序

所長　渡邉治雄

2013 年度はいくつかの大きな感染症の事例が発生した。国外においては、中東を中心に新しいコロナウイルス感染症である中東呼吸器症候群（Middle East respiratory syndrome: MERS）の発生が、また中国では鳥インフルエンザ H7N9 の流行が起こり、それらの我が国への侵入に備えて、感染研では地方衛生研究所（地研）等との間の連携において万全の検査体制を確立した。幸い現在までにそれらの侵入は見られていない。国内では、成人を中心とする風疹の大流行が起こり、その影響で、妊娠初期に感染した妊婦から先天性風疹症候群（Congenital rubella syndrome: CRS）の胎児の誕生が 40 例近く報告された。また、マダニを媒介としたウイルス感染症である重症熱性血小板減少症候群（Severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS）の患者が、最初に発見された中国ばかりでなく我が国においても存在していることが実態調査で判明した。さらに、世界的に問題となっているカルバペネム抗菌剤に耐性を示す“悪夢の細菌”の分離頻度が我が国においても徐々に増加してきている現状が明らかになってきた。

今後も予期せぬ感染症が国内外で発生する可能性がある。どのような事態が起こっても迅速に且つ万全に対応できるように疫学調査や検査対応への準備と所内の協力体制を整えておかねばならない。そのためには、事件が発生している現場での直接の対応機関である保健所、地研や病院等との連携をさらに強固なものにしていく必要がある。地研においては研究者の他の部署への人事異動が頻繁に行われるため、専門分野における検査技術の継承への低下が危惧されている。感染研で対応している地研職員に対する研修・実習が、即、現場で役に立つようにするため、地方衛生研究所全国協議会との話し合いの上で、その研修内容を企画するように改善した。また、感染研と地研で行っているレファレンス活動の連携を強化するため、レファレンスセンターの設置目的や活動内容の確認と再構築を地方衛生研究所全国協議会との間で行い、地研の検査技術力の向上およびその維持を図り、感染症発生動向調査等のデータの質を高めることとした。

ワクチンで予防可能な疾患に対してはワクチンを積極的に使用すべきである。厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会の基本方針に基づき、厚労省はこの数年間に Hib ワクチン、小児用肺炎球菌ワクチン、ロタウイルスワクチン、不活化ポリオワクチンをはじめ多くの新しいワクチンを予防接種に加えてきている。それに伴い、感染研で行うワクチン等の生物学的製

剤の国家検定のロット数は、2002 度には 291 であったものが、2012 年度には 520 にまで増加してきている。一方で、感染研では品質保証体制のグローバル化を図るため、ワクチンの国家検定のロットリリースの一部としてサマリーロット・プロトコール（SLP）審査を取り入れるとともに検定試験方法の改良に向けた研究に力を入れている。また、感染研は WHO からワクチン等の品質保証面における世界的な貢献を強く求められている。その対応機能の強化を図るため検定検査品質保証室と放射能管理室の２室からなる品質保証・管理部を 2014 年 4 月から発足させる。今後もワクチン等の生物学的製剤の品質保証の向上において必要な国家検定制度の改正並びに国際対応に向けた強化を積極的に行っていく予定である。

アベノミクスの３本の矢のひとつである成長戦略の目玉として、医療分野のイノベーションが声高に歌われている。医療分野の研究開発関連予算の一元的な配分、新規研究案件の作成や研究の進捗状況の把握が 2015 年 4 月から発足する新独法「日本医療研究開発機構」で行われることになっている。医療分野の重点領域の中には、感染研が関与する感染症領域が入っており、厚生労働科学研究費新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業と文部科学省：感染症国際研究ネットワーク推進プログラム、いわゆる J-Grid との連携が図られる。その研究成果を今後より効率的・効果的に治療薬・診断薬・ワクチンの開発等につなげることで、感染症対策を強化することが求められている。感染研としては、戦略的な研究企画・立案を行い研究費確保に向けた取り組みを行っていきたい。一方、重点課題に含まれていない健康危機管理対応、サーベイランス等の感染症施策研究等の直に経済に結びつかないものが蔑にされないように、また in house 予算の恒常的確保がなされるように厚労省に強く要望していきたい。

昨今、研究者は研究倫理の問題で世間から大きな批判を浴びている。降圧剤「ディオパン」の論文の不正問題で臨床研究の信頼が失墜した。また、基礎分野においても論文不正疑いの問題が発生している。科学的に適切性を欠く画像の流用・転用が行われ、データの改ざん、ねつ造が疑われている。研究費の不正使用も後を絶たない。我々は常々、自らの行動に責任を持って対処しなければならない。感染研は、疫学調査に、病原体検査に、更に国家検定において、国民に対して大きな責務を背負っている。国民の信頼を裏切らないように、そしてそれらのミッションを国内ばかりでなく世界に向けて一流のものとして果たしていけるように、力強く歩んでいきたい。

2013 年 4 月の人事として、森光敬子(企画調整主幹), 阿戸　学(免疫部長),棚林　清(バイオセーフティ管理室長)がそれぞれの役職に就任した。

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，以下の人事異動があった. 第四室長井上直樹が平成 25 年 11 月 15 日付けで退職し，岐阜薬科大学薬学科感染制御学研究室教授に就任した.

研究業務としては，出血熱ウイルス，新興ウイルス感染症，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，クリミア・コンゴ出血熱ウイルスのエンベロープ蛋白質を外套したシュードタイプウイルスの作製と細胞への侵入機構の解析と中和抗体測定システム開発，重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thrombocytopenia syndrome，SFTS）に対する抗ウイルス薬の探索，SFTS の診断システム開発，臨床疫学的特徴の解明等の研究がなされた. また, SFTS ウイルス（SFTSV）の細胞への侵入機構の解明等の基礎研究もなされた．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，アレナウイルス，特にザンビア共和国で出血熱の原因として分離されたルジョウイルスの細胞への侵入機構の解明に関する研究がなされた．ラッサ熱に対するワクチン開発を目的として，ラッサ熱の原因ウイルスであるラッサウイルスと同様に旧世界アレナウイルスに分類されるリンパ球脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）をモデルに，高度弱毒化痘瘡ワクチン（LC16m8）をベクターとしたワクチンを開発した.

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 発現細胞を用いて，抗体陽性となった患者血清から効率よくデングウイルスを分離する方法を開発した．また，NS1 抗原検出 ELISA キットおよび簡易イムノクロマト法を用いて，尿検体からデングウイルス NS1 抗原を検出する方法の診断における有用性を評価した．また，デングウイルス感染症の病態に日本脳炎ウイルス感染が影響を与えるか否かを検討するために，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について解析した．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.

治療薬開発を目的として，デングウイルス 1 型非構造蛋白質に結合する低分子化合物の中でデングウイルスの増殖を抑制する物質の探索がなされた.

また，アルボウイルス感染症の診断法を改良する試みとして，Flap 配列を付加したフラビウイルス共通プライマーおよびアルファウイルス共通プライマーを用いた遺伝子増幅法の診断における有用性を評価し，一部の感染症でその有用性が確認された.

以下の日本脳炎ウイルスに関する研究がなされた．現在日本で蔓延している，遺伝子型が I 型の日本脳炎ウイルスに対する不活化日本脳炎ワクチンの中和能を解析した研究，日本脳炎ウイルスの活動と気象の関連を明らかにする研究，等である．また，日本脳炎ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側因子を明らかにする目的で，マウスにおける日本脳炎ウイルス感染症の発症・重症化において，コラーゲン分解酵素（MMP）が重要な因子の 1 つであることを明らかにした.

トガウイルス科アルファウイルス属に分類される発熱性疾患の原因となるジカウイルスの診断システムを開発して整備した．また，日本で初めてジカウイルス輸入感染事例を発見した.

ジカウイルス同様アルファウイルス科に分類されるチクングニアウイルス感染症の病態解明，診断法の開発，分子疫学，細胞侵入機構の解明等，基礎的疫学的研究がなされた．病態解明に関する研究として，ネズミや霊長

類におけるチクングニアウイルス感染症の病態を解明した．

第三室においては，狂犬病ウイルスベクターを用いたワクチン開発に関する基礎研究，および，狂犬病ワクチン検定法を改良するための基礎研究が引き続き実施された．昨年度はリンパ球脈絡髄膜炎ウイルス（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，今年度は同ワクチンがマウスにおいてLCMV感染症に対する発症予防効果が実際に誘導されることを明らかにした．狂犬病ウイルスのLタンパク質およびPタンパク質の性状を解析する研究が開始された．

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依頼を国内からの医療機関から受け，日本における PML の診断および治療に貢献した．PML に対する高精度検査技術を開発し，それを PML の診断に応用することで PML の病因となっている PML 患者の CSF 中のJCウイルス調節領域を迅速に解析できるシステムを開発した．

造血幹細胞移植患者におけるヘルペスウイルス感染症，呼吸器ウイルス感染症の臨床的・疫学的研究により，それらのウイルス感染症の造血幹細胞移植患者における臨床的意義を解析した．

霊長類（特にカニクイザル）を宿主とするBウイルスは，ヒトでは重症神経感染症を引き起こす．B ウイルスのウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）のアシクロビルやガンシクロビル，その他の vTK 関連抗ウイルス薬のリン酸化能について解析した．また，ウイルス分離が困難な単純ヘルペスウイルス（HSV）による中枢神経感染症の原因ウイルスの薬剤感受性を評価するシステムの有用性を評価した．

第四室においては，ヘルペスウイルス感染症，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 に関する研究では，免疫抑制薬投与中の児に対する水痘ワクチン接種の効果と安全性を評価した．

CMV に関する研究では，先天性 CMV 感染症の感染・発症リスクを解析する目的で，出生時症候性と NKG2D 多型に有意な相関が認められたた NKG2D のシグナル伝達系の中間に位置する Akt のリン酸化の多型による影響を検討した．昨年に引き続き，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，等の課題について研究がなされた．

アルファヘルペスウイルス感染症に関する臨床的研究，特に薬剤耐性ヘルペスウイルス（単純ヘルペスウイルスや水痘・帯状疱疹ウイルス）感染症の診断システムを整備し，薬剤治療に抵抗性を示したいくつかの患者から採取された検体を用いて病原ウイルスのアシクロビル等の薬剤感受性を調べた．

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．

リケッチア症に関する研究では，ヒトに病原性のあるリケッチア病原体の病原性等の特徴を明らかにして，そのバイオセーフティリスクを新たに分類するための基礎的情報を収集した．また，マダニ関連リケッチア感染症やウイルス感染症の疫学的研究に欠かせない，マダニを分類するための共通ツール（形態同定のためのアーカイブ）の作成にとりかかった．昨年同様，各都道府県等の地方衛生研究所とのネットワークを構築・強化した．地方衛生研究所のリケッチア感染症対策のためのブロック化による利点，各地域の特性に合わせたネットワークのあり方を検討した．基礎研究として，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感染による細胞内脂肪滴の蓄積に関する研究，が継続してなされた．

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．

近年，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てきた．今年度は臨床分離株数を増やして，より詳細にその有用性を評価した．

コクシエラ症の基礎的研究として，Q 熱コクシエラ（*Coxiella burnetii*）のゲノム解析による基盤情報を整備

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（東京大学，東京慈恵会医科大学，首都大学東京，日本大学，他）や研究機関等から受け入れ，人材育成に従事した.

業　績

調査・研究

Ⅰ．ウイルス性出血熱および新興・再興感染症に関する研究

1. クリミア・コンゴ出血熱ウイルスのエンベロープ蛋白質を外套したシュードタイプウイルスの作製

クリミア･コンゴ出血熱(CCHF)ウイルス(CCHFV)は 40%にも及ぶ致死率の CCHF を引き起こす.CCHF はこれまで国内で発生していないが，特に輸入例を考慮しより正確な実験室診断法を準備する必要がある．中和抗体測定法は一般的に様々な抗体検出系の中で最も信頼度の高い抗体検出法とみなされているが，CCHFV は日本の感染症法で一種病原体に指定されていて,BSL-4 施設が稼働されていない日本では取り扱うことはできず,感染性 CCHFV を用いた中和抗体測定法は実行不可能な状況にある．一方，水疱性口炎ウイルス（VSV）を用いたシュードタイプウイルスのシステム用いて，他のウイルスのエンベロープ蛋白質により感染する組換え VSV を作製でき，かつ BSL-2 で取り扱うことが出来る．そこで，CCHV のエンベロープ蛋白質を外套した VSV シュードタイプウイルスを作製した.このウイルスは CCHFV の初期感染機構の性状を示した．また中国新疆ウイグル自治区で CCHF が発生した際に採材された CCHF 疑い患者血清の中和活性をこのシュードタイプウイルスを用いて調べたところ,CCHFV の N 蛋白質に対する抗体の有無（ELISA）とよく相関した．CCHF の新たな実験室診断法の 1 つになる．［下島昌幸，谷英樹，西條政幸；須田遊人（東京大学），堀本泰介（東京大学）］

2. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対するリバビリンの効果

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス（SFTSV）が引き起こす SFTS に対する治療薬や治療法はなく，現在国内の致死率は 30%を超えている．そこで多くの DNA ウイルス・RNA ウイルスに対し増殖抑制効果を示すことが知られているリバビリンの SFTSV に対する増殖抑制効果を調べた．SFTSV の中国株・日本株のいずれに対してもリバビリンは増殖抑制効果を示し（Vero 細胞で 64-104 μg/ml の EC_{50} 値），細胞毒性効果はわずかであった．リバビリンと同じ核酸類似体であるミゾリビンには SFTSV への増殖抑制効果は認められなかった．SFTS を発症した患者に投与しても致死率や血中ウイルス量に変化を与えないことが中国のグループから報告されたことから，リバビリンの SFTS に対する治療効果は期待できない可能性があるが，例えば医療従事者の針刺し事故やウイルスが含まれる血液・体液と接触した場合には予防的に投与することで発症を未然に防ぐことが出来る可能性が示唆された．［下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，福間藍子，西條政幸；森川茂（獣医科学部）：谷口怜（東京大学），須田遊人（東京大学）；前田健（山口大学）；高橋徹（山口県立総合医療センター）］

3. 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

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は 2011 年に中国で同定されたブニヤウイルス科フレボウイルス属の SFTS ウイルス（SFTSV）によるダニ媒介性感染症で，日本においても少なくとも 2005 年から SFTS 患者が発生し,2013年以降も新規患者が発生している．また，2013 年 5 月には，韓国でも SFTS 症例が報告された．一方，米国では 2012 年に 2 名の発熱性疾患患者からフレボウイルス属に分類されるハートランドウイルスが分離された．これらのウイルスは，1970

年代からアジア，アフリカ，ヨーロッパ等でダニから分離されているバンジャウイルスグループに遺伝子学的に類似しており，血清学的にも交差する．これらの知見は，ヒトに致死的な病気を引き起こす新種のフレボウイルスに近縁なウイルスが中国, 韓国, 日本，米国のみならず世界中に存在する可能性を示唆する．本研究では，日本および韓国において新たに明らかになったSFTS症例の病態およびウイルスの性質に関する情報収集を進めるとともに，SFTSV に近縁なフレボウイルスであるハートランドウイルス，バンジャグループウイルスに関し，文献，資料，国際会議等を通じて，これらの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を行った．［福士秀悦，福間藍子，谷口怜，吉河智城，谷英樹，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸］

4. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の実験室診断法に関する研究

ヒトは SFTS の原因ウイルス（SFTSV）に，マダニ類の一種，フタトゲチマダニやタカサゴキララマダニによって媒介され感染する．SFTS の病態解明，疫学調査, 感染リスクの評価を進めていくためにはSFTSの高感度・高特異性を備えた診断法を確立する必要がある．本研究では，SFTSV 感染細胞および組換え核蛋白質(rNP)を用いた SFTS 血清診断法を開発し，その診断における有用性について検討した．ウイルス感染細胞を抗原とした血清学的診断法により，血清中 SFTSV 抗体が高感度・高特異的に検出され，SFTSV 感染のサーベイランスに有用であると考えられた．一方，感染性ウイルスを必要としない，rNP を用いた血清診断法は，感度が比較的低く，感度を向上させるため抗原の発現方法の改良等さらなる工夫が必要であると考えられた．［福士秀悦，福間藍子，吉河智城，谷英樹，緒方もも子，谷口怜，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）］

5. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスの細胞侵入機構の解析

重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）は，中国で発見され 2011 年に初めて報告されたブニヤウイルス科フレボウイルス属のウイルスである．また日本でも 2012 年秋に亡くなられた患者から SFTSV が分離・同定された．SFTSV は，主にマダニの咬傷によりヒトや動物に感染し，ヒトにおいては 10%以上の死亡率を示す重篤な全身感染症を引き起こす．昨年度, SFTSV の細胞侵入機構の解析を目的として，エンベロープ蛋白質遺伝子欠損水疱性口内炎ウイルス（VSVΔG）に SFTSV のエンベロープ蛋白質（GP）を外套したシュードタイプウイルス（SFTSVpv）を作製し，様々な哺乳動物細胞に高い感染価で感染することができることが明らかにされた．本年度は，エンドサイトーシス阻害剤を用いて解析し，SFTSV は pH 依存的に細胞侵入することが明らかにされた．また，SFTSVpv の細胞への感染は回復患者血清によって特異的に阻害された. 各種C型レクチン（DC-SIGN, DC-SIGNR, LSECtin）を発現していない細胞株に強制発現させ, SFTSV の感染性を調べたところ, SFTSVpv の細胞侵入効率が増強し，また，SFTSV の増殖も増強した．以上のことから，SFTSVpv は感染性 SFTSV の代替として細胞侵入機構の解析および感染中和試験にも利用できることが示唆された．また，SFTSV は C 型レクチンを介して感染を増強させることが明らかとなった．［谷英樹，下島昌幸，福士秀悦，福間藍子，吉河智城，緒方もも子，森川茂（獣医科学部），西條政幸；谷口怜（東京大学）］

6. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する候補抗ウイルス薬の評価

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は，死亡率が高く極めて予後不良の感染症であるが，現在まで効果的なワクチンや治療薬は開発されていない．そこで，抗ウイルス薬 T-705（富山化学工業）の SFTSV に対する抗ウイルス効果を検証した．T-705 は RNA ポリメラーゼ阻害薬として，インフルエンザウイルスをはじめ多くのウイルス種に対して抗ウイルス効果が認められている．日本株および中国株の SFTSV で T-705 の抗ウイルス効果を，Vero 細胞を用いて検討したところ，濃度依存的な抗ウイルス効果が認められた．同じく RNA 複製阻害剤であるリバビリンと比較してもより効果的であることも明らかとなった．今後，感染モデル動物を用いて in vivo での薬効を検証していく予定である．［谷英樹，福間藍子，福士

秀悦，吉河智城，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；谷口怜（東京大学）；古田要介（富山化学工業）］

7. 中国と日本の重症熱性血小板減少症候群ウイルス株を検出し，かつ患者の予後が予測できる高感度，特異的なリアルタイム定量 PCR 法の確立

2009 年に中国で初めて報告された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は 2013 年 1 月に日本国内でも患者が確認された．SFTS の原因ウイルス（SFTSV）においては，国内患者から検出されたウイルス株の塩基配列は中国に多く分布する株と比して塩基配列に無視できないレベルの違いがあった．そこで，中国と日本の SFTSV 株のどちらについても高感度，かつ特異的に検出できるリアルタイム定量 PCR（qPCR）法を確立した．本法を用いて実際に臨床検体を検査した結果, 中国と日本の SFTSV のどちらについても，既に開発されて検査に用いているコンベンショナル RT-PCR による SFTSV 遺伝子検出法と同程度の検出感度を有していることが確認された．また，本法を用いて検体中のウイルス RNA コピー数の定量を行い，患者の予後との相関について検討したところ，血中のウイルス RNA コピー数が高いほど予後が重篤になることが明らかとなった．本 qPCR 法は SFTS の実験室診断に有用であり，かつ患者の予後を予測するための一助となりうる．［吉河智城，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，緒方もも子，西條政幸，下島昌幸；森川茂(獣医科学部)；谷口怜（東京大学）］

8. 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

ヒトに高い病原性を示すアレナウイルス（旧世界アレナウイルスのラッサウイルス，新世界アレナウイルスのフニンウイルス等）は BSL-4 に分類され，バイオテロリズムに用いられる危険性の指摘されている病原体である．最近，ザンビア，南アフリカで原因不明の出血熱症状を呈した患者から分離された Lujo（ルジョ）ウイルス，ザンビアでげっ歯類から分離された Luna（ルナ）ウイルスなど，相次いで新種のアレナウイルスが分離された．このことから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ことを示唆される．現在まで，私たちの研究室では新興アレナウイルスのリコンビナントタンパク質等を用いて血清診断，病原診断法が開発されているが，旧世界，新世界アレナウイルスともにを広く検出可能な抗体はない．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検査法を開発するために，アレナウイルスの高度保存領域に対する抗体を作製した．この抗体は，種々のアレナウイルスのリコンビナントタンパク質および，感染性アレナウイルスに広く交差反応性を示した．本領域を抗体作製の標的とすることにより，新種，新型のアレナウイルスをもれなく検出できる技術の確立につながることが期待される．［福士秀悦，福間藍子，吉河智城，谷英樹，緒方もも子，谷口怜，下島昌幸，西條政幸，森川茂（獣医科学部）］

9. 中東呼吸器症候群（MERS）ウイルス(MERS-CoV)の血清診断法と感染初期過程に関する研究

MERS は 2012 年にサウジアラビアで最初に報告のあった, 新型のコロナウイルスによる感染症である．原因ウイルスである MERS-CoV はコウモリあるいはラクダがヒトへの感染源と推測されているが，これまでのところ調査された地域，動物種は限られており，ウイルスの分布が中東地域に限局するのか，また，ウイルスがどのように自然宿主動物からヒトへ伝播するのか，その経路は今でも不明な点が多い．本研究は，ハイスループットかつ特異性の高い MERS-CoV 抗体検出法を開発し，MERS 血清疫学の技術基盤を確立することを目的とし，MERS-CoV の N および S タンパク質の発現，精製を行った．さらに，MERS-CoV のモノクローナル抗体作製に着手した．また，MERS-CoV の感染初期過程を解析するためのツールとして MERS-CoV の S タンパク質を外套した VSV シュードタイプの作製を試みた．［福士秀悦，谷英樹，福間藍子，谷口怜，吉河智城，緒方もも子，下島昌幸，森川茂（獣医科学部），西條政幸］

10. 新興出血熱ウイルスの感染中和抗体開発に関する基盤研究

ヒトが罹患する出血熱ウイルス感染症は，重篤な疾患を引き起こし，致死率も高いため，ワクチン及び有効な治療法の開発が急務である. 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（BSL-4）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，各種南米アレナウイルスおよび新興ウイルスである重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）の感染を中和できるような,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．本年度，ラッサウイルス，フニンウイルス，ルジョウイルスおよびSFTSVのGP発現細胞をマウスへ免疫し，ハイブリドーマを作製後，各ウイルスGPシュードタイプVSVの感染中和活性および間接蛍光抗体法を用いて産生抗体の有無を調べた．その結果，間接蛍光抗体法では，ラッサウイルスおよびSFTSVのGPに対して抗体の存在が確認できた．しかしながら，シュードタイプVSVによる感染中和活性は，SFTSVに対してのみ認められたものの，アレナウイルスに対してはどれも認められなかった．アレナウイルスのGPに対する抗体は，何らかの理由で産生されにくいことが示唆された．ブニヤウイルス科のSFTSVに関しては，感染を中和できる抗体産生細胞の選別ができた．この抗体はウイルスの感染中和だけでなく，蛍光抗体法やELISA法にも利用できることがわかった．アレナウイルス科においては，ラッサウイルスのGPに対する抗体は得られたものの，感染中和できるものは未だ得られておらず，他のアレナウイルス種のGPに対する抗体とともに今後も継続して抗体の作製に取り組む予定である．［谷英樹，福間藍子，福士秀悦，吉河智城，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；谷口怜（東京大学）］

11. ルジョウイルスの細胞侵入機構の解析

新規の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．これまでに，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てきた．その結果，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．こうした分子の一つとして，エボラウイルスの細胞侵入に関わるとされるニーマンピック病 C1 型（NPC1）などが報告されており，ルジョウイルスにおいてもこうした分子が関与するのかを検証した．NPC1 は本来，細胞内のスフィンゴ脂質やコレステロール等を細胞外へ放出する機能を持ち，これを欠損させた CHO 細胞株では，正常の細胞株と比較して LUJpv の感染性が低下した．このことから，脂質分子の蓄積が LUJpv の感染には影響する事が明らかにされた．エボラウイルスは NPC-1 と直接結合することで感染阻害を受けることが明らかとなっており，今後ルジョウイルスにおいても NPC-1 と相互作用するのか検討する必要がある．［谷英樹，下島昌幸，福士秀悦，福間藍子，緒方もも子，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；谷口怜（東京大学），河岡義裕（東京大学）；仲宗根眞恵（鳥取大学），二宮治明（鳥取大学）］

Ⅱ．ポックスウイルスに関する研究

1. 組換えワクシニアウイルスを用いた 効果的且つ安全な LCMV/SFTSV ワクチンの開発

細胞培養痘そうワクチンの製造承認株であるワクチニアウイルス LC16m8 株は，ワクチンとしての免疫原性を維持しつつ安全性の非常に高いワクチン株である．本研究ではこの株の長所を生かして，一類感染症の一つであるラッサ熱を起こすラッサウイルスを含むアレナウイルスのプロトタイプであるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV），そして 2013 年に初めて国内での発生が確認された重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）感染症への効果的なワクチンの開発を行った．具体的には LCMV，そして SFTSV の膜表面抗原である GPC, 核抗原である NP，N，そして膜裏打ち抗原である Z といった抗原

を単価または複数価発現する組換えワクチニアウイルス（recVac）の作製を行った．Z を除くすべてのタンパク質について recVac 感染細胞で発現していることを間接蛍光抗体法により確認できた．また，間接蛍光抗体法に適した抗体がなかったために確認できなかった Z についてもその遺伝子発現ユニットを持つ recVac が作製できていることをウイルスの遺伝子配列のシークエンシングから確認している．今後は更にウェスタンブロッティング法により，Z を含めた LCMV，SFTSV 由来のタンパク質の発現確認，及び動物実験系の確立を行う．［吉河智城，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂(獣医科学部)；谷口怜（東京大学)］

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 ADE アッセイを用いたウイルス分離法の改良：デングウイルス重複感染症におけるウイルス分離

本研究課題では，デングウイルス重複感染症(concurrent dengue virus serotypes infection)の病原体診断法を開発し，その有用性を証明した．従来，デングウイルス重複感染の鑑別には，遺伝子診断法が用いられているが，病原体診断としては高い感受性を有する．一方，ウイルス遺伝子診断は，コンタミネーションや非特異反応のリスクがあり注意が必要である．ウイルス分離は，重複感染の確定診断を可能にするとともにウイルス性状解析もできるというメリットがあるが，重複感染のウイルス分離は，技術上で困難であった．そこで，私たちはこれまでに確立した Fcgamma レセプター(FcγR)発現 BHK 細胞を用いた新規中和試験法がデングウイルス重複感染に使用可能であることを利用して，重複デングウイルス感染の患者血清からデングウイルスの分離を試みた．私たちは，中和および感染増強活性を有する回復期患者血清(NtAb)を用いて新規中和アッセイにより，それぞれのデングウイルスの分離に成功した．以上の結果により，私たちは FcγR 発現 BHK 細胞を用いて，新規病原体診断法を確立した．［モイメンリン，高崎智彦，西條政幸，倉根一郎，小滝徹；磯田貴義，本馬恭子，牧江俊雄，古市美絵子，久世敏輝，金川真澄，森里美，三宅智（成田空港検疫所）］

(2) 日本脳炎（JE）ワクチン接種者における DENV 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デングウイルス感染の重症化メカニズム解明が可能となる．さらに，DENV 流行地では，DENV とともに JEV が流行を起こしている．本研究では，JE ワクチン接種により誘導された抗体における DENV に対する中和および感染増強活性を解析した．私たちは，2009 年～2011 年に JE 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 検体を用いた．ワクチン接種前 87 検体中，3 検体は DENV IgG 陽性であったが，ワクチン接種後 87 検体中，7 検体が DENV IgG 陽性であった．さらに，IgG 陽性検体を用いて DENV に対する中和抗体活性を BHK 細胞および FcγR 発現細胞にて検討したところ，DENV に対する交叉中和活性が認められなかったが，JE ワクチン接種により DENV-IgG が陽転化した検体においては，感染増強活性が認められた．さらに，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，交叉中和活性は認められなかった．一方，JE ワクチン接種により誘導された DENV に対する交叉感染増強活性は，DENV 感染により誘導された感染増強作用より低いであったことから，JE ワクチン接種により誘導された交叉抗体の DENV 感染症における発症病理上の意義を検討する必要がある．［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) NS1 抗原検出 ELISA キットおよび簡易イムノクロマト法を用いた尿検体におけるデングウイルス NS1 抗原検出

デングウイルス非構造 NS1 タンパクは，デング熱の検査マーカーとして，急性期の診断に有用である． NS1 抗原検査では，通常血清検体が用いられているが，出血症状が顕著な患者などにおいては採血が困難な場合もある．本研究では尿検体を用いた

NS1 抗原検査アッセイ法を構築し，本アッセイ法の実験室診断における有用性を検討した．私たちは，ELISA 法および簡易イムノクロマト法にて血清検体および尿検体の NS1 検出率と比較検討を行った．ELISA 法は，血清中の NS1 抗原を高感度で検出可能であった．一方，尿中の NS1 抗原検出率は血清よりやや低い．いずれの ELISA 法およびイムノクロマト法においてもほぼ同等の検出率で尿中の NS1 抗原を検出した．以上の結果により，私たちは NS1 抗原簡易キットにて尿中の NS1 抗原を検査することが可能であることを明らかにした．［モイメンリン，高崎智彦，齋藤悠香，倉根一郎］

(4) デングワクチン評価のためのモデル動物の構築

本研究課題では，デング熱ワクチン評価のためのモデル動物開発を目的とする．私たちは，デングウイルス感染に対し高感受性を示すマーモセットがデングウイルス感染症モデルとして有用であることを証明した．私たちはマヒドン大学（マレーシア）との共同研究を通じてマヒドン大学で開発された弱毒化生ワクチンの有効・安全性についてマーモセット評価モデルを用いて検討した．本研究では，マーモセット 4 個体に DENV-2 ワクチン株（DENV-2 vaccine strain）を，別のマーモセット 4 個体（対照群）に親株を接種した．ワクチンやウイルス接種 6 ヶ月後には，DENV-2 臨床分離株を全 8 個体に接種し，さらにデングウイルス感染歴のないマーモセット 4 個体にも DENV-2 臨床分離株を接種し，それぞれの個体における感染をウイルス学・免疫学的に検討した．いずれの 8 個体においても感染後には感染性ウイルス粒子（ウイルス血症）が検出されず，再感染の IgM/IgG 抗体の上昇パターンを示した．それに対し，感染歴のないマーモセット 4 個体においては，ウイルス血症が認められ，初感染の IgM/IgG 抗体の上昇パターンを呈した．以上の結果により，デングワクチン接種を受けたマーモセットにおいては，同血清型に対し，防御免疫が認められた．さらに，ワクチン接種したマーモセットにおけるウイルス血症と IgG/IgM 抗体の上昇パターンはヒト DENV 感染と類似することから，本モデルはワクチン開発に有用であると考えられる．［モイメンリン，高崎智彦，林昌宏，倉根一郎；網康至，須崎百合子（動物管理室）；白井顕治，鈴木隆二（相模原医療センター）］

(5) デングウイルス新規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 細胞を用いた新規 ADE（antibody-dependent enhancement，抗体依存性感染増強）および中和試験の使用法を改良した．さらに，新規中和試験の使用手順・研修テキストを作製・修正し，FcγR 発現 BHK 細胞および使用手順を国内外の研究機関［Mahidol University（Prof. Sukathida Ubol），Friedrich Loeffler Institute（FLI），National Institute for Animal Health of Germany］に提供し，技術移転を行った．［モイメンリン，高崎智彦，倉根一郎］

(6) デングウイルス 1 型非構造蛋白質に結合する低分子化合物の探索

デング感染症は熱帯・亜熱帯地域で毎年流行を繰り返しており，さらに常在地域は年々拡大傾向にあることから，世界的に最も危惧される感染症の一つと認識されている．現在複数のワクチン開発が進行中であるが，実用化にはまだ時間がかかると思われる．一方でウイルスの増殖や構造蛋白質，さらには酵素活性を有する非構造蛋白質を標的とした抗デング薬の開発も行われている．私たちは，非構造蛋白質の中でも，「酵素活性は有しないがウイルス増殖に必須」である NS1 および NS4A に標的を絞った抗ウイルス活性を有する低分子化合物の探索を目指している．実際には低分子化合物ライブラリーからこれらのウイルス因子に結合する化合物をスクリーニングする予定である．本年度は NS1 および NS4A 蛋白質を哺乳動物細胞 293T 細胞内で強制発現させ，それらを精製するところまで完了した．次年度には実際に理化学研究所の保有する化合物ライブラリーを用いてスクリーニングを行う予定である．［田島茂，高崎智彦；間陽子（理化学研究所）］

(7) Flap 配列を付加したフラビウイルス共通プライマーおよびアルファウイルス共通プライマーの評価

AT 塩基に富む 12 塩基から成る Flap 配列をウイルス遺伝子増幅プライマーの 5’末端に付加することにより増幅感度や増幅量が増加することが知られて

いる．そこで本研究ではフラビウイルス共通プライマーおよびアルファウイルス共通プライマーにFlap配列を付加した場合の効果を検討した．フラビウイルス共通NS3領域プライマー（Fla-U5004f, Fla-U5457r），および，NS5領域プライマー（FU1PM899f，cFD3PM10077r）にFlap配列（AATAAATCATAA）を付加したものを合成し，デングウイルス1型，日本脳炎ウイルス，およびヨコセウイルスRNAを用いてconventional 1-step RT-PCRおよびreal-time（SYBR Green I）1-step RT-PCRによりウイルス遺伝子の増幅を試みた．一方アルファウイルス共通nsP1領域プライマー（M2W164f，M2W2288f，cM3W597r）にFlapを付加したものを合成し，ゲタウイルス，シンドビスウイルス，ベネズエラ馬脳炎ウイルス，およびチクングニアウイルスRNAを用い，フラビウイルスの場合と同様にウイルス遺伝子の増幅を試みた．フラビウイルス共通NS3プライマーにFlap配列を付加した場合，3種のウイルスのいずれにおいても増幅量の増加がみられた．一方NS5プライマーではデングウイルスでは増加したものの，日本脳炎ウイルスおよびヨコセウイルスでは逆に減少した．アルファウイルスの場合，付加により検出感度と増幅量が上昇したものの，その効果はプライマーの組み合わせとウイルス間で異なっていた．以上ように，Flap配列付加が効果的に働く場合が多かったが，逆の場合もあった．しかし付加したものを用意し検討する価値はあると思われる．［田島茂，谷ヶ崎和美，小滝徹，高崎智彦］

(8) 台湾CDCとのデング熱および地球温暖化に関する共同研究

台湾におけるデング熱国内発生患者数と気象データ（気温，降水量など）の関係を解析した．また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の分子疫学的解析を行い比較解析した．［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，高崎智彦，倉根一郎；舒佩芸，鄧華眞（台湾行政院衛生署疾病管制局）］

2. 日本脳炎に関する研究

(1) 現在蔓延しているI型日本脳炎ウイルスに対する不活化日本脳炎ワクチンの中和能の解析

現行の日本脳炎ワクチンは遺伝子型III型株を用いて製造されているが，1990年代初頭以降，日本脳炎蔓延地域で分離されるウイルスの主要遺伝子型はI型に変化した．このワクチン株と流行株間の遺伝子型の齟齬がワクチン接種による日本脳炎防御効果に影響するかを明らかにするため，昨年度より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I型およびIII型分離株に対するワクチンの中和能力を調べている．本年度は株数をI型は11株，III型は3株に増やして解析を進めた．北京株由来ワクチンを接種した場合，ワクチン株である北京株および中山株ウイルスに対する中和能は高かった．またI, III型株間で中和力価はほとんど変わらなかった．一方中山株ワクチンを接種した場合，他のワクチン・分離株に比べ中山株に対する中和力価が顕著に高かった．また北京株由来ワクチンと同様，遺伝子型間で中和力価はほとんど変わらなかった．以上より，I型分離株とIII型分離株を用いて，北京株および中山株由来ワクチンの防御効果を調べたが，両ワクチンの中和効果はI型ウイルスとIII型ウイルスで差がないことが明らかとなった．本研究によって，現行のワクチンはI型に対してもIII型に対してと同等の効果があることが示された．［田島茂，谷ヶ崎和美，小滝徹，高崎智彦］

(2) 日本脳炎ウイルスの活動と気象の関連についての解析

日本で1965年以来，実施されているブタにおける日本脳炎感染源調査（抗体調査）のデータをもとに夏季の気温（平均気温，最高気温，真夏日の日数など），降水量と日本脳炎ウイルスとの相関関係を検討し，気温と正の相関をすることを見出した．さらに県単位の地域における相関の強さの相違を調査した．また，国立環境研究所との共同研究としてさらに詳細な気象データを入力し解析基盤を強化した．国立環境研究所の解析ソフトを用いて解析した．［柴崎謙一，小滝徹，高崎智彦，倉根一郎；肘岡靖明（国

立環境研究所）］

(3) 日本脳炎ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側因子の解析

日本脳炎の発症機構を解明するべく，日本脳炎ウイルスの病原性決定において重要であり株間で差が多く確認されている神経侵襲性に注目し，ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側要因についてマウスを用いて解析した．神経侵襲性の低い株を感染させたマウスでは血液脳関門の透過性に変化はなくウイルスの脳への侵入も極めて少なかった．炎症系サイトカインおよびウイルスの脳への侵入に関与すると考えられているコラーゲン分解酵素（MMP）の発現についても変化は見られなかった．これに対し，神経侵襲性の高い株を感染させた場合では血液脳関門の透過性が上昇しており，脳へのウイルス侵入も見られた．炎症系サイトカイン，MMP も上昇していたことから日本脳炎ウイルスの発症・重症化においても MMP が重要な因子の 1 つとなる可能性が示唆された．［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. ジカ熱に関する研究

(1) ジカウイルス（Zika virus）に関する病原体診断法（病原体診断，血清診断法）の確立

ジカウイルス（Zika virus）に関する病原体診断法（病原体診断，血清診断法）を確立し，本邦初の輸入症例 2 例を確定診断した．［高崎智彦，モイメンリン，小滝徹，田島茂，中山絵里，池田真紀子；忽那賢志（国立国際医療研究センター）］

Ⅳ．トガウイルスに関する研究

1. ゲタウイルスに関する研究

(1) ブタ血清由来日本脳炎ウイルス試料からのゲタウイルス検出

ブタは日本脳炎ウイルスの増幅動物であり，ウイルス感染した場合高いウイルス血症を示すことが多く，しばしばブタ血清から Vero 細胞を使用して日本脳炎ウイルスの増幅が試みられている．2005 年に高知県のブタ血清から日本脳炎ウイルス（JEV/Kochi/01/2005）が分離された．しかし，このウイルスを継代するに従い，感染性ウイルス濃度が低下しないにもかかわらず，ウイルスゲノム量の顕著な低下が認められた．また形成されるプラーク形態が日本脳炎ウイルスのそれとは異なっており，むしろアルファウイルスのものに類似していた．そこで 4 継代目のウイルス液からアルファ共通プライマーでアルファウイルスゲノム検出を試みたところ，予想される長さの増幅断片が得られた．この塩基配列を決定したところアルファウイルスに属するゲタウイルスゲノムであることが判明した．ゲタウイルスの全塩基配列を決定したところ，私たちが保有する株や生ワクチン株とは明らかに異なる，新規の株であることがわかった．日本脳炎ウイルスおよびゲタウイルスゲノム量を 2~5 継代のウイルス液で調べたところ，日本脳炎ウイルスが減少傾向であったのに対し，ゲタウイルスは増加傾向を示した．以上より，当初日本脳炎ウイルスを分離したブタが日本脳炎ウイルスとゲタウイルスの両方に共感染していた可能性が示唆された．［田島茂，小滝徹，谷ヶ崎和美，モイメンリン，中山絵里，高崎智彦］

2. チクングニアウイルスに関する研究

(1) 輸入症例から分離したチクングニアウイルスの系統樹解析

日本では 2006 年から 2013 年の間に 48 例のチクングニア熱輸入症例が報告されている．私たちは 48 例のうち 32 例を確定診断し，7 検体から 8 株のウイルスを分離した．チクングニアウイルスはアジア型，西アフリカ型，東・中央・南アフリカ（ECSA）型の 3 つの遺伝子型に分類される．輸入症例から分離されたウイルス株の膜蛋白質をコードする遺伝子を RT-PCR によって増幅し，増幅産物をダイレクトシークエンスまたはベクターにクローニングした後にシークエンスを行った．得られた塩基配列をもとに分子系統学的解析を実施した結果，8 株中 3 株は ECSA 型，5 株はアジア型に属することが明らかにされた．ECSA 型に属する 3 株のうち 1 株は 2006 年以降世界的に流行したウイルス株が持つアミノ酸変異を有していた．この変異を獲得することにより，ヒトスジ

シマカ体内でのウイルスの増殖効率が高まることが示されている．ヒトスジシマカは日本にも広く分布している．輸入症例から変異ウイルスが日本へ侵入すれば，わが国でも国内流行が起きる危険性が示唆された．また，アジア型に属する 5 株のうち 4 株は近年東南アジアで流行しているウイルスと近縁であったが，残り 1 株は 1958 年に分離されたウイルス株と近縁であった．このことから，東南アジアでは近年の流行株と土着のウイルスの少なくとも 2 系統のアジア型ウイルスが存在する可能性が示唆された.［中山絵里，小滝徹，林昌宏，高崎智彦］

(2) チクングニアウイルスの抗体検出法の開発

チクングニアウイルスに対する特異抗体検出のための ELISA 法の抗原として，ウイルス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，ヒスチジンタグを付加した分泌型組換え膜蛋白質を作製した．これら蛋白質を抗原とした ELISA 法の感度を，マウスのポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を用いて測定したところ，組換え膜蛋白質を抗原とした場合の ELISA 法は細胞溶解物およびウイルス様粒子を抗原とした場合と比較して感度が高かった．次に，組換え膜蛋白質を ELISA 抗原とし，チクングニアウイルス感染患者血清中の IgG 抗体の検出を試みたところ, 中和試験法による結果を基準とした場合, 本ELISA 法は 93%の感度を示した．また，鑑別疾患として重要なデングウイルス感染患者血清を用いて本法の特異度を測定した場合，97%と高い値を示した．［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

2004 年以降，インド洋諸国を中心に大流行したチクングニアウイルスは従来のウイルス株と比較して病原性が高いことが報告されている．しかし，病原性を決定する因子については解明されていない．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．昨年度，C 型レクチン発現細胞を用い，病原性が異なると考えられるチクングニアウイルス株の細胞侵入効率を比較し，C型レクチン介在性細胞侵入効率とウイルスの病原性に関連があることを示した．本年度，この現象に関与するウイルスのアミノ酸領域を明らかにすることを目的に，組換えチクングニアウイルス産生レプリコンの系を作出した．この系によって作出した組換えウイルスの各種培養細胞および C 型レクチン発現細胞への感染性を調べたところ，各種培養細胞への感染性は野生型ウイルスと同等であったが, C 型レクチン発現細胞では，野生型ウイルスで観察されたようなレクチン介在性細胞侵入効率の増強が観察されなかった．この原因を探るため，次年度は，レプリコンの系に改良を加える予定である．［中山絵里，谷英樹，下島昌幸, 高崎智彦 ; 高田礼人（北海道大学)］

(4) チクングニアウイルス臨床分離株のマウスにおける病原性解析

日本では 2006 年から 2013 年の間に 48 例の輸入症例が報告され，8 株のウイルスが分離された．チクングニアウイルスの動物モデルとして近年報告されたマウスモデルを用い，私たちが輸入感染例から分離したウイルスのマウスにおける病原性を調べた．生後 6 週齢の C57BL/6 マウスに，それぞれ異なる遺伝子型に属すチクングニアウイルス 2 株を皮下接種し，感染後 1 日，3，5，7，10 日目に血液および臓器（肝臓，脾臓，筋肉，関節）を回収し，血中および組織中のウイルス力価を測定した．他のグループの報告では，感染マウスでは足の腫脹が観察され，筋，脾臓，リンパ節，肝臓，血液でウイルスが増殖することが示されている．しかし，本研究では，マウスは症状を示さず，血液，脾臓等では十分なウイルス遺伝子も検出されなかった.［中山絵里, モイメンリン, 小滝彰，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最適な動物モデルの確立が求められている．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，血液からウイルスが分離された．また接種 7 日後より抗体価の上昇が認められ，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．また CHIKV 接種マーモセットに対する病理学的解析を行った結果，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 の感染が成立したことが示唆された．［林昌宏，高崎智彦，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)］

3. ロスリバーウイルスに関する研究

ジカウイルス（Zika virus）に関する病原体診断法（病原体診断，血清診断法）を確立し，本邦初の輸入症例を確定した．［高崎智彦，モイメンリン，小滝徹，田島茂，中山絵里，池田真紀子；杤谷健太郎，清水恒弘，篠原浩（京都市立病院)］

Ⅴ．神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

(1) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における3Rsの導入

近年，動物を使用した国家検定試験を見直す動きが世界的に広がっている．狂犬病ワクチンの有効性を確認するために行われている力価試験はマウスの生死を指標としており，動物に与える苦痛が大きい．そこで，私たちは動物が苦痛を感じる期間を短縮させるため，体重または症状を指標とした人道的エンドポイント導入ついて検討してきた．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試験品Aでは平均5.9日，試験品Bでは平均4.5日短縮できた．また，人道的エンドポイントを導入した場合においても，試験結果には影響を与えないことが示された．［伊藤（高山）睦代，林昌宏，西條政幸］

(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昨年度に続き検討した．さらに，使用匹数についても検討を行った．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，佐藤正明，山口幸恵，垣内五月，堀谷まどか，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ウイルス性出血熱ワクチンに関する研究

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ではなく細胞性免疫が非常に重要である事が示唆されている．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解析した．本研究室で確立したP遺伝子欠損狂犬病ウイルス作出技術を応用して，LCMVの抗原蛋白質（GPC）遺伝子を組込んだ組換えウイルスの作出に成功した．蛍光抗体法およびウェスタンブロット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．この組換えウイルスを大量精製し，マウスにワクチンとして２回免疫を行ったのち，LCMVの致死的感染モデルにおいて防御能を確認したところ，5匹中4匹が生残した．今後詳しい免疫反応について解析していく予定である.［伊藤（高山）睦代，林昌宏，山口幸恵，垣内五月，堀谷まどか，西條政幸］

(4) 狂犬病ウイルスLタンパク質およびPタンパク質の性状解析に関する研究

狂犬病ウイルスLタンパク質およびPタンパク質はRNAポリメラーゼの働きを有する．特にLタンパク質は狂犬病ウイルスゲノムの約半分の領域にコードされるタンパク質であり，RNA合成にかかわる多くの酵素活性を有するが，その性状については未だ不明な点が多い．そこでこれらタンパク質の性状を解析するために街上毒株と固定毒株の塩基配列の解析を行ったところいくつかの変異が認められた．現在これらの変異と病原性の関連について解析している．［林昌宏，堀谷まどか，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，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19～24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25年度ではPML疑い患者について計205件の検査を実施し，26名の患者から採取された33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や臓器移植歴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ことが示された．［中道一生，林昌宏，西條政幸］

(2) 進行性多巣性白質脳症に対する高精度検査技術の開発および診断への応用

進行性多巣性白質脳症（PML）の診断では，脳脊髄液中のJCVゲノムDNAのリアルタイムPCR検査が主流となっている．この検査手法は極めて鋭敏であるが，病原性のない持続感染型JCVの混入，もしくは検体間の汚染によって偽陽性を生じる危険性を有している．そのため，JCVのPCR検査における偽陽性およびウイルス変異の有無を迅速にモニターするためのPost-hoc検査系の開発が必要であると考えた．高解像度融解曲線分析（High-Resolution Melting analysis，HRM）法を用いて，JCVのゲノムDNAに生じる不特定かつ多様な変異を迅速に識別するための検査系を確立した．本検出系を用いてPML患者の脳脊髄液DNA中に含まれるJCVの変異パターンを解析したところ，JCVゲノムに生じる変異を患者個人レベルで識別することが可能であった．本検査技術は，より確実なPMLの診断や治療に貢献しうることが示唆された．［中道一生，田島茂，林昌宏，西條政幸］

3. 造血幹細胞移植患者におけるウイルス感染症に関する研究

(1) 造血幹細胞移植患者における呼吸器ウイルス感染症に関する研究

造血幹細胞移植においては高度の免疫不全状態に陥るため，様々な感染症が問題となる．呼吸器感染症については網羅的な前向きコホート研究がほとんどこれまでなされておらず，十分な知識の集積がない．虎の門病院血液内科，仙台医療センターウイルスセンターとの共同研究で造血幹細胞移植患者から咽頭ぬぐい液を採取し，ウイルス分離・PCR診断を用いて網羅的検索を行った．パラインフルエンザウイルス（PIV），インフルエンザウイルス，アデノウイルス，RSウイルスなどが検出され，臨床データをもとに感染のリスクファクター，下気道炎進展のリスクファクターを検討した．またPIV3分離株については分子系統樹解析を行い感染経路の推定を行った．［西條政幸，垣内五月，林昌宏，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，堀谷まどか；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）］

4. その他の研究

(1) イノシシの被毛より採取されたダニにおけるウイルス分離の検討

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．またこれまでにダニ媒介性脳炎ウイルス，重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）等の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詳細な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について調査した．その結果オルビウイルス属に分類されるウイルスが細胞培養・乳飲みマウスを用いたウイルス分離法によって分離された．今後これらサンプルについて詳細な検討を行う．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，木下（山口）一美，垣内五月，堀谷まどか，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）］

Ⅵ．ヘルペスウイルスに関する研究

1．サイトメガロウイルス（CMV）に関する研究

(1) 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，先天性感染 CMV 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．前年度は胎盤組織培養系構築を用いて，GPCMV-RFP または個体で増殖した野生株SG を感染させることによりそのウイルス増殖及び局在を示し，感染個体胎盤に感染像がよく似ていることを示した．今年度は，GP129/131/133（HCMV UL128/130/131A ホモログ）遺伝子群を含む 1.6kb 領域を欠失したGPCMV(GPCMV-del)の組換え体である，蛍光タンパク発現 GPCMV（GPCMV-GFP）を感染させ，ウイルス動態を解析した．HCMV において UL128/130/131A 遺伝子産物は，内皮，上皮及び leukocyte への指向性に関わることや中和抗体の主たる標的となることが分かっている．そこで，この遺伝子群の胎盤感染への影響を調べた．蛍光顕微鏡による観察では GPCMV-GFP は，野生株と同様な感染像を示した．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．一方で，血管内皮細胞への感染はほとんど認められなかった．胎盤は様々な細胞から成り立っており，その感染性の違いを解析することは，胎盤でのウイルス伝播機構を明らかにする上で重要だと考えられる．［山田壮一，井上直樹；片野晴隆，佐藤由子（感染病理部）］

(2) 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

前年度に，GPCMV 胎盤感染により遺伝子発現の上昇が認められた遺伝子に関してさらに詳細な解析を行った．CCNB3 は細胞周期に関わる遺伝子であるため，モルモット胎仔肺線維芽細胞(GPL)を用い，細胞周期をそろえた後，GPCMV を感染させた．その遺伝子発現の変化を経時的にRT real-time PCR により比較解析したところ，その発現上昇は，感染後すぐに認められることが分かった．ウイルスの前初期遺伝子である IE1 及び 2 発現プラスミドまた，CCNB3 発現プラスミドの構築を試みており，作製後は細胞内で発現させることにより，その影響を解析する．今後は，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，この遺伝子とCMV 感染との関連が明らかになると考えられる．［山田壮一，福井良子，津田美穂子，井上直樹］

(3) GPCMVGP129/131/133（HCMVUL128/130/131A ホモログ）遺伝子群のマクロファージ/単球感染への影響の解析

HCMV において UL128/130/131A 遺伝子産物は，内皮，上皮及び leukocyte への指向性に関わることや中和抗体の主たる標的となることが分かっている．以前報告した GPCMV(GPCMV-del)は UL128/130/131A のホモログ遺伝子であるGP129/131/133 遺伝子を含む 1.6kb 領域が欠失しており個体での増殖が認められない．この GPCMV-del を感染させたマクロファージでは，核内においてカプシドの形成が認められなかった．そこで，更にこれらの遺伝子をそれぞれ単独で欠失させた欠失変異体を作製し，それぞれの遺伝子のマクロファージ及び単球への感染性への影響を解析した．欠失変異体は以前構築したGPCMV-BAC(GFP 発現)を用いて作製した．マクロファージは，腹腔(マクロファージ)，脾臓(マクロファージ/単球)及び末梢血(PBMC)より分離培養した．線維芽細胞で欠失変異体の増殖能を調べたところ，どの欠失変異体も野生株と同等の増殖を示した．このことから，GP129/131/133 遺伝子群はそれぞれマクロファージ/単球への感染に必須な遺伝子であることが分かった．CMV のマクロファージへの感染は体内伝播において重要であることから，これらの遺伝子の欠失は体内でのウイルス増殖に影響することが考えられた．［井上直樹，福井良子，山田壮一，津田美穂子；片野晴隆，片岡紀代（感染病理部）］

(4) 先天性 CMV 感染症の感染・発症リスクの解析

これまでの研究で，出生時症候性と NKG2D 多型に有意な相関を認めた．NKG2D は，CMV 感染によるシグナル制御に関連していることが知られていることから，多型がシグナル伝達系の中間に位置する Akt のリン酸化の多型による影響を検討したが，リン酸化に若干差が認められたという程度であった．MICA

発現細胞との共培養条件などを変えて検討したが，有意差を認めることはなかった．［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，岡明（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）；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)］

2. 水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に関する研究

(1) 免疫抑制薬投与中の児に対する水痘ワクチン接種の効果安全性評価

免疫抑制薬使用中の患児における，麻疹，風疹，水痘，ムンプスなどを含む感染症の実態調査とその予防法の確立を図る成育医療センターを中心とした研究班全体計画の中で，水痘ワクチン接種の効果安全性の評価を目的として，細胞性免疫能の測定を担当した．［井上直樹，福井良子；成育医療センター研究班］

3. 単純ヘルペスウイルス（HSV）に関する研究

(1) 造血幹細胞移植患者における HSV-1 の再活性化および ACV 耐性についての検討

造血幹細胞移植患者において HSV-1 の再活性化は高頻度で ACV 耐性株による感染症が問題となることは知られているが，前向きコホートを用いた研究はこれまでになく詳細な疫学実態や臨床予後との関連は不明である．虎の門病院血液内科，仙台医療センターウイルスセンターとの共同研究で造血幹細胞移植患者から咽頭ぬぐい液を採取し，HSV-1 分離検査を実施し，分離されたウイルスの ACV 感受性について解析し，耐性を示した場合には原因遺伝子検索を行い，他薬剤への感受性も解析した．また臨床予後との関連を統計学的分析し，ACV 耐性 HSV-1 の出現が予後不良と関連することを示した．また，血液悪性腫瘍の再発が有意に ACV 耐性 HSV-1 出現の可能性を高めることも示された．［西條政幸，垣内五月，林昌宏，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，堀谷まどか；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，岡明，五十嵐隆（東京大学)］

(2) ヘルペス脳炎が ACV 耐性 HSV-1 によって引き起こされるかについての検討

ACV 耐性 HSV-1 によるヘルペス脳炎の報告はほぼ皆無である．しかしながら臨床的には ACV 治療に対する反応が不良な場合もあるが，髄液中の DNA 量が少なくウイルス分離も不可能なため，証明は困難である．ウイルス DNA 量が少量の場合にも，nested-PCR により TK 遺伝子を増幅し塩基配列を決定できるプライマーを設計した．実際の患者で検討し，アミノ酸変異を伴う塩基置換を認めた場合，in-vitro で TK 機能解析を行った．これまで 3 名の検討を行い 2 名で感受性変異のみ， 1 名では耐性の可能性のある変異がみとめられた．［西條政幸，垣内五月，林　昌宏，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，堀谷まどか；水口　雅，五十嵐隆（東京大学)］

(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 の治療にはアシクロビル（ACV）が第一選択薬として用いられるが，ACV に対する耐性株の出現が問題となっている．この耐性は vTK 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 vTK 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に基づき 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検討した．その結果この変異が ACV 耐性を誘導しないことがウイルス学的に証明された．さらにサルに感染するヘルペスウイルスである B ウイルスについて，そのチミジンキナーゼの数種類の抗ヘルペス剤に対するリン酸化能を調べたところ，既知のブリブジン（BVDU）と同時にソリブジン（BV-araU）に対してもほとんど抗ウイルス効果を誘導しないことを見出した．今回用いた方法はウイルス分離の不可能なヘルペス脳炎病原ウイルスの薬剤感受性試験として臨床応用できる可能性が示された．［佐藤正明，垣内五月，伊藤（高山）睦代，木下（山口）一美，林昌宏，西條政幸］

VII. 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) ヒトに病原性のあるリケッチア病原体の解析とリスク分類に関する研究

リケッチアの研究の進展からその多様性が深まっており，リケッチア等に関する国内外情報の収集と整理を行い，適切な病原体研究の実施に必要なリスク分類項目について再検討する必要に迫られている．特に，日本の感染症法における特定病原体指定の参考とされた米国の Select Agent 法の変遷をたどると，科学的エビデンスに基づいた柔軟な変更が行われており，日本の国内法においても参考となると考えられる．他の多くの病原体と同様，リケッチア関係の病原体においても，自然界での状況，治療法の有無，感染防御法の確立，病原体の正確なリスク評価（病原性，毒性，感染効率，安定性），生物兵器としての可能性，使用された際の拡大の可能性と社会的影響等についてエビデンスに基づいた検討を実施した上での病原体管理を行わない場合，国際協調とともに，基礎研究ばかりでなく，医療，公衆衛生的な面(診断･治療･予防対策)での後退をきたすと考えられる．［安藤秀二，佐藤正明，小川基彦］

(2) ダニ媒介感染症の調査研究における共通ツールの検討

ダニ媒介感染症の対象疾患として，リケッチアやボレリアに加え，ウイルス性の病原体にも対応できる方法論が強く望まれる状況にある．感染源調査として重要なマダニ類からの病原体検出において，特異的な遺伝子検出は強力なツールであるが，その鋳型として従来国内で対象とされてきたリケッチア，ボレリア，アナプラズマは細菌性であるため DNA を用いていた．ウイルスも検討できる条件として，マダニ類からの抽出 RNA から得られる cDNA が鋳型となりうるかリケッチアに関し検討した．また，感染リスクを検討するためには，分布やヒトへの嗜好性を考慮する必要があるため，マダニ類の分類同定が必須である．大量のサンプルを取り扱いかつ遺伝子を増幅する作業が繰り返されるため，キャリーバーやクロスコンタミネーション，また可能となった場合の迅速性を考慮して，未経験者にはハードルが高かった形態同定のためのアーカイブ作成にとりかかった．［安藤秀二；角坂照貴（愛知医科大学）；藤田博己（馬原アカリ医学研究所）；高野愛（山口大学共同獣医学部）；宇田晶彦（獣医科学部）；門馬直太（福島県衛生研究所）；梶田弘子（岩手県環境保健研究センター）；川端寛樹（細菌第一部）］

(3) ラボネットワークの構築と課題に関する検討

ダニ媒介性細菌感染症の多角的な対応を可能とすることを目指している．従来より進めてきたリケッチア症の診断・治療ネットワーク構築とその課題に関する検討をベースに，地方衛生研究所，国立感染症研究所，そして関連研究機関と協力，以下の活動を継続実施し，課題の検討と解決方法の試行を行っている．(1)リケッチア症に対する地域特性を考慮した調査及び検査法の開発に取り組んだ．地域ブロック間の調整をしつつ，地域性を考慮した具体的な対応は，ニーズに合わせ，個々のブロック，地方衛生研究所を中心に進められた．(2)複数県参加型の地域ラボネットワーク構築活動として，①東北ブロックでは，ダニ媒介感染症の情報の共有と感染源対策の基盤情報を得るために必要なマダニの形態同定のための研修会を実施した．②中国四国ブロックでは，*Rickettsia japonica* 検出系の精度管理に資するツールの開発とともに，複数の施設でその精度管理を試験的に実施した．③九州ブロックでは，前年度の実験室検査技術研修に連動させうる野外調査を行った．さらに，(3)リケッチア症検査体制に現状確認を更新するとともに，地方衛生研究所等がもつ地域情報の収集と整理を開始した．［安藤秀二；岸本壽男（岡山県環境保健センター），，門馬直太（福島県衛生研究所），東海林彰（青森県環境保健センター），山本徳栄（埼玉県衛生研究所），新開敬行（東京都健康安全研究センター），赤地重宏（三重県保健環境研究所），名古屋真弓（富山県衛生研究所），寺杣文男（和歌山県環境衛生研究センター），北本寛明（兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター），木田浩司（岡山県環境保健センター），島津幸枝（広島県立総合技術研究所保健環境センター），松本道明（高知県衛生研究所），矢野浩司（宮崎県衛生環境研究所），御供田睦代（鹿児島県環境保健センター）］

(4) リケッチア・レファレンスセンター活動に関する研究

リケッチア症は，国内発生を考慮した場合，ベク

ターの種類，リケッチアの種類によって，発生時期や患者発生地域の集中など地域特性が強く表れる疾患であるため，本研究では，全国ブロックの横糸となるリケッチア・レファレンスセンターの地方衛生研究所を中心とした全国共通基盤を構築することを目指し，初年度，つつが虫病と日本紅斑熱のマニュアル改訂，全国共通となる検査法の評価の準備，全国情報の共有と担当者自身のスキルアップの機会を積極的に行った．マニュアルに関してはつつが虫病と日本紅斑熱を優先し，順次進めている．あわせて日本紅斑熱のリアルタイム PCR 系標準化のための準備等を行った．リケッチア関連の情報共有として，特定の疾患が話題になった際，それに固執し，鑑別対象とされるべきリケッチア症が置き去りにされ，そのために治療等が遅れ，死亡または重症化する症例が増える危険性があることが指摘された．レファレンスセンターを中心とした地域の診断体制を確固としたものとすると同時に，情報発信のあり方を再考すべき時期である．［安藤秀二；門馬直太（福島県衛生研究所）；東海林彰（青森県環境保健センター）；山本徳栄（埼玉県衛生研究所）；新開敬行（東京都健康安全研究センター）；赤地重宏（三重県保健環境研究所）；名古屋真弓，滝澤剛則（富山県衛生研究所）；寺杣文男（和歌山県環境衛生研究センター）；北本寛明（兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター）；木田浩司；岸本寿男（岡山県環境保健センター）；島津幸枝（広島県立総合技術研究所保健環境センター）；松本道明（高知県衛生研究所）；御供田睦代（鹿児島県環境保健センター）；矢野浩司（宮崎県衛生環境研究所）］

2. リケッチア症の基礎的研究

(1) 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

マウスマクロファージ系 Raw264 細胞における一酸化窒素(NO)のつつが虫病リケッチア(Ikeda 株)に対する効果を解析した．その結果，LPS 処理した Raw264 細胞で，NO の産生が顕著に誘導されているにも関わらず，リケッチア増殖が促進された．一方で，NO の産生が誘導されていない未処理の Raw264 細胞では，増殖は促進されなかった．次に，NO 産生剤 NOR5 を Raw264 細胞に加えたところ，リケッチアの増殖が促進された．これまでの結果から，マクロファージ内で，主に殺菌に働くはずの NO が，逆にリケッチアの増殖に関与しているということがしめされた. 今後，このメカニズムを解明する予定である．［小川基彦，佐藤正明，安藤秀二］

(2) 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

牛胎児血清（FCS）無添加の培地でも，脂肪滴が形成され，トリグリセリドが蓄積されることが明らかにされた．TG の合成にも用いられる脂質が，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．［小川基彦；深澤征義（細胞化学部）；内山恒夫（徳島大・院・ヘルスバイオサイエンス研究部）］

3. コクシエラ症の基礎的研究

(1) Q 熱コクシエラ(*Coxiella burnetii*)のゲノム解析による基盤情報の整備

従来リケッチアに分類されていた *Coxiella burnetii* は，バイオテロに使用される可能性のあるとして，常にその取扱いに注意が必要と議論される病原体である．国内で分離された株，国内の実験室に保存されていた *C. burnetii* の分子生物学的特徴を把握することは, 通常の感染でないバイオテロが発生した際に，迅速にその事態を明らかにする情報となる. Prototype の *C. burnetii* Nine Mile 株の実験室における継代で LPS 抗原の変化で病原性が低下した II 相菌と日本で初めて確認された患者から分離された TK-1 株について，次世代シークエンサーによって全ゲノム配列を解析するとともに，公開登録されている *C. burnetii* Nine Mile 株の病原性の強い I 相菌のゲノム情報と比較検討したところ，SNP s 解析による株の分類，同一株であるか否かの判別に利用可能と考えられる複数の遺伝子領域を確認できた．［安藤秀二，安藤匡子，小川基彦，佐藤正明；関塚剛史，小笠原由美子，黒田誠（ゲノム解析研究センター）］

VIII. クラミジアに関する研究

1. MLVA-*ompA* タイピング法を用いた *C. trachomatis* 臨床分離株のタイピング

私たちは，国内における *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) の感染状況の把握の一環として当研究室で保有している *C. trachomatis* serotype A~L3 の標準株と当研究室で過去に分離された臨床分離株について *ompA* 遺伝子の塩基配列と MLVA(Multi Locus VNTR Analysis)プロファイルの解析である MLVA-*ompA* を試みた．標準株 18 株について，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 の解析によって独自の株の可能性が示された．44 人(男性 34 人，女性 10 人)の患者由来の臨床分離株について，*ompA* 遺伝子の解析の結果 serotype B, D, E, F, G, H, Ia, J, K がそれぞれ同定された. それらは既知の配列と 100%一致するものもあったが, serotypeB, D, E, H で新規の配列も同定された．MLVA の結果，serotype E や F では MLVA-*ompA* で既知の配列と 100%している株もあったが，それ以外では独自の反復配列のパターンを持つ株が同定された．今回の結果から MLVA-*ompA* は従来の *C. trachomatis* の分類に用いられている *ompA* 遺伝子では区別のできない株間差を知ることができ，過去の *C. trachomatis* 流行株の特徴を把握するための有用なツールであることが示された．［佐藤正明，小川基彦，安藤秀二］

レファレンス業務

1. 行政検査

デングウイルス，チクングニアウイルスに関する行政検査

デングウイルス，チクングニアウイルスに関する行政検査においては 24 件，日本脳炎に関する行政検査は 4 件実施した．黄熱ワクチンに関する行政依頼検査は 2 件実施した．［高崎智彦，田島茂，モイ メンリン，小滝徹，池田真紀子，西條政幸］

2. 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の収集を行うとともに，レファレンスセンターに血清診断用標準抗原，標準株の配布を行った．［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）52 症例，オウム病 2 症例，Q 熱 5 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 25 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. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成 25 年度は 2 ロット(行政 37007 号, 行政 37336 号）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，高崎智彦，西條政幸］

3. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

平成 25 年度は 20 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し, 20 ロットすべてを合格と判定した．［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］

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成 25 年度は，2 ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定（不活化試験および力価試験）を実施し，合格と判定した．［伊藤（高山）睦代，林昌宏，佐藤正明，小瀧徹，山口幸恵，垣内五月，堀谷まどか，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 21 ロットを実施し，全ロットとも合格であった．［井上直樹，山田壮一，原田志津子，福井良子，西條政幸］

国際協力関係業務

1. 世界保健機関西太平洋域内デング熱［International

External Quality Assessment Projct（EQAP），WHO-WPRO Office］

世界保健機関（WHO）の EQAP に参加し，WHO DENGUE PANEL にてデングウイルス遺伝子検査，NS1 抗原検査，IgM/IgG 抗体検査を行った結果，デング熱実験室診断では WHO から高い評価を受けた（96%）．［モイメンリン，田島茂，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］

2. 世界保健機関(WHO)西太平洋事務局が主催した日本脳炎実験室トレーニングコースにおける技術指導

世界保健機関(WHO)西太平洋事務局が主催した日本脳炎実験室トレーニングコースに参加して，技術指導等を実施した［中山絵里, 高崎智彦. Youngmee Jee, David Fetherstone(WHO), Johnson Barbara（米国 CDC）］

3. WHO JE ラボネットワーク レファランスセンター会議

The 5th Informal Consultation on WHO Regional and Global Specialized JE Laboratories in the Western Pacific Region, Tokyo, Japan を 11 月 22-23 日に国立感染症研究所戸山庁舎にて開催した．参加施設は中国 CDC，韓国 CDC，大阪府公衆衛生研究所，名古屋市衛生研究所，WHO 西太平洋事務局と国立感染症研究所［モイメンリン，中山絵里，田島茂，池田真紀子，小滝徹，西條政幸，高崎智彦．倉根一郎（副所長）］

4. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」への協力

日本脳炎ワクチンに関する検査実習（JICA 国際研修）を平成 26 年 1 月 22 日に実施した．［池田真紀子，田島茂，モイメンリン，中山絵里，小滝徹，西條政幸，高崎智彦］

5. JICA 国際技術研修会への参画

JICA の研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において感染研村山庁舎を訪れたアジア諸国のワクチン関係者 12 名に対して，日本の狂犬病ワクチンの品質管理について講義と不活化試験に用いられる蛍光抗体法の実習指導を行った．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，佐藤正明，山口幸恵，垣内五月，堀谷まどか］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Saijo M. Dual use research of concern issues in the field of Microbiology Research in Japan. Journal of Disaster Research. 2013;8:693-7.

2) Yamanaka A, Iwakiri A, Yoshikawa T, Sakai K, Singh H, Himeji D, Kikuchi I, Ueda A, Yamamoto S, Miura M, Shioyama Y, Kawano K, Nagaishi T, Saito M, Minomo M, Iwamoto N, Hidaka Y, Sohma H, Kobayashi T, Kanai Y, Kawagishi T, Nagata N, Fukushi S, Mizutani T, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Shimojima M, Kurane I, Kageyama T, Odagiri T, Saijo M, Morikawa S. Imported case of acute respiratory tract infection associated with a member of species nelson bay orthoreovirus. PLoS One. 2014;9(3):e92777.

3) Shimojima M, Takenouchi A, Shimoda H, Kimura N, Maeda K. Distinct usage of three C-type lectins by Japanese encephalitis virus: DC-SIGN, DC-SIGNR, and LSECtin. Arch Virol. 2014;159(8):2023-31.

4) 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):1105-14.

5) 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. Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. J Virol. 2013;87(12):7170-5.

6) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M,

Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. J Infect Dis. 2014;209(6):816-27.

7) Moi ML, Omatsu T, Hirayama T, Takasaki T, Nakamura S, Tajima S, Ito M, Yoshida T, Saito A, Katakai Y, Akari H, Kurane I. Presence of viral genome in urine and development of hematuria in common marmosets (Callithrix jacchus) after inoculation with dengue virus. Pathogens. 2013;2:357-63.
8) Moi ML, Takasaki T, Kurane I. Efficacy of tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren. Lancet. 2013;381,9872,1094. <Letter to Editor>
9) Moi ML, Omatsu T, Tajima S, Lim CK, Kotaki A, Ikeda M, Harada F, Ito M, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Detection of dengue virus non-structural protein 1 (NS1) by using ELISA as a useful laboratory diagnostic method for dengue virus infection of international travellers. J Travel Med. 2013;20,3:185-93.
10) Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Infection-enhancement activity in dengue patients using undiluted serum samples. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2013;107:5-58.
11) Tochitani K, Shimizu T, Shinohara K, Tsuchido Y, Moi ML, Takasaki T. Ross River virus - Japan ex Australia: (VI). ProMed, promed archive no. 2013;20130616;1776324.
12) Mizuno Y, Takasaki T. ProMed-mail posts. Dengue case_Japan ex Kenya (Mombasa) . Dengue/DHF update. 2013;(58):2.
13) Takeshita N, Lim CK, Mizuno Y, Shimbo T, Kotaki A, Ujiie M, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Kaku M, Takasaki T. Immunogenicity of single-dose Vero cell-derived Japanese encephalitis vaccine in Japanese adults. J Infect Chemother. 2014;20;238-42.
14) Trent DW, Minor P, Jivapaisarnpong T, Shin J. WHO working group on the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccines (live attenuated) for human use, Bangkok, Thailand, 21e23 February 2012. Biologicals 2013;41; 450-7.
15) Suzuki R, Ishikawa T, Konishi E, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Takasaki T, Wakita T. Production of single-round infectious chimeric flaviviruses with DNA-based Japanese encephalitis virus replicon. J Gen Virol. 2013;95:60-5.
16) Nidaira M, Kyan H, Taira K, Okano S, Oshiro T, Kato T, Kudo N, Azama Y, Mahoe Y, Kudaka J, Tamanaha K, Takasaki T. Survey of Japanese encephalitis virus in pigs and wild boars on Ishigaki and Iriomote Islands in Okinawa, Japan. Epidemiol Infect. 2013;5:1-5.
17) Kurane I, Shibasaki K, Kotaki A, Hijioka Y, Takasaki T. 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 2013. 2013;10:1831-44.
18) Noyori O, Nakayama E, Maruyama J, Yoshida R, Takada A. Suppression of Fas-mediated apoptosis via steric shielding by filovirus glycoproteins. Biochem Biophys Res Commun. 2013;441(4):994-8.
19) Noyori O, Matsuno K, Kajihara M, Nakayama E, Igarashi M, Kuroda M, Isoda N, Yoshida R, Takada A. Differential potential for envelope glycoprotein-mediated steric shielding of host cell surface proteins among filoviruses. Virology. 2013;446(1-2):152-61.
20) Nakayama E, Saijo M. Animal models for Ebola and Marburg virus infections. Front Microbiol. 2013;4:267.
21) Kajihara M, Nakayama E, Marzi A, Igarashi M, Feldmann H, Takada A. Novel mutations in Marburg virus glycoprotein associated with viral evasion from antibody mediated immune pressure. J Gen Virol. 2013;94(Pt 4):876-83.
22) Moi ML, Takasaki T, Saijo M, Kurane I. Determination of antibody concentration as the main parameter in a dengue virus antibody-dependent enhancement assay using FcgammaR-expressing BHK cells. Arch Virol. 2014;159(1):103-16.
23) Moi ML, Takasaki T, Omatsu T, Nakamura S, Katakai Y, Ami Y, Suzaki Y, Saijo M, Akari H, Kurane I.

Demonstration of marmosets (Callithrix jacchus) as a non-human primate model for secondary dengue virus infection: high levels of viremia and serotype cross-reactive antibody repsonses consistant with secondary infecion of humans. J Gen Virol. 2014;42(1):591-600.

24) Takayama-Ito M, Nakamichi K, Kinoshita H, Kakiuchi S, Kurane I, Saijo M, Lim CK. Sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. Biologicals 2014;42:42-7.

25) Nakamichi K, Inoue N, Shimokawa T, Kurane I, Lim CK, Saijo M. Detection of human herpesviruses in the cerebrospinal fluid from patients diagnosed with or suspected of having progressive multifocal leukoencephalopathy. BMC Neurology 2013;13:200 (online).

26) Mikita K, Maeda T, Fujikura Y, Kozaki Y, Hara Y, Kanoh S, Kishida S, Saijo M, Nakamichi K, Kawana A. Does anti-JCV therapy improve the prognosis of AIDS-related PML? Clinl Neurol Neurosurg. 2013;115(9):1853-4.

27) Nagayama S, Gondo Y, Araya S, Minato N, Fujita-Nakata M, Kaito M, Nakanishi M, Tanaka K, Yamaya H, Yokoyama H, Nakamichi K, Saijo M, Okamoto K, Toyoshima Y, Kakita A, Matsui M. Progressive multifocal leukoencephalopathy developed 26 years after renal transplantation. Clin Neurol Neurosurg. 2013;115(8):1482-4.

28) Takeshita N, Lim CK, Mizuno Y, Shimbo T, Kotaki, A, Ujiie M, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa, S, Kaku, M, Takasaki T. Immunogenicity of single-dose Vero cell-derived Japanese encephalitis vaccine in Japanese adults. J Infect Chemother. 2014;20(238-42.

29) Nakamichi K, Tajima S, Lim CK, Saijo M. High-resolution melting analysis for mutation scanning in the non-coding control region of JC polyomavirus from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. Arch Virol. 2014;159:1687-96.

30) Wang LX, Takayama-Ito M, Kinoshita-Yamaguchi H, Kakiuchi S, Suzutani T, Nakamichi K, Lim CK, Kurane, Saijo M. Characterization of DNA polymerase-associated acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1: mutations, sensitivity to antiviral compounds, neurovirulence, and in-vivo sensitivity to treatment. Jpn J Infect Dis. 2013;66(5):404-10.

31) Moi ML, Omatsu T, Tajima S, Lim CK, Kotaki A, Ikeda M, Harada F, Ito M, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. 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. 2013;20(3):185-93.

32) Kakiuchi, S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang, L, Kinoshita-Yamaguchi H, Takayama-Ito M, Lim CK, Inoue N, Mizuguchi M, Igarashi T, Saijo M. Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 strain. J Clin Microbiol. 2013;51(1):356-9.

33) Nakamichi K, Kishida S, Tanaka K, Suganuma A, Sano Y, Sano H, Kanda T, Maeda N, Kira J, Itoh A, Kato N, Tomimoto H, Kurane I, Lim C.K, Mizusawa H, Saijo M. Sequential changes in the non-coding control region sequences of JC polyomaviruses from the cerebrospinal fluid of patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. Arch Virol. 2013;158(3):639-50.

34) Hashimoto K, Yamada S, Katano H, Fukuchi S, Sato Y, Kato M, Yamaguchi T, Moriishi K, Inoue N. Effects of immunization of pregnant guinea pigs with guinea pig cytomegalovirus glycoprotein B on viral spread in the placenta. Vaccine. 2013;31:3199-3205.

35) Ikuta K, Minematsu T, Inoue N, Kubo T, Asano K, Ishibashi K, Imamura T, Nakai H, Yoshikawa T, Moriuchi H, Fujiwara S, Koyano S, Suzutani T. Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein H-based serological analysis in Japanese healthy pregnant women, and in neonates with congenital CMV infection and their mothers. J Clin Virol. 2013;58:474-8.

36) Nakamura H, Liao H, Minami K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Imadome K, Inoue N, Fujiwara S. Human cytomegalovirus induces apoptosis in neural stem/progenitor cells derived from induced pluripotent

stem cells by generating mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress. Herpesviridae. 2013;4:2.

37) Taniguchi R, Koyano S, Suzutani T, Goishi K, Ito Y, Morioka I, Oka A, Nakamura H, Yamada H, Igarashi T, Inoue N. Polymorphisms in Toll-like receptor 2 are associated with congenital cytomegalovirus infection. Int J Infec Dis. 2013;17:e1092-7.

38) Andoh M, Andoh R, Teramoto K, Komiya T, Kaneshima T, Takano A, Hayashidani H, Ando S. Survey of *Coxiella burnetii* in ticks collected from dogs in Japan. J Vet Med Sci. 2013;75(8):1115-7.

39) Kawabata H, Takano A, Kadosaka T, Fujita H, Nitta Y, Gokuden M, Honda T, Tomida J, Kawamura Y, Masuzawa T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Andoh M, Ando S, Sato K, Takahashi H, Ohnishi M. Multilocus sequence typing and DNA similarity analysis implicate *Borrelia valaisiana*–related isolated in Japan is distinguishable from European *B. valaisiana*. J Vet Med Sci. 2013;75(9):1201-7.

40) Hamaguchi Y, Shirakawa T, Kuwatsuka Y, Ando S. A Neonatal Case of Japanese Spotted Fever. Pediatr Infect Dis J. 2013; 32(11): 1286-7.

41) Matsutani M, Ogawa M, Takaoka N, Hanaoka N, Toh H, Yamashita A, Oshima K, Hirakawa H, Kuhara S, Suzuki H, Hattori M, Kishimoto T, Ando S, Azuma Y, Shirai M. Complete genome DNA sequence of the East Asian spotted fever disease agent, Rickettsia japonica. PLoS One. 2013;8(9): e71861.

42) Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Takahashi M, Yamauchi T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Oikawa Y, Honda T, Gokuden M, Tsunoda T, Turumi M, Ando S, Andoh M, Sato K, Kawabata H. Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecular identification based on the mitochondrial 16S rDNA gene. Med Entomol Zool. 2014;65(1):13-21.

43) Gaowa, Yoshikawa Y, Ohashi N, Wu D, Kawamori F, Ikegaya A, Watanabe T, Saitoh K, Takechi D, Murakami Y, Shichi D, Aso K, Ando S. *Anaplasma phagocytophilum* antibodies in humans, Japan, 2010-2011. Emerg Infect Dis. 2014;20(3): 508-509.

44) Andoh M, Andoh R, Teramoto K, Komiya T, Kaneshima T, Takano A, Hayashidani H, Ando S. Survey of *Coxiella burnetii* in ticks collected from dogs in Japan. J Vet Med Sci. 2013;75(8):1115-7.

45) Kawabata H, Takano A, Kadosaka T, Fujita H, Nitta Y, Gokuden M, Honda T, Tomida J, Kawamura Y, Masuzawa T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Andoh M, Ando S, Sato K, Takahashi H, Ohnishi M. Multilocus sequence typing and DNA similarity analysis implicate *Borrelia valaisiana*–related isolated in Japan is distinguishable from European *B. valaisiana*. J Vet Med Sci. 2013;75(9): 1201-7.

46) Hamaguchi Y, Shirakawa T, Kuwatsuka Y, Ando S. A Neonatal Case of Japanese Spotted Fever. Pediatr Infect Dis J. 2013;32(11):1286-7.

47) Matsutani M, Ogawa M, Takaoka N, Hanaoka N, Toh H, Yamashita A, Oshima K, Hirakawa H, Kuhara S, Suzuki H, Hattori M, Kishimoto T, Ando S, Azuma Y, Shirai M. Complete genome DNA sequence of the East Asian spotted fever disease agent, Rickettsia japonica. PLoS One. 2013;8(9):e71861.

48) Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Takahashi M, Yamauchi T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Oikawa Y, Honda T, Gokuden M, Tsunoda T, Turumi M, Ando S, Andoh M, Sato K, Kawabata H. Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecular identification based on the mitochondrial 16S rDNA gene. Med Entomol Zool. 2014;65(1):13-21.

49) Gaowa, Yoshikawa Y, Ohashi N, Wu D, Kawamori F, Ikegaya A, Watanabe T, Saitoh K, Takechi D, Murakami Y, Shichi D, Aso K, Ando S. *Anaplasma phagocytophilum* antibodies in humans, Japan, 2010-2011. Emerg Infect Dis. 2014;20(3):508-9.

2. 和文発表

1) 西條政幸．ウイルス性出血熱．臨床と研究．2013;90(12):1662−5.

2) 西條政幸．Severe fever with thrombocytopenia syndrome．感染症．2013;43(6):213-6.

3) 西條政幸．クリミア・コンゴ出血熱．別冊　日本臨

床　新領域別症候群シリーズ．2013;24:495-8.

4) 西條政幸．リフトバレー熱．別冊　日本臨床　新領域別症候群シリーズ．2013;24:499-501.
5) 西條政幸．アレナウイルス感染症．別冊　日本臨床　新領域別症候群シリーズ．2013;24:503-5.
6) 西條政幸．日本で流行するダニ媒介性ウイルス感染症：SFTS とダニ媒介性脳炎．医学のあゆみ．2013;247:701-2.
7) 西條政幸．日本で流行が確認された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）とバイオセーフティ．日本バイオセーフティ学会 NL. 2013;3(2):1-2.
8) 西條政幸．臨床微生物検査技師として知っておきたい：ウイルス感染症の検査法の基本と最新情報．Medical Technology．2013;41(8):895-9.
9) 西條政幸．血小板減少症を来す新しいダニ媒介性ウイルス感染症：SFTS．Medical Practice. 2013;30(10):1810-2.
10) 西條政幸．クリミア・コンゴ出血熱．小児科臨床．2013;66(7):1483-6.
11) 西條政幸．日本で確認された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）．日本医事新報．2013;4643:56-7.
12) 山崎拓也，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群．生活と環境．2013;58(5):32.
13) 山岸拓也，西條政幸．ダニ媒介ウイルス感染症 SFTS（重症熱性血小板減少症候群）．感染症道場 2013;2(3):46-9.
14) 下島昌幸，西條政幸．ダニ媒介性新興感染症SFTS，実験医学　特集　感染症　2013;31(19):3047-57.
15) 下島昌幸, 福士秀悦, 谷　英樹, 吉河智城, 森川　茂, 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群．ウイルス．2013; 63:7-12.
16) 下島昌幸，西條政幸．日本における重症熱性血小板減少症候群SFTS．感染・炎症・免疫．2013;43: 63-5.
17) 下島昌幸，西條政幸．ダニ媒介性重症熱性血小板減少症候群 について，ファルマシア．2013;49; 1085-9.
18) 福士秀悦，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群．皮膚病診療．2013;35(9): 822-6.
19) 福士秀悦，西條政幸．MERSコロナウイルス感染症．感染症内科．2013;1(6):573-8.
20) 西條政幸，福士秀悦．新興ウイルス感染症：MERS-コロナウイルス感染症．呼吸．2014;33(2):160−5.
21) 谷　英樹，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）．検査と技術．2013; 41;1164-7.
22) 吉河智城，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群．小児科臨床．2013;66(7):1477-81.
23) 谷英樹，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群．臨床検査 2014;58(4):467-73.
24) モイメンリン，西條政幸．抗アルボウイルス薬．臨床と微生物．2013;40(1): 69-73.
25) 白鳥（田島）茂，高崎智彦．わが国と世界の日本脳炎の現状と問題点．小児内科．予防接種 Q&A 2013;45(増刊号):432-7.
26) 白鳥（田島）茂，高崎智彦．セントルイス脳炎．日本臨牀別冊　神経症候群（第 2 版）．2013;603-6.
27) モイメンリン, 高崎友彦. マレー渓谷脳炎ウイルス．神経症候群（第 2 版）I．2013;26:607-12
28) 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．2013;77(1):72-4.
29) 高崎智彦「感染症ワクチン : 最近の話題」日本脳炎．BioClinica. 2013; 28(4): 332-6.
30) 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．2013;4633: 55.
31) 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．2013;29(S-1);1063-70.
32) 高崎智彦．日本脳炎 ―予防接種を中心として―．小児科臨床．2013;66(7):1499-503.
33) 高崎智彦．アルファウイルス感染症：西部ウマ脳炎（WEE），東部ウマ脳炎（EEE），ベネズエラウマ脳炎（VEE），チクングニア熱」日本臨牀　別冊新領域別症候群シリーズ 2013 年 7 月号　「感染症症候群（第 2 版）上」2013;442-445.
34) 高崎智彦，小林睦生．蚊が媒介する感染症 2)チクングニア熱・ウエストナイル熱．感染症内科．2014;2(2);140-6.
35) 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．名古屋医報．2013;1376:22.

36) 高崎知彦．日本脳炎の感染・発症と妊婦・胎児への影響．日本医事新報．2013;4633:55.

37) 西岡慧，福嶌由尚，庄司紘史，藤間昭勝，高崎智彦．日本脳炎と単純ヘルペス脳炎の重複感染が疑われた75歳女性例．神経内科．2013;79(5):679-82.

38) 中山絵里，高崎智彦．西ナイルウイルス 別冊　日本臨牀　新領域別症候群シリーズNo.26 神経症候群（第2版）Ⅰ－その他の神経疾患を含めて－ 2013: 597-602.

39) 森本彩，上野広貴，藤井裕樹，中村毅，中道一生，西條政幸，雪竹基弘，松本昌泰．診断に磁化率強調画像が有用で，メフロキン投与にて改善をみとめなかった悪性リンパ腫合併進行性多巣性白質脳症の 1 例．臨床神経学　53(10(:843-847, 2013

40) 垣内五月，木下一美，伊藤睦代，中道一生，林昌宏，西條政幸．神経ウイルス感染症の遺伝子診断とその応用：ヘルペス脳炎の病原 HSV-1 の ACV 感受性試験法の開発．Neuroinfection 2013;18:102-7.

41) Morimoto A, Ueno H, Fujii H, Nakamura T, Nakamichi K, Yukitake M, Matsumoto M. Ineffective mefloquine therapy in progressive multifocal leukoencephalopathy complicated with malignant lymphoma: findings and usefulness of susceptibility-weighed imaging. Rinsho Shinkeigaku 53:379-383, 2013

42) 安藤秀二．つつが虫病と日本紅斑熱．化学療法の領域．2013; 29(7): 1571-80.

43) 岸本寿男，尾内一信，沼崎啓，安藤秀二，山崎勉，中浜力. ELISA 法による抗 *Chlamydophila pneumoniae* IgM 抗体測定キットの比較. 小児感染免. 2013; 25(2): 163-8.

44) 岩﨑博道，池ヶ谷諭史，安藤秀二．発疹チフス群感染症：発疹チフス・発疹熱，別冊日本臨床　感染症症候群（第２版）病原体別感染症編，新領域別症候群シリーズ．2013; 24: 288-91.

45) 安藤秀二．リケッチア，クラミジア，バルトネラ．内科学．2013; 10: 332-40

46) 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 2013-2014．（WHO 出版物翻訳），2013 年

47) 森川茂, 宇田晶彦, 加来義浩, 木村昌伸, 今岡浩一, 福士秀悦, 吉川智城, 谷英樹, 下島昌幸, 安藤秀二, 西條政幸，澤辺京子，川端寛樹，新倉綾，前田健，高野愛，柳井徳磨，藤田博己，高田信弘．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの国内分布調査結果(第一報)，病原微生物検出情報．2013; 34: 303-4

48) 安藤匡子, 安藤秀二. Q 熱. 臨床と微生物 2014;41(1): 39-44.

49) 安藤秀二．極東地域におけるつつが虫病の現状と将来的課題．化学療法の領域．2014; 30(2): 313-21.

50) 森川茂，宇田晶彦，木村昌伸，藤田修，加来義浩，今岡浩一，澤辺京子，川端寛樹，安藤秀二，西條政幸，前田健，高野愛，柳井徳磨，藤田博己，高田伸弘，中嶋建介，福島和子．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの国内分布調査結果(第二報). 病原微生物検出情報．2014; 35(3): 75-6.

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, and Morikawa S. Analysis of cell entry of a novel arenavirus, Lujo virus, using pseudotype VSV. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Granada, Spain, June 2013

2) Shimojima M, Takahashi T, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Mizutani T, Morikawa S, Saijo M, Maeda K. Severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Granada, Spain, June 2013

3) Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Yamaguchi R, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. High potential of canine distemper virus in the ability to use macaca and human receptors. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Granada, Spain, June 2013

4) Saijo M. First identification of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. Global Virus Network, Munich, Germany, June 2013

5) Hashimoto K, Fukuchi S, S Yamada S, Fukui Y, Tsuda M, Kataoka M, Katano H, Inoue N. Guinea pig CMV GP129/131/133, homologs of HCMV UL128/130/131A, are required for entry into macrophages but not into

fibroblast and epithelial cells. The 38th International Herpesvirus Workshop, Grand Rapids, Michigan, USA, July 2013

6) Lim CK, Ami Y, Fujii Y, Moi ML, Kitaura K, Shirai K, Takayama-Ito M, Nakayama E, Kotaki A, Morikawa S, Saijo M, Suzuki R, Kurane I, Takasaki T. Pathogenesis of chikungunya virus in the common marmoset (Callithrix jacchus). The Symposium of Thirty years of Bluetongue Virus Research Achievements, Oxford, England, September 2013.
7) Tani H. Analyses of entry mechanisms of novel emerging viruses using pseudotype VSV system. The 54th Annual Meeting for the Japanese Society of Tropical Medicine, Nagasaki, Japan, October 2013
8) Lim CK, Takasaki T, Moi ML, Nakayama E, Kotaki A, Chua KB, Saijo M, Kurane I. Molecular analysis of Chikungunya virus in Malaysia. The Chikungunya 2013 meeting, Langkawi, Malaysia, October 2013.
9) Moi ML, Lim CK, Nakayama E, Tajima S, Kotaki A, Ikeda M, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Imported cases of chikungunya and Ross River fever in Japan. Chikungunya, 2013 meeting, Langkawi, Malaysia, October 2013
10) Iki S, Shigematsu M, Ando S, Sugiyama K. The examination of decontamination effects on containers used for infectious substances transportation. The American Biological Safety Association, 56th Annual Biological Safety Conference, Kansas City, USA, October 2013.
11) Moi ML, Omatsu T, Tajima S, Lim CK, 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. Fifth Informal Japanese Encephalitis Laboratory Meeting, Tokyo, November 2013
12) Moi ML, Kurane I, Takasaki T. Development of tools for advancing dengue pathogenesis and vaccine research. Malaysia-Japan Academic Scholar Conference. Tokyo, November 2013.<<BEST POSTER AWARD>>
13) Moi ML, Lim CK, Nakayama E, Tajima S, Kotaki A, Ikeda M, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Imported cases of chikungunya and Ross River fever in Japan. Chikungunya, 2013. Langkawi, Malaysia, October 2013
14) Lim CK, Takasaki T, Moi ML, Nakayama E, Kotaki A, Chua KB, Saijo M, Kurane I. Molecular analysis of Chikungunya virus in Malaysia. Chikungunya, 2013. Langkawi, Malaysia, October 2013.
15) Ando S. Epidemiology and pathogenicity of rickettsioses in Japan. The 12th Japan-Korea International Symposium on Microbiology Tokyo, March 2014

2．国内学会

1) 山内健生，佐藤雅彦，伊東拓也，藤田博，高田伸弘，川端寛樹，安藤秀二，坂田明子，高野 愛．利尻島のマダニ相とマダニ保有病原微生物, 第 65 回日本衛生動物学会，江別市（北海道），2013 年 4 月
2) 夏秋優，高田伸弘，川端寛樹，佐藤梢，高野愛，安藤秀二．タカサゴキララマダニ刺症に伴う郵送性紅斑．tick-associated rash illness，第 65 回日本衛生動物学会，江別市（北海道），2013 年 4 月
3) 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―ベクターとしての検証，第 65 回日本衛生動物学会，江別市（北海道），2013 年 4 月
4) Takasaki T, Ikeda M, Yagasaki K, Moi ML, Nakayama E, Kotaki A, Saito Y, Tajima S, Kurane I, Jee Y. JE as a vaccine preventable disease: laboratory network organized by WHO. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熱海，2013 年 5 月
5) 高橋和郎，青山幾子，弓指孝博，高崎智彦．健常成人における細胞培養日本脳炎ワクチンに対する抗体応答の持続効果に関する研究 ． 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熱海，2013 年 5 月
6) 下田宙，竹之内惇，濵﨑千菜美，寺田豊，野口慧多，Hassan Mahmoud，高崎智彦，前田健．フラビウイルスに対する抗体および抗原検出系の確立. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熱海，2013 年 5 月
7) 下田宙，竹之内惇，服部志保，Hassan Mahmoud，野

口慧多，寺田豊，谷口怜，久和茂，吉川泰弘，Joseph Masangkay，高崎智彦，鈴木和男， 前田 健．コウモリにおける日本脳炎ウイルス感染の調査．第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熱海，2013 年 5 月

8) 松井清彦，長瀧由佳，谷脇妙，松本一繁，竹上勉，小滝徹，田島茂， 高崎智彦．高知県で分離された日本脳炎ウイルス Genotype 3．第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熱海，2013 年 5 月
9) 松井清彦，長瀧由佳，谷脇妙，竹上勉，高崎智彦．高知県における2012年のブタ血清中の抗日本脳炎ウイルスの抗体保有状況について．第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，熱海，2013 年 5 月
10) 高崎智彦．昆虫媒介性感染症と地球温暖化の影響．第 4 回北里感染症教育フォーラム．東京，2013 年 5 月
11) 伊藤（高山）睦代：狂犬病ワクチン検定における試験管内不活化試験法の開発．第 23 回感染研シンポジウム，東京都，2013 年 5 月
12) 井上直樹　先天性サイトメガロウイルス（CMV）感染の新生児スクリーニング体制構築に向けて．　シンポジウム「これからのウイルス母子感染対策に向けて」第 54 回日本臨床ウイルス学会，岡山，2013 年 5 月
13) 安藤秀二．リケッチア症，鹿児島大学ＴＡＤセミナー，鹿児島，2013 年 5 月
14) 西條政幸．日本で確認された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の臨床・疫学的特徴．第 6 回感染病態フロンティア，2013 年 6 月
15) 高橋徹，石堂亜希，重岡徹，富永貴元，亀井敏昭，前田健，西條政幸，森川茂，長谷川秀樹，水谷哲也．本邦における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の初発例．第 108 回日本内科学会中国地方会例会，2013 年 6 月
16) 忽那賢志，竹下望，高崎智彦，氏家無限，早川佳代子，加藤康幸，金川修造，大曲貴夫．Two cases of Chikungunya fever returned from South East Asia．第 87 回日本感染症学会学術講演会，横浜，2013 年 6 月
17) 上村悠，山本圭，濱田洋平，忽那賢志，氏家無限，竹下望，早川佳代子，加藤康幸，金川修造，大曲貴夫，高崎智彦．A case of a co-infection of Bordetella pertussis with dengue virus．第 87 回日本感染症学会学術講演会，横浜，2013 年 6 月
18) 高崎智彦．輸入感染症と感染対策－ウイルス－．第 163 回 ICD 講習会（於：第 61 回日本化学療法学会総会），横浜，2013 年 6 月
19) 垣内五月， 王麗欣， 伊藤(高山)睦代， 林昌宏， 辻正徳，谷口修一， 西村秀一， 水口雅， 岡明， 西條政幸．造血幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス 1 型についての検討.東京，第 23 回抗ウイルス療法研究会総会，2013 年 6 月
20) 佐藤正明，垣内五月，木下（山口）一美，伊藤（高山）睦代，林昌宏，西條政幸．アシクロビル耐性ヘルペスウイルス脳炎症例報告から同定された単純ヘルペスウイルス 1 型のチミジンキナーゼ 41 番目アミノ酸変異はアシクロビル耐性を誘導しない．第 23 回抗ウイルス療法研究会総会，東京，2013 年 6 月
21) 山本徳栄，近 真理奈，大山龍也，藤田博己，岸本寿男，安藤秀二．埼玉県の野生化アライグマにおけるリケッチア類の保有状況調査－第２報－．第 87 回日本感染症学会総会，横浜市，2013 年 6 月
22) 今内覚，伊東拓也，川端寛樹，高野愛，安藤秀二，村田史郎，大橋和彦．シュルツェマダニ（*Ixodes persulcatus*）由来因子の宿主免疫抑制機能の解析．第 21 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー，稚内市，2013 年 6 月
23) 西條政幸．日本における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の臨床・疫学的特徴．衛生微生物技術協議会第 34 回研究会，名古屋，2013 年 7 月
24) 安藤秀二. ダニ媒介感染症～リケッチアを中心に～，第 31 回宮崎感染症研究会，宮崎市，2013 年 7 月
25) 西條政幸．話題の感染症　その 1（SFTS）．感染症サマースクール 2013（日本感染症学会），東京，2013 年 8 月
26) 安藤秀二. 衛生害虫に関する最近の話題について　ダニ媒介性感染症～リケッチアを中心に. 平成 25 年度栃木県衛生害虫防除等研修会，宇都宮，2013 年 8 月
27) 前田健，高橋徹，奥田優，水谷哲也，山岸拓也，森川茂，下島昌幸，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの分離・同定．第156回日本

獣医学会学術集会，2013年9月

28) 森川茂，木村昌伸，福士秀悦，加来義浩，朴ウンシル，鈴木道雄，井上智，今岡浩一，柳井徳磨，下島昌幸，西條政幸，前田健．動物のSFTSウイルス抗体調査．第156回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013年9月

29) 谷口怜，福士秀悦，Joseph Masangkay，渡辺俊平，大松勉，下田宙，前田健，下島昌幸，西條政幸，明石博臣，吉川泰弘，久和茂，森川茂．フィリピンのオオコウモリからのSFTSウイルスと交差する抗体の検出．第156回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013年9月

30) 宇田晶彦，福士秀悦，加来義浩，吉河智城，下島昌幸，新倉綾，安藤秀二，川端寛樹，高野愛，前田健，藤田博巳，沢邉京子，西條政幸，森川茂．マダニからのSFTSウイルス遺伝子の検出．第156回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013年9月

31) 須田遊人，谷英樹，下島昌幸，堀本泰介，西條政幸．クリミア・コンゴ出血熱ウイルスのシュードタイプを用いた中和抗体価測定系の構築. 第156回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013年9月

32) 竹之内惇，下田宙，前田健，下島昌幸．日本脳炎ウイルス感染におけるDC-SIGNとDC-SIGNRのレセプター機能の比較．第156回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013年9月

33) 豊間根耕地，今内覚，伊東拓也，川端寛樹，高野愛，安藤秀二，村田史郎，大橋和彦．シュルツェマダニ由来免疫抑制因子の機能解析．第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜市，2013 年 9 月

34) 宇田晶彦，福士秀悦，加来義浩，藤田修，井上智，吉河智城，下島昌幸，新倉綾，安藤秀二，安藤匡子，川端寛樹，高野愛，前田健，藤田博己，澤邉京子，西條政幸，森川茂．ダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出, 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月

35) 安藤匡子，松村隆之，阿戸学，安藤秀二．マウスにおける *Orientia tsutsugamushi* 血清型の病原性比較，第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜市，2013 年 9 月

36) 福士秀悦．世界の BSL4 施設．日本バイオセーフティ学会，札幌，2013 年 9 月

37) 佐藤正明，小川基彦，安藤秀二．MLVA-*ompA* タイピング法を用いた *C. trachomatis* 臨床分離株のタイピング，第 31 回日本クラミジア研究会，札幌，2013 年 9 月

38) 西條政幸．SFTS．公開セミナー：迫り来る新興・再興感染症-その脅威にどう立ち向かうのか現状とその対応-，東京，2013 年 10 月

39) 西條政幸．日本における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学と臨床および今後の課題．第 62 回日本感染症学会東日本地方会学術集会，東京，2013 年 10 月

40) 石堂亜希，高橋徹，重岡徹，富永貴元，亀井敏昭，前田健，水谷哲也，下島昌幸，福士週悦，谷英樹，吉河智城，森川茂，中島典子，鈴木忠樹，永田典代，長谷川秀樹，山岸拓也，大石和徳，西條政幸．Viral-associated hemophagocytosis in a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome．第 75 回日本血液学会学術集会，札幌，2013 年 10 月

41) Moi ML, Lim CK, Kurane I, Saijo M, Takasaki T. Towards a safe and effective dengue vaccine: assessment of dengue neutralizing antibody and viremia titers using a novel assay by FcgammaR-expressing cells. 54th Annual Meeting for the Japanese Society of Tropical Medicine, Nagasaki, October 2013.

42) 山口幸恵，林昌宏，伊藤（高山）睦代，垣内五月，田島茂，高崎智彦，倉根一郎，渡邉治雄，西條政幸．日本脳炎発症に関わる宿主側因子の解析. 第 54 回日本熱帯医学大会，長崎県，2013 年 10 月

43) 中道一生，田島茂，林昌宏，西條政幸．高解像度融解曲線分析による変異型 JC ウイルスゲノムのスキャニング技術の確立および進行性多巣性白質脳症の検査への応用. 第 18 回日本神経感染症学会学術集会，宮崎市，2013 年 10 月

44) 小原啓弥，形岡博史，中道一生，西條政幸，上野聡．免疫抑制剤の中止により良好な転帰をたどった HIV 陰性腎移植後 PML の臨床学的検討．第 18 回日本神経感染症学会学術集会，宮崎市，2013 年 10 月

45) 石川晴美，高橋恵子，齋籐磨理，江橋桃子，塩原恵慈，南正之，塩田宏嗣，大石實，亀井聡，武井正美，

中道一生，高橋健太，鈴木忠樹，片野晴隆，長谷川秀樹．抗 AQP4 抗体陽性を示したヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染を基礎疾患とする進行性多巣性白質脳症(PML)の 1 例．第 18 回日本神経感染症学会学術集会，宮崎市，2013 年 10 月

46) 白井慎一，廣谷真，加納崇裕，南尚哉，中道一生，西條政幸，畑中佳奈子，志賀哲，矢部一郎，佐々木秀直．非 HIV-PML2 症例における 18F-FDG-PET および 11C-MET-PET 所見．第 18 回日本神経感染症学会学術集会，宮崎市，2013 年 10 月

47) 古川迪子，三條伸夫，工藤俊介，中道一生，鈴木忠樹，吉岡光太郎，斉藤和幸，石橋賢士，石原正一郎，石橋哲，大久保卓哉，森尾友宏，江石義信，西條政幸，横田隆徳，水澤英洋．BK ウイルス感染による後根神経節炎が疑われた原発性無ガンマグロブリン血症の 30 歳男性．第 18 回日本神経感染症学会学術集会，宮崎市，2013 年 10 月

48) 垣内五月，佐藤正明，伊藤(高山)睦代，林昌宏，蒲ひかり，東裕哉，大澤由記子，木村聡，津川潤，坪井義夫，水口雅，岡明，西條政幸．ヘルペス脳炎を起因した単純ヘルペスウイルス 1 型のアシクロビル感受性の検討．札幌，第 45 回日本小児感染症学会学術集会，2013 年 10 月

49) 谷口留美，古谷野伸，錫谷達夫，五石圭司，伊藤裕司，森岡一朗，中村浩幸，山田秀人，岡明，井上直樹．自然免疫に関わる遺伝子群の一塩基遺伝子多型(SNP)と先天性 CMV 感染・感染症発症の相関．第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会，札幌，2013 年 10 月

50) 安藤秀二．つつが虫病を理解する～県南地域での早期発見・早期診断の実現をめざして．福島県県南保健福祉事務所つつが虫病研修会，白河市，2013 年 10 月

51) 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．E 型肝炎ウイルス感染性規定因子の探索に関する研究．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

52) 吉河智城，福士秀悦，谷英樹，宇田晶彦，谷口怜，福間藍子，前田健，高橋徹，森川茂，下島昌幸，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の確定診断に使用されているコンベンショナルPCRの評価，及びリアルタイム定量PCRとの比較．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

53) 福間藍子，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，谷口怜，下島昌幸，森川茂，前田健，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の血清学的診断法の開発．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

54) 長谷川秀樹，亀井敏昭，高橋徹，鈴木忠樹，片野晴隆，中島典子，福士秀悦，下島昌幸，前田健，水谷哲也，森川茂，西條政幸．日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群の 1 剖検例．　第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

55) 西條政幸，高橋徹，前田健，水谷哲也，大松勉，吉河智城，谷英樹，福士秀悦，下島昌幸，福間藍子，緒方もも子，鈴木忠樹，中島典子，片野晴隆，永田典代，長谷川秀樹，山岸拓也，倉根一郎，森川茂．後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された11名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

56) 森川茂，木村昌伸，福士秀悦，福間藍子，加来義浩，朴ウンシル，谷英樹，吉河智城，井上智，今岡浩一，下島昌幸，西條政幸，前田健．SFTSウイルス抗体陽性動物の調査．　第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

57) 谷口怜，福士秀悦，Masangkay Joseph，渡辺俊平，大松勉，下田宙，前田健，福間藍子，吉河智城，谷英樹，下島昌幸，西條政幸，明石博臣，吉川泰弘，久和茂，森川茂．フィリピンのコウモリからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する抗体の検出．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

58) 宇田晶彦，福士秀悦，加来義浩，吉河智城，下島昌幸，新倉綾，井上智，安藤秀二，前田健，西條政幸，森川茂．マダニからのSFTSウイルス遺伝子の検出．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

59) 下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，福間藍子，谷口怜，前田健，高橋徹，西條政幸．重症熱性血小

板減少症候群ウイルスに対するribavirinのin vitro増殖抑制効果．　第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

60) 須田遊人，谷英樹，西條政幸，堀本泰介，下島昌幸．シュードタイプウイルスのクリミア・コンゴ出血熱ウイルス中和抗体価測定への応用．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

61) 福士秀悦，谷英樹，吉河智城，谷口怜，福間藍子，緒方もも子，下島昌幸，森川茂，西條政幸．ナイジェリアにおけるリフトバレー熱の血清疫学．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

62) 谷英樹，下島昌幸，福間藍子，谷口怜，吉河智城，福士秀悦，森川茂，前田健，高橋徹，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群ウイルスGPを外套したシュードタイプVSVの作製．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

63) 高橋徹，前田健，亀井敏昭，水谷哲也，下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，森川茂，長谷川秀樹，中島典子，鈴木忠樹，永田典代，片野晴隆，山岸拓也，大石和徳，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の日本における初症例．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

64) 垣内五月，王麗欣，伊藤(高山)睦代，林　昌宏，西村秀一，辻正徳，谷口修一，水口雅，岡明，西條政幸．造血幹細胞移植におけるアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス 1 型感染症の臨床的意義に関する検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013 年 11 月

65) 佐藤正明，垣内五月，木下（山口）一美，伊藤（高山）睦代，林昌宏，西條政幸：ウイルス分離が不可能なヘルペス脳炎病原ウイルスの薬剤感受性試験法の開発と臨床応用. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

66) Moi ML, Omatsu T, Nakamura S, Ami Y, Katakai Y, Suzaki Y, Saijo M, Akari H, Kurane I, Takasaki T. Development of a novel non-human primate model for secondary dengue virus infection using marmosets (Callithrix jacchus). 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

67) 齋藤悠香，モイメンリン，林昌宏，司馬肇，細野邦昭，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．日本脳炎ワクチン接種により誘導された抗体のデングウイルスに対する免疫反応の検討．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

68) 新倉綾，福士秀悦，森川茂，山田靖子．リフトバレー熱ウイルスL蛋白のポリメラーゼ機能におけるC末端領域の重要性. 第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

69) 白井顕治，北浦一孝，早坂大輔，高崎智彦，鈴木隆二，倉根一郎．日本脳炎感染マウスの予後に関連する脳内浸潤 T 細胞の質的な違い．第 61 回日本ウイルス学会学術集会．神戸，2013 年 11 月

70) 松井清彦，竹上勉，小滝徹，田島茂，高崎智彦．高知県で分離された日本脳炎ウイルス genotype 3 のゲノム解析. 第61回日本ウイルス学会学術集会. 神戸, 2013 年 11 月

71) 田島茂，小滝徹，谷ヶ崎和美，林昌宏，西條政幸，高崎智彦．製造株と異なる遺伝子型のウイルスに対する日本脳炎ワクチンの中和能の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会．神戸，2013 年 11 月

72) 奴久妻聡一，亀岡正典，杉浦重樹，中道一生，奴久妻智代子, 田崎隆史, 竹上勉. PARP-1阻害剤のin vitroにおける JC ウイルス増殖抑制効果について．第 61 回 日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

73) 中道一生，田島茂，林昌宏，西條政幸．JC ウイルスゲノムの転写調節領域に生じるランダムな変異をスキャンするための高解像度融解曲線分析法の確立．第 61 回 日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

74) 山口幸恵，林昌宏，伊藤（高山）睦代，垣内五月，田島茂，高崎智彦，倉根一郎，渡邉治雄，西條政幸．日本脳炎ウイルスの神経侵襲性を決定する宿主側因子の解析. 第61回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013 年 11 月

75) 鈴木亮介，小西英二，石川知弘，嵯峨涼平，松田麻未，渡士幸一，相崎秀樹，高崎智彦，脇田隆字．日本脳炎レプリコンを用いたトランスパッケージング型 1 回感染性フラビウイルス粒子産生系の開発．第 61 回日本ウイルス学会学術集会．神戸，2013 年 11

月

76) 黒田誠，藤倉大輔，野依修，中山絵里，梶原将大，丸山隼輝，宮本洋子，吉田玲子，高田礼人．フィロウイルス感受性に及ぼすTIM-1多型の影響．第61回日本ウイルス学会学術集会．神戸，2013年11月

77) 野依修，中山絵里，丸山隼輝，吉田玲子，高田礼人．フィロウイルス糖蛋白質によるアポトーシスシグナル阻害作用．第61回日本ウイルス学会学術集会．神戸，2013年11月

78) 伊藤（高山）睦代，林昌宏，森本金次郎，垣内五月，山口幸恵，堀谷まどか，西條政幸．ラッサウイルスなどのアレナウイルスに対する非増殖型組換え狂犬病ウイルスワクチンの開発. 第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

79) 山田壮一，橋本楓，福地早希，片岡紀代，片野晴隆，井上直樹．ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)UL128/130/131AのホモローグであるモルモットCMVGP129/131/133遺伝子群は細胞指向性の決定因子である．第61回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013年11月

80) 西條政幸．マダニが媒介する「重症熱性血小板減少症候群」．第17回予防衛生協会セミナー，筑波（文部科学省研究交流センター），2013年11月

81) 西條政幸．SFTS．第61回日本科学療法学会西日本支部総会･第56回日本感染症学会中日本地方会学術集会･第83回日本感染症学会西日本地方会学術集会，大阪，2013年11月

82) 齋藤悠香，モイメンリン，林昌宏，司馬肇，細野邦昭，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．日本脳炎ワクチン接種により誘導された抗体のデングウイルスに対する中和活性および感染増強活性の検討．第20回トガ･ペスチ･フラビウイルス研究会 , 神戸，2013年11月

83) 中山絵里．チクングニアウイルスのC型レクチン介在性細胞侵入機構．第20回トガ・ペスチ・フラビウイルス研究会，神戸， 2013年11月

84) 栃谷健太郎，清水恒広，篠原浩，土戸康弘，高崎智彦，モイメンリン．オーストラリア渡航中に発症した本邦初のロスリバーウイルス感染症1例．第56回日本感染症学会西日本地方学会学術集会， 大阪，2013年11月

85) 高橋和郎，加瀬哲男，高崎智彦．健常成人における細胞培養日本脳炎ワクチンに対する抗体応答の持続効果．第17回日本ワクチン学会学術集会，津市（三重県），2013年11月

86) 高橋和郎，加瀬哲男，高崎智彦．健常成人における細胞培養日本脳炎ワクチンに対する抗体応答の持続効果．第17回日本ワクチン学会学術集会，津市（三重県），2013年11月

87) 久保徳彦，澤部俊之，村武明子，金内弘志，井本達也，高崎智彦，串間尚子，平松和史，門田淳一．初診時の血液塗抹標本で原虫を認めず，24時間後の再検査で原虫を認め診断し得た重症熱帯熱マラリアの１例. 第56回日本感染症学会中日本地方会学術集会，大阪，2013年11月

88) 栃谷健太郎，清水恒弘，篠原　浩，土戸康弘，高崎智彦，モイ　メンリン．オーストラリア渡航中に発症した本邦初のロスリバーウイルス感染症の１例．第56 回日本感染症学会中日本地方会学術集会，大阪，2013年11月

89) 西條政幸．新興ウイルス感染症（SFTSを含む）．耐性菌シンポジウム 2013年-1年を総括して未来に備える-，東京，2013年12月

90) 高崎智彦，モイメンリン，網康至，須崎百合子，大松勉，平山隆則，田島茂，林昌宏，中村紳一郎，片貝裕子，吉田友 教，明宏文，白井顕治，北浦一孝，藤井克樹，鈴木隆二，西條政幸，倉根一郎．マーモセットを用いたデングウイルス感染病態解析．第3回日本マーモセット研究会，福岡市，2013年12月

91) 鈴木亮介，石川知弘，小西英二，嵯峨涼平，松田麻未，渡士幸一，相崎英樹，高崎智彦，脇田隆字． プラスミドトランスフェクションによるトランスパッケージング型1回感染性フラビウイルス産生系の確立． 日本分子生物学会第36回年会，神戸，2013年12月

92) 西條政幸．本邦SFTS virusの遺伝子解析結果．第27回公衆衛生情報研究協議会総会･研究会，和光市（埼玉），2014年1月

93) 小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二．マクロ

ファージの一酸化窒素による殺菌はつつが虫病リケッチアの敵か？味方か？. 第20回リケッチア研究会，大津，2014 年 1 月

94) 大橋典男，高娃，吉川悠子，呉東興，川森文彦，池ヶ谷朝香，渡邊卓哉，齊藤一仁，武地大維，村上陽一，志智大介，麻生克己，安藤秀二．アナプラズマ症の血清診断について．第 6 回日本リケッチア症臨床研究会・第20回リケッチア研究会合同研究発表会，大津市，2014 年 1 月

95) 安藤匡子，阿戸学，村松隆之，安藤秀二．*Orientia tsutsugamushi* 血清型 Japanses Gilliam および Kuroki のマウスにおける病原性比較. 第 20 回リケッチア研究会，大津市，2014 年 1 月

96) 藤田博己，藤田信子，安藤秀二．国内における発疹熱リケッチアの潜在について. 第 20 回リケッチア研究会，大津市，2014 年 1 月

97) 安藤秀二，佐藤正明，小川基彦．発疹熱輸入症例の現況．第 20 回リケッチア研究会，大津市，2014 年 1 月

98) 小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二．マクロファージの一酸化窒素による殺菌はつつが虫病リケッチアの敵か？味方か？. 第20回リケッチア研究会，大津市，2014 年 1 月

99) 高崎智彦．シンポジウムー海外渡航者の感染症と検査ー蚊媒介性ウイルス感染症. 第 25 日本臨床微生物学会総会，名古屋，2014 年 2 月

100) 高崎智彦．危機感染症に対する沖縄の行動計画ー Update on dengue fever in Japan ー Autochthonous dengue virus infection can be occurred in Japan?ー．日経アジア感染症会議，名護市（沖縄），2014 年 2 月

101) 高崎智彦．黄熱ワクチンとデングワクチン．第 25 回トラベラーズワクチンフォーラム研修会，東京，2014 年 2 月

102) 安藤秀二．身近に存在する日本紅斑熱とツツガムシ病．平成 25 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究推進事業シンポジウム，福岡，2014 年 2 月

103) 安藤秀二．リケッチアと関連疾患，平成 25 年度希少感染症技術研修会，東京，2014 年 2 月.

104) 西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）を理解する. 第 51 回レプトスピラ・シンポジウム, 東京, 2014 年 3 月

105) 西條政幸．致死率の高い新興ウイルス感染症に対する抗ウイルス薬による治療法の開発の現状．日本薬学会第 134 年会，熊本，2014 年 3 月

106) 西條政幸．臓器移植と日和見感染：JC ウイルスとヘルペスウイルス．第 2 回日本移植学会若手育成教育セミナー，東京，2014 年 3 月

107) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群：現状と対策．第 53 回日本感染性腸炎学会総会，東京，2014 年 3 月

108) 藤田博己，藤田信子，安藤秀二，矢野泰弘，高田伸弘．四国におけるタテツツガムシの生息状況調査，第 66 回日本衛生動物学会，岐阜市，2014 年 3 月

109) 佐藤正明，小川基彦，西條政幸，安藤秀二．MLVA（Multi-Locus-VNTRs-Analyysis）-ompA タイピング法を用いた *C. trachomatis* のタイピング．第 87 回日本細菌学会，東京，2014 年 3 月

110) 小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二．マクロファージの一酸化窒素による殺菌は，つつが虫病リケッチアの敵か味方か？　第 87 回日本細菌学会, 東京，2014 年 3 月

111) 安藤匡子，松村隆之，阿戸学，安藤秀二．*Orientia tsutsugamushi* 血清型によるマウスに対する病原性の相異．第 87 回日本細菌学会，東京，2014 年 3 月

2．ウ イ ル ス 第 二 部

部 長　脇田 隆字

概　要

当部が対応するウイルスは主として消化器系疾患の原因ウイルスであり，Ａ，Ｂ型肝炎ワクチン，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）の出検は無く,全て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）のみが出検された。中間段階 5 件,小分け製品 14 件の検定を行った.ロタウイルスワクチンについてはGSK:ロタリックスが３件、MSD：ロタテックが 11 件出検され,検定を行った.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終了した．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,新規リアソータントが国内で主要流行株となっていることを見いだした.

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,ノロウイルスのリバースジェネティックスに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 との共催により実施した第 23 回ポリオ実験室診断技術研修会(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としては第 4 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、これまで研究班として行ってきた「肝炎ウイルス検査陽性者追跡システムの構築」は厚労省の「ウイルス性肝炎患者等の重症化予防事業」の中で新たに事業化され、全国レベルでの展開を目指している。最近、HIV 陽性同性愛者間で急性 C 型肝炎が急増していることを見出し、自治体に対策を促し、沈静化しつつある。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 4 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も進んでいる、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。

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３件，Ｂ型肝炎ワクチン１４件の検定をおこなった．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４室

Lingbao Kong（中国、江西省、江西農業大学）＜China Scholarship Council＞平成 25 年 8 月 24 日～平成 26 年 8 月 24 日，Ｃ型肝炎分子生物学に関する研究．

第５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 25 年 4 月に第２室に中村朋史任期付研究員が、第３室に杉山隆一任期付研究員が、第４室に藤本陽任期付研究員がそれぞれ採用された。また、平成 25 年 10 月に第一室に芳賀慧任期付研究員が採用された。新職員の皆さんの活躍に大いに期待する．

＜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）14 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 5 ロット
- イモバックスポリオの力価試験（D 抗原量試験） 0 ロット
- ロタリックス検定　3件
- ロタリックス検定　11件

承認前検査

スクエアキッズ皮下注シリンジ（終了）

行政検査

第１室

ノロウイルス・サポウイルス・ロタウイルス

合計７件

第２室：

平成 25 年度は 1 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ワクチン株と同定された。

第５室：

検定業務

乾燥組織培養不活化 A 型肝炎ワクチン　　３件

組換沈降 B 型肝炎ワクチン（酵母由来）　　１４件

行政検査

A 型肝炎　２件

E 型肝炎　２件

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)ヒトノロウイルスリバースジェネティックスシステム構築に関する研究

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は、ノロウイルスのゲノムRNAの5’末端に107塩基の付加配列が結合したcapped RNAを合成する.このRNAからORF1タンパク質が非常に効率よく転写され、その後、RNA の複製行程が稼働する。107塩基の付加配列を切り離し、ノロウイルスゲノムRNAが付加配列無く転写されるように調製した pKS-U201-53Rでは、ORF1の転写が正常に起きるが、感染性粒子を放出しないことが明らかになった。現在、107 塩基の付加配列がどのような機能を有するのかを調べている.

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

(2)リバースジェネティクスシステムを用いたヒトノロウイルスの複製機構の解析

ヒトノロウイルスの複製機構を明らかにするため, U201株HuNoV発現プラスミドを導入したHEK293FT細胞を透過型電子顕微鏡により解析した. その結果, 直径150～500 nmの小胞が細胞内に観察され, それらの小胞の周囲には約20 nmの粒子が存在することを明らかにした. また小胞を形成している最中と考えられる膜構造物も観察された. 現在は, これらの膜構造物の詳細を明らかにするため, 免疫電子顕微鏡による解析を進めている.

[村上耕介, James Broughman, Mary Estes（米国ベイラー医科大学), 片山和彦]

(3)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試みた。ヒトノロウイルスのリバースジェネティックスシステムをベースに構築したpKS-MNV-S7プラスミドは、HEK293T細胞にトランフェクションすると感染性新生 MNV-S7 ウイルスを産生する。このプラスミドクローンのMNV-ORF1にコードされるN-terminal protein と NTPaseの間にGFPを挿入したコンストラクトは、GFP 遺伝子が挿入されたゲノムを持つ感染性粒子を産生することが明らかになった。また、テトラシステインタグをVP2に挿入したコンストラクトも感染性粒子を産生した。産生した新生ウイルス粒子は、RAW 細胞に感染し自己増殖する事に加え、増殖中の細胞を蛍光ラベルできることが明らかになった。

[中西章(国立長寿医療研究センター)、戸高玲子、村上耕介、三木元博（デンカ生研)、脇田隆字、片山和彦]

(4)ヒトノロウイルスのゲノム解析

2011年4月～2012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９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。ゲノム解析に次世代シーケンスシステム（NGS;イルミナ社 MiSeq）を導入することに成功した。便中のノロウイルスゲノムRNA量が10^6コピー以上存在する場合、PCR エンリッチメントを行うこと無く全ゲノム塩基配列を解析可能であった。今後の網羅的ヒトノロウイルスゲノム解析において有用な解析手法となることが期待される。

[芳賀慧、片山和彦, 戸高玲子、横山 勝, 佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター)、黒田誠]

(5)ノロウイルス網羅的全ゲノム塩基配列解析とGatVirusWeb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 の存在が示唆されている.これら全てのgenotypeの全長塩基配列解析を目的とし,新規に2種類

の genotype の全塩基配列を決定した.さらに, CaliciWeb をアップグレードした下痢症ウイルス全般を含むウイルスデータベース,情報共有サイトの GatVirusWeb を立ち上げ,国内外への塩基配列データ共有化を進めた.
[三瀬敬治（札幌医大）, 三木元博（デンカ生研）,戸高玲子,村上耕介, ,脇田隆字,片山和彦]

(6)ヒトノロウイルスの遺伝子型分別方法の国際統一にかかる研究

ヒトノロウイルスの遺伝子型分類は、従来より構造タンパク質領域の配列に基づいて行われてきた。本方法は、2004 年に、我々によって定義された方法である。近年、ノロウイルスは ORF1 と ORF2 のジャンクション領域に存在するホットスポットでの遺伝子組換え頻度が当初の予測に比し非常に高頻度である事が明らかにされ、遺伝子組換えを考慮に入れた新規遺伝子型分別方の確立が求められていた。本年度、我々は、ノロウイルスサイエンティフィックコミッティー（国際的に合意の得られた遺伝子型別を決定する組織）の一員として、この要望に答える ORF1 の RdRp コード領域と ORF2 の capsid コード領域を用いた遺伝子型分類法を確立した。
[片山和彦, 戸高玲子,村上耕介]

(7)ノロウイルス非構造タンパク質の機能解析

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.この現象はプラスミドベースのリバースジェネティックスシステムでも、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, Susana Guix (BCM) , 片山和彦, Mary K. Estes (BCM)]

(8)ノロウイルスの網羅的 VLP および抗体の作製

ヒトノロウイルスは,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ず研究の進行が遅れている.ノロウイルスの研究,抗原抗体検出システムの開発などにウイルス様中空粒子（VLP）と,それを用いて作製する抗血清は,研究用ツールとして極めて有用である.当部室では,VLP と抗血清の作製を継続し,パネルを維持している.本年度は 6 種類の新たなヒトノロウイルス VLP,抗血清を作製した.
[三木元博（デンカ生研）, 朴英斌,戸高玲子,村上耕介,脇田隆字,片山和彦]

(9)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見いだされた GII.4 は、オーストラリアのシドニーで検出された株と同一クラスターを形成し世界的大流行を起こした株である事が明らかになった。GII.4 2012 変異株と呼称されることとなったこれらの株に関する時系列塩基配列データを集積し、ゲノム上に生じた配列変異に関する研究を進める予定である。
[片山和彦,村上耕介,朴英斌,山下和予(感染症情報センター), 横山 勝, 佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター)、ノロウイルスリサーチグループジャパン（地方衛生研究所有志）]

(10)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), 朴英斌, 村上耕介, 脇田隆字, 片山和彦]

(11)ヒトノロウイルスの感染に関与する真のレセプターの探索法の検討

我々は，組織血液型抗原（HBGA）はヒトノロウイルス（HUNoV）の腸管粘膜層への接着には関与するが、細胞への結合には別の分子が関与していることを明らかにした。本年度は、候補分子を腸管上皮細胞のプロテオミクス解析により取得した．この候補分子のHuNoV の細胞感染への関与を解析するため，リバースジェネティクスシステムにより作出された，遺伝子改変ヒトノロウイルス U201 株 HuNoV を用いることとした．しかし，遺伝子改変 HuNoV を HEK293T の上清より回収する際、上清中に残存するトランスフェクション-プラスミド DNA 複合体の混入が問題となったことから，その除去法の検討を行った．その結果，DNAase 処理だけでなく遠心分離法も効果的であることを明らかにした.

[村上耕介，Mary Estes（米国ベイラー医科大学），片山和彦]

(12)ノロウイルス中和抗体認識部位の同定

ヒトノロウイルスは、株化された感受性細胞が無いため、試験管内で増殖させることができない、そのため抗体の中和効果を検出することができず、VLP で誘導した抗体を用いた研究成果により、感染防御に関わる抗体を予測している。一方、マウスノロウイルスは、感受性細胞 RAW での試験管内増殖は可能だが、VLP を安定して作成することができない。我々は、マウスノロウイルス VLP の安定した作成に成功した。この MNV-VLP をマウス、ウサギ、モルモットに免役し、中和活性のある抗血清を誘導することに成功した。今後、MNV-VLP 免疫マウスからモノクローナル抗体を作製を予定している。中和活性のあるモノクローナル抗体の作出に成功すれば、その抗体と VLP の結合様式を結晶構造解析で調べることにより、ノロウイルスの中和機構を明らかにできる可能性がある。

[戸高玲子,三木元博（デンカ生研)、村上耕介,朴英斌，片山和彦]

(13)ヒトノロウイルス感受性細胞樹立の試み

ヒトノロウイルス感受性細胞をスクリーニングするため、リバースジェネティックスシステムにより、GFP 遺伝子を内包した感染性ヒトノロウイルス粒子を作製した。この感染性ウイルスは、ウイルスプロテアーゼの活性をノックアウトしてあるため、感染細胞はウイルス感染後もダメージを受けず、生存を続けることができる。さらに、本ウイルスの感染により、細胞内に GFP が発現するため、感受性細胞を GFP の傾向の有無により分別可能である。現在、細胞にダメージをほとんど与えず、密閉されたカセットないでのセルソーティングが可能な On Chip Bio 社のセルソーターを用いて、感受性細胞のスクリーニングを行っている。[戸高玲子,三木元博（デンカ生研)、村上耕介,朴英斌，片山和彦]

(14)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）]

(15)NoV と血液型抗原との結合：結晶構造を基にしたキャプシドタンパク質とルイス抗原との結合エネルギー解析

NoV の糖鎖認識の多様性を理解するため，ルイス抗原に対して親和性を示す GI/2 遺伝子型株（Funabashi 258 株）を用い，結晶学的な解析を進めている。これまでに，キャプシドタンパク質上によく保存された 1 つの Gal(NAc)結合部位と，3 つの Fuc 結合部位が存在し，各糖鎖とキャプシドタンパク質との相互作用の強弱は，水素結合による相互作用の数で大凡は説明出来ることを明らかにしてきた．今年度は，糖鎖認識特異性の素因を解

明するため，QM/MM 法および分子動力学計算による解析を試みた．1アミノ酸変異を想定し，Funabashi 258 株の野生型（Q389）と変異型(Q389N)における Le^b 抗原への親和性の違いを解析の対象とした．野生型では Le^b 抗原への親和性が低く，変異型では親和性が高い．まずそれぞれの型の糖鎖複合体結晶構造から溶媒和の影響を考慮した水素原子を含む水和モデルを計算機上で構築し，続いて QM/MM 計算で最適化構造を得た．さらに糖鎖認識に関与する水素結合パラメーターを抽出し，相互作用エネルギーの見積もりを行った．また平行して，分子動力学的解析を実行し，糖鎖複合体中での糖鎖の構造分布を解析することで，柔軟多様な糖鎖を集団構造として比較した．解析の結果，糖鎖の構造や糖鎖とタンパク質との相互作用エネルギーには大きな差は見いだせず，Le^b 抗原に対する野生型と変異型の親和性の違いは，変異による糖鎖結合ポケットの構造変化に誘発された水和構造の変化に由来することが示唆された．

［白土東子，石田豊和（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，石井孝司，脇田隆字，成松　久（産総研），久保田智巳（産総研）］

(16)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．昨年度までに，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）による血液型抗原（HBGA）への VLP 吸着に対する阻害活性を検討してきた．今年度は、別人 2 名の末梢血を用いて作製された抗体ライブラリーから Narita 104 株を抗原に用いてそれぞれ単離された 1A9 と 5A8 について，HBGA への VLP 吸着阻害活性を検討した．その結果，両者ともに，12A2，12B10 同様，H，A，B，Le^b 抗原全てへの r104 の吸着を阻害した．これらの抗体は，中和抗体である可能性，ドミナントな中和エピトープをとらえている可能性が示唆される．これら抗体が認識する，ウイルスタンパク質上の抗原エピトープを解析・同定することは，ワクチン開発という観点からも意義深いと思われる．

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

(17)マウスノロウイルス（MuNoV）感染細胞内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（複製中間体二本鎖ウイルス RNA），nsRNA（新規合成されたウイルス RNA）間の細胞内相互作用を免疫沈降法を用いて調べた．ウイルス粒子主構成成分 VP1 は VP2，VPg，nsRNA と、複製に必須のポリメラーゼは N-terminal protein，NTPase，VPg，dsRNA に加え、構造蛋白質 VP2 も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］

(18)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，脇田隆字，片山和彦］

(19)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,MNV-VLP の安定産生と精製に成功し、感染性 MNV とともにクライオ電子顕微鏡鏡像の取得に成功した.ノロウイルスにおける初めての感染性粒子と VLP の比較検討が開始された。

[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）,脇田隆字,片山和彦]

(20)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 と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 の二つの分子に加え、本年度は、これらの分子とコンプレックスを形成して活性を発揮することが予測されている RNA dependent RNA polymerase (RdRp)の構造解析を開始した。HuNOV, MNV RdRp の結晶化に成功し、X 線によるリフレクションパターンの取得に成功した。現在、立体構造を構築し、解析を進めている.

[朴英斌,朴三用（横浜市立大学）,戸高玲子,脇田隆字,片山和彦]

2. 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

昨年度,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.本年度は FCV のリバースジェネティクス系をプロテアーゼ阻害剤のスクリーニングに利用し、化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを開始した。

[岡智一郎,横山勝(病原体ゲノム解析センター),高木弘隆（バイオセーフティ管理室）,遠矢幸伸（日大獣医）]

3. 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,芳賀慧、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、芳賀慧、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、芳賀慧、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、芳賀慧、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]

（2）血液製剤の Cohn エタノール法による各画分への HCV 混入様式の解明

血漿分画製剤は献血血を Cohn エタノール法により分画して製造される。HCV に汚染された第IX因子製剤、フィブリノゲン製剤の投与による感染事例が報告されて来たが、グロブリン、アルブミン製剤におる感染事故はほとんどない。この理由を解明するために実験室レベルの Cohn エタノール法を確立し、血漿に HCV を加え、この系を用いてクリオ/脱クリオ分画（C/dC)、更にフィブリノゲン沈殿画分 F とそれ以外の上清 S とに分画した。殆どの HCV は C/dC では dC 画分に、F/S では S 画分に分画されることが明らかとなった。

[下池貴志, 野島清子*, 脇田隆字, 岡田義昭** *：血液･安全性研究部, **: 埼玉医科大学]

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．2013 年度は，エンテロウイルス単味抗血清 117 本，細胞等 21 件、ウイルス株 6 種類を配布した.

[吉田 弘，有田峰太郎，片岡周子，中村朋史、 清水博之]

イ）エンテロウイルス検査実施体制に関する全国アンケート調査

エンテロウイルスレファレンスセンター(全国 6 ブロック)との協力のもと地方衛生研究所で実施している検査の現状把握を行った。その結果、①エンテロウイルス検査に関する基盤的技術研修コースの企画、関連するマニュアル整備、次いで、②遺伝子解析法支援のためのデータ整備につき、次年度実施可能性につい

て検討してゆくこととした。

［エンテロウイルスレファレンスセンター
福島県衛研（北海道・東北・新潟）
神奈川県衛研（関東・甲信・静）
愛知県衛研 （東海・北陸）
神戸市環保研（近畿）
愛媛県衛環研（中国・四国）
福岡県保環研 （九州）
ウイルス第二部］
［吉田弘、有田峰太郎、片岡周子、中村朋史、清水博之］

ウ）2013 年 10 月 17 日に実施された平成 25 年度感染症危機管理研修会において、「ポリオの現状と不活化ポリオワクチン導入後の課題」についての講義を行った。
［清水博之］

エ）2014 年 2 月 20 日に実施された平成 25 年度希少感染症診断技術研修において、「手足口病の大規模流行と原因ウイルス」についての講義を行った。
［清水博之］

(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

わが国で 2012 年 9 月より IPV 導入に伴い、環境水調査によるポリオウイルスサーベイランスを全国 13 か所にて 2013 年春より順次開始した。2013 年度は感染症流行予測調査事業(感染源調査)として 8 か所、調査研究として 5 か所の協力を得て下水利用総人口約 450 万人を対象とした調査を行った。2014 年 3 月末日現在、ポリオウイルスは環境水より検出されていない。他方、エンテロウイルス、アデノウイルスは多種類検出されており、①異なる数か所で検出されたもの、②長期間同一地域で検出されたものがあり、広域伝播、或いは地域内伝播の可能性を示唆した。環境水調査で検出されたウイルスの中には感染症発生動向調査では報告されていないウイルス種もみられ、不顕性感染により伝播していることを示唆した。このように環境水調査は高感度にヒト集団のポリオを含む腸管系ウイルスを検出可能であると考えられる。

［滝澤剛則（富山県衛生研究所)、濱﨑光宏（福岡県保健環研）、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） 、堀田千恵美(千葉県衛研）、山下育孝 （愛媛県衛環研） 、筒井理華（青森県環保セ）、内野清子（堺市衛研）、小澤広規（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）、伊藤雅（愛知県衛研）、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 23 回ポリオ実験室診断技術研修会（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としては第 4 回目）を実施した。研修期間は 2014 年 1 月 27 日～2 月 21 日，研修参加者は，パプアニューギニア、アフガニスタン、リビア、中華人民共和国から各 1 名，パキスタン、ベトナム、ガーナ、モザンビーク、ナイジェリア,コンゴ民主共和国から各 2 名の計 16 名であった。 WHO ワクチン予防可能疾患実験室ネットワークにおける国家実験室に必要な技術習得のための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，中村朋史、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 135 検体およびラオス 84 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，中村朋史、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。野生株ポリオウイルスおよび VDPV は検出されなかった。
［吉田 弘，有田峰太郎，片岡周子，中村朋史、 和田純子、清水博之］

ウ）2013 年 6 月 25 日－6 月 27 日に WHO 本部(ジュネーブ、スイス)で開催された Meeting of the Ad Hoc Small Working Group on improving Polio Laboratory diagnostics (6/25, 2014)および The 20th Informal Consultation of the Global Polio Laboratory Network (6/26-27)に WHO 短期専門家として参加し、ポリオウイルス新規検出法について発表し、実験室診断の技術的課題に関する討議を行った。
［清水博之］

エ）2013 年 10 月 7 日－10 月 9 日に行われた WHO ポリオ実験室査察(WHO accreditation review)に対応し、WHO/HQ および WPRO からの担当者による査察および打合せを実施した。
［清水博之、吉田弘、有田峰太郎、片岡周子、中村朋史、和田純子］

オ）2014 年 2 月 25 日－2 月 27 日に RIVM (Bilthoven、オランダ) において開催された WHO Meeting of the Ad Hoc Small Working Group discussion on improving Polio Laboratory diagnostics 会議に参加し、ポリオウイルス実験室ネットワークの技術的課題についての検討を行った。
［清水博之］

カ）WHO/WPRO の依頼により、以前、韓国 CDC から型内鑑別試験のため送られ、感染研で保管されていたポリオウイルス分離株 30 株について、realtime PCR (ITD および VDPV)を実施し WPRO に報告した。試験結果は韓国 CDC ポリオラボにおける realtime PCR 導入のための精度管理試験に用いられる。
［中村朋史、片岡周子、清水博之］

キ）日本ポリオ根絶会議構成員として、Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status in Japan for the 19th Regional Commission for the Certification of Poliomyelitis Eradication in the Western Pacific ドラフト作成と会議資料作成を担当した。
［清水博之］

(5) 国際協力活動
ア）2013 年 9 月 5 日－9 月 7 日、National Institute of Hygiene and Epidemiology[NIHE](ハノイ、ベトナム)において、手足口病実験室診断およびエンテロウイルス 71(EV71)分離株の遺伝子解析に関する研究打合せを実施した。

イ）2013 年 10 月 28 日－10 月 29 日、National Institute of Hygiene and Epidemiology[NIHE](ハノイ、ベトナム)で開催された NIID-NIHE 共同研究成果報告会において共同研究の研究成果のサマリーを報告した。
［清水博之］

ウ）2013年11月24日－11月25日に中国北京で開催された、第7回日中韓感染症予防シンポジウム(11/25)およびNIID-CCDC共同研究会議(11/26)に参加し、手足口病およびEV71感染症流行の現状とEV71感染症に関わるウイルス学的研究成果について研究発表を行うとともに、共同研究の進捗状況および今後の研究計画について討議した。
［清水博之］

2. WHO 西太平洋地域の 2013 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 219 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、中村朋史、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。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、片岡周子、中村朋史、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) 便抽出液検体からのポリオウイルス抽出法の開発

培養細胞を用いないウイルス検出系の開発を目的として、便抽出液中のポリオウイルスを抽出する新規法を開発した。ポリオウイルスレセプター分子を高密度で結合させたナノ磁性ビーズを用いて、便抽出液のような夾雑物を含む臨床検体からでも効率よくポリオウイルスが抽出できることが示された。本方法は、便検体もしくは環境水からポリオウイルスを直接検出するために有用であると考えられる。
[有田峰太郎]

(2) ウイルス受容体特異性を応用した環境水からのポリオウイルス直接検出法の開発

細胞培養を経ず直接かつ高感度に環境中のポリオウイルス（PV）を検出・同定する手法（直接検出法）の検討を行った．陰電荷膜（NCF）によるウイルス濃縮にPVレセプター結合型磁気ビーズ（PVR-MB）を組み合わせた新規PV濃縮法によってPVを濃縮した．抽出したRNAを用いてPoliovirus intratypic differentiation Real-time RT-PCR（rRT-PCR ITD法）によるPV直接検出が可能か検討を行った．力価既知のPVを溶液に外部添加したモデル実験においては，NCFとPVR-MBを併用することにより添加ウイルスを約3,500-5,500倍に濃縮できること，一定の力価を有するPVの直接検出が可能であることが明らかとなった．しかしながら，段階希釈したPVを用いて行った検出限界の比較では，NCFによって濃縮したPVを細胞接種した系（従来法）が直接検出法よりも優位な場合もあった．新規濃縮法は溶液中のPVを感染性を維持したまま高効率に濃縮できることから，下水流入水や河川水といった環境検体等への応用が期待される結果となったが，rRT-PCR ITD法を用いたPV遺伝子の直接検出はさらなる改良が求められる．
[中村朋史，有田峰太郎，清水博之]

(3)中国山東省にて環境水サーベイランスにて検出された2型VDPV

2008年以来、中国山東省CDCと、環境サーベイランス共同研究を行っている。2012年12月に本法により2型VDPV（VP1で7塩基置換）が検出された。VDPV検出前後、環境水から分離された2型ワクチン株とは塩基配列上の類似性は認められず、またAFPサーベイランスより患者からはVDPVが分離されていない。山東省のOPV接種率は90％を超えているが、環境サーベイランスは高感度にポリオウイルスを追跡する方法として有用である。
[Tao Zexin（山東省CDC）、Zhang Yong（中国CDC）、吉田弘]

(4)ポリオウイルス環境サーベイランスのためのリアルタイムPCRの開発

ポリオ根絶計画では将来的に生ワクチン自身の停止も念頭に入れており、ワクチン株の消失の証明を高感度に行う必要がある。今般、環境水濃縮液より直接、

ポリオワクチン株ウイルスゲノムを検出するためのリアルタイム PCR 法の開発を行った。細胞培養によるウイルス分離法と比較すると 83.3%の一致度であった。。分離法は時間を要するため、ワクチン株の簡易スクリーニング法としては利用可能であると考えられる。
[板持雅恵、滝澤剛則（富山県衛研）、吉田弘]

(5) 宿主因子 PI4KB および OSBP family I のポリオウイルス複製における役割の解析

これまでの解析により、ポリオウイルスの複製に必要な宿主細胞内経路としてホスファチジルイノシトール 4-キナーゼ（PI4KB）/オキシステロール結合タンパク（OSBP）経路が同定されたが、PI4KB/OSBP 経路がどのようにウイルスの複製を支えているかは謎であった。今回、この経路に関与するウイルスタンパク質を同定し、PI4KB/OSBP 経路のウイルス複製における役割を解析した。その結果、ウイルスタンパク質 2BC/3A/3AB が PI4KB 活性を調整してホスファチジルイノシトール 4-リン酸（PI4P）産生を促進し、産生された PI4P に OSBP が結合しウイルス感染で誘導された膜上にコレステロールを蓄積することにより、ウイルス複製の場の形成を促進することが示唆された。
［有田峰太郎］

(6) 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。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)。
[Cara Burns, Olen Kew（米国 CDC）、Asif Naeem, Rifqiyah Nur Umami、西村順裕、清水博之]

(7) 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 歳児を無作為抽出し、市区町村における予防接種担当者へ、OPV, IPV, DPT-IPV 接種月齢の調査を依頼し、調査票を基に累積接種率を算定した。OPV 累積接種率算定時には，OPV 接種済みで接種日が明らかな標本と未接種標本のみとし，IPV 累積接種率算定時には，IPV 接種済みで接種日が明らかな標本と未接種標本のみとし、接種日不明の標本を除外した。2013 年に調査対象となった 2 歳児における OPV 累積接種率は，1 回目は生後 9 ヵ月以降上昇が止まり，生後 24 ヵ月で約 43%，2 回目は生後 12 ヵ月以

降上昇が止まり,生後 24 ヵ月で約 10%であった。2012 年 9 月 1 日から開始された IPV の２回目，３回目累積接種率は生後 24 ヵ月で 78%以上に達していた。
。[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

cIPV接種臨床研究は、倫理委員会の承認を得たうえで、cIPV製剤を健常成人に2回接種し、血中中和抗体価の推移と接種後の有害事象を観察した。1，2，3型ポリオウイルス(OPV株、野生株、VDPV株、計10株)に対する血清中和抗体価を測定した。健康成人50名を登録し、49名に対してIPVを2回接種するプロトコールを終了し、42名の血清中和抗体価を測定した。cIPV接種臨床研究の結果、42名の中和抗体価測定が完了し、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。同一血清中の中和抗体価は、Sabin株と野生型標準株で大きな違いは認められなかった。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。
［福島慎二(東京医大)、中野貴司(川崎医大)、片岡周子、中村朋史、清水博之]

(3) 不活化ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況および抗体保有状況

2012年9月1日に単独の不活化ポリオワクチン(cIPV)が定期接種に導入され、同年 11 月 1 日には 4 種混合ワクチンが導入された。定期接種に用いるワクチンならびに接種スケジュールが変更され、cIPV あるいは DPT-sIPV（IPV 含有ワクチン）の接種回数は、1）OPV 未接種者は初回 3 回、追加 1 回（合計 4 回)、2）OPV1 回接種者は 3 回（合計 4 回)、3）OPV2 回接種者は必要なしとされた。IPV 含有ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況および抗体保有状況について調査した。IPV 含有ワクチンが定期接種に導入されたことにより、接種したワクチンの割合は年齢によって異なるが、いずれかのポリオワクチンについて 1 回以上の接種歴があった者の割合（接種歴不明者を除いた割合）は 97～100%と高く、年齢による差はほとんどみられなかった。中和抗体価 1:4 以上の抗体保有状況についてみると、1～4 歳では 1 型（95～98%）や 2 型（94～98%）と比較して 3 型（70～86%）に対する抗体保有率が低かったが、0 歳では 1 型（98%)、2 型（98%)、3 型（94%）とも高い抗体保有率であり、血清型による差は小さかった。
[佐藤 弘,多屋馨子,大石和徳(感染症疫学センター)、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、脇田隆字、清水博之]

(2) 蛍光蛋白質を発現する EV71 の作製

EV71 の感染性を簡易に検出するため、蛍光蛋白質 EGFP を発現する EV71-1095 株の作製を試みた。EV71 ゲノムの VP4 領域の末端に、EGFP 遺伝子と 2A プロテアーゼ認識配列を挿入した。ウイルスゲノム RNA を in vitro で合成し、RD 細胞にトランスフェクションしたところ、培養上清中に RD 細胞、Jurkat 細胞への感染性をもつウイルスが産生された。
[西村順裕、清水博之、Jeffrey M. Bergelson（フィ

ラデルフィア小児病院）］

(3)　NF449 阻害回避変異を導入した EV71-1095 株の作製

低分子化合物 NF449 は、EV71 の RD 細胞への感染を阻害し、その阻害回避 EV71 はキャプシド蛋白質 VP1 の 98 番目と 244 番目のアミノ酸に変異をもつことが報告されている。NF449 と EV71 の結合様式を詳細に解析するため、これら二つのアミノ酸のいずれかまたは両方に変異をもつ EV71-1095 株変異体を作製した。これら EV71-1095 変異体の RD 細胞への感染においては、NF449 阻害作用が低下していることを確認した。

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

(4)　NF449 による EV71 の RD 細胞結合阻害

S-35 でラベルした EV71-1095 株（EV71-S35）を作製した。EV71-S35 は RD 細胞表面に結合することを確認した。EV71-S35 を NF449 で前処理したところ、EV71-S35 の細胞表面への結合が濃度依存的に阻害された。したがって、NF449 は EV71 と RD 細胞表面受容体との結合を阻害することが推測された。

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

(5)　NF449 による EV71 の RD 細胞感染阻害

EGFP を発現する EV71-1095 株(EV71-EGFP)と RD 細胞を用いた。EV71-EGFP と NF449 を１時間反応させ、RD 細胞に感染させた。感染１６時間後の EGFP の発現は NF449 の濃度に依存して阻害された。したがって、NF449 は EV71 の RD 細胞表面受容体への結合のみならず、感染も阻害することが推測された。

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

(6)　単量体の可溶性 PSGL-1-Fc キメラ蛋白質の作製

EV71 と PSGL-1 との結合様式を詳細に解析するため、単量体の可溶性 PSGL-1-Fc キメラ蛋白質の作製を試みた。マウス IgG2a Fc 領域をコードする cDNA をテンプレートとして、アミノ酸変異を７カ所に導入し、二量体化を阻害した。さらに、PSGL-1 の細胞外領域とのキメラとして、可溶性 PSGL-1-Fc モノマー蛋白質を 293T 細胞で作製した。精製蛋白質は二量体のおよそ半分の分子サイズであり、単量体と予想された。

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

(7) PSGL-1 結合性 EV71 と非結合性 EV71 のウイルス学的解析

感染性クローンに由来する PSGL-1 結合（PB 型）株と PSGL-1 非結合（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 EV71 の感染・病原性発現機構について比較解析した。PB 型または non-PB 型 EV71 を感染させたカニクイザルの臨床検体（直腸拭い液や咽頭拭い液、血清、PBMC）及び剖検採材を用いて CODEHOP-PCR にてウイルスの検出を行い、陽性サンプルでは VP1 全領域のシークエンスを行なった。Non-PB を接種したサルの臨床検体からは感染早期にウイルスが高頻度に検出されたが、PB を接種したサルの臨床検体からは感染後期に検出された。また剖検採材からのウイルス検出では non-PB 接種群のリンパ節から高頻度にウイルスが検出され、PB 接種群からは中枢神経組織において高頻度にウイルスが検出された。ほぼ全てのサンプルにおいて non-PB 接種群から検出されたウイルスは VP1 の 98 番目のアミノ酸がリジン（K）からグルタミン酸（E）に変異していたが表現型は non-PB のままであり、PB 接種群では VP1 の 145 番目のアミノ酸がグリシン（G）からグルタミン酸（E）に変異し表現型が non-PB に変化していることが分かった。しかし PB を接種したサルから分離した PBMC においては変異していない PB が検出された。

［片岡周子、清水博之、西村順裕、網康至(動物管理室)、鈴木忠樹、小谷治、岩田奈織子、永田典代(感染病理部)］

(8) EV71 感染カニクイザルの免疫学的解析

EV71 感染カニクイザルの血清中における 28 種類のサイトカイン量を測定した。IL-1b は PB 接種群及び non-PB接種群どちらのサルにおいても感染3日目から上昇していた。その他のサイトカインは non-PB 接種群において優位に上昇していたが、PB 接種群はほとんど上昇や減少などの変化はみられなかった。

[片岡周子、清水博之、西村順裕、網康至(動物管理室)、鈴木忠樹、小谷治、岩田奈織子、永田典代(感染病理部)]

(9) 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

2011-2012 年に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。そこで 2011 年 と 2012 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。2011 と 2012 年エンテロウイルス陽性検体のうち約半数の検体でエンテロウイルス 71(EV71) が検出され、次いでコクサッキーA6 型 (CA6) が約 25%、A16(CA16)が15%でその他のエンテロウイルスが約10%であった。2012 年では EV71 の検出頻度が 2011 年に比べて増加し (2011 年 : 約 50%、2012 年 : 約 62%) 、CA6 は減少した (2011 年 : 約 30%、2012 年 : 約 22%) 。また EV71 の分離株の分子疫学的解析を VP1 領域の配列で行ったところ、どちらの年においても遺伝子型 C4 が高頻度に検出され、次いで B5 、C5 の頻度で検出された。

[片岡周子、中村朋史、清水博之、Nguyen Thi Hien Thanh (NIHE)、]

(10) 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。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]

(11)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]

(12) RD-A 細胞を用いた Human enterovirus A の分離

手足口病、ヘルパンギーナの原因ウイルスである HEV-A に分類されるウイルスの多くは培養細胞での分離が困難であり、従来、主に乳のみマウス(SM)を用いた分離が行われていた。また、近年は PCR 法等の遺伝

子検査による検出が広く行われているが、塩基配列の決定等コストがかかる上、流行株の抗原性等の情報が得られない。2011 年に発生した Coxsackie virusuA6(CVA6)による HFMD の大流行に際し、RD-A 細胞を用いて CVA6 を分離同定した。HEV-A サーベイランスへの RD-A 細胞の有効性を検討することを目的に、RD-A 細胞の HEV-A 分離効率を検討した。臨床検体からの分離は CVA2～5、8、10 では SM とほぼ同等、CVA6、12、16、EV71 は分離可能であるが、分離率は従来法の 1/4～1/2 であった。CVA14 は分離できなかった。RD-A 細胞は SM に比較すると検出感度はやや劣るものの、CVA14 を除く国内でヘルパンギーナ、手足口病の原因ウイルスとなっている HEV-A の分離が可能であり、病原体サーベイランスに有効であると考えられた。

[飯塚節子（島根県保健環境科学研究所)、清水博之]

(13)中国広東省広州市におけるエンテロウイルスの環境サーベイランス研究

広州市下水処理場を定点として,2008 年よりポリオ/エンテロウイルスを対象とした環境サーベイランスの共同研究を行っている。今般、2009-2012 年の調査結果を集計したところ、HEV-B 群に属する 17 血清型が検出され、E11,E6,E7,E12,CB5,CB3 の検出頻度が高いことを示した。CB5 は 09‐10 年、CB3 は 11-12 年のみ検出されたが、E11,E6,E7,E12 は 09-12 年の 4 年間に各々異なる周期で検出されている。定点サーベイランスシステムを有さない地域において環境サーベイランスはエンテロウイルスの疫学を理解するのに有効と考えられる。

［Zheng Huanying（広東省 CDC）、ZhangYong（中国 CDC）、吉田弘］

(14) コクサッキーB 群ウイルスの腫瘍溶解性の検討

近年ウイルス自身が本来有する腫瘍溶解性を利用した、腫瘍溶解ウイルス療法が注目されてきており、腫瘍溶解性アデノウイルスもしくは単純ヘルペスウイルスを用いた臨床研究が進められている。新たな腫瘍溶解ウイルス療法の開発を目的に、RNA ウイルスであるピコルナウイルス科のエンテロウイルス属に着目して、これまでに 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］

(15) 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]

(16) 日本の小児急性胃腸炎患者から検出されたヒトコサウイルスの解析

ヒトコサウイルス(HCoV)はピコルナウイルス科に属し、急性胃腸炎の小児から検出されているが、他のウイルスとの重感染が多い。今回、日本の小児科外来を受診した急性胃腸炎の小児から HCoV の検出を行った。

1 例（10928 株）が HCoV 陽性であった。この検体では上記の他の 12 種類のウイルスは検出されなかった。この患児は月齢 6 ヵ月で、その下痢症状は重症であったが、発熱、嘔吐、上気道炎症状はなかった。この株について全塩基配列の解析を行った。その結果この株は HCoV A 種に属し、組み換え体であることがわかった。

［沖津祥子、牛島廣治 （日本大学医学部)、清水博之］

（17）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］

(18) 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］

(19) コクサッキーウイルス B2 型垂直感染による新生児重症感染例

コクサッキーウイルス B (CVB)は主に夏季に流行し、感冒様症状のほか、心筋炎や無菌性髄膜炎を合併することがあり、新生児には重篤な全身感染病態を起こすこともある。CVB2 周産期垂直感染が疑われた症例 1 ではすべての検体から同一塩基配列を有する CVB2 遺伝子が検出された。心筋、髄液等から遺伝子検索結果と同じ CVB2 が分離された。特に、心筋組織から大量の CVB2 が回収され、免疫染色でも確認ことから CVB2 による心筋炎が直接の死因であると思われた。症例 2 においても母児全ての検体から同一塩基配列を有する CVB2 が検出されたことから、本症例も CVB2 の垂直感染であることが強く示唆された。以上のことから、周産期の CVB2 感染は新生児に重篤な感染をもたらす可能性があり、注意を要するものと思われる。

［吾郷 昌信 （長崎県環境保健研究センター)、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ィティシステムに関する調査研究

(1) 日本におけるポリオウイルス野生株保有状況

世界的ポリオ根絶達成およびその後の OPV 接種停止を視野に入れ、WHO は「野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関する世界的行動計画」を策定し、全世界で統一された基準の下、ポリオウイルス野生株の実験室封じ込めを進めることを、すべての加盟国に求めている。我が国では、西太平洋地域における野生株ポリオウイルス伝播の終息を受け、2000-2002 年にかけて大規模かつ広範な野生株ポリオウイルス保有施設調査が行われたが、調査票の全体的な回収率が低く、調査精度とその後のフォローアップに関する多くの問題点が指摘されていた。2000-2008 年における各種の野生株ポリオウイルス保有施設調査により得られた情報を、厚生労働省と国立感染症研究所により集計・評価し、野生株ポリオウイルス感染性材料を保有する可能性のある施設をリストアップしたうえで、所管省庁の了解のもと各施設に対し保有状況調査を実施し、野生

株ポリオウイルス感染性材料保有施設を特定した。保有施設リストを含む野生株ポリオウイルス実験室封じ込め第一段階最終評価報告書を 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。
[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。地方衛生研究所スタッフを対象とした国内研修、および、外国人研修生を対象としたJICA集団研修において、WHOバイオセーフティ教育訓練用DVDを用いたバイオセーフティ教育訓練を実施した。WHOバイオセーフティ教育訓練用DVDは、バイオセーフティを中心とした実験室安全管理、実験室のアレンジメント、等多様な事例が具体的に取り上げられており、地方衛生研究所スタッフを対象としたアンケートでも、有用な教材であるとの意見が多かった。WHOポリオ実験室教育訓練DVDは、国際的に標準化されたバイオセーフティ教育訓練資料のひとつとして、ポリオ実験室のみならず、臨床検体や病原体を取扱う国内外の実験室・検査室における教育研修への活用が期待できる。
［伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)、清水博之］

7. その他

平成 25 年度は 1 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) 2012 年の A 型肝炎流行の疫学的解析

2012 年は現在までに 28 株の解析を行った。IA が 21 株、IB が 2 株、IIIA が 4 株、IIIB が 1 株であった。野田市で発生した家族内感染では６人が発症しているが、日本に常在する IA 株(IA-1)によると考えられる。2010 年に multi-location outbreak の主な原因となった東南アジア由来と考えられる株(IA-2)は、2011 年には静岡県で１例報告されたのみ(他に類似配列が佐賀県で 2 例報告されている) で、2012 年には見つかっていないことから、日本に定着せずにほぼ消失したものと考えられる。
［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) フィリピン河川水からの HAV の検出

日本において 2010 年に発生した流行の主要な原因は genotype IA であったが、系統樹解析の結果から、従来から日本に常在する株のクラスターとは異なり、フィリピンなど東南アジア由来の株との関連が示唆されていた。フィリピンの熱帯医学研究所、東北大学と共同でフィリピンのマニラ市内の河川６ヶ所から水を採取して濃縮し、HAV 遺伝子の増幅を行ったところ、６ヶ所すべてから HAV 遺伝子が検出され、市内にウイルスが常在していることが明らかとなった。検出された HAV 株はすべて genotype IA であり、系統樹解析の結果さらに３つのサブクラスター (S1～S3) に分類されると考えられる。そのうちの１つは日本で 2010 年に流行した株のクラスターと一致すると考えられた。
［石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、佐藤知子、齋藤麻理子*、押谷 仁*、**Socorro P. Lupisan、脇田隆字 (*東北大学、**フィリピン RITM) ］

(3) Ａ型肝炎ウイルス(HAV)増殖における宿主細胞タンパク La の影響について。

Ａ型肝炎治療薬開発の一環として、HAV 増殖における La の作用機序を調べるため La 発現阻害作用を持つ化合物 SD-1029 と AG490 存在下の HAV 増殖を検討した。HAV 増殖は AG490 存在下でやや阻害されるものの、化合物非存在下と有意差は認められなかった。少なくとも HAV-Genotype IIIB-strain による GL37 細胞内での HAV 抗原産生に対する La の影響は抗原 ELISA では検出されなかった。

[清原知子、神田達郎（千葉大学)、石井孝司、脇田隆字]

(4) 参照Ａ型肝炎ワクチンの更新

参照Ａ型肝炎ワクチン Lot. P1 の在庫が少なくなったので次期参照ワクチン候補品（乾燥組織培養不活化Ａ型肝炎ワクチン「エイムゲン(化血研)」HA30）の値付けを実施した。当室、化血研で力価試験（*in vivo, in vitro*）をそれぞれ 3 回繰り返し、6 回分のデータを加重平均して値を決めた。次期参照ワクチン候補品の現行参照ワクチン Lot. P1 に対する *in vivo*、*in vitro* 相対力価はそれぞれ 1.6 参照単位/vial、0.999 参照単位/vial であった。どちらも使用に充分な濃度で有り、この次期参照ワクチン候補品を次期参照Ａ型肝炎ワクチン Lot. P2 として業務委員会、検定協議会に報告、承認された（平成 25 年 12 月 5 日)。

［清原知子、佐藤知子、李天成、塩田智之、吉崎佐矢香、石井孝司、落合雅樹（品質保証・管理室)、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 1.4 倍長ゲノムを持つ発現プラスミドを構築し，培養細胞に一過性導入を行うことで HBV の複製を評価する系を構築した．HBV core particle に内包される HBV ゲノムを抽出し，real-time PCR 法にて HBV DNA 量を評価する事によりサザンブロット法と相関する結果が得られた．このシステムにより HBV の増殖や薬剤感受性等を簡便に評価することが出来ると考えられた．

[山田典栄，杉山隆一，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(2) B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ感受性の評価

HBV1.4 倍長の HBV コンストラクトを用い，培養細胞に導入後核酸アナログを投与し，その感受性の評価を行った．培養細胞内の core 粒子に含まれる HBV DNA を抽出し real-time PCR 法により HBV DNA を測定した．その結果，容量依存的な複製の阻害が観察され，その結果はサザンブロット法により評価した結果と同様であった．を

[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏（東京大学)，脇田隆字，加藤孝宣]

(3) B 型慢性肝炎におけるエンテカビル耐性症例の検討

エンテカビル投与中に HBV DNA が再上昇した症例の患者血清より 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,ラミブジン耐性として知られる rtV173L,rtL180M,rtM204V の変異を認めた．これらの変異を有する株と変異を持たないコンセンサス株をもとに 1.4 倍長の HBV コンストラクトを構築し培養細胞に導入し real-time PCR 法およびサザンブロット法にてエンテカビル感受性の評価を行った．これらの変異を有する株はコンセンサス株と比較し，エンテカビル感受性が不良でありこれらの変異はラミブジンのみならずエンテカビルにも耐性であることが明らかとなった．

[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 型慢性肝炎におけるエンテカビル反応不良症例の検討

エンテカビル投与中も HBV DNA が陰性化しない反応不良症例の患者血清より HBV 株を分離し塩基配列を確

認した．得られたHBV株には既報の核酸アナログ耐性変異は認めず，rtI122L，rtN123Hの変異を認めた．これらの変異を有する株と変異を持たないコンセンサス株をもとに1.4倍長のHBVコンストラクトを構築し，培養細胞に導入しreal-time PCR法とサザンブロット法にてエンテカビル感受性の評価を行った．rtI122L，rtN123Hの変異を有する株は変異を持たない株より複製効率が高く，この複製効率の差がエンテカビル反応性に関与している可能性が示唆された．

[山田典栄，杉山隆一，四柳宏（東京大学），脇田隆字，加藤孝宣]

(5) B型慢性肝炎におけるエンテカビル治療中一過性HBV DNA上昇症例の検討

エンテカビル投与中にHBV DNAが一度陰性化したが一過性に上昇しその後自然の経過で陰性化した症例の患者血清よりHBV株を分離し塩基配列を確認した．得られたHBV株には既報の核酸アナログ耐性変異は認めず，rtV191Iの変異を認めた．これらの変異を有する株と変異を持たないコンセンサス株をもとに1.4倍長のHBVコンストラクトを構築し，培養細胞に導入しRTD-PCRおよびサザンブロット法にてエンテカビル感受性の評価を行った．rtV191Iの変異を有するウイルスは変異を持たないウイルスより複製効率が高く，この差がエンテカビル投与中のHBV DNA一過性上昇に関与している可能性が示唆された．

[山田典栄，杉山隆一，四柳宏（東京大学），脇田隆字，加藤孝宣]

(6) HBV genotype HによるB型急性肝炎症例の解析

B型肝炎では成人での急性肝炎症例でも慢性化する症例が10-20%程度認められる．そこで，B型急性肝炎後に18か月以上HBV DNAが陰性化しない慢性化症例からHBV DNAを抽出し，その塩基配列について検討を行った．その患者から得られたHBV株は報告例が極めて少ないgenotype Hであった．この患者から得られた配列を元にgenotype H株の1.4倍長HBVゲノムを持つコンストラクトを構築した．このコンストラクトを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，この株を用いてB型急性肝炎の慢性化機序等の病態解析が可能であると考えられた．

[山田典栄，杉山隆一，奥瀬千晃（聖マリアンナ医大），四柳宏（東京大学），脇田隆字，加藤孝宣]

(7) 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．得られた変異を持つHBs抗原発現コンストラクトを作製し，これらの変異がHBs抗原測定系に与える影響を検討している．

[山田典栄，杉山隆一，四柳宏（東京大学），脇田隆字，加藤孝宣]

(8) 首都圏におけるB型急性肝炎の疫学調査

B型急性肝炎は若年者を中心に性行為感染症として問題となっており，2006年以降，欧米型であるgenotype Aが増加し約70%となった．2010年以降のgenotypeの分布を調査したところgenotype Aが約45%に減少し，減少傾向であったgenotype Cが約35%に上昇した.2010年にgenotype E,2012年にgenotype Hという本邦ではまれであるgenotypeによるB型急性肝炎を1例ずつ認めた．

[山田典栄，鈴木通博（聖マリアンナ医大），四柳宏（東京大学），脇田隆字，加藤孝宣]

(9) 人工ヌクレアーゼTALENによるHBV複製抑制効果の検討

ゲノム改変ツールとして開発された人工ヌクレアーゼであるTALENを用い，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

及び real-time PCR 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]

(10) HBV 遺伝子型が宿主細胞のアポトーシスに与える影響の解析

HBV 各種 genotyope の株の全長を発現する 1.4 倍長の HBV コンストラクトを HepG2 細胞に導入し，TNF-alfa 刺激によるアポトーシス誘導に与える影響を解析した．その結果，genotype B 株の導入によりもっとも強くアポトーシスが誘導され，この株の感染は宿主細胞に pro-apoptotic な作用を及ぼしていると考えられた．この genotype B 株に precore stop を導入し，HBe 抗原が生成されないコンストラクトの導入では，アポトーシスが誘導能は減弱しており，HBe 抗原がこの genotype B 株のアポトーシス誘導に関与していると考えられた．
[杉山奈央，山田典栄，杉山隆一，脇田隆字，加藤孝宣]

(11) Interferon independent suppression of HBV life cycle by TSSK2 Kinase.

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. One of the identified hits is TSSK2 protein Kinase. We found that TSSK2 is expressed in many hepatocyte cell lines and primary liver cells. TSSK2 kinase suppress HBV replication in many hepatocyte cell lines, including cells that lack the expression of interferon receptors, suggesting the suppression is independent of interferon function. Further analysis is now undergoing to discover the detailed mechanism of this phenomenon.
[Hussein H Aly, Kazuaki Chayama (Hiroshima Univ.), Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(12) 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. We identified several helicases required for HBV-cccDNA formation. One of these helicases is RecqL helicase. RecqL helicase is a member of the RecQ DNA helicase family. DNA helicases are enzymes involved in various types of DNA repair, including mismatch repair, nucleotide excision repair and direct repair. Using CHIP assay, we found the direct interaction between RecqL helicase and HBV-cccDNA. Further mechanistic analysis is proceeding to be able to finally develop efficient anti-HBV therapy.
[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(13) Screening of G coupled receptors that affect HBV life replication.

The G coupled protein receptors constitute a large protein family of receptors that sense molecules outside the cell and activate inside signal transduction pathways and, ultimately, cellular responses. G protein-coupled receptors are involved in many diseases, and are also the target of approximately 40% of all modern medicinal drugs. In a trial to find possible therapeutic targets for HBV replicaUsing siRNA library targeting human G receptors, we screened

for those affecting HBV replication in 38.7 cells. Targets were identified, and further analysis is undergoing.
[Hossam Geweid, Hussein Hassan Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(14) IL-1beta, TNF-alpha による宿主内 HBV 自然免疫活性化機序の解析

HepaRG 細胞を用いた HBV 感染評価系を用いることにより、IL-1beta, TNF-alpha の前処理によって宿主細胞の HBV 感染感受性が低下することが判明した。これは宿主デアミナーゼである AID の発現上昇、AID による HBV 排除効果を介していることが示唆された。
[渡士幸一, 脇田隆字]

(15) HBV 侵入を阻害するシクロスポリンの抗 HBV 作用機序の解析

HepaRG 細胞での HBV 感染評価系を用いた化合物スクリーニングにより、シクロスポリンが HBV 感染を阻害することが明らかとなった。またこれは感染受容体である NTCP とエンベロープである LHBs の結合を阻害することによると示唆された。
[渡士幸一, 松永智子（横浜市立大）, 梁明秀（横浜市立大）, 岩本将士, 九十田千子, 脇田隆字]

(16) 高効率 HBV 複製細胞系を用いた抗 HBV 化合物の解析

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 HepG2.2.15.7 細胞を、また tet-off 細胞株 Hep38.7-Tet 細胞を樹立した。HepG2.2.15.7 細胞および Hep38.7-Tet 細胞は親株に比較して核酸アナログに高感受性であることが明らかとなった。Hep38.7-Tet 細胞を用いた化合物スクリーニングにより HBV 複製を阻害する核酸アナログ以外の化合物を同定した。
[渡士幸一, 岩本将士, 脇田隆字]

(17) 新規 HBV 感染許容性細胞の樹立

HepG2 細胞に HBV 感染受容体である NTCP を過剰発現する細胞株をクローン化することにより、HBV 高感受性の細胞株を樹立した。この細胞の約 20%の細胞は HBV 感染陽性となったが、感染前に 3% DMSO で前処理した細胞においては感染率が約 50%程度にまで増加した。
[岩本将士, 渡士幸一, 脇田隆字]

(18) HBV 感染感受性を低下させる Ro41-5253 の作用機序の解析

Ro41-5253 の前処理により細胞の HBV 感染感受性が低下することを見出した。この作用機序を解析したところ、Ro41-5253 は NTCP タンパク質および mRNA 発現を低下させることが明らかとなった。
[九十田千子, 渡士幸一, 岩本将士, 脇田隆字]

(19) 遺伝子組換え酵母由来 B 型肝炎ウイルス様粒子の細胞表面への結合に関与する宿主因子の解析

HBV の Large S タンパク質で構成される遺伝子組換え酵母由来 HBV 様粒子（BNC）が結合する細胞と結合しない細胞を用い、発現量の異なる表面タンパク質を SILAC 法で同定した。同定されたタンパク質に対する siRNA を BNC が結合する細胞に導入し、ノックダウンにより結合能が低下する遺伝子の探索を行った。その結果、HBV の肝細胞表面への結合に関与する新規候補因子を同定した。
[松田麻未, 鈴木亮介, 嵯峨涼平, 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]

(20) NCTP 以外の entry に関与する宿主因子の同定

最近、HBV の entry に関与する因子として HBV preS1 と結合する NTCP が発見された。一方、HBV S 領域を標的とする酵母で作製した B 型肝炎ウイルスワクチンは抗体獲得率９５%（４０歳）で、HBV 感染防御効果も大変高いことが知られている。また、preS1 領域が欠損した HBV の存在が多く報告されており、このようなウイルス感染者からも肝癌発症が報告されている。実際、NTCP 発現 HepG2 細胞を樹立し、HBV を感染させたとこ

ろ、感染効率は約 50%で、感染しない細胞群が存在した。そこで、我々は NCTP 以外の entry 因子を同定するため、HBV mRNA を標的とする蛍光プローベを細胞に導入することで、生きたまま HBV 感染 HepG2-NTCP 細胞と非感染細胞の分別を行った。現在、２種類の細胞の HBV 感受性の比較を行っている。
[藤本陽，相崎英樹，脇田隆字]

(21) Ｂ型肝炎の既往歴調査
Ｂ型肝炎の疫学調査の一環として、10 代、20 代、30 代のＢ型肝炎既往歴の調査を行った。所内血清銀行の保存検体を対象とし、既往歴のマーカーである HBc 抗体の検査はエンザイグノスト Anti-HBc monoclonal（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社）を使用した。検体の年齢分布は 10 代、20 代、30 代各 200 検体合計 600 検体、男女比は 260：340、検体採取時期は 2010 年と 2011 年、地域分布は 12 県であった。HBc 抗体陽性は 15 検体（2.5%）で日本赤十字社献血者の HBc 抗体陽性率 0.5%より高い結果となった。年齢別に見ると 10 代 4 人、20 代 1 人、30 代 10 人であった。また、陽性 15 検体中 9 検体が九州地方に偏っていた。これまで考えられていたよりもＢ型肝炎の流行には地域差があり、10 代でも感染歴があることが明らかとなった。今後のＢ型肝炎対策として、地域差、小児期の水平感染を考慮する必要がある。
[清原知子、石井孝司、脇田隆字]

(22)Ｂ型肝炎ワクチン「ビームゲン（化血研)」の販売名変更に伴う検定業務の取扱いについて
化学及血清療法研究所は医療事故防止目的のため、これまで同一製剤（ビームゲン）の分注区分の位置づけであった成人用と小児用の製品を、異なる容量規格の製剤「ビームゲン注0.25ml」、「ビームゲン注0.5ml」として販売名変更代替新規申請し承認される運びとなった。原則として、自家試験、SLP作製、国家検定は承認書別各製剤について実施されるが、今回承認される2製剤は分注日、容量以外は同一製剤として製造されるため、検定の効率化、動物愛護を鑑み、自家試験、国家検定、SLP記載内容を検定係、品質保証室と協議した。協議に際しては他の製剤との整合性も考慮した。協議の結果、検定申請、受付、判定結果は従来通り検定申請書の「医薬品の名称」単位とし、SLP記載内容は重複部分については省略可能、力価試験は従来通り同一製剤の代表分注区分のみで実施とすることとした。最終的な変更内容については監視指導・麻薬対策課に確認をとり了承された。
[清原知子、石井孝司、検定係、品質保証・管理部第 2 室]

(23) 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
HBe 抗原陽性無症候性キャリアの HBV 感染患者 3 名（Patient：78（genotype A）、Patient：70595（genotype B)、Patient：2 (genotype C)）の血清からクローニングされた HBV 遺伝子配列を用いて、テトラサイクリン誘導患者 HBV 発現プラスミドを作製し、HepG2 細胞にプラスミドを導入、HBV 安定発現細胞を構築した。Tet-On 系では genotype B の 1 クローンで、Tet-Off 系では genotype C の 1 クローンで顕著な HBeAg 分泌クローン細胞を取得した。さらに、genotype C のクローン細胞は細胞内 cccDNA 量、細胞外 HBeAg 分泌量が経時的に増加し、cccDNA 合成阻害剤 CCC-0975 の抗 HBV 活性は文献と同等であった。
[小倉直樹（JT 医総研），渡士幸一，脇田隆字]

(24) 抗ウイルス薬の標的候補分子の同定
テトラサイクリン誘導 HBV 発現細胞の HepAD38 細胞（genotype D）からサブクローニングされた Hep38.7-Tet 細胞を用いて、細胞外 HBeAg 量を指標に 3 種類の siRNA Library（DNA damage response、Epigenetic、Nucleic Acid Binding）のスクリーニングを実施した。HBeAg 分泌阻害を示した 80 遺伝子を primary hits として選抜した。さらに再現性評価として、HBeAg 分泌阻害及び cccDNA 合成阻害を示した 21 遺伝子を second hits として選抜した。
[小倉直樹（JT 医総研），渡士幸一，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 LL-37 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．抗菌ペプチドとして知られている LL-37 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，LL-37 は HCV の感染性粒子を破壊する事でその感染を阻害している可能性が考えられた．

［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)Monocyte におけるビタミン D による LL-37 誘導能の解析

マクロファージ様の形質をもつヒト培養細胞である U937 細胞と THP-1 細胞を用い，抗菌ペプチドである LL-37 のビタミン D による誘導について検討を行った．U937 細胞と THP-1 細胞を PMA と活性型ビタミン D であるカルシトリオールで刺激し，LL-37 の mRNA の誘導を Gene Expression で，LL-37 の誘導を ELISA 法で評価した．その結果，両細胞で LL-37 の mRNA は十分な誘導を認めたが，培養上清中の LL-37 濃度は 4 - 7 ng/mL であり，抗 HCV 作用を示す程度までの上昇は認められなかった．

［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),山田典栄,杉山奈央,村山麻子，藤田めぐみ，脇田隆字，加藤孝宣］

(3) HuH-7 細胞以外の培養細胞における HCV 複製の検討

ワクチン製造細胞として実績がある細胞として，HuGK-14 細胞，MRC-5 細胞，Vero 細胞，MDCK 細胞，CHO 細胞，非がん細胞として HEK293 細胞を検討した．それぞれの細胞に全長 HCV RNA を導入したが，いずれの細胞でも HCV の複製は観察されなかった．

［村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣］

(4) HCV ライフサイクルに重要な宿主因子発現量の比較

HCV 複製できない培養細胞において HCV ライフサイクルに重要な宿主因子の発現量を測定した．HCV 複製に重要な miR-122 は HuGK-14 細胞では Huh-7.5.1 細胞と同レベルの発現が見られたが，その他の細胞ではいずれもほとんど発現していなかった．さらに，HuGK-14 細胞では複製に関わる CKB，粒子形成に関わる ApoE，cPLA2 の発現量が Huh-7.5.1 と比べて低かった．MRC-5 細胞では Entry に関わる Claudin-1，複製に関わる CKB，粒子形成に関わる ApoE の発現量が低かった．HEK293 細胞では，Entry に関わる Claudin-1，粒子形成に関わる ApoE の発現量が低かった．

［村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣］

(5) miR-122 を強制発現させた細胞における HCV 複製の検討

HCV 複製できない培養細胞においてレンチウイルスを用いて各細胞に miR-122 を強制発現させたところ，いずれの細胞でも Huh-7.5.1 細胞と同程度の miR-122 の発現量が得られた．miR-122 を強制発現させた HEK293 細胞では，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時間経過とともに上昇することから，HCV 複製は可能であったが，複製効率は Huh-7.5.1 細胞の 1/100 程度であった．また，miR-122 を強制発現させた Vero 細胞では，時間経過とともに細胞内コア抗原量がわずかに上昇した．しかし，その他の細胞では，miR-122 を強制発現させても，HCV 複製は認められなかった．

［村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣］

(6) miR-122，ApoE，Claudin-1 を発現する HEK293 細胞での HCV ライフサイクルの検討

レンチウイルスを用いて miR-122，ApoE，Claudin-1 を発現する HEK293 細胞を作製した．miR-122，ApoE，

Claudin-1 の発現量がすべて Huh-7.5.1 細胞と同等もしくはそれ以上の細胞株を選択し，HCV RNA を導入した．その結果，細胞内コア抗原量は Huh-7.5.1 細胞の 1/5 程度であり，培養上清中のコア抗原量は 1/1000 程度であった．しかし，この培養上清は，感染性を示した．また，Claudin-1 の発現により，HCV 感染が可能となった.以上の結果から,HEK293 細胞では miR-122, Claudin-1, ApoE を発現させることにより，感染，HCV 複製，ウイルス産生といった HCV ライフサイクルのすべてのステップを再現できた.

[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(7) 培養細胞における ISG 誘導能の検討

HEK293 細胞，MRC-5 細胞，Vero 細胞，Huh-7.5.1 細胞に HCV RNA または poly IC を導入し，細胞内の ISG の発現量を測定した結果，Huh-7.5.1 細胞では，poly IC 導入細胞では ISG の誘導が見られたが，HCV RNA 導入細胞ではどちらの誘導も見られなかった．それに対して,HEK293 細胞,MRC-5 細胞,Vero 細胞では poly IC または HCV RNA いずれを導入した場合にも 15 倍から 1 万倍の高い ISG 誘導能を示したことから，これらの細胞では，何らかの方法で自然免疫系を阻害することにより HCV 複製が増強する可能性がある.

[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(8) 第二世代 NS5A 阻害剤の抗 HCV 活性の評価

第一世代の NS5A 阻害剤（Daclatasvir 等）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い．最近開発された第二世代の NS5A 阻害剤の抗ウイルス効果を異なる遺伝子型の全長 HCV 株を用いて検討した．Daclatasvir は H77S 株（1a）を低濃度で阻害したが，J6cc 株（2a），J8cc 株（2b）に対する阻害効果は弱かった．それに対して，第二世代の NS5A 阻害剤は，遺伝子型に関わらず，いずれの全長 HCV 株の複製も低濃度で阻害した.

[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(9) HCV コア領域のアミノ酸変異がウイルス増殖能に与える影響の評価

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２種類作成した(TH/JFH-1, Con1/JFH-1)．更にこれらのキメラウイルスに aa 70 (R/Q)と aa 91(L/M)の変異を導入した(TH/JFH1-RL, -RM, -QL, -QM, Con1/JFH1-RL, -RM, -QL, -QM)．合成したこれらの HCV 株の全長 RNA をそれぞれ Huh7.5.1 細胞に導入した後，培養細胞中および培養上清中の HCV core 抗原量を測定した．培養細胞中のウイルス量には変化を認めなかったが，培養上清中の core 抗原量は core 領域 70 番アミノ酸変異株である QL 株，QM 株において有意に低下していた．そこで Huh7-25 細胞を用い，これらの変異が HCV ライフサイクルの各ステップに与える影響を評価した．Huh7-25 細胞にこれらの HCV 株の全長 RNA を導入後，細胞内 core 抗原量は変異による差を認めなかったが，感染性ウイルス粒子形成能を示す細胞内感染力価は core 領域 70 番アミノ酸変異株である QL 株，QM 株で著明に低下していた.

[藤田めぐみ，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(10) HCV コア領域のアミノ酸変異が IFN 感受性に与える影響の評価

コア領域 aa 70 (R/Q) と aa 91 (L/M) の変異を持つ Genotype 1b/2a のキメラウイルスを用い，IFN 感受性について検討を行った．合成したこれらの HCV 株の全長 RNA をそれぞれ Huh7.5.1 細胞に導入した後，IFN-α を添加し培養細胞，上清中の HCV core 抗原量の変化を測定した．その結果，いずれの変異株でも培養上清中，細胞内の HCV core 抗原量が低下し，変異による IFN 感受性に差は見られなかった.

[藤田めぐみ，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(11) HCV コア領域のアミノ酸変異が細胞表面 MHC class I 発現に与える影響の解析

Core 領域アミノ酸変異株キメラウイルス全長 RNA を Huh7.5.1 細胞に導入した後,IFN-γにより宿主細胞表面に発現誘導される MHC Class I を Flow Cytometry

を用いて測定した．TH/JFH-1，Con1/JFH-1 のいずれの変異株においても QL 株，QM 株で細胞表面の MHC class I の発現量が低く抑えられ，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]

(12) 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

Core 領域アミノ酸変異株キメラウイルスにおいて，これら変異株を導入した細胞の HCV 陽性細胞数とその陽性細胞内の HCV 蛋白の蓄積について評価を行った．まず，HCV 陽性細胞の比率を Flow Cytometry により検討した．その結果 Core 領域の変異による差は認められなかった．そこで細胞内の HCV 蛋白質量を Flow Cytometry を用いて測定したところ，QL 株，QM 株で細胞内の HCV 蛋白質量が増加していた．

[藤田めぐみ，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(13) HCV NS5A-ISDR アミノ酸変異が HCV 増殖に与える影響の解析

HCV の NS5A に存在する IFN 感受性領域(ISDR)のアミノ酸変異は，IFN 治療における治療効果の予測因子として知られている．そこで，JFH-1 株を用いた培養細胞系を用い，ISDR のアミノ酸変異が HCV の増殖に与える影響を検討した．HCV JFH-1 株の NS5A を Genotype 1b 株に置換したキメラウイルス（JFH1/5ACon1）を用い，さらに，NS5A の ISDR を wt に置換した i-wt 株および，ISDR に 7 つのアミノ酸変異を持つ i-7mut 株を作製した．これらのコンストラクトを用い，ISDR の変異が HCV ライフサイクルの各ステップに与える影響を評価した．これらの株の HCV 全長 RNA の導入により細胞内の core 抗原量には差は認めなかったが，上清中の core 抗原量は i-7mut でのみ低値であり，この株では感染性粒子生成効率が低下していると考えられた．

[杉山隆一，杉山奈央，村山麻子，藤田めぐみ，山田典栄，脇田隆字，加藤孝宣]

(14) 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 (EJ1 clone). The major replicating clone is identified, and a replicon plasmid expressing the non-structural region is constructed. HCV replication analysis is performed. However, no efficient replication was established from the EJ1 clone. Through our collaboration study with Egypt, we obtained a high HCV titer serum from recurrent hepatitis patients after liver transplant, or from chronic HCV patients. The serum will be shipped to Japan soon to be used for the establishment of HCV4a infectious system.

[Hussein H Aly, Hossam Geweid, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(15) phospholipase D (PLD)による感染性 HCV 産生制御機構の解析

halopemide は phospholipase D (PLD)阻害を介して感染性 HCV 産生を低下させることが示唆された。PLD は HCV 生活環のうち粒子放出過程を制御していること、halopemide 処理細胞では HCV core タンパク質がゴルジに蓄積することが観察された。これにより、PLD は HCV 粒子のゴルジからの輸送過程を制御することが示唆された。

[渡士幸一，内田奈々子,脇田隆字]

(16) 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 阻害剤処理により PKR の活性化が抑制されることが示唆された。またこれによりインターフェロン(IFN)情報伝達経路下流

遺伝子の IFN stimulated genes のタンパク質発現が誘導されることが観察された。また cyclophilin は PKR と相互作用しており、これにより PKR の活性化およびそれに引き続いておこる stress granules 形成を制御していると考えられた。
[大東卓史, 渡士幸一, Ann Sluder (SCYNEXIS), Katyna Borroto-Esoda (SCYNEXIS), 脇田隆字]

(17) 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

感染性 HCV 産生培養系を用いて、真菌抽出物より単離された Sulochrin が HCV 感染を阻害することが見出された。これは HCV 生活環のうち特に HCV の宿主細胞への侵入を阻害しており、既存薬であるインターフェロンやプロテアーゼ阻害剤と併用することにより相乗的な抗 HCV 効果を示した。また複数の遺伝子型 HCV の侵入に対して阻害効果を示した。
[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]

(18) flutamide による感染性 HCV 産生低下機構の解析

感染性 HCV 産生系を用いた化合物スクリーニングにより flutamide が感染性 HCV 粒子の産生を低下させることが明らかとなった。またこれは HCV 生活環中の HCV 粒子形成過程を阻害することによると示唆された。
[大橋啓史, 渡士幸一, 脇田隆字]

(19) C型肝炎ウイルス抗原を含んだ日本脳炎ウイルス様粒子の作製と中和抗体の誘導

日本脳炎ウイルス(JEV)エンベロープ蛋白質の粒子表面上に露出すると予想される部位に HCV E2 由来中和エピトープを挿入し、培養上清への JEV 様粒子(SVP)の分泌が阻害されない挿入可能部位を３ヶ所同定した。挿入した中和エピトープは粒子表面上に提示されていることを蛍光相関分光法を用いて確認した。これらの HCV 中和エピトープを有する JEV SVP (E2-SVP) を恒常的に発現する 293T 細胞を樹立し、培養上清中からゲル濾過クロマトグラフィーによって精製した。この E2-SVP を免疫したマウスの血清は JEV の感染を中和するとともに、遺伝子型 1b および 2a 由来 HCV に対する感染中和能を示した。
[嵯峨涼平, 藤本陽, 渡邊則幸, 松田麻未, 長谷川慎(長浜バイオ大), 渡士幸一, 相崎英樹, 加藤孝宣, 中村紀子(東レ医薬研), 小西英二(阪大微研), 田島茂(ウイルス第一部), 高崎智彦(ウイルス第一部), 竹山春子(早大院), 鈴木亮介, 脇田隆字]

(20) 日本脳炎ウイルスレプリコンを用いた１回感染性フラビウイルス粒子の産生

CMV プロモーター下流に日本脳炎ウイルス(JEV)レプリコン cDNA を挿入したプラスミドを構築し、これを JEV 構造領域発現プラスミドと共に哺乳動物細胞に導入すると、１回感染性 JEV 粒子が産生された。１回感染性 JEV 粒子は JEV と同様に抗 JEV 血清によりその感染が中和され、またデングウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルスの構造蛋白質遺伝子を用いても１回感染性粒子が産生された。本システムは安全な感染中和アッセイに有用であると考えられる。
[鈴木亮介、石川知弘(独協医大)、小西英二(阪大微研)、松田麻未、高崎智彦（ウイルス第一部)、脇田隆字]

(21) 細胞内発現抗体（イントラボディ）による C 型肝炎ウイルスの増殖抑制

抗 HCV コア蛋白質抗体を産生する 5 種類のマウスハイブリドーマから、H 鎖および L 鎖の可変部遺伝子をクローニングし、それぞれの単鎖可変部のみ、および scFv を発現するプラスミドを作製した。このプラスミドと HCV 全長プラスミドを Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションし、培養上清中の感染力価を測定する事により、HCV 増殖抑制効果のあるイントラボディを見いだした。これらのイントラボディは、ウイルスの感染初期およびゲノム複製過程には影響せず、細胞内の HCV の感染力価を減少させており、粒子形成過程を阻害している可能性が示唆された。
[松田麻未, 斎藤憲司, 鈴木亮介, 佐藤充, 鐘ヶ江裕美,

千葉丈，斎藤泉，脇田隆字，鈴木哲朗]

(22) HCV 感染に伴う細胞の代謝変化の解析

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。HCV 感染がどのようなメカニズムで宿主代謝に影響を与えているか解析を進めている。

[藤本陽、松田麻未，相崎英樹，鈴木哲朗（浜松医科大学），脇田隆字]

(23) 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。HL を過剰発現させた Huh-7 細胞に HCV を感染させた後、培養上清中 HCV の感染価を測定したところ、著しい感染価の低下が見られた。また、HCV 感染直後には一時的に HL 発現発現が見られるものの、感染後時間経過的に HL 発現が低下した。このことから、抗ウイルス応答としての HL 発現上昇が HCV により抑制され、感染性の維持に都合の良い環境を作り出している可能性が示唆された。

[藤本陽，相崎英樹，脇田隆字]

(24) HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究

C 型慢性肝炎に対する治療は IFN/DAA の治療で９割以上の患者に SVR が期待できる。しかしながら、発癌リスクの高い線維化進展例や高齢者の多くが SVR となる一方、IFN と異なり DAA の肝発癌抑制作用については不明である。したがって、今後 SVR 後の肝障害や発癌が増加することが懸念される。そこで、今後増加する SVR 後症例の肝障害・肝発癌のリスク評価と抑制法の開発のため、SVR 後の肝病態の解明と新たな検査系・対処法の確立を目指す。

[青柳春代，相崎英樹、小池和彦（東京大学)、平松直樹（大阪大学)、黒崎雅之（武蔵野赤十字病院)、林和彦（名古屋大学)、飯島尋子(兵庫医科大学)、坪田昭人(東京慈恵会医科大学)、鈴木哲朗（浜松医科大学)、考藤達哉(国立国際医療研究センター)、丸澤宏之(京都大学)、福原崇介（大阪大学)、和氣健二郎（ミノファーゲン製薬)、市野瀬志津子（東京医科歯科大学)、脇田隆字]

(25) HCV 感染に伴う細胞微細構造変化の解析

HCV 感染に伴う肝組織の微細構造変化については多くの報告があるものの、適切なネガコンもなく、患者により病態も大きく異なるため、統一的な判断基準はない。そこで、我々は HCV 感染細胞系を用いて、感染細胞で観察される特徴的な所見に注目し、HCV 慢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、オルガネラの変化を調べている。さらに、SVR 後の病態解明のため、SVR 症例の解析も行っている。

[青柳春代、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]

(26) HCV 生活環に関与する HCV-NS4B 結合膜蛋白の同定と解析

NS4B 発現細胞から pull-down 法により NS4B 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、複製過程に関与するタンパクとして PREB 等を見出した。PREB は複製複合体を含む HCV 特有の膜構造物形成に重要な役割を果たしてものと考えられた。

[Lingbao Kong（江西農業大学），山越智（生物活性物質部），鈴木哲朗（浜松医科大学），相崎英樹，脇田隆字]

(27) HCV 生活環に関与する HCV-NS5A 結合膜蛋白の同定と解析

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。HCV RNA と結合する ELAVL1 は NS タンパク質と結合の有無により、HCV 翻訳・複製を制御しているものと考えられる。

[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]

(28) HCV 感染に伴う核膜孔変化の解析

電顕観察により、HCV 感染に伴い核膜孔の増加が観察された。そのメカニズムとウイルス産生に与える影響を調べるため、NS4B, NS5A 発現細胞から pull-down 法により NS4B, NS5A に結合する核膜蛋白を精製し、プロテオーム解析を行っている。共通する蛋白に着目し、解析を進める。

[青柳春代，相崎英樹，山越智（生物活性物質部），鈴木哲朗（浜松医科大学），脇田隆字]

(29) 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 HSD を見出した。HSD は NS5A と結合し、HCV 粒子形成の場である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]

(30) 肝星細胞の HCV 感染性の解析

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 が肝星細胞に感染増殖するかを明らかにすることは重要な課題である。HCV 慢性肝炎患者肝組織の星細胞における HCV タンパクの発現を確認した。さらに、HCV が感染すると cherry の蛍光の局在が変化する星細胞系を樹立した。HCV が星細胞へ感染する可能性を解析する。

[青柳春代，相崎英樹，松浦知和（慈恵医大）、鈴木哲朗（浜松医科大学），脇田隆字]

(31) PLA2IB の HCV 粒子放出のメカニズムの解析

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。GL の Autophagy 誘導のメカニズム、PLA2IB の HCV 粒子放出のメカニズムについて調べている。

[青柳春代，松本喜弘（慈恵医大消化器内科），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]

(32) 肝炎検査陽性者の追跡システムの構築

感染を知らないまま社会に潜在しているキャリアが 2011 年時点で７８万人いると考えられ、さらに感染を知りながら治療を続けていない人も５７−１２０万人も存在すると推定されている。効果の高い治療薬や医療費助成があるにもかかわらず、自覚症状がなく治療の必要性を感じないため、検査が治療に結びついていない。そこで、自治体・医療現場・職場での肝炎ウイルス検査により見いだされた陽性者を専門医療機関へ導き、フォローアップすることを目的にしている。

[相崎英樹，飯島尋子（兵庫医大），石上　雅敏（名古屋大学），片野義明（名古屋大学），菊池嘉（国立国際医療研究センター），工藤正俊（近畿大学），坂本穣（山梨大学），島上哲朗（金沢大学），正木尚彦（国立国際医療研究センター），吉岡健太郎（藤田保健），米田政

志（愛知医大），渡邊綱正（名古屋市立大学），脇田隆字]

(33) 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。本年度は新たにHBVについて、国の対策を含めてまとめた。感染症週報「HBV, HCV」を更新し、最新の治療について報告した。

[相崎英樹, 田中純子（広島大），脇田隆字]

(34) HIV陽性者における急性C型肝炎の集団発生について

2012年11月から12月にかけて、近医に通院するHIV陽性者において、5人の急性HCV感染例が見出された。4人のHCV遺伝子の解析を行ったところ、２人のHCVはホモロジーが高く、共通した遺伝子欠損が見出されたことから、感染源を共有している可能性及び、濃厚かつ繰り返す感染機会を有していた可能性が考えられた。HIV陽性者に対し、性交渉によるHCV感染予防について啓発する必要があると考えられた。

[青柳東代、井戸田一朗（しらかば診療所)、相崎英樹、脇田隆字]

(35)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

我々はこれまでに齧歯類モデルを用いて，培養細胞由来C型肝炎ウイルス粒子（HCVcc）が高い免疫原性を持つことを検討してきた．本研究では霊長類モデルとしてマーモセットを選択し，HCVccの免疫原性及び安全性の更なる解析を行うことを目的とした．HCVccを免疫したマーモセットの血漿から，免疫したHCVccと同じ遺伝子型2aのエンベロープタンパク質を認識する抗体が検出され，また，遺伝子型1のコアタンパク質を認識する抗体も検出された．また，免疫した全てのマーモセットにおいて，生化学的血液検査および病理学的組織解析の結果，HCVcc免疫に起因する異常は認められなかった．

［横川寛，中村紀子（東レ医薬研），東濃篤徳（京大霊長類研），鈴木沙織（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]

(36) 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感染患者より得た抗体遺伝子ライブラリーを用いて、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，HCVccに対する感染阻害活性を検討した。その結果、これら3種のIgG抗体は遺伝子型1a，1b，2a，3aのJFH-1キメラHCVccに対して，既知ヒト抗E2抗体であり臨床開発も進んでいるMBL-HCV1より強い感染阻害活性を示した。また、これら3種のヒト抗E2抗体のうち1種は、エスケープミュータントが発生しづらい抗体である事が示唆された。

［横川寛，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]

(37) 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.Benzonase nucleaseを用いて精製前サンプルを処理し，夾雑核酸を分解することによってイオン交換クロマトグラフィーにおけるHCV粒子の回収量が増加し，精製効率が改善した．この精

製産物をゲルろ過クロマトグラフィーにてさらに精製を行い、最終精製産物の回収率を求めたところ、超遠心精製とほぼ同等かそれ以上の精製効率である事が示唆された。

［横川寛，中村紀子（東レ医薬研），石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字］

(38)複製効率の良い遺伝子型2bサッブジェノミックレプリコンの構築

遺伝子型1と遺伝子型2bで増殖効率を上昇すると報告されているNS3,NS4A,NS5Bの適応変異F438L,A15S,D559G(LSG)を遺伝子型2bのネオマイシン耐性遺伝子を持つサッブジェノミックレプリコンに導入し、複製できるかをコロニー形成アッセイで検討したところ、レプリコンが複製するコロニーを形成した。得られたレプリコンをクローン化し、HCVのNS3、NS5A、NS5B蛋白の局在を免疫蛍光染色法で確認した。複製しているレプリコンゲノムの塩基配列を解析したところ、NS4B領域にL191M, I131V, R192H, S244G, G72R, G72VとNS5B領域にQ414L, E330Kの変異が同定された。LSG変異を加えることで今まで培養細胞で複製が出来なかった遺伝子型2bのHCV株が複製可能となった。

[Su Su Hmwe, Goki Suda (Hokkaido University), Naoya Sakamoto (Hokkaido University), Michio Imamura (Hiroshima University), Nobuhiko Hiraga (Hiroshima University), Kazuhiko Chayama (Hiroshima University), Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(38)感染性粒子産生系遺伝子型2bの構築の検討

サッブジェノミックレプリコン細胞から得られた適応変異をLSG変異とともに、遺伝子型2bの全長HCVcDNAに導入し、8種類の全長コンストラクトを作製した。これらのコンストラクトから作製したRNAを培養細胞に導入すると、感染性ウイルス粒子が産生された。LSGだけのクローンよりLSG+1つの適応変異を加えたクローンの方がウイルス産生が高かった。

[Su Su Hmwe, Goki Suda (Hokkaido University), Naoya Sakamoto (Hokkaido University), Michio Imamura (Hiroshima University), Nobuhiko Hiraga (Hiroshima University), Kazuhiko Chayama (Hiroshima University), Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(39)E2抗体誘導におけるN型糖鎖の役割

E2タンパク質の免疫による抗体誘導効果に11種類のN型糖鎖が及ぼす影響について解析した。11種類の単一NQ変異（糖鎖修飾部位のAsnをGlnに置換）組換えE2タンパク質を293T細胞から精製した。その後、精製タンパク質をマウスに免疫した。すべてのNQ変異型でE2抗体誘導を確認した。マウス血清を用いてHCV感染阻害実験を行ったところ、NQ3、NQ8、NQ10を免疫したマウス血清において感染阻害効果が低下していた。今後は血清からIgGを精製して詳細に解析を行う。

[渡邉則幸、河野環、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字]

(40)HCV感染に重要な領域の探索

E1およびE2領域の20アミノ酸のペプチド（51種類）を用意して、これらのペプチドによるHCV感染阻害効果を解析した。ペプチドは前後の配列と10アミノ酸を重複するものでエンベロープ領域を全てカバーする。感染阻害実験の結果、E1（282-301）とE1（292-311）の二種類のペプチドにおいてHCV感染阻害が観察された。この領域はウイルスの細胞融合に重要な領域とE1抗体の中和エピトープの間に位置し、感染阻害の新たなターゲット領域として期待ができる。

[渡邉則幸、河野環、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字]

(41)siRNAをもちいたウイルス感染に重要な新規宿主因子の探索

HCVのライフサイクルに重要な新規宿主因子を探索する目的で、Human inon channel siRNA library (Ambion)を用いてHCV感染を解析した。338遺伝子のうち46遺伝子のsiRNAにおいて、コントロールと比

較して HCV 感染が 50%以下に減少した。その中の 28 遺伝子がカリウムチャネルであった。

[渡邉則幸、河野環、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字]

４．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

(1) HEV **感染性規定宿主因子の探索**

HEV 感染感受性 PLC/PRF/5 サブクローン cDNA ライブラリの委託作製

非感受性細胞での functional cloning を目指して、感受性サブクローンからの cDNA ライブラリ作製をタカラバイオ株式会社ドラゴンジェノミクスセンターに依頼した。方法は、できるだけ多様性を保つために PCR を出来るだけ介さないプライマー伸長法での作製を希望したが、実現せず、LD-PCR 法での納品となった。しかし、複雑度は 600 万（受取後、当方でも確認済み）と高く、平均インサート長も自家製のものより良好(多様性未確認）であり次年度以降の感染性規定宿主因子の同定に大きく貢献するものと期待される。

［塩田智之，李 天成，吉崎佐矢香，加藤孝宣，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) 昨年度作製した HEV 感染感受性 PLC/PRF/5 サブクローン cDNA ライブラリから得られた感染性規定宿主候補因子の解析

候補因子は、その存在が現在までの HEV 研究報告に矛盾しないことを確認している。また、既に実施した網羅的遺伝子発現比較解析において、他のウイルスでの宿主因子同定時と同等の発現比（感受性に比べて低下）が見られた。

［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) 感染性規定宿主候補因子の全長クローニング

候補因子の哺乳細胞発現ベクターへの全長クローニングに成功し、非感受性細胞への発現と薬剤選択によって安定発現株を樹立した。今後、結合・感染性相補試験を予定している。

[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）]

(4) 感染性規定宿主候補因子に対する市販抗体の評価

HEV の感受性細胞への結合阻害能について市販のモノクローナル抗体・ポリクローナル抗体を 10 種類以上試験したが、現在までに良好な結果を得ることは出来ていない。今後、感染阻害能の検討を予定している。

[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）]

(5) HEV レプリコンの構築およびレプリコン包埋 VLP 作成の検討

HEV の感染性クローン（genotype １および３）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。構造蛋白（ORF2）を発現する細胞にレプリコンを導入した細胞を作成し、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、レプリコン RNA は RNase A 抵抗性であり、レプリコンが構造蛋白に包埋された擬似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］

(6) HEV レプリコンを用いたウイルス増殖阻害物質のスクリーニング

HEV レプリコン RNA を導入した細胞に薬剤ライブラリーを添加し、レプリコンのレポーター遺伝子の発現を指標として阻害剤のスクリーニングを開始した。現在までに約 1000 種類の薬剤をスクリーニングし、ウイルス増殖阻害活性を持つ化合物を複数見出している。今後、作用機序の解析とウイルス阻害剤としての応用、ウイルス増殖メカニズム解析への応用を検討する予定。

[吉崎佐矢香，脇田隆字，石井孝司]

(7) Rat HEV 全長 RNA の感染性の同定

最近、Rat HEV をはじめ、新しいE型肝炎ウイルスが続々と発見されている。しかしながら、これらのウイルスの増殖できる培養細胞系が樹立されていないため、ウイルスの感染性や病原性などの評価が困難である。本実験では、二株（ドイツ株、中国株）rat HEV の全長を解析した上、in vitro で合成した全長 rat HEV RNA をヌードラット（Long Evans-rnu/rnu）肝臓に直接に接種した後、定期的に採血と採便を行い、ウイルス遺伝子を測定し、ウイルス増殖の有無により全長 Rat HEV RNA の感染性を評価した。その結果、ウイルス接種 4 週後、ラット便中から rat HEV が検出され、さらにその便乳剤をヌードラットに静脈接種したあと、ウイルスの増殖が確認された。Rat HEV 全長 RNA が感染性を有することが明らかになった。

［李天成、楊婷婷、吉崎佐矢香、*網康至、*須崎百合子、石井孝司、脇田隆字（*動物管理室)］

(8) Rat HEV の細胞培養系の樹立

Rat HEV を PLC/PRF/5 細胞に接種した後、経時的に培養上清中の HEV RNA, HEV 抗原を RT-PCR, ELISA 法で測定し多結果、RNA およびウイルス構造蛋白は検出され、構造蛋白は細胞質に分布していた。培養上清から直径 35nm のウイルス粒子が観察された。さらに培養上清をラットに静脈接種し、rat HEV がラット体内での増幅を確認した。PLC/PRF/5 は rat HEV に感受性を有し、この細胞で増幅したウイルスは感染性を持つことが明らかになった。HEV 培養系が樹立により rat HEV 複製のメカニズムの解明が期待される。

［李天成、楊婷婷、吉崎佐矢香、*網康至、*須崎百合子、脇田隆字（*動物管理室)］

(9) Moose HEV 構造蛋白の発現および抗原性の解析

Moose HEV はヘラジカから分離された新しい HEV である。本研究では組換えバキュロウイルス発現システムを用いて moose 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。Moose HEV ORF2 の全長 cDNA を合成し、PUC57 にクローニングした。また、N 末端あるいは C 末端を欠損した ORF2 を Moose HEV ORF2 を鋳型として 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た。Moose HEV 構造蛋白の発現が確認されたが、ウイルス様粒子（HEV-LPs）の形成が認められなかった。

［李天成、脇田隆字］

(10) 日本における ferret HEV 疫学調査

ペットとして飼われているフェレットの糞便、８３検体、血清サンプル１０検体を用いて日本における ferret HEV 疫学調査を行った。ELISA 法を用いて血清中の抗 ferret HEV IgG および IgM を検査した。RT-PCR 法によるすべてのサンプルを ferret HEV 遺伝子検査を実施した。その結果、血清中の抗 ferret HEV IgG 抗体の保有率は 20%（2/10）であり、糞便中から ferret HEV RNA の検出率は 7.1%（6/83）であった。遺伝子解析の結果,六つの ferret HEV 株が２つのクラスターに分布され、ferret HEV 遺伝子の多様性を示していた。この結果、日本でペットとして飼われているフェレットにも ferret HEV に感染されていることが明らかになった。

［李　天成、*前田健、脇田隆字（*山口大学)］

(11) Ferret HEV に対するラットとサルの感受性

Ferret 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 ferret HEV に対するラットおよびサルの感受性を感染実験で確認し、ferret HEV の宿主および人獣共通感染症を引き起こす可能性を検討した。Ferret HEV を Wistar rat, nude rat, カニクイザルに接種し、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 ferret

HEV はラットとカニクイザルに感染しなかった。

［李天成、吉崎佐矢香、*網康至、*須崎百合子、脇田隆字（*動物管理室)］

(12) 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２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。現在、ネイティブサイズの粒子の形成に必要される領域を同定している。

［李天成、楊婷婷、片岡紀代（感染病理部)、脇田隆字］

(13) フェレット E 型肝炎ウイルスの病原性の検討

Ferret HEV は最近発見された新しい E 型肝炎ウイルスである。ウイルス配列以外、このウイルスに関する情報がほとんど知られていない。本研究ではアメリカから輸入されたフェレットから経時的に採血と採便を行ない、血液中のウイルス抗原、抗体、ウイルス遺伝子、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た。また、血中の ALT/AST、γGTP を測定することにより、ウイルスの感染の特徴および病原性等を検討した。アメリカから輸入したフェレットでは、ferret HEV 感染後に ALT、AST が上昇し、ウイルス感染と肝機能障害の関連が示唆された。フェレットにおける ferret HEV の感染は不顕性感染、急性肝炎、持続感染という３つのパターンをとることが示された。

［李天成、楊婷婷、*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、**動物管理室、***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）］

(14) 中国由来 rat HEV 全長ゲノムのクローニング及び配列の解析

Rat HEV RNA 陽性であるラットおよびスンクスの糞便を出発材料として、ウイルス遺伝子を解析した。Rat 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 rat HEV 全長配列の増幅を試みた。現在 rat HEV577 株およびスンクス由来 1129 株の全長遺伝子の増幅に成功した。塩基及びアミノ酸の解析により、中国のラットおよびスンクス由来の rat HEV はドイツから分離された rat HEV との遺伝子型と異なり、rat HEV 遺伝子型の多様性が示唆された。

［李 天成、*黎薇、*管大偉、*柯昌文、**網 康至、**須崎百合子、***武田直和、脇田隆字（*中国広東 CDC、**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）］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Abe Y, Aly HH, Imamura M, Wakita T, Shimotohno K, Chayama K, Hijikata M. Thromboxane A2 synthase inhibitor and prostaglandin I2 receptor agonist are potent anti-Hepatitis C virus (HCV) drugs. Gastroenterology 145(3): 658-667, 2013.

2) Akazawa D, Moriyama M, Yokokawa H, Omi N, Watanabe N, Date T, Morikawa K, Aizaki H, Ishii K, Kato T, Mochizuki H, Nakamura N, Wakita T. Neutralizing antibodies induced by cell culture-derived hepatitis C virus protect against infection in mice. Gastroenterology 145(2): 447-55. e1-4, 2013.

3) Arita M. Development of poliovirus extraction method from the stool extracts by using magnetic nanoparticles sensitized with soluble poliovirus receptor. J Clin Microbiol 51(8): 2717-2720, 2013

4) Arita M, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Wakita T, Shimizu H. Oxysterol-binding protein family I is the target of minor enviroxime-like compounds. J Virol 87(8): 4252-4260, 2013

5) Burns CC, Shaw J, Jorba J, Bukbuk D, Adu F, Gumede N, Pate MA, Abanida EA, Gasasira A, Iber J, Chen Q, Vincent A, Chenoweth P, Henderson E, Wannemuehler K, Naeem A, Umami RN, Nishimura Y, Shimizu H, Baba M, Adeniji A, Williams AJ, Kilpatrick DR, Oberste MS, Wassilak SG, Tomori O, Pallansch MA Kew O. Multiple Independent Emergences of Type 2 Vaccine-Derived Polioviruses during a Large Outbreak in northern Nigeria. J Virol 87(9):4907-4922, 2013

6) Chen DS, Locarnini S, Wait S, Bae SH, Chen PJ, Fung JY, Kim HS, Lu SN, Sung J, Tanaka J, Wakita T, Ward J, Wallace J; CEVHAP North Asia Workshop on Viral Hepatitis. Report from a Viral Hepatitis Policy Forum on implementing the WHO Framework for Global Action on viral hepatitis in North Asia. J Hepatol. 2013 59(5):1073-80.

7) Guan D, Li W, Su J, Fang L, Takeda N, Wakita T, Li TC, and Ke C. Asian Musk Shrew as a Reservoir of Rat Hepatitis E Virus, China. Emerg Infect Dis. 2013 19(8):1341-1343.

8) Harada S, Tokuoka E, Kiyota N, Katayama K, Oka T. Phylogenetic analysis of the nonstructural and structural protein encoding region sequences, indicating successive appearance of genomically diverse sapovirus strains from gastroenteritis patients. Jpn J Infect Dis. 2013;66(5):454-7

9) Higo-Moriguchi K, Shirato H, Someya Y, Kurosawa Y, Takeda N, Taniguchi K. (2013) Isolation of cross-reactive human monoclonal antibodies that prevent binding of human noroviruses to histo-blood group antigens. J. Med. Virol. 86(4), 558-567.

10) Hovi T, Paananen A, Blomqvist S, Savolainen-Kopra C, Al-Hello H, Smura T, Shimizu H, Nadova K, Sobotova Z, Gavrilin E, Roivainen M. Characteristics of an Environmentally Monitored Prolonged Type 2 Vaccine Derived Poliovirus Shedding Episode that Stopped without Intervention. PLoS One 8(7):e66849. 2013

11) Iizuka S, Takai-Todaka R, Ohshiro H, Kitajima M, Wang Q, Saif LJ, Wakita T, Noda M, Katayama K, Oka T. Detection of multiple human sapoviruses from imported frozen individual clams. Food Environ Virol. 2013 5(2):119-25.

12) Ishida H, Kato T, Takehana K, Tatsumi T, Hosui A, Nawa T, Kodama T, Shimizu S, Hikita H, Hiramatsu N, Kanto T, Hayashi N, Takehara T. Valine, the branched-chain amino acid, suppresses hepatitis C virus RNA replication but promotes infectious particle formation. Biochem Biophys Res Commun Jul;437(1): 127-33, 2013.

13) Iwai-Itamochi M, Yoshida H, Obara-Nagoya M, Horimoto E, Kurata T, Takizawa T. Development of real-time PCR to detect oral vaccine-like poliovirus and its application to environmental surveillance. J Virol Methods 195, 148-155.2014

14) Iwamoto M, Watashi K, Tsukuda S, Aly HH, Fukasawa M, Fujimoto A, Suzuki R, Aizaki H, Ito T, Koiwai O, Kusuhara H, Wakita T. Evaluation and identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP. Biochem Biophys Res Commun 443(3):808-13, 2014.

15) Jiang X, Kanda T, Wu S, Nakamoto S, Saito K, Shirasawa H, Kiyohara T, Ishii K, Wakita T, Okamoto H, Yokosuka O. Suppression of La antigenexerts potential antiviral effects against hepatitis A virus. PLoS One 2014 9 (7): e101993.

16) Kobayashi M, Makino T, Hanaoka N, Shimizu H, Enomoto M, Okabe N, Kanou K, Konagaya M, Oishi K, Fujimoto T. Clinical manifestations of coxsackievirus A6 infection associated with a major outbreak of hand, foot, and mouth disease in Japan. Jpn J Infect Dis 66, 260-261, 2013

17) Kondo Y, Kato T, Kimura O, Iwata T, Ninomiya M, Kakazu E, Miura M, Akahane T, Miyazaki Y, Kobayashi T, Ishii M, Kisara N, Sasaki K, Nakayama H, Igarashi T, Obara N, Ueno Y, Morosawa T, Shimosegawa T. 1(OH) vitamin D3 supplementation improves the sensitivity of the immune-response during Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C patients-case controlled trial. PLoS One 8(5): e63672, 2013.

18) Kroneman A, Vega E, Vennema H, Vinjé J, White PA, Hansman G, Green K, Martella V, Katayama K, Koopmans M. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. Arch Virol. 2013 158(10):2059-68.

19) Lee H, Cifuente JO, Ashley RE, Conway JF, Makhov AM, Tano Y, Shimizu H, Nishimura Y, Hafenstein S: A strain-specific epitope of enterovirus 71 identified by cryo-electron microscopy of the complex with Fab from neutralizing antibody. J Virol 87: 11363-11370, 2013

20) Li TC, Ami Y, Suzaki Y, Takeda N, Wakita T. No Evidence for Hepatitis E Virus Genotype 3 Susceptibility in Rats。Emerg Infect Dis. 2013 19(8):1343-5.

21) 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(1-2):54-61.

22) Li W, Guan D, Su J, Takeda N, Wakita T, Ke C, Li TC. High prevalence of rat hepatitis E virus in wild rats in China. Vet Microbiol. 2013 165 (3-4): 275-80.

23) Maehama T, Fukasawa M, Date T, Wakita T, Hanada K. A class II phosphoinositide 3-kinase plays an indispensable role in hepatitis C virus replication. Biochem Biophys Res Commun. 2013 11;440(1):150-156.

24) Matsumoto Y, Matsuura T, Aoyagi H, Matsuda M, Hmwe SS, Date T, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Ichinose S, Wake K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Aizaki H. Antiviral Activity of Glycyrrhizin against Hepatitis C Virus In Vitro. PLoS One. 2013 8(7):e68992.

25) Minami-Fukuda F, Nagai M, Takai H, Murakami T, Ozawa T, Tsuchiaka S, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Tsunemitsu H, Fujii Y, Katayama K, Mizutani T: Detection of Bovine Group A Rotavirus Using Rapid Antigen Detection Kits, RT-PCR and Next-Generation DNA Sequencing. J Vet Med Sci. 2013, 75:1651-5

26) Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Retinoids and rexinoids inhibit hepatitis C virus independently of retinoid receptor signaling. Microbes Infect. 2014 16(2):114-22.

27) Murakami K, Kurihara C, Oka T, Shimoike T, Fujii Y, Takai-Todaka R, Park Y, Wakita T, Matsuda T, Hokari R, Katayama K. Norovirus binding to intestinal epithelial cells is independent of histo-blood group antigens. PLoS One. 2013;8(6):e66534

28) Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Tsukuda S, Takemoto K, Matsuda M, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Specific inhibition of hepatitis C virus entry into host hepatocytes by fungi-derived sulochrin and its derivatives. Biochem Biophys Res Commun. 2013 440(4):515-20.

29) Nishimura Y, Lee H, Hafenstein S, Kataoka C, Wakita T, Bergelson JM, Shimizu H: Enterovirus 71 binding to PSGL-1 on leukocytes: VP1-145 acts as a molecular switch to control receptor interaction. PLoS Pathog 9: e1003511, 2013

30) Okamoto Y, Shinjo K, Shimizu Y, Sano T, Yamao K, Gao W, Fujii M, Osada H, Sekido Y, Murakami S, Tanaka Y, Joh T, Sato S, Takahashi S, Wakita T, Zhu J, Issa JP, Kondo Y. Hepatitis virus infection affects DNA methylation in mice with humanized livers. Gastroenterology. 2014 146(2):562-72.

31) Oshiumi H, Aly HH, Funami K, Matsumoto M, Seya T. Multi-step regulation of type I interferon induction by hepatitis C virus. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 61(2): 127-38, 2013.

32) Sakata K, Hara M, Terada T, Watanabe N, Takaya D, Yaguchi S, Matsumoto T, Matsuura T, Shirouzu M, Yokoyama S, Yamaguchi T, Miyazawa K, Aizaki H, Suzuki T, Wakita T, Imoto M, Kojima S. HCV NS3 protease enhances liver fibrosis via binding to and activating TGF-β type I receptor. Sci Rep. 2013 22;3:3243.

33) Shimura S, Ishima M, Nakajima S, Fujii T, Himeno N, Ikeda K, Izaguirre-Carbonell J, Murata H, Takeuchi T, Kamisuki S, Suzuki T, Kuramochi K, Watashi K, Kobayashi S, Sugawara F. Total synthesis and anti-hepatitis C virus activity of MA026. J Am Chem Soc. 135 (50): 18949-18956, 2013.

34) Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Kato T, Wakita T, Ishii K. The hepatitis E virus capsid C-terminal region is essential for the viral life cycle: implication for viral genome encapsidation and particle stabilization. J Virol 87(10): 6031-6, 2013.

35) Suzuki R, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Signal peptidase complex subunit 1 participates in the assembly of hepatitis C virus through an interaction with E2 and NS2. PLoS Pathog.

e1003589 (2013).

36) Suzuki R, Ishikawa T, Konishi E, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Takasaki T, Wakita T. Production of single-round infectious chimeric flaviviruses with DNA-based Japanese encephalitis virus replicon. J Gen Virol. 95:60-65 (2014)

37) Suzuki T, Oshiumi H, Miyashita M, Aly HH, Matsumoto M, Seya T. Cell Type-Specific Subcellular Localization of Phospho-TBK1 in Response to Cytoplasmic Viral DNA. PLoS One Dec;8(12): e83639, 2013.

38) Takebe Y, Saucedo CJ, Lund G, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Kneteman N, Ramessar K, Tyrrell DL, Shirakura M, Wakita T, McMahon JB, O'Keefe BR. Antiviral Lectins from Red and Blue-Green Algae Show Potent In Vitro and In Vivo Activity against Hepatitis C Virus. PLoS One. 2013 8(5):e64449.

39) Tanaka T, Kuroda K, Ikeda M, Wakita T, Kato N, Makishima M. Hepatitis C virus NS4B targets lipid droplets through hydrophobic residues in the amphipathic helices. J Lipid Res. 2013 Apr;54(4):881-92.

40) Tao Z, Zhang Y, Liu Y, Xu A, Lin X, Yoshida H, Xiong P, Zhu S, Wang S, 2, Yan D, Song L, Wang H, Cui N, Xu W. Isolation and Characterization of a Type 2 Vaccine-Derived Poliovirus from Environmental Surveillance in China, 2012. PLoS ONE 8(12): e83975. 2013

41) Tripathi LP, Kambara H, Chen YA, Nishimura Y, Moriishi K, Okamoto T, Morita E, Abe T, Mori Y, Matsuura Y, Mizuguchi K: Understanding the biological context of NS5A-host interactions in HCV infection: a network-based approach. J Proteome Res 12: 2537-2551, 2013

42) Tsukuda S, Watashi K. NTCP Transporter as Novel Target for Anti-Hepatitis B Virus Agents. Clin Res Infect Dis. 1(1): 1004, 2014.

43) Ueda Y, Takeda M, Mori K, Dansako H, Wakita T, Kim HS, Sato A, Wataya Y, Ikeda M, Kato N. New preclinical antimalarial drugs potently inhibit hepatitis C virus genotype 1b RNA replication. PLoS One. 2013 8(8):e72519.

44) Watashi K, Liang G, Iwamoto M, Marusawa H, Uchida N, Daito T, Kitamura K, Muramatsu M, Ohashi H, Kiyohara T, Suzuki R, Li J, Tong S, Tanaka Y, Murata K, Aizaki H, Wakita T. Interleukin-1 and tumor necrosis factor-α trigger restriction of hepatitis B virus infection via a cytidine deaminase activation-induced cytidine deaminase (AID). J Biol Chem. 288(44): 31715-31727, 2013.

45) Watashi K, Urban S, Li W, Wakita T. NTCP and beyond: opening the door to unveil hepatitis B virus entry. Int J Mol Sci. 15(2): 2892-2905, 2014

46) Xeuatvongsa A, Komada K, Kitamura T, Vongphrachanh P, Pathammavong C, Phounphenghak K, Sisouk T, Phonekeo D, Sengkeopaseuth B, Som-Oulay V, Ishii K, Wakita, Sugiyama M, Hachiya M. Chronic Hepatitis B Prevalence among Children and Mothers: Results from a Nationwide, Population-Based Survey in Lao People's Democratic Republic. PLOS One, 9, e88829 (2014)

47) Yamada N, Shigefuku R, Sugiyama R, Kobayashi M, Ikeda H, Takahashi H, Okuse C, Suzuki M, Itoh F, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Moriya K, Koike K, Wakita T, Kato T. Acute Hepatitis B of Genotype H Resulting in Persistent Infection. World J Gastroenterol, 20(11): 3044-9, 2014.

48) Yang T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Kishida N, Shirakura M, Imai M, Asanuma H, Takeda N, Wakita T, Li TC. Characterization of Self-Assembled Virus-Like Particles of Ferret Hepatitis E Virus Generated by Recombinant Baculoviruses. J Gen Virol. 2013 94 Pt 12:2647-56.

49) Yasui Y, Makino T, Hanaoka N, Shimizu H, Kanou K, Kobayashi M, Konagaya M, Fujimoto T. A Case of Atypical Hand-Foot-and-Mouth Disease Caused by Coxsackievirus A6: Differential Diagnosis from Varicella in a Pediatric Intensive Care Unit. Jpn J Infect Dis 66, 564-566, 2013

50) Zheng H, Lu J, Zhang Y, Yoshida H, Guo X, Liu L, Li H, Zeng H, Fang L, Mo Y, Yi L, Chosa T, Xu W, Ke C. Prevalence of Non-polio Enteroviruses in the Sewage of Guangzhou City, China, from 2009 to 2012.Appl Environ Microbiol 79(24):7679-83, 2013

2. 和文発表

1) 相崎英樹、松田麻未、藤本陽、脇田隆字、HCV 感染実験系における代謝変化、臨床消化器内科、29(7):810-813, 2014

2) 相崎英樹、HCV 感染と代謝異常（脂質・エネルギー）医学のあゆみ、246(8), 666-667, 2013

3) 有田峰太郎、抗エンテロウイルス化合物群の探索研究, ファルマシア、49(11): 1095-1100:, 2013

4) 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, ウイルス、63(1): 93-102, 2013

5) 石井孝司 A 型肝炎、E 型肝炎 臨床と微生物 41: 72-78 (2014)

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

7) 片山和彦 ノロウイルスについて 健康教室 vol.710 p74-79, 2010

8) 片山和彦 ノーウォークウイルスの特徴と予防対策 食品機械装置 vol.50, p52-59, 2013.

9) 片山和彦 ノロウイルス感染症、ノロウイルスの流行のメカニズム 感染症 vol. 253, p12-13, p19-21, 2013.

10) 片山和彦 ノロウイルス感染のメカニズム 食と健康 10 月号 p9-17, 2013.

11) 片山和彦 増加傾向にあるサポウイルス食中毒 食と健康 11 月号 p16-19, 2013.

12) 片山和彦 ノロウイルスの感染予防 小学保険ニュース p1, 2014 年 1 月 18 日号

13) 児玉弘美 小菅裕也 山田香織 鈴木智之 小嶋美穂子 石川和彦 井上剛彦 谷口秀美 吉田弘 無菌性髄膜炎患者からのエコーウイルス 30 型の検出状況（2013 年）―滋賀県 IASR Vol. 34 p. 309-310: 2013 年 10 月号

14) 清水博之. ライノウイルスの分類と疾患への関与. 日本医事新報 4689: 53-55, 2014

15) 清水博之. 急増した手足口病 感染・炎症・免疫 44,94-96, 2014

16) 清水博之. わが国のポリオ流行とポリオワクチンの歴史. 小児内科 45 増刊号「予防接種Q&A 改訂第３版」, 286-290, 2013

17) 清水博之. わが国と世界のポリオの現状と問題点. 小児内科 45 増刊号「予防接種Q&A 改訂第３版」,291-295, 2013

18) 清水博之. 生ワクチンの存続. 小児内科 45 増刊号「予防接種Q&A 改訂第３版」, 300-301, 2013

19) 清水博之. 手足口病の大規模流行と原因ウイルス. 日本医事新報 4673, 56-57, 2013

20) 清水博之. 不活化ポリオワクチンの現状、ファルマシア 49, 211-216, 2013

21) 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, 50-51, 54-59, 2013

22) 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 28, 19-24, 2013

23) 清水博之. ポリオ流行のリスクとポリオワクチン. モダンメディア 54,85-92, 2013

24) 鈴木亮介、小西英二：フラビウイルスのリバースジェネティクス、「ウイルス」63 巻 1 号、13-22、2013

25) 高山直秀,崎山 弘, 清水博之,梅本 哲. 経口生ポリオワクチン1～2回目および不活化ポリオワクチン1～4回目接種の全国累積接種率 : 2013年の調査結果. 日本医師会雑誌 143: 609-614, 2014

26) 藤井克樹、片山和彦：ロタウイルスの概要, 病原体微生物情報(IASR) Vol. 35(3), 3-4: 2014.

27) 藤井克樹：特集記事「ロタウイルス食中毒の事例と注意ポイント」, 食と健康 11 月号, 9-15: 2013

28) 村山麻子, 加藤孝宣. NS5B-RNA ポリメラーゼの構造と機能. 肝胆膵, 67(6), 918-923, 2013.

29) 脇田 隆字、HCV 感染の生活環と Druggable targets. 肝・胆・膵(0389-4991)67 巻 6 号 Page789-795(2013.12)

30) 渡士幸一 薬学的視点からのウイルス学研究－肝炎ウイルス複製阻害化合物の同定とその作用機序 -、薬学雑誌、133(11): 1169-1175, 2013.

3.その他

1) 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

2) 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 p 769-771、2013.

3) 清水博之(分担執筆)：Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status, Japan: WHO report; Aannual WHO report, 2012

4. (新聞) 指導、監修

1) 週間 ホテルレストラン 猛威をふるったノロウイルスを検証p57-60, 2月8日号, 2013.

2) 日経メディカル ニュース追跡 ノロウイルス変異株が猛威 p33, 1月号, 2013.

3) 片山和彦 冬の食中毒、ノロウイルスの感染予防対策 健康ふしぎ発見ニュース からだの不思議 12月号, p12-6, 2013. 健学社.

4) 片山和彦 しっかり手洗いで防ぐノロウイルス 健康の広場 第1775号 平成24年1月11日号 4面 株式会社 法研

5) 片山和彦 ノロウイルス対策 心と体 保険総合大百科 保険ニュース・心の健康ニュース 縮刷活用版 2011 年 少年写真新聞社 ISBN978-4-87981-361-9

6) 医薬品の品質管理とウイルス安全性 第7章 新しいウイルス検出法、ウイルス診断法、ウイルス試験 総論 (執筆；片山和彦) 日本医薬品等ウイルス安全性研究会 ISBN978-4-8306-0331-0

7) 朝日新聞 2014年2月22日土曜日 夕刊 1面「ノロ感染まだ要警戒・寒い首都圏 続く発生」

8) 朝日小学生新聞 2013年12月20日金曜日 日刊 1面「手洗いで予防ノロウイルス」

9) 朝日新聞 2013年11月27日水曜日 日刊 37面 「ノロウイルス流行の兆し」

10) 読売新聞 2014年1月22日水曜日 日刊 25面 ノロウイルス食中毒 全国流行 トイレで飛散、感染に注意

11) 朝日新聞 2013年12月1日日曜日 日刊 16面 ノロウイルス手洗いで撃退

12) 少年写真新聞社 ほけん通信 2014年1月18日号 ノロウイルスの性質を知って、流行の広がりを防ごう

13) 少年写真新聞 2014年1月18日号 知っていますか？ノロウイルスの通り道

14) 朝日小学生新聞 2014年1月18日土曜日 日刊 1面「ノロウイルス？905人欠席・静岡・浜松の14項 下痢やはき気」

15) AERA 2014年2月3日 #5 ノロウイルスを無自覚でまき散らす脅威「激しい突然変異で拡散」p58-59

16) 朝日新聞 2014年1月28日火曜日 夕刊 10面 ノロ流行続く

17) 共同通信社 2014年2月4日 あなたも感染源に？ ノロウイルス、意識変えて 経路多く、症状ない人も

18) 時事通信社 ノロウイルス流行拡大＝自覚症状無くても感染源に-手洗い徹底を

19) 日本経済新聞 2014年2月25日火曜日 日刊 18面 ノロウイルス攻略に道

II. 学 会 発 表

国際学会

1) Abe Y, Aly HH, Hiraga N, Imamura M, Wakita T, Shimotohno K, Chayama K, Hijikata M. Thromboxane A2 synthase inhibitors prevent production of infectious hepatitis C virus. 20th International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses. Melbourne, Australia. 2013. 10. 6-10.

2) Aizaki H, Dynamic metabolomics change in HCV-infected cell, Italy-Japan Hepatitis meeting “Hepatitis, steatosis and cancer: molecular basis and clinical link”, October 20, 21, 2013

3) Aizaki H, Watanabe N, Aoyagi H, Hmwe SS, Watashi K, Suzuki R, Kojima S, Matsuura T, Wake K, Miyamura M, Suzuki T, Wakita T, Hepatitis C virus RNA replication in human stellate cells regulates gene expression of extracellular matrix-related molecules. 17th International Symposium on the Cells of the Hepatic Sinusoid. Osaka International Convention Center, Osaka, Japan (2013, Sep. 23-25)

4) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Wakita T. The discovery of a new virus/host interaction regulating HBV life cycle. 2013 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Shanghai, China. 2013. 10. 20-23.

5) Fujimoto A, Aizaki H, Matsuda M, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Dynamics of the cellular metabolome during hepatitis C virus infection-Regulation of the lipoprotein metabolisms by hepatic lipase, -20th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Melbourne (Australia), 2013.10.6-10.

6) M Fukasawa, S Nagase, M Yamashita, M Iida, Y Shirasago, A Watari, T Suzuki, T Wakita, K Yagi, M Kondoh. Inhibition of hepatitis C virus infection by mouse anti-claudin 1 monoclonal antibodies. 20th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne, Australia, (2013, Oct. 6-10)

7) Fukushima S, Nakano T, Shimizu H, Hamada A. Immunogenicity and Safety of Booster Doses of Inactivated Polio Vaccine. The 7th Vaccine and ISV Congress, Barcelona, Spain, 27-29 October, 2013

8) Imamura H, Yamada N, Yotsuyanagi H, Kawasaki S, Takayama T, Yamamoto M, Kokudo N, Kato T, Tanaka S, Arii S. Moderately causative role of occult hepatitis B virus infection (occult HBV) in the development of non-hepatitis B virus (HBV) infection, non-hepatitis C virus (HCV) infection (NBNC) hepatocellular carcinoma (HCC). 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

9) 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. March 10-14, 2013

10) Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Tada T., Shimada T., Nakashima K., Noda M., Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of hepatitis A in Japan. Blankenberge, Belgium, March 9-14, 2014

11) Ito M, Ito N, Fukuhara T, Suzuki R, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Loss of susceptibility to HCV infection and decreased tumorigenicity mediated by reprogramming of human hepatoma cells. 20th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Melbourne, Australia. 2013.10.6-10.

12) Iwamoto M, Watashi K, Tsukuda S, Aly HH, Suzuki R, Aizaki H, Kusuhara H, Wakita T. Mechanistic analysis of hepatitis B virus entry in an NTCP-overexpressing cell line. 2013 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Shanghai, China. 2013. 10. 20-23.

13) Kataoka C, Nishimura Y, Suzuki T, Kotani O, Iwata N, Nagata N, Ami Y, Shimizu H: VP1-145 of enterovirus 71 is one of the determinants for pathogenicity in an cynomolgus monkey model. 18th International Picornavirus Meeting, Blankenberge, Belgium, 2014. 3. 9-14

14) Katayama K, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Murakami K, Oka T, Guix S, Sharp TM, Atmer RL, Crawford SE, Estes MK. A plasmid based reverse genetics system can drive human and murine norovirus genome replication and produce progeny virus containing reporter tagged infectious genomic RNA. Fifth International Conference on Calicivirus, Beijing, China. 2013. 10. 12-15.

15) Kato T, Sugiyama N, Murayama A, Takuya Matsumura, Masaaki Shiina, Shinichi Asabe, Takaji Wakita, Michio Imawari. Antimicrobial peptide LL-37 deteriorate infectivity of hepatitis C virus. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

16) S Kim, T Date, H Yokokawa, T Kono, H Aizaki, C Gondeau, P Maurel, T Wakita. Infectious Genotype 3a Hepatitis C Virus in Cell Culture. 20th International Meeting on Hepatitis C and Related Viruses. Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne, Australia, (2013, Oct. 6-10)

17) Kondo Y, Iwata T, Morosawa T, Kimura O, Ninomiya M, Kakazu E, Kogure T, Kato T, SHimosegawa T. 1(OH)Vit D3 supplementation improves the sensitivity of the immune-response during Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C (CH-C) and CH-C with severe fibrosis. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

18) Kondo Y, Ninomiya M, Kimura O, Machida K, Funayama R, Nagashima T, Kobayashi K, Kakazu E, Kogure T, Kato T, Nakayama K, Shimosegawa T. Lymphotropic HCV infection enhances Th17 commitment, which could affect the pathogenesis of autoimmune and cryoglobuline-related diseases. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

19) Kotani O, Asif N, Suzuki T, Iwata N, Nakajima N, Katano H, Hosomi T, Tsukagoshi H, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Comparative analyses of the pathogenicity of two isolates of Saffold virus in neonatal mouse. Europic 2014 (Belgium) 2014. 3. 9-14

20) Li T.C., Ishii K., Yamamoto H., Suzuki J., Matsuda A., Ishida T., Ami Y., Suzaki Y., Takeda N. and Wakita T. An unrecognized hepatitis E outbreak in a monkey facility The 23st Conference of the Asian Pacific Association for the study of the liver. 6-10 June 2013, Singapore

21) Motomura K, Ode H, Yokoyama M, Nakamura H, Sato A, Katayama K, Noda M, Takeda N, Tanaka T, Sato H and the Norovirus Surveillance Group of Japan. Deep Sequencing-based analysis of minor variants in norovirus infection cases with acute gastroenteritis. The Fifth International Calicivirus Conference, October 12- 15, 2013, Beijing, China.

22) K Murakami, C Kurihara, T Oka, R Todaka, Takaji Wakita, T Matsuda, R Hokari, K Kazuhiko. Study of histo-blood group antigen-independent mechanism of norovirus-cell binding. Fifth International Calicivirus Conference, Beijing, China (2013, Oct. 12-15)

23) Murakami K, Qu L, Katayama K, Estes M. Screening of candidate proteins for norovirus co-receptores. Fifth Annual Frontiers in Digestive Diseases, Houston, USA. 2014. 2. 8.Aly HH, Shimotohno K, Wakita T, Oshiumi H, Seya T. HCV particles production from mouse hepatocytes. Lido-Venice, Italy. 2012. 10. 5-9.

24) Murayama A, Sugiyama N, Masaki T, Wakita T, Kato T. Assessment of antiviral activities of NS5A inhibitors on recombinant HCV replaced with NS5A from genotypes 1 and 2 strains. 20th International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses. Melbourne, Australia. 2013. 10. 6-10.

25) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Evaluation of second-generation NS5A inhibitors against hepatitis C virus by using NS5A replaced JFH-1 viruses and full-length infectious clones other than JFH-1. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

26) Nagamori S, Aizaki H, Matsumoto Y, Isozumi N, Wiriyasermkul P, Matsuura T, Kanai Y, omprehensive and comparative proteomics reveals alterations of metabolomics between monolayer and three-dimensional cell cultures. 12th Human Proteome Organization World Congress, Yokohama (Japan) September 14-18, 2013.

27) Nagata N, Kotani O, Iwata N, Suzuki T, Sato Y, Koike S, Iwasaki T, Taguchi F, Hasegawa H, Shimizu H. A comparison of human enterovirus detection in experimentally infected neonatal mice using immunohistochemistry. Europic 2014, (Belgium) 2014. 3. 9-14

28) Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Takemoto K, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Isolation of a natural product inhibiting the transcriptional activity of liver X receptor and reducing the production of infectious HCV. 20th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Melbourne (Australia), 2013.10.6-10.

29) Nakajima S, Watashi K. Analysis of bioactivity of fungal-derived natural products based on a virus infection system. The 2nd International Symposium on Chemical Biology of Natural Products, Yokohama (Japan), 2013

30) Nakamura T, Hamasaki M, Yoshitomi H,

Ishibashi T, Yoshiyama C, Maeda E, Sera N, Yoshida H. Environmental Surveillance of Poliovirus in Sewage Water during the Introduction Period of Inactivated Polio Vaccine in Japan. 18th International Picornavirus meeting (EUROPIC 2014), Blankenberge, Belgium, 2014. 3. 9-14

31) N Ogura, K Watashi, T Wakita. FORMATION OF COVALENTLY CLOSED CIRCULAR (ccc) DNA IN HepAD38.7 CELLS, A TETRACYCLINE INDUCIBLE HBV EXPRESSION CELL LINE. 2013 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Shanghai Medical Colledge, Fudan University, Shanghai, China (2013, Oct. 20-23)

32) Park Y, Takai-Todaka R, Murakami K, Katayama K. Development of a novel norovirus RT-PCR amplification system corresponding to a consensus norovirus nomenclature 2013. Fifth International Conference on Calicivirus, Beijing, China. 2013. 10. 12-15.

33) Sakata K, Hara M, Terada T, Watanabe N, Yaguchi S, Matsumoto T, Shirouzu M, Yokoyama S, Miyazawa K, Aizaki H, Suzuki T, Wakita T, Kojima S, HCV NS3 protease plus TNF-α promotes liver fibrosis via stimulating expression and activation of TGF-β type I receptor. The 20th Annual Meeting of the Japanese Society of the Research of Hepatic Cells. Osaka International Convention Center, Osaka, Japan (2013, Sep. 26-27)

34) Sato H, Yokoyama M, Motomura K, Nakamura H, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Tanaka T, and the Norovirus Surveillance Group of Japan. Selective constraints on changes of a norovirus pandemic lineage GII.4_2006b. The Fifth International Calicivirus Conference, October 12- 15, 2013, Beijing, China.

35) Shi G, Ando T, Suzuki R, Ito M, Wakita T and Suzuki T. Possible mechanism for selective packaging of HCV genome into the infectious particles. 20th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Melbourne, Australia. 2013.10.6-10.

36) Shimizu H. Current status of hand, foot, and mouth disease outbreaks and EV71 infection in Japan and Asian countries. The 7th China-Korea-Japan Forum on Communicable Disease Control and Prevention, Beijing, China, 2013, 11. 25

37) Shimizu H. Introduction of Inactivated Poliovirus Vaccines in Japan: Global and Local Status of Polio Immunization. The 10th Japan-Taiwan Symposium on Vaccine Preventable Diseases and Vector-Borne Diseases. Tokyo, 2013, 9. 12

38) Shimizu H. Hand, Foot, and Mouth Disease and infectious agent surveillance in Japan. International Workshop on Hand, Foot and Mouth Disease. Hanoi, Vietnam, 4-5 April, 2013, 4.4-5

39) Shimizu H. Molecular Epidemiology and Virulence (viral) factors of EV71. International Workshop on Hand, Foot and Mouth Disease. Hanoi, Vietnam, 2013, 4.4-5.

40) Shimoike T, Takagi H, Oka T, Murakami K, Takai-Todaka R, Park Y, Fujii Y, Wakita T, Katayama K: The localization and interaction aong the viral proteins and RNAs of Murine Norovirus in Raw264.7 cells 5th International Conference on Caliciviruses Oct. 12-15 2013 Beijing, China.

41) Sugiyama N, Murayama A, Suzuki R, Shiina M, Wakita T, Kato T. Identification of cell-culture adapted hepatitis C virus JFH-1

variants by single virus isolation with end-point dilution method. 20th International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses. Melbourne, Australia. 2013. 10. 6-10.

42) Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Masaki T, Wakita T, Kato T. Amino acid substitution in interferon sensitivity-determining region in NS5A involves infectious virus production of hepatitis C virus. 20th International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses. Melbourne, Australia. 2013. 10. 6-10.

43) Sung PS, Murayama A, Kang W, Kim MS, Yoon SK, Kim H, Kato T, Shin EC. Hepatitis C virus ectry is impaired in diacylglycerol acyltransferase-1-deficient cells by downregulation of claudin-1. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

44) Suzuki R, Konishi E, Ishikawa T, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Takasaki T, WakitaT. Production of single-round infectious chimeric flaviviruses with a DNA-based Japanese encephalitis virus replicon. Keystone Symposia, Positive Strand RNA Viruses, Boston, U.S.A. 2013.4.28-5.3

45) Suzuki R. Endocytosis pathway for entry of hepatitis C virus. Italy-Japan Liver Workshop, Hepatitis, Steatosis and Hepatocellular Carcinoma: molecular basis and clinical links. Trapani, Italy. 2013.10.20-21.

46) Tasaka-Fujita M, Sugiyama N, Kang W, Murayama A, Asahina Y, Sakamoto N, Wakita T, Shin EC, Kato T. Substitution of amino acid 70/91 in the hepatitis C virus core region affects infectious virus production and cell surface expression of MHC class I. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

47) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Wakita T. A retinoid derivative inhibits hepatitis B virus entry mediated by NTCP. 2013 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B viruses, Shanghai (China), 2013

48) T Wakita. Molecular Biology and Experimental Models of HCV. 19th Annual KASL Meeting, Sheraton Grande Walkerhill Hotel, Seoul, Korea (2013, 6.13 - 15)

49) T Wakita. Hepatitis C virus cell culture system and antiviral development. 17th International Symposium on the Cells of the Hepatic Sinusoid. Osaka International Convention Center, Osaka, Japan (2013, Sep. 23-25)

50) Watashi K, Daito T, Sluder A, Borroto-Esoda K, Wakita T. Cyclophilin inhibitors potentiate interferon signaling through diminished PKR phosphorylation in HCV-infected cells. European Association for the Study of the Liver 2013, Amsterdam (Netherlands), 2013

51) Watashi K, Daito T, Sluder A, Borroto-Esoda K, Wakita T. Novel regulation mechanism of interferon signaling by cyclophilin through modulation of PKR in HCV-infected cells. 20th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Melbourne (Australia), 2013

52) Watashi K, Sluder A, Matsunaga S, Ryo A, Nakajima S, Iwamoto M, Tsukuda S, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y,

Mizokami M, Wakita T. Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting sodium taurocholate cotransporting polypeptide. 2013 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B viruses, Shanghai (China), 2013

53) Watashi K, Liang G, Iwamoto M, Marusawa H, Kitamura K, Muramatsu M, Suzuki R, Li J, Tong S, Tanaka Y, Murata K, Aizaki H, Wakita T. Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha trigger restriction of hepatitis B virus infection via a cytidine deaminase AID. 2013 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B viruses, Shanghai (China), 2013

54) Yamada N, Sugiyama R, Yotsuyanagi H, Chiaki Okuse, Suzuki M, Itoh F, Yasuda K, Moriya K, Koike K, Wakita T, Kato T. Amino acid polymorphisms of S region of hepatitis B virus in acute hepatitis B patients in Japan. 64th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Washington DC, USA. 2013. 11. 2-5.

55) Yokokawa H., Moriyama M., Nakamura N., Higashino A., Akari H., Kato T., Ishii K. and Wakita T. Induction of neutralizing antibodies by vaccination with cell culture derived hepatitis C virus particles in primate model. 20th International Meeting on HCV and Related Viruses, Melbourne, Australia, October 6-10, 2013.

56) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Sato H. Structural basis of substrate specificity in murine norovirus protease suggested by molecular dynamics simulation. The Fifth International Calicivirus Conference, October 12- 15, 2013, Beijing, China

2. 国内学会

1) 相崎英樹、グリチルリチンによる抗C型肝炎ウイルス作用-Phospholipase A2およびオートファジーによるHCV分泌過程の制御-、シンポジウム「オートファジーにかかる治療戦略 2014」、東京、2014年2月15日

2) 青柳東代, 相崎英樹, 松本喜弘, 松田麻未, Su Su Hmwe, 渡邉則幸, 渡士幸一, 鈴木亮介, 市野瀬志津子, 松浦知和, 鈴木哲朗, 宮村達男, 和氣健二郎, 脇田隆字, Phospholipase A2 およびAutophagyによるC型肝炎ウイルス(HCV)分泌過程の制御-グリチルリチンによる抗HCV作用-, 日本ウイルス学会第61回学術集会, 神戸, 2013年11月10-12日.

3) 青柳東代, 相崎英樹, 藤本陽, 松本喜弘, 松田麻未, Su Su Hmwe, 渡邉則幸, 渡士幸一, 鈴木亮介, 市野瀬志津子, 松浦知和, 鈴木哲朗, 和氣健二郎, 宮村達男, 脇田隆字, Phospholipase A2 およびAutophagyによるC型肝炎ウイルス(HCV)分泌過程の制御-グリチルリチンによる抗HCV作用-, 日本分子生物学会第36回年会, 神戸, 2013年12月3-6日.

4) 阿部雄一、長谷川輝、アリ・ハッサン・フセイン、平賀伸彦、今村道雄、脇田隆字、下遠野邦忠、茶山一彰、土方誠、トロンボキサンA_2合成酵素はC型肝炎ウイルスの感染性粒子形成を制御する、第36回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、(2013, 12.3-6)

5) Aly HH, 渡士幸一, 茶山一彰, 脇田隆字. Study of new virus/host interactions regulating HBV life cycle. 第61回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013.11.10-12.

6) Aly HH, 渡士幸一, 茶山一彰, 脇田隆字. Functional screening of human kinases interacting with Hepatitis B virus life cycle. 第36回日本分子生物学会年会, 神戸, 2013.12.3-6.

7) 有田峰太郎：新規エンテロウイルス遺伝子検出法. 衛生微生物技術協議会第34回研究会, 名古屋, 2013.7.12.

8) 有田峰太郎、小島宏建、長野哲雄、岡部隆義、脇田隆字、清水博之：OSBPファミリーIはminor enviroxime様化合物の標的である. 第61回 日本ウイルス学会総会, 神戸, 2013.11.12

9) 飯塚節子、清水博之: RD-A 細胞を用いた Human

enterovirus A の分離. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会.神戸、2013. 11.11-13

10) 石井孝司、李　天成、吉崎佐矢香、塩田智之、脇田隆字:E 型肝炎ウイルスレプリコンの構築とレプリコン包埋 VLP 作成の検討、第６１回日本ウイルス学会、平成２５年１１月、神戸

11) 伊藤陽里、中込とよ子、中込治、藤井克樹、片山和彦：京都府南丹地区におけるロタウイルス胃腸炎入院率 第54回日本臨床ウイルス学会，倉敷，2013. 6. 8-9.

12) 伊藤昌彦、伊藤徳臣、福原崇介、鈴木亮介、田川陽一、松浦善治、脇田隆字、鈴木哲朗.　肝細胞癌株のリプログラミングによるHCV感受性および腫瘍原性の低下.　日本ウイルス学会第 61 回学術集会,　神戸,　2013 年 11 月 10-12 日.

13) 岩本将士、渡士幸一、九十田千子、アリ　フセイン、鈴木亮介、相崎英樹、小祝修、楠原洋之、脇田隆字。ヒト NTCP 安定発現細胞株における B 型肝炎ウイルス侵入機構の解析。日本ウイルス学会第 61 回学術集会,　神戸,　2013 年 11 月 10-12 日.

14) 内田奈々子、渡士幸一、中嶋翔、岩本将士、鈴木亮介、相崎英樹、千葉丈、脇田隆字。C 型肝炎ウイルス分泌過程は phospholipase D が関わる膜輸送により制御される。日本ウイルス学会第 61 回学術集会,　神戸,　2013 年 11 月 10-12 日.

15) 片岡　周子，西村　順裕、鈴木　忠樹、小谷　治、岩田　奈織子、永田　典代、網　康至、清水　博之：エンテロウイルス 71 のカニクイザルにおける病原性の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013.11.10-12

16) 片山和彦　レファレンスセンター会議　ノロウイルス　衛生微生物技術協議会　平成 25 年 7 月 11 日、12 日

17) 金ソルイ、伊達朋子、横川寛、河野環、相崎英樹、脇田隆字、C型肝炎ウイルス遺伝子型3aの培養細胞におけるウイルス感染実験系の確立、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

18) 清原知子、石井孝司、多田有希、脇田隆字、Ａ型肝炎のリスクアセスメント、第17回日本ワクチン学会学術集会、三重県総合文化センター、(2013, 11.30-12.1)

19) 清原知子、石井孝司、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字：小児における HBs 抗原保有率調査、第６１回日本ウイルス学会、平成２５年１１月、神戸

20) 黒河健太、室井敦、高橋宏隆、竹田浩之、鈴木哲朗、脇田隆字、澤崎達也、HCVタンパク質と相互作用をするE3リガーゼの網羅的探、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

21) 小泉吉輝、岩見真吾、内田奈々子、脇田隆字、渡士幸一。数理モデルによる抗ウイルス薬の薬効評価系の確立。第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸、2013

22) 古賀れい奈、宮川敬、松永智子、渡士幸一、脇田隆字、梁明秀、Tetherin/BST-2はHBV複製を負に制御する、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

23) 小谷治、Naeem Asif、鈴木忠樹、岩田奈織子、中島典子、片野晴隆、細見卓司、塚越博之、長谷川秀樹、田口文広、清水博之、永田典代: 新生仔マウスを用いた Saffold virus(SAFV)患者由来株の病原性の比較解析. 岐阜市、9 月 20～22 日、2013

24) 小谷治、Naeem Asif、鈴木忠樹、岩田奈織子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹、田口文広、清水博之、永田典代: 新生仔マウスを用いた Saffold virus 小脳継代株の作出とその病原性の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会.神戸市、2013. 11.11-13

25) 後藤耕司，相崎英樹，渡邉則幸，渡士幸一，鈴木亮介，山越智，四柳宏，森屋恭爾，小池和彦，鈴木哲朗，宮村達男，脇田隆字，C 型肝炎ウイルス NS5A 結合膜タンパク質 ELAVL1 のウイルス複製・翻訳スイッチング機構の解析，日本ウイルス学会第 61 回学術集会,　神戸,　2013 年 11 月 10-12 日.

26) 坂田幸大郎、相崎英樹、小嶋聡一，C 型肝炎ウイルス NS3 プロテアーゼによる TGF-β疑似活性を介した肝線維化誘導機構－TNF-αとの協調作用による肝細胞の感受性亢進－,第４０回日本肝臓学会西部会、2013 年 12 月 6-7 日

27) 佐藤裕徳、横山勝、本村和嗣、中村浩美、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田衛、田中智之. ノロウイルスGII.4_2006bのカプシドと酵素に働くアミノ酸変化の制約.　第61回日本ウイルス学会

学術集会. 2013年11月10-12日（火-木）、神戸.

28) 史国利、安東友美、鈴木亮介、伊藤昌彦、脇田隆字、鈴木哲朗. The RNA structures located at 3’ end of HCV genome act as cis-elements in selective packaging of its genome into the infectious particles. 日本ウイルス学会第 61 回学術集会, 神戸, 2013 年 11 月 10-12 日.

29) 潮田和佳、小谷治、岩田奈織子、鈴木忠樹、中島典子、長谷川秀樹、清水博之、永田典代: コクサッキーウイルス B2 実験室株脳内接種後のマウスにおける水頭症の発症機序. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会.神戸、2013. 11.11-13

30) 塩田智之: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 25 回肝炎ウイルスセミナー(肝炎研究基盤整備事業), 東京, 2014 年 2 月

31) 塩田智之: ウイルス研究の現場から保健を考える(平成 25 年度東京大学医学部健康総合科学科開講科目「保健と教育」オムニバス形式), 東京, 2014 年 1 月

32) 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:E型肝炎ウイルス感染性規定宿主因子の探索に関する研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集, 兵庫, 2013 年 11 月

33) 清水健太、濱口杉大、李　天成、吉松組子、有吉紅也、有川二郎：ラット E 型肝炎ウイルスは人獣共通感染症の病原体か？第61回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月神戸.

34) 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間とそのゲノムRNAとの相互作用、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

35) 白土東子、石田豊和、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、成松　久、久保田智己：結晶構造解析と QM/MM 計算の組み合わせによるノロウイルスとルイス抗原の結合解析、第６１回日本ウイルス学会、平成２５年１１月、神戸

36) 杉山隆一, 杉山奈央, 村山麻子, 藤田めぐみ, 山田典栄, 脇田隆字, 加藤孝宣. ISDR アミノ酸変異が HCV 増殖に与える影響. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013.11.10-12.

37) 鈴木亮介、小西英二、石川知弘、嵯峨涼平、松田麻未、渡士幸一、相崎英樹、高崎智彦、脇田隆字. 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１回感染性フラビウイルス粒子産生系の開発. 日本ウイルス学会第 61 回学術集会, 神戸, 2013 年 11 月 10-12 日.

38) 鈴木亮介、石川知弘、小西英二、嵯峨涼平、松田麻未、渡士幸一、相崎英樹、高崎智彦、脇田隆字、プラスミドトランスフェクションによるトランスパッケージング型１回感染性フラビウイルス産生系の確立、第36回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、(2013, 12.3-6)

39) 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によるノロウイルス粒子-血液型抗原相互作用の阻害」第86回日本生化学会大会、横浜、2013年9月11-13日

40) 染谷雄一「ノロウイルスプロテアーゼの基質特異性について」日本薬学会第 134 年会、熊本、2014 年 3 月 27-30 日

41) 大東卓史、渡士幸一、Ann Sluder、中嶋翔、Katyna Borroto-Esoda、藤田尚志、脇田隆字。PKR 活性化制御を介するシクロフィリン阻害剤の新たな抗 C 型肝炎ウイルス作用機序。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、神戸, 2013 年 11 月 10-12 日.

42) 高木弘隆、藤井克樹、小林宣道、棚林清、片山和彦：多様な A 群ロタウイルス株に対応する感受性 MA104 細胞クローン樹立の試み 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013. 11. 10-12.

43) 武田緑、池田正徳、森京子、矢野雅彦、有海康雄、団迫浩方、脇田隆字、加藤宜之、骨粗鬆症治療薬であるラロキシフェンの抗HCV活性機構について、第４９回日本肝臓学会総会、京王プラザホテル、(2013, 6.6-7)

44) 田中寅彦、山本真民、黒田和道、脇田隆字、池田正徳、加藤宣之、槇島誠、C型肝炎ウイルスNS4Bの両親媒性ヘリックス内疎水性残基がウイルス複製に果たす役割、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

45) 九十田千子、渡士幸一、岩本将士、鈴木亮介、相崎英樹、小嶋聡一、脇田隆字。B 型肝炎ウイルス侵入阻害剤の同定およびその NTCP を介した感染阻害機構の解明。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、神戸、2013

46) 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、カリシウイルスのリバースジェネティックスシステムを用いた感染性粒子の研究、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

47) 長井 誠、南-福田 藤子、小原潤子、小池新平、赤松裕久、土赤 忍、片山幸枝、大場真己、佐々悠木子、大松 勉、古谷哲也、片山和彦、白井淳資 、水谷哲也、糞便を材料とした次世代シークエンスによるウシ A 群ロタウイルスの遺伝子型別、第 156 回日本獣医学会学術集会、2013 年 9 月、岐阜

48) 中嶋翔、渡士幸一。ウイルス感染系を基盤とした真菌由来天然化合物の生理活性探索。天然物ケミカルバイオロジー第 4 回公開シンポジウム、つくば、2013

49) 中嶋翔、渡士幸一、紙透伸治、竹本健二、鈴木亮介、相崎英樹、菅原二三男、脇田隆字。Liver X receptor 転写活性および感染性 C 型肝炎ウイルス粒子産生を阻害する天然化合物の同定。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、神戸， 2013 年 11 月 10-12 日.

50) 中村 朋史，吉冨 秀亮，石橋 哲也，前田 詠里子，世良 暢之，吉田 弘: IPV 移行時におけるポリオウイルスサーベイランス. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013.11.10-12.

51) 西村直子、野口篤子、伊藤陽里、辰巳正純、大場邦弘、中込治、中込とよ子、藤井克樹、片山和彦：我が国で流行したロタウイルスの遺伝子型の全国分布（2012 年） 第 54 回日本臨床ウイルス学会，倉敷，2013. 6. 8-9.

52) 西村順裕、Hyunwook Lee、Susan Hafenstein、片岡周子、脇田隆字、Jeffrey M. Bergelson、清水博之、エンテロウイルス71と受容体PSGL-1との結合：VP1-145が受容体特異性を制御する分子スイッチである、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

53) Youngbin Park, Kazuhiko Katayama. Development of a novel norovirus RT-PCR amplification system corresponding to a consensus norovirus nomenclature 2013. 61th annual meeting of the Japanese society for virology. Kobe, Japan, 2013.

54) 馬場昌範、外山政明、伊藤渉、岡本実佳、渡士幸一、脇田隆字、Sharon Ashoke。新規ピラノンカルボキサミド誘導体の抗HCV効果とその構造活性相関。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、神戸，2013 年 11 月 10-12 日.

55) 福島慎二、中野貴司、清水博之、水野泰孝、濱田篤郎: 日本人渡航者への不活化ポリオワクチン追加接種. 日本渡航者医学会. 東京、2013. 7. 20-21.

56) 藤井克樹、下池貴志、戸高玲子、片山和彦：ゲノム遺伝子型構成解析による網羅的ロタウイルス分子疫学研究（2012 年） 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013. 11. 10-12.

57) 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 25 回学術集会，神戸，2013. 11. 9.

58) 藤井克樹：ロタウイルスの分子疫学　衛生微生物技術協議会第 34 回研究会，名古屋，2013. 7. 11-12.

59) 藤井克樹、村上耕介、戸高玲子、中込とよ子、中込治、片山和彦：ゲノム遺伝子型構成解析による網羅的ロタウイルス分子疫学基盤構築　第 54 回日本臨床ウイルス学会，倉敷，2013. 6. 8-9.

60) 藤田めぐみ，加藤孝宣，村山麻子，山田典栄，脇田隆字，朝比奈靖浩，坂本直哉.HCV Core 領域アミノ酸 70/91 変異株を用いた反応機序の解析. 第 49 回日本肝臓学会総会，東京，2013.6.6-7.

61) 藤本陽、相崎英樹，松田麻未、渡邉則幸，渡士幸一，鈴木亮介，鈴木哲朗，宮村達男，脇田隆字，C 型肝炎ウイルス感染による宿主細胞の脂質代謝変化と Hepatic Lipase 発現制御，日本ウイルス

学会第 61 回学術集会,神戸, 2013 年 11 月 10-12 日.

62) 松田麻未、斎藤憲司、鈴木亮介、佐藤充、鐘ヶ江裕美、渡士幸一、相崎英樹、千葉丈、斎藤泉、脇田隆字、鈴木哲朗、細胞内発現抗体（イントラボディ）によるC型肝炎ウイルスの増殖抑制、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

63) 三浦忍、野口篤子、藤井克樹、中込治、片山和彦、中込とよ子、高橋勉：秋田県由利地区におけるロタウイルス胃腸炎による入院率　第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷, 2013. 6. 8-9.

64) 宗片圭祐、安井文彦、伊藤　靖、石井孝司、七戸新太郎、喜田　宏、小笠原一誠、小原道法：ワクシニアウイルス DIs 株を母体としたインフルエンザ HA 組換えワクチンの混合接種によるカニクイザルでの発症予防効果、第１７回日本ワクチン学会、平成２５年１１月、津

65) 村上耕介、藤井克樹、戸高玲子、片山和彦：ノロウイルス小腸上皮細胞への結合メカニズムの解析 第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷, 2013. 6. 8-9.

66) 村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣. 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 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013.11.10-12.

67) 村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣. An adaptive mutation in NS4A region enhances Hepatitis C Virus replication and virus production in cell culture. 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2013.12.3-6.

68) 室井敦、高濱正吉、高橋宏隆、竹田浩之、鈴木哲朗、脇田隆字、澤崎達也、コムギ無細胞タンパク質アレイを用いたHCVプロテアーゼの網羅的基質探索、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

69) 本村和嗣、横山勝、大出裕高、中村浩美、佐藤彩、岡智一郎、片山和彦、野田衛、武田直和、田中智之、佐藤裕徳. ノロウイルス感染者体内における混合感染の実態. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 2013 年 11 月 10-12 日 (火-木)、神戸.

70) 山田典栄, 四柳 宏, 池田裕喜, 小林稔, 奥瀬千晃, 森屋恭爾, 安田清美, 鈴木通博, 伊東文生, 加藤孝宣, 脇田隆字, 小池和彦. 国内感染と考えられる B 型急性肝炎 genotype H の一例. 第 17 回日本肝臓学会大会, 東京, 2013.10.9-10.

71) 山田典栄, 加藤孝宣, 四柳 宏. B 型急性肝炎症例における HBV S 領域のアミノ酸変異の検討. 第 40 回日本肝臓学会西部会, 岐阜, 2013.12.6-7.

72) 山中敦史、鈴木亮介、小西英二.　キメラデングウイルス様粒子抗原の中和及び感染増強試験における有用性評価. 日本熱帯医学会第 54 回大会, 長崎,　2013 年 10 月 3-5 日.

73) 横川寛, 森山正樹, 中村紀子, 東濃篤徳, 明里宏文, 加藤孝宣, 石井孝司, 脇田隆字. 霊長類モデルを用いた培養細胞由来HCV ワクチンの有効性の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会,神戸, 2013.11.10-12.

74) 横山　勝、岡　智一郎、片山和彦、佐藤裕徳. 分子動力学法によるマウスノロウイルスプロテアーゼの基質認識機構の解析.　第61回日本ウイルス学会学術集会. 2013年11月10-12日（火-木）、神戸.

75) 松田麻未、斎藤憲司、鈴木亮介、佐藤充、鐘ヶ江裕美、渡士幸一、相崎英樹、千葉丈、斎藤泉、脇田隆字、鈴木哲朗.　細胞内発現抗体（イントラボディ）による C 型肝炎ウイルスの増殖抑制. 日本ウイルス学会第 61 回学術集会,　神戸,　2013 年 11 月 10-12 日.

76) 横川寛, 森山正樹, 中村紀子, 東濃篤徳, 明里宏文, 加藤孝宣, 石井孝司, 脇田隆字. アカゲザルを用いた培養細胞由来HCV 粒子ワクチンの抗体誘導能と安全性の検討. 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2013.12.3-6.

77) 李 天成、Tingting Yang, Wei Li, Daiwei Guan, Ling Fang. Juan Su, Changwen Ke, 武田直和、脇田隆字：中国における Rat HEV の感染調査. 第 156 回日本獣医学会学術集会　2013 年 9 月　岐阜.

78) 李　天成、楊　婷婷、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：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.

第 61 回日本ウイルス学会学術集会　2013 年 11 月神戸.

79) 渡士幸一、Guoxin Liang、岩本将士、丸澤宏之、喜多村晃一、村松正道、鈴木亮介、相崎英樹、脇田隆字。シチジンデアミナーゼ AID 誘導を介した抗 B 型肝炎ウイルス細胞内免疫応答機構の解明。第 61 回日本ウイルス学会学術集会、神戸、2013

80) Tingting Yang、落合香織、脇田隆字、石井孝司、李　天成：スペインからの E 型肝炎輸入感染症例の解析、第５４回日本臨床ウイルス学会、平成２５年６月、倉敷

81) 脇田隆字、安東友美、林和彦、杉山真也、石上雅敏、片野義明、後藤秀実、溝上雅史、黒田誠、相崎英樹、患者血清中における HCV ゲノム多種性の存在形式、第４９回日本肝臓学会総会、京王プラザホテル、(2013, 6.6-7)、ワークショップ３「ウイルス肝炎の新潮流」

82) 渡邉則幸、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字、エンベロープペプチドを用いたHCV感染に重要なアミノ酸領域の探索、第61回日本ウイルス学会学術集会、神戸国際会議場、(2013, 11.10-12)

III. その他

1) 片山和彦 平成 25 年度 厚生労働科学研究費補助金 創薬基盤推進研究事業. 第 42 回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー「新しい作用機構の抗ウイルス薬開発への取り組み-ウイルス感染症に挑む-」ノロウイルスたんぱく質構造と抗ウイルス薬、平成 25 年 12 月 9 日月曜日

2) 片山和彦　平成 26 年 1 月 18 日土曜日　第 13 回東北臨床感染症研究会　勝山館 4 階「貴賓室」宮城県仙台市青葉区上杉 2 丁目 1-50　「腸管感染症」“ノロウイルス”

3) 片山和彦　平成 25 年 5 月 23 日　日本食品工業クラブ講演会　ノロウイルス感染症

4) 片山和彦　平成 25 年 6 月 4 日　関東労災病院主催　講演会（川崎市）　ノロウイルス感染症

5) 片山和彦　平成 25 年 6 月 18 日　シラバス・知の広場（感染研戸山庁舎共用第一会議室）　ウイルス性食中毒

6) 片山和彦　平成 25 年 7 月 6 日　武田薬品工業主催　ノロウイルスセミナー　（東京メトロポリタン丸の内）　ノロウイルスの基礎

7) 片山和彦　平成 25 年 7 月 13 日　北里セミナー（北里大学白金キャンパス薬学部コンベンションホール）　ノロウイルス感染症

8) 片山和彦　平成 25 年 10 月 18 日　「地域保健総合推進事業」地方衛生研究所地域専門家会議の講師　(秋田県秋田市中通 6-1-3 イヤタカ)　下痢症ウイルスの基礎と分子疫学

9) 片山和彦　平成 25 年 11 月 5 日　郡山市主催講演会　ノロウイルス食中毒発生防止対策及び感染症発生防止対策について　（福島県産業交流館　ビッグパレットふくしま）

10) 片山和彦　平成 25 年 12 月 4 日　社団法人福島県食品衛生協会主催　講習会　ノロウイルス食中毒の予防と対策（福島県福島市三河南町 1-20 コラッセ福島　4 階ホール）

11) 加藤孝宣. ビタミン D の抗 HCV 作用. フェロン・ビタミン D 講演会 -プロテアーゼ阻害剤不適応症例に対するビタミン D の可能性を考える-, 東京. 2013.4.11.

12) 清水博之: 手足口病の大規模流行と原因ウイルス. 平成25年度希少感染症診断技術研修. 東京、2014.2.20

13) 清水博之: エンテロウイルス 71 感染と病原性発現の分子的基盤. 金沢医科大学大学院医学研究セミナー. 金沢、2013. 10.25

14) 清水博之: ポリオの現状と不活化ポリオワクチン導入後の課題. 平成 25 年度感染症危機管理研修会. 東京、2013. 10.17

15) 清水博之: アジアにおける手足口病とエンテロウイルス感染症流行の現状. 第 87 回日本感染症学会学術講演会・第 61 回日本化学療法学会総会合同学会、シンポジウム「世界的視野でみる感染症疫学とその対策」. 横浜市、2013. 6.5.

16) 鈴木亮介.　C 型肝炎ウイルスの粒子形成に重要な新規 NS2 結合宿主因子の同定.　日本ウイルス学会第 61 回学術集会, 教育セミナー 神戸, 2013 年 11 月 10-12 日.

（テレビ放送）出演、指導、監修

2013年11月25日　ワイド！スクランブル

2014年1月28日　NHK　ニュースセブン　ノロウイルス見えない感染を防げ

2014年1月17日　NHK　ノロ対策「塩素系漂白剤で消毒を」

2013年12月6日　日本テレビ　ニュースエブリィ

2014年1月14日　読売テレビ　朝生ワイドす・またん！

2014年1月20日　日本テレビ　NEWS ZERO

2014年1月20日　NHK NEWSWEB

2014年1月23日　日本テレビ　スッキリ！！

2014年1月28日　NHK　ニュースセブン　ノロウイルスの流行状況

（ラジオ番組）出演

2014年1月23日　垣花正あなたとハッピー　“ノロウイルスの流行について”

2014年1月28日　NHKラジオ第一　NHKジャーナル

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26年3月31日付で、安部昌子研究員（インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン室）が退職した。

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や標準品等の整備を行い、試験法の標準化と精度管理に努めている。また、平成24年10月1日に導入された薬事法施行規則の一部を改正する省令等に従い、国家検定における各種品質管理の試験の実施に加えて、ワクチン製剤の国家検定に製造・記録等要約書の審査(SLP)を実施している。国際協調の観点からも、国際的にも通用する品質管理体制を取っている。感染症対策やワクチン政策に対する社会的要求が一層高まる中で、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保とNational Control Laboratoryとしての責任を果たすために、限られた人員と予算の中で、国民や社会の要望に応えるために努力を続けている。

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ならびに推進に関する研究、正確かつ実用的な実験室診断技術の開発研究を進めるとともに、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、麻疹ワクチンウイルス株の増殖に関する研究を進めている。また、先端技術の応用として、麻疹ウイルスの再生医療用ベクターとしての応用研究、麻疹ウイルスを応用した新たなワクチン開発に関する研究、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開発研究、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受容体や、風疹ウイルスの増殖を助ける宿主因子の探索などを通じて、風疹ウイルス増殖の詳細な細胞内分子機構の解析研究を実施している。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、ムンプスウイルスの増殖に関与する宿主因子に関する研究を実施している。また、重要なテーマとして、ムンプスワクチンの効果や安全性を評価するための動物モデルの開発研究や、国内、海外の流行株の解析などを通じた流行実態の解明のための研究を実施している。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。また、免疫機構の解析を通じて、より効果的な新たなワクチンの開発を目指している。急性呼吸器ウイルスに関しては、中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの診断法の開発、ならびにその標準化や普及のための活動を実施している。SARSコロナウイルスを含む、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。特

には、呼吸器感染症ウイルスの活性化に関与する宿主プロテアーゼの解明を通じた、新たな抗ウイルス剤の開発のための研究を実施している。

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、排除段階においては、原因ウイルスが国外に由来するのか常在株であるのかを鑑別する事が求められている。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ており、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 D9、D8、H1, B3 型であり日本の常在株と考えられている遺伝子型 D5 のウイルスは検出されておらず、大部分が輸入麻疹例と考えられた。2010 年 5 月以降、すでに３年間以上 D5 型麻疹ウイルスは検出されておらず、定義に従えば麻疹排除を達成している状態、あるいはそれに極めて近い状態であると考えられた。一方、検査の簡略化のために real-time PCR 法を確立し、全国 10 カ所の麻疹、風疹レファレンスセンターと協力して評価し、使用できる目処をつけた。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麻疹ワクチンの安全性と有効性に関する研究

生体肝、腎・消化器移植児は、継続的な免疫抑制療法を受けるため、乳幼児期に罹患することの多いある種のウイルス性疾患において重症化するリスクが高くなっている。免疫抑制療法中の患者対しての弱毒生ワクチンの投与については、2009 年３月に日本小児腎臓病学会が、ハイリスク患者に対しての麻疹、水痘ワクチンの接種を奨励している。しかしながら、免疫抑制療法中の患者に対しての弱毒生ワクチンの効果については、その知見が不足しており、ガイドライン等の策定もされていない。本研究は、生体肝、腎・消化器移植児へのワクチン接種の有効性の確認と弱毒生ワクチン接種に関するガイドラインの作成を目的とし、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 法を用いた解析を行っている。平成 25 年度は、127 検体（肝移植児検体:105、腎・消化器移植児検体:22)について解析を行い、うち、52 検体（肝移植児検体:46、腎・消化器移植児検体:6)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進め、小児臓器移植児における麻疹含有ワクチンの有効性を評価していく予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、宮田一平、宮入烈、福田誠：国立成育医療研究センター、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

リバースジェネティクス法の確立により、麻疹ウイルスゲノムへの外来抗原導入が可能となったことから、麻疹ウイルスをベースとした組換え生ワクチンに関する研究が数多く報告されている。本研究では、本邦で使用されている麻疹ワクチン株、AIK-C を用いた抗 HIV 候補ワクチンの開発を進めている。先ず始めに、AIK-C ゲノムの H-L 遺伝子間に緑色蛍光タンパク（EGFP）を挿入した AIK-C-EGFP を作

成し、感受性細胞に感染させたところ、麻疹ウイルス特異的なCPEとEGFPの発現を確認できた。次いで、免疫原性を強め、またホ乳類細胞内で効率よく発現できるよう改変したHIV env 遺伝子（gp145)をH-L遺伝子間に挿入したAIK-C-gp145を作成し、感受性細胞に感染させたところ、麻疹ウイルス特異的なCPEとgp145の発現をウエスタンブロット法により確認できた。今後は、AIK-C-gp145の*in vitro*での性状解析と小動物モデルを用いた*in vivo*におけるウイルスの動態と免疫原性を評価していく予定である。［染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、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

麻疹ウイルスワクチンの製造にはニワトリ胚線維芽細胞（chicken embryo fibroblasts, CEF）が用いられている。CEFでの継代が麻疹ウイルス弱毒化に重要であると考えられているが、ワクチン株がCEFへの感染に利用する受容体は、まだ解明されていない。一方、麻疹ウイルスが他の細胞への感染に利用している受容体としてCD46、SLAM、nectin-4がすでに報告されている。これらのうち、nectin-4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。この分子は、動物種間の相同性が高いため、CEFにおいて麻疹ウイルス受容体として機能している可能性がある。麻疹ウイルスがCEF上のnectin-4分子をウイルス受容体として利用しているのかを検討するため、CEFよりRNAを抽出しnectin-4をコードする遺伝子を同定し、塩基配列を決定した。決定した遺伝子配列をもとにヒトのnectin-4配列と比較したところ、アミノ酸の相同性は58%であった。麻疹ウイルスとnectin-4分子の結合部位の構造解析をもとに、CEF nectin-4のアミノ酸配列を解析したところ、麻疹ウイルスとの結合に重要と推測されるアミノ酸はCEF nectin-4においても保存されていた。また、CHO細胞にCEF nectin-4を発現させた細胞を作製し、EGFPを発現する組換え麻疹ウイルスを感染させたところ、CEF nectin-4発現により感染細胞数の増加が認められた。現在CEF細胞を用いて解析を進めている。［關文緒、染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠］

5. 麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態の解析

麻疹ウイルスは宿主細胞内に侵入した後、細胞質内でウイルスゲノムRNAおよび構造タンパク質の新規合成を行う。それらのウイルス粒子構成要素が細胞膜付近で集合することで、子孫ウイルス粒子を形成すると考えられるが、その詳細な機序は明らかになっていない。麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態をより詳細に解析するために、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および麻疹ウイルスの各タンパク質に対する抗体を用いて、時空間的な解析を行った。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タンパク質を含むRNP複合体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、その他の構造タンパク質と細胞膜付近で共局在する事が明らかとなった。Rab11の機能を阻害すると、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から、麻疹ウイルスの集合過程にリサイクリングエンドソーム経路による細胞内輸送が重要であることが明らかとなった。［中津祐一郎、馬学旻、關文緒、鈴木忠樹*、駒瀬勝啓、竹田誠：*感染病理部］

6. iPS細胞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。転写因子Oct3の発現量を増大させる事でiPS細胞作製に成功した。成功したベクターは、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（Oct3,Sox2,l-myc)、もう一方の分節にウイルス遺伝子（H、L）と転写因子（klf4,Pinl）と蛍光タンパク

質 EFPF を導入した組替えウイルスである。[田原舞乃、平本貴史*、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. 野生型イヌジステンパーウイルスのヒト SLAM 利用能獲得に必要な変異

イヌジステンパーウイルス (CDV) によるカニクイザルの致死的感染症を報告し、CDV はヒト SLAM (hSLAM) を利用できないが、イヌ SLAM と同様にサル SLAM を利用できること、CDV サル分離株 CYN07-dV は H 蛋白質の 1 アミノ酸変異 (R519S or D540G or P541S) で hSLAM を利用できること、野生型 CDV イヌ分離株にそれら変異を導入しても、CYN07-dV のように本来の性状を保持しつつ、新たに hSLAM 利用能を獲得することはできないことを報告した。これまでに報告された CDV サル分離株と野生型 CDV イヌ分離株の相違点に着目し、野生型 CDV イヌ分離株が本来の性状を保持しつつ、更に hSLAM 利用能を獲得できる変異について解析を行った。データベース上の CDV サル分離株と野生型 CDV 分離株の H 蛋白質のアミノ酸比較を行い、CDV と SLAM、nectin4 の複合体モデルを作成し、受容体結合能への影響を考察した。サル分離株から推測されたアミノ酸置換とサル分離株が hSLAM 利用能を獲得するために必要なアミノ酸変異を、野生型 CDV イヌ分離株の H 蛋白質に変異導入し、fusion assay により hSLAM 利用能を解析した。両者の H 蛋白質には5ヶ所のアミノ酸変異(S24F, E276V, Q392R, D435Y, I542F) が認められた。CDV と SLAM、nectin4 の複合体モデルから、I542F が受容体結合能に大きく関与していることが推測された。野生型 CDV イヌ分離株の H 蛋白質に、I542F と共にサル分離株が hSLAM 利用能を獲得するために必要なアミノ酸変異を同時に変異導入すると、R519S と I542F の組合せにおいて、本来の性状を保持しつつ、更に hSLAM を利用できた。*in vitro* において、R519S と I542F の 2 つアミノ酸変異が、野生型 CDV イヌ分離株の hSLAM 利用能獲得に重要であることが明らかとなった。I542F 変異は、近年のサルでの CDV アウトブレイクで認められた特徴的な変異であり、これまでに野生型 CDV 分離株では観察されていない。ヒトへの CDV のリスク管理のためには、サルでの CDV コントロールが重要であると考えられた。[酒井宏治、加納和彦*、關文緒、田原舞乃、染谷健二、中津祐一郎、藤井薫、網康至**、山口良二***、駒瀬勝啓、竹田誠：*感染症情報センター、**動物管理室、***宮崎大学獣医病理学研究室]

8. サルとヒトの犬ジステンパーウイルスへの感受性の違いを決める受容体上のアミノ酸置換の同定

犬ジステンパーウイルス (CDV) の受容体 SLAM は宿主決定因子の一つである。イヌ SLAM(dSLAM) とヒト SLAM(hSLAM) の相同性は低く、hSLAM とサル SLAM (macSLAM) の相同性は高い。CDV は dSLAM を効率よく利用できるが、hSLAM は利用できないため、macSLAM も効率よく利用できないと考えられていた。一方、我々は、CDV によるカニクイザルの致死的感染症を報告し、CDV は dSLAM と同様に macSLAM も効率よく利用できることを明らかにした。hSLAM、macSLAM、それぞれの V 領域と C2 領域を入れ替えたキメラ変異体、hSLAM の V 領域に macSLAM 配列を変異導入した点変異体を作製し、受容体としての機能を fusion assay により解析した。V 領域が hSLAM 由来では CDV H 蛋白質の受容体として機能しなかったが、V 領域が macSLAM 由来では受容体として機能した。このことは、SLAM の V 領域が H 蛋白質との結合を担うというこれまでの知見と一致した。hSLAM と macSLAM の V 領域の配列比較では、28 番目と 49 番目の 2 つのアミノ酸置換があり、この違いが CDV H 蛋白質に対する hSLAM と macSLAM の機能的な違いの原因と考えられた。hSLAM への変異導入解析により、両方の変異を同時に導入した変異体でのみ CDV H 蛋白質の受容体として機能した。以上より、この 2 つのアミノ酸の違いが、ヒトとサルの CDV への感受性の違いを決めていると考えられた。[酒井宏治、關文緒、田原舞乃、染谷健二、中津祐一郎、藤井薫、網康至*、山口良二**、駒瀬勝啓、竹田誠：*動物管理室、**宮崎大学獣医病理学研究室]

9. ヒト上皮細胞内でのイヌジステンパーウイルス V タンパク質機能の解析

これまでに、イヌジステンパーウイルス(CDV)はヒトネクチン 4 を受容体として利用し、ヒト上皮細胞に感染し、増殖可能である事を明らかとしてきた。一方、一部の CDV 株でヒトネクチン 4 発現細胞 NCI-H358 細胞(H358 細胞)での増殖が抑制されることも明らかとしてきた。H358 細胞で増殖が抑制されるウイルス株である 007Lm-VDS 株と H358 細胞

での増殖が可能となった馴化株 007Lm-H358 株のアミノ酸配列を次世代シークエンス技術で解析した結果、V タンパク質をコードする遺伝子に特徴的な変異が認められた。この両株のVタンパク質を恒常的に発現させたH358細胞を作製し解析を行ったところ、馴化株のVタンパク質を発現させた細胞でのみ宿主細胞での IFN 応答系を阻害する事が明らかとなった。この事は、馴化株のVタンパク質がヒト細胞内において自然免疫を阻害する機能を有し、この機能を有する CDV 株はヒト細胞での増殖が可能であることを示す結果であると考えられた。(大槻紀之、中津祐一郎、久保田耐、関塚剛＊、關文緒、酒井宏治、黒田誠＊、山口良二＊＊、竹田誠：＊病原体ゲノム解析研究センター、＊＊宮崎大学)

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。この特徴をもとに、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検討を行った。これまでに、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、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ることを示した。今年度は、構造タンパク質領域の関与を解析した。TO-336 Vaccine 株と親株の TO-336.GMK5 株の構造タンパク質領域を置換したキメラウイルスは、元ウイルスの温度感受性を保持していたが、モルモット皮下接種による抗体産生はどちらのウイルス接種でも観察されなかった。したがって、モルモット皮下接種による抗体産生はウイルスの温度感受性のみで決定されているわけではないことが示唆された。[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Real-time PCR法の検討

昨年までに報告してきた風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time PCR 法が臨床検査に使用可能かを評価した。本法は風疹ウイルスの全遺伝子型の代表株をいずれも効率よく検出できた。また、参照 RNA を用いた検討では、現在遺伝子検査で用いられているコンベンショナル RT-nested PCR と同等の感度があることが明らかとなった。本法が他施設でも使用可能かを評価するため、10 カ所の麻疹風疹リファレンスセンター地方衛生研究所で試験法の評価を実施してもらった。その結果多くの施設で検出限界が５コピー/反応と高い感度を示したが、一部の施設では十分な感度が得られなかった。また、コンベンショナル RT-nested PCR で遺伝子検査結果の判明している臨床検体を用いて検討したところ、RT-nested PCR で陰性の検体は全て本法で陰性となり、特異性の高さが示された。一方、RT-nested PCR 陽性の検体の約 25%が本法で陰性と判定された。しかし、発症後５日までの咽頭拭い液、尿を用いた場合には、本法の偽陰性率が約 10%まで低下することがわかった。本法の簡便さ、コンタミネーションリスクの低さから、現行の検査法よりやや感度は低いが風疹遺伝子検査に応用可能であると考えられる。[岡本貴世子、麻疹風疹リファレンスセンター、大槻紀之、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、森嘉生]

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。これまでに設定した風疹ウイルス特異的 T 細胞検出 ELISPOT assay 法の条件を用いて、国立成育医療センターより送付された小児肝移植前後の患者検体１１７検体を測定した。このうち、陽性は５検体で、非特異反応が比較的高い検体が６検体あった。

国立成育医療センターより送付された小児腎移植患者検

体のうち、これまでに27検体に対してELISPOT assayを行った。陰性は25検体、陽性は2検体であった。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も非特異的なスポットが認められたものが3検体あった。今回測定した検体の半数近くにおいてポジティブコントロールの反応性がこれまでより低い傾向が見られた。[岡本貴世子、竹田誠、斉藤昭彦*：*国立成育医療研究センター]

4. 風疹ウイルス流行株の分子疫学的検討

風疹排除の検討には風疹ウイルスの分子疫学的な解析が不可欠であることから、病原微生物検出情報およびWHO風疹ウイルスデータベースRUBENSの情報を元に、日本における風疹ウイルス流行株の推移を検討した。2010〜2013年に全国の地衛研で検出された風疹ウイルスの遺伝子型は2B, 1E, 1J, 1aであり、2Bおよび1Eが主に検出された。特に遺伝子型2Bは年々検出率が増加し、2013年の流行株の大多数を占めていた。世界的には遺伝子型2B, 1E, 1G, 1H, 1Jが主に検出されている。特に東-東南-南アジアにおいては、遺伝子型2Bおよび1Eが主流である。日本の株は2009年以前にはこの遺伝子型2Bや1Eウイルスが検出されておらず、2010年以降から報告されるようになった。また、2010〜2011年と2012〜2013年では同じ遺伝子型2Bや1Eであっても流行株に関連性はなく、異なる由来によるものと推測された。2012〜2013年に流行したウイルスについては、遺伝子型2Bウイルスは東南アジア流行株と非常に近縁であった。[森嘉生、岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、全国地方衛生研究所、感染症疫学センター]

5. 風疹ウイルス受容体の探索

風疹ウイルスはガチョウや初生ニワトリの血球を凝集させる赤血球凝集活性（HA活性）を有する。風疹に対する抗体測定方法としてHA活性を利用した赤血球凝集抑制試験が広く使用されている。風疹ウイルスが赤血球表面上のどのような分子と結合するかを検討するため、各種脂質を用いた競合阻害実験を行った。その結果スフィンゴミエリン（SM）添加によりHA活性が低下することが確認できた。さらに、SM分解酵素であるスフィンゴミエリナーゼにより処理を行ったガチョウ血球を赤血球凝集試験に用いると、HA活性が完全に失われることを確認した。これらのことより、風疹ウイルスによるHA活性においてSMが重要な役割を果たすことが示されると共に、風疹ウイルスのHA抗原がSMと結合していることが強く示唆されSMが風疹ウイルス受容体の一つである事が考えられた。（大槻紀之、坂田真史、花田賢太郎*、岡本貴世子、安楽正輝、竹田誠、森嘉生：*細胞化学部）

6. 風疹ウイルスE1蛋白質上の赤血球凝集活性に関与する部位の解析

これまでに中和活性及びHA抑制(HI)活性のある単クローナル抗体（MAb）のエピトープはE1蛋白質のドメインIあるいはIIにあることが報告されてきたが、我々の保有するMAbを用いて中和エスケープ株を作製したところ、ドメインIIIにアミノ酸置換が認められた。そこで、本研究ではHA活性におけるE1タンパク質ドメインIIIの役割を検討した。HA阻害活性のある２種類の中和MAbを用いて得られた中和エスケープ株において、それぞれE1タンパク質のドメインIIIに変異が存在していた。これらの２つの変異に加えて、ドメインIIIの表面アミノ酸をアラニンに置換した計12種類のウイルス様粒子を作成した。このうち、複数の変異体でHA活性の著しい低下が認められた。このことから本研究により初めてE1タンパク質のドメインIIIがHA活性に関与することが示された。[安楽正輝、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

7. 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（C）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C蛋白質のN末端領域が、coiled-coil構造をとる可能性を示唆し、その構造に重要だと考えられる疎水性アミノ酸が非構造蛋白質p150との結合にも非常に重要であり、相互結合がウイルスの増殖性に重要であることを示してきた。今年度は構造蛋白質遺伝子群をレポーター遺伝子に置換したサブジェノミックレプリコンRNAと野生型並びに変異C蛋白質のmRNAを細胞へ共発現し、レポーター遺伝子の発現量を指標にゲノム複製への影響について検討を行った。その結果、レプリコンのレポーター発現量は野生型Cを共発現することで著しく向上

したが、p150と結合が失われるような変異Cの共発現では部分的、或は殆ど起らなかった。Cとp150の相互作用はウイルス遺伝子発現を促進していることが明らかとなった。「坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、森嘉生」

8. 風疹ウイルスp150のプロテアーゼ活性に基づく感染指示細胞の樹立に関する研究

風疹ウイルスの感染を簡易に検出できる感染指示細胞の作成を試みた。風疹ウイルスP150はシステインプロテアーゼドメインを持ち、非構造蛋白質前駆体p200からp150およびp90を成熟させるために両者間を開裂させる。膜局在シグナルを付加した緑色蛍光タンパク質と核移行シグナルを付加した赤色蛍光タンパク質をp150プロテアーゼの開裂配列で連結したレポーター発現プラスミドを作製した。それを単独で細胞に発現させると、緑色蛍光タンパク質と赤色蛍光タンパク質が細胞質において同一の局在を示したが、p150と共発現させると、緑色蛍光タンパク質と赤色蛍光タンパク質の共局在がなくなり、赤色蛍光タンパク質の核移行が認められた。また、ウエスタンブロット法によって、p150の発現に依存してレポータータンパク質の切断が認められた。しかしながら、ウイルス感染細胞やサブジェノミックレプリコン細胞では特異的な切断は認められなかったことから、プラスミドによる単独発現p150とウイルス感染で産生されるp150では切断活性に差があることが示唆され、本法に基づくp150のプロテアーゼ活性に基づく感染指示細胞の樹立は困難であった。[坂田真史、竹田誠、森嘉生]

III. ムンプスウイルスに関する研究

1. ムンプスウイルス神経病原株の遺伝子操作系の確立

ムンプスウイルス(MuV)の神経病原性発現機構を明らかにするために、無菌性髄膜炎患者より分離された神経病原株Odate株の遺伝子操作系の確立を行った。Odate株の全ゲノムcDNAをpBluescriptベクターにクローニングし、ヘルパープラスミドと共にT7ポリメラーゼ発現BHK細胞に導入し、Odate株cDNA由来の感染性ウイルスであるrOdate株を回収した。rOdate株はVero細胞およびラットの脳内において親株であるOdate株と同等な増殖を示した。また、rOdate株の神経病原性をラットの脳室拡張を指標に検討したところ、Odate株に比べ若干の低下は認められたものの、評価を行うには十分な神経病原性を保持していることが示された。以上の結果より、今回確立された遺伝子操作系はMuVの神経病原性発現機構を解析する上で重要なツールになると考えられる。[加藤大志、竹田誠、木所稔]

2. ムンプスウイルス感染におけるHeat shock protein 70の役割

ムンプスウイルス(MuV)を含むモノネガウイルスのRNA複製および転写は細胞質内に形成されるInclusion Body(IB)で行われる。そこでIBの主要構成タンパク質であるPタンパク質と相互作用する宿主因子を探索し、その因子のMuV感染における役割について検討した。Pタンパク質と相互作用する宿主因子をPull-down AssayおよびペプチドシークエンスによってHeat Shock Protein 70 (Hsp70)が同定された。Hsp70はMuVの感染に伴って発現量が増加し、IBにおいてPタンパク質との共局在が観察された。siRNAを用いてHsp70をノックダウンしたところ、MuVの増殖にはほとんど影響を与えなかった。次に、パラミクソウイルスのPタンパク質がユビキチン化されることに着目し、Pタンパク質のユビキチン化へのHsp70の関与を検討した。その結果、Hsp70ノックダウン細胞ではコントロール細胞にくらべて有意にユビキチン化されたPタンパク質が蓄積していることがわかった。さらに、Hsp70ノックダウン細胞ではPタンパク質の分解速度が低下したことから、Hsp70はPタンパク質のユビキチン-プロテアソームによる分解を促進することが示唆された。現在、その生物学的意義について検討を行っている。[加藤大志、久保田耐、喜多俊介*、中津祐一郎、前仲勝実*、竹田誠、木所稔：*北海道大学大学院薬学研究院生体分子機能学]

3. マーモセット感染モデルによるムンプスワクチンの安全性・有効性の解析

新たなワクチン接種プログラムを確立・導入するためには信頼性の高い動物モデルによる基礎的な評価が不可欠である。我々は過去の研究において、コモンマーモセットがムンプスウイルスに対する感受性が高く、優れたモデル動物であることを明らかにしてきた。そこで新たなワクチン接種プログラムを確立するための基礎実験として、マー

モセットにおけるムンプスワクチンウイルスの接種用量を決定すること、および、接種に伴う副反応の指標となるバイオマーカーの検索を行った。まず、約１歳齢、雄のコモンマーモセット６頭に麻酔下で体温測定用発信プローブを腹腔内に埋め込み、２週間馴化した。次に、Jeryl Lynn 株を３つの異なる接種用量（12, 68, 650 PFU/頭）で２頭ずつ皮下接種し、体温と活動性、および体重の測定と臨床観察を行うとともに、麻酔下で経時的に採血と尿、咽頭スワブの採取を行った。血液から血漿と末梢血リンパ球を分離し、中和抗体価とウイルスゲノムコピー数を測定した。その結果、最低用量接種群でもワクチンウイルスによる viremia が観察され、中和抗体も 68 PFU 以上の接種群で陽転し、改めてマーモセットのムンプスウイルスに対する感受性の高さが確認された。誘導された中和抗体価は用量依存的であり、抗体価の推移から 100PFU が接種用量として適当と判断された。ワクチン接種前後の体温、活動性、白血球数、血中　LDH 等の変化を連続的にモニターしたところ、いずれの接種群においても、目立った変化は認められなかった。[木所稔、加藤大志、青木なつ子、網康至*、須崎百合子*、竹田誠：*動物管理室]

4. ムンプスの国内サーベイランスネットワークの構築と国内流行状況の解析

ムンプスワクチンの定期接種化が強く求められている現在、国内におけるムンプスサーベイランス網の整備は喫緊の課題である。そこで我々はその雛形となるべきネットワークを構築すべく、全国の地方衛生研究所に協力を求め、各地衛研で検出されているムンプスウイルスの情報の集約と解析を行った。全国の都道府県、および政令指定都市の地衛研にムンプスのサーベイランスへの協力を求めるメールを送り、了解を得た地衛研からムンプスウイルスの検出情報（配列情報、および検体情報）を主にメールで感染研に集約した。また地衛研から要請があった場合には、感染研から実験室診断用のプロトコールや陽性コントロールを提供したり、感染研で分離ウイルスのシーケンシングを行った。集約されたムンプスウイルスの塩基配列は、2012 年の WHO Mumps Nomenclature Update Meeting で提案された遺伝子型標準株を基に NJ 法により系統解析し、全株の遺伝子型を決定した。

感染研からの依頼に対し、全国の 20 ヶ所の府県および政令指定都市の衛生研究所から協力が得られた。その結果 2005 年から 2013 年にかけて分離された 121 株の情報が集約された。その内 25 株はワクチン株（ワクチン副反応例）であった。その他の分離株 96 例は 1 例を除いて全て遺伝子型 G であった。1 例は A であった。G の内、西日本型(Gw)が 63 例、東日本型(Ge)は 32 例であった。今回集計した結果では以前の結果とは異なり、Gw と Ge の地理的分布に明確な違いは認められず、同時並行的に流行している実態が明らかとなった。また、2013 年の流行株は、19 株中 Ge が 1 株のみで、他は全て Gw であった。熊本県で検出された 1 例の遺伝子型 A については、過去における国内検出例は極めて稀であり、その由来は不明である。[木所稔、青木なつ子、竹田　誠、庵原俊昭*、落合　仁**、渡辺正博***、各地方衛生研究所の研究協力者****

:*国立病院機構三重病院**落合小児科医院、***すずかこどもクリニック、****仙台市衛生研究所、茨城県衛生研究所、千葉県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、神奈川県衛生研究所、新潟県保健環境科学研究所、石川県保健環境センター、静岡県環境衛生科学研究所、愛知県衛生研究所、静岡市環境保健研究所、三重県保健環境研究所、滋賀県衛生科学センター、大阪府立公衆衛生研究所、神戸市環境保健研究所、広島市衛生研究所、高知県衛生研究所、北九州市環境局環境科学研究所、山口県環境保健センター、熊本県保健環境科学研究所]

5. ムンプスワクチン株による水平感染疑い例の解析

国内で流行するムンプスウイルスの分子疫学的解析を行う過程で、野外株として分離されたウイルスの中にワクチン株と同一の配列を持つ分離株が５株（星野株型４株、および鳥居株型１株）含まれることが判明した。これらの分離株が由来する患者のワクチン接種歴を確認したところ、２株（星野株型）については接種履歴があり、分離された時期から、ワクチン接種による副反応例と判断された。しかし、残り３株（星野株型２株、および鳥居株型１株）については接種歴が無かったことから、ワクチン株による水平感染例であることが強く疑われた。そこで、水平感染が起こる原因を解明するためにこれらのウイルスについてゲノム解析を行った。対照として、ワクチン接種後の副反応例

から分離された２株（星野株由来）についても調べた。その結果、副反応例２株では星野株のゲノム配列との間に塩基配列の違いが無かったのに対し、水平感染例の３株はいずれもＬ遺伝子内に１ヶ所以上のアミノ酸置換を伴う変異を持っていた。Ｌ蛋白質はRNAポリメラーゼであり、ウイルスの転写と複製に直接関わる重要な因子であることから、ウイルスの生物学的性状に何らかの変化が生じている可能性がある。副反応例分離株ではＬ遺伝子内に変異がないことからも、２次感染を起こす上で、Ｌ遺伝子の変異が何らかの関わりを持つ可能性が示唆された。[木所稔、青木なつ子、竹田　誠、庵原俊昭*、落合　仁** 、渡辺正博*** 、竹田誠:*国立病院機構三重病院**落合小児科医院、***水島中央病院すずかこどもクリニック]

IV. インターフェロン、サイトカインに関する研究

1. 自然免疫受容体経路とクロストークする細胞内情報伝達系の解析

自然免疫受容体により活性化される情報伝達系は、感染細胞の防御反応を誘導するだけではなく、特定の細胞で活性化されることにより獲得免疫発動の直接のトリガーとして機能すると考えられている。一方、このような機能をもたらす自然免疫受容体経路の因子や、影響を受ける細胞内情報伝達系は明らかにされていない。自然免疫受容体により活性化されるキナーゼ分子 TBK1 と相互作用する細胞内因子を検索し、G タンパク質共役型受容体経路の制御因子である RGS1 と相互作用していることを見出した。また RGS1 及び、類似の構造をもつRGS ファミリーを構成するいくつかの因子はTBK1 によりリン酸化されること、TBK1 発現細胞ではGタンパク質共役型受容体経路の活性が亢進していること、などが明らかとなり、自然免疫受容体の活性化が、TBK1 を介しRGS タンパク質の機能を調節することによりGタンパク質共役型受容体経路を制御していることが示唆された。［久保田耐、中津祐一郎、加藤大志、竹田誠］

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、今年度も流行が続いており、中東への旅行者による日本への持ち込みが懸念されている。引き続き当研究室でリアルタイムPCR 法による確定診断法を行える体制を整備するとともに、昨年度は計72か所の衛生研究所、保健所へ検査用試薬の配布を行ったが、今年度は新たに国内16か所の検疫所へ、検査用陽性コントロール RNA の送付を行った。またRT-LAMP 法によるMERS コロナウイルス遺伝子検出も試みているが、栄研化学(株)と提携により、効果的なプライマーセットを設計してもらい、現在性能評価を行っている。[白戸憲也、松山州徳]

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。本研究は 2013 年９月に論文報告をおこなった。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

3. ヒトコロナウイルス 229E と川崎病との関連について

川崎病の原因は不明であるが、季節性や地域流行性が見られることから、何らかの感染性因子がトリガーとなっていると考えられている。ヒトコロナウイルス(HCoV)NL63 株遺伝子が川崎病患者で有意に多く検出されるという報告がなされ、一時注目を集めた。しかし続く研究によってHCoV-NL63 の川崎病への関与は否定されている。これまでの研究の問題点は、研究がすべてRT-PCR 法によるウイルス遺伝子検出によってなされているという事である。HCoV 感

染が川崎病の原因であるか否かを特定するためには、血清学的手法が適していると考えられるため、本研究では川崎病患者のペア血清を用いて調査を行った。免疫染色において、HCoV-NL63 は川崎病患者とコントロールの血清で差がなく、改めてその関連が否定された。しかし一方で、HCoV-NL63 の対照として利用した HCoV-229E(ATCC 株)の実験では、川崎病患者血清で有意に陽性率が高かった。そこで HCoV-229E を対象とした中和試験を行った。ATCC 株では差が見られなかったが、川崎病患者の回復期血清において国内臨床株に対して有意に陽性を示した。しかし急性期、回復期での陽転は見られなかった。従って、HCoV-229E の急性感染が原因であるという結果は示されなかったが、HCoV-229E のうち国内臨床株タイプのウイルス感染が、後の川崎病発症と何らかの関連を示す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ている。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。これらの変異を S タンパクの立体構造の配置はカテプシン解裂予想部位の近傍に位置することがわかった。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. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、HA 開裂部位にmono-basic なアミノ酸配列をもつA型インフルエンザウイルスに対する肺内の必須活性化酵素である

インフルエンザウイルスを含む多くの呼吸器ウイルスは、プロテアーゼによってウイルス膜タンパクが開裂することによって、はじめて感染力を持つ。培養細胞において、呼吸器上皮に発現している II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 が、インフルエンザウイルスの HA 蛋白質、パラインフルエンザウイルスやヒトメタニューモウイルスの F 蛋白質、SARS や MERS コロナウイルスの S 蛋白質を開裂させ、活性化させることを我々は明らかにしてきた。本研究では、TMPRSS2 遺伝子をノックアウトしたマウス（TMPRSS2 KO マウス）を作出し、インフルエンザウイルスによる原発性ウイルス性肺炎への影響を解析した。TMPRSS2 KO マウスと TMPRSS2 遺伝子を発現している通常の野生型マウス（WT マウス）へのインフルエンザウイルス経鼻感染実験を行った。季節性インフルエンザウイルスのマウス馴化株 MA-CA04（H1N1）、MA-GZX（H3N2）及びトリインフルエンザウイルスのヒト分離株 VN1194（H5N1）、Anhui1（H7N9）の 4 株を用いた。季節性インフルエンザウイルス（H1N1、H3N2）及びトリインフルエンザウイルス H7N9 感染において、TMPRSS2 KO マウス肺内でのウイルスの増殖性は WT マウスに比べると非常に低く、病原性がほとんど無くなっていた。一方、HA 開裂部位に強毒型配列を持つ H5N1 感染では、TMPRSS2 KO マウスと WT マウスの両群で致死的であり、差は認められなかった。したがって、TMPRSS2 が H1N1、H3N2、H7N9 の病原性発現に必須の宿主因子であることが証明された。［酒井宏治、網康至*、田原舞乃、久保田耐、安楽正輝、中島典子**、関塚剛史***、駒瀬勝啓、長谷川秀樹**、黒田誠***、河岡義裕****、田代眞人*****、竹田誠：*動物管理室、**感染病理部、***病原体ゲノム解析研究センター、****東京大学医科学研究所ウイルス感染分野、*****インフルエンザウイルス研究センター］

サーベイランス業務

1. 平成 25 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 23 年度に得られた成績をまとめ報告した。［大槻紀之、感染症情報センター、森　嘉生］

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 4 ロット、風しんワクチン中間段階 3 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 7 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 6 ロット、乾燥

弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 53 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 18 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、加藤大志、白戸憲也、竹田誠］

2. 人免疫グロブリン製剤 191 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 3 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 3 ロット(rec β-1a 1 ロット、rec β-1b 1 ロット、天然型β 1 ロット)の収去検査を行った。［白戸憲也、松山州徳］

レファレンス業務

1. 麻疹の行政検査 1 件、および依頼検査 1 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. 1 ヵ所の地方衛生研究所に Vero/hSLAM 細胞を配布した。［關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓］
3. 10 カ所の麻疹、風疹レファレンスセンターに real-time PCR 用の標準麻疹ウイルス RNA を配布した。［中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、藤井薫、駒瀬勝啓］
4. 風疹に関する行政検査 4 件を実施した。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
5. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 9 カ所の地方衛生研究所等に配布した。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
6. 島根県健康福祉部の求めに応じ、島根県保健環境科学研究所ウイルス科での風疹ウイルス検査の査察および助言を行った。(2013 年 5 月)［森嘉生］
7. ムンプスの行政検査 2 件、および依頼検査 2 件を実施した。［加藤大志、木所稔］
8. ムンプスサーベイランス充実のため地方衛生研究所に対して RT-PCR 用プロトコールの提供 4 件、陽性コントロールの分与 2 件、系統解析のためのレファレンス配列の提供 1 件を実施した。［木所稔］

国際協力業務

1. 2nd meeting of the regional verification commission for measles elimination and workshop on verification of measles elimination (2013 年 3 月 18-22 日：マニラ、フィリピン）に参加。［竹田誠］
2. 4th meeting on vaccine-preventable diseases laboratory networks in the Western pacific region (2013 年 3 月 11-15 日:マニラ、フィリピン)に参加。［竹田誠］
3. 3rd meeting of the SAGE working group on measles and rubella (2013 年 4 月 12-13 日：ジュネーブ、スイス）に参加。［竹田誠］
4. 22nd meeting of the technical advisory group (TAG) on immunization and vaccine preventable diseases in the Western pacific region (2013 年 6 月 25-27 日：フィリピン、マニラ）に参加。［竹田誠］
5. 4th meeting of the SAGE working group on measles and rubella (2013 年 9 月 25-26 日：ジュネーブ、スイス）に参加。［竹田誠］
6. 5th meeting of the SAGE working group on measles and rubella (2014 年 4 月 4-5 日：ジュネーブ、スイス）に参加。［竹田誠］
7. 11th Global measles and rubella laboratory network meeting (2013 年 6 月 24～27 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、CRS サーベイランス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、森嘉生］
8. 第 10 回日本台湾感染症シンポジウム（2013 年 9 月 12-13 日）に参加し、日本の風疹の現状及び分子疫学について発表を行うとともに台湾の風疹の状況について情報収集した。［森嘉生］
9. 第 7 回日中韓感染症シンポジウム(2013 年 11 月 24-25 日、北京、中国）に参加し、日本の風疹の現状及び分子疫学について発表を行うとともに各国の感染症の状況について議論した。［森嘉生］
10. 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] (2013年10月)

11. ベトナム保健省の感染症担当者6名に麻疹ワクチンの品質管理とサーベイランス体制に関する講義を行った。[駒瀬勝啓] (2013年10月)
12. 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。H25年11月26日に行われた、日中協同研究発表会(北京)に参加し、中国担当者と意見交換を行った。[松山州徳]
13. 2014年3月に行われた、Robert Koch Institute (RKI)が主催するMERS-CoV proficiency testingに参加し、送られてきたサンプルのMERS検査を行い結果を返した。約100カ国からの結果は集計され、MERS検査機関で共有されている。[白戸憲也, 松山州徳]
14. 韓国KCDCのDr. KisoonとDr. Kangから2011年に韓国国内で流行した遺伝子型Hムンプスウイルスの塩基配列情報の提供を受け、東アジア地域におけるムンプスウイルスの流行状況を解析すると共に、2名が来所した際には韓国におけるMMRワクチンの接種状況と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。(2013年12月)[木所 稔、加藤大志]
15. モンゴル国NCCDのDr.TuulからFTAカードによるムンプスウイルス分離株の提供を受け、それらの系統解析を行うと共に、ラボ診断に必要な消耗品をNCCDに提供した。(2014年1月)[木所 稔、青木なつ子]

研修業務

1. 「平成25年度短期研修 新興再興感染症技術研修」コースにおいて、「麻疹総論」、「風疹総論」についての講義および、麻疹・風疹ウイルス検査診断実習を行った。[竹田誠、大槻紀之、岡本貴世子] 2012年10月
2. 「平成25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] 2013年10月24日
3. FETPコースの講義「ウイルス感染症:麻しん風しんを中心に」を行った。[竹田誠] 2013年4月8日
4. 平成25年度希少感染症診断技術研修会において、「麻疹」の講義を行った。[竹田誠] 2014年2月20日
5. FETPコースの講義「ウイルス性疾患:麻疹、MERSなど」を行った。[竹田誠] 2014年4月15日
6. 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9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] 2014年1月-2月
7. 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、中東、アフリカ諸国の研修生16名に風疹検出RT-PCR法、風疹ウイルス分離の実習を行った。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生] 2014年1-2月
8. 平成25年度 検定・検査教育講習会 第新規者向け講習会で「ウイルス製剤の検定」について講義をおこなった。[駒瀬勝啓] 2013年5月

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. 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. 87:1105-14.
2. 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.
3. Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Ainai A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T,

Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. (2014) The Host Protease TMPRSS2 Plays a Major Role in In Vivo Replication of Emerging H7N9 and Seasonal Influenza Viruses. J Virol. 88:5608-16.

4. Tahara M, Ito Y, Brindley M, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota P, Plemper R, Maenaka K, Takeda M. (2013) Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. J. Virol. 87:666-75.
5. Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. (2013) The receptor-binding site of the measles virus hemagglutinin protein itself constitutes a conserved neutralizing epitope. J Virol. 87:3583-6.
6. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. (2013) Intracellular transport of the measles virus RNP 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. Nakatsu Y, Matsuoka M, Chang TH, Otsuki N, Noda M, Kimura H, Sakai K, Kato H, Takeda M, Kubota T. (2014) Functionally Distinct Effects of the C-Terminal Regions of IKKε and TBK1 on Type I IFN Production. PLoS One. 9:e94999.
8. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. (2013) 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. 435:485-92.
9. Otsuki N, Nakatsu Y, Kubota T, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kuroda M, Yamaguchi R, Takeda M. (2013) The V protein of canine distemper virus is required for virus replication in human epithelial cells. PLoS One 8:e82343.
10. Sakata M, Otsuki N, Okamoto K, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y. (2014) Short Self-interacting N-terminal Region of Rubella Virus Capsid Protein Is Essential for Cooperative Actions of Capsid and Nonstructural p150 Proteins. J Virol. (in press)
11. Abo H, Okamoto K, Anraku M, Otsuki N, Sakata M, Icenogle J, Zheng Q, Kurata T, Kase T, Komase K, Takeda M, Mori Y. (2014) Development of an improved RT-LAMP assay for detection of currently circulating rubella viruses. J Virol Methods. 24; 207C:73-77.
12. Katoh H, Okamoto T, Fukuhara T, Kambara H, Morita E, Mori Y, Kamitani W, Matsuura Y. Japanese encephalitis virus core protein inhibits stress granule formation through an interaction with Caprin-1 and facilitates viral propagation. *J. Virol.*, 2013; 87(1):489-502.
13. Shirato K, Kawase M, Matsuyama S. (2013). (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Infection Mediated by the Transmembrane Serine Protease TMPRSS2. J.Virol. 87(23):12552-61.
14. Abe M, Tahara M. Sakai K, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizita K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. (2013) TMPRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses. J Virol. 87:11930-5.
15. Takaki H, Takeda M, Tahara M, Shingai M, Oshium H, Matsumoto N, Seya T. (2013) MyD88 pathway in plasmacytoid and CD4+ dendritic cells primarily triggers type I interferon production against measles virus in a mouse infection model. J Immunol. 191:4740-7.
16. Otani S, Ayata M, Takeuchi K, Takeda M, Shintaku H, and Ogura H. (2014) Biased hypermutation

occurred frequently in a gene inserted into the IC323 recombinant measles virus during its persistence in the brains of nude. Virology. 462-463:91-7.

17. Ikeno S, Suzuki M, Muhsen M, Ishige M, Kobayashi M, Ohno S, Takeda M, Nakayama T, Morikawa Y, Terahara K, Okada S, Takeyama H, Yokota YT. (2013) Sensitive detection of measles virus infection in the blood and tissues of humanized mouse by one-step quantitative RT-PCR. Front Microbiol. 4:298.
18. Krumm SA, Takeda M, Plemper RK. (2013) The measles virus nucleocapsid protein tail domain is dispensable for viral polymerase recruitment and activity. J Biol Chem. 288:29943-53.
19. 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. 87:9633-42.
20. Nakayama T, Sawada A, Kubo H, Kaida A, Tanaka T, Shigemoto N, Komase K, Takeda M. (2013) Simple method for differentiating measles vaccine from wild-type strains using loop-mediated isothermal amplification. Microbiol Immunol. 57:246-51.
21. Taya K, Satoh H, Arai S, Yamagishi T, Tahata Y, Nakashima K, Sugawara T, Ohkusa Y, Matsui T, Saito T, Kanou K, Shimada T, Kinoshita H, Yamashita K, Yasui Y, Tada Y, Mori Y, Takeda M, Sunagawa T, Oishi K, Strebel P, Schluter WW, Kamiya H, Reef SE, Chu SY, Martin R. (2013) Nationwide rubella epidemic - Japan, 2013. MMWR. 62:457-462.
22. Tripathi LP, Kambara H, Chen YA, Nishimura Y, Moriishi K, Okamoto T, Morita E, Abe T, Mori Y, Matsuura Y, Mizuguchi K. Understanding the biological context of NS5A-host interactions in HCV infection: a network-based approach. *J. Proteome Res.* 2013; 12(6), 2537-2551.
23. Kimura T, Katoh H, Kayama H, Saiga H, Okuyama M, Okamoto T, Umemoto E, Matsuura Y, Yamamoto M, Takeda K. Ifit1 inhibits Japanese encephalitis virus replication through binding to 5' capped 2'-O unmethylated RNA. *J. Virol.*, 87(18), 9997-10003. 2013
24. Nagata S, Maedera T, Nagata N, Kidokoro M, Takeuchi K, Kuranaga M, Takeda M, Kato A. (2013) Comparison of the live attenuated mumps vaccine (Miyahara Strain) with its parent in preadapted position of attenuation process. Journal of Vaccines & Immunization [in press]
25. Sato H, Jing C, Isshiki M, Matsuo K, Kidokoro M, Takamura S, Zhang X, Ohashi T, Shida H. Immunogenicity and safety of the vaccinia virus LC16m8Δ vector expressing SIV Gag under a strong or moderate promoter in a recombinant BCG prime-recombinant vaccinia virus boost protocol. Vaccine 31, 3549-3557 (2013).
26. Kotani O, Shirato K, Nagata N, Ikeda H, Takahashi K, 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、竹田誠　海外の麻疹状況　-2013-、病原微生物検出情報 34 (7); 201-202 (2013)
2. 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)
3. 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)
4. 中津祐一郎、竹田誠、 (2013) 麻疹ウイルスと宿主の攻防-自然免疫応答の観点から-、臨床とウイルス、41:196-204

5. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、風疹ウイルスの遺伝子型別動向と検査診断マニュアル改訂、病原微生物検出情報 34（4）；99-100（2013）
6. 森嘉生、大槻紀之、風疹ウイルスの特徴、臨床とウイルス　42(1):19-25, 2014.
7. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠.　風疹ウイルスの遺伝子型動向と検査診断マニュアル改訂，病原微生物検出情報，2013，34，99-100.
8. 岡本貴世子、森嘉生、落合雅樹、庵原俊昭、大槻紀之、海野幸子、竹田誠、駒瀬勝啓　抗風疹 IgG 国内標準品の作製、およびELISA 法による IgG 抗体価（国際単位）と HI 抗体価の相関性の解析　臨床化学　42 146-150 2013
9. 木所稔、竹田誠：ムンプスウイルスの新たな分類基準と国内流行状況、病原微生物検出情報（IASR）34(8)、224-225(2013)
10. 松山州徳，中東で発生した新型コロナウイルスについて，JBSA ニュースレター 第 3 巻第 1 号，1-2（2013）
11. 松山州徳，感染拡大が懸念される 中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス，メディカル朝日，42，44-45（2013）
12. 松山州徳，中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス 健康教室 64，12，75-77（2013）
13. 松山州徳，中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス感染症，獣医疫学雑誌，17，2（2013）
14. 松山州徳，新型コロナウイルス「MERS」の現状，週刊日本医事新報，4668，54-55（2013）
15. 松山州徳，竹田誠，中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス感染症，Medical Technology，41，12，1282-1285（2013）
16. 松山州徳，中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス感染症について，福岡県医報，第 1450 号，26-27（2013）
17. 松山州徳，新型コロナウイルス感染症 Medical Practice 31，1（2014）
18. 松山州徳，新型コロナウイルス（MERS）の知見，感染・炎症・免疫，43，4 331-332（2014）
19. 白戸憲也，松山州徳，中東呼吸器症候群コロナウイルス（MERS-CoV）のウイルス検査，検査と技術，41 No.13 p1267-1270（2013）
20. 白戸憲也，松山州徳，新種のコロナウイルス感染症，化学療法の領域 2013 年 増刊号(Vol.29 S-1)，P199～206（2013）
21. 倉田貴子、上林大起、駒野淳、西村公志、加瀬哲男、高橋和郎、大平文人、松井陽子、伊達啓子、熊井優子、久保英幸、改田厚、後藤薫、長谷篤、大阪市保健所、廣川秀徹、吉田英樹、内野清子、三好龍也、田中智之、森嘉生、大槻紀之、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、大阪府内における 2012 年の風疹患者発生状況、　病原微生物検出情報 34（4）；97-98（2013）
22. 梶山桂子、古川英臣、宮代守、佐藤正雄、伊藤孝子、酒井由美子、植山誠、眞野理恵子、衣笠有紀、戸川温、高田徹、田村和夫、駒瀬勝啓 タイからのB3型麻しんウイルス輸入例―福岡市、病原微生物検出情報 34（7）；201-202（2013）
23. 佐藤弘、多屋馨子、森嘉生. 2012 年度風疹予防接種状況および抗体保有状況-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，2013，34，105-107.

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Komase K, Takeda M, Progress towards measles elimination after introduction of supplementary immunization in Japan. 7th Vaccine & ISV Congress 2013, Sitges Spain, 2013 Oct 27-29
2. Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Saijo M, Yamaguchi R, Komase K, Takeda M, Morikawa S. (2013 March. Singapore) 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.
3. Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Yamaguchi R, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. (2013 June 16-21. Granada, Spain) High potential

of canine distemper virus in the ability to use macaca and human receptors. Negative Strand Virus Meeting 2013.

4. Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Nakajima N, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. (2014 July 27-August 1) The host protease TMPRSS2 plays a major role for influenza virus replication in vivo. 16th IUMS International Congress of Virology.
5. Tahara M, Abe M, Sakai K, Shirato K, Kanou K, Matsuyama S, Fukuhara H, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. (2013 June 16-21. Granada, Spain) Importance of the P2 and P3 residues of fusion proteins of respiratory viruses for their proteolytic activation by TMPRSS2. Negative Strand Virus Meeting 2013.
6. Otsuki N, Sekizuka T, Kubota T, Nakatsu Y, Seki F, Sakai K, Yamaguchi R, Fukuhara H, Maenaka K, Kuroda M, Takeda M. (2013 June 16-21. Granada, Spain) Both the C and V proteins of canine distemper virus play essential roles for the virus replication in human epithelial cells. Negative Strand Virus Meeting 2013.
7. Matsuyama S, Summary of SARS-CoV and watch on MERS-CoV, 18th Congress of the Asian Pacific Society of Respirology (2013)
8. Shirato K, Kawase M, Taguchi F, Matsuyama S. The Differences of Protease Usage during Virus Entry between Laboratory and Clinical Isolates of HCoV-229E. American Society for Virology 31th Annual Meeting. State College, Pennsylvania, July 20-24. (2013)

国内学会

1. 竹田誠、小川知子、七種美和子、皆川洋子、安井善宏、加瀬哲男、田中智之、庵原俊昭、駒瀬勝啓、2012年度を終えて:実験室からみた、わが国の麻疹排除の現状、第54回日本臨床ウイルス学会、倉敷、2013年6月8-9日
2. 竹田誠、駒瀬勝啓、森嘉生、木村博一、長野秀樹、岡野素彦、青木洋子、小川知子、七種美和子、児玉洋江、皆川洋子、加瀬哲男、濱岡修二、世良暢之、平良勝也、田中智之、住友眞佐美、庵原俊昭、島田智恵、大日康史、調恒明、小澤邦壽、2012年～2013年、麻疹排除と風疹再興：実験室の視点から、第45回小児感染症学会、札幌、2013年10月26～27日
3. 竹田誠、田原舞乃、駒瀬勝啓、麻疹ウイルスの抗原性の安定性は強固に保証されている、第17回日本ワクチン学会、津、三重、2013年11月30日～12月1日
4. 竹田誠、中島典子、河岡義裕、TMPRSS2は、インフルエンザウイルスの病原性発現に必須の宿主プロテアーゼである、第88回日本感染症学会、福岡、2014年6月18-20日
5. 竹田誠、中島典子、水田克巳、宿主プロテアーゼTMPRSS2は、急性呼吸器感染症ウイルスの生体内活性化酵素である、第55回日本臨床ウイルス学会、札幌、2014年6月14-15日
6. 駒瀬勝啓、竹田誠、庵原俊昭、皆川洋子、安井善宏、山下照夫、改田厚、秋吉京子、麻疹ウイルス流行株の推移とウイルス鑑別方法の検討、第54回日本臨床ウイルス学会、倉敷、2013年6月8-9日
7. 酒井宏治、「犬ジステンパーウイルスの霊長類レセプター利用に関する解析」、3nd Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2014年1月
8. 酒井宏治、關文緒、網康至、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、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、Nectin-4 expressing cells in canine central nervous system、第156回日本獣医学会、岐阜、2013年9月20-22日
9. 酒井宏治、關文緒、網康至、染谷健二、田原舞乃、大槻紀之、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、犬ジステンパーウイルスのヒトSLAM利用能獲得に必要な変異、第61回日本ウイルス学会、神戸、2013年11月10-12日
10. 森嘉生、風疹の実験室診断および日本及び世界の状況。衛生微生物技術協議会第34回研究会、名古屋、2013年7月11-12日

11. 森嘉生、坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、安楽正輝、竹田誠、風疹ウイルス非構造蛋白質 p150 のアクチンとの共局在の生物学的意義、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
12. 大槻紀之、中津祐一郎、久保田耐、関塚剛、酒井宏治、黒田誠、山口良二、竹田誠、イヌジステンパーウイルスのVタンパクはヒト肺胞上皮細胞でのウイルス増殖において重要な役割を果たす、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
13. 大槻紀之、中津祐一郎、久保田耐、関塚剛、酒井宏治、黒田誠、山口良二、竹田誠、イヌジステンパーウイルスのVタンパクはヒト肺胞上皮細胞でのウイルス増殖において重要な役割を果たす、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
14. 坂田真史、鈴木忠樹、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生、ウイルスプロテアーゼを利用した風疹ウイルス検出系の検討、第61回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
15. 木所稔、庵原俊昭、中山哲夫、竹田誠、国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 54 回日本臨床ウイルス学会、倉敷、2013年6月8-9日
16. 木所稔、落合仁、渡辺正博、竹田誠、庵原俊昭、ムンプスワクチン株による水平感染疑い例の解析、第 55 回日本臨床ウイルス学会、札幌、2014 年 6 月 14-15 日
17. 加藤大志、齋加志津子、久保田耐、網康至、須崎百合子、加藤篤、竹田誠、木所稔、ムンプスウイルスPタンパク質に導入されたアミノ酸変異による病原性復帰機構の解析、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
18. 加藤大志:ムンプスウイルス P タンパク質に導入されたアミノ酸変異による病原復帰機構の解析、3rd Negative Strand Virus-Japan Symposium、2014 年 1 月(沖縄)
19. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス, 第61回日本ウイルス学会学術集会 2013年11月 (神戸)
20. 松山州徳, 中東呼吸器症候群 (MERS) コロナウイルス, 衛生微生物技術協議会第34回研究会 2013年7月(名古屋)
21. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス感染症, 日本獣医疫学会, 2013年9月 (岐阜)
22. 白戸憲也, 今田義夫, 川瀬みゆき, 中垣慶子, 松山州徳, 田口文広, ヒトコロナウイルス 229E と川崎病との関連について, 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2013年11月 (神戸)
23. 佐藤亮、福原秀雄、竹田誠、前仲勝実、ウイルスの膜融合に関与する TMPRSS2 タンパク質の調整と結晶化、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
24. 大谷早苗、綾田稔、竹内薫、竹田誠、小倉壽、ヌードマウスの脳内で持続感染した組換え麻疹ウイルス IC323 に生じた偏在高頻度変異、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
25. 内海清子、三好龍也、田中智之、駒瀬勝啓、竹田誠、堺市における風疹流行状況、第 54 回日本臨床ウイルス学会、倉敷、2013年6月8-9日
26. 内野清子、三好龍也、岡山文香、芝田有理、田中智之、森嘉生、駒瀬勝啓、竹田誠、堺市における風疹の流行状況と検査結果の解析・評価、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
27. 陳甦ルイ、福原秀雄、伊藤由梨、酒匂幸、橋口隆生、梶川瑞穂、柳雄介、竹田誠、前仲勝実、Nectin4 を介するモルビリウイルスの細胞侵入機構の解明、第 61 回日本ウイルス学会、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
28. 池野翔太、鈴木基臣、寺原和孝、石毛真行、駒瀬勝啓、竹田誠、森川裕子、中山哲夫、柳雄介、竹山春子、横田恭子、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61回日本ウイルス学会、神戸、2013年 11 月 10-12 日
29. 平井卓哉、Nguyen Lan、竹田誠、山口良二、Nectin-4 expressing cells in canine central nervous system、第 156 回日本獣医学会、岐阜、2013 年 9 月 20-22 日
30. Watanyoo Pratakpiriya、關文緒、大槻紀之、酒井宏治、福原秀雄、片本宏、平井卓哉、Somporn Techangamsuwan、Nguyen Lan、前仲勝実、竹田誠、

山口良二、Nectin4 は上皮に局在する犬ジステンパーウイルス特異的受容体である、第 156 回日本獣医学会、岐阜、2013 年 9 月 20-22 日

31. 新妻隆広、大日方薫、木所稔：授授乳婦へのムンプスワクチン接種後、母乳中より検出されたムンプスワクチンウイルス、第 54 回日本臨床ウイルス学会総会、2013 年 6 月
32. 新妻隆広、大日方薫、木所稔：ムンプスウイルス耳下腺炎の経過中に発症した自己免疫性辺縁系脳炎、第 54 回日本臨床ウイルス学会総会、2013 年 6 月(倉敷)
33. 田中敏博、木所稔、渡辺正博、庵原俊昭：授乳婦に対するムンプスワクチン接種の安全性. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会 2013 年 11 月 (津)
34. 加納和彦, 白戸憲也, 木村博一, 松山州徳：宿主プロテアーゼ依存的なコロナウイルスの細胞侵入機構の解明 第 18 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 2013 年 8 月 (大阪)
35. 氏家誠, 白戸憲也, 松山州徳, 田口文広, サーズコロナウイルス(SCoV)の粒子形成における ER retrieval signal の役割について, 第 156 回日本獣医学会学術集会 2013 年 9 月 (岐阜)

III. そ の 他

1. 竹田誠、呼吸器感染症ウイルスの病原性発現理解が拓くワクチン開発と創薬への道、北海道大学創薬ネットワークセミナー、札幌、2013 年 10 月 17 日
2. 竹田誠、麻疹、風疹の国内ならびに海外の動向、地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス研究所部会、滋賀県庁、大津、2013 年 9 月 20 日
3. 竹田誠、マーズ?、ラブラボ 2014、東京、2014 年 8 月 4 日
4. 竹田誠、呼吸器ウイルスに関する新しい知見：MERS コロナウイルス他、第 21 回福岡呼吸器感染症研究会、福岡、2014 年 7 月 24 日
5. 駒瀬勝啓 (シンポジウム)、麻疹の状況と検査診断について、衛生微生物技術協議会第 34 回研究会　名古屋　2013 年 7 月 11 日～12 日
6. Tahara M, Virological, structural and molecular bases for the unchanged antigenicity of measles virus, NIID-NIHE Second meeting on collaborative research program, Hanoi Viet Nam, 2013 Oct 28
7. 森嘉生、第 17 回予防衛生協会セミナー「最近話題の感染症、サルへの脅威は?風疹」2013 年 11 月 15 日
8. 森嘉生、SRL 感染症フォーラム (Don't miss!注目すべき感染症)「風疹のウイルス診断 up to date」2013 年 12 月 14 日
9. 木所稔、感染症意見交換会　おたふくかぜウイルスの国際交流～流行株の解析から見えてくるもの～　、感染研、2013 年 8 月 26 日
10. 木所稔、栃木県小児科医会講演会　ムンプス疾患の現状とウイルスの分離状況、今後の対策と展望について　、宇都宮、2014 年 3 月 8 日
11. 松山州徳, MERS-CoV 感染症について, 感染症危機管理研修会にて講演, 2013 年 10 月 (感染研)
12. 松山州徳, 新型コロナウイルス感染症, 第１７回予防衛生協会セミナーにて講演, 2013 年 11 月 (つくば)
13. 松山州徳, Diagnosis system of MERS-CoV in Japan, 日中共同研究発表会にて発表, 2013 年 11 月 (北京)
14. 松山州徳, MERS コロナウイルス感染症について, 医療機関における感染症危機管理に関する研修会にて講演, 2013 年 11 月 (福岡)
15. 松山州徳, コロナウイルス感染症について～話題の MERS コロナウイルスを中心に, 検査技師研修会にて講演　2013 年 12 月 (新潟)
16. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス感染症, 佐賀県衛生薬業センター職員研修会にて講演, 2013 年 12 月 (佐賀)
17. 松山州徳, MERS コロナウイルスについて, 新興感染症のセミナーにて講演, 2014 年 1 月 (慶応大学)
18. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス, 希少感染症診断技術研修会にて講演, 2014 年 2 月 (感染研

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、新規検査法の開発に関する研究をを行ってきている。また、肺炎球菌ワクチン、7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン、13 価肺炎球菌コンジュゲートワクチンの検定検査、4 価髄膜炎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。

感染症法の発生動向調査において H25 4 月より、侵襲性肺炎球菌感染症が加わり、さらに髄膜炎菌感染症に関しては髄膜炎のみから、血流感染症を加えた侵襲性髄膜炎菌感染症に修正された。これにより、侵襲性肺炎球菌感染症の実態と、髄膜炎よりも時に重篤な経過を示す敗血症性髄膜炎菌感染症の実態把握が可能となった。両感染症は一部の血清型に関してはワクチンによる予防も可能であることから、血清型別に関して感染研の果たす役割が増す。肺炎球菌に関しては、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、特に 19A 型、による侵襲性感染症の増加してきた。19A 型多糖を含む１３価ワクチンが H25 年に導入されたため、19A 型肺炎球菌侵襲性感染症の減少が期待されると同時に、他の血清型による症例が増加することが危惧される。今後も原因菌株の動向を注視する必要がある。髄膜炎菌感染症に関しても、症例数は欧米諸国に比べ少ないことが再確認されるとともに、死亡症例がこれまでより多いことが示された。

ボレリア感染症に関し、新興回帰熱感染例の遡及調査をライム病／ライム病疑い患者血清を用いて行なった結果、国内において新興回帰熱（ボレリア・ミヤモトイ感染症）が潜在することを示した。

腸管出血性大腸菌感染症の制御が困難な現状において、分離株間の同一性解析、さらには過去に分離された菌株との比較解析等、地方自治体からの要請が増している。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、さらに詳細な型別を迅速に実施することが重要となってきた。また、血清群 O157 以外の血清群の EHEC を含む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。

H25 年にはわが国においても Borrelia muyamotoii による回帰熱症例があることが明らかにされ、病原体診断法の確立と、レトロスペクティブな解析が実施され、本感染症の実態把握が進められた。また、病原体保有マダニの調査も進められリスク評価の基盤が確立しつつある。

劇症型溶血性連鎖球菌感染症、レジオネラ症、腸管出血性大腸菌感染症に関するレファレンス活動が進められた。薬剤耐性淋菌に関するサーベイランス等も進められ、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 25 年 7 月に寺嶋淳第一室長が、国立医薬品食品衛生研究所　部長として転任した。また、平成 25 年 4 月より石嶋希が任期付研究員として着任し、サルモネラならびに腸管出血性大腸菌の病原機構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) 菌株の多様性解析と病原機構に関する研究

ア　血清型別

平成 25 年に送付された STEC は総計 3,348 株で、このうち、ヒト由来の 3,282 株について分離頻度の高い O 血清群（分離数 10 以上のもの）は順に、O157（約 53.1%）, O26（約 24.6%）, O111（約 5.2%）, O103（約 4.2%）, O121（約 3.6%）, O145（約 3.5%）, O91（約 1.1%）, O156（約 0.4%）, O55（約 0.4%）, O165（約 0.3%）となった。その他の O 群（118 株：約 3.6%）は少なくとも 42 種類の O 血清群に分類された [伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、石原朋子、寺嶋淳[国立医食衛研]、大西真]。

イ　健常者糞便由来 STEC の病原性因子の解析

健常者から分離されるSTECの特徴を解析する目的で、業態者検便から分離された400株（検出率0.08%）の志賀毒素遺伝子（*stx1 stx2*）および接着遺伝子（*eae*、*saa*）の保有状況を調べた。志賀毒素遺伝子を調べた結果、202株が*stx1*単独保有株、160株が*stx2*単独保有株、38株が*stx1 stx2*保有株であった。接着遺伝子を調べた結果、*eae*保有株が55株、*eae*非保有株に特異的に存在する*saa*保有株が125株、いずれの接着遺伝子を保有しない株は220株であった。［石原朋子、伊豫田淳、佐藤人美、佐藤寿夫（日本微生物研究所）、大西真］

ウ　EHEC の PFGE による DNA 型別

2013 年に国内で分離された EHEC O157 の 1465 株とその他の O 血清群 1171 株に対して、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）を用いて解析を行った。O157 は *Xba*I 消化により 768 種類の PFGE 型が観察された。一方、6 つ以上の異なる都府県から分離された同一 PFGE 型として、Type No.（TN） d483、h406、g307、i28、i195 の 5 種類があった。O26 は *Xba*I 消化により 244 種類の PFGE 型が観察され、5 つ以上の異なる都府県から分離された同一 PFGE 型が 2 種類 （TN i16、i110)あった。同一 PFGE 型の O157、O26 による広域発生事例の存在が明らかになった。［石原朋子、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）、斉藤康憲、菱谷愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真］

エ　EHEC O157 の Multiple-Locus VNTR Analysis による解析

PFGE により TN d483 を示す広域発生事例株を Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis（MLVA）法で試験すると、いくつかのタイプが得られた。これらについて Minimum Spanning Tree を描くと、4 つの型（13m0117、13m0123、13m0128、13m0397）は互いに single locus variants（SLVs）であり、これらの株については近縁性が示唆された。一方、残りの型（13m0129、13m0130、13m0145、13m0148、13m0189）はそれらと 2 遺伝子座以上の距離があり、d483 を示す株には近縁性の低い MLVA 型を示す菌株が含まれることが示された。[泉谷秀昌、石原朋子、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）、斉藤康憲、菱谷愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田淳、大西真］

オ　PFGE によるデータベース構築とその解析結果利用のネットワーク化に関する研究

全国の地方衛生研究所等（地研）から送付された分離株について PFGE 解析を行い、BioNumerics（BN） server によるオンラインシステムのデータベースの継続的な構築・運用を行った。EHEC O157 および O26 の PFGE 解析結果は、BN による系統樹作成に基づくサブタイプ名の付与と PFGE パターンのデータベース構築に使用した。［石原朋子、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）、中島雪絵、斉藤康憲、菱谷　愛、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、大西　真］

(2) 検査法開発に関する研究

ア　溶血性尿毒症症候群（HUS）発症者の血清診断

EHEC が不分離の HUS 症例では、患者血清中の大腸菌 O 抗原に対する抗体の検出（血清診断）などで確定診断となる。血清診断依頼があった 15 件中 O157 が 8 件、O121 が 3 件、O26, O103, O165, O76 は各 1 件ずつ陽性例があり（陽性率 86.7%；1 件については O157, O121. O26 同時陽性例 [下記参照])、いずれも EHEC 感染による HUS 症例と確定した。血清診断陰性例のうち 1 件については同時に依頼があった便培養から EHEC O157:H7 を分離した[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　EHEC O157, O121, O26 混合感染による HUS 症例の同定

上記の血清診断の結果から、抗大腸菌 O157, O121, O26 抗体が同時に陽性となる HUS 症例を見いだした。血清診断の結果を基に O157, O121, O26 抗体を感作させた磁気

ビーズを用いて便培養液から大腸菌の分離を試みたところ、EHEC O157, O121 と EPEC（*stx* 陰性）O26 がそれぞれ分離された。血清診断の結果を便培養法に還元した事例である。同様な手法を用いて EHEC O157, O121, O165 が分離された HUS 症例をそれぞれ明らかにした[伊豫田淳、高井信子、佐藤人美、石原朋子、齊藤剛仁、大西真]。

ウ　EHEC O76 感染による HUS 症例の同定

大腸菌 O 群全 184 種類中 182 種類は PCR によって検出が可能となっている（O-genotyping [井口ら、未発表]）。主要 7 血清群による血清診断が陰性となった HUS 症例において、便培養液を用いて O-genotyping を行ったところ、*stx2* 陽性, O76 抗原遺伝子陽性となった。この結果を基に血清診断および菌分離（ビーズ法による濃縮培養）を行ったところ、O76 抗体陽性と判明し、EHEC O76:H7 *stx2* が分離されたため、EHEC O76 による HUS 症例と確定した[伊豫田淳、井口純 [宮崎大・農]、高井信子、佐藤人美、石原朋子、齊藤剛仁、大西真]

2. 赤痢菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア　赤痢菌の分子疫学解析

2013 年に当研究所に送付された赤痢菌 81 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。昨年渡航歴のない散発事例において複数県にまたがって検出された MLVA 型 SsV12-033 が本年も 6 県にまたがり検出された。なお、*Shigella sonnei* では 2013 年に 38 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）

イ　赤痢菌の III 型分泌装置遺伝子群の転写後調節機構の解析

赤痢菌の病原性に必須な III 型分泌装置は、環境の温度と塩濃度によって発現が厳密に制御される。この制御を失う変異体をスクリーニングしたところ、III 型分泌装置遺伝子群のレギュレーターである InvE（VirB）の発現が翻訳レベルで増加する変異体が得られた。この変異遺伝子は後に、桿菌の桿状構造を形成するバクテリア細胞骨格蛋白 RodZ として同定されたが、赤痢菌の病原性の表現型は RodZ に細胞骨格以外の機能があることを示唆していた。

この *rodZ* 変異体では *invE* の mRNA の分解速度が遅く、mRNA が安定化していることが示された。また、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、この RNA 結合能は RodZ の塩基性ドメイン部分に依存すること、RodZ 同士が多量体を形成すること、InvE 以外の mRNA にも結合することが示され、細胞骨格以外の RodZ の機能を明らかにした。（三戸部治郎）

3. サルモネラ属菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア　チフス菌、パラチフス A 菌のファージ型別

2013 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 58 株、パラチフス A 菌 47 株であり、前年の菌株数と比べ増加していた。チフス菌では、ファージ型 E1 が多く、その他には A、B1、D2、E2 等が検出された。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 23 株、2 が 13 株であったが、4、5、6 も検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

イ 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

2013 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、ニューキノロン薬であるシプロフロキサシン非感受性菌の割合はチフス菌で 50.0%,、パラチフス A 菌で 66.0%であった。また、第 3 世代セフェム系抗菌薬に耐性を示すパラチフス A 菌が 1 株検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

ウ 国外渡航歴の無い腸チフス感染例由来菌株の分子疫学的解析

2013 年のチフス菌分離株数は、近年の分離株数に比べ大きく増加しており、特に国外渡航歴の無い腸チフス患者由来チフス菌の増加が顕著であった。分子疫学解析の結果、ファージ型では A もしくは B1 に分類されるものの、遺伝学的関連性の高い株を原因とする症例の集積が増加の要因であることが考えられた。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

エ　サルモネラのファージ型別

2013 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 181 株であった。うち 55 株は血清型 Enteritidis であり、ファージ型 6a が 31 株と大勢を占めた。

同じく Typhimurium は 5 株送付された。検出されたファージ型（DT）は、RDNC が 4 株、U302 が 1 株であった。（泉

谷秀昌、李志英、高井信子、大西真）

オ　サルモネラの血清型別

2013 年に当研究所で血清型別を行った菌株は 11 株であった。同定された血清型は、Weltevreden、I 4:i:-、I 7:c:-、IIIb 48: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）

カ　*Salmonella* Infantis に関する研究

S. Infantis 株間で分布に差が見出された *irp2* 遺伝子の遺伝子の所在を次世代シークエンサーを使用して明らかにした。当該遺伝子は約 280kb のプラスミド上に存在することが示された。当該プラスミドには *tet* などの薬剤耐性遺伝子も見出された。(泉谷秀昌、李志英、黒田誠、関塚剛史、大西真）

4. ビブリオ属細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および遺伝子水平伝播に関する研究

ア　*Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* の同定及び血清型別

平成 25 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 148 株で *Vibrio cholerae* および *V. parahaemolyticus*、*V. fluvialis*、*Aeromonas* spp. が含まれ、108 株は国内、40 株は海外からの依頼であった。国内株の内 1 株は、食中毒由来 *V. parahaemolyticus* で既知の O:K 組合せには該当しない O10:K60 という新規の血清型であった。また国内 2 事例 103 株は、集団食中毒由来の *V. cholerae* non-O1/non-O139 によるもので、共通食材として輸入ニシ貝が疑われ、残品からも同一 O 血清型菌が検出された。海外からの型別依頼株は中国の下痢症患者と環境からの分離株 40 株で、*V. cholerae* non-O1/non-O139 および *V. parahaemolyticus*、*V. fluvialis*、*Aeromonas* spp. であった。

（荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌）

イ. NAG ビブリオの分子疫学解析

2013 年 9 月から 10 月にかけてナグビブリオによる食中毒が相次いだ。当該事例に関連する患者及び食品由来株について PFGE による解析を行った。その結果、食品由来株は多様性を示したものの、患者株のほとんどは 1 つのクラスターを形成し、食品株の一部も当該クラスターに分類された。当該クラスターに属する株の血清型は患者株および食品株と一致し、O144 であった。(泉谷秀昌、荒川英二、森田昌知、大西真）

ウ　ビブリオ属菌の環境調査

沿岸海水を採取し、*Vibrio vulnificus, V. parahaemolyticus, V. cholerae* の分布状況を調べた。各地の平均から、3 菌種とも 8 月に最も多く検出された。塩分濃度上昇に対する感受性は、概ね *V. parahaemolyticus*、*V. vulnificus*、*V. cholerae* の順となった。ビブリオ属菌の分布については、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、渡邉節（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、大西真）

エ　コレラ菌のキチン誘導型 DNA コンピテンスを支配する非典型なシグナル伝達機構

GlcNAc のポリマーであるキチンはコレラ菌の DNA コンピテンスを活性化し、形質転換を引き起こす。昨年度までの解析から、キチンは膜貫通型の転写因子である TfoS を介してコンピテンスに関わる遺伝子群の発現を活性化することがわかってきた。本年度は TfoS がキチンに応答するしくみについて解析を行った。その結果、１）TfoS は二成分制御系蛋白質のファミリーに属さないにも関わらず、その活性はキチン反応型の二成分系センサーキナーゼ ChiS に支配されること、２）ChiS から TfoS へのシグナル伝達は既知のリン酸基転移とは異なる機構で進行することが示唆された。[山本章治]

(2) 検査法開発に関する研究

ア　*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 については、真菌部との共同研究により、O 多糖の構造解析を行っている。また、O141、O75 については特異的な遺伝子領域を標的とした PCR を設計し、*V. cholerae* の全 O 血清群について探索を行った所、O50、O57、O62、O103、O107、O113

の 0 血清群の菌株が陽性となった。陽性となったこれら血清群についてもその 0 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 08 およびそれと交差反応のある 0 血清群 0128 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 0 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)、浦井誠、宮崎義継(真菌部)、大西真)

II. 呼吸器感染症ならびに侵襲性感染に関する研究

１．レンサ球菌属に関する研究

(1) 菌株の多様性解析と疫学的解析

ア　日本における 2012 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

2012 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、1240 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 (332/1240, 26.8%)、T12 (291/1240, 23.5%)、TB3264 (180/1240, 14.5%)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。2011 年増加した T1 型は、2012 年減少した(2010 年, 19.9%、2011 年, 31.1%、2012 年, 26.8%)。TB3264 型の分離比率は、2010 年、急激に上昇し、2011, 2012 年も 10%台を維持している(2009 年, 5.3%、2010 年, 12.6%、2011 年, 11.1%、2012 年, 14.5%)。

[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)、増田千恵子（富山衛研)、河原隆二（大阪公衛研)、矢端順子（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 2012 年に分離された劇症型 A 群レンサ球菌感染症患者分離株の T 型別、*emm* 遺伝子型

2012 年、A 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)の報告が 95 症例あった。94 例が *S. pyogenes*、1 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による症例であった。

最も分離された型は、昨年同様 T1 型であったが、昨年と比較して分離比率が減少した(2011 年, 69.0%; 2012 年, 51.6%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(26.8%)に比べ、依然高い分離比率を示している。次いで、昨年同様 TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して上昇した(2011 年, 10.7%; 2012 年, 18.9%)。この 2 つの型で全体の 70%以上を占めている。

STSS の確定診断例 95 例中、*emm1* 型(M1 型)が 49 例(51.6%)と最も多く、次いで *emm89* 型(M 型別不能)が 17 例(17.9%)、*emm12* 型(M12)が 8 例(8.4%)、*emm28*(M 型別不能)が 6 例(6.3%)と多かった。

2011 年と比較し、*emm1* 型は、69.0% (58/84)から 51.6% (49/95)に減少し、*emm89* 型が 10.7% (9/84)から 17.9% (17/95)に増加した。

[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)、増田千恵子（富山衛研)、河原隆二（大阪公衛研)、矢端順子（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

2012 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 95 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。クリンダマイシンに対して 11.6%(11/95)の株が耐性を示し、昨年（2011 年, 6.58%）より分離率が上昇した。また、エリスロマイシンに対し、60.0% (57/95) の株が、耐性を示し、昨年 (2011 年, 76.1%) より分離率が減少した。[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)、増田千恵子（富山衛研)、河原隆二（大阪公衛研)、矢端順子 (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

2012 年、32 例が劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告があった。菌種はすべて、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。*emm* 遺伝子型別を行った結果、*stC36, stG485, stG6792* 型がそれぞれ 5 例(15.6%)と最も多く、次いで、*stG245, stG653, stG2078* が 4 例(12.5%)と多かった。そのほか、*stC1400, stG6, stG10, stG652, stG4974* 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)、増田千恵子（富山衛研)、河原隆二（大阪公衛研)、矢端順子（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、および 1 例の C 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 *S.dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。B 群は 2 株とも血清型 III であった。C 群の *emm* 遺伝子型は、*stC839* 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）、増田千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、矢端順子（山口環保セ）、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。
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業（Hib、肺炎球菌、HPV 及びロタウイルスワクチン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、日本国内の小児の本来無菌であるはずの検体より分離された肺炎球菌および GBS 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　小児肺炎患者由来肺炎球菌の解析。
2010-2013 年に乳幼児下気道感染症例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、小児 7 価結合型肺炎球菌ワクチン (PCV7) の接種普及による肺炎球菌の血清型の経年的変化を観測し、PCV7 の下気道感染症に対する効果を調べた。(常　彬、成相昭吉［横浜南共済病院］)

(2) 次世代肺炎球菌ワクチンのための病原機構に関する研究

ア　肺炎球菌病原因子の機能解析

日本では高齢者用のポリサッカライドワクチンと小児用の結合型ワクチンが導入されているが、血清型交代現象による肺炎球菌ワクチンのワクチンカバー率の低下が大きな問題となっており、夾膜の血清型に依存しない次世代ワクチンの開発が急務である。本研究では次世代ワクチンの開発のために必要な分子基盤を構築することを目指し、肺炎球菌の病原因子の機能と肺炎球菌感染の発症機序の解明を目的とした。
肺炎球菌が感染した細胞内において、溶菌した菌由来の DNA がエンドソームから細胞質へと移行し TypeI インターフェロンを誘導することが報告されている。このことから、肺炎球菌の菌体表層に局在する多種多様な病原因子がエンドソームから細胞質へと移行して機能を発揮する可能性について解析を行っている。肺炎球菌由来の病原因子を培養細胞に発現させ、局在パターンや細胞の形態変化を指標に検討している。(小川道永、山本章治)

イ　培養細胞を用いた肺炎球菌感染モデル

肺炎球菌の菌液の調製には血液寒天培地から掻き取ったコロニーを液体培地に懸濁し濁度を調整したものを直接細胞に感染させる方法が広く用いられている。しかし、このような方法では、実験毎に菌の growth phase や moi など菌のコンディションをコントロールすることが困難である。そこで、本研究では肺炎球菌を安定的に液体培養する系を構築した。さらに、構築した肺炎球菌の液体培養系を用いて培養細胞に対する肺炎球菌の感染系の構築を行っている。(小川道永)

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　新しい *neuA* プライマーによる *Legionella pneumophila* 臨床分離株の Sequence-based typing (SBT)

レジオネラ・レファレンスセンターにおいて、2007 年 8 月よりレジオネラ臨床分離株の収集を行っており、273 株の *L. pneumophila* について SBT 法による遺伝子解析が行われたが、10 株（血清群 5 が 7 株、血清群 2、4、10 が各 1 株）は *neuA* 遺伝子が増幅しなかったため、型別不能であった。新しく提案された *neuAh*（*neuA* ホモログ）プライマーにより *neuA* 遺伝子が増幅され、すべての *L. peumophila* 菌株において遺伝子型別が可能となった。［前川純子、倉　文明］

イ　*L. pneumophila* 臨床分離株の SBT 法による遺伝子解析

レジオネラ・レファレンスセンターで前年度に収集した *Legionella pneumophila* 54 株（血清群 1 が 49 株、血清群 2、3、5、9、10 が各 1 株）について、SBT 法による遺伝子解析を行った。同一の公衆浴場が感染源と推定されていた 2 例は、同じ ST で、集団感染事例の可能性が示唆された。54 株は 41 種類の ST に分けられ、SBT 法の疫学的有用性が確認できた。15 種類は新規 ST だった。
［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］

ウ　岡山県の *L. pneumophila* 血清群 3 環境分離株の SBT 法による遺伝子解析

平成 20 年～25 年に岡山県では *L.pneumophila* 血清群 (SG) 3 の臨床分離例が 9 株あり、すべての株が ST93 に型別された。これらの患者の感染源および起因菌が同一である可能性がある。感染源解明のための調査として、さまざまな環境から分離された SG3 の 39 株（浴槽水 31、原湯 1、ジャグジー3、プール水 3、冷却水 1）について SBT 法による遺伝子型別を行った。39 株は 21 種類の ST に分けられたが、最も ST93 と近い遺伝子型グループの 2 株でも、共通な遺伝子座は 4/7 あるいは 3/7 に過ぎず、それ以外の菌株は遺伝的に遠く隔たっており、感染源の種類の解明には至らなかった。［前川純子；中嶋　洋（岡山県環境保健センター）；倉　文明］

エ　家庭内の水環境中の *Legionella* 属菌種の同定

一般家庭における *Legionella* 属菌の汚染状況を調べるため、9 家庭の水廻りからの試料（114 検体）を採取した。*Legionella* 属菌が 8 検体（7.0%）から検出され、その菌種の同定を行った。浴槽水から *L. anisa*（150 CFU/ml）が検出され、その残り湯ホースのスワブからも *L. anisa* が検出された。洗面台蛇口水から *Legionella* sp. L-29（370 CFU/ml、蛇口スワブからも検出）、庭の散水用ホース内の水から *L. busanensis*（20 CFU/ml）、カメ水槽水から *L. anisa*（20 CFU/ml）、金魚水槽水から *L. sainthelensi*（20 CFU/ml）、風呂の蛇口スワブから記載種ではない *Legionella* 属菌が検出された。*L. pneumophila* は検出されなかった。［渡辺祐子（神奈川衛研）；前川純子；黒木俊郎（神奈川衛研）；倉　文明］

オ　*L. pneumophila* 血清群 1（Lp1）の喀痰由来株とアスファルト道路の水溜まり由来株の間の SBT 法による遺伝的近縁関係

レジオネラ症の主な原因菌である Lp1 は、土壌、河川、浴用施設、冷却塔など様々な環境から広く検出される。アスファルト道路の水たまりからも Lp1 が分離されているが、遺伝子解析による患者との関連は調査されていない。そこで、富山県内のアスファルト道路の水たまりから分離された Lp1 について、レジオネラ症患者、浴用水由来株と遺伝子型を比較し、患者の感染源と水たまりの関連を調査した。2010 年 11 月～2012 年 8 月にかけて、県内 28 か所のアスファルト道路から水たまり 134 検体を採水し、ろ過濃縮法でレジオネラ属菌を分離した。Lp1 については SBT を行った。水たまりの 40.3%（54/134 検体）からレジオネラ属菌が検出された。401 株のレジオネラ属菌の血清群別の結果は、Lp1 が 82 株（20.4%）と最も多かった。SBT により、Lp1 であった 82 株は 44 の遺伝子型に分類された。当所保存 Lp1 株（患者由来 26 株、浴用施設由来 53 株、冷却塔由来 5 株、シャワー水由来 3 株）と遺伝子型を比較した結果、患者由来 9 株が水たまり由来株のみと同じ遺伝子型であった。これらの株に感染した患者は、感染源不明の散発事例が多く、感染源として水たまりが関連している可能性が示唆された。［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．レジオネラ属菌遺伝子迅速検査法の評価

レジオネラ属菌遺伝子迅速検査法の標準化に向けた基礎的データを得るため、現在市販されている迅速検査キット（生菌と死菌の両方を検出する qPCR 法と LAMP 法）及び生菌迅速検査キット（生菌特異的検査法として新規に開発された LC EMA-qPCR 法）の 3 法について、浴槽水等の実試料を用い、平板培養法に対する感度、特異度等の評価を行った。新規 qPCR キット（＋DNA 簡易熱抽出試薬、5 CFU/100ml カットオフ値）、LAMP 法,平板培養法（10 CFU/100ml カットオフ値）の比較で、いずれも感度 100%、特異度 53.8%～57.0%であった。生菌迅速検査キット（LC EMA-qPCR 法、1 CFU/100ml カットオフ値）を定性試験として評価した場合、平板培養法に対する感度は 97.4%、特異度は 80.6%であった。すなわち、消毒が義務付けられている循環式浴槽においては、生菌迅速検査キットは平板培養法の代替も可能と考えられた。各遺伝子検査法の特徴を理解し、目的に応じて使い分ければ、培養法よりも迅速に結果を得ることが可能で、併用も容易と考えられた。［烏谷 竜哉（愛媛県立衛生環境研究所）、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）、山口 友美（宮城県保健環境センター）、武藤 千恵子（東京都健康安全研究センター）、金谷 潤一（富山県衛生研究所）、泉山 信司、八木田 健司（寄生動物部）、倉文明］

（3）浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア．種々の温泉水におけるモノクロラミン消毒効果と高濃度洗浄の検証

種々の成分を含む温泉源泉水におけるモノクロラミンと遊離塩素の濃度安定性を調べた。安定性は、⊖遊離塩素の濃度が著しく減少するが、モノクロラミンでは濃度が安定、⊖遊離塩素よりは失活が少ないものの、モノクロ

ラミンでも濃度減少、⊛遊離塩素、モノクロラミンのどちらも大幅な濃度減少、に大別できた。少量の試料を用いて試験することで、本消毒法の現場への適合性の事前試験と、採用判断が適切かつ簡便に進むと考えられた。モノクロラミン添加試験より、濃度安定性源泉水の施設、モノクロラミン濃度の減少がみられた源泉水の施設、および中性域（pH 7.3）の井水の沸かし湯を使用する施設の、計 3 ヶ所を選出した。これら施設において、浴槽水のモノクロラミン濃度（3 mg/L）を維持する 4 週間以上の実証試験を行なった。その結果、いずれの浴槽水中からもレジオネラやアメーバの検出はなく、塩素消毒臭の原因であるトリクロラミン、消毒副生成物の生成も少なかった。今年度の成果として新たに、モノクロラミン濃度の減少が見られる泉質、中性域の井水の沸かし湯への、モノクロラミンの高い消毒効果と安全性が確認された。浴槽水の配管洗浄方法として、高濃度モノクロラミン（20 mg/L 程度）による循環殺菌が効果的であることが、ろ過器逆洗水やヘヤーキャッチャ接続配管内面拭き取りの検査から示された。これまでの結果から、循環式浴槽水へモノクロラミン消毒法を導入するのに必要な衛生管理手法は確立されたと考える。今後、遊離塩素消毒が困難な現場施設へのモノクロラミン消毒法の早急な導入・普及が望まれる。

［縣 邦雄（アクアス株式会社）、神野透人（国立医薬品食品衛生研究所）、八木田健司（寄生動物部）、杉山寛治（株式会社マルマ）、小坂浩司（国立保健医療科学院）、泉山信司（寄生動物部）、長岡宏美（静岡県環境衛生科学研究所）、片山富士男（静岡市保健所）、和田裕久、富田敦子（静岡市環境保健研究所）、江口大介、市村祐二（ケイ・アイ化成株式会社）、倉文明］

イ． アンモニウムイオン、ヨウ化物イオン等が塩素剤の安定性に与える影響

遊離塩素消毒が効きにくい泉質での代替消毒薬として、モノクロラミンが提案されている。ただし、モノクロラミンは高 pH の温泉や井戸水の消毒に有効であることがこれまでの研究で示されたが、全ての温泉に適用可能であるかは定かではない。塩素消毒に影響するとされるアンモニア態窒素、ヨウ化物イオン、臭化物イオン、フミン酸、硫黄、鉄イオンを選び、これら因子がモノクロラミンに与える影響を確認した。各因子と混合した遊離塩素とモノクロラミンの濃度の推移を、それぞれ DPD 法、インドフェノール法で測定した。モノクロラミンへの影響がほとんど見られなかったのは、アンモニア態窒素とフミン酸であった。鉄イオンは、遊離塩素だけではなく、モノクロラミンへの影響が見られたが、添加直後の消失はモノクロラミンのほうが影響は小さい傾向が見られたため、濃度管理を行う上ではモノクロラミンが有利と考えられた。ヨウ化物イオンは、遊離塩素のほうが影響は小さく優位性を示しているように見えたが、ヨウ化物イオンが DPD 法に影響を及ぼすことから正しい濃度を測定できていない可能性が示唆された。臭化物イオンは反応速度が遅かったが、ヨウ化物イオンと同様の傾向であった。換言すると、ヨウ化物イオンと臭化物イオンが存在する泉質では、正しい遊離塩素消毒と濃度測定ができていない恐れが考えられた。硫黄はいずれの消毒でも、添加直後に急速な塩素の消失が確認された。塩素の消費後は、濃度は安定した。以上の結果から、モノクロラミンに対しても影響を与える成分が存在することが確認できた。しかし、遊離塩素より反応の遅い泉質では、遊離塩素よりモノクロラミン濃度の維持がしやすいと考えられ、遊離塩素処理に苦慮する施設への適用を試みたいと考えている。

［縣 邦雄（アクアス株式会社）、青木信和、市村祐二、江口大介（ケイ・アイ化成株式会社）、杉山寛治（株式会社マルマ）、泉山信司（寄生動物部）、小坂浩司（国立保健医療科学院）、片山富士男（静岡市保健所）、和田裕久、富田敦子（静岡市環境保健研究所）、倉文明］

3. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

感染症法の改正により、これまでに「髄膜炎菌性髄膜炎」による髄膜炎症状のみの届出基準から、本年度からは「侵襲性髄膜炎菌感染症」として敗血症症例も届出基準に追加され、それに伴った報告例の増加が認められた。具体的には昨年度は 15 例であった報告数が今年度は 38 例にまで増加した。それに伴って昨年度 1 年間に感染研に収集された株は 3 株のみであったが、本年度は 11 株が収集された。その 11 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 Y 群 9 株、B 群、及び C 群が一株ずつであった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 株が 5 株、ST-1655 株が 4 株で、ST-23 と ST-1655 は 1 塩基違いであり、血清群 Y の 9 株全てが ST-23 complex として同定された。血清群 B の株は ST-10808、血清群 C の株は ST−11 であった。今年度の分離株の中では血清群 B の ST-10808 の株が注目される。この ST は新規の遺伝子型であり、本解析により新たに検出された遺伝子型である。この株は沖縄での症例から分離された。沖縄では過去の疫学解析から通常本

州で単離される遺伝子型とは異なった、希有な遺伝子型の株が分離されるケースが認められ、ヒトーヒト感染によって拡大する髄膜炎菌が地理的条件によって分布が異なることを強く示唆する結果があると考えられる。また、今回は圧倒的に Y 群、ST-23 complex の臨床分離株が多く認められた。このことから、日本では「Y 群、ST-23 complex」の株が多く分布する可能性が考えられた。一方で、38 の症例報告中の 11 株しか回収出来ていないことから、今後も菌株回収の努力を続けるとともに、より積極的な起炎株の回収方策を何か講じる必要性も感じられた。来年度からも敗血症症例をも含めた「侵襲性髄膜炎菌感染症」の報告例が多いことが予想され、引き続き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) 検査法に関する研究

ア　咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康保菌者の調査

昨年度は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、その方法を確立した。しかし、研究費削減により調査におけるコスト削減を余儀なくされたため、本年度はこの方法を栄研化学のキットを用いない、Bst DNA ポリメラーゼを単独で用いる方法で実施出来る条件を検討した。その結果、0.5mM の Mn^{2+}イオン存在下で 25mM のカルセインを加えた条件下であれば、*ctrB* 遺伝子をターゲット遺伝子として反応液中に 1pg のゲノム DNA があれば検出出来るようになった。以上の手法により検出コストを 1/10 以下に削減することが可能となり、ウガイ液からの髄膜炎菌 DNA の大規模な検出調査が実施可能となった。来年度から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を実際に調査する予定である。[高橋英之、大西真]

(3) 病原機構に関する研究

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 RNA seq による転写制御、及び TMT ラベリングによる翻訳後制御の網羅的解析

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、翻訳制御を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 及び全タンパク質を回収して RNA-seq による遺伝子発現差異及び TMT ラベリングによるタンパク質発現差異を解析した。その結果、3 倍を超える発現差異は RNA 及びタンパクレベルで殆ど認められず、髄膜炎菌の感染時における発現変化は大きくない事が強く示唆された。この結果から 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は細菌側に及ぼす影響ではなく、宿主細胞への影響である可能性が考えられた。現在、髄膜炎菌の感染時の環境内グルタミン酸の取り込み効率と宿主細胞への侵入効率の相関性に関してさらに解析を進めている。[高橋英之、大西真（感染研）、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ）、柳沢達男、横山茂之（理研）]

イ　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。これまでに本研究所保有の髄膜炎菌(n=447)における尿道炎由来髄膜炎菌(n=15)では、MLST 型 23 に属する株が優位に分離されることを示した。更に、MLST 型 23 に属する尿道炎由来 9 株、非尿道炎由来 13 株における HeLa 細胞へ対する免疫染色法による細胞接着能の確認では、尿道炎由来株の 77.8%、非尿道炎由来の 23.1%が高接着型であることを示し、尿道炎由来株が有意に HeLa 細胞へ接着出来ることも明らかにしてきた。本年度は、主に ST23 に属する尿道炎由来髄膜炎菌の HeLa 細胞接着に関与する菌側の責任因子の探索を行った。はじめに髄膜炎菌の宿主細胞に対する主な接着因子として知られている PilE、Opa、Opc の HeLa 細胞に対する接着能の確認を行った。HeLa 細胞に対して高接着型を示す 2 株(NIID455、NIID459)についてこれらの欠失株を用いた、HeLa 細胞に対する細胞接着能の確認を行ったところ、NIID455 株の *opc* 欠失株において野生型と比較して約 80%の細胞接着能の低下がみられた。また、この相補株では野生型と同程度の細胞接着能の回復が見られた。以上より、尿道炎由来髄膜炎菌の一部の株における HeLa 細胞接着に関与する因子として *opc* が関与していることが示された。また、MLST 型 23 に属する株において HeLa 細胞へ対して低接着型及び高接着型を示すそれぞれ 5 株について、Western Blotting による Opc の発現を確認したところ、低接着型及では 1 株、高接着型では 4 株においてタンパク質の発現が確認された。

(志牟田　健、高橋　英之、大西　真)

III. ボレリアならびにレプトスピラ感染症に関する研究

1. ボレリア感染症に関する研究

(1) ボレリア感染症の疫学研究

ア新興回帰熱感染例の遡及調査

ライム病もしくはライム病疑い患者血清を材料とし，新興回帰熱感染例の遡及調査を行い，二例が新興回帰熱の単独感染もしくはライム病ボレリアとの重複感染であることを明らかにした．このことは国内において，回帰熱（ボレリア・ミヤモトイ感染症）が潜在し，健康被害が生じていることを示している.［川端寛樹，佐藤梢，大西真（細菌第一部），高野愛（山口大学），中尾稔（旭川医科大学），伊東拓也（北海道立衛生研究所），今内覚（北海道大学），小山幸次郎（国保雄武病院），兼古稔（上富良野町立病院)］

イ　マダニの新興回帰熱病原体保有調査

ボレリア・ミヤモトイの感染経路特定のため，北海道を中心にマダニの本ボレリア保有調査を行った．マダニ4345頭からリアルタイム PCR によりボレリア・ミヤモトイゲノム検出を試み、*Ixodes persulcatus* (陽性率 2%), *I. pavlovskyi* (同 4.3%)が主な媒介ダニであることを明らかにした．[川端寛樹，佐藤梢，大西真（細菌第一部），高野愛（山口大学），中尾稔（旭川医科大学），伊東拓也（北海道立衛生研究所），今内覚（北海道大学）］

(2) ボレリア感染症の病原機構に関する研究

ア　新興回帰熱病原体のマウス感染モデルの検討

ボレリア・ミヤモトイ感染におけるヒト病態解析および菌の病原性解析を目的として，マウス感染モデルの検討を行った．*B. miyamotoi* 接種 C57BL/6J マウスでは，菌血症が観察されるとともに肝臓や脾臓に菌の集積が認められた．また，一部のクローン化株では上記感染像が見られなかったことから，今後，比較ゲノム解析によりその違いを調べて行く予定である.［川端寛樹，佐藤梢，大西真（細菌第一部），高野愛（山口大学），松村隆之，阿戸学（免疫部），長谷川秀樹（感染病理部），林哲也（宮崎大学）］

2. レストスピラ症に関する研究

(1) レプトスピラ症疫学研究

ア　フィリピン・マニラの洪水後のアウトブレイク調査

2013年8月の台風とそれに伴う洪水後のレプトスピラ症アウトブレイク調査をサンラザロ病院で行った．232 名のレプトスピラ症疑い患者のうち実験室診断により 128 名のレプトスピラ症が確定した．患者分離株はドブネズミ分離株と血清学的，遺伝的に同一で本動物が重要な保菌動物であることが明らかとなった．また従来法と比較して LigA-IgM ELISA の有用性を明らかにした.［小泉信夫，大西真（細菌第一部），北庄司絵美，鈴木基，有吉紅也（長崎大熱研），Lacuesta TL, Dimaano EM, Villarama JB (San Lazaro Hospital)］

イ　ベトナム北部のレプトスピラ症疫学研究

タインホア地域の熱源不明の発熱患者の 20%からレプトスピラ特異的 IgM が検出され，9%の患者血液からレプトスピラ DNA が検出された．また同地域の健常人の 49%からレプトスピラ特異的 IgG が検出され，農業従事者におけるレプトスピラ感染の蔓延が明らかとなった.[小泉信夫，大西真（細菌第一部），Hoang Thi Thu Ha (NIHE)］

ウ　台湾の小型哺乳動物から分離されたレプトスピラの解析

台湾の小型哺乳動物から分離されたレプトスピラ 20 株の性状解析を行った．*flaB* 部分塩基配列決定および標準抗血清との反応性から，分離株は *L. borgpetersenii* serogroup Javanica および *L interrogans* serogroup Australis および Bataviae と同定された（血清群未同定1株）．Multiple locus variable-number tandem repeats analysis（MLVA）による *L. interrogans* 分離株の分子タイピングによって，Bataviae はフィリピン，ベトナム株と遺伝的に同一であり，Australis は沖縄県の患者から分離された株と近縁であることが明らかとなった.[小泉信夫，大西真（細菌第一部），Jung-Jung Mu (TCDC)］

エ　国内の各種動物におけるレプトスピラ保有状況調査

11都府県36頭のレプトスピラ症疑いイヌのうち3頭からレプトスピラが分離され，*L. interrogans* serogroup Australis（1 頭）および Hebdomadis（2 頭）と同定された．宮城県および東京都のドブネズミから *L. interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae が分離された（分離率：宮城県 67%，東京都 60%）．［小泉信夫，大西真（細菌第一部），小松謙之（シー・アイ・シー)］

(2)　病原機構解明に関する研究

ア　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致死を引き起こす強毒株 UP-MMC-NIID，致死を引き起こすことができない弱毒株 OP84 を接種した結果,強毒株接種ハムスターでは，腎臓，肝臓，肺臓いずれの臓器においても弱毒株接種ハムスターよりも顕著な症状が観察された.また，強毒株，弱毒株接種いずれのハムスターにおいても，血液および肝臓では感染後 48，72，96 時間，腎臓および肺臓では感染後96時間でレプトスピラDNAが検出されたが，肺臓を除く臓器におけるレプトスピラ DNA 量は強毒株接種ハムスターで有意に多かった．レプトスピラ接種により，全ての臓器で炎症性サイトカイン遺伝子の発現量増加が見られたが,感染後 96 時間の肝臓では *ip-10* および *il1β*,腎臓では *il6* の発現量が弱毒株接種ハムスターに比べ強毒株接種ハムスターで有意に高かった．これらの結果から，各臓器における障害と炎症性サイトカインの過剰発現が，UP-MMC-NIID 株のハムスターに対する強毒性に寄与している可能性が示唆された.［小泉信夫，大西真（細菌第一部）藤田理恵（東京農工大学）］

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) 菌株の多様性と薬剤耐性に関する解析
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。昨年度報告のように、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 測定を行い、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、などを明らかにしていたが。今回、2011 年分離 ST1407 型株中に国内では現時点では多くない、アジスロマイシン耐性株 MIC=16 μg/ml の株を２株発見し、それらと他の１株、MIC=8 μg/ml、ST6762、計３株が 23S rRNA の４座位ともに C2611T 変異を有することを明らかにし、報告した[中山周一、高山美子*、志牟田健、大西真]（*：東京保健会病態生理研究所細菌検査室）

イ セフトリアキソン耐性淋菌の強化サーベイランス
2010-2012年に京都府と大阪府の淋菌感染症疑いの患者より分離同定された淋菌193株の分子タイピングの結果より、第三世代セファロスポリン剤に対する非感受性株が、MLST型1901、7363、7819の3つの系統に属する株に多くみられた。このことより、近年におけるこれら薬剤に対する非感受性株拡大の一部はこれらMLST型に属する株によるクローナルな現象であることが示唆された。また、高度セフトリアキソン耐性淋菌はH041株以外に2010年にフランスで同定されたF89株が報告されており、H041と同様に そのセフトリアキソン耐性化の寄与に *penA*遺伝子の変異が大きく関与していることが示されている。本調査では、F89株は同定されなかった。しかし、セフトリアキソンに対して非感受性を示した19株のうち、F89株と同様のMLST型1901並びにNG-MAST型1407(世界中の多剤耐性淋菌株の多くにみられる)を示し、かつ*penA*XXXIV遺伝子、またはその派生した*penA*遺伝子を保持した株が11株確認された。これらの株の*penA*遺伝子の１塩基置換のみで、F89株様*penA*遺伝子の出現を可能にすることより、今後、本邦においてもH041株同様にこれらの株の拡散に対しても十分な注意が必要であることを示した。(志牟田　健、中山　周一、石原朋子、大西　真)

ウ 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス
2013 年 4 月から 2014 年 3 月の間に、京都市内 2 ヶ所および大阪府内 3 ヶ所のクリニックより送付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 212 株について penicillin G、cefixime、ceftriaxone、ciprofloxacin、azithromycin、spectinomycin に対する MIC 測定を実施した。その結果、それぞれ上記の薬剤に対して 0.9%、26.8%、78.0%、14.9%、73.5%、100%が感受性株であった。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株は分離されなかった。[石原朋子、中山周一、志牟田健、飛田収一(飛田病院)、伊東三喜雄(伊東泌尿器科)、石川和弘(京都市衛生環境研究所)、古林敬一(そねざき古林診療所)、亀岡博(亀岡クリニック)、川畑拓也（大阪府立公衆衛生研究所)、安本亮二(安本クリニック)、大西真]

エ 日本におけるazithromycin治療失敗例由来株の解析
Azithromycin 2g による治療失敗例由来株について、治

療前後 4 株の解析を行った。薬剤感受性試験の結果、すべての菌株が azithromycin および ciprofloxacin に耐性を示した。23SrRNA 遺伝子においては C2599T 変異を含み、また mtrR プロモーター領域に 1 塩基欠失の変異が見いだされた。分子タイピングの結果、すべての菌株が MLST ST1901/NG-MAST ST1407 を示し、うち 3 株においては MLVA パターンが一致した。今後、このような菌株の広がりに注視するとともに、azithromycin の適切な使用を促すことが重要である。［石原朋子、古林敬一(そねざき古林診療所)、志牟田健、中山周一、杉井麻耶（北里大学）、大西真］

2. 梅毒トレポネーマに関する研究

(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

昨年度に引き続き、２つの STI クリニック（今年度途中より１クリニックが追加参加）と共同で、皮膚病変が有り、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。

2013 年 4 月～2014 年 3 月間での 21 の PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 15 例で、このうち 12 例は海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 11d/f、14d/g、14e/f がそれぞれ 1 例ずつであった、今年度は日本国内では世界的にも最頻の 14d/f が圧倒的多数、80%であった。[中山周一、井戸田一朗*、本郷偉元**、大西真]（＊：しらかば診療所、**: 武蔵野赤十字病院感染症科）

イ　マクロライド耐性型 23S rRNA 変異を持つ梅毒トレポネーマ国内初の検出

前項で述べた 14d/g タイプはアメリカ、シアトル市においては特に MSM 間で 2008 年以降、14d/f を凌駕し、最頻型となっておりマクロライド耐性型変異保持と強くリンクしている。ロンドンでも解析検体数は少ないが、14d/g、耐性型 23S rRNA 変異が多いとの報告が有り、注目されている型である、前項で既術のように我々はこれまでに１検体のみ 14d/g を検出したが、これについて 23S rRNA２座位の塩基配列を決定したところ、両座位ともで耐性型の A2058G 変異を有していた。今後他の検体でも同変異の分布を検討する予定である。

アジスロマイシン等のマクロライド系薬剤は現在アメリカを含め、梅毒治療の第一選択推奨薬とはされていないが、ペニシリンアレルギー患者の場合の魅力的なオルターナティブである、今後、国内での耐性型変異梅毒トレポネーマ分布状況の把握が重要と考えられる、

(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 検出系の評価を行っている。

今年度は、39 件の疑い症例を検討し、21 例で PCR 陽性結果を得た。18 例の陰性群中で血清学的には梅毒と診断されたものは 8 例で、そのうち 2 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。他の 6 例については従来の評価通り病原体診断が血清抗体診断に対して総合的な感度では劣ることを再確認した例と考えられる。21 例の PCR 陽性のうち 6 例では検体採取時の血清抗体は陰性であり、昨年に引き続き抗体陽転前の PCR による迅速診断の有用性が示された諸例と考える。これらのことから、PCR 法が特に血清抗体陽転前の皮膚病変からの早期病原体診断、従って早期治療に資する検査法、として非常に有用であることを補強できたと考える。[中山周一、井戸田一朗*、本郷偉元**、大西真]（＊：しらかば診療所、**: 武蔵野赤十字病院感染症科）

Ⅴ 口腔内細菌に関する研究

1. う蝕原因菌に関する研究

（1）バイオフィルム形成機構に関する研究

ア　*Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成を抑制する小豆成分の同定

昨年度に引き続き本研究を行った。*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。この小豆成分の同定を行った。その結果、7S グリブリンであることが確定された。この 7S グロブリンは、Competence Stimulating Peptide (CSP)の活性であるバクテリオシン活性も抑制した。それらの抑制活性は、大豆の 7S グロブリンよりも高いことが明らかとなった。

［泉福英信、荒井俊明、大西　真］

イ　*Streptococcus mutans* の病原性発現に関わるアミロイドの検討

口腔バイオフィルム形成に菌体表層アミロイドが関与する可能性が高く、本研究ではバイオフィルム形成にお

けるアミロイドの関わりについて検討を行った。SMU574 変異株はコロニーの表面にアミロイドが認められた。他の株では認めることができなかった。しかし、SMU574 変異株は、バイオフィルム形成が親株と同程度であった。このことは、アミロイド形成が必ずしもバイオフィルム形成にかかわっていないことを示唆している。一方、SMU482 変異株は、アミロイド形成とバイオフィルム形成の両方の上昇が認められた。

SMU482 と SMU574 の変異株は、それぞれ異なったアミロイド形成とバイオフィルム形成との関係性が示された。これは、アミロイドが直接バイオフィルム形成に関与しているのではなく、凝集のような他の現象に関与し、それが培地などの様々な条件で凝集性の違いが現れ、それらがバイオフィルム形成に異なった影響を与えていることが考えられた。

［泉福英信、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。その凝集性は、蛋白質レベルでグルカン結合蛋白質（GbpC）の発現量の上昇と関連していることが明らになった。遺伝子レベルでもその発現量の上昇が認められた。よって、SMU940 は、*gbpC* の発現量を調節し、菌凝集を制御していることが明らかとなった。この凝集性は Extra cellular DNA の関与がないことから、バイオフィルム形成に影響を与えないことが考えられた。

［鈴木奈央未、成澤直規、落合邦康（日本大学歯学部）、泉福英信］

エ　Extracellular DNA に依存した *Streptococcus mutans* バイオフィルム形成における非水溶性グルカンの役割

う蝕原性細菌である *S. mutans* の *sunL* は、*sunL* の下流の *pknB* と *pppL* の発現に影響し、extracellular DNA（eDNA）の放出の調節、eDNA 依存バイオフィルム形成に関わることが明らかとなった。この *S. mutans* UA159.*sunL* 変異株は、非水溶性グルカン産生に寄与する酵素 GTFI をコードする遺伝子 *gtfB* および *gtfC* の発現の上昇、水溶性グルカン産生に寄与する酵素 GTFS をコードする *gtfD* の発現の下降が起こっていた。これは、非水溶性グルカンの産生量と水溶性グルカンの産生量の比率が変り、非水溶性グルカンが優位になることを示している。glucose の含まれた Toryptic soy broth（TSB）存在下で培養すると、TSB に少量のスクロースが存在しているため、非水溶性グルカンの比率の高い環境ができ、それが eDNA 依存バイオフィルム形成に影響していることが考えられた。

［泉福英信、大西　真］

オ　流れのある環境における酪酸による *Actinomyces naeslundii* バイオフィルム形成

A. naeslundii X600 は、96 穴マイクロタイタープレートを用いたバイオフィルム形成実験において、6 mM の酪酸添加によりバイオフィルム形成の上昇が認められた。実際の口腔の状態により近づけるために、流れのある環境でこのバイオフィルム形成実験を行った。その結果、6 mM ではバイオフィルムが形成されず、60 mM の酪酸でバイオフィルムが形成された。この理由は、低 pH の環境が必要であることが考えられた。しかし、塩酸で調整した同じ低 pH 環境の培地では、バイオフィルムが形成されなかった。pH7.0 の 60 mM 酪酸ナトリウムを塩酸で pH4.7 に調節すると、バイオフィルムが形成されるようになった。よって、流れのある環境における *A. naeslundii* バイオフィルム形成には、酪酸と低 pH.環境が必要であることが明らかとなった。

［泉福英信、荒井俊明、大西　真］

カ　マウス口腔における *Candida albicans* のバイオフィルム形成実験

ヒト口腔には、年齢とともに *C. albicans* の感染が見られるようになってくる。この *C. albicans* の出現が、口腔の健康な微生物叢が破壊されていく指標として考えられている。高齢者は唾液分泌量が低下していることが多い。そこで唾液分泌低下モデルである NOD/SCID.*e2f*-マウスに *C. albicans* を接種して、*C. albicans* のバイオフィルムが形成されるか検討を行った。その結果、バイオフィルムは唾液の分泌低下に関係なく *C. albicans* の連続接種で形成されるようになること、また約 3 日のインターバルを置いて連続接種すると著しくバイオフィルムが形成されることが明らかとなった。組織切片で舌を観察すると、バイオフィルムは形成されているものの、菌糸形成や組織侵入は認められなかった。*C. albicans* の口腔への定着および病原性の発揮に連続接種が必要であることが明らかとなった。

［泉福英信、木下陽介、大西　真］

2. 歯周病、および歯周病原細菌に関する研究

(1)　*Porphyromonas gingivalis* の病原機構に関する研究

ア　二次元電気泳動による *Porphyromonas gingivalis* 外膜

ヴェシクル（OMV）のプロファイリング

歯周病原細菌 *P. gingivalis* の OMV を二次元電気泳動により分離した。比較対象に用いた *P. gingivalis* 由来外膜タンパクは二次元マップ上で大方偏ることなく分布するが、OMV 由来のスポットは多くが低 pH 領域に分布した。狭域低 pH 領域のゲルを一次元目で用いると、分解能があがり計 52 スポットが LC-MS/MS により同定された。また、ポリプロテインである RgpA や Kgp の各ドメインレベルでの同定が可能となった。[中尾龍馬、白東英、伊藤昭博（理研）、吉田稔（理研）、泉福英信]

(2)　*Porphyromonas gingivalis* 感染症予防･治療に関する研究

ア *Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェシクル（OMV）のイムノプロテオーム解析

P. gingivalis の OMV をマウスに経鼻免疫すると全身に菌特異的抗体が誘導される。このマウス血清の免疫反応プロファイルを二次元電気泳動とウエスタンブロットで明らかにした。調べた 6 つの異なるマウス血清は LPS、Rgps、Kgp、MfaI 等に反応した。また、免疫マウス血清を LPS で吸収すると、ウエスタンブロットのシグナルが著しく減じたことから、LPS 抗体または A-LPS 修飾タンパクに対する抗体が優勢となっていることが明らかとなった。[白東英、中尾龍馬、尾花望、泉福英信]

イ　食品由来物質による *P. gingivalis* に対する生物学的効果の検討

様々な食品由来物質の *P. gingivalis* の生育やバイオフィルム形成に対する効果を検討した。その結果、カレーリーフ、プロポリス、イカリソウに増殖抑制効果が認められた。特にプロポリスとイカリソウは *P. gingivalis* に対して殺菌的に作用し、生育を阻害することが明らかとなった。さらに、イカリソウについてはバイオフィルム形成阻害効果もみられた。これら食品由来物質を用いた歯周病の予防や治療への応用が期待される。[中尾龍馬、吉益由莉、古川壮一（日本大学）、狩生徹(尚絅大学)、池田剛(崇城大学)、大西真、泉福英信]

3 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

歯科医療は、患者との近接、唾液血液の飛び散りなどから病原体に曝されるリスクが高いためスタンダードプレコーションを徹底して行う必要がある。しかしスタンダードプレコーションの理解率は、低いままである。そのため、現在までの研究成果により構築された院内感染防止プログラムをさらに発展いかに普及させていくかが研究課題である。そこで、院内感染対策を普及するためにどのようなシステム作りをすればよいか検討を行った。各都道府県の歯科医師会所属院内感染対策普及ならびに HIV 感染者の歯科治療を行うネットワーク事業の担当者を集めシンポジウム開催し、相互討論会を開催した。その結果、各地区で行っている事業の成果や研究事業の成果を合わて討論する機会や連携する機会を増やすことにより相互間の理解が深まり院内感染対策の普及が進むことが明らかとなった。このような情報を書籍化して発行する準備を進めている。

［泉福英信、多田章夫（兵庫大学）］

レファレンス業務

I. 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]

II. レジオネラ症に関するレファレンス業務

ア. 菌株の受け入れ

平成 25 年度は、臨床分離株 48 株、環境分離株 134 株の合計 182 株を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 42 株、Lp SG3 の 2 株、Lp SG2 と Lp SG12 と Lp SG14 と *L. dumoffii* の各 1 株であった。浴槽で溺水 2 事例 4 株（Lp SG1 と *L. dumoffii*、Lp SG3 と Lp SG14）、冷却塔による院内感染事例 1 株、温泉で集団感染 1 事例 2 株、高圧洗浄機による感染疑い事例 1 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 55 株、Lp SG3 の 47 株、Lp SG6 の 4 株、Lp SG5 の 2 株、Lp untypable の 2 株、Lp 以外では *L. anisa* 12 株、*L. bozemanae* 6 株、*L. busanensis* 3 株、*L. sainthelensi* と *Legionella* spp. 2 株であった。この環境分離株中には、まれな環境水等由来株（噴水・修景水 7 株、復水器関連の拭い 7 株、道路の水溜まり 6 株、シャワー水・拭い 6 株、水道水及び拭い・ホース拭い 6 株、水槽水 2 株の合計 34 株）、症例調査に関連した株（10 株）を含んだ。なお、

収集された株は､必ずしも平成 25 年度に分離された株ではない。[倉　文明、前川純子、大西　真]

イ．　市販されていないレジオネラ免疫血清の作製と配布

レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合(2~15 群) 、レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合 1 (2, 3, 6, 12, 14 群)、レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合 2 (4, 5, 9, 10, 15 群)、レジオネラ免疫血清ニューモフィラ混合 3 (7, 8, 11, 13 群)の 4 種類をデンカ生研に委託して作製し、特異性を感染研で検査して 6 支部センターに配布した。レジオネラ検査のための混合血清の配布は国内初である。新たに 1〜15 群を 3 つに分けて検査できるようにした。ニューモフィラ混合は、*L. lansingensis*、*L. quateriensis*、*L. worslensis* と交差反応し凝集させた。ニューモフィラ混合 1 は *L. lansingensis* を凝集させた。ニューモフィラ混合 2 は *L. quateriensis*、*L. worslensis* を凝集させた。[倉文明、前川純子、大西　真]

品質管理に関する業務

I. ４価髄膜炎菌ワクチンに関する検定検査業務
承認前検査の実施、SLP 導入のための書類整備を実施した。[川端寛樹、高橋英之]

II. 梅毒の体外診断薬の承認前検査
承認前検査を行ったものは１件､化学発光 EIA 法によるもので、標品は規格試験合格となった。　[中山周一]

国際協力関係業務

Ⅰ．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（H26 年 1 月当所)。[中山周一]

研修業務

I. 平成 25 年度希少感染症診断技術研修会＜その他重要なトピック＞「EHEC 検査法」 平成 26 年 2 月［石原朋子］

II. 地方衛生研究所　北海道・東北・新潟ブロックにおけるダニ媒介性感染症に関する研修会で新興回帰熱検査業務に関する講習を行った. 平成 25 年 10 月 10-11 日. 福島.[川端寛樹]

III. **Ⅲ. レジオネラ属菌に関する講習会**

1. 平成 25 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、国際的なレジオネラ症対策の動向について、都道府県等の公衆浴場等生活衛生関係技術担当職員等約 300 名に講演した。2014 年 3 月、東京都［倉　文明］

2. レジオネラと環境衛生研修（福岡市保健環境研究所）で、1 日目レジオネラ症総論、大規模レジオネラ症発生事例、レジオネラ検査法、レジオネラの衛生管理手法について講義し、2 日目森本　洋氏（北海道立衛生研究所）と培養検査法（斜光法）の研修を行なった。衛生研究所、保健所、衛生薬業センターの職員等が参加した。2 日目の培養法実習には福岡市、福岡県、北九州市、佐賀県、長崎県、熊本県市、宮崎県、沖縄県から合計 25 人の参加登録があった。2014 年 3 月、福岡市。[倉　文明]

その他

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Kutsuna S, Kawabata H, Takano A, Kasahara K. Imported relapsing fever, Japan. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2013. 89(3)：460-461.

2) Kawabata H, Takano A, Kadosaka T, Fujita H, Nitta Y, Gokuden M, Honda T, Tomida J, Kawamura Y, Masuzawa T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Andoh M, Ando S, Sato K, Takahashi H, Ohnishi M. Multilocus sequence typing and DNA similarity analysis implicates that a *Borrelia valaisiana*-related sp. isolated in Japan is distinguishable from European *B. valaisiana*. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(9)：1201-1207.

3) Inokuma S, Maetani S, Fujitsuka J, Takano A, Sato K, Fukui T, Masuzawa T, Kawabata H. Astasia and Pyrexia Related to *Borrelia garinii* Infection in Two Dogs in Hokkaido, Japan. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(7)：975-978.

4) Taylor K, Takano A, Konnai S, Shimozuru M, Kawabata H, Tsubota T. Differential tick burdens may explain differential *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii* infection rates among four, wild, rodent species in Hokkaido, Japan. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(6)：785-790.

5) Yamauchi T, Satô M, Ito T, Fujita H, Takada N, Kawabata H, Ando S, Sakata A, Takano A. Survey of tick fauna and tick-borne pathogenic bacteria in Rishiri Island, off north Hokkaido, Japan. International Journal of Acarology. 2013. 39(1), 3-6.

6) Motoi Y, Asano M, Inokuma H, Ando S, Kawabata H, Takano A, Suzuki M. Detection of *Rickettsia tamurae* DNA in ticks and wild boar (*Sus scrofa* leucomystax) skins in Shimane Prefecture, Japan. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(3), 263-267.

7) Murase Y, Konnai S, Githaka N, Hideno A, Taylor K, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Tsubota T, Murata S, Ohashi K. Prevalence of Lyme borrelia in *Ixodes persulcatus* ticks from an area with a confirmed case of Lyme disease. Journal of Veterinary Medical Science. 2013. 75(2), 215-218.

8) Taylor K, Takano A, Shimotsuru, Konnai S, Kawabata H, Tsubota T. *Borrelia miyamotoi* infections among wild rodents show age and month independence and correlation with *Ixodes persulcatus* larval attachment in Hokkaido, Japan. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 2013. 13(2), 92-97.

9) Ohashi N, Gaowa, Wurito, 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. Human grabulocytic anaplasmosis in Japan. Emerging Infectious Diseases. 2013. 19(2), 289-292.

10) Gaowa, Ohashi N, Aochi M, Wurito, Wu D, Yoshikawa Y, Kawamori F, Honda T, Fujita H, Takada N, Oikawa Y, Kawabata H, Ando S, Kishimoto T. Rickettsia-related pathogens in ticks, central to western Japan. Emerging Infectious Diseases. 2013. 19(2), 338-340.

11) Shimuta K, Unemo M, Nakayama S, Morita-Ishihara T, Dorin M, Kawabata T, Ohnishi M. Antimicrobial resistance and molecular typing of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Kyoto and Osaka, Japan in 2010-2012: Intensified surveillance after identification of the first strain (H041) with high-level ceftriaxone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 57:5225-5232. 2013.

12) McMillan DJ, Drèze P, Vu T, Bessen DE, Guglielmini J, Steer AC, Carapetis JR, Melderen LV, Sriprakash KS, Smeesters PR, The M Protein Study Group. Updated model of group A *Streptococcus* M proteins based on a comprehensive worldwide study. Clin Microbiol Infect 19 (5): E222-E229, 2013.

13) Sudo N, Soma A, Muto A, Iyoda S, Suh M, Kurihara N, Abe H, Tobe T, Ogura Y, Hayashi T, Kurokawa K, Ohnishi M, Sekine Y. A novel small regulatory RNA enhances cell motility in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J Gen Appl Microbiol. 2014; 60: 44-50.

14) Yamamoto S, Mitobe J, Ishikawa T, Wai SN, Ohnishi M, Watanabe H, Izumiya H. Regulation of natural competence by the orphan two-component system sensor kinase ChiS involves a non-canonical transmembrane regulator in *Vibrio cholerae*. Mol Microbiol 2014, 91:326-347

15) Sumiyama D, Izumiya H, Kanazawa T, Murata K. *Salmonella* infection in green, anoles (*Anolis carolinensis*), an invasive alien species on Chichi Island of the, Ogasawara archipelago in Japan. J Vet Med Sci. 2014 Mar;76(3):461-5.

16) Chiou CS, Izumiya H, Thong KL, Larsson JT, Liang SY, Kim J, Koh XP. A simple approach to obtain comparable *Shigella sonnei* MLVA results across laboratories. Int J Med Microbiol. 2013 Dec;303(8):678-84.

17) Mather AE, Reid SW, Maskell DJ, Parkhill J, Fookes MC, Harris SR, Brown DJ, Coia JE, Mulvey MR, Gilmour MW, Petrovska L, de Pinna E, Kuroda M, Akiba M, Izumiya H, Connor TR, Suchard MA, Lemey P, Mellor DJ, Haydon DT, Thomson NR. Distinguishable epidemics of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in different hosts. Science. 2013 Sep 27;341(6153):1514-7.

18) Larsson JT, Torpdahl M; MLVA working group (Izumiya H), Møller Nielsen E. Proof-of-concept study for successful inter-laboratory comparison of MLVA results. Euro Surveill. 2013 Aug 29;18(35):20566.

19) Nadon CA, Trees E, Ng LK, Møller Nielsen E, Reimer A, Maxwell N, Kubota KA, Gerner-Smidt P; MLVA Harmonization Working Group (Izumiya H). Development and application of MLVA methods as a tool for inter-laboratory surveillance. Euro Surveill. 2013 Aug 29;18(35):20565.

20) Izumiya H, Terajima J, Yamamoto S, Ohnishi M, Watanabe H, Kai A, Kurazono T, Taguchi M, Asai T, Akiba M, Matsumoto Y, Tamura Y. Genomic analysis of *Salmonella* enterica serovar Typhimurium definitive phage type 104. Emerg Infect Dis. 2013 May;19(5):823-5.

21) Morita M, Yamamoto S, Hiyoshi H, Kodama T, Okura M, Arakawa E, Alam M, Ohnishi M, Izumiya H, Watanabe

H. Horizontal gene transfer of a genetic island encoding a type III secretion system distributed in *Vibrio cholerae*. Microbiol Immunol. 2013, 57: 334-339.

22) Mawatari M, Kato Y, Hayakawa K, Morita M, Yamada K, Mezaki K, Kobayashi T, Fujiya Y, Kutsuna S, Takeshita N, Kanagawa S, Ohnishi M, Izumiya H, Ohmagari N. *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A carrying CTX-M-15 type extended-spectrum beta-lactamase isolated from a Japanese traveller returning from India, Japan, July 2013. Eurosurveillance. 2013, 18(46):pii=20632.

23) Tamura S, Taniguchi F, Nakamoto C, Nakamoto H, Arakawa E, Fukuchi T, Nakano Y, Fujimoto T. Fatal diarrheal disease caused by *Vibrio cholerae* O67 in a patient with myelodysplastic syndrome. Intern Med. 2013;52(14):1635-9.

24) Kiga, K., Mimuro, H., Suzuki, M., Shinozaki, A., Kobayashi, T., Sanada, T., Kim, M., Ogawa, M., Iwasaki, Y. W., Kayo, H., Fukuda-Yuzawa, Y., Yashiro, M., Fukayama, M., Fukao. T., Sasakawa, C. Epigenetic silencing of miR-210 increases the proliferation of gastric epithelium during chronic *Helicobacter pylori* infection. **Nat. Commun.** in press

25) Ikebe, T., Tominaga, K., Shima, T., Okuno, R., Kubota, H., Ogata, K., Chiba, K., Katsukawa, C., Ohya, H., Tada, Y., Okabe, N., Watanabe, H., Ogawa, M., Ohnishi, M., the Working Group For Beta-Hemolytic streptococci In Japan. Increased prevalence of group A *streptococcus* isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan from 2010-2012. **Epidemiol. Infect**. in press.

26) Harada-Hada, K., Harada, K., Kato, F., Hisatsune, J., Tanida, I., Ogawa, M., Asano, S., Sugai, M., Hirata M., Kanematsu. T. Phospholipase C-related catalytically inactive protein participates in the autophagic elimination of *Staphylococcus aureus* infecting mouse embryonic fibroblasts. **PLoS One**, 9: e98285. (2013)

27) Chang, SY., Lee, SN., Yang, JY., Kim, DW., Yoon, JH., Ko, HJ., Ogawa, M., Sasakawa, C. Kweon, MN. Autophagy controls an intrinsic host defense to bacteria by promoting epithelial cell survival: a murine model. **PLoS One**, 8:e81095. (2013)

28) Hifumi T, Fujishima S, Chang B, Sasaki J, Kiriu N, Kato H, Inoue J, Koido Y. Fatal overwhelming postsplenectomy infection caused by *Streptococcus pneumoniae* in mothers within 1 year after delivery: case report. J Infect Chemother 2013, 19:1202-1205.

29) Otsuka T, Chang B, Wada A, Okazaki M. Molecular epidemiology and serogroup 6 capsular gene evolution of pneumococcal carriage in a Japanese birth cohort study. J Med Microbio 2013, 62: 1868-1875.

30) Ueno M, Ishii Y, Tateda K, Anahara Y, Ebata A, Iida M, Mizuno F, Inamura S, Takahata K, Suzuki Y, Chang B, Wada A, Sugita M, Tanaka T, Nishiwaki Y. Changes in *Streptococcus pneumoniae* Serotypes in the Nasopharynx of Japanese Children after Inoculation with a Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine. Jpn J Infect Dis 2014, 67:40-43.

31) Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, 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. 2013. 19:644-652.

32) Kanatani JI, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M: Close genetic relationship between Legionella pneumophila serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads by sequence-based typing. Appl. Environ. Microbiol. 2013. 79:3959-3966.

33) Yamamoto K, Kato Y, Shindo T, Ujiie M, Takeshita N, Kanagawa S, Kunimatsu J, Tamori Y, Kano T, Okuno R, Takahashi H, Ohmagari N. Meningococcemia due to the 2000 Hajj-Associated Outbreak Strain (Serogroup W-135 ST-11) with Immunoreactive Complications. Jpn J. Infect Dis. 2013, 66 (5):443-445.

34) Gamage CD, Koizumi N, Perera CAK, Muto M, Nwafor-Okoli C, Ranasinghe S, Kularatne SAM, Rajapakse JRPV, Kanda K, Lee RB, Obayashi Y, Ohnishi M, Tamashiro H. Carrier status of leptospirosis among cattle in Sri Lanka: A zoonotic threat to public health. Transboundary Emerg Dis 2014, 61:91-6.

35) Mishima N, Tabuchi K, Kuroda T, Nakatani I, Lamaningao P, Miyake M, Kanda S, Koizumi N, Nishiyama T. The first case in Japan of severe human leptospirosis imported from Vietnam. Trop Med Health 2013, 41:171-6.

36) Widiyanti D, Koizumi N, Fukui T, Muslich L, Segawa T, Villanueva S, Saito M, Masuzawa T, Gloriani N, Yoshida S. Development of immunochromatography-based methods for detection of leptospiral lipopolysaccharide antigen in urine. Clin Vaccine Immunol 2013, 20: 683-90.

37) Koizumi N, Mizutani Muto M, Akachi S, Okano S, Yamamoto S, Horikawa K, Harada S, Funatsumaru S, Ohnishi M. Molecular and serological investigation of *Leptospira* and leptospirosis in dogs in Japan. J Med Microbiol 2013, 62: 630-6.

38) Yoneda S, Kawarai T, Narisawa N, Tuna EB, Sato N, Tsugane T, Saeki Y, Ochiai K, Senpuku K. Effects of short-chain fatty acids on Actinomyces naeslundii biofilm formation. Mol Oral Microbiol. 2013, 28: 354-365.

39) Araki M, Hoshi K, Fujiwara M, Sasaki Y, Yonezawa H, Senpuku H, Iwamoto-Kihara A, and Maeda M. Complementation of Fo c subunit of Escherichia coli with that of Streptococcus mutans and the properties of the hybrid FoF1-ATP synthase. J Bacteriol. 2013, 195: 4873-4878.

40) Satoh K, Narita T, Matsuki-Fukushima M, Okabayashi K, Yamazaki F, Arai T, Ito T, Senpuku H, Sugiya H. A novel animal model for dry mouth, E2f1-deficient NOD/SCID mice. Review. J Oral Biosc. 2014, 56: 18-22.

41) Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H. Effect of Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles on gingipain mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. Microb Infect. 2014, 16: 6-16.

42) Tada A, Watanabe M, Senpuku H. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists. Intern J Occup Environ Med. 2014, 5: 24-31.

43) Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H. : Effect of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain-mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. Microb Infect 2014, 16(1):6-16.

44) Takayama Y, Nakayama S, Shimuta K, Morita-Ishihara T, Ohnishi M. Characterization of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Tokyo in 2005-2011. J Infect Chemother. 2014 20, 339-341.

45) Kasahara K, Komatsu Y, Koizumi A, Chang B, Ohnishi M, Muratani T, Mikasa K. Serotype 35B *Streptococcus pneumoniae*, Japan, 2002-2012. J Infect Chemother. 2014 20, 228-230.

46) Ohnishi M, Unemo M. Phylogenomics for drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae.*
Lancet Infect Dis. 2014 Mar;14(3):179-80. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70700-X.
Epub 2014 Jan 22. PubMed PMID: 24462210.

47) Isobe J, Shima T, Kanatani J, Kimata K, Shimizu M, Kobayashi N, Tanaka T, Iyoda S, Ohnishi M, Sata T, Watahiki M. Serodiagnosis using microagglutination assay during the food-poisoning outbreak in Japan caused by consumption of raw beef contaminated with enterohemorrhagic Escherichia coli O111 and O157. J Clin Microbiol. 2014 52, 1112-1128.

48) Chen SC, Yin YP, Dai XQ, Yu RX, Han Y, Sun HH, Ohnishi M, Unemo M, Chen XS. Prevalence and molecular epidemiological typing of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* and their bla(TEM-135) gene variants in Nanjing, China. Sex Transm Dis. 2013 40, 872-876.

49) Goire N, Lahra MM, Ohnishi M, Hogan T, Liminios AE, Nissen MD, Sloots TP, Whiley DM. Polymerase chain reaction-based screening for the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* F89 strain. Euro Surveill. 2013 18, 20444.

50) Tomberg J, Unemo M, Ohnishi M, Davies C, Nicholas RA. Identification of amino acids conferring high-level resistance to expanded-spectrum cephalosporins in the *penA* gene from *Neisseria gonorrhoeae* strain H041. Antimicrob Agents Chemother. 2013, 57, 3029-3036.

2. 和文発表

１）石原朋子、大西真．検査法：耐性淋菌の実態と治療薬の選択．感染症内科．1:399-407．2014.

2）佐藤寛子，柴田ちひろ，佐藤了悦，齊藤志保子，高橋守，藤田博己，高田伸弘，川端寛樹，高野 愛，須藤恒久．アカツツガムシ親和性 Kato 型つつが虫病患者の確認を受けての秋田県雄物川流域における調査成績(2009)．衛生動物．2013．64(1)，21-25.

3) 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. 衛生動物. 2013. 64(1), 37-41.

4) 夏秋 優, 高田伸弘, 川端寛樹, 佐藤 梢, 高野 愛. タカサゴキララマダニ刺症に伴う遊走性紅斑：Tick-associated rash illness (TARI). 衛生動物. 2013. 61(1), 47-49.

5) 夏秋 優, 高田伸弘, 高嶋渉, 熊切正信, 川端寛樹, 佐藤 梢, 高野 愛. シュルツェマダニ刺症で環状紅斑を呈したがライム病ボレリア感染は確認できない症例についての新たな見解. 衛生動物. 2013. 64(1), 51-54.

6) 岩田健太郎, 島田智恵, 川端寛樹. 感染症内科外来で診断に 1 年以上を要したライム病の 1 例. 感染症学雑誌. 2013. 87(1), 44-48.

6) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の歴史. 化学療法の領域 医薬ジャーナル社 29 (7): 1410-1413 (2013).

7) 阿戸学、池辺忠義、渡邉治雄. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の分子メカニズム. 日本臨床微生物学雑誌. 23 (2): 79-86 (2013).

8) 伊豫田淳. 下痢原性大腸菌の病原性. 感染と消毒, 20:22-26, 2013

9) 荒川英二、宮原美知子. 食品・環境からの腸炎ビブリオの検出 V.検出、同定、タイピング 2.食品・環境からの検出 p.197-201 近代出版 腸炎ビブリオ第 IV 集(2013)

10) 前川純子、倉 文明、大西 真、渡辺ユウ、渡辺祐子、磯部順子、田中 忍、中嶋 洋、吉野修司：レジオネラ臨床分離株の型別-レファレンスセンター活動報告として、病原微生物検出情報. 2013. 34(6):161-163.

11) 金谷潤一、磯部順子、木全恵子、嶋 智子、清水美和子、佐多徹太郎、綿引正則、前川純子、倉 文明：水たまりからのレジオネラ検出状況-富山県、病原微生物検出情報. 2013. 34(6):163-164.

12) 中嶋 洋、大畠律子、河合央博、前川純子、倉 文明、藤井寛之、黒川幸徳、船橋圭輔、田中知徳、吉岡明彦、宮井泰三：患者由来 *Legionella pneumophila* 血清群 3 sequence type 93 の疫学調査-岡山県、病原微生物検出情報. 2013. 34(6):164-165.

13) 烏谷竜哉、荒井桂子、磯部順子、金谷潤一、緒方喜久代、泉山信司、八木田健司、矢崎知子、吉崎美和、倉 文明：レジオネラ生菌の迅速検査、病原微生物検出情報. 2013. 34(6):165-167.

14) 黒木俊郎、渡辺祐子、寺西 大、佐々木美江、藤田雅弘、荒井桂子、杉山寛治、磯部順子、中嶋 洋、田栗利紹、緒方喜久代、倉 文明：ATP 測定による入浴施設の衛生管理・レジオネラ汚染リスク評価、病原微生物検出情報. 34(6):167-168.

15) 佐原啓二、神田 隆、八木美弥、道越勇樹、杉山寛治、縣 邦雄、江口大介、市村祐二、久保田 明、富田敦子、片山富士男、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、遠藤卓郎、倉 文明：浴槽水のモノクロラミン消毒、病原微生物検出情報. 2013. 34(6):168-169.

16) 倉 文明、前川純子：レジオネラ症-最近の多様な感染源、病原微生物検出情報. 2013. 34(6):169-170.

17) 中臣昌広 著、倉 文明 監修：レジオネラ症対策のてびき、一般財団法人日本環境衛生センター、2013 年 10 月 25 日第 1 版発行。109 頁

18) 志牟田健、黒木俊朗淋菌感染症 梅毒 性器クラミジア感染症 臨床内科 科学評論. 2013: 1(4);391-398

19) 高橋英之、大西真、侵襲性髄膜炎菌感染症、別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ、No.26,765-768、2013.

20) 高橋英之、大西真、髄膜炎菌、病原体の今日的意味 改訂 4 版、312-319、2013.

21) 岡野祥, 新垣絵理, 高良武俊, 加藤峰史, 仁平稔, 喜屋武向子, 久高 潤, 饒平名長令, 前津政将, 桑江沙耶香, 大屋記子, 宮川桂子, 小坂文昭, 松本奈央, 伊勢川拓也, 島袋彰, 中川吉丈, 北澤篤志, 松本裕子, 橋本洋, 梶田弘子, 岩渕香織, 齋藤幸一, 小泉信夫, 大西真. 2013 年に沖縄県西表島で発生したレプトスピラ症. 病原微生物検出情報 2014, 35:14-5.

22) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ症. 感染症内科 2014, 2:159-64.

23) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ感染症（レプトスピラ症, ワイル病). 別冊 日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No. 24 感染症症候群（第 2 版）(上) 病原体別感染症編. 日本臨牀社 大阪府 257－260, 2013.

24) 三浦美穂, 伊東愛梨, 矢野浩司, 吉野修司, 大浦裕子, 古家隆, 名越秀樹, 小泉信夫, 大西真. 日本紅斑熱が疑われたレプトスピラ症の 1 例―宮崎県. 病原微生物検出情報 2013, 34:111-2.

25) 小泉信夫, 武藤麻紀, 大西真. コンパニオンアニマルにおけるレプトスピラ症. SAC 2013, 172:17-22.

26) 小泉信夫, 大西真, 安富一郎. 人獣共通感染症としてのレプトスピラ症. 臨床獣医 2013, 31:39-42.

27) 小泉信夫, 大西真. レプトスピラ症の現状. 獣医畜産新報 2013, 66:252-4.

28) 小泉信夫，岡野祥，大西真．レプトスピラ症．化学療法の領域 2013，29:670-8.

29) 小泉信夫，大西真．レプトスピラ症．小児科 2013，54:43-8.

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Yamamoto S. A novel transmembrane regulator controls transcription of the *tfoR* gene, encoding a small RNA activator for the competence regulon in *Vibrio cholerae*. The 3rd Conference on Regulating with RNA in Bacteria, Wurzburg, June, 2013.

2) Amemura-Maekawa J, Koyano M, Yamazaki T, Murai M, Ohnishi M, Kura F. Identification of *Legionella pneumophila* subspecies in clinical and environmental isolates in Japan using the microplate DNA-DNA hybridization method. 8th International Conference on *Legionella*, Melbourne, Oct. 2013.

3) Kanatani J-I, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu T, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M. Close genetic relationship between *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from sputum specimens and puddles on roads by sequence-based typing. 8th International Conference on *Legionella*, Melbourne, Oct. 2013.

4) Sahara K, Sugiyama K, Agata K, Eguchi D, Ichimura Y, Jinno H, Kosaka K, Izumiyama S, Yagita K, Katayama F, Tomita A, Michikoshi Y, Yagi M, Tanaka Y, Endo T, Kura F: Sanitary control of circulating bath water by monochloramine disinfection. The 8th International Conference on Legionella 2013. Melbourne. October 2013

5) Kura F, Amemura-Maekawa J, Ohnishi M, Saito T, Kinoshita H, Yoshikura H, Sunagawa T, Ohishi K: Epidemiology of legionellosis in Japan, Jan 2008 ~ Dec 2012. The 8th International Conference on Legionella 2013. Melbourne. October 2013.

6) Kitashoji E, Lacuesta TL, Suzuki M, Usuda D, Kojiro M, Dimaano EM, Villarama JB, Ariyoshi K, Koizumi N. Recombinant leptospiral immunoglobulin-like protein A-based IgM ELISA assay for the diagnosis of leptospirosis. 62nd Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene, USA, November, 2013.

7) Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H. Sato R, Ohnishi M. Comparison of virulence between two Leptospira interrogans strains using a hamster model of leptospirosis. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

8) Mizutani Muto M, Koizumi N, Izumiya H. Ohnishi M. Molecular and serological characterization of *Leptospira interrogans* canine isolates and their influence on clinical features of leptospirosis in dogs. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

9) Toma C, Murray GL, Higa N, Nakasone N, Nohara T, Takaesu G, Koizumi N, Adler B, Suzuki T. Analysis of the bacterial factors involved in *Leptospira interrogans*-macrophage interactions. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

10) Kitashoji E, Lacuesta TL, Suzuki M, Usuda D, Kojiro M, Dimaano EM, Villarama JB, Ariyoshi K, Koizumi N. The validity of recombinant leptospiral immunoglobulin-like A protein-based IgM ELISA assay for the diagnosis of leptospirosis in Metro Manila, the Philippines. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

11) Widiyanti D, Koizumi N, Fukui T, Muslich LT, Segawa T, Villanueva SYAM, Saito M, Masuzawa T, Gloriani NG, Yoshida S. Novel immunochromatography-based methods for detection of leptospiral antigen in human urine. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

12) Gamage CD, Shiokawa K, Koizumi N, Kularatne SAM, Rajapakse JRPV, Nwafor-Okoli C, Yoshimatsu K, Arikawa J. The impact of two recombinant antigens base ELISA assay to diagnose leptospirosis. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

13) Shiokawa K, Gamage CD, Koizumi N, Nishio S, Koarashi Y, Ysuda Y, Shimizu K, Yoshimatsu K, Arikawa J. Application of recombinant LigA and LipL32 to the lateral flow immunoassay for the detection of pathogenic *Leptospira* spp. specific IgG in rodent sera. 8th Meeting of the International Leptospirosis Society, Fukuoka, October, 2013.

14) Senpuku H, Yoneda S, Saeki Y, Ochiai K. Effects of short-chain fatty acids on Actinomyces naeslundii biofilm formation. Montecatini Terme, Italy, Jun 23-26, 2013.

15) Tada A, Senpuku H. Factors influencing compliance with infection control practice in Japanese dentists the 2nd Meeting of the International Association of Dental

Research-Asia Pacific Region (IADR-APR), Bangkok, Thailand from 21 to 23 August 2013.

16) Motegi M, Yonezawa H, Senpuku H. Roles of genes to aggregation and biofilm formation in the Streptococcus mutans. Eurobiofilm 2013, Belgium, Gent, September 9-12, 2013.

17) Arai T, Saeki Y, Mohri S, Ochiai K Sempuku H, Effects of extract from potherb mustard on the biofilm formation of Actinomyces naeslundii Eurobiofilm 2013, Belgium, Gent, September 9-12, 2013.

18) Takeuchi H, Murata T, Kakuta E, Nomura Y, Senpuku H Hanada N. Investigation on the control of odontogenic bacteremia. 10th World Congress on Preventive Dentistry of the International Association for Dental Research, Budapest, Hungary, October 9-12, 2013.

19) Nakao R, Wai SN, Uhlin BE. Enhanced biofilm formationby *Escherichia coli* carrying a commonly occurring plasmid gene, "*kil*". Nobel Conference on Biofilm formation, its clinical impact and potential treatment, Stockholm, Sweden, Aug, 2013.

20) Ramstedt M, Nakao R, Leone L, Shchukarev A, Persson P, Boily JF, Wai SN, Uhlin BE. X-ray photoelectron spectroscopy of intact bacterial cells can help evaluate changes in cell wall composition with respect to lipid, sugar and peptide containing compounds. Nobel Conference on Biofilm formation, its clinical impact and potential treatment, Stockholm, Sweden, Aug, 2013.

21) Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H, Ohnishi M, Senpuku H.: Effect of *Porphyomonas gingivalis* outer membrane vesicles on gingipain-mediated detachment of cultured oral epithelial cells and immune responses. British Society for Immunology BSI 2013. Liverpool, UK, Dec, 2013.

22) Bai D, Nakao R, Senpuku H. Immunoreactive antigens recognized by sera of mice intranasally immunized with outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis*. British Society for Immunology BSI 2013. Liverpool, UK, Dec, 2013.

2. 国内学会

1）石原朋子、寺嶋淳、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真. 2013 年における O157:H7 を中心とした EHEC の動向. 第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年.

2）大川元、郡山洋一郎、青木眞理子、中村由美子、石原朋子、伊豫田淳. 保育所で発生した腸管出血性大腸菌 O103 及び O26 の集団感染事例について. 第 26 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会、東京、2014 年.

3）豊間根耕地, 今内 覚, 伊東拓也, 川端寛樹, 高野 愛, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋和彦. シュルツェマダニ由来免疫抑制因子の同定および機能解析. 第 156 回日本獣医学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.

4）大久保（佐藤）梢, 野一色香織, 林 武志, 柳井徳麿, 高野 愛, 川端寛樹. 猟犬を歩哨動物としたボレリア感染症の疫学調査. 第 156 回日本獣医学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.

5）宇田晶彦, 福士秀悦, 加来義浩, 藤田 修, 井上 智, 吉河智城, 下島昌幸, 新倉 綾, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野 愛, 前田 健, 藤田博己, 澤邉京子, 西條政幸, 森川 茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.

6）高野 愛, 川端寛樹, 大久保（佐藤）梢, 中尾 稔, 伊東拓也, カイル テイラー, 李 景利, 坪田敏男, 今内 覚, 吉村英紘, 豊間根耕地, 村田史郎, 大橋和彦. 国内に潜在すると考えられる新興回帰熱に関する疫学調査研究. 第 156 回日本獣医学会学術集会. 2013 年 9 月. 岐阜.

7）野一色香織, 濱野剛久, 酒井洋樹, 柳井徳麿, 今岡浩一, 棚林清, 川端寛樹, 木村昌伸, 野上貞雄. 猟犬における野外感染症抗体保有状況に関する研究：東北地方を中心として. 第 19 回野生動物医学会大会. 2013 年 8 月.

8）忽那賢志, 川端寛樹, 早川佳代子, 氏家無限, 竹下望, 加藤康幸, 金川修造, 大曲貴夫. Relapsing fever in Algeria diagnosed through SNS. 第 87 回日本感染症学会学術講演会. 2013 年 6 月. 横浜.

9）夏秋 優, 高田伸弘, 川端寛樹, 佐藤 梢, 高野 愛, 安藤秀二. タカサゴキララマダニ刺症に伴う遊走性紅斑：Tick-associated rash illness. 第 65 回日本衛生動物学会大会. 2013 年 4 月. 江別.

10) 池辺忠義、奥野ルミ、緒方喜久代、大屋日登美、渡邉治雄、小川道永、大西真. Increase of group A *streptococcus* isolates in streptococcal toxic shock syndrome cases in Japan. 第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月.

11) 松村隆之、池辺忠義、阿戸学. The defensive role of immature myeloid cells in severe invasive group A *Streptococcus* infections. 第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月.

12) 土屋勅、松村隆之、池辺忠義、小林和夫、阿戸学. *Fat-1* transgenic mice are more susceptive to severe invasive group A *Streptococcus* infections. 第 87 回日本細

菌学会総会、東京、2014 年 3 月.

13) 道林美里、志牟田健、中山周一、石原朋子、齋藤良一、大西真。セフトリアキソン耐性非病原性 *Neisseria* 属菌が保持する PBP2 モザイク構造の解析。 第８７回日本細菌学会総会　２０１４年３月 東京

14) 伊豫田淳. 2012年腸管出血性大腸菌の動向について. 第34回衛生微生物技術協議会 シンポジウムⅣ 腸管出血性大腸菌, 名古屋, 2013.

15) 井口 純、秋吉充子、伊豫田淳、勢戸和子、大西真. *E. coli* O-genotyping PCR により判定できなかったSTEC株のO 抗原コード領域の解析. 第34回日本食品微生物学会学術総会, 東京, 2013.

16) 秋吉充子、井口純、伊豫田淳、勢戸和子、大西真 *E. coli* O-genotyping PCRの実用性評価. 第34回日本食品微生物学会学術総会, 東京, 2013.

17) 伊豫田淳、井口純、齊藤剛仁、石原朋子、大西真. 溶血性尿毒症症候群の血清診断による腸管出血性大腸菌感染症の確定診断法. 第87回日本細菌学会総会, 東京, 2014.

18) 谷千尋、伊豫田淳、石原 朋子、齋藤良一、大西真 腸管出血性大腸菌におけるnon-LEE 3型エフェクターのレギュロン解析. 第87回日本細菌学会総会、東京、2014

19) 山本章治、三戸部治郎、大西真、渡邉治雄、泉谷秀昌. コレラ菌のキチン誘導型コンピテンスを支配する非典型なシグナル伝達機構. 第 87 回日本細菌学会総会（ワークショップ：細菌の環境シグナル受容体と遺伝子調節ネットワーク）、東京、2014 年 3 月.

20) 泉谷秀昌：食品を介した抗生物質耐性菌の世界的感染拡大について。第 34 回日本食品微生物学会学術総会、2013 年 10 月、東京都。

21) 泉谷秀昌、関塚剛史、黒田誠、大西真：サルモネラ病原性因子パネルの検討について。第 87 回日本細菌学会総会、2014 年 3 月、東京都。

22) 森田昌知、泉谷秀昌、大西真：2013 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 53 回感染性腸炎学会総会、東京、2014 年 3 月

23) 竹村 太地郎, 時沢 亜佐子, 荒川 英二, 仲宗根 昇, 大西 真, 山城 哲. *V. cholerae* のもつ CRISPR/Cas の解析　第 87 回日本細菌学会総会　2014 年、東京

24) 小川道永 細胞内侵入細菌と選択的オートファジーの攻防 第 24 回日本生体防御学会学術総会、熊本、2013 年 7 月

25) 常彬、細矢光亮、石和田稔彦、大石智洋、小田慈、佐藤哲也、岡田賢司、西順一郎、安慶田英樹、大西真、庵原俊昭。小児用肺炎球菌結合型ワクチン PCV7 導入が小児侵襲性感染症へ及ぼす影響の細菌学的解析。第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 61 回日本化学療法学会総会合同学会、横浜、2013 年 6 月。

26) 高橋幸子、田中純子、高橋喜子、及川純子、菱木はるか、石和田稔彦、常彬、静野健一、石和田文栄、阿部克昭、星野直、会沢治朗、河野陽一。小児市中肺炎に対する 7 価肺炎球菌結合型ワクチン導入の影響。第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 61 回日本化学療法学会総会合同学会、横浜、2013 年 6 月。

27) 成相昭吉、常彬。PCV7 接種普及による乳幼児下気道感染症例の上咽頭由来肺炎球菌株における血清型とペニシリン感受性の経年的変化。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013 年 11 月。

28) 成相昭吉、常彬。血清型 6B・遺伝子型 4250 による肺炎を 5 回発症後、血清型 6A に serotype switching した遺伝子型 4250 による肺炎を生じた重症心身障がい女児：Group6 サブタイプの遺伝子型の検討。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013 年 11 月。

29) 牧野友彦、常彬、大石和徳、庵原俊昭。小児の侵襲性肺炎球菌感染症に対するワクチンの効果：発生動向と血清型分析。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013 年 11 月。

30) 田村和世、石和田稔彦、常彬、明田幸宏、庵原俊昭、大石和徳。2013 年。日本における IPD 罹患小児の 7 価肺炎球菌コンジュゲートワクチンへの免疫応答。第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津市、2013 年 11 月。

31) 前川純子、倉　文明、渡辺祐子、磯部順子、田中　忍、中嶋　洋、吉野修司、大西　真：*Legionella pneumophila* 臨床分離株の遺伝子解析による分類. 第 87 回日本感染症学会総会、横浜、2013 年 6 月.

32) 前川純子、倉　文明、渡辺祐子、磯部順子、田中　忍、中嶋　洋、吉野修司、大西　真：*Legionella pneumophila* 血清群 1 環境分離株の遺伝子解析による分類. 第 87 回日本感染症学会総会、横浜、2013 年 6 月.

33) 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における多型の解析、第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月

34) 金谷潤一、磯部順子、木全恵子、嶋　智子、清水美和子、倉　文明、佐多徹太郎、綿引正則：アスファルト道路の水たまり由来 *Legionella pneumophila* 血清群 1 群の遺伝子解析. 第 87 回日本感染症学会学術講演会、2013 年 6 月、横浜.

35) 佐原啓二、杉山寛治、縣邦雄、江口大介、市村祐二、

神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、片山富士男、富田敦子、道越勇樹、八木美弥、田中慶郎、遠藤卓郎、倉文明：モノクロラミンによる循環式浴槽の消毒効果についてー営業施設における検証試験ー、日本防菌防黴学会第 40 回年次大会、2013 年 9 月、豊中市.

36) 烏谷竜哉、泉山信司、吉崎美和、荒井桂子、磯部順子、緒方喜久代、金谷潤一、矢崎知子、八木田健司、倉　文明：液体培養（Liquid Culture） EMA-qPCR 法を用いたレジオネラ生菌迅速検査法の評価、日本防菌防黴学会第 40 回年次大会、2013 年 9 月、豊中市.

37) 倉　文明、前川純子：呼吸器感染症の企画パネル、レジオネラ症、感染研の一般公開、2013 年 10 月、東京.

38) 倉　文明：レジオネラ症に関する最新の知見、地研全国協議会関東甲信静支部平成 25 年度細菌研究部会総会・研究会、招請講演、2014 年 2 月、東京都.

39) 倉　文明：国際的なレジオネラ症対策の動向、平成 25 年度生活衛生関係技術担当者研修会、2014 年 3 月、東京都.

40) 倉　文明：レジオネラ症総論、レジオネラ症を予防するために、レジオネラと環境衛生研修会、福岡市保健環境研究所、2014 年 3 月、福岡市.

41) 田原 麻衣子、香川(田中) 聡子、岡元 陽子、杉山 寛治、五十嵐 良明、倉 文明、神野 透人：LC/MS/MS を用いた直接分析法による水中のハロ酢酸類の定量、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月、熊本市.

42) 道林美里、志牟田健、石原朋子、中山周一、保科眞二、齋藤良一、大西　真：咽頭由来 *Neisseria* 属細菌は CRO 耐性淋菌 H041 型 penA 遺伝子を保持しているか　第 96 回日本細菌学会関東支部総会，東京，2013 10 月

43) 志牟田健、渡辺祐子　黒木俊朗　大西 真：セフィキシム非感受性株の多様性形成について，日本性感染症学会 第２６回学術大会，　岐阜市、2013 年 11 月

44) 志牟田健：セフトリアキソン高度耐性淋菌 H041 株出現後の京都府と大阪府(2010-2012 年)で分離された淋菌株の性状解析。京滋奈和性感染症研究会、京都市 2013 年 12 月

45) 志牟田健、高橋英之　大西 真：　尿道炎由来髄膜炎菌の性状解析　第 86 会日本細菌学会総会、東京、2014、3 月

46) 高橋英之、大西真：GltT-GltM トランスポーターを介した髄膜炎菌の宿主細胞侵入に関与する遺伝子の転写及び翻訳レベルでの網羅的解析、第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月

47) ホルロ，中島千絵，小泉信夫，鈴木定彦，服部俊夫. レプトスピラ症患者の血漿および尿中のバイオマーカーの解析. 第 51 回レプトスピラシンポジウム，東京，2014 年 3 月.

48) 藤田理恵，小泉信夫，杉山広，佐藤令一，大西真. 病原性の異なるレプトスピラを感染させたハムスターの比較解析.第 51 回レプトスピラシンポジウム,東京，2014 年 3 月.

49) Marvin Villanueva，小泉信夫，鈴木定彦，中島千絵. Epidemiological study of leptospirosis among water buffalo (Bubalus bubalis) in the Philippines. 第 87 回日本細菌学会総会，東京，2014 年 3 月.

50) 藤田理恵，小泉信夫，杉山広，大西真. Comparison of virulence between two *Leptospira* strains using a hamster model of leptospirosis. 第 87 回日本細菌学会総会，東京，2014 年 3 月.

51) 小泉信夫. スリランカ・フィリピンにおけるレプトスピラ症の現状.第 87 回日本細菌学会総会,東京,2014 年 3 月.

52) 小泉信夫. 本邦における犬レプトスピラ症の実態. 平成 25 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（千葉）. 千葉県，2014 年 2 月.

53) 泉福英信、歯科医療における院内感染対策導入のための意識改革、第 33 回日本歯科薬物療法学会、第２回日本歯科薬物療法学会認定制度教育講演会、東京、2013 年 6 月 15 日.

54) 荒井俊明 、落合邦康 、毛利彰太、佐伯洋二、泉福英信、酪酸に依存した Actinomyces naeslundii のバイオフィルム形成を阻害する物質の検討，第 55 回歯科基礎医学会、岡山、2013 年 9 月。

55) 中尾龍馬、泉福英信、密度勾配遠心法で精製された Porphyromonas gingivalis 外膜ヴェ シクル～その構造と機能～第 55 回歯科基礎医学会、岡山、2013 年 9 月。

56) 泉福英信、中尾龍馬、大西真、化合物 polypyrrole の S. mutans バイオフィルム形成に対する効果、第８６回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月。

57) 稲葉知大、八幡穣、泉福英信、野村暢彦、Sucrose によって分泌促進される細胞外 DNA は、Streptococcus mutans のバイオフィルム構造を強化する、第８６回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月。

58) 中尾龍馬、尾花望、野村暢彦、大西真、泉福英信、P. gingivalis membrane vesicle bin to epoxy groups on magnetic beads in a species-specific manner. 第

８６回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月。

５.細菌第二部

部長　柴山　恵吾

概　要

細菌第二部では、呼吸器系感染症、毒素産生細菌感染症、日和見感染症及び薬剤耐性菌に起因する感染症に関し、細菌学的な基礎、応用研究、レファレンス業務、及び関連する生物学的製剤､抗生物質製剤の品質管理業務、研究を行っている。その他、厚生労働省医政局指導課が実施する厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS 事業)の実務を担当している。研究では、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。

H25 年度は、薬剤耐性菌を取り巻く状況に国内外で大きな変化があった。薬剤耐性菌が世界的な問題となっている事をうけて、WHO は、「Farm to human」への耐性菌の流れの動向調査に関して専門家グループを組織し、各国が連携して対策にあたる必要があることを提言した。また 6 月に英国で開催された G8 サミットでは､G サイエンス学術会議共同声明として病原微生物の薬剤耐性問題が取り上げられ、耐性菌の統合サーベイランスシステムの強化が提言された。これらを受け、特に英国が中心となって国際的な連携体制の構築が進められている。日本では、駐日英国大使館の仲介で厚生労働省、感染研、英国政府関係者などによる日英共同シンポジウムが開催されるなど、まずは情報交換が積極的に実施された。日本においては、国の薬剤耐性菌のサーベイランスとして JANIS があり、細菌第二部が実務を担っている。国内については、医療機関の感染対策のレベル向上に資するため、厚生労働省は医療機関が診療報酬加算 1 を取得する場合､JANIS への参加を必須要件とすることを決定した。それに伴い、これまで JANIS は原則 200 床以上の医療機関を対象としていたが、この制限を撤廃し、全医療機関を対象とすることとした。また、集計も医療機関特性別や、地域別の集計を追加する事や、耐性菌の種類を追加すること､その他様々な点で大幅な改定を行って､JANIS 全体をより強化することになった。そして今後、JANIS は海外のサーベイランスとの連携を積極的に推進することとなった。サーベイランスだけでなく、細菌第二部では薬剤耐性菌に関して行政的に必要な基礎研究を実施している。国内のある医療機関で、H25 年中頃に薬剤耐性遺伝子をもつプラスミドが腸内細菌科の様々な菌種に伝播しておこったと考えられる院内感染事例があった｡H26 年初め頃に別の医療機関で大規模な院内感染があったが、この事例もプラスミドが腸内細菌科の様々な菌種に伝播していた。一般的に院内感染はあるクローンが拡散することにより起こると認識されているので、このように異なる菌種で共通のプラスミドを持つ耐性菌による院内感染が起こりえることを厚生労働省に情報提供するとともに、医療現場にも情報発信した。プラスミドの伝播による耐性菌の拡散については、新たな研究班が立ち上がることとなった。

ワクチン関係では、新規のヒブワクチン、DPT-cIPV が承認申請され、それに伴い承認前試験が実施された。関係者が協力しあって大変な労力を要する作業を着実に行った。

細菌第二部では各部員が品質管理業務、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 H25 年 4 月 1 日に鈴木里和主任研究官が第一室長に着任し、同 8 月 1 日に見理剛主任研究官が第二室長に着任した。H25 年 12 月 1 日に、久保田眞由美主任研究官が第五室から第二室に異動した。

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 133 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. (9 株)、腸内細菌科 (121 株)、緑膿菌 (2 株)、*Chromobacterium violaceum* (1 株) であった。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。なお、行政

検査として依頼を受けたものは除く。
〔松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、甲斐久美子、瀧世志江、村山詠美、柴山恵吾〕

2. 日本国内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及び院内感染事例増加は、特定の遺伝子型株（*Acinetobacter baumannii* IC II）蔓延との関連が示唆されている。国内の IC II の分布とその特徴を明らかにするため、国立病院機構 78 施設で平成 23 年 10 月から翌年 3 月に分離されたアシネトバクター属菌 866 株を収集し、IC II の判別と薬剤感受性試験を行った。IC II は 245 株（28%）であり、78 施設中 36 施設（46%）で分離された。IC II の多くは 1 剤又は 2 剤耐性で多剤耐性株は 2 株のみであったが、多くの医療機関で IC II が既に分離されていることが明らかとなった。［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］

3. アシネトバクター属菌流行株（IC II）検出方法の検討

アシネトバクター属菌の多剤耐性化及び院内感染に関連があるとされる遺伝子型株（*A. baumannii* IC II）を Qprobe-PCR 法で検出する方法を検討した。シークエンスを用いた従来法に比べ、より迅速・簡便に検出する系を企業との共同研究によって確立した。［松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、柴山恵吾］

4. NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)産生菌のディスク法によるスクリーニング法の検討

NDM 型 MBL 産生菌は、日本での報告は少ないが海外では多く、今後の増加が懸念される耐性菌のひとつである。ベトナム NIHE と共同研究を行い、MBL 阻害剤であるメルカプト酢酸ナトリウム(SMA)ディスクを用いた NDM 型 MBL 産生菌のスクリーニングには、メロペネム及びセフタジジムが有用であることを報告した。［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. IMP 型メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)遺伝子の複数菌種にわたる院内伝播事例の解析

国内医療機関で、複数の患者より IMP 型 MBL 産生の腸内細菌科細菌が分離された。*Escherichia coli*、*Enterobacter* 属、*Klebsiella* 属など多菌種にわたっていたため、IMP 型 MBL 遺伝子を含むプラスミドゲノム配列を比較し、いずれも共通の配列を有するプラスミドであることを見出した。異なる菌種間における薬剤耐性遺伝子を含むプラスミド伝達による院内伝播事例として報告した。［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、（以下、病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、山下明史、小笠原由美子、黒田誠］

6. 薬剤耐性菌の全ゲノム解析

国内医療機関で院内感染アウトブレイクを惹起した *Acinetobacter baumannii* 3 株の全ゲノム配列を報告した。また、国内医療機関から臨床分与されたシュードモナス属の病原細菌（*Pseudomonas alcaligenes*）の全ゲノム配列を世界で初めて報告した。また、同株の染色体上に新規の subclass B3 メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子が存在することを発見し、同遺伝子産物である PAM-1 β-ラクタマーゼはカルバペネム分解活性を有することを報告した。［鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、瀧世志江、柴山恵吾］

Ⅱ．鼻疽菌・類鼻疽菌に関する研究

1. *Burkholderia pseudomallei* の血清診断法の検討

これまで *Burkholderia pseudomallei* の血清診断法は国内で確立されていない。この血清診断法を確立することを目的として、*B. pseudomallei*、ほかヒトから分離される可能性のある *B. mallei, B. thailandensis, B. cepacia* を用いて検討を開始した。今年度はそれぞれの菌から外膜タンパク画分を回収する方法について検討し、これらを得た。［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. 小児侵襲性インフルエンザ菌（*Haemophilus influenza*）感染症患者から分離される *H. influenzae* の解析

平成 23 年度より、*Haemophilus influenzae* 莢膜 b 型株（Hib）に対するワクチンが定期接種に組み込まれ、同時期より、侵襲性インフルエンザ菌（*H. influenza*）感染症が感染症発生動向調査の対象疾患となった。

全国 9 県における小児の髄膜炎患者の髄液あるいは菌血症患者の血液から分離された *H. influenzae* の莢膜型解析ならびに薬剤感受性試験を実施した。分離される Hib 株数は、Hib ワクチンの公的補助が開始された平成 21 年以降、減少したが、平成 23 年度においても増加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、久保田眞由美、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

感染症発生動向調査において、侵襲性インフルエンザ菌感染症、肺炎球菌感染症ならびに髄膜炎菌髄膜炎が別枠になったが、その結果、細菌性髄膜炎の起因菌の多くが未同定のままとなった。

臨床における細菌性髄膜炎の起因菌を調べる一環として、細菌遺伝子解析を実施した。細菌性髄膜炎が疑われる症例で、一般細菌培養において髄液から細菌が検出されなかった症例を対象とした。髄液中の *Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Streptococcus agalactiae, Mycoplasma pneumoniae* ならびに *Mycoplasma hominis* の遺伝子検出を実施した。(厚生労働科学研究：新興・再興感染症研究事業)［佐々木裕子、柴山恵吾］

Ⅳ. *Clostridium difficile* 感染症に関する研究

1. 日本の *Clostridium difficile* 感染症（CDI）疫学研究

日本の 15 医療機関から 1 機関あたり 5-10 菌株の *C. difficile* 菌株を収集し解析した。また、日本の医療機関における CDI の発生率を含めた疫学調査を行うために、12 施設と行う研究の準備をすすめ、パイロット試験を行った。［妹尾充敏、福田靖、加藤はる］

2. *Clostridium difficile* 遺伝子検出試薬開発に関する研究

Clostridium difficile 分離菌株における毒素遺伝子検出用試薬のキット化を目的に、研究を開始した。［妹尾充敏、福田靖、加藤はる］

3. ベトナムにおける *Clostridium difficile* 感染症（CDI）の疫学調査

ハノイ National Institute of Hygiene and Epidemiology（NIHE）において *C. difficile* 細菌学的検査システムの確立を行い、ハノイ市内の医療機関における CDI の実態調査を開始した。［妹尾充敏、福田靖、加藤はる、柴山恵吾、Vu Thi Thu Huong］

4. *Clostridium difficile* の新しい細菌学的検査法の開発

RT-PCR 法を用いた *C. difficile* の新しい細菌学的検査法の評価のため、臨床検体を用いて、既存の細菌学的検査法と比較した。本法は既存の検査法では区別することのできない栄養型菌、死菌、芽胞の中の栄養型菌のみを特異的に検出することが可能であった。［妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾］

5. *Clostridium difficile* の腸管定着因子に関する研究

ヒト腸管上皮細胞株 Caco-2 を用いて、*C. difficile* の腸管への付着を評価することのできる *in vitro* assay 系を構築した。この assay 系は Caco-2 とは異なるヒト腸管上皮細胞株である HT-29 を用いても *C. difficile* の付着を評価することが可能であった。また、この系を用いて、*C. difficile* の流行株と非流行株の付着性の違いについて調べたが、統計学的有意差は認められなかった。［妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾］

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、塞栓等の発症機序は不明であるが、自己抗体の抗リン脂質抗体の関与が疑われている。*Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis* 等の感染症患者における抗カルジオリピン抗体におけるベータ 2 糖たん白 I 依存性、ならびに抗フォスファチジルセリン抗体におけるプロトロンビン依存性について調べたところ、マイコプラズマ種特異的に誘導される抗体の存在が示唆された。［佐々木裕子、柴山恵吾］

2. *M. pneumoniae* の P1 タンパク質の大量生産法の確立

P1 は、*M. pneumoniae* の主要な細胞接着タンパク質で病原性に深くかかわっている。これまで、P1 の大量調製は困難だったが、合成遺伝子を使用することによって、大腸菌で大量生産することができるようになった。大量生産した P1 を使用して、構造解析や細胞接着メカニズムの研究、診断ツールの開発等が実施できる。［見理　剛、森 茂太郎、清水 隆（山口大学）、川北祥人（大阪市立大学）、宮田真人（大阪市立大学）］

3. 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。2013 年はマイコプラズマ肺炎の流行が終息したこともあり検体数は激減した。14 件の検体の遺伝子型はすべて Subtype 1 であり、流行時に優位であった型がそのまま分離された。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。［堀野敦子、松井珠乃（感染症情報センター）、藤戸亜紀（高知衛研）］

Ⅵ. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

1. 病原体ゲノム解析研究センターと共同で、日本で 2006 年から 2011 年にボツリヌス症例から分離された 10 株の *C. botulinum* についてゲノム解析研究を行った。2011 年に岡山で分離された Okayama2011 株はサブタイ

プ B6 の毒素遺伝子をもつが、この菌は Group I *C. botulinum* 菌株の中でかなり異なる系統であることがわかった。また A(B) 型菌は明確に 2 つの系統（大きなプラスミドをもつ系統と小さなプラスミドをもつ系統）に分けられることがわかった。〔見理　剛、関塚剛史、山本明彦、岩城正昭、小宮貴子、黒田誠〕

2. 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ち生物毒素でテロへの使用の危険を有する。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。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の臨床試験を行った。第三年目は、48 人のボツリヌス毒素関連のヒトに対して 4 回の免疫を行った。その血清毒素中和抗体価をラット CMAP 法にて測定し、すべての型に対する免疫が成立した。また、免疫を先行した 9 人については、免疫終了後 1 年経過しても抗体価の下降が見られないことが明らかとなった。[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)、高橋元秀（医薬品医療機器総合機構）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. ジフテリアと類似の毒素を保有し、同様の症状を示す *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*)感染症の国内 12、13 症例目の患者調査を行った。2 症例とも埼玉県在住で、呼吸器症状を示していた。12 症例目は 71 才女性で、13 症例目は DPT ワクチン未接種の 20 歳女性であった。どちらの症例も猫を飼育していた。[小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、望月　優、青木敦子（埼玉県衛生研究所)]

2. *C. ulcerans* 感染症解析のためにマウス経鼻感染モデルを作成した。*C. ulcerans* 接種マウスは、立毛、削痩、連続的な体重減少を呈し、多くの臓器に接種菌が分布して全身感染を確認した。また、投与菌数に依存して死亡した。今後このモデルの解析を進めてゆく。[望月　優、小宮貴子、岩城正昭、山本明彦]

Ⅷ. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 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（MtNAPRTase）の基質結合部位の検討

シミュレーション解析により、MtNAPRTase の基質結合部位を推定した。本酵素の活性は抗結核薬ピラジナミドの活性型であるピラジン酸によって阻害されるが、このピラジン酸が基質であるニコチン酸の結合部位と相互作用することが示された。[森茂太郎]

2. 結核菌の細胞壁生合成に関わる因子の研究

結核菌の細胞壁生合成に関与していると推測される 12 種類のタンパク質(Rv1505c から Rv1516c)について、その機能を解明することを目的として発現系の構築と精製条件の検討を行った。その結果、10 種類のタンパク質について発現を確認し、そのうち 2 種類のタンパク質については可溶性画分での発現が認められた。[森茂太郎]

3. 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（MtQAPRTase）とピラジナミドの共結晶化

MtQAPRTase 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。〔金玄、森茂太郎、柴山恵吾]

4. 結核菌由来 DNA ジャイレースにおいてキノロン耐性決定領域外に見出されたアミノ酸変異とキノロン耐性との関連

キノロン耐性結核菌より *gyrA* 遺伝子上で既知の D94G 変異に加えてキノロン耐性決定領域の外側に存在する A74S 変異も見出されている。そこで、この A74S 変異とキノロン耐性との関連を *in vitro* で明らかにすることを目的として、野生型と変異型のタンパク質発現条件を検討した。［金玄、森茂太郎、柴山恵吾、中島千絵（北海道大学)、鈴木定彦（北海道大学）]

5. 結核菌由来 DNA ジャイレースとニューキノロンとの共結晶構造解析

結核菌由来 DNA ジャイレースにおけるニューキノロンの結合様式を解明することを目的として、共結晶化条件のスクリーニングを試みた。得られた結晶を用いて X 線回折データの収集を行った。[金玄、森茂太郎、柴山恵吾、中島千絵（北海道大学)、鈴木定彦（北海道大学）]

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

H. cinaedi のアウトブレイクがあった病院由来の *H. cinaedi* と *H. fennelliae* について分子疫学的解析および薬剤耐性機構の解析を行った。[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 *H. cinaedi*，*H. hepaticus* と類似していることを明らかにした。［林原絵美子、柴山恵吾］

3. *H. pylori* のγ-glutamyl transpeptidase（GGT）について

胃がん患者由来株では GGT 活性が高く、GGT 活性により誘導される炎症反応はグルタミンの枯渇によることを明らかにした。［林原絵美子、柴山恵吾］

Ⅹ．百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

１．百日咳菌 fimbriae (Fim)発現・産生機構に関する研究

百日咳菌 Fim3 株の継代培養により，fimbriae を産生しない Fim 欠損株を分離した。両株のゲノムを次世代シーケンサーillumina により解析したところ，Pfim3 領域に存在する poly(C)長が変化していることが判明した。主な poly(C)長は親株では 14C であったが，Fim 欠損株では 13C と短縮傾向にあり，Pfim3 poly(C)長と Fim3 産生の関連が指摘された。次に，Poly(C)長分布を簡便に測定する PCR/LDR 法を構築した。本法を用いて，BG 培地および CSM 培地により培養した百日咳菌 Fim3 株を解析したところ，CSM 培地サンプルでは上記 Fim 欠損株と類似した分布を示した。Fimbriae は百日せきワクチンの新規抗原としても注目されており，発現・産生機構のさらなる解析が求められる。［大塚菜緒，蒲地一成］

2. ワクチン抗原パータクチンを欠損する百日咳流行株の解析

先進国ではワクチン抗原 Prn を欠損する百日咳菌が出現し，ワクチン有効性との関係が論議されている。そこで Prn 欠損株の出現理由を考察するため，Prn 欠損に抗菌薬の選択圧が関与するという作業仮説について実験的検証を行った。Prn 修復株（Prn^{+}-BP59Sm）を各種抗菌薬（アミノグリコシド，ニューキノロン，マクロライド系）の存在下で継代培養し，PCR により Prn 欠損株を検索したところ，Prn 欠損株の存在を示す *prn* 欠損遺伝子（*prn*ΔSS）はすべての抗菌薬で検出されなかった。このことから Prn 欠損株の出現に上記抗菌薬が関与する可能性は低いと考察された。［蒲地一成，宮地悠輔，大塚菜緒］

3. 百日咳サーベイランスの精度向上に関する研究

百日咳病原体サーベイランスの精度向上を目的に，百日咳菌，百日咳類縁菌である *Bordetella holmesii* とパラ百日咳菌，マイコプラズマ（*Mycoplasma pneumoniae*）の 4 菌種を同時に鑑別可能な 4Plex リアルタイム PCR 法の開発を行った。本法の検出感度は百日咳菌が 1 fg genomic DNA (IS*481*)，*B. holmesii* が 100 fg (*recA*)，パラ百日咳菌が 10 fg (IS*1001*)，マイコプラズマが 10 fg (ATPase)を示し，4Plex 化による感度低下を認めなかった。臨床検体を用いた評価でも高い検出感度が確認され，本法が臨床検体に広く適用可能であると判断された。［蒲地一成，吉野修司（宮崎衛研），勝川千尋（大阪公衛研），梅田薫（大阪環境研）］

4．アジアにおける百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の流行調査と病原性解析

昨年度に引き続き百日咳の病原体サーベイランスを実施した。国内で発生した百日咳様患者 433 名を対象に遺伝子検査を行った結果，*B. holmesii* の陽性者は 0 名，百日咳菌の陽性者は 29 名（6.7%）であった。また，*B. holmesii* の呼吸器症例の増加原因を考察するため，呼吸器由来株に発現する高分子タンパク質について解析を行った。その結果，高分子タンパク質は定着因子 BipA と同定され，血液由来株では 1 塩基欠失または負の転写調節により発現が抑制されていることが判明した。調査を実施した 2013 年は百日咳の非流行期にあったことから，*B. holmesii* は百日咳菌と同様に周期的に流行する可能性が示唆された。［蒲地一成，大塚菜緒，渡邉峰雄（北里大）］

Ⅺ．破傷風菌に関する研究

1． 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。従来までの検討で用いた，破傷風トキソイドの抗原濃度（15Lf/mouse）では，マウスの抗体産生の上限に達している可能性が示唆された。そこで，3Lf/mouse，0.3 Lf/mouse，0.03 Lf/mouse の 3 種類の抗原濃度を用いて，最適な抗原濃度の検討を実施した。その結果，3Lf/mouse，と 0.3 Lf/mouse の中間的な濃度である 1 Lf/mouse を今後の検討に用いることとした。［福田靖，浅井大輔］

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-２

人工エラスチン蛋白のゲル化を利用し，ワクチンの免疫原性，及び，その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，現在最も一般的に用いられているアジュバントであるアルミニウムアジュバントを含む沈降破傷風トキソイドと，アジュバントを含まない破傷風トキソイドの免疫原性（1 Lf/mouse）を，マウス

の血中破傷風抗体価として比較した。その結果，エラスチン蛋白結合破傷風トキソイドは，沈降破傷風トキソイドには及ばないものの，アジュバントを含まない破傷風トキソイドよりも高い免疫原性を示した。[福田靖，浅井大輔]

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-３

人工エラスチン蛋白のゲル化を利用し，ワクチンの免疫原性，及び，その持続性を検討している。現在まで検討に用いてきたエラスチン蛋白は抗がん剤などの徐放担体の検討に用いられているエラスチンであり，必ずしも破傷風トキソイドの免疫原性を評価するのに適当ではない可能性がある。そこで，今回 3 種類の性状の異なるエラスチン蛋白を用いて，破傷風トキソイドの免疫原性の評価への妥当性を検討した。その結果，3 種類のエラスチン蛋白では大きな違いはみられなかった。しかし，接種後 2 週間程で吸収されると考えられていたエラスチンが，皮下に残存している事が確認された。今後，この残存エラスチン蛋白内に破傷風トキソイドの存在を確認する予定である。［福田靖，浅井大輔］

Ⅻ．蛇毒素に関する研究

ヤマカガシ抗毒素は 2000 年に厚生労働研究班によって作製された標品を用いて緊急時に患者の治療をしている。抗毒素の力価試験として、マウス致死活性およびウサギ出血活性の中和試験を行った結果、作製直後の 13 年前と同様のウサギ出血活性の中和活性を示した。［山本明彦、柴山恵吾、阿戸　学（免疫部）、一二三　亨（香川大学）］

XIII．バルトネラ菌に関する研究

塹壕熱原因菌である *B. quintana* の感染リスクを把握する目的で、昆虫医科学部、疫学センター及び東京都済生会中央病院との共同研究として、当該病院に救急搬送された路上生活者から採取されたシラミ、患者血液、血餅、シラミを材料として *B. quintana* 遺伝子の検出、IgG 抗体価測定、菌の検出を実施。血餅とシラミから *B. quintana* 遺伝子を検出、ヘミン結合タンパク質に対する IgG 測定では患者の約 10%で高値を示した。シラミからの菌体分離では、*Acinetobacter baumannii* が分離された。*B. quintana* の菌分離、遺伝子検出、抗体価の結果から感染リスクの関連性を見出すためには、更に検体の確保と検出法の改良が必要と思われる。[久保田眞由美、佐々木年則、山岸拓也、沢辺京子、柴山恵吾、伊藤航人、川崎麻紀、足立智英（東京都済生会中央病院)]

XIV．厚生労働省院内感染対策サーベイランスデータを用いた研究

1．厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）データを用いた肺炎球菌ワクチン導入効果の検討

2011 年度以降、小児肺炎球菌ワクチンの公費負担・定期接種化がすすめられた。小児肺炎球菌ワクチン導入前後の重症肺炎球菌感染症の発生頻度を JANIS データから比較した。対象とした 308 医療機関において血液もしくは髄液から肺炎球菌が分離された患者数は 2008 年～2010 年は年平均 1210 人であったが、2011 年以降は年平均 947 人と減少していた。10 歳以上の年齢群では患者数の変化は認めなかったが、0 歳から 1 歳の年齢群では約半数に減少しており、ワクチン導入の効果と考えられた。[山根一和（川崎医科大学)、鈴木里和、柴山恵吾]

2．JANIS 手術部位感染（SSI）部門データを用いた、腹部手術リスク調整因子の検討

2008 年～2010 年の JANIS SSI 部門データより、大腸・直腸出術におけるリスク調整因子の検討を行った。大腸手術の SSI 発生率は 15.0%、直腸手術のそれは 17.8%であった。従来米国で使用されていたリスク調整因子に加え性別や人工肛門造設の有無、緊急手術といった要因が独立したリスク因子であり、リスク調整の際に加えることの妥当性が示唆された。

[森兼啓太（山形大学)、本田仁（東京都多摩医療センター)、山岸拓也（感染症疫学センター)、網中眞由美（国立看護大学校)、鈴木里和]

3．JANIS 検査部門データを用いたバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）のトレンドに関する検討

JANIS 検査部門公開情報年報における VRE 分離率は 2009 年の 0.05%以降減少傾向であるが、その要因について検討を行った。2007 年～2012 年の間、年間 20 件以上の VRE を報告したのは 8 施設のみであった。これらの 8 施設を除くと VRE の分離率は 2007 年以降 0.01%前後を推移しており、8 施設の分離状況が全国の集計結果に影響を及ぼしていたことが明らかとなった。VRE 等の国内での分離が比較的稀な薬剤耐性菌については、JANIS 公開情報を解釈する際、少数の医療機関のデータが全体集計に影響しうることを留意する必要があると思われた。[鈴木里和]

レファレンス業務

Ⅰ．薬剤耐性菌関係

1．薬剤耐性菌解析のための陽性コントロール用DNA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、各種β-ラクタマーゼ遺伝子、バンコマイシン耐性遺伝の PCR 解析のための陽性コントロール用 DNA および試験手順書の分与を行った。[松井真理，鈴木仁人，鈴木里和]

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 6 施設に *Bordetella holmesii*-LAMP 診断キット（8 キット）を供与した。また，4Plex リアルタイム PCR キットを 4 施設（4 キット），百日咳類縁菌陽性コントロール DNA を 3 施設に供与した。[蒲地一成，柴田美幸，鰺坂裕美，大塚菜緒]

サーベイランス業務

Ⅰ．院内感染対策関係

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業は､平成 25 年度の募集から 200 床以下の医療機関も対象としたことより、新規参加施設が増え、平成 26 年 2 月時点での参加医療機関数は 1301 施設となった。これらの医療機関より提出されたサーベイランスデータをもとに月報（参加医療機関向けのみ)、期報、年報を作成しホームページ上で公開した。また、抗菌薬感受性パターン（アンチバイオグラム）の作成対象菌種・抗菌薬の追加、血液・髄液検体分離菌の菌種割合の医療機関別集計追加を行った。また、今後の参加医療機関の多様化に備え、統計法の変更届を行い、施設特性の指標となる医療機関基本情報（病床数、病床区分、平均在院日数）の収集を開始した。事業の情報提供として、JANIS 通信を 3 回発行､1387 件の医療機関等からの問い合わせに対応した。[鈴木里和、筒井敦子、大木留美、村山詠美、小川由弥子、瀧世志江、後藤佑介、柴山恵吾]

Ⅱ．百日咳関係

医療機関（12 施設）からの依頼を受けて，百日咳様患者の病原体診断を 23 件実施した。[蒲地一成,柴田美幸，鰺坂裕美，大塚菜緒]

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．破傷風トキソイドワクチン力価試験の in vitro 化に関する研究

破傷風トキソイド力価試験において現行の毒素攻撃法でマウスに与える苦痛を回避するために、in vitro で毒素の標的蛋白 VAMP2 の特異的切断を指標として毒素活性を検出し、トキソイドによって与えられた中和能を測定するための試験系を構築している。本年度、VAMP2-EYFP 融合蛋白質を基質とすることにより、昨年度に比べ 10 倍の感度上昇を達成し、in vivo 毒素攻撃法における汎用毒素量である 100 マウス LD_{50} の毒素を安定的に検出できる系が構築できた。さらに感度上昇を目指すとともに、抗毒素による中和活性の検出についても今後検討する。[岩城正昭、見理剛]

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) PIC/S 査察

抗生物質の収去試験は、PIC/S 加盟申請に関する公的試験検査機関認定査察の対象であったため、医薬品医療機器総合機構のプレ査察および WHO による本査察への対応を行った。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、粕谷裕子、吉村由美子、柴山恵吾]

(2) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）関連

ア．44 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]

イ．依頼試験として 4 ロットの力価試験を行った。[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) 承認前検査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

髄膜炎菌（血清型 A, C, Y, 及び W-135）多糖体ジフテリアトキソイド結合体ワクチン、L-プロリン含有高濃度人免疫グロブリン、ならびに乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VIII 因子の承認前検査において、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。[佐々木裕子、見理　剛、柴山恵吾]

(2) 沈降ヘモフィルスｂ型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）の承認前検査の実施

平成 25 年 10 月に沈降ヘモフィルスｂ型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）の承認前検査が依頼さ

れた。所内にて検査実施項目を設定するとともに、担当試験について実施した。［佐々木裕子、久保田眞由美、見理　剛、柴山恵吾］

(3) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（ソーク）混合ワクチンについて、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。［小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代］

(4) 4 価髄膜炎菌ワクチン（ジフテリアトキソイド結合体）のジフテリアトキソイド関連の試験と書類審査を担当した。［小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代］

(5) 沈降ヘモフィルス b 型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）の CRM_{197} 関連の試験と書類審査を担当した。［小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代］

(6) 沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活性ポリオ（ソーク）混合ワクチンについて，百日せき力価試験，マウスヒスタミン増感試験，エンドトキシン試験を担当した。〔福田靖，久保田眞由美，持田恵子，大塚菜緒，鰺坂裕美，蒲地一成〕

(7) pH4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注，ハイゼントラ)， 髄膜炎菌ワクチン（ナメクトラ)， 乳濁細胞培養 A 型インフルエンザ HA ワクチン（H5N1)， 沈降細胞培養インフルエンザワクチン H5N1，乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子（バイクロット静注用 1.5 mg）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（4 品目）

セフォゾプラン塩酸塩標準品、リファンピシン標準品、アムホテリシン B 標準品、タゾバクタム標準品

イ．サブロット更新（9 品目）

(1) ポリミキシン B 硫酸塩標準品、セフォチアムヘキセチル塩酸塩標準品、イミペネム標準品、セフトリアキソンナトリム標準品、クロラムフェニコール標準品、ゲンタマイシン硫酸塩標準品、セフォペラゾン標準品、メロペネム標準品、スルバクタム標準品

(2) ジフテリアトキソイド標準品の標準化作業［小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代］

(3) C 型、D 型、G 型診断用ボツリヌス抗毒素の標準化作業 ［岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代］

(4) マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチンのロット更新（Lot.5）を行った。［福田靖，持田恵子，久保田眞由美，大塚菜緒，鰺坂裕美，柴田美幸，蒲地一成］

国際協力関係業務

Ⅰ．JICA 関係

1．JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において，DPT ワクチン、ならびに生物製剤の無菌性保証とマイコプラズマ否定試験について講義を行った。(2014 年 1 月)［岩城正昭，福田靖，佐々木裕子］

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

1. 2014 年２月４日および５日に、院内感染関連病原体（耐性菌および *C. difficile*）の細菌研修会の座学および実習を行った。神奈川県、横須賀市、相模原市、川崎市、横浜市、高知県が参加した。［松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、妹尾充敏、福田靖、加藤はる、与那嶺澄代］

2. 平成 25 年度　希少感染症技術研修会および、地方衛生研究所対象の短期細菌研修において講義を行った。[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

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 25 年 5 月)。[佐々木裕子]

Ⅲ．ヘモフィルス　インフルエンザに関する研修

衛生微生物技術協議会 34 回研究会のシンポジウム侵襲性感染症において「小児の侵襲性感染症由来 *Haemophilus influenzae* 分離株の解析」について発表した。

（平成 25 年 7 月）［佐々木裕子］

Ⅳ．ジフテリアに関する研修

ジフテリア流行予測事業実施を目的に、抗ジフテリア毒素抗体価測定技術講習会を実施した（2013 年 6 月村山庁舎）。6 地研（北海道、福井県、愛知県、愛媛県、高知県、福岡県）が参加した。［小宮貴子、加藤はる］

Ⅴ．ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

2013 年 12 月 11 日から 13 日まで、動物実験を中心にボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を行った。北海道、福島県、千葉県、東京都の４地研が参加した。［岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代］

Ⅵ．類鼻疽菌・鼻疽菌に関する研修

動物衛生研究所・全国研修会で類鼻疽菌・鼻疽菌の講義を行った（平成 25 年 10 月）。［堀野敦子］

その他

Ⅰ．行政科学等に対する対応

1. 「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： PCR 法」改良に向けた検討、改正案の検討に携わった。（平成 24-25 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. 日本薬局方、生物試験法委員会が４回開催され出席した。［佐々木裕子］

3. 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）を運用し、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、柴山恵吾］

2. 依頼があった医療機関や地域の研究会・勉強会において *Clostridium difficile* 感染症について講義や講演を行った。Email や電話において個々の *C. difficile* 感染事例の相談に対応した。［加藤はる］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1）Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Arakawa Y, Shibayama K. Rapid discrimination of *Acinetobacter baumannii* international clone II lineage by pyrosequencing SNP analyses of $bla_{\text{OXA-51-like}}$ genes. J Microbiol Methods. 2013, 94:121-124

2）Matsui M, Shibayama K, Tsuji Y, Kamimura H, Karube Y, Yoshida M, Masuda Y, Hiraki Y, Takaki K, Kawano F. Isolation of genetically indistinguishable carbapenem-resistant and susceptible *Acinetobacter baumannii* isolates from a single patient. Antimicrob Agents Chemother 2013, 57(11):5781-5782

3) Wachino J, Matsui M, Tran HH, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K. Evaluation of a double-disk synergy test with a common metallo-β-lactamase inhibitor, mercaptoacetate, for detecting NDM-1-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii*. Jpn J Infect Dis. 2014, 67(1):66-68

4）Hagiya H, Murase T, Suzuki M, Shibayama K, Kokumai, Y., Watanabe, N., Maki, M., and Otsuka, F. (2013) *Chromobacterium violaceum* nosocomial pneumonia in two Japanese patients at an intensive care unit. J Infect Chemother 20(2): 139-142.

5）Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Hiraki Y, Kawano F, and Shibayama K. (2013) Genome sequence of a strain of the human pathogenic bacterium *Pseudomonas alcaligenes* that caused bloodstream infection. Genome Announc 1(5): e00919-13.

6）Suzuki M., Matsui M., Suzuki S, Rimbara E, Asai S, Miyachi, H, Takata T, Hiraki Y, Kawano F and Shibayama K. (2013) Genome sequences of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains from nosocomial outbreaks in Japan. Genome Announc 1(4): e00476-13.

7）Suzuki S, Matsui M, Suzuki M, Sugita A, Kosuge Y, Kodama N, Ichise Y, Shibayama K. Detection of tripoli metallo-β-lactamase 2 (TMB-2), a variant of bla_{TMB}-1, in clinical isolates of *Acinetobacter* spp. in Japan. J Antimicrob Chemother. 2013 Jun;68(6):1441-2

8）Matsuoka M, Sasaki T, Kobayashi M, Sawabe K,Sasaki Y, Shibayama K, Sasaki T and Arakawa Y. Hemin-binding proteins as potent markers for serological diagnosis of infections with *Bartonella quintana*. Clin Vaccine Immunol 20: 620-626, 2013

9）Tagashira Y, Kato H, Senoh M, Nakamura A. Two cases of

fulminant colitis due to binary toxin-positive *Clostridium difficile* that are not PCR ribotype 027 nor type 078. J Med Microbiol 2013 62:1486-1489

10) Niwa H, Kato H, Hobo S, Kinoshita Y, Ueno T, Katayama Y, Hariu K, Oku K, Senoh M, Kuroda T, Nakai K. Postoperative *Clostridium difficile* infection with PCR ribotype 078 strain identified at necropsy in five Thoroughbred racehorses. Vet Rec 2013 173(24):607-613

11) Yoshimura Y, Tachikawa N, Komiya T, Yamamoto A. A case report and epidemiological investigation of axillary lymph node abscess caused by *Corynebacterium ulcerans* in an HIV-1 -positive patient. Epidemiology and Infection 2013 20: 1-4

12) Hirai-Yuki A, Komiya T, Suzaki Y, Ami Y, Katsukawa C, Takahashi M, Yamamoto A, Yamada YK. Isolation and characterization of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* from two closed colonies of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) in Japan. Comparative medicine June 2013 63: 1-7

13) Hifumi T, Sakai A, Yamamoto A, Murakawa M, Ato M, Shibayama K, Kato H, Koido Y, Inoue J, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Ginnaga A, KurodaY. Effect of antivenom therapy of *Rhabdophis tigrinus* (Yamakagashi snake) bites Journal of Intensive Care 2014 2:44

14) Senoh M, Ghosh-Banerjee J, Mizuno T, Shinoda S, Miyoshi S, Hamabata T, Nair GB, Takeda Y. Isolation of viable but nonculturable *Vibrio cholerae* O1 from environmental water samples in Kolkata, India, in a culturable state. Microbiologyopen. 2014 3:239-46

15) Rimbara E, Sasatsu M, Graham DY. PCR detection of *Helicobacter pylori* in clinical samples. Methods Mol Biol. 2013;943:279-87.

16) Rimbara E, Mori S, Kim H, Matsui M, Suzuki S, Takahashi S, Yamamoto S, Mukai M, Shibayama K. *Helicobacter cinaedi* and *Helicobacter fennelliae* transmission in a hospital from 2008 to 2012. J Clin Microbiol. 2013 Jul;51(7):2439-42.

17) Rimbara E, Mori S, Kim H, Shibayama K. Role of γ-glutamyltranspeptidase in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Microbiol Immunol. 2013 Oct;57(10):665-73.

18) Rimbara E, Matsui M, Mori S, Suzuki S, Suzuki M, Kim H, Sekizuka T, Kuroda M, Shibayama K. Draft Genome Sequence of *Helicobacter fennelliae* Strain MRY12-0050, Isolated from a Bacteremia Patient. Genome Announc. 2013 Aug 8;1(4).

19) Miyaji Y, Otsuka N, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K. Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008-2010 pertussis epidemic in Japan. PLOS ONE. 2013 Oct;8(10):e77165.

20) Katsukawa C, Kushibiki C, Nishito A, Nishida R, Kuwabara N, Kawahara R, Otsuka N, Miyaji Y, Toyoizumi-Ajisaka H, Kamachi K. Bronchitis caused by *Bordetella holmesii* in a child with asthma misdiagnosed as mycoplasmal infection. J Infect Chemter. 2013 Jun;19:534-7.

21) Kimura K, Yanagisawa H, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y. Rapid and reliable loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Streptococcus agalactiae*. Jpn J Infect Dis. 2013;66(6):546-8.

22) Kimura K, Nishiyama Y, Shimizu S, Wachino J, Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Shibayama K, Arakawa Y. Screening for group B *streptococci* with reduced penicillin susceptibility in clinical isolates obtained between 1977 and 2005. Jpn J Infect Dis. 2013;66(3):222-5.

23) Kimura K, Matsubara K, Yamamoto G, Shibayama K, Arakawa Y. Active screening of group B *streptococci* with reduced penicillin susceptibility and altered serotype distribution isolated from pregnant women in Kobe, Japan. Jpn J Infect Dis. 2013;66(2):158-60.

24) Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Nagano N, Shibayama K, Arakawa Y. High cephalosporin resistance due to amino acid substitutions in PBP1A and PBP2X in a clinical isolate of group B *Streptococcus*. J Antimicrob Chemother. 2013 Jul;68(7):1533-6.

25) Nagano N, Endoh Y, Nagano Y, Toyama M, Matsui M, Shibayama K, Arakawa Y. First report of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan from a patient returned from Southeast Asia. Jpn J Infect Dis. 2013;66(1):79-81.

26) Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y. Ability of the VITEK(R) 2 system to detect group B *streptococci* with reduced penicillin susceptibility (PRGBS). J Antimicrob Chemother. 2013 Jun;68(6):1442-4.

2. 和文発表

1) 涌井拓、鈴木里和、柴山恵吾。JANIS 検査部門からみたインフルエンザ菌 b 型 (Hib) ワクチンの導入効果 病原微生物検出情報 Vol. 34(7) 197-198 2013.

2) 鈴木里和. 院内感染対応の実際 院内感染サーベイ

ランスとその利用法　小児科診療 76 巻 9 号 399-1404 2013.

3）鈴木里和. 日本の耐性菌の状況　Therapeutic Research 35 巻 3 号 226-232 2014.

4）佐々木裕子、マイコプラズマ感染症患者血清中に見られる抗リン脂質抗体、日本マイコプラズマ雑誌　40: 58-60, 2013

5）見理　剛　マイコプラズマ肺炎　中学保健ニュース少年写真新聞社　2013 年 1 月

6）鈴木真紀、黒崎貴子、加藤はる、佐藤隆也、古畑健司、山本明彦、宮上寛之 外部委託検査で創部から *Clostridium tetani* が分離された破傷風の 1 例 医学検査　2013. 62 (6): 698-702

7）妹尾充敏　VBNC 菌と宿主因子　日本防菌防黴学会誌　2013 41:201-5

8）蒲地一成. 百日咳検査の使い方. SRL 宝函. 34(3):41-43, 2013.

9）大塚菜緒, 蒲地一成: 特集「新興・再興感染症 up to date」百日咳. 化学療法の領域 2013 年増刊号. 医薬ジャーナル社, 29: 71-79, 2013.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1）Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Arakawa Y, Shibayama K. Molecular characterization of epidemic and non-epidemic type *Acinetobacter* spp. isolates in Japan. 9th International Symposium on the Biology of Acinetobacter, June 2013

2）Suzuki S, Matsui M, Suzuki M, Aminaka M, Yamagishi T, Yamane K, Wachino J, Arakawa Y, Shibayama K.Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Japan, 2011-2012. 23st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), April 2013

3）Tsuyoshi Kenri. Production of recombinant P1 adhesin protein of *Mycoplasma pneumoniae* and its applications. United States – Japan Cooperative Medical Sciences Program. Acute Respiratory Infections Panel Meeting, Dhaka, Bangladesh February 12, 2013

4）Torii Y, Kohda T, Sugimoto N, Kozaki S, Takahashi M, Ginnaga A, Yamamoto A. Clinical study of tetravalent (type A, B, E, and F) botulinum toxoid vaccine in Japan: 50th Annual Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, October, 2013, Annapolis, USA

5）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. European. Workshop on Bacterial Protein Toxins. (ETOX16), Freiburg im Breisgau, Germany, 2013.

6）Mori S, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. Structural insights into a diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv for the design of new anti-tuberculosis drugs. 7th International Conference on Structural Genomics. July 2013, Sapporo, Japan.

7）Mori S, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. Structural insights into a novel diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting. August 2013. Sapporo, Japan.

8）Mori S, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. Structural insights into a novel diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*. The 10th Japan-Taiwan Symposium on Vaccine Preventable Diseases and Vector-Borne Diseases. September 2013, Tokyo, Japan.

9）Kim H, Mori S, Rimbara E, Shibayama K. Enzymatic activities of Quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). September 2013, Denver, Colorado.

10）Miyaji Y, Otsuka N, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K. Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008-2010 pertussis epidemic in Japan. 10th International Symposium on Bordetella. September 2013, Dublin, Ireland.

11）Otsuka N, Nakamura Y, Yamazaki M, Gondaira F, Okada K, Miyaji Y, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Arakawa Y, Kamachi K. A novel IgM-capture ELISA assay using recombinant Vag8 fusion protein for accurate diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. 10th International Symposium on Bordetella. September 2013, Dublin, Ireland.

12）Kamachi K. Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008-2010 pertussis epidemic in Japan. The 10th Japan-Taiwan Symposium on Vaccine Preventable Diseases and Vector Borne Diseases. September 2013, Tokyo.

2. 国内学会

1）鈴木仁人，松井真理，鈴木里和，平木洋一，河野文夫，柴山恵吾 「新規メタロ－β－ラクタマーゼ産生 *Pseudomonas pseudoalcaligenes* の解析」第 42 回薬剤耐性

菌研究会，ホテルニューさがみや（静岡県熱海市），2013 年 10 月 17−18 日

2）鈴木仁人，松井真理，鈴木里和，柴山恵吾 「薬剤耐性菌流行株の分子遺伝学的解析」 第 36 回日本分子生物学会年会，神戸国際会議場（兵庫県神戸市），2013 年 12 月 3−6 日

3）鈴木仁人, 松井真理, 鈴木里和, 柴山恵吾 「アシネトバクター・バウマニと緑膿菌の細菌間競合」 第 48 回緑膿菌感染症研究会，長崎県医師会館 (長崎県長崎市), 2014 年 1 月 24-25 日

4）松井真理、和知野純一、鈴木里和、柴山恵吾　SMA ディスク法を使った NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株スクリーニング方法の検討　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

5）長野則之、遠藤康伸、長野由紀子、外山雅美、松井真理、柴山恵吾、荒川宜親　国内で初めて確認された OXA-48 カルバペネマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* 及び *Escherichia coli* の分子学的特性　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

6）安部朋子、堀内寿志、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾 ICU と関連病棟で検出した IMP-1 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生腸内細菌について　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

7）鈴木匡弘、細羽恵理子、松井真理、荒川宜親 *Acinetobacter baumannii* 国際流行株の鑑別法の開発　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

8）松井真理、鈴木里和、曽家義博、柴山恵吾 Qprobe-PCR による *Acinetobacter baumannii* 世界流行株の検出方法の検討　第 25 回日本臨床微生物学会総会 2014 年 2 月　名古屋

9）渋谷泰寛、大西玲子、西原弘人、風間晴子、鴻巣晶子、根岸久実子、秋谷逸雄、松井真理、柴山恵吾　ESBL, AmpC 産生性 *Enterobacter cloacae* による肺癌術後膿胸の 1 例　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

10）本間操、鈴木里和、松井真理、柴山恵吾　精神科病院における ESBL 産生菌の分離状況について　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

11）金子美千代、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾　東日本大震災をきっかけとした耐性 *Acinetobacter baumannii* アウトブレイク　第 25 回日本臨床微生物学会総会 2014 年 2 月　名古屋

12）戸田 宏文、古垣内 美智子, 宇都宮 孝治, 山口 逸弘, 中江 健市, 鈴木里和, 柴山恵吾, 上硲俊法, 吉田耕一郎　メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*　検出例の臨床微生物学的検討　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

13）鈴木里和　JANIS データ解析と今後の展開.　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

14）鈴木里和　国内で分離される薬剤耐性菌の特徴と検出のポイント　第 25 回日本臨床微生物学会総会　2014 年 2 月　名古屋

15）鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、関塚剛史、黒田誠、柴山恵吾「アシネトバクターの薬剤耐性と拡散メカニズム」 第 87 回日本細菌学会総会，タワーホール船堀 (東京都江戸川区), 2014 年 3 月 26-28 日

16）鈴木里和　厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS)事業検査部門からみる我が国の薬剤耐性菌の現状　87 回日本細菌学会総会，タワーホール船堀 (東京都江戸川区), 2014 年 3 月 26-28 日

17）松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、荒川宜親、柴山恵吾　日本で分離されたアシネトバクター流行株と非流行株の分子疫学的特徴の比較　第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

18）鈴木里和　臨床栄養サーベイランスの意義と必要性 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業の経緯と現状､今後の展望　第 29 回日本静脈経腸栄養学会 2014 年 2 月　横浜

19）鈴木里和　SSI サーベイランスの実践とその評価法 JANIS SSI サーベイランス　その経緯と現状の問題点 2013 年 11 月　第 26 回外科感染症学会　神戸

20）鈴木里和　JANIS-JHAIS 日本の感染症サーベイランス 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業現状と今後の展望　第 29 回日本環境感染学会総会･学術集会　2014 年 2 月　東京

21）佐々木裕子、マイコプラズマ感染症患者血清中に見られる抗リン脂質抗体､第 40 回日本マイコプラズマ学会学術集会、2013 年 5 月、東京

22）Yoshito Kawakita, Lisa Matsuo, Tsuyoshi Kenri, Miki Kinoshita, Katsumi Imada, Makoto Miyata ヒト肺炎 *Mycoplasma pneumoniae* の滑走運動装置と構成タンパク質の結晶化　日本生物物理学会、2013 年　10 月 28 日～30 日　京都

23）瀬戸順次、安孫子千恵子、小宮貴子、山本明彦：山形県における飼い猫の *Corynebacterium ulcerans* 感染状況調査。平成２５年度日本獣医視界年次大会､2014 年 2 月、千葉市。

24）河野智美、佐野哲也、須藤正之、山本明彦、小宮貴子、梅原成子、青木佳代、石川和彦、林賢一：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・ウルセランスの保菌状況、獣医学術近畿地区学会、2,013 年 10 月、泉佐野市。
25）望月　優、小宮貴子、岩城正昭、妹尾充敏、山本明彦、加藤はる、柴山恵吾　*Corynebacterium ulcerans* 感染症のマウスを用いた実験モデルの確立、第 87 回日本細菌学会総会、2014 年 3 月、東京都
26）妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾　日本の医療施設における *Clostridium difficile* 感染症の疫学調査　第 87 回日本細菌学会総会　2014 年 3 月　東京
27）林原絵美子、柴山恵吾. 同一病院で分離された *H. cinaedi* と *H. fennelliae* の分子疫学的解析と薬剤感受性. 第１９回日本ヘリコバクター学会学術集会. 2013 年 6 月. 長崎
28）森茂太郎、金玄、林原絵美子、柴山恵吾. Functions and structures of MAV_3489 from *Mycobacterium avium* and MSMEG_2932 from *M. smegmatis*. 第 87 回日本細菌学会総会. 2014 年 3 月. 東京
29）金玄、横山和正、中島千絵、森茂太郎、柴山恵吾、鈴木定彦. 結核菌 DNA ジャイレースにおけるキノロン耐性決定領域外に見出されたアミノ酸置換のキノロン剤耐性への影響. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2013 年 5 月. 埼玉
30）金玄、横山和正、中島千絵、鈴木定彦. 結核菌 DNA ジャイレース上の菌系統特異的アミノ酸多型のキノロン剤耐性への影響. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会。第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2013 年 5 月. 埼玉
31）金玄、横山和正、中島千絵、森茂太郎、柴山恵吾、鈴木定彦. Clarification of correlation between mutants DNA GyrA and quinolone resistance in *M. tuberculosis.* 第 87 回日本細菌学会総会. 2014 年 3 月. 東京
32）勝川千尋，梅田薫，河原隆二，蒲地一成．百日咳の診断における培養検査と遺伝子検査の有用性の検討．第 87 回日本細菌学会総会．2014 年 3 月，東京
33）山口哲矢，鈴木英里，大塚菜緒，蒲地一成，渡邉峰雄．*Bordetella holmesii* に対する無細胞ワクチンの開発．第 87 回日本細菌学会総会，2014 年 3 月，東京
34）勝川千尋，櫛引千恵子，西戸温美，蒲地一成．百日咳の細菌学的検査精度向上に関する多方面からの検討．第 25 回日本臨床微生物学会総会．2014 年 2 月，名古屋

3．その他（紀要・ホームページ等）
特許出願
松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、柴山恵吾、曽家義博
Acinetobacter baumannii の検出
特願 2014-014286

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、国内症例に係わる感染源の解析・調査や予防法の検討を進め，また検査診断法開発に必要な解析を海外の材料を用いて実施した。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、食肉由来寄生虫の実態調査目的で、豚レバーにおけるアジア条虫の幼虫（＝嚢虫）とクマ肉における旋毛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ている。マラリアや住血吸虫は、現在日本ではもっぱら輸入感染症として問題になっているが、いまだ国内にベクターとなる蚊や陸生貝が生息しており、今後、再興感染症となる可能性を否定できない。そこで、これらの寄生虫症浸淫地との国際交流や気候・環境変化に伴う、国内での感染拡大の可能性を検討し、効果的防御法に関する研究を行っている。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部は、実際に検疫業務や途上国での寄生虫症対策にも応用されている。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する基礎的研究を、赤痢アメーバ原虫やマラリア原虫を対象として進めている。

研究費としては厚生労働省科学研究費補助金（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、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、高宮信三郎，熊澤秀雄，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、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、坪川大悟、佐藤大竹マルセロ、Jeelani Ghulam, Ahmad Bilal Andrabi Syed、Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として海老根一生、研究生・実習生として松原立真、Herbert Santos、花館有希、丸茂このみ、村上佳隆、渡辺なつき、山野安規徳、小池明人、岡崎隆三、荒川早紀、福本準平、平井智浩、川野哲郎、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 9 月まで 1 年間共同研究に従事した。チリ大学医学部の Ruben Mercado 准教授が 10 月に 2 週間，エクアドル中央大学医学部の Daniel Romero 医師が 11 月に 2 週間来日し、共同研究に従事するとともに、研究成果発表等を行った。非常勤職員として、中川玲子、村上裕子、市村静江、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。

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）抗原検出イムノクロマトを用いたジアルジア感染率調査

ジアルジア症迅速診断を目的に開発されたイムノクロマト検査キット（IC）を用いて、国内の感染リスクグループである HIV 陽性者ならびに海外渡航者の下痢症検体におけるジアルジア検出率を調べた。結果は、HIV 陽性者 36 検体の陽性率 11.1%、海外渡航者 16 検体の陽性率 12.5%で、従来知られていた国内の同様のグループの感染率より高く、欧米諸国における感染率に近似した。設備と経験を要しない IC がジアルジア症検査の効率化と積極的な検査の取り組みに役立つことが期待される。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）]

（２）配管内に付着した従属栄養細菌数の測定

配管の汚染状況を把握するため、従属栄養細菌測定を固体表面試料に応用した。最初に、測定を安定して行えるように方法の検討を行い、次いで配管実試料の従属栄養細菌を測定した。元宿浄水場 2 系ろ過池内壁付着物を用いて検討した結果、リン酸緩衝生理食塩水に界面活性剤を添加して、拭き取った綿棒を 1 分間試験管ミキサーで撹拌する方法が適していた。この方法により 3 つの配管実試料を測定し、2 つの配管で従属栄養細菌が 36～52CFU/cm^2 とわずかに検出され、末端給水栓水での残留塩素濃度が適切に管理されていても、バイオフィルムが形成されることを改めて確認した。この数値は、浄水場ろ過池内壁（10^0～10^2CFU/cm^2）と比較して同程度であった。また、海外で報告されている数値（1.1×10^{-1}～5.75×10^4CFU/cm^2）と比較した場合、中間程度に位置した。参考として、国内の洗浄前の浴槽壁面（3.9×10^3～2.4×10^4CFU/cm^2）と比較すると、桁違いに清浄であり、洗浄後の浴槽壁面（6×10^{-2}～1.9×10^0CFU/cm^2）と比較すると、菌数は多いと考えられた。[川口有希子（桐生市水道局水質センター）、泉山信司]

（３）デジタル PCR 法を用いたクリプトスポリジウムの定量に関する基礎的検討

クリプトスポリジウム 1 オーシスト内の遺伝子断片の定量に，デジタル PCR 法の適用を試みた。感染マウスの糞便より精製した *Cryptosporidium parvum* オーシスト（H8 株）を用いた。標準試料の精製は採取日を変えて 2 回実施しており，株は同一だが，精製と濃度測定が独立している。核酸抽出は遺伝子検出法で標準的に行われている、凍結融解、ProteinaseK 処理の方法で行った。デジタル PCR の反応系に，文献記載の 18S rRNA 遺伝子を標的としたプライマー・TaqMan プローブを用いた。測定の結果は 1 オーシストあたり 28±4 コピーが得られ、理論上 1 オーシストあたり 20 コピー（＝ゲノム上 5 コピー×オーシスト内 4 スポロゾイト）と遜色なかった。発現している rRNA のコピー数は、逆転写反応後の cDNA をデジタル PCR の鋳型として求め、1 オーシストあたり 21,900±7,080 コピーであった。リアルタイム PCR 法を用いて定量された実測値（18,000～26,000 コピー）と対応が得られた。

［岸田直裕、秋葉道宏（国立保健医療科学院）、泉山信司］

（４）吸引ろ過方式による粉体ろ過法の改善

クリプトスポリジウム濃縮法の一つである粉体ろ過法の方式は、加圧濃縮の際に、装置の汚染が問題とされた。これを対策した吸引ろ過方式は、加圧ろ過方式に比べ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といったメリットがある。以前の検討で、吸引ろ過方式は加圧ろ過方式と同様の性能であり、実際の河川水に使用可能と示されたが、使用する中で改善すべき重要な問題が見つかったため、検討を行った。市販されているフィルターホルダーの形式にはステンレススクリーンと焼結ガラス製の 2 つがあり、焼結ガラス製のものは流路の偏りもなく、均一の厚みのろ過ケーキを得られ、焼結ガラス製ホルダーの使用が適していた。低水温試料水に粉体ろ過法を適用する場合は、脱気処理を何もせずに行った場合、ろ過の最中に成長した気泡により正常な濃縮が行えない恐れがあったが、脱気処理により改善した。吸引方式用のフィルターホルダー用のふたとチューブを用いることで、フィルターホルダー内へ試料水を導入できた。[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]

（５）水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理

世界的には未だに集団感染の報告が続いている耐塩素性微生物による水道水汚染問題は、水道行政における重要な課題の一つとなっている。水道のクリプト検査は、いわゆる水質基準としてではなく、推奨される検査としての位置づけに留まっている。平成9年から25年の間に、浄水を検査して26回もの煮沸勧告あるいは給水停止等の検出対応事例があったものの、すでに報告されている越生町と雑居ビルでの集団感染 2 件を除いた 24 件では、幸い水道水を介した感染者の報告はなかった。不活化済みなどの理由で感染者が出ないにもかかわらず、浄水からクリプトあるいはジアルジアが検出されて煮沸勧告あるいは給水停止に陥ったりするのは、避けたい事態である。水道の微生物汚染対策の歴史的な経緯から言えば、現在行われている凝集沈殿ろ過と塩素消毒に加えて、紫外線照射あるいは膜ろ過といった処理を追加することにより、耐塩素性病原微生物を対策することが、今後の方向と考えられる。対策することにより、水道利用者にとっての安全性向上、水道事業と行政にとっての混乱解消、検査法にとっての正しい判定が可能と考えられた。[泉山信司]

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臨床応用

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中の IgG 抗体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 24 年度に試作したマンソン孤虫症キットについて、平成 25 年度に、国内の医療機関から検査依頼のあったマンソン孤虫症疑診例についてキットの有効性を検討した。その結果、いずれの症例とも陽性反応が確認され、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・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．顎口虫症のイムノクロマトキット用の抗原調製

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、わが国では、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するが、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。そこで、有棘顎口虫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 25 年度には、有棘顎口虫第 3 期後期幼虫由来の cDNA ライブラリーのイムノスクリーニングによって得られた陽性 3 クローンについて、大腸菌における大量発現系を構築した。また、これらのクローンとは別に調製した遺伝子組換え有棘顎口虫メタロプロテイナーゼ抗原も調製し、両抗原を用いたイムノクロマトキットの試作段階に至った[山﨑　浩，Wanchai Maleewong･Pewpan Maleewong･Penchom Janwan･ (タイ･コンケーン大･医･寄生虫), Tongjit Thanchomnang （タイ・マハサラカム大・医）]

（２）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：アメリカ大陸の材料を用いた検討

肺吸虫のミトコンドリア･16S リボゾーム DNA の塩基配列が，我が国だけでなく東南アジアに分布する各種肺吸虫の種同定にも適用可能なマーカーであることは既に報告した。そこでこのマーカーを用いた種同定法が，アメリカ大陸の人体寄生性肺吸虫にも適用可能かを検討した．対象としてケリコット肺吸虫とメキシコ肺吸虫を選択し，米国およびエクアドルの流行地でザリガニ・サワガニを採集．メタセルカリアを分離して DNA を調製した．この DNA を出発材料に，当該領域を nested PCR で増幅したところ，いずれの材料からも PCR 産物が増幅された．この結果，産物の配列解読を行うことでアメリカ大陸の人体寄生種も同定できることが分かり，新たなマーカーを用いた種同定法の有用性が更に確認された．[杉山 広，ティモシー・ヨシノ（ウィスコンシン大），マヌエル・カルボピーニャ（エクアドル中央大）]

（３）待機宿主の筋肉に寄生する肺吸虫幼虫の冷凍による感染リスク除去の検討

イノシシは肺吸虫の待機宿主となり，その筋肉を生食する習慣のある人にとっては，重要な感染源となってきた．また昨年度に報告したが，食用に販売された大分県のイノシシ肉から，ウェステルマン肺吸虫（2 倍体型）の幼虫が実際に検出された．そこで筋肉に寄生する肺吸虫幼虫を冷凍すれば感染リスクの除去が可能か，マウスモデルを用いて検討した．その結果，ウェステルマン肺吸虫を感染させたマウスの筋肉を-18℃で 24 時間冷凍した場合，感染性が失活することが分かった．しかし 200 分の冷凍では，感染性は完全には失われなかった．筋肉寄生の幼虫は，カニ寄生のメタセルカリアより低温（冷凍）に対して，より強く抵抗することが明らかとなった．[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 NADH dehydrogenase subunit 1（nad1 遺伝子）、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。[森嶋康之･杉山 広･ 市村静江･山﨑 浩]

II. 疫学・型別・分子疫学的研究

１．原虫症等の寄生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

前年度に引き続き、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 法による *S. fayeri* 汚染を調査した。2 年間、計 300 頭を調査した結果をまとめると、屠殺対象は 2-3 歳馬でほとんどが北海道産であった。横隔膜を検体とした定量 PCR の結果では、300 検体（1,500DNA 試料）中、食中毒残品同等の汚染は 3 検体（1.0％）、DNA 試料数に対しては残品同等が 3 試料（0.2％）であり、全体的に低度の汚染にあることが明らかとなった。馬の出生地ならびに肥育地と汚染度の関係、また加齢と汚染度の関係は見られず、国内飼育環境が低汚染レベルにあることが示唆された。[八木田健司、村上裕子、内田雄治（株式会社千興ファーム）]

（２）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タイプの原虫が存在す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．本州の家畜におけるトキソプラズマ抗体保有率調査

本州でと畜された家畜の感染率を、抗体保有率を指標に調査した。その結果、ブタの抗体保有率は 5.2％であるのに対して、ウシでは 7.3％であり、ブタよりもウシ、特に和牛（13.7％）が、少なくとも抗体陽性率においては高値を示した。すなわち、トキソプラズマの感染源として、牛肉、特に和牛肉は少なくとも豚肉と同等以上の注意が必要である可能性が示唆された。また、ウシの月齢と抗体価には有意な正の相関関係は認められず、むしろ弱いながら負の相関が存在する可能性が考えられた。［松尾加代子（岐阜食研)、高島康弘（岐阜大学)、永宗喜三郎］

（３）熱帯熱マラリア薬剤耐性流入の解析

Sulfadoxine/Pyrimethamine (SP)耐性の熱帯熱マラリアは 1970 年代に東南アジアで出現し、現在のマラリア流行地域に流行している。そこで SP 耐性の広まりを解析し、今後の対策に役立てるために、1984 年から 1998 年までの感染研に保存されている東南アジアとアフリカのアーカイブ薄層標本を用いて sulfadoxine 耐性遺伝子（dhps）の遺伝子型を決定した。その結果、東南アジアとアフリカの両地域で、SP としての合剤が使用されていたのにも関わらず、dhps への変異は pyrimethamine 耐性を付与する dhfr 変異の後に獲得されていた。またアジアからアフリカに移入したとされる高度 dhps 耐性株は、この 90 年代に出現していないことが分かり、2000 年以降にアジアで出現した高度 dhps 耐性型がアフリカに移入したこと推測された。

[中野由美子、中曽根英子、美田敏宏(順天堂大)]

２．蠕虫症の分子疫学的研究・調査

（１）我が国の肺吸虫（症）に関する疫学調査

ア．肺吸虫症例の感染源に関する文献調査

我が国で発生を続ける肺吸虫症例の感染源が何かを知るために，肺吸虫(症)というキーワードで医学中央雑誌を検索し，1991 年 1 月から 2012 年 11 月までの文献資料から，261 報に記載された 488 例を抽出して解析した．その結果，感染源が不明とされた症例を除いた 334 例では，淡水産カニを感染源とするものが過半数を占め（202 例, 59%)，次いで待機宿主のイノシシ肉（113 例, 33%)，さらにシカ肉（19 例，8%）の順となった．シカ肉を原因食品と指摘する症例は，中部地方（岐阜県）の他，近畿（兵庫県）と九州（大分県）から報告されていた．しかしシカ肉から肺吸虫の幼虫を実際に検出した報告は過去に認められず，検証が必要と考えて以下の検討に取り組んだ．[杉山 広・賀川千里・柴田勝優・森嶋康之・山崎 浩]

イ．肺吸虫の待機宿主とされるシカの生息状況・捕獲状況

野生シカの肉を原因食品として肺吸虫に感染したとの指摘が患者から得られている。そこでシカについて，環境省の「鳥獣関係統計（狩猟者登録を受けた者による捕獲鳥獣数)」を用い，2011 年度の捕獲状況を調べた．その結果，シカの捕獲数は全国で約 41 万頭を数えた．地域別では北海道（約 136,000 頭）が最も多く，次いで近畿（約 84,000 頭)，さらに九州（約 79,000 頭）の順となった．肺吸虫症例の発生数が多い九州で県別の内訳をみると，捕獲数は大分が最も多く（約 28,000 頭)，次いで宮崎（約 17,000 頭)，さらに熊本（約 15,000 頭）の順となった．九州での捕獲数が最も多い大分では，シカ肉を原因食品と指摘する症例も報告されていることから，以下

の検討に取り組んだ．[杉山 広・柴田勝優]

ウ．シカ肉における肺吸虫汚染の実態調査

大分県で捕獲され，食用として販売されていた野生シカの肉を入手し､筋肉からの肺吸虫幼虫の検出を試みた。検体は 4 個体分で、個体別の肉の重量（体幹部筋肉）は平均 649g（440g～1,100g）であったが，検査の結果は総て陰性であった．検体数が少なかったと考えており，次年度以降も検査を継続する予定である．[杉山 広・荒川京子・柴田勝優・森嶋康之・山﨑 浩]

エ．イノシシ肉における肺吸虫汚染の実態調査・続報

昨年度の調査で，九州では大分に肺吸虫陽性のイノシシが分布し、多数の肺吸虫幼虫が可食部の筋肉に寄生していることを明らかにした（佐賀・宮崎の材料は検査結果が陰性)。今年度は鹿児島からイノシシ肉を入手し，肺吸虫の汚染状況を調べた．検体数は 7 で、検体肉の重量（体幹部筋肉）は平均 256g（140g～340g）であった。検査の結果、3 検体から平均 4.3 隻（1 隻～8 隻）の肺吸虫幼虫が検出された。虫体の形態と遺伝子配列から種同定を試みたところ，いずれもウェステルマン肺吸虫（3 倍体型：人体寄生種）と同定された。この中の 1 頭では，215g の肉に 8 隻が寄生し，計算上では約 27g の肉に 1 隻となる高度汚染であった。感染予防の啓発が必要である．[杉山 広・柴田勝優・荒川京子・森嶋康之・山﨑 浩，御供田睦代・岩切忠文・福盛順子（鹿児島県環境保健センター）]

（２）豚レバーにおけるアジア条虫の汚染実態調査

内閣府食品安全委員会の委託研究の一環として、関東地方の食肉検査所の協力を得て、と畜検査においてアジア条虫の検出に努め､その汚染実態を調査するとともに、実際、関東周辺で生産された市販の国産豚の肝臓を購入して、アジア条虫による汚染実態を調査した。群馬、埼玉、栃木県内で飼育された豚を取り扱うと畜場、または食肉卸業者よりと畜検査済みの豚の肝臓を購入し、以下のような手順で検査を実施した。各回 10～20 頭分の肝臓を材料として、肝表面における白色斑の有無を目視にて観察した。次に、肝臓を各小葉（左葉、右葉など）に区分けし、それを厚さ 3～5mm 幅に薄切し、各割断面における目視検査を行った。目視により確認された白色部位は全て摘出し､DNA 検査によってアジア条虫によるものか否か確認した。平成 25 年度には、群馬、埼玉産の豚、それぞれ 170 頭､80 頭､計 250 頭について検査を行った。その結果、群馬産 34 頭、埼玉産 11 頭の豚肝臓から 1～2mm 大の白色点として観察された。採取された白色斑 45 個について DNA 検査を行ったが、いずれも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･市村静江・森嶋康之・杉山 広・山﨑 浩]

（３）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。平成 25 年度にチリで実施した調査では、チリ南部の Puerto Montt 近郊で養殖された大西洋サケとチロエ島で養殖されたギンザケに加え、Puerto Montt 近郊のジャンキウエ湖（Llanquihue Lake）と Valdivia 近郊のパンギプジ湖（Panguipulli Lake）に生息するニジマス、ギンザケ、ブラウントラウトにおける裂頭条虫幼虫の感染実態を調査した。

その結果、養殖物の大西洋サケやギンザケでは裂頭条虫幼虫の検出には至らなかったが、ジャンキウエ湖で捕獲したギンザケ 4 尾から 7 隻の裂頭条虫幼虫が得られた。また、パンギプジ湖周辺では、捕獲数制限のため 5 尾のニジマスとブラウントラウト 1 尾から 260 隻もの裂頭条虫幼虫が得られた。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、*Diphyllobothrium latum* と *D. dendriticum* の 2 種が同定されているが、チリの *D. dendriticum* 個体群は南米起源とユーラシア起源の２つの個体群から構成されていることが明らかになった。今後、北米やアジアに分布する *D. dendriticum* との詳細なハプロタイプ解析が必要と考えられた。[山﨑 浩･市村静江, 倉持利明（国立科博・動物研究部）, Ruben Mercado（チリ大・医・寄生虫）]

（５）沖縄のアニサキス調査

長崎や静岡で水揚げされたタチウオには，アニサキス I 型の幼虫として *Anisakis simplex* sensu stricto や *A. pegreffii* が寄生し，一方で台湾のタチウオには *A. typica* が優先的に寄生することが知られている．そこで沖縄で水揚げされたタチウオのアニサキスを調べた. その結果，検査した 10 尾のうち 8 尾が陽性で，計 23 隻のアニサキス I 型幼虫が検出された. これらの幼虫から DNA を調製して分子同定したところ，総て *A. typica* であることが明らかとなった．本虫は熱帯・暖海域に分布し，人体寄生を示唆する報告もある．I 型のアニサキス幼虫については, 本種も視野に入れた慎重な同定が必要と考えられた. [杉山 広・森嶋康之・山﨑 浩・柴田勝優，川上 泰（麻布大）]

（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 53 頭で､そのうち 4 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 2 頭からマンソン裂頭条虫卵も検出された｡[森嶋康之・市村静江・杉山 広・山﨑 浩]

（７）食肉・野生獣肉における寄生虫感染の実態調査

ア．クマ肉における旋毛虫汚染の実態調査

内閣府食品安全委員会からの委託研究として、クマ肉における旋毛虫の汚染状況を調査した。旋毛虫症の原因となる食肉は哺乳類から鳥類・爬虫類まで多岐にわたるが、わが国でこれまで発生した集団感染事例はいずれもクマ肉が原因であった。感染者はいずれも狩猟者グループや宿泊施設や料理店の客などある程度限られた集団で発生したものであり、一般に広く流通してクマ肉であるとは言い難かった。ところが近年、野生鳥獣肉（ジビエ）に対する関心の高まりから、一般向けの小売機会が増してきている。そこで、食品として流通する市販の熊肉を用い、旋毛虫の汚染実態を調査した。

検体は市販の包装済みの食用クマ肉 25 検体で､内訳は北海道産ヒグマ 3 検体、本州産（岩手、秋田、長野、静岡）ツキノワグマ 22 検体であった。検査法として、人工消化法は FAO/WHO/OIE によるガイドライン（2007）に準じた。リアルタイム PCR 法は Cuttell ら（2012）の方法に従い、*rrnS* 領域を標的とし、既知の旋毛虫全種の DNA を増幅しうるプライマーセットを用いて行った。リアルタイム PCR 法の判定は､国立感染症研究所寄生動物部で維持している *Trichinella* T9（Iwasaki strain）由来の DNA から得た検量線にもとづき、実測値 10 コピー以上を陽性とした。その結果､人工消化法､リアルタイム PCR 法いずれの検査でも旋毛虫 DNA は検出されなかった[森嶋康之・市村静江・杉山 広・山﨑 浩]

イ．クマ肉における旋毛虫以外の寄生虫汚染

前項の調査過程において、人工消化法により得られた沈渣 25 検体中 3 検体から *Dirofilaria ursi* の虫体断端が検出された。本種は食品由来寄生虫症の原因とはならないが、クマ肉では旋毛虫以外の寄生虫感染に関する情報を収集する必要があると考えられた。そこで遺伝子検査用に抽出したテンプレートについて、線虫類のリボソーム DNA に対するコンセンサスなプライマーセット（NC5・NC13R）を用いて PCR 増幅を行ったところ、1 検体で増幅反応が確認され、その塩基配列はイヌ回虫と完全に一致した。イヌ回虫はイヌ以外の種々の非固有宿主に感染し、とりわけ家畜や家禽での感染が食肉由来のトキソカラ症を引き起こすことが知られるが、クマ肉からの検出は今回が初めてである。([森嶋康之･市村静江･杉山 広･山﨑 浩]

３．原虫・蠕虫症以外の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

（１）ヒラメのクドア汚染に関する調査

国内養殖ヒラメに関するクドア *Kudoa septempunctata* (K.s) 汚染実態調査を行った。ヒラメは大分県産 70 尾、愛媛県産 20 匹、三重県産ヒラメ 25 匹を購入し、厚生労働省通知による暫定検査法に基づき検査した。現在 K.s 胞子数が 1.0×10^6 個/g 筋肉を超えた場合食品衛生法第 6 条違反に、また K.s DNA 量が 10^7 コピー/g 筋肉を超えた場合をスクリーニング陽性と判断することとなっている

が、今回の調査では K.s の胞子数ならび DNA 量はいずれの検体においてそれぞれ 0 個/g、非検出で全検体陰性であった。なお数検体で食中毒対象とはならない *K.lateolabracis* や *K.thyrsites* の DNA 検出がみられた。[八木田健司（寄生動物部）、緒方喜久代、佐々木麻里（大分県衛生環境研究センター）、磯部順子（富山県衛生研究所）]

（２）*K. septempunctata* によるクドア食中毒の動向

厚労省食中毒統計データに基づき、クドア食中毒の発生動向を調べた。届出件数は 2012 年 40 件、2013 年 21 件、2014 年は 3 月時点で 7 件の届出があり、減少傾向にあった。患者数は 2011 年 468 名から 2013 年 244 名に約半減した。発症率（患者数/摂食者数）は 25～50%、死亡者はこれまでに報告はない。夏から秋にかけて増加するという季節的変動が見られる。これまで水産庁より 2012 年に養殖場汚染対策のための通知、また厚生労働省からは 2011 年に検疫モニタリング強化の通知、2012 年からは検査命令の実施が続いている。現在の原因食材である輸入養殖ヒラメに対する検疫段階での汚染魚排除対策が図られている一方、天然ヒラメによる食中毒も 2013 年に 1 例報告されている。[八木田健司]

（３）飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究（微生物分科会）

水道水の微生物学的な安全性は凝集沈殿ろ過と塩素消毒により担保されてきた。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、新たな見地からの微生物研究と対応が求められている。付着性の従属栄養細菌を測定する方法を安定させる検討を行った。拭きとり面積を一定とし、市販のふきとり検査綿棒を使用、回収には試験管ミキサーで 1 分間撹拌が適していた。レジオネラ属菌の汚染調査を行い、家庭内環境では使っていない蛇口や風呂水等から陽性であった。クリプトスポリジウム等の濃縮を目的とした粉体ろ過法を、細菌にも応用した結果、ろ過水量が倍増し、粉体は培養を阻害せず、回収率は従来フィルター単独の半分程度からほぼ 10 割に向上した。全国 11 箇所の原水を用いて、試験管内で PAC による凝集沈殿ろ過によるポリオウイルス除去を実測した結果、凝集処理で 1-Log 程度、孔径 0.45 μm の膜ろ過後で計 3-Log 程度の除去が得られた。デジタル PCR をクリプトスポリジウムに適用し、1 オーシスト当たりの 18S rRNA のコピー数は 28 コピー、発現している rRNA は 21,900 コピーと測定された。過去に整備されたリアルタイム PCR とほぼ対応し、検量線の信頼性が支持された。粉体ろ過法では、クロスコンタミネーションを防ぐ目的で吸引ろ過法を検討し、ガラス製ファネルを用いること、低温原水での発泡を防ぐ脱気操作、ファネルをゴム板で封じて吸引圧で試料水を導入することを工夫した。クリプトスポリジウム問題では、煮沸勧告や給水停止の社会的な混乱の回避が求められており、紫外線照射等の追加の対策導入が、水道利用者にとっての安全性向上、水道事業と行政にとっての混乱解消、検査法の正しい判定が可能と考察された。［泉山信司、秋葉道宏（国立保健医療科学院）、片山浩之（東京大学大学院工学研究科）、松下　拓（北海道大学大学院工学研究科）］

（４）家庭内の水環境における *Legionella* 汚染実態の研究

蛇口における *Legionella* 汚染実態を把握し、末端の管理向上に資するために、家庭内の水環境から *Legionella* 属菌の分離を試みた。協力が得られた 5 軒の家庭から 56 検体（蛇口水試料 25 検体、スワブ試料 31 検体）を採取し、*Legionella* 属菌の培養と LAMP 法による遺伝子の検出を行った。平板培地での培養では、*Legionella* 属菌は水試料 25 検体中 1 検体（4%、洗面台、*Legionella* sp. L-29）から検出された。アメーバ増菌後は、スワブ試料 31 検体中 2 検体より培養検出された（7%、風呂蛇口と洗面台蛇口、それぞれ *Legionella* sp. と *Legionella* sp. L-29）。LAMP 法では、水試料 25 検体中 4 検体（16%）およびスワブ試料 31 検体中 4 検体（13%）からレジオネラ属の遺伝子が検出された。培養陽性あるいは遺伝子陽性であった検体は、台所、風呂、洗面台およびトイレであった。陽性検体の従属栄養細菌数は多い傾向にあった。また、自由生活性アメーバも検出された。使っていない蛇口や風呂水等の使用頻度や管理の問題であるとしても、家庭内の水環境が *Legionella* 属菌により汚染されることが明らかとなった。［黒木俊郎、渡辺祐子（神奈川県衛生研究所微生物部）、倉文明、前川純子（細菌第一部）、八木田健司、

泉山信司]

III. 分類・同定・臨床

1. 自由生活性アメーバからのメガウイルスの検出

近年､巨大核細胞質DNAウイルスに分類されるMimivirusなどの巨大ウイルスが、自由生活性のアカントアメーバ内に相次いで発見され、生物進化の考え方に大きな影響を与えると共に､Mimivirusなどは呼吸器疾患の原因になる可能性も指摘されている。我々は角膜炎患者のアカントアメーバ分離株内に形態学的に巨大核細胞質 DNA ウイルスと考えられるウイルスを検出した。1.2Mb のゲノムサイズは Mimivirus に似る一方、電子顕微鏡所見およびゲノム構造からは Megavirus に属するものと考えられた。アメーバを用いた無菌ウイルス培養を行うことに成功しており、ヒト培養細胞等に対する病原性解析、また検査、診断法の開発も進めている。[八木田健司、泉山信司（寄生動物部)、関塚　剛史、黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター）]

2. キンカジューに寄生する*Baylisascaris*属線回虫の新種記載

キンカジュー*Potos flavus*はアライグマ科の雑食性の食肉類で、南米に生息する．本邦への輸入増加に伴い，国内での飼育数が増加している．キンカジューには回虫の寄生が報告されている．そこで，南米ガイアナ産の輸入個体より成虫を得て、形態の観察と遺伝子配列（ITS2, 28S rDNA，mtDNA・*cox*1）に基づく分子系統解析を実施した。その結果，検索虫体は*Baylisascaris* 属のアライグマ回虫やスカンク回虫とは系統的に近縁な別種と判定され，*Baylisascaris potosis* Tokiwa *et al.*, 2014（和名：キンカジュー回虫）として新種記載した．*B. potosis* もアライグマ回虫と同様に，人や動物に致死的な脳幼虫移行症を引き起こす危険性がある．病原性について検討が必要である。また国内に流通・飼育されているキンカジューの本虫汚染状況もさらに詳しく調べる必要がある。[常盤俊大・中村翔平・平 健介・宇根有美（麻布大)，杉山 広]

IV. 生理・生化学・分子生物学

1. 原虫症の病原機構・生物学にかかる研究

（1）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解析

ア．サルコシスティスのアピコプラストゲノムの構造決定

Sarcocystis fayeri の遺伝子情報を網羅的に得るために､次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行い、昨年度の結果として総塩基長が 127Mbp（コンティグ数 68,209 本)、近縁の *Toxoplasma* のアピコプラストに相同性の高い配列が得られていた。アピコプラストは原虫の生存に必須な細胞小器官で、有効な薬剤標的になり得ると言われている。本年度はアピコプラストゲノム配列を完成させるために、PCRーシーケンスを行ってコンティグ間の接続を確定させ、アノテーションを行った。完成したゲノムの大きさは 32,702bp で、近縁の *Toxoplasma* のアピコプラストゲノムに比べると、SSU rRNA 遺伝子の 1 コピーが少なく、2kb ほど小さかった。*Toxoplasma* と同様に AT の割合が 79%と著しく高く､終止コドンの UGA は Tryptophan として読まれていると想像された。アノテーションの結果は、tRNA 遺伝子が 26、rRNA 遺伝子が 3、*rps* 遺伝子が 10、*rpl* 遺伝子が 6、その他の遺伝子に ORF B、C、D、E、F、*rpoB*、*rpoC1*、*clp*、elongation factor-Tu、*ycf24* homolog が含まれていた。植物と大腸菌で必須な遺伝子ではないと考えられる､*rpl36* 遺伝子が欠失していた。［泉山信司、岡崎隆三、八木田健司、野崎智義（寄生動物部)、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)］

イ．サルコシスティスの運動能の解析

S. fayeri のブラディゾイトはトリプシン処理により活性化し、非常に活発な滑走運動を開始した。その運動パターンは他のアピコンプレクサで報告のある circular gliding、helical gliding の他に､今回新たに clockwise circular gliding および standing と名付けた新奇なパターンの計 4 種類を持っていた。また、これらの運動性は他のアピコンプレクサと同様、アクチン重合阻害剤サイトカラシン D や膜透過性カルシウムキレーターBAPTA-AM により阻害された。次に、S. fayeri の哺乳動物細胞侵入能について検討したところ、S. fayeri は細胞内侵入能を持ち、またその際 parasitophorus vacuole や evacuole 様構造を形成することが確認できた。S. fayeri は宿主細胞侵入後、1 時間以内に死滅し始め、28 時間以内にすべての原虫が増殖する

ことなく死滅した。以上の結果より、アピコンプレクサ特異的滑走運動依存的な宿主細胞侵入性が S. fayeri の病原因子のひとつとして考えられた。[佐倉孝哉、田原美智留、永宗喜三郎]

（2）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 CPBF のリドメイン構造の解明

赤痢アメーバにユニークに存在するリソソーム酵素輸送受容体である cysteine protease binding protein family（CPBF）のドメイン構造の解明を行った。産総研、富井らにより開発された FORTE を使った解析より、CPBF が 6 個の prepeptidase c-terminal (PPC) domain からなることを明らかにした。さらに CPBF1 の各ドメイン単体を GST 融合タンパク質として発現させ、リガンドである cysteine protease (CP) 5 との結合をウエスタンブロットにより検討したところ、3 番目のドメインが優位に結合した。CPBF のリガンド認識機構の一端が明らかにされた。[津久井久美子、丸茂このみ、富井健太郎（産総研・ゲノム情報研究センター）、野崎智義]

イ. 赤痢アメーバの貪食と脂質シグナルの解析

赤痢アメーバの貪食は病原機構として重要である。我々はこの制御に脂質シグナルが関与することを明らかにしてきたが、今回 phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P)の関与を検討した。抗 PI4P 抗体により赤痢アメーバの PI4P を可視化したところ、定常状態で核と細胞質に存在した。貪食ターゲットとして赤血球との共培養を行ったところ、15 分後、免疫染色による核の PI4P シグナルが有意に低下した。この変化はビーズでは起こらないことから、PI4P が赤血球依存的なシグナル伝達に関与することが示唆された。今後、貪食との関連のみならず、核内における脂質シグナルの検討を行いたい。[渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子]

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、無症候、腸アメーバ症、アメーバ性肝膿瘍の 3 株の比較ゲノミクスから見出した、無症候性株で特異的に欠損している AIG1 family protein (EHI_176590)について、機能解析を行った。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 AIG1 強発現株で細胞突起の形成の促進、赤血球に対する接着性の促進が示された。一方細胞の運動能力には変化がみられなかった。よって EHI_176590 の発現がある赤痢アメーバ株は組織への接着能が上昇し寄生生活に有利に働くのではないかと考えられた。[津久井久美子、佐藤映美、今田美穂子、野崎智義]

ii. 赤痢アメーバ台湾分離株のゲノム解析

東アジアに存在する赤痢アメーバ株のゲノム解析を行うことを目的に、台湾 CDC より無症候性シストキャリアの便検体より樹立した赤痢アメーバ株 2 株の供与を受けた。日本国内では無症候性キャリアからの検体入手は困難であり、貴重なサンプルとなった。今後ゲノム解析を行い、病原性に関連するゲノム変化、特に AIG1 family protein (EHI_176590)の有無に関連する変化を見出したい。[津久井久美子、Dar-der Ji (Taiwan CDC)、野崎智義]

エ. 赤痢アメーバ薬剤耐性機構の解明

抗赤痢アメーバ薬であるメタロニダゾール(MTZ)は流行地域で多用される薬剤である。よって耐性株の出現が懸念されている。そこで、その耐性化機構を明らかにすることを目的に、実験室で MTZ 耐性株を作成した。肝膿瘍度物モデルから回収された株で 12 μM の MTZ 耐性株の樹立に成功したが、実験室株と同等の耐性度であり、より高濃度の MTZ に対する耐性獲得は観察されなかった。よって病原性の高い赤痢アメーバにおいても MTZ に対する高度な耐性株は実験室では成立しにくいと考えられた。しかし自然界やホスト体内での耐性化機構は未知であること、MTZ 治療抵抗性の患者の存在があることから、今後も薬剤耐性株への監視を続ける必要がある。[佐藤映美、津久井久美子、野崎智義]

オ. *Entamoeba invadens* シスト化に伴う遺伝子発現変化の解析

赤痢アメーバのシスト化のモデルとして爬虫類に寄生す

る *Entamoeba invadens* が用いられる。シスト化誘導後 0.5, 2, 8, 24, 120 時間における遺伝子発現変化をマイクロアレイにより解析した。合計 1528 遺伝子が少なくとも 1 サンプルで栄養体と比べ 3 倍以上発現上昇した。このうち 8% が 0.5~8 時間後の誘導初期に、63%が 24~120 時間後の誘導後期に変化した。これらの遺伝子にはトランスポーター、細胞骨格関連タンパク質、小胞輸送に関与する遺伝子群、Myb 転写因子、システインプロテアーゼ、プロテアソーム、キチン合成酵素が含まれていた。この研究からシスト化誘導初期に起こる変化が見出され、*Entamoeba* シスト化の分子機構に新しい知見を与えた。[Aleyla Escueta De Cádiz、Ghulam Jeelani、津久井久美子、野崎智義]

ヵ. 赤痢アメーバの膜輸送における EhRab8A 輸送経路の決定と EhRab8A 複合体の発見

昨年度までの研究成果から、EhRab8A は細胞膜への輸送を担うことがわかっている。そこで、どのオルガネラからの輸送を担っているのかを調べるため、EhRab8A の形質転換体を作成して局在を観察したところ、EhRab8A は小胞体マーカーと共局在が観察され、EhRab8A は小胞体から細胞膜への輸送を担っていることが考えられた。また、他種生物で Rab8 と相互作用して働く Rab11 との共局在を確認したところ、 EhRab8A は EhRab11B とは全く共局在しなかった。赤痢アメーバのゲノムには、Rab8 と Rab11 との相互作用を介在する Rab8-GEF のホモログが保存されておらず、EhRab8A が EhRab11B とは別の輸送経路を制御している事が示唆された。この結果から、EhRab8A は他種生物とは異なる独自の輸送経路を獲得したことが推察された。さらに、EhRab8A の形質転換体を用いた免疫沈降によって、相互作用分子の同定を目指した。免疫沈降を行うにあたり EhRab8A 複合体の存在を確認したところ、EhRab8A が約 75-90kDa の複合体を形成していることを発見した。 [花舘有希(筑波大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

キ. 赤痢アメーバの膜輸送における特異的 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。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を保持しているが、GTPase 活性は他の Rab GTPase に比べて非常に遅いことが分かった。細胞内での RabX3 の機能を解析するために、RabX3 発現抑制株を作製するとともに、結合タンパク質の解析を開始した。[中野由美子、Mintu Chandra (インド)、Sunando Datta (インド)、野崎智義]

ク. 赤痢アメーバの肝膿瘍形成に関与する Arf GTPase の解析

ArfA2 は肝膿瘍から単離された病原株で発現が上昇している GTPase である。ArfA2 の不活性化型の発現はリソソームの形成異常を示す事が分っているが、ArfA2 はリソソームには局在せず、リソソームへの輸送の途中で機能していると考えられた。そこで、赤痢アメーバの小胞体、シスーゴルジ、トランスーゴルジのマーカータンパク質として、Bip, Sec13, GalT, Sed5, Ykt6 の抗体を作成し、もしくは GFP 融合タンパク質として発現させることにより、ArfA2 との共局在を観察した。その結果、ArfA2 はトランスーゴルジマーカーと最も高い共局在を示した。このことは、ArfA2 はトランスーゴルジからリソソームへの輸送を担っていることを示すとともに、リソソーム輸送が肝膿瘍形成という赤痢アメーバの病原性に重要であることを示唆している [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]

ケ. 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が、硫酸化脂質の実態とその具体的生理機能は不明である。赤痢アメー

バにおける硫酸化脂質の合成に係る硫酸転移酵素を同定し、細胞分化における役割を明らかにした[見市文香（佐賀大学），牧内貴志, 津久井久美子, Ghulam Jeelani、野崎智義]

ii. 赤痢アメーバのマイトソームの新規βバレルタンパク質の解析

赤痢アメーバのマイトソームへの代謝物やタンパク質輸送機構の多くは未知であり、その解明はミトコンドリア輸送機構の進化への知見を与えると予想される。インシリコ解析により新規の真核型βバレルタンパク質をゲノム情報から獲得した。その局在と膜上での方向性を間接蛍光法、免疫電子顕微鏡観察、プロテアーゼ感受性試験で検証した。[Herbert Santos、牧内貴志, 津久井久美子, 野崎智義、今井賢一郎、富井健太郎、Paul Horton (産業技術総合研究所)、野澤明、戸澤譲(愛媛大学)]

（3）マラリア原虫における膜輸送の機能解析

ア. 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、これまでの解析から Rab5b が感染した赤血球内に運ばれていることを明らかにしている。マラリア原虫は多様なタンパク質を赤血球へと輸送していることが知られているが､その輸送メカニズムは不明なものが多い。そこで、Rab5b がマラリア原虫から感染赤血球への輸送に関わるかを解析した結果，Rab5b 同様の脂質修飾を受けるタンパク質を感染赤血球へ運ぶ輸送経路に関わることが示唆された。

[海老根一生、中曽根英子、中野由美子]

（4）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 サリチル酸によるマラリア重症化機構の解明

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結果、マラリア原虫ではサリチル酸が高濃度に蓄積していることが判明した。そこで、熱帯熱マラリア原虫に細菌由来のサリチル酸分解酵素遺伝子を導入しサリチル酸欠乏原虫を作出した。この変異原虫は野生株と比較して増殖速度などに大きな差は認められなかったが、マラリア原虫が産生することが知られている炎症物質 Prostaglandin E2 (PGE2) の産生量が有意に減少していた。このことからサリチル酸と PGE2 合成系の関係性、宿主免疫系を改変している可能性が示されたため、ネズミマラリア原虫 P. berghei を用い、同様に欠乏原虫を作出した。欠乏原虫は感染試験におけるマウス致死活性が有意に上昇しており、脳組織検査、色素漏出試験の結果、脳マラリアの重症度が亢進していることが確認された。PGE2 は炎症性サイトカインを介した脳マラリア発症への関与が知られているので感染マウス血中での PGE2、および各種サイトカインの定量を行ったところ、サリチル酸欠乏原虫では血中 PGE2 濃度が減少し、また炎症性サイトカイン産生が亢進していた。以上から、サリチル酸は宿主の PGE2 および炎症性サイトカイン濃度を変化させ、宿主免疫を改変する機能を持ち、マラリアの重症度決定に関与している可能性が示唆された。[松原立真（筑波大学)、永宗喜三郎]

ii. 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。特にその中の 1 つは培養細胞に対する毒性も低く抗シスト薬候補として有望であると思われた。現在、その作用機序やトキソプラズマ感染動物への効果など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。前年度までの解析により、我々の確立したプリマキン耐性トキソプラズマ株は全てマラリア原虫のクロロキン耐性の責任遺伝子である chloroquine resistance transporter オルソログ（TgCRT）に共通して変異を持っていた。同定された変異は２カ所あり、４株はそれぞれのどちらかを有していた。さらにこれらの変異は、クロロキン耐性に関連する、熱帯熱マラリア原虫のCRT（PfCRT）の K76T とは異なっていた。この変異をもつプラスミドを野生株に導入するとプリマキンに対する耐性度が上昇した。PfCRT は、food vacuole に存在することが知られているが、トキソプラズマには food vacuole が存在しない。そこで、TgCRT と様々なマーカーとの共局在を調べたところ、Cathepsin L（TgCPL）抗体と共局在することが明らかとなった。TgCPL は、vacuollar compatment（VAC）と呼ばれる植物の液胞様オルガネラの１つに含まれるプロテアーゼである。現在プリマキン耐性の詳細なメカニズムについて解析中である。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。［田原美智留、永宗喜三郎］

ウ．トキソプラズマのカルシウム放出受容体様機能分子の探索

トキソプラズマの複雑な生活環のうち、滑走運動、侵入、そして宿主細胞からの脱出において Ca2+依存的な分子制御機構は極めて重要な位置を占めている。哺乳動物細胞において、Ca2+は主に ER に貯蔵され、ER から細胞質への Ca2+流出は inositol triphosphate receptor (IP3R)と ryanodine receptor (RyR)が担っている。トキソプラズマにおいてもホスホリパーゼ C を活性化することで IP3 産生を亢進する EtOH や、RyR の活性化作用を持つリアノジン、カフェイン、あるいは cADPR により Ca2+依存的な分子の分泌や滑走運動の促進が起こる事から IP3R と RyR の存在が示唆されているが、ゲノム上にこれらのタンパク質のオルソログは見出されない。そこで我々はトキソプラズマの IP3 およびリアノジン受容体様機能分子の同定を目的として研究を行っている。まず IP3R と RyR の阻害剤の原虫への発育阻害効果を評価したところ、2-APB と Dantrolene によって原虫の発育が阻害される事が明らかとなった。そこで N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) によりランダムに変異を導入した原虫をそれら阻害剤の存在下で培養する事により耐性原虫を選択した。確立したクローンの阻害剤に対する耐性を評価したところ、2-APB に対してはわずかな耐性が確認され、Dantrolene に対しては IC50 で 10 倍以上の耐性が確認された。現在、責任遺伝子に迫るために確立した耐性原虫の全ゲノム配列の解析を行っている。［佐倉孝哉、永宗喜三郎］

エ．トキソプラズマのミトコンドリア・リクルート因子同定の試み

トキソプラズマは宿主細胞に侵入した後、宿主細胞機能を様々に修飾することが知られている。中でも特に形態学的に顕著な変化として、宿主のミトコンドリアや ER を原虫が増殖している寄生胞近辺に引き寄せる(リクルートする)という現象が昔からよく知られている。この現象を引き起こす因子として、原虫が宿主細胞に侵入する際に、原虫の侵入とは独立して宿主細胞に注入される一群のタンパク質、ロプトリータンパク質群の関与が強く疑われているが、本研究ではロプトリータンパク質を含めた原虫由来のどのタンパク質が宿主オルガネラのリクルートに関わっているのかを解明するために、定量可能な質量分析法である iTRAQ を用いて宿主ミトコンドリアに特異的に結合するトキソプラズマ由来タンパク質の網羅的な同定を試みた。原虫を感染後 3 時間、12 時間、24 時間経過した細胞から精製したミトコンドリアと、非感染細胞と原虫の混合試料から精製したミトコンドリアを iTRAQ により比較した。感染細胞ミトコンドリアで非感

染細胞の 1.5 倍以上の存在量を示し、かつ、シグナル配列などのドメイン構造や相同性検索、また各種の既報のプロテオーム解析の結果を参照することで、リクルート因子候補タンパク質として 118 種類のタンパク質を同定することができた。さらに、ミトコンドリアのリクルートは感染後1〜2時間ですでに起きていることが報告されているので、申請者はこのうち感染 3 時間後にすでに存在量に違いがみられた28種類のタンパク質を最終的なリクルート因子候補タンパク質として同定した。[佐倉孝哉、福本隼平、永宗喜三郎]

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 34 回衛生微生物技術協議会（7 月 11〜12 日，名古屋）においてレファレンスセンター会議・寄生虫を担当し、クドア、サルコシスティス、アニサキスを中心に、寄生虫性食中毒の発生動向と食品衛生法施行規則の改正に伴う対応について，情報の発信と交換に努めた。まず, サルコシスティスによる食中毒の報告数は減少したが、クドア食中毒は発生が継続していると報告された. しかもヒラメ以外の魚類を原因食品とし，またドア・セプテンプンクタータ以外を原因物質とする有害苦情が発生しており，行政上の取り扱い関して議論された. しかし食中毒で取扱うのかの結論は持ち越された. またアニサキス症は食中毒統計で発生件数が大幅増加していると報告され、したがって寄生虫性食中毒に関しては，引き続きサーベイランスを強化する必要性あることが確認された。［大前比呂思，山﨑浩，八木田健司，杉山広，森嶋康之，泉山信司，野崎智義］

II. 原虫類のリファレンス活動

感染研および外部共同研究機関（医療機関、地方衛生研究所等）の行う調査研究から得られる材料をもとに各種原虫類の分離株の収集を行っている。具体的には分離株の遺伝子型を調べ、その結果を共同研究者側に還元するとともに、固定標本、DNA あるいは培養可能な場合は病原体として保存を行っている。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６件受け入れ、形態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］

III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成25年度には、計61件の寄生虫症依頼検査があり、うち 61 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が、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。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 22 のうち 9 検体で特異抗体が検出された。内訳はウエステルマン肺吸虫症(5)、トキソカラ症(2)、旋尾線虫症(1)、単包虫症(1)であった。[市村静江・山﨑 浩・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 35 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 34 例が寄生虫で、内訳は日本海裂頭条虫(13)、無鉤条虫(3)、アジア条虫(1)、広節裂頭条虫(1)、単包虫 *Echinococcus granulosus* (1)、*Echinococcus ortleppi* (1)、*Anisakis simplex* (6)、*Anisakis pegreffii* (1)、*Pseudoterranova decipiens* (1)、ウェステルマン肺吸虫(1)、宮崎肺吸虫(1)、ドロレス顎口虫(1)、回虫 (2)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、日本海裂頭条虫症とアニサキス症が相変わらず多く、また輸入症例として無鉤条虫症もみられた。 [市村静江・森嶋康之・杉山 広・山﨑 浩]

研修業務・審議会など

I. 平成 25 年度水道クリプトスポリジウム試験法実習（国

立保健医療科学院主催）にて、水道原水からのクリプトスポリジウム、ジアルジア検出の実習を行った（1 月）。その他、地研等からの要請に対して適宜行った。[八木田健司、泉山信司]

国際協力関業務

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. 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

赤痢アメーバの中心エネルギー代謝、RNA スプライシングの分子機構に関して CINVESTAV 及び INC と共同研究を行った。[津久井久美子、野崎智義、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]

4. WHO 西太平洋地域マラリア会議（Regional Meeting for Malaria Programme Managers）に出席し、2015 年 Malaria elimination に向けた現況と対策に向けて、西太平洋諸国のマラリア専門家と情報を交換した。各国から、マラリア対策、薬剤使用、サーベイランスについての方針を確認し合った。
［中野由美子］

5. モンゴル国立感染症センター(NCCD)とのエキノコックス症に関する共同研究

H25 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「モンゴルにおけるエキノコックス症対策に関する調査研究」として、モンゴルにおけるエキノコックス症の罹患状況について、携帯型超音波検査と血清検査を併用して、モンゴルの首都、ウランバートルにある NCCD、およびブルガン県の総合病院とブガット町診療所で調査した。計 261 名について腹部超音波検査を行い、単包虫症については WHO の診断基準に基づいて診断した。その結果、14 名が単包虫症、1 名が多包虫症と疑われたために、抗体検査を実施したところ、単包虫症と超音波検査で診断された 4 名は抗体陽性であった。[森嶋康之・大前比呂思・山﨑 浩，Abmed Davaajav・Anu Davaasure・Bolormaa Batsaihan (モンゴル NCCD)]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説（欧文）

Kimura M, Aoki M, Ichikawa-Seki M, Matsuo K, Yagita K, Itagaki T. Detection and genotype of *Encephalitozoon cuniculi* DNA from urine and feces of pet rabbits in Japan. J.Vet.Med.Sci., 75(8):1017-20,2013

Rahman1 M.D., Yagita K.,Kobayashi A.,Oikawa Y.,Hussein A.I.A., Matsumura T. and Tokoro M., Genetic characterization of Clinical *Acanthamoeba* isolates from Japan using nuclear and mitochondrial small subunit ribosomal RNA, Korean J Parasitol ,51: 401-411, 2013

Yasukawa H., Sato A., Kita A, Kodaira K., Iseki M, Takahashi T., Shibusawa M., Watanabe M, and Yagita K., Identification of photoactivated adenylyl cyclases in

Naegleria australiensis and BLUF-containing protein in *Naegleria fowleri*, J. Gen. Appl. Microbiol., 59:361–369,2013

Kwansa-Bentum B, Izumiyama S, Kitamura K, Obata-Ninomiya K, Ohta N, Asahi H. Comparative studies of serum-free media and detection techniques for in vitro drug sensitivity assessment of *Plasmodium falciparum*. Open Journal of Clinical Diagnostics, 2013, 3, 115-121.

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.

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.

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.

Ali, V. and Nozaki, T. Iron sulfur clusters, their biosythesis and biological functions in protozoan parasites. Adv. Parasiol., 83, 1-92, 2013.

Escueta- De Cadiz, A., Jeelani, G., Nakada-Tsukui, K., Caler, E., and Nozaki, T. Transcriptome analysis of encystation in *Entamoeba invadens*. PLoS One 8, e74840, 2013.

Ghosh, A., Karmakar S., Mukherjee, A. K., Raj, D., Das, K., Sarkar, S., Nozaki, T., and Ganguly, S. The spliceosamal protein snRNP F binds to both U3 and U14 class of snoRNA in *Giardia lamblia*. Glob J Biol Agri Health Sci 2: 178-184, 2013.

Biller, L., Matthiesen, J., Kuehne, V., Lotter, H., Handal, G., Nozaki, T., Saito-Nakano, Y, Schuemann, M., Roeder, T., Tannich, E., Krause, E., Bruchhaus, I. The cell surface proteome of *Entamoeba histolytica*. Mol Cell Proteomics. 2013 Oct 17. PMID: 24136294. In press

Makiuchi, T. and Nozaki, T. Highly divergent mitochondrion-related organelles in anaerobic parasitic protozoa. Biochimie 100, 3-17, 2014.

Das, K., Mukherjee, A. K., Chowdhurya, P., Sehgal, R., Bhattacharya, M. K., Hashimoto, T., Nozaki, T., and Ganguly, S. Multilocus sequence typing system (MLST) reveals a significant association of *Entamoeba histolytica* genetic patterns with disease outcome. Parasitol. Int., 63, 308-314, 2014

Raj, D., Ghosh, E., Mukherjee, A.K., Nozaki, T., and Ganguly, S. Differential gene expression in *Giardia lamblia* under oxidative stress: Significance in eukaryotic evolution. Gene 535, 131-139, 2013.

Lee, Y. A., Nam, Y. H., Min, A., Kim, K. A., Nozaki, T., Saito-Nakano, Y., Mirelman, D., Shin, M.H. *Entamoeba histolytica*-secreted cysteine proteases induce IL-8 production in human mast cells via a PAR2-independent mechanism. Parasite. 2014; 21:1. In press

Chandra, M., Mukherjee, M., Srivastava, V.K., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T., Datta, S. Insights into GTP/GDP cycle of RabX3, a novel GTPase from *Entamoeba histolytica* with tandem G-domains. Biochemistry 53, 1191-1205, 2014.

Hertz, R., Tovy, A., Kirschenbaum, M., Geffen, M., Nozaki, T., Adir, N., and Ankri, S. The *Entamoeba histolytica* Dnmt2 homolog (Ehmeth) confers resistance to nitrosative stress. Eukaryot Cell. 13, 494-503, 2014.

Marumo, K., Nakada-Tsukui, K., Tomii, K., and Nozaki, T. Ligand heterogeneity of the cysteine protease binding protein family in the parasitic protist *Entamoeba histolytica*. Int. J. Parasitol. 44, 625-35 2014.

Kawahara, F., Zhang, G., Suzuki, T., Iwata, A., Nagamune, K., and Nunoya, T. “Characterization of *Eimeria brunetti* isolated from a poultry farm in Japan.” J. Vet. Med. Sci. 2014, 76 (1), 25-9

Matsuo, K., Kamai, R., Uetsu, H., Goto, H., Takashima, Y., and Nagamune, K. “Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, horses, pigs and chickens in Japan.” Parasitol. Int. 2014, 63 (4), 638-639

Masayuki Oki, Satom Asai, Yumiko Saito-Nakano, Taira Nakayama, Yumiko Tanaka, Hiroshi Tachibana, Hiroshi Ohmae, Tomoyashi Nozaki, Hayato Miyachi. (2014) A

case of quadruple malaria infection imported from Mozambique to Japan. Am. J. Trop. Med. Hyg. in press.

Asahi, H., Tolba, M.E.M., Tanabe, M., Ohmae H. Molecular factors that are associated with early developmental arrest of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum*. Can. J. Microbiol., 59, 485–493, 2013.

Asahi H., Tolba, M.E.M., Tanabe, M., Sugano, S., Abe, K., Kawamoto., F. Perturbation of copper homeostasis is instrumental in early developmental arrest of intraerythrocytic *Plasmodium falciparum*. BMC Microbiology, in press

Yamasaki H. Current status and perspectives of cysticercosis and taeniasis in Japan. Korean J. Parasitol., 2013; 51: 19-29.

Janwan P, Intapan PM, Yamasaki H, Laummaunwai P, Sawanyawisuth K, Wongkham C, Tayapiwatana C, Kitkhuandee A, Lulitanond V, Nawa Y, Maleewong W. Application of recombinant *Gnathostoma spinigerum* matrix metalloproteinase-like protein for serodiagnosis of human gnathostomiasis by immunoblotting. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2013; 89: 63-67.

Deniz HI, Yaman A, Morishima Y, Sugiyama H, Muto M, Yamasaki H, Hasegawa H, Lebe B, Bajin MS. *Onchocerca lupi* infection in Turkey: A unique case of a rare human parasite. Acta Parasitol., 2013; 58: 384-388.

Boonyasiri A, Cheunsuchon P, Srirabheebhat P, Yamasaki H, Maleewong W, Intapan PM. Sparganosis presenting as cauda equina syndrome with molecular identification of the parasite in tissue sections. Korean J. Parasitol., 2013; 51: 739-742.

Janwan P, Intapan PM, Yamasaki H, Laummaunwai P, Sawanyawisuth K, Wongkham C, Tayapiwatana C, Kitkhuandee A, Lulitanond V, Nawa Y, Maleewong W. A recombinant matrix metalloproteinase protein from *Gnathostoma spinigerum* for serodiagnosis of neurognathostomiasis. Korean J. Parasitol., 2013; 51: 751-754.

Chen F, Li J, Sugiyama H, Zhou DF, Song HQ, Zhao GH, Zhu XQ. Genetic variability among *Schisitosoma japonicum* isolates from the Philippines, Japan and China. Mitochondrial DNA, 2013; 25: in press.

Taira K, Une Y, Snabel V, Sugiyama H, *Baylisascaris* sp. infection in a pet kinkajou *Potos flavus* detected by determination of ITS2 rDNA sequence. Helminthologia, 2013; 50: 238-243.

Takeda M, Sugiyama H, Qian BZ. Two new records of freshwater crabs from China. J. Teikyo Heisei Univ., 2013; 24: 1-5.

2．原著論文、総説（和文）

2．和文発表

岸田直裕，原本英司，今野祥顕，泉山信司，浅見真理，秋葉道宏．水中のクリプトスポリジウム・ジアルジア検査における遺伝子検査法の実用性に関する検討．土木学会論文集Ｇ（環境）2013；69(7)：III_631-637.

泉山信司、黒木俊郎、水系感染する病原微生物（クリプトスポリジウムおよびレジオネラ）への対策、水環境学会誌、36(5)、161-164、2013

泉山信司、日本食品衛生協会：食中毒予防必携－第３版－ISBN978-4-88925-014-5(2013)　II 食中毒各論　1 微生物類による食中毒　D 原虫・寄生虫　1 原虫類 pp. 273-303

山﨑 浩．話題＆News アジア条虫症．Med. Technol., 2013; 41: 481-482

山﨑 浩．食品による寄生動物感染症 8　蠕虫感染症(3) 条虫．防菌防黴菌, 2013; 41: 227-236.

川合 覚，石原優吾，笹井貴子，高橋史成，桐木雅史，林尚子，山﨑 浩，平石秀幸，千種雄一．生シラスの生食による感染が疑われたクジラ複殖門条虫症1例．獨協医誌, 2013; 40: 189-192.

村井謙治、鈴木麻衣、鈴木彰人、石島聡子、渡辺由希子、乾 啓洋、高宮信三郎、山﨑 浩、内藤俊夫、美田敏弘、磯沼 弘．駆虫により咽頭違和感が消失した無鉤条虫症の１例．Clin. Parasitol. 2013; 24: 94-96.

杉山　広, 森嶋康之, 大前比呂思, 山﨑　浩, 木村真也．アニサキスによる食中毒:届出に関わる法改正とレセプトデータによる患者数の推計．Clinic. Parasitol., 2013; 24: 44-46.

吉松裕介, 中鉢正太郎, 杉山　広, 富岡枝里, 堀尾穣治,

佐藤美奈子，松崎　達，寺嶋　毅，丸山治彦．在日ミャンマー人のヒロクチ肺吸虫症の一例．Clinic. Parasitol., 2013; 24: 103-105.

石原未希子，高倉　晃，日吉康弘，笠島真志，木村美智子，久保田勝，益田典幸，坪川大悟，中村　健，杉山　広. 在日ラオス人姉妹に発症したウェステルマン肺吸虫症例．Clinic. Parasitol., 2013; 24: 106-108.

水野麻衣，清水裕希，坂井浩志．調　裕次，杉山　広，山﨑　浩. サブイレウスにて保存的加療されていた旋尾線虫による皮膚幼虫移行症の 1 例．臨床皮膚科, 2013; 67: 539-542.

杉山　広．増えている？アニサキス食中毒．食と健康, 2013; 57(7): 8-16.

3. 書籍（英文）

Sugiyama H, Singh TS, Rangsiruji A. *Paragonimus* (chapter 39). Molecular Detection of Human Parasitic Pathogens. pp.421-433, CRC press, Boca Raton. July, 2013.

3. 書籍（和文）

見市文香，野崎智義　(2013)　赤痢アメーバマイトソームの精製方法 in 寄生虫学研究　材料と方法 2013 年版、三恵社

津久井久美子，小林正規，野崎智義　(2013)　アメーバ肝膿瘍動物モデル in 寄生虫学研究　材料と方法 2013 年版、三恵社

牧内貴志，橘　裕司，野崎智義　(2013)　赤痢アメーバ原虫の形質転換株の樹立法 in 寄生虫学研究　材料と方法 2013 年版、三恵社

佐藤映美，野崎智義　(2013)　赤痢アメーバの間接蛍光抗体法による観察法 in 寄生虫学研究　材料と方法 2013 年版、三恵社

杉山　広. 生食による寄生虫感染症のリスク．生食のおいしさとリスク．pp.379-393, エヌ・ティー・エス，東京. 2013 年 5 月.

II. 学会発表

1.　国際学会

Santos, H, Makiuchi, T., Imai, K, Tomii, K., Horton, P, and Nozaki, T. A novel mitosomal beta barrel protein in Entamoeba histolytica. International Congress of Protistology XIV, Jul 28-Aug 2, 2013, Vancouver.

Nozaki, T. Evolution of mitochondrion-related organelles in parasitic protists under anaerobic conditions. The 4th International Symposium on Dynamics of Mitochondria, Oct 28-Nov 1, 2013, Okinawa.

Santos, H, Makiuchi, T., Imai, K, Tomii, K., Horton, P, and Nozaki, T. A novel mitosomal beta barrel protein in Entamoeba histolytica. The 4th International Symposium on Dynamics of Mitochondria, Oct 28-Nov 1, 2013, Okinawa.

Nozaki, T. Unique evolution of mitochondrion-related organelles in the enteric protozoon Entamoeba histolytica: a potential target for drug development. 16th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim-US-Japan Cooperative Medical Sciences Program, Parasitic Diseases Panel Meeting, Feb 9-12, 2014, Dhaka.

Nozaki, T. Evolution of mitochondrion-related organelles in parasitic protists under anaerobic conditions. 33rd Yonsei Tropical Medicine Symposium “Recent Progress on Cell Biologyof Protozoan Parasites”, Institute of Tropical Medicine, Yonsei University College of Medicine, Feb 20, 2014, Seoul.

Kumiko Nakada-Tsukui, Emi Sato, Tomoyoshi Nozaki, Functional analysis of the AIG1 family proteins that were originally identified as virulence-related genes in comparative genomic analysis in Entamoeba histolytica. The 10th Japan-Taiwan Symposium on Vaccine Preventable Diseases and Vector-Borne Diseases & Cooperative Project Report, September 12-13, 2013, Toky, Japan**日 台シンポジウム**

Yamasaki Hiroshi, Sugiyama Hiromu, Morishima Yasuyuki. Current situation of food-borne parasitic helminthiases in Japan. June 5-8, 2013, Yokohama, Japan

Sugiyama H. Current status of foodborne parasitic helminthiases in Japan. The 12th Annual Meeting of Chinese Society of Veterinary Parasitologists. November 2-6, 2013. Zhengzhou, China.

Sugiyama H, Morishima Y, Umehara A, Kawakami Y, Ohmae H, Yamasaki H. Identification of anisakid nematode

species in clinical specimens by using nested polymerase chain reaction. Joint International Tropical Medicine Meeting 2013, December 11-13, 2013. Bangkok, Thailand.

Singh TS, Sugiyama H, Singh LD. *Paragonimus westermani* found in Manipur, the northeastern state bordered with Myanmar. Joint International Tropical Medicine Meeting 2013, December 11-13, 2013. Bangkok, Thailand.

Nagamune, K. “Extracellular Maturation in Toxoplasma gondii of Plant-like Vacuoles, Essential Organelles of Apicomplexan Parasites.” International Symposium on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, July 2013, Kyoto

Sakamoto, H., Nagamune, K., Kita, K. and Matsuzaki, M. “Characterization of secondary plastid membrane transporter homologs in Perkinsus marinus.” International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, August 2013, Halifax, Canada

Sahara K, Sugiyama K, Agata K, Eguchi D, Ichimura Y, Jinno H, Kosaka K, Izumiyama S, Yagita K, Katayama F, Tomita A, Michikoshi Y, Yagi M, Tanaka Y, Endo T, Kura F. Sanitary control of circulating bath water by monochloramine disinfection. The 8th international conference on Legionella. October 2013, Melbourne.

Kumiko Nakada-Tsukui, Karina Picazarri, Eiryo Kawakami, Kumiko Tsuboi, Atsushi Furukawa, Dan Sato, Tomoyoshi Nozaki Atg8 is involved in endosomal and phagosomal acidification in the primitive parasitic eukaryote *Entamoeba histolytica.* Autophagy in Stress, Development & Disease Autophagy at the Intersection of Health and Disease March 16-21, 2014 Renaissance Tuscany Il Ciocco Resort Lucca (Barga), Italy

Kumiko Nakada-Tsukui Functional analysis of the AIG1 family proteins that were originally identified as virulence-related genes in comparative genomic analysis in Entamoeba histolytica. 16th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim Antimicrobial Drug Resistance in Bacterial and Parasitic Diseases, Venue: ICDDR,B, Dhaka, Bangladesh February 9-13, 2014

Kumiko Nakada-Tsukui, Emi Sato, Tomoyoshi Nozaki, Functional analysis of the AIG1 family proteins that were originally identified as virulence-related genes in comparative genomic analysis in *Entamoeba histolytica*. The 10th Japan-Taiwan Symposium on Vaccine Preventable Diseases and Vector-Borne Diseases & Cooperative Project Report, September 12-13, 2013, Toky, Japan

Fkshi, M., Sakura, T., Tahara, M., Aonuma, H., Matsubara, R., Andrabi, S.B.A., and Nagamune, K. “The Acidic organelle in extracellular *Toxoplasma gondii*.” 12th International Congress on Toxoplasmosis, Oxford, UK, June 2013

Tahara, M., Fkshi, M., Sakura, T., Matsubara, R., Yamano, A., Yamagishi, J., and Nagamune, K. “Primaquine-resistance in *Toxoplasma gondii* is associated with the mutations in chloroquine resistance transporter (CRT), which are different from chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*.” Molecular Parasitology Meeting XXIV, Woods Hole, MA, USA, September 2013

2. 国内学会など

見市文香、宮本智文、原博満、野崎智義、吉田裕樹 赤痢アメーバ”マイトソーム”の硫酸活性化経路の生化学的解析 第11回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム, Oct 2-3, 2013, Nagasaki

牧内 貴志、見市 文香、津久井 久美子、橘 裕司、野崎智義 Entamoebaマイトソームのタンパク質輸送機構 シンポジウム「進化的原動力としての共生」、第１５回日本進化学会大会、つくば、Aug 30, 2013

牧内 貴志、見市 文香、津久井 久美子、橘 裕司、野崎智義 Entamoebaマイトソームのタンパク質輸送機構 第36回日本分子生物学会年会 神戸, Dec 5, 2013

見市文香, 宮本智文, 原博満, 野崎智義, 吉田裕樹 赤痢アメーバ“マイトソーム”の硫酸活性化経路の生化学的解析 第86回日本生化学会大会、日本、横浜、Sep 11-13, 2013

見市文香, 宮本智文, Ghulam Jeelani, 原博満, 野崎智義, 吉田裕樹 赤痢アメーバ“マイトソーム”が産生するコレステロール硫酸の機能解析 第83回日本寄生虫

学会大会、日本、松山、Mar 28-29, 2014

Hanadate, Y., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., and Saito-Nakano, Y. Regulation of phagocytosis by Rab8A in *Entamoeba histolytica.* **第86回日本生化学会大会**. 2013年9月11日-13日. **横浜**

花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子 Rab8A **が制御する寄生性原虫赤痢アメーバの貪食機構の解明**. 83**回日本寄生虫学会大会**. 2014**年３月**26-28. **松山**

Kumiko Nakada-Tsukui, Emi Sato, Tomoyoshi Nozaki Functional analysis of the AIG1 family proteins that were originally identified as virulence-related genes in comparative genomic analysis in *Entamoeba histolytica*. **第３６回日本分子生物学会年会　兵庫県神戸市** 2013年12月3 **日～6日　ポスター発表**

津久井久美子、野崎智義　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける Atg8 の機能　特定領域研究　細胞内ロジスティクスシンポジウム　2013 年 9 月 17 日~18 日　兵庫県淡路市　ポスター発表

津久井久美子、丸茂このみ、佐藤映美、野崎智義　赤痢アメーバで 見つかった新規システインプロテアーゼ輸送受容体の解析　第 86 回日本生化学会大会　神奈川県横浜市　2013 年 9 月 11 日～13 日　口頭発表（ワークショップ）

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるリソソーム酵素輸送受容体のドメイン解析　第 2 回日本細胞共生学会若手の会　京都府京都市　2013 年 9 月 21 日～22 日　口頭発表

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるリソソーム酵素輸送受容体のドメイン解析　第２１回分子寄生虫学 ワークショップ　兵庫県神戸市 2013 年 8 月 25 日～28 日口頭発表

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子　*Entamoeba histolytica* に おける脂質シグナルの解析　第２１回分子寄生虫学ワークショップ　兵庫県神戸市 2013 年 8 月 25 日～28 日口頭発表

松尾恵梨子、神川龍馬、矢崎裕規、田原美智留、佐倉孝哉、永宗喜三郎、稲垣祐司　“Karenia 属渦鞭毛藻における進化的起源の異なる葉緑体型 GAPDH の進化と細胞内局在”　第 15 回日本進化学会 2013 年 8 月、つくば

永宗喜三郎　“寄生・共生におけるゾンビ化機構の分子生物学的解析”　第 36 回日本分子生物学会 2013 年 12 月、神戸

田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、青沼宏佳、木下タロウ、永宗喜三郎　“トキソプラズマによる宿主細胞ゾンビ化タンパク質群（ロプトリー蛋白質群）注入における宿主細胞膜マイクロドメインの役割”　第 36 回日本分子生物学会 2013 年 12 月、神戸

八木田健司、環境衛生監視員に必要なアメーバの知識、環境衛生監視員向けレジオネラ症対策講習会、文京保健所、2013 年 6 月、東京

八木田健司、クドア、サルコシスティス等の寄生虫による食中毒について、平成 25 年度専門研修「検査技術」、特別区職員研修所、2013 年 9 月、東京

八木田健司、井上幸次、角膜炎症例より分離された Megavirus 感染アカントアメーバ、第 46 回原生動物学会大会、 2013 年 11 月、広島

佐原啓二、杉山寛治、縣邦雄、江口大介、市村祐二、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、片山富士男、富田敦子、道越勇樹、八木美弥、田中慶郎、遠藤卓郎、倉文明、モノクロラミンによる循環式浴槽の消毒効果について－営業施設における検証試験－、日本防菌防黴学会第 40 回年次大会、平成 25 年 9 月、大阪府

烏谷竜哉、泉山信司、吉崎美和、荒井桂子、磯部順子、緒方喜久代、金谷潤一、矢崎知子、八木田健司、倉文明、液体培養（Liquid Culture） EMA-qPCR 法を用いたレジオネラ生菌迅速検査法の評価、日本防菌防黴学会第 40 回年次大会、平成 25 年 9 月、大阪府

泉山信司、自由生活性アメーバ・レジオネラ対策としての、浴槽水のモノクロラミン消毒の提案、国立感染症研究所、研究部・センター・室報告会、2013 年 10 月、東京都

泉山信司、水野聰、川口有希子、及川智、従属栄養細菌による飲料水兼用耐震性貯水槽の管理、環境技術学会、2013 年 9 月、岐阜県

泉山信司 、水道水におけるクリプトスポリジウム汚染の検出と対策について、考え方の整理、第 83 回日本寄生虫学会、2014 年 3 月、愛媛県

岡崎隆三、泉山信司、八木田健司、鎌田洋一、竹内史比古、関塚剛史、黒田誠、野崎智義、馬寄生原虫 *Sarcocystis fayeri* におけるアピコプラストゲノムの構造決定、第 83 回日本寄生虫学会、2014 年 3 月、愛媛県

八木田健司、泉山信司、宮崎誠生、ジアルジア検査用イムノクロマトキットの開発､第 83 回日本寄生虫学会、2014 年 3 月、愛媛県

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子　Entamoeba histolytica における脂質シグナルの解析　第 21 回分子寄生虫学ワークショップ　2013 年 8 月 兵庫県神戸市

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるリソソーム酵素輸送受容体のドメイン解析　第21回分子寄生虫学ワークショップ　2013 年 8 月　兵庫県神戸市

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるリソソーム酵素輸送受容体のドメイン解析　第 2 回日本細胞共生学会若手の会　2013 年 9 月　京都府京都市

津久井久美子、丸茂このみ、佐藤映美、野崎智義　赤痢アメーバで見つかった新規システインプロテアーゼ輸送受容体の解析　第 86 回日本生化学会大会　2013 年 9 月　口頭発表（ワークショップ）神奈川県横浜市

津久井久美子、野崎智義　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける Atg8 の機能　特定領域研究　細胞内ロジスティクスシンポジウム　2013 年 9 月兵庫県淡路市

Kumiko Nakada-Tsukui, Emi Sato, Tomoyoshi Nozaki Functional analysis of the AIG1 family proteins that were originally identified as virulence-related genes in comparative genomic analysis in Entamoeba histolytica. 第 36 回日本分子生物学会年会　2013 年 12 月 兵庫県神戸市

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子　赤痢アメーバ（Entamoeba histolytica）におけるリソソーム酵素輸送受容体のドメイン解析　第83回日本寄生虫学会大会　2014 年 3 月　愛媛県松山市

花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子 Rab8A が制御する寄生性原虫赤痢アメーバの貪食機構の解明　第 83 回日本寄生虫学会大会　2014 年 3 月　愛媛県松山市

坂本寛和、畑昌幸、永宗喜三郎、北潔、松崎素道　“貝類寄生虫パーキンサスにおける二次共生葉緑体の機能”　第２回マトリョーシカ型生物学研究会 2013 年 7 月、京都

松尾恵梨子、神川龍馬、矢崎裕規、田原美智留、佐倉孝哉、永宗喜三郎、稲垣祐司　“Karenia 属渦鞭毛藻類における進化起源の異なる葉緑体型 GAPDH の細胞内局在”　第２回マトリョーシカ型生物学研究会 2013 年 7 月、京都

山野安規徳、永宗喜三郎　“シストにも有効な抗トキソフラスマ薬シード候補の探索”　第 21 回分子寄生虫学ワークショップ 2013 年 8 月、神戸

福士路花、矢幡一英、佐倉孝哉、金子修、永宗喜三郎　“トキソフラスマやマラリアか持つ植物液胞様オルカネラ”　第21回分子寄生虫学ワークショップ 2013 年 8 月、神戸

坂本寛和、永宗喜三郎、北 潔、松崎素道　“アブシシン酸生合成阻害剤フルリトンは貝類寄生虫 Perkinsus marinus の増殖を阻害する”　第 77 回日本植物学会 2013 年 9 月、札幌

松原立真、小嶋美紀子、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、福士路花、川原史也、山野安規徳、榊原均、永宗喜三郎　“寄生性原虫が産生する植物ホルモンの機能解析”　第 2 回日本細胞共生学会若手の会 2013 年 9 月、京都

福士路花、矢幡一英、佐倉孝哉、田原美智留、松原立真、金子修、永宗喜三郎　“細胞外ステージのトキソプラズマが持つ植物液胞様オルガネラ”　第 11 回分子寄生虫学･マラリアフォーラム 2013 年 10 月、長崎

福士路花、矢幡一英、佐倉孝哉、田原美智留、松原立真、金子修、永宗喜三郎　“細胞外ステージのトキソプラズマが持つ植物液胞様オルガネラの構造と機能”　第 46 回日本原生動物学会大会 2013 年 11 月、広島県東広島市

松原立真、小嶋美紀子、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、福士路花、川原史也、山野安規徳、榊原均、永宗喜三郎　“寄生性原虫が産生する植物ホルモン

の機能解析” 第 46 回日本原生動物学会大会 2013 年 11 月、広島県東広島市

松原立真、永宗喜三郎 “Functional analysis of Plasmodium-producing salicylic acid” 第 7 回寄生虫感染免疫研究会 2014 年 3 月、岐阜県高山市

田原美智留、福士路花、佐倉孝哉、松原立真、山野安規徳、山岸潤也、永宗喜三郎 “Toxoplasma gondii をモデルとしたプリマキン作用機序の解明” 第 83 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、松山

松原立真、小嶋美紀子、田原美智留、Syed Bilal Ahmad Andrabi、福士路花、川原史也、山野安規徳、佐倉孝哉、榊原均、永宗喜三郎 “寄生性原虫が産生するサリチル酸の機能解析” 第 83 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、松山

坂本寛和、鈴木重雄、永宗喜三郎、北 潔、松崎素道 “色素体を持つ貝類寄生虫パーキンサスにおける植物ホルモンアブシジン酸の重要性の検討” 第 83 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、松山

佐倉孝哉、田原美智留、松原立真、山野安規徳、永宗喜三郎 “Toxoplasma gondii トキソプラズマにおける IP3 およびリアノジン受容体様機能分子の探索” 第 83 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、松山

永宗喜三郎、佐倉孝哉、田原美智留、別所知明、松原立真、山野安規徳、泉山信司、八木田健司 “食中毒起因原虫 Sarcocystis fayeri の滑走運動能および細胞内侵入能” 第 83 回日本寄生虫学会大会 2013 年 3 月、松山

太田 昭生, 高木 績, 大前 比呂思, 中野 由美子, 藤井 充 (2013) 発熱で受診した生殖母体を有する輸入熱帯熱マラリア患者の一例. 第24回日本臨床寄生虫学会. 2013 年 6 月 15 日. 奈良市

海老根一生、平井誠、中野由美子 マラリア原虫における Rab5b の機能解析 第 2 回マトリョーシカ型生物学研究会 京都 July 24-26, 2013

Yuki Hanadate, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki, and Yumiko Saito-Nakano (2013) Regulation of phagocytosis by Rab8A in Entamoeba histolytica. 第 86 回日本生化学会大会. 2013 年 9 月 11 日-13 日. 横浜

海老根一生, 平井誠, 中野由美子 (2013) マラリア原虫の ARA6 様遺伝子, Rab5b の機能解析. 第 77 回日本植物学会大会. 2013 年 9 月 13 日-15 日. 北海道

海老根一生, 平井誠, 坂口美亜子, 矢幡一英, 金子修, 中野由美子 (2013) マラリア原虫の Rab5b は脂質修飾依存的に感染赤血球内に運ばれる. 第36回日本分子生物学会大会. ワークショップ. 2013 年 12 月 3-6 日神戸.

中野 由美子、美田 敏宏 (2014) サルファドキシンとピリメサミン耐性熱帯熱マラリアはアジアからアフリカに異なる時代に移入した：アーカイブ血液スメア標本による解析 Independent introduction of sulfadoxine and pyrimethamine resistant Plasmodium falciparum genotypes from Asia to Africa. 第 83 回日本寄生虫学会大会. 2014 年 3 月 26-28. 松山

花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子 (2014) Rab8A が制御する寄生性原虫赤痢アメーバの貪食機構の解明. 83 回日本寄生虫学会大会. 2014 年 3 月 26-28. 松山

朝日博子、 Mohammed E.M. Tolba, 田邊将信、 菅野純夫、Molecular factors that are associated with early developmental arrest of intraerythrocytic Plasmodium falciparum. 第 83 回日本寄生虫学会大会、2014 年 3 月、松山、愛媛

山﨑 浩, 中村健, 武藤麻紀, 森嶋康之, 杉山 広, Intapan P. M., Maleewong W., 松岡 裕之, 小林 薫, 高山勝好, 小林行治. 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. 平成 25 年 3 月 29 日～31 日, 東京.

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. 平成 25 年 3 月 29 日～31 日, 東京.

大前比呂思, 杉山 広, 山﨑 浩, Muth S., Duong S. 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. 平成 25 年 3 月 29 日～31 日, 東京.

阿部信次郎, 森田 亘, 藤井達也, 山崎 浩, 箱崎 幸也. アフリカで感染したと推定される無鉤条虫症の 1 例. 第598回日本内科学会関東地方会例会. 平成 25 年 10 月 12 日, 東京

Mercado R., Ichimura S., Kuramoti T., Yamasaki H. *Diphyllobothrium* plerocercoids parasitizing in feral salmonids in Chile. 第 73 回日本寄生虫学会東日本支部大会．平成 25 年 10 月 12 日，東京.

坪川大悟，三上房子，高宮信三郎，福田孝一，山﨑 浩，中村 健. マンソン裂頭条虫プレロセルコイドのゼラチンゼリーによる長期生存保存法. 第 73 回日本寄生虫学会東日本支部大会. 平成 25 年 10 月 12 日, 東京.

鹿児島崇，山崎善隆，坂口幸治，斉藤 博，久保惠嗣，杉山 広．ウェステルマン肺吸虫症の姉妹例．第 132 回日本内科学会信越地方会.平成 25 年 6 月 8 日，長野.

杉山 広, 森嶋康之, 大前比呂思, 山﨑 浩, 木村真也. アニサキスによる食中毒：届出に関わる法改正とレセプトデータによる患者数の推計. 第 24 回日本臨床寄生虫学会大会.平成 25 年 6 月 15 日，奈良.

吉松裕介, 中鉢正太郎, 杉山 広, 富岡枝里, 堀尾穣治, 佐藤美奈子，松崎 達，寺嶋 毅，丸山治彦．在日ミャンマー人のヒロクチ肺吸虫症の一例. 第 24 回日本臨床寄生虫学会大会.平成 25 年 6 月 15 日，奈良.

石原未希子，高倉 晃，日吉康弘，笠島真志，木村美智子，久保田勝，益田典幸，坪川大悟，中村 健，杉山広．在日ラオス人姉妹に発症したウェステルマン肺吸虫症例．第 24 回日本臨床寄生虫学会大会.平成 25 年 6 月 15 日，奈良.

杉山 広，森嶋康之，山﨑 浩，八木田健司，大前比呂思．寄生虫による食中毒の届出に関わる法改正．第 34 回衛生微生物技術協議・レファレンスセンター会議（寄生虫）．平成 25 年 7 月 11 日，名古屋.

杉山 広，柴田勝優，山﨑 浩，T. Shantikumar Singh TS. インド東北部マニプール州で検出されたウェステルマン肺吸虫の形態と分子同定に関する検討．第 83 回日本寄生虫学会大会．平成 26 年 3 月 26 日～28 日，松山.

III. その他

1. 受賞

公益社団法人 土木学会、H25 年 11 月、第 50 回環境工学研究フォーラム「論文賞」

（岸田直裕，原本英司，今野祥顕，泉山信司，浅見真理，秋葉道宏．水中のクリプトスポリジウム・ジアルジア検査における遺伝子検査法の実用性に関する検討．土木学会論文集 G（環境） 2013; 69(7):III_631-637.）

2. 特許

水中浮遊粒子のろ過回収用フィルタならびにこれを用いた水中浮遊粒子のろ過回収方法および水質の管理方法、遠藤卓郎、泉山信司、平成 26 年 2 月 21 日、特許第 5476558 号

7．感 染 病 理 部

部長　長谷川　秀樹

概　要

1. 人事等

感染病理部の職員数は現在 13 名で、内訳は、部長 1 名、室長 3 名、主任研究官 8 名、研究員 1 名である。戸山庁舎に 11 名の職員と、村山庁舎に 2 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第六室、室長の浅沼秀樹と主任研究官の相内 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会田萌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. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究
6. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

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. ポリオーマウイルス（JC ウイルス）に関する研究
3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究
4. 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
5. 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
6. ピコルナウイルスに関する研究
7. HIV に関する研究
8. 狂犬病に関する研究
9. 風疹ウイルスに関する研究

Ⅲ. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
2. フラビウイルスワクチンの開発
3. HTLV-1 ワクチンの開発
4. SARS-CoV のワクチンに関する研究
5. ムンプスワクチンの安全性に関する研究

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ヒトプリオン病確定診断に関する研究

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. H-7650 形透過電子顕微鏡の運用
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。2013 年度、人体由来検体数は 124 症例であった。検索の結果、サイトメガロウイルス 12 例、帯状疱疹ウイルス 4 例、メルケルウイルス感染症 4 例、他重症熱性血小板減少症候群ウイルスや風疹ウイルス感染症、ヒストプラズマ感染症、トレポネーマ感染症例においても分子生物学的、免疫組織化学的に検索し、共同研究レファレンスとして結果を依頼者に報告した。(佐藤由子、片野晴隆、中島典子、高橋健太、長谷川秀樹)

2. 感染症の診断に関する研究

（1）日本人からの Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus （TSPyV）のクローニング

ひとりの日本人心筋炎患者の病理組織から、次世代シークエンサーを用いて、TSPyV の遺伝子断片を見出した。このサンプルから TSPyV 全遺伝子をクローニングした。既報告の２株と 99.5%の相同性があり、既報告の配列と同様に、LT, ST, VP1-3 をコードしていた。代表的なクローンでは 24 カ所に既報告とは異なる配列（変異）が認められた。本クローンは日本人からとられた初めての TSPyV のクローンである。（福本 瞳、都築慎也［国立国際医療研究センター］、佐藤典子［同］、峰 宗太郎［研究生］、望月 眞［杏林大学］、川名誠司［日本医大］、長谷川秀樹、黒田 誠［病原体ゲノム解析研究センター］、片野晴隆）

（2）病理切片上での in situ 核酸検出法の検討

迅速・簡便化 in situ hybridization AT tailing（ISH-AT）法と市販の分岐 DNA プローブを用いた方法（bDNA-ISH 法）では、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ており、プローブ 1 個が検出する感度は ISH-AT 法の方が高いが、標的核酸の塩基長が長く、細胞中のコピー数が少ない場合は bDNA-ISH 法が有効である場合があった。H7N1 鳥インフルエンザウイルスに感染した家禽の脳に IL-6 ｍRNA を b-DNA-ISH 法で検出した。（中島典子、佐藤由子、長谷川秀樹、栗林沙耶［北海道大学］）

3. ヘルペスウイルス感染症に関する研究

EBV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル

EBV が関連するエイズ関連リンパ腫、膿胸後リンパ腫、ホジキンリンパ腫、メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患、老人性 EBV 関連 B 細胞性リンパ増殖症における EBV miRNA の発現プロファイルを次世代シークエンサーおよび定量的 PCR を用いて解析した。EBV miRNA の発現を元にクラスター分類を行ったところ、エイズ関連リンパ腫と膿胸後リンパ腫は、他のリンパ腫とは異なるクラスターを作った。miR-BHRF1 が免疫不全関連リンパ腫で高発現しており、これは宿主の免疫状態がウイルスの miRNA の発現に関与する可能性を示す。（片野晴隆、比島恒和［都立駒込病院］、坂本康太、上原妙子［協力研究員］、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚 剛［病原体ゲノム解析研究センター］、黒田 誠［同］）

4. インフルエンザ感染症に関する研究

（1）鳥インフルエンザウイルス（H7N9）感染症の病理学的解析

2013 年 4 月に中国から報告された H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルス（以下 H7N9）のヒト感染例では、ほとんどが重症の急性呼吸促迫症候群（ARDS）を併発して死亡しているが、ヒト剖検例の報告はなく、ヒト体内での感染動態は不明である。我々はヒトから分離された H7N9 ウイルス感染動物モデルの病理学的解析を東京大学等と共同で行い、その特徴を明らかにした。ヒトから分離された H7N9 ウイルスはカニクイザルの上気道と下気道の両方で感染増殖すること、マウス、フェレットでは、鳥から分離された H7N9 ウイルスよりも強い炎症を引き起こし、サル、フェレットでは気管上皮細胞や気管支腺上皮細胞において、より多くのウイルス抗原が検出

された。（中島典子、佐藤由子、鈴木忠樹、高橋健太、渡辺登喜子［東京大学］、河岡義裕［東京大学］、長谷川秀樹）

（2）1918 スペイン風邪インフルエンザウイルスに類似した鳥インフルエンザウイルスに関する病理学的解析

1918 年にパンデミックとなったヒトインフルエンザウイルスに類似した鳥インフルエンザウイルスを自然界の中から選出し、1918 類似インフルエンザウイルスとし、可能性のあるアミノ酸変異を加え、将来パンデミックとなる可能性のあるウイルスが東京大学等で作製された。我々はこれらを感染させたフェレットの気管と肺組織の病理学的解析を行った。その結果、1918 ウイルスと比較して感染早期から肺に強い病理変化をおこすことがわかった。（中島典子、佐藤由子、鈴木忠樹、高橋健太、渡辺登喜子［東京大学］、河岡義裕［東京大学］、長谷川秀樹）

5. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

（1）カンボジアにおける HCV ゲノタイプ分布の解析

カンボジアにおける HCV の疫学とウイルスゲノタイプの分布に関しては、不明な点が多い。プノンペン地区を中心に、HCV 感染が確認された 172 例を対象に、ゲノタイプ分布を検討した。HCV NS5B 領域の塩基配列を決定し、ゲノタイプを同定した。結果は 1a（2.3%）、1b（39.5%）、2a（2.9%）、6a（2.9%）、6c（1.7%）、6e（30.8%）、6f（12.8%）、6p（2.3%）、6q（1.2%）、6r（0.6%）、6s（0.6%）であった。この成績から、カンボジアでの主要な HCV ゲノタイプは 1b、6e であり、またゲノタイプ 6 型バリアントが全体の 53%を占めていることが明らかとなった。この所見は、隣国ベトナムの南部地域（ホーチミン）における分布パターンと類似していた。東南アジアに特異的に流行するゲノタイプ 6 型に属す HCV のルーツを探るため、全長シークエンスを含む詳細な解析を、現在検討中である。（阿部賢治、Van Hung Pham ［ホーチミン医科薬科大学医学部分子バイオメディスン：ベトナム］）

（2）ベトナムで集団発生した風疹の分子疫学的特徴

2011～2012 年にかけて、ベトナム南部地域で集団発生した風疹の分子疫学的特徴を解析した。臨床的に風疹疑いの患者 130 例（妊婦 110 例、新生児・胎児 20 例）を対象とした。PCR 法にて風疹ウイルス RNA が妊婦の羊水中には 110 例中 103 例（93.6%）、新生児・胎児の咽喉ぬぐい液には 20 例中 20 例で陽性を示した。更に、新生児・胎児の胎盤からも全例でウイルス RNA が検出された。新生児・胎児では全例で白内障が観察された。PCR 陽性を示した 24 例を対象に、E1 遺伝子の塩基配列を決定し、分子系統樹解析からゲノタイプを同定した結果、全例でゲノタイプ 2B に属した。興味あることに、今回分離されたゲノタイプ 2B ベトナム株は他の 2B 株から離れた位置に独立したクラスターを形成したことから、ベトナム国内では独自の土着風疹ウイルスが長い間流行を繰り返していることが推察された。また、日本国内で 2011 年に分離された一部の風疹ウイルス株がベトナム株と同一のクラスターに属したことから、ベトナム由来のウイルスが国内に入ってきていることが推察された。（阿部賢治、Thong Van Nguyen ［フン・ブン病院病理部 : ベトナム］、Van Hung Pham ［ホーチミン医科薬科大学医学部分子バイオメディスン：ベトナム］）

（3）ベトナムハノイ国立小児病院 PICU 死亡例の病理解析

原因不明重症肺炎の死後生検肺組織を解析した。1 例は 4 ヵ月男児で、サイトメガロウイルス（CMV）肺炎にアスペルギルス肺炎を併発していた。この症例ではホルマリン固定パラフィン包埋肺切片からアデノウイルスとパラインフルエンザウイルスのゲノムも検出された。 2 例目は 1 歳男児で発症 27 日目に死亡しており間質性肺炎を呈していた。CMV など呼吸器系ウイルスのゲノムは陰性であったが、グロコット染色陽性、免疫組織化学でアスペルギルス陽性であった。（中島典子、Hoang Ngoc Thach ［ハノイ国立小児病院:ベトナム］、佐藤由子、長谷川秀樹）

6. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

（1）SFTS の病態解明を目指した病理学的解析法の確立

新しい感染症である SFTS の病態形成機序を理解するためには、ヒト症例の病理学的解析が必要不可欠であるが、これまで日本国内のみならず世界各国からも全く SFTS の病理学解析の報告はなく SFTS の病理像については未だ不明である。本研究では日本国内で確認された SFTS 剖検例の病理組織検体を用いて SFTS の病理学的解析法の確立を目的とした。ウイルス感染症の病理学的検索方法としては、①光学顕微鏡による観察、②免疫組織化学、③ ISH（In situ hybridization）法、④電子顕微鏡、⑤遺伝子検査などが挙げられるが、これらのうち、国立感染症研究所感染病理部では SFTS 剖検症例の病理診断のルーチン検査として①光学顕微鏡による観察、②免疫組織化学、⑤遺伝子検査の３つの検査系を組み合わせて行うこととし、それらの検査系を確立した。（鈴木忠樹、佐藤由子、片野晴隆、福本 瞳［協力研究員］、中島典子、長谷川秀樹）

(2) 日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群剖検例の病理解析

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は SFTS ウイルス（SFTSV）による新しいダニ媒介性感染症である。今回、我々は日本国内で初めて確認された SFTS の剖検例の病理解析を行った。本症例において、多数の SFTSV 抗原陽性細胞が見られた右腋窩リンパ節には広範な壊死を伴うリンパ節炎が見られ、SFTSV 感染との関連が強く示唆される。脾臓や骨髄には著明な血球貪食像が見られたが SFTSV 抗原陽性細胞はほとんど見られず、ヒト体内における主なウイルスの増殖部位はリンパ節であると考えられた。しかしながら、SFTS の病理像はまだ明らかでなく、病理像と病態との関連について明らかにするためには更なる症例の検索が必要と考えられた。（鈴木忠樹、亀井敏昭［山口県立総合医療センター］、高橋 徹［山口県立総合医療センター］、片野晴隆、中島典子、福士秀悦［ウイルス１部］、下島昌幸［ウイルス１部］、前田 健［山口大学］、水谷哲也［東京農工大学］、森川 茂［獣医科学部］、西條政幸［ウイルス１部］、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）抗血管新生薬による KSHV の RTA 蛋白誘導機構について

抗血管新生薬フマギリンによる KSHV 感染 B 細胞の再活性化スイッチ蛋白 RTA 誘導メカニズムについて、血管内皮細胞における薬剤作用機序と比較した。血管内皮細胞においては p53 パスウェイ活性化を介した p21 蛋白発現誘導により G1 アレストを起こすとされる。KSHV 感染 B 細胞で G1 アレストを誘導する他の薬剤について検討したところ、トリコスタチン A では RTA 誘導されたがラパマイシンは抑制した。宿主細胞の G1 アレストと RTA 誘導に直接の関係はないと考えられた。（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. ポリオーマウイルス（JC ウイルス）に関する研究

JC ウイルスのビロポリン機能発現分子機構の解明

JC ウイルスのビロポリンである Agno に結合する宿主タンパク質として、リソソームへの輸送を担うアダプター蛋白質である Adaptor protein complex 3 のδサブユニット（AP3D）を同定し、Agno が哺乳類細胞でビロポリンの機能を発現するためには Agno と AP3D との結合が必要不可欠であることを見出した。Agno と AP3D の結合は、AP3 の機能を抑制し、それにより Agno のリソソームへの輸送と分解が抑制され、結果として Agno が細胞膜表面へ輸送されビロポリンとしての機能が発現するという、Agno と AP3 の二者の間に相互抑制の関係性が存在することを明らかにした。（鈴木忠樹、大場靖子［北海道大学］、牧野吉倫［東京大学］、岡田由紀［京都大学］、寸田裕嗣［北海道大学］、長谷川秀樹、澤 洋文［北海道大学］）

3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

(1) MERS コロナウイルスのストックウイルスの作製と電子顕微鏡を用いた超微細構造の解析

エラスムス医学研究所より分与いただいた MERS-CoV を、VeroE6 細胞に接種し、研究に必要なワー

キングウイルスを準備した。また、透過型電子顕微鏡および走査電子顕微鏡を用いてウイルス粒子および感染細胞の超微細構造解析を行った。その結果、超微細形態学的に SARS-CoV との明らかな相違点は無かった。（永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹、竹内佳子［非常勤職員］、会田萌子［非常勤職員］、片岡紀代［期間業務職員］、長谷川秀樹、松山州徳［ウイルス第三部］、竹田誠［ウイルス第三部］）

（2）マウスの MERS-CoV 感受性について

中東呼吸器症候群コロナウイルス（MERS-CoV）の病原性と病態の解明、治療法の検討を最終目的として感染動物モデルの開発を試み、マウスの MERS-CoV に対する感受性を検討した。生後 24 時間以内の新生仔 ddY マウスに腹腔内、また生後 3 日目の個体にウイルスを経鼻接種した。また 5 週齢および半年齢の BALB/c マウスも同様にウイルスを経鼻接種した。ウイルス接種後のこれらのマウスは、明らかな臨床症状と体重変化を示さず、病理組織学的に著変はなく、ウイルス学的・血清学的にも感染を示唆する所見は得られなかった。今回の結果より、マウスは MERS-CoV に対する感受性を欠如していることが判明し、MERS-CoV の感染動物モデルには適さないと判断した。（岩田奈織子、福士秀悦［ウイルス第一部］、福間藍子［ウイルス第一部］、鈴木忠樹、佐藤由子、竹田誠［ウイルス第三部］、田代眞人［インフルエンザウイルス研究センター］、長谷川秀樹、永田典代）

（3）ラットの MERS-CoV 感受性について

MERS-CoV 感染動物モデル確立のため、ラットの MERS-CoV に対する感受性を検討した。生後 24 時間以内の新生仔 Lewis ラットに腹腔内、また生後 3 日目の個体にウイルスを経鼻接種した。また 5 週齢および半年齢の F344 ラットも同様にウイルスを経鼻接種した。ウイルス接種後の新生仔動物は、病理組織学的、ウイルス学的・血清学的に感染を示唆する所見は得られなかった。一方、5 週齢および半年齢の F344 ラットでは半年齢ラットで、感染後 14 日の血清中に非常に低値の中和抗体が検出された。しかし、ウイルス増殖を示す結果は得られなかった。今回の結果より、ラットはマウスと同様に MERS-CoV に対する感受性を欠如あるいは非常に低いことが判明し、MERS-CoV の感染動物モデルには適さないと判断した。（岩田奈織子、福士秀悦［ウイルス第一部］、福間藍子［ウイルス第一部］、鈴木忠樹、佐藤由子、竹田誠［ウイルス第三部］、田代眞人［インフルエンザウイルス研究センター］、長谷川秀樹、永田典代）

4. 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

Saasa らが作出したハンタウイルスのヌクレオカプシドタンパクに対する 6 種類のモノクローナル抗体（Saasa et al., 2012）と 1 つの市販抗体の免疫組織化学法における有用性を検討した。ホルマリン固定パラフィン包埋で作製されたハンターンウイルスとプーマラウイルス感染動物組織標本を用いて検索した結果、このうちの 3 つの抗体で組織上の両種のウイルス抗原の検出が可能なことが判明した。（永田典代、苅和宏明［北海道大学大学院］）

5. 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

劇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 個体の臨床症状、末梢血液像、サイトカイン動態、病理像の相互関係を明らかにした。その結果、好中球減少とリンパ球減少を主体とする強い免疫不全状態が、病態に大きく関与することが明らかになった。（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］）

6. ピコルナウイルスに関する研究

（1）エンテロウイルスの病理学的診断法に関する研究

脳炎・髄膜炎の原因となる主なエンテロウイルスの病理学的診断法を確立する目的で、参照標本と抗体の作製を行い、その有用性を検討した。対象としたウイルスは、コクサッキーウイルス A（CVA）群、CVB 群、エンテロ

ウイルス 71（EV71）、ポリオウイルス（PV）等とした。これらのウイルスを実験動物に接種し、適宜、材料を採取し、ホルマリン固定後パラフィン包埋切片を作製した。抗ウイルス抗体は EV71-1095, PV-1, CVB3-VP1, EV-2C を用いてウイルスに対する特異性と交差反応性を評価した。（小谷 治［研究生］、永田典代、鈴木忠樹、岩田奈織子、佐藤由子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹、小池智［協力研究員］、清水博之［ウイルス第二部］、細見卓司［高知県衛生研究所］、山下照夫［愛知県衛生研究所］）

（2）Saffold ウイルスの病原性に関する動物モデルを用いた研究

カルジオウイルスに属する Saffold ウイルスの病原性を明らかにする目的で、ddY 新生仔マウスと BALB/c マウスおよびカニクイザルを用いて、2 つの患者由来分離株（JPN08-404 株, 無菌性髄膜炎患者の髄液由来および Gunma/176/2008 株, 上気道炎患者の咽頭拭い液由来）の病原性についてウイルス学的、病理学的解析を進めている。（小谷 治［研究生］、山田祥平［実習生］、永田典代、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］、細見卓司［高知県衛生研究所］、塚越博之［群馬県衛生研究所］）

（3）コクサッキーウイルス B2 の病原性に関する動物モデルを用いた研究

出生後早期のコクサッキーウイルス B 群感染症の発症病理には不明な点が多い。コクサッキーウイルス B2 のプロトタイプ株を新生仔マウスに脳内接種すると、2 週目以降にすべての個体で水頭症を発症することを見出した。組織学的には大脳皮質壊死を伴う脳室の拡張が認められ、これは CVB1,CVB2 感染によりヒトで発症する嚢胞性脳室周囲白質軟化症と類似すると考えられた。現在、臨床分離株を用いた同様の検討を進めている。（潮田和佳［実習生］、小谷 治［研究生］、岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹、清水博之［ウイルス第二部］、吾郷昌信［長崎県環境保健研究センター］、飯塚節子［島根県保健環境科学研究所］）

7. HIV に関する研究

（1）新規抗ウイルス宿主因子 MARCH8 による HIV-1 感染抑制

MARCH ファミリー蛋白のひとつ MARCH8 は種々の宿主膜蛋白をダウンレギュレートする機能を有する。我々は先頃この蛋白がトランスフェリンレセプターのライソゾーム分解に関わることを報告した。この機能解析の過程で、MARCH8 発現レンチベクターの感染効率が極めて低いことを見出したことから、我々は MARCH8 が HIV-1 感染を阻害する可能性を検証した。MARCH8 をウイルス産生細胞で発現させた場合、産生されたウイルス粒子の感染性を低下させること、またその効果が MARCH8 の発現量に依存することが明らかとなった。更に HepG2 細胞における MARCH8 のノックダウンにより、その細胞から産生された HIV-1 の感染性が著明に上昇することを見出した。これらの結果から、MARCH8 は HIV-1 の感染を阻害する新規抗ウイルス宿主因子であることが明らかとなった。（小山貴芳［協力研究員］、多田卓哉［協力研究員］、藤田英明［長崎国際大］、徳永研三）

（2）SAMHD1 非依存的な HIV-1 複製阻害に関与する IFN 誘導性抗ウイルス宿主因子の探索

近年、インターフェロン（IFN）誘導性遺伝子（ISG）が次々と報告されており、その中には SAMHD1 等の主要抗ウイルス宿主因子も含まれている。本研究では、健常人における IFN-α 刺激後の ISG の発現変動を調べ、初代培養細胞における HIV-1 感染抑制効果について検討した。健常人単球由来の樹状細胞及びマクロファージにおける ISG の発現レベルを解析した結果、APOBEC3A を初めとする幾つかの既知の ISG において IFN-α 処理により 50-1,000 倍の発現上昇が認められるのに対し、SAMHD1 の発現上昇は 2 倍程度であった。実際、IFN-α 処理をした樹状細胞やマクロファージでは Vpx の有無に依らず HIV-1 感染が成立しなかったことから SAMHD1 以外の宿主蛋白が HIV-1 感染を強力に抑制する可能性が示唆された。（張 延昭［研究生・東京医科歯科大］、小山貴芳［協力研究員］、多田卓哉［協力研究員］、山岡昇司［東京医科歯科大］、徳永研三）

（3）LINE-1 転移抑制における APOBEC3G 二量体化の重要性

Alu や LINE-1 等のレトロトランスポゾンの転移は発癌の原因となりうるが、細胞にはその抑制機構が存在し、抗ウイルス宿主因子 APOBEC3（A3）ファミリーが転移抑制に関与することを、我々を含む複数のグループが報告している。本研究で LINE-1 転移解析を行った結果、LINE-1 転移抑制に重要な APOBEC3G（A3G）のアミノ酸は、昨年までに見出した Alu 転移抑制に必要なそれと全く同じであり、構造モデリングで予測された A3G の二量体化に重要な 24-28 番目のアミノ酸であることが分かった。したがって、LINE-1 転移抑制には Alu 転移抑制の場合と同様に A3G の二量体化が重要であることが明らかになり、A3G による LINE-1 及び Alu 転移抑制には共通の分子機構が関与してい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］、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］、徳永研三）

（4）HIV-1 CRF01_AE 株が gp120 CD4 結合部位を認識する単クローン抗体に対して中和抵抗性を示す分子機構

組換え型中和ヒト単クローン抗体 b12 は HIV-1 Env gp120 の CD4 結合部位と重複するエピトープを認識して、サブタイプ B、C 及び D 由来分離株の感染を広範囲に中和するが、東南アジアに蔓延する AE 株の多くは b12 に抵抗性を示す。我々は b12 抵抗性の分子機構を解析した結果、V2 領域の 185 番目のアミノ酸がアスパラギン酸（D185）の場合は b12 感受性、グリシンでは抵抗性であることが分かった。データベース解析の結果、サブタイプ B 株の多くは D185 を有するが、AE 株では多様性が認められた。したがって AE 株の b12 抵抗性は V2 領域の 185 番目のアミノ酸に規定されることが示唆された。更に b12 抗体結合性を解析した結果、AE-Env の b12 抵抗性は b12 が結合できないことに起因することが明らかになった。（亀岡正典［神戸大・保健学］、Piraporn Utachee［タイ NIH］、徳永研三、生田和良［阪大微研］、武田直和［阪大微研］）

8. 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。ヒト、マウスでは大唾液腺にウイルス抗原は認められなかったが、イヌでは顎下腺に多量に見つかった。耳下腺、舌下腺では認められなかった。顎下腺は漿液と粘液の混合腺であるが、イヌでは主に粘液腺に抗原を認めた。（飛梅 実、佐藤由子、Kieu Anh［ベトナム・NIHE 研究所］）

9. 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

昨年度に引き続き、ニュージーランドホワイト種のウサギにワクチン株を抗原として追加免疫をし、ポリクローナル抗体の作製を試みた。血清中の抗体産生をウエスタンブロットおよび免疫組織化学法により確認したが、非特異反応が強く、ウイルス抗原を検出する抗体を作出できなかった。（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

（1）経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの開発

国立感染症倫理委員会承認のもと健常成人ボランティアを募り、2012/13 シーズンの経鼻インフルエンザワクチン臨床試験を実施した。健常人ボランティアを 3 群に分け、現行インフルエンザ HA ワクチン皮下接種あるいは経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチン接種を実施し、誘導される抗体応答を比較した。ワクチン接種群は、第 1 群；現行 3 価インフルエンザ HA ワクチン皮下接種 1 回、第 2 群；CVP 添加 3 価全粒子不活化インフルエンザワクチン経鼻接種 2 回ならびに第 3 群；3 価全粒子不活化インフルエンザワクチン経鼻接種 2 回である。今回は、A（H3N2）ウイルスに対する血清 HI 抗体価の測定

を実施した。野外株 A/Victoria/361/11 に対するワクチン接種後の HI 抗体価は、接種前と比較して第 1 群が 1.86 倍、第 2 群が 1.89 倍ならびに第 3 群が 1.53 倍となった。ワクチン接種後に HI 抗体価 1:40 以上を示す被験者の割合（抗体保有率）は各群 70%を下回った。ワクチン製造株である A/Victoria/361/11（IVR-165）に対する抗体変化率は、野外株とほぼ同程度の上昇倍率を示し、抗体保有率も 70%以上となることが明らかになった。A（H3N2）ウイルスに対しては、CVP 添加経鼻不活化全粒子ワクチン 2 回接種は、現行 HA ワクチン 1 回接種と比較して非劣性であることが示された。(相内 章[併任]、鈴木忠樹、川口 晶［協力研究員］、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粘膜上に誘導される多量体 IgA 抗体のウイルス感染防御における役割

経鼻インフルエンザワクチンは、感染の場である気道粘膜上に分泌型 IgA を誘導する。粘膜面に存在する分泌型 IgA は、J 鎖を介して多量体化した IgA に secretary component（SC）が結合したものである。本研究では、ヒトにおいて経鼻インフルエンザワクチン接種後に鼻腔粘膜上に誘導される多量体 IgA のウイルス感染防御における役割を明らかにすることを目的とする。成人ボランティア数名にインフルエンザウイルス全粒子不活化ワクチンを計 5 回経鼻接種し、最終接種から 1 週間後鼻腔洗浄液を回収した。鼻腔洗浄液には IgM、IgA、IgG 抗体が含まれているが、このうちウイルス中和には IgA と IgG が寄与していた。精製 IgA の解析により、鼻腔洗浄液中の IgA は単量体、二量体、三量体、四量体、四量体以上の多量体から成ることが明らかになった。これらの抗体は、いずれもウイルス中和能を有していたが、多量体 IgA は IgG、単量体 IgA、二量体 IgA よりも高い中和能を有していた。以上の結果から、ヒトの鼻粘膜上に存在する多量体 IgA 抗体はインフルエンザウイルスに対する感染防御に寄与していると考えられる(鈴木忠樹、川口 晶[協力研究員]、相内 章［併任］、田村愼一［客員研究員］、長谷川秀樹)

2. 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継続した。前年度の予試験的成果を基に、発現・分泌されるキメラ DENV 抗原の性状を E/E, prM/E, prM/prM サンドイッチ ELISA 及び蔗糖密度勾配遠心法も加え解析した。その結果、1） DENV のウイルス蛋白は相互に連携して沈降速度の異なる 2 種の複合 VLP 抗原を形成でき、2） この相互作用で形成されるキメラ VLP 複合抗原は沈降速度が遅く、3） DENV の主要中和ドメインを異種 VLP ベクターで発現すると沈降速度の遅いキメラ複合抗原が形成される、こと等を新たに見出した。(鈴木忠樹、小島朝人［客員研究員］、山口善之［実習生］、長谷川秀樹)

(2) 金ナノ粒子を用いたウエストナイルウイルスワクチンによる免疫誘導能の解析

これまで様々なウイルスにおいて、抗原タンパク質自己集合能型 VLP やリポソームに抗原タンパク質を埋め込んだ粒子などが実用化されているが、これらの粒子は粒子の大きさや形状のコントロールが非常に難しい。最近、免疫応答が抗原粒子の大きさにより変化することが報告されているが、粒子形状が免疫応答に与える影響についての報告はない。そこで、大きさや形状を自由に変化させる事ができる金ナノ粒子などをコアとして、ウエストナイルウイルスのエンベロープタンパク質で覆った金ナノ粒子ワクチンを用いて、フラビウイルスワクチンとして最適な抗原粒子の大きさ・形状を探索した。その結果、免疫応答が抗原粒子形態に依存している事を見出し、フラビウイルスワクチンとして最適な抗原粒子形状を見出した。(新倉謙一［北海道大学］、松永達也［北海道大学］、鈴木忠樹、小林進太郎［北海道大学］、山口宏樹［北海道大学］、大場靖子［北海道大学］、川口 晶［協力研究員］、長谷川秀樹、梶野喜一［北海道大学］、二宮孝文［北海道大学］、澤 洋文［北海道大学］、居城邦治［北海道大学］)

(3)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

昨年度に引き続き、VeroE6 細胞に継代した 4 つの血清型の臨床分離株を成マウスに接種し、その病原性を血液学的・組織学的に検討した。デングウイルス 2 型，3 型はマウスに対し一過性の血小板減少とヘマトクリット値の減少、体重の増加を引き起こしたが、いずれの個体も顕著な臨床症状や組織病変は示さなかった。（永田典代、小島朝人［客員研究員］、鈴木忠樹、小谷 治［研究生］、岩田奈織子、長谷川秀樹、高崎智彦［ウイルス第一部］）

3. HTLV-1 ワクチンの開発

HTLV-1 感染症のコントロールのために、HTLV-1 感染予防ワクチンの開発が求められている。そこで、本研究では、HTLV-1 感染症予防ワクチン開発のために最も有力な感染防御抗原候補である Env タンパク質合成系を検討した。まず、コムギ無細胞タンパク質合成系を用いて全長 Env タンパク質を合成したところ、この全長 Env タンパク質は抗体誘導能を有していたが、抗原性が低く、実用的なワクチン開発のために何らかの抗原の改良が必要と考えられた。コムギ無細胞タンパク質合成系では、糖鎖が付加されないため、実際のウイルス粒子に存在する Env タンパク質に比べて抗原性が著しく低下した可能性がある。そこで、この糖鎖付加の問題を解決するために、哺乳類培養細胞タンパク質合成系を用いて可溶性 Env タンパク質の作製を試みたところ、単量体型 Env タンパク質は発現しなかったが、三量体化させることにより可溶性三量体型 Env タンパク質の合成に成功した。（鈴木忠樹、齊藤慎二［研究生］、相内 章［併任］、長谷川秀樹）

4. SARS-CoV のワクチンに関する研究

（1）UV 不活化 SARS-CoV（UV-V）の副反応機序の研究

UV-V 免疫を 2 回行ったマウスで、最終免疫から 10 日後にウイルス攻撃をすると、肺局所に好酸球浸潤が引き起こされることがこれまでの研究で明らかとなっている。今回、最終免疫から長期間経過したマウスでウイルス感染後の肺に同様な好酸球浸潤が見られるか確認した。最終免疫から 4 週後の BALB/c にウイルスチャレンジし、3 日後に肺の病理を調べた。その結果、UV-V 免疫マウスは中和抗体により感染を防御したが、肺には好酸球浸潤が見られた。最終免疫から長期間経過しても、UV−V 免疫マウスはウイルス感染によって肺局所に好酸球浸潤を引き起こす事が分かった。（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）

5. ムンプスワクチンの安全性に関する研究

ムンプスウイルスの神経病原性を解明する目的で、主に動物モデルの病理学的解析を行う。今年度は、動物モデルとして使用している霊長類と齧歯類の神経細胞を分類するため、ホルマリン固定パラフィン包埋切片における神経細胞マーカーの有用性について免疫組織化学法を用いて検討し、カニクイザルとマーモセットの神経細胞、神経幹細胞、各種のグリア細胞と上衣細胞を分類可能な抗体を選出した。（永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹、小谷 治［研究生］、高橋健太、木所 稔［ウイルス第三部］）

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究

肉骨粉に由来すると考えられている定型 BSE に加え、その生化学的特徴の異なる非定型 BSE が報告されている。本邦においても 2 頭の L-type に分類される非定型 BSE 罹患牛が摘発されている。定型および L-type 非定型 BSE をカニクイサルに接種し、中枢神経系の感染病理学的な解析を行った。その結果、定型 BSE 接種サルの病理像は、ヒトでの vCJD と同様の組織像を示し、サルがヒト vCJD モデルとなることがが示唆された。また、L-typeBSE 由来プリオン接種サルでは、ヒトの sCJD と同様の組織像を示し、感染性プリオン病を示唆する特徴的な所見を認めなかった。（飛梅 実、佐藤由子）

2. ヒトプリオン病の確定診断に関する研究

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、免疫組織化学的手法並びに生化学的手法を用いてプリオン病確定診断支援も行っている。免疫組織化学的手法によるプリオンの検出では従来のオクタリピート配列付近に対する抗体の有用性に加え、N 末に対する抗体がプリオン検出に有用であることを明らかにした。(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 25 年度も順調に運用された。

年明けより非点が取りきれず、きれいな画像を得られない状況が出てきたが、部品がそろい次第手当をしてもらうことになった（年度明け早々に行える予定)。

本年度中に処理した検体数は 294 検体で、その内訳は感染研内部 210 検体、共同研究 70 検体、外部のみ 14 検体であった。また、見学者の対応は 10 回、89 名であった。公務員が 23 名、学生ら 41 名、一般 25 名（一般公開の見学者）であった。(齋藤典子［期間業務職員］)

2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

8 月に H-7000 から HT7700 に装置を入れ替えた。HT7700 は蛍光板での観察を無くし、モニター上での視野探しとなり、電子線照射に弱い試料でもダメージを少なくすることが可能となった。依頼数 18 件、樹脂包埋検体数 25 検体（286 ブロック)、ネガティブ染色数 23 検体であった。(片岡紀代［期間業務職員］)

Ⅵ. 機器管理運営委員会機器の運用

1. H-7650 形透過電子顕微鏡の運用

依頼数 19 件、樹脂包埋検体数 7 検体（70 ブロック)、ネガティブ染色数 70 検体であった。依頼者は、細菌第一部・動物管理室・ウイルス第二部・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 16 件であり、透過電子顕微鏡利用は 16 件（樹脂包埋検体 8、ネガティブ染色数 257)、走査電子顕微鏡は 1 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、感染症疫学センター、バイオセーフティ管理室、血液安全性研究部であった。(片岡紀代［期間業務職員］、竹内佳子［非常勤職員］、会田萌子［非常勤職員］、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。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、萩原健一、中村優子、花田賢太郎［細胞化学部］)

国際協力関係業務

(1) 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 26 年 1 月 31 日)

（2）岩田奈織子、永田典代：Global Health Security Action Group Laboratory-Network の活動の一環である、Rapid Diagnostic EM in Suspected Bioterrorist Attacks and Infectious Diseases の第 4 回ワークショップ（平成 25 年 10 月 24 日~25 日、ロベルトコッホ研究所主催に参加し電子顕微鏡を用いた病原体の迅速検出法に関する実習により、技術訓練と意見交換を行った。

（3）高橋健太、永田典代：マラヤ大学医学部病理部門を訪問し、「アジアにおける感染症病理診断リファレンス・コンサルテーションネットワークの形成」（研究代表者長谷川秀樹）の一環として、ウイルス性脳炎を中心とした感染症患者の病理像と感染動物モデルの確立に関して情報交換し、議論した。（平成 25 年 12 月 2 日~7 日）

（4）阿部賢治：ベトナム、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。

（5）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および病理学的解析に関する研究・技術指導を行った。

（6）飛梅 実：日台シンポジュウム（於：感染症研究所）講演。Pathology of Rabies; Human, Dog and Mouse

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Ainai A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. J Virol. 2014 May;88 (10):5608-16. Epub 2014 Mar 5.

2) Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, AjisawaA, Tanuma J, Uehira T, Hagiwara S, Yajima K, Koizumi Y, Shirasaka T, Kojima Y, Nagai H, Yokomaku Y, Shiozawa Y, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, Katano H. Classification of AIDS-related lymphoma cases between 1987 and 2012 in Japan based on the WHO classification of lymphomas, fourth edition. Cancer Med. 2014 Jan 10.

3) Senchi K, Matsunaga S, Hasegawa H, Kimura H, Ryo A. Development of oligomannose-coated liposome-based nasal vaccine against human parainfluenzavirus type 3. Front Microbiol. 2013 Nov 26;4:346.

4) Miyazaki M, Nishihara H, Hasegawa H, Tashiro M, Wang L, Kimura T, Tanino M, Tsuda M, Tanaka S. NS1-binding protein abrogates the elevation of cell viability by the influenza A virus NS1 protein in association with CRKL. Biochem Biophys Res Commun. 2013 Nov 29;441 (4):953-7.

5) Suzuki T, Orba Y, Makino Y, Okada Y, Sunden Y, Hasegawa H, Hall WW, Sawa H. Viroporin activity of the JC polyomavirus is regulated by interactions with the adaptor protein complex 3. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Nov 12;110 (46):18668-73.

6) Ainai A, Tamura S, Suzuki T, van Riet E, Ito R, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal vaccination with an inactivated whole influenza virusvaccine induces strong antibody responses in serum and nasal mucus of healthy adults. Hum Vaccin Immunother. 2013 Sep;9 (9):1962-70.

7) Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, Nakajima N, Imai M, Yamada S, Murakami S, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Sakoda Y, Takashita E, McBride R, Noda T, Hatta M, Imai H, Zhao D, Kishida N, Shirakura M, de Vries RP, Shichinohe S, Okamatsu M, Tamura T, Tomita Y, Fujimoto N, Goto K, Katsura H,

Kawakami E, Ishikawa I, Watanabe S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Sugita Y, Uraki R, Yamaji R, Eisfeld AJ, Zhong G, Fan S, Ping J, Maher EA, Hanson A, Uchida Y, Saito T, Ozawa M, Neumann G, Kida H, Odagiri T, Paulson JC, Hasegawa H, Tashiro M, Kawaoka Y. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. Nature. 2013 Sep 26;501 (7468):551-5.

8) Okada S, Hasegawa S, Hasegawa H, Ainai A, Atsuta R, Ikemoto K, Sasaki K, Toda S, Shirabe K, Takahara M, Harada S, Morishima T, Ichiyama T. Analysis of bronchoalveolar lavage fluid in a mouse model of bronchial asthma and H1N1 2009 infection. Cytokine. 2013 Aug;63 (2):194-200.

9) Kuribayashi S, Sakoda Y, Kawasaki T, Tanaka T, Yamamoto N, Okamatsu M, Isoda N, Tsuda Y, Sunden Y, Umemura T, Nakajima N, Hasegawa H, Kida H. Excessive cytokine response to rapid proliferation of highly pathogenic avian influenza viruses leads to fatal systemic capillary leakage in chickens. PLoS One. 2013 Jul 9;8 (7):e68375.

10) Dan K, Akiyoshi H, Munakata K, Hasegawa H, Watanabe K. A Kampo (traditional Japanese herbal) medicine, Hochuekkito, pretreatment in mice prevented influenza virus replication accompanied with GM-CSF expression and increase in several defensin mRNA levels. Pharmacology. 2013;91 (5-6):314-21.

11) Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, Kobayashi S, Yamaguchi H, Orba Y, Kawaguchi A, Hasegawa H, Kajino K, Ninomiya T, Ijiro K, Sawa H. Gold nanoparticles as a vaccine platform: influence of size and shape on immunological responses in vitro and in vivo. ACS Nano. 2013 May 28;7 (5):3926-38.

12) 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. Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. J Virol. 2013 Jun;87 (12):7170-5.

13) 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. 2013 Apr;26 (2):133-42.

14) Katano H, Yokomaku Y, Fukumoto H, Kanno T, Nakayama T, Shingae A, Sugiura W, Ichikawa S, Yasuoka A. Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus among men who have sex with men in Japan. J Med Virol 2013; 85: 1046-52.

15) Ishikawa C, Tanaka J, Katano H, Senba M, Mori N. Hippuristanol reduces the viability of primary effusion lymphoma cells both in vitro and in vivo. Marine drugs 2013; 11: 3410-24.

16) Hashimoto K, Yamada S, Katano H, Fukuchi S, Sato Y, Kato M, Yamaguchi T, Moriishi K, Inoue N. Effects of immunization of pregnant guinea pigs with guinea pig cytomegalovirus glycoprotein B on viral spread in the placenta. Vaccine 2013; 31: 3199-205.

17) Goto H, Matsuda K, Srikoon P, Kariya R, Hattori S, Taura M, Katano H, Okada S. Potent antitumor activity of zoledronic acid-induced Vgamma9Vdelta2 T cells against primary effusion lymphoma. Cancer Lett 2013; 331: 174-82.

18) Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Katano H. Frequent detection of Merkel cell polyomavirus DNA in sera of HIV-1-positive patients. Virology journal 2013; 10: 84.

19) Koyama T, Sun B, Tokunaga K, Tatsumi M, Ishizaka Y. DNA damage aids HIV-1 infection of macrophages by overcoming integrase inhibition. Retrovirology 10:21, 2013.

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. 15:280-90, 2013.

21) Fujita H, Iwabu Y, Tokunaga K (co-corresponding author), Tanaka Y. Membrane-associated RING-CH (MARCH) 8 mediates the ubiquitination and lysosomal

degradation of the transferrin receptor. J. Cell Sci. 126:2798-809, 2013.

22) Tada T, Kadoki M, Liu Y, Tokunaga K (co-corresponding author), Iwakura Y. Transgenic expression of the human LEDGF/p75 gene relieves the species barrier against HIV-1 infection in mouse cells. Front. Microbiol. 4: 377, 2013.

23) Koyama T, Arias JF, Iwabu Y., Yokoyama, M., Fujita, H., Sato, H., and Tokunaga, K (corresponding author). APOBEC3G oligomerization is associated with the inhibition of both Alu and LINE-1 retrotransposition. PLoS ONE. 8: e84228, 2013.

24) Fujii K, Nagata N, Sato Y, Ong KC, Wong KT, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S. Transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 neuropathogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013. 110:14753-14758.

25) Hayasaka D, Shirai K, Aoki K, Nagata N, Simantini DS, Kitaura K, Takamatsu Y, Gould E, Suzuki R, Morita K. TNF-α acts as an immunoregulator in the mouse brain by reducing the incidence of severe disease following Japanese encephalitis virus infection. PLoS One. 2013:e71643.

26) Yoshii K, Yamazaki S, Mottate K, Nagata N, Seto T, Sanada T, Sakai M, Kariwa H, Takashima I. Genetic and biological characterization of tick-borne encephalitis virus isolated from wild rodents in southern Hokkaido, Japan in 2008. Vector Borne Zoonotic Dis. 2013. 13:406-414.

27) Yoneda M, Georges-Courbot MC, Ikeda F, Ishii M, Nagata N, Jacquot F, Raoul H, Sato H, Kai C. Recombinant measles virus vaccine expressing the Nipah virus glycoprotein protects against lethal Nipah virus challenge. PLoS One. 2013.8:e58414.

28) Yoshii K, Moritoh K, Nagata N, Yokozawa K, Sakai M, Sasaki N, Kariwa H, Agui T, Takashima I.Susceptibility to flavivirus-specific antiviral response of Oas1b affects the neurovirulence of the Far-Eastern subtype of tick-borne encephalitis virus. Arch Virol. 2013.158:1039-1046.

29) Kotani O, Shirato K, Nagata N, Ikeda H, Takahashi K, Taguchi F. Neuropathogenesis of a mouse-adapted porcine epidemic diarrhea virus infection in suckling mice. J Gen Virol. 2013. 94:831-836.

30) Takahashi T*, Maeda K*, Suzuki T*, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. J Infect Dis. 2014 Mar;209 (6):816-27. *Contributed equally to this work

31) Makino Y, Suzuki T, Hasebe R, Kimura T, Maeda A, Takahashi H, Sawa H. Establishment of tracking system for West Nile virus entry and evidence of microtubule involvement in particle transport. J Virol Methods. 2014 Jan;195:250-7.

32) Kobayashi S, Suzuki T, Igarashi M, Orba Y, Ohtake N, Nagakawa K, Niikura K, Kimura T, Kasamatsu H, Sawa H. Cysteine Residues in the Major Capsid Protein, Vp1, of the JC Virus Are Important for Protein Stability and Oligomer Formation. PLoS ONE. 2013 Oct 9;8 (10):e76668.

33) Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, Kobayashi S, Yamaguchi H, Orba Y, Kawaguchi A, Hasegawa H, Kajino K, Ninomiya T, Ijiro K, Sawa H. Gold Nanoparticles as a Vaccine Platform: Influence of Size and Shape on Immunological Responses in Vitro and in Vivo. ACS Nano. ACS Nano. 2013 May 28;7

(5):3926-38.

34) Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. 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. 2013 Apr;87 (8):4683-93.

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) Pham VH, Nguyen TV, Nguyen TTT, 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 2013:57:152-6.

37) 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. 2013, 26 (3):357-69.

2. 和文発表

1) 石井 健、河岡義裕、長谷川秀樹：より効果的なインフルエンザワクチンを目指して．インフルエンザ（1345-8345）14 巻 2 号 pp73-78, 2013.04

2) 鈴木忠樹、長谷川秀樹、佐多徹太郎：【感染症症候群（第 2 版）−症候群から感染性単一疾患までを含めて−［上］】ウイルス感染症　RNA ウイルス感染症　マールブルグウイルス感染症（マールブルグ病/マールブルグ出血熱）日本臨床（0047-1852）別冊感染症症候群（上） pp451-454, 2013.07

3) 鈴木忠樹、長谷川秀樹、佐多徹太郎：【感染症症候群（第 2 版）−症候群から感染性単一疾患までを含めて−［上］】ウイルス感染症　RNA ウイルス感染症　エボラウイルス感染症（エボラ出血熱）日本臨床（0047-1852）別冊感染症症候群（上） pp446-450, 2013.07

4) 長谷川秀樹、田村慎一：【インフルエンザに立ち向かう】インフルエンザワクチンの現状と展望．Mebio（0910-0474）30 巻 12 号 pp68-73, 2013.12

5) 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．カレントテラピー 32（1）：56-60, 2014.1

6) 片野晴隆：水痘帯状疱疹ウイルス疾患の病理．病原微生物検出情報（IASR）2013, 34; 302-303.

7) 福本 瞳、片野晴隆：メルケル細胞ポリオーマウイルスと発癌．日本臨床　増刊号　皮膚悪性腫瘍　2013, 71: 691-694.

8) 片野晴隆：【感染症と癌、病理からのメッセージ】KSHV とヒト腫瘍．病理と臨床 2013, 31: 151-158.

9) 永田典代、佐多徹太郎：電子顕微鏡を利用した病原体の検出．モダンメディア　2013, 59（2）：34-40.

10) 佐多徹太郎、鈴木忠樹：〔忘れてはいけない熱帯感染症・輸入感染症感染症〕①エボラ出血熱．感染症 43（5）:188-199, 2013.

11) 鈴木忠樹、長谷川秀樹:HTLV-1 と白血病・リンパ腫、病理と臨床 31（2）: 146 -150 2013（総説、査読なし）

12) 中島典子：インフルエンザ感染症の病理．小児内科 2013, 45 巻:1935-1941

13) 中島典子:インフルエンザにおける ARDS の病理像．インフルエンザ 2013,14:41-46.

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Hasegawa H, Ainai A, Suzuki T, van Riet E, Tamura S, Ikeda K, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T. Antibody responses in serum and nasal mucus induced by the intranasal vaccination with a whole-virion inactivated vaccine of A（H5N1） virus in healthy naïve human adults. Keystone Symposium Pathogenesis of Respiratory Viruses, Keystone, USA, January 2014.

2) Ikeda K, Ito R, Ainai A, Suzuki T, Tamura SI, Arao Y, Tashiro M, Asanuma H, Hasegawa H. Antibody

responses induced by intranasal vaccination of a whole inactivated influenza virus in mice previously infected or vaccinated. Keystone Symposium Pathogenesis of Respiratory Viruses, Keystone, USA, January 2014.

3) Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Tashiro M, Hasegawa H. Impact of the quaternary structure of human Secretory-IgA on neutralization potency to Influenza A virus in upper respiratory tract. Keystone Symposium Pathogenesis of Respiratory Viruses, Keystone, USA, January 2014.
4) Koyama T, Tada T, Fujita H, and Tokunaga K. Membrane-associated RING-CH （MARCH） 8 protein inhibits HIV-1 infection. Frontiers of Retrovirology Conference 2013, Cambridge, UK, September 2013.
5) Koyama T, Arias J.F, Iwabu Y, Yokoyama M, Fujita H, Sato H, and Tokunaga K. APOBEC3G oligomerization is associated with the inhibition of Alu and LINE-1 retrotransposition. Keystone Symposia “Mobile Genetic Elements and Genome Evolution”, Santa Fe, USA, March 2014.
6) Kotani O, Asif N, Suzuki T, Iwata N, Nakajima N, Katano H, Hosomi T, Tsukagoshi H, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Comparative analyses of the pathogenicity of two isolates of Saffold virus in neonatal mouse. Europic 2014, Belgium, March 2014.
7) Nagata N, Kotani O, Iwata N, Suzuki T, Sato Y, Koike S, Iwasaki T, Taguchi F, Hasegawa H, Shimizu H. A comparison of human enterovirus detection in experimentally infected neonatal mice using immunohistochemistry. Europic 2014, Belgium, March 2014.
8) Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Tashiro M, Hasegawa H. Role of the quaternary structure of human Secretory-IgA in nasal mucus on neutralization activity to Influenza A Virus. Options for the Control of Influenza VIII, Cape Town, South Africa, September 2013.
9) Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Tashiro M, Hasegawa H: Impact of the quaternary structure of human Secretory-IgA on viral neutralization activity in upper respiratory tract. 7th Vaccine & ISV Congress, Barcelona, Spain, October 2013.
10) Ainai A, van Riet E, Tamura S, Suzuki T, Kawaguchi A, Ito R, Ikeda K, Senchi K, Asanuma H, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H. Antibody responses in serum and nasal mucus induced by the intranasal vaccination with a whole-virion inactivated vaccine of A（H5N1） virus in healthy human adults. 7th Vaccine & ISV, Oct 2013, Barcelona, Spain. October 2013.
11) Kawachi S, Nakajima N, Okamoto T, Nunoi H, San LT、Thuy NT, Liem NT, Suzuki K. The severe cases of influenza infection in Vietnamese children-from the cases of PICU in NHP-Hanoi. Option for the Control of Influenza VIII, South Africa, September 2013.
12) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Kawachi S, Suzuki K, Liem NT, Sata T, Hasegawa H. Pathological study of ARDS complicated by influenza virus infection. Option for the Control of Influenza VIII, South Africa, September 2013.

2. 国内学会

1) 岡田清吾、長谷川俊史、長谷川秀樹、相内 章、池本健三、佐々木功典、戸田昌一、調 恒明、市山高志：インフルエンザ A/H1N1 2009 感染による気管支喘息モデルマウスの気管支肺胞洗浄液解析. 第 116 回日本小児科学会学術集会（広島）2013.4
2) 長谷川秀樹：ワクチン研究の最前線 次世代ワクチンとしての経鼻インフルエンザワクチンの開発. 日本薬剤学会第 28 年会（名古屋）2013.5
3) 宮崎将也、王 磊、長谷川秀樹、津田真寿美、西原 広史、田中伸哉：ヒト細胞内蛋白質 NS1BP の機能解析. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6
4) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹：新しい迅速 in situ ゲノム検出法の感染病理への応用. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6
5) 片野晴隆、坂本康太、吉岡妙子、関塚 剛、福本 瞳、

佐藤由子、長谷川秀樹、黒田 誠：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス（KSHV/HHV-8）関連疾患におけるウイルス miRNA の発見. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6

6) 永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹、佐藤由子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹：脳炎・髄膜炎関連ウイルスの病理学的検索のための参照標本の作製と抗体の検討. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6
7) 片野晴隆、佐藤由子、中島典子、福本 瞳、鈴木忠樹、黒田 誠、長谷川秀樹　病理検体からの不明病原体検出法の最先端. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6
8) 鈴木忠樹、澤 洋文、大場靖子、片野晴隆、佐藤由子、長谷川秀樹、長嶋和郎：進行性多巣性白質脳症（PML）の病態解明への分子アプローチ. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6
9) 長谷川秀樹、中島典子：炎症・免疫機構の新基軸と疾病の病理 重症インフルエンザ病態解明へのアプローチ　剖検例からの検討. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.6
10) 長谷川秀樹：良く効くインフルエンザワクチンを目指して. 第 54 回日本臨床ウイルス学会（倉敷）2013.6
11) 小谷 治、Naeem Asif、鈴木忠樹、岩田奈織子、中島典子、片野晴隆、細見卓司、塚越博之、長谷川秀樹、田口文広、清水博之、永田典代：新生仔マウスを用いた Saffold virus（SAFV）患者由来株の病原性の比較解析. 第 156 回日本獣医学会学術集会（岐阜）2013.8
12) 水上拓郎、滝澤和也、栗林和華子、平松竜司、倉光 球、山崎淳平、William Hall、長谷川秀樹、山口一成、浜口 功：成人 T 細胞白血病マウスモデルを用いた癌幹細胞ニッチ形成における破骨細胞の機能解析と破骨細胞を標的とした治療法の開発. 第 156 回日本獣医学会学術集会（岐阜）2013.8
13) 石川晴美、高橋恵子、齋籐磨理、江橋桃子、塩原恵慈、南 正之、大石 實、亀井 聡、砂川恵伸、武井 正美、中道一生、高橋健太、鈴木忠樹、片野晴隆、長谷川秀樹：抗 AQP4 抗体陽性を示したヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染を基礎疾患とする進行性多巣性白質脳症（PML）の 1 例. 第 18 回日本神経感染症学会総会（宮崎）2013.9
14) 長谷川秀樹：脳炎・脳症の病理. 第 18 回日本神経感染症学会総会（宮崎）2013.9
15) 長谷川俊史、岡田清吾、脇口宏之、市山高志、長谷川秀樹、相内 章、調 恒明、戸田昌一、熱田 了：喘息モデルマウスを用いたインフルエンザ感染による気管支喘息発作重症化の病態解析. 新型と季節性インフルエンザの比較. 第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会（札幌）2013.10.
16) 脇口宏之、岡田清吾、長谷川秀樹、相内 章、戸田 昌一、調 恒明、長谷川俊史：気管支喘息（病態）・免疫不全 喘息モデルマウスを用いた新型インフルエンザ感染における気管支肺胞洗浄液中ケモカインの検討. 第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会（札幌）2013.10
17) 長谷川秀樹、相内 章、田村愼一、鈴木忠樹、浅沼秀樹、小田切孝人、田代眞人、倉田 毅：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を用いた経鼻インフルエンザワクチンの効果. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会（津）2013.11
18) 鈴木忠樹、川口 晶、相内 章、田村愼一、小田切孝人、田代眞人、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔粘膜上に誘導される多量体 IgA 抗体のウイルス感染防御における役割. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会（津）2013.11
19) 相内 章、田村愼一、鈴木忠樹、小田切孝人、田代眞人、倉田 毅、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に年齢、性別あるいは副反応が与える影響. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会（津）2013.11
20) 長谷川秀樹、亀井敏昭、高橋 徹、鈴木忠樹、片野晴隆、中島典子、福士秀悦、下島昌幸、前田 健、水谷哲也、森川 茂、西條政幸：日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群の 1 剖検例. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11
21) 西條政幸、高橋 徹、前田 健、水谷哲也、大松 勉、

吉河智城、谷英樹、福士秀悦、下島昌幸、福間藍子、緒方もも子、鈴木忠樹、中島典子、片野晴隆、永田典代、長谷川秀樹、山岸拓也、倉根一郎、森川 茂：後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された11名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

22) 片野晴隆、比島恒和、坂本康太、上原妙子、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚 剛、黒田 誠：EBV関連リンパ増殖性疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル. 第61回日本ウイルス学会学術集会(神戸) 2013.11

23) 渡辺登喜子、今井博貴、村上 晋、中島典子、冨田有里子、山西誠也、浦木隆太、西藤岳彦、内田裕子、長谷川秀樹、田代眞人、河岡義裕：中国でヒトから分離された H7N9 鳥インフルエンザウイルスのフェレットにおける飛沫伝播性. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

24) 小谷 治、Naeem Asif、鈴木忠樹、岩田奈織子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹、田口文広、清水博之、永田典代：新生仔マウスを用いた Staffold virus 小脳継代株の作出とその病原性の解析. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

25) 岩田奈織子、宇田晶彦、佐藤由子、鈴木忠樹、横田（恒次）恭子、森川 茂、長谷川秀樹、永田典代：UV 不活化 SARS-CoV 免疫 BALB/c マウスの SARS-CoV 感染肺における好酸球浸潤に対する Toll-like receptor 刺激の影響. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

26) 飛梅 実、佐藤由子、長谷川秀樹、濱本紀子、井上 智、野口 章：街上毒狂犬病ウイルスの宿主動物内局在の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

27) 高橋 徹、前田 健、亀井敏昭、水谷哲也、下島昌幸、福士秀悦、谷 英樹、吉河智城、森川 茂、長谷川秀樹、中島典子、鈴木忠樹、永田典代、片野晴隆、山岸拓也、大石和徳、西條政幸：重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の日本における初症例. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

28) 菅野隆行、上原妙子、福本 瞳、長谷川秀樹、片野晴隆：抗血管新生薬による KSHV 再活性化. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

29) 福本 瞳、都築慎也、佐藤典子、峰 宗太郎、望月 眞、川名誠司、長谷川秀樹、黒田 誠、片野晴隆：日本人からの Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus のクローニング. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

30) 松永智子、長谷川秀樹、菱澤方勝、高折晃史、梁 明秀：無細胞合成 HTLV-1 全長タンパク質を用いた血清中微量抗 HTLV-1 抗体検出法の開発. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

31) 潮田和佳、小谷 治、岩田奈織子、鈴木忠樹、中島典子、長谷川秀樹、清水博之、永田典代：コクサッキーウイルス B2 実験室株脳内接種後のマウスにおける水頭症の発症機序. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

32) 永田典代、小島朝人、鈴木忠樹、岩田奈織子、小谷 治、高崎智彦、長谷川秀樹：デングウイルス VeroE6 継代株のマウスに対する病原性. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

33) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、佐多徹太郎、長谷川秀樹　重症インフルエンザウイルス肺炎におけるサイトカイン・ケモカインの発現. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

34) 泉地恭輔、相内 章、鈴木忠樹、浅沼秀樹、梁 明秀、長谷川秀樹：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. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

35) 池田千将、伊藤 良、相内 章、鈴木忠樹、田村愼一、荒尾雄二郎、田代眞人、浅沼秀樹、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチンで誘導される抗体応答に基礎免疫が与える影響. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

36) 相内 章、浅沼秀樹、鈴木忠樹、原田勇一、田村愼一、田代眞人、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチンにおけるワクチンの組み合わせが抗体応答に与える影響. 第61回日本ウイルス学会学術集会（神戸）

2013.11

37) 川口 晶、鈴木忠樹、相内 章、佐藤由子、永田典代、田代眞人、長谷川秀樹：Nc/Nga マウスを用いた喘息発作によるインフルエンザ感染症重症化モデルの炸裂. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

38) 片野晴隆、坂本康太、吉岡妙子、関塚 剛、福本 瞳、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田 誠：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス（KSHV/HHV-8）関連疾患におけるウイルス miRNA の発現. 第 102 回日本病理学会総会（札幌）2013.4

39) 片野晴隆、比島恒和、坂本康太、上原妙子、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚 剛、黒田 誠：EBV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル. 第 10 回 EB ウイルス研究会（京都）2013.7

40) 中島典子、片野晴隆：定量的 PCR によるウイルスの網羅的検出法と病理検体への応用. シンポジウム 3 病原体の新しい診断法. 第 18 回日本神経感染症学会総会学術集会（宮崎）2013.10

41) 片野晴隆、味澤 篤、田沼順子、萩原將太郎、岡 慎一、矢嶋敬史郎、小泉祐介、上平朝子、鯉渕智彦、岩本愛吉、横幕能行、小島勇貴、永井宏和、岡田誠治：日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理組織分類. 第 27 回日本エイズ学会学術集会総会（熊本）2013.11

42) Fujita H, Iwabu Y, Tokunaga K, Tanaka Y. MARCH8 mediates the ubiquitination and lysosomal degradation of the transferrin receptor. The 35th Naito Conference: “The Ubiquitin-Proteasome System: From Basic Mechanisms to Pathophysiological Roles”, Sapporo, Japan, July 2013

43) 小山貴芳、多田卓哉、藤田英明、徳永研三：新規宿主因子 MARCH8 は HIV-1 感染を抑制する 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

44) 張 延昭、小山貴芳、多田卓哉、山岡昇司、徳永研三：SAMHD1 非依存的な HIV-1 複製阻害に関与する IFN 誘導性抗ウイルス宿主因子の探索. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

45) Juan F Arias、小山貴芳、岩部幸枝、横山勝、佐藤裕徳、徳永研三：APOBEC3G の二量体化は LINE-1 転移抑制に重要である. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

46) 亀岡正典、Piraporn Utachee、Panasda Isarangkura-na-ayuthaya、徳永研三、生田和良、武田直和：HIV-1 CRF01_AE 株が gp120 CD4 結合部位を認識する単クローン抗体に対して中和抵抗性を示す分子機構. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

47) 徳永研三：HIV-1 感染を抑制する抗ウイルス宿主因子の分子制御機講. H25 年度日本薬学会九州支部特別講演会（長崎）2013.11

48) 大久保麻佳、楢崎彩香、萩森政頼、山口泰史、藤井佑樹、藤原俊幸、徳永研三、藤田英明：亜鉛輸送体 ZIP14 の細胞内輸送および機能発現制御に関する基礎的解析. 第 30 回日本薬学会九州支部大会（長崎）2013.12

49) 小山貴芳、多田卓哉、藤田英明、徳永研三：膜貫通蛋白 MARCH8 による HIV-1 感染阻害. 第 36 回日本分子生物学会（神戸）2013.12

50) 天野富美夫、北村香南子、藤村功、齋藤典子：サルモネラ（*Salmonella* Weltevreden; SW）の接着・付着に及ぼすキチンの影響. 第 27 回 Bacterial Adherence & Biofilm 学術集会（東京）2013.7

51) 藤井 健、永田典代、小池 智：hSCARB2-Tg マウスを用いた EV71 標的組織決定機構の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

52) 片岡周子、西村順裕、鈴木忠樹、小谷 治、岩田奈織子、永田典代、網 康至、清水博之：エンテロウイルス 71 のカニクイザルにおける病原性の解析第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

53) 小谷 治、Naeem Asif、鈴木忠樹、岩田奈織子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹、田口文広、清水博之、永田典代：新生仔マウスを用いた Saffold virus 小脳継代株の作出とその病原性の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

54) 川口 晶、鈴木忠樹、相内 章、佐藤由子、永田典代、田代眞人、長谷川秀樹：Nc/Nga マウスを用いた喘息発作によるインフルエンザ感染症重症化モデルの作

製. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

55) 相内 章、浅沼秀樹、鈴木忠樹、原田勇一、田村愼一、田代眞人、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチンにおけるワクチンの組み合せが抗体応答に与える影響. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会（神戸）2013.11

56) 大場詩子、古賀友紀、住江愛子、保科隆之、阿部賢治、原 寿郎 : Pre-S2 遺伝子部分欠損を伴ったゲノタイプ H の HBV 感染により肝細胞癌を発症した 12 歳女児例. 第 30 回日本小児肝臓研究会（大宮）2013.7

57) 中島典子：ヒトにおける高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 感染症の病理. 第 155 回日本獣医学会学術集会（東京）2013.3

58) 中島典子：病理標本からわかること-新しい *in situ* RNA 検出法. 第 124 回小児血液腫瘍懇話会（東京）2013.5

III. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許第 5272129 号 「インフルエンザウイルスの不活化抗原に対するアジュバンド、 及び分泌型 IgA 抗体誘導剤」 登録日：平成 25 年 5 月 24 日

特許第 5448836 号 「ウエストナイルウイルスワクチンおよびその製造方法」 登録日：平成 26 年 1 月 10 日

欧州（EPC）特許：Patent No.（2221368）, “WEST NILE VIRUS VACCINE, AND METHOD FOR PRODUCTION THEREOF”, Date（2014.3.26）

香港標準特許 : Patent No.（2221368）, “WEST NILE VIRUS VACCINE, AND METHOD FOR PRODUCTION THEREOF”, Date（2014.3.26）

2. 国外特許出願（継続中）

“WEST NILE VIRUS VACCINE, AND METHOD FOR PRODUCTION THEREOF”,米国（12/741,479）、カナダ（No. 2,704,556）、シンガポール（201003139-1）、ベトナム（1-2010-01414）、インド（3333/CHENP/ 2010）、中国（200880115257.4）

8．免　疫　部

部長　阿戸　学

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. 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

人事異動として、平成 25（2013）年 4 月 1 日に免疫部長として阿戸　学（前職：免疫部第二室長）が任用された。平成 26 年 3 月 31 日に免疫部第一室長　横田　恭子が定年退職し、第三室長　大島　正道、第三室研究員　池尻　藍が退職した。

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 in vivo における HIV 感染機構の解析

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以前より知られているが、その機構は不明である。ヒト化マウスに R5 型および X4 型を同時に感染させてそれぞれのウイルスの経時的変動を解析した結果、R5 型の血中ウイルス量は高いレベルで維持されたのに対し、X4 型の血中ウイルスの出現は一過性であり、ヒト化マウスモデルにおいても HIV-1 初期感染における R5 型優位性が確認できた。現在は、本モデルにおいて細胞レベルでの解析を進めている。

［寺原和孝、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター）、池野翔太（早稲田大学大学院、研究生）、岡田誠治(熊本大学エイズ学研究センター)、横田恭子］

（２）HIV 潜伏感染 in vitro 解析系モデルの開発

強力な抗レトロウイルス剤の開発により、先進国では HIV 感染者におけるウイルス増殖を抑制することが可能となった現在、いかに HIV の潜伏感染・持続感染を制御し、完全な治癒をめざすか、という課題に焦点が絞られている。しかしながら、HIV の潜伏の機構とその維持については不明な点が多い。そこで、ヒト CD4 陽性 T 細胞がサイトカインのみで緩慢に増殖維持される（homeostatic proliferation (HSP)）培養系を確立した。静止期 CD4 陽性 T 細胞に我々の開発した蛍光発現 HIV-1 あるいは 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感染させて HSP 培養すると、CD4 陽性 T 細胞は全て $CD11a^{high}$ となり、ゆっくりと増殖する。この HSP 培養開始後 10 日前後に増殖していない細胞集団にも GFP 陽性の感染細胞を認め、更に、増殖していない GFP 陰性の細胞集団にも HIV-1 のゲノムが挿入(integration)されて低レベルの GFP mRNA を発現する細胞が存在していた。従って、この HSP 培養系は、生体内での HIV-1 の潜伏化とその維持を模倣する in vitro 解析系モデルとして有用である。

［横田恭子、和田倭（早稲田大学大学院、研究生）、小林(石原)美栄（臨時職員）、寺原和孝、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）］

（３）単一細胞解析技術を用いた HIV 感染進行の解析

単一細胞のレベルで PCR 増幅を行う装置の開発

や改良を行う共同研究が現在進行中である。これまでに、研究代表者の竹山教授グループは DNA の 1 分子計測システムとしてマイクロドロップレットを用いたデジタル PCR 法を開発した。これは、マイクロ流体デバイスを利用して PCR 溶液をピコリットル容量の液滴に分配し、個々のドロップレット内で PCR を行い、DNA 分子を可視化・カウントするものである。精度評価のため、HIV-1 をモデルとしたプラスミド DNA およびレンチウイルス感染細胞を利用した。プラスミド DNA レベルでは、当初の目的として掲げた 10 コピー以下の低コピーDNA 分子の定量が可能であり、理論値と実測値が一致することを確認できた。感染細胞を利用した評価では、ウイルス接種後 24 時間までの初期逆転写産物であるプロウイルス量の経時的変化を評価することができた。また、界面活性剤を含まない細胞溶解液では核内で形成される 2-LTR DNA は検出されないことが示唆され、現在の系で細胞内のプロウイルスのみを定量可能であると判断された。

［和田倭（早稲田大学大学院、研究生）寺原和孝、モリテツシ（早稲田大学理工学術院・国際教育センター、助教・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）麻疹ウイルスワクチン株が誘導する免疫応答のヒト化マウスを用いた解析

これまでに GFP 発現麻疹ウイルスワクチン株(AIK-C)をヒト化マウス(NOJ)に静脈投与し、基礎的な条件検討を行った後、CD4 陽性 T 細胞の数を保持できる Gag 発現麻疹ウイルス接種量を決定した。この時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少量の血液を用いてモニター可能であることを明らかにして論文発表した。更に、麻疹ウイルス接種後のヒト T 細胞応答を解析するため、同じドナー由来の単球由来樹状細胞を用いる刺激培養系を確立した。しかしながら、我々の NOJ では myeloid 系細胞の分化発達が乏しいため、ヒトサイトカイン発現プラスミドを静注する in vivo transfection 法によりマウス体内のヒト抗原提示細胞を増やす条件を検討している。

［池野翔太(早稲田大学大学院､研究生)､寺原和孝、駒瀬勝啓（ウイルス３部）、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）、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とその評価

東洋紡（株）との共同研究において、化学発光による迅速 H5HA 抗原検出キットを作製し、簡便な H5N1 高病原性鳥インフルエンザ診断キットを開発した (特許申請中)。これまでに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テストの結果、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。そこで、今年度は神戸大学インドネシア拠点の熱帯病研究所に検出装置 POCube と H5/A キットを導入し､重症呼吸器障害患者やトリと殺業者の検体を用い、PCR と併用して H5N1 高病原性鳥インフルエンザ感染診断キットとしての有用性の評価を実施するプロジェクトを開始した。

［横田恭子､小林(石原)美栄（臨時職員）､大西和夫、西村研吾（東洋紡敦賀研究所）高山郁代、影山努、板村繁之、田代眞人（インフルエンザセンター）、清水一史（アイルランガ大学・熱帯病研究所・インドネシア-神戸大学拠点）］

（２）抗 H5N1 単クローン抗体のエピトープ解析

免疫部で作製した単クローン抗体、特に H5/A キットに用いた OM-b 抗体のエピトープを解析するため、４種類のクレードの HA 抗原を発現ベクターにクロ―ニングした。更に、H5 と HA の受容体結合部位のキメラを作製し、これら HA 分子発現細胞を用いたフローサイトメーター解析によって抗体のエピトープを類推した。同時に、これら単クローン抗体による中和逃避ウイルスの遺伝子を解析麻疹に関する研究 し、抗体の認識に重要なアミノ酸配列を明らかにした。コンピューター解析の結果、OM-b 抗体は広くアジアに蔓延する様々なクレードの H5N1 インフルエンザウイルスを認識できることが示唆された。

［小林(石原)美栄（臨時職員）､横田恭子､大西和夫、西村研吾（東洋紡敦賀研究所）、高橋仁、影山努、板村繁之（インフルエンザセンター）、阿戸学］

（３）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

我々は、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の開発を目指し 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作製を進めている。インフルエンザ血球凝集素抗原(HA)分子の型特異的ならびに型共通エピトープについて、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型特異的および型共通抗原を認識するモノクローナル抗体の作製を進めている。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）、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］

（４）免疫原性を改善した H7N9 ワクチンの開発

H7N9 ウイルスによるパンデミックの発生が危惧さ

れているが、H7N9 ウイルスの抗体惹起能は低く、従来型のワクチンでは、十分な防御免疫を賦与できない可能性が高い。そこで、バイオインフォマティクス的手法により、免疫原性の改善効果が期待できる変異型 H7 ヘマグルチニンタンパクを複数作製し、ヒト化マウスを用いて防御免疫誘導能の比較を行った。［高橋宜聖、安達悠（臨時研究補助員)、山本典夫（インフルエンザウイルス研究センター)、田代眞人（インフルエンザウイルス研究センター)、Anne De Groot（EpiVax)、阿戸学］

（５）様々な亜型のインフルエンザウイルスに交差結合するヒトモノクローナル抗体の解析

複数のＡ型インフルエンザの亜型を中和可能な交差結合性抗体は、交差防御能に優れた新規ワクチンの標的として注目されている。これまで我々は、A/H1N1pdm ワクチン接種者の末梢血 B 細胞から、様々な亜型のヘマグルチニンに交差するヒトモノクローナル抗体４種類を作製することに成功している。交差結合性が、ウイルス抗原刺激により獲得されたか否か検証するため、この中の１種類の抗体に関して、抗原刺激を受ける前の生殖系列型の抗体遺伝子配列に戻したところ、この状態で交差結合性が既に獲得されていることが確認された。このことから、複数の亜型に交差結合するヒト抗体レパトアの少なくとも一部は、ウイルス抗原非依存的に形成される可能性が示唆された。[高橋宜聖、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)、阿戸学］

（６）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、交差防御能に優れた特殊な記憶 B 細胞が長期に渡り維持されることをこれまでに見いだした。この交差結合性の記憶 B 細胞は、交差防御能に優れた新規ワクチンの標的になることが期待されるため、マウスモデルを用いてその産生経路の解明を試みた。今回、胚中心を選択的に欠損したマウスを用いることにより、この交差結合性 B 細胞が、気道胚中心において、免疫後期に産生されていることを明らかにした。[安達悠（臨時研究補助員)、山田悠輝（玉川大学、実習生)、井上毅（大阪大学)、黒崎知博（大阪大学)、阿戸学、高橋宜聖］

（７）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維持機構に関わる細胞因子の解明。

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がどのようなメカニズムにより制御されているか解析を行い、長期生存型抗体産生細胞が同じ抗原特異性をもつ記憶 B 細胞から補充されること、また抗 CD4 抗体により CD4+T 細胞を長期に渡り除去することにより抗体産生細胞の補充が促進されたことから、長期に渡る抗体産生細胞の維持機構に記憶 B 細胞、また CD4+T 細胞が関与している事を明らかにした。これらの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ことが期待できる。[小野寺大志、黒崎知博（大阪大学)、高橋宜聖、阿戸学］

（８）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（ウイルス第二部非常勤職員)、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)］

（９）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)］

４．C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究

（１）HCV 持続感染における RNA 干渉機構の解析

我々が発見した DNA, RNA 結合タンパク質である Translin(TSN)およびその類似タンパク質である 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)の構成タンパク質となることが明らかにされ注目されている。本研究では、RNA ウイルスである HCV 持続感染において、TSN/TRAX の関与する RNA 干渉(RNAi)の役割に着目して検討を行うことを計画した。 まず、siRNA を用いて Huh7.5.1 細胞における TSN 分子のノックダウンを行ったところ､TSN だけでなく TRAX まで蛋白質レベルで発現が減少していた。 これは TRAX が TSN 非存在下で速やかに分解されることを意味している。そこで、この TRAX の分解のメカニズムを詳細に解析し、以下の事実を明らかにした。 (1)TRAX は TSN と複合体を形成しており、単独では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。(2) TRAX の欠失変異体を作製し TRAX の分解に重要な部位の探索を行った結果、C 末側にプロテアソーム分解

系の認識に重要な部位が存在することが判明した。(3)プロテアソーム分解系は一般に基質のリジン残基のポリユビキチン化を介して進行する。　そこで、C 末にあるリジン残基をアラニンに置換した TRAX 分子を用いて、プロテアソーム分解系に対する感受性を調べたところ、予想に反して TRAX 変異体はプロテアソーム依存的に分解を受けていた。　この結果は、TRAX 分子がユビキチン非依存的に分解されていることを示している。　ユビキチン非依存的なプロテアソーム分解系は最近注目されており、TRAX は当該分解系の性状を解析するツールとしても有望であると考えられた。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)、J.L. Strominger(Harvard University)　葛西正孝］

（２）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（ウイルス第二部非常勤職員）、土方美奈子（国立国際医療研究センター研究所）、吉倉　廣（CODEX）］

（３）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）］

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
（１）急性 A 型肝炎は A 型肝炎ウイルス（HAV）感染による疾患で、2〜7 週間の潜伏期間ののち一過性の急性肝炎症状を起こす。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。急性 A 型肝炎の臨床診断ならびに疫学調査のための体外診断薬として、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。さらに、次世代キットとして血清中の HAV 抗原を検出するキットの上市が予測されているがこの技術的基盤についても詳細に検討しておくことが重要である。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（筑波大学大学院生命環境科学）、薛漢兵（筑波大学大学院生命環境科学）、山口沙由里、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。このワクチン接種アカゲサルのサル免疫不全ウイルス（SIV）感染前後におけるウイルス抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞反応について、末梢血由来単核球を用いて解析した。その結果、SIV 接種により大部分の SIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞が減少する一方で、CD107a 陽性の SIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞は増加傾向を示した。以上の結果から、SIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の亜集団間で SIV に対して異なる感受性を示す事が予想された。
［寺原和孝、横田恭子、俣野哲朗（エイズ研究センター）］

（２）エイズ予防ワクチンの腸管粘膜免疫誘導に関する解析
腸管粘膜におけるウイルス感染・増殖を如何に抑制できるかが新規予防エイズワクチン開発に求められる課題であり、予防エイズワクチンとして開発が進行中のセンダイウイルスをベクターとしたワクチンについて、腸管粘膜における免疫誘導能を評価することを目的としている。これまで、エイズ期の SIV 感染アカゲサルの空腸および回腸剖検（それぞれ 15cm 長）を用い、小腸粘膜固有層由来 T 細胞の分取法の確立に向け検討を重ねてきた。空腸および回腸から調製した細胞集団中にはそれぞれ 2.3×10^5〜1.9×10^6 cells、1.3×10^6〜6.4×10^6 cells の範囲で T 細胞が含まれていた。また、T 細胞における CD4/CD8 サブセットの構成を解析した結果、空腸・回腸ともに CD4 サブセットの割合は非常に低く（1%程度）、エイズ期の病態を反映していた。さらに、CD45 を標的とした磁気分離法による小腸白血球の精製についても検討し、その有効性が示された。以上のことか

ら、サル小腸粘膜固有層から白血球を分取する方法が確立され、細胞レベルでの詳細な解析に有用であると考えられた。
［寺原和孝、俣野哲朗（エイズ研究センター）］

（３）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

インフルエンザ・ワクチン免疫に誘起される抗体応答を網羅的に解析する新規手法について次世代シークエンサ技術を応用しさらに独自の統計的解析方法を開発することに成功した。これにより、ワクチン免疫により誘導される抗体分子の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可能になった。抗体応答動態を解析する上での解像力の向上と統計処理プロトコールを新規に確立した。このシステムを用いてモデル抗原に対する抗体応答を解析した結果、抗体応答の遺伝的支配による制御と個体特異的変動に関する新知見を多く見出した。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）］

（４）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，末梢血白血球の細胞死をもたらし、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（あそか病院、客員研究員）］

（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（あそか病院、客員研究員）］

また、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、インド洋沿岸の Kwale 地区の学校 6 校について、いずれも 4 年生を対象として調査を行った。採血を行ない、末梢血単核球を分離、抗原で刺激し 24 時間後に培養上清を回収して、サイトカイン産生をイムノクロマトグラフィーおよびサンドイッチ ELISA 法により調べた。結核菌抗原に対するサイトカインの産生量から結核感染を推定したところ、陽性が 2%程度であることが分かった。［岡部真裕子、小林和夫（あそか病院、客員研究員）、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、米国および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行った。米国での診断の感度：77%、特異度：94%、台湾での診断の感度：61%、特異度：91%であり国、人種を越えて本診断法が有用であることが示された。［阿戸　学、小林和夫（あそか病院、客員研究員）、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細胞から産生されることを見出した。この細胞は慢性感染症や癌などで誘導される骨髄由来抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)とは異なり T 細胞免疫を抑制しないことや、GM-CSF 依存的に分葉核細胞に分化することから、新規の未熟骨髄系細胞 (Immature myeloid cells; IMCs) であると考えられた。さらに、IMCs 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 IMCs 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、IMCs 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、池辺忠義・大西真（細菌第一部)、阿戸学]

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。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、炎症性サイトカインを産生して感染防御を担っている。類鼻疽発症危険因子である糖尿病のコントロール不良で、glibenclamide を投与されている患者から採取された好中球は、健常人好中球に比べ、類鼻疽菌による炎症性サイトカインの産生が低下していることが判明した。さらに、これらの炎症性サイトカイン産生の低下は、健常人好中球を glibenclamide で処理することによっても同様に認められた。その機序として、glibenclamide が細菌感染によるインフラマソーム活性化を阻害していることが示唆された。[阿戸　学、Chidchamai Kewcharoenwong（研究生）・Darawan Rinchai（協力研究員）・Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学医療学部、タイ王国)]

III. 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

（１）抗体産生 B 細胞の骨髄における初期分化分子機構について、代替軽鎖・プレ B 細胞受容体を中心に研究を行っている（J Immunol, 188:6010-7 2012, Nat Immunol, 4(9):849-56 2003, Eur J Immunol, 35:957-63 2005)。骨髄において発生する抗原認識多様性がどのようにプレ B 細胞受容体により品質管理されて末梢に移動するか、また、末梢で確立した VDJ レパトア構成が各種抗原の免疫でどのように動態変化し、応答するかの全体像について次世代シークエンサを用いた解析を行っている。各種ワクチンを抗原として免疫した後に起こる各 Vh ファミリーの拡張・衰退パターンの比較、体細胞突然変異とクラススイッチの動態などの全体像を俯瞰する基礎研究を行なって、ワクチン戦略などへの寄与を念頭に、ヒトへの応用を目指す。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（産業技術総合研究所)、藤本浩文（放射能管理室)、藤博幸（産業技術総合研究所)、傅舟一（筑波大学大学院生命環境科学)、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

（１）抗原免疫により誘導される免疫記憶の形成過程を知ることは、ワクチン効果の最適化につながる。抗原に応答した抗体産生 B 細胞がどのようなメカニズムで長期生存が可能になり、抗体レベルの免疫記憶が形成保持されるかについては未だに解明されていない。我々が初めてクローニングした BILL カドヘリン（Eur. J. Immunol.,35:957-963 (2005)）は、免疫担当 B 細胞に特異的に発現する分子で、この遺伝子を欠損させたマウスでは免疫記憶機能に異常がある。BILL-cadherin がどのように免疫記憶保持に関与するか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)、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)、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

（１）*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。　また、RP58KO マウスを用いて、RP58 が bHLH 型転写因子の Inhibitor である Id1-Id4 の発現を抑制することで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, EMBO 2012, Dev Cell 2009, Dev Biol 2009, EMBO 2001, J Biol Chem 1998)　しかし、RP58KO マウスが致死であるため、免疫機能との関連は長らく不明であった。そこで、RP58KO($RP58^{-/-}$) 及び RP58($RP58^{+/+}$)マウスの Fetal Liver を RAG-1KO マウスに移植する競合的骨髄再構築法を用いて、RP58 が免疫担当細胞の再構成に及ぼす影響を解析した。　その結果、移植後 17 週を経て B220 陽性細胞が初めて出現したが、CD3 陽性細胞は依然検出されなかった。以上の結果は、RP58 が T 細胞の発生に不可欠であることを

示唆しているが、さらにこの結果を確認するためにConditional KO マウスを用いた詳細な実験を準備中である。
［山崎　聡、中内啓光（東京大学医科学研究所)、岡戸晴生（東京都医学総合研究所)、石田礼子(協力研究員)、葛西正孝］

品質管理に関する業務

体外診断薬委員会業務

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。また体外診断薬委員会に提出された各種体外診断薬の承認前検査申請について審査を行う。
［大西和夫、山口沙由里、阿戸学］

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行い、診断の感度：61%、特異度：91%であり、台湾においても本診断法が有用であることが示された。［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 名を研究生として受け入れ、実験手技と共同研究の指導にあたった。また、7 月にポスドク 1 名を協力研究員として受け入れ、共同研究を行った。11 月に Khon Kaen 大学医療学部と免疫部、細菌第一部、細菌第二部の MOU の更新を行い、さらなる研究協力の推進に取り組んでいる［阿戸　学］

研修業務

Ⅰ．医師卒後臨床研修

医師卒後研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、10 月 21 日、講義した［阿戸　学］

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 1 日)、慶応大学医学部（5 月 29 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 24 日)、東京大学大学院農学研究科（11 月 15 日)、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(12 月 18 日)などで招請講義した。［阿戸　学］

筑波大学生命環境学群（5 月 13 日、20 日）で講義を行った。
筑波大学大学院生命科学研究科（11 月 6 日）で講義を行った。
［大西　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、機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。さらに、機器の定期的な保守、点検を行い、特に 9 月の使用機器更新後に多数発生した故障等のトラブルには早急に対処した。とくに新規使用者や、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。平成 25 年度の使用実績は、926 回、2119 時間であった。 [泉山枝里子（非常勤職員)、高橋宜聖、阿戸学]

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) 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. 31(17):2184-90.
2) Shu, C.C., Ato, M., Wang, J.T., Jou, R., Wang, J.Y., Kobayashi, K., Lai, H.C., Yu, C.J., Lee, L.N., Luh, K.T. 2013. Sero-diagnosis of Mycobacterium avium complex lung disease using serum immunoglobulin A antibody against glycopeptidolipid antigen in Taiwan. PLoS One. 8(11):e80473.
3) Kewcharoenwong, C., Rinchai, D., Utispan, K., Suwannasaen, D., Bancroft, G.J., Ato, M., Lertmemongkolchai, G. 2013. Glibenclamide reduces pro-inflammatory cytokine production by neutrophils of diabetes patients in response to bacterial infection. Sci Rep. 3:3363.
4) Ikeno, S., Suzuki, M., Muhsen, M., Ishige, M., Kobayashi-Ishihara, M., Ohno, S., Takeda, M., Nakayama, T., Morikawa, Y., Terahara, K., Okada, S., Takeyama, H., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2013. Sensitive detection of measles virus infection in the blood and tissues of humanized mouse by one-step quantitative RT-PCR. Front. Microbiol.4:1-8.
5) Tsunetsugu-Yokota, Y and Muhsen, M. 2013. Development of human dendritic cells and their role in HIV infection: antiviral immunity versus HIV transmission. Front. Microbiol. 4:1-10.
6) Yamashita, Y., Hoshino, Y., Oka, M., Matsumoto, S., Ariga, H., Nagai, H., Makino, M., Ariyoshi, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2013. Multicolor flow cytometric analyses of CD4+ T cell responses to

Mycobacterium tuberculosis-related latent antigens. Jp.J.Infect.Dis., 3:207-215.
7) Kaji, T., Furukawa, K., Ishige, A., Toyokura, I., Takahashi, Y., Shimoda, M., Takemori, T. 2013. Both unmutated and mutated memory B cells accumulate mutations and renew antibody repertoire optimally adopted to antigen upon re-exposure. Int Immunol. 25, 683-695.
8) Matsumura, T., K. Kobayashi, and M. Ato. 2013. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and their related cell subpopulations. The Research and Biology of Cancer I. pp155-172.
9) Kurebayashi, Y., Nagai, S., Ikejiri, A., Koyasu, S. 2013. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells. Genes Cells. 18(4):247-65.
10) 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.
11) Heng, J.I., Qu, Z., Ohtaka-Maruyama, C., Okado, H., Kasai, M., Castro, D., Guillemot, F., and Tan, S.S. 2013. The Zinc Finger Transcription Factor RP58 Negatively Regulates Rnd2 for the Control of Neuronal Migration During Cerebral Cortical Development. Cereb Cortex. Oct 1.
12) Nomaguchi, M., Miyake,A., Doi, N., Fujiwara, S., Miyazaki, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y., Yokoyama, M., Sato, H., Masuda, T., Adachi, A. 2014. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 pol gene modulate viral replication ability. J.Virol.88:4145.
13) Takemori, T., Kaji, T., Takahashi, Y., Shimoda, M. Rajewsky, K. 2014. Generation of memory B cells inside and outside germinal centers. Eur. J. Immunol., Mar 10. Doi: 10.1002/eji.201343716 [Epub ahead of print]
14) Kikuchi, Y., Kunitoh-Asari, A., Hayakawa, K., Imai, S., Kasuya, K., Abe, K., Adachi, Y., Fukudome, S., Takahashi, Y., Hachimura, S. 2014. Oral administration of Lactobacillus plantarum strain AYA enhances IgA secretion and provides protection against influenza virus infection in mice. PLoS One, 9, e86416.
15) Tsuneto M, Kajikhina E, Seiler K, Reimer A, Tornack J, Bouquet C, Simmons S, Knoll M, Wolf I, Tokoyoda K, Hauser A, Hara T, Tani-Ichi S, Ikuta K, Grün JR, Grützkau A, Engels N, Wienands J, Yanagisawa Y, Ohnishi K, Melchers F. 2014."Environments of B cell development." Immunol Lett. Jan-Feb;157(1-2):60-3.

2. 和文発表

1) 高橋宜聖、安達悠. 2013. 化学と生物（学会出版センター）抗原特異的 B 細胞の分離・培養法の新展開−迅速なモノクローナル抗体作製法への活用 659-661、 第 51 巻･第 10 号.
2) 阿戸学、松村隆之、池辺忠義. 2013. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における菌側病原因子と好中球機能障害の機序. 化学療法の領域 29(4) 108-115.
3) 松村隆之、阿戸学. 2013. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における宿主免疫応答. 化学療法の領域 29(7) 57-64.
4) 小野寺大志. 2013. パイエル板における Th17 細胞の可塑性は T 細胞依存性 B 細胞の IgA 産生誘導に関与する.細胞工学、秀潤社、p581、vol.32 No.5.
5) 小野寺大志. 2013. 抗体の骨格構造における体細胞突然変異は広範囲かつ強力な HIV-1 の中和活性に必要である. 細胞工学、秀潤社、p699、vol.32 No.6.
6) 小野寺大志. 2013. 高濃度の NaCl は病原性 Th17 細胞を誘導し自己免疫疾患を発症させる. 細胞工学、秀潤社、p794、vol.32 No.7.
7) 小野寺大志. 2013. グループ 2 自然リンパ球による皮膚組織における免疫監視と炎症制御. 細胞工学、秀潤社、p881、vol.32 No.8.
8) 小野寺大志. 2013. BACH2 は制御性 T 細胞による免疫恒常性を安定させるエフェクタープログラムを抑制する. 細胞工学、秀潤社、p985、vol.32 No.9.
9) 小野寺大志. 2013. 長鎖非翻訳型 RNA は免疫応答に関与する遺伝子発現の活性化と抑制の両方を媒介する. 細胞工学、秀潤社、p1071、vol.32 No.10.
10) 小野寺大志. 2013. メモリーCD8+T 細胞の迅速なエフェクター機能は最初期に解糖系への切り換えを要求する. 細胞工学、秀潤社、p1157、vol.32 No.11.
11) 小野寺大志. 2013. ユビキチンリガーゼである Parkin は細胞内寄生細菌に対する抵抗性を介在する. 細胞工学、秀潤社、p1256、vol.32 No.12.
12) 小野寺大志. 2014. Th17 細胞の分化は概日時計によって制御されている. 細胞工学、秀潤社、p94、vol.33 No.1.
13) 小野寺大志. 2014. 細胞内因性の免疫応答はギャップ結合を介した cGAMP の輸送により周辺細胞へ伝播する. 細胞工学、秀潤社、p176、vol.33 No.2.
14) 小野寺大志. 2014. HIV 感染においてピロトーシスによる細胞死が CD4+T 細胞減少を促進する. 細胞工学、秀潤社、p301、vol.33 No.3.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会.

1) Matsumura, T., T. Ikebe, and M. Ato. 2013. Immature myeloid cells, which produce interferon-g and/or interleukin-6, play a protective role in severe invasive group A Streptococcus infections. Joint Meeting: The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology 2013 （東京、5 月）.

2) Ato, M., T. Matsumura, and T. Ikebe. 2013. Interferon-γ-producing immature myeloid cells in severe Streptococcus infection. Joint Meeting: The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology 2013 （東京、5 月）.
3) Ato, M. 2013. Toward understanding of pathophysiology of severe invasive bacterial infections. -from host immune evasion to disturbance of microcirculation-. International Workshop on Biointerface and Biomedical Engineering, 2013.（岡山、8 月）
4) Takahashi, H., Ohnishi, K., Nishimura, K., Takayama, I., Nakauchi1, M., Nagata, S., Tsunetsugu-Yokota,Y., Tashiro, M., Kageyama, T. 2013. Development of monoclonal antibodies specific for H5 HA and their application to rapid detection of influenza A/H5N1 virus. Options for the Control of Influenza VIII （Cape Town、南アフリカ共和国、9 月）
5) Ato, M. Roles of neutrophils and a related cell population in bacterial infections. The 50th Khon Kaen University and 36th Faculty of Associated Medical Sciences Anniversary Celebration Conference “2013 Infection & Immunity: From Basic to Translational Research”（Hua Hin、タイ王国、9 月）

2. 国内学会

1) Takahashi, Y., Adachi, Y. 2013. Protective memory B cell responses to influenza virus infection. RCAI-JSI International Symposium on Immunology （横浜、6 月）
2) 西村研吾、曽家義博、服部静夫、影山努、大西和夫、髙山郁代、小林美栄、高橋仁、 横田恭子. 2013. 化学発光免疫測定法を用いた高感度 H5HA 検出系の開発とベトナムにおける H5N1 感染試料を用いた検出感度の検討. 第 27 回インフルエンザ研究者交流会シンポジウム （札幌、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. 2013. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における IFN-γ 産生未熟骨髄系細胞の役割. 平成 25 年度北里大学メディカルセンター研究部門学術講演会 （埼玉、10 月）.
4) 高橋仁、田中仁喜、西村研吾、高山郁代、中内美名、永田志保、小林美栄、藤博幸、大西和夫、横田(恒次)恭子、田代眞人、影山努. 2013. H5HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 （神戸、11 月）
5) 小林（石原）美栄、高橋仁、西村研吾、高山郁代、大西和夫、板村繁之、影山努、横田（恒次）恭子. 2013. H5N1 インフルエンザウイルス高感度検出系開発に向けた H5 HA 特異的抗体のエピトープ解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 （神戸、11 月）
6) 池野翔太、鈴木基臣、寺原和孝、石毛真行、駒瀬勝啓、竹田誠、森川裕子、中山哲夫、柳雄介、竹山春子、横田恭子. 2013. 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 61 回日本ウイルス学会学術集会 （神戸、11 月）
7) Adachi, Y., Ato, M., Takahashi, Y. 2013. The development and persistence of broadly cross-reactive germinal center and memory B cells in the lungs following influenza virus infection. 第 42 回日本免疫学会総会 （千葉、12 月）
8) FUNAKOSHI Shuichi, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2013. B Lymphocyte Cadherin, BILL-cadherin/cadherin-17, Contributes to the Survival of Memory B Cells., Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology （千葉、12 月）
9) Miyauchi, K., Ishige, A., Kaji, T., Harada, Y., Motomura, Y., Takahashi, Y., Takemori, T., Kubo, M. 2013. Distinct roles of TFH and TH1 cells in humoral responses agasint influenza A virus infection. 第 42 回日本免疫学会総会 （千葉、12 月）
10) Onodera, T., Adachi, T., Tsubata, T., Kurosaki, T., Adachi, Y., Ato, M., Takahashi, Y. 2013. Replenishment of long-lived plasma cells is constitutively restricted by CD4+ T cells in their maintenance phase after influenza vaccination. 第 42 回日本免疫学会総会 （千葉、12 月）
11) Sato, K., Takahashi, Y., Ato, M., Asanuma, H. 2013. TLR agonists induce high avidity of virus-specific antibodies upon a booster conditions. 第 42 回日本免疫学会総会 （千葉、12 月）
12) SUN Lin, FUNAKOSHI Shuichi, OHNISHI Kazuo. 2013. Correlation between antigenicity and three-dimensional structure of hepatitis A virus epitopes., Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology （千葉、12 月）
13) Takahashi, Y., Adachi, Y., Ato, M. 2013. Development of cross-reactive memory B cell subsets to influenza virus infection. 第 42 回日本免疫学会総会シンポジウム （千葉、12 月）
14) 安達貴弘、吉川宗一郎、烏山一、小野寺大志.2013. In vivo imaging of calcium signaling in B cells of mice expressing the genetically encoded YC3.60 calcium indicator. 第 42 回日本免疫学会学術集会（千葉、12 月）.
15) 小野寺大志、田代眞人、黒崎知博、阿戸学、高橋宜聖. 2014. B 細胞内因性 TLR シグナルによるインフルエンザワクチンの奏功機序. 第 7 回次世代アジュバント研究会（大阪、1 月）
16) 阿戸 学、高橋宜聖、藤猪秀樹、橋本修一、加地友弘、板村繁之、堀内善信、荒川善親、田代眞人、竹森利忠. 2014.インフルエンザ不活化全粒子ワクチンによるインターフェロンα依存的アポトーシスを介する末梢血白血球の急速な減少. 第 7 回次世代アジュバント研究会（大阪、1 月）
17) Tsuchiya, T., T. Matsumura, T. Ikebe, K. Kobayashi,

and M. Ato. 2014. Fat-1 transgenic mice are more susceptive to severe invasive group A Streptococcus infections. 第 87 回日本細菌学会総会　（東京、3 月）

18) Matsumura, T., T. Ikebe, and M. Ato. 2014. The defensive role of immature myeloid cells in severe invasive group A Streptococcus infections. 第 87 回日本細菌学会総会(東京、3 月)
19) 安藤匡子、松村隆之、阿戸学、安藤秀二. 2014.　マウスにおける Orientia tsutsugamushi 血清型の病原性比較.　第 87 回日本細菌学会総会(東京、3 月)
20) 白砂圭崇、葛西正孝、花田賢太郎、安部良、深澤征義. 2014. TRAX はユビキチン非依存的なプロテアソーム分解を受ける. 日本薬学会第１３４年会　（熊本、3 月）

知的財産権の出願・登録状況

特許取得申請中
H5 亜型インフルエンザウイルスを特異的に認識するモノクローナル抗体
出願番号: 特願２０１１－２２７７４８（感染研、東洋紡株式会社）

8．免　疫　部

部長　阿戸　学

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. 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

人事異動として、平成 25（2013）年 4 月 1 日に免疫部長として阿戸　学（前職：免疫部第二室長）が任用された。平成 26 年 3 月 31 日に免疫部第一室長　横田　恭子が定年退職し、第三室長　大島　正道、第三室研究員　池尻　藍が退職した。

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 in vivo における HIV 感染機構の解析

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以前より知られているが、その機構は不明である。ヒト化マウスに R5 型および X4 型を同時に感染させてそれぞれのウイルスの経時的変動を解析した結果、R5 型の血中ウイルス量は高いレベルで維持されたのに対し、X4 型の血中ウイルスの出現は一過性であり、ヒト化マウスモデルにおいても HIV-1 初期感染における R5 型優位性が確認できた。現在は、本モデルにおいて細胞レベルでの解析を進めている。

［寺原和孝、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター）、池野翔太（早稲田大学大学院、研究生）、岡田誠治（熊本大学エイズ学研究センター）、横田恭子］

（２）HIV 潜伏感染 in vitro 解析系モデルの開発

強力な抗レトロウイルス剤の開発により、先進国では HIV 感染者におけるウイルス増殖を抑制することが可能となった現在、いかに HIV の潜伏感染・持続感染を制御し、完全な治癒をめざすか、という課題に焦点が絞られている。しかしながら、HIV の潜伏の機構とその維持については不明な点が多い。そこで、ヒト CD4 陽性 T 細胞がサイトカインのみで緩慢に増殖維持される（homeostatic proliferation (HSP)）培養系を確立した。静止期 CD4 陽性 T 細胞に我々の開発した蛍光発現 HIV-1 あるいは 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感染させて HSP 培養すると、CD4 陽性 T 細胞は全て $CD11a^{high}$ となり、ゆっくりと増殖する。この HSP 培養開始後 10 日前後に増殖していない細胞集団にも GFP 陽性の感染細胞を認め、更に、増殖していない GFP 陰性の細胞集団にも HIV-1 のゲノムが挿入(integration)されて低レベルの GFP mRNA を発現する細胞が存在していた。従って、この HSP 培養系は、生体内での HIV-1 の潜伏化とその維持を模倣する in vitro 解析系モデルとして有用である。

［横田恭子、和田倭（早稲田大学大学院、研究生）、小林(石原)美栄（臨時職員）、寺原和孝、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）］

（３）単一細胞解析技術を用いた HIV 感染進行の解析

単一細胞のレベルで PCR 増幅を行う装置の開発

や改良を行う共同研究が現在進行中である。これまでに、研究代表者の竹山教授グループは DNA の 1 分子計測システムとしてマイクロドロップレットを用いたデジタル PCR 法を開発した。これは、マイクロ流体デバイスを利用して PCR 溶液をピコリットル容量の液滴に分配し、個々のドロップレット内で PCR を行い、DNA 分子を可視化・カウントするものである。精度評価のため、HIV-1 をモデルとしたプラスミド DNA およびレンチウイルス感染細胞を利用した。プラスミド DNA レベルでは、当初の目的として掲げた 10 コピー以下の低コピーDNA 分子の定量が可能であり、理論値と実測値が一致することを確認できた。感染細胞を利用した評価では、ウイルス接種後 24 時間までの初期逆転写産物であるプロウイルス量の経時的変化を評価することができた。また、界面活性剤を含まない細胞溶解液では核内で形成される 2-LTR DNA は検出されないことが示唆され、現在の系で細胞内のプロウイルスのみを定量可能であると判断された。

［和田倭（早稲田大学大学院、研究生）寺原和孝、モリテツシ（早稲田大学理工学術院・国際教育センター、助教・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）麻疹ウイルスワクチン株が誘導する免疫応答のヒト化マウスを用いた解析

これまでに GFP 発現麻疹ウイルスワクチン株(AIK-C)をヒト化マウス(NOJ)に静脈投与し、基礎的な条件検討を行った後、CD4 陽性 T 細胞の数を保持できる Gag 発現麻疹ウイルス接種量を決定した。この時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少量の血液を用いてモニター可能であることを明らかにして論文発表した。更に、麻疹ウイルス接種後のヒト T 細胞応答を解析するため、同じドナー由来の単球由来樹状細胞を用いる刺激培養系を確立した。しかしながら、我々の NOJ では myeloid 系細胞の分化発達が乏しいため、ヒトサイトカイン発現プラスミドを静注する in vivo transfection 法によりマウス体内のヒト抗原提示細胞を増やす条件を検討している。

［池野翔太（早稲田大学大学院、研究生）、寺原和孝、駒瀬勝啓（ウイルス３部）、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）、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とその評価

東洋紡（株）との共同研究において、化学発光による迅速 H5HA 抗原検出キットを作製し、簡便な H5N1 高病原性鳥インフルエンザ診断キットを開発した (特許申請中)。これまでに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テストの結果、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。そこで、今年度は神戸大学インドネシア拠点の熱帯病研究所に検出装置 POCube と H5/A キットを導入し、重症呼吸器障害患者やトリと殺業者の検体を用い、PCR と併用して H5N1 高病原性鳥インフルエンザ感染診断キットとしての有用性の評価を実施するプロジェクトを開始した。

［横田恭子、小林(石原)美栄（臨時職員）、大西和夫、西村研吾（東洋紡敦賀研究所）高山郁代、影山努、板村繁之、田代眞人（インフルエンザセンター）、清水一史（アイルランガ大学・熱帯病研究所・インドネシア-神戸大学拠点）］

（２）抗 H5N1 単クローン抗体のエピトープ解析

免疫部で作製した単クローン抗体、特に H5/A キットに用いた OM-b 抗体のエピトープを解析するため、４種類のクレードの HA 抗原を発現ベクターにクロ―ニングした。更に、H5 と HA の受容体結合部位のキメラを作製し、これら HA 分子発現細胞を用いたフローサイトメーター解析によって抗体のエピトープを類推した。同時に、これら単クローン抗体による中和逃避ウイルスの遺伝子を解析し抗体の

麻疹に関する研究

認識に重要なアミノ酸配列を明らかにした。コンピューター解析の結果、OM-b 抗体は広くアジアに蔓延する様々なクレードの H5N1 インフルエンザウイルスを認識できることが示唆された。

［小林(石原)美栄（臨時職員）、横田恭子、大西和夫、西村研吾（東洋紡敦賀研究所）、高橋仁、影山努、板村繁之（インフルエンザセンター）、阿戸学］

（３）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

我々は、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の開発を目指し 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作製を進めている。インフルエンザ血球凝集素抗原(HA)分子の型特異的ならびに型共通エピトープについて、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型特異的および型共通抗原を認識するモノクローナル抗体の作製を進めている。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）、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］

（４）免疫原性を改善した H7N9 ワクチンの開発

H7N9 ウイルスによるパンデミックの発生が危惧さ

れているが、H7N9 ウイルスの抗体惹起能は低く、従来型のワクチンでは、十分な防御免疫を賦与できない可能性が高い。そこで、バイオインフォマティクス的手法により、免疫原性の改善効果が期待できる変異型 H7 ヘマグルチニンタンパクを複数作製し、ヒト化マウスを用いて防御免疫誘導能の比較を行った。［高橋宜聖、安達悠（臨時研究補助員)、山本典夫（インフルエンザウイルス研究センター)、田代眞人（インフルエンザウイルス研究センター)、Anne De Groot（EpiVax)、阿戸学］

（５）様々な亜型のインフルエンザウイルスに交差結合するヒトモノクローナル抗体の解析

複数のA型インフルエンザの亜型を中和可能な交差結合性抗体は、交差防御能に優れた新規ワクチンの標的として注目されている。これまで我々は、A/H1N1pdm ワクチン接種者の末梢血 B 細胞から、様々な亜型のヘマグルチニンに交差するヒトモノクローナル抗体４種類を作製することに成功している。交差結合性が、ウイルス抗原刺激により獲得されたか否か検証するため、この中の１種類の抗体に関して、抗原刺激を受ける前の生殖系列型の抗体遺伝子配列に戻したところ、この状態で交差結合性が既に獲得されていることが確認された。このことから、複数の亜型に交差結合するヒト抗体レパトアの少なくとも一部は、ウイルス抗原非依存的に形成される可能性が示唆された。［高橋宜聖、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)、阿戸学］

（６）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、交差防御能に優れた特殊な記憶B細胞が長期に渡り維持されることをこれまでに見いだした。この交差結合性の記憶 B 細胞は、交差防御能に優れた新規ワクチンの標的になることが期待されるため、マウスモデルを用いてその産生経路の解明を試みた。今回、胚中心を選択的に欠損したマウスを用いることにより、この交差結合性 B 細胞が、気道胚中心において、免疫後期に産生されていることを明らかにした。［安達悠（臨時研究補助員)、山田悠輝（玉川大学、実習生)、井上毅（大阪大学)、黒崎知博（大阪大学)、阿戸学、高橋宜聖］

（７）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維持機構に関わる細胞因子の解明。

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がどのようなメカニズムにより制御されているか解析を行い、長期生存型抗体産生細胞が同じ抗原特異性をもつ記憶 B 細胞から補充されること、また抗 CD4 抗体により CD4+T 細胞を長期に渡り除去することにより抗体産生細胞の補充が促進されたことから、長期に渡る抗体産生細胞の維持機構に記憶 B 細胞、また CD4+T 細胞が関与している事を明らかにした。これらの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ことが期待できる。［小野寺大志、黒崎知博（大阪大学)、高橋宜聖、阿戸学］

（８）抗体産生細胞の形成過程における長期生存型細胞への運命決定機構の解明。

ワクチン等を接種した後産生された抗体産生細胞の一部は骨髄へホーミングし、長期生存型抗体産生細胞として維持される。しかし、これまでどのような細胞因子、分子メカニズムがこの運命決定を担っているのか明らかでなかった。今回、我々は FRET センサートランスジェニックマウス(YC3.60)を用いることにより、免疫後形成された抗体産生細胞が CD4+T 細胞と持続的なシグナルのやり取りを行う事によって、骨髄へのホーミングに必須となる分子の発現を増強し、骨髄へホーミングする形質を獲得する事、更に、この抗体産生細胞と相互作用した CD4+T 細胞においても骨髄型の記憶 T 細胞の形質を獲得することを明らかにした。この運命決定機構を明らかにすることにより長期に渡る液性免疫応答を誘導可能なワクチン開発につなげることが期待できる。［小野寺大志、安達貴弘、吉川宗一郎、烏山一（東京医科歯科大学)、高橋宜聖、阿戸学］

（９）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

長期生存型抗体産生細胞（LLPC）の骨髄における維持機構を解明するため、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 B 細胞系列の細胞のみで YC3.60（細胞内 Ca++ FRET sensor）が発現する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］

（１０）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（ウイルス第二部非常勤職員)、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)］

（１１）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）］

４．C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究

（１）HCV 持続感染における RNA 干渉機構の解析

我々が発見した DNA, RNA 結合タンパク質である Translin(TSN)およびその類似タンパク質である 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)の構成タンパク質となることが明らかにされ注目されている。本研究では、RNA ウイルスである HCV 持続感染において、TSN/TRAX の関与する RNA 干渉(RNAi)の役割に着目して検討を行うことを計画した。 まず、siRNA を用いて Huh7.5.1 細胞における TSN 分子のノックダウンを行ったところ、TSN だけでなく TRAX まで蛋白質レベルで発現が減少していた。 これは TRAX が TSN 非存在下で速やかに分解されることを意味している。そこで、この TRAX の分解のメカニズムを詳細に解析し、以下の事実を明らかにした。 (1)TRAX は TSN と複合体を形成しており、単独では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。(2) TRAX の欠失変異体を作製し TRAX の分解に重要な部位の探索を行った結果、C 末側にプロテアソーム分解系の認識に重要な部位が存在することが判明した。(3) プロテアソーム分解系は一般に基質のリジン残基のポリユビキチン化を介して進行する。 そこで、C 末にあるリジン残基をアラニンに置換した TRAX 分子を用いて、プロテアソーム分解系に対する感受性を調べたところ、予想に反して TRAX 変異体はプロテアソーム依存的に分解を受けていた。 この結果は、TRAX 分子がユビキチン非依存的に分解されていることを示している。 ユビキチン非依存的なプロテアソーム分解系は最近注目されており、TRAX は当該分解系の性状を解析するツールとしても有望であると考えられた。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)、J.L. Strominger(Harvard University) 葛西正孝］

（２）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（ウイルス第二部非常勤職員）、土方美奈子（国立国際医療研究センター研究所）、吉倉 廣（CODEX）］

（３）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）］

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

（１）急性 A 型肝炎は A 型肝炎ウイルス（HAV）感染による疾患で、2〜7 週間の潜伏期間ののち一過性の急性肝炎症状を起こす。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。急性 A 型肝炎の臨床診断ならびに疫学調査のための体外診断薬として、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。さらに、次世代キットとして血清中の HAV 抗原を検出するキットの上市が予測されているがこの技術的基盤についても詳細に検討しておくことが重要である。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（筑波大学大学院生命環境科学）、薛漢兵（筑波大学大学院生命環境科学）、山口沙由里、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。このワクチン接種アカゲサルのサル免疫不全ウイルス（SIV）感染前後におけるウイルス抗原特異的CD4陽性T細胞反応について、末梢血由来単核球を用いて解析した。その結果、SIV接種により大部分のSIV特異的CD4陽性T細胞が減少する一方で、CD107a陽性のSIV特異的CD4陽性T細胞は増加傾向を示した。以上の結果から、SIV特異的CD4陽性T細胞の亜集団間でSIVに対して異なる感受性を示す事が予想された。
［寺原和孝、横田恭子、俣野哲朗（エイズ研究センター）］

（２）エイズ予防ワクチンの腸管粘膜免疫誘導に関する解析
腸管粘膜におけるウイルス感染・増殖を如何に抑制できるかが新規予防エイズワクチン開発に求められる課題であり、予防エイズワクチンとして開発が進行中のセンダイウイルスをベクターとしたワクチンについて、腸管粘膜における免疫誘導能を評価することを目的としている。これまで、エイズ期のSIV感染アカゲサルの空腸および回腸剖検（それぞれ15cm長）を用い、小腸粘膜固有層由来T細胞の分取法の確立に向け検討を重ねてきた。空腸および回腸から調製した細胞集団中にはそれぞれ2.3×10^5～1.9×10^6 cells、1.3×10^6～6.4×10^6 cellsの範囲でT細胞が含まれていた。また、T細胞におけるCD4/CD8サブセットの構成を解析した結果、空腸・回腸ともにCD4サブセットの割合は非常に低く（1%程度）、エイズ期の病態を反映していた。さらに、CD45を標的とした磁気分離法による小腸白血球の精製についても検討し、その有効性が示された。以上のことから、サル小腸粘膜固有層から白血球を分取する方法が確立され、細胞レベルでの詳細な解析に有用であると考えられた。
［寺原和孝、俣野哲朗（エイズ研究センター）］

（３）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
インフルエンザ・ワクチン免疫に誘起される抗体応答を網羅的に解析する新規手法について次世代シークエンサ技術を応用しさらに独自の統計的解析方法を開発することに成功した。これにより、ワクチン免疫により誘導される抗体分子の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可能になった。抗体応答動態を解析する上での解像力の向上と統計処理プロトコールを新規に確立した。このシステムを用いてモデル抗原に対する抗体応答を解析した結果、抗体応答の遺伝的支配による制御と個体特異的変動に関する新知見を多く見出した。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）］

（４）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，末梢血白血球の細胞死をもたらし、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（あそか病院、客員研究員）］
（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（あそか病院、客員研究員）］

また、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、インド洋沿岸の Kwale 地区の学校 6 校について、いずれも 4 年生を対象として調査を行った。採血を行ない、末梢血単核球を分離、抗原で刺激し 24 時間後に培養上清を回収して、サイトカイン産生をイムノクロマトグラフィーおよびサンドイッチ ELISA 法により調べた。結核菌抗原に対するサイトカインの産生量から結核感染を推定したところ、陽性が 2%程度であることが分かった。[岡部真裕子、小林和夫（あそか病院、客員研究員）、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、米国および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行った。米国での診断の感度：77%、特異度：94%、台湾での診断の感度：61%、特異度：91%であり国、人種を越えて本診断法が有用であることが示された。[阿戸　学、小林和夫（あそか病院、客員研究員）、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細胞から産生されることを見出した。この細胞は慢性感染症や癌などで誘導される骨髄由来抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)とは異なり T 細胞免疫を抑制しないことや、GM-CSF 依存的に分葉核細胞に分化することから、新規の未熟骨髄系細胞 (Immature myeloid cells; IMCs) であると考えられた。さらに、IMCs 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 IMCs 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、IMCs 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、池辺忠義・大西真（細菌第一部）、阿戸学]

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。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、炎症性サイトカインを産生して感染防御を担っている。類鼻疽発症危険因子である糖尿病のコントロール不良で、glibenclamide を投与されている患者から採取された好中球は、健常人好中球に比べ、類鼻疽菌による炎症性サイトカインの産生が低下していることが判明した。さらに、これらの炎症性サイトカイン産生の低下は、健常人好中球を glibenclamide で処理することによっても同様に認められた。その機序として、glibenclamide が細菌感染によるインフラマソーム活性化を阻害していることが示唆された。[阿戸　学、Chidchamai Kewcharoenwong（研究生）・Darawan Rinchai（協力研究員）・Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学医療学部、タイ王国）]

III．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

（１）抗体産生 B 細胞の骨髄における初期分化分子機構について、代替軽鎖・プレ B 細胞受容体を中心に研究を行っている（J Immunol, 188:6010-7 2012, Nat Immunol, 4(9):849-56 2003, Eur J Immunol, 35:957-63 2005）。骨髄において発生する抗原認識多様性がどのようにプレ B 細胞受容体により品質管理されて末梢に移動するか、また、末梢で確立した VDJ レパトア構成が各種抗原の免疫でどのように動態変化し、応答するかの全体像について次世代シークエンサを用いた解析を行っている。各種ワクチンを抗原として免疫した後に起こる各 Vh ファミリーの拡張・衰退パターンの比較、体細胞突然変異とクラススイッチの動態などの全体像を俯瞰する基礎研究を行なって、ワクチン戦略などへの寄与を念頭に、ヒトへの応用を目指す。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（産業技術総合研究所）、藤本浩文（放射能管理室）、藤博幸（産業技術総合研究所）、傅舟一（筑波大学大学院生命環境科学）、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

（１）抗原免疫により誘導される免疫記憶の形成過程

を知ることは、ワクチン効果の最適化につながる。抗原に応答した抗体産生B細胞がどのようなメカニズムで長期生存が可能になり、抗体レベルの免疫記憶が形成保持されるかについては未だに解明されていない。我々が初めてクローニングしたBILLカドヘリン（Eur. J. Immunol.,35:957-963 (2005)）は、免疫担当B細胞に特異的に発現する分子で、この遺伝子を欠損させたマウスでは免疫記憶機能に異常がある。BILL-cadherinがどのように免疫記憶保持に関与するか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［傳舟一（筑波大学大学院生命環境科学）、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）、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

（１）*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。　また、RP58KOマウスを用いて、RP58がbHLH型転写因子のInhibitorであるId1-Id4の発現を抑制することで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, EMBO 2012, Dev Cell 2009, Dev Biol 2009, EMBO 2001, J Biol Chem 1998)　しかし、RP58KOマウスが致死であるため、免疫機能との関連は長らく不明であった。そこで、RP58KO(*RP58*$^{-/-}$) 及びRP58(*RP58*$^{+/+}$)マウスのFetal LiverをRAG-1KOマウスに移植する競合的骨髄再構築法を用いて、RP58が免疫担当細胞の再構成に及ぼす影響を解析した。　その結果、移植後17週を経てB220陽性細胞が初めて出現したが、CD3陽性細胞は依然検出されなかった。以上の結果は、RP58がT細胞の発生に不可欠であることを示唆しているが、さらにこの結果を確認するためにConditional KOマウスを用いた詳細な実験を準備中である。

［山崎　聡、中内啓光（東京大学医科学研究所)、岡戸晴生（東京都医学総合研究所)、石田礼子(協力研究員)、葛西正孝］

品質管理に関する業務

体外診断薬委員会業務

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。また体外診断薬委員会に提出された各種体外診断薬の承認前検査申請について審査を行う。

［大西和夫、山口沙由里、阿戸学］

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行い、診断の感度：61%、特異度：91%であり、台湾においても本診断法が有用であることが示された。［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名を研究生として受け入れ、実験手技と共同研究の指導にあたった。また、7月にポスドク1名を協力研究員として受け入れ、共同研究を行った。11月にKhon Kaen大学医療学部と免疫部、細菌第一部、細菌第二部のMOUの更新を行い、さらなる研究協力の推進に取り組んでいる［阿戸　学］

研修業務

Ⅰ. 医師卒後臨床研修

医師卒後研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、10月21日、講義した［阿戸　学］

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1日)、慶応大学医学部（5月29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24日)、東京大学大学院農学研究科（11月15日)、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(12月18日)などで招請講義した。［阿戸　学］

筑波大学生命環境学群（5月13日、20日）で講義を行った。

筑波大学大学院生命科学研究科（11月6日）で講義を行った。

［大西　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、機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。さらに、機器の定期的な保守、点検を行い、特に9月の使用機器更新後に多数発生した故障等のトラブルには早急に対処した。とくに新規使用者や、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。平成25年度の使用実績は、926回、2119時間であった。 [泉山枝里子（非常勤職員)、高橋宜聖、阿戸学]

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) 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. 31(17):2184-90.
2) Shu, C.C., Ato, M., Wang, J.T., Jou, R., Wang, J.Y., Kobayashi, K., Lai, H.C., Yu, C.J., Lee, L.N., Luh, K.T. 2013. Sero-diagnosis of Mycobacterium avium complex lung disease using serum immunoglobulin A antibody against glycopeptidolipid antigen in Taiwan. PLoS One. 8(11):e80473.
3) Kewcharoenwong, C., Rinchai, D., Utispan, K., Suwannasaen, D., Bancroft, G.J., Ato, M., Lertmemongkolchai, G. 2013. Glibenclamide reduces pro-inflammatory cytokine production by neutrophils of diabetes patients in response to bacterial infection. Sci Rep. 3:3363.
4) Ikeno, S., Suzuki, M., Muhsen, M., Ishige, M., Kobayashi-Ishihara, M., Ohno, S., Takeda, M., Nakayama, T., Morikawa, Y., Terahara, K., Okada, S., Takeyama, H., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2013. Sensitive detection of measles virus infection in the blood and tissues of humanized mouse by one-step quantitative RT-PCR. Front. Microbiol.4:1-8.
5) Tsunetsugu-Yokota, Y and Muhsen, M. 2013. Development of human dendritic cells and their role in HIV infection: antiviral immunity versus HIV transmission. Front. Microbiol. 4:1-10.
6) Yamashita, Y., Hoshino, Y., Oka, M., Matsumoto, S., Ariga, H., Nagai, H., Makino, M., Ariyoshi, K., Tsunetsugu-Yokota, Y. 2013. Multicolor flow cytometric analyses of CD4+ T cell responses to Mycobacterium tuberculosis-related latent antigens. Jp.J.Infect.Dis., 3:207-215.
7) Kaji, T., Furukawa, K., Ishige, A., Toyokura, I., Takahashi, Y., Shimoda, M., Takemori, T. 2013. Both unmutated and mutated memory B cells accumulate mutations and renew antibody repertoire optimally adopted to antigen upon re-exposure. Int Immunol. 25, 683-695.
8) Matsumura, T., K. Kobayashi, and M. Ato. 2013. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and their related cell subpopulations. The Research and Biology of Cancer I. pp155-172.
9) Kurebayashi, Y., Nagai, S., Ikejiri, A., Koyasu, S. 2013. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells. Genes Cells. 18(4):247-65.
10) 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.
11) Heng, J.I., Qu, Z., Ohtaka-Maruyama, C., Okado, H., Kasai, M., Castro, D., Guillemot, F., and Tan, S.S. 2013. The Zinc Finger Transcription Factor RP58 Negatively Regulates Rnd2 for the Control of Neuronal Migration During Cerebral Cortical Development. Cereb Cortex. Oct 1.
12) Nomaguchi, M., Miyake,A., Doi, N., Fujiwara, S., Miyazaki, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y., Yokoyama, M., Sato, H., Masuda, T., Adachi, A. 2014. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 pol gene modulate viral replication ability. J.Virol.88:4145.
13) Takemori, T., Kaji, T., Takahashi, Y., Shimoda, M. Rajewsky, K. 2014. Generation of memory B cells inside and outside germinal centers. Eur. J. Immunol., Mar 10. Doi: 10.1002/eji.201343716 [Epub ahead of print]
14) Kikuchi, Y., Kunitoh-Asari, A., Hayakawa, K., Imai, S., Kasuya, K., Abe, K., Adachi, Y., Fukudome, S., Takahashi, Y., Hachimura, S. 2014. Oral administration of Lactobacillus plantarum strain AYA enhances IgA secretion and provides protection against influenza virus infection in mice. PLoS One, 9, e86416.
15) Tsuneto M, Kajikhina E, Seiler K, Reimer A, Tornack J, Bouquet C, Simmons S, Knoll M, Wolf I, Tokoyoda K, Hauser A, Hara T, Tani-Ichi S, Ikuta K, Grün JR, Grützkau A, Engels N, Wienands J, Yanagisawa Y, Ohnishi K, Melchers F. 2014."Environments of B cell development." Immunol Lett. Jan-Feb;157(1-2):60-3.

2. 和文発表

1) 高橋宜聖、安達悠. 2013. 化学と生物（学会出版センター）抗原特異的 B 細胞の分離・培養法の新展開−迅速なモノクローナル抗体作製法への活用 659-661、 第 51 巻·第 10 号.
2) 阿戸学、松村隆之、池辺忠義. 2013. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における菌側病原因子と好中球機能障害の機序. 化学療法の領域 29(4) 108-115.
3) 松村隆之、阿戸学. 2013. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における宿主免疫応答. 化学療法の領域 29(7) 57-64.
4) 小野寺大志. 2013. パイエル板における Th17 細胞の可塑性は T 細胞依存性 B 細胞の IgA 産生誘導に関与する.細胞工学、秀潤社、p581、vol.32 No.5.
5) 小野寺大志. 2013. 抗体の骨格構造における体細胞突然変異は広範囲かつ強力な HIV-1 の中和活性に必要である. 細胞工学、秀潤社、p699、vol.32 No.6.
6) 小野寺大志. 2013. 高濃度の NaCl は病原性 Th17 細胞を誘導し自己免疫疾患を発症させる. 細胞工学、秀潤社、p794、vol.32 No.7.
7) 小野寺大志. 2013. グループ 2 自然リンパ球による皮膚組織における免疫監視と炎症制御. 細胞工学、秀潤社、p881、vol.32 No.8.
8) 小野寺大志. 2013. BACH2 は制御性 T 細胞による

免疫恒常性を安定させるエフェクタープログラムを抑制する．細胞工学、秀潤社、p985、vol.32 No.9.

9) 小野寺大志. 2013. 長鎖非翻訳型 RNA は免疫応答に関与する遺伝子発現の活性化と抑制の両方を媒介する．細胞工学、秀潤社、p1071、vol.32 No.10.
10) 小野寺大志. 2013. メモリーCD8+T 細胞の迅速なエフェクター機能は最初期に解糖系への切り換えを要求する．細胞工学、秀潤社、p1157、vol.32 No.11.
11) 小野寺大志. 2013. ユビキチンリガーゼである Parkin は細胞内寄生細菌に対する抵抗性を介在する．細胞工学、秀潤社、p1256、vol.32 No.12.
12) 小野寺大志. 2014. Th17 細胞の分化は概日時計によって制御されている．細胞工学、秀潤社、p94、vol.33 No.1.
13) 小野寺大志. 2014. 細胞内因性の免疫応答はギャップ結合を介した cGAMP の輸送により周辺細胞へ伝播する．細胞工学、秀潤社、p176、vol.33 No.2.
14) 小野寺大志. 2014. HIV 感染においてピロトーシスによる細胞死が CD4+T 細胞減少を促進する．細胞工学、秀潤社、p301、vol.33 No.3.

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会.

1) Matsumura, T., T. Ikebe, and M. Ato. 2013. Immature myeloid cells, which produce interferon-g and/or interleukin-6, play a protective role in severe invasive group A Streptococcus infections. Joint Meeting: The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology 2013 （東京、5 月）.
2) Ato, M., T. Matsumura, and T. Ikebe. 2013. Interferon-γ-producing immature myeloid cells in severe Streptococcus infection. Joint Meeting: The 78th Meeting of the Japanese Society for Interferon and Cytokine Research and The 21th International Symposium of Macrophage Molecular and Cellular Biology 2013 （東京、5 月）.
3) Ato, M. 2013. Toward understanding of pathophysiology of severe invasive bacterial infections. -from host immune evasion to disturbance of microcirculation-. International Workshop on Biointerface and Biomedical Engineering, 2013.（岡山、8 月）
4) Takahashi, H., Ohnishi, K., Nishimura, K., Takayama, I., Nakauchi1, M., Nagata, S., Tsunetsugu-Yokota,Y., Tashiro, M., Kageyama, T. 2013. Development of monoclonal antibodies specific for H5 HA and their application to rapid detection of influenza A/H5N1 virus. Options for the Control of Influenza VIII （Cape Town、南アフリカ共和国、9 月）
5) Ato, M. Roles of neutrophils and a related cell population in bacterial infections. The 50th Khon Kaen University and 36th Faculty of Associated Medical Sciences Anniversary Celebration Conference “2013 Infection & Immunity: From Basic to Translational Research”（Hua Hin、タイ王国、9 月）

2. 国内学会

1) Takahashi, Y., Adachi, Y. 2013. Protective memory B cell responses to influenza virus infection. RCAI-JSI International Symposium on Immunology （横浜、6 月）
2) 西村研吾、曽家義博、服部静夫、影山努、大西和夫、髙山郁代、小林美栄、高橋仁、横田恭子. 2013. 化学発光免疫測定法を用いた高感度 H5HA 検出系の開発とベトナムにおける H5N1 感染試料を用いた検出感度の検討. 第 27 回インフルエンザ研究者交流会シンポジウム （札幌、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. 2013. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における IFN-γ 産生未熟骨髄系細胞の役割. 平成 25 年度北里大学メディカルセンター研究部門学術講演会 （埼玉、10 月）.
4) 高橋仁、田中仁喜、西村研吾、高山郁代、中内美名、永田志保、小林美栄、藤博幸、大西和夫、横田(恒次)恭子、田代眞人、影山努. 2013. H5HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 （神戸、11 月）
5) 小林（石原）美栄、高橋仁、西村研吾、高山郁代、大西和夫、板村繁之、影山努、横田（恒次）恭子. 2013. H5N1 インフルエンザウイルス高感度検出系開発に向けた H5 HA 特異的抗体のエピトープ解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 （神戸、11 月）
6) 池野翔太、鈴木基臣、寺原和孝、石毛真行、駒瀬勝啓、竹田誠、森川裕子、中山哲夫、柳雄介、竹山春子、横田恭子. 2013. 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 61 回日本ウイルス学会学術集会 （神戸、11 月）
7) Adachi, Y., Ato, M., Takahashi, Y. 2013. The development and persistence of broadly cross-reactive germinal center and memory B cells in the lungs following influenza virus infection. 第 42 回日本免疫学会総会 （千葉、12 月）
8) FUNAKOSHI Shuichi, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2013. B Lymphocyte Cadherin, BILL-cadherin/cadherin-17, Contributes to the Survival of Memory B Cells., Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology （千葉、12 月）
9) Miyauchi, K., Ishige, A., Kaji, T., Harada, Y., Motomura, Y., Takahashi, Y., Takemori, T., Kubo, M. 2013. Distinct roles of TFH and TH1 cells in humoral responses agasint influenza A virus infection. 第 42 回日本免疫学会総会 （千葉、12 月）
10) Onodera, T., Adachi, T., Tsubata, T., Kurosaki, T., Adachi, Y., Ato, M., Takahashi, Y. 2013 . Replenishment of long-lived plasma cells is

constitutively restricted by CD4+ T cells in their maintenance phase after influenza vaccination. 第 42 回日本免疫学会総会　（千葉、12 月）

11) Sato, K., Takahashi, Y., Ato, M., Asanuma, H. 2013. TLR agonists induce high avidity of virus-specific antibodies upon a booster conditions. 第 42 回日本免疫学会総会　（千葉、12 月）
12) SUN Lin, FUNAKOSHI Shuichi, OHNISHI Kazuo. 2013. Correlation between antigenicity and three-dimensional structure of hepatitis A virus epitopes., Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology　（千葉、12 月）
13) Takahashi, Y., Adachi, Y., Ato, M. 2013. Development of cross-reactive memory B cell subsets to influenza virus infection. 第 42 回日本免疫学会総会シンポジウム　（千葉、12 月）
14) 安達貴弘、吉川宗一郎、烏山一、小野寺大志.2013. In vivo imaging of calcium signaling in B cells of mice expressing the genetically encoded YC3.60 calcium indicator. 第 42 回日本免疫学会学術集会（千葉、12 月）.
15) 小野寺大志、田代眞人、黒崎知博、阿戸学、高橋宜聖. 2014. B 細胞内因性 TLR シグナルによるインフルエンザワクチンの奏功機序. 第 7 回次世代アジュバント研究会（大阪、 1 月）
16) 阿戸　学、高橋宜聖、藤猪秀樹、橋本修一、加地友弘、板村繁之、堀内善信、荒川善親、田代眞人、竹森利忠. 2014.インフルエンザ不活化全粒子ワクチンによるインターフェロンα依存的アポトーシスを介する末梢血白血球の急速な減少. 第 7 回次世代アジュバント研究会（大阪、 1 月）
17) Tsuchiya, T., T. Matsumura, T. Ikebe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2014. Fat-1 transgenic mice are more susceptive to severe invasive group A Streptococcus infections. 第 87 回日本細菌学会総会　（東京、3 月）
18) Matsumura, T., T. Ikebe, and M. Ato. 2014. The defensive role of immature myeloid cells in severe invasive group A Streptococcus infections. 第 87 回日本細菌学会総会(東京、3 月)
19) 安藤匡子、松村隆之、阿戸学、安藤秀二. 2014. マウスにおける Orientia tsutsugamushi 血清型の病原性比較.　第 87 回日本細菌学会総会(東京、3 月)
20) 白砂圭崇、葛西正孝、花田賢太郎、安部良、深澤征義. 2014. TRAX はユビキチン非依存的なプロテアソーム分解を受ける. 日本薬学会第１３４年会　（熊本、3 月）

知的財産権の出願・登録状況

特許取得申請中
H5 亜型インフルエンザウイルスを特異的に認識するモノクローナル抗体
出願番号: 特願２０１１－２２７７４８（感染研、東洋紡株式会社）

9. 真菌部

部長　宮﨑 義継

概 要

当研究部は、平成２５年４月１日に発足した。目的は、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することである。緊急の対応が必要な真菌症として、健常者に発症するものでは*Cryptococcus gattii* を含めたクリプトコックス症、免疫不全宿主に発症するものではアスペルギルス症やカンジダ症があり、これらの疾患を主な研究対象としている。

平成２５年度は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、新規薬剤シーズの探索や薬剤耐性機構の研究、細胞内シグナル制御の解明と応用に基づく感染症制御、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に基づく感染症制御に関する研究

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に関する研究を実施した。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、バイオフィルム等の感染症難治化因子に関する研究、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、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。真菌感染症の検査業務では、薬剤感受性試験を担当した。

第4室は、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。検査業務では、後発医薬品の収去検査について第2室と共に実施した。

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）国内の *Cryptococcus gattii* 症の調査研究

国内発症の *C. gattii* 感染症について､疫学調査を実施した。国内で診断された *C. gattii* 感染症は症例が限定されるが､診断法と治療指針を作成し公表した。

［宮崎義継、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）、石野敬子（昭和大学薬学部）、澁谷和俊（東邦大学）、泉川公一（長崎大学）、高倉俊二（京都大学）、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

日本国内で分離された *C. gattii* 株を中心に *in vitro* での菌学的性質と、マウス感染モデルを使用した病原性等について検討した。供試菌として 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）とし、対照株として *C. neoformans* H99 株を用いた。病原性においては JP02 株、R265 株が最も高く、JP01 株は供試株の中でも最も低い結果であった。これら病原性と、一般的なクリプトコックス属の病原因子との間に明らかな相関は認めなかった。一方、*C. gattii* 株では *C. neoformans* 株と比較し、感染後比較的早期から他の臓器（肝、脾、脳）へ播種していく傾向が認められ、これは病原性とはあまり相関していなかった。さらに、*C. gattii* 株感染マウスの肺において、炎症性サイトカインの発現は低い傾向が観察され、病理組織学的所見と相関していた。

［大野秀明、壇辻百合香、田辺公一、梅山 隆、金子幸弘、浦井 誠、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) 高病原性クリプトコックス症に対する免疫応答に関する検討

高病原性 *C. gattii* に対する免疫応答を in vivo および in vitro で解析した。in vivo において、高病原性株は通常株に比べて、病理学的に免疫細胞の集積が顕著に少なく、免疫応答に乏しいことが示唆された。一方、in vitro において、樹状細胞に対するサイトカイン産生誘導能を比較したところ､高病原性株ではサイトカイン産生をほとんど誘導しなかった。さらに、サイトカインの産生誘導は､菌の細胞表層構造と関係していることを明らかにした。

［浦井 誠、金子幸弘、金城雄樹、上野圭吾、大野秀明、宮﨑義継］

2. アスペルギルス症に関する研究

(1) *Aspergillus fumigatus* Y11 蛋白質の糖鎖修飾

Y1 の蛋白質は、細胞壁画分に主に存在し、ウエスタンブロットを行うと予想より大きい分子量にブロードに検出される。Tri-fluoro-methane-sulfonic acid (TFMS)による化学的な分解を行い糖鎖修飾について検討した。その結果糖鎖の修飾が確認された。

［山越 智、梅山 隆、橋本ゆき、田辺公一、名木 稔、大野秀明、宮﨑義継］

(2) *Aspergillus fumigatus* Y69 蛋白質の病原性ついての解析

Y69 蛋白質が病原性に関与するか否かを検討するために遺伝子欠損株を作成した。培養レベルでは、通常の何種類かの平板培地において親株との生育に差は見られなかったが、そこに 10%の血清を添加すると、遺伝子欠損株では、生育の阻害が見られた。さらにマウス侵襲性肺アスペルギルス症モデルにて生存率を調べた。その結果、顕著な生存率の上昇が観察された。以上の結果から、Y69 蛋白質はアスペルギルス症の病原因子であることが示唆された。［山越 智、梅山 隆、橋本ゆき、田辺公一、名木 稔、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

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 MPS1 変異株を使用した。この株に動原体マーカーNdc80-TgRFP を導入し、Mps1 のキナーゼが動原体に局在し、そのキナーゼ活性が正常な核分配に必須であることを示す結果をえた。

［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 の Polo-like キナーゼ *PLK1* の遺伝子破壊株および遺伝子相補株を用いて表現型の解析を行った。遺伝子破壊株は、親株と比べてコロニー生育が 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た。さらに、分生子頭が未熟であり、分生子の表層構造が異常であることが原因で、分生子からの菌糸の出芽が 2 時間程度早くなることが示された。以上より、*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］

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検討した。約 100 株の *C. albicans* 臨床分離株の遺伝子型解析を行い、侵襲性感染を引き起こした株が特定の遺伝子型グループに分類されることを見出した。

［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)　薬剤耐性メカニズムとしてのステロール合成・代謝に関連する研究

C. glabrata の細胞外ステロール取り込みは感染時の臓器定着とアゾール感受性に関連すると考えられる。ステロール取り込みに必須である ABC トランスポーター遺伝子 *AUS1* を *C. glabrata* に強制発現させても細胞外ステロール取り込みは観察されなかった。遺伝的に近縁種である *S. cerevisiae* ではマンノプロテインをコードする *DAN1* 遺伝子がステロール取り込みに必須であるとされている。*C. glabrata* において *DAN1* と相同性の高い遺伝子の遺伝子破壊株を作製し、ステロール取り込み活性を調べた結果、*TIR3* 遺伝子を破壊するとステロール取り込みが消失することを見出した。以上の結果より、ステロール取り込みに必須であるタンパク質は *C. glabrata* と *S. cerevisiae* との間で保存されていると考えられた。

［田辺公一、中山浩伸（鈴鹿医療科学大・薬学部）、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮﨑義継］

(3) キャンディン耐性に関わる *FKS* 遺伝子の変異解析

多くのキャンディン耐性 *C. glabrata* において、標的酵素をコードする *FKS* 遺伝子（*FKS1* または *FKS2*）の特定の領域に点変異が観察される。ミカファンギン治療中に出現したキャンディン耐性 *C. glabrata* の *FKS* 遺伝子の塩基配列を決定した。その結果、キャンディン耐性化する前の株の *FKS2* に耐性化と関連すると考えられていた遺伝子変異がすでに導入されており、耐性化株では変異を含む領域が遺伝子変換によって *FKS1* にも導入されていた。本研究で見出したこれまでに報告のない種類の *FKS* 遺伝子の変異について、機能解析を進めている。

［田辺公一、皿谷　健（杏林大・医学部附属病院）、荒木光二（杏林大・医学部附属病院）、米谷正太（杏林大・医学部附属病院）、名木 稔、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮﨑義継］

(4)　*C. glabrata* におけるミトコンドリア選択的オートファジーと病原性との関連

マウス感染実験を行い、感染臓器内における *C. glabrata* の遺伝子発現解析を行ったところ、合成培地中で生育している場合と比べ、感染臓器内ではミトコンドリア選択的オートファジー（マイトファジー）関連遺伝子 *ATG32* の発現量が著明に増加していることを見出した。*ATG32* 遺伝子破壊株では、野生株と比べて有意にマウス臓器内生菌数の低下が認められた。以上の結果より、*C. glabrata* のマイトファジーが宿主臓器内において活性化しており、病原性に関与していることが示唆された。

［名木　稔、田辺公一、山越 智、梅山 隆、大野秀明、宮﨑義継］

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

結核症疑いで、喀痰塗抹法抗酸菌陰性の症例からえられ、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、壇辻百合香、中山靖子、山越　智、梅山　隆、宮﨑義継、Trepradab Norkaew、Pojana Sriburee（チェンマイ大）］

(2)　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。さらに、呼吸器系の検体のうち 9 例でヒストプラスマ属特異的 PCR 法が陽性を確認した。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が、全例 PCR 陰性であった。今回の結果から、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となった。

［大野秀明、田辺公一、壇辻百合香、中山靖子、山越　智、梅山　隆、宮﨑義継、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)　発熱性好中球減少症に対するイトラコナゾールとアムホテリシン B リポソーム製剤の多施設無作為化臨床試験

試験全体の登録件数は進捗しており、合計で 100 件程度の登録状況となっている。

［浦井 誠、金子幸弘、大野秀明、大川原明子、金城雄樹、田辺公一、梅山　隆、山越　智、草地弘子、吉田　功（四国がんセンター）、宮﨑義継、ほか］

II.　宿主因子と免疫制御の解明による難治性感染症の制圧に関する研究

1.　*Cryptococcus gattii* に対する樹状細胞ワクチンの研究

Cryptococcus gattii によるクリプトコックス症は高病原性であることが指摘されており、健常者であっても致命的な転機を辿ることもある。しかし、本菌の感染制御に必要な免疫応答については報告が殆ど無い。平成 25 年度は、本菌の感染制御を可能にする樹状細胞 (DC)のワクチンの開発を行った。初期の解析から、莢膜を欠損した *C. gattii* CAP60Δ株は、DC に効率良く貪食されることが明らかになり、CAP60Δ株で刺激された DC は、炎症性サイトカインや各種共刺激分子の発現が増加した。これらの現象は、北米流行型 *C. gattii* R265 株では観察されなかった。この結果を受けて、感染前のマウスに、CAP60Δ株を貪食した DC (CAP60Δ/DC)を移入することで、感染制御が可能か否かを評価した。その結果、CAP60Δ/DC 投与群 (DC ワクチン投与群)では、DC ワクチン非投与群に比べて感染後の生存率が有意に改善されて、感染後の肺内菌数も有意に低下した。さらに、各種条件検討を行い、投与回数 (2 回)や投与時期 (感染 14 日前-1 日前)、並びに糖脂質アジュバントは不要であることを明らかにした。さらに、CAP60Δ/DC による感染制御効果が各種対照群 [死菌ワクチンの投与・抗原を貪食させていない DC の投与・R265 株を貪食した DC (R265/DC)の投与]よりも優れていることも明らかにした。今回の解析で、DC ワクチンが感染制御に有効であることが示されたことから、現在 DC ワクチンで活性化される免疫応答について詳細な解析を進めている。

［上野圭吾、金城雄樹、大川原明子、金子幸弘、浦井 誠、宮﨑義継］

2.　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 ITIM 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。平成 25 年度は、マウス骨髄好中球における LMIR3 の発現調節について解析を行った。好中球には、恒常的に LMIR3 が発現しており、病原性細菌・病原性真菌・各種 TLR リガンドで好中球を刺激すると、培養 24 時間後には発現量が有意に増加することが明らかになった。現在、この誘導機構の解析を行っている。また、好中球における LMIR3 の発現が好中球の殺菌機能に与える影響についても解析を行っている。

［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. 糖脂質アジュバントによる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り、小児の侵襲性感染症の起炎菌としても重要である。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の併用ワクチンを接種することにより、血中の抗原特異的 IgG 抗体価の上昇を認め、リンパ節にて抗体産生細胞を検出した。そのことにより、肺炎球菌の排除が促進され、高い生存率をもたらした。複数の菌株の感染にて併用ワクチンの効果を認めた。糖脂質の併用は肺炎球菌蛋白ワクチンの効果の誘導に有用であることが示唆された。

［金城雄樹、井澤由衣奈、大川原明子、上野圭吾、金子幸弘、朴 貞玉・明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）、川上和義（東北大学）、大石和徳（感染症疫学センター）、宮﨑義継］

4. 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多糖抗原であることから、メモリー細胞が誘導されない。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 欠損マウスでは、肺炎球菌多糖抗原ワクチンによる NKT 細胞の IFN-γ 産生及び IgG 抗体産生の障害を認めた。IFN-γ 中和抗体を用いた解析から IgG 抗体産生に IFN-γ が関与することが示唆された。さらに、Dectin-2 欠損マウスに NKT 細胞を活性化する糖脂質や IL-12、IFN-γ を投与することで IgG 抗体産生が回復した。その結果、NKT 細胞が産生する IFN-γ が抗体産生に関与することが示唆された。

［金城雄樹、宮﨑義継、宮坂智充・川上和義（東北大学）］

5. 侵襲性感染症起炎菌の蛋白抗原の解析

肺炎球菌は日本人の死因第 3 位である肺炎の主要な起炎菌であり、肺炎球菌による肺炎や侵襲性感染症の細菌学的解析は重要と考えられる。本研究では、全ての肺炎球菌に認められ、病原性因子としても重要な pneumococcal surface protein A（PspA）蛋白に着目して解析を行った。肺炎球菌性肺炎症例及び侵襲性肺炎球菌感染症症例から分離した 16 株の PspA 蛋白の clade を決定した。これまでに PspA clade が報告されている参照株と比較解析することで clade を決定したが、今回解析したどの菌株も参照株との相同性が 96%以上であり、大部分の菌株は何れかの参照株と相同性が 100%であったことから、本研究で用いた方法は有用と考えられる。今後さらに解析を継続したい。

［金城雄樹、常 彬・大西 真（細菌第一部）、大石和徳（感染症疫学センター）］

6. 生体防御に関与するサイトカイン LECT2 の解析

(1)サイトカイン LECT2 の侵襲性肺アスペルギルス症における役割の解析

サイトカイン LECT2 の侵襲性肺アスペルギルス症における役割を調べた。野生型、LECT2 遺伝子欠損、LECT2 遺伝子導入マウスを用いマウスモデルにて生存率を調べた。その結果、LECT2 高発現遺伝子導入マウスでは、生存率の低下が観察された。また、肺における真菌排除の効率について調べたところ、遺伝子欠損マウスにおいて低下していた。以上のことより、侵襲性肺アスペルギルス症の生体防御反応においてサイトカイン LECT2 の関与が示唆された。

［山越 智、橋本ゆき、梅山 隆、田辺公一、名木 稔、大野秀明、宮﨑義継］

(2)サイトカイン LECT2 のインスリン抵抗性への関与

LECT2 遺伝子欠損マウスは、グルコース負荷試験、インスリン負荷試験に対し感受性が高くなっており、高脂肪食による肥満に伴いインスリン抵抗性が低下した。細胞レベルでは、筋肉細胞において LECT2 がインスリンシグナルを阻害することがわかり、個体レベルでのインスリン抵抗性の原因と考えられた。糖尿病では感染症が問題となり、生体防御とインスリン抵抗性の両方に関わる LECT2 の機能解析を今後進めていく必要が考えられた。

［山越　智、橋本ゆき、御簾博文・篁 俊成（金沢大学)］

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および真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、生物活性物質生合成遺伝子の同定ならびに生合成メカニズムの解明に寄与した。

［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) キャンディン系抗真菌化合物の生合成遺伝子

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や遺伝子破壊株を用いた解析を行ってきた。本年度は、生合成遺伝子クラスター内に存在する複数の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の消失や新たな化合物の生産が確認され、相補実験では生産性が回復した。これらの結果から、破壊した遺伝子は、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］

(3) ノカルジア属放線菌の生産するシデロフォアの探索

シデロフォアは、外界（鉄濃度の低い環境：生体内等）から鉄を獲得するために生産されており、病原菌においては病原因子とも言われている。さらに、鉄をキレートする以外の生物活性を有している報告もあり天然物資源としても有用である。そこで、ノカルジアにおけるシデロフォア生産の確認とゲノム情報を用いた生合成遺伝子の探索を行った。その結果、いくつかの種でシデロフォアの生産を確認した。ゲノム情報からは、シデロフォア生合成に関与すると予想される遺伝子クラスターを見出した。

［星野泰隆、石川　淳］

2.　有用遺伝子応用のための手法開発

（1）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/）に、真菌ゲノム配列を解析可能とする機能を追加した。また、年度内に国内外から 7300 回の利用があった。

［石川 淳］

(2) 糸状菌におけるランダム変異導入系の確立

二次代謝産物の生合成遺伝子の機能解析や薬剤耐性の解析などを行うために、アグロバクテリアを用いて、糸状菌のゲノム中にランダムに変異を導入する系の開発を行った。変異導入箇所の特定をいくつかの方法で解析可能になるように改良した。

［星野泰隆、清野優花、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に関する研究

１．プロテインキナーゼ阻害物質の検定

文部科学省新学術領域研究「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。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）、HEK293T 細胞に 4 種のチロシンキナーゼ（ALK、IGF1-R、RET、TRKA）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 172 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 38 サンプル、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

シクロオキシゲナーゼ阻害剤を FLCZ と併用した際に、FLCZ の作用を弱めることを明らかにした。さらに、この拮抗メカニズムについて、遺伝子発現解析と遺伝子欠損株を用いた検討を行い、薬剤排出ポンプとの関連性を明らかにした。

［浦井 誠、金子幸弘、深澤秀輔、大野秀明、梅山 隆、田辺公一、宮﨑義継］

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 25 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 35 件（菌株 52 株、臨床検体 30 検体）、ならびに行政検査 1 件（臨床検体 6 検体）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。

［大野秀明、中山靖子、壇辻百合香、草地弘子、梅山　隆、田辺公一、金子幸弘、大川原明子、山越　智、名木　稔、星野泰隆、上野圭吾、浦井　誠、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 29 ロット（セファクロルカプセル 8 ロット、細粒 7 ロット、注射用ピペラシリンナトリウム 14 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。

［石川淳、深澤秀輔、星野泰隆、山越智、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 の短期専門家として平成 25 年 12 月上旬に 10 日間派遣され、現地スタッフの指導や検査技師の教育等を担当した。

［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） Nagi M, Tanabe K, Ueno K, Nakayama H, Aoyama T, Chibana H, Yamagoe S, Umeyama T, Oura T, Ohno H, Kajiwara S, Miyazaki Y. The *Candida glabrata* sterol scavenging mechanism, mediated by the ATP-binding cassette transporter Aus1p, is regulated by iron limitation. Mol Microbiol. 88(2):371-81, 2013.

2） Mihara T, Izumikawa K, Kakeya H, Ngamskulrungroj P, Umeyama T, Takazono T, Tashiro M, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Ohno H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Multilocus sequence typing of *Cryptococcus neoformans* in non-HIV associated cryptococcosis in Nagasaki, Japan. Med Mycol. 51(3):252-60, 2013.

3） Ueno K, Okawara A, Yamagoe S, Naka T, Umeyama T, Utena-Abe Y, Tarumoto N, Niimi M, Ohno H, Doe M, Fujiwara N, Kinjo Y, Miyazaki Y. The mannan of *Candida albicans* lacking β-1,2-linked oligomannosides increases the production of inflammatory cytokines by dendritic cells. Med Mycol. 51(4):385-95, 2013.

4） Kaneko Y, Miyagawa S, Takeda O, Hakariya M, Matsumoto S, Ohno H, Miyazaki Y. Real-time microscopic observation of *Candida* biofilm development and effects due to micafungin and fluconazole. Antimicrob Agents Chemother. 57(5):2226-30, 2013.

5） Hosogaya N, Miyazaki T, Nagi M, Tanabe K, Minematsu A, Nagayoshi Y, Yamauchi S, Nakamura S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kugiyama K, Kohno S. The heme-binding protein Dap1 links iron homeostasis to azole resistance via the P450 protein Erg11 in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 13(4):411-21, 2013.

6） Okubo Y, Wakayama M, Ohno H, Yamamoto S, Tochigi N, Tanabe K, Kaneko Y, Yamagoe S, Umeyama T, Shinozaki M, Nemoto T, Nakayama H, Sasai D, Ishiwatari T, Shimodaira K, Yamamoto Y, Kamei K, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological study of murine pulmonary cryptococcosis induced by *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. Jpn J Infect Dis. 66(3):216-21, 2013.

7） Kinjo Y, Kitano N, Kronenberg M. The role of invariant natural killer T cells in microbial immunity. J Infect Chemother. 19:560-70, 2013.

8） Okubo Y, Tochigi N, Wakayama M, Shinozaki M, Nakayama H, Ishiwatari T, Shimodaira K, Nemoto T, Ohno H, Kaneko Y, Makimura K, Uchida K, Miyazaki Y, Yamaguchi H, Shibuya K. How Histopathology Can Contribute to an Understanding of Defense Mechanisms against Cryptococci. Mediators Inflamm. 2013(2013):465319, 2013.

9） Migiyama Y, Kaneko Y, Yanagihara K, Morohoshi T, Morinaga Y, Nakamura S, Miyazaki T, Hasegawa H, Izumikawa K, Kakeya H, Hasegawa H, Kohno S. Efficacy of AiiM, an N-acylhomoserine lactonase, against *Pseudomonas aeruginosa* in a mouse model of acute pneumonia. Antimicrob Agents Chemother. 57(8):3653-8, 2013.

10） Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Kaneko Y, Yamagoe S, Miyazaki Y. Application of nested PCR for diagnosis of histoplasmosis. J Infect Chemother. 19(5):999-1003, 2013.

11） Miyasaka T, Akahori Y, Toyama M, Miyamura N, Ishii K, Saijo S, Iwakura Y, Kinjo Y, Miyazaki Y, Oishi K, Kawakami K. Dectin-2-dependent NKT cell activation and serotype-specific antibody production in mice immunized with pneumococcal polysaccharide vaccine. PLoS One. 8(10):e78611, 2013.

12） Norkaew T, Ohno H, Sriburee P, Tanabe K, Tharavichitkul P, Takarn P, Puengchan T, Burmrungsri S, Miyazaki Y. Detection of environmental sources of *Histoplasma capsulatum* in Chiang Mai, Thailand by nested PCR. Mycopathologia. 176(5):395-402, 2013.

13） Kaneko Y, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Combinatory effect of fluconazole and FDA-approved drugs against *Candida albicans*. J Infect Chemother. 19(6):1141-5, 2013.

14） Seki M, Ohno H, Gotoh K, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Miyazaki Y, Tomono K. Allergic bronchopulmonary mycosis due to co-infection with *Aspergillus fumigatus* and *Schizophyllum commune*. IDCases. 1:5-8, 2014.

15） Murakami Y, Fukasawa M, Kaneko Y, Suzuki T, Wakita T, Fukazawa H. Retinoids and rexinoids inhibit hepatitis C virus independently of retinoid receptor signaling. Microbes Infect. 16(2):114-22, 2014.

2. 和文発表

1） 宮﨑義継, 田辺公一, 梅山 隆, 名木 稔, 金子幸弘, 山越 智, 上野圭吾, 金城雄樹, 大川原明子, 大野秀明. アスペルギルス症. 感染症道場. 2(2):20-3, 2013 年.

2） 矢守隆夫, 上原至雅, 深澤秀輔, 吉田 稔, 井本正哉, 清宮啓之, 馬島哲夫, 水上民夫, 川田 学, 長田裕之, 旦 慎吾, 松浦正明, 掛谷秀昭, 冨田章弘. 化学療法基盤情報支援班報告（2010～2014 年度）— 制がん剤候補物質のスクリーニング成績・第 15 報 —. 癌と化学療法. 40(SI):116-146, 2013 年.

3） 矢守隆夫, 上原至雅, 深澤秀輔, 吉田 稔, 井本正哉, 清宮啓之, 水上民夫, 川田 学, 長田裕之, 松浦正明. 化学療法基盤情報支援班報告（2005～2009 年度）— 制がん剤候補物質のスクリーニング成績・第 14 報 —. 癌と化学療法. 40(SI):18-114, 2013 年.

4） 町田安孝, 福島康次, 三好祐顕, 小原一記, 池田康紀, 亀井克彦, 宮﨑義継, 福田 健. 経気管支鏡肺生検および気管支肺胞洗浄にて診断された慢性肺コクシジオイデス症の 1 例. 日本呼吸器学会雑誌. 2(3):274-8, 2013 年.

5） 大野秀明, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* 感染症 -新興・再興感染症 up to date-. 化学療法の領域. 29(S-1):1144-51, 2013 年.

6） 大野秀明. 結核感染症の病態-結核発症の危険因子とは?-. 治療. 95(6):1159-63, 2013 年.

7） 金城雄樹. 特集　注目される natural killer T（NKT）細胞　2. 感染防御に重要な NKT 細胞. 血液フロンティア. 23(7):33-9, 2013 年.

8） 金城雄樹. 感染症ワクチン戦略における *i*NKT 細胞の活性化の応用. 医学のあゆみ. 246(2):188-9, 2013 年.

9） 金子幸弘, 浦井 誠, 宮﨑義継. カラーグラフィック連載「目で見る真菌と真菌症」 4．治療薬の選択と投与. 化学療法の領域. 29(9):4-14, 2013 年.

10） 梅山 隆, 宮﨑義継. 幅広い微生物検査を目指して一検出度は低いが医学的に重要な細菌・真菌感染症の検査法. 臨床と微生物. 40(増刊号):616-20, 2013 年, 近代出版, 東京.

11） 浦井 誠, 金子幸弘, 宮﨑義継. ミニ特集 22 微生物の共存・共生と相互作用 ヒト vs 真菌 vs 細菌-人類の敵の敵は、味方か敵か-. 日本乳酸菌学会誌. 24(3):177, 2013 年.

12） 大野秀明, 宮﨑義継. 真菌性脳髄膜炎の遺伝子診断. 臨床神経学. 53(11):1191-3, 2013 年.

13） 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. ムーコル症 : 診断の実際とピットフォール. 呼吸器内科. 25(1):32-7, 2014 年.

14） 石川 淳. 放線菌の薬剤耐性. 化学療法の領域. 30(1):122-8, 2014 年.

15） 大野秀明, 荒岡秀樹, 梅山 隆, 金子幸弘, 宮﨑義継. 接合菌症. 臨床検査. 58(1):97-103, 2014 年.

16） 浦井 誠, 金子幸弘, 宮﨑義継. どう変わり、どう攻める？深在性真菌症の新しい治療 : 深在性真菌症における治療薬の選択の変化 - ガイドライン改訂から見えてくる今後の治療展望. 感染と抗菌薬. 17(1):5-13, 2014 年.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1） Umeyama T, Yamagoe S, Tanabe K, Nagi M, Kaneko Y, Kinjo Y, Ohno H, Miyazaki Y. Mps1 kinase is required for normal nuclear segregation in *Aspergillus fumigatus*. 2013 Congress of Asia Pacific Society for Medical Mycology. June 19-23, 2013, Chengdu, China.

2） Kamei K, Watanabe A, Yaguchi T, Muraosa Y, Toyotome T, Ohno H, Miyazaki Y. Epidemiology of imported mycoses in Japan-its past and the present status. 28th International Congress of Chemotherapy and Infection. June 5-8, 2013.

3） Umeyama T, Yamagoe S, Tanabe K, Nagi M, Ohno H, Miyazaki Y. Polo-like kinase regulates colony growth, conidiation, and cell polarity in *Aspergillus fumigatus* . 6th Advances in Aspergillus and Aspergillosis. February 27-March 1, 2014, Madrid, Spain.

2. 国内学会

1） 金子幸弘, 宮﨑義継. 重篤な真菌感染症. 知の市場. 5 月 28 日, 2013 年, 東京.

2) 大野秀明, 宮﨑義継. 中枢神経系感染症の遺伝子診断の進歩-真菌性脳髄膜炎の遺伝子診断-（シンポジウム）. 第 54 回日本神経学会学術大会. 5 月 29-6 月 1 日, 2013 年, 東京.

3) 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 5 回公開シンポジウム. 6 月 15-16 日, 2013 年, 札幌.

4) 秋根 大, 加藤幹朗, 辻 浩史, 槇村浩一, 大野秀明. 2 cases of cryptococcal meningitis in HIV-uninfected healthy patients. 第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 62 回日本化学療法学会総会. 6 月 5-6 日, 2013 年, 横浜.

5) 細萱直希, 宮崎泰可, 田辺公一, 武田和明, 吉田將孝, 井手昇太郎, 平野勝治, 峰松明日香, 永吉洋介, 森永芳智, 中村茂樹, 今村圭文, 泉川公一, 掛屋 弘, 栁原克紀, 宮﨑義継, 田代隆良, 河野 茂. *Candida glabrata* において鉄欠乏がアゾール系抗真菌薬感受性を誘導する分子生物学的機序の解明. 第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 61 回日本化学療法学会総会 . 6 月 5-6 日, 2013 年, 横浜.

6) 金子幸弘, 宮﨑義継. リアルタイム観察によるカンジダバイオフィルムに対するミカファンギンの効果の解析. 第 87 回日本感染症学会学術講演会、第 61 回日本化学療法学会総会 . 6 月 5-6 日, 2013 年, 横浜.

7) 田中佑資, 中島由紀子, 樹神元博, 坂本光男, 佐山宏一, 野崎博之, 岡野 裕, 秋月哲史, 梅山 隆, 大野秀明. 喀血を繰り返し診断に難渋した *Aspergillus viridinutans* による肺アスペルギルス症の 1 例. 第 597 回日本内科学会関東地方会例会. 6 月 8 日, 2013 年.

8) 金城雄樹, 樽本憲人, 北野尚樹, 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. 細菌・カンジダ共感染モデルでの真菌感染増悪における NKT 細胞の関与. 第 24 回日本生体防御学会学術総会. 7 月 10-12 日, 2013 年, 熊本.

9) 井澤由衣奈, 大川原明子, 朴 貞玉, 金子幸弘, 川上和義, 竹山春子, 大石和徳, 金城雄樹. 肺炎球菌感染に対する蛋白・糖脂質併用ワクチンの防御効果. 第 24 回日本生体防御学会学術総会. 7 月 10-12 日, 2013 年, 熊本.

10) 宮﨑義継, 砂川富正, 大石和徳. パネルディスカッション 病原体サーベイランスの現状と課題「国立感染症研究所の立場から」. 衛生微生物技術協議会第 34 回研究会. 7 月 11-12 日, 2013 年, 名古屋.

11) 名木 稔, 田辺公一, 中山晴雄, 山越 智, 梅山 隆, 大野秀明. The mechanism of sterol uptake in *Candida glabrata*, mediated by the ATP-binding cassette transporter Aus1p, plays key roles in pathogenicity. 第86回日本生化学会大会. 9 月 11-13 日, 2013 年, 東京.

12) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名木 稔, 金子幸弘, 金城雄樹, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の Polo-like キナーゼは菌糸伸長と分生子形成を制御している. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会. 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.

13) 浦井 誠, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida albicans* のアゾール感受性に対する併用薬の影響と作用機構に関する検討. 第 57 回日本医真菌学会総会･学術集会. 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.

14) 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 梶原 将, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida glabrata* における ABC タンパク質 Aus1p の細胞外ステロール取り込みと病原性における役割. 第 57 回日本医真菌学会総会･学術集会. 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.

15) 大野秀明, 大久保陽一郎, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山隆, 山越 智, 亀井克彦, 渋谷和俊, 宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* 感染書の病態解析（シンポジウム 4）. 第 57 回日本医真菌学会総会・学術集会. 9 月 27-28 日, 2013 年, 東京.

16) 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, 石渡誉郎, 中山晴雄, 下平佳代子, 安藝恭子, 田辺公一, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越智, 渋谷和俊. ガッティ型クリプトコックス症に関する感染防御機構ならびに病原因子の解析. 第 57 回日

本医真菌学会総会・学術集会. 9月27-28日, 2013年, 東京.

17) 金城雄樹, 樽本憲人, 笹井大督, 大川原明子, 上野圭吾, 篠崎 稔, 渋谷和俊, 前﨑繁文, 宮﨑義継. 細菌・カンジダ共感染マウスモデルを用いた真菌感染増悪機構の免疫学的解析. 第57回日本医真菌学会総会. 9月27-28日, 2013年, 東京.

18) 樽本憲人, 金城雄樹, 大川原明子, 上野圭吾, 宮﨑義継, 前﨑繁文. 全身性 *Candida albicans* 感染症における *i*NKT 細胞の役割. 第57回日本医真菌学会総会. 9月27-28日, 2013年, 東京.

19) 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 名木 稔, 知花博治, 亀井克彦, 宮﨑義継. 日本のキャンディン耐性カンジダの現状. 第57回日本医真菌学会総会・学術集会. 9月27-28日, 2013年, 東京.

20) 星野泰隆, 石川 淳. *Nocardia* 属放線菌のシデロフォア生合成遺伝子の探索. 第28回日本放線菌学会大会. 9月5-6日, 2013年, 広島.

21) 友常久実子, 春日 和, 小林正之, 池田治生, 石川 淳, 小嶋郁夫. セルロース分解性放線菌 *Streptomyces thermocarboxydus* C42 ゲノムに見出されたセルラーゼ推定遺伝子群の異種発現によるセルロース分解様式および遺伝子発現解析. 第28回日本放線菌学会大会. 9月5-6日, 2013年, 広島.

22) 野池基義, 雄谷洸一, 佐々木郁雄, 丸山千登勢, 石川淳, 佐藤圭創, 濱野吉十, 伊藤 肇, 大利 徹. 放線菌に見出した新規ペプチドライゲース. 第28回日本放線菌学会大会. 9月5-6日, 2013年, 広島.

23) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名木 稔, 金子幸弘, 金城雄樹, 大野秀明, 宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の Mps1 キナーゼは正常な核の分裂に必要である. 第7回アスペルギルス研究会. 9月7日, 2013年, 東京.

24) 金城雄樹, 金子幸弘, 朴 貞玉, 川上和義, 大石和徳, 宮﨑義継. 肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチンのマウスモデルによる評価. 第62回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第60回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. 10月30-11月1日, 2013年, 東京.

25) 渡邊祐里絵, 宮坂智充, 石井恵子, 金城雄樹, 宮﨑義継, 大石和徳, 川上和義. 肺炎球菌莢膜多糖ワクチンによる Dectin-2 依存的な NKT 細胞活性化と抗体産生. 第62回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第60回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会. 10月30-11月1日, 2013年, 東京.

26) 矢守隆夫, 井本正哉, 上原至雅, 長田裕之, 掛谷秀昭, 川田 学, 清宮啓之, 段 慎吾, 冨田章弘, 深澤秀輔, 馬島哲夫, 松浦正明, 水上民夫, 吉田 稔. アカデミア発の創薬を夢見て–化学療法基盤支援活動の魅力. 第5回食品薬学シンポジウム. 11月1-2日, 2013年, 京都.

27) 金城雄樹. 特別講演1　感染免疫における iNKT 細胞の役割. 感染症研究グローバルネットワークフォーラム 2013. 11月30日, 2013年, 千葉.

28) 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6回公開シンポジウム. 12月6-7日, 2013年, 千葉.

29) 井澤由衣奈, 大川原明子, 上野圭吾, 川上和義, 金城雄樹. Glycolipid mediated NKT cell activation enhances protective effect of protein vaccine against *Streptococcus pneumoniae* infection. 第42回日本免疫学会学術集会. 12月11-13日, 2013年, 千葉.

30) 金子幸弘. シンポジウム 「Persistent infection に対するアプローチ」：病原因子制御によるアプローチ. 第48回緑膿菌感染症研究会. 1月24-25日, 2014年, 長崎.

31) 田辺公一, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. FKS 遺伝子間の遺伝子変換によるエキノキャンディン低感受性化. 第25回日本臨床微生物学会総会. 2月1-2日, 2014年, 名古屋.

32) 梅山 隆, 田辺公一, 金子幸弘, 壇辻百合香, 中山靖子, 荒岡秀樹, 高野淳一朗, 中島由紀子, 大川原明子, 山越 智, 名木 稔, 上野圭吾, 金城雄樹, 大野秀明, 宮﨑義継. 国立感染症研究所の真菌同定検査の取り組みと培養陰性で遺伝子検査で同定できた 4 症例. 第25回日本臨床微生物学会総会. 2月1-2日, 2014年, 名古屋.

33) 金城雄樹. *i*NKT 細胞を介した肺炎球菌感染防御. 糖

鎖免疫 2014. 2 月 17-18 日, 2014 年, 東京.

34） 名木 稔, 田辺公一, 中山浩伸, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 梶原 将, 大野秀明, 宮﨑義継. *Candida glabrata* における ABC タンパク質 Aus1p の細胞外ステロール取り込みと病原性における役割. 真菌症フォーラム 第 15 回学術集会. 2 月 8 日, 2014 年, 東京.

35） 田辺公一, 大野秀明, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 名木 稔, 知花博治, 亀井克彦, 宮﨑義継. *Candida glabrata* の FKS 遺伝子変異による MCFG 耐性化. 真菌症フォーラム第15回学術集会. 2月8日, 2014年, 東京.

36） 上野圭吾, 金城雄樹, 金子幸弘, 大川原明子, 水口裕紀, 清水公徳, 川本 進, 大野秀明, 宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* の肺感染モデルにおける樹状細胞ワクチンの効果. 第 15 回真菌症フォーラム. 2 月 8 日, 2014 年, 東京.

37） 梅山 隆, 金子幸弘, 梅山 隆, 田辺公一, 大野秀明, 宮﨑義継. 仮. 真菌症フォーラム第 15 回学術集会. 2 月 8 日, 2014 年.

38） 浦井 誠, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 大野秀明, 宮﨑義継. 低用量の併用により *Candida albicans* の FLCZ 感受性を低下させる薬剤の作用機序解析. 第 15 回真菌症フォーラム. 2 月 8 日, 2014 年, 東京.

39） 上野圭吾, 清水公徳, 川本 進, 金城雄樹. *Cryptcoccus gattii* の肺感染モデルにおける樹状細胞療法の検討. 第87回日本細菌学会総会. 3月26-28日, 2014年, 東京.

40） 金城雄樹. International symposium 3「Bacterial cell component and host defense」, NKT cell mediated defense against *Streptococcus pneumoniae* infection. 第 87 回日本細菌学会総会. 3 月 26-28 日, 2014 年, 東京.

41） Panthee, S., Takahashi, S., Hayashi, T., Shimizu, T., Ishikawa, J., Matsuoka, S., Onuki, T., Osada, H. Analysis of RevU interaction to carboline compounds. 日本農芸化学会 2014 年度大会. 3 月 28-30 日, 2014 年, 川崎.

42） 稲田晋宣, 曹 志生, Yosi NINDITA, 片岡憂祐, 田上道平, Alexander LEZHAVA, 志波 優, 吉川博文, 石川 淳, 木梨陽康, 荒川賢治. *Streptomyces rochei* 7434AN4 株の線状染色体の塩基配列解析. 日本農芸化学会 2014 年度大会. 3 月 28-30 日, 2014 年, 川崎.

43） 荒井裕太郎, 星野泰隆, 清野優花, 佐藤浩之, 石川 淳. キャンディン系抗真菌化合物アクレアシンの生合成に関わるオキシゲナーゼ遺伝子の同定. 日本農芸化学会 2014 年度大会. 3 月 28-30 日, 2014 年, 川崎.

44） 春日 和, 日景真紀, 安達紗由香, 友常久実子, 志村洋一郎, 小林正之, 石川 淳, 池田治生, 小嶋郁夫. セルラーゼ高分泌性放線菌 *Streptomyces argenteolus* M178 株由来のセルラーゼ遺伝子群の解析. 日本農芸化学会 2014 年度大会. 3 月 28-30 日, 2014 年, 川崎.

45） 友常久実子, 春日 和, 佐藤梓織, 小林正之, 志村洋一郎, 石川 淳, 池田治生, 小嶋郁夫. セルラーゼ高分泌放線菌 *Streptomyces thermocarboxydus* C42 のゲノム解読より見出された推定セルラーゼ遺伝子群の発現解析および発現タンパク質によるセルロース分解. 日本農芸化学会2014年度大会. 3月28-30日, 2014年, 川崎.

46） 野池基義, 雄谷洸一, 佐々木郁雄, 丸山千登勢, 石川 淳, 佐藤圭創, 濱野吉十, 伊藤 肇, 大利 徹. ペプチドライゲースとリボソームとの協同によるペプチド新奇生合成機構の解明. 日本農芸化学会 2014 年度大会. 3 月 28-30 日, 2014 年, 川崎.

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。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。生化学、細胞生物学および体細胞遺伝学という基盤は維持しながらも、進展著しいゲノム科学やゲノム編集技術を取り入れて、従来に増して所内外の共同研究を活用しつつ感染宿主細胞側の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、ヒト培養細胞を用いて一か月程度で定型 BSE（C-BSE）プリオンの感染性を検出することに予備的に成功した。従来、病原性プリオンの感染性検出には動物を用いた長期感染実験を必要としていたが、今回見出した培養細胞を用いた検出系は簡略な代替法になりえるかもしれない。また、非定型 BSE（L-BSE）プリオンを脳内接種したカニクイザルは C-BSE プリオンを脳内接種したサルよりも短い潜伏期間を経て発症することを昨年度までに報告しており、一方で、経口摂取でのリスク評価に資するデータも得るべく研究を続けている。L-BSE プリオンを含むウシ脳乳剤をサルへ経口投与して約 30 ヶ月経過しているが､神経症状等は未だ呈していない。

C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に必須な細胞受容体の一つであるヒト Claudin-1 の細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体を作製し、本抗体はタイトジャンクションへの Claudin-1 の分布や機能には影響を与えずに HCV の細胞感染阻止をすることを明らかにした。また、コーヒー由来の有機酸の幾つかは、培養細胞系における HCV 感染初期過程を阻害することを見出した。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、偏性細胞寄生細菌が宿主スフィンゴ脂質輸系をハイジャックするメカニズム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、複数のヒト培養細胞で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の一環として、志賀毒素感受性に関わる遺伝子群をレンチウイルスベクターshRNA ライブラリーを利用した探索によって効率的に同定しつつある。一方で、ヒトパピローマウイルス粒子産生に関わる宿主因子の同定を目的とした探索細胞も構築した。

ワクチンなどの生物医薬の生産に利用されている培養細胞のゲノム配列を決定することには数多くの意義がある。例えば、細胞の効率的な品質管理手法を開発したい場合や、ゲノム編集技術を駆使して細胞を改良したい場合などで、当該細胞のゲノム情報は今やなくてはならない基盤的情報になろうとしている。このような背景から、当部では病原体検出やワクチン生産に汎用されている Vero 細胞のゲノム配列を決定する研究も新規に開始し、いくつか重要な進展をみた。

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。平成２５年度から、生物学的製剤の承認前検査において国家検定項目にはない物理化学的な内容の試験を担当することになった。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）ヒト培養細胞を用いた感染性プリオンの検出

現在でも病原性プリオンの感染性検出には動物を用いた長期感染実験を必要としており、培養細胞を用いた代替検出系の開発が望まれている。当部では、ヒト由来の株化培養細胞を用いて効率良く BSE プリオンを増殖･検出

する系の開発を目指し、これまでに複数の有望な細胞株を選択した。これらの細胞は従来型ウシ海綿状脳症（C-BSE）プリオンを含有する脳ホモジネートとインキュベーションした後、数回の細胞継代を経ても異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）が検出された。しかし、この検出された PrP^{Sc} が系に最初に添加したプリオンの単なる残存物である可能性を除外できないという課題が残っていた。そこで、C-BSE 由来プリオンに晒した後に数代継代したヒト培養細胞（ドナー細胞）にネオマイシン耐性遺伝子を導入した未感染の薬剤耐性ヒト培養細胞（レシピエント細胞）を後から混ぜて共培養を行い、ネオマイシン添加によりドナー細胞を除去してからレシピエント細胞における PrP^{Sc} の存在の有無を調べたところ、PrP^{Sc} が検出された。これらの結果は、ドナー細胞からレシピエント細胞に移った C-BSE 由来プリオンが増殖していることを示唆している。本系での長期持続感染には未だ成功していないが、引き続き検討中である。［中村優子、萩原健一、花田賢太郎］

（２）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（霊長類モデル）への脳内接種実験において、ウシ L-BSE プリオンが霊長類へ伝播可能であることが示されたが、異種動物間の伝播によってプリオンの性状・病原性が変化するか否かという点が未知の課題として残った。今回、L-BSE プリオンを伝播させたカニクイザルの脳ホモジネートを近交系マウスへ接種し、サルへの伝播前後において L-BSE プリオンの特性変化の有無を解析した。マウスへの病原性を指標とする経過観察と生化学・病理分析の結果、霊長類モデルへの伝播前後で L-BSE プリオンの特性は変化しないと判断された。［萩原健一；佐藤由子（感染病理部）；小野文子（予防衛生協会、千葉科学大学）；柴田宏昭（医薬基盤研）］

（３）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

先の研究において、L-BSE プリオンを脳内接種したカニクイザルは C-BSE プリオンを脳内接種したサルよりも短い潜伏期間を経て発症した。一方、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や感染が起こる場合のプリオンの体内分布、病理・生化学的特徴等については未解明である。これらの点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 30 ヶ月経過し、神経症状等は未だ呈していない（H26 年 3 月時点）。［萩原健一；柴田宏昭（医薬基盤研）；大藤圭子（予防衛生協会）、小野文子（予防衛生協会、千葉科学大学）］

II. 肝炎ウイルスに関する研究

（１）抗ヒト Claudin-1 モノクロ-ナル抗体による C 型肝炎ウイルス感染阻害

昨年度 4 種のマウス抗ヒト Claudin-1 モノクローナル抗体を樹立した。Huh7.5.1 細胞への C 型肝炎ウイルス（HCV）感染系において、これら 4 種の抗体が感染阻止能を示す事が明らかとなった。また一方で、タイトジャンクションへの Claudin-1 の分布や機能には、本抗体が影響を与えないこともわかった。これらの結果から、Claudin-1 を標的とした抗 HCV 戦略の可能性が示された。［深澤征義、花田賢太郎；近藤昌夫、八木清仁（阪大）］

（２）C 型肝炎ウイルス持続感染肝細胞株における脂肪滴・中性脂質の蓄積

C 型肝炎ウイルス（HCV）と脂質代謝は密接に関連していることが知られている。構造タンパク質領域を 1b の遺伝子型に置換した HCV-JFH1 キメラ株を Huh7.5 細胞に感染させて樹立した持続感染株の解析を行った。本持続感染細胞株は、細胞内に脂肪滴の蓄積が見られること、中性脂質（トリグリセリド、コレステリルエステル、コレステロール）の含量が有意に上昇していることが明らかとなった。［深澤征義、齊藤恭子；杉山和夫（慶應義塾大）］

（３）B 型肝炎ウイルス産生における脂質代謝変動の解析

B 型肝炎ウイルス（HBV）ゲノムを導入した細胞における脂質代謝変動の検討を行った結果、1）リン脂質合成・脂肪酸代謝回転の亢進、2）コレステロール生合成の亢進、3）オレイン酸の中性脂質への取り込み亢進、4）アラキドン酸の中性脂質への取り込み低下、を見出した。［深澤征義、花田賢太郎；渡士幸一、脇田隆字（ウイルス２部）；田中靖人（名市大）］

（４）コーヒー含有有機酸の HCV 粒子産生抑制効果

コーヒー抽出水溶性成分の中の有機酸に注目して HCV 粒子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た。その結果、幾つかの有機酸が HCV 粒子産生に対して抑制的に働くことがわかった。HCV pseudo particles を用いた培養細胞への感染実験から、これら有機酸は HCV の細胞内侵入から HCV ポリプロテイン翻訳に関わる初期過程を阻害していることが示唆された。［谷田以誠、白砂圭崇、深澤征義、花田賢太郎；鈴木亮介、脇田隆字（ウイルス２部）］

（５）HCV 感染における Vimentin の細胞内分布変化

Vimentin は HCV core と相互作用するタンパク質である。そこで、HCV 感染時の Vimentin の細胞内分布について解析を行った。非感染 Huh7.5.1-8 細胞では、Vimentin は細胞周辺部に太いバンドルがみられ、核周辺部に近づくにつれ、細い網目状の走行が認められた。HCV core が細胞内に点在している HCV core 陽性細胞では、Vimentin が形成する Cage-like な構造の中に HCV core が点在していた。HCV core が細胞質内に増加した細胞では、線維状の Vimentin がかなり減少していた。HCV core が細胞質全体に分布している細胞では Vimentin はほとんど細胞内に認められなかった。[谷田以誠、深澤征義、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス２部）]

（６）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、同蛋白質はミトコンドリア画分に濃縮された。別の手法によっても同様の細胞内分布を示すかどうか、確認を行っている。[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎]

（７）スクアレン合成酵素阻害剤の抗 HCV 機序の解析

我々はこれまでに、スクアレン合成酵素阻害剤が HCV 産生を阻害することを見出している。同薬剤が HCV RNA や非構造蛋白質の安定性に影響を及ぼす可能性を調べるため、RNA 複製能欠失変異を有する HCV サブゲノミックレプリコン RNA を細胞に導入し、同薬剤存在及び非存在下で、レプリコン上の *luc* 遺伝子から発現するルシフェラーゼの活性と非構造蛋白質の量的変化を調べた。その結果、両条件下での量的変化に大きな差はなかった。従って、スクアレン合成酵素阻害剤の抗 HCV 機序は、HCV RNA や非構造蛋白質の安定性低下ではないと結論した。[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎]

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。前年度はレンチウイルス shRNA ライブラリーを用いたゲノムワイドスクリーニングにより、発現抑制で志賀毒素に耐性を示す遺伝子候補を絞ることが出来た。本年度はそのうち 60 種類以上の shRNA をそれぞれ発現させた細胞株を樹立し、志賀毒素に対して耐性を示すか検討した。その結果、多くの shRNA において耐性の再現性が得られた。ただしオフターゲット効果によるものが多く存在すると考えられ、現在その中からオンターゲット遺伝子があるか検討している。[山地俊之、堀江亜矢、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）TALEN による遺伝子ノックアウト細胞株の構築

糖脂質輸送タンパク FAPP2 及び上記の志賀毒素耐性遺伝子候補のうち２種類の遺伝子において、ゲノム編集法の１種 TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) 法による、遺伝子破壊 HeLa 細胞株の樹立に成功した。現在、志賀毒素に対する耐性、及び志賀毒素受容体であるスフィンゴ糖脂質代謝への影響について検討している。[山地俊之、花田賢太郎]

（３）HPV16 ウイルス粒子産生に関わる宿主因子の探索

HPV16 ウイルス構造タンパク質 L1、L2 の mRNA 産生を制御する P670 プロモーターの下流に薬剤耐性遺伝子を組み込んだレポータープラスミドを作製した。またヒトケラチノサイト cDNA 発現プラスミドライブラリーを構築した。これらのレポーター・ライブラリーを用いた P670 プロモーター活性化に関わる宿主細胞因子のスクリーニングに向けた条件検討を行い、最適な薬剤濃度・添加時期などを決定した。さらにスクリーニングに利用する細胞の一つとして HPV16 エピソームを安定に保持した U2OS 細胞を樹立した。[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）]

（４）CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集技術の導入

ゲノム編集技術として、CRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)と Cas9 エンドヌクレアーゼ(CRISPR associated endonuclease)を用いた技術を導入した。TALENs 法に比べて、遺伝子破壊用のプラスミドの作製が容易であることが大きな利点である。さらに、CRISPR/Cas9 技術をもとに目的遺伝子に対して double guide DNAs を用いて、遺伝子内２箇所の DNA 切断を同時に行なうことでより容易に遺伝子破壊細胞株の検出が可能になることを示した。[谷田以誠、山地俊之、深澤征義、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

セラミド輸送タンパク質 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 は小胞体膜タンパク質である 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。本年度は CERT と VAP の相互作用に関する研究成果をまとめ、論文として発表した。

CERT の 315 番目のセリン残基がリン酸化されることにより CERT-VAP 間の結合が強化されること、そのリン酸化によってスフィンゴミエリン生合成が促進されること、リン酸化は細胞膜上のスフィンゴミエリンが分解される等の刺激に応じて亢進すること、などの知見を記述した。［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* が宿主細胞内で増殖する際に、宿主細胞由来の CERT と C. *trachomatis* 由来の IncD タンパク質の相互作用が重要な役割を担っていることが知られている。本年度は CERT および IncD に様々な変異を導入したコンストラクトを作製し、これらを用いて免疫沈降実験を行った。CERT と IncD の相互作用に関する、より詳細な情報が得られた。［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

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。また、コリン含有脂質の生物進化上の意義を compatible solutes/osmo-protectants との化学的類似性から考察した。［花田賢太郎］

V. オートファジーに関わる研究

（１）類鼻疽菌の好中球感染におけるオートファジーの関与

類鼻疽(Melioidosis)は類鼻疽菌(*Burkholdeia pseudomallei*)の感染によって引き起こされる人獣共通感染症で、ヒト用のワクチンは無い。我々は類鼻疽菌の好中球感染におけるオートファジーの関与について解析を行なった。類鼻疽菌感染好中球においてオートファジーが細菌排除機構の一翼を担っていることをみいだした。この時、類鼻疽菌を取り囲むファゴソーム周辺に隔離膜やオートファゴソームが多く誘導され、その一部が融合した極めてユニークな形態をとっていることがわかった。この形態は類鼻疽菌の III 型分泌装置依存的におこっていた。［谷田以誠；小川道永（細菌第１部）；阿戸　学（免疫部）；Darawan Rinchai、Ganjana Lertmemongkolchai（タイ、コーンケーン大）］

（２）神経細胞の軸索起始部における GABARAP の局在

GABARAP は LC3 のホモログとしてオートファジーに関与すると考えてられているが、GABARAP 特有の機能についてはあまりわかっていない。GABARAP は、ユビキチン様反応を介した脂質化によって、膜画分に局在すると考えられていたが、マウス脳より単離したシナプトソームを多く含む画分においては、GABARAP が脂質化を受けない形で膜に局在していた。GFP-GABARAP トランスジェニックマウスをもちいて GABARAP の神経細胞内局在を調べると、軸索起始部において GABARAP が特異的に局在していた。［谷田以誠；小池正人、七尾友久、多田昇弘、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

PICT1 の C 末端領域付近に存在する約 20 アミノ酸残基からなる天然変性領域を除去することで PICT1 タンパク質が安定化することを見いだした。この天然変性領域を除去したリコンビナント PICT1 タンパク質を用いた性状解析により PICT1 の酵素活性を新たに見いだした。［前濱朝彦、花田賢太郎；鈴木聡（九州大）］

VII. ゲノミクスを基盤にした Vero 細胞の研究

（１）全ゲノム配列決定に用いる Vero 細胞シード

培養細胞のゲノム配列情報は、細胞株改良や新しい細胞品質管理手法を開発する場合などに不可欠の基盤情報となりつつある。Vero 細胞は、1962 年にアフリカミドリザル（AGM）腎臓から我国で樹立された継代培養可能な細胞株であり、多くの種類のウイルスや細胞毒素に高い感受性を持つことから、病原体検出やワクチン生産に汎用されてきた。Vero 細胞の全ゲノム配列を決定するに当たり、現在入手可能な Vero 細胞の中で最も継代数の少ないと思われる医薬基盤研の凍結保存ロット JCRB0111（継代数：115）をシードに選択した。［花田賢太郎；小原有弘（医薬基盤研）］

（２）Vero 細胞の核型解析

Vero JCRB0111 細胞の核型解析をギムザ染色法および多重色蛍光標識法である multi-color fluorescence in situ hybridization で行った。正常 AGM 細胞の核型が 30×2=60 本であるのに対して Vero 細胞の核型は個々の細胞で見ると 59 本が主体であった。しかし、１本に見える 24 番染色体の残りの一本は他の染色体に転座しており、ゲノム全体としては二倍体もしくは疑似二倍体であった。［花田賢太郎；小原有弘、平山知子、笠井文生（医薬基盤研）］

（３）Vero 細胞ゲノム配列の解析

本プロジェクト開始時点では正常 AGM の配列も未決定であったので、Vero 細胞全ゲノム配列を新規アセンブ

リ de novo assembly で決定することにした。エンドペアーおよびメイトペアーライブラリー由来のショートリードをイルミナ HiSeq2000 によってシーケンシングし、SGA やSSPACE プログラムを活用してアセンブリを行った。この際、RNA-seq も並行して行い、その結果をタンパク質コード領域の推測に役立てた。現在、Vero 細胞全ゲノムドラフト配列を得るための最終調整中である。[山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）；長田直樹（遺伝研）；小原有弘（医薬基盤研）]

（４）I 型インターフェロン遺伝子クラスターを含むホモ接合型染色体欠失

Vero 細胞の 12 番染色体には 9 Mb に及ぶ染色体欠失とその領域をまたがる約59 Mb のヘテロ接合体消失(loss of heterogeneity; LOH）が認められた。本欠失領域の存在はゲノミック PCR と当該 PCR 産物のサンガー法シーケンスで確認した。これらの結果は、12 番染色体の相同染色体の一方で 9 Mb の欠失が起こったのちに相同染色体間での大規模な変換 conversion が起こり、ホモ接合型の欠失が確立されたことを示唆している。この欠失により、Vero 細胞では I 型インターフェロン遺伝子クラスターが安定に失われており、これがウイルス高感受性という Vero 細胞の特性の重要な原因となっていると考えられる。[山地俊之、花田賢太郎；長田直樹（遺伝研）]

（５）内在性サル・レトロウイルスの解析

Vero 細胞ゲノムには、サル D 型レトロウイルス simian type D retrovirus（SRV）配列が内在的に存在することが知られている。Vero JCRB0111 細胞のゲノム上にも SRV に由来した多くの配列が存在し、その配列に多様性があることが分かった。[花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）；長田直樹（遺伝研）]

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（H25 年 11 月～H26 年 3 月。24 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。なお、本事業はH24 年度から開始したが、本年度の試験はH24 年度とは異なる検査キットを対象としたため、試験条件の検討を行い、キットに合致した新たな試験プロトコールを作成した［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（H25 年 7 月に 4 回、H26 年 3 月に 2 回実施)。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．生物学的製剤の承認前検査

ハイゼンドラ２０％皮下注の承認前検査では、ポリソルベート 80 含量試験と L-プロリン含量試験を担当して成績書を提出した。Hib ワクチン Vaxem の承認前検査では、分子サイズ分布試験の書類調査を実施しつつある。乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子の承認前検査では、ポリソルベート 80 含量試験、サイズ排除クロマトグラフィー試験および FVIIa/FX 含量試験を担当し、平成２６年４月の締め切りに向けて進捗中である。［前濱朝彦、熊谷圭悟、谷田以誠、齊藤恭子、深澤征義、山地俊之、花田賢太郎］

Ⅱ．検定検査業務における内部監査の強化と効率化

検定検査業務に対する内部監査の強化と効率化のため、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」を平成２４年度から設置した。平成２５年度は、当委員会の活動をさらに改善するため、「検定検査業務内部監査に携わる者の教育訓練手順書」を新たに作成し、また「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」の改訂も適宜行いながら本年度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

生物的製剤用細胞バンクの特性解析に関する国際情報

共有および市販ワクチンに微生物混在が疑われた際に規制当局が行うリスク評価に関する非公式な諮問 WHO implementation workshop: characterization of cell banks for the production of biologicals, and WHO informal consultation on regulatory risk assessment in the case of adventitious agent finding in a marketed vaccine（平成２５年５月２７～５月３１日、北京市、中国）に招待参加して討議を行った。［花田賢太郎］

ＩＩ．国際的ガイドラインの策定

WHO 文書" Regulatory Risk Evaluation on Finding an Adventitious Agent in a Marketed Vaccine, WHO/RA_DRAFT/19 September 2013"を作成した。［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’ 2013.10.21［萩原健一］

‘試験研究機関の QMS について’2013.10.21［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’ 2013.5.23［花田賢太郎］

（３）感染研・部長等を対象とした検定教育の講師

‘検定検査業務評価委員会の役割：試験機関の品質マネジメントシステムと内部監査’2013.12.13［花田賢太郎］

その他

（１）（独）医薬品医療機器総合機構　平成 25 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) Yamaji, T., Hanada, K.: Establishment of HeLa cell mutants deficient in sphingolipid-related genes using TALENs. PLoS One, 9, e88124, 2014

2) Kajiwara, K., Ikeda, A., Aguilera-Romero, A., Castillon, G.A., Kagiwada, S. Hanada, K., Riezman, H., Muñiz, M., Funato, K.: Osh proteins regulate COPII-mediated vesicular transport of ceramide from the endoplasmic reticulum in budding yeast. J. Cell Sci., 127, 376-387, 2014

3) Hanada, K.: Co-evolution of sphingomyelin and the ceramide transport protein CERT. Biochim. Biophys. Acta, in press

4) Nishio, M., Otsubo, K., Maehama, T., Mimori, K., Suzuki, A.: Capturing the mammalian Hippo: elucidating its role in cancer. Cancer Sci. 104, 1271-1277, 2013

5) Uchi, R., Kogo, R., Kawahara, K., Sudo, T., Yokobori, T., Eguchi, H., Sugimachi, K., Maehama, T., Mori, M., Suzuki, A., Komune S, Mimori K.: PICT1 regulates TP53 via RPL11 and is involved in gastric cancer progression. Br. J. Cancer 109, 2199-2206, 2013

6) Maehama, T., Fukasawa, M., Date, T., Wakita, T., Hanada, K.: A class II phosphoinositide 3-kinase plays an indispensable role in hepatitis C virus replication. Biochem. Biophys. Res. Commun. 440, 150-156, 2013

7) Kukimoto, I., Maehama, T., Sekizuka, T., Ogasawara, Y., Kondo, K., Kusumoto-Matsuo, R., Mori, S., Ishii, Y., Takeuchi, T., Yamaji, T., Takeuchi, F., Hanada, K., Kuroda, M.: Genetic variation of human papillomavirus type 16 in individual clinical specimens revealed by deep sequencing. PLoS One 8, e80583, 2013

8) Murakami, Y., Fukasawa, M., Kaneko, Y., Suzuki, T., Wakita, T., Fukazawa, H.: Retinoids and rexinoids inhibit hepatitis C virus independently of retinoid receptor signaling, Microbes and Infection. 16, 114-122, 2014

9) Iwamoto, M., Watashi, K., Tsukuda, S., Aly, H. H., Fukasawa, M., Fujimoto, A., Suzuki, R., Aizaki, H., Ito, T., Koiwai, O., Kusuhara, H., Wakita, T.: Evaluation and identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP. Biochem. Biophys. Res. Commun., 443, 808-813,

2014

10) Sugiyama, K., Ebinuma, H., Nakamoto, N., Sakasegawa, N., Murakami, Y., Chu, P.-S., Usui, S., Ishibashi, Y., Wakayama, Y., Taniki, N., Murata, H., Saito, Y., Fukasawa, M., Saito, K., Yamagishi, Y., Wakita, T., Takaku, H., Hibi, T., Saito, H., Kanai, T.: Prominent Steatosis with Hypermetabolism of the Cell Line Permissive for Years of Infection with Hepatitis C Virus. PLoS One, in press
11) Tanida, I., Koike, M., Nanao, T., Tada, N., Iwata, J.I., Ueno, T., Kominami, E., Uchiyama, Y.: Enrichment of GABARAP relative to LC3 in the axonal initial segments of neurons. PLoS One, 8, e63568, 2013
12) Sabit, I., Hashimoto, N., Matsumoto, Y., Yamaji, T., Furukawa, K., Furukawa, K.: Binding of a Sialic Acid-recognizing Lectin Siglec-9 Modulates Adhesion Dynamics of Cancer Cells via Calpain-mediated Protein Degradation. J. Biol. Chem., 288, 35417-35427, 2013
13) Fukasawa, M., Cornea, A., Varlamov, O.: Selective control of SNARE recycling by Golgi retention. FEBS Lett., 587, 2377-2384, 2013
14) Kumagai, K., Kawano-Kawada, M., Hanada, K.: Phosphoregulation of the ceramide transport protein CERT at serine 315 in the interaction with VAMP-associated protein (VAP) for inter-organelle trafficking of ceramide in mammalian cells. J. Biol. Chem., in press

2. 和文発表

1) 熊谷圭悟、花田賢太郎: 効率的な細胞内セラミド輸送の仕組みとその制御、医学のあゆみ、248、1125-1131、2014

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hanada, K.: Structural biology revealed the serendipity of development of HPA-12, a potent inhibitor of intracellular trafficking of ceramide, FASEB Science Research Conference: Lysophospholipid and other Related Mediators – From Bench to Clinic, 2013.8.4-9, Niseko, Japan
2) Yamaji, T., Hanada, K.: TALEN-Mediated Disruption of Sphingolipid-Related Genes in a HeLa Cell Line, 54th International Conference on the Bioscience of Lipids: Linking Transcription to Physiology in Lipidomics, 2013.9.17-21, Bari, Italy
3) Hanada, K.: Introductory remarks for the session of Membrane Dynamics and Trafficking, Gordon Research Conference on Glycolipid and Sphingolipid Biology, 2014.1.12-17, Ventura, CA, USA
4) Yamaji, T., Hanada, K.: TALEN-Mediated Disruption of Several Sphingolipid-Related Genes in a HeLa cell line, Gordon Research Conference on Glycolipid and Sphingolipid Biology, 2014.1.12-17, Ventura, CA, USA
5) Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Watari, A., Kondoh, M., Fukasawa, M., Yagi, K.: Development of claudin-1-specific ligand, Experimental Biology 2013, 2013.4.20-24, Boston, USA
6) Shimizu, Y., Kondoh, M., Watari, A., Fukasawa, M., Yagi, K.: A toxicological evaluation of the C-terminal fragment of Clostridium perfringens enterotoxin as a claudin-3/-4 binder−Effect of claudin on cytochrome P450 activity, Experimental Biology 2013, 2013.4.20-24, Boston, USA
7) Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Watari, A., Yagi, K., Fukasawa, M., Kondoh, M.: Claudin-1-specific monoclonal antibodies and their inhibition of hepatitis C virus infection, 40th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, 2013.7.21-24, Honolulu, USA
8) Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Claudin-1-Specific Monoclonal Antibodies And Their Inhibition Of Hepatitis C Virus Infection, International Liver Cancer Association Seventh Annual Conference (ILCA 2013), 2013.9.13-15, Washington, USA
9) Fukasawa, M., Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Shirasago, Y., Watari, A., Suzuki, T., Wakita, T., Yagi, K., Kondoh, M.: Inhibition of hepatitis C virus infection by mouse anti-claudin 1 monoclonal antibodies, The 20th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2013.10.6-10, Melbourne, Australia
10) Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Watari, A., Yagi, K., Fukasawa, M., Kondoh, M.: Creation of monoclonal antibodies to the extracellular loop regions of claudin-1 and their application to HCV therapy, 2013 American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) Annual Meeting and Exposition, 2013.11.10-14, San Antinio, USA
11) Iida, M., Li, X., Kuniyasu, H., Fukasawa, M., Tada, M.,

Ishii, A., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Development of claudin-4-specific monoclonal antibodies and their anti-tumor activities, IBC's 24th Annual Antibody Engineering & Therapeutics, 2013.12.8-12, Huntington Beach, CA, USA

12) Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Tada, M., Ishii, A., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Claudin-1-specific monoclonal antibodies and their inhibition of hepatitis C virus infection, IBC's 24th Annual Antibody Engineering & Therapeutics, 2013.12.8-12, Huntington Beach, USA

13) Tanida, I.: Autophagy and Infection, 2013 Infection & Immunity Conference: From Basic to Translational Research, 2013.9.21-23, Hua Hin, Thailand

2. 国内学会

1) 山地俊之、花田賢太郎：人工ヌクレアーゼを用いた種々のスフィンゴ脂質関連遺伝子の変異株作製、第55回日本脂質生化学会大会、2013.6.6-7、松島

2) 山地俊之、花田賢太郎：人工ヌクレアーゼを利用したゲノム編集技術によるスフィンゴ脂質関連遺伝子破壊 HeLa 細胞変異株パネル作成の試み、第８回スフィンゴテラピー研究会、2013.7.12-13、加賀

3) 山地俊之、花田賢太郎：人工ヌクレアーゼ TALENを用いた種々のスフィンゴ脂質関連遺伝子の変異株作製、第32回日本糖質学会大会、2013.8.5-7，大阪

4) 花田賢太郎：膜接触部位を介した宿主細胞セラミドのクラミジア菌寄生胞・封入体への輸送，第86回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

5) 山地俊之、花田賢太郎：遺伝生化学的手法を用いたスフィンゴ糖脂質研究，第 86 回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

6) Yilihamujiang, S., Hashimoto, N., Matsumoto, Y., Hashimoto, Y., Yamaji, T., Furukawa, K., Furukawa, K.：Biding of Siglec-9 to the counter-receptors on cancer cells regulates adhesion dynamics via protease-mediated degradation of focal adhesion kinase (FAK), 第 86 回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

7) 前濱朝彦、河原康一、西尾美希、鈴木聡、花田賢太郎：核小体ストレスに応答した癌制御因子 PICT1 のプロテアソーム依存性・ユビキチン非依存性分解，第 86 回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

8) 花田賢太郎: 細胞内セラミド輸送をつかさどる CERT の発見、第 6 回セラミド研究会学術集会、2013.11.7-8、札幌

9) 花田賢太郎 : 細胞バンク管理の新手法と市販後ワクチンに微生物混在が疑われた際の対応 : WHO 会議からみた世界的潮流、バイオロジクスフォーラム第 11 回学術集会、2014.1.24、東京

10) 松尾理加、森清一郎、前濱朝彦、柊元巌: ヒトパピローマウイルス 16 型 E1 タンパク質に結合する細胞チロシンキナーゼの同定、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013.11.10-12、神戸

11) 前濱朝彦、西尾美希、鈴木聡: 核小体ストレスに応答した癌制御因子 PICT1 のプロテアソーム依存性・ユビキチン非依存性分解、第 6 回日本プロテインホスファターゼ研究会学術集会、2014.2.10-21、津

12) 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、多田稔、石井明子、八木清仁：上皮細胞を標的とした創薬基盤研究第 1 報～claudin-1 特異性抗体の創製～、第 29 回日本 DDS 学会学術集会、2013.7.4-5、京都

13) 飯田愛未、長瀬翔太郎、山下真代、近藤昌夫、八木清仁、國安弘基、深澤征義：上皮細胞を標的とした創薬基盤研究第２報～claudin-1 抗体の C 型肝炎治療への応用～、第 29 回日本 DDS 学会学術集会、2013.7.4-5、京都

14) 深澤征義、白砂圭崇、長瀬翔太郎、近藤昌夫、八木清仁、安部　良、花田賢太郎：Claudin 1 抗体の樹立と本抗体による C 型肝炎ウイルス感染阻害、第 86 回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

15) 白砂圭崇、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、安部良、深澤征義 : C 型肝炎ウイルスへの感染感受性を欠損した宿主肝細胞変異株の分離と性状解析、第 86 回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

16) 山下真代、長瀬翔太郎、飯田愛未、深澤征義、近藤昌夫、多田稔、石井明子、渡利彰浩、八木清仁：Development of claudin-1 monoclonal antibodies and their pharmaceutical activities, 日本薬物動態学会第 28 回年会、2013.10.9-11、東京

17) 深澤征義、近藤昌夫、長瀬翔太郎、白砂圭崇、飯田愛未、山下真代、鈴木哲朗、脇田隆字、八木清仁、安部　良、花田賢太郎：宿主 Claudin 1―ウイルス相互作用を標的とした C 型肝炎ウイルス感染阻害、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013.11.10-12、神戸

18) 白砂圭崇、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、安部

良、深澤征義：Huh7.5.1 細胞由来 C 型肝炎ウイルス非感染感受性変異株の分離と性状解析、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013.11.10-12、神戸

19) 谷田以誠、深澤征義、脇田隆宇、花田賢太郎：HCV 感染における Vimentin の細胞内分布変化、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013.11.10-12、神戸

20) 川東祐美、李相儒、國安弘基、多田稔、石井明子、深澤征義、渡利彰浩、近藤昌夫、八木清仁：上皮を標的とした創薬基盤研究～Claudin-4 抗体の作製および抗腫瘍活性解析～、日本薬学会第 134 年会、2014.3.27-30、熊本

21) 木村友香、李相儒、飯田愛未、多田稔、石井明子、國安弘基、深澤征義、渡利彰浩、近藤昌夫、八木清仁：上皮を標的とした創薬基盤研究～Dual specific claudin-3/-4 抗体の動態特性および抗癌活性解析～、日本薬学会第 134 年会、2014.3.27-30、熊本

22) 中嶋美咲、山下真代、渡利彰浩、深澤征義、近藤昌夫、八木清仁：上皮を標的とした創薬基盤研究～Claudin-1 を標的とした表皮バリア制御の可能性～、日本薬学会第 134 年会、2014.3.27-30、熊本

23) 畑智幸、長瀬翔太郎、白砂圭崇、深澤征義、渡利彰浩、近藤昌夫、八木清仁：上皮を標的とした創薬基盤研究～抗 claudin-1 抗体のエピトープ・交叉性解析～、日本薬学会第 134 年会、2014.3.27-30、熊本

24) 白砂圭崇、葛西正孝、花田賢太郎、安部良、深澤征義：TRAX はユビキチン非依存的なプロテアソーム分解を受ける、日本薬学会第 134 年会、2014.3.27-30、熊本

25) 谷田以誠、小池正人、七尾友久、多田昇弘、上野隆、内山安男：Enrichment of GABARAP relative to LC3 in the axonal initial segments of neurons、第 86 回日本生化学会大会、2013.9.11-13、横浜

26) 谷田以誠、小池正人、七尾友久、多田昇弘、上野隆、内山安男：GABARAP は LC3 に比べて神経細胞の軸索起始部に多く局在する、細胞内ロジスティクス シンポジウム、2013.9.17-18、兵庫

11. 昆虫医科学部

部長　澤邉　京子

概　要

平成 25 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 名の協力で調査・研究を推進した．昨年度の定員削減の影響で，次第に業務の充実を図ることが困難になってきているため，構成する 3 室間の相互協力で対処しようと努力している．

近年の地球温暖化の進行や，大規模自然災害による環境変化により疾病媒介蚊の生息域拡大や発生数の大規模な変動が認められ，アルボウイルス感染症の発生リスクが高まっている．事実，チクングニア熱やデング熱の輸入症例は年々増加し，H25 年夏にはデング熱の国内感染疑い例が報道された． また，Zika 熱やロスリバー熱等の新たな蚊媒介性感染症の輸入症例も加わり，媒介蚊であるヒトスジシマカの国内分布調査や外来性蚊の侵入監視の重要性が指摘された．一方，H25 年 1 月には国内で初めて重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の患者が発生し，自然界での SFTS ウイルスの感染環の把握が急務となった．このように，既存の感染症対策に留意するとともに，新たな侵入感染症と媒介者への対策が昆虫医科学部に強く求められている．

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

東北津波被災地における蚊の発生は減少傾向にあるものの未だ被災前の状態には戻っておらず，今後も監視が必要であることを指摘した．盛岡市内の調査地でヒトスジシマカの定着が 5 年連続で確認され，さらに北西への分布域拡大も示唆された．国内各地でヒトスジシマカの季節消長ならびに生息状況等の調査を進め，今夏危惧されるデング熱の国内発生への対策に向けた基礎的情報の蓄積に努めている．近年，国内侵入が確認され，今後の定着が危惧されているデング熱媒介蚊であるネッタイシマカは，関東地方の屋外では冬季の低温によって死滅することが証明されたが，ビル内においては越冬監視が重要であると推察した．主に SFTS 対策を目指したマダニ相の調査においては，一人 30 分間のフランネル法により，国内各地の市街地，河川敷や山脚部で捕集したマダニ類の季節消長および捕集数を比較することができた．

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

長崎県の定点で捕集されたコガタアカイエカから 1 型日本脳炎ウイルス（JEV）が分離されたが，現在アジア地域で蔓延している 1 型 JEV に対する現行ワクチンの有効性も確認された．ベトナムおよび国内の捕集蚊から，新規ニドウイルス，新規オルビウイルスをそれぞれ分離し，性状解析を行った．今後も蚊およびマダニのウイルス保有状況調査を継続する必要性が示唆された．富山県，新潟県のコガタアカイエカの発生消長，NOAA の気象データ，気象庁の観測データ等から，コガタアカイエカの海外からの長距離移動と国内での分散を解析した．コロモジラミから塹壕熱バルトネラ菌遺伝子が検出され，患者の IgG 抗体保有率も判明した．路上生活者の間で着実に塹壕熱が広まっている可能性が示唆された．

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

国内のトコジラミからアセチルコリンエステラーゼ（AChE）阻害剤に抵抗性の Y348(331)変異を有する個体を多数検出したが，現時点での拡散は軽微であると推測された．現在市販されている各種防疫用殺虫製剤は，フタトゲチマダニ若虫に対して高い殺虫効力（致死率 100%）を示すことが，野外での準実地試験で確認された．ウエストナイル熱の媒介種であるアカイエカ種群マイクロサテライト解析により，北部九州のアカイエカは一定の割合でネッタイイエカと同じハプロタイプを持っており，種群の鑑別が可能になることが示唆された．

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) 成田国際空港におけるネッタイシマカの越冬可能性に関する実験的研究

成田空港ビル内外におけるネッタイシマカの越冬可能性を明らかにするために，成田空港ビル内にネッタイシマカの卵および幼虫を設置して，卵・幼虫の発育と生存を実験的に調査した．屋外条件に暴露された卵から孵化した幼虫はすべて死亡した．他の実験場所に暴露された卵から孵化し成虫まで育った個体は，初期卵数の 0.4～8%にすぎなかった．屋外に設置された幼虫は，孵化幼虫も 4 日令幼虫もすべて 1 週間の暴露期間中に死亡した．

[津田良夫，澤邉京子；助廣那由，梅澤昌弘，稲垣俊一，村上隆行，木田 中，土屋英俊，丸山 浩（成田空港検疫所）]

(2) 2013 年夏に成田空港に侵入したネッタイシマカの調査と対策

成田空港のベクターサーベイランスで前年度に引き続きネッタイシマカ幼虫の発生が 8 月初旬に第 2 旅客ターミナルビルで，また 9 月初旬には貨物ターミナルで確認された．前年実施した防除対策に基づいて幼虫殺虫剤の散布を行うとともに，侵入状況を調べさらに空港周辺部への移動を妨げることを目的として幼虫発生場所の周囲にオビトラップを多数配置した．1 か月間の継続調査の結果，防除対象エリア内における新たな幼虫発生は確認されなかった．

[助廣那由，木田 中，梅澤昌弘，村上隆行，信太 歩，神内恒貞, 稲垣俊一, 土屋英俊, 三宅 智（成田空港検疫所）；津田良夫]

(3) 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（3 年目）

2013 年 6 月から 9 月に宮城県南部と福島県南相馬市の水田地帯における疾病媒介蚊の発生状況を調査した．宮城県南部では 5,405 個体，福島県南相馬市では 6,297 個体の成虫が採集され，前年に比べ種類構成が大きく変化した．コガタアカイエカの発生量が過去 3 年間で最も多かった．イナトミシオカは両地域とも前年よりも明らかに少なかった．地表にできた水域ではボウフラの発生が続いており，集落跡地にいまだに残されている井戸，浄化槽，排水溝などではアカイエカの発生率が年々高くなっている．

[津田良夫；石田恵一，打田憲一（仙台検疫所）；助廣那由（成田空港検疫所）]

(4) 鳥取県における媒介蚊の発生状況調査

2013 年 5 月，7 月，8 月に 1kg のドライアイスを誘引源とするトラップによって，鳥取県の 4 ヶ所で合計 10 種類 3,298 個体の成虫が採集された．アカイエカ群，コガタアカイエカをはじめとする 5 種類の捕獲個体数が多く，この地域の優占種であることがわかった．また，本研究でキンイロヌマカが鳥取県に生息することがはじめて確認された．鳥取大学構内の古墳跡では，6 種類の蚊が採集されこの地方に生息する代表的な蚊が採集できる場所であると思われた．サギの営巣コロニーが作られている湖山神社では，捕虫網による採集によって 6 種類の蚊が採集された．

[津田良夫；金 京純（鳥取大学）]

(5) 国立感染症研究所構内に設置されたドライアイストラップによる疾病媒介蚊のサーベイランス結果（2003 年～2013 年）

2003 年 5 月から 2013 年 12 月まで週 1 回，研究所構内にトラップを設置して，疾病媒介蚊を捕獲した． 3 属，7 種類，10,546 個体の蚊成虫が捕獲され，ヒトスジシマカとアカイエカ群が全体の 99.7%を占めていた．コガタアカイエカは初春に 6 個体, 晩夏から秋に 12 個体が採集された．アカイエカ群の雌成虫密度は 6 月上旬から 8 月上旬に高く，この時期のアカイエカ群に関連したリスクが高いと予想された．また，ヒトスジシマカの雌成虫密度は 7 月中旬から 10 月中旬に高く, この時期に本種によって媒介される病原体の流行リスクが高い．

[津田良夫，林 利彦]

(6) 日本国内における疾病媒介蚊調査（1）宮崎県南部

宮崎県南部を対象として，2013 年 10 月に蚊相調査を実施した．その結果，19 種 437 個体が採集された．最も多く採集された種はシロハシイエカで，次いでヤマトクシヒゲカであった．またリヴァースシマカやアシマダラ

ヌマカなど熱帯地方に多い種が捕獲されるなど，豊富な蚊相を有することがわかった．この事は，採集地点周辺の多様な環境が種々な発生源を創出し，豊富な蚊相を支えていることを示唆している．
形態的特徴の欠落などにより種類が同定できなかった 3 種を含む 11 種 64 個体をアルコールまたは乾燥標本ならびに DNA バーコンディング用冷凍試料として保管した．
[前川芳秀，津田良夫]

(7) 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

長距離を移動する野鳥類による蚊媒介性病原体の持ち込みの実態を明らかにするために，新潟県佐潟湿地に生息する蚊を採集し鳥マラリア原虫の保有状況を調べた．2007 年から 2010 年の調査結果によると，この調査地で 11 種類の蚊が採集され，そのうちアカイエカとイナトミシオカの 2 種が全体の 94.8%を占める優占種であった．これら 2 種からは PCR 法によって 7 種類の鳥マラリア原虫が検出された．また，吸血蚊を用いた分析によって 14 種類の吸血源動物が確認されたが，その中で渡り鳥のオオヨシキリがよく利用されている吸血源だった．
[金 京純（鳥取大学）; 津田良夫]

(8) 東北地方におけるヒトスジシマカの分布域拡大とヤマダシマカの分布との関係

ヒトスジシマカ（*Aedes albopictus*）は世界的に分布域を広げ，デング熱やチクングニア熱の各国内での流行の脅威となっている．我が国におけるヒトスジシマカの分布北限は，1950 年代以降，明らかに北へ移動しており，現在，秋田県と岩手県内の都市部に定着が確認されている．一方，ヤマダシマカ（*Aedes flavopictus*）はヒトスジシマカの定着が起こった地域では採集されなくなる傾向がある．現在，岩手県ではヒトスジシマカの分布が盛岡市，大槌町を北限として認められるが，この地域以南ではヤマダシマカが確認されていない. 一方, 県北の一戸，二戸，久慈市，岩泉町，宮古市ではヒトスジシマカは採集されず，人工的な容器にはヤマダシマカとヤマトヤブカの発生が認められる．同所的に分布するヤブカ類の間で何らかの種間競争が起こっていると考えられるが，現在，生理・生態的な機構は不明である．
[小林睦生，二瓶直子，澤邉京子；西井和弘（岩手県環境衛生研究センター）]

(9) 和歌山県におけるシロハシイエカ *Culex pseudovishnui* の分布報告

シロハシイエカ *Culex pseudovishnui* は，コガタアカイエカおよび *Culex vishnui* とともに *Cx. vishnui* subgroup に属し，日本脳炎媒介蚊として知られているが，成虫の形態は酷似しているため外部形態による同定が困難なことが多い．そこで，2003～2006 年，和歌山県串本町 6 地点で捕集された蚊をミトコンドリア DNA cytochrome c oxidase（COI）領域のシークエンスによって同定した結果，5 地点の捕集蚊は全てコガタアカイエカだったが，1 地点のみコガタアカイエカとシロハシイエカが混在していた．2012 年，同地点で捕集された成虫および幼虫もコガタアカイエカとシロハシイエカが混在していた. また，発生時期はコガタアカイエカの方がシロハシイエカよりも早いことが確認された．日本脳炎の流行動態を把握するためには，両種を正確に区別し，評価しなければならないことが示唆された．
[澤邉 京子；今西 望，糸山 享（明治大学），杉山 章（名古屋女子大学）]

(10) 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

日本産フンコバエ科を調べ，ヨツトゲフンコバエ属（Genus *Philocoprella*）を日本で初めて発見した．1 種は北海道に分布する種で，ヨーロッパで記録されているヨツトゲフンコバエ（*P. quadrispina*）で，もう 1 種は石垣島・西表島で発見された種で，新種 *P. ryukyuensis* として記載した．また，ヨーロッパのみから記録されていた *Copromyza pseudostercoraria* を日本から初めて記録した．東洋区にて 1 属 1 種として知られていた *Minialula* 属で，ネパール，タイ，ベトナムから 1 新種を，インドネシア・バリ島から 1 新種を記載した．
[林 利彦]

(11) 北海道におけるマダニ類の分布と発生に関する調査

北海道十勝地方にて春期と秋期にマダニ類の発生調査をフランネル法により行った．種類相は単純であった．ヤマトマダニ，シュルツェマダニが主で，キチマダニ，オオトゲチマダニが少数採集された．発生数は春期には非常に多くの個体が採集されたが，秋期には個体数が非常に少なかった．*Ixodes* 属の 2 種はヒト咬着例の多い種であり，春期にはヒト被害が多く発生することが想像さ

れた.
[林 利彦，冨田隆史，駒形 修，小川浩平]

(12) マダニ相に関する全国調査の試み（2013 年晩秋の成果）

2013 年 1 月，国内で初めて報告された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの自然界での感染環を知るために，マダニ相に関する調査を行った．2013 年 10 月～11 月，国内 24 都道府県下の，それぞれマダニと人との接触が予想される環境を選定し，調査地 1 か所につき一人 30 分間のフランネル法によりマダニを採取した結果，北海道ではヤマトマダニのみが採集されたが，本州と九州地方ではキチマダニが優先種であった．それ以外に，本州ではオオトゲチマダニ，九州ではタカサゴチマダニが多く捕集された．また，隣接した調査地であっても採集数や種構成が大きく異なる地域があることも明らかになった.
[澤邉京子，前川芳秀，林 利彦，渡辺 護，小林睦生；山内健生（富山県衛生研究所）；橋本知幸（日本環境衛生センター）；野田伸一（鹿児島大学国際島嶼教育研究センター）；平林公男，武田昌昭（信州大学）；鍬田龍星，前田 健（山口大学）；安藤勝彦（三重大学）；鎮西康雄（鈴鹿医療科学大学）；佐藤智美（明治大学）]

(13) 鹿児島県薩摩半島におけるマダニ類の季節消長

鹿児島県ではこれまでに 5 名の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の患者が発生している（大隅半島で 2 名，薩摩半島で 3 名）. 媒介ダニの情報を得る目的で，これまで定期調査を実施していなかった薩摩半島でマダニ類の季節消長を調べた．日置市吹上町湯之浦今木場の 2 ヶ所で，2013 年 5 月から毎月 2 回，30 分間のフランネル法による定期採集を実施した．これまでに 6 種（タカサゴキララマダニ，キチマダニ，タカサゴチマダニ，ヤマアラシチマダニ，フタトゲチマダニ，タネガタマダニ）591 個体が採集された. 今木場①では，フタトゲチマダニ 127 個体（46.0%），次いでキチマダニ 112 個体（40.6%），今木場②ではキチマダニ 143 個体（45.4%），次いでフタトゲチマダニ 95 個体（30.2%）が多く採集された．5・6 月には両地点ともにキチマダニとフタトゲチマダニが優占種であった．一方，鹿児島県の SFTS 発生第 1 例は大隅半島から報告されたため，患者の自宅周辺でも調査したところ，6～8 月にタカサゴキララマダニ 32 個体（17.2%），キチマダニ 17 個体（9.1%），タカサゴチマダニ 45 個体（24.2%），ヤマアラシチマダニ 90 個体（48.4%），フタトゲチマダニ 2 個体（1.1%）の順に多く採集され，定期調査地と，種類はほぼ同じであったが，個体数の割合には差がみられた.
[野田伸一（鹿児島大学国際島嶼教育研究センター）；小林睦生，林 利彦，澤邉京子]

2. 衛生昆虫の媒介生態に関する研究

(1) 個体識別マーキング法を用いたヒトスジシマカの移動分散に関する基礎研究

蚊の個体を識別するマーキング法を考案し，石垣島の住宅街でヒトスジシマカとオオクロヤブカの移動分散に関する実験を行った．個体識別マーキングは初めの 7 日間行い，合計 232 頭のヒトスジシマカと 216 頭のオオクロヤブカをマークして，4 ヶ所から放逐した．ヒトスジシマカの再捕獲率は 0.21（48/232）で，オオクロヤブカの 0.09（20/216）よりも有意に高かった．放逐された蚊の動きを分析した結果，大きな緑地の内部はヒトスジシマカとオオクロヤブカの潜伏や吸血動物の探索に好適であり，雌成虫が周囲の生息場所から集まってくることが示唆された.
[津田良夫]

(2) 鳥マラリア原虫の媒介蚊を特定する方法に関する研究

現在，野鳥類の鳥マラリア原虫を媒介する蚊種を特定するために広く用いられている手法は，蚊からの PCR による原虫遺伝子の検出である．しかし，PCR による原虫遺伝子の検出だけでは媒介能力があるとは断定できないため，解剖によるオオシスト／スポロゾイトの観察と組み合わせることによって確実に媒介蚊を特定する方法を検討した．その結果イナトミシオカとアカイエカからオオシストあるいはスポロゾイトが確認され，そのサンプルを用いて PCR による分子分類を行ったところ，それぞれ 1 種類，4 種類の原虫系統が検出された.
[津田良夫；金 京純（鳥取大学）]

(3) マダニ採集地周辺における植生とマダニの種構成との関係

マダニが媒介する重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の患者発生地におけるマダニ調査は，種々の事情で実施が

困難な場合が多い．ある県での調査結果では，マダニの種構成は近隣の採集場所によって大きく異なっていた．これは周辺環境に生息するイノシシ，シカなどの野生大型動物の個体群密度に関係していると考えられるが，野生動物の分布も詳細なデータが存在しない．そこで，植生図でマダニ採集地の周辺環境(半径 1 km)の植生の分類を試み，イノシシが繁殖しやすい環境等の解析を試みた．その結果，スギ・ヒノキ・サワラの比率が高い地域にはイノシシに頻繁に寄生するマダニ種が少ない傾向が見られ，シイ・カシやタブの木の比率が高い地域にはイノシシに寄生が見られるマダニの比率が高い傾向が認められた．シカは非常に広範な植物を摂食することが知られており，植生の解析でシカとの関連は明確に認められなかった．

[小林睦生，前川芳秀，林 利彦，二瓶直子，澤邉京子；山内健生（富山県衛生研究所）]

(4) 都市部の公園にマダニ類は生息するか

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の患者が西日本を中心に発生し，媒介者であるマダニ類に注目が注がれているが，マダニの基本的な生物学的情報は不足している．今回，都市部の住宅地に見られる公園にマダニが生息しているのか，また，どのような種が認められるかを明らかにするために，埼玉県春日部市，神奈川県川崎および小田原市の 8 公園で，30 分間のフランネル法によって月 1 回の調査を行った．春日部市の 6 公園において，1 ヶ所の公園のみで，4 月から 8 月まで連続してフタトゲチマダニの若虫および成虫が採集された（4—14 頭/30 分間）．一方，神奈川県の 2 市ではマダニが全く採集されなかった．マダニ類が生活環を維持するためには，複数種の動物（げっ歯類，鳥類，中型および大型動物など）の生息が必要と考えられている．しかし，都市部の多くの公園は，周辺が住宅地に囲まれており，野鼠などの生息の可能性は低く，山間部で見られる中型・大型野生動物の侵入も見られない．都市部公園に認められる環境条件がマダニの生活環を維持するのに不適と考えられる．

[小林睦生，林 利彦，澤邉京子；橋本知幸（日本環境衛生センター）]

(5) 2013 年から 2014 年の神奈川県厚木市におけるマダニ類の季節消長調査

マダニ媒介性感染症の感染リスクを評価するために，神奈川県内の定点においてマダニ類の季節消長を調査した．2013 年 5 月から毎月 2 回，1 地点あたり 30 分間のフランネル法により，12 月末までに，2 属 5 種 4,413 個体のマダニ（キチマダニ，フタトゲチマダニ，オオトゲチマダニ，ヒゲナガチマダニ，タカサゴキララマダニ）が採集された．キチマダニは 5~6 月にかけて若虫が，9 月下旬からは成虫が多く採集された．一方，フタトゲチマダニは 5～9 月にかけて若虫が，5～7 月にかけて成虫が観察されたが，11 月以降になると若虫ならびに成虫は見られなくなった．オオトゲチマダニ，ヒゲナガチマダニは春から夏にかけては見られなかったが，10 月以降に若虫ならびに成虫が観察された．今回の調査地は隣接しているにも関わらず，種数および個体数に違いが見受けられたことから，気温や湿度，周辺の植生環境，生息する動物相などの影響を受けることが考えられた．

[佐藤智美，糸山 享（明治大学）；林 利彦，澤邉京子]

(6) オオトゲチマダニ，ヤマトチマダニ，ダグラスチマダニにおける DNA バーコーディングを用いた種同定の試み

日本産マダニ（ダニ目マダニ科）においては，ミトコンドリア 16S rRNA 領域を用いた DNA データベースが構築されており，日本に分布する 47 種中 36 種が分子系統学的手法により分類できることが明らかにされている．しかしチマダニ属のオオトゲチマダニ，ヤマトチマダニ，ダグラスチマダニの 3 種に関してはミトコンドリア 16S や ND2 領域で分類することができず，解析領域の拡大が求められている．そこで今回，ミトコンドリア COI 領域の 651 bp の塩基配列を用いて，上記 3 種の系統解析を行った．系統樹の作成は，GTR+G+I モデルによる最尤法を用いた．その結果，3 種はそれぞれ単独で単系統を示さず，今回用いた COI 領域はこの 3 種の DNA バーコーディングとしての利用に適してないと考えられる．

[小川浩平，駒形 修，前川芳秀，林 利彦，小林睦生，渡辺 護，澤邉京子，冨田隆史；山内健生（富山県衛生研究所）；橋本知幸（日本環境衛生センター）；川端寛樹（細菌第 1 部）]

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) 2012 年に国内で捕集されたコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* のウイルス保有状況調査

国内における日本脳炎の感染リスク評価や外来性の蚊媒介性感染症の侵入を監視する上で，野外の蚊のウイルス保有状況を把握することは重要である．そのため本研究では，2012 年夏季に群馬県ならびに長崎県内の畜舎で捕集されたコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus*（1,021 頭, 48 プール検体）からウイルス分離を行った．その結果，長崎県の 1 プールから日本脳炎ウイルス（JEV）が分離され，両県の計 14 プールからコガタアカイエカラブドウイルス（CTRV）が分離された．今回分離されたウイルスのゲノム塩基配列を解析し，近年の分離株との配列比較や分子系統解析を行った．

[小林大介（東京医科歯科大学）；伊澤晴彦，江尻寛子，佐々木年則，鍬田龍星，津田良夫，小林睦生，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）]

(2) 2006～2008 年ベトナム国における蚊の日本脳炎ウイルス（JEV）感染状況調査

JEV は，日本を含む東南アジアにおいて注視すべき重要な蚊媒介性ウイルス感染症である． 2006～2008 年に，ベトナム北南部の 8 市省 11 地点において，蚊の発生消長と JEV の感染状況を調査した．本研究期間中，合計で 5 属 15225 頭の蚊を捕集し，これらの内，12621 頭を種毎に分けて 447 プールの乳剤を調整し，ウイルス分離を実施した．その結果，シロハシイエカの 2 プール，コガタアカイエカの 3 プールから JEV が分離され，最少感染率はそれぞれ 0.71，1.3 と算出された．これら分離株の遺伝子解析を行った結果，すべてが，近年，東南アジアを中心に優占の遺伝子型 I であることが判明した．

[鍬田龍星，星野啓太，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，小林睦生，澤邉京子；比嘉由紀子，高木正洋（長崎大学熱帯医学研究所）；Phan Thi Nga, Nguen Thi Yen, Hoang, N.V., Trang, B.M., Loan, do P., Phong, T.V.（ベトナム国立衛生疫学研究所）]

(3) ベトナム捕集蚊より分離された新規ニドウイルスの性状解析

2006-2008 年にベトナム北南部における蚊の JEV 感染状況調査を行う過程で，2007 年 Dak Nong 省で捕集されたコガタアカイエカの蚊サンプルから，粒子表面にスパイク状の突起物を持つ直径約 80nm の未知ウイルスが分離された．本分離株を Dak Nong virus（DKNV）と命名し，ウイルスゲノム解析を行った結果，DKNV は，ニドウイルス目のうち，2012 年に新設されたメソニドウイルス科に属する *Alphamesonivirus* 1 であることが判明した．さらに DKNV の細胞感受性を検討し，新しいウイルスグループであるメソニドウイルスの宿主範囲に関して新たな知見が得られた．

[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；前田 健（山口大学）；水谷哲也（東京農工大学国際家畜感染症防疫研究教育センター）；佐藤朝光，倉重友和，平松征洋，福光由起（福岡大学）；Yen Nguyen Thi, Phong Tran Vu，Nga Phan Thi（ベトナム国立衛生疫学研究所）]

(4) 首都圏で捕集された蚊から分離されたオルビウイルスの性状解析

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，都内で捕集した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・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，2 株のウイルスが分離された．同定の結果，ヤマトクシヒゲカ由来の 1 株は，レオウイルス科オルビウイルス属の一種 Umatilla virus に近縁であることが判明した(Koyama Hill virus と命名). Umatilla virus に近縁なウイルスが，東アジア地域で見つかったのは今回初めてであり，今後詳細な分布実態の把握と疫学的調査が必要であると考えられた．

[江尻寛子，伊澤晴彦，津田良夫，鍬田龍星，小林睦生，佐々木年則，澤邉京子；佐藤雪太（日本大学）]

(5) 病院とのシラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* 疫学研究

路上生活者の間で再興感染症として，グラム陰性桿菌である *Bartonella quintana* による塹壕熱が報告されている．今回，東京都区内の病院に搬送されてくる路上生活者から採取されたコロモジラミから *Bartonella* 属の遺伝子を検出し，高い遺伝子保有率が得られた．また，血餅からも *Bartonella* 属の遺伝子を検出した．同時に，アンケート調査を実施した．

[佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子；久保田眞由美，柴山恵吾（細菌第 2 部）；山岸拓也，大石和徳（感染症疫学セ

ンター）; 伊藤航人，足立智英（東京都済生会中央病院）]

(6) 国内外のアタマジラミにおける塹壕熱病原菌 *Bartonella quintana* 遺伝子保有調査

塹壕熱病原菌*Bartonella quintana* は，国内外の都市部で主に路上生活者に寄生するコロモジラミから検出されているが，近年，アタマジラミからの検出がネパールと米国から報告されている．フィリピンLos Banos市の貧困層居住地区に住む未成年者50名からアタマジラミを採取し，*Bartonella*属共通プライマーにより*gltA*遺伝子およびITS1領域をPCR法で増幅, 塩基配列を決定した. さらに，国内31自治体から得られたアタマジラミ579頭を検査に用いた結果，Los Banos市の女児由来アタマジラミからのみ*B. quintana*遺伝子が検出された．マニラ市近郊のLos Banos市では，近年，ストリートチルドレンやスラム街に生活する未成年者の増加が大きな社会問題となっており，このような環境下に塹壕熱が蔓延している可能性が示唆されたことは，公衆衛生上深刻な問題と言える．

[澤邉京子，佐々木年則，葛西真治，冨田隆史，小林睦生；Arlene G. Bertuso（フィリピン大学マニラ校）]

2. 媒介生理に関する基礎的研究

(1) 国内外で捕集された蚊のデングウイルス感受性

我が国への侵入が危惧される蚊媒介性ウイルス感染症に，デング熱およびデング出血熱があげられる．国内外で捕集されたヒトスジシマカとネッタイシマカ数系統のデングウイルス感受性を比較した．ヒトスジシマカとネッタイシマカにデングウイルス感受性を認めたが， ネッタイシマカのある系統においてデングウイルス血清型1と2に対する感受性が異なる結果を得た.

[佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子；高崎智彦（ウイルス第1部）；比嘉由紀子，皆川 昇（長崎大学熱帯医学研究所）；Arlene G. Bertuso（フィリピン大学マニラ校）]

(2) 昆虫特異的フラビウイルス Aedes flavivirus（AEFV）の自然界における維持機構

フラビウイルスの多くは節足動物媒介性であるが，一方で昆虫のみが宿主と推定される昆虫特異的フラビウイルスが近年日本を含む世界各地で多数発見されている．これらウイルスの自然界での生態や存在様式について明らかにするために，ヤブカ属蚊を宿主とする昆虫特異的フラビウイルスである Aedes flavivirus（AEFV）の自然界における維持機構について，ヒトスジシマカ *Aedes albopictus* を用いて解析した．その結果，AEFV の水平伝播は観察されず，ヒトスジシマカ集団の中で垂直伝播のみで永続的に維持されることが示唆された．

[小林大介（東京医科歯科大学）; 伊澤晴彦，糸川健太郎，鍬田龍星，星野啓太，江尻寛子，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子]

(3) ヤブカ属蚊由来培養細胞の樹立の試み

蚊媒介性ウイルスの研究を行う上で，蚊由来培養細胞は研究資材として重要である．そのため，デングウイルスやチクングニアウイルスの媒介種であるヤブカ属のヒトスジシマカ *Aedes albopictus* およびネッタイシマカ *Ae. aegypti* を用いて，蚊媒介性ウイルス研究に有用な新規蚊培養細胞系の樹立を試みた．その結果，ヒトスジシマカの産下卵ならびに新生幼虫において，遊走性あるいは付着性の細胞の増殖が確認された．今後さらに継代を重ねることで，蚊媒介性ウイルス研究に有用な新規ヤブカ属蚊由来培養細胞の樹立が期待された．

[小林大介（東京医科歯科大学）; 伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，江尻寛子，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子]

(4) 2011 年および 2012 年に東北地方津波被災地で捕集されたアカイエカの吸血嗜好性.

東日本大震災の被災地（宮城県気仙沼市および岩手県陸前高田市）における 2 年間の調査で，合計 85 頭の吸血雌（アカイエカ 78 頭，イナトミシオカ 6 頭，トウゴウヤブカ 1 頭）が主に CDC ドライアイストラップにより捕集された．PCR およびダイレクトシークエンス法により，それらの吸血源動物を推定した結果, アカイエカ 78 頭のうち 68 頭（87%）が鳥類（スズメ 59 頭）を，10 頭（13%）が哺乳類（ヒト 8 頭）を吸血し，高い鳥類嗜好性が示唆された．また，アカイエカの 2011 年の哺乳類吸血性は 8%であったが，2012 年は 18%に上昇した．2011 年に吸血した鳥類種はわずか 3 種類であったが，2012 年には 7 種類に増加した．この結果から，被災地に人口が戻り，自然環境も徐々に回復しつつあることが推察された.

[澤邉京子，Sudipta Roychoudhury，渡辺 護 ; 今西 望（明治大学），渡辺はるな（富山市）]

(5) アジアにおける日本脳炎媒介蚊 *Culex vishnui* subgroup の季節消長とウイルス保有について

ベトナム国内 8 省において，2006 年から 2008 年に日本脳炎ウイルス（JEV）の媒介蚊調査を行った．国内においては，2003 年－2006 年および 2012 年に和歌山県串本町で同様に蚊の捕集を行った．ベトナム高地 4 省において，コガタアカイエカは 6 月，*Cx. vishnui* は 7 月に多く捕集された．JEV は 5 月と 6 月にコガタアカイエカから，7 月に *Cx. vishnui* からそれぞれ分離されており，全国的に JEV が流行しているベトナムにおいては，季節的に優勢な蚊種がウイルス保有種になると推察された．一方，和歌山県においてコガタアカイエカは 7 月，シロハシイエカは 8 月以降に多く捕集され，季節消長が異なった．近年の日本脳炎の国内発症例は 9 月以降に多く報告されていることから，コガタアカイエカ以外の蚊種による媒介の可能性も指摘される．*Cx. vishnui* subgroup 3 種それぞれのウイルス媒介能，吸血嗜好性，季節消長等を正確に把握することが必要であると思われる．

[澤邉京子，鍬田龍星，伊澤晴彦，佐々木年則，小林睦生；今西 望（明治大学）；新井 智（感染症疫学センター）；Phan Thi Nga，Tran Vu Phong，Nguen Thi Yen（ベトナム国立衛生疫学研究所）]

(6) オオクロバエの脂質代謝に関する研究

オオクロバエは，冬季に活動するハエである．短日条件下（11L:13D，20℃）で継代飼育した個体および 10 月に山口県の生雲川ならびに山口市内で採集した野外個体の体重，脂質量および脂肪酸組成を比較した．飼育個体の体重と脂質量は羽化後増加し，10 日後には採集個体の体重，脂質量と同程度になったが，それ以上は増加しなかった．一方，生雲川で採集された個体はの体重と脂質量は山口市内で採集された個体よりも高い値を示した．飼育個体の脂質は，中性脂質が多く，採集個体ではリン脂質が多かった．MALDI-TOFMS 分析の結果から，採集個体のリン脂質中には 2 分子の C16:1（シス型パルミトオレイン酸）が多く，その 45%を占めることが判明した．C16:1 の融点は±0.5℃と低く，それらを多く含むオオクロバエは低温下の活動に適しており，冬季に大陸から長距離飛翔してくる可能性も示唆された．

[森林敦子，駒形 修，倉橋 弘，澤邉京子；田中康仁（細胞化学部）]

(7) アカイエカ種群の九州地域の集団遺伝的解析

アカイエカ種群は日本においてはアカイエカ（*Culex pipiens pallens*），チカイエカ（*Culex pipiens molestus*），ネッタイイエカ（*Culex quinquefasciatus*）が存在する．これらアカイエカ種群の種はウエストナイルウイルスが日本に侵入した場合，主要な媒介蚊となる可能性が指摘されおり，これらの種の分布を正確に知っておくことが重要となってくる．これら 3 種は形態だけでなく遺伝的にも近似しており，それらの地理分布を DNA レベルで検討することが困難であることから，マイクロサテライトマーカーを用いて九州地方北部（福岡・長崎・大分県）のアカイエカ種群の集団間の変異を調べた．8 つの領域について検討した結果，日本産アカイエカにはネッタイイエカのハプロタイプとする領域が 0.6～20.3%含まれており，さらにアセチルコリンエステラーゼ領域の種特異的プライマーセットを用いた結果，日本産アカイエカにはネッタイイエカのハプロタイプが 20.3%含まれていることが明らかになった．これら 9 つの領域の遺伝子頻度から，福岡のアカイエカ集団ではネッタイイエカのハプロタイプの割合がやや少ないものの，有意な差ではなかった．以上の結果から，北部九州のアカイエカは一定の割合でネッタイイエカと同じハプロタイプを持っていることが示唆され，アカイエカとネッタイイエカの遺伝的違いを明らかにするためには，さらなる広域での調査が必要であると結論された．

[大塚 靖（大分大学）；澤邉京子]

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. 衛生害虫に対する化学的防除の有効性の調査

(1) トコジラミの有機リン剤抵抗性に関する全国調査

作用点低感受性による有機リン系殺虫剤抵抗性の原因として強く疑われている *p-Ace* F348Y 変異につき，国内で採集された試料（コロニー数 98，うち 2010 年以降採集分 82）をジェノタイピングした．F348Y を保有したコロニーは 4 つ（4%）で，2010 年以前に採集されたコロニー(1972)も含まれていた．Y348 保有コロニーにつき，1 つのエクソンに含まれる 0.6 kb の Y348 ハプロタイプを解析したところ，4 つのハプロタイプが存在し，亜型の派生を考慮すると F348Y 変異は少なくとも 2 つの起源に由来することが示された．

[冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，小川浩平，葛西真治，小林睦生，渡辺 護；足立雅也（鵬図商事），數間 亨，皆

川恵子，橋本知幸，武藤敦彦（日本環境衛生センター）]

(2) 日本産野外マダニに対する DEET 忌避剤の有効性評価

ライム病や日本紅斑熱，重症熱性血小板減少症候群（SFTS）などの媒介者であるマダニに対する DEET 忌避剤（医薬品）の有効性を野外試験により評価した．調査員の左足に DEET 処理フランネル布を，右足に無処理フランネル布を巻きつけ，5 分間ササ群落内を歩行し，アスファルトの路面上で 10 分間直立静止した後に，各フランネル布に付着していたマダニ数を記録した．DEET 処理フランネル布に付着していた平均マダニ数 2.0 頭は，無処理フランネル布に付着していた平均マダニ数 12.5 頭に比べ有意に少なく，DEET 処理によるマダニ忌避率は 84.0%であった．このため DEET を含む忌避剤はマダニに対して一定の効果が認められた．

[小川浩平，駒形 修，林 利彦，澤邉京子，冨田隆史]

(3) 室内実験によるヤマトマダニ・シュルツェマダニに対する忌避剤 DEET の効果の検証

従来，日本で登録されている DEET を有効成分とする忌避剤はマダニに対する登録がなかった．SFTS の発生により 2013 年に緊急措置として適用の拡大が行われマダニ類が防除対象になった．国内におけるマダニ類に対する DEET の使用に関しては知見が乏しい．そこで野外効力試験における成績（前項）をさらに検証するため室内効力試験を行った．DEET 製剤を処理したフランネル上にヤマトマダニとシュルツェマダニを置き，逃亡行動を観察した．二種のマダニはいずれも短時間で逃亡した．逃亡個体は正常に行動できず吸血行動にうつるには困難とみなされた．従って，DEET には忌避効果及び吸血行動の阻害効果があり，野外効力試験において確認された本剤の有効性を裏付けた．

[小川浩平，駒形 修，林 利彦，冨田隆史]

2. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性に関する遺伝学的，分子生物学的解析

(1) 人間活動による媒介昆虫の移動と殺虫剤抵抗性遺伝子の世界的な拡散

航空機や船舶などによって感染症の媒介動物である蚊類が大陸間を運ばれてしまうことがある．このような個体の移動は，害虫種の分布拡大という問題を引き起こすが，すでにその種が定着している地域間においても，殺虫剤抵抗性遺伝子のような我々によって望ましくない遺伝子を拡散させ，問題をより世界的なレベルで深刻化させる恐れがある．2013 年に成田空港に着陸した国際線航空機で捕獲されたネッタイイエカに関していくつかの抵抗性に関わる既知の遺伝子座を調べたところ，これらの個体は各遺伝子座において抵抗性を付与するハプロタイプ・対立遺伝子を高頻度で持っていた．

[糸川健太郎，小川浩平，駒形 修，葛西真二，冨田隆史；稲垣俊一，助廣那由，梅澤昌弘（成田空港検疫所衛生課）]

(2) 有機リン剤抵抗性トコジラミにおける変異型アセチルコリンエステラーゼ

2011 年に山口県の宿泊施設において採集されたトコジラミ *Cimex lectularius* 防府系統は，有機リン系殺虫剤に対して抵抗性を示し，同系化合物の作用点である AChE にアミノ酸に変異が見られた．本系統のトコジラミから粗抽出した AChE を用いて阻害実験を行った結果，この変異型 AChE はフェニトロオクソンに対して低感受性であった．従って，AChE の変異が有機リン剤抵抗性の一因であることが示唆された．

[駒形 修，糸川健太郎，小川浩平，葛西真治，渡辺 護，小林睦生，冨田隆史；數間 亨，皆川恵子，橋本知幸，武藤敦彦（日本環境衛生センター）；足立雅也（鵬図商事）]

(3) トコジラミの有機リン剤抵抗性に関連する作用点変異の分子検出法

有機リン系殺虫剤抵抗性 HOF 系統トコジラミに作用点の acetylcholinesterase（AChE）の感受性低下が確認されている．その AChE 遺伝子（*p-Ace*）コード配列にはアシル結合部位の F348(331)Y が唯一のアミノ酸置換変異として存在するが，同部位で他のアミノ酸に置換する変異は数多くの害虫種で殺虫剤感受性低下の原因となっており，抵抗性との関連が強く疑われる．本種の有機リン剤抵抗性を監視するために，*p-Ace* F348Y に含まれる T/A 塩基置換を cycling probe 法により同定する方法を開発した．

[冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，小川浩平]

(4) ネッタイイエカの殺虫剤抵抗性遺伝子の原因変異

シトクロム P450 の遺伝子である *CYP9M10* の過剰発現はネッタイイエカでピレスロイド抵抗性をもたらす．

我々のこれまでの研究から *CYP9M10* の過剰発現はシス作動性変異と遺伝子重複が原因であることがわかっている．このうちシス作動性変異に関しては，これまで具体的な DNA 塩基配列上の変異として特定されてはいなかった．そこで本研究室で鍬田らが以前に樹立したコガタアカイエカの培養細胞 NIID-CTR を用いてレポーターアッセイを行ったところ，転写開始点の数十塩基上流に存在する SNP が少なくとも *CYP9M10* の過剰発現をもたらす原因の一つであることがわかった．

[糸川健太郎，駒形修，葛西真二，小川浩平，冨田隆史]

(5) ネッタイシマカにおけるピレスロイド系殺虫剤作用点のアミノ酸置換が殺虫剤抵抗性にもたらす効果

ネッタイシマカ（*Aedes aegypti*）のピレスロイド系殺虫剤における抵抗性の機構の中で，作用点である電位依存性ナトリウムチャンネル（Vssc）の変異に関して検討した．野生型（感受性型）およびアミノ酸を置換させた Vssc をアフリカツメガエルの卵母細胞で発現させ，アミノ酸置換がペルメトリンおよびデルタメスリンに対する感受性にもたらす効果を電気生理学的に調べた．その結果，野外の抵抗性個体によく見られる S989P+V1016G および F1534C アミノ酸置換は両薬剤に対する感受性を大きく低下させたことから，これらの置換が抵抗性をもたらす一因となっていることが示された．

[平田晃一，山本敦司（日本曹達）；葛西真治，駒形 修，糸川健太郎，冨田隆史]

(6) ネッタイシマカのペルメトリン抵抗性に関与する量的形質遺伝子座の探索

ネッタイシマカ（SP 系統）は，ペルメトリンによる 10 世代の室内淘汰により，感受性系統に比べ 1647 倍の抵抗性を発達させている．そこで今回，SP 系統と感受性系統間で戻し交配を行った個体を用いて，量的形質遺伝子座解析（QTL 解析）を行い，ペルメトリン抵抗性の遺伝学的な基盤を調べた．112 個体の雌成虫を，ペルメトリン局所施用後に，抵抗性，回復，死亡の 3 つの表現型に分類し，個体毎に 19 遺伝子座の遺伝子型を決定した．QTL 解析の結果，第 1 および第 3 染色体に主要な QTL の存在が明らかになった．このうち第 3 染色体上の QTL は，ピレスロイド系殺虫剤の作用点であるナトリウムチャンネル遺伝子に強く連鎖していた．このため SP 系統のペルメトリン抵抗性は作用点変異に加えて，その他の原因遺伝子が複合的に関与していると考えられる．

[小川浩平，糸川健太郎，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 25 年 4 月から平成 26 年 3 月までの間，14 件 41 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．11 件はヒトへ咬着したマダニ類の同定で，行政検査 2 件もこれに含まれる．ヒトへの被害では，他にウガンダでのスナノミによる皮下寄生，タンザニアで吸血被害を受けたツェツェバエの同定依頼があった．

[林 利彦，津田良夫]

研修業務

(1) 第 2 回蚊類調査に係る技術研修（H25 年度）．2013 年 5 月 30 日－31 日，東京．

[津田良夫，小林睦生，澤邉京子]

(2) 媒介昆虫と感染症．2013 年度「知の市場」，2013 年 5 月 21 日，東京．

[澤邉京子]

(3) 蚊・ダニ媒介性感染症の最新情報と動向．第 10 回新潟市ねずみ・昆虫等研究会．2013 年 11 月 8 日，新潟市．

[澤邉京子]

(4) ダニ由来の感染症．感染症対策指導者講習会．2013 年 11 月 18 日，東京．

[澤邉京子]

(5) 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．2013 年 10 月 21 日．東京．

[伊澤晴彦]

(6) 衛生動物に関する最近の話題．第 49 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会．2014 年 1 月 29 日，川崎市．

[澤邉京子]

(7) わが国におけるマダニ類分布調査と SFTS ウイルス

検出状況．シンポジウム「マダニ対策の今後」．第 48 回ペストコントロールフォーラム山口大会. 2014 年 2 月 20－21 日，下関市.
[澤邉京子]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Sukehiro, N., Kida, N. Umezawa, M., Murakami, T., Arai, N., Jinnai, T., Inagaki, S., Tsuchiya, H., Maruyama, H., Tsuda, Y. First report on invasion of yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*, at Narita International Airport, Japan in August 2012. Japanese Journal of Infectious Diseases, 66: 189－194, 2013.

2) Tanigawa, M., Sato,Y., Ejiri, H., Imura, T., Chiba, R., Yamamoto, H., Kawaguchi, M., Tsuda, Y., Murata, K., Yukawa, M. Molecular identification of avian haemosporidia in wild birds and mosquitoes on Tsushima Island, Japan. The Journal of Veterinary Medical Science, 75: 319－326, 2013.

3) Tsuda, Y., Kim, K. S. Outbreak of *Culex* (*Barraudius*) *inatomii* (Diptera: Culicidae) in disaster areas of the Great East Japan Earthquake and Tsunami in 2011, with ecological notes on their larval habitats, biting behavior and reproduction. Journal of the American Mosquito Control Association, 29: 19－26, 2013.

4) Hayashi, T. Taxonomic study of the genus *Philocoprella* Richards (Diptera, Sphaeroceridae) from Japan. Japanese Journal of Systematic Entomology, 19: 177－180, 2013.

5) Hayashi, T., Ohishi, H. A new record of the Genus *Copromyza* Fallén (Diptera, Sphaeroceridae) from Japan. Japanese Journal of Systematic Entomology, 19: 331－334, 2013.

6) Hayashi, T. Two new species of the genus *Minialula* Papp (Diptera, Sphaeroceridae) from the Oriental region. Japanese Journal of Systematic Entomology, 19: 351－355, 2013.

7) Kuwata, R., Satho, T., Isawa, H., Yen, N.T., Phong, T.V., Nga, P.T., Kurashige, T., Hiramatsu, Y., Fukumitsu, Y., Hoshino, K., Sasaki, T., Kobayashi, M., Mizutani, T., Sawabe, K. Characterization of Dak Nong virus, an insect nidovirus isolated from *Culex* mosquitoes in Vietnam. Archives of Virology, 158: 2273－3384, 2013.

8) Kuwata, R., Nga, P.T., Yen, N.T., Hoshino, K., Isawa, H., Higa, Y., Hoang, N.V., Trang, B.M., Loan, do P., Phong, T.V., Sasaki, T., Tsuda, Y., Kobayashi, M., Sawabe, K., Takagi, M. Surveillance of Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes in Vietnam from 2006 to 2008. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 88: 681－688, 2013.

9) Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Kawada, H., Mwatele, C., Dida, G., Njenga, S., Mwandawiro, C., Tomita, T. Global spread and genetic variants of the two *CYP9M10* haplotype forms associated with insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* Say. Heredity, 111: 216－226, 2013.

2. 和文発表

1) 津田良夫，石田恵一，山内 繁，新妻 淳，助廣那由，梅澤昌弘，柳 大樹，岡本徳子，沢辺京子．東日本大震災の津波が蚊の分布と発生数に与えた影響：宮城県南部水田地帯と福島県沿岸部における 2012 年の調査結果. 衛生動物，64: 175－181，2013.

2) 津田良夫, 助廣那由, 梅澤昌弘, 稲垣俊一, 村上隆行, 木田中，土屋英俊，丸山浩，沢辺京子．成田国際空港におけるネッタイシマカの越冬可能性に関する実験的研究. 衛生動物，64: 209－214，2013.

3) 佐久間朋，篠島由一，稲富 徹，馬場俊一，林 利彦，久住一郎，照井正：腎癌の頭部皮膚転移上に生じた偽性皮膚ハエ症の 1 例．皮膚科の臨床，55: 657－660，2013.

4) 小林睦生．マダニ媒介性感染症の新顔「重症熱性血小板減少症候群 SFTS」とはーなぜこのような感染症が出現してきたのか？－ Pest Control Tokyo No. 65: 31－36, 2013.

3. その他

1) 小林睦生．「臨床検査学エッセンス・ノート」2．臨床形態検査（山内一由 編集），衛生動物（分担 pp. 201－202），メジカルビュー社，2013.

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Tsuda, Y.　Multiple transmission cycles and “incomplete transmission” of avian Plasmodium parasites in wild bird communities: implications of entomological studies in Japan, International Conference on Malaria and Related Haemosporidian Parasites of Wildlife. 2013 年 8 月 7 日－11 日，ヴィルニス，リトアニア.

2) Kim, K.S.,　Tsuda, Y.　Microscopic observation of oocysts and sporozoites and subsequent PCR for identification of genetic lineages of avian Plasmodium spp. In natural vector, *Culex pipiens pallens*. International Conference on Malaria and Related Haemosporidian Parasites of Wildlife. 2013 年 8 月 7 日－11 日，ヴィルニス，リトアニア.

2. 国内学会

1) 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，津田良夫．成田空港におけるネッタイシマカの侵入事例について．第 65 回日本衛生動物学会大会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

2) 米島万有子，前田秋彦，福田美樹，伊藤亜希，Igor Velado Fernandes，津田良夫，渡辺　護，二瓶直子，小林睦生，沢辺京子．京都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異. 第 65 回日本衛生動物学会大会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

3) 當間孝子，平良勝也，玉城美加子，宮城一郎，津田良夫, 水田英生, 岡澤孝雄. 日本・台湾産 *Tripteroides bambusa* の COI 遺伝子領域の塩基配列の解析．第 65 回日本衛生動物学会大会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

4) 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．第 65 回日本衛生動物学会大会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

5) 平林公男, 竹田昌昭, 二瓶直子, 小林睦生, 沢辺京子. 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. 第 65 回日本衛生動物学会, 2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

6) 津田良夫，石田恵一，山内 繁，新妻 淳，助廣那由，梅澤昌弘，柳 大樹，岡本徳子．東日本大震災の津波被災地における疾病媒介蚊の発生状況：宮城県南部水田地帯と福島県 2 地域における 2012 年の調査結果．第 65 回日本衛生動物学会大会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

7) 渡辺 護，渡辺はるな，沢辺京子．東日本大震災被災地における 2 年目の蚊の発生状況. 第 65 回日本衛生動物学会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

8) 林 利彦，菊池恭志，木村文彦，小林睦生，沢辺京子：岩手県震災瓦礫集積所におけるハエ類発生状況調査（2012 年）．第 65 回日本衛生動物学会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

9) 今西 望，杉山 章，糸山 享，沢辺京子．和歌山県におけるシロハシイエカ *Culex pseudovishnui* の分布報告. 第 65 回日本衛生動物学会, 2013 年 4 月 5－7 日, 江別市.

10) 江尻寛子, 伊澤晴彦, 津田良夫, 鍬田龍星, 石田恵一, 小林睦生，佐々木年則，沢辺京子．東日本大震災の被災地における蚊のウイルス保有状況に関する調査．第 65 回日本衛生動物学会大会, 2013 年 4 月 5－7 日, 江別市.

11) 佐々木年則，久保田眞由美，澤邉京子，平山幸雄，鍬田龍星，伊澤晴彦，針原重義，柴山恵吾，小林睦生．最近のシラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* 疫学研究．第 65 回日本衛生動物学会大会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

12) 沢辺京子, Arlene G. Bertuso, 佐々木年則, 葛西真治, 冨田隆史，小林睦生．アタマジラミにおける塹壕熱病原菌 *Bartonella quintana* 遺伝子保有調査．第 65 回日本衛生動物学会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

13) 森林敦子，田中康仁，駒形 修，倉橋 弘，沢辺京子．冬季に活動期を迎えるオオクロバエの脂質について．第 65 回日本衛生動物学会，2013 年 4 月 5－7 日，江別市.

14) 駒形 修, 尾上泰彦, 古林敬一, 葛西真治, 糸川健太郎, 冨田隆史. ケジラミのピレスロイド系駆除剤感受性に関する調査. 第 65 回日本衛生動物学会, 2013 年 4 月 5－7 日, 江別市.

15) 冨田隆史, 駒形 修, 糸川健太郎, 葛西真治. 日本のトコジラミの殺虫剤抵抗性の現状. 第 65 回日本衛生動物学会シンポジウム「トコジラミにどう対処するかー最前線を探る」, 2013 年 4 月 5－7 日, 江別市.

16) 沢辺京子. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の発見と感染症対策について. 第 65 回日本衛生動物学会緊急セッション, 2013 年 4 月 5－7 日, 江別市.

17) 江尻寛子, 伊澤晴彦, 津田良夫, 鍬田龍星, 石田恵一, 小林睦生, 佐々木年則, 沢辺京子. 2011 年から 2012 年にかけて国内で捕集された蚊のウイルスの保有状況の調査. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2013 年 5 月 24－25 日, 熱海市.

18) 小林大介, 伊澤晴彦, 鍬田龍星, 星野啓太, 江尻寛子, 佐々木年則, 小林睦生, 糸山 享, 太田伸生, 沢辺京子. 昆虫特異的フラビウイルス Aedes flavivirus（AEFV）の伝播様式の解析. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2013 年 5 月 24－25 日, 熱海市.

19) 澤邉京子, 今西 望, 鍬田龍星, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 新井 智, 小林睦生, Nga, P. T., Phong, T. Vu., Yen, N. T. アジアにおける日本脳炎媒介蚊 *Culex vishnui* subgroup の季節消長とウイルス保有について. 第 48 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2013 年 5 月 24－25 日, 熱海市.

20) 宇田晶彦, 福士秀悦, 加来義浩, 吉河智城, 下島昌幸, 新倉 綾, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野 愛, 前田 健, 藤田博巳, 澤邉京子, 西條政幸, 森川 茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出. 第 156 日本獣医学会学術集会, 2013 年 9 月 20－22 日, 岐阜市.

21) 津田良夫. ヤブカの個体識別マーキング法の検討：石垣島におけるヒトスジシマカとオオクロヤブカを用いた実験. 第 65 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2013 年 10 月 25 日, 川口市.

22) 平林公男, 山本 優, 津田良夫. 東日本大震災の津波被災地域から発生するユスリカ類－仙台空港周辺, ならびに南相馬地域に焦点をあてて. 第 65 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2013 年 10 月 25 日, 川口市.

23) 小林大介, 伊澤晴彦, 鍬田龍星, 星野啓太, 江尻寛子, 佐々木年則, 小林睦生, 糸山 享, 太田伸生, 沢辺京子. 昆虫特異的フラビウイルス Aedes flavivirus (AEFV) の性状解析ならびに伝播様式の解析. 第 65 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2013 年 10 月 25 日, 川口市.

24) 沢辺京子, Sudipta Roychoudhuru, 今西 望, 渡辺はるな, 渡辺 護. 2011 年および 2012 年に東北地方津波被災地で捕集されたアカイエカの吸血嗜好性. 第 65 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2013 年 10 月 25 日, 川口市.

25) 田島 茂, 小滝 徹, 谷ヶ崎和美, 小林大介, 谷脇 妙, 沢辺京子, 高崎智彦. Flap 配列を付加したフラビウイルス共通プライマーおよびアルファウイルス共通プライマーの評価とゲタウイルス検出の実例について. 第 20 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 2013 年 11 月 9 日, 神戸市.

26) 鍬田龍星, 佐藤朝光, 伊澤晴彦, Yen Nguyen Thi, Phong Tran Vu, Nga Phan Thi, 倉重友和, 平松征洋, 福光由起, 星野啓太, 佐々木年則, 水谷哲也, 前田 健, 小林睦生, 沢辺京子. ベトナム捕集蚊より分離された新規ニドウイルスの性状解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10－12 日, 神戸市.

27) 武田昌昭, 瑞慶覧光, 平林公男, 二瓶直子, 小林睦生, 沢辺京子. 長野県南信地方における蚊相の研究. 第 29 回ペストロジー学会, 2013 年 11 月 14－15 日, 岐阜市.

28) 平林公男, 山本 優, 津田良夫. 津波被災地における沼沢池の塩分濃度の違いがユスリカ類の発生に与える影響. 第 39 回日本陸水学会甲信越支部大会, 2013 年 11 月 29－30 日, 北杜市.

29) 武田昌昭, 永井義成, 山嵜健人, 津田良夫, 平林公男. 東日本大震災津波被災地における感染症媒介蚊の発

生状況：仙台市内に焦点をあてて．第39回日本陸水学会甲信越支部大会，2013年11月29－30日，北杜市.

30) 沢辺京子．気候変動と蚊媒介性感染症．私立大学戦略的研究基盤形成支援事業人獣共通感染症の戦略的国際疫学研究の推進と若手研究者の実践的育成，シンポジウム「グローバリズムの時代の新興感染症」，2013 年 12 月 6－7 日．藤沢市.

31) 平田晃一，駒形 修，糸川健太郎，山本敦司，冨田隆史，葛西真治．ネッタイシマカ電位依存性ナトリウムチャネルの変異とピレスロイド感受性．日本農薬学会第 39 回大会，2014 年 3 月 13－15 日，京都市.

32) 助廣那由，木田 中，梅澤昌弘，村上隆行，神田 歩，神内恒貞，稲垣俊一，土屋英俊，三宅 智，津田良夫．成田空港におけるネッタイシマカの侵入事例について（続報）．第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

33) 小林睦生，西井和弘，二瓶直子，沢辺京子．東北地方におけるヒトスジシマカの分布域拡大とヤマダシマカの分布との関係．第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

34) 前川芳秀，津田良夫，星野啓太，沢辺京子．日本産蚊の分布ならびに蚊相に関する全国調査. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

35) 津田良夫，石田恵一，助廣那由，打田憲一，沢辺京子．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：宮城県南部水田地帯と福島県南相馬市における被災 3 年目の状況．第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

36) 渡辺 護，渡辺はるな，沢辺京子．東日本大震災被災地における 3 年目の蚊発生調査、発生は落ち着いたか？第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

37) 小林睦生，橋本知幸，林 利彦，沢辺京子．都市部の公園にマダニ類は生息するか. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

38) 前川芳秀, 小林睦生, 安藤勝彦, 鎮西康雄, 林 利彦, 二瓶直子，沢辺京子．2013 年 10 月伊勢志摩地方におけるマダニ相と生息環境調査. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

39) 野田伸一，小林睦生，林 利彦，沢辺京子．鹿児島県薩摩編半島におけるマダニ類の季節消長調査. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

40) 佐藤智美，林 利彦，糸山 亨，沢辺京子．2013 年から 2014 年の神奈川県厚木市におけるマダニ類の季節消長調査．第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

41) 沢辺京子, 山内健生, 橋本知幸, 野田伸一, 渡辺 護, 平林公男，鍬田龍星，前田 健，安藤勝彦，鎮西康雄，佐藤智美，前川芳秀，林 利彦，小林睦生．2013 年晩秋に実施したマダニ相に関する国内調査. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2014 年 3 月 22－23 日，岐阜市.

42) 江尻寛子，伊澤晴彦，津田良夫，鍬田龍星，小林睦生，佐々木年則，佐藤雪太，沢辺京子．国内捕集蚊からのオルビウイルスの分離ならびに性状解析. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2013 年 3 月 21－23 日，岐阜市.

43) 小林大介，伊澤晴彦，江尻寛子，佐々木年則，砂原俊彦，二見恭子，吉川 亮，松本文昭，吾郷昌信，津田良夫，鍬田龍星，皆川 昇，小林睦生，太田伸生，沢辺京子．2012 年に国内で捕集されたコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* のウイルス保有状況調査．第 66 回日本衛生動物学会大会，2013 年 3 月 21－23 日，岐阜市.

44) 小林大介，伊澤晴彦，鍬田龍星，星野啓太，江尻寛子，佐々木年則，小林睦生，太田伸生，沢辺京子．ヤブカ属蚊由来培養細胞の樹立の試み. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2013 年 3 月 21－23 日，岐阜市.

45) 佐々木年則, 比嘉由紀子, ベルツーソ G. アーリン, 伊澤晴彦，高崎智彦，皆川 昇，沢辺京子．国内外で捕集

された蚊のデングウイルス感受性. 第 66 回日本衛生動物学会大会，2013 年 3 月 21－23 日，岐阜市.

46) 小林大介，伊澤晴彦，糸川健太郎，鍬田龍星，星野啓太，江尻寛子，佐々木年則，小林睦生，糸山 享，太田伸生，沢辺京子．昆虫特異的フラビウイルス Aedes flavivirus（AEFV）の自然界における維持機構．第 58 回日本応用動物昆虫学会大会，2014 年 3 月 26－28 日，高知市.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　森川 茂

概　要

当部は、戸山庁舎に配置され、第 1 室、第 2 室、第 3 室で構成される。現在、第 1 室はブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、動物モルビリウイルス感染症を、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 25 年度は、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」の継続が認められ、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 ウイルスのマダニ、動物での生態に関する研究業務を遂行した。第 1 室は、ブルセラ症の血清診断法を用いて犬の血清疫学調査を継続的に実施している。国内だけでなく台湾での犬の血清疫学調査を行った。また、無尾類に由来するブルセラ属菌を分離し遺伝的解析を行っている。カプノサイトファーガ感染症では、患者の発生状況調査により、今年度には確定患者を 13 名把握し、中高年齢者が多く、基礎疾患が無くても発症することなどが明らかになった。動物モルビリウイルスでは、新規に同定されたネコモルビリウイルスのリスクを解明する第 1 段階として、国内のネコモルビリウイルスの疫学的研究を開始した。半世紀にわたって狂犬病の報告が無かった台湾で2013年7月に在来の野生動物（イタチアナグマ）での狂犬病の流行が国際獣疫事務局（OIE）に公式報告された。これを受けて、第 2 室では、国内の狂犬病のリスク管理手法等の研究を行った。また、ベトナム・フィリピン・タイ等との連携構築も継続的に行っている。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。また、未分類ラブドウイルスの遺伝子解析を行った。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 2 名　斉藤　隆一（東京都動物愛護相談センター）鈴木　由紀（日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻）が入所した。また、客員研究員 2 名　協力研究員 4 名　及び研究生 2 名（Neekun Sharma、岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士課程、谷口怜、東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程）が退所した。

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 3 名の博士課程大学院生が所属した。岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士課程の Neekun Sharma が「日本における野兎病の血清疫学調査と野兎病菌の病原性に関する分子生物学的研究」で、東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程の谷口怜が「フィリピンにおける翼手目及び霊長類の動物由来新興感染症に対する血清学的・疫学的研究」でそれぞれ博士号を取得した。

業　績

調査・研究

I. ブルセラ症に関する研究

１．ブルセラ症の診断法の開発に関する研究

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し、比較を行った。国内のイヌでは、2,318 頭中 115 頭（5.0％）が抗体陽性であった。そのうち、500 検体前後調査した中では、神奈川県の 2.5％に比較して、東京都は 7.9%と陽性率が高くなっていたが、近年は、陽性率の低下傾向が認められた。台湾

については、63 検体調査して抗体陽性 1 頭、陽性率 1.6%と、日本よりも低くなっていた。また、国内のイヌについて *B. canis* が尿中に排菌されイヌ間での感染原因となっている可能性を検討するため、膀胱尿および尿道（雄）・膣（雌）スワブを採取し、ブルセラ菌特異的遺伝子検出を行った。その結果、抗体陽性イヌ 2 頭の尿、抗体陰性イヌの膣スワブ、血清、各 1 頭ずつより、*B. canis* 特異的遺伝子が検出された。市中のイヌ間での感染伝播において、尿が感染源となっている可能性が示唆された。[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、久保田菜美、齋藤隆一（東京都動物愛護相談センター）、柳井徳麿（岐阜大学･獣医病理学教室）、慕蓉蓉（台湾 CDC）]

２．無尾類に由来するブルセラ属菌の分離と解析

近年、無尾類に由来する未記載種のブルセラ属菌が分離され、ヒトと家畜への感染の可能性が示唆された。日本国内の無尾類について、ブルセラ属菌保有の有無を確認するため、遺伝子検出と菌分離を実施した。ペット用に輸入された外国産と在来種の無尾類より臓器サンプルを採材し、ブルセラ特異的 PCR による遺伝子検出および菌分離を実施した。分離株については、16S rRNA 遺伝子による系統解析、さらにハウスキーピングジーン 9 座による多座遺伝子タイピング（MLSA9、計 4,396bp）を行った。イエアメガエルおよびデニスフロッグの臓器サンプルが PCR 陽性となり、これらサンプルより各々1 株、計 2 株の分離株を得た。遺伝子解析の結果、分離株 2 株は、互いに異なっているものの、旧知のブルセラ属菌とは分子系統的に異なり、どちらも、ヒトブルセラ症の原因となる *B. inopinata* および、近年、報告されたアフリカ産の無尾類の分離株に近縁なブルセラ属菌であることが判明した。 [木村昌伸、鈴木道雄、森川茂、今岡浩一（感染研･獣医科学部）、宇根有美（麻布大学･病理学研究室）]

II. カプノサイトファーガ感染症に関する研究

1. カプノサイトファーガ感染症の調査研究

カプノサイトファーガ属菌はイヌやネコの口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。特に *Capnocytophaga canimorsus* が臨床的に重要で、ヒトがイヌやネコに咬傷・掻傷（以下、咬掻傷）を受けた際に傷口から感染する。1）国内臨床分離株の遺伝子シーケンス解析、2）哺乳類培養細胞上清の *C. canimorsus* 増殖促進効果の解析、3）*C. canimorsus* 感染症患者発生状況の 3 点について研究を行った。前 2 点の実験的項目では、1）では *gyrB* 遺伝子が有用であること、2）ではイヌマクロファージ系細胞である DH82 細胞の培養上清が *C. canimorsus* の増殖を促進することを明らかにし、3）の検査診断および疫学的項目では、患者血清からの *C. canimorsus* 特異的 DNA 配列の検出による 2 例の診断を含め、平成 25 年度 13 例、累計 48 例（うち死亡例 11 例）の患者報告を把握し、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、国内ではネコ咬掻傷の割合が海外より高いことなどを明らかにした。[鈴木道雄、木村昌伸、森川茂、今岡浩一]

III. ネコモルビリウイルスに関する研究

１．国内のネコモルビリウイルスの疫学的研究

2012 年香港のネコから新規モルビリウイルス(FMV)が分離された。2013 年には日本でも FMV 遺伝子が検出されたことから、感染状況等を明らかにするため、FMV の分子・血清疫学調査を行い、さらに感染ネコの FMV の遺伝子解析を行った。東京都動物愛護相談センターに収容されたネコ 87 匹の尿および腎組織から RNA を抽出し、RT-PCR によりウイルス遺伝子を検出した。FMV 特異抗体の検出には、FMV-NP 発現 HeLa 細胞を抗原とする IF 法を開発し、ネコ血清中の抗体の有無を調査した。また、腎組織で病理組織学的検査を実施した。尿中の FMV 遺伝子陽性 3 例の全塩基配列を決定した。その結果、19 匹(21.8%)が尿または腎組織で FMV 遺伝子陽性で、16 匹(18.4%)が抗体陽性であった。遺伝子陽性 7 匹中 6 匹、陰性 17 匹中 9 匹で軽度から重度の間質性腎炎が認められた。FMV は N-P/V/C-M-F-H-L の 6 遺伝子を持つが、P 遺伝子がウイルス株間で最も多様性が認められた。日本株と香港株間では、塩基で 88.6～99.6%、アミノ酸で 85.9～99.8%の相同性を示した。アミノ酸配列による分子系統樹解析では、日本株は香港株とは異なる cluster を形成した。また、日本の 1 株は、日本株に香港株型の F から H 遺伝子領域が組換えられたことが遺伝子組換解析アルゴリズムで推定された。 [朴ウンシル、今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、森川茂（感染研・獣医科学部）、水谷浩志、久保田菜美、齋藤隆一、丸山啓二（東京都動物愛護相談センター）、古谷哲也、水谷哲也（農工大）]

IV. 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

我が国と同じく半世紀にわたって狂犬病の報告が無かった台湾で 2013 年 7 月に在来の野生動物（イタチアナグマ）に狂犬病の流行していることが国際獣疫事務局（OIE）に公式報告されたことを受けて、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）、野生動物の専門家等の協力を得て国内で可能な動物の狂犬病調査を試行･検証して､我が国の実情に合った『動物の狂犬病調査ガイドライン』をとりまとめた。[井上 智、堀田明豊、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂 ; 羽山伸一、加藤卓也（日本獣医生命科学大学獣医学部野生動物学教室)､浦口宏二(北海道立衛生研究所)、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所）、栗原八千代、木村哲子（東京都動物愛護相談センター）、矢野さやか（徳島県危機管理部動物愛護センター）、佐藤克（狂犬病臨床研究会）、朴天鎬（北里大学獣医学部病理学教室）、協力自治体（北海道、青森県、栃木県、千葉県、東京都、新潟県、富山県、滋賀県、兵庫県、岡山県、徳島県、愛媛県、福岡県、熊本県、宮崎県、鹿児島県、沖縄県、小樽市、岡崎市）]

2. 狂犬病のリスク管理手法に関する研究

台湾で発生したイタチアナグマの狂犬病について台湾の専門家と情報共有・状況分析を行った。台湾の狂犬病はイタチアナグマ特異的に流行しており他の動物種への流行拡大は見られていない。しかしながら、イタチアナグマに咬まれて狂犬病を発症したイヌが 1 頭報告されており飼い主不定の野犬等によるヒトへの感染リスクが危惧されている。野生動物で狂犬病が発生した場合でもヒトの健康危害リスクの低減にはイヌ対策の重要なことが明らかとなった。現在、都道府県等自治体では『狂犬病対応ガイドライン 2013』に基づいた狂犬病の体制整備を進めており、宮崎県が宮崎大学と連携して近隣県と共に行っている大学施設を利用した解剖・検査実習に参画してガイドラインで想定している発生時対応について自治体の現状把握・課題について意見交換等を行った。[井上智、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂 ; 費昌勇（台湾大学獣医学院）、三澤尚明（宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター）、山田健太郎（大分大学医学部全学研究推進機構重点研究推進分野）、協力自治体（宮崎県、福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県、鹿児島県、沖縄県）]

3. 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、NIHE と地域ラボの検査ネットワークを強化するための狂犬病に関する疫学・臨床・検査および安全なウイルスの取扱いと移動に関するバイオセーフティ等の研修を行った。また、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生ウイルスを使用しない安全・簡便な狂犬病ウイルス（RABV）中和抗体測定法を構築して狂犬病ワクチンを接種したイヌとヒトの血清中中和抗体を測定したところ、感度・特異性ともに国際標準法である RFFIT 法とそん色ない成績が得られた。[井上 智、加来義浩、野口 章、奥谷晶子、濱本紀子、森川 茂 ; Nguyen Vinh Dong, Nguyen Tuyet Thu, Ngo Chau Giang, Nguyen Thi Kieu Anh（NIHE）]

4. 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 G 蛋白質の糖鎖付加が街上毒と固定毒で異なることに注目して、Kyoto 株（街上毒）G 蛋白質の第 204 位のアミノ酸配列を組換えて CVS-26 株（固定毒）G 蛋白質と同様に糖鎖を付加させたところ、細胞質内にのみ局在していた G 蛋白質が細胞膜に分布するようになった。街上毒が固定毒化において G 蛋白質第 204 位への糖鎖付加を獲得して細胞膜からのウイルス内分布に関与している可能性が示唆された。[濱本紀子､宇田晶彦、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂、井上 智 ; 飛梅実（感染病理部）]

5. 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

表皮の抗原提示細胞を利用した高い免疫抗体の誘導と接種時の痛み軽減が期待できる MN 法による狂犬病ワクチン開発を行うために狂犬病ウイルス抗原の皮内接種実験モデルをマウスで構築した。予備実験で、狂犬病ウイルス抗原を皮内接種すると皮下接種時よりも高い中和抗体価を誘導できることが明らかとなった。現在、マウス皮内接種用の狂犬病ウイルス抗原塗布 MN の作成を行っている。[野口 章、井上 智、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂 ; 内藤誠之郎（品質保証・管理部）]

6. 狂犬病の曝露後ワクチン接種による免疫誘導効率に関する研究

国内で認可されているヒト用狂犬病ワクチンによる曝露後の接種回数は 6 回が推奨されているが、海外では WHO による 5 回が行われている。そこで、同意を得た通院患者を対象に現行のワクチンを使用した暴露後接種後の血清中和抗体価の値について知見を集めている。[山元 佳（国際医療研究センター）; 野口 章、井上 智、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂]

V. 炭疽に関する研究

1. ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Health and Environments：NIHE)との炭疽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

ベトナムの北部山岳地帯で 2011 年から 2013 年に発生した炭疽の発生事例から分離された炭疽菌株から抽出された DNA を用いて、80 カ所の SNP (Single Nucleotide Polymorphism)による系統解析を行い、患者分離株は日本やモンゴルなどのアジア諸国で分離される A3 クラスターに分類される一方、市販食肉分離株は西ヨーロッパや北アメリカで分離される菌株と同じ遺伝学的クラスター(A1 クラスター）に分類されることを明らかにした。[奥谷晶子、森川茂、井上 智；Hoang Thi Thu Ha（NIHE）]

2. 土壌からのセレウス菌の分離および遺伝学的系統解析

7 種類の遺伝子解読データを元にした系統解析により、土壌由来であるものの臨床由来と近縁であるセレウス菌をこれまでに 4 株同定した。このうちの 2 株をイルミナ社 MiSeq を用いて 250bp×2 の Paired Ends によるフルゲノム解読を行い、既知の臨床由来・食中毒事例由来のセレウス菌および炭疽菌ゲノムとのリシークエンス解析を行ったところ、溶血性関連遺伝子群など複数の既知の病原性関連遺伝子が土壌由来のセレウス菌のゲノム上にコードされていることを確認した。今年度はこれまでに採取が困難であった北海道の乳牛牧場周辺および養豚場周辺と山岳地域等、新たに 7 地域より Bacillus cereus group 菌種群 65 株を分離・同定し、菌株ライブラリへの登録を行った。[奥谷晶子、井上 智、森川 茂]

3. Anti Microbial Peptides の炭疽菌抗菌効果の検証

炭疽菌芽胞、栄養型および莢膜発現菌体に対する Antimicrobial Peptides (AMP)の抗菌効果を以下の 3 点に焦点を当てて検証した。1 つめは炭疽抵抗性/感受性動物由来 AMP の炭疽菌への効果をみたが、動物種差による AMP の効果の差はみられなかった。2 つめは、AMP の立体構造の違いによる炭疽菌への効果の検証では、β シート構造をもつ豚由来の Protegrin-1 の抗菌効果が高いことが明らかとなった。3 つめは、炭疽菌の異なる菌形態に対する AMP の効果をみたところ、芽胞と栄養型細胞では芽胞の方が、莢膜型と栄養型では莢膜型の方が AMP に対する抵抗性が高いことが明らかとなり菌外膜の形状の差による AMP への感受性の差があることが示唆された。

[奥谷晶子、井上 智、森川 茂]

VI. その他のラブドウイルス及びヘニパウイルスに関する研究

1.ヘニパ関連ウイルスのサーベイランス手法の開発を目的としたウイルスゲノムの解析

近年、アジア・アフリカ・南米のコウモリ類に、既存のヘニパウイルスとは遺伝学的に大きく異なるウイルス群（ヘニパ関連ウイルス）の存在が確認された。同ウイルス群については、これまでウイルス分離はなされておらず、ウイルスゲノムの一部が解析されているにすぎない。同ウイルス群の検出・診断法を開発する資材を得るため、コウモリ由来材料からヘニパ関連ウイルスゲノムの cDNA クローニングを試みた。検体として、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター（CZC）より分与されたインドネシア産オオコウモリの脾を用いた。同検体からは、すでに CZC がヘニパ関連ウイルスゲノムを検出し、N 蛋白質遺伝子の 433 塩基、L 蛋白質遺伝子の 1,829 塩基の配列を明らかにしていることから、本課題では、まず両領域間の約 10-12K 塩基と予想される範囲を RT-PCR で増幅することを目指した。L 蛋白質遺伝子 5'末端近傍のヘニパウイルス間で保存性の高い領域に、新たに degenerate プライマーを設計し、L 蛋白質の既知配列由来プライマーとともに nested RT-PCR を行った。その結果、遺伝子の増幅が確認され、シークエンシングにより 1,152 塩基の配列を決定した。続いて、L 蛋白質 5'末端近傍に複数のプライマーを設計し、M 蛋白質 3'末端近傍の複数の degenerate プライマーとともに nested RT-PCR を行ったが、これまでに遺伝子の増幅は確認できていない。現在、さらに複数のプライマーを設計するとともに、PCR の温度条件を変更するなどして、M-L 間領域の増幅を目指している。[加来義浩、野口章、奥谷晶子、井上智、森川茂]

2. 国内で分離された未分類のラブドウイルスの遺伝学的解析

1972 年に大分県で採取されたコウモリから分離されたオオイタウイルス（OITAV）は、乳のみマウス脳内接種で致死的な脳炎をおこすが、公衆衛生学的なリスクは不明である。電子顕微鏡像および部分的な遺伝子解析によりラブドウイルス科に分類されているが、属は未分類である。これまでウイルス学的／遺伝学的な研究が進展していなかったことから、本課題で感受性細胞の探索と、遺伝学的解析を行った。まず OITAV の感受性細胞を調

べるために、まず複数の哺乳動物細胞に接種してウイルスの増殖を調べた。OITAV を、マウス神経芽腫由来 MNA 細胞およびハムスター肺由来 HmLu-1 細胞に接種したところ、細胞変性効果が確認できたことから、両細胞が OITAV に感受性であることが明らかになった。続いて、OITAV の培養上清あるいは精製ウイルスから RNA を抽出し、既知配列から設計した複数のプライマーを用いて RT-PCR を行い、ゲノム cDNA のクローニングを試みた。これまでに、N－L 遺伝子を含む 6,000 塩基超の領域をクローニングした。分子系統解析の結果、未分類の複数のラブドウイルスと同じクラスターに属していたが、とくにアフリカのコウモリ由来ウイルスである Fikirini rhabdovirus と Mount Elgon bat virus に近縁であった。今後、RNA からランダムプライマーで cDNA を合成し、次世代シークエンサーMiseq により解析を行う。OITAV の感受性細胞が明らかになったことで、今後のウイルス学的研究の進展が期待できる。[加来義浩、野口章、奥谷晶子、井上智、森川茂]

VII. 野兎病に関する研究

1. 野兎病の血清診断法の意義に関する研究

野兎病血清診断法である凝集反応試験にて陽性を呈す血清の役割検討のため、血清等存在下における J774.1 細胞の野兎病菌取り込み率を測定した。菌取り込み率は、抗体無添加培地と比較して、凝集能を有す精製野兎病菌 LPS 認識モノクローナル抗体 0.256μg/ml、ラット感染血清（凝集価 160 倍）およびウサギ免疫血清（凝集価 320 倍）1%存在下では 10 から 100 倍に増えた。しかし菌の増殖性には変化は認められず、接種後 22 時間で細胞内菌量は 10 倍以上増殖した。マウス感染血清（凝集価 10 倍未満）および各種動物正常血清 1%存在下では菌取り込み率の変化は認められなかった。これより凝集能を有す抗体はマクロファージの菌貪食率に関与する可能性が示唆された。

[堀田明豊、宇田晶彦、藤田修、山本美江、森川茂]

VIII. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する研究

1. 日本国内における SFTS ウイルス陽性マダニの疫学調査

全国の自治体で採材して頂いた植生マダニ（植物に付着し、動物やヒトを待ち構えているマダニ）について SFTS ウイルス保有状況について調査を実施した。その結果、複数のマダニ種（タカサゴキララマダニ、フタトゲチマダニ、キチマダニ、オオトゲチマダニ、ヒゲナガチマダニ等）から、SFTSV 遺伝子が検出されたが、ウイルスコピー数は一様に低かった（10 から 100 コピー/匹）。しかしながら、既に患者の報告されている西日本をはじめ、患者が報告されていない地域でも SFTSV 保有マダニは確認された。このことから、患者が発生していない地域でも SFTS 患者発生のリスクが有る事が確認された。

[宇田晶彦、森川茂、木村昌伸、加来義浩、朴ウンシル、藤田修、鈴木道雄、井上智、今岡浩一、藤田博巳（馬原アカリ医学研究所）、高田伸弘（福井医療短期大）、新倉綾（動物）、福士秀悦（ウ 1）、下島昌幸（ウ 1）、吉河智城（ウ 1）、安藤匡子（ウ 1）、谷秀樹（ウ 1）、安藤秀二（ウ 1）、西條政幸（ウ 1）、川端寛樹（細 1）、澤邉京子（昆虫）、高野愛（山口大）、前田健（山口大）、柳井徳磨（岐阜大）]

2. SFTS 患者を吸血したマダニにおけるウイルス量の検討

2 名の SFTS 患者に付着し吸血した 2 匹のフタトゲチマダニから RNA を抽出し SFTS ウイルスの遺伝子検出を試みた。この結果、2 匹のフタトゲチマダニは 10^8~10^9 コピー/匹のウイルス量を保持しており、未吸血の植生マダニと比較して有意に高いウイルス量を保持している事が明らかとなった。また、SFTS 患者に付着し飽血したフタトゲチマダニに産卵させ得られた卵についてウイルス遺伝子検出を試みたところ、10 個中 5 個がウイルス遺伝子陽性（10^3~10^4 コピー/卵）となり、フタトゲチマダニにおいて垂直感染している可能性が示唆された。

[宇田晶彦、森川茂、木村昌伸、加来義浩、朴ウンシル、藤田修、鈴木道雄、井上智、今岡浩一；藤田博巳（馬原アカリ医学研究所）；高田伸弘（福井医療短期大）；新倉綾（動物管理室）；福士秀悦、下島昌幸、吉河智城、安藤匡子、谷秀樹、安藤秀二、西條政幸（ウイルス第 1 部）；川端寛樹（細菌第 1 部）；澤邉京子（昆虫医科学部）；高野愛、前田健（山口大）；柳井徳磨（岐阜大）]

2. 自然界における SFTS ウイルスの維持様式の検討

SFTS はマダニ媒介性感染症であるが、ヒト等への感染に関与するマダニの種類、自然界での SFTS ウイルスの維持様式は不明である。そこで、国内で 11 月から翌年 1 月にかけて捕獲したニホンジカ体表より採取した各種マダニの SFTS ウイルス遺伝子の検出を行った。その結果、チマダニ属マダニの陽性率が高く、現在まで SFTS 患者の発生がない地域を含めた全調査地で高い陽性率を示した。また、シカ付着マダニでは、植生マダニと比較

してウイルス RNA 量が有意に高い例があった。これらの結果から、日本の自然界における SFTS ウイルスの維持には、少なくともニホンジカとそれに依存するチマダニ属マダニが深く関与していると推察された。[藤田修、宇田晶彦、木村昌伸、藤田博己（馬原アカリ研）、今岡浩一、森川茂]

3. 国内の動物からの SFTS ウイルス抗体の検出

国内の動物から ELSIA 及び間接蛍光抗体法で SFTS ウイルス抗体を検出した結果、シカでは、17 自治体（福岡、熊本、宮崎、鹿児島、島根、広島、山口、徳島、愛媛、三重、滋賀、京都、兵庫、和歌山、長野、静岡、宮城県）で SFTSV 抗体陽性のシカが確認された。イヌでは、10 自治体（熊本、宮崎、鹿児島県、徳島、香川、愛媛、高知県、三重、富山、岐阜県）で抗体保有動物が存在した。イノシシでは、8 自治体（熊本、鹿児島県、徳島、香川、愛媛、高知、広島県）で抗体陽性動物が確認された。

[森川茂、木村昌伸、堀田明豊、加来義浩、朴ウンシル、鈴木道雄、野口章、井上智、今岡浩一（獣医科学部）；福士秀悦、吉河智城、谷英樹、下島昌幸、西條政幸（ウイルス第 1 部）；柳井徳磨（岐阜大）；前田健（山口大学）]

4. 国内の野生動物における SFTS ウイルス抗体保有のさかのぼり調査

日本各地で抗 SFTS ウイルス抗体陽性動物が確認されているが、いつから存在したかは不明である。そこで、1980 から 2007 年に本州、四国および九州で捕獲した 10 動物種の血液由来 893 検体を抗体検査に供試したところ、2005 から 2007 年に四国および九州で採取されたノウサギ 6 検体に陽性が認められた。一方、他の 887 検体に陽性は認められなかった。四国および九州の環境中に少なくとも 2005 年から SFTS ウイルスが存在した可能性が示された。他の検体で陽性が認められなかったことから、検体の採材時には当該地域に SFTS ウイルスがあまり広く分布していなかった可能性が考えられる。

[堀田明豊、木村昌伸、今岡浩一、鈴木道雄、朴ウンシル、中村幸子（兵庫県立大）、片山敦司（野生動物保護管理事務所）、中下留美子（森林総合研）、坪田敏男（北大）、猪島康雄（岐阜大）、棚林清（バイオリスク管理室）宇田晶彦、藤田修、山本美江、山田章雄（東大）、森川茂]

IX. その他の研究

1. 国内の One Health の実践に関する研究

One Health について国内の獣医師、内科医師および内科以外の医師の 3 グループ各 100 名にアンケート調査を実施した。One Health の 「意味を理解している」という回答は 1 割で、殆どが「聞いた事がない」と回答した。その意味の説明後、回答者の 8 割が One Health の理念を「理解できる」と回答した。One Health の実践は必要か、その実践はズーノーシス対策に有効か、その実践には医学と獣医学の交流が必要か、その実践は行政機関でも進めるべきか、という設問に対し肯定的な回答が多かった。全設問において獣医師は医師と比較し、One Health の実践に前向きな回答が多かった。One Health はまだ広く認知されていないが、説明により多くの関係者に理解し得る理念であることが示された。

[堀田明豊、棚林清（バイオリスク管理室）、山田章雄（東大）、森川茂]

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、井上智、森川茂）

動物由来感染症レファレンスセンターに所属している 7 カ所の地方衛 生研究所（山形県、東京都、愛知県、京都府、広島県、徳島県、長 崎県）の参加協力のもと、今年度は炭疽菌遺伝子検査で用いる PCR 検査系の検出限界の算定を行った。これは平成 24 年度に「炭疽 菌および近縁菌を用いたブラインド・テスト」を行い、参加衛生研究所での PCR 検査系が稼働することを確認した上で、次のステップとして各施設で使用する機器における当該検査系の検出限界の算定を検 証する必要性があげられたため実施したものである。本年度は 6 カ所の地方衛生研究所に検査系の検証の協力をいただき、全ての施設において炭疽菌芽胞換算で 1 から 100 個あたりの検 出限界を保持していることが明らかとなった。

2. 行政検査・依頼検査等

今年度は以下の行政検査・依頼検査等を実施した。

1) ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査および依頼検査：4 件(行)、1 件(依) [木村昌伸、今岡浩一]
2) カプノサイトファーガ感染症疑い患者由来菌株の依頼検査：１４件(依) [鈴木道雄、今岡浩一]
3) 鼠咬症疑い患者検体の行政検査および依頼検査：１件(行)、２件(依) [木村昌伸、今岡浩一]
4) 野兎病疑い患者検体の行政検査 2 件 [藤田修、堀田明豊]

5) 野兎病菌疑い検体の行政検査1件 [藤田修、堀田明豊]

国際協力関係業務

I. ベトナム協力

1.JICA による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への短期専門家

1) ベトナム NIHE の炭疽専門家とともに、ベトナムの炭疽発生地域である北部山岳地帯の中心的な検査機関である YenBai 市 Province Centre for Preventive Medicine(PCPM)において、JICA-NIHE プロジェクトの短期派遣専門家として炭疽菌バイオセーフティおよび GMT 研修指導を、奥谷主任研究官が行った。
2) ベトナム NIHE の狂犬病専門家とともに、地域研究所（ホーチミンパスツール研究所：PIHCMC、タイグエン衛生疫学研究所：TIHE、ニャチャン・パスツール研究所：PINT）及び PCPM（省予防医療センター）を対象とした狂犬病の実験室検査法に係る SOP、研修マニュアル開発、ラボラトリーネットワークの構築強化、GMT 実験室診断の外部評価法等について研修指導を、井上第 2 室長が行った。
3) JICA-NIHE プロジェクトによる本邦研修（H25 年 8 月 25 日～9 月 21 日）において、ベトナム NIHE・PIHCMC・TIHE・PINT から派遣された研修生への狂犬病に関す講義を、井上第 2 室長が担当した。

2. ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）へのブルセラ症の検査法の技術移転･支援

NIHE でブルセラ症の検査を実施可能とするために、遺伝子検出法(combinatorial-PCR)および抗体測定法(MAT)の実施に関する技術支援・情報提供および検査用抗原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

1. 台湾で流行が摘発されたイタチアナグマの狂犬病に関する関連会議等（H25 年 8 月 28 日-9 月 1 日：International Expert Meeting–Challenges and Opportunities in the Prevention and Control of Rabies、H25 年 10 月 1 日-4 日：2013 年狂犬病予防制御国際検討会議、H25 年 10 月 20 日-23 日：台湾における狂犬病制御ワークショップ）に参加して狂犬病の診断や対策の方法等について意見交換・情報共有・技術提供等を、井上第 2 室長が行った。

2. 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. タイ協力（H25 年 9 月 14 日-17 日）

タイ国・チェンマイ大学の狂犬病チームが関係機関等と進めている狂犬病制御に関する研究のプロジェクトに参加して最新知見に関する講演・意見交換および野外調査に同行して活動への助言等を､井上第 2 室長が行った。

III. 韓国協力（H26 年 2 月 11 日-14 日）

韓国のソウル大学および農林畜産検疫本部において、狂犬病の専門家とタヌキで流行している狂犬病の対策現状等について情報共有すると共に野生動物の狂犬病に対するサーベイランス手法等について意見交換を、井上第 2 室長が行った。

研修業務

1) 今岡浩一. 動物由来感染症について. 平成 25 年度国立感染症研究所･医師卒後臨床研修. 国立感染症研究所, 2013 年 10 月 22 日
2) 井上智. 動物由来感染症。平成 24 年度 JICA 集団研修「獣医技術研究（Research on Veterinary Technology）」。2013 年 4 月 11 日、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所、つくば、茨城県。
3) 井上智. 世界における狂犬病の実際と我が国に必要な予防対策について。動物愛護管理関係研修会。2013 年 6 月 14 日、栃木県動物愛護指導センター、宇都宮市、栃木県。
4) 井上智. 台湾での狂犬病発生事例について。平成 25 年度第 1 回徳島県動物由来感染症対策検討会。2013 年 8 月 5 日、徳島県危機管理部県民くらし安全局、徳島市、徳島県。
5) 井上智. 公衆衛生における人獣共通感染症の疫学。家畜衛生講習会（獣医疫学特殊講習会）。2013 年 10 月 1 日、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所、つくば市、茨城県。
6) 井上智. 日本への狂犬病侵入について（狂犬病ガイドライン 2013）。平成 25 年度県民公開講座。2013 年 10 月 19 日、静岡県獣医師会・公衆衛生部会、静岡市、静岡県。

7) 井上智. 台湾における動物の狂犬病について。平成 25 年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会。厚生労働省健康局結核感染症課。2013 年 11 月 1 日、赤坂区民センター区民ホール、港区、東京都
8) 井上智. 台湾での発生を受けて：(I) 狂犬病ガイドライン 2013（獣医師の役割)。平成 25 年度大阪府獣医師会三部会合同・狂犬病予防対策研修会、大阪府獣医師会。2013 年 11 月 30 日、大阪コミュニケーションアート専門学校、大阪市、大阪府
9) 井上智. 狂犬病清浄国であった台湾での再興について（世界に広がる狂犬病を知って、備えあれば憂いなし)。平成 25 年度狂犬病予防注射指定獣医師等研修会、岩手県獣医師会。2013 年 12 月 4 日、ホテル東日本、盛岡市、岩手県
10) 井上 智。狂犬病の現状と今後の課題。狂犬病予防対策に関する講習会、埼玉県獣医師会。2013 年 12 月 12 日、大宮法科大学院大学、さいたま市、埼玉県
11) 井上 智。狂犬病。平成 25 年度希少感染症診断技術研修会（その他重要なトピック)。厚生労働省健康局結核感染症課・国立感染症研究所。2014 年 2 月 20 - 21 日、国立感染症研究所・共用第一会議室、東京都
12) 井上智. 危機管理（海外の狂犬病対策)。九州地区狂犬病防疫講習講義・実習。宮崎大学農学部・宮崎県福祉保健部。2014 年 2 月 17 - 19 日、宮崎大学農学部獣医棟、宮崎県
13) 井上智. 狂犬病の最新情報。平成 25 年度全国動物管理関係事業所協議会近畿ブロック会研修会。2014 年 2 月 28 日、全国動物管理関係事業所協議会近畿ブロック会、中央公会堂、大阪市
14) 井上智. 狂犬病（台湾での発生を受けていまなすべきこと)。狂犬病予防技術研修会。2014 年 3 月 3 日、沖縄県環境生活部生活衛生課、自治会館、沖縄県
15) 井上智. 狂犬病対策（台湾での発生を受けて)。狂犬病予防対策研修会。2014 年 3 月 23 日、富山県獣医師会・狂犬病予防対策委員会、ボルファートとやま、富山市、富山県
16) 奥谷晶子. 平成 25 年 4 月 18 日に FETP15 期生対象の初期研修において動物由来感染症についての講義を行った。
17) 奥谷晶子.平成 25 年 7 月 2 日に岩手大学農学部において「細菌性人獣共通感染症について 炭疽」に関する講義を行った。
18) 奥谷晶子.平成 25 年 10 月 5 日の研究所一般公開 サイフェンスカフェにおいて獣医師の職務等について参加者との討論を行った。
19) 奥谷晶子.平成 25 年 12 月 18 日に東京都府中市の警察大学校において全国のテロ対策に従事する警察官を対象に、生物剤に関する基礎知識(特に炭疽菌について)の講義を行った。
20) 堀田明豊. 野兎病の概要と検査法、家畜衛生研修会（病性鑑定 : 細菌部門） 2013 年 10 月 22-25 日 動物衛生研究所（茨城）
21) 堀田明豊. 狂犬病の検査に関わるバイオセーフティ上の注意点等、平成 25 年度狂犬病予防業務担当者会議 2014 年 2 月 5 日（東京）
22) 堀田明豊. One Health の実践へのアプローチ、鳥インフルエンザ防疫システムの構築「One Health の実践による感染症制御の新戦略」平成 25 年度アドホック委員会 2014 年 2 月 13 日（東京）
23) 堀田明豊. One Health の理念と狂犬病の検査に関わるバイオセーフティについて、狂犬病検査研修会 2014 年 3 月 4 日（沖縄）

II. その他の協力

1. 国内の獣医系大学の学部生の学生実習

平成 25 年 8 月 26 日～8 月 30 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 25 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 6 名（麻布大学、北里大学、酪農学園大学）を対象として実施した（獣医科学部、国際協力室)。

2. 岐阜大学大学院連合獣医学研究科・獣医学特別実験III

平成 25 年年 11 月 26 日～29 日に、岐阜大学大学院連合獣医学研究科大学院博士課程学生 6 名を対象とした研修・講義を、2013 年 11 月 26 日～29 日まで感染研にて実施した。

競争的外部資金

厚生労働省科学研究費補助金

I. 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

1) 「動物由来感染症の対応に関する研究」（H25-新興-一般-008）（研究代表者：森川茂）研究分担：井上智、宇田晶彦

2) 「SFTS の制圧に向けた総合的研究」（H25-新興-指定-009）（研究代表者：倉田毅）研究分担：森川茂
3) 「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究」（H23-新興-一般-007）（研究代表者：倉田毅）研究分担：森川茂
4) 「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」（H25-新興-指定-002）（研究代表者：宮崎義継）
5) 「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）（研究代表者：倉根一郎）研究分担：森川茂、今岡浩一、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）（研究代表者：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）（研究代表者：苅和宏明）研究分担：今岡浩一、井上智
8) 「病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究」（H26-新興-一般-013）（研究代表者：西條政幸）研究分担：奥谷晶子
9) 「防疫上緊急対応を要する一類感染症や新興・再興感染症に対する予防・診断・治療法に関する研究」（H25―新興-一般-004）（研究代表者：下島昌幸）研究分担：加来義浩、森川茂

II. 創薬基盤推進研究事業

1) 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的研究（KHC1216）（（研究代表者：倉田毅）研究分担：森川茂

文部科学省

1) 基盤研究（C)「国内で分離されるセレウス菌の網羅的分類とゲノム解析による病原性関連遺伝子の探索（25460556)」(奥谷晶子)
2) 基盤研究（C)「細胞内発現する人工小型抗体」封入ナノ粒子の血中投与による狂犬病治療法の開発（33803500)」(加来義浩)
3) 基盤研究（C)「新種のブニヤウイルスとラブドウイルスによる新興人獣共通感染症のリスク評価（10105400)」(森川茂）研究分担：加来義浩
4) 文部科研費若手研究(B)　平成 23 年～平成 25 年「野兎病菌病原因子 PdpC タンパク質の機能解析（23790489)」(宇田晶彦)
5) 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（森川茂）

発 表 業 績 一 覧

I. 誌　上　発　表

１．　欧文発表

1) Saito, M., Oshitani, H., Orbina, J.R.C., Tohma, T., de Guzman A.S., Kamigaki,T., Demetria, C.S., Manalo, D.L., Noguchi A., Inoue, S., Quiambao, B.P. Genetic Diversity and Geographic Distribution of Genetically Distinct Rabies Viruses in the Philippines. PLoS Ne.Trop.Dis., 2013, 7 e2144
2) Nguyen, A.T.K., Nguyen, T.T., Noguchi A., Nguyen, D.V., Ngo, G.C., Thong, V.D., Olowokure, B., Inoue, S... Bat Lyssaviruses, Northern Vietnam. EID, 2014, 20:161-163.
3) Sharma N, Hotta A, Yamamoto Y, Uda A, Fujita O, Mizoguchi T, Shindo J, Park C-H, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamada A, Morikawa S, Tanabayashi K. Serosurveillance for Francisella tularensis among wild animals in Japan using a newly developed competitive ELISA. Vector borne Zoonotic Dis. 2014, 14: 234-239.
4) Hotta A, Fujita O, Uda A, Sharma N, Tanabayashi K, Yamamoto Y, Yamada A. and Morikawa S. In vitro Antibiotic Susceptibility of Francisella tularensis isolates from Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 2013, 66(6):534-6.
5) Fujita O, Hotta A, Uda A, Yamamoto Y, Fujita H, Shinya F, Asano S, Morikawa S, Tanabayashi K, Yamada A.Identification of the source of Francisella tularensis infection by a multi-locus variable-number tandem repeat analysis. Jpn. J. Infect. Dis. 2013, 66(6):543-5.
6) Arai S, Nguyen ST, Boldgiv B, Fukui D, Araki K, Dang CN, Ohdachi SD, Nguyen NX, Pham TD, Boldbaatar B, Satoh H, Yoshikawa Y, Morikawa S, Tanaka-Taya K, Yanagihara R, Oishi K.　Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam.　Emerg Infect Dis. 2013, 19(7):1159-61.
7) Sunohara M, Morikawa S, Fuse A, Sato I. Role of

promoter element in c-mpl gene expression induced by TPO. Okajimas Folia Anat Jpn. 2013, 89(4):131-5.

8) Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, and Takeda M. Canine Distemper Virus Associated with a Lethal Outbreak in Monkeys Readily Adapted to Use Human Receptors. J Virol. 2013, 87(12):7170-5.

9) 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

10) Neekun Sharma, Akitoyo Hotta, Yoshie Yamamoto, Osamu Fujita, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa, Akio Yamadaa, Kiyoshi Tanabayashia . Detection of *Francisella tularensis*-specific antibodies in patients with tularemia using a novel competitive enzyme-linked immunosorbent assay. Clinical and Vaccine Immunology, 2013 20(1): 9-16

11) Yamanaka A, Iwakiri A, Yoshikawa T, Sakai K, Singh H, Himeji D, Kikuchi I, Ueda A, Yamamoto S, Miura M, Shioyama Y, Kawano K, Nagaishi T, Saito M, Minomo M, Iwamoto N, Hidaka Y, Sohma H, Kobayashi T, Kanai Y, Kawagishi T, Nagata N, Fukushi S, Mizutani T, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Shimojima M, Kurane I, Kageyama T, Odagiri T, Saijo M, Morikawa S. Imported case of acute respiratory tract infection associated with a member of species nelson bay orthoreovirus. PLoS One. 2014, 9(3):e92777.

12) Uda A, Sekizuka T, Tanabayashi K, Fujita O, Kuroda M, Hotta A, Sugiura N, Sharma N, Morikawa S, Yamada A. Role of Pathogenicity Determinant Protein C (PdpC) in Determining the Virulence of the Francisella tularensis Subspecies tularensis SCHU. PLoS One. 2014, 18;9(2):e89075.

13) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M.. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. J Inf Dis., 2014, 209(6): 816-27.

２．和文発表

1) 水谷浩志, 久保田菜美, 宗村佳子, 松村藍, 山本智美, 木村昌伸, 今岡浩一. 東京都における犬の抗 *Brucella canis* 抗体保有状況. 日本獣医師会雑誌, 67(3):204-207, 2014

2) 今岡浩一, 木村昌伸. 鼠咬症. in : 別冊日本臨床 感染症症候群 第 2 版 新領域別症候群シリーズ 24, 日本臨床社, pp.181-185, 2013

3) 鈴木道雄, 今岡浩一. カプノサイトファーガ･カニモルサス感染症. in : 別冊日本臨床 感染症症候群 第 2 版 新領域別症候群シリーズ 24, 日本臨床社, pp.186-189, 2013

4) 今岡浩一. 犬ブルセラ症－特集・診断シリーズ・感染症. in : SA Medicine, インターズー, 15(6): 53-56, 2013

5) 鈴木道雄, 今岡浩一. カプノサイトファーガ･カニモルサス感染症. in : 感染症内科, 科学評論社, 2(2): 177-184, 2014

6) 井上智、深瀬 徹、佐藤 克、栗原八千代、佐竹浩之、木村顕輔、白井和也、桶渡清美、矢野さやか. 狂犬病ガイドライン 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（狂犬病ガイドライン 2001 追補版）。獣医疫学雑誌。17:63-66、2013

7) 佐藤 克、井上智. 狂犬病。特集 : ペットからの感染症 13。小児科（Pediatrics of Japan）。54:89-95、2013

II. 学 会 発 表

１．国際学会

1) 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. IMED 2013. 15-18 Feb, 2013. Vienna, Austria.

2) Hoang H.T.T., Okutani A., Inoue, S.., Pham H.T., Dang A.D., Nguyen T.T., Dang H.N., and Nguyen H.T. Anthrax outbreaks and B.anthracis isolation in Vietnam, issues of public health. Bacillus ACT 2013: The International Conference on Bacillus anthracis, B.cereus, and B.thuringiensis. 1-5 Sep, 2013. Victoria, Canada.
3) Okutani A., Tungalag K., Tserennorov D., Bazartseren B., Hoang H.T.T., Nguyen H.T., and Inoue, S.... Novel genotyping by SNPS selected from genome-wide analysis of B.anthracis isolation in Japan and Mongolia. Bacillus ACT 2013: The International Conference on Bacillus anthracis, B.cereus, and B.thuringiensis. 1-5 Sep, 2013. Victoria, Canada.
4) Petsophonsakul W., Jaisuda S., Yodgomleo A., Srijun M., Phornwisedsirikun S., Munepo M., Atuntee T., Noguchi A., and Inoue, S.,. A chiang Mai model for the humane management of rabies control at borders between the forest and city. The 4th Rabies in Asia conference: RIACON 2013. 11-13 Sep, 2013. Bangkok, Thailand.
5) Nguyen A.T.K., Nguyen T.T., Noguchi A., Nguyen D.V., Ngo G.C., Thong V.D., Olowokure B., and Inoue, S.. Survey for bat lyssaviruses in northern Vietnam. The 4th Rabies in Asia conference: RIACON 2013. 11-13 Sep, 2013. Bangkok, Thailand.
6) Park, C.H., Yamada, K., Kojima, D., Hassadin, B., Kimitsuki, K., Inoue, S..., Nishizono, A. Pathological Study on the Central Nerve System of ddY Mice Intramuscularly Infected with Street Rabies Virus (1088 Strain). 24th the Rabies in the Americas (RITA). 27-31 Oct, 2013. Toronto, Ontario, Canada.
7) Saijo M, Taniguchi S, Morikawa S.: Review of Reston virus studies in NIID . 6th Japan-USA Medical Biodefence Symposium, Nagasaki, Japan, February 2013
8) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, and Morikawa S: Characterization of New and Old World arenavirus glycoprotein-mediated entry. 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. Viral Diseases Panel Meeting. Singapore, March 2013
9) Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Yamaguchi R, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. High potential of canine distemper virus in the ability to use macaca and human receptors. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Granada, Spain, June 16-21, 2013
10) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, Morikawa S. Analysis of cell entry of a novel arenavirus, Lujo virus, using pseudotype VSV. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Granada, Spain, June 2013
11) Shimojima M, Takahashi T, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Mizutani T, Morikawa S, Saijo M, Maeda K. Severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. XV International Conference on Negative Strand Viruses, Granada, Spain, June 2013
12) Morikawa S. Severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. The conference on China-Japan collaborative research program on infectious diseases. Beijing, China, Nov. 2013
13) Sharma N, Uda A, Tanabayashi K, Hotta A, Yamamoto Y, Fujita O, Morikawa S. Identification of *Francisella tularensis* genes required for efficient growth in macrophages. Cold Spring Harbor Laboratory meeting on Microbial Pathogenesis and Host Response. NY, USA Sept. 2013

２．国内学会

1) 杉山嘉史，大河原愛，木田沙緒里，杵渕雅彦，和泉彬彦，原田ひろみ，廣瀬春香，米澤広美，加藤英明，宮島栄治，鈴木道雄，今岡浩一．犬咬傷による *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の 1 例． 第 25 回日本臨床微生物学会，名古屋，2014 年 2 月
2) 鈴木景子，佐藤泰吾，具芳明，木村昌伸，今岡浩一．血液培養で *Streptobacillus moniliformis* が検出された鼠咬症の 1 例．第 87 回日本感染症学会総会，横浜，2013 年 6 月
3) 内藤亮，瀧口恭男，秋葉容子，駿河洋介，鈴木道雄，今岡浩一．当院で分離･同定された *Capnocytophaga sputigena* 感染症症例の検討．第 87 回日本感染症学会総会，横浜，2013 年 6 月
4) 杉山嘉史，大河原愛，木田沙緒里，杵渕雅彦，和泉彬彦，原田ひろみ，廣瀬春香，米澤広美,加藤英明，宮島栄治，鈴木道雄，今岡浩一．犬咬傷による *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の 1 例．第 25 回日本臨床微生物学会総会，名古屋，2014 年 2 月
5) 仁和岳史、野口章、井上智、小川知子、田中俊光．千葉県のイヌにおける狂犬病ウイルスに対する中和抗体保有状況． 日本獣医公衆衛生学会（一般講演・研究発表）． 平成 25 年度日本獣医師会・獣医

学術学会年次大会（千葉）． 2014 年 2 月 22 日、幕張メッセ・アパホテル＆リゾート（東京ベイ幕張）、千葉県

6) グエン トゥイズオン、河原 正浩、加来義浩、井上智、長棟 輝行． 増殖誘導型キメラ受容体を用いた狂犬病ウィルス核タンパク質に対するイントラボディ選択。第 65 回日本生物工学会大会、2013 年 9 月 18 日-20 日、広島国際会議場、広島県

7) 小宮拓巳、山田健太郎、君付和範、井上智、西園晃、朴天鎬。狂犬病ウイルス（1088-N4♯14）に感染後耐過した ddY マウスの中枢神経系に関する病理学的研究． 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

8) 君付和範、小宮拓巳、井上智、山田健太郎、西園晃、朴天鎬． 狂犬病ウイルス（1088-NO）を後肢筋肉内に接種したヌードマウスの中枢神経系および末梢組織病変． 第156回日本獣医学会学術集会, 岐阜, 2013 年 9 月

9) Nguyen Thi Kieu Anh, Nguyen Vinh Dong, Nguyen Tuyet Thu, Satoshi Inoue, Ngo Chau Giang, Nguyen Thi Hong Hanh, Nguyen Tran Hien. Genetic characterization of rabies virus circulated in Vietnam, 2007- 2012． 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

10) 濱本紀子、飛梅実、加来義浩、宇田晶彦、朴天鎬、野口章、森川茂、井上智． 狂犬病ウイルス固定毒（CVS-26 株）で見られる G 蛋白質 204 番目の N 型糖鎖付加は固定毒に特徴的な細胞からの出芽に関与している． 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

11) 飛梅実、佐藤由子、長谷川秀樹、濱本紀子、井上智、野口章． 街上毒狂犬病ウイルスの宿主動物内局在の解析． 第61回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013 年 11 月

12) 宇田晶彦，福士秀悦，加来義浩，吉河智城，下島昌幸，新倉綾，井上智，安藤秀二，前田健，西條政幸，森川茂．マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

13) 福間藍子、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、谷口 怜、下島昌幸、森川茂、前田健、西條政幸 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清学的診断法の開発．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

14) 西條政幸、高橋徹、前田健、水谷哲也、大松勉、吉河智城、谷英樹、福士秀悦、下島昌幸、福間藍子、緒方もも子、鈴木忠樹、中島典子、片野晴隆、永田典代、長谷川秀樹、山岸拓也、倉根一郎、森川茂 後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された 11 名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

15) 森川茂、木村昌伸、福士秀悦、福間藍子、加来義浩、朴ウンシル、谷英樹、吉河智城、井上智、今岡浩一、下島昌幸、西條政幸、前田健 SFTS ウイルス抗体陽性動物の調査．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

16) 谷口 怜、 福士秀悦、Joseph Masangkay, 渡辺俊平、大松勉、下田宙、前田健、福間藍子、吉河智城、谷英樹、下島昌幸、西條政幸、明石博臣、吉川泰弘、久和茂、森川茂 フィリピンのコウモリからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスに反応する抗体の検出．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

17) 吉河智城，福士秀悦，谷英樹，宇田晶彦，谷口 怜，福間藍子，前田健，高橋徹，森川茂，下島昌幸，西條政幸． 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の確定診断に使用されているコンベンショナル PCR の評価,及びリアルタイム定量 PCR との比較．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

18) 新倉綾、森川茂、山田靖子 リフトバレー熱ウイルス L 蛋白のポリメラーゼ機能における C 末端領域の重要性．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

19) 福士秀悦、谷英樹、吉河智城、谷口 怜、福間藍子、緒方もも子、下島昌幸、森川茂、西條政幸 ナイジェリアにおけるリフトバレー熱の血清疫学．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

20) 岩田奈織子、宇田晶彦、佐藤由子、鈴木忠樹、横田恭子、森川茂、長谷川秀樹、永田典代． UV 不活化 SARS-CoV 免疫 BALB/c マウスの SARS-CoV 感染肺における好酸球浸潤に対する Toll-like receptor 刺激の影響．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

21) 谷英樹、下島昌幸、福間藍子、谷口 怜、吉河智城、福士秀悦、森川茂、西條政幸． 重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP を外套したシュードタイプ VSV の作製．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

22) 高橋徹、亀井敏昭、前田健、水谷哲也、下島昌幸、福士秀悦、谷英樹、吉河智城、森川茂、長谷川秀樹、中島典子、鈴木忠樹、永田典代、片野晴隆、山岸拓

也、大石和徳、西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の日本における初症例. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

23) 前田健、濱崎千菜美、久保翔太郎、遠藤泰之、寺田農、鍬田流星、高野愛、下田宙、森川茂. 国内飼育犬から重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスに対する抗体の検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

24) 酒井宏治、關文緒、網康至、染谷健二、田原舞乃、大槻紀之、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠. 犬ジステンパーウイルスのヒト SLAM 利用能獲得に必要な変異. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，神戸，2013 年 11 月

25) 濱本紀子，飛梅実，加来義浩，宇田晶彦，朴天鎬，野口章，森川茂，井上智. 狂犬病ウイルス固定毒（CVS-26 株）で見られる G 蛋白質 204 番目の N 型糖鎖付加は固定毒に特徴的な細胞からの出芽に関与している. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 2013 年 11 月

26) Neekun Sharma，堀田明豊，棚林清，山本美江，藤田修，宇田晶彦，溝口俊夫，進藤順治，朴天鎬，畑井仁，工藤上，小山田敏文，山田章雄，森川茂. 抗野兎病菌抗体検出用競合 ELISA の開発および野生動物血清調査への応用. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

27) 堀田明豊，宇田晶彦，藤田修，山本美江，棚林清，Neekun Sharma，山田章雄，森川茂. 日本分離. *Francisella tularensis* の病原性および感染マウスの免疫応答. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜, 2013 年 9 月

28) 宇田晶彦，福士秀悦，加来義浩，吉河智城，下島昌幸，新倉綾，安藤秀二，川端寛樹，高野愛，前田健，藤田博巳，沢邉京子，西條政幸，森川茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

29) 宇田晶彦，棚林清，山田章雄，Neekun Sharma，堀田明豊，藤田修，森川茂. 野兎病菌の病原性に関与する新規因子の解析. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

30) 藤田修，堀田明豊，宇田晶彦，山本美江，藤田博己，新谷史明，浅野重之，森川茂，棚林清，山田章雄. VNTR 法を用いたヒトへの野兎病菌の伝播経路の検討. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

31) 前田健、高橋徹、奥田優、水谷哲也、山岸拓也、森川茂、下島昌幸、西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスの分離・同定. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

32) 森川茂、木村昌伸、福士秀悦、加来義浩、朴ウンシル、鈴木道雄、井上智、今岡浩一、柳井徳磨、下島昌幸、西條政幸、前田健. 動物の SFTS ウイルス抗体調査. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜, 2013 年 9 月

33) Nguyen Dung、下田宙、濱崎千菜美、寺田豊、野口慧多、前田健、鍬田流星、高野 愛、森川茂、前田健. 飼育犬から重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスと交差する抗体の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

34) 谷口 怜、福士秀悦、Joseph Masangkay、渡辺俊平、大松勉、下田宙、前田健、下島 昌幸、西條政幸、明石博臣、吉川泰弘、久和茂、森川茂. フィリピンのコウモリからの SFTS ウイルスと交差する抗体の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

35) 大松勉、酒井宏治、前田健、片山幸枝、萩原克郎、下田宙、鈴木和夫、遠藤大二、永田典代、佐々悠木子、長井誠、古谷哲也、森川茂、水谷哲也. 野生イノシシから分離された新規ラブドウイルスの系統解析. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

36) 酒井宏治、關文緒、網康至、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠. 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. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

37) 新倉綾、今岡浩一、木村昌伸、森川茂、山田靖子、平田晴之、石原智. ニホンジカ（*Cervus nippon*）からの *Babesia divergens* 様遺伝子の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会，岐阜，2013 年 9 月

38) 堀田明豊. *Francisella tularensis* 日本分離株に対するラットの感受性および抗体応答 第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月 26-28 日（東京）

３．セミナー・講演等

1) Koichi Imaoka. Development of diagnostic methods for brucellosis – Sero-epidemiology of *Brucella canis* infection in dogs in Japan. 10th Japan-Taiwan Symposium on Antibiotics resistance and Foodborne Disease, Tokyo, Sep. 12-13, 2013

2) 今岡浩一. 犬猫から感染する動物由来感染症について～カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症、ブルセラ感染症など～. 厚生労働省平成25年度動物由来感染症対策(狂犬病予防を含む)技術研修会　東京　2013年11月
3) 井上智.　世界における狂犬病の実際と我が国に必要な予防対策について。人獣共通感染症学講義。2013年7月2日、岩手大学農学部、盛岡市、岩手県。
4) 井上智.　狂犬病の概説と狂犬病臨床診断の重要性。緊急狂犬病セミナー。2013年8月21日、狂犬病臨床研究会・アニコム予防委員会、アリミノビル地下ホール、東京都。
5) 井上智.　世界に広がる狂犬病/今年発生した隣国台湾の現状～。2013年8月28日、第6回世界狂犬病デー 2013 in Tokyo、渋谷TKPカンファレンスセンター、東京都。
6) 井上智.　狂犬病ガイドライン2013。第13回 人と動物の共通感染症研究会学術講演会。人と動物の共通感染症研究会。2013年11月 2日、国立感染症研究所・戸山研究庁舎、新宿区、東京都
7) 井上智.　アジアにおける狂犬病。シンポジウム・神経ウイルス。第 61 回日本ウイルス学会学術集会。2013年11月10日-12日、神戸国際会議場、神戸市、兵庫県
8) 井上智.　台湾のイタチアナグマで発生した狂犬病。狂犬病予防体制整備特別委員会（第1回）、日本獣医師会。2013年11月22日、日本獣医師会会議室、青山、東京都
9) 井上智.　狂犬病は今？―現状と今後の課題。生物医学・白金支部学術講習会、東京度獣医師会。2013年12月12日、国立医薬品食品衛生研究所(28号棟F)、東京都
10) 井上智.　台湾における動物の狂犬病発生事例の概要について。平成25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。2014年2月5日、タワーホール船橋、東京、東京都
11) 井上智.　台湾での狂犬病発生を踏まえた日本での対応の検討について（緊急研究班）：本研究の概要概要について。平成25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。2014年2月5日、タワーホール船橋、東京都
12) 井上智。狂犬病について。平成25年度適正飼養講習会（ペットをめぐる最新状況～ペットは飼い主を映す鏡です）。東京都福祉保健局健康安全部。2014年2月11日、都議会議事堂1階「都民ホール」、東京都
13) 井上智.　危機管理（ガイドライン2013）。九州地区狂犬病防疫講習講義・実習。宮崎大学農学部・宮崎県福祉保健部。2014年2月17-19日、宮崎大学農学部獣医棟、宮崎県
14) 井上智.　台湾国内におけるイタチアナグマ等で発生した狂犬病に対する取り組みの現状と今後の課題。狂犬病シンポジウム：台湾で発生した狂犬病からわが国の対策を考える。市民公開シンポジウム（日本獣医師会・日本産業動物獣医学会・日本小動物獣医学会・日本獣医公衆衛生学会）。平成25年度日本獣医師会・獣医学術学会年次大会（千葉）。2014年2月21日、幕張メッセ・アパホテル&リゾート（東京ベイ幕張）、千葉県
15) 井上智.　世界の狂犬病の発生状況。人獣共通感染症～レプトスピラと狂犬病。日本小動物獣医学会・教育講演。平成25年度日本獣医師会・獣医学術学会年次大会（千葉）.　2014年2月23日、幕張メッセ・アパホテル&リゾート（東京ベイ幕張）、千葉県
16) 堀田明豊.　重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thrombocytopenia syndrome:SFTS）ウイルスについて、「動物と安心して暮らせる長野県」2013年9月（長野）
17) 堀田明豊.　One Healthを理念とした感染症制御、農研機構動物衛生研究所シンポジウム「鳥インフルエンザ防疫システムの構築」　2013年12月6日（東京）
18) 森川茂.　実験動物の輸入における人獣感染症のリスクと対応.　第60回実験動物学会総会　シンポジウムV「実験動物輸出入の際に必要な微生物検査など」2013年5月16日、つくば国際会議場、茨城県
19) 森川茂.　日本における重症熱性血小板減少症候群の疫学.　獣医内科学アカデミー「日本獣医寄生虫学研究会」.　2014年2月、横浜
20) 森川茂.　重症熱性血小板減少症候群.　平成25年度静岡県医師会感染症医療関係者研修会.　2013年12月、静岡
21) 森川茂.　重症熱性血小板減少症候群.　第13回人と動物の共通感染症研究会.　2013年11月、東京
22) 森川茂.　重症熱性血小板減少症候群.　私立大学戦略的研究基盤形成支援事業　人獣共通感染症の戦略的国際疫学研究の推進と若手研究者の実践的育成シンポジウム「グローバリズム時代の新興感染症」.　2013年12月、神奈川

23) Morikawa S. Canine distemper virus crossed the species barrier to macaque monkeys. 1st Kyoto International Symposium on Virus-Host Coevolution. Kyoto 2013 Nov.

24) Morikawa S. Emerging zoonotic viral diseases in Japan: lethal canine distemper virus outbreak in monkeys and severe fever with thrombocytopenia syndrome. Invited seminar at National Institutes of Allergies and Infectious Diseases, Rocky Moutain Laboratories. Hamilton, USA. 2013 Aug.

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２５年度は沈降精製百日咳ジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン、乳濁細胞培養 A 型インフルエンザワクチン H5N1 株、細胞培養インフルエンザワクチン H5N1､沈降ヘモフィルス b 型ワクチン､髄膜炎菌(血清型 A、C、Y 及び W-135) 多糖体ジフテリアトキソイド結合体ワクチン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射)､乾燥濃縮人血液凝固第Ｘ因子加活性化第Ⅶ因子の承認前検査を行うとともに、品質の均一性を確認するための試験の実施体制を整えた。試験法の改良や試験に用いる共通の参照品の整備を行うなど、試験精度の向上をを積極的に図っていくことが肝要である。一方で試験体制の効率化を図らなくてはならない。平成２５年度はインフルエンザ HA ワクチンの国家検定からホルムアルデヒド含量試験の廃止を検討した。これまでの試験結果と現在の品質管理状況を多角的に鑑み、廃止は可能との判断に至った。今後も、試験のあり方については十分に検討していく。

体外診断用医薬品においては、Ｃ型肝炎ウイルス抗体キット、 ABO 式血液型キット、Rh 式血液型キット、抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)、ABO 式および Rh 式血液型キット(ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体)の承認前検査を担当した。また、体外診断薬医薬品の性能試験の充実のため、製造業者が申請承認に係る相関性試験に使用可能なＢ型肝炎ウイルスおよびＣ型肝炎ウイルスの感染症検体パネルの整備をウイルス２部と協力して進めている。今後、承認申請および審査の一層の効率化が期待される。

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、生物学的製剤の標準化に関する WHO の会議に出席するとともに、WHO 国際標準品制定に関し、A 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のための WHO 国際共同研究に参加し共同測定を行った。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。血液製剤や輸血用血液の安全性に関する国際的な課題については、WHO の Blood Regulators Network のメンバーとして、課題解決に向け定期的な審議に参加している。

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 感染症の疫学、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するとともに､病原体検査法の開発･改良を行っている。また「ワクチン」においては、医薬基盤研究所と協力してアジュバントの安全性評価のためのデータベース構築の研究をはじめ、ワクチンの品質向上を目指した試験法の開発・改良等を行っている。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９月に岡田義昭第一室長が埼玉医科大学に転出された。長期に亘り血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。後任に大隈和第三室長が異動となった。また、平成２５年６月に非常勤職員の建石幸子さんが退職し、７月に高井麻海子さんが採用された。平成２６年３月に流動研究員の滝澤和也さんが放射線医学研究所に転出した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1．病原体検出法の研究

1）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。TL-Om1細胞の標準品としての有用性を解析し、FISHやDigital PCR等の複数の測定方法でTL-Om1細胞中のHTLV-1のコピー数を規定した。TL-Om1細胞とヒト末梢血単核球で核酸検査用の研究用標準品を準備し、国内8施設が参加し、測定値の標準化が可能であることを確かめた。また参照品としてTL-Om1とJurkatのgenomic DNAが使用可能であることを国内8施設で確認した。

［倉光球、大隈和、濵口功］

2）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

遡及調査ガイドラインに基づいて輸血後の HBV-NAT を実施する国内の民間衛生検査所６社を対象に第 6 回 NAT コントロールサーベイを実施した。WHO 国際標準 HBV DNA 遺伝子型パネル等を希釈してブラインド化遺伝子型パネルを作成し、参加施設に配布した。コバス TaqMan® HBV「オート」v2.0（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）とアキュジーン®m-HBV（アボットジャパン株式会社)の２種類の体外診断薬が使用された。測定結果から、二つの測定法の感度は同等であり、全施設において NAT の精度管理は適切であり、かつ、遺伝子型 A～G を検出できることを確認した。［水澤左衛子、岡田義昭、濵口功］

3）血液製剤安全性確保のためのデングウイルス高感度核酸検査法の開発

近年、海外からの様々な病原体の輸入例が報告されるようになり、万一国内に定着した場合の血液製剤の安全性確保のため、優れた特異性および感度を有する核酸検査法を準備しておくことが必要となってきた。検査対象としてプール血漿を想定し、約 10^4 倍に希釈された血漿中の病原体でも検出できる高感度核酸検査法の開発を目指している。本年度は比較的差し迫った脅威と考えられるデングウイルスの高感度核酸検査系の構築を目指してTaqman法のPrimerのスクリーニングについて検討した。

［大隈和、倉光球、野島清子、濵口功］

２．標準品整備に関する研究

1)ウイルスに関する体外診断用医薬品の国際標準品等の動向

体外診断用医薬品に関する国際標準品等について情報収集を行った。2013年はWHOにおいて、第1次HIV-1 CRF参照パネルと第2次HAV-RNA、第1次HDV-RNA、第3次B19V-DNA、第1次HBe抗原、第1次抗HBe抗体の国際標準品が制定された。新規事業としてHCV-RNA国際標準品の更新、抗CMV抗体(IgG)国際標準品の制定、抗風疹抗体測定法の標準化事業が承認された。また、高力価HIV-2 RNA working reagentと、WNVおよびCHIKVの核酸参照パネルの準備が進められている。［百瀬暖佳、水澤左衛子、濵口功］

2）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、感染症検体パネルの交付が本年度４月から開始された。実際、担当の HBV 検体パネルにおいて、１メーカーから申請があり交付した。また同時に、新規検体パネルへの更新に向けて、日本赤十字社中央血液研究所より新たに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進めている。

［大隈和、百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、濵口功］

3)A 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のための WHO 国際共同研究への参加

欧州では S/D プール血漿の HAV-NAT 実施が推奨されている。イギリスの NIBSC が組織する第一次 HAV NAT 国際標準品の更新のための国際共同研究に参加した。12 か国 17 研究室が参加して候補品の力価を測定した。参加者は日常実施している試験法を用いたが、ほとんどは real-time PCR 法に基づく市販の定性キットであった。共同研究の結果は、2013 年の ECBS に報告され、力価 54,000 IU/mL の第二次 HAV-NAT 国際標準品（code 00/526）が制定された。第一次と同時期に同じ原料から製造された製品で、4˚C での力価低下が見られるが、-20˚C では安定であるので、ドライアイス詰めで輸送することになった。［水澤左衛子、岡田義昭］

4）パルボウイルス B19 DNA 国内標準品の作製

欧州ではS/Dプラズマと抗D免疫グロブリンの原料血漿、米国では分画製剤の原料血漿への B19 混入量が規制されており、日本の血液製剤関連各社も自主的に B19-NAT を実施している。国際標準品に基づいた国内標準品を作製するための共同研究を実施した。日本赤十字社から譲渡

されたB19陽性血漿をB19DNA陰性･抗体陽性の血漿で希釈、ガラス瓶に0.5mL分注凍結した候補品を当部で製造した。国内外の分画製剤メーカーを含む3か国10施設が参加し、日常実施している測定法で日を変えて3回測定した。共同研究の結果は平成25年度第2回NAT小委員会に報告され、力価1,100,000 IU/mLのパルボウイルスB19 DNA国内標準品として承認された。

［水澤左衛子、落合雅樹（検定検査品質保証室）、濵口功、岡田義昭］

5）パルボウイルス B19 参照パネルの作製のための共同検定への参加

市販のB19 NAT測定キットのうち、Genotype 1を検出するがGenotype 2を検出できないものがあると報告され、キットの幅広い検出能を評価するために遺伝子型参照パネルを用いたNATの検出確認の必要性が指摘されていた。国立医薬品食品衛生研究所が実施するパルボウイルスB19 参照パネルの作製のための共同検定に参加した。国内外11施設が参加し、国際標準品の力価に基づいて次の通り参照パネル候補品の力価が決定された。B19-G1 F15 conc （$6.6x10^{10}$ IU/mL）、B19-G1 F15 （$6.6x10^{5}$IU/mL）、B19-G2 F27 conc （$7.1x10^{10}$ IU/mL）、B19-G2 F27 （$8.3x10^{5}$ IU/mL）および陰性コントロール血漿。共同研究の結果は平成25年度第2回NAT小委員会に報告された。

［水澤左衛子、岡田義昭］

３．輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1）感染症安全対策体制整備事業

デング熱、チクングニア熱、ウエストナイル熱等の世界の一部の地域に限局的に発生する新たな感染症については今後日本国内に移入されることも想定され、迅速かつ的確な対応が求められる。これに対し、新たな病原体が移入した場合に備えて、実効性の高い対策として、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社との連携のもと事前対応型の感染症リスク管理体制の構築を行うとともに、新たなリスクの早期把握とリスク評価を行う。本年度は検査実施のための体制整備を行った。

［大隈和、倉光球、野島清子、岡田義昭、濵口功］

2）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、濵口功］

3）組換えタンパク質を用いたHTLV-1感染症／ATLに対する新規治療法の開発

成人T細胞白血病(ATL)は、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予後不良の疾患であり、現在も標準的で有効な治療法は開発されていない。また、HTLV-1無症候性キャリアからのATL発症を予防するような治療法も開発されていない。最近プロウイルス量が高いキャリアからATLが高率に発症することが分かってきたため、プロウイルスを保持する感染細胞を標的化し殺傷する組換えタンパク質を用いた新規治療法の開発を進めている。　［大隈和、日吉真照、濵口功］

4）ヒト化マウスを用いたHTLV-1感染症モデルマウスの樹立

病態の解析や薬剤効果の検証において、モデル動物は有力なツールである。本研究では、ヒト化マウスを用いたHTLV-1感染症モデルマウスの樹立およびHTLV-1感染症の病態発症メカニズムの解明や新規治療法の開発を試みている。まずヒト化マウスを作製するため、高度免疫不全マウスであるNOD/SCID/JAK3ノックアウトマウス（NOJマウス）の新生仔肝臓にヒト臍帯血より分離したCD133陽性造血幹細胞を移植した。その結果、移植後16週目にはHTLV-1感染に用いるために十分なヒトCD4陽性T細胞の増加が認められた。作製したヒト化NOJマウスにHTLV-1感染細胞であるMT-2細胞を移植したところ、移植後２週目にはマウス末梢血中のヒトリンパ球においてHTLV-1感染が確認できた。さらに、移植後４週目になると末梢血中のヒトリンパ球数が急増するマウスが確認できた。このように、HTLV-1感染モデルマウス作製法はほぼ樹立されており、現在このモデルマウスを利用した応用研究を進めている。

［日吉真照、斎藤益満、滝澤和也、大隈和、濵口功］

5)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

新しいHTLV-1感染予防策の一環として、抗HTLV-1抗体陽性の献血由来血漿を用いた高力価抗HTLV-1免疫グロブリン製剤の開発を目指している。抗体検査陽性検体の中から30検体を選択し、in vitro感染抑制効果を指標としてスクリーニングした結果、末梢血液中のProviral load 4%以上の検体は強くcell to cellのHTLV-1感染を阻止することを確認した($p<0.001$)。保管血漿を用いて血漿由来グロブリン製剤の製造方法に準じてコーンのエタノール血漿分画によりイムノグロブリンを精製したところ精製率は97%以上、精製効率は35%であった。これらの価は実際の血漿由来グロブリン製剤製造工程における精製率と同等であった。今後ヒト化マウスを用いて*in vivo*における感染抑制の有無を検討する予定である。

[野島清子、水上拓郎、倉光球、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]

6) B型肝炎ウイルスX蛋白質(HBx)による細胞死制御機構の解明に向けた構造生物学的研究

HBxはアミノ酸154残基からなる蛋白質で、Bcl-x_L(抗アポトーシス蛋白質）と相互作用し、細胞死を誘導することが知られている。そこで、Bcl-x_Lと結合するHBx BH3様モチーフに着目し、CDとNMR解析を実施した。その結果、HBx BH3様モチーフがαヘリックスを形成できる能力を持つこと、そのαヘリックス領域がL108-L134であることを明らかにした。現在、HBx BH3様モチーフを含むペプチドとBcl-x_Lの複合体解析に取り組んでいる。

［楠英樹、濵口功]

7) B型肝炎ウイルスX蛋白質(HBx)と相互作用する蛋白質の解析

HBV感染はB細胞にも感染するという報告があり、この感染がB-lymphomaの発症率を高めるという報告がある。HBV蛋白質であるHBXと相互作用する宿主タンパク質に着目し、HBXと相互作用するタンパク質をB細胞からの検出をするため、GST-HBXを用いて、Raji細胞のlysateから相互作用する宿主因子をLC-MS/MSで検索したところ、いくつか相互作用すると考えられるタンパク質が同定された。これらの蛋白質のcDNAを作製し、ベクターに組み入れ、培養細胞発現系で確認を試みている。

［益見厚子]

8) Cohnの血漿分画法によるC型肝炎ウイルスの不活化の評価

C型肝炎ウイルス（HCV）に汚染された第Ⅸ因子やフィブリノゲン製剤投与によるHCV感染が過去に報告されて来た。これらの製剤のウイルスクリアランスはモデルウイルスを用いて評価されたものである。本研究ではHCV-JFH1株を用いてCohnエタノール分画法によってウイルスの感染性と核酸がどの画分に分配されるかを評価した。実際の血液製剤の製造工程をスケールダウンした実験室レベルのCohnエタノール分画する系を確立しHCVをスパイクした血漿中のHCV感染性がどの画分に移行するかを検討した。クリオ/脱クリオ分画と8%エタノール分画におけるHCVの感染性の分配を評価した。その結果、99.9%のHCV感染性が脱クリオ画分に分画され、8%エタノール分画では0.7%がFra.1(フィブリノゲン沈殿画分)、99%がS1上清画分に分画され８％エタノール処理では感染性が保持されることが明らかとなった。

［野島清子、下池貴志（ウイルス第二部)、岡田義昭]

9) 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、西澤雅子(エイズ研究センター)、田中勇悦(琉球大学)]

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、副作用収集の体制づくりの検討を行っている。7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、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。また、厚労科学研究「ヘモビジランス（血液安全監視）体制のあり方に関する研究」班において、血液製剤のトレーサビリティ導入の検討や診療科別の輸血副作用発生調査、インシデントの捕捉、臨床現場の教育プログラム作成など我が国のヘモビジランス体制の拡充をめざす研究活動を進めている。

［小高千加子、岡田義昭、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についての研究

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。血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により抗補体価を定めた参照品を作製し仮運用を開始した。参照品を元に相対的に抗補体価を算出することにより、施設間の抗補体価の乖離が小さくなることが示された。

［野島清子、岡田義昭、大隈和、濵口功］

2）pH4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）の承認前検査

当該血液製剤は、血漿を原料に製造されるグロブリン製剤としては初めての 20%高濃度の皮下注射用製剤である。小分品３ロットにおいて、免疫グロブリン G 重合物否定試験、同定試験、免疫グロブリン G 含量試験（セルロースアセテート膜電気泳動試験、アガロース電気泳動試験)、たん白質含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

［野島清子、岡田義昭、大隈和、斉賀菊江、荒木久美子、佐藤結子、斎藤益満、平松竜司、益見厚子、前山順一、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子、濵口功］

3)乾燥濃縮人血液凝固第Ｘ因子加活性化第Ⅶ因子の承認前検査

当該血液製剤につき、第Ｘ因子力価試験、第Ⅶ因子力価試験、抗第Ｘ因子マウス IgG 否定試験、抗第Ⅶ因子マウス IgG 否定試験、含湿度試験、pH 試験、浸透圧試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

［倉光球、野島清子、大隈和、斉賀菊江、荒木久美子、佐藤結子、田中明子、斎藤益満、平松竜司、益見厚子、前山順一、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子、濵口功］

２．ワクチン

1)沈降精製百日咳ジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチンの承認前検査

当該ワクチンにつき、たん白質含量試験、アルミニウム含量試験、ホルムアルデヒド含量試験、異常毒性否定試験を実施した。

［田中明子、楠英樹、大隈和、佐藤結子、平松竜司、益見厚子、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子］

2)乳濁細胞培養 A 型インフルエンザワクチン H5N1 株の承認前検査

当該ワクチンにつき、α-トコフェロール及びスクワレン確認、含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を行った。

［田中明子、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子］

3)細胞培養インフルエンザワクチン H5N1 の承認前検査

当該ワクチンにつき、たん白質含量試験、アルミニウム含量試験、ホルムアルデヒド含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

［田中明子、楠英樹、斎藤益満、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子］

4)沈降ヘモフィルス b 型ワクチンの承認前検査

当該ワクチンにつき、アルミニウム含量試験（製造所実施のスチルバゾ法及び ICP 法)、異常毒性否定試験を実施した。

［田中明子、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子］

5）細胞培養全粒子インフルエンザワクチン H5N1 の承認前検査

当該ワクチンのたん白質含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

［楠英樹、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子］

6)髄膜炎菌（血清型 A、C、Y 及び W-135）多糖体ジフテリアトキソイド結合体ワクチンの承認前検査

当該ワクチンのたん白質含量試験、異常毒性否定試験を実施した。

［楠英樹、大隈和、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子］

３．体外診断薬用医薬品

1）C 型肝炎ウイルス抗体キットの承認前試験

当該体外診断用医薬品 2 キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。　［百瀬暖佳、大隈和、濵口功］

2）ABO 式血液型キットの承認前試験

抗A血液型判定用抗体､抗B血液型判定用抗体につき、特異性試験、凝集価試験、および凝集力試験の 3 試験を実施した。［百瀬暖佳、濵口功］

3）Rh 式血液型キットの承認前試験

抗 D 血液型判定用抗体につき、特異性試験、凝集価試験、および凝集力試験の 3 試験を実施した。［百瀬暖佳、濵口功］

4）抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)の承認前試験

当該体外診断用医薬品につき、特異性試験、および凝集価試験の 2 試験を実施した。［百瀬暖佳、濵口功］

5）ABO 式血液型キット、Rh 式血液型キット(ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体)の承認前試験

抗 A 血液型判定用抗体、抗 B 血液型判定用抗体、抗 D 血液型判定用抗体につき、特異性試験、および力価試験の 2 試験を実施した。［百瀬暖佳、濵口功］

Ⅲ.ワクチン開発および評価法開発に関する研究

1）結核ブースターワクチン用アジュバントの作用機構の検討

CpG-DNA である G9.1 のアジュバントとしての作用を明らかにするために、基礎的な成績を集積した。マウス骨髄細胞を G9.1 と 24 時間共培養したところ､IFNα､IFNγの産生が強く誘導され、IL-12、IL-5 も検出された。また､IgA 産生に重要な役割を果たす BAFF の産生が有意に増強した。さらに Th1 細胞の特異的な転写因子である T-bet が強く発現した。また、ヒトの PBMC および形質様樹状細胞（pDC）でも同様な結果が得られた。結核菌抗原を投与したマウスにおいても G9.1 との同時投与で結核菌抗原に特異的な IgG2c 産生が増強した。以上の結果およびこれまで成績から G9.1 は､pDC の TLR9 を介して Th1 免疫を増強するアジュバントであることが示された。
[前山順一、山本三郎(バイオセーフティ管理室、日本ＢＣＧ研究所）、伊保澄子（福井大学）]

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二回の噴霧感染実験を行った。24 年度行った感染実験で有効性が確認されたワクチン候補について、同条件での再現性を確認したところ、ブースターワクチン投与群で､顕著な効果が認められた。特に脾臓では、1/100 に結核菌数が減少し、病理組織学的にも肉芽腫の減少が観察され症状の改善が認められた。肺では、充分効果の出た個体もあり、一定の効果が認められたが、より有効性を高めるため、ワクチンの最適化および気道内免疫等免疫条件を検討する必要があることが明らかになり、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)]

3)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。平成 24 年度には２種類のアジュバント、水酸化アルミニウムゲル（Alum)、FCA(Freund's Complete Adjuvant)をそれぞれラットの腹腔と筋肉に接種し､接種 6 時間後と 24 時間後のラットから肺、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉を摘出し、遺伝子発現解析を行った。その結果、アジュバントを接種したラットの匹数が少なかったため、遺伝子発現解析で得た結果の信憑性が低いことが明らかとなった。そのため今年度は昨年と同様な実験を行ったサンプルより遺伝子発現解析を行い、アジュバントの有効性と安全性を示すマーカーを探索している。
[斎藤益満、水上拓郎、百瀬暖佳、倉光球、滝澤和也、濵口功]

Ⅳ. 血液に関する研究

1）ATL モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の解明とニッチを標的とした治療薬の開発

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た結果、破骨細胞の阻害剤の投与によって抗がん剤の効果が促進されたことを明らかにした。現在、その他のニッチ細胞を標的とした治療薬の開発を行っている。

[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]

2) ATL モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の同定

我々は ATL 様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax-Tg) の脾腫中に癌幹細胞が存在する事を明らかにしてきた。近年、京都大学の松岡らによって作出された HTLV-1 HBZ 遺伝子組換えマウス (HBZ-Tg)においても、ATL 様の病態が発生する事が報告された。そこで、HBZ-Tg 由来の腫瘍において癌幹細胞特性を有する細胞が存在するかを検討した。その結果、薬剤排出能の高い SP 細胞が HBZ-Tg 由来の腫瘍中に低頻度で存在し、更に SP 細胞中には c-kit 陽性細胞が濃縮して存在している事が明らかとなった。現在、これらの細胞の特性解析を、*in vivo* 及び *in vitro* で行っている。

[栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、松岡雅雄 (京都大学)、濵口功]

3) 先天性赤芽球癆の原因遺伝子の機能解析

先天性赤芽球癆(DBA)は、造血幹細胞からの赤芽球分化・増殖異常により重症の貧血をおこす。リボソームタンパク質遺伝子のヘテロ接合変異が原因として知られる。稀少疾患であるため研究用に使用できる臨床検体の入手が困難であることが治療法開発への妨げとなっている。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を進め、熊本大学発生医学研究所、担当医師・患者等協力して、これまでに 3 症例の DBA 患者から多能性幹細胞の樹立に成功した。今後、リボソーム変異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]

4) 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 (マウスでは妊娠 7 日目) 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 5、6 日目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。その結果、多くの関連遺伝子が発生初期では胚体外組織に発現していることを見出した。このことから、発生初期の造血幹細胞形成において胚体外組織が関与していることが示唆された。

[平松竜司、水上拓郎、濵口功]

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 欠損マウスの造血幹細胞をさらに解析した。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を認めた。またこのとき recipient の骨髄細胞においてドナーである IRF-2 欠損マウス由来の造血幹細胞 KSL および Lin-CD48-CD150+細胞の全体の骨髄細胞に対する比率が高くなっていた。

[益見厚子]

6) 造血幹細胞特異的チロシンキナーゼ Tie の機能解析

造血幹細胞の機能発現には、造血 niche から供給される 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。これまでに我々は、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を示してきた。接着因子の架橋によっても Tie2 活性化が惹起される可能性を示唆するデータが得られており、Tie2 シグナルに対する細胞極性の重要性が考えられた。

[百瀬暖佳、濵口功]

7) マウス胸腺の微小環境に関する研究

BRCA1 (breast cancer susceptibility gene I) は家族性の乳癌原因遺伝子として同定されたがん抑制遺伝子であり、BRCA1 に変異があると高い確率で乳がんや卵巣がんを発症する。BRCA1 変異に伴う乳腺上皮細胞の分化と乳癌の起源の解明に向けて世界中で研究が進められている。BRCA1 は乳腺、卵巣以外にも精巣、胸腺で強く発現するが、胸腺における BRCA1 については全く不明である。今回、マウス胸腺で BRCA1 が髄質上皮細胞に発現することを見いだした。ケラチン 14 発現細胞に特異的に BRCA1 変異を持つマウスでは髄質上皮細胞の過剰な分化と皮質上皮細胞の増殖が認められ、BRCA1 が胸腺上皮細胞の分

化に関与することが明らかとなった。　［小高千加子］

Ⅴ．国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前検査等の実績

1．国家検定

血液製剤力価試験：90 ロット
(血液凝固第Ⅷ因子：47、アンチトロンビンⅢ:27、ハプトグロビン:7、乾燥抗D(Rho)人免疫グロブリン：２、抗HBs人免疫グロブリン:2、乾燥抗HBs人免疫グロブリン：3、ポリエチレングリコール抗HBs人免疫グロブリン：2)
免疫グロブリンＧ重合物否定試験：110 ロット
抗補体性否定試験：86 ロット
含湿度試験：163 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：48 ロット
たん白質含量試験（ローリー法）：108 ロット
たん白窒素含量試験：14 ロット
凝固性たん白質含量及び純度試験：47 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）：26 ロット
フェノール含量試験：25 ロット
ヘモグロビン含量試験：7 ロット
MPL 含量試験：2 ロット
クエン酸ナトリウム含量試験：4 ロット
異常毒性否定試験：243 ロット
発熱試験：76 ロット

2．収去試験

抗 A 血液型判定用抗体：3 ロット
抗 B 血液型判定用抗体：3 ロット
抗 D 血液型判定用抗体：6 ロット
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

3．抜き取り検査

たん白窒素含量試験：8 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：4 ロット
発熱試験：4 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
血液凝固第 IX 因子力価試験：6 ロット
活性化凝固因子否定試験：6 ロット

4．依頼検査

たん白質含量試験（ローリー法）：46 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：4 ロット

5．承認前検査

免疫グロブリンＧ重合物否定試験：3 サンプル
同定試験：3 サンプル
免疫グロブリンＧ含量試験：3 サンプル
抗Ⅶマウス IgG 否定試験：1 サンプル
抗Ｘマウス IgG 否定試験：1 サンプル
活性化血液凝固第Ⅶ因子力価試験：1 サンプル
血液凝固第Ｘ因子力価試験：1 サンプル
アンチトロビンⅢ力価試験：1 サンプル
含湿度試験：1 サンプル
たん白質含量試験：4 サンプル
たん白窒素含量試験：1 サンプル
ホルムアルデヒド含量試験：2 サンプル
アルミニウム含量試験（スチルバゾ）：3 サンプル
アルミニウム含量試験（ICP）：1 サンプル
pH 試験：1 サンプル
浸透圧試験：1 サンプル
α-トコフェロール及びスクワレン含量試験：1 サンプル
異常毒性否定試験：23 サンプル
発熱試験：13 サンプル

6．行政検査

異常毒性否定試験：2 ロット

7．総合判定

（国家検定項目）

乾燥人フィブリノゲン：4 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：47 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：27 ロット
人ハプトグロビン：7 ロット
筋注用人免疫グロブリン：3 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：6 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン：86 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン：20 ロット
乾燥 pH４処理人免疫グロブリン：10 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン：22 ロット
乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン：44 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）：3 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
PEG 処理抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：3 ロット
抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット
乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン：3 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：2 ロット
人血清アルブミン：227 ロット
加熱人血漿たん白：12 ロット

（抜き取り検査項目）
血液凝固第 IX 因子製剤（複合体を含む）：6 ロット
ヒスタミン加ヒト免疫グロブリン：2 ロット

（収去試験項目）
抗 A 血液型判定用抗体：3 ロット
抗 B 血液型判定用抗体：3 ロット
抗 D 血液型判定用抗体：6 ロット
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

8. 体外診断用医薬品の承認前検査
1) C型肝炎ウイルス抗体キット：2キット(1キットにつき3ロット)
2) 抗A血液型判定用抗体：1件(3ロット)
3) 抗B血液型判定用抗体：1件(3ロット)
4) 抗D血液型判定用抗体：1件(3ロット)
5) 抗ヒトグロブリン抗体（多特異性抗体):2件(1件につき3ロット)
6) ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体: 1 件(3ロット)

国際協力関係業務
1) 2013 年 11 月 26 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］
2) 2013 年 11 月 26 日: JICA 研修「次の 10 年に向けての AIDS の予防及び対策」コースで、「ヘモビジランス」の講義を担当した。［小高千加子］
3) 2014年1月21日: JICA研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」コースで、物理化学試験の講義を担当した。［楠英樹］
4) 2014 年 1 月 27 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］
5) 2014 年 1 月 27 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」の講義を行った。
［小高千加子］

研修業務
1) 2013 年 7 月 16 日：知の市場において、「HTLV-1 の課題と対策について」の講義を行った。［濵口功］
2) 2013 年 10 月 8 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］
3) 2013 年 10 月 24 日：医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「血液製剤の品質管理」の講義を行った。
［大隈和］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表
1. 欧文発表

1） Odaka C, Hauri-Hohl M, Takizawa K, Nishikawa Y, Yano M, Matsumoto M, Boyd R, Holländer GA: TGF-β type II receptor expression in thymic epithelial cells inhibits the development of Hassall's corpuscles in mice. ***Int Immunol.*** 25, 633-42, 2013.

2） 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***. 15: 280-90, 2013.

3） Odaka C, Loranger A, Takizawa K, Ouellet M, Tremblay MJ, Murata S, Inoko A, Inagaki M, Marceau N: Keratin 8 is required for the maintenance of architectural structure in thymus epithelium. ***PLoS One.*** 8: e75101, 2013.

4） 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. ***Emerg Infect Dis***, 19: 729-35.2, 2013.

5） 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*** 53: 2545- 55, 2013.

6） Taniguchi K, Takii T, Yamamoto S, Maeyama J, Iho S, Maruyama M, Iizuka N, Ozeki Y, Matsumoto S, Hasegawa T, Miyatake Y, Itoh S, Onozaki K: Reactivation of immune responses against Mycobacterium tuberculosis by boosting with the CpG oligomer in aged mice primarily vaccinated with Mycobacterium bovis BCG. ***Immun Ageing***. 10: 25, 2013.

7） Hiyoshi M, Hashimoto M, Yukihara M, Bhuyan F, Suzu S: M-CSF receptor mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids impair not only kinase activity but also surface expression. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 440: 589-93, 2013.

8） Hiramatsu R, Matsuoka T, Kimura-Yoshida C, Han S-W, Mochida K, Adachi T, Takayama S, Matsuo I: External Mechanical Cues Trigger the Establishment of the Anterior-Posterior Axis in Early Mouse Embryos. ***Dev.Cell***, 272: 132-144, 2013.

9） Harikae K, Miura K, Shinomura M, Matoba S, Hiramatsu R, Tsunekawa N, Kanai-Azuma M, Kurohmaru M, Morohashi K, Kanai Y: Heterogeneity in sexual bipotentiality and plasticity of granulosa cells in developing mouse ovaries. ***J Cell Sci***. 126: 2834-2844, 2013.

10） Masumi A, Hematopoietic stem cell and response to interferon. In: Stem Cell Biology in Normal Life and Diseases, Prof. Alimoghaddam (Ed.), In Teck DOI: 10.5772/54689, 2013.

11） Tanio M, Kusunoki H, Kohno T: ^{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***., *8*, 207-211, 2014.

12） Maeyama J, Takatsuka H, Suzuki F, Kubota A, Horiguchi S, Komiya T, Shimada I, Murata E, Osawa Y, Kitagawa H, Matsuki T, Isaka M, Yamamoto S, Iho S: A palindromic CpG-containing phosphodiester oligodeoxynucleotide as a mucosal adjuvant stimulates plasmacytoid dendritic cell-mediated T(H)1 immunity. ***PLoS One***, 9: e88846, 2014.

13） Kasama Y, Mizukami T, Kusunoki H, Peveling-Oberhag J, Nishito Y, Ozawa' M, Kohara' M, Mizuochi T, and Tsukiyama-Kohara K: B-cell-intrinsic Hepatitis C virus expression leads to B-cell-lymphomagenesis and induction of NF-kB signalling. ***PLoS One***, 9:e91373, 2014.

14）Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Wakamatsu K, Hamaguchi I: Structural characterization of the BH3-like motif of hepatitis B virus X protein, ***Biochem Biophys Res Commun***, *In Press.*

15）Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhata K, Ishii K, Hamaguchi I, Yamaguchi K: System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test ***PLoS One***, *In Press.*

16） Epstein J, Ganz PR, Seitz R, Jutzi M, Schaerer C, Michaud G, Agbanyo F, Smith G, Prosser I, Heiden M, Saint-Marie I, Oualikene-Gonin W, Hamaguchi I, Yasuda N: A shared regulatory perspective on deferral from blood donation of men who have sex with men (MSM). ***Vox Sang***, *In Press*

2. 和文発表

1）倉光球、濵口功：リボソーム異常症と関連疾患、血液フロンティア、第 24 巻 24 号、Vol. 24、81－89、 2014

2）相良康子、後藤信代、井上由紀子、守田麻衣子、倉光球、大隈和、濵口功、入田和男、清川博之：抗 HTLV-1 抗体検査（ウエスタンブロット法）判定保留例の解析、日本輸血細胞治療学会誌、第 60 巻 1 号、18―24、2014

3）内藤幹彦、益見厚子：臨床応用をめざした薬学の基礎研究、薬学雑誌、第 133 巻 12 号、1361-1362、2013

4）濵口功：HTLV-1 の現状と感染対策の方針、感染・炎症・免疫、印刷中

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1） Nojima K, Mizukami T, Kuramitsu M, Matsumoto C, Sobata R, Okuma K, Satake M, Tadokoro K, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Development of effective prevention method of HTLV-1 infection by using HTLV-1 sero-positive serum in vitro. AABB Annual Meeting, Denver, CO, Oct, 2013.

2） Okada Y, Momose H: Update on regulatory issues in Japan. SoGAT 24th Blood Virology and 4th Clinical Diagnostics Meeting, Ljubljana, Slovenija, May 2013.

3） Takii T, Taniguchi K, Yamamoto S, Maeyama J, Iho S, Maruyama M, Iizuka N, Ozeki Y, Matsumoto S, Itoh S, Onozaki K: Boosting effect of Oligo B in super aged mice primarily vaccinated with Mycobacterium bovis BCG on the protection activity against Mycobacterium tuberculosis infection. Front Range Mycobacteria Conference, Fort Collins, CO, Jun 2013.

4） Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Kuribayashi W, Hiramatsu R, Momose H, Yamazaki J, Hall W-W, Hasegawa

H, Yamaguchi K, Hamaguchi I: The Role of Osteoclasts in the Developing Leukemic Stem Cell Niche in a Mouse Model of Adult T-Cell Leukemia. 18th Congress of European Hematology Association, Stockholm, Sweden, Jun 2013.

5） Mizukami T, Takizawa K, Yamazaki J, Kuribayashi W, Kuramitsu M, Hiramatsu R, Hall W-W, Hasegawa H, Yamaguchi K, Hamaguchi I: The Osteoclast Targeting Therapy In Bone Metastasis For a Mouse Model Of Adult T Cell Leukemia. 55th American society of Hematology annual Meeting, New Orleans, LA Dec 2013.

2. 国内学会

1）濵口功：HTLV-１感染症診断法の課題と対策．第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会、横浜、2013 年 5 月

2）岡田義昭、水澤左衛子、濵口功：血漿分画製剤からの簡便なウイルスの濃縮法．横浜、2013 年 5 月

3）長野冬子、後藤信代、井上由紀子、相良康子、倉光球、濵口功、入田和男、清川博之：抗 HTLV-1 抗体検査（ウエスタンブロット法）判定保留例の解析．横浜、2013 年 5 月

4）倉光球：造血不全、Diamond Blackfan 貧血の分子病態．第 13 回血液フォーラム、東京、2013 年 5 月

5）益見厚子、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、山口一成、濵口功：インターフェロン制御転写因子(IRF-2)の造血幹細胞に及ぼす影響について．第 14 回 Pharmaco-Hematology、東京、2013 年 6 月

6）大隈和、長谷川玲子、日吉真照、堀澤健一、土居信英、森下和広、濵口功：ATL 細胞マーカーTSLC1 に特異的かつ高親和性に結合する CRTAM 変異体の創薬への応用．第 6 回 HTLV-1 研究会／シンポジウム、東京、2013 年 8 月

7）野島清子，水上拓郎，倉光球，大隈和，松本千惠子，蕎麦田理英子，佐竹正博，田所憲治，山口一成，濵口功：抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる in vitro の感染抑制効果とその有用性の検討．第 6 回 HTLV-1 研究会／シンポジウム、東京、2013 年 8 月

8）栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、百瀬暖佳、菅田謙治、浅田善久、松岡雅雄、濵口功： 新たな ATL マウスモデルである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL がん幹細胞同定の試み．第 6 回 HTLV-1 研究会／シンポジウム、東京、2013 年 8 月

9）水上拓郎：トランスジェニックマウスを用いた「感染症とがん」のクロストーク．第 156 回日本獣医学会学術集会、岐阜、2013 年 9 月

10）平松竜司、吉田千春、松尾勲：哺乳類胚発生メカニズム解明への力学的アプローチ．第 156 回日本獣医学会学術集会、岐阜、2013 年 9 月

11）水上拓郎，滝澤和也，栗林和華子，平松竜司，倉光球，山崎淳平，William Hall，長谷川秀樹，山口一成，濵口功：成人 T 細胞白血病マウスモデルを用いた癌幹細胞ニッチ形成における破骨細胞の機能解析と破骨細胞を標的とした治療法の開発，第 156 回日本獣医学会学術集会、岐阜、2013 年 9 月

12）小高千加子：輸血製剤副作用情報収集システム、平成 25 年度全国大学病院輸血部技師会議、札幌、2013 年 10 月

13）Mizukami T、Takizawa K、Kuribayashi W、Hiramatsu R、Kuramitsu M、Momose H、Yamazaki J、Hall WW、Hasegawa H、Yamaguchi K、Hamaguchi I： The role of osteoclast in the leukemic stem cell niche using a mouse model of adult T cell leukemia. 第 75 回日本血液学会学術集会，札幌，2013 年 10 月

14）栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄、濵口功：Identification of cancer stem cell candidates in ATL mouse model of HBZ transgenic mice. 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年 10 月

15）栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、松岡雅雄、濵口功： Identification of cancer stem cell candidates in ATL mouse model of HBZ transgenic mice. 第 75 回日本血液学会学術集会、札幌、2013 年 10 月

16）Hiramatsu R, Matsuoka T, Kimura-Yoshida C, Han S-W, Mochida K, Adachi T, Takayama S, Matsuo I: External mechanical cues establish the anterior-posterior axis polarity in early mouse development. 第 36 回日本分子生物学会年会、神戸、2013 年 12 月

17）Odaka C： Roles of keratins in the maintenance of architectural structure in thymus epithelium. 第 42 回日本免疫学会総会、千葉、2013 年 12 月

18）前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、網康至、伊保澄子、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 MDP1 および TLR９リガンド G9.1 アジュバントの結核菌噴霧感染による評価、第１７回日本ワクチン学会学術集会、津、2013 年 12 月

19）内藤誠之郎、住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、杉村浩、前山順一：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、第１７回日本ワクチン学会学術集会、津、2013 年 12 月

20）水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、滝澤和也、斎藤益満、石井健、濵口功：網羅的遺伝子発現法を用いた経鼻インフ

ルエンザワクチンの安全性試験法の開発. 第 7 回次世代アジュバント研究会、大阪、 2014 年 1 月

21) 益見厚子、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、山口一成、濵口功：インターフェロン制御転写因子(IRF-2)の血液細胞分化における影響について、第 133 回日本薬学会、熊本、2014 年 3 月

22) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、 林大介、松本壮吉、網康至、須崎百合子、伊保澄子、山本三郎：結核菌組換えタンパク質および TLR９リガンドを用いた結核ブースターワクチンの結核菌噴霧感染による評価、第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月

23) 井坂雅徳、立野一郎、前山順一、長谷川忠男：二成分制御因子による A 群連鎖球菌のバイオフィルム形成機構の解析、第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月

24) 内藤誠之郎、住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、杉村浩、前山順一：ワクチン皮内投与のための中空型マイクロニードル器具の開発､第 87 回日本細菌学会総会､東京、2014 年 3 月

25) 瀧井猛将、宮竹佑治、小川翔大、谷口恵一、伊藤佐生智、大原直也、前山順一、林大介、山本三郎：BCG Tokyo-172 Type I, Type II 間の酸化ストレス感受性とマクロファージ内生存能の比較研究､第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月

3. 特許出願

出願番号：特願 2013-196247

出願日：平成 25 年 9 月 20 日

発明の名称:HTLV-1 プロウイルス検出のためのプライマーセット、及びそれを用いた検出方法

発明者：倉光球、浜口功、大隈和

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 25 年 4 月から平成 26 年 3 月までに、55 カ国から 261 名の外国人研修生等を受け入れた(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 25 年 4 月から平成 26 年 3 月までに、44 カ国 430 名の派遣を行った(別表 2)。

また外国政府機関との協力については、関係国との国際シンポジウムの開催を行っており、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 25 年 9 月 12-13 日　公益法人台湾交流協会からの依頼に基づく第 10 回日台シンポジウムの開催（日本において、ワクチンで予防可能な感染症及び動物媒介感染症並びに共同研究を題材に。)。

(ｲ) 平成 25 年 11 月 25 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 7 回共同シンポジウムの開催(中国において、SFTS、風疹及び手足口病を題材に。)。

ｲ　外国機関へのワクチン株供与

(ｱ)平成 25 年 4 月韓国食品医薬品安全評価院へ参照百日咳ワクチン,標準百日咳ワクチンを供与

(ｲ)平成 25 年 6 月韓国食品医薬品安全評価院へ日本脳炎参照標準ワクチンを供与

ｳ　共同研究報告会ほか

(ｱ)　平成 25 年 9 月 26 日　日印共同研究・研究班会議における研究発表会を開催。

(ｲ)　平成 25 年 11 月 26 日　日中共同研究・研究班会議における研究発表会を開催。

(ｳ)　平成 25 年 10 月 29 日　日越共同研究班会議における研究発表会を開催。

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 25 年 6 月 10 日-7 月 12 日　HIV 感染診断とモニタリングのための実験室検査技術（8 カ国・14 名・エイズ研究センター)。

(ｲ) 平成 26 年 1 月 27 日-2 月 21 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（10 カ国・

16名・ウイルス第二部)。

イ　集団研修フォローアップ

なし

(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25年6月30日-7月13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25年7月14-27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25年7月14-21日 GMT（炭疽）に関する指導を行うため獣医科学部職員 1 名をベトナムNIHEに派遣。

④ 平成25年8月18-28日GMT（鳥インフルエンザ）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。

⑤ 平成25年11月24日-12月11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NIHEに派遣。

⑥ 平成25年12月1-11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12月1-11日GMT(ヒトプラズマ症)に関する指導を行うため真菌部の職員1名をベトナムNIHEに派遣。

(イ) 受入

① 平成25年8月26日-9月20日 バイオセーフティ研修のため、国立衛生疫学研究所、ホーチミン・パスツール研究所、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 4 名をバイオセーフティ管理室に受入。

(ウ) 中間レビュー調査

平成25年10月2-11日 中間レビュー調査のため、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職員各1名をベトナムへ派遣。

3．国際機関及び外国政府機関等との協力の調整

(1) WHO・WPRO関連調整

ア　会議等開催

(ア) 平成25年11月22 -23日WPRO日本脳炎西太平洋地域及び世界特別ラボラトリー非公式会議(戸山庁舎・6名)。

(イ)平成25年12月10-11日　WPRO第2回B型肝炎専門家会議（戸山庁舎・14人）

イ　会議等派遣

(ア) 平成25年4月11-15日　第3回麻疹風疹に関する戦略的諮問・専門家グループのためのワーキンググループ会議（スイス・1名）

(イ) 平成25年4月15-21日　体外診断薬の標準品整備に関するWHOコラボレーションセンター会議（スイス・1名）

(ウ) 平成25年4月28日-5月1日　腸チフスVi コンジュゲートワクチンのガイドライン策定に関する会議（スイス・1名)。

(エ) 平成25年5月7-11日　WHO西太平洋マラリア会議（フィリピン・1名）

(オ) 平成25年5月13-17日　WHOポリオウイルスワクチン会議（スイス・1名）

(カ) 平成25年6月23-28日　第11回世界麻疹及び風疹研修室ネットワーク会議（スイス・2名）

(キ) 平成25年6月23～28日　WHO西大西洋事務局第22回西大西洋地域予防接種ワクチン予防可能疾病に関する技術諮問会議（フィリピン・3名)。

(ク) 平成25年6月24-30日　WHOポリオ実験室診断改善のための小委員会会合及び第19回ポリオ実験室ネットワーク非公式会合（スイス・1名)。

(ケ) 平成25年6月30日-7月14日　WHO第6回遺伝子増幅診断作業部会会議（スイス・1名)。

(コ) 平成25年7月14-20日　WPRO第3回アジア太平洋地区新興感染症対策の技術アドビス専門家会議（ネパール・1名）

(サ) 平成25年7月15-20日　西太平洋地域における顧みられない熱帯病の対策担当者会議（フィリピン・2名）

(シ) 平成25年7月23-27日　ハンセン病対策責任者国際会議（タイ・1名)。

(ｽ)平成25年7月31日-8月4日　WHO西大西洋地域における薬剤耐性菌サーベイランスに関するWHOのテンポラリーアドバイザー（フィリピン・1名)。

(ｾ)平成25年9月17-21日　WHOワクチン接種に関する専門家会議主催の天然痘ワクチンに関する検討会議に出席（スイス・1名）

(ｿ)平成25年9月21-29日　WH2014シーズン南半球向けインフルエンザワクチン株選定会議（スイス・3名)。

(ﾀ)平成25年9月22-27日　第15回WHO主催痘瘡ウイルス研究アドバイザリーコミティー委員として出席（スイス・1名)。

(ﾁ)平成25年9月22-27日　WHO第4回日本脳炎ラボネットワーク診断技術実習コース出席（韓国・2名）

(ﾂ)平成25年9月22-29日　第4回風疹麻疹に関する戦略的諮問・専門家グループのためのワーキンググループ会議（スイス・1名）

(ﾃ)平成25年10月20-26日　WHO生物学的製剤の標準化に関する専門家委員会（スイス・3名)。

(ﾄ)平成25年12月16-18日　WHO中国不活化ポリオワクチンライセンスに関する決定を行うためのコンサルティングミーティング（中国・1名)。

(ﾅ)平成26年2月16-23日　2014-2015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・3名)。

(ﾆ)平成26年2月3-7日　WHO薬剤耐性拠点監視事業に関するワークショップ（フィリピン・2名)。

(ﾇ)平成26年3月16-21日　第2回ワクチンの標準化と品質管理に関するWHO共同研究センターに関する会議（ドイツ・2名）

(ﾈ)平成26年3月24-28日　WHOポリオウイルスワクチン会議（スイス・1名）

(ﾉ)平成26年3月31日-4月3日　新興感染症のためのWHO西大西洋事務局の非公式会議（シンガポール・1名)。

ｳ　WHOによる査察

平成25年10月7-9日　ポリオ・麻疹・日本脳炎実験室の現地視察を受けた。

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25年4月1日NGUYEN TIEN THI KIM（ベトナム保健大臣)ほか12名来所。意見交換。

ｲ　平成25年4月19日　Dr. Ellyn W. Ogden(USAID)ポリオ専門家ほか来所。意見交換。

ｳ　平成25年6月11日　Dr. Siraporn Sawasdiworn(タイ国立小児病院長)ほか1名来所、学友会主催友好セミナー開催及び意見交換。

ｴ　平成25年7月16日　Liu Guohua（中国河南省CDC所長他)来所、感染研概要説明及び意見交換。

ｵ　平成25年7月24日Jonathan Margolis（米国国務省科学・宇宙・医療担当次官補代理)来所。意見交換。

ｶ　平成25年8月27日　Dr.Wrishmeen Sabawoon(アフガニスタン保険証ポリオ担当官)来所。意見交換。

ｷ　平成25年8月27日　Ms. Kelsey L. Campbell（米国国防省次官補オフィス国際関係アドバイザー)来所。意見交換。

ｸ　平成25年10月11日Listyani Wijayanti(インドネシア Agency for the Assessment and application of Technology(BPPT)バイオテクノロジー部門関係者)ほか来所。意見交換。

ｹ　平成25年10月22-23日　Nguyen Van Binh(ベトナム保健省視察団)来所。日本における感染症コントロールシステムに関する概要説明、見学、意見交換。

ｺ　平成25年11月14日Sally Davies（英国首席医務官)来所。感染症対策について意見交換。

ｻ　平成25年12月18-19日Myagmar　Janchiv（モンゴル新興感染症対策プロジェクト本部）ほか来所。検査体制視察・施設見学。

ｼ　平成26年1月23-24日Sekhar Chakrabarti(インドNICED)来所。共同研究打合せ・意見交

換。

ｽ　平成 26 年 2 月 18 日 Elizabeth Hogben（英国大使館科学技術部長)来所。日英サイエンスコラボレーションに関する意見交換。

ｾ　平成 26 年 3 月 5 日　Dr. Ivana Kenezevic (WHO)来所。生物学的製材の標準品、規格に関する協力センターとしての活動に係る視察、今後の活動等に関する意見交換。

ｿ　平成 26 年 3 月 14 日 Dr.DavidDenning(英国 GAFFI 代表 真菌感染症専門家）来所。意見交換。

(4)　感染研セミナー等の開催

ｱ　平成 25 年 6 月 11 日　タイ国立小児病院との友好セミナー開催（感染症疫学センターとの共催)。

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。

(1) 外国人特別研究員（欧米短期）

平成 26 年 9 月 25 日-12 月 21 日「Nef 特異的な inhibitor による HIV-1 感染と病態形成阻害効果」研究（ドイツ・1 名・免疫部）

(2) 外国人招へい研究員（長期）

平成 25 年 8 月 5 日-平成 26 年 1 月 24 日「アジアにおけるヒトアデノウイルスの分子疫学」研究（バングラディシュ・1 名・感染症疫学センター)

(3) 外国人招へい研究員（短期）

平成 26 年 1 月 8 日-平成 26 年 2 月 28 日「人獣共通感染症を原因としたアウトブレイクの対策方法の検討と国際ネットワークの構築」研究（米国・1 名・副所長）

(4) 二国間共同研究

ｱ 平成 25 年 6 月 1 日-平成 27 年 3 月 31 日
インド（DST）（寄生動物部）
「腸管内寄生虫赤痢アメーバ特異的な膜輸送の構造生物学的解析」

ｲ 平成 25 年 9 月 1 日-平成 27 年 8 月 31 日
エジプト（MSR）（ウイルス第二部）
「遺伝子型４のＣ型肝炎ウイルス増殖系開発と NS4b タンパク質の機能的解析」

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（フランス等)、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。

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）の還元、外国人研究者の来日に係る手続きや日本学術振興会交流事業にかかる応募情報等掲載している。

15. バイオセーフティ管理室

室 長　棚林　清

概　要

平成 24 年度で退官した杉山和良前室長の後任室長として国立感染症研究所獣医科学部より棚林清が着任した。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) また、病原体等の取扱届・申請や受入・分与等に関わる確認業務、および共同利用施設である BSL3 実験室等の管理・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教育・訓練･研修並びに情報収集・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。本年はグローブ・マスク等の個人防護具の着脱方法についてのデモンストレーションと実技を取り入れた講習会として実施した。継続した病原体等の取扱者を対象とした講習会は 2 年ごとに実施されており、本年、各庁舎で実施した。また、感染症法における特定二種病原体等取扱者および家畜伝染病病原体取扱者を対象とした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、村山庁舎高度封じ込め実験施設、6 号棟、9 号棟のおよびハンセン病研究センターBSL3 実験室、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。

バイオセーフティに関する研究業務としては、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、ウイルスを用いた薬剤不活性化効果に関する研究、抗酸菌に関する研究等を行った。

厚生労働省は、感染症発生動向調査事業等において、ゆうパックによる検体を送付の際の留意事項を結核感染症課長通知として発出し、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都道府県の衛生主管部が認定する包装責任者を置き組織として安全対策を導入することとしている。厚生労働省は本通知の徹底と適切な梱包法の実習を行う研修会を前年度に続き衛生主管部関係者を対象として開催しており､本研修の企画並びに研修での実習指導を担当した。

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としており、送付元の組織の包装責任者の確認をおこなった。さらに、所内においてもバイオリスク管理講習会や各種研修会において病原体等の梱包・輸送について説明をおこない徹底をはかった。

米国バイオセーフティ学会総会、欧州バイオセーフティ学会総会、および日本バイオセーフティ学会等に参加し、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) の研究で、バイオリスク管理システムの総合的モデル構築の項目として、臨床検体や病原体の管理システムのプログラムの修正、BSL2 モデル実験室の構築とバイオロジカルセーフティキャビネットの排気流測定と設置場所の考察、オートクレーブ使用条件の検討を行った。また、バイオリスク管理の教育に関する項目として、ヒヤリハット事例等の分析をもとに作成した教育用資料や WHO ポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用 DVD や和訳資料の各研修会での利用と評価、および病原体等の運搬方法等に関する研修用資料作成、輸送容器の消毒滅菌の影響の検討を行った。

［御手洗聡 (結核研)、藤本秀士(九州大学大学院)、重松美加 (感染症疫学セ)、安藤秀二(バイオセーフティ・ウ

イルス 1)、清水博之 (ウイルス第二部) 、伊木繁雄、棚林　清、杉山和良］

2.　高圧蒸気滅菌処理の条件と温度に関する検討

病原体の不活化の際汎用されるのが高圧蒸気滅菌器であるが、被滅菌物の状態によっては水蒸気が十分に行き渡らず、滅菌が不十分となる可能性が懸念される。このため、被滅菌物に実験室用ガウン 2 着を市販のオートクレーブバッグに詰め、(1) オートクレーブバッグの口を閉じた状態、(2) オートクレーブバッグの口を開けた状態、(3) 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た。この際、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、温度分布及び滅菌状態について調査を行った。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た。これらのデータについての関連性をまとめ、各条件において効率よく確実に滅菌される方法について検討した。

［伊木繁雄、棚林清、重松美加(バイオセーフティ・感染症疫学セ)］

3. 病原体輸送容器の消毒・滅菌処理後の強度に関する検討

国内で販売されている病原体輸送容器は再利用が担保されていないが、その根拠は明確ではない。再利用の場合、内装容器は安全性を図るため滅菌等の処理が必要と考えられる。このため、これまでの研究実績を踏まえ、四種類の病原体輸送容器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×20 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（121℃, 20 分×20 回または 135℃, 40 分×20 回）を施し、国連基準に則った強度試験のうちの落下試験に対する耐性を調べた。また、これまでの試験で一部の容器に不合格が見られた内圧試験について、容器のパッキンを新品と交換後に再度内圧試験を実施し、合否へ影響の有無について検討した。

［伊木繁雄、棚林清、安藤秀二(バイオセーフティ・ウイルス 1)］

4. 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］

5. 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。これまでに、人工血液浸透防護性能試験や飛沫防護性能試験など多くの JIS 規格の改定を行ってきた。

[篠原克明]

6. 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。また、病原体管理に関する研修会などを行い、国内数十箇所に一括管理システムの実用配備を行った。現在まで継続して、有用性検証を行っている。また、国内外の関連情報の収集を行い、その都度システムの改良に反映した。

［篠原克明］

7. 病原体の不活性化に関する研究

(1)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

昨年度エタノール製剤に対し FCV が株によって感受性に差があることが確認され、これがどういった機構に起因するかについて、エタノール感受性 FCV 株を用いて、50％v/v エタノールによる処理後に残留した FCV を回収して培養、さらにエタノール処理をして残留した FCV を回収、という手順を繰り返し、エタノール抵抗性株の作出を試みた。その結果 60%v/v エタノールに対し、オリジナルと比較して明らかに感受性の低い FCV が作出された。この抵抗性株とオリジナル間での構造タンパク領域の核酸塩基配列を比較したところ、全く変異が認められなかった。今後非構造領域を含む全塩基配列解析と比較を行い、抵抗性の要因について検証する。

※本研究は平成 25 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、棚林清、日置祐一（花王）]

(2)MA104 細胞クローニングによる臨床材料からの A 群ヒトロタウイルス(hRVA)分離向上と持続感染性について

昨年度 MA104 細胞のクローニングによる hRVA 分離向上について報告したが、後日このクローンの Mycoplasma 汚染が確認され、これを除染後に再クローニングを行うこととなった。増殖指標としては ATCC より分譲された Wa 株および DS-1 株を用い、増殖確認は市販のイムノクロマト(IC)キットを使用した。120 以上のクロ

ーンから hRVA 増殖性の良好な C4D10 および C8D1 の 2 クローンを得た。またこの 2 クローンを T75 フラスコに各々播種し、Wa 株及び DS-1 株の持続培養を行ったところ、盲継代をせず培地交換のみにより上清に継続的に hRVA 産生が確認された。この培養上清を順次回収・プールしたものを精製したところ、電子顕微鏡にて明瞭な hRVA 粒子が確認できた。また培養の間、細胞変性効果は限局的であり、これらのことから供試した hRVA については MA104 細胞クローンにおいて持続感染及び粒子放出されていることが示唆された。※本研究は厚生労働科学研究費補助金(H23-新興-一般-005　研究代表者：片山和彦)により実施した。

［高木弘隆、藤井克樹(ウイルス 2)、片岡紀子(村山・電顕室)、小林宜道(札医大)、片山和彦（ウイルス 2）］

8. 国立感染症研究所におけるバイオリスク管理講習の評価

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、棚林　清、高木弘隆、山崎利雄、篠原克明］

II.　抗酸菌に関する研究

1. 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。24 年度行った感染実験で有効性が確認されたワクチン候補について、同条件での再現性を確認したところ、ブースターワクチン投与群で、顕著な効果が認められた。特に脾臓では、1/100 に結核菌数が減少し、病理組織学的にも肉芽腫の減少が観察され症状の改善が認められた。肺では、充分効果の出た個体もあり、一定の効果が認められたが、より有効性を高めるため、ワクチンの最適化および気道内免疫等免疫条件を検討する必要があることが明らかになり、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）]

国際協力関係業務

ベトナム国高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクト

ベトナム国におけるバイオセーフティ並びに実験室診断能力強化と連携強化プロジェクト（第 8 年度）に短期専門家として参加し、ベトナム国の主要研究機関並びに主要地方検査機関のバイオセーフティ担当者に対してバイオセーフティマネージメントの教育、指導、並びに各実験施設の性能検証と運転計画、メンテナンス計画の作成や技術指導を継続して行っている。

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、伊木繁雄、棚林清］

研修業務

Ⅰ．バイオリスク管理講習会

1. 新規者及び継続者を対象としたバイオリスク管理講習会

新規者を対象として 2 ヶ月に一度、計 6 回実施し 173 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から、バイオリスク管理の考え方について講演した。管理室長は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)。今年度は、個人防護具（PPEs）の脱着の仕方および手洗い方法についてデモンストレーションと実習を追加して実施した。継続者講習は 2 年毎に開催しており 598 名が受講した（表 2)。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、15 回開催し 19 名の受講者があった(表 3)。

表 1 平成 25 年度新規・継続取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数	継続受講者数
4 月 8 日	46	0
5 月 16 日	0	220
5 月 17 日	0	138
5 月 22 日	0	42
5 月 23 日	0	184
6 月 26 日	0	14
6 月 4 日	31	0
8 月 5 日	30	0
10 月 7 日	32	0
12 月 3 日	15	0
2 月 3 日	19	0
計	173	598

表 2 バイオリスク管理講習会内容、講師

講演内容	講師
基本的なバイオリスクの考え方	脇田隆字(ウイルス第二部)
病原体安全管理規程及び規則等、実験室安全管理の実際	棚林清
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)
リスク評価	篠原克明
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
PPE (デモンストレーション) 他	山崎、高木、伊木
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 (病原体等の輸送について)	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

表 3　平成 25 年度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 10 日	1
4 月 15 日	1
5 月 15 日	1
7 月 8 日	1
7 月 18 日	1
8 月 2 日	1
8 月 7 日	2
8 月 27 日	4
9 月 5 日	1
10 月 1 日	1
10 月 7 日	1
11 月 18 日	1
11 月 21 日	1
1 月 8 日	1
3 月 5 日	1
計	19

2. 二種病原体等取扱者講習会

二種病原体等取扱者を対象として感染症法の解説および特定病原体等の取扱いに関わる講習並びに細菌第二部加藤はる室長によるボツリヌス症についての講演を講習会内容とし 5 月 24 日、6 月 24 日に実施した。

［棚林　清］

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎（5 月 29 日）、村山庁舎（10 月 15 日）およびハンセン病研究センター（10 月 17 日）の保守・警備担当者を対象にして講習会を実施した。

［棚林　清］

4. 家畜伝染病病原体取扱者講習会

家畜伝染病病原体取扱者を対象に病原体の所持規制等に関する講習会を 3 月 14 および 25 日に戸山・村山庁舎にて実施した。

［棚林　清］

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等に対し、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及び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、棚林清］

2．エイズ国際研修（JICA Training Course：Laboratory Techniques for Diagnosis and Monitoring of HIV Infection）

研修生に対し、バイオセーフティの講習及び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、棚林　清］

3. 保健医療科学院研修

自治体衛生研究所職員等を対象とした細菌コースにおいてバイオセーフティに関する講習を行った。

［高木弘隆］

III.　所外機関等の研修

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や表示等についての実技指導を行った（計 2 回）。

［伊木繁雄、棚林清、重松美加(感染症疫学セ)］

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、棚林　清］

3.地方衛生研究所等所外機関における研修会

川崎市衛生研究所におけるバイオセーフティ関連研修会において講習を行った。

[高木弘隆]

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棚林清、山崎利雄、伊木繁雄、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、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、森本友子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 25 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	75
村山庁舎	61
ハンセン病研究センター	20
計	156

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	1	4	0	0	2	2
5 月	1	1	1	2	0	0
6 月	1	1	1	1	1	1
7 月	0	0	0	0	0	0
8 月	0	0	0	0	1	5
9 月	0	0	0	0	0	0
10 月	1	1	3	5	0	0
11 月	2	2	0	0	1	1
12 月	1	1	1	1	0	0
1 月	0	0	0	0	0	0
2 月	0	0	1	1	0	0
3 月	0	0	2	2	1	1
計	7	10	9	12	6	10

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、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、バイオリスク管理、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等の問い合わせ、分与依頼、病原体のバイオセーフティレベル分類や実験施設・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寄せられ、これらの問い合わせについて情報提供を行った。

厚生労働省、人事院、財務省、大学生、高校生、外国人など多数の BSL3 施設見学者を受け入れ、これら見学者に対して施設説明およびバイオセーフティについての解説を行った。

［高木弘隆、篠原克明、山崎利雄、伊木繁雄、棚林清、重松美加（感染症疫学セ）］

III. 研究所一般公開

研究所の一般公開平成 25 年 10 月 5 日が開催された。1 階ホール会議室を模擬実験室として使用し、PPE の着用および安全キャビネットでの取り扱い体験、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、手洗い実習も行った。この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。

［山崎利雄：広報委員会、伊木繁雄、篠原克明］

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の構築を行っている。さらに、家畜伝染病病原体所持規制に係る対象病原体等とその取扱者、取扱実験室を反映させ、より多角的に管理できるシステムへと発展させる準備をすすめた。また、ホームページ管理では、各種情報のリニューアル、アップデートした内容をよりわかりやすく掲載する作業に着手した。

［中西三季、浅沼みゆき、棚林清］

V. 梱包責任者、病原体等輸送品のチェック業務

感染研へゆうパックを用いて発送される病原体等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 のチェックシート等を用いた確認業務を行った。

［伊木繁雄、高木弘隆、山崎利雄、篠原克明、野川加奈、棚林　清］

発　表　業　績　一　覧

I. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1)　Tomoichiro Oka, Hirotaka Takagi, Linda J Saif, Qiuhong Wang Comlete genome sequence of feline calicivirus 2280 Strain from the American Tissue Culture Collection, GenomeA May/June 2013 vol1 Issue3

2) Sharma N, Hotta A, Yamamoto Y, Uda A, Fujita O, Mizoguchi T, Shindo J, Park CH, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamada A, Morikawa S, Tanabayashi K. Serosurveillance for *Francisella tularensis* among wild animals in Japan using a newly developed competitive enzyme-linked immunosorbent assay. Vector Borne Zoonotic Dis. 14:234-239, 2014

3) Uda A, Sekizuka T, Tanabayashi K, Fujita O, Kuroda M, Hotta A, Sugiura N, Sharma N, Morikawa S, Yamada A. Role of pathogenicity determinant protein C (PdpC) in determining the virulence of the Francisella tularensis subspecies tularensis SCHU.　PLoS One. 9 : e89075, 2014

2. 和文発表

1) 篠原克明 : 保護具の組み合わせによって生じるミスマッチとコンパチビリティ　～様々なリスクに対応する保護具の選び方～　バイオハザード対策用防護具．セイフティ・ダイジェスト．(Safety & Health Digest) Vol.59. No.5. 20-22. 2013. 5 月．　社団法人　日本保安用品協会（JSAA）．

2) 高木弘隆 : 実験動物を用いた感染実験によるリスク管理と感染制御 (九州実験動物研究会　第 30 回大会記念シンポ発表より寄稿)　九州実験動物雑誌、No.29 November 2013　p 53-56

3) 高木弘隆　ウイルスの化学的消毒・不活性化　その評価と実効性及び課題　クリーンテクノロジー　Vol.23 No.11　2013　p53-57

II. 学　会　発　表

1.　国際学会

1)　Iki, S., Shigematsu, M., Ando S. and Tanabayashi, K. The examination of qualitative transforms of containers used in the transportation of infectious substances by decontamination. American Biological Safety Association, 56th Annual Biological Safety Conference, October 17-23, 2013. Kansas City, USA.

2)　Shinohara, K., Watahiki, M., Sata, T., Hayakawa, N., Komatsu, R., Takada, A., Kurata, T., Saijo, M. Consolidation of access control system and Pathogen sample management system to enhance the security of pathogen inventory. 16th Annual Conference of the European Biological Safety Association, June 17-20, 2013. Basel, Switzerland.

3)　Shinohara, K., Watahiki, M., Sata, T., Takada, A., Komano, J., Okutani, A., Fukushi, S., Hayakawa, N., Komatsu, R., Kurata, T., Saijo, M. Usefulness of pathogen management system. American Biological Safety Association, 56th Annual Biological safety Conference, October 17-23, 2013. Kansas City, USA.

2.　国内学会

1)　伊木繁雄、棚林清：高圧蒸気滅菌処理における被滅菌物内の温度分布と滅菌効果、第 13 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2013 年 9 月、札幌

2)　篠原克明：保護具の組合せによって生じるミスマッチとコンパチビリティ～様々なリスクに対応する保護具の選び方～バイオハザード対策用保護具、第 10 回日本防護服研究会学術総会、2013 年 2 月、東京

3)　岡上晃、野島康弘、菊野理津子、島崎典子、篠原克明：バイオハザード対策用防護服素材の浸透防護性能評価に関する研究、日本防菌防黴学会　創立 40 周年記念事業　第 40 回年次大会、2013 年 9 月、大阪

4)　篠原克明、早川成人、小松亮一、綿引正則、佐多徹太郎、倉田毅、西條政幸：病原体管理システムと物理的セキュリティの融合。第 13 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2013 年 9 月、札幌

5)　高木弘隆、藤井克樹、小林宜道、棚林清、片山和彦：多様な A 群ロタウイルス株に対する感受性 MA104 クローン樹立の試み、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月、神戸

6)　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：カリシウイルスのリバースジェネティクスシス テムを用いた感染性粒子の研究、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月、神戸

7)　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、脇田隆宇、片山和彦：マウスノロウイルス感染細胞内のウイルスタンパク質間とそのゲノム RNA との相互作用、第 61 回日本ウイルス学会学術集会、2013 年 11 月、神戸

8) 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由来マクロファージおける活性型ビタミン D_3 関連遺伝子の発現解析、第 24 回日本生体防御学会、2013 年 7 月、熊本

9) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、網康至、伊保澄子、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 MDP1 および TLR 9 リガンド G9.1 アジュバントの結核菌噴霧感染による評価、第１７回日本ワクチン学会学術集会、2013 年 12 月、津市

10) 小川翔大、小川賢二、八木哲也、大原直也、後藤義孝、藤原永年、前田伸司、山崎利雄、　伊藤佐生智、瀧井猛将：菌体内 pH の低下による *Mycobacterim avium* の arcA mRNA の発現変化の解析、第 87 回日本細菌学会総会、2014 年 3 月、東京

11) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、網康至、須崎百合子、伊保澄子、山本三郎：結核菌組換えタンパク質および TLR 9 リガンドを用いた結核ブースターワクチンの結核菌噴霧感染による評価、第 87 回日本細菌学会総会、2014 年 3 月、東京

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ている。当室は、室長 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、再任用職員として鈴木寿子が戸山庁舎に、土田耕三が動物管理室員と放射能管理室とを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25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）を受講する希望者数が減少しているため、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 回に講習回数を減らすことにした。講習会の開催月は、受講者数が 4 月と 6 月に集中していることから、4 月、6 月、10 月、2 月に実施することを決定した。従事者再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51名、外国人向け英語講習受講者が3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 344 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（5 月)、村山庁舎（10 月）とハンセン病研究センター（10 月）で開催した。

藤本、鈴木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し、藤本は放射線安全管理研修会にも参加した。

各施設は適切に点検を受けて今の所正常に作動しているが、将来を見据えた早めの保守交換が、予算的な制約から困難となりつつある。この背景には、放射性同位元素、放射線照射装置を使った実験が少なくなっており、所としての優先度が低下している点が上げられる。戸山庁舎地下三階にある中央実験室ならびに動物実験室を利用者の協力により整頓し、より実験がし易い環境作りを進めた。

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）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	1,216.827	18.500	17.081
^{14}C	139.423	1.850	5.935
^{32}P	304.207	436.250	664.977
^{35}S	180.167	0.000	10.178

保管量下限数量比合計 771.300

2. 村山

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	123.550	0.000	37.000
^{14}C	0.037	0.000	0.000
^{32}P	20.905	18.500	32.745
^{33}P	0.000	46.250	46.250
^{35}S	210.550	1,332.000	946.550

保管量下限数量比合計 72.700

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	113.960	0.000	3.700

保管量下限数量比合計 11.000

Ⅱ. 従事者数*

(*一昨年度までの従事者登録者数から表記を改めた)

１．戸山 ２２６名（独立行政法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山 ２６名

３．ハンセン ８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25年 4月 12日	24	新規
5月 13日	156	継続
5月 14日	90	継続
5月 16日	69	継続 (村山)
5月 17日	16	継続（ハンセン）
6月 14日	14	新規・継続
6月 18日	9	継続
6月 20日	2	継続
6月 27日	1	継続
10月 4日	7	新規
平成26年 2月 7日	7	新規
合計	395	

*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25年 7月 30日	1	新規
平成26年 3月 26日	2	新規
合計	3	

3. 特別講習会

平成25年 5月 29日	戸山TBS、防災センター
12月 17日	業者

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

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発生時、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。本研究では、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、Kuタンパク質と各DNA末端との結合能力を実験的に確認することで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ている。本年度は昨年度に引き続き、DSB末端のモデル化を行った。DSB発生のメカニズムとして、1本鎖切断(SSB)部位近傍の相補鎖側に別のSSBが生じる場合を想定し、5'側、もしくは3'側に突出した末端を持つDNA分子を、それぞれ突出塩基数を1～2塩基に設定し設計した。また、SSBのモデルとして用いたβ-SSB(塩基が脱落し五炭糖が開環したSSB)、およびβ-δ-SSB(塩基が五炭糖ごと脱落したSSB)と他の損傷とを組み合わせたクラスターDNA損傷モデルを作成し、損傷部位への修復酵素の結合能力の予測結果と修復酵素の実際の修復能力とを比較する事で今回設計した各SSBモデルの妥当性の検証もおこなった。

[藤本浩文、小池学(放医研)、樋口真理子、甲斐健師、渡辺(横谷)

立子、ミロスラフ ピナック(原子力機構)、加藤篤]

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。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. 新規脂質輸送関連遺伝子の解析

テルペノイドの細胞外排出に異常がある動物の変異体を利用してポジショナルクローニング法によって同定された脂質輸送に関わることが推測される新規遺伝子について解析を行った。遺伝子構造をRNA-seqの解析などから詳細に調べた結果、新規遺伝子は膜貫通型と非膜貫通型の二つのアイソフォームを有することを見いだした。膜貫通型のアイソフォームは脂肪組織に特異的に発現していたが、テルペノイドの細胞外排出には非膜貫通型が関与していることが発現解析の結果から示唆された。

[作道隆、飯塚哲也、瀬筒秀樹、山本公子、桑崎誠剛、生川潤子(生物研)、伴野豊(九大)]

III. ストレプトマイシン要求性抗酸菌の解析

結核菌感染症は、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ことから、休眠状態の菌への対策は重要である。1950年代に臨床分離株から分離された結核菌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非存在下で増殖を止めた状態では、結核治療薬に抵抗性を示すことから、休眠状態の抗酸菌に作用する抗菌薬のスクリーニングに近年利用されつつある。18b株より取り扱いの容易なワクチン株であるストレプトマイシン要求性BCG株において抗菌薬への抵抗性を解析した。 [本田尚子、松村隆之、阿戸学、小林和夫（免疫部）、佐藤法仁、大原直也（岡山大学）、土田耕三、加藤篤]

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. 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. 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曝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) Yokoyama H, Yokoyama T, Yuasa M, Fujimoto H, Sakudoh T, Honda N, Fugo H, Tsuchida K, Lipid transfer particle from the

silkworm, *Bombyx mori*, is a novel member of the apoB/large lipid transfer protein family. J. Lipid Res., 54:2379-2390, 201

2) Okajima K, Iseki K, Koyano S, Kato A, Azuma H. Virological Study of a Regional Mumps Outbreak in the Northern Island of Japan–Mumps Virus Genotyping and Clinical Description. Jpn. J. Infect. Dis., 66:561-563, 2013

3) Abe M, Tahara M, Sakai K, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizuta K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. TMPRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses. J Virol. , 87:11930-11935, 2013

4) Nagata S, Maedera T, Nagata N, Kidokoro M, Takeuchi K, Kuranaga M, Takeda M and Kato A. Comparison of the live attenuated mumps vaccine (Miyahara strain) with its preattenuated parental strain. J Vaccines Immun. 1: 13-21, 2013

2. 和文発表

1) 作道隆　カイコ繭色の多型を利用した脂質輸送の研究　ニュースレターおかいこさま　vol.25, 1-3, 2013 年 5 月

2) 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

3) 藤田賢太郎，加藤篤：第 5 章ワクチン製造における品質管理の基本的考え方とポイント，ワクチン開発における最新動向～規制動向・安全性評価・品質管理・アジュバント・開発事例～ pp73-82，情報機構，2013

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会等

1) Sassa A, Suzuki T, Kanemaru Y, Niimi N, Fujimoto H, Katafuchi A, Gruz P, Yasui M, Gupta RC, Johnson F, Ohta T, Honma M, Adachi N, Nohmi T, Phenylalanine 171 of human DNA polymerase kappa is a molecular brake for translesion DNA synthesis across benzo[a]pyrene adducts, The Environmental Mutagenesis and Genomics Society (EMGS) 44th Annual Meeting, California, USA, 2013

2. 国内学会等

無し

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）が平成 24 年 9 月 5 日に改正された。その１年後の施行にあわせて、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」が改正され、平成 25 年 9 月 1 日より適用された。この改正では、「管理者は、定期的に、本基準及び本基準に則した指針の遵守状況について点検を行い、その結果について適切な方法により公表すること。なお、当該点検結果については、可能な限り、外部の機関等による検証を行うよう努めること。」という自己点検評価に関する項目が新規に加わった。感染研の動物実験委員会ではすでに自己点検、その公表、外部機関による評価を受けているところであったが、動物実験施設の施設調査チェックリストを見直し、自己点検を１年１回行うこととした。

動物管理室の主な業務は感染研動物実験施設の管理運営である。従来の業務に加えて、以前より準備を進めていた胚の凍結保存、胚操作による動物の清浄化などの業務が、本年度胚操作技術を持つ任期付き研究員が着任したことにより可能となった。

実験動物に関する研究を昨年度に引き続き行なった。実験動物の感染症に関する研究では、マウス肝炎ウイルスの研究、Tyzzer 菌の鞭毛蛋白に関する研究、モデル動物の開発研究として、カニクイザルの麻疹ウイルス病態モデル、イヌジステンパーウイルスのマウスモデル、インターフェロン欠損コウモリ細胞株の樹立、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施設管理運営の研修を受け入れている。平成 25 年度は獣医師育成プログラム、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、JICA 国別研修（中国、ベトナム）、JICA 集団研修に対応した。

動物管理室長は所内の業務に加えて、日本実験動物学会常務理事、国内の動物実験施設認証制度の委員、所外機関の実験動物感染症に関する委員会委員、GLP 評価委員会委員、実験動物管理者研修講師、など、国内の実験動物学に寄与する活動を行った。また、感染研は厚生労働省関係研究機関動物実験施設協議会に加盟し、国内情勢の情報共有に参画している。

平井明香主任研究管の研究休職期間に任期付き研究員として、平成 25 年 4 月 1 日より河合康洋が着任した。

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 25 年 1 月 10 日機関内規程及び動物実験委員会の見解を改正した後、動物実験講習会の受講者数は、平成 26 年 3 月 31 日までに 480 名であった。平成 25 年度に申請された動物実験計画は 408 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 26 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 227 人、村山庁舎 238 人、ハンセン病研究センター27 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 26 年 3 月 31 日現在、マウス 5,046 匹、ラット 213 匹、モルモット 100 匹、ウサギ 62 羽、スナネズミ 13 匹、フェレット 30 匹、ネコ 9 匹、霊長類 108 匹、ニワトリ 14 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 10 日	戸山	23			30
6 月 3 日	戸山	6			12
9 月 30 日	*戸山*	*1*			*1*
10 月 8 日	戸山	7			15
12 月 24 日	ハンセン			4	
2 月 4 日	戸山	9			15
2 月 12 日	村山		6		
2 月 14 日	村山		1		
2 月 18 日	村山		11		
2 月 19 日	村山		5		
3 月 4 日	*戸山*	*1*			*1*
3 月 19 日	ハンセン			1	
合計		47 新規	23 新規	5 新規	74 新規

（斜字は外国人対象講習会）

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。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、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繁殖している遺伝子改変マウス等を対象として、利用者の依頼により精子の凍結保存に加え、体外授精による受精卵の凍結保存および胚移植によるクリーニング等の研究支援業務を開始した。平成 25 年度は 1 系統の依頼があり、精子および受精卵の凍結保存を実施した。また、従来用いているマウス受精卵の凍結保存溶液(DAP213)と比べ、受精卵の凍結保存、融解作業が簡易な凍結保存液(5E5D)が報告されている。5E5D 保存液を用いて、2 系統のマウス受精卵の凍結保存および融解の効率を検討した。その結果、受精率および融解後の生存率に差は認められなかった。今後は、凍結融解後の受精卵を移植し品質の検討を行う予定である。

（田原口元子、河合康洋、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、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、マウス体内での臓器別によるウイルス増殖の変化を検討した。経時的に採取した感染マウスの肝臓、脳および大腸では 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。さらに、肺および脾臓の検討を進めている。

（田原口元子、新倉綾、山田靖子）

II-2　走査電子顕微による Tyzzer 菌（*Clostridium piliforme*）の鞭毛分画の確認と鞭毛蛋白の塩基配列決定

SDS-PAGE の分子量（53-56kD）から鞭毛と判断していた分画が本当に鞭毛であるかを走査電子顕微鏡で確認した。Tyzzer 菌を voltex 後の遠心（1,000 ×g）沈渣を「菌体分画」、その上清を遠心（30,000 ×g）して得た沈渣を「鞭毛分画」とした。1 分の voltex では、鞭毛が菌体からほとんど外れていたが、鞭毛は細切されてしまっていた。15 秒の voltex では、菌体に鞭毛が若干残っていたが、鞭毛分画の鞭毛は細切されていなかった。いずれの鞭毛分画も菌体をほぼ含まず、SDS-PAGE 上では 53-56kD の分子量を示したことから、この分画が鞭毛であることが確認された。バキュロウイルスで組換え Tyzzer 菌鞭毛蛋白を発現させるため、鞭毛蛋白 flagellin 遺伝子の塩基配列を決定した。縮重プライマーを用いた PCR で得られた Tyzzer 菌（RT 株）の鞭毛蛋白 fllagelin 遺伝子断片の塩基配列をもとに PCR Walking を行い、flagellin 遺伝子の全長塩基配列（813bp）を決定した。

（滝本一広）

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各中枢神経組織を Vero 細胞と共培養して得られた培養細胞株について、麻疹ウイルス N 遺伝子特異的プライマーを用いて RT-PCR を行ったところ、大脳基底核、視床、頭頂、小脳の各組織と培養した細胞株に麻疹ウイルス N 遺伝子が認められた。これは、中枢神経の広範な部位でウイルスが持続感染していた事を示唆する。

（網　康至、須崎百合子）

III-2 イヌジステンパーウイルス(CDV)感染症モデルマウスの開発

イヌジステンパーウイルス(CDV)は、野生動物を中心として蔓延しており、マカク族サルにまで宿主域を拡大している。近年、日本に輸入されたカニクイザルコロニーにおいても致死性の CDV 感染症の流行が見られた。CDV の主たる感染経路は、飛沫／接触感染であり、最初に標的になるのは気管支周囲のリンパ節や扁桃に存在する血球系細胞である。CDV は血球系細胞に発現する SLAM を介して感染、増殖し、血流を介して呼吸器・消化器・皮膚の上皮細胞、さらに中枢神経のグリア細胞に感染する。CDV は、上皮細胞に発現する Nectin4 を介して感染することが知られている。

現在、イヌ SLAM 発現 Vero 細胞を用いた CDV の分離や野外分離株を用いてイヌでの実験的な発症に成功しているが、CDV が感染、発症するモデルマウスは存在せず、CDV の病原性を研究する上で必要不可欠となっている。そこで本研究では CDV を感染、発症するモデルマウス作製を試みる。本年度中の作製された場合、様々な野生物から分離された CDV を感染させ、CDV 感染、発症モデルとしての有用性を検討する。

[河合康洋、森川　茂[1]、阪井弘治[2]（[1]獣科学部,[2]エイズ研究センター）]

III-3 インターフェロン関連遺伝子欠損コウモリ細胞株樹立

コウモリ類はエボラウイルス、マールブルグウイルス、狂犬病ウイルス、ニパウイルス、ヘンドラウイルス、SARS コロナウイルス等、多くのウイルスの自然宿主である。近年、未知／既知ウイルスの探索を目的としたコウモリのサーベイランスが世界各国で行われているが、ウイルス遺伝子や抗体が検出される検体であっても、ウイルスそのものが分離されない事例が多い。そこで本研究では、コウモリ由来細胞から抗ウイルス応答に重要な IFN 産生に関わる自然免疫関連遺伝子を、遺伝子編集技術を用いてノックアウトすることにより、効率的にコウモリウイルスが分離できる cell line を確立する。

実際には、ヒトおよびその他哺乳動物の抗ウイルス応答のキーファクターである細胞内分子 Myd88 細胞、細胞内ウイルス RNA センサーである RIG-1、MDA5、およびインターフェロンの受容体である IFNaR1 を標的遺伝子とし、それぞれ、あるいは 2 重、3 重遺伝子欠損コウモリ細胞株を作製中であり、作製された細胞株は、様々なウイルスを用いて分離効率の評価を行う予定である。

[河合康洋、加来義浩[1]（[1]獣医科学部）]

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（RVFV,ブニヤウイルス属）は、ブニヤウイルス科フラビウイルス属に分類され、蚊媒介性の人獣共通感染症の原因ウイルスである。RVFV の L 蛋白（RVFV-L）は 2,092 アミノ酸から成る約 250KDa の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼで、多量体を形成し N 蛋白とともにウイルスゲノムの複製と転写を行う。これまで、RVFV-L の N 末端領域に存在するロイシンジッパー様のモチーフ（Leu-6-Leu-6-Leu-6-Leu）（ZIP）の特に 200 と/207 位　のアミノ酸ロイシンがポリメラーゼ機能に重要であること、ZIP が C-末端領域を介した RVFV-L の多量体形成における蛋白間相互作用分子内会合 に関与している可能性を報告してきた。今年度は、ZIP と C-末端領域との相互作用をより詳細に解明することを目的として、RVFV-L の C 末端の 2,000-2,092 位のアミノ酸領域にほぼ規則的に配置しているロイシンおよび類似アミノ酸と、ZIP との相互作用について検討を行った。その結果 2,066, 2,073、2,073、、2,080 位のロイシンあるいはイソロイシンをプロリン置換すると、ポリメラーゼ機能は著しく低下した。さらに、2,000-2,092 位の領域を含む約 800 アミノ酸の断片（1,300-2,092 位）は、共発現した野生型 RVFV-L と結合し、そのポリメラーゼ機能を阻害するが、2,000-2,092 位の領域を含まない断片（1,218-2,000）ではそれが見られないことから、ZIP と 2,000-2,092 位のロイシンの相互作用が RVFV-L のポリメラーゼ機能に必須であることが明らかとなった。 [新倉綾、福士秀悦[1]、森川茂[2] ([1]ウイルス一部、[2]獣医科学部)]

IV-2 ヒトバベシア症に関する研究

Babesia microti US-lineage(BmUS)によるヒトバベシア症は米国北東部を主な流行地とする、マダニ媒介性

の人獣共通感染症である。我々はこれまで、道東地方の野鼠から BmUS を分離し、これが米国分離株と遺伝的に近縁であること、同地方の *Ixodes persulcatus*(シュルツマダニ、Ip)から野鼠由来株と同一の遺伝子が検出されること等を報告してきた. 今年度は野外で Ip を採集し、原虫分離にはじめて成功し、分離株 4 株の抗原・遺伝子性状を野鼠由来株や米国株と比較した。分離した BmUS 株 4 株の *CCT7* 遺伝子配列は同一で、道東地方の野鼠由来株とも一致していた。一方米国株とは 1.54%の相違が見られた。抗原性状は I.p 由来株と野鼠由来株の間でほぼ同様の交差反応が認められたが、米国株とは殆ど交差が認められなかった。以上の結果から、BmUS のベクターが Ip であることが証明された。Ip はヒトを吸血し、ライム病ボレリア等のベクターでもあることから、BmUS 陽性地域においてはヒトバベシア症の発生を注意深く観察していく必要がある。

[新倉綾、森川茂[1]、平田 晴之[2]、 石原智明[2]、山田靖子([1]獣医科学部、[2]酪農学園大学)]

発 表 業 績 一 覧

I 誌上発表

I-1 欧文発表

1) Takimoto K, Taharaguchi M, Sakai K, Takagi H, Tohya Y, and Yamada YK. Effect of hypochlorite-based disinfectants on inactivation of murine norovirus and attempt to eliminate or prevent infection in mice by addition to drinking water. Exp. Anim. 62:237-245. 2013

2) 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. 163:54-61. 2013

II 学会発表

II-1 国内学会

1) 滝本一広、田原口元子、酒井宏治、高木弘隆、山田靖子：塩素系消毒薬のマウスノロウイルス不活化効果と消毒薬の飲水による MNV 排除および MNV 感染防御の試み。第 60 回日本実験動物学会総会、平成 25 年 5 月、筑波。

2) 新倉(座本)綾、今岡浩一、木村昌伸、森川茂、平田晴之、石原智明、山田靖子 : ニホンジカ（Cervus nippon）からの Babesia divergens 様遺伝子の検出。第 156 回日本獣医学会学術集会、平成 25 年 9 月、岐阜。

3) 新倉（座本）綾、福士秀悦、森川茂、山田靖子：リフトバレー熱ウイルス L 蛋白のポリメラーゼ機能における C 末端領域の重要性。第 59 回日本ウイルス学会総会、平成 25 年 11 月、神戸。

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（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、再任用職員の近田俊文、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月に日本が医薬品査察協定及び医薬品査察協同スキーム（The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme : PIC/S）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（感染研）も PIC/S が求める ISO17025 相当の要件に合致した信頼性保証体制が求められるようになった。PIC/S 査察団の来日調査の前に感染研は、その準備として平成 25 年 7 月 24 日に独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）による模擬査察を受けた。また、この機会に併せて、厚生労働省監視指導・麻薬対策課（厚労省監麻課）と感染研との間で取り交わした「試験検査の依頼に関する取り決め書」に基づき、感染研の実地調査も同時に行われた。厚労省監麻課と PMDA による実地調査の際、当室は、感染研の信頼性保証体制の説明役並びに進行調整役を果たした。PIC/S 査察団は、9 月 9～13 日の調査日程で来日し、9 月 12 日に感染研を調査した。この際、当室は、副所長を補佐し、感染研の信頼性保証体制の説明役並びに進行調整役を果たした。9 月 13 日に行われた PIC/S 査察団のクロージングミーティングで感染研は PIC/S 要件を満たした良好な機関であると評価を受けた。感染研は、厚労省監麻課から指摘事項に対して適切に対応することを条件に、平成 26 年 2 月 18 日に OMCL としての認定（継続）を得た。

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てきた。新たに第二階層文書として整備された「検定・検査業務に係るマネジメントレビュー実施手順書」に従い、平成 24 年度検定検査業務にかかるマネジメントレビューが所長により実施された。その際、当室は各部等から提出された総括書、資料をまとめ、所長のレビューを補佐する役目を担った。レビュー終了後は、所長による指摘事項のまとめ、関係部署への指摘事項の配布等を行った。

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並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（製販業者）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）に関して製販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。しかし、わが国も平成 23 年 7 月 4 日に薬事法施行規則の一部を改正し、WHO の方針に則り国家検定に SLP 審査制度を導入することを決めた（平成 23 年度年報参照）。平成 24 年 10 月 1 日には、SLP 審査に係る試行期間が終了し、SLP 審査制度が正式に実施されることになった。SLP 審査に必要な SLP 様式は、製販業者が作成した原案を感染研の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、感染研所長名で通知されるものである。平成 24 年 10 月の SLP 審査の正式導入以降、保証室の SLP 様式確認作業は、新規製剤以外ほとんど無くなると予想していたが、実際には平成 25 年の生物学的製剤基準の改定に伴う製造販売承認事項の一部変更申請に対応した改定等により、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らなかった。

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感染研案と

して 60 項目の改定案を返した。改正生物学的製剤基準は、平成 25 年 9 月 12 日に官報告示された。保証室では、独自に感染研のホームページ上に改正を反映した生物学的製剤基準を掲載した。

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。一方、特に対外的な事柄に関して保証室が間に入って所内の製剤担当部との調整的な役割を担う比率が増えている。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）に関する事項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、審議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 たる感染研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。

本年度の当室の研究は基盤的研究費によって、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に関する研究

DT ワクチン追加接種時の局所反応を評価するために開発したマウスモデルでの足蹠腫脹と非動物系試験法として開発してきた百日咳毒素の ADP リボシル基転移酵素活性及びレクチン様結合活性を比較したところ、レクチン様結合活性はマウスモデルにおける局所反応との間に相関を示し、百日咳毒素のレクチン様残存結合活性と追加接種時の局所反応の関連性が示唆された。[落合雅樹、堀内善信（客員研究員）、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤；細菌第二部]

２．生物学的製剤の標準化等に対する統計解析支援

(1) 不活化ポリオ混合ワクチンの品質確保に関する研究

感染研を含む計 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)ロット更新のデータ解析を担当し、候補品ロット（12A）が参照不活化ポリオワクチン（セービン株）として制定された。[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)]

(2) 参照Ａ型肝炎ワクチンロット更新の統計解析支援

感染研と標記参照品を使用する製造所の計 2 施設が参加した参照Ａ型肝炎ワクチン（力価試験用）ロット更新のための共同試験が行われ、結果データの解析を支援した。現行の国内参照品（Lot. P1）の力価（動物試験法、試験管内試験法）に対する候補品ロット（HA30）の相対力価を試験法毎に算出し、候補品ロットは、参照Ａ型肝炎ワクチン（Lot. P2）として制定された。[落合雅樹、ウイルス第二部第五室]

(3) 参照インフルエンザワクチンロット更新の統計解析支援

感染研を含む計 5 施設が参加したマウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチンロット更新のための共同試験が行われ、結果データの解析を支援した。現行の国内参照品（Lot 4）の白血球数減少活性に対する候補品（Lot 5）の相対活性から加重平均を求め、候補品の単位として算出した。候補品ロットは、次期国内参照品として制定された。[落合雅樹；福田靖、蒲地一成、柴山恵吾（細菌第二部)]

(4) パルボウイルス B19-DNA 国内標準品制定への統計解析支援

感染研を含む国内外計 10 施設が参加した核酸増幅検査（NAT）用のパルボウイルス B19-DNA 国内標準品制定のための共同試験が行われ、統計学的な解析支援を行った。国内標準品候補品の力価をパルボウイルス B19 DNA 第二次国際標準品（99/802）に対する相対力価として算出し、候補品は国内標準品（第一世代）として制定された。[落合雅樹；水澤左衛子、浜口功、岡田義昭*（血液・安全性研究部；*現埼玉医科大学)]

３．海外のロットリリース制度の状況－海外現地調査の実施

海外のワクチン等に対するロットリリース制度の状況を調査するために、カナダ、欧州及びオーストラリアのロットリリース機関への訪問調査を実施した。ロットリリースにともなう OMCL による試験については、欧州では全てのロットに対して実施していたが、カナダ及びオーストラリアにおいては個別の製剤／製品ごとのリスク評価にもとづいて試験の実施頻度を決めていた。新規に承認されるワクチンに対する試験法及び規格については、欧州及びカナダにおいては、承認申請前の早い段階（臨床試験の実施時期等）から製造所と OMCL との協議が開始されていた。カナダ、欧州（ドイツ）及びオーストラリアのいずれにおいても、ロットリリースを実施している機関と承認審査を実施している機関が同一であり、両者の間の情報共有が容易な組織体制になっていた。

GMP 査察を担当する機関及び市販後調査を担当する機関は、ロットリリースを担当する機関と同一の国と異なる国があったが、定期的に情報共有の機会を設ける等、各薬事規制間の連携が図られていた。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎；板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）；水上拓郎（血液・安全性研究部）；渡邉治雄（所長）]

４．海外のロットリリース制度の状況－海外アンケート調査の実施

海外のワクチン等に対するロットリリース制度の状況を調査する目的で、海外のロットリリース関連機関に対するアンケート調査を実施し、カナダ、欧州連合、中国、韓国、台湾など 7 カ国／地域の機関から回答を得た。ワクチンと血漿分画製剤をロットリリースの主要な対象製剤としていること、SLP 審査＋試験をロットリリースの基本要件としていること等、日本を含む多くの国／地域で一致している項目がある一方、国／地域により対応が異なっている項目も散見された。海外の制度も参考にしつつ、本邦の状況に即した国家検定制度を検討してゆくことが重要と考えられた。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、加藤篤；渡邉治雄（所長）]

５．国家検定と承認制度の関係に関する研究

わが国の生物学的製剤の多くは薬事法により特別に定められた医薬品として検定に合格しなければ市場に出すこと（ロットリリース）ができない。ワクチンは生物学的製剤の一つである。WHO がワクチンのロットリリースに SLP の審査の実施を推奨しているのを受けて、わが国も薬事法施行規則を一部改正し、平成 24 年 10 月より国家試験に加え SLP 審査を検定に取り入れた。導入後 1 年余を経過して SLP 審査制度をより広く知ってもらうため、また、SLP 審査がワクチンのロットリリース作業に与えた影響、あるいは、SLP 審査制度に係る今後の課題について検討するため「ワクチンの品質確保とこれからの国家検定制度」と題する国際シンポジウムを企画・開催し、その結果を総括した。[加藤篤、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文；渡邉治雄（所長）]

６．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、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判明に伴って、動物試験に代えて物理化学的あるいは生化学的手法が試験に採用されつつある。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る。国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター新規試験法評価室の日本動物実験代替法評価センター（Japanese Center for the Validation of Alternative Methods：JaCVAM）活動にオブザーバーとして参加し代替の手順を学んだ。この一方で、所内の代替試験の検討を支援した。今年度は、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(「残存百日咳毒素活性に関する研究」項を参照）について動物代替試験法をそれらワクチンの製造業者と相談しながら進めた。[落合雅樹、加藤篤；林昌宏（ウイルス第一部）；国立医薬品食品衛生研究所]

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ることから、新規のワクチン皮内投与デバイスとして中空型 MN の開発を行っている。今年度は、昨年度明らかにした穿刺時及び薬液注入時荷重の最適パラメータを用いて、破傷風トキソイド及び不活化 A 型肝炎ウイルス抗原をラットに投与し、血中の抗体応答を観察した。その結果、同量の抗原を皮下注射した場合と比較して、中空型 MN を用いた免疫により、血中に同等またはそれ以上の抗原特異的 IgG 抗体が誘導された。[内藤誠之郎；住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、杉村浩（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．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 25 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：原本回収 3 件、新規作成 22 件、修正 2 件、改訂 83 件、廃止 3 件、有効 SOP 数 525 通。検査 SOP：原本回収 0 件、新規作成 4 件、修正 0 件、改

訂 6 件、廃止 0 件、有効 SOP 数 57 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) 各部等で作成された SOP 案へのコメント提出

検定検査に係る新規に作成された SOP 及び改訂された SOP のうち、各部等で承認前に作成者から確認を依頼されたものについて、「検定・検査の実施に関わる標準作業手順書（検定等 SOP）作成要綱」を満たしているかといった観点から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］

２．SLP 審査に関する業務

(1) 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 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］

(2) 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25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様式は、計32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）］

(3) 承認書等の管理及び貸出業務

承認書等は、「承認書等取扱規程」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）］

３．マネジメントレビューの実施に関する業務

PIC/S 要件への適合を目的とした検定・検査業務の品質マネジメント体系の整備において、新たに制定された「検定・検査業務に係るマネジメントレビュー実施手順書」に従い、所長によるマネジメントレビューの実施を補佐した。当室は、マネジメントレビュー総括資料の作成依頼、提出された総括資料の取りまとめ、マネジメントレビューの実施（平成 25 年 7 月 5 日）補佐、所長指摘事項のまとめ、関係部署への指摘事項の配布等を行った。［加藤篤、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子］

４．外部監査への対応に関する業務

(1) OMCL 認定調査への対応に関する業務

日本が PIC/S に正式に加盟を申請したのに合わせて、OMCL である感染研も PIC/S が求める要件に合致した信頼性保証体制が求められる事になった。前年度に引き続き、感染研は平成 25 年 7 月 24 日に厚労省監麻課と PMDA による OMCL の認定に係る調査を受け、平成 26 年 2 月 18 日付で OMCL として（継続）認定を受けた。認定と同日に感染研に送付された当該調査の書面指摘事項に対する改善計画書を、平成 26 年 3 月 28 日に厚労省監麻課に提出した。［加藤篤、内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文；渡邉治雄（所長）、倉根一郎（副所長）、北山雄二（業務管理課）］

(2) PIC/S 加盟に係るオンサイトアセスメントへの対応

日本の PIC/S 加盟申請にともなう PIC/S 査察団によるオンサイトアセスメントが平成 25 年 9 月 9 日から 13 日にかけて実施され、感染研にも 9 月 12 日に査察団が訪れ、日本の OMCL としての整備状況についてアセスメントを受けた。最終日に実施された査察団による講評では、感染研の評価は良好であった。当該アセスメントの指導／推奨事項に対する回答を、平成 25 年 9 月 13 日に取りまとめ役である厚労省監麻課に提出した。［加藤篤、内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文；渡邉治雄（所長）、倉根一郎（副所長）、北山雄二（業務管理課）］

５．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］

６．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随時更新した。［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］

７．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］

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．国家検定・検査に係る品質マネジメントに関する文書の整備

(1) 第一階層文書の整備

検定検査品質保証委員会が、「検定・検査業務の品質マネジメント指針」第 9 版改正案を作成するのに協力した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、加藤篤]

(2) 第二階層文書の整備

検定検査品質保証委員会が、「検定・検査の実施に関わる標準作業手順書（検定等 SOP）作成要綱」第 5 版改正案、及び「検定・検査に使用する機器等の適格性確認に関する指針」第 2 版改正案を作成するのに協力した。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、加藤篤]

１０．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、所内関連部署の意見を聴きながら、当該業務に関連する問題点の整理、対応策の検討を行い、厚労省審査管理課及び PMDA の担当部署と協議を行った。[藤田賢太郎、落合雅樹、内藤誠之郎、加藤篤；板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）；大西真（細菌第一部）；岡田義昭（血液・安全性研究部）；北山雄二（業務管理課・検定業務専門官）；倉根一郎（副所長）]

１１．WHO ECBS 勉強会の開催と報告

WHO の ECBS（平成 25 年 10 月 21 日～24 日）で審議予定のガイドライン等に関する勉強会（10 月 7 日実施）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）]

１２．検定合格情報の公表に係る対応

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り、検定機関は検定に合格した医薬品について公表することになった。そこで、感染研所外向けウェブへのページ作成について調整を行い、平成 25 年 7 月 1 日に検定合格情報ページを開設した。[熊谷友望（業務管理課）、藤田賢太郎、落合雅樹、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）]

１３．村山庁舎 10 号棟標準品保管室管理業務

10 号棟の標準品保管室の管理業務を担当し、入室許可者の管理、室温の温度監視等を行った。[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]

１４．予防接種後副反応サーベイランスに関する業務

平成 25 年 4 月 1 日に改正予防接種法が施行され、厚労省に報告された予防接種後副反応報告書が感染研にも共有されることになり、感染症疫学センターと当室が協力して集計し、3 か月毎に所内報告を行った。また、同時接種の集計方法等について、感染症疫学センターに加え、厚労省、PMDA と合同で打ち合わせを行い検討した。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤；感染症疫学センター]

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）を随時更新した。[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

検定合格証紙の見直しに係る制度改正（平成 25 年 7 月施行)に向けて、システム開発業者と仕様等を調整し、検定コンピュータシステムの機能追加を含む改修により制度改正に対応した。［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。また、消費税率の引き上げに伴う手数料の算定及び手数料の全面的な見直しに向けて各部署から提出された試験単価表のとりまとめ支援を行った。［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) CDC Study Mission of MOH, Vietnam to MHLW/GOJ and NIID.（平成 25 年 10 月 21 日）［内藤誠之郎、藤田賢太郎］
2) JICA International Program “Strengthening the administrative function for Vaccine’s Quality and Safe Security”（J1300825）（平成 26 年 1 月 13 日～平成 26 年 2 月 8 日）［内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文、熊谷友望（業務管理課)、内田孝子、加藤篤; ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、細菌第二部、血液・安全性研究部、インフルエンザウイルス研究センター］

Ⅱ．国際会議参加

1) WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（ECBS；平成 25 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)］
2) Regional Alliance Steering Committee Meeting（平成 25 年 10 月、韓国、ソウル）［加藤篤、藤田賢太郎］
3) 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二回会議（平成 26 年 3 月、ドイツ、ランゲン、ポールエールリッヒ研究所）［加藤篤、内藤誠之郎］

Ⅲ．その他

1) マレーシアにおけるワクチンの品質保証体制に関する WHO 調査団に参加し、国家検定制度を含むワクチンの品質保証体制に関して、WHO の考え方について情報収集し、調査に参加する各国の専門家と意見交換を行った。（平成 26 年 2 月、マレーシア、クアラルンプール、マレーシア保健省 国立医薬品管理局）［加藤篤］

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 25 年 6 月 10 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 25 年 10 月 24 日）［内藤誠之郎］

その他

Ⅰ．所外委員会等

１．日本薬局方原案審議委員会の抗生物質委員会及び標準品委員会に関する活動

PMDA の専門委員として、日本薬局方原案審議委員会の抗生物質委員会及び標準品委員会に出席し、第十六改正日本薬局方（日局 16）及び第十七改正日本薬局方（日局 17）の医薬品各条（原薬及び製剤）並びに一般試験法（標準品）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。なお、日局 16 第二追補が 2014 年 2 月 28 日に告示（厚生労働省告示第 47 号）された。［近田俊文］

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）を配付した。今年度の配付実績は、6 機関（国外：1 機関、国内：5 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) Siebeneicher S, Reuter S, Krause M, Wangorsch A, Maxeiner J, Wolfheimer S, Schülke S, Naito S, Heinz A, Taube C, Vieths S, Scheurer S, Toda M. Epicutaneous immune modulation with Bet v 1 plus R848 suppresses allergic asthma in a murine model. Allergy, 69(3): 328-337, 2014

2) Okajima K, Iseki K, Koyano S, Kato A, Azuma H. Virological Study of a Regional Mumps Outbreak in the Northern Island of Japan–Mumps Virus Genotyping and Clinical Description. Jpn. J. Infect. Dis., 66:561-563, 2013

3) Abe M, Tahara M, Sakai K, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizuta K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. TMPRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses. J Virol., 87:11930-11935, 2013

4) Nagata S, Maedera T, Nagata N, Kidokoro M, Takeuchi K, Kuranaga M, Takeda M and Kato A. Comparison of the live attenuated mumps vaccine (Miyahara strain) with its preattenuated parental strain. J Vaccines Immun., 1: 13-21, 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

2) 藤田賢太郎，内藤誠之郎，落合雅樹，近田俊文：ワクチンの国家検定への SLP 審査の導入（現状と課題），ワクチンにおける SLP 審査とグローバル化をふまえた最新規制動向・対応，pp1-22，サイエンス&テクノロジー，2013

3) 藤田賢太郎，加藤篤：第 5 章ワクチン製造における品質管理の基本的考え方とポイント，ワクチン開発における最新動向～規制動向・安全性評価・品質管理・アジュバント・開発事例～，pp73-82，情報機構，2013

4) 近田俊文：第 13 章 微生物学的力価試験法，13-1 抗生物質医薬品の力価試験，新 GMP 微生物試験法，第 2 版，pp312-325，じほう，2013

5) 内藤誠之郎：第 11 章 発熱性物質試験法，新 GMP 微生物試験法 第 2 版，pp277-293，じほう，2013

6) 岡本貴世子，森嘉生，落合雅樹，庵原俊昭，大槻紀之，海野幸子，竹田誠，駒瀬勝啓：抗風疹 IgG 国内標準血清の作製，および ELISA 法による IgG 抗体価（国際単位）と HI 抗体価の相関性の解析，臨床化学，42，146-150，2013

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

無し

２．国内学会

1) 内藤誠之郎，住田知也，植村大蔵，兒玉賢洋，杉村浩，前山順一：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，第 17 回日本ワクチン学会学術集会，津，11 月，2013

2) 内藤誠之郎，住田知也，植村大蔵，兒玉賢洋，杉村浩，前山順一：Development of hollow microneedle device for intrademal vaccination. 第 87 回日本細菌学会総会，東京，3 月，2014

19.感染症疫学センター

センター長　大石和徳

概 要

感染症疫学センター(IDSC)は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(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、予防接種法に基づく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 15 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：松井珠乃室長)

感染症対策における技術的な対応として、国内や国外における公衆衛生学的インパクトの強い感染症流行の早期探知とそのリスク評価、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、新興感染症対策、FETP 養成、国内外における感染症アウトブレイクを含む健康危機事例への対応とともに、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：砂川富正室長)

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：平成 25 年度から予防接種法に基づく事業として位置づけられた）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。地方衛生研究所等からの依頼による行政依頼検査も実施している。IDSC 第一・二・三室やウイルス第二部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：石岡大成室長)

細菌性感染症の検査に関する情報収集、依頼検体の検査、結果解析、およびこれらから得られた情報の提供を行っている。また、国内外の検査・研究機関と連携して検査技術の向上や標準化を行っている。地方自治体等の公的検査・研究機関に対しては、公衆衛生分野に所属する職員を対象に細菌検査の技術向上および最新の検査法

の技術習得を目的として、技術研修会を企画立案し、遂行している。さらには、新興および再興感染症に関する新規検査法の開発なども行っている。

第六室(ウイルス研修室：木村博一室長)

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、公衆衛生におけるウイルス検査の技術向上・標準化等を支援している。また、公衆衛生に携わる公的機関の職員を対象にウイルス検査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、呼吸器ウイルスや胃腸炎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」(研究代表者松井珠乃)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。

［松井珠乃、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、藤本嗣人、大日康史、中島一敏　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」(研究代表者松井珠乃)の協力研究として、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。

［砂川富正、松井珠乃、重松美加、高橋琢理、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調査

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）の大規模な改修を含めた現状について評価し、今後の改善につなげることを目的に、全国の地方衛生研究所に対して、改善要望等に関するアンケート調査を行った。「入力」「出力」「その他の操作方法に関すること」において情報が得られた。その他、病原体サーベイランスを実施するうえで欠かせない病原体の入手や医療機関などとの連携について情報が得られた。結果を生かすべく活用が望まれる。結果については衛生微生物協議会にて報告した。

［砂川富正、齊藤剛仁、木下一美、赤塚昌江、野地元子、徳永真理子、大石和徳］

4. 感染症発生動向調査におけるデータの質管理の検討

感染症発生動向調査におけるデータの質管理の為の地方感染症情報センター向けガイドライン（2012 年 2 月版）の評価として、比較的問い合わせの多いアメーバ赤痢、梅毒、クロイツフェルトヤコブ病に関して、ガイドライン発行前後 1 年間における問い合わせ対象報告の割合を比較した。アメーバ赤痢に関しては、ガイドライン発行後に問い合わせ対象の報告が有意に減少していた。

［砂川富正、山岸拓也、加納和彦、齊藤剛仁、木下一美、高橋琢理］

5. 症候群サーベイランスの実用

(１)「薬局サーベイランス」

リアルタイムサーベイランスとして 2009 年 4 月から全国で本格運用し、全国約 9800 薬局(2013 年 4 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、国立感染症研究所（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、早期対応策につなげる情報把握が可能となり、インフルエンザ対策に活用された。また、アシクロビル製剤（バイオテロ対策）、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。

(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、各学校内の感染症対策に活用し、その情報を保健所・県庁に提供し、早期探知・早期対応に貢献した。2013 年 3 月末で 22 県 4 政令指定都市の全校をはじめ 20000 校以上で稼動している。新規導入の学校に対してはスタートアップ研

修を行い、導入後の学校に対してフォローアップ研修を行った。自治体の行政担当者向けの研修を行った。

(３)「保育所サーベイランス」

2010 年 4 月から開発運用し、同年 8 月に厚生労働省より通知が発出され、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。2014 年3月末で県単位は4県、多くは市区町村単位で実施し、約 7000 保育所で稼動している。(現在は、「学校欠席情報収集システム（保育所サーベイランスを含む）と呼称している。」）また、保育所・保育課・保健所による活用の事例を収集し、公表した。新規導入に対してはスタートアップ研修を行い、導入後に対してフォローアップ研修を行った。行政担当者向けの研修も行った。

［大日康史、菅原民枝、多屋馨子、大石和徳］

6. 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。2013 年度末現在において、200 名以上の有志医師のご協力、52,000 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、松井珠乃、西藤なるを(西藤こどもクリニック)］

7. 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。

新興感染症であるインフルエンザ A（H7N9）,MERS については、適時に収集した情報を基に日本におけるリスクを評価し対策立案につなげる活動を継続的に行った。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」(研究代表者松井珠乃)の一環で、「我が国におけるイベントベースサーベイランス（EBS）のあり方に関するワークショップ」を開催し、「我が国の健康危機管理における EBS の必要性と課題に関するコンセンサス文書」をとりまとめた。

［中島一敏、FETP 一同、加納和彦、八幡裕一郎、山岸拓也、松井珠乃、砂川富正］

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

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：松井珠乃)の一環として、東日本大震災時の主な被災地となった岩手県、宮城県、福島県を中心に、感染症発生動向調査において被災との関連で罹患したと考えられる届出を NESID より検索した。その結果、破傷風、レジオネラなどの災害に直接関係する感染症については遅れ報告なども含めて報告が上がっていた。一方、前年度までの情報として避難所において数多く発生していたと考えられるインフルエンザや感染性胃腸炎については、現行の定点把握疾患および届出様式（数などのみの情報）では被災と関係して情報を得ることは不可能であった。やはり、EBS の導入などを含めた、災害後感染症の情報収集体制（および対応体制）の構築が必要であることが伺われた。

［砂川富正、中島一敏、八幡裕一郎、徳永真理子、谷口清州、松井珠乃、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。また、次の大規模な自然災害発災時での円滑な使用のために学校欠席者情報収集システムに常時から避難所サーベイランスを組み入れることを検討した。

［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］

（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

検疫所は海外から我が国に侵入する感染症を水際で防止する役割として重要である。本研究は国際空港の検疫所で水際対策実施のために、健康相談室来室する要因について検討を行った。発熱は検疫所の健康相談室に自主来室やサーモグラフィで発熱者の探知と有意に関連していた。発熱は我が国における現時点で、健康相談室来室に有効な要因の可能性があることを示唆した。

［砂川富正、八幡裕一郎、谷口清州、阪口洋子（東京検疫所支所)］

（3）公共交通機関における新型インフルエンザ等対策に関する調査研究―公共交通機関における感染予防策に関する検討

国土交通省が組織した標記の調査研究にオブザーバー参加し、感染症対策の専門家の立場から助言を行った。

［松井珠乃］

（4）新型インフルエンザ発生時のリスク評価フレームワーク構築に関する研究

2013 年の Pandemic influenza risk management の暫定的なガイダンスでは、各国に、「感染性（transmissibility)、疾患の重篤性（seriousness of disease)、(公衆衛生上の）インパクト（impact）の三要素からなる pandemic severity(パンデミックの深刻さ)」の評価を行い、対応を決定するように求めている。日本では、「新型インフルエンザ等対策特別措置法」にて、「情報の集約・共有・分析」を行い、「事態に応じて」対応する事としているが具体的なリスク評価手法は確立されていない。本研究では、日本における新型インフルエンザ発生時のリスク評価のフレームワークを構築するため、インフルエンザに関する情報収集システムをレビューし、新型インフルエンザ発生時のリスク評価として考えられる様々な指標、情報収集の仕組みや特徴、課題について、演繹的に考察した。現有するインフルエンザの情報収集のシステムの多くは発生時の情報を評価するものであり、合併症、治療への反応、死亡・後遺症等など、疾患の質の評価・重篤度の評価が殆ど行えない。質的な情報を含む、１次情報を収集するシステムを構築するべきである。さらに、保健所－都道府県－国で情報を共有、集約、還元するシステムが必要となる。インパクトの評価においては、システム

が殆ど無い。季節性インフルエンザのリスク評価を行い、ベースラインを確立すると共に、実施可能なリスク評価のフレームワークを構築することが重要となる。

［中島一敏、押谷仁、砂川富正、松井珠乃、山岸拓也、大石和徳、谷口清州］

3. 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、最終年度の成果として教育研修プログラムをまとめ、国内病原体等輸送に関する手順ポスターを作製し、関係各所へ提供した。欧州標準化委員会の下で作成した「国際バイオリスク管理：CWA 15793」の国際標準化へ向けた ISO TC への説明に寄与した。

［重松美加、安藤秀二(ウイルス第一部)、藤本秀士(九州大学)］

4. 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、同研究班の DMAT の NBC 災害/テロ研修プログラムにおいて、B テロに加えて、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、大友康裕(東京医科歯科大学大学院救急災害医学分野)］

5. 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

再生医療における関連法規等の整備、細胞調製施設の安全運用、契約、人員確保等の要件を定めるにあたり、経済産業省および厚生労働省の研究事業のワーキンググループおよび厚生労科学研究費補助金難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業「再生医療等の安全性確保等のための基準策定に関する研究（研究代表者　澤芳樹)」の前川平分担班員として、細胞加工施設の国内現状を含めた必須要件と再生医療等安全性確保法と関連法規についての議論を行い、関連文書の具体的検討を行った。

［重松美加］

6. 一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」(研究代表者　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、我が国における一類感染症発生時の手引きを作成した。報告者は、接触者調査及び、クライシス・コミュニケーションを分担した。

［中島一敏］

III. 感染症の疫学、統計等に関する研究

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、大石和徳］

1. インフルエンザ関連死亡迅速把握に関する研究

21 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、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、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］

2. 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］

3. 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、8 自治体（岩手県、東京都多摩地区、横浜市、川崎市、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］

4. 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を行った。背景としては、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。国内のみならず海外においても、自治体をまたいだ大規模な広域事例が報告されており、食品流通の広域化や大規模化に伴って発生するこれらの広域事例の検出・調査および対応の方法を改善・整備していくことが、「食の安全」に関わる国民の健康推進に直結することにある。ガイドラインにおいては、前年度までの調査手法に関する情報の整理に加えて、膨大な被害が潜在的に存在している腸管感染症の段階を含めて、より実効性の高い広域食中毒事例の検出・調査のあり方について提言したものである。ガイドラインでは、食中毒事例・腸管感染症全般の調査方法について確認するとともに、各自治体をまたぐ広域事例をどのように検出していくか、共通する調査・対応をおこなっていくか、およびそのための関係部局の連携や行動手順の整備に資する情報提供を行うことを目標として作成された。成果物については、NESFD を通して自治体へ還元されている。

［杉下由之（東京都健康安全研究センター)、高橋琢理、八幡裕一郎、春日文子、砂川富正］

5. 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（9.4×10^5 個／g）では 76.6g 以上の摂取でこれまでに推定した閾値（7.2×10^7 個）以上となったが、中央値（1.1×10^7 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］

6. 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、2013 年 4 月号：風

疹・先天性風疹症候群　、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：レジオネラ症、7 月号：侵襲性インフルエンザ菌感染症、8 月号：流行性耳下腺炎（おたふくかぜ）、9 月号：HIV/AIDS、10 月号：水痘・帯状疱疹、11 月号：インフルエンザ、12 月号：侵襲性髄膜炎菌感染症、2014 年 1 月号：E 型肝炎、2 月号：SFTS（重症熱性血小板減少症候群）、3 月号：ロタウイルスである。

［木下一美 、赤塚昌江、野地元子、徳永真里子、砂川富正、齊藤剛仁、加納和彦、高橋琢理、有馬雄三、加藤信子、山岸拓也、多屋馨子、藤本嗣人、木村博一、石岡大成、山下和予、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、倉文明、前川純子、高橋英之(細菌第一部)、西條政幸、下島昌行、井上直樹、山田壮一、安藤秀二(ウイルス第一部)、脇田隆字、清水博之、石井孝司、藤井克樹(ウイルス第二部)、竹田誠、駒瀬勝啓、森嘉生、木所稔(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、佐々木裕子(細菌第二部)、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、吉村和久(エイズ研究センター)、阿戸学（免疫部）、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、森川茂（獣医科学部）、宮川昭二(国際協力室)、森光敬子(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、山下和予(元感染症情報センター)、中嶋建介、齋藤智也、梅木和宣、難波江功二、氏家無限、、西村佳也、石亀貴士、鶏内雅司(厚生労働省)（IASR 委員+特集担当者）］

7.　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、2013 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。梅毒に関して近年の増加について当所の病原体検出情報に報告した。

［岡部信彦、山岸拓也、砂川富正、高橋琢理、夛田有希］

8.　国内感染者集団の大規模塩基配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）について感染クラスタを同定した上でクラスタ毎の基本再生産数（Ro）を推定し、サブタイプやリスク因子との関係を検討した。HIV の感染集団における Ro の推定は、時間系統樹の各変異の生成・消失モデル（BDM）を構築して数理疫学パラメータを推定する方法で行った。サブタイプ毎の Ro 推定値の平均は、B, AE, C, F はそれぞれ 3.2, 3.7, 3.2, 2.1 である一方で、一人の外国人男性と多数の女性という特異な HIV 伝播集団を持っていた 02_AG と G においてそれぞれ 7.7, 6.9 と高かった。CRF01_AE におけるリスク因子ごとの平均 R0 は、異性間接触が 3.9±0.2、 MSM と IVDU がそれぞれ 5.1±0.3, 5.4±0.4 となり、ウイルスの再生産は MSM,IVDU で高かった。Subtype B の MSM 関連感染クラスタの各々の Ro は 1.2-5.8 の範囲でばらついており、クラスターのサイズおよび tMRCA と相関関係にないことがわかった。また、感染サイズの大きな 4 つのクラスタはいずれも Ro が比較的低く、クラスタサイズと基本再生産数が相関しない原因となっていると思われた。感染クラスタ間の Ro の差異は、過去の研究でも指摘されているが、その説明因子はいまだ解明できていない。今回の研究は、その差異の原因はサブタイプやリスク行動などの単純なものではなく、感染ネットワーク内のコミュニティ上の差異である可能性が示唆された。

［椎野禎一郎］

9.　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「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、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なっている。2013/2014 年シーズンは 2013 年第 6 週までに 33 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。60 歳以上の割合が減少し、13 歳以下の小児例が約 75%を占めた。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、砂川富正、多屋馨子］

10. 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。

［岡部信彦(川崎市衛生研究所)、山岸拓也］

11. 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構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（細菌第二部）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］

12. 「麻疹、風疹ワクチンに関する研究」

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究　(H25-新興-指定-006)」(研究代表者　多屋馨子)の一環として、急性脳炎のサーベイランスのまとめを行った。また、研究倫理申請を行い、全国から原因不明急性脳炎（脳症を含む）の検体を受け入れて、日本脳炎ウイルスの病原体診断を実施するとともに、原因究明を目的としてエンテロウイルスを含めた網羅的な病原体検索を行い、原因不明で届け出られた急性脳炎(脳症を含む)の原因究明を行った。

［多屋馨子、奥野英雄、佐藤弘、新井智、山岸拓也、松井珠乃、砂川富正、伊東宏明、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)、片野晴隆(感染病理部)、高崎智彦(ウイルス第一部)、倉根一郎（副所長）、森島恒雄（岡山大学）、亀井聡（日本大学)］

13. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学研究

厚生労働科学研究「SFTS の制圧に向けた総合的研究」（研究代表者　倉田毅、研究分担者　西條政幸）の一環として、山口県の医療機関における症例の接触者調査を行った。

［山岸拓也、中島一敏、大石和徳］

14. 高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究

厚生労働科学研究「高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究」（研究代表者　河内正治（国立国際医療研究センター)）の一環として、WHO 西太平洋地域事務局における鳥インフルエンザ A（H5N1）の人感染症の発生状況をまとめた。

［松井珠乃、山岸拓也］

15. 塹壕熱に関する研究

厚生労働科学研究「感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化、感染リスクの把握に関する研究」（研究代表者　澤邉京子、分担研究者　佐々木年則）の一環として、東京都済生会中央病院においてシラミのバルトネラ保菌割合、シラミありの患者のバルトネラ血清抗体価分布、PCR での菌検出割合を調べた。

［澤邉京子（昆虫医科学部）、佐々木年則（昆虫医科学部）、久保田真由美（細菌第二部）、山岸拓也］

16. セアカゴケグモの疫学研究

厚生労働科学研究「セアカゴケグモ咬傷患者発生状況の把握」（研究代表者　一二三亨（香川医科大学)、分担研究者　新井智）の一環として、基幹定点医療機関において、過去 3 年間のセアカゴケグモ咬傷患者診療状況を

質問紙で調査した。

［新井智、山岸拓也］

17. デング熱の国内感染事例発生時の対応・対策の手引き

ドイツにおける日本での感染が疑われるデング熱症例の探知をうけて、「デング熱国内感染事例発生時の対応・対策の手引き」を、感染研ウイルス一部・昆虫医科学部とともに厚生労働省・自治体の意見も聴取しながら作成中である。

［木下一美、有馬雄三、砂川富正、山岸拓也、八幡裕一郎、松井珠乃、高崎智彦（ウイルス第一部）、沢辺京子（昆虫医科学部）、大石和徳］

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

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成果を、日本小児科学会で発表した。

［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（2012 年度最終評価・2013 年度上半期調査）
- 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（2013 年度調査）

〈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〉

- 海外で感染し国内で発症する例の急増を受けて、航空機内での麻疹伝播に関するリスク評価ガイドライン（抄訳）の作成

［多屋馨子、砂川富正、中島一敏、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、山岸拓也、佐藤弘、新井智、奥野英雄、山岸拓也、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、松井珠乃、FETP 研修生 14 期&15 期、伊東宏明、大石和徳］

3. わが国における麻疹排除に関する文書作成

わが国の麻しん排除に関する状況を説明する文書を作成し、WHO 西太平洋事務局に提出するために、国の感染症対策専門機関として他の関係者とともにデータ収集および分析に参加し、文書作成に従事した。以下、当センター内の関係者のみを記す。

［砂川富正、佐藤弘、多屋馨子］

4. 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の発生状況に関する研究

厚生労働科学研究「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究」(研究代表者　山田正仁)の一環として、麻疹根絶(排除)状態の最終確認となるとも言える SSPE の発生状況を把握することを目的に、特定感染症治療研究事業の下で収集されている臨床調査個人票のデータ解析から、発生数(報告数)、疫学、臨床情報、療養状況等の把握を行った。

［砂川富正、高橋琢理、夛田有希］

5. 風疹に関する予防対策, 今後の風疹ワクチンのあり方に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「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］

6. 風疹 HI 抗体価の読み替えに関する検討

風疹の免疫状況の指標として、従来、赤血球凝集抑制試験（HI 法）による HI 抗体価が用いられることが多かった。そこで、同じ血清（469 検体）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 抗体価を基準とした検討を行った。

HI 抗体価と他法による抗体価の間には良好な正の相関性（R＝0.922～0.972）が認められた。また、ROC 解析の結果、HI 抗体価 1:16 以下に相当する抗体価として、デンカ生研社製キットを用いた場合は EIA 価 8.0 未満、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キットおよび極東製薬工業社製キットを用いた場合は国際単位 30 IU/ml 未満が目安と考えられた。更に、国内で販売されているすべての風疹抗体測定キットについて、解析を始めた。

［佐藤弘、多屋馨子、森嘉生（ウイルス第三部）］

7. 風疹排除に向けた対策の構築ならびに実施

風疹に関する特定感染症予防指針の作成に関する技術的な助言と資料作成を行った。また、指針に関連したガイドラインとして、

① 「職場に関する風しん対策ガイドライン」：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)」の一貫として作成

② 「医療機関における風しん対応ガイドライン」：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)」の一貫として作成

③ 「先天性風疹症候群に関する Q&A」

④ 「風疹流行および先天性風疹症候群の発生に関するリスクアセスメント第一版、第二版」を作成した。

⑤ 「医師の届出ガイドライン：風しん、先天性風しん症候群」

⑥ 「風しん発生時対応ガイドライン」

⑦ 「都道府県における麻しん風しん対策会議のガイドライン」についても、作成を開始した。

［多屋馨子、松井珠乃、砂川富正、中島一敏、FETP 伊東宏明、奥野英雄、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、佐藤弘、新井智、大石和徳］

8. 職場における風しん対策ガイドラインの作成

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)」の一環として、厚生労働省監修のもとに、産業医・産業・労働団体関係者等と「職場における風しん対策ガイドライン」を作成し、感染研ウエブサイトに公表するとともに、関連団体への配布を行った。

［多屋馨子、佐藤弘、奥野英雄、松井珠乃、竹田誠（ウイルス第三部）、森嘉生（ウイルス第三部）、大石和徳］

9. 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、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) 、岡部信彦（川崎市健康安全研究所）］

（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、研究分担者 佐藤弘)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。1350 自治体（回収率 77.5%）から回答があり、間違い事例としては、接種間隔（1175 件）、ワクチンの種類（301 件）、接種量（229 件）、接種回数（194 件）、接種年齢（184 件）の順で多く、その他の事例に関する回答もあった。これらの調査結果をもとに間違い事例を防止するためのパンフレットを作成し、全国市区町村に配布した。

［佐藤弘、多屋馨子、新井智、奥野英雄、荒木和子、北本理恵、滝澤哲、池山優］

（3）ロタウイルスワクチンと腸重積症に関する研究

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 砂川富正)」の一貫として、2011 年に任意接種として接種可能になっ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。前年度に引き続き、わが国の腸重積症の推移についての情報を分析中である。

［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（川崎市健康安全研究所）、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。中間報告については、日本 SIDS 学会で発表した。

［多屋馨子、滝澤智、北本理恵、池山優、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）海外における予防接種後健康被害対応体制の実態に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新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、今年度は WHO 西太平洋事務局において 2013 年に改訂された予防接種後副反応（Adverse Event Following Immunization: 以下、AEFI と略す）に関する文書を翻訳し、国内の AEFI 事象をモニタリングするうえでの資料とした。また、HPV ワクチンの積極的勧奨差し控えに対する海外の反応に関する情報を得た。海外のワクチン反対グループからの一方的な引用材料となっており、単に「一時的な積極的接種勧奨差し控え」であったことは伝わっていなかった。国内からの情報発信が不十分であることが示唆された。この背景には国内における AEFI に対する包括的な対応体制が十分整備されていないことがそもそもの要因であると考えられた。

［砂川富正、神谷　元、多屋馨子］

（6）ワクチン接種に関するリスクコミュニケーションに関する研究

（1）ワクチン接種に関するリスクコミュニケーションに関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新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　吉川肇子)」の一環として、ワクチンの副反応に対する最適な説明手法を検討するべく、ワクチンに関する説明介入後のアンケート調査を行った。

［吉川肇子(慶応義塾大学)、奥野英雄、牧野友彦、佐藤弘、大石和徳］

（7）予防接種後副反応報告に基づいた予防接種の安全性に関する研究

予防接種法の改正により始まった副反応報告について、様々な観点から集計、解析を行い、予防接種の安全性について検討を行った。集計・解析結果は、感染研の業務委員会で 3 か月に一回発表した。また、集計結果については、厚生労働省、医薬品医療機器総合機構とも情報を共有し、今後のより良いサーベイランスのあり方について検討を行った。

［多屋馨子、奥野英雄、新井智、佐藤弘、落合雅樹（検定検査品質保証室)、内藤誠之郎(検定検査品質保証室)、藤田賢太郎（検定検査品質保証室)、加藤篤（検定検査品質保証室）,大石和徳］

10. 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

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)「研究（研究代表者　庵原俊昭、研究分担者　大石和徳)」の一環として7価肺炎球菌結合型ワクチン接種後の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、患者の発症時の血清型特異的オプソニン活性が低値であることを明らかにした。

［明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）、大石和徳］

11. 高齢者及び骨髄移植患者における肺炎球菌ワクチン接種後の血清型特異抗体測定の検討

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「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、分担研究者　明田幸宏)」の一環として高齢者及び骨髄移植患者における肺炎球菌ワクチン接種後の肺炎球菌血清型特異 IgG 及びオプソニン活性の評価を行った。［沖中敬二、福田隆浩（国立がん研究センター中央病院）、南宮湖（慶應義塾大学呼吸器内科）、明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）、大石和徳］

12. 成人の侵襲性肺炎球菌感染症、侵襲性インフルエンザ菌感染症の臨床像と原因菌の血清型分布に関する研究

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)「成人の重症肺炎サーベイランス構築に関する研究」（研究代表者　大石和徳)」の一環として、平成 25 年度より 10 道県の成人の侵襲性肺炎球菌感染症、侵襲性インフルエンザ菌感染症の臨床像と原因菌の血清型分布の調査を開始した。平成 25 年度の研究から、成人侵襲性肺炎球菌感染症における原因菌の血清型置換の可能性が示唆された。また、長崎県上五島町では成人の肺炎球菌性肺炎の頻度について調査を開始した。［松井珠乃、砂川富正、高橋琢理、石岡大成、木村博一、大石和徳］

13. 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］

14. 流行下における百日咳ワクチン有効性に関する研究

厚生労働科学研究費補助金「予防接種に関するワクチン

の有効性・安全性等についての分析疫学研究（研究代表者 廣田良夫）の分担研究として、高知県須崎市の唯一の病原体定点であるもりはた小児科受診者を対象に、百日咳流行下の無菌体百日咳ワクチン（実際には DPT 混合ワクチン）の有効性を検討した（2012 年 1～12 月、症例対照研究）。分析疫学の対象者は、同小児科で百日咳疑いと診断され、衛生研究所で検査診断を受けた 15 歳未満の者 317 人（男 160、女 157、年齢中央値 6.5）である。同小児科で記録されたカルテ情報、百日咳強化サーベイランス期間の届出表、衛生研究所における検査記録を用いて、ワクチン接種状況、現病歴、検査結果を調査した。アウトカムは、「百日咳菌 LAMP 法陽性（同時のマイコプラズマ陽性を除く）」とし、ロジスティック回帰分析により乳幼児期のワクチン接種のオッズ比（95%信頼区間）、Vaccine Effectiveness(VE)を求めた。乳幼児期の DPT ワクチンの粗のオッズ比および VE は DPT3 回接種群、DPT4 回接種群について、それぞれ 0.28（95%C: I 0.10-0.79）、72%、0.32（95%C: 0.14-0.73）、68%となり、全体として 3 回以上で有意なワクチン有効性が見出された。性別に加えて、年齢調整を 5 歳および 12 歳で区切った場合には、乳幼児期の DPT ワクチンのオッズ比および VE は DPT3 回接種群、DPT4 回接種群について、それぞれ VE は 70 ～80%となり、国内で使用されている無菌体ワクチンの早期な使用が特に乳児に対する発症予防となることが認められた。ただし、調査対象となった者の年齢中央値が 6.5 歳であったことから、青年・成人層におけるワクチン効果については本研究からは推察出来なかった。本調査は、高知県での百日咳強化サーベイランス事業に関連する研究であることから、高知県内でさらに後方視的な情報収集を行うことを予定している。

［砂川富正、齊藤剛仁、神谷　元、八幡裕一郎、安藤由香（岡山赤十字病院）、大平文人（大阪府健康医療部）、土橋酉紀（岡山県健康福祉部）、蒲地一成（細菌第二部）、森畑東洋一（もりはた小児科）、松本道明（高知県衛生研究所）］

15. 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））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。

［山岸拓也］

16. 不活化ポリオワクチン導入後の予防接種状況および抗体保有状況の検討

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「不活化ポリオワクチン及び生ポリオワクチンの予防接種状況ならびに抗体保有状況（研究代表者 清水博之、研究分担者 多屋馨子）」の一環として、2012 年に不活化ポリオワクチン（9 月 単独ワクチン：cIPV、11 月 4 種混合ワクチン：DPT-sIPV）が定期接種に導入され、ポリオの予防接種スケジュールが変更となったことから、不活化ポリオワクチン導入後の予防接種状況および抗体保有状況について、2013 年度感染症流行予測調査による結果を用いた検討を行った。

5 歳未満の者における予防接種状況は、年少児ほど不活化ポリオワクチンを接種した割合が高く、年長児ほど生ポリオワクチンを接種した割合が高かった。また、抗体保有状況についてみると、1～4 歳児では 1 型や 2 型と比較して 3 型に対する抗体保有率が低かったが、0 歳児ではいずれの血清型に対しても高い抗体保有率であった。

［佐藤弘、多屋馨子、清水博之（ウイルス第二部）］

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　浜口功、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。迅速診断キットは 2012/13 流行期に多く用いられて 10 キットを対象とした。ウイルス抗原として A/H1N1、A/H3N2 およびB型の各ワクチン株および野生株を MDCK 細胞で培養して用いた。検出感度測定の予備実験として、被験ウイルス原液のコピー数、感染価、および赤血球凝集価を測定し、各測定法間の相関を調べた。各ウイルス株に対するキットデバイスの最少検出感度はキット間において 10^{-1}～10^{-2} の差がみられた。あるウイルス株に対して 10 キット中最も検出感度が高いキットは、他のウイルス株に対してもその検出感度は高かった。

［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

昨年度に続き、動物由来感染症対策の一環としてベトナムおよびミャンマーに生息する野生動物を対象にハンタウイルス感染の検索を行った。その結果、ベトナムの複数の翼種目に翼手目由来ハンタウイルスを検出した。

［新井智、佐藤弘、荒木和子、多屋馨子、大石和徳(感染症疫学センター)、森川茂(獣医科学部)、Son Truong Nguyen(ベトナム、Institute of Ecology and Biological Resources)、大館智志(北大)、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

昨年度の続き、効率的なウイルス変異予測を行うために、ベトナム、ミャンマー、モンゴルおよび日本に生息する野生小動物のウイルスについて、自然宿主とそのウイルス多様性について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(感染症疫学センター)、Son Truong Nguyen(ベトナム、Institute of Ecology and Biological Resources)、大館智志(北大)、Richard Yanagihara(米国ハワイ大学医学部)］

5. アデノウイルスレファレンスセンターとしての活動

全国の地区レファレンスセンターとともに、アデノウイルス検査体制の全国調査を実施した。その結果、アデノウイルスは多くの地方衛生研究所でウイルス分離が行われており、新型の検出・同定ができる手法の標準化が必要と思われた。

［花岡希、藤本嗣人、全国地方衛生研究所］

6. アデノウイルス新型組換え株の発見

科学研究費助成事業（科学研究費補助金） 「アデノウイルス性結膜炎の早期探知と早期病原体診断による流行の正確な把握と制御（研究代表者 藤本嗣人）」の一環として、千葉県衛生研究所、北海道大学と共同で、アデノウイルス 48 型および他の複数のアデノウイルス D 種のウイルスによる組換え株を分離して解析し、EKC の原因であった可能性が高いことを明らかにした。これまでに報告が無い型であり、病原性や流行状況等のさらなる解明が必要と考えられた。

［藤本嗣人、花岡希、山根祥太郎(北大)、Gabriel Gonzalez(北大), 青木功喜(北大), 小柳香奈子(北大), 渡邉日出海(北大)、小川知子、小倉惇、堀田千恵美、仁和岳史(千葉県衛生研究所)、千葉彌幸(永吉の眼科)］

7. 性感染症におけるアデノウイルスの実態調査及び分子疫学的研究

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）「性感染症におけるアデノウイルスの実態調査及び分子疫学的研究（研究代表者 花岡希）」の一環として、アデノウイルスの性感染症への関与等について、他のバクテリア等との相関関係についての解析を行うための簡便な PCR 法を基にした網羅的な原因微生物検出スクリーニング系を構築した。また、新規臨床検体採集について、倫理審査承認を得た。

［花岡希、藤本嗣人、伊藤晋(あいクリニック)］

8. エンテロウイルス 71 の全塩基配列登録株と 2000 年に兵庫県で脳炎を含む中枢神経感染症を多発させた株の全塩基配列

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）「不活化ポリオワクチン及び国内外で進められている新規腸管ウイルスワクチン開発に関する研究う（研究分担者 藤本嗣人）」の一環として、2000 年に兵庫県で脳炎死亡例を含む重症例の多発が見

られた。今回その重症化例からのウイルスについてほぼ完全長の塩基配列(兵庫 2000)を得た。世界において NCBI から入手可能な EV71 の完全長塩基配列は 2014 年 1 月の段階で 336 配列であり、大まかに 6 種類に分類され兵庫 2000 に系統解析で近い株は 66 配列であった。兵庫 2000 の塩基配列を BLAST 解析で調べると 2000 年台湾で重症化例多発時に検出された株と最も近く、これを含めて 9 株が 97%以上の相同性を持っており 1997～2002 年に日本、台湾、マレーシア、シンガポールで分離され、subgenogroup で B4 に分類された。これらの結果から兵庫 2000 が、特に台湾等の近隣アジアで同じ年に流行した株と強い関連を持っていることが示された。

［藤本嗣人、 花岡希、加納和彦、小長谷昌未、荻美貴、藤巻明日香、小林正明(小林小児科)、清水博之 (ウイルス第二部)］

9. コクサッキーウイルスによる無菌性髄膜炎を契機に発見された本邦初のエンテロウイルス 99 類似株検出例

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（研究分担者 藤本嗣人）」の一環として、国立国際医療センターと共同で、エンテロウイルス 99（以下、EV99）は、2009 年にバングラデシュの急性弛緩麻痺患者の便より検出されたウイルスである。現在、ケニア、マダガスカル、スペイン、オマーン、アメリカ合衆国などで検出されている。この度、コクサッキーウイルス B2 による無菌性髄膜炎を契機に行った便検査で EV99 類似株が本邦で初めて検出された。ウイルス分離にはいたらず分離が困難な株であり、さらなる遺伝子解析が必要である。

［山元佳、金川修造、花岡希、小長谷昌未、藤本嗣人］

10. エコーウイルス 3 型による劇症肝炎

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）「不活化ポリオワクチン及び国内外で進められている新規腸管ウイルスワクチン開発に関する研究う（研究分担者 藤本嗣人）」の一環として、国立成育医療研究センターと共同で、エコーウイルス 3 型による母子垂直感染と考えられる、新生児の劇症肝炎において原因ウイルスを明らかにした。

［宮田一平、阪本靖介、笠原群生、齋藤昭彦 (成育医療センター)、花岡希、岡部信彦、藤本嗣人］

11. 保育所の集団発生におけるコクサッキーA 群 9 型の検出・同定

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（研究分担者 藤本嗣人）」の一環として、保育園での発疹症と発熱を伴う疾患の流行において、コクサッキーウイルス A 群 9 型が原因であることを明らかにした。

［菅原民枝、藤本嗣人、大日康史、安井良則、大石和徳］

12. 手足口病病原体サーベイランス

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）「不活化ポリオワクチン及び国内外で進められている新規腸管ウイルスワクチン開発に関する研究（研究分担者 藤本嗣人）」の一環として、手足口病の病原体サーベイランスの結果をシンガポールでの国際会議で発表するとともに、手足口病の大規模流行に際し、疫学情報をマスコミの取材等に応じて全国に発信した。

［藤本嗣人、大石和徳、花岡希、他　感染症疫学センター］

13. 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］

14. 腸管出血性大腸菌感染症に関する疫学的解析に関する研究

同一家族内で複数年にわたって検出された腸管出血性大腸菌 O157 に関する疫学的調査を行った。その結果、検出年および患者、健康保菌者、環境(家畜)由来に係わらず、PFGE および IS-printing 法によりすべての分離株がほぼ同一のパターンを示した。これにより、家畜および環境中で保存された本菌により、当該家族が複数年に渡って感染を繰り返していることが示唆された。

［河合優子、佐々木佳子、井上伸子、黒澤肇、横田陽子、小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)、塩原正枝(群馬県食品安全検査センター)、石岡大成］

15. 国内で検出された RS ウイルス遺伝子型 ON1 の分子進化に関する研究

20012/13 シーズンにかけて、国内(栃木県・神奈川県・千葉県)で検出された RSV-A 遺伝子 ON1 型の 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。

［塚越博之、小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)、横井一（千葉市環境保健研究所)、岡本玲子、調恒明（山口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)、大石和徳、木村博一］

16. 成人市中肺炎・喘息増悪における呼吸器ウイルスの関与に関する研究

成人市中肺炎(CAP)の原因は、細菌(肺炎球菌や Hib)が主な原因であるとされる。しかし、一定の割合で CAP に呼吸器ウイルスが関与することも示唆されているが不明な点が多い。また、成人喘息の増悪時に、種々の呼吸器ウイルス感染が関与することが示唆されるがやはり不明な点が多い。そこで、成人における CAP あるいは喘息増悪時に関与する呼吸器ウイルスを網羅的に検出した。その結果、両疾患において、10～20%の割合で RSV やヒトライノウイルスが検出され、これらの疾患に呼吸器ウイルスが少なからず関与することが推定された。

［石井晴之、倉井大輔、皿谷健、滝澤始（杏林大学呼吸器内科)、木村博一、野田雅博、石岡大成、大石和徳］

17. 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］

18. タイ国における豚レンサ球菌感染症の発生動向調査と「食の安全」対策の有効性評価

感染研の第二期アジア連携プロジェクトの一課題として「タイ国における豚レンサ球菌感染症の発生動向調査と「食の安全」対策の有効性評価」を実施した。2011~2013 年までの食の安全」対策により、症例数の減少を認めた。

［石岡大成、大石和徳］

VI. 学会等の中での研究、貢献

１．日本感染症学会

2012~2013 年度の本部理事として学会活動に貢献した。

［大石和徳］

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。

［大石和徳、多屋馨子］

感染症学雑誌編集委員として、学会誌の編集を行った。

［中島一敏、谷口清州］

2. **日本ワクチン学会**

2013 年度理事として学会活動を行った。

［多屋馨子］

2013 年度編集委員として学会活動を行った。

［多屋馨子、大石和徳］

3. **日本小児科学会**

予防接種・感染対策委員会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。

［多屋馨子］

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。

［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。

［多屋馨子］

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。

［多屋馨子］

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。

［多屋馨子］

7. **日本公衆衛生学会**

感染症対策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。

［砂川富正］

8. 日本熱帯医学会

学会副理事長、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諸問題について検討してきた。

［大石和徳］

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、感染症疫学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。

［砂川富正、齊藤剛仁、加納和彦、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、中里篤、加藤信子、佐藤弘、多屋馨子、FETP 研修生 14 期&15 期生、八幡裕一郎、山岸拓也、中島一敏、宮間浩史、大竹由里子、前田明日香、赤塚昌江、加藤信子、野地元子、徳永真里子、大石和徳］

2. 感染症週報・月報の作成・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取り扱ってきたが、「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。性感染症、薬剤耐性菌に関しては 1 カ月に一回週報に月報として追加で紹介している。

年報の編集として 2012 年の患者発生動向に関する全疾患の集計作業を実施し、公開した。

［砂川富正、齊藤剛仁、加納和彦、高橋琢理、木下一美、有馬雄三、大竹由里子、前田明日香、佐藤弘、赤塚昌江、徳永真里子、FETP 研修生 14 期&15 期生、八幡裕一郎、山岸拓也、中島一敏、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。2013 年 1 月－2013 年 12 月の病原体検出報告数（2014 年 8 月 6 日現在）は、病原菌検出報告(３A：地研・保健所)は 4,301 件、病原体個票は病原菌(原虫・寄生虫を含む)が地研・保健所 3,030 件、ウイルス(リケッチア，クラミジアを含む)が地研 23,132 件(うち最多はインフルエンザ A(H3)で 4,685)、検疫所 32 件、集団発生病原体票は病原菌等が地研 140 件、ウイルス等が地研 742 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地研 274 件、ウイルス等が地研 45 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 34 巻)および第 34 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。

［木下一美、赤塚昌江、加藤信子、野地元子、徳永真里子、齊藤剛仁、高橋琢理、加納和彦、有馬雄三、砂川富正、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、砂川富正］

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疫学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た。2013/2014 年シーズンのインフルエンザは前シーズンまでと異なり A/H1 亜型が最も多かった。B 型の割合が高く、また早期より発生した。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。

［砂川富正、高橋琢理、大竹由里子、中里篤、八幡裕一

郎、山岸拓也、宮間浩史、大石和徳、安井良則（大阪府済生会中津病院）］

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 週～当該週累積分の集計表)、④都道府県別累積報告数(第 1 週～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 週～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、砂川富正］

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。

［砂川富正、高橋琢理］

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、砂川富正、高橋琢理、加納和彦、齊藤剛仁、木下一美、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 週～当該週累積分の棒グラフ)、⑤都道府県接種歴別累積報告数(第 1 週～当該週累積分の棒グラフ)、⑥年齢群別接種歴別累積報告数(第 1 週～当該週累積分の棒グラフ)、⑦年齢群別累積報告数割合(第 1 週～当該週累積報告分の円グラフ)(2011 年第 17 週より追加)、⑧週別推定感染地域(国内・外)別累積報告数(第 1 週～当該週累積分の棒グラフ)、⑨都道府県別累積報告状況(第 1 週～当該週累積分の日本地図)(2011 年第 13 週より中止)、⑩都道府県別人口 100 万人あたり報告数(第 1 週～当該週累積分の棒グラフ)(2011 年第 13 週より追加)、⑪都道府県別報告状況(第 1 週～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 週～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 週～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 週～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 週～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 週～当該週累積分の棒グラフ)、⑨都道府県別報告状況(第 1 週～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)。

［多屋馨子、新井智、佐藤弘、加納和彦、前田明日香］

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。

［砂川富正、加納和彦、中里　篤、齊藤剛仁、高橋琢理、大竹由里子、前田明日香］

2. 病原体検出情報システム

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（重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス、中東呼吸器症候群ウイルス（MERS-CoV）、サフォードウイルスなど）、最近の情報の収集・還元・公開を可能にしている。

［加納和彦、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は、2010年度および2012年に不具合・改善要望等に対応するため大きな改修を行った。その間にもワクチンの追加や廃止、接種回数の変更等、システムに登録する情報に大きな変化があったが、適宜対応してきた。今後も調査疾病の追加やワクチンの追加等が予想されるが、その都度対応策を検討していく。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、齊藤剛仁、加納和彦、椎野貞一郎、加藤信子、砂川富正、大石和徳］

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版とPDF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。

［木下一美、赤塚昌江、徳永真理子、野地元子、砂川富正、大石和徳］

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 14 期&15 期生、齊藤剛仁、菅原民枝、佐藤弘、花岡希、砂川富正、中島一敏、八幡裕一郎、山岸拓也、新井智、大日康史、牧野友彦、加納和彦、砂川富正、奥野英雄、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も含めて情報提供等を行った。2013 年度は新興感染症の検出が相次いだこともあり、鳥インフルエンザ A(H7N9)、重症熱性血小板減少症候群（SFTS)、MERS コロナウイルス感染症などが追加されてフォーカス上に置いた。

［砂川富正、齊藤剛仁、木下一美、高橋琢理、有馬雄三、加納和彦、椎野禎一郎、大竹由里子、前田明日香、新井智、佐藤　弘、多屋馨子、松井珠乃、八幡裕一郎、中島一敏､山岸拓也､菅原民枝､大日康史､FETP 研修生 13&14 期生、大石和徳］

5. 麻疹施設別発生状況の確認

厚生労働省が事業として実施している、麻しん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)の結果について毎週確認を行った。

［大竹由里子、中里篤、多屋馨子］

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 23 年度(2011 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、奥野英雄、大石和徳］

2. 感染症流行予測調査結果の発信

2013 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は 2013 年 11 月 19 日から 12 月 27 日までに計 3 回、ブタの日本脳炎抗体保有状況については平成 25 年 7 月 23 日から 11 月 14 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、百日咳、ジフテリア、破傷風の抗体保有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、奥野英雄、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､2013 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

各自治体における 2013 年度感受性調査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行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 2013 年 7 月 12 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

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のため、国内外の文献情報等を感染研各部の協力も得ながら、定期的に収集し、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。

［松井珠乃、柴田博子、大石和徳、倉根一郎(副所長)］

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。2013 年度に受け入れた血清は、計 3951 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。2013 年度は 8 件の申請があり、これら件に対し計 3807 本の血清を分与した。

［多屋馨子、荒木和子、佐藤弘、滝澤智、新井智、大石和徳］

2. 職員血清の保管業務

2012 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. GHSAG に対する技術支援と関係国との早期情報共有

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、参加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改善および情報プラットフォームの改良について協力した。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］

2. 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。

［松井珠乃］

3. 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（IFBA Certification Board）として協力し､試行実施における必要事項の決定､運用設計、設問要件の承認などの立案、決定と各分科会活動の確認に携わった。

［重松美加］

4. 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］

5. 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。2013 年 5 月に 2 週間､WPRO でインフルエンザ A(H7N1)のリスク評価に関わった。

［大石和徳、山岸拓也］

6. 国際的な感染症アウトブレイクに関する国際連携

国際的な感染症アウトブレイク発生に際し､適宜WHO本部や西太平洋地域事務局と情報交換を行った。

［中島一敏、島田智恵、砂川富正、大石和徳］

7. 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。

［松井珠乃、大石和徳］

8. 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］

I. 国際研修

1. 海外からの来所者への感染症疫学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、広報業務を行った。

［大石和徳、藤本嗣人、大日康史、重松美加、中島一敏、砂川富正、椎野禎一郎、多屋馨子、新井智］

2. 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、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］

3. JSPS による海外研究者の受け入れ

文部科学省の JSPS プログラムにより約 6 ケ月間、マ

レーシアの AIMST 大学のアディカリ准教授を受け入れ、アデノウイルスの研究を実施して結果をまとめて論文化した。

［藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希］

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：松井珠乃、中島一敏、八幡裕一郎、山岸拓也、大石和徳］

1. 全般実施状況

FETP の実施は 15 年目となり、2013 年 4 月には、15 期生 3 名（伊東宏明、金山敦宏、牧野友彦）を迎え、平成 26 年 3 月には 14 期生 1 名(田渕文子)が研修終了した。

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。

［松井珠乃、中島一敏、八幡裕一郎、山岸拓也］

(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、八幡裕一郎、山岸拓也］

3. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 25 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。

- SFTS（重症熱性血小板減少症候群）発生事例（山口県）
- 風疹集団発生事例（島根県）
- 風疹集団発生事例（鹿児島県）
- MDRP（多剤耐性緑膿菌）院内感染事例（大阪府）
- メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌院内感染事例(大阪府)

［松井珠乃、中島一敏、八幡裕一郎、山岸拓也、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、医療関連感染のセミナーMichel Bell;3 月)、サイエンティフィックライティングセミナー(JamesFielding；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、静岡県、三重県、高知県、宮城県）での講義・演習を実施した。

［中島一敏、神谷　元、八幡裕一郎、山岸拓也、砂川富正、大山卓昭、FETP 一同］

6. 感染症疫学研究

平成 25 年度に研修終了した 14 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。

田渕文子「幼児の腸管出血性大腸菌Ｏ157 感染症散発例における危険因子について」

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、八幡裕一郎、山岸拓也、砂川富正、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)などを通じて国民、公衆衛生従事者などに還元した。

9. 予防接種従事者研修

予防接種リサーチセンターが主催する予防接種従事者研修会の講師として、予防接種で予防可能疾患に関する国内疫学情報について、全国で研修会講師を勤めた。

［大石和徳、松井珠乃、砂川富正、多屋馨子、中島一敏、山岸拓也、岡部信彦（川崎市健康安全研究所）］

10. 自治体主催の予防接種に関する研修会

予防接種ならびに予防接種で予防可能な疾患に関する研修会で講師を勤めた。

［多屋馨子］

II. 感染症危機管理研修会

感染症疫学センターが事務局を務め、1997 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。2013 年度の事務局は、第二室を中心に FETP 担当職員及び宮間浩史が担当した。研修内容として、「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)について」、「手足口病(CA6 および EV71)-海外の知見も踏まえて-」、「鳥インフルエンザ A(H7N9)感染症について」、「MERS-CoV 感染症について」、「白菜浅漬けを原因とする腸管出血性大腸菌感染症集団発生」、「風しん集団発生への対応」、「院内感染対策の実例」、「感染症発生動向調査におけるデータの質管理のためのガイドラインについて」、「ロタウイルスワクチンをめぐる課題」、「国内外における風しん/CRS の問題」、「侵襲性肺炎球菌感染症・侵襲性インフルエンザ菌感染症」、「ポリオをめぐる状況」、「わが国におけるワクチン副反応の問題」の講義の他、ポスターセッション及び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、衛生研究所等から延べ約 130 数名が受講した。

［感染症疫学センター一同］

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細菌研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修細菌研修を、平成 25 年 10 月 21 日から 11 月 8 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細菌検査業務に従事する専門職員を対象とし、種々の細菌性感染症の基礎的および新しい検査診断技術・知識の習得を目的としている。受講生は、24 名であった。なお、本研修は、感染症疫学センターをはじめ、当所関連各部・センター・室及び全国の衛生研究所及び保健所（群馬県、栃木県、静岡県、愛知県、東京都および川崎市）、東京家政大学等の協力を得て遂行された。

［石岡大成、木村博一、大石和徳、高橋真希、野田雅博］

2. 国立保健医療科学院による短期研修新興再興感染症技術研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修　新興再興感染症技術研修を、平成 25 年 10 月 7 日から 10 月 11 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、麻疹・風疹に関する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、17 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、福井県等）の協力を得て遂行された。

［木村博一、石岡大成、大石和徳、高橋真希、野田雅博］

3. 国立保健医療科学院による短期研修新興再興感染症技術研修の実施

国立保健医療科学院による短期研修　新興再興感染症技術研修を、平成 25 年 10 月 7 日から 10 月 11 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、麻疹・風疹に関する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、17 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、福井県等）の協力を得て遂行された。

［木村博一、石岡大成、大石和徳、高橋真希、野田雅博］

4. 国立保健医療科学院食品衛生危機管理研修

国立保健医療科学院による短期研修である食品衛生危機管理研修で食中毒の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］

5. 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・予防接種等に関する講義を行った。

［中島一敏、多屋馨子、大石和徳］

6. 厚生労働省地方厚生局食品衛生監視員研修会

厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課食中毒被害情報管理室が主催する地方厚生局食品衛生監視員研修会で、アウトブレイク調査のステップの講義及びケーススタディを実施した。

［八幡裕一郎］

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

2013 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。

［感染症疫学センター全員(主担当は四室)、宮﨑義継(真菌部)］

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. JICA 国際研修コース

平成 25 年 9 月 26 日に公益財団法人結核予防会結核研究所で開催された細菌学の JICA 国際研修コースに、バイオリスク管理学およびデュアルユースに関する講師として参加した。

［重松美加］

4. 侵襲性細菌感染症技術研修の実施

2014 年 2 月 26～28 日、国立感染症研究所において侵襲性細菌感染症技術研修を実施した。本研修では、インストラクター及び講師として企画立案及び実務を遂行した。

［石岡大成、大石和徳］

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。

なお、サイトに掲載された情報についての一次的な対応は情報管理専門官が行い、取材に至る以前のデータの見方やデータの保管場所等については適宜説明を行った。問合せの多い時期では 1 日あたり約 20 件程度の電話対応を行った。また、IDWR や IASR 等に掲載されている図表等についての使用申請については年間約 200 件の対応を行った。

［多屋馨子、新井智、佐藤弘、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、木下一美、宮間浩史、大石和徳］

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、松井珠乃、重松美加、中島一敏、大日康史、菅原民枝、山岸拓也、砂川富正、齊藤剛仁、多屋馨子、新井智、佐藤弘、藤本嗣人、布施晃］

3. メディアへの対応

インフルエンザ、麻疹、風疹、腸管出血性大腸菌感染症等の流行に伴い、メディアからの取材対応が急増し、ピーク時には連日取材対応を行った。その他、インフルエンザ、ノロウイルス感染症の流行時等に取材対応を行った。

［多屋馨子、砂川富正、宮間浩史、大石和徳］

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］

II. 厚生労働省 部会等 委員

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会 予防接種基本方針部会 委員［多屋馨子］

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会 副反応検討部会 委員［多屋馨子］

麻疹排除認定会議 委員［砂川富正、多屋馨子］

疾病･障害認定審査会 感染症･予防接種審査分科会 委員［多屋馨子］

ロタウイルスワクチン作業班 ［多屋馨子］

日本ポリオ根絶会議構成員 ［多屋馨子］

III. レファレンス業務

全国の地区レファレンスセンターとともに、アデノウイルス検査体制の全国調査を実施した。その結果、アデノウイルスは多くの地方衛生研究所でウイルス分離が行われており、新型の検出・同定ができる手法の標準化が必要と思われた。

［藤本嗣人、花岡 希、全国地方衛生研究所］

IV. 検査実施状況

第 4 室：

アデノウイルス難同定株や同定不明検体に関して、10 自治体からの依頼による 99 件の検査を実施した。

［藤本嗣人、花岡 希］

V. 研修員（実地疫学専門家養成プログラム）

田渕 文子	協力研究員	H25.4.1-H26.3.31	厚生労働省結核感染症課
伊東 宏明	協力研究員	H25.4.1-H26.3.31	外房こどもクリニック
金山 敦宏	協力研究員	H25.4.1-H26.3.31	防衛医科大学校
牧野 知彦	協力研究員	H25.4.1-H26.3.31	厚生労働省
山本久美	協力研究員	H25.4.1-H26.3.31	元 職員
松永泰子	協力研究員	H25.4.1-H26.3.31	元 職員

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

１．欧文発表

1) Sugishita Y, Ohkusa Y, Sugawara T, Shimatani N, Nadaoka Y, Kamiya N, Yasui Y, Taniguchi K and Okabe N：Enhanced Syndromic Surveillance for the Fourth Japan-China-South Korea Trilateral Summit 2011Y／J Bioterr Biodef 4:126／2013

2) Barboza P, Vaillant L, Mawudeku A, Nelson NP, Hartley DM, Madoff LC, Linge JP, Collier N, Brownstein JS, Yangarber R, Astagneau P; Early Alerting Reporting Project Of The Global Health Security Initiative. Evaluation of epidemic intelligence systems integrated in the early alerting and reporting project for the detection

of A/H5N1 influenza events. PLoS One, 2013; 8(3): e57252, 2013.

3) Hashimoto S, Kawado M, Murakami Y, Ohta A, Shigematsu M, Tada Y, Taniguchi K, Nagai M. Number of sentinel medical institutions needed for estimating prefectural incidence in influenza surveillance in Japan. J Epidemiol. 24(3):183-92, 2014.

4) Ushizawa H, Foxwell A, Bice S, Matsui T, Ueki Y, Tosaka N, Shoko T, Aiboshia J, Otomo Y: Needs for disaster medicine: lessons from the field of the Great East Japan Earthquake. Western Pacific Surveillance and Response, 2013

5) Wang LX, Takayama-Ito M, Kinoshita-Yamaguchi H, Kakiuchi S, Suzutani T, Nakamichi K, Lim CK, Kurane I, Saijo M. Characterization of DNA polymerase-associated acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1: mutations, sensitivity to antiviral compounds, neurovirulence, and in-vivo sensitivity to treatment. Jpn J Infect Dis. 66(5): 404-410, 2013.

6) Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang L, Kinoshita-Yamaguchi H, Takayama-Ito M, Lim CK, Inoue N, Mizuguchi M, Igarashi T, Saijo M. Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 strain. J Clin Microbiol. 51(1): 356-359, 2013.

7) Takayama-Ito M, Nakamichi K, Kinoshita H, Kakiuchi S, Kurane I, Saijo M, Lim CK. A sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. Biologicals. 42(1): 42-47, 2014.

8) Tanaka-Taya K, Satoh H, Arai S, Yamagishi T, Yahata Y, Kamiya H, Nakashima K, Matsui T, Saito T, Kanou K, Shimada T, Kinoshita H, Yamashita K, Yasui Y, Tada Y, Mori Y, Takeda M, Sunagawa T, Oishi K. Nationwide rubella epidemic in Japan, 2013, MMDW, June 14, 2013 / 62(23);457-462.

9) Miyata I, Hanaoka N, Okabe N, Fujimoto T, Sakamoto S, Kasahara M, Saitoh A. Echovirus 3 as another enterovirus causing life-threatening neonatal fulminant hepatitis. J Clin Virol. 2014 Feb;59(2):132-4.

10) Adhikary AK, Hanaoka N, Fujimoto T. Simple and cost-effective restriction endonuclease analysis of human adenoviruses. Biomed Res Int. 2014;2014:363790.

11) Matsutani M, Ogawa M, Takaoka N, Hanaoka N, Toh H, Yamashita A, Oshima K, Hirakawa H, Kuhara S, Suzuki H, Hattori M, Kishimoto T, Ando S, Azuma Y, Shirai M. Complete genomic DNA sequence of the East Asian spotted fever disease agent Rickettsia japonica. PLoS One. 2013 Sep 9;8(9):e71861.

12) Fujimoto T, Yamane S, Ogawa T, Hanaoka N, Ogura A, Hotta C, Niwa T, Chiba Y, Gonzalez G, Aoki K, Koyanagi KO, Watanabe H. A novel complex recombinant form of type 48-related human adenovirus species d isolated in Japan. Jpn J Infect Dis. in press

13) Yasui Y, Makino T, Hanaoka N, Owa K, Horikoshi A, Tanaka A, Suehiro Y, Shimizu H, Kanou K, Kobayashi M, Konagaya M, Fujimoto T., A case of atypical hand-foot-and-mouth disease caused by coxsackievirus A6: differential diagnosis from varicella in a pediatric intensive care unit., Jpn J Infect Dis. 2013;66(6):564-6.

14) Abe M, Tahara M, Sakai K, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizuta K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M., TMPRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses., J Virol. 2013 Nov;87(21):11930-5.

15) Kushibuchi I, Kobayashi M, Kusaka T, Tsukagoshi H, Ryo A, Yoshida A, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Yamamoto N, Kanou K, Saitoh M, Noda M, Kuroda M, Morita Y, Kozawa K, Oishi K, Tashiro M, Kimura H., Molecular evolution of attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus detected in Japan 2008-2011., Infect Genet Evol. 2013 Aug;18:168-73.

16) Kobayashi M, Makino T, Hanaoka N, Shimizu H, Enomoto M, Okabe N, Kanou K, Konagaya M, Oishi K, Fujimoto T., Clinical manifestations of coxsackievirus A6 infection associated with a major outbreak of hand, foot, and mouth disease in Japan., Jpn J Infect Dis. 2013;66(3):260-1.

17) Arai, S., Nguyen, S. T., Boldgiv, B., Fukui, D., Araki, K., Dang, C. N., Ohdachi, S. D., Nguyen, N. X., Pham, T. D., Boldbaatar, B., Satoh, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Tanaka-Taya, K., Yanagihara, R., and Oishi, K. Novel Bat-borne Hantavirus, Vietnam. Emerging Infectious Diseases. 19(7): 1159-1161. 2013.

18) Arai, S., Tabara, K., Yamamoto, N., Fujita, H., Itagaki, A.,

Kon, M., Satoh, H., Araki, K., Tanaka-Taya, K., Takada, N., Yoshikawa, Y., Ishihara, C., Okabe, N., Oishi, K. Molecular phylogenetic analysis of Orientia tsutsugamushi based on the groES and groEL genes. Vector-borne and zoonotic diseases. 13(11): 825-829. 2013.

19) Nabae K, Satoh H, Nishiura H, Tanaka-Taya K, Okabe N, Oishi K, Matsumoto K, Hasegawa T. : Estimating the risk of parvovirus B19 infection in blood donors and pregnant women in Japan.PLoS One. 2014;9(3):e92519. doi: 10.1371/journal.pone.0092519. eCollection 2014.

20) Yokomichi H, Kurihara S, Yokoyama T, Inoue E, Tanaka-Taya K, Kono S, Yamagata Z. : The pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine does not increase the mortality rate of idiopathic interstitial pneumonia: a matched case-control study.PLoS One. 2014;9(2):e88927. doi: 10.1371/journal.pone.0088927. eCollection 2014.

21) Ito Y, Kimura H, Torii 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; Japanese Society for Pediatric Infectious Diseases. Risk factors for poor outcome in congenital cytomegalovirus infection and neonatal herpes on the basis of a nationwide survey in Japan. Pediatr Int. 2013;55(5):566-71.

22) 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; Japanese Society for Pediatric Infectious Diseases：Clinicoepidemiologic status of mother-to-child infections: a nationwide survey in Japan. Pediatr Infect Dis J. 2013 ;32(6):699-701.

23) Kishida N, Imai M, Xu H, Taya K, Fujisaki S, Takashita E, Tashiro M, Odagiri T. : Seroprevalence of a novel influenza A (H3N2) variant virus in the Japanese population. Jpn J Infect Dis. 2013;66(6):549-51.

24) Senchi K, Matsunaga S, Hasegawa H, Kimura H, Ryo A. Development of oligomannose-coated liposome-based nasal vaccine against human parainfluenza virus type 3. Front Microbiol. 4:346, 2013.

25) Nishina A, Kimura H, Tsukagoshi H, Kozawa K, Koketsu M, Ninomiya M, Sato D, Obara Y, Furukawa S. Neurite outgrowth of PC12 cells by 4'-O-β-D-glucopyranosyl-3',4-dimethoxychalcone from Brassica rapa L. 'hidabeni' was enhanced by pretreatment with p38MAPK inhibitor. Neurochem Res. 38(11):2397-2407, 2013.

26) Kobayashi M, Takayama I, Kageyama T, Tsukagoshi H, Saitoh M, Ishioka T, Yokota Y, Kimura H, Tashiro M, Kozawa K. A new reassortant swine influenza A (H1N2) virus derived from A (H1N1) pdm09 virus isolated from swine. Emerg Infect Dis. 19(12):1972-4, 2013.

27) Miyaji Y, Kobayashi M, Sugai K, Tsukagoshi H, Niwa S, Fujitsuka-Nozawa A, Noda M, Kozawa K, Yamazaki F, Mori M, Yokota S, Kimura H. Respiratory severity and virus profiles in Japanese children with acute respiratory illness. Microbiol Immunol. 57(12):811-821, 2013.

28) Kiyota N, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ryo A, Harada S, Kusaka T, Obuchi M, Shimojo N, Noda M, Kimura H. Genetic analysis of human rhinovirus species A to C detected in patients with acute respiratory infection in Kumamoto prefecture, Japan 2011-2012, Infect Mol Evol. 21:90-102, 2013.

29) Abe M, Tahara M, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizuta K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. TMPRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses. J Virol. 87(21):11930-11935, 2013.

30) Matsuda S, Nakamura M, Hirano E, Kiyota N, Omura T, Suzuki Y, Noda M, Kimura H. Characteristics of human metapneumovirus infection prevailing in hospital wards housing patients with severe disabilities. Jpn J Infect Dis. 66(3):195-200, 2013.

31) Tsukagoshi H, Yokoi H, Kobayashi M, Kushibuchi I, Okamoto-Nakagawa R, Yoshida A, Morita A, Noda M, Yamamoto N, Sugai K, Oishi K, Kozawa K, Kuroda M, Shirabe K, Kimura H. Genetic analysis of attachment glycoprotein (G) gene in new genotype ON1 of human respiratory syncytial virus detected in Japan. Microbiol Immunol. 57(9):655-659, 2013.

32) Ishioka T, Yamada Y, Kimura H, Yoshizumi M, Tsukagoshi H, Kozawa K, Maruyama K, Hayashi Y, Kato M. Elevated macrophage inflammatory protein 1α and interleukin-17 production in an experimental asthma

model infected with respiratory syncytial virus. Int Arch Allergy Immunol. 161(2):129-137, 2013.

33) Boonmar S, Morita Y, Pulsrikarn C, Chaichana P, Pornruagwong S, Chaunchom S, Sychanh T, Khounsy T, Sisavath D, Yamamoto S, Sato H, Ishioka T, Noda M, Kozawa K, Kimura H. Salmonella prevalence in meat at retail markets in Pakse, Champasak Province, Laos, and antimicrobial susceptibility of isolates. J Global Antimicrobial Resistance. 1, 157-161, 2013.

34) Mizuta K, Yamakawa T, Nagasawa H, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Shimizue Y, Ito S, Aokia Y, Ikeda T, Abiko C, Kuroda M, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infection among adults occurs during an outbreak among children: Findings from Yamagata, Japan, in 2011. J Clin Virol. 58(1):188-193, 2013.

35) Kushibuchi I, Kobayashi M, Kusaka T, Tsukagoshi H, Ryo H, Yoshida A, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Yamamoto N, Kanou K, Saitoh M, Noda M, Kuroda M, Morita Y, Kozawa K, Oishi K, Tashiro M, Kimura H. Molecular evolution of attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus detected in Japan 2008-2011. Infect Genet Evol. 18:168-173, 2013.

36) Saraya T, Mikoshiba M, Kamiyama H, Yoshizumi M, Tsuchida S, Tsukagoshi H, Ishioka T, Terada M, Tanabe E, Tomioka C, Ishii H, Kimura H, Kozawa K, Shiohara T, Takizawa T, Goto T. Evidence for reactivation of human herpes virus 6 in generalized lymphadenopathy in a patient with drug induced hypersensitivity syndrome. J Clin Microbiol. 51(6): 1979-1982, 2013.

37) Nishina A, Kimura H, Tsukagoshi H, Kozawa K, Koketsu M, Ninomiya M, Furukawa S. Neurite outgrowth in PC12 cells stimulated by components from Dendranthema × grandiflorum cv. 'Mottenohoka' is enhanced by suppressing phosphorylation of p38MAPK. Evid Based Complement Alternat Med. 2013: 403503, 2013.

38) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki Y, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Seasonal patterns of respiratory syncytial virus, influenza A virus, human metapneumovirus, and parainfluenza virus type 3 infections based on virus isolation data between 2004 and 2011 in Yamagata, Japan. Jpn J Infect Dis. 66(2):140-145, 2013.

39) Kiyota N, Kushibuchi I, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ryo A, Nishimura K, Hirata-Saito A, Harada S, Arakawa M, Kozawa K, Noda M, Kimura H. Genetic analysis of VP4/VP2 coding region in human rhinovirus species C detected from the patients with acute respiratory infection in Japan. J Med Microbiol. 62, 610-617, 2013.

40) Seki E, Yoshizumi M, Tanaka R, Ryo A, Ishioka T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Okayama Y, Goya T, Kimura H. Cytokine profiles, signaling pathways, and effects of fluticasone propionate in respiratory syncytial virus-infected human fetal lung fibroblasts. Cell Biol Int. 37(4), 326-339, 2013.

41) Wakai K, Sano H, Shimada A, Shiozawa Y, Park MJ, Sotomatsu M, Yanagisawa R, Koike K, Kozawa K, Ryo A, Tsukagoshi H, Kimura H, Hayashi Y. Cytomegalovirus retinitis during maintenance therapy for T-cell acute lymphoblastic leukemia. J Pediatr Hematol Oncol. 35(2):162-163, 2013.

42) Abiko C, Mizuta K, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Noda M, Kimura H, Ahiko T. An outbreak of parainfluenza virus type 4 infections among children with acute respiratory infections, in the 2011-12 winter season in Yamagata, Japan. Jpn J Infect Dis. 66(1): 76-78, 2013.

43) 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.

44) Nakamura M, Hirano E, Ishiguro F, Mizuta K, Noda M, Tanaka R, Tsukagoshi H, Kimura H. Molecular epidemiology of human metapneumovirus from 2005 to 2011 in Fukui, Japan. Jpn J Infect Dis. 66(1): 56-59, 2013.

45) Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ishioka T, Mizuta K, Noda M, Morita Y, Ryo A, Kozawa K, Kimura H. Seroepidemiology of saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 in Japan. J Infect. 66(2): 191-193, 2013.

46) Kimura H, Yoshizumi Y, Ishii H, Oishi K, Ryo A. Cytokine productions and signaling pathways in respiratory virus infection. Front Microbiol. 4:276, 2013.

47) Tsukagoshi H, Ishioka T, Noda M, Kozawa K, Kimura H. Molecular epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma. Front Microbiol. 4:278, 2013.

48) Mori S, Ueki Y, Akeda Y, Hirakata N, Oribe M, Shiohira Y, Hidaka T, Oishi K. Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab therapy. Ann Rheum Dis 72 (8): 1362-1366, 2013

49) Seki M, Gotoh K, Nakamura S, Akeda Y, Yoshii T, Miyaguchi S, Inohara H, Horii T, Oishi K, Iida T, Tomono K. Fatal sepsis caused by an unusual Klebsiella species that was misidentified by an automated identification system. J Med Microbiol. 62(5): 801-803, 2013

50) Ohshima N, Nagai H, Matsui H, Akashi S, Makino T, Akeda Y, Oishi K. Sustained functional serotype-specific antibody after primary and secondary vaccinations with a pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly patients with chronic lung disease. Vaccine. 32:1181-1186, 2014

51) Nakayama T, Oishi K. Influence of coffee (Coffea arabica) and galacto-oligosaccharide consumption on intestinal microbiota and the host responses. FEMS Microbiol Lett. 343(2): 161-168, 2013.

52) Nakayama T, Takeuchi D, Matsumura T, Akeda Y, Fujinaga Y, Oishi K. Alcohol consumption promotes the intestinal translocation of *Streptococcus suis* infections. Microb Pathog. 65C: 14-20, 2013.

53) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The First Identification and Retrospective Study of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan. J Infect Dis. 209(6): 816-827, 2014

54) Takeuchi D, Akeda Y, Nakayama T, Kerdsin A, Sano Y, Kanda T, Hamada S, Dejsirilert S, Oishi K. The contribution of suilysin to the pathogenesis of *Streptococcus suis* meningitis. J Infect Dis 209:1509-19.2014

55) Tamura K, Matsubara K, Ishiwada N, Nishi J, Ohnishi H, Suga S, Ihara T, Bin Chang B, Akeda Y, Oishi K, the Japanese IPD Study Group. Hyporesponsiveness to the infecting serotype after vaccination of children with seven-valent pneumococcal conjugate vaccine following invasive pneumococcal disease. Vaccine. 32:1444-1450, 2014

２．和文発表

1) 菊池隆秀，坂巻文雄，谷山大輔，土橋酉紀，山岸拓也，北原光夫：指定介護老人福祉施設における血清型11A 肺炎球菌性肺炎のアウトブレイク．感染症学雑誌 88: 149～154, 2014.

2) 山岸拓也、尾本由美子、川畑拓也、白井千香、高野つる代、多田有希、堀成美、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関連業務の改善を目的とした性感染症発生動向調査活用ガイドラインについて．日本性感染症学会誌 24(1), 57-62、2013.

3) 山岸拓也、鈴木里和、網中眞由美、筒井敦子、柴山恵吾：厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業・手術部位感染部門の歴史と今後の展望．日本外科感染症学会雑誌 10(1), 75-82.

4) 鈴木智之，神谷信行，八幡裕一郎，尾関由姫恵，岸本剛，灘岡陽子，中西好子，吉村健清，島田智恵，多田有希，谷口清州，調恒明，小澤邦寿．地方感染症情報センター担当者に対する研修プログラムの需要．日本公衆衛生学雑誌．60(3):146-152、2013.

5) 中島一敏、岡部信彦．新興再興感染症.別冊日本臨床.12-16, 2013.

6) 中島一敏.国立感染症研究所によるアウトブレイク対応支援、Infection Control. 22（3）：276-278.2013

7) 中島一敏．災害時の感染症対策　ニーズ評価とリスクアセスメント.臨床とウイルス.41（3）：156-162、2013

8) 重松美加．６ 身体的健康．大学生のリスク・マネジメント．吉川肇子、杉浦淳吉、西田公昭（編）, pp. 81-104.ナカニシヤ出版、2013.

9) 堀口逸子、川南公代、城川美佳、重松美加. 再生医療の臨床研究参加意向に関する調査　Web 調査を利用して. 厚生の指標. 60(13): 30-36, 2013.

10) 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 2013－2014 版」日本語翻訳, 2013.

11) 藤本嗣人、井出忍、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　vol.40 No.2 2013.3.-051

12) 藤本嗣人：アデノウイルス感染症．日本臨牀別冊. No24: 373～376, 2013.

13) 榎本美貴，髙井伝仕，押部智宏，藤本嗣人，近平雅嗣，吉田昌史: 兵庫県の感染症発生動向調査において検出されたエンテロウイルス（2008～2012 年）. 兵庫県立健康生活科学研究所 研究報告; No.4: 13～18, 2013.

14) 藤本嗣人：手足口病．化学療法の領域(新興・再興感染症 up to date)．増刊：176～181，2013.

15) 藤本嗣人, 菅原民枝, 小長谷昌未, 花岡希, 大日康史：保育園サーベイランスと病原体診断との連携．保育界; No.8: 28～33, 2013.

16) 砂川富正．手洗い・うがい．チャイルドヘルス 16(3): 178-181, 2013.

17) 砂川富正．集団生活における感染症対策(総論)．チャイルドヘルス 16(4): 220-224, 2013.

18) 砂川富正．災害と子どもの病気．チャイルドヘルス 16(10): 740-742, 2013.

19) 砂川富正．風疹流行に対して ICT が知っておきたいこと．インフェクションコントロール 22(7): 636-637, 2013.

20) 佐藤 弘、多屋馨子、森 嘉生、2012 年度風疹感受性調査および予防接種状況調査実施都道府県：2012 年度風疹予防接種状況および抗体保有状況－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．34：105-107．2013.

21) 佐藤 弘、多屋馨子：風疹抗体価の読み替えに関する検討－HI 価と国際単位．病原微生物検出情報月報．34：107-108．2013.

22) 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、佐藤 彩、菅原裕美、小田切孝人、田代眞人、調査実施都道府県：2011/12 シーズンのインフルエンザ予防接種状況および 2012/13 シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況－2012 年度感染症流行予測調査より．病原微生物検出情報月報．34：334-336．2013.

23) 佐藤 弘：ワクチンとサーベイランス－感染症流行予測調査事業．小児科．54：1643-1650．2013.

24) 佐藤 弘、多屋馨子：わが国の風しん・先天性風しん症候群に関する疫学情報．ワクチンジャーナル．1：40-41．2013.

25) 佐藤 弘、多屋馨子：わが国の風疹の現状と問題点．小児内科．45：392-396．2013.

26) 佐藤 弘、多屋馨子：風疹ワクチンの効果はどのくらい持続するのでしょうか．小児内科．45：397-399．2013.

27) 佐藤 弘：風疹／先天性風疹症候群の疫学情報．臨床と微生物．41：9-13．2014.

28) 多屋 馨子:風疹・CRS の流行疫学と血清疫学.臨床とウイルス.42 巻 1 号 Page3-11(2014.03) .

29) 多屋馨子：主なワクチンの現状と問題点　麻疹ワクチン・風疹ワクチン．感染症内科．2 巻 3 号 Page235-249(2014.03) .

30) 奥野 英雄, 多屋 馨子:【話題の感染症 2014】風疹．臨床検査．58 巻 4 号 Page485-490(2014.04)

31) 多屋馨子：ワクチンによる小児感染症の予防　麻疹・風疹の排除に向けて、これからするべきこと．小児科臨床．67 巻 4 号 Page551-560(2014.04)

32) 越智 史博, 駿田 竹紫, 関 聡子, 徳武 翔子, 西村 聡, 山田 健太, 田中 敏博, 坂田 宏, 多屋 馨子, 森内 浩幸, グループ E:集団保育における感染対策　B 型肝炎、手足口病を中心に．小児感染免疫．25 巻 4 号 Page491-497(2014.02) .

33) 坂田 宏, 多屋 馨子:集団保育での感染症対策．小児感染免疫．25 巻 4 号 Page489-490(2014.02)

34) 多屋 馨子:ウイルス感染症の病態と予防　急性発疹症を中心に　ウイルス感染症のサーベイランスとワクチンに関する最近の話題．日本皮膚科学会雑誌．123 巻 13 号 Page2992-2995(2013.12) .

35) 多屋馨子：麻疹ワクチン．化学療法の領域．30 巻 3 号 Page453-461(2014.02) .

36) 多屋馨子：風疹の流行と先天性風疹症候群．感染制御．9 巻 4 号 Page337-343(2013.10) .

37) 奥野 英雄, 多屋 馨子:思春期の感染症　最近の動向．思春期学．31 巻 4 号 Page343-349(2013.12)

38) 三崎 貴子, 佐藤 弘, 大石 和徳, 多屋 馨子：全国市区町村における麻疹対策と予防接種率の関連性．日本小児科学会雑誌．117 巻 11 号 Page1702-1708(2013.11)．

39) 多屋馨子：ワクチン最近の動向．日本環境感染学会誌．29 巻 Suppl. Page250(2014.01)

40) 多屋馨子：風しんの流行にいかに対応するか．日本小児科医会会報．46 号 Page109-115(2013.10)

41) 多屋馨子：【新しい母子健康手帳とその活用】 新しい変更点　予防接種欄の変更．チャイルド ヘルス．16 巻 12 号 Page847-851(2013.12)

42) 多屋 馨子：麻疹　ワクチンの必要性　麻疹は怖い病気だと聞きましたが、医療の進んだ現在でも状況は同じでしょうか．小児内科．45 巻増刊 Page377-378(2013.11)．

43) 多屋馨子：わが国の麻疹の現状と問題点．小児内科．45 巻増刊 Page370-376(2013.11)．

44) 奥野英雄、多屋馨子：薬剤師が知っておくべき予防接種の知識　ワクチンの種類と知識、スケジュール．調剤と情報．19（11）：20,2013.

45) 伊東宏明：おたふくかぜワクチンの副反応で無菌性髄膜炎が起こると聞きましたが、接種した方がよいでしょうか？．ワクチンジャーナル．Vol.2 No.1 Page35（2014.6）.

46) 伊東宏明、金山敦宏、大石和徳、渡邉　治雄：病棟で問題となる市中感染症 インフルエンザウイルスとノロウイルス．耳鼻咽喉科・頭頸部外科．第 85 巻第 10 号 Page780-784（2013.9）.

47) 大石和徳、八幡裕一郎、明田幸宏．腸管出血性大腸菌感染症．日本内科学会雑誌．102：2854--2859、2013

48) 大石和徳．国内外における2013年の感染症流行．Medical Technology．41：1254-1258, 2013

49) 大石和徳、田渕文子．MERSコロナウイルス感染症．感染症．43：23-28, 2013

50) 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、梅本　哲．MRワクチン1期および2期の全国累積接種率調査：2012年の調査結果．日本医事新報．No.4656：34-38, 2013

51) 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、梅本　哲．日本脳炎ワクチン第 1 期 1, 2 回目および追加接種の全国累積接種率調査：2012 年の調査結果．日本医師会雑誌．142：592-596, 2013

52) 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、梅本　哲．BCG, DPT ワクチンの全国累積接種率調査：2012 年の調査結果．日本医事新報．No.4655：35-39, 2013

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Tabuchi A, Wakui T, Yamagishi T, Yahata Y, Sunagawa T, Oishi K. A large outbreak of E.coli O157, caused by low-salt pickled napa cabbages in nursing homes, Japan, 2012. VietNam. 2013.11

2) Yahata Y, Sunagawa T, Kasuga F, Taniguchi K, Oishi K, Okabe N. Risk factors for sporadic shiga toxin-producing escherichia coli O157 infections in Japan. 141st American Public Health Association Annual Meeting, USA. 2013. 11

3) Shigematsu M. What more may multiplel Influenza Surveillances tell you than one? Options for the Control of Influenza VIII conference. Cape Town, South Africa. 2013. 9.

4) Shigematsu M, Fujimoto S, Kojima F. Biorisk Management Initiation Training for Graduate and Undergraduate Medical and Comedical Students in Japan. ABSA 56th Annual Biological Safety Conference. Kansas City, 2013. 10.

5) Iki S, Shigematsu M, Ando S, Sugiyama K. The Examination of Decontamination Effects on Containers Used for Infectious Substances Transportation. ABSA 56th Annual Biological Safety Conference. Kansas City, 2013. 10.

6) Arai, S., Nguyen, S. T., Boldgiv, B., Fukui, D., Araki, K., Dang, C. N., Ohdachi, S. D., Nguyen, N. X., Pham, T. D., Boldbaatar, B., Satoh, H., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Tanaka-Taya, K., Yanagihara, R., Oishi, K. A Newfound Hantavirus in the Pomona Roundleaf Bat (*Hipposideros pomona*) in Vietnam. IX Internationali Conference on HFRS, HPS & Hantaviruses. Beijing, China. 2013. 6.

7) Arai, S., Kang, H. J., Ohdachi, S. D., Cook, J. A., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Okabe, N., Yanagihara, R. Amga virus, a Newfound Hantavirus Harbored by *Sorex caecutiens* in Russia and Japan. IX Internationali Conference on HFRS, HPS & Hantaviruses. Beijing, China. 2013. 6.

8) Fujimoto T, Enomoto M, Kanou K, Hanaoka N, Adhikary AK, Yoshida S, Kobayashi M. Hand foot and mouth

disease in Japan, 1st conference on Asian pediatric infectious diseases. Tokyo, Japan. 2013. 8.

9) Adhikary AK, Ushijima H, Fujimoto T: Updated restriction endonuclease analysis based genome typing method of HAdV: application in pediatric infectious diseases caused by HAdV, 1st conference on Asian pediatric infectious diseases. Tokyo, Japan. 2013. 8.

10) Oishi K, Ohkusa Y, Fujimoto T. Surveillance of hand foot and mouth disease in Japan, 1st ASEAN Hand Foot and Mouth Disease Workshop. Singapore. 2013. 4.

11) Oishi K. *Streptococcus suis* infection and public health intervention in Phayao Province, northen Thailand. First International workshop on *Streptococcus suis*. Beijing, China, 2013. 8.

12) Oishi K. Platelet Apoptosis and Apoptotic Platelet Clearance by Macrophages in Secondary Dengue Virus Infections. 2013 International Symposium on Infectious Disease and Signal Transduction. Tainan, Taiwan, 2013.11.

13) Oishi K, Tamura K, Matsubara K, Ishiwada N, Suga S, Nishi J, Ohnishi H, Chang B, Akeda Y, Ihara T. Immune response to senev-valent pneumococcal conjugate vaccine in children with invasive pneumococcal disease. International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Hyderabard, Inida, 2014. 3.

２．国内学会

1) 大日康史, 栗田順子, 菅原民枝, 安井良則, 大石和徳：マイコプラズマ肺炎感染症による学校欠席者の動向と罹患率、第 87 回日本感染症学会学術講演会・第 61 回日本化学療法学会総会 合同学会

2) 菅原民枝, 藤本嗣人, 大日康史, 安井良則, 大石和徳：保育所の発疹集団発生におけるコクサッキー A 群 9 型の検出・同定、第 87 回日本感染症学会学術講演会・第 61 回日本化学療法学会総会 合同学会

3) 具芳明, 菅原民枝, 大日康史, 大石和徳：薬局サーベイランスによる小児に対するキノロン系抗菌薬処方件数の検討、第 87 回日本感染症学会学術講演会・第 61 回日本化学療法学会総会 合同学会

4) 大日康史, 栗田順子, 菅原民枝, 大石和徳：県内の未就学児から高校生までの各種感染症罹患状況の比較、第 62 回日本感染症学会 東日本地方会学術集会 第 60 回日本化学療法学会 東日本支部総会 合同学会

5) 菅原民枝, 栗田順子, 大日康史, 大石和徳：学校内におけるノロウイルスによる感染性胃腸炎の流行の早期探知と対応、第 62 回日本感染症学会 東日本地方会学術集会 第 60 回日本化学療法学会 東日本支部総会 合同学会

6) 山岸拓也、砂川富正、加納和彦、大石和徳、谷畑健生、岡部信彦：性器クラミジア感染症と淋菌感染症の疾病負荷と発生率の推移．第 26 回日本性感染症学会．岐阜県．2013．12.

7) 山岸拓也、網中眞由美、鈴木里和、筒井敦子、柴山恵吾、森兼啓太：厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業手術部位感染（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．第 78 回日本泌尿器科学会東部総会．新潟県．2013.10

8) 山岸拓也：EBS のリスク評価会合に向けて準備すること．第 72 回日本公衆衛生学会．三重県．2013.10

9) 山岸拓也：Surveillance system and epidemiology of HIV/AIDS in Japan. Japan-Russia International Workshop 2013.東京都．2013.10

10) 山岸拓也：性器クラミジア感染症、日本における疫学．第 31 回日本クラミジア研究会．北海道．2013.9

11) 丸山 絢、八幡裕一郎、岡部信彦．自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行．第72回日本公衆衛生学会,三重．10月23-25日、2013年

12) 柳樂真佐実，八幡裕一郎，齊藤剛仁，加納和彦，砂川富正，多田有希，大石和徳．腸管出血性大腸菌の発生動向の変化~2011年以降の生肉・生レバー規制強化の影響．第72回日本公衆衛生学会,三重．10月23-25日、2013年

13) 中島一敏．感染制御に関する医療機関と行政との連携 アウトブレイク事例への対応における国立感染症研究所の役割.第28回環境感染学会総会、横浜.2013.3

14) 中島一敏．アウトブレイク対応に必要なこと 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.第28回環境感染学会総会、横浜.2013.3

15) 中島一敏.人畜共通感染症アウトブレイクの疫学調査–レプトスピラ症–.第37回獣医疫学会学術集会、東京.2013.7

16) 中島一敏.災害時のサーベイランス・リスクアセスメント.日本臨床微生物学会震災感染症シンポジウム、仙台.2013．11

17）藤本秀士，重松美加: カンピロバクター食中毒事例分離菌株の分子疫学的検討．第 85 回日本細菌学会総会．長崎県. 2013. 3 月 27-29 日．

18）藤本秀士，小島夫美子，重松美加: カンピロバクター食中毒原因菌株の分子生物学的解析．第 87 回日本感染症学会学術講演会．神奈川県. 2013. 6.

19）藤本秀士，重松美加，小島夫美子: 検査系大学でのバイオリスク管理教育の実践と学習効果．第 8 回日本臨床検査学教育学会学術大会．大阪府. 2013. 8.

20）伊豫田淳、井口純、齊藤剛仁、 石原朋子、 大西真：溶血性尿毒症症候群の血清診断による腸管出血性大腸菌感染症の確定診断法．第 87 回日本細菌学会総会．東京都. 2014 年 3 月 26-28 日

21）加納和彦、牧野友彦、藤本嗣人:コクサッキーA6 ウイルスの病像変化に関する研究：ヘルパンギーナから HFMD への病像変化.第 61 回日本ウイルス学会学術集会.兵庫県神戸市. 2013.11.

22）加納和彦、白戸憲也、木村博一、松山州徳:宿主プロテアーゼ依存的なコロナウイルスの細胞侵入機構の解明．第 18 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会、大阪府豊中市. 2013.8.

23）佐藤 弘、多屋馨子：麻疹および風疹に対する抗体保有状況（感染症流行予測調査より）．第 45 回日本小児感染症学会．北海道札幌市．2013.10.

24）佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳：風疹抗体価の読み替えに関する検討（HI 抗体価と国際単位）．第 17 回日本ワクチン学会．三重県津市．2013.11

25）多屋馨子: シンポジウムワクチン有害事象の発症メカニズムと報告システム. 予防接種後副反応報告システム．第 17 回日本ワクチン学会．三重県津市．2013.11

26）荒木 和子, 佐藤 弘, 大石 和徳, 多屋 馨子：2010～2013 年の 3 インフルエンザシーズンにおいて臨床現場で用いられたインフルエンザ迅速診断キットの検出感度. 第 45 回日本小児感染症学会. 北海道札幌市. 2013.10.

27）多屋馨子: ワクチンで予防できる疾患が予防できていない日本の現実　今、我々は何をしなくてはいけないのか? 今、なぜ成人で風疹が流行しているのか?2013 年の風疹流行を考える．第 60 回日本化学療法学会東日本支部総会／第 62 回日本感染症学会東日本地方学術集会合同学会．東京都文京区．2013.10.

28） 多屋馨子：わが国の予防接種・ワクチンを考える．1）麻疹・風疹ワクチン．第 29 回日本環境感染学会．東京都品川区．2014.2.

29）多屋馨子: 緊急セミナーICT が知っておくべき風疹対策、今！～急増する線天帝風疹症候群への対応を中心に～. 第 29 回日本環境感染学会. 東京都品川区. 2014.2.

30）多屋馨子: ウイルス感染症のサーベイランスとワクチンに関する最近の話題. 第 112 回日本皮膚科学会総会．神奈川県横浜市．2013.6.

31）多屋馨子: 麻疹・水痘などの「重症」ウイルス感染症．第 112 回日本皮膚科学会総会. 神奈川県横浜市. 2013.6.

32）新井　智、多屋馨子：Special Topics　ワクチン接種と乳幼児の突然死．第 20 回日本 SIDS 学会．埼玉県さいたま市．2014.3.

33）花岡希:インターネットを利用した感染症啓発における要点と課題.第 87 回日本細菌学会.東京都, 2014 年 3 月.

34）藤本嗣人, 小川知子, 花岡希, 小倉惇, 堀田千恵美, 仁和岳史, Gabriel G, 渡邉日出海: 結膜炎患者の眼から分離されたアデノウイルス D 種 48, 60 および 65 型(候補株)のリコンビナント型の新しいアデノウイルス．第 61 回ウイルス学会学術集会,神戸市, 2013 年 11 月.

35）加納和彦, 牧野友彦, 藤本嗣人: コクサッキーウイルス A6 ウイルスの病像変化に関する研究．第 61 回ウイルス学会学術集会．神戸市, 2013 年 11 月.

36）榎本美貴, 押部智宏, 近平雅嗣, 藤本嗣人, 林祥剛: 兵庫県における無菌性髄膜炎患者からのエンテロウイルス検出状況．第 61 回ウイルス学会学術集会．神戸市, 2013 年 11 月.

37）藤本嗣人, 榎本美貴, 花岡希, 谷口清州:アデノウイルス感染にともなう胃腸炎の発症頻度．第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市、2013 年 6 月.

38）菅原民枝, 藤本嗣人, 花岡希, 大日康史:流行初期段階のコクサッキーA 群 9 型の検出・同定―保育所の発疹集団発生の事例．第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市, 2013 年 6 月.

39）菅原民枝，藤本嗣人，大日康史，安井良則，大石和徳: 保育所の集団発生におけるコクサッキーA 群 9 型の検出・同定. 第 54 回日本臨床ウイルス学会，倉敷市，2013 年 6 月. 2013年12月

40）山元佳，金川修造，藤本嗣人 :コクサッキーウイルスによる無菌性髄膜炎を契機に発見された本邦初のエンテロウイルス 99 類似株検出例. 第 44 回日本小児感染症学会，札幌市，2013 年 10 月.

41）大石和徳. シンポジウム 5. 忘れてはいけない輸入感染症国際感染症. デング熱・デング出血熱. 第 87 回日本感染症学会. 横浜 2013 年 6 月

42）大石和徳. 教育講演：呼吸器感染症ワクチンの展望. 第 24 回日本生体防御学会学術総会. 熊本. 2013 年 7 月.

43）Oishi K. Symposium 6:Global control of infectious Diseases by Vaccines. Global control of pneumococcal infections by pneumococcal vaccine. 日本熱帯医学会, 長崎市, 2013 年 10 月

44）大石和徳. シンポジウム 3. 細菌ワクチンの効果と問題点. 成人の肺炎球菌感染症とワクチン予防. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013 年 12 月

45）南宮湖, 大石和徳, 岩田敏, 長谷川直樹「80 歳以上の高齢者における肺炎球菌多糖体ワクチン(PPV23)と肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)の安全性・免疫原性の比較検討(多施設共同ランダム化オープンラベル試験)」第 17 回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013 年 12 月

46）朴　貞玉、明田幸宏、大石和徳. PB2欠損半生インフルエンザウイルスをベースとするインフルエンザウイルス及び肺炎球菌に対する新規二価ワクチンの開発. 第17回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013年12月

47）牧野友彦、常　彬,大石和徳、庵原俊昭. 小児の侵襲性肺炎球菌感染症に対するワクチン効果:発生動向と血清型分析. 第17回日本ワクチン学会学術集会 三重 2013年12月

48）牧野友彦、青柳哲史,國島広之、賀来満夫、大石和徳. 大規模災害への肺炎球菌ワクチン提供の効果:官民共同事業の評価. 第17回日本ワクチン学会学術集会 三重

２０．エイズ研究センター

センター長　俣野 哲朗

概　要

エイズ研究センターは、HIVの属するレトロウイルスに起因する感染症を対象とし、その疾病制圧に向けた研究を推進している。特に、世界三大感染症の一つであるHIV感染症の克服に結びつく研究の推進を主目的とし、わが国のエイズ対策研究において中核的役割を果たしてきた。

1981年、米国でエイズ症例の最初の報告がなされて以来、既に30年の歳月が流れている。この間の科学の進歩はめざましく、抗HIV薬開発も進展したが、未だに世界のHIV感染者数は3000万人を超え、毎年200万を超える人々が新たに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よると、HIV感染者数・エイズ患者数をあわせた新規報告数は毎年約1,500件という状況で、平成25年には過去最高（1,590件）を記録し、感染者数の増大が続いている。特にエイズ発症により感染が判明する件数が多く（平成25年：484件）、多くの感染者が早期診断に至っていないと考えられ、憂慮すべき事態である。抗HIV薬治療によりエイズ発症抑制が可能となってきたが、感染者はほぼ一生涯にわたる服薬が必要で、副作用・薬剤耐性・高額医療費等の問題が生じている。さらに近年、エイズ発症に至らなくとも骨粗鬆症・心血管障害等の種々の疾患の促進が大きな問題となってきている。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、ワクチン開発を進めている。特に、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、平成25年より臨床試験第1相がルワンダ・ケニア・英国にて開始されている。

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、アジア諸地域を中心とした疫学情報を得てきたが、特に近年、ベトナム国立衛生疫学研究所および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を推進している。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25年4月1日付で石井洋研究員、野村拓志研究員、高橋尚史研究員が着任し、平成26年3月24日付で山本浩之第2研究グループ長が着任した。平成26年3月31日付で仲宗根正主任研究官が退職、阪井弘治主任研究官と森一泰主任研究官が定年退職した。

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、特に Gag 抗原を標的とする CTL が強い SIV 複製抑制能を有することを示してきた。さらに平成 24 年度には、優位な Gag 特異的 CTL が誘導されないにもかかわらず慢性期に低い血漿ウイルス量を示す MHC-I ハプロタイプ D 共有群を見いだした。平成 25 年度には、この D 共有群の解析を進め、SIV 複製制御への関与が示唆される CTL のエピトープを Nef 領域内に 1 つ同定した。この群を用いた SIV 感染モデルは、Nef 特異的 CTL が関与する SIV 複製制御機序の解明に有用である。

[高橋尚史、野村拓志、山本浩之、三浦智行（京都大学）、小柳義夫（京都大学）、明里宏文（京都大学）、保富康宏（医薬基盤研究所）、成瀬妙子（東京医科歯科大学）、木村彰方（東京医科歯科大学）、俣野哲朗]

(2) 宿主細胞性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ア．SIV 複製制御維持群の解析

我々はこれまで、Gag を主抗原とする DNA プライム・センダイウイルス（SeV）ベクターブーストワクチンを開発し、MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群では、ワクチン接種サル全頭で SIV 持続感染成立が阻止されることを示し、その SIV 複製制御に Gag206-216 エピトープ特異的 CTL および Gag241-249 エピトープ特異的 CTL が中心的役割を担っていることを明らかにしてきた。平成 25 年度には、このような SIV 複製制御状態の維持機序の解明に向け、上記 Gag エピトープ特異的 CTL 以外の CTL として特に Nef 抗原を標的とする CTL の解析を進め、MHC-I ハプロタイプ A と関連する CTL の標的として Nef9-19 エピトープ・Nef89-97 エピトープおよび Nef193-203 エピトープを同定した。今後、これらのエピトープ特異的 CTL と SIV との相互作用を検討するとともに、他の抗原を標的とする CTL の検索も進める予定である。本研究は、CTL による HIV/SIV 複製制御維持機序の解明に結びつくことが期待される。

[野村拓志、池田典子、石井　洋、高橋尚史、山本浩之、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．サルエイズモデルにおけるCTL逃避変異の次世代シーケンサーによる網羅的解析

HIV 感染において、CTL は強いウイルス複製抑制圧をかけることから、ウイルスゲノムにおいて CTL 逃避変異がしばしば選択される。この変異は、ウイルス複製能の低下に結びつくこともあることから、MHC（HLA）遺伝子型が異なるヒトからヒトへの HIV 伝播において、復帰変異が生じうることも知られている。これら、宿主 CTL 反応と HIV の相互作用に基づく、ウイルスゲノム変化（進化）を調べる目的で、サルエイズモデルにおける SIV ゲノムを次世代シーケンサー（GS junior）で解析する系を立ち上げることとした。まず、解析対象領域を CA コード領域（703bp）、vif（880bp）、nef（910bp）として系を樹立したところ、SIV RNA コピー数 $1x10^4$~$1x10^5$/mL のサンプルを用いた場合、1 検体あたり約 2000~5000 リードを取得可能だった。いずれにおいても、ダイレクトシーケンス法では検出不可能だった 20%以下の変異を検出した。本解析系は、今後の SIV ゲノム変化（進化）の解析に有用であると考えられる。

[西澤雅子、野村拓志、関紗由里、高橋尚史、山本浩之、横山　勝（病原体ゲノム解析研究センター）、中村浩美（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]

(3) 宿主液性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ア．SIV 中和抗体の感染個体レベルにおける防御機序の解析

エイズウイルス中和抗体（NAb）は感染急性期の受動免疫により著明な持続感染阻止効果を示し、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。前年度までは、対照実験となる非中和抗体（nNAb）受動免疫実験をアカゲサル群で行い、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 nNAb 受動免疫でも持続感染阻止能を呈し得ないことを見出した。本年度は、中和抗体受動免疫・SIV

制御群に解析対象を移し長期フォローアップを行い、感染急性期から慢性期におけるCD8陽性細胞傷害性T細胞の解析のための基礎解析を行った。結果、中和抗体受動免疫によるSIV制御は100週以上の長期に亘り安定に生ずることを見出した。現在は各制御個体における主要なCTLエピトープの新規同定を進め、急性期におけるCTL選択圧との対応及び各抗原特異的 CTL の機能性を解析している。

[山本浩之、Hugo Poplimont、高橋尚史、関紗由里、野村拓志、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

前年度までは、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、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。本年度では、可溶性 SIV Gag 及び Env を抗原とする ELISA 評価系を追加で立ち上げ、各サブセット単位の IL-21 陽性 CD4 陽性 T 細胞応答との時系列的な相関を解析した。さらに SIV 感染急性期の Gag 特異的 IL-21 陽性細胞応答を追加測定した。前者に関しては感染急性期の SIV 抗原特異的抗体応答との相関を認めず、抗体応答への IL-21 補助は相関モデルでなく閾値モデルである可能性が認められた。また後者では Gag 特異的 IL-21 陽性 CD4 陽性 T 細胞応答が全体の 5%程度に留まることが認められ、更に感染後 2 週から 5 週にかけた（抗体誘導期の）当該集団の減少を認めた。従ってウイルス抗原特異的 IL-21 陽性 CD4 陽性 T 細胞集団の寄与は限定的である可能性が示唆された。以上から、SIV 感染急性期の抗体応答を補助する IL-21 基軸は抗原非特異的で、閾値モデルに従う redundant な応答であることが示唆された。

[史　蕭逸、関紗由里、俣野哲朗、山本浩之]

(4) HIV 病原性を決定する自然免疫応答とウイルス糖鎖の役割

大多数の HIV 感染では初期感染後もウイルス感染は持続し慢性感染を経て AIDS を発症する。ごく少数では、初期感染後ウイルス感染は制御され、感染制御は長期間維持される。我々は、対照的な二つの HIV 感染を動物モデルで再現し HIV の病原性のメカニズムの研究を行っている。病原性 SIVmac239 と生ワクチンの性質を示す糖鎖変異株Δ5G は同レベルの初期感染を起こす。しかし SIVmac239 は感染後 1－2 年で AIDS を発症させるが、Δ5G 感染では初期感染後、感染は制御される。初期感染における感染組織・標的細胞の解析から、SIVmac239 は 2 次リンパ組織の CD4+T 細胞を、Δ5G は小腸粘膜固有層の CD4+T 細胞を標的とすることが判明した。CD4+T 細胞は機能が異なる種々のサブセットに分かれるが、SIVmac239 は細胞性免疫に重要な TH1 細胞（CXCR3+CCR5+CD4+T 細胞）に選択的に感染し消失させた。一方、Δ5G 感染では TH1 細胞感染の頻度は低く、小腸粘膜固有層に局在する TH17 細胞に感染していた。これらの結果から、我々は、TH1 細胞を標的とする性質が HIV/SIV の病原性との相関性を明らかにした。初期感染のピークは感染後 10 日前後に起こることから、TH1 細胞、TH17 細胞感染は、両ウイルス感染に対する宿主応答の違いを反映すると考え、マイクロアレイを用い、感染 7 日後の遺伝子発現の解析を行った。末梢単核球を用いた免疫細胞の遺伝子発現から両ウイルス感染は、それぞれ特徴的な宿主応答を惹起していることが判明した。１）抗ウイルス機能を担う 1 型インターフェロン関連遺伝子、抗 HIV/SIV 宿主因子（APOBEC3G、Tetherin, TRIM5alpha 等）遺伝子の発現が両ウイルス感染で上昇していたが、SIVmac239 はΔ5G と比べ 2-3 倍高いことから、これらの抗ウイルス機能と初期感染の制御との関連は否定された。２）2 次リンパ組織での TH1 細胞の機能に重要なケモカイン：CXCL10, CXCL11, CCL8 の発現は、SIVmac239 感染においてΔ5G 感染と比べ 10-100 倍も高いことが判明した。３）TH1 細胞の活性化に働く炎症反応遺伝子群の発現は、SIVmac239 感染においてΔ5G 感染と比べ有意に高いことが判明した。以上の結果から、HIV/SIV の病原性は、ウイルスに対する自然免疫応答、特に TH1 細胞の活性化が深く関与していることが明らかとなった。

[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 経直腸感染実験を進めるとともに、腸管粘膜における SIV 特異的 T 細胞反応解析系の樹立を推進している。この経直腸感染による慢性持続感染系は、経静脈感染系との比較ならびにワクチン効果の検討に有用である。

[中村　碧、石井　洋、松岡佐織、五領舞衣、武田明子、寺原和孝（免疫部）、横田恭子（免疫部）、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の抗原設計に関する研究

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、2013年より臨床試験第1相がルワンダ・ケニア・英国にて開始されている。本研究では、このSeVベクターワクチンの抗原最適化に向け、有効なCTLの標的抗原として有望なGag抗原に加え、Vif抗原およびNef抗原を発現するSeVベクターワクチンの有効性をサルエイズモデルにて検証した。MHC ハプロタイプE共有サル群を用いたワクチン接種・SIV感染実験では、約半数のサルでSIV複製が制御されたが、これらはいずれも感染急性期に効率よいGagあるいはVif特異的CTL反応の誘導を示した。CTL逃避変異の解析等から、GagあるいはVif特異的CTLに基づくSIV複製機序が示され、有効なCTLの標的抗原としてGag抗原に加えVif抗原も有望であることが示唆された。

[岩本　南（米国NIH）、高橋尚史、関紗由里、野村拓志、山本浩之、石井　洋、武田明子、井上　誠（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）、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) Rab7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。恒常的にRab7をノックダウンさせ、pNL4-3を導入したHKE293細胞では細胞内の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、GagおよびEnvウイルスタンパク質の細胞内レベルがやや増加していた。VSV-Gでシュードタイプしたレポーター遺伝子発現HIV-1を感染させた結果、恒常的Rab7ノックダウンHeLa細胞においてHIV-1の遺伝子発現の亢進が認められた。恒常的 Rab7 ノックダウン T細胞株でのHIV-1のマルチラウンドの複製の結果、Rab7ノックダウン細胞におけるウイルス放出速度がコントロール細胞に比べて早くなった。すなわち、HIV-1 複製の亢進が認められた。以上の結果から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。

[林　浩司、藤野真之、百瀬文隆（北里大学）、森川裕子（北里大学）、村上　努]

(2) 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反応の増強がHIV複製制御に与える影響を知ることを目的として、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。平成 24 年度には、SIV 感染サルにおいて抗HIV薬投薬開始後3ヶ月目のGag・Vif発現SeVベクター接種によるGag・Vif特異的CTL反応の誘導・増強を明らかにした。平成25年度には、特にGag特異的CTL反応とCD8陽性細胞のSIV複製抑制効果の相関を見出し、Gag特異的CTL反応の増強がSIV複製抑制に貢献することを明らかにした。

[中村　碧、石井　洋、松岡佐織、三浦智行（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]

(3) HIV感染者の口腔免疫に関する研究

HIV 感染者は ART 後、感染症による全身症状は沈静化してくるが、口腔においては症状が出現することがある。この口腔の症状を予測するような因子を見つける検討を行った。倫理委員会の申請を得た国立感染症研究所、国立国際医療研究センター、国立病院機構大阪医療セン

ターから HIV+患者 20 名および対照:HIV-被験者 20 名の唾液を採取し、唾液活性物質と微生物の定量を行った。その結果、唾液中の総菌数、総連鎖球菌数、総嫌気性菌数は、HIV+患者において対照である HIV-被験者よりも有意に多いことが明らかとなった。また唾液 IL-8 や CA125/MUC16 は、HIV+患者において対照よりも多いものの有意差はなかった。しかし卵巣癌、膵臓癌、結核患者のマーカーである CA125/MUC16 は、ブドウ球菌量と有意な正の相関関係が認められた。よって、 HIV+患者は唾液微生物の量が多く、口腔疾患の発症リスクが高いことが考えられた。これらの結果、唾液中の微生物量や活性物質濃度が口腔疾患発症リスクマーカーになりうる可能性が示された。今後、さらに採取サンプル数を増やし検討を詳細に行う予定である。

[吉村和久、泉福英信（細菌第一部）、有家　巧（大阪医療センター）、丸岡　豊（国立国際医療研究センター）]

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 26 年 3 月の時点で累積 10463 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 26 年 3 月の時点で、1798 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）では現在 M41L, K65R, K70R, K103N, Y181C, M184V, T215F/Y の 8 種類の逆転写酵素阻害剤耐性変異を検出可能だが、M184V 検出系の感度の低さが臨床検体解析の問題になっていた。M184V 検出用プライマーの結合部位の配列には多型があり、これが感度低下の原因と思われた。そこで M184V 検出用プライマー結合部位配列の多型を解析するために、LOS ALAMOS HIV database に登録されている日本人患者由来の HIV 塩基配列を 924 例分入手した。プライマー結合領域の塩基番号 3072-3100 の 29 塩基長の配列データを元に各々の塩基位置の塩基の出現比を計算した結果、M184V 検出プライマーの結合部位は全体に渡り多型が存在していたが、その中でも M184V 検出に大きく影響する多型は 6 か所と考えられた。しかし調査した 924 例中すべての多型を持つ症例はなく、いくつかの組み合わせで多型を示すことが明らかになったので、この情報を元に 6 種類のプライマーを設計し、それぞれの多型の出現比を計算して混合比を決定した。この新規 M184V 検出系の理論的定量限界は約 3.25%だった。この新規 M184V 検出系を用いてプライマー結合部位の配列が異なる 7 症例由来の 7 検体を解析し、検出系の性能について比較した。また平成 24 年度に M184V 解析の依頼を受け、従来の M184V 検出プライマーでは解析不可能だった 4 症例に関しても同様に検討を行った。その結果、平成 24 年度に開発した M184V 検出プライマーでは解析できなかった 4 症例に関しても M184V が検出された。また、国立感染症研究所エイズ研究センターの臨床患者検体 7 例の M184V も問題なく検出可能だった。これらの結果から、新規 M184V 検出系は多様な多型を持つ臨床検体の解析にも有効であることが示された。

[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 ART 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(ART)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（症例 1~症例 6）のウイルス学的失敗例について、新規に開発した M184V 検出系を用いて微少集簇として存在する M184V の ART 中の動態を解析した。その結果、6 症例中 4 症例から微少集簇として存在する M184V が検出された。この 4 症例中 2 症例では、レジメの変更により 3TC の投与が中止された後、ダイレクトシーケンス法では速やかに M184V が検出されなくなった。しかし

高感度法による解析の結果、M184V は微少集簇として長期間に渡って患者血漿中に残存することが明らかになった。症例 2 では、3TC 投与中止後ダイレクトシーケンス法で M184V が検出不可能になった後も約 31 か月間に渡り M184V は微少集簇として血漿中に残存していた。この症例では、M184V が高感度法で検出不可能になった 2 か月半後に 3TC を含むレジメを開始したが、レジメ開始直後に M184V がダイレクトシーケンス法で検出されるようになり、血漿中ウイルス量の低下が見られず cART の効果は得られなかった。症例 4 でも、症例 2 と同様にレジメ変更により 3TC 投与中断後 M184V はダイレクトシーケンス法では検出されなくなった。しかし M184V は微少集簇としてその後約 1 年間にわたって患者血漿中に残存していた。この症例も、ダイレクトシーケンス法で M184V が検出されなくなった約 4 年半後に再び 3TC を含むレジメを開始したが、開始直後から M184V がダイレクトシーケンス法で検出されるようになり治療は失敗した。これらの結果から、M184V はダイレクトシーケンス法で検出されなくなった後も微少集簇として患者血漿中に 1 年～数年にわたって残存し、その後の治療に影響を与える可能性が示唆された。M184V は現在でも cART に広く用いられる 3TC/FTC に対する高度耐性変異であり、cART に及ぼす影響は大きい。このように cART に影響を及ぼす可能性の高い耐性変異を高感度法で解析し、より詳細な薬剤耐性変異の情報を得ることは、効果的な薬剤を選択する上で有効と思われる。
[西澤雅子、Jeffrey Johnson（米国 CDC）, Walid Heneine（米国 CDC）、杉浦　亙]

(3) 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。そこで昨年度は、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。この解析結果の一つとして、インテグラーゼ阻害剤ラルテグラビル（RAL）が作用部位とは異なる Env 領域の diversity を減少させることのみならず、コントロール群と比較して明らかに異なる Env を選択することが分かった。

そこで、本年度は、in vitro CCR5 阻害剤マラビロック（MVC）耐性誘導により Env 領域に耐性変異が蓄積したウイルスに対し、RAL による選択圧が MVC 耐性ウイルス Env にどのような変異をもたらし、また、MVC 感受性に影響を与えるかどうかを調べた。

方法としては、CRF08_BC-R5 臨床分離株（KP-2）を 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、MVC 耐性ウイルスを誘導した。次にこの MVC 耐性ウイルス（KP-2mvc）を用いて RAL 耐性ウイルスを同様の方法により誘導した。各継代サンプルのインテグラーゼ (IN)および Env 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、In vitro MVC 耐性誘導により得られた MVC 耐性ウイルス株 (KP-2mvc) は、RAL に対して開始時（IC_{50} = 25 nM）に比べ感受性を示す結果が得られた（IC_{50} = 2.4 nM） にもかかわらず、IN 領域に違いは認められなかった。次に、この MVC 耐性株 (KP-2mvc, IC_{50} ＞300 nM) を用いて、RAL に対する in vitro 耐性誘導を行ったところ、8 パッセージ目までに MVC 高度感受性に変化していた（IC_{50} = 0.3 nM）。それらの Env 配列は、全クローンで V3-tip 領域に P313L 変異が認められ、RAL により Env が何らかの選択圧を受け、しかも、その結果 MVC 感受性へと変化させた可能性を強く示唆した。

本研究結果により、RAL 選択圧によりクワシースピーシーズからの Env 領域の選択のみならず、MVC 耐性 Env に de novo 変異を惹起し、MVC 感受性へと変化させることが明らかになった。このことは、今後 ART における侵入・融合阻害剤とインテグラーゼ阻害剤との組み合わせを考える上で重要な知見となると考えられる。
[原田恵嘉、Samatchaya Boonchawalit、松下修三（熊本大学）、吉村和久]

(4) 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。そこで昨年度まで

に、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。その結果、主要耐性変異として、V200I (C2), T297I(V3), K305R(V3), M434I(C4)を有する MVC 耐性 KP-5 は、抗 V3 中和抗体や CD4i 抗体や自己血清 IgG に対して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くことが明らかになった。

そこで本年度は、これら各変異をそれぞれ KP-5 エンベロープ組換え感染性 HIV クローンに導入し、MVC 耐性変異と中和抗体感受性に関するより詳細な解析を試みた。

方法としては、点突然変異法を用いて各 MVC 主要耐性変異（V200I、T297I、K305R、または M434I）を有するサブタイプ B-R5 臨床分離株 KP-5 ウイルス Env を作成後、pNL4-3 ベクターに組み替えて変異クローン KP-5P ウイルスを構築した。各変異ウイルスにおける抗 Env 中和抗体に対する感受性の変化は、PM1/CCR5 細胞を用いた細胞傷害試験（WST-8 assay）で評価した。抗 Env 中和抗体としては、抗 V3 抗体（KD-247）、CD4bs 抗体（b12）、および CD4i 抗体（4E9C）を用いた。

結果、V200I、T297I、K305R、および M434I の各単一変異体は、MVC に対しては耐性を示したが、抗 Env 中和抗体 b12 に対しては高度感受性を示すことが明らかになった。他方、4E9C (CD4i) に対しては M434I が高度感受性、T297I が中度感受性、および V200I が低度感受性をそれぞれ示した。最後に、KD-247 (anti-V3) に対しては M434I が高度感受性そして T297I が中低度感受性を示す結果が得られた。

本研究結果により、MVC 耐性変異で惹起される Env の立体構造変化が抗 Env 単クローン抗体に対しては感受性をもたらすことが示唆された。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。

[Samatchaya Boonchawalit、原田恵嘉、松下修三（熊本大学）、吉村和久]

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（CD4MCs）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、昨年度から開始した最近分離した R5 臨床分離株のバルクウイルスを用いた各 NBD 誘導体に対する in vitro 耐性誘導に加えて、本年度はクローンウイルスを用いて同様の誘導を行い、NBD-556 およびその誘導体の耐性機序および結合部位の詳細な検討を行った。

方法としては、サブタイプ B-R5 臨床分離株 KP-5P（バルク KP-5P）またはクローン KP-5P ウイルスを PM1 細胞に感染させ、CD4MCs 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。今回用いたクローン KP-5P ウイルスは KP-5P ウイルス Env を pNL4-3 ベクターに組み替えて構築した。

結果、最初に、バルク KP-5P ウイルスを用いて CD4MCs 存在下で継代培養を 5-9 パッセージ（20-100 μM）行い、主要耐性変異として V255M、T375N/I、または M426I を有する各高度耐性ウイルスが得られた。次に、バルク KP-5P ウイルスの Env 領域を pNL4-3 ベクターに組み込んだクローン KP-5P ウイルスを構築し、同様の方法で in vitro 耐性誘導を行ったところ、同じく V255M、T375N/I、または M426I の主要耐性変異が現れたことから、これら主要耐性変異はクワシスピーシーズからの選択によるものではなく de novo 変異であることが明らかとなった。

今回、CD4MCs の耐性獲得機序として、3 つの de novo 主要耐性変異（V255M、T375N/I、または M426I 変異）が明らかとなった。このことは、CD4MCs 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）、Samatchaya Boonchawalit、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、我々が見出した新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 に対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。昨年度は、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。そこで H25 年度は、gp120 V3 領域のみを置換した変異株および各種 CXCR4 阻害剤耐性ウイルスに共通して生じる S274R 変異株を作製し、CXCR4 阻害剤感受性の検討および中和抗体感受性の検討を行った。その結果、V3 置換株の CXCR4 阻害剤耐性度は Env 全長置換株と同様に NL4-3 よりも高く、CXCR4 阻害剤への耐性獲得には V3 領域が深く関与していることが示唆された。中和抗体感受性は薬剤の種類によって差が生じた。一方、S274R 変異株では耐性度は NL4-3 と同等であるものの、gp120 V3 をエピトープとする中和抗体への感受性が増加していることが確認された。
[引地優太、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

我々は、Gag 機能部位を明らかにするための基盤的研究として、ペプチド化学的手法によって合成した HIV-1 Gag 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討している。今年度はまず、HIV-1 MA 部分ペプチドライブラリーのスクリーニングから得られた MA 部分ペプチド 2C の抗ウイルス活性スペクトルと作用機序の検討を行った。その結果 2C は、１）MLV Env や VSV-G を介した HIV-1 コアの侵入を阻害しない、２）HIV-1 はサブタイプに関わらず一部の例外はあるがその感染を阻害する、３）HIV-2 や SIV の感染は阻害しない、４）time-of-addition 実験の結果から、その作用点は HIV-1 の CD4 結合後膜融合に至る過程である、と推定された。加えて、HIV-1 CA 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も実施した。その結果、X4、R5 HIV-1 のいずれのウイルスに対しても阻害活性を示す部分ペプチドが、１）細胞膜透過性を付与しないペプチドのみ、２）細胞膜透過性を付与したペプチドのみ、３）その両方のペプチドで阻害活性を示すという３通りの阻害パターンがある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) タンパク質導入系 LENA による安全な分化・脱分化誘導法の確立

我々はレトロウイルス基礎研究をもとに開発したレンチウイルス様ナノ粒子 (Lentivirus-like nanoparticle, LENA)によるタンパク質デリバリー法により、昨年度、iPS 細胞の誘導に重要な働きをする因子である c-Myc、Klf4、Sox2、Oct3/4 タンパク導入用の LENA 発現ベクターを構築し、タンパク質発現および、LENA 粒子内への転写因子取り込みを Western blot により確認した。今年度は LENA 粒子に取り込ませたタンパク質の機能が保持されていることを確認するための実験を行った。293T 細胞に Sox2-LENA および Oct3/4-LENA を同時に曝露させた。この細胞から RNA を採取し、Sox2 と Oct3/4 が Oct-Sox エンハンサーに同時に作用することにより発現が誘導される fgf4 の発現を半定量 RT-PCR にて確認した。コントロールである GFP-LENA を曝露した 293T 細胞に比べ、Sox2-LENA および Oct3/4-LENA を同時に曝露した場合に fgf4 発現の上昇が確認され、LENA により導入した Sox2 および Oct3/4 タンパクが機能を有していることが確認された。今後、LENA 系を用い、iPS 細胞の誘導や体細胞の direct reprogramming を試みる予定である。

[武田　哲、駒野　淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

(5) 母乳中に含まれる母乳細胞除去法の開発

HIV の母子感染において、母乳を介したウイルス伝播は全体の約 40%と推測されている。母乳を介した HIV 母子感染は、母乳中に存在する感染性ウイルス粒子ならびにウイルス感染細胞の両者が挙げられる。母乳中の感染性ウイルス粒子は太陽光と同程度の UV 照射により時間と共に感染性を失う。一方、母乳中に含まれる細胞成分は長時間生存可能であることが示されている。母乳を介した HIV 垂直感染を阻止するためには、母乳中の細胞を除去した後、一定時間太陽光を照射するのが効果的であると想起された。効果的な実施を達成するために、母乳中に含まれる細胞種の詳細な同定と、細胞を除去をするための最適な方法を系統的に検討する必要がある。母乳中に存在する細胞はリンパ球、マクロファージ、形質細胞とされている。実際、我々も CD14、CD11b、CD209(DC-SIGH)陽性細胞を確認した。さらに細胞を除去するフィルターの孔径の検討を行った。母乳中に存在する細胞の大きさは 6-50μmとされている。そこで、T リンパ球細胞株をモデルに、様々な孔径のフィルター処理を行ったところ、3.0μm のフィルターを用いた際に細胞が完全に除去できた。今後母乳をこのフィルターで処理をし、細胞成分の除去効率を検討する予定である。

[武田　哲、堀谷まどか（ウイルス第一部）、山口晃史（国立成育医療研究センター）]

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. アジアにおける HIV-1 組換え型流行株 (CRF) の多発的新生

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)を見い出した。i) マレーシアにおいては、これまでに報告した CRF33_01B, CRF48_01B, CRF53_01B, CRF54_01B の４種の CRF に加え、CRF58_01B を新たに見いだした。これらの CRF は、CRF54_01B を除いて、最初に発見された CRF33_01B と近縁性が高い sister lineages と考えられる。いずれも注射薬物乱用者 (IDU) 間の流行にその起源があると推測されるが、他のリスク集団にも見いだされる。ii) 一方、中国においては、近年の男性同性愛者 (MSM) 間の流行の急速な拡大を反映し、様々な組換えウイルスが同定されつつあるが、その中でも中国の MSM に広く播種している 2 種の CRF (CRF55_01B, CRF59_01B)を同定した。これらはアジアの MSM 集団で見いだされたものとしては、シンガポールで報告された CRF51_01B に次ぐ第 2 と第 3 番目のものである。さらに、新しいカテゴリーの CRF として、雲南省西部の若年の異性間性感染者に CRF57_01B, CRF62_01B, (CRF64_01B), CRF65_01B 等の一群の新しいタイプの CRF を見いだした。これらは主に異性間性感染によって、しかも若年層の間で播種し、発見されたという点で、公衆衛生上重要である。アジア地域では昨年 (2012 年) 以来、この 1-2 年の間に 10 種を超える CRF が報告されており、色々な対策にもかかわらず、様々な地域で感染拡大が依然進行していることを推測させる。

[Tee KK、 Kamarulzaman A（マラヤ大学）、Han X（中国医科大学）、Shang H（中国医科大学）、Feng Y（中国 CDC）、Shao Y（中国 CDC）、武部　豊]

イ. 中国における男性同性愛者(MSM)間の HIV-1 流行の我が国の MSM 集団への波及

中国では、我が国を含む他のアジア諸国と同様、近年 MSM 間の HIV-1 流行が急速に拡大しつつあり、その対策が公衆衛生上重要な課題となっている。世界における MSM 間の流行の動因となっている最も主要な HIV-1 株は、欧米型のサブタイプ B 株である。しかし、中国においては、近年の流行の激化と共に、従来のサブタイプ B から CRF01_AE 株へと急速なシフトが見られる。しかも中国の MSM 間の流行に関与する CRF01_AE 株は、クラスター1 (CN.MSM.01-1)と 2 (CN.MSM.01-2)と名付ける 2 種のウイルスヴァリアントに分類されることが明らかとなった。これら 2 系統のウイルスは中国の MSM 間の CRF01_AE 流行株の 97%を占める。われわれは、神奈川衛生研究所微生物部（近藤真規子博士）との共同研究によって、2010 年以降に我が国 MSM 集団にごく少数見られる CRF01_AE 株の約半数が中国型 MSM ヴァリアント (CN.MSM.01-1)に属することを明らかにした。しかも、それらは中国の CN.MSM.01-1 グループの中で特徴的なクラスター (monophyletic cluster) を形成することから、中国から我が国への流行波及と、それを起点として我が国 MSM 集団内に transmission chain が形成され、徐々に広がりつつあることが明らかとなった。さらに興味深いことに、感染者（日本人）の中には、この中国型 CRF01_AE ヴァリアント (CN.MSM.01-1) と、我が国 MSM に特徴的なサブタイプ B ヴァリアント (JP.MSM.B-1 と JP.MSM.B-2)との間の共感染状態にあるものが見いだされ、我が国 MSM 集団での高いリスク行動がその背景にあることが指摘される。現在、我が国・中国を中心とす

る東アジアの流行と世界の流行間の相互関係、国際的感染ネットワークの全容解明を目指し、解析が進行中である。
[武部　豊、近藤真規子（神奈川県衛生研究所)、 Lemey P（レガ研究所)、Pybus O（オックスフォード大学)、Dunn D（MRC Clinical Trial Unit）]

(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を継続している。
[石川晃一、杉浦　亙、伊部史朗（名古屋医療センター)、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
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、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を見出した。ベトナムにおける HLA 遺伝子型の解析の進展に伴い、両者の比較を進めた。
[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
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、特にベトナムはアジアの 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、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。平成 25 年度には、150 名以上の HIV 感染者検体の解析を行い、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を見いだした。今後、検体数を増やし、HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定を進める予定である。
[石川晃一、武田　哲、高橋尚史、松岡佐織、椎野禎一郎、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。ガーナ中央部に位置するコフォルディアの州立病院において、これまでに 200 検体以上の未治療 HIV 感染者血液を採取し、現地での解析を行うとともにHLA タイピングおよびガーナ流行HIV 株の遺伝子解析を進展中である。
[石川晃一、武田　哲、松岡佐織、高橋尚史、椎野禎一郎、西澤雅子、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2013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envC2/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 : 275 例、04 年 : 310 例、05 年 : 445 例、06 年 : 471 例、07 年 : 515、08 年 : 638 例、09年 : 656 例、10 年 : 687、11 年 : 708、12 年 : 766、 13 年 : 655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：5.8%、04 年：5.2%、05 年：8.1%、06 年：6.7%、07 年：9.6%、08 年：8.1%、09 年：8.6%、10 年：11.9%、11 年：9.4%、12 年：7.9%、13 年：9.2%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：3.9%、05年：4.8%、06 年：5.0%、07 年：5.9%、08 年：3.5%、09 年：3.6%、10 年：5.8%、11 年：5.6%、12 年：4.3% 13年：5.2%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：1.0%、08 年：1.4%、09 年：0.8%、10 年：2.7%、11 年：1.1%、12 年：1.3%、13年：1.2%であった。同プロテアーゼ阻害剤では03 年：1.5%、04 年：0.7%、05 年：2.9%、06年：1.5%、07 年：3.3%、08 年：3.7%、09 年：4.5%、10 年：4.6%、11 年：3.0%、12 年：3.2%、13年：2.6%であった。インテグラーゼ阻害剤耐性変異に関しては2013年にT66Iが1例検出された。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、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、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調査を継続している。

[松岡佐織、俣野哲朗]

(3) HIV感染予防対策の現状調査

ア．国内のMSM（men who have sex with men）を中心とするHIV感染動向の解析

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。そのため、昨年度からエイズ社会医学対策の理解への試みを開始した。今年度は厚生労働省エイズ対策研究事業「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　名古屋市立大学看護学部　市川誠一）に協力し、首都圏の地域連携会議としての位置付けである第５回エイズ対策事業に関する意見交換会を、感染研で開催することにより情報交換を行った。また同研究班会議にも出席した。さらに新宿の MSM 支援 NPO である acta の活動報告会に参加し、同 NPO 主催のイベントでのコメンテーター活動も行った。これらの活動により、エイズ予防法に明記されている NPO との連携が強化されると共に、本年度は以下の状況を把握した。

1) MSM 集団を対象とした首都圏 AIDS 対策では、主に５つの成功要因が考えられた。i) IT 有効活用、ii) 保健所を中心とした行政側の積極的関与、iii) MSM 支援 NPO 等の積極的活動、iv) 行政と NPO 等の連携、v) MSM 集団自身の自律的活動の成長、である。
2) IT を活用した新規ビッグデータ解析により、日本の MSM 集団人口の推定とともに。その中の推定 HIV 感染者数が報告された。エイズ発生動向調査データへの応用が可能と思われた。
3) 前項を考慮した、エイズ発生動向調査データへの応用研究をエイズ研究センターで開始した。

[仲宗根正、松岡佐織、俣野哲朗]

イ．MSMを対象とした首都圏AIDS対策成功事例の検討とサハラ以南アフリカ諸国への技術移転の可能性について

厚生労働省地球規模保健課題推進研究事業「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の構築に関する研究」（研究代表者　東北大学大学院医学系研究科・感染症内科学　服部俊夫）の分担研究として、サハラ以南のアフリカ諸国でも重要課題である男性同性間(MSM: Men who have sex with men)HIV 感染対策について、日本での成功事例の技術移転の可能性について検討した。MSM 集団を対象とした首都圏 AIDS 対策では、主に５つの成功要因が考えられた。i) IT 有効活用、ii) 保健所を中心とした行政側の積極的関与、iii) MSM 支援 NPO 等の積極的活動、iv) 行政と NPO 等の連携、v) MSM 集団自身の自律的活動の成長、である。課題としては、a) MSM 集団の多様性、b) その多様性の中での潜伏性、c) 行動変容の限界、が挙げられた。今年度は現地協力研究者とのインターネットを介した情報交換のみであったが、これらの戦術が導入可能か、サハラ以南のアフリカ諸国での今後の現地調査・情報交換が必要である。

[仲宗根正、服部俊夫（東北大学）]

3. 検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) 磁気粒子による感染者血漿からのウイルス分離

HIV の検査室レベルにおける感染診断は血清学的検査

や遺伝子増幅検査によって行われる。近年、その性能は格段に進歩しているが、そのウイルスの全ゲノム構造解析やフェノタイプを調べる手段として、ウイルス分離は依然として重要である。一般的な HIV 分離法は、PHA や抗 CD3 抗体で刺激し IL2 存在下で培養した HIV 陰性末梢血単核細胞（PBMC）をあらかじめ準備し、感染者 PBMC と共培養する方法である。しかしながら、分離の効率は PBMC のロットの影響を受けやすく、また採血後時間が経過した感染者 PBMC では分離効率が著しく低下する。凍結保存血漿を遠心濃縮したウイルスをこの方法で分離し増やすことも困難なことが多い。そこで我々は、磁気粒子を用いた感染者血漿からの高感度ウイルス分離法を樹立した。MAGIC5 細胞を用いることで、X4 ウイルス／R5 ウイルスに関係なく分離でき、また PBMC を使った場合と異なり明瞭な CPE が見られるため、ウイルス分離を容易に観察することができる。長期凍結保存された感染者血漿からのウイルス分離も応用可能である。一方、培養上清中に放出されるウイルス量が多くないという欠点がある。そこで CD4 と CCR5 または CXCR4 を発現する NP2 細胞の使用を検討した。同じ力価の HIV-1 を感染させたとき、これらの細胞は MAGIC5 同様に明瞭な CPE が観察でき、MAGIC5 の数倍またはそれ以上の力価のウイルスを検出できた。磁気ビーズを用いた感染でも、細胞にダメージを起こすことなくウイルスを分離できることがわかった。本法は、新鮮な全血を入手することが困難な症例のウイルス分離法として有用であり、NP2 細胞を用いることでさらに高力価のウイルスを分離できることが期待される。

[草川　茂、巽　正志]

(2) 様々な HIV-1 サブタイプ/CRF/Group を検出可能な in-house real-time RT-PCR 法の樹立

我々の研究室では、国際標準品作製の国際協力への対応や、HIV 検査診断薬の性能評価用検体の調整、ウイルス定量などの目的で、SYBR Green 法を用いた in-house real-time RT-PCR 法を行ってきた。しかしながら従来の方法では、Group O や一部の主要な CRF 流行株の検出が困難で業務に支障を来す可能性があったため、方法の改良を行った。6 種類のサブタイプ、4 種類の CRF および Group O の完全長ゲノムを含むプラスミド 22 クローンを鋳型とした検討で、これらすべてをほぼ同じ効率で増幅するプライマーペアを決定した。次に HIV-1 NL432 株培養上清から抽出・精製した RNA を使って標準物質を作製し、その希釈列を使って本法で得られた検量線を検討したところ、2E+7 から 2E+3 copy/reaction まで増幅効率はほぼ 100%で、R^2 値もほぼ 1 であった。続いて市販 HIV-1 RNA 定量試薬で値付けされた高コピー数ならびに低コピー数検体を含む血漿検体の測定を行ったところ、すべてで 0.5log の範囲内の測定値が得られ、新たに改良した方法が正しく動いていることが確認できた。

[草川　茂、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。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 反応誘導を示すとともに、プロウイルスの検出による移植細胞の検出系を構築した。

[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) HTLV-1 プロウイルスゲノムを特異的に認識する ZFN のヒトゲノム毒性評価にかかる実験系の構築

現在日本の HTLV-1 感染者数は増加していることが危惧されている。これに対し、対症療法は存在するが、根治療法は存在しない。医療経済学的見地からは、治療より発症を予防する方が負担は少ない上、感染者に対する身体的ストレスも小さく、総合的に優れていると思われる。予防法にはワクチンによる発症予防や感染予防があるが、プロウイルスを不可逆的に不活化する方法があれば新たな治療戦略を提供できると期待される。我々は HTLV-1 プロウイルスゲノム特異的 DNA 破壊酵素 ZFN が HTLV-1 感染症根治を達成できる可能性を秘めた分子であることを実証してきた。実用化するためにはヒトゲノムへの非特異的作用の評価が欠かせない。これを達成するため、我々は ZFN 同調的発現系の構築を目指した。小分子化合物による発現制御系として代表的な Tet On 系を利用し、ZFN1 と ZFN2 が ATL 由来細胞株で同調的に発現するパイロット実験系を構築した。細胞毒性評価には２つのサブユニットの発現量と比率が最適である必要が判明し、細胞毒性の評価系を構築するための課題が明確となった。

[武田　哲、田中　淳（大阪大学)、駒野　淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

2. フォーミーウイルスに関する研究

(1) 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; FV) 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。昨年度、我々は実験用カニクイザルのFV感染状況について、PCRおよび遺伝子解析法により調査・報告した。本年度はサル検体（腎、唾液、PBMC）よりウイルス分離を試み、数株を得た。更に、そのうち２株について全ゲノム塩基配列を決定した。プロウイルスの全長は約 13 kbp で、近縁のアカゲザル FV とは約 15%の違いがあった。また、ウイルス構成遺伝子の比較解析により１株はアカゲザル FV との組換えウイルスの可能性が示唆された。

[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、昨年度に製造販売承認申請があった１件の試験審査と報告書の提出、さらに別の１件の申請があり、申請を受理し承認前試験を執行した。

[草川　茂]

II. 標準血清パネル及び遺伝子多型標準品作成等事業

1. HIV検体パネルの譲渡

本年度より、体外診断薬の製造販売承認申請に必要な、国内臨床検体を用いた同じ検出原理の既承認品との相関性試験に供するための検体パネル事業の運用が開始された。HIV陽性検体パネルは様々な検出特性と国内の主な流行株であるサブタイプBおよびCRF01_AEを含む80検体のHIV-1陽性パネルと20検体のHIV陰性パネルから成る。本年度は２社からHIV陽性および陰性パネル譲渡の申請があり、いずれも申請を受理し譲渡を行った。

［吉村和久、草川　茂］

2. 日赤献血由来検体を用いた新たなパネル検体の整備

HIV 流行株は多様であり、国や地域、年代によって HIV 流行株は異なっているため、体外診断薬の国内 HIV 陽性検体への適応を調べるために、現在の流行状況を反映したパネルへの定期的なアップデートが必要である。また、体外診断用医薬品承認基準によれば、検体数は 100 検体以上、陽性若しくは陰性となるもののうち少ない方の検体数が 50 検体以上とするとされており、現在の陰性パネルだけではこの基準を満たすことができない。そこで今年度、日本赤十字社より新たに HIV-1 陽性 30 検体および HIV 陰性 29 検体の譲渡を受けた。値付けおよび特性付けの作業が終わり次第、新たにパネル検体として登録される予定である。

[吉村和久、草川　茂、加藤孝宣（ウイルス第二部)、浜口　功（血液・安全性研究部)、大隈　和（血液・安全性研究部)、大西和夫（免疫部)、森　嘉生（ウイルス第三部)、日野　学（日本赤十字社血液事業本部）]

国際協力関係業務

I. 平成 25 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 25 年 6 月 10 日-7 月 12 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３回を実施した。平成25年度は、中国、ガーナ、インドネシア、ケニア、ミャンマー、スリランカ、タンザニア、ジンバブエの８カ国１４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４−５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。なお、見学は従来の３施設（日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター、SRL・富士レビオ）は変更がなかったが、獨協医科大学に代わり大阪府公衆衛生研究所において行い、地方衛生研究所の役割と研究の紹介および検査の現場の見学をお願いした。
[村上　努、吉村和久、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、松岡佐織、石井　洋、野村拓志、高橋尚史、山本浩之、俣野哲朗、棚林　清(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(感染症疫学センター)、大石和徳（感染症疫学センター）、Jintana Ngamvithayapong-Yanai(結核予防会結核研究所)、渡辺恒二(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)、半田祐二朗(北海道医療大学)、大和田尚（日本赤十字社中央血液研究所)、小林洋輔（国際協力機構）]

II. その他

1. 平成 25 年度 JICA・国立病院機構熊本医療センター共催「次の 10 年に向けての AIDS の予防及び対策」研修コース　講師（平成 25 年 11 月 25 日）[山本浩之]

2. 平成 25 年度 JICA・国立病院機構熊本医療センター共催「次の 10 年に向けての AIDS の予防及び対策」研修コース　講師（平成 25 年 12 月 2 日）[武部　豊]

3. 平成 25 年度 JICA・国立病院機構熊本医療センター共催　第３回「安全な輸血医療」研修コース　講師（平成 26 年 1 月 23 日）[草川　茂]

研修業務

1. 北海道大樹町内の小・中・高３校の児童・生徒対象「エイズと世界～僕・私ができること」をテーマにした教育講演（平成 25 年 7 月 19 日）[石川晃一]

2. 医師卒後臨床研修プログラム　講師（平成 25 年 10 月 23 日）[山本浩之]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H: *TRIM5* genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. J Gen Virol 94:1318-1324, 2013.
2) Shi S, Seki S, Matano T, Yamamoto H: IL-21-producer CD4+ T cell kinetics during primary simian immunodeficiency virus infection. Microbes Infect 15:697-707, 2013.
3) Nakane T, Nomura T, Shi S, Nakamura M, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Yamamoto H: Limited impact of passive non-neutralizing antibody immunization in acute SIV infection on viremia control in rhesus macaques. PLoS ONE 8:e73453, 2013.
4) Seki S, Matano T: Development of vaccines using SeV vectors against AIDS and other infectious diseases. Sendai Virus Vector (Ed: Nagai Y), Springer, p127-p149, 2013.
5) Nishizawa M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W: Highly-sensitive allele-specific PCR testing identifies a greater prevalence of transmitted HIV drug resistance in Japan. PLoS One 8(12): e83150, 2013.
6) 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 27(8): 1621-1627, 2013.
7) 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.
8) 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.
9) Kuwata T, Takaki 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.

10) 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

11) Hashimoto C, Nomura W, Narumi T, Fujino M, Nakahara T, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: CXCR4-derived synthetic peptides inducing anti-HIV-1 antibodies. Bioorg Med Chem 21(22): 6878-6885, 2013.

12) Nomura W, Aikawa H, Ohashi N, Urano E, Métifiot M, Fujino M, Maddali K, Ozaki T, Nozue A, Narumi T, Hashimoto C, Tanaka T, Pommier Y, Yamamoto N, Komano J, Murakami T, Tamamura H: Cell-permeable stapled peptides based on HIV-1 Integrase Inhibitors derived from HIV-1 gene products. ACS Chem Biol 8(10): 2235-2244, 2013.

13) Hashimoto C, Nomura W, Narumi T, Fujino M, Tsutsumi H, Haseyama M, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: Anti-HIV-1 peptide derivatives based on the HIV-1 co-receptor CXCR4. Chem Med Chem 8(10): 1668-1672, 2013.

14) 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.

15) 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.

16) Fujino M, Li XK: Role of STAT3 in regulatory T lymphocyte plasticity during acute graft-vs.-host-disease. JAKSTAT 2(4): e24529, 2013.

17) Luo XY, Takahara T, Kawai K, Fujino M, Sugiyama T, Tsuneyama K, Tsukada K, Nakae S, Zhong L, Li XK: IFN-γ deficiency attenuates hepatic inflammation and fibrosis in a steatohepatitis model induced by a methionine- and choline-deficient high-fat diet. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 305(12): G891-G899, 2013.

18) Zhu P, Li JX, Fujino M, Zhuang J, Li XK: Development and treatments of inflammatory cells and cytokines in spinal cord ischemia-reperfusion injury. Mediators Inflamm 2013: 701970, 2013.

19) Hou J, Cai S, Kitajima Y, Fujino M, Ito H, Takahashi K, Abe F, Tanaka T, Ding Q, Li XK: 5-Aminolevulinic acid combined with ferrous iron induces carbon monoxide generation in mouse kidneys and protects from renal ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol Renal Physiol 305(8): F1149-F1157, 2013.

20) 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 87(10): 5351-5361, 2013.

21) Han X, An M, Zhang M, Zhao B, Wu H, Liang S, Chen X, Zhuang M, Yan H, Fu J, Lu L, Cai W, Takebe Y, Shang H: Identification of 3 distinct HIV-1 founding strains responsible for expanding epidemic among men who have sex with men in nine Chinese cities. J Acquir Immune Defic Syndr 64(1): 16-24, 2013.

22) Chow WZ, Ong LY, Razak SH, Lee YM, Ng KT, Azmel A, Takebe Y, Al-Darraji HA, Kamarulzaman A, Tee KK: Molecular diversity of HIV-1 among injecting drug users in Malaysia: massive expansion of circulating recombinant form (CRF) 33_01B and emergence of multiple unique recombinant clusters. PLoS One 8(5): e62560, 2013.

23) Takebe Y, Saucedo CJ, Lund G, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Kneteman N, Ramessar K, Tyrrell DL, Shirakura M, Wakita T, McMahon JB, O'Keefe BR: Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent in vitro and in vivo activity against hepatitis C virus. PLoS One 8(5): e64449, 2013.

24) Han X, An M, Zhao B, Duan S, Yang S, Xu J, Zhang M, McGoogan JM, Takebe Y, Shang H: High prevalence of HIV-1 intersubtype B'/C recombinants among injecting drug users in Dehong, China. PLoS One 8(5): e65337, 2013.

25) Han X, An M, Zhang W, Zhao B, Chu Z, Takebe Y, Shang H: Genome sequences of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF59_01B) identified among men who have sex with men in northeastern China. Genome Announc 1(3): e00315-13, 2013.

26) Feng Y, He X, Hsia JH, Li F, Li X, Wang Q, Rua Y, Xing H, Lam, TT, Pybus OG, Takebe Y, Shao Y: The rapidly-expanding CRF01_AE epidemic in China is driven by multiple lineages HIV-1 viruses introduced in the 1990s. AIDS 27(11): 1793-1802, 2013.

27) Ng KT, Ong LY, Lim SH, Takebe Y, Kamarulzaman A, Tee KK: Evolutionary history of HIV-1 subtype B and CRF01_AE transmission clusters among men who have sex with men (MSM) in Kuala Lumpur, Malaysia. PLoS One 8(6): e67286, 2013.

28) Gray RR, Tanaka Y, Takebe Y, Magiorkinis G, Buskell Z, Seeff L, Alter HJ, Pybus OG: Evolutionary analysis of hepatitis C virus gene sequences from 1953. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 368(1626): 20130168, 2013.

29) Shibata M, Takahashi M, Yoshino M, Kuwahara T, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W: Development and application of a simple LC-MS method for the determination of plasma rilpivirine (TMC-278) concentrations. J Med Invest 60(1-2): 35-40, 2013.

30) Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, Ishikawa K, Brandful JA, Ofori SB, Yamaoka S, Ampofo W K, Sugiura W: HIV-1 drug-resistance surveillance among treatment-experienced and - naïve patients after the implementation of antiretroviral therapy in Ghana. PLoS One 8(8): e71972, 2013.

31) Katano H, Yokomaku Y, Fukumoto H, Kanno T, Nakayama T, Shingae A, Sugiura W, Ichikawa S, Yasuoka A : Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus among men who have sex with men in Japan. J Med Virol 85(6): 1046-1052, 2013.

32) Jahanbakhsh F, Hattori J, Matsuda M, Ibe S, Monavari SH, Memarnejadian A, Aghasadeghi M R, Mostafavi E, Mohraz M, Jabbari H, Kamali K, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W: Prevalence of transmitted HIV drug resistance in Iran between 2010 and 2011. PLoS One 8(4): e61864, 2013.

33) Gatanaga H, Murakoshi H, Hachiya A, Hayashida T, Chikata T, Ode H, Tsuchiya K, Sugiura W, Takiguchi M, Oka S: Naturally selected rilpivirine-resistant HIV-1 variants by host cellular immunity. Clin Infect Dis 57(7): 1051-1055, 2013.

34) Burwitz BJ, Wu HL, Reed JS, Hammond KB, Newman LP, Bimber BN, Nimiyongskul FA, Leon EJ, Maness NJ, Friedrich TC, Yokoyama M, Sato H, Matano T, O'Connor DH, Sacha JB: Tertiary mutations stabilize $CD8^+$ T lymphocyte escape-associated compensatory mutations following transmission of simian immunodeficiency virus. J Virol 88: 3598-3604, 2014.

35) Naruse TK, Akari H, Matano T, Kimura A: Divergence and diversity of ULBP2 genes in rhesus and cynomolgus macaques. Immunogenetics 66: 161-170, 2014.

36) Takeda S, Kanbayashi D, Kurata T, Yoshiyama H, Komano J: Enhanced susceptibility of B lymphoma cells to measles virus by EBV type III latency that up-regulates CD150/SLAM. Cancer Sci 105(2): 211-218, 2014.

37) Yoshimura K, Harada S, Boonchawalit S, Kawanami Y, Matsushita S: Impact of maraviroc-resistant and low-CCR5- adapted mutations induced by in vitro passage on sensitivity to anti-envelope neutralizing antibodies. J Gen Virol 95: 1816-1826, 2014.

38) Zhang Q, Fujino M, Iwasaki S, Hirano H, Cai S, Kitajima Y, Xu J, Li XK: Generation and characterization of regulatory dendritic cells derived from murine induced pluripotent stem cells. Sci Rep 4: 3979, 2014.

39) Wei H, Hsi JH, Feng Y, Xing H, He X, Liao L, Duan S, Ning C, Wang N, Takebe Y, Shao Y: Identification of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF62_BC) in western Yunnan of China. AIDS Res Hum Retroviruses 30: 380-383, 2014.

40) Wei H, Liu Y, Feng Y, Hsi JH, Xing H, He X, Liao L, Takebe Y, Li J, Shao Y: Genome sequence of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF57_BC) identified from Yunnan, China. AIDS Res Hum Retroviruses 30: 384-388, 2014.

41) Feng Y, Wei H, Hsi JH, Xing H, He X, Liao L, Ma Y, Ning C, Wang N, Takebe Y, Shao Y: Identification of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF65_cpx) comprised of CRF01_AE and subtypes B and C in western Yunnan, China. AIDS Res Hum Retroviruses 30: 598-602, 2014.

42) Imahashi M, Izumi T, Watanabe D, Imamura J, Matsuoka K, Ode H, Masaoka T, Sato K, Kaneko N, Ichikawa S, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A, Utsumi M, Yokomaku Y, Shirasaka T, Sugiura W, Iwatani Y, Naoe T: Lack of association between intact/deletion polymorphisms of the APOBEC3B gene and HIV-1 risk. PLoS One 9(3): e92861, 2014.

43) Iwamoto N, Takahashi N, Seki S, Nomura T, Yamamoto H, Inoue M, Shu T, Naruse TK, Kimura A, Matano T: Control of SIV replication by vaccine-induced Gag- and

Vif-specific CD8$^+$ T cells. J Virol 88:425-433, 2014.

2．和文発表

1) 俣野哲朗 : ウイルス感染に対する反応.（谷口克監修, 宮坂昌之・小安重夫編集）標準免疫学　第３版, 東京, 医学書院, p280-p288, 2013.
2) 史　蕭逸, 俣野哲朗 : ワクチン開発の現状. 血液フロンティア　特集 : HIV 感染症 2013～現状と展望～. 23(6): 767-772, 2013.
3) 吉村和久, 俣野哲朗 : HIV エンベロープの中和抗体抵抗性を解除する鍵. 化学療法の領域 29(8): 1739-1745, 2013.
4) 俣野哲朗 : エイズワクチン開発について. ワクチン開発における最新動向, 東京, 情報機構, p151-p163, 2013.
5) 仲宗根正 : 国立感染症研究所における HIV 関連曝露事故対策. 日本バイオセーフティ学会 JBSA Newsletter, 3:6-12, 2013.
6) 山本浩之 : HIV ワクチン開発への分析的・統合的視点. ウイルス 63: 219-232, 2013.
7) 石川晃一 : メスも使えないペーパー獣医師のお話. 東獣ジャーナル（公益財団法人東京都獣医師会）560: 1-5, 2013.
8) 武部　豊 : 東南・東アジア地域における HIV-1 組換え型流行株 (CRF) の多発的新生. 病原微生物検出情報　特集 HIV/AIDS. 34(9): 257-259, 2013.
9) 平野　淳, 高橋昌明, 柴田雅章, 野村敏治, 横幕能行, 杉浦　亙 : 結核を合併した日本人 HIV 感染症例に対するラルテグラビルカリウムとリファンピシン併用に関する検討. 日本エイズ学会誌 15: 36-39, 2013.
10) 福山由美, 市川誠一, 大林由美子, 杉浦　亙, 横幕能行 : 愛知県におけるエイズ診療拠点病院初診患者の受診遅れと検査遅れに関連する要因. 日本エイズ学会誌 15: 119-127, 2013.
11) 渡邊綱正, 杉浦　亙, 田中靖人 : B 型肝炎治療の最前線 HBV/HIV 共感染における HBs 抗原を制御するサイトカインの推移. 肝臓 54: A486, 2013.
12) 杉浦　亙, 服部純子 : 薬剤耐性 HIV の動向と今後の課題. 化学療法の領域　特集 : HIV 感染症の長期的治療戦. 29: 1876-1883, 2013.
13) 杉浦　亙 : HIV 薬剤耐性の現状. 血液フロンティア特集 : HIV 感染症 2013～現状と展望～. 23: 797-803, 2013.

II. 学会発表

1．国際学会

1) Hachiya A, Pautler C, Moran J, Janaka S, Kirby KA, Michailidis E, Ong YT, Oka S, Parniak MA, Sugiura W, Lee K, KewalRamani VN, Singh K, Sarafianos GS: Small-molecule inhibits HIV-1 replication by targeting interaction with capsid and nuclear import. CSHL Meeting on Retroviruses, May 20-25, 2013, Cold Spring Harbor, USA.
2) 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 crystal structure of APOBEC3C including HIV-1 Vif-binding interface. 4th International Symposium on Diffraction Structural Biology. May 26-29, 2013, Nagoya, Japan.
3) Matano T: AIDS vaccine development towards global HIV control. Seminar, Noguchi Memorial Institute for Medical Research, University of Ghana, Jun 3, 2013, Accra, Ghana.
4) Shiino T, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: Molecular phylodynamic analysis of drug resistance transmissions in HIV-1 subtype B in Japan. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies, Jun 4-8, 2013, Toronto, Canada.
5) Matsuoka K, Tanabe F, Shigemi U, Hattori J, Ode H, Masaoka T, Morishita R, Sawasaki T, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W: Complexity of cross-resistance mutation patterns in diarylpyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors rilpivirine and etravirine in clinical isolates. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies, Jun 4-8, 2013, Toronto, Canada.
6) Ishii H, Takahashi N, Matsuoka S, Matano T: Higher Gag-specific but lower Env-specific CD8$^+$ T cell responses in SIV controllers. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jun 30-Jul 3, 2013, Kuala Lumpur, Malaysia.
7) Imahashi M, Izumi T, Imamura J, Matsuoka K, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A, Yokomaku Y, Naoe T, Sugiura W, Iwatani Y: A population-based matched-cohort study on insertion/deletion polymorphism of the APOBEC3B gene and risk of HIV-1. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jun 30-Jul 3, 2013, Kuala Lumpur, Malaysia.
8) Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S,

Mori H, Minami R, Uchida K, Yokomaku Y, Sugiura W, Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Comparison of patient characteristics and trends of transmitted drug resistant HIV between recent and long-term infection among treatment-naïve HIV-1-infected populations in Japan. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jun 30-Jul 3, 2013, Kuala Lumpur, Malaysia.

9) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, Iwatani Y: Crystal structure of human APOBEC3C and HIV-1 Vif-binding interface. American Crystallographic Association Annual Meeting, Jul 20-24, 2013, Hawaii, USA.
10) Ishii H, Matsuoka S, Matano T: SIV Env gp120-specific effector memory $CD8^+$ T-cell frequencies are associated with viral burdens in lymph nodes. 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 10-13, 2013, Awaji, Japan.
11) Yamamoto H: Selection of a survival signal-modulating CTL escape mutant precedes SIV neutralizing antibody induction. 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 10-13, 2013, Awaji, Japan.
12) Shiino T, Sadamasu K, Nagashima M, Hattori J, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: Nationwide HIV-1 transmission dynamics estimated by molecular evolutionary analysis in Japan. 8th Internatinal Workshop on HIV Transmission-Principles of Intervention, Oct 4-5, 2013, Barcelona, Spain.
13) Seki S, Matano T: Vif-derived epitopes can be efficiently recognized by cytotoxic T lymphocytes. AIDS Vaccine 2013, Oct 7-10, 2013, Barcelona, Spain.
14) Matano T: Sendai virus vector vaccine. Symposium 4: Viral vaccine vectors, AIDS Vaccine 2013, Oct 7-10, 2013, Barcelona, Spain.
15) Yamamoto H, Matano T: A distinct Nef-specific CTL escape selection preceding chronic phase neutralizing antibody induction against highly resistant SIVmac239. AIDS Vaccine 2013, Oct 7-10, 2013, Barcelona, Spain.
16) Boonchawalit S, Harada S, Matsushita S, Yoshimura K: Characterization of highly neutralizing antibody sensitive HIV-1 gp120 induced under high concentrations of maraviroc (MVC) in vitro. AIDS Vaccine 2013, Oct 7-10, 2013, Barcelona, Spain.
17) Harada S, Boonchawalit S, Matsushita S, Yoshimura K: Analysis of interaction between gp120 and CD4 mimic small compounds that enhance the activity of anti-HIV neutralizing antibodies. AIDS Vaccine 2013, Oct 7-10, 2013, Barcelona, Spain.
18) Yamamoto H: In vivo correlates of neutralizing antibody induction against highly antibody-resistant simian immunodeficiency virus. Departement Biomedizin Basel seminar, Universitätsspital Basel, Oct 14, 2013, Basel, Switzerland.
19) Takebe Y: Exploring the hidden interrelationship of HIV-1 epidemics in Asia and beyond: First indication for the international dissemination of the HIV-1 variants uniquely associated with the transmission among MSM in China. Invited seminar at Research Collaboration Center on Emerging and Re-emerging Infections (RCC-ERI), University of Osaka, Oct 28, 2013, Bangkok, Thailand.
20) Matano T: Vif can be a promising CD8 T cell target for HIV/SIV control. 14th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-31, 2013, Kumamoto, Japan.
21) Ishii H, Matsuoka S, Matano T: Distinctive phenotype profiles of Env-specific $CD8^+$ T cells in the chronic phase of SIV infection. 14th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-31, 2013, Kumamoto, Japan.
22) Hirota Y, Narumi T, Yoshimura K, Harada S, Hashimoto C, Nomura W, Igarashi T, Matsushita S, Tamamura H: Indole-type small CD4 mimic molecules targeting an HIV envelope protein gp120. 14th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-31, 2013, Kumamoto, Japan.
23) Boonchawalit S, Harada S, Matsushita S, Yoshimura K: Analysis of relationships between Maraviroc (MVC) resistant mutations and sensitivity to antibody-mediated neutralization. 14th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-31, 2013, Kumamoto, Japan.
24) Harada S, Boonchawalit S, Narumi T, Tamamura H, Matsushita S, Yoshimura K: In vitro selection of bifunctional CD4 mimic small compounds (NBD analogues) using bulk and cloned primary isolates. 14th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-31, 2013, Kumamoto, Japan.
25) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Matano T: Reinforcement of $CD8^+$ cell capacity to control viral replication by therapeutic vaccination under antiretroviral therapy in SIV-infected rhesus macaques. 31st Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Nov 3-6, 2013, Atlanta, USA.

26) Yamamoto H, Matano T: Selection of a survival signal-modulating CTL escape precedes neutralizing antibody induction against highly resistant SIV. CSHL Meeting on Harnessing Immunity to Prevent and Treat Disease, Nov 20-23, 2013, Cold Spring Harbor, USA.
27) Takahashi N: Analysis of HIV and host HLA genotypes in Hanoi. 5th JAPAN-KOREA Joint Symposium on HIV/AIDS. Dec 7, 2013, Seoul, Korea.
28) Yamamoto H: Neutralizing antibodies against highly antibody-resistant SIV: Protective activity and induction correlates. WYIS Kumamoto University, Feb. 5, 2014, Kumamoto, Japan.
29) Takebe Y: Recent advances and topics in molecular epidemiology of HIV in Asia: Unearthen the previously unrecognized interrelationship of HIV-1 epidemics in Asia and beyond. Invited lecture. Center of Excellence for Research in AIDS (CERiA) Excellence, University of Malaya, Feb 20, 2014, Kuala Lumpur, Malaysia.
30) Ishii H, Matsuoka S, Matano T: Association of Gag-specific $CD28^{+}CD95^{+}$ $CD8^{+}$ T-cell responses in lymph nodes with lower viral loads. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
31) Harada S, Boonchawalit S, Narumi T, Tamamura H, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of CD4 mimetics-resistant mutations on susceptibilities to anti-Env nMAbs. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
32) Takebe Y, Kondo M: Exploring the hidden interrelationship of HIV-1 epidemics in Asia and beyond: First indication for the international dissemination of the Chinese MSM lineages. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
33) Shiino T, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: Large MSM group and local heterosexual transmission are major concerns in the HIV epidemic in Japan. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
34) Saito A, Matsuoka K, Ode H, Otsuki H, Yoshida T, Iwatani Y, Sugiura W, Matano T, Miura T, Akari H: A Novel HIV-1mt encoding CCR5-tropic Env established persistent infection in cynomolgus macaques. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
35) Hosaka M, Fujisaki S, Hattori J, Shiino T, Hachiya A, Matsuda M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W: CRF01_AE and subtype B transmission networks cross over; A new AE-B recombinant emerges in Japan. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
36) Hachiya A, Gres A, Kirby KA, Michailidis E, Maejima M, Sugiura W, Lee K, KewalRamani V, Singh K, Sarafianos SG: Small-molecule inhibits HIV-1 replication by interacting with HIV capsid. CROI 2014, Mar 3-6, 2014, Boston, USA.
37) Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Association between broadening of CD8+ T-cell targets and accumulation of proviral escape mutations in SIV controllers. HIV Vaccines (X3), Keystone Symposia, Mar 9-14, 2014, Banff, Canada.

2．国内学会

1) 俣野哲朗：次世代ワクチン開発と基礎研究：最近の動向．第 23 回感染研シンポジウム：次世代型感染症ワクチンの戦略構想と展開―開発とレギュレーション―，2013 年 5 月 13 日，東京．
2) 杉浦　亙：ＨＩＶ治療の進歩と薬剤耐性ＨＩＶの動向．第 27 回近畿エイズ研究会・学術集会，2013 年 6 月 1 日，大阪．
3) 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：ヒト抗レトロウイルス因子 APOBEC3 ファミリー間における HIV-1 Vif 結合インターフェイスの構造比較．第 13 回日本蛋白質科学会年会，2013 年 6 月 12-14 日，鳥取．
4) 石井　洋：リンパ節における抗原特異的 CTL 反応動態とフェノタイプ. 第 16 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE，2013 年 7 月 11-13 日，熱海．
5) 原田恵嘉：バルクおよびクローンウイルスを用いた CD4 類似低分子化合物の耐性誘導．第 16 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE，2013 年 7 月 11-13 日，熱海．
6) 石井　洋，松岡佐織，俣野哲朗：サルエイズモデルにおけるウイルス複製制御に関わる抗原特異的 CTL 反応の解析．第 15 回白馬シンポジウム，2013 年 7 月 19-20 日，名古屋．
7) 五領舞衣，原田恵嘉，石井　洋，俣野哲朗，吉村和久：Impact od deletion in cytoplasmic tail on Env incorporation into HIV/SIV particles．第 15 回白馬シンポジウム，2013 年 7 月 19-20 日，名古屋．
8) 原田恵嘉，Samatchaya Boonchawalit，松下修三，吉村和久：In vitro selection of bifunctional CD4 mimic small compounds (NBD analogues) using bulk and cloned

primary isolates. 第 15 回白馬シンポジウム, 2013 年 7 月 19-20 日，名古屋.

9) 今橋真弓，泉　泰輔，渡邉　大，今村淳治，松岡和弘，佐藤　佳，小柳義夫，高折晃史，横幕能行，白阪琢磨，杉浦　亙，岩谷靖雅，直江知樹：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 15 回白馬シンポジウム，2013 年 7 月 19-20 日，名古屋.

10) 松岡和弘，重見　麗，大出裕高，蜂谷敦子，服部純子，森下　了，澤崎達也，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦　亙：HIV-1 臨床分離株を用いた Rilpivirine 及び Etravirine に対する交差耐性変異に関する酵素学的な解析．第 15 回白馬シンポジウム，2013 年 7 月 19-20 日，名古屋.

11) 大出裕高，松岡和弘，松田昌和，根本理子，蜂谷敦子，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦　亙：次世代シークエンサーIllumina MiSeq による HIV ゲノム解析系の構築．第 15 回白馬シンポジウム，2013 年 7 月 19-20 日，名古屋.

12) 中島雅晶，北村紳悟，黒澤哲平，大出裕高，河村高志，今橋真弓，長縄由里子，横幕能行，渡邉信久，杉浦　亙，岩谷靖雅：HIV-1 Vif 結合領域を持つ APOBEC3F C 末端側ドメインの構造解析．第 15 回白馬シンポジウム，2013 年 7 月 19-20 日，名古屋.

13) 駒野　淳，田中　淳，武田　哲，岡田誠治：HTLV-1 プロウイルスを標的とした Zinc Finger Nuclease による ATL 腫瘍原性の抑制. 第 72 回日本癌学会学術総会，2013 年 10 月 3-5 日，横浜.

14) Ode H, Sugiura W, Yokomaku Y：Molecular dynamics simulations of HIV-1 protease-inhibitor complex with modified charges for catalytic aspartate．第 51 回日本生物物理学会年会，2013 年 10 月 28-30 日，京都.

15) 今橋真弓，泉　泰輔，渡邊　大，今村淳治，松岡和弘，佐藤　桂，金子典代，市川誠一，小柳義夫，高折晃史，内海　眞，横幕能行，白阪琢磨，直江知樹，岩谷靖雅，杉浦　亙：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 67 回国立病院総合医学会，2013 年 11 月 8-9 日，金沢.

16) 関紗由里，俣野哲朗：HIV/SIV Vif の抗原提示に関する研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

17) 石井　洋，野村拓志，高橋尚史，松岡佐織，俣野哲朗：サルエイズモデルにおいて感染慢性期に誘導される SIV 特異的 CTL 反応の標的抗原とメモリーフェノタイプとの関連性についての解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10-12 日, 神戸.

18) 野村拓志，俣野哲朗：SIV 感染制御群における制御維持への Vif および Nef 特異的細胞傷害性 T リンパ球反応の関与に関する研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

19) 中村　碧，高原悠佑，松岡佐織，三浦智行，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 誘導治療ワクチン接種による SIV 増殖抑制能の増強効果の解析．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

20) 野村拓志，俣野哲朗：SIV 感染制御群における制御維持への Vif および Nef 特異的細胞傷害性 T リンパ球反応の関与に関する研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

21) 武田　哲，上林大紀，倉田貴子，吉山裕規，駒野　淳：Esptein-Barr virus III 型潜伏感染による Measles virus 感染感受性増強メカニズムの解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

22) 原田恵嘉，Samatchaya Boonchawalit，松下修三，吉村和久：インテグラーゼ阻害剤ラルテグラビルが MVC 耐性 HIV-1 Env 領域に与える影響. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

23) 林　浩司，竹村太地郎，藤野真之，百瀬文隆，森川裕子，村上　努：HIV-1 複製過程における Rab7 の機能解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

24) 武部　豊，近藤真規子，内藤 雄樹：中国における HIV-1 CRF01_AE 流行を形成するファウンダー株の同定：我が国および周辺アジア諸国における流行との相互関係の解析．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

25) 齊藤　暁，大附寛幸，東濃篤徳，鈴木紗織，松田健太，高橋尚史，松岡佐織，岩谷靖雅，杉浦　亙，野間口雅子，足立昭夫，保富康宏，俣野哲朗，三浦智行，明里宏文：CCR5 指向性を示す新規サル指向性 HIV-1 はサル個体に持続感染する．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

26) 大出裕高，松岡和弘，松田昌和，根本理子，蜂谷敦子，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦　亙：次世代シークエンサーIllumina MiSeq による微少集族薬剤耐性 HIV の網羅的検出システムの構築. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸.

27) 北村紳悟，中島雅晶，黒沢哲平，大出裕高，河村高志，今橋真弓，長縄由里子，真野由有，横幕能行，

渡邉信久，杉浦　亙，岩谷靖雅：抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3F の Vif 結合領域に関する構造学的解析．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸．

28) 今橋真弓，泉　泰輔，渡邊　大，今村淳治，松岡和弘，正岡崇志，佐藤桂，金子典代，市川誠一，小柳義夫，高折晃史，内海　眞，横幕能行，白阪琢磨，直江知樹，杉浦　亙，岩谷靖雅：宿主防御因子 APOBEC3B の遺伝子欠損による HIV-1 感染伝播・病勢への影響に関する研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日，神戸．

29) 石井　洋，野村拓志，高橋尚史，松岡佐織，俣野哲朗：感染慢性期において血漿中ウイルス量と相関・逆相関する各抗原特異的 CTL 反応および優位性ついての解析．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

30) 俣野哲朗：HIV 持続感染成立阻止に結びつく細胞性免疫機序：サルエイズモデルにおける解析．シンポジウム 2 : エイズ分野における細胞性免疫研究の進展, 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

31) 五領舞衣，原田恵嘉，石井　洋，吉村和久，俣野哲朗 : 細胞内ドメイン欠損 Env を有する HV/SIV 粒子の作製．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

32) Samatchaya Boonchawalit，原田恵嘉，松下修三，吉村和久：Analysis of relationships between Maraviroc (MVC) resistant mutations and sensitivity to antibody-mediated neutralization. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

33) 大附寛幸，丸田泰広，橋本智恵，鳴海哲夫，廣田雄樹，原田恵嘉，三浦智行，吉村和久，玉村啓和，松下修三，五十嵐樹彦：抗 V3 抗体および低分子 CD4 ミミック曝露後投与によるアカゲザルでの SHIV 複製抑制. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

34) 原田恵嘉，鳴海哲夫，Samatchaya Boonchawalit，玉村啓和，松下修三，吉村和久：バルクおよびクローンウイルスを用いた 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 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

35) 野村　渉, 鳴海哲夫, 橋本知恵, 藤野真之, 村上　努, 玉村啓和 : HIV-1 外被タンパク質 gp41-CHR の二量体構造を基盤とした膜融合阻害剤の有用性．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

36) 村上　努, 橋本知恵, 藤野真之, 鳴海哲夫, 野村　渉, 山本直樹，玉村啓和 : HIV-1 特異的侵入阻害剤として機能する MA 部分ペプチドの抗ウイルス活性作用機序の検討．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

37) 武部　豊, 近藤真規子 : 中国における CRF01_AE 流行の動因となっているファウンダー株の分析：我が国および周辺アジア諸国における流行との相互関係. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

38) 齊藤　暁，大附寛幸，東濃篤徳，鈴木紗織，松田健太，高橋尚史，松岡佐織，岩谷靖雅，杉浦　亙，野間口雅子，足立昭夫，保富康宏，俣野哲朗，三浦智行，明里宏文：CCR5 指向性を示す新規サル指向性 HIV-1 はサル個体に持続感染する．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2013 年 11 月 20-22 日, 熊本.

39) 重見　麗, 服部純子, 蜂谷敦子, 潟永博之, 渡邉　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, 伊藤俊広, 古賀道子, 岩本愛吉, 西澤雅子，岡　慎一，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，高田清式，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 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

40) 蜂谷敦子，Christie Pautler，Jennifer Moran，Sanath Janaka，Karen A. Kirby，Eleftherios Michailidis，Yee Tsuey Ong，岡　慎一，Michael A. Parniak，前島雅美，松岡和弘，岩谷靖雅，KyeongEun Lee，Vineet N. KewalRamani，Kamalendra Singh，杉浦　亙，Stefan G. Sarafianos：カプシドと核膜移行を標的とした低分子化合物の開発とその作用機序の解明．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

41) 根本理子，伊部史朗，今橋真弓，今村淳治，岩谷靖雅，横幕能行，味澤　篤，杉浦　亙：本邦における HIV-2 感染疑い症例の実情と問題点．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

42) 大出裕高，松岡和弘，松田昌和，根本理子，蜂谷敦子，横幕能行，岩谷靖雅，杉浦　亙：次世代シークエンサーIllumina MiSeq による HIV ゲノム配列の網

羅的解析システムの構築．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

43) 保坂真澄，藤崎誠一郎，服部純子，椎野禎一郎，松田昌和，蜂谷敦子，重見　麗，岡﨑玲子，岩谷靖雅，濱口元洋，横幕能行，杉浦　亙：東海地域で見いだされた新たな CRF01_AE/B リコンビナント HIV-1 株．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

44) 中島雅晶，北村紳悟，大出裕高，河村高志，今橋真弓，長縄由里子，黒沢哲平，横幕能行，渡邉信久，杉浦　亙，岩谷靖雅：APOBEC3F C 末端側ドメインの構造解析と HIV-1 Vif 結合インターフェイス．第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会，2013 年 11 月 20-22 日，熊本.

45) 山本浩之，俣野哲朗：センダイウイルスベクターを用いたエイズワクチン．シンポジウム 1：ウイルスベクターとワクチン，第 17 回日本ワクチン学会学術集会，2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日，津.

46) 俣野哲朗：ウイルス感染症の最新の動向．特別講演 2，第 28 回日本臨床リウマチ学会，2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日，千葉.

47) 中島雅晶，北村紳悟，黒沢哲平，大出裕高，河村高志，真野由有，今橋真弓，長縄由里子，横幕能行，渡邉信久，杉浦　亙，岩谷靖雅：APOBEC3F タンパク質上の HIV-1 Vif 結合領域の同定と構造学的解析．第 36 回日本分子生物学会年会，2013 年 12 月 3-6 日，神戸.

48) 細羽恵理子，鈴木匡弘，杉浦　亙：国内で分離された Acinetobacter baumannii の MLST による系統解析．第 25 回日本臨床微生物学会総会，2014 年 2 月 1-2 日，名古屋.

49) 俣野哲朗：エイズおよび性感染症について．平成 25 年度性に関する講習会，2014 年 2 月 13 日，東京.

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および次世代 HPV ワクチンの開発研究、ならびに HPV 感染実態の疫学調査を行った。

HPV は表皮や粘膜の微小な傷から侵入し、上皮基底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継続した。

また幅広い HPV 型に有効な､L2 の交差性中和エピトープを用いた次世代 HPV ワクチンの開発研究を行った。

HPV 疫学調査については、第一室は WHO による HPV ラボラトリーネットワークの西太平洋地域リファレンスラボに認定されており、WHO にて標準化された HPV ジェノタイピング法と HPV 抗体価測定法を用いて､我が国の HPV 感染実態の調査を行った。また HPV ワクチンによる免疫賦与効果についての臨床研究を開始した。

さらに製剤担当室として、HPV ワクチンの国家検定を担当した。

第二室では、計算科学、情報科学、数学・物理理論を活用して、ウイルス分子の構造特性と進化を解析する新しい研究戦略の開発を続けた｡現在､計算科学を用いて、蛋白質・核酸の高次構造や相互作用等を高精度で近似する in silico 構造解析技術が急速に進展している｡また、情報科学や数学・物理理論を用いて生物進化の特性を解析する新しい技術の開発が試みられている。これらのポストゲノム解析技術は、培養や入手が困難な病原体や易変異性病原体の性質の理解やリスク評価に役立つと考え、病原性ウイルスへの応用研究を続けた。本年度は、ノロウイルスとヒト免疫不全ウイルスの粒子最外殻蛋白質について免疫逃避の構造基盤と進化の解析を進め、ウイルスの持続感染、流行、進化の理解と動物モデル作製に還元した。ノロウイルスプロテアーゼの基質認識機構の解析を進め、阻害剤開発の基盤情報を得た。新型インフルエンザウイルスのリスク変異を解析・予測し、サーベイランスとリスク管理に還元した。

第三室は次世代シークエンサーを用いて病原体ゲノム情報の取得と情報解析に係る基盤整備を遂行している。病原体分離株の全ゲノム解析で病原性・薬剤耐性因子を同定するとともに、全ゲノム情報を基盤にしたゲノム分子疫学の基盤データベースの構築に取り組んでいる。また、各種病原体検査法で陰性であった感染症疑いの不明症例についてメタゲノム解析にて病原体検出を行っている。臨床検体に内在する全容を核酸配列として網羅的に検出するため、混合感染など総合的な病原体検査法として有効である｡本年度は腸管出血性大腸菌 O111 株および *Kudoa* 属寄生虫のゲノム解読、サルモネラの宿主特異性に関連するゲノム領域の特定を遂行した。ゲノム分子疫学解析を検査現場でも有効に執り行うことができるよう、サルモネラや炭疽菌の公開ゲノム情報を基盤にしたゲノム分子疫学 GcoGSA パイプラインを構築した。また､院内のカルバペネム耐性腸内細菌科の伝播が注視されており、薬剤耐性を水平伝達するプラスミドを中心に伝達様式を俯瞰的に解析する GPAT, iPAT システムを開発した。
次世代シークエンサーを活用した不明病原体の迅速同定を地方衛生研究所や病院の現場でも行えるよう MePIC パイプラインを開発し運用を開始した。感染症が疑われる難病も不明症例の一つでもあり、その観点から潰瘍性大腸炎や川崎病の臨床検体から病態に関連する微生物因子の特定を行った。

業　績

調査・研究

I. HPV に関する研究

1. HPV の感染増殖機構の研究

(1) HPV 感染におけるオートファジーの役割

HPV 感染初期過程においてオートファジーが宿主防御

として機能することが知られているが、個々のオートファジー因子の関与については不明である。5 種類のオートファジー関連タンパク質の関与を、HPV16 型偽ウイルス粒子(16PsV)と siRNA ノックダウンを用いて検討した。Vps34PI3 キナーゼ複合体サブユニットである Vps34 と Beclin-1 をノックダウンした HeLa 細胞は、16PsV に対する高い感染感受性を示した。一方、ULK1 キナーゼ複合体サブユニットである ULK1 と ATG13、および ATG9 のノックダウンでは、16PsV に対し感染抵抗性を示した。ULK1 複合体や ATG9 などオートファゴソーム形成初期に関わるタンパク質群は、HPV 感染初期過程に必要な細胞内タンパク質であることが分かった。(石井克幸)

(2) L2 による TRAPPC8 機能阻害の意義

TRAPPC8 はゴルジ体層構造やオートファゴソーム形成初期に重要な役割を果たす細胞内タンパク質である。キャプシド副構成タンパク質 L2 と TRAPPC8 の相互作用、それに伴う TRAPPC8 の機能阻害は、HPV 感染初期過程を成立させる上で重要であるが、ウイルス粒子 L2 との相互作用および機能阻害の意義については不明である。TRAPPC8-L2 相互作用に必要な L2 領域は N 末 75-150 アミノ酸(aa)領域であり、重要配列は型間で高度に保存された配列 SIVS (104-107 aa)であることが分かった。16PsV を HaCaT 細胞へ接種すると L2 は TRAPPC8 と共局在したが、SIVS を AAAA に置換した 16PsV(16PsVmut3)では L2 は検出困難になり、TRAPPC8 との共局在が消失した。16PsVmut3 のトランスダクション効率は 16PsV の約 20%だったが、Vps34PI3 キナーゼを不活化するオートファジー阻害剤 3-MA を加えると、この効率は 16PsV と同程度まで回復した。L2 による TRAPPC8 の機能阻害は、オートファジーによる宿主防御を回避するためと考えられた。(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。昨年度までに、子宮頸癌に高頻度で検出される HPV16 型と HPV18 型の間でのゲノム複製における相互作用を調べ、異なる型由来の HPV DNA ヘリカーゼ E1 が混在すると、複製阻害が起こることを明らかにした。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ことから、二つの型の E1 間の相互作用が示唆された。今年度は、精製した E1 蛋白質を用いて、HPV16 型と HPV18 型の E1 蛋白質が直接結合することを示した。HPV16 型と HPV18 型が重感染した細胞では、E1 ヘテロ多量体が形成され、複製干渉が起こると考えられる。(森　清一郎、松尾理加、柊元　巌)

(4) E1 と細胞チロシンキナーゼ Wee1 の結合

HPV ゲノム複製に働くウイルス DNA ヘリカーゼ E1 と結合する細胞タンパク質として、Wee1 チロシンキナーゼを同定した。Wee1 は E1 のヘリカーゼドメインに結合した。また、293 細胞で Wee1 をノックダウンすると、発現させた FLAG タグ付き HPV16 型 E1(FLAG-E1)のタンパク量が減少した。また FLAG-E1 を発現させると、細胞内のポリユビキチン化蛋白質の量が低下し、プロテアソーム系による分解が誘導された。E1 は Wee1 との結合を介してプロテアソーム系による分解を免れ、細胞内で安定化している可能性が考えられた。(松尾理加、森　清一郎、柊元　巌)

(5) HPV ゲノム維持における Wee1 の役割

ヒト骨肉腫由来細胞 U2OS に HPV16 の環状ゲノムを、ハイグロマイシン耐性プラスミドと共にトランスフェクションして薬剤選択することで、HPV16 ゲノムを安定に維持する U2OS/HPV16 を作成した。U2OS/HPV16 で Wee1 をノックダウンすると、HPV ゲノムのコピー数が著しく低下した。この現象は、HPV16 陽性の子宮頸部 CIN1 病変から樹立された W12 細胞でも再現されたことから、Wee1 が HPV ゲノム維持に重要な役割を持つことが示唆された。(松尾理加、前濱朝彦[細胞化学部]、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定期的に収集し、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。これまでに 2009-2013 年の期間に、4043 検体の HPV タイピングを実施した。(東　由香里、松尾理加、柊元　巌、近藤一成[NTT 東日本病院])

(2) 子宮頸癌および前癌病変での HPV 遺伝子型分布の調査

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 遺伝子型分布の調査を行った。647 検体の解析の結果、CIN2/3 では HPV16/52/58 の三タイプの検出率が高かった。また子宮頸癌での HPV16/18 の検出率は約 70%であった。本データは、HPV ワクチン導入前の日本のベースラインデータとして有用である。(東　由香里、松尾理加、竹内史比古、柊元　巌、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])

(3) 日本人での HPV16 抗体の保有状況の調査

日本の健常者集団での HPV16 感染状況を調べるために、感染研血清バンクの健常者 200 人分の血清を用いて、VLP ELISA 系にて HPV16 抗体価の測定を行った。その結果、抗体陽性率は女性では 6.8%、男性では 6.2%であった。抗体陽性者は女性では 40 代から、男性では 30 代から認められた。本データは、次年度から開始される感染症流行予測調査事業のベースラインデータとなる。(松尾理加、森　清一郎、石井克幸、柊元　巖)

(4) 日本人男性 HIV 感染者における 4 価 HPV ワクチンの効果に関する研究

日本人男性 HIV 感染者 (22 例) に対して 4 価 HPV ワクチンを接種し、免疫賦与効果について検討した。HPV16/18 抗体陽性者は、接種前、HPV16：7 例 (32%)、HPV18：6 例 (27%) 接種後、HPV16：22 例 (100%)、HPV18：20 例 (91%) であった。接種前の HIV-RNA 量が接種後の HPV16/18 抗体価に与える影響をみるために、HIV-RNA≧200 copies/mL、HIV-RNA＜200 copies/mL の 2 群を比較したところ、HIV-RNA≧200 copies/mL 群で抗体価が低値であった。(菅沼明彦[都立駒込病院]、大石和徳[感染症疫学センター]、森　清一郎、柊元　巖)

(5) 基礎疾患を有する女児への HPV ワクチンによる抗体獲得に関する研究

免疫抑制治療中の小児リウマチ性疾患患児 (7 例) において HPV ワクチン接種後の HPV 抗体価を測定し、基礎疾患や治療薬による影響を評価した。全ての症例で HPV16 抗体価の上昇が認められたが、経口ステロイド薬や免疫抑制剤であるメトトレキサートを内服している 3 例では抗体価の上昇が弱かった。HPV ワクチン接種により、生物学的製剤投与中の若年性特発性関節炎患者でも HPV16 抗体を獲得できるが、経口ステロイド薬やメトトレキサート内服は抗体獲得を阻害すると考えられた。(金高太一[横浜市立大学付属病院]、森　清一郎、柊元　巖)

3. 次世代 HPV ワクチンの開発研究

(1) 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

HPV16 L2 キャプシドタンパク質のアミノ酸 56-75 領域 (L2-56/75) 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。L2-56/75 領域を、B 型肝炎ウイルス (HBV) ワクチンである HBs 抗原に組み込んだキメラワクチンを作成した。キメラワクチンはマウスにおいて、複数の高リスク型に有効な抗 HPV 中和抗体と抗 HBs 抗体を誘導したことから、HPV と HBV を標的とする多価ワクチンとして有用である。(森　清一郎、神田忠仁[理化学研究所]、化学及血清療法研究所との共同研究)

(2) HPV 型共通 L2 ペプチドに対するアプタマーの創製

HPV 型共通中和抗体を誘導することが示されている L2 ペプチドを用いて、HPV 型共通中和能をもつアプタマー創製を試みた。安定性を重視して一本鎖 DNA (オリゴヌクレオチド) を素材とし、磁気ビーズを用いた濃縮システムを構築した。L2 ペプチド単独、BSA、BSA-L2 ペプチド、HPV16 中空粒子を磁気ビーズに固定した。小規模な実験では L2 ペプチド磁気ビーズではオリゴヌクレオチドの濃縮は見られなかったが、BSA 磁気ビーズや BSA-L2 ペプチド磁気ビーズではオリゴヌクレオチドの濃縮が見られた。これらのオリゴヌクレオチドと HPV16 中空粒子磁気ビーズの結合を調べるとオリゴヌクレオチドは非特異的に結合した。L2 ペプチドに結合するオリゴヌクレオチドの同定には、BSA 磁気ビーズと BSA-L2 ペプチド磁気ビーズ各々に結合するオリゴヌクレオチドの配列を大量に取得し差分を得るか、低頻度に存在するものを選択できる大規模なスクリーニングが必要であると考えられた。(竹内隆正)

4. HPV 感染による発癌機構の研究

(1) HPV による APOBEC3B 発現活性化に関する研究

様々な臓器の癌で、細胞の DNA/RNA 改編酵素である APOBEC3B(A3B) が高発現していることが示され、発癌との関連が注目されている。特に、HPV 感染が原因となる子宮頸癌や頭頸部癌で A3B の高発現が認められていることから、HPV の癌蛋白質である E6 及び E7 が A3B の発現に与える影響を調べた。正常ヒト角化細胞で HPV16 の E6 又は E7 を発現させると、A3B mRNA の発現が上昇した。レポーター実験で、HPV16 E6 又は E7 は、A3B プロモーターを活性化した。HPV の癌蛋白質が A3B の発現を活性化することにより、宿主ゲノムへの変異導入を促進することが示唆される。(森　清一郎、柊元　巖)

(2) 3D-PCR 法による HPV ゲノム変異解析

HPV16 陽性の子宮頸部病変の臨床検体を用いて、HPV16 ゲノムの E2 領域の A/T hypermutation について、Differential DNA Denaturation-PCR(3D-PCR) 法により検討した。軽度病変 (CIN1) 11 例および高度病変 (CIN3) 27 例において、E2 領域の A/T hypermutation が CIN1：4

例（36%）、CIN3：7 例（26%）で検出された。子宮頸部の HPV16 感染病変において、APOBEC3 が変異導入に関わっている可能性が示唆される。（柊元　巌、近藤一成[NTT 東日本病院]、若江亭祥[金沢大学医学部]、村松正道[金沢大学医学部]）

(3) 次世代シークエンサーを用いた HPV ゲノム解析

次世代シークエンサー（MiSeq）により、CIN 患者から採取した子宮頸部擦過細胞に含まれる HPV16 ゲノムの多様性を解析した。8 検体の全長 HPV16 ゲノム配列を解読したところ、系統樹解析の結果、variant 型として Asian 型（5 例）と European 型（3 例）が検出された。また 1 例では、HPV16 ゲノムの非コード領域に 0.5-6%の頻度の塩基配列の多様性が認められた。さらに 1 例で、HPV16 ゲノムの細胞 PDE4D 遺伝子への組込みが検出された。（柊元　巌、松本光司[筑波大学医学部]、小笠原由美子、関塚剛史、黒田　誠）

II. 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　巌）

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) ノロウイルスのゲノム解析

本研究では、ノロウイルス流行株の全ゲノム情報を基にゲノムと蛋白質を解析し、流行株の特性の理解と制御に役立てる。本年度は、パンデミック株 GII.4_2006b について、2006-2011 年の間に収集したゲノム全長配列（N=250）の多様性の経時変化を解析した。その結果、ゲノム配列は年々多様性が増大する一方で、一般には高度可変とされるカプシド蛋白質は流行の間にほとんど変化しないことを見出した。カプシドは、5 年間、酵素（3Cpro、3Dpol、NTPase）と同程度に高度に保存され続けた。カプシド配列のハミング距離の顕著な増加は無く、アミノ酸置換の蓄積は強く抑制されていた。全国規模で流行するノロウイルスは、その高い適応度を維持するために固有のカプシド構造を変えないと考えられる。パンデミック株の流行時のカプシドの変化が強く抑制されるのであれば、流行株の検出法やワクチンの有効性が保たれることが期待される（佐藤裕徳、中村浩美、横山勝、本村和嗣[日本・タイ共同研究センター]、岡智一郎[ウイルス２部]、片山和彦[ウイルス２部]、武田直和[日本・タイ共同研究センター]、野田衛[国立医薬品食品衛生研究所]、田中智之[堺市衛生研究所]）

IV. *in silico* 構造解析を用いた基礎・応用研究

1) HIV-1 gp120 の構造制御機構の解析

本研究では、抗体逃避と細胞指向性決定を担う HIV-1 Env gp120 の立体構造制御機構を研究する。Gp120 の V1/V2 領域は通常～93 アミノ酸残基から成り、gp120 コアの外側に位置する。その機能はよくわかっていない。本年度は、V1/V2 が gp120 構造の揺らぎに与える影響を分子動力学計算により解析した。V1/V2 の有無によるゆらぎの変化を根平均二乗ゆらぎ(RMSF)により調べた。V1/V2 が無いときは、有るときに比べて全体的に RMSF は増加し、特に V3 の RMSF は４倍増加していた。ゆえに、V1/V2 は gp120 の安定性に寄与し、特に V3 ループのゆらぎを抑える働きがあると考えられる。（横山勝、佐藤裕徳）

2) マウスノロウイルスプロテアーゼの基質認識機構の解析

ヒトノロウイルスは、培養細胞を用いた増殖系が無い。一方、マウスノロウイルスは培養細胞で増殖できる。本研究では、マウスノロウイルス増殖系をヒトノロウイルス増殖阻害剤のスクリーニングに使う際の基盤情報収集を目的として、マウスノロウイルスプロテアーゼの基質認識機構を計算科学的手法により解析した。マウスノロウイルスでは、基質切断部位上流１番目の残基はプロテアーゼのアミノ酸残基と水素結合を形成し、２番目の残

基および４番目の残基は疎水性結合により認識されることが明らかになった。ヒトノロウイルスにおいても同様の結果が得られた。したがって、基質認識を模倣した阻害剤であれば、マウスノロウイルス増殖系をヒトノロウイルス増殖阻害剤のスクリーニングに使うことができると考えられる。(横山　勝、岡　智一郎[ウイルス２部]、片山和彦[ウイルス２部]、佐藤裕徳)

3) HIV-1 感染霊長類モデル構築の支援

本研究では、HIV-1 感染霊長類モデル構築に必要な基盤情報を収集する。HIV-1 のサル細胞での複製は、APOBEC3, TRIM5α/TRIM5CypA, tetherin 等の抗ウイルス因子により抑制される。我々は、徳島大学の足立らのグループと共同で、サル細胞で効率良く増殖するサル指向性 HIV-1（HIV-1mt）の構築に取組んでいる。足立らは HIV-1 のサル細胞への馴化実験と変異導入解析、我々は計算科学によるサル抗ウイルス因子耐性変異の探索を行い、両者の成果を相互に還元しながらサルの抗 HIV 因子耐性ウイルスの作製を試みている。今回、アカゲザル細胞の主な感染抑制因子全てに耐性を示す最初の HIV-1（MN4/LSDQgtu）の作製に成功した。この HIV-1 クローンは、我々がこれまで報告した中で最もサル細胞での増殖能に優れていた HIV-1mt クローンの Gag と Vpu を改変したもので、カプシドに３つの変異（M94L/R98S/G114Q）をもち、かつ Vpu が SIVgsn166 由来である。(横山 勝、佐藤裕徳、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大])

4) インフルエンザウイルスのリスク管理支援（１）

本研究では、新型インフルエンザウイルスの遺伝情報から蛋白質立体構造情報を抽出し、ウイルスのリスクを予測する新しい方法を研究する。成果をサーベイランス組織に提供し、危機管理に役立てる。平成 25 年 5 月、中国で鳥インフルエンザウイルス A(H7N9)のヒトへの感染が報告された。その時点で、A(H7N9)は大規模な流行には至らなかった。しかし、今後、変異を蓄積することで、ヒト-ヒト伝播効率の高い流行株が生じる可能性が危惧された。類縁の鳥インフルエンザウイルス H5N1 では、HA タンパク質の性質変化（感染受容体指向性の変化、および三量体安定性の変化)がヒト-ヒト伝播効率を高める要因の一つになったと指摘されている。そこで、鳥インフルエンザウイルス H7N9 の HA タンパク質において、上記の変化をもたらしうる変異を包括的に抽出した。その結果、H7N9 ウイルスの受容体指向性の変化を誘起しうる変異として 44 種類の変異を特定し、H7N9 ウイルスの HA タンパク質三量体の安定化を誘起しうる変異として 14 種類の変異を特定した。その後のインフルエンザウイルス研究センターの監視で、その後中国で散発的に発生した A(H7N9)はこれらの変異をもたないこと、したがって現時点では大規模な拡散のリスクは低いことが確認された。（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)

5) インフルエンザウイルスのリスク管理支援（２）

平成 25 年 11～12 月、札幌でオセルタミビル／ベラミビル耐性株が６株検出された（散発例）。同株は、全て NA 蛋白質に既知の H275Y 耐性変異をもち、分離ウイルスもオセルタミビル／ベラミビル耐性を示した。さらに、NA 蛋白質の安定性を昂進することでウイルスの伝播能を向上しうるとの報告がある部位が、未報告のアミノ酸に変異していた（N386K）。そこで、N386K 変異の構造安定性への影響を解析し、伝播能向上のリスクを考察した。アミノ酸置換前後のΔΔG を指標として変異による NA 構造安定性の変化を調べた。残基 386 がリジンだと（札幌耐性株）NA 安定性は低下することが示唆された。したがって剤耐性株が 386K 変異をもたない感受性株より速やかにヒトに拡散するリスクは低いと判断した。その後のインフルエンザウイルス研究センターの監視で、札幌耐性株の全国的な拡散はおきていないことが確認された。（横山　勝、高下恵美[インフルセンター]、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・薬剤耐性菌対策としての超高速ゲノム解析システムの構築

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。また、近年問題となっている *Salmonella* を含む薬剤耐性菌のゲノム情報解析にも取り組んでいる。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炭疽菌およびサルモネラ菌の分子疫学解析を行うための情報解析パイプライン (Global core Genome SNP Analysis *Bacillus anthracis*: GcoGSA-BA および Global core Genome SNP Analysis *Salmonella*: GcoGSA-SA) を構築した。膨大な量の配列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。

（関塚剛史、山下明史、黒田誠）

VI. 薬剤耐性プラスミドを検出し、由来を推定するためのシステムの構築

近年、複数の抗菌薬に耐性を持つ細菌の出現が問題になっており、国連でも大きく取り上げられている。細菌に薬剤耐性を付与する遺伝子はプラスミド(薬剤耐性プラスミド)を媒介として異なる種類の細菌にも伝達されるため、尿路感染症・肺炎・血流感染などの日和見感染症を起こす細菌だけでなく、環境中に存在する細菌などが持つ薬剤耐性プラスミドの動向を把握することが重要である。薬剤耐性プラスミドの分離・シークエンシングは次世代シークセンサーの出現などにより大量に行うことができるようになってきたものの、薬剤耐性プラスミド遺伝子の発見・解析及び他の薬剤耐性プラスミドとの比較を行うには、高度な専門知識を持つ研究者が煩雑なコマンドライン操作を慎重に行う必要があり、一度に解析できるプラスミドの数には限界があった。そこで我々は総合的なプラスミド解析を Web ブラウザ上で行えるシステム（Global Plasmidome Analyzing Tool: GPAT 及び inter Plasmid Analyzing Tool: iPAT)を構築した。このシステムの構築により、研究者は煩雑なコマンドライン操作を行う必要がなくなり、Web ブラウザ上でのマウス操作で大量のデータを簡単に比較・解析できるようになった。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠、鈴木里和「細菌第二部」、松井真理「細菌第二部」）

VII. 不明症例に係る網羅的病原体検索の情報解析パイプラインの構築

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)の改良

昨年度構築した MePIC を所内で仮運用し、様々な改良を行い、MePIC バージョン２として、全世界の行政及びアカデミックユーザーを対象に公開した。具体的には、ユーザーインターフェイスの改良、解析手法の追加、及び履歴機能の追加などを行った。これらの改良により、情報解析に習熟していない検査技師であっても簡単な講習会を受けることにより、より簡便に利用できるようになることが期待される。

（山下明史、関塚剛史、竹内史比古、黒田誠）

VIII. 集団食中毒事例に係る病原細菌のゲノム解析

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、λファージを含む 10 カ所の gap 箇所を残すのみであり、保有する 7 つの plasmid の完全長配列が得られた。その内、2 つ plasmid 上に、病原因子と予測される 2 つの Type V secretion system 型の protease（EpeA および EspC）がそれぞれ 1 つずつ存在していた。また、EpeA が存在する plasmid には、テトラサイクリン、アンピシリン、ストレプトマイシン耐性に関わる薬剤耐性遺伝子も存在していた。更に、本菌には Colicin-E5 プラスミドも存在していた。本菌の有する plasmid の特徴と、これまで報告されていた薬剤耐性試験およびコリシン活性試験の結果が一致した。染色体配列のみならず、plasmid も含めた包括的な解析を行い、本菌の特徴を解析する必要があると示唆された。

（関塚剛史、黒田 誠、竹内史比古、大西 真[細菌第一部]、綿引正則[富山県衛生研究所]、磯部順子[富山県衛生研究所]、佐多徹太郎[富山県衛生研究所]）

IX. 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、ミトコンドリア遺伝子の多型により、ナナホシクドアが ST1 と ST2 の二つの系統に分類できることを明らかにした。韓国産成魚の殆どが ST1 であった。二系統の間で、食中毒病原性の違いは検出されなかった。また、ナナホシクドア２検体と *Kudoa neothunni, Kudoa iwatai* について、次世代 DNA シーケンサを用いてミトコンドリアゲノムと核ゲノムの配列解読を行った。ミトコンドリアゲノムについては、ナナホシクドアの種内では塩基配列の 96～99%が同一であることを明らかにした。一方、クドアの種間では遺伝子領域のみが保存されていた。これらの遺伝子配列の違いは、検出系開発や疫学解析に応用できる。

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 83Mb で 3 本の染色体からな

ることが分かり、また二倍体であることが示唆された。
（竹内史比古、関塚剛史、小笠原由美子、黒田 誠、野崎智義[寄生動物部]、大西真[細菌第一部]、小西良子[麻布大学]、大西貴弘[国立医薬品食品衛生研究所]）

X. 宿主特異性を示す細菌のゲノム解析

Salmonella 属菌は、三類感染症に指定される *S.* Typhi および *S.* Paratyphi A と、細菌性食中毒を起こすものに大別され、2,500 以上の血清型が存在する。本菌は、複数の宿主に対して病原性を示す血清型が存在するが、幾つかの血清型においては、宿主特異性が認められている。そこで、馬パラチフスの起因菌であり、馬以外の動物からの分離報告は稀である *S.* Abortusequi の全ゲノム塩基配列解析を行った。染色体のサイズは 4,738,978 bp、GC 含量 52%で 4,710 の ORF が抽出された。コアゲノムの一塩基多型に基づく系統解析では *S.* Abortusequi は *S.* Choleraesuis 及び *S.* Paratyphi C と近縁であることが示唆された。プラスミドのサイズは 93,820 bp、GC 含量 53%で、117 の ORF が抽出され、*S.* Typhimurium が保有する病原性プラスミド pSLT とほぼ同一であった。他血清型との pangenome 解析により、*S.* Abortusequi を含む一部血清型が保有または欠失する遺伝子を抽出し、馬への宿主特異性に関連することが予想される領域を推定した。
（関塚剛史、三好洋嗣[佐賀県中部家畜保健衛生所]、丹羽秀和[JRA 競走馬総合研究所]、木下優太[JRA 競走馬総合研究所]、黒田誠、楠本正博[動物衛生研究所]、李謙一[動物衛生研究所]、岩田剛敏[動物衛生研究所]、針生和久[JRA 競走馬総合研究所]、片山芳也[JRA 競走馬総合研究所]、秋庭正人[動物衛生研究所]）

XI. 難治性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。UC 患者２８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、抗菌剤治療前では *Bacteroides, Escherichia* が多い傾向を示した。現在、更に検体数を増やし、治療前後の比較解析を行う予定である。

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、２８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、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。患児 P7 の急性期便からレンサ球菌の分離培養分離し、７株のゲノム分子系統の結果、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」、濱田洋通「東京女子医大」）

XII. 難培養細菌分離培養のための基礎的研究

地球上に存在する細菌の内、現在までに分離培養可能な細菌の割合は非常に少ない。ヒト腸管内に生存する腸内細菌においても、難培養細菌は多く含まれている。そこで、ヒト腸管内の環境成分に類似した培地を作製し、難培養細菌の培養が可能かを検討している。パターンを変えた培地を作製し、ヒト糞便内の細菌を培養したところ、ある特有の細菌が増殖する事が示唆された。
（関塚剛史、黒田　誠）

XIII. 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髄膜炎、不明熱等症例の依頼検査について、計９件の検査を行った。

厚労研究班（H25-新興-指定-006）の分担として、 計１１症例の不明脳炎の髄液、血清、咽頭拭い液、便、尿等の検査材料から 次世代シークエンサー(NGS)を用いた網羅的病原体検査を施行した。脳炎に関与する Human herpesvirus 6 は DNA ウイルスであるが、DNA よりもむしろ RNA を解読(RNA-seq)するほうが転写産物の特定に繋がりかつ感度も高い事が判明し、RNA-seq を基本とする NGS 検査法を採用した。不明脳炎症例から、Coxsackievirus B4 を特定するなど、既存検査プライマーでは検出できない変異 RNA ウイルスの特定につながった。
（黒田　誠、関塚剛史、片野晴隆「感染病理部」）

XIV. 所内ゲノムプロジェクト

H25 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 5 課題を遂行した。

- HCV(JFH-1 株)感染感受性の変化した Huh7.5.1 由来亜株の RNA-Seq 解析（細胞化学部　深澤征義）
- 全ゲノム解読法を活用した次世代結核菌型別分析法　（感染制御部　星野仁彦）
- 我が国のアシネトバクター属菌の実態調査とゲノム解析　（細菌第二部　鈴木仁人）

- インフルエンザウイルス特異的免疫応答の誘導に有用な腸内細菌の探索　（感染病理部　一戸猛志、鈴木忠樹）
- コウモリ細胞のトランスクリプトーム解析を用いた自然免疫関連遺伝子群の解明とコウモリウイルス分離用細胞株作出への応用（動物管理室　河合康洋）

（関塚剛史、竹内史比古、黒田　誠）

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)の審査を実施した。(石井克幸、竹内隆正、松尾理加、柊元　巌、黒田　誠)

海外検定機関の訪問調査

海外のワクチン検定制度の状況を調査するために、オーストラリアのロットリリース機関である Therapeutic Goods Administration（TGA）への訪問調査を実施した。TGA はロットリリースだけではなく､承認審査､GMP 査察、市販後調査も担当しており、各部門の情報共有と連携が容易な仕組みになっていた。またロットリリースにおいて SLP 審査が必須条件になっており、試験の実施は限定的であることが分かった。(柊元　巌、藤田賢太郎[品質保証室])

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、西太平洋地域リファレンスラボとしての活動を行った。HPV ラボネットが主催する HPV DNA proficiency panel に参加して、解析結果を WHO に返し、十分な能力をもつリファレンスラボとして認定を受けた。(東　由香里、松尾理加、柊元　巌)

発 表 業 績 一 覧

I.　誌 上 発 表

1.　欧文発表

1) Kukimoto I, Maehama T, Sekizuka T, Ogasawara Y, Kondo K, Kusumoto-Matsuo R, Mori S, Ishii Y, Takeuchi T, Yamaji T, Takeuchi F, Hanada K and Kuroda M. Genetic Variation of Human Papillomavirus Type 16 in Individual Clinical Specimens Revealed by Deep Sequencing. PLoS One, 8: e80583, 2013.

2) Ishii Y, Nakahara T, Kataoka M, Kusumoto-Matsuo R, Mori S, Takeuchi T and Kukimoto I. Identification of TRAPPC8 as a Host Factor Required for Human Papillomavirus Cell Entry. PLoS One, 8: e80297, 2013.

3) Wang Z, Wakae K, Kitamura K, Aoyama S, Liu G, Koura M, Monjurul A, Kukimoto I and Muramatsu M. APOBEC3 deaminases induce hypermutation in human papillomavirus type 16 DNA upon β-interferon stimulation. J. Virol, 88: 1308-1317, 2014.

4) Kusumoto-Matsuo R, Ghosh D, Karmakar P, May A, Ramsden D and Bohr VA. Serines 440 and 467 in the Werner syndrome protein are phosphorylated by DNA-PK and affects its dynamics in response to DNA double strand breaks. Aging, 6: 70-81, 2014.

5) Mori S, Kusumoto-Matsuo R, Ishii Y, Takeuchi T and Kukimoto I. Replication interference between human papillomavirus types 16 and 18 mediated by heterologous E1 helicases. Virology J, 11: 11, 2014.

6) Fujisaki S, Imai M, Takashita E, Taniwaki T, Xu H, Kishida N, Yokoyama M, Sato H, Tashiro M, Odagiri T. Mutations at the monomer–monomer interface away from the active site of influenza B virus neuraminidase reduces susceptibility to neuraminidase inhibitor drugs. ***J. Infect. Chemother.***, 2013.

7) Kuwata T, Takaki 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):5424-36, 2013.

8) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H. *TRIM5* genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. ***J. Gen. Virol.***, 94:1318-1324, 2013.

9) Yuan Y, Yokoyama M, Maeda Y, Terasawa H, Harada S, Sato H, Yusa K. Structure and Dynamics of the gp120 V3 Loop That Confers Noncompetitive Resistance in R5 HIV-1_{JR-FL} to Maraviroc. ***PLoS ONE***, 8(6): e65115, 2013.

10) Tsuchiya K, Ode H, Hayashida T, Kakizawa J, Sato H, Oka S, Gatanaga H. Arginine insertion and loss of N-linked glycosylation site in **HIV**-1 envelope V3 region

confer CXCR4-tropism. ***Sci Rep.*** 3:2389, 2013.

11) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Miyakawa K, Ryo A, Ode H, Iwatani Y, Miura T, Igarashi T, Sato H, Adachi A. Generation of rhesus macaque-tropic HIV-1 clones that are resistant to major anti-HIV-1 restriction factors. ***J. Virol.***, 87(21):11447-111461, 2013. (The first two authors contributed equally)

12) Koyama T, Arias JF, Iwabu Y, Yokoyama M, Fujita H, Sato H, Tokunaga K. APOBEC3G Oligomerization Is Associated with the Inhibition of Both Alu and LINE-1 Retrotransposition. ***PLoS ONE***, 8(12): e84228, 2013.

13) Burwitz B, Wu H, Reed J, Hammond K, Newman L, Bimber B, Nimiyongskul F, Leon E, Maness N, Friedrich T, Yokoyama M, Sato H, Matano T, O'Connor D, Sacha J. Tertiary mutations stabilize CD8+ T lymphocyte escape-associated compensatory mutations following transmission of simian immunodeficiency virus. ***J. Virol.***, 88(6):3598-3604, 2014.

14) Motozono C, Yokoyama M, Sato H, Ueno T. Cross-reactivity analysis of T cell receptors specific for overlapping HIV-1 Nef epitopes of different lengths. ***Microbes Infect.***, 16:320-327, 2014.

15) Kudoh A, Takahama S, Sawasaki T, Ode H, Yokoyama M, Okayama A, Ishikawa A, Miyakawa K, Matsunaga S, Kimura H, Sugiura W, Sato H, Hirano H, Ohno S, Yamamoto N,Akihide Ryo. The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. ***Retrovirology***, 11:9, 2014.

16) Uda A, Sekizuka T, Tanabayashi K, Fujita O, Kuroda M, Hotta A, Sugiura N, Sharma N, Morikawa S, Yamada A. Role of pathogenicity determinant protein C (PdpC) in determining the virulence of the *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* SCHU. *PLoS One*. 2014 Feb 18;9(2):e89075.

17) Otsuki N, Nakatsu Y, Kubota T, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kuroda M, Yamaguchi R, Takeda M. The V protein of canine distemper virus is required for virus replication in human epithelial cells. *PLoS One*. 2013 Dec 17;8(12):e82343.

18) Nakanaga K, Sekizuka T, Fukano H, Sakakibara Y, Takeuchi F, Wada S, Ishii N, Makino M, Kuroda M, Hoshino Y. Discrimination of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* from *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* in clinical isolates by multiplex PCR. J Clin Microbiol. 2014 Jan;52(1):251-9.

19) Rimbara E, Matsui M, Mori S, Suzuki S, Suzuki M, Kim H, Sekizuka T, Kuroda M, Shibayama K. Draft Genome Sequence of *Helicobacter fennelliae* Strain MRY12-0050, Isolated from a Bacteremia Patient. Genome Announc. 2013 Aug 8;1(4). pii: e00512-13. doi: 10.1128/genomeA.00512-13.

20) Kai M, Nakata N, Matsuoka M, Sekizuka T, Kuroda M, Makino M. Characteristic mutations found in the ML0411 gene of *Mycobacterium leprae* isolated in Northeast Asian countries. Infect Genet Evol. 2013 Oct;19:200-4.

21) 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.

22) Takeuchi F, Sekizuka T, Yamashita A, Ogasawara Y, Mizuta K, Kuroda M. MePIC, Metagenomic Pathogen Identification for Clinical Specimens. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 67(1):62-65, 2014.

23) Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M. Characterization of Antimicrobial Resistance Dissemination across Plasmid Communities Classified by Network Analysis. *Pathogens*. 3(2):356-376, 2014

24) Mather AE, Reid SW, Maskell DJ, Parkhill J, Fookes MC, Harris SR, Brown DJ,Coia JE, Mulvey MR, Gilmour MW, Petrovska L, de Pinna E, Kuroda M, Akiba M, Izumiya H, Connor TR, Suchard MA, Lemey P, Mellor DJ, Haydon DT, Thomson NR. Distinguishable epidemics of multidrug-resistant Salmonella Typhimurium DT104 in different hosts. Science. 2013 Sep 27;341(6153):1514-7.

25) Mizuta K, Yamakawa T, Nagasawa H, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Shimizu Y, Ito S, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Kuroda M, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infection among adults occurs during an outbreak among children: findings from Yamagata, Japan, in 2011. J Clin Virol. 2013 Sep;58(1):188-93.

26) Tsukagoshi H, Yokoi H, Kobayashi M, Kushibuchi I, Okamoto-Nakagawa R, Yoshida A, Morita Y, Noda M, Yamamoto N, Sugai K, Oishi K, Kozawa K, Kuroda M, Shirabe K, Kimura H. Genetic analysis of attachment glycoprotein (G) gene in new genotype ON1 of human respiratory syncytial virus detected in Japan. Microbiol Immunol. 2013 Sep;57(9):655-9.

27) Kushibuchi I, Kobayashi M, Kusaka T, Tsukagoshi H, Ryo A, Yoshida A, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Yamamoto N, Kanou K, Saitoh M, Noda M, Kuroda M, Morita Y, Kozawa K, Oishi K, Tashiro M, Kimura H. Molecular evolution of attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus detected in Japan 2008-2011. Infect Genet Evol. 2013 Aug;18:168-73.

2. 和文発表

1) 柊元　巖、HPV による発癌の分子機構、産科と婦人科、Vol. 80, No. 6, 701-705, 2013.

2) 黒田　誠。「メタゲノム解析による次世代型網羅的病原体検出の取り組み」　医学書院・検査と技術 Laboratory Practice. 2014 年 04 月号(Vol.42 No.4)

3) 黒田　誠。「メタゲノム解析による網羅的病原体検索」科学評論社　感染症内科　第１巻第１号（2013 年 7 月）

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Mori S, Kusumoto-Matsuo R and Kukimoto I. Molecular mechanism of replication interference between HPV16 and HPV18. DNA Tumour Virus Meeting(2013 年 7 月、バーミンガム)

2) Wang Z, Wakae K, Kitamura K, Liu G, Kukimoto I and Muramatsu M. APOBEC3 deaminases induce hypermutation in human papillomavirus type 16 DNA. DNA Tumour Virus Meeting（2013 年 7 月、バーミンガム）

3) Kubo Y, Shigematsu S, Kamiyama H, Izumida M, Yashima Y, Hayashi H, Sato H, Yamamoto N, Matsuyama T. Identification of a novel interferon-stimulated gene whose product significantly restricts HIV-1 replication. **Cold Spring Harbor Meeting**, May 20-25, 2013, NY USA.

4) Sato H, Yokoyama M, Motomura K, Nakamura H, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Tanaka T, and the Norovirus Surveillance Group of Japan. Selective constraints on changes of a norovirus pandemic lineage GII.4_2006b. **The Fifth International Calicivirus Conference**, October 12- 15, 2013, Beijing, China.

5) Motomura K, Ode H, Yokoyama M, Nakamura H, Sato A, Katayama K, Noda M, Takeda N, Tanaka T, Sato H and the Norovirus Surveillance Group of Japan. Deep Sequencing-based analysis of minor variants in norovirus infection cases with acute gastroenteritis. **The Fifth International Calicivirus Conference**, October 12- 15, 2013, Beijing, China.

6) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Sato H. Structural basis of substrate specificity in murine norovirus protease suggested by molecular dynamics simulation. **The Fifth International Calicivirus Conference**, October 12- 15, 2013, Beijing, China.

7) Koyama T, Arias JF, Iwabu Y, Yokoyama M, Fujita H, Sato H, and Tokunaga K. APOBEC3G oligomerization is associated with the inhibition of Alu and LINE-1 retrotransposition. Keystone Symposia: Mobile Genetic Elements and Genome Evolution, March 9-14, 2014, Santa Fe, New Mexico, USA.

8) Ishida K, Matsuo J, Hayashida K, Sekizuka T, Kuroda M, Takeuchi F, Nagai H, Sugimoto C, Yamaguchi H. A unique genome feature of an amoebal endosymbiotic primitive chlamydia, *Neochlamydia*, showing intimate mutualistic interaction with *Acanthamoeba*. 113th ASM general meeting. May 18-21, 2013, Denver, USA.

9) M. Kai, N. Nakata, G. T. Chae, P. Saunderson, A. A. Maghanoy, M. F. Balagon, M. Matsuoka, T. Sekizuka, M. Kuroda, M. Makino. Characteristic SNPs in *Mycobacterium leprae* isolated in Japan. The 18th International Leprosy Congress. 16-19 September, 2013. Brussels, Bergy.

10) Makoto Kuroda. Metagenomic analysis for the clinical investigation of possible pathogens. The 12th Japan-Korea International Symposium on Microbiology (XII-JKISM). 25 March, 2014. Tokyo, Japan.

11) Yasutoshi Kuroki, Junji Matsuo, Kasumi Ishida, Tomohiro Yamazaki, Chikayo Yamane, Shinji Nakamura, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Hiroki Nagai, Chihiro Sugimoto, Hiroyuki Yamaguchi. Amoebal endosymbiont Neochlamydia restricts

Legionella growth in its host amoebae. The 12th Japan-Korea International Symposium on Microbiology (XII-JKISM). 25 March, 2014. Tokyo, Japan.

12) Noriyuki Otsuki, Tsuyoshi Sekizuka, Toru Kubota, Yuichiro Nakatsu, Fumio Seki, Kouji Sakai, Ryouji Yamaguchi, Hideo Fukuhara, Katsumi Maenaka, Makoto Kuroda, Makoto Takeda. Both the C and V proteins of canine distemper virus play essential roles for the virus replication in human epithelial cells. 16 - 21 June 2013, Granada, Spain

13) Tsuyoshi Sekizuka, Akihiko Yamamoto, Takako Komiya, Tsuyoshi Kenri, Fumihiko Takeuchi, Keigo Shibayama, Motohide Takahashi†, Makoto Kuroda and Masaaki Iwaki. *Corynebacterium ulcerans* 0102 carries the gene encoding diphtheria toxin on a prophage different from the *C. diphtheriae* NCTC 13129 prophage. 22 June – 26 June 2013: European Workshop on Bacterial Protein Toxins (ETOX16), Freiburg im Breisgau, Germany.

2. 国内学会

1) 柊元　巖、森　清一郎、近藤一成：個々の臨床検体における HPV16 ゲノム多様性の解析、第 72 回日本癌学会学術総会（2013 年 10 月、横浜）

2) 近藤一成、佐藤奈加子、角田　肇、森　清一郎、竹内隆正、石井克幸、柊元　巖：子宮頸部細胞診異常者の年齢と HPV 型の関連における検討、第 72 回日本癌学会学術総会（2013 年 10 月、横浜）

3) 森　清一郎、松尾理加、柊元　巖：ヒトパピローマウイルス 16 型と 18 型間での複製干渉機構、第 61 回日本ウイルス学会学術集会（2013 年 11 月、神戸）

4) 石井克幸、中原知美、森　清一郎、竹内隆正、柊元巖、松尾理加：HPV キャプシド副構成蛋白質 L2 は TRAPPC8 の機能を阻害する、第 61 回日本ウイルス学会学術集会（2013 年 11 月、神戸）

5) 松尾理加、森　清一郎、前濱朝彦、柊元　巖：ヒトパピローマウイルス 16 型 E1 タンパク質に結合する細胞チロシンキナーゼの同定、第 61 回日本ウイルス学会学術集会（2013 年 11 月、神戸）

6) 村松正道、青山　彗、王　哲、喜多村晃一、アハサン　モハメッド、劉　光炎、中村充弘、京　哲、柊元　巖、近藤　悟、吉崎智一：HPV16 ウイルス DNA に観察される高頻度突然変異、第 61 回日本ウイルス学会学術集会（2013 年 11 月、神戸）

7) 若江亨祥、青山　慧、王　哲、喜多村晃一，劉 光炎、アハサン　モハメッド、中村充弘、京 哲、柊元 巖、村松正道：APOBEC3 は HPV ゲノムに hypermutation を導入する、日本生化学会北陸支部第 31 回大会、（2013 年 5 月、金沢）

8) 石井克幸：ヒトパピローマウイルス偽ウイルスはユニークなオートファゴソームを誘導する、第 36 回日本分子生物学会年会（2013 年 12 月、神戸）

9) 若江亨祥、青山　慧、Wang Zhe、Liu Guangyan、Ahsan Monjurul、今康美依子、小浦美樹、喜多村晃一、中村充弘、京 哲、近藤　悟、吉崎智一、柊元　巖、西山智明、村松正道：APOBEC3 はヒトパピローマウイルス(HPV)-16 ゲノムに突然変異を導入する、第 36 回日本分子生物学会年会（2013 年 12 月、神戸）

10) 野間口雅子，三宅在子，土肥直哉，藤原佐知，宮崎恭行，横田恭子，横山　勝，佐藤裕徳，増田貴夫，足立昭夫．HIV-1 *pol* (4895-4933)の 1 塩基置換によるウイルス複製制御機構の解析．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日(火-木)、神戸．

11) Juan F Arias、小山貴芳、横山　勝、佐藤裕徳、徳永研三．APOBEC3G の二量体化は LINE-1 転移抑制に重要である．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日（火-木)、神戸．

12) 久保嘉直、神山陽香、泉田真衣、田中勇悦、安井潔、佐藤裕徳、山本直樹、松山俊文、林日出喜．インターフェロンγ誘導因子 GILT による HIV 粒子産生抑制機構の解明．第 61 回日本ウイルス学会学術集会．2013 年 11 月 10-12 日（火-木)、神戸．

13) 佐藤裕徳、横山　勝、本村和嗣、中村浩美、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田衛、田中智之．ノロウイルス GII.4_2006b のカプシドと酵素に働くアミノ酸変化の制約．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日（火-木)、神戸．

14) 本村和嗣、横山　勝、大出裕高、中村浩美、佐藤彩、岡　智一郎、片山和彦、野田　衛、武田直和、田中智之、佐藤裕徳、Norovirus Surveillance Group of Japan．ノロウイルス感染者体内における混合感染の実態．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日（火-木)、神戸．

15) 横山　勝、岡　智一郎、片山和彦、佐藤裕徳．分子動力学法によるマウスノロウイルスプロテアーゼの基質認識機構の解析．第 61 回日本ウイルス学会学術集会，2013 年 11 月 10-12 日（火-木)、神戸．

16) 横山　勝、佐藤裕徳．V1/V2 による HIV-1 gp120 の

ゆらぎに与える影響. 第36回日本分子生物学会年会, 013年12月3日～6日（火-金)、神戸.

17) 関塚剛史、丹羽秀和、黒田誠、楠本正博、李謙一、岩田剛敏、秋庭正人。馬パラチフス原因菌 *Salmonella* Abortusequi のゲノム生物学的特徴。第87回日本細菌学会（江戸川区　2014年3月）

18) 鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、黒田誠、柴山恵吾。アシネトバクターの薬剤耐性と拡散メカニズム。第87回日本細菌学会(江戸川区　2014年3月）

19) 泉谷秀昌、関塚剛史、黒田誠、大西真。サルモネラ病原因子パネルの検討について。第87回日本細菌学会（江戸川区　2014年3月）

20) 黒木靖敏、松尾淳司、石田香澄、山崎智拡、中村眞二、関塚剛史、黒田誠、永井宏樹、杉本千尋、山口博之。あるアメーバは *Legionella* 感染を回避するために *Neochlamydia* を内部共生させている。第87回日本細菌学会（江戸川区　2014年3月）

21) 小笠原由美子、藤本浩文、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$_{MIR-KINAN}$ の解析。第87回日本細菌学会（江戸川区　2014年3月）

22) 甲斐雅規、中田登、関塚剛史、黒田誠、牧野正彦。らい菌日本分離株で発見された特徴的な SNPs の解析。第87回日本細菌学会（江戸川区　2014年3月）

23) 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連鎖球菌 *Streptococcus intermedius* TYG1620 のゲノム解析。第87回日本細菌学会(江戸川区　2014年3月）

24) 山下明史、関塚剛史、黒田誠。プラスミドネットワーク解析：プラスミド上の遺伝子の水平伝播ネットワーク解析。第87回日本細菌学会（江戸川区 2014年3月）

25) 綿引正則、木全恵子、磯辺順子、関塚剛史、黒田誠、大西真、佐多徹太郎。II 型制限修飾遺伝子をもつStx2プロファージを保有する溶原菌が産生する制限酵素の部分精製。第87回日本細菌学会（江戸川区　2014年3月）

26) 山下明史、関塚剛史、黒田誠。Comprehensive analysis of horizontal plasmid transfer based on a component network analysis: Plasmidome network analysis.　第３６回日本分子生物学会年会（神戸市　2013年12月）

27) 甲斐雅規、中田　登、松岡正典、関塚　剛史、黒田　誠、牧野正彦。SNPs 解析により示されたらい菌日本株ゲノムの特徴。第86回日本ハンセン病学会。（大宮市　2013年5月）

28) 片野晴隆、坂本康太、吉岡妙子、関塚剛、福本瞳、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田誠。カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス（KSHV/HHV-8）関連疾患におけるウイルス miRNA の発現。第102回日本病理学会総会。（札幌市 2013年6月）

29) 関塚剛史、三好洋嗣、丹羽秀和、木下優太、黒田誠、楠本正博、李謙一、岩田剛敏、針生和久、片山芳也、秋庭正人。馬パラチフス菌の全ゲノム塩基配列。第156回日本獣医学会学術集会。（岐阜市 2013年9月）

30) 阿部淳、黒田誠、中林一彦、高橋啓。川崎病患者の FFPE 肺組織を用いたメタゲノム解析。第33回日本川崎病学会・学術集会。　（富山市　2013年9月）

31) 野田雅裕、大場邦弘、斉藤真木子、阿部淳、黒田誠。川崎病様症状からショック状態となり TSS との鑑別に苦慮した12歳男児の1例。第33回日本川崎病学会・学術集会。　（富山市　2013年9月）

32) 陳内理生、原田哲也、河合高生、黒田誠、竹内史比古、久米田裕子。ミトコンドリア DNA を標的としたナナホシクドア検出法の開発。第34回日本食品微生物学会総会。（江戸川区　2013年10月）

33) 関塚剛史、三好洋嗣、丹羽秀和、木下優太、黒田誠、楠本正博、李謙一、岩田剛敏、針生和久、片山芳也、秋庭正人。完全長ゲノム配列決定による馬パラチフス菌のゲノム生物学的特徴。第96回日本細菌学会関東支部総会。(文京区　2013年10月）

34) 大槻紀之　中津祐一郎　久保田耐　関塚剛　關文緒　酒井宏治　黒田誠　山口良二　竹田誠。イヌジステンパーウイルスの V タンパクはヒト肺胞上皮細胞でのウイルス増殖において重要な役割を果たす。第 61 回日本ウイルス学会学術集会。（神戸市　2013年11月）

35) 片野晴隆、比島恒和2、坂本康太、上原妙子、佐藤由子、長谷川秀樹、関塚　剛、黒田誠。EBV 関連リンパ増殖性疾患におけるウイルス miRNA の発現プロファイル。第 61 回日本ウイルス学会学術集会。（神戸市　2013年11月）

36) 福本　瞳、都築慎也、佐藤典子、峰 宗太郎、望月眞、川名誠司、長谷川秀樹、黒田 誠、片野晴隆。日本人からの Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus のクローニング。第 61 回日本ウイルス学会学術集会。（神戸市　2013 年

11 月）

37） 大黒　徹、雄山由香利、矢島美彩子、関塚剛史、黒田誠、佐多徹太郎、武本眞清、白木公康。単純ヘルペスウイルス臨床分離株の次世代シークエンサーによる変異部位の網羅的解析。第 61 回日本ウイルス学会学術集会。（神戸市　2013 年 11 月）

38） 松井順子、伊藤麻美、新庄正宜、黒田誠、中原絵理、佐久間啓、武内俊樹、高橋孝雄。嫌気性菌感染が契機と推定される抗中枢神経抗体による自己免疫性脳炎の 1 例。第 60 回小児科関東地方会

III. 学会等（財団等を含む）の学術賞受賞者

なし

IV.研究助成金等（財団等の競争的資金）獲得者

なし

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 25 年 4 月 1 日付で白倉雅之、相内章が主任研究官に昇任し、藤崎誠一郎が任期付研究員から研究員に採用された。平成 25 年 4 月 18 日付で中内美名主任研究官が育児休業から職務復帰、平成 25 年 5 月 1 日付で武藤亜紀子が臨時採用、平成 25 年 6 月 1 日付で内藤忠相が任期付研究員として採用された。平成 25 年 8 月 20 日から浜本いつきが育児休業に入り、平成 25 年 9 月 30 日付で今井正樹主任研究官が退職、一方、平成 25 年 10 月 1 日付で鈴木康司が任期付研究員として採用された。平成 26 年 2 月 28 日付で徐紅主任研究官が退職、平成 26 年 3 月 31 日付で田代眞人センター長が定年退職、武藤亜紀子が退職した。

平成 25 年 3 月 31 日に鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスがヒトに感染し死亡例が発生した事実が中国当局から公式発表された。その後、中国ではヒト感染例が散発的ではあるが増加傾向にあり致死率が 30%を示すことが相次いで発表されたことを受け、センターでは本邦への A(H7N9)ウイルスの侵入と流行に備えて、インフルエンザウイルス遺伝子国際データベースから遺伝子情報を入手し、直ちに本ウイルスの PCR 検出検査系の構築と検査マニュアルの改訂および全国地衛研へのプライマー・プローブ配備に向けた準備を進めた。同時に、ウイルス遺伝子情報を基にしたリスク評価を実施した。その結果、本ウイルスは鳥に対しては低病原性の性質をもつが、ヒト型レセプターにも結合し易い性質とヒトの上気道温度での増殖性を支持するそれぞれの特徴的な遺伝子変異を獲得していることを明らかにし、鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスよりはパンデミックリスクの高いウイルスであることを中国当局に情報提供するとともに、世界に先駆けて情報公開した。世界保健機関（WHO）は、この情報を基に A(H7N9)ウイルスのリスク評価ガイドラインを発表し、WHO インフルエンザ協力センターを兼務する当センターからの迅速な情報発信は世界から高く評価された。一方、4 月中旬には A(H7N9)ヒト分離株が中国の WHO インフルエンザ協力センターから分与されたことから、事前準備を進めていた PCR 検出検査系の感度評価を実施し、全地衛研への実戦配備を 4 月下旬までに完了させた。並行してワクチン製造用ウイルスの開発をセンターの GMP 準拠ワクチン株製造施設で行い、フェレットへの感染実験による安全性確認試験を経て国内外のワクチン製造所へ無償配布した。また、東大医科研、北大獣医学部、動物衛生研究所等 14 研究機関と共同で各種動物への感染実験によるウイルスリスク評価を実施し、5 月中旬までにはパンデミックリスク評価に必要な全ての性状解析を完了させ、直ちに中国当局や WHO へ情報提供した。これらの情報は論文として 7 月に公表された。

流行動向調査（サーベイランス）事業は例年どおり地衛研、感染症疫学センター、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。また、本年度はインフ

ルエンザ PCR 検査の外部精度管理試験を全国地衛研に実施し、検査精度の見直しと改善への助言を行った。

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 への協力、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。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は、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構築として、細胞培養 H5N1 ワクチンの実用化を当初の予定通り平成 25 年度末までに完了した｡また細胞培養ワクチンに季節性インフルエンザワクチンを導入するために、製造用シードウイルスの作製法、安定供給戦略の企画、品質確保のための試験法の確立を進めた。さらに次世代ワクチンである経鼻粘膜ワクチンの実用化へ向けた小規模臨床試験に国内メーカーと協力して着手した。

国の新型インフルエンザ体制の基本対応として制定された新型インフルエンザ等対策特別措置法、同政令の実施運用に向けての作業に協力した。

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. 中国で発生した鳥インフルエンザウイルス A(H7N9)亜型についての遺伝子解析

2013 年 2 月に中国で発生した A(H7N9)ウイルスについて、公開された遺伝子塩基配列情報を用いて、病原性、ヒトへの感染リスク、抗インフルエンザ薬感受性等に関する解析を行った。その結果、トリに対して低病原性であること、ヒトに対して感染および増殖する能力を獲得している可能性が示された。また、国内で使用されている 4 種類の NA 阻害薬に対しては感受性を保持していることを示した。［藤崎誠一郎、影山努、高下恵美、徐紅、山田晋弥*、内田裕子**、Gabriele Neumann***、西藤岳彦**、河岡義裕*、田代眞人：*東京大学医科学研究所、**農研機構動物衛生研究所、***ウィスコンシン大学］

2. 中国で出現した A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスの家禽に対する病原性の解析

2013 年に中国で発生した A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスの感染者の多くは鳥と接触していたことから、家禽や野鳥がヒトへの感染源として疑われており、実際に生鳥市場の家禽などからもウイルスが分離されている。このウイルスは、高病原性鳥ウイルスの特徴である連続した塩基性アミノ酸配列を HA 蛋白質の開裂部位に欠いていることから、家禽に対する病原性は低いと考えられるが､その詳細は分かっていない｡本研究では､A(H7N9)ウイルスの家禽に対する病原性を明らかにする目的で、A(H7N9)ウイルスをニワトリに接種し、各臓器におけるウイルス量を測定した。中国でヒトから分離された A(H7N9)ウイルスと日本でカモから分離された A(H7N9)ウイルスをニワトリ 6 羽に経鼻接種し、気管と総排泄腔におけるウイルス量を測定した。また感染 3 日目と 6 日目に主要臓器を採取した。ウイルス感染価は、MDCK 細胞を用いたプラック法により測定された。ヒト分離株を接種したニワトリでは、いずれの個体も 6 日間の観察期間中に明瞭な臨床症状を示さなかった。また、限られた臓器からしかウイルスは検出されなかった。気管拭い液からは全ての個体でウイルスが検出されたが、総排泄腔拭い液からは検出されなかった。カモ分離株を接種した

ニワトリも同様に臨床症状を示さず、限定された臓器からしかウイルスが検出されなかった。以上の成績は、両ウイルスが家禽に対して低病原性であることを示しており、これらウイルスの HA がその開裂部位に塩基性アミノ酸の連続配列を欠いていることと一致している。家禽は A(H7N9)ウイルスに感染しても症状を示さないことから、感染家禽の摘発が困難になるため、家禽と接触する機会の多い中国ではヒトがウイルスに暴露される機会が継続的に発生していた可能性が考えられる。[岸田典子、今井正樹、白倉雅之、小田切孝人、田代眞人]

3. ヒト気管上皮細胞における A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスの増殖に関する研究

哺乳類における A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスの増殖能を調べるために、哺乳動物培養細胞を用いて感染実験を行った。ヒトあるいは鳥から分離された A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスを分化させたヒト気管上皮細胞に接種した後、ヒト上気道の温度である 33℃で培養した。経時的に培養上清を採取し、上清中のウイルス量をプラック法により測定した。その結果、ヒトから分離された A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスは 2009 年の A(H1N1)パンデミックウイルスと同程度の効率で増えることが分かった。一方、鳥から分離された A(H7N9)ウイルスは 2009 年の A(H1N1)パンデミックウイルスに比べて増殖速度が有意に低かった。[今井正樹、小田切孝人、田代眞人]

4. 鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスの抗インフルエンザ薬感受性に関する研究

中国で発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)は、依然としてヒトへの感染例が報告されており、日本国内においても流行に備えた事前準備が必要である。そこで、日本国内で使用されている抗インフルエンザ薬について、A(H7N9)ウイルスの感受性を調べた。その結果、中国でヒトから分離された A(H7N9)ウイルスは、4 種類の NA 阻害剤（オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル）すべてに対して感受性を示し、治療効果が期待されることが明らかになった。一方で、すべての NA 阻害剤に対して感受性の低下を示す A(H7N9)ウイルスも検出され、耐性ウイルスの発生状況を迅速に把握するために、継続的に耐性ウイルスの監視を行う必要性が示唆された。また、耐性ウイルスの監視に際しては、表現型解析と遺伝子型解析の両方を並行して実施することで、耐性ウイルスを見逃す危険性を回避できることが示された。[高下恵美、徐紅、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

5. 抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの地域流行に関する研究

インフルエンザ A(H1N1)pdm09 の予防および治療には抗インフルエンザ薬の NA 阻害剤が用いられる。NA 蛋白に特徴的なアミノ酸変異（H275Y）をもつ NA 阻害剤耐性ウイルスは国内外で散発的に検出されており、我々は全国地方衛生研究所と共同で、抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施し、継続的に耐性ウイルスの監視を行っている。札幌市衛生研究所で実施された遺伝子解析により、札幌市で 2013 年 11 月から 12 月にかけて分離された A(H1N1)pdm09 ウイルス 5 株すべてが H275Y 耐性変異をもつことが明らかになった。そこで、2014 年 1 月から全国的に耐性株サーベイランス体制を強化し、2014 年 3 月末までに全国で解析された 1,548 株のうち 78 株が耐性株で、検出率は 5%に達することが明らかになった。現在のところ、耐性ウイルスの検出は札幌市を中心とした地域流行にとどまっているが、今後、全国的に耐性ウイルスの流行が拡大することが危惧される。国内における耐性ウイルスの発生状況を迅速に把握し、自治体および医療機関に速やかに情報提供するために、耐性ウイルスの監視体制を強化する必要がある。[高下恵美、江島美穂、伊東玲子、三浦舞、藤崎誠一郎、中村一哉、土井輝子、佐藤彩、菅原裕美、小田切孝人、田代眞人]

6. 鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス実験室診断系の構築および全国の地方衛生研究所・検疫所における A(H7N9)ウイルス診断検査体制の整備

2013 年 3 月に、世界で初めてとなる H7N9 亜型の鳥インフルエンザウイルス A(H7N9)ウイルス)のヒトへの感染例が中国で報告された。その後もヒト感染例が相次いで報告され、このウイルスを起源としたパンデミックの発生が危惧されるようになった。この A(H7N9)ウイルスの H7 遺伝子は、これまでヒト感染例が報告された H7N3 および H7N7 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス

とは系統が大きく異なり、今回このウイルスが日本に侵入してヒト感染が起きた場合に備え、コンベンショナル RT-PCR 法および TaqMan プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法により、中国で流行している A(H7N9)ウイルスを特異的に検出できる遺伝子診断系の構築を行った。構築した遺伝子診断系は、季節性インフルエンザウイルスの A(H1N1)pdm09、A(H3N2)や B 型インフルエンザウイルスとは交差せず、また、A(H5N1)ウイルスなど、他の亜型の鳥インフルエンザウイルスとは交差反応せず、中国で流行している A(H7N9)ウイルスのみを高感度に検出する事が可能であった。

また、全国の 74 カ所の地方衛生研究所および全国の 16 カ所の検疫所に対して、本検出系で使用するプライマー、プローブ、RT-PCR 検出用陽性コントロールおよび診断マニュアルを配布し、全国の地方衛生研究所・検疫所における A(H7N9)ウイルス診断検査体制の整備を行った。なお、本検出系を用いた A(H7N9)ウイルス検査法は、感染研ホームページに公開した。［高山郁代、高橋仁、中内美名、田代眞人、影山努］

7. RT-LAMP 法を用いた A(H7N9)ウイルス遺伝子検出系の構築

RT-LAMP(reverse transcription loop-mediated isothermal amplification)法を用いた A(H7N9)ウイルス遺伝子検出法を構築した。本検出系を用いた A(H7N9)ウイルス検査法について、全国 74 カ所の地方衛生研究所および全国 16 カ所の検疫所へ情報提供するとともに、本検出系を実施する可能性があり配布希望のあった各機関に対して、RT-LAMP 検出用陽性コントロールの配布を行った。［中内美名、高山郁代、高橋仁、田代眞人、影山努］

8. 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 A(H7N9)ウイルスに対する反応性についての検討

臨床現場では、インフルエンザの診断のための検査としてインフルエンザウイルスの NP 抗原を検出する迅速診断キットが多用されている。体外診断薬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うち 20 種類を対象として、A(H7N9)ウイルスに対する反応性について確認を行った。その結果、国内で市販されている 20 種類のインフルエンザ迅速診断キットは A(H7N9)ウイルスに反応する事が示された。詳細結果については感染研のホームページで公開した。［高山郁代、高橋仁、中内美名、田代眞人、影山努］

9. 喀痰検体を用いた A(H7N9)ウイルスの遺伝子診断法およびウイルス分離法の確立

中国および輸入感染例としてウイルスが検出された台湾では、A(H7N9)ウイルスが咽頭拭い液などの上気道では検出できずに喀痰検体などの下気道のみでしか検出できない事例が相次いだ。そこで、喀痰検体でも、簡便かつ効率的に A(H7N9)ウイルスの遺伝子診断およびウイルス分離を行えるように、各種の喀痰溶解法について検討を行い、これらの目的に合致した喀痰検体の前処理法を確立した。［中内美名、高山郁代、高橋仁、影山努］

10. 識別マーカー入り A(H7N9)ウイルス遺伝子診断用陽性コントロールの作製および配布

RT-PCR 法などの遺伝子増幅法は高感度な故、陽性コントロールがコンタミネーションにより検査系へ混入すれば偽陽性の結果を導く事となりその取り扱いには細心の注意が必要である。万が一、検査系に陽性コントロールがコンタミネーションしても、陽性コントロール由来である事が確認できれば、このような問題も解消する。そこで、陽性コントロール由来かどうかを識別できるマーカー入りの A(H7N9)ウイルス遺伝子診断用陽性コントロールを作製して、全国の 74 カ所の地方衛生研究所に配布した。［高橋仁、高山郁代、中内美名、影山努］

11. リアルタイム RT-PCR 法を用いた B 型インフルエンザウイルスのヴィクトリア系統・山形系統識別遺伝子診断系の構築

B 型インフルエンザウイルスは 80 年代後半より抗原的にも遺伝的にも異なる B/Victoria/2/87-like (ヴィクトリア系統)と B/Yamagata/16/88-like (山形系統)の 2 系統が存在するようになり、シーズンにより流行規模は変動するが、現在も両系統が流行している。従来、検体より分離したウイルスに対して、両系統の抗血清を用いた赤血球凝集抑制試験（HI 試験法）による系統識別が広く行われていた。そこで、ウイルス分離を行わなくとも、検体レベルでより迅速に両系統を識別して流行状況を把握する

事ができるように、TaqMan プローブを用いたリアルタイム RT-PCR 法により両系統を簡便に識別できる遺伝子診断系を新たに構築した。
［中内美名、高山郁代、高橋仁、田代眞人、影山努］

12. インフルエンザウイルス核酸診断検査法の地方衛生研究所に対する外部精度管理の実施

全国 74 ヶ所の地方衛生研究所に対して、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)についての第 1 回全国地衛研外部精度管理(EQA)を実施した。各地方衛生研究所から送付された結果報告およびアンケートに対して詳細な解析を行い、EQA の結果については各所に報告した。また、EQA を実施した結果、各所が行うインフルエンザウイルス核酸診断検査法に何らかの問題点が見つかった場合はトラブルシューティングを個別に行い、検査精度向上に向けた改善方法などを助言した。［影山努、中内美名、高山郁代、高橋仁］

13. 呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系の構築

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っている。本年度は新たなウイルス検出候補としてヒトパラインフルエンザウイルス 3 型を選択し、RT-LAMP 法による検出系の構築を行った。また、昨年度評価を行った中で検出感度の低かったヒトコロナウイルスの HKU1、229E の 2 種類について、高感度に各ウイルスの遺伝子を検出できるように RT-LAMP 法による検出系の改良を行った。これまでに、設計したプライマーセットを用いた RT-LAMP 法による検出系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]

14. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討

抗原抗体反応法による感度と特異性に優れた H5N1 インフルエンザの迅速診断法構築に応用するため、H5 HA 特異的なモノクローナル抗体を作製して、作製した抗体クローンを用いたサンドイッチ ELISA 法への応用について検討を行った。また、同時にこの抗体が効率良く抗原と反応する界面活性剤処理条件を見出した。その結果、新たに構築したサンドイッチ ELISA 法の検出感度は 0.3 μg/mL となり、これまでに報告されている　抗原抗体反応法による H5 検出系と比較しても遜色ない感度であった。亜型特異性については H5 亜型ウイルスを除く H1 から H15 亜型ウイルスについては交差反応性を示さなかった。また、H5 亜型ウイルスの中では主要なクレード株に対しも反応性を示したことから、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を高感度・特異的に検出することが可能と考えられた。 [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]

15. シクロスポリン A(CsA)によるインフルエンザウイルス増殖阻害に関する研究

インフルエンザ治療薬として M2 阻害剤とノイラミニダーゼ阻害剤が使用されているが、薬剤耐性ウイルスの出現による治療効果の減弱が問題となっている。そのため、薬剤耐性ウイルスにも効果を示す新規インフルエンザ治療薬を開発する必要がある。今回、CsA によるインフルエンザウイルス(PR8 株)の増殖抑制機序について解析した。CsA 存在下で PR8 株を感染した結果、シクロフィリン A、シクロフィリン B 及び P 糖蛋白質に非依存的に感染後期(集合、出芽、放出)を阻害し、ウイルスの増殖が抑制されることが示唆された。[浜本いつき、原崎一浩*、稲瀬直彦*、高久洋**、田代眞人、山本典生：*東京医科歯科大学呼吸器内科、**千葉工大工学部生命環境科学科]

16. 中国で発生したインフルエンザ H7N9 株の動物における感染性の検討

2013 年より中国で発生した新規インフルエンザ H7N9 株の動物における感染性および病原性を検討している。A/Anhui/1/2013（H7N9）株のマウスにおける致死性を検討した結果、50%致死量は $10^{4.6}$pfu/mouse であり、H1N1pdm の A/Narita 株（$10^{5.2}$pfu/mouse）よりも高い致死性を有することが明らかとなった。続いてウイルスの気道における感染の動態や神経向性を検討するため、高濃度のウイルスを局所経鼻感染（40LD50, 4 μL）

させた後のウイルスの動態を検討した。その結果、上気道では感染直後から高いウイルス価を示したが、感染 5 日目以降、経時的に減少し、14 日後に消失した。下気道では感染 3 日目からウイルスの増殖が認められ 5 日目をピークに経時的に減少した。この結果は実験室株である PR8 と同様の増殖カーブであり、感染は呼吸器に限定していることを示唆している。また病理像においても脳内におけるウイルスの増殖は認められないことならびに感染時に神経症状は認められなかったことから、本株には神経向性が認められないことも明らかとなった。[浅沼秀樹、相内　章]

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の流行株と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共有され、9 月と 2 月に開催された WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議で議論され、ワクチン株選定の資料として活用された。[岸田典子、徐紅、今井正樹、藤崎誠一郎、高下恵美、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、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. 4 価インフルエンザワクチンの SRD 力価試験における B 型の交差反応性に関する研究

現行のインフルエンザ HA ワクチンは、3 価（A/H1N1、A/H3N2、B）のワクチンである。B 型ウイルスは抗原性の違いからビクトリア系統と山形系統に分類されるが、これまでどちらかの系統をワクチン株として制定してきた。しかし近年、国内外ともにビクトリア系統と山形系統のウイルスが混合流行しており、来シーズンにどちらの系統のウイルスが流行するかを予想することは極めて困難になってきている。米国では 2012 年から 2013 年に両系統のウイルスを含んだ 4 価ワクチンの製造販売が承認され、わが国においても 4 価ワクチンの導入が検討され始めた。本研究では、ワクチン力価測定の標準法である一元放射免疫拡散（SRD）試験法が、4 価ワクチンに対しても、従来通り測定可能であるかを検証した。その結果、ワクチン株および SRD 試験抗血清によっては、B 型２系統の交差反応が大きく見られ、4 価ワクチンの B 型 SRD 力価が過剰測定される現象が認められた。これを解消すべく、ビクトリア系統と山形系統の標準抗原を混合する方法を検討したところ、ワクチン株および標準抗原によっては、3 価従来法と統計学的に有意差が認められ、乖離が解消できないケースもあった。また、ビクトリア系統抗原と山形系統抗原を混ぜた時にリング形成不良を起こすケースも見られ、種々の課題があることが判明した。[嶋崎典子、原田勇一、高橋仁、板村繁之、田代眞人]

3. ワクチンの免疫誘導能に関連する試験法の開発に関する研究

現在、わが国ではワクチンの力価を測定する標準法として、一元放射免疫拡散（SRD）試験法によりワクチンの有効成分の HA 含量を測定しているが、剤型の違いを区別しそれに基づく免疫誘導能を測定できる試験法ではない。パンデミック発生時には迅速なワクチン製造が必要であり、ワクチンの免疫原性を反映するような力価を測定できる SRD 試験の代替試験法が望まれている。本研究ではまず、SRD 試験の代替法の１つとして昔から検討されてきた逆相 HPLC により、ワクチンの剤型の違いを示すような現象が見られるかを調べた。その結果、SRD 試験で同じ力価を示すスプリットワクチンとサブユニットワクチン（精製 HA 蛋白で模擬）について、Zwittergent3-14 処理をしない状態で逆相 HPLC 測定をしたところ、２つの異なる剤型のワクチンのクロマトグラムは大きく異なり、剤型の違いの区別がつけられる方法の１つである可能性が示唆された。

［嶋崎典子、板村繁之、田代眞人］

4. インフルエンザワクチンの剤型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制御する上で重要と考えられる。これまでに全粒子ワクチンとスプリットワクチンでは産生誘導される抗体の質が異なることを報告した。本年度、この誘導される抗体の産生機構の解明を目指し、TLR アゴニストをアジュバントとしてスプリットワクチンに添加したところ、全粒子ワクチンを接種した場合に誘導される抗体と質的に類似した抗体が誘導され、TLR を介したシグナルが関与していることが示唆された。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之、田代眞人]

5. インフルエンザワクチンの新規免疫原性解析法の開発

インフルエンザワクチンの免疫応答を抗体遺伝子のレパトアおよび抗体誘導の量的、質的差異について網羅的に解析するために、次世代シークエンサーを用いて手法の確立を行った。まず、誘導されてくる抗体遺伝子のレパトアが詳細に解析されているハプテン・キャリアをモデルとして解析を実施したところ、既知の抗体遺伝子のレパトアが使用されていることを見出すことができた。このように抗体遺伝子のレパトアを網羅的に解析できるシステムをほぼ確立することができた。確立させたシステムを用いてワクチンの剤型の違い及びウイルスの馴化変異によって誘導される抗体応答について抗体遺伝子のレパトアおよび抗体誘導の量的、質的差異について解析して、ワクチンの特性とどのように関連しているのか明らかにしていく計画である。

［河野直子、板村繁之、大西和夫*、田代眞人 : *免疫部］

6. H7N9 鳥インフルエンザウイルスのワクチン製造候補株の開発

2013 年 3 月に報告された中国での H7N9 鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染を受けて、当該ウイルスに対する鶏卵培養ワクチン製造用ウイルス株を開発した。中国 CDC から分与されたヒト分離株、A/Anhui/1/2013 を基に Reverse Genetics 法により、HA、NA 遺伝子が A/Anhui/1/2013 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-10.1 を作出した。ワクチン株としての妥当性を検証するためには、抗原性・免疫原性を確認する必要があり、フェレット感染血清（抗 A/Anhui/1/2013、抗 NIIDRG-10.1）の作出も行なった。

作出した NIIDRG-10.1 は限界希釈法によりウイルスの純化を行い、SPF 鶏卵で三継代後の株をマスターストックとして保存した。マスターストックウイルスに対しては、遺伝子配列の決定、HI 試験、HA 収量の測定、鶏胚致死性試験、フェレットを用いた安全性試験などの各種試験を実施し、ワクチン株としての妥当性を確認した。SPF 鶏卵での四継代株（ワーキングストック）を配布用に保存した。NIIDRG-10.1 株は、配布可能ワクチン製造候補株として WHO に報告し、WHOERL で検討の後、ワクチン製造候補株として承認、登録された。

[中村一哉、白倉雅之、今井正樹、浅沼秀樹、鈴木康司、内藤忠相、武藤亜紀子、信澤枝里、田代眞人]

7. A(H7N9)鳥インフルエンザウイルスに対するフェレット感染血清の作製

2013 年に中国で発生した A (H7N9)鳥インフルエンザウイルスの抗原性解析を実施するため、フェレット感染血清を作製した。中国 CDC より分与された A/Anhui/1/2013 (H7N9), A/Shanghai/1/2013 (H7N9)の 2 株、H7 型参照血清として、A/duck/Gunma/466/2011 (H7N9), A/mallard/Netherland/12/2000 (H7N3)、A/duck/Fukui/1/2004 (H7N1)の 3 株に対する抗血清を作製した。 [今井正樹、岸田典子、白倉雅之、信澤枝里、田代眞人]

8. 細胞培養ワクチン種株用ベクターの開発

パンデミック発生時のワクチン種株作製には迅速性が求められる。そのため、種株（リアソータントウイルス）の作製にはリバースジェネティクス（RG）法を用いるのが適している。現在、鶏卵培養ワクチン種株作製用の高増殖母体ウイルスベクターは開発されているが、実用化に適した細胞培養ワクチン種株作製用母体ウイルスの開発はされていない。そこで細胞培養ワクチン製造用母体ウイルス候補として A/Udorn/371/72(H3N2)と A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)について、ATCC-MDCK 細胞への馴化と増殖性の検討を行った。その結果、20 代継代後の A/Udorn/1/73 株は細胞馴化と見られるアミノ酸変異を獲得し、約 10^8 pfu/mL のウイルス力価を示した。A/PR/8/34 株 20 代継代後に細胞馴化と見られるアミノ酸変異を獲

得し、約 10^9 pfu/mL のウイルス力価を示した。今後はこれらを母体ウイルスとしたリアソータントウイルスを作出し、有用性を検討していく。
[鈴木康司、信澤枝里、田代眞人]

9. 鶏卵培養用 H7N9 ワクチン製造候補株の MDCK 細胞における増殖性と細胞培養用ワクチン製造株としての妥当性の検討

鶏卵培養用 H7N9 ワクチン製造候補株 2 株（当研究室が開発した NIID-RG10.1 と National Institute for Biological Standards and Control （NIBSC）が開発した NIBRG-268）について、細胞培養ワクチン開発用の ATCC-MDCK 細胞における増殖性を検討した。どちらのウイルスも ATCC-MDCK 細胞で増殖したが、ウイルス力価は 10^6 pfu/mL 程度であった。現状の低い増殖性では細胞培養用のワクチン製造株として用いるには妥当でないことが示唆された。
[鈴木康司、信澤枝里、田代眞人]

10. H5N1 型ウイルスワクチン製造候補株のフェレットを用いた安全性試験

H24 年度、インドネシアにおいてヒトから分離された A/Indonesia/ NIHRD11771/ 2011(H5N1)を元株とし、RG 法によりウイルス製造候補株（NIIDRG-9）を作製した。今年度は、この候補株に対してフェレットを用いて病原性試験を実施した。WHO の指針に即し、フェレットに元株または NIIDRG-9 株をそれぞれ経鼻接種し、感染 3 日、14 日後に解剖を行い、各臓器でのウイルス力価測定と病理学的検査を行った。その結果、元株接種群と比較し、NIIDRG-9 接種群では体重減少率、臨床症状の軽減が認められた。また、採取した臓器（鼻甲介、肺、脾臓、腸管、脳、嗅球）のウイルス力価を測定した結果、元株接種群では、鼻甲介、肺、嗅球においてウイルスが検出された。一方、NIIDRG-9 接種群では、鼻甲介のみでウイルスが検出されたが、他の臓器では検出されなかった。さらに、病理学的所見における肺病変の程度は、元株接種群に比べ、NIIDRG-9 接種群では軽度であった。以上の結果から、RG ワクチン製造株である NIIDRG-9 株のフェレットにおける病原性は、元株と比較して、低いことが示された。
[白倉雅之、今井正樹、中村一哉、永田典代、岩田奈緒子、鈴木忠樹、長谷川秀樹、信澤枝里、田代眞人]

11. 2013 年度 H5N1 備蓄ワクチン株選定資料の作成

(i) H5N1 備蓄ワクチン株のうちベトナム株 (clade 1)/インドネシア株(clade 2.1.3.2)は、平成 25 年度末で期限が切れる。そこで、最近ヒトから分離された各クレードのウイルスが、備蓄ワクチン株の被接種者の抗体により認識されるのかを検討し、備蓄ワクチン株の更新の必要性を検討するための資料を作製した。

試験は、近年ヒトから分離された clade 1 の A/Vietnam/VP09-26H/2009, A/Vietnam/VP12-03/2012, A/Vietnam/CD12-76H2012, clade 2.1.3.2 の A/Indonesia/NIHRD11771/2011, A/Indonesia/NIHRD11931/2011, A/Indonesia/12379/2012 の各株と、各クレードの H5N1 備蓄ワクチン (A/Indonesia/5/2005(CDC-RG2) あるいは、A/Vietnam/1194/2004(NIBRG-14))を接種した被験者の血清抗体を用いて行なった。その結果は、厚労省のワクチン作業班において検討され、2013 年度の備蓄株は、従来のワクチン株を再備蓄し、株の更新は行わないことが決定された。[白倉雅之、内藤忠相、武藤亜紀子、信澤枝里、田代眞人]

(ii) (i)の資料作成に際し、検討株をワクチン製造用種株候補として扱うため、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 3. 家伝法の家畜伝染病病原体からの除外申請。[信澤枝里、田代眞人]

12. 細胞培養法による MDCK-NIID 細胞からのウイルス分離効率の解析

GMP 準拠使用を目的として品質保証された MDCK 細胞株(MDCK-NIID)において、2010/2011 及び 2011/2012 シーズンの臨床検体からの A/H1N1pdm09 亜型株(H1pdm)、A/H3N2 亜型株(H3)、B/Victoria 系統株(B/Vic)、B/Yamagata 系統株(B/Yam)についてウイルス分離効率を検討し、ウイルス分離用基材としての有用性を評価した。その結果、比較対照として用いた従来の MDCK 細胞株(MDCK-Conv)と同等の高いウイルス分離効率を示し、ウイルス分離用基材としての有用性が示された。 [浜本い

つき、中村一哉、原田勇一、高橋　仁、田代眞人、小田切孝人、山本典生]

13. 細胞培養法による分離ウイルスの遺伝的安定性についての解析

ワクチンシード候補株を培養細胞または鶏卵で分離・継代する過程で、ウイルス遺伝子に変異が導入されると、ワクチンシード候補株の抗原性が維持されない可能性がある。分離ウイルスの遺伝的安定性に関するデータを集積し問題を解決する方法の策定につなげることを目的として、インフルエンザウイルスの A(H1N1)pdm09 株と H3N2 株、B/Victoria および B/Yamagata 系統株に関して解析を行った。無血清培地に馴化させた MDCK 細胞を用いたウイルス分離・継代を行う過程において、各型・亜型ウイルス株の全てで HA 遺伝子に変異導入がみられた。培養細胞を用いて分離・継代したウイルス株は遺伝的安定性が保持されにくいことが明らかとなり、今後これらの変異と抗原性変化の関連について調べていくことが重要であると考えられた。[高橋　仁、中村一哉、浜本いつき、原田勇一、田代眞人、山本典生]

14. 細胞培養法により分離されたウイルスの抗原的安定性についての解析

ワクチンシードウイルス分離用候補細胞から分離・継代したウイルスの HA 遺伝子上に鶏卵継代株では抗原性に大きな変化がもたらされることが知られている変異と同様の変異を生ずる株が有り、分離ウイルスに鶏卵馴化と類似した抗原変異が起こることが危惧された。そこで遺伝子変異を起こしたウイルスに対する抗血清を作製し、分離ウイルスの抗原性を評価したところ、その抗原性に大きな変化は観察されず、候補細胞分離株では当該遺伝子変異がウイルスの抗原性に大きく寄与しない可能性が示唆された。[原田勇一、高橋　仁、田代眞人、山本典生]

15. 細胞培養ワクチン製造用シードウイルス分離用候補細胞の評価

独自に開発した細胞培養ワクチン製造用シードウイルス分離用候補細胞について、少量から多量まで様々な量の A(H1N1)pdm09 ウイルスを含む臨床検体を用いてウイルス分離効率の評価を行った。その結果、ウイルス含有量の低い臨床検体からのウイルス分離効率はコントロールとして用いた MDCK 細胞より低く、臨床検体中に含まれるウイルス量が通常の MDCK 細胞より多く必要である事を示唆する結果が得られた。今後、再現性も含めたさらに詳細な解析が必要である。[原田勇一、高橋　仁、中村一哉、浜本いつき、田代眞人、山本典生]

16. 細胞培養型 A(H9N2)インフルエンザワクチンの有効性を評価するために必要な基礎的検討について

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 A(H9N2)インフルエンザワクチンについて、マウスモデルを用いた有効性の評価法の検討を行った。本ワクチンの効果の指標としてはマウス肺中ウイルス増殖の抑制を経時的に観察することが適当と考えられ、この方法を用いて次年度に試作ワクチンの有効性評価を行うこととした。 [原田勇一、高橋　仁、浅沼秀樹、相内　章、田代眞人、山本典生]

17. 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の安全性を確保することを目的として、迷入ウイルス検出系の確立に関する研究を行った。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病気を引き起こす可能性が高いウイルスを選択し、これらに対する定量 PCR 用のプライマー・プローブとスタンダード用核酸を構築した。これによって迷入ウイルス否定試験の基盤形成を進めた。
[山本典生、中村一哉、原田勇一、浜本いつき、高橋　仁、田代眞人]

18. 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

MDCK 細胞（ATCC から購入）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、および EOPC の構築を行った。これについて今年度は迷入因子否定試験 5 項目と Oncogenicity 試験（結果の解析）を行い、特に問題点を認めなかった。以上から、この MDCK セルバンクはこれまで実施してきた 36 項目の安全性試験・特性試験で問題がないことが明らかとなり、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]

19. 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。そこで母親由来の抗体が新生児へ移行する母子免疫に注目した。A/Puerto Rico/8/34 (A/PR8、A(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 マウスと雄マウスと交配した。これでの解析から、出産後の母乳中には、経鼻接種群では IgA 抗体、皮下接種群では IgG 抗体が高い傾向にあることを明らかにした。本研究では、同様にワクチン接種を施した親マウスから生まれた生後 21 日目の仔マウスに対し、A/PR8 ウイルスを肺に感染させ生残率と体重変化を測定した。ワクチン非接種個体から生まれた仔マウスは体重減少を伴い死亡したが、ワクチン接種（皮下ならびに経鼻）個体から生まれた仔マウスは体重の増加が認められ、生残することが明らかなった。母親マウスに対するワクチン接種の違いにより、誘導される抗体応答に違いがあるものの、いずれの場合でも仔マウスへの致死的な感染に対する防御効果が得られることが示された。 [泉地恭輔[研究生]*、相内　章、、鈴木忠樹*、浅沼秀樹、田村慎一*、田代眞人、長谷川秀樹*：*感染病理部]

20. 経鼻インフルエンザワクチンにおけるワクチンの組み合わせと抗体応答

高病原性鳥インフルエンザウイルス A(H5N1)が原因となるパンデミックに対応すべく、いくつかのウイルス株由来のワクチンが準備されている。本研究では、経鼻インフルエンザワクチン接種において初回ならびに 2 回目の接種で用いる A(H5N1)ワクチン株の組み合わせることで、誘導される抗体応答を評価した。一群 5 匹の 6~8 週齢の雌 BALB/c マウスに対して、合成二本鎖 RNA を粘膜アジュバントとして、A(H5N1)全粒子不活化ワクチンを一匹あたり 0.2 μg HA/8 μl（片鼻 4 μl）の経鼻接種を行った。ワクチン接種は 3 週間隔で 2 回行い、初回接種と 2 回目接種で用いるワクチンは A/Vietnam/1194/04（VN）、A/Indonesia/5/05（IN）、および A/Anhui/1/05（AN）由来の全粒子不活化ワクチンを組み合わせて用いた。2 回目のワクチン接種から 2 週間後の血清ならびに鼻腔洗浄液を回収し、各ワクチンに対する抗体応答を評価した。AN 株由来ワクチンに対する血清中 IgG 抗体応答は、初回免疫で AN 株を用いた群で高く、中でも IN 株で 2 回目のワクチン接種を行った群で最も高かった。また、VN 株由来ワクチンに対する血清中 IgG 抗体応答には大きな差は認められなかったが、初回-2 回目接種の組み合わせが VN-VN、VN-IN、AN-IN の順に高い傾向にあった。以上のことから、A(H5N1)経鼻インフルエンザワクチン接種による血清中 IgG 抗体応答に関しては、初回 AN 株-2 回目 IN 株の組み合わせによる接種が優れている可能性が示唆された。 [相内章、浅沼秀樹、鈴木忠樹*、原田勇一、田村愼一*、小田切孝人、田代眞人、長谷川秀樹*：*感染病理部]

21. 経鼻インフルエンザワクチンで誘導される抗体応答に基礎免疫が与える影響

経鼻インフルエンザワクチンの効果は、主にインフルエンザウイルスに対してナイーブなマウスを用いた実験で明らかにされてきた。しかし、マウスと異なりヒトは過去のインフルエンザウイルス感染やワクチン接種の影響により、ナイーブではない。本研究では、マウスにおいて感染あるいはワクチン接種により構築された基礎免疫が、その後の経鼻ワクチンにより誘導される抗体応答に与える影響を検討した。A/Puerto Rico/8/34 (A/PR8, A(H1N1))感染、A/Narita/1/09 (A/NRT, A(H1N1)pdm09) 感染、A/PR8 あるいは A/NRT 全粒子不活化ワクチンを接種し、基礎免疫を構築した 9~10 週齢の BALB/c マウスに対して A/NRT 全粒子不活化ワクチン接種の経鼻あるいは皮下接種を行った。その 2 週間後にこれらマウスに A/NRT による上気道感染を行い、感染 3 日後のウイルス価、ヘマグルチニン(HA)に対する抗体応答について検討した。A/NRT による感染歴がある場合には、A/NRT 皮下

あるいは経鼻ワクチン接種でも、その後の A/NRT 攻撃感染を完全に防御することができた。A/PR8 による感染歴がある場合には、皮下ワクチン接種と比べて経鼻ワクチン接種の方が有意に A/NRT 攻撃感染後のウイルス増殖を抑制できることが明らかとなった。基礎免疫を有する個体においても上気道粘膜上に分泌型 IgA 抗体を強く誘導することで、皮下ワクチン接種に比べて経鼻ワクチン接種の方が優れたワクチン効果を発揮する可能性が示唆された。[池田千将[研究生]*、相内　章、伊藤良[研究生]*、鈴木忠樹*、田村愼一*、荒尾雄二郎**、田代眞人、浅沼秀樹、長谷川秀樹*：*感染病理部、**岡山大学大学院保健学研究科]

22. 健常人ボランティアにおける経鼻インフルエンザ A(H5N1)ワクチン接種による抗体応答

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の経鼻接種により誘導される抗体応答を、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。成人ボランティア計 63 名を、噴霧したワクチンの流動性を抑える粘稠剤 CVP の添加の有無で二群に分け、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、約 8 ヶ月後に追加ワクチン接種を実施した。血清中の A/Indonesia/5/05 に対する中和抗体応答は、CVP 添加群で高いものの有意な差は認められなかったが、4 倍以上の陽転が認められ被験者の割合は約 85%となった。今回、鼻腔洗浄液中の中和抗体価の測定を行った。この結果、CVP 添加群では 10.5 倍の上昇率（陽転は 76.0%）、非添加群では 4.6 倍の上昇（陽転は 58.3%）となり、その間に優位な差が認められた。粘稠剤 CVP の添加は、鼻腔粘膜上の抗体応答誘導に効果がある事が考えられた。[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]

23. 細胞培養インフルエンザワクチン種株選定のための評価基準構築に関する研究

本研究は細胞培養法を用いてインフルエンザワクチンを製造する場合の種株の選定基準を構築することを目的としている。昨年度までに臨床検体から分離・継代した H3N2 株の性状解析を終え、継代による増殖性に変化がないことおよび HA 価と蛋白回収量に相関性が乏しいことを示した。引き続き抗原性がリファランス株と類似の 6 株（N273、N284、N316、N321、N337、N382）をフェレットに感染させ、抗体応答を検討した。その結果、N284、N316、N321 株を感染させたフェレット抗血清では、各株ならびにその継代株に対する抗原性の違いは認められなかったが、N273、N337、N382 株を感染させたフェレットでは他の株との抗原性の違いを検出した。興味深いことに、N273、N337、N382 株の抗血清で N284 株およびその継代株の抗原性を解析した場合には、継代株の方が抗原性の違いが顕著になっている傾向が認められたのに対し、N284、N316、N321 株の抗血清を用いた場合には、継代前の株だけでなく継代株をも抗原性の違いが検出できないという結果であった。すなわち、リファランス株を用いて各株の抗原性を解析した場合には、全ての株が類似の抗原性と認識されるが、各株の抗血清を用いた場合には、必ずしも抗原性が一致し得ないことが示された。引き続き、本血清を用いた臨床分離株の抗原性解析ならびに不活化抗原による応答性の解析を行う。[浅沼秀樹、相内　章、佐藤佳代子、岸田典子、許斐奈美*、湯浅徳行**、山口陽子***：*日本大学・医、**東京化成工業、***東海大学]

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不活化抗原とウサギ免疫血清を作製して、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 カ所余の地方衛生研究所に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地衛研で病原体検出情報システムに登録され、その情報は地衛研から当室へのウイルス提供に際して有効に活用された。提供された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、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

2. フェレット抗血清作製とサーベイランスキットの海外への配布

A(H1N1)pdm09（卵株）、A(H3N2)(細胞株)、B/Victoria(細胞株)系統、B/Yamagata(細胞株)系統のレファレンスウイルスを用いてフェレット感染血清と不活化抗原を 15 キット作製し、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。本キットを用いて各国で初期解析されたウイルスの提供を受け、さらに詳細な抗原性解析、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、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、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・サポート地衛研ー感染研共同研究連携網の運用

衛生微生物技術協議会感染症部会から推薦された全国 6 地方ブロック代表地衛研およびそれらを支援する 5 つの地衛研からなる、インフルエンザ株サーベイランスコア・サポート地衛研と感染研インフルエンザウイルス研究センターとの検査・サーベイランス技術開発共同研究体制が稼働 4 年目を迎えた。今年度は、2013 年 4 月に緊急配布した A(H7N9)ウイルス遺伝子検出キットについての検出感度の確認を行った。また、全国 74 ヶ所の地衛研を対象にした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）についての第 1 回全国地衛研外部精度管理（EQA）および全国地衛研におけるインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点の把握を目的としたアンケート調査を立案・実施した。[小田切孝人、影山努、今井正樹、岸田典子、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**、高橋雅輝***、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*********、喜屋武尚子**********：*愛知県衛生研究所、**北海道衛生研究所、***岩手県環境保健研究センター、****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/Texas/50/2012(X-223)(H3N2)、A/Texas/50/2012(X-223A)(H3N2)、A/Texas/50/2012(X-223A)(H3N2)-cell derived、B/Massachusetts/02/2012、B/Massachusetts/02/2012(BX-51B)、B/Massachusetts/02/2012(BX-51B)-cell derived、A/Indonesia/05/2005(IBCDC-RG2)(H5N1)、A/Shanghai/2/2013(H7N9)-PR8-IDCDC-RG32A 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 25 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/Texas/50/2012（X-223）(H3N2)、B/Massachusetts/02/2012(BX-51B)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 佃用)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 佃用)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、鈴木康司、板村繁之、田代眞人］

サーベイランス業務

1. 2013/14 シーズンのインフルエンザウイルス国内流行株の抗原性解析

全国の地衛研から提供を受けた、A(H1N1)pdm09 は 191 株、A(H3N2)は 120 株、B/Yamagata 系統 86 株、B/Victoria 系統は７０株について赤血球凝集抑制試験により抗原性解析を行った。2013/14 シーズンは A(H3N2)ウイルスの流行が先行したが、2014 年初頭から A(H1N1)pdm09 の流行が拡大し主流を占めた。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)分離株は当初 99%がワクチン株の A/Texas/50/2012 に類似していたが、流後期後半に抗原変異株と推定される株が一定の割合で出現してきた。Yamagata 系統についてはワクチン株 B/Massachusetts/02/12 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、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、小田切孝人、田代眞人］

2. 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流行株の抗原性解析

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 81 株（台湾 26 株、ミャンマー11 株、ラオス 23 株、ネパール 13 株、モンゴル 4 株、ベトナム 4 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。これらの国では A(H1N1)pdm09 の流行拡大が認められ、次いで A(H3N2)、B 型ウイルスという割合で流行が観察されたが、流行状況については各国による差異が認められた。A(H1N1)pdm09 流行株は、ワクチン株 A/California/07/2009 の類似株が主流を占めた。A(H3N2)ウイルスの多くはワクチン株 A/Texas/50/2012 の類似株であった。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/Massachusetts/02/2012 類似株が主流であった。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、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

3. 2013/14 シーズンの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、全国地衛研の協力の元に、HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行っている。13/14 シーズンに流行の主流であった A(H1N1)pdm09 亜型は、HA 遺伝子系統樹上で D97N, K283E, E499K を持つクレード 6 に属した。さらにクレード 6 内で、主流であったサブクレード 6B(K163Q, A256T)と、6C(V234I)に分かれた。これらのサブクレード間に抗原性の違いは見られなかった。A(H3N2)亜型は、HA 遺伝子系統樹上でクレード 3C.2（N145S, A198S, D489N）とクレード 3C.3（T128A, R142G, N145S, A198S）に属した。3C.2 には 3C.2a（N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H）が、また 3C.3 には 3C.3a（A138S, F159S, N225D）の形成が認められた。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、今シーズンのワクチン株 B/Massachusettes/02/2012 株に代表されるクレード 2 (R48K, P108A, T181A, S229G)または、昨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 亜型の NA に H275Y を持つオセルタミビル耐性株の散発的検出に加え、札幌市を中心とした限定的な地域流行も確認された。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 へ登録している。［藤崎誠一郎、高下恵美、岸田典子、徐紅、中村一哉、今井正樹、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、小田切孝人、田代眞人］

4. インフルエンザウイルス流行株の抗インフルエンザ

薬感受性試験

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。平成25年度には、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182株、A(H3N2)分離株83株、B型分離株56株を解析した。その結果、札幌市を中心にH275Y耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性ウイルスが地域流行していることが明らかになった。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毎週一般公開し、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、藤崎誠一郎、岸田典子、徐紅、中村一哉、今井正樹、江島美穂、伊東玲子、三浦舞、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、小田切孝人、田代眞人］

5. 株サーベイランス体制の強化に関する研究

地方衛生研究所（地衛研）におけるインフルエンザウイルス分離検査体制の現状と問題点を把握するために、全国73カ所の地衛研を対象にアンケート調査を実施し、72カ所の地衛研から回答が得られた。過去の3シーズン（2010/11、2011/12、2012／13）におけるインフルエンザウイルスの分離効率をたずねたところ、3シーズン連続して分離効率の低い研究機関が幾つかあったが、ほぼ半数の研究機関が高い効率で分離していた。また、日本全体では分離効率が経年的に下降している傾向もみられなかった。ほぼ全ての研究機関がウイルス分離に用いる培養細胞を概ね適正に維持管理していることがわかった。一方、人事異動によって担当職員が定期的に入れ替わることから、地衛研でのウイルス検査技術に関する知識や技術の継承が非常に困難になりつつあるとの意見が多数寄せられた。現段階では日本のインフルエンザウイルス株サーベイランスは有効に機能している。しかし、今後、地衛研組織の弱体化が一層進行すれば、そのシステムが機能しなくなる可能性は十分にある。国-地方自治体-感染研が連携して、この問題に取り組む必要がある。[今井正樹、岸田典子、小田切孝人]

6. 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保有調査

2003年末以降、東アジアの家禽で発生したH5N1亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスが東南アジア、中近東、アフリカ、ヨーロッパへと拡散した。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとも相関していることから、渡り鳥によってこれら鳥インフルエンザウイルスが我が国に持ち込まれる可能性がある。また、最近ではH7N7、H7N9、H6N1、H10N8、H9N2亜型の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が東アジアで報告されており、鳥インフルエンザウイルスの国内での流行状況を把握する事は重要である。これらウイルスの我が国への侵入をモニターする目的で、今年度は全国5カ所の地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥における鳥インフルエンザウイルスの生態調査を行ったが、いずれの地方衛生研究所から分離報告はなかった。［高山郁代、影山努、田代眞人］

7. 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、1件1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結果、A(H1N2)亜型のブタインフルエンザウイルスである事が判明した。また、HA 遺伝子は H1N1 亜型ブタインフルエンザウイルス、NA 遺伝子は H1N2 亜型ブタインフルエンザウイルス、その他の遺伝子は A(H1N1)pdm09 亜型に由来することがウイルス遺伝子の詳細解析により明らかとなり、由来の異なる3種類のウイルスの遺伝子再集合により新たに出現したと考えられた。［高山郁代、影山努、田代眞人］

8. ベトナムにおいてヒトから分離された A(H5N1)高病原性鳥インフルエンザウイルスの性状解析

ベトナムでは、致死率の高い A(H5N1)高病原性鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染する事例が持続的に報告されており、今後、ウイルスが変異しヒト−ヒト感染が容易に起こる事が危惧されている。このような背景から、ベトナム国における A(H5N1)ウイルスのヒト感染事例を把握し、そのウイルスの性状解析を実施する事は、我が国の新型インフルエンザ対策において非常に重要であると考えられる。本研究では、2009 年から 2014 年の間に、ヒトから分離された 5 株の A(H5N1)高病原性鳥インフルエンザウイルスと 3 例の臨床検体をホーチミン・パスツール研究所より入手し全セグメントの遺伝子解析を行った。また、分離できたウイルス株については抗原解析を行った。特に、近年(2014 年 1 月)に分離された A/Vietnam/14011801/2014 株は、HA の遺伝子配列から Clade2.3.2.1c に属する事が判明し、抗原解析の結果より、同クレードの現行ワクチン製造株である IDCDC-RG30 株(Clade 2.3.2.1a)の抗血清に対しホモ価と比較して 8 倍程度低い事が判明した。従って 2014 年 1 月に分離された株は、既存のワクチン製造株とは、抗原性が異なる事が示された。 [高山郁代、白倉雅之、中内美名、影山努、信澤枝里、田代眞人]

品質管理に関する業務

1. インフルエンザ HA ワクチンの力価試験の精度管理及び規格確認

インフルエンザ HA ワクチンは毎年ワクチン株が見直しされるため、ワクチンの国家検定の力価試験として実施されている一元放射免疫拡散試験の測定精度が一定の範囲内にあるように毎年確認して調整する必要がある。また、マウス白血球数減少試験や蛋白質含量試験において生物製剤基準の許容範囲の上限に近いために、毎年のワクチンが規格に適合しているのか確認する必要がある。そこで、本年も各ワクチン製造所で試作されたワクチンについて測定を実施して規格に適合していることを確認するとともに、各製造所の測定値との乖離について検討した。さらに参照インフルエンザ HA ワクチンを使用して各試験の測定精度についての検討を実施した。[嶋崎典子、原田勇一、河野直子、高橋仁、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]

2. 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 A/H5N1 ウイルスに対する細胞培養インフルエンザワクチン製剤 3 件について、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]

3. 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

2013-14 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 3 株の試験交付、A/H3N2 亜型, B 型仮交付株のべ 4 株について、抗原分析及び HA、NA 遺伝子の遺伝子解析を実施して遺伝的・抗原的安定性を解析し、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]

4. 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

2014/2015 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[NIB-85, X-233, X-233A（H3N2）, BX-53A, BX-53B, BX-53C, B/Texas/02/2013]。ワクチン製造所で増殖性の検討を行うため、H3N2 亜型, B 型ともに 2 株を試験交付し、得られた成績をもとに A 型 H3N2 亜 3 株、B 型 2 株を仮交付し、2013/2014 シーズン用ワクチン株選定に供した。[白倉雅之、内藤忠相、鈴木康司、武藤亜紀子、信澤枝里、田代眞人]

5. H7N9/2013 野生株、ワクチン製造候補株の輸入、増殖、検討。

H7N9 野生株（A/Anhui/1/2013, A/Shanghai/1/2013,A/Taiwan/1/2013）およびワクチン製造用種株(IDCDC-RG32A, NIBRG-267,268)を輸入した。必要に応じて、BSL3 実験

室あるいは GMP 準拠施設内で、ウイルスを増殖させ遺伝子解析、抗原解析を行い、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。[中村一哉、白倉雅之、高山郁代、影山努、信澤枝里、田代眞人]

6. H7N9 ワクチン株 NIIDRG-10.1 の国内外ワクチン製造所への分与と検討依頼

感染研で作製したワクチン株 NIIDRG-10.1 および輸入した NIBRG-267,268 に対する感染症法上の取り扱いの整備、MTA 締結等分与に必要な手続きを行った後、分与した。NIIDRG-10.1 は、国内ワクチン製造所における、増殖性等の検討、ワクチン種株としての妥当性の検討を依頼した。[信澤枝里、田代眞人]

7. シードウイルス製造用 MDCK セルバンクの GMP 管理に関する業務

GMP に準拠した条件下で作製した MDCK マスターセルバンクおよびワーキングセルバンクを、これまでに準備した培養細胞の保管・出庫に関する手順書等に従って GMP 管理の保管庫に移動し、細胞の GMP 管理を開始した。これにより、GMP 管理下での細胞培養ワクチン用シードウイルス作製体制の整備を進めることが出来た。[山本典生、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]

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 次元的抗原性分析への参加と協力

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、国内分離株の解析をするため、592 株(A(H3N2):197 株、B 型:191 株、A(H1N1)pdm09:204 株)の抗原解析データと 596 株(A(H3N2):166 株、B:203 株、A(H1N1)pdm09:227 株)のシーケンスデータを 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、ワクチン株選定に貢献した。[徐紅、岸田典子、藤崎誠一郎、高下恵美、今井正樹、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦美穂、江島美穂、小田切孝人、田代眞人]

2. WHO 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス強化のためのワーキンググループへの参加

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、世界規模の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス実施に向けた指針の更新作業を行った。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において抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施する際の基本方針となるもので WHO ウェブサイトにおいて公開された。[高下恵美、影山努、小田切孝人、田代眞人]

3. 国際インフルエンザウイルスデータベース(GISAID)ワーキンググループへの参加およびデータベース改良への貢献

インフルエンザウイルスの国際データベース(GISAID)は、2006 年 8 月に構築・公開されたデータベースであり、ヒト及び鳥インフルエンザウイルスについての情報を各国の研究者に無償で提供することを目的としている。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、これに基づいて順次、GISAID 機能のアップデートが進められている。[藤崎誠一郎、高下恵美、小田切孝人、田代眞人]

4. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定に関する協議への参画

9 月と 2 月に WHO ジュネーブ本部で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。[小田切孝人、今井正樹、岸田典子、徐紅、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、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]

5. WHO 西太平洋地域諸国に対するインフルエンザウイルス遺伝子解析方法トレーニングプログラムへの参画

平成 25 年 4 月 27 日から 5 月 4 日の期間にメルボルンにて開催された「Regional Training on Sequencing and Phylogenetic Analysis of Influenza Viruses for National Influenza Centre Laboratory Staff」にインストラクターとして参加した。WHO/WPRO 主催の本トレーニングにて、インフルエンザウイルスの遺伝子配列決定法、および遺伝子系統樹解析法を WHO/西太平洋地域諸国のインフルエンザウイルス解析担当者に指導した。[藤崎誠一郎]

6. WHO A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールに関する Working Group Meeting への参加

平成 25 年 7 月 2 日～3 日にジュネーブで開催された WHO A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールに関する Working Group Meeting に参加し、WHO の A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールのアップデートについてと諸外国のナショナルインフルエンザセンターに対して行っているインフルエンザウイルスの PCR 亜型診断の精度管理およびその継続性について、他の WHO インフルエンザ協力センター、WHO H5 リファレンスラボラトリー、ナショナルインフルエンザセンター、OFFLU と協議した。[影山 努、田代眞人]

7. A(H7N9)ウイルス検査法の情報提供

PCR 法を用いた A(H7N9)ウイルス検査法を WHO GISRS 内で情報提供した。また、海外 6 カ所の NIC(National Influenza Center)に対し、リアルタイム RT-PCR 法ならびにコンベンショナル RT-PCR 法を用いた A(H7N9)検出系のプライマー、プローブ、陽性コントロールおよび反応試薬の配布を行った。[高山郁代、高橋仁、中内美名、影山努]

8. 重症呼吸器感染症患者検体の病原体探索

ネパールで流行していた原因不明の重症呼吸器感染症について、患者から採取された 93 臨床検体がネパール NIC より送付された。送付された検体に対しては、インフルエンザウイルスを初めとした病原体の網羅的解析を行った。 [影山努、黒田誠*、片野晴隆**、木村博一***、中内美名、高橋仁、高山郁代、小田切孝人、田代眞人：*病原体ゲノム解析研究センター、**感染病理部、***感染症疫学センター]

9. 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 及び地域研究所(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）および Yen Bai 省、Thai Nguyen 省、Nghe An 省、Thua Thien Hue 省、Da Nang 市、Gia Lai 省、Dak Lak 省、Dong Nai 省、Tien Giang 省、Can Tho 市のパイロット省予防医療センター(PCPM)の職員を対象とした研修会「Workshop to identify novel influenza A(H7N9) by RT-PCR in Ho Chi Minh City (2013 年 8 月 20 日－21 日)」を開催し、鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスの診断法などに関する講義および実技指導を行った。 [影山努]

10. 国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」研修に講師として参画し、季節性インフルエンザワクチンの品質管理について講義を行った。[原田勇一]

11. 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]

12. H7N9 野生株およびワクチン株の輸出入

2013 年 3 月に中国が報告した H7N9 鳥インフルエンザウイルスのヒト感染事例に対応するため、当該ウイルスを

Pandemic Influenza Preparedness(PIP)の対象ウイルスとして WHO が定めた PIP の枠組みの規定に則り輸入、輸出行った。分与に関しては、WHOHQ への報告および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。

輸入 : 2013 年 3 月に中国で明らかとなった H7N9 鳥インフルエンザウイルス（ヒト分離株）3 株及ワクチン株 3 株の輸入を行った。

輸出：近隣諸国及びワクチン製造所からの依頼を受け、野生株および感染研で作製したワクチン株 NIIDRG-10.1 を WHO の PIP framework の制約の中で、輸出し、WHO への報告を行った。輸出に際して必要な手続きの整備を総務部調整課､国際協力センターの協力のもと行なった。[信澤枝里、田代眞人]

13. 細胞培養ワクチン用種ウイルスの製造に関する国際的枠組みの構築に関する業務

細胞培養ワクチンは、鶏卵馴化による抗原変異を避けることができるため、鶏卵培養法により製造されたワクチンよりも有効性が高いと期待されている。しかし現状では鶏卵培養法により製造された種ウイルスしかないため、このままでは細胞培養ワクチンの利点を生かし切ることが出来ない。そこで、細胞培養ワクチン用種ウイルスを細胞培養法のみによって製造できるようにするために、他の WHOCC と協調して国際的な枠組みの構築を進めた。

[山本典生、原田勇一、中村一哉、浜本いつき、田代眞人]

研修業務

1. 順天堂大学医学部「基礎ゼミ」の担当と実験技術研修

順天堂大学医学部学生の「基礎ゼミ」を担当し、細胞培養、ウイルス感染、PCR 等の実験に関する技術研修を行った。 [山本典生、柊元　巌* : *ゲノム解析センター]

2. 平成 25 年度国立感染症研究所医師卒後臨床研修

10 月 23 日に実施された H25 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. インフルエンザウイルスに関する実験の習得ならびに見学（研修）

台湾 CDC からの要請を受け、平成 25 年 11 月 18 日－22 日に当センターにて Ji -Rong Yang（assistant researcher）の研修を行った。本研修ではインフルエンザのサベイランスに用いるフェレット抗血清の作成方法など、動物実験の基本技術を習得するための技術研修と、当所の施設見学が主な目的であった。[浅沼秀樹、相内　章]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Fouchier, R. A. M., Garcia-Sastre, A., Kawaoka, Y., Barclay, W. S.,Bouvier, N. M., Brown, I. H., Capua, I., Chen, H., Compans, R. W.,Couch, R. B., Cox. N. J., Doherty,, P. C., Donis, R. O., Feldmann, H.,Guan, Y., Katz, J., Kiselev, O., Klenk, H.-D., Kobinger, G., Liu, J.,Liu, X., Lowen, A., Mittenleiter, T. C., Osterhaus, A. D. M. E.,Palese, P., Peiris, J. S. M., Perez, D. R., Richit, J. A.,Schultz-Cherry, S., Steel, J. Subbarao, K., Swayne, D. E., Takimono,T., Tashiro, M., Taubenberger, J. K., Thomas, P. G., Tripp, R. A.,Tumpey, T. M., Webby, R. J., Webster, R. G. Avian flu transmission research resumes.Science 339(6119) 520-521 2013 DOI: 10.1126/science.1235140 (2013)

2) Fouchier, R. A. M., Garcia-Sastre, A., Kawaoka, Y., Barclay, W. S.,Bouvier, N. M., Brown, I. H., Capua, I., Chen, H., Compans, R. W.,Couch, R. B., Cox. N. J., Doherty,, P. C., Donis, R. O., Feldmann, H.,Guan, Y., Katz, J., O. Kiselev, Klenk, H.-D., Kobinger, G., Liu, J.,Liu, X., Lowen, A., Mittenleiter, T. C., Osterhaus, A. D. M. E.,Palese, P., Peiris, J. S. M., Perez, D. R., Richit, J. A.,Schultz-Cherry, S., Steel, J. Subbarao, K., Swayne, D. E., Takimono,T., Tashiro, M., Taubenberger, J. K., Thomas, P. G., Tripp, R. A. Tumpey, T. M., Webby, R. J., Webster, R. G. H5N1 virus: Transmission studies resume for avian flu Nature 493: 460, 2013. doi:10.1038/nature11858 (2013)

3) McKimm-Breschkin, J. L., Williams, J., Barrett, S., Jachno, K.,McDonald, M., Mohr, P., Saiito, T., Tashiro, M. Reduced susceptibility to all neuraminidase inhibitors of influenza H1N1 viruses with haemagglutinin mutations and mutations

in non-conserved residues of the neuraminidase. J. Antimicrobial Chemotherapy.68(10) 2210-2221 2013 doi: 10.1093/jac/dkt205 (2013)

4) Ainai, A., Tamura, S-I., Suzuki, T., van Riet, E., Ito, R., Odagiri,T., Tashiro, M., Kurata, T., Hasegawa, H. Intranasal vaccination with an inactivated whole influenza virus vaccine induces strong antibody responses in serum and nasal mucus of healthy adults. Human Vaccines & Immunotherapeutics. 9(9) 1-8 2013.

5) Members of the Western Pacific Region Global Influenza Surveillanceand Response System; Dwyer, D., Barr, I., Hurt, A., Kelso, A.,Reading, P., Sullivan, S., Buchy, P., Yu, H., Zheng, J., Shu, Y.,Wang, D., Lam, W., Aguon, A., Oliva, R.Q., Odagiri, T., Tashiro, M.,Verasahib, K., Yusof, M. A., Nymadawa, P., Alexander, B., Gourinat,A.-C., J Grangeon, J.-P., Jennings, L., Huang, S., Horwood, P.,Lucero, M., Roque, V. Jr., Suy, L. L., Cardon, P., Tandoc, A. III.,Olveda, R. M., Chun, K., Park,Y.-J., Cutter, J., Lin, R., Low, C.,Mai, L. T. Q., Balish, A., Kile, J., Mei, S., Mcfarland, J., Moen, A.,Olsen, S., Samaan, G., Xi, X., Chea, N., Diorditsa, S., Feldon, K.,Fox, K., Jamsran, M., Konings, F., Lewis, H. C., McPherson, M.,Nilles, E., Olowokure, B., Partridge, J.Seasonal influenza vaccine policies, recommendations and use in the World Health Organization's Western Pacific Region Western Pacific Surveillance and Response (WPSAR) Journal (2013). 4:51-59 2013. doi: 10.5365/wpsar.2013.4.1.009 (2013).

6) Miyazaki, M., Nishihara, H., Hasegawa, H., Tashiro, M., Wang, L.,Kimura, T., Tanino, M., Tsuda, M., Tanaka, S. NS1-binding protein abrogates the elevation of cell viability by the influenza A virus NS1 protein in association with CRKL.Biochem. Biophys. Res. Commun. 441(4) 953-957 2013 DOI:10.1016/j.bbrc.2013.11.011

7) Barr, I. G., Besselaar, T. G., Cox, N. J., Daniels, R. S., Donis,R., Engelhardt, O. G., Grohmann, G., Itamura, S., Kelso, A., McCauley,J., Odagiri, T., Russell, C., Schultz-Cherry, S., Shu, Y., Smith, D.,Tashiro, M., Wang, D., Webby, R., Xu, X., Ye, Z., Zhang, W. (Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2013-4) WHO recommendations for the viruses to be used in the 2013-14 Northern Hemisphere Influenza Vaccine: Epidemiology, antigenic and genetic characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from October 2012 to January 2013.Vaccine 20;32(37) 4713-4725 2014

8) World Health Organization/World Organisation for Animal Health/Food and Agriculture Organization (WHO/OIE/FAO) H5N1 Evolution Working Group: Bahl, J., Besselaar, T., Brown, I. H., Capua, I., Chen, H.,Cox, N., Claes, F., Davis, C. T., Donis, R. O., Fouchier, R. A. M.,Guan, Y., Hamilton, K., Jang, Y., Kawaoka, Y., Kelso, A., McCauley, J., Mumford, E., Prajitno, T., Russell, C. A., Smith, D., Smith, G. J. D., Shu, Y., Tashiro, M., Shepard, S., Vijaykrishna, D., Webby, R.,Webster, R., Wong, F. Revised and updated nomenclature for highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses. Influenza and Other Respiratory Viruses. 8(3) 384-388 2014 DOI: 10.1111/irv.122302014

9) Nakauchi, M., Takayama, I., Takahashi, H., Tashiro, M., Kageyama, T. Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid diagnosis of avian influenza A (H7N9) virus infection. J. Virol. Methods 204 101-104 2014.

10) Nakauchi, M., Takayama, I., Takahashi, H., Oba, K., Kubo, H., Kaida, A., Tashiro, M., Kageyama, T. Real-time RT-PCR Assays for Discriminating Influenza B Virus Yamagata and Victoria Lineages. J. Virol. Methods.205 110-115 2014 DOI:10.1016/j.jviromet.2014.04.016 (2014)

11) Sakai, K., Ami, Y., Tahara, M., Kubota, T., Anraku, M., Abe, M., Nakajima, N., Sekizuka, T., Shirato, K., Suzaki, Y., Ainai, A., Nakatsu, Y., Nagata, N., Kanou, K., Komase, K., Nobusawa, E., Maenaka, K., Kuroda, M., Hasegawa, H., Kawaokaj, Y., Tashiro, M., Takeda, M. The host protease

TMPRSS2 plays a major role for in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. J. Virol. 88 5608-5616 2014 doi:10.1128/JVI.03677-13 (2014)

12) Takashita E, Ejima M, Itoh R, Miura M, Ohnishi A, Nishimura H, Odagiri T, Tashiro M. A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November to December 2013. Euro Surveill. 2014;19(1):pii: 20666.

13) Kishida N, Imai M, Xu H, Taya K, Fujisaki S, Takashita E, Tashiro M, Odagiri T. Seroprevalence of a novel influenza A (H3N2) variant virus in the Japanese population. Jpn J Infect Dis. 2013;66(6):549-51.

14) Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, Nakajima N, Imai M, Yamada S, Murakami S, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Sakoda Y, Takashita E, McBride R, Noda T, Hatta M, Imai H, Zhao D, Kishida N, Shirakura M, de Vries RP, Shichinohe S, Okamatsu M, Tamura T, Tomita Y, Fujimoto N, Goto K, Katsura H, Kawakami E, Ishikawa I, Watanabe S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Sugita Y, Uraki R, Yamaji R, Eisfeld AJ, Zhong G, Fan S, Ping J, Maher EA, Hanson A, Uchida Y, Saito T, Ozawa M, Neumann G, Kida H, Odagiri T, Paulson JC, Hasegawa H, Tashiro M, Kawaoka Y. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. Nature. 2013;501(7468):551-5.

15) Takashita E, Fujisaki S, Kishida N, Xu H, Imai M, Tashiro M, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Characterization of neuraminidase inhibitor-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated in four seasons during pandemic and post-pandemic periods in Japan. Influenza Other Respir Viruses. 2013;7(6):1390-9.

16) Uraki R, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Fukuyama S, Takashita E, Ozawa M, Kawaoka Y. A novel bivalent vaccine based on a PB2-knockout influenza virus protects mice from pandemic H1N1 and highly pathogenic H5N1 virus challenges. J Virol. 2013;87(14):7874-81.

17) Kageyama T, Fujisaki S, Takashita E, Xu H, Yamada S, Uchida Y, Neumann G, Saito T, Kawaoka Y, Tashiro M. Genetic analysis of novel avian A(H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013. Euro Surveill. 2013;18(15):20453-20468. 2013

18) Fujisaki S, Imai M, Takashita E, Taniwaki T, Xu H, Kishida N, Yokoyama M, Sato H, Tashiro M, Odagiri T. Mutations at the monomer-monomer interface away from the active site of influenza B virus neuraminidase reduces susceptibility to neuraminidase inhibitor drugs. J Infect Chemother. 2013;19(5):891-895.

19) Wilker PR, Dinis JM, Starrett G, Imai M, Hatta M, Nelson CW, O'Connor DH, Hughes AL, Neumann G, Kawaoka Y, Friedrich, TC. Selection on haemagglutinin imposes a bottleneck during mammalian transmission of reassortant H5N1 influenza viruses. Nat. Commun. 2013;4:2636.

20) Imai M, Herfst S, Sorrell EM, Schrauwen EJ, Linster M, De Graaf M, Fouchier RA, Kawaoka Y. Transmission of influenza A/H5N1 viruses in mammals. Virus Res. 2013;178:15-20.

21) Takemae N, Nguyen T, Ngo LT, Hiromoto Y, Uchida Y, Pham VP, Kageyama T, Kasuo S, Shimada S, Yamashita Y, Goto K, Kubo H, Le VT, Van Vo H, Do HT, Nguyen DH, Hayashi T, Matsuu A, Saito T. Antigenic variation of H1N1, H1N2 and H3N2 swine influenza viruses in Japan and Vietnam. Archives of Virology 158(4):859-876 2013

22) Kobayashi M, Takayama I, Kageyama T, Tsukagoshi H, Saitoh M, Ishioka T, Yokota Y, Kimura H, Tashiro M, Kozawa K. Novel Reassortant Influenza A (H1N2) Virus Derived from A (H1N1) pdm09 Virus Isolated from Swine, Japan, 2012. Emerging Infectious Diseases, 19(12), 2013

23) Yamanaka A, Iwakiri A, Yoshikawa T, Sakai K, Singh H,

Himeji D, Kikuchi I, Ueda A, Yamamoto S, Miura M, Shioyama Y, Kawano K, Nagaishi T, Saito M, Minomo M, Iwamoto N, Hidaka Y, Sohma H, Kobayashi T, Kanai Y, Kawagishi T, Nagata N, Fukushi S, Mizutani T, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Shimojima M, Kurane I, Kageyama T, Odagiri T, Saijo M, Morikawa S. Imported Case of Acute Respiratory Tract Infection Associated with a Member of Species Nelson Bay Orthoreovirus. PLoS One. 9(3):25-34, 2014

24) Ato M, Takahashi Y, Fujiia H, Hashimoto S, Kaji T, Itamura S, Horiuchi Y, Arakawa Y, Tashiro M, Takemori T. Influenza A whole virion vaccine induces a rapid reduction of peripheral blood leukocytes via interferon- α -dependent apoptosis. Vaccine 31: 2184–2190 (2013)

25) Yang T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Kishida N, Shirakura M, Imai M, Asanuma H, Takeda N, Wakita T, Li TC. Characterization of self-assembled virus-like particles of ferret hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. J Gen Virol. 94: 2647-2656. 2013.

26) Takebe Y, Saucedo CJ, Lund G, Uenishi R, Hase S, Tsuchiura T, Kneteman N, Ramessar K, Tyrrell DL, Shirakura M, Wakita T, McMahon JB, O'Keefe BR. Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent in vitro and in vivo activity against hepatitis C virus. PLoS One. 8(5): e64449. 2013.

27) Hamamoto I, Harazaki K, Inase N, Takaku H, Tashiro M, Yamamoto N. Cyclosporin A inhibits the propagation of influenza virus by interfering with a late event in the virus life cycle. Jpn J Infect Dis. 66(4):276-83, 2013

28) Tsukagoshi H, Yokoi H, Kobayashi M, Kushibuchi I, Okamoto-Nakagawa R, Yoshida A, Morita Y, Noda M, Yamamoto N, Sugai K, Oishi K, Kozawa K, Kuroda M, Shirabe K, Kimura H. Genetic analysis of attachment glycoprotein (G) gene in new genotype ON1 of human respiratory syncytial virus detected in Japan. Microbiol Immunol. 57(9):655-9, 2013

29) Kushibuchi I, Kobayashi M, Kusaka T, Tsukagoshi H, Ryo A, Yoshida A, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Yamamoto N, Kanou K, Saitoh M, Noda M, Kuroda M, Morita Y, Kozawa K, Oishi K, Tashiro M, Kimura H. Molecular evolution of attachment glycoprotein (G) gene in human respiratory syncytial virus detected in Japan 2008-2011. Infect Genet Evol. 18:168-73, 2013

30) Okada S, Hasegawa S, Hasegawa H, Ainai A, Atsuta R, Ikemoto K, Sasaki K, Toda S, Shirabe K, Takahara M, Harada S, Morishima T, Ichiyama T. Analysis of bronchoalveolar lavage fluid in a mouse model of bronchial asthma and H1N1 2009 infection. Cytokine. 2013 Aug;63(2):194-200.

31) Li TC, Yang T, Ami Y, Suzaki Y, Shirakura M, Kishida N, Asanuma H, Takeda N, Wakita T. Complete Genome of Hepatitis E Virus from Laboratory Ferrets. Emerging Infectious Diseases. 20(4):709-12. 2013.

32) Yoo W, Nakamura T, Asanuma H, Matsushita M. Molecular cloning, genomic structure and tissue distribution of EW135, a novel chicken egg white protein with group B scavenger receptor cysteine-rich domains. Immunogenetics 65(11):785-93. 2013.

2. 和文発表

1) 今井正樹、河岡義裕: 哺乳類間での H5N1 と H7N9 鳥インフルエンザウイルスの空気感染. インフルエンザ診療ガイド 2013-14. 2013;36-43.

2) 齋藤孔良、高下恵美. Q&A　耐性ウイルスの基準について教えてください. インフルエンザ. 2014;15:30.

3) 高下恵美、江島美穂、伊東玲子、三浦舞、小田切孝人、田代眞人、大西麻実、川西稔展、西村秀一. 2013/14 シーズンに札幌市で検出された抗インフルエンザ薬耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルス. IASR. 2014;35:42-43.

4) 高下恵美、江島美穂、伊東玲子、三浦舞、藤崎誠一郎、中村一哉、岸田典子、徐紅、土井輝子、佐藤彩、菅原裕美、小田切孝人、田代眞人、横山新吉、青木洋子、矢作一枝、的場洋平、水田克巳、池田辰也. 山形県で検出された抗インフルエンザ薬耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルス. IASR 2014;35:76-78.

5) 田中智子、大場邦弘、小田智三、高山郁代、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. 感染症学雑誌. 87(5):618-619, 2013

6) 板村繁之 インフルエンザ・パンデミック対策用ワクチン　小児科　54(12) 1661-1668, 2013

7) 白倉雅之、今井正樹 H5N1 および H7N9 鳥インフルエンザの現状と新型インフルエンザの発生. 小児内科、Vol.45, No.11, pp.1983-1988, 2013.

8) 山本典生、田代眞人 新型インフルエンザ　予防接種 Q&A, 小児内科 Vol.45 増刊号, 549-551, 2013

9) 小田切孝人、田代眞人 中国でヒトに感染した鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスの性状、検査系の開発およびワクチン開発とその問題点 ウイルス 63(2):233−240, 2013

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Takashita E, Ejima M, Fujisaki S, Kishida N, Xu H, Imai M, Tashiro M, Odagiri T. A cell-based screening system to evaluate the susceptibility of influenza viruses to T-705 (favipiravir). 15th International Negative Strand Virus Meeting. Granada, Spain. June 2013.

2) Uraki R, Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Fukuyama S, Takashita E, Ozawa M, Kawaoka Y. A PB2-KO influenza virus-based bivalent vaccine protects mice against pandemic H1N1 and highly pathogenic H5N1 virus challenge. 15th International Negative Strand Virus Meeting. Granada, Spain. June 2013.

3) Nakamura K, Shirakura M, Muto A, Naito T, Fujisaki S, Tashiro M, Nobusawa E. Development of candidate vaccine of A/Anhui/1/2013(H7N9) strain by reverse genetics system. Options for the Control of Influenza VIII. Cape Town, South Africa. September 2013.

4) Takashita E, Fujisaki S, Kishida N, Xu H, Imai M, Tashiro M, Odagiri T. Detection of antiviral-resistant influenza viruses in Japan during pandemic and post-pandemic periods. Options for the Control of Influenza VIII. Cape Town, South Africa. September 2013.

5) Takahashi H, Ohnishi K, Takayama I, Nakauchi M, Nagata S, Tsunetsugu-Yokota Y, Tashiro M, Kageyama T. Development of monoclonal antibodies specific for H5 H A and their application to rapid and specific detection of influenza A/H5N1 virus. Options for the Control of Infl uenza VIII, Cape Town, South Africa. September 2013.

6) Kaida A, Kubo H, Iritani N, Takakura K, Sekiguchi J, Ohyama M, Kohdera U, Togawa M, Amo K, Shiomi M, Yamamoto S, Goto K, Hase A, Kageyama T. High Proportion of Multiple Infections with Respiratory Viruses in Young Children with Acute Respiratory Tract Infections. European Congress of Virology 2013. Lyon, France. September 2013.

7) Shirakura M, Setiawaty V, Pawestri HA, Takayama I, Arita T, Imai M, Kawaguchi A, Nakamura K, Kageyama T, Sampurno OD, Nobusawa E, Tashiro M. International collaboration on the characterization of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses isolated from humans in Indonesia during 2011-2012 for developing the vaccine candidate viruses. Options for the Control of Influenza VIII. Cape Town, South Africa. September 2013.

8) Asanuma H, Ainai A, Nagata N, Kishida N, Takahashi H, Konomi N, Yamaguchi Y-F, Tashiro M. Relationship between virus clearance and induction of nasal IgA after infection of

ferrets with H3N2 influenza virus derived from clinical specimens. International Congress of Mucosal Immunology. Vancouver Canada, July 2013,

9) Ainai A, van Riet E, Tamura S, Suzuki T, Kawaguchi A, Ito R, Ikeda K, Senchi K, Asanuma H, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H. Antibody responses in serum and nasal mucus induced by the intranasal vaccination with a whole-virion inactivated vaccine of A(H5N1) virus in healthy human adults. 7th Vaccine & ISV. Barcelona, Spain. October 2013

10) Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Tashiro M, Hasegawa H. Impact of the quaternary structure of human secretory-IgA on viral neutralization activity in upper respiratory tract. 7th Vaccine & ISV. Barcelona, Spain. October 2013

11) Hasegawa H, Ainai A, Suzuki T, van Riet E, Tamura S, Ikeda K, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T. Antibody responses in serum and nasal mucus induced by the intranasal vaccination with a whole-virion inactivated vaccine of A(H5N1) virus in healthy naïve human adults. Keystone Symposia 2014. CO, USA. January 2014

12) Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Tashiro M, Hasegawa H. Impact of the quaternary structure of human Secretory-IgA on neutralization potency to Influenza A virus in upper respiratory tract. Keystone Symposia 2014. CO, USA. January 2014

13) Ikeda K, Ito R, Ainai A, Suzuki T, Tamura S-I, Arao Y, Tashiro M, Asanuma H, Hasegawa H. Antibody responses induced by intranasal vaccination of a whole inactivated influenza virus in mice previously infected or vaccinated. Keystone symposia 2014. CO, USA. January 2014

2. 国内学会

1) 高下恵美、小田切孝人. 5 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 54 回日本臨床ウイルス学会. 倉敷. 2013 年 6 月.

2) 今井正樹. 中国で発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)について. 第 47 回日本ウイルス学会北海道支部会夏季シンポジウム. 北海道奈井江町. 2013 年 7 月.

3) 高下恵美. 小児における抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの検出. 第 45 回日本小児感染症学会学術集会. 札幌. 2013 年 10 月.

4) 高下恵美、徐紅、江島美穂、藤崎誠一郎、岸田典子、今井正樹、伊東玲子、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、三浦舞、田代眞人、小田切孝人. ノイラミニダーゼ阻害薬耐性変異をもつ A(H7N9)および A(H3N2)インフルエンザウイルス. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

5) 藤崎誠一郎、岸田典子、徐紅、今井正樹、高下恵美、菅原裕美、土井輝子、佐藤彩、伊東玲子、三浦舞、江島美穂、小口晃央、花巻朝子、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. 2012/13 シーズンのインフルエンザ流行株と 2013/14 シーズンのワクチン株. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

6) 中村一哉、白倉雅之、武藤亜紀子、内藤忠相、藤崎誠一郎、田代眞人、信澤枝里. 鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスのワクチン製造候補株の開発. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

7) 高下恵美. インフルエンザウイルスのファビピラビル（T-705）感受性. 3rd Negative Strand Virus-Japan. 沖縄. 2014 年 1 月.

8) 大場邦弘、田中智子、小田智三、高山郁代、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および RS ウイルス感染症診断の臨床的検討. 第 62 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京. 2013 年 10 月

9) 林　健太，加藤昭生，大場邦弘，小鍛治雅之，高橋

仁, 高山郁代, 中内美名, 影山　努. インフルエンザ A/H3N2 感染を契機に発症した横断性脊髄炎の 4 歳男児. 第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 札幌. 2013 年 10 月

10) 高山郁代、中内美名、高橋仁、田代眞人、影山努. 鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルス検出系の構築および喀痰検体の前処理方法についての検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

11) 高橋仁、大西和夫、西村研吾、高山郁代、中内美名、永田志保、小林美栄、横田恭子、田代眞人、影山努. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H5N1 インフルエンザ迅速診断法構築の検討. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

12) 影山努, 高橋仁、高山郁代, 中内美名, 田代眞人, 大場邦弘、改田　厚、久保英幸. Direct RT-LAMP 法によるマイクロ流路チップを用いたインフルエンザおよび呼吸器感染症ウイルス同定について. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

13) 中内美名, 高山郁代, 高橋仁, 大場邦弘, 田代眞人, 影山努. B 型インフルエンザウイルス Victoria 系統・Yamagata 系統の real-time RT-PCR 法を用いた鑑別検出法の構築. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

14) 小林美栄、高橋仁、西村研吾、高山郁代、大西和夫、板村繁之、影山努、横田恭子. H5N1 インフルエンザウイルス高感度検出系開発に向けた H5HA 特異的抗体のエピトープ解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

15) 改田　厚, 久保英幸, 山元誠司, 入谷展弘, 天羽清子, 影山　努. 乳幼児呼吸器感染症からのコロナウイルス検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月.

16) 佐藤佳代子, 浅沼秀樹、高橋宜聖, 阿戸学、田代眞人、板村繁之. 剤形の異なるインフルエンザワクチンにより誘導される抗体の性状と防御効果との相関. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 津. 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日

17) Sato K, Takahashi Y, Ato M, Asanuma H. TLR agonists induce high avidity of virus-specific antibodies upon a booster conditions. 第 42 回日本免疫学会学術集会. 幕張. 2013 年 12 月

18) 板村繁之. インフルエンザワクチンの力価試験の変遷と課題. 第 27 回インフルエンザ研究者交流の会. 札幌. 2013 年 6 月

19) 内田裕子、彦野弘一、金平克史、竹前喜洋、信澤枝里、田代眞人、西藤岳彦　中国の人から分離された H7N9 亜型インフルエンザウイルスの家禽における性状解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

20) 鈴木康司、谷川太一朗、内田裕子、竹前喜洋、西藤岳彦. 鳥インフルエンザウイルス PB1 蛋白のポリメラーゼ活性に関わるアミノ酸同定と鶏への病原性の影響. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

21) 原田勇一、中村一哉、浜本いつき、浅沼秀樹、相内章、田代眞人、奥野良信、山本典生. マウスにおける細胞培養型インフルエンザワクチンの有効性の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

22) 原田勇一、中村一哉、浜本いつき、榎本匡志、浅沼秀樹、相内　章、田代眞人、山本典生. マウスモデルを用いた細胞培養型インフルエンザワクチンの有効性の解析. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 津. 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日

23) 杉村 哲、高橋 仁、城内 健太、大塩 木乃実、金山 雅也、田墨 恭子、谷畑 葉子、三浦 裕、藤原 大介、山本 典生. L. lactis JCM5805 株摂取によるプラズマサイトイド樹状細胞活性化を介したウイルス性呼吸器感染症抑制効果の検証　第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸.

2013 年 11 月

24) 泉地恭輔、相内　章、鈴木忠樹、浅沼秀樹、梁　明秀、長谷川秀樹 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. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

25) 池田千将、伊藤　良、相内　章、鈴木忠樹、田村愼一、荒尾雄二郎、田代眞人、浅沼秀樹、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンで誘導される抗体応答に基礎免疫が与える影響. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

26) 相内　章、浅沼秀樹、鈴木忠樹、原田勇一、田村愼一、田代眞人、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにおけるワクチンの組み合せが抗体応答に与える影響. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

27) 川口　晶、鈴木忠樹、相内　章、佐藤由子、永田典代、田代眞人、長谷川秀樹 Nc/Nga マウスを用いた喘息発作によるインフルエンザ感染症重症かモデルの作製. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2013 年 11 月

28) 長谷川秀樹、相内　章、田村愼一、鈴木忠樹、浅沼秀樹、小田切孝人、田代眞人、倉田　毅 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を用いた経鼻インフルエンザワクチンの効果. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 津. 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日

29) 鈴木忠樹、川口　晶、相内　章、田村愼一、小田切孝人、田代眞人、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにより鼻腔粘膜上に誘導される多量体 IgA 抗体のウイルス感染防御における役割. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 津. 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日

30) 相内　章、田村愼一、鈴木忠樹、小田切孝人、田代眞人、倉田　毅、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにより誘導される抗体応答に年齢、性別あるいは副反応が与える影響. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 津. 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日

31) Asanuma H. Contribution of virus clearances by nasal IgA in ferrets primed with H3N2 influenza virus derived from clinical specimens. 第 42 回日本免疫学会学術集会. 幕張. 2013 年 12 月

32) Fujihashi K, Sekine S, Fukuyama Y, Asanuma H, Aso K, Ikeda Y, Fujihashi K, Kiyono H, McGhee JR. Nasal pFL and CpG ODN alone enhances immediate, specific recall IgA Ab responses. 第 42 回日本免疫学会学術集会. 幕張. 2013 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 6 回協議会を平成 26 年 3 月 12 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「第 11 回市民公開講座」を平成 25 年度科学技術週間にあわせて 4 月 20 日(土)に行った。内容は「遺跡が語る江戸時代のハンセン病とチンパンジーから学ぶハンセン病」で鈴木幸一室長が講演した。さらに 11 月 9 日には「第 12 回市民公開講座」として大西　真 細菌第一部長が「高齢者の肺炎の予防戦略」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・啓発に努めている。

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 25 年度の第 35 回夏期大学迄に 1,401 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 25 年度は 8 月 5 日～9 日までの 5 日間実施され、35 人が受講した。

国際協力事業

1. モザンビーク共和国：同国でのハンセン病の状況調査および WHO の薬剤耐性監視事業に関する打ち合わせを行うため、職員 1 名を派遣した。
2. フィリピン共和国：WHO による薬剤耐性サーベイランスの会議に出席するため、職員 1 名を派遣した。
3. フランス共和国、スイス連邦：フランスパスツール研究所においてハンセン病の薬剤耐性及びゲノム解析に関する意見交換、スイスグローバルヘルス研究所においてらい菌ゲノム解析の共同研究について打ち合わせ、さらにスイス WHO においてハンセン病関

連の情報収集を行うため、職員 2 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 25 年度（平成 25 年 4 月～平成 26 月 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 12 症例、26 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。

12 症例の最終診断は、2 例は新規にハンセン病と診断、1 例はハンセン病の既往・再発と診断し、8 例はハンセン病でなしと診断し、1 例は治療中であった。

また皮膚スメア検査のサポートも行い、平成 25 年度は 13 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 25 年は 3 名(日本人女 1 名、ネパール人男 1 名、ブラジル人男 1 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 25 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 25 年度（2013 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	17
総検査件数	26
病理学的検査件数	1
血清抗体価検査件数	6
PCR 検査件数	15
薬剤耐性遺伝子検査件数	4
実症例数	12

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
H25 年度	17	26	1	6	15	4	12

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25年4月より同26年3月までの1年間において、のべ 18 回、45 匹、 4 施設（国内 1、国外 3）、7 名（国内 4、国外 3）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

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・非結核性抗酸菌の感染によって発症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の分離・同定試験（依頼検査）を行っている。ハンセン病に関する研究においては、らい菌感染樹状細胞が放出するエキソソームに関する研究が開始・展開された。樹状細胞にらい菌を感染させた後、らい菌由来のリポペプチドで刺激すると、MHC クラス II・クラス I 及び CD86 抗原を表面に発現するエキソソームが放出され、そのエキソソームはらい菌膜蛋白の一部を含み抗原性に富み、CD4 陽性 T 細胞を活性化することから新たな免疫療法剤となり得ること、さらにハンセン病の型別発症鑑別診断用バイオマーカーとして使用し得る可能性が明らかとなった。本研究成果は、ベルギー国ブリュッセル市で開催された第 18 回国際ハンセン病学会で報告され､ハンセン病の世界に世界で初めてエキソソームが導入されたとして非常に高い評価を受けた。また、同学会においては、当部で開発されてきたハンセン病初回免疫ワクチンとしてのリコンビナント BCG も紹介され､注目を浴びた。さらに、ハンセン病の新規発症者は世界で 20 万人前後であること、ハンセン病の濃厚流行国（地）は結核菌の蔓延国（地域）であること、さらに費用対効果を鑑みて、ハンセン病・結核共通ワクチンの開発を試み一定の成果を挙げているところであるが、ハンセン病新規発症者は総じて高齢であること、初回 BCG ワクチン接種は生後 5 カ月以内になされることを考えると、追加免疫（ブースター）ワクチンが必要と想定され、その研究が開始された。この追加免疫ワクチンについても、結核に対してもハンセン病に対しても有効であることが望ましいと考え、結核菌・らい菌共通抗原性分子に焦点を置いた研究を展開する必要性が高い。結核の研究も初回免疫ワクチン及び追加免疫ワクチンの開発が中心研究課題として据えられ、部内の数名のエキスパートがチームを組んで、ワクチン開発・評価システムの構築に全力投球がなされた。小動物を用いたワクチン評価システムの構築には、多方面からのアドバイスを頂き、多ステップにわたる改良が取り入れられ、システムはほぼ確立された。アドバイスを頂いた多くの研究者に厚く感謝申し上げたい。初回免疫ワクチンの開発は、リコンビナント BCG の開発を中心として行われた。これまでに開発したハンセン病ワクチンの知見に基づき、結核用リコンビナント BCG の開発に取り組んだ。根幹として BCG 菌体のライソゾームへの早期移行とライソゾームでの抗原性分子の分泌方策をとりいれたが、ライソゾームで分泌されるもののライソゾームでプロセッシングを受けずに細胞質へエスケープする蛋白を再利用するためにプロテオゾームでの蛋白分解を可能とする新規リコンビナント BCG が作製された。この BCG はマウスを用いて評価する限り、結核菌の肺内増殖を 5%にまで低下させることが可能であり、日本発の新しい結核ワクチンの誕生に向けて大きな前進が図られた。今後、本ワクチンの実用化に向けた研究が大いに期待されるところである。その実用化に向けては、リコンビナント BCG 作製に際し外来遺伝子を導入するが、その外来遺伝子を保有する BCG の選択に薬剤耐性遺伝子を用いることが一般的であるが、薬剤を混入させた培地で BCG を維持すると導入した遺伝子が脱落し易い。安定供給が不可欠なワクチン株の維持に向けて様々な研究が開始された。追加免疫ワクチンの研究においては、有効性を規定する宿主因子に関する研究が行われ、試験管内ではその因子が確立された。今後小動物を用いた立証と有効なワクチンの開発が展開されるものと期待される。

最後に人事であるが、4 月 1 日付で松岡正典が再び再任用職員として採用された。

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。シュワン細胞はらい菌感染により種々のサイトカイン産生を誘導するが、サイトカイン産生誘導能を示すらい菌抗原を探索するため、らい菌画分を調整したところ、らい菌膜蛋白がもっとも強いサイトカイン誘導能を示した。このことから、シュワン細胞はらい菌膜抗原を提示することにより、T 細胞を活性化しうる可能性が考えられた。

［前田百美、遠藤真澄、牧野正彦］

２．らい菌の宿主細胞内寄生機構に関する研究

らい菌は経気道感染の後に、宿主マクロファージのファゴゾーム内で豊富な脂質とともに寄生すると考えられているが、その分子機構は不明のままである。これまでに、らい菌感染後に脂質の蓄積や代謝に重要な宿主タンパクである ADRP や HSL の発現や局在が大きく変動することや、ハンセン病の化学療法に用いられるクロファジミンがそれを阻害することなどを明らかにした。さらに、らい菌感染後の宿主細胞に発現する遺伝子変化を DNA マイクロアレイで解析し、脂質成分を質量分析で解析するなど、詳細な検討を進めている。

［鈴木幸一］

３．感染や組織傷害による自然免疫活性化機構に関する研究

らい菌は、宿主マクロファージ内に潜伏して持続感染するが、その際の viability は 20%程度であるとの報告もあり、実際には変性したり死滅したりした菌体が多く含まれている。そのような菌体の構成成分である PGN, LAM、あるいは菌のゲノム DNA 断片などは自然免疫系を活性化する。ところが、らい菌の生菌には、そのような自然免疫活性化に拮抗してそれを抑制することによって、自身の細胞内生存に有利な環境を構築する能力を有していることを明らかにした。また、そのような自然免疫活性化機構は、種々の臓器において様々な病態に関与する事を明らかにした。

［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、樹状細胞にらい菌を感染させ、樹状細胞から放出されるエキソソームが保有するマイクロ RNA の解析を SBI 社のキットを用いて行った。らい菌感染樹状細胞から得られたエキソソームで上昇したマイクロ RNA のほとんどは機能が不明であったが、その中の一つ、miR373 には報告があり、E-カドヘリン蛋白を制御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

四種類の結核菌由来蛋白からなるキメラ蛋白 ID93 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。GLA-SE(TLR4 リガンド)アジュバント存在下で抗原を 3 回皮下接種したのち、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、ID93 はらい菌増殖制御に関わることが明らかとなった。

［前田百美、田村敏生、Malcolm Duthie (　Infectious Disease Research Institute, Seattle)、松岡正典、牧野正彦］

３．らい菌感染モデルサルの樹立

ハンセン病を発症する動物は、現在ヒトとサル以外に知られていない。そのためワクチン候補の効果判定・安全性確認のため、サルの感染系が必要になる。幼若および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、妊娠期接種サル親２頭に、また、仔２頭に散発的に鼻腔洗浄液よりらい菌 DNA 検出個体が確認された。若年サル群では認められなかった。今後、仔群に何らかの徴候が出現することが期待される。

［向井　徹、松岡正典、片貝裕子（予防衛生協会）、牧野正彦］

４．安定した十分量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３領域を用い、らい菌もしくは BCG の各種融合蛋白を分泌する遺伝子を BCG *Urease C* 遺伝子部位と置換し、薬剤耐性遺伝子の除去を行った。安全性が高く抗原を高発現する各種組換え BCG の調整を行い、各種検討を行った。抗原発現安定性では、非常に強いプロモーターを持つ株では、培養９０日で発現量の低下が観察されたが他の株では、安定した発現が得られた。

［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 細胞の分化と共に Th17 細胞とは異なる IL-17F 産生 CD4 陽性 T 細胞の分化を誘導すること、さらに *in vitro* 解析によって IL-17F 産生細胞と相互作用することで活性化した樹状細胞が機能的細胞傷害性 T 細胞の分化・活性化を誘導することを明らかにしてきた。今回、生体内における IL-17F の役割を解析した結果、IL-17F は生体内においても機能的細胞傷害性 T 細胞の分化・活性化を増強する機能を有していることが示された。
［田村敏生、下袴田陽子、牧野正彦］

(2)抗酸菌感染防御における IL-21 の役割
活性化 CD4 陽性 T 細胞が産生する IL-21 は獲得免疫担当細胞である T 細胞、B 細胞及び自然免疫担当細胞である NK 細胞の分化、活性化、生存及び増殖を制御する作用を有していることが報告されているが、抗酸菌感染後の IL-21 の動態及び抗酸菌感染防御における IL-21 の役割に関しては未だ明らかではない。IL-21 遺伝子の片方のアリルを EGFP 遺伝子に置き換えたノックインマウスを用い、抗酸菌感染後の IL-21 の動態を解析した結果、抗酸菌特異的獲得免疫が誘導されないと考えられている感染早期においてリンパ組織内で活性化した CD4 陽性 T 細胞からの IL-21 産生が誘導されていることが明らかとなり、 IL-21 が抗酸菌特異的獲得免疫機構を制御している可能性が示唆された。
［下袴田陽子、田村敏生、牧野正彦］

６．HSP70-MMP-II 融合蛋白質発現組換え BCG の改良
(1)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、結核菌に発現する CysO 遺伝子を HSP70 および MMP-II 融合蛋白質に挿入した組換え BCG を作製し、末梢血リンパ球を用いた試験管内での抗原性の解析、マウスへの噴霧感染を用いた生体内でのワクチン効果についての解析を行った。
(2) HSP70 と MMP-II の融合蛋白質および HSP70 と結核菌抗原 Ag85B との融合蛋白質を発現する組換え BCG を作製し、その抗原発現量について解析を行った。
［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について、抗原を混合した場合、分けた場合など様々なパターンを評価した。
［塚本裕美子、前田百美、牧野正彦］

２．ハンセン病患者における肉芽腫形成
ハンセン病における肉芽腫形成機構を解析する目的で、ヒト単球由来のマクロファージを用いて、*in vitro* で肉芽腫形成が可能か検討した。らい菌感染マクロファージ及び T 細胞・PBMC 等を共存させると試験管内で肉芽腫が形成された。肉芽腫内では 2 種類の M1 及び M2 型のマクロファージが存在することが判明した。
［前田百美、Wang Hongsheng (Chinese Academy of Medical Sciences)、牧野正彦］

３． 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。さらに、日本では症例数の少ない *M. haemophilum* 感染症に関する研究を展開中である。
［中永和枝、星野仁彦、牧野正彦、石井則久］

４．蛍光色素を利用したらい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
CTC は還元反応を受けると蛍光を発する分子 CTF に変化する。生きている真核細胞はミトコンドリアの呼吸反応により CTC を CTF へと変化させる。原核細胞である抗酸菌の生死もこの分子を利用して鑑別可能であることを見出した。抗菌薬で処理して死んだ抗酸菌は CTC 還元能を失い、また、らい菌を感染させた培養ヒトマクロファージを IFNγ で活性化させると細胞中のらい菌の CTC 還元能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た。共焦点レーザー顕微鏡で観察すると

生成した CTF の蛍光強度を定量化できるので、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)検査やT-SPOT.TB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、現在の 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)、松本壮吉（新潟大学細菌学)、牧野正彦］

７．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］

８．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)や macrophage c type lectin(MCL)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) であり、dendritic cell-associated C-type lectin-2 (dectin-2) のリガンドは抗酸菌の mannose-capped lipoarabinomannan (Man-LAM)であることが明らかとなった。TDM や Man-LAM 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。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)、鈴川真穂（東京病院)、西城忍（千葉大学医学部)、山崎晶（九州大学生体防御医学研究所)］

Ⅳ.らい菌の生理機能及び遺伝情報に関する研究

１．らい菌日本株ゲノムの解析

日本の分離株である Kyoto-2 の全ゲノムシーケンスの決定に加え、Hoshizuka-4、Ryukyu-6 及び Thai-53 のゲノムシーケンスを行った。Kyoto-2 株で特徴的であった ML0411 遺伝子内の 6SNPs は日本の本州で分離された Hoshizuka-4 株で同様に見られたが、沖縄由来の Ryukyu 株では見られなかった。そ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も判明した。これら株を Northeast Asian(NA) 株と命名した。さらに NA 株の解析からこれらの SNPs の非同義置換と同義置換の比が NA 株以外のらい菌株と比べ明らかに異なることを発見した。
［甲斐雅規、中田　登、松岡正典、松原久美子、牧野正彦］

２．らい菌アミノ酸代謝系の解析

らい菌の代謝系は未だその多くが不明である。本研究では主要な代謝系の一つであるアミノ酸代謝に注目し、他抗酸菌を利用した組換え株による解析を試みた。らい菌において偽遺伝子化あるいは欠失しているアミノ酸代謝関連遺伝子群のホモログの一部を *M. smegmatis* において破壊し、得られた変異株の菌体内に含まれるアミノ酸量を解析した。それらを野生株と比較した結果、複数の変異株においてアミノ酸量が野生株に比べ有意に増減していることが判明した。このことは、らい菌の偽遺伝子化と特有なアミノ酸代謝系に関連性があることを示すも

のであった。
［宮本友司、向井　徹、牧野正彦］

Ⅴ．らい菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

１．抗酸菌の *gyrBA* 遺伝子変異と薬剤耐性、及び温度感受性に関する研究

らい菌 *gyrBA* 遺伝子変異とフルオロキノロン耐性を解析するために、*M. bovis* BCG の *gyrBA* 遺伝子をらい菌のものと交換した菌を作製した。この菌は 37℃よりも 34℃の方が速く増殖したことから、らい菌 *gyrBA* は温度感受性があることが示され、らい菌増殖の温度感受性の原因の一つであることが示唆された。一方、結核菌 *gyrBA* で置き換えた *M. smegmatis* では、薬剤耐性を示す一部の変異で温度感受性となることが示された。
［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

２．抗酸菌のリボゾーム RNA 遺伝子変異による薬剤耐性の研究

リボゾーム RNA オペロン（*rrn*）は、*rrs*、*rrl*、*rrf* より成り、*rrs* 変異はアミノグリコシド耐性、*rrl* 変異はマクロライド耐性に関与していると考えられる。これら遺伝子の変異と薬剤感受性を直接調べるために、らい菌、結核菌、及び非結核性抗酸菌の *rrn* で自身の *rrn* を置き換えた *M. smegmatis* の作製を行っている。*M. smegmatis* は *rrn* をゲノムに２コピー有しており、それぞれを個別に破壊可能な実験系を作製した。これを用いて個別変異について検討を行っている。
［中田登、甲斐雅規、牧野正彦］

３.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、ベトナムのハンセン病患者由来臨床サンプルを用いて、通常の PCR 法及びシーケンスによる結果と比較した結果、その有効性が示めされた。さらに、試薬をプレートにコーティングすることを試み成功し、迅速で簡便な方法が確立された。本法は他にも応用が可能であることから、らい菌以外の感染症への応用も検討している。
［甲斐雅規、中田　登、牧野正彦］

Ⅵ.ブルーリ潰瘍および近似疾患に関する研究

1.　*Mycobacterium　ulcerans*　感染症に関する研究

M.ulcerans によるブルーリ潰瘍は難治性の皮膚疾患である。これまでに、マウス実験感染モデル系を用い Rifalazil の有効性や末梢神経傷害と毒性脂質マイコラクトンの関係を明らかにした。また日本のブルーリ潰瘍（“*M. ulcerans subsp. shinshuense*”感染症）47 症例（2013 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］

Ⅶ．ハンセン病の疫学に関する研究

１．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。これらの事柄を明らかにするために、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、日本と世界のハンセン病医学の医学史的研究、日本のハンセン病療養所の統計記録の解析、諸外国のハンセン病政策の研究、諸外国のハンセン病療養所の統計記録の解析などから考証している。また、これらの記録の公益的な活用を目指して、収集資料のデータベース化を行い、部分的な公開を始めた。現在、本データベースの拡張を行っている。
［森　修一、石井則久］

Ⅷ．らい菌と *M. lepromatosis* との相違に関する研究

１．メキシコのハンセン病と診断された症例における *Mycobacterium lepromatosis* の頻度

近年、激しい皮膚潰瘍及び脈管炎を主徴とする Lucio 現象の原因菌として *Mycobacterium lepromatosis* が提唱された。*M.lepromatosis* は *rpoT* 遺伝子中に６塩基からなる直列繰り返しを４コピー有することが示されている。これまでの研究からメキシコの西部地域にはこの６塩基４コピー直列を示すらい菌が多数分布することを明らかにしてきた。一方、同地域には古くより Lucio 現象が多く見出されている。以上の理由から、同地域においてハンセン病と診断された症例における *M.lepromatosis* の検出頻度を調査した。16srRNA および *rpoT* 遺伝子中の特異的配列を指標として検出を行った結果、PCR が陽性とな

り解析可能であった 24 検体中 8 検体が *M.lepromatosis* であった。以上の結果から、メキシコ西部地域にはこれまでハンセン病として治療されてきた症例に多くの *M.lepromatosis* 感染例が存在することが明らかとなり、今後、ハンセン病との鑑別あるいは治療方法の開発を含めた新たな対策が必要であることが示された。同菌の性状、病原因子の解析のためにはヌードマウス footpad 法などにより患者材料より菌株の分離・確立が強く望まれる。
［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

ベトナム国において実施している国際協力研究では、ハンセン病患者及びその他皮膚疾患を示す感染症のリアルタイム PCR 法を用いた診断法確立のための指導を行った。さらに、らい菌のゲノム解析から得られた知見に基づく Genotyping を開始した。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、ミャンマー国及びモザンビーク国で得られた試料を用い、薬剤耐性遺伝子変異の確認）を継続して行った。2012 年のベトナム国、ミャンマー国、モザンビーク国でのサーベイ結果をフィリピン共和国セブで 2013 年 2 月に行われた 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) Nakanaga, K., T. Sekizuka, H. Fukano, Y. Sakakibara, F. Takeuchi, S. Wada, N. Ishii, M. Makino, M. Kuroda, and Y. Hoshino. 2013. Discrimination of *Mycobacterium* subsp. *massiliense* from *Mycobacterium abscessus* in clinical isolates by Multiplex PCR. J. Clin. Microbiol., 52: 251-259.

2) Yamashita, Y., Y. Hoshino, M. Oka, S. Matsumoto, H. Ariga, H. Nagai, M. Makino, K. Ariyoshi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2013. Multicolor flow cytometric analyses of CD4+ T cell responses to *Mycobacterium tuberculosis*-related latent antigens. Jpn. J. Infect. Dis., 66: 207-215.

3) Kai, M., N. Nakata, M. Matsuoka, T. Sekizuka, M. Kuroda, and M. Makino. 2013. Characteristic mutations found in the ML0411 gene of *Mycobacterium leprae* isolated in Northeast Asian countries. Infection, Genetics and Evolution, 19: 200-204.

4) Wang, H., Y. Maeda, Y. Fukutomi, and M. Makino. 2013. An *in vitro* model of *Mycobacterium leprae* induced granuloma formation. BMC Infectious Diseases, 13: 279.

5) Nakanaga, K., R. R. Yotsu, Y. Hoshino, K. Suzuki, M. Makino, and N. Ishii. 2013. Buruli ulcer and Mycolactone-producing mycobacteria. Jpn. J. Infect. Dis., 66: 83-88.

6) Nakanaga, K., Y. Hoshino, R. R. Yotsu, M. Makino, and N. Ishii. 2013. Laboratory procedures for the detection and identification of cutaneous non-tuberculous mycobacterial infections. J. Dermatol., 40: 151-159.

7) Akama T., A. Kawashima, K. Tanigawa, M. Hayash, Y. Ishido, Y. Luo, A. Hata, N. Fujitani, N. Ishii, and K.Suzuki. 2013. Comprehensive analysis of prokaryotes in environmental water using DNA microarray analysis and whole genome amplification. Pathogens, 2: 591-605.

8) Kawashima A, K.Yamazaki, T. Hara, T. Akama, A. Yoshihara, M. Sue, K. Tanigawa, H. Wu, Y.Ishido, F. Takeshita, N. Ishii, K. Sato, K.Suzuki. 2013. Demonstration of innate immune responses in the thyroid gland: potential to sense danger and a possible trigger for autoimmune reactions. Thyroid, 23:477-487.

9) Uchida M, T. Ito, T. Nakamura, H. Igarashi, T. Oono, N. Fujimori, K. Kawabe, K. Suzuki, RT. Jensen, R. Takayanagi. 2013. ERK pathway and sheddases play an essential role in ethanol-induced CX3CL1 release in pancreatic stellate cells. Lab Invest., 93:41-53.

10) Yamagata K, C. Nakayama, K. Suzuki. 2013. Dietary beta-carotene regulates interleukin-1beta-induced expression of apolipoprotein E in astrocytes isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Neurochem Int., 62:43-49.

11) Yamagata K, N. Tanaka, K.Suzuki. 2013. Epigallocatechin 3-gallate inhibits 7-ketocholesterol-induced monocyte- endothelial cell adhesion. Microvasc Res., 88: 25-31.

12) Kobiyama K, A. Kawashima, N. Jounai, F. Takeshita, KJ. Ishii, T. Ito, K. Suzuki. 2013. Role of extrachromosomal histone H2B on recognition of DNA viruses and cell damage. Front Genet., 4:91.

13) Veziris N., A. Chauffour, S. Escolano, S. Henquet, M. Matsuoka, V. Jarlier, A. Aubry. 2013. Resistance of *M. leprae* to quinolones: a question of relativity? PLoS Neglected Tropical Diseases.7: pe2440.

14) Ohtsuka M, N. Kikuchi, T. Yamamoto, T. Suzutani, K. Nakanaga, K. Suzuki, N. Ishii. 2014. Buruli ulcer caused by *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*: The first case of familial concurrent occurrence and detection of IS*2404* from the environment in Japan. JAMA Dermatology, 150:64-67.

15) Tsukamoto, Y., Y. Maeda, T. Tamura, T. Mukai, and M. Makino. 2014. Polyclonal activation of naïve T cells by urease deficient-recombinant BCG that produced protein complex composed of heat shock protein 70, CysO and major membrane protein-II. BMC Infect. Dis., 14: 179.

16) Mukai,T., Y. Tsukamoto, Y. Maeda, T. Tamura, and M. Makino. 2014. Efficient Activation of Human T Cells of Both CD4 and CD8 Subsets by Urease Deficient-Recombinant BCG that Produced a Heat Shock Protein 70-*M. tuberculosis*-Derived Major Membrane Protein II Fusion Protein. Clin. Vaccine Immunol., 21: 1-11.

17) Singh P., A.J. Benjak, S. Carat, M. Kai, P Busso, C. Avanzi, A. Paniz-Mondolfi, C. Peter, K. Harshman, J. Rougemont, M. Matsuoka, S.T. Cole. 2014. Genome-wide re-sequencing of multidrug-resistant Mycobacterium leprae Airaku-3. Clin. Microbiol. Infect., doi: 10.1111/1469-0691.12609.

2. 和文発表

1) 牧野正彦. 結核ワクチン作製の試み. 第 86 回日本ハンセン病学会レビュー, Jpn. J. Lepr., 82: 107-110, 2013.
2) 木村 博昭, 鈴木 幸一: 肉芽腫 -免疫を中心に-. Monthly Book Derma 204:8-14, 2013.
3) 鈴木 幸一: 損傷細胞由来 DNA と自己免疫疾患. 臨床免疫・アレルギー科 60:247-257, 2013.
4) 田村敏生、下袴田陽子、牧野正彦. 新たな結核・ハンセン病ワクチン開発に向けて -Th1 分化誘導型ペプチドによる細胞障害性記憶 T 細胞の分化誘導機構の解析-. Jpn. J. Lepr., 82:111-117, 2013.
5) 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. Jpn. J. Lepr., 82:59 -69, 2013.
6) 梅林芳弘、真鍋求、中永和枝、石井則久. 秋田県で発生した Buruli 潰瘍. 皮膚病診療 35:669-672, 2013.
7) 石井則久、中永和枝、四津里英. 抗酸菌検査の進歩. 皮膚科の臨床 55: 1576-1579,2013.
8) 石井則久、四津里英、中永和枝 : ブルーリ潰瘍 (*M. ulcerans* 感染症)を疑った場合の細菌検査. 検査と技術 41:1072-1076, 2013.
9) 小川佳亮、佐藤志津江、古川政雄、峰岸正明、吉川弥須子、田中孝昭、中永和枝、石井則久. *Mycobacterium arupense* による前腕軟部腫瘤の 1 例. 日本臨床微生物学雑誌 24: 17-22, 2014.
10) 甲斐雅規. Hp-rPCR 法を用いたらい菌薬剤耐性変異の検出. Jpn. J. Lepr., 83: 6-13, 2014.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) R. R. Yotsu, K. Nakanaga, Y. Hoshino, K. Suzuki, N. Ishii. Buruli ulcer in Japan: the current situation. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research. 25-27 Mar, 2013. Geneva, Switzerland.
2) Kai. M. Analysis of knockout mutants of *Mycobacterium bovis* BCG gene involved in mycolic acid synthesis pathway. 1st Front Range Mycobacteria (FRM) meeting. 19-21 June, 2013, Colorado, USA.
3) Matsuoka M. Drug resistance in leprosy -an update. International leprosy Summit: overcoming the remaining challenges. 24-26 July 2013, Bangkok, Thailand.
4) Takatsuka Y, S. Murata, M. Komine, N. Maki, T. Maekawa, M. Nozaki, K. Nakanaga, N. Ishii, M. Ohtsuki. A case of Buruli ulcer in Tochigi prefecture, the temperate climate area of Japan. 9th Asian Dermatological Congress, 10-13 July, 2013, Hong Kong.
5) Tamura, T., Y. Shimohakamada, and M. Makino. Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of $CD8^+$ cytotoxic T lymphosytes. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
6) Shimohakamada, Y., T. Tamura, M. Makino, and S. L. Nutt. The role of follicular helper T cell in mycobacterial infection. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
7) Tsukamoto, Y., Y. Maede, T. Tamura, T. Mukai, and M. Makino. Development of recombinant *Mycobacterium bovis* BCG for the inhibition of *M. tuberculosis* multiplication in lung. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
8) Mukai, T., Y. Miyamoto, M. Matsuoka, Y. Maeda, and M. Makino. Construction of stable recombinant BCG which secretes HSP70-MMP-II fusion protein by chromosomal integration of the gene for leprosy vaccine. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
9) Maeda, Y., T. Tamura, T. Mukai, Y. Fukutomi, and M. Makino. Exosomes derived from *Mycobacterium leprae* infected dendritic cells stimulated with a lipopeptide participate in intercellular communication. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
10) Miyamoto, Y., T. Mukai, M. Kai, Y. Maeda, and M. Makino. Biosynthetic characterization of glucuronic acid-containing glycopeptidolipid from *Mycobacterium avium* complex. US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan. 17-18 August, 2013, Sapporo, Japan.
11) Tamura, T., Y. Shimohakamada, and M. Makino. The role of *Mycobacterium tuberculosis* secreted protein in

the induction of Th1 immune response. 15th International Congress of Immunology. 22-27 August, 2013. Milano, Italy.

12) Shimohakamada, Y., T. Tamura, M. Makino, and S.L. Nutt. The role of follicular helper T cells in mycobacterial infection. 15th International Congress of Immunology. 22-27 August, 2013, Milano, Italy.

13) Makino, M., T. Mukai, Y. Maeda, T. Tamura, Y. Tsukamoto, and M. Matsuoka. Novel vaccine development against leprosy. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

14) Miyamoto, Y., M. Matsuoka, Y. Fukutomi, T. Mukai, M. Kai, Y. Maeda, and M. Makino. Metabolome analysis of *Mycobacterium leprae*. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

15) Tsukamoto, Y., Y. Maeda, and M. Makino. Evaluation of major membrane protein-I for the serodiagnosis of leprosy. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

16) Maeda, Y., T. Mukai, Y. Fukutomi, T. Tamura, and M. Makino. Exosomes released from *Mycobacterium leprae* infected human dendritic cells can activate T cells. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

17) Kai, M., N. Nakata, G. T. Chae, P. Saunderson, A. A. Naghanoy, M. Balagon, M. Matsuoka, T. Sekizuka, M. Kuroda, and M. Makino. Characteristic SNPS in *Mycobacterium leprae* isolated in Japan. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

18) Nakata, N., M. Kai, and M. Makino. Mutation analysis of *Mycobacterium leprae* genes and drug resistance using cultivable mycobacteria. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

19) Matsuoka, M., T. Budiawan, T. Mukai, and S. Izumi. *Mycobacterium leprae* in daily used water in endemic area; its quantification and evaluation of the viability. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

20) R. R. Yotsu, K. Nakanaga, Y. Hoshino, K. Suzuki, N. Ishii. Epidemiology and clinical characteristics of Buruli ulcer in Japan. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

21) P. S. Rosa, S. M. Diório, A. F. F. Belone, I. M.F.D. Baptista, P. N. Suffys, L. R V Fachin, L. M. Trino, B. G. C. Sartori, L. R. De Lamano, M. I. de Araujo, W. F. B. Delanina, F. B. Marques, S. Ura, C. T. Soares, M. B. Xavier, M. T. Mira, M.O. Moraes, M. Matsuoka, M. Kai, M. C. L. Virmond. Evidence of active transmission of drug resistant *Mycobacterium leprae* strain in Brazil. 18th International Leprosy Congress, 16-19 September, 2013, Brussels, Belgium.

22) Matsuoka M., M. Kai, and M. Fautis. Identification of *M.lepromatosis* with the bacilli obtained from Mexican leprosy cases, and *M .leprae* isolates maintained in Leprosy Research Center. 1st Korea-Japan Leprosy meeting, 15-16 November, 2013, Seoul, Korea.

2. 国内学会

1) 甲斐雅規, 中田　登, 松岡正典, 関塚剛史, 黒田　誠, 牧野正彦. SNPs 解析により示されたらい菌日本株ゲノムの特徴. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

2) 向井　徹, 宮本友司, 福富康夫, 前田百美, 牧野正彦. 組換えらい菌株構築への基礎的検討. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

3) 牧野正彦. 結核ワクチン作製の試み. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

4) 田村敏生, 下袴田陽子, 牧野正彦. 新たな結核・ハンセン病ワクチン開発に向けて―Th1 分化誘導型ペプチドによる細胞障害性記憶 T 細胞の分化誘導機構の解析―. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

5) 福富康夫, 前田百美, 松岡正典, 牧野正彦. 蛍光色素を利用したマクロファージの抗らい菌活性発現機構の解明. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

6) 下袴田陽子, 田村敏生, Stephan Nutt, 牧野正彦. 抗酸菌感染における濾胞ヘルパーT 細胞の動態. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

7) 鮫島朝之, 前田百美, 後藤正道, 牧野正彦. 皮疹の出現前後に MMP-II 血清抗体価の変化が観察できたハンセン病少菌型の 1 例. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

8) 宮本友司, 松岡正典, 福富康夫, 向井　徹, 甲斐雅規, 前田百美, 牧野正彦. *Mycobacterium leprae* の

メタボローム解析．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

9) 鈴木幸一，谷川和也，Yang Degang，赤間　剛，川島　晃，石藤雄子，牧野正彦，石井則久．らい菌感染マクロファージ内の脂質維持機構とクロファジミンによる阻害．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

10) 前田百美，向井　徹，福富康夫，田村敏生，牧野正彦. らい菌感染樹状細胞が細胞外放出するエキソソームを構成するタンパクの分析．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

11) 塚本裕美子，前田百美．MMP-I 抗原を使用したハンセン病の血清診断法の検討．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

12) 鈴木幸一、谷川和也、Yang Degang、赤間剛、川島晃、石藤雄子、牧野正彦、石井則久．らい菌感染マクロファージ内の脂質維持機構とクロファジミンによる阻害．第 86 回日本ハンセン病学会　2013 年 5 月　さいたま市

13) 天児和暢、飯田健一郎、斉藤光正、松岡正典、甲斐雅規、吉田真一．らい菌の培養、マウス組織抽出物・ヒト血漿の効果．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

14) 松岡正典．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* との異同について．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

15) 中田　登、甲斐雅規. 培養可能抗酸菌を用いたらい菌薬剤耐性変異解析法のフルオロキノロン耐性変異解析への応用．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

16) 瀬川将広、久保瑛二、森　修一、横田　隆．東北新生園における「社会復帰研究会」と農業コロニー「東北農場」の設立. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

17) 森山一隆、森　修一．南方の療養所（奄美和光園）70 年の軌跡．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

18) 森　修一．相対隔離政策から絶対隔離政策への過程を検証する研究．第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2013 年 5 月　さいたま市

19) 三宅知美、宇原久、奥山隆平、小林法元、河内繁雄、中永和枝、石井則久．左前腕 Buruli 潰瘍の 1 例．第 112 回日本皮膚科学会総会 2013 年　6 月 横浜市

20) 宮崎 恭平、阿部 優、橋本 浩一、佐藤 晶論、川崎幸彦、森 修一、錫谷 達夫、細矢 光. リバビリン脳室内投与療法中の亜急性硬化性全脳炎患者における髄液中リバビリン代謝物濃度とその抗ウイルス効果. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2013 年 11 月　神戸

21) 福富康夫，前田百美，牧野正彦．共焦点レーザー顕微鏡観察によるヒトマクロファージの抗らい菌活性発現機構の解明．第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

22) Yuqian Lu，鈴木幸一，牧野正彦．らい菌のマクロファージ内寄生における細胞内脂質代謝の変化. 第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

23) 中田　登，甲斐雅規，牧野正彦．培養可能抗酸菌を利用したらい菌 *gyrBA* 遺伝子とフルオロキノロン耐性の解析．第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

24) 甲斐雅規，中田　登，関塚隆剛史，黒田　誠，牧野正彦．らい菌日本分離株で発見された特徴的な SNPs の解析．第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

25) 宮本友司，向井　徹，牧野正彦．抗酸菌におけるアミノ酸生合成・代謝解析．第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

26) 前田百美，田村敏生，向井　徹，福富康夫，牧野正彦．Exosomes released from mycobacteria infected human dendritic cells can activate T cells．第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

27) 田村敏生，梅村正幸，牧野正彦．Effect of P25 of Ag85B on the induction of functional activation of cytotoxic T lymphocytes．第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

28) 塚本裕美子，向井　徹，前田百美，田村敏生，牧野正彦. Efficient activation of human T cells of both CD4 and CD8 subsets by new recombinant BCG (BCG-DHTM). 第 87 回日本細菌学会総会 2014 年 3 月　東京

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.

平成 25 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			176	179	355
	購入		127	33	160
		電子版	108	0	108
	交　換		24	3	27
	寄　贈		25	143	168
単行本			315	153	468
	購入		67	31	98
		電子版	7	0	7
	寄　贈		248	122	370

文献相互貸借状況			供与	依頼	合計
総数			265	1,459	1,724
	三庁舎間		110	116	226
	外部機関総数		155	1,343	1,498
		協力機関	125	235	360
		国公立大学/機関	20	1,043	1,063
		私立大学/機関	10	65	75

［編集翻訳係］

編集翻訳係では, 平成 25 年度は JJID vol. 66 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.

JJID 編集委員会においては，本年 3 月末に小林和夫が退官し, 4 月に阿戸学が加わった. 編集方針に変更はない.

JJID で本年度より再任用職員の増員 1 名が認められ, 係長 1 名，再任用職員 1 名，非常勤職員 1 名での編集事務作業を担当することになった．昨年度導入された科学技術振興機構（JST）が運営する電子ジャーナル共同利用センター（J-STAGE）では，大きな障害もなく順調に運用され，投稿数も 2.5 倍に増えた．海外からの投稿が 70%を占め，38 ヵ国に及ぶ．審査時間，著者への回答に掛かる日数なども短縮し，海外研究者へ審査依頼することも便利になった反面，①Instructions や科学論文のルールを守らないスタイルでの投稿，②二重投稿等注意を要する論文なども多くなり，チェック体制の強化などが今後の課題である.

今年度の JJID の発行概略は以下の通りである.

発行頁数（掲載論文数）　no. 1/97 頁(18 編)，2/89(17)，3/90(19)，4/96(23)，5/104(23)，6/104(25)

投稿論文数　感染研内　16 編
　　国内　　99 編
　　海外　　357 編 (38 ヵ国)

採択率　　25%

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）の情報システムが統合され、新たに「所外向け Web サーバ」として NIH-NET から独立した。同時に、所外向け Web サーバはページ更新･管理を一元的に行う Web アプリケーション(CMS)による運用に移行し、その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、数名の研究職員と期間業務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 25 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) Windows XP のサポート終了（H26.4.9）に備えて、同 OS を利用する端末数調査と交換・ネット利用停止措置を行った

(2) 戸山庁舎の無線 LAN アクセスポイントを、暗号強度が高い WPA2 対応機に交換した

(3)相互コミュニケーション機能を持つ新しいユーザページの構築を行った

(4) 標的型メール攻撃訓練を実施した

Ⅴ．平成 24 年度中の主なシステム障害は、以下の通りである。

１．13/09/30　プロキシサーバの機器障害に伴うインターネットアクセス停止

２．13/12/23　所外向け Web サーバの仮想マシンの障害に伴う Web サービス停止

３．14/03/16　地下 3 階情報機器室の空調停止による温度上昇によりネットワーク機器が緊急停止したことに伴う、ネットワーク機能の停止