laboratories）である国立感染症研究所も PIC/S が求める要件に合致した品質保証体制が求められるようになった。6 月 25 日に厚生労働省監視指導・麻薬対策課（厚労省監麻課）と独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）による実地調査を受け、その際、保証室は副所長、業務管理課検定係の協力のもと、進行調整役を果たした。わが国は平成 23 年 12 月に世界保健機関（WHO: World Health Organization）による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 ; Function 3）及び試験検査機能（Function 4）に係る評価を受けてこれに適合していたが（平成 23 年度年報参照）、PIC/S 要件を満たすには更なる信頼性保証体系の強化が求められた。6 月 29 日に国立感染症研究所は、指摘事項に対して適切に対応することを条件に監麻課から OMCL としての認定を得て、監麻課長と国立感染症研究所長の間で正式に「試験検査の依頼に関する取り決め書」が取り交わされた。

検定・検査業務の信頼性保証体系を PIC/S 要件に適合するよう強化するため、階層的な責任体系を所内の品質マネジメントシステムに導入した。すなわち、扱う事項が影響を及ぼす範囲の大きさを基準に責任者の職責を決め、それに合わせて、最高位の文書である検定検査業務の品質マネジメント指針を改定し、文書内に責任者の所在を明記した。また、下位の文書として変更管理、逸脱管理、教育訓練、苦情処理、マネジメントレビューの詳細な手順を文書化した所内規定類を作成した。これらは検定検査品質保証委員会で協議した後、9 月に検定検査業務委員会（業務委員会）で承認され、これより正式に PIC/S 要件に準じた信頼性保証体制の運用が開始された。保証室は平成25年3月に年度末を見据えてマネジメントレビューの実施を業務委員会の場で所内関係者に告知し、マネジメントレビューに必要な資料の取りまとめに関する手順を示した。

WHO はワクチンのロットリリースに際して、特別の施設あるいは技術ならびに機器が必要な検定試験よりも製造及び品質管理に関する記録の精査を重視しており、ロット毎の製造及び試験の記録等を要約した書類（SLP : Summary Lot Protocol）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。日本では従来、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に参考資料として自家試験記録を提出させ、その精査を検定試験と共に行っていたが、その精査結果が検定の合否に影響を与える事はなかった。前述の平成 23 年 12 月に受けた WHO によるワクチンのロットリリースに係る国立感染症研究所を含む日本国としての評価は、平成 23 年 7 月 4 日に薬事法施行規則の一部改正が発布され国家検定に SLP 審査制度を導入することが決められていたこと、SLP 審査制度が試行的に実施されていたことを受けて、適合としたものであった（平成 23 年度年報参照）。平成 24 年 10 月 1 日 SLP 審査制度が正式に実施されるのに先立ち、保証室は厚労省監麻課主催の業界向け説明会の開催に協力した。SLP 審査に必要な SLP 様式は、製造販売業者が作成した原案を製剤担当室が製造販売承認書をもとに修正し、更に保証室が再度内容を確認し、国立感染症研所長名で通知された。保証室がすべての製剤の SLP 様式を所内横断的に確認したことにより、整合性のとれた様式となった。こ

のように準備を進めた SLP 様式であったが、実際に審査を実施してみると、それまで認識されていなかった不都合等が顕在化し、一部改定が必要となったこと、あるいは、製造販売承認事項の一部変更申請に対応した改定があったこと等により、10 月 1 日の正式施行後も様式変更に伴う保証室の確認と通知に係る業務量は減ってはいない。それに加えて、従来、原液等の中間段階に対して国家検定が設けられている製剤に対しても、中間段階の国家検定で SLP 審査を実施することにしていたが、厚労省監麻課の方針転換により中間段階の国家検定では SLP 審査は行わず最終小分製品のみで SLP 審査を行うことに変更され、中間段階の国家検定は申請者から任意で提出された自家試験記録を参照して行うことになった。保証室は、この決定を受け所内及び業界との連絡係を務めた。

厚労省審査管理課から平成 24 年 11 月に「生物学的製剤基準の一部改正について」の提案を受け、倉根副所長の下で業務管理課検定係と保証室が協力して所内の関係者に生物学的製剤基準の改定案を募った。12 月に国立感染症研究所案として 60 項目の改定案を審査管理課に返した。その後、何回か審査管理課と保証室とで改定内容の確認と調整を行い、2 月 18 日に審査管理課から改正案がパブリックコメントに出された。今後、官報告示を経て、生物学的製剤基準の一部改正となる予定である。

検定成績の信頼性の担保に重要な検定コンピュータシステムは平成 23 年度に更新されたが（平成 23 年度年報参照)、その後も SLP 審査の適否に係る入力、製造販売業者への照会に関する入力等に関する仕様変更の要望が多い。なかでも時代の変化に対応した見直しの結果、検定合格証紙を医薬品ごとに貼付する制度を廃止するのに伴い、それに代わって国立感染症研究所が検定合格証明書を発行すると共に製剤ロットの検定合格情報を国立感染症研究所のホームページに公開することが計画されており、新制度施行までの稼働を目指して業務管理課検定係と保証室が協力してその作業に当たることになった。

ワクチンなどの国家検定に関して全所的または厚労省も含めた課題として横断的に浮上した案件については、保証室が窓口もしくは中心的な対応を任される例が多い。例えば、生物学的製剤の標準品に貼るラベルの記載方法に関する調査、PMDA が委嘱する専門委員および審査管理課が依頼する承認前検査を進める手順の課題等である。一方、特に対外的な事柄に関して所内の保証室が間に入って製剤担当部との調整的な役割の比率が増えている。例えば、生物学的製剤の標準化に係る WHO Collaborating Center に関わる課題、WHO の生物学的製剤の専門家会議（ECBS: Expert Committee on Biological Standardization）の所内取りまとめを行い、その結果を国際会議で必要に応じて主張し、その結果を所内に持ち帰って報告することである。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 OMCL たる国立感染症研究所が担う大きな責務の一つである。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。

本年の当室の研究は経常研究費によって、また凸版印刷株式会社（協力研究員)、堀内善信（客員研究員）と協力して、以下の研究を行った。

業　績

調査・研究

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する研究

１．残存百日咳毒素活性測定法に関する研究

動物実験代替法の実用化に向けた研究事業の一貫として、沈降精製百日せき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てきた ADP-リボシル化活性及びレクチン様結合活性試験法がマウスヒスタミン増感試験の代替試験法として適用可能であるか、その妥当性等について検討することになった。今年度は、現在国際的に検討が進められている代替試験法に関する情報収集を行い、上記試験法の他に培養細胞を用いた試験法の開発が進められていることが明らかとなった。[落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、堀内善信（客員研究員)、加藤篤；細菌第二部]

２．不活化ポリオ混合ワクチンの品質確保に関する研究

国立感染症研究所を含む計 5 施設で実施した参照不活化ポリオワクチン（セービン株）ロット更新のための共同試験で得られたデータ解析を担当し、現在の国内参照品ロット（09A）の力価（ラット免疫原性）に対する候補品ロット（12A）の相対力価を算出した。[落合雅樹、藤田賢太郎；白土東子、片山和彦、脇田隆字（ウイルス第二部)]

３．予防接種後副反応サーベイランスのあり方に関する研究

予防接種後副反応の集積や未知の副反応等のシグナルを迅速に検出するためには、医療機関あるいはワクチン製造販売業者等からの報告に加え、ワクチンの被接種者又はその家族からの副反応報告を効率的に収集することが有用と考えられる。PMDA により医薬品によって生じた副作用を患者等がウェブサイトから報告できる患者副作用報告システムの運用が試行的に開始されており、当該システムを活用するなど予防接種後副反応報告をより広く収集可能な仕組みが望まれる。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、堀内善信（客員研究員)；多屋馨子（感染症

情報センター)］

４．我が国の国家検定と欧州の OCABR 制度の比較

我が国の国家検定制度をより良いものとする改正に役立てるために、欧州の OCABR 制度との比較を行った。その結果、欧州においては、１）試験項目をフェーズ１とフェーズ２の２段階に分けて定めている点、２）検定機関と医薬品販売業者との間での新規承認製剤の試験方法に関する協議を承認申請の１年以上前に開始している点などで、我が国の制度とは大きく異なっていることが明らかになった。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、加藤篤；渡邉治雄（所長)］

５．ライフイノベーション：動物試験代替法の検討

生物学的製剤の安全性と有効性を評価する非臨床的試験としての動物を使った試験の果たす役割は大きい。しかし近年は科学技術の進歩により生物学的製剤の安全性と有効性を決定する科学的要因の幾つかが判明し、それらについては目標を限定して、物理化学的あるいは生化学的手法で測定が可能になってきている。動物試験は未知の物でも安全性を評価できること、生体としての反応を評価できる等の利点があるものの、その一方で動物飼育等の準備と試験の実施に時間を要すること。個体間のバラツキに起因する実験誤差の幅が大きいこと。使用動物並びにそれらの飼育設備の維持管理に経費を要する欠点があり、それらが検定に係る試験の信頼性を確保するために必要とされる試験精度、試験期間、手数料に反映されている。そこで、厚労省監麻課が獲得したライフイノベーション資金を利用して、手始めに A 型肝炎ワクチン、B 型肝炎ワクチン、不活化ポリオワクチン、日本脳炎ワクチン、狂犬病ワクチンの有効性を示す力価試験並びに、狂犬病ワクチンの不活化確認試験、百日せきワクチンの安全性試験の一つであるヒスタミン増感試験について動物代替試験法を検討することを開始した。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤；倉根一郎（副所長）；高崎智彦、林昌宏（ウイルス第一部）；片山和彦、石井孝司、清原知子（ウイルス第二部)］

Ⅱ．新規ワクチンに関する研究

１．中空型マイクロニードルを利用したワクチン皮内投与デバイスの開発

マイクロニードル（MN）を利用したワクチン投与は、従来の皮下注射法や筋肉内注射法に比べて投与時の痛みが少なく簡便で、免疫効果の点からもメリットがあると期待されている。そこで、シリコン製中空 MN を作製し、ホルダーを介してシリンジに取り付け（MN-シリンジ)、摘出したブタ皮膚への色素液（エバンスブルー／生理食塩液）の注入実験を行った。その結果、穿刺時および薬液注入時の各種パラメータを一定の範囲に保つことで MN-シリンジを用いて薬液を皮内に注入できた。また、抗原液(卵白アルブミン／エバンスブルー／生理食塩液)を生体ラットの皮膚に注入することで同量の抗原液を皮下注射した場合と同等以上の免疫応答が誘導されることを確認した。［内藤誠之郎；住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、加藤洋行、杉村浩（協力研究員・凸版印刷株式会社）；清原知子（ウイルス第二部）；前山順一（血液・安全性研究部)］

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の国家検定・検査に関する品質保証業務

１．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、近田俊文、内田孝子、加藤篤］

(2) SLP 審査制度の導入に係る通知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「薬事法施行規則の一部を改正する省令等の施行について」及び「指定製剤に関する取扱い等について」の通知案ならびに「検定医薬品の自家試験成績書について」の通知改正案に対し、「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 24 年 9 月 25 日にこれらの通知が発出され、平成 24 年 10 月 1 日からワクチンの国家検定に SLP 審査が導入された。［藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤］

(3) 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、変更された全ての 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、近田俊文、加藤篤］

(4) SLP 様式の製販業者への通知

薬事法施行規則第197条の3に基づいてSLP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24年度に作成または変更されて感染研から製販業者に通知されたSLP様式（平成24年10月以前は、SLP相当様式）は、計84通であった。［内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤；北山雄二（業務管理課・検定業務専門官）］

(5) 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、近田俊文、内田孝子、加藤篤；北山雄二（業務管理課・検定業務専門官)]

(6) SLP 様式作成及び変更に係る手順書の制定

原案を当室が作成し、SLP 作成委員会及び検定検査品質保証委員会からの意見聴取ののち、業務委員会にて審議・承認された（平成 24 年 9 月 28 日)。[内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤]

(7) SLP 様式作成指針の制定

原案を当室が作成し、SLP 作成委員会及び検定検査品質保証委員会からの意見聴取ののち、業務委員会にて審議・承認された(平成 24 年 12 月 28 日)。[藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤]

(8) 感染研に提出された承認書の初回の内容確認を円滑にするための改正

感染研に新たに提出された承認書の内容の製剤担当室長等による初回の確認作業を円滑にする目的で、「承認書等取扱規定」「SLP 様式作成及び変更に係る手順書」及び「製造・試験記録等要約書の審査に関する実施要綱」の該当条項を改正し、承認書等ファイルの貸出手順を簡素化した。改正原案作成を当室が担当し、SLP 作成委員会及び検定検査品質保証委員会からの意見聴取ののち、業務委員会にて審議・承認された（平成 25 年 2 月 1 日)。［内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤]

２．PIC/S 加盟に向けた準備に関する業務

日本が PIC/S（概要参照）に正式に加盟を申請したのに合わせて、OMCL である国立感染症研究所も PIC/S が求める要件に合致した品質保証体制が求められる事になった。国立感染症研究所は平成 24 年 6 月 25 日に厚労省監麻課と PMDA による実地調査を受けた。OMCL の概要は副所長が説明し、検定検査の受付業務等の業務管理課検定係、年間試験ロット数の多いインフルエンザ HA ワクチンを扱うインフルエンザウイルス研究センター第三室、抗生物質の収去試験を扱う細菌第二部第一室とそれらに関連する物理化学試験を担当する血液・安全性研究部第三室がラボツアーの対象となった。文書で指摘された品質マネジメント指針を改定と下位の文書として変更管理、逸脱管理、教育訓練、苦情処理、マネジメントレビューの詳細な手順を文書化した所内規定類の整備を約束することで、6 月 29 日に国立感染症研究所は OMCL としての認定を得、監麻課長と国立感染症研究所長の間で正式に「試験検査の依頼に関する取り決め書」が取り交わされた。9 月に業務委員会で PIC/S 対応のために作成した書類が承認された。平成 25 年 3 月には、マネジメントレビューの実施手順を示した。

［内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤；渡邉治雄（所長)、倉根一郎（副所長)、北山雄二（業務管理課)；検定検査品質保証委員会］

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等を行った。副所長、人事係と相談しながら、本省が作成した品質専門協議、承認前検査に係る手順書に関する要望・意見を取りまとめ、審査管理課に提出した。[藤田賢太郎、落合雅樹、内藤誠之郎、加藤篤；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター)；塚田昭子、坂本浩享（総務部)；北山雄二（業務管理課・検定業務専門官)；倉根一郎（副所長)］

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厚労省監麻課との協議等を行った。平成 25 年 1 月 30 日に検定合格証紙制度の見直しに係る薬事法施行令の一部を改正する政令が公布され、平成 25 年 7 月 1 日に施行されることになった。[落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、加藤篤；永田幸子、北山雄二（業務管理課)］

５．国家検定及び検査に係る SOP 原本の一元管理

(1) 受付件数

平成 24 年度より、国家検定に係る SOP の原本に加えて、生物学的製剤及び抗生物質製剤等の検査に係る SOP の原本についても、保証室において保管・管理されることとされた。平成 24 年度中に取扱った SOP 原本の実績

は、以下の通りである。検定 SOP：新規作成 27 件、修正 4 件、改訂 82 件、廃止 2 件、有効 SOP 数 503 通。検査 SOP：原本回収 38 件、新規作成 15 件、改訂 10 件、有効 SOP 数 53 通。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）、加藤篤]

(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、近田俊文、加藤篤]

６.「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

(1) 第一階層文書の整備

医薬品等の試験検査を実施する公的試験検査機関の認定調査における指摘事項に対応するため、品質方針、変更管理、逸脱管理、苦情への対応、マネジメントレビューに関する項目の追加及びそれに伴う文言の整理を行い、また SLP 審査制度導入に伴う一部修正、委員会名の変更に伴う記載整備等を行った原案（第 8 版）を作成した。作成した文書は検定検査品質保証委員会での審議を経て、業務委員会及び検定協議会（平成 24 年 9 月 6 日）で承認された。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、加藤篤；検定検査品質保証委員会]

(2) 第二階層文書の整備

第一階層文書に指摘事項に係る項目を追加したのに伴い、より詳細な手順を示した「教育訓練に関する手順書」「変更管理に関する手順書」「逸脱管理に関する手順書」「苦情等の処理に関する手順書」、並びに「標準作業手順書の取扱要領」「試験法バリデーション指針」改訂原案を作成した。作成した文書は検定検査品質保証委員会での審議を経て、業務委員会（平成 24 年 9 月 28 日）で承認された。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、加藤篤；検定検査品質保証委員会]

７．WHO Expert Committee on Biological Standardization（ECBS）勉強会の開催と報告

WHO の ECBS（平成 24 年 10 月 15 日～18 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、帰国後の報告会を行った。[落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、内田孝子、加藤篤；浜口功（血液・安全性研究部）]

８．検定・検査教育講習会への協力

検定検査教育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、検定検査教育小委員会に報告した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）、加藤篤]

９．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、近田俊文、熊谷友望（業務管理課）、加藤篤]

１０．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、藤田賢太郎、内藤誠之郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤]

１１．検定検査業務評価委員会ウェブページの運営

検定検査業務評価委員会からの依頼に応じて、当該委員会ウェブページを開設し、随時、情報の更新を行った。[熊谷友望（業務管理課）、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、内田孝子、加藤篤]

１２．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。10 号棟は平成 24 年 6 月に竣工し、7 月から標準品保管室の運用を開始した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子、加藤篤]

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、藤田賢太郎、熊谷友望（業務管理課）、内田孝子、内藤誠之郎、近田俊文、加藤篤]

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。[藤田賢太郎、落合雅樹、熊谷友望（業務管理課）、内田孝子、内藤誠之郎、近田俊文、加藤篤]

３．検定コンピュータ関連ウェブページの運営

検定コンピュータシステムの円滑な運用に資するため、検定コンピュータ関連ウェブページ（検定検査コンピュータ小委員会ページを含む）を開設し、随時、情報の更新を行った。[熊谷友望（業務管理課）、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、内田孝子、近田俊文、加藤篤]

４．検定コンピュータシステムの改修

平成25年7月に施行される検定合格証紙の見直しに係る制度改正に対応する機能追加を行うため、システム開発業者とシステム改修の仕様等について、情報共有及び調整を行った。[落合雅樹、藤田賢太郎、熊谷友望；永田幸子、北山雄二（業務管理課）；検定検査コンピュータ小委員会]

５．検定手数料等の算定に係る支援業務

検定業務専門官からの依頼に応じて、検定手数料、試験検査手数料、製品交付手数料等の算定に係る支援業務を行った。[熊谷友望（業務管理課）、藤田賢太郎、落合雅樹、内田孝子、内藤誠之郎、加藤篤；北山雄二、郡正彦（業務管理課）]

国際協力関係業務

Ⅰ．研修等

1) 韓国 FDA：標準品の制定・管理について（平成 24 年 6 月 8 日）[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎；岩城正昭、金玄、森茂太郎（細菌第二部）]
2) JICA International Program “National test and Quality Assurance” in “Laboratory Diagnosis Techniques for the Control of Vaccine Preventable Diseases (J1200688)”（平成 25 年 1 月 28 日）[加藤篤]

Ⅱ．講演

1) WHO EMRO「DTP 混合ワクチンに対する規制当局の機能強化のための会議」：品質管理試験データの統計解析について（平成 24 年 9 月、エジプト、シャルム エル シェイク）[落合雅樹]
2) JICA「ワクチン品質管理技術コース（DPT ワクチン）」研修：生物学的製剤の標準化について（平成 24 年 11 月）[落合雅樹]
3) NICEATM/ICCVAM「百日せきワクチンの安全性試験における人道的エンドポイントについて」：体温測定に基づく高感度マウスヒスタミン増感試験法（平成 24 年 11 月、米国、ベセスダ NIH）[落合雅樹]

Ⅲ．国際会議参加

1) ワクチンと治療用生物製剤の標準化と品質評価に関する WHO コラボレーティングセンターの第一回会議（平成 24 年 4 月、スイス、ジュネーブ WHO 本部）[加藤篤、内藤誠之郎]
2) WHO（EMRO）DTP 混合ワクチンに対する規制当局の機能強化のための会議（平成 24 年 9 月、エジプト、シャルム エル シェイク）[落合雅樹]
3) WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（ECBS；平成 24 年 10 月、スイス、ジュネーブ WHO 本部）[加藤篤、落合雅樹；浜口功（血液・安全性研究部）]
4) NICEATM/ICCVAM 精製百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験代替試験法の国際ワークショップ（平成 24 年 11 月、米国、ベセスダ NIH）[落合雅樹]
5) Regional Alliance for National Regulatory Authorities for Vaccine in the Western Pacific 西太平洋におけるワクチン規制当局による地域連携会議（平成 25 年 3 月、フィリピン、マニラ）[加藤篤、藤田賢太郎；猪熊泰子（厚労省審査管理課）；池田吉宏（JICA）]

Ⅳ．その他

１．WHO への生物学的製剤の品質管理用統計解析ソフトウェアの提供

WHO より生物学的製剤の品質管理試験のデータ解析に用いるために開発した統計解析ソフトウェア（Microsoft Windows Vista、Windows 7 対応版）の提供依頼を受け、WHO に対し本ソフトウェアの使用、複製及び加盟国への配付ができるような形で提供した。[落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、堀内善信（客員研究員）；片岡紀代（感染病理部）；渡邉治雄（所長）]

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」について講義した（平成 24 年 6 月 4 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 24 年 10 月 25 日）［内藤誠之郎］

その他

Ⅰ．所外委員会等

１．日本薬局方抗生物質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、第十六改正日本薬局方（日局 16）の原薬及び製剤についての新規収載案及び既収載改正案の審議に従事した。日局 16 第一追補が 2012 年 9 月 27 日に告示(厚生労働省告示第 519 号）された。［近田俊文］

２．国際ワークショップ組織委員会に関する活動

NICEATM/ICCVAM 主催の精製百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験代替試験法の国際ワークショップ組織委員会（電話会議）に参加し、当該ワークショップでの協議事項・資料の準備等に協力した。［落合雅樹］

Ⅱ．その他

１．国内外の機関への生物学的製剤の品質管理用統計解析ソフトウェアの配付

国内外の機関からの依頼に応じて、生物学的製剤の品質管理試験のデータ解析に用いるために開発した統計解析ソフトウェア（Microsoft Windows Vista、Windows 7 対応版）の配付を開始した。今年度の配付実績は、21 機関（国外：6 機関、国内：15 機関）であった。［落合雅樹、藤田賢太郎、熊谷友望（業務管理課）、内藤誠之郎、内田孝子、堀内善信（客員研究員）；渡邉治雄（所長）］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

１．欧文発表

1) Ikejiri A, Ito Y, Naito S, Takada K. Two- and three-layered dissolving microneedles for transcutaneous delivery of model vaccine antigen in rats. Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology **3**: 325-334, 2012

2) Wood D, Elmgren L, Li S, Wilson C, Ball R, Wang J, Cichutek K, Pfleiderer M, Kato A, Cavaleri M, Southern J, Jivapaisarnpong T, Minor P, Griffiths E, and Sohn Y. A Global Regulatory Science Agenda for Vaccines. *Vaccine*, **31**:163-175, 2013

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

２．和文発表

1) 内藤誠之郎：ワクチン・レギュレーションの新展開－国家検定への SLP 審査制度の導入，PHARM TECH JAPAN 28(10): 25-31, 2012

2) 落合雅樹，浅野貴春，薮崎克己，廣野泰亮：光散乱法を用いたアンチトロンビンⅢ製剤のエンドトキシン測定，エンドトキシン・自然免疫研究 15－飛躍する自然免疫研究－，医学図書出版，2012

3) 加藤篤　ムンプス　ハリソン内科学第 4 版　黒川清、福井次矢　日本語監修　8 章感染症　日本語訳 1:pp1405-1408 メディカル・サイエンス・インターナショナル　2013 年 3 月 15 日発行

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Ochiai M, Kataoka M, Yamamoto A, Horiuchi Y. Highly sensitive Histamine sensitization test using dermal temperature and limitation of CHO-cell assay in predicting in vivo activity of aldehyde-treated pertussis toxin. International Workshop on Alternatives to the Murine Histamine Sensitization Test (HIST) for Acellular Pertussis Vaccines, 28-29 November 2012, Bethesda, USA

２．国内学会

1) Takada K, Naito S, Ito Y, Sudhakaran M, Ikejiri A. Usefulness of three-layered dissolving microneedles for skin vaccination. 第 16 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、11 月、2012

2) 加藤篤、永田志保、前寺知弥、木所稔、永田典代、竹内薫、竹田誠。おたふくかぜ生ワクチン（ミヤハラ株）とその原株との比較。第 16 回日本ワクチン学会学術集会、横浜、11 月、2012

19.感染症情報センター

センター長　大石和徳

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 24 年度には 14 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六室で、お互いに協力し合いながら実施している。

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。

第一室(感染症対策計画室：室長空席)

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：砂田有希室長)

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)

感染症流行予測調査事業として実施している血清疫学調査(感受性調査)ならびに感染源調査の立案と実施、現行予防接種の効果と副反応に関するモニタリング、これらの結果の公表と広く一般への情報提供、予防接種対象疾患の感染症として人に与える影響に関する調査研究、及び今後の我が国における予防接種の有用性・安全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・風疹対策(Measles & Rubella 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。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。情報センター第一～三室等と連携しながら病原体診断に関した研究を進めている。

第五室(細菌研修室：木村博一室長（第五室併任）)

第六室(ウイルス研修室：木村博一室長)

第五室においては細菌性、第六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(第五室)・ウイルス(第六室)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。さらに、腸管感染症由来細菌や呼吸器ウイルスの分子疫学および遺伝学的研究を行っている。

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)「自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究」(研究代表者谷口清州)を組織し、平常時から危機時を想定した対策をとっておくことが必要というポリシーで、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、砂田有希、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、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)「自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究」(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。

[砂田有希、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)「自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究」(研究代表者谷口清州)の一環として、2012 年 4 月に行われた感染症サーベイランスシステム（NESID: National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases)の大規模な改修について評価し、今後の改善につなげることを目的に、全国の保健所に対して、改修項目の認知度や利用度、評価についてのアンケート調査を行った。今回の改修によって、NESID に求められている機能のうち、「入力（登録）支援」「データの質の向上」「他保健所・自治体間のデータ共有」の一部において、改善したと評価できた。また、認知率の低い改修項目の存在が認められたので、保健所の担当者に NESID の機能や今回の改修項目について周知し、業務負担の軽減や、感染症対策へのデータの有効活用が望まれる。

[砂田有希、島田智恵、阿保満(東京都大田区保健所)、鈴木智之(岐阜大学医学部付属病院生体支援センター)、松舘宏樹(岩手県保健福祉部)、加藤信子、灘岡陽子(東京都健康安全研究センター)]

4.　症候群サーベイランスの実用

（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 9000 薬局(2013 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。スマートフォン、アイフォン、ケーブルテレビによる情報提供を行った。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、2013 年 3 月末で 20 県 4 政令指定都市の全校をはじめ 18000 校以上で稼動している。

（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、2013 年 3 月末で約 5000 園にて稼動している。また、保健所による活用の事例を収集し、公表した。2012 年 11 月厚生労働省による保育所における感染症対

策ガイドラインに掲載された。
[大日康史、菅原民枝、安井良則、大石和徳]

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、大石和徳]

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。一時副反応の懸念から接種差し控えになった際には 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、大石和徳］

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。2012 年度末現在において、200 名以上の有志医師のご協力、42,000 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)]

8. 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。
また、感染症危機事例を探知、追跡する業務を通じ、イベントベースサーベイランスの必要性、業務を支援するデータベースに必要な条件について検討した。
[中島一敏、FETP 一同、加納和彦、八幡裕一郎、神谷元、砂川富正、大山卓明]

9. 自然災害に関連したアデノウイルスの分子疫学に関する検討

自然災害時に発生する恐れのある腸管アデノウイルスの分子疫学的検討を実施した。
[谷口清州、夛田有希、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]

10. 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

アデノウイルス検査マニュアルを作成して、ホームページに掲載し、それに関連した報告を論文発表した。
[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]

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）東日本大震災における感染症情報の収集と対策

東日本大震災時に被災地として避難所が設置された岩手県、宮城県、福島県、茨城県における保健所での避難所における症候群サーベイランスの活用方法や還元方法などについて調査を行った。避難所サーベイランスの有用性は、一定の評価はあり、平時からの周知や事前のトレーニングが必要であると考えられた。また、感染症以外の健康監視に関する項目の統合も必要であると考えられた。今回の未曾有の災害において、WHO などが規定する超急性期（災害発生後数日～1 週間程度)、急性期（～2 週間程度より)、慢性期・復興期（それ以降）に準じた外部支援が実施出来ていなかったことは、災害後の感染症そのものへの復興の道のりが容易では無かったことを示唆した。EBS（イベントベーストサーベイランス＝アウトブレイクサーベイランス）の概念自体が国レベルで周

知されていないこともあり、今後の災害などの事態において、必要なサーベイランスを整備していくことが重要であると考えられた。具体的な情報についてまとめ、災害時における感染症情報の収集や対策の方法を、被災程度に応じた標準的な様式（チェック形式）を予め準備しておくことが必要と挙げられた。

［砂川富正、安井良則、中島一敏、八幡裕一郎、神谷元、田中晶平（岡山大学学生）、谷口清州、大石和徳］

（2）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、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、福島県や宮城県等で実際に使用された。しかしながら、ＰＣからのｗｅｂ入力方式であったために、発災直後でＰＣが使用できない状況では使用できないという限界があった。それを克服し、次の大規模な自然災害発災時にはＰＣよりも普及率や頑健性が高い携帯電話からもｗｅｂ入力できるように、画面を改良したバージョンを開発した。

［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］

（3）東日本大震災に伴う呼吸器感染症の流行とワクチンによる予防効果に関する研究

東日本大震災およびそれに伴う津波の後、臨床家の経験として肺炎の急増が指摘され、地元医師の要請に基づき成人向け肺炎球菌ワクチンの無償供与が 2011 年にメーカーおよび日本赤十字社の事業として行われた。海外からの支援金を用いて行われたこの事業を評価するため、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)「震災地の高齢者における肺炎球菌ワクチンの肺炎予防効果に関する研究」を行った。被災地での肺炎球菌性肺炎及び侵襲性肺炎球菌性感染症の発生状況を後ろ向きに把握し、ワクチン接種歴と合わせてワクチンによる疾病負荷の軽減効果を認めた。

［牧野友彦、大石和徳］

2. 新型インフルエンザのパンデミック対策に関する研究

（1）数理モデルを用いた新型インフルエンザ被害予測に関する研究

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］

（2）新型インフルエンザに対する公衆衛生対応としての有効な検疫のあり方に関する研究

我が国の検疫所における新型インフルエンザ対応能力（IHR、健康相談室等）に関する評価の実施を、今年度は一つの空港検疫所 A について実施した。入室者においては、医療上要フォロー群が 62.5%を占め、発熱、咳、咽頭痛、鼻閉・鼻汁、頭痛、関節痛が統計学的に有用な症状であることが推定され、特に発熱・関節痛は OR が 2 以上であった。サーモスキャンでは偽陽性が一定頻度で存在したもののスクリーニング手段としては有用であり、特に 37℃以上の発熱性疾患においては要フォロー結果につながる有用性は顕著であった。全体として、発熱・関節痛などの有用な臨床所見の検出に、他の疫学的なスクリーニング項目を加えること等で、新型インフルエンザ発生当初の水際対策の一つのツールとしての有用性があるものと考えられる。

［砂川富正、八幡裕一郎、神谷元、谷口清州、阪口洋子（東京検疫所支所）］

3. 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)「自然災害時を含めた感染症サ

ーベイランスの強化・向上に関する研究」(研究代表者谷口清州)の一環として、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、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。本年度は主にデータの分析に取り組んだ。

[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]

4. 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、岡部信彦]

5. バイオリスク評価に関する研究

厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「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)、Helmut Prendinger(国立情報学研究所)、Jennifer Gaudioso(SandiaNationalLaboratories)]

欧州標準化委員会の下で作成した「バイオセーフティ専門家の定義と必要技能の特定および、技能評価と資格認証の仕組み:CENWORKSHOPAGREEMENT16335」および「国際バイオリスク管理:CWA 15793」の双方の発効更新の検討に寄与した。

[重松美加]

6. 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「CBRNEテロ/災害等の健康危機管理時の医療体制に関する研究」(主任研究者:大友康裕)の分担研究として、災害時の派遣医療チームに対する避難所サーベイランス能力の強化に関する研究を行った。同研究班のDMATのNBC災害/テロ研修プログラムにおいて、東日本大震災における避難所サーベイランス活動についての研修を含め、災害時の派遣医療チームに対する公衆衛生活動強化の位置づけについて検討した。

[中島一敏、砂川富正、大日康史、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)]

7. 再生医療の臨床応用へ向けて必要とされる施設およびその管理運用に関する研究

再生医療における細胞調製施設の施設要件を定めらるにあたり、必要とされていた国内の各機関の現状を含めた基本情報を収集し、欧米との比較検討を行い、臨床研究に向けて調製施設に求められる必要最低限の要件について取りまとめた。

[重松美加、大石和徳、浜口功(血液・安全性研究部)]

8. 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につき、米国 CDC 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、検疫対応、ガイドラインの開発と運用、ラボ、情報共有とリスクコミュニケーション等につき情報収集、検討した。
[中島一敏]

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、安井良則、大石和徳］

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、安井良則、大石和徳、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]

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　砂川富正）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 O157 感染症の散発症例に対して発症前 1 週間の食品・動物・環境の曝露状況を収集した。また､腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発症例と年齢階級、性別、居住地域をマッチさせた対照群をインターネット調査会社の登録者からランダムに抽出し、症例対照研究を実施した｡平成 23 年の生肉の規格基準の改定及び 24 年の牛生レバーの禁止前の平成 22 年の調査とこれらの対策実施後で牛生肉の喫食と牛生レバー喫食のリスクを比較した｡平成 22 年の調査では、牛生肉の喫食と牛生レバー喫食が腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発症例のリスクであったが､平成 24 年の調査ではこれらの喫食は腸管出血性大腸菌 O157 感染症の散発症例発生のリスクではなくなった。この結果については平成 25 年 3 月 18 日に開催された厚生労働省の薬事･食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会にて報告された。
［八幡裕一郎、春日文子、砂川富正］

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　砂川富正）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、報告した。今後の広域事例対応を円滑に進めるためのガイドライン作成に着手し、関係者間で骨子を作成した。また、広域事例用の調査に関しては、調査票を開発し､使用マニュアルを作成し､NESFD へ掲載した。自治体で使用可能な状況とした。
[杉下由之(東京都健康安全研究センター)､八幡裕一郎、春日文子]

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、神谷元、八幡裕一郎]

7. 生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒に関する疫学的研究

生鮮食品のうちヒラメを共通食とする原因不明食中毒は Kudoa septempunctata（クドア）の寄生が原因であるこ

とが報告されが、クドアが寄生したヒラメの喫食についての疫学情報につては十分な情報が得られていない。本研究はクドアが寄生したヒラメを喫食した食中毒の発生状況の季節性（ベースラインデータの収集）、発症に至るクドアの摂取量の検討を行った。季節性は 2009 年、2011 年が 9 月にピークであり、2010 年が 8 月であったため、9 月前後がピークになる可能性が考えられた。クドアの 1g あたりの胞子数を最小値（9.4×105 個／g）では 76.6g 以上の摂取でこれまでに推定した閾値（7.2×107 個）以上となったが、中央値（1.1×107 個／g）以上では閾値を超えていた。ヒラメに規制しているクドアの胞子数とヒラメの喫食により発症との関連が示唆された。

［八幡裕一郎］

8. 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、2012 年 4 月号：ブルーリ潰瘍、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：クドアとザルコシスティス、7 月号:ブルセラ症、8 月号：溶血性レンサ球菌感染症、9 月号：HIV/AIDS、10 月号：マイコプラズマ肺炎、11 月号:インフルエンザ、12 月号：百日咳、2013 年 1 月号：真菌症、2 月号：麻疹、3 月号：肺炎球菌感染症である。

[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、木下一美、夛田有希、安井良則、牧野友彦、山岸拓也、多屋馨子、藤本嗣人、木村博一、大石和徳、石井則久（ハンセン病研究センター）、大西真、寺嶋淳、伊豫田淳、池辺忠義、常彬（細菌第一部）、西條政幸、安藤秀二（ウイルス第一部）、脇田隆字、清水博之（ウイルス第二部）、竹田誠、駒瀬勝啓（ウイルス第三部）、田代真人、小田切孝人（インフルエンザウイルス研究センター）、柴山恵吾、加藤はる、見理剛、蒲地一成（細菌第二部）、野崎智義、八木田健司（寄生動物部）、澤邉京子（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）、宮﨑義継（生物活性物質部）、俣野哲朗（エイズ研究センター）、宮川昭二（国際協力室）、山本茂貴、小西良子（国立衛研）、冨澤一郎（企画調整主幹）、渡邉治雄（所長）、倉根一郎（副所長）、吉倉廣（前所長）、井上栄（元感染症情報センター）、中嶋建介、梅木和宣、難波江功二、温泉川肇彦、松岡隆介、黒羽真吾、（厚生労働省）]

9. 性感染症（STD）発生動向に関する研究

厚生労働科学研究「性感染症に関する特定感染症予防指針に基づく対策の推進に関する研究」（研究代表者荒川創一）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、2012 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引き続きの課題である。

［岡部信彦、山岸拓也、夛田有希］

10. 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 の塩基配列を分子進化学的手法で解析し、わが国における HIV-1 感染の動態を明らかにすることを目的としている。データベース上の患者情報から、2002 年～2011 年の初診時に採取された検体の Protease-RT 領域の塩基配列（全 4393 配列）について、ウインドウ・スライド・平均置換塩基率測定法で、検体配列の微細なサブタイプ構造を大量解析した。その結果、ほとんどの領域が同じサブタイプである検体は、B=3899, CRF01_AE=344, C=46, G=15, F=9, D=1 であった。CRF は、02_AG=36, 06_cpx=3, 07_BC, 12_BF, 33_01B が各 2 検体, 08_BC と 28 または 29_BF が 1 検体ずつであった。また、32 検体は、未知のサブタイプ間組換え体（URF）であった。CRF02_AG は顕著に感染クラスタが多い特徴を持ち女性に多かった。その他の CRF は元来の流行地出身者や渡航者の感染が多かった。URF は構成要素であるサブタイプの流行地出身者や渡航者の感染が多いが、B-01 間のものは国内での生成も疑われた。今回の結果は、日本国内で様々なサブタイプが主に組換え体として輸入されてきていることを示している。組換え体ウイルスは、サブタイプごとに薬剤耐性変異、免疫への応答性等が異なる可能性があり、疾病対策上特異な地位を占めるため、今回の結果は公衆衛

生学上注目に値する。
[椎野禎一郎]

11. 感染症発生動向調査からみた 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。さらに、日本国籍 MSM における出生年代別 HIV/AIDS の動向を分析した。
[夛田有希、塩野徳史(名古屋市立大学)、金子典代(名古屋市立大学)、市川誠一(名古屋市立大学)]

12. 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。2012/2013 年シーズンは 2013 年第 5 週までに 33 例(男性 19 例、女性 14 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、夛田有希、多屋馨子]

13. 感染症法に基づく 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「肝炎ウイルス検査体制の整備と普及啓発に関する研究」(研究代表者加藤真吾)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。
[夛田有希、岡部信彦(川崎市衛生研究所)]

14. 日本における 2012 年の A 型肝炎の分子疫学的解析および A 型肝炎のリスクアセスメントに関する研究

厚生労働科学研究「経口感染によるウイルス性肝炎(A 型及び E 型)の感染防止、病態解明」(研究代表者岡本宏明)の一環として、2012 年の A 型肝炎の分子疫学的解析、2008 年から 2012 年までの感染症発生動向調査に基づく患者報告の解析を行った。
[清原知子(ウイルス第二部)、石井孝司(ウイルス第二部)夛田有希]

15. 耐性菌サーベイランスに関わる研究

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)「自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究」(研究代表者谷口清州)の分担の一つとして、インターネットにおける抗菌剤の販売について検討した。
[具芳明、谷口清州]

16. 耐性菌サーベイランスに関わる研究

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)「新たな薬剤耐性菌の耐性機鋼の解明及び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究」(研究代表者:柴山恵吾国立感染症研究所細菌第二部長)の一環として、厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) SSI 部門のデータを用いた腎臓手術における SSI 発生率層別化の検討を行った。
[山岸拓也]

17. インフルエンザ脳症ならびに入院例の疫学に関する研究

厚生労働科学研究「重症のインフルエンザによる肺炎・脳症の病態解析・診断・治療に関する研究」(研究代表者森島恒雄、研究分担者多屋馨子)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った。また、全国約 500 か所の基幹定点病院からのインフルエンザによる入院例サーベイランスについて検討した。
[安井良則、多屋馨子]

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.　麻疹、風疹ワクチンに関する研究

（１）麻疹含有ワクチンの接種率と接種率向上のための対策に関する研究

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)「ワクチンにより予防可能な疾患に対する予防接種の科学的根拠の確立及び対策の向上に関する研究(研究代表者大石和徳、研究分担者多屋馨子)」の研究の一貫として、麻疹・風疹含有ワクチンの接種制度と流行の関係ならびに麻疹含有ワクチン接種率向上のための対策に関する研究を行った。

[FETP 三崎貴子、佐藤弘、多屋馨子、大石和徳]

（２）麻疹排除に向けた対策の構築ならびに実施

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〉

・麻しん排除に向けた積極的疫学調査ガイドライン第四版の作成

・医師による麻しん届け出ガイドライン第四版の作成

・医療機関での麻疹対応ガイドライン第四版の作成

・都道府県における麻しん対策会議等に関するガイドライン（第二版）

・麻しん発生時対応ガイドライン第一版

・国の麻しん対策推進会議用に資料作成・発表

・麻しんに関する特定感染症予防指針の改定作業(2012年12月告示)

[多屋馨子、砂川富正、島田智恵、山下和予、夛田有希、安井良則、中島一敏、神谷元、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、佐藤弘、FETP12&13 期、大石和徳]

（３）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 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、夛田有希、多屋馨子、大石和徳]

（４）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 年度から、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。

［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]

（５）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。

[夛田有希]

（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)「ワクチンにより予防可能な疾患に対する予防接種の科学的根拠の確立及び対策の向上に関する研究（研究代表者大石和徳、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・森嘉生・竹田誠(ウイルス第三部)、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、大石和徳]

（７）風疹抗体価（HI 価と国際単位）の読み替えに関する検討

風疹の免疫状況の指標としては従来赤血球凝集抑制試験（HI 法）による HI 価が用いられることが多かった。そこで、同じ血清を用いて HI 法、酵素抗体法（enzyme immunoassay：EIA 法）およびラテックス免疫比濁法（latex turbidimetric immunoassay：LTI 法）による抗体価測定を行い、HI 価を基準とした検討を行った。

HI 価と国際単位の間には良好な正の相関性が認められ、ROC 解析の結果、HI 価 1:16 以下に相当する国際単位は 30 IU/ml が妥当と考えられた。

[佐藤弘、多屋馨子、森嘉生（ウイルス第三部）]

2.ワクチンの副反応に関する研究

（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電子化に関する検討を行い、国内外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、佐藤弘、田原寛之（FETP）、三崎貴子（FETP）岡部信彦（川崎市健康安全研究所）、砂川富正、神谷元、安井良則、新井智、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）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。

調査結果をもとに医療機関向けの間違い事例を防止するためのリーフレットを作成し、配布する予定である。

[佐藤弘、多屋馨子、新井智、荒木和子]

（３）ロタウイルスワクチンと腸重積症に関する研究

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 年以降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。今後、システムの評価を踏まえてのわが国の腸重積症の推移を推し量るべく、現在情報収集中である。

[砂川富正、神谷　元、河野有希、多屋馨子、大日康史、菅原民枝、岡部信彦、大石和徳]

（４）ワクチン接種と乳幼児の突然死に関する疫学研究

2011 年 3 月の Hib ワクチン、小児用肺炎球菌ワクチンを含む同時接種後に乳幼児が死亡したことをうけ、一時的にワクチンの接種が見合わされる事態となった。様々な検討が行われ、同年 4 月からワクチンは再開となったが、国内ではワクチン接種と乳幼児の突然死に関する研究がなかったことから、日本小児科学会、日本救急医学会の協力を得て、国立感染症研究所で症例対象研究を実施することと

なった。2012 年 12 月から症例の報告が行われており、現在症例を収集中である。

[多屋馨子、島田智恵、新井智、佐藤弘、砂川富正、岡部信彦（川崎市健康安全研究所)、岡田賢司（国立病院機構福岡病院)、市川光太郎（北九州市立八幡病院)、大石和徳]

（５）予防接種の実施状況に関する研究

都内の保健所との共同で、1 歳半健診受診者の予防接種の実施状況を調査し、同時接種と単独接種の実態を調査した。

[田原寛之（FETP）、三崎貴子（FETP）、佐藤弘、大山卓昭（国立保健医療科学院）、多屋馨子]

（６）台湾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、今年度は台湾における副反応対応体制に関する情報収集を行った。台湾は副反応報告を専門に扱う機関として台湾 CDC（TCDC）が機能しており、また、韓国と同様に rapid response team の役割が保健所（FETP）を中心に明確にあった。わが国と同様にシグナル探知のためのサーベイランスや仮説（因果関係）を確認するデータベースが無いなどの課題も存在した。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]

（７）海外における予防接種政策のシステムに関する研究

2012 年 6 月米国 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]

3．震災地の高齢者における肺炎球菌ワクチンの肺炎予防効果に関する研究

宮城県、山形県で 2012 年 9 月から 2013 年 2 月までの期間に、過去 2 年間の中核的病院ネットワークにおける高齢者の侵襲性肺炎球菌感染症を含む肺炎球菌性肺炎の発生について調査した。さらに症例対照研究により、23 価肺炎球菌ワクチン接種の効果を評価した。

[牧野友彦、大石和徳、青柳、賀来満夫（東北大学病院）、武田博明（済生会山形済生病院）]

4．小児侵襲性肺炎球菌感染症患者の感染血清型に対する血清中特異抗体測定

小児侵襲性肺炎球菌感染症患者の感染血清型に対する血清中血清型特異 IgG 測定とオプソニン活性を測定し、肺炎球菌ワクチン接種前、接種後の液性免疫能の評価を行った。

[明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）大石和徳]

5．年齢による健康小児の血清中肺炎球菌特異抗体、Hib 抗体の比較検討

各年齢別に収集された小児血清中の肺炎球菌血清型特異 IgG 及びオプソニン活性、Hib 菌の特異 IgG 及び血清殺菌能の評価を行った。

[明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）大石和徳]

6．ワクチン予防可能疾患における予防接種の費用対効果分析

ワクチン予防可能疾患における予防接種の費用対効果分析をインフルエンザ、水痘、Hib ワクチンなどを対象に実施してきたが、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、大石和徳]

7．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。本年度は麻しんの特定

指針の最終年度に当たることから、利用者側で任意に定期接種の種類や内容を新設、変更、削除できるようにし、HPを通じての提供とした。

［大日康史、菅原民枝、大石和徳］

8. 百日咳患者の診断の精度向上に関する研究

高知県全域で2012年8月より百日咳の強化サーベイランスとして21医療機関（内科、小児科）で医師により百日咳と診断された事例で8月1日～10月31日に報告があり、遺伝子検査が行われた事例に関し、その特徴を記述し、予防接種歴に関する情報を整理するとともに、年齢層別にそれぞれの症状の組み合わせについて感度、特異度を検討した。年齢は検査否定例で有意に高く（P=0.03）、症状は乳児で「咳の期間かつ特有の咳」よりも「咳の期間のみ」のほうが同じ咳の長さであれば感度が高い傾向があった。また「特有の咳」を加えないほうが、感度・特異度が全体的に高い傾向にあった。全体的な感度・特異度の傾向は特有の咳があるほうが高い傾向があった。年齢別の予防接種歴は乳児の確定例3回接種（不明を除く）された者はなく、2回接種の3例に関しても2例は最終接種から1ヶ月未満、1例は期間不明であった。現在用いている臨床診断基準について、目的、年齢に応じた症例定義を用いる必要があると考えられた。一方で、マイコプラズマなど他疾患との鑑別は限界があり、病原体サーベイランスと併せて流行を把握し、臨床現場で検査診断が実施可能にするような検査診断基準の確立が必要である。

［砂川富正、神谷　元、八幡裕一郎、安藤由香、大平文人、土橋酉紀、蒲地一成（細菌第二部）、松本道明（高知県衛生研究所）］

9. 百日咳サーベイランスのあり方に関する研究

高知県内全域の医療機関、および北海道内の大学保健管理センターネットワークのそれぞれにおいて、百日咳に関する強化サーベイランスを実施している。高知県では本研究に登録された2012年8-9月分届出症例総数は181例であり、北海道内の大学保健管理センターの症例総数は27例であった。高知県は中央部から西部にかけての症例の地理的分布があった。LAMP陽性例は年齢中央値が3.5歳と若年であった。2週間持続する咳や、スタッカート/ウープを伴う咳発作の診断上の有用性を認めた。LAMP陽性者36名中17名は2週間以上の持続する咳は無く、確定例（LAMP陽性or抗PT抗体陽性）と比較して、流行極期における分析は「1週間以上の咳＋咳そう発作or新生児乳児の特有咳」の症状クライテリアにおける診断上の有用性を最も認めた。北海道では、百日咳様疾患の集団発生が認められたが検査結果は、百日咳、マイコプラズマ、B. holmesiiのいずれも陰性であった。特異性の低い百日咳の症状にどのように検査診断を組み合わせていくかは大きなチャレンジであることが分かった。年齢層別に把握すべき症状に加えて、適切な検査診断体制をどう構築するかが重要である。今後も両サーベイランスの体制を維持し、評価していくことが重要である。

［砂川富正、神谷　元、八幡裕一郎、谷口清州、蒲地一成（細菌第二部）］

10. 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)「自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究」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。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。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が、現在再検中である。

［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］

11．国内未承認の新興感染症ワクチンの国内利用に関する研究

「新興感染症ワクチン等の品質及び有効性評価手法の検討に関する研究」（研究代表者　山口照英国立医薬品食品衛生研究所研究員）の分担研究「トラベラーズワクチン等の開発手法の検討」（分担研究者尾内一信川崎医科大学小児科教授）において海外で利用されているが国内で承認されていないワクチンの国内利用に向けた課題を検討した。

[安井良則、山岸拓也]

Ⅴ．病原体等の研究

1.　インフルエンザ菌ｂ型の抗体保有調査

抗体保有率と患者発生の関連を検討するため、インフルエンザ菌ｂ型(Hib)に対する抗体保有調査を行った。

[新井智、荒木和子、佐藤弘、多屋馨子、大石和徳]

2.　インフルエンザの検査診断に関する検討

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調べた．臨床現場で多く用いられている 20 キットについて A/California/2009pdm 株および B/Wisconsin/60/2008 株に対するキットデバイスの最小検出感度の比較検討を行った．

[荒木和子、多屋馨子、佐藤　弘、新井　智、大石和徳]

3.　新規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、ベトナムの翼種目に新しいハンタウイルスを発見した。

[新井智、佐藤弘、荒木和子、多屋馨子、大石和徳(感染症情報センター)、森川茂(ウイルス第一部)、Son Truong Nguyen(ベトナム、Institute of Ecology and Biological Resources)、大館智志(北大)、Bazartseren,Boldgiv(モンゴル、National Univerisity of Mongolia)、RichardYanagihara(米国ハワイ大学医学部)]

4.　ウイルス-宿主の共進化の解析

効率的なウイルス変異予測を行うために、ウイルスの感染している自然宿主とそのウイルスの変化を共進化を視点に解析した。

[新井智、佐藤弘、荒木和子、多屋馨子、大石和徳(感染手情報センター)、森川茂(ウイルス第一部)、大舘智志、鈴木仁(北大)、川田伸一郎(国立科学博物館)、福井大(韓国、National Institute of Biological Resources)]

5.　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の研究

千葉県衛生研究所管内で分離されたこれまでにない組換え型の株に関して、全ゲノムを決定するなど性状を解析した。

[藤本嗣人、小長谷昌未、花岡　希、岡部信彦、千葉県衛生研究所、北海道大学]

（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 増幅産物が混入していたときに、分解されて偽陽性にならない手法を検討した。

[花岡希、小長谷昌未、藤本嗣人]

6.　エンテロウイルスの塩基配列に関する研究

コクサッキーA6 型がこれまでヘルパンギーナを引き起こしていたが､手足口病を引き起こすようになったので、その塩基配列をフルゲノムで 5 株解析した。

[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]

7.　コクサッキーウイルスの分離に関する研究

RD-A 細胞の有効性を確認するとともに､GL37 細胞の有効性を検討した。

[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]

8.　サルモネラ菌の遺伝子解析に関する研究

非硫化水素産生性サルモネラ菌(*Salmonella enterica* serovar Typhimurium 及び Infantis)のフルゲノム解析を行った。その結果、phsA thiosulfate 還元酵素をコードしている遺伝子の一部に変異が生じ、硫化水素を産生できないことを明らかにした。また、これらの株は薬剤感受性に関連する遺伝子を保有することも明らかになった。

[坂野千恵子、石岡大成、齋藤美香、河合優子、塚越博之、井上伸子、下田雅昭、小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)、森田幸雄(東京家政大学)、梁　明秀(横浜市立大学医学部微生物学)、関塚剛史、黒田　誠(病原体ゲノム解析研究センター)、大石和徳、木村博一]

9.　2009/11 シーズンに国内で検出された RS ウイルス *G* 遺伝子の分子進化に関する研究

2009/11 シーズンにかけて、国内(栃木県・神奈川県・熊本県)で検出された RSV の *G* 遺伝子の分子進化に関する研究を行った。その結果、*G* 遺伝子の超可変領域において、各シーズン特有のアミノ酸置換が生じていることがわかった。また、この領域は、A 型インフルエンザウイルスの *H* 遺伝子と同等の速度で進化していることが明らかになった。

[櫛渕泉美(栃木県保健環境センター)、小林美保、塚越博之、齋藤美香、小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)、清田直子、原田誠也(熊本県保健環境科学研究所)、吉田綾子(青森県環境保健センター)、梁明秀(横浜市立大学医学部微生物学)、森田幸雄(東京家政大学)、皿谷　健、倉井大輔、石井晴之(杏林大学医学部第 1 内科)、山本典生(インフルエンザウイルス研究センター)、野田雅博、岡部信彦(川崎市健康安全研究所)、田代眞人(インフルエンザウイルス研究センター)、大石和徳、木村博一]

10.　麻疹ウイルス *H* 遺伝子の分子進化に関する研究

アジアにおける主流行遺伝子型(D3,D5,D9 及び H1 型)と考えられる麻疹ウイルスの *H* 遺伝子の分子進化に関する研究を行った。その結果、当該遺伝子の進化速度は、ヒトパラインフルエンザウイルス 1 型と同等の速度(5.57×10^{-4} substitutions/site/year)であり、中和抗体産生に関与するエピトープのアミノ酸置換は見られなかった。

[齋藤美香、後藤孝市、髙田勇人、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)、石井晴之(杏林大学医学部第 1 内科)、梁　明秀(横浜市立大学医学部微生物学)、関塚剛史、竹内史比古(病原体ゲノム解析センター)、岡部信彦(川崎市健康安全研究所)、竹田誠(ウイルス三部)、黒田　誠(病原体ゲノム解析研究センター)、木村博一]

11.　ブタレンサ球菌の分子疫学に関する研究

タイ国内で発生する人におけるブタレンサ球菌感染症の原因菌の血清型及び sequence typing の年次推移について検討した。

[明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）大石和徳]

Ⅵ. 学会等の中での研究、貢献

1.　日本ワクチン学会

2012 年度理事として学会活動を行った。

[多屋馨子]

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]

感染症学雑誌編集委員として、学会誌の編集を行った。

[清田浩(編集長)、今村顕史、小林治、高橋聡、角田隆文、三田村敬子、中島一敏、堀野哲也、森雅亮、佐藤吉壮、谷口清州、徳江豊、吉田耕一郎、渡辺　哲]

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

2013 年から理事として学会活動を行った。

［多屋馨子］

感染症情報委員会委員として活動した。

［岡部信彦(委員長：～2012 年 12 月)・多屋馨子（委員長：2013 年 1 月～） 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］

5.　日本ウイルス学会

2013 年から理事として学会活動を行った。［多屋馨子］

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］

6.　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］

7.　日本公衆衛生学会

感染症専門委員として公衆衛生分野の感染症に関する検討・啓発を行った。

［角野文彦(委員長)、岡部信彦、金成由美子、住友眞佐美、押谷　仁、砂川富正］

8. 日本熱帯医学会

学会理事として、学会運営を進めてきた。

［大石和徳］

9. 日本呼吸器学会

呼吸器ワクチンワーキング委員長として、呼吸器感染症ワクチンのの諸問題について検討してきた。［大石和徳(委員長)、渡邊　彰、朝野和典、永井秀明、丸山貴也］

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。

［夛田有希、安井良則、島田智恵、齊藤剛仁、加納和彦、牧野友彦、中里　篤、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、大石和徳］

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。さらに、1-2 件取り上げ、詳細な解説を行い、「病原体情報」として、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。

[寺田有希、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、木下一美、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、牧野友彦、多屋馨子、重松美加、加藤信子、中里篤、大石和徳]

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。2012 年 1 月－2012 年 12 月の病原体検出報告数は、病原菌検出報告(３A：地研・保健所)は 5,482 件、病原体個票は病原菌(原虫・寄生虫を含む)が地研・保健所 3,605 件、検疫所 1 件、ウイルス(リケッチア，クラミジアを含む)が地研 23,016 件(うちインフルエンザ A(H3)が 5,082)、検疫所 26 件、集団発生病原体票は病原菌等が地研 158 件、ウイルス等が地研 918 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地研 315 件、ウイルス等が地研 4 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 33 巻)および第 33 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についてデータの確認と集計を行ない、2012 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、木下一美、大石和徳]

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、寺田有希]

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。2012 年度は 2012 年第 21 週までで一旦終了とし、その後 2012/2013 年シーズンとして 2012 年第 46 週から再開した。2012/2013 年シーズンのインフルエンザは前シーズンに続いて A/H3 亜型が流行の主流を占め、前シーズンよりも成人層での患者発生割合が高かった。流行のピークは 2013 年第 4 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、中里　篤、加藤信子、寺田有希、八幡裕一郎、山岸拓也、中島一敏、砂川富正]

6. 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、孑田有希]

7. 麻しん報告数の WHO 西太平洋事務局への報告

感染症発生動向調査により得られた麻しんの報告数をもとに、WHO の報告形式に適合した集計表を月毎に作成し、WHO 西太平洋事務局に報告した。

[島田智恵、山下和予、安井良則、孑田有希、砂川富正、大石和徳]

8. 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、孑田有希、谷口清州、大石和徳]

9. 麻しんおよび風しん速報(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および風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疫学センターのホームページ上に公開した。麻しんの速報グラフの公開は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(2013 年 3 月現在 9 種類のグラフ・マップ)。

風しんの速報グラフの公開は 2012 年第 19 週から開始したものであり、①週別累積報告数（第 1 週～当該週の折れ線グラフ)、②週別報告数(第 1 週～当該週の棒グラフ)、③都道府県別報告数病型別報告数(当該週分の棒グラフ)、④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)、⑤接種歴別男女別累積報告数(第 1～当該週累積分の棒グラフ)、⑥年齢群別男女別累積報告数(第 1～当該週累積分の棒グラフ)、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都道府県別人口 100 万人あたり報告数(第 1～当該週累積分の棒グラフ)、⑨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(2013 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、孑田有希、阿保　満(東京都多摩府中保健所)、多屋馨子、新井　智、佐藤弘]

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行われた。今後も改良すべき点、その解決方法を検討・実行していく。

[夛田有希、加藤信子、加納和彦、中里　篤、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月に運用を開始したNESIDリプレースでは、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、さらに不具合のあった部分の改修を行った。また、新しく発見された病原体や型別追加に対応するため、随時コードの追加・変更を行って、最近の情報の収集・還元・公開を可能にしている。

[山下和予、木下一美、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稼働にあわせ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、夛田有希、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) 感染研ホームページのリニューアルに伴う「病原体検出情報」ホームページの移行とリニューアルを行った。

(2)「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。

(3)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。

(4)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)。

(5)地方衛生研究所(地研)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。

(6)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。

(7)地研からの病原体個票による麻疹ウイルス分離・検出報告、風疹ウイルス分離・検出報告、インフルエンザウイルス分離・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。

(8)地研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・風疹ウイルス検出速報・ノロウイルス検出速報の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、木下一美、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、夛田有希、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、牧野友彦、安井良則、加納和彦、多屋馨子、藤本嗣人、大石和徳]

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。2012 年度は前年度に発出した情報の分析を行っている。
[安井良則、夛田有希、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、牧野友彦、FETP 研修生 12&13 期生、谷口清州、大石和徳]

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、夛田有希]

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 22 年度(2010 年度)報告書を作成した。
[多屋馨子、佐藤　弘、北本理恵、荒木和子、新井　智、大石和徳]

2. 感染症流行予測調査結果の発信

平成 24 年度(2012 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について平成 24 年 12 月 7 日から平成 25 年 1 月 21 日までに計 3 回、ブタの日本脳炎抗体保有状況について平成 24 年 7 月 17 日から 11 月 5 日まで計 15 回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、大石和徳]

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 24 年度版を作成した。
[多屋馨子、佐藤　弘、北本理恵、荒木和子、新井　智、

大石和徳]

4. 感染症流行予測調査システムの運用

2012年4月にリニューアルし稼働したシステムの各自治体における2012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、登録が確定した年度の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、大石和徳]

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2012年6月29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、大石和徳]

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

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、2012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。

[重松美加、多屋馨子、柴田博子、大石和徳、倉根一郎(副所長)]

2. 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

被災した衛生研究所に細胞のウイルス分離用の分与をおこなった。

[藤本嗣人、中島一敏、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。2012年度に受け入れた血清は、計3604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。2012年度は2件の申請があり､これら件に対し計1300本の血清を分与した。

[多屋馨子、荒木和子、佐藤　弘、丹内幸成、新井　智、大石和徳]

2. 職員血清の保管業務

2011年度の職員血清を受け入れ保管し、規定の保管期限（10年間）を経た血清は抜き出し、廃棄のためにバイオセーフティ管理室に引き渡した。

[佐藤　弘、荒木和子、多屋馨子、新井　智、大石和徳]

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

インドネシア南スラウェシ州におけるインフルエンザ

を含むSARIサーベイランス（研究成果）
熱帯地域における効果的･効率的なSARI関連サーベイランスのあり方について、エビデンスに基づく提言を目的として遂行した。方法はインドネシア南スラウェシ州保健部局の担当官へインタビュー、SARI関連サーベイランスの分析、同州最大の基幹病院（国立ハサヌディン大学病院）におけるSARI（特にウイルス性肺炎）病原体サーベイランスを小児科入院の15歳以下患者で、重症肺炎症例定義を満たす者であり、標準的質問票に基づく聞き取り、鼻咽頭ぬぐい液の細菌学的検査及び12種類の呼吸器系ウイルス（インフルエンザはA,Bの別まで）についてMultiplex-PCR検査を実施した。また、同院の2011年肺炎患者における情報をベースライン調査とした。肺炎サーベイランスと病院の重症肺炎の動向不一致はシステム評価の必要性を示し、肺炎例から混合感染を含むインフルエンザは月約 20%検出された（流行期）。途上国の病原体を含むSARI診断能力強化は、医療・公衆衛生上の感染症対策強化に広く有用であることが考えられた。
[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）]

2.　GHSAGに対する技術支援

G7加盟国とメキシコによる、Global Health Security Initiativeの技術的WGであるGHSAGの、リスクコミュニケーションおよび管理ワーキンググループのCBRN早期検知と早期対応のプロジェクト(EARProject)について、強力国として議論に参加し、技術的な立場から国際的な健康危機事例検知手法とそのリスク評価手法の確立について協力した。また、プロジェクトプラットフォームを用いた情報分析の、日本の年間担当分を実施した。
[重松美加]

3.　感染症情報及び各国の対応状況に関する国際的な情報共有と対応の調整

健康危機管理事案に関して国際的に情報共有するメカニズムとして、国際保健規則（IHR）やGOARNに加え、主要先進7か国およびメキシコで構成される世界健康安全保障イニシアチブ（GHSI）においても状況の似通った国同士で情報交換及びメディア対応の一貫性を取る試みが行われている。海外における感染症アウトブレイクや医薬品、検査器具、ワクチン開発などの情報および他国の対策状況やメディアへの報道状況をいち早く共有し、各国の施策に反映させるよう連携を図っている。

特に専門機関としての国立感染症研究所は、米国CDCやカナダPHAC、イギリスHPA、ドイツRKIなどと緊密な連携を図り、感染症領域の専門家としての信頼を活かした効果的なリスク・コミュニケーションを行っていくべく情報交換を継続して行い、対応状況の足並みをそろえるよう連携している。
[牧野友彦]

4.　バイオリスク管理に関わる国際的な人材育成と共通基盤の形成に対する技術的支援

国際バイオセーフティ連合より招聘を受け、「バイオセーフティ専門家の必要技能の特定および国際的資格認証の仕組み」の構築の委員として協力し、目的、基本方針、試行までの運用計画の立案と各分科会の設計に携わった。
[重松美加]

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、今後のあり方について検討した。
[中島一敏]

6.　WHO西太平洋地域事務局(WPRO)における活動

WPRO/SEAR(South Easet Asia Region)における Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases(ASPED)委員会議に所長代理として参加、WPROにおける活動に貢献した。
[大石和徳]

7.　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)]

8.　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。
[大石和徳(委員長)、藤本嗣人、多屋馨子、山下和予、大山卓昭、大日康史、島田智恵]
平成 25 年 2 月 4 日
研修内容：ウイルス、細菌の主要研究施設の見学や講義など 。対象者：遼寧省疾病コントロールセンターの研究者 2 名 (呼吸器系(1 名)・腸管系ウイルス感染症対策 (1 名)) 同行者：神奈川県衛生研究所職員及び通訳
[藤本嗣人、花岡　希]

9.　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 24 年 9 月 10 日～9 月 21 日、平成 25 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]

10.　国際的な感染症アウトブレイクに関する国際連携

平成 24 年 11 月 26 日から 12 月 5 日までインドネシア、ベラスタギでの Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN) Outbreak Response Course に参加し、国際的な感染症のアウトブレイクの初期対応のトレーニングに参加し、国内外とのコミュニケーション方法を各国からの参加者と検討した。
[山岸拓也]

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、島田智恵、砂川富正、大石和徳]

11.　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 保健大臣会合の決定に基づいて設立された実地疫学ネットワーク(FETN)につき、電話会議、ワークショップ、運営員会等を通じネットワーク強化に貢献した。
[中島一敏、島田智恵、大石和徳]

12.　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]

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。
[大石和徳、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、夛田有希、多屋馨子]

2.　食品中に含まれる下痢症ウイルスに関する国際研修

平成 25 年 3 月 5 日から 3 月 14 日まで、タイ国水産庁食品検査専門官を対象とした食品中に含まれる下痢症ウイルス(ノロウイルス､ロタウイルス及びサポウイルスなど)に関する検査診断研修を行った。
[木村博一、片山和彦(ウイルス第二部)、大石和徳、森田幸雄(東京家政大学)、石岡大成、塚越博之(群馬県衛生環境研究所)]

3. 感染研エイズ研究センター・JICA 共催国際研修への協力

エイズ研究センターと JICA の共催で行われている国際研修「Laboratory Techniques for Diagnosis and Monitoring of HIV Infection」の講師・トレーナーとして、平成 24 年 7 月 2 日～3 日と同 9 日～11 日に JICA 幡ヶ谷研修所および感染研村山庁舎で実習･講義を行った。研修内容は、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・分子進化学の基礎・分子系統樹作成法であった。

[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、大石和徳]

1. 全般実施状況

FETP の実施は 14 年目となり、平成 24 年 4 月、14 期生 1 名(田渕文子)を迎えた。平成25年3月には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)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。

[中島一敏、神谷元、八幡裕一郎、砂川富正、大山卓昭]

(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]

3. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 24 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、地方自治体及び厚生労働省からの要請を受けて調査協力を行った。

・多剤耐性アシネトバクター感染症集団発生事例（茨城県）

・麻疹集団発生事例（岡山県）

・広域腸管出血性大腸菌食中毒（札幌市、他）

[中島一敏、神谷　元、八幡裕一郎、砂川富正、大山卓昭、FETP 一同]

4. 研修活動（講義・セミナー受講）

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、実地疫学のための統計手法(Paul Weiss;12 月)、実地疫学と分子疫学(Lee W Riley；2 月)を開催した。

5. 教育研修（講義実施）

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、三重県、国立保健医療科学院)での講義・演習を実施した。

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（熊本県、横浜市）での講義・演習を実施した。

[中島一敏、神谷　元、八幡裕一郎、砂川富正、大山卓昭、FETP 一同]

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。国立保健医療科学院健康危機管理分野との連携コースの受講生である田原は、国立保健医療科学院特別論文としてまとめ提出した。

涌井　拓「我が国における髄液由来 Haemophilis influenza 分離症例数の推移」

牛澤　洋人「Nosocomial outbreak of MDRA in a critical care center in Japan、2012」

田原　寛之「レジオネラ症の発生動向、2007-2011」

難波江　功二「ヒトパルボウイルス B19 の感染流行動態及び妊婦感染リスク等に関する研究」

柳樂　真佐実「腸管出血性大腸菌の発生動向の変化についての分析」
三崎貴子「全国市町村における麻疹対策」

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
［中島一敏、神谷　元、八幡裕一郎、砂川富正、大山卓昭、FETP 一同］

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 に対するウイルス病原診断についての基礎的な実習は今年度実施せず、2013 年度に実施予定。
［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 16 日、17 日に開催した。2014 年度の事務局は、FETP 担当職員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」、「予防接種行政の最近の動向について」、「「新型インフルエンザ対策（特措法を含め）」、「麻疹・風疹ワクチン」、「小児の Hib・肺炎球菌ワクチン」、「成人の肺炎球菌ポリサッカライドワクチン」、「不活化ポリオワクチンの導入と今後の課題」、「髄膜炎菌感染症集団発生事例」、「豊田市における麻しん流行への対応」、「風疹アウトブレイク」、「マイコプラズマ肺炎」、「旅行者感染症」、「母子感染の課題」、「多剤耐性菌等院内感染事例への保健所の役割と専門家による支援」、「感染症対策におけるリスクコミュニケーション」、「アウトブレイクの疫学調査基本ステップ」、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 130 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短期研修新興再興感染症技術研修の実施

平成24年11月5日から11月9日まで、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国立感染症研究所村山庁舎で行った。研修受講者は、地方衛生研究所・保健所において細菌検査診断業務に従事している職員19名で、腸管出血性大腸菌の体系的な理解と新しい知識及び検査診断技術に関する研修を行った。本研修は細菌第1部、バイオセーフティ管理室、国際協力室及び群馬県衛生環境研究所および東京家政大学の協力を得て遂行された。
［大石和徳、木村博一、高橋真希］

2.　国立保健医療科学院による短期研修ウイルス研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修ウイルス研修を、平成 24 年 10 月 1 日から 10 月 19 日まで、国立感染症研究所村山庁舎で行った。本研修は、地方衛生研究所においてウイルス検査業務に従事する専門職員を対象とし、種々のウイルス感染症の新しい知識及び検査診断技術の習得を目的としている。受講生は、31 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、富山県、山口県、沖縄県および川崎市等）の協力を得て遂行された。
［木村博一、大石和徳、高橋真希、野田雅博］

3.　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アウトブレイク発生時の疫学調査方法及び広域模食中毒事例に関する講義を行った。
［八幡裕一郎］

4.　国立保健医療科学院健康危機管理（感染症）の研修

国立保健医療科学院専門課程 I，II の科目：健康危機管理（感染症）にて感染症サーベイランス等に関する講義を行った。
［中島一敏、夛田有希、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 25 年 2 月 26～27 日に全国自治体の検査技術担当者に対して感染研一丸となって、必要かつ要望が多かった検査等に関する研修をおこなった。
［情報センター全員(主担当は 4 室)、宮﨑義継(生物活性物質部)］

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講師として参加した。
［多屋馨子］

3.　ＷＰＲＯのリージョナルリスクアセスメントトレーニング

2012 年 10 月 22－24 日、感染研において、日本および諸外国の担当者を招いてＷＰＲＯのリージョナルリスクアセスメントトレーニングを開催した。
［情報センター］

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、人獣共通感染症等、電話、メール（info@）による問い合わせに対応した。特に、感染症が流行した場合、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。
［多屋馨子、新井　智、佐藤　弘］

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。
［大石和徳、重松美加、砂川富正、中島一敏、神谷　元、夛田有希、安井良則、山下和予、島田智恵、齊藤剛仁、多屋馨子、新井　智、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

風疹の流行に伴い、メディアからの取材対応が急増し、2013 年に入ってからは、連日取材対応を行った。
［多屋馨子］

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)については、制度変更時に随時変更し公開した。
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についても随時制度変更に対応し、公開した。
感染症疫学センター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、大石和徳］

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、検査マニュアルの作成、細胞の分与、依頼による同定等を実施した。
［藤本嗣人、花岡　希、小長谷昌未］

Ⅴ．検査実施状況

第４室：

アデノウイルスレファレンスセンターとして、地方衛生研究所と連携し､同定困難なアデノウイルス等について、シークエンス解析を中心とした行政依頼検査を実施した。平成２４年度は、神奈川県、福井県、茨城県、高知県から計 63 件の行政検査依頼があり、検査結果を報告した。

［藤本嗣人、小長谷昌未、花岡　希］

Ⅵ．研修員（実地疫学専門家養成プログラム）

難波江功二	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	厚生労働省結核感染症課
三崎貴子	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	大阪府済生会中津病院
涌井　拓	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	千葉県衛生研究所
田原寛之	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	防衛省
柳楽真佐美	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	島根県
牛澤洋人	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	東京医科歯科大学救命救急センター
田渕文子	協力研究員	H23.4.1-H24.3.31	広島県

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) M. Nakamura,T. Kikkawa,M. Shigematsu, J. Sugiura,F. Kato,T. Nagaoka. SECTION THREE. Public Domain: How to Apply “Learning by Gaming” to the Worksite：Training Program for City Officials on Communication in Health Crises. In. Bonds & Bridges. Eds. W. T. Bielecki, J. Ganziarowska-Ziolecka, A. M. Pikos and M. Wardaszko. Poltext Ltd. pp. 246-254, 2012

2) T. Kikkawa, F. Kato, M. Nakamura, M. Shigematsu, J. Sugiura, T. Nagaoka. SECTION THREE. Public Domain: Games for the Health Professionals to Improve Crisis Communication Skills: “The Ghost Map” and “The Mystery of Wai-wai Nursing Home”. In. Bonds & Bridges. Eds. W. T. Bielecki, J. Ganziarowska-Ziolecka, A. M. Pikos and M. Wardaszko. Poltext Ltd. pp. 255-262, 2012

3) Sugiura H, Fujimoto T, Sugawara T, Hanaoka N, Konagaya M, Kikuchi K, Hanada E, Okabe N, Ohkusa Y. Prescription surveillance and polymerase chain reaction testing to identify pathogens during outbreaks of infection 、 BioMed Research International、Volume 2013, Article ID 746053, 7 pages

4) Yamagishi T, Imai H, Nakao H,Yahata Y, Iizuka N, Onoye Y, Koichi U, Misaki H, Takaaki O. Inter-rater reliability of self-reported response on foreskin status in questionnaire among Japanese adult men. Sex Transm Infect. 88(7): 534-8, 2012

5) Kawahara T, Ito H, Terao H, Yamagishi T, et al. Ureteral stent retrieval using the crochet hook technique in females. PLoS One. 7(1):e29292.2012.

6) Maswanya ES, Moji K, Yamamoto T, Aoyagi K, Yahata Y, Takemoto T. Sexual behavior and condom use among male students in Dar-Es-Salaam, Tanzania with emphasis on contact with barmaids. East Afr J Public Health. 2012 Mar;9(1):39-43.

7) 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. 2012 Apr;54(8):1046-52.

8) 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.

2012 Feb 1;54(3):381-383.

9) S. Iki,I. Horiguchi,M. Shigematsu,T. Sata,K. Sugiyama. Qualitative Analysis of the Perception and Acceptability of Pathogen Transport among Housewives Using Focus Group Interviews. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2012; 65(5): 403-409

10) Kamiya H, Otsuka N, Ando Y, Odaira F, Yoshino S, Kawano K, Takahashi H, Nishida T, Hidaka Y, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K, Sunagawa T, Taniguchi K, Okabe N. Transmission of Bordetella holmesii during Pertussis Outbreak, Japan. Emerg Infect Dis. 2012 Jul;18(7):1166-1169.

11) Nabae K, Takahashi M, Wakui T, Kamiya H, Nakashima K, Taniguchi K, Okabe N. A Shiga toxin-producing Escherichia coli O157 outbreak associated with consumption of rice cakes in 2011 in Japan. Epidemiol Infect. 2012 Nov 6:1-8. [Epub ahead of print]

12) Gu Y, Shimada T, Yasui Y, Tada Y, Kaku M, et al. (2013) National Surveillance of Influenza-Associated Encephalopathy in Japan over Six Years, before and during the 2009-2010 Influenza Pandemic. PLoS ONE 8(1): e54786. doi:10.1371/journal.pone.0054786

13) Xiong W, Feng Z,Matsui T, Foxwell AR: Risk assessment of human infection with a novel bunyavirus in China. Western Pacific Surveillance and Response Journal .Vol 3, No 4, 2012

14) Nakamura N, Arima Y,Shimada T, Matsui T,Tada T, Okabe N. Incidence of dengue virus infection among Japanese travellers, 2006 to 2010. Western Pacific Surveillance and Response Journal Vol 3, No 2. 2012

15) Schlegel M., Tegshduuren E., Yoshimatsu K., Petraityte R., Sasnauskas K., Hammerschmidt B., Friedrich R., Mertens M., Groschup M. H., Arai S., Endo R., Shimizu K., Koma T., Yasuda S., Ishihara C., Ulrich R. G., Arikawa J., Ko¨llner B. Novel serological tools for detection of Thottapalayam virus, a Soricomorpha-borne hantavirus. Archives Virology. 157: 2179-2187. 2012

16) Arai S., Gu S. H., Baek L. J., Tabara K., Bennett S., Oh, H.-S. Takada N., Kang H. J., Tanaka-Taya K, Morikawa S., Okabe N., Yanagihara R., Song J.-W. Divergent ancestral lineages of newfound hantaviruses harbored by phylogenetically related crocidurine shrew species in Korea. Virology. 424: 99-105. 2012

17) Torii Y, Kimura H, Ito Y, Hayakawa M, Tanaka T, Tajiri H, Yoto Y, Tanaka-Taya K, Kanegane H, Nariai A, Sakata H, Tsutsumi H, Oda M, Yokota S, Morishima T, Moriuchi H; for the Japanese Society for Pediatric Infectious Diseases. : Clinicoepidemiologic Status of Mother-to-Child Infections: A Nationwide Survey in Japan. Pediatr Infect Dis J. 2013 [Epub ahead of print]

18) Morioka I, Nonoyama S, Tanaka-Taya K, Ihara T, Sugaya N, Ueta I, Kumagai T, Okada K, Hosoya M, Okabe N, Morishima T; Committee for the Control and Prevention of Influenza of the Japan Pediatric Society. Survey of Japanese infants younger than 3 months who were treated with oseltamivir for influenza: safety of oseltamivir treatment. Scand J Infect Dis. 44(8):605-9. 2012

19) Matsushima Y., Shimizu H., Kano A., Nakajima E., Ishimaru Y., Dey S.K., Watanabe Y., Adachi F., Mitani K., Fujimoto T., Phan T.G., Ushijima H.: Genome sequence of a novel virus of the species human adenovirus d associated with acute gastroenteritis. Genome Announc. Jan;1(1). doi:pii: e00068-12. 10.1128/genomeA.00068-12, 2013.

20) Yamane S, Lee AW, Hanaoka N, Gonzalez G, Kaneko H, Ishida S, Kitaichi N, Ohno S, Koyanagi KO, Aoki K, Fujimoto T, Yawata N, Watanabe H. Identification of contamination in the American type culture collection stock of human adenovirus type 8 by whole-genome sequencing. J Virol. Jan;87(2):1285-1286, 2013.

21) Enomoto M, Okafuji T, Okafuji T, Chikahira M, Konagaya M, Hanaoka N, Adhikary AK, Takai D, Sugawara T, Hayashi Y, Oishi K, Fujimoto T.

Isolation of an intertypic recombinant human adenovirus (candidate type 56) from the pharyngeal swab of a patient with pharyngoconjunctival fever. Jpn J Infect Dis. 65(5):457-9. 2012

22) Sugiura H, Fujimoto T, Sugawara T, Hanaoka N, Konagaya M, Kikuchi K, Hanada E, Okabe N, Ohkusa Y: Prescription surveillance and polymerase chain reaction testing to identify pathogens during outbreaks of infection. BioMed Research International, in press 2013.

23) Adhikary AK, Ushijima H, Fujimoto T. Human adenovirus type 8 genome typing. J Med Microbiol. 61(Pt 11):1491-503. 2012

24) 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. 65(3):260-3. 2012

25) Matsushima Y, Shimizu H, Kano A, Nakajima E, Ishimaru Y, Dey SK, Watanabe Y, Adachi F, Suzuki K, Mitani K, Fujimoto T, Phan TG, Ushijima H. Novel human adenovirus strain, Bangladesh. Emerg Infect Dis. 18(5):846-8. 2012

26) Taniguchi K, Yoshihara S, Tamaki H, Fujimoto T, Ikegame K, Kaida K, Nakata J, Inoue T, Kato R, Fujioka T, Okada M, Soma T, Ogawa H. Incidence and treatment strategy for disseminated adenovirus disease after haploidentical stem cell transplantation. Ann Hematol. 91(8):1305-12. 2012

27) Adhikary AK, Fujimoto T, Suzuki E. Human adenovirus (HAdV) infection in Bagladesh. BGC Trust Medical College Journal. 2 (1): 6-12. 2012

28) Sakano C, Kuroda M, Sekizuka T, Ishioka T, Morita Y, Ryo A, Tsukagoshi H, Kawai Y, Inoue N, Takada H, Ogasawara Y, Nishina A, Shimoda M, Kozawa K, Oishi K, Kimura H.: Genetic analysis of non-hydrogen sulfide- producing Salmonella enterica serovar Typhimurium and Infantis isolates in Japan. J Clin Microbiol. 51(1):328-330, 2013.

29) Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H.: Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. PLOS ONE. 7(11):e50660, 2012.

30) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Matsuzaki Y, Noda M, Kimura H, Ahiko T.: Epidemiology of parainfluenza virus types 1, 2 and 3 infections based on virus isolation between 2002 and 2011 in Yamagata, Japan. Microbiol Immunol. 56(12):855-858, 2012.

31) Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Noda M, Kimura H, Mizutani T, Kato T, Kawanami T, Ahiko T.: Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infections among adults, Yamagata, Japan, 2008. Emerg Infect Dis. 18(11):1787-1793, 2012.

32) Miyakawa K, Sawasaki T, Matsunaga S, Tokarev A, Quinn G, Kimura H, Nomaguchi M, Adachi A, Yamamoto N, Guatelli J, Ryo A.: Interferon-Induced SCYL2 Limits Release of HIV-1 by Triggering PP2A-Mediated Dephosphorylation of the Viral Protein Vpu. Sci Signal. 5(245):ra73, 2012.

33) Okazaki K, Kusaka T, Kondo M, Kozawa K, Yoshizumi M, Kimura H.: Temporal alteration of serum G-CSF and VEGF levels in perinatal asphyxia treated with head cooling. Cytokine. 60(3):812-814, 2012.

34) Obuchi M, Toda S, Tsukagoshi H, Oogane T, Abiko C, Funatogawa K, Mizuta K, Shirabe K, Kozawa K, Noda M, Kimura H, Tashiro M.: Molecular analysis of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus genome associated with fatal infection cases in Gunma, Tochigi, Yamagata, and Yamaguchi Prefectures, Japan during the first pandemic wave. Jpn J Infect Dis. 65(4):363-367, 2012.

35) Nidaira M, Taira K, Hamabata H, Kawaki T, Gushi K, Mahoe Y, Maeshiro N, Azama Y, Okano S, Kyan H, Kudaka J, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H.: Molecular epidemiology of human metapneumovirus (HMPV) from 2009 to 2011 in Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 65(4):337-340, 2012.

36) Kato M, Ishioka T, Kita H, Kozawa K, Hayashi Y,

Kimura H.: Eosinophil granular proteins damage bronchial epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. Int Arch Allergy Immunol. 158(1):11-18, 2012.

37) Kon M, Watanabe K, Tazawa T, Watanabe K, Tamura T, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H, Mizuta K.: Detection of human coronavirus NL63 and OC43 from children with acute respiratory infections in Niigata, Japan, between 2010 and 2011. Jpn J Infect Dis. 65(3):270-272, 2012.

38) 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.

39) 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.

40) 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.

41) Shiino T.: Phylodynamic analysis of a viral infection network. Front. Microbiol. 3:278-282, 2012.

42) Alonzo MTG, Lacuesta TLV, Dimaano EM, Kurosu T, Suarez LC, Mapua CA, Akeda Y, Matias RR, Kuter DJ, Nagata S, Natividad FF, Oishi K. Platelet apoptosis and apoptotic platelet clearance by macrophages in secondary dengue virus Infections. J Infect Dis, 205 (8): 1321-1329, 2012.

43) Takeuchi D, Kerdsin A, Pienpringam A, Loetthong P, Samerchea S, Pakkinee Loetthong P, Khamisra K, Wongwan N, Areeratana P, Chiranairadul P, Lertchayanti S, Petcharat S, Yowang A, Chaiwongsaen P, Nakayama T, Yukihiro Akeda Y, Hamada S, Sawanpanyalert P, Dejsirilert S, Oishi K. Population-based study of *Streptococcus suis* Infection in Humans in Phayao Province in Northern Thailand. PLoS One, 7(2):e31265. 2012.

44) Miyasaka T, Tetsuji Aoyagi T, Uchiyama B, Oishi K, Nakayama T, Kinjo Y, Miyazaki Y, Kunishima H, Hirakata Y, Kaku K, Kawakami K. A possible relationship of natural killer T cells with humoral immune response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in clinical settings. Vaccine, 30(22): 3304-3310, 2012.

45) Mori S, Ueki Y, Hirakata N, Oribe M, Hidaka T, Oishi K. Impact of tocilizumab therapy on antibody response to influenza vaccine in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 71(12):2006-2010, 2012.

46) Kerdsin A, Dejsirilert S, Akeda Y, Sekizaki T, Hamada S, Gottschalk M, Oishi K. Fifteen *Streptococcus suis* serotypes identified by multiplex PCR. J Med Microbiol 61:1669-1672,2012

47) Kimura T, Yamasaki A, Kodama T, Iida T, Honda T, Oishi K, Akeda Y. Functional cloning of *Vibrio parahaemolyticus* type III secretion system 1 in E. coli K-12 strain as a molecular syringe. BBRC 427:242-247,2012.

48) Hamaguchi S, Hirose T, Akeda Y, Matsumoto N, Irisawa T, ; Seki M, Hosotsubo H, Tasaki O, Oishi K, Shimazu T, Tomono K. Identification of neutrophil extracellular traps in blood of patients with systemic inflammatory response syndrome. J Int Med Res 41(1):162-8,2013

２．和文発表

1) 大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦、森屋一雄、嘉村明子、山口邦彦、永尾一恵、末次　稔、古川次男、平子哲夫：佐賀県におけるインフルエンザ

年齢構成の検討. 厚生の指標. 60(１):5－29. 2013.

2) 大日康史、菅原民枝、安井良則、中島一敏、砂川冨正、八幡裕一郎、砂川冨正、谷口清州、岡部信彦：避難所サーベイランスの構築・運用と評価：ライフメディコム、154-157、2012

3) 菅原民枝、大日康史、具芳明、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抗菌薬使用量の検討:日本環境感染学会雑誌.27(3):195-198. 2012.

4) 菅原民枝、藤本嗣人、大日康史、杉下由行、小長谷昌未、杉浦弘明、谷口清州、岡部信彦：病原体診断を伴うリアルタイムサーベイランスによる流行抑制の可能性_保育園での手足口病流行での事例検討:日本感染症学雑誌. 86(4) :405-410. 2012.

5) 石田　茂、菅原民枝、大日康史、谷口清州、岡部信彦:鳥取県における高病原性鳥インフルエンザ(H5N1亜型）発生時の住民健康監視及び大雪による住民健康監視. 日本集団災害. 17 (2):351-256. 2012.

6) 稲葉静代、大日康史、菅原民枝、近藤　晃、宮治有幸、谷口清州、岡部信彦：2010 名古屋 COP10 における症候群サーベイランスの運用と評価. 日本集団災害. 17 (2).

7) 大西 真, 黒田 誠, 八幡 裕一郎： ゲノムから見た感染症 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. NEUROINFECTION. 17(1): 35-41. 2012

8) 八幡裕一郎, 小西良子, 大西貴弘, 豊川貴生, 中村奈緒美： 原因不明下痢症と寄生虫　これまでの研究成果と今後の課題 生食用魚類の喫食によると推定された集団下痢症の疫学調査成績. 日本食品微生物学会雑誌. 29(1):59-60. 2012

9) 重松美加:Column 1. 訓練の意義 VS 研修. リスク・コミュニケーション・トレーニングーゲーミングによる体験型研修のススメー吉川肇子（編). ナカニシヤ出版. pp. 76, 2012

10) 重松美加：Column 4. 研修のファシリテーション. リスク・コミュニケーション・トレーニングーゲーミングによる体験型研修のススメー吉川肇子（編). ナカニシヤ出版. pp. 105, 2012

11) 重松美加:Column 5.ワークプレイスラーニング(Work Place Learning). リスク・コミュニケーション・トレーニングーゲーミングによる体験型研修のススメー吉川肇子（編). ナカニシヤ出版. pp. 115, 2012

12) 砂川富正、中島一敏、岡部信彦、他：災害時の公衆衛生. 南山堂、2012

13) 砂川富正：麻疹排除に向けた進捗状況の評価. 小児科、53(3):323-330、2012

14) 中島一敏： 実地疫学専門家養成コース（FETP）とは. Medical Technology 40(5): 463-4. 2012

15) 中島一敏： アウトブレイク調査の基本手順. 感染対策 ICT ジャーナル 7(2): 126-132、2012

16) 中島一敏、岡部信彦： 災害時の感染症対策、國井修編「災害時の公衆衛生～私達にできること」南山堂 2012.

17) 重松美加 他訳： 世界保健機関「感染性物質の輸送規則に関するガイダンス2011－2012版」日本語翻訳, 2013.

18) 辻 麻理子, 奥野 英雄, 河村 吉紀, 時沢 亜佐子, 花木 良, 田中 敏博, 多屋 馨子:ポリオワクチンの転換期を迎えて　予防接種をどう進める？ 同時接種はどう考える？小児感染免疫.24(4):486-492,2013.

19) 多屋 馨子:公衆衛生 Up-To-Date　国立感染症研究所発信(その 2) 麻疹(はしか)・風疹の流行と予防接種に関する話題.公衆衛生.77(2):163-168,2013.

20) 多屋 馨子:【ワクチン対策の現状と課題】 麻疹ワクチン、MR ワクチン. 化学療法の領域.29(2) :236-248,2013.

21) 多屋 馨子:急性発疹症　最新の動向と対応　最近の急性発疹症の動向　サーベイランスと予防接種.日本皮膚科学会雑誌.122(13):3224-3227,2012.

22) 多屋 馨子:【小児用ワクチン Update】 予防接種各論 麻疹・風疹混合ワクチン　麻疹・風疹排除をめざして.医学のあゆみ.244(1):71-78,2013.

23) 多屋 馨子:【わが国の予防接種体制の現状と課題】 麻疹・風疹感染とワクチン.保健の科学.54(12):802-807,2012.

24) 多屋 馨子:【感染症:診断と治療の進歩】 感染症制圧にむけて　内科医が知っておくべきワクチンに関する最新の知見. 日本内科学会雑誌.101(11):3168-3177,2012.

25) 多屋 馨子:【風疹の今を考える】 わが国の風疹の現状と課題.小児科.53(9):1151-1163,2012.

26) 多屋 馨子:新しいワクチンについて　従来からのワクチンも大切に!. 東京小児科医会報.31(1):51-55,2012.

27) 多屋 馨子:【今だから知っておきたいワクチンの話題】 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.

28) 佐藤 弘、多屋馨子:インフルエンザワクチンの接種状況と抗体保有状況.呼吸器内科.22:532-537.2012.

29) 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳、岸田典子、徐 紅、伊東玲子、土井輝子、菅原裕美、小田切孝人、調査実施都道府県:2010/11 シーズンのインフルエンザ予防接種状況および 2011/12 シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況－2011 年度感染症流行予測調査より. 病原微生物検出情報月報. 33:294-297. 2012.

30) 佐藤 弘、多屋馨子、2012 年度麻疹感受性調査および予防接種状況調査実施都道府県:2012 年度麻疹抗体保有状況および予防接種状況－2012 年度感染症流行予測調査(中間報告).病原微生物検出情報月報.34:25-28. 2013.

31) 菅原民枝、藤本嗣人、花岡 希、小長谷昌未、大日康史:流行の早期探知システムと病原体診断との連携の試み. 臨床とウイルス 40:169-175, 2012

32) 菅原民枝、 藤本嗣人、 大日康史、 杉下由行、 小長谷昌未, 杉浦 弘明, 谷口清州, 岡部信彦:病原体診断を伴うリアルタイムサーベイランスによる流行抑制の可能性―保育園での手足口病流行での事例検討―. 感染症学雑誌 86: 405-410, 2012

33) 藤本嗣人、花岡 希、小長谷昌未:日常的実験手法となった Polymerase chain reaction (PCR)と電気泳動の進展:超高速 PCR(Hyper-PCR)および microcapillary electrophoresis (MultiNA). 臨床とウイルス 40: 184-191, 2012.

34) 花岡 希、小長谷昌未、 谷口清州、 岡部信彦、藤本嗣人:新型アデノウイルス (53, 54 および 56 型)に対するイムノクロマトキットの性能評価. 感染症学雑誌 86: 425-426, 2012

35) 藤本嗣人:病原体検査と遺伝子検査_呼吸器・消化器ウイルス. 臨床と微生物 39(増刊号):570-574, 2012

36) 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. 臨床眼科 66:659-662, 2012.

37) 藤本嗣人、井手 忍、柴原乃奈、加納和彦、花岡 希、松島勇紀、清水英明:アデノウイルス胃腸炎. 臨床と微生物. 3:51-54, 2013.

38) 松田俊二、小村珠喜、塚越博之、野田雅博、木村博一:重症心身障害児(者)病棟におけるヒトメタニューモウイルス感染症の流行. 感染症学雑誌. 86(2):109-114, 2012.

39) 二木芳人、大石和徳、川上和義、谷口清州、渡辺彰、渡邊 浩 日本内科学会成人予防接種検討ワーキンググループ編著:成人予防接種のガイダンス. 日本内科学会雑誌. 101:3585-3597、2012

40) 原田真菜、中村明日香、李 翼、新妻隆広、木下恵司、大日方薫、大石和徳、和田昭仁、石和田稔彦、清水俊明:7価肺炎 球菌結合型ワクチン1回接種後に24F血清型肺炎球菌性髄膜炎を発症した1例. 小児感染免疫. 24:253-257, 2012

41) 明田幸宏、大石和徳:肺炎球菌ワクチ診断と治療. 100(3):455-458、2012

42) 田村和世、大石和徳:話題の疾患と治療 肺炎球菌ワクチン. 感染炎症免疫. 42(4):63-65、2012

43) 竹内壇、大石和徳:豚レンサ球菌(*Streptococcus suis*)による人獣共通感染症. 感染症. 43(1):24-28、2013

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

1) Y. Yahata, T. Ohnishi, Y. Sugita-Konishie, T. Toyokawa, N. Nakamura, K. Taniguchi, N. Okabe. Kudoa septempunctata caused outbreak in humans with raw flounder ingestion. IMED 2013. Vienna, Austlia 2013.2

2) Y. Yahata, T. Misaki, M. Nagira, Y. Tada, K. Taniguchi, K. Oishi, N. Okabe. Epidemiological analysis of a large restaurantassociated outbreak of hemolytic uremic syndrome and encephalopathy caused by Escherichia coli O111 in Japan. IMED 2013. Vienna, Austlia 2013.2

3) T. Misaki, Y. Yahata, M. Nagira, Y. Tada, K. Taniguchi, K. Oishi, N. Okabe . Early detection of severe complications with Escherichia coli O111 in a large outbreak in Japan. IMED 2013.

Vienna, Austlia 2013.2

4) Nagira M,Misaki T, Yahata Y, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N. Enterohemorrhagic E. Coli O111 outbreak associated with raw beef consumption in a barbecue restaurant chain, Japan. VTEC 2012, 8th International Symposium. Amsterdam, Hoalland 2012.5
5) OhkusaY, Sugawara T. et.al. Estimation of Influenza Incidence by Age in the 2011/12 seasons in Japan using SASSy, ISDS 2012, San Diego. 2012.12
6) M.Shigematsu. Technical improvement of targeted information surveillance. 15th International Congress on Infectious Diseases. Bangkok, 2012.6
7) S. Inoue, M. Shigematsu,M. Sato, S. Muranaka, H. Masukawa, K. Sugiyama, M. Kobayashi, A.Imabayashi, T. Watanabe, A. Suzuki, H. Minami. Surveillance, encompassing public health to your animal companion! 15th International Congress on Infectious Diseases. Bangkok, 2012.6
8) M. Shigematsu,S. Fujimoto,S. Ando. Total Approach of the Training for Graduate and Undergraduate Students in Medical Related Area in Japan. ABSA 55st Annual Biological Safety Conference. Orland, 2012.10
9) M. Shigematsu. What will Influenza Surveillance tell you about Antiviral Use and Resistance? Second International Society of Influenza and other respiratory viruses, Antiviral Group Conference; The Conference on Severe Influenza: Burden, Pathogenesis and Management. Hanoi, 2012.10
10) Sugishita Y, Shimada T, Sunagawa T, Saitoh T, Tada Y, Okabe N, Kobayashi J. : Characteristics of hemolytic uremic syndrome (HUS) associated with enterohemorrhagic Escherichia coli infection, Japan, 2008. 8th International Symposium on Shiga Toxin(Verocytotoxin)-Producing Escherichia coli infections-Amsterdam,The Netherlands, 2012. 5
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. 8th International Symposium on Shiga Toxin(Verocytotoxin)-Producing Escherichia coli infections-Amsterdam,The Netherlands, 2012. 5
12) Saitoh T, Sunagawa T, Shimada T, Kanou K, Tada Y. : The change of the trends in Enterohemorrhagic Escherichia coli infections after outbreaks and the implementation of a new regulation, National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases, JAPAN, 2011. The 11th Korea-Japan International Symposium on Microbiology (XI-KJISM), Bueyo Korea, 2012. 9
13) Arai, S, Kimura, T., Asakawa, M., Bennett, S. N., Ohdachi, S. D., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Okabe, N., Yanagihara, R. Genetic diversity and phylogeography of Asama virus in the Japanese shrew mole (Urotrichus talpoides). XVIII International Congress on Tropical Medicine and Malaria. Rio de Janeiro, Brazil. 2012. 9

２．国内学会

1) 大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：薬局サーベイランスのインフルエンザ推定患者数と発生動向調査の年齢区分の比較. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県長崎市. 2012 . 4.
2) 菅原民枝、藤本嗣人、大日康史、杉下由行、谷口清州、岡部信彦:迅速サーベイランスと早期の1例の迅速遺伝子検査による流行抑制の可能性:保育園での手足口病流行事例での検討. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県長崎市. 2012 . 4.
3) 井深陽子、大日康史、菅原民枝、谷口清州、岡部信彦：年齢群別接触者のパターンに関する分析. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県長崎市. 2012 . 4.
4) 杉下由行、灘岡陽子、神谷信行、菅原民枝、大日康史、安井良則、谷口清州、岡部信彦：第4回日中韓サミットにおけるバイオテロ対策のための強化サーベイランス. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県長崎市. 2012 . 4.
5) 菅原民枝、大日康史：薬局サーベイランスによる都道府県別のインフルエンザ患者の罹患率の検討. 第62回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京都港区. 2012 . 10.
6) 大日康史、菅原民枝：学校サーベイランスによる学年別インフルエンザ患者の罹患率. 第62回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京都港区. 2012 . 10.

7) 菅原民枝:保育園における感染症サーベイランスと病原体診断の連携の検討と現在の課題. 第50回日本医療・病院管理学会. 東京都千代田区. 2012 . 10.
8) 大日康史:ロタウイルスワクチンの費用対効果分析と需要分析. 第16回日本ワクチン学会. 神奈川県横浜市. 2012 . 11.
9) 大日康史：薬局サーベイランスの現状と課題. 第74回九州山口薬学会. 福岡県北九州. 2012 . 9.
10) 山岸拓也、尾本由美子、白井千香、川畑拓也、高野つる代、夛田有希、中島一敏、灘岡陽子、堀　成美、宮原愛理、持田嘉之、山内昭則、中瀬克己：地方自治体における感染症発生動向調査の業務を支援する性感染症発生動向調査結果活用ガイドラインについて.第25回日本性感染症学会. 岐阜県. 2012. 12.
11) 山岸拓也、立川夏夫、吉村幸浩、倉井華子、岩室紳也、大山卓昭、八幡裕一郎、中尾裕之、今井博久：日本における包茎とHIV感染症との関係. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県. 2012. 4.
12) 永井 正規, 太田 晶子, 川戸 美由紀, 橋本 修二, 村上 義孝, 夛田 有希, 重松　美加, 安井 良則, 谷口 清州: 感染症発生動向調査に基づく検討(第1報) 警報・注意報の発生状況. 第71回日本公衆衛生学会総会. 山口, 2012. 10
13) 川戸 美由紀, 橋本 修二, 太田 晶子, 永井 正規, 村上 義孝, 夛田 有希, 重松　美加, 安井 良則, 谷口 清州. 感染症発生動向調査に基づく検討(第2報) 性感染症　定点の配置状況. 第71回日本公衆衛生学会総会. 山口, 2012. 10
14) 藤本 秀士, 重松　美加： Molecular epidemiological analysis on Campylobacter isolates associated with food poisoning. 第85回日本細菌学会総会. 長崎, 2012.4
15) 平良勝也、知念正雄、浜端宏英、具志一男、砂川富正：沖縄県における“はしかゼロ”宣言. 第16回日本ワクチン学会、横浜、2012. 11
16) 砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、松本道明、羽賀將衛、蒲地一成.：強化サーベイランスにより得られるわが国の百日咳の姿. 第16回日本ワクチン学会、横浜、2012. 11
17) 砂川富正、八幡裕一郎、神谷元、谷口清州：インドネシア南スラウェシ州におけるインフルエンザを含む重症急性呼吸器感染症（SARI）のサーベイランス. 第61回日本感染症学会東日本地方回学術集会、東京、2012
18) 砂川富正、八幡裕一郎、神谷元、安井良則：東日本大震災における感染症情報の収集と対策. 第53回日本社会医学会、大阪、2012
19) 中島 一敏:東日本大地震後の感染症対応について 災害と感染症対策　ニーズ評価とリスクアセスメント、第53回日本臨床ウイルス学会パネルディスカッション「東日本大地震後の感染症対応について」2012.6
20) 中島一敏、田原寛之、涌井　拓、土橋酉紀、發坂耕治：岡山県美作保健所管内における麻疹アウトブレイク疫学調査、第16回日本ワクチン学会、2012.11
21) 中島一敏:アウトブレイク事例における国立感染症研究所の役割、シンポジウム「感染制御に関する医療機関と行政との連携」、第28回環境感染学会総会、2013.3
22) 中島一敏：アウトブレイクマネージメントにおけるFETPの役割と限界、シンポジウム「アウトブレイク対応に必要なこと」、第28回環境感染学会総会、2013.3
23) 松井珠乃：One Health and Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases (APSED).第53回日本熱帯医学会大会、帯広、2012
24) 松井珠乃：One Health and Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases (APSED).第153回日本獣医学会学術集会、大宮、2012
25) 多屋馨子：わが国のインフルエンザサーベイランス. 第86回日本感染症学会. 長崎市. 2012.4.
26) 多屋 馨子: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86回日本感染症学会. 長崎市. 2012.4.
27) 多屋 馨子：献血資源を用いた研究のあり方と国民への還元 感染症研究への応用.第60回日本輸血細胞治療学会.郡山市.2012.5.
28) 佐藤 弘、多屋馨子、岡部信彦：麻疹含有ワクチン2回接種導入以降の麻疹抗体保有状況の推移(感染症流行予測調査事業麻疹感受性調査より）. 第53回日本臨床ウイルス学会. 大阪府豊中市. 2012. 6.
29) 多屋馨子:予防接種の現状と今後の展開　ワクチンにできること. 第53回日本臨床ウイルス学会. 大阪府豊中市. 2012. 6.
30) 多屋馨子:最近の急性発疹症の動向　サーベイランスと予防接種.第111回日本皮膚科学会学術集会.京都市.2012.6.

31) 佐藤　弘、多屋馨子、高崎智彦、大石和徳：日本脳炎定期予防接種の変遷による抗体保有状況の推移(感染症流行予測調査より).第16回日本ワクチン学会. 横浜市. 2012. 11.

32) 荒木和子、多屋馨子、佐藤　弘、岡部信彦、大石和徳：OPV接種後、糞便中に排出されたワクチンウイルスの血清型別経時的変化. 第16回日本ワクチン学会. 横浜市. 2012. 11.

33) 菅原民枝、藤本嗣人、大日康史、杉下由行、谷口清州、岡部信彦:症候群サーベイランスと早期の検査による流行抑制の可能性：保育園での手足口病及びRSウイルス感染症の流行での事例. 第86回日本感染症学会学術総会. 長崎市. 2012. 4.

34) 花岡　希、小長谷昌未、藤本嗣人：リアルタイムPCRで陰性でキャピラリー電気泳動で陰性となる微量エンテロウイルス. 第86回日本感染症学会学術総会. 長崎市. 2012. 4

35) 藤本嗣人、中村雅子、渡部香、渡邊香奈子、榎本美貴、花岡希、田村　務：1988～2011年のアデノウイルス3型のヘキソン超可変領域アミノ酸配列による流行状況の検討.第60回日本ウイルス学会.大阪市.2012.11.

36) 藤本嗣人、花岡　希、小長谷昌未：流行性角結膜炎を引き起こしているアデノウイルスのファイバーコード領域. 第61回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京都, 2012. 10

37) 松島勇紀、清水英明、三谷幸之介、牛島廣治、藤本嗣人、岡部信彦：感染性胃腸炎患者から分離された新型組換えアデノウイルスのバイオインフォマティクス解析. 第60回日本ウイルス学会. 大阪市, 2012.11.

38) 藤本嗣人、中村雅子、渡部　香、渡邊香奈子、榎本美貴、花岡　希、田村　務：1988～2011年のアデノウイルス3型のヘキソン超可変領域による流行の検討. 第60回日本ウイルス学会. 大阪市, 2012. 11.

39) 吉岡政純、近野真由美、水田克巳、野田雅博、木村博一:小児における重症呼吸器感染症からのヒトメタニューモウイルスの検出･分離と疫学的臨床的検討
特に胸部X線画像所見と重症化要因について. 第53回臨床ウイルス学会. 大阪府. 2012. 6.

40) 清田直子、西村浩一、野田雅博、水田克巳、木村博一：熊本県におけるRSウイルスとヒトライノウイルスの分子疫学. 第53回臨床ウイルス学会. 大阪府. 2012. 6.

41) 水田克巳、野田雅博、木村博一：パレコーウイルス３型による成人の筋痛症の流行. 第53回臨床ウイルス学会. 大阪府. 2012. 6.

42) 筒井理華、吉田綾子、井上　治、三上稔之、野田雅博、木村博一：2011年6月から8月にかけて青森県で検出されたRSウイルスの分子疫学.第53回臨床ウイルス学会. 大阪府. 2012. 6.

43) 仁平　稔、水田克巳、野田雅博、木村博一：亜熱帯気候に属する沖縄県におけるヒトメタニューモウイルスの疫学.第53回臨床ウイルス学会.大阪府.2012. 6.

44) 小林美保、吉田綾子、筒井理華、塚越博之、清田直子、西村浩一、平野映子、野田雅博、岡部信彦、木村博一：2009/2010シーズンに国内で検出されたRSウイルスG遺伝子の分子疫学. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県. 2012. 4.

45) 松田俊二、小村珠喜、中村雅子、塚越博之、野田雅博、木村博一:長期入院患者において流行する呼吸器感染症の病原ウイルスの検索. 第86回日本感染症学会総会. 長崎県. 2012. 4.

46) 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３： 希少サブタイプとサブタイプ間組換え体の動向. 第26回日本エイズ学会学術集会総会, 横浜. 2011. 11.

47) 大石和徳. シンポジウム：抗インフルエンザ薬とインフルエンザワクチン.インフルエンザ二次性細菌性肺炎の重症化とワクチンの展望. 第86回日本感染症学会総会. （長崎)、2012.4

48) 大石和徳. イブニングセミナー１。結合型肺炎球菌ワクチンが拓く新時代. 第86回日本感染症学会総会. （長崎)、2012.4

49) 明田幸宏、江副浩和、大石和徳：マイクロアレイを用いたインフルエンザウイルス感染に伴う二次性細菌性肺炎発症に関与する宿主および細菌性因子の網羅的解析. 第86回日本感染症学会総会. (長崎)、2012.4

50) 明田幸宏、山本倫久、濱口重人、関雅文、朝野和典、大石和徳:インフルエンザウイルスの相違による二次性細菌性肺炎の病態比較. 第55回日本感染症学会中日本地方会学術集会（福岡)、2012.11.

51) 明田幸宏、古泉ゆか、大石和徳： Hibワクチン免疫マウスにおける抗PRP IgG ELISA, 血清殺菌能測定法の確立. 第16回日本ワクチン学会学術集会. (神奈川)、2012.11.

52) 古泉ゆか、明田幸宏、大石和徳：ヒト血清中Hib　PRP IgG ELISA法の確立とこれを用いた特異抗体Avidityの測定. 第16回日本ワクチン学会. 横浜. 11月17-18日, 2012年.

53) 朴　貞玉、明田幸宏、石井　健、朝野和典、大石和徳：Pneumococcal surface protein A をベースとする肺炎球菌ワクチン. 第 16 回日本ワクチン学会. 横浜. 11 月 17-18 日, 2012

54) 大石和徳、田村和世、明田幸宏、Chang Bin,庵原俊昭：小児侵襲性肺炎球菌感染症における感染血清型に対する血清抗体応答.第 16 回日本ワクチン学会.横浜. 11 月 17-18 日, 2012

55) 大石和徳：特別企画 1　高齢者を中心とする呼吸器感染症ワクチンの新展開　肺炎球菌ワクチンの定期接種化を見据えて. 第 52 回日本呼吸器学会. 神戸. 4 月 20 日-22 日、2012 年

56) 大石和徳：細菌ワクチンの臨床免疫学：今後の定期接種化を見据えて. 日本アレルギー学会春季大会. 大阪 5月19日、2012年

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、毎年約250万人の方が新たにHIVに感染し、年間150万人以上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、エイズ動向委員会に報告されたHIV感染者・エイズ患者の累積件数が平成24年度には2万を超え、憂慮すべき事態である。当センターは、このHIV感染症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。この予防エイズワクチン開発の取組みは、平成24年医療イノベーション５か年戦略の重点領域の一つに取り上げられ、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。国内外の疫学的調査研究を推進し、特にアジア諸地域の疫学情報を得てきたが、平成24年度よりベトナム国立衛生疫学研究所との国際共同研究を新たに展開し、さらに西アフリカのガーナ野口記念医学研究所との国際共同研究も開始した。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。

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24年4月1日付で吉村和久第一室長が着任し、草川茂主任研究官と藤野真之研究員が復職した。9月30日付で竹村太地郎研究員が任期満了により退職、平成25年3月31日付で巽正志第二室長が定年退職した。

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おり、CTL の標的抗原提示に関与する主要組織適合遺伝子複合体クラス I（MHC-I）の遺伝子型は、HIV 感染病態進行に大きく関与することが知られている。そこで我々は、MHC-I 遺伝子型をハプロタイプレベルで共有するビルマ産アカゲサル群を用いた独自のエイズモデルを確立してきた。特に MHC-I ハプロタイプ A・E・B・J の各々を共有する 4 群のサル免疫不全ウイルス（SIVmac239）感染病態を解析し、MHC-I ハプロタイプとエイズ病態進行の相関を明らかにした。セットポイント期の血漿ウイルス量が約 10^5 copies/ml で 2ー3 年でエイズ発症にいたる E 共有群・B 共有群と比較して、A 共有群は遅い発症を示し、J 共有群は早い発症を示した。本 SIV 感染エイズモデルは、HIV 感染免疫動態の解析に極めて有用なモデルであり、エイズワクチン開発に貢献しうることが期待される。

[野村拓志、山本浩之、椎野禎一郎、高橋尚史、中根　拓、岩本　南、石井　洋、松岡佐織、武田明子、寺原和孝（免疫部）、長谷川秀樹（感染病理部）、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]

(2) 宿主細胞性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ヒトHIV感染症では、慢性持続感染が成立しエイズ発症にいたる。HIV持続感染成立阻止に結びつく宿主免疫機序の解明ならびにその機序解明に基づく予防エイズワクチン開発は、HIV感染拡大のコントロールに重要である。まれにHIV複製が制御される症例（HIV elite controllers）があるが、その複製制御機序の解明は、HIV持続感染成立阻止機序の理解に貢献しうる。我々はこれまでSIV感染サルエイズモデルにおいて、比較的低い血漿中ウイルス量を示す一群の解析から、Gagエピトープ特異的CTL反応に基づくSIV複製制御機序を明らかにしてきた。平成24年度には、低い血漿中ウイルス量を示す新たな一群として、MHC-IハプロタイプD共有群を見いだした。さらにその解析からSIV複製制御へのNefエピトープ特異的CTL反応の関与を明らかにした。これらの結果は、Gag特異的CTL反応に加えてNef特異的CTL反応もHIV複製制御に貢献しうることを示唆するものである。

[高橋尚史、野村拓志、山本浩之、中村　碧、関紗由里、高原悠佑、岩本　南、石井　洋、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）、小柳義夫（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]

(3) 宿主液性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ア．個体レベルにおける抗体の SIV 感染防御機序の解析

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。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 産生亢進を認めたことを踏まえ、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重要視し、非・中和抗体（nNAb）の大量精製を行い、不活化 SIV 抗原 ELISA 法のスクリーニング系を立ち上げ、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、SIV 感染急性期の受動免疫実験を開始した。平成 24 年度は、本実験を包括的に解析し、以下を明らかにした。

１．受動免疫由来の抗 SIV 抗体価：受動免疫由来の抗 SIV 抗体価は接種 0.5 週後（感染後 1.5 週）では全頭で検出された一方、対照群では検出を認めなかった。受動免疫群と対照群の抗体価の差異は、de novo の抗体価が検出される前の感染後 3 週まで維持された。

２．ADCVI（抗体依存性細胞性ウイルス複製抑制）能の評価：生理的範疇の濃度（0.1～1mg/ml）の nNAb による高い ADCVI 能を確認し、受動免疫した抗体の体内濃度相当で ADCVI 活性が呈されうることが示唆された。

３．血中ウイルス量：受動免疫直後（感染後 1、2 週）・セットポイント期（感染後 12 週）、慢性期（感染後 25 週）とも、中和抗体受動免疫時とは異なり、当該群は対照群と比してウイルス量の差異を認めなかった。

４．感染急性期の血中 CD4 陽性 T 細胞数中のメモリー分画比率、感染慢性期の CD8 陽性 T 細胞応答、感染後約 1 年時点の Env 領域塩基配列：いずれについても群間で差を認めなかった。

以上より nNAb 受動免疫実験をアカゲサル群で行った結果、試験管レベルでは十分なウイルス複製抑制能を付与する量の接種にも関わらず、宿主適応免疫応答は

nNAb 受動免疫による修飾を認めず、nNAb 受動免疫は持続感染阻止能を呈し得ないことを見出した。本研究により、SIV 感染初期の抗 SIV 抗体受動免疫によるウイルス複製制御時には直接的なウイルス中和能が必須であることが逆説的に証明され、本結果は中長期的な中和抗体誘導型予防エイズワクチン開発への論理的基盤に寄与したと考えられる。

[山本浩之、中根　拓、野村拓志、中村　碧、史　蕭逸、岩本　南、高橋尚史、俣野哲朗]

イ．感染急性期の抗 SIV 抗体応答に先行する IL-21 産生 CD4 陽性 T 細胞応答の解析

IL-21 シグナル基軸は、持続感染ウイルスの排除に際し T 細胞・B 細胞応答の亢進を司る。この内特異的 B 細胞は二次リンパ節において抗原特異的とは限らない IL-21 産生濾胞 CD4 陽性 T 細胞（TFH）の補助を主に受けると考えられているが、エイズウイルス感染で中和抗体を代表とする抗体誘導障害が生ずる過程における本基軸障害の関与は明らかでない。本研究ではアカゲサル SIV 感染急性期における抗 SIV 抗体応答の解析と、末梢血中の IL-21 産生 CD4 陽性 T 細胞の表現型解析を組み合わせ、後者に関し TFH と比例する末梢血サブセット動態の推定を試みた。結果、SIV 感染後 5 週から 12 週にかけ、SIV 特異抗体の標的抗原数の増加、SIV Env/Gag 特異的抗体価の上昇、IgG 陽性メモリーB 細胞の存在率上昇を認め、IgD-CD27+総メモリーB 細胞中の IL-21R 発現率低下傾向を認めた。感染急性期において、抗原非特異的（PMA/ionomycin 反応性）IL-21 産生 CD4 陽性 T 細胞は IL-4+ （Th2）、IL-17+（Th17）及び IFNγ+（Th1）の全系統に分布した。抗 SIV 抗体応答に先行し、Th1 系列を主体とした IL-21 陽性総 CD4 陽性 T 細胞の存在率が感染後 3 週から 8 週にかけ、感染後 0 週以降の減少から回復することが認められ、感染後 8 週の IL-21+ Th1 水準は先行するウイルス量減少率との逆相関を示した。期間中、SIV 抗原特異的 IL-21 産生 CD4 陽性 T 細胞応答は全体の 5% 以下に常に留まった。以上より、B 細胞応答補助を主に担う IL-21 産生源に重複性が許容され、かつ TFH は終分化型でないという近年の知見を踏まえ、SIV 感染時には抗原非特異的な複数系統の CD4 陽性 T 細胞により不完全な IL-21 補助が供される可能性が考えられ、逆に本基軸の障害が SIV 感染時の中和抗体応答障害の主たる機序ではない可能性が示唆された。

[史　蕭逸、関紗由里、俣野哲朗、山本浩之]

(4) 生ワクチンモデルから導かれる HIV に有効な感染防御のメカニズム

糖鎖修飾変異株Δ5G は、サブタイプが異なる SIVsm543-3、感染 HIV の特徴である quasispecies (多種性)を示す高病原性組み換えウイルスの感染を制御、もしくは抑制した。Δ5G は、初期感染において、野生株 SIVmac239 とは異なる CD4+T 細胞サブセットに選択的に感染した。SIVmac239 は 2 次リンパ組織の Th1 細胞に感染し、細胞性免疫誘導に重大な障害を与えた。Δ5G 感染では、Th1 細胞感染の頻度は低く、代わりに小腸粘膜固有層の Th17 細胞等に感染した。Th17 型免疫は、Th1 型の免疫誘導を抑制することが報告されている。しかしΔ5G 感染ザルには感染抑制に十分なウイルス特異的メモリー細胞が誘導・維持されていた。Δ5G による初期感染における短期間の Th17 細胞感染は、感染防御に十分な CTL メモリーの形成・維持と HIV 感染の条件となる Th1 型免疫環境を抑制する免疫環境の構築に働いていた。この 2 重のウイルス感染抑制機構は、有効な HIV ワクチンに求められる防御免疫の具体的なモデルとなる。

[森　一泰]

2．HIV 粘膜感染に関する研究

(1) サルエイズモデル経直腸感染に関する研究

我々はこれまで、MHC-I ハプロタイプ共有ビルマ産アカゲサルを用いた SIVmac239 経静脈感染モデルを確立してきた。この系をさらに粘膜感染解析系に応用すべく、低接種量 SIVmac239 経直腸感染実験を開始した。今後、経直腸接種による慢性持続感染系を確立し、経静脈感染系との比較ならびにワクチン効果の検討に応用していく計画である。

[中村　碧、石井　洋、松岡佐織、阪脇廣美（京都大学）、三浦智行（京都大学）、小柳義夫（京都大学）、俣野哲朗]

3．エイズワクチンに関する研究

(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 24 年度には、サルエイズモデルにおいて、3 週間隔で 3 回 SeV ベクターワクチン経鼻接種を行い、2 回目・3 回

目の接種によっても抗原特異的 CTL 反応が増強されることを示した。本結果は、経鼻 SeV ベクターワクチンの複数回接種の有効性を示すものである。

[栗原京子、高原悠佑、野村拓志、石井　洋、岩本　南、高橋尚史、松岡佐織、井上　誠（ディナベック）、飯田章博（ディナベック）、原　裕人（ディナベック）、朱亜峰（ディナベック）、長谷川護（ディナベック）、守屋智草（東京大学）、俣野哲朗]

II. HIV 感染病態と感染者治療法に関する研究

1. HIV 複製および感染病態に関する研究

(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 の侵入時や、翻訳後のウイルスタンパク質の小胞輸送にエンドソームの関与が示唆されている。しかし、その詳細はまだ未解明である。低分子量 GTPase の一種である Rab タンパク質は細胞内膜を介した小胞輸送に関与している。本研究では、後期エンドソームやリソソームの小胞輸送に関与しているとされている Rab7 に着目した。近年、siRNA によって一過的に Rab7 をノックダウンさせた細胞に HIV-1 を感染させたところ、産生された HIV-1 の放出量や感染価の減少が認められたという報告があったが、その詳細な作用機序は不明である。そこで本研究では、恒常的に Rab7 をノックダウンさせた HEK293、HeLa 細胞および T 細胞株を樹立し、Rab7 の HIV-1 複製における役割を検討した。HIV-1 の複製後期過程への影響を検討する目的で、まず、恒常的に Rab7 をノックダウンさせた HEK293、HeLa 細胞に pNL4-3 をトランスフェクションし、細胞と放出ウイルスについて調べた。HKE293 細胞では細胞内 Gag および Env タンパク質発現量、また放出ウイルス量やその感染価にも顕著な影響は認められなかった。一方、恒常的 Rab7 ノックダウン HeLa 細胞においては、放出ウイルス量やその感染価に顕著な影響は認められなかったが、ウイルスタンパク質（Gag および Env タンパク質）の細胞内レベルがやや増加していた。　次に、HIV-1 複製前期過程を解析する目的で、恒常的 Rab7 ノックダウン HeLa 細胞に VSV-G でシュードタイプしたレポーター遺伝子（ルシフェラーゼ）発現 HIV-1 を感染させ、そのレポーター遺伝子発現を測定した。興味深いことに、恒常的 Rab7 ノックダウン HeLa 細胞においてはルシフェラーゼ発現が 1.5~3 倍に増加していた。すなわち、HIV-1 の遺伝子発現の亢進が認められた。さらに、恒常的 Rab7 ノックダウン T 細胞株を樹立し、HIV-1 のマルチラウンドの複製を調べたところ、Rab7 ノックダウン細胞におけるウイルス放出量のピークがコントロール細胞に比べて 4 日程早くなった。以上の結果から、Rab7 は HeLa 細胞では HIV-1 複製後期過程ではなく前期過程においてウイルス複製を負に制御している可能性が示唆された。この結果は、Rab7 を一過的にノックダウンさせた HeLa 細胞を使用して示された「Rab7 が HIV-1 の感染性粒子形成に正に作用している」という既報とは大きく異なるものであった。また、恒常的 Rab7 ノックダウン T 細胞株を樹立し、HIV-1 複製を調べたところ、どの過程かは定かではないがウイルス複製を負に制御している可能性が示唆された。

[竹村太地郎、藤野真之、林　浩司、森川裕子（北里大学）、村上　努]

(2) 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いた。この CypA 非依存的な HIV-1 複製機構について解析を行った結果、N121K 変異株は内在性 CypA レベルの高い HeLa 細胞のみならず、内在性 CypA レベルがそれほど高くない 293T 細胞や Jurkat 細胞においても CypA 依存的な複製抑制を受けることが明らかになった。以上の結果は、CypA 依存的な複製抑制における潜在的な HIV-1 抑制宿主因子の存在を示唆しており、今回我々が見出した CA N121K 変異株が CypA 依存的な複製抑制の作用機序解明のための有用な研究ツールになりうることも示している。

[竹村太地郎、才田晴美、中村明日香、村上 努]

(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

HIV プロウイルス組込み部位の違いが感染動態におよぼす影響を検討することを目標として、まず、次世代シークエンサーを用いて、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。SIVmac239 感染ヒト T 細胞株を用いた解析を行い、計

5093 の組込み部位を同定した。既報の HIV-プロウイルス組込み部位との比較では、染色体別の組込み頻度など、ある程度の類似性が見出され、解析結果の妥当性が示された。また、SIV 自身のゲノム中に組込みが起こるオートインテグレーションの解析においては、ウイルスゲノム中への組込みもランダムに起こるのではなく指向性が存在することが見出され、今後の組込み部位選択機構の分子生物学的解析に有用な情報を得ることができた。次に、サルエイズモデルにおける SIV プロウイルス組込み部位の同定を試みることとし、プロウイルス量の減少する慢性期の in vivo サンプルの解析に向け、より検出効率を高めるためのサンプル調整や解析方法等を検討した。
[竹村太地郎、西澤雅子、村上　努、山本浩之、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]

(4) 抗 HIV 療法中の CTL 反応の解析

抗 HIV 薬療法（ART）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、ART 中に低下する HIV 特異的 CTL 反応の増強を目的として、ART 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。さらにその 6 週後に再度治療ワクチンを接種し、ART を中止した。ART 終了後にウイルス血症再出現が認められたが、治療ワクチン接種群では ART 前の血漿ウイルス量と比べた ART 終了後の血漿ウイルス量は大きく低下していた。この結果は、ART 下の本治療ワクチンの効果を示唆するものである。
[中村　碧、高原悠佑、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）、小柳義夫（京都大学）、井上　誠（ディナベック）、朱　亜峰（ディナベック）、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]

2．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。解析する領域は抗 HIV-1 薬剤の標的であるプロテアーゼ、逆転写酵素、インテグラーゼの 3 領域であり、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 25 年 3 月の時点で累積 9307 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。薬剤耐性検査に加えて CCR 5 阻害剤の使用に対応するために Env C2V3 の遺伝子配列解析による指向性検査を実施している。平成 25 年 3 月の時点で、1295 検体の指向性検査を実施した。その結果 23.8％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）]

(2) 高感度薬剤耐性検査法を用いた微少集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

ア．高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療患者における微少集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法（高感度法）では 7 種類の逆転写酵素阻害剤耐性変異を検出可能だが、この M184V 検出系によって M184V が検出できない例があり、また感度が低い事も併せて示されたため改良を行った。M184V 検出に用いたプライマー結合部位には多様性があり、またこの領域は薬剤耐性変異導入部位でもあるため、プライマー結合部位にこれらの多様性を持つ検体の場合、従来のプライマーでは M184V が存在していても検出できない事が示された。そこで新たにプライマー設計を行い、感度について解析した。その結果、従来の高感度法では検出出来ない患者検体の一つ A-2 について理論的定量限界 0.02%、臨床的定量限界 1.3%で検出可能な系を確立した。この系を用いて大阪医療センターより依頼された 4 検体について M184V 微少集族の解析を行ったが、4 検体中 2 検体についてはダイレクトシーケンス法で M184V が検出されているにもかかわらず高感度法では M184V が検出されなかった。M184V 検出系についてはさらに検討の必要があると思われた。
[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 6 症例(Case1~Case6) のウイルス学的失敗例について PI 耐性変異 M46I/L あるいは L90M を有する微少集族株の動態を解析した。症例 1: 従来法で検出される 2 か月前から M46I が微少集族として確認された。症例 2:従来法でみられた M46I が治療変更により消失後 1 年以上にわたり微少集族として存在した。また M46L も一過性に微少集族として存在していた。更に、M46I/L PCR 増幅産物の解析では、従来法では検出されていない I54V と V71A が M46I/L と連鎖していた。症例 3: 従来法では検出されない M46I/L が 4〜8 ヶ月の間も微少集族として存在していた。症例 4: 従来法で検出されるようになる 7 か月前から、M46I と L90M が微少集族として存在していた。高感度法で得られた M46I と L90M の PCR 増幅産物を解析した結果、M46I 産物には従来法で検出されていない G48V が連鎖していた。症例 5: 従来法で M46I が検出されたが、その 9 年前より M46L が微少集族として存在していた。また M46I も従来法で検出される 5 年以上も前より微少集族として存在していた。症例 6: 従来法で消失 3 年後にも M46L が微少集族として検出された。以上 6 症例の解析から、PI 耐性変異が微少集族として患者血中に長期間にわたり潜在していることが明らかとなった。治療変更を繰り返した症例等では従来法で薬剤耐性変異が確認されない場合でも過去の治療薬に対する薬剤耐性ウイルスが潜在していることを念頭に治療薬を選択することが望ましいと思われた。

[西澤雅子、Jeffrey Johnson（米国 CDC）, Walid Heneine（米国 CDC)、杉浦亙]

(3) インテグラーゼ多様性がラルテグラビル耐性獲得に及ぼすウイルス学的構造学的影響の解析

インテグラーゼ（IN）阻害剤ラルテグラビル（RAL）の耐性変異には Y143C, Q148H, N155H という３つの経路が知られている。RAL 耐性変異 148K，148R，148H，155H，143C, 140S+148H を site directed mutagenesis により導入し、4 系統合計 28 種類のクローンを作成した。IN 耐性を導入した 4 系統のクローンいずれも 148K/R/H が他に比して増殖能力が低いことが認められた。また、RAL 感受性に関しては HXB2（WT）IC_{50}:0.0007μM に対して HXB2 と患者由来 IN を有する 3 系統のいずれも 140S+148H が最も高い耐性度（25〜308 倍）を示した。RAL 感受性に対しては IN 多様性による有意の差は認められず、RAL 耐性における Y143C, Q148H, N155H という耐性変異の寄与が強いことが明らかになった。分子モデリングにおいても構造学的に矛盾しない結果が得られた。

[鈴木寿子、大出裕高（名古屋医療センター)、前島雅美（名古屋医療センター)、西澤雅子、杉浦　亙]

(4) 抗 HIV 剤が Env 多様性に与える影響に関する研究

抗レトロウイルス併用療法（cART）は、抗 HIV 剤の標的領域(逆転写酵素、プロテアーゼなど)だけでなく、他の領域（エンベロープ等）に対しても遺伝的ボトルネックを誘因し、遺伝的多様性（diversity）を低下させる事が、多くの臨床研究で報告されている。しかしながら、エンベロープ（Env）領域のボトルネックに関する臨床研究は、組み合わせて用いている他の抗 HIV 剤や、宿主免疫系による影響などの制約が多く、各抗 HIV 剤の影響を直接調べるのは極めて難しい。そこで本年度は、これまで感染症例でのみ報告されていた Env 多様性に対する抗 HIV 剤の影響を、in vitro 誘導系を用いて解析を試みた。

方法としては、4 種の臨床分離株（KP-1 から 4）と、デュアル指向性研究室株 89.6、および JR-FL V3 ライブラリー株をヒト T 細胞株 PM1/CCR5 細胞に感染させ、インテグラーゼ阻害剤 ラルテグラビル（RAL）の存在下で培養した。また薬剤非存在下での継代培養もコントロールとして行った。R5 と X4 の混合臨床分離株（KP-1）に関しては、逆転写酵素阻害剤 3TC、プロテアーゼ阻害剤サキナビル（SQV）および CCR5 阻害剤マラビロック（MVC）存在下で同様の実験を行った。各継代サンプルの Env 領域のシークエンスを行い diversity の変化を比較した。また、系統樹解析も併せて行った。結果、今回用いた臨床分離株のひとつ KP-1 では、RAL 継代群とコントロール群の双方で、Env 領域において有意な diversity の減少が認められた（継代開始前群=0.056 に対して、各々0.007 と 0.010）。ところが、RAL 継代群とコントロール群は、明らかに異なる Env を選択し、特に、gp120 全長、V1/V2、と V4 の長さ、および PNGs の数で有意な違いが認められた。同様の傾向が、今回用いた全てのウイルス株でも認められた。さらに、KP-1 では RAL 以外の抗 HIV 剤（3TC, SQV, MVC）存在下においても同様に Env diversity の低下が認められた。これら各薬剤で選択された Env は、コントロール群に対してだけでなく、各薬剤間でも異なるクラスタリングを示すことが系統樹解析から明らかになった。

本研究結果により、抗 HIV 剤が作用部位とは異なる Env 領域の diversity を減少させるのみならず、それぞれ

の薬剤によって選択するウイルスの Env 領域に違いが見られることが明らかになった。このことは、今後、cART における侵入・融合阻害剤との組み合わせにおいて薬剤選択に重要な知見となると考えられる。
[原田恵嘉、遊佐敬介（医薬品食品衛生研究所）、松下修三（熊本大学）、吉村和久]

(5) MVC 耐性誘導による Env の変異が中和抗体感受性に及ぼす影響に関する研究

現在、臨床で用いられている抗 HIV 剤の殆どが逆転写酵素阻害剤もしくはプロテアーゼ阻害剤である。2008 年に新たな機序の阻害薬として、CCR5 阻害剤マラビロック（MVC）およびインテグラーゼ阻害剤ラルテグラビルが FDA により認可された。その中でも MVC は初めての宿主因子を標的とする抗 HIV 剤であり、耐性機序に関しては未だに明らかでないことが多い。さらに MVC は間接的にウイルスエンベロープ（Env）蛋白に作用することもあり、感染者体内に存在する中和抗体との相互作用についても興味が注がれている。そこで本年度は、血友病症例から分離した HIV-1 subtype B (KP-5) を用いて、MVC に対する in vitro 耐性誘導を行い、MVC 耐性獲得によるエンベロープ Env の構造変化と中和抗体に対する感受性の関係を解析した。

方法としては、KP-5 ウイルスを CCR5 過剰発現ヒト T 細胞株 PM1/CCR5 細胞に感染させ、MVC の濃度を徐々に上げながら継代培養し、逃避ウイルスを誘導した。コントロールとして薬剤非存在下での継代培養もあわせて行った。また、CCR5 低発現のヒト T 細胞株 PM1 細胞でも継代培養を行った。パッセージごとに Env のシークエンスを行い、耐性を付与する変異部位の同定を行った。また培養上清中のウイルスの抗 Env 中和抗体に対する感受性の変化を、PM1/CCR5 細胞を用いた細胞傷害試験（WST-8 assay）で評価した。結果、継代培養を 48 パッセージ行い、MVC 高度耐性ウイルスを誘導し得た（IC_{50}; >10000 nM）。PM1 細胞で継代したコントロールウイルスは、PM1/CCR5 細胞で継代したコントロールウイルス（IC_{50}; 20-30 nM）に比べ、MVC に対し中等度耐性になっていた（IC_{50}; 90-200 nM）。シークエンスの結果、gp120 の V3 loop の tip、stem、及び CCR5-N 端との結合部位の変異がそれぞれのパッセージウイルス間で明らかに異なっていた。また、抗 V3 中和抗体や CD4i 抗体や自己血清 IgG に対して、MVC 耐性 KP-5 は感受性になっており、MVC が高濃度存在した状態ではより感受性に傾いた。

本研究結果により、MVC 耐性変異で惹起される Env の立体構造変化により、抗 Env 単クローン抗体だけでなく、自己の血清 IgG に対しても感受性になることを示した。このことは、ワクチンや治療用の抗 V3 中和抗体との治療薬の組み合わせを選択する上において、CCR5 阻害剤が重要な候補となることを示唆している。
[吉村和久、原田恵嘉、松下修三（熊本大学）]

3．新規治療法開発に関する研究

(1) 新規抗 HIV 剤としての CD4 類似低分子化合物誘導体に関する研究

HIV の標的細胞への感染は、標的細胞表面の CD4 およびケモカイン受容体と、ウイルス粒子上のエンベロープ（Env）蛋白質の一つである gp120 が結合し、標的細胞とウイルス粒子が膜融合を生じることで成立する。具体的には、CD4 は gp120 の CD4 結合部位と結合し、gp120 の立体構造変化を引き起こす。その結果、ブリッジングシートと呼ばれる領域が形成および露出されることで、ケモカイン受容体と結合することが可能となる。次にケモカイン受容体との結合により、gp120 にはさらなる立体構造変化が生じ、もう一つの Env 蛋白質である gp41 の N 端部分に存在するフュージョンペプチドと呼ばれる領域が活性化され、標的細胞との膜融合が生じる。これまで我々は、CD4 類似低分子化合物 NBD-556 およびその誘導体が、(i) gp120 と CD4 の結合を阻害しウイルス増殖を抑えること、 (ii) gp120 に対して CD4 と類似した立体構造変化を誘起することで抗 HIV-1 中和抗体の活性を増強させること、を明らかにした。そこで本年度は、最近分離した R5 臨床分離株を用いて、各 NBD 誘導体に対する in vitro 耐性誘導を行い、NBD-556 およびその誘導体の耐性機序および結合部位の検討を行った。

方法としては、サブタイプ B-R5 臨床分離株 KP-5P をヒト T 細胞株 PM1 細胞に感染させ、可溶性 CD4（sCD4）および各 NBD 誘導体の濃度を徐々に上げながら継代培養し、逃避ウイルスを誘導した。コントロールとして薬剤非存在下での継代培養も併せて行った。任意のパッセージにおいて、Env 領域のシークエンスを行い、コントロールパッセージとの比較を行った。結果、各 NBD 誘導体および sCD4 存在下で継代培養を 5-9 パッセージ（5 μg/ml sCD4 または 20-100 μM NBD 誘導体）行い、各々高度耐性ウイルスを得た。sCD4 存在下では、gp120 領域に 2 つの変異（K33R および N425K）が認められた。一方、今回試した NBD 誘導体存在下では、主に V255M、T375N/I、または M426I の変異が認められた。

本研究結果により、NBD 誘導体の耐性獲得機序には、(i)V255M 変異、(ii)T375N/I 変異、または (iii)M426I 変異、

の 3 通りに大別されることが明らかになった。このことは、NBD 誘導体の結合部位と活性の相関を検討する上で重要な知見となり、より強力な侵入阻害効果を持ち、かつ Env 立体構造変化能を有する次世代誘導体の開発に役立つと考えられる。
[原田恵嘉、鳴海哲夫(東京医科歯科大学)、玉村啓和(東京医科歯科大学)、松下修三(熊本大学)、吉村和久]

(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。H22-23 年度では、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。また、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結果、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。H24 年度では、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を耐性誘導に使用した PM1/CCR5 細胞を用いて確認した。さらに、耐性 HIV-1 由来 Env 組換え株において特に gp120 V3 ループをエピトープとする中和抗体に対する感受性が著しく上昇しているという興味深い結果を得た。
[竹村太地郎、熊倉　成(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 Gag タンパク質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ため、HIV-1CA 部分ペプチドライブラリーの抗 HIV-1 活性を指標としたスクリーニングを行った。今年度は、HIV-1CA 部分ペプチドライブラリー（全体の約 1/3）について部分ペプチドの細胞内導入による抗 HIV-1 活性試験を行った。その結果、CA 部分ペプチドの fragment 15 が細胞膜透過性を付与することによって X4、R5 HIV-1 のいずれのウイルスに対しても EC50 :1 uM 以下で阻害活性を示すことが明らかになった。
[藤野真之、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、硫酸化アルキルオリゴ糖固定化中空糸、およびヘパランアクリル酸グラフト固定化中空糸について、緩衝液中または80%ヒト血清中におけるHIV-1除去能および感染価におよぼす影響を検討した。その結果、１）３種類の中空糸とも、緩衝液中または80%ヒト血清中のけるウイルス除去能をほとんど示さなかった。２）硫酸化アルキルオリゴ糖固定化中空糸とヘパランアクリル酸グラフト固定化中空糸は、緩衝液中または80%ヒト血清中におけるウイルスの感染価を顕著に減少させた。３）アクリル酸グラフト中空糸は、緩衝液中ではウイルスの感染価を顕著に減少させたが、80%ヒト血清中においてはウイルスの感染価にほとんど影響を与えなかった。
[藤野真之、平橋智裕((株)DIC)、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．再生医療による HIV/AIDS 遺伝子細胞治療法の開発に向けた技術基盤の構築

iPS 細胞の樹立により患者自身の細胞を用いた再生治療の実用化研究は著しく加速した。iPS 細胞を遺伝的に改変することにより、難治性疾患等に対する新しい遺伝子細胞治療が開発できると期待される。2009 年に CCR5delta32 のドナーからの骨髄移植により HIV-1 が検出されなくなった症例が報告された。これは HIV/AIDS に対する細胞治療の有用性を示している。我々は、iPS 細胞を利用した HIV-1 感染症遺伝子細胞治療を開発するために、強い抗 HIV-1 活性を有する APOBEC3G（A3G）変異体を応用する可能性について検討した。野生型 A3G (WT)、Vif タンパクと結合しない D128K 変異を持つ A3G(D128K)、ユビキチン化をうけないよう K297/301/303/334R 変異が導入された A3G (Super A3G)、その両方の変異を持つ A3G(Ultra A3G)を試験した。これらを発現する iPS 細胞に、pNL4-3 を遺伝子導入し一過性

に HIV-1 を産生させた。P24 量で標準化したウイルスを TZM-bl 細胞に感染させレポーターアッセイを行うことにより、樹立した iPS 細胞に由来する HIV-1 の感染性を評価した。結果は D128K と Super A3G は WT と比較して 30-50%の感染性低下を認めた。Ultra A3G を導入した iPS 細胞から作製した HIV-1 は約 90%の感染性低下が確認された。A3G の変異体を導入された iPS 細胞から産生された HIV-1 の感染性が低下する事を実証した。これは iPS 細胞を利用した HIV-1 感染症治療の可能性を強く示唆するものである。今後、A3G 発現による iPS 細胞分化への影響を解析すると共に、iPS 細胞を用いた HIV-1 感染症に対する遺伝子・細胞治療の実用化研究を推進したい。
[武田　哲、駒野　淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

イ．タンパク質導入形 LENA による安全な分化・脱分化誘導法の確立

安全な再生医療を達成するためにはゲノムの損傷を回避する方法で脱分化因子を体細胞に導入して iPS 細胞を樹立する必要があるが、現時点でこれを達成できる技術は未開発である。我々はエイズウイルスの粒子形成に中心的な役割を担うウイルス構造遺伝子 gag-pol の研究を通じて、細胞にタンパク質を導入するデリバリーツールを開発した。外来タンパク質を gag-pol の N 末端に融合させてレンチウイルス様ナノ粒子(Lentivirus-like nanoparticle, LENA)に封じ込め、VSV-G で pseudotype を施した LENA を介して細胞にタンパク質を導入するシステムである。このシステムは標的細胞のゲノムを損傷しないことから、安全な iPS 細胞の樹立に効果的に応用できると考え、脱分化因子の LENA 系への応用に関する基盤研究を行った。c-Myc、Klf4、Sox2、Oct3/4 タンパクを導入するための LENA 発現ベクターを構築し、タンパク質発現を確認すると同時に、粒子内への転写因子取り込みを Western blot にて確認した。今後は転写因子の機能的なデリバリーが達成可能かを確認し、安全な iPS 細胞の樹立法としての LENA 技術を評価する予定である。
[武田　哲、駒野　淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

(6) ワクチン・薬剤評価系としてのSHIV/サル感染AIDS発症モデルの開発

HIV/AIDS根絶のために最も重要なワクチンについては開発の目処がたっていない。その原因のひとつとして適切な評価系としての動物モデルが確立されていないことが挙げられる。我々は現時点で最良なモデルのひとつと考えられるSHIV/サル感染AIDS発症モデル系を開発した。このモデルはワクチンだけでなく薬剤の評価も可能である。このモデルの海外技術移転の可能性について、厚生科学研究・地球規模保険課題推進研究事業「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、ガーナ、ケニア、ザンビアの共同研究者と、日本国内や南アフリカ共和国で検討した。南アフリカ共和国にはサル感染症実験施設があるが、Animal Biosafety Level 2 (ABSL-2)と考えられ、ABSL-3が要求される我々のモデルの技術移転は困難であると思われた。
[仲宗根正、服部俊夫（東北大学）、俣野哲朗]

III．エイズ対策等の施策基盤構築に関する研究

1．世界の HIV 感染動向に関する研究

(1) アジアにおける HIV/AIDS の疫学的研究

ア. HIV-1 組換え型流行株 (CRF) のアジアにおける多発的新生

マレーシアおよび中国の共同研究者との共同研究によって、複数の新しいタイプの HIV-1 組換え型流行株(Circulating recombinant form, CRF)を見出した。マレーシアおいては先に同定した CRF33_01B, CRF48_01B に引き続き、CRF53_01B, CRF54_01B の２種を、中国においては CRF55_01B と CRF59_01B を新たに見出した。この中でとりわけ中国の２種は MSM 集団にはじめて見出された CRF という点で注目される。アジアではシンガポールの MSM 間に同定された CRF51_01B に次ぐ、このカテゴリー属する第２と第３番目の CRF である。CRF の発見の背景には、リスク集団内で多様な組換えウイルスが発生している状況が隠されており、したがって、これらの発見はアジアにおける MSM 流行が急速に拡大、播種している現状を反映する知見という意味で、公衆衛生上重要な知見と考えられる。
[Chow WZ（マラヤ大学）、Ng KT（マラヤ大学）、Kamarulzaman A（マラヤ大学）、Tee KK（マラヤ大学）、Han X （中国医科大学）、Shang H（中国医科大学）、武部　豊]

イ．アジアにおける男性同性愛者(MSM)間の HIV-1 流行の原因となっている CRF01_AE ファウンダー株の同定と我が国の MSM 集団への波及

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。われわれは、中国・マレーシアの共同研究者との共同研究によって、中国における MSM 流行が、２種（CN.MSM.01-1 と CN.MSM.01-2）のヴァリアントによって、またマレーシアにおいては 6 種（MY.AE-1~MY.AE-6）のヴァリアント

によって、形成されていることを明らかにした。このうち、中国 MSM に起源をもつ CN.MSM.01-1 ヴァリアントは、我が国 MSM に低頻度で見出される CRF01_AE 株の約半数を占めることを見出した（神奈川衛研の近藤博士との共同研究)。しかも興味深いことに我が国 MSM 集団の中で、特徴的なサブクラスター（JP-CN.MSM.01-1 サブクラスター）を形成していることを明らかにした。中国流行の世界播種の可能性と日本での実質的な感染拡大の兆候を示す最初の知見である。

[Ng KT（マラヤ大学)、Kamarulzaman A（マラヤ大学)、Tee KK（マラヤ大学)、Feng Y（中国 CDC)、Shao Y（中国 CDC)、Han X（中国医科大学)、Shang H（中国医科大学)、近藤真規子（神奈川県衛生研究所)、武部　豊]

(2) アフリカにおける HIV/AIDS の疫学的研究

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。また HIV-2 感染者もおり分子疫学的解析も開始したいと考えている。

[石川晃一、杉浦　亙（名古屋医療センター)、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、William Ampofo（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

HIV 感染症は世界三大感染症の一つであり､その克服は国際的最重要課題の一つである。細胞傷害性 T リンパ球（CTL）反応は HIV 複製抑制に中心的な役割を担っており、CTL 逃避変異を有するウイルスの選択は感染病態に大きく影響しうる。この CTL 逃避変異を反映する HLA 関連 HIV 変異の動向把握は、HIV 感染症のコントロールに重要である。各 HLA アレル頻度は人種間で大きく異なるため、世界各地域の流行 HIV 株の HLA 関連変異同定が必要であり、特にインドはアジアの HIV 感染流行地域の一つとして重要な対象地域である。そこで本研究では、インド国立コレラ腸管感染症研究所(NICED)との共同研究で、HLA 関連 HIV 変異同定に向け、インド国 HIV 感染者の HLA 遺伝子型同定法を確立し、解析を開始した。解析結果では、HLA-A、HLA-B および HLA-C 各々について、比較的頻度の高いアレルが見いだされた。今後、これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定に結びつくことが期待される。

[石川晃一、武田　哲、松岡佐織、椎野禎一郎、高橋尚史、Sekhar Chakrabarti（NICED）、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]

イ．ベトナムにおける感染者 HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

上記と同様の目的で東南アジア地域における解析を開始することとし、ベトナム国の国立衛生疫学研究所（National Institute of Hygiene and Epidemiology [NIHE]）との共同研究を開始した。HLA タイピングおよびベトナム流行 HIV 株の遺伝子解析が進展中である。

[石川晃一、武田　哲、松岡佐織、椎野禎一郎、高橋尚史、Nguyen Thi Lan Anh（NIHE）、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]

ウ．ガーナにおける感染者 HIV ゲノムの HLA 関連変異の解析

上記と同様の目的でアフリカ地域における解析を開始することとし、ガーナ共和国の野口記念医学研究所（Noguchi Memorial Institute for Medical Research）との共同研究を開始した。HLA タイピングおよびガーナ流行 HIV 株の遺伝子解析が進展中である。

[石川晃一、武田　哲、松岡佐織、椎野禎一郎、高橋尚史、William Ampofo（野口記念医学研究所)、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]

2．国内の HIV 感染動向に関する研究

(1) 新規 HIV/AIDS 診断患者の動向調査

３剤以上の抗 HIV-1 薬を併用する多剤併用療法(ART)が普及した今日、新規に HIV/AIDS と診断され、抗 HIV-1 薬剤に曝露歴が無いにも関わらず、薬剤耐性変異を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は先進諸国において 10-20%といわれている。我が国では新規 HIVAIDS 感染者の報告数が 1400 例前後で推移しており、ART による予後の改善もあり治療を受けている累積 HIV/AIDS 症例は増加を続けている。このことから本邦においても新規 HIV/AIDS 診断症例への薬剤耐性 HIV の拡大が大きな関心をもたれている。我々は 2003 年から 2012 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、12 年：692 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%、12 年 8.2%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%、12 年：4.5%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%、12 年：1.5%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%、12 年：3.4%であった。インテグラーゼ阻害剤耐性変異に関しては現在までのところ新規 HIV/AIDS 診断患者からは見いだされていない。ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性変異の T215X、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性変異の K103N、プロテアーゼ阻害剤耐性変異の M46I/L は毎年必ず検出されており、流行株として定着しているものと推測される。

[杉浦　亙、鈴木寿子、西澤雅子、服部純子(名古屋医療センター)、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) 国内 HIV 感染者数の推定法に関する研究

日本国内における HIV 感染者数の推定法を確立することを最終目的とし、今年度は HIV 感染率を考慮し比較的 HIV 感染率の低い先進国を中心とした諸外国の HIV 感染者数推計のための手法を調査した。調査したいずれの国においても疫学調査結果、実験データを基に複数の数理モデルを用いた独自の解析法により、推定値を算出していることが明らかとなった。以上の結果から、HIV 感染者数の推定のために我が国においても社会構造、地理的要因を考慮した独自の推定手法の確立が必要であることが示唆された。

[松岡佐織、俣野哲朗]

(3) HIV感染予防対策の現状調査

エイズ研究センターの研究をHIV感染予防対策に効率良く還元するには、対策の実態を把握しておく必要がある。そこで、HIV感染予防対策の大きな柱であった「エイズ予防のための戦略研究（平成18-22年)」をレビューすると共に、エイズ社会医学分野の研究報告会、東京都エイズ専門家会議に参加し情報収集した。さらに対策の現場である各地のコミュニティーセンター２箇所を訪問し、その実態を調査した。本年度は以下の状況を把握した。

1) 首都圏では新規 HIV 感染者とエイズ患者の報告数が頭打ちあるいは減少傾向にあり、戦略研究の部分的な成果と考えられた。

2) エイズ発生動向調査データのさらなる有効活用への要望が強い。

3) 対策の現場では、改善傾向にあるとは言え、偏見と無関心が依然として障壁となっている。

4) 簡便な自己完結型検査キット（例えば妊娠判定キットのような）の需要が増大しつつある。

[仲宗根正、俣野哲朗]

3．検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) HIV-1 感染性分子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 の感染診断に資する為、感染者検体から迅速にウイルスを分離し、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。本年度はこれまでのウイルス分離法とクローン樹立法の検討を通じて標準法を確立した。

ア. MAGIC-5A 細胞と磁気粒子による感染者血漿からのウイルス分離

HIV 感染症の確定診断は主に血清学的あるいは遺伝子学的診断法を用いてなされてきたが、多様性に富む HIV のウイルス学的研究にはウイルス分離が「Golden Standard」であることは論を待たない。これまで HIV 陰性ドナーと HIV 感染者の末梢血単核細胞（PBMC）を共培養する分離法が標準とされてきたが、ドナー血液の入手からウイルスが分離されるまでに数週間から一ヶ月以上を要し、またドナーの個体差により結果が左右される場合もある。さらにレトロスペクティブに保存血漿などからのウイルスを分離することは困難なことが多い。今回、我々が樹立した HIV 感染指示細胞 MAGIC-5A 細胞と磁気粒子を用いることにより、長期保存血漿からの効率的なウイルス分離法を確立した。本法では、概ねコピー数が 10^4/mL 以上の検体からは２週間以内の培養でウイルスが分離出来た。早い場合には、３日間の培養で分離できることもあった。増殖速度が遅い場合には、培養上清中のウイルスを再度磁気ビーズで濃縮し、新しい MAGIC-5A 細胞へ感染させるとより短期間で力価の高いウイルス液が得られウイルス分離が可能なことがあった。PBMC を用いた培養法では、多くの場合、特徴的な細胞変性（CPE）は見られず、培養上清中のウイルス量を定量するまで分離が成功しているかどうかわからないが、本法で分離に成功した場合には「フクロウの目」のような細胞塊が観察され、容易に判別できる。CPE の出現が明らかでない場合でも、LTR 下流に核仁移行シグナルを付加した EGFP を組み込んだ HIV 感染指示細胞株 HeLa 4.5 LTR-nEGFP を MAGIC-5A 細胞と平行して培養し、感染細胞特異的な蛍光を観察することにより、少ないウイルス増殖を見逃すことが避けられる。本法は、PBMC 共培養法でウイルス分離が困難な時の代替法として有用であると期待される。

[梅木優子、永井美智、巽　正志]

イ．In-Fusion 酵素による One-Step HIV Cloning Strategy

これまで HIV-1/-2 ゲノムの 5'- および 3'-half を、ユニークな制限酵素サイトを含む Primer で増幅した後、繋ぎ合わせる「HIV Trapping System」を用いて感染性分子クローンを樹立してきた。この方法によって、高効率に感染性分子クローンを樹立することが出来るが、適当な位置にユニークな制限酵素認識部位を見出すことが困難な検体も存在した。そこで、制限酵素による繋ぎ合わせを必要としない、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た。HIV-1/-2 の pbs 領域と 3'LTR の Poly A 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ので、これらの領域を相同組換えに利用した。まず、感染性分子クローンを樹立したい HIV-1/-2 の subtype/CRF を明らかにする。次に、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、クローニングベクター pMT1 3' 端の *NotI* 認識配列を含むプライマーと pbs 領域を含むプライマーを用いて、pMT1、5'LTR から pbs 領域を含む断片を増幅する。目的の HIV-1/-2 プロウィルスを含む感染細胞由来 DNA を精製し、ベクター側断片と 15 塩基が重複するように設計した pbs 領域と Poly A 下流領域から *NotI* 認識配列を含んだプライマーで、pbs から 3' 端までの領域を増幅し、これとベクター側断片を相同組換え酵素存在下で反応させる事で完全長 HIV-1/-2 クローンを樹立した。正確性の高い PrimeSTAR Max DNA ポリメラーゼ、あるいは Tks Gflex DNA ポリメラーゼを用いることにより、以前のシステムと変わらない効率で感染性分子クローンが樹立できた。さらに上記の MAGIC-5A 細胞と磁気粒子による感染者血漿からのウイルス分離法と組み合わせることにより、薬剤耐性遺伝子検査において判明した興味ある耐性変異を示す凍結保存検体等を遡って、詳細なウイルス学的解析を行う道を拓く方法論を提供するものと期待される。

[梅木優子、永井美智、巽　正志]

ウ．多剤耐性 HIV-1 症例からの標準法による感染性分子クローンの樹立

主に TDF、FTC 及び RAL の多剤治療によっても血中ウイルス量抑制が認められなかった３症例と、RT 領域に特異な挿入変異が認められた症例から、上記の MAGIC-5A 細胞と磁気粒子によるウイルス分離法と In-Fusion Cloning 系を用い、感染性分子クローンを樹立した。RAL (Raltegravir) は HIV 遺伝子の宿主遺伝子への「組み込み」を担う酵素インテグラーゼを阻害する薬剤で, 2007 年米国で世界初のインテグラーゼ阻害剤として認可され、これまでの抗 HIV 薬とはスペクトラムが異なることから、近年先進諸国で、治療失敗症例に用いられている。RAL の耐性化は、活性中心近傍の Q148H/K と N155H 変異が寄与すると報告されているが、今回の３症例は、これらとは異なる Y143C/A に変異が認めら

れた臨床例であった。樹立したクローン群は概ね臨床検体の薬剤耐性遺伝子検査で検出された変異を保持していた。これらの感染性分子クローンは、今後汎用が予想される RAL による新たな薬剤耐性獲得機序の解析に有用であるものと期待される。

[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]

エ．中国雲南省由来組換体 CRF08_BC HIV-1 クローンの樹立

これまで主要な HIV-1 サブタイプや組換型流行株（CRF）の感染性分子クローンが整備されてきたが、今回、中国本土の主要な流行株のひとつで、感染研検体パネルにも１検体含まれる事が判明した CRF08_BC の感染性分子クローンを樹立した。2000 年初期に中国雲南省文山、大理及び紅河で分離された HIV-1 CRF08_BC 感染 MAGIC-5A 細胞からプロウイルスを含む DNA を精製し、上記の In-Fusion Cloning 系を用いてゲノム完全長を含むクローンを得た。トランスフェクト後の培養上清の感染性をスクリーニングし、それぞれの分離ウイルスから２クローンを選択した。それらの全ゲノム配列を決定し、系統樹解析およびサブタイプ間組換え構造解析により全て CRF08_BC に属することを確認した。今後、国内に浸淫する可能性がある CRF の感染診断における標準株が整備された。

[梅木優子、永井美智、草川　茂、武部　豊、巽　正志]

(2) 様々な HIV-1 サブタイプ/Group/CRF を検出可能な In-House Real-Time RT-PCR 法の樹立

これまでに当室では、RNA 定量測定用標準品作製への協力や HIV-1 感染診断のために In-House Real-Time RT-PCR 法を用いてきたが、従来法では Group O や一部の組換え型流行株（CRF）の検出が困難であった。これらの株の検出や、標準品作製の国際協力に対応するために、従来法の改良を試みた。Los Alamos Sequence Database を用いて、登録されている全てのサブタイプ/Group/CRF と出来るだけ相同な領域を調べ、gag MA 領域約 127 bp を増幅するプライマーを設計した。当室で樹立した 12 種類のサブタイプ/Group/CRF の感染性分子クローン 24 クローンを制限酵素 *NarI* で直鎖状にしたものを鋳型に、複数社の SYBR Green を使った Real-Time PCR キットを用いて、増幅効率を検討した。いずれのクローンも DNA 定量値に依存した増幅曲線ならびに Ct 値が得られた。またすべてのクローンに含まれる、ほぼ同じ長さのβラクタマーゼ遺伝子を増幅するプライマーペアと増幅効率を比較したところ、全てのクローンでほぼ同じ効率で増幅することが確認できた。さらに、従来法で値付けされているサブタイプ B 由来 RNA を Real-Time RT-PCR 法で測定したところ、従来法とほぼ同じ値が得られた。この方法は、様々な HIV-1 サブタイプ/Group/CRF のゲノム検出に応用可能であることが示された。

[草川　茂、梅木優子、永井美智、巽　正志]

IV．その他のレトロウイルスに関する研究

1. HTLV-1 に関する研究

(1) HTLV-1 感染細胞を標的とする細胞性免疫反応に関する研究

HTLV-1 感染症は ATL（成人 T 細胞白血病）等の重篤な疾病発症に結びつくことから、その感染・発症の防御法の開発は重要課題である。本研究では、HTLV-1 感染細胞を標的とする有効な細胞性免疫反応の誘導法開発を目的とし、標的抗原候補として最重要と考えられる Tax 抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球（CTL）反応の解析を進めることとした。平成 24 年度は、Tax トランスジェニックマウス由来 ATL 細胞を移植したマウスにおける Tax 特異的 CTL 反応誘導を示す結果を得た。

[中村　碧、石井　洋、松岡佐織、鈴木忠樹（感染病理部）、長谷川秀樹（感染病理部）、俣野哲朗]

(2) プロウイルスの物理的障害による HTLV-1 感染細胞増殖の抑制

根治療法や特異的分子療法の存在しない HTLV-1 感染症に対し、新たな治療法の開発が求められている。これを達成するため、我々は HTLV-1 LTR を標的とした新たな治療分子として ZFN に着目した。様々な HTLV-1 株で保存されている LTR 領域を認識して DNA を損傷する分子デザインを試み、２組の ZFN を合成した。これらの治療分子を HTLV-1 により形質転換したヒト T 細胞株および ATL に由来する HTLV-1 陽性ヒト T 細胞に MLV ベクターを用いて導入し、ペアの ZFN が発現した際の細胞増殖効率を細胞のクローニング効率および代謝に基づく発色法により評価した。その結果 HTLV-1 陽性ヒト T 細胞で増殖抑制が認められた。この活性は HTLV-1 非感染ヒト T 細胞では認められなかった。さらに ZFN によるプロウイルスゲノムの物理的損傷を ZFN 発現 ATL 細胞クローンにて解析した。恒常的に ZFN を発現する HTLV-1 陽性 ATL 細胞株 S1T 細胞クローンから回収した LTR 配列において ZFN 標的部位特異的に様々な変異導入が認められた。さらに、HTLV-1 陽性 ATL 細胞株 ED の NOJ マ

ウスにおける造腫瘍性は ZFN により有意に阻害された。ZFN は HTLV-1 非感染細胞には影響を与えず、HTLV-1 感染細胞の増殖を選択的に阻害し、且つプロウイルスを不可逆的に損傷する活性があるため、新たな作用機序に基づく HTLV-1 感染症に対する特異性の高い治療・予防分子として利用できると期待される。

[武田　哲、田中　淳（大阪大学)、岡田誠治（熊本大学）駒野　淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

2. カニクイザルフォーミーウイルスに関する研究

フォーミーウイルス(foamy virus)はレトロウイルス科スプーマウイルス亜科に属し、サル、ウシ、ウマ、ネコ等に自然感染していることが知られている。そこで、実験用サルにおけるフォーミーウイルスの感染状況を調べるため、カニクイザル腎細胞および PBMC 等より得られた DNA について、インテグラーゼ領域を標的に Nested PCR および遺伝子解析を行った。その結果、遺伝学的には、近縁のアカゲザル由来のウイルスとは明瞭に異なったいくつかのフォーミーウイルスの遺伝子が同定された。幾つかのクラスターに分けることができ、宿主の原産地の違いを反映しているものと考えられた。

[阪井弘治、網康至（動物管理室)、須﨑百合子（動物管理室)、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 1 件の体外診断薬の承認前試験申請を受理し承認前試験を執行した。

[草川　茂、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 感染症検体パネル整備

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一義的に重要であるが、これまで承認申請に必要な国内感染者検体の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 年度にわたり 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 検体からなる国内感染者 HIV 感染症検体パネルを整備した。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運営実用化に向けて努めてきたが、この程平成 25 年度から 1 年間の試験運用が開始され、平成 26 年度から正式運用を予定し、本標準パネルが正式に感染研の事業として予算化される運びとなった。

[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. HIV 感染症検体パネルの特性付け

HIV 感染診断キット及び HIV-1 RNA 定量測定キットの性能は、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 *pol*_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のひとつであることから、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、草川　茂、巽　正志]

3. 各種サブタイプ/CRF 感染性分子クローン由来大腸菌発現 p24 gag 抗原発現と精製の試み

各種サブタイプ/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。各種感染性分子クローン（サブタイプ A: 6、サブタイプ A mutant: 4、CRF01_AE: 5、CRF02_AG: 4、サブタイプ B: 7、サブタイプ D: 2、サブタイプ C: 4、サブタイプ F: 2、サブタイプ G: 2、Group O: 2）を鋳型に His-Tag を付加した p24 gag を発現・精製して 3 種類の p24 gag 検出 ELISA 測定系（Clontec; Lenti-X p24 Rapid Titer Kit、Zeptometrix; HIV-1 p24 Antigen ELISA、Innogenetics; INNOTEST HIV Antigen mAb）で解析したところ、欧州で HIV-1 p24 Ag 検出の標準として用いられている INNOTEST HIV Antigen mAb では、各種サブタイプ/CRF の p24 gag 抗原を検出したが、実験用の 2 種のキットは､サブタイプ B 以外は検出できないか、検出感度が著しく低かった。今後主要なサブタイプ/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、平野梨恵、永井美智、巽　正志]

4．WHO 主催 1st HIV-1 CRF Panel 国際標準品作製への参加

本年度 WHO 主催の 1st HIV-1 CRF 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 CRF 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。

[草川　茂、巽　正志]

国際協力関係業務

I. 平成 24 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 24 年 6 月 11 日-7 月 13 日）

現在世界的に拡大を続けているHIV-1感染、AIDS発症の予防のためには、HIV-1の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいたHIV-1感染診断が必須である。近年HIV-1の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができるPCR法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターではJICAとの共催により第三世界の研修員を対象にHIV-1の感染診断のための技術講習コースを毎年１回開催している。過去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。本年度は、昨年度から３カ年で策定された「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２回を実施した。平成24年度は、中国、ガーナ、ケニア、ミャンマー、スリランカ、タンザニア、ジンバブエの７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。研修員に好評を博してきた「PCRワークショップ」は３日間実施した。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、藤野真之、森　一泰、石川晃一、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)、大石和徳 (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)、大和田尚（日本赤十字社中央血液研究所）]

II. その他

1．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」のフォローアップ協力調査（平成 24 年 8 月 5 日-8 月 17 日）

技術協力プロジェクト、エイズ対策実施機関、国際機関等および研修員からのヒアリングにより JICA エイズ

国際研修と当該国での技術協力プロジェクトとのさらなる連携の強化し、今後の研修内容のよりレベルアップと効率化に資することを目的として、ガーナおよびタンザニアの H24 年度（またはそれ以前の直近）の研修員の勤務地および関連施設を視察した。今回訪問したガーナおよびタンザニアの研修員はそのほとんどが実験室内で指導的立場にあることもあり、アクションプランで示した内容をほぼ実施するとともに日本で学習した研修内容を検査室の管理に活用していることが確認できた。さらに、これらの国々のおけるニーズもよく把握でき、今後の研修コースの内容にそれらを反映できると考えられる。したがって、今後も検査室の責任者クラス（ラボヘッド、ラボマネージャー）を研修員の候補とするのがよいと思われる。ガーナ、タンザニア両国の HIV 検査室の現状から、今後しばらく研修内容において強化すべき項目として、（１）実験室（検査室）のマネジメントの知識および技術（２）薬剤耐性ウイルス出現のモニタリングおよび解析に関する基礎知識および技術が挙げられ、さらに、（３）国連機関等（WHO,CDC 他）が指導している検査（室）の標準化や認定制度の内容を検討し、我々の研修内容にどのように盛り込めるか検討する必要がある。さらに、可能な限り当該国で実施中の HIV/エイズ（および保健関係）の JICA 技術プロジェクトとの有機的な連携を図る方策を JICA の協力のもとに実施することも重要であると考えられる。

[石川晃一、加藤　恵（JICA 東京）、村上　努]

2．平成 24 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」研修コース　講師（平成 25 年 3 月 11 日）[武部　豊]

研修業務

1．開智学園高校の生徒を対象に HIV に関する講義　感染研（平成 24 年 11 月 8 日）[石川晃一]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1．欧文発表

1) 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 86:6481-6490, 2012.
2) Tee KK, Kamarulzaman A, Matano T, Takebe Y: Phylodynamic inference of infectious diseases caused by the human immunodeficiency virus, enterovirus 71, and the 2009 swine-origin human influenza virus. Future Virol 7:403-412, 2012.
3) Ohtani H, Naruse TK, Iwasaki Y, Akari H, Ishida T, Matano T, Kimura A: Lineage-specific evolution of T-cell immunoglobulin and mucin domain 1 gene in the primates. Immunogenetics 64:669-678, 2012.
4) Nomura T, Matano T: Association of MHC-I genotypes with disease progression in HIV/SIV infections. Front Microbio 3:234, 2012.
5) Kurihara K, Takahara Y, Nomura T, Ishii H, Iwamoto N, Takahashi N, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Moriya C, Matano T: Immunogenicity of repeated Sendai viral vector vaccination in macaques. Microbes Infect 14:1169-1176, 2012.
6) Nakasone T, Murakami T, Yamamoto N: Double oral administrations of emtricitabine/tenofovir prior to virus exposure protects against highly pathogenic SHIV infection in macaques. Jpn J Infect Dis 65:345-349, 2012.
7) Miyauchi K, Urano E, Takeda S, Murakami T, Okada Y, Cheng K, Yin H, Kubo M, Komano J: Toll-like receptor (TLR) 3 as a surrogate sensor of retroviral infection in human cells. Biochem Biophys Res Commun 424:519-523, 2012.
8) Yokoyama M, Naganawa S, Yoshimura K, Matsushita S, Sato H: Structural Dynamics of HIV-1 Envelope Gp120 Outer Domain with V3 Loop. PLoS ONE 7(5): e37530, 2012.
9) 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.
10) Sugimoto C, Nakamura S, Hagen SI, Tsunetsugu-Yokota Y, Villinger F, Ansari AA, Suzuki Y, Yamamoto N, Nagai Y, Picker LJ, Mori K: Glycosylation of SIV influences immune-tissue targeting during primary infection that leads to immunodeficiency or viral control. J Virol 86: 9323-9336, 2012.
11) Li Z, He X, Wang Z, Xing H, Li F, Yang Y, Wang Q,

Takebe Y, Shao Y: Tracing the origin and history of HIV-1 subtype B' epidemic by near full-length genome analyses. AIDS 26(7): 877-884, 2012.

12) An M, Han X, Xu J, Chu Z, Jia M, Wu H, Lu L, Takebe Y, Shang H: Reconstituting the epidemic history of HIV strain CRF01_AE among men who have sex with men (MSM) in Liaoning, northeastern China: implications for the expanding epidemic among MSM in China. J Virol 86(22):12402-12406, 2012.
13) Chow WZ, Al-Darraji H, Lee YM, Takebe Y, Kamarulzaman A, Tee KK: Genome sequences of a novel HIV-1 CRF53_01B identified in Malaysia. J Virol 86(20):11398-11399, 2012.
14) Ng KT, Ong LY, Takebe Y, Kamarulzaman A, Tee KK: Genome sequence of a novel HIV-1 circulating recombinant form 54_01B from Malaysia. J Virol 86(20):11405-11406, 2012.
15) He X, Xing H, Ruan Y, Hong K, Cheng C, Hu Y, Xin R, Wei J, Feng Y, Hsi JH, Takebe Y, Shao Y; Group for HIV Molecular Epidemiologic Survey: A comprehensive mapping of HIV-1 genotypes in various risk groups and regions across China based on a nationwide molecular epidemiologic survey. PLoS One 7(10):e47289, 2012.
16) Ode H, Nakashima M, Kitamura S, Sugiura W, Sato H: Molecular dynamics simulation in virus research. Front Microbiol 3:258, 2012.
17) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, Shioda T: The carboxyl-terminus of human immunodeficiency virus type 2 circulating recombinant form 01_AB capsid protein affects sensitivity to human TRIM5alpha. PloS One. 7(10):e47757, 2012.
18) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A: Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. J Proteomics 75(15):4863-4873, 2012.
19) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, Iwatani Y: The APOBEC3C crystal structure and the interface for HIV-1 Vif binding. Nat Struct Mol Biol 19(10):1005-1010, 2012.
20) Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Shibata M, Amioka K, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W: Short communication: lack of correlation between UGT1A1*6, *28 genotypes, and plasma raltegravir concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients. AIDS Res Hum Retroviruses. 28(8):776-779, 2012.
21) Bunupuradah T, Imahashi M, Iampornsin T, Matsuoka K, Iwatani Y, Puthanakit T, Ananworanich J, Sophonphan J, Mahanontharit A, Naoe T, Vonthanak S, Phanuphak P, Sugiura W: Association of APOBEC3G genotypes and CD4 decline in Thai and Cambodian HIV-infected children with moderate immune deficiency. AIDS Res Ther 9(1):34, 2012.
22) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi, A: Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. Microbes Infect 15:56-65, 2013.
23) Takahashi N, Nomura T, Takahara Y, Yamamoto H, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Sakawaki H, Miura T, Igarashi T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T: A novel protective MHC-I haplotype not associated with dominant Gag-specific CD8+ T-cell responses in SIVmac239 infection of Burmese rhesus macaques. PLoS One 8:e54300, 2013.
24) Harada S, Yoshimura K, Yamaguchi A, Boonchawalit S, Yusa K, Matsushita S: Impact of antiretroviral pressure on selection of primary HIV-1 envelope sequences in vitro. J Gen Virol 94: 933-943, 2013.
25) Narumi T, Arai H, Yoshimura K, Harada S, Hirota Y, Ohashi N, Hasimoto C, Nomura W, Matsushita S, Tamamura H: Lead optimization of the aromatic substituents of CD4 mimics as HIV entry inhibitors. Bioorg Med Chem 21(9): 2518-2526, 2013.
26) Kuwata T, Takak K, Yoshimura K, Enomoto I, Wu F, Ourmanov I, Hirsch VM, Yokoyama M, Sato H, Matsushita S: Conformational epitope consisting of the V3 and V4 loops as a target for potent and broad neutralization of simian immunodeficiency viruses. J Virol 87(10): 5424-5436, 2013.
27) Kuwata T, Takaki K, Enomoto I, Yoshimura K Matsushita S: Increased infectivity in human cells and resistance to antibody-mediated neutralization by truncation of the SIV gp41 cytoplasmic tail. Front Microbiol 4: 117, 2013.
28) Kobayashi T, Fukushima K, Sannan T, Saito N, Takiguchi

Y, Sato Y, Hasegawa H, Ishikawa K: Evaluation of the Effectiveness and Safety of Chitosan Derivatives as Adjuvants for Intranasal Vaccines. Viral Immunol 26: 133-142, 2013.

29) Nomura W, Hashimoto C, Suzuki T, Ohashi N, Fujino M, Murakami T. Yamamoto N, Tamamura H: Multimerized CHR-derived peptides as HIV-1 fusion inhibitors. Bioorg Med Chem 21(15): 4452-4458, 2013.

30) Takemura T, Kawamata M, Urabe M, Murakami T: Cyclophilin A-dependent restriction to capsid N121K mutant human immunodeficiency virus type 1 in a broad range of cell lines. J Virol 87(7): 4086-4090, 2013.

31) Checkley MA, Luttge BG, Mercredi PY, Kyere SK, Donlan J, Murakami T, Summers MF, Cocklin S, Freed EO: Reevaluation of the requirement for TIP47 in human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein incorporation. J Virol 87(6): 3561-3570, 2013.

32) Narumi T, Aikawa H, Tanaka T, Hashimoto C, Ohashi N, Nomura W, Kobayakawa T, Takano H, Hirota Y, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H: Low-molecular-weight CXCR4 ligands with variable spacers. Chem Med Chem 8(1): 118-124, 2013.

33) Nakasone T, Kumakura S, Yamamoto M, Murakami T, Yamamoto N: Single oral administration of the novel CXCR4 antagonist, KRH-3955, induces an efficient and long-lasting increase of white blood cell count in normal macaques, and prevents CD4 depletion in SHIV-infected macaques: a preliminary study. Med Microbiol Immunol, in press.

34) Tanaka A, Takeda S, Kariya R, Matsuda K, Urano E, Okada S, Komano J: A novel therapeutic molecule against HTLV-1 infection targeting provirus. Leukemia, in press.

35) Kondo M, Lemey P, Sano T, Itoda I, Yoshimura Y, Sagara H, Tachikawa N, Yamanaka K, Iwamuro S, Matano T, Imai M, Kato S, Takebe Y: Emergence in Japan of an HIV-1 variant associated with MSM transmission in China: First indication for the international dissemination of the Chinese MSM lineage. J Virol, in press.

2．和文発表

1) 中村　碧，俣野哲朗：HIV に対する治療ワクチン．日本臨床　特集：抗ウイルス薬．日本臨床社 70(4):676-680, 2012.

2) 石川晃一：アフリカに暮らして　ガーナ共和国野口記念医学研究所での HIV/AIDS 研究．（多摩アフリカセンター、少年ケニヤの友東京支部編）春風社，p80-p91, 2012.

3) 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．わが国における急性肝炎の現状　全国調査 2008-2011. 中外医学社, p76-p79, 2012.

4) 都築智之，岩瀬弘明，島田昌明，平嶋　昇，日比野祐介，龍華庸光，齋藤雅之，玉置　大，神谷麻子，横井美咲，横幕能行，藤崎誠一郎，杉浦　亙，後藤秀実：当院における HIV、HCV 重複感染症例に対するペグインターフェロン、リバビリン併用療法の治療成績．日本消化器病学会雑誌．109(7):1186-1196, 2012.

5) 渡邊綱正，横幕能行，杉浦　亙，田中靖人：HIV 合併HBV感染例において核酸アナログadd-onペグインターフェロン併用療法による HBs 抗原セロコンバージョンの可能性．肝臓．53(2):PA678, 2012.

6) 渡邊綱正，杉浦　亙，田中靖人：B 型肝炎診療「ウイルス増殖と免疫反応から」 HIV 治療に伴う B 型肝炎免疫再構築症候群の検討．肝臓．53(3):PA95, 2012.

7) 横幕能行，杉浦　亙：Information and Communication Technology(ICT)による HIV 診療支援の可能性．日本エイズ学会誌．14(1): 31-33, 2012.

8) 渡邊綱正，横幕能行，今村淳治，杉浦　亙，田中靖人：HIV 合併 HBV 感染例に対するペグインターフェロン治療．日本エイズ学会誌．14(4):P404, 2012.

9) 白阪琢磨，杉浦 亙，潟永博之：薬剤耐性を検証する一ART の新時代．HIV 感染症と AIDS の治療．3(2): 16-22, 2012.

10) 杉浦　亙，服部純子，横幕能行，松田昌和：日本国内で流行する HIV の動向、2003～2011 年．病原微生物検出情報．33: 235-236, 2012.

11) 杉浦　亙：わが国の新規未治療症例における薬剤耐性 HIV の出現状況．Confronting HIV．(42): 8-9, 2012.

II. 学会発表

1．国際学会

1) Takebe Y, Saucedo CJ, Lund G, Uenishi1 R, Knetman N, Wakita T, McMahon JB, O'Keefe BR: Potent *in vitro* and *in vivo* anti-HCV activity of the red algal lectin, griffithsin: protection against HCV challenge in human hepatocyte-engrafted Alb-uPA/SCID mouse model. 25th International Conference of Antiviral Research (ICAR 2012), Apr 17, 2012, Sapporo, Japan.

2) Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Characterization of latent viral genome sequences in SIV controllers. CSHL

Meeting on Retroviruses, May 21-26, 2012, Cold Spring Harbor, NY, USA.

3) Takemura T, Kawamata M, Urabe M, Murakami T: A capsid mutation at Asn 121 induces the CypA dependent restriction in the cell lines in which CypA expression is not high. CSHL Meeting on Retroviruses, May 21-26, 2012, Cold Spring Harbor, NY, USA.
4) Murakami T, H. Wu, Kawamata M, Hayashi K, Chiba J, Takemura T: Functional analysis of Rab11a in HIV-1 assembly. CSHL Meeting on Retroviruses, May 21-26, 2012, Cold Spring Harbor, NY, USA.
5) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W, Iwatani Y: Conformational conservation of the HIV-1 Vif-binding interface on APOBEC3C, DE, and F. CSHL Meeting on Retroviruses, May 21-26, 2012, Cold Spring Harbor, NY, USA.
6) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Yokomaku Y, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W, Iwatani Y: The APOBEC3C crystal structure and the interface for HIV-1 Vif interaction. CSHL Meeting on Retroviruses, May 21-26, 2012, Cold Spring Harbor, NY, USA.
7) Matano T: Current progress in development of an AIDS vaccine. Soft Opening Research Hospital of Tropical & Infectious Disease, Airlangga University, May 28, 2012, Surabaya, Indonesia.
8) Suzuki K, Ode H, Fujino M, Masaoka T, Hattori J, Yokomaku Y, Iwatani Y, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W: Molecular and structual analysis of darunavirresistant HIV-1 protease. International Workshop on HIV&Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies, Jun 5-9, 2012, Sitges, Spain,
9) Nishizawa M, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W: Application of allele-specific PCR for identifying minority drug-resistant populations that impact salvage therapies. 7th International Workshop on HIV Transmission, Jul 19-20, 2012, Washington, DC, USA.
10) Sugiura W: Transmitted resistance in Africa. 7th International Workshop on HIV Transmission, Jul 19-20, 2012, Washington, DC, USA.
11) Takahara Y, Nakamura M, Matsuoka S, Sakawaki H, Miura T, Igarashi T, Koyanagi Y, Naruse T, Kimura A, Matano T: Impact of therapeutic vaccination on CTL immunodominance and viral suppression in SIV-infected rhesus macaques under HAART. Towards an HIV cure, Pre-conference symposium and 19th International AIDS Conference, Jul 21 & Jul 22-27, 2012, Washington, DC, USA.
12) Harada S, Arai H, Narumi T, Tamamura H, Matsushita S, Yoshimura K: In vitro induction of ten CD4 mimic small compounds, NBD-556 and its analogues, resistant variants using primary R5 HIV-1. 19th International AIDS Conference, Jul 22-27, 2012, Washington, DC, USA.
13) Hattori J, Shigemi U, Hosaka M, Okazaki R, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Socio-demogtarhic analysis of treatment-naïve HIV-1-positive populations with recent or long-term infection estimated by bed assay in Japan. 19th International AIDS Conference, Jul 22-27, 2012, Washington, DC, USA.
14) Matano T: Analyses of vaccine-based SIV control associated with MHC-I haplotypes. NIH/NIAID/VRC Seminar, Jul 25, 2012, Bethesda, MD, USA.
15) Ishii H, Matano T: Impact of cytotoxic T lymphocyte responses on simian immunodeficiency virus replication in rhesus macaques. 2012 International Student Research Forum, Aug 7, 2012, Omaha, NE, USA.
16) Shibata M, Takahashi M, Fukushima N, Yamaguchi F, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W: No change of Plasma darunavir concentrations by switching from ritonavir softcapsule to tablet. New Zealand Pharmacist's Association Conference, Aug 31-Sep 2, 2012, Auckland, New Zealand.
17) Iwamoto N, Takahashi N, Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Efficacy of vaccine-induced Vif-specific CTL responses against SIVmac239 infection: implications for antigen design in AIDS vaccines. AIDS Vaccine 2012, Sep 10, 2012, Boston, MA, USA.
18) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Matano T: Efficacy of CTL induction by vaccination under antiretroviral therapy in SIV-infected rhesus macaques. 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 13, 2012, Awaji, Japan.
19) Matano T: Impact of MHC genotypes on HIV infection and disease control. NIHE Seminar, Sep 21, 2012, Hanoi, Vietnam.
20) Ishikawa K, Research collaboration between National Institute of Infectious Diseases (NIID) and Noguchi Memorial Institute for Medical Research (NMIMR), Univ. Ghana: Conservation and sustainable use of Ghanaian

wildlife: Summary and future plan 2012. JSPS Asian African Platform Project Seminar, Sep 27, 2012, Kyoto.

21) Matano T: SIV control by vaccine-based Gag/Vif-specific CTL induction. 14th Annual International Meeting, Institute of Human Virology, Oct 16, 2012, Baltimore, MA, USA.

22) Shibata M, Takahashi M, Kuwahara T, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W: No change of plasma darunavir concentrations by switching from ritonavir softcapsule to tablet Determination of rilpivirine (TMC-278) plasma concentrations by the conventional LC-MS method. Australasian HIV/AIDS Conference 2012, Oct 17-19, 2012, Melbourne, Australia.

23) Matano T: Stable viral control in the presence of silent proviruses in a macaque AIDS model. 13th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, Oct 24-26, 2012, Kumamoto, Japan.

24) Iwamoto N, Takahashi N, Nomura T, Yamamoto H, Matano T: SIV control by prophylactic vaccination resulting in Gag/Vif-specific CTL induction in the acute phase. 13th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, Oct 24-26, 2012, Kumamoto, Japan.

25) Harada S, Boonchawalit S, Narumi T, Tamamura H, Matsushita S, Yoshimura K: In vitro induction of twelve CD4 mimic small compounds, NBD-556 and its analogues, resistant variants using primary R5 HIV-1. 13th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium, Oct 24-26, 2012, Kumamoto, Japan.

26) Takahashi N, Nomura T, Takahara Y, Yamamoto H, Naruse T, Kimura A, Matano T: A protective MHC-I haplotype not associated with Gag-specific $CD8^+$ T-cell responses in SIVmac239 infection of rhesus macaques. 30th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Oct 25, 2012, San Antonio, TX, USA.

27) Shibata M, Takahashi M, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W: Determination of rilpivirine (TMC-278) plasma concentrations by the conventional LC-MS method. 11th International Congess on Drug Therapy in HIV Infection, Nov 11-15, 2012, Glasgow, UK.

28) Sugiura W: Spreading dynamics and networks of HIV-1 CRF01_AE in Japan revealed by molecular phylodynamic analysis. 14th ASEAN Conference of Clinical Laboratory Sciences in conjunction with the 48th PAMET Annual Convention, Nov 27-30, 2012, Manila,Philippines.

29) Nomura T, Iwamoto N, Ishii H, Yamamoto H, Matano T: Sustained SIV control without accumulation of proviral genome mutations. HIV Vaccines (X2), Keystone Symposia, Feb 12, 2013, Keystone, CO, USA.

30) Nomura T, Ishii H, Iwamoto N, Yamamoto H, Matano T: Stable SIV Control in the Presence of Silent Proviruses. 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2013), Mar 3-6, 2013, Atlanta, GA, USA.

31) Yoshimura K, Harada S, Boonchawalit S, Matsushita S: Impact of Maraviroc-resistant and Low CCR5-adapted Mutations Induced in vitro Passage on Sensitivity to Anti-Env Neutralizing Antibodies. 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections(CROI 2013), Mar 3-6, 2013, Atlanta, GA, USA.

32) Harada S, Boonchawalit S, Narumi T, Tamamura H, Matsushita S, Yoshimura K: CD4 Mimic Small Compounds, NBD-556 and Its Analogues Bind at 3 Amino Acid Positions in the gp120 CD4 Cavity. 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2013), Mar 3-6, 2013, Atlanta, GA, USA.

33) Matano T: Possible Contribution of Gag/Vif/Nef-specific CD8T-cell Responses to SIV Control. Miami CFAR (Center for AIDS Research) Seminar, Mar 8, 2013, Miami, FL, USA.

34) Matano T: Viral control mechanisms in a macaque AIDS model. US-Japan Cooperative Medical Science Program, Joint Meeting of the AIDS Panels, Mar 13, 2013, Singapore.

2．国内学会

1) 伊部史朗，近藤真規子，今村淳治，横幕能行，杉浦亙：HIV-1/HIV-2 重複感染疑い例における血清学的および遺伝子学的精査解析．第 86 回日本感染症学会総会，2012 年 4 月 25-26 日，長崎．

2) 今村淳治，横幕能行，片野晴隆，安岡　彰，杉浦　亙：名古屋医療センターにおけるカポジ肉腫発症エイズ患者数の動向．第 86 回日本感染症学会総会，2012 年 4 月 25-26 日，長崎．

3) 松田昌和，服部純子，今村淳治，横幕能行，杉浦　亙：遺伝子配列解析による HIV-1 指向性の判定とその動向．第 86 回日本感染症学会総会，2012 年 4 月 25-26 日，長崎．

4) 今村淳治，横幕能行，服部純子，伊部史朗，天羽清子，塩見正司，杉浦亙：enofovir+Darunavir/r+Etravirine

によるサルベージ療法が著効した多剤耐性 HIV 感染児の一例．第 86 回日本感染症学会総会，2012 年 4 月 25-26 日，長崎.

5) 八木繁美，石川晃一，岸田袈裟：アフリカの昆虫食（6）昆虫食から土食へ. 第 49 回日本アフリカ学会，2012 年 5 月 26-27 日，大阪.
6) 高原悠佑，中村　碧，松岡佐織，俣野哲朗：サルエイズモデルにおける抗 HIV 薬投与下の細胞傷害性 T リンパ球誘導治療ワクチン効果の解析．第 14 回白馬シンポジウム in 京都，2012 年 6 月 7-8 日，京都.
7) 原田恵嘉：R5 臨床分離株を用いた 10 種の CD4 類似低分子化合物に対する in vitro 耐性ウイルス誘導．第 14 回白馬シンポジウム in 京都，2012 年 6 月 7-8 日，京都.
8) 吉村和久：CCR5 阻害剤による耐性変異と中和抗体感受性．第 14 回白馬シンポジウム in 京都，2012 年 6 月 7-8 日，京都.
9) 伊部史朗，横幕能行，前島雅美，松岡和弘，正岡崇志，岩谷靖雅，杉浦　亙：新規 HIV-2 組換え流行株 CRF01_AB 感染例の治療経過と薬剤感受性ポロファイリング．第 14 回白馬シンポジウム in 京都，2012 年 6 月 7-8 日，京都.
10) 俣野哲朗：HIV 感染症におけるウイルスと宿主細胞性免疫の相互作用．平成 24 年度遺伝子病制御研究所研究集会：感染・免疫・炎症・発癌，2012 年 6 月 19 日，札幌.
11) 北村紳悟，大出裕高，中島雅晶，今橋真弓，長縄由里子，横幕能行，鈴木淳巨，渡邉信久，杉浦　亙，岩谷靖雅．APOBEC3C の結晶構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイスの同定．第 12 回日本蛋白質科学会年会，2012 年 6 月 20-22 日，名古屋.
12) 原田恵嘉：HIV-1 における CD4 類似低分子化合物に対する耐性機序および結合部位の検討．第 9 回ウイルス学キャンプ in 湯河原，2012 年 7 月 10-11 日，静岡県熱海市.
13) 原田恵嘉：CD4 類似低分子化合物の耐性機序および結合部位の検討．第 15 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE，2012 年 7 月 13-15 日，京都市.
14) 駒野　淳，田中　淳，武田　哲：Proliferative inhibition of ATL-derived and HTLV-1-transformed human T cells by an artificial restriction endonuclease. 第 5 回 HTLV-1 研究会，2012 年 8 月 25-26 日，東京.
15) Komano J, Takana A, Takeda S, Ichikawa R, Urano E: A novel therapeutic molecule that irreversibly disrupts the HTLV-1 provirus. 第 71 回日本癌学会学術総会，2012 年 9 月 19-21 日，札幌.
16) 服部俊夫，鈴木定彦，山岡昇司，井戸栄治，一瀬休生，仲宗根正，久保　亨，垣本和宏，臼澤基紀，福本　学，児玉栄一：サハラ以南アフリカにおけるエイズ・結核研究ネットワーク構築の試み．第 27 回日本国際保健医療学会大会, 2012 年 11 月 3-4 日, 岡山.
17) 仲宗根正：バイオリスク評価・バイオリスクマネージメントについて：国立感染症研究所における HIV 関連曝露事故対策．第 12 回日本バイオセーフティ学会，2012 年 11 月 6-7 日，東京.
18) 中根　拓，山本浩之，野村拓志，俣野哲朗：サル免疫不全ウイルス特異的非中和抗体の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
19) 高橋尚史，野村拓志，高原悠佑，山本浩之，成瀬妙子，木村彰方，俣野哲朗：サルエイズモデルにおける Gag 以外のウイルス抗原特異的 CTL 反応が関与する SIV 複製抑制機序．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
20) 石井　洋，野村拓志，高橋尚史，高原悠佑，松岡佐織，俣野哲朗：SIV 感染アカゲザルにおける各ウイルスタンパク抗原特異的 CTL 反応の網羅的解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
21) 岩本　南，高橋尚史，野村拓志，山本浩之，俣野哲朗：サルエイズモデルにおけるワクチンの subdominant CTL 誘導効果の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
22) 野村拓志，山本浩之，明里宏文，俣野哲朗：SIV 複製抑制マカクサルにおける CTL 逃避変異体の選択による複製抑制破綻機構の解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
23) 栗原京子，石井　洋，松岡佐織，上野貴将，滝口雅文，俣野哲朗：ビルマ産アカゲサルエイズモデルにおける細胞傷害性 T リンパ球の T 細胞受容体遺伝子の同定．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
24) 武田　哲，駒野　淳：再生医療による HIV/AIDS 遺伝子細胞治療法の開発に向けた技術基盤の構築．第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 2012 年 11 月 13-15 日，大阪.
25) 駒野　淳，田中　淳，武田　哲：HTLV-1 プロウイルスを物理的に傷害する人工酵素の開発．第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 2012 年 11 月 13-15 日, 大阪.
26) 武田　哲，田中　淳，駒野　淳：プロウイルスの物

理的障害による HTLV-1 感染細胞増殖の抑制．第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

27) 竹村太地郎，川又美弥子，卜部美帆，才田晴美，村上　努: キャプシド Asn 121→Lys 変異による HIV-1 複製のサイクロフィリン A 依存性の変化．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

28) 村上　努，高野　皓，藤野真之，鳴海哲夫，相川春夫，橋本智恵，野村　渉，山本直樹，玉村啓和: HIV-1MA/CA 部分ペプチドの細胞内導入による新規 HIV-1 複製制御法の探索．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

29) 武部　豊，近藤真規子：中国における男性同性愛者間の HIV-1 流行の急速な拡大に関する分子疫学と我が国への流行波及を示す新知見．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

30) 岩谷靖雅，前島雅美，北村紳悟，大出裕高，中島雅晶，今橋真弓，長縄由里子，黒沢哲平，伊部史朗，横幕能行，杉浦　亙：APOBEC3G の酵素活性非依存的な抗 HIV-1 作用メカニズム．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

31) 大出裕高，鈴木康二，藤野真之，前島雅美，木村雄貴，正岡崇志，服部純子，横幕能行，鈴木淳巨，渡邉信久，岩谷靖雅，杉浦　亙：高度ダルナビル耐性 HIV-1 の分子機序の解明．第 60 回日本ウイルス学会学術集会，2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

32) 北村紳悟，大出裕高，中島雅晶，今橋真弓，長縄由里子，黒沢哲平，横幕能行，山根　隆，渡邉信久，鈴木淳巨，杉浦　亙，岩谷靖雅：APOBEC3C の構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイスの同定．第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 2012 年 11 月 13-15 日，大阪.

33) 羽柴知恵子，福山由美，伊藤明日美，長谷川真奈美，渡邊智子，藤谷和美，小川恵子，杉浦　亙，横幕能行：HIV 陽性者への外来トリアージの必要性に向けて．第 66 回国立病院総合医学会，2012 年 11 月 16-17 日，神戸.

34) 福山由美，大林由美子，杉浦　亙，横幕能行：医療機関からみる愛知県内 HIV 陽性判明の動向 〜いきなりエイズ減少に向けて〜．第 66 回国立病院総合医学会，2012 年 11 月 16-17 日，神戸.

35) 渡邉英恵，福山由美，羽柴知恵子，伊藤明日美，長谷川真奈美，渡邊智子，藤谷和美，小川恵子，杉浦　亙，横幕能行：HIV 陽性女性が安心して将来の妊娠について考えられる外来看護支援に向けて．第 66 回国立病院総合医学会，2012 年 11 月 16-17 日，神戸

36) 永見芳子，塚本弥生，杉本香織，杉浦　亙，福山由美，横幕能行：長期に療養が必要となった HIV 感染症患者への支援体制の現状と課題．第 66 回国立病院総合医学会，2012 年 11 月 16-17 日，神戸.

37) 榊原美穂，福山由美，羽柴知恵子，長谷川真奈美，伊藤明日美，渡邊智子，藤谷和美，小川恵子，杉浦　亙，横幕能行：外来看護師による HIV 陽性者受診継続のための看護介入判断基準の標準化に向けて．第 66 回国立病院総合医学会，2012 年 11 月 16-17 日，神戸.

38) 丸山笑里佳，羽柴知恵子，福山由美，杉浦　亙，横幕能行：違法薬物使用歴を持つ HIV 陽性者に対する内科外来での心理的支援の検討．第 66 回国立病院総合医学会，2012 年 11 月 16-17 日，神戸.

39) 俣野哲朗：エイズワクチン開発．ポスト日本ワクチン学会シンポ・サテライトシンポジウム，2012 年 11 月 19 日，東京.

40) 高橋尚史，山本浩之，成瀬妙子，木村彰方，俣野哲朗：サルエイズモデルにおける Nef 抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球反応が関与するウイルス複製制御機序に関する研究．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

41) 中村　碧，高原悠佑，松岡佐織，阪脇廣美，三浦智行，五十嵐樹彦，小柳義夫，成瀬妙子，木村彰方，俣野哲朗：サルエイズモデルにおける抗 HIV 薬投与下の CTL 反応誘導型治療ワクチン接種効果の解析．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

42) 原田恵嘉，鳴海哲夫，玉村啓和，松下修三，吉村和久 : R5 臨床分離株を用いた CD4 類似低分子化合物誘導体に対する in vitro 耐性ウイルス誘導．第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

43) 相川春夫，松本大地，野末愛美，浦野恵美子，Mathieu Metifiot，Kasthuraiah Maddali，野村　渉，鳴海哲夫，駒野　淳，村上　努，Yves Pommier，山本直樹，玉村啓和：ペプチドミメティック型インテグラーゼ阻害剤の構造活性相関研究．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

44) 高野　皓，鳴海哲夫，相川春夫，橋本智恵，藤野真之，野村　渉，村上　努，山本直樹，玉村啓和 : HIV-1 MA, CA タンパク質を基にした新規抗 HIV-1 剤の創製研究．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012

年 11 月 24-26 日，横浜.

45) Yamamoto H: In vivo correlates of neutralizing antibody induction against SIVmac239. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

46) 史　蕭逸，関紗由里，俣野哲朗，山本浩之：サル免疫不全ウイルス感染個体群における IL-21 シグナル基軸の解析. 第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

47) 西澤雅子，Jeffrey Johnson，Walid Heneine，杉浦　亙：微少集族として存在するプロテアーゼ阻害剤耐性変異の高感度法の開発と、抗 HIV 治療患者に存在する微少集族プロテアーゼ阻害剤耐性変異解析．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

48) 服部純子，潟永博之，渡邊　大，長島真美，貞升健志，近藤真規子，南　留美，吉田　繁，森　治代，内田和江，椎野禎一郎，加藤真吾，千葉仁志，佐藤典宏，伊藤俊広，佐藤武幸，上田敦久，石ヶ坪良明，古賀一郎，太田康男，山元泰之，福武勝幸，古賀道子，岩本愛吉，西澤雅子，岡　慎一，伊部史朗，松田昌和，林田庸総，横幕能行，上田幹夫，大家正義，田邊嘉也, 白阪琢磨, 小島洋子, 藤井輝久, 高田　昇，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 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

49) 鈴木寿子, 大出裕高, 前島雅美, 西澤雅子, 杉浦　亙：インテグラーゼ多様性がラルテグラビル耐性獲得に及ぼすウイルス学的構造学的影響の解析．第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

50) 福島直子，柴田雅章，山口布沙，高橋昌明，野村敏治，横幕能行，杉浦　亙：名古屋医療センターにおける抗 HIV 療法開始時の選択薬剤動向調査. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

51) 松田昌和，服部純子，今村淳治，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦　亙：Plasma RNA と Proviral DNA による HIV 指向性遺伝子型の比較解析．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

52) 平野淳，高橋昌明，池村健治，柴田雅章，大石裕樹，佐藤麻希，吉野宗宏，網岡克雄，野村敏治，横幕能行，杉浦　亙：日本人 HIV-1 感染患者における血中ラルテグラビル濃度と UGT1A1 遺伝子多型の関連性について検討．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

53) 山口布沙, 福島直子, 柴田雅章, 高橋昌明, 野村敏治，今村淳治，横幕能行，杉浦　亙：名古屋医療センターにおける抗 HIV 薬変更の実態と傾向について．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

54) 今村淳治，横幕能行，今橋真弓，小暮あゆみ，齊藤明子，杉浦　亙：名古屋医療センターにおけるニューモシスチス肺炎発症 AIDS 症例の検討．第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

55) 丸山笑里佳，松岡亜由子，坂野亜由美，杉浦　亙，横幕能行：違法薬物使用歴を持つ HIV 陽性者に対するカウンセリング．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

56) 鬼頭優美子，松田昌和，服部純子，伊部史朗，大出裕高，松岡和弘，今村淳治，岩谷靖雅，杉浦　亙，横幕能行：臨床検体由来 env 全長組み換え HIV-1 による指向性検査法の確立．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

57) 永見芳子，塚本弥生，杉本香織，杉浦　亙，田中千枝子，横幕能行：独居高齢 HIV 感染者の 7 年間の在宅療養支援からみた今後の地域支援の課題．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

58) 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 3：希少サブタイプとサブタイプ間組換え体の動向．第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2012 年 11 月 24-26 日, 横浜.

59) 柴田雅章，福島直子，山口布沙，高橋昌明，野村敏治，今村淳治，横幕能行，杉浦　亙：日本人患者におけるマラビロクの血中・脳脊髄液中濃度についての報告. 第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

60) 松岡和弘，田邊史子，重見　麗，服部純子，正岡崇志，森下　了，澤崎達也，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦　亙：コムギ無細胞蛋白質合成系を利用した HIV-1 逆転写酵素の in vitro 薬剤感受性解析法の開発．第 26 回日本エイズ学会学術集会･総会, 2012 年 11 月 24-26 日，横浜.

61) 中畑征史，今橋真弓，今村淳治，小暮あゆみ，横幕能行，沖　昌英，坂　英雄，杉浦　亙： HIV 感染者

の縦隔リンパ節腫大に対する超音波気管支鏡ガイド下針生検（EBUS-TBNA）の有用性の検討．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜．

62) 今橋真弓，泉　泰輔，今村淳治，松岡和弘，金子典代，市川誠一，高折晃史，内海　眞，横幕能行，直江知樹，杉浦　亙，岩谷靖雅：HIV-1 感染伝播・病勢に対する APOBEC3B 遺伝子型の影響に関する解析．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜．

63) 大出裕高，鈴木康二，藤野真之，前島雅美，木村雄貴，正岡崇志，服部純子，横幕能行，鈴木淳巨，渡邉信久，岩谷靖雅，杉浦　亙：耐性誘導により得た高度ダルナビル耐性 HIV-1 プロテアーゼの構造学的解析．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜．

64) 副田雄也，小島勇貴，中畑征史，今橋真弓，今村淳治，小暮あゆみ，羽柴知恵子，杉浦　亙，横幕能行：HIV 感染悪性腫瘍の終末期についての検討．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜．

65) 伊部史朗，横幕能行，前島雅美，松岡和弘，正岡崇志，岩谷靖雅，杉浦　亙：薬剤感受性プロファイリングに裏づけされた新規 HIV-2 組換え流行株 CRF01_AB 感染例の良好な治療経過．第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会，2012 年 11 月 24-26 日，横浜．

66) 駒野　淳，武田　哲，田中　淳：Therapeutic potential of an artificial endonuclease against HTLV-1 infection. 第 35 回日本分子生物学会年会，2012 年 12 月 11-14 日，福岡．

67) 北村紳悟，大出裕高，中島雅晶，今橋真弓，長縄由里子，黒沢哲平，横幕能行，山根　隆，渡邉信久，鈴木淳巨，杉浦　亙，岩谷靖雅：抗レトロウイルス因子 APOBEC3C の構造と HIV-1 Vif 結合インターフェイス．第 35 回日本分子生物学会年会，2012 年 12 月 11-14 日，福岡．

68) 細羽恵理子，早川恭江，鈴木匡弘，山田和弘，杉浦亙，長尾美紀，馬場尚志，飯沼由嗣：MLST 解析との比較による緑膿菌用 PCR-Based ORF Typing(POT)法の評価．第 24 回日本臨床微生物学会総会，2013 年 2 月 2-3 日，横浜．

69) 石川晃一，八木繁実：アフリカの昆虫食（６）昆虫食から土食へ．第 57 回日本応用動物昆虫学会，2013 年 3 月 27-29 日，藤沢．

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。

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、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。高発現 AAV ベクターの開発のため、骨格筋以外での AAVS1 insulator 搭載の効果を調べるために、肝臓を標的臓器とする新たな AAVS1 insulator 搭載（改良型）AAV ベクターの構築を進めた。

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、HPV18 抗体国際標準品の制定にあたって、Expert Committee on Biological Standardization (ECBS)に提出されるドラフト作成に携わった。

HPV 感染初期過程の分子機構および宿主応答の解析を行った。Transport protein particle complex subunit 8（TRAPPC8）に依存して、HPV ゲノムがトランスゴルジネットワーク（TGN）から脱出する際に重要な役割を果たすことが示唆され、オートファジーが宿主防御に働いていることを明らかにした。

遺伝子型の異なる HPV を C33A 細胞に重感染させることで、E1 タンパク質のヘテロ多量体形成による複製干渉が生じている可能性を見出した。また、HPV ゲノム複製に重要な E1 タンパク質をリン酸化するチロシンキナーゼの候補をスクリーニングした。

子宮頸癌患者由来組織を用いて HPV16, 52, 58 型 の全ゲノム DNA を 1 段階で PCR 増幅する系を確立し、その増幅産物を次世代シークエンサーにより解読して HPV ゲノム情報を取得した。

第二室では、バイオインフォマティクス技術と実験データ、臨床データを活用して、ウイルスの性質を解析する新しい研究戦略の開発を続けた。計算科学を駆使して、蛋白質・核酸の高次構造、酵素反応、分子間相互作用などを高精度で近似する技術が急速に進展している。この技術は、培養が困難な病原体や易変異性病原体の解析に役立つことから、ホモロジーモデリング法、分子動力学法、結合シミュレーション等の精度を検証し、抗ウイルス因子の機能、ウイルス蛋白質の構造特性、ウイルス酵素の反応機構、ウイルスの複製や免疫逃避、薬剤耐性機構などを予測する研究を進めた。これらの研究戦略を HIV が中和抗体から逃避する分子機構や薬剤耐性獲得機構の解析、ノロウイルス、ロタ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。

HIV-2 キャプシドタンパク質の特異的なアミノ酸置換がヒト TRIM5α 耐性に重要であることを上記高次構造解析により明らかにした。

インフルエンザウイルス研究センターのサーベイランスでノイラミニダーゼ(NA)に新規の耐性変異をもつ B 型インフルエンザウイルスを検出した。今回同定したア

ミノ酸置換はペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルの3薬剤が結合する活性部位から大きく離れており、NA蛋白質の機能的構造解析から、立体配置に影響をおよぼし活性部位内のアミノ酸の配置を変化させ、NA 阻害薬との結合親和性の低下を招く可能性が示された。

第三室は、次世代シークエンサーを用いて、ゲノム解析とメタゲノム解析の技術を用い、様々な感染症の研究を行っている。ゲノム解析としては、*Salmonella* 属菌の解析で硫化水素産生と薬剤耐性を特徴付けた。細菌に薬剤耐性をもたらすプラスミドを俯瞰的に解析するためにデータベースPLASTを開発した。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。このような同定を地方衛生研究所や病院の現場でも行えるようにするためのパイプラインMePICを開発した。また O111 食中毒事例において、患者便からダイレクトに網羅配列解読して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い、治療前後や急性期寛解期での腸内細菌叢の変動を明らかにした。

ワクチンの品質管理業務として、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、製造・試験記録等要約書（summary lot protocol）の審査を開始した。

所内研究員のゲノム情報学の向上を図るため、次世代シークエンサー・解読リードの情報解析と病原体検索のための相同性検索など、unixコマンドを活用したバイオインフォマティクス講習会を主催した。

業　績

調査・研究

□. 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

骨格筋以外でのAAVS1 insulator搭載の効果を調べるために、肝臓を標的臓器とする新たな AAVS1 insulator 搭載（改良型）AAV ベクターの構築を進めた。肝細胞特異的発現ユニットの構築のために、マウストランスサイレチン遺伝子プロモーター／エンハンサーのクローニングに加えて HNF4α結合促進変異導入、ヒト ApoE locus control regionおよびヒトα1アンチトリプシンプロモーターのクローニングを行った。これらに AAVS1 insulator を付加した。またキャプシドは肝細胞への導入効率が高いと考えられるAAV2、AAV8およびAAV9のハイブリッドを作製し、肝細胞特異的AAVベクターに必要な要素を準備した。（竹内隆正）

3. 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。モデルAAVベクターが組み込まれたHeLa細胞を薬剤選択し、得られた単一クローンおよび 30 クローン程度からなる集団を対象として高速シークエンサーを活用した組込み部位同定を試みた。Nextera DNA Sample Prep Kit と nested PCR の組み合わせにより増幅したDNA断片をIllumina高速シークエンサー（MiSeq）で解読した。単一クローンを対象とした解読では、AAV ベクター組込み部位から 2kb 以内にリードが分布することがわかり、組込み部位はLM-PCRによる結果と一致していた。クローン集団を対象とした解読では、約20万リード中、約9万リードがヒトゲノムの43箇所（2kb window）にマップされ、約4千リードがAAVベクターとヒトゲノムの接合部分として 76 箇所にマップされた。マップされた組込み部位の検証が今後必要と考えられる。（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感染初期過程の分子機構の解析

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 感染におけるその相互作用の意義を調べた。Transport protein particle complex subunit 8 （TRAPPC8）が同定され、L2 は TRAPPC8 に依存したゴルジ体構造を崩壊させたことから、TRAPPC8 の機能を阻害すると考えられた。HPV は細胞内に侵入した後、トランスゴルジネットワーク（TGN）を経由する。L2

による TRAPPC8 の機能阻害は HPV ゲノムが TGN から脱出する際に重要な役割を果たすと推察される。(石井克幸)

(2) HPV 感染初期過程における宿主応答

HPV 16 型偽ウイルスを HeLa S3 細胞へ接種するとオートファジーが誘導されることを明らかにした。オートファジー阻害剤である 3-MA を添加した HeLa S3 細胞に偽ウイルスを接種すると、非添加時と比べてレポーターの発現が上昇することから、HPV 感染初期過程においてオートファジーは宿主防御として働くことが示唆された。一方、オートファジー誘導剤であるラパマイシン処理でレポーターの発現に変化がないことや、隔離膜やオートファゴソーム内腔に偽ウイルス粒子が存在することから、このオートファジーは飢餓状態時とは異なる機構で誘導されると考えられる。(石井克幸)

(3) HPV 型間での複製干渉機構の研究

HPV には 170 の遺伝子型があり、多くの感染者が複数の型に同時感染している。子宮頸癌に高頻度で検出される 16 型と 18 型の間でのゲノム複製における相互作用を調べた。C33A 細胞に 16 型と 18 型ゲノム及びゲノム複製に必要なそれぞれの型の E1､E2 タンパク質発現プラスミドをトランスフェクションすると、複製効率が両者とも低下した。16 型 E1 は 18 型の複製を、18 型 E1 は 16 型の複製を阻害した。複製阻害には、E1 の多量体形成に必要なドメインが不可欠であった。16 型と 18 型の E1 は C33A 細胞抽出液中で結合した。16 型と 18 型が重感染した細胞では、E1 ヘテロ多量体が形成され、複製干渉が起こることが示唆された。(森　清一郎、松尾理加、柊元　巌)

(4) E1 と結合する細胞チロシンキナーゼの探索

HPV ゲノム複製に働くウイルスタンパク質 E1 は、核に蓄積すると細胞周期の S 期進行を阻害する。前年度までに 293 細胞で FLAG タグ付き HPV16 型 E1(FLAG-E1)を発現させ FLAG 抗体で免疫沈降すると､チロシンキナーゼが結合することを明らかにしている。チロシンキナーゼは細胞増殖に重要な役割を果たしていることから､E1 による S 期進行阻害のメカニズムを明らかにする目的で、E1 に結合する細胞チロシンキナーゼの検索を行った。チロシンキナーゼ基質ペプチドライブラリーを用いて、免疫沈降した FLAG-E1 に結合するチロシンキナーゼによりリン酸化される基質ペプチドのスクリーニングを行った。基質ペプチドの情報から 7 種のチロシンキナーゼが候補として得られ、その内の少なくとも一つは、C33A 細胞で強制発現すると E1 と結合することが示された。(松尾理加、柊元　巌)

2. HPV 感染状況についての調査・研究

(1) 我が国の HPV 遺伝子型分布の調査

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。(近藤一成[NTT 東日本病院]、東　由香里、松尾理加、柊元　巌)

(2) 子宮頸癌および前癌病変での HPV 遺伝子型分布の調査

近年導入された HPV ワクチンは、HPV16/18 が原因の子宮頸癌のみを予防することから、子宮頸癌および前癌病変での他の高リスク型 HPV の型分布を調べる必要がある。三カ所の拠点病院から CIN2/3 および子宮頸癌の擦過細胞検体を定期的に収集し、PGMY リバースブロッティング法によって HPV タイピングを行う調査を開始した。(岩田卓[慶應大学病院]、近藤一成[NTT 東日本病院]、川名　敬[東京大学病院]、東　由香里、松尾理加、柊元　巌)

3. 交差性中和エピトープをもつ次世代 HPV ワクチンの開発研究

(1) モノクローナル抗体を用いた交差性中和エピトープの解析

HPV16 L2 キャプシドタンパク質のアミノ酸 56～75 領域には複数の交差性中和エピトープがあり、全ての高リスク型 HPV に有効な次世代ワクチンとして開発されている。56～75 領域のアミノ酸配列をもつ合成ペプチド (P56/75) で免疫したマウスから、P56/75 に結合する 2 つのモノクローナル抗体(MAb)21A 及び 24B を分離した。MAb21A、24B は、ともに P56/75 中の 58～64 領域のアミノ酸配列を認識した。MAb24B は HPV16 偽ウイルス (PsV) に結合し、細胞への感染を中和した。MAb21A は HPV16 PsV に結合せず中和もしなかった。この結果は、HPV16 L2 58～64 領域が立体構造エピトープであることを示している。ワクチン抗原は、交差性中和エピトープを立体構造的に正しく提示する必要がある。(森　清一郎、神田忠仁[理化学研究所])

(2) 交差性中和エピトープの抗原性解析

24B エピトープのアミノ酸配列は HPV の型間でよく保存されており、MAb24B は、調べた全ての高リスク型 HPV (16、18、31、33、35、51、52、58) の PsV を中和する。24B エピトープがウサギでもエピトープとして認識され

るか調べる目的で、ウサギ抗 P56/75 抗血清に 24B エピトープを認識する抗体が含まれるか、競合 ELISA により調べた。ウサギ抗 P56/75 抗血清は、MAb24B の HPV16 PsV への結合を阻害した。ウサギ血清は 24B エピトープと重複する領域を認識する抗体を含んでおり、24B エピトープはウサギにおいてもマウスと同様に認識されると考えられる。ヒトでもこの領域がエピトープとして認識され、交差性中和抗体が誘導されることが期待される。(森　清一郎、神田忠仁[理化学研究所])

4. 次世代シークエンサーを用いた HPV ゲノム解析

(1) HPV16 ゲノム解析

子宮頸部擦過細胞の臨床検体から抽出した DNA を鋳型にして、一段階の PCR によって全長 HPV16 ゲノム DNA を増幅し、Nextera DNA Sample Prep Kit を用いて断片ライブラリー化した後、次世代シークエンサー (MiSeq) にて配列解読を行った。得られた配列情報から de novo assembly によって全長 HPV16 ゲノム配列を再構築した。また HPV16 ゲノム配列の多様性解析を行い、一部の臨床検体で 0.5-6%の頻度の塩基変異が含まれていることが示された。(柊元　巌、前濱朝彦[細胞化学部]、小笠原由美子、関塚剛史、黒田　誠)

(2) HPV52/58 ゲノム解析

HPV52/58 は日本を含めた東アジア地域の子宮頸癌で高頻度に検出される HPV 型である。HPV16 と同様の方法で、全長 HPV52/58 ゲノム DNA を一段階で増幅する PCR 系を確立した。臨床検体 DNA から増幅した全長 HPV52/58 ゲノム DNA に対して、次世代シークエンサーによる配列解読を行った。多様性解析の結果、HPV16 で検出された頻度の塩基変異は認められず、HPV 型間での生物活性の違いを反映している可能性がある。(柊元　巌、関塚剛史、黒田　誠)

(3) APOBEC3 による HPV ゲノムへの変異導入機構の解析

HPV16 陽性の子宮頸部病変由来 W12 細胞をインターフェロン処理すると、APOBEC3 蛋白質の発現が誘導され、HPV16 ゲノムの E2 領域に A/T への hypermutation が導入されることが分かった。さらに次世代シークエンサーを用いて、W12 細胞で APOBEC3 を誘導した際の HPV16 ゲノム変異の包括的解析を行った。子宮頸癌では、HPV ゲノムが E2 領域内で分断されて細胞 DNA に組込まれることが多いことから、APOBEC3 による hypermutation が HPV 組込みに関わる可能性が考えられる。(若江亨祥[金沢大学医学部]、王　哲[金沢大学医学部]、関塚剛史、柊元　巌、村松正道[金沢大学医学部])

III. 病原性ウイルスのゲノム解析

1.　病原性ウイルスゲノム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。また、これまで遺伝子型などの情報が明示されていなかったエントリーに、遺伝子型などの情報を付加した。(横山勝、佐藤裕徳)

2.　ロタウイルスのゲノム解析

ウイルス二部の依頼を受け、共同で、2012 年に国内で発生した５歳未満のロタウイルス性急性胃腸炎入院事例について、計 128 事例の糞便試料中のロタウイルスの全ゲノム配列を取得した。ワクチン普及前の重症事例におけるロタウイルス遺伝子型の把握を試みている（中村浩美、藤井克樹[ウイルス二部]、片山和彦[ウイルス二部]、中込治[長崎大学]、中込とよ子[長崎大学]、佐藤裕徳)

3. ノロウイルスのゲノム解析

ウイルス二部の依頼を受け、共同で、2012 年末に、新潟、北海道、台湾で発生したノロウイルス性急性胃腸炎事例について、計１１事例の糞便試料中のノロウイルス全ゲノム配列を取得した。ゲノム全長の系統樹解析（NJ 法）により、北海道１事例、新潟４事例、台湾２事例（計７事例）のウイルスは GII.4 の単系統亜株（2007 年に大阪で流行した株に近い）であることがわかった。ノロウイルスの広域伝播能力が改めて示唆された。(中村浩美、田村務（新潟県保健環境科学研究所)、吉澄志磨（北海道立衛生研究所)、片山和彦[ウイルス二部]、佐藤裕徳)

IV. *in silico* 構造機能解析技術の応用研究

1.　HIV-1 gp120 分子モデルにより示唆される中和逃避メカニズム

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 全長分子モデルの構築を行い、V1/V2 ドメインと V3 の配

置、V3 と相関して運動する部位および三量体における V3 の配置について検討した。V1/V2 ドメインは gp120 外側ドメインのウイルス粒子外側を覆うように配置され、V3 は V1/V2 stem、V2 ループ、β20-β21 ループの近傍に配置されていた。V3 と相関して運動する部位を調べると、V3 の動きは V1/V2 stem、V2 ループ、β20-β21 ループの動きと相関していた。したがって、抗 V3 抗体による中和は、V1/V2 stem、V2 ループ、および β20-β21 ループの影響を受けると考えられる。最後に、三量体分子モデルにおける V3 の配置を調べると、V3 エピトープが三量体の中心に配置されていた。そのため、中和抗体は三量体では V3 エピトープにアクセスできないと考えられる。（横山 勝、佐藤裕徳）

2. HIV-2 CRF01_AB の C 末端ドメインはヒト TRIM5α 感受性に影響を与える

HIV-2 は、HIV-1 と比較して限定された地理的分布を示す。HIV-2 のサブタイプ間での組換えウイルスはほとんど観察されない。最近、日本における 3 人の HIV-2 の患者に免疫不全の急速な進行が見られた。これらの患者に感染しているウイルスは、サブタイプ A とサブタイプ B の組換えである CRF01_AB であった。この検出されたウイルスのカプシド蛋白質（CA）を評価した。HIV-2 CRF01_AB の CA は、A と B の両方とほぼ等しい遺伝的距離であり、抗ウイルス因子であるヒト TRIM5α に強力な耐性を示した。ヒト TRIM5α に対する耐性発現のためには、C 末端ドメインにおける HIV-2 CRF01_AB 特異的なアミノ酸置換が必要であることがわかった。これらの結果は、レトロウイルスは、CA の C 末端ドメインの残基での置換により、TRIM5α を回避することができることを示している。（横山 勝、中山英美[阪大微研], 伊部史朗[名古屋医療センター]、杉浦亙[名古屋医療センター]、塩田達男[阪大微研]、佐藤裕徳）

3. HIV-1mt の Gag-CA Q110D 変異によるサル細胞での TRIM5α 非依存的な増殖の促進

我々は、HIV-1/AIDS 発症霊長類モデル確立のため、サル細胞で効率良く増殖する HIV-1 の構築に取組んでいる。MN4S と MN5S は、サル細胞・個体での増殖効率が改善されたウイルスクローンである。アカゲザル由来 HSR5.4 細胞を用いて MN4S と MN5S の馴化を試みると、キャプシド（CA）のヘリックス 6（h6）に増殖適応変異 G114E が認められた。CA の構造解析により、さらなる増殖適応変異を検討すると Q110D を見出した。この Q110D を MN4S および MN5S に導入し、HSR5.4 細胞での増殖特性を調べると、Q110D は G114E よりもさらに増殖効率を増強した。しかし、Q110D 変異は抗 HIV-1 因子 TRIM5α を回避できていなかった。したがって、Q110D 変異は TRIM5α とは無関係にサル細胞におけるウイルス増殖を促進していると考えられる。（横山 勝、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大]、佐藤裕徳）

4. 新しい薬剤耐性変異を持つ B 型インフルエンザウイルス NA 蛋白質の構造解析

インフルエンザウイルス研究センターのサーベイランスで新規の耐性変異をもつ B 型インフルエンザウイルスを検出した。NA 蛋白質に P139S を持つ株はペラミビルとザナミビルに対して耐性を示し、E105K を持つ株はペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルの 3 薬剤に対して耐性を示した。E105K および P139S は B 型ウイルスの新たな NA 阻害薬耐性マーカーである。B 型の既知の NA 阻害薬耐性変異は、全て NA 活性部位に集中している。しかし、今回同定した 105、139 位のアミノ酸は活性部位から大きく離れていた。NA 蛋白質の機能的構造解析により、これらの変異は隣接するアミノ酸の立体配置に影響し、活性部位内のアミノ酸の配置を変化させ、NA 阻害薬との結合親和性の低下を招く可能性が示された。（横山 勝、藤崎誠一郎[インフルセンター]、小田切孝人[インフルセンター]、佐藤裕徳）

V. 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 WHO 指定バイオテロ病原体である *Bacillus anthracis* 炭疽菌、*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。

本年度は次世代シークエンサーによる解読リードを病院・地方衛生研究所等でも情報解析できるよう、ネットワーク経由で病原体鑑別するための情報解析パイプライン(Metagenomic Pathogen Identification pipeline for Clinical specimen: MePIC) を構築した。情報解析を習熟していない検査技師であっても簡単な講習会により利用できるよう利便性を考えて作成した。

（竹内史比古、関塚剛史、黒田誠）

VI. 細菌検査学上問題となる細菌のゲノム解析

Salmonella 属菌は、三類感染症に指定される *S.* Thphi

および *S.* Parathphi A と、細菌性食中毒を起こすものに大別される。*Salmonella* の細菌学的検査を行う上で、硫化水素の産生の有無による鑑別も行い、硫化水素非産生の代表例として、*S.* Parathphi A が上げられる。国内で細菌性食中毒を起こす *Salmonella* 属菌は、Enteritidis、Typhimurium、 Infantis 等の血清型が上位を占める。2010 年の群馬県内で生鶏肉から 47 株の *Salmonella* 属菌を分離した際、三株の *S.* Typhimurium および一株の *S.* Infantis の硫化水素非産生株が分離された。これら合計 4 株のゲノム解析を行い、配列公開されている株との比較解析を行った。その結果、硫化水素非産生 *S.* Typhimurium および *S.* Infantis は、既に公開されている血清型のそれぞれに高い相同性を示し、thiosulfate reductase subunit をコードする *phsA* 遺伝子が偽遺伝子していることが明らかとなった。更に、これら硫化水素非産生株全てに於いて、薬剤耐性遺伝子 bla_{CMY-2} を含む plasmid を有していた。硫化水素産生能の欠失は、薬剤耐性 *Salmonella* 属菌の誤同定に関わる可能性があることが示唆された。

（黒田　誠、関塚剛史、小笠原由美子、木村博一[感染症情報センター]、大石和徳[感染症情報センター] 、坂野智恵子[群馬県衛生環境研究所]、石岡大成[群馬県衛生環境研究所]、塚越博之[群馬県衛生環境研究所]、高田勇人[群馬県衛生環境研究所]、小澤邦壽[群馬県衛生環境研究所]）

VII. 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、本事例分離菌株の完全長ゲノム配列決定を行っている。現段階で、*stx2* ファージを除く λ ファージおよび保存性が高い paralog 遺伝子の箇所以外の gap closing まで行った。*stx2* ファージおよびその近傍の配列決定の結果、Stx2 ファージは O157 clade8 の TW14359 株と同様の位置に存在していたが、その配列構造は異なり、O103:H2 12009 株および O104:H4 2009EL-2071 株の Stx2 ファージに近縁の構造を示していた。また、検体中に存在する大腸菌系統群の population 解析を行うためのパイプラインを作製した。メタゲノム解読配列を用いて大腸菌の詳細な分類を行う際、BLAST 検索のみでは正確な分類が不可能である事が明らかとなり、各系統群に特有な SNP を有するリードのみを回収することで可能となった。その結果、本事例では 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 の解読リードは O157 のそれよりも 50～1,400 倍以上多く、主に O111 による事例であることが示唆された。また、患者血清中の O111 および O157 の抗体価を計測したところ、O111 抗体価は O157 抗体価よりも約 300 倍高かった。従って、本解析方法は、EHEC 食中毒事例糞便検体中の原因となる大腸菌の系統群を推測するのに有効である事が強く示唆された。

（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]）

VIII. 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／テトラサイクリン若しくはホスホマイシン／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。UC 患者 9 名の治療前、治療後の腸内フローラの比較解析を横断的に行った。その結果、治療前の細菌叢内で多数存在し、治療後に減少する細菌属が認められた。また、各個人の腸内細菌叢は、治療前後で大きく変動していた事が明らかとなった。

（関塚剛史、黒田　誠）

IX. 生鮮食品中に含まれる *Kudoa* 属の遺伝学的解析

ナナホシクドアの寄生するヒラメの生食により嘔吐・下痢が起こることは、疫学的に明らかであり、細胞や動物の実験からも裏付けられている。しかし、ナナホシクドアが消化器のどこでどのように作用して食中毒を引き起こすかについての細胞生物学的な機序は未解明である。解明の基盤を整えるために、クドアのゲノム解析を行っている。今年度は、新たにナナホシクドア 2 検体と *Kudoa neothunni* 1 検体について、次世代 DNA シーケンサを用いて配列解読を行った。核ゲノムの配列解析は、まだ進行中である。ミトコンドリアゲノムについては解読を完了し、ナナホシクドアの種内では塩基配列の 98～99%が同一であることを明らかにした。一方で、クドアの種間では遺伝子領域のみが保存されていた。これらの違いを

利用して産地の区別ができれば、疫学解析にも応用できる。ナナホシクドアについては、ゲノム配列解読に加えて、光学マッピングにより全ゲノム制限酵素地図を作成した。その結果、ゲノムサイズが 83 Mb で 3 本の染色体からなることが分かった。また、腸内でのナナホシクドアの振る舞いを解明するために、ヒト腸管培養細胞との接触により、ナナホシクドアの遺伝子発現がどう変化するかも解析した。17 の遺伝子グループで発現変動が観察され、heat shock protein などが経時的に増加していた。（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]）

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

川崎病患児の腸内や咽頭に内在するあらゆる病原体を網羅的に把握するため、８名の川崎病患児の微生物フローラ・メタゲノム解析を行った結果、川崎病急性期の腸内には Bifidobacterium 属が少なく患児毎にそれぞれ異なる特徴的な様相を呈していることが示唆された。特筆すべきこととして、複数の患児の急性期便からレンサ球菌属（*Streptococcus*）が相対的に多く検出された。特に患児 P7 からの検出率が際立って多く（細菌配列 1,906,171 reads のうち 1,463,295 reads（77%））、健常児の健全な腸内フローラとは明らかに異なる細菌フローラ組成であった。患児 P7 の急性期便からレンサ球菌の分離培養を試みたところ、通常の分離培養で使用される「PEA 血液寒天培地と好気培養」の組み合わせでは増殖が見られず、より栄養価の高い「チョコレート寒天培地と嫌気培養」の組み合わせで異なる７株のレンサ球菌を分離することができた。７株のゲノム解読を行い分子系統の結果、患児 P7 のレンサ球菌は、肺炎球菌 S. pneumoniae, 心内膜炎・化膿性疾患に関わる S. sanguinis に近い系統群に分類されることが分かった。（黒田　誠、関塚剛史、絹巻暁子「東京大」、片野晴隆[感染病理部]）

XI. 不明症例に係る網羅的病原体検索の行政・依頼検査への対応

所外から直接、もしくは感染研担当窓口にお問い合わせがあった不明症例の依頼検査について、計１５件の検査を行った。ワクチン接種後の副反応事例、高校生の寮食事による集団食中毒、数ヶ月継続する不明熱、サルモネラ疑いの食中毒、不明髄膜炎、壊死性皮膚膿瘍等を担当した。そもそも感染症であるかどうか疑わしい事例もあったが、集団食中毒事例では同一食材の喫食など疫学情報が明確であったため、該当する病原体候補を選別することができた。

（黒田　誠、関塚剛史）

XII. 所内ゲノムプロジェクト

H22, 23, 24 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 課題を遂行した。

- 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)の審査を開始した。(石井克幸、竹内隆正、松尾理加、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。HPV18 抗体国際標準品の制定にあたって、Expert Committee on Biological Standardization (ECBS)に提出されるドラフト作成に携わった。また HPV 抗体中和アッセイの多施設間での比較についての論文執筆に携わった。(柊元　巌)

発 表 業 績 一 覧

I. I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Nakao S, Mori S, Kondo K, Matsumoto K, Yoshikawa H, Kanda T. Monoclonal antibodies recognizing cross-neutralization epitopes in human papillomavirus 16 minor capsid protein L2. Virology, 434:110-117, 2012.

2) Kondo K, Uenoyama A, Kitagawa R, Tsunoda H, Kusumoto-Matsuo R, Mori S, Ishii Y, Takeuchi T, Kanda T, Kukimoto I. Genotype distribution of human papillomaviruses in Japanese women with abnormal cervical cytology. Open Virol J, 6: 277-83, 2012.

3) C. Eklund, O. Forslund, K. L.Wallin, T. Zhou, J. Dillner; WHO Human Papillomavirus Laboratory Network. The 2010 global proficiency study of human papillomavirus genotyping in vaccinology. J. Clin. Microbiol, 50(7):2289-98, 2012.

4) Ishii Y. Electron microscopic visualization of autophagosomes induced by infection of human papillomavirus pseudovirions. Biochem Biophys Res Commun, 433(4):385-9, 2013. [Epub PMID: 23537650]

5) Iijima S, Lee YJ, Ode H, Arold S, Kimura N, Yokoyama M, Sato H, Tanaka Y, Strebel K, Akari H. A Noncanonical mu-1A-Binding Motif in the N Terminus of HIV-1 Nef Determines Its Ability To Downregulate Major Histocompatibility Complex Class I in T Lymphocytes. J Virol. 86:3944-3951, 2012.

6) Sakuragi J, Ode H, Sakuragi S, Shioda T, Sato H. A proposal for a new HIV-1 DLS structural model. Nuc.Acids.Res. 40:5012-5022, 2012.

7) Kishida N, Fujisaki S, Yokoyama M, Sato H, Saito R, Ikematsu H, Xu H, Takashita E, Tashiro M, Takao S, Yano T, Suga T, Kawakami C, Yamamoto M, Kajiyama K, Saito H, Shimada S, Watanabe S, Aoki S, Taira K, Kon M, Lin JH, 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(6):897-908, 2012.

8) Yokoyama M, Naganawa S, Yoshimura K, Matsushita S, Sato H. Structural Dynamics of HIV-1 Envelope 1 Gp120 Outer Domain with V3 Loop. PLoS ONE, 7(5): e37530, 2012.

9) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. J Proteomics. 3;75(15):4863-4873, 2012.

10) Mori M, Matsuki K, Maekawa T, Tanaka M, Sriwanthana B, Yokoyama M, Ariyoshi K. Development of a Novel In Silico Docking Simulation Model for the Fine HIV-1 Cytotoxic T Lymphocyte Epitope Mapping. PLoS ONE 7(7): e41703, 2012.

11) Yokoyama M, Oka T, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Katayama K, Wakita T, Kanda T, Sato H. Structural Basis for Specific Recognition of Substrates by Sapovirus Protease. Front. Microbio. 3:312, 2012. (The first two authors contributed equally)

12) Ode H, Nakashima M, Kitamura S, Sugiura W, Sato H. Molecular dynamics simulation in virus research. Front Microbiol. 3:258, 2012.

13) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara1 S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, and Shioda T. The carboxyl-terminus of human immunodeficiency virus type 2 circulating recombinant form 01_AB capsid protein affects sensitivity to human TRIM5α. PLoS ONE 7(10): e47757, 2012.

14) Fujisaki S, Takashita E, Yokoyama M, Taniwaki T, Xu H, Kishida N, Sato H, Tashiro M, Imai M, Odagiri T. A single E105K mutation far from the active site of influenza B virus neuraminidase contributes to reduced susceptibility to multiple neuraminidase-inhibitor drugs. Biochem. Biophys. Res. Commun., 429:51-56, 2012.

15) Kubo Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N. Retrovirus entry by endocytosis and cathepsin proteases. Adv Virol. 2012:640894, 2012.

16) Kamiyama H, Kakoki K, Shigematsu S, Izumida M, Yashima Y, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Sano T, Shidoji Y, Kubo Y. CXCR4-tropic, but not CCR5-tropic, human immunodeficiency virus infection is inhibited by the lipid raft-associated factors, acyclic retinoid analogs, and cholera toxin B subunit. AIDS Res Hum Retroviruses. 29:279-88, 2013.

17) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A. Gag-CA Q110D mutation elicits

TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. Microbes Infect. 15:56-65, 2013. (The first two authors contributed equally)

18) Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A. Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. Microbes Infect., 15:319-328, 2013.

19) Sato H, Yokoyama M, Toh H. Genomics and computational science for virus research. Front. Microbio., 4:42, 2013.

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.

21) 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.

22) 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;12:72.

23) Katano H, Sato S, Sekizuka T, Kinumaki A, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Morikawa S, Saijo M, Mizutani T, Kuroda M. Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. Int J Clin Exp Pathol. 2012;5(8):814-23.

24) Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Noda M, Kimura H, Mizutani T, Kato T, Kawanami T, Ahiko T. Epidemic myalgia in adults associated with human parechovirus type 3 infection, Yamagata, Japan, 2008. Emerg Infect Dis. 2012 Nov;18(11):1787-93..

25) Matsuo J, Nakamura S, Ito A, Yamazaki T, Ishida K, Hayashi Y, Yoshida M, Takahashi K, Sekizuka T, Takeuchi F, Kuroda M, Nagai H, Hayashida K, Sugimoto C, Yamaguchi H. Protochlamydia induces apoptosis of human HEp-2 cells through mitochondrial dysfunction mediated by chlamydial protease-like activity factor. PLoS One. 2013;8(2):e56005. doi: 10.1371/journal.pone.0056005. Epub 2013 Feb 11.

26) Chieko Sakano, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Taisei Ishioka, Yukio Morita, Akihide Ryo, Hiroyuki Tsukagoshi, Yuko Kawai, Nobuko Inoue, Hayato Takada, Yumiko Ogasawara, Atsuyoshi Nishina, Masa-aki Shimoda, Kunihisa Kozawa, Kazunori Oishi, Hirokazu Kimura. (2012) Genetic analysis of non-hydrogen sulfide-producing Salmonella enterica serovar Typhimurium and Infantis isolates in Japan. *J. Clinical Microbio. 2013 Jan;51(1):328-30. doi: 10.1128/JCM.02225-12. Epub 2012 Nov 7.*

27) Mika Saitoh, Makoto Takeda, Koichi Gotoh, Fumihiko Takeuchi, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Katsumi Mizuta, Akihide Ryo, Ryota Tanaka, Haruyuki Ishii, Hayato Takada, Kunihisa Kozawa, Ayako Yoshida, Masahiro Noda, Nobuhiko Okabe, and Hirokazu Kimura. (2012) Molecular Evolution of Hemagglutinin (H) Gene in Measles virus Genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLoS One. 2012;7(11):e50660. doi: 10.1371/journal.pone.0050660. Epub 2012 Nov 29.*

28) Noriyuki Otsuki, Tsuyoshi Sekizuka, Fumio Seki, Kouji Sakai, Toru Kubota, Yuichiro Nakatsu, Surui Chen, Hideo Fukuhara, Katsumi Maenaka, Ryoji Yamaguchi, Makoto Kuroda, Makoto Takeda. (2012) Canine Distemper Virus with the Intact C Protein Has the Potential to Replicate in Human Epithelial Cells by Using Human Nectin4 as a Receptor. *Virology. 2013 Jan 20;435(2):485-92. doi: 10.1016/j.virol.2012.10.033. Epub 2012 Nov 19.*

2. 和文発表

1) 佐藤裕徳，横山　勝，本村和嗣．ノロウイルス流行の基礎知識と検査法．日本臨床，70(8)：1272-1275，2012.

2) 本村和嗣，横山　勝，岡智一郎，片山和彦，野田 衛，田中智之，佐藤裕徳 Norovirus Surveillance Group of Japan．ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ．感染症学雑誌，86：563～568，2012.

3) 黒田 誠　“遺伝子型別法・タイピング法”　臨床と微生物　39 巻増刊号：501-506　2012 年 10 月

4) 黒田 誠　“感染性腸炎”　臨床栄養～腸管と免疫・栄養～　vol.120(6)：711-716，2012 年 5 月

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Ishii Y, Nakahara T, Mori S, Takeuchi T, Kukimoto I, Kanda T. Identification of Trappc8 as a host factor that is required for human papillomavirus entry. The DNA Tumour Virus Meeting（2012 年 7 月、モントリオール）

2) Kukimoto I, Maehama T, Mori S, Kusumoto-Matsuo R, Kondo K, Sekizuka T, Kuroda M. A novel method to determine the full-genome sequence of human papillomavirus type 16 using full-circle PCR followed by deep sequencing. 28th International Papillomavirus Conference（2012 年 12 月、プエルトリコ）

3) Saito A, Kono K, Nomaguchi M, Yokoyama M, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Shioda T, Adachi A, Akari H, Nakayama EE. Genetic Diversity of *TRIM5* Gene and HIV-1 Susceptibility in Cynomolgus Macaque (*Macaca fascicularis*). Cold Spring Harbor Meeting, May 21-26, 2012, NY USA.

4) Makoto Kuroda. Fluctuating gut flora under infectious diseases. The 3rd International Forum The 98th General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology. April 19-21, 2012, Tokyo Japan.

5) Akiko Kinumaki, Tsuyoshi Sekizuka, Masaru Takamizawa, Takashi Igarashi, Makoto Kuroda. Longitudinal analysis of gut flora in Kawasaki disease patients using a next-generation DNA sequencing. Scientific conference: Exploring Human Host-Microbiome Interactions in Health and Disease. May 5-8, 2012. Cambridge UK.

6) Harutaka Katano, Kouta Sakamoto, Yuko Sato, Hideki Hasegawa, and Makoto Kuroda. Expression profiles of KSHV-encoded miRNAs in KSHV-associated diseases. 2012 International Congress on Oncogenic Herpesviruses and Associated Diseases. August 1-4, 2012. Philadelphia, Pennsylvania USA.

2. 国内学会

1) 森　清一郎、松尾理加、石井克幸、近藤一成、柊元　巌：Virus-like particle を用いた新たな HPV16/18 抗体価測定系の確立、第 60 回日本ウイルス学会学術総会（2012 年 11 月、大阪）

2) 石井克幸、中原知美、森　清一郎、竹内隆正、柊元　巌、神田忠仁：Trappc8 はヒトパピローマウイルスの侵入に必要な宿主蛋白質である、第 60 回日本ウイルス学会学術総会（2012 年 11 月、大阪）

3) 柊元　巌、前濱朝彦、松尾理加、関塚剛史、黒田誠：次世代シークエンサーによる HPV16 ゲノム解析、第 60 回日本ウイルス学会学術総会（2012 年 11 月、大阪）

4) 王　哲、喜多村晃一、若江亭祥、柊元　巌、小浦美樹、村松正道：Hypermutation of human papillomavirus 16 viral DNA by APOBEC3 proteins、第 60 回日本ウイルス学会学術総会（2012 年 11 月、大阪）

5) 石井克幸、中原知美、森　清一郎、竹内隆正、柊元　巌、神田忠仁：Trappc8 はヒトパピローマウイルス感染に必要な宿主蛋白質である、第 85 回日本生化学会大会（2012 年 12 月、福岡）

6) Wang Z, Kitamura K, Kukimoto I, Koura M, Muramatsu M. : Hypermutation of human papillomavirus 16 viral DNA by APOBEC3 proteins、第 30 回日本生化学会北陸支部大会（2012 年 5 月、金沢）

7) 佐藤裕徳、本村和嗣、横山　勝、椎野禎一郎、中村浩美、岡智一郎、片山和彦、野田　衛、田中智之、Norovirus Surveillance Group of Japan：パンデミックノロウイルスの変化の制約．第 60 回日本ウイルス学会学術集会．　2012 年 11 月 13-15 日（火-木）、大阪．

8) 横山勝、佐藤裕徳：分子動力学計算による HIV-1 gp120 の構造解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会．　2012 年 11 月 13-15 日（火-木）、大阪．

9) 本村和嗣、中村浩美、佐藤　彩、大出裕高、佐藤裕徳：次世代シークエンサーを用いた家族内感染例におけるノロウイルス準種解析．第 60 回日本ウイルス学会学術集会．　2012 年 11 月 13-15 日（火-木）、大阪．

10) 藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、谷脇妙、徐　紅、岸田典子、横山　勝、佐藤裕徳、江島美穂、金南希、佐藤　彩、土井輝子、伊東玲子、菅原裕美、田代眞人、小田切孝人：新しい薬剤耐性変異を持つ B 型インフルエンザウイルスの性状．第 60 回日本ウイルス学会学術集会．　2012 年 11 月 13-15 日（火-木）、大阪．

11) 高畑辰郎、横山　勝、佐藤裕徳、河合剛太、佐藤洋子、長谷川温彦、神奈木真理、増田貴夫：HIV-1 インテグラーゼの逆転写過程以前における機能を規定する N 末端ドメイン構造の解析．第 60 回日本

ウイルス学会学術集会.　2012 年 11 月 13-15 日（火-木)、大阪.

12) Arias Juan F、小山貴芳、岩部幸枝、横山勝、佐藤裕徳、長谷川秀樹、徳永研三：APOBEC3G による *Alu* 転移抑制の分子生物学的および構造学的解析. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会.　2012 年 11 月 13-15 日（火-木)、大阪.

13) 三好龍也、内野清子、本村和嗣、佐藤裕徳、田中智之：堺市におけるキメラ型ノロウイルスの検出状況. 第60回日本ウイルス学会学術集会.　2012 年 11 月 13-15 日（火-木)、大阪.

14) 櫻木淳一、大出裕高、櫻木小百合、塩田達雄、佐藤裕徳:HIV ゲノム RNA 二量体化シグナルの新規構造モデル. 第 60 回日本ウイルス学会学術集会. 2012 年 11 月 13-15 日（火-木)、大阪.

15) 横山　勝、佐藤裕徳：HIV-1 gp120 における V1/V2 ドメインと V3 ドメインの配置. 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会,　2012 年 11 月 24-11 月 26 日（土-月)、横浜.

16) 横山　勝、佐藤裕徳：HIV-1 gp120 分子モデルにより示唆される中和逃避メカニズム.　第 35 回日本分子生物学会年会､2012 年 12 月 11-14 日(火-金)、福岡.

17) 小山貴芳、Juan F Arias、横山　勝、佐藤裕徳、徳永研三：APOBEC3G の抗 *Alu* レトロ転移活性に寄与するアミノ酸の同定. 第35回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月 11-14 日（火-金)、福岡.

18) 長谷川紀子、小笠原由美子、関塚剛史、竹内史比古、黒田　誠。小児脳膿瘍から分離された *Streptococcus intermedius* TYG1620 のゲノム解析。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

19) 山口博之、松尾淳司、関塚剛史、黒田　誠、永井宏樹、杉本千尋。アメーバ共生難培養性細菌原始クラミジアの比較ゲノム解析。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

20) 小笠原由美子、関塚剛史、竹内史比古、黒田　誠。新規 Enterobacter sp. のゲノム解読と染色体性 ß-lactamase $bla_{\text{MIR-KINAN}}$ の解析。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

21) 関塚剛史、綿引正則、磯部順子、大西真、竹内史比古、佐多徹太郎、黒田誠。糞便メタゲノム解析による大腸菌のポピュレーション解析。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

22) 朝倉宏、関塚剛史、黒田　誠、山本茂貴、五十君靜信。我が国において流行を示す Campylobacter jejuni ST-4526 のゲノム特性。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

23) 水田克巳、黒田　誠、栗村正之、八幡芳和、関塚剛史、野田雅博、木村博一、水谷哲也、加藤丈夫、川並透。パレコーウイルス 3 型による成人の筋痛症の流行。第５３回臨床ウイルス学会（千里ライフサイエンスセンター、大阪市 2012 年 6 月）

24) 甲斐雅規、中田　登、松岡正典、関塚　剛史、黒田　誠、牧野正彦。Kyoto-2 株の全ゲノムシーケンスにより同定された SNPs 解析。第 85 回日本ハンセン病学会総会・学術大会(札幌市　2012 年 6 月）

25) 竹内史比古、関塚剛史、野崎智義、大西　真、小西良子、大西貴弘、黒田　誠。ナナホシクドアの退化したミトコンドリアゲノムが明らかにする、ミクソゾアの左右相称動物起源。日本進化学会第１４回大会（八王子市　2012 年 8 月）

26) 水田克巳、青木洋子、池田辰也、安孫子千恵子、阿彦忠之、野田雅博、木村博一、黒田　誠、関塚剛史、栗村正之、八幡芳和、水谷哲也、加藤丈夫、川並透。パレコウイルス 3 型による成人の筋痛症の流行。第６６回日本細菌学会東北支部総会(仙台市　2012 年 8 月）

27) 黒田　誠。ヒト・家畜・食品由来の ESBL 産生菌の変遷と世界各国の疫学状況。第５９回日本化学療法学会東日本支部総会（東京　2012 年 10 月）

28) 佐藤靖祥，小田智三，中山　整，奥野正孝，大場邦弘，黒田　誠。喀痰から Cedecea species が検出され，ゲノム解析から起炎菌は Enterobacter species であった肺炎の一例。感染症学会東日本地方会（東京　2012 年 10 月）

29) 絹巻暁子、関塚剛史、高見沢　勝、五十嵐　隆、黒田　誠。川崎病患児におけるフローラの経時的変動解析。第３２回川崎病学会（品川 2012 年 10 月）

30) 黒田　誠。メタゲノム解析の臨床応用と病原体候補の推定。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

31) 大屋賢司、黒田　誠、関塚剛史、安藤秀二、福士秀人。オウム病クラミジア特異的および動物クラミジアを広範に検出する LAMP 法の開発。第 86 回日本細菌学会（千葉市　2013 年 3 月）

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 24 年 6 月 1 日付で浅沼秀樹が第 6 室長に昇任し、平成 24 年 4 月 1 日に相内章、平成 24 年 12 月 1 日に浜本いつき、平成 25 年 3 月 29 日に高山郁代が各々任期付研究員から研究員に採用された。一方、平成 25 年 2 月 1 日付で川口晶が感染病理部第 3 室に配置換となった。

(H1N1)2009 パンデミック対応が一段落して、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推進した。平成 24 年夏には米国でブタ H3N2v ウイルスの流行が起こり、300 名以上の患者発生があった。パンデミックの可能性に対するリスク評価を行ない、これに対応して検査体制、ワクチン準備を進めた。

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、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。

国の新型インフルエンザ体制の基本対応の再構築のために、新型インフルエンザ等対策特別措置法、同政令の制定および行動計画、対策ガイドラインの改訂作業に協力した。

業　績

調査・研究

I. インフルエンザウイルスに関する研究

1. ブタ由来のA(H3N2)バリアント(A(H3N2)v)ウイルスに対する日本人の抗体保有状況に関する研究

2011年から2012年にかけて米国でブタ由来A(H3N2)vウイルスのヒト感染事例が急増し、本ウイルスによる世界的な流行が懸念された。本事例は米国各地における農業見本市でブタと濃厚接触した主に小児で発生したが、幸いヒトーヒト感染拡大には至っていない。しかし、散発事例の頻発が引き金となりヒト社会での流行拡大が起こった際には、わが国への波及は確実であり、その際はA(H3N2)v ワクチンの緊急製造、ワクチンの優先接種対象者の特定など接種戦略の緊急策定が必要になる。このため、事前に日本国民の A(H3N2)v ウイルスに対する抗体保有状況を把握することを目的に、各年齢層（1 歳～87 歳）総数 300 名について調査を行った。その結果、14 歳未満の年齢層には抗体がなく、A(H3N2)v ウイルスの流行が起こった場合は、この年齢層が流行の中心となり、ワクチンの優先接種対象者となることが明らかになった。本研究成果は、速やかに厚生労働省新型インフルエンザ対策会議、感染研新型インフルエンザ対策 WG、WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークで情報共有され、また、論文として投稿中である。［岸田典子、今井正樹、徐　紅、多屋馨子*、菅原裕美、伊東玲子、佐藤　彩、土井輝子、田代眞人、小田切孝人 : *感染症情報センター］

2. 孵化鶏卵馴化によって起こる変異の研究

MDCK 細胞分離の H3N2 ウイルスを発育鶏卵（卵）に馴化させた際に起こる HA 遺伝子変異と抗原性変化を解析した。解析した８株のうち、６株は HA 蛋白の 194 位のアミノ酸置換（L→P）、２株は 156 位のアミノ酸置換（H→R）をそれぞれ起こしていた。これらについて、８代目まで継代した株に対するフェレット抗血清を作製し、細胞分離の原株との間で HI 試験による抗原性解析を行った。卵馴化により獲得したこれら変異は、抗原性には反映されず、原株の抗原性を維持していた。この情報は、インフルエンザワクチン開発にとって有用情報となった。［徐　紅、藤崎誠一郎、土井輝子、佐藤　彩、金　南希、伊東玲子、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（T-705）が日本で承認申請され、現在審査が行われている。ファビピラビルはノイラミニダーゼを標的とする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となった。このため、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 A(H1N1)pdm09、A(H3N2)および B 型ウイルスを解析し、ファビピラビル耐性株のスクリーニングを行った。その結果、ファビピラビル投与後に薬剤感受性が低下したウイルスは検出されなかった。本研究成果は、WHO 抗ウイルス薬 WG 会議へ報告され海外委員と情報共有された。［高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、金　南希、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

昨年度に引き続き、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(Q138R, G140R)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 Q138R, G140R 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、横山　勝*、佐藤裕徳*、江島美穂、金　南希、佐藤　彩、田代眞人、小田切孝人：*病原体ゲノム解析研究センター]

5. リアルタイム RT-PCR 法を用いた薬剤耐性マーカー S247N 検出系の構築

A/H1N1pdm09 ウイルスの薬剤感受性マーカーである NA タンパク質の H275Y 変異と共に S247N 変異が加わると、ウイルスが劇的な薬剤耐性能を獲得することが報告された。この変異株が流行した際にスクリーニングを簡便に行えるよう、以前に構築した NA タンパク質の H275Y 変異検出法と同様、NA タンパク質の S247N 変異を迅速かつ簡便に検出できる方法をリアルタイム RT-PCR 法により構築した。［髙山郁代、中内美名、田代眞人、影山　努］

6. 呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系の構築

核酸増幅法として知られている RT-LAMP(Loop-Mediated Isothermal Amplification)法を用いて、インフルエンザウイルスを除く呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系を構築し、感染症診断に応用することを目的とした研究を行う。本年度は検出候補となるウイルスの選択と核酸増幅の標的となる遺伝子の決定、標的遺伝子部分を増幅させるプライマーセットの設計を行った。さらに、検出するウイルスの標的遺伝子を人工合成した陽性コントロールを作製し、設計したプライマーセットを用いて RT-LAMP 法による核酸増幅・検出を行ったところ、陽性コントロール核酸の増幅が確認された。以上の結果から、今回設計したプライマーセットは呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系として有用であることが示唆された。[高橋仁、髙山郁代、中内美名、永田志保、改田　厚*、久保英幸*、田代眞人、影山　努：*大阪市立環境科学研究所]

7. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製および反応性の検討

H5N1 インフルエンザ迅速診断法の構築などに応用するため、H5 HA 特異的なモノクローナル抗体を作製し、その反応性や特異性について検討を行った。H5 HA 特異的なモノクローナル抗体は、H5 HA で保存されており且つ立体構造の表面上に位置し抗原部位と成り得る領域を選定し、この部分の合成ペプチドをマウスに免疫して得た。得られた抗体クローンは H1 および H3 亜型ウイルス抗原に対して反応性を示さなかった。以上の結果から、今回得られた抗体クローンは H5 HA の保存されている領域を免疫原としていることから、H5N1 ウイルスの幅広いクレードの HA 抗原に対して反応性を示すと考えられる。また、H1 および H3 抗原に対しては反応性を示さなかったことから高い特異性を有していることも示唆された。[高橋　仁、髙山郁代、中内美名、永田志保、大西和夫*、小林美栄*、横田(恒次)恭子*、田代眞人、影山努：*免疫部]

8. H5N1 ウイルスの HA タンパク質を認識する抗体のエピトープ解析

H5N1 ワクチン株(NIBRG-14)を抗原として HA タンパク質を認識するモノクローナル抗体を作製し、この抗体を用いた新型インフルエンザワクチンの品質管理試験や新型インフルエンザ診断系構築への応用を行っている。作製した 3 種類のモノクローナル抗体と NIBRG-14 ウイルス株を混合し、培養細胞に感染させ、そこから産生されてくるエスケープミュータントウイルスの HA タンパク質の遺伝子解析を行い、それぞれの抗体が認識する HA タンパク質のアミノ酸部位（抗原エピトープ）を推定した。その結果、推定される部位は全て H5 HA タンパク質の表面上であり、抗体の種類により異なる２つの認識部位があることが示唆された。[高橋　仁、髙山郁代、中内美名、永田志保、河野直子、大西和夫*、小林美栄*、横田(恒次)恭子*、田代眞人、板村繁之、影山　努：*免疫部]

9. ヒト血清抗体による新型インフルエンザウイルス A/H1N1/pdm09 HA 抗原領域の認識機構の解析

2009 年 4 月にブタウイルスを起源とする A/H1N1pdm09 (新型ウイルス)によるパンデミックが発生した。新型ウイルスは、従来の季節性 A/H1N1 インフルエンザウイルス（季節性ウイルス）とは抗原性が異なるが、ヒトの血清抗体が、新型ウイルス主要抗原 HA(新型 HA)上のどこの抗原領域を認識するのかは、明らかにされていない。

そこで、新型ウイルスワクチン接種者（40 名）の血清抗体が認識する HA 上のエピトープ構造の詳細を解析した。その結果、調べた血清の約 70%が Ca2 あるいは Sa+Sb 領域に結合し、また約 50%の血清は複数の抗原領域に結合することが判明した。さらに、新型 HA に対するモノクローナル抗体エスケープ変異株 19 株に対する反応性を検討した結果、147 位、158 位、159 位の変異の影響を受ける血清が約 50%同定された。[中内美名、松﨑葉子*、菅原勘悦*、西村秀一**、田代眞人、信澤枝里　*山形大学医学部 **国立病院機構仙台医療センター]

10. 新型インフルエンザ A/H1N1pdm09HA の抗原構造の解析

新型インフルエンザ H1N1HA の抗原構造を明らかにする目的で、新型インフルエンザに対する中和抗体が認識するエピトープの同定を行った。A/Narita/1/ 2009 株を HA に対する 16 種類のマウス単クローン抗体存在下で培養し、各抗体に対するエスケープ変異株を 50 株ずつ、計 800 株分離した。得られたエスケープ変異株と各抗体との反応性を調べた結果、A/Narita/1/2009 の HA には中和抗体を産生する抗原領域が 4 つ存在していた。アミノ酸置換部位の解析から、3 つは H1HA の既知の抗原領域である Sa、Sb、Ca2 領域に相当し、新型 H1HA では Sa と Sb 領域が重なり合っていることが明らかになった。また、旧 H1N1 で 1997 年以降に欠失したアミノ酸残基が新型 H1HA の新たな中和エピトープになっている可能性が示唆された。[松﨑葉子*、菅原勘悦*、中内美名、高橋宜聖**、田代眞人、信澤枝里　*山形大学医学部、**免疫部]

11. 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継代し、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 は継代に伴い、HA 価の上昇とそれぞれの宿主における感染価（EID50 および TCID50）の増加が認められた。このとき鶏卵で継代した A/N は MDCK にも高い感染価を認めたが、MDCK で継代した A/N は鶏卵に対する感染価に変化がなかった。またマウスで継代した A/N は、マウスだけでなく、鶏卵と MDCK に対する高い感染価も認められた。遺伝子解析および抗原性解析を行った結果、鶏卵継代株は G155E および Q223R、MDCK 継代株では G155E および N355N/T、マウス継代株では N156D および D222G の変異が認められ、宿主の違いが HA 分子の変異にも影響が認められ、さらに全ての継代株に抗原性の著しい低下が認められた。HA 以外の分子における遺伝子解析でも株毎に多様な変異が認められており、この変異の増殖性に与える影響を検討している。[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]

II．インフルエンザワクチンに関する研究

1. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種により得られるヒト血清抗体に対する流行株の交叉反応性を調べることは、インフルエンザワクチンの有効性やワクチン株の変更の必要性を検討するうえで重要である。そこで、成人層および老人層の各群 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、菅原裕美、伊東玲子、佐藤　彩、土井輝子、菖蒲川由郷*、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. B 型インフルエンザワクチン株の開発に関する研究

現行のインフルエンザワクチンは、孵化鶏卵で増やしたウイルスから製造されている。しかし、ヒトから分離された季節性インフルエンザウイルスを孵化鶏卵で増殖させると抗原性が変化することが明らかにされている。B 型インフルエンザウイルスの場合、孵化鶏卵に馴化させるとヘマグルチニン（HA）蛋白質の 196 あるいは 197 番目の糖鎖結合部位に変異が入り、これによって糖鎖が欠失して抗原性が変化することが報告されている。本研究では、より効果的な B 型ワクチン株の選定と開発を目

的として、孵化鶏卵で継代しても HA の糖鎖が欠損せず元の抗原性が保持されているウイルス株を作製できる手法の開発を目指した。本年度は、2009/2010 シーズンにワクチン株に選定された B/Victoria 系統の B/Brisbane/60/2008 株から 197 番目のアミノ酸に糖鎖付加部位をもつ HA 遺伝子と NA 遺伝子をクローニングした。HA と NA 遺伝子が B/Brisbane/60/2008 由来で、残りの遺伝子が B/Yamagata/1/73 株由来のリアソータントウイルスを作製した。同様に、2012/2013 シーズンにワクチン株に選定された B/Yamagata 系統の B/Wisconsin/1/2010 株から 196 番目のアミノ酸に糖鎖付加部位をもつ HA 遺伝子と NA 遺伝子をクローニングし、リアソータントウイルスを作製した。これらのリアソータントウイルスを孵化鶏卵で継代したところ、1 代目で糖鎖欠損型の HA を持つウイルスに変化することがわかった。HA 蛋白質の 141 番目のアミノ酸をアルギニンに変えた B 型ウイルスは、孵化鶏卵で増殖させても HA 蛋白質の糖鎖が維持されることが示されている。今後は、141 番目のアミノ酸をアルギニンに変えた B 型ウイルスを、リバースジェネティクス法を用いて作製し、この組換えウイルスが孵化鶏卵で継代を重ねても糖鎖が安定的に付加されるのか否かを検討する。[今井正樹、岸田典子、佐藤　彩、伊東玲子、田代眞人、小田切孝人]

3. インドネシア国においてヒトから分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1)（クレード 2.1.3.2）の抗原解析

2011 年～2012 年インドネシアでヒトから分離された 4 株の高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)を、インドネシア国立保健研究開発研究所（NIHRD）より入手し [A/Indonesia/NIHRD11771/2011,A/Indonesia/NIHRD11931/2011,A/Indonesia/NIHRD11949/2012,A/Indonesia/NIHRD12379/2012]ウイルスを鶏卵で増殖の後、抗原解析を行った。分離ウイルスと同クレードの既存のワクチン候補株 A/Indonesia/5/ 2005 (IBCDC-RG2)に対するフェレット血清を用いて、HI 試験を行った結果、調べた 4 株に対する HI 価は、IBCDC-RG2 に対する HI 価より 8~16 倍低く、抗原変異が生じていることが示された。さらに、分離株のうち A/Indonesia/NIHRD11771/2011 に対するフェレット感染血清は、昨年度作製しており、この血清の IBCDC-RG2 及び A/Indonesia/5/ 2005 に対する反応性を HI 試験で調べた結果、ホモ価から 16 倍程度の差が確認され、近年インドネシアで流行している株は、既存のワクチン株からは､抗原的に離れていることが､確認され、WHO へ報告した。

[有田知子、白倉雅之、今井正樹、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人]

4. H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス (clade 2.1.3.2)の新たなワクチン株候補の作製

インドネシア国で現在流行している H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス株が、同クレードの既存ワクチン製造株である IBCDC-RG2 株とは、抗原性が異なることが明らかとなったため、IBCDC-RG2 株に代わるワクチン株の作出を行った。インドネシア国立保健研究開発研究所（NIHRD）から分与された高病原性鳥インフルエンザウイルスヒト分離株、A/Indonesia/ NIHRD11771/2011 を基に Reverse Genetics 法により、HA、NA 遺伝子が NIHRD11771 株由来､残りの遺伝子が PR8 株由来のリアソータントウイルス NIIDRG-9 を作出した。NIIDRG-9 HA の開裂部位は、遺伝子操作により、多塩基性アミノ酸配列を除き、低病原性株の配列とした。SPF 鶏卵で三代継代した株を用いて、ニワトリを用いた弱毒化確認試験、トリプシン依存性試験、フェレット抗血清の作製、抗原性、免疫原性の確認、遺伝子配列の確認を行い、CELD50, EID50 の測定を行った。各試験でワクチン株としての妥当性を確認した後、さらに SPF 鶏卵で継代し、四代継代株をワーキングストックとして、配布用に保存した。

[白倉雅之、有田知子、川口　晶、今井正樹、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人]

5. 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高増殖性株に匹敵する母体ウイルスの作製を試みた。検討対象として、

A/Udorn/1/73 株及び A/PR/8/34 株を用いて ATCC-MDCK 細胞における増殖性の検討を行った。その結果、A/Udorn/1/73 株は、ATCC-MDCK 細胞で 19 代継代した後もウイルス力価として平均 10^8 pfu/ml を維持し、A/PR/8/34 株も 10^9 pfu/ml を示した。今後、プラーク純化の後、母体ウイルスとしての有用性をリアソータントウイルスを作出して検討していく。

[川口　晶、信澤枝里、田代眞人]

6. 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、昨年に引き続き、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、2.2.2.1、2.3.2.1、2.3.4、7.1 に属する種株候補株 14 株に当室で作出した RG ワクチン株（クレード 2.1.3.2）を加えて、孵化鶏卵にウイルスを接種、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、既存の H5N1 ワクチン製造用種株候補ウイルスには、総タンパク収量、HA 収量が低い株が同定され、ワクチン製造用種株としての適正を検討する必要があった。特に、4 クレード (1, 2.2, 2.2.1, 7.1)に属するウイルスは、低い HA 収量を示したが、このうち、収量が最も低かった 2.2.1 に属するウイルスは、ウイルスの培養条件を検討することで、収量が約 2 倍増加し、改善が認められていた。今年度、新たに加えた NIIDRG−9 は既存の同クレードの株と HA 収量は同程度であったが、培養時間を 72 時間にすることで、約 1.5 倍の増加が認められた。

一方、HA 価で示されるウイルスの増殖性と、蛋白収量, HA 収量との間に相関関係はなかった。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]

7. 2012 年度 H5N1 備蓄ワクチン株選定資料の作成

(1)平成 24 年度 H5N1 備蓄ワクチン株の選定に際し、今年度、備蓄予定のチンハイ株と同じクレードのウイルスが、エジプトで流行しているため、ワクチン株が流行株をカバーできるのかの検討が必要になった。そのため、既存ワクチン接種者の免疫応答、ワクチン株の製造所での増殖性など、選定に必要な資料作成を行った。資料作成に際し、ワクチン製造用種株として扱うため、一部の法律の適用除外、またウイルスの製造所への分与に必要な手続き及び手続きの一部変更を下記のように行った。

1. 感染症法に基づく特定病原体からの除外の申請（厚労省）2. ナチュラルオカレンス株としての承認申請（当該事項の管轄を文科省から厚労省へ変更し、今後随時申請、検討が行えるようにした）3. 家伝法の家畜伝染病病原体からの除外申請。4.資料の提出に時間的制約があり、製造所での検討を、ワクチン株の家畜伝染病病原体からの除外の後に行うことは困難であったため、各製造所に家畜伝染病病原体の所持許可申請を農水省に対して行うよう指導した。さらに、H5N1 ワクチン株の掲示名称の統一化も行った。これまで、書類上あるいは各省のポジションペーパーに掲載されるワクチン株の名称に統一性がなく、不明瞭な点があった。今後、統一名称を用いて官報、ポジションペーパーに記載することとし、今回の備蓄候補株からは、厚労省、農水省の掲示は、統一名称が用いられる。[信澤枝里、田代眞人]

(2)選定資料作成に関して：チンハイ株ワクチン接種者の血清を用いて、同クレードの流行株（ワクチン株 4 株）との反応性の検討を行い、H24 備蓄ワクチン株選定の資料として供した。検討株候補に挙がった他クレード株と合わせて、抗原解析を行い、製造所へ分与する株の抗原性の確認を行った。[有田知子、白倉雅之、川口　晶、信澤枝里、田代眞人]

8. ワクチンシードウイルス分離用候補細胞より分離されたウイルスの遺伝的安定性確保に関する検討

昨年度までの解析により、ワクチンシードウイルス分離用候補細胞を用いて分離されたウイルスは、候補細胞での複数回の継代により高率に遺伝子変異を起こすことが明らかとなった。そこで、継代前に分離ウイルスのクローニングを行うことで、遺伝子変異が回避できるかを検討した。その結果、ウイルスクローニングを行った場合でも分離ウイルスの遺伝的安定性確保は困難であることが明らかとなった。[中村一哉、高橋　仁、原田勇一、板村繁之、田代眞人、山本典生]

9. 細胞培養型インフルエンザワクチン試作品の有効性の解析

国のパンデミック対策として新規インフルエンザワクチン開発・生産体制整備事業が進行中である。この事業の一環として試作された細胞培養型インフルエンザワクチンについて、マウスモデルを用いて有効性の評価を行った。ワクチンを接種されたマウスは血中にウイルス特異的抗体が誘導され、その後の致死性ウイルス感染からも生残したことから、試作ワクチンは一定の有効性を有することが明らかとなった。 [原田勇一、中村一哉、浜本いつき、浅沼秀樹、相内　章、田代眞人、山本典生]

10. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

細胞培養ワクチン用シードウイルスへの混入可能性が高いウイルス及びヒトに健康危害を起こすウイルスを選択し、定量 PCR を用いた迷入ウイルス検出系の開発に関する研究を行った。プライマー・プローブの標的配列に変異があると検出感度が低下するため、遺伝子データベースを利用して検出に適した遺伝子領域の選定を行い、この領域に対する定量 PCR 系の構築を進めた。
[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. 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からなる siRNA ライブラリーをスクリーニングした結果、IRF7 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、IRF7 に対する shRNA 発現安定細胞株を樹立し、H1N1、H1N1pdm09、H3N2、B 型ウイルスを感染させた結果、コントロール細胞と比較してウイルス増殖効率が約 2~8 倍まで上昇した。[浜本いつき、田代眞人、山本典生]

12. 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、GMP に準拠した条件下でマスターセルバンク、ワーキングセルバンク、及び EOPC の構築を行った。これらに対しがん原性試験等の安全性試験・特性試験を実施したが、特に問題点を認めなかった。以上から、この MDCK 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可能と考えられた。[山本典生、田代眞人]

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を構築し、従来から感染研にある MDCK 細胞(MDCK-C)と MDCK-NIID とで A/H3N2 ウイルス及び B 型ウイルスの分離効率、分離ウイルスの増殖性についての比較検討を行った。その結果、MDCK-NIID は MDCK-C と同等の良好なウイルス分離効率と増殖性を示した。[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. 母子免疫によるインフルエンザウイルス感染防御効果の解析

現行インフルエンザワクチンにより誘導される全身性のウイルス特異的 IgG 抗体応答に加えて、感染の場となる上気道粘膜上にウイルス特異的 IgA 抗体を誘導できる経鼻インフルエンザワクチンは、感染防御効果が高いことと考えられている。免疫機構が未成熟である乳幼児においては、ワクチン接種を行っても有効な抗体産生が誘導されにくいという問題点があり、効果的なワクチン方法が必要とされている。そこで本研究では、母親由来の抗体が新生児へ移行する母子免疫に注目し、母子免疫による感染防御効果に関してマウスを用いて検討した。A/Puerto Rico/8/34 (A/PR8、H1N1)の不活化ワクチンを経鼻あるいは皮下接種した雌 BALB/c マウスを雄マウスと交配し、産後母乳中に分泌される抗体応答を検討した。母乳中の抗体応答は、経鼻接種群では IgA 抗体が、皮下接種群では IgG 抗体が高い傾向にあり、産後に追加ワクチン接種を実施することで、さらにその抗体応答が増強することが明らかになった。母乳中の抗体応答は、産後 7 日目がピークとなるが、追加ワクチン接種を行うことで産後 14 日目においても高い IgG あるいは IgA 抗体応

答が維持されることが示唆された。授乳を受けた仔マウスの血中における特異的抗体は､授乳 14 日目に最も高いことが明らかになった。今後、仔マウスにおいて上昇した抗体によるインフルエンザウイルス感染に対する防御効果を検討する予定である。[相内　章、泉地恭輔 [研究生] *、鈴木忠樹*、浅沼秀樹、田村愼一＊、田代眞人、長谷川秀樹*：＊感染病理部]

15. 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①

経鼻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/201/09、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。血清あるいは鼻腔洗浄液中に誘導される HI 抗体あるいは中和抗体応答は､年齢が増すにつれて減弱する傾向にあり、男性より女性で高い傾向に有ることが明らかになった。また経鼻ワクチン接種後、健康調査票により報告された局所あるいは全身性の副反応をまとめたところ鼻水・鼻づまりが多く申告されたが、喘息発作やアナフィラキシーといった重篤な副反応は認められなかった。副反応スコアが高い被験者ほど、抗体応答が低くなる傾向が示唆された。今後、詳細に検討する必要がある。 [相内 章、田村愼一*､伊藤　良[研究生]､鈴木忠樹*､佐多徹太郎*、田代眞人、長谷川秀樹*: *感染病理部]

16. 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②

高病原性鳥インフルエンザウイルス A(H5N1)全粒子不活化ワクチン経鼻接種の有効性を、健康成人ボランティアを募った臨床研究により検討した。同時に、鼻腔粘膜上へ噴霧したワクチンの流動性を抑える粘稠剤添加による効果を比較検討した。成人ボランティア計 63 名に A/Indonesia/5/05 株由来の全粒子不活化ワクチン（IBCDC-RG2、45 μg HA/dose）を 3 週間間隔で 2 回経鼻接種し、血清中の中和抗体価を測定した。2 回のワクチン接種では、血清中における中和抗体価の幾何平均値（GMT）上昇率が低かったため、約 8 ヶ月後に追加ワクチン接種を実施した。この結果、血清中の中和抗体応答に 4 倍以上の陽転が認められ被験者の割合は約 85%となり、その GMT 上昇率は CVP 添加、非添加群でそれぞれ 33 倍、18 倍となった。免疫記憶の無い A(H5N1)ウイルスに対しても 3 回の経鼻ワクチン接種は有効であり、且つ粘稠剤の添加は抗体応答を増強させる効果があることが明らかになった。[相内 章、Elly van Riet、田村愼一*、鈴木忠樹*、伊藤　良[研究生]*、川口　晶*、池田千将[研究生]*、泉地恭輔[研究生]*、浅沼秀樹、佐多徹太郎*、田代眞人、長谷川秀樹*: *感染病理部]

17. 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 株および B 型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マウスに 2 回皮下接種後、A/H1N1pdm09 分離株で免疫した群では A/Narita 株を、B 型分離株で免疫した群では同型株を感染させ防御効果を検討した。その結果､A 型 B 型ともに鶏卵ないしは MDCK で作製したワクチンを接種した群に高い防御効果が認められ、細胞培養による防御効果に対する影響は認められなかった。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 試験を同一のヒツジ血清で行った場合には、A 型 B 型ともに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。 [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]

18. インフルエンザワクチン種株の選定基準に関する検

討

インフルエンザワクチンを製造するための種株を選定する基準を、各ウイルス分離株のフェレットに対する免疫誘導能を基に構築することを目的とし、ヒト臨床検体からのウイルス分離と性状解析を行い、感染に用いるウイルス株を選択した。簡易検査で A 型陽性、PCR で H3 型陽性の鼻腔スワブより MDCK を用いて 48 検体からウイルス分離を試みたところ、45 株の分離に成功した。これら分離株を８代継代し、HA 価の推移を検討したところ、ほとんど変化は認められなかった。そのため、高い HA 価を示した３株および低い HA 価を示した３株、計６株のタンパク定量および HA 含有量を定量したところ、HA 価が異なるにも関わらず、タンパク量および HA 含有量の株間の差異はほとんど認められなかった。そのため、HA 価の高い株および低い株、それぞれ１株ずつ選択し､フェレットに感染させ､抗体応答を検討している。[浅沼秀樹､高橋　仁､佐藤佳代子､相内　章､山本典生、許斐奈美*、田代眞人：*日大・医]

19. インフルエンザ製造株のアミノ酸変異による抗原蛋白経時安定性への影響

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、カナダやオーストラリアでワクチン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ワクチン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て、これまでに、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製造されたワクチンの SRD 力価の経時安定性や、ワクチンの主要有効成分である HA 蛋白のアミノ酸変異について調べ、X-179A 株で HA 蛋白の N129D アミノ酸変異したワクチンは SRD 力価安定性が上昇している可能性を見いだした｡本年度は、X-179A 株の SRD 力価安定性に関わる要因を、発育鶏卵継代により HA 蛋白にどのようなアミノ酸変異が導入されるか、更に HA 以外の遺伝子構成による影響や蛋白凝集の点から検討したところ、X-179A 株の鶏卵馴化で起こった N129D アミノ酸変異が主要因として HA 抗原蛋白の経時安定性上昇に寄与したと示唆された。以上から、ウイルス株によってはワクチンの安定性が 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*、藤崎誠一郎、板村繁之、田代眞人：*血液・安全性研究部]

20. インフルエンザワクチンの種類の違いによる免疫応答の違いに関する研究

インフルエンザ全粒子ワクチンおよびスプリットワクチンの性状・形状の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。本年度、全粒子ワクチン及びスプリットワクチンにより誘導された抗体の質を詳細に解析し、全粒子ワクチンにより誘導された抗体は avidity の高い抗体であり、サブクラスとしては IgG2a が主になっていることが分かった。また抗血清移入実験により、全粒子ワクチンにより誘導された抗体は防御効果が高いことを確認した。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ウサギ免疫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て、70 カ所の地衛研に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地衛研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衛研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. フェレット抗血清を用いたサーベイランスキット作

製と海外への配布

A(H1N1)pdm09 卵分離株および A(H3N2)、B/Victoria 系統、B/Yamagata 系統の各細胞分離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 15 キット作製し、亜型同定と初期抗原性解析用インフルエンザウイルスサーベイランスキットとして、わが国周辺諸国（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初期解析されたウイルスの提供を受け、それらについて詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行い、WHO および国内向けワクチン株選定会議へ情報提供した。[徐紅、岸田典子、藤崎誠一郎、高下恵美、今井正樹、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、佐藤彩、金　南希、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

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－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３年目を迎えた。今年度は、第２回目 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、EQA の全国展開へ向けた最終確認と全国地衛研（79 ヶ所）における PCR 検査、株サーベイランス体制の実情把握を目的としたアンケート調査を実施した。[小田切孝人、影山努、高下恵美、中内美名、高山郁代、高橋　仁、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. 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/Victoria/361/2011(IVR-165)(H3N2) 、 B/Texas/6/2011 、B/Hubei-Wujiagang/158/2009(BX-39)、B/Wisconsin/1/2010(BX-41A) 、 B/Wisconsin/01/2010-cell derived 、A/Minnesota/11/2010(X-203)(H3N2v) 、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]

5. 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 24 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/361/2011 （IVR-165)(H3N2)、B/Wisconsin/01/2010(BX-41A)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]

6. 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. 2012/13 シーズン国内株サーベイランス

全国の地衛研より、A(H1N1)pdm09 は 93 株、A(H3N2)は 282 株、B/Yamagata 系統は 183 株、 B/Victoria 系統は 129 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。2012/13 シーズンの流行の主流は A(H3N2)ウイルスであった。B 型ウイルスでは Yamagata 系統株と Victoria 系統株の流行の割合は 2:1 であった。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)分離株の 99%がワクチン株の A/Victoria/361/2011 に類似していた。Yamagata 系統についてもワクチン株 B/Wisconsin/01/10 から抗原性の変化はなかった。ビクトリア系統は 2 シーズン前のワクチン株 B/Brisbane/60/08 と抗原性の類似した株が大勢を占めた。[岸田典子、徐紅、今井正樹、藤崎誠一郎、高下恵美、菅原裕美、佐藤　彩、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金　南希、小田切孝人、田代眞人]

2. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

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。そこで我々は全国地衛研と共同で、日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施している。2011/12 シーズンには、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビルおよびラニナミビルの 4 薬剤を対象として、A(H1N1)pdm09 分離株 9 株、A(H3N2)分離株 290 株、B 型分離株 263 株を解析した。その結果、A(H3N2)ウイルスで、NA 蛋白に R292K 変異をもつ耐性株が 1 株検出された。R292K 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著しく低下し、ザナミビルおよびラニナミビルに対しても感受性の低下が認められた。R292K 耐性変異株は薬剤投与例から検出されており、地域への感染拡大は確認されていないが、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、NESID（感染症サーベイランスシステム）を通して毎週、各関係機関に情報提供した。また感染症疫学センターの IASR ウェブサイトにおいて随時一般公開し、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 世界インフルエンザ監視対応システム（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、小田切孝人、田代眞人]

3. 2012/13 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、全国の地衛研、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、HA 遺伝子系統樹上で A197T を持つクレード 7、または D197N, S185T を持つクレード 8 に属していた。A(H3N2)亜型は、HA 遺伝子系統樹上で全ての株が、今シーズンのワクチン株 A/Victoria/361/2011 で代表されるクレード 3C (S45N, T48I, A198S, N312S)に属した。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 1A(N75K, N165K, S172P)に属した。山形系統は、多くの株がクレード 2 (P108A, S229G)に属しており、一部の株は今シーズンのワクチン株 B/Wisconsin/01/2010 に代表されるクレード 3 (S150I, N165Y, S229D)に属した。NA 解析では、A(H1N1)pdm09 亜型 2 株からオセルタミビル耐性変異 H275Y を検出したが、A(H3N2)亜型および B 型分離株からは薬剤耐性アミノ酸置換は検出されなかった。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 へ登録されている。[藤崎誠一郎、金　南希、佐藤　彩、伊東玲子、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、土井輝子、江島美穂、今井正樹、小田切孝人、田代眞人: ＊独立行政法人製品評価技術基盤機構]

4. 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 188 株（中国 55 株、台湾 38 株、ミャンマー25 株、ラオス 32 株、ネパール 30 株、モンゴル 8 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。大多数の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 型、A(H1N1)pdm09 という状況であった。A(H3N2)ウイルスは A/Victoria/361/2011 参照株の血清に対する反応が 4 倍低下した株が増加傾向にあった。B 型ウイルスでは、ビクトリア系統と山形系統が混合流行し、前者は B/Brisbane/60/2008 類似株が、後者は B/Wisconsin/1/2010 類似株が主流であった。A(H1N1)pdm09 株は、ワクチン株である A/California/07/2009 類似株であった。これらの解析結果は、ウイルス提供国へ還元され、近隣諸国と感染研の連携による WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークおよび WHO インフルエンザワクチン株選定に貢献した。[徐　紅、岸田典子、藤崎誠一郎、高下恵美、今井正樹、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、佐藤彩、金　南希、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

5. 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 6 カ所の地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査を行った。本年度は、3 件 6 株の分離報告があり、H1N1 及び H4N1 亜型の A 型インフルエンザウイルスをライブラリーに追加保存した。［髙山郁代、影山　努、田代眞人］

6. 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 件 3 株の 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/H1N2 亜型のブタインフルエンザウイルス(２株)である事が判明し、遺伝子解析の結果、HA、NP 遺伝子は、H1 亜型ブタインフルエンザウイルスに、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、その他の遺伝子は A/H1N1pdm09 亜型に由来することが明らかとなり、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。また、もう 1 件は、A/H1N1pdm09 亜型に由来したウイルス(１株)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。［髙山郁代、高橋仁、影山努、田代眞人］

7. ヒトから分離された H5N1 インフルエンザウイルスの解析

2012 年にインドネシアでヒトから分離された 3 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、影山努]

品質管理に関する業務

1. 外部精度管理試験（EQA）の実施

全国 11 ヶ所のコア・サポートの地方衛生研究所（地衛研）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 EQA の第 2 回目を実施した。これは、前年度に実施した EQA の成績をもとに個々の地衛研で精度改善策を行った検査系に対する確認試験となった。2 度の EQA を実施することにより、各地衛研での RT-PCR 検査精度が格段に向上することが示されたことから、EQA プロジェクトを全国地衛研へ展開することにより、全国的な検査レベルの向上が期待できる。次年度には全国地衛研での EQA が計画されている。［影山　努、髙山郁代、高橋　仁、中内美名、永田志保、高下恵美、小田切孝人］

2. GMP 管理区域内における新型インフルエンザワクチン候補株作製のための文書整備。

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。昨年度までに、ニワトリを用いた弱毒化確認試系の確立を行っており、この系を用いて、今年度、新たに作出した H5N1 Clade 2.1.3.2 のワクチン候補株 A/Indonesia/NIHRD11771/2013(H5N1)(NIIDRG-9) の弱毒化確認試験を行った。 試験は、コントロールとして強毒株も、用いており、弱毒化確認試験手順、記録文書を実際の試験に即した形に変更、整備した。[川口晶、有田知

子、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人]

3. 季節性インフルエンザワクチン製造用種株候補の増殖、検討、交付

2013/2014 シーズン用ワクチン株を選定するため、候補株を輸入し、GMP 準拠施設内で、マスタ-ストックおよびワーキングストックを作製、保存した。ワクチン製造所で増殖性の検討を行うため、H3N2 亜型は 5 株を試験交付し、B 型は、2 株を仮交付し、得られた資料を 2013/2014 シーズン用ワクチン株選定に供した。[川口 晶、有田知子、白倉雅之、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人]

4. プレパンデミックワクチン製造候補株の輸入、増殖、検討。

インフルエンザワクチン製造用種株候補ウイルス [A/Egypt/NO3072/2010 (H5N1)(IDCDC-RG29), A/Chicken/HongKong/G9/97 (H9N2) (NIBRG-91)]を輸入し、GMP 準拠施設内で、マスターストックおよびワーキングストックを作製、遺伝子解析、抗原解析により、遺伝的、抗原的に輸入株と同等であることを確認後、保存した。[有田知子、川口 晶、白倉雅之、浅沼秀樹、信澤枝里、田代眞人]

5. 細胞培養型インフルエンザワクチンシードウイルス開発のための GMP 関連文書整備

細胞培養型インフルエンザワクチンシードウイルス開発の一環として、GMP 管理下におけるワクチンシードウイルス作製体制を整える必要がある。本年度は GMP 管理に必要な文書整備のため、培養細胞の保管・出庫に関する手順書等の作成を行った。[原田勇一、中村一哉、浜本いつき、白倉雅之、高橋 仁、信澤枝里、板村繁之、田代眞人、山本典生]

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、4 メーカー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条件検討を実施した。その結果、現行の 20-50(w/w%)から 20-50(w/v%)に変更することで、全粒子ワクチンとスプリットワクチンを区別可能になることを確認した。[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：*細菌第二部、**バイオセーフティ管理室、***動物管理室]

9. 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

2012-13 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/H3N2 亜型 5 株の試験交付、A/H3N2 亜型, B 型仮交付株のべ 6 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。解析結果は、インフルエンザワクチン株選定のための検討会議等を通じて関係各機関と情報を共有した。[原田勇一、河野直子、佐藤佳代子、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、佐藤　彩、信澤枝里、小田切孝人、板村繁之、田代眞人]

10. 新規インフルエンザワクチンの承認前検査の実施

製造販売承認申請のあった新規インフルエンザワクチンについて、承認前検査として当該製剤の試験検査を実施し、試験担当部室の試験成績も含めて報告書を作成した。[原田勇一、嶋崎典子、高橋　仁、佐藤佳代子、板村繁之、田代眞人]

国際協力関係業務

1. WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークにおける流行株の２次元的抗原性分析プログラムへの参加

WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークメンバーである Cambridge 大学グループが開発した２次元的ウイルス抗原性分析法（Cartography 法）を用いて、国内分離株 764 株(H3:360 株、B 型:372 株、H1N1pdm09:32 株)の抗原解析データおよび 455 株(H3:212 株、B:219 株、H1N1pdm09:24 株)のシーケンス成績を Cambridge 大学へ提供した。これらの成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定に活用された。[徐紅、岸田典子、藤崎誠一郎、高下恵美、今井正樹、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、佐藤　彩、金　南希、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

2. 世界インフルエンザ血清疫学専門家会議への参画

2009 年の H1pdm09 ウイルス流行時の血清疫学調査で各ラボが行った血清疫学調査の手法が統一されていなかったため、解析結果の横並びでの比較が困難であった。そこでインフルエンザ血清疫学調査手法を標準化するため CONSISE(the consortium for the standardization of influenza epidemiology)が結成された。中和試験を用いて血清学的調査を行う場合の手技の統一を図るため、CONSISE に参加するラボ間で中和試験法を統一し、その方法に従って各ラボが試験を行った。2012 年 1 月 22 日-23 日に香港で開催された第３回世界インフルエンザ血清疫学専門家会議で他の参加者と共に各ラボから出された結果を比較し、具体的な改善策について議論した。[岸田典子、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の作成

WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークの抗インフルエンザ薬耐性ワーキンググループのメンバーとして、2012 年 6 月に WHO 本部で開催された会議に出席し、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を行った。指針は世界各国の WHO ナショナルインフルエンザセンター（NIC）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、2012 年 11 月に WHO ウェブサイトにおいて公開された。［高下恵美、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画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(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している。感染研を含め各国の GISAID 技術者が GISAID 利用上の問題点、要望などを定期的に提示し、これに基づいて GISAID 機能のアップデートが順次進められている。[藤崎誠一郎、小田切孝人、田代眞人]

5. WHO 関連会議および WHO インフルエンザワクチン株選定への参画

2 月に WHO ジュネーブ本部、9 月に中国 CDC で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海外の WHO インフルエンザ協力センター

と共に行った。また、５月下旬にベトナムハノイ市で開催された 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を総括し報告した。[小田切孝人、今井正樹、岸田典子、徐　紅、高下恵美、藤崎誠一郎、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、佐藤　彩、金　南希、小口晃央＊、山崎秀司＊、藤田信之＊、田代眞人：＊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. 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 24 年 10 月 15 日～23 日、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、遺伝子解析方法等に関する研修を行った。[影山　努、髙山郁代、高橋　仁]

7. 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研修会「Influenza virus training course in Tay Nguyen (2012 年 11 月 21 日～23 日)」を開催し、インフルエンザウイルスのウイルス遺伝子解析に関する技術支援を行うとともに、各研究所における鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析に関する情報共有を行った。 また、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、実験室検査の詳細および地方との連携等について協議し問題解決に向けた助言を行った。[影山　努]

8. ベトナムパスツール研究所における薬剤サーベイランス技術指導

WHO/WPRO により招待され、ベトナム国ホーチミン・パスツール研究所において抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスに関する講義および技術指導を行った。[白倉雅之、田代眞人]

9. PIPBM 対象ウイルスの分与と WHO への報告

Pandemic Influenza Preparedness の対象となるウイルスに対する分与依頼に対応した。WHO の PIP フレームワークに則り、分与依頼者に対しては、SMTA2 の主旨の説明と締結を促し、ウイルス分与後は、IVTM に登録を行った。

[信澤枝里、田代眞人]

10. 細胞培養法による種ウイルスの製造と、鶏卵培養法によるワクチン大量製造への応用に関する国際共同研究への参画

現在、国内外で細胞培養ワクチンの実用化が進められているが、少なくともしばらくの間は鶏卵培養法によるワクチン製造も並行して行われると考えられる。従って、細胞培養法により製造された種ウイルスが鶏卵を用いた大量製造法に使用可能かどうかを検証することは重要であり、多くの国の国立研究機関やワクチンメーカーによる国際共同研究が行なわれている。当センターもこの共同研究機関の一員として参画し、情報の共有を行った。[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]

11. WHO インフルエンザワクチン開発に関する国際会議への出席

平成 24 年 1 月 24 日～26 日に香港で開催された The First WHO Integrated Meeting on development and clinical trials of influenza vaccines that induce broadly protective and long-lasting immune responses に参加し、経鼻インフルエンザワクチンに関するこれまでの成果を発表すると同時に意見交換を行った。[相内 章、長谷川秀樹*、田代眞人: *感染病理部]

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。また、WHO 主催によるワクチン製造所と ERL を含む関係者の電話会議に参加して情報提供を行った。［板村繁之］

研修業務

1. インフルエンザの実験室診断についての研修

ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Hygiene and Epidemiology, NIHE）から研究員 2 名を平成 24 年 10 月 22 日から 11 月 2 日まで受け入れ、インフルエンザウイルスの分離･培養で使われる MDCK 細胞の維持管理法やウイルスの分離法など、インフルエンザ株サーベイランス、遺伝子検査などに関する技術研修を行なった。[今井正樹、徐　紅、岸田典子、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、小田切孝人、田代眞人]

2. 平成 24 年度国立感染症研究所医師卒後臨床研修および連携市民セミナーでの研修

7 月 3 日に感染研で実施された連携市民セミナーおよび10月24日に実施されたH24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］

3. 平成 24 年度ウイルスコースにおける赤血球凝集抑制試験のための技術研修

平成24年10月17日にウイルスコースに招聘された地衛研職員に赤血球凝集抑制試験について技術研修を行った。[小渕正次＊、今井正樹、岸田典子、伊東玲子：＊富山県衛生研究所]

4. 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 16 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、リアルタイム RT-PCR 検査を中心とした A 型インフルエンザウイルスの亜型同定法および検査における精度管理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、髙山郁代、高橋　仁］

5. 地方衛生研究所への高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)同定技術研究会の実施

全国 76 カ所の地方衛生研究所の検査担当職員を感染研に招聘し、リアルタイム RT-PCR 検査を中心としたインフルエンザウイルスの亜型同定法および検査における精度管理に関する診断検査技術研究会を開催した。また、高病原性鳥インフルエンザウイルス(H5N1)同定時に、陽性コントロールのコンタミネーションを区別することができるマーカー入りの H5N1 検出用陽性コントロールおよび陽性コントロール識別用プローブの配布を行った。研究会では、各所で実施している検査方法について全体討議や個別相談を行い、連携の強化が図られた。[影山努、髙山郁代、高橋　仁、白倉雅之、中村一哉、小田切孝人、今井正樹、岸田典子、藤崎誠一郎、高下恵美、徐　紅］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) N. Kishida, S. Fujisaki, M. Yokoyama, H. Sato, R. Saito, H. Ikematsu, H. Xu, E. Takashita, M. Tashiro, S. Takao, T. Yano, T. Suga, C. Kawakami, M. Yamamoto, K. Kajiyama, H. Saito, S. Shimada, S. Watanabe, S. Aoki, K. Taira, M. Kon, J. Lin and T. Odagiri, Evaluation of influenza A/H3N2 and B vaccines on the basis of cross-reactivity of post-vaccination human serum antibodies against influenza A/H3N2 and B viruses isolated in MDCK cells and embryonated hen eggs.Clinical and Vaccine Immunology. Vol.19, No.6, June 2012

2) S.Fujisaki, E.Takashita, M.Yokoyama, T.Taniwaki, H.Xu, N.Kishida, H.Sato, M.Tashiro, M.Imai and T.Odagiri. A single E105K mutation far from the active site of influenza B virus neuraminidase contributes to reduced susceptibility to multiple neuraminidase-inhibitor drugs. Biochemical and biophysical research communications, 429,51-56,2012

3) E.Takashita, Y.Muraki, K.Sugawara, H.Asao, H.Nishimura, K.Suzuki, T.Tsuji, S.Hongo, Y.Ohara, Y.Kawaoka, M.Ozawa

and Y.Matsuzaki. Intrinsic temperature sensitivity of influenza C virus hemagglutinin-esterase-fusion protein. Journal of Virology, 86,13108-13111,2012

4) Western Pacific Region Global Influenza Surveillance and Response System. Collaborators; Ian Barr, Aeron Hurt, Anne Kelso, Patrick Reading, Seng Ly, Heng Seng, Philippe Buchy, Sam An Ung, Yuelong Shu, Cuiling Xu, Zhen Xu, Dayan Wang, Mike Kama, Prem Singh, Seiichiro Fujisaki, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Sibounhom Archkhawongs, Bouaphanh Khamphaphongphanh, Phengta Vongphrachanh, Chong Chee Kheong, Norizah Ismail, Alexanderyn Burmaa, Badarchiin Darmaa, Pagbajabyn Nymadawa, Jean-Paul Grangeon, Ann-Claire Gourinat, Qiu Sue Huang, Liza D Lopez, Juan M Lopez, Remigio M Olveda, Vito Roque, Lance Jennings, Chun Kang, Cui Lin, Raymond Lin, Wen Sim Nancy Tee, Amanda Balish, Andrew Corwin, Bryan K Kapella, Paul Kitsutani, Jeffrey McFarland, Ann Moen, Xiyan Xu, Vu Mai Hoang, Ngoc Long Long, Le Quynh Mai, Le Khanh Hang Nguyen, Hoang Anh Nguyen, Thanh Long Nguyen, Thu Ngoc Nguyen, Nima Asgari, Akanisi Dawainavesi, Emma Jane Denehy, Maria Nerissa Dominguez, Mendsaikhan Jamsran, Takeshi Kasai, Jacob Kool, Hannah Lewis, Dapeng Luo, Babatunde Olowokure, Jeffrey Partridge, Boris Pavlin, Gina Samaan, Harpal Singh, Reiko Tsuyuoka, Apaitia Vakacegu, Wenqing Zhang. Epidemiological and virological characteristics of influenza in the Western Pacific Region of the World Health Organization, 2006-2010. PLoS One, 7:e37568, 2012

5) Takayama I, Nakauchi M, Fujisaki S, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T. Rapid detection of the S247N neuraminidase mutation in influenza A(H1N1)pdm09 virus by one-step duplex RT-PCR assay. J Virol Methods. 2013;188(1-2):73-5.

6) Imai M., Watanabe S. and Kawaoka Y. The Cytoplasmic Tail Domain of Influenza B Virus Hemagglutinin Is Important for Its Incorporation into Virions but Is Not Essential for Virus Replication in Cell Culture in the Presence of Compensatory Mutations. J Virol 86: 11633-11644, 2012.

7) Kazuo Ohnishi, Yoshimasa Takahashi, Naoko Kono, Noriko Nakajima, Fuminori Mizukoshi, Shuhei Misawa, Takuya Yamamoto, Yu-ya Mitsuki, Shu-ichi Fu, Nakami Hirayama, Masamichi Ohshima, Manabu Ato, Tsutomu Kageyama, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Kazuo Kobayashi, Shigeyuki Itamura, and Yasuko Tsunetsugu-Yokot. Newly Established Monoclonal Antibodies for Immunological Detection of H5N1 Influenza Virus. Jpn.J.Infect.Dis. 65: 19-27 (2012)

8) 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 Res. 94(2):139-46 (2012)

9) 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. 16;7(3): 552-62 (2012)

10) 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)

11) Klimov AI, Garten R, Russell C, Barr IG, Besselaar TG, Daniels R, Engelhardt OG, Grohmann G, Itamura S, Kelso A, McCauley J, Odagiri T, Smith D, Tashiro M, Xu X, Webby R, Wang D, Ye Z, Yuelong S, Zhang W, Cox N; Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Southern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2012. WHO recommendations for the viruses to be used in the 2012 Southern Hemisphere Influenza Vaccine: Epidemiology, antigenic and genetic characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from February to September 2011. Vaccine. 30(45):6461-71 (2012)

12) Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious

clone. J Virol. 86(19):10805-10820, 2012

13) Uchida Y, Suzuki Y, Shirakura M, Kawaguchi A, Nobusawa E, Tanikawa T, Hikono H, Takemae N, Mase M, Kanehira K, Hayashi T, Tagawa Y, Tashiro M, Saito T. Genetics and infectivity of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses isolated from chickens and wild birds in Japan during 2010-2011. Virus Research, 170 (1-2), 109-117, 2012

14) Shirakura M, Kawaguchi A, Tashiro M, Nobusawa E. Composition of Hemagglutinin and Neuraminidase Affects the Antigen Yield of Influenza A(H1N1)pdm09 Candidate Vaccine Viruses. Jpn J Infect Dis, 66, 65-68, 2013

15) Hamamoto I, Takaku H, Tashiro M, Yamamoto N.
High yield production of influenza virus in Madin Darby canine kidney (MDCK) cells with stable knockdown of IRF7. PLoS One. 2013;8(3):e59892.doi: 10.1371/journal.pone.0059892. Epub 2013 Mar 26.

16) Noguchi K, Ishibashi K, Miyokawa K, Hokari M, Kanno T, Hirano T, Yamamoto N, Takaku H. HIV-1 Suppressive Sequences Are Modulated by Rev Transport of Unspliced RNA and Are Required for Efficient HIV-1 Production. PLoS One. 2012;7(12):e51393.

17) Chang MO, Suzuki T, Yamamoto N, Watanabe M, Takaku H. HIV-1 Gag-virus-like particles inhibit HIV-1 replication in dendritic cells and T cells through IFN-α-dependent upregulation of APOBEC3G and 3F. J Innate Immun. 2012;4(5-6):579-90.

18) 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 the attachment glycoprotein (G) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009/2010. J Med Microbiol. 2012 Jun;61(Pt 6):820-9.

19) S. Okada, S. Hasegawa, H. Hasegawa, A, Ainai, R Atsuta, K. Ikemoto, K. Sasaki, S. Toda, K. Shirabe, M. Takahara, S. Harada, T. Morishima, T. Ichiyama. Analysis of bronchoalveolar lavage fluid in a mouse model of bronchial asthma and H1N1 2009 infection. Cytokine. 2013 Aug;63(2):194-200.

20) Sasaki, K. Hoshino, T. Sugiyama, C. Yamazaki, T. Yano, A. Iizuka, H. Hemmi, T. Tanaka, M. Saito, M. Sugiyama, Y. Fukuda, T. Ohta, K. Sato, A. Ainai, T. Suzuki, H. Hasegawa, N. Toyama-Sorimachi, H. Kohara, T. Nagasawa, T. Kaisho. Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. Blood. 2012 Dec 6;120(24):4733-43.

21) E. van Riet, A. Ainai, T. Suzuki, H. Hasegawa. Mucosal IgA responses in influenza virus infections; thoughts for vaccine design. Vaccine. 2012 Aug 31;30(40):5893-900.

22) Ruth Harvey, Michelle Hamill, James S. Robertson, Philip D. Minor, Galina M. Vodeiko, Jerry P. Weir, Hitoshi Takahashi, Yuichi Harada, Shigeyuki Itamura, Pearl Bamford, Tania Dalla Pozza, Othmer G. Engelhard. Application of deglycosylation to SDS PAGE analysis improves calibration of influenza antigen standards. Biologicals. 40(1): 96-99, 2012

23) Takashi Ohkura, Yuji Kikuchi, Naoko Kono, Shigeyuki Itamura, Katsuhiro Komase, Fumitaka Momose, Yuko Morikawa: Epitope mapping of neutralizing monoclonal antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin. Biochem. Biophys. Res. Commun. 418: 38-43 (2012)

2. 和文発表

1) 今井正樹、河岡義裕：高病原性鳥インフルエンザウイルス−僅かな遺伝子変異で哺乳類間感染 Medical Science Digest, 38: 378-379, 2012

2) 今井正樹、河岡義裕：哺乳類間を空気伝播する H5 インフルエンザウイルス インフルエンザ診療ガイド 2012-13,pp.36-37, 2012

3) 今井正樹、河岡義裕：哺乳類間で空気伝播する高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス 臨牀と研究 89: 1617-1622, 2012

4) 小田切孝人：WHO のインフルエンザワクチン株の選び方 インフルエンザ 13(2):41-47,2012

5) 小田切孝人：インフルエンザワクチン株の選定法とワクチンが抱えている問題、改善へ向けた将来展望 小児科 53(10):1355-1365,2012

6) 今井正樹、河岡義裕： 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスはパンデミックを起こすか インフル

エンザ, 14: 37-43, 2013
7) 高下恵美、田代眞人：オセルタミビル耐性は存在するか　感染症道場　2,38-41,2013
8) 影山　努： インフルエンザ診断における進歩 臨床とウイルス 40(4):201-208, 2012
9) 大場邦弘、影山　努： インフルエンザウイルス型・亜型同定検査－既存の検査法と新規マイクロ流路チップを用いたポイント・オブ・ケア遺伝子検査法の臨床的有用性の比較について 小児科臨床, 65(12):2635-2641, 2012
10) 山本典生、田代眞人： 細胞培養インフルエンザワクチン BIO Clinica, 28(4):41-45, 2013
11) 山本典生： 細胞培養法による新型インフルエンザワクチン製造におけるバイオセーフティと GMP. クリーンテクノロジー, 22(7):1-5, 2012
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

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Imai M, Antiviral-resistant B viruses with novel mutations detected by antiviral resistance surveillance in Japan. Sixth Meeting of National Influenza Centres and Influenza Surveillance in the Western Pacific and South-East Asia Regions, Hanoi, Vietnam, June 2012.
2) T. Odagiri, Influenza activity in the northern hemisphere. Sixth Meeting of National Influenza Centres in the Western Pacific and South-East Asia Regions. Hanoi, Viet Nam , June 2012
3) E.Takashita, M.Ejima, S.Fujisaki, N.Kishida, H.Xu, M.Imai, N.Kim, A.Sato, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, M.Tashiro and T.Odagiri, Detection of antiviral-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses in Japan by a combination of chemiluminescent and fluorescent neuraminidase inhibitor susceptibility assays. 3rd International Influenza Meeting 2012, Munster, Germany, September 2012
4) E.Takashita, M.Ejima, S.Fujisaki, N.Kishida, H.Xu, M.Imai, N.Kim, A.Sato, H.Sugawara, R.Itoh, T.Doi, M.Tashiro and T.Odagiri Detection of Antiviral-resistant Influenza Viruses in Japan from 2008-2009 to 2011-2012 Influenza Seasons. 2nd isirv Antiviral Group Conference, Severe Influenza: Burden, Pathogenesis and Management, Hanoi, Viet Nam, October 2012
5) Itsuki Hamamoto, Hiroshi Takaku, Masato Tashiro, Norio Yamamoto, High Yield Production of Influenza A Virus in Madin Darby Canine Kidney (MDCK) Cells with Stable Knockdown of IRF7. 4th Influenza Vaccines for the World - IVW 2012, Valencia, Spain, October 2012
6) A. Ainai, S. Tamura, T. Suzuki, E. van Riet, R. Ito, T. Odagiri, M. Tashiro, T. Kurata, H. Hasegawa, Neutralizing antibody response in nasal mucus and serum of healthy adults after intranasal vaccination with inactivated whole influenza virus vaccine. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, June 2012
7) H. Asanuma, A. Ainai, M. Obuchi, T. Odagiri, M. Shirakura, E. Nobusawa, T. Sata, H. Hasegawa, M. Tashiro, Alteration of infectivity and antigenicity by host adaptation of the first Japanese A/H1N1pdm09 isolate. 3rd International Influenza Meeting, Muenster, September 2012
8) Kayoko Sato, Hideki Asanuma, Michiyo Kataoka, Hitoshi Takahashi, Kiyohiko Matsui, Noriyo Nagata, Masato Tashiro, Shigeyuki Itamura. Characterization of A/H1N1pdm09 viruses isolated in egg from clinical specimens. The 6th Orthomyxovirus Research congress, Bromont, Canada

2. 国内学会

1) 江島美穂、高下恵美、藤崎誠一郎、金南季、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：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　3 シーズンにわたる日本国内の抗インフルエンザ薬耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスサーベイランス、 第 26 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　福島、2012 年 5 月
2) 小田切孝人：インフルエンザ A(H3N2)および B 型ワクチンが抱えている問題点、 第 26 回インフルエンザ

研究者交流の会シンポジウム　福島、2012 年 5 月

3) 川上千春、七種美和子、江島美穂、高下恵美：長期持続感染例のウイルス変異、　第 26 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　福島、2012 年 5 月

4) 今井正樹：新型インフルエンザの出現機序について、第 22 回感染研シンポジウム　東京、2012 年 5 月.

5) 藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、谷脇　妙、徐　紅、岸田典子、横山　勝、佐藤裕徳、江島美穂、金　南希、佐藤　彩、土井輝子、伊東玲子、菅原裕美、田代眞人、小田切孝人：新しい薬剤耐性変異を持つ B 型インフルエンザウイルスの性状、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

6) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、岸田典子、徐紅、今井正樹、金南希、佐藤彩、菅原裕美、伊東玲子、土井輝子、田代眞人、小田切孝人：全国地方衛生研究所 3 シーズンにわたる日本国内の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

7) 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、江島美穂、小口晃央、山崎秀司、藤田信之、田代眞人、小田切孝人：全国地方衛生研究所　2011/12 シーズンのインフルエンザ流行株と平成 24 年度のワクチン株、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

8) 川上千春、高下恵美、七種美和子、宇宿秀三、小田切孝人、田代眞人：免疫抑制患者において薬剤投与後長期間排泄された A（H3N2）インフルエンザウイルスの解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

9) 今井正樹、渡辺真治、河岡義裕：　B 型インフルエンザウイルスのヘマグルチニン（HA）の細胞質領域は HA のウイルス粒子への取り込みにとって重要である、第 60 回日本ウイルス学会総会　大阪、2012 年 11 月

10) 小田切孝人、岸田典子、徐　紅、藤崎誠一郎、今井正樹、高下恵美、田代眞人：孵化鶏卵分離、馴化にともなうインフルエンザワクチン株の抗原性変異と問題点、　第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

11) 鈴木忠樹、川口　晶、相内　章、田村愼一、伊藤良、小田切孝人、田代眞人、長谷川秀樹：インフルエンザワクチン経鼻接種により鼻腔内に誘導される分泌型 IgA 抗体の性状解析、第 16 回日本ワクチン学会　横浜、2012 年 11 月

12) 今井正樹、河岡義裕：インフルエンザイルスのヘマグルチニンのレセプター認識特異性に関わる新規アミノ残基の同定、第 35 回日本分子生物学会年会　福岡、2012 年 12 月

13) 高下恵美：新規抗インフルエンザ薬に対する耐性ウイルス検出系の構築、　Second Negative Strand Virus-Japan Symposium　沖縄、2013 年 1 月

14) 小田切孝人、岸田典子、徐　紅、今井正樹、藤崎誠一郎、高下恵美、田代眞人：インフルエンザワクチン株の卵馴化による 2012/13 シーズンワクチンの効果におよぼす影響およびブタ由来 A/H3N2 variant (v)ウイルスに対する邦人の抗体保有状況、Second Negative Strand Virus-Japan Symposium　沖縄、2013 年 1 月

15) 大場邦弘、小田智三、髙山郁代、中内美名、影山努：マイクロ流路チップを用いた Direct RT-LAMP 法によるインフルエンザ診断の臨床的検討、第 61 回日本感染症学会東日本地方会学術集会　東京、2012 年 10 月

16) 田中智子、大場邦弘、小田智三、髙山郁代、中内美名、影山努：　A/H3 亜型、B 型インフルエンザウイルス重複感染により中枢神経症状をきたした 2 例、第 61 回日本感染症学会東日本地方会学術集会東京、2012 年 10 月

17) 影山　努、髙山郁代、中内美名、田代眞人、大場邦弘：マイクロ流路チップを用いた Direct RT-LAMP 法によるインフルエンザ診断法の開発、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

18) 髙山郁代、中内美名、大場邦弘、田代眞人、影山努：蛍光標識プライマーを用いた Direct RT-LAMP 法による季節性インフルエンザウイルスの型・亜型検出系の構築、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

19) 山本典生、浅沼秀樹、佐藤佳代子、中内美奈、高橋仁、許斐奈美、相内　章、長谷川秀樹、田代眞人：細胞培養もしくは鶏卵で製造されたインフルエンザワクチンの品質管理試験および免疫応答への影響、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

20) 浜本 いつき、原田 勇一、中村 一哉、高橋 仁、許斐 奈美、浅沼 秀樹、田代 眞人、山本 典生：無血清培地に馴化させた MDCK 細胞のインフルエンザワクチンシードウイルス分離用細胞としての検討、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

21) 原田 勇一、高橋 仁、中村 一哉、浜本 いつき、Roth Bernhard、Trusheim Heidi、許斐 奈美、浅沼 秀樹、板村 繁之、田代 眞人、山本 典生：インフルエンザワクチンシードウイルス分離用細胞の評価、 第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

22) 高橋 仁、原田 勇一、中村 一哉、浜本 いつき、Bernhard Roth、Heidi Trusheim、板村 繁之、田代 眞人、山本 典生.：インフルエンザワクチンシードウイルスに求められる遺伝的安定性の検討、 第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

23) 井戸栄治、Jacob Barnor、Yaw Amoah、 Ishmael Aziati、Ntim Afia、 James Brandful、William Ampofo、 Samson Ofori、山本典生、石川晃一、 Alexander Nyarko、山岡昇司：ガーナ国コフォリデュア州立病院における現行 ART の有効性に関する評価研究、第 26 回日本エイズ学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

24) 信澤枝里、中内美名、松嵜葉子、菅原勘悦、有田知子、廣津伸夫、田代眞人、西村秀一：A/H1N1pdm09 ワクチン被接種者血清抗体が認識する HA 上の抗原領域の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

25) 松嵜葉子、菅原勘悦、下平義隆、本郷誠治、信澤枝里:パンデミックインフルエンザ A/H1N1pdm09 の HA 分子の抗原構造の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

26) 嶋崎典子、白倉雅之、信澤枝里、矢野茂生、板村繁之、田代眞人：インフルエンザワクチン製造株のアミノ酸変異による抗原蛋白経時安定性への影響、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、 2012 年 11 月

27) 川口晶、鈴木忠樹、相内章、佐藤由子、信澤枝里、田代眞人、長谷川秀樹：喘息発作誘発モデルを用いたインフルエンザウイルス感染症の病態解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪, 2012 年 11 月

28) 有田知子、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人：H5N1 インフルエンザワクチン種株候補の抗原収量の検討、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

29) 泉地 恭輔、相内 章、鈴木 忠樹、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹：経鼻投与型インフルエンザワクチンによるマウス母子免疫の解析、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

30) 池田 千将、伊藤 良、相内 章、鈴木 忠樹、田村愼一、田代 眞人、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹：基礎免疫を有する個体に対する経鼻投与型インフルエンザワクチン効果、第 60 回日本ウイルス学会学術集会　大阪、2012 年 11 月

31) 山崎 達也、二宮 大輔、長島 麻里亜、荒井 由佳、手嶋 保智、長谷川 秀樹、相内 章、藤本 陽、千葉 丈：インフルエンザ中和抗体発現プラスミドを用いた受動免疫法の応用研究 ～長期的なウイルス防御効果と免疫不全マウスへのウイルス防御効果の検討～、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

32) 浅沼 秀樹、相内 章、佐藤 佳代子、許斐 奈美、岸田 典子、長谷川 秀樹、山本 典生、田代 眞人：野外株より細胞培養インフルエンザワクチンの種候補株を選定する基準の検討、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

33) R. Nakao, D. Bai, M. Ohnishi, H. Uematsu, A. Ainai, H. Hasegawa, H. Senpuku : Humoral immunity against Porphyromonas gingivalis in mice intranasally vaccinated with combination of outer membrane vesicles and synthetic double stranded RNA、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

34) H. Hasegawa. A. Ainai, T. Suzuki, S. Tamura, M. Tashiro, T. Kurata：Analysis of protective immune responses after intranasal administration of an inactivated whole-virion influenza vaccine in human、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

35) E. van Riet, A. Ainai, R. Ito, K. Senchi, T. Suzuki, S. Tamura, M. Tashiro, H. Hasegawa：Characteristics of IgA versus IgG human monoclonal antibodies cloned from human plasma cells induced upon intranasal H5N1 vaccination、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

36) 相内 章、池田 千将、伊藤 良、鈴木 忠樹、泉地 恭輔、田村愼一、田代 眞人、浅沼 秀樹、長谷川 秀樹：

感染あるいはワクチン接種歴が経鼻投与型インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に対して与える影響、第 16 回日本ワクチン学会学術集会　横浜、2012 年 11 月

37) K. Sato, Y. Takahashi, M. Ato, H. Asanuma Split-virion influenza vaccines induce high levels of virus-specific antibodies at the booster immunization. 第 41 回日本免疫学会学術集会　神戸、2012 年 12 月

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 23 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 5 回協議会を平成 25 年 3 月 13 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 24 年度科学技術週間にあわせて 4 月 14 日に行った。今年は例年と同様、近隣市民に「薬は効くのか？」の題名で中田　登 主任研究官が講演した。さらに 12 月 1 日には「市民公開講座」として倉根一郎副所長が「海外旅行と感染症」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。

ハンセン病に対する正しい知識の普及を目的として、広く医療関係者を対象に、昭和 52 年から国立療養所多磨全生園と協力し、毎年ハンセン病医学夏期大学講座を開催している。平成 24 年度の第 34 回夏期大学迄に 1,366 人の者が受講しており、夏期大学受講者の中には国際分野で活躍する者も多い。平成 24 年度は 8 月 20 日～24 日までの 5 日間実施され、36 人が受講した。

国際協力事業

1. ミャンマー国：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. ベニン共和国：WHO による薬剤耐性サーベイの会議に出席するため、職員 1 名を派遣した。
3. 中国：WHO による薬剤耐性サーベイ及びらい菌分子疫学に関する研究打ち合わせのため南京 CDC に職員 1 名を派遣した。
4. ベトナム国：上記 1．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、薬剤耐性検査である。

平成 24 年度（平成 24 年 4 月～平成 25 月 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 33 症例、63 検査件数であった。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。薬剤耐性遺伝子検査は平成 19 年度から開始した。

33 症例の最終診断は、1 例は新規にハンセン病と診断、6 例はハンセン病の既往・再発と診断し、26 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 24 年度は 26 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 24 年は 3 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 24 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、DDS の 1 剤に耐性を示した。

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 24 年度（2012 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	43
総検査件数	63
病理学的検査件数	13
血清抗体価検査件数	15
PCR 検査件数	33
薬剤耐性遺伝子検査件数	2
実症例数	33

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
H24 年度	43	63	13	15	33	2	33

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 24 年 4 月より同 25 年 3 月までの 1 年間において、のべ 17 回、47 匹、 2 施設（国内 1、国外 1）、6 名（国内 5、国外 1）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

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及び希少非結核性抗酸菌に関する同定試験（依頼検査）を行っている。本年度は、研究部全体を通じてワクチン開発研究において大きな進展があった。ハンセン病及び結核のワクチンとして弱毒化牛型結核菌（*Mycobacterium bovis* BCG (BCG)）が使われてきたが、BCG のハンセン病に対する有効性は 26%と報告され、結核に対しては小児の粟粒結核・結核性髄膜炎の発症予防には有効であるが、成人及び高齢者の肺結核は予防できないと考えられている。当部においては、BCG に代わるハンセン病用リコンビナント BCG の開発を組み換え遺伝子技法を用いて行ってきた。具体的には BCG の持つ *UreC* 遺伝子をノックアウトしウレアーゼ酵素活性を除去し、BCG 菌体のライソゾームへ移行を促進させることと、免疫原性に富んだ抗原をファゴゾームあるいファゴライソゾームで分泌させるため HSP70-MMP-II 連結遺伝子を導入することである。本外来遺伝子は、プラスミド型として BCG の細胞質へ導入するため大量の遺伝子コピーが産生され、導入した遺伝子の効果が強く発現されるものである。しかし、本年度の研究において、プラスミド型遺伝子導入した外来遺伝子は非常に高い確率で早期に脱落することが明らかにされた。この現象は、開発した BCG の安定供給に大きな妨げとなる。そこで、外来遺伝子を BCG の DNA の中へ組み込み、さらに導入遺伝子の高発現を誘導する技法の開発に着手し、その技術をほぼ確立した。BCG の DNA へ外来遺伝子を導入しても通常 1 コピーしか導入できない。そのため、外来遺伝子の発現を増強させる技術の開発が必要となるが、向井室長らの努力により、バクテリオファージ中に非常に強いプロモーター活性を有する遺伝子が同定された。さらに、この技術を応用することにより高発現型インテグレーション型リコンビナント BCG の作製が可能となった。これにより、開発された遺伝子組み換えリコンビナント BCG の安定供給が可能となるものと考えられる。また、結核に対する新規リコンビナント BCG の作製も着手され、一定の効果が挙がった。この BCG の作用は未だ不十分であるが、今後の改良によりより良き BCG ワクチンの開発が可能となるものと考えられる。また、この結核用リコンビナント BCG は結核用であるにもかかわらず、マウス生体内でらい菌の増殖を抑制することも明らかにされた。現在ハンセン病の新規発症者は 20 万人程度であることから、ハンセン病に特化したワクチンの開発を疑問視する研究者が多々存在することは事実であるが、結核とハンセン病の両者を予防し得る結核・ハンセン病共通ワクチンが開発されれば実用化への道が開けるものと期待される。本年度の成果は、この点において一歩前進したと考えることが可能と思われる。

また、ハンセン病の研究において、抗原提示細胞が放出するエキゾームに関する研究が開始された。研究は開始されたばかりであるが、すでに多くの興味深い知見が得られており、今後少菌型ハンセン病の新しい診断法の開発及び多菌型ハンセン病に対する新しい免疫療法の開発に大きな期待が寄せられている。

精製ツベルクリンの国家検定は現在細菌第二部で行われているが、同部の負担を軽減するため本国家検定の感染制御部への移行が検討されている。そのため、森室長が技術移転のためのトレーニングを開始した。

最後に人事であるが、4 月 1 日付で松岡正典が再任用職員として採用され、国立療養所多磨全生園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。これまでに、らい菌感染シュワン細胞は T 細

胞を活性化しうる可能性を見出してきたが、今回、さらに、シュワン細胞内でのらい菌の局在をリソソームのマーカーである LysoTracker Red を用いて調べた結果、約半数の菌はリソゾームに局在していることが明らかとなった。
［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。今回、ハンセン病の多剤併用療法に用いられる薬剤がらい菌感染マクロファージの細胞内脂質蓄積や分解機構に与える影響に関して検討を行った。その結果、クロファジミンが脂質蓄積に必要な ADRP 発現を抑制し、脂質分解に寄与する HSL 発現を誘導することを明らかにした。他の２剤であるリファンピシンとダプソンにはそのような効果は無かった。
［鈴木幸一］

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
らい菌由来リポペプチド LipoK は、樹状細胞を成熟化し、自己 T 細胞を活性化することを明らかにしてきた。今回、らい菌感染樹状細胞を LipoK で刺激した際に放出されるエキソソームの解析を行った。エキソソームをウエスタンブロットで解析をするとらい菌由来の蛋白が検出された。抗らい菌膜蛋白抗体を用いると約 28-35kD の蛋白（候補として MMP-I, groEL, eftA, mtrA, prcA）が関与していると考えられた。そこで、N 末端解析すると未知な蛋白（Exop-1）が検出された。得られたエキソソームは Exop-1 を含み T 細胞を活性化することから、Exop-1 は抗原性に関与する可能性が示唆された。
［前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦］

２．ハンセン病のワクチン開発に関する研究
四種類のらい菌由来合成ペプチドから 2 種類の混合ペプチドを作製し、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回ペプチド抗原を皮下接種したのち、5000 個のらい菌を footpad に接種した。らい菌の増殖を７ヶ月後に調べた結果、Antigen 85A 反応性 T 細胞はらい菌増殖制御に関わる可能性が示唆された。
［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。幼若および妊娠およびその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。今年度、若年サル群２頭に散発的に、妊娠期接種サル１頭に、２期連続して鼻腔洗浄液よりらい菌 DNA 検出される個体が確認された。免疫抑制時の菌接種が感染効率を上昇させることが示唆された。
［向井　徹、松岡正典、片貝裕子（予防衛生協会）、牧野正彦］

４．効率的かつ安定した抗原発現を行う組換え BCG の開発
M.bovis BCG を宿主としたハンセン病を含む抗酸菌症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、らい菌抗原もしくは BCG 抗原の各種融合蛋白分泌する遺伝子を BCG *Urease C* 遺伝子部位と置換し、さらに、遺伝子操作に用いた薬剤耐性遺伝子の除去を行い、安全性が高く安定した抗原の高発現各種組換え BCG の調整を行った。実用的な組換え BCG 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出来ること、TAF7 に対する miRNA を遺伝子導入し、TAF7 をノックダウンした未感作 CD4 T 細胞では TAF7 の発現量と Th1 細胞への分化の程度に正の相関があることが示され、TAF7 が Th1 細胞への分化に必須の因子であることが示された。
［田村敏生、下袴田陽子、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、Th1 細胞、Th17 細胞とは異なるヘルパーT 細胞亜集団の可能性がある IL-17F 産生細胞の分化を誘導することで樹状細胞の活性化を誘導すること、この活性化した樹状細胞が機能的細胞傷害性 T 細胞の分化・活性化を強力に増強で

きること、Peptide-25 特異的 IL-17F 産生細胞は感染局所に留まる性質を持ったメモリーT 細胞に分化する可能性が示された。
［田村敏生、下袴田陽子、牧野正彦］

(3)結核管戦線防御における濾胞ヘルパーT 細胞の役割
IL-5 や IL-6 は結核菌で感作された CD4 陽性 T 細胞を結核菌体成分で再刺激した際の培養上清中に存在する抗体産生誘導活性を有するサイトカインとして同定された。このことは、結核菌は細胞性免疫を調節する Th1 細胞と液性免疫を調節する Th2 細胞の両亜集団の分化を誘導する活性を有していることを示唆している。近年、B 細胞が産生する抗体のクラススイッチを調節する細胞として濾胞ヘルパーT 細胞（TFH）の存在が明らかになっている。そこで、抗酸菌感染時の TFH 細胞の活性化動態を明らかにすることを目的に解析を開始した。
［下袴田陽子、田村敏生、牧野正彦］

６．HSP70-MMP-II 融合蛋白質発現組み換え BCG の改良
これまでの組換え 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。さらにその効果を高めるために、抗原性を高めるとされる配列を HSP70 および MMP-II 融合蛋白質に挿入した組換え BCG を作製し解析を開始した。
［塚本裕美子、牧野正彦］

７．噴霧感染器を使用したマウス生体内でのワクチン効果の評価
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。マウス生体内で種々のワクチンが結核菌増殖を抑制するワクチン効果について、その系を確立した。
［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してきた。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、MMP-I を使用したハンセン病の血清診断法を ELISA 法により検討し、MMP-I と MMP-II を使用したハンセン病の血清診断法を評価した。
［塚本裕美子、前田百美、牧野正彦］

２． 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］

４．蛍光色素を利用した抗酸菌の生死鑑別法の確立並びに宿主細胞であるマクロファージの活性化に伴う細胞内生存率の低下
還元反応を受けると蛍光を発する分子である CTC は、らい菌や非結核性抗酸菌、さらには結核菌といった抗酸菌において、呼吸活性を有する生菌を検出できる有用な試薬であることが判明した。*In vitro* にてマウス腹腔由来マクロファージやヒト末梢血単球由来マクロファージにこれら抗酸菌を感染させ CTC 添加後共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、IFNγで刺激したマクロファージ中の抗酸菌の蛍光強度が対照培養マクロファージ中のそれと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、前田百美、星野仁彦、牧野正彦］

５．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］

６．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］

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 Kyoto-2 株ゲノムに散在する反復配列の解析

らい菌ゲノムには大きく分けて 4 種類の反復配列が計 60 から 70 箇所散在しており、これらは約 0.5kb から 2.5kb と比較的大きいため、Illumina 等の次世代型 DNA シークエンサーではコピー同士の区別ができない。そこでこれら反復配列の外側に DNA プライマーを設計し、PCR 増幅と旧来の方法によってコピー別に配列を決定した結果、異なるコピーで同じ位置に保存された一塩基置換が見られたのに加え、7 塩基の脱落が一致するものが見られたことから、らい菌ゲノム内で相同組換による変化が起こっていることが強く示唆された。

［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

２．らい菌代謝系遺伝子の解析

らい菌は特有の代謝系を保持していることが知られているが、多くは未解明である。本研究では遺伝子機能の側面から代謝系を解明することを目指し、人工培養できないため変異株を得ることが出来ないらい菌に代わり、代謝系への関与が予想される遺伝子群のホモログ変異株を *M. smegmatis* において作製した。これらのメタボローム解析の結果、一部の変異株において特定の代謝産物の動態が野生株と異なることが判明した。このことは、*M. smegmatis* での変異株の作製・解析がらい菌の代謝系を解明する上で重要な手法の一つとなり得ることを示すものであった。

［宮本友司、向井　徹、牧野正彦］

３．らい菌日本株ゲノムの解析

日本の分離らい菌株である Kyoto-2 の全ゲノムシーケンスを決定し、らい菌 TN 株、Br4923 株との相互比較を行ない、Kyoto-2 株で特徴的である箇所を抽出した。その中で、全ゲノムで唯一 1 個の ORF に 6 カ所もの SNPs が存在するものに注目した。東南アジア各国由来のらい菌 DNA でこの SNPs を調べた結果、日本の沖縄以南で分離された株はすべて TN 株と同じパターンであったのに対し、日本の本州及び韓国で分離された株はすべて Kyoto-2 株と同じパターンを示した。この地理的分布はすでに報告のある *rpoT* 遺伝子内に存在する 6 塩基リピートの数が 3 コピーか 4 コピーかの違いの分布とほぼ同一であることが判明した。これら Kyoto-2 のパターンを示すらい菌株を Northeast Asian(NA) strain と称し、さらに解析を行っている。

［甲斐雅規、中田　登、松岡正典、松原久美子、牧野正彦］

Ⅴ．　らい菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

１．らい菌のフルオロキノロン耐性変異に関する研究

らい菌 *gyrBA* 遺伝子の変異とフルオロキノロン耐性を解析するために、*M. smegmatis* と *M. bovis* BCG の *gyrBA* 遺伝子をらい菌のものと交換する実験をそれぞれ行ったところ、*M. bovis* BCG のみがらい菌 *gyrBA* 遺伝子で増殖可能であることがわかった。そこで、*M. bovis* BCG を用いた実験系を使って、らい菌臨床分離株から検出された *gyrBA* 遺伝子変異について、フルオロキノロン耐性との関係を詳細に解析している。

［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

２.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、HP−rPCR 法を確立した。本法は、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 位の変異をリアルタイム PCR 法をベースに特殊なヘアピン構造の Forward プライマーでの増幅から変異の有無を知る方法である。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、その有効性が示された。さらに、より迅速で簡便にするため、試薬をプレートにコーティングすることを試み成功した。

［甲斐雅規、中田　登、松原久美子、牧野正彦］

Ⅵ．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に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。mmaA4 遺伝子破壊 BCG 菌コンノート株のらい菌類似ミコール酸から成るトレハロースダイマイコレートがコードファクターと称されることから現在コード形成と破壊株の TDM の各種活性を調べている。

［甲斐雅規、宮本友司、向井　徹、中田　登、牧野正彦］

Ⅶ. 抗酸菌と宿主自然免疫の相互作用に関する研究

１．C 型レクチン受容体と抗酸菌の相互作用に関する研究

C 型レクチン受容体(CLR)は Toll 様受容体、Nod タンパク質などと共に宿主の自然免疫を司る構造パターン認識受容体の一つである。特に macrophage inducible c type lectin (mincle)のリガンドは結核菌の病原因子の一つとされる trehalose di-mycolate (TDM)であることが明らかとなった。TDM は多くの抗酸菌が発現しているので他の抗酸菌免疫にも関連する可能性がある。mincle などの CLR を欠出したマウスを利用して抗酸菌と宿主自然免疫の相互作用を検討中である。

［星野仁彦、片野晴隆（感染病理部）、榊原ゆみ(東京医科歯科大学)、山崎晶（九州大学生体防御医学研究所)］

2. ハンセン病における肉芽腫形成

ヒト単球由来のマクロファージを用いて、in vitro で肉芽腫形成を試みた。らい菌感染マクロファージのみでは見られない細胞集積（または多核の巨細胞）が、T 細胞や PBMC 等が存在することで観察することができた。らい菌は肉芽腫内で生存可能であることが判明した。

［前田百美、Wang Hongsheng (Chinese Academy of Medical Sciences)、牧野正彦］

Ⅷ.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）36 症例（2012 年 12 月末まで）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］

Ⅸ．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。また、明治期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、ハンセン病医学の医学史的研究、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、石井則久］

２．遺跡から発掘されたハンセン病疑い人骨からのらい菌 DNA の証明

中世から江戸後期にかけて主に東日本で行われた特殊な埋葬法で、頭に鉄鍋や擂り鉢を被せた鍋被り葬は、ハンセン病や梅毒などで死亡した場合に行われたのではないかと考えられている。今回、鍋被り葬人骨３例について許可を得て骨組織をサンプリングし、PCR 法によりらい菌 DNA の検出を試みた。その結果、古病理学的に骨にハンセン病に特徴的な所見を有した２例から、らい菌 DNA を検出し、鍋被り葬ではあるが骨所見を欠く１例からは検出されなかった。したがって、鍋被り葬の一部は確かにハンセン病患者に対して行われたものであることが分子人類学的に明らかになった。

［鈴木幸一］

Ⅹ．らい菌と *M. lepromatosis* との相違に関する研究

１．ハンセン病研究センターにおいて確立されたらい菌株の *Mycobacterium lepromatosis* との相違

現在、ハンセン病研究センターでは 27 株の *M.leprae*（らい菌）を継代・維持している。このうち 16 株が *rpoT* 遺伝子中に 6 塩基直列繰り返し配列を 4 コピー有する。

近年、Lucio 現象の原因菌として *Mycobacterium lepromatosis* が提唱され、*M.lepromatosis* も同様の配列を有することが報告された為、当センターにおいて保有する *M.leprae* 菌株について *M.lepromatosis* との異同を確認する必要が生じた。*rpoT* 遺伝子中のそれぞれに特異的塩基配列及び 16srRNA の配列を指標に検討した結果、16 株全てと 6 塩基繰り返し配列を 3 コピー有する 11 株いずれもが *M.leprae* 特異的配列を有し、*M.lepromatosis* ではないことが示された。

［松岡正典］

国際協力関係業務

Ⅰ．ハンセン病の国際協力研究及び WHO の薬剤耐性監視事業への協力

ベトナム国とミャンマー国において実施している国際協力研究では、ハンセン病の早期診断法に結核で確立されている免疫学的な診断法である IGRA(interferon-γ release assay)法の検討を行っている。さらにゲノム解析から得られた知見に基づく Genotyping を実施するための研究打ち合わせを始めた。薬剤耐性らい菌の検査に関しては WHO より依頼を受けた薬剤耐性サーベイへの協力（ベトナム国、ミャンマー国で得られた試料を用い、薬剤耐性遺伝子変異の確認）を継続して行うとともに新たに担当国となったモザンビークとの協力関係の構築を開始した。2011 年のサーベイ結果をベニン共和国で行われた WHO によるワークショップにて報告した。

［甲斐雅規、福富康夫、向井　徹、前田百美、宮本友司、松岡正典、牧野正彦］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Critical role of AIM2 in *Mycobacterium tuberculosis* infection. Int. Immunol., 24: 637-644, 2012. Saiga H., Kitada S., Shimada Y., Kamiyama N., Okuyama M., Makino M., Yamamoto M., and Takeda K.

2) Present situation of leprosy in Japan, 2006-2010: Analysis of drug resistance in new registered and relapsed cases by molecular biological methods. J. Dermatol. Sci., 67: 192-194, 2012. Mori S., Yotsu R. R., Suzuki K., Makino M., and Ishii N.

3) *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, 2012. Nakanaga K., Hoshino Y., Wakabayashi M., Fujimoto N., Tortoli E. , Makino M., Tanaka T., and Ishii N.

4) *Mycobacterium pseudoshottsii* isolated from 24 farmed fishes in western Japan. J. Vet. Med. Sci., 74: 275-278, 2012. Nakanaga K., Hoshino Y., Hattori Y., Yamamoto A., Wada S., Hatai K., Makino M., and Ishii N.

5) Mutation analysis of mycobacterial *rpoB* genes and rifampicin resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. Antimicrob. Agents Chemother., 56: 2008-2013, 2012. Nakata N., Kai M., and Makino M.

6) Essential role of hormone-sensitive lipase (HSL) in the maintenance of lipid storage in *Mycobacterium leprae*-infected macrophages. Microb. Pathog., 52: 285-291. 2012. Tanigawa K., Yan D., Kawashima A., Akama T., Yoshihara A., Ishido Y., Makino M., Ishii N., and Suzuki K.

7) Amino acid substitutions at position 95 in GyrA can add fluoroquinolone resistance to *Mycobacterium leprae*. Antimicrob. Agents Chemother., 56: 697-702, 2012. Yokoyama K., Kim H., Mukai T., Matsuoka M., Nakajima C., and Suzuki Y.

8) Real-time PCR and high resolution melt analysis for rapid detection of *Mycobacterium leprae* drug resistance mutations and strain types. J. Clin. Microbiol., 50: 742-753, 2012. Li W., Matsuoka M., Kai M., Thapa P., Khadge S., Hagge D. A., Brennan P. J., and Vissa V.

9) Drug and multiple-drug Resistance Among *Mycobacterium leprae* isolates from Brazilian relapsed leprosy patients. J. Clin. Microbiol., 50: 1912-1917, 2012. 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.

10) Cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection: a sporadic case in Japan. J. Dermatol., 39: 569-572, 2012. Otsuki T., Izaki S., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., and Osamura K.

11) Buruli ulcer accompanied by pain in a Japanese patient. J. Dermatol., 39: 869-870, 2012. Onoe H., Yotsu R., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., and Takeuchi T.

12) Buruli ulcer and current situation in Japan: a new emerging cutaneous Mycobacterium infection. J. Dermatol., 39: 587-593, 2012. Yotsu R. R., Nakanaga K., Hoshino Y., Suzuki K., and Ishii N.

13) Detection of antibiotic resistance in leprosy using GenoType®LepraeDR, a novelready-to-use molecular test. PLoS Neg. Trop. Dis., 6: e1739. doi:10.1371, 2012. Cambau E., Nevejans A. C., Tejmar-Kolar L., Matsuoka M., and Jarier V.

14) Genotyping of *Mycobacterium leprae* in Myanmar and supposed transmission mode. Japn. J. Lepr., 81: 191-198, 2012. Khin S. A., Yin T. N. O., Kyaw K., Aye A. W., and Matsuoka M.

15) Impact of amino acid substitution in B subunit of DNA gyrase in *Mycobacterium leprae* on fluoroquinolone resistance. PLoS Negl. Trop. Dis., 6: e1838, 2012. Yokoyama K., Kim H., Mukai T., Matsuoka M., Nakajima C., and Suzuki Y.

16) A case of mycobacterial skin disease caused by *Mycobacterium peregrinum,* and a review of cutaneous infection, Case Reports. Dermatology, 4: 76-79, 2012. Kamijo F., Uhara H., Kubo H., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., and Okuyama R.

17) Bacteremia due to *Mycobacterium massilinese* in a patient with chronic myelogenous leukemia: case report. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis., 74: 183-185, 2012. Hamamoto T., Yuki A., Naoi K., Kawakami S., Banba Y., Yamamura T., Hikota R., Watanabe J., Kimura F., Nakanaga K., Hoshino Y., Ishii N., Shimazaki H., Nakanishi K., and Tamai S.

18) A case of *Mycobacterium haemophilum* infection in a Japanese renal transplant patient and a review of

Japanese cases. J. Dermatol.,39:968-969, 2012. Takeo N., Hatano Y., Okamoto O., Saruwatari K., Nakanaga K., Ishii N., Yokoyama S., and Fujiwara S.

19) The polyketide synthase-associated multidrug tolerance in Mycobacterium intracellulare clinical isolates. Chemotherapy, 58,341-348,2012. Matsunaga I, Maeda S, Nakata N, and Fujiwara N.

20) Genotyping of Mycobacterium leprae in Myanmar and supposed transmission mode. Japn. J. Lepr., 81:191-198, 2012. Khin S.A., Yin T.N.O., Kyaw K., Aye .A. W., Matsuoka M.

21) Impact of aminoacid substitution in B subunit of DNA gyrase in *Mycobacterium leprae* on fluoroquinolone resistance. PLoS. Negl. Trop. Dis., 6: e1838. 2012. Yokoyama K., Kim H., Mukai T., Matsuoka M., Nakajima C., Suzuki Y.

22) Anti-viral and anti-bacterial activities of an extract of the Blackcurrant (Ribes nigrum L.). Microbiol. Immunol., 56:805-809.2012. Ikuta K., Hashimoto K., Kaneko H., Mori S., Ohashi K., and Suzutani T.

23) Clofazimine modulates the expression of lipid metabolism proteins in Mycobacterium leprae-infected macrophages. PLoS. Negl. Trop. Dis., 6: e1936, 2012. Degang Y., Akama T., Hara T., Tanigawa K., Ishido Y., Gidoh M., Makino M., Ishii N., and Suzuki K.

24) Buruli ulcer and mycolactone-producing mycobacteria. Jpn. J. Infect. Dis., 66: 83-88, 2013. Nakanaga K., Yotsu R. R., Hoshino Y., Suzuki K., Makino M., and Ishii1 N.

25) Laboratory procedures for the detection and identification of cutaneous nontuberculous mycobacterial (NTM) infections. J. dermatol., 40:151-159, 2013. Nakanaga K., Hoshino Y., Yotsu R., Makino M., and Ishii N.

2. 和文発表

1) 松岡正典：ハンセン病の基礎医学分野における日韓協力について．日本ハンセン病学会雑誌 81: 205-207, 2012

2) 石井則久、四津里英、浅野裕子、圓　純一郎、清島真理子、常深祐一郎、中永和枝、濱田利久、星野仁彦、渡邉徹心：ブルーリ潰瘍．日本臨床皮膚科医会雑誌 29: 376-383, 2012.

3) 今長慶志、星野洋良、藤本典宏、小林孝志、多島新吾、中永和枝、星野仁彦、石井則久：*Mycobacterium massiliense* 皮膚感染症の 1 例．皮膚臨床 54: 1207-1211, 2012.

4) 竹村佳純、上田幹雄、中西雅樹、小森敏明、藤田直久、中永和枝、星野仁彦、石井則久、岩崎吉伸：浸潤型胸腺腫・重症筋無力症治療中に発症した *Mycobacterium massiliense* による播種性非結核性抗酸菌症の 1 例．呼吸 31: 1070-1076, 2012.

5) 森　修一、スマナ　バルア、鈴木幸一、石井則久、四津里英:2011 年における世界のハンセン病の現況について．日本ハンセン病学会雑誌 81:145-154, 2012

6) 森　修一、スマナ　バルア、鈴木幸一、四津里英、石井則久：2012 年における世界のハンセン病の現況について．日本ハンセン病学会雑誌 82:59 -69, 2013.

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1) Matsuoka M. Improving quality control: technology, logistics and reporting. Fifth meeting on Sentinel Surveillance for Drug Resistance in Leprosy. Cotoonu, Bennin, 13 November, 2012

2) Yotsu R R, Nakanaga K, Hoshino Y, Suzuki K, Ishii N: Buruli Ulcer in Japan: the current situation. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research Geneva, Switzerland, 25–27 March 2013.

3) Nakanaga K, Yotsu R R, Hoshino Y, Ishii N: Laboratory Examination of Buruli Ulcer in Japan 2010-2012. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research Geneva, Switzerland, 25–27 March 2013.

2. 国内学会

1) 星野仁彦、中永和枝、鹿住祐子、前田伸司、石井則久：*M. massiliense* の全ゲノムシークエンス．　第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

2) 中永和枝、星野仁彦、石井則久：マルチプレックス PCR 法を用いた *M. massiliense* と *M. abscessus* 鑑別診断法の開発．第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

3) 星野仁彦、深野華子、中永和枝、和田新平、石井則久：迅速発育菌 *M. abscessus* と *M. massiliense* の薬剤感受性について．第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

4) 中永和枝、星野仁彦、石井則久：本邦の”*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”を起因菌とするブルーリ潰瘍症

例の増加．第 87 回日本結核病学会総会　広島 2012 年　5 月

5) 深野華子、中永和枝、星野仁彦、石井則久、和田新平：迅速発育菌による皮膚疾患 2 症例と海洋生物から分離された迅速発育抗酸菌の比較検討．第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

6) 和田新平、深野華子、中永和枝、星野仁彦：ヒト非結核性抗酸菌症の起炎菌と類似した抗酸菌による水棲動物の疾患．第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

7) 星野仁彦、深野華子、中永和枝、森本耕三、吉山　崇、尾形英雄、工藤翔二、和田新平、倉島篤行：MAC 菌感染症に対する *ex vivo* 薬剤感受性試験．第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

8) 星野仁彦、深野華子、中永和枝、森本耕三、鹿住祐子、前田伸司、和田新平、奥村昌夫、吉山　崇、尾形英雄、工藤翔二、倉島篤行：単一病院での過去 25 年間の肺 MAC 症における菌側因子の変遷について．第 87 回日本結核病学会総会　広島　2012 年　5 月

9) 鈴木幸一、谷川和也、石藤雄子、森修一、佐宗亜衣子、星野敬吾、櫻井準也、平田和明、石井則久．鍋被り葬人骨からのらい菌DNAの証明．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

10) 鈴木幸一、Yang Degang、石藤雄子、大塚幹夫、塘忠顕、斎藤一二三、小林睦生、赤間　剛、原　武史、中永和枝、星野仁彦、四津里英、牧野正彦、石井則久．Buruli潰瘍家族発生例の住居敷地内からの *Mycobacterium ulucerans* DNA検出．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

11) 向井　徹、宮本友司、福富康夫、前田百美、牧野正彦．Bioluminescence系の抗酸菌応用への基礎的検討．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

12) 甲斐雅規、中田　登、松岡正典、関塚剛史、黒田　誠、牧野正彦．らい菌Kyoto-2株の全ゲノムシーケンスにより同定されたSNPsの解析．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

13) Yang, D., T. Akama, T. Hara, Y. Ishido, M. Makino, N. Ishii, and K. Suzuki. Clofazimine modulates the expression of lipid metabolism in *Mycobacterium leprae*-infected macrophages. 第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

14) 前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦．らい菌感染した樹状細胞から分泌されるエキソソームの解析．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

15) 金　玄、横山和正、中島千絵、松岡正典、向井徹、福富康夫、鈴木定彦：らい菌DNAのジャイレースの性状解析．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

16) 横山和正、金　玄、中島千絵、松岡正典、向井徹、鈴木定彦：らい菌DNAのジャイレースAサブユニット上のアミノ酸置換とニューキノロン耐性．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

17) Masanori Matsuoka: Collaboration between Korea and Japan for basic research on leprosy. 第85回日本ハンセン病学会総会シンポジューム．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

18) 瀬川将広、森　修一、横田　隆：東北新生園における入所者の退所理由別統計．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

19) 森　修一、石井則久：国内ハンセン病療養所における入退所者の統計．第85回日本ハンセン病学会総会・学術大会　札幌　2012年 6月

20) Shimohakamada, Y., T. Tamura, M. Umemura, and M. Makino. Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of $CD8^+$ cytotoxic T lymphocytes. 第41回日本免疫学会総会 神戸 2012年 12月

21) Miyamoto, Y., T. Mukai, and M. Makino. Metabolome analysis of mycobacteria. 第86回日本細菌学会総会 千葉 2013年 3月

22) 福田智子、葉山惟大、中島久美子、照井正、中永和枝、石井則久：両側上腕に生じた *Mycobacterium chelonae* の亜種による皮膚抗酸菌症の 1 例．日本皮膚科学会第 847 回東京地方会　東京 2013 年 1 月

23) 星野仁彦、中永和枝、鹿住祐子、前田伸司、石井則久：*Mycobacterium massiliense* の完全長ゲノム解析と *M. abscessus* group 間の比較解析．　第 88 回日本結核病学会総会　千葉　2013 年 3 月

24) 吉川弥須子、中永和枝、小川佳亮、田中孝昭、沼尾利郎：*Mycobacterium arupense*による前腕掌側腫瘤の1例．　第88回日本結核病学会総会　千葉　2013年 3月

２５．総務部総務課図書室

図書室長（総務課長併任）加地　尚春

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］

図書係では、上記業務のほか、平成 23 年度より研究成果の収集保存が開始され、当業務も担当している。

また三庁舎図書委員会の事務局として、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及び文献相互貸借状況は以下の通りである。

資料受入状況			洋	和	合計
雑誌			203	210	413
	購入		148	36	184
		電子版	106	0	106
	交　換		16	3	19
	寄　贈		39	171	210
単行本			85	124	209
	購　入		63	36	99
	寄　贈		22	88	110

文献相互貸借状況		供与	依頼	合計
総数		388	1,474	1,862
三庁舎間		118	118	236
外部機関総数		270	1,356	1,626
	協力機関	222	455	677
	国公立大学/機関	39	825	864
	私立大学/機関	9	76	85

［編集翻訳係］

編集翻訳係では、平成 24 年度は JJID vol. 65 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 月に岡部信彦、小林睦生、山田章雄、谷口清州が退官し、大石和徳、澤邉京子、森川茂が加わった。編集方針に変更はない。

昨年の編集委員会で決まった事項を具体化した 1 年であった。第一に、「印刷体の原則的廃止」のため、JJID を永年寄贈してきた国内外の教育機関、研究機関に寄贈の中止とホームページからの閲覧を 1 号及び 2 号で案内した。第二に、投稿・審査過程をオンライン化するため、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 4 月に参加し、研修後 J-STAGE への登載を開始した。その実績により 10 月に平成 24 年度システム利用機関に選定された。11 月システム構築のためのヒアリング、12 月に研修、平成 25 年 1 月には編集委員会全体でのシステム検証を行った。併行して査読スコアシート（論文審査基準）及び Instructions to Authors を変更し、Instructions for Reviewers を作成した。すべての準備作業を完了し、2 月 12 日にシステムの運用を開始した。

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. 1/97 頁（19 編）、2/93（18）、3/86（20）、4/91（21）、5/94（22）、6/105（19）

投稿論文数　感染研内　17 編
　　国内　　87 編
　　海外　　105 編（16 ヵ国）

採択率　　40％

２６．研究情報運営委員会

（情報基盤　研究情報ネットワーク（NIH-NET）の運営状況）

研究情報運営委員長　椎野禎一郎

概　要

Ⅰ.沿革

国立感染症研究所では、厚生労働省ではどの施設よりも早く、平成 5 年度より所内の研究者向け情報ネットワーク回線の試験運用を開始した。翌平成 6 年度より、研究情報ネットワーク（NIH-NET）整備事業として事業化し、本格的な情報ネットワークの導入に踏み切り、所員の e-mail の利用・Web サイト閲覧・公式 Web サイトの開設が可能となった。現在、NIH-NET は所員のインターネット利用基盤であると共に、各部が科研費等で構築・運用している個別情報システムにネットワーク環境とインターネット接続サービスを提供することで、事業費・研究費の効率化に寄与している。e-mail や自由度の高い Web システムは、所内・国内外の研究情報交換環境の迅速性と効率性に貢献している。平成 10 年には感染研の各庁舎を結ぶテレビ会議システムに回線を提供、平成 21 年には「感染研情報共有システム」に回線とユーザ情報を提供、平成 23 年には電話回線の IP 化に参画し、庁舎間回線の情報・音声網共通化を行った。平成 24 年度より、政府の情報システム最適化計画に従い、公式 Web サーバと感染症情報センター（現感染症疫学センター）の情報システムの統合が成され、新たに「所外向け Web サーバ」として NIH-NET から独立した。所外向け Web サーバは、所員のコンテンツ作成の利便性のために CMS が導入され、その管理運用のために新たにホームページ管理運営委員会が設置された。また、平成 24 年度の更新から、NIH-NET のサーバ群を所内サーバルームに設置したクラスタマシンによる仮想サーバシステムに移行することで一層の低コスト化・高性能化・省電力化を実現した。同時に、回線系にネットワークパーティション機能を持つネットワークスイッチを導入し、他の情報システムも同一インフラ内で構築可能な共通基盤回線として再出発を果たした。

一方、情報ネットワークに付随する情報セキュリティリスクの増大に対応するため、NIH-NET では平成 13 年度に「研究情報セキュリティ規範」を整備した。平成 17 年 12 月 13 日に、政府の情報セキュリティ政策会議において、「政府機関の情報セキュリティのための統一基準」が決定された。NIH-NET では平成 18 年度にこの統一基準に適応した「セキュリティ対策実施手順」の作成に入り、平成 18 年 10 月より運用の開始をした。「規範」およびそれを引きついだ「対策実施手順」には、情報セキュリティ監査と情報セキュリティ教育の実施が義務づけられており、両者とも平成 15 年度から実施された。その後、新型インフルエンザ、種々の新興再興感染症のリスク増大などの社会的不安などを契機に感染研が国内外と即時的な情報交換をする機会が増し、情報管理が一層重要視されるなか、NIH-NET を含めた所内の情報システムのセキュリティに総合的に対応するため、平成 19 年より研究情報委員会を組織改正により情報セキュリティ委員会としてその任に当たらせた。平成 23 年 4 月には、情報セキュリティ委員会の策定した「国立感染症研究所情報セキュリティポリシー」が施行され、所内の情報システムの一元的なセキュリティ管理が整備された。このポリシーに従い、NESID-NIH-NET 間情報共有の際の情報セキュリティ実施手順および所外向け Web サーバ情報セキュリティ実施手順が、それぞれ平成 24 年 10 月と平成 25 年 3 月に定められた。

Ⅱ.体制

国立感染症研究所の情報システムは、情報セキュリティ委員会の管理下にある。NIH-NET の効率的な運用のために、情報セキュリティ委員会のもとに研究情報運営委員会（以下「運営委員会」）が置かれている。運営委員会は各部署の正職員からそれぞれ選出された委員からなり、登録ユーザ・機器の管理とトラブル支援を行う。通常のネットワーク運用業務は運営委員会事務局によって行われる。事務局は、数名の研究職員と非常勤職員によって運営されている。障害対応や運営の技術支援のために、別にネットワーク管理業者と契約を結んでいる。

Ⅲ．業務内容

現在、NIH-NET では以下の業務が行われている。

１．ユーザ・機器の登録

各委員からの申請にしたがい、各種登録作業を処理している。

２．障害の一次対応と業者への指示

ネットワークの障害発生時に、障害箇所と原因の調査、保守業者との交渉、修理に際する指示等を行っている。

３．旧公式 Web サーバのコンテンツの維持

平成 23 年度まで運用されていた公式 Web サーバを維持することで、古いコンテンツが失われないようにしている。

４．電子メールサービス

@nih.go.jp 及び@niid.go.jp のドメイン名で電子メール（Web メールによる外部からの利用も含む）が使えるよう整備している

５．研究者への Web 環境の提供

研究に関わる情報収集に欠かせない Web サービスへの接続環境を提供している

６．所員への情報支援

所内 Web サーバを用いて、設定情報、セキュリティ情報、利用案内等を行っている

７．個別情報システムのための基盤整備

各研究部等の情報発信に利用される個別情報システム（現在公式には 13 システムある）への回線とインターネットでの名前解決環境の提供を行っている。また、nih.go.jp および niid.go.jp ドメインを管理することで、これらの個別システムに FQDN を提供している。

８．情報セキュリティ対策

新規登録者向け講習会と、e-learning による継続者講習会を実施している。また、セキュリティ監査を、1 月に行い、ここで明らかにされた指摘に対して、設定見直し、機器選定、ポリシーの見直し等の対策を行った。

９．講習会の実施

新規ユーザへの講習会は、対策実施手順の示す通り２ヶ月に一度２時間の講義が行われている。また、既存ユーザの再教育を（平成 21 年度より Web システムを利用した e-learning を導入）行っている。

Ⅳ．今年度の活動内容

平成 24 年度に行った、通常業務以外の活動は以下のとおりであった。

(1) 継続者セキュリティ講習会（口演形式）予約システムの構築

(2) 各部の保有する情報システムの棚卸し作業

(3) SINET4 への接続変更工事

(4)厚生労働省標的型メール攻撃訓練の実施への支援

(5) 高分子化合物立体構造解析ツール MOE2012.10 説明会

Ⅴ．平成 23 年度中の主なシステム障害は、以下の通りである。

１．12/05/21　公式 Web サイト・データセンターにおける内部ネットワーク・ストレージ障害

２．12/08/07　戸山庁舎 2 階サーバエリア空調障害に伴う一部サーバの熱暴走による通信障害

３．12/12/11　SINET4 接続工事（一回目）に伴う設定不備による通信障害