序

所長　渡邉治雄

2013年12月にギニアの2歳の男児が死亡したのを始まりに、3万人近くの感染者（その1/3以上が死亡）が出る史上最大規模のエボラ出血熱の流行が西アフリカで発生しました。我が国（感染研も含む）を初め、米国、中国など多くの国々が支援を行い、制圧に向けて、人的、資金的な貢献がなされています。ワクチンや治療薬の開発が行われ、WHOの主導のもと臨床試験が現地で行われました。一方でこれほどまでに大きな流行にしてしまった原因として迅速な対応の遅れに対する反省、特に人的、資金面の普段の蓄積の不足や指揮・調整機能の不十分さの問題点が指摘されており、今後同じような事例が発生した場合の世界的な取り組みの在り方が議論されています。今後、世界を揺るがす感染症がどこで発生するかを予測することは難しいので、普段からの備えや危機対応体制の確保は不可欠です。

その備えの一つとして、我が国では「BSL4」問題があります。政府はエボラ患者を一人たりとも国内に入れない、また入ったとしても２次感染を阻止するとの強い意思をもって対応しました。感染研は国の研究機関として検査および疫学面における大きな責務を背負っています。今回も9件のエボラ疑い輸入事例がありましたが、すべてPCR検査でウイルス陰性でした。しかし、もし陽性患者がでた場合にはウイルスの分離等を行い患者の確認や感染ルートの解明等を行うことが必要です。村山庁舎においてはBSL4病原体を取り扱うP4施設の稼働が求められます。2014年11月17日,塩崎厚生労働大臣が武蔵村山市長を訪問し、「エボラ出血熱への対応は日本でも国際社会でも喫緊の課題であり、国内で患者が発生した場合にはBSL4病原体実験施設の活用が不可欠だ」と述べ、全面的な稼働に向けての協力を求めました。藤野武蔵村山市長は「稼働にあたっては国の責任で万全の安全対策を講じ、市民の理解を得ることが大前提だ」と述べられ、安全対策などを協議していく村山庁舎施設運営連絡協議会を開催することになりました。2015年3月までに3回開催し、住民の方や関係者の方々に感染研の業務内容､BSL4施設の目的や安全性などの詳細を説明し、稼働に向けての理解を求めました。感染研としては2007年以降、市民セミナーの開催、BSL４施設見学会を行ってきています。2007年に村山庁舎近隣の市民の方に初めてBSL4施設に入っていただいた時に、市民の方が「感染研は今まで市民を施設内に入れてこなかった。得体のしれない施設が近隣にあるとの印象だけで、何を行っているのか無気味であったが、今回施設説明と見学に参加して

みて、感染研が行っている研究の重要性が理解できた」と言われたことが特に強く印象に残っています。市民の方に十分に理解していただくためには、オープンで透明性の高い研究所であることが不可欠であります（2015 年 8 月 7 日に感染症法に基づく大臣指定が行われ、BSL4 病原体施設として稼働することになった）。

2014 年 12 月の厚生科学審議会科学技術部会で、H25 年度の感染研機関評価報告書の概要と対処方針の説明を行いました。外部評価委員の先生方から頂いた意見として大きく以下の４点がありました。(1)感染研のミッションは、感染症に対しての科学的な知見を提供し、リスクアセスメントを行うことである。そのために必要な、感染症に対する基礎的・応用的研究、検査、調査・サーベイランス、ワクチン等の生物学的製剤の国家検定等の業務を十分に行ってきている。現在、予算等が削減されている中においても、国内の新興感染症である SFTS という新しい病気の発見や麻疹排除の科学的な根拠等について、国民の安心・安全に直結する重要な成果を多数上げてきているという高い評価を頂いております。(2)感染症法に基づいた国内の感染症の現状や課題を明らかにするための in house 予算としての基盤的研究費や、研究事業費などの減少が極めて激しい状況であるということを考え合わせると、そういうところを確保するために国の緊迫した財政事情は理解できるが、国民を感染症の脅威から守り、国民の安心・安全を担う感染研の機能を維持、充実させるためにも、国はこのような基盤的研究費等を強く確保することを要望するという、感染研を支援する意見を頂いております。この点に関しては、厚生科学審議会委員からも「感染研の業務は減らせないという基本的な政府内の意見、合意が必要ではないかと思うのは、どう考えても感染症のサーベイランスや研究を行う感染研の役割は拡大の方向に本来あるべき状況にあると思うのです。状況がそうであるにもかかわらず、予算を一方的に、機械的に削減するのは分からない。特に最近、鳥インフルエンザ、エボラなど、どれを取ってもそう簡単に対処できるものではない問題が起こっているし、エボラが来た場合、感染研には相当大変な負荷がかかると思いますので、その辺のところは是非政府としても配慮すべきであると思います」との発言がありました。(3)感染研の役割というのは、感染症に対するリスクアセスメントを科学的に行うということですが、専門的な知見が正しく政策に反映されるようなフォローをすることも重要である。また、一般国民からして、科学的に正確な情報が分かり易く伝えられること、いわゆるリスクコミュニケーションにさらに力を入れることが重要である、というコメントを頂いております。(4)感染研が持っている検定機能に対して、この独立性を確保すべきであるが、検定と研究開発が同じ部署で行われているなど、利益相

反の疑いが生じる可能性があるということで、今後、検定の部署と研究開発の部署を組織上分離させる等の検討も必要である。とのコメントがありました。

それらの御意見に対しての感染研の対処方針としては、(1)評価委員会によって感染研の実績等が高く評価されていることは非常に有り難いことである。米国の CDC, NIH, FDA 等の感染症関連部門と予算や人員規模において非常にかけ離れているにもかかわらず、米国に劣らぬほどの業績を上げていることは、感染研の所員の努力の賜物である。予算、人員が削減される中で、感染研の機能を維持するために職員 1 人が 2 役、3 役の努力を重ねているわけですが、それに余り頼り過ぎると疲労困憊となる可能性があるので、評価委員会のコメントにあるように、国が国民の生命を守るために、健康危機管理体制の確保の重要性に鑑み、感染研の人員・予算の削減を行わないよう、むしろ、増員・増額を行うように強く国等に要望を続けていきたい。(2)アウトリーチ活動に関しては、今まで一般公開、市民講座「知の市場」、メディア意見交換会などを進めているわけですが、今後とも充実を図っていくと同時に、SNS 等の新しい技術をどのように利用すれば、感染症の情報を分かりやすく国民等に伝えられるか検討を続けていきたい。(3)ワクチン等の国家検定と利益相反の問題に関しては、所内においても昔から議論されており、1990 年代に、検定関係を村山庁舎に集約して機能的に分けるとの方針で、ウイルス製剤部、細菌製剤部、安全性研究部を作って研究開発部門と分離したことがあります。しかし、その結果、一部の職員に検定業務の負担が掛かり過ぎることと、および人事評価上の問題が起こり、検定業務を再び各部に分散化させてきています。同一研究所内での分離には難しい点があります。また、2005 年以降から国の施策として 10 種類以上の新しいワクチンが導入されてきており、検定の量もそれに応じて多くなってきているので、SLP の導入と併せて、科学的に考えて、削除しても品質管理上問題はない検定項目の削除を積極的に行い、仕事量の効率化を図ってきています。現状における利益相反への取り組みとしては、PICS 認定時に厚労省から、検定・検査試験に関与する者は COI に関する確認書をとるように指摘されているので、海外の管理規制機関が実施しているように、検定検査担当者が利益相反に関する宣誓書を提出して、透明性を図ることにします。

2014 年 4 月 1 日に、小田切孝人（インフルエンザウイルス研究センター長）、加藤篤（品質保証・管理部長）、宮原順三（総務部長）、8 月 8 日に中山鋼（企画調整主幹）がそれぞれの役職に就任しました。2015 年 3 月 31 日付けで、渡邉治雄（所長）、牧野正彦（ハンセン病研究センター感染制御部長）、山田靖子（動物管理室長）が定年退官しました。

1．ウイルス第一部

部　長　　西條　政幸

概　要

ウイルス第一部において，2014 年度，以下の人事異動があった. 藤井ひかる氏が 2014 年 4 月 1 日付けで任期付き研究員（第四室）として採用された．また，2015 年 3 月 1 日付で黒須剛氏が主任研究官として，また，福間藍子氏が研究員（第一室）として採用された．一方, モイメンリン氏が 2014 年 12 月 31 日付けで退職し，長崎大学熱帯医学研究所准教授に就任した．佐藤正明氏が 2014 年 4 月 1 日付けで主任研究官に昇格した．

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等），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, 重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thrombocytopenia syndrome，SFTS）に関する研究が精力的に実施された．2013 年 3 月には日本全国の地方衛生研究所において遺伝子検査が実施できる体制が整備され，2014 年には 40 名の，2014 年には 61 名の SFTS 患者が報告され，その約 3 割が死亡している．SFTS ウイルス（SFTSV）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，SFTSV に関する分子疫学，LC16m8 をベクターとしたワクチン開発，等の研究がなされた．また，SFTSV の細胞への侵入機構の解明等の基礎研究もなされた．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．

2014 年から 2015 年にかけて西アフリカにおいて大きなエボラ出血熱が流行した．国内でのエボラ患者発生に備えた準備，疑似患者の確定診断を担当した．

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．2014 年には日本国内（主に東京）において 70 年ぶりにデング熱が流行した．日本国内での流行に対応するために検査等を積極的に担当し，さらに分離株の遺伝子塩基配列を決定し，流行状況と感染経路・分子疫学を詳細に明らかにした．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．さらに，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を探索した．

日本脳炎ウイルスに関する研究においては，遺伝子型Ⅴ型の日本脳炎ウイルスの性状解析，不活化日本脳炎ワクチンの遺伝子型Ⅴ型の日本脳炎ウイルスに対する中和能を解析した．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．

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，インターフェロン受容体複合体を構成する IFNAR1 を欠損させたノックアウトマウス（IFNαR1-KO マウス）に臨床分離株を感染させ，ノックアウトマウスにおける臨床分離株の病原性を解析した．その結果，ECSA 型においてもアジア型においても感染マウスは感染 2～3 日で致死的症状を示し，チクングニア熱とは異なる病態を示すものの，治療や予防法の開発のモデルとして用いることが可能であることが明らかとなった．さらに IFNαR1-KO マウ

スにおけるチクングニアウイルス感染症の病態を解析した．霊長類チクングニアウイルス感染モデル開発を引き続き行った．

第三室においては，狂犬病ワクチン検定法を改良するための基礎研究として，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を行った．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が継続された．また，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し，2014 年度はこの組換えウイルスにワクチンとしての一定の効果があることが感染マウスモデルにおいて確認された．そこで，その安全性を確認するために，哺乳マウスに組換えウイルスを脳内接種，乳のみマウスにおいて症状等は全くみられなかったことから，安全であることが確認された．

狂犬病ウイルスの基礎的研究を実施するための基盤として，これまでに RV-G の膜貫通領域（TMD）を削除したトランケート型 RV-GS および野生型 RV-GL を発現するリコンビナントバキュロウイルスを作製した．NおよびMタンパク質を発現するリコンビナントバキュロウイルスをそれぞれ作製した．

進行性多巣性白質脳症（PML）患者の脳脊髄液（CSF）に出現する JC ウイルス（JCV）のウイルスゲノム定量によるウイルス学的検査を国内からの医療機関から依頼を受け，日本における PML の診断および治療に貢献した.高解像度融解曲線分析（High-Resolution Melting analysis，HRM）法を用いて，JCV ゲノム DNA に生じる多様な変異を迅速に識別するための検査系を確立した．

第四室においては，ヘルペスウイルス感染症，主に単純ヘルペスウイルス 1 型，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．

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，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．

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．実際に，白血病治療を受けている小児患者における ACV 耐性 HSV-1 感染症をウイルス学的に証明した．

基礎研究として，単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）感染時における細胞周期制御機構に関与する新規ウイルス因子の探索，薬剤耐性 VZV の迅速な診断系の開発に関する研究を開始した．組換え発現ウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）を用いた薬剤感受性試験をVZVやBウイルスに応用できるか否かを検討した．また，抗ウイルス薬アシクロビル（ACV）耐性 HSV-1 の ACV に対する感受性とマウスで中枢神経組織や末梢組織から感染させた場合の病原性に関する研究がなされた．

第五室においては，リケッチア感染症およびクラミジア感染症に関する研究がなされた．

病原性の異なる 2 つのつつが虫病リケッチア（*Orientia tsutsugamushi*，以下 Ot）の in vivo マウスにおける病態を，C57BL/6 に感染させて解析した．また，日本紅斑熱やツツガムシ病の診断法を改良する目的で，それぞれの株の組換え蛋白質（例えばOmpB等）を発現させ，発現させた組換え蛋白質を抗原としたELISA法によって正確に診断できるか否かについて評価検討した．

昨年度と同様にリケッチア感染症対策のための感染研と地方衛生研究所等との連携の基に，総合的研究から基礎研究まで，幅広い研究がなされた．

以上の研究活動に対して，厚生労働省，日本医療研究開発機構（AMED），文部科学省，等から研究費の助成を受けた．2014 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．日本公衆衛生協会の助成により 2 名の流動研究員を受け入れた．また，各室において協力研究員，研究生，実習生を大学や研究機関等から受

け入れ，人材育成に貢献した．

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. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する研究

1) SFTS ウイルスに対するインターフェロンの効果

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルスが引き起こす SFTS に対する治療薬や治療法はなく，現在国内の致死率は 25%を超えている．これまでに，既存の抗ウイルス薬で多くの 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が SFTS ウイルスに対しても増殖抑制効果を示すことを in vitro 実験で確認済みである．別の抗ウイルス薬として知られる IFN（α, β, γ）の効果を調べた．IFN（α, β, γ）のいずれも SFTS ウイルスの増殖を抑制し，IC_{90} 値は Vero 細胞でそれぞれ 29U/ml, 24U/ml, 12μg/ml であった．また細胞毒性効果はわずかであった．リバビリンとの併用ではウイルスの増殖抑制において有意な相乗効果が認められた．リバビリンのみでなく IFN との併用が SFTS の治療や発症予防に有効である可能性がある．［下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，谷口怜，福間藍子，西條政幸］

2) 継代による SFTS ウイルスの性状変化と中和抗体測定への応用

SFTS ウイルスは培養細胞に明瞭な細胞変性効果（CPE）を示さず，力価の測定には免疫染色や定量 RT-PCR などの特定の試薬や機器，煩雑な操作が必要である．Vero 細胞を用いて SFTS ウイルス（original）を 50 回継代したところ，比較的明瞭な CPE を示す SFTS ウイルスが得られたので，その in vitro における性状を解析し，プラーク数減少に基づく中和抗体価の測定への応用を検討した．継代した SFTS ウイルスはプラークを形成したため，プラーク純化により p50-2 クローンを得た．p50-2 クローンは original よりも Vero 細胞で速い増殖速度を示し，この性状は 3 分節のゲノムのうち M 分節における変異によりもたらされていた．M 分節は糖蛋白質 GP をコードしているが，p50-2 クローンの GP は original と比較し 4 アミノ酸変異を有すること，あまり低くない pH でも Vero 細胞を融合させられること，この性状が GP の 962 番目のアミノ酸によりもたらされていることが判明し，GP の基礎的な性状解析に役立つ情報と考えられた．また p50-2 を用いたプラーク数減少に基づく中和抗体価は original を用いたフォーカス数減少法に基づく中和抗体価と相関があり，p50-2 を用いることにより迅速で安価な中和抗体の測定が可能になると考えられた．［下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，谷口怜，福間藍子，西條政幸］

3) 若齢および高齢マウスにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染感受性の解析

SFTS は新規のブニヤウイルス（SFTS ウイルス：SFTSV）による致死率の高い感染症である．SFTS 患者は発熱や消化器症状を呈し，血液検査では血小板減少と白血球減少が認められる．SFTS 患者のほとんどが高齢者であることから，SFTS の重症化因子として，「高齢」が挙げられている．SFTSV を若齢（８週齢）および高齢（半年齢）のマウスに接種し，齢によって SFTSV 感染に対する感受性が異なるかどうか検討した．半年齢マウスでは，8 週齢と比較し SFTSV 接種後の白血球，リンパ球減少および，脾臓における病理組織学的変化が顕著であり，血中ウイルスが比較的長期に維持されることを明らかにした．このことから，高齢になるにつれて SFTSV に対する感染感受性が増強すると考えられた．また，半年齢マウスは，薬剤等の抗ウイルス効果を評価するための感染動物モデルとして利用できると考えられた．［福士秀悦，谷英樹，吉河智城，谷口怜，福間藍子，下島昌幸，西條政幸；永田典代，岩田奈織子（感染病理部）］

4) リアルタイム PCR による SFTS 診断法の開発

2013 年３月以降，全国の地方衛生研究所等においてコンベンショナル PCR により SFTSV 検出法が採用されてきた．一方，リアルタイム PCR 法を用いた SFTSV 遺伝子検出は，SFTSV の感染の有無のみならずウイルス RNA を定量できるため，SFTS 患者の重症度，予後などの指標となり

うる. リアルタイム PCR による SFTS の診断法を確立し，これを全国の地方衛生研究所等でルーチン検査として実施できるかどうか検討するため，岡山県環境保健センター，愛媛県立衛生環境研究所，宮崎県衛生環境研究所，鹿児島県環境保健センター，山口県環境保健センターの各研究施設において，リアルタイム PCR による SFTSV 検出法の感度および，従来のコンベンショナル PCR との比較検討を行った．スタンダード RNA を用いた検討では，いずれの研究施設においても 10 コピー/reaction 以上の RNA を検出し，高感度に SFTSV を検出できた．また，リアルタイム PCR 法によりコンベンショナル PCR と同等あるいは，それ以上の高い感度でウイルス RNA の検出が可能であった．臨床検体を用いた比較検討では，尿検体等，RNA コピー数の少ない検体を用いた場合に，コンベンショナル PCR の結果との相違がみられたが，血清を用いた場合は結果がほぼ一致した．これらの結果から，リアルタイム PCR 法は SFTSV 検出のルーチン検査として有用であると考えられた. M セグメントをターゲットにしたリアルタイム PCR ではコンタミネーションチェック用 probe のシグナルが非特異的に検出されることがあった．今後，この probe の配列の改良等が必要である.［福士秀悦，下島昌幸，吉河智城，谷英樹，福間藍子，西條政幸；調恒明，戸田昌一，岡本玲子，村田祥子，本永恭子（山口県環境保健センター）；岸本寿男，濱野雅子（岡山県環境保健センター ）；四宮博人，菅美樹（愛媛県立衛生環境研究所）；竹井正行，町野太朗（宮崎県衛生環境研究所）；福盛順子，御供田睦代（鹿児島県環境保健センター)］

5) SFTS の実験室診断法としてのウイルス抗原検出法の開発に関する研究

重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）で高度に保存されている核蛋白質を認識するモノクローナル抗体を作製し，この抗体を用いたウイルス抗原検出 ELISA 法を開発した．作製された抗体は，他の近縁のフレボウイルスには反応性を示さず，SFTSV 特異的な反応性を示した．SFTS 疑い患者の急性期血清について，ウイルス抗原検出 ELISA 法による抗原検出を行なった結果，陽性を示した 27 検体はいずれも定量 RT-PCR 法による 10^5 コピー/mL 以上のウイルス RNA を含むことが示された．血中のウイルス量は SFTS の予後と関連することが報告されていることから，本法によるウイルス抗原検出は診断に有用なだけでなく，重症度や予後を評価する指標になりうることが示唆された.［福間藍子，福士秀悦，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)］

6) 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）の細胞侵入に関しては，昨年度までに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を明らかにした．また，pH 依存的な細胞侵入および各種 C 型レクチン（DC-SIGN, DC-SIGNR, LSECtin）が細胞侵入効率の増強に関与していることを明らかにした．2014 年度は，コレステロールから生合成される 25-hydroxycholesterol（25-HC）を用いて SFTSV に対する感染阻害効果を検証した．その結果，25-HC 存在下では SFTSV の増殖が抑制されるとともに，SFTSVpv の細胞侵入も阻害された．感染細胞の細胞融合も阻害されたことから，25-HC はエンドソーム内での膜融合を阻害することでウイルスの増殖を抑制していると考えられた.［谷英樹，下島昌幸，福士秀悦，谷口怜，福間藍子，吉河智城，緒方もも子，西條政幸；森川茂（獣医科学部)］

7) 重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染中和抗体開発に関する基盤研究

重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）の感染防御の一つとして，感染を中和できるような抗体製剤の開発が考えられる．これまでの私たちの解析で回復期患者血清中には，感染中和抗体

が存在することが明らかとなっており，この抗血清はマウスモデルにおける SFTSV の感染を防御できることも報告されている．私たちはこれまでに，SFTSV の HB29 株の GP に対するモノクローナル抗体を作製し，この抗体が株間に影響せず間接蛍光抗体法および ELISA 法にて特異的に反応することを明らかにした．しかしながら，シュードタイプウイルスの感染中和を評価したところ，HB29 株由来の GP を外套したシュードタイプウイルスおよび SFTSV HB２9 株では強く感染を中和するものの，他の日本株由来の GP を外套したシュードタイプウイルスおよび他の SFTSV には弱い中和活性しか認められなかった．感染中和に関する抗体認識部位は株間でも違いがあるほど特異性が高いことが予想された．［谷英樹，福間藍子，福士秀悦，谷口怜，吉河智城，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸］

8) 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する T-705 の動物モデルでの評価

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，現在までワクチンや効果的な治療薬は開発されていない．昨年度，抗ウイルス薬の候補として富山化学工業の T-705 を用いて SFTSV に対する in vitro での抗ウイルス効果を検証した．2014 年度は，インターフェロン受容体ノックアウトマウスを用いて，in vivo での効果を評価したところ，同じ RNA 複製阻害剤であるリバビリンに比較して T-705 は，より強くウイルスの複製を阻害することが明らかとなった．病理解析を行ったところ，T-705 投与群ではウイルスの抗原は全く検出されず，各臓器の炎症像もウイルス感染マウスでは，リンパ球の壊死などヒトと同様の SFTS 様の症状が見られるのに対し，T-705 投与群では全く見られず正常であった．また，ウイルス感染後の体重減少等の病状が現れてから T-705 を投与しても，マウスの生存率は非常に高く，治療効果を有することも明らかとなった．［谷英樹，福間藍子，福士秀悦，吉河智城，谷口怜，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；岩田奈織子，佐藤由子，鈴木忠樹，永田典代，長谷川秀樹（感染病理部）；宇田晶彦，森川茂（獣医科学部）；米納孝，古田要介（富山化学工業）］

9) 重症熱性血小板減少症候群ウイルスのミニゲノムシステムの構築

重症熱性血小板症候群（SFTS）ウイルス（SFTSV）は 2011 年に中国で同定された新規フレボウイルスである．ウイルスゲノムの ORF 部にレポータータンパク質ゲノムを挿入したミニゲノムシステム，あるいはリバースジェネティクスシステムを構築することは SFTSV に対する抗ウイルス薬の探索やウイルスの転写複製機構の解析を容易にする．SFTSV の遺伝子である S，M，L 分節を polymerase I promoter 下流に配したプラスミドを作製し，その ORF 部にレポータータンパク質ゲノムを挿入した．これらのプラスミドを転写複製に必須と考えられる L, N タンパク質発現プラスミドとともに哺乳類細胞へ導入した結果，レポータータンパク質の発現が観察された．L タンパク質に変異が導入された SFTSV におけるウイルス遺伝子の転写複製効率の変化を本系を用い観察した．今後本系をもとに抗ウイルス薬の探索，ウイルス構成タンパク質間の相互作用の解析，リバースジェネティクスシステムの構築をおこなっていく予定である．［谷口怜，吉河智城，福間藍子，谷英樹，緒方もも子，福士秀悦，下島昌幸，西條政幸］

2.プテロパインオルソレオウイルスに関する研究

1) プテロパインオルソレオウイルスに対するリバビリンおよびインターフェロンの効果

近年，コウモリが宿主と考えられるプテロパインオルソレオウイルス（PRV）によるヒトの呼吸器疾患が東南アジアで相次いで報告されている．この中にはインドネシアより日本に帰国後に感染が判明した事例もある．PRV 感染症に対する治療法や予防法がないため，既存の抗ウイルス薬であるリバビリンおよびインターフェロン α の PRV に対する効果を調べた．いずれも Vero 細胞において PRV に対し増殖抑制効果を示し，IC_{90} 値はそれぞれ 369 μM，39 U/ml であった．併用による

相乗効果も認められた. PRV 感染症に対する治療法，予防法になると期待される．［下島昌幸，福士秀悦，西條政幸；江川和孝（岐阜大学)］

2) フィリピンのコウモリから分離されたプテロパインオルソレオウイルスの疫学的研究と性状解析

近年東南アジアを中心に急性呼吸器症状を呈した患者からプテロパインオルソレオウイルス（PRV）が分離されている．自然宿主はコウモリであると考えられるが, PRV のコウモリにおける感染実態は詳細は明らかにされていない. そこで本研究では 2013 年にフィリピンで採材されたコウモリの咽頭スワブから分離された PRV に対する血清学的調査を行い，また，この PRV の遺伝子全塩基配列を決定し, ウイルス性状を解析した. これらのコウモリの多くは PRV に対する中和抗体を有していた．また，この PRV の遺伝子解析の結果, 本株はフィリピン固有の株であるものの, 最も多様性のあると考えられる cell attachment protein の配列は, インドネシアからの帰国者であり，かつ，呼吸器感染症を呈した患者から分離された Miyazaki-Bali/2007 株や香港分離株と高い相同性を示した. 性状解析からは Miyazaki-Bali/2007 株とは血清学的に交叉するものの dsRNA の泳動像は異なり, 哺乳類細胞における増殖性の違いも観察された．［谷口怜，吉河智城，福間藍子，谷英樹，緒方もも子，福士秀悦，下島昌幸，西條政幸；江川和孝（岐阜大学，ウイルス第一部）；宇根有美（麻布大学）；久和茂（東京大学）；堀本泰介（東京大学）；大松勉（東京農工大学）；前田健（山口大学)］

3. エボラウイルスに関する研究

1) 西アフリカでのエボラウイルス流行株に対するリアルタイム PCR 法の検出感度の検討

2014 年西アフリカで流行したエボラウイルス病はザイール株であるが, 従来報告されていた株と配列がわずかに異なる．そこで，西アフリカ流行株の配列情報をもとに作製された L 遺伝子 DNA スタンダードをもとに従来のリアルタイム PCR 法で検出可能か否かについて検討した. さらに西アフリカ流行株に特異的なリアルタイム PCR 系も確立し，有用性を評価した．その結果，従来のリアルタイム PCR 法で西アフリカ流行株は十分に検出可能であることが判明した．また，西アフリカ流行株に特異的なリアルタイム PCR 系と従来のリアルタイム PCR 法とで検出感度に差が見られず，従来法のリアルタイム PCR 法で十分に対応できることが判明した．［谷口怜，吉河智城，福間藍子，谷英樹，緒方もも子，福士秀悦，下島昌幸，西條政幸］

4. 動物由来新興ウイルスの血清診断法と感染初期過程に関する研究

1) MERS コロナウイルスに関する研究

中東呼吸器症候群（MERS）は 2012 年にサウジアラビアで最初に報告された, 新種のコロナウイルス（MERS-CoV）による感染症である. MERS-CoV のヒトへの感染リスクを評価するためには，ウイルスの自然宿主動物を同定し，ヒトへの感染経路を解明しなければならない．しかし，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. 本研究では，MERS-CoV の感染性を解析するためのツールとして, MERS-CoV の spike（S）を被った VSV シュードタイプ（MERSpv）を作製した. MERS-CoV のレセプターであるジペプジジルペプチダーゼ 4（DPP4）に着目し，ラットの DPP4 がどの程度 MERS-CoV のレセプターとして機能するか否かを，MERSpv を用いて検討した．ラット DPP4 はレセプターとして機能せず，MERS-CoV が感染するためにはラット DPP4 の複数のアミノ酸置換必要であることを明らかにした．［福士秀悦，福間藍子，谷英樹，谷口怜，下島昌幸；須田遊人（東京大学, ウイルス第一部)］

2) 「顧みられない動物由来感染症，イシククル（Issyk-kul）熱」の対策及び検査法・治療法の確立に関する研究

イシククル熱は発熱，頭痛，筋肉痛を主徴とす

る，ダニあるいは蚊媒介性のイシククルウイルスによる感染症で，中央アジア（タジキスタンなど）で患者が報告されている．2011 年，国内で採取されたコウモリマルヒメダニからイシククルウイルスと近縁なウイルスが分離され，国内にも類似ウイルスが常在する可能性が示唆された．イシククルウイルスはクリミア・コンゴ出血熱ウイルスと同じブニヤウイルス科ナイロウイルス属に分類される．このため，イシククルウイルスおよび近縁のウイルスがヒトに重篤な感染症を起こす可能性も否定できない．今回分離されたウイルスがヒトに感染性を示すのか，また，日本にどの程度分布しているのか明らかにする必要がある．本研究では，国内のダニおよびイシククル様ウイルスの分子疫学を行う手法を確立するため，リアルタイム PCR による遺伝子検出法を確立した．また ELISA による抗体検出法を確立した．［福士秀悦，下島昌幸；須田遊人（東京大学）］

Ⅱ．ポックスウイルスに関する研究

1. 痘そうワクチン LC16m8 株を土台としたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス，重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対するワクチン開発

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．当部ではワクシニアウイルスの遺伝子組み換え系を既に確立した．そこで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），および 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ている．2014 年度は 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）の作製を行い，また組換えの際に必要な選択マーカーを取り除いた最終型の recVac の作製に成功した．特に LCMV の GPC, N, Z をすべて発現する recVac を感染させた細胞の培養上清中には，GPC を NP 遺伝子が培養上清中で挙動を同じくしていることが免疫沈降による結果より明らかとなり，LCMV の VLP が recVac 感染細胞から産生されていることが明らかにされた．今後は作製した recVac のワクチンとしての効果を，マウスを用いて評価する予定である．［吉河智城，山田壮一，藤井ひかる，原田志津子，津田美穂子，福井良子，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，谷口怜，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；柴村美帆（東京大学）；大村夏美（早稲田大学)］

2. BAC（Bacterial Artificial Chromosome）システムを用いた組換えワクシニアウイルス作製法の確立

ワクシニアウイルスを土台とした組換えワクチンの開発速度を上げるためには，組換えワクシニアウイルスの作製法をより簡便に行えるようにすることが望まれる．そこで LC16m8 株を BAC にクローニングし大腸菌に保持させることで，大腸菌の遺伝学を利用して簡便に組換え LC16m8 の作製を可能とすることを目指した．まず，BAC を構成するための必須遺伝子と薬剤耐性遺伝子を保持するプラスミド pBeloBAC11 を土台として，ワクシニアウイルスと相同性を持つ領域を組み込んだプラスミド pVAC-BAC11 を作製した．次にこれを用いて BAC の必須遺伝子を組み込んだ組換え LC16m8（m8-BAC）を作製した．現在約 30 クローンの m8-BAC のクローニングに成功している．今後はこれらの m8-BAC を細胞に感染させた後にウイルスゲノムを回収し，このゲノムを用いて大腸菌をトランスフォーム，薬剤選択により，LC16m8 のゲノムがクローニングされた BAC を保持する大腸菌の作出を行う予定である．［吉河智城，山田壮一，藤井ひかる，原田志津子，津田美穂子，福井良子，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，谷口怜，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；柴村美帆（東京大学），大村夏美（早稲田大学)］

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) 国内感染デング熱患者から検出されたデングウイルスゲノム全長の解析

2014 年夏から秋にかけて約 70 年ぶりにデングウイルス国内流行が確認され，その流行では 162 例の国内感染デング熱患者が報告された．患者検体から同定されたウイルス E 蛋白質領域の塩基配列解析から，この時期に少なくとも 2 種類（Yoyogi 株および Shizuoka 株）のデングウイルス 1 型による国内感染が発生していたことが判明した．しかし E 領域はウイルスゲノム全体のわずか 14%であり，残りの部分の配列を決定することで新たな知見が得られる可能性がある．そこで推定感染地の異なる 6 例（Yoyogi 株 5 例および Shizuoka 株 1 例）の患者検体からウイルスゲノム全長の塩基配列を決定し解析した．Yoyogi 株 5 株の E 配列はすべて同一であったが，そのうち 2 株は E 以外の領域に各々2 ヶ所，他の Yoyogi 株とは異なる塩基配列を有していた．これら 2 株は推定感染地が千葉県と静岡県の患者に由来するものであった（他の 3 株の推定感染地は都内）．さらに 1 株（兵庫県で分離された Hyogo 株）は 1 ヶ所アミノ酸配列の差異を伴うことが明らかとなった．以上より，都内から離れた推定感染地での患者に由来するウイルスは，継代によりゲノムが変化し始めている可能性が示唆された．Shizuoka 株と Yoyogi 株（都内）間での塩基配列の同一性は 98.1%であり，アミノ酸配列の差異は 18 ヶ所（約 0.5%）であった．［田島茂，小滝徹，中山絵里，モイメンリン，谷ヶ崎和美，池田真紀子，柴崎謙一，高崎智彦］

2) デングウイルスのデータベース構築

デングウイルスの塩基配列データベース構築のため，私たちが診断したデング熱患者検体に含まれるデングウイルスの全ゲノム配列を解析した．2013～2015 年の検体のうち，デングウイルスの膜蛋白質を標的としたリアルタイム RT-PCR における Ct 値が 30 未満の 46 検体について条件検討を行った．血清から異なる RNA 抽出キットにおいて RNA を抽出し，抽出した RNA を使用して RNA-seq 解析を実施した．データ解析には CLC Genomics Workbench および病原体ゲノム解析センターにて開発した MePIC, VirusTAP を使用した．デングウイルスには 1～4 血清型が存在するが，リアルタイム RT-PCR では 1 つの血清型しか検出できなかった検体において，次世代シークエンスを用いた場合は異なる血清型に属すデングウイルスのシークエンスリードが得られ，複数の血清型のウイルスに重感染している可能性が示された．また，これまでに解析が終了した 24 検体のうち，12 検体についてはデングウイルスの全ゲノム配列をほぼ決定することができた．一方，宿主ゲノムに由来するリードの割合が高く，ウイルスゲノムを効率よく検出することができない検体も存在した．そこで，患者血清 8 検体において，血清から抽出したウイルス RNA を RT-PCR によって 4 断片に分けて増幅し，増幅産物を用いてライブラリーを作製し，次世代シークエンサーで解析した．その結果，RNA-seq 解析に比較して，効率良くデングウイルス特異的なリードが得られた．今後，詳細な解析を実施する．［中山絵里，田島茂，小滝徹，西條政幸，高崎智彦；加藤健吾，山下明史，関塚剛史，黒田誠（病原体ゲノム解析センター）］

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．ルーチン NS1 抗原検査では，血清検体が用いられているが，出血症状が顕著な患者およびフィールド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デング熱患者血清検体および尿検体の NS1 検出率を評価した．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くかった．ELISA 法およびイムノクロマト法のいずれにおいてもほぼ同等の検出率で尿中

の NS1 抗原が検出された．以上の結果により，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，尿中 NS1 抗原検出も実験室診断として有用であることを確認した．［モイメンリン，齋藤悠香，谷ケ崎和美，高崎智彦］

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，これまでにデングウイルス感染に対し高感受性を示した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．また，マヒドン大学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にてマーモセットのワクチン有効・安全性評価モデルとしての有用性を検討した．コモンマーモセットに DENV-2 を接種後，126 週～41 週間の間隔を開けて DENV-1 を接種し，再感染接種後に 2 週間後の臓器を採取して病理組織学的検討を行った．また，この間に血液を経時的に採血して，Real-time PCR によるサイトカイン等の発現解析および臓器の肝臓，脾臓，腎臓など各臓器の病理学的解析を実施した．その結果，肝・脾の細胞への感染を伴い，炎症性反応を示唆する所見が出現した．肝の変化は，感染後は肝細胞の腫大，肝実質への炎症性細胞浸潤がウイルス感染の程度と炎症の反応性変化の程度で変化が確認された．肝細胞の腫大はウイルス感染により破壊された肝細胞の再生による所見で，肝実質への炎症性細胞浸潤は破壊された細胞の処理の反応性変化が確認された．126～92 週後に再感染した群で炎症性細胞浸潤が高度であった．41 週後に再感染した群では，炎症性細胞浸潤が軽度であった．また，デングウイルス 1 型の臨床分離株の中から，点状出血を発症させうるウイルス株を見出した．また，国内デング熱流行の原因ウイルスとなったデングウイルス 1 型を感染させる実験を実施し，現在解析中である．［モイメンリン，高崎智彦，白井顕治，林昌宏．，倉根一郎，網康至，須崎百合子（動物管理室），鈴木隆（国立病院機構相模原病院）］

2. 日本脳炎に関する研究

1) 遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスに対する日本脳炎ワクチンの中和効果

不活化および弱毒日本脳炎ワクチンはいずれも遺伝子型 III 型株の日本脳炎ウイルス（JEV）から製造されている．最近，中国と韓国において *Culex* 属の蚊より V 型の JEV が約 60 年ぶりに同定された．V 型はこれまでに分離されたのが 2 株と非常に少なく，その性状に関する情報もほとんどない．本研究ではこの V 型株に対する国産の日本脳炎ワクチンが誘導する中和効果を調べた．2 種類の不活化日本脳炎ワクチン参照品（北京株由来ワクチン: lot 106-2009VC および中山株由来ワクチン : lot 101-2004）を希釈後，マウス（ddY 系統，4 週齢）に 1 週間間隔で 2 回接種した．初回免疫から 2 週間後，2 か月後および 4 か月後に採血しプール血清を得て，プラーク減少法（PRNT）による中和試験を行った．中和試験用攻撃ウイルスとしては V 型株 1 株（Muar 株）の他にワクチン株（III 型）2 株，I 型株 11 株，III 型株 3 株を使用した．いずれの血清を用いた場合にも，I 型－III 型間では中和力価に差異は認められなかった．一方 V 型では I，III 型に比べ明らかに中和力価が低かった．使用した各攻撃ウイルスの E 遺伝子の塩基配列を決定しアミノ酸配列を比較したところ，ワクチン株－I型株間での差異が 1.6~2.4%，ワクチン株－III 型株間では 0.8~1.6%であった．一方ワクチン株－V 型 Muar 株間では対北京株で 8.2%，対中山株で 8.8%と差異が大きかった．以上より，国内で生産されている III 型由来不活化ワクチンは V 型に対し，I，III 型に対する効果に比べ効果が弱いことが明らかとなった．このような結果となった理由としては，I 型 III 型間に比べ V 型 III 型間での E 蛋白質の相同性が低いことが考えられた．［田島茂，谷ヶ崎和美，高崎智彦］

2) 日本脳炎ウイルスの神経侵襲性決定に関与する炎症性サイトカインの解析

日本脳炎の発症機構を解明するために，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 つであ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. その他のフラビウイルスに関する研究

1) サイクロフェニルのフラビウイルス増殖抑制効果

デングウイルス感染症は熱帯・亜熱帯地域を中心に毎年流行が繰り返されている．デング熱患者は世界的に見ても増加傾向にあり，その対策は急務であるが，4 種の血清型ウイルスすべてに対し効果を有するワクチンの開発は難しく，いまだ開発途上にある．また近年ではデングウイルスの増殖阻害活性を持つ薬剤の探索・合成も活発に行われている．私たちは，長年排卵誘発剤として臨床使用されている薬剤サイクロフェニル（CF）がデングウイルスおよび同じフラビウイルスに属する日本脳炎ウイルスに対する増殖抑制効果を有することを見出した．デングウイルス 2 型（D2/Hu/OPD030NIID/2005 株）を Vero 細胞に感染させた後 10 μM CF 含有液体培地で培養し，その培養上清中の感染性ウイルス力価を測定したところ，化合物非添加の場合の約 1000 分の 1 であった．次に同ウイルス株を用いて CF の 50%増殖抑制濃度（EC_{50}）を算出したところ，感染後 1 日目から 4 日目までの各点において 1.0~3.2 μM の範囲内であった．また日本脳炎ウイルス 2 株（Beijing-1 株および Mie/41/2002 株）を用いて EC_{50} を調べたところ，Beijing-1 株では感染 3 日目で 9.8 μM，Mie/41/2002 株では感染後 2 日目で約 10~20 μM であった．XTT アッセイにより Vero 細胞に対する CF の細胞毒性（CC_{50}）を調べたところ 93.7 μM であった．以上より，CF がフラビウイルスに対し増殖抑制効果を示すことが明らかとなった．［田島茂，高崎智彦；間陽子（理化学研究所）］

2) 抗ウエストナイルウイルスヒト型モノクローナル抗体の感染防御能の評価

日本脳炎ワクチン非接種者の末梢血単核球から，誘導し ISAAC（ImmunoSpot Array Assay on a Chip）法によりウエストナイルウイルスに反応するヒト型モノクローナル抗体 3 種類を作製した．これらのヒト型モノクローナル抗体に関して，その中和抗体価およびマウスにおける防御能を評価した．その結果，ウエストナイルウイルス（NY 株）に対して有意な中和活性を示し，マウスを用いた受動免疫実験でも一定の防御効果を示した．［高崎智彦，中山絵里；正木秀幸（近畿大学医学部）；小澤龍彦，岸裕幸，村口篤（富山大学大学院医学薬学研究部）］

Ⅳ．トガウイルスに関する研究

1. チクングニアウイルスに関する研究

3) 輸入患者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 2014 年の間に 64 例のチクングニア熱輸入患者が報告されている．私たちは 64 例のうち 37 例をウイルス学的検査で確定診断し，10 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．輸入患者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．また，一部の臨床分離株については次世代シークエンサーを用いて全ゲノム配列を決定した．2013 年 12 月にカリブ海のセント・マーチン

島でチクングニア熱の国内流行が報告され，その後すぐにカリブ海諸国およびアメリカ合衆国でチクングニア熱流行が拡がった．2014 年に日本でチクングニア熱と診断された患者の中にもカリブ海諸国からの帰国者が含まれ，トンガ，ドミニカから帰国したそれぞれの患者検体からもチクングニアウイルスが分離された．分離されたウイルス 2 株の膜蛋白質の遺伝子配列を決定し，分子系統学的解析を実施した．2 株ともアジア型に属し，セント・マーチン島の分離株と近縁であった．また，2012 年に私たちがフィリピンから帰国した患者検体から分離したウイルスと近縁であったことから，カリブ海諸国で流行しているウイルスはフィリピンから持ち込まれた可能性があることが示唆された．［中山絵里，小滝徹，高崎智彦；加藤健吾，山下明史，関塚剛史，黒田誠（病原体ゲノム解析センター）；糸川健太郎（昆虫医科学部）］

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

2006 年から 2014 年の間に輸入患者から 10 株のチクングニアウイルスを分離した．野生型 C57BL/6マウスを用いたチクングニア熱のマウスモデルが報告されているが，これらの臨床分離株は野生型マウスに対して病原性を示さなかった．そこで，インターフェロン受容体複合体を構成する IFNAR1 を欠損させたノックアウトマウスに臨床分離株を感染させ，ノックアウトマウスにおける臨床分離株の病原性解析を試みた．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，ヒトおよび野生型 C57BL/6 マウスにおいてはECSA型のウイルスの病原性が高いことが報告されている．私たちは ECSA 型とアジア型に属す複数のウイルスをそれぞれ IFNAR1 マウスに感染させ，各感染マウスの症状を観察し，組織中のウイルス力価を測定した．ECSA 型においてもアジア型においても感染マウスは感染 2〜3 日で致死的症状を示した．また，ノックアウトマウスにおける症状はヒトにおけるチクングニア熱の症状と大きく異なり，ヒトのチクングニア熱の動物モデルとしては使用することができなかった．また，組織中のウイルス力価も遺伝子型間で違いが認められなかった．次に，マウス組織で効率良く増殖可能な変異がウイルスに挿入されることを期待して，ノックアウトマウスでウイルスを繰り返し継代した．今後，ノックアウトマウスで継代したウイルスについて，野生型 C57BL/6 マウスにおける病原性解析を実施する．［中山絵里，小滝徹，高崎智彦；河合康洋（動物管理室）；鈴木忠樹（感染病理部）］

5) チクングニア熱の霊長類モデル開発

チクングニア熱の病態解析およびワクチン評価を行う上で適した動物モデルは未だ確立されていない．そこで，私たちは新世界ザルに属するマーモセットに着目し，そのチクングニアウイルス（CHIKV）に対する感受性について検討した．その結果，CHIKV 接種 1 日後よりウイルス血症が認められ，血液からウイルスが分離された．また接種 7 日後より中和抗体価の上昇が認められ，抗体価の上昇とともに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，森川茂，倉根一郎，西條政幸；網康至，須崎百合子（動物管理室）；鈴木隆二（国立病院機構相模原病院臨床研究センター）］

6) チクングニアウイルスレプリコンの作製

チクングニアウイルスは約 12kp の一本鎖+RNA ウイルスである．その遺伝子には 5’から非構造タンパク質，構造タンパク質がそれぞれ順にコードされている．翻訳された非構造タンパク質はウイルスおよび宿主の酵素によりプロセスされ，ウイルスの複製複合体を形成する．複製複合体の機能

を解析することはその治療法の開発につながる．ところでチクングニアウイルスの非構造遺伝子領域を用いてレプリコンを作製することにより，チクングニアウイルスの複製複合体の機能解析が可能であることがこれまでに報告されている．そこで 2014 年度はチクングニアウイルスのレプリコンを作製するためその設計を行った．またレプリコンを作製するためにチクングニアウイルス遺伝子のクローニングを行った．今後チクングニアウイルスレプリコンを作製し，その性状を解析する．［林昌宏，Guillermo Posadas Herrera，伊藤（高山）睦代，堀谷まどか，山口幸恵，垣内五月，塩田（飯塚）愛恵，高崎智彦，西條政幸］

Ⅴ．神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

1) 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

ワクチン国家検定試験はワクチンの有効性および安全性を確認する目的で行われている．国家検定試験ではマウスやウサギ等の実験動物が使用されるものも多いが，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．これまで，私たちは動物が苦痛を感じる期間を短縮するため，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に関する検討を行ってきた．その結果，人道的エンドポイントとして麻痺の症状を指標とするのが適当と考えられた．そこで，今年度の国家検定試験3ロット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．マウスはウイルス接種後5日目から症状を呈し始め，7から8日（平均7.6日）で全身麻痺の症状が観察され始めたが，死亡する個体が最も多かったのは11日目（平均11.7日）だった．各ロットについて苦痛の軽減効果について解析したところ，動物が苦痛を感じる期間をRB21では平均4.2日，RB22では平均4.3日，RB23では平均3.9日短縮出来ることが分かった．また，全身麻痺を示した個体は全て死亡したことから，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した．［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, Guillermo Posadas Herrera，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

ラッサ熱は致死的な出血熱である．西アフリカでは流行が続いているがいまだ有効なワクチンがない．感染防御には細胞性免疫が非常に重要である事が分かっている.そこで，本研究ではラッサウイルスと同じアレナウイルスに属するリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）のモデル系を用いて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，マウスを用いた解析を行っている．これまでに，このワクチンに一定の効果があることがマウスにおいて確認された．そこで次にその安全性を確認するために，哺乳マウスにワクチンベクターを脳内接種したところ，症状等は全くみられず，安全であることが確認された．［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

狂犬病ウイルスのL遺伝子は狂犬病ゲノムの約半分を占め，狂犬病ウイルスLタンパク質はウイルスRNAの複製, mRNAの合成および mRNAの修飾（キャップ付加，キャップメチル化，ポリアデニル化）を担う多機能性タンパク質とされ，Pタンパク質はLタンパクとRNP結合体を形成し，ヌクレオキャプ

シドとLタンパク質の結合の仲介や，これ以外にもインターフェロンの作用を阻害するなど様々な役割を持っていることがわかってきている. しかし，その機能についてはいまだ不明な点が多い．これらのタンパク質の機能解析を行うため，Lタンパク質およびPタンパク質の性状を街上毒株と固定毒株でそれぞれのアミノ酸配列を元に系統樹解析を行った結果，いくつかの変異が認められ，大きな２つのクラスターを形成することが示された．これらの変異と病原性の関連について解析を進めている．またLタンパク質およびPタンパク質の機能解析のためLタンパク質およびPタンパク質の一部または全部を発現する組換えバキュロウイルスを作製した．今後これらタンパク質の抗原性および相互作用を検討する．［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］

5) バキュロウイルス発現系を用いた狂犬病ウイルスG蛋白質の発現

狂犬病のGタンパク質（RV-G）は防御免疫を誘導する主なタンパク質であり，中和抗体を誘導する唯一のタンパク質である．またRV-Gはこれまでに昆虫細胞発現系，大腸菌発現系，植物発現系等において可溶化および安定した三量体を形成することが難しいことが知られている．これまでにRV–Gの膜貫通領域（TMD）を削除したトランケート型RV-GSおよび野生型RV-GLを発現するリコンビナントバキュロウイルスを作製した．またRV-Gと相互作用をすることが知られているNおよびMタンパク質を発現するリコンビナントバキュロウイルスをそれぞれ作製した．今後これらタンパク質の抗原性および相互作用を検討する.［林昌宏, Wouter van den Braak，堀谷まどか，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，垣内五月，Guillermo Posadas Herrera，塩田（飯塚）愛恵，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．2014年度ではPML疑い患者について計239件の検査を実施し，29検体をJCV-DNA陽性と判断した．被検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（Progressive Multifocal Leukoencephalopathy，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．また，診断後のフォローアップにおいて採取された検体中に含まれるJCVの変異をHRMによってスキャンしたところ，数ヶ月の期間を経た後でも患者特有のパターンが認められた. 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. 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の調査を行った．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，このウイルスをダニの採集された地名からムコウイルスとした．［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，小滝徹，高崎智彦，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．これまで胎盤組織培養系構築を用いて，GPCMVの増殖や局在を解析してきた．前年度は，HCMVにおいて，内皮，上皮及びleukocyteへの指向性や中和抗体の主たる標的となることが分かっている，UL128/130/131A 遺伝子産物のホモログであるGP129/131/133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．今年度は更に，それぞれを単独に欠失させた組換えGPCMV-129s，-131s，-133s，を用いてその影響を調べた．これらの組換えウイルスは全て，野生株と同様な感染像を示し，病理組織学的解析において，ウイルス抗原は，syncytiotrophoblast，spongiotrophoblast layer 及びyolk sac等に認められた．従ってGP129，GP131，GP133遺伝子はそれぞれ胎盤における感染には影響していないことが示唆された．［山田壮一；井上直樹（岐阜薬科大学）；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

GPCMV胎盤感染により発現の上昇が認められた遺伝子（CCNB3）とGPCMV感染との関連を解析した．前年度はGPCMV及びGPL細胞（モルモット線維芽細胞）の系を用いた解析を行ったが，モルモットの系では，抗体などの制約があるため，今年度はHCMV及びHEL細胞（ヒト胎児線維芽細胞）を用いて解析を試みた．間接蛍光抗体法により，HCMV感染HEL細胞においてもCCNB3蛋白発現の上昇が認められた．更に，詳細にHCMV感染時における遺伝子及び蛋白質発現の変動を解析するため，HCVM感染HEL細胞より経時的にRNA及び蛋白質の回収を行った．また，HCMV前初期遺伝子であるIE1，2及びCCNB3発現プラスミドの構築を試み，その内IE2蛋白の発現をwestern blottingにより確認した．［山田壮一，福井良子；井上直樹（岐阜薬科大学）］

2．単純ヘルペスウイルス（HSV）に関する研究

1) 再活性化効率評価可能な組換えヘルペスウイルス作製系の構築

現行の組換えヘルペスウイルス作製系を用いて作製した組換えウイルスは，野生株と比較して末梢感染時の病原性が低くなり，再活性化効率の評価も困難となるため，これらを保持した組換えウイルス作製系が求められる．2014年度は本研究室が保有する末梢病原性の比較的高いHSV-1臨床株より，プラークの形状により複数のクローンを分離，精製した．また，これらクローンについて各種培養細胞においてウイルス増殖性とプラークサイズ，シンシチウムの形成の有無について評価した．更に，各クローンのマウス脳内接種時における半数致死量を測定することで中枢神経における病原性の評価を行った．［藤井ひかる，西條政幸］

2) HSV-1感染時における細胞周期制御機構に関与する新規ウイルス因子の探索

HSV-1 は培養細胞感染時にその細胞周期をG1/S期やG2/M期に停止させることが知られており，またこれに関与するウイルス因子についてもいくつか同定されている．しかし，既存の HSV-1 因子以外にも細胞周期を制御する HSV-1 因子の存在が示唆されている．そこで本研究においては細胞周期制御に関与する HSV-1 因子を新規に同定し，その制御機構を明らかにすることを目的とする．2014 年度は，候補因子発現ベクターを作製し，その 293T 細胞における発現と局在について確認した．また，293T 細胞における細胞周期モニタリング系の確立を行った．［藤井ひかる，西條政幸］

3) チミジンキナーゼ変異関連アシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス 1 型に関する研究

アシクロビル（ACV）は HSV が発現するチミジンリン酸化酵素（vTK）によりリン酸化される．vTK 関連 ACV 耐性株は Vero 細胞において親株と同等のウイルス増殖能を示した．しかし親株である TAS 株，5 株の vTK 関連 ACV 耐性 HSV-1 のマウス脳内接種時の LD_{50} は，ACV に対する感受性と正の相関を示した．また，マウス角膜接種における LD_{50} についても同様の傾向が示された．ACV 耐性株は脳内接種，末梢接種の両方の場合に病原性が低下することが確認された．［藤井ひかる；大村夏美（早稲田大学）；山田壮一，原田志津子，吉河智城，西條政幸］

3. 水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に関する研究

1) 薬剤耐性 VZV の迅速な診断系の開発

免疫抑制状態の水痘もしくは帯状疱疹患者の治療には抗ヘルペスウイルス薬であるアシクロビル（ACV）を用いるのだが，長期にわたる投与はしばしば薬剤耐性ウイルスの出現を招く．薬剤耐性株出現時には，早期発見により他の抗ヘルペスウイルス薬へ迅速に切り替えることが予後の決定に重要だ．薬剤耐性の診断は病変から分離したウイルスについて ACV 感受性を半数阻害濃度測定により判定する方法が用いられてきた．しかし，VZV は細胞外へ放出されるウイルスが少ないため，水疱からのウイルス分離は 20-43%と低く，更に同一クローンを精製することも困難である．また，CPE が出るまでに数週間要することからも，同じαヘルペスウイルス亜科に属する単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）と比較してウイルス分離による薬剤耐性の解析は困難である．近年，より迅速に薬剤耐性 VZV の診断を行う系として遺伝子型による判定法が登場した．しかし，本診断系は既知の薬剤耐性遺伝子型のデータベースに照合することで判定するため，報告がないものについて判定することができないという問題点がある．そこで本研究においては，これらの問題点を克服した VZV 薬剤耐性株の迅速な診断系の樹立を目指す．薬剤耐性獲得のメカニズムの一つとして，VZV のチミジンキナーゼ（TK）の ACV リン酸化能消失があげられる．即ち，VZV TK の ACV リン酸化能レベルにより薬剤耐性の有無を評価できると考えられる．2014 年度は VZV TK の ACV リン酸化能定量系を構築するにあたり，in vitro における VZV TK 発現系の構築を行った．［藤井ひかる；大村夏美（早稲田大学）；山田壮一，原田志津子，吉河智城，西條政幸］

2) 組換え発現ウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）を用いた薬剤感受性試験の応用

私たちのグループは組換え発現チミジンリン酸化酵素（vTK） を用いることによって，ウイルスを用いることなく薬剤感受性を測定する系を確立した．この系の応用として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への臨床応用の可能性を示した．今回は水痘ヘルペスウイルス（VZV）のチミジンリン酸化酵素について，近年報告された新規の薬剤耐性に関与するとされる部位のアミノ酸変異（G24R，T86A）について同方法で検討した．その結果，G24R の変異によって vTK は ACV 耐性を示したが，T86A では ACV 耐性を示さなかった．［佐藤正明，垣内五月，伊藤（高山）睦代，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

感染症法の病原体管理がリケッチア研究の国内停滞を招いている．一方，リケッチアの多様性が国内外で広がり，個々のリケッチアのリスク分類を見直す必要がある．国内外のリケッチアの多様性，特性を把握し，より適切な管理と研究環境の改善を試みた．結果，リケッチアは従来から知られる病原性が強いものから，分子生物学的解析では同グループに分類されるものの，非病原性マダニ共生体にすぎないものまで報告される．このことから，単に分子生物学的情報分類ではなく，各リケッチアの病原性，感染経路，自然界での生存様式等を総合的に評価し，必要以上の制限で研究等の停滞のマイナス面が過度にすぎないようにする適切な取り扱いルールが必要である．［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の共通ツールの検討～マダニ形態同定用アーカイブ作成～

ダニ媒介感染症の感染源調査におけるベクターのマダニの形態同定は，生態や生息分布，感染リスク検討のため重要な要素である．病原体遺伝子検出の際も，鋳型 DNA 抽出前に形態同定が可能ならば，幼虫プール作製，マダニ遺伝子配列確認などを簡略できる．しかし，形態同定のための国内アーカイブは限られ，記録も古い．マダニの病原体検出では大量のサンプルを取り扱い，遺伝子増幅が繰り返され，コンタミネーション回避，迅速性を考慮する必要がある．このため，未経験者にハードルが高い形態同定を目的に，可能な限り各種マダニのステージごとに標本個体を収集，画像アーカイブ作成を試みた．採取自体が稀，特定の野生動物に吸着など，約 2 年をもってしても困難な作業であったが，およそ 10 種について全ステージの画像を記録した．［安藤 秀二(ウイルス第一部)，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）］

3) ラボネットワークの構築と課題に関する検討（2014 年度）

ダニ媒介性細菌感染症の多角的対応目指し，従来から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課題に関する検討をベースに，地域特性の強いダニ媒介性感染症の地域ブロックごとの課題のため，地方衛生研究所，国立感染症研究所，関連研究機関と協力して，2014 年度は以下の活動を継続実施した．(1)リケッチア症に対する地域特性を考慮した調査 (2)複数県参加型の地域ラボネットワーク構築活動①近畿ブロック：マダニの採集体験と形態同定のための研修会，②東北ブロック：リケッチア培養技術継承のための施設間協力実習，(3)リケッチア症検査体制の現状確認更新とダニ媒介性感染症関連全体の検査体制についての確認である．［安藤秀二;岸本壽男(岡山県環境保健センター)，千葉一樹(福島県衛生研究所)，木村政明(青森県環境保健センター)，佐藤寛子(秋田県健康環境センター)，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)，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)，近平雅嗣(兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター)，濱野雅子(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)，野町太朗(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) 国内リケッチア症の実験室診断に関する全国状況調査

リケッチア症の「つつが虫病」，「日本紅斑熱」は，感染症法で診断した医療機関の届出が義務づけられ，実験室診断確定が必須である．しかし，実験室診断の主体施設の地方衛生研究所では，人員不足や人事異動等による技術力低下で診断困難な施設が出ており，2012 年度の調査では，実施施設数が半数を下回った．この結果を受け，検査法の開発，検査技術研修等を実施してきたが，2014 年度，再度現状を調査・把握した．結果，両感染症とも，遺伝子診断実施施設が 50%を超え，それにともない，血清または遺伝子診断が可能な施設は，54.4%となった．また，実験室診断への導入部分である医療機関からの相談窓口は，地方衛生研究所や本庁感染症担当課が担当する自治体が増加し，より専門的かつ一元

的対応が可能な体制へ移行する傾向が伺われた.［安藤秀二;岸本壽男, 濱野雅子(岡山県環境保健センター), 千葉一樹(福島県衛生研究所), 山本徳栄(埼玉県衛生研究所), 赤地重宏(三重県保健環境研究所), 寺杣文男(和歌山県環境衛生研究センター), 御供田睦代(鹿児島県環境保健センター)］

5) 全国地方衛生研究所における節足動物媒介感染症の実験室診断状況

近年, 新規のダニ媒介感染症について国内でも注目が集まっている. しかし, 特定疾患に注目が集まるあまり, 確定診断において真の原因を見逃し, 重篤な事態に陥った患者があるとの情報が散見された. このことから, にわかに注目を集めた SFTS 疑い例検査時, 各患者がどのようにとり扱われているか公的機関を対象に調査を行った. SFTS 検査依頼時, 条件なしに常に他のリケッチア等のダニ関連感染症の検査を実施する施設は, 調査 79 施設中 4 か所(5%)にとどまり, 実施しない施設は 34 施設(43%)であった. 調査対象期間(2013 年 1 月～2014 年 10 月), SFTS 検査(635 例)と同時にリケッチア他の検査も実施した施設(41 施設)において, リケッチア症 25 例のほか, ライム病やデング熱も確認されていた. 同期間 NESID 登録の SFTS103 例を参考値とし, ダニ関連で SFTS が疑われた 635 患者の約 8 割の患者が原因不明となっている.［安藤秀二;濱野雅子, 岸本壽男(岡山県環境保健センター), 千葉一樹(福島県衛生研究所), 山本徳栄(埼玉県衛生研究所), 赤地重宏(三重県保健環境研究所), 寺杣文男(和歌山県環境衛生研究センター), 御供田睦代(鹿児島県環境保健センター)］

6) リケッチア・レファレンスセンター活動に関する研究(2014 年度)

リケッチア症は, 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. 全国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の構築を目指している. 地域により, つつが虫病, 日本紅斑熱, その両方, また発生時期等に差があるものの, 国内での広がりを考慮すると, いずれの地域でも同レベルで確実な検出技術を有することが望ましい. 日本紅斑熱を含む紅斑熱群リケッチアとつつが虫病オリエンチアを同時に検出できる multiplex realtime PCR について, 特異性, 汎用性, 血清型等が混在する各地の臨床検体を用いて有効性, 各施設での再現性を検討したところ, 国内リケッチア症の遺伝子検出スクリーニングに有効であった.［安藤秀二 ; 川森文彦（静岡県環境衛生科学研究所), 佐藤寛子（秋田県健康環境センター), 千葉一樹（福島県衛生研究所), 木村政明（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), 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), 近平雅嗣（兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター), 濱野雅子, 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), 野町太朗（宮崎県衛生環境研究所), 大橋典男（静岡県立大学)］

7) ダニ媒介性細菌感染症の疾患発生に係る地域特性把握のための野外調査 2014

ダニ媒介性細菌感染症の地域特性把握のための調査を各地で継続実施した. 極東紅斑熱媒介種に係る宮城, 福島および茨城の太平洋沿岸を中心に実施したマダニ調査では, 媒介種のイスカチマダニが宮城県から再確認されたが, 南部 2 県には今回も見いだせなかった. 病原体 *R. heilongjiangensis* は検出されなかったが, 宮城県のイスカチマダニ生息地で採集されたキチマダニから紅斑熱群の不明リケッチアが分離された. 紅斑熱が散発する長崎県五島列島では, 患者発生地点を含む一帯のマダニ調査に併行してツツガムシ調査をし, ベクター資料を追加・補強した. 西日本で夏季に散発している恙虫病の媒介種調査で, かつて四国型恙虫病の一つ馬宿病の発生記録のあった地域で媒介種トサツツガムシの生息を再確認した.［安藤秀二; 藤田博己, 藤田信子（馬原アカリ医学研究所), 角坂 照貴（愛知医科大学), 門馬直太（福島県県北保健福祉事務所), 川端寛樹（細菌第 1 部), 千

葉一樹（福島県衛生研究所），早坂大輔（長崎大学熱帯医学研究所），山本正悟（宮崎大学）］

2. リケッチア症の基礎的研究

1) リケッチア感染症の病態解明のための実験学的解析

偏性細胞内寄生性のつつが虫病リケッチア（*Orientia tsutsugamushi*, 以下 Ot）は，世界中で維持されている多くの株がマイコプラズマに汚染されている．複数の血清型を有し，病原性に差があると言われる Ot の in vivo マウス病態解析のため，C57BL/6 とその KO マウスで継代することによりマイコプラズマフリーの Ot を得た．うち強毒株，弱毒株の 2 株を用いたマウス感染実験により，体重減少，血中ならびに臓器中の Ot 量，サイトカインの動態に大きな違いが見られた．［安藤秀二；安藤匡子（鹿児島大学）；松村隆之，阿戸学（免疫部）］

2) 組換え発現リケッチア抗原タンパク質の発現と血清診断法開発への試み

日本におけるリケッチア症は国内で定められた四類感染症に属し，診断後は直ちに届出が必要な疾病で国内では主に日本紅斑熱とつつが虫病である．その他にも海外渡航者の中で外来性 *Rickettsia* spp.を起因とする輸入感染症としてのリケッチア症も存在する．これらの疾病対策における診断法の一つが患者血清を用いた血清診断法であり，間接蛍光抗体法が用いられている．本研究では病原体を扱うことなく *Rickettsia* spp.のゲノム DNA をもとに特定の部位について組換え発現タンパク質を作製することで，より的確なリケッチア症の早期診断の実現を目指した．その研究の中で *Rickettsia* spp.の主要な外膜タンパク質である rOmpB について 6xHis 融合タンパク質を作製した．［佐藤正明，小川基彦，安藤秀二（ウイルス第一部）］

レファレンス業務

1. 行政検査

1) SFTS ウイルスに関する行政検査

今年度は約 50 件の SFTS に関する行政検査を実施した．［下島昌幸，谷口怜，谷英樹，黒須剛，福間藍子，緒方もも子，福士秀悦，西條政幸］

2) 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は 47 件，日本脳炎に関する行政検査は 1 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］

3) 日本脳炎に関する行政検査

日本脳炎に関する行政検査を 1 件実施した．

2. その他のレファランス業務

1) デングウイルス検査キット，試薬の配布

全国 79 地方衛生研究所に，デングウイルス NS1 抗原検出イムノクロマトキットおよびデングウイルス 1 型，2 型，3 型，4 型およびチクングニアウイルス遺伝子検出試薬を配布した．それに伴い，陽性コントロール遺伝子も要望のあった地方衛生研究所に配布した．［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，小川基彦，佐藤正明（ウイルス第一部）］

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，行政検査依頼以外にも，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患者も含む），オウム病，Q 熱の疑い患者，また，不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬患者のリケッチア症との関連を多数検討した．［安藤秀二（ウイルス第一部）］

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

2014 年度は中間段階 2 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，谷英樹，谷口怜，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

2014 年度は 2 ロット（行政 47169 号, 行政 47419）の黄熱ワクチンの行政依頼検査を実施し，いずれも適と判定した．［モイメンリン，小滝徹，中山絵里，田島茂，高崎智彦，西條政幸］

3. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

2014 年度は 34 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し, 34 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

2014 年度は，3 ロット（RB21，RB22，RB23）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，塩田（飯塚）愛恵, Guillermo Posadas Herrera, 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 40 ロット及び水痘抗原国家検定 1 ロットを実施し，全ロットとも合格と判定した．［原田志津子，山田壮一，吉河智城，藤井ひかる，福井良子，西條政幸］

6. 体外診断薬の承認前試験

クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験 1 件を実施した．［安藤秀二（ウイルス第一部）］

国際協力関係業務

1. 日本脳炎ワクチンに関する世界保健機関政策方針書の策定

日本脳炎ワクチンに関する専門家作業部会会議（世界保健機関本部，ジュネーブ（スイス）2014 年 6 月 10-12 日）に出席し，日本脳炎ワクチンに関する SAGE（予防接種に関する専門家の戦略諮問グループ）のための政策方針書文案を策定した．その後も 3 回にわたる電話会議において最終文案を確定し，2015 年 2 月 27 日に世界保健機関において公表されている．［高崎智彦，モイメンリン，中山絵里，田島茂，西條政幸］

2. JICA 国際技術研修会への参画

平成 27 年 2 月 2 日 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」において感染研村山庁舎を訪れたアジア諸国のワクチン関係者に対して，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，塩田（飯塚）愛恵，Guillermo Posadas Herrera］

3. 第二回日中韓のワクチンの品質管理と研究に係るシンポジウムへの参加

平成 27 年 3 月 2 日～3 日に感染研戸山庁舎にて行われた「2nd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines：第二回日中韓のワクチンの品質管理と研究に係るシンポジウム」に参加し，乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定法における代替法導入の検討について発表した．［伊藤（高山）睦代，林昌宏，西條政幸］

4. エボラ出血熱診断研究会等の開催と診断キットの配付

2014 年 12 月 15-19 日に感染研村山庁舎において，タイ，ベトナム，フィリピン，インドネシア，ラオス，マレーシア，ザンビア，ガーナから専門家を受けいれ, エボラ出血熱診断講習会を開催した. また，台湾，タイ，フィリピン，ベトナム等の関係機関に感染研におけるエボラ出血熱診断マニュアルを提供した．［下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，谷口怜，緒方もも子，西條政幸］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Bukbuk DN, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Iha K, Fukuma A, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M, Kasolo F, Baba SS.

Development and validation of serological assays for viral hemorrhagic fevers and determination of the prevalence of Rift Valley fever in Borno State, Nigeria. Trans R Soc Trop Med Hyg 108(12):768-773, 2014

2) Tani H, Iha K, Shimojima M, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kawaoka Y, Nakasone N, Ninomiya H, Saijo M, Morikawa S. Analysis of Lujo virus cell entry using pseudotype vesicular stomatitis virus. J Virol 88: 7317-7330, 2014

3) Yoshikawa T, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Toda S, Shimazu Y, Yano K Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Kato N, Motoya T, Kuzuguchi T, Nishino Y, Osako H, Yumisashi T, Kida K, Suzuki F, Takimoto H, Kitamoto H, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo Ma, Shimojima M. Sensitive and specific PCR systems for the detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains, and the prediction of the patient survival based on the viral load. J Clin Microbiol 52: 3325-3333, 2014

4) Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Suda Y, Maeda K, Takahashi T, Morikawa S, Saijo M. Effects of ribavirin on severe Fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. Jpn J Infect Dis 67: 423-427, 2014

5) Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Singh H, Suda Y, Shirabe K, Toda S, Shimazu Y, Nomachi T, Gokuden M, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Uramoto M, Osako H, Kida K, Takimoto H, Kitamoto H, Terasoma F, Honda A, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M. Phylogenetic and Geographic Relationships of severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Virus in China, South Korea, and Japan. J Infect Dis 212(6):889-898, 2015

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 209(6):816-827, 2014

7) Abe M, Fukuma A, Yoshikawa R, Miyazawa T, Yasuda J. Inhibition of budding/release of porcine endogenous retrovirus. Microbiol Immunol 58:432-438, 2014

8) Kimura H, Tsukagoshi H, Ryo A, Oda Y, Kawabata T, Majima T, Kozawa K, Shimojima M. Ebola Virus Disease: A Literature Review. J Coastal Life Med 4(1):930-935, 2014

9) Ohagi Y, Tamura S, Nakamoto C, Nakamoto H, Saijo M, Shimojima M, Nakano Y, Fujimoto T. Mild clinical course of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in an elderly Japanese patient. Case Rep Infect Dis 2014:918135, 2014

10) 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 159(8):2023-2031, 2014

11) Kobayashi KI, Hikone M, Sakamoto N, Iwabuchi S, Kashiura M, Takasaki T, Fujita H, Ohnishi K. Dengue-Associated Hemophagocytic Syndrome in a Japanese Traveler: A Case Report. J Travel Med 22(1):64-66, 2015

12) Arima Y, Matsui T, Shimada T, Ishikane M, Kawabata K, Sunagawa T, Kinoshita H, Takasaki T, Tsuda Y, Sawabe K, Oishia K. Ongoing local transmission of dengue in Japan, August to September 2014. WPSAR 5(4):27-29, 2014

13) Kutsuna S, Kato Y, Moi ML, Kotaki A, Ota M, Shinohara K, Kobayashi T, Yamamoto K, Fujiya Y,

Mawatari M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Takasaki T, Ohmagari N. Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan, 2014. Emerg Infect Dis 21(3):517-520, 2015

14) Moi ML, Ami Y, Shirai K, Lim CK, Suzaki Y, Saito Y, Kitaura K, Saijo M, Suzuki R, Kurane I, Takasaki T. Formation of infectious dengue virus-antibody immune complex in vivo in marmosets (Callithrix jacchus) after passive transfer of anti-dengue virus monoclonal antibodies and infection with dengue virus. Am J Trop Med Hyg 92(2):370-376, 2015
15) Hoshino K, Isawa H, Kuwata R, Tajima S, Takasaki T, Iwabuchi K, Sawabe K, Kobayashi M, Sasaki T. Establishment and characterization of two new cell lines from the mosquito Armigeres subalbatus (Coquillett) (Diptera: Culicidae). In Vitro Cellular and Developmental Biology-Animal (2015 Mar 12 [Epub ahead of print])
16) Tajima S, Yagasaki K, Kotaki A, Tomikawa T, Nakayama E, Moi ML, Lim CK, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. In vitro growth, pathogenicity, and serological characteristics of the Japanese encephalitis virus genotype V Muar strain. J Gen Virol 96(9):2661-2669, 2015
17) Saito Y, Moi ML, Kotaki A, Ikeda M, Tajima S, Shiba H, Hosono K, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Detection of dengue virus nonstructural protein 1 (NS1) in urine samples using ELISA as a laboratory diagnostic method for dengue virus infection. Jpn J Infect Dis 212:889-98, 2015
18) 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 159(7):1687-1696, 2014
19) Nakamichi K, Lim CK, Saijo M. Stability of JC virus DNA in cerebrospinal fluid specimens preserved with guanidine lysis buffer for quantitative PCR testing. Jpn J Infect Dis 67(4):307-310, 2014
20) Shirai S, Yabe I, Kano T, Shimizu Y, Sasamori T, Sato K, Hirotani M, Nonaka T, Takahashi I, Matsushima M, Minami N, Nakamichi K, Saijo M, Hatanaka KC, Shiga T, Tanaka S, Sasaki H. Usefulness of (11)C-methionine-positron emission tomography for the diagnosis of progressive multifocal leukoencephalopathy. J Neurol 261(12):2314-2318, 2014
21) Miyagawa M, Maeda M, Umino M, Kagawa K, Nakamichi K, Sakuma H, Tomimoto H. Low signal intensity in U-fiber identified by susceptibility-weighted imaging in two cases of progressive multifocal leukoencephalopathy. J Neurol Sci 344(1-2):198-202, 2014
22) Ohara H, Kataoka H, Nakamichi K, Saijo M, Ueno S. Favorable outcome after withdrawal of immunosuppressant therapy in progressive multifocal leukoencephalopathy after renal transplantation: case report and literature review. J Neurol Sci 341(1-2):144-146, 2014
23) Nukuzuma S, Nakamichi K, Kameoka M, Sugiura S, Nukuzuma C, Tasaki T, Takegami T. TNF-α stimulates replication of JC virus efficiently in neuroblastoma cells. J Med Virol 86:2026-2032, 2014
24) Nabeshima T, Inoue S, Okamoto K, Posadas-Herrera G, Yu F, Uchida L, Ichinose A, Sakaguchi M, Sunahara T, Buerano CC, Tadena FP, Orbita IB, Natividad FF, Morita K. Tanay virus, a new species of virus isolated from mosquitoes in the Philippines. J Gen Virol 95(Pt 6):1390-1395, 2014
25) 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
26) 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 20, 238-242, 2014

27) Andoh M, Ogasawara Y, Sakata A, Itoh T, Fujita H, Kawabata H, Ando S. Isolation of the rickettsial agent genetically similar to Candidatus Rickettsia kotlanii, from Haemaphysalis megaspinosa in Japan. Vector Borne Zoonotic Dis 14(9):681-684, 2014

28) 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 20(3):508-509, 2014

29) Hidano A, Konnai S, Yamada S, Yoshimura H, Gitahi N, Isesaki M, Higuchi H, Nagahata H, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. Suppressive effects of neutrophil by Salp16-like salivary gland proteins from Ixodes persulcatus Schulze tick. Insect Mol Biol 23(4):466-474, 2014

30) Natsuaki M, Takada N, Kawabata H, Ando S, Yamanishi K. Case of tick-associated rash illness caused by *Amblyomma testudinarium*. J Dermatol 41(9):834-846, 2014

31) Ogawa M, Fukasawa M, Satoh M, Hanada K, Saijo M, Uchiyama T, Ando S. The intracellular pathogen *Orientia tsutsugamushi* responsible for scrub typhus induces lipid droplet formation in mouse fibroblasts. Microb Infect 16(11):962-966, 2014

32) Satoh M, Ogawa M, Saijo S, Ando S. Multilocus VNTR analysis-ompA typing of venereal isolates of Chlamydia trachomatis in Japan. J Infecti Chemother 20(10):656-659, 2014

33) 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 65(1):13-21, 2014

34) Yamada S, Fukuchi S, Hashimoto K, Fukui Y, Tsuda M, Kataoka M, KatanoH, Inoue N. Guinea pig cytomegalovirus GP129/131/133, homologues of human cytomegalovirus UL128/130/131A, are necessary for infection of monocytes and macrophages. J Gen Virol 95(Pt 6):1376-1382, 2014

35) 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):e92777, 2014

36) Tani H. Analyses of entry mechanisms of novel emerging viruses using pseudotype VSV system. Trop Med Health 42(2 Suppl):71-82, 2014

37) Takei F, Tani H, Matsuura Y, Nakatani K. Detection of hepatitis C virus by single-step hairpin primer RT-PCR. Bioorg Med Chem Letters 24(1):394-396, 2014

38) Orba Y, Sasaki M, Yamaguchi H, Ishii A, Thomas Y, Ogawa H, Hang'ombe BM, Mweene AS, Morikawa S, Saijo M, Sawa H. Orthopoxvirus infection among wildlife in Zambia. J Gen Virol 96(Pt 2):390-394, 2015

39) Nagata N, Saijo M, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Ogata M, Kurane I, Morikawa S, Sata T, Hasegawa H. Pathogenesis of fulminant monkeypox with bacterial sepsis after experimental infection with West African monkeypox virus in a cynomolgus monkey. J Clin Exp Pathol 7(7):4359-4370, 2014

40) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Hayasaka D, Sato Y, Kojima A, Kariwa H, Takashima I, Takasaki T, Kurane I, Sata T, Hasegawa H. The pathogenesis of 3 neurotropic flaviviruses in a mouse model depends on the route of neuroinvasion after viremia. J Neuropathol Exp Neurol 74(3):250-260, 2015

41) Shirai K, Hayasaka D, Kitaura K, Takasaki T, Morita K, Suzuki R, Kurane I. Qualitative differences in brain-infiltrating T cells are associated with a fatal outcome in mice infected with Japanese encephalitis virus. Arch Virol 160(3):765-775, 2015

42) Shimoda H, Saito A, Noguchi K, Terada Y, Kuwata R, Akari H, Takasaki T, Maeda K. Seroprevalence of Japanese encephalitis virus infection in captive Japanese macaques (Macaca fuscata). Primates 55(3):441-445, 2014

2. 和文発表

1) 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 33(2):160−165, 2014

2) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS ウイルス感染症）. 日本医師会雑誌 感染症診療 update 143 特別号(2): S398-399, 2014

3) 西條政幸. 日本におけるマダニ媒介性ウイルス感染症の発見 -TBE と SFTS-. 小児科臨床 67:1245-1249, 2014

4) 西條政幸. 新興ウイルス感染症と重症熱性血小板減少症候群. 日本臨床内科医会会誌 29:69-76, 2014

5) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群と今後の課題. 日本内科学会雑誌 103:2581-2586, 2014

6) 西條政幸. エボラ出血熱. 臨床と微生物 42:63-68, 2014

7) 西條政幸. アシクロビル耐性単純ヘルペスウイルスによる脳炎の診断および治療戦略. 臨床神経学 54:1024-1027, 2014

8) 西條政幸. 拡大するエボラウイルス感染症の状況をよむ. 科学 84(11):1120-1125, 2014

9) 石堂亜希，重岡徹，富永貴元，末廣泰子，福士秀悦，下島昌幸，西條政幸，高橋徹. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）様の症状を呈した患者における抗 SFTS ウイルス抗体の検討. 山口医学 63(4):257-262, 2014

10) 谷英樹：重症熱性血小板減少症候群（SFTS），臨床と微生物 (2014). 41: 45-49.

11) 谷英樹，西條政幸：重症熱性血小板減少症候群ウイルス：バイオセーフティと家族内感染および院内感染に対する対応，Infectious Agents Surveillance Report (IASR) (2014). 35, 37-38.

12) 谷英樹，西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群. 臨床検査 58(4):467-473, 2014

13) 谷英樹，西條政幸：重症熱性血小板減少症候群（SFTS），血液フロンティア(2014). 24: 80-83.

14) 福士秀悦，吉河智城，谷英樹，福間藍子，下島昌幸，西條政幸：重症熱性血小板減少症候群の検査法，Infectious Agents Surveillance Report (IASR) (2014). 35, 40-41.

15) 谷口怜, 西條政幸. エボラウイルス病. 小児科臨床 68(1):19-26, 2015

16) 谷口怜. エボラ出血熱の流行と自然宿主. 獣医疫学雑誌 18(2):148-149, 2014

17) 谷口怜, 下島昌幸. エボラ出血熱の脅威. 日本医事新報 No. 4715, 2014

18) 下島昌幸，西條政幸. 中国での重症熱性血小板減少症候群の発生状況. IASR Vol. 35 p. 33-34: 2014 年 2 月号

19) 下島昌幸. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）について. 高知県医師会医学雑誌 19:3-12, 2014

20) 下島昌幸. 重症熱性血小板減少症候群. 感染症内科（科学評論社）2(2):165-169, 2014

21) 日谷明裕，山谷和花，党雅子，叶一乃，本田なつ絵，高崎智彦，春木宏介. デング熱罹患後にうつ状態が遷延化し脱毛を伴なった 1 例. 感染症学雑誌 89(2):279-282, 2015

22) 石井利明，吉澤定子，宮崎泰斗，佐野将也，高崎智彦，館田一博，盛田俊介. 発熱を主訴とする輸入感染症に対するマラリア・デング熱抗体ーイムノクロマトグラフィー（IC）キットの使用経験についてー. 臨床病理 63(1):19-24,2015

23) Moi ML, 高崎智彦.マレー渓谷脳炎ウイルス.神経症候群 I. 26: pp607-612, 2014

24) 中山絵里, 高崎智彦. チクングニア熱. 臨床と微生物 42(3):243-247,2015

25) 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2:140-146, 2014
26) 高崎智彦．シリーズ動物由来感染症；ウエストナイル熱・脳炎．公衆衛生情報　44(7):18-19. 2014
27) 高崎智彦．日本脳炎 Japanese encephalitis．日本医師会雑誌　143特別号（2）:S386-S387, 2014
28) 高崎智彦．【トピックス】70年を経て～デング熱の再興～．大塚薬報　701(12):22-24, 2014
29) 高崎智彦．デング熱1)ウイルスと媒介蚊．小児科臨床 68(1):7-12, 2015
30) 高崎智彦．ヒトスジシマカがウイルスを媒介するデング熱，チクングニア熱．生体の科学 66(4):292-295, 2015
31) 高崎智彦．黄熱とデング熱．バムサジャーナル．26(3):26-29,2014
32) 高崎智彦．一週一話　デング熱．日本医事新報 4719 （10月1日号）:51, 2014
33) 高崎智彦．デング熱研究の歴史とデング熱流行 2014. Vet Epidemiol 19(1) 1-3, 2015
34) 中道一生，林昌宏，西條政幸．JC ウイルスゲノムの新しい検―PML への臨床応用．臨床神経学，54(12):1028-1030, 2014
35) 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 2(2);140-146,2014
36) 安藤匡子，安藤秀二．Q 熱．臨床と微生物 2014; 41(1): 39-44,2014
37) 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 30(2): 313-321,2014
38) 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 35(3):75-76, 2014

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1) Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Tani H, Yoshikawa T, Suzuki T, Hasegawa H Saijo M, Shimojima M. Development of antigen-capture ELISA for the detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus nucleoprotein. The 10th China-Japan International Conference of Virology, Changchun, China, Aug 24-27, 2014.
2) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Ogata M, Morikawa S, Saijo M. Analyses of cell entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus using pseudotype vesicular stomatitis virus system. XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
3) Yoshikawa T, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Ogata M, Saijo M, Shimojima M. Phylogenetic analyses of SFTSVs in Japanese SFTS patients. XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
4) Morikawa S, Kimura M, Fukushi S, Fukuma A, Kaku Y, Park E, Tani H, Yoshikawa T, Imaoka K, Shimojima M, Saijo M, Maeda Ken. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in domestic and wild animals in Japan. XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
5) Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Ogata M, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. Development of IFA and ELISA to detect antibodies against SFTSV. XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
6) Suda Y, Tani H, Saijo M, Horimoto T, Shimojima M. Use of pseudotyped vesicular stomatitis virus for measurement of neutralizing antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
7) Tani H. Entry and fusion mechanisms of SFTSV. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID), Taiwan, January 28-29, 2015
8) Taniguchi S, Fukushi S, Masangkay J, Puentespina R,

Omatsu T, Maeda K, Fukuma A, Yoshikawa T, Tani H, Shimojima M, Kyuwa S, Saijo M, Morikawa S Seroepidemiological study of SFTS in wild bats in the Philippines. 10th China-Japan International Virology Conference, Changchun, China, August 2014

9) Uda A, Kawabata H, Fukushi S, Kaku Y, Shimojima M, Ando S, Maeda K, Fujita H, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa T, Niikura A, Kyoko S. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in ticks in Japan. VIR-PW2034, IUMS2014, Montreal, Canada, 27th July to 1st August, 2014
10) Moi ML, Shirai K, Ami Y, Lim CK, Suzaki Y, Kitaura K, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Development of a non-human primate model for primary and secondary dengue virus infection using marmosets (Callithrix jacchus). The 63rd Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, New Orleans, Lousiana, USA, November, 2014
11) Takasaki T. Re emerging dengue in Japan 2014. The 8th Korea-Japan-China for Communicable Disease Control and Prevention. Jeju, Korea, November 26, 2014
12) Moi ML, Rattanamahaphoom J, Lim CK, Sirivichayakul C, Saijo M, Sabchareon A, Takasaki T, Kurane I. Neutralizing antibody titers as a surrogate for protection against dengue: a revisit of neutralizing antibody titers of dengue virus using FcγR-expressing cells. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2014 (JITMM 2014), Bangkok, Thailand, December 2014
13) Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Takayama-Ito M, Lim CK, Yamaguchi Y, Mizuguchi M, Oka A, Taniguchi S, Saijo M. Emergence of acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 affects the outcome of hematopoietic stem cell transplantation. XVIth International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
14) Lim CK, Ami Y, Moi ML, Takayama-Ito M, Shirai K, Kotaki A, Nakayama E, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T. Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in the common marmoset (Callithrix jacchus). XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
15) Saijo M, Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Takayama-Ito M, Lim CK, Yamaguchi Y, Mizuguchi M, Oka A, Taniguchi S. Respiratory viral infections in patients at the early phase after hematopoietic stem cell transplantation; prospective and comprehensive surveillance. XVI International Congress of Virology, Montreal, Canada, July 27-August 1, 2014
16) Lim CK, Ami Y, Fujii Y, Moi ML, Kitaura K, Takayama-Ito M, Kotaki A, Shirai K, Nakayama E, Yamaguchi Y, Suzaki Y, Morikawa S, Saijo M, Suzuki R, Kurane I, Takasaki T. Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in the common marmoset (Callithrix jacchus). The 10th China-Japan International Conference of Virology, Changchun, China, August 2014
17) Lim CK, van den Braak W, Horiya M, Takayama-Ito M, Yamaguchi Y, Kakiuchi S, Saijo M. Expression of rabies virus glycoprotein G by using recombinant baculovirus. The 25th International Meeting of Rabies in the Americas (RITA XXV), Cancún, Mexico, October 2014
18) Lim CK, Ami Y, Fujii Y, Moi ML, Kitaura K, Takayama-Ito M, Kotaki A, Shirai K, Nakayama E, Yamaguchi Y, Suzaki Y, Morikawa S, Saijo M, Suzuki R, Kurane I, Takasaki T. Pathogenesis of epidemic chikungunya virus in the common marmoset. The Joint International Tropical Medicine Meeting 2014 (JITMM 2014), Bangkok, Thailand, December 2014
19) Takayama-Ito M. A sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. 2nd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines. Tokyo, Japan, March 2015
20) Takasaki T. Local transmission of Dengue in Japan, August to October 2014. NIID International Seminar on Infectious Diseases. Tokyo, 22-23 January, 2015

2．国内学会

1) 西條政幸．エボラ出血熱-日本での診療の問題点：ウイルス学的見地から. 第 63 回日本感染症学会東日本支部総会合同学会, 2014 年 10 月，東京
2) 西條政幸．Emerging virus infection - H7N, MERS, SFTS-：現状と対策．第 117 回日本小児科学会学術集会，2014 年 4 月，名古屋
3) 西條政幸．アシクロビル耐性単純ヘルペスウイルスによる脳炎の診断および治療戦略. 第 55 回日本神経学会学術大会，2014 年 5 月，福岡
4) 垣内五月，伊藤(高山)睦代，林昌宏，若松太，子川和宏，野々山恵章，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．単純ヘルペスウイルス 1 型によるヘルペス脳炎における病原ウイルスのアシクロビル感受性の検討.第 24 回抗ウイルス療法研究会，富士吉田市，2014 年 5 月
5) 中道一生，林昌宏，西條政幸．JC ウイルスゲノムの新しい検出-PML への臨床応用．第 55 回日本神経学会学術大会（招待講演），福岡，2014 年 5 月
6) 三浦義治，岸田修二，中道一生，西條政幸，山田正仁，水澤英洋．本邦における進行性多巣性白質脳症発症者の近年の傾向について－厚労省 PML 研究班報告. 第 55 回日本神経学会学術大会, 福岡, 2014 年 5 月
7) 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 55 回日本神経学会学術大会，福岡，2014 年 5 月
8) 喜納里子，三條伸夫，能勢裕里江，石橋哲，小林大輔，宍戸-原由起子，長嶋和郎，中道一生，西條政幸，森尾友宏，前原健寿，江石義信，水澤英洋．治療反応性進行性多巣性白質脳症(PML)の臨床的・病理学的特徴－新たな病型の提案－．第 55 回日本神経学会学術大会，福岡，2014 年 5 月
9) 福士秀悦，福間藍子，吉河智城，谷英樹，谷口怜，西條政幸，下島昌幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の実験室診断　第 32 回　衛生微生物技術協議会•研究会，東京，2014 年 6 月
10) 高崎智彦．黄熱ワクチンとデング熱ワクチン．第 11 回渡航医学実用セミナー「海外赴任前健康ガイダンス」，東京，2015 年 6 月
11) 中道一生．PML の非典型例と最近の動向．第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会（招待講演），金沢，2014 年 9 月
12) 西條政幸，伊藤（高山）睦代，森本金次郎，垣内五月，山口幸恵，堀谷まどか，林昌宏：リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス感染症に対する非増殖型組換え狂犬病ワクチンの開発.第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会，金沢，2014 年 9 月
13) 吉田健二，佐々木格，瀬川茉莉，村上丈伸，吉原章王，星明彦，杉浦嘉泰，宇川義一，守谷新，中村耕一郎，中道一生，西條政幸．Mirtazapine と mefloquine 治療が有効であった全身性サルコイドーシスに発症した進行性多巣性白質脳症の 1 例．第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会，金沢，2014 年 9 月
14) 三浦義治，岸田修二，中道一生，西條政幸，雪竹基弘，水澤英洋，山田正仁．近年の日本国内発症進行性多巣性白質脳症患者の特徴について．第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会，金沢，2014 年 9 月
15) 三條伸夫，喜納里子，能勢祐里江，石橋哲，宍戸-原由紀子，中道一生，西條政幸，前原健寿，江石義信，水澤英洋．メフロキン治療が有効な進行性多巣性白質脳症における脳の病理学的特徴．第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会，金沢，2014 年 9 月
16) 山本詞子，石井一弘，本間晋介，岡田克典，中道一生，西條政幸，玉岡晃．肺移植術後に発症した進行性多巣性白質脳症の 60 歳女性例．第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会，金沢，2014 年 9 月
17) 谷口怜，堀本泰介，Joseph Masangkay，Roberto Puentespina Jr.，大松勉，永田典代，江川和孝，福士秀悦，谷英樹，下島昌幸，吉川泰弘，西條政幸，久和茂，前田健．フィリピンのコウモリからのネルソンベイグループに分類されるオルソレオウイルスの分離．第 157 回日本獣医学会学術集会，札

幌，2014 年 9 月

18) 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を利用したクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの株間での中和反応の比較 第 157 回日本獣医学会学術集会，札幌，2014 年 9 月

19) 佐野芳，岡崎祥子，大松勉，前田健，久和茂，谷口怜，八田勇輝，三友俊平，大場真己，片山幸枝，佐々悠木子，古谷哲也，長井誠，水谷哲也．フィリピンの野生コウモリから検出された新規ヘルペスウイルス遺伝子．第 157 回日本獣医学会学術集会，札幌, 2014 年 9 月

20) 川岸崇裕，金井祐太，谷英樹，下島昌幸，西條政幸，松浦善治，小林剛．高病原性コウモリ由来レオウイルスの遺伝子操作系の確立．第 157 回日本獣医学会学術集会，札幌，2014 年 9 月

21) 鍬田龍星，竹之内惇，木村菜穂，寺田豊，野口慧多，白藤浩明，下島昌幸，下田宙，前田健．日本脳炎ウイルスの細胞馴化に伴う遺伝子変異について．第 157 回日本獣医学会学術集会，札幌，2014 年 9 月

22) 金井祐太，川岸崇裕，下島昌幸，西條政幸，松浦善治，小林剛．Fusogenic reovirus がコードする FAST 蛋白質の機能解析．第 157 回日本獣医学会学術集会，札幌，2014 年 9 月

23) 江尻寛子，鍬田龍星，伊澤晴彦，林昌宏，山口幸恵，伊藤睦代，高崎智彦，小滝徹，佐々木年則，津田良夫，林利彦，小林睦生，西條政幸，沢辺京子．国内捕集蚊およびマダニ由来のオルビウイルス．第 157 回日本獣医学会学術集会，札幌，2014 年 9 月

24) 西條政幸．日本における重症熱性血小板減少症候群とダニ媒介性脳炎の流行. 第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会，金沢，2014 年 9 月

25) 高崎智彦．デング熱　国内感染の流行をどう受け止めるか．日本記者クラブ講演，東京，2015 年 9 月

26) 高崎智彦．デング熱国内発生への対応－デング熱の基礎と疫学－．第 46 回日本小児感染症学会，東京，2014 年 10 月

27) 高崎智彦．緊急企画：70 年を経ての再来～デング熱国内流行 2014．第 57 回日本感染症学会中日本地方会学術集会，岡山，2104 年 10 月

28) 福士秀悦，永田典代，岩田奈織子，谷英樹，吉河智城，谷口怜，福間藍子，下島昌幸，西條政幸．若齢および高齢マウスにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルスの感染感受性の解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，2014 年 11 月

29) 川岸崇裕，金井祐太，谷英樹，下島昌幸，西條政幸，松浦善治，小林剛．高病原性コウモリ由来レオウイルスのリバースジェネティクス系の確立．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

30) 河内健吾，氏家誠，谷英樹，森川茂，田口文広．Baculovirus を用いた牛 Torovirus の可溶性 Hemaggultinin-Esterase protein の発現．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

31) 西條政幸，吉河智城，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，谷口怜，須田遊人，Harpal Singh，前田健，高橋徹，森川茂，下島昌幸．重症熱性血小板減少症候群ウイルスの分子系統学的特徴とその地理的分布. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

32) 下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，谷口怜，西條政幸：プラークを形成する SFTS ウイルスによる中和抗体価測定．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

33) 谷英樹，谷口怜，福間藍子，福士秀悦，森川茂，下島昌幸，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP の細胞融合能と 25-hydroxycholesterol による感染阻害効果. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

34) 福間藍子，福士秀悦，吉河智城，谷英樹，谷口怜，鈴木忠樹，佐藤由子，長谷川秀樹，下島昌幸，西條政幸. SFTS ウイルスの核蛋白質に対するモノクローナル抗体の作製と抗原検出 ELISA への応用．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

35) 谷口怜，堀本泰介，Joseph Masangkay，Puentespina Roberto Jr.，大松勉，永田典代，江川和孝，福間藍

子，Harpal Singh，福士秀悦，谷英樹，吉河智城，下 島 昌幸，吉川泰弘，西條政幸，久和茂，前田健．フィリピンのコウモリからのプテロパインオルソレオウイルスの分離. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

36) 吉河智城，福士秀悦，谷英樹，福間藍子，谷口怜，須田遊人，Harpal Singh，江川和孝，下島昌幸，森川茂，西條政幸．ワクシニアウイルス LC16m8 株を土台とした組換えワクシニアウイルス作出システムの確立．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

37) 須田遊人，谷英樹，西條政幸，堀本泰介，下島昌幸．クリミア・コンゴ出血熱ウイルスの株間でのシュードタイプウイルスを利用した抗体への反応性の比較．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

38) 岩田奈織子，福士秀悦，福間藍子，鈴木忠樹，竹田誠，田代眞人，長谷川秀樹，永田典代．中東呼吸器症候群コロナウイルスに対するマウスおよびラットの感受性について. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

39) 山田辰太郎，下島昌幸，成田亮，大石真也，高橋清大，加藤博己，西條政幸，藤田尚志．ダニ媒介性ウイルスの非構造タンパク質による自然免疫抑制機構. 第62回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

40) 中山絵里，小滝徹，谷ヶ崎和美，林昌宏，西條政幸，高崎智彦．チクングニア熱の輸入患者の報告および血清学的診断法の開発．第62回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

41) 高崎智彦. 緊急報告「デング熱－今年の国内流行」. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

42) 山中敦史，Moi Meng Ling，高崎智彦，倉根一郎，鈴木亮介，小西英二．デング 1 型ウイルスの遺伝子型がヒトにおける中和・増強抗体応答に及ぼす影響．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

43) Moi Meng Ling，白井顕治，網康至，宮田幸長，林昌宏，須崎百合子，北浦一孝，西條政幸，鈴木隆二，倉根一郎，高崎智彦．Demonstration of common marmosets (Callithrix jacchus) as a non-human primate model for dengue vaccine development. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

44) 奴久妻聡一，亀岡正典，中道一生，杉浦重樹，奴久妻智代子，田崎隆史，竹上勉．ヒト神経芽細胞腫での TNF-α による JC ウイルス DNA 複製の促進．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

45) 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．非増殖型組換え狂犬病ウイルスを用いたアレナウイルスに対するワクチンの開発．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

46) 林昌宏，W van den Braak，堀谷まどか，伊藤（高山）睦代, 山口幸恵, 垣内五月, 西條政幸. Expression of rabies virus glycoprotein G by using recombinant baculovirus．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

47) 齋藤悠香，モイメンリン，竹下望，林昌宏，司馬肇，細野邦昭，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．FcγR 発現細胞を用いた新規中和アッセイにて日本脳炎ワクチン被接種者におけるデングウイルスに対する中和・感染増強能の検討．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

48) 田島茂, 谷ヶ崎和美, 小滝徹, 中山絵里, Moi Meng Ling，林昌宏，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルス株に対する日本脳炎ワクチンの中和効果. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

49) 中道一生，林昌宏，西條政幸．日本における進行性多巣性白質脳症の実験室サーベイランスおよびその発生動向の解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

50) 齋藤悠香，モイメンリン，小滝徹，池田真紀子，田島茂，司馬肇，細野邦昭，西條政幸，倉根一郎，高崎智彦．尿中デングウイルス非構造タンパク（NS1）抗原の ELISA 法による検出．第 55 回日本熱帯医学会大会，東京，2014 年 11 月

51) 山口幸恵，林昌宏，伊藤（高山）睦代，垣内五月，堀谷まどか，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決定に関与する炎症性サイトカインの解析．第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月

52) モイメンリン．デングワクチンの実用化への展望．石橋記念講演＜招待講演＞，東京，2014 年 11 月

53) 高崎智彦．デング熱から身を守るために～忍び寄る地球温暖化～．川崎市地球温暖化防止活動推進センター主催講演会，東京（多摩市），2014 年 11 月

54) 高崎智彦．－市民公開講座－デング熱　これからどうなる？．日本獣医学会公衆衛生分科会，東京（日本獣医生命科学大学），2014 年 12 月

55) 高崎智彦．デング熱国内感染と海外の対応．日本旅行医学会 第 8 回看護部会セミナー，東京（東医健保会館），2014 年 12 月

56) 高崎智彦．デング熱国内流行　～70 年の時を経て～（特別講演）．第 21 回リケッチア研究会，東京（国立感染症研究所），2014 年 12 月

57) 西條政幸．日本における重症熱性血小板減少症候群の発見の経緯と今後の研究．第 17 回九州感染症・化療フォーラム，2015 年 1 月，福岡

58) 西條政幸．エボラ出血熱・デング熱等の感染症．堺市衛生研究所講演会，2015 年 1 月，堺市

59) 高崎智彦．デング熱・チクングニア熱など蚊媒介性ウイルス感染症．2014 年度阪神地区感染症懇話会，大阪（大阪府病院年金会館），2015 年 1 月

60) 安藤秀二．国内における病原体リケッチアの取り扱いの課題と診断への影響の考察．第 7 回日本リケッチア臨床研究会，大津市，2015 年 1 月

61) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラウイルス病・東京におけるデング熱流行の背景を考える. FF の会，東京，2015 年 2 月

62) 西條政幸．エボラ出血熱・デング熱・SFTS –最新の知見と対策-．福島県立南会津病院講演会，2015 年 2 月，会津町（福島県立南会津病院）

63) 西條政幸．ボーダレス社会における感染症．2014 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　研究成果発表，感染症は一国の問題ではない，～エボラ出血熱・デング熱～．東京，2015 年 2 月

64) 西條政幸．日本における SFTS : 疫学，臨床，そして，今後の課題．2014 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（岡山），岡山，2015 年 2 月

65) 西條政幸．2014 年西アフリカにおけるエボラ出血熱の流行と対策．2014 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（岡山），岡山，2015 年 2 月

66) 高崎智彦．70 年ぶりの再興－デング熱の検査法．第 7 回 LAMP 研究会，東京，2015 年 2 月

67) 高崎智彦．デング熱などの昆虫媒介感染症について．2014 年度兵庫県立健康生活科学研究所講演会，神戸（兵庫県民会館），2015 年 2 月

68) 西條政幸．エボラ出血熱，デング熱および SFTS．宮崎県医師会講演会，宮崎，2015 年 3 月

69) 高崎智彦．デング熱～その臨床と媒介蚊～．第 13 回 ICD 連携の会，東京，2015 年 3 月

70) 小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二．つつが虫病リケッチア感染細胞を用いた ELISA 法のための抗原調整方法の検討．第 88 回日本細菌学会，岐阜，2015 年 3 月

71) 西條政幸．エボラ出血熱の基礎と疫学．第 54 回日本感染性腸炎学会総会，東京，2015 年 3 月

72) 江尻寛子，伊澤晴彦，林昌宏，小滝徹，高崎智彦，林利彦，佐々木年則，小林睦生，西條政幸，沢辺京子．国内で捕集されたマダニから分離されたオルビウイルスの性状解析. 第 67 回日本衛生動物学会大会，金沢，2015 年 3 月

73) 中山絵里．デング熱．獣医公衆衛生講習会，札幌，2015 年 1 月

74) 高崎智彦．海外で流行する昆虫媒介性ウイルス感染症とデング熱国内流行（特別講演）．2014 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会，大阪，2015 年 1 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１件,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）は、中間段階 5 件,小分け製品 14 件の検定を行った．またサノフィ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,サノフィ第一三共：スクエアキッズ皮下注シリンジは､今年度初めて 7 件の出検があり、D 抗原 ELISA による検定を実施した。ロタウイルスワクチンについては GSK：ロタリックスが８件、MSD：ロタテックが６件出検され,検定を行った.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継続されたが、ワクチン導入によってロタウイルス重症入院症例が激減していることが明らかになった。

ノロウイルスに関しては,今年度よりノロウイルスワクチンシーズの開発研究が開始されると共に、流行予測プログラム開発のため全国の衛生研究所と協力しつつ、次世代シーケンサーを用いた下痢症ウイルス全ゲノム塩基配列解析と時系列分子系統解析が始まった。感染研ではレファレンスセンターとしての機能を良く果たすとともに、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が完成し、アメリカアカデミー誌に掲載された.このシステムを利用したノロウイルス感受性細胞に関する研究がスタートした。

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.西太平洋地域以外でも野生株ポリオ流行国が後 3 カ国となり、いよいよ世界的ポリオ根絶達成およびその後の OPV 接種停止が視野に入ってきている． WHO は 2014 年 12 月にポリオウイルス病原体管理に関する新たな WHO 行動指針(GAP III-2014)を公開した．我が国でも本指針に対応したポリオウイルス病原体管理を進める必要がある．また、JICA との共催により実施した第 24 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 5 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．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 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。検診で発見されるキャリアの治療導入が重要であり、肝炎ウイルス検査陽性者のフォローアップに

関しては自治体や医療機関と連携して全国レベルで展開している．基礎研究促進を目的に、肝炎研究基盤整備事業で肝炎セミナーを４回開催した。さらに、２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。Ｂ型肝炎ウイルスの研究では NTCP に関係するエントリー研究が進んだ。さらにウイルスの生活環に関わる宿主因子などの同定および解析が進んだ．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が、Direct Active Antiviral(DAA)による画期的な抗ウイルス療法の登場により、今後の研究の方向性を検討する時期にある．より効果的で安価な治療法の開発、感染予防法の開発が求められる。

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４件，Ｂ型肝炎ワクチン１９件の検定をおこなった．Ｂ型肝炎ワクチンは定期接種化の方向性が基本方針部会で了承された。定期接種導入前ではあるが出検数は増加傾向にあり、今後のさらなる増加に備える必要がある．このためにも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レセプター探索研究とレプリコン細胞による抗ウイルス薬探索研究が進行している．また、免疫不全によると考えられる慢性Ｅ型肝炎患者の解析を行った．動物のＥ型肝炎ウイルスではラット、フェレット、ラクダ、スンクスなどの解析が進んだ．

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

周　顕鳳（中国江西省 CDC）＜日中笹川奨学金制度研究者＞平成 26 年 5 月～平成 27 年 4 月、 Ｅ型肝炎の分子生物学に関する研究

人事面では、人事面では、平成 26 年 8 月に第三室に政木隆博主任研究官がノースカロライナ大学の留学から、平成 26 年 9 月には第一室に岡智一郎主任研究官がオハイオ州立大学の留学から復帰した。

＜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 6 ロット
- イモバックスポリオの力価試験（D 抗原量試験） 1 ロット
- スクエアキッズの力価試験（D 抗原量試験） 7 ロット
- ロタリックス検定 8ロット（H26/4-H27/3 ）（976948 doses）
- ロタテック検定 6ロット（H26/4-H27/3）（499399 doses）

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 26 年度は 3 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４室

平成２６年度は東京高等裁判所から命じられた鑑定を行った。

第５室：

検定業務

乾燥組織培養不活化Ａ型肝炎ワクチン　4件（1件は前年度出検ロットの追試）

組換え沈降Ｂ型肝炎ワクチン（酵母由来）　19件（1件は次期参照沈降Ｂ型肝炎ワクチンの値付けを兼ねる。）

次期参照沈降Ｂ型肝炎ワクチンの値付け　2回（検定分を含めて 3 回繰り返しとして値付けを行った。）

行政検査

A 型肝炎　55 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)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．107 塩基の付加配列に着目し、翻訳複製に必須な領域を探るため、改変不可配列を導入した Capped RNA を合成して、トランスフェクションによる新生粒子産生をモニターした。107 塩基の 5’側は 30 塩基程度削り込んでも新生粒子産生能は低下しなかったが､3’側を失った場合、粒子産生能が消失した。5’-GUGAAUGAAGAUG の直前の塩基配列が、新生粒子産生に極めて重要である可能性が示された。

[戸高玲子,芳賀慧、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．さらに、細胞内部の粒子様構造物を観察するため、クライオ電子顕微鏡を用いた観察、トモグラフィーを用いた観察準備を始めた．

[村上耕介，Mary Estes（米国ベイラー医科大学)，村田和義（生理学研究所)、戸高玲子、芳賀慧、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-ORF3 を定常的に発現する HEK293T 細胞を構築し、そこに ORF3 部分を外来性遺伝子（VENUS）に入れ替えたコンストラクトをトランスフェクションした。すると、ORF3 を VESUS に置き換えた遺伝子を内包した感染性の新生 MNV を産生することが明らかになった。本研究で、ORF3 遺伝子を外来性遺伝子に置き換えることに成功した。

[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

2000 年以降のノロウイルス感染患者便検体を全国の地方衛生研究所の協力により収集し、次世代シーケンサー（MiSeq：イルミナ）を用いてノロウイルスの網羅的なゲノム全長の塩基配列の解析を開始した。約 700 件の解析が進行している。この解析が進めば、ベイジアン法を用いた時系列分子系統解析により、流行株出現のメカニズムが明らかになる可能性がある。

[芳賀慧、片山和彦，戸高玲子、木村博一（感染症疫学センター)、黒田誠（病原体ゲノム解析センター)、四宮博人（愛媛県衛生環境研究所）]

(5) GatVirusWeb 整備、病原体ゲノムライブラリーの構築

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.さらに、本年度よりスタートした 2000 年以降の国内の下痢症ウイルスの全塩基配列解析結果をまとめ、データベース登録への準備を進める。また、NoroNet typing tool へのリンクを準備するとともに、感染研病原体ゲノム解析センターとも連携を図り、ゲノムデータベースプロジェクトとの連携をすすめる。

[三瀬敬治（札幌医大)、朴英斌、戸高玲子、藤井克樹、

芳賀慧、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

昨年度、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。今年度は、本方法の国内への普及活動をノロウイルスレファレンスセンターを通じて行った。さらに、遺伝子型表記方法を統一するため、感染研感染症疫学センターと協力しつつ、NESID、IASR, IDWR の遺伝子型表記を改訂する準備を開始した。

[片山和彦, 戸高玲子, 芳賀慧、朴英斌、木村博一、木下一美、吉川昌江(感染症疫学センター)

(7)ヒト腸管オルガノイド培養技術の導入

ヒトに感染するノロウイルス（HuNoV）は、ヒト腸管上皮では非常に効率よく増殖可能だが、株化培養細胞を用いて増殖させることはできない。慶応大学医学部の准教授である佐藤俊郎らは、ヒト腸管バイオプシより、幹細胞に刺激を与え、増殖培養させた後に、試験管内でヒト腸管の組織を再構築可能な培養システムの開発に成功した。我々は、佐藤准教授より技術指導を受け、腸管オルガノイドを用いた HuNoV 感染増殖システムを研究するため、オルガノイドの導入を行った。

[片山和彦、戸高玲子、藤本陽、村上耕介、染谷雄一、石井孝司、佐藤悦郎、杉本真也（慶応大学医学部）]

(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２種類の新たなヒトノロウイルス VLP,抗血清を作製した. また、VLP ライブラリーを用いて、VLP 特異的モノクローナル抗体、GI もしくは GII をブロードレンジに認識するモノクローナル抗体の作製を開始した。

[三木元博（デンカ生研）, 杉本陽、朴英斌,戸高玲子, 芳賀慧,脇田隆字,片山和彦]

(9)ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼによる in vitro RNA 合成系の構築

ノロウイルスの複製機構を明らかにするために、ヒトノロウイルスの RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ（RdRp）の RNA 転写活性を、放射性同位体を用いずに測定出来る in vitro 系を構築した。鋳型 RNA と精製 RdRp により合成された RNA を、一本鎖 RNA のみを特異的に切断分解する RNase を用いて、合成された RNA と鋳型 RNA とが形成した二本鎖 RNA のみを検出することで、合成された RNA を検出する系である。その結果 RdRp の転写活性は、鋳型の配列特異的で、ゲノム RNA の 5’末端、或いは 3’末端領域の配列が重要であることが明らかとなった。

[下池貴志,脇田隆字]

(10)ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ（RdRp）の結晶構造解析と機能の解析、細胞内活性測定システムの構築

HuNoV と MNV の RdRp を大腸菌で発現させ、活性のある RdRp を得ることに成功した。昨年度から、RdRp の結晶化を試みたところ、HuNoV GII.3 U201 株,MNV-S7 株の結晶化に成功し、結晶構造を得た。しかし、これらの結晶は、核酸が結合していないオープンコフィグレーションフォームであった。RdRp の RNA 認識機構を解明し、RNA 分子との共結晶像をえるため、RdRp に人工合成 RNA を反応させ、その結合能力、RNA 鎖合成能力を測定している。

リバースジェネティックスシステムを利用し、ORF2 部分に Luciferase 遺伝子を導入したコンストラクトを作製し、RdRp の活性測定を試みた。HuNoV GII.3 U201 株,MNV-S7 株で、細胞内 RdRp 活性測定が可能となった。

[朴英斌、戸高玲子、芳賀慧、朴三用（横浜市立大学)、佐藤裕徳、横山勝（病原体ゲノム解析センター）]

(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、HuNoV の真のレセプターを探している。腸管上皮細胞のプロテオミクス解析により取得したレセプター候補分子のクローンを取得し､解析を進めている。また、リバースジェネティックスで作製した GFP 遺伝子内包ウイルスを用いて、その結合、細胞内発現を許容する株化培養細胞を探している。

[村上耕介，Mary Estes（米国ベイラー医科大学),芳賀慧、 藤本陽、戸高玲子、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、これをウサギ、モルモット、マウスに免役し、中和活性のある抗血清を誘導することに成功するとともに、モノクローナル抗体を得ることに成功した。現在、中和活性のあるモノクローナル抗体のエピトープを検索している。さらに、モノクローナル抗体の結合部位を可視化するため、感染性 MNV に中和モノクローナル抗体を結合させ、クライオ電子顕微鏡を用いて観察を行っている。[三木元博（デンカ生研)、戸高玲子,藤本陽,朴英斌,村田和義（岡崎生理学研究所)、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 RNA レプリコン候補遺伝子の作成と構造タンパク質発現細胞の作成

これまで培養細胞での増殖系が確立されていないノロウイルスの遺伝子及び粒子複製機構を明らかにするため、ノロウイルス遺伝子を RNA レプリコンとして持続的に維持できる細胞を確立することを目指す。ノロウイルスチバ株 ORF1 遺伝子下流に HCV IRES 支配のネオマイシン（あるいはピューロマイシン）耐性遺伝子を配置し、in vitro で T7 RNA ポリメラーゼにより RNA を合成した。また、チバ株構造タンパク質遺伝子（ORF2-ORF3)を含むプラスミドを Vero 細胞に導入し、適当な薬剤で選択したところ､耐性細胞を得た｡今後、タンパク質発現を確認する。

[染谷雄一]

(15)ノロウイルス VLP の構造解析

ノロウイルスチバ株（GI.4）をはじめ、主な GI 株の VLP を昆虫細胞で調製した。X 線結晶構造解析を高輝度光科学研究センターで、電子顕微鏡単粒子解析を理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センターで行うため、それぞれに VLP を供給した。

[染谷雄一、長谷川和也（高輝度光科学研究センター)、熊坂崇（高輝度光科学研究センター)、染谷友美（理化学研究所）]

(16)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血液型抗原との結合エネルギー解析

本研究では, NoV の糖鎖認識の多様性を理解するため, X 線結晶構造解析と QM/MM 計算、分子動力学計算を組み合わせた複合シミュレーション手法を適用し, 各種血液型抗原とノロウイルスキャプシドタンパク質との結合様式のモデリング／解析を進めている．今年度はキャプシドタンパク質上のアミノ酸変位が血液型抗原結合に及ぼす相対的エネルギー変化に注目し、相互作用成分解析と結合自由エネルギー変化について解析を行った．その結果, ルイス b 血液型抗原とキャプシドタンパク質との相互作用に関して結果を得ることが出来た．アミノ酸変異に伴った局所的な構造変化／水和相互作用の変化が主要因となって血液型抗原結合の強弱が変化する事を明らかにした．これは結晶構造解析から示唆される事実と一致することが確認出来た．

［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）］

(17)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, NoV GI.4 遺伝子型株、GII.4 遺伝子型株を抗原として単離したヒト型モノクローナル抗体が GI.4 遺伝子型株、GI.4 遺伝子型株の血液型抗原への結合を阻害することを明らかにしている．今年度は, これらモノクローナル抗体が他の遺伝子型株に関しても血液型抗原への結合を阻害するかどうかの検討を行った．10 遺伝子型 10 株のウイルス様中空粒子を用いた ELISA の結果, ヒト型モノクローナル抗体が, GI.4, GII.4 遺伝子型株以外の株の血液型抗原へ結合に対しても阻害効果を示すことを明らかにした．交差反応性の高い抗体は, 他の遺伝子型株の血液型抗原への結合も阻害した．これに対し, 交差反応性の低い抗体は、他の遺伝子型株の血液型抗原への結合は阻害しないことを明らかにした．

［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）］

(18)ノロウイルス感染性粒子構造の研究

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, MNV 感染性粒子と MNV-VLP の構造の比較、HuNoV の感染性粒子と VLP の構造の比較を構造生物学的手法と生化学的手法を用いて行っている。本年度は、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て MNV 感染性粒子構造と VLP の構造を解析し、両者の形状に差があることを見いだした。感染性粒子は粒子状の突起の隆起高が高く、シェルドメインが粒子内部に向かってくぼんでいるが、VLP は突起の隆起高が低く、シェルドメインが外部方向に隆起していることが分かった。

［三木元博, 芳賀慧、戸高玲子, 朴　英斌, 村田和義（岡崎生理研）, 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。立体構造を構築し、*in silico* での構造評価を行った結果、クローズドコンフィグレーションであることが判明した。クローズドコンフィグレーションの RdRp は本来、RNA を抱き込んだ状態で形成される形状であるが、我々の RdRp には、いかなる RNA も結合していなかった。RdRp の形状、アミノ酸残基と RNA の結合様式を明らかにし、遺伝子型によって異なる RdRp のアミノ酸多様性、構造変化がウイルスの病原性変化に影響を与えるか否か、分子疫学の標的領域になり得るか否かを解析するためには、RNA と結合したクローズドコンフィグレーションの RdRp の構造を決定する必要がある。

[朴英斌, 朴三用（横浜市立大学）, 戸高玲子, 横山勝、佐藤裕徳(病原体ゲノム解析センター), 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プロテアーゼの基質を模倣した非ペプチド性化合物の抗ウイルス活性の評価

我々はカリシプロテアーゼの基質認識機構の解析を進めてきた。今回、計139369化合物のライブラリーから、FCV プロテアーゼの基質の構造特性をもち、基質会合部位の空間に適合する化合物を結合シミュレーションで選択した。その後、生物発光共鳴エネルギー移動法を利用したFCV感染・増殖時のFCV プロテアーゼ活性発現定量系で評価した結果、２つの非ペプチド性低分子化合物がFCVプロテアーゼの細胞内活性発現を抑制することを見いだした。今回用いたアプローチは、ノロウイルスやサポウイルスのプロテアーゼをターゲットにしたリード化合物の探索にも有用な手法の１つとなりうる。

［岡智一郎, 横山勝(病原体ゲノム解析センター), 高木弘隆（バイオセーフティ管理室）, 小島 宏建、長野 哲雄, 岡部 隆義（東京大学創薬機構）, 遠矢幸伸（日大獣医）, 片山 和彦, 佐藤 裕徳(病原体ゲノム解析センター)］

3．ロタウイルスに関する研究

（１）2013/14年シーズンの我が国におけるロタウイルス分子疫学研究

ア）2013/14年シーズンのロタウイルス検体の収集

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4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。2013年9月から2014年3月の間に合計125検体を収集し、ELISA法にてスクリーニングを行ったところ、14検体がロタウイルス陽性であった。各病院の陽性率は、由利組合総合病院（秋田）8.0%（2検体/25検体）、江南厚生病院（愛知）同9.1%（6検体/66検体）、公立南丹病院（京都）0%（0検体/16検体）、山口大学医学部付属病院（山口）同33.3%（6検体/18検体）であり、いずれの病院でも前シーズン同時期と比較して、陽性率が大幅に減少していた。

[藤井克樹、芳賀慧、団海燕、片山和彦]

イ）ロタウイルス全塩基配列解析による遺伝子型構成解析

ロタウイルス陽性 14 検体について、次世代シークエンス解析を行い、それぞれの遺伝子型構成を調べたところ、各検体の遺伝子型構成は G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1（以下 Wa 型 G1 と記す）、G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2（同 G2）、G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1（同 G9）の 3 種類のパターンに分類できた。G9 に関しては塩基配列の違いから、更に Lineage 3 と Lineage 6 に分類することができた。また、前シーズンまで広く流行していた DS-1 型 G1 株は 1 例も検出されなかった。

[藤井克樹、芳賀慧、団海燕、片山和彦]

ウ）全国のロタウイルスの遺伝子型分布

2013/14 年シーズンに採取されたロタウイルス陽性 14 検体について、各病院の遺伝子型分布を調べたところ、秋田は Wa 型 G9 Lineage 3 が 2 検体のみ、愛知は Wa 型 G1 が 1 検体、G2 が 3 検体、G9 Lineage 6 が 2 検体、山口は G2 が 4 検体、G9 Lineage 6 が 2 検体であった。重複感染例は認められなかった。この結果から、2013/14 年シーズンは前シーズンと比較してロタ陽性検体が大幅に減少し、その遺伝子型分布も大きく変化していることが明らかとなった。

[藤井克樹、芳賀慧、団海燕、片山和彦]

エ）北海道におけるロタウイルス分子疫学解析

札幌医科大学との共同研究として、北海道の浦河、苫小牧、室蘭、札幌、岩見沢、函館の病院からロタウイルス陽性便検体をそれぞれ 9, 18, 13, 7, 4, 1 検体ずつ（計 52 検体）送付してもらい、全ウイルスゲノムを次世代シーケンサーにて解析した。その結果、遺伝子型分布は Wa 型 G1 が 13 検体（25%）、DS-1 型 G1 が 7 検体（13%）、G2 が 12 検体（23%）、G9 Lineage 3 が 9

検体（17%）、G9 Lineage 6 が 7 検体（13%）、重複感染が 4 検体（8%）であった。この結果から、2014 年においても地域によってはDS-1型G1株が未だ流行していることが明らかとなった。
[藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）、片山和彦]

（２）核酸自動電気泳動装置によるロタウイルスゲノムパターン解析法の確立

ロタウイルスの簡便・迅速な検査法を確立するため、核酸自動電気泳動装置MultiNA（島津製作所）を用いてロタウイルスゲノムの電気泳動パターンを検証した。その結果、ロタウイルスの11本のゲノムを泳動度に応じて3分割し、それぞれの検出波形から相関係数を算出して比較することにより、PAGE法と同様にWa-like G1、DS-1-like G1、G2、G3、G4、G9 lineage 3、G9 lineage 6を区別して判定する事ができた。この方法は、新たなロタウイルス検出法として応用可能であると考えられた。
[藤井克樹、下池貴志、片山和彦]

（３）マウスロタウイルスを用いた宿主免疫応答の解析

ア）マウスロタウイルス接種後の腸管におけるCD抗原発現量の変化

生後10日のBalb/cマウスにマウスロタウイルスEW株を10000 DD_{50}（50%下痢発症用量）経口接種し、経時的に回腸を採取した。回腸からRNAを抽出し、リアルタイムPCRにてCD3、CD4、CD8、CD20の発現量を定量した。内部標準としてGAPDHとbeta-actinを用いた。その結果、ウイルス接種3日後では、いずれのCD抗原の発現量ともコントロールマウスより低い値を示したが、5日後には逆転し、7日後には発現量がピークとなった。特にCD3とCD8がコントロールの3倍程度と高い値を示した。
[藤井克樹、片山和彦]

イ）ウイルス接種後の腸管におけるTCR（T cell receptor）レパトア解析

マウスロタウイルスを接種して7日後に採取した回腸について、RNAを抽出してTCR遺伝子を網羅的に増幅し、次世代シーケンサーによるTCRレパトア解析を行った。その結果、ウイルス感染マウスではコントロールマウスと比較して、α鎖ではTRAV3-1、TRAV3-3、TRAV6-6、TRAV13-1、TRAV16、TRAV21において、β鎖ではTRBV2、TRBV4、TRBV13-2、TRBV17、TRBV29において、相対的発現量が増加していた。特にTRAV3-3、TRAV16、TRAV21、TRBV13-2、TRBV29においては特徴的なCDR3の配列が認められた。
[藤井克樹、片山和彦]

4. 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

現在使われているセービン株由来不活化ポリオワクチン 2 種には免疫賦活剤としてアルミニウムが含まれる。アルミニウム除去剤としてクエン酸ナトリウムとEDTA を選択し、ワクチン製剤を処理するときの除去剤の濃度、処理温度、処理時間を検討した。
［染谷雄一］

（2）血液製剤における C 型肝炎ウイルスの加熱による不活化機構の解明

血液製剤に混入する可能性がある C 型肝炎ウイルス（HCV）を不活化させる条件を明らかにするため本実験を行っている。HCV はアルブミン中、60℃液状加熱で効率良く不活化されることを示した。本年度はこの液状加熱で HCV の不活化の理由を明らかにするため実験を行った。その結果 HCV のアルブミン中での60℃液状加熱による不活化は、HCV RNA の分解によるよりも、 HCV の細胞への吸着、侵入課程の阻害によることが主たる原因であることが示唆された。
[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]

（３）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

血漿分画製剤は献血血が原料のプール血漿を Cohn エタノール分画法により製造される。これまで第IX因子製剤、フィブリノゲン製剤による HCV 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ける HCV 感染事故はほとんどない。この理由を明らかにするために、実験室レベルでの Cohn エタノール分画法を確立した。この方法により、クリオ/脱クリオ分画では 99.9%の HCV が脱クリオ画分に分画され、Fra.1/S1 分画では 99.3%の HCV が S1 上清画分に分画されることが明らかとなった。

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

レファレンス業務

Ⅰ．病原体検出マニュアル

ロタウイルスの病原体検出マニュアルを作成し、web 上で公開した。

[藤井克樹、片山和彦]

Ⅱ．標準品の作製

リアルタイムPCRでロタウイルス遺伝子を検出・定量する際の標準品を作成し、必要に応じて配布できる体制を整えた。

[藤井克樹、片山和彦]

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．2014 年度は、エンテロウイルス抗血清 39 種類(8 カ所)、細胞 12 本(8 カ所)を配布した。ポリオウイルスの同定および型内株鑑別検査を行政検査として実施した。

[吉田 弘，有田峰太郎，片岡周子，中村朋史、 清水博之]

イ） H25 年度に実施した地方衛生研究所におけるエンテロウイルス検査状況に関するアンケート結果を踏まえ、エンテロウイルス検査に関する基盤的技術を含むワークショップを開催した。ワークショップでは実技を踏まえ、関連するマニュアルを参加者間のグループディスカッションにより作成した。作成した作業書は地方衛生研究所全国協議会を通じ共有している。

[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]

(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(2 年目)

わが国では 2012 年 9 月より IPV が導入された。これ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 か所にて平成 25（2013）年度春より順次開始した。平成 26 年度は予算事業として 14 か所、調査研究 5 か所の計 19 か所の協力を得て調査を実施した。19 か所の下水利用人口は、延べ約 500 万人である。開始以来、2 年目にあたる 2014 年 10 月 1 日に採水した下水濃縮物より 3 型ポリオウイルス株が分離された。分離株は感染症流行予測調査事業実施要領に基づき感染研ウイルス第二部に送付され、型内鑑別の結果、ワクチン株（Sabin3）であることが確認された。同年 11 月以降、環境水からポリオウイルスは検出されていない。ポリオウイルス検出は国内 1 か所のみであったため、下水におけるウイルス検出は一過性のものであると推察された。引き続きポリオウイルスの監視を行っていく。

[安藤克幸（佐賀県衛薬セ）、伊藤雅（愛知県衛研）、伊東愛梨（宮崎県衛環研）、内野清子、岡山文香（堺市衛研）、内山友里恵（長野県環保研）、小澤広規（横浜市衛研)、北川和寛（福島県衛研）、葛口剛（岐阜県保環研）、後藤明子(北海道衛研)、下野尚悦（和歌山県環衛研セ)、神保達也(浜松市保環研)、高橋雅輝(岩手県環保研セ）、滝澤剛則（富山県衛研）、筒井理華（青森県環保セ）、中野守(奈良県保研セ)、濱﨑光宏（福岡県保環研）、堀田千恵美(千葉県衛研)、松岡保

博（岡山県環保セ)、山崎謙治、中田恵子（大阪府公衛研)、吉田弘（感染研)]

(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 24 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 5 回目）を実施した。感染研での研修期間は 2015 年 1 月 19 日～2 月 21 日，研修参加者は,エジプトから 1 名，ベトナム、モザンビークから各 2 名、ナイジェリアから 3 名の計 8 名であった。WHO ワクチン予防可能疾患実験室ネットワークにおける国家実験室に必要な技術習得のための実習および講義を実施した 。 また，ポリオ根絶および麻しん排除の現状と問題点を中心とした講義および討議を行った。

[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 170 検体およびラオス 56 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）2014 年 5 月 18 日－5 月 27 日に Public Health Laboratory Center(香港)で開催された WHO Hands-on Training Workshop on Cell Culture Techniques for the Laboratory Diagnosis of Polio/Enteroviruses and Measles/Rubella Viruses in the Western Pacific Region に講師(WHO 短期専門家)として参加し、培養細胞の維持管理・品質管理、培養細胞を用いたポリオウイルス分離・同定法等に関する講義を担当し、実習のサポートを行った。

[清水博之]

エ）2014 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、環境水等の検体からのポリオウイルス直接検出法について発表し(Concentration of PV-particles in stool and sewage samples)、世界ポリオ実験室ネットワークにおける技術的課題に関する討議に参加した。

[清水博之]

オ）2014 年 11 月 12 日－11 月 15 日に WPRO(マニラ、フィリピン)において開催された THE FIRST REGIONAL FORUM OF WHO COLLABORATING CENTRES IN THE WESTERN PACIFIC に参加し、WHO Collaborating Centre for Virus Reference and Research (Enteroviruses)に関するポスター発表を行い、各 WHO Collaborating Centre 担当者および WHO/WPRO 担当者と、各 WHO Collaborating Centre の機能と今後の課題に関する討議を行った。

[清水博之]

カ）2015 年 1 月 28 日－2 月 1 日に Le Meridian ホテル（アンマン、ヨルダン）で開催された「WHO ポリオ実験室診断小委員会会合」(Meeting of the Ad Hoc Small Working Group discussion on improving Polio Laboratory diagnostics)に、WHO 短期専門家として参加し、ポリオ実験室ネットワークの現状について情報交換を行うとともに技術的問題点について議論した。

［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 20th 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）2015年3月3日感染研で開催された日中韓The 2nd Symposium on Research and Quality Control of Vaccinesにおいてエンテロウイルス71受容体研究の進捗について報告した。
［清水博之］

イ）2014年7月13日－7月23日にベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)において開催された、JICAバイオセーフティワークショップおよび手足口病実験室診断技術研修会へ参加し、NIHEを含む四カ所の基幹国立研究所からの研修参加者に対して、ベトナム国内初の手足口病実験室診断技術研修を実施した。手足口病実験室診断に必要とされるバイオセーフティ、手足口病および関連ウイルス実験室診断に関する講義および技術指導を実施するとともに、各基幹研究所における手足口病サーベイランスおよび実験室診断の現状について情報の共有化を図った。
［清水博之］

2. WHO西太平洋地域の2014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

2014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226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］

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検出法の開発

これまでの解析から、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（PVR MB）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ている。しかし、便抽出液の中のポリオウイルスの量自体が非常に少ないため（陽性の検体で100 uL中にウイルスゲノムが760コピーしか検出されない場合もある)、ビーズで抽出したポリオウイルスを直接検出することが困難であった。そこで、50コピー以下のポリオウイルスゲノムからカプシド領域全体（3.9ｋnt）を効率よく上げることが出来る系を開発した（ECRA法)。ECRA法と磁気ビーズPV濃縮法、リアルタイムPCRおよびVP1領域遺伝子解析を組み合わせることで、培養細胞を用いた場合と同程度の効率でPVを便抽出液から直接検出することが可能となった。
［有田峰太郎、中村朋史、清水博之］

(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

細胞培養を経ずに高感度で環境中のポリオウイルス（PV）を検出する手法（直接検出法）の開発・検討を行った．始めに，力価既知のPVをバッファーに添加した系で直接検出法の評価を行った．陰電化膜(NCF)およびPVレセプター結合型磁気ビーズ（PVR-MB）を用いて濃縮したPVから得たRNAをPVの型別同定法である Poliovirus intratypic differentiation Real-time RT-PCR（rRT-PCR ITD 法）にて解析した．しかしながら，細胞培養を用いる従来法と比較すると感度面で劣っていた．一方，得られたRNAからカプシド全領域特異的増幅法（Arita, 2013）を用いて増幅したDNA断片を次世代シークエンサー（MiSeq, illumina社）で解析したところ，従来法に近い感度で

PV を検出可能であった．また，パキスタンの環境検体を用いた試験でも種々の PV を検出可能であったことから，直接検出法の有用性が示された．

［中村朋史，有田峰太郎，Merja Roivainen，Sohail Zaidi，清水博之］

(3) ポリオワクチンに対する腸管免疫応答の測定

我々がこれまでに開発したポリオウイルス擬似ウイルスを用いた中和抗体の測定法を用いて、ポリオウイルスワクチン接種後の腸管免疫応答の解析を行った。ウイルスを用いた従来の中和法では便抽出液の持つ非特異的な細胞毒性やバクテリアの混入のために便抽出液中に存在している中和抗体の解析が進まなかったが、擬似ウイルスを用いた中和抗体の測定方法により解析が可能となった。結果、生ワクチン接種後の便抽出液中の抗ポリオウイルス中和活性とポリオ特異的 IgA に相関があること、生ワクチン接種後に誘導される抗ポリオウイルス中和抗体がウイルスの排出を抑制することが示唆された。

［有田峰太郎、Peter F. Wright］

(4) 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

これまでの解析から、抗エンテロウイルス薬候補化合物の標的として、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）経路が同定されている。しかし、PI4KB/OSBP 経路以外に抗エンテロウイルス薬候補化合物の標的となりうるものがあるかどうかについては不明であった。今回、標的が不明であった２つの抗エンテロウイルス薬候補化合物 oxoglaucine および pachypodol（Ro 09-0179)の直接の標的が PI4KB であることを明らかにした。この結果から、“培養細胞に対して毒性を示さずに宿主の活性を阻害する抗エンテロウイルス化合物は、全て PI4KB/OSBP 経路を標的とする”という仮説（エンビロキシム仮説）を提唱した。

[有田峰太郎，Angel S. Galabov]

(5) 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)不活化ポリオワクチン累積接種率調査

不活化ポリオワクチン（IPV）は、2012 年 9 月 1 日から定期接種ワクチンとして導入されたため、今回が初めての全国累積接種率調査となった。集計するにあたり、DPT の接種記録がある者を解析対象とした。つまり、回収された記録のうち、接種日が不明もしくは記録記載が不完全なものを除外し、DPT-IPV1 回目接種済みの 1,163 件と未接種の 17 件、DPT1 回目接種済みの 2,873 件と未接種の 13 件、合計 4,066 件の記録を集計した。ポリオ 1 回目相当の累積接種率曲線は DPT1 回目相当と同様に、生後 3 ヶ月から立ち上がり、生後 4-7 ヶ月で急上昇し、生後 8 ヶ月以降は緩やかに上昇していた。累積接種率は生後 12 ヶ月で 97.2%（95% CI：96.6～97.6%）に、生後 24 ヶ月で 98.2%（95% CI：97.8～98.6%）に達した。ポリオ追加相当の累積接種率曲線も DPT 追加相当と同様に、生後 17 ヶ月から立ち上がり、生後 24 ヶ月まで緩やかに上昇していた。累積接種率は、生後 24 ヶ月で 76.5%（95%CI：

75.1～77.8%）であった。
［崎山　弘（崎山小児科）、清水博之］

(2) 日本人成人に対する不活化ポリオワクチン追加接種の免疫原性

わが国においても、2012 年 9 月から不活化ポリオワクチン（inactivated polio vaccine, IPV）が導入された。まずは、乳児期の定期接種が経口生ポリオワクチン（oral polio vaccine, OPV）から IPV に移行されたが、IPV の年齢対象は小児に限定されたものではない。わが国では、1975-77 年生まれの世代はポリオウイルス 1 型に対する血清中和抗体保有率が他の世代より低く、彼らがポリオ流行地に渡航するなどポリオ感染のリスクが高いことが予想される場合は、OPV の追加接種を勧奨する機会であるとされてきた。また、ポリオワクチン未接種者や接種歴が不明の者に対する対応が必要な場合も想定される。したがって今後は、成人に対しても IPV の追加接種を行う機会があると考えられ、成人での免疫原性と安全性の検討を行う分担研究を実施した。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た。結果は、過去に接種歴がある場合はほとんど全例で、IPV 1 回接種後に良好な抗体価の上昇が確認された。ただし、過去の接種歴が不明で、IPV 接種前に中和抗体を保有しない場合には、1 回の IPV 接種では抗体獲得は不十分な場合があると考えられた。
［福島慎二、濱田篤郎(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) 不活化ポリオワクチン導入前後の予防接種状況および抗体保有状況に関する研究

ポリオの定期接種に用いられるワクチンは 2012 年に OPV から IPV 含有ワクチン（cIPV：9 月～、および DPT-sIPV：11 月～）に変更されたが、この変更にともなう予防接種状況ならびに抗体保有状況について、北海道、山形県、群馬県、千葉県、東京都、富山県、愛知県、山口県、愛媛県の各都道県の協力により実施された 2013 年度感染症流行予測調査におけるポリオ感受性調査の結果を用いて検討を行った。5 歳未満の 1 回以上接種率（接種歴不明者を除く）はいずれの年齢も 95%以上であり、2011～2012 年に問題となった OPV の接種控えによる未接種者の蓄積は解消されたと考えられた。また、多くが OPV の被接種者である 1～4 歳では 3 型の抗体保有率が 1 型や 2 型と比較して低かったが、IPV 含有ワクチン被接種者が大半を占めた 0 歳では血清型間の差は小さく、いずれの型に対しても高い抗体保有率を示した。OPV の 2 回接種では、腸管内で 1～3 型ウイルス同士の干渉作用により、3 型の抗体保有率が 1,2 型に比して低いことが報告されてきた。しかし IPV の場合、血中の中和抗体は 1～3 型のいずれに対しても同等に上昇し、中和抗体保有率は接種率に比例してすべての型に対して高い結果となった。
［佐藤 弘，多屋馨子（感染症疫学センター）、清水博之］

(4) 原発性免疫不全症患者におけるワクチン由来ポリオウイルス排泄の検討

経口生ポリオウイルスワクチンは、まれにワクチン由来ポリオ様麻痺(Vaccine associated paralytic polio, VAPP)を起こすことがある。特に、原発性免疫不全症では、持続感染を起こしVAPPになる頻度が高いとされているが、日本では、これまでに調査されていない。そのため、原発性免疫不全症患者の糞便中にポリオウイルスが排泄されているか解析する。低ガンマグロブリン血症を呈する原発性免疫不全症である伴性劣性無ガンマグロブリン血症患者、分類不能型免疫不全症患者を選定する。患者、代諾者に対して説明を行い、糞便検体から培養細胞を用いたウイルス分離を行い、ポリオウイルスが分離された場合、遺伝子解析等、より詳細な解析を行う。
［野々山恵章（防衛医大)、中村朋史、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) F449 の EV71 感染阻害における牛胎児血清の影響

低分子化合物 NF449 は、EV71 に結合することによ

り、EV71 の RD 細胞への感染を阻害する。その阻害作用を解析するにあたり、細胞培養液に含まれる牛胎児血清（FBS）の NF449 による EV71 感染阻害効果への影響を解析した。^{35}S でラベルした EV71-1095 株の RD 細胞への結合は、5 μM の NF449 で無血清下では効率よく阻害されたが、10% FBS 存在下ではほとんど阻害されなかった。FBS に含まれる因子が NF449 に結合することで EV71 感染阻害効果が低下すると考えられた。

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

(2) NF449 のウイルス感染阻害作用の EV71 特異性

NF449 が EV71 に特異的に作用することを確認するため、^{35}S でラベルしたコクサッキーウイルス B3（CVB3-S35; EV71 と同じエンテロウイルス属）を作製した。CVB3-S35 は RD 細胞に結合し、その結合は CVB3 の受容体(DAF)に対する抗体で阻害されることを確認した。一方、CVB3-S35 を NF449 (80 μM)で前処理しても、RD 細胞への結合は全く阻害されなかった。したがって、NF449 のウイルス感染阻害作用は EV71 に特異的であり、非特異的なウイルス粒子の破壊などではないことが確認できた。

[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 に類似した市販低分子化合物による EV71 の RD 細胞結合阻害効果

NF449 は Suramin 誘導体であり、８つの硫酸基をもっている。その他の Suramin 誘導体(NF023, NF110, NF157, NF279, NF340)や硫酸基を多数もつ分子(Fondaparinux)について、EV71 感染阻害能を検討した。Fondaparinux は NF449 と同じく８つの硫酸基をもち、分子量も同程度である。しかし、Fondaparinux は RD 細胞への EV71 結合をほとんど阻害しなかった。つまり、硫酸基の分子内での配置や立体構造が EV71 との結合に重要であると考えられた。前出の化合物のうち、NF449 と同程度以上の阻害効果を示したのは NF110 のみであった。

[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 に類似した市販低分子化合物による EV71 の RD 細胞感染阻害効果

Fondaparinux, Suramin, NF449, NF110 を用いて、EV71 (PSGL-1 結合株)の RD 細胞感染阻害効果を検討した。Fondaparinux は 16 μM においてもほとんど阻害しなかった。Suramin の IC_{50} は 32～64 μM, NF449 は 2～4 μM, NF110 は 1 μM 以下であった。つまり、PSGL-1 結合性 EV71 の感染阻害においては、NF110 が最も効果的であった。

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

(5) NF110 誘導体による EV71 の RD 細胞結合阻害効果

NF110 をリード化合物として、NM2～16 の新規化合物を合成した。これらの構造は、EV71 結合に重要と予想される硫酸基の位置を変えたり、硫酸基とその結合するベンゼン環の位置関係を変更したり、硫酸基とベンゼン環の数を減らしたりしたといった特徴をもつ。EV71 の RD 細胞結合阻害能を解析したところ、NF110 と同様以上の EV71 阻害効果を示した NM16 のみであった。NM16 は、硫酸基とベンゼン環の間に酸素原子が挿入され、硫酸化チロシンの側鎖に類似した構造をもっていた。

[西村順裕、清水博之、Jeffrey D. Winkler （ペンシルベニア大学)、Jeffrey M. Bergelson（フィラデルフィア小児病院）]

(6) NM16 による EV71 の Jurkat 細胞感染および結合阻害効果

Suramin, NF449, NF110, NM16 を用いて、EV71 (PSGL-1 結合株)の Jurkat 細胞感染阻害効果を検討した。Suramin では 16 μM においても阻害はほとんど見られなかった。NF449 の IC_{50} は 4～6 μM, NF110 は約 1 μM, NM16 は 8～16 μM であった。NM16 は RD 細胞への結合阻害において最も効果的であったが、Jurkat 細胞への

感染においては顕著な効果を示さなかった。しかし、無血清状態でJurkat細胞へのEV71結合阻害効果を検討したところ、NF449, NF110, NM16 は同程度に結合を阻害した。

［西村順裕、清水博之、Jeffrey D. Winkler （ペンシルベニア大学)、Jeffrey M. Bergelson（フィラデルフィア小児病院）］

(7) NM16によるPSGL-1非結合性EV71のRD細胞感染および結合阻害効果

Suramin, NF449, NF110, NM16を用いて、EV71(PSGL-1非結合株)のRD細胞感染阻害効果を検討した。SuraminのIC_{50}は8〜16 μM、NF449は約1 μM, NF110は約4 μM, NM16 は4〜8 μMであった。RD細胞結合阻害実験においては、NF449とNM16のIC_{50}は0.05〜0.1 μM, NF110は0.4〜0.8 μMであった。NF449をはじめとするSuramin誘導体は、PSGL-1非結合性EV71の感染および結合も阻害することが明らかとなった。

［西村順裕、清水博之、Jeffrey D. Winkler （ペンシルベニア大学)、Jeffrey M. Bergelson（フィラデルフィア小児病院）］

(8) NF449によるEV71と可溶性受容体の結合阻害

EV71 の受容体として、PSGL-1, SCARB2, ヘパラン硫酸が知られている。これらの受容体と EV71 の結合を NF449 が阻害するかどうか検討した。EV71 とPSGL-1-Fc の結合は、NF449 で濃度依存的に阻害された。しかし、SCARB2-Fc の結合は阻害されなかった。つまり、PSGL-1とSCARB2は、EV71上の異なる領域に結合すると考えられた。一方、ヘパラン硫酸の一種であるヘパリンとEV71の結合は、NF449で阻害された。したがって、PSGL-1 とヘパリンは、EV71 上の同じ部位に結合することが予想された。

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

(9) NF449によるEV71と中和抗体の結合阻害

EV71の中和抗体であるMA28-7のFabフラグメントは、EV71の５回転軸周辺に結合することがわかっている。そこで、MA28-7とEV71の結合がNF449で阻害されるかどうかを検討した。予想通り、MA28-7の結合はNF449 の濃度依存的に阻害された。一方、５回転軸から離れたVP2をエピトープとする抗体10F0の結合は、NF449 で阻害されなかった。つまり、NF449 による抗体結合阻害はMA28-7に特異的であり、NF449とMA28-7はEV71上の同じ場所に結合することが考えられた。

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

(10) カニクイザル感染モデルにおけるPSGL-1結合性EV71と非結合性EV71の病原性解析

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領域のシークエンスを行なった。non-PB接種群は振戦などの神経症状を示し、直腸拭い液、咽頭拭い液及び血清から高頻度にウイルス及びウイルス遺伝子が検出された。PB接種群では明らかな神経症状を示さなかったが、感染後期の血清や末梢血単核球（PBMC)、剖検時の中枢神経系組織からウイルス及びウイルス遺伝子が検出された。どちらの接種群においても、拭い液や血清および中枢神経系を含む各種組織から検出されたウイルスの多くは VP1-98 あるいは VP1-145 にアミノ酸変異を有しており、non-PB 型（02363-EE）が高頻度に検出された。また中枢神経組織の病理学的解析ではnon-PB接種群全頭とPB接種群のうち中枢神経組織から高頻度にウイルスが検出されたサルにおいて神経細胞の変性・壊死と炎症所見が観察され、その組織病変の程度に明らかな差は見られなかった。

[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)]

(11) カニクイザル感染モデルにおけるカプシドアミノ酸変異と病原性

EV71 カプシドタンパク VP1 の 145 番目のアミノ酸（VP1-145）は、特異的受容体 PSGL-1 との結合性を規定する。EV71 の感染増殖・病原性発現における PSGL-1 受容体の役割を明らかにすることを目的とし、PSGL-1 結合および PSGL-1 非結合 EV71 株を用いたカニクイザル感染実験を行なった。EV71 は感染初期に VP1-145 に強い選択圧を受け、変異適応した VP1-145E を持つウイルスのみが効率よく増殖し、PSGL-1 非依存的に中枢組織に移行した。PSGL-1 非結合 EV71 株(02363-KE)接種群に由来する臨床検体では、VP1-98 における多様な quasi-species の存在が認められた。一方、PSGL-1 結合株および非結合株の感染組織中には、quasi-species は、ほとんど認められず、VP1-98/VP1-145E を有する EV71 variant が高頻度に認められた。PSGL-1 結合性 EV71 接種群のサルの末梢血単核細胞から VP1-145G ウイルスが検出されたことから、細胞特異的な PSGL-1 依存的増殖の可能性が示唆された。PSGL-1 結合性 EV71 接種群の末梢血単核細胞検体では、同一の検体から VP1-145G および VP1-145E が検出され quasi-species の存在が認められた。以上の結果より、非ヒト霊長類感染モデルにおける VP1-145 アミノ酸変異による多様性が、組織特異性、ウイルス適応性、および病原性に関与する事を明らかにした。

[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)]

(12) EV71 感染カニクイザルにおけるサイトカイン誘導

ヒト手足口病重症例では、血中の IFN-γ, IL-6, TNFα 等の pro-inflammatory cytokine が、軽症例と比較して高いことが報告されている。PSGL-1 結合性 EV71 と非結合性 EV71 を用いたカニクイザル感染モデルにおいて、血清中における 28 種類のサイトカイン量を測定した。IL-1β および TNF-α 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。G-CSF, IL-1RA, とくに IFN-γ は non-PB 接種群において優位に上昇していたが、PB 接種群では顕著な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)]

(13) 北部ベトナムにおける手足口病の疫学とウイルス遺伝子解析

ベトナムでは、近年、死亡例・重症例を含む手足口病あるいはエンテロウイルス 71(EV71)感染症の流行が報告されている。2011-2012 年には、ベトナム全土で、死亡例を含む多くの重症例を伴う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。本研究では、主として、2011 年と 2012 年の北部ベトナムにおける手足口病流行について、手足口病患者検体と疫学情報を用いて EV71 の分子疫学解析を行った。エンテロウイルス陽性症例の約半数から EV71 が検出され、その他のエンテロウイルスの中ではコクサッキーウイルス A6 型およびクサッキーウイルス A16 型が比較的多く検出された。2011～2012 年の EV71 株の分子疫学的解析を行ったところ、EV71 サブジェノグループは B5、C4、C5 であり、主な流行株は C4 であった。2012 年には B5 の検出率が上昇した。重症 EV71 感染症の流行が断続的に発生しているベトナムでは、手足口病関連エンテロウイルスの病原体サーベイランスは引き続き重要であり、EV71 遺伝子型の推移と重症例を含む手足口病流行との関連について、今後も解析が必要である。

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

(14) エンテロウイルス71抗血清国際標準品樹立のための国際共同研究

近年、東アジア地域を中心とした地域で、重症中枢神経合併症を伴う大規模な手足口病流行が発生し、小児の重症例・死亡例が多発したことから、公衆衛生上大きな問題となっている。手足口病重症例の主要な原因ウイルスは、EV71であることから、アジア諸国では現在、EV71ワクチン開発が積極的に進められている。とくに中国で開発中の不活化EV71ワクチンは、大規模臨床試験で、優れた有効性・安全性が認められ、市場への導入が検討されている。不活化EV71ワクチンの品質管理およびEV71血清疫学解析の国際的標準化のために、EV71中和試験に用いるエンテロウイルス71抗血清国際標準品の樹立が必要とされている。そのため、The WHO collaborative study to establish the 1st International Standard for anti-EV71 serum に参加し、NIBSCから提供される13種類の抗血清(ヒトプール血清等)のEV71中和抗体価測定を実施する。

[西村順裕、片岡周子、中村朋史、清水博之]

(15) 2008-2012 に中国山東省にて環境水サーベイランスにて検出されたエンテロウイルスについて

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。 今般 2008-2012 年に山東省の 2 市の下水採水地点から分離されたエンテロウイルスの種類について取りまとめを行った。その結果 1007 株のエンテロウイルスが得られ 19 種類の血清型に分類された。検出頻度は多いものから E6,E11,CB3,E3,E12,E7 の順であった。病原体定点サーベイランスが未確立の中国において、継続的な調査により環境水を調べることでエンテロウイルスの流行状況について多くの知見を得ることができた。

[Wang Haiyang,Tao Zexin（山東省 CDC）、ZhangYong（中国 CDC）、吉田弘]

(16) 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]

(17) サフォードウイルスの病理学的診断法に関する研究

Saffold virus はまれに髄膜炎や急性弛緩性麻痺患児から検出される。我々はこのウイルスの病原性を明らかにすることを目的として、無菌性髄膜炎由来あるいは上気道炎由来の分離株を非ヒト霊長類であるカニクイザルに対し静脈内接種し、その病態・病理像を検討した。その結果、いずれの分離株接種群においても中和抗体価の上昇を示した。また、上気道炎由来株接種群では、接種後の血液、咽頭・直腸拭い液でウイルスゲノムが陽性となり、一過性の後肢の握力低下を示した。これらの個体の接種 10 日目の病理解析では、一部の個体で軽度の髄膜炎所見が観察され、弱い神経病原性を有すると考えられた。しかしながら、ウイルス増殖による病態発現の直接的な証明には至らなかった。

[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) 劇症型新生児心筋炎を惹起したコクサッキーウイルス B2 型の性状解析

2013 年に相次いで発生したコクサッキーウイルス B2 型（CVB2） 周産期垂直感染による劇症型新生児心筋炎患者より分離されたウイルスの性状について比較解析を行った。ゲノム全長の遺伝子解析により、これらの CVB2 は構造タンパク質領域が CVB2、非構造タンパク質領域が他のエンテロウイルス B に属するウイルスとのキメラウイルスである可能性が強く示唆された。心筋炎患者から採取した臓器内のウイルス量を比較したところ、肺の CVB2 量は検出限界値未満であったのに対し、心筋内には他の臓器の 7 万倍以上もの CVB2 が存在した。本分離株が心臓に対するトロピズムを有する可能性が考えられた。Plaque size、アポトーシスへの関与が示唆されている 2Apro にそれぞれの *in vitro* ウイルス増殖性状を反映する可能性のあるアミノ酸置換を伴う塩基置換が認められた。乳呑みマウスにおける致死効果について調べたところ、劇症型心筋由来ウイルスが最も強い病原性を示し、他の分離株も各ウイルスを分離した患者の病態を反映する傾向が認められた。

［吾郷 昌信 （長崎県環境保健研究センター)、清水博之］

(20) ヒトパレコウイルス 3 型感染症の早期乳児例の検討

ヒトパレコウイルス 3 型(Human parechovirus type 3; HPeV3)は新生児、早期乳児に感染し発熱、頻脈、網状チアノーゼ等の敗血症様症状を呈するウイルスで、2008 年、2011 年に全国的に流行し、本年 7 月にも新潟県等で流行が報告されたが、過去に道内で流行の報告はない。2014 年 8～9 月に生後 3 カ月未満の発熱児のウイルス検査を施行し、3 例で HPeV3 感染を確認した。2014 年は、2011 年以来のパレコウイルス感染症の全国的な流行が発生し、重症例を含む乳幼児から HPeV3 が検出された。

［本庄 遼太、廣瀬 三恵子、藤田 祥二、阿部 修司(函館五稜郭病院)、中村朋史、清水博之］

(21) 埼玉県西部地域で 2014 年に検出されたヒトパレコウイルス 3 型

2014 年日本各地でヒトパレコウイルス（Human Parechoviurs,HPeV）3 型の流行が報告された。埼玉県西部地域においても例外でなく、特に新生児で HPeV 感染を疑う重症例が多く入院となった。疑い症例の髄液、咽頭拭い液、血清、および直腸拭い液から HPeV 5’UTR 領域および VP1 領域の RT-PCR 法を施行し、5’UTR PCR 法陽性検体のウイルス分離試みた。疑い症例６名のうち４名の検体で 5’UTR 領域 PCR 法陽性となり、うち 3 名の検体の VP1 領域塩基配列から HPeV3 と同定した。2 名の咽頭拭い液、直腸拭い液から HPeV3 が分離された。VP1 領域 650bp の系統樹解析では 2008 年山形で分離された株と近縁であることが判明した。

［町田早苗(埼玉医大)、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。2014 年 12 月に公開されたポリオウイルス病

原体管理に関する新たなWHO行動指針(GAP III-2014)の内容を検討したところ、2型ポリオウイルス(野生株、ワクチン株)に特化した病原体管理の必要性等、前バージョンのWHO行動指針(GAP II-2004)と異なる点も多いことが明らかとなった。2型ポリオウイルスに特化した病原体管理は、ポリオ根絶最終戦略計画2013-2018によるbivalent OPVの世界的導入に対応した病原体管理である。GAP IIIの内容を広く周知するとともに、我が国でも速やかに、あらたなWHO行動指針(GAP III-2014)に対応したポリオウイルス病原体管理を進める必要がある。

[伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)、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26年度は3件の行政検査依頼があり、型内株鑑別試験等を実施した。型内鑑別試験を行ったポリオウイルスは、すべてワクチン株と同定された。

III. 肝炎ウイルスに関する研究

１．A型肝炎ウイルス (HAV) に関する研究

(1) 2014年のA型肝炎流行状況の分子疫学的解析

2014年は第8週からA型肝炎の報告が全国で急増し、最終的には432例が報告され、近年では最も患者発生の多い年となった。合計159株の解析を行ったところ、IAが137株、IBが4株、IIIAが18株であった。2014年のA型肝炎の多発は、2月上旬から仙台市を中心とするgenotype IIIAの集団発生事例からはじまったが、本事例は宮城、山形に限局して収束し、その後IAが主要なgenotypeとなった。

［石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、佐藤知子、*島田智恵、*中村奈緒美、*多田有希、**野田　衛、脇田隆字 (*感染症情報センター、**国立衛研食品衛生管理部)、他31地方衛生研究所との共同研究]

(2) 2014年に全国で流行したHAV株の解析

2月中旬から全国（宮城から鹿児島まで）で広範囲に渡りA型肝炎の発生が報告され、この株はgenotype IAであり、配列解析を行った株で構造/非構造junction領域の配列619塩基はほぼ完全に一致した。また、藤沢と鹿児島の2株で全長配列の決定を行ったところ、7,407塩基中違いは1塩基のみと、非常に均一性が高かった。この2014広域株による患者発生報告は第9週をピークとした一峰性であり、何らかの同一の感染源が短期間に全国に拡散したものと推測される。

［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31地方衛生研究所との共同研究]

(3) スリランカにおけるＡ型肝炎流行の調査

2009年および2010年に発生したスリランカのＡ型肝炎流行について、これまでの疫学的解析に加え、遺伝子型による病態の違いについて検討を行った。全

218 検体中、遺伝子型がわかったのは IA 型 116 検体、IIIA 型 48 検体であった。それぞれのカルテから黄疸、倦怠感等の肝炎症状（18 項目）やアラニンアミノトランスフェラーゼ等の血液生化学的検査の結果（6 項目）を抽出し、出現率の有意差を検討したところ、白色便と上腹部不快感の 2 項目以外はすべて有意差が認められなかった。白色便以外の胆汁関連項目（黄疸、血中総ビリルビン）の有意差はなかった。本調査の対象となった患者は 20 代を中心とした本来健康な男性兵士であり、少なくとも彼らの間では遺伝子型別の病態の差は認められなかった。A型肝炎の病態は遺伝子型ではなく宿主因子によるものが大きいと考えられる。[清原知子、佐藤知子、石井孝司、脇田隆字、Niroshana Dahanayaka (Rajarata University, Sri Lanka)]

(4) 台湾におけるA型肝炎流行の調査

台湾における A 型肝炎の流行状況調査を、台湾 CDC と共同で実施した。台湾で 2011 年から 2013 年に報告された A 型肝炎の糞便または血清検体を収集し、HAV ゲノムを抽出し配列解析を行った。解析した 61 株のうち、55 株が IA、2 株が IB、4 株が IIIA であった。IA はさらに複数のクラスターに分けられ、それぞれ東南アジア（フィリピン、インドネシア、タイ）や日本の常在株と思われるクラスターと一致した。また IIIA は韓国の流行株のクラスターに属した。台湾の HAV はさまざまな国から流入していると考えられる。[*陳婉青、*楊志元、石井孝司（*台湾 CDC）]

(5) 2002 年のタイにおける A 型肝炎集団発生事例の解析

2002 年にバンコク近郊で、飲料水タンクが原因と考えられる A 型肝炎の集団発生事例が報告された。25 名の患者血清が保存されており、HAV ゲノム抽出を行ってウイルス遺伝子配列の解析を行ったところ、すべて同一で東南アジアでは極めて稀な genotype IB であった。[*Kriengsak Ruchusatwat、*Chitlada Utaipiboon、*Chawatesan Namwat、*Rungreung Kijphati、*Naiyana Wattanasri、*Piyanit Tharmaphornpilas、**武田直和、石井孝司（*タイ国立予防衛生研究所、**大阪大学微生物病研究所・日本―タイ感染症共同研究センター）]

(6) A型肝炎ウイルス参照抗原液の値付け

A型肝炎ワクチン抗原含量試験は当室とワクチン製造所各自で調達した個別の参照抗原液を用いている。ロット更新を機会に参照抗原液を共有し試験精度を上げるため、製造所が作製した次期参照抗原液候補品の値付けを両者共同で行った。試験は共通プロトコールに従って個別に行い、統計解析は品質保証・管理部に依頼した。次期参照抗原液候補品は両者において問題なく使用可能であり、A型肝炎ウイルス抗原を 0.807 μg/mL 含む参照抗原液「RHA1」とした。この抗原液は交付対象ではなく、製造所から購入するものとした。[清原知子、佐藤知子、石井孝司、落合雅樹（品質保証・管理部）]

２．B 型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究

(1) B 型慢性肝炎に対する核酸アナログ感受性の評価

1.4 倍長の HBV コンストラクトを構築し,これを培養細胞に導入する事により HBV の複製を確認した.この系にエンテカビルを投与し,培養細胞内で core 粒子に被覆されている HBV DNA を RTD-PCR およびサザンブロット法で定量することでエンテカビル感受性の評価を行った.また、この系を用いてテノホビルに対する感受性評価も試みた.

[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(2) B 型慢性肝炎エンテカビル耐性症例のアミノ酸配列の検討

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 株を分離しそのゲノム配列を確認した.得られた HBV 株には既報のエンテカビル耐性変異は認めなかったが,ラミブジン耐性として知られる rtL180M, rtM204V の変異に加えて,これまでに報告のない N238H, L269I の変異を認めた.これらの変異を有

するクローンはエンテカビル投与開始前はマイナークローンとして存在したが,再上昇時はメジャークローンとして存在した.これらの変異がエンテカビル耐性に関わっていると考えられた.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏 (東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(3)エンテカビル耐性症例から得られた耐性変異の薬剤感受性評価

エンテカビル投与中に HBVDNA が再上昇した症例の患者血清より得られた rtL180M, rtM204V, N238H, L269I の変異を有する株の複製コンストラクトを作成し、変異を持たないコンセンサス株のコンストラクトとともに培養細胞に導入し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.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エンテカビルに耐性に関わってい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) 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 複製モデルを用い,HBV が宿主細胞のアポトーシス感受性に与える影響を解析した.遺伝子型が異なるHBV株を用い,さらに成人でのB型急性肝炎から慢性化した症例から得られた株を含む計８株について検討を行った.これらの複製コンストラクトを HepG2 細胞に導入し,その後TNF-α で処理することでアポトーシスを誘導した.その結果,HBV 陽性細胞ではアポトーシス感受性が亢進していたが,遺伝子型Bj株の導入細胞では高く遺伝子型A株の導入細胞では低いアポトーシス感受性を示した.また,成人でのB型急性肝炎慢性化症例から得られた株の導入細胞では他の株に比べアポトーシス感受性が低下していた.これらのアポトーシス感受性に与える影響の差は,HBV 株が得られた症例の臨床像と関連している可能性が考えられた.
[杉山奈央, 山田典栄, 杉山隆一, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(5) RNA Exosome regulation of HBV replication.

Using arrayed shRNA targeting 133 human helicases, we performed a functional screening to identify those who suppress HBV replication. We here report superkiller viralicidic activity 2-like (S. cerevisiae) (SKIV2L) RNA helicase dependent mechanism that regulates HBV replication through preferential degradation of HBV-RNA. This mechanism is interferon-independent. RNA immunoprecipitation analysis identified the formation of SKIV2L/HBV-RNA complex, which is regulated by SKIV2L's phosphorylation at serine residues 243 and 245 amino acids, and the further association of this complex with the RNA exosome proteins. The binding between SKIV2L and HBV-RNA was RNA exosome-independent, suggesting that SKIV2L first identifies HBV-RNA then shuttles it to the RNA exosome where it is degraded. SKIV2L also suppresses the Duck HBV (DHBV) but not HCV, suggesting that SKIV2L is a possible common effector molecule against different members of the Hepadnaviridae.
[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(6) Host factors required for HBV-cccDNA formation.

The final aim of this study is to identify host factors required for HBV cccDNA formation that can be targeted by drugs for HBV treatment. Human helicases play an important role in DNA repair pathways, and may be involved in HBV-cccDNA formation. We first screened for helicases affecting HBV replication using shRNA library targeting 133 human helicase genes. We further identified those who are required for HBV

replication. Based on the reported effect, helicases were then grouped into functional groups, one of which is the Recq helicase group containing (RecqL, and WRN) helicases which plays an important function in DNA repair including mismatch repair, nucleotide excision repair and direct repair. Chromatin immuneprecipitation identified the direct interaction between RecqL helicase and HBV-cccDNA. Further mechanistic analysis is undergoing to analyze the mechanism by which Recql can regulate HBV replication.
[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(7) HBV 侵入を阻害するシクロスポリンおよびその誘導体の抗 HBV 作用機序の解析

シクロスポリンが HBV 感染受容体 NTCP とエンベロープである LHBs の結合を阻害することにより、HBV 感染を阻害することが示唆された。誘導体検索により、HBV 感染を強く阻害するシクロスポリン誘導体を同定した。これらはいずれも免疫抑制作用をもたない化合物であった。
[志村聡美, 渡士幸一, Ann Sluder (SCYNEXIS), Michael Peel (SCYNEXIS), 河合文啓（横浜市立大）, 朴三用（横浜市立大）, 脇田隆字]

(8) 微小管による HBV 複製制御機構の解析

Hep38.7-Tet 細胞を用いた化合物スクリーニングによりノコダゾールが HBV 複製を阻害することが明らかとなった。またコルヒチンやビンブラスチンなどノコダゾール以外の微小管合成阻害剤も同様に HBV 複製を低下させたことより、微小管が HBV 複製を制御することが明らかとなった。
[岩本将士, 渡士幸一,脇田隆字]

(9) 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 NTCP タンパク質発現低下を伴って細胞の HBV 感染感受性が低下することを見出した。また Ro41-5253 はレチノイン酸受容体転写活性低下により NTCP 遺伝子転写を減少させることが示唆された。
[九十田千子, 渡士幸一, 岩本将士, 脇田隆字]

(10) HBV 感染を阻害する天然化合物の同定

HepG2-hNTCP-C4 細胞を用いて独自の天然化合物ライブラリーより HBV 感染を阻害する化合物を同定した。そのうちの一つ SF177 は初代ヒト肝細胞において IC50 がμM オーダー以下の強い抗ウイルス効果を有していた。
[金子学, 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]

(11) NCTP 以外の entry に関与する宿主因子の同定

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い、それぞれの細胞の性状解析を行っている。
[藤本陽, 青柳東代、相崎英樹, 脇田隆字]

(12) 創薬スクリーニングのための HBV mRNA 測定系の開発

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、細胞を生かしたまま HBV mRNA 量測定系を開発している。蛍光プローベは培養上清に添加するだけで各種肝細胞に効率良く取り込まれ、細胞毒性も認められなかった。現在、細胞内 mRNA 量と比較検討し

ている。

［藤本陽，青柳東代、相崎英樹，脇田隆字］

(13) 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。次に Hirt DNA を精製し cccDNA 量の減少と knockdown 効率の相関を検討した。1 遺伝子が cccDNA 産生に関与している可能性が考えられた。

［木下渉（JT 医総研），渡士幸一，脇田隆字］

(14) Ｂ型肝炎の血清疫学調査（３）

血清銀行保存検体を用いて小児（4-9 才）の HBs 抗原保有率を調査したところ 200 件対中 6 検体（0.3%）が陽性、その中で HBV-DNA が検出されたものは 3 検体で、最終的に 0.15%という結果を得た。しかしながら、この結果は従来の報告と比較して 10 倍ほど高い数値であり、検体数が少ないことによる過大評価バイアスが懸念された。検体数を増やして調査の精度を上げるため、年齢層を拡大し 10-15 才における HBs 抗原保有率を追加調査した。その結果、HB 抗原及び HBV-DNA 陽性は 1000 検体中 2 検体で、4-9 才同様、従来の結果より高い数値となった。過去の調査はＢ型肝炎対策を積極的に導入した静岡、宮城、事前スクリーニングで肝臓疾患を除く日赤献血者を対象としたものであり、過小評価バイアスが考えられた。一方、我々の調査はＢ型肝炎とも関連の深い肝がん報告数が多い九州地域を含み、総陽性検体 5 検体中 4 検体は福岡、佐賀由来であった。

［清原知子、石井孝司］

(15) ロットリリースに関するWHOガイドラインの和訳

海外のワクチン等に対するロットリリース制度の調査に関連して行われた「規制当局によるワクチンのロットリリースに関するガイドライン “Guidelines for Independent Lot Release of Vaccines by Regulatory Authorities, TRS978, Annex2, 2013”」の和訳作業に参加した。

［清原知子、内藤誠之郎（品質保証・管理部）］

３． C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

(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 により誘導される抗菌ペプチド,LL-37 による抗 HCV 作用の検討を行った．LL-37 を培養細胞に投与し HCVcc を感染させると HCV の感染増殖が著明に抑制されることわかった．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と考えられた．

［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) ベロ細胞における HCV 感染・複製の解析

ワクチン製造細胞として実績があるアフリカミドリザル腎臓由来のベロ細胞の HCV 感染・複製能を検討した.ベロ細胞に培養細胞で作製した HCV 粒子を添加したが,HCV 感染細胞は観察されなかった.ベロ細胞に合成 HCV RNA を導入したが,HCV 複製は観察されなかった.ベロ細胞では様々な種類のウイルスが増殖できることが知られているが,HCV は増殖できないことが判明した.

［村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣］

(3) ベロ細胞での HCV 複製を可能にする因子の同定

HCV 複製に重要な宿主因子の一つである miR-122 の発現量は,ベロ細胞では Huh-7.5.1 に比べて低かった.

そこでレンチウイルスベクターを用いてベロ細胞にmiR-122 を強制発現させた細胞株を樹立した. その細胞に HCV RNA をトランスフェクションすると,細胞内のコア抗原量は時間経過とともに上昇することから,ベロ細胞にmiR-122 を発現させるとHCV 複製は可能となった.

[村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(4) ベロ細胞における HCV 感染の検討

ベロ細胞においてHCV 粒子の感染がみられなかったので,HCV の 4 種類の受容体分子の発現量を調べた.ベロ細胞ではCD81,Occludin の発現量はHuh-7.5.1 細胞より高かったが,Clausin-1 と SR-BI の発現量は低かった. さらに,ベロ細胞のそれぞれの受容体分子の配列には Huh-7.5.1 と比較して,異なる箇所があった.そこで,4 種類のヒトHCV 受容体をレンチウイルスベクターで発現させると,ベロ細胞において HCV 感染が観察できるようになった.

[村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(5) ベロ細胞における感染性 HCV 粒子産生の検討

ベロ細胞にmiR-122 を発現させることにより HCV 複製は可能となったが,感染性ウイルスは産生できなかった.HCV の感染性ウイルス産生に重要な宿主因子であるApoE の発現量は,Huh-7.5.1 細胞に比べてベロ細胞では低かった.そこで,レンチウイルスベクターによりベロ細胞にヒトApoE を発現させた.miR-122 に加えてApoE も発現させたベロ細胞では,HCV RNA 導入後に感染性ウイルスの産生が可能となった.

[村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(6) IFN 治療著効判定 9 年後に HCV 陽性と診断された症例の HCV 塩基配列の検討

C 型慢性肝炎に対し Peg-IFN・リバビリン併用療法を行い,HCV RNA 定性検査を用いた評価でSVR と判定されたが約 9 年後に HCV RNA 陽性となった症例を解析した.治療開始前と 9 年後 HCV RNA 検出時の血清から HCV 株を分離し,ウイルスゲノムの塩基配列の相同性について検討を行った.得られた HCV 株は 98.9%の相同性を持ち,分子系統樹による解析でも近縁に位置したため,この症例は新規 HCV 株の再感染ではないと考えられた.

[山田典栄, 小林稔(清川病院),安田清美(清川病院), 奥瀬千晃(聖マリアンナ医大), 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]

(7) 臨床検体を用いた HCV RNA 検出系の評価

HCV RNA 定性検査で陰性と診断された保存血清を用いて,より高感度なHCV 検出系であるリアルタイムPCR 法 (アキュジーン m-HCV ; アボットジャパン) を用いて再測定を行った.その結果,IFN 治療終了後,1 週後,3 週後,10 週後,24 週後は HCV RNA 定性検査では陰性と判定されたが,リアルタイム PCR 法では 24 週後の血清において陽性と判定された.C 型慢性肝炎治療後の経過観察には高感度検出系による HCV RNA の定期的な検査が重要であることが示唆された.

[山田典栄, 小林稔(清川病院), 安田清美(清川病院), 奥瀬千晃(聖マリアンナ医大), 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]

(8) NS5A 阻害剤耐性変異株の特徴に関する検討

DAAs 製剤の登場により IFN-free 治療を含む様々な治療法が確立され,C 型慢性肝炎に対する標準治療が変化してきた.その中でNS5A 阻害剤は強い抗HCV 作用を持つ一方,耐性変異によってその効果が減弱するため,耐性変異株を有する患者に対する治療戦略の確立が課題となっている.そこで,HCV JFH-1 キメラウイルスの感染培養系を用いて,NS5A 阻害剤に対する耐性変異が HCV のライフサイクルに与える影響を検討した.その結果,NS5A 阻害剤耐性にかかわる Y93H 変異を含む株では感染力価が亢進していることが明らかとなった.

[新田沙由梨, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(9) NS5A 阻害剤耐性変異株の抗 HCV 薬感受性に関する検討

NS5A 阻害剤に対する耐性変異株に有効な薬剤の同定を目的として検討を行った.耐性変異を導入したキメラウイルスを導入した培養細胞を各種抗 HCV 剤で処理を行い,細胞内 Core 抗原量を測定することで耐性変異株に有効な薬剤の同定を試みた.その結果,IFN-製剤や Ribavirin ではその阻害活性に差を認めなかったが,第二世代プロテアーゼ阻害剤である Simeprevir と Asunaprevir では Y93H 変異を持つウイルスに対してより強い阻害活性を示した.従って NS5A 阻害剤に対する耐性変異を含むウイルスは第二世代プロテアーゼ阻害剤に感受性であると考えられ,変異株を有する患者に対してはこれらの薬剤を含む治療が選択肢の一つとなり得ると考えられた.

[新田沙由梨, 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

構造領域が HCV Genotype 1b 由来, 非構造領域が 2a 由来のキメラウイルスを作成し, 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を行った. このキメラウイルスに IFN の感受性に関わることが報告されている aa 70 (R/Q) と aa 91 (L/M) の変異を導入し (TH/JFH1-RL, -RM, -QL, -QM) ,IFN 感受性に与える影響を検討した. 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 HCV core 抗原量の変化を測定したところ,いずれの変異株でも 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. しかし IFN により宿主細胞表面に発現誘導される MHC Class I を Flow Cytometry を用いて測定したところ,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]

(11) 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]

(12) HCV NS5A タンパク質のリン酸化に関与するプロテインキナーゼの探索

HCV NS5A タンパク質のリン酸化はウイルス生活環の制御に重要であるが, そのリン酸化機構の詳細は十分に解析されていない. 本研究では, NS5A タンパク質のリン酸化に関与するプロテインキナーゼの同定を目的とした. AlphaScreen 法を用いて 404 種類のヒトプロテインキナーゼから NS5A タンパク質との相互作用が強い 79 種類のキナーゼを同定した. そのうち 9 種類に in vitro での強いリン酸化活性を認めた. HCV 培養細胞系を用いたノックダウン実験により, これらの中から HCV 粒子形成過程の制御に関与する casein kinase I-α (CKI-α) を同定した. さらに, CKI-α によりリン酸化される NS5A 領域を同定した.

[政木隆博, 加藤孝宣, 脇田隆字, 鈴木哲朗 (浜松医大)]

(13) microRNA-122 (miR-122) による HCV ゲノム複製の新規制御機構

HCV RNA と miR-122 の結合は宿主 XRN1 のエキソヌクレアーゼ活性から HCV RNA を保護し安定化することにより HCV 複製の増強作用に貢献する．しかし，この増強作用は XRN1 ノックダウン後にも認められることから，miR-122 は HCV 複製に対してゲノム RNA の安定化以外にも作用を有することが示唆される．今回，XRN1 ノックダウン細胞を用いて miR-122 の抗 XRN1 作用非依存的な HCV 複製制御機構を明らかにした．さらに，ポリソーム解析により miR-122 はウイルスゲノム RNA の可用性を翻訳から RNA 合成に移行することで直接的に HCV 複製を刺激することが示唆された．

[政木隆博，加藤孝宣，脇田隆字，Stanley Lemon（米国ノースカロライナ大学）]

(14) HCV 感染による宿主 microRNA 機能の抑制

HCV 複製は miR-122 機能に大きく依存しているため，HCV 感染細胞内では宿主標的遺伝子に対する miR-122 機能が障害されている可能性がある．今回，miR-122 により負に制御される複数の宿主細胞性因子の遺伝子発現が HCV 感染後に増加することをマイクロアレイ，RT-qPCR，ルシフェラーゼレポータープラスミドを用いた解析で明らかにした．それらの中には肝発癌に関わる遺伝子も含まれており，HCV による肝発癌機序の新たな知見として期待される．

[政木隆博，脇田隆字，加藤孝宣]

(15) HCV 感染における宿主 microRNA 発現の解析

HCV 感染，非感染細胞における宿主 microRNA 発現をマイクロアレイで比較解析した．解析した 2,006 種類の microRNA のうち 193 種類が感染 Huh7.5.1 細胞で発現していた．そのうち，158 種類の発現が感染に伴い上昇（うち 15 種類が 2 倍以上の上昇），34 種類の発現が低下（うち 3 種類が 2 倍以上の低下）していた．現在，HCV 感染に伴い発現変化のみられた microRNA に着目し，それらの microRNA が HCV の生活環に及ぼす影響を解析している．

[政木隆博，脇田隆字，加藤孝宣]

(16) HCV infection of B lymphocytes.

We aimed to clarify the susceptibility of primary B-cells to HCV infection, and to study its functional effect. In this study, we found that the recombinant HCV J6JFH1 strain could infect human B-cells isolated from the peripheral blood of normal volunteers by the detection of both HCV-negative- strand RNA by reverse transcription polymerase chain reaction, and NS5A protein. We also show the blocking of HCV replication by type I interferon after B-cell HCV infection. Although HCV replication in B-lymphocytes showed lower efficiency, in comparison with hepatocyte line (Huh7) cells, our results clearly demonstrate that human B-lymphocytes without other non-B-cells can actually be infected with HCV, and that this interaction leads to the induction of B-cells' innate immune response, and change the response of these cells to apoptosis.

[Nakai M, Seya T, Matsumoto M, Sakamoto N (Hokkaido Univ.), Shimotohno K (National Center for Global Health and Medicine), Aly HH.]

(17) シクロフィリン阻害剤のインターフェロン経路への影響に関する解析

シクロフィリン阻害剤処理により PKR の活性化が抑制されること、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。またシクロフィリン A は PKR と相互作用し、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，志村聡美，Ann Sluder (SCYNEXIS)，Katyna Borroto-Esoda (SCYNEXIS)，脇田隆字]

(18) 感染性 HCV 粒子産生を抑制する天然化合物生理活性の同定

真菌抽出物より単離されたネオエキヌリン B 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 のゲノム複製ステップを阻害していること、これは肝臓 X 受容体を標的としていることを見出した。

[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]

(19) フルタミドによる感染性 HCV 産生低下機構の解析

フルタミドが感染性 HCV 粒子形成過程を阻害することが示唆された。またフルタミドは肝細胞内の脂肪滴量を減少させることが観察された。

[大橋啓史，渡士幸一，脇田隆字]

(20) C 型肝炎ウイルス中和エピトープを有する日本脳炎ウイルス様粒子の作製

日本脳炎ウイルス(JEV)E タンパク質の粒子表面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、JEV 様粒子(SVP)の分泌が阻害されない部位を３ヶ所同定した。３ヶ所に同時にエピトープを挿入しても粒子が分泌された。挿入されたエピトープが粒子表面上に提示されている事を、蛍光相関分光法を用いて確認した。さらに HCV 中和エピトープを有する JEV SVP (SVP-E2) を恒常的に発現する 293T 細胞を樹立し、培養上清から粒子を精製した。

[嵯峨涼平，松田麻未，長谷川慎(長浜バイオ大)，加藤孝宣，中村紀子(東レ医薬研)，小西英二(阪大微研)，竹山春子(早大院)，鈴木亮介，脇田隆字]

(21) C 型肝炎ウイルス中和エピトープを有する日本脳炎ウイルス様粒子による中和抗体の誘導

培養上清から精製した HCV 中和エピトープを有する日本脳炎ウイルス様粒子 (SVP-E2) をマウスの腹腔に免疫した。SVP-E2 免疫マウスの血清は JEV および遺伝子型 1b、2a および 3a 由来 HCV に対する感染中和能を示した事から、外来エピトープ挿入 JEV SVP は JEV および他の病原体に対して効率良く中和抗体を誘導する二価ワクチン抗原としての可能性が示唆された。

[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)，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]

(22) 細胞内発現抗体による C 型肝炎ウイルスコア蛋白質発現による NF-κB シグナル活性化の抑制

C 型肝炎ウイルス(HCV)のコア蛋白質に対する抗体の H 鎖および L 鎖の可変部遺伝子をクローニングし、発現プラスミドを作製した。細胞内で発現させた単鎖可変部（イントラボディ）は、コア蛋白質との結合が認められ、また一部のイントラボディは HCV の増殖を顕著に抑制した。またこれらのイントラボディは、コア蛋白質の発現によって活性化される NF-κB シグナルに対しても抑制効果を示した。

[鈴木亮介，斎藤憲司，松田麻未，佐藤充(農業生物資源研)，鐘ヶ江裕美(東大医科研)，千葉丈(東京理科大)，斎藤泉(東大医科研)，脇田隆字，鈴木哲朗(浜松医大)]

(23) 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]

(24) HCV 感染が宿主細胞のリポ蛋白の代謝に与える影響

HCV 感染による肝脂肪化の原因のひとつとして、超低比重リポ蛋白(VLDL)分泌低下が報告されている。一方、VLDL は HCV の感染性に必須と報告されており、これらの矛盾点を解明するため生体での脂質輸送の中心を担っているリポ蛋白を解析した。HCV 感染後、培養

上清中の VLDL が増加し、低比重リポ蛋白(LDL)が低下することを見出し、その原因として HCV 感染細胞での VLDL 分解酵素である Hepatic lipase(HL)の発現低下を見出した。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]

(25) 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り、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。
［青柳東代, 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]

(26) 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、同様なオルガネラ変化が SVR 後の症例の肝生検でも観察された。
[青柳東代､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]

(27) 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 および SURF4 を見出した。PREB､SURF4 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。さらに、PREB、SURF4 はポリオウイルスの複製にも重要な役割を果たしていることを見出した。
[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]

(28)スフィンゴ脂質の HCV 複製複合体を含む小胞形成における役割の解析

スフィンゴ脂質合成阻害剤により､HCV 複製が抑制されることを見出した。スフィンゴ脂質が DMV 形成にどのように関わっているか解析する。
[イード　ホッサム, 深澤征義（細胞化学部）, 花田賢太郎（細胞化学部）, 相崎英樹, 脇田隆字]

(29) 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・複製を調整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]

(30) 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同定した。共通する蛋白に着目し、解析を進める。

[青柳東代，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]

(31) 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]

(32) 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 感染細胞と星細胞共培養すると HCV が星細胞に移行した。HCV が星細胞へ感染するメカニズムを解析している。さらに、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。

[在津拓馬、青柳東代，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]

(33) 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。

[青柳東代，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]

(34) 肝炎検査陽性者のフォローアップシステムの構築

肝炎ウイルス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。そこで、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。これまでに全国自治体肝炎対策者、拠点病院、検診組織と連絡を取り合い、各組織における適切な追跡システム導入を行っている。

[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]

(35) 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。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]

(36)本邦における急性C型肝炎のサーベイランス解析

感染症法に基づくサーベイランス事業で、1999年から2013年間の14年間の急性C型肝炎の発生動向を調べ報告した。急性C型肝炎の発生は2010年ころから約50症例以下に抑制されていたものの、HIV陽性同性愛者の性的感染が増加傾向を示していた。

[相崎英樹，砂川富正（感染症疫学センター）、田中純子（広島大），脇田隆字]

(37) 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、HIV陽性同性愛者から5人の急性HCV感染例が見出された。解析の結果、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ため、全国の保健所を通じて、HIV陽性者に対しHCV感染予防について啓発を行ったところ、一時的であるが急性肝炎の発生を抑制できた。2014年に再び発生したことから、継続的な啓発の必要性が示された。

[青柳東代、井戸田一朗(しらかば診療所)、相崎英樹、脇田隆字]

(38)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

霊長類モデルとしてマーモセットを用いて、培養細胞由来HCV粒子の免疫原性の検討を行った。アジュバントとしてAlum群に加え、K3 CpGとSchizophyllan (SPG)の複合体であるK3-SPG群を設定し、HCV粒子ワクチンの有効性評価を行った。粒子免疫の結果、K3-SPGをアジュバントとして免疫したマーモセットでは、投与抗原と同じ遺伝子型2aだけでなく、遺伝子型1a，1bの構造タンパク質に対しても抗体価上昇が認められ、血漿より精製したIgG抗体は、遺伝子型2aのキメラHCVccだけでなく、遺伝子型1b、 1a、3aのキメラHCVccに対しても濃度依存的な感染阻害活性を示した。以上より、K3-SPGアジュバントを用いることにより培養上清由来HCV粒子は高い感染防御効果を持つワクチンとなり得る可能性が示唆された。

［横川寛，鈴木知比古（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]

(39) 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抗体は、エスケープミュータントが発生しづらい抗体であり、臨床開発が進む抗E2抗体MBL-HCV1のエスケープミュータントに対して強い感染阻害活性を示すことが明らかになった。

［横川寛，鈴木知比古（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]

(40) 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。今後、クロマトグラフィーのスケールアップ及びHPLCを用いた精製の自動化を行う予定である。

［横川寛，鈴木知比古（東レ医薬研），石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字］

(41)全長遺伝子型 3a S310 株のウイルス粒子産生の検討

野生型全長遺伝子型 3a S310 株を用いて感染粒子が産生できるかを検討した。野生型 S310 株の合成 RNA を Huh7.5.1 細胞に導入して経代培養した。定期的に回収した上清中の HCV core 蛋白を測定した。2 ヶ月間培養し続けたが、増殖が認められなかった。野生型 S310 株ではウイルス粒子の産生が見られなかった。

[Su Su Hmwe, Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(42)感染性粒子産生系遺伝子型 2b の複製の検討

遺伝子型 2b の LSG+1 つの適応変異を導入した 8 つのクローンから分泌されたウイルスを新たな Huh7.5.1 細胞に感染させた。得られたウイルスを使用し再感染実験を行った結果、1 回目より 2 回目はウイルスの感染効率が良くなり、2 回目より 3 回目の方がよりウイルスの感染能が亢進した。その結果から、感染細胞の培養を継続するとウイルス粒子の分泌効率が向上することが明らかとなった。遺伝子型 2b の HCV ウイルスの Huh7.5.1 細胞への感染は CD81 と E2 抗体によって阻害されることが明らかになった。

[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]

(43)感染性粒子産生系遺伝子型 2a と 2b に対する抗 HCV 感受性の検討

遺伝子型 2a と 2b に対する抗 HCV の感受性について検討した。その結果、PSI-6130, JTK-109, Cyclosporin A と IFNα で処理した細胞では遺伝子型 2a と 2b いずれの場合も HCV core と HCV RNA で同様な阻害効果が見られた。一方、BMS790052 で薬剤処理した細胞では遺伝子型 2a の方が遺伝子型 2b よりも強い HCV 抑制効果ををを示した。

[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]

(44)N末端欠失E2により誘導されるE2抗体の解析

N 末端欠失型 E2 タンパク質を免疫することで誘導される E2 抗体の性状について解析した。3 種類の E2 タンパク質、E2(384-714)、E2(411-714)、E2(421-714)を 293T 細胞で作製しアフィニティー精製した。E2 タンパク質をマウスに 2 週間隔（合計 4 回）で免疫して誘導される E2 抗体量を ELISA 法で測定した。すべての抗原について血清中の E2 抗体量は増加した。HCV 感染阻害実験を行ったところ、E2(384-714)、E2(411-714)を免疫したマウス血清では阻害効果を示したが、E2(421-714)で効果が低下した。E2 タンパク質を免疫すると主にリニアエピトープ E2(411-423)領域に対する中和抗体が誘導されるようである。［渡邉則幸、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字］

(45)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）のうち、HCV感染阻害効果を示したE1（282-301）とE1（292-311）の二種類のペプチドの領域について、30アミノ酸のE1(282-311)を合成してHCV感染阻害効果を観察した。その結果、30アミノ酸のペプチドでも感染阻害効果を示した。阻害効果は濃度依存的で、異なる遺伝子型の構造領域を有するキメラHCVにおいても阻害効果は観察できた。また、ペプチドの前処理だけでも感染を阻害したことから、この領域は宿主細胞表面に結合するようである。

[渡邉則幸、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：委託作製 HEV 感染感受性 PLC/PRF/5 サブクローン cDNA ライブラリの評価

昨年度、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、良好な複雑度及びインサート平均鎖長 1.5 kbp のライブラリを取得することができた。詳細な解析の結果、ORF 全長を多く含むことが判明し、本ライブラリは今後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，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

昨年度、候補因子の先行研究との比較による妥当性と、網羅的遺伝子発現比較解析における非感受性細胞での一様な発現低下が確認された。そこで、結合能を利用した functional cloning で断片が確認されていた感染性規定宿主候補因子の全長クローンを哺乳細胞発現ベクターへ搭載し、HEV 低結合性浮遊細胞に導入、薬剤選択によって安定発現株を樹立し、当該浮遊細胞の結合能獲得を確認した。また、Fc 融合候補因子タンパク質の作製を開始し、今後、免疫沈降法による候補因子とウイルス間の直接結合を確認する予定である。

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

(3) HEV 迅速感染評価系の構築

HEV 増殖の速い PLC/PRF/5 サブクローン 4-21 を用いて、培養上清中のウイルスがプラトーとなり次第、植え継ぐことを繰返して馴化させ、約 10 日での迅速感染評価系を構築した。

[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）]

(4) 非感受性細胞での HEV 受容体候補発現による gain of function の検証

非感受性細胞に HEV 受容体候補搭載ベクターを導入、薬剤選択によって安定発現株を樹立し、HEV 迅速感染評価系により抗原の分泌を確認した。

[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）]

(5) ゲノム編集を用いた感受性細胞の HEV 受容体候補 knock out による loss of function の検証

CRISPR/Cas9 ゲノム編集による HEV 受容体候補欠損 4-21 細胞の作製をタカラバイオに委託し、現在、クローンのシークエンス中である。納品され次第、感染性への影響を評価したい。

[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）]

(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行った。現在までに市販化合物ライブラリ、東大薬学部創薬イノベーションセンターおよび医薬基盤研究所薬用植物資源研究センターの化合物ライブラリーから、本レプリコンの増殖を抑制するスクリーニングを行い、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)慢性E型肝炎患者由来HEVの解析とリバビリン耐性の検討

Burkittリンパ腫にて横須賀共済病院血液内科に入院中の患者に慢性肝炎の所見があり、ウイルス各種を調べたところHEV RNAが陽性であった。免疫不全を背景にしたE型肝炎慢性化の疑いにてリバビリン治療を行ったところ、ウイルス量の顕著な減少は見られたものの消失はせず、投与を継続してもウイルス量のむしろ増加が見られた。HEVの慢性化のメカニズムと、リバビリン耐性獲得の可能性について精査を行っている。
[三好正人、渡邉秀樹、池田隆明、李　天成、吉崎佐矢香、脇田隆字, 石井孝司]

(8) リバースジェネティクス法を用いた Rat HEV 感染クローンの作製
本研究では、Rat HEV（ドイツ株）rat HEV の全長を解析した上、in vitro で全長 rat HEV RNA を合成した。Rat HEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションし、経時的に培養上清を採取し、ウイルス抗原と RNA を ELISA および RT-PCR により測定し、ウイルス増殖の有無を確認したうえ、全長 Rat HEV RNA の感染性を評価した。接種後二ヶ月から培養上清から rat HEV RNA が検出された。この培養上清をヌードラットに接種するとヌードラットの血清、糞便から rat HEV が検出された。その結果、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、吉崎　佐矢香、石井　孝司、*網　康至、*須崎百合子、脇田隆字 (*動物管理室)

(9) Rat HEV ORF4 の機能の解析
Rat HEV の遺伝子構造は他の HEV と類似するが、Ferret HEV と同じ ORF4 というユニークなフレームを持っている。現在、ORF4 の機能はまだ明らかにされていない。本実験では Rat HEV（ドイツ株）rat HEV を用いて ORF4 のスタートコドンを無くした全長 cDNA を作製したうえ、in vitro で RNA を合成した。ORF4 を持たない rat HEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションし、また、ヌードラット（Long Evans-rnu/rnu）肝臓に直接に接種して、ウイルス増殖の変化を観察した。現在、ORF4 を持たない rat HEV の増殖能が低下することがわかった。
［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)］

(10) Nude rat と Rat HEV をモデルにした抗ウイルス製剤の評価
Rat HEV をヌードラット（Long-Evans rnu/rnu）に感染させると、rat HEV の持続感染を呈する。この持続感染モデルは、薬剤の抗ウイルス効果の観察に好適であると考えられる。本実験では rat HEV を感染させたヌードラットにリバビリンを経口投与し、抗ウイルス効果を観察した。その結果、リバピリンの経口投与による抗ウイルス作用が確認された。抗ウイルス作用は投与量に相関していた。また、リバビリンによる副作用も確認された。現在リバビリン投与によるウイルス変異の有無を確認している。
［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)］

(11) Ferret HEV の細胞培養
Ferret HEV 陽性のフェレット便乳剤を濾過除菌してから、ヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 に接種し、経時的に培養上清を採取し、ウイルス抗原と RNA を ELISA あるいは RT-PCR により測定した。その結果、接種後一ヶ月から培養上清から Ferret HEV 抗原、Ferret HEV RNA が検出された。この培養上清をフェレットに接種するとフェレットの血清糞便から Ferret HEV が検出された。この結果、Ferret HEV は PLC/PRF/5 細胞で増殖することが示唆された。培養で獲得した ferret HEV をフェレットに経口接種したところ、ウイルスの増殖が確認された。Ferret HEV の培養細胞系を樹立した。
［李天成、Tingting Yang、吉崎 佐矢香、*武田直和、脇田　隆字、(*大阪大学微生物病研究所)］

(12) ラクダ E 型肝炎ウイルス様粒子の作製およびその応用

ラクダ E 型肝炎ウイルス（DcHEV）は最近ヒトコブラクダから検出された新型 HEV であり、2 株の遺伝子配列以外、DcHEV に関する情報はほとんどない。DcHEV の感染状況把握、病原性と抗原性解析のため、本研究では DcHEV の構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現し、ウイルス様粒子の作成を試みた。N 末端 13aa あるいは 111aa を欠失した DcHEV ORF2 を RT-PCR 法で増幅した。定法どおり作製した組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Tn5 細胞に感染させ、構造蛋白を発現し、ウイルス様粒子（DcHEV-LPs）の作製に成功した。DcHEV-LPs を用いて抗体検出 ELISA 法を樹立した。また、DcHEV 抗原性を従前既知の G1, G3, G4 HEV の抗原性と比較した。その結果、DcHEV の抗原性は、G1, G3, G4, G5 と G6 HEV との抗原性と類似することが判明した。

[李天成、周顕鳳、*片岡紀代、**武田直和、脇田隆字（*感染病理部、**大阪大学微生物病研究所、日本・タイ感染症共同研究センター）

(13) スンクス由来 rat HEV 全長ゲノムのクローニング及び配列の解析

スンクスの糞便を出発材料として、スンクス由来 rat HEV 全長配列を解析した。Rat HEV RNA 陽性便を 10%便乳剤に作成し、RNA を抽出した。RT-PCR 法を用いて Rat HEV 全長配列の増幅を試みた。現在一部領域の遺伝子の増幅に成功した。部分塩基及びアミノ酸の解析により、同じ地域で捕獲されたラット由来の rat HEV はと高いホモロジーを持っていることが明らかになっていた。現在全長配列を解析中である。

［李天成、*Ke Changwen,**網 康至、**須崎百合子、脇田隆字 (*中国広東 CDC, **動物管理室)］

(14) 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、楊ていてい、*片岡紀代、**網康至、**須崎百合子、***岸田典子、***白倉雅之、***今井正樹、***浅沼秀樹、****武田直和、脇田隆字　(*感染病理部、**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)

(15) 茨城県内のイノシシにおける E 型肝炎の汚染状況検査

2013 年 12 月から 2014 年 3 月までに茨城県内の 3 地域において有害鳥獣駆除を目的として捕獲された合計 68 頭の野生イノシシから血液，肝臓，糞便を採取し、RT-PCR および ELISA により HEV ゲノムと抗 HEV 抗体の検出を行った。3 地域の合計はウイルス保有率が 10.29％(7/68)，抗体陽性率が 41.18％(28/68)となったが、地域間にかなり差が見られた。また，本調査で検出された HEV はすべての検体が日本型の Subgenotype3b(3jp)に分類されたが, 系統樹上で大きく 2 系統に分類されたことから，各地域で由来の異なる HEV が野生動物に感染していることが推察された。[*本谷　匠、*永田紀子、*小森はる、*土井育子、*黒澤美穂、*氣田利正、李　天成、吉崎佐矢香、石井孝司（*茨城県衛生研究所)］

その他のウイルスに関する研究

(1) Polyomavirus NJPyV のウイルス様粒子の作製

Polyomavirus NJPyV はヒトの皮膚に紅斑性壊死を起こす新しいヒトポリオーマウイルスである。本研究はウイルス抗体の検出法を樹立するため、組換えバキュロウイルス発現システムを用いて NJPyV の VP1 を発

現し、ウイルス様粒子（VLP）を作製した。さらにNJPyVに対する抗体検出ELISA法を確立した。この抗体検出系はNJPyVの感染状況の解明に有用である。

［李 天成、周顕鳳、*片岡紀代 (感染病理部)、脇田隆字 (*感染病理部)］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

20 (4),709-712, 2014

1. Arita M, Kilpatrick DR, Nakamura T, Burns CC, Bukbuk D, Oderinde SB, Oberste MS, Kew OM, Pallansch MA, Shimizu H. Development of an efficient entire-capsid-coding-region amplification method for direct detection of poliovirus from stool extracts. J Clin Microbiol 53: 73-78, 2015
2. Arita M. Phosphatidylinositol-4 kinase III beta and oxysterol-binding protein accumulate unesterified cholesterol on poliovirus-induced membrane structure. Microbiology and Immunology, 58: 239-256, 2014
3. Choi JE, Hur W, Kim JH, Li TZ, Lee EB, Lee SW, Kang W, Shin EC, Wakita T, Yoon SK. MicroRNA-27a modulates HCV infection in differentiated hepatocyte-like cells from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. PLoS One. 13;9(5):e91958. 2014
4. Daito T, Watashi K, Sluder A, Ohashi H, Nakajima S, Borroto-Esoda K, Fujita T, Wakita T. Cyclophilin inhibitors reduce phosphorylation of RNA-dependent protein kinase to restore expression of IFN-stimulated genes in HCV-infected cells. Gastroenterology 147(2): 463-472, 2014.
5. Dansako H, Hiramoto H, Ikeda M, Wakita T, Kato N. Rab18 is required for viral assembly of hepatitis C virus through trafficking of the core protein to lipid droplets. Virology. 462-463:166-74, 2014
6. Dennis FE, Fujii Y, Haga K, Damanka S, Lartey B, Agbemabiese CA, Ohta N, Armah GE, Katayama K: Identification of Novel Ghanaian G8P[6] Human-Bovine Reassortant Rotavirus Strain by Next Generation Sequencing. PLoS One 9(6):e100699. 2014
7. Esumi M, Ishibashi M, Yamaguchi H, Nakajima S, Tai Y, Kikuta S, Sugitani M, Takayama T, Tahara M, Takeda M, Wakita T. Transmembrane serine protease TMPRSS2 activates hepatitis C virus infection. Hepatology. 61(2):437-46, 2015
8. Fang L, Wang Z, Song S, Kataoka M, Ke C, Suzuki T, Wakita T, Takeda N, Li TC. Characterization of human bocavirus-like particles generated by recombinant baculoviruses. J Virol Methods. 207:38-44, 2014
9. Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, Ito H, Doan YH, Takahashi T, Ozaki T, Katayama K, Nakagomi O: Spread and predominance in Japan of novel G1P[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like genotype constellation typical of G2P[4] strains. Infect Genet Evol. 28:426-33, 2014
10. Fukuhara T, Wada M, Nakamura S, Ono C, Shiokawa M, Yamamoto S, Motomura T, Okamoto T, Okuzaki D, Yamamoto M, Saito I, Wakita T, Koike K, Matsuura Y. Amphipathic α-helices in apolipoproteins are crucial to the formation of infectious hepatitis C virus particles. PLoS Pathog. 11;10(12):e1004534. 2014
11. Hiramoto H, Dansako H, Takeda M, Satoh S, Wakita T, Ikeda M, Kato N. Annexin A1 negatively regulates viral RNA replication of hepatitis C virus. Acta Med Okayama. 69(2):71-8. 2015
12. Ishibashi M, Morita N, Nomura-Kawaguchi C, Shimizu Y, Wakita T, Esumi M. CLEC4M-positive and CD81-negative Huh7 cells are not susceptible to JFH-1 HCVcc infection but mediate transinfection. Arch Virol.159(11):2949-55. 2014
13. Islam MJ, Hikosaka K, Noritake H, Uddin MK, Amin MB, Aoto K, Wu YX, Sato E, Kobayashi Y, Wakita T, Miura N. Pol I-transcribed hepatitis C virus genome RNA replicates, produces an infectious virus

and leads to severe hepatic steatosis in transgenic mice. Biomed Res. 36(3):159-67. 2015

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): 808-813, 2014.
15. Jiang X, Kanda T, Wu S, Nakamoto S, Wakita T, Shirasawa H, Yokosuka O. Hepatitis C virus nonstructural protein 5A inhibits thapsigargin-induced apoptosis. PLoS One. ; 9(11): e113499. 2014
16. 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 Antigen Exerts Potential Antiviral Effects against Hepatitis A Virus. PLOS One, 9, e101993, 2014
17. Katayama K, Murakami K, Sharp TM, Guix S, Oka T, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Crawford SE, Atmar RL, Estes MK. Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 111(38):E4043-52, 2014
18. Kim S, Date T, Yokokawa H, Kono T, Aizaki H, Maurel P, Gondeau C, Wakita T. Development of hepatitis C virus genotype 3a cell culture system. Hepatology. 60(6):1838-50. 2014
19. Komoto S, Pongsuwanna Y, Ide T, Wakuda M, Guntapong R, Dennis FE, Haga K, Fujii Y, Katayama K, Taniguti K. Whole genomic analysis of porcine G10P[5] rotavirus strain P343 provides evidence for bovine-to-porcine interspecies transmission. Veterinary Microbiology 174, 577-583, 2014.
20. Komoto S, Wandera Apondi E, Shah M, Odoyo E, Nyangao J, Tomita M, Wakuda M, Maeno Y, Shirato H, Tsuji T, Ichinose Y, Taniguchi K. Whole genomic analysis of human G12P[6] and G12P[8] rotavirus strains that have emerged in Kenya: Identification of porcine-like NSP4 genes. Infection, Genetics and Evolution, 27, 277-293, 2014
21. Kondo Y, Ninomiya M, Kimura O, Machida K, Funayama R, Nagashima T, Kobayashi K, Kakazu E, Kato T, Nakayama K, Lai MM, Shimosegawa T. HCV infection enhances Th17 commitment, which could affect the pathogenesis of autoimmune diseases. PloS One 9(6), e98521, 2014.
22. Li TC, Yang T, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Ishii K, Haga K, Nakamura T, Ochiai S, Wakita T, Johne R. Construction and characterization of an infectious cDNA clone of rat hepatitis E virus. Journal of General Virology 96:1320-7, 2015
23. Li TC, Yang T, Shiota T, Yoshizaki S, Yoshida H, Saito M, Imagawa T, Malbas F, Lupisan S, Oshitani H, Wakita T, Ishii K. Molecular detection of hepatitis E virus in rivers in the Philippines. American Journal of Tropical Medicine and Hygine, 90: 764-766, 2014
24. Li TC, Fukumoto H, Hasegawa H, Wakita T, Saeki H, Suzuki T, Katano H. Seroprevalence of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus in Japan. J Clinic Virol. 65:76-82, 2015
25. Li TC, Iwasaki K, Katano H, Kataoka M, Nagata N, Kobayashi K, Mizutani T, Takeda M, Wakita T, Suzuki T. Characterization of Self-assembled Virus-like Particles of Merkel Cell Polyomavirus. PLOS ONE, 10(2):e0115646,2015
26. Li TC, Yang T, Ami Y, Suzaki Y, Shirakura M, Kishida N, Asanuma H, Takeda N, and Wakita T. Full Genome of Ferret Hepatitis E Virus from Laboratory Ferrets. Emerg Infect Dis. 20(4):709-12, 2014
27. Li TC, Yonemitsu K, Terada Y, Takeda N, Wakita T and Maeda K. Ferret hepatitis E virus infection in

Japan. JJID 68(1).60-62, 2015

28. Li Y, Masaki T, Shimakami T, Lemon SM. hnRNP L and NF90 interact with hepatitis C virus 5'-terminal untranslated RNA and promote efficient replication. J Virol 88(13): 7199-7209, 2014.

29. Lin CM, Gao X, Oka T, Vlasova AN, Esseili MA, Wang Q, Saif LJ. Antigenic relationships among porcine epidemic diarrhea virus and transmissible gastroenteritis virus strains. J Virol. 89 (6): 3332-42, 2015

30. Liu X, Saito M, Sayama Y, Suzuki E, Malbas FF, Galang HO, Furuse Y, Saito M, Li TC, Suzuki A, Oshitani H. Seroprevalence and molecular characteristics of hepatitis E virus in household-raised pig population in Philippines. BMC Vet Res. 11(1):11, 2015

31. Masaki T, Arend KC, Li Y, Yamane D, McGivern DR, Kato T, Wakita T, Moorman NJ, Lemon SM. miR-122 stimulates hepatitis C virus RNA synthesis by altering the balance of viral RNAs engaged in replication versus translation. Cell Host Microbe 17(2): 217-228, 2015.

32. Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Nakashima K, Kimura Y, Ito M, Matsuda M, Murayama A, Kato T, Hirano H, Endo Y, Lemon SM, Wakita T, Sawasaki T, Suzuki T. Involvement of hepatitis C virus NS5A hyperphosphorylation mediated by casein kinase I-α in infectious virus production. J Virol 88(13): 7541-7555, 2014.

33. Masuda T, Nagai M, Yamasato H, Tsuchiaka S, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Taniguchi K, Fujii Y, Todaka R, Katayama K, Mizutani T: Identification of novel bovine group A rotavirus G15P[14] strain from epizootic diarrhea of adult cows by de novo sequencing using a next-generation sequencer. Vet Microbiol 171(1-2):66-73, 2014

34. Matsuda M, Suzuki R, Kataoka C, Watashi K, Aizaki H, Kato N, Matsuura Y, Suzuki T, Wakita T. Alternative endocytosis pathway for productive entry of hepatitis C virus. J Gen Virol 95(Pt12):2658-2667, 2014.

35. McGivern DR, Masaki T, Williford S, Ingravallo P, Feng Z, Lahser F, Asante-Appiah E, Neddermann P, De Francesco R, Howe AY, Lemon SM. Kinetic analyses reveal potent and early blockade of hepatitis C virus assembly by NS5A inhibitors. Gastroenterology 147(2): 453-462, 2014.

36. Munakata T, Inada M, Tokunaga Y, Wakita T, Kohara M, Nomoto A. Suppression of hepatitis C virus replication by cyclin-dependent kinase inhibitors. Antiviral Res. 108:79-87, 2014

37. Naeem A, Hosomi T, Nishimura Y, Alam MM, Oka T, Zaidi SS, Shimizu H. Genetic diversity of circulating Saffold viruses in Pakistan and Afghanistan. J Gen Virol 95: 1945-1957, 2014

38. Nakai M, Seya T, Matsumoto M, Shimotohno K, Sakamoto N, Aly HH. The J6JFH1 strain of hepatitis C virus infects human B-cells with low replication efficacy. Viral Immunol 27(6): 285-94, 2014.

39. Ogura N, Watashi K, Noguchi T, Wakita T. Formation of covalently closed circular DNA in Hep38.7-Tet cells, a tetracycline inducible hepatitis B virus expression cell line. Biochem Biophys Res Commun 452(3): 315-321, 2014.

40. Oka T, Saif LJ, Marthaler D, Esseili MA, Meulia T, Lin CM, Vlasova AN, Jung K, Zhang Y, Wang Q. Cell culture isolation and sequence analysis of genetically diverse US porcine epidemic diarrhea virus strains including a novel strain with a large deletion in the spike gene. Vet Microbiol. 173 (3-4): 258-69, 2014

41. Oka T, Saif LJ, Yang Z, Scheuer KA, Stoltzfus GT, Wang Q. First Complete Genome Sequences of Genogroup VI Porcine Sapoviruses Genome Announc. 2 (2).2014

42. Oka T, Takagi H, Tohya Y. Development of a novel single step reverse genetics system for feline calicivirus. J Virol Methods. 207:178-81, 2014

43. Oka T, Wang Q, Katayama K, Saif LJ. Comprehensive review of human sapoviruses. Clin Microbiol Rev. 28 (1): 32-53, 2015

44. Okitsu S, Khamrin P, Thongprachum A, Kalesaran AF, Takanashi S, Shimizu H, Maneekarn N, Mizuguchi M, Hayakawa S, Ushijima H. Molecular characterization and sequence analysis of the 2B region of Aichivirus C strains in Japan and Thailand. Infect Genet Evol 26: 89-94, 2014

45. Okitsu S, Khamrin P, Thongprachum A, Nishimura S, Kalesaran AF, Takanashi S, Shimizu H, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Detection and molecular characterization of human cosavirus in a pediatric patient with acute gastroenteritis, Japan. Infect Genet Evol 28: 125-129, 2014

46. Saito K, Shirasago Y, Suzuki T, Aizaki H, Hanada K, Wakita T, Nishijima M, Fukasawa M. Targeting cellular squalene synthase, an enzyme essential for cholesterol biosynthesis, is a potential antiviral strategy against hepatitis C virus. J Virol. 89(4):2220-32, 2015

47. Sato A, Kameyama K, Nagai M, Tateishi K, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Yamakawa M, Shirai J. Complete Genome Sequence of Bovine Viral Diarrhea Virus 2 Japanese Reference and Vaccine Strain KZ-91CP. Genome Announc. 3(1). pii: e01573-14, 2015

48. Sato S, Li K, Kameyama T, Hayashi T, Ishida Y, Murakami S, Watanabe T, Iijima S, Sakurai Y, Watashi K, Tsutsumi S, Sato Y, Akita H, Wakita T, Rice CM, Harashima H, Kohara M, Tanaka Y, Takaoka A. The RNA sensor RIG-I dually functions as an innate sensor and direct antiviral factor for hepatitis B virus. Immunity 42(1):123-32, 2015

49. Selitsky SR, Baran-Gale J, Honda M, Yamane D, Masaki T, Fannin EE, Guerra B, Shirasaki T, Shimakami T, Kaneko S, Lanford RE, Lemon SM, Sethupathy P. Small tRNA-derived RNAs are increased and more abundant than microRNAs in chronic hepatitis B and C. Sci Rep 5: 7675, 2015.

50. Shibata S, Sekizuka T, Kodaira A, Kuroda M, Haga K, Doan YH, Takai-Todaka R, Katayama K, Wakita T, Oka T, Hirata H. Complete Genome Sequence of a Novel GV.2 Sapovirus Strain, NGY-1, Detected from a Suspected Foodborne Gastroenteritis Outbreak. Genome Announc. 3(1). pii: e01553-14, 2015

51. Shimizu H, Nakashima K. Surveillance of hand, foot, and mouth disease for a vaccine. Lancet Infect. Dis. 14(4), 262-3, 2014

52. Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, Matsuura Y. Novel permissive cell lines for complete propagation of hepatitis C virus. J Virol. 88(10):5578-94, 2014

53. Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Kato T, Wakita T, Ishii K. Establishment of hepatitis E virus infection-permissive and -non-permissive human hepatoma PLC/PRF/5 subclones. Microbiol Immunol 59(2):89-94, 2015

54. Shirasago Y, Sekizuka T, Saito K, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Kuroda M, Abe R, Fukasawa M. Isolation and characterization of an Huh.7.5.1-derived cell clone highly permissive to hepatitis C virus. Jpn J Infect Dis. 68(2):81-8, 2015

55. Shirato H, Someya Y, Ochiai M, Horiuchi Y, Takahashi M, Takeda N, Wakabayashi K, Ouchi Y, Ota Y, Tano Y, Abe S, Yamazaki S, Wakita T, sIPV Evaluation Group of NIID Virology II. A national

reference for inactivated polio vaccine derived from Sabin strains in Japan. Vaccine 32: 5163-5169, 2014

56. Sugiyama K, Ebinuma H, Nakamoto N, Sakasegawa N, Murakami Y, Chu PS, 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. 9(4):e94460, 2014

57. Sugiyama N, Murayama A, Suzuki R, Watanabe N, Shiina M, Liang TJ, Wakita T, Kato T. Single strain isolation method for cell culture-adapted hepatitis C virus by end-point dilution and infection. PLoS One 9(5): e98168, 2014.

58. Sung PS, Murayama A, Kang W, Kim MS, Yoon SK, Fukasawa M, Kondoh M, Kim JS, Kim H, Kato T, Shin EC. Hepatitis C virus entry is impaired by claudin-1 downregulation in diacylglycerol acyltransferase-1-deficient cells. J Virol. 88(16): 9233-9244, 2014.

59. Tang J, Yoshida H, Ding Z, Tao Z, Zhang J, Tian B, Zhang L. Molecular Epidemiology and Recombination of Human Enteroviruses from AFP surveillance in Yunnan, China from 2006 to 2010. Scientific reports, 4: 6058, 2014

60. Tanida I, Shirasago Y, Suzuki R, Abe R, Wakita T, Hanada K, Fukasawa M. Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits the propagation of hepatitis C virus. Jpn J Infect Dis. 68:268-275, 2015.

61. Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Okada M, Sugiyama M, Kojima S, Tanaka Y, Mizokami M, Li J, Tong S, Wakita T. Dysregulation of retinoic acid receptor diminishes hepatocyte permissiveness to hepatitis B virus infection through modulation of sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) expression. J Biol Chem. 290(9):5673-84, 2015

62. Wang H, Tao Z, Li Y, Lin X, Yoshida H, Song L, Zhang Y, Wang S, Cui N, Xu W, Song Y, Xu A. Environmental Surveillance of Human Enteroviruses in Shandong Province, China, 2008-2012: Serotypes, Temporal Fluctuation and Molecular Epidemiology. Appl Environ Microbiol. 80(15): 4683-4691, 2014

63. Watashi K, Sluder A, Daito T, Matsunaga S, Ryo A, Nagamori S, Iwamoto M, Nakajima S, Tsukuda S, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Kanai Y, Kusuhara H, Mizokami M, Wakita T. Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter, sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP). Hepatology 59(5): 1726-1737, 2014.

64. 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.

65. Wright PF, Wieland-Alter W, Ilyushina NA, Hoen AG, Arita M, Boesch AW, Ackerman ME, van der Avoort, MH. Oberste S, Pallansch MA, Burton AH, Jaffar MA, and Sutter RW. Intestinal immunity is a determinant of clearance of poliovirus after oral vaccination. Journal of Infectious Diseases, 209: 1628-1634, 2014

66. Xeuatvongsa A, Komada K, Kitamura T, Vongphrachanh P, Pathammavong C, Phounphenghak K, Sisouk T, Phonekeo D, Sengkeopaseuth B, Som-Oulay V, Ishii K, Wakita T, 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

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、脇田隆字、肝炎ウイルス検査のすすめ：くらしの豆知識、国民生活センター編、200-201, 2015

3) 有田峰太郎、感染症の治療に向けて - ポリオ根絶計画におけるアカデミア創薬の試み, 2014 実験医学、増刊号「研究成果を薬につなげるアカデミア創薬の戦略と実例」、第 32 巻、第 2 号、P205-209, 2014

4) 石井孝司　環境中Ａ型肝炎ウイルス遺伝子の検出と分子疫学的応用　臨床とウイルス　42: 242-246, 2014

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、脇田隆字 A 型肝炎ウイルス感染症 東京小児科医会報 33: 11-17, 2014

7) 伊藤雅, 岩切章, 内野清子, 小澤広規, 北川和寛, 葛口剛, 下野尚悦, 神保達也, 高橋雅輝, 板持雅恵, 筒井理華, 濱﨑光宏, 山崎謙治, 中田恵子, 吉田弘. 平成 25 年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査期間中（2013 年 4～12 月）に検出されたエンテロウイルスについて IASR Vol. 35 p. 275-276: 2014 年 11 月号

8) 岡智一郎: 食品衛生検査指針　微生物編 2015 公益社団法人　日本食品衛生協会 サポウイルス p684-692. 2015.3.

9) 片山和彦　備えて立ち向かう感染性胃腸炎　ノロウイルス・ロタウイルス　ノロウイルス感染症とは-ウイルスの特徴・流行変遷・臨床病態　感染症対策ICTジャーナル vol.9 No.4 2014.

10) 片山和彦　特集　ノロウイルス感染症　ノロウイルスの感染拡大を防ぐには　調剤と情報 vol.20 No.12, 14-19, 2014

11) 片山和彦　特集　ノロウイルス感染症　ノロウイルスとは 調剤と情報 vol.20 No.12, 10-12, 2014

12) 片山和彦 少年写真新聞社 中学保健ニュース ノロウイルスの感染予防　Dec.18, 2014.

13) 片山和彦 少年写真新聞社 高校保健ニュース ノロウイルスの感染予防　Dec.18, 2014.

14) 片山和彦　質疑応答臨床一般　夏場にノロウイルスによる胃腸炎や食中毒が発生する可能性　日本医事新報　No.4723, 59-60, 2014.

15) 片山和彦 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　日本医薬品等ウイルス安全性研究会

16) 片山和彦　ヒトに感染するノロウイルスの感染様式の研究　黎明　vol23, pi-ii, 2014.

17) 片山和彦　ノロウイルス感染症とその対策　救命救急 vol.17 No.1 12-15, 2014.

18) 片山和彦Luncheon Seminar Report No.1 ノロウイルス　-感染制御を目指した研究の歩みと最新の成果- デンカ生研、p1-4、リーフレット、2015/02/24

19) 北川和寛　千葉一樹　鈴木理恵　五十嵐郁美　柏木佳子　金成篤子, 吉田学, 笹原賢司, 門馬直太, 吉田弘 無菌性髄膜炎患者から検出されたエコーウイルス 9 型､2002～2013 年―福島県, IASR Vol. 35 p. 249-250: 2014 年 10 月号

20) 島津幸枝、久常有里、池田周平、東久保靖、谷澤由枝、重本直樹、 高尾信一、米倉圭二、白石泰尚、谷博雄、原三千丸、吉田弘 エンテロウイルスD-68型が検出された小児・乳児の4症例－広島県　IASR Vol. 35 p. 295- 296: 2014年12月号

21) 清水博之、「消化器ウイルス篇　エンテロウイルス-ポリオウイルスおよび非ポリオエンテロウイルス」の項を担当、臨床医のための呼吸器・消化管ウイルス感染症、103-109, 診断と治療社、東京、2014

22) 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　2014

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

24) 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

25) 白土東子（分担執筆）: Norovirus and Histo-blood Group Antigens. Glycoscience: Biology and Medicine, 731-735, 2014

26) 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

27) 筒井理華 古川紗耶香 木村政明 工藤真哉 笹けい子, 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―青森県, IASR Vol. 35 p. 242-243: 2014 年 10 月号

28) 吉田弘 水環境中のウイルス情報の収集と活用 ポリオウイルス-不活化ワクチン開発後の野生株侵入状況把握 臨床とウイルス 42 (5) 224-230. 2014 年 12 月号

29) 脇田隆字, 肝炎ウイルスに関する研究の進展 Annual Review 消化器 2015 巻 Page51-56, 2015

30) 脇田隆字, HCV 培養系はどこまで進んだか臨床消化器内科 29 巻 7 号 Page803-809, 2014

31) 国立感染症研究所感染症疫学センター・ウイルス第二部. エンテロウイルス68型に関する主な知見と国内の疫学状況のまとめ (2014年11月4日現在). 病原微生物検出情報, 2014

3. その他

1) 相崎英樹、飯島尋子、石上雅敏、上野義之、小川浩司、片野義明、菊池嘉、工藤正俊、酒井明人、坂本穣、島上哲朗、下田和哉、日浅陽一、正木尚彦、持田智、吉岡健太郎、吉澤要、米田政志、渡邊綱正、是永匡紹：肝炎ウイルス陽性者フォローアップ導入マニュアル第二版、効率的な肝炎ウイルス検査陽性者フォローアップシステムの構築のための研究班、2014.

2) 相崎英樹、飯島尋子、石上雅敏、上野義之、小川浩司、片野義明、菊池嘉、工藤正俊、酒井明人、坂本穣、島上哲朗、下田和哉、日浅陽一、正木尚彦、持田智、吉岡健太郎、吉澤要、米田政志、渡邊綱正、是永匡紹：自治体向け肝炎ウイルス陽性者フォローアップ導入マニュアル第三版、効率的な肝炎ウイルス検査陽性者フォローアップシステムの構築のための研究班、2015.

4. （新聞）指導、監修

１）片山和彦 少年写真新聞 中学保健ニュース ノロウイルスの感染経路を知ろう 2014年12月18日

２）片山和彦 少年写真新聞 高校保健ニュース ノロウイルスの感染経路を知ろう 2014年12月18日

II. 学 会 発 表

国際学会

1) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Development of hepatitis B virus cell culture system using immortalized human hepatocytes pruducing exogenous Na+/taurocholate cotransporting polypeptide. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014

2) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Wakita T. Analyzing new host mechanism suppressing hepatitis B virus replication. TASL-Japan Hepatitis B Workshop. Taipei, Taiwan. 2014. 4. 19-20.

3) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Wakita T. Host factors interacting with Hepatitis B virus life cycle. Egyptian-Japanese day, molecular biology of hepatitis viruses. Cairo, Egypt. 2014. 9. 30. – 10. 4.

4) Ariumi Y, M Kuroki, R Siddiqui, M Hijikata, M Ikeda, T Wakita, N Kato. DDX21 RNA helicase restricts HCV infection. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

5) Fujii Y, Doan YH, Nakagomi T, Nakagomi O, Katayama K : Continued circulation of novel G1P[8] double-reassortant strains carrying the DS-1-like

genotype constellation in Japan. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) (Taipei) Jan. 25-29, 2015.

6) Fujii Y : Molecular evolutional study of rotavirus genome using next generation sequencer. NIID International Seminar on Infectious Diseases (Tokyo) Jan. 22-23, 2015.

7) Fujimoto A, Aizaki H, Matsuda M, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T. Maintenance of HCV infectivity by down-regulating hepatic lipase expression. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

8) Fukasawa M, Shimizu Y, Shirasago Y, Iwamoto M, Watashi K, Tanaka Y, Wakita T, Kondoh M, Yagi K, Hanada K. Efficient HBV infection system in cell cultured cells. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014

9) Goto K, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Moriya K, Yotsuyanagi H, Koike K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Aizaki H. NS5A-associated membrane protein, embryonic lethal, abnormal vision, drosophila-like 1, regulates hepatitis C virus RNA synthesis and translation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

10) Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of a large outbreak of hepatitis A in Japan, 2014. The 10th China-Japan International Conference of Virology. Changchun, China, Aug, 25-27, 2014

11) Ishii K. Epidemiological and genetic analysis of an outbreak of hepatitis A in Japan, 2014. The 11th Japan-Taiwan Symposium on New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance. Taipei, Taiwan, Sep, 11-12, 2014

12) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Shimada T, Nakamura N, Nakashima K, Tada Y, Noda M, Wakita T. Molecular epidemiological analysis of recent hepatitis A in Japan and Asian countries. 10th Asia Pacific Travel Health Conference, Ho Chi Minh City, Viet Nam, May 7-11, 2014

13) 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

14) Ito M, Fukuhara T, Suzuki R, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Use of Huh7-derived, bidirectional oval-like cells to identify differentiation-dependent host factors that are involved in regulation of HCV lifecycle. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

15) Iwamoto M, Watashi K, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Tanaka Y, Mizokami M, Ohtani N, Koiwai O, Wakita T. Microtubule-dependent hepatitis B virus (HBV) replication revealed by chemical screening on an efficient HBV-replicating cell line. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014

16) Johne R, Yang T, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Ishii K, Haga K, Nakamura T, Ochiai S., Wakita T, Li TC. Establishment of a reverse genetics system for rat hepatitis E virus. 25th Annual Meeting of the Society for Virology, Bochum (Germany), 18–21 March 2015

17) Katayama K, Park YB, Takai-Todaka R, Haga K. Investigation of Human Norovirus evolution in human body. Japan-Taiwan joint meeting. Taipei (Taiwan), Jan 29, 2015.

18) Kato T, Sugiyama N, Murayama A, Matsumura T, Shiina M, Asabe S, Wakita T, Imawari M. Antimicrobial Peptide LL-37 Deteriorate Infectivity of Hepatitis C Virus. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff

(Canada), Sep. 7-11. 2014

19) Li T.C., Ochiai K., Yang T., Yoshizaki S., Takeda N., Ishii K., Wakita T. Characterization of a case of hepatitis E that imported from Spain. 10th Asia Pacific Travel Health Conference, Ho Chi Minh City (Viet Nam), May 7-11, 2014

20) Li T.C., Yang T., Kataoka M., Ami Y., Suzaki Y., Kishida N., Shirakura M., Imai M., Asanuma H., Takeda N., Wakita T. Characterization of Self-Assembled Virus-Like Particles of Ferret Hepatitis E Virus Generated by Recombinant Baculoviruses. International Union of Microbiological Societies (IUMS 2014), Canada, July 27-Augst 1, 2014

21) Li T.C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzaki Y., Ishii K., Haga K., Nakamura T., Ochiai S., Wakita T., Johne R. Characterization of Self-Assembled Virus-Like Particles of Ferret Hepatitis E Virus Generated by Recombinant Baculoviruses. The 10th China-Japan International Conference of Virology. Changchun (China), August 24-27, 2014

22) Li Y, Masaki T, Shimakami T, Lemon SM. HnRNP L, PCBP2 and NF90 are HCV host factors that interact with viral 5' terminal untranslated RNA and compete with miR-122 binding. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), Sep. 7-11. 2014

23) Lovell W, Masaki T, Feng Z, Hamlett C, Saalau-Bethell S, Graham B, McGivern D. Using direct-acting antivirals to probe the multiple functions of the NS3/4A protease-helicase in the hepatitis C virus life cycle. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), Sep. 7-11. 2014

24) Masaki T, Arend KC, Li Y, Yamane D, McGivern DR, Moorman NJ, Lemon SM. miR-122 promotes expansion of the HCV replicase complex by redirecting translating viral RNAs to replicat ion and directly stimulating RNA synthesis. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), Sep. 7-11. 2014

25) Masaki T, Matsunaga S, Takahashi H, Nakashima K, Kimura Y, Ito M, Matsuda M, Murayama A, Kato T, Hirano H, Endo Y, Lemon SM, Wakita T, Sawasaki T, Suzuki T. Involvement of hepatitis C virus NS5A hyperphosphorylation mediated by casein kinase I-α in infectious virus production. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), Sep. 7-11. 2014

26) Matsuda M, Nakanishi A, Li TC, Suzuki R, Katano H, Wakita T, Suzuki T. Selective recognition of gangliosides by human polyomaviruses: Role of GD3 and GM3 in merkel cell polyomavirus infection. 7th International conference on HPV, Polyomavirus & UV in skin cancer, Novara (Italy), Apr, 2014

27) Matsunaga S, Miyakawa K, Watashi K, Wakita T, Ryo A. Wheat germ cell-free system-based production of hepatitis B virus X (HBx) protein for generation and characterization of monoclonal antibody. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014

28) McGivern DR, Masaki T, Williford S, Lemon SM. NS5A inhibitors block virus assembly and disrupt the interaction of NS5A with NS2. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), Sep. 7-11. 2014

29) Miki M, Park YB, Haga K, Doan HY, Suzuki Y and Katayama K. Investigation of human norovirus shedding and genome evolution in a single infection cycle in infant. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases. Taipei (Taiwan), Jan 29, 2015.

30) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T.

Hepatitis C Virus Replication in a Monkey Kidney-derived Cell Line. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), Sep. 7-11. 2014

31) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Infection and Replication of Hepatitis C Virus in Vero Cells Derived from Green Monkey Kidney. 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston (USA), Nov. 7-11. 2014

32) Nakajima S, Watashi K, Kamisuki S, Takemoto K, Izaguirre-Carbonell J, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Wakita T. Ruglation of hepatitis C virus replication by liver X receptor is disrupted by a fungi-derived neoechinulin B. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

33) Nojima K, T Shimoike, T Wakita, I Hamaguchi, Y Okada. Evaluation of Hepatitis C Virus JFH-1 Infectivity and RNA Distribution During Plasma Fractionation. Americal Association of Blood Banks Annual Meeting Boston (USA), Oct. 25-28, 2014

34) Ohashi H, Watashi K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Kamisuki S, Sugawara F, Wakita T. Flutamide inhibits hepatitis C virus assembly through disrupting lipid droplets. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

35) Oka T, Ogo N, Oba M, Ando T, Zhu C, Asai A, Katayama K, Wang Q, Saif LJ. Identification of Sapovirus Infection and Growth Inhibitory Molecules. American Society for Virology 33rd Annual Meeting. Colorado (USA), June21-25, 2014

36) Oka T, Saif LJ, Yang Z, Scheuer KA, Stoltzfus GT, Wang Q. First Complete Genome Sequences of Sapovirus Genogroup VI Strains Detected from Diarrheic Pigs. American Society for Virology 33rd Annual Meeting. Colorado (USA), June21-25, 2014

37) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Japanese Encephalitis Virus-subviral particles harboring HCV neutralization epitopes induce neutralizing antibodies against HCV. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

38) Shi G, Ando T, Suzuki R, Ito M, Nakashima K, Wakita T, Suzuki T. HCV 3'UTR as a cis-acting element required for the viral RNA encapsidation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

39) Shimizu H. Molecular basis of virus-host interaction and pathogenesis of enterovirus 71 infection. Monto Ho Memorial Lectures on Enterovirus 71, 2014 International Symposium on Infectious Disease and Signal Transduction, Tainan (Taiwan), 2 November, 2014

40) Shimizu H. Overview of hand, foot, and mouth disease and enterovirus infections. JICA Training Workshop on Biosafety and HFMD Laboratory Diagnosis, Hanoi (Viet Nam), 14-18 July 2014

41) Shimizu H. Structural and functional basis of the interaction between enterovirus 71 and a cellular receptor, PSGL-1. Protein Island Matsuyama International Symposium, Matsuyama, Ehime, 17 September, 2014

42) Shimizu H. The host cellular receptors for enterovirus 71. The 2nd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines, Tokyo, 3 March, 2015

43) Shimizu H. The molecular basis of the interaction between EV71 and PSGL-1 from structural and functional standpoints. TLL Seminar, Temasek Life Science Laboratory, Singapore, 25 September, 2014

44) Shimizu H. Virology of Enterovirus 71. JICA Training Workshop on Biosafety and HFMD Laboratory

Diagnosis, Hanoi (Viet Nam), 14-18 July 2014

45) Shimizu H. WHO Collaborating Centre for Virus Reference and Research (Enteroviruses). (Poster). The First Regional Forum Of Who Collaborating Centres in the Western Pacific, Manila (Philippines), 13-14 November, 2014

46) Shiota T. Searching for the host factors involved in hepatitis E virus infection. MGH-U Tokyo Symposium: *Frontiers in Biomedical Engineering* (Celebrating the 10th year of MGH-U Tokyo Summer Student Internship Program), Boston (U.S.A), Sep. 24. 2014

47) Shirasago Y, T Sekizuka, K Saito, T Suzuki, T Wakita, K Hanada, M Kuroda, R Abe, M Fukasawa. Isolation and Characterization of A Huh.7.5.1-Derived Cell Clone Highly Permissive to Hepatitis C Virus. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

48) Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Masaki T, Wakita T, Kato T. Elucidation of effects on HCV propagation and ISG induction by amino acid substitution in interferon sensitivity-determining region. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), 7-11, Sep, 2014

49) Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Watashi K, Aizaki H, Chiba J, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Single domain intrabodies against HCV core inhibit viral propagation and core-induced NF-kB activation. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

50) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Retinoid inhibitors abolish the host permissiveness to HBV infection by modulating NTCP expression. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014

51) Wakita T. Cell culture models of hepatitis C virus. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

52) Wakita T. HBV entry inhibitors. EID meeting, Taipei (Taiwan), January 26-29, 2015

53) Wakita T, N Ogura, H Aly, K Watashi. Novel target molecules for HBV drug development. The 11th JSH Single Topic Conference, Hiroshima, Nov 20-21, 2014

54) Watashi K, Iwamoto M, Sluder A, Matsunaga S, Ryo A, Morishita R, Kwon ATJ, Suzuki H, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Characterization of a culture system reproducing the NTCP-mediated HBV entry and its application to drug development. 2014 International Meeting on the Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Los Angeles (USA), Sep, 2014

55) Yamaguchi H, K Kuroda, T Wakita, M Esumi. A role of Golgi membrane protein 1 (GOLM1) in HCV replication. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Banff (Canada), Sep, 2014

56) Yokokawa H, Nakamura N, Higashino A, Suzuki S, Akari H, Ishii K, Kato T, Wakita T. Inactivated hepatitis C virus particle vaccine induces anti-HCV antibodies in common marmosets. 21st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Banff (Canada), 7-11, Sep, 2014.

57) Yoshida K, Zhou Y, Takai-Todaka R, Katayama K, Nakanishi A. Functional complementation of VP2 in murine norovirus. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases. Taipei (Taiwan), Jan 29, 2015.

2. 国内学会

1) 青柳東代, 相崎英樹, 松本喜弘, 鈴木亮介, 渡士

幸一，市野瀬志津子，松浦知和，鈴木哲朗，和氣健二郎，脇田隆字、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 Autophagy による HCV 分泌過程の制御、第 50 回日本肝臓学会総会，東京，2014．5．29-30.

2) 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、脇田隆字、グリチルリチンによる抗 HCV 作用 －phospholipase A2 および Autophagy による C 型肝炎ウイルス(HCV)分泌過程に与える影響－。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月

3) 赤堀祐一、加藤博己、藤田尚志、渡士幸一、脇田隆字、土方誠、ヒト NTCP 恒常発現不死化ヒト肝細胞を用いた B 型肝炎ウイルス培養細胞感染系の構築、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

4) 吾郷昌信、北川由美香、松本文昭、吉川亮、陣内久美子、森内浩幸、永田典代、清水博之、森田交一．新生児重症感染を惹起したコクサッキーウイルス B2 型の性状解析．第 62 回日本ウイルス学会学術集会. 横浜市、11 月 10～12 日、2014

5) Hussein Aly、渡士幸一、茶山一彰、脇田隆字、The identification of a new interferon-independent host mechanism suppressing hepatitis B virus replication. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

6) アリ・ハッサン・フセイン，渡士幸一，茶山一彰，脇田隆字．The identification of a new host mechanism suppressing Hepatitis B virus replication. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014．11．10-12.

7) アリ・ハッサン・フセイン．SKIV2L helicase suppress HBV replication in interferon independent manner. 第 11 回 Single Topic Conference．広島，2014．11．20-21.

8) アリ・ハッサン・フセイン．The identification of a new interferon independent anti-hepatitis B virus pathway. The second Japan-Italy hepatitis meeting. 広島，2014．11．18-19.

9) 有田峰太郎：PI4KB/OSBP 経路はポリオウイルス感染で誘導される膜構造にコレステロールを蓄積する．第 62 回 日本ウイルス学会総会、横浜，2014.11.10

10) 有田峰太郎:フェノタイプスクリーニング 古くて新しい創薬手法．CBI 学会研究講演会、東京，2014.9.12.

11) 石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、八幡裕一郎、河端邦夫、金山敦宏、山岸拓也、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、齊藤剛仁、松井珠乃、大石和徳、砂川富正、脇田隆字：2014 年春季に日本で多発した A 型肝炎の分子疫学的解析、第６２回日本ウイルス学会、平成２６年１１月、横浜

12) 石井孝司:日本における A 型肝炎の現状について、第１１回日本小児消化管感染症研究会、平成２７年２月、大阪

13) 石井孝司:日本における A 型肝炎の現状について、第２９回関東甲信静支部ウイルス研究部会、平成２６年９月、長野

14) 石田豊和、久保田智巳、白土東子：ノロウイルスキャプシドタンパク質とルイス抗原との糖鎖認識機構．第8回分子科学討論会、2014年9月

15) 井手富彦、河本聡志、森口匡子、Dennis Francis Ekow、芳賀慧、藤井克樹、片山和彦、Shofiqur Rahman、梅田浩二、Sa Van Nguyen、辻孝雄、谷口孝喜：ミャンマーにおける G12P[8]ヒトロタウイルスの全塩基配列に基づく遺伝子解析　第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2014 年 11 月 10-12 日

16) 伊藤昌彦、福原崇介、鈴木亮介、田川陽一、松浦善治、脇田隆字、鈴木哲朗．HuH-7 由来オーバル細胞様細胞株 Hdo による HCV 生活環の調節に関わる分化関連宿主因子の同定．日本ウイルス学会第 62 回学術集会，　横浜，　2014 年 11 月

17）岩本将士、渡士幸一、九十田千子、Hussein Aly、藤本陽、鈴木亮介、相崎英樹、脇田隆字、深澤征義、小祝修、楠原洋之、ヒトNTCP安定発現によるB型肝炎ウイルス(HBV)感染許容性の獲得とそれを用いたHBV侵入機構の解析、第22回肝病態生理研究会、東京、2014年5月

18）岩本将士、渡士幸一、杉山真也、鈴木亮介、相崎英樹、田中靖人、溝上雅史、大谷直子、小祝修、脇田隆字、効率的なB型肝炎ウイルス(HBV)複製評価系を用いた微小管依存的なHBV複製機構の解析、第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜

19）大橋啓史、渡士幸一、中嶋翔、金ソルイ、鈴木亮介、相崎英樹、紙透伸治、菅原二三男、脇田隆字、Aryl hydrocarbon receptorによる脂肪滴形成及びC型肝炎ウイルス粒子構築の制御、第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

20）大橋啓史、渡士幸一、中嶋翔、金ソルイ、鈴木亮介、相崎英樹、紙透伸治、菅原二三男、脇田隆字、C型肝炎ウイルス粒子の構築を阻害するflutamideの作用機序の解析。第24回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014年5月

21）岡　智一郎　カリシウイルスの新知見　ウイルス性下痢症研究会．　第26回学術集会．東京大学工学部14号館141号教室．2014．11.9.

22）岡 智一郎、横山勝、高木弘隆、小島宏建、長野哲雄、岡部隆義、遠矢幸伸、片山和彦、佐藤裕徳．カリシウイルスプロテアーゼの基質を模倣した非ペプチド性化合物の抗ウイルス活性の評価．第62回日本ウイルス学会学術集会、パシフィコ横浜、2014, 11.10-12

23）沖津祥子、Aksara Thongprachum、西村修一、高梨さやか、清水博之、早川智、牛島廣治：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．第55回日本臨床ウイルス学会.札幌市、6月14日～6月15日，2014

24）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62回日本ウイルス学会学術集会.横浜市、11月10～12日、2014

25）清原知子、石井孝司、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字：10-15歳児におけるHBs抗原保有率調査、第１８回日本ワクチン学会、2014年12月、福岡

26）國戸偉丸，櫻井文教，高山和雄，脇田隆字，立花雅史，水口裕之、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞におけるC型肝炎ウイルス作用後の宿主応答の解析、日本薬学会第135年会、神戸学院大学、(2014, 3.25-28)

27）久保田智巳、石田豊和、白土東子：結晶構造を基にしたノロウイルス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．第37回日本分子生物学会年会、2014年11月

28）河本聡志、井手富彦、和久田光毅、Dennis Francis Ekow、芳賀慧、藤井克樹、片山和彦、谷口孝喜：タイで検出されたG10P[5]ブタロタウイルスP343株ゲノムの全塩基配列の解析　第62回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2014年11月10-12日

29）小谷治、藤井健、鈴木忠樹、岩田奈織子、網康至、須崎百合子、長谷川秀樹、田口文広、清水博之、永田典代．カニクイザルを用いたSaffold virusの神経病原性の病理学的解析．第62回日本ウイルス学会学術集会.横浜市、11月10～12日、2014

30）Lingbao Kong、青柳春代、松田麻未、藤本陽、渡士幸一、鈴木亮介、山越智、堂前直、鈴木健裕、鈴木哲朗、脇田隆字、相崎英樹、Prolactin regulatory element binding protein is involved in hepatitis C virus replication by interacting with NS4B. 第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月

31）佐藤弘、多屋馨子、大石和徳、清水博之．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（2013年度感染症流行予測調査より）．第18回日本ワクチン学会学術集会．福岡市、12月6～7日、2014

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因子宿主候補に関する研究、第６２回日本ウイルス学会、2014年11月、横浜

33）清水博之. ウイルス学会における利益相反管理と開示について．利益相反シンポジウム．第 62 回日本ウイルス学会学術集会. 横浜市、11 月 10～12 日、2014

34）清水博之：世界ポリオ根絶計画とポリオワクチンのこれから．第46回日本小児感染症学会学術集会. 新宿、東京、10 月 19 日，2014

35）清水博之、重症腸管ウイルス感染症の原因ウイルスと実験室診断．国立国際医療センターセミナー、東京、11 月 18 日、2014

36）下池貴志、朴英斌、戸高玲子、朴三用、脇田隆字、片山和彦：ノロウイルスRNA依存的RNAポリメラーゼのin vitro転写活性　第62回日本ウイルス学会学術集会、2014年11月、横浜

37）下池貴志、野島清子、脇田隆字、岡田義昭、河端邦夫、清原知子、石井孝司、脇田隆字、金山敦宏、八幡裕一郎、松井珠乃、砂川富正、大石和徳：A型肝炎の家族内感染についての疫学的解析（2014年上半期を中心に)、第１８回日本ワクチン学会、2014年12月、福岡

38）白砂 圭崇，谷田 以誠，清水 芳実，鈴木 哲朗，脇田隆字，花田 賢太郎，近藤 昌夫，安部 良，深澤 征義、Occludin のノックアウト肝細胞の樹立と本細胞を用いた HCV 感染の解析、日本薬学会第 135 年会、神戸、(2014，3. 25-28)

39）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. NS5A-ISDR アミノ酸変異が HCV 増殖に与える影響の解析．第 24 回抗ウイルス療法研究会総会．山梨，2014．7．8-9.

40）嵯峨涼平、藤本陽、渡邉則幸、松田麻未、長谷川慎、渡士幸一、相崎英樹、中村紀子、小西英二、加藤孝宣、田島茂、高崎智彦、竹山春子、脇田隆字、鈴木亮介、日本脳炎ウイルスおよびC型肝炎ウイルス 2 価ワクチン抗原の発現と中和抗体の誘導、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

41）武田 緑，池田 正徳，佐藤 伸哉，圍迫 浩方，脇田隆字，加藤 宣之、小胞輸送蛋白質 Rab13 は HCV 感染に必要な宿主因子である、第 18 回日本肝臓学会大会，神戸，2014 年 10 月 23-26 日

42）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、杉山真也、田中靖人、溝上雅史、脇田隆字、レチノイド阻害剤は NTCP 発現修飾を介して宿主細胞の B 型肝炎ウイルス感染感受性を消失させる、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

43）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、HBV 感染受容体 NTCP の発現調節機構の解析およびこれを阻害する低分子化合物の抗 HBV 効果、第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月

44）戸高玲子、村上耕介、岡智一郎、朴英斌、中西章、脇田隆字、片山和彦：レポーター遺伝子を内包したノロウイルス感染性粒子の作製の試み　第62回日本ウイルス学会学術集会、2014年11月、横浜

45）土橋香織、葛西宏威、田中智久、陳文家、渡士幸一、脇田隆字、山下篤哉、梁明秀、岡本徹、松浦善治、森石恆司、トリプシン・EDTA による NTCP 依存 HBV 感染の増強、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

46）外山政明、濱崎隆之、岡本実佳、渡士幸一、脇田隆字、馬場昌範、新規 7-deazaneplanocin A 及び 7-deaza-8-azaneplanocin A 誘導体の抗 HBV 効果、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

47）外山政明、濱崎隆之、岡本実佳、渡士幸一、脇田隆字、馬場昌範。HBV カプシドタンパク質を標的とした新規抗 HBV 薬の探索。第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月

48）中嶋翔、渡士幸一、紙透伸治、竹本健二、Jesus Izaguirre-Carbonell、鈴木亮介、 相崎英樹、菅原二三男、脇田隆字、天然有機化合物 Neoechinulin B を利用した liver X receptor による C 型肝炎ウイルス産生制御機構の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

49）中村朋史、有田峰太郎、清水博之：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. 第 62 回 日本ウイルス学会総会、横浜, 2014.11.10.

50）深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、岩本将士、渡士幸一、田中靖人、脇田隆字、近藤昌夫、八木清仁、花田賢太郎、効率的な HBV 感染培養細胞系の構築に関する研究、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

51）福島慎二, 中野貴司, 清水博之, 濱田篤郎. 日本人成人に対する不活化ポリオワクチン追加接種の免疫原性. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会. 福岡市、12 月 6〜7 日、2014

52）福島慎二、清原知子、石井孝司、中野貴司、濱田篤郎：不活化 A 型肝炎ワクチンの互換性研究〜エイムゲンと HAVRIX〜、第１８回日本ワクチン学会、2014 年 12 月、福岡

53) 藤井克樹：Impact of next generation sequencing technologies on whole genome analysis of rotaviruses（シンポジウム） 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2014 年 11 月 10-12 日

54) 藤井克樹：ロタウイルスの検出法と疫学調査 平成 26 度希少感染症診断技術研修会（東京）2015 年 2 月 17-18 日

55) 藤井克樹：ロタウイルスの分子疫学とロタウイルスワクチン（シンポジウム） 第 63 回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会・第 61 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会（東京）2014 年 10 月 29-31 日

56）藤本嗣人、花岡希、藤巻明日香、萩美貴、清水博之: 兵庫県で脳炎を引き起こしたエンテロウイルス 71(EV71)の分子疫学. 第 55 回日本臨床ウイルス学会. 札幌市、6 月 14 日〜6 月 15 日, 2014

57）町田早苗、清水 博之. ヒトパレコウイルス(HPeV)3 型の増殖機構の解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会. 横浜市、11 月 10〜12 日、2014

58）松田麻未、鈴木亮介、嵯峨涼平、藤本陽、渡士幸一、相崎英樹、森石恆司、岡本徹、松浦善治、黒田俊一、脇田隆字、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、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

59）宮川敬、松永智子、渡士幸一、杉山真也、溝上雅史、脇田隆字、梁明秀、宿主防御因子 Tetherin-BST2 による B 型肝炎ウイルス感染抑制とその回避機構の解明、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

60）村山 麻子, 藤原 圭, 脇田 隆字, 加藤 孝宣、C 型肝炎ウイルスの細胞培養系を用いた第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性の評価、第 50 回日本肝臓学会総会, 東京, 2014 年 5 月 29-30 日

61）村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣. C 型肝炎ウイルスが感染複製可能なベロ細胞株の樹立. 第 37 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2014. 11. 25-27.

62）村山麻子, 藤原圭, 脇田隆字, 加藤孝宣. C 型肝炎ウイルスの細胞培養系を用いた第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性の評価. 第 50 回日本肝臓学会総会, 東京, 2014. 5. 29-30.

63）安本順、葛西宏威、土橋香織、山下篤哉、渡士幸二、脇田隆字、田中智久、森石恆司、HBV 感染による細胞内脂肪滴形成への影響、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

64）山下篤哉、藤本雄介、田中智久、葛西宏威、児玉栄一、渡士幸一、脇田隆字、前川伸哉、榎本信幸、田中淳一、森石恆司、海洋生物抽出物ライブラリーソースからの B 型肝炎ウイルス転写活性抑制化合物の探索、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

65）山田典栄, 小林稔, 安田清美, 奥瀬千晃, 四柳 宏, 鈴木通博. HBs 抗原消失を目標とした核酸アナログ間欠投与の可能性に関する検討. 第 50 回日本肝臓学会総会, 東京, 2014. 5. 29-30.

66）山田典栄, 小林稔, 奥瀬千晃, 鈴木通博, 四柳宏, 加藤孝宣, 安田清美. 首都圏における B 型急性肝炎 genotype の変遷. 第 40 回日本肝臓学会東部会,

東京, 2014. 11. 27-28.

67) 山本達郎, 櫻井文教, 高山和雄, 立花雅史, 渡士幸一, 脇田隆字, 飯島沙幸, 田中靖人, 水口裕之、ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞の B 型肝炎ウイルス感染評価系への応用、日本薬学会第 135 年会、神戸学院大学、(2014, 3.25-28)

68) 山本達郎、櫻井文教、高山和雄、立花雅史、渡士幸一、脇田隆字、飯島沙幸、田中靖人、水口裕之、ヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞を用いた B 型肝炎ウイルス感染評価系の開発、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

69) 横川寛, 中村紀子, 東濃篤徳, 鈴木沙織, 明里宏文, 加藤孝宣, 石井孝司, 脇田隆字. 培養細胞由来 C 型肝炎ウイルス粒子のマーモセットにおけるワクチン効果の検討. 第 37 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2014. 11. 25-27.

70) 横川寛, 中村紀子, 東濃篤徳, 鈴木沙織, 明里宏文, 加藤孝宣, 石井孝司, 脇田隆字. 培養細胞由来 HCV 粒子のマーモセットにおける抗 HCV 抗体誘導能の検討. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014. 11. 10-12.

71) 吉田弘 「エンテロウイルス感染症の動向と環境水サーベイランスについて」神奈川県衛生研究所 平成２５年度第２回公衆衛生専門技術研修 2014.2.25

72) 吉田弘 「ポリオ環境水サーベランスについて」平成２６年度中国四国地域レファレンスセンター連絡会議 2014 年 11 月 21 日

73) 吉田弘 「感染症サーベイランスにおける病原体検査の精度管理導入に向けた検討状況」 埼玉県衛生研究所 2015 年 2 月 20 日

74) 吉田弘「環境水ウイルスサーベイランスでわかること」平成 25 年度第２回健康福祉局衛生研究所衛生技術研修会 2014 年 3 月 14 日

75) 史国利、安東友美、鈴木亮介、松田麻未、伊藤昌彦、中島謙治、脇田隆字、鈴木哲朗. 肝細胞を用いた B 型肝炎ウイルス感染評価系の開発、第 014, 3.25-2 日本ウイルス学会第 62 回学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

76) 李 天成, 米満 研三, 寺田 豊, 片岡 紀代, 網 康至, 須崎 百合子, 岸田 典子, 白倉 雅之, 浅沼 秀樹, 前田 健, 武田 直和, 脇田隆字、Ferret HEV 抗体検出系の樹立および疫学調査、第 157 回日本獣医学会学術集会、札幌、(2014, 9.9-12)

77) 李天成、網康至、須崎百合子、浅沼秀樹、岸田典子、白倉雅之、武田直和、脇田隆字。フェレット E 型肝炎ウイルスの病原性と E 型肝炎動物モデル。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、2014 年 11 月 横浜.

78) 脇田隆字, 相崎 英樹, 渡士 幸一、C 型肝炎ウイルス生活環全体を標的とした新規作用を有する抗ウイルス剤の探索、第 50 回日本肝臓学会総会, 東京, 2014. 5. 29-30.

79) 脇田隆字、B型肝炎ワクチン定期接種化と肝炎ウィルスの基礎研究に関する話題、肝炎治療講演会、ウィリング横浜（2015, 3.28）講演

80) 脇田隆字、Ｃ型肝炎ウイルスの複製増殖機構の解析、第１６回仙台Liver Meeting、ウェスティンホテル仙台、(2014, 7.5) 特別講演

81) 脇田隆字、肝炎ウイルスの基礎研究、第５回肝臓よろず勉強会、静岡第一ホテル、(2014, 11.2) 講演

82) 脇田隆字、肝炎研究Up date、第１６回PEGクラブin広島、リーガロイヤルホテル広島、(2014, 10.31) 特別講演

83) 脇田隆字、相崎英樹、渡士幸一、C型肝炎ウイルス生活環全体を標的とした新規作用を有する抗ウイルス剤の探索、第50回日本肝臓学会総会、東京、2014年5月

84) 渡士 幸一, 相崎 英樹, 脇田 隆字、肝炎ウイルスに対する創薬研究 培養系を用いた抗B型肝炎ウイルス化合物の同定と作用機序解析、第 50 回日本肝臓学会総会, 東京, 2014. 5. 29-30.

85) 渡士幸一、Ann Sluder、松永智子、梁明秀、森下了、岩本将士、九十田千子、鈴木亮介、相崎英樹、Katyna Borroto-Esoda、田中靖人、楠原洋之、杉山

真也、溝上雅史、脇田隆宇、B 型肝炎ウイルス(HBV) large S タンパク質と NTCP の相互作用阻害による抗 HBV 戦略、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

86) 渡士幸一、Ann Sluder、松永智子、梁明秀、森下了、岩本将士、九十田千子、鈴木亮介、相崎英樹、Katyna Borroto-Esoda、田中靖人、楠原洋之、杉山真也、溝上雅史、脇田隆宇、B 型肝炎ウイルス(HBV)L タンパク質と NTCP の相互作用阻害による抗 HBV 戦略、第 24 回抗ウイルス療法研究会総会、富士急、2014 年 5 月

87) 渡士幸一、相崎英樹、脇田隆宇、培養系を用いた抗 B 型肝炎ウイルス化合物の同定と作用機序解析、第 50 回日本肝臓学会総会、東京、2014 年 5 月

III. その他

1) 片山和彦 第 11 回日本小児消化管感染症研究会教育講演 ノロウイルスの最近の知見 大阪大学中之島センター・大阪市, 2015 年 2 月 7 日

2) 片山和彦 第 15 回北多摩北部感染対策研究会 ノロウイルス感染症 国立療養所東京病院講義室, 2014 年 11 月 25 日

3) 片山和彦 小児感染症学会 ランチョンセミナー ノロウイルスの最近の知見 東京都京王プラザホテル, 2014 年 10 月 19 日

4) 片山和彦 小金井市医師会講演会 知っているようで知らないノロウイルス” 東京都小金井市医師会ホール, 2014 年 9 月 8 日

5) 片山和彦 第 39 回食品衛生懇話会 “食品安全行政の現状と最近の諸問題について・ノロウイルスの最近の知見について 日本食品衛生協会 渋谷区神宮前, 2014 年 8 月 1 日

6) 片山和彦 特定非営利活動法人食の安全を確保するための微生物検査協議会 知っているようで知らないノロウイルス 日本橋, 2014 年 11 月 27 日

7) 片山和彦 “知っているようで知らないノロウイルス” 健康公開講座 NHK 横浜放送局共催横浜市民講座・神奈川県横浜市, 2014 年 11 月 15 日

8) 片山和彦 ウイルス学会サテライトセミナー 横浜市民講座 “ノロウイルス” 日本ウイルス学会・神奈川県横浜市, 2014 年 11 月 9 日

9) 片山和彦 ノロウイルス 郡山市保健課・日本食品衛生協会 福島県郡山市, 2014 年 10 月 21 日

10) 片山和彦 感染研公開 クイズ・これであなたもノロ博士 感染研戸山庁舎, 2014 年 10 月 4 日

11) 片山和彦 愛知県感染症予防指導者セミナー ノロウイルスの最近の知見について 愛知県名古屋市, 20114 年 8 月 18 日

12) 片山和彦 ノロウイルス感染症の高齢者施設における実態と対策 ノロウイルスの最近の流行状況 第 6 回 J 感染制御ネットワークフォーラム 教育セミナー10 宮城県仙台市, 2014 年 8 月 23 日

13) 片山和彦 メディア意見交換会 “知っているようで知らないノロウイルス” 感染研戸山庁舎, 2014 年 7 月 28 日

14) 片山和彦 日本ウイルス学会北海道支部 第 48 回夏季シンポジウム“ウイルス研究の基礎から応用への橋渡し”(北海道上川郡美瑛町白金温泉国立大説青少年交流の家) 特別講演 ノロウイルス研究のトピックス, 2014 年 7 月 12 日

15) 片山和彦 ノロウイルスなんて怖くない 知の広場・シラバス 感染研戸山庁舎, 2014 年 6 月 24 日

16) 片山和彦、藤井克樹 ロタウイルス感染症とロタウイルスワクチン 講義 対象:横浜市立大学医学部社会予防医学教室 感染研村山庁舎, 2014 年 6 月 19 日

17) 片山和彦 戸山学習館研修 ノロウイルスなんてこわくない! 感染研戸山庁舎, 2014 年 6 月 13 日

18） 染谷雄一（国際会議出席）Sabin IPV D Antigen Content & Potency Harmonization Meeting（PATH 主催）ワシントン D.C.(米国), 2014 年 9 月 24 日

19） 政木隆博. Role of miR-122 in the Hepatitis C Virus Life Cycle. 第 8 回 IUHW 国際肝臓セミナー，東京，2014 年 11 月 17 日

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。

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、全国の地方衛生研究所の協力のもとに全国的、ならびに世界保健機関（WHO）との連携のもとに国際的実験室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、流行株の詳細な調査によってわが国が、WHO 西太平洋地域事務局の麻疹排除認定委員会から麻疹排除認定を受けた（平成27年3月）ことに大きく貢献した。また、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等を進めている。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、新規ワクチン開発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、実際の実験室診断に役立てている。また、MERS コロナウイルスや、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

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、可能な限り早い麻疹排除の達成を目指している。麻疹排除は、「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 年間以上ない状態」と定義されており、質の高いサーベイランス体制として、精度管理された施設において 80%以上の麻疹疑い症例が検査診断されている事が求められている。また、排除が近づいた段階においては、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も求められている。2007 年以降、地方衛生研究所を中心とした RT-PCR 法による麻疹遺伝子検査体制の整備を進めてきた。昨年度は麻疹症例数の約 80%で PCR による麻疹の検査診断が実施され、麻疹ウイルスの遺伝子型解析がなされた。これらは WHO の求めるサーベイランス体制に近づいた事を示す。その下で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、また、検出されたウイルスの大部分が遺伝子型 D9、D8、H1, B3 型であり輸入麻疹例と考えられた。さらに民間検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査の実態も調査した。これらからサーベイランス体制は排除を評価しうる水準にあり、その環境ですでに３年間以上 D5 型麻疹ウイルスは検出されていない事を示した。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る。一方、病原体検出マニュアルを改訂し標準化した real-time PCR 法を記載した、また、22 カ所の地方衛生研究を対象に、RT-PCR 法に対する精度管理を行った。今後も地方衛生研究所と協力し、これらの活動を通して、高い精度を維持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

継続的な免疫抑制療法を受けている生体肝移植児がウイルスに罹患した場合、症状が重篤化することが懸念されている。そのため、日本小児腎臓病学会は、臓器移植児へのワクチンの接種を奨励している。本研究では、弱毒生麻疹・風疹混合生ワクチンを接種した生体肝移植児の免疫応答を解析し、ワクチンの効果を評価した。IFN-γELISPOT 法を用いて細胞性免疫応答について解析を行ったところ、315 検体のうち 98 検体で陽性反応が認められた（陽性率 31.1%）。また、278 検体の液性免疫応答を PA 法で測定したところ、216 検体で陽性反応が認められた（陽性率 77.7%）。細胞性免疫応答の陽性

率とワクチン接種回数の関係を統計解析した結果では、陽性率と接種回数に関連は認められなかった。今後は、液性反応とワクチン接種回数との関連、免疫状態と免疫応答の関連を解析し、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ワクチンの開発に関する研究

弱毒生ワクチンの開発が難しい感染症に対しては、既存の生ワクチンをベースとした組換えワクチンの開発が候補の一つとなり、その効果について多くの報告がされている。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。外来抗原の発現コントロールとして、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。次に、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。AIK-C-EGFP、AIK-C-gp145 の増殖は、親株の AIK-C に比べるとそれぞれ 1/2、1/10 ほど低下していた。今後は、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 Nectin-4 分子利用能に関する研究

麻疹ウイルス(MV)ワクチン株は初代鶏胚線維芽細胞（CEF）に馴化しており良く増殖する。しかし CEF でのウイルス受容体はまだ明らかでない。本研究では、胚細胞によく発現し MV 受容体として機能する nectin-4 分子が、CEF にも発現し MV 受容体として機能するか解析を行った。CEF nectin-4 遺伝子をクローニングし、本分子を安定発現する CHO 細胞を作製した（CHO/CEFNectin-4）。次に EGFP 発現組換えウイルス(IC323-EGFP)、ワクチン株 AIK-C の H 遺伝子に置換した組換えウイルス（IC323/AIKH-EGFP）、また H タンパク質に nectin-4 の利用能を減少させるアミノ酸変異を導入した組換えウイルスを CHO/CEFNectin-4 細胞とウイルス受容体 SLAM およびヒト nectin-4 分子を発現する CHO 細胞（CHO/hSLAM, CHO/hNectin-4）、CEF 由来株化 UMNSAH/DF1 細胞へ感染させ解析した。また、CEF を用いて EGFP 発現組換えワクチン株麻疹ウイルス（AIK-le-EGFP）の感染が抗 nectin-4 抗体により阻止されるか検討した。CEF nectin-4 のアミノ酸配列をヒト nectin-4 のアミノ酸配列と比較すると相同性は低いが、MV H タンパク質との結合に重要とされる部位のアミノ酸配列は良く保持されていた。CHO/CEFNectin-4 細胞では IC323-EGFP および IC323/AIKH-EGFP の感染後、CHO/hSLAM、CHO/hNectin-4 細胞より遅れて巨細胞形成が認められた。nectin-4 分子の利用能を減少させた組換えウイルス感染では、CHO/CEFNectin-4 での巨細胞形成は認められず、感染効率は減少した。また、CEF への AIK-le-EGFP 感染では抗 nectin-4 抗体により感染細胞の減少が認められた。これらの結果から、CEF nectin-4 分子は MV 受容体として機能することが明らかになった。[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。麻疹ウイルスの細胞内動態をより詳細に解析するために、感

染細胞内でのウイルスタンパク質と宿主構造体の経時的な局在変化とウイルス粒子形成の関係性を解析した。共焦点レーザー顕微鏡を用いた局在解析の結果、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る事が明らかとなった。また、輸送された L タンパク質が、その他の構造タンパク質である M および H タンパク質と細胞膜付近で集合し、膜付近の細胞骨格と共に特徴的な構造体を形成していることが観察された。細胞骨格を脱重合する薬剤で処理すると、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および出芽過程に細胞骨格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,Pin1）と蛍光タンパク質 EFPF を導入した組替えウイルスである。さらに麻疹ウイルスベクターで作製した iPS 細胞は従来の方法で作製した細胞と比較して、より初期化段階の進んだ基底状態であることが分かった。[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]

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹実験室診断系の整備に関する研究

「風しんに関する特定感染症予防指針」が発効され、日本からの風疹排除が目標として掲げられた。それに伴い、地方衛生研究所等における風疹検査の整備がよりいっそう求められるになった。昨年までに風疹検査の迅速化ならびに信頼性向上のため、風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time PCR の確立および評価をおこなってきた。その結果、本法は、特異度は高いが、これまで実施されてきたコンベンショナル RT-nested PCR よりやや感度が劣ることが示された。そこで、運用方法によりこの問題点を克服できないか検討した。適切な発症後の期間（発症後５日まで）かつ適切な検体種（咽頭拭い液、尿）を用いること、さらに同一患者から複数種の検体を採取し、使用することで偽陰性率を下げることが出来ることが分かった。これを踏まえ、病原体検出マニュアルに Real-time PCR の記載を追加し、地方衛生研究所等で使用できるよう公開した。[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]

2. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の確立に関する研究

RT-LAMP 法は簡便かつ迅速に RNA を検出できる方法として感染症の診断に応用されている。我々も以前に風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法を構築したものの、十分な感度が得られなかった。そこで今回、プライマーを再設計し、高感度かつ様々な遺伝子型の風疹ウイルス RNA を検出できるような RT-LAMP 法の構築を目指した。プライマーセットは風疹ウイルス間で保存性の高いゲノム RNA の 5’末端付近に設定した。このプライマーセットによる感度はおよそ反応 5 コピーで、前回のプライマーセットによるものより感度が上がり、さらに反応時間も改善された。また Real-time RT-PCR と比較

してもより感度が若干低い程度で、十分な性能であった。一方で、やや非特異反応がでることが問題として挙げられたが、蛍光プローブで検出をおこなうことで非特異反応が見られなくなった。今後は種々の遺伝子型ウイルスに対する検出感度および実際の臨床材料からの検出を試みる予定である。[森嘉生、岡本貴世子、諏訪麗子、影山努＊、竹田誠：＊インフルエンザ研究センター]

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ている。今年度は、成育医療センターより送付された肝移植患者検体 15 検体の測定を行った。結果は全て陰性であったが、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において比較的多数のスポットが出現したものが 1 検体、ポジティブコントロールでほとんど反応しなかったものが 1 検体存在した。水痘および麻疹に比較して、風疹の細胞性免疫が陽性となる検体数が著しく少ないことから、既往のない小児の検体を用いて比較する必要があると考えられた。［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

2013 年に成人男性を中心とする風疹の流行があった。流行株の解析を行うため、E1 遺伝子内遺伝子型決定窓領域について遺伝子配列の決定された株での系統学的解析を、昨年度より株数を増やして行った。その結果、2010 年から 2013 年までの風疹ウイルス株は、系統樹上で複数の異なるクラスターに分類されることから、異なる由来のウイルスが日本に侵入したものと考えられた。2012 年の流行は通常の流行と異なり、夏季に始まり冬期でも患者数が維持され、2013 年の流行が引き起こされている。そのため、2012 年の流行株と 2013 年の流行株は同一のものが考えられたが、詳細な解析を行ったところ、2012 年に散発的に検出されていた株が 2013 年の主要な流行株となっており、2012 年の流行株は 2013 年では早期のみの検出に留まっていた。2013 年に主流であったクラスターのウイルスは 2014 年まで継続的に検出されていた。これらの日本の株はいずれもアジア諸国で認められるウイルスと近縁であり、頻繁に日本に侵入していることが示唆された。[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）を有し、風疹ウイルスが HA 活性を示すのに赤血球上に存在するスフィンゴミエリン（SM）が重要な役割を果たすことをこれまでに明らかにしてきた。そこで SM が風疹ウイルスの細胞への感染に関与するかを検討した。その結果ウイルス感染前に細胞を SM 分解酵素であるスフィンゴミエリナーゼ（SMase）で処理することにより風疹ウイルスの細胞への感染が著しく抑制されることを明らかとした。また一回感染型の風疹ウイルス様粒子を細胞に氷上で吸着させた後、37℃で 0,20,60 または 120 分培養し、その後 SMase 含有培地を加え 3 日間培養して感染効率を検討した。この結果 SMase の添加時間が遅くなるにつれ感染抑制効果が低下することを明らかとした。これらのことより、細胞上の SM は風疹ウイルスの感染初期に重要である事が考えられ，SM が風疹ウイルスの受容体の一つであることが考えられた。[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HA阻害活性および中和活性のある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 とステム領域にそれぞれ1つずつ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およびステム領域の役割を昨年度に引き続き検討した。ドメインIIIおよびステム領域の推定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、1つの変異によって、培養細胞への感染性に影響がほとんど認められなかったものの、HA活性の著しい低下が認められた。また、逆に HA 活性にほとんど影響が認められなかったものの、培養細胞への感染性が大きく低下する変異も認められた。これらの結果から、ドメイン3およびStem領域にはウイルス感染性および HA 活性に関わる部位が存在することが明らかとなった。また、HA活性は培養細胞への感染性には必須ではないことが示唆された。[安楽正輝、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

7. 風疹ウイルスエンベロープを持つシュードタイプウイルスの作製

風疹ウイルスの自然宿主はヒトに限定され、ウイルス血症により全身感染を引き起こすと考えられている。しかし、自然宿主がヒトに限定される理由や体内伝播における主要な増殖組織等については、不明な点が多い。風疹ウイルスの細胞侵入機構を解析するために風疹ウイルスのエンベロープタンパク質を持つ水疱性口内炎ウイルス（風疹ウイルスシュードタイプ VSV:RVpv）の作製を試みた。風疹ウイルスのエンベロープタンパク質（E2,E1）あるいは粒子を構成する構造タンパク質群（C,E2,E1）を細胞へ発現させた後、単感染G遺伝子欠損 VSV を感染させて RVpv（RVpv E2E1 および RV CE2E1）の作製を検討した。RV E2E1 と RV CE2E1、どちらも感染性を示したが、RV E2E1 と比較して RV CE2E1 の感染性は高かった。更に、RVpv の感染が風疹ウイルスのエンベロープタンパク質を介しているか確認するために抗風疹ウイルス血清を用いて中和実験を行った。その結果、RVpv が抗風疹ウイルス血清により特異的に中和されることを確認した。以上の結果から、風疹ウイルスのエンベロープタンパク質を持つシュードタイプウイルスの作製に成功したと考えられる。[坂田真史、谷英樹*、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生：*ウイルス第一部]

8. 風疹ウイルスのヒト由来感受性細胞の探索

風疹ウイルスの自然宿主はヒトのみに限られる。しかし、ヒト由来培養細胞において、効率よく風疹ウイルスが増殖する細胞はほとんど明らかになっていない。そこでヒト由来の種々の細胞株を用いて、風疹ウイルスに対する感受性を検討した。その結果、ある組織由来の細胞では一般的なヒト細胞株と比較して、50-100倍高い感受性を示すことが分った。ウイルスが細胞へ侵入する際に利用する受容体は感受性を決定する重要な因子であることから、これまでに同定されている風疹ウイルス受容体 MOG の発現をこれらの細胞株について検討したが、既知の受容体の発現は認められなかった。これらのことから、これらの細胞株はヒト細胞での風疹ウイルス増殖のモデルになる可能性があること、更にその感染は新規受容体により成立することが示唆された。[坂田真史、安楽正輝、竹田誠、森嘉生]

III. ムンプスウイルスに関する研究

1. 上衣細胞特異的 miRNA の相補配列を導入した新規ムンプスワクチン候補株の作製

現行の国産おたふくかぜ(ムンプス)ワクチンは、副反応としてワクチン接種後の無菌性髄膜炎の問題を抱えている。これは高い神経親和性を有するムンプスウイルス(MuV)が脳上衣細胞で増殖することで、炎症が誘発されるためと考えられている。そこで上衣細胞特異的に

MuV の増殖を抑制するために、上衣細胞に高発現する microRNA である miR449 の相補配列をゲノムに有する組換え MuV (rOdate/miR449)を遺伝子操作系によって作出し、その増殖能および神経病原性について解析を行った。Vero 細胞における rOdate/miR449 の増殖能は親株である rOdate とほぼ同等であった。一方、ラットの脳における rOdate/miR449 の増殖は rOdate と比べ、著しく低下していた。また rOdate 感染ラットの脳では観察された脳室脈絡叢炎が rOdate/miR449 接種群ではほとんど観察されず、上衣細胞における抗原もわずかに検出されるのみであった。rOdate/miR449 接種群では脳室拡張を指標とする神経病原性も減弱しており、miR449 相補配列をゲノムに組み込む手法はより安全なおたふくかぜワクチンの開発に有用であると考えられた。［加藤大志、永田典代*、竹田誠、木所稔：*感染病理部］

2. 極性上皮細胞におけるムンプスウイルスの増殖機構の解析

ムンプスウイルス(MuV)は全身感染を起こすが、特に上皮細胞を標的とするウイルスである。そこで上皮細胞における MuV の増殖機構を明らかにするために、極性化 MDCK 細胞を用いて解析を行った。MuV の細胞侵入は Apical 面および Basolateral 面の双方から可能であったのに対し、ウイルス粒子の放出はほぼ Apical 面からに限局された。またウイルス粒子を構成するコンポーネントのうち、リボ核酸タンパク質複合体(RNP)は Rab11 依存的に Apical 面へと輸送された。さらに微小管重合阻害剤である Nocodazole 処理によって RNP の Apical 面への輸送が阻害されたことから、Rab11 および微小管を介した RNP の Apical 輸送が極性上皮細胞にけるウイルスの産生に重要であることが示された。［加藤大志、中津祐一郎、久保田耐、竹田誠、木所稔］

3. コウモリ由来ムンプスウイルスの性状解析

近年、アフリカの食果コウモリからヒトのムンプスウイルス(MuV)に非常に近縁なウイルス(African bat mumps virus: ABMuV)が検出された。これまでに ABMuV の分離報告はないため、遺伝子操作系を用いて、ABMuV の膜タンパク質をもつ組換え MuV を作製し、その性状解析を行った。MuV の膜タンパク質である F タンパク質および HN タンパク質をそれぞれ単独または両方 ABMuV のものに置換したウイルスはヒト由来細胞およびコウモリ由来細胞において親株とほぼ同等な増殖を示した。また ABMuV の膜タンパク質を持つ組換えウイルスは MuV ワクチン株の抗血清および健常ヒト血清によって中和された。このことは現行のワクチンによって、ABMuV が防御可能であることを示唆し、コウモリ由来新興感染症のリスク評価を行う上で重要な知見であるといえる。

［加藤大志、久保田耐、前田健*、竹田誠、木所稔：*山口大学共同獣医学部獣医微生物学］

4. コモンマーモセットにおけるムンプスウイルス経鼻感染によるムンプス様感染病態の再現

新たなワクチンを開発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感染の優れたモデル動物であることを明らかにしてきた。今回我々は、ワクチンの免疫原性（特に感染防御免疫）を評価するための攻撃接種を想定して、マーモセットに野外強毒株である大館株を経鼻感染させ、その後の病態を観察した。予め体温測定用の発信器を腹腔内に挿入したマーモセット 5 頭（非免疫群 3 頭、および Jeryl Lynn 株免疫群 2 頭）に、10^4 PFU の大館株を経鼻接種し、体重、体温、活動性、中和抗体価、血中ウイルス量（BVL）を経時的に測定した。接種後 5 週目に解剖し、中枢神経系、リンパ組織、主要臓器について、病理学的、ウイルス学的な検索を行った。

その結果、非免疫群 3 頭においては、野外株接種後、全個体で体重減少が観察され、内 2 頭では接種後 2–3 週で有意な体温上昇が観察された。体温上昇を認めなかった 1 個体では接種後 4 週から、血中アミラーゼの上昇を認めた。発熱した 2 個体の BVL は接種後 1 週目から急激

に上昇し、以後暫減するも少なくとも 4 週まで持続した。発熱しなかった個体では BVL 上昇が 1 週ほど遅れ、値も 1 オーダー低かった。中和抗体価はウイルス血症の後、数日から 1 週遅れて上昇し、全頭で約 4^6 倍の高値を示した。一方、免疫群では発熱を含む臨床的変化は認めず、体重も増加傾向を示した。ウイルス血症も認めず、中和抗体価は暫減もしくは緩やかな上昇を示すのみであった。

解剖の結果では、発熱個体ではいずれも中枢神経系の組織に髄膜炎様の変化を認め、MuV ゲノムも検出された。一方、非免疫群で発熱の無かった 1 個体では膵臓と精巣に顕著な炎症像を認め、ウイルスゲノムも検出された。精巣においては MuV 抗原も陽性であった。経鼻感染による発熱を伴う発症はムンプスの動物モデルでは始めてである。一方、免疫群ではウイルス血症も臨床症状も認められず、顕著な中和抗体の上昇もないことから、攻撃感染に対して完全に耐過したと考えられる。以上の結果から、マーモセットは、ヒトにおける MuV 感染の病態を忠実に再現しうるだけでなく、ワクチンの有効性評価にも利用しうることが始めて示された。

［木所稔、加藤大志、青木なつ子、網康至＊、須崎百合子＊、永田典代**、長谷川秀樹**、安楽正輝、竹田誠：＊動物管理室、**感染病理部］

5. 全国的なサーベイランス網の構築と国内流行株の解析

昨年度に引き続き全国 20 ヶ所の地方衛生研究所からムンプスのサーベイランス情報と検体の提供の協力を得ることができた。その結果、27 例のムンプスウイルスの検出情報（塩基配列、および検体に係わる患者情報）を、感染研に提供して頂いた。

その内の 19 例が 2014 年の分離例で、残り 8 例は 2013 年分離例であった。19 例中 3 例がワクチン株（ワクチン接種後の副反応例）であった。ワクチン株以外の分離例は全て遺伝子型 G であり、しかもその全てがいわゆる西日本型(Gw)であった。今回提供を受けた検体の内、2 例以外は東日本地域の地衛研から提供されたものであることから、2014 年の流行は Gw が主流となっていることが推察された。

［木所稔、青木なつ子、竹田　誠、庵原俊昭*、落合　仁**、渡辺正博***、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、****秋田県健康環境センター、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、静岡市環境保健研究所、愛知県衛生研究所、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、山口県環境保健センター、高知県衛生研究所、北九州市環境局環境科学研究所、熊本県保健環境科学研究所］

6. 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）検出された。このうち 3 株（星野株型 2 株、および鳥居株型 1 株）は患者に接種歴が無いことから、ワクチン株による水平感染が強く疑われた。この3株には副反応例由来株には無いL遺伝子内の変異が検出されたため、水平感染が起こる原因を解明し、ワクチンの品質管理および新規ワクチン開発に資するため、これら 5 株の分離ウイルスについて、その病原性を新生ラット感染モデル系で解析すると共に、元のワクチンウイルス中に水平感染ウイルスと同じ変異を持つポピュレーションが含まれているかどうかを、NGS によるディープシーケンシングによって解析した。

新生ラットでの中枢神経病原性については、

星野株由来株では、いずれの株においても比較的脳室拡張の程度が大きかったが、ばらつきが大きく、水平感染例株と副反応例由来株、およびワクチン株間で比較しても、統計学的有意差は認められなかった。

一方、鳥居株ではワクチン株に比べて水平感染例株のNVTscore は有意に大きくなっていた(p =0.02)。
NGS を用いたワクチンのバリアント解析の結果、水平感染例株と同じ変異は検出されなかった。しかし、RNA sequencing による解析では coverage が低いために低頻度のバリアントは検出できず、また増幅した cDNA による Replicon sequencing では高い coverage は得られたものの、RNA sequencing との結果に齟齬が認められることから、前提となる解析方法の更なる検討が必要であることが明らかとなった。従って、今回の結果だけでは、ワクチン中に水平感染例株と同じ変異が含まれるかどうかは判断できないと考えられる。しかし、含まれていたとしても、その含量は極めて低いことが予想される。また、通常の副反応例５例を解析した結果からは、L 遺伝子内の変異が検出されないことからも、水平感染ウイルス特有の変異は接種後に獲得した可能性が示唆され、またその頻度も低いことが予想される。今後は、水平感染ウイルスが由来したと想定されるワクチン原液そのものを解析することにより、水平感染が発生するメカニズムを解明する予定である。

［木所稔、青木なつ子、加藤大志、竹田　誠、渡辺正博＊、落合　仁＊＊ 、庵原俊昭＊＊＊
:＊すずかこどもクリニック＊＊落合小児科医院、＊＊＊国立病院機構三重病院］

IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

１．中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)の RT-LAMP 法による検査法の開発

2012 年に発生した中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)による重症肺炎は現在も中東を中心として流行が続いている。現在 MERS-CoV の診断は、主にリアルタイム RT-PCR による遺伝子検出によって行われている。MERS-CoV の発生後、直ちに Corman らによって TaqMan プローブを用いた MERS-CoV 検出法が報告され、中でも E 蛋白質上流(upE)および ORF1a 遺伝子を標的とする 2 つのアッセイが、世界で主に利用されている。しかし 2013 年 7 月 3 日に世界保健機構(WHO)から発表された MERS-CoV の症例定義では、陽性とするためには少なくとも 2 種の異なる遺伝子ターゲットによって検出されることが必要とされている。従って、MERS-CoV の診断効率を上げるためには、上記の 2 種の TaqMan アッセイ以外に多くの遺伝子検出法を開発することが有用と考えられる。そこで本研究では、日本国内で広く利用されている RT-LAMP 法を利用した MERS-CoV 検出法の開発を行った。MERS-CoV EMC 株(JX869059)の配列を基に Primer Explorer V4 を用いてプライマー設計を行った。RT-LAMP 法の 6 つのプライマーは、ウイルスの Nucleocapsid (N) protein の保存領域に設定された。RT-LAMP 反応は Loopamp RNA Amplification Kit および濁度計(LA-320C)を用いて行った。今回開発した RT-LAMP 法は、MERS-CoV ウイルス RNA を 3.4 コピーまで検出することが可能であり、検出感度は既報の TaqMan アッセイと同程度であった。またインフルエンザやヒト RS ウイルスなど他のヒト呼吸器ウイルスとの交差反応は見られなかった。従って本法は MERS-CoV の遺伝子診断法として有用であると考えられ、upE および ORF1a 領域を標的とする TaqMan アッセイに本法を加えることで、MERS-CoV の遺伝子診断の確実化に貢献すると考えられる。 [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

MERS コロナウイルス(MERS-CoV)及びヒトコロナウイルス２２９E（HCoV-229E）は細胞侵入するとき、細胞のプロテアーゼを利用する。プロテアーゼの種類によって２つの経路を通ることが解っているが、１つ目は細胞外のプロテアーゼを利用してスパイク蛋白を活性化し細胞表面から侵入するものであり、２つ目はエンドソームに取り込まれた後に、カテプシン L により活性化されエンドソームから侵入するものである。我々は上記２種ウイルスについて、臨床検体から分離されたウイルスは、培養細胞での継代を重ねたウイルスと較べてカテプ

シン利用効率が著しく低いことを見出した。この理由について、コロナウイルスがエンドソームを介して侵入した場合、サイトカインが誘導され、抗ウイルス効果が発揮されるため、ウイルスはエンドソームを避けるように進化したと考え、証明を試みている。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

３．国内ヒトコブラクダの MERS コロナウイルス検査

日本国内に棲息するヒトコブラクダが、MERS コロナウイルスを保持していないことを確認するための検査をおこなった。日本動物園水族館協会に所属する全国の動物園と鳥取砂丘のヒトコブラクダから検体を入手し、検査をおこなった。１８頭から採取した鼻腔ぬぐい液と糞便にウイルス遺伝子は検出されず、５頭から採取された血清中にもウイルスに対する抗体は見つからなかった。日本国内のヒトコブラクダの個体数は３０頭程度であり、本検査はそれぞれが小さい集団で飼育されているため、ウイルスが伝播する可能性は極めて低いと考えられる。過去５年間にラクダの輸入実績は無く、MERS-CoV が国内ラクダの中で維持されているとは考え難い。つまり、日本のヒトコブラクダに MERS コロナウイルスが蔓延していないと考えられる。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

4. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、B 型インフルエンザウイルスのマウス生体内での増殖に必須ではない

我々は、マウス生体内での季節性 A 型インフルエンザウイルスの増殖に宿主プロテアーゼである TMPRSS2 が必須であることを証明した（Sakai et al. 2014. J. Virol.）。A 型インフルエンザウイルスと同じオルソミクロウイルス科に属する B 型インフルエンザウイルスのマウス生体内における TMPRSS2 の影響を解析した。TMPRSS2 遺伝子をノックアウトしたマウス（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）に B 型インフルエンザウイルス 4 株（マウス馴化株 1 株とヒト臨床分離株 3 株）をそれぞれ経鼻感染させ、ウイルス学的・病理学的解析を実施した。KO マウスと WT マウスで比較した場合、臨床症状、体重減少及び致死率には有意な差は認められなかった。また、KO マウス及び WT マウスの感染肺のウイルス力価及び病理学的解析において顕著な差は認められなかった。したがって、季節性 A 型インフルエンザウイルスとは異なり、B 型インフルエンザウイルスの病原性の発現に TMPRSS2 は必須でないことが明らかとなった。[酒井宏治、網康至*、安楽正輝、中島典子**、駒瀬勝啓、長谷川秀樹**、高下恵美***、浅沼秀樹***、小田切孝人***、田代眞人***、竹田誠：*動物管理室、**感染病理部、***インフルエンザウイルス研究センター]

5. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、センダイウイルスの病原性決定因子のひとつである

パラミクソウイルス科のウイルス増殖や病原性の発現への TMPRSS2 の関与の有無を、マウス感染モデルとして有用なセンダイウイルス（SeV）を用いて調べた。WT マウスの 50%致死量の 5 倍のウイルス量を用いた攻撃後、TMPRSS2 KO マウスでは致死や顕著な体重減少は認められなかった。WT マウスと異なり、KO マウスの感染肺のウイルス力価及び病理学的解析において、効率的なウイルス増殖や抗原の伝播が認められなかった。以上より、TMPRSS2 は SeV（fushimi 株）のマウス体内での病原性発現に大きく関与していることが示された。今後は、他の分離株を用いて、センダイウイルス全般において、TMPRSS2 が病原性因子であるかどうかを明らかにしたい。［酒井宏治、網康至*、安楽正輝、中島典子**、駒瀬勝啓、長谷川秀樹**、田代眞人***、竹田誠：*動物管理室、**感染病理部、***インフルエンザウイルス研究センター］

6. H3N2 亜型インフルエンザウイルスの HA タンパク質糖鎖欠失による TMPRSS2 非依存的なウイルス増殖

インフルエンザウイルスは、宿主プロテアーゼによる

HA タンパク質の開裂により、感染力を獲得する。呼吸器上皮細胞に発現する II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 の遺伝子発現をノックアウトしたマウス（tmprss2^{KO} マウス）を用いて、TMPRSS2 が HA 開裂部位に mono-basic なアミノ酸配列を持つ IAV のマウス肺内でのウイルスの開裂・活性化、それに続く増殖・病原性発現を規定する宿主因子であることが明らかとなっている(Sakai et al. J Virol 2014; Hatesuer et al. PLoS Pathog 2013; Tarnow et al. J Virol 2014）。しかし、我々や Hatesuer らのグループと異なり、Tarnow らのグループでは、H3N2 の開裂に TMPRSS2 は必須な宿主因子ではなかった。これら事象は、用いたウイルス株の差と考えられるが、詳細は不明であった。本発表では、TMPRSS2 非依存的 H3N2 の分子基盤の解明を試みた。Hatesuer や Tarnow らの用いたウイルス株の配列情報は不明のため、我々の用いた TMPRSSS2 依存性の MA-GZX 株（親株、以下 H3^{WT}）を用いて、tmprss2^{KO} マウス肺で連続継代を行った。H3^{WT} 感染では tmprss2^{KO} マウスに致死性はなかったが、連続継代後、tmprss2^{KO} マウスに致死的な馴化ウイルス（H3^{p10}）が得られた。全長配列の比較解析から、H3^{p10} は HA 遺伝子のアミノ酸変異 N8K（H3 numbering）による、 HA stalk 領域における糖鎖欠失によって、TMPRSS2 以外のプロテアーゼによる HA 開裂部位へのアクセスが可能となり、H3p10 が tmprss2KO マウスにおいて病原性を獲得したと考えられた。今後、H3^{p10} がどのようなプロテアーゼを利用できるようになったのか解明を試みたい。［酒井宏治、網康至*、関塚剛史**、安楽正輝、中島典子***、駒瀬勝啓、長谷川秀樹***、黒田誠**、田代眞人****、竹田誠：*動物管理室、**病原体ゲノム解析研究センター、***感染病理部、****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 26 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 24 年度に得られた成績をまとめ報告した。［大槻紀之、感染症情報センター、森嘉生］

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 3 ロット、風しんワクチン中間段階 2 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 0 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 5 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 2 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 19 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 15 ロットの検定を行った［染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、駒瀬勝啓、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生、久保田耐、木所稔、加藤大志、竹田誠］
2. 人免疫グロブリン製剤 194 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. インターフェロン製剤 2 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］
4. 薬食機発 0304 第 1 号通知に基づき、抗風疹抗体パネルの整備を行った。所内ボランティアを募り、昨年度および今年度で合わせて新規抗風疹抗体パネル候補（ヒト血清約 120 検体）を収集した。今後、抗風疹抗体（IgG または全抗体種）測定用の体外診断用医薬品による値付けを行い、パネルを追加整備する予定である。[岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

レファレンス業務

1. 麻疹の行政検査 2 件を実施した[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓]
2. 2 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. 麻疹病原体検出マニュアルを改訂した［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. 第 35 回衛生微生物技術協議会においてレファレンスセンター関連会議を行い、レファレンスセンター等報告を行った。［駒瀬勝啓、森嘉生］2014 年 6 月 26-27 日
5. 風疹に関する行政検査 2 件を実施した。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
6. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 1 カ所の地方衛生研究所に配布した。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］
7. 病原体検出マニュアル・風疹（第三版）および病原体検出マニュアル・先天性風疹症候群（第三版）の改訂を行い、公開した。［森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、安井善宏*、皆川洋子*、倉田貴子**、上林大起**、加瀬哲男**、＊愛知県衛生研究所、＊＊大阪府公衆衛生研究所］
8. ムンプスの依頼検査 1 件を実施した。［加藤大志、木所稔］
9. ムンプスサーベイランス充実のため「病原体検出マニュアル」を全面的に改訂した。［木所稔］

国際協力業務

1. The 8th Korea-Japan-China Forum for Communicable Disease Control and Prevenion（第 8 回日中韓感染症制御フォーラム）（2014 年 11 月 26 日、韓国済州島）に参加。[竹田誠]
2. 6th Meeting of the SAGE Working Group on Measles and Rubella （2014 年 9 月 12-13 日、米国、ワシントン DC）に参加。[竹田誠]
3. 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]
4. 12th Global measles and rubella laboratory network meeting（2014 年 9 月 22～24 日：トルコ、イスタンブール）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、竹田誠］
5. JICA の依頼でベトナムハノイの NIHE を訪問し、麻疹のアウトブレイクの原因調査を行った。［駒瀬勝啓］(2014 年 6 月 18 日～25 日)
6. 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］
7. 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］
8. 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］
9. 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. 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
2. 「平成 26 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。［駒瀬勝啓、森嘉生］2013 年 10 月 23 日
3. WHO の依頼によるマレーシア国研修生に「麻疹と麻疹ワクチン」に関する講義を行った。
4. JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生 8 名に麻疹抗体測定法、PCR 法の実習を行った。［染谷健二、關文

緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓］2015 年 1 月-2 月

5. JICA 集団研修「ポリオ及び風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」コースにおいて、アジア、中東、アフリカ諸国の研修生 8 名に風疹検出 RT-PCR 法、風疹ウイルス分離同定の実習を行った。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］2015 年 1-2 月
6. 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」コースにおいて麻疹ワクチンに関する講義を行った。［駒瀬勝啓］2015 年 2 月 3 日
7. 平成 26 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］2014 年 5 月 20 日
8. マレーシア国保健省からの依頼に応じ、２名の研修生に対し、風疹ワクチン国家検定に関する講義を行った（2014 年 10 月 22 日）[森嘉生]
9. JICA 集団研修「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化（WHO との連携案件）」研修において、風疹ワクチンの国家検定に関する講義を行った（2015 年 2 月 4 日）[森嘉生]
10. MERS コロナウイルス検査, H26 感染症検査技術研修会, 2014 年 6 月 30 日 [白戸憲也，松山州徳]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Sakai K, Sekizuka T, Ami Y, Nakajima N, Kitazawa M, Sato Y, Nakajima K, Anraku M, Kubota T, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M. (2015) A mutant H3N2 influenza virus uses an alternative activation mechanism in TMPRSS2 knockout mice by loss of an oligosaccharide in the hemagglutinin stalk region. J Virol.89:5154-8.
2. 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
3. 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.
4. 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.88:11187-98.
5. 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.
6. Kidokoro M, Shida H. (2014) Vaccinia Virus LC16m8Δ as a Vaccine Vector for Clinical Applications. Vaccines, 2, 755-771
7. Katoh H, Kubota T, Kita S, Nakatsu Y, Aoki N, Mori Y, Maenaka K, Takeda M, Kidokoro M. (2015) Heat shock protein 70 regulates degradation of the mumps virus phosphoprotein via the ubiquitin-proteasome pathway. *J. Virol.*, 89(6), 3188-99.
8. Shirato K, Yano T, Senba S, Akachi S, Kobayashi T, Nishinaka T, Notomi T and Matsuyama S. (2014) Detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). Virology Journal. 11:139
9. Shirato K, Imada Y, Kawase M, Nakagaki K, Matsuyama S, Taguchi F.,Possible involvement of infection with

human coronavirus 229E, but not NL63, in Kawasaki disease.J Med Virol. 2014 Dec;86(12):2146-53.

10.Kimura H, Saitoh M, Kobayashi M, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Tsukagoshi H, Shirabe K, Nishina A, Kozawa K, Kuroda M, Takeuchi F, Sekizuka T, Minakami H, Ryo A, Takeda M. (2015) Molecular evolution of haemagglutinin (H) gene in measles virus. Sci Rep. 5:11648.

11.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.

12.Esumi M, Ishibashi M, Yamaguchi H, Nakajima S, Tai Y, Kikuta S, Sugitani M, Takeyama T, Tahara M, Takeda M, Wakita T. (2014) Transmembrane serine protease TMPRSS2 activates hepatitis C virus infection. Hepatology 61:437-46.

13.Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Kanou K, Saito T, Sunagawa T, Ito H, Kanayama A, Tabuchi A, Nakashima K, Yahata Y, Yamagishi T, Sugawara T, Ohkusa Y, Matsui T, Arai S, Satoh H, Tanaka-Taya K, Komase K, Takeda M, Oishi K. (2014) Ongoing increase in measles following importations, March 2014, Japan: times of challenge and opportunity. WPSAR. 5:31-3.

14.Doi I, Nagata N, Tsukagoshi H, Komori H, Motoya T, Watanabe M, Keta T, Kawakami M, Tsukano T, Honda M, Ishioka T, Takeda M, Ryo A, Kuroda M, Oishi K, Kimura H. (2014) An outbreak of acute respiratory infections due to human respiratory syncytial virus in a nursing home for the elderly in Ibaraki, Japan, 2014. Jpn J Infect Dis. 67:326-8.

15.Yasui Y, Mori Y, Adachi H, Kobayashi S, Yamashita T, Minagawa H. (2014) Detection and genotyping of rubella virus from exanthematous patients suspected of measles using reverse transcription-PCR. Japanese Journal of Infectious Diseases. 67, 389-391.

16.Kinoshita T, Mori Y, Hirano K, Sugimoto S, Okuda K, Matsumoto S, Namiki T, Ebihara T, Kawata M, Nishiyama H, Sato M, Suga M, Higasiyama K, Sonomoto K, Mizunoe Y, Nishihara S, Sato C. (2014) Immuno-electron microscopy of primary cell cultures from genetically modified animals in liquid by atmospheric scanning electron microscopy. Microscopy and Microanalysis. 20, 269-483.

和文発表

1. 竹田誠、駒瀬勝啓、（2015）麻疹排除へ向けて、化学療法の領域　31:1326-32
2. 竹田誠、駒瀬勝啓、（2015）近年の歩みとこれからの課題、生体の科学　66:309-12
3. 竹田誠（分担執筆）（2015）臨床微生物検査、臨床検査法提要（改訂 34 版）、金井正光（監修）、金原出版株式会社
4. 竹田誠、駒瀬勝啓、（2014）輸入麻疹と国内伝播　感染症　44:206-217
5. 駒瀬勝啓、竹田誠、（2014）海外の麻疹の状況、2013 年、病原微生物検出情報　35:97-8
6. 駒瀬勝啓、染谷健二、竹田誠、（2015）麻疹検査診断の現状、病原微生物検出情報　36:59-60
7. 駒瀬勝啓、染谷健二、竹田誠、（2015）海外の麻疹の状況−2014 年の WPR、EUR、AMR の状況、病原微生物検出情報　36:68-70
8. 駒瀬勝啓　WHO Global Measles & Rubella Laboratory Network と日本の検査体制、臨床とウイルス　42(1) 47-51 (2014)。
9. 酒井宏治、（2014）エンベロープウイルス膜タンパク質に対する開裂活性化プロテアーゼ、感染免疫炎症　44:2-17
10.森嘉生、坂田真史、竹田誠、（2015）海外の風疹の状況と風疹ウイルス遺伝子型の動向、病原微生物検出情報　36:135-137
11.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.
12.岡本貴世子、森嘉生、先天性風疹症候群の予防と風疹抗体価の推移、検査と技術　42(5); 464-469 (2014).

13.坂田真史、森嘉生、風疹ウイルスの生活環、ウイルス 64(2); 137-146 (2014).

14.松山州徳, 中東呼吸器症候群（Middle East Respiratory Syndrome:MERS), 臨床と微生物,42 巻 3 号, 2015

15.松山州徳, 中東呼吸器症候群コロナウイルス (MERS-CoV), 小児科臨床 68(1): 27-32, 2015.

16.松山州徳, コロナウイルスによる高致命率の感染症, 医学のあゆみ 251(7): 573-574, 2014.

17.松山州徳, 中東呼吸器症候群 (MERS) コロナウイルスの基礎知識と最新の動向, 新薬と臨牀 63(9): 1517-1519, 2014.

18.松山州徳, ヒトコブラクダと中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス, 人と動物の共通感染症研究会 2014

19.松山州徳, 中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス感染症, モダンメディア, 2014 年 4 月号（第 60 巻 4 号）

20.松山州徳, 新型コロナウイルス感染症 Medical Practice 31,1 (2014)

21.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)

22.山岸拓也、伊東宏明　八幡裕一郎　中島一敏　松井珠乃　高橋琢理　木下一美　砂川富正　奥野英雄　多屋馨子　大石和徳　駒瀬勝啓　三崎貴子　丸山絢　大嶋孝弘　清水英明　岩瀬耕一　岡部信彦　小泉祐子　平岡麻理子　瀬戸成子　杉本徳子　荷見奈緒美　熊谷行広　大塚吾郎　杉下由行　甲賀健史　鈴木理恵子　阿南弥生子　舟久保麻理子　弘光明子　坂本洋　阿部勇治　氏家無限　潜在的な疫学リンクが疑われた D8 型ウイルスによる麻疹広域散発事例　病原微生物検出情報 35（4）; 100 – 102 (2014)

23.古川英臣 梶山桂子　　宮代　守　佐藤正雄　伊藤孝子　酒井由美子　井出瑤子植山　誠　眞野理恵子　衣笠有紀　　戸川　温　高田　徹　猪狩洋介　駒瀬勝啓　フィリピン渡航者～の D9 型麻しんルイスの検出-福岡市　病原微生物検出情報 35（5）; 132 (2014)

II. 学　会　発　表

国際学会

1. Takeda M (2014 November 26, Jeju, Korea) Multiple importations and suggested interruption of endemic transmission of measles in 2010-2014, Japan. The 8th Korea-Japan-China Forum for Communicable Diseases Control and Prevention.
2. 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.
3. Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Nakajima N, Sekizuka T, Komase K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. (2014 September 23-26) The host protease TMPRSS2 is essential for influenza A virus pathogenicity. The 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity in Nara.
4. Shirato K, Imada Y, Kawase M, Nakagaki N, Matsuyama S, and Taguchi F 2014. Possible involvement of infection with human coronavirus 229E, but not NL63, in Kawasaki disease. The XIIIth Nidovirus International Symposium. Salamanca, Spain, June 1-6.
5. Okabe N, Takeda M, Nakano T, Taya-Tanaka K, Watase H, Sunagawa T, Hachiya M, Misaki T, Komase K, Yoshikura H. (2014 October 12-15. Beijing, China) Present measles situation in Japan. 7th Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases.
6. Ito H, Kanayama A, Nakashima K, Tanaka-Taya K, Iizuka S, Tsunematsu M, Fukuzawa Y, Miwa S, Takeda M, Mori Y, Oishi K. (2014 November 5-7, Stockholm, Sweden) A rubella outbreak in a child-care center in Shimane prefecture, Japan, 2013. European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE)
7. Hiramoto T, Tahara M, Miura Y, Nakatsu Y, Kubota T, Kurita R, Hamana H, Sakamoto C, Narusawa M, Yamaguchi S, Ono H, Liao J, Nii T, Takishima Y, Okada M, Matsumura Y, Tanaka Y, Yamada K, Hijikata Y, Kohara H, Ishihara S, Tsuruta T, Okazaki T, Kishi H, Ryo

A, Muraguchi A, Takeda M, Tani K. (2014 December 6-9. San Francisco, California, USA) Newly developed measles virus vector can efficiently transduce multiple genes into naïve T cells. 56th ASH Annual Meeting.

8. Hiramoto T, Tahara M, Sakamoto C, Nakatsu Y, Kubota T, Ono H, Kohara H, Takeda M, Tani K. (2015 May 13-16, New Orleans, Louisiana, USA) Newly developed measles virus vector can simultaneously transfer multiple genes into human hematopoietic cells and induce ground state like pluripotent stem cells. The 18th Annual Meeting, American Society of Gene & Cell Therapy.

国内学会

1. 竹田誠、麻疹・風疹・ムンプスの流行とワクチン　シンポジウム 過去の歴史から学ぶこれからのワクチン開発と戦略　第 46 回日本小児感染症学会、東京、2014 年 10 月 18-19 日
2. Takeda M, Sakai K, Seki F, Otsuki N, Yamaguchi R, Maenaka K. Host range and cell tropsim determinants of measles virus and canine distemper virus. 第 62 回日本ウイルス学会、横浜、2014 年 11 月 10-12 日
3. 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
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、田原舞乃、平本貴史、山口沙織、坂本千香、小原洋志、谷憲三朗、麻疹ウイルス改変ベクターの開発と高品質 iPS 細胞の作成、第 4 回 Negative Strand Virus-Japan、沖縄、2015 年 1 月 19-21 日
6. 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、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は、インフルエンザウイルスの生体内活性化酵素である、第 157 回日本獣医学会、札幌、2014 年 9 月 9-12 日
7. 酒井宏治、網康至、田原舞乃、久保田耐、安楽正輝、中島典子、高下恵美、関塚剛史、駒瀬勝啓、信澤枝里、小田切孝人、前仲勝実、黒田誠、長谷川秀樹、河岡義裕、田代眞人、竹田誠、II 型膜貫通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必須活性化酵素である、第 62 回日本ウイルス学会、横浜、2014 年 11 月 10-12 日
8. 酒井宏治、TMPRSS2 とインフルエンザウイルスの活性化、4th Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2014 年 1 月
9. 中島勝紘、酒井宏治、網康至、中島典子、北沢実乃莉、高下恵美、久保田耐、安楽正輝、駒瀬勝啓、長谷川秀樹、竹原一明、小田切孝人、田代眞人、竹田誠、マウス生体内での B 型インフルエンザウイルス増殖に、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は必須ではない、第 157 回日本獣医学会、札幌、2014 年 9 月 9-12 日
10. 北沢実乃莉、酒井宏治、田原舞乃、安部昌子、中島勝紘、網康至、中島典子、安楽正輝、駒瀬勝啓、長谷川秀樹、竹原一明、田代眞人、加藤篤、竹田誠、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 はセンダイウイルスの病原性決定因子のひとつである、第 157 回日本獣医学会、札幌、2014 年 9 月 9-12 日
11. 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、スフィンゴミエリンは風疹ウイルスによる赤血球凝集において重要な役割を果たす、第 62 回日本ウイルス学会、横浜、2014 年 11 月 10-12 日
12. 坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、安楽正輝、永井美智、竹田誠、森嘉生、風疹ウイルス増殖における構造蛋白質 C の非構造蛋白質 p150 との結合の意義、第 62 回日本ウイルス学会、横浜、2014 年 11 月 10-12 日
13. 安楽正輝、坂田真史、大槻紀之、岡本貴世子、永井美智、竹田誠、梁明秀、森嘉生、風疹ウイルス E1 タンパク質ドメイン III の機能解析、第 62 回日本ウイルス学会、横浜、2014 年 11 月 10-12 日
14. 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

15.木所稔、落合仁、渡辺正博、青木なつ子、竹田誠、庵原俊昭、ムンプスウイルスによる水平感染疑い例由来ウイルスの解析、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

16.木所　稔、落合　仁、渡辺正博、竹田　誠、庵原俊昭、ムンプスワクチンによる水平感染疑い例由来ウイルスの解析、第18回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2014年12月6-7日

17.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)

18.加藤大志、喜多俊介、久保田耐、中津祐一郎、前仲勝実、木所稔、竹田誠、ムンプスウイルス感染における Heat Shock Protein 70 の役割、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

19.白戸 憲也、矢野 拓弥、仙波 晶平、赤地 重宏、小林 隆司、西中 隆道、納富 継宣、松山 州徳。 「中東呼吸器症候群コロナウイルス（MERS-CoV）のRT-LAMP 法による検査法の開発」第62回日本ウイルス学会学術集会　2014年11月　(横浜)

20.池野翔太、寺原和孝、駒瀬勝啓、竹田誠、森川裕子、竹山春子、横田（恒次）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（3）、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

21.東端将哲、福原秀雄、逢坂文那、橋口隆生、柳雄介、竹田誠、児玉耕太、齊藤貴士、前仲勝実、麻疹ウイルス H タンパク質を標的とした侵入阻害剤の開発、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

22.依田芽生、福原秀雄、武田森、三尾和弘、Plattet Philippe、竹田誠、前仲勝実、犬ジステンパーウイルスエンベロープタンパク質 H および F の相互作用解析と電子顕微鏡による構造解析、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

23.吉田康貴、酒井宏治、喜多俊介、福原秀雄、柳雄介、竹田誠、前仲勝実、イヌジステンパーウイルス H 蛋白質における P541S 変異が受容体 SLAM との相互作用に及ぼす影響、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

24.岩田奈織子、福士秀悦、福間藍子、鈴木忠樹、竹田誠、田代眞人、長谷川秀樹、永田典代、中東呼吸器症候群コロナウイルスに対するマウスおよびラットの感受性について、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

25.永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹、高橋健太、佐多徹太郎、長谷川秀樹、網康至、久保田耐、加藤篤、田代眞人、竹田誠、木所稔、動物モデルを用いたムンプスウイルスの神経病原性に関する病理学的検討、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

26.平本貴史、田原舞乃、山口沙織、坂本千香、小野宏彰、竹田誠、谷憲三朗、遺伝子改変非伝播型麻疹ウイルスベクターを用いたヒト iPS 細胞と基底状態 iPS 様細胞の樹立、第14回日本再生医療学会、横浜、2015年3月19-21日

27.岡部信彦、駒瀬勝啓、砂川富正、竹田誠、多屋馨子、中野貴司、蜂矢正彦、三﨑貴子、吉倉廣、渡瀬博敏　国内の麻疹排除(measles elimination)状況に関する考察 第18回日本ワクチン学会学術集会　2014年12月6日-7日 (福岡)

28.多屋馨子、佐藤弘、奥野英雄、新井智、神谷元、八幡裕一郎、伊東宏明、福住宗久、砂川富正、駒瀬勝啓、竹田誠、大石和徳　麻疹・風疹に関する最近の国内疫学情報について 第 18 回日本ワクチン学会学術集会 2014年12月6日-7日 (福岡)

29.飯塚節子、和田美江子、森嘉生、岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、伊東宏明、金山敦宏、中島一敏、A保育園での風疹アウトブレイク、第62回日本ウイルス学会、横浜、2014年11月10-12日

III. そ　の　他

1. 竹田誠、マーズ？、ラブラボ2014、東京、2014年8 月4日

2. 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

3. 竹田誠、呼吸器ウイルスに挑んだ二人の英雄の話、国立感染症研究所一般公開、サイエンスカフェ、2014 年 10 月 4 日
4. 竹田誠､マイナス鎖 RNA ウイルスの病原性発現機構、早稲田大学講演会、2014 年 10 月 3 日
5. 竹田誠、麻疹・風疹のアジアにおける流行、アジア感染症対策プロジェクト第 6 回共同調査研究会議、都庁、2014 年 11 月 18 日
6. 竹田誠、麻疹ウイルスならびにその関連ウイルスの最新事情、千里ライフサイエンスセミナー　免疫・感染症シリーズ第 5 回　話題のウイルス感染症の正体とその対策、大阪、2014 年 10 月 24 日
7. 竹田誠、麻疹に関する最新の話題:試験管の中の小さなことから世界排除計画まで、第 175 回大阪小児科医会学術集会、大阪、2014 年 12 月 22 日
8. 竹田誠、麻疹・風疹・おたふくかぜ、身近な感染症の予防と治療　日本ウイルス学会市民公開講座、横浜、2014 年 11 月 9 日
9. 竹田誠、国内、海外における風疹ウイルスの分子疫学の現状、第 28 回公衆衛生情報研究協議会、栃木県総合文化センター、2015 年 1 月 29 日
10. 竹田誠、国内海外の麻しん風しんの状況、予防接種の優れた効果と対策の難しさ、学校における感染症予防に関する研修会、青森県総合社会教育センター、2015 年 2 月 13 日
11. 竹田誠、インフルエンザウイルス生体内活性化における HA 糖鎖と宿主プロテアーゼ TMPRSS2 の役割、第 9 回 CBI 学会 FMO 研究会、合理的創薬でウイルス感染症を抑え込む～リレンザ®開発者からのメッセージ～、東京工業大学キャンパスイノベーションセンター、2015 年 5 月 13 日
12. 酒井宏治、「宿主プロテアーゼ TMPRSS2 によるインフルエンザウイルスの活性化」、東京大学医科学研究所感染症国際研究センター/全国共同利用・共同研究拠点若手ジョイントシンポジウム、東京、2014 年
13. 森嘉生、風しんの検査診断と海外の疫学情報、衛生微生物技術協議会第 35 回研究会　パネルディスカッション「風しんの排除に向けて」、東京、2014 年 6 月 26 日
14. 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
15. 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)
16. 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)
17. 松山州徳,IFN 収去検査, 検定検査継続者向け講習会 2014 年 3 月 26 日 (感染研内部研修)
18. 松山州徳, MERS コロナウイルスについて, 羽田空港検疫での研修会にて講演, 2014 年 6 月 11 日 (羽田空港)
19. 松山州徳, MERS コロナウイルス,感染研一般公開講演, 2014 年 10 月 4 日 (感染研)
20. 松山州徳, MERS コロナウイルス,動物由来感染症技術研修会, 2014 年 10 月 15 日 (赤坂区民センター)

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行っている。また、肺炎球菌ワクチン、13 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン、4 価髄膜炎菌コンジュゲートワクチンの検定検査、梅毒体外診断薬の承認前試験を担当するとともに、多様な病原細菌に対する行政検査あるいは依頼検査、レファレンス活動、病原体サーベイランスに係る業務を担当した。

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、地方衛生研究所等において簡易的な型別法がスクリーニングとして普及してきた。簡易法で同一型が見出された時には詳細な解析が必要である。地方衛生研究所から送付される EHEC O157, O26, O111 菌株（n=2379)に関しては、迅速性、多検体処理に秀でている MLVA 法による解析を第一に行うこととなった。1,441 株については PFGE による解析もあわせて実施し、新規に導入した MLVA 法の検証も同時に行った。また、大腸菌 O 型別の迅速, 効率, 低コスト化を目的とし、*Escherichia coli* O-genotyping PCR 法（Iguchi et al. J. Clin. Microbiol. 2015, 53: 2427-2432）の評価を行った。

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。赤痢菌、サルモネラ属菌、ビブリオ属菌、肺炎球菌、ボレリア属菌、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。

感染症研究国際ネットワーク推進プログラムにおける、海外の研究拠点との連携を深めるために、岡山大学インド拠点、大阪大学タイ拠点、長崎大学ベトナム拠点、神戸大学インドネシア拠点との連携プロジェクトを開始した。コレラ菌の大規模ゲノム解析に焦点を当て各拠点で分離された菌株のゲノム配列情報を取得した。同時に感染研で保管されているコレラ菌血清型別参照 210 株についてもそのゲノムデータを取得した。腸管出血性大腸菌をはじめとする他の病原細菌のゲノムデータ取得にもつとめた。

その他研究面においては、六室から構成される細菌第一部の各室が担当する細菌（腸管出血性大腸菌、サルモネラ、赤痢菌、腸チフス菌、ビブリオ等の腸管感染症原因菌、レジオネラ、レンサ球菌、肺炎球菌、ボレリア、髄膜炎菌、レプトスピラ、淋菌、梅毒スピロヘータ、口腔細菌等）の検査法の開発、分子疫学的手法の確立とその応用、薬剤耐性菌の疫学・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。

なお平成 27 年 3 月をもって、倉文明主任研究官が定年退官を迎えた。

業　績

調査・研究

Ⅰ．腸管感染症に関する研究

1. 腸管出血性大腸菌：EHEC（志賀毒素産生性大腸菌：STEC）に関する研究

(1)菌株の多様性解析による重症例由来株の同定

ア　血清型別

2014 年に地衛研等から受け付けたヒト由来株は 2,765 株であった。頻度の高い O 血清群の順に O157 (61.8%)、O26 (21.1%)、O103 (3.9%)、O145 (3.8%)、O111 (2.7%)、O121（2.4%）となっており、その他は 39 の O 群、60 の血清型（O:H 型）に分類された。ヒトの重症例（血便、溶血性尿毒症症候群、脳症など）由来株として頻度の高い O 群は上記の 6 血清群に加えて O165 であり、これら 7 血清群で重症者由来株全体の 95%以上を占めることが 2007-2014 年までの解析から明らかとなった［伊豫田淳、高井信子、小澤さお美、石原朋子、大西真］。

イ　O157 の系統解析による重症例由来株の解析

O157 ゲノム上の 96 箇所の SNP 解析から、O157 は大きく 9 つのクレード（クレード 1-9）に分類される。国内で 1999 年-2011 年に分離された HUS 患者由来の O157 株（n=269）と無症状保菌者由来株（n=387）の系統を比

較したところ、クレード 6 および 8 で志賀毒素遺伝子サブタイプとして *stx2a* のみ、または *stx2a stx2c* を保有する株が HUS 由来株に、クレード 7 でサブタイプ *stx2c* のみを保有する株が無症状保菌者由来株にそれぞれ有意に多いことが統計学的に示された［伊豫田淳、泉谷秀昌、石原朋子、大西真、EHEC ワーキンググループ］。

(2)分子疫学的解析

ア　腸管出血性大腸菌の MLVA 解析（血清群 0157, 026, 0111）

2014 年に当研究所に送付され解析された腸管出血性大腸菌は 2,786 株であった。このうち血清群 0157、026 および 0111 として送付された 2,379 株について MLVA による型別を行った。また 1,441 株については PFGE による解析もあわせて実施した。MLVA については 932 の型が同定された。最も多かった型は 13m0157 で 142 株であり、次いで 13m0551（102 株）、14m0004（99 株）であった。これらはそれぞれ 23 機関、12 機関、13 機関において分離されたものであった。13m0551 および 14m0004 は、それぞれ 7 月および 4 月に発生した広域食中毒事例関連株を含んでいた。MLVA および PFGE の分解能（Simpson’s Diversity Index）は、0157　967 株についてはそれぞれ 0.984 および 0.988 であった。同じく 026 414 株についてはともに 0.988 であった。（泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、高井信子、吉田愛、大西真）

イ　PFGE による DNA 型別

2014 年に国内で分離された O157、O26、O111（3 大血清群）2,433 株とその他の O 群 479 株に対して、*Xba*I 消化によるパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）解析を行った。3 大血清群以外の O 群で、2 つ以上の異なる自治体で検出された同一 PFGE 型として、O103 の Type No.（TN）103k1-3、O121 の TN121k1-8、O145 の TN145k1、O146 の TN146k1、O165 の TN165k1 など 14 種類があった。同一 PFGE 型を示す様々な O 群による広域発生事例の存在を明らかにした［石原朋子、斉藤康憲、吉田愛、中島雪絵、高井信子、泉谷秀昌、伊豫田淳、大西真］。

ウ　腸管出血性大腸菌の分子疫学解析（データベースサーバー）

jpulsenet サーバーを設置し、腸管出血性大腸菌の PFGE 解析結果に関するデータベースを構築中である。血清群 O157 については同サーバー上に IS-printing system の解析結果に関するデータベースを構築中である。いずれのデータベースも研究班において、その活用について検討している。（泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、八柳潤（秋田県健康環境センター）、甲斐明美（東京都健康安全研究センター）、松本昌門（愛知県衛生研究所）、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所）、中嶋洋（岡山県環境保健センター）、世良暢之（福岡県保健環境研究所）、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、高井信子、吉田愛、大西真）

（３）HUS 患者の血清診断による EHEC 感染症の確定診断

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 EHEC 感染症の確定診断とすることが出来る。血清診断依頼があった HUS 症例 10 件中 、O157 が 5 件、O115 と O145 が各 1 件ずつ陽性例があり、いずれも EHEC 感染による HUS 症例と確定した。血清診断で O157 抗体陽性となった症例のうち、1 件については同時に依頼があった便培養（O157 抗体を感作させた免疫磁気ビーズを用いた増菌培養液の濃縮培養）から O157:H7 株を分離した［伊豫田淳、高井信子、小澤さお美、石原朋子、齊藤剛仁（情報セ）、大西真］。

（４）マルチプレックス PCR による大腸菌 O 血清群型別法の導入

大腸菌 O 型別の迅速, 効率, 低コスト化を目的とし、*Escherichia coli* O-genotyping PCR 法（Iguchi et al. J. Clin. Microbiol. 2015, 53: 2427-2432）の評価を行った。同法は、各 O 血清群に特異的または共通な抗原決定領域を標的とした計 20 種のマルチプレックス PCR 法である。20 種全てのマルチプレックス PCR で O 血清群標準株の型別が可能であり、従来の血清を用いた型別法を補完する方法として有用であることが確認された［李謙一、井口純（宮崎大学・農）、小澤さお美、伊豫田淳、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

2014 年に当研究所に送付された赤痢菌 66 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。菌株の内訳は *S. sonnei* 34 株、*S. flexneri* 29 株、*S. boydii* 2 株、*S. dysenteriae* 1 株であった。*Shigella sonnei* では 2014 年に 30 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 が安定化しており、精製した RodZ 蛋白は *invE*-RNA と強く結合しすることから細胞骨格以外の RodZs の機能が明らかになった。さらに国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の流動研究員である Soma Mitra と共に InvE の転写後調節に働くと考えられる新規遺伝子を同定し、その解析を進めている。(三戸部治郎 Soma Mitra)

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

2014 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 46 株、パラチフス A 菌 12 株であった。チフス菌では、ファージ型 UVS1 が 20 株と最多となったほか、A、B1、E1 等が検出された。パラチフス A 菌ではファージ型 1 及び 2 が 5 株ずつ検出された。[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

2014 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 73.9%,、パラチフス A 菌で 75.0%であった。また、第 3 世代セフェム系抗菌薬に対して非感受性であるチフス A が 1 株検出された。[森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真]

ウ 食中毒統計上、初めてのチフス菌による食中毒が報告された。関連株として送付された 14 株のチフス菌の分子疫学解析を行ったところ、全ての関連株が遺伝学的に近縁であることが示唆された。[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

2014 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 72 株であった。うち 70 株は血清型 Enteritidis であり、ファージ型 1 が 21 株と大勢を占めた。

同じく Typhimurium は 2 株送付され、ファージ型 U302 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など

上記ファージ型別以外に当研究所に血清型別もしくは遺伝子型別のために送付されたサルモネラ株は 102 株であった。血清型別の上位 5 位は Braenderup、I 4:i:-、Infantis、Schwarzengrund、Thompson であった。(泉谷秀昌、李志英、高井信子、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* 菌株

平成 26 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 283 株で、全て *Vibrio cholerae* non-01/non-0139 であり、うち 5 株は国内、278 株は海外からの依頼であった。国内株 5 株は、下痢症から分離された株であったが、いずれも患者が高齢者ではあったが、コレラを疑うような激しい下痢症状を示す事例であった。散発事例であり、かつ同居者からの分離もなく、喫食調査などからも原因は明らかとならなかった。いずれの事例も異なる 0 血清型であり、共通性は認められなかった。海外からの型別依頼株はイスラエルの分離株 278 株で 4 株の耳からの *V. cholerae* non-01/non-0139 の分離株を除き、大部分が環境から分離株で、*V. cholerae* non-01/non-0139、*V. mimicus*、*Aeromonas* spp. が含まれていた。(荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌)

イ　ビブリオ属菌の環境調査

沿岸海水を採取し、*Vibrio vulnificus, V. parahaemolyticus, V. cholerae* の分布状況を調べた。各地の平均から、3 菌種とも 8 月に最も多く検出された。当該ビブリオ属菌の分布に関し、塩分濃度および水温をパラメータとする 2 次回帰曲線による解析を行った。(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）

ウ　二成分制御系ヒスチジンキナーゼ ChiS を介した非典型なシグナル伝達ネットワーク

二成分制御系はヒスチジンキナーゼ（HK）とレスポンスレギュレーター（RR）から成るリン酸基転移系の一つであり，細菌が外部環境を認識して遺伝子発現を制御する上で主要な役割を担う。コレラ菌の DNA コンピテンスに関わる遺伝子群の発現は，キチン応答性 HK である ChiS に支配されているが，そのシグナル伝達の様式は従来までのドグマから大きく逸脱している。ChiS は RR ではなく非二成分制御系の転写因子 TfoS を制御しており，その過程でリン酸基転移に関わるアミノ酸残基を必要としない。以上に加えて本年度は，ChiS によるシグナル伝達が細胞外からのキチン刺激だけでなく，糖の取り込みに関わるリン酸基転移系 PTS を介して細胞内からも調節されている遺伝学的な証拠を得た。現在，ChiS を介した非典型なシグナル伝達ネットワークの形成機構について生化学的な手法を用いて解析しているところである。[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 01、0139 も含まれており、世界的に疫学解析に利用されている。すでに 0141 およびそれと交差反応のある 053、075、0162 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 0141、075 については、真菌部との共同同研究により、O 多糖の構造解析を行っている。さらに 0141、075 と部分的に類似の遺伝子領域を持つ 050、057、062、0103、0107、0113 の O 血清群についてもその O 抗原合成遺伝子領域の解析を行い、その遺伝子群の類似性について解析を行なっている。また、次世代シークエンサーを利用して 210 種類全ての O 血清群の全塩基配列を解読し、そこから O 抗原合成遺伝子領域の抽出を試みている。(荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真；浦井誠、宮崎義継(真菌部))

イ　*V. cholerae* 血清群参照株のゲノム解析

V. cholerae の O 血清群は現在、210 種に分類される。全ての血清群参照株のゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによりドラフトゲノム配列を取得した。その結果、一株あたり平均約 787Mb の解読情報が得られた。現在、コアゲノム上の SNP 解析を進めている。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、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 2013 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

2013 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、951 株であり、すべての株に対して T 型別が行った。分離頻度の高かった T 型は、T12 (211/951, 22.2%)、TB3264 (189/951, 19.9%)であった。T12 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。TB3264 型の分離比率は、2010 年、急激に上昇し、2013 年さらに増加した（2009 年, 5.3%、2010 年, 12.6%、2011 年, 11.1%、2012 年, 14.5%、2013 年, 19.9%）。2011 年最も分離比率の高かった T1 型は、2013 年さらに減少した(2011 年, 31.1%、2012 年, 26.8%、2013 年, 12.1%)。 [池辺忠義、大西真、二本松久子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、三井千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、矢端順子（山口環保セ）、佐々木麻里（大分衛環研）、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

イ　日本において 2013 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

2013 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の報告が 50 症例あった。49 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、TB3264 型であり、分離比率が上昇している(2011 年, 10.7%; 2012 年, 18.9%; 2013 年, 30.0%)。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、昨年最も分離された T1 が多く、その分離比率は昨年と比較して減少した(2011 年, 69.0%; 2012 年, 51.6%; 2013 年, 28.0%)。この 2 つの型で全体の 50%以上を占めている。

STSS の確定診断例 50 例中、*emm89* 型(M 型別不能)が 15 例(30.0%)と最も多く、次いで *emm1* 型(M1)が 14 例(28.0%)、*emm3* 型(M3)が 4 例(8.0%)と多かった。2012 年と比較し、*emm1* 型は、51.6% (49/95)から 28.0% (14/50)に減少し、*emm89* 型は 17.9% (17/95)から 30.0% (15/50)に増加した。

[池辺忠義、大西真、二本松久子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、三井千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、矢端順子（山口環保セ）、佐々木麻里（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

2013 年に劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症を引き起こした A 群レンサ球菌 61 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 6.6%(4/61)の株が耐性を示し、薬剤耐性遺伝子としてすべての株が *ermB* 遺伝子を保有していた。昨年（2011 年, 11.8% (13/110)）より分離率が減少した。[池辺忠義、大西真、二本松久子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、三井千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、矢端順子（山口環保セ）、佐々木麻里（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

2013 年、30 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。劇症型感染症患者分離株の *emm* 遺伝子型別を行った結果、*stG6792* 型が 7 例(23.3%)と最も多く、次いで、*stG2078* が 5 例(16.7%)、*stG485* が 4 例(13.3%)と多かった。次いで、*stC5345, stG245, stG652* が 2 例ずつ、*stC36, stC46, stC74a, stG6, stG10, stG116b, stG480, stG653* が 1 例ずつであった。

[池辺忠義、大西真、二本松久子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、三井千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、矢端順子（山口環保セ）、佐々木麻里（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

2013 年、8 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 8 例とも *S. agalactiae*、C 群は *S.dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。B 群の血清型は Ib が最も多く 4 例であった。C 群の *emm* 遺伝子型は、*stG653* であった。また、豚レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症が 1 例あり、血清型は 2 型であった。[池辺忠義、大西真、二本松久子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、三井千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、矢端順子（山口環保セ）、佐々木麻里（大分衛環研）、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

カ　小児侵襲性感染症由来原因菌の疫学調査

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、日本国内の小児の侵襲性感染症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　小児健常児の後鼻腔における肺炎球菌の保菌調査。

健常乳幼児の後鼻腔より分離された肺炎球菌の分離、同定および血清型別を行い、2013 年 11 月から導入された小児 13 価結合型肺炎球菌ワクチン（PCV13）の接種普及による肺炎球菌の保菌状況の変化を観測し、PCV13 接種が保菌に及ぼす影響を調べた。（常　彬、住田裕子[住田こどもクリニック]）

(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

ア　*Legionella 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レジオネラ属菌 67 株は全て *L. pneumophila*（血清群（SG）1 は 61 株、SG3、4、6、8、9、13 が各 1 株）で、感染源が、浴槽水と推定・確定されている例は 28 例（42%）だった。2014 年 3 月末現在で、当センターで合計 383 株のレジオネラ属菌臨床分離株が収集されている（集団感染事例由来の重複している株を含めると 388 株）。*L. pneumophila* が 375 株（97.9%）で、その中でも血清群 1 が多く、全体の 84%を占める。375 株は、ST1 から ST1966 まで 175 種類の遺伝子型に分けられた。遺伝子型と菌が生息する環境に関連性が見られており、遺伝子型別は感染源を推測する手がかりになると考えられる。［前川純子；千田恭子（仙台市衛研）；渡辺祐子（神奈川衛研）；磯部順子（富山衛研）；田中 忍（神戸市環境保健研）；中嶋 洋（岡山県環境保健センター）；吉野修司（宮崎県衛生環境研）；倉 文明、大西 真；Working Group for *Legionella* in Japan］

イ　シャワー水、噴水由来の *L. pneumophila* SG1 株の遺伝子型別

これまで *L. pneumophila* SG1 環境分離株の調査から、冷却塔水分離株、浴槽水分離株、土壌・水溜り分離株が、由来によりそれぞれ異なる遺伝子型グループを形成することを明らかにしてきた。シャワー水分離株がどのような遺伝子型を有するか、異なる施設に由来する 19 株について調べたところ、特有の遺伝子型グループは形成せず、10 株は冷却塔水分離株に多い C1 グループに属し、残りの株は遺伝的に散在していたが、浴槽水遺伝子型グループに属するものが多かった。噴水分離株 18 株は、13 株が C1 グループに属し、残りの株はシャワー水分離株とは異なり、浴槽水遺伝子型グループに属するものは見られなかった［前川純子；神保江莉加、村井美代（埼玉県立大・健康開発）；川口定男（板橋区保健所）；内田順子（香川県環境保健研究センター）；林 千尋（尼崎市衛生研究所）；高瀬佳彦（荒川区保健所）；倉 文明］。

ウ　水たまり中に生息するレジオネラ属菌に関する研究

東京都 36 か所 51 検体、神奈川県 4 か所 4 検体の道路の水たまりの水を採水し、レジオネラ属菌の検出を試み、2 検体から *L. pneumophilla* SG 5 と *Legionella beliardensis* が分離された。また、検体から直接 DNA を抽出し、リアルタイム PCR により、ほとんどの水たまり検体からレジオネラ属菌の 16S rRNA 遺伝子が検出された。15 検体から抽出した DNA について、レジオネラ属菌で保存されている *mip* 遺伝子をクローニングし、153 クローンを解析したところ、64 の OTU が得られた。既存の菌種の *mip* 遺伝子は 2 クローン（どちらも *L. pneumophila*）のみで、他はすべて既存のレジオネラ菌種の配列とは異なっていた。道路の水たまりに、多種多様なレジオネラ属菌が生息することが示唆された。［石井将仁（日大院・生物資源）；倉 文明、前川純子］

（2）検査法の開発に関する研究

ア．レジオネラ DNA 陽性検体からの直接遺伝子型別法の確立

レジオネラ症の届出の 9 割以上が尿中抗原陽性の実験室診断によるものだが、起因菌が *L. pneumophila* 血清群 1 の場合しか陽性にならない。近年保険収載となった LAMP 法は広くレジオネラ属菌の遺伝子検出が可能である。LAMP 法で陽性となった検体 DNA を用いて、追加検査として *L. pneumophila* に特異的な *mip* 遺伝子の検出、および Sequence-based typing（SBT）法を行うことで、遺伝子型別が可能となった。レジオネラ属菌が分離培養できない場合も、遺伝子型別を行うことで、環境から分離された菌株との遺伝的異同が確認でき、疫学調査に有用である。［前川純子、倉 文明、大西 真］

イ　レジオネラ症の診断のための検査等

行政検査 2 件、その他の依頼された検査 8 件を実施した。菌株 12 株と菌株以外の 45 検体であった。臨床検体からの菌由来 DNA の検出が 7 症例 11 件（内 1 件陽性）、MAT による血清抗体価の測定が 4 症例 7 件であった。内 2 症例では MAT で *L. pneumophila* SG2、SG12 に対してそれぞれ 64 倍、128 倍であったが確定診断には到らなかった。尿中抗原陰性でレジオネラ症を疑う症例の場合には、これらの検査が重要となる。［倉　文明、前川純子、大西真］

(3) 浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア. 温泉施設におけるモノクロラミンによるレジオネラ属菌消毒効果の検証

遊離塩素消毒の各種問題点を補う新たな消毒方法として、結合塩素の一種であるモノクロラミンの浴槽水に対する消毒効果を継続して検討している。鉄泉の源泉水にモノクロラミンと遊離塩素（次亜塩素酸ナトリウム）溶液を加え、それらの濃度の経時的変化を調べた。その結果、遊離塩素は直ちに結合型に変化したが、モノクロラミンは濃度の減少がほぼなく安定なことが判明した。その源泉使用の浴槽水をモノクロラミン 3mg/L に維持したところ、レジオネラ属菌やアメーバは検出されず、トリクロラミンは不検出で消毒副生成物も少なく、消毒効果と安全性が確認された。リスクが高い気泡発生装置 3 か所の浴槽をモノクロラミン消毒した結果、いずれにおいてもレジオネラやアメーバの検出はなく、消毒副生成物は少なかった。入浴施設 2 か所において、タイマー注入方式の導入、アンモニア源の変更と低減の試験では、注入方式と硫酸アンモニウムの使用、モル比の 1：1.5（塩素剤：アンモニア）への低減が可能であった。[長岡宏美（静岡県環境衛生科学研究所)、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)、杉山寛治(株式会社マルマ)、小坂浩司(国立保健医療科学院)、八木田健司、泉山信司（寄生動物部)、片山富士男 （静岡市保健所)、江原広里、和田裕久（静岡市環境保健研究所)、市村祐二 、青木信和（ケイ・アイ化成株式会社）、倉文明]

イ. 消毒副生成物の暴露評価

昨年度の研究で、ヨウ化物イオンを含有する温泉では、遊離塩素消毒、モノクロラミン消毒のいずれにおいても、消毒副生成物としてヨウ素化トリハロメタン類、ヨウ素化ハロ酢酸類が生じることを見出した。従前の遊離塩素消毒時の消毒副生成物の実態を把握する目的で、源泉中のヨウ素イオン濃度が比較的高い 11 施設を調査した。2 施設でヨードホルム（CHI3）およびジヨードメタン（CH2I2）が比較的高濃度で検出され、濃度範囲はそれぞれ 35～75μg/L、17～31μg/L であった。ヨウ素化消毒副生成物の有害作用に関しては限られた情報しかないものの、化学的な反応性等から、塩素化あるいは臭素化消毒副生成物と比較して、強い毒性を示す可能性が示唆されている。温泉施設におけるヨウ素化消毒副生成物は、遊離塩素消毒、モノクロラミン消毒のいずれにおいても、暴露評価並びに低減化策を検討すべき重要な問題と考えられる。[神野透人、香川(田中)聡子、田原麻衣子、川原陽子、真弓加織(国立医薬品食品衛生研究所)、高橋淳子(桐生大学短期大学部)、縣邦雄(アクアス株式会社)、杉山寛治(株式会社マルマ)、小坂浩司(国立保健医療科学院)、八木田健司、泉山信司(寄生動物部)、倉文明]

3. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 本年度に発生した髄膜炎菌性感染症の起炎菌株の疫学的解析

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、昨年度からは「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。具体的には一昨年度は 15 例であった報告数が今年度は 36 例にまで増加した。昨年度は 11 株が収集されたが本年度は 20 株が収集され、その血清学的及び分子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 16 株、B 群 2 株、C 群及び non-typable が 1 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 7 株、ST-1655 株が 7 株で、ST-23 と ST-1655 は 1 塩基違いであり、血清群 Y の 16 株のうち 14 株が ST-23 complex として同定された。残りの Y 群 2 株は ST-11026 及び ST-3015 であった。血清群 B の株は ST-687 及び ST-2149、血清群 C の株は ST−11010、non-typable の血清群であった 1 株は ST-198 であった。今年度の分離株の中では血清群 C の ST-11010、及び血清群 C の ST-11026 の 2 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り、日本でも新規の遺伝型の株が分離されるという事実は日本国内でもまだ髄膜炎菌株分布の全容は把握しきれていないことを意味すると考えられた。また、今回は圧倒的に Y 群の 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、36 の症例報告の中から臨床分離株を入手出来た訳ではなく、殆どの株は医療に携わる先生方の任意の問い合わせに対応して得られたものである。逆に 38 例中、回収可能であったものは 6 株のみで、現状では臨床分離株を効率良く回収し、解析できていない。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。[高橋英之、福住宗久（FETP)、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。本年度はそ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を行なった。2014 年 4 月上旬に北海道教育大学の健康診断の際に、咽頭うがい液の提供を依頼し、836 名の学生の咽頭うがい液の提供を受けた。20ml の生食を溶媒として得たうがい液を遠心で濃縮し、その沈殿物をキアゲンの DNA 精製キットを用いて DNA を抽出した。その結果、7 つ（約 0.8%）の陽性検体が検出され、さらにはその 5 つが血清群 Y、1 つが B であることが判明し、日本人の保菌率が低く、検出された菌の血清群 Y と B が主要な血清群であることが確認された。[高橋英之、大西真（細菌第一部）、砂川富正、斎藤剛仁（感染症疫学センター）、羽賀將衛（北海道教育大学）、北原武尊、松本壮吉（新潟大学医学部）]

(3) 病原機構に関する研究

ア　髄膜炎菌の細胞侵入時における *gltT-gltM* グルタミン酸トランスポーターを分子作用機序の解明

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。昨年度の解析からグルタミン酸の一過的な取り込みは転写制御、翻訳制御には影響しないことが確認されたため、その作用機序のさらなる解析を行なった。その結果、a）血清を含む培地(Assay medium[AM])では *gltT-gltM* 欠損株は野生株に比べて 1/100 の細胞侵入能の低下が認められたが、血清を含まない培地(AM-serum[AM(-S)])中ではその低下が 1/10 までに抑圧された。b) その *gltT-gltM* 欠損株の細胞侵入能低下の抑圧は AM(-S)への NaCl 添加では解除されなかったが、500μM グルタミン酸添加で解除された。c) AM 中のグルタミン酸濃度は AM[-S]と比較して低濃度であった。d) 低 MOI で感染させた際には AM[-S]への 500μM グルタミン酸添加によっても *gltT-gltM* 欠損株の細胞侵入能低下の抑圧は解除されなかった。e) Ezrin の集積も AM 中の *gltT-gltM* 欠損株では認められず、AM(-S)中で認められるが、AM(-S)へのグルタミン酸添加によりその集積が解除される現象が認められた。(f) GltT-GltM トランスポーターを介して取り込まれるグルタミン酸量は細菌のみの条件下では野生株と *gltT-gltM* 欠損株で相違がなかったが、培養細胞感染時には *gltT-gltM* 欠損株で顕著な低下が認められた。g) 抗酸化作用を持つグルタチオン量もそのグルタミン酸の取り込み低下に伴って感染時に *gltT-gltM* 欠損株で顕著な低下が認められ、それに伴った細胞内生存率の低下が確認された。

以上の結果から、髄膜炎菌の GltT-GltM トランスポーターは宿主細胞へ接着・侵入する際に自身の環境中（マイクロコロニー内）のグルタミン酸濃度を一過的に低下させて髄膜炎菌の細胞侵入を促進し、さらにはグルタチオン量を増加させて細胞内生存率を上昇させると共に、髄膜炎菌にとって必須アミノ酸であるグルタミン酸を栄養源として取り込み、細胞内増殖に生かしていることが明らかとなった。このグルタミン酸トランスポーターのように、一見、病原性とは関連性が低いと思われる生物因子が実は髄膜炎菌の病原性に多面的に関与していることが明らかとなり、細菌の病原性因子の新しい側面を見いだすことが出来た。[高橋英之、大西真（感染研）、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ）]

イ　髄膜炎菌の培養細胞における接着の研究

淋菌と髄膜炎菌との組織トロピズムの違いに着目し、尿道炎の発症メカニズムを詳細に説明することでその予防戦略構築を目指している。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 に属する株が有意に分離され、これらの多くの株では Opc 高発現型であることを示した。更に、この *opc* の発現が HeLa 細胞接着に関与することも示した。*opc* の発現制御は相変異に依存しており、そのプロモーター領域の Cytidine の数によってその発現量が決定される。これまでに、株間におけるこの相変異の違いについては知られていない。そこで、髄膜炎菌株間での相変異の様式に違いがあるか検討した。*opc* のプロモーター領域の Cytidine 数の変化率を調べた。高発現型株、低発現型株における継代培養前後のプロモーター領域の Cytidine 数をフラグメント解析にて比較検討した。はじめに、両発現型共にプロモーター領域の Cytidine 数が 12 である株を得た。これらの株を用いた 10 回継代後のフラグメント解析の結果、高発現型は、継代開始時には Cytidine 数が 12 であるものが、約 80.0%存在したが、継代後には約 73.0～76.6%となった。一方、低発現型は継代開始時には Cytidine 数が 12 であるものが、約 77.0%存在したが、継代後には約 3.9～14.1%となった。高発現型と低発現型では Cytidine 数の変化率に違いが見られ、結論を得るには更なる検討は必要であるが、株間における *opc* の相変異様式に違いがあることが推測された。(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 Ticks associate rash illness(TARI)国内症例の報告

ライム病感染初期に現れる遊走性紅斑と良く似た症状を呈するTicks associate rash illness(TARI)国内症例を見出し報告した。米国以外の地域でははじめての報告である。発症の要因は未確定であり、今後その病因同定が必要である.［夏秋優，山西清文（兵庫医大），川端寛樹（細菌第一部），安藤秀二（ウイルス一部）高田伸弘（福井大)］

イ *Borrelia miyamotoi* 薬剤感受性

新興回帰熱(*Borrelia miyamotoi* 感染症)の治療指針の基盤となる、本菌の抗生物質感受性を調べた．2012 年以降に北海道で採取されたマダニより分離された本菌 5 株を用い，各々の MIC，MBC は，ドキシサイクリン(MIC=0.0625-0.25μg/ml，MBC=4-8μg/ml)，ミノサイクリン(MIC=0.0313-0.125 μg/ml，MBC=1-4μg/ml)，セフトリアキソン(0.0313- 0.125μg/ml，MBC=2-4μg/ml)、セフロキシム(MIC= 0.125-0.5 μg/ml，MBC=8-16 μg/ml)，エリスロマイシン(0.0156-0.0625 μg/ml ，1-8 μg/ml)，クラリスロマイシン(0.0020-0.0078μg/ml，MBC=1-4μg/ml)であった．比較に用いたライム病ボレリアとほぼ同等の感受性を示したことから，ライム病治療に用いられるこれら抗菌薬が*B. miyamotoi*感染症の治療にも用いることが出来る可能性があると考えられた． [佐藤梢，大西真，川端寛樹（細菌第一部）］

ウ 野生シカからの新規ボレリアの分離

北海道において、野生シカで菌血症を呈する新規ボレリアを発見した．本ボレリアは過去にウシのボレリア症と同定された*B. theireli* ならびに*B. lonestari* と近縁関係にある．本ボレリアは，野生シカにおいて高度の菌血症を呈していることから，狩猟やジビエ調理に携わる職種において曝露機会があると考えられる．本ボレリアのヒト病原性は調べられていないことから，今後、ヒト疫学調査などを通じて、本ボレリアの病原性の有無等を評価する必要があると考えられた．［李景利，坪田敏男（北海道大)，高野愛（山口大学)，川端寛樹（細菌第一部）］

(2) ボレリア感染症の病原機構に関する研究

ア *Ixodes persulcatush* 由来 Salp15 のボレリア伝播能に与える影響

Ixodes persulcatus より Salp15 遺伝子を同定し、ボレリアの伝播能に及ぼす影響を調べた。組換え Salp15 (rSalp15)は Schneider 2 細胞を用いて作製し、ライム病ボレリア 3 種(*B. burgdorferi*、*B. garinii* および *B. afzelii*)に対する rSalp15 の結合能は、Solid-phase overlay assay 法および蛍光顕微鏡で調べた。抗ボレリア血清存在化における rSalp15 の抗溶菌作用を in vitro で確認したのち、rSalp15 を加えた *B. garinii* 分離株をマウスに接種しrealtime PCR法による体内分布の定量解析を行った。*I. persulcatus* 由来Salp15は、*B. garinii*、*B. afzelii*、*B. burgdorferi* いずれの OspC とも結合した。同 Salp15 は、各抗ボレリア菌抗血清による溶菌作用に抵抗性を付与し、ボレリアの宿主への伝播を促進した。以上の結果から、本因子は宿主免疫からボレリアを保護することが明らかとなり、ボレリア伝播において重要な役割を果たす可能性が示唆された。[今内覚,大橋和男(北海道大)，高野愛（山口大学)，川端寛樹（細菌第一部）］

イ *Borrelia bavariensis* のゲノム解析

欧州、アジアで神経ボレリア症を好発するとされる *Borrelia bavariensis* のゲノム解析を Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU Munich)，Bayerisches Landesamt für Gesundheits-und Lebensmittelsicherheit (LGL)等と共同で行った。我が国を含むアジアでは本菌の多様性が示される一方で、欧州では、本菌の clonal expansion が起っている可能性が示唆された。これは本ボレリア種の起源がアジアである可能性を示唆しているものと考えられた。[Gatzmann F, Metzler D, Becker NS, Krebs S, Blum H (LMU Munich)，高野愛（山口大学)，川端寛樹（細菌第一部），Sing A, Fingerle V, Margos G (LGL)］

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 イヌのレプトスピラ保有状況調査および分離株の性状解析

12 都道府県 29 頭のレプトスピラ症疑いイヌの実験室診断を行い，7 府県 10 頭のレプトスピラ症が確定した．1 頭からレプトスピラが分離され，*L. interrogans* 血清群 Hebdomadis と同定された．また 2007 年から 2012 年までにイヌから分離された*L. interrogans*の血清学的解析と multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) による分子タイピングを行うとともに，血清群あるいは MLVA タイプと感染イヌの臨床所見の関連性を調査した．その結果，すべての血清群・MLVA タイ

プは統計的な有意差なく致死的感染を引き起こしたが，血清群 Australis 感染では他の血清群よりも重篤な腎障害がみられた.また MLVA タイプにより病原性メカニズムや標的臓器が異なる可能性が示唆された.［小泉信夫，泉谷秀昌，大西真（細菌第一部）］

(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

レプトスピラ症の重症化メカニズムを明らかにするために，シリアンハムスターに対して異なる病原性を示す *Leptospira interrogans* 2 株を用いて，感染 96 時間後の各臓器におけるレプトスピラ DNA 量およびサイトカイン遺伝子発現量を比較した．強毒株 UP-MMC-NIID 接種群の肝臓におけるレプトスピラ DNA 量は,弱毒株 OP84 接種群に比べて有意に多かった．他の組織ではレプトスピラ DNA 量の差が認められなかったことから，強毒株は肝臓において高い増殖能を有することが明らかとなった．また強毒株，弱毒株両接種群において，全ての組織で炎症性および抗炎症性サイトカイン遺伝子の発現量増加が見られ，いくつかの遺伝子は強毒株接種群で有意に遺伝子発現が上昇していた．また昨年度行った感染実験において，腎臓，肺臓では顕著な病変の差が観察されるのに対し，肝臓では強毒，弱毒株接種群間で顕著な病変の差は観察されないことを明らかにした．このことから，強毒株 UP-MMC-NIID はシリアンハムスター肝臓を増殖の場とし，弱毒株にはない腎臓，肺臓を障害する特有の病原因子を有する可能性が考えられた.［小泉信夫，大西真（細菌第一部）藤田理恵（東京農工大学）］

イ レプトスピラ感受性の性差に関する研究

レプトスピラ感染において，これまでの疫学調査から男性のほうが女性よりも重症化しやすいことが知られている．ハムスターにおいてもヒトと同様の感受性性差がみられるかを調査した.レプトスピラ OP84 株の感染実験を行い，感染 120 時間後の各臓器の病理像，レプトスピラ DNA 量およびサイトカイン遺伝子発現定量を雌雄で比較した．その結果，肺臓の病理において雌雄差：オスでのみ出血がみとめられた．しかしながらレプトスピラ DNA 量およびサイトカイン遺伝子発現定量に雌雄差はみとめられなかった．今後，経時的な比較および他のサイトカイン遺伝子発現量の比較を行い，肺出血の原因を明らかにする必要がある.［小泉信夫，大西真（細菌第一部）冨澤莉那（東京農工大学）］

(3) 検査法に関する研究

ア レプトスピラ症診断のための新たな LAMP 法の開発

レプトスピラ DNA 検出のためのすべての試薬を乾燥状態にした LAMP 法(乾燥型 LAMP 法)の確立を試みた.16S rRNA 遺伝子 *rrs* をターゲットとして既存のプライマーセット Lepto-rrs を含む 4 種類の感度,反応速度の比較を行い，2 種類のプライマーセットが有用であることを明らかにし，反応条件を確立した．乾燥型 LAMP の感度は通常の LAMP 法と同じ反応系あたり 2 ゲノム当量であった．風乾後の試薬を常温で保管し時間経過による感度の変化を調べた結果，風乾後 6 週間目から感度の低下がみられ始めた．そこで凍結乾燥により試薬を調整，常温保管し，感度の変化を調べたところ，凍結乾燥後 3 ヵ月は感度に変化はみられなかった．今後，感度変化の経時調査を行うとともに，凍結乾燥に最適な各試薬の濃度や前処理法を検討する．［小泉信夫，大西真（細菌第一部）中島千絵，鈴木定彦（北海道大学 CZC）］

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 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

2014 年 4 月から 2015 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 192 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 1.0%、26.6%、85.9、13.5%、50.5%、100%が感受性株であった。昨年度と比較して azithromycin に対する感受性率低下が著しいことが注目される。また cefixime、ceftriaxone azithromycin の３剤ともに対して低感受性となる株が増加している傾向が 2014 年末まで継続して見られた。分子型別により、これらがクローナルなものか否か検討している。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株について、2015 年 1 月分離株で ceftriaxone MIC=0.5 のものが 1 株検出された。分子型別によりこれまで世界で 3 株報告のある ceftriaxone 耐性株との関連性、独立性を検討している。なお、2015 年 3 月までのデータではこれ以外の ceftriaxone 耐性株の出現、拡散は検知されていない。

［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］

イ　淋菌の Multiple-Locus VNTR Analysis による解析の検討

京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランスで 2010-2014 年に分離された株について 5 VNTR loci による Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis（MLVA）を実施し、有用性を検討した。MLVA は従来法である MLST および NG-MAST と比較して、遺伝子型別の分解能が高く簡便であった。MLVA ならびに MLST、NG-MAST を適宜併用もしくは選択して実施することにより、薬剤耐性淋菌サーベイランスにおける遺伝子系統解析およびモニタリングに有効となり得ると考えられた。［石原朋子、川村舞雪（北里大学）、中山周一、志牟田健、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。2012 年５月のプロジェクト開始以来の総計で、71 の PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 44 例で、このうち 31 例は海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 11d/f が１例、11o/c が 4 例、14d/c が 4 例、14d/g が 2 例、14e/f が 2 例、であった、

米国シアトル市では最頻となりマクロライド耐性型変異と強くリンクする報告のある 14d/g の国内 2 例はいずれも マクロライド耐性型変異を保有していた。これらはシアトルまたは同様の流行株がサーキュレートする地域からの伝搬によるものであることが示唆される。

また、2015 年３月に初めて３件の先天梅毒疑い検体 PCR 依頼を受けた。２件は PCR 陰性、１件で PCR 陽性、分子タイプ 14d/f の結果を得た。この陽性例では先天梅毒確定診断の際に決め手となる IgM が陰性であり、PCR による病原体検出が早期診断に寄与できた１例であった。[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　　梅毒の分子タイピング基盤の評価検討

梅毒トレポネーマの分子タイピングは本菌が培養不能であることがネックとなり大きく立ち後れているが、現在は、多型の有る遺伝子 *arp*、*tpr*、*tp0548* の PCR 産物をタイピングし、それを列挙してタイプ名とする方法が採られている。*arp* は産物長、*tp0548* は直接塩基配列から型別され、その基盤は明確であるが、 *tpr* については *tprE,G,J* の 3 遺伝子混合 PCR 産物の RFLP パターンで型別するため基盤がやや不明確で各タイプ間の遺伝的距離等が評価しにくい。そこで、我々がこれまで検出した *tpr* 型 d と o の検体、及び *tpr* 型 a のニコルス株を用いて、*各 tprE,G,J* を別々に座位特異的 PCR や、混合 PCR 産物からの選択クローニング、塩基配列決定、等を行いた検討を行っている。予備的な結果として、*tpr* 型 a と d とは *tprE* と *tprJ* とが全く同一、*tprG* での 1 塩基置換のみの差でも型が分かれ得ることが判明し、これら２種は比較的遺伝的距離が近い、少なくともともそのような場合があることを見いだした。今後も解析を進め、より分離能が高く遺伝距離をできるだけ反映した改良タイピング法開発を目指したい。［中山周一、大西真］

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活性

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形成に大きく関わるクオラムセンシングを阻害する分子を検討するために、すでに明らかになったバイオフィルム形成阻害因子である小豆由来 7S グリブリンを用いて検討を行った。この 7S グロブリンは、クオラムセンシングにおけるオートインデュ―サー：Competence Stimulating Peptide (CSP)の活性であるバクテリオシン活性を抑制した。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、鈴木雄佑、大西　真］

イ　Raffinose を基質とした *Streptococcus mutans* バイオフィルム形成の検討

Streptococcus mutans は sucrose 存在下で歯表面に齲蝕の原因となるバイオフィルムを形成する。このバイオフィルムは主に細菌と細胞外ポリサッカライド(EPS)、細胞外 DNA(eDNA)、蛋白質からなる細胞外マトリックスにより構成されている。本研究ではヒトが代用甘味料として摂取するオリゴ糖に着目し、*S. mutans* のバイオフィルム形成へのオリゴ糖の影響を検討した。本研究ではオリゴ糖として、raffinose を使用した。raffinose 存在下でバイオフィルムが形成された。このバイオフィルム形成には、水溶性 EPS と細胞外 DNA が関与していた。よって、raffinose のよう

なオリゴ糖もバイオフィルム形成の基質になる可能性が示唆された。［泉福英信、永沢亮、大西　真］

ウ　*Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成を抑制する成分のミズナ成分の同定

歯表面への初期付着菌である *Actinomyces naeslundii* の流れのある環境でのバイオフィルム形成実験を確立した。この実験系を利用して、みずなから抽出されたサンプルにおけるバイオフィルム形成抑制物質の同定を行った。ミズナ成分の中で抑制分子の候補として、以下の６つの蛋白質が見つかった。Pentatricopeptide repeat-containing protein, Putative methyltransferase、Malate dehydrogenase, myosin heavy chain、predicted protein、isopentenyl diphosphate isomerase。どの蛋白質が、抑制物質が明らかにするために、現在それぞれの蛋白質に対する抗体を作製し、それらの抗体による抑制解除実験を検討している。［泉福英信、鈴木雄佑、落合邦康（日本大学歯学部)、大西　真］

2. 歯周病、および歯周病原細菌に関する研究

(1) 歯周病予防に関する研究

ア 歯周病原細菌 *P. gingivalis* のメンブランヴェシクル(MV)を利用した経鼻ワクチンに関する研究

P. gingivalis のMVを免疫原とした歯周病ワクチンへの応用を視野に、幾つかの検討を行った。MV はタンパク分解酵素による分解に高い抵抗性を示し、かつ長期保存後も安定であった。MV のマウスへの経鼻免疫実験では、MV 単体でもアジュバント効果が認められたが、さらにTLR3 作働薬である Poly(I:C)の添加で免疫誘導が劇的に高められた。本法で経鼻免疫して得られた血清および唾液は、それぞれ *P. gingivalis* の殺菌および凝集を促進した。[中尾龍馬、大西真、長谷川秀樹（感染病理部)、泉福英信]

イ 細菌由来メンブランヴェシクル(MV)に対する宿主免疫応答に関する研究

P. gingivalis のみならずその他のグラム陰性及び陽性細菌の MV の宿主免疫応答について検討した。*P. gingivalis* の MV は、大腸菌や髄膜炎菌と異なり２型免疫応答を示すこと、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の MV の添加で免疫原性が高まることが明らかとなった。グラム陽性細菌であるウェルシュ菌の MV はマクロファージ様細胞に対し TLR2 を介した炎症性サイトカインの発現を誘導した。[中尾龍馬、尾花望、永山恭子、野村暢彦（筑波大学)、泉福英信]

ウ　プロポリスの歯周病細菌等に対する殺菌作用に関する検討

P. gingivalis を含めた様々な口腔細菌に対するプロポリスの殺菌効果を検討した。プロポリスは *P. gingivalis* のみならず *Prevotella nigrescens* を含めたいくつかの歯周病細菌にも強い殺菌効果を示した。一方で、口腔常在細菌叢の主な構成要素たる口腔レンサ球菌については、調査した 8 株がいずれも *P. gingivalis* や *P. nigrescens* より MIC が 2^3 高かった。以上より、プロポリスを用いた選択的な歯周病予防・治療法の確立が期待される。[中尾龍馬、吉益由莉、古川壮一（日本大学)、森永康(日本大学)、泉福英信]

3 HIV 感染者の口腔細菌に関する研究

HIV 感染者は ART 療法後、感染症による全身症状が沈静化してくるが、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ため、唾液中の口腔細菌量が口腔疾患発症リスクマーカーになりうるか検討を行った。その結果、HIV^+患者 38 名および対照:HIV^-被験者 28 名の唾液を採取し、口腔細菌の定量を行った。その結果、唾液中の総菌数、総嫌気性菌数は、HIV^+患者において、対照者よりも有意に多いことが明らかとなった。また、歯周病との関連性も示唆された。よって、唾液中の総菌数、総嫌気性菌数は、HIV 感染者の口腔疾患発症リスクマーカーになりうることが示唆された。［泉福英信、吉村和久（エイズ研究センター)、大西真］

4. 口腔ケアの口腔内細菌に対する効果の研究

２４の国立病院に長期入院している重症心身障碍者を対象に、口腔ケアの口腔細菌に対する効果の検討を行った。３か月に１度２４施設６５０唾液サンプルを集め、菌の定量分析を行った。各施設被験者の平均的な口腔ケアの効果の傾向は、時間経過とともに *Staphylococcus aureus* の菌量は増加し、総菌数は減少していた。今後、個々被験者の口腔内の状況と全身における影響を検討し、データをまとめ、最終的な口腔ケアの口腔細菌に対する効果を明らかにする。［泉福英信、岩節博史（神奈川歯科大学)、大西真］

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

1. 菌株の受け入れ

平成 26 年度は、臨床分離株 69 株、環境分離株 109 株の合計 178 株を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila* (Lp) SG1 の 63 株、Lp SG3・SG4・SG6・SG8・SG9・SG13 各 1 株であった。高齢者福祉施設の浴槽で 2 名感染した事例 1 株、冷却塔による院内感染疑い事例 1 株を含む。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 49 株、Lp SG3 の 17 株、Lp SG5 の 15 株、Lp SG6・ SG7・SG8・SG10 の各 3 株、Lp SG2 の 1 株、Lp untypable の 5 株、Lp 以外では *L. gormanii* 3 株、*L. londiniensis* 2 株、*L. anisa*・*L. beliardensis*・*L. jordanis*・*L. rowbothamii*・*Legionella* spp. 各 1 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（シャワー水 32 株、貯水槽・水溜まり各 2 株、加湿水槽水・水槽水・蛇口水・スポンジ・プール水各 1 株の合計 41 株）、症例調査に関連した株（7 株）を含む。なお、収集された株は、必ずしも平成 26 年度に分離された株とは限らない。［倉　文明、前川純子、大西真］

2. 市販されていないレジオネラ免疫血清等の交差反応性

レジオネラ属菌の新種として、ATCC から *L. nagasakiensis*・*L. norrlandica*、理研 JCM から *L. cardiaca* を購入し、デンカ生研の免疫血清との交差反応性を、スライド凝集反試験で検査した。*L. cardiaca* はニューモフィラ 10 群に、*L. norrlandica* はニューモフィラ 13 群にそれぞれ反応した。これまでニューモフィラ 13 群に交差反応する Lp 以外の *Legionellla* spp.として保存されていた温泉水分離株 1 株が、*mip* 遺伝子の塩基配列決定により *L. norrlandica* と同定された。［倉　文明、前川純子］

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

国家検定：1 lot［川端寛樹、高橋英之］

II. 10 価結合型肺炎球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

［池辺忠義、小川道永、大西真］

III. 13 価結合型肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定：24 lot ［常彬、小川道永、大西真］

IV. 23 価肺炎球菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定：16 lot ［前川純子、小川道永、大西真］

V. 梅毒の体外診断薬の承認前検査

H26 年度は化学発光 EIA またはその変法による試薬、計 2 件の検査を行った。 [中山周一]

国際協力関係業務

I. JGRID 各拠点との共同研究

コレラ菌に関する共同研究を開始し、インド、タイ、ベトナム、インドネシア分離株のゲノム解析を実施した。

研修業務

I. 腸管感染症に関する研修

平成 26 年度長野県臨床検査技師研修会「腸管出血性大腸菌感染症の現状と感染研の取り組み」平成 26 年 10 月、長野県［伊豫田淳］

平成 26 年度地域保健総合推進関東甲信静ブロックレファレンスサンター連絡会議「大腸菌レファレンス委員会と EHEC サーベイランス」平成 26 年 12 月、山梨県［伊豫田淳］

平成 26 年度希少感染症診断技術研修会＜細菌性下痢症＞「腸管出血性大腸菌感染症の重症例検出に関する検査法について」平成 27 年 2 月［伊豫田淳］

II. レジオネラ属菌に関する講習会

1. 平成 26 年度レジオネラ属菌汚染防止対策講習会「レジオネラ症とレジオネラ属菌」2014 年 7 月、宮崎［前川純子］

2. 国立保健医療科学院平成 26 年度短期研修新興・再興研修で、レジオネラ検査診断実習概要・レジオネラ感染症総論（以上倉）、Sequence-Based Typing（SBT）法概論（前川）について講演を行い、レジオネラ属菌培養法実習・迅速検査診断法実習・斜光法によるレジオネラ属菌検査診断実習、喀痰からの LAMP 法による検査診断法実習を他の講師とともに行った。24 名の参加があった。2014 年 11 月、東京都. ［前川純子、倉　文明］

3. 平成 26 年度希少感染症診断技術研修会 7. 呼吸器感染症「レジオネラ」 2015 年 2 月［前川純子］

4. 平成 26 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、「レジオネラ症の最近の話題と動向」（倉）、「感染源調査に係る遺伝子型別の最新情報」（前川）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。2015 年 2 月、東京都［前川純子、倉　文明］

5.　平成 26 年度千葉県環境衛生監視員継続研修にて、「レジオネラ属菌に関する最新の知識・知見について」と題して特別講演を行った。参加者 29 名。2014 年 8 月、千葉.［倉　文明］

6. 3.　平成 26 年度仙台市環境衛生監視員継続研修で「レジオネラ症防止対策　～最新の研究から見たレジオネラの実態と対策～」を講演した。117 名の参加があった。2014 年 11 月、仙台.　［倉　文明］

その他

1)　日経メディカル 8 月号の「レジオネラ症　菌が繁殖する夏期、高齢男性の肺炎に注意」でコメントした。［倉　文明］

2)　6 月 17 日 TBS テレビ番組「いっぷく」で、レジオネラ属菌とは、増殖するポイント(温度湿度)(どういつた人が危ない、症状の出方は、どうやって感染する、家庭で気をつける事等が放映された。［倉　文明］

3)　サンデー毎日 5 月 25 日号「『掛け流し』『循環式』温泉の舞台裏」、6 月 1 日号「お宅のシャワー、大丈夫ですか？　高齢者を襲う、″レジオネラ菌″の恐怖」、においてモノクロラミン消毒、シャワー等からの感染リスクが紹介された。［倉　文明］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Iguchi A, Iyoda S, Kikuchi T, Ogura Y, Katsura K, Ohnishi M, Hayashi T, Thomson NR. A complete view of the genetic diversity of the *Escherichia coli* O-antigen biosynthesis gene cluster. DNA Research. 2015, 22(1): 101-107.

2) Iyoda S, Manning SD, Seto K, Kimata K, Isobe J, Etoh Y, Ichihara S, Migita Y, Ogata K, Honda M, Kubota T, Kawano K, Matsumoto K, Kudaka J, Asai N, Yabata J, Tominaga K, Terajima J, Morita-Ishihara T, Izumiya H, Ogura Y, Saitoh T, Iguchi A, Kobayashi H, Hara-Kudo Y, Ohnishi M, and EHEC working group in Japan. Phylogenetic clades 6 and 8 of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 with particular *stx* subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers. Open Forum Infectious Diseases. 2014, 1(2): ofu061.

3) Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N. Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect. 2015, Jan 20:1-12.

4) Maeda E, Murakami K, Etoh Y, Onozuka D, Sera N, Asoshima N, Honda M, Narimatsu H, Iyoda S, Watahiki M, Fujimoto S. Does sequence type 33 of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O91 cause only mild symptoms? J Clin Microbiol. 2015, 53(1): 362-364.

5) Watahiki M, Isobe J, Kimata K, Shima T, Kanatani J, Shimizu M, Nagata A, Kawakami K, Yamada M, Izumiya H, Iyoda S, Morita-Ishihara T, Mitobe J, Terajima J, Ohnishi M, Sata T. J Clin Microbiol. 2014, 52(8): 2757-2263.

6) Lee K, Kusumoto M, Sekizuka T, Kuroda M, Uchida I, Iwata T, Okamoto S, Yabe K, Inaoka T, Akiba M. 2015. Extensive amplification of GI-VII-6, a multidrug resistance genomic island of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, increases resistance to extended-spectrum cephalosporins. Front. Microbiol. 2015, 6:78.

7) Matsumoto Y, Izumiya H, Sekizuka T, Kuroda M, Ohnishi M. Characterization of *bla*TEM-52-carrying plasmids of extended-spectrum-β-lactamase-producing *Salmonella enterica* isolates from chicken meat with a common supplier in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Dec;58(12):7545-7.

8) Albert MJ, Al Obaid K, Alfouzan W, Sheikh AR, Udo E, Izumiya H, Bulach DM, Seemann T. Isolation of *Salmonella enterica* serovar Kentucky strain ST 198 and its H2S-negative variant from a patient: implications for diagnosis. J Clin Microbiol. 2014 Nov;52(11):4090-3.

9) Ido N, Lee K, Iwabuchi K, Izumiya H, Uchida I, Kusumoto M, Iwata T, Ohnishi M, Akiba M. Characteristics of *Salmonella enterica* serovar

4,[5],12:i:- as a monophasic variant of serovar Typhimurium. PLoS One. 2014 Aug 5;9(8):e104380.

10) Fukui D, Takahashi K, Kubo M, Une Y, Kato Y, Izumiya H, Teraoka H, Asakawa M, Yanagida K, Bando G. Mass mortality of Eurasian Tree Sparrows (*Passer montanus*) from *Salmonella* Typhimurium DT40 in Japan, winter 2008-09. J Wildl Dis. 2014 Jul;50(3):484-95.

11) Kobayashi T, Hayakawa K, Mawatari M, Mezaki K, Takeshita N, Kutsuna S, Fujiya Y, Kanagawa S, Ohmagari N, Kato Y, Morita M. Case report: failure under azithromycin treatment in a case of bacteremia due to Salmonella enterica Paratyphi A. BMC Infectious Diseases. 2014. 14:404

12) 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, 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. Epidemiology and Infection. 2015. 143 (4): 864-872.

13) Ikebe T, Chiba K, Shima T, Masuda C, Okuno R, Ohya H, Ogata K, Katsukawa C, Kawahara R, Tominaga K, Yabata J, Tada Y, Okabe N, Watanabe H, Chang B, Ogawa M, Ohnishi M, the Working group for beta-hemolytic streptococci in Japan. Evaluation of streptococcal toxic shock-like syndrome caused by group B streptococcus in adults in Japan between 2009 and 2013. Journal of Infection and Chemotherapy. 2015. 21 (3): 207-211.

14) Kohayagawa Y, Ishitobi N, Yamamori Y, Wakuri M, Sano C, Tominaga K, Ikebe T. Streptococcal toxic shock syndrome from necrotizing soft-tissue infection of the breast caused by a mucoid type strain. Journal of Infection and Chemotherapy. 2015. 21 (2): 144-147.

15) Okamoto F, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Etoh Y, Kaida M, Makigusa M, Nakashima K, Jinnouchi Y, Takemoto H, Kakegawa H, Yamasaki C, Manabe S, Sasaki M, Ogata K, Ikebe T, Sera N. A Foodborne outbreak of group A streptococcal infection in Fukuoka prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2014. 67 (4): 321-322.

16) Morimoto M, Tamura S, Hayakawa T, Yamanishi H, Nakamoto C, Nakamoto H, Ikebe T, Nakano1 Y, Fujimoto T. Phlegmonous gastritis associated with group A streptococcal toxic shock syndrome. Intern Medicine. 2014. 53 (22): 2639-2642.

17) Sanderson-Smith M, Oliveira D, Guglielmini J, McMillan D, Vu T, Holien J, Henningham A, Steer A, Bessen D, Dale J, Curtis N, Beall B, Walker M, Parker M, Carapetis J, Melderen L, Sriprakash K, Smeesters P, the M Protein Study Group. A systematic and functional classification of *Streptococcus pyogenes* that serves as a new tool for molecular typing and vaccine development. Journal of Infectious Diseases. 2014. 210 (8): 1325-1338.

18) Chang B, Wada A, Hosoya M, Oishi T, Ishiwada N, Oda M, Sato T, Terauchi Y, Okada K, Nishi N, Akeda H, Kamiya H, Ohnishi M, Ihara T, and the Japanese Invasive Disease Study Group. Characteristics of group B Streptococcus isolated from infants with invasive infections: A population-based study in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2014.67:356-360.

19) Oikawa J, Ishiwada N, Takahashi Y, Hishiki H, Nagasawa K, Takahashi S, Watanabe M, Chang B, and Kohno Y. Changes in nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* among healthy children attending a day-care centre before and after official financial support for the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and H. influenzae type b vaccine in Japan. Journal of Infection and Chemotherapy. 2014.20:146-149.

21) Kasahara K, Komatsu Y, Koizumi A, Chang B, Ohnishi M, Muratani T, and Mikasa K. Serotype 35B *Streptococcus pneumoniae*, Japan, 2002-2012. Journal of Infection and Chemotherapy. 2014.20:228-230.

22) Kuroki T, Ishida M, Suzuki M, Furukawa I, Ohya H, Watanabe Y, Konnai M, Aihara Y, Chang B, Ariyoshi K, Oishi K, Ohnishi M, and Morimoto K. Outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 pneumonia in extremely elderly people in a nursing home unit in Kanagawa, Japan, 2013. Journal of the American Geriatrics Society. 2014.62:1197-1198.

24) Tamura K, Matsubara K, Ishiwada N, Nishi J, Ohnishi H, Suga S, Ihara T, 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. 2014.32(42):1444-1450.

25) Ishiwada N, Hishiki H, Nagasawa K, Naito S, Sato Y, Chang B, Sasaki Y, Kimura K, Ohnishi M, and Shibayama K. The incidence of pediatric invasive *Haemophilus influenzae* and pneumococcal disease in Chiba prefecture, Japan before and after the introduction of conjugate vaccines. Vaccine. 2014.32(42):5425-5231.

26) Akeda H, Chang B, Nakamura Y, Hamabata H, Ameku K, Toma T, Tamanaha E, and Ohnishi M. Impact of seven valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal carriage in young children in Okinawa, Japan. World Journal of Vaccines. 2015.5(2):88-95.

27)Nishizuka M, Suzuki H, Ara T, Watanabe M, Morita M, Sato C, Tsuchida F, Seto J, Amemura-Maekawa J, Kura F, Takeda H.: A case of pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroup 12 and treated successfully with imipenem. J. Infect. Chemother. 2014. 20:390-393.

28) Suzuki H, Nishizuka M, Ara T, Watanabe M, Morita M, Sato C, Tsuchida F, Seto J, Amemura-Maekawa J, Kura F, Takeda H.: Reply to the letter to the editor by Edelstein PH. J. Infect. Chemother. 2015. 1:77.

29) Koizumi N, Mizutani Muto M, Izumiya H, Suzuki M, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis and clinical characterization of *Leptospira interrogans* canine isolates. J Med Microbiol. 2105. 64(3): 288–294.

30) Kutsuna S, Kato Y, Koizumi N, Yamamoto K, Fujiya Y, Mawatari M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N. Travel-related leptospirosis in Japan: a report on a series of five imported cases diagnosed at the National Center for Global Health and Medicine. J Infect Chemother. 2015. 21(3): 218–223.

31) Youn JH, Hayashida K, Koizumi N, Ohnishi M, Sugimoto C. Comparative genomic analysis of eight *Leptospira* strains from Japan and the Philippines revealing the existence of four putative novel genomic islands/islets in *L. interrogans* serovar Lai strain 56601. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2014. 37(5–6): 289–297.

32) Toma C, Murray GL, Nohara T, Mizuyama M, Satou K, Koizumi N, Adler B, Suzuki T. Leptospiral outer membrane protein LMB216 is involved in enhancement of phagocytic uptake by macrophages. Cell Microbiol. 2014. 16(9): 1366–1377.

33) Yasuda SP, Gamage CD, Koizumi N, Nishio S, Isozumi R, Shimizu K, Koma T, Amada T, Suzuki H, Yoshimatsu K, Arikawa J. Distinct genetic characteristics of Sri Lankan *Rattus* and *Bandicota* (Murinae, Rodentia) inferred from mitochondrial and nuclear markers. Genes Genet Syst. 2014. 89(2): 71–80.

34) Shimizu Y, Sakamoto N, Ainoda Y, Hikone M, Kobayashi K, Iwabuchi S, Koizumi N, Ohnishi K. Leptospirosis in Japanese urban area: a case report and literature review. J Infect Chemother. 2104. 20 (4): 278–281.

35) Y. Takayama, S. Nakayama, K. Shimuta, T. Morita-Ishihara, and M. Ohnishi. Chracterization of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Tokyo in 2005-2011. J. Infect. Chemother. **20:**339-341. 2014.

36) Morita-Ishihara T, Unem M, Furubayashi K, Kawahata T, Shimuta K, Nakayama S, Ohnishi M. Treatment failure with 2 g of azithromycin (extended-release formulation) in gonorrhoea in Japan caused by the international multidrug-resistant ST1407 strain of *Neisseria gonorrhoeae.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 69:2086-2090, 2014.

37) Nakao R, Kikushima K, Higuchi H, Obana N, Nomura N, Dongying B, Ohnishi M, Senpuku H. A Novel Approach for Purification and Selective Capture of Membrane Vesicles of the Periodontopathic Bacterium, *Porphyromonas gingivalis* : Membrane Vesicles Bind to Magnetic Beads Coated with Epoxy Groups in a Noncovalent, Species-Specific Manner. PLoS ONE. 2014. 9(5): e95137.

38) Tada A, Watanabe M, Senpuku H. Factors affecting changes in compliance with infection control practice by dentists in Japan. American Journal of Infection Control. 2015. 43(1): 95-97.

39) Bai D, Nakao R, Ito A, Uematsu H, Senpuku H. Immunoreactive antigens recognized in serum samples from mice intranasally immunized with *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles. FEMS Pathogens and Diseases. 2015. 73(3): 1-15.

40) Ohsumi T, Takenaka S, Wakamatsu R, Sakaue Y, Narisawa N, Senpuku H, Ohshima H, Terao Y, Okiji T. Residual structure of *Streptococcus mutans* biofilm following complete disinfection favors secondary bacterial adhesionand biofilm re-development. PLoS ONE. 2015. 10(1): e0116647.

41) Arai T, Kinoshita Y, and Senpuku H. Persistent colonization of *Candida albicans* yeast on the tongue in NOD/SCID.*e2f1*$^{-/-}$ mice. Journal of Infection and Chemotherapy. 2015, 21(5):370-375,

42) Arai T, Ochiai K, Senpuku H. *Actinomyces naeslundii* GroEL-dependent initial attachment and biofilm formation in a flow cell system. Journal of Microbiological Methods 2015. 109:160-166.

43) Golparian D, Shafer W, Ohnishi M, Unemo N. Importance of multi-drug efflux pumps in the antimicrobial resistance property of clinical multi-drug resistant isolates of Neisseria gonorrhoeae. Antimicrob Agents Chemother 2014, 58, 3556-3559.

44) Hayakawa K, Itoda I, Shimuta K, Takahashi H, Ohnishi M. A case of urethritis due to novel multilocus sequence type of the ST-11/ET-37 complex *Neisseria meningitidis* serogroup W in a MSM. Emerg Infect Dis 2014 20:1585-7.

45) Alam M, Rashed SM, Mannan SB, Islam T, Lizarraga-Partida ML, Delgado G, Morales T, Mendez JL, Navarro A, Watanabe H, Ohnishi M, Hasan NA, Huq A, Sack RB, Colwell RR, Cravioto A. Occurrence in Mexico, 1998 - 2008, of *Vibrio cholerae* CTX^{+} El Tor Carrying an Additional Truncated CTX Prophage. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014, 111, 9917-22.

46) Jacobsson S, Golparian D, Alm R, Huband M, Mueller J, Jensen J, Ohnishi M, Unemo M. High in-vitro activity of the novel spiropyrimidinetrione AZD0914, a DNA gyrase inhibitor, against multidrug resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates suggests a new effective option for oral treatment of gonorrhea. Antimicrob Agents Chemother 2014, 58, 5585-5588.

47) Jacobsson S, Golparian D, Ly P, Ohnishi M, Hans F, Yat O, Magnus U. In vitro activities of the novel bicyclolides modithromycin (EDP-420, EP-013420, S-013420) and EDP-322 against multidrug-resistant clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates and international reference strains. J Antimicrobial Chemother 2015, 70, 173-177.

48) Igarashi T, Ito S, Sako M, Saitoh A, Hataya H, Mizuguchi M, Morishima T, Ohnishi K, Kawamura N, Kitayama H, Ashida A, Kaname S, Taneichi H, Tang J, Ohnishi M; Study group for establishing guidelines for the diagnosis and therapy of hemolytic uremic syndrome. Guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. Clin Exp Nephrol. 2014, 18, 525-557.

49) Muhammad I, Golparian D, Dillon JA, Johansson A, Ohnishi M, Sethi S, Chen SC, Nakayama SI, Sundqvist M, Bala M, Unemo M. Characterisation of blaTEM genes and types of beta-lactamase plasmids in Neisseria gonorrhoeae - the prevalent and conserved blaTEM-135 has not recently evolved and existed in the Toronto plasmid from the origin. BMC Infect Dis. 2014 Aug 22;14(1):454.

50) Lee K, Takano A, Taylor K, Sasika M, Shimozuru M, Konnai S, Kawabata H, Tsubota T. A Relapsing fever group Borrelia sp. similar to *Borrelia lonestari* found among wild sika deer (Cervus nippon yesoensis) and Haemaphysalis spp. ticks in Hokkaido, Japan. Ticks and Tick-borne Diseases. 2014. 5: 841-847.

51) Andoh M, Ogasawara Y, Sakata A, Ito T, Fujita H, Kawabata H, Ando S. Isolation of spotted fever group Rickettsia, *R. tamurae* and Candidatus *R. kotlanii,* from *Haemaohysalis megasinosa* in Japan. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2014. 14(9): 681-684.

52) Natsuaki M, Takada N, Kawabata H, Ando S, Yamanishi K. A case of tick-associated rash illness caused by *Amblyomma testudinarium*. Journal of Dermatology. 2014. 41(9): 834-836.

53) Takano A, Toyomane K, Konnai S, Ohashi K, Nakao M, Ito T, Andoh M, Maeda K, Watarai M, Sato K, Kawabata H. Tick surveillance for relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Hokkaido, Japan. PLoS One. 2014. 9(8): e104532.

54) Sato K, Takano A, Konnai S, Nakao M, Ito T, Kaneko M, Koyama K, Ohnishi M, Kawabata H. Human *Borerlia miyamotoi* infection in Japan. Emerging Infectious Diseases. 2014. 20(8): 1391-1393.

55) Konnai S, Hidano A, Yamada S, Gitahi, N, Higuchi H, Nagahata H, Ito T, Kawabata H, Ando S, Takano A, Murata S, Isesaki M. Suppressive effects of nutorophil by Salp16 Iper, a salivary gland protein, from *Ixodes persulcatus* Schulze tick. Insect Molecular Biology. 2014. 23(4): 466-474.

56) Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Takahashi T, 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. Medical Entomology and Zoology. 2014. 65(1): 13-21.

57) Suzuki S, Mimuro H, Kim M, Ogawa M, Ashida H, Toyotome T, Franchi L, Suzuki M, Sanada T, Suzuki T, Tsutsui H, Núñez G, Sasakawa C. Shigella IpaH7.8 E3 ubiquitin ligase targets glomulin and activates inflammasomes to demolish macrophages. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014. 111:E4254-63.

58) 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., and Sasakawa, C. Epigenetic silencing of miR-210 increases the proliferation of gastric epithelium during chronic Helicobacter pylori infection. Nat. Commun. 2014. 5:4497. doi: 10.1038/ncomms 5497.

59) 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 2014. 9: e98285.

2. 和文発表

1) 伊豫田淳、石原朋子、大西真. 重症例由来の腸管出血性大腸菌. 感染 炎症 免疫. 2014, 44(1): 75-77.

2) 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。日本食品微生物学会、第 31 巻第 2 号、57-62、2014 年 6 月。

3) 泉谷秀昌：サルモネラ症。公衆衛生情報、第 44 巻第 5 号、20-21、2014 年 8 月。

4) 緒方喜久代、佐々木麻里、成松浩志、荒川英二、泉谷秀昌、大西真：ナグビブリオによる食中毒事例について－大分県。IASR、第 35 巻、134-135、2014 年 5 月

5) 泉谷秀昌、荒川英二、森田昌知、大西真：2013 年 9～10 月に発生した食中毒事例において分離されたナグビブリオ株について。IASR、第 35 巻、136、2014 年 5 月

6) 泉谷秀昌、大西真：サルモネラ感染症。小児内科、第 46 巻増刊号、867-870、2014 年。

7) 泉谷秀昌：WHO-AGISAR について。獣医畜産新報、第 68 巻第 2 号、92-96、2015 年 2 月。

8) 菅秀、庵原俊昭、浅田和豊、富樫武弘、細矢光亮、陶山和秀、石和田稔彦、斎藤昭彦、大石智洋、小田慈、脇口宏、佐藤哲也、岡田賢司、西順一郎、安慶田英樹、柴山惠吾、常彬. 小児における侵襲性インフルエンザ菌、肺炎球菌感染症：2013年. 病原微生物検出情報. 35:233-234. 2014.

9) 常彬、大西真、庵原俊昭. 小児侵襲性肺炎球菌感染症由来菌株の細菌学的解析結果. 病原微生物検出情報. 35:234-236. 2014.

10) 西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、柳哲史、高橋弘毅、武田博明、田邊嘉也、笠原敬、藤田次郎、横山彰仁、山崎一美、福住宗久、牧野友彦、高橋琢理、松井珠乃、石岡大成、木村博一、大日康史、砂川富正、大石和徳、常彬、大西真、金城雄樹. 成人侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）の臨床像と原因菌血清型分布に関する記述疫学（2013年）. 病原微生物検出情報. 35:236-238. 2014.

11) 松田正法、重村久美子、徳島智子、吉田英弘、佐藤正雄、廣瀬みよ子、門司慶子、石津尚美、竹中 章、前川純子：病院内冷却塔からのレジオネラ感染疑い事例―福岡市病原微生物検出情報. 2015. 36(1):13-14.

12) 笠原ひとみ、関口真紀、中沢春幸、藤田暁、畔上由佳、高山 久、千秋智重、関 年雅、池田元彦、前川純子、倉 文明:*L. pmeumophila* 血清群9の症例について、病原微生物検出情報 36(1):14-5, 2015.

13) 倉 文明：VI 感染症-22 レジオネラ症、小児疾患診療のための病態生理 1、改訂第 5 版、「小児内科」「小児外科」編集委員会共編、小児内科 46 巻増刊号、907-911, 2014、東京医学社、東京.

14) 齊藤剛仁, 木下一美, 砂川富正, 大石和徳, 小泉信夫, 大西真, 岡野祥, 新垣絵理, 高良武俊, 久場由真仁, 加藤峰史, 喜屋武向子, 久高潤. 沖縄県八重山地域で発生したレプトスピラ症 2014 年 8 月. 病原微生物検出情報 35(9):216-217, 2014.

15) 忽那賢志、川端寛樹、志賀尚子、氏家無限、竹下望、早川佳代子、加藤康幸、金川修造、大曲貴夫. 日本人 2 例目となる回帰熱症例. 感染症学雑誌. 88 :713-714, 2014.

16) 川端寛樹. ダニ媒介性感染症. 公衆衛生情報. 44 (4),

22-23, 2014.

17）高橋英之、大西真、髄膜炎菌感染症、小児疾患診療のための病態生理、1、831-834、2014

Ⅱ．学　会　発　表

1．国際学会

1）Morita M, Saitoh T, Izumiya H, Sunagawa T, Oishi K, Ohnishi M. Molecular epidemiological analysis of *Salmonella enterica* serotype Typhi from patients without histories traveling abroad. The 49th U.S.-Japan Conference on Cholera and Other Enteric Bacterial Infections, Gainesville, Jan, 2015.

2) Kuroki T, Teranishi H, Watanabe Y, Arai K, Sugiyama K, Nakajima H, Sasaki S, Fujita M, Isobe J, Taguri T, Ogata K, Yamane I, Kura F: ATP bioluminescence assay as an indicator of bacterial counts and risk for *Legionella* occurrence in bath water. ESGLI 2014. Barcelona. September 2014.

3) Karasudani T, Izumiyama S, Yazaki T, Isobe J, Kanatani J, Arai K, Taguri T, Yagita K, Kuroki T, Yoshizaki M, Shinomiya H, Kura F: Rapid quantification of culturable *Legionella* cells in bath water samples by liquid-culture-dependent reverse transcription quantitative PCR (LC RT-qPCR) assay. ESGLI 2014. Barcelona. September 2014.

4) Hattori T, Iwasaki H, Leano S, Telan B, Koizumi N, Nakajima C, Suzuki Y, Chagan-Yasutan H. Combination of Antibody and DNA Detection to Improve Diagnosis of Leptospirosis. 114th General meeting American Society for Microbiology. Boston, USA, May 2014.

5) Ryoma Nakao, Yuri Yoshimasu, Soichi Furukawa, Yasushi Morinaga, Hidenobu Senpuku. The mode of antimicrobial action of propolis on periodontopathic Gram-negative bacteria. Keystone Symposia, Gram-negative resistance, Tahoe, CA, USA. Mar. 2015.

6) Hideyuki Takahashi: Trial of investigation for meningococcal carriage rate by using mouth washing solution: The Korea-Japan International Symposium on infections Diseases. Hanyang University, Korea. March, 2015.

2．国内学会

1）石原朋子、伊豫田淳、井口純、大西真．健常者糞便由来の腸管出血性大腸菌についての解析．第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、京都、2014 年

2) 伊豫田淳、井口純、寺野千香子、石倉健司、斉藤剛仁、勢戸和子、磯部順子、石原朋子、大西真. EHEC O76:H7 による HUS 発症例．第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、京都、2014 年

3) 寺嶋淳、石原朋子、伊像田淳、泉谷秀昌、大西真．腸管出血性大腸菌感染症の世界の状況と国内の現状．第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、京都、2014 年

4) 石原朋子、伊豫田淳、井口純、大西真．日本における健常者由来腸管出血性大腸菌の解析．第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、2015 年

5) 伊豫田淳、井口純、齊藤剛仁、勢戸和子、磯部順子、石原朋子、石嶋希、EHEC Working Group，大西真．血清診断法と *E. coli* O-genotyping PCR 法による HUS 患者由来 EHEC O76:H7 の分離．第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、2015 年

6) 石嶋希、伊豫田淳、井口純、泉谷秀昌、石原朋子、齊藤剛仁、小西典、甲斐明美、EHEC Working Group，大西真．高病原性と考えられる腸管出血性大腸菌 O26 ST29 の重症化危険因子の同定．第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、2015 年

7) 加藤結子、大畠律子、河合央博、西本清仁、佐々木麻里、成松浩志、秋吉充子、中嶋洋、緒方喜久代、伊豫田淳、石原朋子、大西真、井口純．ウシ由来 STEC の O-genotype を含めた遺伝学的特徴解析．第 35 回日本食品微生物学会学術総会、大阪、2014 年

8) 菊池正、中村聡介、高谷紗帆、安達英輔、古賀道子、中村仁美、鈴木正人、泉谷秀昌、大西真、岩本愛吉、鯉渕智彦：タイ渡航後の *Salmonella* Panama による菌血症症例。第 88 回日本感染症学会総会、2014 年 6 月、福岡県福岡市。

9) 小林鉄郎、早川佳代子、馬渡桃子、加藤康幸、竹下望、藤谷好弘、大曲貴夫、森田昌知、泉谷秀昌、大西真：CTX-M 型 ESBL 産生 *Salmonella* Paratyphi A 菌血症を呈した旅行者の 1 例。第 88 回日本感染症学会総会、2014 年 6 月、福岡県福岡市。

10) 泉谷秀昌：腸管出血性大腸菌の分子疫学： 基礎から事例解析への活用について。東北食中毒研究会第 27 回研修会、2014 年 9 月、秋田県秋田市。

11) 泉谷秀昌：WHO-AGISAR について。第 157 回獣医学会、2014 年 9 月、北海道札幌市。

12) 佐々木麻里、成松浩志、緒方喜久代、荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真：ニシ貝を原因食品とするナグビブリオによる食中毒の事例解析。第 48 回腸炎ビブリオシンポジウム、2014 年 11 月、北海道函館市。

13) 森田昌知、泉谷秀昌、砂川富正、大石和徳、大西真. 2011 年から 2013 年に分離されたチフス菌・パラチフス A 菌の各種薬剤感受性の検討. 第 88 回日本感染症学会学術講演会、福岡、2014 年 6 月

14) 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 菌の解析. 第 54 回日本感染性腸炎学会総会、東京、2015 年 3 月

15) 常彬、細矢光亮、石和田稔彦、大石智洋、小田慈、寺内芳彦、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 導入が小児侵襲性肺炎球菌感染症へ及ぼす影響の細菌学的解析. 第 88 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合同学会、福岡、2014 年.

16) 田村和世、松原康策、石和田稔彦、西順一郎、常彬、明田幸宏、庵原俊昭、大石和徳. 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 88 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合同学会、福岡、2014.

17) 藺牟田直子、常彬、久保田知洋、山遠剛、西順一郎. 鹿児島県の小児侵襲性肺炎球菌感染症−血清型 19A の増加と PCV13 補助的追加接種の必要性−. 第 88 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合同学会、福岡、2014.

18) 石田正之、黒木俊郎、鈴木基、渡辺祐子、大屋日登美、古川一郎、常彬、大石和徳、大西真、森本浩之輔. 神奈川県の高齢者施設で発生した肺炎球菌血清型 3 による肺炎の集団感染事例. 第 88 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合同学会、福岡、2014.

19) 内谷友美、久保田寛顕、奥野ルミ、畠山薫、常彬、平井昭彦、甲斐明美. 東京都の小児から分離された侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）由来は会陰球菌の疫学的検討. 第 63 回日本感染症学会東日本地方総会学術集会・第 61 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、東京、2014.

20) 佐藤千紗、土田文広、常彬、山本友香、西塚碧、渡邊麻莉、鈴木博貴、大石和徳、武田博明. 当院の *Streptococcus pneumoniae* の薬剤感受性および莢膜血清型の検討. 第 63 回日本感染症学会東日本地方総会学術集会・第 61 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、東京、2014.

21) 西順一郎、藺牟田直子、徳田浩一、常彬. 鹿児島県における Hib ワクチンと小児用肺炎球菌ワクチンの効果と課題. 第 67 回日本細菌学会九州支部総会、鹿児島、2014.

22) 西順一郎、藺牟田直子、徳田浩一、川村英樹、常彬、石岡大成、吉家清貴. 鹿児島県における小児・成人侵襲性肺炎球菌・インフルエンザ菌感染症の病原体サーベイランス. 第 57 回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第 84 回日本感染症学会西日本地方会学術集会・第 62 回日本化学療法学会西日本支部総会合同開催、岡山、2014 年.

23) 西順一郎、藺牟田直子、徳田浩一、常彬. 鹿児島県における小児侵襲性肺炎球菌感染症サーベイランス　－莢膜血清型の変化と PCV13 補助的追加接種の重要性－. 第 46 回日本小児感染症学会、東京、2014 年.

24) 淀谷雄亮、飯髙順子、宮下安子、松尾千秋、大嶋孝弘、丸山絢、三﨑貴子、岡部信彦、常彬. 川崎市内における侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）のサーベイランス状況及び肺炎球菌の血清型分布状況について. 第 46 回日本小児感染症学会、東京、2014.

25) 福住宗久、常彬、牧野友彦、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、金城雄樹、高橋琢理、松井珠乃、砂川富正、大西真、大石和徳. 成人侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）の臨床像と原因菌血清型分布に関する記述疫学（2013 年）. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2014.

26) 西順一郎、徳田浩一、常彬. 鹿児島県における小児と成人の侵襲性インフルエンザ菌・肺炎球菌感染症サーベイランス－Hib ワクチンと肺炎球菌結合型ワクチンの効果と課題－. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2014 年.

27) 成相昭吉、田村和世、明田幸宏、常彬、大石和徳。2014年。PCV7 と PPSV23接種後に同一 ST の6Bと 6A による肺炎球菌性肺炎を繰り返した重症心身障害女児における血清型特異免疫に関する検討。第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2014 年 12 月。

28) 成相昭吉、常彬、大石和徳. PCV7 が導入された 2010 年から PCV13 移行直前までの 4 年間および PCV13 移行後短期間の下気道感染症乳幼児上咽頭から検出された肺炎球菌株における血清型の変化. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2014.

29) 前川純子、倉　文明、渡辺祐子、金谷潤一、磯部順子、田中　忍、中嶋　洋、吉野修司、大西　真：新しい ***neuA*** プライマーによる *Legionella pneumophila* 臨床分離株の sequence-based typing (SBT). 第 88 回日本感染症学会学術講演会、福岡、2014 年 6 月.

30) 渡辺祐子、黒木俊郎、前川純子、倉　文明：家庭内のレジオネラ汚染に関する基礎的調査. 第 41 回日本防菌防黴学会年次大会、東京、2014 年 9 月.

31) 前川純子：*Legionella pneumophila* の遺伝子型別から得られる知見、シンポジウム「レジオネラ症の疫学と検

査手法」 平成 26 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、岡山、2015 年 2 月.

32) 前川純子、石井将仁、倉 文明、千田恭子、渡辺祐子、金谷潤一、磯部順子、田中 忍、中嶋 洋、吉野修司、村井美代、大西 真：日本で分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の sequence-based typing 法による解析. 第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、2015 年 3 月.

33) 石井将仁、倉 文明、前川純子：水たまり中に生息するレジオネラ属菌の多様性に関する研究. 第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、2015 年 3 月.

34) 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単独保有株形成過程の考察. 第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、2015 年 3 月.

34) 倉 文明：最近の研究から分かったレジオネラの実態と対策、NPO 入浴施設衛生管理推進協議会第 25 回レジオネラ対策シンポジウム、招請講演、2014 年 5 月、東京.

35) 杉山寛治、縣邦雄、江口大介、市村祐二、青木信和、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、片山富士男、和田裕久、富田敦子、長岡宏美、田中慶郎、倉文明：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、日本防菌防黴学会第 41 回年次大会、2014 年 9 月、東京.

36) 金谷潤一、磯部順子、木全恵子、清水美和子、増田千恵子、倉文明、佐多徹太郎、綿引正則：富山県内の浴用施設におけるシャワー水のレジオネラ属菌分離状況、日本防菌防黴学会第 41 回年次大会、2014 年 9 月、東京都.

37) 倉 文明：レジオネラ症の最近の話題、第 58 回生活と環境全国大会、公開講座、2014 年 10 月、富山.

38) 倉 文明：高齢者社会福祉施設の感染症対策の現状と課題、第 42 回建築物環境衛生管理全国大会、シンポジウム、2015 年 1 月、東京.

39) Villanueva MA, Mingala CN, Gloriani NG, Koizumi N, YanagiharaY, Nakajima C, Suzuki Y. Understanding the circulation of *Leptospira* among water buffaloes in an intensive farm setting. 第 52 回レプトスピラシンポジウム，岐阜，2015 年 3 月.

40) 村田亮，小島龍成，古谷徳次郎，中野良宣，高橋樹史，小泉信夫，菊池直哉．繁殖豚の尿からのレプトスピラの分離と分離菌の遺伝学的・血清学的解析．第 52 回レプトスピラシンポジウム，岐阜，2015 年 3 月.

41) Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H, Ohnishi M. Comparison of cytokine gene expression in hamsters infected with two *Leptospira interrogans* strains. 第 88 回日本細菌学会総会，岐阜，2015 年 3 月.

42) Mizutani Muto M, Koizumi N, Izumiya H, Kawahara K, Ohnishi M. MLVA genotyping and clinical characterization of *Leptospira interrogans* canine isolates. 第 88 回日本細菌学会総会，岐阜，2015 年 3 月.

43) 村田亮，小島龍成，中野良宣，高橋樹史，小泉信夫，菊池直哉．繁殖豚の尿からのレプトスピラの分離と分離菌の遺伝学的・血清学的解析．第 88 回日本細菌学会総会，岐阜，2015 年 3 月.

44) 鈴木秀紀，木内政宏，佐藤豪，片山和彦，高田伸弘，斎藤博之，佐藤寛子，越本知大，谷川力，小泉信夫，遠矢幸伸．野生げっ歯類より検出されたネズミノロウイルス様遺伝子の解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，横浜，2014 年 11 月.

45) 小泉信夫．レプトスピラ症の実験室診断について．第 4 回日本小動物血液透析協会年次大会，東京，2014 年 10 月.

46) 小泉信夫．レプトスピラ症の現状と実験室診断法．平成 26 年度家畜衛生研修会（病性鑑定：細菌部門），つくば市，2014 年 10 月.

47) 小泉信夫．レプトスピラ症の実験室診断と犬レプトスピラ症の現状．日本獣医臨床病理学会 2014 年シンポジウム，大阪，2014 年 10 月.

48) 中田美央，福岡玲，梅下雄介，簗澤寿栄，舛方祐子，小泉信夫，安田和雄．レプトスピラ感染による一過性の近位尿細管障害が認められた犬の 1 例．日本獣医臨床病理学会 2014 年シンポジウム，大阪，2014 年 10 月.

49) 高橋啄理、山岸拓也、砂川富正、加納和彦、牧野知彦、大石和徳、中山周一、大西真、岡部信彦。感染症発生動向調査からみた国内の梅毒報告の増加、2009年～2013年。第８８回日本感染症学会学術講演会
２０１４年６月　福岡

50) 中山周一、井戸田一朗、本郷偉元、大西　真。本邦初報告と思われる、Macrolide 耐性型 23S rRNA 変異を保持する分子タイプ 14d/g の *T. pallidum* の同定。日本性感染症学会第２７回学術大会
２０１４年１２月　神戸.

51) 中西 典子、志牟田 健、石原 朋子、中山 周一、有川 健太郎、岩本 朋忠、大西 真: Allelic diversity of VNTR provides phylogenetic clues regarding the *N. gonorrhoeae* isolated in Japan. 第88会日本細菌学会総会、岐阜、2015、3月

52) 泉福英信、病原性バイオフィルムから正常細菌叢への移行手段と菌血症予防との関係、シンポジウム「口腔

の健康に関するエンドポイントの再考」、第63回日本口腔衛生学会、熊本、2014年.

53) 泉福英信、富永燦、丸岡豊、HIV感染者における口腔疾患発症予測因子の検討、第63回日本口腔衛生学会、熊本、2014年.

54) 泉福英信、口腔環境の微生物制御と全身感染症との関連性、シンポジウム「歯科における感染症対策」、第23回日本臨床環境医学会学術集会、京都、2014年.

55) 中尾龍馬、泉福英信、*Porphyromonas gingivalis* 外膜ヴェ シクルは、エポキシ磁性ビーズと種特異的に非共有結合する。サテライトシンポジウム、第56回歯科基礎医学会、福岡、2014年.

56) 中尾龍馬、泉福英信、歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis*に対するプロポリスの抗菌効果、第56回歯科基礎医学会、福岡、2014年.

57) 泉福英信、荒井俊明、鈴木雄佑、唾液分泌低下免疫不全マウスにおける*Candida albicans*感染と口腔常在菌との関係、東京、第97回日本細菌学会関東支部会、2014年.

58) 泉福英信、有家巧、富永燦、吉村和久、HIV感染者唾液を用いた口腔疾患発症予測因子の検討、第28回日本エイズ学会、大阪、2014年.

59) 永山恭子、尾花望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦、ウエルシュ菌が産生するメンブランベシクルは宿主の免疫応答を誘導する、岐阜、第88回日本細菌学会、2014年.

60) 中尾龍馬、泉福英信：Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* Bind to Magnetic Beads Coated with Epoxy Groups in a Noncovalnent, Species-Specific manner.第56回歯科基礎医学会総会、福岡、2014年9月

61) 中尾龍馬、泉福英信: 歯周病原細菌*Porphyromonas gingivalis*に対するプロポリスの抗菌効果の検討。第56回歯科基礎医学会総会、福岡、2014年9月

62) 永山恭子、尾花 望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦：クロストリジウム属細菌が産生するメンブランベシクルは宿主細胞と相互作用する。環境微生物系学会合同大会2014、浜松市、2014年10月

63) 菊島健児、中尾龍馬、樋口秀男：Imaging of *Porphyromonas gingivalis* infection using quantum dots. 第43回日本免疫学会総会、京都市、2014年12月

64) 中尾龍馬　尾花望、野村暢彦、大西真、泉福英信：*P. gingivalis* Membrane Vesicles Bind to Epoxy Groups on Magnetic Beads in a Species-Specific Manner.　第88回日本細菌学会総会、岐阜、2014年3月

65) 菊島健児、中尾龍馬：高速原子間力顕微鏡を用いた大腸菌からの外膜ヴェシクルの放出。　第88回日本細菌学会総会、岐阜、2014年3月

66) 吉益由莉　泉福英信　中尾龍馬：プロポリスの歯周病原細菌に対する抗菌作用の検討。第88回日本細菌学会総会、岐阜、2014年3月

67) 藤田信子，藤田博己，角坂照貴，安藤秀二，川端寛樹．四国型恙虫病の媒介種トサツツガムシの現況（予報）．第69回日本衛生動物学会西日本支部大会．2014年11月．愛知

68) 川端寛樹．新興回帰熱病原体 *Borrelia miyamotoi* の病原性解析．第 69 回日本衛生動物学会西日本支部大会．2014年11月．愛知

69) 梶田弘子，岩渕香織，高橋雅輝，佐藤直人，山内貴義，斎藤幸一，高野愛，川端寛樹，宇田晶彦，森川茂．岩手県におけるマダニの生息調査および病原体保有状況.第60回日本衛生動物学会北日本支部大会・日本寄生虫学会北日本支部合同大会．2014年10月．盛岡.

70) 川端寛樹，今内覚，高野愛，中尾稔，伊東拓也，佐藤梢．北海道におけるマダニ媒介性新興回帰熱病原体ボレリアの分布調査.第60回日本衛生動物学会北日本支部大会・日本寄生虫学会北日本支部合同大会．2014 年 10 月．盛岡.

71) Kyunglee Lee，高野愛，Kyle Taylor，左鹿万里子，下鶴倫人，今内覚，川端寛樹，　坪田敏男.A RF *Borrelia* sp. found among wild sika deer and *Haemaphysalis* ticks in Hokkaido. 第157回日本獣医学会学術集会．2014年9月．札幌.

72) 大場真己，大松勉，安藤秀二，川端寛樹，高野愛，片山幸枝，古谷哲也，長井誠，水谷哲也．コウモリマルヒメダニから分離された新規ブニヤウイルスについて．第157回日本獣医学会学術集会．2014年9月．札幌.

73) 川端寛樹．ダニ媒介性細菌感染症の疫学および診断法．第157回日本獣医学会学術集会．2014年9月．札幌.

74) 川端寛樹，高野愛，大西真．後向きサーベイランスにより明らかとなった新興回帰熱の２例.第88回日本感染症学会学術講演会．2014年6月．福岡.

75) 岡恵子，川端寛樹．スウェーデンで *Borrelia* 保有のマダニに咬着された２例．第 30 回臨床皮膚科医会総会．2014年4月．横浜.

76) 川端寛樹、高野愛、中尾稔、大西真．新興回帰熱 *Borrelia miyamotoi* 感染症に関する調査および in vitro 抗菌薬感受性.第87回日本細菌学会総会.2014年3月.東京.

77) 佐藤梢，高野愛，今内覚，中尾稔，伊東拓也，小山

幸次郎，兼古稔，大西真，川端寛樹．遡及調査により明らかとなった新興回帰熱の 2 症例．第６６回日本衛生動物学会大会．2014 年 3 月．岐阜．

78）川端寛樹，今内覚，高野愛，中尾稔，伊東拓也，門馬直太，安藤匡子，高田伸弘，佐藤梢，大西真．我が国におけるマダニ媒介性新興回帰熱病原体ボレリアの分布調査．第６６回日本衛生動物学会大会．2014 年 3 月．岐阜

79）小川道永．　病原細菌に対するオートファジー認識機構とその阻害機構．第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会議場、2015 年 3 月 26 日

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、厚生労働省医政局地域医療計画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が多い。研究業務、レファレンス業務、品質管理業務を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。

H26 年度は薬剤耐性菌を取り巻く状況に大きな動きがあった。西日本地域のある医療機関においてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による大規模な医療関連感染が発生していたことが明らかになり、さらに周辺地域への拡散も懸念された。厚生労働省医政局地域医療計画課、自治体、当該医療機関と協議の上、細菌第二部と病原体ゲノム解析研究センター、感染症疫学センターその他外部研究機関と合同で大規模な調査が実施された。このアウトブレイクではカルバペネム耐性遺伝子がプラスミドにより腸内細菌科細菌の様々な菌種に伝達され、拡散していたことが分かった。それまで医療関連感染によるアウトブレイクは同一の菌株が拡散することにより起こるとされていたが、我々はプラスミドの拡散によるアウトブレイクが医療現場で実際に起こっていることを初めて明らかにした。厚生労働省の課長通知においては、アウトブレイク疑う基準は単一の菌株が拡散することを念頭において作られていたため、この知見を厚生労働省に提供した。厚生労働省は院内感染対策中央会議を開催して、我々の情報をもとに薬剤耐性菌によるアウトブレイクを疑う基準を改訂した。そして厚生労働省からそれらに関する事務連絡、課長通知が発出され、注意喚起が行われた。なお社会においてはカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による感染症の発生状況に関心が高まってきたことから、H26 年 9 月 19 日にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が感染症法の第５類全数把握対象感染症に新たに追加された。また同時に、薬剤耐性アシネトバクター感染症が第５類定点把握対象感染症から全数把握対象感染症に変更された。細菌第二部ではこれらの改定において厚生労働省へ科学的エビデンスを提供するとともに、届出基準の原案作成や関連学会との意見調整を行った。その他薬剤耐性菌研究では、J-GRID との連携プロジェクトが立ち上がり、大阪大学、神戸大学、国立国際医療研究センターと共同でタイ、ミャンマー、インド、インドネシア、ベトナムの拠点と共同研究が開始された。このプロジェクトでは薬剤耐性菌のゲノムデータベースの構築と JANIS の海外展開を進めることになった。

行政検査では、ジフテリア、ボツリヌスや類鼻疽などの市中感染症の病原体のほか、薬剤耐性菌や *Clostridium difficile*、*Corynebacterium striatum* など医療関連感染に関する病原体の依頼も多く引き受けた。行政検査を実施した際には自治体と緊密に連携して公衆衛生対策の支援を行った。薬剤耐性菌による医療関連感染症ではさらに FETP とも連携して調査を実施し、感染症コントロールの支援を行った。

品質管理業務では、多くの製剤の国家検定、収去試験、依頼試験等を担当し、また多種類の標準品の製造や交付を行った。新規の Hib（ヒブ）ワクチン、10 価肺炎球菌ワクチン、狂犬病ワクチンの承認前試験も実施した。近年、品質管理業務においては SLP の導入や PIC/S 加盟、新規ワクチンの承認申請の増加、ジェネリックメーカーの製造の増加などにより業務量が非常に増加している。業務の合理化として一部の製剤で国家検定のエンドトキシン試験を廃止し、血液製剤の抜き取り検査で無菌試験を廃止するなどしたが全体としては業務が増加している。定員の確保と同時に今後業務のさらなる合理化が必要とされる。　人事では H26 年 4 月 1 日に平松征洋が第五室に研究員として着任し、H26 年 10 月 1 日に筒井敦子が第一室に研究員として着任し、H27 年 3 月 31 日に山本明彦主任研究官が定年退官した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌に関する菌株・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 184 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.（11 株）、腸内細菌科細菌（154 株）、緑膿菌(10 株)、腸球菌（1 株）、*Staphylococcus* spp.（8 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、筒井敦子、甲斐久美子、鰺坂裕美、瀧世志江、村山詠美、柴山恵吾]

2. 薬剤耐性菌のプラスミド解析手法の検討

薬剤耐性グラム陰性桿菌を対象としたプラスミドデータベース構築を目的に、今年度はプラスミド塩基配列をハイスループットで解析するための効率的な手法を検討した。DNA プラグを S1 ヌクレアーゼ処理後、パルスフィールドゲル電気泳動法で展開し(S1-PFGE)、SYBR Gold 染色、青色 LED 照射下でプラスミド DNA を回収することで良好なデータが得られた。約 800 プラスミドの配列解析を実施した。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、瀬川孝耶、甲斐久美子、瀧世志江、鰺坂裕美、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、黒田誠]

3. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の院内感染事例の解析

関西地区の医療機関で、IMP 型メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)遺伝子を保有するカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)の大規模な院内感染事例が報告された。*Escherichia coli*、*Klebsiella* 属、*Enterobacter* 属、*Citrobacter* 属など複数の菌種が分離されたが、プラスミド塩基配列解析により、多くの株が bla_{IMP-6} を含む約 50kb の IncN プラスミド配列を共通に有することを明らかにした。同一菌株の伝播だけでなく、プラスミドの水平伝達による耐性菌の広がりが示唆された。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、瀬川孝耶、甲斐久美子、瀧世志江、鰺坂裕美、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、黒田誠]

4. 関西地区の中核病院周辺医療機関より分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌のプラスミド解析

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の院内感染が発生した病院の周辺医療機関において同様の耐性菌の拡散が懸念されたため、周辺の 9 医療機関で分離された 28 株由来 29 プラスミドの解析を実施した。院内感染が発生した医療機関分離株と相同性の高いプラスミドが確認できたものの、疫学関連が無い株同士でも比較的類似した配列を有していることもあった。疫学調査に活用可能となるプラスミド解析の手法については今後も更なる検討が必要と思われた。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、筒井敦子、甲斐久美子、瀧世志江、鰺坂裕美、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、黒田誠]

5. 黄色ブドウ球菌のダプトマイシン耐性機構の解析

我が国の医療機関で分離されたダプトマイシン非感性 MRSA 株の遺伝子変異を調べる目的で、HiSeq 2500 による全ゲノム解析を行った。ダプトマイシン非感性の黄色ブドウ球菌では、しばしばリジルホスファチジルグリセロール合成酵素をコードする *mprF* 遺伝子にアミノ酸変異を生じる SNP が存在することが報告されている。本研究で解析を行った MRSA 2 株の *mprF* 遺伝子には、それぞれ異なるアミノ酸変異を生じる SNP が存在した。一つは既に報告されている種類のアミノ変異 (S337L) を生む SNP であったが、もう一つは新規のアミノ変異を生む SNP であった。[鈴木仁人、鈴木里和、松井真理、甲斐久美子、瀧世志江、鰺坂裕美、柴山恵吾]

6. 薬剤耐性菌研究における J-GRID 海外研究拠点との連携

日本医療研究開発機構 感染症研究国際展開戦略プログラム（J-GRID）の大阪大学感染症国際研究拠点 日本・タイ感染症共同研究センター（RCC-ERI）が収集したタイ王国の医療機関で分離されたカルバペネム耐性 *Klebsiella pneumoniae* の解析を行った。S1 ヌクレアーゼを用いた PFGE から分離したプラスミド DNA の MiSeq による配列解析、および全ゲノム DNA の PacBio RSII による配列解析により、NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子を保有する多様なプラスミドの存在が明らかとなった。[鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、瀧世志江、鰺坂裕美、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、黒田誠]

7. イミペネム感性のカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌における Carba NP test の評価

近年、イミペネムを基質とするカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)検出法 Carba NP test が開発され、CLSI2015 に記載された。一方、本邦で多く分離される CPE である IMP-6 メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)産生菌はメロペネムには耐性となるもののイミペネムには感性である。国内分離株を用いて本法を検討したところ、IMP-6 MBL 産生株も検出可能であり、Carba NP test が我が国でも有用であることが示唆された。[瀬川孝耶、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、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

これまでに *B. pseudomallei* の血清診断法は国内では確立されていない。そこで血清診断法の確立を目的として、*B. pseudomallei* や、ヒトから分離される可能性のある *B. mallei, B. thailandensis, B. cepacia* を用いて検討を行っている。今年度は、メリオイドーシス患者血清を用いて *B. pseudomallei* に特異的なタンパクを検索し、その候補を得た。[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. 成人由来非侵襲性インフルエンザ菌の解析

新潟県の老健施設および東京都の医療センターで分離されたキノロン系薬剤耐性菌について解析を行なった。その結果、*Haemophilus influenzae* として分離された菌の 1 株が近縁種の *Haemophilus haemolyticus* であった。QRDR の解析では、新たな変異箇所が認められた。[久保田眞由美、見理 剛]

2．小児の侵襲性インフルエンザ菌（*Haemophilus influenzae*）感染症患者から分離される *H. influenzae* の解析

全国 9 県を対象とし、小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症患者の髄液、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。*H. influenzae* 莢膜 b 型株(Hib)に対するワクチンの定期接種実施後の分離株は、Non-typable *H. influenzae* (NTHi)の分離が大半を占め、非 b 型莢膜型株の分離報告は無かった。（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]

3. 髄膜炎症例の髄液中の細菌遺伝子の網羅的検出法の検討

平成 25 年度の感染症法改正でインフルエンザ菌等の主要な起因種による細菌性髄膜炎が別枠となり、他の細菌性髄膜炎起因菌の同定が次の課題となっている。

髄膜炎症例由来の細菌培養陰性髄液を対象とし、髄液中の細菌遺伝子の網羅的解析を実施した。髄液抽出 DNA を鋳型に 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を増幅後、増幅産物を MiSeq で解読し、２個のデータベースで BLAST 検索を行い髄膜炎起因菌属の有無を検討した。特定の菌種については、realtime-PCR による解析を併用し、検出系の評価に用いた。（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

15 医療機関における疫学調査本試験を開始した。各施設で下痢症例から採取された検体を国立感染症研究所で収集し、分離培養等の解析を行った。 [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について検討した。[福田靖、妹尾充敏、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* のタイピングの施行を軌道にのせるために、 NIHE 研究者の Vu Thi Thu Huong が来日し講習会に参加した。また、ハノイ市内 4 病院入院 *C. difficile* 感染症患者から分離された *C. difficile* 菌株が国立感染症研究所へ送付され、解析が開始された。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる、柴山恵吾、Vu Thi Thu Huong(NIHE, Vietnam)]

4. 毒素非産生性 *Clostridium difficile* 膜画分を用いた定着因子ワクチンの開発

C. difficile の腸管への定着を阻害するワクチンとして、毒素非産生性 *C. difficile* の膜画分(nontoxigenic *C. difficile* membrane fraction; ntCDMF)を調製し、0 日目、14 日目、28 日目にマウスに投与し、42 日目に血液と腸管を採取した。血清中の抗 ntCDMF IgG と腸液中の抗 ntCDMF IgA の力価を測定したところ、ntCDMF は免疫原として有用であることが示された。また、これらの血清や腸液は *C.*

difficile のヒト結腸癌由来 Caco-2 細胞への付着を有意に妨げることが示された。この阻害効果は免疫原に用いた毒素非産生性 *C. difficile* に対してのみではなく、毒素産生性 *C. difficile* にも同様の効果があった。[妹尾充敏、加藤はる、福田靖]

Ⅴ．マイコプラズマに関する研究

1. 肺炎マイコプラズマ（*M. pneumoniae*）の菌株間の違いを詳細に調べるために、臨床分離株 16 株のゲノム解析を行った。[関塚剛史、黒田 誠、見理 剛、堀野敦子、柴山恵吾、大屋日登美（神奈川県衛生研究所）、中嶋 洋（岡山県環境保健センター）、藤井寛之、橋本 徹（倉敷中央病院）]

2. マイコプラズマ肺炎と *Mycoplasma pneumoniae p1* 遺伝子型との関連性について

本年度は北海道大学との共同研究として、流行終息後の 2013 年の検体を用いて *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型別を行った。その結果、北海道全域で集計した場合は他県と同様に Subtype 1 が優位であったが、道内での地域差が大きかった。Subtype 1 が全く検出されない地域では、他県で数年にわたって検出されない Subtype 2 が検出された。同時期に地域による型別の偏りがここまで顕著に示されたことはこれまでになく、今後は地域流行との関係を含めてさらに検討を行う予定である。[堀野敦子、松井珠乃、石黒信久（北海道大学）]

3. *Mycoplasma pneumoniae* の検体輸送について

M. pneumoniae は死滅しやすく、臨床検体の保存・輸送が難しいとされてきた。今回は北海道大学で検体採取後の輸送培地を-80℃に保管しておき、ドライアイス詰めの陸送で 3 日かけて感染研まで輸送を行った。その結果、菌体の分離率は 98%と良好であり、*M. pneumoniae* の菌株分離を行うにあたっては、収集元で凍結保存を行っておけば検体採取の度に輸送を行う必要が無く、効率的に分離・検出を行えることが明らかとなった。[堀野敦子、松井珠乃、石黒信久（北海道大学）]

Ⅵ. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

1.ボツリヌス症の治療には、現在ウマ由来のボツリヌス毒素製剤が用いられているが、異種血清由来製剤投与による副反応が危惧される。そこでヒト型モノクローナル抗体製剤の開発を目指すため、ボツリヌストキソイド接種者より B 型ボツリヌス毒素に対するモノクローナル抗体を作成した。その効力をマウスでの中和試験で測定した。[山本明彦、岩城正昭、松村拓大、藤永由佳子（阪大微研）]

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産生し、同様の症状を呈す *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*)感染症の国内 14 症例目の患者調査を行った。患者は徳島県在住の 6 歳の女児で、左耳下腺部に直径 9mm の膿瘍が検知されジフテリア毒素産生性の *C. ulcerans* が分離された。この症例は DPT ワクチン接種歴を有し、皮膚炎の猫を飼育していた。[小宮貴子、岩城正昭、山本明彦、寺田知正、小山絵里子（徳島県立中央病院、県立保健製薬環境センター）]

2. ジフテリア毒素産生菌である *Corynebacterium ulcerans* 、 *Corynebacterium pseudotuberclosis* 及び *Corynebacterium diphtheriae* の鑑別診断のためのマルチプレックス PCR 法の開発に着手した。4 組の primer pair を選択し候補として検出感度と特異性を 5 地衛研とともに調べた。4 種類を組み合わせたマルチプレックス PCR を行うと非特異遺伝子の増幅が認められ、候補 primer の再考が必要な結果となった。[山本明彦、岩城正昭、梅田薫（大阪市立環境科学研究所）畠山薫（東京都健康安全研究センター）、本間幸子（川崎市健康安全研究所）、有塚真弓（香川県環境保健センター）、古川一郎（神奈川県衛生研究所）]

Ⅷ. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ（MtQAPRTase）とピラジナミドの共結晶化

MtQAPRTase とピラジナミドとの詳細な結合様式を明らかにすることを目的として、共結晶化条件の検討を行った。[金玄、森茂太郎、柴山恵吾]

2. 結核菌由来 DNA ジャイレース（GyrA）の変異とキノロン耐性との関連

キノロン耐性結核菌株において、*gyrA* 遺伝子のキノロン耐性決定領域外に新たな変異（A74S）が見出されている。さらに、この変異を持つ株は D94G の変異も併せ持つことが示されている。これらの変異とキノロン耐性との関連を明らかにすることを目的として、野生型と変異型の GyrA タンパク質について、酵素活性やキノロン阻害活性の測定を行った。さらに、野生型 GyrA タンパク質とキノロンとの共結晶化条件の検討を行った。 [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）]

3. イソニアジド耐性結核菌のゲノム解析
台湾で分離されたイソニアジド耐性結核菌 11 株について、次世代シーケンサーを用いてゲノム解析を行った。その結果、*katG* 遺伝子上に 5 種類、*ndh* 遺伝子上に 1 種類の新しい遺伝子変異を見出した。これらの遺伝子変異はイソニアジド耐性に関わっていると考えられた。[森茂太郎、柴山恵吾]

4. イソニアジド耐性結核菌から新たに見つけられた *katG* 遺伝子上の変異に関する研究
イソニアジド耐性結核菌から新たに見つけられた *katG* 遺伝子上の変異とイソニアジド耐性との関係を明らかにすることを目的として、野生型及び変異型の KatG タンパク質の発現及び精製条件を決定した。今後、詳細な機能解析を行う予定である。[金玄、森茂太郎、柴山恵吾]

5. 結核菌のヌクレオチド代謝を標的とした新規抗結核薬の開発
結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の立体構造情報に基づいて、本酵素に特異的な新規阻害剤をデザインした。さらに、見出した新規阻害剤が結核菌に対して抗菌活性を示すことを明らかにした。[森茂太郎、柴山恵吾]

Ⅸ. ヘリコバクター属菌に関する研究

1. *Helicobacter cinaedi* の薬剤耐性機構に関する研究
キノロン耐性について，変異導入実験を行い，*H. cinaedi* は GyrA の T84I 変異により耐性化し，GyrA の 88 位や GyrB の 423 位の変異が加わることにより高度耐性化することを明らかにした．また，マクロライド耐性については23SrRNA の A2018G 変異が寄与していることを明らかにした．[林原絵美子、柴山恵吾]

2. *Helicobacter cinaedi* の病原性に関する研究
腸管上皮系細胞株である Caco-2 および HT-29，単球系血液細胞株である U937 および THP-1 を用いた *H. cinaedi* の *in vitro* の感染実験を行い，一部の細胞で細胞増殖阻害活性，IL-8 発現誘導を確認した．[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
百日咳菌の線毛(Fim)をコードする遺伝子 *fim2, fim3* は，2 成分制御系 BvgAS および各遺伝子のプロモーター配（Pfim）により発現制御を受けている。Pfim には C が連続した特徴的な poly(C)配列が存在し，poly(C)長が遺伝子発現の ON/OFF に影響を与えている。本研究で Pfim poly(C)構造は，生育培地の組成等に影響を受けず比較的安定であることが判明した。また，*fim2* 遺伝子は Bvg+ 環境下で発現が上昇する virulence-activated genes (*vag*)であるが，*fim3* は Pfim3 poly(C)長および Bvg+/-環境条件により *vag* または virulence-repressed genes (*vrg*)に変化することが明らかとなった。[大塚菜緒，Valérie Bouchez，Nicole Guiso（パスツール研），平松征洋，蒲地一成]

2. 4Plex リアルタイム PCR を用いた百日咳病原体サーベイランス
2013-14 年に国内医療機関から送付された百日咳様患者検体について，4Plex リアルタイム PCR を用いた病原体検索を実施した。患者検体 355 件のうち百日咳菌陽性は 94 件（26%），パラ百日咳菌は 4 件（1.1%），マイコプラズマは 2 件（0.6%），*Bordetella holmesii* は 0 件であった。百日咳菌の陽性率は月齢 3 ヶ月未満が 49%と高かったが，10 歳代でも 29%という高値を示した。乳児と同様に 10 歳代は百日咳菌の易感染者となることが示された。[蒲地一成，吉野修司（宮崎衛研），勝川千尋（大阪公衛研），大塚菜緒，平松征洋，柴山恵吾]

3. フィリピンにおける百日咳流行株の分子疫学的解析
2012-14 年にフィリピンの 3 医療機関に入院した重症患児について，臨床検体を用いた MLVA 解析を実施した。決定された遺伝子型のうち半数が MT34 を示し，残りも MT34 と近縁な遺伝子型であった。また，すべてが同じ遺伝子アレル（*ptxP1-ptxS1-prn1-fim3A*）を示し，フィリピンの流行株は先進国のものと異なることが判明した。[Salvacion Rosario L. Galit, Daryl Joy V. Almonia, Lydia T. Sombrero, Rosario Z. Capeding, Socorro P. Lupisan（フィリピン熱帯医学研），古瀬祐気，齊藤麻理子，押谷仁（東北大・医），大塚菜緒，平松征洋，柴山恵吾，蒲地一成]

4.百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の自己凝集抑制因子 BipA に関する研究
B. holmesii の国内臨床分離株の中に自己凝集を示す菌株を見出し，この株は BipA タンパク質を欠損していることが判明した。同様に，*B. holmesii* の非自己凝集株（BipA 発現株）の *bipA* 遺伝子を相同組換えにより欠失させた

BipA 欠損株も自己凝集能を示した。また，BipA 欠損株では，呼吸器への持続的な定着に必要とされるバイオフィルム形成能が失われていた。これらの結果から，*B. holmesii* の BipA は自己凝集を抑制する機能を有するとともに，バイオフィルムの形成に必要な因子であることが明らかとなった。[平松征洋，大塚菜緒，柴山恵吾，鈴木英里，渡邉峰雄（北里大），蒲地一成]

XI．破傷風菌に関する研究

1. 破傷風トキソイドを用いたアジュバントとしての人工エラスチン蛋白の可能性-1

人工エラスチン蛋白（ELP）のゲル化を利用し，ワクチンの免疫原性とその持続性を検討している。昨年度に引き続き，親水性や分子量の異なる 3 種類の ELP を用いて性状の違いによる破傷風トキソイドの免疫原性に対する影響を検討した。その結果，破傷風抗体価に有意な差は認められなかったが，最高抗体価とそのピークの時期が性状により異なる傾向がみられた。[福田 靖，浅井大輔]

2. 破傷風トキソイドを用いたアジュバントとしての人工エラスチン蛋白の可能性-2

Poly(I:C)は，ウイルスの dsRNA と同様に免疫細胞を活性化し，I 型 IFN を誘導することが知られていることから，今回人工エラスチン蛋白（ELP）混合破傷風トキソイドに poly(I:C)を混合し，そのワクチンの免疫原性に対する影響を検討した。その結果，破傷風抗体価の最高値に有意な差は認められなかったが，poly(I:C)を混合する事により最高値の時期が早くなる傾向がみられた。[福田 靖，浅井大輔]

XII. 蛇毒素に関する研究

1. 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の患者の治療がなされている。現ロットは製造後 14 年経過したため、その代替抗毒素の必要性があり、類似の毒蛇による咬傷用に海外で市販されている抗毒素 2 種を候補として、ウサギ出血活性の中和試験で力価を評価した。その結果、これらの製剤のヤマカガシ毒素に対する出血毒性の中和活性はヤマカガシ抗毒素（現行ロット）の 1/6 程度であることから、代替抗毒素としてヤマカガシ咬傷の治療に用いることは有用ではないかと考察された。 [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

1. 塹壕熱原因菌である *Bartonella 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、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シラミと患者血液を採取した。これら検体を用い、長期培養および PCRによる病原体の検出、 IgG抗体価の測定等を行った。

[久保田眞由美、佐々木年則、沢辺京子、山岸拓也、柴山恵吾（感染研）、伊藤航人、川崎麻紀、足立智秀（済生会中央病院）]

2. オロヤ熱原因菌である *Bartonella bacilliformis* の診断系確立を目指し、*B. bacilliformis* 特異抗原の探索を行なった。南米ペルー山岳地帯に住む人から集めた血清を用いて全菌体に対する抗体価を測定し、高抗体価を示した血清と強く反応する数種類のタンパクを同定した。

[Cláudia Gomes (CRESIB, SPAIN)、久保田眞由美]

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）の海外展開

WHO は薬剤耐性菌対策を重要視し各国にサーベイランスの強化を求めているが、アジア地域の多くの国では国レベルの薬剤耐性菌（AMR）サーベイランスが実施できていない。日本で一定の実績のある JANIS 検査部門システムを導入することで、これらの国の AMR サーベイランスを支援することを目的に、まずは J-GRID で神戸大学が連携しているインドネシア・スラバヤ市のストモ病院で JANIS システムの導入を試みた。あらかじめ細菌自動検査機器メーカーに JANIS 抽出用フィルターを、JANIS データ管理業者には JANIS フォーマット変換ツールを作成してもらい、現地でのデータ変換作業を行ったところ、JANIS システムで取り込み可能なデータを作成することができた。一部エラーデータがみられたため、今後データのすり合わせなどを行っていく必要がある。

[筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

2. JANIS と JVARM のデータ統合による家畜由来耐性菌と臨床由来耐性菌分離率比較

薬剤耐性菌のモニタリング/サーベイランスシステムである農林水産省の食品媒介性病原体細菌の薬剤耐性モニタリング事業（JVARM）において蓄積されたデータを、

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業のデータと比較可能な形式でデータベース化したうえで2003年から2013年までの薬剤耐性率の推移を比較した。JANISデータでみられる大腸菌のフルオロキノロンに対する顕著な耐性化はJVARMデータでは認められなかった。テトラサイクリン系やクロラムフェニコールについては、肉用鶏や豚で、過去10年間継続的にJANISデータよりも高い耐性率を示していたが、JANISデータ、JVARMデータともに耐性率の明らかな上昇または低下の傾向は認められなかった。
[鈴木里和、柴山恵吾、（以下、動物医薬品検査所検査第二部）比企基高、川西路子]

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子の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、筒井敦子、甲斐久美子、鰺坂裕美、瀧世志江]

Ⅱ．百日咳関係

1. 百日咳検査キットの供与
百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に，地方衛生研究所8施設に*Bordetella holmesii*-LAMPキット（1キット）ならびに4Plexリアルタイム PCRキット（10キット）を供与した。また，百日咳類縁菌陽性コントロール DNAを1施設に供与した。[蒲地一成，柴田美幸，大塚菜緒]

サーベイランス業務

Ⅰ．院内感染対策関係

1. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業は、平成26年度の診療報酬改定で感染防止対策加算1の施設基準で検査部門に参加していることが要件に含まれたことにより、新規に検査部門に参加する医療機関が増え、平成27年2月時点で参加医療機関数は1671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）、期報、年報を作成しホームページ上で公開した。検査部門・全入院患者部門の公開情報では、新たに施設特性別（200床以上/200床未満）の集計結果が追加された。検査部門では各施設から報告されたMIC値をもとに、原則CLSIの基準に則ってSIR判定し集計しており、2014年12月まではCLSI 2007を使用していたが、2015年1月よりCLSI 2012に準じた判定基準に切り替えた。また、2015年1月より検査部門・全入院患者部門でカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)が集計対象に加わった。2015年3月には、運営会議が開催され、参加要件の見直しや参加登録抹消要件の追加などが承認された。事業の情報提供として、JANISのデータ提出･活用のための説明会を4回、衛生検査所向け説明会を1回開催した。また、2422件の医療機関等からの問い合わせに対応した。[筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾、大木留美、村山詠美、後藤佑介、瀧世志江、小川由弥子]

Ⅱ．百日咳関係

1. 医療機関（14施設）からの依頼を受けて，百日咳様患者の病原体診断を31件実施した。[蒲地一成，柴田美幸，大塚菜緒，平松征洋]

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する業務研究

1.「日本薬局方、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」の改正原案の作成に携わった。[佐々木裕子]

2. マウスに与える苦痛の少ないin vitro破傷風トキソイド力価試験法の開発を昨年度に引き続き行なっている。昨年度、毒素の標的蛋白VAMP2とEYFPの融合蛋白質の特異的切断を指標として毒素活性を安定的に検出する実験系を構築したので、本年度はこの実験系を用いて血清中の毒素活性中和能が検出できるかどうかの検討を行なった。1反応（25μL）あたり500 LD_{50}の破傷風毒素による融合蛋白質の切断が、0.05国際単位の標準破傷風抗毒素で中和（阻害）されることが確認され、中和能の測定に応用できる可能性が示された。[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) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用 0.5 mg）関連

ア. 36 ロットの書類審査を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎]

イ. 依頼試験として 5 ロットの力価試験を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、持田恵子、森茂太郎]

2. 承認前検査の実績

1) 沈降肺炎球菌ポリサッカライド及び無莢膜型インフルエンザ菌プロテイン D 結合型ワクチンジフテリアトキソイド(DT バルク)における、ジフテリアトキソイド無毒化試験および破傷風トキソイド（TT バルク）における破傷風トキソイド無毒化試験を行った[小宮貴子、山本明彦、岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾]

2) 乳濁細胞培養インフルエンザ HA ワクチン，沈降 10 価肺炎球菌結合型ワクチンについて，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。

ロット更新（11 品目）: アルベカシン硫酸塩、セフピロム硫酸塩、バシトラシン、ロキシスロマイシン、セフカペンピボキシル塩酸塩、ストレプトマイシン硫酸塩、クラリスロマイシン、アミカシン硫酸塩、ベンジルペニシリンカリウム、トブラマイシン、セファロチンナトリウム

サブロット更新（6 品目）: フラジオマイシン硫酸塩、ピペラシリン、エピルビシン塩酸塩、セファゾリン、アンピシリン、セフジニル

[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、近田俊文、吉村由美子、粕谷裕子]

2) 破傷風トキソイドの標準化作業を行った[岩城正昭、小宮貴子、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を行った。 [岩城正昭、山本明彦、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

国際協力関係業務

Ⅰ．JICA 関係

1. WHO 西太平洋事務局が主催した薬剤耐性菌対策に関する会議に出席し、厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業など、日本の薬剤耐性菌対策に関する発表を行い、また、今後の対策の在り方について他の出席者らと検討を行った。[鈴木里和]

2. 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研修」において「無菌試験とマイコプラズマ否定試験」について講義した。（平成 27 年 1 月）[佐々木裕子]

3. 平成 27 年 1 月 JICA 集団コース「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」平成 27 年 2 月 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 ワクチンに関する講義を行なった。[岩城正昭]

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」において、BCG ワクチンに関する講義を行った。（2015 年 2 月）[堀野敦子、森茂太郎]

5. 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 ワクチンの品質管理について講義を行った。（2015 年 2 月）[岩城正昭，大塚菜緒]

Ⅱ．WHO 関係

1. マレーシア国研修生に対し DPT ワクチンの品質管理について講義を行った。（2014 年 10 月）[岩城正昭，大塚菜緒]

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

1. 院内感染関連病原体（薬剤耐性菌および *Clostridium difficile*）に関する研修

2014 年 8 月(2 回)、 10 月(1 回)および 11 月(1 回)に、地方衛生研究所を対象に院内感染関連病原体の細菌研修会の座学および実習を計 4 回行い、20 施設 23 名が受講した。また、海外の共同研究機関の研究者らを招聘し同様の研修を実施した。韓国、ベトナム、中国、フィリピン、ミャンマーより計 7 名が受講した。[松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、妹尾充敏、福田靖、加藤はる、甲斐久美子、瀧世志江、与那嶺澄代]

2. 平成 26 年度　希少感染症技術研修会において薬剤耐性菌に関する講義を行った。[松井真理、鈴木里和]

Ⅱ．生物学的製剤の品質保証に関する研修

1. 国立保健医療科学院における短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて「微生物管理と試験法」について講義した。（平成 26 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

1. 感染症流行予測調査事業の一環として、北海道立衛生研究所等を対象に *H. influenzae* の莢膜型別の研修を実施した。平成 26 年 8 月 7-8 日[佐々木裕子]

Ⅳ．ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

1. 2014 年 11 月 19 日から 21 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。愛媛県、広島県、岡山県、香川県から 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]

その他

Ⅰ．行政科学等に対する対応

1. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が 5 類全数届出疾患に追加されるにあたり、厚生労働省に対し海外および国内のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌に関する資料作成、情報提供等を行った。[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

2. 日本薬局方、生物試験法委員会が開催され（3 回）、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 115 件の質問、相談、解析依頼に対応した。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、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 [加藤はる]。

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Umene YD, Wong LK, Satoh T, Yamane K, Matsui M, Riley LW, Arakawa Y, Suzuki S. Molecular epidemiology characterization of uropathogenic *Escherichia coli* from an outpatient urology clinic in rural Japan. J Clin Mcrobiol 2015, 53:681-3

2) Hosoda T, Wakuta M, Ishii J, Tsuge I, Matsui M, Suzuki S, Yamada K, Suzuki K, Ishikawa K, Yoshida S. Emergence of *Salmonella* strain that produces IMP-1-type metallo-β-lactamase in a Japanese patient. Jpn J Infect Dis 2015, 68:75-6

3) Tran HH, Ehsani S, Shibayama K, Matsui M, Suzuki S, Nguyen MB, Tran DN, Tran VP, Tran DL, Nguyen HT, Dang DA, Trinh HS, Nguyen TH, Wertheim HFL. Common isolation of New Delhi metallo-β-lactamase 1-producing Enterobacteriaceae in a large surgical hospital in Vietnam. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015, 34(6):1247-54

4) Asai S, Umezawa K, Iwashita H, Ohshima T, Ohashi M, Sasaki M, Hayashi H, Matsui M, Shibayama K, Inokuchi S, Miyachi H. An outbreak of $bla_{\text{OXA-51-like}}$- and $bla_{\text{OXA-66}}$-positive *Acinetobacter baumannii* ST208 in the emergency intensive care unit. J Med Microbiol 2014, 63:1517-23.

5) Takaya A, Kimura A, Sato Y, Ishikawa N, Watanabe M, Matsui M, Shibayama K, Yamamoto T. Molecular characterization of linezolid-resistant CoNS isolates in Japan. J Antimicrob Chemother 2015, 70(3):658-63.

6) Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Suzuki M, Konda T, Arakawa Y, Shibayama K. Distribution of carbapenem resistance determinants among epidemic and non-epidemic types of *Acinetobacter* species in Japan. J Med Microbiol 2014, 63:870-7.

7) Suzuki M, Hosoda E, Matsui M, Arakawa Y. New PCR-based open reading frame typing method for easy, rapid, and reliable identification of *Acinetobacter baumannii* international epidemic clones without performing multilocus

sequence typing. J Clin Microbiol 2014, 52(8):2925-32.
8) Nakano, R., Nakano, A., Hikosaka, K., Kawakami, S., Matsunaga, N., Asahara, M., Ishigaki, S., Furukawa, T., Suzuki, M., Shibayama, K., and Ono, Y. (2014) First report of metallo-β-lactamase NDM-5 producing *Escherichia coli* in Japan. Antimicrob Agents Chemother 58(12): 7611-7612.
9) Hagiya, H., Murase, T., Suzuki, M., Otsuka, F., and Shibayama, K. (2014) An emergence of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriacae at a Japanese critical care setting. Acute Med Surg 1(4): 256-258.
10) Suzuki, M., Suzuki, S., Matsui, M., Hiraki, Y., Kawano, F., and Shibayama, K. (2014) A subclass B3 metallo-β-lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. J Antimicrob Chemother 69(5): 1430-1432.
11) Morikane K, Honda H, Yamagishi T, Suzuki S, Aminaka M. Factors associated with surgical site infection in colorectal surgery: the Japan nosocomial infections surveillance. Infect Control Hosp Epidemiol. 2014 Jun;35(6):660-6.
12) Kenri T, Sekizuka T, Yamamoto A, Iwaki M, Komiya T, Hatakeyama T, Nakajima H, Takahashi M, Kuroda M and Shibayama K. Genetic characterization and comparison of *Clostridium botulinum* isolates from botulism cases in Japan between 2006 and 2011. Appl Environ Microbiol 80, 6954-64 (2014).
13) Nishimura S, Kou T, Kato H, Watanabe M, Uno S, Senoh M, Fukuda T, Hata A, Yazumi S. Fulminant pseudomembranous colitis caused by *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in a healthy young woman in Japan. J Infect Chemother 2014 20: 729-731.
14) 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. J Intensive Care 2014 2: 44.
15) Silva A, Hifumi T, Sakai A, Yamamoto A, Murakawa M, Ato M, Shibayama K, Ginnaga A, Kato H, Koido Y, Inoue J, Abe J, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y: Rhabdophis tigrinus is not a pit viper but its bites result in venom-induced consumptive coagulopathy similar to many viper bites. J Intensive Care 2014 2: 43.
16) Hifumi T, Fujimi S, Yamagishi T, Satoru Arai, Sawabe K,Yamamoto A, Ato M, Shibayama K, Ginnaga A, Kiriu N, Kato H, Koido Y, Inoue J, Kishikawa M, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y：Clinical characteristics of red-back spider bites. J Intensive Care 2014 2: 62.
17) Hifumi T, Yamamoto A, Takahashi M, Koido Y, Kawakita K: Considerations or tetanus infection in an adult with protective tetanus antibody level, Am J Emerg Med 2014 32: S0735-6757.
18) Senoh M, Kato H, Murase T, Hagiya H, Tagashira Y, Fukuda T, Iwaki M, Yamamoto A, Shibayama K. Reverse transcription polymerase chain reaction-based method for selectively detecting vegetative cells of toxigenic *Clostridium difficile*. Microbiol Immunol 2014 58:615-620.
19) Senoh M, Iwaki M, Yamamoto A, Kato H, Fukuda T, Shibayama K. Inhibition of adhesion of *Clostridium difficile* to human intestinal cells after treatment with serum and intestinal fluid isolated from mice immunized with nontoxigenic *C. difficile* membrane fraction. Microb Pathog 2015 81:1-5.
20) Kim H, Hong Y J, Shibayama K, Suzuki Y, Wakamiya N, Kim Y U. Functional analysis of the receptor binding domain of SARS coronavirus S1 region and its monoclonal antibody. Genes and Genomics. 2013, 36:387-397.
21) Kim H, Shibayama K, Rimbara E, Mori S. Biochemical characterization of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. PLOS ONE, 2014, 20; 9(6):e100062.
22) Mori S, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. Roles of Ala-149 in the catalytic activity of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2015, 79(2):236-238.
23) Nagasawa M, Kaku M, Kamachi K, Shibayama K, Arakawa Y, Yamaguchi K, Ishii Y. Loop-mediated isothermal amplification assay for 16S rRNA methylase genes in Gram-negative bacteria. J Infect Chemother. 20:635-8, 2014.
24) Bart MJ, Harris SR, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V, Cassiday PK, Chiang CS, Dalby T, Fry NK, Gaillard ME, van Gent M, Guiso N, Hallander HO, Harvill ET, He Q, van der Heide HG, Heuvelman K, Hozbor DF, Kamachi K, Karataev GI, Lan R, Lutyńska A, Maharjan RP, Mertsola J, Miyamura T, Octavia S, Preston A, Quail MA, Sintchenko V, Stefanelli P, Tondella ML, Tsang RS, Xu Y, Yao SM, Zhang S, Parkhill J, Mooi FR. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. mBio 5:e01074, 2014.
25) Yamaguchi Y, Matsueda S, Matsunaga K, Takashio N, Toma-Fukai S, Yamagata Y, Shibata N, Wachino J,

Shibayama K, Arakawa Y, Kurosaki H. Crystal structure of IMP-2 metallo-β-lactamase from Acinetobacter spp.: comparison of active-site loop structures between IMP-1 and IMP-2. Biol Pharm Bull. 2015;38(1):96-101.
26) Ishiwada N, Hishiki H, Nagasawa K, Naito S, Sato Y, Chang B, Sasaki Y, Kimura K, Ohnishi M, Shibayama K. The incidence of pediatric invasive Haemophilus influenzae and pneumococcal disease in Chiba prefecture, Japan before and after the introduction of conjugate vaccines. Vaccine. 2014 Sep 22;32(42):5425-31.
27) Nakamura G, Wachino J, Sato N, Kimura K, Yamada K, Jin W, Shibayama K, Yagi T, Kawamura K, Arakawa Y. Practical agar-based disk potentiation test for detection of fosfomycin-nonsusceptible Escherichia coli clinical isolates producing glutathione S-transferases. J Clin Microbiol. 2014 Sep;52(9):3175-9.
28) Nagano N, Nagano Y, Toyama M, Kimura K, Shibayama K, Arakawa Y.
Penicillin-susceptible group B streptococcal clinical isolates with reduced cephalosporin susceptibility. J Clin Microbiol. 2014 Sep;52(9):3406-10.
29) Momose Y, Asakura H, Kitamura M, Okada Y, Ueda Y, Hanabara Y, Sakamoto T, Matsumura T, Iwaki M, Kato H, Shibayama K, Igimi S. Food-borne botulism in Japan in March 2012. Int J Infect Dis. 2014 Jul;24:20-2.
30) Banno H, Kimura K, Tanaka Y, Kitanaka H, Jin W, Wachino J, Yamada K, Shibayama K, Arakawa Y. Characterization of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility forming small non-Beta-hemolytic colonies on sheep blood agar plates. J Clin Microbiol. 2014 Jun;52(6):2169-71.

2. 和文発表

1) 松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査　病原微生物検出情報　Vol.35(12) 5-7、 2014.
2) 安部朋子、永田由美、青木知信、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、関塚剛史、山下明史、黒田誠　プラスミド水平伝達が関与した院内感染事例　病原微生物検出情報 Vol.35(12) 9-10、 2014.
3) 山岸拓也、松井珠乃、大石和徳、伊藤宏明、福住宗久、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、関塚剛史、山下明史、黒田誠　他　大阪市内大規模病院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の長期間にわたる院内伝播　病原微生物検出情報　Vol.35(12) 10-11、 2014.
4) 松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、柴山恵吾 他　我が国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析 病原微生物検出情報　Vol.35(12) 11-13、 2014.
5) 筒井敦子、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．耐性病原体 up-to-data ~耐性メカニズムから治療戦略まで~．化学療法の領域、30 巻増刊号:215-223、2014.
6) 鈴木里和　【感染対策　私の視点・私の予測　論点要点 2014】厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業と感染防止対策加算 .INFECTION CONTROL 23 巻 12 号　1181-1185(2014.12)
7) 鈴木里和　薬剤耐性菌による院内感染対策の実態 患者が求める「医療安全」「院内感染」対策　編者　泉福英信 P.130-137.ヒョーロン・パブリッシャーズ　2014 年 10 月
8) 鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾　外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況 病原微生物検出情報(2014 年 12 月) Vol. 35（12）287-288
9) 鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾　腸内細菌科カルバペネマーゼ産生菌の検出に適したスクリーニング薬剤の検討 病原微生物検出情報（2014 年 6 月） Vol. 35(6)　156-157
10) 内田恵理子、古田美玲、菊池裕、窪崎敦隆、遊佐精-、宮原美知子、佐々木裕子、小原有弘、大谷梓、松山晃支、大倉華雪、山口照英　日本薬局方参考情報収載マイコプラズマ否定試験のPCR法改正のための共同研究、日本マイコプラズマ学会雑誌、41:43-44、 2014
11) 内田 恵理子、古田 美玲、菊池 裕、窪崎 敦隆、遊佐 精一、宮原 美知子、佐々木 裕子、小原 有弘、大谷 梓、松山 晃文、大倉 華雪、山口 照英　平成 24 年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告、細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験の PCR 法の見直しに関する研究、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 45：442-451、2014
12) 見理 剛　マイコプラズマ肺炎　小学保健ニュース 少年写真新聞社　2014 年 10 月 8 日号
13) 村端真由美、加藤はる、笈西一樹、矢野久子　がん患児入院病棟の病養環境の *Clostridium difficile* による汚染、日本環境感染学会雑誌 2015. 30:22-28.
14) 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ジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* 感染状況調査、日本獣医師会学会学術誌 2014.67:613-616.
15) 鈴木定彦、山口智之、金玄、横山和正、中島千絵　結核研究からハンセン病研究へ：分子生物学的見地から.

日本ハンセン病学会雑誌. 2014、 第 83 巻 3 号 21-27.
16) 森茂太郎 技術の進歩と結核菌の検査. 生物工学会誌. 2014、 第 92 巻 9 号 512.
17) 蒲地一成 百日咳菌のサーベイランス、分離菌の性状変化、*Bordetella holmesii* について. 臨床とウイルス、43(1): 17-22、 2015.
18) 蒲地一成 微生物 ABC 百日咳. up-to-date 子どもの感染症. 2(2):18-21、 2014.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Suzuki M, Suzuki S, Matsui M, Hiraki Y, Kawano F, and Shibayama K. A subclass B3 metallo-β-lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2014, Centre de Convencions Internacional de Barcelona (Barcelona, Spain), May 2014
2) Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Shibayama K. Molecular epidemiology of *Acinetobacter* spp. and distribution of *Acinetobacter baumannii* international clone II in Japan. 54th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), September 2014
3) Suzuki M. Genomic epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Japan. The 11th Taiwan-Japan Symposium: New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance, Centers for Disease Control, ROC (Taipei, Taiwan), September 2014
4) Suzuki S. New discoveries made by a national hospital infection surveillance.6th Sino-American Infectious Disease Conference & the th Chinese American Association for Clinical Microbiology Annual Conference Joingt Meeting. Shanghai, China. Septemper 2014
5) Suzuki S. Surveillance System of Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated infections in Japan. 7th International Congress of the Asia Pacific Society of Infection Control (APSIC 2015). Taiwan. March 2015
6) Kenri T, Sekizuka T, Yamamoto A, Iwaki M, Takahashi M, Kuroda M, Shibayama K. Whole genome single-nucleotide polymorphism (SNP) analysis of *Clostridium botulinum* isolates from botulism cases in Japan. Interagency Botulism Research Coordinating Committee 51th Annual Meeting (IBRCC 2014). Philadelphia, PA, USA. October 26-29, 2014.
7) Gomes C, Palma N, Sandoval I, Tinco C, Gutarra C, Kubota M, Ruiz J, Comparison of diagnosis techniques for Carrion disease in blood samples from northern Peru. Joint International Tropical Medicine Meeting, Bangkok, Thailand, December 2-4, 2014.
8) Kim H, Mori S, Rimbara E, Shibayama K. Enzymatic activity of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. 14th International Union of Microbiological Societies (IUMS). July-August 2014, Montreal.
9) Mori S, Kim H, Rimbara E, Arakawa Y, Shibayama K. Molecular characterization of nicotinate phosphoribosyltransferase from Mycobacterium tuberculosis H37Rv, and inhibition of its activity by pyrazinoic acid. FEBS EMBO 2014. August-September 2014. Paris.
10) Shibayama K. Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS). - The National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan. 17th General Meeting of Korean Society of Clinical Microbiology, Namwon, Korea. June 19-20, 2014 (Oral presentation).

2. 国内学会

1) 松井真理、鈴木里和、鈴木匡弘、綿引正則、平木洋一、河野文夫、柴山恵吾 我が国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析 第 63 階日本感染症学会東日本地方会総会学術集会 2014 年 10 月 東京
2) 松井真理、鈴木里和、鈴木匡弘、八柳潤、綿引正則、柴山恵吾 国内 78 医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の分子疫学解析 第 26 回日本臨床微生物学会総会 2015 年 1-2 月 東京
3) 本間操、鈴木里和、松井真理、柴山恵吾 精神科病院におけるセフトリアキソン耐性 *Klebsiella oxytoca* による院内感染事例 第 26 回日本臨床微生物学会総会 2015 年 1-2 月 東京
4) 松井真理、鈴木里和、関塚剛史、山下明史、鈴木仁人、黒田誠、柴山恵吾 IMP-1 メタロ-□-ラクタマーゼ保有プラスミドの全塩基配列解読で判明した他菌種の腸内細菌科細菌の院内感染 第88回日本細菌学会総会 2015年3月 岐阜
5) 鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、関塚 剛史、黒田 誠、 柴山 恵吾 I 型分泌エフェクター・免疫蛋白質の進化と多様性、 第 88 回日本細菌学会総会、 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)、2015 年 3 月 26 日-28 日、WS

コンビーナ

6) 平山 隆一郎、 鈴木 仁人、 松井 真理、 鈴木 里和、 柴山 恵吾、 阪口 雅弘、 木内 明男　イヌにおける新規口腔内常在細菌の探索、 第 88 回日本細菌学会総会、 長良川国際会議場 (岐阜県岐阜市)、 2015 年 3 月 26 日-28 日

7) 鈴木 仁人　病原細菌における細菌間競合と進化、感染症国際研究センター・全国共同利用共同研究拠点ジョイントシンポジウム、 東京大学医科学研究所 (東京都港区)、 2015 年 2 月 18 日、 招待講演

8) 鈴木 仁人、 福井 康雄、 梅田 豊、 林　寿朗、 松井 真理、 鈴木 里和、 柴山 恵吾　ダプトマイシン非感性 MRSA 株のゲノム解析、 第 43 回薬剤耐性菌研究会、 加賀観光ホテル (石川県加賀市)、 2014 年 10 月 31 日-11 月 1 日

9) 筒井敦子、鈴木里和　JANIS（サーベイランスのやり方と意義）「JANIS 検査部門の概要と今後の展望」第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2015 年 1 月 31 日

10) 鈴木里和　厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS)事業の概要とデータの活用　第 24 回日本医療薬学会年会　名古屋国際会議場　2014 年 9 月

11) 鈴木里和　国立病院機構病院群の研究協力による本邦でのアシネトバクター属の疫学調査結果　第 68 回国立病院総合医学会、パシフィコ横浜。2014 年 11 月

12) 鈴木里和　公衆衛生の目としてのサーベイランス第 30 回日本静脈経腸栄養学会学術集会　神戸ポートピアホテル、2015 年 2 月

13) 佐々木年則、伊藤航人、久保田眞由美、山岸拓也、川﨑麻紀、十菱大介、平尾磨樹、伊澤晴彦、足立智英、大石和徳、柴山恵吾、澤邉京子　シラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana* の疫学研究. 第 67 回日本衛生動物学会大会、2015 年 3 月 27-29 日、金沢

14) 佐々木裕子、久保田眞由美、柴山恵吾　細菌性髄膜炎疑い患者由来の髄液における微生物遺伝子検出手法の検討、第 9 回日本ゲノム微生物学会年会、2015 年 3 月 6-8 日、神戸

15) 内田恵理子、古田美玲、菊池裕、窪崎敦隆、遊佐精一、宮原美知子、佐々木裕子、小原有弘、大谷梓、松山晃支、大倉華雪、山口照英　日本薬局方参考情報収載マイコプラズマ否定試験の PCR 法改正のための共同研究、日本マイコプラズマ学会第 41 回学術集会、2014 年 5 月 22-23 日、東京

16) 窪崎敦隆、菊池裕、宮原美知子、遊佐精一、島崎愛加、石橋侑季、鈴木俊宏、小原有弘、大谷梓、佐々木裕子、松山晃支、大倉華雪、古田美鈴、内田恵理子、山口照英　マイコプラズマ否定試験に利用可能な標準菌株および標準 DNA の調整、第 135 回日本薬学会、2015 年 3 月 25-26 日、神戸

17) 加藤はる　教育講演 4 *Clostridium difficile* 感染症について、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡

18) 加藤はる　見過ごしていませんか *Clostridium difficile* 感染症、第 11 回香川感染管理及び滅菌業務研究会、 2014 年 9 月、高松

19) 加藤はる　外科感染症入門講座 24 *Clostridium difficile* 感染症　きほんのき、第27回日本外科感染症学会総会学術総会、2014 年 12 月、東京

20) 石村さおり、折田環、小林敦子、加藤はる　Binary toxin 産生市中型 *Clostridium difficile* による偽膜性腸炎(CDI)の1例、第 26 回日本臨床微生物学会総会学術集会、2015 年 1 月、東京

21) Kato、 H　What is going on about *Clostridium difficile* infection in Japan? 第 45 回日本嫌気性菌感染症学会　国際シンポジウム「All about *Clostridium difficile* infection in the world」、2015 年 2 月、東京

22) 一二三亨、山本明彦　ヤマカガシ咬傷の臨床的特徴と抗毒素治、 第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡

23) 上野太輔、山根一和、山本明彦、中嶋洋 *Corynebacterium striatum* によるカテーテル関連血流感染症を来した 1 例、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡

24) 妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾　毒素産生性 *Clostridium difficile* 栄養型菌の新規遺伝学的検査法の開発、第 88 回日本感染症学会学術講演会、2014 年 6 月、福岡

25) 妹尾充敏、加藤はる、福田靖、柴山恵吾　毒素産生性 *Clostridium difficile* の新規遺伝学的検査法の開発、第 61 回トキシンシンポジウム、2014 年 9 月、鳴門

26) 妹尾充敏、岩城正昭、山本明彦、加藤はる、福田靖、柴山恵吾　膜画分を用いた *Clostridium difficile* 感染症(CDI)ワクチンの開発、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜

27) 林原絵美子、森茂太郎、金玄、柴山恵吾　セフトリアキソン耐性 *Helicobacter cinaedi* におけるペニシリン結合タンパク質変異. 第 88 回日本細菌学会総会. 2015 年 3 月. 岐阜

28) 金玄、森茂太郎、林原絵美子、柴山恵吾 Characterization of QAPRTase from *M. tuberculosis* H37Rv

and inhibition of its activity by pyrazinamide. 第 87 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2014 年 9 月. さいたま

29) 大塚菜緒、柴山恵吾、蒲地一成　*Bordetella pertussis* fimbriae are regulated by BvgAS system and Pfim structure. 第 88 回日本細菌学会総会、平成 27 年 3 月、岐阜

30) 平松征洋、大塚菜緒、柴山恵吾、 鈴木英里、渡邉峰雄、蒲地一成　百日咳類縁菌 *Bordetella holmesii* の自己凝集抑制因子 BipA に関する研究. 第 88 回日本細菌学会総会、平成 27 年 3 月、岐阜

31) 花輪智子、米澤英雄、蒲地一成、大崎敬子、蔵田訓、北条史、シンシア ザマン、神谷茂　百日咳 3 型分泌装置はバイオフィルム形成を促進する. 第 88 回日本細菌学会総会、平成 27 年 3 月、岐阜

32) 山口哲矢、鈴木英里、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 18 回日本ワクチン学会学術集会、平成 26 年 12 月、福岡

33) 砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、蒲地一成、土橋酉紀、大平文人、徳田浩一、吉田真紀子、安藤由香　国内複数の百日咳集団発生における百日せきワクチン有効性に関する分析と考察. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、平成 26 年 12 月、福岡

34) 柴山恵吾　カルバペネム耐性グラム陰性桿菌　第３０回日本環境感染学会総会・学術集会　2015 年 2 月 20 日−21 日、神戸

3. その他（紀要・ホームページ等）

特許出願

鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、柴山 恵吾、一久 和弘、成瀬 秀則、井本 裕顕、伊藤 淳史、下川 努 「抗菌剤、殺菌剤、抗菌材料、殺菌材料、抗菌方法及び殺菌方法」、出願番号：特願 2014-151608、2014 年 7 月 25 日

紀要

Mori S、 Wachino J、 Arakawa Y、 Shibayama K. Crystal structure of S147Q of Rv2613c from *Mycobacterium tuberculosis*. PDB ID:3WO5、 2014 年 12 月.

６．寄生動物部

部　長　　野崎 智義

概　要

当部は、原虫及び蠕虫による感染症全般に係る基礎ならびに応用研究を行っている。疾患対象としては、赤痢アメーバ、ジアルジア、クリプトスポリジウム、ミクロスポリジアなどの腸管寄生性の原虫、アカントアメーバ等自由生活性アメーバ等原虫、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・サ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性・オルガネラ・代謝に関する研究を展開した。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有症地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ハプロタイプ解析を行った。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た。特に、対象とする病原体の国内侵入と蔓延を阻止するうえで利用可能な検査・診断法の研究を重点的に進めているが、研究成果の一部は、実際に検疫業務や途上国での寄生虫症対策にも応用されている。さらに、原虫の細胞内侵入や病原性と関連する膜輸送に関する基礎的研究を、赤痢アメーバ原虫やマラリア原虫を対象として進めた。

研究費としては厚生労働科学研究費補助金（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等を取得した。

人事面では、平成 26 年 10 月 1 日付けで主任研究官として案浦 健が赴任した。再任用職員として朝日博子、山﨑 浩、客員研究員として川中正憲、大前比呂志、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、Bethel Kwansa-Bentum, Mohammed Essa Marghany Tolba, 流動研究員として Ghulam Jeelani, Herbert Santos、Avik Mukherjee、Somlata、Koushik Das、研究生・実習生として松原立真、花館有希、丸茂このみ、渡辺菜月、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、宮本絵梨、荒木球沙、吉田猛敏が在籍し、研究等に従事した。更にインドネシアアイルランガ大学から Myrna Adianti が共同研究員として 1-3 月に 2 ヶ月間共同研究に従事した。タイ・コンケーン大学医学部寄生虫学教室教授、および同大新興感染症診断研究センター教授 Wanchai Maleewong と Pewpan Intapan Maleewong 夫妻が幼虫移行症に関する共同研究で 12 月に 1 週間, また豪州ジェームズクック大の Fiona Baird 講師がアニサキスの共同研究で 12 月に 2 週間来所した。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）虫垂組織標本からの赤痢アメーバ検出方法の確立

国立国際医療研究センター病院で急性虫垂炎と診断された症例の切除後の虫垂検体から、赤痢アメーバが検出される例が経験される。このことから、過去に一般的な細菌感染による急性虫垂炎と考えられた症例でも、赤痢アメーバが関与していた可能性が考えられた。そこで、ホルマリン固定パラフィン包埋されて保存されている急性虫垂炎例の切除虫垂標本からキシレンを用いて DNA を抽出し、short tandem repeat 領域を標的としたプライマーを用いて赤痢アメーバ DNA を PCR で検出する方法を確立した。[小林泰一郎（国立国際医療研究センター）、渡辺恒二（国立国際医療研究センター）、八木田健司、津久井久美子、野崎智義]

（２）ジアルジア抗原検出イムノクロマト（IC）の性能評価

国内で開発し、旅行者下痢症あるいは HIV 陽性者における下痢症においては検査の有用性が見られたジアルジア IC キットについて、インドの原虫性下痢症検体を用いた性能評価を行った。インドにおいて PCR あるいは ELISA で検査し、陽性検体と陰性検体に分類された検体を用いた。IC キットで検査した結果、ジアルジア陽性 14 検体中 13 検体が陽性（感度 92.9%）であったが、陰性 29 検体では 13 検体が陽性となった（特異性 55.2%）。これらの陽性検体に関しては DFA（直接蛍光抗体染色法）で再検査したが染色される粒子は確認できなかった。今回検査した検体は粘液性のものが大半であり、検体の性状による影響の可能性も考慮する必要性があると思われた。[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）]

（３）デジタル PCR 法を用いた水道原水中のクリプトスポリジウムの定量

遺伝子定量のリアルタイム PCR 法には、標準試料を用いた検量線が不可欠である。標準試料の取り扱いは、濃度調整が容易でなく、汚染（コンタミネーション）も懸念される。感染マウスの糞便より精製したクリプトスポリジウムオーシストをこれまで使用してきたが、濃度調整と病原体の取り扱いは厄介であった。そこで、絶対定量法として注目されているデジタル PCR 法に着目した。この方法では標準試料の検量線を用いることなく、目的試料中の遺伝子断片の定量が可能である。反応液を数百の反応セルに分けてから反応を行い、PCR の増幅が得られた区画数から統計処理を行うことで、試料中の絶対数を算出する方法である。結果として、既存のリアルタイム PCR 法と同様の定量値が得られた。デジタル PCR 法を用いて、標準試料を用いること無く、水道原水試料中のクリプトスポリジウムオーシストを定量することが可能であった。[岸田直裕、秋葉道宏（国立保健医療科学院）、泉山信司]

（４）河川水を用いた qRT-PCR 法と検鏡法によるクリプトスポリジウム等測定結果の比較

顕微鏡観察による原虫類の計数には技術と習熟が必要であり、それに代わる試験方法として遺伝子検出法に期待が寄せられてきた。遺伝子検出法は、「水道に関するク

リプトスポリジウム等の検出のための検査方法の見直し等について」（平成 24 年 3 月 2 日付け健水発 0302 第 3 号）において、クリプトスポリジウム等の試験方法として追加され、現在使用可能である。遺伝子検出法の適用実績はまだ少なく、さらなる知見の積み重ねと応用が求められている。そこで本研究では、原虫類の検出事例の多い河川水について検鏡法と遺伝子検出法である qRT-PCR 法の結果の比較を行った。2 法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムは 73%、ジアルジアは 83%となった。若干の不一致の原因は、試料中の原虫濃度が低い（1〜8 個）ための確率論的なばらつき、検鏡法と qRT-PCR 法の検出原理の違い、遺伝子検出法阻害物質の影響などが考えられ､今回の結果に問題は感じなかった。増幅産物の塩基配列を決定したところ、ブタ由来の *Cryptosporidium suis* が多く検出された。*C. suis* は複数の上流支川において高頻度で検出され、これらの上流支川に汚染源があると推察された。塩基配列決定によるクリプトスポリジウムの同定は、調査流域の汚染原因の推定に有用と考えられた｡[渡邉　洋大､北村　壽朗､上村　郁子、成澤　千秋、齊藤　巧介、岩谷　梓（神奈川県企業庁水道水質センター)、泉山信司]

（５）クリプトスポリジウム症およびジアルジア症の国内発生動向

クリプトスポリジウムおよびジアルジアは塩素消毒に抵抗性があることから、水道水を介して大規模な集団感染になることが問題である。水道におけるクリプトスポリジウム対策を考える上で、国内の流行状況を把握するため、感染症発生動向調査の 2006〜2013 年を集計した。クリプトスポリジウム症の届出数は、100 例（年平均 13 例）であった｡感染要因は大きく分けて､ウシとの接触、海外渡航、男性間性的接触、食品摂取で、幸いに水道が原因と推定される事例はなかった。国外では、2010 年にスウェーデンで推定 27,000 人が発症する水道を介した大規模集団感染が生じており、未だに注意を要することに変わりはなかった。この事故の後に紫外線消毒が導入され、国内でも同様に対策することが推奨と考えられた。ジアルジア症は 578 例（年平均 72 例）で、2010 年に初めて集団感染が報告された。これは小規模貯水槽水道における、蛇口を介した集団感染であった。ビル建築物の貯水槽の管理を徹底することが必要と考えられた。これ以外の感染要因は大きく分けて、海外渡航、男性間性的接触､下水や糞便等への曝露であった｡海外の渡航先は、開発途上国が主であった。多くは下痢症であったが、腹部不快感のみで下痢症ではない例が 17%（98/578 例)、無症状が 2.2%（13）あり、感染源として注意を要すると考えられた｡11% (63) において内視鏡検査が行われ、十二指腸液､胆汁､膵液からジアルジア検出されていた。腹部症状があっても寄生虫検査が行われることは少なく、内視鏡の病理検査に至って感染が判明することがあり、実際には届出数より多くの原虫陽性者が存在する恐れがあるため、注意を要すると考えられた｡[泉山　信司、村上　裕子、八木田　健司（寄生動物部)、木下　一美（感染症疫学センター)]

２．蠕虫症診断法・検出法・不活化法の開発

（１）エキノコックス症検査キットの評価

エキノコックス症（四類）の診断は、特徴的な臨床症状に加え、画像診断や血清診断によって行われる。しかし、北海道以外の非流行地において本症の血清診断は広く普及しているとはいいがたく、当室で受け付けた依頼検査の中には民間の臨床検査会社で誤って判定された偽陰性例が散見される。そこで本研究では、一般の検査会社でも十分な対応が可能となるよう、国内で入手可能な検査キットの信頼性を比較・評価した。今年度は単包性エキノコックス症の診断を目的としたウェスタンブロット法もしくはイムノクロマト法に基づく市販検査キットの比較し､患者血清 24 検体を用いて両キットの検査感度を調べたところ、前者は 83.3%、後者は 25.0%と算定された。[森嶋康之，山﨑　浩，杉山　広，大前比呂思]

（２）イムノクロマト法による血清診断キットの開発と評価：幼虫移行症複合型検査キットの開発

幼虫移行症（ここではトキソカラ症･マンソン孤虫症･顎口虫症の３疾患）は原因となる寄生虫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。本研究に関して、従来から個別に抗体検出を目的としたイムノクロマトキットを開発してきた経緯から、今回はそれらを 1 つのデバイスにまとめ、幼虫移行症複合型キットの試作

品を作成するとともに、抗体検出系においては、従来のアルカリフォスファターゼから金コロイド系に改善したことにより、検出時間の短縮と室温保存が可能となった。試作品の商品化に目処がついた。[山﨑 浩，Wanchai Maleewong・Intapan Pewpan Maleewong(タイ・コンケーン大・医・寄生虫)，小林 薫，高山勝好，小林行治（アドテック株式会社）]

（３）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）赤痢アメーバ国内分離株の樹立

赤痢アメーバ症の多様な臨床症状と原虫ゲノムとの関係を明らかにするため、臨床株の樹立を行った。臨床症状・画像所見から侵襲性赤痢アメーバ感染症が疑われた計 24 症例・37 検体を調査し、4 例の臨床株（腸炎 2 例・肝膿瘍 1 例・無症候 1 例）の樹立を行い、全例 conventional PCR 増幅で *E.histolytica* と同定した。赤痢アメーバは体外に排出後早期に死滅するため、検体採取後速やかに大腸菌・バクテロイデスとの共培養を開始することが重要であった。継代培養を繰り返すことで 4 例のうち 2 例は無菌培養に成功している。無症候例は、糞便では病原体を認めなかったが、大腸回収液から分離培養に成功したため、アメーバ感染が疑われる症例については大腸内視鏡検体も積極的に調査を行っていく。[柳川泰昭（国立国際医療研究センター）、渡辺恒二（国立国際医療研究センター）、小林正規（慶応大学）、八木田健司、津久井久美子、野崎智義]

（２）消化管寄生原虫類の検査技術に関する J-GRID ベトナム支援協力

長崎大とベトナム NIHEI が共同で行っている J-GRID に基づくベトナムにおける消化管原虫の感染実態の調査研究プロジェクトに対し、原虫類の検査技術に関する現地支援を行った。遺伝子検査や ELISA による検査データが不安定であったことから、現地ラボで実施可能な高感度検査法として DFA（直接蛍光抗体染色法）を導入し、クリプトスポリジウムならびにジアルジアに関する感染スクリーニングが可能な検査体制を整備した。DFA 導入後、ジアルジアの家族内感染が確認できたなどの成果が得られている。さらに感染実態を把握するために有用な分子疫学研究への進展を目指し、NIHEI ラボで利用可能な遺伝子解析法を検討中である。[八木田健司、竹村太地郎、時沢亜佐子、山城　哲（長崎大熱研 NIHEI ラボ）]

（３）イノシシ肉より検出したサルコシスティスの同定

ジビエとしての利用が進む野生イノシシ肉には E 型肝炎、O157 とともに寄生虫としてサルコシスティスの感染リスクも知られる。今回サルコ陽性の野生イノシシ肉について遺伝子検査を行い、暫定通知法で得られた PCR 産物のシークエンスは、ブタより検出例が報告されている *S.miescheriana* の配列と高い相同性（99%）を示した。ブタ感染サルコシスティスのヒトへの健康影響は、ヒトが終宿主となる *S.suihominis* のみ知られ、*S.miescheriana* の健康影響は不明である。イノシシ肉の生食あるいは加熱不足で摂取することによる原因不明食中毒発生時には、サルコシスティス検査も考慮すべきものと考えられる。[八木田健司、村上裕子、石川いく代（徳島県食肉衛生検査所）]

（４）水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究－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による大規模水系集団感染を契機として、新たな見地の微生物研究と対応が求められている。一般細菌に比べて高感度な従属栄養細菌の測定が開始され、その指標の有効活用が求められている。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、10 試料から従属栄養細菌数が 0～52 CFU/cm^2 とわずかに検出された。耐震性貯水槽を調査したところ、従属栄養細菌数の増加により、わずかとはいえ滞留またはその恐れを複数の耐震性貯水槽において認めた。協力を得られた家庭の水道蛇口から *Legionella* 属菌が分離された。水道原水にアデノウイルス、ポリオウイルスを添加して人工原水とし、回分式凝集処理実験で除去率を PFU 法で評価した。凝集沈澱処理はそれぞれ 0.1～1.4 log、0.5～2.4 log であった。急速ろ過を模した孔径 0.45 μm の膜ろ過の追加で、概ね計 3-Log 程度の除去が得られた。国内の実浄水場において、凝集沈殿と急速ろ過等におけるウイルスの除去効率を実測し、トウガラシ微斑ウイルスが 5.2-Log 除去されていた。エボラウイルスはエンベロープのあるウイルスであるので比較的消毒剤等に感受性が高く、水道水中では不活化できていると考えられた。遺伝子の絶対定量が可能なデジタル PCR は、既存のリアルタイム PCR 法と同様に、水道原水試料中のクリプトスポリジウムの定量が可能であった。原虫の濃縮法として開発された粉体ろ過法は、大腸菌、嫌気性芽胞菌の指標細菌にも応用可能であった。国内の流行状況を把握するため、感染症発生動向調査の 2006～2013 年を集計した。クリプトスポリジウムの届出数は年 10 例程度で、幸いに水道が原因と推定される事例はなかったが、国外では 2010 年に推定 27,000 人の大規模集団感染が生じており、未だに注意を要することに変わりはなかった。この事故後に紫外線消毒が導入され、国内でも同様に対策することが推奨と考えられた。問題の浄水場では前オゾン処理が導入されていたが、この集団感染の経験と国内浄水場の計算から、オゾン処理には依存できないと考えられた。ジアルジア症は年平均 72 例で、2010 年に国内で初めて集団感染が報告された。これは小規模貯水槽水道における蛇口を介した集団感染で、貯水槽の管理徹底が必要と考えられた。［泉山　信司、秋葉　道宏（国立保健医療科学院）、松下　拓（北海道大学大学院工学研究科）、片山　浩之（東京大学大学院工学研究科）］

（５）水道の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。昨年度検討した測定方法により配管実試料を測定し、10 試料から従属栄養細菌数が 0～52 CFU/cm^2 とわずかに検出された。末端給水栓水の残留塩素濃度が適切に管理されていても、配管内には付着した細菌がわずかとはいえ存在し、バイオフィルムが形成される恐れがあることを確認した。［松島　有希子（桐生市水道局水質センター）、泉山　信司］

（６）耐震性貯水槽における従属栄養細菌の調査

地震等の災害時に飲料水や生活用水を確保するための施設として耐震性貯水槽が広く利用されてきている。これまでの調査によると、圧力式耐震性貯水槽において貯水槽内底部で滞留が発生し、残留塩素が低下し、従属栄養細菌数が高く検出されてしまうことがわかっている。範囲を拡大して実態を調査した。入れ替わり回数が 0.63 回/日と少ない施設において、従属栄養細菌数の増加および槽内がモルタルライニングである影響による pH 値上昇が認められ、滞留が懸念された。入れ替わり回数が 1.4 回/日と少ない施設も同様であった。滞留が懸念されるいずれの耐震性貯水槽も、14 日間培養後の従属栄養細菌が大幅に増加し、損傷菌の検出が示唆された。従属栄養細菌数の増加により、水質の基準値を超過していないが、わずかとはいえ滞留またはその恐れを複数の耐震性貯水槽において認めた。従属栄養細菌数の利用は有効であった。［水野　聰（新潟市水道局技術部水質管理課）、高藤　俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、松島　有希子（桐生市水道局水質センター）、泉山信司］

（７）家庭内の水環境における *Legionella* 汚染実態の研究

レジオネラと水道の研究班で共同し、協力を得られた家庭の水道蛇口から、*Legionella* 属菌の分離および遺伝子の検出を試みた。10 軒の家庭から 68 検体（蛇口水試

料 33 検体、スワブ試料 35 検体）を採取し、*Legionella* 属菌は水試料 33 検体中 2 検体（6.1%）から菌が分離された。分離された *Legionella* 属菌は *L. pneumophila* SG1 および *L. anisa* であった。スワブ検体からは菌を分離できなかった。LAMP 法では水試料 33 検体中 12 検体（36%）およびスワブ試料 35 検体中 6 検体（17%）からレジオネラ属菌の遺伝子が検出された。検体の種別では、シャワーヘッドを除くすべての種類の蛇口（台所、浴室、給湯口、洗面台）から *Legionella* 属菌あるいは遺伝子が検出された。1 軒の家庭の台所の蛇口水から *Hartmannella* 属アメーバが検出された。蛇口等の水環境が *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）、前川　純子、倉　文明（細菌第一部）、八木田健司、泉山信司]

（８）ビル建築物の蛇口におけるレジオネラ属菌の汚染実態

ビル建築物内の適切な衛生管理のため、7 月から 9 月に蛇口 2 か所から初流水と放流後の水を採水し、レジオネラ属菌の培養及び遺伝子検査を行った。水試料 25 件のうち、培養法では 25 件全てで検出できなかったものの、遺伝子検査では LAMP 法で 4 件、リアルタイム PCR 法で 13 件が検出された。ビル建築物内の蛇口水は、生菌の検出は無かったものの、汚染の可能性があることが示唆された。[田部井　由紀子（東京都健康安全研究センター）、泉山　信司]

（９）日本におけるトキソプラズマの分子疫学

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、日本で分離された 17 株の各 6 配列（計 3759 bp）の情報を元に分子系統解析を行い、既報のクローンとの系統関係について検討した。日本分離株は 2 つの新規系統、type II と近縁な系統、type III の 4 つのグループに分類された。欧米で分離される強毒株である type I は見つからなかったが、本研究の解析で type II との近縁性が示された株のうちの 1 株は、type I の中でも非常に病原性が高いことが知られている RH 株とほぼ同等の強毒性を持つことが判明した。以上のことから日本のトキソプラズマは世界の他の地域とは異なる独自の進化を遂げたクローンが多くを占めている可能性が考えられた。[喜屋武向子（沖縄県衛生環境研究所）、松尾智英（鹿児島大）、村上麻美（岐阜大）、山野安規徳、福本隼平、永宗喜三郎]

（１０）熱帯熱マラリア原虫薬剤耐性流入の解析

近年、アルテミシニン耐性の熱帯熱マラリア原虫が東南アジアで報告され、他の地域への拡散が懸念されている。アルテミシニン耐性の広まりを解析し、今後の対策に役立てるために、アルテミシニン使用前の 1984 年から 1998 年までの東南アジアのアーカイブサンプルから耐性獲得に必要と報告されている座位の一塩基置換（SNP）を決定した。今回は、Takala-Harrison (2013)らによって報告された、10 番と 13 番染色体上の SNP の解析を行った。その結果、耐性獲得に必要な 10 番染色体上の MAL10-688956 座にマップされた DNA ポリメラーゼ delta 触媒サブユニットの 3’非翻訳領域の SNP と、１３番染色体上の MAL13- 1718319 座マップされた RAD5 ホモログ遺伝子の SNP は検出されなかった。同一のサンプルからは、サルファドキシン耐性遺伝子が検出された。よって、アルテミシニン耐性に関わる置換は 2000 年以前には広まっていないこと、また、サルファドキシン耐性遺伝子の広まりの後に出現したことを示唆している

[中野由美子、中曽根英子、平井誠(順天堂大)、美田敏宏(順天堂大)]

（１１）輸血を介した感染を防御するための研究

世界では輸血用血液製剤によって、非流行国でもマラリア、シャーガス病、バベシアに感染する事例が報告されている。我が国では、輸血による感染事故を防ぐため

に、供血者の海外渡航歴と居住歴の問診を強化しているが、海外の報告例を鑑みると十分であるとは断言できない。そのため、現行の血液製剤の調整･保存耐性における原虫の生存率の検討を行った。

[案浦 健、中野由美子、佐山勇輔（日本赤十字社)、高倉明子（日本赤十字社)、野崎智義]

２．蠕虫症の疫学的研究・調査

（１）愛知県で発見されたイヌの多包条虫感染例

エキノコックス症（四類）はヒトへの感染源となるイヌの感染事例についても届出が義務づけられているが、実際の届出は常在地である北海道からのものを除けば、2005年の埼玉県で見つかった一例にとどまってきた。2014年、愛知県知多半島において開業獣医師が実施していた寄生虫流行調査において、同地域で捕獲されたイヌ1頭の糞便からテニア科条虫の虫卵が検出され、DNA検査の結果、多包条虫と配列が完全に一致した。この分子同定結果に基づき、本例は、同年4月、所管保健所へ本州以南第二例目のイヌの多包条虫感染例として届け出られた。［森嶋康之，杉山 広，山﨑 浩，登丸優子（空と太陽動物病院)，福本真一郎（酪農学園大学)］

（２）蠕虫症の感染実態調査および食品汚染実態調査：レセプトデータベースに基づく蟯虫症の発生推定

わが国における寄生蠕虫症の発生数を推定する目的で診療報酬明細書（レセプト）データベースの活用を検討した。母集団33万人規模データベースを用い、2005～2009年の寄生蠕虫症のレセプト件数を調べ、登録数が最も多かった蟯虫症について拡大推計を試みたところ、同症の年間発生数は約2.8万人と推定された。この推定発生数の妥当性を評価するため、日本寄生虫予防会の検査結果に基づく推計値との比較を行ったところ、両者は概ね一致し、レセプトデータを用いた発生推定は有望な方法と考えられた。［森嶋康之，杉山 広，山﨑 浩］

（３）我が国の肺吸虫症に関連する疫学調査

ア．イノシシ肉における肺吸虫汚染の実態調査・続報

大分と鹿児島のイノシシ肉に肺吸虫幼虫の汚染がある事は既に明らかにした．今年度も引き続き，鹿児島のイノシシ肉の検査したところ，22検体のうち5検体から平均1.4隻（最少1隻，最大2隻）の肺吸虫幼虫が検出された．検出虫体は遺伝子配列の解読結果から，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．陽性個体が続けて検出された事実から，イノシシ肉の生食習慣を持つイノシシ猟師に対する啓発活動が急務であると考えられた．[柴田勝優，杉山 広，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）]

イ．シカ肉における肺吸虫汚染の実態調査・続報

シカ肉が感染源と主張する肺吸虫患者が知られることから，このような患者の発生がある大分県で捕獲され，食用として販売されたシカ肉 （4検体）を昨年度は検査し，筋肉から肺吸虫幼虫の検出を試みたが，陰性の結果であった．今年度は，肺吸虫陽性のイノシシ肉を取り扱った鹿児島県の施設から，シカ肉（96個体分）を入手して検査したところ，1検体（重量400g）から2隻のウェステルマン肺吸虫（3 倍体型）の幼虫を検出した．シカ肉感染源説に根拠を与える結果が得られたことから，イノシシ肉に加えてシカ肉も生食禁止とする啓発活動が必要となった．[杉山 広，柴田勝優，荒川京子，森嶋康之，山﨑 浩，御供田睦代（鹿児島県環境保健センター）]

（４）裂頭条虫に関する疫学調査研究：南米チリにおける裂頭条虫の分子疫学

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・マスにはヒトに健康被害を及ぼす裂頭条虫属（*Diphyllobothrium* spp.）条虫の幼虫が寄生しているおり、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２４年以降、チリで実施した調査ではニジマス、ギンザケ、ブラウントラウトから多数の裂頭条虫幼虫を採取した。

ミトコンドリア DNA 解析に基づいた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、cox1遺伝子やcob遺伝子のハプロタイプ解析からチリの *D. dendriticum* 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示唆された。この結果から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、標本の収集にあった[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），Roman Kuchta（チェコ科学アカデミー･生物学センター･寄生虫学部門）]

（５）アニサキス(症) に関連する疫学調査

ア．劇症型アニサキス症発生状況に関する文献調査

アニサキスの感染に起因する疾患として，アニサキスアレルギーが最近では注目されるようになってきた．しかしその発生状況は明らかでなく，そこで文献検索により症例探査を行った．その結果，270 報 353 例が抽出された．この中で，劇症型アニサキス症の特徴とされる呼吸困難あるいは意識消失を呈した症例は，4 例および 2 例であった．劇症型アニサキス症を含めたアニサキスアレルギーの症例発生が少数ながら検出されたことから，このような症例の発生動向に注目する必要があることが分かった．特に本症ではアニサキス虫体の検出がない場合も多く，免疫検査の診断的意義が認められ，検討が必要である. [杉山　広, 柴田勝優, 大前比呂思, 森嶋康之, 山﨑　浩]

イ．サンマにおけるアニサキス虫体の寄生状況調査

サンマに起因するアニサキス症例が最近では増えている.そこで東京で主に生食用等として販売された北海道，岩手および宮城産のサンマを購入し，アニサキス I 型幼虫の寄生状況を調べた．その結果，検査した 82 尾のうち陽性は 13 尾で, このうち 4 尾の筋肉から虫体が検出された．検出された虫体の総数は 33 隻で、このうちの 4 隻が筋肉に寄生していた．検出虫体は寄生部位を問わず，総て *Anisakis simplex* sensu stricto（人体寄生種）と同定された．サンマの筋肉におけるアニサキス幼虫の寄生率は高くはないが，本症の発生予防という観点から，サンマの生食には今後も注意を払う必要があると考えられた. [吉田猛敏，柴田勝優，杉山　広，川上　泰（麻布大），荒木潤，森嶋康之，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

III. 分類・同定・臨床

1. アカントアメーバより分離したメガウイルス

角膜炎患者のアカントアメーバ分離株に感染していたメガウイルスを無菌的にアカントアメーバを用いて培養する系を確立し、精製したウイルス粒子を抗原としてポリクロナル抗体を作成した。アカントアメーバ感染メガウイルスは 30℃において感染 1-2 日で宿主アメーバ内に充満するほどの増殖を示し、宿主を破壊するという強い病原性を示した。一方、アカントアメーバ内で 35℃増殖可能な株を作成し､この高温増殖ウイルスを用いて vero cell および　HCSC(ヒト培養角膜実質細胞）への感染実験を行ったところ、免疫染色によりウイルスがこれらの培養細胞に感染することが示されたが、CPE 等感染細胞における変化は認められなかった。[八木田健司]

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）原虫ゲノム情報の整備に関する研究

アメーバ性角膜炎で問題となる *Acanthamoeba* sp.株（18S rRNA 遺伝子による T4 遺伝子型の、患者分離株の 2 株、151 株と 161 株）について、遺伝情報を網羅的に取得するため、Illumina HiSeq 2000 シーケンサーを用いて配列の読み取りを行った。*de novo* assemble の結果、151 株の N50 が 5,067bp、最大コンティグ長が 139Kbp、総塩基長が 68.7Mbp、コンティグ数 18,704 本が得られた。161 株からは、N50 が 4,834bp、最大コンティグ長が 290Kbp、総塩基長が 68.3Mbp､コンティグ数 18,925 本が得られた。近縁の *Acanthamoeba castellanii* Str. Neff の 42Mbp に対して 1.6 倍のゲノムサイズが得られたこと、Read mapping でも 7 割のリードは一致しなかったことから､T4 遺伝子型の検討には､T4 遺伝子型のゲノムを整備する必要があると考えられた。カバレッジは 200 倍あり、ペアードエンドリードのペア関係がよく維持されており、ゲノム全域の配列をほぼ取得できたと考えられた。得られた配列には、ミトコンドリアゲノム、病原性に重要とされる mannose binding protein 遺伝子の配列が含まれていた。ミトコンドリアゲノムは病原性の疫学解析に用いられていたことから、これに着目した。ミトコンドリアゲノム配列はそれぞれ 1 つのコンティグとして得られていたが、環状様の構造であることが勘案されていなかった。相同の配列部分を接続して環状にし、Read mapping を実行し

て接続に問題ないことを確認し、配列を確定した。ミトコンドリア登録配列（U12386、41,591bp）を基準として、それぞれアノテーションを付与した。完成したミトコンドリアゲノムの大きさは 42,337bp、39,237bp で、相互の大きさに 1 割弱程の大小の違いがあった。151 株は ORF（1.2Kbp、Blast 検索にヒット無し）の増加、161 株は LSU rRNA 遺伝子のイントロンの欠失（860bp）が主な理由で、大きさに違いが生じていた。ミトコンドリアの主要な遺伝子の存在と並び順に大きな変化はなかったが、機能不明な ORF には差異が認められた。T4 型と型別された *Acanthamoeba* であっても遺伝子の増減が存在し、多様である可能性が示唆された。*Acanthamoeba* 以外では、赤痢アメーバと、*Acanthamoeba* に感染するウイルスのゲノム解析に着手し、配列の取得や一部解析を進めた。[泉山 信司、八木田 健司、津久井 久美子、村上 裕子、岡崎 隆三、Avik Kumar Mukherjee（寄生動物部）、関塚 剛史、竹内 史比古、黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター）]

（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群 cysteine protease binding protein family: CPBF のリガンド認識の分子機構を知るため、CPBF1 の結晶化を目指した。愛媛大学との共同研究によりシグナル配列と膜貫通ドメイン以下を欠損させたリガンド結合部分全長をコムギ胚芽無細胞系にて発現・精製した。さらに京都工芸繊維大学との共同研究により結晶化と解析を行ったが有意なシグナルは得られなかった。そこでリガンド結合部分全長ではなく、リガンド結合部分に 6 個存在する bacterial prepeptidase c-terminal (PPC) domain の結晶化を行うことにした。先行研究でリガンドである CP-A5 最も結合能力があると考えられた PPC3 について GST 融合タンパク質として大腸菌に発現させたところ、その発現が確認された。今後結晶化に向けて大量精製を行う。また、CPBF の病原性への関与を明らかにするため、11 存在する CPBF について遺伝子発現抑制株の作成を行った。うち CPBF1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11 について発現抑制を確認した。これらについてブタ大腸組織の Ex-vivo 培養系にて組織侵入への効果を検討する。[丸茂このみ、高島英造（愛媛大学）、坪井敬文（愛媛大学）、志波智生（京都工芸繊維大学）、原田繁春（京都工芸繊維大学）、富井健太郎（産業技術総合研究所）、野崎智義、津久井久美子]

イ. 赤痢アメーバの貪食と脂質シグナルの解析

i. 赤血球特異的シグナル伝達に関与する phosphatidylinositol の同定。

Phosphatidiylinositol (PI)を介したシグナルは真核生物に広く保存されているが、赤痢アメーバにおける知見は少ない。以前我々は赤痢アメーバの phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P)が核に存在すること、その局在が赤血球の添加により消失することを示した。そこで赤血球により変化する PI 種を明らかにするため、^{32}P 正リン酸で赤痢アメーバをラベルし、酸性脂質の抽出と薄層クロマトグラフィーによる PI 種の定量を行った。赤血球添加量依存的に phosphatidylinositol bisphosphate の減少が認められた一方で、phosphatidylinositol monophosphate に変化はみられなかった。今後赤血球添加により起こるシグナル伝達の実体を明らかにしたい。[渡辺菜月、前濱朝彦（細胞化学部）、野崎智義、津久井久美子]

ii. phosphatidylinositol (3,4,5)-trihospate の局在検討

多様な真核生物で貪食時に phosphatidylinositol (3,4,5)-trihospate (PIP3)シグナルが貪食開始に重要であることが知られている。赤痢アメーバの貪食時における PIP3 の時空間的解析を行うため、PIP3 結合ドメインとして知られる Akt タンパク質の PH ドメインに influenza virus haemagglutination (HA)-tag または green fluorescence protein (GFP)-tag を融合したプローブタンパク質を発現させ、その発現と局在を検討した。HA-Akt-PH, GFP-Akt-PH ともにその発現と定常状態で細胞質と細胞膜への局在が観察された。 [Somlata, 津久井久美子, 野崎智義]

ウ. 赤痢アメーバオートファジーの解析

赤痢アメーバに保存しているオートファジー遺伝子 Atg8 の機能を知るため、遺伝子発現抑制株の解析、結合分子の検索を行った。遺伝子発現抑制株はエンドソーム、ファゴソームの酸性化が低下したことから、リソソームの

成熟に Atg8 が関与することが明らかとなった。さらに動物細胞貪食時、貪食開始後 10 分以内の貪食胞で 50%のファゴソームに Atg8 が存在し、閉鎖前の貪食胞にも局在していた。よって貪食開始初期に動員されると考えられた。過去本研究室で赤痢アメーバ貪食胞の成熟に関与することが示されていた Vps26 の局在を野生型、Atg8 遺伝子発現抑制株で比較したが Vps26 の貪食胞への動員は両株で差が無かった。よって Atg8 は Vps26 が関与しない分子過程を制御すると考えられた。Atg8 結合タンパク質を抗 Atg8 抗体を用いた免疫沈降と質量分析により検討したところ、二種類の解糖系酵素を見出した。今後の機能解析が必要であるが、Atg8 が代謝制御にも関与する可能性が示唆された。[津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義]

エ. 赤痢アメーバ L-システイン代謝の解析

L-システインはレドックス制御に重要であり、微好気・嫌気環境で生育する赤痢アメーバにとって生存に必須である。しかし L-システインとその代謝中間産物の特異的な機能についての知見は限られていた。そこで本研究では安定同位体ラベルされた L-システインで赤痢アメーバをラベルし、キャピラリー電気泳動－質量分析計（CE-MS）にてその代謝解析を行った。[U-(13)C3, (15)N]L-システインは速やかに L-シスチン、L-アラニンに加え 3 種類の未知の代謝産物に代謝された。これらの代謝産物は thiazolidine-4-carboxylic acid (T4C), 2-methyl thiazolidine-4-carboxylic acid (MT4C), and 2-ethyl-thiazolidine-4-carboxylic acid (ET4C)であり、L-システインとアルデヒドが縮合した化合物であると同定された。我々はこれら 2-(R)-thiazolidine-4-carboxylic acids が L-システインの貯蔵型として機能していることを示した。T4C と赤痢アメーバ粗抽出液との共培養により L-システインが遊離したことからこれらの L-システイン誘導体が酵素により分解されることが示唆された。さらに T4C と MT4C を培養液に添加すると栄養体の増殖を促進し、細胞内の reactive oxygen species (ROS)の量が減少したことから、2-(R)-thiazolidine-4-carboxylic acids が酸化ストレス防御に重要であることが示された。[Ghulam Jeelani, 佐藤暖（京都工芸繊維大学）、曽我朋義（慶應義塾大学）、野崎智義]

オ. 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

赤痢アメーバのミトコンドリアは大きく退化し、酸化的リン酸化による ATP 合成能を失っていることから、ミトコンドリア関連オルガネラ、マイトソームと呼ばれる。我々はその主な代謝機能が硫酸活性化と硫酸化脂質の合成であることを明らかにしてきた。これまでに同定した 6 種類の含硫脂質の一つがコレステロール硫酸（CS）であること、また CS の合成がシスト化誘導により上昇することを見出した。さらに CS を添加することでシスト化効率が上昇したことから、CS が赤痢アメーバの細胞分化に重要な役割を果たすことを明らかにした。[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βシート構造を Circular dichroism 解析により、マイトソーム膜局在を間接蛍光法、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。しかしβバレルタンパク質に保存する C 末端側のβシグナルを欠損させても本タンパク質はマイトソーム膜へターゲットされたことから、赤痢アメーバにユニークなβバレルタンパク質形成機構が予想された。[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)]

カ. 赤痢アメーバにおける新規 PEP carboxykinase の同定

赤痢アメーバの解糖系には fructose 1,6-bisphosphate へのリン酸基供与源としてピロリン酸(PPi)を用いるため、ATP を用いる他種生物と比較してグルコースからの ATP 産生効率が高いという利点がある。よって解糖系で用いられる PPi の供給源として PPi 生成型 phosphoenolpyruvate

carboxykinase (PPi-PEPCK)が重要であると予想された。しかしPPI-PEPCK遺伝子は未だにどの生物からも同定されていない。そこで PEPCK 活性を指標に赤痢アメーバの細胞粗抽出液からタンパク質を精製し、質量分析により同定したところ、PPi-PEPCK は既知の酵素タンパク質と相同性がない新規なタンパク質であることが明らかになった。大腸菌の組み換え体はPPi-PEPCK活性を示した。さらに遺伝子発現抑制により増殖抑制が観察されたことから本酵素は赤痢アメーバの増殖に重要であることが示された。[千葉洋子、神川龍馬（京都大学)、津久井久美子、中野由美子、野崎智義]

キ．赤痢アメーバの膜輸送：貪食における EhRab8A の解析と EhRab8A 結合タンパク質の同定

EhRab8A は赤痢アメーバの貪食に必要な細胞表面タンパク質の輸送に関与している。そこで、EhRab8A の GDP 結合不活性型/GTP 結合活性型変異株を用いて貪食への影響を評価したところ、GTP 結合活性型変異株は貪食効率が低下することを明らかなった。EhRab8A 発現抑制株も貪食能が低下しており、EhRab8A が貪食に重要な表面レセプター輸送に関与することを裏付けた。また、EhRab8A が輸送する表面レセプターの同定を目指し、免疫沈降法を用いてEhRab8Aの結合タンパク質の同定を行ったところ、複数の候補タンパク質を得ることに成功した。[花舘有希(筑波大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

ク．赤痢アメーバの病原性に関与する Rab11B とそのエフェクタータンパク質の解析

赤痢アメーバが分泌する主要な細胞傷害性因子として，システインプロテアーゼ (CP) が報告されている。CP は組織侵入、免疫回避や肝膿瘍形成にも必要である。当研究室は以前、Rab11B を過剰発現させた赤痢アメーバ形質転換株が CP の細胞内蓄積量および細胞外への分泌量が上昇することを報告した。そこで CP の輸送経路の解明を目的として、 Rab11B の活性制御を行うエフェクタータンパク質の同定を試みた。Rab11B アフィニティカラムによって得られた結合タンパク質の候補は、アダプター複合体の大サブユニット β-adaptin (EHI_013040) と γ-adaptin (EHI_196890)，およびエキソシスト複合体の Sec6 (EHI_081420) のホモログだった。[川野哲郎(筑波大学)、中野由美子、Gil M. Penuliar (フィリピン大学)、野崎智義]

ケ．タンデムな GTPase ドメインを有する EhRabX3 の機能解析

赤痢アメーバとその近縁種にのみ保存された EhRabX3 は Ras スーパーファミリーの GTPase と異なり、GTPase 活性ドメインをタンデムに有し、膜結合に必要な C 末端のシステインが欠質している。精製タンパク質を用いた生化学的性状では、EhRabX3 は 1 分子のヌクレオチドを結合するのに、全長配列が必要であった。ヌクレオチドの結合は主に N 末端の GTPase ドメインが担っていた。また、EhRabX3 は、GTP 加水分解能が一般的な GTPase に比べて 10 倍遅かった。細胞内で GTPase として活性調節を行うためには、EhRabX3 特異的な GTPase 活性促進タンパク質の存在が不可欠であると考えられるとともに、赤痢アメーバの複雑な膜輸送経路は、他種生物の GTPase 活性調節とは異なる制御を進化させていると考えている。[中野由美子、Mintu Chandra (インド)、中曽根英子、川野哲郎(筑波大学)、平井智浩(筑波大学)、花館有希(筑波大学)、Sunando Datta (インド)、野崎智義]

（３）トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．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、ほとんどの薬剤において、組織シストの形状や数に大きな変化は見られなかったが、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。また、その物質の類縁体を用いても抗シスト効果は認められなかったことから、本物質の抗シスト効果は未知の作用機序によるものである可能性が考えられた。［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（*Tg*CRT）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（*Pf*CRT）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､またプリマキンによる細胞質内へのCa^{2+}の放出が抑制されていた。*Pf*CRT 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、*Tg*CRT と様々なマーカーとの共局在を調べたところ、Cathepsin L（*Tg*CPL）抗体と共局在することが明らかとなった。*Tg*CPL 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。また、この変異 *Tg*CRT はトキソプラズマの宿主細胞侵入能や運動能が亢進しており、前述の結果と合わせて、Ca^{2+}の恒常性との関連が示唆された。［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Ca^{2+}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、Ca^{2+}は主に ER に貯蔵され、ER から細胞質への Ca^{2+} 流出は inositol triphosphate receptor (IP_3R) 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 IP_3 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 Ca^{2+}依存的な分子の分泌や滑走運動の促進が起こる事からIP_3R 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 IP_3 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。昨年度までの研究により、我々はまず IP_3R 阻害薬である 2-APB 耐性原虫を確立した。本年度はそれら複数の耐性原虫の全ゲノム配列を決定することにより、責任遺伝子候補を同定することができた。そこで、この遺伝子をノックアウトした原虫を作製したところ、原虫の増殖能および宿主細胞への侵入能が明らかに低下していた。現在、ノックアウト原虫および強制発現原虫を用いてさらに解析を進めている。［松原立真（筑波大学)、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18種類のタンパク質を同定することができた。現在これらの候補タンパクが実際に宿主ミトコンドリアと共局在していることを免疫染色法により確認中である。[福本隼平（筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎]

（３）マラリア原虫の肝内型・赤内型寄生病原学に係る解析

ア．寄生胞膜(PVM)を中心とした肝内型マラリア原虫－宿主間相互作用の解明

マラリア原虫は宿主細胞内においてPVMを形成し、宿主と隔たりを設けることで寄生を成立させる。このPVM形成は原虫の宿主内生存に重要な役割を担うが、その形成に関する詳細な分子メカニズムの未だ明らかとなっていない。我々は、齧歯類マラリア原虫(*P. berghei*)を用いてLoss-of-function解析から変異株のスクリーニングを行い、肝内型原虫に特異的な新規機能分子B9を見出した。*b9*欠損原虫株を用いて*in vitro*での肝細胞への感染実験を行ったところ、複数のPVMマーカー分子の局在性が確認されず、本変異株は肝内型原虫特異的に不完全なPVMを形成する表現型を示すことが明らかとなった。今後B9を中心に研究を展開することで、PVM形成に重要な分子メカニズムを明らかにする。

[案浦健、荒木球沙（麻布大学）]

イ．肝内型マラリア原虫の宿主細胞内生存メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫は様々な免疫排除応答が可能な肝細胞を宿主として寄生することから、原虫はその応答を回避する巧妙な分子メカニズムが必要であると考えられるが、その詳細は明らかとなっていない。我々は、変異株スクリーニング実験から肝内型原虫の宿主内生存に重要な新規機能分子NG2を見出した。このNG2の機能を明らかにするため、今井・富井ら（産総研）と共に推定構造解析を行ったところ、NG2はトランスポーターである可能性が示された。今後、*ng2*欠損原虫株の詳細な表現型解析やNG2の細胞内局在性などを確認し、肝内型原虫の宿主内生存に果たすNG2の役割を明確にする。

[案浦健、荒木球沙（麻布大学)、今井賢一郎（産業技術総合研究所)、富井健太郎（産業技術総合研究所）]

ウ．肝内型マラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫は宿主内に長期間留まる休眠期がある一方で、短期間で大量に次世代原虫を産生できる発育期でもあることから増殖制御を司る分子メカニズムの存在が示唆されるが、その制御機構は未だ不明である。真核生物のヒストンメチル化修飾は、細胞増殖や様々な転写調節を司る分子メカニズムであり、マラリア原虫では発育期に応じて制御が異なる可能性が示唆されている。そこで我々は、複数のマラリア原虫種の公開ゲノム配列を用いて関連遺伝子の探索を行い、ゲノム上における保存性の比較、ドメイン構造比較、各遺伝子の発現プロファイルの比較などの解析を実地した。詳細なドメインサーチから、我々は新規推定ヒストンメチル化酵素遺伝子を見出し、また原虫種によりメチル化酵素・脱メチル化酵素の活性ドメインの保存性や構造が異なる可能性を明らかにした。今後、変異株の作製や各種実験を行うことで、マラリア原虫の増殖におけるヒストンメチル化修飾が果たすメカニズムを明らかにする。

[案浦健、荒木球沙（麻布大学)、浅井史敏（麻布大学)、川上泰（麻布大学）]

エ．新たなマラリア感染*in vivo*モデル作出の試み

ヒトマラリアの*in vivo*感染モデルは、非常に限られた施設でしか行うことが出来ず研究開発は困難を強いられる。特に、韓国で再興感染症として猛威を振うバイバックスマラリアは、感染率が低く培養もできないことから*in vivo*感染モデルの研究開発は困難を極める。そこで本課題では、医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センターと連携することで、新たなマラリア感染*in vivo*モデル作出（特にハマダラカから様々な霊長類・原猿への感染モデル、自然に近い感染経路を模倣するモデルの作出）の実用化を試みる。現在までに綿密な打ち合わせを行い、設置機器の検討、感染実験の条件検討などを行っており、感染実験が開始できる段階に到達している。

[案浦健、荒木球沙（麻布大学)、川合覚（独協医大)、保富康宏（医薬基盤研究所　霊長類医科学研究センター）]

オ. 赤内型マラリア原虫の感染赤血球経への輸送機構の解析

赤血球の中に寄生するマラリア原虫は、感染赤血球に多くの抗原タンパク質を輸送するが、感染赤血球への抗原タンパク質の輸送機構は十分に解明されていない。真核生物の膜輸送の分子スイッチとして Rab GTPase が挙げられ、マラリア原虫を含むアピコンプレキサ門原虫には､N 末端側がアシル化された特殊な Rab5b GTPase が存在する｡Rab5b は感染赤血球に輸送されることから､Rab5b に制御される特殊な輸送経路の同定を目指し、共免疫沈降法による結合タンパク質の網羅的探索を試みた。また in silico 検索によって Rab5 の活性化因子を探索し、生化学的手法によって直接的な結合の証明を行った。

[平井智浩(筑波大学)、富井健太郎(産業技術総合研究所)、海老根一生（東京大学)、野崎智義、中野由美子]

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 35 回衛生微生物技術協議会（6 月 26～27 日, 東京）においてレファレンスセンター会議｢寄生虫｣を担当し、エキノコックスとクドアを中心に､感染症法および食品衛生法に則した対応が必要な寄生虫症に関して, 情報の提供と交換に努めた｡まず愛知県の犬のエキノコックス症例について, 発見と届出の経緯、さらにそれを受けての自治体の対応に関する情報が提供された. 次にクドア食中毒について, 糞便を用いた検査法について手技の紹介と結果の取り扱いについての議論があった. さらにヒラメ以外の魚類を原因食品とし, またクドア・セプテンプンクタータ以外を原因物質とする有害苦情事例の行政上の取り扱いについて議論された. 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して, 情報の交換も活発に行う必要があると確認された。［杉山　広, 八木田健司, 森嶋康之, 泉山信司, 山﨑　浩, 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。［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］

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と診断についての相談を 5 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。［案浦健、中野由美子］

III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成 26 年度には､計 55 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 40 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 7 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 18 のうち 10 検体で特異抗体が検出された｡内訳は有鉤嚢虫症（2)、エキノコックス症（8）であった。[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

各種臨床検体中に見出された虫体（様物）の同定依頼数は 28 件あり､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 24 例が寄生虫で、内訳は日本海裂頭条虫（10)、イルカ裂頭条虫（1)、無鉤条虫（2)、アジア条虫（1)、連節条虫（2)、多包条虫（2)、*Anisakis simplex* sensu stricto（2)、*Anisakis pegreffii*（3)、*Contracaecum* sp.（1）であった。[山﨑 浩・杉山 広・森嶋康之]

研修業務・審議会など

I.　コーデックス会議・食品媒介寄生虫対策への参加

食品衛生の一般原則を食品媒介寄生虫の制御対策に適用するため、コーデックス会議が米・蘭・加・メキシコ等からも専門家を招聘して東京で開催され、これに参加してガイドライン原稿の作成に携わった．[野崎智義，山﨑　浩，杉山　広]

II. 野生鳥獣肉の衛生管理に関する検討会への参加

厚労省が設置した検討会に構成員として参加し，今年度の猟期開始日を期限に要請された国のガイドライン策定に協力した．[杉山　広]

III. 平成26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（6 月）。その他、地研からの要請に対して適宜行った。［八木田健司、泉山信司］

IV. 愛知県衛生研究所に対し、エキノコックス症の終宿主および中間宿主における遺伝子および病理組織学的診断に関する研修を行った。（2014 年 5 月 8 日、戸山庁舎）［森嶋康之，杉山　広，山﨑　浩］

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、Avik Mukhajee, Koushik Das, 野崎智義、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。台湾 CDC より供与された無症候性シストキャリアの検体由来の赤痢アメーバ株 2 株についてゲノム DNA の調製と次世代シークエンサーによる配列データの取得を行った。[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。［野崎智義］

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

平成26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、NCCD（ウランバートル市）およびアルハンガイ県において調査を実施した。計 371 名について腹部超音波検査を行ったところ、57 名に異常所見が認められたので、さらに抗体検査を実施した結果、3 名が単包性エキノコックス症と診断された。[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）

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. 21,1, 2014.

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.

Jeelani, G. and Nozaki, T. Metabolomic analysis of *Entamoeba*: applications and implications. Curr. Opin. Microbiol. 20C:118-124, 2014.

Mukherjee, A. K., Chowdhury, P., Bhattacharya, M. K., Rajendran, K., Nozaki, T., and Ganguly. S. Association between *Giardia duodenalis* and co-infection with other diarrhea-causing pathogens in India. BioMed Res Int, Volume 2014, Article ID 786480.

Valdés, J., Nozaki, T., Sato, E., Chiba, Y., Nakada-Tsukui, K., Villegas-Sepúlveda, N., Winkler, R., Azuara-Liceaga, E., Mendoza-Figueroa, M. S., Watanabe, N., Santos, H. J., Saito-Nakano, Y., Galindo-Rosales, J. M. Proteomic analysis of *Entamoeba histolytica* in vivo assembled pre-mRNA splicing complexes. J Proteomics. 111:30-45, 2014.

Oki, M., Asai, S., Saito-Nakano, Y., Nakayama, T., Tanaka, Y., Tachibana, H., Ohmae, H., Nozaki, T. and Miyachi, H. A case of quadruple malaria infection imported from Mozambique to Japan. Am. J. Trop. Med. Hyg. 90, 1098-1101, 2014.

Anwar, S., Dikhit, M. R., Singh, K. P., Kar, R. K., Zaidi, A., Sahoo, G. C., Roy, A. K., Nozaki, T., Das, P., and Ali, V. Interaction between Nbp35 and Cfd1 proteins of cytosolic Fe-S cluster assembly reveals a stable complex formation in *Entamoeba histolytica*. PLoS One 9, e108971, 2014.

Jeelani, G., Sato, D., Soga, T., Watanabe, H., Nozaki, T. Mass Spectrometric analysis of L-cysteine metabolism: physiological role and fate of L-cysteine in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. MBio. 2014 Nov 4;5(6), e01995.

Itoh, K., Yagita, K., Nozaki, T., Katano, H., Hasegawa, H., Matsuo, K., Hosokawa, Y., Tando, S., Fushiki, S. An autopsy case of Balamuthia mandrillaris amoebic encephalitis, a rare emerging infectious disease, with a brief review of the cases reported in Japan. Neuropathology. 35(1):64-9, 2015.

Lee, Y. A., Saito-Nakano, Y., Kim, K. A., Min, A., Nozaki, T., Shin, M. H. Modulation of endogenous cysteine protease inhibitor (ICP) 1 expression in *Entamoeba histolytica* affects amoebic adhesion to extracellular matrix proteins. Exp Parasitol. 149C:7-15, 2014.

Emmanuel, M., Saito-Nakano, Y, Nozaki, T., and Datta, S. Small GTPase Rab21 mediates Fibronectin induced actin reorganization in *Entamoeba histolytica*: implications in pathogen invasion. PLoS Pathog 11(3):e1004666, 2015.

Santos, H. J.,*, Imai, K.*, Makiuchi, T., Tomii, K., Horton, P., Nozawa, A., Ibrahim, M., Tozawa, Y., and Nozaki, T. A novel mitosomal β-barrel outer membrane protein in *Entamoeba*. Sci Rep 5:8545, 2015. (* equal contribution)

Penuliar, G. M., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Phenotypic and transcriptional profiling in *Entamoeba histolytica* reveal costs to fitness and adaptive responses associated with metronidazole resistance. “Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy”, Front Microbiol, 6:354, 2015.

Picazarri, K.,* Nakada-Tsukui, K.,* Tsuboi, K., Miyamoto, E., Watanabe, N., Kawakami, E., and Nozaki, T. Atg8 is involved in endosomal and phagosomal acidification in the parasitic protist Entamoeba histolytica. Cell Microbiol 17, 1510-1522, 2015 (* equal contribution) doi: 10.1111/cmi.12453

Mi-ichi, F.,# Miyamoto, T., Takao, S., Jeelani, G.,

Hashimoto, T., Hara, H., Nozaki, T.,# and Yoshida, H. *Entamoeba* mitosomes play an important role in encystation by association with cholesteryl sulfate synthesis. Proc Natl Acd Sci USA 112(22):E2884-90, 2015. d (# correspondence).

Takeuchi, F., Sekizuka, T., Ogasawara, Y., Yokoyama, H., Kamikawa, R., Inagaki, Y., Nozaki, T., Sugita-Konishi, T., Ohnishi, T, and Kuroda, M. The mitochondrial genomes of a myxozoan genus *Kudoa* are extremely divergent in Metazoa. PLoS ONE 10(7):e0132030, 2015.

Takeuchi, F., Ogasawara, Y., Kato, K., Sekizuka, T., Nozaki, T., Sugita-Konishi, Y., Ohnishi, T., and Kuroda, M. Development of nucleotide sequence typing for *Kudoa septempunctata*, a flounder parasite causing foodborne disease. J Fish Dis. 2015. In press

Mishra, V., Kumar, A., Ali, V., Zhang, K.Y., and Nozaki, T. Characterization of pH-induced transitions of *Entamoeba histolytica* D-phosphoglycerate dehydrogenase. Int J Biol Macromol. 2015 79:284-289.

Verma, K., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T., and Datta, S. Insights into endosomal maturation of human holo-transferrin in the enteric parasite *Entamoeba histolytica:* essential roles of Rab7A and Rab5 in biogenesis of giant early endocytic vacuoles. Cell Microbiol. 2015 in press.

Mori, M., Jeelani, G., Masuda, Y., Sakai, K., Nakada-Tsukui, K., Waluyo, D., Tarwadi, Watanabe, Y., Nonaka, K., Matsumoto, A., Omura, S., Nozaki, T.#, and Shiomi, K.# Identification of natural inhibitors of *Entamoeba histolytica* cysteine synthase from microbial secondary metabolites. Front Microbiol. 6, 962, 2015. (# correspondence)

Chiba, Y., Kamikawa, R., Nakada-Tsukui, K, Saito-Nakano, Y., and Nozaki, T. Discovery of PPi-type phosphoenolpyruvate carboxykinase genes in eukaryotes and bacteria. J Biol Chem 290, 23960-70, 2015.

Mi-ichi, F.*, Nozawa, A.*, Yoshida, H., Tozawa, Y.#, Nozaki, T.# Evidence that *Entamoeba histolytica* mitochondrial carrier family links mitosomal and cytosolic pathways through exchange of PAPS and ATP. Eukaryot Cell 2015 in press (*Equal first authors; #Double correspondence)

Sampo A, Matsuo J, Yamane C, Yagita K, Nakamura S, Shouji N, Hayashi Y, Yamazaki T, Yoshida M, Kobayashi M, Ishida K and Yamaguchi H. High-temperature adapted primitive *Protochlamydia* found in Acanthamoeba isolated from a hot spring can grow in immortalized human epithelial HEp-2 cells. Environ. Microbiol., 16(2):486−497, 2014

Marumo K, Nakada-Tsukui K, Tomii K, Nozaki T. Ligand heterogeneity of the cysteine protease binding protein family in the parasitic protist *Entamoeba histolytica*. Int. J. Parasitol. 44(9):625-35,2014.

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. 63(4): 638-639, 2014

Takeshima, K., Sato, K., Nabekura, T., Nagamune, K., Hamada, H., Yoshikawa, H., Shibuya, A., shibuya, K. Increased CD11b+ Gr-1+ cell population in the placenta after infection with *Toxoplasma gondii*. Microbiol. Immunol. 59(2): 95-98, 2015

van Schaijk BC, Ploemen IH, Annoura T, Vos MW, Foquet L, van Gemert GJ, Chevalley-Maurel S, van de Vegte-Bolmer M, Sajid M, Franetich JF, Lorthiois A, Leroux-Roels G, Meuleman P, Hermsen CC, Mazier D, Hoffman SL, Janse CJ, Khan SM, Sauerwein RW. A genetically attenuated malaria vaccine candidate based on *P. falciparum* b9/slarp gene-deficient sporozoites. Elife. 2014 Nov 19;3:e03582, 2014

Lin JW, Shaw TN, Annoura T, Fougère A, Bouchier P, Chevalley-Maurel S, Kroeze H, Franke-Fayard B, Janse CJ, Couper KN, Khan SM. The Subcellular Location of Ovalbumin in Plasmodium berghei Blood Stages Influences the Magnitude of T-Cell Responses. Infection and Immunity. Nov;82(11):4654-65, 2014.

Yamasaki H., Nakamura T., Intapan P.M., Maleewong W., Morishima Y., Sugiyama H., Matsuoka H., Kobayashi K., Takayama K., Kobayashi Y. Development of a rapid diagnostic kit that uses an immunochromatographic

device to detect antibodies in human sparganosis. Clin. Vaccine Immunol., 21: 1360-1363, 2014.

Yamasaki H., Arakawa K., Ohashi T., Yagita K., Morishima Y., Sugiyama H., Nagamune K., Kakinuma M., Yosada Y., Oushiki D., Hasegawa A. Development of a tool for evaluating the risk of health damage by meat-borne parasite infection. Food Safety 2: 151-159, 2014.

Chen S., Ai L., Zhang Y., Chen J., Zhang W., Li Y., Muto M., Morishima Y., Sugiyama H., Xu X., Zhou X., Yamasaki H. Molecular detection of *Diphyllobothrium nihonkaiense* in humans, China. Emerg. Infect. Dis., 20:315-318, 2014.

Thanchomnang T., Tantrawatpan C., Intapan P.M., Sanpool O., Janwan P., Lultitanond V., Tourtip S., Yamasaki H., Maleewong W. Rapid molecular identification of human taeniid cestodes by pyrosequencing approach. PLoS One 9: e100611, 2014.

Boonyasiri A., Cheunsuchon P., Suputtamongkol Y., Yamasaki H., Sanpool O., Maleewong W., Intapan P.M. Nine human sparganosis cases in Thailand with molecular identification of causative parasite species. Am. J. Trop. Med. Hyg., 91: 389-393, 2014.

Saenseeha S., Janwan P., Yamasaki H., Laummaunwai P., Tayapiwatana C., Kitkhuandee A., Maleewong W. Intapan P.M. A dot-ELISA test using a *Gnathostoma spinigerum* recombinant matrix metalloproteinase protein for the serodiagnosis of human gnathostomiasis. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 45: 990-996, 2014.

Makino, T., Mori, N., Sugiyama, H., Mizawa, M., Seki, Y., Kagoyama, K., Shimizu, T. Creeping eruption due to Spirurina type X larva. Lancet, 384: 2082, 2014

Calvopina, M., Romero, D., Castaneda, B., Hashiguchi, Y., Sugiyama, H. Current status of *Paragonimus* and paragonimiasis in Ecuador. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 109: 849-855, 2014

Singh, T.S., Sugiyama, H., Lepcha, C. Massive pleural effusion due to paragonimiasis: biochemical, cytological and parasitological findings. Ind. J. Pathol. Microbiol., 57: 492-494, 2014

Takeda, M., Sugiyama, H., Calvopina, M., Romero, D. Some freshwater crabs from Ecuador, South America. J. Teikyo Heisei Univ., 25: 1-13, 2014

2．原著論文、総説（和文）

八木田健司、馬刺し食中毒と *Sarcocystis fayer*i、感染 炎症 免疫　44, 79-80, 2014

泉山信司、八木田健司、〈特集関連情報〉クリプトスポリジウム、ジアルジア検査法、IASR Vol. 35 p. 197-200: 2014 年 8 月号

泉山信司、村上裕子、木下一美、〈特集関連情報〉ジアルジア症と胆嚢炎様症状、IASR Vol. 35 p. 194: 2014 年 8 月号

泉山信司、〈特集関連情報〉クリプトスポリジウム症の潜伏期間、IASR Vol. 35 p. 190-191: 2014 年 8 月号

国立感染症研究所、〈特集〉クリプトスポリジウム症およびジアルジア症 2014 年 7 月現在、病原微生物検出情報 IASR Vol. 35 p. 185-186: 2014 年 8 月号

泉山信司、大前比呂思、クリプトスポリジウム症の発生・流行状況の最新情報、感染症内科、2(4):434-440, 2014

永宗喜三郎、松原立真、田原美智留、佐倉孝哉　「明日に向かってスベれ！　細胞運動獲得モデル:アピコンプレクサ類生物」　細胞工学、2014, 33(7): 774-776, 2014

福本隼平、永宗喜三郎　「トキソプラズマ分子疫学の現状」　獣医寄生虫学会誌、13(2): 74-79, 2014

渡邊智美、永宗喜三郎　「トーチの会とその活動：母親たちの願いから啓発活動へ」獣医寄生虫学会誌、13(2): 110-114, 2014

森嶋康之．ヒトと動物のエキノコックス症．公衆衛生情報 2014; 44: 30-31.

登丸優子、福本真一郎、森嶋康之．本州以南第二例目の届出となった犬のエキノコックス（多包条虫）症--愛知県．病原微生物検出情報 2014; 35: 183.

森嶋康之、山﨑 浩．蟯虫症、腸管内条虫症．臨床と微生物 2014; 41: 347-351.

田中照久、平田哲生、東新川実和、岸本一人、外間昭、金城福則、林裕樹、尾下陽大、石野信一郎、白石祐之、西巻正、森嶋康之、杉山 広、山﨑 浩、藤田次郎．ネパール人留学生の単包虫症の 1 例．Clin. Parasitol. 2014; 25: 95-98.

森嶋康之、市村静江、山﨑 浩、杉山 広. ネパール人の単包虫症：*Echinococcus ortleppi* による心寄生例. Clin. Parasitol. 2014; 25: 99-101.

高本雅哉，中川道隆，大野和幸，田澤浩一，池田修一，小栁清光，後藤哲哉，吉澤明彦，山﨑 浩. 軽度の運動性失語を伴った脳マンソン孤虫症の１例. Clin. Parasitol., 25: 92-94, 2014

.坪川大悟，生野　博，武井勝明，中村 健，山﨑 浩. 裂頭条虫の簡易分子同定法について. Clin. Parasitol., 25: 89-91, 2014.

荒川京子，大橋毅夫，八木田健司，森嶋康之，杉山 広，永宗喜三郎，柿沼美智留，長田侑子，黄色大悲，長谷川 専，山﨑 浩. 食肉由来の寄生虫感染による健康被害の半定量的リスク評価手法の開発. 食品衛生研究 64: 43-53, 2014.

杉山　広，生野　博，武井勝明，森嶋康之，柴田勝優，市村静江，山﨑　浩. 本邦で 2012 年に発生したアニサキス症例の原因虫に関する分類学的検討. Clin. Parasitol.（日本臨床寄生虫学会誌）2014；25：77-79.

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. 猪肉の生食を原因に発生が続く肺吸虫症：鹿児島県産猪の筋肉における本虫の寄生状況調査. 病原微生物検出情報 2014；35：248.

杉山 広，柴田勝優，森嶋康之. 肺吸虫症. 臨床と微生物 2014；41：373-378.

鹿児島　崇，山﨑義隆，坂口幸治，久保恵嗣，杉山 広，齋藤　博. ウェステルマン肺吸虫症の姉妹例. 日内会誌 2014；103：975-977.

杉山 広，森嶋康之. アニサキス症とは. 感染症発生動向調査 ・週報（2014 年 05 月 13 日改訂）
http://www.nih.go.jp/niid/ja/encycropedia/392-encyclopedia/314-anisakis-intro.html

3. 書籍（英文）

Ghulam Jeelani, Dan Sato, and Tomoyoshi Nozaki. Metabolomic analysis of Entamoeba biology. In "Amebiasis: Biology and Pathogenesis of *Entamoeba*" Edited by Tomoyoshi Nozaki and Alok Bhattacharya. pp 331-349, Springer, 2015, ISBN 978-4-431-55199-7.

Takashi Makiuchi, Fumika Mi-ichi, and Tomoyoshi Nozaki. Mitosomes in Entamoeba histolytica. In "Amebiasis: Biology and Pathogenesis of *Entamoeba*" Edited by Tomoyoshi Nozaki and Alok Bhattacharya. pp 305-327, Springer, 2015, ISBN 978-4-431-55199-7.

Kumiko Nakada-Tsukui, and Tomoyoshi Nozaki. Molecular basis of the trafficking of cysteine proteases and other soluble lysosomal proteins in Entamoeba histolytica. In "Amebiasis: Biology and Pathogenesis of Entamoeba" Edited by Tomoyoshi Nozaki and Alok Bhattacharya. pp 279-304, Springer, 2015, ISBN 978-4-431-55199-7.

3. 書籍（和文）

牧内貴志，野崎智義　酸素がないっ！ そのときミトコンドリアは？ミトコンドリア極限進化モデル：赤痢アメーバ in 細胞進化の証人たち：細胞進化モデル生物図鑑 第５回 細胞工学 33 (3), 2014

野崎智義　寄生虫（赤痢アメーバ症）感染制御の最前線 救急領域のベストプラクティス　IV 感染制御に注意を要する病原体　緊急医学　へるす出版　39(10), 1404-1405, 2015.

八木田健司、食品衛生教育シリーズ・寄生虫の食中毒を知ろう、日本食品衛生協会、2014

八木田健司、角膜混濁のすべてーアカントアメーバの分子疫学について教えて下さい、専門医のための眼科診療クオリファイ、井上幸次編集、中山書店、181-183、2014

森嶋康之. 肝吸虫症. 獣医公衆衛生学 II, pp. 144-146, 獣医公衆衛生学教育研修協議会編, 文永堂出版、2014 年 4 月.

森嶋康之. メタゴニムス症. 獣医公衆衛生学 II, pp. 146, 獣医公衆衛生学教育研修協議会編, 文永堂出版、2014 年 4 月.

森嶋康之. 広東住血線虫症. 獣医公衆衛生学 II, pp. 146-148, 獣医公衆衛生学教育研修協議会編, 文永堂出版、2014 年 4 月.

山﨑　浩, Rubinsky-Elefant G., Lim P.K.C., 中村 健, Intapan P.M., Maleewong W. イムノクロマトキットを用いた幼虫移行症の迅速血清診断. 寄生虫学研究

材料と方法　2014 年版. pp. 43-45. （株）三恵社、名古屋.

山﨑 浩, 坪川大悟, Mercado R., 倉持利明. ミトコンドリア DNA 解析に基づいた裂頭条虫類の簡易鑑別法. 寄生虫学研究　材料と方法　2014 年版. pp. 47-49. （株）三恵社、名古屋.

山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広. ホルマリン固定パラフィン包埋切片内に検出された寄生虫の分子同定. 寄生虫学研究　材料と方法　2014 年版. pp. 67-72. （株）三恵社、名古屋.

山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広. テニア属条虫３種の簡便な分子同定法. 寄生虫学研究　材料と方法　2014 年版. pp. 73-76. （株）三恵社、名古屋.

高宮信三郎, 橋本宗明, 山﨑 浩, 余 涌, 美田敏弘. ブタ回虫分泌型シトクロム *b*5 前駆体の大腸菌における発現とその成熟蛋白の精製. 寄生虫学研究 材料と方法　2014 年版　pp. 125-129, （株）三恵社、名古屋.

中村 健, 坪川大悟, 渡邉明子, 三上房子, 安西七瀬, 高宮信三郎, 山﨑 浩. マンソン孤虫システインプロテアーゼ（孤虫症特異抗原）の調製法. 寄生虫学研究 材料と方法　2014 年版　pp. 153-155, （株）三恵社、名古屋.

山﨑 浩, 杉山 広. 食品衛生検査指針　微生物編 2015　第 5 章　3.　寄生蠕虫類. pp. 810-843. 公益社団法人　日本食品衛生協会, 東京.

山﨑 浩. 臨床検査ガイド　2015 年版. 抗寄生虫 IgG 抗体. pp. 942-944. (株)文光堂, 東京.

杉山　広. 回虫，アニサキス. 獣医公衆衛生学 I, pp. 181-183, 獣医公衆衛生学教育研修協議会編, 文永堂出版、2014 年 4 月, 東京.

杉山　広. 顎口虫症，アニサキス症，日本住血吸虫症, 肺吸虫症, 肝蛭症. 獣医公衆衛生学 II, pp. 139-141, pp. 148-151, 獣医公衆衛生学教育研修協議会編, 文永堂出版、2014 年 4 月, 東京.

II. 学会発表

1.　国際学会

Nozaki, T. Divergent evolution of protein and metabolite transport in the anaerobic protozoon *Entamoeba histolytica*. CIFAR meeting, Praque, Czec Republic, June 25-28, 2014.

Nozaki, T. Unique evolution of metabolism, pathogenesis, and organelles in the enteric protozoon *Entamoeba histolytica*. (plenary lecture) International Conference of Parasitology XIII, Mexico City, Mexico, Aug 10-15, 2014.

Nozaki, T. Metabolomics analysis of differentiation and anti-oxidative stress mechanisms of the enteric protozoon *Entamoeba* (workshop; invited) International Conference of Parasitology XIII, Mexico City, Mexico, Aug 10-15, 2014.

Nozaki, T. Novel lysosome transport mechanisms of the enteric protozoon *Entamoeba* (workshop; invited) International Conference of Parasitology XIII, Mexico City, Mexico, Aug 10-15, 2014.

Yuki Hanadate, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki, and Yumiko Saito-Nakano (2014) The ER-resident Rab8A GTPase is involved in the trafficking of surface proteins necessary for phagocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 2014 ASCB meeting. December 6-10. Philadelphia, Pennsylvania.

Nagamune, K. and Matsubara, R. “Functional analysis of Apicomplexa-producing plant hormone.” 13th International Congress of Parasitology, Mexico City, Mexico, August 2014

Matsubara, R. and Nagamune, K. “Functional analysis of Apicomplexa- producing plant hormone.” 11th International Coccidiosis Conference, Dresden, Germany, September 2014

Tahara, M. 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*.” 11th International Coccidiosis Conference, Dresden, Germany, September 2014

Yamasaki H., Ichimura S., Kuramochi T., Mercado R. Phylogenetic analysis of *Diphyllobothrium dendriticum* from Chile. 13th International Congress of Parasitology, Mexico City, Mexixo. August 10-15, 2014.

Yamasaki H., Morishima Y., Arakawa K., Ichimura S., Sugiyama H. Update on *Taenia asiatica* infection in Japan. 13th International Congress of Parasitology, Mexico City,

Mexico. August 10-15, 2014.

Mercado R., Apt W., Castillo D., Kurashima A., Yamasaki H., Kuramochi T. *Hepatoxylon trichiuri*. Identificación molecular de un nuevo agente de parasitosis humana en Chile. Annual Meeting of the Society of Chilean Parasitology, Santiago, Chile, January 23, 2014.

Sugiyama, H., Shibata, K., Morishima, Y., Yamasaki, H., Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: Contamination levels of *Paragonimus* larvae in wild boar muscle samples. 13 th International Congress of Parasitology, Mexico City, Mexico, August 15, 2014.

Calvopina, M., Cevallos, W., Atherton, R., Saunders, M., Small, A., Kumazawa, H., Sugiyama, H., High Prevalence of Infection of the Liver Fluke *Amphimerus* spp. in Domestic Cats and Dogs in an Area Endemic for Human Amphimeriasis in Ecuador. 13 th International Congress of Parasitology, Mexico City, Mexico, August 15, 2014.

2. 国内学会、**シンポジウム、ワークショップ、市民公開講座など**

永宗喜三郎　“新たな抗トキソプラズマ薬開発へ向けて：始めの一歩”　第54回日本先天異常学会学術集会 2014年7月、神奈川県相模原市

永宗喜三郎　“寄生、共生、マトリョーシカ ～細胞共生と進化～”　第47回日本原生生物学会大会 2014年11月、仙台

松原立真、小嶋美紀子、榊原均、永宗喜三郎　“マラリア原虫が産生する植物ホルモンと脳マラリア重症化:マウスマラリア原虫をモデルとした研究例”　第37回日本分子生物学会 2014年11月、横浜

永宗喜三郎　“お肉とネコの寄生虫、トキソプラズマってなにもの？”　日本寄生虫学会市民公開講座：台所とレストランで考える食の安全 知って防ごう トキソプラズマ症 2015年3月、東京都武蔵野市

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回日本寄生虫学会大会、2014年3月、愛媛

村上（渡辺） 裕子、八木田 健司、食中毒事例における原因特定のための手法の開発：馬肉喫食による食中毒患者を想定した糞便からの*Sarcocystis* DNAの検出法、第８３回日本寄生虫学会大会、2014年3月、愛媛

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、2014年3月、愛媛

泉山信司、青木信和、杉山寛治、長岡宏美、藤本嗣人、浴槽水、水泳プールにおけるモノクロラミン消毒の可能性、日本アデノウイルス研究会、2014年11月、東京都

泉山信司、水道クリプトスポリジウム対策を目的とした紫外線消毒の導入に関する考察、日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会、2014年10月、岩手県

土岡宏彰、泉山信司、原田浩幸、和田貴臣、橋本温、指標細菌等の濃縮・回収法としての粉体ろ過法の適用性、日本水道協会水道研究発表会、2014年10月、名古屋

山崎朗子、泉山信司、八木田健司、岸田直裕、窪崎敦隆、工藤由起子、寺嶋淳、 野生動物における水系感染症病原微生物の疫学研究、日本獣医学会、2014年9月、北海道

泉山信司、水道水におけるクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物汚染の検出と、その対策について、状況の整理、環境技術学会、2014年9月、京都府

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

津久井久美子、丸茂このみ、中野由美子、野崎智義　寄生性原虫赤痢アメーバにユニークなリソソーム酵素輸送受容体群　第66回日本細胞生物学会大会　シンポジウム「比べてみよう:細胞ダイナミクスの共通性と独自性」、奈良市、2014年6月

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子、赤痢アメーバにおけるリソソーム酵素輸送受容体ファミリーの解析

第22回分子寄生虫学ワークショップ・第13回 分子寄生虫マラリアフォーラム合同大会　2014年8月31～9月3日，帯広市　口頭発表

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、渡辺直子、野崎智義　赤痢アメーバ原虫におけるオートファジー遺伝子Atg8の解析　第８４回日本寄生虫学会大会　三鷹市、2015年3月

津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるオートファジー遺伝子Atg8の機能解析　新学術領域研究「マトリョーシカ型進化原理」班会議　東京、2015年1月

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、渡辺直子、野崎智義　第8回オートファジー研究会・第2回新学術領域「オートファジーの集学的研究」班会議 札幌市、2014年11月

渡辺菜月、宮本絵梨、柴田久美子、野崎智義、津久井久美子　腸管寄生性原虫*Entamoeba histolytica* におけるAtg8 conjugation systemの同定　第8回オートファジー研究会・第2回新学術領域「オートファジーの集学的研究」班会議　札幌市、2014年11月

宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、渡辺直子、津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバAtg8結合タンパク質の同定　第8回オートファジー研究会・第2回新学術領域「オートファジーの集学的研究」班会議　札幌市、2014年11月

津久井久美子、丸茂このみ、富井健太郎、野崎智義、Ligand heterogeneity of the cysteine protease binding protein family in the parasitic protist *Entamoeba histolytica*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分子ファミリー(CPBF)のリガンド多様性とドメイン構造の解析　第37回日本分子生物学会年会　横浜市、2014年11月

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子、腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* におけるフォスファチジルイノシトール4リン酸の局在　分子生物学会　第37回日本分子生物学会年会　横浜市、2014年11月

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子、腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* におけるフォスファチジルイノシトール4リン酸の局在　第87回日本生化学会大会　京都市、2014年10月

松原立真、佐倉孝哉、田原美智留、山野安規徳、永宗喜三郎　“マラリア原虫のサリチル酸が誘導する宿主改変機構について”　第3回マトリョーシカ型生物学研究会 2014年7月、神戸

佐倉孝哉、田原美智留、松原立真、山野安規徳、山岸潤也、永宗喜三郎　“トキソプラズマにおけるIP_3およびリアノジン受容体様機能分子の探索”　第3回マトリョーシカ型生物学研究会 2014年7月、神戸

佐倉孝哉、田原美智留、松原立真、山野安規徳、山岸潤也、永宗喜三郎　“トキソプラズマのIP_3およびリアノジン受容体様機能分子の探索”　第22 回分子寄生虫学ワークショップ・第12回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2014年8月、帯広

松原立真、永宗喜三郎　“ネズミマラリアPGD_2合成酵素遺伝子の探索”　第22 回分子寄生虫学ワークショップ・第12回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2014年8月、帯広

坂本寛和、鈴木重雄、永宗喜三郎、北 潔、松崎素道　“非光合成型色素体を持つ貝類寄生虫*Perkinsus marinus*はアブシジン酸生合成経路を喪失している”　第78回日本植物学会 2014年9月、川崎

佐倉孝哉、田原美智留、松原立真、山野安規徳、泉山信司、八木田健司、永宗喜三郎　“食中毒原因原生生物*Sarcocystis fayeri*の滑走運動能および細胞内侵入能”　第47回日本原生生物学会大会 2014年11月、仙台

山野安規徳、松原立真、田原美智留、佐倉孝哉、永宗喜三郎　“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”　第84回日本寄生虫学会大会 2014年3月、東京都三鷹市

案浦健, Fonager Jannik, Braks Joanna A., Klop Onny, Janse Chris J., Khan Shahid M., Franke-Fayard Blandine 肝内型マラリア原虫における分泌タンパク質：細胞内局在性の変化と肝内期を介することで起こる発現切り替え 第８４回日本寄生虫学会大会 ２０１５年３月２１日-２２日　杏林大学三鷹キャンパス

中野由美子、Mintu Chandra, 中曽根英子、川野哲郎、平井智浩、花館有希、Sunando Datta, 野崎智義 *Entamoeba*属に保存したタンデムGTPaseドメインを有

するRabX3の機能解析．第84回日本寄生虫学会大会．2015年3月21-22日。東京．

花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバの貪食を制御する小胞体に局在する Rab8A GTPase．第84回日本寄生虫学会大会．2015年3月21-22日。東京．

田中照久、平田哲生、東新川実和、岸本一人、外間昭、金城福則、林裕樹、尾下陽大、石野信一郎、白石祐之、西巻正、森嶋康之、杉山 広、山﨑 浩、藤田次郎．ネパール人留学生の単包虫症の 1 例．第 25 回日本臨床寄生虫学会大会、2014 年 6 月（東京）．

森嶋康之、市村静江、山﨑 浩、杉山 広、北井 豪．ネパール人の単包虫症 : *Echinococcus ortleppi* による心寄生例．第 25 回日本臨床寄生虫学会大会、2014 年 6 月（東京）．

福本真一郎、登丸優子、森嶋康之．本州以南第 2 例目にあたる愛知県内の犬から検出された多包条虫虫卵．第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月（札幌）．

森嶋康之．エキノコックス症の概要ならびに国内における発生状況．平成 26 年度動物由来感染症（狂犬病予防を含む）技術研修会、2014 年 11 月（東京）．

近真理奈、山本徳栄、青木敦子、大山通夫、大山龍也、猪野正毅、森嶋康之．埼玉県の野生化アライグマにおける寄生虫類等の保有状況調査第16回埼玉県健康福祉研究発表会、2015 年 2 月（さいたま市）．

伊佐拓也、杉山郁、新井陽子、根岸努、小山雅也、三田和正、山本徳栄、近真理奈、青木敦子、森嶋康之．埼玉県内全域におけるイヌ・ネコに関する寄生虫保有状況．第 16 回埼玉県健康福祉研究発表会、2015 年 2 月（さいたま市）．

森嶋康之．北海道以外の都府県におけるエキノコックス症（市民公開シンポジウム「エキノコックスの疫学と人の感染症例」）．平成 26 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、2015 年 2 月（岡山市）．

Yamasaki H., Ichimura S., Mercado R., Kuramochi T. *Diphyllobothrium*/diphyllobothriosis in Chile. 第 83 回日本寄生虫学会大会, 2014 年 3 月 27 日～28 日, 愛媛・松山市.

坪川大悟, 生野 博, 武井勝明, 中村 健, 山﨑 浩. 裂頭条虫の簡易分子同定法について．第25回日本臨床寄生虫学会　2014 年 6 月 15 日, 東京･文京区.

杉山　広, 人獣共通の食品媒介寄生蠕虫である肺吸虫とその感染で起こる肺吸虫症．第30回日本獣医臨床寄生虫学研究会, 平成 26 年 11 月（東京）．

常盤俊大, 中村翔平, 平　健介, 杉山　広, 吉川泰弘, 宇根有美, キンカジューに寄生する新種の *Baylisascaris* 属回虫に関する研究．第 14 回人と動物の共通感染症研究会．平成 26 年 11 月（東京）．

常盤俊大, 中村翔平, 平　健介, 杉山　広, 吉川泰弘, 宇根有美, キンカジューに寄生する *Baylisascaris* 属回虫の系統解析と病原性．第73回日本寄生虫学会東日本支部大会．平成 25 年 10 月（東京）．

常盤俊大, 中村翔平, 平　健介, 杉山　広, 宇根有美, キンカジューに寄生する *Baylisascaris* 属線回虫の新種記載．第 157 回日本獣医学会学術集会, 平成 26 年 9 月（札幌）．

杉山　広, 柴田勝優, 荒川京子, 市村静江, 森嶋康之, 山﨑　浩, イノシシ肉の生食を原因に発生が続く肺吸虫症に関する実態調査．第 157 回日本獣医学会学術集会, 平成 26 年 9 月（札幌）．

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 12 名で、内訳は部長 1 名、室長 4 名、主任研究官 6 名、研究員 1 名である。戸山庁舎に 10 名の職員と再任用職員 1 名、村山庁舎に 2 名の職員が在籍している。阿部 賢治は平成 26 年度より再任用職員として部の業務等に貢献した。インフルエンザウイルス研究センター第六室、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 典子と片岡 紀代が、村山庁舎の電子顕微鏡室で片岡紀代が所全体の業務に対応した。戸山では奥田 薫と小林 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. エイズの合併症に関する調査
6. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究
7. 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. 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. ウシ等由来原料の基準に関する研究

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
2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

Ⅵ. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 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。2014年度、人体由来検体数は 171 症例であった。検索の結果、先天性サイトメガロウイルス 1 例、JC ウイルス 6 例、メルケルウイルス感染症 5 例、重症熱性血小板減少症候群ウイルス 9 例やヘルペスウイルス 1 型感染症、他アスペルギルスやペニシリウム・マルネフィイなど真菌による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) 病理切片上での in situ 核酸検出法の検討

我々が開発した迅速・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いるが、プローブ 1 個が検出する感度は ISH-AT 法の方が高い。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。市販されている bDNA-ISH 法である QuantiGene ViewRNA ISH 法 (ベリタス社) と RNAscope 法 (コスモバイオ) では、後者の方が S/N 比が優れていた。(中島 典子、佐藤 由子、長谷川 秀樹)

(2) 不明脳炎症例の臨床検体からの原因ウイルスの網羅的検索

臨床的あるいは病理学的検索にて原因病原体が明らかでなく、不明脳炎として感染病理部に解析依頼のあった剖検脳及び生検脳 22 例の臨床検体より核酸を抽出し、感染病理部で独自に開発した multivirus real-time PCR にて 163 種類の既知のウイルスについて網羅的解析を行った。5 例において原因ウイルスと考えられる病原体が検出され、内訳は単純ヘルペスウイルス 4 例、日本脳炎ウイルス 1 例であった。通常検索で診断困難な不明脳炎症例において、multivirus real-time PCR による網羅的ウイルスの検索は、原因ウイルスの同定に高い有用性をもつと考えられた。(高橋 健太、福本 瞳[協力研究員]、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

3. ヘルペスウイルス感染症に関する研究

DRESS 症候群患者でのヒトヘルペスウイルス 6 (HHV-6) の感染細胞の同定

薬剤過敏症のひとつである DRESS 症候群では HHV-6 が再活性化することが知られているが、われわれは DRESS 症候群の剖検例のリンパ節内に HHV-6 感染細胞を同定し、蛍光免疫二重染色などにより、HHV-6 感染細胞が制御性 T 細胞であることを明らかにした。HHV-6 の制御性 T 細胞への感染が DRESS 症候群の病態に深く関与することが示唆された。(峰 宗太郎、鈴木 高祐[聖路加国際病院]、佐藤 由子、福本 瞳、片岡 紀代、井上 直樹[岐阜薬大]、大林 千穂[奈良県医大]、長谷川 秀樹、佐多 徹太郎[富山衛研]、深山 正久[東大病理]、片野 晴隆)

4. インフルエンザ感染症に関する研究

インフルエンザウイルス感染に併発する急性呼吸促迫症候群 (ARDS) の発症機序に関する病理学的解析

パンデミック時とパンデミック終息後の A/H1N1pdm09-ARDS の剖検例を病理学的に解析し、比較検討した。その結果、パンデミック終息後の ARDS では肺胞上皮細胞にウイルス抗原はほとんど

検出されず、ウイルス性肺炎による ARDS ではなく、全身性の敗血症（Sepsis）や DIC が誘因となった ARDS であると推測された。インフルエンザの重症化因子としてウイルス性肺炎による ARDS 以外に、全身性の炎症反応が要因である ARDS も合わせて考える必要があることがわかった。（中島 典子、佐藤 由子、長谷川 秀樹）

5. エイズの合併症に関する調査

(1)エイズに合併する悪性リンパ腫の組織分類に関する調査

日本のエイズ関連リンパ腫症例を WHO 分類第 4 版により病理組織学的に再分類した。207 例を検討した結果、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（50%）、バーキットリンパ腫（28%）につづき、形質芽細胞性リンパ腫、primary effusion lymphoma, ホジキンリンパ腫などが見られた。近年ではバーキットリンパ腫が増加していた。（片野 晴隆、大田 泰徳［東大医科研］、比島 恒和［駒込病院］、望月 眞［国立国際医療研究センター、杏林大学］、児玉 良典［大阪医療センター］、森谷 鈴子［名古屋医療センター］、岡田 誠治［熊本大学］らとの共同研究）

(2)エイズ剖検例おける日和見感染と悪性腫瘍に関する調査

東京、大阪の主要なエイズ拠点病院 4 病院で 1985 年から 2012 年までに剖検された 225 例を対象に日和見感染症および腫瘍の頻度、発症部位などを調査した。頻度の高い感染症はサイトメガロウイルス感染症（63%）、ニューモシティス肺炎（29%）で、非ホジキンリンパ腫はエイズ剖検例の 3 割、カポジ肉腫も 15%程度に認められた。肝癌や肺癌など、エイズ指標疾患に含まれない癌が ART 導入者で増加していた。（片野 晴隆、比島 恒和［駒込病院］、望月 眞［国立国際医療研究センター、杏林大学］、児玉 良典［大阪医療センター］、安岡 彰［大村市民病院］らとの共同研究）

6. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

(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［再任用職員］、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［再任用職員］、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

麻疹に併発した重症肺炎で死亡した19例の死後バイオプシー、ないしネクロプシーにより採取した肺組織を解析した。11例でFFPE肺組織中のウイルスゲノムの網羅的検索を行ったが、麻疹ウイルス(2例)のほか、アデノウイルス(7例)とサイトメガロウイルス(2例)が検出された。組織病変は硝子膜の形成、間質の浮腫・水腫、肺胞腔内及び間質への細胞浸潤、線維化像、出血・壊死像などがみられた。麻疹ウイルスの封入体が1例にアデノウイルスの封入体は12例にみられ、免疫組織化学でアデノウイルス抗原が陽性であった。グラム染色陽性の細菌および好中球の浸潤像がみられた例もあった。塩基配列解析によりアデノウイルスは7型であった。麻疹肺炎は麻疹の致死的合併症の１つであるが、肺炎の原因は麻疹ウイルス単独あるいは複数のウイルス・細菌感染であることが知られている。病日の長かった例では細胞性免疫の低下がみられ、重症肺炎の原因となるアデノウイルス7型が重感染したため致死的になったことが明らかにされた。（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）

7. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

重症熱性血小板減少症候群剖検症例の病理学的解析

新しい感染症であるSFTSの有効な予防・治療法を確立するためには、その病態形成機構を正しく理解する必要がある。そのためには、ヒト症例の病理学的解析が必要不可欠である。国立感染症研究所感染病理部で、これまでに15例の剖検例について病理解析を行った結果、①大型リンパ球の浸潤が目立つ壊死性リンパ節炎、②節外臓器への大型リンパ球浸潤、③著しい血球貪食がSFTSの病理学的特徴であり、ウイルスは主にリンパ組織に存在する大型リンパ球で増殖していると考えられた。SFTSが発見されてから2年以上が経過するが、未だにSFTS症例の病理解析の報告は日本からの数例に留まり、SFTSの病理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る。（鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、中島 典子、永田 典代、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

フマギリンによるKSHV再活性化スイッチ蛋白誘導

抗血管新生薬フマギリンは血管内皮細胞のp53シグナル活性化→p21蛋白誘導→G1期停止の機構により血管新生を阻害する。フマギリンによるKSHV再活性化スイッチ蛋白RTAの発現誘導が同様のメカニズムによるのか検討するため、p53応答配列を持つルシフェラーゼレポーターベクターを用いてルシフェラーゼアッセイを行った。KSHV感染細胞株TY-1, BCBL-1いずれにおいてもp53活性化は認められなかった。RTA誘導は血管新生阻害と異なる機序によると考えられる。（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

ヴァイロポリンに対する内因性ウイルス感染制御因子探索と抑制機構の解明

進行性多巣性白質症はポリオーマウリスであるJCウイルスが免疫不全を契機に中枢神経系のオリゴデンドロサイトに感染し、同細胞を障害する事により脱髄病減が形成され発病すると考えられている。これまでの研究により、我々はJCウイルスのコードす

る Agno という小さなタンパク質がヴァイロポリンとして機能する事を見出した。さらに Agno のヴァイロポリン機能は宿主因子との直接結合により制御されていることを発見した。Agno のヴァイロポリン機能は細胞膜の透過性を変化させることによりウイルス増殖の最終ステップである細胞破壊と子孫ウイルス放出に深く関与しており、Agno による何らかの細胞障害機構があるはずであるが、Agno 単独発現では明らかな細胞変性は認められず、宿主内にはヴァイロポリンによる細胞障害を抑制する機構が内在されており、ウイルス感染による細胞障害には他のウイルス因子が協調的に作用すると考えられている。そこで、JC ウイルスによる細胞障害に関与するウイルス因子を同定するために PML の脳組織病変を用いてウイルスタンパク質の発現とウイルス増殖との関係を解析した。その結果、Agno と VP2/3 の共発現が病態進行に関与している可能性が示唆された。(鈴木 忠樹、高橋 健太、大場 靖子[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) ヒト CD26 発現マウス培養細胞における MERS-CoV 感染性の検討

ヒト CD26 を発現させた NIH3T3 細胞に MERS-CoV を感染させると、感染 1 日目からウイルスの増殖が確認された。感染量は VeroE6 細胞に MERS-CoV を感染させた場合より低かったが、ヒト CD26 が発現していない NIH3T3 細胞では、ウイルス増殖が全く見られなかったため、レセプターが発現していれば、マウス細胞で MERS-CoV は感染、増殖が可能であると確認された。(岩田 奈織子、鈴木 忠樹、竹田 誠[ウイルス第三部]、長谷川 秀樹、永田 典代)

(2) ヒト CD26 とマウス CD26 cDNA キメラ体を発現させたマウス培養細胞での MERS-CoV 感染の検討

作製したキメラ体を NIH3T3 細胞に発現させ、MERS-CoV を感染させた。aa273-340 をヒト型に置換したキメラ体はヒト CD26 を発現させた場合と同等の感染性および増殖性を獲得した。aa279-340 の領域でヒトとマウスのアミノ酸配列を比較した場合、相同性が低い aa273-290 または aa326-340 部位をそれぞれヒト型に置換したキメラ体の感染性は、aa273-290 置換型では、ほとんど感染性を示さなかったが、aa326-340 置換型はヒト CD26 を発現させた場合と同等のウイルス価を得た。この結果から、aa326-340 の配列をヒト CD26 cDNA に置換することにより、MERS-CoV に対して感染性を獲得できると考えられた。(岩田 奈織子、鈴木 忠樹、竹田 誠[ウイルス第三部]、長谷川 秀樹、永田 典代)

(3) MERS-CoV に対する動物モデル作製

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、MERS-CoV のレセプターであるヒト Dipeptidyl peptidase 4 (hDPP4) を導入した遺伝子改変マウスの作製に着手した。(岩田 奈織子、岡村 匡史[協力研究員]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、永田 典代)

(4) ラットの MERS-CoV 感受性について

5 週齢および半年齢の F344 ラットに MERS-CoV を 2 週間おきに 2 回経鼻接種し、感染後の中和抗体価産生について調べた。ウイルス 1 回接種後 12 日では、5 週齢も半年齢のラットも中和抗体の上昇が見られなかった。しかし、2 回感染後 14 日で、半年齢のラットの血清で中和抗体が存在した。半年齢ラットはワクチンの抗体誘導効果を調べるのに、有用な動物である可能性が示唆された。(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

昨年度に引き続き、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。鑑別診断に必要な、同科の SFTS ウイルス、重症肺炎を引き起こす SARS コロナウイルスとの交差反応性を検索した。その結果、いずれの抗体も二つのウイルスに対して交差反応性はなく、特異性的にパラフィン包埋組織上のハンタ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

オルソポックスウイルス感染症の重症化の宿主側要因を明らかにすることを目的とする。今年度はサル痘ウイルスのマウス感染実験系の基礎検討を開始した。その結果、サルに対して強い病原性を発揮した二つのサル痘ウイルス分離株は、BALB/c に対して殆ど病原性を発揮しなかった。(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) Saffold ウイルスの病原性に関する動物モデルを用いた研究

Saffold virus の病原性を明らかにすることを目的として、無菌性髄膜炎由来あるいは上気道炎由来の分離株をカニクイザルに静脈内接種し、その病態・病理像を検討した。その結果、いずれの分離株接種群においても中和抗体価の上昇を示し、上気道炎由来株接種群では、接種後の血液、咽頭・直腸拭い液でウイルスゲノムが陽性となり、一過性の後肢の握力低下を示した。これらの個体の接種 10 日目の病理解析では、一部の個体で軽度の髄膜炎所見が観察され、弱い神経病原性を有すると考えられた。引き続き解析を行っている。(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])

(2) 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。臨床分離株 11 株の新生仔マウスにおける神経病原性を検討したところ、これらの分離株は、プロトタイプ株の Ohio-1 株と同様に水頭症様外観を引き起こすが、Ohio-1 株に比べて強い神経病原性と骨格筋への親和性を発揮した。それは、由来する患者の臨床症状に全く相関しなかった。(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 感染抑制機構の解明

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。昨年度、我々はこの蛋白が抗 HIV-1 活性を有することを見出した。今回、我々は、MARCH8 が HIV-1 複製前期しかもウイルスエントリーの段階を強力にブロックすること、それは MARCH8 とエンベロープ蛋白との相互作用を介したウイルス粒子への取り込み抑制に依ることが明らかになった。更に MARCH8 を高発現しているマクロファージにおいて MARCH8 をノックダウンした結果、そこから産生されたウイルスの感染性の著しい上昇が認められた。このことからマクロファージにおける内因性発現レベルの MARCH8 はウイルスの感染性を低下させるのに充分な量であることが分かった。本研究成果は、

MARCH8 が APOBEC3G、TRIM5α、BST-2/tetherin、SAMHD1 及び MX2 に続く第 6 番目の主要抗ウイルス宿主因子であることを示すものである。(多田 卓哉[流動研究員]、張 延昭[研究生・東京医科歯科大]、小山 貴芳[協力研究員]、山岡 昇司[東京医科歯科大]、藤田 英明[長崎国際大]、徳永 研三)

(2) HIV-1 複製前期の抑制に関わる IFN 誘導性抗ウイルス宿主因子群の解析

I 型インターフェロン(IFN)処理によりマクロファージにおいて HIV-1 複製前期のウイルス感染が強く抑えられる。我々は主要抗ウイルス宿主因子と、既知の 15 種類の IFN 誘導性遺伝子のうち、IFN-α刺激後に著しい発現上昇が認められた 6 遺伝子を候補遺伝子として同定した。各候補遺伝子の安定発現及びノックダウン細胞株を作製して感染実験を行った結果、安定発現細胞株では、いずれの候補蛋白においてもある程度の感染抑制が認められた。ノックダウン細胞株では、特に IFITM ファミリーのサイレンシングで顕著な抑制解除が観察された。この結果から、IFN 誘導による感染抑制は、単独の宿主因子ではなく 3 種類の IFITM 蛋白を中心とした複数の抗ウイルス宿主因子による相加または相乗効果である可能性が考えられた。(張 延昭[研究生・東京医科歯科大]、多田 卓哉[流動研究員]、山岡 昇司[東京医科歯科大]、徳永 研三)

8. 狂犬病に関する研究

狂犬病研究の多くは固定毒と呼ばれる実験室継代株を用いて行われる。2006 年に本邦で報告された輸入狂犬病症例から分離された野生株(街上毒)を用いて in vivo および in vitro の感染実験系を構築した。In vitro における街上毒狂犬病ウイルス抗原の局在は固定毒とは大きく異なっていることが明らかとなった。また、マウスを用いた in vivo 感染実験において、脳内接種では固定毒株に比べ病態進行が緩徐であった。末梢感染では、固定毒では発症に至る個体が少ないのに比べ、街上毒ではすべてが発症した。固定毒と街上毒ではウイルスの生活環に大きな違いが存在することが示唆された。(飛梅 実、佐藤 由子、Kieu Anh[ベトナム・NIHE 研究所])

9. 風疹ウイルスに関する研究

先天性風疹ウイルス感染症の病理学的解析

先天性風疹症候群の疑いで胎児が稽留流産した母の胎盤について風疹ウイルスの検索をした。ウイルス RNA が臍帯と絨毛で検出され、免疫組織化学で絨毛の切片上に風疹ウイルス抗原が検出された。陽性細胞は蛍光二重免疫組織化学により CD68 陽性細胞で、Hofbauer 細胞であることが示唆された。(中島 典子、佐藤 由子)

Ⅲ. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発

(1) 経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの開発

ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会承認のもと、健康成人ボランティアを募り、2012/13 シーズンのインフルエンザワクチンにおいて、現行の皮下ワクチン接種(1 回)、現行ワクチン同様ウイルス株毎に接種あたり 15 μg HA を含む 3 価不活化全粒子ワクチンを用いた経鼻ワクチン接種(CVP 有無、3 週間隔で 2 回)により誘導される血清ならびに鼻腔洗浄中の抗体応答を比較した。ワクチン接種後における血清の HI 抗体および中和抗体応答の幾何平均値の上昇倍率は、CVP 添加経鼻ワクチン 2 回接種群と現行ワクチン 1 回接種群で同等であった。また、鼻腔洗浄液の中和抗体応答は、経鼻ワクチン接種群のみで認められ、CVP 添加群で高い傾向にあった。経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの 2 回接種は、現行ワクチン 1 回接種と同等の血清抗体応答に加えて、上気道粘膜上への中和抗体応答を誘導することが示された。(相内 章[併任]、鈴木 忠樹、池田 千将[研究生]、川口 晶[協力研究員]、泉地 恭輔[研究生]、浅沼 秀樹[併任]、田村 愼一[客員研究員]、小

田切 孝人*、田代 眞人*、長谷川 秀樹、*；インフルエンザウイルス研究センター）

(2) 合成二本鎖 RNA uPIC をアジュバントとする経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発

不活化抗原を用いた経鼻ワクチンは免疫誘導能が低いことから、粘膜アジュバントの添加が必要となる。これまでの研究により合成二本鎖 RNA にアジュバント活性があることがわかっているが、品質管理と副作用の問題からヒトでの使用は困難であると考えられている。最近、この副作用の問題を解決するために Poly IC の塩基長を制御した非均等構造を有する合成 2 本鎖 RNA uPIC の開発が報告されている。uPIC は鎖長を短くすることにより毒性を低減させ、さらに保管条件による鎖長変化も起こしにくく品質安定性が高いなど、医薬品製剤として適した特徴を有している。本研究では、経鼻不活化インフルエンザワクチンにおける uPIC の粘膜アジュバント活性を検討した。その結果、uPIC をアジュバントとして用いることで鼻腔領域のウイルス感染を防御することが可能であることが明らかとなった。（大原 有樹［研究生］、鈴木 忠樹、齊藤 慎二［研究生］、寺内 芳彦［協力研究員］、相内 章［併任］、中野 哲郎［協和発酵バイオ株式会社］、長谷川 秀樹）

(3) 経鼻インフルエンザワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析

経鼻インフルエンザワクチンの有効性と優位性を科学的に証明するため、ヒトにおいて経鼻インフルエンザワクチンにより誘導された抗体産生細胞（形質細胞）からモノクローナル抗体を作製し、誘導される抗体の詳細な性状解析を目的とした。その結果、経鼻ワクチンにより誘導される抗体のアイソタイプは血中の形質細胞においても、IgA が最も多い傾向であった。作製したヒトモノクローナル抗体のいくつかは HA 結合活性ならびに中和活性を有していた。特に、IGHV1-69 遺伝子座由来の可変領域を有するモノクローナル抗体の一部には、A（H5N1）及び A（H1N1）pdm09 の両株に対する中和活性が認められた。以上から、経鼻ワクチンにおいても注射型ワクチンと同様に遺伝子座 IGHV1-69 を有する抗体産生細胞が誘導され、同細胞から産生される抗体は中和活性が高いことが示唆された。（齊藤 慎二［研究生］、Elly van Riet［協力研究員］、相内 章［併任］、鈴木 忠樹、高橋 宜聖［免疫部］、小田切 孝人*、田代 眞人*、長谷川 秀樹、*；インフルエンザウイルス研究センター）

(4) 経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの臨床開発に向けた研究

季節性インフルエンザに対する不活化全粒子経鼻ワクチンの臨床応用を目指している。当シーズは、国内で承認済みの注射型インフルエンザワクチンと比較して接種の簡便性と粘膜免疫誘導効果の点で優れており、米国・欧州で認可済みの生インフルエンザウイルス経鼻ワクチンと比較してインフルエンザ症状発症が無いことを含む安全性の点で優れていると考えられる。ワクチンによる簡便性、安全性、感染防御能および交叉防御能に優れた当シーズの予防ワクチンとしての実用化は、季節性インフルエンザウイルスの流行抑制に大きく貢献すると期待される。そこで、安全性確認を目的とする臨床試験第 I 相の実施を目指し、既承認の不活化全粒子抗原と粘膜付着性添加物 CVP を混合した不活化全粒子インフルエンザワクチンの前臨床試験、接種デバイス開発、製剤規格試験の検討および PMDA との薬事戦略相談を行った。（長谷川 秀樹、相内 章［併任］、鈴木 忠樹、今井 浩三*、長村 文孝*、柄澤 麻紀子*、俣野 哲朗*、*；東京大学）

(5) 経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの臨床開発に向けた臨床開発計画案と治験実施計画書案の作成

既に認可済みのワクチン製剤を従来の注射による皮下接種から経鼻投与へ投与経路を変更した経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンには、高い有効

性が期待できる。本剤を実用化するためには治験にてヒトにおける有効性を示す必要があるが、投与経路変更に伴うワクチン効果発現機序の違いから、現行ワクチンの評価法とは異なる有効性評価方法が要求されている。既に我々は、独自に開発した粘膜液性免疫評価系によるヒトにおける有効性評価の可能性を示している。ただ、本評価系を用いた治験実施例は存在せず、国内外のいずれの企業においても本評価系を用いた治験に関する経験やノウハウは存在しない。そこで、本剤の臨床開発を促進するために、粘膜液性免疫評価系による有効性評価を組み込んだ本剤の臨床開発計画案と第 I 相の治験実施計画書案を作成した。(長谷川 秀樹、相内 章[併任]、鈴木 忠樹、川口 晶[協力研究員]、寺内 芳彦[協力研究員]、朝日 倫子*、木村 真二*、近藤 健二**、西嶌 大宣**、俣野 哲朗**、*；クインタイルズ・トランスナショナル・ジャパン株式会社、**；東京大学)

2. フラビウイルスワクチンの開発

デングウイルス(DENV)のエンベロープ膜タンパク質を持つウイルス様粒子の作製と性状解析

デングウイルス(DENV)感染症は熱帯地方で流行し、昨年には 69 年ぶりに国内感染例が確認された。予防対策として期待されるワクチンの開発が進められているが、現在認可されたものはない。我々はこれまでに他のフラビウイルス属ウイルスで技術開発に成功している Virus Like Particle(VLP)抗原生産技術を DENV に応用し、DENV の VLP 産生系を確立するとともに性状解析を行い、野生型 DENV 及び既に確立されているウエストナイルウイルス(WNV)の VLP と比較した。その結果、Expi293F 細胞を用いて作製した DENV-VLP は Vero E6 細胞を用いた DENV よりも約 10 倍の抗原を発現し、DENV-VLP の一部は蔗糖中の沈降速度が DENV の sub viral particle と同等であったため、この二つは同じものである可能性が高く、DENV-VLP はワクチン抗原の候補となりうると考えられた。(山口 喜之[研究生]、小島 朝人[客員研究員]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

3. HTLV-1 ワクチンの開発

HTLV-1 感染予防ワクチンのための組換え Env タンパク質発現系の構築

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、最も有力な感染防御抗原候補である Env タンパク質を抗原とした不活化ワクチン開発を目指し、実用的なワクチン抗原製造系として実績のある昆虫細胞タンパク質合成系を用いて Env タンパク質合成系の構築を試みた。Env タンパク質の細胞外ドメインに三量体化シグナルを付加し感染性ウイルスのエンベロープと同様の構造、抗原性を持つ Env キメラタンパク質をバキュロウイルス発現ベクターシステムにより発現させた。特異抗体によるスクリーニングで Env キメラタンパク質を発現するクローンを得た。当初計画では、培養上清への分泌を期待したが、発現培養条件の検討の結果、細胞画分の不溶画分に多く回収された。播種後 48 時間の培養上清には、非常に弱いバンドであるが、目的タンパク質を検出したことより、目的タンパク質の一部は培養上清に分泌されていたと考えられた。今後、大量培養を行い、培養上清から目的タンパク質の精製を試みるが、発現効率自体の改善のために中和エピトープが集まる SU 以外を削っていくなど抗原設計の変更を考慮する必要があると考えられた。(鈴木 忠樹、齊藤 慎二[研究生]、相内 章[併任]、長谷川 秀樹)

4. 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、ムンプスウイルス野生株を経鼻接種し 5 週間経過したマーモセット 3 頭の病理組織学的解析を行った。その結果、すべての個体の中枢神経系に種々の程度で髄膜炎あるいは脈絡叢炎の所見が認められ、そのうち 1 頭は、慢性膵炎像とウイルス感染を伴う精巣炎所見を示した。これらの所見は、ムンプスウイルス感染症で認められる合併症と類似しており、感染

モデル動物としての有用性が期待される。(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

定型 BSE 罹患牛の発生頻度は世界的に収束傾向にある。しかしながら、その生化学的特徴が定型 BSE とは異なる非定型 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。輸血ならびに経口摂取によるリスクを調べるため、サルへの投与実験を継続している。(飛梅 実、佐藤 由子)

2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

生物由来原料を用いる医薬品等については、最終製品の安全性を確保するため、薬事法に基づき、当該生物由来原料に対して細菌やウイルス安全性に係る基準(平成 15 年 5 月 20 日厚生労働省告示第 210 号生物由来原料基準)を定めている。特に、細胞培養技術等を活用して製造される医薬品等については、培地等にウシ血清をはじめとする反芻動物由来原料が用いられていることから、伝達性海綿状脳症(TSE)の発生リスクに応じて、原料として使用可能な部位、原産国を定めて規制している。今般、国際獣疫事務局(OIE)において、日本、米国等が新たに牛海綿状脳症(BSE)の「無視できるリスク国」に指定されたことを踏まえ、海外規制状況、国内規制に対する国内研究者の意見等について調査を行うとともに、医薬品等に用いる原料規制のあり方を提言した。また、生物由来原材料基準の一部を改正する件については、平成 26 年 7 月パブリックコメント募集、平成 26 年 11 月 27 日、薬事法等の一部を改正する法律(平成 25 年法律第 84 号) 公布となっている。(飛梅 実、佐藤 由子)

Ⅴ. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用

平成 26 年度も順調に運用された。

昨年度より発生していたトラブルに対応し、鏡筒を持ち上げ、内部をクリーニング。その後きれいな画像を得られるようになった。

基本ソフトが XP であったため、今後のメンテナンスを考えて、10 月に Windows 7 にアップグレードした。

本年度中に処理した検体数は 354 検体で、その内訳は感染研内部 204 検体、共同研究 120 検体、外部のみ 30 検体であった。また、見学者の対応は 7 回、69 名であった。公務員が 12 名、学生ら 21 名、一般 29 名(一般公開の見学者)、外国人 7 名であった。9 月 10 日にはデング熱の関係で、急遽塩崎厚生労働大臣が視察に訪れ、メデイア等総勢 29 名が電顕室に入場した(メデイア関係者はカウントしていない)。(齋藤 典子[期間業務職員])

2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

CCD カメラ切り替えのトラブルがあったが、現像等の作業が無くなった分、順調に進んだ。

本年度中の依頼数は 54 件で、樹脂包埋検体数 85 検体、ネガティブ染色数 95 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. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の透過型電子顕微鏡利用は 6 件(樹脂包埋検体 7、ネガティブ染色数 162)、走査電子顕微鏡は 0 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、ウイルス第二部、バイオセーフティ管理室、病原体ゲノム解析研究センターであった。(片岡 紀代[期間業務職員]、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。ウシ一頭の行政検査を実施した。(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 国際研修「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」 動物を用いたワクチンの品質管理の内容を紹介した。(平成 27 年 1 月 22 日。於：村山庁舎)

2. 永田 典代：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」 動物実験を用いたワクチンの品質管理。(平成 27 年 2 月 5 日。於：村山庁舎)

3. 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。

4. 中島 典子：ベトナムハノイ国立小児病院、バクマイ病院において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。カンボジアプノンペンのパスツール研究所、カルメット病院を訪問し、鳥インフルエンザヒト感染症の病理について発表し、インフルエンザウイルス感染症の状況について情報交換し、今後の国際連携研究の可能性について議論した。

5. 高橋 健太、林 健太郎[協力研究員]：米国疾病管理予防センター感染症病理部門を訪問し、国際厚生事業団の新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究推進事業、外国への日本人研究者派遣事業「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」(研究代表者：倉根 一郎)の一環として、新型インフルエンザやエボラウイルス感染症を含む新興・再興感染症症例の検鏡を行うとともに、病理診断・解析業務に参加した。(平成 27 年 1 月 10 日~2 月 1 日、2 月 28 日~3 月 31 日)

6. 片野 晴隆：日本台湾シンポジウム(於：台湾 CDC) 講演。 Identification of pathogens in pathological samples with next generation sequencer. (2014 年 9 月 11-12 日)

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) El Hajj H, Khalil B, Ghandour B, Nasr R, Shahine S, Ghantous A, Abdel-Samad R, Sinjab A, Hasegawa H, Jabbour M, Hall WW, Zaatari G, Dbaibo G, Pisano C, Bazarbachi A, Darwiche N: Preclinical efficacy of the synthetic retinoid ST1926 for treating adult T-cell leukemia/lymphoma. Blood. 2014. 124(13):2072-2080.

2) Hasegawa S, Wakiguchi H, Okada S, Gui Kang Y, Fujii N, Hasegawa M, Hasegawa H, Ainai A, Atsuta R, Shirabe K, Toda S, Wakabayashi-Takahara M, Morishima T, Ichiyama T: Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. Cytokine. 2014. 69(2):206-210.

3) Meguro S, Tomita M, Katsuki T, Kato K, Oh H, Ainai A, Ito R, Kawai T, Itoh H, Hasegawa H: Plasma Antimicrobial Peptide LL-37 Level Is Inversely Associated with HDL Cholesterol Level in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Int J Endocrinol. 2014. 2014:703696.

4) Yamada S, Fukuchi S, Hashimoto K, Fukui Y, Tsuda M, Kataoka M, Katano H, Inoue N: Guinea pig cytomegalovirus GP129/131/133, homologues of human cytomegalovirus UL128/130/131A, are necessary for infection of monocytes and macrophages. J Gen Virol. 2014. 95(Pt 6):1376-1382.

5) Yamada M, Katano H, Yotsumoto M, Hashimoto H, Muramatsu T, Shiotsuka M, Fukutake K, Kuroda M: Unique expression pattern of viral proteins in human herpesvirus 8-positive plasmablastic lymphoma: a case report. Int J Clin Exp Pathol. 2014. 7(9):6415-6418.

6) Tsuzuki S, Fukumoto H, Mine S, Sato N, Mochizuki M, Hasegawa H, Sekizuka T, Kuroda M, Matsushita T, Katano H: Detection of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus in a fatal case of myocarditis in a seven-month-old girl. Int J Clin Exp Pathol. 2014. 7(8):5308-5312.

7) Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, Ajisawa A, 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. 3(1):143-153.

8) Mine S, Suzuki K, Sato Y, Fukumoto H, Kataoka M, Inoue N, Ohbayashi C, Hasegawa H, Sata T, Fukayama M, Katano H: Evidence for human herpesvirus-6B infection of regulatory T-cells in acute systemic lymphadenitis in an immunocompetent adult with the drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms syndrome: A case report. J Clin Virol. 2014. 61(3):448-452.

9) Katano H, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Oyaizu N, Ota Y, Mine S, Igari T, Ajisawa A, Teruya K, Tanuma J, Kikuchi Y, Uehira T, Shirasaka T, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, Yasuoka A: The prevalence of opportunistic infections and malignancies in autopsied patients with human immunodeficiency virus infection in Japan. BMC Infect Dis. 2014. 14:229.

10) Kariya R, Taura M, Suzu S, Kai H, Katano H, Okada S: HIV protease inhibitor Lopinavir induces apoptosis of primary effusion lymphoma cells via suppression of NF-kappaB pathway. Cancer Lett. 2014. 342(1):52-59.

11) Goto H, Kojima Y, Matsuda K, Kariya R, Taura M, Kuwahara K, Nagai H, Katano H, Okada S: Efficacy of anti-CD47 antibody-mediated phagocytosis with macrophages against primary effusion lymphoma. Eur J Cancer. 2014. 50(10):1836-1846.

12) Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, Kurahashi H, Yoshikawa T, Katano H, Inoue N, Imai K, Takagi M, Morio T, Mizutani S: Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe

combined immunodeficiency. Clin Infect Dis. 2014. 59(4):545-548.

13) Koma T, Yoshimatsu K, Nagata N, Sato Y, Shimizu K, Yasuda SP, Amada T, Nishio S, Hasegawa H, Arikawa J: Neutrophil depletion suppresses pulmonary vascular hyperpermeability and occurrence of pulmonary edema caused by hantavirus infection in C.B-17 SCID mice. J Virol. 2014. 88(13):7178-7188.

14) Iwata-Yoshikawa N, Uda A, Suzuki T, Tsunetsugu-Yokota Y, Sato Y, Morikawa S, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H, Nagata N: Effects of Toll-like receptor stimulation on eosinophilic infiltration in lungs of BALB/c mice immunized with UV-inactivated severe acute respiratory syndrome-related coronavirus vaccine. J Virol. 2014. 88(15):8597-8614.

15) Nagata N, Saijo M, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Ogata M, Kurane I, Morikawa S, Sata T, Hasegawa H: Pathogenesis of fulminant monkeypox with bacterial sepsis after experimental infection with West African monkeypox virus in a cynomolgus monkey. Int J Clin Exp Pathol. 2014. 7(7):4359-4370

16) 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. 88(10):5608-5616.

17) Watanabe T, Zhong G, Russell CA, Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y: Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential. Cell Host Microbe. 2014. 15(6):692-705.

18) Moritake H, Kamimura S, Nunoi H, Nakayama H, Suminoe A, Inada H, Inagaki J, Yanai F, Okamoto Y, Shinkoda Y, Shimomura M, Itonaga N, Hotta N, Hidaka Y, Ohara O, Yanagimachi M, Nakajima N, Okamura J, Kawano Y: Clinical characteristics and genetic analysis of childhood acute lymphoblastic leukemia with hemophagocytic lymphohistiocytosis: a Japanese retrospective study by the Kyushu-Yamaguchi Children's Cancer Study Group. Int J Hematol. 2014. 100(1):70-78.

19) Hiraki T, Yoshimitsu M, Suzuki T, Goto Y, Higashi M, Yokoyama S, Tabuchi T, Futatsuki T, Nakamura K, Hasegawa H, Saijo M, Kakihana Y, Arima N, Yonezawa S: Two autopsy cases of severe fever with thrombocytopenia syndrome（SFTS） in Japan: A pathognomonic histological feature and unique complication of SFTS. Pathol Int. 2014. 64（11）:569-575.

20) van Riet E, Ainai A, Suzuki T, Kersten G, Hasegawa H: Combatting infectious diseases; nanotechnology as a platform for rational vaccine design. Adv Drug Deliv Rev. 2014. 74:28-34.

21) 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):816-827. *Contributed equally to this work

22) 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. 195:250-257.

23) Utachee P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Ikuta K, Takeda N, Kameoka M: Impact of amino acid substitutions in the V2 and C2 regions of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE envelope glycoprotein gp120 on viral neutralization susceptibility to broadly neutralizing antibodies specific for the CD4 binding site. Retrovirology. 2014. 11:32.

24) Freitas N, Abe K, Cunha C, Menne S, Gudima SO: Support of the infectivity of hepatitis delta virus particles by the envelope proteins of different genotypes of hepatitis B virus. J Virol. 2014. 88(11):6255-67.

25) Tran H, Yu ML, Dai CY, Lin IL, Yeh ML, Chuang WL, Abe K: Novel quasi-subgenotype D2 of hepatitis B virus identified in Taiwanese aborigines. Virus Genes. 2014. 49(1):30-37.

26) Li C, Yuan M, Lu L, Lu T, Xia W, Pham VH, Vo AXD, Nguyen MH, Abe K: The genetic diversity and evolutionary history of hepatitis C virus in Vietnam. Virology. 2014. 468-470:197-206.

27) Li C, Pham VH, Abe K, Lu L: Nine additional complete genome sequences of HCV genotype 6 from Vietnam including new subtypes 6xb and 6xc. Virology. 2014. 468-470:172-177.

2. 和文発表

1) 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　呼吸器内科　26(1):68-72. 2014.

2) 長谷川 秀樹：インフルエンザ粘膜ワクチンの開発と実用化　化学療法の領域　30(12):90-95. 2014.

3) 長谷川 秀樹、田村 慎一：インフルエンザワクチン　臨床と微生物　41(6):719-723. 2014.

4) 高岩 直子、太田 育代、吉田 近思、米野 琢哉、高橋 健太、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹、中道 一生、西條 政幸：CLL の経過中に発症した進行性多巣性白質脳症　臨床血液　55(7):826. 2014.

5) 中島 典子、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：ウイルス性肺炎　病理と臨床　32(10):1146-1153. 2014.

6) 片野 晴隆：HHV8 関連多中心性 Castleman 病に発生する大細胞型 B 細胞性リンパ腫　リンパ腫アトラス　改訂改題第4版　森 茂郎　監修　大島 孝一、竹内 賢吾、田丸 淳一、中村 栄男、中村 直哉、吉野 正　編集　文光堂　東京 2014.

7) 藤井 弓子、爲政 大幾、遠藤 由紀子、片野 晴隆、岡本 祐之：生検後に自然消退した Merkel 細胞癌の 1 例　皮膚科の臨床　56(3):463-466. 2014.

8) 高橋 健太、鈴木 忠樹、中島 典子、飛梅 実、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：脳炎・脳症の病理　Neuroinfection　19(1):32-39. 2014.

9) 片野 晴隆、今村 顕史、加藤 博史、小澤 健太郎、永田 尚義、照屋 勝治、四本 美保子、岡田 誠治、上平 朝子、矢嶋 敬史郎：「AIDS に合併するカポジ肉腫等の HHV-8 関連疾患における診断と治療の手引き」第 2 版　厚労科研エイズ対策研究事業　エイズ患者におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルスが原因となる疾患の発症機構の解明と予防および治療法に関する研究班 2014.

10) 鈴木 忠樹、片野 晴隆、佐藤 由子、長谷川 秀樹：感染症［ウイルス］　病理と臨床　32(臨時増刊号):320-326. 2014.

11) 今村 顕史、加藤 博史、照屋 勝治、上平 朝子、矢嶋 敬史郎、四本 美保子、岡田 誠治、片野 晴隆：エイズに合併するカポジ肉腫などの HHV-8 関連疾患に対する治療の手引き　日本エイズ学会誌　16(1):42-51. 2014.

12) 峰　宗太郎、片野　晴隆：Primary effusion lymphoma 原発性滲出性リンパ腫　腫瘍病理鑑別診断アトラス　縦隔腫瘍・胸膜腫瘍　深山 正久、野口 雅之、松野 吉宏　編集　文光堂　東京　2014.

13) 片野 晴隆、大田 泰徳：AIDS 関連リンパ腫の病理　HIV 感染症と AIDS の治療　5(2):74-77. 2014.

14) 中島 典子：オリゴヌクレオチドプローブを用いた新しいin situ ハイブリダイゼーション法　呼吸　33(2):152-159. 2014.

15) 中島 典子：H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスに感染したヒトの臨床、病理およびウイルス学的知見　化学療法の領域　30(12):2188-2196. 2014.

16) 鈴木 忠樹、相内 章、長谷川 秀樹：経鼻不活化インフルエンザワクチンの実用化に向けた課題と挑戦　月刊バイオインダストリー 31(6):11-17. 2014.

17) 多田 卓哉、徳永 研三：抗ウイルス宿主因子 BST-2/tetherin とそれに拮抗するウイルス蛋白の分子間対決 Molecular Confrontation between the Host Restriction Factor BST-2/Tetherin and Its Viral Antagonists.　日本エイズ学会誌 The Journal of AIDS Research.　16(3):126-136. 2014.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hideki Hasegawa: Induction of Neutralizing Antibodies by Inactivated Intranasal Influenza Vaccine and Characteristic of Induced Secretory-IgA Antibodies in Human.　Third isirv Antiviral Group Conference（東京）2014.6.

2) Hideki Hasegawa: Mucosal Influenza Vaccines. The 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID)（台湾）2015.1.

3) Katano H, Hishima T, Sakamoto K, Uehara T, Sekizuka T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M: Profiling microRNA in Epstein-Barr virus（EBV）-associated lymphoproliferative disorders with deep sequencing and real-time RT-PCR. 39th International Herpesvirus Workshop（神戸）2014.7.

4) 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. European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses（ベルギー）2014. 3.

5) Sakai K, Ami Y, ahara M, Nakajima N, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M: The host protease TMPRSS2 play a major role for influenza virus replication in vivo.　International Union of Microbiological Societies（IUMS 2014）-XIVth International congress of Bacteriology and Applied Microbiology, XIVth International Congress of Mycology, XVIth International Congress of Virology（カナダ）2014.7.

6) Nakajima N, Sato Y, Kotani O, Suzuki T, Kamei T, Takahashi T, Sata T, Hasegawa H: Modified *In situ* Hybridization AT-tailing to Visualize the Gene Expression in Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded Tissues. 2015 USCAP Annual Meeting（アメリカ）2015.3.

7) Hayashi K, Nakajima N, Sato Y, Katano H, Nagata N, Suzuki T, Tobiume M, Yoshida H, Suzuki Y, Kumasaka T, Sata T, Ariyoshi K, Hasegawa H: Correlations among Histopathological Characteristics, Viral distribution, and Cytokine/Chemokine Expression level within an

Individual with A/H1N1pdm09 induced ARDS 2015 USCAP Annual Meeting（アメリカ）2015.3.

8) Tada T, Zhang Y, Koyama T, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga K（Oral presenter）: Novel restriction factor MARCH8 blocks HIV-1 replication. XX International AIDS Conference（オーストラリア）2014. 7.（Late breaker abstract による口頭発表）
9) 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. European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses（ベルギー）2014. 3.
10) 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 a cynomolgus monkey model. European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses（ベルギー）2014. 3.

2. 国内学会

1) 長谷川 秀樹、亀井 敏昭、高橋 徹、鈴木 忠樹、片野 晴隆、中島 典子、森川 茂、西條 政幸、倉田 毅：日本国内で発生した重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の病理解析 第103回日本病理学会総会 （広島） 2014.4.
2) 長谷川 秀樹：マダニ媒介感染症の病理と病態（SFTSを中心に） 第113回日本皮膚科学会総会（京都） 2014.5.
3) Hideki Hasegawa：Pathology of influenza virus infection and the role of secretory-IgA antibodies in influenza virus infection. 第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.
4) 森山 美優、竹山 春子、長谷川 秀樹、一戸 猛志：インフルエンザウイルス NS1 タンパク質による NLRP3 inflammasome の抑制効果 第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.
5) 福間 藍子、福士 秀悦、吉河 智城、谷 英樹、谷口 怜、鈴木 忠樹、佐藤 由子、長谷川 秀樹、下島 昌幸、西條 政幸：SFTS ウイルスの核蛋白質に対するモノクローナル抗体の作製と抗原検出 ELISA への応用 第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.
6) 森山 美優、竹山 春子、長谷川 秀樹、一戸 猛志：インフルエンザウイルス特異的 CTL 誘導のための経鼻ワクチン投与法の検討 第18回日本ワクチン学会学術集会 （福岡） 2014.12.
7) 堀田 真智子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、武田 千佳、藤澤 真義、能登原 憲司：重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thrombocytopenia syndrome：SFTS）の一剖検例 第103回日本病理学会総会 （広島） 2014.4.
8) 平木 翼、後藤 優子、北薗 育美、東 美智代、吉満 誠、二木 貴弘、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、谷本 昭英、米澤 傑：侵襲性真菌感染症を合併した 2 例の SFTS 剖検例を経験して 第 103 回日本病理学会総会 （広島） 2014.4.
9) 峰 宗太郎、福本 瞳、菅野 隆行、佐藤 由子、鈴木 忠樹、比島 恒和、片野 晴隆：Plasmablastic lymphoma の細胞株の樹立 第 11 回 EB ウイルス研究会 （東京） 2014.6.
10) 福本 瞳、高橋 健太、佐藤 由子、峰 宗太郎、保科 しほ、中島 典子、佐伯 秀久、長谷川 秀樹、黒田 誠、片野 晴隆：網羅的ウイルス検出法 multivirus real-time PCR の改良と臨床検体への応用 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.
11) 峰 宗太郎、鈴木 髙祐、佐藤 由子、福本 瞳、片岡 紀代、井上 直樹、大林 千穂、長谷川 秀樹、佐多 徹太郎、深山 正久、片野 晴隆：HHV-6B の制御性 T 細胞への感染が証明された DRESS 症候群の一剖検例 第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

12) 片野 晴隆、比島 恒和、望月 眞、児玉 良典、小柳津 直樹、大田 泰徳、峰 宗太郎、猪狩 亨、味澤 篤、照屋 勝治、田沼 順子、菊池 嘉、岡 慎一、上平 朝子、白阪 琢磨、鯉渕 智彦、岩本 愛吉、長谷川 秀樹、岡田 誠治、安岡 彰：HIV 感染者の剖検例における日和見感染症と腫瘍の頻度。第 28 回 日本エイズ学会学術集会・総会（大阪） 2014.12.

13) 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 113 回 日本皮膚科学会総会（京都） 2014.5.

14) 峰 宗太郎、河合 繁夫、平井 理泉、猪狩 亨、片野 晴隆：血球貪食症候群により死亡した chronic active Epstein-Barr virus infection（CAEBV）の一剖検例 第 103 回 日本病理学会 総会（広島） 2014.4.

15) 大田 泰徳、比島 恒和、望月 眞、児玉 良典、森谷 鈴子、小柳津 直樹、峰 宗太郎、塩沢 由美子、長谷川 秀樹、片野 晴隆：日本におけるエイズ関連リンパ腫の病理組織分類 第 103 回 日本病理学会 総会（広島） 2014.4.

16) 片野 晴隆、比島 恒和、望月 眞、児玉 良典、小柳津 直樹、大田 泰徳、峰 宗太郎、猪狩 亨、長谷川 秀樹：HIV 感染者の剖検例における日和見感染症と腫瘍の実態 第 103 回 日本病理学会総会（広島） 2014.4.

17) 永田 典代、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、高橋 健太、佐多 徹太郎、長谷川 秀樹、網 康至、久保田 耐、加藤 篤、田代 眞人、竹田 誠、木所 稔：動物モデルを用いたムンプスウイルスの神経病原性に関する病理学的検討 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.

18) 岩田 奈織子、福士 秀悦、福間 藍子、鈴木 忠樹、竹田 誠、田代 眞人、長谷川 秀樹、永田 典代：中東呼吸器症候群コロナウイルスに対するマウスおよびラットの感受性について 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.

19) 片岡 周子、西村 順裕、小谷 治、鈴木 忠樹、岩田 奈織子、網 康至、永田 典代、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免疫学的解析 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.

20) 小池 智、藤井 健、Mahlakoiv T、Staeheli P、永田 典代：Role of type III Interferon in intranasal infection of poliovirus in PVR transgenic mice. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.

21) 吾郷 昌信、北川 由美香、松本 文昭、吉川 亮、陣内 久美子、森内 浩幸、永田 典代、清水 博之、森田 公一：新生児重症感染を惹起したコクサッキーウイルス B2 型の性状解析 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.

22) 小谷 治、藤井 健、鈴木 忠樹、岩田 奈織子、網 康至、須崎 百合子、長谷川 秀樹、 田口 文広、清水 博之、永田 典代：カニクイサルを用いた Saffold virus の神経病原性の病理学的解析 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜） 2014.11.

23) 中島 典子、渡辺 登喜子、佐藤 由子、高橋 健太、鈴木 忠樹、田代 眞人、河岡 義裕、長谷川 秀樹：ヒトから分離された H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルス感染動物モデルの病理学的解析 第 103 回日本病理学会総会（広島） 2014.4.

24) 秋田 英貴、鄭 子文、中島 典子、星本 和種、笹島 ゆう子、瀧本 雅文：風疹感染胎盤の一例 第 103 回日本病理学会総会（広島） 2014.4.

25) 仲里 巌、喜舎場 由香、新垣 和也、加藤 誠也、中島 典子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：新生児心筋炎の 3 剖検例 第 103 回日本病理学会総会（広島） 2014.4.

26) 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） 2014.6.

27) 竹田 誠　中島 典子　河岡 義裕 : TMPRSS2 は、インフルエンザの病原性発現に必須の宿主プロテアーゼである　第88回日本感染症学会学術講演会 （福岡） 2014.6.

28) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Nakajima N, Sekizuka T, Komase K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M : The host protease TMPRSS2 is essential for influenza A virus pathogenicity　第 13 回あわじしま感染症・免疫フォーラム （奈良） 2014.9.

29) 北沢 実乃莉、酒井 宏治、田原 舞乃、安部 昌子、中島 勝紘、網 康至、中島 典子、安楽 正輝、駒瀬 勝啓、長谷川 秀樹、竹原 一明、田代 眞人、加藤 篤、竹田 誠 : 宿主プロテアーゼ TMPRSS2 はセンダイウイルスの病原性決定因子のひとつである　第 157 回日本獣医学会学術集会 （札幌） 2014.9.

30) 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 : 宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は、インフルエンザウイルスの生体内活性化酵素である　第 157 回日本獣医学会学術集会 （札幌） 2014.9.

31) 酒井 宏治、網 康至、田原 舞乃、久保田 耐、安楽 正輝、中島 典子、高下 恵美、関塚 剛史、駒瀬 勝啓、信澤 枝里、小田切 孝人、前仲 勝実、黒田 誠、長谷川 秀樹、河岡 義裕、田代 眞人、竹田 誠 : 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必須活性化酵素である　第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

32) 渡辺 登喜子、Zhong G、 Russell C、中島 典子、八田 正人、Handson A、高橋 健太、渡辺 真治、今井 正樹、長谷川 秀樹、河岡 義裕 : スペイン風邪ウイルスに類似の鳥インフルエンザウイルスのパンデミックポテンシャル　第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

33) 朴 ウンシル、佐藤 由子、中島 典子、古屋 哲也、水谷 哲也、今岡 浩一、森川 茂 : 日本国内ネコにおける新規モルビリウイルス（feline morbillivirus, FMV）の疫学調査　第 62 回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

34) 鈴木 忠樹、川口 晶、相内 章、佐藤 由子、永田 典代、田代 眞人、長谷川 秀樹 : 喘息発作によるインフルエンザ重症化動物モデルの作製　第 103 回日本病理学会総会 （広島） 2014.4.

35) Suzuki T, Hasegawa H : Pathology and pathogenesis of emerging and re-emerging viral infections.　第 62 回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

36) 鈴木 忠樹 : JC ウイルスのチャネルタンパク質ビロポリンに関する研究　第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

37) 山口 喜之、小島 朝人、長谷川 秀樹、鈴木 忠樹 : デングウイルス（DENV）のエンベロープタンパク質を持つウイルス様粒子の作製と性状解析　第 62 回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

38) 齊藤 慎二、van Riet Elly、相内 章、鈴木 忠樹、池田千将、伊藤 良、泉地 恭輔、高橋 宜聖、浅沼 秀樹、小田切 孝人、田代 眞人、田村 愼一、竹山 春子、長谷川 秀樹 : 高病原性鳥インフルエンザ A（H5N1）ウイルスの経鼻不活化全粒子ワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析　第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

39) 大原 有樹、鈴木 忠樹、中野 哲郎、齊藤 慎二、相内 章、秋本 和憲、長谷川 秀樹 : 低毒性型合成二重鎖 RNA uPIC を用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発　第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

40) 長谷川 秀樹、相内 章、鈴木 忠樹、川口 晶、田村 愼一、小田切 孝人、田代 眞人：経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンと現行皮下接種ワクチンの抗体応答の比較　第18回日本ワクチン学会学術集会 （福岡） 2014.12.

41) 齊藤 慎二、van Riet Elly、相内 章、鈴木 忠樹、大原 有樹、池田 千将、伊藤 良、泉地 恭輔、高橋 宜聖、浅沼 秀樹、小田切 孝人、田代 眞人、田村 愼一、竹山 春子、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たヒトモノクローナル抗体の特性解析　第18回日本ワクチン学会学術集会(福岡） 2014.12.

42) 相内 章、鈴木 忠樹、齊藤 慎二、田村 愼一、幸 義和、小田切 孝人、田代 眞人、清野 宏、長谷川 秀樹：経鼻インフルエンザワクチンの動態と抗体応答　第18回日本ワクチン学会学術集会 （福岡） 2014.12.

43) 鈴木 忠樹、大原 有樹、中野 哲郎、齊藤 慎二、寺内 芳彦、相内 章、長谷川 秀樹：合成二本鎖 RNA uPIC をアジュバントとする経鼻不活化インフルエンザワクチンの開発　第18回日本ワクチン学会学術集会 （福岡） 2014.12.

44) 徳永 研三：HIV-1 の複製を阻害する抗ウイルス宿主因子の分子制御機構　京都大学ウイルス研究所セミナー・ウイルス研究の潮流シリーズ講義 4 （京都） 2014. 7.

45) 多田 卓哉、張 延昭、小山 貴芳、山岡 昇司、藤田 英明、徳永 研三：新規抗ウイルス宿主因子 MARCH8 による HIV-1 感染抑制機構の解明　第 62 回日本ウイルス学会総会 （横浜） 2014. 11.

46) 張 延昭、多田 卓哉、山岡 昇司、徳永 研三：HIV-1 複製前期の抑制に関わる IFN 誘導性抗ウイルス宿主因子群の解析　第62回日本ウイルス学会総会 （横浜） 2014. 11.

47) 高畑 辰郎、徳永 研三、長谷川 温彦、神奈木 真理、増田 貴夫：HIV-1 インテグラーゼの非酵素的機能の解析　第 62 回日本ウイルス学会総会（横浜） 2014. 11.

48) 和田 倭、小林(石原）美栄、寺原 和孝、池野 翔太、徳永 研三、川名(立川）愛、山岸 誠、竹山 春子、横田(恒次）恭子：恒常的に培養維持された CD4 陽性 T 細胞への HIV-1 の感染とその転写制御機構の解明　第62回日本ウイルス学会総会（横浜） 2014. 11.

49) 高畑 辰郎、徳永 研三、長谷川 温彦、神奈木 真理、増田 貴夫：HIV-1 インテグラーゼの逆転写過程以前における機能の解析　第28回日本エイズ学会 （大阪） 2014. 12.

50) 多田 卓哉、張 延昭、小山 貴芳、山岡 昇司、藤田 英明、徳永 研三：新規宿主因子 MARCH8 は HIV-1 のエントリーを阻害する　第 28 回日本エイズ学会ワークショップ （大阪） 2014. 12.

51) 徳永 研三：APOBEC3 蛋白の抗レトロトランスポゾン活性における分子制御機構　2014 年度国立遺伝学研究所研究集会「転移因子と宿主の相互作用による生命進化」 （三島） 2015.2.

52) 高橋 健太、福本 瞳、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：不明脳炎症例の臨床検体からの原因ウイルスの網羅的検索　第62回日本ウイルス学会学術集会 （横浜） 2014.11.

53) 高橋 健太、福本 瞳、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：不明脳炎症例の病理組織検体からの原因ウイルスの網羅的検索　第 19 回日本神経感染症学会 （金沢） 2014.9.

54) 高橋 健太、福本 瞳、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：不明脳炎症例の臨床検体における原因ウイルスの網羅的検索　第 18 回日本神経ウイルス研究会 （浜松） 2014. 6.

55) 高橋 健太、福本 瞳、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹：不明脳炎における原因ウイルスの網羅的検索　第55回日本神経病理学会総会学術研究会 （東京） 2014. 6.

56) 齋藤 典子：電子顕微鏡で観るミクロの世界　第 63 回ウォーター研究会セミナー （東京） 2015.3.

Ⅲ. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1) 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
2) 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
3) 欧州（EPC）特許：Patent No.（2221368）、香港標準特許：Patent No.（2221368）、シンガポール特許：Patent No.（188127）、 “WEST NILE VIRUS VACCINE, AND METHOD FOR PRODUCTION THEREOF”.

2. 国内特許出願

1) 「ロッド型ナノ粒子及び核酸からなる組成物」特願 2014-252111、2014 年 12 月 12 日
2) 「多量体抗体の作製法」特願 2014-148328、2014 年 7 月 18 日
3) 「抗インフルエンザウイルス抗体またはその抗原結合フラグメント」特願 2014-148329、2014 年 7 月 18 日

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. 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
5. ワクチンに関する基礎的研究
6. respiratory syncytial virus（RSV）感染症における免疫応答に関する研究

II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究
2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究
3. 類鼻疽の宿主防御に関する研究

III. 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

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケグモ抗毒素の力価試験の開発

品質管理に関する業務

I.国家検定

II.標準品交付

III.体外診断薬委員会業務

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 26 年 6 月 01 日に免疫部第四室任期付研究員として安達　悠が任用された。平成 27 年 3 月 31 日に免疫部主任研究官　大西　和夫が定年退職した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．ウイルス感染症

1．ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の増殖制御と病態に関する研究

（1）ヒト化マウスを用いた 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。細胞レベルでの解析を行った結果、CCR5 陽性 CD4 陽性 T 細胞における X4 型ウイルスの感染性が R5 型ウイルス混在下で低下することを認めた。この感染性の低下については少なくとも X4 型・R5 型ウイルス間の細胞傷害効果の違いは関係せず、他の機構の関与が予想された。

［寺原和孝、石毛真行（熊本大学エイズ学研究センター）、池野翔太（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)、阿戸　学、横田恭子(客員研究員)］

（2）HIV 潜伏感染 in vitro 解析系モデルの開発

ヒト CD4 陽性 T 細胞が長期維持可能な（homeostatic proliferation (HSP)）培養による HIV 潜伏感染系を確立した。静止期に GFP 発現 HIV-1 あるいは LTR 制御下に GFP と Nef を発現するレンチウイルスベクターを感染させて HSP 培養した。培養 10 日前後に GFP 陽性および静止期の GFP 陰性細胞集団を FACS ソートし、HIV-1 のゲノム挿入(integration)を確認した。GFP 陰性の細胞集団でも低レベルの GFP mRNA が発現していたが、TCR 刺激や脱アセチル化剤 SAHA を加えても GFP の発現増強を認めなかった。一方、T 細胞受容体（TCR）刺激後に一度静止化して GFP 陰性となった T 細胞に SAHA を加えると GFP 陽性細胞集団が出現したことから、記憶細胞とナイーヴ細胞の感染制御機構は異なることが示唆された。

［横田恭子(客員研究員)、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）、Javier P. Martinez　(Pompeu Fabra 大学、スペイン) , Andreas Meyerhans (Pompeu Fabra 大学、スペイン)]

（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を進め、マイクロ流体デバイスを利用して PCR を行い、レンチウイルス感染の初期過程を評価した。プラスミド DNA の定量は十分可能であることが明らかとなったため、実際の HIV 感染細胞を用いて感染後、１日目、２日目の細胞を１個、10 個、100 個、1000 個に分けてソートした。細胞侵入後のプロウイルス DNA の定量を行ったところ、HIV 感染効率が低かったこともあり、1000 個の細胞でしか DNA の定量できなかったことから、更に装置の開発や実験系の工夫が必要である。
［横田恭子(客員研究員)、寺原和孝、立川　愛（東京大学医科学研究所)、細川正人（早稲田大学先進理工学部生命医科学科)、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）］

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
　麻疹ウイルス接種後のヒト T 細胞応答を解析するため、同一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 ヒト化マウスではヒト由来骨髄系細胞の分化発達が乏しいため、ヒト GM-CSF、IL-4、Flt3-L をそれぞれ発現するプラスミドを in vivo transfection 法によりマウスに導入し、その骨髄系細胞分化誘導効果について検討した。投与後に骨髄において $CD11^+$ 骨髄系細胞の大幅な増加を認めたマウスを用いて麻疹ウイルスに対する免疫応答を解析したところ、抗原刺激に対し IL-2 を産生する $CD4^+$ T 細胞がわずかながら認められた。従って、適切なヒトサイトカインを補うことにより、麻疹ウイルスに対するヒト免疫応答をヒト化マウスでも解析可能であることが示唆された。
［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(客員研究員)］

３．インフルエンザに関する研究
（１）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､Arnone Nithichanon（タイ王国　コンケーン大)、安達 悠、Anne De Groot（EpiVax)、阿戸 学]
（２）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広域性中和抗体は、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叉結合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。エピトープ構造を解析したところ、多くはウイルス膜に近接したステム領域を認識していることが判明した。[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]

（３）インフルエンザウイルスへの交差防御に寄与する記憶 B 細胞に関する研究
　インフルエンザウイルス経鼻感染後の肺において、交叉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これまでに見いだした。この肺の特殊な記憶 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。解析の結果、ウイルス感染部位である気道局所において、持続性に優れた研究胚中心が形成されること、さらにこの胚中心において、交叉防御性に優れた記憶 B 細胞が産生されることを明らかにした。[安達悠、小野寺大志、大尾璃奈（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]

（４）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 細胞の中でも CD273 陽性細胞から追加免疫等の必要性なしに補充が行われている事を明らかにした。更にこの CD273 陽性記憶 B 細胞の遺伝子発現を CD273 陰性記憶 B 細胞と比較解析した結果、ZBTB20, ZBTB32 等の長期生存型抗体産生細胞で発現上昇が認められる転写因子の発現が高いことを明らかにした。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、高橋宜聖、黒崎知博（大阪大学)、阿戸 学]

４．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］

５．ワクチンに関する基礎的研究

（１）サルエイズワクチンモデルにおける T 細胞反応の解析

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 SIV 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 特異的 CD4 陽性 T 細胞のうち CD107a 陰性画分はその多くが SIV 感染標的として死滅する一方、CD107a 誘導画分は感染抵抗性を示した。この結果は、HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の誘導が暴露後の HIV 複製増幅に結びつくリスクを支持するものであり、HIV ワクチン開発における重要な知見を提供するものである。［寺原和孝、横田恭子（客員研究員)、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 HIV 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る。そこで、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（SeV）をベクターとしたワクチンの粘膜免疫誘導能について、経鼻ワクチン接種したカニクイサル由来検体を用いて解析を行った。その結果、空腸ならびに回腸において SeV および搭載抗原である SIV Gag 特異的細胞が CD4 陽性・CD8 陽性の両 T 細胞画分において検出され、そのレベルは末梢血や扁桃、顎下・腸間膜リンパ節における頻度と同等であった。以上の結果から、腸管粘膜 T 細胞の抗原特異的免疫誘導に対する経鼻 SeV ベクターワクチンの有用性が確認された。［寺原和孝、石井 洋（エイズ研究センター)、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

ワクチン免疫によってどのように防御抗体（中和抗体）が産生されるか、その過程を詳細に解析する事はワクチン戦略の基盤知識になる。ワクチンによって誘起される抗体レパトアについて次世代シークエンサ（NGS）を用いて網羅的に解析する独自の技術を確立した。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。このシステムを用いてワクチン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重要な知見を得ている。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（インフルエンザウイルス研究センター)、板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター)］

６．Respiratory syncytial virus（RSV）感染症における免疫応答に関する研究

（１）ホルマリン固定 RSV(formalin-inactivated RSV: FI-RSV) ワクチン接種に伴う病態増悪 (vaccine enhanced-disease: VED)モデルの作製

現在 RSV ワクチンは存在しない。1969 年に臨床試験が行われたが、FI-RSV ワクチンを接種した乳幼児がその後 RSV に自然感染すると、かえって病態を悪化させた。それ以来安全かつ効果的なワクチンの開発には至っていない。そこで、この病態悪化機構を解明するために、FI-RSV VED マウスモデルの作製を試みた。FI-RSV をアラムと共に皮下投与することで免疫し、その後 RSV を感染させた。感染 4 日、8 日後に免疫学的解析を行ったところ、気道抵抗性(AHR)の亢進、2 型ヘルパーT(Th2)サイトカインである interleukin(IL)-4、IL-5、IL-13 産生の促進が認められた。またそれに伴う血中 IgE 濃度の上昇や好酸球浸潤の増大、粘液産生細胞増生といったアレルギー性気道炎症の症状がみられ、FI-RSV VED モデルの作製に成功したことが確認された。［柴田岳彦、阿戸 学］

（２）Growth arrest-specific gene 6(Gas6)/Axl シグナルの FI-RSV VED への関与

これまでに我々は、アポトーシス細胞の貪食や細胞増殖に関与する Gas6/Axl シグナルが、免疫応答の制御においても重要な役割を果たすことを示した。その新規役割の一つとして、Gas6/Axl シグナルは Th2 免疫応答を増強し、真菌誘導アレルギー性気道炎症を促進することを明らかにした。すなわち、Gas6/Axl シグナルが FI-RSV VED の誘導にも関与することが予想された。実際、FI-RSV VED モデルのマウス肺では未処理マウスと比較して高濃度の Gas6 が検出された。さらに、FI-RSV により免疫されたマウスからリンパ節細胞を調製し、RSV により再刺激したところ、多量の Gas6 が産生された。Gas6 は樹状細胞に RSV を感染させたとき、あるいは FI-RSV 処理でも同様に産生が誘導された。以上の結

果より、樹状細胞の Gas6/Axl シグナルが FI-RSV VED の誘導に関与する可能性が示唆された。
［柴田岳彦、阿戸 学］

（３）抗 Axl 抗体投与による FI-RSV VED への影響
Gas6/Axl シグナルが FI-RSV VED の誘導に関与するか検証するため、FI-RSV 免疫時に抗 Axl 抗体を投与し、そのシグナルを阻害したときの応答を解析した。結果、抗 Axl 抗体投与により FI-RSV VED モデルにおける AHR や Th2 サイトカイン産生の亢進、粘液細胞過形成が対照群と比較して有意に抑制された。一方、抗 Axl 抗体投与は、interferon-γ 産生を促進し、RSV fusion タンパク質特異的 IgG2a 産生を促進した。なお、FI-RSV 処理した樹状細胞は、Th0 細胞を Th1 細胞に分化させる IL-12 の産生を誘導しなかったが、抗 Axl 抗体処理した樹状細胞を FI-RSV で処理すると、IL-12 産生が誘導された。この結果は、抗 Axl 抗体投与による Th2 から Th1 免疫へのシフト機構を説明する一つとなる。以上の結果より、Gas6/Axl は RSV 感染に伴う免疫応答制御機構において非常に重要な役割を担い、それを標的としたさらなる研究は RSV ワクチンの開発へとつながることが期待される。
［柴田岳彦、阿戸 学］

II. 細菌感染症

１．抗酸菌感染症に関する研究

（１）非結核性抗酸菌に特異的な糖脂質 GPL の役割
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し、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。これまで GPL は環境中での生存に重要であると言われていたが、同様に感染の際は細胞へのアプローチに貢献し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（堺市衛生研究所、客員研究員)］

（２）菌体外構造物の電子顕微鏡による観察
電子顕微鏡を用いて抗酸菌 *M. smegmatis* の観察を行なったところ、菌体表面に繊維状の構造物が発現しているのが観察された。これらは栄養過多な培養条件において多数確認され、形態から pili と推察される。結核菌では細胞への接着に関与する pili の報告があるが、pili 様構造物は GPL 欠損株では見られなかったことから、sliding や細胞との相互作用に関与している可能性がある。 [岡部真裕子、川本晃大・難波啓一（大阪大学大学院生命機能研究科)、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、小林和夫（堺市衛生研究所、客員研究員)、阿戸 学]

（３）非結核性抗酸菌症罹患率調査
非結核性抗酸菌症の罹患率の増加が懸念されているが、2007 年の調査以後の正確な疫学情報は存在しない。そこで、疾病の蔓延状況を把握するために、日本呼吸器学会認定施設・関連施設(873 施設)に、2014 年 1 月から 3 月までの肺 NTM 症と結核症の新規 診断数を記入するアンケート調査を実施した。回収率は 62.3%で、同期間中の新登録結核の診断数は 2177 例で, 肺 NTM 症の診断数は 2556 例であった。同 期間の新登録結核年換算罹患率は 12.9 人/10 万人であり、肺 NTM 症の推定罹患率は 14.7 人/10 万人と予想され、2007 年の全国調査と比較して、大幅に増加した。肺 MAC 症が 88.8％と大多数を占め、その内訳は, 東日本では *M. avium* が 74.8％、*M. intracellulare* が 25.2%であるのに対し、西日本では *M. avium* が 56.7％、*M. intracellulare* が 43.3％であった。また、肺 *M. kansasii* 症の推定罹患率は 0.6 人/10 万人、肺 *M. abscessus* 症の推定罹患率は 0.5 人/10 万人と算出された。以上より、肺 NTM 症の推定罹患率は過去 7 年間で約 3 倍に増加していることが明らかとなった。
[阿戸 学、南宮 湖、長谷川直樹（慶應大学呼吸器内科)、倉島篤行、 森本耕三（複十字病院)、 星野仁彦（ハンセン病研究所)、御手洗聡（結核研究所)］

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
A群レンサ球菌（Group A *Streptococcus*: GAS）は、通常、上気道粘膜もしくは皮膚表面で局所感染を引き起こすが、劇症型溶血性レンサ球菌感染症では急激なショックと菌血症を伴う致死的全身感染となる。劇症型感染臨床分離株において遺伝子発現パターンに変化が認められる一方、発症には宿主要因の関与が示唆されている。しかし、劇症型溶血性レンサ球菌感染発症と病態に対する炎症メディエーターの関与は不明な点が多い。我々は劇症型レンサ球菌感染マウスモデルにおいて、宿主防御的に働く新規インターフェロンγ（IFN-γ）およびインターロイキン6（IL-6）産生未熟骨髄系細胞（Immature myeloid cells: IMCs）を発見した。さらに、IFN-γ欠損マウスおよびIL-6欠損マウスを用いた半致死感染モデルにおいて、野生型マウス由来のIMCsに類似した細胞群（IMC-like cells）を同定した。野生型IMCsを養子細胞移植したマウスにおいては劇症型感染に抵抗性を示したが、IFN-γ欠損IMC-like cellsあるいはIL-6欠損IMC-like cellsを養子細胞移植したマウスにおいては劇症型感染に抵抗性を示さなかった。したがって、IMCs由来のIFN-γおよびIL-6のいずれも劇症型溶血性レンサ球菌感染症における宿主防御において必須であり、重要な役割を担っている可能性が示唆された。[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）類鼻疽感作宿主における交代産生惹起能の解析
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、ワクチンは未開発である。ワクチン開発を目的として、淫浸地帯であるタイ東北部のボランティアより採取して人抹消結たん各級を移入した人化マウスを作成し、様々なワクチン候補抗原を摂取することによって、惹起される抗体産生応答の比較を行った。S の結果、用いたワ

クチン候補抗原により、抗体産生惹起能が異なることが明らかとなり、ワクチン候補抗原の選択に必要な免疫原性データを得ることができた。[高橋宜聖、安達悠、小野寺大志、阿戸 学、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）生体防御機構の要である抗体分子の抗原認識機構は、抗体産生 B 細胞の骨髄における初期分化の結果で獲得される。この過程で重要な働きを荷なう代替軽鎖・プレ B 細胞受容体について詳細に研究を進めている。B 細胞初期分化の結果で確立した 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アルゴリズムを確立した。このアルゴリズムのヒト抗体レパトア形成過程解析への応用を進めている。この研究は、抗体の抗原認識多様性を飛躍的に高める技術の基礎となり、感染症に対するワクチン開発の理論的枠組みの形成に寄与する。

[大西和夫、野口 保（東京薬科大学）、藤本浩文（品質管理保証室）、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）免疫記憶 B 細胞が、長期間にわたって体内で維持される分子機構を明らかにする事は、ワクチン効果最適化の技術につながる。我々がクローニングした 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 は、リンパ器官の微小環境に存在するストロマ細胞にも発現して記憶Ｂ細胞の長期維持に寄与するメカニズムを明らかにして論文発表した（PLoS One. 2015 Jan 22;10(1):e0117566）。この知見を応用することにより、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）]

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケグモ抗毒素の力価試験の開発

【背景】セアカゴケグモ咬傷は，咬傷部の疼痛が主な症状であるが、その後の疼痛増強や全身に多彩な症状が認められることがある。治療は、対症療法とウマ抗毒素の投与であるが、我が国では抗毒素が薬事承認されていないので、製造元であるオーストラリアCSL社から医師の個人輸入により、抗毒素の保管・投与が行われているのが実情である。しかし、国内への抗毒素輸入が必ずしも確実でないことから、国産抗毒素を製造し、その有効性を確認することになった。【目的】国内で採取されたセアカゴケグモより抽出された粗毒の性状確認を行い、国産抗毒素製造に必須な抗毒素の力価試験を確立することを目的とする。【方法】セアカゴケグモ毒素のタンパク含有量を測定し、毒素の主成分であるα-ラトロトキシンの割合と安定性についてSDS-PAGEとウエスタンブロッティング法で確認した。次に、常法に従い、種々の毒素量をマウスに投与して、10日間生死を観察してLD50を算出した。さらに、40μgの毒素と種々に希釈した抗毒素を混和して1時間静置し、マウスに静脈内投与して10日間生死を観察して抗毒素の力価を測定した。【結果】毒素の主成分であるα-ラトロトキシンはどのロットでも良好の保存されており、室温または４℃での長期間の保管にも安定であることが判明した。一般的な試験を準用して毒素のLD50を算定した所、平均9.16899μgであった。確立した力価試験に基づき有効期限が過ぎた抗毒素の力価を測定した所、両者とも有効期限を過ぎても表示力価を維持していることが確認された。【考察・結論】セアカゴケグモ抗毒素に対する力価試験を確立した。また、毒素は長期間安定して毒性を維持することが判明した。 [松村隆之、山本明彦（細菌第二部)、阿戸 学]

品質管理に関する業務

I.国家検定

平成 26 年 4 月から、乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥まむしウマ抗毒素の製剤担当室が細菌第二部第三室より、免疫部第二室に移管された。移管後、乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥まむしウマ抗毒素、各１ロットの書類審査を行った。[松村隆之、阿戸 学]

II.標準品交付

はぶ試験毒素（致死)、はぶ試験毒素（出血 I)、標準

はぶ抗毒素（抗致死、抗出血 I 及び抗出血 II）を配布した。[松村隆之、岡部真裕子、阿戸 学]

III.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台湾においても本診断法が有用であることが示された。［阿戸 学、周 如文（台湾行政院衛生署疾病管制局）、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、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。［高橋宜聖、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 20 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

新潟大学医学部（5 月 14 日）、慶応大学医学部（5 月 22 日）、大阪市立大学医学部（6 月 4 日）、知の市場：感染症総合管理 1b、9 月 30 日）、東京大学大学院農学研究科（11 月 7 日）、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(1 月 26 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、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 26 年度の使用実績は、913 回、2347 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) Shibata, T., Habiel, DM., Coelho, AL., Kunkel, SL., Lukacs, NW., Hogaboam, CM. 2014. Targeting Axl receptor blockade amseliorates pulmonary pathology resulting from primary viral infection and viral exacerbation of asthma J Immunol. 192, 3569-81.
2) 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: 4145-4160.
3) Hifumi T, Sakai A, Yamamoto A, Murakawa M, Ato M, Shibayama K, Ginnaga A, Kato H, Koido Y, Inoue J, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y. 2014. Clinical Characteristics of Yamakagashi (Rhabdophis tigrinus) Bites: a National Survey in Japan, 2000-2013. J Intensive Care. 2:19.
4) Kobayashi-Ishihara M, Takahashi H, Ohnishi K, Nishimura K, Terahara K, Ato M, Itamura S, Kageyama T, Tsunetsugu-Yokota Y. 2014 Jun. Broad Cross-Reactive Epitopes of the H5N1 Influenza Virus Identified by Murine Antibodies against the A/Vietnam/1194/2004 Hemagglutinin. PLoS One. 19;9(6):e99201. doi: 10.1371/journal.pone.0099201. eCollection.
5) Tsunetsugu-Yokota Y., Nishimura, K., Misawa, S., Kobayashi, M., Takahashi, H., Takayama, I., Ohnishi K., Itamura, S., Nguyen, H. L. K. Le, M. T. Q., Dang, G. T., Nguyen, L. T., Tashiro, M., Kageyama, T. 2014. Development of a sensitive novel diagnostic kit for the highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus. BMC Infect Dis., 14: 362.
6) Iwata-Yoshikawa, N., Uda, A., Suzuki, T., Tsunetsugu-Yokota Y., Sato, Y., Morikawa, S., Tashiro, M., Sata, T., Hasegawa, H., Nagata, N. 2014. Effects of Toll-like receptor stimulation on eosinophilic infiltration in lungs of BALB/c mice immunized with UV-inactivated severe acute respiratory syndrome-related coronavirus vaccine. J. Virol., 88: 8597-8614.
7) 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, Kuroda Y.2014. Effect of antivenom therapy of Rhabdophis tigrinus (Yamakagashi snake) bites. J Intensive Care. Jul 31;2(1):44.
8) Silva A, Hifumi T, Sakai A, Yamamoto A, Murakawa M, Ato M, Shibayama K, Ginnaga A, Kato H, Koido Y, Inoue J, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y. 2014. Rhabdophis tigrinus is not a pit viper but its bites result in venom-induced consumptive

coagulopathy similar to many viper bites. J Intensive Care. 2014 Jul 31;2(1):43.
9) Shibata, T., Habiel, DM., Coelho, AL., Kunkel SL., Lukacs NW., Hogaboam CM. 2014. Axl receptor blockade protects from invasive pulmonary Aspergillosis in mice. J Immunol. 193 3559-65
10) Matsuzaki Y., Sugawara K, Nakauchi M, Takahashi Y, Onodera T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matsumura T, Ato M, Kobayashi K, Shimotai Y, Mizuta K, Hongo S, Tashiro M, and Nobusawa E. 2014. Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1)pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutants. J Virol. 88(21):12364-73.
11) Shibata, T., Ismailoglu, UB., Kittan, NA., Moreira, AP., Coelho, AL., Chupp, GL., Kunkel, SL., Lukacs, NW., Hogaboam, CM. 2014. Role of Gas6 in the development of fungal allergic airway disease in mice. Am J Respir Cell Mol Biol 51, 615-25.
12) Tsunetsugu-Yokota Y , Nishimura K, Misawa S, Kobayashi-Ishihara M, Takahashi H, Takayama I, Ohnishi K, Itamura S, Hang LK Nguyen, Mai TQ Le, Giang T Dang, Long T Nguyen, Tashiro M and Kageyama T. 2014. Development of a sensitive novel diagnostic kit for the highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus. BMC Infect Dis. 2014 Jul 3;14:362. doi: 10.1186/1471-2334-14-362
13) Hifumi T, Fujimi S, Yamagishi T, Arai S, Sawabe K, Yamamoto A, Ato M, Shibayama K, Ginnaga A, Kiriu N, Kato H, Koido Y, Inoue J, Kishikawa M, Abe Y, Kawakita K, Hagiike M, Kuroda Y. 2014. Clinical characteristics of redback spider bites. J Intensive Care. 2014 Nov 2;2(1):62
14) Shibata, T., Hogaboam CM. 2014. Gas6'ing the innate immune response during experimental asthma. Ann Am Thorac Soc. 11 Suppl (5):S303-5.
15) Terahara K, Ishii, H., Nomura, T., Takahashi, N., Takeda, A., Shiino, T., Tsunetsugu-Yokota Y., Matano, T. 2014. Vaccine-induced CD107a+ CD4+ T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection. J. Virol., 88: 14232-14240.
16) Funakoshi, S., Shimizu, T., Numata, O., Ato, M., Melcher, F., Ohnishi, K. 2015. Cadherin-17 Contributes to the Survival of Memory B Cells. PLoS One.22;10(1):e0117566. doi: 10.1371/journal.pone.0117566. eCollection
17) Hifumi T, Taki H, Yamamoto A, Ato M, Koido Y, Kuroda Y 2014. Update of antivenom supply for redback spider bites in Japan. J Intensive Care. 2015 Feb 11;3(1):7.

2. 和文発表

1) 南宮 湖、 倉島篤行、森本耕三、星野仁彦、長谷川直樹、阿戸 学、御手洗 聡. 2014 本邦における肺非結核性抗酸菌症の疫学的実態に関する全国調査. 日本呼吸器学会誌 4:219.
2) 阿戸 学 2015. 重症・劇症型感染症の診断と治療 劇症型溶血性レンサ球菌感染症. 感染症 45(2) 77-83,73-76.
3) 安達 悠、高橋宜聖、阿戸 学 2014. インフルエンザワクチンの免疫原性と抗原エピトープ 感染炎症免疫 44: 22-31.
4) 小野寺大志. 2014. iNOS は抗体産生細胞の生存シグナルにおける主要な中間体である. 細胞工学、秀潤社、33(4): 430.
5) 小野寺大志. 2014. IL-35 産生 B 細胞は自己免疫疾患と感染症に対する免疫制御に必須な因子である. 細胞工学、秀潤社 33(5):537.
6) 小野寺大志. 2014 母体のレチノイン酸は胎児の 3 型自然リンパ球の分化を左右し免疫力を規定する. 細胞工学、秀潤社 33(6):654.
7) 小野寺大志. 2014. オートファジーはインフルエンザウイルス感染症に対する免疫記憶の維持に必須. 細胞工学、秀潤社 33(7):761.
8) 小野寺大志. 2014. 侵害受容性ニューロンは IL-23 介在性の乾癬性皮膚炎を促進する. 細胞工学、秀潤社 33(8): 867.
9) 小野寺大志. 2014. IL-1 と I 型 IFN のクロストークを利用したホスト指向性の結核の治療戦略. 細胞工学、秀潤社 33(9):971.
10) 小野寺大志. 2014. Bcl6 は解糖系の遺伝子発現プログラムを直接抑制する. 細胞工学、秀潤社 33 (11):1186
11) 小野寺大志. 2014. 樹状細胞は繊維芽細胞ネットワークの張力制御を介しリンパ節の膨張をコントロールしている. 細胞工学、秀潤社 33(12):1277
12) 小野寺大志. 2014. オートファジーはエフェクターCD8+T 細胞の生存と免疫記憶形成に必須である. 細胞工学、秀潤社 34(1):77、
13) 小野寺大志. 2014. ノロウイルスの B 細胞感染時には組織血液型抗原を有する腸内細菌が cofactor として働く. 細胞工学、秀潤社 34(2):178、.
14) 小野寺大志. 2014. iNOS は抗体産生細胞の生存シグナルにおける主要な中間体である。細胞工学、秀潤社 33(4):430.
15) 小野寺大志. 2014. 活性化 2 型自然リンパ球は褐色脂肪細胞の新生を制御する. 細胞工学、秀潤社. 34(3):294、

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会.

1) Ato M. 2014. Leukocytopenia following influenza vaccination. International Medical Sciences Conference : Translational Research from Molecular Basis to Health Care（Khon Kaen, Tailand, 7 月）
2) Ato, M. Matsumura, T., Ikebe, T., Ohnishi, M., Watanabe,H., Kobayashi, K. 2014. Severe invasive group A streptococcus kills human neutrophils in contact- and Streptolysin O-dependent manner. IUMS2014 (Montreal. カナダ、7 月)
3) Yamashita, Y., Tanaka, T., Oe, T., Kawakami, K., Oka, M., Matsumoto, S., Terahara K., Tsunetsugu-Yokota Y., Morimoto, K., Ariyoshi, K. 2014. Unique

cytokine profiles of CD4+T cell to Acr, HBHA and MDP-1 antigens in different clinical stage of mycobacterium tuberculosis infection. The ERS International Congress 2014（Munich、ドイツ、9 月）.

4) Takahashi, Y., Ato M., Adachi Y.: B cell pathways for protective memory responses against influenza virus infection. The 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity in Nara (奈良、日本、9 月)
5) Matano, T., Terahara K., Ishii, H., Nomura, T. 2014. Vaccine-induced CD107a+ CD4+ T-cells are resistant to killing following immunodeficiency virus infection. HIV Research for Prevention（Cape Town、南アフリカ、10 月）.
6) Yoshizawa, S., Ato, M., Ikebe, T., Fukui, Y., Tsubota, T., Honda, M., Ishii, Y., Tateda, K., 2014. Streptococcal Toxic Shock Syndrome due to Beta-hemolytic Streptococci : Clinical Features and Cytokines/ Chemokines Analysis of the Cases. IDSA 2014. (Philadelphia, 米国、10 月)

2. 国内学会

1) 高橋宜聖、大海雄介、伊勢渉、福山英哲、安達　悠、藤尾圭志、庄田宏文、山本一彦、阿戸　学、小林和夫、黒崎知博、古川鋼一　抗シトルリン化蛋白抗体の産生と炎症制御機能　第 58 回日本リウマチ学会総会•学術集会シンポジウム　（東京、4 月）
2) 松村隆之. 2014. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における未熟骨髄系細胞の役割. 第 15 回 Pharmaco-Hematology Symposium (名古屋、5 月).
3) Takahashi, Y., Ato M., Adachi, Y.: B cell pathways for protective memory responses against influenza virus infection. The 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity in Nara（奈良、9 月）
4) 高橋宜聖　ウイルス感染防御抗体と腸内細菌　日本食品免疫学会　第 10 回学術大会　シンポジウム　（東京、10 月）
5) 寺原和孝、石毛真行、池野翔太、小林（石原）美栄、岡田誠治、横田(恒次)恭子. 2014. R5・X4 HIV-1 混在感染ヒト化マウスの感染早期にみられる R5 ウイルス優位性とその要因の検討. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜、11 月）
6) 和田 倭、小林（石原）美栄、寺原和孝、池野翔太、徳永研三、立川（川名）愛、山岸誠、竹山春子、横田（恒次）恭子. 2014. 恒常的に培養維持された CD4 陽性 T 細胞への HIV-1 の感染とその転写制御機構の解明. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜、11 月）
7) Adachi Y, Inoue T, Kurosawa T, Ato M, Takahashi Y.: Persistent Local germinal centers select cross-reactive antibody into immunological memory following influenza virus infection. 第 43 回日本免疫学会（京都、12 月）
8) Adachi, T., Yoshikawa, S., Onodera, T., Takahashi, Y., Karasuyama, H.: In vivo imaging of calcium signaling in B cells of mice expressing the genetically encoded YC3.60 calcium indicator. 第 43 回日本免疫学会総会　（京都、12 月）
9) Funakoshi S, Shimizu T, Ohnishi K BILL-cadherin/cadherin-17 Contributes to the Long-term Maintenance of Memory B Cells by Regulating the Turnover Rate. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, 第 43 回日本免疫学会総会　（京都、12 月）
10) Ikeno, S., Terahara K., Tsunetsugu-Yokota Y. 2014. Induction of human cytokines in humanized mice improves myeloid cell development and antigen-specific antibody production. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会（京都、12 月）
11) Kono N, Sun Lin, Ohnishi K, Next Generation Sequencer Analysis of the Antibody Repertoire in Response to a Model Antigen Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, （京都、12 月）
12) Matsumura, T., and M. Ato. 2014. Immature myeloid cells are the major producers of IL-6 in severe invasive group A streptococcal infections. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会(京都、12 月)
13) Miyauchi, K., Sugimoto-Ishige, A., Takahashi, Y., Hasegawa, H., Takemori, T., Kubo, M.: Influenza A virus (IAV) vaccination effectively induces germinal center independent protective immunity. 第 43 回日本免疫学会総会（京都　12 月）
14) Onodera, T., Adachi, T., Tsubata, T., Kurosaki, T., Adachi, Y., Ato M., Takahashi, Y.: CD273+ memory B cells replenish bone marrow plasma cells in the steady state after influenza vaccination. 第 43 回日本免疫学会総会　（京都　12 月）
15) Sato K, Asanuma H, Ato M.: Evaluations of influenza vaccine immunogenicity using human cell lines. 第 43 回日本免疫学会（京都、12 月）第 43 回日本免疫学会（京都、12 月）
16) Shibata, T., Hogaboam, CM., Ato M. Role of Gas6/TAM signaling in the development and exacerbation of fungal allergic airway disease in mice. 2014. 第 43 回日本免疫学会学術集会 (京都、12 月)
17) SUN Lin, Kono N, Shimizu T, Ohnishi K. Statistical prediction of antigen-specific antibodies using next generation sequencer (NGS) and its confirmation by antibody protein expression Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, (京都、12 月)
18) 小野寺大志、安達貴弘、鍔田武志、黒崎知博、安達　悠、阿戸　学、高橋宜聖.2014. CD273+ memory B cells replenish bone marrow plasma cells in the steady state after influenza vaccination 第 43 回日本免疫学会学術集会（京都、12 月）
19) 佐藤佳代子、浅沼秀樹、高橋宜聖、阿戸　学、小田切孝人、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に対する TLR アゴニストの影響　第 18 回日本ワクチン

学会学術集会（福岡、12 月）

20) 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（独立行政法人医薬基盤研究所、大阪、 1 月）

21) 柴田岳彦. Gas6/TAM シグナリングによる免疫応答の制御. 2015. 第 24 回東京免疫フォーラム (東京、2 月)

22) Honda N, Sato N, Ato M, Matsumura, T, Yamazaki T, Sekizuka T, Kuroda M, Fujimoto H, Kato A, Ohara N. 2015. A single base insertion in 16S rRNA gene confers Streptomycin dependence in Mycobacterium bovis BCG. 第 88 回日本細菌学会総会 （岐阜、3 月）

23) 趙 娜、中山真彰、関塚剛史、黒田 誠、本田尚子, 阿戸 学、中島千絵、鈴木定彦、大原直也. 2015. 抗酸菌におけるパラアミノサリチル酸に対する新たな耐性機序の可能性. 第 88 回日本細菌学会総会 （岐阜、3 月）

知的財産権の出願・登録状況

なし

９．真菌部

部長　宮﨑 義継

概 要

真菌部は平成25年度に組織規則に定められた比較的新しい研究部であり、真菌感染症に関する調査研究を主な任務としている。病原真菌の病原因子や宿主免疫制御機構の解明、ならびに、感染症制御薬やワクチン等の基盤強化と応用を目標として調査研究を推進している。

侵襲性真菌症のうち、わが国で頻度の高い三大疾病は、カンジダ症、アスペルギルス症、ならびにクリプトコックス症である。このうちクリプトコックス症については、普通の生活を営む健常者に発症し重篤化する疾病であることや、新興感染症である*Cryptococcus gattii*感染症の国内発生報告があったこと等から日本感染症学会と日本医真菌学会からの要望があり、平成26年9月に播種性クリプトコックス症が五類全数把握疾患に規定された。真菌感染症の公衆衛生学的重要性が増す中で、真菌部では真菌症の制圧を目標として以下の様な調査研究を実施した。

平成26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

真菌部各室が実施した主な業務は、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。病原体としては、深在性真菌症の原因として最多のカンジダ属を対象とし、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、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属などに関しては、病原因子探索に基づく診断・治療への応用に関する研究を行った。

第2室は、宿主および病原微生物の細胞内シグナル伝達系の解明とそれを応用した疾病制御に関する研究、真菌多糖の構造解析に基づく病原性の解析、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、検査業務のうち後発医薬品の収去検査を第4室と共同で実施した。

第3室は、クリプトコックス属や肺炎球菌等を対象として宿主因子や免疫機構の解明と、そ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。

第4室は、放線菌や真菌の二次代謝産物等の探索、およびその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。

全ての室が連携して、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、真菌検査の標準手順書作成等に対応した。

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等を実施した。

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) 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、高病原性株はサイトカイン産生をほとんど誘導しなかった。さらに、高病原性株および通常株から細胞表層成分を精製し、その構造とサイトカイン産生誘導能との関係を明らかにした。

［浦井　誠、金城雄樹、上野圭吾、大野秀明（埼玉医大）、宮﨑義継］

2. アスペルギルス症に関する研究

(1) *Aspergillus fumigatus* Y1、B11 蛋白質の検出系の構築

前年度までに、大腸菌で合成した標準蛋白質で数十 pg/ml 程度の感度のサンドイッチ ELISA 系を構築したが、ヒト血清の影響によりバックグランドの上昇、感度の低下がみられ、それらは用いる緩衝液、ブロッキング試薬の種類、抗体の濃度等の条件検討では解決できなかった。そこで、根本的に系の再構築を行った。ヒト血清存在下において、YI 蛋白質の抗体 4 種類、B11a 蛋白質の抗体 6 種類、B11a 蛋白質の抗体 9 種類を用い、すべての組み合わせでサンドイッチ ELISA の再検討をした。いずれの組み合わせでも血清の影響を受け ng/ml オーダーの感度であり診断薬への応用は難しいと判断した。今後、ヒト血清の影響の少ない新たな抗体の取得が必要と考えられた。

［山越　智、橋本ゆき、梅山　隆、田辺公一、名木　稔、大野秀明（埼玉医大）、宮﨑義継］

(2) *Aspergillus fumigatus* Y69 蛋白質の検出系の構築

分泌蛋白質 Y69 のサンドイッチ ELISA 系の構築を行った。大腸菌で作成した組換え体蛋白質を用いてマウスに免疫し、3 種類のハイブリドーマを樹立した。そのうち 1 つは IgM 産生株であり、低抗体価であったため残りの 2 株から産生される抗体を用いてサンドイッチ ELISA 系を構築した。大腸菌で合成した標準蛋白質を用いて数十 pg/ml 程度の感度を得たが、ヒト血清存在下では感度が低下した。今後、ヒト血清の影響の少ない新たな抗体の取得が必要と考えられた。

［山越　智、橋本ゆき、薛漢兵（免疫部）、大西和夫（免疫部）、梅山　隆、田辺公一、名木　稔、大野秀明（埼玉医大）、宮﨑義継］

(3) *A. fumigatus* の増殖制御とバイオフィルムの研究

一次配列からプロテインキナーゼと予測された *Aspergillus fumigatus* の *AUK4* が菌糸生育やバイオフィルム形成に及ぼす影響を検討した。ハイグロマイシン耐性マーカーを含むカセット DNA を *A. fumigatus* AfS35 株に形質転換し、*AUK4* 遺伝子破壊株を作製した。さらに、遺伝子を戻し、相補株を作製した。これらの株を用いて、生育および分生子形成の観察を行った。遺伝子破壊株のコロニーの生育速度は親株と比べて約 75%に低下し、分生子形成効率は大幅に低下した。親株では血清添加によってバイオフィルム形成量が増加するが、破壊株ではその増加は観察できなかったことから、*AUK4* がバイオフィルム形成に関与することが示唆された。

［犬飼達也、梅山　隆、山越　智、田辺公一、名木　稔、大野秀明（埼玉医大）、宮﨑義継］

(4) アゾール耐性 *Aspergillus* 属のゲノム解析

近年、アスペルギルス症の治療薬として重要な位置を占めているアゾール系抗真菌薬に低感受性を示す菌種や臨床分離株が問題となっている。真菌部において保有しているアゾール耐性 *A. fumigatus* 1 株、*A. fumigatus* 近縁種である

A. lentulus 2 株、*A. viridinutans* 1 株の合計 4 株について、ゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行った。その結果、*Aspergillus* 属のアゾール耐性の原因となっている、アゾール薬標的の CYP51A には変異を確認できず、それ以外の遺伝子変異が耐性に寄与することが示唆された。

［梅山　隆、石川　淳、壇辻百合香、中山靖子、山越　智、田辺公一、名木　稔、大野秀明（埼玉医大）、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。今年度分与いただいた 96 株中 57 株（59.4%）が *C. albicans* であり、前年度より分離される頻度の低下が認められた。また、キャンディン系抗真菌薬に低感受性である *C. parapsilosis* の分離頻度が前年度 0.63%から 8.3%に増加していた。この結果は、キャンディン系抗真菌薬が第一選択薬になりつつある臨床背景によって、相対的に *C. parapsilosis* の分離頻度が増加した可能性を示唆している。

［田辺公一、中山靖子、名木　稔、山越　智、梅山　隆、大野秀明（埼玉医大）、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。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。一方、*TIR3* 遺伝子破壊株に *DAN1* 遺伝子を発現させてもステロール取り込み活性は回復しなかった。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* との間で類似性はあるが異なる機能を有することが示唆された。

［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（埼玉医大）、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。キャンディン耐性 *C. glabrata* の *FKS* 遺伝子を感性の実験室株に導入し、キャンディン感受性に及ぼす影響を調べた。国内で分離されたキャンディン耐性 *C. glabrata* 株由来の *FKS1* 遺伝子を導入した株は感性から耐性に変化したことから、*FKS1* 遺伝子上の変異が耐性化を引き起こしたと考えられた。

［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（埼玉医大）、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。また、鉄欠乏条件でも *ATG32* の発現量が増加することがわかった。ミトコンドリア局在型 DHFR-GFP の大量発現株を作製し、western blotting によってミトコンドリアの分解活性を測定する実験系を確立した。この実験系を用い、鉄欠乏条件ではマイトファジーが活性化すること、*ATG32* が *C. glabrata* の鉄欠乏条件におけるマイトファジーに必須であることを明らかにした。また、マウス動物実験を行った結果、*ATG32* 破壊株では野生株と比較し、腎臓と脾臓における生菌数が著明に低下することがわかった。以上の結果から、*C. glabrata* のマイトファジーは感染臓器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 (埼玉医大)、宮﨑義継］

4. 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

平成 23 年 3 月 31 日から平成 27 年 2 月 17 日までに合計 103 例の症例を集積し、試験終了となった。これまでに得られたデータを用いて集計・解析を行っている。

［浦井　誠、金城雄樹、田辺公一、梅山　隆、山越　智、吉田　功 (四国がんセンター)、大野秀明 (埼玉医大)、宮﨑義継］

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. 樹状細胞ワクチンを使った *Cryptocccous gattii* に対する免疫応答の解析

北米流行型の *Cryptocccous gattii* は感染時に目立った免疫応答を誘導しないため、菌体排除に必要な免疫応答に関する手掛かりが得られにくい。これまでに、感染制御に有効な樹状細胞 (DC) ワクチンを開発し、免疫応答の解析に有用であることを示したが、DC ワクチンで活性化される免疫応答については不明であった。今回、ワクチン投与群と非投与群の免疫応答を比較したところ、DC ワクチン投与群では対照群に比べて、IFNγ、IL-17A、TNFα 産生性 T 細胞が有意に増加し、感染 14 日目の肺でもこれらのサイトカインは有意に増加していた。病理解析の結果、DC ワクチン投与群の肺では、成熟した多核巨細胞が菌体を取り囲むように多数集積していることも明らかになった。DC ワクチンが誘導する IFNγ 応答が感染制御効果に与える影響を評価するために、IFNγ 欠損マウスに DC ワクチンを投与し感染実験を行った。その結果、野生型マウスに比べると IFNγ 欠損マウスでは DC ワクチンの効果が部分的に減弱するものの、DC ワクチンによる肺内菌数の減少が観察され、IFNγ 欠損マウスにおいても DC ワクチンの効果は消失しなかった。これらの結果から、DC ワクチンは Th1/Th17 応答を増強し、*C. gattii* 感染後の肉芽腫形成を誘導することで、菌体増殖を抑制するものと考えられた。

［上野圭吾、金城雄樹、浦井　誠、清水公徳 (東京理科大基礎工学部)、大久保陽一郎・澁谷和俊 (東邦大学 医学部)、宮﨑義継］

2. 感染免疫における LMIR3 の役割

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。この受容体は、(1) 好中球の細胞表面に発現する、(2) 各種病原体または TLR リガンドで好中球が刺激されると発現量が有意に増加する、上記 2 点はこれまでの解析で明らかにしたところであるが、発現調節に関わる因子は未同定のままであった。今回、TLR4 欠損マウスや MyD88 欠損マウス由来の好中球を使用して、緑膿菌や LPS による LMIR3 の発現誘導を検証したところ、野生型マウスに比べて LMIR3 の発現上昇は有意に抑制された。この発現増加はポリミキシン B や NFκB 阻害剤の共存下でも同様に抑制されることから、好中球における LMIR3 の発現制御に TLR4-MyD88-NFκB 経路が関与していることが明らかになった。現在、この発現調節機構が好中球の機能に与える影響を解析している。

［上野圭吾、金城雄樹、北浦次郎・伊沢久未 (順天堂大学大学院医学研究科)、宮﨑義継］

3. 糖脂質アジュバントを用いた新規ワクチンの感染防御効果解析

肺炎球菌は日本人の死因第三位である肺炎の起炎菌として頻度が高く、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ている。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、血中に抗原特異的 IgG 抗体価の上昇を認め、感染防御効果をもたらすことを明らかにした。今回、本ワクチン免疫マウスの血漿を無処置マウスに移入し、肺炎球菌を感染させたところ、免疫血漿移入マウスは全例生存し、対照群と比較して生存率が有意に高いことが明らかになり、抗体による感染防御効果が示された。また、免疫血漿中の IgG 抗体が複数の肺炎球菌株に結合することが示された。以上の結果より、糖脂質アジュバント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、水口裕紀、井澤由衣奈、仲原真貴子、北野尚樹、上野圭吾、浦井　誠、小野寺大志、高橋宜聖（免疫部）、朴　貞玉・明田幸宏 (大阪大学微生物病研究所)、川上和義 (東北大学大学院医学系研究科)、大石和徳 (感染症疫学センター)、宮﨑義継］

4.　呼吸器感染症の防御における C 型レクチン受容体の役割の解析

Dectin-2 は C 型レクチン受容体の 1 種であり、一部の真菌や細菌の糖鎖を認識することが報告されている。本研究では、肺炎球菌多糖抗原の認識及び肺炎球菌感染防御における Dectin-2 の役割を解析している。Dectin-2 欠損マウスの樹状細胞では、肺炎球菌培養上清刺激における IL-12p40 産生の障害を認めた。また、そのサイトカイン産生誘導成分は ConA-sepharose 結合物質であることが明らかとなり、肺炎球菌の多糖成分の認識に Dectin-2 が重要な役割を担うことが示唆された。さらに、Dectin-2 欠損マウスでは、肺炎球菌感染後の生存率及び菌体排除の低下を認めた。その結果、肺炎球菌の多糖成分の認識及び感染防御における Dectin-2 の重要性が示唆された。

［金城雄樹、宮﨑義継、川上和義 (東北大学大学院医学系研究科)］

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三位である肺炎の主な起炎菌であり、肺炎球菌による肺炎や侵襲性感染症の病態を明らかにするうえで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。侵襲性肺炎球菌感染症症例から分離した 153 株の PspA 蛋白の clade を決定した。小児用肺炎球菌ワクチンの定期接種により、成人においても血清型置換が明らかになっている。血清型置換に伴い、PspA 蛋白の clade も変化していることを示唆する結果を得た。今後さらに菌株の解析を継続して、clade の変化について明らかにしたい。

［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)］

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 5 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) 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/)を Pfam 27.0 に対応させた。また、年度内に国内外から 13,327 回の利用があった。

［石川　淳］

(3) キャンディン系抗真菌化合物の生合成遺伝子

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ために、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発現させ *in vitro* で酵素反応を行った結果、それらのうち一つの酵素は、プロリンを水酸化し、キャンディン系抗真菌化合物の構成アミノ酸であるヒドロキシプロリンに変換することが明らかになり、破壊株の解析と併せて、この酵素がキャンディン系抗真菌化合物の生産に関与していることを明らかにした。

［星野泰隆、荒井裕太郎、石川　淳］

(4) 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。また、病原性放線菌ノカルジアのゲノム情報から、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の存在が明らかになっている。そこで、シデロフォアの生産を予測し、解析を行った。その結果、*N. asteroids*、*N. brasiliensis* および *N. cyriacigeorgica* にシデロフォアの生産を確認し、単離・精製・構造決定を行った。

［星野泰隆、大槻　崇（国立医薬品食品衛生研究所）、石川　淳］

(5) 糸状菌におけるランダム変異導入系の確立

糸状菌の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のツールとして、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。ベクターの大きさの縮小と、変異導入箇所を複数の方法で解析可能になるように改良した。実際に、いくつかの得られた変異株の解析を行い、変異導入箇所を特定した。

［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活性評価

文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動において、プロテインキナーゼ阻害の検定 (II)を担当した。前年度に引き続き、NRK 細胞を PDGF で刺激し、活性化される PDGF レセプターチロシンキナーゼおよび主要な細胞内シグナル伝達経路に対する阻害効果をウエスタンブロットにより検出する系 (アッセイ系 1)、HEK293T 細胞に 4 種のチロシンキナーゼ (ALK、IGF-1R、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、支援班より依頼されたサンプルの化合物評価を行った。今年度依頼された 165 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 32 サンプルあったが、活性はそれほど強くなく、二次評価の必要はないと判断した。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およびプロトンポンプ阻害剤をフルコナゾールと併用した際に、フルコナゾールの作用を弱めることを明らかにし、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って、薬剤排出ポンプとの関連性を明らかにした。さらに複数の *C. albicans* 株で同様の傾向を認めた。

［浦井　誠、深澤秀輔、梅山　隆、田辺公一、大野秀明（埼玉医大）、宮崎義継］

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、真菌症に関する相談業務などを行った。平成 26 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 61 件 (菌株 40 株、臨床検体 77 検体)、ならびに行政検査 3 件 (菌株 3 株）の対応にあたった。これらの検査の結果、感染症法 4 類疾患の対象となるコクシジオイデス症の病原体 *Coccidioides immitis* を検出したのは 1 件、本年度 9 月から新たに感染症法の対象となった播種性クリプトコックス症の病原体 *Cryptococcus neoformans* を検出したのは 8 件 (9 月以降)であった。

［梅山　隆、中山靖子、壇辻百合香、田辺公一、山越　智、名木　稔、星野泰隆、上野圭吾、浦井　誠、金城雄樹、大野秀明（埼玉医大）、宮崎義継］

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 20 ロッ

ト (注射用セファゾリンナトリウム 17 ロット、リファンピシンカプセル 3 ロット)について力価試験を担当し、日局各条収載の液体クロマトグラフィー法に準拠した定量法により行った。いずれの収去品も含有量は規格範囲内にあり、すべて「適合」と判定された。

［深澤秀輔、石川淳、星野泰隆、山越智、浦井誠、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ならびにチェンマイ大学とヒストプラスマ症やクリプトコックス症の診断法と疫学調査に関する技術協力を実施した。

［田辺公一、名木　稔、大野秀明（埼玉医大）、宮﨑義継］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1） Ikeda I, Ohno T, Ohno H, Miyazaki Y, Nishimoto K, Fukushima S, Makino T, Ihn H. A case of *Fusarium paronychia* successfully treated with occlusive dressing of antifungal cream. J Dermatol. 41(4):340-2, 2014.

2） Aoyama T, Nakayama H, Ueno K, Inukai T, Tanabe K, Nagi M, Bard M, Chibana H. A genome-wide survey of transcriptional initiation in the pathogenic fungus, *Candida glabrata*. Genes Cells. 19(6):478-503, 2014.

3） Awakawa T, Zhang L, Wakimoto T, Hoshino S, Mori T, Ito T, Ishikawa J, Tanner M, Abe I. A methyltransferase initiates terpene cyclization in teleocidin B biosynthesis. J. Am. Chem. Soc.. 136:9910-9913, 2014.

4） Saraya T, Tanabe K, Araki K, Yonetani S, Makino H, Watanabe T, Tsujimoto N, Takata S, Kurai D, Ishii H, Miyazaki Y, Takizawa H, Goto H. Breakthrough invasive *Candida glabrata* in patients on micafungin: a novel *FKS* gene conversion correlated with sequential elevation of MIC. Journal of Clinical Microbiology. 52(7):2709-2712, 2014.

5） Shimizu K, Sato Y, Shinga J, Watanabe T, Endo T, Asakura M, Yamasaki S, Kawahara K, Kinjo Y, Kitamura H, Watarai H, Ishii Y, Tsuji M, Taniguchi M, Ohara O, Fujii S. KLRG+ invariant natural killer T cells are long-lived effectors. Proc Natl Acad Sci USA. 111(34):12474-9, 2014.

6） Kitagawa W, Hata M, Sekizuka T, Kuroda M, Ishikawa J. Draft genome sequence of *Rhodococcus erythropolis* JCM 6824, an aurachin RE antibiotic producer. Genome Announc. 2:e01026-14, 2014.

7） Urai M, Kaneko Y, Niki M, Inoue M, Tanabe K, Umeyama T, Fukazawa H, Ohno H, Miyazaki Y. Potent drugs that attenuate anti-*Candida albicans* activity of fluconazole and their possible mechanisms of action. J Infect Chemother. 20(10):612-615, 2014.

8） Inukai T, Nagi M, Morita A, Tanabe K, Aoyama T, Miyazaki Y, Bard M, Nakayama H. The mannoprotein TIR3 (CAGL0C03872g) is required for sterol uptake in *Candida glabrata*.. Biochm Biophys Acta. 1851(2):141-51, 2015.

9） Hamamoto H, Urai M, Ishii K, Yasukawa J, Paudel A, Murai M, Kaji T, Kuranaga T, Hamase K, Katsu T, Su J, Adachi T, Uchida R, Tomoda H, Yamada M, Souma M, Kurihara H, Inoue M, and Sekimizu K. Lysocin E is a new antibiotic that targets menaquinone in the bacterial membrane. Nature Chemical Biology. 11(2): 127-133, 2015.

10） Noike M, Matsui T, Ooya K, Sasaki I, Ohtaki S, Hamano Y, Maruyama C, Ishikawa J, Satoh Y, Ito H, Morita H, Dairi T. A peptide ligase and the ribosome cooperate to synthesize the peptide pheganomycin. Nature Chemical Biology. 11:71-76, 2015.

11） Kimura M, Maenishi O, Enoki E, Chikugo T, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y. *Aspergillus* fungal ball in central cavity of a pulmonary cryptococcal nodal lesion. Pathol Int. doi: 10.1111/pin.12266, 2015.

12） Kohno S, Kakeya H, Izumikawa K, Miyazaki T,

Yamamoto Y, Yanagihara K, Mitsutake K, Miyazaki Y, Maesaki S, Yasuoka A, Tashiro T, Mine M, Uetani M, Ashizawa K. Clinical features of pulmonary cryptococcosis in non-HIV patients in Japan. J Infect Chemother. 21:23-30., 2015.

2. 和文発表

1) 宮崎義継. 特集 感染症動向 2015 播種性クリプトコックス症. メディカル朝日. 1: 16-17, 2015 年,

2) 栗栖 太, 金谷 築, 浦井 誠, 春日 郁朗, 古米 弘明. 微生物再増殖に利用される下水再生水中有機物の Orbitrap 型質量分析計を用いた評価. 土木学会論文集 G(環境). 70(7): 185-192, 2014 年.

3) 金城雄樹. 自然リンパ球 iNKT 細胞. 医学のあゆみ. 251(6):486-489, 2014 年.

4) 樽本憲人、金城雄樹、北野尚樹、渋谷和俊、前﨑繁文、宮崎義継. 全身性カンジダ感染増悪における iNKT 細胞の関与. Med Mycol J. 55J:J115-J122, 2014.

5) 河原隆二、青柳哲史、高橋弘毅、武田博明、田邊嘉也、笠原 敬、西順一郎、藤田次郎、丸山貴也、山崎一美、横山彰仁、渡邊浩、牧野友彦、高橋琢理、大日康史、松井珠乃、砂川富正、石岡大成、奥野英雄、佐藤 弘、新井 智、木村博一、多屋馨子、大石和徳、常 彬、大西 真、金城雄樹. 2013 年度の侵襲性肺炎球菌感染症の患者発生動向と成人患者由来の原因菌の血清型分布―成人における血清型置換(serotype replacement)について―、IASR. 35:179-181, 2014.

6) 金城雄樹. インバリアント NKT 細胞による糖脂質抗原認識と細菌感染防御の関連. Surgery Frontier 21(3):46-51, 2014.

7) 宮崎義継, 金子幸弘, 樽本憲人. V. 感染症検査・真菌. パーフェクトガイド検査値事典[第２版]. 477-481, 2014 年.

8) 梅山 隆, 宮崎義継. 侵襲性カンジダ症の診断～血清診断～遺伝子診断. .侵襲性カンジダ症. 115-117, 2014 年.

9) 金子幸弘, 浦井 誠, 宮崎義継. III 診断・治療法から見た大切な真菌症、4 治療薬の選択と投与. 目で見る真菌と真菌症. 192-202, 2014 年,

10) 大野秀明, 金子幸弘, 田辺公一. *Cryptococcus neoformans* 感染の各種病態：免疫不全において. 感染症内科. 2(6):567-574, 2014 年.

11) 梅山 隆, 大野秀明, 宮崎義継. 真菌症−よく目にする真菌症から今後注意すべき真菌症まで−Aspergillus: 病態と抗原価の関連. 感染症内科. 2(6):575-580, 2014 年.

12) 河野 茂, 亀井克彦, 二木芳人, 宮崎義継. 座談会：深在性真菌症の診断・治療ガイドラインを読み解く. 呼吸. 33(5):435-43, 2014 年.

13) J.フレーザー. 新興真菌症の恐怖. 大野秀明監修. 千葉啓恵訳. 日経サイエンス. 44(5):68-77, 2014 年.

14) 大野秀明, 宮崎義継. 日本にも現れたクリプトコックス・ガッティ. 日経サイエンス. 44(5):76, 2014 年.

15) 田辺公一, 宮崎義継. 耐性病原体 up-to-date～耐性メカニズムから治療戦略まで～、I 抗微生物薬に対する耐性メカニズム、2 抗真菌薬耐性. 化学療法の領域. 30(S-1):20-5, 2014 年.

16) 宮崎義継, 砂川富正, 大石和徳. ミニ特集：病原体サーベイランス体制とその利用、国立感染症研究所の立場から. 小児科. 55(4):403-6, 2014 年.

17) 宮崎 義継、金子幸弘、名木 稔、梅山 隆、山越 智、田辺 公一. *Candida* 属. 感染症道場. 4(1):23-6, 2015 年.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Awakawa T, Mori T, Zhang L, Wakimoto T, Hoshino S, Ito T, Ishikawa J, Tanner ME, Abe I. A methyltransferase initiates terpene cyclization in teleocidin B biosynthesis. Natural Product Discovery and Development in the Post Genomic Era. January11-14, 2015, San Diego, United States.

2) Hoshino Y, Ishikawa J. Investigation of siderophore biosynthesis genes in *Nocardia*. 17th International

Symposium on the Biology of Actinomycetes. October8-12, 2014, Kusadasi, Turkey.

3） Ishikawa J, Hoshino Y. 2ndFind: a web-based support tool to find secondary metabolite biosynthetic gene cluster. 17th International Symposium on the Biology of Actinomycetes. October8-12, 2014, Kusadasi, Turkey.

2. 国内学会

1） 宮﨑義継. 真菌感染症について：薬剤耐性真菌. 第 3 回日本微生物学連盟市民公開フォーラム＜薬が効かない感染症の話-薬剤耐性感染症の現状とその対策＞. 4 月 26 日, 2014 年.

2） 金城雄樹. ヒト感染症の動物実験モデル　マウスモデルを用いた真菌感染増悪機構の解析～遺伝子改変マウスを含む解析～(シンポジウム). 第 61 回日本実験動物学会. 5 月 15-17 日, 2014 年, 札幌.

3） 福山まり, 深澤秀輔. 化学療法基盤支援活動におけるプロテインキナーゼ阻害活性の評価(II) - 細胞を使ったキナーゼ阻害活性評価. 文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動第 3 回シンポジウム「アカデミアからの抗がん剤創薬へ向けて～天然物の有効利用」. 5 月 12 日, 2014 年, 名護.

4） 梅山　隆, 大野秀明, 田辺公一, 山越　智, 名木稔, 宮﨑義継. 症例から学ぶ感染症セミナームーコル症の真菌同定検査. 第 88 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合同学会. 6 月 18 日-20 日, 2014 年, 福岡.

5） 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 7 回公開シンポジウム. 6 月 21-22 日, 2014 年, 東京.

6） 新倉春香, 丸山千登勢, 関塚剛史, 黒田 誠, 石川淳, 濱野吉十. 抗生物質 BD-12 生合成遺伝子の機能解析. .2014 年, つくば市.

7） 友常久実子, 春日 和, 小林正之, 志村洋一郎, 石川淳, 池田治生, 小嶋郁夫. *Streptomyces thermocarboxydus* C42 のセルラーゼ遺伝子群の発現解析と発現タンパク質によるセルロース分解. 2014 年, つくば市.

8） 石川 淳, 星野泰隆. 2ndFind：二次代謝産物生合成遺伝子クラスター発見ウェブツール. 2014 年度（第 29 回）日本放線菌学会大会. 6 月 19 日-20 日, 2014 年, つくば市.

9） 星野泰隆, 石川 淳. *Nocardia cyriacigeorgica* の生産するシデロフォア. 2014 年度（第 29 回）日本放線菌学会大会. 6 月 19 日-20 日, 2014 年, つくば市.

10） 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. 病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* の Polo-like キナーゼ遺伝子破壊株の菌糸成長・分生子形成・抗真菌薬感受性への影響. 第 88 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合同学会. 6 月 18 日-20 日, 2014 年, 福岡.

11） 金城雄樹, 金子幸弘, 梅山 隆, 川上和義, 大石和徳, 宮崎義継. マウスモデルでの肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチンの感染防御効果の解析. 第 88 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合同学会. 6 月 18 日-20 日, 2014 年, 福岡.

12） 浦井 誠, 金子幸弘, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明, 杉田 隆, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* 由来莢膜多糖の免疫細胞に及ぼす影響. 第 88 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合同学会. 6 月 18-20 日, 2014 年, 福岡.

13） 田辺公一, 大野秀明, 名木 稔, 浦井 誠, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 知花博治, 亀井克彦, 宮﨑義継. カンジダ属の抗真菌薬感受性の変貌. 第 88 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合同学会. 6 月 18-20 日, 2014 年, 福岡.

14） 浦井 誠, 金子幸弘, , 稲垣浩司, 狩谷哲芳, 政本大二郎, 水谷 真, 名木 稔, 上野圭吾, 山越 智, 田辺公一, 梅山 隆, 大川原明子, 金城雄樹, 大野秀明, 宮﨑義継. 腹膜透析中に発症した *Cryptococcus*

laurentii による腹膜炎の一例. 第35回関東医真菌懇話会. 6 月 7 日, 2014 年, 東京.

15) 田辺公一, 大野秀明, 名木 稔, 浦井 誠, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 荒木光二, 皿谷 健, 宮﨑義継. ミカファンギン耐性 *Candida glabrata* 株の in vitro 性状解析. 第35回関東医真菌懇話会. 6 月 7 日, 2014 年, 東京.

16) 田辺公一, 大野秀明, 名木 稔, 浦井 誠, 金子幸弘, 梅山 隆, 山越 智, 宮﨑義継. カンジダ属の抗真菌薬耐性. 第 35 回関東医真菌懇話会. 6 月 7 日, 2014 年, 東京.

17) 金城雄樹. 「生体防御の基礎研究と臨床との接点」カンジダ感染症における NKT 細胞の関与 (シンポジウム). 第 25 回日本生体防御学会学術総会. 7 月 9-11 日, 2014 年, 仙台.

18) 水口裕紀, 井澤由衣奈, 北野尚樹, 上野圭吾, 浦井誠, 金子幸弘, 朴 貞玉, 明田幸宏, 川上和義, 竹山春子, 川原一芳, 大石和徳, 金城雄樹. NKT 細胞の活性化を介する肺炎球菌ワクチンの感染防御効果解析. 第25回日本生体防御学会学術総会. 7 月 9-11 日, 2014 年, 仙台.

19) 上野 圭吾, 大久保陽一郎, 清水公徳, 金子幸弘, 浦井 誠, 水口裕紀, 奈良拓也, 川本 進, 大野秀明, 澁谷和俊, 宮﨑義継, 金城雄樹. 高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチンの効果. 第25回日本生体防御学会学術総会. 7 月 9-11 日, 2014 年, 仙台.

20) 新倉春香, 丸山千登勢, 石川 淳, 濱野吉十. 抗生物質 BD-12 生合成遺伝子の機能解析. 第66回日本生物工学会大会. 9 月 9-11 日, 2014 年, 札幌.

21) 多田明子, 山本剛伸, 藤本亘, 河口 豊, 浦井 誠, 梅山 隆, 宮崎義継. 黒色菌糸症の 1 例. 第263回日本皮膚科学会岡山地方会. 9 月 21 日, 2014 年, 岡山.

22) 田辺公一, 宮崎義継. カンジダ症における薬剤耐性 (シンポジウム). 第 97 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 30-31 日, 2014 年, 東京.

23) 名木 稔, 田辺公一, 石野敬子, 梅山 隆, 山越 智, 大野秀明, 宮﨑義継. 真菌の薬剤耐性の現状と課題 (シンポジウム). 第 63 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 10 月 29-31 日, 2014 年, 東京.

24) 森 貴裕, 淡川孝義, 張驪騑, 星野翔太郎, 脇本敏幸, 森田洋行, 伊藤卓也, 石川 淳, 阿部郁朗. Teleocidin 類の生合成機構の解明. 第 56 回天然有機化合物討論会. 10 月 15-17 日, 2014 年, 高知.

25) 野池基義, 松井 崇, 雄谷洸一, 佐々木郁雄, 丸山千登勢, 濱野吉十, 石川 淳, 佐藤康治, 伊藤 肇, 森田洋行, 大利 徹. リボソームと新規ペプチドライゲースによる協同的ペプチド生成機構. 第 56 回天然有機化合物討論会. 10 月 15-17 日, 2014 年, 高知.

26) 本川奈々, 福田雄一, 今村圭文, 宮崎泰可, 泉川公一, 大野秀明, 柳原克紀, 宮﨑義継, 早田 宏, 田代隆良, 河野 茂. 肺アスペルギローマとの鑑別が困難であった *Pseudallescheria boydii* による肺菌球症の 1 例. 第 62 回日本化学療法学会西日本支部総会・第 57 回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第 84 回日本感染症学会西日本地方会学術集会合同開催. 10 月 23 日-25 日, 2014 年, 岡山.

27) 水口裕紀, 上野圭吾, 金子幸弘, 朴 貞玉, 明田幸宏, 川原一芳, 大石和徳, 金城雄樹. NKT 細胞の活性化を介した肺炎球菌蛋白ワクチンの効果. 第 97 回日本細菌学会関東支部総会. 10 月 30-31 日, 2014 年, 東京.

28) 浦井 誠, 金子幸弘, 上野圭吾, 田辺公一, 梅山 隆, 山越 智, 金城雄樹, 大野秀明, 杉田 隆, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の莢膜多糖成分が免疫細胞に及ぼす影響. 第58回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.

29) 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 清水公徳, 金子幸弘, 浦井 誠, 川本 進, 亀井克彦, 大野秀明, 澁谷和俊, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の感染防衛に寄与する樹状細胞ワクチンの作用. 第58回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.

30) 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 浦井 誠, 金子幸弘, 大野秀明, 亀井克彦, 澁谷和俊, 宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* の感染防衛に寄与する

樹状細胞ワクチン. 第 63 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 10 月 29-31 日, 2014 年, 東京.

31) 壇辻百合香, 大野秀明, 梅山 隆, 上野圭吾, 大久保陽一郎, 田辺公一, 名木 稔, 山越 智, 金城雄樹, 杉田 隆, 澁谷和利, 宮﨑義継. マクロファージの貪食を指標とした *Cryptococcus gattii* 感染病態の評価. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.

32) 梅山 隆, 山越 智, 田辺公一, 名木 稔, 大野秀明, 宮﨑義継. アスペルギルスの抗真菌薬耐性. 第 58 回日本医真菌学会総会・学術集会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.

33) 金城雄樹. クリプトコックス・ガッティに対する免疫応答 (シンポジウム). 輸入真菌感染症フォーラム. 11 月 21 日, 2014 年, 仙台.

34) 金城雄樹, 上野圭吾, 浦井 誠, 金子幸弘, 大久保陽一郎, 清水公徳, 大野秀明, 亀井克彦, 川本 進, 澁谷和俊, 宮﨑義継. 病原性真菌の感染成立機構 クリプトコックスの莢膜多糖による免疫回避機構の解析及びその制御法の開発 (シンポジウム). 第 58 回日本医真菌学会総会. 11 月 1-2 日, 2014 年, 横浜.

35) Ueno K, Kinjo Y. Efficacy of dendritic cell-mediated immunization for the pulmonary infection with highly virulent fungus *Cryptococcus gattii*. 第 43 回 日本免疫学会総会. 12 月 10-12 日, 2014 年, 京都.

36) 福住宗久, 常彬, 牧野友彦, 西順一郎, 丸山貴也, 渡邊浩, 金城雄樹, 高橋琢理, 松井珠乃, 砂川富正, 大西真, 大石和徳. 成人侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）の臨床像と原因菌血清型分布に関する記述疫学（2013 年）. 第 18 回日本ワクチン学会学術集会. 12 月 6-7 日, 2014 年, 福岡.

37) Izawa Y, Ueno K, Kawakami K, Kinjo Y. The protective effect of immunization with protein and glycolipid against pneumococcal infection. 第 43 回 日本免疫学会総会. 12 月 10-12 日, 2014 年, 京都.

38) 上野圭吾, 金城雄樹, 大久保陽一郎, 浦井 誠, 安藝恭子, 金子幸弘, 清水公徳, 大野秀明, 川本 進, 二木芳人, 亀井克彦, 澁谷和俊, 宮﨑義継. 樹状細胞ワクチンが誘導するサイトカイン応答と *Cryptococcus gattii* 北米流行株に対する感染制御効果. 第 16 回 真菌症フォーラム. 2 月 14 日, 2015 年, 東京.

39) 深澤秀輔, 益見厚子. 細菌型チロシンキナーゼ阻害剤探索系の開発. 日本薬学会第 135 年会. 3 月 25–28 日, 2015 年, 神戸.

40) 水口裕紀, 上野圭吾, 金子幸弘, 朴 貞玉, 明田幸宏, 川原一芳, 大石和徳, 金城 雄樹. 蛋白・糖脂質併用ワクチンによる肺炎球菌感染防御. 第 88 回 日本細菌学会総会. 3 月 26-28 日, 2015 年, 岐阜.

41) 春日 和, 千田優香, 興野峻一郎, 友常久実子, 牟田口祐太, 志村洋一郎, 石川 淳, 池田治生, 小嶋郁夫. *Streptomyces* 属放線菌 C42 由来のセルロース分解遺伝子カセットの構築とセルロース分解能の異種発現. 日本農芸化学会 2015 年度大会. 3 月 26-29 日, 2015 年, 岡山.

42) 稲田晋宣, 曹 志生, ニンディタ ヨシ, 張 奕ブン, 田上道平, レジャヴァ アレキサンダー, 志波 優, 吉川博文, 石川 淳, 木梨陽康, 荒川賢治. *Streptomyces rochei* 7434AN4 株の線状ゲノムの塩基配列解析. 日本農芸化学会 2015 年度大会. 3 月 26-29 日, 2015 年, 岡山.

43) 新倉春香, 丸山千登勢, 泉川美穂, 石川 淳, 池田治生, 新家一男, 濱野吉十. 抗生物質 BD-12 生合成遺伝子の機能解析. 日本農芸化学会 2015 年度大会. 3 月 26-29 日, 2015 年, 岡山.

44) 上野圭吾, 清水公徳, 川本 進, 金城雄樹. *Cryptcoccus gattii* に対する樹状細胞ワクチンはエフェクターT 細胞と多核巨細胞を誘導し感染を制御する. 第 88 回 日本細菌学会総会. 3 月 26–28 日, 2015 年, 岐阜.

45) 石川 淳, 星野泰隆. 2ndFind: a Web-Based Support Tool to Find Secondary Metabolite Biosynthetic Gene Cluster. 第 9 回日本ゲノム微生物学会年会. 3 月 6-8 日, 2015 年, 神戸.

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研究に進展があった。また、霊長類におけるプリオン病モデルの作出とその病態解析のために、C-BSE および非定型 BSE（L-BSE）プリオンのカニクイザルへの伝播実験を医薬基盤研および感染病理部との共同研究で進め、当部は病原体の生化学・蛋白質化学の視点からの解析を主に担当している。さらに、L-BSE プリオンについての経口摂取でのリスク評価に資するデータを得るべく、ウシ脳乳剤をサルへ経口投与して経過を追跡中である。

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が、ヒト肝細胞キメラマウスを用いた動物個体レベルでの HCV 感染を抑制することを明らかにした。また、HCV 研究に汎用されているヒト肝由来 Huh7.5.1 細胞に比べて HCV 感染増殖能の高い亜株 Huh7.5.1-8 細胞を分離し、その性状解析を行った。その他にも、HCV や B 型肝炎ウイルス（HBV）の感染増殖に果たす宿主細胞の脂質機能に関するいくつかの研究成果を挙げた。

セラミド輸送タンパク質 CERT は、小胞体で生合成されたセラミドをスフィンゴミエリン合成の場であるゴルジ体へと運ぶ。リン酸化による CERT 機能制御の一端を明らかにするとともに、偏性細胞内寄生細菌クラミジアが CERT をハイジャックするメカニズムの研究でも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。発展著しいゲノム編集技術を感染症研究においても使用できるように、レンチウイルスベクター上に構築した shRNA ライブラリに加えて、CRISPR/Cas9 ライブラリの導入も行った。これらの実験系が適切に働くことを、志賀毒素感受性に関わる多数の既知の宿主細胞遺伝子群を効率的にヒットできるか否か調べることで確認しつつある。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。

アフリカミドリザルの摘出腎臓から樹立された連続継代培養可能な細胞株である Vero 細胞は､多くの種類のウイルスや細菌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｡細胞化学部では、多施設共同研究として Vero 細胞のゲノム配列を決定し、世界に先駆けて発表した。

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。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､Hib ワクチンの承認前検査では、分子サイズ分布試験の書類調査を担当した。世界保健機構（WHO）を通じたワクチンの国際的な品質規制支援活動も行った。

人事面では、谷田以誠第二室長が平成２７年３月３１日付けで辞職し、順天堂大学医学部に転出した。

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

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が必要とされているが、より簡便な代替検出系の開発が望まれる。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

を目指している。前年度までに、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に晒したヒト培養細胞（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、レシピエント細胞において PrP^{Sc} が検出されることを示した。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、一ヶ月程度で感染性の評価が可能な検出系を確立した。本年度は、これまでに得られたプリオン感受性やプリオン蛋白質の産生量に関する知見をもとに、さらなる細胞株の選択や改良を行い、プリオン感染性評価に要する期間短縮を目指した検討を行った。［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 BSE プリオンに関する研究

医薬基盤研究所と共同で進めてきた C-BSE プリオンおよび L-BSE プリオンのカニクイザルへの２代目伝播実験（脳内接種）が完了した。得られた組織材料についてウエスタンブロット法による PrP^{Sc} の蓄積･分布の分析を行い、C-／L-BSE プリオンの間での PrP^{Sc} の蓄積・分布の特徴の違い、等を比較・検討した。［萩原健一；佐藤由子、飛梅実（感染病理部）；小野文子（千葉科学大学）；柴田宏昭（医薬基盤研）］

（３）BSE 迅速 ELISA キットの有効性の評価試験

欧州およびカナダ（加）での試験研究により、欧・加で使用されている BSE 迅速 ELISA キットが C-BSE プリオンのみならず非定型 BSE プリオンに罹患したウシの摘発にも有効であることが報告された。そこで本邦で使用されている迅速 ELISA キットについて、同様の試験研究を行った。得られたデータを欧州連合（EU）が定めた有効性の評価基準と照合し、本邦の ELISA キットが C-BSE プリオンとともに L-BSE プリオン罹患ウシの摘発にも有効であると結論した。［萩原健一、花田賢太郎；飛梅実（感染病理部）］

（４）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

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 42 ヶ月経過し、神経症状等は未だ呈していない（平成２７年３月時点）。［萩原健一；柴田宏昭（医薬基盤研）；大藤圭子、岡林佐知（予防衛生協会）；小野文子（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 モノクローナル抗体による in vivo C 型肝炎ウイルス感染阻止

樹立したマウス抗ヒト Claudin-1 モノクローナル抗体の中で、性状の異なる 2 つの抗体を用い、ヒト肝キメラマウスの HCV 感染系における抗体の影響を検討した。その結果、両抗体が有意に HCV の感染を阻止できることが明らかとなった。抗体処理がマウスに対して特に毒性を示すことはなく、血中 ALT･AST 値、血中ヒトアルブミン値にも有意な変化が見られなかったことから、ヒト肝臓への悪影響もないと考えられた。これらの結果から、Claudin-1 を標的とした抗 HCV 戦略の有効性が示された。［深澤征義、花田賢太郎；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬）］

（２）C 型肝炎ウイルスに対する高感受性宿主細胞株の分離と性状解析

C 型肝炎ウイルス（HCV）の感染実験に汎用されるヒト肝由来 Huh7.5.1 細胞について、我々の用いていた株は、ヘテロな細胞集団であることが分かり、クローニングにより亜株を分離したところ、Huh7.5.1-8 細胞株は、親株の 10 倍以上 HCV 感染感受性が高まっていることが分かった。その理由は、1）複製能が 10 倍以上に上昇していること、2）ウイルス受容体の発現が安定していること等が考えられた。遺伝子発現解析を行った結果、Huh7.5.1-8 細胞株では肝細胞特異的因子の発現が上昇しており、このことが、HCV 感染感受性上昇に関わっている可能性が考えられた。［深澤征義、白砂圭崇、齊藤恭子、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）；脇田隆字（ウイルス第２部）］

（３）B 型肝炎ウイルスの効率的な産生培養系に関する研究

B 型肝炎ウイルス（HBV）の侵入に関わるヒト NTCP 分子を発現した HepG2 細胞を宿主細胞として、Hep2.2.15.7 細胞の濃縮上清を感染源として用いることで、従来より 10 倍以上ウイルス量が少ない感染条件での HBV 感染培養系を確立できることがわかった。さらに、本感染系においてウイルスの再感染が見られることも観察し、ウイルスライフサイクルのすべてが再現されることを確認した。［深澤征義、花田賢太郎；渡士幸一、脇田隆字（ウイルス第２部）；田中靖人（名市大）］

（４）B 型肝炎ウイルス産生における脂質代謝変動の解

析

上述した HBV 感染細胞系を用いて脂質代謝変動の検討を行った結果、1)コレステリルエステルの上昇、2)トリグリセリドの上昇、3)セラミド生合成の上昇、4)スフィンゴミエリン･グルコシルセラミド生合成の低下、5)ホスファチジルエタノールアミンからホスファチジルコリンへの変換低下、等が見出された。[深澤征義、花田賢太郎；渡士幸一、脇田隆字（ウイルス第２部）；田中靖人(名市大)]

（５）HCV 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 NS4B 蛋白質の細胞内分布を免疫蛍光染色法で解析した。NS4B 蛋白質を恒常的に発現するヒト培養肝細胞を用いて解析した結果、同蛋白質の一部は、ミトコンドリアに存在する可能性が考えられた。HCV 感染細胞においても同様の細胞内分布を示すかどうか、検討を行っている。[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎]

（６）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 JFH1 株（遺伝子型 2a）のウイルス産生を阻害することを見出している。スクアレン合成酵素阻害剤で処理した細胞に、HCV JFH1 株のシュードウイルスを感染させたところ、同ウイルスの侵入が阻害されたことから、同薬剤の抗 HCV 機序の一つとして、HCV 侵入過程の阻害が考えられた。一方、スクアレン合成酵素阻害剤は遺伝子型 1b の HCV シュードウイルスの侵入は阻害しなかったことから、同薬剤の抗 HCV 効果は HCV の遺伝子型によって異なることが示唆された。[齊藤恭子、白砂圭崇、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。以前より、レンチウイルス shRNA ライブラリを用いて、発現抑制で志賀毒素に耐性を示す遺伝子を探索してきた。本年度は耐性候補となっている遺伝子のうち、UDP-galactose 4-epimerase（GALE）とセラミド合成酵素の一種 CERS2 について、詳細な検討をした。その結果 GALE は UDP-galactose の低下により Gb3 を低下させることで耐性を示すことが確認された。一方 CERS2 に関しては Gb3 の生合成は低下するものの、cDNA を発現させることによる発現量及び毒素感受性の回復が見られなかったことより、オフターゲット効果であることが示唆された［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（病原体ゲノム解析研究センター)］

（２）CERS2 遺伝子ノックアウト細胞株の構築と解析

ゲノム編集法の１つ TALEN 法を用いて、CERS2 遺伝子のノックアウト細胞を樹立した。上記の shRNA ライブラリによるスクリーニングの結果を踏まえ、CERS2 ノックアウト細胞の志賀毒素に対する感受性を検討したが、耐性は見られず、shRNA の結果がオフターゲットであることが確認出来た。また作製した種々の CERS2 変異株を用いた脂質解析により、スフィンゴミエリンと比較し糖脂質のほうが極長鎖脂肪酸をより選択的に使用することが示唆された。［山地俊之、堀江亜矢、花田賢太郎］

（３）CRISPR ライブラリを用いたスクリーニング系の構築

レンチウイルス CRISPR ライブラリを用いた遺伝子ノックアウトスクリーニングを行うため、HeLa 細胞及びヒト半数体細胞株 HAP1 において、DNA 切断に必須な CAS9 を安定発現させたクローンを単離した。これらの株を用いて、予備実験としてレンチウイルスの CRISPR を用いた遺伝子破壊に成功した。今後これらを用いて、志賀毒素をはじめとする宿主因子の探索を行う予定である。［山地俊之、花田賢太郎］

（４）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 プロモータの制御に関わる宿主因子を探索するため、HPV16 ゲノムの L1、L2 遺伝子を薬剤耐性遺伝子に置換したレプリコンコンストラクトを作製した。また、このレプリコンコンストラクトを導入した U2OS 細胞株を樹立した。［前濱朝彦、花田賢太郎；柊元巖（病原体ゲノム解析研究センター)］

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、この相互作用を介してセラミドの輸送効率を上げている。CERT と VAP の相互作用は CERT の 315 番目のセリン残基（CERT S315）のリン酸化によって増強され、結果として、スフィンゴミエリン生合成が促進する。本年度は CERT S315 のリン酸化に関与するキナーゼを予備的に探索した。文献調査により関与の可能性が高いと判断された約 10 種

類のキナーゼについて siRNA を用いて発現量を抑制させた。その中に CERT S315 のリン酸化状態に変化をきたすものを確認した。［熊谷圭悟、花田賢太郎］

（２）CERT と IncD の相互作用に関する研究

Chlamydia trachomatis は宿主細胞内に寄生することによって増殖する偏性細胞内寄生細菌である。*C. trachomatis* が増殖する際には、*C. trachomatis* 由来の IncD と宿主細胞由来の CERT と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。昨年度に引き続き、CERT および IncD に様々な変異を導入したコンストラクトを用いて、CERT と IncD の相互作用に関する解析をさらに進めた。［熊谷圭悟、花田賢太郎；安藤秀二（ウイルス１部）］

（３）HCV 増殖における宿主細胞 FAPP2 の重要性

RNA 干渉法によるグルコシルセラミド輸送タンパク質 FAPP2 のノックダウンや、薬剤によるグルコシルセラミド合成酵素の阻害を行った場合、細胞増殖には影響せずに HCV 複製が顕著に抑制された。この抑制は培地にスフィンゴ糖脂質を添加することで部分的に回復した。免疫染色解析から、FAPP2 は HCV 複製複合体に移行すると示唆された。これらの結果は、宿主細胞のスフィンゴ糖脂質が FAPP2 を介して HCV 複製複合体に輸送されており、そのようにして宿主由来スフィンゴ糖脂質を活用することが HCV ゲノム複製に重要であることを示唆している。［花田賢太郎；Irfan Khan, Divya S. Katikaneni, Qingxia Han, Lorena Sanchez-Felipe, Kouacou V. Konan（米国・アルバニー医科大）； Rebecca L. Ambrose, Jason M. Mackenzie（オーストラリア国・メルボルン大）］

V. オートファジーに関わる研究

（１）高感度 pH 感受性蛍光蛋白質を用いたオートファジー評価系の開発

オートファジーを高感度に検出する系として EGFP-mCherry を用いた評価系が採用されていたが、EGFP が酸性 pH 条件においては蛍光の減衰は認められるものの、pH5.0 でも蛍光を発することが問題であった。そこで pH に高感受性を示す蛍光蛋白質 pHluorin と pH 安定性が高い mKate2 を用いて、オートファジーを高感度に評価する系を作成した。EGFP に代わって用いた、pHluorin は pH6.0 でほぼ蛍光が消失し、オートファジーの評価系として、シグナル／ノイズ比がよりよい評価プローブを作成した。［谷田以誠；上野隆、内山安男（順天堂大）］

（２）試験管内 Atg8 ホモログのリン脂質化修飾反応に関わるメソドロジー

オートファジーの際のオートファゴソーム形成には Atg8 ホモログのユビキチン様修飾によるリン脂質結合反応が必須である。我々はこれまで、哺乳類 Atg8 ホモログ（LC3、GABARAP、GATE-16）、ユビキチン様修飾反応に必須な E1 様酵素、Atg7、E2 酵素、Atg3、をリコンビナント蛋白質として精製し、試験管内リン脂質化修飾反応を行なってきた。そこで、これら Atg 蛋白質の精製法、試験管内 Atg8 ホモログの試験管内反応の反応条件、検出法について、詳細を報告した。［谷田以誠；上野隆、木南英紀（順天堂大）］

（３）オートファジーを介した PRIP の黄色ブドウ球菌に対する細胞内免疫システムの解析

PRIP（Phospholipase C-related catalytically inactive protein）は、オートファゴソーム形成因子である LC3 と相互作用をし、オートファジーの効率に影響を与える。PRIP ノックアウトマウス繊維芽細胞に黄色ブドウ球菌を感染させたところ、ゼノファジー（細菌感染特異的オートファジー）が抑制されていた。この時、菌を取り囲むオートファゴソームがリソソームと融合する時間が遅延しており、PRIP はオートファゴソーム・リソソーム融合に重要な役割を果たしていることがわかった。［谷田以誠；兼松隆（広島大）］

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 の変異による核小体ストレス感知の変化を解析するため、不死化した PICT1$^{-/flox}$ マウス由来の胚性繊維芽細胞を作製し、その中からタモキシフェンに応答して PICT1$^{-/-}$となる細胞株を樹立した。またタモシキフェン処理で PICT1-null にした細胞では p53 依存性の細胞死が起こること、そして野生型 PICT1 の発現がその作用を打ち消すことを検証し、この細胞がストレス応答における PICT1 変異の効果の解析に有用であることを確認した。［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）Vero 細胞 JCRB0111 株の造腫瘍性試験

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）をゲノム配列決定に使用する細胞シードとした。そこで、その造腫瘍性試験を医薬基盤研にて特性解

析の一環として実施し、この継代数の Vero 細胞には造腫瘍性のないことを確認した。[花田賢太郎；小原有弘（医薬基盤研)]

（２）Vero 細胞ゲノム配列の決定

エンドペアおよびメイトペアライブラリ由来のショートリードを次世代シーケンサで読み、配列のアセンブリを行った。この際、網羅的な mRNA-sequencing も並行して行い、タンパク質コード領域の推測に役立てた。これら解析に基づいて、Vero 細胞の全ゲノムドラフト配列を作成した。当該ゲノムのサイズはヒトとほぼ同じ約 3 Gb であり、約 26,000 のタンパク質コード遺伝子を持っていることが明らかとなった。[山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター)；長田直樹（遺伝研)；小原有弘、平山知子、笠井文生（医薬基盤研)]

（３）Vero 細胞はメスの個体に由来する

Vero 細胞が由来するサル個体の性別は知られていなかった。我々の行った核型解析において、Vero 細胞の性染色体は XX 型、すなわちメス型であった。もともとは XY 型だったものから Y 染色体が脱落して XO 型となり、この X が重複して XX 型となったという可能性は、一塩基多様性（single nucleotide variations; SNVs）の解析から否定された。よって、Vero 細胞は雌サルに由来すると結論した。[花田賢太郎；長田直樹（遺伝研)；小原有弘、平山知子、笠井文生（医薬基盤研)]

（４）Vero 細胞は *Chlorocebus sabaeus* に由来する

Vero 細胞が樹立された 1960 年代の時点では、アフリカミドリザルは一種類の生物種 *Cercopithecus aethiops* とされていたが、その後、アフリカミドリザルの分類上の属は *Cercopithecus* から *Chlorocebus* に移され、さらに、複数の種からなっていると考えられるようになった。ミトコンドリアゲノム配列が参照できる４種のアフリカミドリザルとの比較解析により、Vero 細胞は西アフリカのサバンナ地方を中心に棲息する *Chlorocebus sabaeus* に由来していると結論した。[花田賢太郎;長田直樹(遺伝研)]

（５）12 番染色体の 9 Mb ホモ接合型欠失

細胞周期のブレーキ役として機能する二つのサイクリン依存性キナーゼ阻害因子をコードする遺伝子 *CDKN2A*, *CDKN2B* はヒトゲノムにおいてＩ型インターフェロン遺伝子クラスタの近傍に存在しており、*CDKN2A*, *CDKN2B* 上の変異がいろいろなヒト癌細胞のゲノムで起こっていることが知られている。Vero 細胞の 12 番染色体は両方の相同染色体で 9 Mb に及ぶ染色体欠失があり、I 型インターフェロン遺伝子クラスタや *CDKN2A, CDKN2B* が失われていることが明らかとなった。このゲノム上の特性は、ウイルス高感受性の不死化細胞という Vero 細胞の特徴と密接に関わると考えられる。[山地俊之、花田賢太郎；長田直樹（遺伝研)]

（４）内在性サル・レトロウイルス配列の多様性

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し、RNA に転写されることが知られている。興味深いことに、JCRB0111 株のゲノム上の SRV 配列には別の Vero 細胞亜株由来 SRV 配列では報告されていない変異があり、さらに、後者の SRV 配列で存在する変異が JCRB0111 株由来 SRV 配列には見つからなかった。この Vero 細胞亜株間の SRV 配列多様性は、亜株間を区別するゲノム情報になりえる可能性もあり、今後も注目してゆきたい。[花田賢太郎;関塚剛史、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)；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（平成２６年１１月～平成２７年３月。22 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。本事業は平成２４年度から開始し、本年度は 3 年目である。[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

平成２６年７月に TSE 行政検査の依頼１件(検体 8 個)があった。検体受取り後、ウエスタンブロット法の検査プロトコールに従って速やかに検査を実施し、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提出した。また、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（平成２７年２月実施)。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

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月に成績書を提出した。Hib ワクチンの承認前検査では、分子サイズ分布試験の書類調査を実施し、平成２６年９月に調査結果を提出した。[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

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２６年度も検定検査業務内部監査計画書を策定し、それに沿った内部監査を実施した。そして、その結果を所長に報告するとともに、内部監査で指摘された事項への対処状況を適時確認した。所の検定検査業務品質管理システムは PDCA サイクルを回しながら随時改善を行い適切な状況にあることが伺えた。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

“WHO - Request for progress report of your collaborating centre, JPN-28”の作成に協力した。［花田賢太郎］

Ⅱ．国際的ガイドラインの策定

WHO 文書“BS 2232 - Regulatory Risk Evaluation on Finding an Adventitious Agent in a Marketed Vaccine draft (version 18 June 2014) ”の作成に協力した。［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’ 2014.10.20［萩原健一］

（２）新規者向け検定・検査教育講習会の講師

‘試験機関の品質マネジメントシステムと内部監査’2014.5.20［花田賢太郎］

その他

（１）(独) 医薬品医療機器総合機構　平成２６年度 GLP 専門協議の専門委員［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、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更新・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、花田賢太郎］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Tanida, I., Ueno, T., Kominami, E.: In vitro assays of lipidation of Mammalian atg8 homologs. Curr. Protoc. Cell Biol. 64, 11.20.1-11.20.13, 2014

2) Tanida, I., Ueno, T., Uchiyama, Y.: A super-ecliptic, pHluorin-mKate2, tandem fluorescent protein-tagged human LC3 for the monitoring of mammalian autophagy. PLoS One, 9, e110600, 2014

3) Tanida, I., Shirasago, Y., Suzuki, R., Abe, R., Wakita, T., Hanada, K., Fukasawa, M.: Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits the propagation of hepatitis C virus. Jpn. J. Infect. Dis., in press

4) Rinchai, D., Riyapa, D., Buddhisa, S., Utispan, K., Titball, R.W., Stevens, M.P., Stevens, J.M., Ogawa, M., Tanida, I., Koike, M., Uchiyama, Y., Ato, M., Lertmemongkolchai, G.: Macroautophagy is essential for killing of intracellular Burkholderia pseudomallei in human neutrophils. Autophagy, 11, 748-755, 2015

5) 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, 2014

6) Asano, S., Nemoto, T., Kitayama, T., Harada, K., Zhang, J., Harada, K., Tanida, I., Hirata, M., Kanematsu, T.: Phospholipase C-related catalytically inactive protein (PRIP) controls KIF5B-mediated insulin secretion. Biol. Open, 3, 463-474, 2014

7) Hanada, K.: Co-evolution of sphingomyelin and the ceramide transport protein CERT. Biochim. Biophys.

Acta, 1841, 704-719, 2014 [*Corrigendum*;1841, 1561-1562, 2014]

8) 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., 289, 10748-10760, 2014

9) Hanada, K., Voelker, D.: Interorganelle trafficking of lipids: preface for the thematic review series. Traffic, 15, 889-894, 2014

10) Hasegawa, Y., Hayashi H., Naoi, S., Kondou, H., Bessho, K., Igarashi, K., Hanada, K., Nakao, K., Kimura, T., Konishi, A., Nagasaka, H., Miyoshi, Y., Ozono, K., Kusuhara, H.: Intractable itch relieved by 4-phenylbutyrate therapy in patients with progressive familial intrahepatic cholestasis type 1. Orphanet J. Rare Dis., 9, 89, 2014

11) Khan, I., Katikaneni, D.S., Han, Q., Sanchez-Felipe, L., Hanada, K., Ambrose, R.L, Mackenzie, J.M., Konan, K.V.: Modulation of hepatitis C virus genome replication by glycosphingolipids and four-phosphate adaptor protein 2. J. Virol., 88, 12276-12295, 2014

12) Osada, N., Kohara, A., Yamaji, T., Hirayama, N., Kasai, F., Sekizuka, T., Kuroda, M., Hanada, K.: The genome landscape of the African green monkey kidney-derived Vero cell line. DNA Res., 21, 673-683, 2014

13) Sano, O., Ito, S., Kato, R., Shimizu, Y., Kobayashi, A., Kimura, Y., Kioka, N, Hanada, K., Ueda. K., Matsuo, M.: ABCA1, ABCG1, and ABCG4 are distributed to distinct membrane meso-domains and disturb detergent-resistant domains on the plasma membrane. PLoS One, 9, e109886, 2014

14) Zhao, Y., Ishigami, M., Nagao, K., Hanada, K., Kono, N., Arai, H., Matsuo, M., Kioka, N., Ueda, K.: ABCB4 exports phosphatidylcholine in a sphingomyelin-dependent manner. J. Lipid Res., in press

15) Kang, H.-N., Xu, M., Rodríguez, V.P., Mefed, K., Hanada, K., Ahn, K.-S., Gangakhedkar, S.J., Pakzad, S.R., Prawahju, E.I., Lee, N., Phumiamorn, S., Nemec, M., Meng, S., Knezevic, I.: Review of the current use and evaluation of cell substrates for producing biologicals in selected countries. Biologicals, in press

16) Yamaji, T., Hanada, K.: Sphingolipid metabolism and interorganellar transport: localization of sphingolipid enzymes and lipid transfer proteins. Traffic, 16, 101-122, 2015

17) 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, 9, e94460, 2014

18) Sung, P.S., Murayama, A., Kang, W., Kim, M.-S. Yoon, S.K., Fukasawa, M., Kondoh, M., Kim, J.S., Kim, H., Kato, T., and Shin, E.-C.: Hepatitis C virus entry is impaired by claudin-1 downregulation in diacylglycerol acyltransferase-1 (DGAT1)-deficient Cells. J. Virol., 88, 9233-9244, 2014

19) Shirasago, Y., Sekizuka, T., Saito, K., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Kuroda, M., Abe, R., Fukasawa, M.: Isolation and characterization of a Huh.7.5.1-derived cell clone highly permissive to Hepatitis C virus. Jpn. J. Infect. Dis., 68, 81-88, 2015

20) Li, X., Iida, M., Tada, M., Watari, A., Kawahigashi, Y., Kimura, Y., Yamashita, T., Ishii-Watabe, A., Uno, T., Fukasawa, M., Kuniyasu, H., Yagi, K., Kondoh, M.: Development of an anti-claudin-3 and -4 bispecific monoclonal antibody for cancer diagnosis and therapy. J. Pharmacol. Exp. Ther., 351, 206-213, 2014

21) Ogawa, M., Fukasawa, M., Satoh, M., Hanada, K., Saijo, M., Uchiyama, T., and Ando, S.: The intracellular pathogen *Orientia tsutsugamushi* responsible for scrub typhus induces lipid droplet formation in mouse fibroblasts. Microbe Infect., 16, 962-966, 2014

22) Saito, K., Shirasago, Y., Suzuki, T., Aizaki, H., Hanada, K., Wakita, T., Nishijima, M., Fukasawa, M.: Targeting cellular squalene synthase, an enzyme essential for cholesterol biosynthesis, is a potential antiviral strategy against hepatitis C virus. J. Virol., 89, 2220-2232, 2015

23) Fukasawa, M., Nagase, S., Shirasago, Y., Iida, M., Yamashita, M., Endo, K., Yagi, K., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Kuniyasu, H., Kondoh, M.: Monoclonal antibodies against extracellular domains of claudin-1 block Hepatitis C virus infection in a mouse model. J. Virol., in press

24) Yamashita, M., Iida, M., Tada, M., Shirasago, Y.,

Fukasawa, M., Nagase, S., Watari, A., Ishii-Watabe, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Discovery of anti-claudin-1 antibodies as candidate therapeutics against hepatitis C virus. J. Pharmacol. Exp. Ther., in press

25) Maehama, T., Kawahara, K., Nishio, M., Suzuki, A., Hanada, K.: Nucleolar stress induces ubiquitination-independent proteasomal degradation of PICT1 protein. J. Biol. Chem., 289, 20802-20812, 2014

2. 和文発表

1) 前濱朝彦、鈴木聡：PTEN/PI3K シグナルと発がん、The LIPID、25、63-69、2014

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hanada K: Phosphoregulation of inter-organelle traffic of ceramide in mammalian cells, The International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology (KSMCB) 2014.10.21-23, Seoul, Korea.

2) Yamaji, T., Hanada, K.: Genetic approaches for studying sphingolipid metabolism: Construction of sphingolipid gene disruptants in HeLa cells by genome editing, 6th Asian Community of Glycoscience and Glycotechnology, 2014.12.9-12, Hyderabad, India

3) Nakajima, M., Yamashita, M., Watari, A., Yagi, K., Fukasawa, M., Kondoh, M.: Claudin-1 as a target for modulation of epidermal barriers, Experimental Biology 2014 (EB2014), 2014.4.26-30, San Diego, USA

4) Kawahigashi, Y., Li, X., Iida, M., Tada, M., Ishii, A., Watari, A., Fukasawa, M., Yagi, K., Kondoh, M.: Tumor-targeting and anti-tumor activity of anti-claudin-3/-4 antibody, Experimental Biology 2014 (EB2014), 2014.4.26-30, San Diego, USA

5) Kimura, Y., Li, X., Kuniyasu, H., Fukasawa, M., Tada, M., Ishii, A., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Development and anti-tumor activities of claudin-4–specific monoclonal antibodies, Experimental Biology 2014 (EB2014), 2014.4.26-30, San Diego, USA

6) Iida, M., Nagase, S., Yamashita, M., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Tada, M., Ishii, A., Watari1, A., Yagi, K., Kondoh, M.: In vivo inhibition of hepatitis C virus infection by anti-Claudin-1 monoclonal antibodies, Experimental Biology 2014 (EB2014), 2014.4.26-30, San Diego, USA

7) Li, X., Iida, M., Kuniyasu, H., Fukasawa, M., Tada, M., Ishii, A., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Anti-tumor activity of a novel monoclonal antibody recognizing claudin-3 and -4, 23rd Biennial Congress of the European Association for Cancer Research (EACR-239), 2014.7.5-8, Münich, Germany

8) Iida, M., Nagase, S., Yamashita, M., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Tada, M., Ishii, A., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: In vivo inhibition of hepatitis C virus infection by anti-claudin 1 monoclonal antibodies, 41st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society (2014 CRS Annual Meeting), 2014.7.13-16, Chicago, USA

9) Kimura, Y., Li, X., Iida, M., Tada, M., Ishii, A., Fukasawa, M., Kawahigashi, Y., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Development and anti-tumor activity of a novel anti-claudin-3/-4 dual-specific antibody, 41st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society (2014 CRS Annual Meeting), 2014.7.13-16, Chicago, USA

10) Fukasawa, M., Shimizu, Y., Shirasago, Y., Iwamoto, M., Watashi, K., Tanaka, Y., Wakita, T., Kondoh, M., Yagi, K., Hanada, K.: Efficient HBV infection system in cultured cells, 2014 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, 2014.9.3-6, Los Angeles, USA

11) Shirasago, Y., Sekizuka, T., Saito, K., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Kuroda, M., Abe, R., Fukasawa, M.: Isolation and Characterization of A Huh.7.5.1-Derived Cell Clone Highly Permissive to Hepatitis C Virus, The 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2014.9.7-11, Banff, Canada

12) Iida, M., Yamashita, M., Nagase, S., Tada, M., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Anti-human Claudin-1 Monoclonal Antibodies Inhibit a Hepatitis C virus Infection in vivo, The 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2014.9.7-11, Banff, Canada

13) Fukasawa, M., Nagase, S., Yamashita, M., Iida, M., Shirasago, Y., Hanada, K., Yagi, K., Kondoh, M.: An efficient screening strategy for functional monoclonal antibodies against intact cell surface multi-spanning membrane proteins using cell mutants defective in the target proteins: Establishment of anti-claudin 1 monoclonal antibodies that inhibit hepatitis C virus

infection in vitro and in vivo, Protein Island Matsuyama (PIM) International Symposium 2014, 2014.9.17, Ehime, Japan

14) Kimura, Y., Li, X., Iida, M., Tada, M., Ishii, A., Fukasawa, M., Kawahigashi, Y., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Tumor-targeting and anti-tumor activity of a novel dual-specificity anti-claudin antibody, Protein Island Matsuyama (PIM) International Symposium 2014.9.17, Ehime, Japan

15) Iida, M., Yamashita, M., Nagase, S., Tada, M., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Watari, A., Ishii-Watabe, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Anti-human claudin-1 monoclonal antibodies as anti-Hepatitis C Virus agents, IBC's 25th Annual Antibody Engineering & Therapeutics, 2014.12.7-11, Huntington Beach, USA

16) Kimura, Y., Li, X., Iida, M., Tada, M., Ishii, A., Fukasawa, M., Kawahigashi, Y., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Development of a novel bispecific anti-claudin antibody and its anti-tumor activity, IBC's 25th Annual Antibody Engineering & Therapeutics, 2014.12.7-11, Huntington Beach, CA, USA

17) Hata, T., Nagase, S., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Takeda, S., Watari, A., Yagi, K., Kondoh, M.: Epitope mapping of an anti-claudin-1 monoclonal antibody and its application to preclinical drug discovery, IBC's 25th Annual Antibody Engineering & Therapeutics, 2014.12.7-11, Huntington Beach, CA, USA

18) Shirasago, Y., Tanida, I., Shimizu, Y., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Kondo, M., Fukasawa, M.: Establishment of an occludin knock-out human hepatic cell and its application for hepatitis C virus study, Keystone Symposia Precision Genome Engineering and Synthetic Biology, 2015.1.12-15, Montana, USA

19) Kusumoto-Matsuo, R., Mori, S., Maehama, T., Kukimoto, I.: Wee1 binds to and stabilizes the E1 helicase of human papillomavirus type 16, 29th Annual International Papillomavirus Conference and Public Health & Clinical Workshops, 2014.8.21-25, Seattle, USA

20) Maehama, T., Kawahara, K., Nishio, M., Suzuki, A.: Nucleolar stress induces ubiquitination-independent proteasomal degradation of PICT1 protein, 11th International Conference on Protein Phosphatase, 2014.11.12-14, Sendai, Japan

2. 国内学会

1) 谷田以誠、Darawan Rinchai、小川道永、Ganjana Lertmemongkolchai、阿戸　学：類鼻疽菌の好中球感染におけるオートファジー関連構造体, 第87回日本生化学会大会、2014.10.15-18、京都

2) 谷田以誠：類鼻疽菌の好中球感染における新奇オートファジー関連構造体、第 88 回日本細菌学会総会、2015.3.26-28、岐阜

3) 花田賢太郎:　セラミドの構造多様性について、スフィンゴ脂質データベースワークショップ、2014.5.22-23、三島

4) 熊谷圭悟、花田賢太郎：セラミド輸送タンパク質CERTのリン酸化による機能制御、第56回日本脂質生化学会大会、2014.6.6-7、大阪

5) Naoki Osada, Arihiro Kohara, Toshiyuki Yamaji, Noriko Hirayama, Fumio Kasai, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, and Kentaro Hanada: The genome landscape of the African green monkey kidney-derived Vero cell line、感染研 GSC x 新学術領域感染コンピ 研究交流会、2014.7.12、東京

6) 花田賢太郎、熊谷圭悟：　CERT-VAP 間の相互作用調節を介したセラミド輸送の制御、第 9 回スフィンゴテラピー研究会、2014.7.18-19、加賀

7) 島崎健太朗、高橋美帆、梅田真郷、熊谷圭悟、花田賢太郎、柴田識人、内藤幹彦、西川喜代孝：クラスター化した BCR-ABL PH-ドメインに対するリガンド結合特性の解析、第 87 回日本生化学会大会、2014.10.15-18、京都

8) 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：スフィンゴミエリンは風疹ウイルスによる赤血球凝集において重要な役割を果たす、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、2014.11.10-12、横浜

9) 花田賢太郎、山地俊之、黒田誠、関塚剛史、小原有弘、笠井文生、平山知子、長田直樹：アフリカミドリザル腎由来 Vero 細胞のゲノム構造決定、第 87 回日本生化学会大会、2014.10.15-18、京都

10) 花田賢太郎：日本のワクチンの国際展開の為に何が必要か? ワクチン分科会趣旨説明、バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会、2014.12.12、東京

11) 堀江亜矢、関塚剛史、竹内史比古、黒田誠、花田賢太郎、山地俊之：志賀毒素の細胞障害作用に対するゲノムワイド shRNA スクリーニング、第 87 回日本生化学会大会、2014.10.15-18、京都

12) 岩本 将士、渡士 幸一、九十田 千子、Hussein Hassan Aly、深澤 征義、藤本 陽、鈴木 亮介、相崎 英樹、小祝 修、楠原 洋之、脇田 隆字：ヒト NTCP 安定発現による B 型肝炎ウイルス（HBV）感染許容性の獲得とそれを用いた HBV 侵入機構の解析、第 22 回肝病態生理研究会、2014.5.31、東京
13) 深澤征義：タイトジャンクションタンパク質 Claudin-1 と C 型肝炎ウイルス感染、第 87 回日本生化学会大会、2014.10.15-18、京都
14) 深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、岩本将士、渡士幸一、田中靖人、脇田隆字、近藤昌夫、八木清仁、花田賢太郎：効率的な HBV 感染培養細胞系の構築に関する研究、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、2014.11.10-12、横浜
15) 白砂圭崇、関塚剛史、齊藤恭子、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、黒田誠、安部良、深澤征義：HCV に対して高感染感受性を有する Huh7.5.1 細胞亜株の樹立と性状解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、2014.11.10-12、横浜
16) 深澤征義：C 型肝炎ウイルス感染とタイトジャンクションタンパク質、日本薬学会第１３５年会、2015.3.25-28、神戸
17) 白砂圭崇、谷田以誠、清水芳実、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、近藤昌夫、安部良、深澤征義：Occludin ノックアウト肝細胞の樹立と本細胞を用いた HCV 感染の解析、第 135 回日本薬学会、2015.3.25-28、神戸
18) 河原康一、堀口史人、上條陽平、山本雅達、新里能成、南謙太朗、エフ・エム・モイヌディン、有馬一成、西尾美希、佐々木雅人、前濱朝彦、鈴木聡、古川龍彦 : 生体イメージング技術による核小体ストレス応答の制御基盤の解明、第 87 回日本生化学会大会、2014.10.15-18、京都

１１．　昆虫医科学部

部長　澤邉　京子

概　要

平成 26 年度，当該部の研究は，定員 7 名以外に再任用 2 名，客員研究員 9 名，任期付研究員 1 名，協力研究員 17 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．

平成 26 年夏，約 70 年ぶりのデング熱国内感染例が報告され，合計で 162 名の患者数を記録した．昆虫医科学部は，代々木公園および近隣の公園や公共施設，一般住宅地等が所在する各自治体から媒介蚊対策の要請を受け，蚊の密度調査を実施し，殺虫剤の散布等に関して助言と指導を行った．同時に各地で捕集したヒトスジシマカからデングウイルスを分離・検出し，ウイルス保有蚊が高率に存在した時期や場所を明らかにした．本件に先立ち，昨年ドイツ人旅行者のデング熱国内感染疑い例の報告を受け，「デング熱国内感染事例発生時の対応・対策の手引き 地方公共団対向け（案）」を作成し，西宮市の協力の下に媒介蚊対策実施に向けた予備調査を行っていた．しかし，本年のデング熱流行時に媒介蚊対策を行ったほとんどの地域で平常時から蚊の生息調査が行われておらず，対策の実施に混乱を生じた現場もあった．これらの経験を踏まえ，「デング熱・チクングニア熱等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き地方公共団体向け」，「デング熱・チクングニア熱の診療ガイドライン」をそれぞれ改定し，厚生労働省がデング熱とチクングニア熱を重点的な対策を講じる必要がある蚊媒介感染症と位置づけた「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」の作成に協力した．

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は，平成 25 年 1 月に国内で初めて死亡例が報告され，その後も患者数は増加し，流行地は拡大傾向にある．昆虫医科学部は，SFTS ウイルスの感染環を解明する目的で，SFTS 患者発生の多い 5 月に，統一した方法で全国的なマダニ調査を行った（27 都道府県 82 地点）．前年 10 月に行った結果と比較し，各地におけるマダニの種構成と季節消長が明らかになった．さらに，捕集したマダニから複数の新規ウイルスが分離されたが，それらの中にはマウスへの病原性が示唆されるウイルスも存在していた．それらを含めて，マダニ媒介性ウイルスの疫学調査の必要性を示唆した．

一方，有効な SFTS 治療薬のない現状にあって，マダニ侵淫地域への無用な立入りの回避，忌避剤の使用など，マダニの咬着を防ぐことが唯一現実的な対策である．これまでマダニ対策として使用が許可された医薬品・医薬部外品としての殺虫剤は存在しなかったが，SFTS 拡大の懸念を受けて迅速審査が平成 25 年に実施され，マダニ駆除剤として合計 75 製剤が承認された．昆虫医科学部は，その中の 11 製剤の野外における防除効果を評価し，ゴキブリ駆除の用法用量で，速効的で高い駆除効果が得られるが，さらに少ない薬量での効力評価が望まれると結論した．ここで検討した評価方法と得られた判定結果は，今後の基準となることが想定される．

セアカゴケグモは，1995 年に大阪府と三重県で初めて発見され，現在までに国内 37 都府県でその定着が確認されている．これまでに公表された 84 例の咬症例のうち 6 例で抗毒素血清が使用されたが，従来オーストラリアから輸入していた抗毒素血清の輸出が限定的となり，国内に存在する抗毒素血清のほとんどが平成 26 年度内に失効することが判明した．そこで，国内に生息するセアカゴケグモから独自にウマ抗毒素を試験製造する計画が立案された．昆虫医科学部は，大阪府ペストコントロール協会および西宮市の協力の下に捕獲された合計 1 万頭以上の雌グモから個別に毒腺を摘出し，粗精製を行い 1 ロット化する行程を担当した．所内他部で毒素の性状解析，マウスへの接種実験を経て，現在，化学及血清療法研究所（熊本県）でウマ免疫用毒素として使用されている．

当部では，疾病媒介動物を対象とした基礎調査および基礎研究に加えて，実際の防除対策に寄与する情報の提供，講義，技術研修等により具体的な社会への貢献を心がけている． 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を得て遂行することができた．近年の定員削減の影響で，これら業務の充実を図ることが一層困難になってきているが，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．今後も所内，国内外の関連部署とさらなる連携を深め，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) 住宅街におけるヒトスジシマカの移動分散に関する研究

住宅街の中に複数の緑地が含まれる調査区画を設定し，胸部背面に異なる色素でマークした蚊を放逐して，蚊の移動分散の様子を調査した．5 つの茂みを採集場所として，マークしたヒトスジシマカ合計 301 個体，オオクロヤブカ合計 336 個体を放逐した．放逐後 4 日間再捕獲を行い，ヒトスジシマカ 27.9%（84 個体），オオクロヤブカ 18.5%（62 個体）が再捕獲された．再捕獲されたヒトスジシマカ 84 個体のうち放逐場所と異なる場所で捕獲されたのはわずかに 2 個体（2.4%）で，地図上で求めた最長移動距離は 95 m であった．オオクロヤブカは 13 個体が放逐場所以外で捕獲され，最長移動距離は 167 m だった．

[津田良夫，前川芳秀，小川浩平，糸川健太郎]

(2) 宮城県南部水田地帯と福島県南相馬市における被災 4 年目の蚊の発生状況

東日本大震災の津波被災地における被災後 4 年目の疾病媒介蚊の発生状況を 2014 年 7 月，8 月に調べた．宮城県南部では 6 種類 1,619 個体，福島県南相馬市では 15 種類 12,560 個体の成虫が採集され，どちらの地域の種類相も過去 3 年間の調査とほぼ同様であった．宮城県南部では，被災した農耕地などの復旧がかなり進み，被災直後に出現した塩性湿地はほとんど消失した．福島県南相馬の調査地では被災農耕地の復旧作業はほとんど進展しておらず，ボウフラの発生源となる水域の広さは降雨量に大きく影響され，変動していると思われる．昨年に引き続きコガタアカイエカの発生量が著しく多かった．

[津田良夫；石田恵一，打田憲一（仙台検疫所）]

(3) デング熱の国内患者発生時を想定した媒介蚊調査法の検討

住宅地でデング熱の国内感染が起きた場合を想定した媒介蚊調査法（試案）を作成した．さらに，試案で示した調査範囲の大きさの妥当性，具体的な調査方法の利便性，調査にかかる時間と労力などに関して，実際に住宅地を対象とした媒介蚊調査を実施して検討を行った．デング熱の国内感染が起きた場合，媒介蚊調査では少なくとも半径 100 m の範囲を調査対象とすることが望ましい．また，幼虫発生源調査と成虫生息密度調査を切り離し，調査の 1 日目に成虫の生息密度調査を実施し，幼虫発生源調査はそれ以降引き続き実施することで，媒介蚊の発生状況を広範囲で効率的に調べることが可能になると結論した．

[津田良夫，前川芳秀，冨田隆史，澤邉京子；大石浩二（西宮市環境衛生課）]

(4) 代々木公園とその周辺におけるデング熱媒介蚊の生息調査ならびに防除

2014 年夏にデング熱の流行が報告された代々木公園とその周辺で，媒介蚊とされるヒトスジシマカの生息密度を 9 月 4，5 日に調査した．成虫分布は明らかな集中分布を示し，代々木公園の平均密度は 10.2±16.49/人/8 分，周辺を含めた平均密度は 7.13±11.80/人/8 分だった．生息密度が全体の平均密度よりも高い場所をデング熱に感染するリスクが高い場所と考えて，代々木公園とその周辺地域の中に 3 つのデング熱感染リスクエリアを選定することができた．デング熱の流行を阻止するための対策として，デング熱感染リスクエリアを標的にした成虫用殺虫剤の散布を提案し，本調査の翌日に駆除作業が実施された．

[津田良夫，前川芳秀，小川浩平，駒形 修，糸川健太郎，佐々木年則，冨田隆史，伊澤晴彦，林 利彦，澤邉京子]

(5) 野外捕集蚊を用いた疾病媒介蚊の媒介能力の判定法に関する研究

野外より捕集した蚊を用いて蚊媒介性病原体の媒介能力を判定するための方法を検討した．蚊媒介性病原体である鳥マラリア原虫を材料として，顕微鏡による蚊体内の原虫の検査と PCR による原虫系統の分子分類法を組み合わせて，アカイエカ群とイナトミシオカの鳥マラリア原虫媒介能力の有無を調べた．その結果，アカイエカ群では CXPIP09，SGS1，と GRW4 の 3 系統のスポロゾイトが確認され，これらの原虫系統を媒介する能力があると判定された．イナトミシオカでは，同一個体からオオシストとスポロゾイトの両方が確認されたのは，CXINA01, CXINA02 および CXQUI01 の 3 系統であった．イナトミシオカはこれら 3 系統を媒介する能力があると

結論した.
[津田良夫；金 京純（鳥取大・農・獣医）]

(6) 日本国内における疾病媒介蚊調査と日本産蚊のDNAバーコードの整備

1道7県を対象として蚊相調査を実施した．ドライアイストラップによる成虫採集と柄杓法による幼虫採集を行った結果，10属44種4,677個体を採集した．ドライアイストラップでは,9属29種3,308個体が採集された．採集した幼虫は，成虫まで飼育して得られた10属37種1,369 個体に対して形態による種同定を行った．熊本県と和歌山県の調査地では20種類以上の蚊が採集され,北海道と福島県，岐阜県の調査地は寒冷地や高地であるにも関わらず16種類の蚊が採集された．この結果は，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た.日本産蚊のDNAバーコーディングの整備は,これまで21種の解析が終了した.
[津田良夫，前川芳秀，小川浩平]

(7) 北海道におけるマダニ類の分布と発生に関する調査

前年に引き続き，北海道十勝地方にて春期にマダニ類の発生調査をフランネル法により行った．採集された種類はほとんどがヤマトマダニ，シュルツェマダニで，発生数は非常に多かった．これら2種はヒト咬着例の多い種であり，調査地では山菜採りでヒトが多く立ち入る事で，ヒト被害が多く発生することが想像された.
[林 利彦]

(8) 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

フンコバエ科の*Limosina coei*はネパールから記載され,その後どこからも記録されていない．*Linosina* 属は現在細分化され,多くの属に分けられているが,*Limosina coei*はどの属に位置するか不明な状態である．本種のタイプ標本が保管されているイギリスの Natural History Museum より標本を借り，調べた結果，*Eximilimosina* 属に含まれる事が判明した．また，本種は日本にも分布している事を確認した.
[林 利彦]

(9) マダニ相に関する全国調査の試み

SFTS ウイルスの感染環を解明するために，2013年・2014年に全国規模でのマダニ調査を行った．2013年は10月～11月に国内24都道府県下の54地点で,それぞれマダニと人との接触が予想される環境を調査地点とした.北海道ではヤマトマダニのみが採集され，本州と九州地方ではキチマダニが優先種であったが，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ることがわかった．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.2014年は4月下旬から5月上旬にかけて,昨年秋とほぼ同じ地点とさらに3府県28地点を追加し，合計27都道府県下の82地点で調査を行った.その結果,全国的に昨年秋よりも本年春の捕集数は多く,フタトゲチマダニの捕集数が多調査地点で多いことが示唆された.
[澤邉京子，林 利彦，前川芳秀，渡辺 護，佐々木年則，小林睦生；山内健生（兵庫県立大・自然・環境科学研究所）；橋本知幸（日本環境衛生センター）；野田伸一（鹿児島大・国際島嶼教育研究センター）；前田 健，鍬田龍星（山口大・共同獣医・獣医微生物）;佐藤智美（明治大・農・応用昆虫）]

(10) マダニ調査地周辺の植生とマダニ相との相関解析

マダニ媒介性感染症の感染リスクを評価するために,マダニの分布状況，季節消長や生息環境を明らかにすることが重要である.2013年5月から毎月2回，神奈川県下の環境の異なる2地点でマダニ相調査を行った結果,この2地点は近距離であるにも関わらずマダニの種構成や採集個体数が大きく異なることが明らかになり，周辺環境（植生・気候・動物相）の影響があると考えた．そこで，兵庫県内7地点（北部3地点・南部4地点）および神奈川県内の2地点において，調査地周辺の植生とマダニ相との関係を解析した結果，スギ・ヒノキ・サワラ植生とフタトゲチマダニの間に正の相関がみられたが,各調査地の植生とマダニ相には偏りが生じた．この背景には動物相が大きく関与していることが推察された.
[佐藤智美,糸山 享（明治大・農・応用昆虫）;澤邉京子,林 利彦，前川芳秀，小川浩平，佐々木年則，小林睦生；山内健生（兵庫県立大・自然・環境科学研究所）]

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) 病院と協力したシラミ媒介性細菌 *Bartonella quintana*

疫学研究 (2)

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，昨年度に引き続き東京都区内の病院に搬送された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認められた．また，血餅からも *Bartonella* 属の遺伝子を検出した．同時に，昨年度同様に継続して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（細菌第二部）；山岸拓也，大石和徳（感染症疫学センター）；伊藤航人，川﨑麻紀，十菱大介，平尾磨樹，足立智英（東京都済生会中央病院）]

(2) シラミ媒介性細菌に関する病院との共同研究

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，昨年度に引き続き東京都区内の病院に搬送された路上生活者から採取されたコロモジラミから *Bartonella quintana* の分離を試みたところ，アシネトバクターバウマーニが分離された．薬剤耐性が問題となっているため，薬剤耐性を調べたところ，コロモジラミから分離されたアシネトバクターバウマーニは薬剤感受性であった．

[佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子；久保田眞由美，柴山恵吾（細菌第二部）；山岸拓也，大石和徳（感染症疫学センター）；伊藤航人，川﨑麻紀，十菱大介，平尾磨樹，足立智英（東京都済生会中央病院）]

(3) 国内捕集蚊から分離された蚊媒介性オルビウイルスの性状ならびに分子系統解析

東京都内で捕集されたヤマトクシヒゲカから分離された新規ウイルス Koyama Hill virus（KHV）の性状解析を行った．KHV の全塩基配列決定し，ウイルス蛋白質のアミノ配列に基づく分子系統解析を行った結果，KHV は蚊媒介性オルビウイルスの一種である Umatilla virus に属し，なかでもオーストラリアで分離報告のある Stretch lagoon orbivirus と極めて近縁なオルビウイルスであることが判明した．また，分離源蚊種であるヤマトクシヒゲカに対するウイルス接種実験により，蚊体内における増殖性が確認された．Umatilla virus に属する蚊媒介性オルビウイルスが，日本を含めた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と考えられた．

[江尻寛子，伊澤晴彦，津田良夫，小林睦生，佐々木年則，澤邉京子；鍬田龍星（山口大・共同獣医・獣医微生物）；佐藤雪太（日本大・獣医・実験動物学）]

(4) 2013 年に国内で捕集されたコガタアカイエカのウイルス保有状況調査

国内における疾病媒介蚊の日本脳炎ウイルス(JEV)保有状況を調査し，流行株の遺伝子解析を継続することで，JEV の感染リスクを把握しておくことは予防対策上重要であると考えられる．そのため本研究では，2013 年夏季に長崎県内の畜舎で捕集されたコガタアカイエカ（1,125 頭，45 プール検体）からウイルス分離を試みた．その結果，1 プールから日本脳炎ウイルス（JEV），8 プールからコガタアカイエカラブドウイルスが分離された．JEV 分離株のゲノム中のエンベロープ領域の遺伝子配列を解析した結果，ウイルスの遺伝子型は 1 型であることが判明し，近年日本を含む東アジア地域で報告されている株と遺伝的に極めて近縁であることが確認された．

[伊澤晴彦，江尻寛子，前川芳秀，糸川健太郎，佐々木年則，津田良夫，小林睦生，澤邉京子；小林大介，太田伸生（東京医科歯科大院・医・国際環境寄生虫）鍬田龍星（山口大・共同獣医・獣医微生物）；砂原俊彦，二見恭子，今西 望，皆川 昇（長崎大・熱帯医学研究所）；松本文昭，吉川 亮，吾郷昌信（長崎県環境保健研究センター）；小滝 徹，高崎智彦（ウイルス第一部）]

(5) 都内で捕集されたヒトスジシマカのデングウイルス保有状況調査ならびにウイルス遺伝子解析

平成 26 年 8 月に約 70 年ぶりとなるデング熱の国内感染が確認され，最終的に 162 名の感染者を出す流行となった．当年 8 月から 10 月にかけて，感染推定地とされる都内公園を中心にヒトスジシマカの捕集を行った．捕集蚊は約 30 頭以下を 1 プール検体として集約し，それぞれから RNA を抽出し，デングウイルス特異的 RT-PCR によりウイルス保有状況を調査した．その結果，複数のプール検体からデングウイルス 1 型遺伝子が検出され，これら感染推定地のヒトスジシマカは高率にウイルスを保有していたことが明らかとなった．一部の陽性蚊検体から検出されたウイルスのエンベロープ遺伝子の塩基配列を調べた結果，国内感染者由来のウイルス配列とほぼ完全

に一致した.

[伊澤晴彦, 糸川健太郎, 津田良夫, 前川芳秀, 小川浩平, 佐々木年則, 江尻寛子, 駒形 修, 冨田隆史, 林 利彦, 小林睦生, 澤邉京子 ; 小林大介（東京医科歯科大院・医・国際環境寄生虫）; モイメンリン, 小滝 徹, 高崎智彦（ウイルス第一部）]

(6) 国内におけるマダニ類のアルボウイルス保有状況に関する調査研究ならびに分離ウイルスの性状解析

国内に生息するマダニ類の分布と病原アルボウイルスの保有状況を明らかにし，ヒトへの感染リスクを把握することを目的として，日本各地でマダニ類を捕集しウイルス分離を行った．これまでの結果，脊椎動物細胞に対し，細胞変性効果を示すマダニ検体が多数見出された. これらのウイルス同定作業を進めたところ，平成 22 年 2 月に兵庫県で捕集されたアカコッコマダニから分離されたウイルスは，ダニ媒介性オルビウイルスである Tribeč virus と近縁なウイルスであることが判明した．ダニ媒介性のオルビウイルスの日本国内における分布が明らかになったのは今回が初めてである．また，他の細胞変性効果を示した検体の解析作業も継続して行っている.

[江尻寛子，伊澤晴彦，林 利彦，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子 ; 鍬田龍星，前田 健（山口大・共同獣医・獣医微生物）; 林昌宏，山口幸恵，伊藤睦代，小滝 徹，高崎智彦，西條政幸（ウイルス第一部）]

(7) 昆虫特異的フラビウイルスと蚊媒介性フラビウイルスの重複感染による影響評価

コガタアカイエカ由来培養細胞（CTR）に昆虫特異的フラビウイルスの一種 Culex flavivirus（CxFV）を持続感染させ，さらに日本脳炎ウイルス（JEV）またはデングウイルス（DENV）の重複感染させた場合の，これら 2 種の蚊媒介性フラビウイルスの増殖様態について調査した. CTR 細胞ならびに CxFV 持続感染 CTR 細胞に JEV を接種した場合，JEV を重感染させた CxFV 持続感染 CTR 細胞で強い細胞変性効果が確認され，培養上清中の JEV 力価が CxFV 非感染 CTR 細胞に比べて上昇した．一方，DENV を接種した場合は，両者に顕著な差は認められなかった. 今後，野外における CxFV の潜在感染が，JEV 等のイエカ媒介性フラビウイルスや宿主蚊の生態にどのような影響を与えるかを個体レベルでも調べる必要がある.

[鍬田龍星，前田 健（山口大・共同獣医・獣医微生物）; 伊澤晴彦, 小林睦生, 佐々木年則, 澤邉京子 ; 星野啓太（東京農工大・農・応用昆虫）]

(8) 感染症研究に有用なクロヤブカ属蚊由来培養細胞系の樹立と利用

蚊媒介性病原体の研究に有用な新規蚊由来細胞系の樹立を目的として, 無菌的に孵化させたオオクロヤブカ新生幼虫を切断したものを移植片とした初代培養を試みた. その結果, 付着性の細胞集団が得られ，これらの継代を繰り返すことで安定して維持することが可能となった. 現在の継代数は 250 代を超え, クロヤブカ属蚊としては世界で初めて培養細胞系の樹立に成功した. 台湾においてオオクロヤブカは日本脳炎ウイルスの媒介に関与するという報告があることから, 本細胞系のアルボウイルス感受性について調べた結果，JEV の増殖が確認され，今後の JEV 研究に有用であることが示された．一方，デングウイルスに対しては非感受性であった.

[星野啓太，岩淵喜久男（東京農工大・農・応用昆虫）; 伊澤晴彦, 澤邉京子, 小林睦生, 佐々木年則 ; 鍬田龍星（山口大・共同獣医・獣医微生物）; 田島 茂，高崎智彦（ウイルス第一部）]

(9) 吸血性ダニの唾液腺に見出された新規血管拡張物質の機能と起源の解析

回帰熱を媒介するカズキダニ属のダニ *Ornithodoros moubata* の唾液腺から，脊椎動物特有の血管拡張ホルモンの一種であるアドレノメデュリン（ADM）と類似する新規生理活性分子を同定した. ダニは吸血時にこの分子を宿主血管へ注入して血管拡張させ, 吸血を容易にしていると考えられた．また分子系統解析の結果から，ダニの ADM 様分子は, 約 2 億 4 千万年前から 9 千 4 百万年前（中生代）の期間に, 祖先ダニ種の吸血源であったと想定される爬虫類（恐竜を含む）から獲得された遺伝子を起源とする可能性が強く示唆された. これは世界で初めて動物種間での機能性遺伝子の水平伝播が自然界で起こったことを示す発見で, 生物進化の概念に大きなインパクトを与える成果である.

[岩永史朗，油田正夫（三重大・医・医動物）; 伊澤晴彦]

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) ネッタイシマカのピレスロイド低感受性作用点変異

の分子ジェノタイピング法の開発 (1)

アジアと中南米のネッタイシマカ集団では，電位依存性ナトリウムチャンネル（VGSC）にピレスロイド感受性低下をもたらす変異が 5 つのアミノ酸座位に生じていることが知られている．これらの変異を簡易かつ低コストで検出する分子ジェノタイピング法を考案した．Universal QProbe 法に基づき，対象座位ごとに野生型／変異型遺伝子配列挿入プラスミド DNA 増幅産物に対する DNA プローブの融解温度曲線を解析し，両型が融解ピークで識別できることを確かめた．

［冨田隆史，駒形 修，小川浩平，糸川健太郎］

(2) チャバネゴキブリのピレスロイド作用点変異の電気生理学的評価 (1)

ピレスロイド抵抗性のチャバネゴキブリの殺虫剤作用点 VGSC の DIIS6 膜貫通領域には，抵抗性の原因となる L993F と効果が未検証の F999S の 2 つの変異が知られている．ピレスロイド感受性低下に関する両変異の効果を電気生理学的に研究する目的で，各変異を単独および二重変異として含む VGSC 発現用 DNA プラスミドを作製した．

［冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，小川浩平，葛西真治；山本敦司，岩佐孝男，平田晃一（日本曹達）］

(3) 新規蛍光プローブを用いた殺虫剤抵抗性関連 SNPs の検出

近年開発された励起子相互作用をもつ人工核酸 Eprobe を PCR 産物の融解温度解析に用いることにより，これまでゲノム DNA を対象にしては検出が困難であった塩基置換変異を簡易に解析できるようにした．対象とした変異は，約 0.3 kb のイントロンにより分断されているアカイエカ種群蚊 VGSC 遺伝子のピレスロイド低感受性アミノ酸置換変異の F1014L と V1016G であった．同様の遺伝子構造をとり同じアミノ酸置換変異が頻出している他昆虫種 VGSC のジェノタイピングにも適用できる可能性を示した．

［駒形 修，小川浩平，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史］

(4) シトクロム P450 の異種細胞発現法の開発 (1)

シトクロム P450（P450 と略）は薬物代謝に重要な酵素であり多くの方法で発現が試みられているが，現行の発現系による昆虫種 P450 の発現は殺虫剤のような脂溶性物質の代謝反応を調べるには不向きであった。そこでウイルスディスプレイ法に着目し，ネッタイイエカの殺虫剤代謝抵抗性に関与している分子種である CYP9M10 を用いて新しい発現系を開発することを目指した．*CYP9M10* cDNA を含む発現プラスミドの構築を試みたが，通常の方法では効率が低くクローニングできなかった．そこで，FASTR および Gibson assembly 法を導入したところ，コンストラクトの作成に成功した．

［駒形 修，小川浩平，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史］

(5) マダニ類に対する衛生害虫用殺虫剤の実地試験による効力評価

マダニに対する殺ダニ剤の実地駆除効果を 2014 年 5～6 月に千葉県内の山林で評価した．供試製剤は，有機リン系，ピレスロイド系，それらの混合からなる計 11 製剤で，ビルのゴキブリ駆除の使用法に従い散布し，旗ずり法により捕獲したマダニの数を処理前後で比較して効果を判定した．供試製剤はすべて処理直後から著効を示し，90%以上の減少率が処理 4 日後まで続いた．このうち，フェニトロチオン乳剤とフロアブル剤，フェンチオン粉剤は高い減少率を 31 日後まで持続した．

［橋本知幸，數間 亨，武藤敦彦，皆川恵子，永廣香奈（日本環境衛生センター）；當山啓介（東京大・院・農業生命科学研究科千葉演習林），足立雅也，池田文明（日本防疫殺虫剤協会）；駒形 修，冨田隆史，澤邉京子；森川 茂（獣医科学部）］

(6) チカイエカのピリプロキシフェン抵抗性

ピリプロキシフェン（PX）は，幼若ホルモン（JH）のアゴニストとして作用し，昆虫に羽化阻害などをもたらす昆虫成長阻害剤である．JH とその受容体（JHR）の複合体は JH カスケード下流の *Kr-h1* 遺伝子の発現を誘導する．チカイエカの PX-R 系統は殺虫剤感受性の TTK 系統に比べて PX に 1,000 倍の抵抗性を示す室内選抜系統である．PX 処理による PX-R 蚊の *Kr-h1* 遺伝子発現の誘導は TTK 蚊と比べ明らかに弱かったことから，PX-R の抵抗性は解毒代謝の亢進，または，JH-JHR 複合体形成から *Kr-h1* 誘導の間の短い分子経路に含まれる因子の変異によると考えられる．交配実験により PX-R 抵抗性要因は染色体 1 に連鎖し半優性であることを確認した．

［糸川健太郎，葛西真治，駒形 修，小川浩平，冨田隆史］

(7) ネッタイシマカのペルメトリン代謝性抵抗性に関する遺伝学的解析 (1)

ネッタイシマカ SP 系統のペルメトリン代謝抵抗性の原因変異を解明するために，量的形質遺伝子座（QTL）解析を行った．殺虫剤感受性 SMK 系統との交配で得た F2 雌成虫を用いて，^{14}C 標識ペルメトリンの局所施用を行い，排泄されたペルメトリン量を測定するとともに，両系統が識別可能な 33 の DNA 多型座位の遺伝子型を決定した．その結果，ペルメトリン代謝量に関与する主要な QTL の存在は染色体 1 と 3 にあり，関与が特に大きい染色体 1 の QTL の近傍には，少なくとも 6 つの P450 遺伝子座が存在していることを明らかにした．

［小川浩平，糸川健太郎，駒形 修，葛西真治，冨田隆史］

(8) ネッタイシマカのペルメトリン代謝抵抗性に関する遺伝学的解析 (2)

ペルメトリン抵抗性 SP 系統の染色体 1 のペルメトリン代謝亢進 QTL 領域に見出された 6 つの P450 遺伝子の内，2 つが SP 系統で過剰発現していた．その 1 つの CYP6AA5v2 の代謝抵抗性への関与を CRISPR/Cas9 システムに基づく遺伝子ノックアウト（KO）により逆遺伝学的に確かめる試みを行った．gRNA と Cas9 mRNA を SP 系統卵にマイクロインジェクションし，処理済み羽化雌（G0）を未処理雄と交配して得た G1 どうしの交配子孫（G2）における遺伝子型よるペルメトリン排泄量を比較したところ，*CYP6AA5v2* の KO よるペルメトリン代謝低下の効果は認められなかった．

［小川浩平，糸川健太郎，駒形 修，葛西真治，冨田隆史］

(9) ゲノム編集によるピレスロイド解毒酵素遺伝子のノックアウト

ネッタイイエカのピレスロイド抵抗性 JPal-per（JPP）系統では，*CYP9M10* 遺伝子が三重に重複し，かつ個々の遺伝子コピーが過剰発現している．TALEN および CRISPR/Cas9 システムにより本遺伝子のノックアウト（KO）を試み KO 体系統を作出した．ペルメトリン感受性を調べると，全コピーの KO 系統では 100 倍に近い感受性の増大が見られた．一方，いずれか 1 つのコピーの KO 系統では，顕著な感受性の上昇は認められなかったことから，重複した *CYP9M10* は同程度に抵抗性に寄与しているが，1 コピーの欠損だけでは表現型にほとんど影響しないことが考えられる．

［糸川健太郎，小川浩平，駒形 修，冨田隆史］

Ⅳ．その他

セアカゴケグモの咬症例はこれまでに 84 例（2014 年は 7 例）が公表されているが，そのうちの 6 例で抗毒素血清が使用された．抗毒素血清はこれまでオーストラリアから輸入していたが，その輸出が限定的となったことから，国内に生息するセアカゴケグモを使用して独自にウマ抗毒素を試験製造することが計画された．大阪ペストコントロール協会および西宮市の協力により，合計 11,524 頭の雌グモが捕獲された．そのうち 10,007 雌を解剖し，個別に摘出した毒腺から毒素を抽出，粗精製を行い 1 ロット化した．一部の毒素を用いてタンパク量を定量したところ，1.5－2.5 mg/ml であった．最終的に 1 ロット化し，タンパク量約 236 mg と推定された毒素粗精製物を化学及血清療法研究所に発送した．現在，ウマへの免疫が実施されている．

［澤邉京子，前川芳秀，小川浩平，伊澤晴彦，江尻寛子，糸川健太郎，津田良夫，小林睦生；佐藤智美，益子玲於奈（明治大・農・応用昆虫）；向井俊彦・綿貫 實（大阪府ペストコントロール協会）；大石浩二・米正静男・平良常弘（西宮市環境衛生課）］

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 26 年 4 月から平成 27 年 3 月までの間，23 件 112 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 1 件（セアカゴケグモの同定；山梨県衛生環境保健所）であった．平成 26 年夏期にはデング熱の国内流行があったことから，蚊類の同定依頼が 6 件あった．それ以外には，ヒトに寄生したマダニ類が 8 件，腫瘍部に発生したハエ症の症例 4 例を報告した．

[林　利彦，津田良夫]

Ⅱ．病原体検査報告

マダニからの病原体検出について 1 件依頼があった．

また，デング熱の国内流行を受け，ヒトスジシマカからのデングウイルス検出の依頼が 4 件あった．それぞれに報告書を作成し，結果を通知した．
[伊澤晴彦，佐々木年則，江尻寛子；小林大介（東京医科歯科大院・医・国際環境寄生虫）]

研修業務

(1) 媒介昆虫と感染症．平成26年度知の市場・連携市民セミナー．2014 年 5 月 27 日，東京．[澤邉京子]

(2) アブダビ廃棄物管理センターのペストコントロール担当者に対する研修，JICA のコストシェア技術協力（廃棄物管理等）．2014 年 5 月 28 日，東京．[駒形 修]

(3) 第 3 回蚊類調査に関わる技術研修（平成 26 年度）．2014 年 6 月 12-13 日，東京．[津田良夫，前川芳秀，小林睦生，澤邉京子]

(4) 日本からの輸出例疑いドイツ人デング熱症例と国内対策. 衛生微生物技術協議会第 35 回研究会シンポジウム III 「昆虫媒介性ウイルス感染症の現状」．2014 年 6 月 26-27 日，東京．[松井珠乃，木下一美，有馬雄三，大石和徳（感染症疫学センター）；高崎智彦（ウイルス第一部）；澤邉京子]

(5) デング熱媒介蚊ヒトスジシマカの特性．衛生微生物技術協議会第 35 回研究会シンポジウム III 「昆虫媒介性ウイルス感染症の現状」. 2014 年 6 月 26-27 日, 東京. [澤邉京子]

(6) デング熱と媒介蚊．埼玉県ペストコントロール協会感染症予防衛生隊研修会．2014 年 8 月 22 日，さいたま市．[澤邉京子]

(7) デング熱媒介蚊の基礎情報と防除対策．東京都蚊媒介感染症対策会議．2014 年 9 月 19 日，東京．[澤邉京子]

(8) 東京都内で実施したデング熱媒介蚊対策．H26 年度感染症危機管理研修会. 2014 年 10 月 15-16 日, 東京. [澤邉京子]

(9) マダニ媒介性疾患等感染症の現状．第 7 回東北地区ペストコントロール研修会. 2014 年 10 月 17 日, 青森市. [澤邉京子]

(10) 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．2014 年 10 月 21 日，東京．[伊澤晴彦]

(11) H26 年度厚生労働科学特別研究事業における感染症媒介蚊対策に関する実技検討会．2014 年 10 月 22-23 日，名古屋市．[津田良夫]

(12) H26 年度厚生労働科学特別研究事業における感染症媒介蚊対策に関する実技検討会．2014 年 10 月 22-23 日，岡山市．[澤邉京子，前川芳秀]

(13) H26 年度厚生労働科学特別研究事業における感染症媒介蚊対策に関する実技検討会．2014 年 10 月 29-30 日，太宰府市．[小林睦生，前川芳秀]

(14) マダニ対策実習セミナー．第 7 回衛生害虫対策セミナー．2014 年 11 月 5 日，鴨川市．[澤邉京子]

(15) H26 年度動物由来感染症対策（狂犬病予防を含む）技術研修会．2014 年 11 月 7 日，東京．[津田良夫]

(16) マダニ由来の感染症．H26 年度感染症対策指導者講習会．2014 年 11 月 13 日，東京．[澤邉京子]

(17) マダニ由来の感染症．H26 年度感染症対策指導者講習会．2014 年 11 月 18 日，岡山市．[小林睦生]

(18) マダニ媒介性感染症．JA 遠州視察研修会．2014 年 12 月 12 日，東京．[澤邉京子]

(19) デング熱媒介蚊対策の必要性．蚊 0 防除（環境快適化）に関する岡山県連携会議．2014 年 12 月 25 日，岡山市．[澤邉京子]

(20) 衛生動物に関する最近の話題．第 50 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会．2015 年 1 月 28 日，川崎市．[澤邉京子]

(21) 感染症媒介蚊対策に関する検討．東京都技術研修会．2015 年 2 月 3 日，東京．[澤邉京子]

(22) デング熱媒介蚊の特徴と媒介蚊対策の実際. 平成 26 年度希少感染症診断技術研修会．2015 年 2 月 17-18 日，東京．[澤邉京子]

(23) 蚊媒介感染症の対応・対策に関する地方公共団体向け手引きに関する検討会．2015 年 3 月 11-12 日東京．[澤邉京子]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Ohashi, K., Tsuda, Y., Kasai, S., Kawada, H., Takagi, M. Hybridization between sympatric populations of *Culex pipiens pallens* and *Culex pipiens* f. *molestus* (Diptera: Culicidae) in Nagasaki, Japan. Medical Entomology and Zoology, 65: 67-72, 2014.

2) Tsuda, Y., Kamezaki, H. Mark-release-recapture study on movement of mosquitoes: individual marking method and short-term study of *Aedes albopictus* and *Armigeres subalbatus* in residential area on Ishigaki Island, Japan. Medical Entomology and Zoology, 65: 61-66, 2014.

3) Tsuda, Y., Hayashi, T. Results of mosquito surveillance using dry-ice traps from 2003 to 2013 at the National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan. Medical Entomology and Zoology, 65: 131-137, 2014.

4) Arima,Y., Matsui, T., Shimada, T., Ishikane, M., Kawabata, K., Sunagawa, T., Kinoshita, H., Takasaki, T., Tsuda, Y., Sawabe, K., Oishi, K. Ongoing local transmission of dengue in Japan, Augusut to September 2014. WPSAR 5(4) doi:10. 5365/wpsar.2014.5.3.007, 2014.

5) Huber, K., Schuldt, K., Rudolf, M., Marklewitz, M., Fonseca, D. M., Kaufmann, C., Tsuda, Y., Junglen, S., Krüger, A., Becker, N., Tannich, E., Becker, S.C. Distribution and genetic structure of *Aedes japonicus japonicus* populations (Diptera: Culicidae) in Germany. Parasitology Research, 113: 3201-3210, 2014.

6) Kobayashi, M., Komagata, O., Yonejima, M., Maekawa, Y., Hirabayashi, K., Hayashi, T., Nihei, N., Yoshida, M., Tsuda, Y., Sawabe, K. Retrospective search for dengue vector mosquito *Aedes albopictus* in areas visited by a German traveler who contracted dengue in Japan. International Journal of Infectious Diseases, 26: 135-137, 2014.

7) Kobayashi, M. Regional Correspondent's Report—Asian SOVE Unexpected outbreak of dengue by *Aedes albopictus* in midsummer in Tokyo, 2014, SOVE Newsletter, 46: 3&6.

8) Iwanaga, S., Isawa, H., Yuda, M. Horizontal gene transfer of a vertebrate vasodilatory hormone into ticks. Nature Communications. 5: 3373, 2014.

9) Ejiri, H., Kuwata, R, Tsuda, Y., Sasaki, T., Kobayashi, M., Sato, Y., Sawabe, K., Isawa, H. First isolation and characterization of a mosquito-borne orbivirus belonging to the species *Umatilla virus* in East Asia. Archives of Virology, 159: 2675-2685, 2014.

10) Hirata, K., Komagata, O., Itokawa, K., Yamamoto, A., Tomita, T., Kasai, S. A single crossing-over event in voltage-sensitive Na^+ channel genes may cause critical failure of dengue mosquito control by insecticides. PLoS Neglected Tropical Diseases 8, e3085, 2014.

11) Kasai, S., Komagata, O., Itokawa, K., Shono, T., Ng, L.C., Kobayashi, M., Tomita, T. Mechanisms of Pyrethroid Resistance in the Dengue Mosquito Vector, *Aedes aegypti*: Target Site Insensitivity, Penetration, and Metabolism. PLoS Neglected Tropical Diseases 8, e2948, 2014.

12) Scott, J., Warren, W., Beukeboom, L., Bopp, D., Clark, A., Giers, S., Hediger, M., Jones, A., Kasai, S., Leichter, C., Li, M., Meisel, R., Minx, P., Murphy, T., Nelson, D., Reid, W., Rinkevich, F., Roberson, H., Sackton, T., Sattelle, D., Thibaud-Nissen, F., Tomlinson, C., Zande, L., Walden, K., Wilson, R., Liu, N. Genome of the house fly, *Musca domestica* L., a global vector of diseases with adaptations to a septic environment. Genome Biology, 15: 466, 2014.

2. 和文発表

1) 林 利彦．Family Sphaeroceridae フンコバエ科． 日本

昆虫目録編集委員会編集，日本昆虫目録，第 8 巻　双翅目（第 2 部　短角亜目額嚢節），日本昆虫学会, p. 683-692, 2014.

2) 小林睦生，伊澤晴彦，沢辺京子．ダニが媒介する感染症―SFTS を中心に．感染・炎症・免疫，43: 69-73，2014.

3) 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，2: 140-146，2014.

3. その他

1) 沢辺京子．日本脳炎ウイルスの国内越冬と海外飛来．化学療法の領域，医薬ジャーナル社，30: 39-49，2014.

2) 沢辺京子．デング熱・ウエストナイル熱・日本脳炎・マラリアなどの感染症を媒介するカたち．クリンライフ CLEAN LIFE，環境文化創造研究所，2014 年号: 11-18，2014.

3) 沢辺京子. わが国におけるマダニ類の分布状況について（特集　マダニを取り巻く環境と SFTS）. 生活と環境，日本環境衛生センター，59: 18-22，2014.

4) 佐々木年則，関 なおみ．シラミ媒介性感染症，特に塹壕熱の現状と今後の課題．化学療法の領域，医薬ジャーナル社，30: 106-113，2014.

5) 葛西真治．蚊の季節にこの小さな敵を知る，今を読む！時事・トレンド解体新書，集英社，2014.

6) 小林睦生．（矢崎義雄 総集編）内科学 4．感染症および寄生虫疾患，朝倉書店，pp. 2404，2014.

7) 小林睦生．クモ毒．別冊日本臨床，新領域別症候群シリーズ, No.30 神経症候群（第 2 版），日本臨床社，700-704, 2014.

8) 小林睦生. ベクター媒介性感染症の現状と対策に関する問題点.（特集　我が国でも問題のベクター媒介性感染症）. 化学療法の領域, 医薬ジャーナル社, 30: 22-25, 2014.

9) 小林睦生. ベクター媒介性感染症の世界的な流行状況（特集　我が国でも問題のベクター媒介性感染症）. 化学療法の領域，医薬ジャーナル社，30: 26-31，2014.

10) 小林睦生．地球温暖化と節足動物媒介性感染症：世界と日本の現状．生活と環境，日本環境衛生センター，59: 30-36，2014.

11) 小林睦生．節足動物媒介性感染症，そ族・昆虫等の発生状況. 生活と環境, 日本環境衛生センター, 59: 20-25, 2014.

12) 小林睦生．特別寄稿「2014 年に突然流行したデング熱―媒介蚊対策の重要性」. 生活と環境，日本環境衛生センター，59: 44-48，2014.

13) 渡辺 護．東日本大震災から見る感染症の行方．クリンライフ CLEAN LIFE, 環境文化創造研究所, 2014 年号: 19-26，2014.

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Kasai, S., Hirata, K., Komagata, O., Itokawa, K., Yamamoto, A., Ng, L.C., Shono, T., Kobayashi, M., Tomita, T. Mechanisms of pyrethroid resistance in the dengue vector, *Aedes aegypti*. Symposium in honor of the life and carrer of professor Fumio Matsumura, 13th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry, August 10, USA, 2014.

2) Ejiri, H., Kuwata, R., Isawa, H., Sasaki, T., Hayashi, T., Kobayashi, M., Sawabe, K. Analysis of the novel virus of the genus *Phlebovirus* isolated from *Haemaphysalis flava* collected in Japan.　XIV International Congress of Acarology，2014 年 7 月 14-18 日，京都市.

3) Hirabayashi, K., Takeda, M., Tsuda, Y. After-effects of Tsunami on distribution of mosquitoes in the suburbs of Sendai City in Miyagi Prefecture, Japan in 2013. The 2nd Symposium of Benthological Society of Asia. 2014年6月5-7日，Busan，Korea.

4) Hirabayashi, K., Takeda, M., Nihei, N., Kobayashi, M., Tsuda, Y., Sawabe, K. Distribution of *Aedes albopictus* mosquitoes in an inland climate mountain area, Nagano Prefecture, Japan. The 8th International Conference on Urban

Pests. 2014年7月20-23日，Zurich，Switzerland.

2. 国内学会

1) 沢辺京子，山内健生，橋本知幸，野田伸一，渡辺 護，鍬田龍星，前田 健，佐藤智美，前川芳秀，林 利彦，小林睦生．マダニ相に関する国内調査．第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2014 年 5 月 16-17 日，山口市.

2) 津田良夫. 越冬したコガタアカイエカの翌春の出現時期に関する生態学的考察. 第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2014 年 5 月 16-17 日，山口市.

3) 江尻寛子，鍬田龍星，伊澤晴彦，佐々木年則，津田良夫，林 利彦，小滝 徹，高崎智彦，小林睦生，沢辺京子．国内で捕集された蚊およびマダニから分離された 2 種のオルビウイルスの性状解析. 第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2014 年 5 月 16-17 日，山口市.

4) 小林大介，伊澤晴彦，江尻寛子，佐々木年則，前川芳秀，吉川 亮，松本文昭，吾郷昌信，津田良夫，鍬田龍星，田島 茂，小林睦生，太田伸生，沢辺京子．2012 年および 2013 年に長崎県で捕集されたコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* のアルボウイルス保有状況調査．第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2014 年 5 月 16-17 日，山口市.

5) 鈴木弘行，沢辺京子，駒形 修，後藤祥子，高橋千衣子，斉藤義弘，世良耕一郎．ヒトスジシマカとコガタアカイエカに含まれる元素の PIXE 分析．第 20 貝 NMCC 共同利用研究成果発表会，2014 年 5 月 23-24 日，盛岡市.

6) 世良耕一郎，鈴木弘行，沢辺京子，駒形 修，後藤祥子，高橋千衣子，斉藤義弘．蚊・ハエに対する無調整・無標準法の開発．第 20 回 NMCC 共同利用研究成果発表会，2014 年 5 月 23-24 日，盛岡市.

7) 冨田隆史. 殺虫剤抵抗性機構はどこまで明らかになったか，ミニシンポジウム「耐性の新たなメカニズム：農薬から抗がん剤、抗ウィルス薬まで」．第 41 回日本毒性学会学術年会，2014 年 7 月 2-4 日，神戸市.

8) 駒形 修．節足動物媒介性感染症，特にマダニ媒介性感染症 SFTS および蚊媒介感染症．日本オペレーションズ・リサーチ学会「安全・安心・強靭な社会と OR」研究部会，2014 年 7 月 25 日，東京.

9) 江尻寛子，鍬田龍星，伊澤晴彦，林 昌宏，山口幸恵，伊藤睦代，高崎智彦，小滝 徹，佐々木年則，津田良夫，林 利彦，小林睦生，西條政幸，沢辺京子．国内捕集蚊およびマダニ由来のオルビウイルス．第 157 回日本獣医学会学術集会，2014 年 9 月 9-12 日，札幌市.

10) 鈴木弘行，沢辺京子，駒形 修，後藤祥子，高橋千衣子，齋藤義弘，世良耕一郎．PIXE 分析法を用いた蚊の飛来源推定に関する予備的検討．第 30 回 PIXE シンポジウム，2014 年 10 月 22-24 日，盛岡市.

11) 沢辺京子．2014 年東京都で発生したデング熱の国内感染事例. 第 66 回日本衛生動物学会東日本支部大会シンポジウム，2014 年 10 月 31 日，千葉市.

12) 前川芳秀，津田良夫，澤邉京子．岐阜県飛騨高山地方および福島県会津地方における蚊相調査 2014．第 66 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2014 年 10 月 31 日，千葉市.

13) 佐藤智美，林 利彦，前川芳秀，糸山 亨，沢辺京子．神奈川県厚木市におけるマダニ相および植生調査．第 66 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2014 年 10 月 31 日，千葉市.

14) 谷川 力，山内雅充，石原新市，富岡康浩，木村悟朗，田中和之，駒形 修，津田良夫，沢辺京子．2014 年千葉市稲毛区におけるデング熱媒介蚊ヒトスジシマカの防除事例．第 66 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2014 年 10 月 31 日，千葉市.

15) 渡辺 護，渡辺はるな，沢辺京子．筑前高田市における蚊の発生状況，4 年間の変遷．第 66 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2014 年 10 月 31 日，千葉市.

16) 武田昌昭，中山雄貴，市川誠，平林公男，二瓶直子，小林睦生，津田良夫，沢辺京子．長野県北信地方（白馬村，大町市）における蚊相の研究.第 66 回日本衛生動物

学会東日本支部大会，2014 年 10 月 31 日，千葉市

17) 沢辺京子．如何にしてキャリアを積み上げてきたか～産官学の各領域から～，女性研究者のキャリアパス形成．第 66 回日本熱帯医学会ミニシンポジウム 7，2014 年 11 月 3 日，東京．

18) 沢辺京子. 東京都内で実施したデング熱媒介蚊対策．特別講演 : 衛生害虫の最新情報と動向．第 30 回日本ペストロジー学会大会，2014 年 11 月 7 日，新潟．

19) 沢辺京子．国内に生息するデング熱媒介蚊と蚊対策の実際, デング熱 これからどうなる？．日本獣医学会市民公開講座，2014年12月1日，東京．

20) 澤邉京子．衛生昆虫学の立場から．平成 26 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 デング熱セッション，2015 年 2 月 16 日，東京．

21) 二瓶直子，駒形 修，小林睦生，鈴木弘行，陳 睿，齋藤康秀，太田伸生，平 健介，黄 鴻堅．土壌養分濃度による日本および中国における日本住血吸虫中間宿主貝生息地のクラスター分析. 第 84 回日本寄生虫学会大会，2015 年 3 月 22 日，東京都．

22) 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，岩永史朗，安藤勝彦，鎮西康雄，佐藤智美，前川芳秀，林 利彦，佐々木年則，小林睦生．SFTS対策に向けたマダニ類の全国調査．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

23) 津田良夫，石田恵一，打田憲一，澤辺京子．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調査：宮城県南部水田地帯と福島県南相馬市における被災4年目の状況. 第67回日本衛生動物学会大会, 2015年3月27-29日，金沢市．

24) 津田良夫．ヒトスジシマカの生息密度調査に基づくデング熱感染リスク評価と媒介蚊対策，緊急シンポジウム : 70 年ぶりのデング熱国内流行と将来予想．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

25) 小林睦生, 前川芳秀, 山内健生, 野田伸一, 二瓶直子, 沢辺京子．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）患者が発生した地域の植生の特徴. 第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

26) 小林睦生, 二瓶直子, 西井和弘, 佐藤 卓, 小川浩平, 澤辺京子．東北地方におけるヒトスジシマカの分布と20年間の年平均気温11℃以上の確立との関係．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

27) 前川芳秀, 小川浩平, 駒形 修, 津田良夫, 沢辺京子．本州における蚊相調査ならびに分子生物学的種同定のためのDNA バーコードの整備．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

28) 金 京純, 津田良夫．イナトミシオカにおける鳥類マラリア原虫スポロゾイトの初報告．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

29) 佐藤 卓，西井和弘，二瓶直子，小林睦生．岩手県におけるヒトスジシマカの分布とその生息条件の推移．第67回日本衛生動物学会大会, 2015年3月27-29日, 金沢市．

30) 平林公男，武田昌昭，中山雄貴，津田良夫，二瓶直子，小林睦生，沢辺京子．長野県内におけるヒトスジシマカの分布．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

31) 山内健生，石原貴子，沢辺京子．鳥取県，島根県，広島県におけるマダニ定点調査. 第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市．

32) 伊澤晴彦，小林大介，糸川健太郎，津田良夫，前川芳秀，小川浩平，佐々木年則，江尻寛子，駒形 修，冨田隆史，林 利彦，小林睦生，モイメンリン，小滝 徹，高崎智彦, 沢辺京子. 2014 年に東京都内で捕集されたヒトスジシマカのデングウイルス保有状況調査．第67回日本衛生動物学会大会，2015年3月27-29日，金沢市．

33) 佐々木年則，伊藤航人，久保田眞由美，山岸拓也，川崎麻紀，十菱大介，平尾磨樹，伊澤晴彦，足立智英，大石和徳，柴山恵吾，澤邉京子．2012年から2014年にお

けるシラミ媒介性細菌*Bartonella quintana*の疫学研究．第67回日本衛生動物学会大会, 2015年3月27-29日, 金沢市.

34) 江尻寛子, 伊澤晴彦, 林 昌宏, 小滝 徹, 高崎智彦, 林 利彦, 佐々木年則, 小林睦生, 西條政幸, 沢辺京子. 国内で捕集されたマダニから分離されたオルビウイルスの性状解析．第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市.

35) 小林大介，伊澤晴彦，前川芳秀，糸川健太郎，砂原俊彦，今西 望，吉川 亮，松本文昭，吾郷昌信，津田良夫，江尻寛子，佐々木年則，小林睦生，小滝 徹，高崎智彦，皆川 昇, 太田伸生，沢辺京子．2013 年に長崎県で捕集されたコガタアカイエカのウイルス保有状況調査．第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市.

36) 佐藤智美, 山内健生, 林 利彦, 前川芳秀, 小川浩平, 佐々木年則，小林睦生，糸山 享，沢辺京子．環境の異なる地域におけるマダニ相および植生解析. 第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市.

37) 駒形 修，小川浩平，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史．新規蛍光プローブ「Eprobe」を用いた殺虫剤抵抗性関連 SNPs の検出．第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市.

38) 糸川健太郎，葛西真治，駒形 修，小川浩平，冨田隆史．チカイエカのピリプロキシフェン抵抗性．第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市.

39) 小川浩平，糸川健太郎，駒形 修，葛西真治，冨田隆史．ネッタイシマカのペルメトリン解毒代謝酵素に関する QTL 解析．第 67 回日本衛生動物学会大会，2015 年 3 月 27-29 日，金沢市.

40) 糸川健太郎，小川浩平，駒形 修，冨田隆史．ゲノム編集による殺虫剤解毒酵素遺伝子のノックアウト．第 59 回日本応用動物昆虫学会大会，2015 年 3 月 26-28 日，山形市.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　森川 茂

概　要

獣医科学部は、戸山庁舎に配置され、第 1 室、第 2 室、第 3 室の 3 室で構成される。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、研究業務を行った。また、室横断的に重症熱性血小板減少症候群（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。無尾類に由来するブルセラ属菌の性状､遺伝的解析を行った。また、ブルセラ属菌の細胞への感染機序に関する基礎的研究を行なった。カプノサイトファーガ感染症では、患者の発生状況調査を継続して行い、今年度には確定患者 9 名を把握し、中高年齢者が多く、基礎疾患の有無によらない、ネコ咬傷・掻傷による感染が海外よりも多いことなどが明らかになった。近年同定されたネコモルビリウイルスでは、国内のネコモルビリウイルスの疫学的研究により、国内でも当該ウイルス感染が高率に起きていることが分かった。他のモルビリウイルスと血清学的交叉しないことから、本ウイルスはモルビリウイルス属とは別のウイルスである可能性が示唆された。第 2 室では、狂犬病を含むラブドウイルス感染症、ニパウイルス感染症、炭疽菌等に関する業務を行っている。半世紀にわたって狂犬病の報告が無かった台湾で 2013 年に野生動物での狂犬病の流行が確認された。これを受けて、国内の狂犬病の危機管理に関わる調査等を行なった。また、台湾・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。狂犬病の病原性に関する膜糖タンパク質の糖鎖修飾の意義に関する研究、マイクロニードルによるより有効な狂犬病ワクチンの接種法に関する研究を行った。炭疽菌では炭疽常在地での有用な検査法として LAMP 法を開発した。また、抗菌ペプチドやカテキンの炭疽菌抗菌効果に関する研究を行った。ニパウイルス感染症がフィリピンで発生した際に診断協力を行った。また、偽ウイルス中和法により遅発・再発性ニパ脳炎患者の血清診断の有用性を明らかにした。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。野兎病菌の細胞内増殖性、病原性発現機構、病原性などの基礎研究等を行っている。遺伝子 KO による弱毒野兎病菌によるワクチン開発に関する研究も実施した。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 5 名　春原正隆（日本歯科大学生命歯科学部）岡島淳梧（東京都動物愛護相談センター）葛西秀美（東京都動物愛護相談センター）蓮池陽子（東京都動物愛護相談センター）加藤卓也（日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻)、研究生 1 名　田徳雨（東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程)、実習生 1 名　比嘉雅彦(日本獣医生命科学大学)が入所した。また、研究協力者 6 名　及び研究生 1 名　濱本紀子（岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士課程）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 2 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濱本紀子が「狂犬病ウイルス（街上毒）が固定毒化で獲得した病原性低下に係る N 型糖鎖の役割に関する研究」で博士号を取得した。

業　績

調査・研究

I. ブルセラ症に関する研究

１．ブルセラ症の疫学的調査研究

ブルセラ症（Brucellosis）は、1999 年 4 月 1 日施行の感染症法で 4 類感染症として、診断した医師に届出が義務づけられている。当室では国内症例について行政検査対応を担当しているが、平成 26 年度には、8 例（*B.melitensis* 感染 1 例、*B.canis* 感染 7 例）が届け出られ、1999 年度からの累計では、32 例（*B.melitensis*

または *B.abortus* 感染 9 例、*B.canis* 感染 23 例）となった。前者はすべて輸入症例であり、後者はすべて国内感染例となっている。また、*B.canis* 感染については無症状病原体保有者として届け出られる例があり、平成 26 年度は 2 例が該当した。

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、平成 26 年度に東京都動物愛護相談センターに保護･収容されたイヌより膀胱尿および尿道（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、抗体陽性は 1/27 頭（3.7%）、また、尿、スワブ、血清から *B. canis* 特異的遺伝子が検出されたものはいなかった。[今岡浩一、木村昌伸、森川茂（感染研・獣医科学部）、蓮池陽子、葛西秀美、岡島淳悟（東京都動物愛護相談センター）]

２．無尾類に由来するブルセラ属菌の分離と解析

平成 25 年度、無尾類より分離した 2 株（A105 株、A141 株）が *B. inopinata* と近縁な新規ブルセラ属菌であると同定したが、平成 26 年度にも、別種の無尾類よりさらに 3 株（A7h 株、A9h 株、A10h 株）を分離した。これら、分離株は、Combinatorial-PCR、16S rRNA 遺伝子による系統解析、さらに多座遺伝子タイピング（MLSA9、計 4,396bp）の結果、いずれも新規のブルセラ属菌であったが、PCR の反応性、生化学的性状、各種抗血清との反応性の違いから、A105 株、A141 株とは異なることが明らかとなった。さらに、A105 株、A141 株では、培養ヒト由来細胞（HeLa）への感染･増殖も認められたことから、*B. inopinata* 同様、ヒトへの感染リスクを有することが明らかとなった。

また、分離株について、次世代シーケンサーを用いて各々の全ゲノム情報を得た。得られた Contig について、Gene annotation を行い、*B. melitensis* のゲノム配列を対照として遺伝子地図を作成した。次に、MLSA に用いられる 9 座の遺伝子について全遺伝子配列を決定し、他のブルセラ属菌と比較し、ホモロジー解析と系統樹解析を実施した。さらに得られた遺伝子情報をもとに、カエル由来ブルセラ属菌遺伝子検出のための特異的 PCR 法を開発した。[木村昌伸、奥谷晶子、鈴木道雄、朴ウンシル、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）]

３．ブルセラ属菌の感染機序に関する研究

B.abortus は細胞に感染すると、小胞構造（BCV）をとり、さらに ERES において小胞体由来の膜を獲得したのち（Repricative BCV）、その細胞内環境下で増殖するが、小胞体由来膜の獲得機序には不明な点も多い。そこで、今回、HeLa 細胞に *B.abortus* を感染させ、小胞体ストレス応答を検討したところ、IRE1 経路が活性化されることが明らかとなった。さらに、IRE1 活性化に関連する因子として Yip1A が同定され、両者は ERES において複合体を形成していた。一方、宿主細胞の Yip1A の発現を抑制したところ、IRE1 の活性化も抑制され、*B.abortus* の増殖も抑制された。電子顕微鏡による検討などで、増殖する *B.abortus* の周辺には小胞体由来の膜小胞が形成され、これが BCV と融合、菌の増殖の場を構築していることが明らかとなった。また、小胞体由来膜形成にはオートファジー関連蛋白のうち DFCP1 ではなく Atg9、WIPI1 が関与していることも明らかとなった。

[今岡浩一、宇田晶彦（感染研・獣医科学部）、片岡紀代（感染研･感染病理部）、田口由起、中津大貴、村田昌之（東京大学大学院･総合文化研究科）]

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。特にカプノサイトファーガ･カニモルサス（*Capnocytophaga canimorsus*）は、ヒトがイヌやネコに咬傷・掻傷を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに平成 26 年度 9 例、累計 57 例（うち死亡 15 例）の患者報告を把握し、昨年度までの傾向と同じく、(1) 患者は中高年齢者の男性が中心である、(2) 基礎疾患の有無によらない、(3) 国内ではネコ咬傷・掻傷を感染原因とする割合が海外より高い、ことが確認された。

また、*C. canimorsus* 感染症疑いの重症敗血症例 3 例から *C.canimorsus* とは遺伝子的に異なる菌株が分離された。この新たな致死的敗血症原因菌である新規 *Capnocytophaga* 属菌について、全ゲノム解析を含む遺伝子解析および生物学的解析を行い、その性状を明らかにするとともに、特異的 PCR による鑑別診断法を開発した。さらに、疫学的調査として東京都動物愛護相談センター引取りネコの *C. canimorsus* 保菌率を検討し、全体では 41.1%、1 歳以上では 65.3%、1 歳未満では 22.2%と、保菌率に年齢差があることを明らかにした。[鈴木道雄、奥谷晶子、朴ウンシル、木村昌伸、森川茂、今岡浩一（感染研・獣医科学部）、蓮池陽子、葛西秀美、岡島淳悟（東京都動物愛護相談センター）]

III. ネコモルビリウイルスの調査研究

１．国内のネコモルビリウイルスの疫学的研究

2012 年同定された新規ネコモルビリウイルス（FmoPV）は measles virus（MV）や canine distemper virus（CDV）などのモルビリウイルスと最も近縁関係にあると考えられる。MV 抗原と CDV 抗原の間には交差性があることから、FmoPV と MV または CDV との間の交差反応性を検討した。

まず、FmoPV 抗体陽性ネコ血清の、CDV-N または MV-N 蛋白質発現細胞に対する反応性を蛍光抗体法(IF)で検討したところ陰性であった。さらに、CDV 感染イヌ血清でも、FmoPV-N 蛋白質発現細胞との反応性は認められなかった。すなわち主要抗原である N 蛋白質について FmoPV は MV および CDV と交差しないことが示された。

国内イヌの多くは CDV に対するワクチンを接種し CDV に対する抗体を保有している。そこで、東京都動物愛護相談センターのイヌ血清について FmoPV-N 蛋白質発現細胞を用いた IF により、1）抗 CDV 抗体の FmoPV-N との交差反応性、2）FmoPV または FmoPV と交差する近縁ウイルスがイヌに存在し、それに対する特異抗体を保持しているか、について検討したところ、どちらも全て陰性を示した。

これらのことから、CDV と FmoPV は交差しないことおよび、イヌは FmoPV または FmoPV と交差する近縁ウイルスを保持していないことが確認された。

[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）、蓮池陽子、葛西秀美、岡島淳悟、丸山啓二、新井英人（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

平成 25 年 7 月 17 日、52 年間、狂犬病の清浄性を維持してきた台湾で野生動物に狂犬病の流行が報告されたことを受けて、平成 26 年 8 月 4 日に「国内動物を対象とした狂犬病検査実施要領」が取りまとめられ、各都道府県・保健所設置市・特別区の衛生主管部（局）長宛てに国内動物を対象とした狂犬病検査の実施について(協力依頼)の通知（健感発 0804 第 1 号）がなされた。そこで、宮崎大学産業動物防疫リサーチセンターと宮崎県福祉保健部衛生管理課が共催して行った九州地区狂犬病診断研修会を活用して、自治体で狂犬病調査を行うに必要な解剖と検査の手技等改良と研修モデル確立を行い自治体の状況に応じた体制整備の方法検討と課題等情報共有を可能にした。また、台湾大学、台湾ＣＤＣ，台湾家畜衛生研究所の狂犬病専門家と台湾で流行しているイタチアナグマの狂犬病について最新知見と現行の対策等について情報共有と動物の狂犬病調査における実際について意見交換等を行った。[井上 智、堀田明豊、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂；三澤尚明、桐野由美、目堅博久（宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター)、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所)、高木祐司（沖縄県動物愛護管理センター)、佐藤克（狂犬病臨床研究会)、山田健太郎（大分大学医学部)、費昌勇（台湾大学獣医大学院)、河原正治(東京大学大学院工学系研究科)、協力自治体(佐賀県、長崎県、熊本県、熊本市、大分県、鹿児島県、鹿児島市、沖縄県、山口県、福岡市、北九州市、久留米市、宮崎県、宮崎市）]

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 との狂犬病および炭疽に関する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行うために、当該病原体の検査・同定法の開発、分離株の分子疫学に関する研究を NIHE の狂犬病ラボおよび炭疽ラボと共同して行った。狂犬病：我が国で過去に分離された国内株を利用してリアルタイム PCR 法を新たに構築した。現在、ベトナムで発生している狂犬病ウイルスのゲノム RNA を利用して現地の地域ラボで可能な検出系の確立を行っている。炭疽：国立感染症研究所（感染研）に保存されている炭疽菌株とベトナムの臨床検体から抽出された菌体 DNA を用いて LAMP 法による遺伝子検出系の構築と検証を行い炭疽が発生しているベトナム北部山岳地域での遺伝子検出が可能であることを明らかにした。[井上 智、野口 章、奥谷晶子、森川 茂；畠山薫（東京都健康安全研究センター）；水越文徳（栃木県保健環境センター）；Nguyen Vinh Dong, Nguyen Tuyet Thu, Ngo Chau Giang, Dr.Hoan Thi Thu Ha（NIHE）]

4. 狂犬病ウイルスの病原性解析に関する研究

Kyoto 株（街上毒）と CVS-26 株（固定毒）の G 蛋白質の細胞内発現とその局在を in vitro で比較解析して、Kyoto 株組み換え G 蛋白質をマウス神経芽腫由来 MNA 細胞に発現させると G 蛋白質は核周囲小胞体に分布し細胞膜に分布しないが、CVS-26 株 G 蛋白質の多くは細胞膜に分布し、両株 G 蛋白質の N 型糖鎖付加を阻害させると核周囲小胞体に分布すること、また、Kyoto 株 G 蛋白質の第 204 位アミノ酸を N 型糖鎖付加部位に置換すると細胞膜に分布することを明らかにして、街上毒が固定毒化の過程で獲得した細胞膜からのウイルス粒子の発芽や宿主の免疫応答の亢進に G 蛋白質 204 位への N 型糖鎖付

加が大きく関与しており、糖鎖付加によって小胞体等から細胞膜への蛋白質輸送が可能になることが示唆された。
[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）；朴天鎬（北里大学獣医病理学研究室）]

5. マイクロニードル法(MN)による狂犬病ワクチンの開発に関する研究

前年度までの予備実験としてマウスを用いた皮下・皮内接種法を行い、皮内接種法が高い抗体価を誘導することを明らかにした。今年度は、MN 法を行い、皮内接種法よりも少量の抗原量および少ない接種回数で狂犬病の発症予防が可能な中和抗体価をマウスに誘導することが可能であり、接種時の疼痛軽減と合わせて、より簡便で効果的な狂犬病ワクチンの開発が可能になると考えられた。
[野口 章、井上 智、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂；町田一哉、徳本誠治、寺原孝明（久光製薬）；内藤誠之郎（品質保証・管理部）]

V. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

１．炭疽発生地域で使用可能な LAMP 法の確立に関する研究

炭疽発生地域であるベトナムにおいて発生地域で検査を行う場合、検査結果は陽性が想定されるため検査においては、陰性対照へのコンタミネーションを避けつつ、安定した検査結果を出すために必要な検査精度を保つことが重要となる。そこで 4 種類あるいは 6 種類のプライマーセットを用いて LAMP 法を行い、確実に検査結果を出せること、および、陰性対照あるいは陰性検体へのコンタミネーションを防ぐことが可能となる 4 種類のプライマーセットによる運用を推奨することとした。

２．Anti-Microbial Peptides（AMP）および緑茶由来カテキンの炭疽菌抗菌効果に関する研究

前年度までに確認された AMP の抗菌効果を炭疽菌の抗生剤耐性菌にも有効であるかを検証した。その結果、高濃度においても明確な抗菌効果を得られる AMP が確認できなかった。そこで、より高い抗菌効果が望めると予想される候補物質として、緑茶由来カテキンを用いて抗菌効果の検証を行ったところ、一部のカテキンにおいては極めて高い抗菌効果を得られることが判明した。カテキンの種類によっては殆ど抗菌効果が望めないものもあることから、抗菌効果の高いカテキンの選別および抗菌作用の機序についての検証を行っている。
「奥谷晶子、野口章、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. SEAP 発現型シュードタイプ VSV を用いたニパウイルス中和試験法の高度化および遅発／再発性ニパ脳炎モニタリングへの応用可能性の検討

ニパウイルス（NiV）は致死率が高いうえ、治療法・ワクチンが開発されていないことから、近縁のヘンドラウイルス（HeV）とともに、国際的に BSL4 病原体に分類されている。これまでにシュードタイプ VSV を用いた中和試験が開発されたことにより、BSL2 における高感度・高特異性の血清診断が可能となっている。本課題では、分泌型アルカリフォスファターゼ（SEAP）発現型シュードタイプを用いた中和試験法の迅速性・利便性をさらに高めるため、超遠心処理によりシュードタイプストック液から遊離の SEAP を除去することに成功した。これにより、中和反応液を細胞に接種後、遊離の SEAP を除去するための洗浄が不要となり、中和試験に伴う作業が大幅に簡便になった。また、マラヤ大学の CT Tan 教授、KT Wong 教授との共同研究として、本法を用いて、マレーシアの 98-99 年流行時の元患者および流行地域の住民に対する血清調査を行ったところ、過去の疫学的な背景と整合性のある結果が得られたことから、本法の有効性が確認された。現在、本法が遅発／再発感染のモニタリングに血清検査が応用できるかについて慎重に検討している。
[加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

2. サル免疫による抗ニパウイルス N 蛋白質 IgM 陽性血清の作製および同感染症の血清診断法の開発

ニパウイルス（NiV）感染症は、1998-99 年のマレーシアでの初発以来、バングラデシュ、インド、フィリピンで発生している。国内での発生報告はないが、アジア・アフリカ各地で、自然宿主のオオコウモリから NiV 抗体が確認されている。国際的には Biosafetly level 4 (BSL4) 病原体に指定されており、感染拡大の阻止には発症初期の迅速診断がきわめて重要となる。国立感染症研究所では IgM 検出系の導入を検討してきたが、これまでに結果の評価に必要な IgM 陽性対照ヒト患者血清が確保できてこなかった。そこで本課題では、ヒトと血清学的に強い交差性が確認されているマカク属のカニクイザルを用いて NiV 抗血清を作出し、ヒト患者血清の代替となる陽性対照として利用することで、高感度・高特異性の IgM および IgG 検出系の確立を目指した。バキュロウイルスベクターを用いて発現させた NiV-N 蛋白質を精製し、これ

を免疫原として利用し、サルの免疫を行った。Day 0, 5, 7, 9, 11, 13, 15 に得られた経過血清から、既存・新規の複数の検出系で NiV-N 特異的 IgG, IgM の上昇を確認した。新規の検査系として NiV-N 抗原固相化プレートを用いた IgG 検出および IgM 検出 ELISA と、NiV-N 発現 HeLa W229 細胞を利用した IFA を構築した。得られた IgM 陽性サル血清は、現況では確保がきわめて困難な NiV-IgM 陽性ヒト血清のかわりに、各種 IgM 検出系の陽性対照となることから、より高感度・高特異性の抗体検出系の構築に活用できる。
[加来義浩、朴ウンシル、木村昌伸、森川茂]

3. 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

オオイタウイルス（OITAV）は、1972 年に大分県で採取されたコキクガシラコウモリの血液から、乳のみマウスの脳内接種により分離されたもので、その後も乳のみマウスの脳内接種のみで継代されてきた。また、フクオカウイルス（FUKV）は、1982 年に福岡県で採取されたヌカカ、コガタイエカから、その後 1986 年には広島県で白血球減少・発熱を呈した牛から分離されている。両ウイルスは部分的な遺伝子解析や電子顕微鏡観察等の結果から、ラブドウイルス科に分類されているが、属は未分類であり、公衆衛生学的なリスクは不明である。本課題では、両ウイルスの遺伝学的位置づけを明らかにするため、次世代シークエンス法を用いて、全ウイルスゲノム RNA 配列の解析を目指した。その結果、OITAV では 11,346nt の、FUKV では 10,850nt の contig 配列が得られた。いずれも主なラブドウイルスと同様５つの ORF があり、N, P, M, G, L に相当する蛋白質をコードしていると推測された。このうち、L 蛋白質の機能に必須と考えられ、ラブドウイルス間でよく保存されている Block III の約 136 残基のアミノ酸配列を用いて、OITAV, FUKV を含む 65 個のラブドウイルス配列の系統解析を行ったところ、両ウイルスは多くの未分類ウイルスとともに Dimarabdovirus-supergroup と総称されるクラスターに区分され、互いに比較的近縁にあたることが明らかになった。今後、次世代シークエンス法で同定できなかったウイルスゲノム 3'末端、5'末端の配列の解析を行う。[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. 日本分離野兎病菌の細胞内増殖性の相異に関する研究

細胞内増殖性を有す Yama および Kato 株、ならびに細胞内増殖性を欠く Jap、Tsuchiya および Ebina 株の野兎病菌 5 株について、液体培地における増殖性および過酸化水素水感受性を比較した。全 5 株は改変ミュラーヒントン培地にて増殖性が認められたが、Jap および Tsuchiya 株が CDM において殆ど増殖しなかった。また、0.01％ H_2O_2 含有 PBS にて 4 時間処理により、Jap および Ebina 株の生菌数は 9 割以下に減少した。これより CDM における増殖性と H_2O_2 抵抗性は野兎病菌株の細胞内増殖性評価の指標となることが示唆された。
[堀田明豊、宇田晶彦、藤田修、森川茂]

2. カニクイザルを用いた野兎病菌ΔpdpC 株のワクチン効果に関する検討

野兎病菌はヒトや動物に対して非常に高い感染性と致死性を有する事から、生物兵器としての使用が危惧されている。しかし日本において、野兎病菌のワクチン株は未だ選定されていない。そこで、マウスに対する病原性を消失している野兎病菌 *pdpC* 遺伝子破壊株（ΔpdpC 株）のワクチン有効性について検討した。半致死量の 20 万倍（10^6 CFU）の野兎病菌強毒株を 2 頭のカニクイザルに接種したところ、7 および 11 日目に死亡した。一方、10^6 CFU のΔpdpC 株で免疫した 2 頭のカクニイザルは同量の野兎病菌強毒株を接種しても 3 週間の観察期間生残した。この結果から、ΔpdpC 株はワクチンとして有効である可能性が示唆された。
[田徳雨、宇田晶彦、網康至、堀田明豊、朴ウンシル、永田典代、岩田奈織子、藤田修、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 ウイルス保有マダニの分布

九州から北海道にかけて、27 自治体において植生マダニとシカに付着しているマダニを調査した。その結果、SFTS ウイルス保有マダニは、これまでに SFTS 患者が確認されている自治体に加えて、SFTS 患者が報告されていない自治体でも確認された。なお、植生マダニでは、数匹をプールした検体から遺伝子検出を行った結果、6798 匹のマダニ（2839 プール）中 458 プールが陽性であったことから、個体別の陽性率は 6.7〜16.1%の範囲になると推定される。一方、シカ付着マダニは、マダニ 1 匹から遺伝子を検出した結果、1001 匹中 439 匹が陽性（43.9%）となり、後者で有意に陽性率が高かった。ウイルス遺伝子が検出されたマダニ種は、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、タカサゴチマダニ、ヒゲナガチマダニ等で、*Amblyomma* 属、*Haemophysalis* 属から遺伝子が検出され

た。
[宇田晶彦、藤田修、木村昌伸、加来義浩、朴ウンシル、鈴木道雄、井上智、今岡浩一、森川茂；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(続報)

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)はマダニ媒介性の感染症である。国内の自然界における SFTSV の維持様式は不明である。昨年に引き続き、15 府県で捕獲したニホンジカ体表より採取した各種マダニから SFTSV 特異的遺伝子の検出を行い、自然界での維持におけるニホンジカとマダニの役割について検討した。その結果、マダニでの陽性率、特にマダニ属マダニは昨年度に比べ著しく低くかったが、陽性のチマダニ属マダニは SFTS 患者の発生がない府県を含む日本全土において認められた。
[藤田修、宇田晶彦、木村昌伸、今岡浩一、森川茂（獣医科学部），藤田博己（馬原アカリ研）]

3. 国内の動物からの SFTS ウイルス抗体の検出（続報）

SFTSV はマダニ媒介性であり、その感染環には吸血される動物が重要な役割を果たしている。そこで昨年に引き続き、各種動物の血清疫学を実施した。その結果、最も広範囲に調査したニホンジカでは、青森県、岩手県、宮城県、栃木県、群馬県、静岡県、山梨県、長野県、岐阜県、三重県、滋賀県、京都府、兵庫県、鳥取県、島根県の 15 自治体を調査し、全体で 18.6%が抗体陽性であった。昨年度までの調査結果（2007 年からの保管血清及び 2013/2014 年狩猟期の捕獲されたニホンジカ血清）と併せると、1）少なくとも 2007 年には抗体陽性シカが存在し、患者発生自治体では高い抗体陽性率であること、2）患者発生自治体ではシカの抗体陽性率は有意に高いこと、３）患者非発生自治体でもシカの抗体陽性率がこの 2 年間で上昇している自治体、2 年間比較的高い陽性率である自治体が存在した。また、イノシシやウサギでは 2005 年には抗体陽性動物がいたことから、国内には SFTS ウイルスが 10 年以上前から存在していると推定される。これらの結果から、野生動物やイヌでの血清疫学調査を継続してい実施することにより、SFTS 発生リスクを評価できると考えられる。
[森川茂、木村昌伸、宇田晶彦、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. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス感染のモデルマウスの開発

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は発熱や消化器症状を伴う致死性の高い新興感染症である。しかし、SFTS を発症する動物モデルが無い事から、効果的なワクチン、特異的な治療法の開発に至っていない。そこで我々は、自然免疫が減弱している I 型インターフェロンレセプター（InfaR1）欠損マウスに着目し、SFTS 発症動物モデルとしての有効性について検討を行った。実験動物として汎用されている C57BL/6J マウスは、10-2～106 TCID50 の SFTS ウイルスを接種しても発症しなかった。一方で、InfaR1 欠損マウスに 102 TCID50 以上の力価で SFTSV を接種した場合、血小板減少と共に重症化し、10 日目までに死亡した。この事から、InfaR1 欠損マウスは、SFTS 発症動物モデルとして有用である可能性が示唆された。
[宇田晶彦、河合康洋 [1]、朴ウンシル、鈴木忠樹 [2]、田徳雨、堀田明豊、藤田修、森川茂（１．動物管理室，２．感染病理部）]

5. Bhanja ウイルスに関する研究

重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）に血清学的に交差反応を呈すとされる Forecariah および Palma ウイルスを 6 週齢雌の家兎（日本白色種 SPF）2 匹ずつにそれぞれ $10^{6}TCID_{50}$/50μl、$4x10^{4.5}TCID_{50}$/200μl 静脈接種した。全個体が接種 4 週後まで症状を示さなかったことから、これらウイルスの家兎への病原性は極めて弱いことが確認された。各ウイルスを同量再接種後、得た血清の Forecariah ウイルスに対する IFA 抗体価は 1,280-5,120 倍、ELISA 抗体価は 25,600-204,800 倍で、SFTSV に対しては、それぞれ 10 倍未満、100 倍未満と、Bhanja ウイルスに特異性が高かった。これらはダニ媒介性ウイルス研究の発展に有用な成果となる。
[堀田明豊、森川茂、鈴木道雄、朴ウンシル、山本美江]

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（井上智、野口章、奥谷晶子、宇田晶彦、堀田明豊、今岡浩一、森川茂）

平成 26 年度は、狂犬病のレファレンス機能を向上させるため、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（地衛研）の協力のもと

に 17 地衛研とレファレンスネットワークを構築して、狂犬病検査について遺伝子検査法の検証を RT-PCR ブラインドテストによって行い、抗原検査の標準化を行うために必要となる陽性対照スライドの作製と配布を行った。ブラインドテストでは、国立感染症研究所（感染研）から陽性対照遺伝子と検体を送付して狂犬病検査マニュアル：第 2 版（感染研の病原体検出マニュアル）に準じた遺伝子診断（RT-PCR）を地衛研で行い、通常使用している機器・試薬等を使用した検査が可能であり、合成した陽性対照遺伝子も配布して使用可能なことを明らかにした。また、本ネットワークの構築によって感染研と地衛研の間でレファレンス機能向上に必要となる検査手技と関連情報の共有および検討すべき課題等が明らかとなり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が期待された。

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：８件(行) [今岡浩一、木村昌伸]
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：９件(依)[鈴木道雄、今岡浩一]
3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：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 3 件（高知県、千葉県、静岡県各 1 件） [藤田修、堀田明豊]
5) マダニ検体からの SFTS ウイルス検出の行政検査３件（大阪府 1 件、新潟県 2 件）[宇田晶彦]
6) 炭疽疑い患者由来菌株の行政検査 1 件(愛知県) [奥谷晶子、井上智]
7) 空港検疫所で捕獲されたコウモリの狂犬病依頼検査３件［野口章、加来義浩、井上智］
8) フィリピン熱帯医学研究所からのニパウイルス依頼検査 1 件［加来義浩、野口章、井上智、森川茂］

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派遣

1) ベトナム NIHE において、炭疽発生地域にある 4 省 (Yen Bai, Ha Giang, Lai Châu, Dien Bien) の PCPM とホーチミン・パスツール研究所検査担当者に対して、炭疽菌を含む検体からの DNA 抽出法および炭疽菌特異的遺伝子解析技術の実技指導を、奥谷主任研究官が行った。
2) H26 年 11 月 8 日-11 月 19 日：ベトナム NIHE の狂犬病専門家とともに、ホーチミンパスツール研究所において、ホーチミンパスツール研究所（PIHCM）、ニャチャンパスツール研究所（PINT）、ホーチミン市動物衛生診断センター（AHD-HCMC）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。

II. 台湾協力

1. 台湾 CDC に出張（H26 年 9 月 23 日-9 月 26 日）して、狂犬病の中和抗体測定法に関する技術支援と今後の共同研究等の打ち合わせについて現地実験室で、井上第 2 室長が行った。
2. 台湾に出張（H27 年 2 月 1 日-2 月 5 日）して、台湾ＣＤＣ・台湾大学・AHRI の狂犬病専門家とともに、台湾で発生しているイタチアナグマの狂犬病について最新の流行状況と対策の現状について情報収集、意見交換、共同研究打ち合わせ等を、井上第 2 室長が行った。

III. タイ協力（H26 年 10 月 10 日-15 日）

タイ国・チェンマイ大学の狂犬病チームが進めている狂犬病清浄化チェンマイモデルプロジェクト主催の世界狂犬病デーカンファレンスに参加して、日本で行われている狂犬病対策と調査・研究について発表を行い、タイの専門家と現状等について知見共有および意見交換を、井上第 2 室長が行った。

研修業務

1) 井上　智。狂犬病の現状と対策。平成 26 年度健康科学研究センター研修会。2015 年 1 月 16 日、保健科学科課、さいたま市、埼玉県。
2) 井上　智。我が国における狂犬病対策の現状と課題。平成 26 年度狂犬病予防及び動物愛護管理研修会。2014 年 12 月 11 日、三重県健康福祉部食品安全課生活衛生班、津市、三重県。
3) 井上　智。人と動物の共通感染症としての狂犬病対策における課題と対応策について。平成 26 年度福岡県共通感染症対策訓練。2014 年 11 月 26 日、保健医療介護部保健衛生課、福岡県獣医畜産会館、福岡県。
4) 井上　智。狂犬病発生の現状と今後の課題、対策等。平成 26 年度山口県獣医公衆衛生講習会。2014 年 11 月 30 日、山口県獣医師会、山口市小郡ふれあいセン

ター、山口県。

5) 井上　智。家畜動物における狂犬病:獣医師の役割。家畜衛生講習会（獣医疫学特殊講習会）。2014 年 10 月 6 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。狂犬病の現状と日本の取組み（台湾での狂犬病の発生を受けて）。平成 26 年度大分県狂犬病予防研修会。2014 年 5 月 30 日、大分県生活環境部食品安全・衛生課、大分市、大分県
7) 井上　智。動物由来感染症。平成 25 年度 JICA 集団研修「獣医技術研究（Research on Veterinary Technology）」。2014 年 4 月 8 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
8) 奥谷晶子。動物由来感染症。FETP16 期生初期研修。平成 26 年 4 月 17 日、国立感染症研究所、東京。
9) 奥谷晶子。炭疽菌について。全国テロ対策従事警察官対象生物剤に関する基礎知識講義。平成 26 年 12 月 3 日、警察大学校、府中市、東京
10) 森川 茂。「新興・再興感染症としての人獣共通感染症とその対策」。厚労省獣医系技官新人研修。平成 26 年 4 月 23 日、国立感染症研究所、東京。

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

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」を、2014 年 8 月 25 日～8 月 29 日まで感染研にて実施した。（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 26 年年 12 月 2 日～6 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 4 名を対象とした研修・講義を実施した。

競争的外部資金

厚生労働省科学研究費補助金

I. 厚生労働科学研究費補助金［新興インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業（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）

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の確立、及び細胞培養痘そうワクチンの有効性、安全性に関する研究」（H26-新興行政-指定-002）（研究代表者：倉根一郎）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）研究分担：森川茂
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」（H26-新興実用化-一般）（研究代表者：倉根一郎）研究分担：森川茂、井上智
6) 「動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究」（H24-新興-一般-006）（研究代表者：吉川泰弘）研究分担：今岡浩一、井上智
7) 「近隣地域からの侵入が危惧されるわが国にない感染症の発生予防に関する研究（25180801）」（H25-新興-一般-007）（研究代表者：苅和宏明）研究分担：井上智、今岡浩一
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」（H24-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：森川茂、加来義浩
10) 「バイオセキュリティの向上に資する基盤的研究」（新興実用化一般）（研究代表者：竹内勤）研究分担：森川茂

□. 厚生労働省科学委託費

1) 「顧みられない動物由来感染症の対策及び検査法・治療法の確立に関する研究」（研究代表者：森川茂）研究分担：今岡浩一、鈴木道雄、加来義浩、宇田晶彦

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）」（研究代表者：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）」（研究代表者：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)」(研究代表者：森川茂）研究分担：加来義浩
4) 歯髄血管新生過程における TPO/MPL シグナル制御機構の時空的解析（26462800）(研究代表者：春原正隆)研究分担：森川茂

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

１． 欧文発表

1) 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. Emerg Infect Dis. 2014 20:161-163.
2) Kentaro Tohma, Mariko Saito, Taro Kamigaki, Laarni T. Tuason, Catalino S. Demetria, Jun Ryan C. Orbina, Daria L. Manalo, Mary E. Miranda, Akira Noguchi, Satoshi Inoue, Akira Suzuki, Beatriz P. Quiambao, Hitoshi Oshitani. Phylogeographic analysis of rabies viruses in the Philippines. Infection, Genetics and Evolution. 2014 23:8694.
3) Ching PK, de los Reyes VC, Sucaldito MN, Tayag E, Columna-Vingno AB, Malbas FF Jr, Bolo GC Jr, Sejvar JJ, Eagles D, Playford G, Dueger E, Kaku Y, Morikawa S, Kuroda M, Marsh GA, McCullough S, Foxwell AR. Outbreak of henipavirus infection, Philippines, 2014. Emerg Infect Dis. 2015 Feb;21(2):328-31.
4) Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Suda Y, Maeda K, Takahashi T, Morikawa S, Saijo M. Effects of ribavirin on severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. Jpn J Infect Dis. 2014;67(6):423-7.
5) Bukbuk DN, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Iha K, Fukuma A, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M, Kasolo F, Baba SS. Development and validation of serological assays for viral hemorrhagic fevers and determination of the prevalence of Rift Valley fever in Borno State, Nigeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2014 Dec;108(12):768-73.
6) Orba Y, Sasaki M, Yamaguchi H, Ishii A, Thomas Y, Ogawa H, Hang'ombe BM, Mweene AS, Morikawa S, Saijo M, Sawa H. Orthopoxvirus infection among wildlife in Zambia. J Gen Virol. 2015 Feb;96(Pt2):390-4.
7) Park ES, Suzuki M, Kimura M, Maruyama K, Mizutani H, Saito R, Kubota N, Furuya T, Mizutani T, Imaoka K, Morikawa S. Identification of a natural recombination in the F and H genes of feline morbillivirus. Virology. 2014 Nov;468-470:524-31.
8) Nagata N, Saijo M, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Ogata M, Kurane I, Morikawa S, Sata T, Hasegawa H. Pathogenesis of fulminant monkeypox with bacterial sepsis after experimental infection with West African monkeypox virus in a cynomolgus monkey. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7(7):4359-70.
9) Zamoto-Niikura A, Tsuji M, Imaoka K, Kimura M, Morikawa S, Holman PJ, Hirata H, Ishihara C. Sika deer carrying Babesia parasites closely related to *B. divergens*, Japan. Emerg Infect Dis. 2014; 20(8):1398-400.
10) Yoshikawa T, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Toda S, Shimazu Y, Yano K, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Kato N, Motoya T, Kuzuguchi T, Nishino Y, Osako H, Yumisashi T, Kida K, Suzuki F, Takimoto H, Kitamoto H, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M, Shimojima M. Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load. J Clin Microbiol. 2014;52(9):3325-33.
11) Iwata-Yoshikawa N, Uda A, Suzuki T, Tsunetsugu-Yokota Y, Sato Y, Morikawa S, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H, Nagata N. Effects of Toll-like receptor stimulation on eosinophilic infiltration in lungs of BALB/c mice immunized with UV-inactivated severe acute respiratory syndrome-related coronavirus vaccine. J Virol. 2014;88(15):8597-614.
12) Sunohara M, Morikawa S, Fuse A, Sato I. GATA-dependent regulation of TPO-induced c-mpl gene expression during megakaryopoiesis. Okajimas Folia Anat Jpn. 2014;90(4):101-6.
13) Tani H, Iha K, Shimojima M, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kawaoka Y, Nakasone N, Ninomiya H, Saijo M, Morikawa S. Analysis of Lujo virus cell entry using pseudotype vesicular stomatitis virus. J Virol. 2014;88(13):7317-30.
14) 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. 2014;14(4):234-9.

15) 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.

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;9(2):e89075.

17) Taguchi,Y., Imaoka,K., Kataoka,M., Uda,A., Nakatsu,D., Horii-Okazaki,S., Kunishuge,R., Kano,F. and Murata,M. Yip1A, a novel host factor for the activation of the IRE1 pathway of the unfolded protein response during *Brucella* infection. PLoS Pathogens, 11(3): e1004747. doi:10.1371/journal.ppat.1004747, 2015

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) 亀山光博，富永潔，矢端順子，野村恭晴，鈴木道雄，今岡浩一．種特異的 PCR 法と分離培養法を用いた山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の保有状況調査．日本獣医師会雑誌，67(12):929-933, 2014

3) 佐藤宏明，冬賀秀一，堀田緒留人，須原靖明，尾関拓磨，丸茂一義，金井尚之，荘子久美子，宇田川郁子，満下恵，今岡浩一．*Brucella melitensis* による椎間板炎の一例. in : 病原微生物検出情報，国立感染症研究所，厚生労働省健康局, 35(7): 182-183, 2014

4) 福島一彰，柳澤如樹，古畑匡規，佐々木秀悟，菅沼明彦，今村顕史，関谷紀貴，岡本幸太，木村昌伸，今岡浩一．石垣島での鼠咬症症例について. in : 病原微生物検出情報，国立感染症研究所，厚生労働省健康局, 35(10): 246-247, 2014

5) 今岡浩一，木村昌伸．ブルセラ症－特集・人獣共通感染症の新しい知見．in : 臨床と微生物，近代出版，42(1): 27-32, 2015

6) 井上　智。狂犬病ガイドライン。特集：人と動物の共通感染症最前線 11。獣医畜産新法（JVM）。67:171-175、2014

7) 井上　智。狂犬病の予防と対策。シリーズ：動物由来感染症（第１回）。公衆衛生情報 4、日本公衆衛生協会。44:32-33、2014

8) 井上　智。台湾における狂犬病の疫学と我が国における診断能力向上の取り組み。第 39 回獣医疫学会学術集会シンポジウム : 狂犬病の疫学とその対策 - 獣医疫学が社会に果たす役割。獣医疫学雑誌（J.Vet.Epidemiol）。18:11-17、2014

9) 井上　智。狂犬病とバイオセーフティ（解説）。日本バイオセーフティ学会（The Japanese Biosafety Association）。JBSA Newsletter。4:19-21、2014

10) 井上　智、羽山伸一。緒言。特集：狂犬病をめぐる最近の情勢（野生動物にどう対処するか）。獣医畜産新報（JVM）。67:807-808、2014

11) 井上　智。狂犬病の発生状況と野生動物調査の意義。特集：狂犬病をめぐる最近の情勢（野生動物にどう対処するか）。獣医畜産新報（JVM）。67:809-818、2014

12) 森川 茂.　一類感染症と一種病原体等（解説）。日本バイオセーフティ学会（The Japanese Biosafety Association）。JBSA Newsletter。4:14-18、2014

13) 森川 茂.　第 2 章. 検査にかかわる国際基準。動物微生物検査学、近代出版 ISBN978-4-87402-201-6）

14) 森川 茂.　重症熱性血小板減少症候群.　獣医疫学雑誌. 17(2)：142-143, 2014

15) 森川 茂.　重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の概要.　獣医畜産新報（JVM）67(3):167-170, 2014.

16) 森川 茂.　新感染症：重症熱性血小板減少症候群(SFTS).　東獣ジャーナル、Vol 1, 2015.

17) 堀田明豊.　One Health の理念と感染症制御.畜産技術. 709:p9-12,2014

18) 堀田明豊.　One Health Summit 2013.日本獣医師会雑誌. 812:p380-382,2014

19) 宇田晶彦．野兎病菌の病原性に関する研究．LABIO21，59，15-18，2015

II. 学　会　発　表

１．国際学会

1) Shigeru Morikawa, Masanobu Kimura, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma, Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani,

Tomoyuki Yoshikawa, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in domestic and wild animals in Japan. The 16th International Congress of Virology. July 27 - August 1st, 2014. Montréal, Canada

2) Hideki Tani, Masayuki Shimojima, Shuetsu Fukushi, Tomoki Yoshikawa, Aiko Fukuma, Satoshi Taniguchi, Momoko Ogata, Shigeru Morikawa, and Masayuki Saijo. Analyses of cell entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus using pseudotype vesicular stomatitis virus system. The 16th International Congress of Virology. July 27 - August 1st, 2014. Montréal, Canada
3) Aiko Fukuma, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Satoshi Taniguchi, Momoko Ogata, Masayuki Shimojim1, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo. Development of IFA and ELISA to detect antibodies against SFTSV. The 16th International Congress of Virology. July 27 - August 1st, 2014. Montréal, Canada
4) Akihiko Uda, Kawabata, Hiroki, Shuetsu Fukushi, Yoshihiro Kaku, Tomoyuki Yoshikawa, Masayuki Shimojima, Aya Niikura, Shuji Ando, Sawabe Kyoko, Ken Maeda, Hiromi Fujita, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in ticks in Japan. The 16th International Congress of Virology. July 27 - August 1st, 2014. Montréal, Canada
5) Aiko Fukuma, Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Satoshi Taniguchi, Momoko Ogata, Masayuki Shimojima, Shigeru Morikawa, and Masayuki Saijo. Development of IFA and ELISA to detect antibodies against SFTSV. The 16th International Congress of Virology. July 27 - August 1st, 2014. Montréal, Canada
6) Satoru Arai, Hae Ji Kang, Yu Ikeyama, Satoshi D. Ohdachi, Kyle R. Taylor, Akira Unno, Kazuko Araki, Hiroshi Satoh, Keiko Tanaka-Taya, Shigeru Morikawa, Richard Yanagihara, Kazunori Oishi. Sarufutsu virus, a newfound hantavirus harbored by the long-clawed shrew (*Sorex unguiculatus*) in Japan. The 16th International Congress of Virology. July 27 - August 1st, 2014. Montréal, Canada
7) Shigeru Morikawa, Akihiko Uda, Masanobu Kimura, Kawabata, Hiroki, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma, Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani, Tomoyuki Yoshikawa, Aya Niikura, Shuji Ando, Sawabe Kyoko, Hiromi Fujita, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals and ticks in Japan. The 10th China-Japan International Virology Conference, 25−27Aug2014. 吉林省長春市、中国
8) Satoshi Taniguchi, Shuetsu Fukushi, Joseph Masangkay, Roberto P Puentespina Jr., Tsutomu Omatsu, Ken Maeda, Aiko Fukuma, Tomoki Yoshikawa, Hideki Tani, Masayuki Shimojima, Shigeru Kyuwa, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa. Seroepidemiological study of SFTS in wild bats in the Philippines. The 10th China-Japan International Virology Conference, 25−27Aug2014. 吉林省長春市、中国
9) Shigeru Morikawa, Akihiko Uda, Masanobu Kimura, Shuetsu Fukushi, Kawabata, Hiroki, Shuji Ando, Sawabe Kyoko, Aiko Fukuma, Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani, Tomoyuki Yoshikawa, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Hiromi Fujita, Ken Maeda, Masayuki Saijo. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals and ticks in Japan. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). 26-27 Jan, 2015. Academia Sinica, Taipei, Taiwan.
10) Park, C.H., Yamada, K., 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). The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (CMSP) presents the 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). 26-27 Jan, 2015. Academia Sinica, Taipei, Taiwan.
11) Chang, S.-S., Tsai, H.-J., Chang, F.-Y., Lee, T.-S., Huang, K.-C., Fang, K.-Y., Wallace, R.M., Inoue, S., Fei, C.-Y. Rabies surveillance and contingency actions of ferret-badger rabies in Taiwan, 1999 to 2014. The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (CMSP) presents the 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). 26-27 Jan, 2015. Academia Sinica, Taipei, Taiwan.
12) Hassadin, B., Kimitsuki, K., Manalo, D.M., Inoue, S., Park, C.-H., A pathological study of the salivary glands of rabid dogs in the Philippines. The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (CMSP) presents the 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). 26-27 Jan, 2015. Academia

Sinica, Taipei, Taiwan.

13) Hamamoto, N., Uda A., Noguchi, A., Okutani, A., Kaku, Y., Park, C.-H., Morikawa, S., Inoue, S. Different intracellular localization of G protein between Kyoto strain (street virus) and CVS-26 strain (fixed virus) was associated with N-glycosylation of G protein at the site of 204. The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (CMSP) presents the 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). 26-27 Jan, 2015. Academia Sinica, Taipei, Taiwan.

14) Ando S., Fujita H., Kawabata H., Takano A., Uda A., Morikawa S. Rickettsial and other pathogens in ticks, Japan. XIV International Congress of Acarology. Kyoto, July, 2014.

２．国内学会

1) 森川茂. 重症熱性血小板減少症候群 (SFST) と日本におけるウイルスの分布. 第 20 回野生動物医学会大会シンポジウム、平成 26 年 9 月 16-19 日、つくば、茨城。

2) 亀山光博, 富永潔, 矢端順子, 野村恭晴, 鈴木道雄, 今岡浩一. 種特異的 PCR 法と分離培養法を併用した山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の保有状況調査. 第 52 回(平成 26 年度)山口県獣医学会, 山口, 2014 年 8 月

3) 義間大也, 早川佳奈, 早川隆洋, 中野好夫, 藤本特三, 田村志宣, 鈴木道雄, 今岡浩一. 関節リウマチ治療中に発症した *Capnocytophaga canimorsus* 感染症の 1 例. 第 205 回日本内科学会近畿地方会例会 大阪 2014 年 9 月

4) 柳井徳麿, 野一色香織, 酒井洋樹, 今岡浩一, 川端寛樹, 山本明彦, 野上貞雄. 猟犬を指標とした野外感染症の調査 : 東北および北海道を中心として. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

5) 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, 前田健. 野生のシカにおける SFTS ウイルス抗体調査. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

6) 藤田修、宇田晶彦、木村昌伸、藤田博己、今岡浩一、森川茂、ニホンジカから採取したマダニ類のウイルス遺伝子保有状況からみた自然界における SFTS ウイルス維持様式の検討. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

7) 浜崎千菜美、鍬田龍星、野口慧多、寺田豊、下田宙、高野愛、鈴木和男、森川茂、前田健. 「野生動物における SFTS ウイルス感染の疫学調査」第 157 回日本獣医学会学術集会. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

8) 朴ウンシル, 鈴木道雄, 木村昌伸, 丸山啓二, 水谷浩志, 斉藤隆一, 久保田菜美, 古谷哲也, 水谷哲也, 今岡浩一, 森川茂. 日本のネコにおける新規モルビリウイルス（*feline morbillivirus*, FMV）の疫学調査. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

9) 木村昌伸, 宇根有美, 鈴木道雄, 森川茂, 今岡浩一. 無尾類に由来するブルセラ属菌の分離と解析. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

10) 堀田明豊, 棚林清, 山田章雄, 森川茂. 国内の医師および獣医師への One Health についての意識調査, 第 157 回日本獣医学術集会, 札幌, 2014 年

11) 堀田明豊, 木村昌伸, 中村幸子, 片山敦司, 中下留美子, 坪田敏男, 猪島康雄, 鈴木道雄, 今岡浩一, 棚林清, 藤田修, 山本美江, 宇田晶彦, 森川茂. 2007 年以前の国内野生動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）に対する抗体調査. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

12) 松本苑子, 橋野正紀, 鈴木尋, 高野愛, 藤田修, 堀田明豊, 森川茂, 渡邉健太, 清水隆, 度会雅久.ダニにおける *Francisella tularensis* の全国的疫学調査. 第 157 回日本獣医学会学術集会, 札幌, 2014 年 9 月

13) 亀山光博, 富永潔, 矢端順子, 野村恭晴, 鈴木道雄, 今岡浩一. 種特異的 PCR 法と分離培養法を併用した山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の保有状況調査. 平成 26 年度獣医学術中国地区学会, 島根, 2014 年 10 月（平成 26 年度獣医学術中国地区学会長賞受賞）

14) 朴ウンシル, 佐藤由子, 中島典子, 丸山啓二, 古谷哲也, 水谷哲也, 今岡浩一, 森川茂. 日本国内ネコにおける新規モルビリウイルス（*feline morbillivirus*, FMV）の疫学調査. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

15) 森川茂, 朴ウンシル, 今岡浩一, 前田健. SFTS ウイルスの生活環における野生のシカの役割. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

16) 西條政幸、吉河智城、福士秀悦、谷英樹、福間藍子、谷口怜、須田遊人、Harpal Singh、前田健、高橋徹、森川茂、下島昌幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスの分子系統学的特徴とその地理的分布 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

17) 前田健、濱崎千菜美、下田宙、鍬田龍星、野口慧

多、米満研三、高野愛、鈴木和男、森川茂. SFTS ウイルスの生活環における動物の重要性 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

18) 谷英樹、谷口怜、福間藍子、福士秀悦、森川茂、下島昌幸、西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP の細胞融合能と 25-hydroxycholesterol による感染阻害効果 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014 年 11 月

19) 木村昌伸, 宇根有美, 朴ウンシル, 鈴木道雄, 森川茂, 今岡浩一. 無尾類（カエル）に由来するブルセラ属菌の分離と解析. 第 13 回(爬虫類・両生類の臨床と病理のための研究会)ワークショップ, 相模原, 2014 年 11 月

20) 入江由美, 山磨達郎, 須賀原亮, 鈴木道雄, 今岡浩一. 新菌種と思われる *Capnocytophaga* 属菌による敗血症の一例. 第 26 回日本臨床微生物学会総会, 東京, 2015 年 1 月（p290）

21) 亀山光博, 富永潔, 矢端順子, 野村恭晴, 鈴木道雄, 今岡浩一. 種特異的 PCR 法と分離培養法を併用した山口県内の犬・猫における *Capnocytophaga* 属菌の保有状況調査. （平成 26 年度地区学会長賞受賞講演）. 平成 26 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 岡山, 2015 年 2 月

22) 高橋有里花、篠崎春美、矢野川祥子、君付和範、Hassadin Boonsriroj、Daria L. Manalo、井上智、朴天鎬。狂犬病発病犬の唾液腺に関する病理学的研究。第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道大学高等教育推進機構、札幌市、北海道、2014 年 9 月

23) 篠崎春美、高橋有里花、矢野川祥子、君付和範、Hassadin Boonsriroj、Daria L. Manalo、井上智、朴天鎬。狂犬病発病犬の口唇皮膚におけるウイルス抗原の局在と診断的有用性。第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道大学高等教育推進機構、札幌市、北海道、2014 年 9 月

24) 山田健太郎、渡辺一平、アハメド カムルディン、Daria L. Manalo、Miranda Mary、Lapiz Stella、Tapdasan Emerson、Petspophonsakul Wilaiwan、井上智、朴天鎬、Khawplod Pakamatz、西園 晃。イムノクロマト法をベースにした狂犬病ウイルス中和抗体価迅速検出キットのイヌ血清を用いた多国的評価。第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道大学高等教育推進機構、札幌市、北海道、2014 年 9 月

25) 加来義浩、奥谷晶子、河合康洋、野口章、濱本紀子、梁瀬 徹、加藤友子、新井 智、井上智、森川茂。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。第 157 回日本獣医学会学術集会、北海道大学高等教育推進機構、札幌市、北海道、2014 年 9 月

26) 松浦真翔、鶴田一郎、坊薗慶信、山田健太郎、井上智、三澤尚明。官学連携による狂犬病診断体制の構築。平成２６年度獣医学術九州地区学会、鹿児島県民交流センター、鹿児島市、鹿児島県、2014 年 10 月

27) 景岡美穂、李松熹、加来義浩、井上 智、長棟輝行、河原正浩。細胞増殖を指標とした細胞内抗体選 択法の開発。2014 年度細胞アッセイ研究会シンポジウム「細胞アッセイ技術の現状と将 来」、東京大学生産技術研究所コンベンションホール、東京都、2015 年 1 月

28) 梶田弘子、岩渕香織、高橋雅輝、佐藤直人、山内貴義、齋藤幸一、高野愛、川端寛樹、宇田晶彦、森川茂。岩手県におけるマダニの生息調査および病原体保有状況。第 60 回日本衛生動物学会北日本支部大会, 岩手県、2014 年 10 月

３．セミナー・講演等

1） 今岡浩一. 動物由来感染症について. 平成 26 年度全国動物関係事業所協議会関東甲信越静ブロック会研修会, 千葉, 2014 年 7 月

2） 今岡浩一. 身近な愛玩動物から感染する動物由来感染症について. 平成 26 年度動物由来感染症研修会(栃木県), 宇都宮, 2014 年 10 月

3） 奥谷晶子、大崎慎人、高松大輔、加来義浩、井上智、森川茂。日本で分離された動物由来の炭疽菌のフルゲノム解析結果。日台シンポジウム、台湾 CDC、台湾、平成 26 年 9 月 11 日-12 日

4） 森川 茂。マダニが媒介する怖い感染症 SFTS から身を守るために。市民公開講座（群馬県獣医師会）。平成 26 年 11 月 21 日、ニューサンピア（高崎市）、群馬

5） 森川 茂。新興感染症「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）」東獣'14 イヤーズカンファレンス（東京都獣医師会）。平成 26 年 11 月 16 日、東京都獣医師会館、東京

6） Inoue S. Epidemiology and control strategy of rabies. Regional training on rabies. OIE regional representation for Asia and the Pacific. 5-8 Aug, 2014. Tokyo/Yokohama, Japan.

7） Inoue S. Enhancing laboratory network. Regional training on rabies. OIE regional representation for Asia and the Pacific. 5-8 Aug, 2014. Tokyo/Yokohama, Japan.

8） Inoue S. Rabies outbreak in wild ferret-badgers in

Taiwan. Group Exchange 2014 with S.Korea and Taiwan in Tokyo. 27 Aug, 2014. NIID. Tokyo, Japan.

9） Inoue S. Coordinated Validation and Value of RFFIT / Rabies Guideline for Survey of Wildlife in Japan. Seminar. 24 Sep, 2014. Research & Diagnostic Center, Taiwan CDC. Taipei, Taiwan.

10） Inoue S. Rabies Guideline for Survey of Wildlife in Japan. AHRI Seminar. 25 Sep, 2014. Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan. New Taipei City, Taiwan.

11） Inoue S. Coordinated Validation and Value of RFFIT. AHRI Seminar. 25 Sep, 2014. Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan. New Taipei City, Taiwan.

12） Inoue S. Can Thailand be a rabies free country by 2020? Learning from rabies management in Japan. Lesson from a current rabies outbreak in Taiwan, a rabies free country. Tokyo-Chiang Mai World Rabies Day Conference. 13 Oct, 2014. Lanna Dog Welfare/World Animal Protection. Ciang Mai, Thailand.

13） Inoue S. Can Thailand be a rabies free country by 2020? Learning from rabies management in Japan. Lesson from a current rabies outbreak in Taiwan, a rabies free country. Tokyo-Chiang Mai World Rabies Day Conference. 14 Oct, 2014. Room 153, 15th Floor meeting room of Sujino Building, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. Ciang Mai, Thailand.

14） 井上　智。台湾における狂犬病の疫学と我が国における診断能力向上の取り組み。狂犬病の疫学とその対策-獣医疫学が社会に果たす役割。第 39 回獣医疫学会学術集会。2014 年 4 月 5 日、獣医疫学会、東京大学・中島薫一郎記念ホール、東京都

15） 井上　智。台湾で発生した狂犬病と野生動物対策の意義。日本獣医生命科学大学特別講義。2014 年 6 月 11 日、日本獣医生命科学大学Ｃ－５０１講義室、武蔵野市、東京都。

16） 井上　智。動物由来感染症（狂犬病等）と公衆衛生について。岩手大学農学部・人獣共通感染症学講義。2014 年 6 月 17 日、岩手大学、盛岡市、岩手県。

17） 井上　智。ウイルス：狂犬病（犬）、シンポジウム Ｉ：身近に存在する人と動物の共通感染症（Zoonoses within our Living environment）。第 3 回神戸アニマルケア国際会議 2014（The 3rd International Conference on Animal Care in Kobe 2014 – For the future of people and other animals）。2014 年 7 月 19 日、神戸ポートピアホテル、神戸市、兵庫県。

18） 井上　智。世界に広がる狂犬病。第 7 回世界狂犬病デー（2014 in TOKYO）。2014 年 9 月 28 日、アリミノホール、新宿区、東京都。

19） 井上　智。我が国における狂犬病対策の現状と課題。狂犬病の現状と対策：人と動物の共通感染症を考える。日本医師会・日本獣医師会 連携シンポジウム。2014 年 10 月 28 日、日本医師会・日本獣医師会、日比谷公会堂、東京都。

20） 井上　智。台湾の狂犬病について。平成 26 年度市町村狂犬病予防担当課長会議及び狂犬病予防研修会。2014 年 10 月 31 日、京都府健康福祉部生活衛生課、京都府福利厚生センター第 3 会議室（京都府庁内）、京都府。

21） 井上　智。台湾の狂犬病事例を踏まえた狂犬病対策と必要な調査研究について。今、狂犬病を考える。第 4 回 鹿児島大学共同獣医学部付属越境性動物疾病制御研究（TDA）センター市民公開講座。2014 年 11 月 4 日、鹿児島大学共同獣医学部付属 TAD センター、鹿児島大学農・獣医共通棟 101 号室、鹿児島市、鹿児島県。

22） 井上　智。狂犬病の発生状況について。九州地区狂犬病診断研修会。2014 年 12 月 3-5 日、宮崎大学人獣共通感染症教育・研究プロジェクト、宮崎大学、宮崎県。

23） 井上　智。地域における危機管理対応について。九州地区狂犬病診断研修会。2014 年 12 月 3-5 日、宮崎大学人獣共通感染症教育・研究プロジェクト、宮崎大学、宮崎県。

24） 井上　智。特別講義：多様な獣医師の職務。獣医師と公衆衛生。2015 年 1 月 9 日、東京農工大学・共同獣医学科、農学部キャンパス、東京都。

25） 井上　智。市民公開講座：公衆衛生における獣医師の役割。2015 年 3 月 1 日、平成 26 年度神奈川県獣医師会学術大会、神奈川県獣医師会、FORUM246、伊勢原市、神奈川県。

26） 堀田明豊。One Health の理念と実践、狂犬病予防注射指定獣医師等研修会（岩手県獣医師会）、2014 年 12 月、盛岡、岩手

27） 宇田晶彦。日本のマダニにおける SFTS ウイルス、第 69 回衛生動物学会西日本支部大会、2014 年 11 月、名古屋、愛知

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２６年度は沈降 10 価肺炎球菌結合型ワクチン、組換えインフルエンザ HA ワクチン、沈降ヘモフィルスｂ型ワクチン、乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン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２６年度はグロブリン製剤・血液凝固因子製剤の国家検定からのエンドトキシン試験の削除及び人凝固第Ⅷ因子及び人ハプトグロビンの国家検定からのたん白質含量試験（凝固性たん白質含量試験）の削除を検討した。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及び配布をウイルス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、血液凝固第Ⅸ因子の力価制定のための第５次国際標準品、C 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための第４次国際標準品、E 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための第１次遺伝子型国際参照パネル、HTLV-I/II 抗体ドナースクリーニング検査のための第１次国際参照パネル制定のための 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２６年１月に非常勤職員の斎賀菊江さんが退職された。平成２６年３月に田中明子主任研究官が退官された。ともに長期に亘り血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。また、平成２６年３月に益見厚子主任研究官が青森大学薬学部教授として転出された。新天地での活躍をお祈りする。一方、平成２６年３月に手塚健太研究員がユニーテック株式会社より着任した。

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. 病原体検出法に関する研究

1) HTLV-1検査法の標準化

HTLV-1 キャリアからの 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、施設毎の HTLV-1 核酸検査の測定結果には大きな差があることが知られている。そのため ATL 患者由来HTLV-1感染細胞であるTL-Om1細胞をHTLV-1核酸検査標準品として設定した。また HTLV-1 感染の効果的診断法の整備のため、抗体検査 1 次検査陽性者に対して、Western Blot 法と核酸検査を同時に実施し、検査フローに核酸検査を組込んだ「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針（案）」を作成し、この検査手順の妥当性についての確認を多施設共同研究にて開始した。診断指針については学会承認や保険診療化に向けて進めている。　［倉光球、大隈和、濵口功］

2) 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事前に準備しておく必要がある。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を準備する。本年度は約 70 年ぶりに国内感染が確認された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 RT-qPCR法用のオリゴPrimerとProbeをスクリーニングし、有効なオリゴセットを同定した。

［大隈和、倉光球、野島清子、濵口功］

3) 輸血血液における HTLV-2 の検出法開発に関する研究

HTLV-1 の近縁株の HTLV-2 の国内感染の報告はこれまでほとんどなく、HTLV-2 の感染対策は充実していない。しかしながら海外ではHTLV-1だけでなくHTLV-2の感染が問題となっており、供血スクリーニングにHTLV-2検査を実施する国も少なくない。HTLV-2 が将来的に日本の国内に侵入し蔓延することが懸念される。そこで本研究では、HTLV-2 を検出できる PCR primer セットを新規に複数準備し、PCR を用いた HTLV-2 核酸検査法を確立することを進めている。

［大隈和、倉光球、相良康子（日本赤十字社）、濵口功、倉根一郎］

4) 国内で使用されているHBVマーカー検査キットに関する性能調査

免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドラインが作成され、ますますHBVマーカーの血清学的検査の重要性が認識されるようになってきた。これまで、国内で製造承認後販売されているHBVマーカー検査キットの性能調査を実施し、キット間での比較検討を行ってきた。検討をより詳細に行うため、日本赤十字社の協力のもとHBV genotype既知の献血由来検体を用いて、国内で現在使用されているHBs抗原検出／測定キットに関する性能調査を実施した。

［大隈和、内田茂治（日本赤十字社）、百瀬暖佳、濵口功、溝上雅史（国立国際医療研究センター）］

２．標準品整備に関する研究

1) 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、感染症検体パネルを譲渡している。実際、担当の HBV、HCV 検体パネルにおいて、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、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］

2) 血液凝固第Ⅸ因子の力価制定のための第５次国際標準品更新のための国際共同研究への参加

現行の第4世代血液凝固第IX因子国際標準品(07/182, 7.9IU/ampule)の更新のため、NIBSC担当者よりWHO IS/EP BRP/FDA血液凝固第IX因子国際標準品力価制定の国際共同研究の参加依頼があり、参加した。第5世代の国際標準品の候補品と第4世代（現行）の国際標準品の力価を測定し、NIBSC担当者へ結果を報告した。

［倉光球、大隈和、濵口功］

3) C 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための第４次国際標準品更新のための WHO 国際共同研究への参加

第四次 HCV NAT 国際標準品（4^{th} HCV-NAT IS）が常

温輸送で安定性が十分でないことから常温輸送で安定な 5th HCV-NAT IS を作製することとなった。イギリスの NIBSC が組織する 5th HCV-NAT IS 制定のための国際共同研究に参加した。11 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、主に real-time PCR 法に基づく市販の定量または定性キットであった。加速試験の結果、5th HCV-NAT IS は+20℃で 3 か月間安定であるが 6 か月では低下がみられたため、さらにリアルタイムの安定性を確認中である。共同研究の結果は、2015 年の ECBS に報告される予定である。　　［水澤左衛子、濱口功］

4) E 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための第１次遺伝子型国際参照パネル制定のための WHO 国際共同研究への参加

ドイツの Paul-Ehrlich 研究所が組織する第一次 E 型肝炎ウイルス遺伝子型国際参照パネル（1st HEV-IRP）制定のための WHO 国際共同研究に参加した。14 か国 23 研究室が参加して世界各地から収集した遺伝子型１～4 の 11 検体からなるパネル候補品と EDQM 参照品候補品の力価を測定した。参加者は日常実施している定量または定性試験法を用いたが、主に real-time PCR 法に基づく市販キットまたは自家試験法であった。各パネル検体の力価は参考値として扱うこととなった。共同研究の結果は 2015 年の ECBS に報告される予定である。EDQM 参照品は別途 EDQM に報告される。

［水澤左衛子、濱口功］

5) HTLV-I/II 抗体ドナースクリーニング検査のための第１次国際参照パネル制定の国際共同研究への参加

イギリスの NIBSC が組織する第一次 HTLV-I/II 抗体国際参照パネル制定の国際共同研究に参加した。第一次 HTLV-I/II 抗体国際参照パネル候補品を NIBSC より受領し、メーカーの協力を得て２種類のキットを用いて候補品の HTLV-I/II 抗体を測定した。共同研究の結果は今後 ECBS に報告され、候補品が国際参照パネルとして制定される予定である。

［松岡佐保子、水澤左衛子、濱口功］

6) HCV-RNA 国内標準品と HIV-RNA 国内標準品への微量な HBV-DNA の混入への対応

平成25年度導入したcobas s 201/ TaqScreen MPXの性能評価の過程でHCV-RNA国内標準品とHIV-RNA国内標準品に微量なHBV-DNAの混入が示唆され、精査の結果、混入が確認された。どちらの国内標準品の原料も製造当時の試験法でHBV-NAT陰性であったが、今般、より高感度の測定法を用いた結果、微量な混入HBV DNAが検出されたものと推察される。混入量は極めて微量であり、通常行われるように国内標準品を適宜希釈して使用する限り問題はない。しかし、予定外のHBV DNAが検出されたことから、平成26年度第二回安全技術調査会に報告するとともに利用者に周知した。　　［水澤左衛子、濱口功］

7) 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。2014年のWHO ECBSにおいて、第3次HBs抗原国際標準品、第1次HCVコア抗原国際標準品、第1次トキソプラズマ核酸標準品、第1次抗マラリア人血清国際標準品が制定された。新規事業として、HSV type1/2-DNA国際標準品の作製が承認された。HCV、JCV、BKV、HHV6A、HHV6B、アデノウイルスの国際標準品(核酸)、HIV-1 subtype panel(核酸)、HEV genotype panel(核酸)、および抗HTLV抗体パネルについて準備が進められている。　　［百瀬暖佳、水澤左衛子、濵口功］

8) 欧州における体外診断用医薬品の品質管理についての調査

欧州における体外診断用医薬品の品質管理システムでは、欧州指令98/79/ECに中程度/高リスクと分類されている項目について、第三者認証機関が適合性を評価し、規制当局が製造販売承認を行っている。日本においても同様であると考えられる。また、欧州ではList A(高リスク)該当品目の市販に当たり、バッチリリースが行われている。バッチリリースは、日本における国家検定に類似のものと考えられる。承認前試験が一部の体外診断用医薬品に対して実施されている日本とは異なる点である。欧州指令98/79/ECは改訂作業が進められている。

［百瀬暖佳、濵口功］

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

約 70 年ぶりにデング熱が国内発生し、チクングニア熱、ウエストナイル熱等の世界の一部地域に発生する新たな感染症の日本国内への移入が益々懸念されるようになった。新たな病原体が移入した場合に迅速に対応できるよう備え、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社と連携し、血液製剤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

把握と評価を行っている。本年度は、確立されたデングウイルス核酸検査法が、血漿中に 100 コピー/ml のウイルスが存在した場合でも検出できることを血液・安全性研究部と日本赤十字社の 2 施設で確認した。関東地域の 2014 年夏季の献血検体のうち、肝機能検査等で検査落ちとなった血漿の 20 プール検体（合計約 2,000 人分)、および発熱等によりコールバックされた血漿について、デングウイルスの核酸検査を実施した。

［大隈和、倉光球、野島清子、荒木久美子、濵口功］

2) Cohn の血漿分画法による C 型肝炎ウイルスクリアランスの評価

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 エタノール分画法を用い、血漿中の HCV-JFH1 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、モデルウイルス BVDV と比較した。コーンの血漿分画において HCV-JFH1 の核酸は HCV 国内標準品、BVDV と同じように移行し、凝固因子製剤、グロブリン製剤、アルブミン製剤の原料となるすべての原料画分において HCV JFH-1 株の感染性が確認され、血漿分画製剤の分画工程中でのウイルス不活化工程の重要性が示された。また、BVDV と HCVJFH-1 株の感染性は同じような挙動を示したことより、これまでのモデルウイルス BVDV を用いたウイルスクリアランスは、実ウイルスの挙動を反映しているものであることが示された。

[野島清子、下池貴志（ウイルス２部)、斉賀菊江、岡田義昭(埼玉医大)]

3) B 型肝炎タンパク質 HBX と結合する B 細胞由来宿主因子の検索と機能解析

HBV 感染者由来 B lymphoma 発症機構に関する研究についての研究を行っている。その中で HBX と結合する細胞宿主因子の同定を試みた。Raji 細胞抽出液と GST-HBX と混合し約 45-kDa 近辺に HBX と結合したと思われるタンパク質を検出した。LC-MS/MS で同定解析し（理化学研究所分析センターによる）相互作用に関係したと思われる２種類のタンパク質について cDNA を作製した。培養細胞に遺伝子導入して相互作用を見たところ、これらのタンパク質が HBX と結合することを確認した。今後は siRNA 又は CRISPER system を用いて knock down させて HBV-nanoLuc を用いて複製への影響をみるなど生物意義について検討する。 ［益見厚子］

4) 細菌感染に関わる因子と IRF の研究

インターフェロン制御転写因子 IRF-2 欠損マウスのマクロファージにおいて TLR5 の発現が高いことが報告されている。これについて検討するため、hTLR5 プロモーターを作成し、ヒト大腸癌培養細胞とヒト単球培養細胞を用いて IRF-2 による転写活性の変化を検討したところ、大腸癌細胞においては IRF-2 は TLR5 プロモーターを抑制し、単球細胞においては促進した。IRF-1 では変動しなかった。 ［益見厚子］

5) 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 年に開始された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に、今年度までに全国の半数以上の大学病院と 300 床以下の 5 病院が参加し、全国網羅のシステムの構築に向けての基盤作りが進行している。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、血液製剤の製造から医療機関での使用・廃棄するまでを追跡・確認できる管理システムの導入をめざすトレーサビリティの検討が行われている。また、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も進めている。

［小高千加子、大隈 和、松岡佐保子、濵口功］

6)HTLV-1 水平感染の疫学的検討

HTLV-1 の主たる感染ルートである母乳感染は妊婦検診での HTLV-1 抗体検査等の対策が取られるようになったが、HTLV-1 の水平感染については研究が進んでいない。そこで HTLV-1 水平感染者の病態の進行等のリスク評価を実施する目的で、献血時検査で陽転化した HTLV-1 水平感染者を追跡調査する体制基盤（HTLV-1 水平感染者登録システム）を倫理指針に準拠し構築した。H26 年 12 月から福岡県の HTLV-1 水平感染献血者を対象に、日本赤十字社九州ブロック血液センターよりシステムに関する案内の送付を開始した。

［松岡佐保子、濵口功］

7) 組換えタンパク質を用いた HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発

ATL は、HTLV-1 感染によって引き起こされる予後不良の疾患であるが、HTLV-1 無症候性キャリアからの ATL 発症を予防する治療法は開発されていない。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。本組換えタンパク質は、*in vitro* において感染細胞株を効率良く殺傷し、ヒト化マウス感染モデルにおいても感染を顕著に抑制し、薬剤候補としての有効性を示した。

［大隈和、日吉真照、濵口功］

8）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（HTLV-IG)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 HTLV-1 感染を阻止することを確認した。そこで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。この HTLV-IG を用いて、HTLV-1 感染抑制能を、ヒト化マウスを用いて検討した結果、HTLV-IG に高い感染防御効果がある事が明らかとなった。現在、製剤の安全性に関し、検討している。

[野島清子、水上拓郎、栗林和華子、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、山口一成、濵口功]

9）HTLV-1 アクセサリータンパク質の構造生物学的研究

HTLV-1 感染細胞では、ウイルスゲノムにコードされた複数のアクセサリータンパク質が感染制御に関与している。これらアクセサリータンパク質の感染制御機構を構造生物学的視点から解析を行うため、HTLV-1 アクセサリータンパク質の大量発現系構築検討を行った。ブレビバチルス分泌発現系を用いた発現検討を行ったところ、一部のアクセサリータンパク質について発現が確認された。現在、培養条件等の再検討と共に、他の発現系についての検討等も行っている。　　［谷生道一、濵口功］

10）HTLV-1 Env 蛋白質と受容体相互作用の構造生物学的研究

HTLV-1 Env 蛋白質が宿主細胞の受容体である GLUT1/Neuropilin-1/HSPG と結合することによって、HTLV-1 の感染が起こると考えられている。そこで、HTLV-1 感染伝搬メカニズムを原子レベルで解明するため、HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドと Neuropilin-1 B1 ドメインの複合体解析に取り組んでおり、この結合様式を NMR 法で解析した。その結果、HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドは Neuropilin-1 B1 ドメインの VEGF165 結合領域に結合している可能性が示唆された。また、HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドが HTLV-1 侵入を抑制できるかを検討している。

［楠英樹、松橋一彦、濵口功］

11）ヒト化マウスを用いた HTLV-1 水平感染モデルマウスの樹立

日本赤十字社での献血検査を用いた疫学検討の結果、全国で年間３０００～４０００人の新規の HTLV-1 水平感染者が発生していることが示唆された。本研究では、ヒト化マウスを用いた HTLV-1 水平感染モデルマウスの樹立および HTLV-1 感染･伝播メカニズムの解明を試みている。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 マウスの経膣に 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６週目に HTLV-1 感染マウスを解剖した結果、末梢血、脾臓、肝臓子宮のいずれの組織においても HTLV-1 感染が確認できた。現在、このヒト化マウスを用いて HTLV-1 の初期感染メカニズムの解明を進めている。　　［斎藤益満、日吉真照、濵口功］

Ⅱ．品質管理に関する業務、研究

１．血液製剤

1）抗補体性否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションついての研究

静注用グロブリンの抗補体性否定試験は、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候補品を作製し、２年間の仮運用の成績を評価した結果、本参照品候補品は参照品として有効

であることが示された。参照品候補品を元に相対的に抗補体価を算出することにより、これまで問題であった試験誤差、および施設間差が小さくなることが示された。　［野島清子、斎賀菊江、大隈和、濵口功］

2)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

バイクロットは、国内献血由来の血漿を原料として製造した、活性化第Ⅶ因子と第Ｘ因子を混合した新規バイパス製剤である。当該血液製剤につき、第Ｘ因子力価試験、活性化第Ⅶ因子力価試験、アンチトロビン III 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・抗生物質

1)新規ワクチン承認前試験等における物理化学試験

(1)沈降 10 価肺炎球菌結合型ワクチン（ジャパンワクチン)

当該ワクチンのアルミニウム含量試験を製造所 SOP（滴定法）に従って実施した。その結果、感染研試験値は自家試験値とほぼ同じ結果が得られ、全ロットにおいて規格値を満たした。また、誘導結合プラズマ（ICP)法を用いてアルミニウム含量を測定したところ、滴定法による試験結果との乖離は少なかった。

［田中明子、楠英樹］

(2)組換えインフルエンザ HA ワクチン（ツマジロクサヨトウ細胞由来）（アステラス製薬）

当該ワクチンのたん白質含量試験を製造所 SOP（ビシンコニン酸(BCA)法)に従って実施した。その結果、感染研試験値は自家試験値とほぼ同じ結果が得られ、全ロットにおいて規格値を満たした。また、生物基一般試験法であるたん白質定量法（ローリー法）を実施したところ、BCA 法による試験結果との乖離は少なかった。　［田中明子、楠英樹］

(3) 沈降ヘモフィルス b 型ワクチン（武田薬品工業株式会社）

当該ワクチンのアルミニウム含量試験を製造所 SOP（スチルバゾ法）と誘導結合プラズマ（ICP）法を実施した。その結果、感染研試験値は全ロットにおいて規格値を満たした。　［田中明子、楠英樹］

３．体外診断薬用医薬品

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 1 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、松岡佐保子、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-ODN である G9.1 の粘膜アジュバント作用に形質細胞様樹状細胞（pDC）の関与が認められた。pDC は主に IFNα を産生するのでこれを粘膜アジュバントとして用いて検討した。2 系統のマウスを用いて、ジフテリアトキソイドと IFNα を同時経鼻投与したところ、抗原特異的血清 IgG・IgG2a/2c 抗体産生および抗毒素価の増強作用が認められた。G9.1 の粘膜アジュバント作用は、粘膜 pDC 等により産生される IFNα が重要である可能性が示された。今後 IFNα の作用を阻害した場合の免疫反応および細胞性免疫への関与を検討する予定である。　［前山順一、伊保澄子（福井大学）］

2) 結核ブースターワクチンの遅延型過敏反応（DTH）による最適化の検討

結核抗原 MDP1 とアジュバントとして G9.1 を用いたワクチン候補の最適化のため、抗原アジュバントの比や免疫条件をモルモットで検討を始めた。まず DTH 測定までを 18 週から 6 週とし、これまでの MDP1 と G9.1 のモル比の約 1:3 と 15:1 を検討したところ、短期間でも DTH が観察された。またマウスを用いた場合、1:1 付近にピークがある傾向が認められた。抗体産生では、IgG 産生で G9.1 による抑制が、IgG2c では、DTH と似た傾向が認められた。

［前山順一；山崎利雄、山本三郎（バイオセーフティ管理室）；網康至（動物管理室）；伊保澄子（福井大）；松本壮吉（新潟大）］

3) BCG ワクチンを免疫したモルモットでの結核菌感染時の免疫細胞動態

ブースターワクチンの効果検討の前提としてプライム免疫である BCG を免疫したモルモットに結核菌を感染させた場合の免疫細胞動態を検討している。BCG ワ

クチン株を皮内投与し 8 週後に結核菌噴霧感染させた。感染 1、2、3、4 週後に血液および各臓器由来の細胞についてフローサイトメトリーにより検討した。その結果、肺の単核細胞において相違が見いだされ、2 つの細胞群より成ることがわかった。一方の細胞群で、非免疫群では CD8 を、BCG 免疫群では CD8 および MHC II を発現していた。この細胞群は、非免疫群では感染の経過に伴い抗原発現が変化するが、BCG 免疫群ではそれに伴う大きな変化は認められなかった。

[前山順一；山崎利雄、山本十糸子、山本三郎（バイオセーフティ管理室）]

4）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

ワクチン開発において、免疫原性やワクチンデリバリー能を高める目的で添加されるアジュバントの研究・開発の重要性が増している。アジュバントの有効性に関しては研究・開発段階で多くの研究がなされるが、安全性に関しては余り研究されておらず、その作用機序が複雑であることもあり、当初予想し得なかった反応性を示す可能性も否定できない。そこで、アジュバントに関し、その安全性の指標となるバイオマーカーを網羅的に収集する目的で、平成 24 年度より独立行政法人 医薬基盤研究所・大阪大学と協力し、アジュバントデータベースの作成を行って来た。平成 26 年度は我々の同定したバイオマーカーを用いて、インフルエンザの品質管理が可能か検討した結果、ワクチンのロット間の違いを通常の試験より高感度に判別する事が可能である事が明らかとなった。さらに、Vero 細胞由来のインフルエンザワクチンや、VLP タイプのインフルエンザワクチン、さらには CpG アジュバントを添加したインフルエンザワクチンの安全性評価にも応用できる事を明らかにした。現在、そのメカニズムについて解析を進めている。

[水上拓郎、百瀬暖佳、栗林和華子、倉光球、濵口功]

Ⅳ. 血液に関する研究

1）造血幹細胞特異的チロシンキナーゼTieの機能解析

血液系細胞のうち、造血幹細胞に特異的な発現を認める Tie2 は、Tie ファミリーに属するチロシンキナーゼ型受容体である。Tie1 は Tie2 と同じファミリーに属する分子であり、造血幹細胞に加えて巨核球や血小板にも発現しているが、その機能については不明な点が多い。我々は血液細胞を巨核球様に分化させて Tie1 の発現誘導を惹起した際、細胞の接着/浮遊状態によって発現誘導に差が見られることを見出した。Tie1 の発現調節機構に対する接着因子シグナル関与の可能性が考えられる。 [百瀬暖佳、濵口功]

2）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 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。我々は、マウス胸腺で BRCA1 が髄質上皮細胞に発現し、髄質上皮細胞の過剰な分化を抑制していることを報告してきた。今回、ケラチン 14 発現細胞に特異的に BRCA1 変異を持つマウス胸腺の解析から、成体マウスではハッサル小体周囲に存在する細胞が皮質上皮細胞に分化することが明らかとなった。

[小高千加子]

3) 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、生存期間が延長した。現在、作用機序の解明を行っている。

[水上拓郎、栗林和華子、長谷川秀樹(感染病理部)、William Hall (University College Dublin)、濵口功]

4) 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。これらの細胞を移植する事で、幹細胞特性を有している事を明らかにした。現在、HBZ-Tg 由来の ATL 癌細胞の特性解析を、in vivo 及び in vitro で行っている。

[栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄（京都大学)、濵口功]

5) 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。現在、これらの分子を指標とした造血発生の全体像の解明を目的に、詳細な発現解析等の検討を行っている。

[平松竜司、水上拓郎、濵口功]

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：109 ロット
(血液凝固第Ⅷ因子力価試験：41、アンチトロンビンⅢ力価試験:33、ハプトグロビン力価試験:7、活性化第Ⅶ因子力価試験:4、第Ⅹ因子力価試験:4、抗HBs人免疫グロブリン力価試験：2、乾燥抗HBs人免疫グロブリン力価試験：5ロット、ポリエチレングリコール抗HBs人免疫グロブリン力価試験：2ロット、乾燥抗 D人免疫グロブリン力価試験：3ロット)
免疫グロブリン G 重合物否定試験：122 ロット
抗補体性否定試験：80 ロット
含湿度試験：158 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：64 ロット
たん白質含量試験（ローリー法)：130 ロット
たん白窒素含量試験：45 ロット
凝固性たん白質含量及び純度試験：4 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)：21 ロット
フェノール含量試験：16 ロット
ヘモグロビン含量試験：7 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：231 ロット
発熱試験：44 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

血液凝固第 IX 因子力価試験：4 ロット
活性化凝固因子否定試験：4 ロット
たん白窒素含量試験：4 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

4. 依頼検査

たん白質含量試験（ローリー法)：28 ロット
チメロサール含量試験：4 ロット

5. 承認前検査

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
抗第Ⅹ因子マウス IgG 否定試験：1 サンプル
抗第Ⅶ因子マウス IgG 否定試験：1 サンプル
たん白質含量試験：3 サンプル
アルミニウム含量試験：6 サンプル
異常毒性否定試験： 3 サンプル
発熱試験： 1 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：41 ロット

乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：33 ロット
人ハプトグロビン：7 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性第Ⅶ因子：4 ロット
筋注用人免疫グロブリン：4 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：5 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン：80 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン：25 ロット
乾燥 pH４処理人免疫グロブリン：7 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン：28 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）：9 ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：2 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：2 ロット
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン：1 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：5 ロット
ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：3 ロット
人血清アルブミン：207 ロット
加熱人血漿たん白：6 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）：4 ロット
ヒスタミン加人免疫グロブリン：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
Ｃ型肝炎ウイルス抗体キット：1キット(3ロット)

国際協力関係業務

研修業務

1）2014 年 5 月 20 日：新規者向け検定・検査教育講習会において、「血液製剤の検定」の講義を行った。［大隈和］

2）2014 年 7 月 22 日：知の市場において、「感染症と癌/成人性 T 細胞白血病」の講義を行った。［水上拓郎］

3）2014 年 10 月 21 日:知の市場後期講義において､「血液製剤の品質管理」の講義を行った。［大隈和］

4）2014 年 10 月 23 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］

5）2015年2月5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］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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***, 450: 741-745, 2014

2) Tanio M, Kusunoki H, KohnoT: ^{1}H, ^{13}C and ^{15}N backbone resonance assignments of the monomeric human M-ficolin fibrinogen-like domain secreted by Brevibacillus choshinensis. ***Biomol NMR Assign***, 8: 207-211, 2014

3) Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhata K, Ishii KJ, 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***. 9: e101835. 2014

4) 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***, 107(4):416-9, 2014.

5) Iho S, Maeyama J, Suzuki F: CpG oligodeoxy-nucleotides as mucosal adjuvants. ***Hum Vaccin Immunother***. 11: 755-60 2015.

6) Kuramitsu M, Okuma K, Yamagishi M, Yamochi T, Firouzi S, Momose H, Mizukami T, Takizawa K, Araki K, Sugamura K, Yamaguchi K, Watanabe T, Hamaguchi I. 2015. Identification of TL-Om1, an Adult T-Cell Leukemia (ATL) Cell Line, as Reference Material for Quantitative PCR for Human T-Lymphotropic Virus 1. ***J Clin Microbiol.*** 53:587-596.

7) Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanezaki R, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Iribe Y, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Hara J, Goi K, Matsubara K, Koike K, Ishiguro A, Okamoto Y, Watanabe K, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Kenmochi N, Ogawa S, Ito E: Loss of function mutations in RPL27 and RPS27 identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan anaemia. ***Br J Haematol*** 168:854-864, 2015

8) Momose H, Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Masumi A, Araki K, Furuhata K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Establishment of a new quality control and vaccine safety test for influenza vaccines and adjuvants using gene expression profiling. ***PLoS One***. *in press*

9) Okuma K, Fukagawa K, Tateyama S, Kohma T, Mochida K, Hiyoshi M, Takahama Y, Hamaguchi Y, Hirose K, Buonocore L, Rose JK, Mizuochi T, Hamaguchi I. Development of an infectious surrogate hepatitis C virus based on a recombinant vesicular stomatitis virus expressing hepatitis C virus envelope glycoproteins and green fluorescent protein. ***Jpn J Infect Dis.*** *in press*

10) Hiyoshi M, Okuma K, Tateyama S, Takizawa K, Saito M, Kuramitsu M, Araki K, Morishita K, Okada S, Yamamoto N, Biragyn A, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Furin-dependent CCL17-fused recombinant toxin controls HTLV-1 infection by targeting and eliminating infected CCR4-expressing cells *in vitro* and *in vivo*. ***Retrovirology***, *in press*

11) Kuramitsu M, Okuma K, Yamochi T, Sato T, Sasaki D, Hasegawa H, Umeki K, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Naruse I, Yamagishi M, Nakashima M, Momose H, Araki K, Mizukami T, Mizusawa S, Okada Y, Ochiai M, Utsunomiya A, Koh K-R, Ogata M, Nosaka K, Uchimaru K, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Satake M, Okayama A, Mochizuki M, Izumo S, Saito S, Itabashi K, Kamihira S, Yamaguchi K, Watanabe T, Hamaguchi I: Standardization of quantitative PCR for human T-cell leukemia virus type 1 in Japan: A collaborative study. ***J. Clin. Microbiol.*** *In press*

2. 和文発表

1) 大隈和：臨床医からの質問に答える　血液製剤による感染症と安全対策について教えてください.
検査と技術, 2015;43(5):420-3.

2) 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

3) 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

4) 濵口功：HTLV-1 の現状と感染対策の方針、感染・炎症・免疫、第44巻3号、257-258、2014

5) 小高千加子：血液と感染症、ザ・クインテックス、第33巻9号、140-146、2014

6) 小高千加子：B 型肝炎・肝がんの予防に向けて、ザ・クインテックス、第34巻2号、138-145、2015

7) 岩尾憲明、加藤栄史、小高千加子、高本滋、佐川公矯、星順隆、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、岡田義昭、大日康史、百瀬俊也、北澤淳一、森宏、松下明夫、野村久子、八十嶋仁、大隈和、浜口功、山口一成：輸血副作用サーベイランスにおける underreporting の問題、日本輸血細胞治療学会誌、印刷中

8) 浜口功：ヘモビジランス-重篤輸血副作用の把握に向けて、医学のあゆみ、印刷中

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Madoka Kuramitsu, Isao Hamaguchi. Development of a HTLV-1 DNA standard. SCIENTIFIC WORKING GROUP ON THE STANDARDISATION OF GENOME AMPLIFICATION TECHNIQUES. オーストリア、GRAZ、2014年5月

2) Kiyoko Nojima, Takashi Shimoike, Takaji Wakita, Isao Hamaguchi, and Yoshiaki Okada. Evaluation of Hepatitis C Virus JFH-1 Infectivity and RNA Distribution During Plasma Fractionation. AABB 2014（米国輸血学会）アメリカ、フィラデルフィア、2014年10月

3) Kitazawa J, Odaka C, Hamaguchi I and the Hemovigilance Research Group: Hemovigilance in Japan: 2nd Interim Report.AABB Annual Meeting,

Philadelphia,PA,Oct,2014.

4) Takuo Mizukami. System Vaccinology Enables to Evaluate the Safety of the Influenza Vaccine and the Adjuvant with a Multiplex Gene Detection System of Novel Biomarkers in the Pre-Clinical Study and Lot Release Test. Keystone Symposia. The Modes of Action of Vaccine Adjuvants. Seattle, Washington USA, 2014 年 10 月

5) Taiju Utsugisawa, Toshitaka Uchiyama, Hiromi Ogura, Takako Aoki, Isao Hamaguchi, Akira Ishiguro, Akira Ohar, Seiji Kojima, Shouichi Ohga, Etsuro Ito, Hitoshi Kanno, Elevated Red Cell Reduced Glutathione Is a Novel Biomarker of Diamond-Blackfan Anemia. the 56th ASH Annual Meeting and Exposition. San Francisco, CA, 2014 年12月

2. 国内学会

1) 大隈和. HTLV-1 感染症の疫学的研究とその対策. 第 24 回感染研シンポジウム、東京、2014 年 5 月 21 日

2) 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雄雅、濵口功. 成人 T 細胞白血病 (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癌幹細胞の同定の試み. 第 24 回 KTCC, 京都, 2014 年 6 月

3) 水上拓郎, 百瀬暖佳, 倉光球, 滝澤和也, 斎藤益満, 古畑啓子, 荒木久美子, 石井健, 濵口功. トキシコゲノミクスを応用した新規ワクチンアジュバント添加・インフルエンザワクチンの 安全性試験法の開発. 第 41 回日本毒性学会学術年会. 神戸市. 平成 26 年 7 月

4) 平松竜司. 着床期の哺乳類胚発生における胚 - 母体間の力学的相互作用. 第 54 回先天異常学会学術集会、相模原、平成 26 年 7 月

5) 大隈和、日吉真照、滝澤和也、齋藤益満、浜口功. CCR4 リガンド TARC を用いた新規抗 HTLV-1 分子標的治療薬の開発. 第 1 回日本 HTLV-１学会学術集会、東京、2014 年 8 月

6) 井上由紀子、守田麻衣子、相良康子、後藤信代、倉光球、濵口功、迫田岩根、入田和男、清川博之. WB 判定保留事例の Follow-up -HTLV-1 抗体確認検査に関する考察-. 第 1 回日本 HTLV-１学会学術集会、東京、2014 年 8 月

7) 佐竹正博、相良康子、岩永正子、濵口功. 献血者から明らかになった HTLV-1 水平感染の実態. 第 1 回日本 HTLV-１学会学術集会、東京、2014 年 8 月

8) 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雄雅、濵口功. HTLV-1 モデルマウスである HBZ-Tg マウスにおける癌幹細胞の同定と機能解析. 第 1 回日本 HTLV-1 学会 2014 年 8 月

9) 水上拓郎、滝澤和也、平松竜司、倉光球、百瀬暖佳、山口一成、濵口功. 造血組織における新たな一過性ニッチ細胞 (TNCs)の同定とその多様な機能. 第 157 回日本獣医学会学術集会. 北海道大学 平成 26 年 9 月

10) 平松竜司. 胚発生過程における“力”をどのように捉るか. 第 157 回日本獣医学会学術集会. 北海道大学 平成 26 年 9 月

11) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Madoka Kuramitsu, Iwama Atsushi, Yoshihisa Asada, Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi. Identification of cancer stem cells in an HBZ transgenic mouse model of ATL. 第 76 回日本血液学会 2014 年 10 月

12) 下池貴志、野島清子、脇田隆字、岡田義昭. 血液製剤における C 型肝炎ウイルスの不活化機構の解明. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

13) 相良康子、井上由紀子、守田麻衣子、岩永正子、矢持忠徳、渡邉俊樹、浜口功、清川博之、HTLV-1 PVL と HLA Class I 結合 peptide の乖離時間との関連. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月

14) Hiramatsu R, Kimura-Yoshida C, Matsuo I: Mechanical interaction between embryo and maternal uterine tissue in the anterior-posterior axis formation of mouse embryo. 第 37 回日本分子生物学会年会、横浜、2014 年 11 月

15) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎：TLR９リガンドである G9.1 をアジュバントとして用いた結核ブースターワクチンの開発、第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2014 年 12 月

16) 内藤誠之郎, 住田知也, 兒玉賢洋, 清原知子, 前山順一：中空型マイクロニードルを利用したワクチン抗原の皮内投与, 第 18 回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2014 年 12 月

17) Odaka C： BRCA1 deficiency leads to aberrant differentiation in mouse thymic epithelium. 第 43 回日本免疫学会総会、京都、2014 年 12 月

18) Maeyama J, Suzuki F, Yamamoto S, Iho S: A novel phosphodiester oligodeoxynucleotide containing palindromic CpG motif as a mucosal adjuvant

stimulates plasmacytoid dendritic cell-mediated Th1 Immunity. 第43回日本免疫学会総会･学術集会、京都、2014年12月

19) 百瀬暖佳、水上拓郎、倉光球、安藤栄里子、立花滋博、滝澤和也、益見厚子、永田伴子、浜口功. 遺伝子発現解析による安全性評価法の構築とアジュバント含有インフルエンザ HA ワクチンへの応用. 第８回次世代アジュバント研究会. 大阪. 2015年1月

20) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎：結核菌組換えタンパク質MDP1およびCpG-DNAであるG9.1を用いた結核ブースターワクチンの開発､第88回日本細菌学会総会､岐阜、2015年3月

21) 益見厚子, 持田恵子, 滝澤和也, 水上拓郎, 森茂太郎, 柴山恵吾, 浜口功. Mycobacterium avium 感染マウスの造血幹細胞の解析. 日本薬学会第 135 年回. 神戸. 2015年3月

21) 深澤秀輔, 益見厚子、細菌型チロシンキナーゼ阻害剤探索系の開発 、日本薬学会第 135 年回. 神戸. 2015年3月

１４．品質保証･管理部

部 長　加藤　篤

概　要

平成26年4月より新たに品質保証・管理部が誕生した。旧放射能管理室を第一室、旧検定検査品質保証室を第二室として業務の効率化を目指して組織再編されたものである。それまでの互いの室の業務に共通する点は、法令（たとえば、第一室は放射線障害防止法、第二室は医薬品医療機器法）に基づき適切に運用しなければならないこと、書類等の適切な記録、保管、管理が求められること、関係する職員に対して教育及び訓練を実施すること（あるいは実施するよう働きかけること）、所内横断的な業務であること、そしてこれらが適切に実施されていることを定期的に外部から確認を受けなければならないことである。共通するとは言っても第一室と第二室が実際に対応する業務内容は対象が大きく異なり、まったく異なる知識、技術、経験が必要であることから、一つの部としての体裁を危ぶむ声もあった。近年、国立感染症研究所（感染研）を取り巻く環境は大きく変化し、感染研が国立研究機関として存在する意味を組織として考えざるを得なくなっている。感染症研究、病原体・疾病の発生動向調査と対策、その感染症対策に必要なワクチン等の品質管理は、感染研が国民の負託に応えて行う三つの大きな柱である。三つの機能を分離させるべきか、現状を維持すべきかという議論が何度も繰り返されてきたが、今は感染研の組織で三つの柱を比率の大小はあったとしても各部室センターの専門性を生かして担当していこうという事になり、部室センターが何らかの形で検定・検査に関わるようになってきている。この流れの中で誕生した当部は、管理業務で第一室と第二室それぞれの知見や手法を共有し合うという側面だけなく、研究面でも放射線を用いた生物学的製剤の品質管理技術など、互いの専門性を生かした取り組みが期待されている。

第一室は旧放射能管理室を前身としており、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および訓練を行う一方で、生物学的な事に関する研究等を行っている。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放射線管理を専らの業務として設置された省令室である。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）が室長として就任した。平成26年4月の組織改編による品質保証・管理部の誕生に伴い、主任研究官の藤本浩文が 7 月から第一室長となった。主任研究官の作道隆は、4月から二年間の予定で休職し、米国に留学した。その間、任期付研究員として新たに田村克が第一室のメンバーに加わった。研究員の本田尚子は、6月より結核菌を用いた研究のため村山庁舎の細菌第二部第四室に出向いた。再任用職員の鈴木寿子は戸山庁舎の放射線管理業務を補佐した。再任用職員の土田耕三（元放射能管理室長・現動物管理室）が品質保証･管理部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、品質保証・管理部併任）が、ハンセン病研究センターでは中永和枝（感染制御部・主任研究官）・鈴木幸一（感染制御部・第三室長）が務めた。

放射性同位元素の保管、使用、廃棄に関しては、日頃より放射線業務従事者、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行われているところであるが、平成26年4月22日に放射線障害防止法第43条の2に基づく原子力規制庁 放射線対策・保障措置課 放射線規制室の立ち入り検査が村山庁舎に対して行われ、適切に運用されていることが確認された。戸山庁舎地下 3 階の放射線管理区域にある有機溶媒焼却装置は放射性同位元素を含んだ有機溶媒の燃焼廃棄を目的に設置されたものであるが、日本アイソトープ協会が有機溶媒廃液の引き取りを開始したのに伴って燃焼廃棄が必須ではなくなり、装置は専ら毎年の定期検査を受ける時に限って運転する存在になっていた。経費の適切な利用を考慮して装置の廃止に係る手続きを原子力規制委員会に対して進め、平成26年5月に届出、12月に撤去作業を完了し、平成27年1月に廃止に伴う措置の報告を行った。

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。現実的な対応を考える必要がある。

第二室は旧検定検査品質保証室（保証室）を前身としており、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っている。国家検定・検査の信頼性のより一層の確保を図るために平成19年4月に新設された省令室である。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年で定年退官したのに伴い、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保証室への併任が解かれた。平成26年4月の組織改編による品質保証・管理部の誕生に伴い、主任研究官の落合雅樹が 8 月から第二室長になった。主任研究官の内藤誠之郎、藤田賢太郎の 2 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6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。なかでも、前年度の検定・検査業務を所長が総括し、今後の方針を決定するマネジメントレビューと感染研が実施する検定検査業務を統括する厚生労働省が、その業務の適切性を評価する実地調査は品質保証・管理部第二室が対応する重要な業務である。平成26年8月8日、所長による平成25年度マネジメントレビューが実施され、第二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。また、平成26年8月19日に厚生労働省監視指導・麻薬対策課（厚労省監麻課）、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）による実地調査を受け、第二室は感染研の検定検査業務のマネジメントを説明する役目を担った。平成 26 年 12 月 26 日付で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OMCLとしての認定（継続）を得た。

WHOはワクチンのロットリリースに際して、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必須要件としている。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検定試験の試験品と共に自家試験記録を参考資料として提出させていたが、検定の合否は試験結果により判定され、自家試験記録が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（現医薬品医療機器法）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。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、更に当部第二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。猶予期間を経て平成 24 年 10 月に SLP 審査が正式導入され、これ以降の 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、実際には正式施行後も様式変更に伴う第二室の確認と通知に係る業務量は減らず、今も尚、重要な業務となっている。

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、当部が窓口もしくは中心的な対応を任される例が多い。特に対外的な事柄に関しては当部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」に関わる課題は当初、細菌第二部で行われていたが、保証室長が花田から加藤に代わってからは、保証室取り扱い事項となっていた。平成26年の「生物学的製剤の標準化に係る WHO Collaborating Center」の認定更新を前にして、平成26年3月5日 WHO Geneva 本部から Dr. Ivana Knezevic が感染研を訪問し、センターとして相応しいか否かの実地調査が行われた。その際、当部は窓口として対応にあたった。7月にWHO WPRO（西太平洋事務局）から WHO Collaborating Center として相応しいとの結論を受け、8月から再認定機関 JPN-28 として継続に至った。この継続承認により WHO の生物学的製剤の専門家会議（ECBS : Expert Committee on Biological Standardization）に、引き続き感染研から代表を送れる事になった。また、WHO が進める WPRO 地域の国々のワクチン規制当局の強化プロジェクトに感染研が大きく関わるようになった。平成26年9月にフィリピン、マニラで行われたワクチン規制当

局強化会議では感染研が議長を務める栄誉を得た。また、この会議で日本の協力として打ち出されたJICA国際研修も今年で2回目を迎え、試行錯誤で始めた研修も研修生ならびにJICAから高い評価を得るに至ったのは喜ばしいことである。

多くの横断的な業務が期待されている品質保証・管理部であるが、人材的な強化、育成をどうするかが当面の課題である。

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	1,218.246	120.250	31.633
^{14}C	135.338	11.470	8.977
^{32}P	75.480	740.000	444.000
^{35}S	169.989	94.000	33.251

保管量下限数量比合計 3,732.2

2. 村山

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	86.550	0.000	49.550
^{14}C	0.037	0.000	0.037
^{32}P	6.660	9.250	15.910
^{35}S	596.000	555.000	818.000

保管量下限数量比合計 3.4

3. ハンセン病研究センター

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{14}C	110.260	0.000	0.000

保管量下限数量比合計 11.0

Ⅱ．従事者数*

(*平成24年度年報より従事者登録者数表記を改めた)

1．戸山 ２４０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26年4月7日	30	新規・継続
5月12日	141	継続
5月13日	96	継続
5月19日	66	継続(村山)
5月22日	16	継続(ハンセン)
6月2日	13	新規・継続
6月12日	14	継続
6月23日	3	継続
6月25日	2	継続
6月30日	1	継続
7月4日	1	継続
8月12日	1	新規
10月6日	15	新規
平成27年2月2日	4	新規
合 計	403	

*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26年4月17日	1	新規
9月22日	2	新規
10月7日	1	新規
11月21日	1	新規
12月1日	1	新規
平成27年1月15日	1	新規
3月26日	1	新規
合 計	8	

3. 特別講習会

平成26年 6月19日	29	戸山TBS、防災センター
6月19日	20	村山TBS、防災センター
11月26日	1	ハンセンTBS、防災センター
合 計	50	

業 績

調査・研究

I. 放射線による DNA 損傷とその修復機構の解析

DNA2 本鎖切断(DSB)の修復酵素である Ku タンパク質の DSB 認識･結合機構を、計算化学的手法を用いて解析した。DSB 発生時、DNA 末端の形状は平滑末端とは限らず、切断時の状況によって様々なバリエーションが考えられる。放射線によって DSB が生じる場合、1 本の電離放射線によって 2 本鎖が同時に切断される場合も考えられるが、生体内においては 1 本鎖切断(SSB)の近傍に別の SSB が生じることで DSB が生じる場合が多いと考えられる。そこで、2種類の SSB モデル、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)を設計、これらの SSB を含む DNA 分子に対して MD シミュレーションを実行し、DNA の構造やエネルギー状態の変化を解析した。また、SSB を挿入した鎖の相補鎖側に酸化損傷塩基を配置したクラスター損傷を持つ DNA 分子に対しても同様の解析を行い、既報の損傷修復酵素の結合能と比較することで SSB モデルの妥当性を検証した。さらに DNA の両鎖に SSB を数塩基離して配置した DSB モデルに Ku タンパク質を作用させ、MD シミュレーションを行ったところ、一部で Ku タンパク質のサブユニットである Ku70 の N 末端領域が DSB 突出領域と相互作用する様子が観察された。[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. 抗結核薬開発に関する研究

１．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 万人が新規に罹患し、世界で 900 万人が発症する。長期に及ぶ化学療法の後も、抗結核薬の効きにくい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があることから、休眠状態の菌への対策は重要である。ストレプトマイシン非存在下で休眠状態を示す可能性のあるストレプトマイシン要求性BCG株を用いて抗結核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］

２．ジアデノシン四リン酸加リン酸分解酵素の解析

生存に必須とされる結核菌ジアデノシン四リン酸加リン酸分解酵素 Rv2613c の、*Mycobacterium avium* および *M. smegmatis* の相同タンパク質の発現と精製を行い、酵素活性を解析した。Rv2613c と類似した酵素活性および基質特異性をもつことを確認した。[本田尚子、加藤篤;森茂太郎、柴山恵吾（細菌第二部）]

III. 大腸菌の生育におけるRNase Eの働きについて

大腸菌のリボヌクレアーゼE（RNase E）は*rne*遺伝子にコードされ、9S rRNAのプロセシング酵素として発見された。その後、多くのRNA種のプロセシングや分解に関わる事が明らかにされ、RNase Eを欠損させたΔ*rne*株は液体培地でも固形培地でも全く生育しない事から、RNA分解が細胞の生育に必須の機能を担っていると考えられてきた。しかし、Δ*rne*株においてサプレッサー変異によりさらに*relBEF*オペロンを失活させることでコロニー形成能が回復することを見出した。様々な炭素源における生育を調べたところ、ピルビン酸最少培地での生育速度が著しく低下しているが、コハク酸での生育にはほとんど影響がないことが判明した。このことからRNase Eの機能は、TCA回路と解糖系をつなぐ糖新生経路の確立に重要な役割を果たす可能性が示唆された。［田村克、スタンリー コーエン(スタンフォード大)、加藤篤］

IV. 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

精製百日せきワクチンの残存百日咳毒素活性を測定する動物試験代替法の導入を目的として、欧州医薬品品質管理理事会（EDQM）が主催する国際共同研究「CHO細胞試験変法による百日咳毒素活性測定」の計画及び共同研究に参加した。［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、山本明彦（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） A型肝炎ワクチン参照抗原液への値付けに対する統計解析支援

抗原含量試験結果にみられる施設間の乖離の改善を目的として、感染研と製造所で共通に使用する参照抗原液に値付けするため統計学的なデータ解析を支援した。解析の結果、共通の参照抗原液を用いて抗原含量試験を実施することにより、施設間変動の改善が見込まれた。［落合雅樹；清原知子、石井孝司（ウイルス第二部）］

２）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、データ解析に対する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WHOパルボウイルスB19-DNA国際標準品（第二次）に対する相対力価として算出し、候補品を力価1,100,000 IU/mLの国内標準品（第一世代）として制定することが平成26年度第1回薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会において承認された。［落合雅樹；水澤左衛子、浜口功（血液・安全性研究部）、岡田義昭（元血液・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ー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、昨年度までにカナダ、欧州、中国、韓国、台湾など8つの国と地域の機関から回答を得た。回答からは、ワクチン及び血漿分画製剤をロットリリースの対象にしていること、SLP審査をロットリリースの必須要件としていること等、ロットリリース制度の基本事項については多くの国と地域で一致している一方、試験実施項目や試験実施頻度など、国と地域により異なっている点も多々あることが窺えた。回答を精査して結果を一覧表にまとめた。また、関連してロットリリースに関するWHOガイドラインの和訳を作成した。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、加藤篤、岩城正昭（細菌第二部）、清原知子（ウイルス第二部）、嶋崎典子（インフルエンザウイルス研究センター）、渡邉治雄（所長）］

４．国家検定制度のあり方に関する研究

わが国では、生物学的製剤の多くは医薬品医療機器法（旧薬事法）により特別に定められた医薬品として国が行う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。ワクチンはこの様な生物学的製剤の一つである。WHOは、国によるワクチンのロットリリースに製造と試験記録の要約（SLP）の書類審査を必須要件としており、それを受けてわが国も平成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2年余を経過して得られたSLP審査制度の状況をまとめ、SLP審査制度を含む国家検定制度の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、総括した。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、加藤篤、渡邉治雄（所長）］

５．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が明らかになるに伴って、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）の運営委員会活動にオブザーバーとして参加し、主に化粧品、医薬品開発に用いる動物代替試験の代替手順を学んだ。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）を進めた。［落合雅樹、加藤篤、林昌宏（ウイルス第一部）、小島肇（国立医薬品食品衛生研究所）］

V. 新規ワクチンに関する研究

１．中空型マイクロニードル（MN）を利用したワクチン皮内投与デバイスの開発

ワクチンを簡便・確実に皮内投与するための医療機器として中空型MNの開発研究を行っている。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、免疫効果についても優位性が期待されている。開発中の中空型MNを用いて不活化A型肝炎ウイルス抗原をラットの皮内に投与して抗体応答を観察した。中空型MNによる皮内投与により同量の抗原を皮下注射した場合と比較して有意に高いELISA抗体価及び中和抗体価が観察された。誘導された血中抗

体は最終免疫後20週まで高値に維持されていた。IgG抗体のサブクラスを分析したところ、中空型MNによる皮内投与ではIgG2b抗体（Th1タイプ）とIgG2a抗体（Th2タイプ）がともに産生されていたが、皮下注射ではIgG2b抗体が主体であった。［内藤誠之郎；住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、高瀬一郎（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）］

２．凍結乾燥製剤充填型マイクロニードル（MN）アレイの開発

薬剤収容部を有するMNを複数配列した薬剤投与装置を考案し、特許申請した（出願番号：特願2015-54687）。同装置は薬剤収容部を有することから、MNの表面に薬剤を塗布する従来型の装置より多量の薬剤を容易に搭載できるものと期待される。また薬剤を収容した状態で凍結乾燥することにより、長期保存可能な製剤を製造することが可能と考えられる。実証研究として、卵白アルブミンを搭載した凍結乾燥製剤充填型MNアレイを作製し、ラット皮内に投与した。その結果、通常の注射器を用いて皮下注射または皮内注射した場合と比較して、同等若しくはそれ以上の抗体応答が誘導されることを確認した。［内藤誠之郎；住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、高瀬一郎（凸版印刷株式会社）］

放射線管理業務

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（前出の表参照）。［鈴木寿子、本田尚子、田村克、藤本浩文、加藤篤、土田耕三、石井孝司；松原久美子、甲斐雅規、鈴木幸一、中永和枝（ハンセン病研究センター）、髙舘信行（総務部・研究支援係）］

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、入庫登録、保管・使用記録の管理、放射性同位元素の廃棄物の記録と管理、施設点検、汚染検査、排気、排水の放射性同位元素量の測定、施設の定期点検、震度4以上の地震発生時の施設点検と原子力規制委員会への報告（平成26年5月5日（戸山庁舎、新宿区震度4）、平成26年9月16日（戸山庁舎、新宿区震度4））、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教育及び訓練、従事者の被曝線量の管理、他。

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、ハンセン研の各事業所の管理状況報告書を厚生労働大臣名で原子力規制委員会研究支援係を経由して6月に提出した。

４．放射線源登録管理制度に基づき戸山と村山の各事業所の線源固有情報等を研究支援係を通じて6月に電子登録した。［鈴木寿子、本田尚子、田村克、藤本浩文、加藤篤、土田耕三、石井孝司；松原久美子、甲斐雅規、鈴木幸一、中永和枝（ハンセン病研究センター）、髙舘信行（総務部・研究支援係）］

信頼性保証業務

Ⅰ．生物学的製剤の国家検定・検査に関する信頼性保証業務

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26年度中に取扱ったSOP原本の実績は、以下の通りである。検定SOP：新規作成 20件、修正 1件、改訂 85件、廃止 14件、有効SOP数 531通。検査SOP：新規作成0件、修正 0件、改訂 10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。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、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。［内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、近田俊文、加藤篤］

２）SLP様式の製販業者への通知

医薬品医療機器法施行規則第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26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51通であった。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、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 様式作成及びSLP審査等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26年8月8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、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子］

４．公的医薬品試験検査機関（OMCL）としての感染研の認定調査に係る対応に関する業務

日本がPIC/Sに正式に加盟を申請したのに合わせて、感染研もOMCLとして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26年8月19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12月26日付でOMCLとして（継続）認定を受けた。［加藤篤、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、近田俊文、倉根一郎（副所長）、北山雄二（業務管理課・検定業務専門官）］

５．品質保証・管理部第二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、品質保証・管理部第二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10版改正案を作成するのに協力した。［落合雅樹、内藤誠之郎、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、「SLP様式作成指針」第2版改正案、及び「検定検査業務における機密電子書類の取り扱いについて」第1版案を作成するのに協力した。また、「検定・検査に係る逸脱管理に関する手順書」に関連して「逸脱発生・評価報告書記入要領」を作成した。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、近田俊文、加藤篤］

１０．WHOのECBS勉強会の開催と報告

WHOのECBS（平成26年10月13日～16日）で審議予定のガイドライン等に関する勉強会（10月6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、内藤誠之郎、内田孝子、加藤篤、浜口功（血液・安全性研究部）］

１１．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］

１２．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（平成26年11月25日以降はPMDA）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ヶ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；多屋馨子、新井智、佐藤弘、奥野英雄、森野紗衣子、大石和徳（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（検定手数料等）の算定に係る支援業務を行った。また、手数料の一部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い、平成27年1月16日に検定手数料等が改正された。［熊谷友望（業務管理課）、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、内藤誠之郎、加藤篤；北山雄二、郡正彦（業務管理課）］

品質保証に係る国際協力関係業務

Ⅰ．研修等

１．研修の主催

１）MOH study visit on communicable disease control; national legislation guidelines on immunization; organization of immunization's activities, functioning National Regulatory Authorities in Japan（ベトナム保健省一行；平成26年9月26日）［落合雅樹、宮川昭二（国際協力室）］

２）Training for Vaccine Lot Release Tests（マレーシア保健省２名；平成26年10月20日～平成26年10月31日）［加藤篤、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）；高崎智彦、モイ メンリン（ウイルス第一部）；片山和彦、染谷雄一、石井孝司（ウイルス第二部）；駒瀬勝啓、森嘉生（ウイルス第三部）；岩城正昭、大塚菜緒（細菌第二部）；楠英樹、斎藤益満、谷生道一（血液・安全性研究部）、網康至（動物管理室）］

３）JICA International Program "Strengthening the National Regulatory Authorities (NRA) for Vaccine's Quality and Safety"（J14-04118）（平成27年1月13日～平成26年2月11日）［加藤篤、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）；高崎智彦、林昌宏（ウイルス第一部）；片山和彦、石井孝司（ウイルス第二部）；駒瀬勝啓、森嘉生（ウイルス第三部）；佐々木裕子、岩城正昭、森茂太郎、堀野敦子、

大塚菜緒（細菌第二部）、楠英樹（血液・安全性研究部）、板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）、永田典代（感染病理部）、網康至（動物管理室）、棚林清（バイオセーフティ管理室）］

２．講師参加

１．PMDAにおいて、「生物検定法ソフト講習会：エンドトキシン試験、ワクチン品質管理試験の実際と平行線定量法に関して」講演した。（平成26年4月4日、東京千代田区）［落合雅樹］

２．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26年5月20日、埼玉県和光市）［内藤誠之郎］

３．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26年10月23日）［内藤誠之郎］

Ⅱ．国際会議参加

１．WHO DTP混合ワクチンの品質管理試験に関するワークショップ（平成26年5月、インドネシア、ジャカルタ）に参加し、品質管理試験データの統計解析演習を担当した。［落合雅樹］

２．Regional Alliance Steering Committee Meeting for National Regulatory Authorities for Vaccine in the Western Pacific Region（平成26年9月、フィリピン、マニラ）［加藤篤、藤田賢太郎］

３．Workshop for National Regulatory Authorities for Vaccines in the Western Pacific Region（平成26年9月、フィリピン、マニラ）［加藤篤、藤田賢太郎］

４．WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（ECBS；平成26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）］

５．マウスヒスタミン増感試験代替法の国際ワークショップ（平成27年3月、英国、英国動物試験代替法研究センター（NC3Rs））［落合雅樹］

６．日中韓 2nd Symposium on Research and Quality Control of Vaccinesの開催（参加機関：中国National Institutes for Food and Drug Control（NIFDC）及び韓国National Institute of Food and Drug Safety Evaluation（NIFDS）等）（平成27年3月2日～3日）［加藤篤、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）、伊藤睦代（ウイルス第一部）；片山和彦、清水博之（ウイルス第二部）］

その他

Ⅰ. 放射線管理に係る事項

１．戸山、村山、ハンセン研の関係者で構成されるRI3施設協議会（平成26年6月）を開催し、各施設が抱える問題点、今後の計画を共有した。［鈴木寿子、本田尚子、田村克、藤本浩文、加藤篤、土田耕三、石井孝司；松原久美子、甲斐雅規、鈴木幸一、中永和枝（ハンセン病研究センター）、髙舘信行（総務部・研究支援係）］

２．放射線安全管理研修会（平成26年9月）に出席し、管理業務に関わる情報収集を行った。［藤本浩文］

３．戸山庁舎、ハンセン病研究センターにおける安全連絡協議会（戸山庁舎２回（平成26年9月、平成27年3月）、ハンセン病研究センター１回（平成27年3月））に出席し、委員に放射線管理の状況を説明した。［加藤篤、藤本浩文、鈴木寿子、本田尚子、松原久美子（ハンセン病研究センター）］

４．所の節電対応方針に従い、平成26年4月より6月～9月を除いて戸山庁舎放射線管理区域における空調稼働時間を、従来の6時～23時59分から、7時～22時59分に短縮した。［加藤篤、鈴木寿子、本田尚子、作道隆、藤本浩文、倉根一郎（副所長）］

５．組織改変に伴う名称変更、および有機溶媒焼却装置の廃止を機に、戸山、村山、ハンセン研の各事業所における放射線障害予防規程、および放射性同位元素等取扱規則の改訂作業を行った。［本田尚子、作道隆、藤本浩文、加藤篤、鈴木寿子、髙舘信行（総務部・研究支援係）］

Ⅱ. 品質保証に係る事項

１．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、第十七改正日本薬局方の医薬品各条（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。［近田俊文］

２．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を配付した。今年度の配付実績は、5 機関（国外：2 機関、国内：3 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) Sassa A, Suzuki T, Kanemaru Y, Niimi N, Fujimoto H, Katafuchi K, Grúz P, Yasui M, Gupta RC, Johnson F, Ohta T, Honma M, Adachi N, Nohmi T, *In vivo* evidence that phenylalanine 171 acts as a molecular brake for translesion DNA synthesis across benzo[a]pyrene DNA adducts by human DNA polymerase κ, DNA Repair, 15:21-28, 2014

2) Ochiai M, Horiuchi Y, Yuen, CT, Asokanathan C, Yamamoto A, Okada K, Kataoka M, Markey K, Corbel M and Xing D. Investigation in a murine model of possible mechanisms of enhanced local reactions to post-primary diphtheria-tetanus toxoid boosters in recipients of acellular pertussis-diphtheria-tetanus vaccine. Hum Vaccin Immunother., 10 : 2074–80, 2014

3) Shirato H, Someya Y, Ochiai M, Horiuchi Y, Takahashi M, Takeda N, Wakabayashi K, Ouchi Y, Ota Y, Tano Y, Abe S, Yamazaki S, Wakita T; sIPV Evaluation Group of NIID-Virology II., A national reference for inactivated polio vaccine derived from Sabin strains in Japan. Vaccine, 32: 5163-9, 2014

4) Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Suzuki M, Konda T, Arakawa Y, Shibayama K. Distribution of carbapenem resistance determinants among epidemic and non-epidemic types of *Acinetobacter* species in Japan. J. Med. Microbiol., 63:870-877, 2014

２． 和文発表

1) 加藤篤　生命科学のためのウイルス学　下遠野邦忠、瀬谷司　完訳　273-298　ウイルス複製の戦略　南江堂、2015 年 2 月 10 日

Ⅱ. 学 会 発 表

１． 国際学会等

1) Tamura M, Synthetic effect of RNase E essentiality in *Escherichia coli*, Frontiers in 2015: Looking Ahead and Setting the Scene for 2020, Aptos, California, USA, 2015

２． 国内学会等

1) 田村克、本田尚子、藤本浩文、Stanley N. Cohen、加藤篤：大腸菌の糖代謝におけるデグラドソーム構造の必須性, 第 11 回 21 世紀大腸菌研究会、盛岡、6 月、2014

2) 内山航大、勝間進、藤本浩文、今西重雄、加藤篤、川崎秀樹、岩永将司：カイコ培養細胞へ混入する BmMLV の不活化に関する研究、第 37 回日本分子生物学会年会、神奈川、11 月、2014

3) 内藤誠之郎、住田知也、兒玉賢洋、清原知子、前山順一：中空型マイクロニードルを利用したワクチン抗原の皮内投与、第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、12 月、2014

4) 本田尚子、佐藤法仁、阿戸学、松村隆之、山崎利雄、関塚剛史、黒田誠、中山真彰、小林和夫、大原直也：A single base insertion in 16S rRNA gene confers Streptomycin dependence in *Mycobacterium bovis* BCG、第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、3 月、2015

5) 趙娜、中山真彰、関塚剛史、黒田誠、本田尚子、阿戸学、中島千絵、鈴木定彦、大原直也：抗酸菌におけるパラアミノサリチル酸に対する新たな耐性機序の可能性、第 88 回日本細菌学会総会、岐阜、3 月、2015

１５．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 26 年 4 月から平成 27 年 3 月までに、55 カ国から 245 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 26 年 4 月から平成 27 年 3 月までに、40 カ国 391 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 26 年 9 月 11-12 日　公益法人台湾交流協会からの依頼に基づく第 11 回日台シンポジウムの開催（台湾において、新技術の公衆衛生への応用、食品媒介疾患、薬物耐性等並びに共同研究を題材にした。)。

(ｲ) 平成 26 年 11 月 26 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８回共同シンポジウムの開催(韓国において、「ベクター媒介感染症と気候変動」、「薬剤耐性」及び「麻疹」を題材にした。さらに、西アフリカでのエボラ感染症への対応について特別セッションを設け、各機関の取り組みなど情報共有した。)。

(ｳ)平成 27 年 1 月 22-24 日　平成 26 年度厚生労働科学研究費委託費「海外研究機関等との感染症に関する共同研究及び連携強化に関する研究」による、「感染症制御セミナーNIID International Seminar on Infectious Diseases」の開催（東京サンシャインシティにおいて、「薬剤耐性」、「ウイルス性・細菌性下痢症」、「インフルエンザ」、「デング熱」を題材にした。国立ハンセン病資料館視察した。)。

ｲ　外国機関へのワクチン株供与

(ｱ)平成 26 年 5 月　タイ保健省医科学局生物製剤研究所へ日本脳炎参照標準ワクチンを供与

(ｲ)平成 26 年 12 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

ｴ　共同研究報告会ほか

なし

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 26 年 6 月 4 日-7 月 11 日　サーベイランスを含む HIV 対策のための検査技術・実験室マネジメント（5 カ国・8 名・エイズ研究センター)。

(ｲ) 平成 27 年 1 月 29 日-2 月 13 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（4 カ国・7 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 26 年 6 月 18 日-6 月 25 日 麻疹アウトブレイク対策支援の調査を行うためウイルス第三部職員 1 名をベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)に派遣。

② 平成 26 年 7 月 6-30 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。

③ 平成 26 年 7 月 13-19 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 26 年 7 月 13-23 日 GMT（手足口病）に関する指導を行うためウイルス第二部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑤ 平成 26 年 7 月 19-30 日 GMT(鳥インフルエンザ)に関する指導を行うため、インフルエンザウイルス研究センター職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑥ 平成 26 年 10 月 4-14 日 エボラウイルスの実験室診断に係る調査を行うため、ウイルス第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑦ 平成 26 年 11 月 8-15 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。

⑧ 平成 26 年 11 月 8-19 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。

⑨ 平成 26 年 11 月 15-26 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。

⑩ 平成 26 年 11 月 15-26 日 GMT(コレラ)に関する指導を行うため、細菌第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

(ｲ) 受入

平成 26 年 8 月 18 日-9 月 12 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。

イ　フィリピン国における JICA 協力

(ｱ) 派遣

① 平成 26 年 8 月 23-31 日 麻疹他予防接種キャンペーンに係る調査団員として感染症疫学センター職員 1 名を派遣。

② 平成 27 年 2 月 15-18 日 国立熱帯医学研究所における BSL-3 検査室整備（エボラ対策）に係る調査団員としてバイオセーフティ管理室職員 1 名を派遣。

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

なし

イ　会議等派遣

(ｱ) 平成 26 年 4 月 3-7 日　第 5 回予防接種に関する戦略諮問委員会（スイス・1 名）

(ｲ) 平成 26 年 4 月 13-18 日　WHO 薬剤耐性に関する専門家会議（スイス・1 名）

(ｳ) 平成 25 年 5 月 18-24 日　WHO 西太平洋地域ワクチン予防感染症実験室からの参加者を対象とした技術ワークショップ（香港・1 名）

(ｴ) 平成 26 年 5 月 26～31 日　DTP 混合ワクチンの品質管理士兼に関するワークショップ（インドネシア・1 名)。

(ｵ) 平成 26 年 6 月 8-13 日　日本脳炎ワクチンに関する専門家作業部会会議（スイス・1 名)。

(ｶ) 平成 26 年 6 月 15 日-6 月 21 日　WHO 西太平洋事務局のワクチン接種に関する技術委員会（フィリピン・1 名)。

(ｷ) 平成 26 年 6 月 17-19 日　第 23 回西太平洋地域におけるワクチンによる予防の感染症制御に関する技術支援会議（フィリピン・1 名）

(ｸ) 平成 26 年 6 月 18-22 日　WHO インフルエンザ診断に関する会議（スイス・1 名）

(ｹ) 平成 26 年 6 月 22-27 日　WHO 国際的にアウトブレイクの脅威にタイして専門家を派遣するネットワーク（GOARM）運営委員会（スイス・1 名)。

(ｺ)平成 26 年 6 月 23-29 日　WHO ポリオ実験室診断小委員会、第 20 回ポリオ実験室ネットワーク非公式会議（スイス・2 名)。

(ｻ)平成 26 年 7 月 13-18 日　WHO/WPRO アジア及び西太平洋地区の新興再興感染症対策の技術アドバイス専門家会議（フィリピン・2 名）

(ｼ) 平成 26 年 7 月 29 日-8 月 1 日　西太平洋地域における薬剤耐性に対する行動計画に関する会議（フィリピン・1 名)。

(ｽ) 平成 26 年 8 月 3-12 日　ラオスにおける細菌検査業務の強化計画に関わるコンサルト業務（ラオス・2 名)。

(ｾ) 平成 26 年 8 月 11-16 日　WHO 西太平洋-東南アジア地域ナショナルインフルセンザセンター会議（インドネシア・3 名）

(ｿ) 平成 26 年 9 月 11-15 日　第 6 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（米国・1 名）

(ﾀ) 平成 26 年 9 月 21-26 日　第 12 回麻疹風疹実験室診断グローバルネットワーク会（トルコ・3 名)。

(ﾁ) 平成 26 年 9 月 21-28 日　WHO 南半球用インフルエンザワクチン株選定会議（スイス・3 名)。

(ﾂ) 平成 26 年 10 月 11-18 日　生物学的製剤の標準化に関する専門家会議(スイス・3 名)。

(ﾃ) 平成 26 年 10 月 11-18 日　第 3 回薬剤耐性に関する専門家会議（スイス・1 名)。

(ﾄ) 平成 26 年 10 月 18-23 日　WHO 痘瘡ウイルス研究アドバイザリー委員会（スイス・1 名）

(ﾅ) 平成 26 年 10 月 20 日-11 月 21 日　西アフリカにおけるエボラ出血熱対策の WHO ミッション（シエラレオネ・２名）

(ﾆ) 平成 26 年 11 月 10-14 日　組み替え HPV ワクチンの鑑賞に関する WHO 会議（スイス・1 名）

(ﾇ) 平成 26 年 11 月 12-16 日　国際保健規約に関する会議（スイス・1 名)。

(ﾈ) 平成 26 年 11 月 17-23 日　感染症に対するモノクローナル抗体の科学的及び行政的な取り扱いに関する WHO 会議（米国・1 名)。

(ﾉ) 平成 26 年 11 月 23-28 日　第 2 回パンデミックインフルエンザ重傷度アセスメントミーティングの専門家ワーキンググループ会議(スイス・1 名)。

(ﾊ) 平成 26 年 11 月 30 日-12 月 4 日　エボラ対策強化のための ASEAN＋3 諸国を対象にしたワークショップ（タイ・1 名)。

(ﾋ) 平成 26 年 12 月 9-13 日　GOARN 運営委員会（スイス・1 名)。

(ﾌ) 平成 27 年 1 月 11-13 日　第 3 回 B 型肝炎専門家パネル会議（韓国・1 名)。

(ﾍ) 平成 27 年 1 月 18-24 日及び 1 月 28 日-2 月 11 日　WPRO においてサーベイランス業務を支援しデータマネジメント及び疫学に関する技術的な援助提供（フィリピン・2 名)。

(ﾎ) 平成 27 年 1 月 27 日-2 月 1 日　ポリオ実験室診断小委員会（ヨルダン・1 名)。

(ﾏ) 平成 27 年 2 月 22 日-3 月 1 日　北半球用インフルエンザワクチン株選定会議（スイス・3 名)。

(ﾐ) 平成 27 年 2 月 23-27 日　WPRO エボラ対策訓練（フィリピン・1 名)。

(ﾑ) 平成 27 年 3 月 21-27 日　ブルーリ腫瘍 WHO 会議（スイス・3 名)。

(ﾒ) 平成 27 年 3 月 24-29 日　RS ウイルスサーベイランスに関する非公式会合(スイス･1 名)。

(ﾓ) 平成 27 年 3 月 15 日-4 月 25 日　西アフリカにおけるエボラ出血熱対策の WHO ミッション（シエラレオネ・１名）

(ヤ) 平成 27 年 3 月 25 日-5 月 10 日　西アフリカにおけるエボラ出血熱対策の WHO ミッション（スイス・リベリア共和国・２名）

ウ　WHO による査察

なし

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 26 年 4 月 18 日 フィンランド Bio Med Tech（タンペレ工科大学、タンペレ大学のバイオサイエンス・医療技術に関する共同研究機関)23 名来所。意見交換。

イ　平成 26 年 6 月 17 日 Dr. Bruce Gellin(米国保健福祉省)ほか 4 名来所、ワクチン・予防接種関係等意見交換。

ウ　平成 26 年 6 月 25 日 Dr. John Moore(Belfast City Hospital)ほか 1 名来所、意見交換。

エ　平成 26 年 8 月 22 日　陳昭華（国立台湾科学技術大学専利研究所)ほか 2 名来所、意見交換。

オ　平成 26 年 9 月 5 日 Dr. Christian BROCHOT (フランスパスツール研究所長)ほか 3 名来所。意見交換。

カ　平成 26 年 9 月 5 日 洪 儒生(台北駐日経済文化代表処科学技術部長)ほか 2 名来所。部長新任による表敬訪問。

キ　平成 26 年 9 月 26 日 Nguyen Thanh Long (ベトナム保健省副大臣)ほか 11 名来所。感染症スタディーツアー。

ク　平成 27 年 3 月 4 日 Dr. Cao Ngoc Thanh(マレーシア HUE University)ほか 3 名来所。意見交換。

ケ　平成 27 年 3 月 24 日　Dr. Ruxandra DRAGHIA-AKLI（EU 科学技術健康イノベーション局長)他 2 名来所。EU 研究助成プログラムの紹介、意見交換。

(4)　感染研セミナー等の開催

なし

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

平成 26 年 11 月 1 日-平成 28 年 10 月 30 日「赤痢アメーバ病原性を制御するフォスファチジルイノシトールリン酸シグナリングの解明」研究（インド・1 名・寄生動物部）

(2)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」

ウ 平成 26 年 4 月 1 日-平成 29 年 3 月 31 日

ベトナム（VAST）（エイズ研究センター）

「ベトナムにおける HLA 関連 HIV 変異の解析」

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。

厚生労働科学研究委託費の外国人研究者向け研修等の受入を行っている。

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。

１６．バイオセーフティ管理室

室 長　棚林　清

概　要

平成 25 年度で篠原克明及び山崎利雄主任研究官が退官し、26 年度からは主任研究官（再任用）として引き続きバイオセーフティ管理室に勤務することとなった。また、原田俊彦研究員が新規に採用された。

感染研全体の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。講義に加えてグローブ・マスク等の個人防護具の着脱方法や手洗い方法についてのデモンストレーションと実技を実施した。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 実験室利用者への利用者講習を随時実施した。

戸山庁舎、村山庁舎高度封じ込め施設、6 号棟、9 号棟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、エビデンスに基づくバイオリスク管理の強化や国際標準化また、ヒヤリハット事例のデータベース構築に関する研究、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、アジア太平洋バイオセーフティ学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。

戸山庁舎、ハンセン病研究センターで開催されている安全連絡協議会に続き、今般のエボラ出血熱の発生に伴う疑い検体の検査等がなされている村山庁舎においても高度封じ込め施設を含めた運営等のために新たに村山庁舎施設運営連絡協議会が設立開催され、視察、見学会を含め協議会が開催された。

業　績

調査・研究

I.　バイオリスク管理に関する研究

1. エビデンスに基づくバイオリスク管理と国際標準化及び事故・ヒヤリハット事例の共有データベース構築

厚生労働科学研究（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業の研究）で、病原体輸送容器の滅菌操作による劣化の実証実験やヒヤリハット事例を活用した研修、国際的バイオリスク管理の標準化の検討、標準的実習室のデザインさらには結核検査におけるバイオリスク管理の現状調査や国内外のヒヤリハト事例の収集とこれの情報をα版共有データベースのプラットフォームへ搭載し掲載内容の検討を行った。

［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(ウイルス 1)、清水博之(ウイルス 2)、伊木繁雄、棚林清］

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｡特に、作業により最も汚染され易いグローブは裏返して外した状態のまま滅菌されるため、汚染部位まで到達する水蒸気量はさらに少なくなることが懸念される。このため、実験室用ガウン中にグローブを設置し、これを市販のオートクレーブバッグに詰め、⑴オートクレーブバッグの口を閉じた状態、⑵オートクレーブバッグの口を開けた状態、⑶オートクレーブバッグ内に水を入れ、口を開けた状態の 3 通りの方法で 121～132℃、10～150 分高圧蒸気滅菌処理を施した。この際、グローブ内に温度記録計、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、⑴～⑶の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(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。これまで、被検体とした四種類の病原体輸送容器に対し汎用性の高い除染方法である紫外線照射、薬液処理(エタノール清拭や次亜塩素酸ナトリウム浸漬)または高圧蒸気滅菌処理を施したところ、国連基準に則った強度試験のうちの内圧試験において不合格となるものがあった。これらについて、気密性を保つためのパッキンのみを新品と交換したところ合格となったため、パッキンの劣化の有無に関する数値での評価を目的として、新品及び消毒・滅菌処理済みのパッキンについて強度及び柔軟性を比較した。

［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。また、防護具関連学会などにて、防護服の性能評価や用途などについて講演などを行っている。

[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､一括管理システムの性能検証並びにフィールド試験を実施している｡これまでに国内３０箇所以上に一括管理システムの実用配備を行った。また、国内外の関連情報の収集を行い、その都度システムの改良に反映した。

［篠原克明］

7. 病原体の不活性化方等に関する研究

(1) Feline calicivirus (FCV)をモデルとした消毒剤抵抗性獲得に関する研究

エタノール及び一部の汎用酸化剤について、一定条件下処理後の残存感染粒子を回収し、当該薬剤に対する抵抗性株を獲得することに成功した。現在抵抗性獲得機構の解析を行うとともに、抵抗性株の消毒剤感受性スペクトルについても検討している。

[髙木弘隆]

(2) FCV および MNV による新規 detergent モデリングに関する研究

基本骨格より主鎖・側鎖を変化させた detergent モデルを用いて､ヒトノロウイルス代替ウイルスとして FCV 数株と MNV に対する不 活性化効果を検証し、detergent デザインへの応用を試みる。※花王株式会社との共同研究

[髙木弘隆]

(3)動物サポウイルスをモデルとした細胞増殖系に関する研究

培養可能なブタサポウイルス(米オハイオ大より分与)を使用して現在使用している LLC-PK1 細胞以外の増殖可能な細胞検索、および増殖 条件を検討し、それらメカニズムの解析を行っている。

[髙木弘隆,岡智一郎(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.　結核ブースターワクチンの遅延型過敏反応（DTH）による最適化の検討

結核抗原 MDP1 とアジュバントとして G9.1 を用いたワクチン候補の最適化のため、抗原アジュバントの比や免疫条件をモルモットで検討を始めた。まず DTH 測定までを 18 週から 6 週とし、これまでの MDP1 と G9.1 のモル比の約 1 : 3 と 15 : 1 を検討したところ、短期間でも DTH が観察された。またマウスを用いた場合、1 : 1 付近にピークがある傾向が認められた。抗体産生では、IgG 産生で G9.1 による抑制が、IgG2c では、DTH と似た傾向が認められた。

[山崎利雄、山本三郎；前山順一（血液・安全性研究部)、網康至（動物管理室）、伊保澄子（福井大）、松本壮吉（新潟大）]

2.　BCG ワクチンを免疫したモルモットでの結核菌感染時の免疫細胞動態

ブースターワクチンの効果検討の前提としてプライム免疫である BCG を免疫したモルモットに結核菌を感染させたときの免疫細胞動態を検討している。BCG ワクチン株を皮内投与し 8 週後に結核菌噴霧感染させた。感染 1、2、3、4 週後に血液および各臓器由来の細胞についてフローサイトメトリーにより検討した。その結果、肺の単核細胞において相違が見いだされ、2 つの細胞群より成ることがわかった。一方の細胞群で、非免疫群では CD8 を、BCG 免疫群では CD8 および MHC II を発現していた。この細胞群は、非免疫群では感染の経過に伴い抗原発現が変化するが、BCG 免疫群ではそれに伴う大きな変化は認められなかった。

[山崎利雄、山本十糸子、山本三郎；前山順一（血液・安全性研究部)、]

国際協力関係業務

1.ベトナム国高危険度病原体に係るバイオセーフティ並びに実験室診断能力の向上と連携強化プロジェクト

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 9 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 実験室維持管理や病原体研究に関わる研修生 4 名を受け入れた。

[篠原克明、伊木繁雄、山崎利雄、棚林清]

2.フィリッピン国におけるバイオハザード対策施設に設置に関する調査

JICA 国際技術協力の一環として、フィリピン国国立熱帯医学研究所における BSL-3 検査室整備（エボラ対策）に係わる調査に参加し、当該検査室の基本構成案などを作成した。

[篠原克明]

研修業務

Ⅰ．バイオリスク管理講習会

1. 新規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 155 名の受講者があった(表 1)。脇田隆字ウイルス第二部長（バイオリスク管理委員長）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)。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実施した。また、外国人を対象としたバイオリスク管理講習会は随時行い、13 回開催し 22 名の受講者があった(表 3)。

表 1 平成 26 年度新規対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数
4 月 8 日	50
6 月 3 日	30
8 月 5 日	17
10 月 7 日	22
12 月 2 日	12
12 月 16 日	1
2 月 3 日	23
計	**155**

表 2 バイオリスク管理講習会内容、講師

講演内容	講師
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 26 年度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 14 日	1
5 月 14 日	1
5 月 28 日	1
5 月 29 日	1
8 月 19 日	4
9 月 17 日	1
9 月 30 日	1
10 月 6 日	1
10 月 17 日	1
12 月 3 日	3
12 月 9 日	2
1 月 14 日	2
3 月 3 日	3
計	22

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獣医科学部奥谷晶子主任研究官による炭疽菌についての講演を内容として実施した。

［棚林　清］

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎（6 月 19 日）、村山庁舎（9 月 9 日）およびハンセン病研究センター（11 月 26 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家畜伝染病予防法及び病原体の所持規制等に関する講習会を 3 月 13 および 24、25 日に戸山・村山庁舎にて実施した。

［棚林　清］

II.　各種研修講義・実習

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、生物学用安全キャビネットの正しい使用方法及び病原体輸送についての実習指導を行った。

［伊木繁雄、清水博之(ウイルス 2)］

2. エイズ国際研修（JICA Training Course : Laboratory Techniques for Diagnosis and Monitoring of HIV Infection）

8 カ国 14 名（ボツワナ、ケニア、ミャンマー、南アフリカ、スリランカ、タイ）の研修生に対し、バイオセーフティ・バイオセキュリティについての基本の講義及び生物学用安全キャビネットの適正な使用方法についての実習指導を行った。

［伊木繁雄、村上務(エイズ)、棚林　清］

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］

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、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 26 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	70
村山庁舎	66
ハンセン病研究センター	24
計	160

表 2　　BSL3 実験室利用者講習会月別受講者数

	戸　山		村　山		ハンセン	
	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数	実施回数	受講者数
4 月	3	8	0	0	1	1
5 月	0	0	1	1	0	0
6 月	1	1	1	1	0	0
7 月	1	1	0	0	1	1
8 月	1	1	0	0	0	0
9 月	0	0	1	2	0	0
10 月	0	0	0	0	0	0
11 月	0	0	0	0	0	0
12 月	0	0	0	0	0	0
1 月	0	0	0	0	0	0
2 月	0	0	0	0	0	0
3 月	1	1	0	0	0	0
計	7	12	3	4	2	2

II.　バイオセーフティ教育と情報提供

バイオセーフティ教育の一環として､行政機関､大学、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。

希少感染症診断技術研修会において、病原体輸送に関する講義を行った。新規採用者研修会、地方衛生研究所職員研修等で、バイオセーフティ関係講義を行なった。

外部機関から病原体等安全管理規程等の問い合わせ、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、外国人などの施設見学者に対して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 26 年 10 月 4 日)が開催され、バイオセーフティラボ体験と手洗い実習の二つの企画を実施した。ラボ体験では、バイオセーフティについての説明、個人防護具の試着及び脱ぎ方の説明、実機を用いた安全キャビネットの機能説明、簡易グローブボックスでの模擬検査の体験、及びオートクレーブ、病原体輸送容器及び P4 実験室模型の展示などを行った。説明用ポスターを一新し、来場者が理解しやすいよう努めた。手洗い実習を行い、自分の手洗いが十分できているかどうかを来場者に確認していただいた。二つの企画とも多くの方に来場いただき、バイオセーフティの実際を体験していただくことができた。

［原田俊彦、伊木繁雄、髙木弘隆、山崎俊彦、棚林清、広報委員会］

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、特定 BSL2 病原体等及び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い、運営している。さらに各部で保有している病原体等の情報を関連付けることでより多角的に管理できるシステムへと発展させるための準備をすすめた。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、原田俊彦、棚林清］

V.　包装責任者、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。また、感染研から発送される病原体等の輸送品が、適切に梱包されているかチェックシート等を用いた確認業務を行った。

［高木弘隆、伊木繁雄、原田俊彦、山崎利雄、篠原克明、棚林　清］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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

2. 和文発表

1) 篠原克明：バイオハザード対策用防護具の現状について.セイフティ・ダイジェスト.（Safety & Health Digest） 61(4), 16-18, 2015 社団法人 日本保安用品協会（JSAA）.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Iki, S., Shigematsu, M.. and Tanabayashi, K. Validation experiment of daily autoclave sterilization practice. Asia-Pacific Biological Safety Association, 9th Annual Biological Safety Conference, November 3-6, 2014. Bangkok, Thailand.

2. 国内学会

1) 伊木繁雄：バイオリスク管理の考え方、第 81 回日本細菌学会北海道支部学術総会、2014 年 8 月、札幌
2) 嶋崎典子、篠原克明：防護服素材の飛沫曝露に対する防護性能評価。第41回日本防菌防黴学会年次大会、2014年9月24-25日、東京。
3) 篠原克明：バイオハザード対策用防護具の現状について。第12回日本防護服研究会学術総会、2015年2月19日、東京。
4) 小川翔大、山本龍二、堀田康弘、花村菜月、筑比地慧、宮田江里香、高見篤郎、徳田美季、富田陽香、小川賢二、八木哲也、大原直也、藤原永年、前田伸司、山崎利雄、西森敬、後藤義孝、伊藤佐生智、小野寄菊夫、瀧井猛将：*Mycobacterium avium* の酸性環境下におけるアルギニンデイミナーゼ誘導機構の解析、第 84 回実験結核研究会総会、2014 年 5 月、岐阜市
5) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、 林大介、松本壮吉、山本三郎：Mycobacterial DNA-binding protein 1 および CpG-DNA である G9.1 を用いた結核ブースターワクチン候補の結核菌噴霧感染による評価、第 84 回実験結核研究会総会、2014 年 5 月、岐阜市
6) 山崎剛、相澤志保子、山本三郎、芳賀伸治、山崎利雄、本多三男：BCG-specific IFN-gamma; producing CD4+T cell plays an intrinsic role in the protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*、第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月、横浜市
7) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、 林大介、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎：TLR 9 リガンドである G9.1 をアジュバントとして用いた結核ブースターワクチンの開発、第１８回日本ワクチン学会学術集会、2014 年 12 月、福岡市
8) 本田尚子、佐藤法仁、阿戸学、松村隆之、山崎利雄、関塚剛史、黒田誠、中山真彰、小林和夫、大原直也：A single base insertion in 16S rRNA gene confers Streptomycin dependence in *Mycobacterium bovis* BCG、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜市
9) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、 林大介、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎：結核菌組換えタンパク質 MDP1 および CpG-DNA である G9.1 を用いた結核ブースターワクチンの開発、第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜市
10) 堀田明豊、木村昌伸、坪田敏男、中村幸子、片山敦司、中下美子、猪島康雄、鈴木道雄、今岡浩一、棚林清、藤田修、山本美江、宇田晶彦、森川茂：2007 年以前の国内野生動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）に対する抗体調査、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月、札幌市
11) 堀田明豊、棚林清、山田章雄、森川茂：国内の医師および獣医師への One Health についての意識調査、第 157 回日本獣医学会学術集会、2014 年 9 月、札幌市
12) 棚林 清：ベーシックレクチャー、臨床検体や病原体等の梱包と輸送について、第 26 回日本臨床微生物学会学術集会、2015 年 2 月、東京

１７．動 物 管 理 室

室長　　山田　靖子

概　要

国内の動物施設では、「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」の平成 25 年改正に基づき、自己点検評価、その公表、および外部機関による評価を推進しているところである。感染研では、動物実験施設の自己点検を平成 25 年度より１年１回行うこととし、本年度も動物実験委員会が村山庁舎、ハンセン病研究センター、戸山庁舎の動物実験施設に立ち入って調査を行った。また、戸山庁舎動物実験施設は平成 27 年 1 月 28 日にヒューマンサイエンス振興財団による 3 回目の外部評価を受け、引き続き認定された。

平成 27 年 1 月 20 日より村山庁舎施設運営連絡協議会が開始され、動物管理室は動物管理に関する説明を担当し、動物実験施設の見学に対応した。

平成 27 年 3 月 2、3 日の 2 日間、日本実験動物学会主催の実験動物管理者研修会が戸山庁舎感染研共用第 1 会議室で開催され、動物管理室の研究員が協力した。

平成 26 年 7 月に戸山庁舎の動物飼育室自動照明制御盤が作動不備となり、約 2 カ月手動で対応した。村山庁舎において、針刺し事故 1 件があった。

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と研究者が行う動物実験への支援である。平成 26 年度より、従来の業務に加えて、胚の凍結保存、胚操作による動物の清浄化などの業務を行っている。

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病原性に関する研究、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感受性マウスの開発、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、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 26 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（ベトナム）、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。

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 27 年 3 月 31 日までに 549 名であった。平成 26 年度に申請された動物実験計画は 373 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 27 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 219 人、村山庁舎 249 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 27 年 3 月 31 日現在、マウス（6,263 匹）、ラット（193 匹）、モルモット（369 匹）、ウサギ（39 羽）、スナネズミ（16 匹）、ハムスター（12 匹）、フェレット（38 匹）、ネコ（9 匹）、霊長類（88 匹）、ニワトリ（10 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 9 日	戸山	24			30
6 月 4 日	戸山	3			9
6 月 10 日	*戸山*	*2*			*4*
7 月 4 日	ハンセン			1	
7 月 9 日	ハンセン			1	
10 月 8 日	戸山	10			15
11 月 28 日	*戸山*	*2*			*3*
1 月 26 日	戸山	1			
2 月 4 日	戸山	6			7
3 月 1 日	村山		11		
3 月 13 日	*戸山*	*1*			*1*
合計		49 新規	11 新規	2 新規	69 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

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。また、5 月からはハンセン病研究センターのモニター動物についても戸山庁舎で検査を行っている。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）

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・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行っている。平成 26 年度は 5 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、受精卵の凍結保存、融解作業が簡易な凍結保存液(5E5D)の検討を行った。5E5D 保存液を用いて凍結保存した C57BL/6 系統のマウス受精卵について、従来用いている凍結保存溶液(DAP213)と比較して、融解後の生存率と移植で得られた産仔数に差は認められなかった。今後は、BALB/c 系統について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

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）

2. Tyzzer 菌（*Clostridium piliforme*）の組換え鞭毛蛋白の発現

クロストリジウム属細菌の鞭毛蛋白の塩基配列を元に作成した縮重プライマーを用いて Tyzzer 菌（RT 株）の鞭毛蛋白 flagellin 遺伝子の塩基配列 (813bp)を決定した。この flagellin 遺伝子を組換えバキュロウイルス DNA（Bacmid）へ挿入し、Sf9 細胞へトランスフェクションして組換えバキュロウイルスを作製した。Sf9 細胞へ感染させて鞭毛蛋白を発現させたが、分子量が約 30kD であり想定した分子量（53-56kD）より小さく、発現量も少なかった。また、Tyzzer 菌から分離した鞭毛蛋白の N 末端アミノ酸配列が、今回決定した塩基配列と異なっていたため、この配列も考慮に入れて Tyzzer 菌鞭毛蛋白の塩基配列について再検討する。

（滝本一広）

III　モデル動物の開発

1. ムンプスウイルス感染モデル動物の開発と病態解析

コモンマーモセットを用いたムンプスウイルス感染モデルについて、その評価および病態解析を行っている。ウイルス株により、 接種後感染早期の異なった時期に末梢血リンパ球数の増加、あるいは血漿中 LDH の顕著な上昇が認められた。この結果は、これらの血液学的動態と病原性との相関を明らかにすることにより、ワクチン株を含むウイルス株間の病原性を評価できる可能性を示唆する。

[網 康至、須崎百合子、木所 稔[1]（[1]ウイルス第３部）]

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、マカク属サルにまで宿主域を拡大している。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・皮膚の上皮細胞へ到達し、上皮細胞に発現する Nectin4 を介して感染、さらには中枢神経のグリア細胞や神経細胞へも感染することが知られている。しかしながら、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。本年度はカニクイザル SLAM Knock-in, および Nectin4 TG マウス作製の為の相同組換え ES 細胞の樹立を行った。今後、これら ES 細胞を用いてそれぞれのマウスを作製する予定である。

[河合康洋、森川 茂[1]、阪井弘治[2]（[1]獣医科学部、[2]エイズ研究センター）]

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

コウモリ類は多くのウイルスの自然宿主であり、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。しかしながら、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(CRISPR/Cas9 システム)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 を樹立することを試みた。その結果、ヤエヤマオオコウモリ由来細胞株から Myd88 遺伝子を欠損した細胞株が樹立された。今後、IFN 産生に関わる遺伝子を２重、３重に欠損した細胞株の作製を行うとともに様々なコウモリ由来ウイルスを用いて作製された細胞株の評価を行っていく予定である。

[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**

1. ヒトバベシア症に関する研究

Babesia divergens は欧州を中心に分布し、マダニ媒介性人獣共通感染症をおこす原虫であるが、最近、米国で近縁種による死亡例が相次ぎ、新興感染症として注目されている。本研究では、5 つの道府県のニホンジカシカ（*Cervus nippon*）11 検体より *B. divergens* 様の遺伝子を検出したので 18S rRNA 及びβ-tubulin 遺伝子による系統解析を行ったところ、日本の *B. divergens* が欧州や米国のものと遺伝的に近縁で、同じクラスターに属する亜種であることが判明した。シカが保有する病原体にヒトが感染するリスクは高まっており、早急な診断法の開発と患者発生の監視が必要であろう。

[新倉 綾、森川 茂[1]、平田晴之[2]、 石原智明[2]（[1]獣医科学部、[2]酪農学園大学）]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Zamoto-Niikura, A., Tsuji, M., Imaoka, K., Kimura, M., Morikawa, S., Holman, P.J., Hirata, H., and Ishihara, C. Sika Deer Carrying *Babesia* Parasites Closely Related to *B. divergens*, Japan. Emerg Infect Dis. 20: 1398-1400. 2014

2) Zamoto-Niikura, A., Tsuji, M., Qiang, W., Hirata, H., Nakajima, R., Morikawa, S., Holman, P.J., and Ishihara, C. Survey and Molecular Analysis of *Babesia microti* Group Parasites in Japan: Strategy and Surveying for Identification of Tick Vectors. In Epidemiology II - Theory, Research and Practice. iConcept Press, ed. Hong Kong. 2014 (Published online).

3) Hanaki, K., Ike, F., Kajita, A., Yasuno, W., Yanagiba, M., Goto, M., Sakai, K., Ami, Y., and Kyuwa, S. Detection of murine norovirus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. J Virol Methods. 204C: 17-24. 2014

4) Hanaki, K., Ike, F., Kajita, A., Yasuno, W., Yanagiba, M., Goto, M., Sakai, K., Ami, Y., and Kyuwa, S. A broadly reactive one-step SYBR green I real-time RT-PCR assay for rapid detection of murine norovirus. PLoS ONE. 9: e98108. 2014

5) Taharaguchi, M., Takimoto, K., Zamoto-Niikura, A., and Yamada, Y.K. Effect of Weak Acid Hypochlorous Solution on Selected Viruses and Bacteria of Laboratory Rodents. Exp. Anim. 63:141-147. 2014

6) Nakahara, R., Kawai, Y., Oda, A., Nishimura, M., Murakami, A., Azuma, T., Kaifu, T., and Goitsuka, R. Generation of a Tlx1(CreER-Venus) knock-in mouse strain for the study of spleen development. Genesis. 52:916-23. 2014

II. 学 会 発 表

1. 国内学会

1) 花木賢一、池郁生、酒井宏治、網康至、久和茂：マウスノロウイルスを検出する遺伝子増幅法４法の実用性比較．第 61 回日日本実験動物学会総会．平成 26 年 5 月．北海道．

2) 根来沙弥、平田晴之、新倉綾、浅川満彦、萩原克郎、石原智明：北海道のエゾシカ（*Cervus nippon* yezoensis）における *B. divergens* の感染状況の把握と進化系統解析．第 157 回日本獣医学会学術集会．平成 26 年 9 月．北海道．

3) 新倉綾、森川茂、平田晴之、石原智明：北海道のシュルツマダニ *Ixodes persulcatus* から分離された *Babesia microti* の性状解析．第 157 回日本獣医学会学術集会．平成 26 年 9 月．北海道．

１８．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 IDSC ホームページ（http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-idsc.html）、感染症サーベイランスシステム(NESID)、　病原微生物検出情報(IASR)、感染症週報(IDWR)などで、情報還元、提供を行っている。

感染症集団発生時の対応は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育成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 26 年度には 16 期生を迎えた。このほか、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、再任用制度を利用し広報委員会活動ならびに疫学センターにおける広報活動を実施している。IDSC は六室に分かれており、各室の概要は以下のとおりである。

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患者や病原体に関す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。2015 年 3 月 27 日に WHO 西太平洋地域事務局から排除状態が認定された麻疹については、排除状態の維持を、また、風疹については、2020 年度までの風疹排除に向けた調査研究・啓発について、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・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った。当研究班において開発されている垂直サーベイランスは、疾患疫学の記述やリスク評価に有用であることが確認された。

［松井珠乃、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、藤本嗣人、大日康史、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、定点報告疾患の、警報・注意報の設定、罹患数の推計、インフルエンザの型別罹患数の推計、補助変量を用いた罹患数推計等について検討した。インフルエンザについては、定点設定の無作為性が順守されていないことによる過剰推計の課題を是正するための補助変量の適応、また、従来の保健所ごとの警報・注意報に加え、都道府県レベルでの警報・注意報を開発し、これを NESID のシステムに組み込むことを提言した。

［松井珠乃、砂川富正、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. 「今冬のインフルエンザ」のまとめ

2014－15 シーズンについても全 2 シーズンと同様に「今冬のインフルエンザ」をインフルエンザウイルス研究センター及び厚生労働省結核感染症課と共にまとめて、当所ホームページ上に公開した。

［砂川富正、木下一美 、高橋琢理、有馬雄三、齊藤剛仁、加納和彦、多屋馨子、奥野英雄、佐藤弘、松井珠乃、大日康史、菅原民枝、大石和徳（感染症疫学センター）、小田切孝人、渡邉真治(インフルエンザウイルス研究センター)、宮川昭二、中嶋健介、伊藤俊之、田村大輔、木村優一(厚生労働省)］

4. 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に基づくシステム更改の提案

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）の改善につなげることを目的に、平成 25 年度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い報告した内容を踏まえ、結核感染症課・自治体代表者らと協議を行った。平成 28 年 4 月の改正感染症法施行に基づくシステム変更としては、平成 26 年度 厚生労働科学特別研究事業「科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究に基づいた病原体サーベイランスの実施と報告」報告書（調班）の提案をもとに改修計画を継続して検討することが確認された。

［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、高橋琢理、大石和徳］

5. 感染症発生動向調査におけるデータの質管理ガイドラインの改定

感染症発生動向調査におけるデータの質管理のための地方感染症情報センター向けガイドライン(2012 年 2 月版)を改定し、以前から要望の多かった旧版以降の新規疾患の追加、届出票変更などを反映させた。内容については複数の地方感染症情報センター担当者と協議を行って精査した。また、全体の構成を見直し、届出に関する注意点と対応に関しての注意点を切り分けることで業務における重点項目がわかりやすくなるように工夫をした。改定したガイドラインは地方衛生研究所ネットワークのホームページ上に掲載した。

［松井珠乃、砂川富正、有馬雄三、金山敦宏、加納和彦、齊藤剛仁、木下一美、島田智恵、高橋琢理］

6. 学校欠席情報収集システムの技術的支援

(１)「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 年度からはその運用は日本学校保健会に移行したが、引き続き開発、研究等の技術的支援を行っている。2014 年 3 月末で 24 県 6 政令指定都市 2 特別区の全校をはじめ 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、導入後の学校に対してフォローアップ研修、自治体の行政担当者向けの研修等技術的支援を行った。

(２)「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 5 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、統一的に運用されている。」) また、保育所・保育課・保健所による活用の事例を収集し、公表し情報提供を行った。新規導入に対してはスタートアップ研修、導入後に対してフォローアップ研修、行政担当者向けの研修等技術的支援を行った。

［大日康史、菅原民枝、多屋馨子、大石和徳］

7. 有志医師によるインフルエンザ DB の運用

2000 年から継続して実施している ML インフルエンザ前線情報 DB の運用を今年度も行い、2009 年のパンデミック A(H1N1)流行以降、夏季期間中においても継続している。2014-2015 シーズン終了時現在において、207 名の有志医師のご協力、平均 219.84 件（計 45,507 件超）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)］

8. IHR に準拠したアウトブレイク関連情報のリスク評価と対応に関する研究

感染症サーベイランスデータ等の公式情報、メディア情報等の非公式情報など、様々な感染症アウトブレイク関連情報を収集し、系統的に分析、国際保健規則(IHR)のリスク評価基準に基づきリスク評価を行い、適切な対応を行うためのシステムについて検討した。

また、感染症危機事例を探知、追跡する業務を通じ、イベントベースサーベイランスの必要性、業務を支援するデータベースに必要な条件について検討した。

新興感染症であるインフルエンザ A（H7N9), MERS、および西アフリカにおいてかつてない規模の流行が継続しているエボラ出血熱等については、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。

［FETP 一同、島田智恵、八幡裕一郎、山岸拓也、神谷元、松井珠乃、砂川富正、大石和徳］

II. パンデミック、バイオテロ、公衆衛生対策に関する研究

1. 新型インフルエンザのパンデミック対策に関する研究

（１）数理モデルを用い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）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。その成果は、「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－」として、2014 年 6 月に公開された。［松井珠乃］

（3）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と PISA〈Pandemic Influeza Severity Assessment〉プロジェクト

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。これに基づき、WHO により PISA〈Pandemic Influeza Severity Assessment〉プロジェクトが組織され、日本からもデータの解析と提供を行っている。［有馬雄三、高橋琢理、木下一美、砂川富正、松井珠乃、大石和徳］

2. 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、2001 年の米国の炭疽菌事例を日本における国内体制整備の観点から改めて評価した。

［松井珠乃、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)］

3. 大規模イベント開催時の危機管理等における消防機関のあり方に関する研究

消防庁が組織した標記研究に参加し、大規模イベントの開催に向けて、消防機関等がこれから取り組まなければならない課題について、整理がなされた。

［松井珠乃］

4. エボラ出血熱症例発生時の疫学調査手法に関する研究

エボラ出血熱に対する積極的疫学調査実施要領～地方自治体向け（暫定版）を国立感染症研究所ウイルス 1 部とともに作成し発出した。［FETP 一同、松井珠乃、山岸拓也、島田智恵、八幡雄一郎、神谷元］

5. エボラ出血熱対応自治体向け研修の実施と資料集の作成

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「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）により、エボラ出血熱について、積極的疫学調査の手法と個人防護具の装着等について自治体向け研修会を開催した（全国８ブロック）。研修会を通じて、「国立感染症研究所ウイルス性出血熱実地疫学調査における個人防護具の着脱」（図解入り資料）を更新し、研修会で出た質問を Q&A としてまとめ、全国の自治体に冊子体を配布するとともに、国立感染症研究所ホームページで PDF 版を公開している。［FETP 一同、山岸拓也、松井珠乃、八幡雄一郎］

6. 中東呼吸器症候群発生時の疫学調査手法に関する研究

中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）に対する積極的疫学調査実施要領（暫定版）を国立感染症研究所ウイルス 3 部とともに作成し発出した。［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、山岸拓也、八幡雄一郎、神谷元］

7. 中東呼吸器症候群および鳥インフルエンザ A(H7N9)の感染対策に関する研究

現行でえられる疫学情報や WHO 等によるガイダンスを参考に「中東呼吸器症候群（MERS）・鳥インフルエンザ(H7N9)に対する院内感染対策」、「中東呼吸器症候群（MERS）・鳥インフルエンザ(H7N9)患者搬送における感染対策」を作成し発出した。［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、山岸拓也、八幡雄一郎、神谷元、大石和徳］

III. 感染症の疫学、統計等に関する研究

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(川崎市衛生研究所)、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、河野有希、高橋琢理、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作成されたガイドラインの改正を行うための知見の整理として、A ガイドライン内に示したケーススタディの実施と問題点の洗い出し、B 実際のアウトブレイク事象を対象としたガイドラインに従った調査手法の検討、C 自治体担当者からの意見聴取を行った。また、情報の還元としてインターネット（地方衛生研究所ネットワーク）ホームページへの本ガイドラインの掲載と周知を行った。

［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、砂川富正］

5. ユッケ規格基準及び牛レバー禁止後の腸管出血性大腸菌 O157 感染症散発例発生リスクの検討に関する研究

我が国の腸管出血性大腸菌感染症の発生動向は 4000 例前後で推移し、多くは腸管出血性大腸菌 O157 の散発例である。我が国では腸管出血性大腸菌感染症の対策として 2011 年ユッケの規格基準の改正及び 2012 年牛生レバー禁止が行われたが、対策の効果の継続について検討を行った。方法は協力の得られた 8 自治体に O157 散発例として報告された者を症例とし、対照はインターネットに参加希望者から症例と年齢階級及び居住地をマッチさせた者とした。解析は条件付きロジスティック回帰分析を用いた。2012 年は生または半生の牛肉の喫食及び生または半生の牛レバーの喫食は O157 発症と有意な関連がみられなかった。一方、生または半生の牛肉喫食は 2013 年及び 2014 年に O157 発症と有意な関連があった。また、生または半生の牛レバーの喫食は 2014 年に O157 発症と有意な関連があった。規制後も生または半生の牛肉及び生または半生の牛レバーの喫食がいることから、生または半生の牛肉及び生または半生の牛レバーの喫食は O157 のリスクであることの普及啓発が今後重要である。

［八幡裕一郎、加納和彦、高橋琢理、砂川　富正］

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、2014 年 4 月号：麻疹、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：RS ウイルス感染症、7 月号：ノロウイルス、8 月号：クリプトス

ポリジウム症・ジアルジア症、9 月号：HIV/AIDS、10 月号：侵襲性肺炎球菌/インフルエンザ菌感染症、11 月号：インフルエンザ、12 月号：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症、2015 年 1 月号：A 型肝炎、2 月号：梅毒、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、高橋琢理、有馬雄三、齊藤剛仁、椎野禎一郎、加納和彦、加藤信子、多屋馨子、山岸拓也、松井珠乃、藤本嗣人、木村博一、大石和徳、伊東宏明（FETP）、石井則久(ハンセン病研究センター)、大西真、伊豫田淳、石原朋子、泉谷秀昌、中山周一、常彬(細菌第一部)、柴山恵吾、加藤はる、佐々木裕子、鈴木里和(細菌第二部)、泉山信司、村上裕子、八木田健司（寄生動物部）、西條政幸、高崎智彦、安藤秀二(ウイルス第一部)、脇田隆字、清水博之、石井孝司、片山和彦(ウイルス第二部)、竹田誠、駒瀬勝啓(ウイルス第三部)、小田切孝人、渡邉真治(インフルエンザウイルス研究センター)、澤邉京子、津田良夫(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(元感染症情報センター)、山下和予(元感染症情報センター)、中嶋建介、梅木和宣、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. 性感染症に関する疫学研究

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は新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業　「梅毒の新たな検査手法の開発等に関する研究」（研究代表者大西真）の一環として報告を行うとともに、当所の病原体検出情報に報告した。

［岡部信彦(川崎市衛生研究所)、山岸拓也、高橋琢理、有馬雄三、砂川富正］

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。2002 年～2012 年の初診時に採取された検体（8551 検体）から Protease-RT 領域（HXB2:253-3269）の全塩基が解析可能な配列（全 5018 配列）を対象に、系統樹を基にしたネットワーク解析を行った。組換え体を考慮したサブタイピング手法いより同定された各サブタイプの検体数は B=4398, 01_AE=358, C=49, 02_AG=29, G=22, F=9, D=1 であり、111 配列が何らかの組換え体、41 検体が所属不明であった。サブタイプ B の 4398 検体について、312 個の感染クラスタクラスタが同定された。感染クラスタに内包される検体は、3713 検体(84.5%)であった。感染クラスタのサイズ分布は、感染者数が少ない「小さい」感染クラスタが多い一方でごく少数の「大きな」クラスタがあるスケールフリー性が観察され、ごく少数の感染者が感染の拡大に多くの寄与をしていることが示唆された。感染クラスタの多くでは同じ地域由来の感染者が大半を占めており、感染クラスタには地域特異性があることがわかった。内包感染者の感染リスクから感染クラスタの主要感染リスクを推定すると、MSM が 292 個（93.6%）で際立って多かった。感染クラスタの共通祖先の存在時間（tMRCA）の推定値から考えて、感染クラスタの多くは主要感染地域に依らず 90 年代後半に MSM に広がったと推測された。ウイルス遺伝子の遺伝的距離が一定以下の検体対をリンクする方法で感染ネットワークを構築したところ、感染クラスタが大きくなるといくつかのサブネットワークに分かれる構造を持つようになることがわかった。サブネットワークは、概ね単一の感染地域由来の感染者で構成され、サブネットワーク同士を媒介する点にネットワーク解析でいうところの媒介中心性の高い少数の感染者が存在することがわかった。感染クラスタのスケールフリー性と感染ネットワ

ークの形状は、MSM コミュニティにおいてごく少数の感染者が HIV のコミュニティ内流行に大きく寄与していることを示している。これらの観察は、HIV-1 が地域内の MSM コミュニティに広がったあと、感染寄与の大きな感染者を仲介して他の地域に伝播していくことを示している。日本全体への HIV-1 の拡散の防止のためには、こうした媒介性の高い感染者を見つけ出して感染早期に治療を開始する（TasP）等の対策を取り予防効率を上げる施策が考えられる。

［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。2014/2015 シーズンは定点あたり報告数が 2015 年第 4 週にピークとなり、95%以上が A/H3 亜型であった。インフルエンザ脳症は 2015 年第 8 週までに 93 人報告され、9 歳以下が約 6 割を占めた。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については 60 歳以上の入院割合が約 6 割を占め、前シーズンより大幅に増加した。

［安井良則（大阪府済生会中津病院）、奥野英雄、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. 薬剤耐性菌に関する研究

厚生労働科学研究「多剤耐性菌感染症の疫学と国内における対応策に関する研究」（研究代表者　大石和徳）の一環として、大阪市内におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の発生状況を調べた。また、多剤耐性緑膿菌アウトブレイク事例調査に関する報告およびカルバペネム耐性腸内細菌科細菌アウトブレイク事例調査に関する報告を病原体検出情報で行った。

［山岸拓也、FETP 金山敦宏、FETP 伊東宏明、FETP 福住宗久、松井珠乃、大石和徳］

13. 急性脳炎の原因究明に関する研究

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鑑別診断を実施するとともに、multiplex PCR 法、NGS 検査を用い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、森野紗衣子、田中佳織、山岸拓也、松井珠乃、砂川富正、FETP 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）］

14. 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、感染症発生動向調査に報告された症例に関し、主治医に呼びかけ症例情報を収集する研究を行った。

［山岸拓也、FETP 加藤博史、大石和徳、西條政幸（ウイルス第一部）］

15. 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、ベトナムのハノイ国立小児病院の重症 ARDS 症例の疫学について性別・年齢の観点からまとめた。

［有馬雄三、松井珠乃］

16. 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］

17. 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、2011-2013 年のセアカゴケグモ咬傷患者診療状況調査データの解析を進めた。その結果、咬傷事例が増加している可能性が示唆された。

［新井智、山岸拓也、大石和徳］

18. デング熱国内感染症例発生時の疫学調査手法に関する研究

デング熱の国内感染事例が発生したのを受け、「デング熱国内感染事例発生時の対応・対策の手引き地方公共団体向け」を発出した。［木下一美、有馬雄三、島田智恵、松井珠乃、砂川富正、大石和徳］

19. 新型インフルエンザ発生時リスクアセスメントに必要な情報収集のメカニズム開発に関する研究

新型インフルエンザ発生時に適切なリスクアセスメント（以下、RA）を行うためには季節性インフルエンザの流行時において、RA に必要な情報収集のメカニズムを整理しておく必要がある。このため、厚生労働科学研究費補助金（新興・再興（予防接種）研究事業）感染症発生時の公衆衛生対策の社会的影響の予測及び対策の効果に関する研究（谷口班）の分担研究として、基幹定点医療機関における医療負荷の把握方法の検討と、入院サーベイランスの特性分析を行った。その結果、基幹定点医療機関の医療負荷把握の実現可能な方法論が整理され、入院サーベイランスの特性分析からは感染症発生動向調査データに追加情報を付加することでよりよい解釈が行える可能性が示された。

［松井珠乃、高橋琢理、砂川富正、大石和徳、谷口清州（国立病院機構三重病院）］

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. 麻疹ならびに風疹の予防に関する研究

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、麻疹についてはフィリピンからの輸入例を発端とした国内地域流行について解析した。風疹については、2013 年に見られた 14,000 人を越える大規模な風疹の流行により 45 人の CRS が報告されたことを受けて、今後の風疹対策に資する疫学研究を行い、成人男性が免疫を獲得する仕組みの構築が重要であることを報告した。

［多屋馨子、佐藤弘、新井智、奥野英雄、森野紗衣子、砂川富正、高橋琢理、加納和彦、木下一美、有馬雄三、斎藤剛仁、松井珠乃、神谷元、八幡裕一郎、山岸拓也、島田智恵、FETP 伊東宏明、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（2013 年度最終評価・2014 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（2014 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〉

- 都道府県における麻しん風しん対策会議等に関するガイドラインの作成

［多屋馨子、砂川富正、中島一敏(東北大学)、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、森野紗衣子、山岸拓也、高橋琢理、加納和彦、有馬雄三、木下一美、神谷元、島田智恵、松井珠乃、FETP 研修生 15 期&16 期、大石和徳］

3. わが国における麻疹排除に関する文書作成

国の麻疹排除認定委員会の一員として、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。その報告書を元に WHO 西太平洋地域事務局で審議された結果､2015 年 3 月 27 日に、ブルネイ・ダルサラーム、カンボジアとともに日本も麻疹排除状態にあることが認定された。当感染症疫学センター内の関係者のみを記す。

［砂川富正、佐藤弘、高橋琢理、多屋馨子］

4. 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、2013 年の風疹流行と報告された CRS について検討した。

［平原史樹(横浜市立大学)、奥田実加(国立病院機構横浜医療センター)、駒瀬勝啓(ウイルス第三部)、森嘉生(ウイルス第三部)、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（川崎市健康安全研究所)、大石和徳］

5. 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に基づき、指針に関連した 5 つのガイドラインの作成が完了し、ホームページに掲載した。その他、毎週の発生動向調査の速報グラフを作成しホームページに公表した。

【ガイドライン】

「職場に関する風しん対策ガイドライン」

「医療機関における風しん対策ガイドライン」

「医師による風しん・先天性風しん症候群届出ガイドライン(第 1 版)」

「風しん発生時対応ガイドライン」

「都道府県における麻しん風しん対策会議等に関するガイドライン（第 1 版）」

［多屋馨子、松井珠乃、砂川富正、中島一敏(東北大学)、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、神谷元、竹田誠（ウイルス第三部）、森嘉生（ウイルス第三部）、大石和徳］

6. 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

厚生労働科学研究委託費　医薬品等規制調和・評価研究事業「ワクチン接種と重篤副反応の発生に関する疫学研究（研究代表者　多屋馨子)」の一環として、予防接種後副反応報告に基づき、重篤副反応として血小板減少性紫斑病症例 47 例の解析を行い、年齢、報告ワクチン、臨床像等を検討した。接種後 7 日以内の発症、他疾患の関与の可能性が記載例も多く、今後予防接種情報に加え、発症時期と機序、流行感染症の関連の検討が必要と考えら

れた。また、研究班で実施する症例対照研究の準備を行った。

［多屋馨子、森野紗衣子、倉根一郎(副所長)、中野貴司（川崎医科大学)、越田理恵（金沢市保健局)、山縣然太朗（山梨大学)、森雅亮（横浜市立大学)、安井良則(大阪府済生会中津病院)、砂川富正、落合雅樹(検定検査品質保証室)、神谷元、奥野英雄、佐藤弘、新井智、北本理恵、田中佳織、安藤由香（児島市民病院)］

（2）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、全国の医療機関へ協力依頼を行い、現在症例を収集中である。

［多屋馨子、滝澤哲、玉元悠里、北本理恵、島田智恵、池山優、青木啓太、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(福岡歯科大学)、市川光太郎（北九州市立八幡病院）、大石和徳］

（3）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。83 名の参加者があり、ワクチンに関する効果、副反応の説明の順序ではワクチン効果への期待は変わらず、カレンダー説明ではワクチン効果への期待に対する影響が見られた。

［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］

（4）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、感染研の検定検査業務委員会で 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、森野紗衣子、田中佳織、落合雅樹（品質保証・管理部）、内藤誠之郎（品質保証・管理部)、藤田賢太郎 (品質保証・管理部)、加藤篤（品質保証・管理部),大石和徳］

（5）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 9 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］

（6）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］

7.　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］

8.　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］

9.　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］

10.　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］

11.　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）］

12. 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］

13. 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）による研究班（研究代表者 清水博之、研究分担者 多屋馨子)」において、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検討を行った。

2013 年度ポリオ感受性調査（感染症流行予測調査事業により実施）によって得られたデータを解析した結果、5 歳未満（接種歴が不明であった者を除く 0 歳 29 名、1 歳 108 名、2 歳 67 名、3 歳 70 名、4 歳は 47 名）のすべての年齢で 95%以上の者にポリオワクチン（OPV あるいは IPV 含有ワクチン）の 1 回以上の接種歴があった。また、接種したワクチンの種類と回数が明らかな者において、0 歳児（100% : 15 名すべて）および 1 歳児（91% : 64 名中 58 名）は IPV 含有ワクチンのみを接種した割合が高く、2 歳児（43 名）は OPV のみ（42% : 18 名）と IPV 含有ワクチンのみ（37% : 16 名）の接種者が同程度であった。一方、3 歳児（76% : 46 名中 35 名）および 4 歳児（95% : 21 名中 20 名）は OPV のみを接種した割合が高かった。次に、抗体保有状況（中和抗体価 1:4 以上）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、既に実施した 1980 年度、1995 年度、2010 年度採血血清に加え 2012 年度採血血清についてもインフルエンザ菌 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、ロタウイルスの迅速診断キットに関する検討

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およびロタウイルスの迅速診断キットの検出感度を調べた。

［佐藤弘、奥野英雄、荒木和子、新井智、大石和徳、多屋馨子］

3. 新規ハンタウイルスの検出

未知の感染症対策の一環として国内外の新規ハンタウイルスの検索を行った。既に検出したウイルスについて、全長配列の決定を進めた。

［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

ウイルス変異予測を行うために、昨年度に続き、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. 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、倫理審査承認を経て検体の採取及び解析を行った。

［花岡希、藤本嗣人、伊藤晋(あいクリニック)］

6. 日本および世界で流行しているエンテロウイルイス 71 のサブジェノグループとその活用法に関する検討

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「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、エンテロウイルス 71(EV71)は世界、ことにアジアを中心に手足口病とともに髄膜炎、さらに重症な場合は脳炎や麻痺を引き起こす。そのため、従来の血清型別に加えて、VP1 領域の塩基配列に基づくサブジェノグループを明らかにすることが世界的に行われている。日本において感染症発生動向調査における病原体検出情報において EV71 の分離同定結果が報告されている。しかしサブジェノグループの報告システムはない。感染症発生動向調査の病原体検査においてサブジェノグループを報告する仕組みを作ることが可能か否かを検討したところ、感染症発生動向調査の病原体個票の「その他生化学的性状」の欄に記入することで対応可能なことが分かった。サブジェノグループは系統樹解析により決定されるので、EV71 の配列情報の決定と収集が重要であり、高感度で VP1 領域を含む長い範囲の配列を決定できる手法と報告システムの確立が重要と考えられた。

［藤本嗣人、花岡希、加納和彦、椎野　禎一郎、荻　美貴(兵庫県健康生活科学研)、牧野友彦、小長谷昌未］

7. アデノウイルスレファレンス活動改善のためのアンケート

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「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」班(研究分担者　藤本嗣人)の一環として全国地方衛生研究所にアデノウイルスに関するアンケート調査を実施した。アデノウイルスは、日本において新型の検出頻度が高いことが推定されているが、同定型別法は新型アデノウイルスの出現により複雑化（フルゲノムか、部分配列で良いか）している。そこで、地方衛生研究所におけるアデノウイルス検出・同定法に関してアンケート調査をおこなって結果をまとめた。日本においては、ウイルス分離が 84%で行われており、型別は感染症研究所のマニュアルで実施している施設が 86%を占めた。レファレンス活動への要望として、精度管理や、マニュアルを分かりやすくしてほしいという意見があった。

[藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、アデノウイルスレファレンスセンター、全国地方衛生研究所]

8. 下痢症ウイルスの分子疫学と感染制御に関する研究

平成 26 年度厚生労働科学研究委託費（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発研究事業　研究代表者　片山和彦　研究分担者　木村博一）の一環として、下痢症ウイルス流行の分子疫学に関する研究を行った。本課題研究において、今年度は、ノロウイルス GI(NoVGI)のキャプシド遺伝子の分子進化に関する研究を行った。その結果、NoVGI の 9 遺伝子型は 3 系統に分類され、解析遺伝子の進化速度は約 10-3 塩基置換/サイト/年であることがわかった。[木村博一、片山和彦（ウイルス第 2 部)、

全国地方衛生研究所]

9. 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、細菌は約半数例から検出されるとともに、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。また、ウイルス感染による CAP は呼吸障害が強い傾向にあることも示唆された。
［木村博一、野田雅博、石岡大成、大石和徳、石井晴之、倉井大輔、皿谷健、滝澤始（杏林大学呼吸器内科)］

10. 地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究

平成 26 年度厚生労働科学研究の一環として、地方衛生研究所におけるウイルス検査精度管理に資する研究(研究代表者　佐多徹太郎　研究分担者　木村博一）を行った。今年度は、59 機関の参加を得て、定量ノロウイルスリアルタイム PCR 法の外部精度管理を実施した（詳細は本研究班報告書を参照)。[木村博一、野田雅博、小澤邦壽、塚越博之（群馬県衛生環境研究所)、調恒明（山口県環境保健センター)、佐多徹太郎（富山県衛生研究所）]

VI. 学会等の中での研究、貢献

１．日本感染症学会

2013~2014 年度の本部理事、2014 年度ワクチン委員会委員長､危機管理委員会委員長として学会活動に貢献した。
［大石和徳］

2014 年度ワクチン委員会委員として予防接種に関する検討・啓発を行った。
［多屋馨子］

2. 日本ワクチン学会

2014 年度理事として学会活動を行った。
［多屋馨子］

Vaccine 誌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

2014 年度予防接種・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

理事・評議員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］

将来計画委員会委員として活動した。
［多屋馨子］

5. 日本ウイルス学会

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

代議員及び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貢献した。
［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、野地元子、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。2014 年 1 月－2014 年 12 月の病原体検出報告数（2015 年 8 月 11 日現在）は、病原菌検出報告(３A：地研・保健所)は 4,248 件、病原体個票は病原菌(原虫・寄生虫を含む)が地研・保健所 3,376 件、ウイルス(リケッチア，クラミジアを含む)が地研 25.050 件(うち最多はインフルエンザ A(H3)で 3,454)、検疫所 15 件（ウイルス、原虫)、集団発生病原体票は病原菌等が地研 203 件、ウイルス等が地研 737 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地研 339 件、ウイルス等が地研 46 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 35 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。

［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、高橋琢理、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。2014/2015 年シーズンのインフルエンザは前シーズンと異なり A/H3 亜型が最も多かった。高齢者の罹患数増加に伴う超過死亡の発生が観察された。これらのインフルエンザ流行に関する情報について、インフルエンザ流行レベルマップ上で迅速に情報発信を行なっていった。インフルエンザ流行レベルマップは、全国のインフルエンザの最新の発生動向を掲載するものであり、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。また、定点当たり患者数と推定受診患者数ピークの乖離が発生し、その原因などについて分析した。

［砂川富正、高橋琢理、大竹由里子、前田明日香、有馬雄三、加藤信子、中里篤、宮間浩史、大石和徳］

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、木下一美、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。

［砂川富正、高橋琢理、有馬雄三、加納和彦、齊藤剛仁、木下一美、大竹由里子、赤塚昌江、FETP 一同、松井珠乃、山岸拓也、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、多屋馨子、奥野英雄、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)、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)、⑩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(2015 年 3 月現在 10 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(2015 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、田中佳織］

10．検査マニュアル

アデノウイルス検査マニュアルの整備を実施するため、地方衛生研究所からの意見をまとめた。現在のマニュアル ver.2 に関して、うまく行かない事例や要望をまとめた。

［花岡希、藤本嗣人、全国地方衛生研究所］

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

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、砂川富正］

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。米国での発生が話題となったエンテロウイルス 68 型に関する主な知見と国内の疫学状況をまとめた。

［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 15 期&16 期生、齊藤剛仁、菅原民枝、佐藤弘、花岡希、砂川富正、有馬雄三、八幡裕一郎、山岸拓也、新井智、大日康史、牧野友彦、加納和彦、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

感染症疫学センターのホームページ(特にトップページ)を利用しての効果的な情報発信の工夫に努めた。デング熱、エボラ出血熱、MERS コロナウイルス感染症、腸管出血性大腸菌感染症、などが追加するように努めた。

［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、島田智恵、八幡裕一郎、山岸拓也、菅原民枝、大日康史、FETP 研修生 14&15 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 24 年度(2012 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、森野紗衣子、大石和徳］

2. 感染症流行予測調査結果の発信

2014 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 2014 年 11 月 18 日から 12 月 26 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 2014 年 7 月 14 日から 10 月 27 日まで計 14 回､速報結果を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、破傷風の予防接種状況および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、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､2014 年度版を作成した。

［多屋馨子、佐藤弘、北本理恵、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 2014 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 2014 年 6 月 27 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、新井智、奥野英雄、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。2014 年度に受け入れた血清は、計 3,760 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。2014 年度は 5 件の申請があり、これら件に対し計 1,004 本の血清を分与した｡血清の出納を管理するためのシステムを改修した。

［新井智、田中佳織、多屋馨子、荒木和子、佐藤弘、滝澤哲、玉元悠里、大石和徳］

2. 職員血清の保管業務

2013 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、松井珠乃］

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、適宜 WHO 本部や西太平洋地域事務局を通じた、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。

［松井珠乃］

5. WHO 西太平洋地域事務局(WPRO)の支援

WPRO において、エボラ出血熱対応等により人員が不足しており、所長への依頼に基づいて適宜現地における支援を行った。

［有馬雄三、島田智恵、松井珠乃］

6. ベトナムにおける麻しん流行への対応

（１） 国際保健機関(WHO)や JICA の依頼により、ベトナムで大流行している麻しんに対し、データマネジメントおよび記述疫学に関する技術的な援助を提供し、記述疫学的概要を明らかにした。

［有馬雄三、松井珠乃、奥野英雄、多屋馨子、砂川富正、大石和徳］

（２）ベトナムにおける麻疹流行時の病原体検査

感染病理部と共同でベトナムにおける麻疹流行時の死亡にアデノウイルス 7 型が関与していることを示唆した。情報は感染病理部を通じてベトナムに伝えられた。

[花岡希、藤本嗣人、中島典子(感染病理部)]

7. エボラ出血熱対応

西アフリカにおけるエボラ出血熱流行に対し，世界保健機関(WHO)の依頼により、GOARN/WEST の枠組みで、シエラレオネでの疫学調査に参加した。データ・情報マネジメントおよび疫学に関する技術的な援助を提供し、感染拡大防止策に協力した。

［島田智恵、有馬雄三、山岸拓也、松井珠乃、砂川富正、大石和徳］

8. 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。

［山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

9. 世界的な FETP 連携強化

WPRO 主催の会議等に参加し、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。

［山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

II. 国際研修

1. 海外からの研修生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または別の研修場所において（JICA 九州など）に、感染症疫学センターの活動、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。他に国立感染症研究所研究発表会若手研究者発表、国立感染症研究所一般公開サイエンスカフェ等も含まれる。

［大石和徳、藤本嗣人、大日康史、重松美加、砂川富正、有馬雄三、高橋琢理、椎野禎一郎、多屋馨子、新井智、島田智恵］

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：八幡裕一郎、山岸拓也、神谷元、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

1. 全般実施状況

FETP の実施は 16 年目となり、平成 26 年 4 月には、16 期 4 名を迎え、平成 27 年 3 月に 15 期生 3 名が研修終了した。

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基盤とし、USCDC の EIS プログラムで用いられている活動評価システムを導入し改訂版評価シートを用い、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、島田智恵、神谷元］

(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。

［八幡裕一郎、山岸拓也、神谷元、島田智恵］

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。

- デング熱国内感染症例（千葉市）
- 代々木公園等におけるデング熱国内感染症例（厚生労働省）
- 細菌性赤痢集団発生事例（北九州市）
- 医療機関及び隣接する老人保健施設にお けるインフルエンザ集団発生事例（広島県）
- 事業所における風疹集団発生事例（静岡県）
- 大学病院 NICU/GCU における CRE 院内感染事例（長崎市）

［FETP 一同、八幡雄一郎、山岸拓也、神谷元、島田智恵、松井珠乃］

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、統計学セミナー(Paul Weiss; 8 月)、分子疫学セミナー（Lee Riley: 12 月）、サイエンテ

ィフィックライティングセミナー(James Fielding；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、山形県、国立保健医療科学院)での講義・演習を実施した。

［神谷　元、八幡裕一郎、山岸拓也、砂川富正、島田智恵、FETP 一同］

6. 感染症疫学研究

平成 26 年度に研修終了した 15 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。

伊東宏明「Seasonal and regional trends in respiratory syncytial virus in Japan, 2008-2013」

金山　敦宏「乳幼児における腸管出血性大腸菌感染症の疫学動向と散発事例のリスク因子解析」

牧野　友彦「被災地援助の意義と公正性の課題：東日本大震災後の高齢者肺炎球菌ワクチン提供事業の後方視的解析」

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
- 定点把握疾患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

［八幡裕一郎、山岸拓也、神谷元、島田智恵、松井珠乃、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、加納和彦、齊藤剛仁、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。

［感染症疫学センター一同］

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、研修用資料を作成し、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、山岸拓也、神谷元、奥野英雄、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、砂川富正、神谷元］

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 15 日、16 日に開催した。2014 年度の事務局は、第三室を中心に感染症疫学センター全員、FETP 及び宮間浩史が担当した。研修内容として、厚生労働省の対応 3 演題、インフルエンザ・薬剤耐性菌に関する最近の話題 4 演題、予防接種で予防可能な疾患に関する最近の話題 5 演題、食品媒介感染症に関する最近の話題 3 演題、輸入感染症に関する最近の話題 4 演題の講義の他、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全員(主担当は三室)、FETP 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ウイルス研修の実施

平成 26 年 10 月 6 日から 10 月 24 日まで 14 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修ウイルス研修（国立保健医療科学院・当所共同実施）を行った。本研修は、全国地方衛生研究所において、ウイルス検査業務に従事する専門職員を対象とし、種々のウイルス感染症の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、32 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、全国衛生研究所（群馬県、富山県、山口県、川崎市）横浜市立大学、東京家政大学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］

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レジオネラ感染症の検査業務に従事する専門職員を対象とし、レジオネラ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、32 名であった。なお、本研修は、感染症情報センターをはじめ、当所細菌一部、全国の衛生環境研究所（北海道、群馬県、富山県）及び大学（東京家政大学）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］

3. 国立保健医療科学院食品衛生危機管理研修

国立保健医療科学院による短期研修である食品衛生危機管理研修で食中毒のアウトブレイク発生時の疫学調査方法及び広域模食中毒事例に関する講義を行った。
［八幡裕一郎］

4. 国立保健医療科学院健康危機管理（感染症）の研修

国立保健医療科学院専門課程 I, II の科目：健康危機管理（感染症）にて感染症サーベイランス・予防接種・災害対応等に関する講義を行った。
［多屋馨子、砂川富正、大石和徳］

5. 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

2015 年 2 月 17～18 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. 国立病院機構三重病院の臨床研究のためのアデノウイルス検査研修

3. 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、砂川富正］

4. 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］

5. 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、砂川富正、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、医療従事者、自治体、保健所、メディア等を含めて、年間の問い合わせが急増した。

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、感染症疫学センターの活動、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、エボラ出血熱や MERS 等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、大日康史、菅原民枝、神谷元、山岸拓也、島田智恵、八幡裕一郎、砂川富正、高橋琢理、齊藤剛仁、木下一美、加納和彦、有馬雄三、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

国内外において注目を集めた感染症、特にインフルエンザ、麻疹、風疹(CRS を含む)、腸管出血性大腸菌感染症、手足口病、エボラ出血熱等の流行に伴い、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。

［多屋馨子、砂川富正、有馬雄三、松井珠乃、島田智恵、藤本嗣人、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、熊田萌、大石和徳］

II. 厚生労働省等 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］

厚生労働省薬事･食品衛生審議会 食中毒部会員 委員[砂川富正]

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］

エイズ動向委員会 委員 ［砂川富正］

内閣府食品安全委員会専門 委員 ［砂川富正］

III. レファレンス業務

1. 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 54 型などの新型アデノウイルスが院内感染や施設内感染により流行性角結膜炎を引き起こしていることが明らかになった。さらに、日本においてはじめて、57 型が複数の地域において検出されることを明らかにした。

・細胞の送付
・難同定株の同定
・検査法の標準化
・マニュアルの整備
・検査法に関する問い合わせへの対応
・新しい検査法の開発
・アデノウイルス感染症に関する啓発
・正確な情報発信： ホームページ・メディア

を行った。

［花岡希、藤本嗣人、全国地方衛生研究所］

IV. 品質管理に関する業務

１．検定検査業務内部監査

検定検査業務内部監査員のチームメンバーとして所内の検定業務について、所内外部監査を担当した。

[藤本嗣人]

2. 病原体等取扱安全監視委員会活動

病原体等取扱安全監視委員の委員として国立感染症研究

所(戸山庁舎・村山庁舎)の P3 施設の安全監視を行った。　[藤本　嗣人]

V.　研修員一覧

氏名	区分	所属
JOHN M.　KOBAYASHI	客員研究員	1 室
谷口　清州	客員研究員	1 室
中島　一敏	客員研究員	1 室
山下　和予	客員研究員	2 室
安井　良則	客員研究員	2 室
多田　有希	客員研究員	2 室
西尾　治	客員研究員	4 室
布施　晃	客員研究員	センター長室
吉倉　廣	客員研究員	センター長室
岡部　信彦	客員研究員	センター長室
鈴木　葉子	協力研究員	1 室
阿保　満	協力研究員	1 室
五十嵐　正巳	協力研究員	1 室
高橋　亮太	協力研究員	1 室
杉下　由行	協力研究員	1 室
徳田　浩一	協力研究員	1 室
堀　成美	協力研究員	1 室
吉田　眞紀子	協力研究員	1 室
大平　文人	協力研究員	1 室
具　芳明	協力研究員	1 室
中村　奈緒美	協力研究員	1 室
田﨑　陽典	協力研究員	1 室
安藤　由香	協力研究員	1 室
関谷　紀貴	協力研究員	1 室
石川　貴敏	協力研究員	1 室
阿部　信次郎	協力研究員	1 室
牛澤　洋人	協力研究員	1 室
古宮　伸洋	協力研究員	1 室
田原　寛之	協力研究員	1 室
豊川　貴生	協力研究員	1 室
柳楽　真佐実	協力研究員	1 室
難波江　功二	協力研究員	1 室
三﨑　貴子	協力研究員	1 室
涌井　拓	協力研究員	1 室
田渕　文子	協力研究員	1 室
金山　敦宏	協力研究員	1 室

伊東　宏明	協力研究員	1 室
鈴木　智之	協力研究員	1 室
中瀬　克己	協力研究員	1 室
加來　浩器	協力研究員	1 室
山田　文也	協力研究員	1 室
石金　正裕	協力研究員	1 室
加藤　博史	協力研究員	1 室
河端　邦夫	協力研究員	1 室
福住　宗久	協力研究員	1 室
山本　久美	協力研究員	3 室
松永　泰子	協力研究員	3 室
荒木　和子	協力研究員	3 室
橋本　和宏	協力研究員	4 室
小長谷　昌未	協力研究員	4 室
荻（榎本）　美貴	協力研究員	4 室
松井　清彦	協力研究員	4 室
藤巻　明日香	協力研究員	4 室
高橋　健一郎	協力研究員	4 室
山田　裕加里	協力研究員	5 室
小田　與志郎	協力研究員	6 室
高木　雅之	協力研究員	6 室
赤坂　天平	協力研究員	6 室
小渕　正次	協力研究員	6 室
尾﨑　恵太	協力研究員	6 室
宮地　由美子	協力研究員	6 室
長澤　耕男	協力研究員	6 室
福島　慎二	協力研究員	センター長室
大桃　すみれ	実習生	1 室
捧　建蔵	実習生	2 室

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Shimatani N, Sugishita Y, Sugawara T, Nakamura Y, Ohkusa Y, Yamagishi T, Matsui T, Kawano M, Watase H, Morikawa Y, Oishi K. Enhanced Surveillance for Sports Festival in Tokyo 2013: Preparation for Tokyo 2020 Olympic and Paralympic Games. Jpn2015.　[Advance Publication] Released 2015/01/20

2) Nakamura Y, Sugawara T, Kawanohara H, Ohkusa Y, Kamei M, Oishi K. Evaluation of the Estimated Number of Influenza Patients from National Sentinel Surveillance using National Database of Electronic Medical Claims Jpn J Infect Dis.2015;68(1),27-29

3) Nakamura Y, Sugawara T, Ohkusa Y, Taniguchi K, Miyazaki C, Momoi M, Okabe N. Abnormal behavior during influenza in Japan during the last seven seasons: 2006-2007 to 2012-2013. J Infect Chemother. 2014 Dec;20(12):789-93.

4) Morikane K, Honda H, Yamagishi T, Suzuki S, Aminaka M. Factors associated with surgical site infection in colorectal surgery: the Japan nosocomial infections

surveillance. Infect Control Hosp Epidemiol. 2014 Jun;35(6):660-6.

5) Yoshikawa T, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Toda S, Shimazu Y, Yano K, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Kato N, Motoya T, Kuzuguchi T, Nishino Y, Osako H, Yumisashi T, Kida K, Suzuki F, Takimoto H, Kitamoto H, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M, Shimojima M. Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load. J Clin Microbiol. 2014 Sep;52(9):3325-33.

6) Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Singh H, Suda Y, Shirabe K, Toda S, Shimazu Y, Nomachi T, Gokuden M, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Uramoto M, Osako H, Kida K, Takimoto H, Kitamoto H, Terasoma F, Honda A, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M. Phylogenetic and Geographic Relationships of Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Virus in China, South Korea, and Japan. J Infect Dis. 2015;212(6):889-98

7) Shimada T, Sunagawa T, Taniguchi K, Yahata Y, Kamiya H, Yamamoto KU, Yasui Y, Okabe N. Description of Hospitalized Cases of Influenza A(H1N1)pdm09 Infection on the Basis of the National Hospitalized-Case Surveillance, 2009-2010, Japan. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):151-8.

8) Yahata Y, Misaki T, Ishida Y, Nagira M, Watahiki M, Isobe J, Terajima J, Iyoda S, Mitobe J, Ohnishi M, Sata T, Taniguchi K, Tada Y, Okabe N, the E. coli O111 Outbreak Investigation Team. Epidemiological analysis of a large enterohaemorrhagic Escherichia coli O111 outbreak in Japan associated with haemolytic uraemic syndrome and acute encephalopathy. Epidemiol Infect. 143(13):2721-32,2015

9) Yahata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T, Toyokawa T, Nakamura N, Taniguchi K, Okabe N. Kudoa septempunctata-Induced Gastroenteritis in Humans after Flounder Consumption in Japan: a Case-Controlled Study. Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):119-23.

10) Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Kanou K, Saitoh T, Sunagawa T, Ito H, Kanayama A, Tabuchi A, Nakashima K, Yahata Y, Yamagishi T, Sugawara T, Ohkusa Y, Matsui T, Arai S, Satoh H, Tanaka-Taya K, Komase K, Takeda M, Oishi K. Ongoing increase in measles cases following importations, Japan, March 2014: times of challenge and opportunity. Western Pac Surveill Response J. 2014;5(2):31-3.

11) Kamata Y, Saito M, Irikura D, Yahata Y, Ohnishi T, Bessho T, Inui T, Watanabe M, Sugita-Konishi Y. A toxin isolated from Sarcocystis fayeri in raw horsemeat may be responsible for food poisoning. J Food Prot. 2014;77(5):814-9.

12) Takanashi J, Taneichi H, Misaki T, Yahata Y, Okumura A, Ishida Y, Miyawaki T, Okabe N, Sata T, Mizuguchi M. Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 E coli O111 outbreak in Japan. Neurology. 2014;82(7):564-72.

13) Martin SW, Pawloski L, Williams M, Weening K, DeBolt C, Qin X, Reynolds L, Kenyon C, Giambrone G, Kudish K, Miller L, Selvage D, Lee A, Skoff TH, Kamiya H, Cassiday PK, Tondella ML, Clark TA. Pertactin-negative B. pertussis strains: evidence for a possible selective advantage. Clin Infect Dis. 15;60(2)223-7,2015

14) Yuzo Arima, Tamano Matsui, Tomoe Shimada, Masahiro Ishikane, Kunio, Kawabata, Tomimasa Sunagawa, Hitomi Kinoshita, Tomohiko Takasaki, Yoshio, Tsuda, Kyoko Sawabe and Kazunori Oishi. Ongoing local transmission of dengue in Japan, August to September 2014. Western Pacific Surveillance and Response Journal, 2014, 5(4). doi:10.5365/wpsar.2014.5.3.007

15) Yanagihara, R., Gu, S. H., Arai, S., Kang, H. J., Song, J. W. Hantaviruses: Rediscovery and new beginnings. Virus Res. 187 (2014) 6–14.

16) Bennett, S. N., Gu, S. H., Kang, H. J., Arai, S., Yanagihara, R. Reconstructing the evolutionary origins and phylogeography of hantaviruses. Trends Microbiol. 2014 Aug;22(8):473-482.

17) Gu, S. H., Lim, B. K., Kadjo, B., Arai, S., Kim, J. A., Nicolas, V., Lalis, A., Denys, C., Cook, J. A., Dominguez, S. R., Holmes, K. V., Urushadze, L., Sidamonidze, K., Putkaradze, D., Kuzmin, IV., Kosoy, M. Y., Song, J. W., Yanagihara, R. Molecular phylogeny of hantaviruses harbored by insectivorous bats in Côte d'Ivoire and Vietnam. Viruses. 2014 Apr 29;6(5):1897-1910.

18) Thanh H.T., Fukui D., Arai S., Son N.T., Huan N.X. and

Thong V.D. The currently known bat species composition of Khau Ca species and habitat conservation area, Ha Giang province. VNU Journal of Science. 30(35): 103-109. 2014

19) Hifumi,T., Fujimi, S., Yamagishi, T., Arai, S., Sawabe, K., Yamamoto, A., Ato, M., Shibayama, K., Ginnaga, A., Kiriu, N., Kato, H., Koido, Y., Inoue, J., Kishikawa, M., Abe, Y., Kawakita, K., Hagiike, M., Kuroda, Y. Clinical characteristics of redback spider bites. J Intensive Care. 2014 Nov 2;2(1):62.

20) Ohkusa Y, Sugawara T, Arai S, Satoh H, Okuno H, Tanaka-Taya K, Oishi K.: Short-term Prediction of the Incidence of Congenital Rubella Syndrome. PLoS Curr. 2014 Oct 30;6. pii: ecurrents.outbreaks. 8c74272f4348 781c5d01c81e6150c2f7. doi:10.1371/currents.outbreaks.8c74272f4348781c5d01c 81e6150c2f7.

21) Yamamoto S, Takahashi S, Tanaka R, Okayama A, Araki A, Katano H, Tanaka-Taya K, Azuma H.: Human herpesvirus-6 infection-associated acute encephalopathy without skin rash. Brain Dev. 2015 Jan 9. pii: S0387-7604(14)00290-3. doi: 10.1016/j.braindev.2014.12.005. [Epub ahead of print]

22) Ushijima H, Thongprachum A, Tran DN, Fujimoto T, Hanaoka N, Okitsu S, Takanashi S, Mizuguchi M, Hayakawa S: Rapid Diagnostic Tests Apply for Pediatric Infections at Outpatient Clinic Setting. Clin Lab 61: 195-199, 2015

23) Matsushima Y, Nakajima E, Ishikawa M, Kano A, Komane A, Fujimoto T, Hanaoka N, Okabe N, Shimizu H. Construction of New Primer Sets for Corresponding to Genetic Evolution of Human Adenoviruses in Major Capsid Genes through Frequent Recombination. Jpn J Infect Dis 67:495-502 2014

24) 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 67:282-7 2014

25) Adhikary AK, Hanaoka N, Fujimoto T: Simple and cost-effective restriction endonuclease analysis of human adenoviruses. Biomed Res Int 363790 2014

26) Ushijima H, Fujimoto T, Müller WEG, Hayakawa S: Norovirus and Foodborne Disease: A Review. Food Safety 2(3), 37-54, 2014

27) Harada K, Fujimoto T, Asato Y, Uchio E: Virological and epidemiological analysis of coxsackievirus A24 variant epidemic of acute hemorrhagic conjunctivitis in Okinawa, Japan,in 2011. Clinical Opthalmology 2015(9), 2015

28) Kuroda M, Niwa S, Sekizuka T, Tsukagoshi H, Yokoyama M, Ryo A, Sato H, Kiyota N, Noda M, Kozawa K, Shirabe K, Kusaka T, Shimojo N, Hasegawa S, Sugai K, Obuchi M, Tashiro M, Oishi K, Ishii H, Kimura H. Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C. Sci Rep. 5:8185, 2015.

29) Hirano E, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Yoshida LM, Kuroda M, Noda M, Ishioka T, Kozawa K, Ishii H, Yoshida A, Oishi K, Ryo A, Kimura H, Molecular evolution of human respiratory syncytial virus attachment glycoprotein (G) gene of new genotype ON1 and ancestor NA1. Infect Genet Evol. 28:183-91, 2014.

30) Nishi M, Akutsu H, Kudoh A, Kimura H, Yamamoto N, Umezawa A, Lee SW, Ryo A. Induced cancer stem-like cells as a model for biological screening and discovery of agents targeting phenotypic traits of cancer stem cell. Oncotarget. 5(18):8665-80, 2014.

31) Tsujimoto S, Tsukagoshi H, Inai I, Yoshimoto Y, Daida A, Kusakawa I, Tanaka-Taya K, Ishii: H, Saraya T, Kurai D, Oishi K, Ryo A, Kimura H. Apnea, dyspnea, and wheezing in primary lower respiratory infections due to human rhinovirus in Japanese infants. J Med Microbiol Case Rep. 1(3):1, 2014.

32) Mizukoshi F, Kuroda M, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Funatogawa K, Morita Y, Noda M, Katayama K, Kimura H. A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan. Microbiol Immunol. 58(9):536-539, 2014.

33) Nakatsu Y, Matsuoka M, Chang TH, Otsuki N, Noda M, Kimura H, Sakai K, Kato H, Takeda M, Kubota T. Functionally distinct effects of the C-terminal regions of IKKε and TBK1 on type I IFN production. PLoS One. 10;9(4):e94999. 2014.

34) Doi I, Nagata N, Tsukagoshi H, Komori H, Motoya T, WatanabeM, Keta T, Kawakami M, Tsukano T, Honda M,

Ishioka T, Takeda M, Ryo A, Kuroda M, Oishi K, Kimura H. An outbreak of acute respiratory infections due to human respiratory syncytial virus (HRSV) in a nursing home for the elderly in Ibaraki, Japan, 2014. Jpn J Infect Dis.67(4): 326-327, 2014.

35) Matsunaga S, Kawakami S, Okayama A, Tsukagoshi H, Kudoh A, Matsuo I, Matsushima Y, Shimizu H, Okabe N, Hirano H, Yamamoto N, Kimura H, Ryo A. Wheat germ cell-free system-based production of hemagglutinin-neuraminidase protein of human parainfluenza virus type 3: generation and characterization of monoclonal antibody. Front Microbiol. 5:208, 2014.

36) Nidaira M, Kuba Y, Saitoh M, Taira K, Maeshiro N, Mahoe Y, Kyan H, Takara T, Okano S, Kudaka J, Yoshida H, Oishi K, Kimura H. Genetic analyses of VP3, VP1, 3Cpro, and 3Dpol coding regions in coxsackievirus group A type 24 variant isolates from acute hemorrhagic conjunctivitis in 2011 in Okinawa, Japan. Microbiol Immunol. 58(4): 227-38, 2014.

37) Kuroki T, Ishida M, Suzuki M, Furukawa I, Ohya H, Watanabe Y, Konnai M, Aihara Y, Chang B, Ariyoshi K, Oishi K, Ohnishi M, Morimoto K. Outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 pneumonia among extremely elderly people in a nursing home unit in Kanagawa, Japan, 2013. J Am Geriatr Soc 62:1197-9, 2014

38) Nakayama T, Zhao J,Takeuchi D,Kerdsin A, Chiranairadul P, Areeratana P, Loetthong P, Anupong Pienpringam A,Akeda Y, Oishi K. Colloidal gold-based immunochromatographic strip test compromising optimised combinations of anti-S. suis capsular polysaccharide polyclonal antibodies for detection of *Streptococcus suis*. Biosensors and Bioelectronics 15;60:175-9, 2014

39) Kerdsin A, Akeda Y, Hatrongjit R, Detchawna U, Sekizaki T, Hamada S, Gottschalk M, Oishi K. Serotyping by a New Multiplex PCR. J Med Microbiol 63:824-830, 2014

40) Kerdsin A, Takeuchi D, Gottschalk M, Hamada S, Akeda Y, Oishi K. A human case of *Streptococcus suis* infection caused by unencapsulated strain. J Med Microbio Case Rep 2014 (published on line);

41) Moi ML, Kotaki A, Tajima S, Ikeda M, Yagasaki K, Lim C-K, Kinoshita H, Nakayama E, Saito Y, Oishi K, Saijo M, Kurane I, Tomohiko Takasaki T. Trends of imported dengue fever cases in Japan, 2010 to 2013. WHO Dengue Bulletin 38:113-9, 2014

42) Hamaguchi S, Hirose T, Matsumoto N, Akeda Y, Irisawa T, Seki M, Hosotsubo H, Yamamoto K, Tasaki O, Oishi K, Shimazu T, Tomono K. Neutrophil extracellular traps in bronchial aspirates: a quantitative analysis. Eur Resir J, 2014 Jun;43(6):1709-18.

43) Piao Z, Akeda Y, Takeuchi D, [a] Ken J. Ishii KJ, Ubukata K, Briles DE, Tomono K, Oishi K. Protective properties of a fusion pneumococcal surface protein A (PspA) vaccine against pneumococcal challenge by five different PspA clades in mice. Vaccine 32:5607-5613,2014

44) Hirose T, Hamaguchi S, Matsumoto N, Irisawa T, Seki M, Tasaki O, Hosotsubo H, Yamamoto N, Yamamoto K, Akeda Y, Oishi K, Tomono K, Shimuzu T. Presence of neutrophil extracellular traps and citrulllinated histon H3 in the blood stream of critically ill patients. PLoS One 9(11) e111755, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0111755.

45) Takahashi Y, Ishiwada N, Hishiki H, Tanaka J, Akeda Y, Shimojo N, Oishi K, Kohno Y. IgG levels against 13-valent pneumococcal conjugate vaccine serotypes in non pneumococcal conjugate vaccine immunized healthy Japanese and intravenous immunoglobulin preparations. J Infect Chemother 20(12):794-8,2014

46) Katsura H, Piao Z, Iwatsuki-Horimoto K, Akeda Y, Watanabe S, Horimoto D, Oishi K, Kawaoka Y. A bivalent vaccine based on a replication-incompetent influenza virus protects against *Streptococcus pneumoniae* and influenza virus infection. J Virol 88:13410-7, 2014

47) Oishi K, Tamura K, Akeda Y. Global control of pneumococcal infections by pneumococcal vaccines. Trop Med Health. 42 (2) Suppl 83-86,2014

48) Namkoong H, Funatsu Y, Oishi K, Akeda Y, Hiraoka R, Takeshita K, Asami T, Yagi K, Kimizuka Y, Ishii M, Tasaka S, Suzuki Y, Iwata S, Betsuyaku T, Hasegawa N. Comparison of the immunogenicity and safety of polysaccharide and protein-conjugated pneumococcal vaccines among the elderly aged 80 years or older in Japan: An open-labeled randomized study. Vaccine 33(2):327-32,2015.

49) Hamaguchi S, Akeda Y, Yamamoto N, Seki M, Yamamoto K, Oishi K, Tomono K. Origin of circulating free DNA in sepsis: Analysis of the CLP mouse model. Mediators Inflamm 2015;2015:614518. doi: 10.1155/2015/614518. Epub 2015 Jul 26.

50) Segura M, Zheng H, de Greeff A, Gao GF, Grenier D, Jiang Y, Lu C, Maskell D, Oishi K, Okura M, Osawa R, Schultsz C, Schwerk C, Sekizaki T, Smith H, Srimanote P, Takamatsu D, Tang J, Tenenbaum T, Tharavichitkul P, Hoa NT, Valentin-Weigand P, Wells JM, Wertheim H, Zhu B, Gottschalk M, Xu J. Latest developments on *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen: part 1. Future Microbiol 9:441-4, 2014

51) Segura M1, Zheng H, de Greeff A, Gao GF, Grenier D, Jiang Y, Lu C, Maskell D, Oishi K, Okura M, Osawa R, Schultsz C, Schwerk C, Sekizaki T, Smith H, Srimanote P, Takamatsu D, Tang J, Tenenbaum T, Tharavichitkul P, Hoa NT, Valentin-Weigand P, Wells JM, Wertheim H, Zhu B, Xu J, Gottschalk M. Latest developments on *Streptococcus suis*: an emerging zoonotic pathogen: part 2. Future Microbiol 9:587-91, 2014

2. 和文発表

1) 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(3)：9-13．2014.

2) 野口 雄史，草野 泰造，川島 綾子，野村 滋，橋本 浩一，多屋 馨子：ホントに必要?おたふくかぜワクチン小児感染免疫(0917-4931)26 巻 4 号 Page509-516(2015.02)

3) 多屋馨子：予防接種と感染症．小児感染免疫 (0917-4931)26 巻 4 号 Page507-508(2015.02)

4) 多屋馨子：【注目したい感染症とワクチン】 輸入感染症としての麻疹．東京小児科医会報(0287-3613)33 巻 2 号 Page4-10(2014.11)

5) 多屋馨子：【小児疾患診療のための病態生理 1　改訂第 5 版】 感染症　風疹、先天性風疹症候群．小児内科(0385-6305)46 巻増刊 Page951-958(2014.11)

6) 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)

7) 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)

8) 多屋馨子：新たに導入された定期予防接種について学ぶ　水痘ワクチンとは．保健師ジャーナル (1348-8333)71 巻 1 号 Page31-35(2015.01)

9) 多屋馨子：【予防接種の現在と未来を考える】 麻疹風疹混合(MR)ワクチン、麻疹おたふくかぜ風疹混合(MMR)ワクチン．臨床と微生物(0910-7029)41 巻 6 号 Page731-735(2014.11)

10) 多屋馨子：【感染症診療 update】 (III 章)主要な感染症(原因微生物毎) RNA ウイルス感染症 風疹．日本医師会雑誌(0021-4493)143 巻特別 2 PageS379-S382(2014.10)．

11) 奥野英雄、多屋馨子：【感染症診療 update】 (III 章)主要な感染症(原因微生物毎) RNA ウイルス感染症 麻疹．日本医師会雑誌(0021-4493)143 巻特別 2 PageS376-S378(2014.10)

12) 濱田 篤郎，大石 和徳，多屋 馨子，大曲 貴夫，小林 謙一郎：デング熱診療ガイドライン(第 1 版)．徳島県医師会報 521 号 Page56-63(2014.10)

13) 多屋馨子：【現場の予防接種を考える】 副反応に対する情報収集と迅速な対応．チャイルド ヘルス (1344-3151)17 巻 9 号 Page611-614(2014.09)

14) 岡部 信彦，荒川 創一，岩田 敏，庵原 俊昭，白石 正，多屋 馨子，藤本 卓司，三鴨 廣繁，安岡 彰，日本環境感染学会ワクチンに関するガイドライン改訂委員会：一般社団法人日本環境感染学会　医療関係者のためのワクチンガイドライン 第 2 版(第 1 版:院内感染対策としてのワクチンガイドライン)．日本環境感染学会誌(1882-532X)29 巻 5 号 Pagenp1-S13(2014.09)

15) 多屋馨子：【水痘を見直す-水痘ワクチン定期接種化にあたって-】 水痘の疫学　日本・世界．小児科 (0037-4121)55 巻 10 号 Page1367-1375(2014.09)

16) 多屋馨子：【ワクチン開発と予防接種の現状】 麻疹・風疹の臨床と予防接種．Medical Science Digest(1347-4340)40 巻 10 号 Page477-480(2014.09)

17) 奥野英雄、多屋馨子：【話題の感染症 2014】 風疹．臨床検査(0485-1420)58 巻 4 号 Page485-490(2014.04)

18) 多屋馨子：【小児感染症の予防 2014】 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(0021-518X)67 巻 4 号 Page551-560(2014.04)

19) 奥野英雄、多屋馨子：麻疹・風疹．感染症道場．3 (2)：Page24-28(2014.06)．

20) 奥野英雄、多屋馨子：ワクチンで予防可能な発疹性疾患．皮膚病診療．36（12）：Page1099-1106,2014.
21) 奥野英雄、多屋馨子:麻疹.感染症診療 uptodate．143（2）：Page376-378(2014.10).
22) 奥野英雄、多屋馨子:ムンプス.感染症診療 uptodate．143（2）：Page383-385(2014.10).
23) 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).
24) 藤本嗣人：アデノウイルス感染症．小児内科 46 増刊：1022～1026　2014
25) 藤本嗣人：アデノウイルス．食品衛生検査指針・微生物編：712～718　2015　（公益社団法人　日本食品衛生協会）
26) 藤本嗣人、花岡希、小林正明：アデノウイルス．臨床医のための呼吸器・消化管ウイルス感染症：56～59　2014.
27) 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、城　青衣、梅本　哲．麻疹・風疹混合(MR)ワクチン 1 期および 2 期接種の全国累積接種率調査．小児科臨床　68(3) 391-395,2015
28) 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、城　青衣、梅本　哲．全国 BCG，DPT3 種混合ワクチン累積接種率．小児科臨床　68(3) 397-401,2015
29) 高山直秀、崎山弘、大石和徳、岡部信彦、城　青衣、梅本　哲．日本脳炎ワクチン第I期1，2回目および追加接種の全国累積接種率調査：2013年の調査結果．日本医師会雑誌．142：2689-2694,2014
30) 大石和徳．高齢者医療と予防ワクチン：成人の肺炎球菌ワクチンとその現状．日本内科学会雑誌103(9) 2247-2251，2014
31) 大石和徳．最近の新興感染症の動向～MERS,鳥インフルエンザA (H7N9)．日本内科学会雑誌104(1) 114-119,2015
32) 大日康史、菅原民枝、大石和徳．R_0の考え方とパンデミック対策．インフルエンザ 16(1)43-47,2015
33) 大石和徳．日本のワクチン政策決定プロセス．最新医学　69(4) 780-785,2014
34) 田村和世、大石和徳．肺炎球菌ワクチン．感染症道場．3(2) 4-9,2014

Ⅱ．学会発表

1．国際学会

1) Yamagishgi T, Satowa S, Aminaka M, Tsutsui A, Morikane K, Keigo S. Surgical Site Infection Risk Stratification for Kidney Surgery: Use of Endoscopy as an Effect Modifier. ID Week 2014, Philadelphia, United States 2014.10.
2) Ikeyama, Y., Arai, S., Boldgiv, B., Boldbaatar, B., Araki, K., Satoh, H., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Yanagihara, R., Oishi, K. Co-circulation of two distinct divergent hantaviruses in Sorex species in Mongolia. XVIth International Congress of Virology, Montréal, Canada. (2014. 07-08)
3) Fukuda S, Fujiwara M, Ito S, Abe J, Hanaoka N, Fujimoto T, Katsumori H: Simultaneous development of Kawasaki disease associated with adenovirus infection in identical twins. Eleventh International Kawasaki Disease Symposium, Honolulu, February 2015
4) Kaneko H, Aoki K, Ohno S, Kitaichi N, Fujimoto T, Gonzalez G, Koyanagi KO. Watanabe H: Epidemiology of human adenovirus caused epidemic keratoconjunctivitis in recent Japan. The 11th International Adenovirus Meeting, San Diego, California, July 2014
5) Kimura K, Molecular epidemiology of human rhinovirus in the patients with asthma Rhinovirus-induced asthma, Third isirv-Antiviral Group Conference (Prenary Lecture), Tokyo, June, 2014.
6) Oishi K. Potective properties of the fusion PspA protein vaccine against pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae* with five different clades in mice. A Joint Meeting of IDSA, SHEA, HIVMA, and PIDS. Philadelphia, USA, November 2014.

2．国内学会

1) 山岸拓也:梅毒のリバイバルー発生動向調査からー、第 27 回日本性感染症学会．神戸市．2014.12.
2) 山岸拓也:広がりつつある梅毒ー感染症発生動向調査からの報告ー．第 28 回日本エイズ学会学術集会と第 27 回日本性感染症学会学術集会合同シンポジウム．大阪市．2014.12.
3) 加納和彦，八幡裕一郎，金山敦宏，高橋琢理，砂川富正，大石和徳．感染症発生動向調査におけるE型肝炎の推移と感染リスクの推定、第88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 合同学会

4) 金山敦宏，八幡裕一郎，高橋琢理，加納和彦，河端邦夫，砂川富正，松井珠乃，大石和徳：わが国の乳幼児施設に関連した腸管出血性大腸菌感染症集団発生事例の増加　感染症発生動向調査に基づく記述疫学、第88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 合同学会

5) 丸山絢，八幡裕一郎，三崎貴子，岡部信彦：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74回日本公衆衛生学会総会

6) 宇木幸子，住吉真希，揚松龍治，八幡裕一郎：薩摩川内市での先天性風しん症候群予防対策の取り組みについて一考察、第73回日本公衆衛生学会総会

7) 住吉真希，宇木幸子，永山広子，揚松龍治，古屋美咲，八幡裕一郎：川薩保健所管内での風しん流行に伴う先天性風しん症候群発生予防対策の取組報告、第73回日本公衆衛生学会総会

8) 川上義和，吉國謙一郎，揚松龍治，八幡裕一郎：職場等における風しんの感染拡大要因及び感染防止対策について、第73回日本公衆衛生学会総会

9) 鈴木智之，八幡裕一郎，岸本剛，山田文也，吉住正和，神谷信行：地方衛生研究所サーベイランス業務従事者研修の評価、第73回日本公衆衛生学会総会

10) Kamiya H. Control and prevention of pediatric viral enteritis: Significance of epidemiological study of rotavirus acute gastroenteritis. 第62回日本ウイルス学会学術集会．2014年11月横浜

11) 加納和彦，高橋琢理，山下和予，砂川富正，大石和徳. NESID サーベイランスデータから病原体や疾患の疫学的所見を得る．第88回日本感染症学会学術講演会. 感01-075．福岡．2014.

12) 高橋琢理，山岸拓也，砂川富正，加納和彦，牧野友彦，大石和徳，中山周一，大西 真，岡部信彦：感染症発生動向調査からみた国内の梅毒報告の増加、2009-2013年. 第88回日本感染症学会学術講演会．感01-078．福岡．2014.

13) 高橋琢理，山岸拓也，有馬雄三，金山敦宏，石金正裕，加藤博史，加納和彦，砂川富正，大石和徳：梅毒の感染症発生動向調査届出における問題点．日本性感染症学会第27回学術大会. O-68. 神戸. 2014.

14) 石井 孝司、清原 知子、吉崎 佐矢香、八幡 裕一郎、河端 邦夫、金山 敦宏、山岸 拓也、高橋 琢理、有馬 雄三、木下 一美、齊藤 剛仁、松井 珠乃、大石 和徳、砂川 富正、脇田 隆字：2014年春季に日本で多発したA型肝炎の分子疫学的解析. 日本ウイルス学会学術集会プログラム・抄録集 62. pp. 169. 横浜. 2014.

15) 砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、齊藤剛仁、蒲地一成、土橋酉紀、大平文人、徳田浩一、吉田真紀子、安藤由香、森畑東洋一、松本道明：国内複数の百日咳集団発生下における百日せきワクチン有効性に関する分析と考察. 第18回日本ワクチン学会総会（福岡市）. 2014年11月30日

16) 佐藤 弘、多屋馨子：乳幼児・小児におけるインフルエンザ菌b型ワクチン及び小児用肺炎球菌ワクチンの接種状況（2013年度感染症流行予測調査より）．第46回日本小児感染症学会．東京都．2014.10

17) 佐藤 弘、多屋馨子、清水博之、大石和徳：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（2013年度感染症流行予測調査より）．第18回日本ワクチン学会．福岡県福岡市．2014.12

18) 新井智，池山優，Bazartseren Boldgiv，Bazartseren Boldbaatar，荒木和子，佐藤弘，多屋磬子，森川茂，Richard Yanagihara，大石和徳. モンゴルのトガリネズミに確認された遺伝的に異なるハンタウイルスの共循環. 第157回日本獣医学会．北海道札幌市．2014. 9.

19) 新井 智，池山優，Se Hun Gu，Son Truong Nguyen，福井大，大舘智志，吉川泰弘，森川茂，荒木和子，佐藤弘，多屋馨子，Richard Yanagihara，大石和徳. ベトナムの翼手目由来に確認されたハンタウイルスの多様性．第62回日本ウイルス学会．神奈川県横浜市．2014．11.

20) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、砂川富正、大石和徳、多屋馨子. わが国の急性脳炎（脳症を含む）の発生動向と今後の検討課題. 第55回日本臨床ウイルス学会. 北海道札幌市. 2014.6.

21) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子. 単価ロタウイルスワクチン接種後の便中ロタウイルス排泄量の継時的推移. 第18回日本ワクチン学会学術集会. 福岡県福岡市. 2014.12.

22) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、砂川富正、大石和徳、多屋馨子. 国内で使用可能なワクチンが存在する疾患に合併した急性脳炎（脳症を含む）の発生動向. 第46回日本小児感染症学会総会・学術集会. 東京都. 2014.10.

23) 大桃 すみれ, 佐藤 弘, 山岸 拓也, 奥野 英雄, 大石和徳, 多屋 馨子, 田原 寛之, 三崎 貴子, 大山 卓昭, 大矢 幸弘：乳幼児期の予防接種の順番とアレルギー疾患の保有状況に関する検討. 第46回日本小児感染症学会総会・学術集会. 東京都. 2014.10.

24) 多屋馨子：流行性ウイルス疾患(麻疹、風疹、ムンプス、水痘)に対する病院職員全員の免疫獲得を目指して 病院職員の流行性ウイルス疾患の免疫獲得の重要性 医療関係者のためのワクチンガイドライン第2版より. 第30回日本環境感染学会. 兵庫県神戸市. 2015.2.

25) 多屋馨子：風疹流行の問題点とワクチン政策第62回日本ウイルス学会第196回ICD講習会. 神奈川県横浜市. 2014.11.

26) 多屋馨子：教育講演 風疹：特に胎児感染予防について. 第88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 合同学会. 福岡県福岡市. 2014.6.

27) 多屋馨子：シンポジウム1「ウイルス病、制御への道」麻しん・風しん第55回日本臨床ウイルス学会. 北海道札幌市. 2014.6.

28) 多屋馨子：シンポジウム「母子感染症の現状」風疹の流行と先天性風疹症候群. 第117回日本小児科学会学術集会. 愛知県名古屋市. ２０１４. ４.

29) 藤本嗣人、花岡希、藤巻明日香、山本希：簡易で安価な制限酵素切断パターン解析による新型アデノウイルスに対応するタイピング法. 臨床ウイルス学会、札幌 2014

30) 花岡希、伊藤晋、高梨真樹、安田満、出口隆、山岸拓也、藤本嗣人:尿道炎におけるアデノウイルスについて. 日本性感染症学会 第27回学術大会. 2014.12

31) 伊藤晋、安田満、高梨真樹、伊藤貴子、花岡希、前田真一、出口隆:マイコプラズマ、アデノウイルス、単純ヘルペス、膣トリコモナスを含む尿道炎起因微生物の検討. 日本性感染症学会 第27回学術大会. 2014.12

32) Arun Kumar Adhikary, Nozomu Hanaoka, Tsuguto Fujimoto : Simple and cost-effective restriction endonuclease analysis of human adenoviruses. 62nd Virus Gakkai. 2014.11

33) 福田清香、 藤原摩耶、伊藤秀一、阿部 淳、花岡希、藤本嗣人、勝盛宏：アデノウイルス感染を契機に川崎病を発症した一卵性双生児症例. 日本アデノウイルス研究会、東京 2014 11月

34) Adhikary AK, 花岡希, Banik U, 野田希、藤本嗣人：Chronology of human adenovirus type 3 genome type circulation in Fukui, Japan over 23-year period. 日本アデノウイルス研究会、東京 2014 11月

35) 藤本嗣人、花岡希、小川知子、千葉彌幸、青木功喜、渡邉日出海：エイズ関連アデノウイルスの流行：48型など日本上陸. 日本アデノウイルス研究会、東京 2014 11月

36) 松井清彦、久保遥、田中望紅、藤本嗣人：新型アデノウイルスの血清疫学. 日本アデノウイルス研究会、東京 2014 11月

37) 泉山信司、青木信和、杉山寛治、長岡宏美、藤本嗣人：浴槽水、水泳プールにおけるモノクロラミン消毒の可能性. 日本アデノウイルス研究会、東京 2014 11月

38) 高橋健一郎、牧野友彦、花岡希、田村まり子、鈴木葉子、藤本嗣人：咽頭扁桃炎におけるアデノウイルスのインパクト. 日本アデノウイルス研究会、東京 2014 11月

39) 藤本嗣人:アデノウイルスレファレンスセンター報告. 衛生微生物検査技術協議会第35回研究会、東京 2014 6月

40) 志田洋子, 鈴木葉子, 安田菜穂子, 三宅直香, 鈴木悠, 杉原茂孝, 杉下由行, 住友眞佐美, 多屋馨子, 藤本嗣人:2013年夏に経験したエコー９型による無菌性髄膜

炎の地域流行. 小児科学会、名古屋 2014 4月

41) 志田洋子, 鈴木葉子, 安田菜穂子, 鈴木恵子, 花岡希, 藤本嗣人,杉原茂孝: 髄液と便から異なったウイルスが検出された無菌性髄膜炎の１例. 日本小児感染症学会、東京　2014 10月

42) 藤巻明日香、花岡希、藤本嗣人：Echovirus 9による無菌性髄膜炎多発時の検出および髄膜炎起因病原体の考察. 臨床ウイルス学会、札幌　2014　6月

１９．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、年間約150万人がエイズ関連で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、日本国内におい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（平成26年：1,546件）で、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26年：455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（IAVI）等との国際共同研究が進展し、平成25年より、ルワンダ・ケニア・英国での臨床試験第1相に発展している。

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。また、感染者のHIV治癒に向け、HIV複製制御維持･潜伏機序の解明を目指した研究を展開している。

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、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27年2月1日付で立川　愛第２室長が着任し、平成27年3月31日付で高橋尚史研究員が任期満了にて退職した。

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）感染病態を解析して、MHC-I ハプロタイプとエイズ病態進行の相関を見出し、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明らかにした。さらに、慢性期に低い血漿ウイルス量を示す protective MHC-I ハプロタイプ D 共有群を見いだしてきた。平成 26 年度には、これらの SIV 感染サル群の感染免疫動態研究を継続・発展させた。

[石井　洋、野村拓志、高橋尚史、池田典子、五領舞衣、佐野雅人、中村　碧、関紗由里、山本浩之、松岡佐織、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 26 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た研究を推進した。SIV 感染後 2 年以上の長期にわたり SIV 複製制御状態を維持した MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群において、プロウイルスのゲノム cDNA 塩基配列を調べたところ、感染後 1 年までは変異選択が認められなかったが、感染後 2 年のプロウイルスには、gag・nef 領域に複数の CTL 逃避変異選択が認められる群と認められない群があることが判明した。前者は今後の SIV 複製制御状態維持が難しい群、後者は長期 SIV 複製制御状態維持が期待される群と考えられ、今後、両者を比較することにより、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、石井　洋、高橋尚史、山本浩之、明里宏文（京都大学）、成瀬妙子（東京医科歯科大学）、木村彰方（東京医科歯科大学）、俣野哲朗]

イ．サルエイズモデルにおけるCTL逃避変異の次世代シークエンサーによる網羅的解析

SIV 感染サルエイズモデルを用いた解析から、MHC-I ハプロタイプの異なるサルでは異なる SIV 抗原に対して CTL が誘導され、その CTL による SIV 複製抑制能も異なることが既に報告されている。本研究では、MHC-I 遺伝子型を共有しないサルからサルへの SIV 継代実験を行い、継代後 1 週目、3 ヶ月目および 1 年目の血漿由来ウイルス Gag CA コード領域ゲノムについて、次世代シークエンサーによる解析を行った。多くの CTL 逃避変異が MHC-I 遺伝子型を共有しないサルへの伝播後も維持されることを見出すとともに、得られた配列情報を元に系統樹解析を行い、サル個体内の SIV の population の経時的変化を明らかにした。

[西澤雅子、野村拓志、関紗由里、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、非中和抗体（nNAb）受動免疫の個体レベルにおける持続感染阻止能の欠失と、中和抗体受動免疫による 2 年間以上にわたる長期 SIV 複製制御群（elite controller：EC 状態）の同定を行った。本年度は各 EC 個体における主要な CTL エピトープの新規同定を進めた。その結果、MHC クラス I ハプロタイプ H 陽性サルにおける複数のドミナントな CTL エピトープを新規に同定した。SIV 複製初期制御直前におけるこれらの領域内の CTL エスケープ変異選択を血中ウイルスにつき評価した結果、EC 個体では選

択圧の形跡が認められるものの標準的なエスケープの様式とは異なっており、かつ完全な逃避に至っていなかった。過去に報告した *in vitro* における CD8 陽性細胞集団の SIV 複製抑制能亢進を考慮すると、これらのドミナントな CTL 応答が高度に機能亢進を示している可能性が示唆された。上記結果をもとに、同定した CTL エスケープ変異を有する変異体 SIV を系統的に作製し、それらの *in vitro* 複製抑制能を評価する計画である。
[伊勢田すみれ、高橋尚史、Hugo Poplimont、野村拓志、関紗由里、俣野哲朗、山本浩之]

イ．抗 SIV 中和抗体誘導サル群の新規同定と感染免疫学的解析

高度の NAb 抵抗性（誘導障害）を自然感染経過で示す SIVmac239 を感染させたアカゲサル 50 頭以上より経時的に採取した凍結血漿を用いた解析を進め、NAb 高誘導を示す新規サル群を同定した。この群の解析は、HIV/SIV に対する NAb 誘導機序の解明に結びつくことが期待される。
[山本浩之、俣野哲朗]

ウ．新規サル馴化 HIV-1（HIV-1mt）における液性免疫応答研究

現在、抗 HIV 薬の併用による cART 療法が画期的な進展を遂げた結果、HIV 感染症は慢性感染症の一つとなったと言える。しかしながら、HIV 感染者は生涯に渡る薬の服用が必須であり、それに伴う薬剤の副作用や薬剤耐性ウイルスの出現、さらに加齢に伴う HIV の再活性化など検討課題は山積している。現在、完全治癒や機能的治癒の実現に向けた様々な基礎研究が行われているが、それらの有効性や安全性を評価するための介入試験を HIV 感染者において実施することは難しいのが実情である。そこで、我々はそれらの評価研究に適した新規霊長類モデルとして HIV-1 の感染伝播に重要な CCR5 指向性を有する新規サル馴化 HIV-1（HIV-1mt）をカニクイザルに実験感染を行っている。他方、我々はこれまでに in vitro の薬剤及び中和抗体逃避ウイルス誘導を、様々な臨床分離ウイルスを用いて行って来た。特に、CCR5 inhibitor [maraviroc (MVC)] からの逃避ウイルスが anti-Env 中和抗体に感受性になる一群の変異を同定してきた。

そこで本年度は、これら中和感受性の異なるウイルスパネルを用い、HIV-1mt 感染サルにおける中和抗体価を測定し、結合抗体価と比較検討した。その結果、サル間でウイルスを継代するごとに結合抗体だけでなく、中和抗体価も上昇していくことが観察できた。1 継代目のウイルス感染サルでは、結合抗体価が上昇しても中和抗体は出現せず、ウイルスの血中量と中和抗体の誘導が密接に関与していることが示唆された。これらのウイルスセットで感染サルの血中に含まれる中和抗体の大まかな種類と力価が測定可能となれば、ウイルスシークエンスと中和抗体産生の関係を知る事が出来るだけでなく、ワクチン抗原の探索に有用な知見を得られるといえる。
[原田恵嘉、明里宏文（京都大学）、吉村和久]

(4) 病原性を決定する TH1 細胞標的性に関する研究

HIV 初期感染は、慢性感染を経て免疫機能不全に至る。ところが、早期治療による初期感染制御により投薬治療を行わず長期間の感染制御が実現した例が報告された。我々は、霊長類モデルを用い、ウイルススパイクの糖鎖修飾が初期感染の制御に重要な役割を持つことを明らかにした。SIVmac239 のスパイクタンパク gp120 の 5 カ所の N 型糖鎖を欠失した糖鎖変異株Δ5G は SIVmac239 と同レベルの初期感染の後、感染は制御された。SIVmac239 は HIV 感染と同様に慢性感染から AIDS を発症させた。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 CXCR3+CCR5+CD4+T（TH1）細胞を、Δ5G は小腸粘膜固有層の CD4+T 細胞（TH17 等）を標的細胞とした。TH1 細胞標的性は病原性感染の条件と推測される。エイズウイルスは免疫応答により活性化した CD4+T 細胞に感染・増殖することから、標的 CD4+T 細胞が異なるのは免疫応答の違いが原因となると推測した。そこで、感染後 7 日の末梢単核球を用いマイクロアレイによる遺伝子発現解析から免疫応答の違いについて解析した。SIVmac239 はΔ5G と比較して自然免疫/1 型 interferon 関連遺伝子群等の発現が有意に高いことが判明した。さらに CXCR3 ケモカイン遺伝子群の発現が顕著に高く、2 次リンパ組織での TH1 細胞感染の主原因と推測された。CXCR3 ケモカイン: CXCL9, CXCL10, CXCL11 の発現細胞・動態の解析から、血中 CD16+monocyte、リンパ組織 CD14+macrophage における CXCL10 の発現は、SIVmac239 感染ではΔ5G 感染と比べ 10 倍以上高く、TH1 細胞感染と相関していた。これらの結果から、糖鎖修飾による SIV の TH1 細胞標的性の機序において、Mo/Macrophage/DC による CXCL10 を介する免疫応答が重要な役割を持つことが示唆された。
[森　一泰、藤野真之]

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・継続している。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、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・英国にて行われ、中間結果の段階で安全性と免疫原性が確認されている。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た研究を展開している。これまでの研究で、Gag と Vif が有効な CTL の標的抗原として有望であることを示す結果が得られたことから、平成 26 年度には、これら Ga・Vif 抗原を断片化し連結した抗原を設計した。

[石井　洋、関紗由里、山本浩之、武田明子、井上　誠（ディナベック）、弘中孝史（ディナベック）、原　裕人（ディナベック）、朱　亜峰（ディナベック）、俣野哲朗]

(2) ワクチン誘導 CD4 陽性 T 細胞に関する研究

ヘルパーCD4 陽性 T 細胞反応は、有効な CTL 反応あるいは抗体反応誘導に重要と考えられている。しかし、HIV は HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞により効率よく感染することが知られており、ワクチンによる HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導は、HIV 感染標的の増強につながる可能性が懸念される。この点をふまえ本研究では、サルエイズモデルで、ワクチンにより誘導された抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞の SIV 感受性に関する研究を行った。非ワクチン接種サル 21 頭および Gag 発現 SeV ベクターワクチン接種サル 18 頭の凍結サンプルを用い、SIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞の CD107a・MIP-1β・IFN-γ・TNF-α・IL-2 反応を解析したところ、ワクチンによって誘導される CD107a 陰性 CD4 陽性 T 細胞数は、SIV 感受性が高く、SIV 曝露後（1 週目には）大きく減少した。一方、CD107a 陽性 CD4 陽性 T 細胞は、比較的 SIV 感染抵抗性で、SIV 曝露後も維持される傾向にあった。ワクチン接種サルのうち SIV 複製制御にいたらなかった個体では、感染 1 週目の血中ウイルス量が非ワクチン接種群と比較して有意に高値を示した。本研究結果は、ワクチンによる HIV 特異的 CD4 陽性 CD107a 陰性 T 細胞の誘導が、曝露後の有効な HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞反応誘導に結びつかず、逆に HIV 感染標的増幅を介して HIV 複製を促進しうることを示唆している。このことは、HIV ワクチン開発において、HIV 特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導を避けながら（非 HIV 抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導により）有効な免疫を誘導する戦略の合理性を新たに提示するものである。あるいは HIV 特異的 CD4 陽性 CD107a 陽性 T 細胞誘導法の開発も一つの戦略である。

[石井　洋、寺原和孝（免疫部）、横田恭子（免疫部）、野村拓志、高橋尚史、武田明子、椎野禎一郎、Mark de Souza、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) HIV-1 マトリックス (MA) 変異体を用いた複製前期過程の解析

HIV-1 マトリックスタンパク質 (MA)は、複製後期過程におけるウイルスの粒子形成、Gag タンパク質（Gag）の形質膜へのターゲッティング、エンベロープタンパク質 (Env)のウイルス粒子への取込み等に重要な役割を果たすことが解明されているが、前期過程における役割は十分に解明されていない。しかし、膜結合能が上昇する L20K 変異体は、前期過程にも障害をもつことが示唆されている。そこで、我々は膜結合能が低下するとされる V6R 変異体とその復帰変異体を用いて、前期過程における MA の役割を検討した。WB の結果から、V6R 変異体では細胞内に開裂されない Gag 前駆体が蓄積するが、ウイルス粒子においては Gag のプロセッシングや Env のウイルス粒子への取込みは野生型（WT）と同等であることが示された。V6R 変異体は感染価の低下が報告されているが、VSV−G シュードタイプウイルスを用いても感染価は回復しなかった。さらに、*In situ* uncoating assay により V6R 変異体は WT や復帰変異体と比べて脱殻速度が亢進することが示された。また、定量 PCR の結果からは、ウイルス DNA への逆転写以降の過程で障害が生じていることが示唆された。以上より、MA は HIV-1 の複製前

期過程に関与することが示唆された。今回検討した MA 変異体は感染後期過程のみならず、前期過程の逆転写以降からインテグレーションに関与する宿主因子を探索する上で、有用なツールになりうることが明らかとなった。
[引地優太、武田　英（大阪大学）、藤野真之、Eric O. Freed（米国 NIH）、中山英美（大阪大学）、塩田達雄（大阪大学）、俣野哲朗、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。これまでに、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・増強効果を示すとともに、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てきた。さらに、ウイルスゲノム変異の解析を推進中である。
[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 療法後、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 38 名および対照:HIV-被験者 28 名の唾液を採取し、唾液活性物質と口腔微生物の定量を行った。その結果、唾液中の総菌数、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 M-CSF 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、CA125/MUC16 の濃度が 160 unit/ ml 以上の HIV+患者の歯周病発症率は、CA125/MUC16 の濃度が 160 unit/ ml 未満の HIV+患者よりも有意に高いことが明らかとなった。また M-CSF においても同様の傾向が認められた。M-CSF の濃度が 1500 pg/ ml 以下および血中 CD4 500 個/mm3 以下の HIV+患者は、口腔 Candida 菌数が著しく多いことも明らかとなった。よって、唾液中の総菌数、嫌気性菌数や M-CSF、CA125/MUC16 は、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。
[吉村和久、泉福英信（細菌第一部）、有家　巧（国立病院機構大阪医療センター）、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 27 年 3 月の時点で累積 9942 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 CCR５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 年度は 319 検体の解析を行っており、平成 27 年３月の時点で 2117 検体の指向性検査を実施した。
[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）は、逆転写酵素阻害剤耐性変異 M41L, K65R, K70R, K103N, Y181C, M184V, T215F/Y について、血漿中存在比率として約 1-5%程度の感度で検出可能である。平成 25 年度に M184V 検出系の改良を行い、プライマー結合部位に高度の遺伝子多型が存在しても約 3%の検出感度を持つ系を確立した。この M184V 検出系を用いて、2008 年から 2009 年にかけて薬剤耐性検査を行った Subtype B の患者検体 149 症例について再解析を行った。その結果、従来の高感度法で M184V が検出された 1 症例に加えて 7

症例から M184V が微少集簇として検出された。これらの 8 症例は全員男性、うち 7 症例は日本人・感染経路は同性間で、日本人の HIV 感染患者の背景と違いは見られなかった。これらの患者の血中に主要な集簇として存在する HIV の RT 領域について系統樹解析を行った結果、症例番号 2,4,7,8 と症例番号 3、5 がそれぞれクラスターを形成しており、Bootstrap value の値から HIV の感染がこのクラスター間で起こっていた可能性が示唆された。症例番号 1､3 の患者検体中で主要な集簇として存在する HIV の RT 配列と M184V を持つ微少集簇として存在する HIV RT 配列を系統樹で解析した結果､それぞれ系統樹上で近傍に位置していた。これは微少集簇として存在する M184V を持つ HIV が、野生型の HIV と共に患者に重感染して存在しているのではなく、患者血中に存在する野生型 HIV を origin として出現した可能性が示唆された。
[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]

(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。我々はこれまでに、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 誘導系を用いることで、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 を選択することを明らかにしてきた。本年度は、昨年度に引き続き、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を解析した。結果、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、引き続き、クローンウイルスを用いて詳細な解析を進めている。
[原田恵嘉、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。

本年は in vitro で誘導した MVC 高度耐性ウイルスだけでなく、CCR5 発現の低い細胞で継代したウイルスの Env 組換えウイルスを作製し、詳細に gp120 の変異と中和抗体の感受性の関連性を調べた。その結果、MVC 高度耐性ウイルスと同様に低 CCR5 細胞馴化ウイルスも中和抗体に感受性となり、しかも MVC 高度耐性ウイルスとは感受性となる中和抗体の種類が違う事が分った。そこで、これらのウイルスを用いて、その他の HIV 感染症例から得た血漿中に含まれる中和抗体の種類が同定可能かどうかを検討した。その結果、subtype B のみならず、subtype AE の血清の中和も測定することが出来た。これらのパネルで今後簡便に感染者の血中に含まれる中和抗体の大まかな種類と力価が測定可能となれば、ウイルスシークエンスと中和抗体産生の関係を知る事が出来るだけでなく、ワクチン抗原の探索に有用な知見を得られるといえる。
[Samatchaya Boonchawalit、原田恵嘉、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、新規コンセプトの抗 HIV 剤開発として、CD4 類似低分子化合物 (CD4MCs) 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 の構造変化を誘起することで中和抗体活性を増強させること、 (iii) 構造の違いにより幾つかの異なる耐性獲得経路があることを明らかにしてきた。今回は、これらの CD4MCs 耐性変異が異なるエントリー阻害剤および中和抗体の感受性に影響を与えるかを検討した。また、新たな分子動力学的計算法を用いて、CD4MCs の耐性獲得機序についての解析を試みた。

CD4MCs 主要耐性変異 (V255M/T375I/M426I) を加えた KP-5P 株 (SubB-R5) 変異クローンを用いた感受性試験において、V255M、T375I、および M426I 変異体は、今回用いたすべての CD4MCs に耐性を示したが、異なるエントリー阻害剤である MVC および IC9564 に対しては感受性を維持していた。中和抗体に関しては、4E9C (CD4i) に対しては 3 つの変異がすべて感受性低下をもたらすのに対して、3D6 (CD4bs) に対しては T375I のみが感受性低下を示し、b12 (CD4bs) に対してはいずれも感受性を示す結果が得られた。他方、KP-5P gp120 と NBD-556 複合体における分子動力学的機構解析では、(i) V255M 変異により NBD-556 の結合親和性が減少すること、および (ii) M426I 変異により Lys130 と Glu429 間の水素結合が消失し、NBD-556 が野生株とは異なる部位に結合することが耐性発現と関与することが示された。以上、変異クローンを用いた感受性試験および分子動力学的機構解析により、各 CD4MCs 主要耐性変異の耐性度および耐性機序に関する新たな知見が得られた。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いえる。

[原田恵嘉、横山　勝（病原体ゲノム解析研究センター）、玉村啓和（東京医科歯科大）、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター）、吉村和久]

(2) 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

CXCR4 阻害剤 KRH-3955 は既存の CXCR4 阻害剤よりも活性が高く、経口投与が可能な薬剤として開発された。既存の CXCR4 阻害剤との差異を検討するため、各種 CXCR4 阻害剤への耐性を誘導し、耐性に寄与する変異を同定し、その耐性機序を解析した。さらに、耐性変異獲得による HIV-1 の中和抗体感受性の変化についても検討した。今回我々は、PM1/CCR5 細胞を用いて NL4-3 由来の 3 種の CXCR4 阻害剤 (KRH-3955, AMD3100, AMD070)の耐性ウイルスを分離し、エンベロープタンパク質 (Env) のアミノ酸配列を確認したところ、Env gp120 V3 領域に多くの変異が蓄積されていた。また、耐性ウイルスの中和抗体感受性は WT と比較して増加していることが認められた。そこで、V3 領域のみ置換したウイルスと各種阻害剤に共通していた S274R 変異を導入したウイルスを作製し、薬剤感受性と中和抗体感受性の検討を行った。その結果、薬剤耐性獲得には V3 領域の変異が関与していることが明らかになり、中和抗体感受性については、KRH-3955 耐性ウイルス由来の V3 置換株でのみ中和抗体感受性の上昇が認められた。一方で、S274R 変異体では薬剤感受性は変化しなかったが、中和抗体感受性の増加が確認された。このことより、CXCR4 阻害剤耐性獲得のために生じた変異は Env 全体の構造を大きく変化させることが示唆されたため、現在、NL4-3 と耐性ウイルスの構造特性を gp120 outer domain の MD simulation により解析している。

[引地優太、藤野真之、横山　勝（ゲノム解析研究センター）、熊倉　成（クレハ）、竹村太地郎（長崎大学）、前田洋助(熊本大学)、山本直樹(国立シシンガポール大学)、佐藤裕徳（ゲノム解析研究センター）、俣野哲朗、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。H26 年度は、HIV-1 CA 部分ペプチドライブラリーを作製し、それらの抗 HIV-1 活性と細胞毒性を評価した。その結果、細胞膜透過性を付与することにより 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として、fragment 1、6、8、15 を特定できた。興味深いことに、fragment 15 は細胞膜透過性を付与しなくても弱いながら抗 HIV-1 活性を有していた

[藤野真之、野村　渉（東京医科歯科大学)、水口貴章（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を開発した。昨年度、LENA により導入した転写因子 Sox2 および Oct3/4 タンパクにより、これらの標的遺伝子である fgf4 の発現上昇が確認され、LENA により導入された転写因子が機能的であることを世界で初めて確認した。しかし、ヒト初代培養繊維芽細胞に LENA を暴露して CD45 陽性細胞に脱分化するかを試験したが、十分な生物活性を検出する事はできなかった。この原因として、細胞に導入されるタンパク量が少ない可能性が考えられた。そこで、これらのタンパクについて遺伝子工学的な機能増強改変を行うことにした。Sox2 および Oct3/4 タンパクの N 末端側に転写活性化因子として知られる VP16 を融合させたタンパク質を発現する系を構築した。今後これを含有する LENA を産生させ、転写因子の活性の評価を行う予定である。

[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、母乳の関与する割合は全体の約 40%とされており、その重要性がうかがわれる。母乳を介した母子感染の重要因子には母乳中に存在するウイルス感染細胞あるいはウイルスを捕捉した細胞が重要と言われており、母乳からのそれらの細胞の除去は母乳を介した母子感染阻止に非常に有効であると考えられる。昨年度までの結果から、3.0μm の孔径のフィルターで母乳を処理することにより母乳中の細胞が除去できることが予想された。今年度は、HIV 感染実験モデル系の構築を行い、フィルター処理を行うことにより、ターゲット細胞へのウイルスの受け渡しが抑制されることが示された。また、様々な孔径のフィルター処理を行った際の母乳中の栄養分の変化を測定した結果、タンパク質、分泌型 IgA、ラクトフェリンについては処理の違いによる変動は認められなかったが、中性脂肪に関しては 30μm～1.2μm の孔径のフィルターで含量の減少が認められた。しかし、これらの減少に関しては、児への影響はほとんどないと考えられた。以上のことから、HIV 母子感染を予防可能なフィルターを取り付けた搾乳器の完成に大きく前進した。

[武田　哲、堀谷まどか（ウイルス第一部)、中埜　拓（ビーンスターク・スノー株式会社)、小林俊二郎（ビーンスターク・スノー株式会社)、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：アジアにおける HIV-1 組換え型流行株 (CRF) の多発的新生

我が国、マレーシアおよび中国の研究機関との共同研究によって、数種の新規 HIV-1 組換え型流行株(Circulating recombinant form, CRF)を見い出した。

① 2005 年に、関東地域に居住する東南アジア出身者（異性間ルートによる性感染が推定される）から分離されたウイルス株が東南アジアに由来する CRF01_AE と欧米型サブタイプ B 間の組換えウイルスであることを見いだしていたが、それが最近我が国から報告された東海地域の日本人男性同性愛者に見いだされている CRF69_01B (Hosoya et al. CROI 2014)と同一の組み換えウイルスであることが明らかにした。CRF69_01B は MSM だけでなく、その他のルートでも感染が広がってる可能性が示唆される。またこの株は CRF69_01B としては最も古い時期に分離されたの 1 つである。

②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, CRF58_01B の 5 種の CRF に加え、新たに CRF74_01B を注射薬物乱用者 (IDU) 間に見いだした。組換え構造および組換え年代の解析により、CRF74_01B は、CRF33_01B あるいは CRF58_BC から 2 次的な組換えによって生じたものであると推定された。

③ 中国においては、近年激化している男性同性愛者 (MSM) 間の流行に係わる CRFs として同定された CRF55_01B, CRF59_01B について、中国西南部・雲南省西部地域の青壮年層の異性間ルートによる感染者（ヘテロセクシャル）の間に、多様な CRF (CRF57_BC, CRF62_BC, CRF64_BC, CRF65_cpx (BC01)を見いだした。

アジア地域では昨年 (2012 年) 以来、以上のものを含めて 15 種を超える新規 CRF が報告されている。色々な対策にもかかわらず、リスク集団でのハイリスク行動を背景として、様々な地域で感染拡大が依然進行している状況を反映するものと考えられる。

[草川　茂、近藤真規子（神奈川県衛生研究所)、加藤真吾（慶應義塾大学)、Tee KK（マラヤ大学)、Kamarulzaman A（マラヤ大学)、Feng Y（中国 CDC)、Shao Y（中国 CDC)、Han X（中国医科大学)、Shang H（中国医科大学)、武部

豊]

(2) アフリカにおける HIV/AIDS の疫学的研究

ガーナにおける HIV 感染者の ART(抗ウイルス療法)における治療効果と薬剤耐性、蔓延 HIV 株と病態との関連、HIV サブタイプの解析および他の感染症の蔓延状況の調査結果等を解析している。ガーナ中央部に位置するコフォルディアにある州立病院を拠点とし、新たに未治療の抗 HIV 抗体陽性者 300 人以上より血液材料を採取し、血清ウイルス量、CD4 値、遺伝子解析による薬剤耐性遺伝子変異および HIV サブタイプの同定を行っている。

[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．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。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 株の遺伝子解析を推進し、約 180 検体について、HLA 遺伝子型同定をほぼ完了した。これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定を進める計画である。また感染者者情報と遺伝子解析情報を加味したデータベースの構築を進めている。

[高橋尚史、武田　哲、石川晃一、松岡佐織、立川　愛、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]

イ．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 300 検体以上の HIV/AIDS 未治療者血液を採取し、現地での解析を行うともにHLA タイピングおよびガーナ流行HIV 株の遺伝子解析が進展中である。また感染者者情報と遺伝子解析情報を加味したデータベースの構築を進めている。

[石川晃一、Nicholas Nii-Trebi、松岡佐織、武田　哲、椎野禎一郎、高橋尚史、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2014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、14年 : 636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 : 8.9%、14年 : 8.5%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%、14年 : 4.9%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%、14年：1.4%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%、14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例検出されたが、主要な耐性変異の伝播は認められていない。ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性変異のT215X、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性変異のK103N、プロテアーゼ阻害剤耐性変異のM46I/L は毎年必ず検出されており、流行株として定着しているものと推測される。

[杉浦　亙、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．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。本年度は、国内 HIV-1 陽性血漿からウイルス分離を試みた。血漿を遠心後、沈渣を含まない上清 1mL に磁気粒子を加え、ローテーターで室温 15 分間混合した後に、磁気スタンドで磁気粒子を分離、無血清培地で撹拌して MAGIC5 細胞に加え、磁気プレート上で吸着後に培養した。継代を繰り返しながら２週間培養を続けたところ、-30℃での長期保存というウイルス分離にあまり適さない条件で保存されていた検体にも関わらず、34 検体中 2 検体でシンシチウムの形成が観察されウイルス分離を確認できた。

[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。従来法を改良し樹立した方法で、6 種類のサブタイプ、4 種類の CRF およびグループ O を含む 27 株の分離ウイルスの定量を行った。得られた定量値は、HIV-1 RNA 定量試薬「コバス TaqMan HIV-1 オート Ver.2.0」を用いて定量した結果と 0.5log の範囲内にあり、本法がウイルス定量法として有用であり、サブタイプ/CRF/グループを問わず同じ検出感度を有していることが確認できた。本法を用いて定量し、一定量を HIV 陰性血漿にスパイクした検体は、抗 HIV 抗体と HIV-1 p24 抗原を同時に検出する、いわゆる第 4 世代 HIV スクリーニング試薬の、感染急性期の検出に重要な HIV-1 p24 抗原の検出感度の評価や、新しい確認検査法として注目されている核酸増幅検出系試薬の臨床的特異性の評価用検体の作製に応用が期待される。

[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、解析を推進している。
[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。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。実用化を目指した基盤研究として、治療分子に内在する非特異的な細胞毒性の評価が求められる。昨年度、Tet On 系を利用し、ZFN1 と ZFN2 を同調的に ATL 由来細胞株で発現させる系を構築し細胞毒性の評価を実施したが、発現量や発現比率の問題で十分な評価が困難であった。特に、ZFN を導入した細胞を樹立する際に、若干の発現リークがあった場合、ZFN に潜在する細胞毒性に対して抵抗性を持つ細胞が選択された可能性も考えられた。これを解決するため、ZFN1 と ZFN2 を IRES 配列で共発現させる組換えレンチウイルスを構築して細胞毒性評価の検討を行うこととした。ベクターの構築が終了したため、今後は組換えレンチウイルスを作製し、ATL 細胞に導入して ZFN の細胞毒性を評価する。
[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。我々は実験用カニクイザルの FV 感染状況について、サル検体（腎、唾液、全血、PBMC）を用いて PCR および遺伝子解析法により調査を行い、ウイルス分離も試みてきた。今年度は更に頭数を増やし、累積頭数 80 頭を検査した。そのうち SFV 陽性となったのは 38 頭 (48%) であった。検体や分離ウイルスの遺伝子解析結果から、同一個体に複数のウイルスの存在が示唆される例が数例見つかった。これが個体内でのウイルス変化の結果なのか、あるいは複数ウイルスの重感染の結果なのかの解明は今後の課題である。
[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、感染研への正式な審査依頼は無かったが、HIV スクリーニング検査試薬２件、HTLV スクリーニング検査試薬２件、HTLV 確認検査試薬１件について、医薬品医療機器総合機構（PMDA）担当者と打ち合わせを行い、PMDA における審査が進行中である。
[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

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を譲渡する事業を行っている。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。昨年度の事業開始から譲渡された現行パネル数は4セットとなった。
[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。今年度は、日本赤十字社より新たにHIV-1陽性34検体およびHIV陰性15検体の譲渡を受けた。次年度以降、値付けおよび特性付けの作業を進める予定である。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HIV陰性パネル（20検体）だけでは申請に必要な基準を満たすことができない。そこで、これまでに日本赤十字社から譲渡を受けたHIV陰性検体のパネル整備作業及び値付けを行い、合計80検体からなる新たなロットのHIV陰性検体パネルを登録、譲渡を開始した。申請を希望するメーカーの申請書作成ならびに審査の迅速化に有用なツールとなる。
[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 26 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「サーベイランスを含む HIV 対策のための検査技術・実験室マネジメント」（平成 26 年 6 月 9 日-7 月 14 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５フェーズ（各フェーズ５年間、前々回のフェーズから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。前回のフェーズ（H23-H25年度）では、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、HIV感染診断とモニタリングのための実験室検査技術」というコース名で研修を３年間実施した。本年度は、新たに３カ年で策定された「サーベイランスを含むHIV対策のための検査技術・実験室マネジメント」の第１回を実施した。ボツワナ、ケニア、ミャンマー、スリランカ、タイの５カ国８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。研修内容は検査診断、実験マネジメント、さらにサーベイランスに必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習は３−４名ずつ３班に分けて行った。研修員に好評を博してきた「PCRワークショップ」は３日間実施した。これまでと同様に、研修員が主体となり希望するPCR関係の実験や塩基配列解析を行い、学習した実験技術・解析方法の確実な習得を目指した。研修員の積極的な参加を得て高い成果をあげることが出来た。なお、見学は昨年度と同様の４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、大阪府公衆衛生研究所）で実施した。

[村上　努、吉村和久、山本浩之、原田恵嘉、草川　茂、西澤雅子、武部　豊、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、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）、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）、立川　愛（東京大学）、竹村太地郎（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. 第 2 回横浜国際保健サマーワークショップ「感染症研究プロジェクト」　静岡県御殿場市国立駿河療養所（平成 26 年 8 月 22-24 日）[石川晃一]

2. 公開セミナー　ガーナを知ろう！「ガーナ大学・野口記念医学研究所の活動」　京都大学 100 周年時計台記念館（平成 26 年 11 月 30 日）[石川晃一]

3. 平成 26 年度 JICA・国立病院機構熊本医療センター共催「HIV/エイズ予防及び対策～MDG6 達成に向けて」研修コース　講師（平成 27 年 3 月 4 日）[山本浩之、石川晃一]

研修業務

1. 医師卒後臨床研修プログラム　講師（平成 26 年 10 月 22 日）[山本浩之]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Takebe Y, Naito Y, Raghwani J, Fearnhill E, Sano T, Kusagawa S, Mbisa JL, Zhang H, Matano T, Brown AJ, Pybus OG, Dunn D, Kondo M; UK Collaborative Group on HIV Drug Resistance: Inter-continental dispersal of HIV-1 subtype B associated with transmission among men who have sex with men in Japan. J Virol 88: 9864-9876, 2014.

2) Nomura T, Yamamoto H, Takahashi N, Naruse TK, Kimura A, Matano T: Identification of SIV Nef CD8$^+$ T cell epitopes restricted by a MHC class I haplotype associated with lower viral loads in a macaque AIDS model. Biochem Biophys Res Commun 450: 942-947, 2014.

3) Terahara K, Ishii H, Nomura T, Takahashi N, Takeda A,

Shiino T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matano T: Vaccine-induced CD107a^{+} CD4^{+} T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection. J Virol 88: 14232-14240, 2014.

4) 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.
5) Jacob B, Yamamoto N, Brandful JM, Ampofo W, Bonney K. Bonney E, Odoom K, Aidoo S, Alale M, Ntim N, Amoah Y, Ofori S, Ndzinu J, Aziati J, Addo N, Nyarko A, Ido E, Ishikawa K, Yamaoka S: Establishment of in-house quantitative real-time RT-PCR assay for HIV-1 viral load measurement: application to evaluate efficacy of ART in Ghanaian patients in an urban setting. J AIDS Clin Res 5: 305, 2014.
6) 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(4): 380-383, 2014.
7) 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(4): 384-388, 2014.
8) 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(6): 598-602, 2014.
9) Chow WZ, Takebe Y, Syafina NE, Prakasa MS, Chan KG, Al-Darraji HA, Koh C, Kamarulzaman A, Tee KK: A newly emerging HIV-1 recombinant lineage (CRF58_01B) disseminating among people who inject drugs in Malaysia. PLoS One 9(1): e85250, 2014.
10) Chow WZ, Nizam S, Ong LY, Ng KT, Chan KG, Takebe Y, Koh C, Kamarulzaman A, Tee KK: Genome sequence of a complex HIV-1 unique recombinant form involving CRF01_AE, subtype B, and subtype B' identified in Malaysia. Genome Announc 2(2), 2014.
11) Zhang W, Han X, An M, Zhao B, Hu Q, Chu Z, Xu J, Cai W, Chen X, Fu J, Wang Z, Wu J, Lu L, Zhuang M, Wu H, Yan H, Liao C, Takebe Y, Shang H: Identification and characterization of a novel HIV-1 circulating recombinant form (CRF59_01B) identified among men-who-have-sex-with-men in China. PLoS One 9(6): e99693, 2014.
12) Cheong HT, Ng KT, Ong LY, Chook JB, Chan KG, Takebe Y, Kamarulzaman A, Tee KK: Cross-border sexual transmission of the newly emerging HIV-1 clade CRF51_01B. PLoS One 9(10): e111236, 2014.
13) Li X, Zang X, Ning C, Feng Y, Xie C, He X, Takebe Y, Sun L, Guo Q, Xing H, Kalish ML, Shao Y: Molecular epidemiology of HIV-1 in Jilin province, northeastern China: emergence of a new CRF07_BC transmission cluster and intersubtype recombinants. PLoS One 9(10): e110738, 2014.
14) 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.
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, Ryo A: 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) Shiino T, Hattori J, Yokomaku Y, Iwatani Y, Sugiura W; Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network: Phylodynamic analysis reveals CRF01_AEdissemination between Japan and neighboring Asian countries and the role of intravenous drug use in transmission. PLoS One 9(7): e102633, 2014.
17) Gu L, Kawana-Tachikawa A, Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, Hosoya N: Development and customization of a color-coded microbeads-based assay for drug resistance in HIV-1 reverse transcriptase. PLoS One 9(10): e109823, 2014.
18) Kusagawa S, Yokota Y, Negishi M, Kondo M, Matano T, Kato S, Takebe Y. Novel HIV-1 recombinant identified in a foreign heterosexual resident in Japan: relatedness to recently reported CRF69_01B, detected primarily among

Japanese men who have sex with men. Genome Announc 3: e00196-15, 2015.

19) Kirby KA, Ong YT, Hachiya A, Laughlin TG, Chiang LA, Pan Y, Moran JL, Marchand B, Singh K, Gallazzi F, Quinn TP, Yoshimura K, Murakami T, Matsushita S, Sarafianos SG: Structural basis of clade-specific HIV-1 neutralization by humanized anti-V3 monoclonal antibody KD-247. FASEB J 29(1): 70-80, 2015.

20) Valdez KPR, Kuwata T, Maruta Y, Tanaka K, Alam M, Yoshimura K, Matsushita S: Complementary and synergistic activities of anti-V3, CD4bs and CD4i antibodies derived from a single individual can cover a wide range of HIV-1 strains. Virology 475: 187-203, 2015.

21) Matsushita S, Yoshimura K, Valdez KPR, Pisupati J, Murakami T, the KD-1002 Study Group: Passive transfer of neutralizing mAb KD-247 reduces plasma viral load in patients chronically infected with HIV-1. AIDS 29(4): 453-462, 2015.

22) Hashimoto M, Nasser H, Bhuyan F, Kuse N, Satou Y, Harada S, Yoshimura K, Sakuragi J, Monde K, Maeda Y, Welbourn S, Strebel K, Abd El-Wahab EW, Miyazaki M, Hattori S, Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Oka S, Takiguchi M, Suzu S: Fibrocytes differ from macrophages but can be infected with HIV-1. J Immunol 195(9):4341-4350, 2015.

23) Takeda S, Hisano M, Komano J, Yamamoto H, Sato H, Yamaguchi K: Influenza vaccination during pregnancy and its usefulness to mothers and their young infants. J Infect Chemother 21(4): 238-246, 2015.

24) Chook JB, Ong LY, Takebe Y, Chan KG, Choo M, Kamarulzaman A, Tee KK: Molecular detection of HIV-1 subtype B, CRF01_AE, CRF33_01B, and newly emerging recombinant lineages in Malaysia. Am J Trop Med Hyg 92(3): 507-512, 2015.

25) Yoshida S, Hattori J, Matsuda M, Okada K, Kazuyama Y, Hashimoto O, Ibe S, Fujisawa S, Chiba H, Tatsumi M, Kato S, Sugiura W: Japanese external quality assessment program to standardize HIV-1 drug-resistance testing (JEQS2010 program) using in vitro transcribed RNA as reference material. AIDS Res Hum Retroviruses 31(3): 318-325, 2015.

26) Watanabe T, Hamada-Tsutsumi S, Yokomaku Y, Imamura J, Sugiura W, Tanaka Y: Postexposure prophylactic effect of hepatitis B virus (HBV)-active antiretroviral therapy against HBV infection. Antimicrob Agents Chemothe 59(2): 1292-1298, 2015.

27) Boonchawalit S, Harada S, Shirai N, Gatanaga H, Oka S, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of maraviroc-resistant mutation M434I in the C4 region of HIV-1 gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. Jpn J Infect Dis, in press.

28) Sugimoto C, Hasegawa A, Saito Y, Fukuyo Y, Chiu KB, Cai Y, Breed MW, Mori K, Roy CJ, Lackner AA, Kim WK, Didier ES, Kuroda MJ: Differentiation kinetics of blood monocytes and dendritic cells in macaques: insights to understanding human myeloid cell development. J Immunol, in press.

2．和文発表

1) 俣野哲朗：エイズワクチン開発の現状と今後の展望．ヒューマンサイエンス（ヒューマンサイエンス振興財団）25(1): 28-31, 2014.

2) 五領舞衣，俣野哲朗：グローバル感染症：エイズワクチン．特集：次世代感染症ワクチン．最新医学（最新医学社）69(4): 804-809, 2014.

3) 石井　洋，俣野哲朗：センダイウイルス．遺伝子治療・診断の最先端技術と新しい医薬品・診断薬の開発，技術情報協会，p236-p241, 2014.

4) 俣野哲朗：ウイルス感染に対するワクチン．病原微生物学ー基礎と臨床ー（荒川宣親，神谷　茂，柳　雄介編）東京化学同人，p225-p229, 2014.

II. 学会発表

1．国際学会

1) Matano T: SIV control by Gag/Vif/Nef-specific CD8 T cells. HIV Elite Controllers Mini-Symposium, University of Miami Miller School of Medicine, Apr 11, 2014, Miami, USA.

2) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, Miura T, Koyanagi Y, Matano T: Therapeutic vaccine-induced Gag-specific $CD8^+$ T cells under anti-retroviral therapy contribute to viral control in a macaque AIDS model. 20th International AIDS Conference, Jul 20-25, 2014, Melbourne, Australia.

3) Boonchawalit S, Harada S, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of Maraviroc (MVC)-resistant mutations in C1 and C4 regions of gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. 20th International AIDS Conference, Jul 20-25, 2014, Melbourne,

Australia.

4) Matano T: Depletion of vaccine-induced CD107a$^-$ CD4$^+$ T cells following AIDS virus infection. 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 23-26, 2014, Nara, Japan.
5) Yamamoto H, Takahashi N, Poplimont H, Nomura T, Matano T: Passive neutralizing antibody-induced elite SIV control lacking early signatures of immunodominant CTL selective pressure. 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 23-26, 2014, Nara, Japan.
6) Matano T: Depletion of vaccine-induced CD107a$^-$ CD4$^+$ T cells following SIV infection. 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
7) Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Broadening of CD8$^+$ T-cell targets precedes accumulation of proviral escape mutations in SIV controllers. 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
8) Boonchawalit S, Harada S, Matsushita S, Yoshimura K: Impact of maraviroc (MVC)-resistant mutations in the C1 and C4 regions of gp120 on sensitivity to antibody-mediated neutralization. 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
9) Harada S, Yokoyama M, Boonchawalit S, Sato H, Matsushita S, Yoshimura K: Genetic and structure-function analyses of human immunodeficiency virus type 1 escape from CD4 mimic small compounds (CD4MCs). 15th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 1-3, 2014, Kumamoto, Japan.
10) Matano T, Terahara K, Ishii H, Nomura T: Vaccine-induced CD107a$^+$ CD4$^+$ T cells are resistant to killing following immunodeficiency virus infection. HIV Research for Prevention 2014 (HIV R4P 2014), Oct 28-31, 2014, Cape Town, South Africa.
11) Karita E, Anzala O, Gazzard B, Bergin P, Nyombayire J, Omosa G, Jackson A, Ingabire R, Ouattara G, Park H, Gumbe A, Chinyenze K, Welsh S, Verlinde C, Clark L, Chetty P, Booley M, Bizimana J, Farah B, Hayes P, Zachariah D, Syvertsen K, Lim MF, Dally L, Barin B, Inoue M, Hara H, Hironaka T, Shu T, Hasegawa M, Matano T, Sayeed E, Parks C, Ackland J, Fast PM, Gilmour J, Cox JH, Lombardo A, Laufer D: Clinical safety and immunogenicity of two HIV vaccines SeV-G (NP) and Ad35-GRIN in HIVuninfected, healthy adult volunteers. HIV Research for Prevention 2014 (HIV R4P 2014), Oct 28-31, 2014, Cape Town, South Africa.
12) Harada S, Yokoyama M, Boonchawalit S, Sato H, Matsushita S, Yoshimura K: Resistance profile of CD4 mimic small compounds (CD4MCs) and the structure analysis by molecular dynamic (MD) simulation. HIV Research for Prevention 2014 (HIVR4P 2014), Oct 28-31, 2014, Cape Town, South Africa.
13) Matano T: A Sendai virus vector vaccine against HIV infection. Symposium 2: Next Generation Vaccine Development, 62nd Annual meeting, Japanese Society for Virology, Nov 10-12, 2014, Yokohama, Japan.
14) Yamamoto H, Matano T: *In vivo* dispositions of SIV_{mac239}-neutralizing antibody induction. 32nd annual symposium on non-human primate models for AIDS, Nov 11-14, 2014, Portland, USA.
15) Nomura T, Yamamoto H, Matano T: Lasting SIV control by multiple Gag, Vif, and Nef epitope-specific CD8$^+$ T cells. 32nd annual symposium on non-human primate models for AIDS, Nov 11-14, 2014, Portland, USA.
16) Harada S, Irahara Y, Boonchawalit S, Goryo M, Tamamura H, Matano T, Matsushita S, Yoshimura K: Mutations at the bottom of the Phe43 cavity are responsible for cross-resistance to NBD analogues. 22nd Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2015), Feb 23-26, 2015, Seattle, USA.

2．国内学会

1) 中村　碧，高原悠佑，松岡佐織，俣野哲朗：抗 HIV 薬投与下の CD8 陽性 T 細胞反応誘導がウイルス複製に及ぼす影響の解析．第 16 回白馬シンポジウム，2014 年 6 月 13-14 日，熊本．
2) 原田恵嘉，横山　勝，Samatchaya Boonchawalit，佐藤裕徳，松下修三，吉村和久：新規エントリー阻害剤の組み合わせによる抗ウイルス効果と耐性変異の解析．第 16 回白馬シンポジウム，2014 年 6 月 13-14 日，熊本．
3) 石井洋：宿主個体内で誘導される多様な CTL 集団とウイルス複製制御．第 17 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2014)，2014 年 7 月 3-5 日，熱海．
4) 原田恵嘉：新規エントリー阻害剤の組み合わせによる抗ウイルス効果と耐性変異の解析．第 17 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2014)，2014 年 7 月 3-5 日，熱海．
5) 俣野哲朗：HIV ワクチン．シンポジウム 1：感染制

御と MHC，第 23 回日本組織適合性学会大会，2014 年 9 月 13-15 日，長崎.

6) Takeda S, Kanbayashi D, Kurata T, Yoshida H, Komano J: Enhanced susceptibility of B lymphoma cells measles virus by EBV type III latency that up-regulated CD150/SLAM. 第 73 回日本癌学会学術総会，2014 年 9 月 25-27 日，横浜.
7) 関紗由里，野村拓志，西澤雅子，横山　勝，佐藤裕徳，團塚　愛，三浦智行，小柳義夫，俣野哲朗：SIV の持続感染・伝播における変異蓄積に関する研究. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，2014 年 11 月 10-12 日，横浜.
8) 原田恵嘉，横山　勝，Samatchaya Boonchawalit，佐藤裕徳，松下修三，吉村和久：CD4 類似低分子化合物誘導体 (CD4MCs) の耐性プロファイルと分子動力学的機構解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，2014 年 11 月 10-12 日，横浜.
9) 引地優太，横山　勝，竹村太地郎，藤野真之，熊倉成，山本直樹，佐藤裕徳，俣野哲朗，村上　努：新規 CXCR4 阻害剤 KRH-3955 耐性 HIV-1 の誘導とその解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会，2014 年 11 月 10 日-12 日，横浜.
10) 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：抗 HIV 薬投与下の治療ワクチン接種により誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製抑制能の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
11) 俣野哲朗：感染者における HIV コントロール．HIV 感染症の Cure は可能か？－基礎研究者の挑戦，市民公開講座，第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
12) 原田恵嘉：CD4 類似低分子化合物 (CD4MCs) と gp120. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
13) 泉福英信，有家　巧，富永　燦，丸岡　豊，吉村和久：HIV 感染者唾液を用いた口腔疾患発症予測因子の検討. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
14) 岡﨑玲子，蜂谷敦子，服部純子，潟永博之，渡邊　大，長島真美，貞升健志，近藤真規子，南　留美，吉田繁，森　治代，内田和江，椎野禎一郎，加藤真吾，千葉仁志，伊藤俊広，佐藤武幸，上田敦久，石ヶ坪良明，古賀一郎，太田康男，山元泰之，福武勝幸，古賀道子，岩本愛吉，西澤雅子，岡　慎一，岩谷靖雅，松田昌和，重見　麗，保坂真澄，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 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
15) 西澤雅子，Johnson Jeffrey，Heneine Walid，杉浦　亙：抗 HIV 治療患者から臨床経過観察中に検出される微少集族薬剤耐性変異の特性と臨床的意義の解析．第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
16) 武田　哲，堀谷まどか，山口晃史：母乳を介した HIV 母子感染予防法の確立．第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
17) 引地優太，武田英里，藤野真之，Eric O. Freed，中山英美，塩田達雄，俣野哲朗，村上　努：HIV-1 マトリックス（MA）変異体を用いた複製前期過程の解析．第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3 日-5 日，大阪.
18) 野村　渉，水口貴章，大橋南美，Mathieu Metifiot，藤野真之，Yves Pommier，駒野　淳，村上　努，玉村啓和：HIV-1 遺伝子産物由来のインテグラーゼ阻害活性を持ったステープルペプチド. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3 日-5 日，大阪.
19) 武部　豊，内藤雄樹，草川　茂，加藤真吾，俣野哲朗，近藤真規子：男性同性愛者 (MSM) 間の HIV-1 流行の国際的感染ネットワークの解明へ向けて: 我が国-中国-世界流行間のこれまで明らかにされてこなかった相互関係について．基礎/社会合同ワークショップ, 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2014 年 12 月 3-5 日，大阪.
20) 近藤真規子，佐野貴子，椎野禎一郎，井戸田一朗，山中　晃，岩室紳也，吉村幸浩，立川夏夫，今井光信，武部　豊，加藤真吾：日本で検出した HIV-1 組換え型流行株および孤立型組換えウイルスの解析．基礎/社会合同ワークショップ, 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会，2014 年 12 月 3 日-5 日，大阪.
21) 俣野哲朗：HIV ワクチン開発：臨床応用に向けて．バイオロジクスフォーラム第 12 回学術集会，2014 年 12 月 12 日，東京.

２０．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HPVによる発癌メカニズムの解析、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・発癌における宿主応答・防御機構の詳細な解析を継続した。HPV疫学調査については、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。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。カルタヘナ議定書の履行に伴い、新興再興ウイルスが海外で発生・流行した際には、分離ウイルスの迅速入手と性質決定が困難になることが予想される。また、培養細胞や動物を用いた感染・増殖系そのものが確立していないウイルスも未だ多い。さらには、テロ対策や倫理上の問題から、リスク変異の実験的探索が制限される事態も生じている。二室では、これら材料と方法の問題が内在する新興再興ウイルス研究を補完する目的で、ゲノム情報から蛋白質の構造・機能・進化情報を迅速に抽出し、所内外のサーベイランス関係者やウイルス研究者に提供している。平成２６年度は、以前より推進している計算科学の応用研究に加えて、数理科学の原理を導入した新たな研究に着手した。蛋白質の構造機能制御と分子進化の基本原理の探求、リスク変異予測、創薬・ワクチン開発などへの還元をめざしている。

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株および新興感染症に関わる病原性細菌 *Mycobacterium massiliense* のゲノム解読、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌のプラスミド比較解析、バイオテロ対策としての国内分離ボツリヌス菌のゲノム分子疫学解析を遂行した。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、国内の主要な血清型のサルモネラ菌の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。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キャプシド蛋白質L2とTRAPPC8の相互作用の役

割

感染初期過程におけるHPV16キャプシド蛋白質L2と膜融合を制御する細胞蛋白質 TRAPPC8 の相互作用の意義について調べた。TRAPPC8 と相互作用する野生型 L2 を含む pseudovirion(WT)と相互作用しない変異 L2 を含む pseudovirion(Mut3)を作成し、不死化ヒト角化細胞 HaCaT に接種後、L2 と脱殻 DNA の細胞内局在を共焦点顕微鏡で観察した。それぞれの L2 はトランスゴルジネットワークに同程度に局在したが、WT L2 は Mut3 L2 に比べ TRAPPC8 と多く共局在し、Mut3 L2 は WT L2 に比べゴルジ体に多く局在した。WT の脱殻 DNA の割合は Mut3 より有意に高く、その多くが TRAPPC8 局在部位とその近接領域で観測された。これらの結果は、L2 による TRAPPC8 の機能阻害が、HPV を包む輸送小胞膜とゴルジ体膜との融合を阻害し、HPV の脱殻を促すことを示唆する。HPV は膜融合阻害による膜の不安定化を利用し、細胞質へ移行・脱殻すると考えられる。(石井克幸)

(2) HPV 複製蛋白質 E1 によるプロテアソーム活性化

HPV ゲノム複製には DNA ヘリカーゼである E1 の機能が必須であることから、E1 発現量の調節機構についてヒト 293 細胞を用いて解析を行い、E1 が自身の ATPase 活性に依存する形で分解されることを見出した。細胞をプロテアソーム阻害剤MG-132で処理するとE1発現量が上昇し、ポリユビキチン化された E1 が検出されたことから、ユビキチン・プロテアソーム系にて E1 が分解されることが示された。さらに E1 発現により、ユビキチン化された細胞内蛋白質の全体量が低下すること、また E1 により細胞内のプロテアソーム活性自体が上昇することが明らかになった。これらの結果は、E1 が自身の ATPase 活性によって細胞内ユビキチン・プロテアソーム系の活性化を誘導し、細胞内環境を変化させることを示している。(松尾理加、柊元　巌)

(3) HPV16 転写開始部位の transcriptome 解析

Cap-analysis gene expression (CAGE) sequencing 法を用いて、HPV16 陽性の培養細胞 (W12, SiHa, CaSki) や CIN1 病変での HPV16 mRNA の開始部位を網羅的に同定した。子宮頸癌細胞 (SiHa, CaSki) では、ほとんどの HPV16 mRNA が癌蛋白質 E6/E7 の発現を担う p97 プロモーターから転写されていたが、CIN1 由来細胞 (W12) や CIN1 臨床検体では、p670 プロモーターを含む様々な転写開始部位が検出された。またこれまでに報告の無いアンチセンス方向の転写開始部位が見出された。(田口　歩[東京大学病院]、長阪一憲[東京大学病院]、松尾理加、柊元　巌、川名　敬[東京大学病院])

2. HPV 感染状況についての調査・研究

(1) 子宮頸癌および前癌病変での HPV 遺伝子型分布の調査

拠点病院から子宮頸癌及び前癌病変 (CIN2/3) の擦過細胞検体を定期的に収集して、HPV DNA 検出と型同定を継続的に行った。合計 647 検体の解析の結果、CIN2 では HPV16 (29.3%)、HPV52 (27.4%)、HPV58 (22.0%)、CIN3 では HPV16 (44.9%)、HPV52 (26.0%)、HPV58 (17.4%)、子宮頸癌では HPV16(47.7%)、HPV18(23.5%)、HPV52(8.7%)が検出された。本データは将来のワクチン効果判定のための、ワクチン導入前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])

(2) ホルマリン固定パラフィン切片からの HPV タイピングの検討

子宮頸部病変を実際に引き起こしている原因型 HPV を同定するために、CIN 病変部から採取したバイオプシー検体のホルマリン固定パラフィン切片からの HPV タイピングを検討した。パラフィン切片から QIAamp DNA FFPE Tissue kit (QIAGEN) にて DNA を抽出して、Modified GP5+/6+ PCR で HPV DNA を増幅し、Bio-Plex ビーズソーターにて検出する方法を用いることで、高感度な HPV DNA 検出と型同定が可能であった。(中村浩美、柊元　巌、藤井多久磨[藤田保健衛生大学])

3. 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)が高発現しており、APOBEC によるとみられる変異がゲノムに蓄積していることから、A3 高発現と発癌との関連が注目されている。昨年度までに、HPV の癌蛋白質 E6 及び E7 が A3B 遺伝子プロモーターを活性化することを明らかにした。今年度は、その活性化機構を調べた。欠失変異を導入した A3B プロモーター領域を使用したレポーター実験により、転写開始点上流にあるプロモーター活性に必要な領域 (BPR: Basal Promoter Region) と、転写開始点近傍にあるプロモーター活性に抑制的に働く領域(IR: Inhibitory Region)を同定した。HPV16 E6 による A3B プロモーター活性化は BPR と IR の両方を介していた。さらに、E6 による IR を介した A3B プロモーター活性化に、宿主転写因子 ZNF384 が関わるこ

とがわかった。HPV 発癌に重要な役割を果たしていると考えられるので、分子機構の詳細をさらに調べる必要がある。(森 清一郎、柊元　巌)

(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 例を解析した結果、E2 領域の hypermutation が CIN1 で 4 例 (36%)、CIN3 で 6 例 (22%) 検出された。3D-PCR 増幅産物の配列を解析したところ、E2 のコード鎖に C to T の置換変異が集積していることが分かった。また、CIN1 と比較して CIN3 で有意に高い変異塩基数を示した。一方で、hypermutation の有無で年齢差は認められなかった。さらに C-to-T 置換変異の標的配列を調べたところ、TpC および CpC に偏って変異が導入されていたことから、APOBEC3 蛋白質の関与が想定された。(柊元　巌、近藤一成[NTT 東日本病院])

(3) 次世代シークエンサーを用いた HPV ゲノム解析

CIN1 患者から採取した子宮頸部擦過細胞および CIN1 由来 HPV16 陽性培養細胞に含まれる HPV16 ゲノムの hypermutation を、次世代シークエンサーにより解析した。4 検体から得られた HPV16 配列データを、HyperMut プログラムを用いて解析したところ、CIN1 患者由来の 1 検体で446463本のreadの内、92本のhypermutation read (>3 mutations)が LCR, E7, E1 領域に検出された。最大 13 カ所の C-to-T 置換変異が認められる read 配列が抽出されており、APOBEC3 による processive な変異導入が示唆された。(柊元　巌、近藤一成[NTT 東日本病院]、西山智明[金沢大学]、村松正道[金沢大学])

II. 遺伝子組換え弱毒ウイルスの増殖が可能な自然免疫系遺伝子ノックアウト iPS 細胞の作出

弱毒生ワクチンの増殖を可能にすることを目指して新規のワクチン製造用培養細胞を作出する。そのために CRISPR/Cas9 システムによる iPS 細胞のゲノム編集系を立ち上げた。ヒト iPS 細胞 (Tic 細胞) をヒトラミニン 521 でコートした容器上で単細胞から培養した。標的配列を 17 塩基長まで短縮したガイド RNA (tru-gRNA) を用いることとし、ヒト 9 番染色体の I 型インターフェロン遺伝子群のテロメア側、セントロメア側の領域でオフターゲット切断が起こりにくい標的配列を検索した。該当する配列に基づき PCR で tru-gRNA 転写用の鋳型を作成し、in vitro で RNA を転写したのち、Cas9 蛋白質との複合体を形成させ、in vitro で標的配列の切断活性を確認した。Cas9-tru-gRNA 複合体をエレクトロポレーションにより iPS 細胞へ導入し、DNA 二本鎖切断後の修復過程での変異導入が起こっていることを確認した。(竹内隆正)

III. 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)

IV. *in silico* 構造解析の応用

1) 病原性ウイルスゲノムデータベースの構築

ゲノム情報の基盤構築の一環として、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付加した。(横山勝、佐藤裕徳)

2)サル TRIM5α抵抗性となる HIV-1 カプシド N 末端ドメインにおけるアミノ酸置換

TRIM5α は HIV-1 カプシドに結合する抗ウイルス因子である。最近、我々のグループと他のグループが、TRIM5αによる宿主間の障壁を克服する２つの異なる HIV-1 カプシドを報告した。本研究では、サルにおける TRIM5 の制約を回避する２つの HIV-1 カプシドの異なる変異の効果を比較するために、カプシドのみが異なる２つのサル指向性 HIV-1 (HIV-1mt) クローンの構築し、TRIM5 を過剰発現したヒト細胞とサル細胞での複製を調べた。アミノ酸配列およびホモロジーモデリング法により構築した構造の比較解析を行うと、２つのカプシド蛋白質は物理化学的性質の似たアミノ酸変異を獲得しているが、N 末端ドメインの構造が異なっていた。２つのカプシドは SIVmac239 カプシドに比べ、TRIM5α抵抗性は不完全であ

ったが、２つのHIV-1mtクローンは、ともにサル細胞で増殖した。以上より、HIV-1に重要なTRIM5抵抗性を与えるカプシド蛋白質の変異のパターンは、複数存在すると考えられる。(横山 勝、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大]、佐藤裕徳)

3)インフルエンザウイルスH1N1pdm09薬剤耐性株のリスク評価

インフルエンザウイルスH1N1pdm09オセルタミビル／ベラミビル耐性株のNA蛋白質のV241IおよびN369K変異は、H275Y 耐性変異ウイルスの安定化に寄与することが報告されている。 2013/14シーズンに、札幌で検出されたH1N1pdm09のオセルタミビル／ベラミビル耐性株は、V241I と N369K 変異に加えて N386K 変異をもっていた。本研究では、N386K 変異が NA 構造安定性に与える影響を解析することで、この耐性株の全国的拡散のリスク評価を行った。その結果、N386K 変異はウイルスの安定化には寄与しないため、ウイルスの安定化に寄与する新たな二次変異を獲得しない限り、ヒトで大規模な流行を引き起こすリスクは低いことが示唆された。(横山　勝、高下恵美[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)

4)サフォードウイルスマウス小脳継代株のカプシドタンパク質の構造解析

本研究では、サフォードウイルス臨床分離株（無菌性髄膜炎患者の脳脊髄液由来）を、マウス小脳で五回継代することにより作出された小脳継代株について、カプシドタンパク質の *in silco* 構造解析を試みた。継代を進めるにつれ、VP2 領域に 2 カ所、VP3 領域に 1 カ所のアミノ酸置換が生じた。同属であるタイラーウイルスのカプシドタンパク質の構造情報（PDB:1TME）を鋳型にし、小脳継代株の立体構造を予測した。その結果、VP2 領域のアミノ酸置換部位は、レセプター結合に関与する可能性のあるポケット領域近傍であることが判明し、VP3 アミノ酸置換部位と新たに水素結合を獲得したことが示唆された。(横山勝、小谷治[研究生・感染病理部]、永田典代[感染病理部]、佐藤裕徳)

V. 数理解析の応用

1)ランダム行列理論によるHIV gp120の動的性質の解析

中和抵抗性HIV-1 gp120の中和抗体逃避のメカニズムは、未だ不明な点が多い。本研究では、HIV-1 gp120 の中和抗体からの逃避および機能発現の分子メカニズムを検討した。抗V3抗体中和を逃避する分子メカニズムを知るために、分子動力学計算により得られた動的相互相関行列からランダム行列理論を用いてアロステリックパスの情報を抽出した。V2、β17、ループF、V3のアミノ酸残基により構成されるアロステリックパスの存在が示唆された。したがって、V1/V2 はこのアロステリックパスを介して V3 の配置を制御することで、V3 を三量体において抗体がアクセスできない位置に配置し、抗体から逃れていると考えられる。次に、このアロステリックパスの機能発現での役割について検討した。このアロステリックパスの近傍にはレセプターである CD4 が結合する Phe43 キャビティがある。ゆえに、このキャビティはコレセプターとの相互作用部位をもつ V3 とアロステリックパスを介して繋がっている。したがって、このアロステリックパスにはCD4結合後のV3の構造変化を導く役割があると考えられる。(横山勝、佐藤裕徳)

2)ノロウイルスGII.4カプシドにおける共変異部位の推定

我々はこれまでに 2006/07 に大流行した GII.4_2006b 変異株は、長期に渡りウイルス粒子表面に位置するカプシドのアミン酸残基に変化の制約が生じていることを明らかにしてきた。本研究では、ノロウイルスGII.4カプシドにおけるアミノ酸変化の制約の原因となる、機能または構造を維持するために重要な共変異部位の推定を行った。ノロウイルスGII.4カプシドの共変異部位として、４つのセクタを推定しセクタ１～４とした。それらをカプシド二量体構造に表示すると、セクタを構成するアミノ酸残基はアミン酸配列では離れていても、立体構造では近傍に位置しているものが多かった。セクタ２および３は主にカプシドのP2表面の血液型抗原結合部位周辺、および二量体境界面に位置していた。セクタは機能または構造を維持するために、セクタ内のアミノ酸残基は共変異しなければならないことから、セクタ２と３はそれぞれ抗体などからの逃避変異によるカプシド二量体の安定性の低下を補償する領域であり、カプシドの構造を維持する役割を果たしていると考えられる。(横山勝、中村浩美、佐藤裕徳)

VI. 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読システムの構築

バイオテロ・新興感染症による非常事態に対応するため、“迅速・網羅的・正確”を兼ね備えた次世代シークエンサーによる超高速ゲノム解読システムを既に構築してきた。これまでに WHO 指定バイオテロ病原体である *Bacillus anthracis* 炭疽菌、*Yersinia pestis* ペスト菌、

Francisella tularensis 野兎病菌、*Burkholderia pseudomallei* 類鼻疽菌のゲノム情報解析を行ってきた。また、近年問題となっている *Salmonella* (Sa)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。昨年度より、次世代シークエンサーの解読リードを病院・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: GcoGSA Sa を構築している。本年度は、国内の主要な血清型のサルモネラ菌(Typhimurium (Ty), Enteritidis (En)および Infantis(In)) のゲノム分子系統解析パイプラインを構築した。国内で多く分離される主要血清型の詳細な分子系統解析が可能となり、PFGE では分解能が低い血清型でも、詳細な型別を行えることが可能になった。また、バイオテロ病原体として問題となるボツリヌス菌の解析も行い、PFGE、MLVA では同一と判定される株が、高分解能なゲノム分子疫学解析を行うことで詳細な比較が可能となり、トレーサビリティーに重要であることが示された。

（関塚剛史、山下明史、黒田誠、見理　剛[細菌第二部]、山本明彦[細菌二部]、岩城正昭[細菌二部]、小宮貴子[細菌二部]、畠山　敬[宮城県保健環境センター微生物部]、中嶋　洋[岡山県環境保健センター]、高橋元秀[医薬品医療機器総合機構]、柴山恵吾[細菌第二部]）

VII. 多剤耐性菌感染症の疫学と国内における対応策に関する研究

大阪市内で、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*、CRE）による院内感染事例が発生した。本事例では、IMP-1 型および CTX-M-2 グループの β-ラクタマーゼ遺伝子を有する多種にわたる腸内細菌科細菌が検出され、PFGE による分子疫学的解析では同一菌株および同一クローンによる伝播の可能性が低い菌株も認められた。従来の集団院内感染事例とは異なる様式を示す本事例の特徴を明らかにするために、本事例の 2011～2014 年に分離された CRE の全プラスミドの配列解析を行った。網羅的全プラスミド解析の結果、bla_{IMP-6} を持つ plasmid は、主に incompatibility group (Inc) N レプリコンに属するプラスミド上に存在したが、全ての Inc N プラスミドは完全に一致するものではなく、部分的な配列の変異もしくは欠失を生じていた。また、年代が進むにつれ、Inc N プラスミドと他のプラスミドとの融合プラスミドが生じていることも明らかにした。bla_{IMP-6} 保有プラスミドは、Inc N プラスミドの骨格を主体とする bla_{IMP-6} 保有プラスミドの塩基置換、挿入欠失、他の Inc 型との融合もしくは相同組換え、bla_{IMP-6} を含む近傍領域の水平伝播、および、種・属を跨いだ広範なプラスミドの水平伝達が生じていたことが示唆された。2006 年に広島で bla_{IMP-6} および $bla_{CTX-M-2}$ 保有 Inc N プラスミドが分離されており、本事例で得られたプラスミドと非常に類似していたが、完全に一致はしていなかった。2006 年には国内に上記プラスミドは存在し、変異の蓄積が始まっており、本事例の 4 年間で大きな変化を生じていたと推測され、少なくとも 2011 年以前から CRE の脅威に晒されていた可能性が示唆された。

(関塚剛史、山下明史、黒田誠、松井真理[細菌第二部]、鈴木里和[細菌第二部]、柴山恵吾[細菌第二部])

VIII. 薬剤耐性プラスミドの由来をトレースする情報解析システムの開発

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。上に報告した通り、薬剤耐性プラスミドによる院内感染事例が国内でも 2011 年以前から起きていた可能性が示唆されている。昨年度我々は、ブラウザ経由で次世代シークエンスデータを用いて網羅的なプラスミド解析を行うことのできるシステム（Global Plasmidome Analyzing Tool: GPAT）と 、GPAT 解析結果からプラスミド間の関係性をネットワークとして表示するシステム（inter Plasmid Analyzing Tool: iPAT）を構築した。平成 26 年度は GPAT 中で使用するプログラムやパラメーターの見直しを行い、使用者がより容易に正しい結果を導き出しやすくする工夫を行った。また、GPAT 解析データが蓄積し必要なデータを発見することが難しくなってきたため、蓄積した膨大なデータの中から必要なデータを発見しやすくするための結果一覧表示機能を実装した。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

IX. 集団食中毒事例に係る病原細菌のゲノム解析および腸内細菌叢のメタゲノム解析 (O111 の比較ゲノムの結果)

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、

本事例の富山の溶血性尿毒症症候群(HUS)患者由来分離菌株(EHEC O111 110512 株)の完全長ゲノム配列決定を行っている。現段階で、7 つの完全長 plasmid を決定し、染色体の gap 箇所は stx2 ファージを除くλファージ領域 3 箇所である。本事例の特徴的な領域を抽出するために、国内分離株 106 株の配列決定を行い、染色体配列および plasmid も含めた包括的な解析を行った。O111 110512 株 reference にし、O111 分離菌株の BLAST atlas 解析を行ったところ、一箇所のλ group phage および Stx2 prophage の領域で高頻度に欠失を生じている箇所が認められた。詳細な比較をしたところ、Stx2 prophage の *stx2AB* の上流領域において、本事例の O111 110512 株と 80%以上の相同性を有する ORF を持つ株が少ない傾向が認められた。本事例の HUS 発症患者由来 O111 分離株以外に、2008 年に分離された HUS 発症患者由来 O111 EHEC 株でも *stx2AB* の上流領域が高度に保存されていることが明らかとなった。国内分離株では HUS 発症患者由来の株数が少ないため、臨床情報が明記されている 2002～2012 年にデンマークで分離された non-O157 EHEC 株のゲノムデータ (n=96, BioSample ID: SAMEA2593950 ～ SAMEA2593983)を用いて、Stx2 prophage の比較解析を同様に行った。HUS 発症 non-O157 の 19 株中、8 株 (O26: 3 株, O86: 1 株, O103: 3 株および O111: 1 株)においても、同様に *stx2AB* の上流領域が保存されていた。*stx2AB* を有する国内分離 O111 株およびデンマーク non-O157 EHEC 株の HUS 発症患者由来株(n=20)および未発症由来株(n=79)の *stx2AB* 上流領域上の ORF の保有率を Fisher の正確確率統計で検定を行った結果、HUS 発症患者由来 *stx2* 陽性 non-O157 EHEC 株に於いて、nin region 内の *ninG* から general recombination region の recombinase *bet* の領域、antirepressor および adenine methylase の保有率が有意に高かった。本事例に特徴的であり、他の O111 分離株およびその他の血清型大腸菌は存在しない ORF は認められなかった。O111 110512 株には、7 つの plasmid が存在しているため、供試した国内分離株間のそれら plasmid の保有パターンの比較も行った。pEBS512-01 (multiple antibiotic resistance virulence plasmid)、-02 (virulence plasmid)、-05 および pEBS512-06 の保有率は全体的に高い傾向を示していたが、本事例に特徴的および重症患者由来特徴的 plasmid の存在は、確認されなかった。以上の結果より、HUS 発症患者由来 EHEC に特徴的な ORF が Stx2 prophage 上に存在することが示唆された。

（関塚剛史、黒田 誠、竹内史比古、伊豫田淳[細菌第一部]、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]）

X. 難治性腸疾患患者の腸内細菌フローラ解析

難治性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎（UC）は、個有の遺伝的背景と腸内細菌叢が密接に関連して発症する事が示唆されている。三種の抗菌剤（アモキシシリン／テトラサイクリン若しくはホスホマイシン／メトロニダゾール）を二週間投薬するだけで、その疾患が 1 年以上緩解する治療例が報告されている。しかしながら、その患者腸管内の膨大な細菌叢の中で、どの細菌が最もその疾患と相関するのかは不明である。本研究では、UC 発症の環境要因となる細菌叢を抗菌剤治療前後でメタゲノム解析を行い、本疾患と密接に関連する細菌の探索を行なった。UC 患者 59 名の治療前、治療後(合計 161 サンプル)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, Enterobacter, Rothia, Leuconostoc* を含む 17 属が多い傾向にあり、治療後では、*Bifidobacterium, Corynebacterium, Ruminococcus* を含む 13 属が増える傾向を示した。また、潰瘍性大腸炎（UC）患者より臨床分離された *F. varium* Fv113 株の全ゲノム塩基配列決定を行い、染色体と２つのプラスミドの完全長配列を決定した。染色体、２つのプラスミド配列の全長配列は、それぞれ、3,965,155 bp, 89,623 bp および 68,063 bp であった。現在、詳細なゲノム比較解析を行っている。

（関塚剛史、黒田 誠）

XI. 川崎病患児の腸内細菌フローラ解析

川崎病症例の細菌培養検査に使用した便検体をメタゲノム解析法にて細菌フローラ解析を行った。川崎病に関連して検出頻度の高い細菌種を塩基配列の相同性検索と LEfSe 法にて特徴的な細菌種を特定した。患者急性期便から *Streptococcus* spp.が優位な検出量として得られたため、本研究のために培養分離を行い確保した。各分離株の全ゲノム解読の結果、肺炎球菌 *S. pneumoniae* もしくは *Streptococcus* mitis group と系統が近い細菌種であると推定された。16S-rRNA および全ゲノム遺伝子の分子系統解析結果から新種の菌株であることが判明した。それぞれの分離株ゲノム情報にはスーパー抗原様の毒素は保有しておらず、明確な病原性因子を特定することができなかった。そこでマウス C57BL/6 に当該菌の腹腔接種にて病原性評価を行ったが、マウスへの顕著な病原性を示す菌株はなかった。腹腔内投与のみでは評価が不十分なため、静注投与による病原性評価とともにアジュバント併用で自己免疫様の病態を惹起するなど工夫を要すると推察された。

（関塚剛史、黒田誠、絹巻暁子[東京大学・小児科], 濱田洋通[東京女子医大・八千代医療センター]）

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。加熱および非加熱滅菌による糞便を用いた培地を作製し、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した。16S metagenome 解析を行ったところ、非加熱滅菌糞便液体培地、加熱滅菌糞便液体培地および GAM 液体培地それぞれで、少なくとも 1.07%、5.55%および 14.01%の未知・難培養細菌が存在することが予測された。特に、加熱滅菌糞便液体培地では、2.53%および 1.35%の配列が新規 *Ruminococcus* 属細菌であることが予測された。GAM 液体培地では、大部分が新規 *Megasphaera* 属細菌であることが予測された。

（関塚剛史、黒田　誠）

XIII. 新興感染症に関わる病原性細菌の比較ゲノム解析

Mycobacterium massiliense, M. abscessus sensu stricto および *M. bolletii* を含む *M. abscessus* group subsp.は、土壌、水等の自然環境中に存在するのみならず、呼吸器、皮膚および皮下組織病変からも分離される病原体である。*M. massiliense* の特徴をゲノムレベルで明らかにするため、*M. massiliense* JCM 15300 の完全長ゲノム配列を決定し、*Mycobacterium* spp.および *M. abscessus* group subspp.間で比較ゲノム解析を行った。その結果、*M. massiliense* には特徴的なゲノムアイランド *M. massiliense* Genomic Island 1 (MmGI-1)が存在し、MmGI-1 には、ß 酸化に関連する遺伝子が多数存在する事が明らかとなった。また、*M. massiliense* には、嫌気呼吸およびミコール酸のシクロプロパン合成に関与する事が示唆される遺伝子も存在していた。これら *M. massiliense* に特徴的な遺伝子領域の保有率を国内分離株の *M. abscessus* および *M. massiliense* で確認したところ、国内株でも高い保存性が認められた。培養実験の結果、MmGI-1 陽性 *M. massiliense* は、MmGI-1 陰性株よりも増殖能力が高く、付加的な脂質代謝が増殖に有利に働く事が示唆された。また、MmGI-1 上の遺伝子は、*M. avium* complex (MAC)の遺伝子と相同性を有する事から、*M. massiliense* と MAC 間で遺伝子の水平伝播もしくは組換えが生じた事が示唆された。

（関塚剛史、甲斐雅規[ハンセン病研究センター]、中永和枝[ハンセン病研究センター]、中田登[ハンセン病研究センター]、鹿住祐子[結核予防会・結核研究所]、前田伸司[結核予防会・結核研究所]、牧野正彦[ハンセン病研究センター]、星野仁彦[ハンセン病研究センター]、黒田 誠）

XIV. 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

全国の医療機関から症状･所見とともに適切な時期に臨床検体を収集し、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、日本脳炎患者の予後ならびに急性脳炎・脳症、ADEM の実態・病因解明に資することを目的とする。分担研究者は、急性脳炎・脳症の原因究明を目的とした次世代シークエンサー(next-generation sequencing: NGS)による網羅的病原体検索を担当した。

本年度は３０名の不明脳炎・脳症患者について、網羅的病原体検索が必要と判断された検体の検査を行った（P10-P44　３５症例のうち５症例は NGS 検査前に当該病原体が確定)。それぞれの患者髄液から、日本脳炎ウイルス、Human herpes virus-4, 8, Human parainfluenza virus 4b, Human bocavirus, Norovirus, 大腸菌等、様々な病原体配列を検出し、症例個々において多様な感染症による脳炎・脳症へと進展している可能性が示唆された。髄液からは検出されないが、咽頭拭い液から Human adenovirus C, Human herpes virus-5, 6B, 7, Enterovirus B, Human parainfluenza virus 3 を検出し、呼吸器感染症の憎悪も関連している可能性が示唆された。血液関連検体（血清、血漿、全血）から、主に Torque teno virus （亜種含む）を検出する症例が多く、不顕性感染しているウイルスが全身性炎症にともなって再活性化している可能性が示唆された。個別 PCR（対象配列が短く限定的）で検出できない症例においても、NGS は病原体ゲノム DNA の欠片でも検出でき、感度もおよそ１０倍程度高いことが報告されているため、感染症の疑いが濃厚な症例においては非常に有効な検査手法である。ただし、研究段階の高度な核酸検査法であって確定検査診断ではないため、抗体検査法による IgM 陽転を検討するなど相補的な検査法をもって検証すべきだと思われる。

（関塚剛史、黒田誠、片野晴隆[感染病理部], 高崎智義[ウイルス第一部]、多屋馨子[感染症疫学センター]）

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、柊元　巌、黒田　誠)

国際協力関係業務

WHO HPV ラボラトリーネットワーク活動

WHO によって結成された HPV ラボラトリーネットワーク（HPV ラボネット）の、西太平洋地域リファレンスラボとしての活動を行った。HPV ワクチンの WHO ガイドラインの改訂を目的とした WHO 会議（ジュネーブ）に参加し、改訂版ドラフトに関して討議を行った。(柊元　巌)

発 表 業 績 一 覧

I.　I. 誌 上 発 表

1.　欧文発表

1) Azuma Y, Kusumoto-Matsuo R, Takeuchi F, Uenoyama A, Kondo K, Tsunoda H, Nagasaka K, Kawana K, Morisada T, Iwata T, Aoki D, Kukimoto I. Human papillomavirus genotype distribution in cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 and invasive cervical cancer in Japanese women. Jpn. J. Clin. Oncol. 44: 910-917 (2014)

2) Ohba K, Ichiyama K, Yajima M, Gemma N, Nikaido M, Wu Q, Chong P, Mori S, Yamamoto R, Wong JE, Yamamoto N. In vivo and in vitro studies suggest a possible involvement of HPV infection in the early stage of breast carcinogenesis via APOBEC3B induction. PLoS ONE. 9: e97787 (2014)

3) Taguchi A, Nagasaka K, Kawana K, Hashimoto K, Kusumoto-Matsuo R, Plessy C, Thomas M, Nakamura H, Bonetti A, Oda K, Kukimoto I, Carninci P, Banks L, Osuga Y, Fujii T. Characterization of novel transcripts of human papillomavirus type 16 using CAGE technology. J. Virol. 89: 2448-2452 (2015)

4) Monjurul AM, Wakae K, Wang Z, Kitamura K, Liua G, Koura M, Imayasu M, Sakamoto N, Hanaoka K, Nakamura M, Kyo S, Kondo S, Fujiwara H, Yoshizaki T, Mori S, Kukimoto I, Muramatsu M. APOBEC3A and 3C decreases human papillomavirus 16 pseudovirion infectivity. Biochem. Biophys. Res. Commun. 457: 295-299 (2015)

5) Mori S, Takeuchi T, Ishii Y, Kukimoto I. Identification of APOBEC3B promoter elements responsible for activation by human papillomavirus type 16 E6. Biochem. Biophys. Res. Commun. 460: 555-60 (2015)

6) Nomaguchi M, Miyake A, Doi N, Fujiwara S, Miyazaki Y, Tsunetsugu-Yokota Y, Yokoyama M, Sato H, Masuda T, Adachi A. Natural single-nucleotide polymorphisms in the 3' region of HIV-1 pol gene modulate viral replication ability. ***J. Virol.***, 88(8):4145-4160, 2014.

7) Nomaguchi M, Nakayama E.E, Yokoyama M, Doi N, Igarashi T, Shioda T, Sato H, Adachi A. Distinct combinations of amino acid substitutions in N-terminal domain of Gag-capsid afford HIV-1 resistance to rhesus TRIM5α. ***Microbes Infect.***, 16:936-944, 2014.

8) Takashita E, Kiso M, Fujisaki S, Yokoyama M, Nakamura K, Shirakura M, Sato H, Odagiri T, Kawaoka Y, Tashiro M, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Characterization of a large cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus cross-resistant to oseltamivir and peramivir during the 2013/2014 influenza season in Japan. ***Antimicrob. Agents. Chemother.***, 59(5): 2607-2617, 2015.

9) Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M.
GcoGSA-BA: a global core genome SNP analysis for *Bacillus anthracis*.
Health Secur. 2015 Jan-Feb;13(1):64-8. Epub 2015 Jan 28. PubMed PMID: 25812430; PubMed Central PMCID: PMC4389694.

10) Lee K, Kusumoto M, Sekizuka T, Kuroda M, Uchida I, Iwata T, Okamoto S, Yabe K, Inaoka T, Akiba M. Extensive amplification of GI-VII-6, a multidrug resistance genomic island of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, increases resistance to extended-spectrum cephalosporins. Front Microbiol. 2015 Feb 10;6:78. doi: 10.3389/fmicb.2015.00078. eCollection 2015. PubMed PMID: 25713569; PubMed Central PMCID: PMC4322709.

11) Shibata S, Sekizuka T, Kodaira A, Kuroda M, Haga K, Doan YH, Takai-Todaka R, Katayama K, Wakita T, Oka T, Hirata H.
Complete Genome Sequence of a Novel GV.2 Sapovirus Strain, NGY-1, Detected from a Suspected Foodborne Gastroenteritis Outbreak.
Genome Announc. 2015 Feb 12;3(1). pii: e01553-14. doi: 10.1128/genomeA.01553-14. PubMed PMID: 25676762; PubMed Central PMCID: PMC4333662.

12) Sugita-Konishi Y, Fukuda Y, Mori K, Mekata T, Namba T, Kuroda M, Yamazaki A, Ohnishi T.
New validated rapid screening methods for identifying *Kudoa septempunctata* in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*).
Jpn J Infect Dis. 2015;68(2):145-7. doi: 10.7883/yoken.JJID.2014.133. Epub 2014 Dec 24. PubMed PMID: 25672358.

13) Kuroda M, Niwa S, Sekizuka T, Tsukagoshi H, Yokoyama M, Ryo A, Sato H, Kiyota N, Noda M, Kozawa K, Shirabe K, Kusaka T, Shimojo N, Hasegawa S, Sugai K, Obuchi M, Tashiro M, Oishi K, Ishii H, Kimura H.
Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C.
Sci Rep. 2015 Feb 2;5:8185. doi: 10.1038/srep08185. PubMed PMID: 25640899; PubMed Central PMCID: PMC4313092.

14) Ching PK, de los Reyes VC, Sucaldito MN, Tayag E, Columna-Vingno AB, Malbas FF Jr, Bolo GC Jr, Sejvar JJ, Eagles D, Playford G, Dueger E, Kaku Y, Morikawa S, Kuroda M, Marsh GA, McCullough S, Foxwell AR.
Outbreak of henipavirus infection, Philippines, 2014.
Emerg Infect Dis. 2015 Feb;21(2):328-31. doi: 10.3201/eid2102.141433. PubMed PMID: 25626011; PubMed Central PMCID: PMC4313660.

15) Hirano E, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Yoshida LM, Kuroda M, Noda M, Ishioka T, Kozawa K, Ishii H, Yoshida A, Oishi K, Ryo A, Kimura H.
Molecular evolution of human respiratory syncytial virus attachment glycoprotein (G) gene of new genotype ON1 and ancestor NA1.
Infect Genet Evol. 2014 Dec;28:183-91. doi: 10.1016/j.meegid.2014.09.030. Epub 2014 Oct 2. PubMed PMID: 25283803.

16) Doi I, Nagata N, Tsukagoshi H, Komori H, Motoya T, Watanabe M, Keta T, Kawakami M, Tsukano T, Honda M, Ishioka T, Takeda M, Ryo A, Kuroda M, Oishi K, Kimura H.
An outbreak of acute respiratory infections due to human respiratory syncytial virus in a nursing home for the elderly in Ibaraki, Japan, 2014.
Jpn J Infect Dis. 2014;67(4):326-8. PubMed PMID: 25056086.

17) Tsuyoshi Sekizuka, Masanori Kai, Kazue Nakanaga, Noboru Nakata, Yuko Kazumi, Shinji Maeda, Masahiko Makino, Yoshihiko Hoshino and Makoto Kuroda.
Complete genome sequence and comparative genomic analysis of *Mycobacterium massiliense* JCM 15300 in the *Mycobacterium abscessus* group reveal a conserved genomic island MmGI-1 related to putative lipid metabolism.
PLoS One. 9(12):e114848, 2014

18) Akifumi Yamashita, Tsuyoshi Sekizuka and Makoto Kuroda.
Characterization of Antimicrobial Resistance Dissemination across Plasmid Communities Classified by Network Analysis.
Pathogens. 3(2):356-76, 2014

19) Yoshitaka Shirasago, Tsuyoshi Sekizuka, Kyoko Saito, Testuro Suzuki, Takaji Wakita, Kentaro Hanada, Makoto Kuroda, Ryo Abe and Masayoshi Fukasawa.
Isolation and Characterization of A Huh.7.5.1-Derived Cell Clone Highly Permissive to Hepatitis C Virus.
Jpn J Infect Dis. (in press) 2014

20) Wataru Kitagawa, Miyako Hata, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda and Jun Ishikawa.
Draft Genome Sequence of *Rhodococcus erythropolis* JCM 6824, an Aurachin RE Antibiotic Producer.
Genome Announc. 9;2(5), 2014

21) Naoki Osada, Arihiro Kohara, Toshiyuki Yamaji, Noriko Hirayama, Fumio Kasai, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda and Kentaro Hanada.
The genome landscape of the african green monkey kidney-derived vero cell line.
DNA Res. 21(6):673-83, 2014

22) Yuko Matsumoto, Hidemasa Izumiya, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda and Makoto Ohnishi.
Characterization of $bla_{\text{TEM-52}}$-carrying plasmids of extended-spectrum-β-lactamase-producing Salmonella enterica isolates from chicken meat with a common supplier in Japan.
Antimicrob Agents Chemother. 58(12):7545-7, 2014

23) Shinya Tsuzuki, Hitomi Fukumoto, Sohtaro Mine, Noriko Sato, Makoto Mochizuki, Hideki Hasegawa, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Takeji Matsushita and Harutaka Katano.

Detection of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus in a fatal case of myocarditis in a seven-month-old girl.
Int J Clin Exp Pathol. 7(8):5308-12, 2014

24) Tsuyoshi Kenri, Tsuyoshi Sekizuka, Akihiko Yamamoto, Masaaki Iwaki, Takako Komiya, Takashi Hatakeyama, Hiroshi Nakajima, Motohide Takahashi, Makoto Kuroda and Keigo Shibayama.
Genetic characterization and comparison of *Clostridium botulinum* isolates from botulism cases in Japan between 2006 and 2011.
Appl Environ Microbiol. 80(22):6954-64, 2014

25) Tsuyoshi Sekizuka, Ken-ichi Lee, Makoto Kuroda, Masahiro Kusumoto, Taketoshi Iwata, Ikuo Uchida, Kiyoshi Tanaka, Yukino Tamamura and Masato Akiba.
Whole-Genome Sequence of CMY-2 β-Lactamase-Producing *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Strain L-3553.
Genome Announc. 2(4), 2014

26) Fuminori Mizukoshi, Makoto Kuroda, Hiroyuki Tsukagoshi, Tsuyoshi Sekizuka, Keiji Funatogawa, Yukio Morita, Masahiro Noda, Kazuhiko Katayama and Hirokazu Kimura.
A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan.
Microbiol Immunol. 58(9):536-9, 2014

27) Kasumi Ishida, Tsuyoshi Sekizuka, Kyoko Hayashida, Junji Matsuo, Fumihiko Takeuchi, Makoto Kuroda, Shinji Nakamura, Tomohiro Yamazaki, Mitsutaka Yoshida, Kaori Takahashi, Hiroki Nagai, Chihiro Sugimoto and Hiroyuki Yamaguchi.
Amoebal endosymbiont *Neochlamydia* genome sequence illuminates the bacterial role in the defense of the host amoebae against *Legionella pneumophila*.
PLoS One. 9(4):e95166, 2014

28) Kouji Sakai, Yasushi Ami, Maino Tahara, Toru Kubota, Masaki Anraku, Masako Abe, Noriko Nakajima, Tsuyoshi Sekizuka, Kazuya Shirato, Yuriko Suzaki, Akira Ainai, Yuichiro Nakatsu, Kazuhiko Kanou, Kazuya Nakamura, Tadaki Suzuki, Katsuhiro Komase, Eri Nobusawa, Katsumi Maenaka, Makoto Kuroda, Hideki Hasegawa, Yoshihiro Kawaoka, Masato Tashiro and Makoto Takeda.
The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses.
J Virol. 88(10):5608-16, 2014

2. 和文発表

1) 柊元　巖、HPV ワクチン、臨床と微生物、Vol. 41, No. 6, 725-729, 2014.

2) 黒田誠　病原体ゲノム解析の急速な進歩と細菌学の新たな展開　「感染・炎症・免疫」第 44 巻　第 4 号 374-377（2015 年 1 月）

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kusumoto-Matsuo R, Mori S, Maehama T, Kukimoto I. Wee1 binds to and stabilizes the E1 helicase of human papillomavirus type 16, 29th International Papillomavirus Conference（2014 年 8 月、シアトル）

2) Taguchi A, Nagasaka K, Kawana K, Hashimoto K, Kusumoto-Matsuo R, Kamoto H, Bonetti A, Kukimoto I, Carninci P, Banks L, Osuga Y, Fujii T. Characterization of novel transcripts of human papillomavirus type 16 and host interactions using CAGE technology, 29th International Papillomavirus Conference（2014 年 8 月、シアトル）

3) Sato H, Yokoyama M, Nakamura H, Motomura K. Strong constraints on changes in capsid protein of norovirus pandemic lineage GII.4_2006b after the onset of outbreaks. XVI International Congress of Virology (International Union of Microbiological Societies 2014 Congress), Montréal, Canada, 2014.

4) Motomura K, Ode H, Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Takeda N, Sato H. Deep Sequencing-based analysis of norovirus populations in individuals with acute Gastroenteritis. XVI International Congress of Virology (International Union of Microbiological Societies 2014 Congress), Montréal, Canada, 2014.

5) Yokoyama M, Sato H. Structural dynamics and correlated motions of HIV-1 gp120 revealed by molecular dynamics simulation. XVI International Congress of Virology (International Union of Microbiological Societies 2014 Congress), Montréal,

Canada, 2014.

6) Kouji Sakai, Yasushi Ami, Maino Tahara, Toru Kubota, Noriko Nakajima, Makoto Kuroda, Hideki Hasegawa, Yoshihiro Kawaoka, Masato Tashiro, Makoto Takeda. TMPRSS2 is essential for influenza virus replication in vivo. International Union of Microbiological Societies (IUMS 2014) (2014 年 7 月、カナダ・モントリオール)

7) Yoshitaka Shirasago, Tsuyoshi Sekizuka, Kyoko Saito, Testuro Suzuki, Takaji Wakita, Kentaro Hanada, Makoto Kuroda, Ryo Abe, Masayoshi Fukasawa. Isolation and Characterization of A Huh.7.5.1-Derived Cell Clone Highly Permissive to Hepatitis C Virus. HCV meeting 2014 (2014 年 9 月　カナダ・バンフ)

8) M. Kai, N. T. Sekizuka, A. A. Maghanoy, M. F. Balagon, P. Saunderson, M. Makino, M. Kuroda. Comparison of genome sequences between *Mycobacterium leprae* prepared before and after passaging in nude mice footpad. The Join Meeting The XVIII International Symposium on Gnotobiology (XVIII-ISG) III International Ecologic Forum "Environment and human health" (EcoForum) (2014 年 9 月　St-Petersburg, ロシア)

9) Jun Abe, Tyota Ebata, Naoki Saito, Kentaro Okunushi, Kazuhiko Nakabayashi, Makoto Kuroda. Human oral, gut and blood microbiota in patients with Kawasaki disease. International Kawasaki Disease Symposium 2015 (2015 年 2 月　アメリカ・ハワイ)

2. 国内学会

1) 柊元　巖、ヒトパピローマウイルスと子宮頸癌の基礎、安全性評価研究会（2014 年 4 月、大阪）

2) 柊元　巖、ヒトパピローマウイルスのゲノム変異と子宮頸部発癌、第 24 回感染研シンポジウム(2014 年 5 月、東京）

3) 森　清一郎、柊元　巖、ヒトパピローマウイルス 16 型のがん蛋白質 E6/E7 による APOBEC3B プロモーターの活性化、第 73 回日本癌学会学術総会（2014 年 9 月、横浜）

4) 柊元　巖、近藤　一成、岩田　卓、川名　敬、日本人女性の CIN2/3 および子宮頸部浸潤癌での HPV 遺伝子型分布、第 73 回日本癌学会学術総会（2014 年 9 月、横浜）

5) 森　清一郎、竹内　隆正、石井　克幸、柊元　巖、ヒトパピローマウイルス 16 型 E6/E7 による APOBEC3B プロモーターの活性化機構、第 62 回日本ウイルス学会学術集会（2014 年 11 月、横浜）

6) 若江　亨祥、Ahasan M Monjurul、王　哲、喜多村晃一、森　清一郎、柊元　巖、中村　充弘、藤原浩、村松　正道、APOBEC3 は HPV16 Pseudovirion の感染性を低下させる、第 62 回日本ウイルス学会学術集会（2014 年 11 月、横浜）

7) 増田　雄司、柊元　巖、益谷　央豪、Mechanisms of ubiquitin chain elongation on p53 by a HECT E3 ligase, E6AP-E6 complex、第 37 回日本分子生物学会年会（2014 年 11 月、横浜）

8) 横山　勝、中村浩美、佐藤裕徳. ノロウイルス GII.4 カプシドにおける共変異部位の推定. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

9) 佐藤裕徳、横山　勝、本村和嗣、中村浩美、田村務、吉澄志磨、岡智一郎、片山和彦、武田直和、野田　衛、田中智之、Norovirus Surveillance Group of Japan. ヒト集団におけるノロウイルス流行株の多様性と進化. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

10) 本村和嗣、飯塚節子、中村昇太、元岡大祐、大出裕高、杉浦亙、佐藤裕徳、田中智之、武田直和.ノロウイルス集団食中毒事例におけるウイルス亜集団遺伝系統の包括的解析. 第62回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

11) 泉泰輔、横山　勝、白川康太郎、酒井遥介、宮崎恭行、佐藤裕徳、高折晃史. The Possibility for developing a novel antiHIV-1 Drug targeting APOBEC3GVif interaction. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

12) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、横山　勝、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤　彩、佐藤裕徳、小田切孝人、全国地方衛生研究所. 2013/14 シーズンにおける NA 阻害剤耐性 A (H1N1) pdm09 ウイルスの地域流行. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

13) 関紗由里、野村拓志、西澤雅子、横山　勝、佐藤裕徳、團塚　愛、三浦智行、小柳義夫、俣野哲朗. SIV の持続感染・伝播における変異蓄積に関する研究. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

14) 引地優太、横山　勝、竹村太地郎、藤野真之、熊倉　成、山本直樹、佐藤裕徳、俣野哲朗、村上　努. 新規 CXCR4 阻害剤 KRH3955 耐性 HIV1 の誘導とその解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 横浜,

2014.

15) 原田恵嘉、横山　勝、Boonchawalit Samatchaya、佐藤裕徳、松下修三、吉村和久. CD4 類似低分子化合物誘導体（CD4MCs）の耐性プロファイルと分子動力学的機構解析. 第62回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

16) 岡智一郎、横山　勝、高木弘隆、小島宏建、長野哲雄、岡部隆義、遠矢幸伸、片山和彦、佐藤裕徳. カリシウイルスプロテアーゼの基質を模倣した非ペプチド性化合物の抗ウイルス活性の評価. 第62回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.

17) 佐藤 裕徳、本村 和嗣、横山 勝. 環境ウイルスとヒト集団の関わり. 第37回日本分子生物学会年会, 横浜, 2014.

18) 横山　勝、佐藤裕徳. ランダム行列理論によるHIV gp120の動的性質の解析. 第37回日本分子生物学会年会, 横浜, 2014.

19) 横山　勝、佐藤裕徳. HIV-1 gp120における中和逃避ためのアロステリックパス. 第28回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪, 2014.

20) 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114回日本皮膚科学会総会（横浜市, 2015年5月）

21) 磯部順子、木全恵子、清水美和子、金谷潤一、増田千恵子、関塚剛史、黒田誠、大西真、佐多徹太郎, 綿引正則　2011 集団食中毒検体から分離されたStx2ファージの特徴。 第 18 回腸管出血性大腸菌感染症研究会 (京都市　2014年7月)

22) 黒木靖敏、松尾淳司、石田香澄、山崎智拡、山根千夏世、中村眞二、関塚剛史、黒田誠、杉本千尋、永井宏樹、山口博之。　原始的なクラミジア Neochlamydia S13 が共生するアカントアメーバのレジオネラ撃退機序を解明するための基礎的な検討。 日本細菌学会北海道支部会 （札幌市、2014年8月）

23) 熊谷翔大、松尾淳司、石田香澄、山崎智拡、中村眞二、関塚剛史、黒田誠、杉本千尋、永井宏樹、山口博之。　比較ゲノム解析から紐解くクラミジアの多様性と進化。　日本細菌学会北海道支部会（札幌市、2014年8月）

24) 李 謙一、関塚剛史、黒田誠、楠本正博、内田郁夫、岩田剛敏、岡本晋、矢部希見子、稲岡隆史、秋庭正人。　サルモネラ薬剤耐性アイランド多コピー化の様式解明。 第157回日本獣医学会学術集会。(札幌市　2014年9月)

25) 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。　宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は､インフルエンザウイルスの生体内活性化酵素である。　第 157 回日本獣医学会学術集会。　(札幌市　2014年9月)

26) 関塚剛史、李 謙一、黒田誠、楠本正博、岩田剛敏、内田郁夫、田中聖、玉村雪乃、秋庭正人。　多剤耐性 *Salmonella Typhimurium* のゲノム生物学的特徴。第157回日本獣医学会学術集会。　(札幌市　2014年9月)

27) 烏谷竜哉，関塚剛史，山下明史，黒田 誠，野村恭晴，調 恒明，仙波敬子，宮本 仁志，四宮博人。 *Salmonella enterica* serovar 4:i:- 株の次世代シークエンサーによるゲノム解析。　第67回日本細菌学会中国四国支部総会（徳島市　2014年10月）

28) 趙娜、中山真彰、関塚剛史、黒田誠、阿戸学、中島千絵、鈴木定彦、井上哲圭、大原直也。　*metK* の変異はBCGにパラアミノサリチル酸に対する耐性を附与する。　第67回日本細菌学会中国四国支部総会（徳島市　2014年10月）

29) 堀江亜矢、関塚剛史、竹内史比古、黒田 誠、花田賢太郎、山地俊之。　志賀毒素の細胞傷害作用に対するゲノムワイドshRNAスクリーニング。　第87回日本生化学会大会　(京都市　2014年10月)

30) 阿部淳、中林一彦、江畑亮太、黒田誠。　川崎病患者の末梢血、咽頭・直腸スワブのメタゲノム解析。　第34 回日本川崎病学会・学術集会　（千葉県八千代市　2014年10月）

31) 福本瞳、高橋健太、佐藤由子、峰宗太郎、保科しほ、中島典子、佐伯秀久、長谷川秀樹、黒田誠、片野晴隆。　網羅的ウイルス検出法　multivirus real-time PCR の改良と臨床検体への応用。　第62回日本ウイルス学会学術集会　（横浜市　2014年11月）

32) 稲崎倫子、名古屋真弓、板持雅恵、嶋一世、小渕正次、稲畑良、長谷川澄代、黒田誠、佐多徹太郎、滝澤剛則。　次世代シークエンサーによる感染性胃腸炎集団事例患者検体からのサポウイルス GV.2 の検出。 第62回日本ウイルス学会学術集会　（横浜市　2014年11月）

33) 稲崎倫子、名古屋真弓、板持雅恵、嶋一世、小渕正次、稲畑良、長谷川澄代、黒田誠、佐多徹太郎、

滝澤剛則。　感染性胃腸炎集団事例患者検体からの次世代シークエンサーによるサポウイルス GV.2 の検出。 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 （横浜市　2014 年 11 月）

34) 酒井宏治、網康至、田原舞乃、久保田耐、安楽正輝、中島典子、高下恵美、関塚剛史、駒瀬勝啓、信澤枝里、小田切孝人、前仲勝実、黒田誠、長谷川秀樹、河岡義裕、田代眞人、竹田誠。　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の生体内必須活性化酵素である。　第 62 回日本ウイルス学会学術集会　（横浜市　2014 年 11 月）

35) 黒田誠、関塚剛史。川崎病患者の腸内細菌フローラ解析。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

36) 烏谷竜哉、関塚剛史、山下明史、黒田誠、調恒明、仙波敬子、木村千鶴子、野村恭晴、宮本仁志、四宮博人。サルモネラ 4,5,12:i:-株のゲノム構造および多剤耐性の性状について。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

37) 趙娜、中山真彰、関塚剛史、黒田誠、本田尚子、阿戸学、中島千絵、鈴木定彦、大原直也。抗酸菌におけるパラアミノサリチル酸に対する新たな耐性機序の可能性。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

38) 本田尚子、佐藤法仁、阿戸学、松村隆之、山崎利雄、関塚剛史、黒田誠、中山真彰、小林和夫、大原直也。A single base insertion in 16S rRNA gene confers Streptomycin dependence in *Mycobacterium bovis* BCG。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

39) 甲斐雅規、中田登、関塚剛史、黒田誠、牧野正彦。日本で分離されたらい菌 Kyoto-2 の特徴的なゲノタイプ。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

40) 関塚剛史、甲斐雅規、中永和枝、中田登、前田伸司、牧野正彦、黒田誠。比較ゲノム解析により明らかとなった *Mycobacterium massiliense* の脂質代謝関連ゲノムアイランド。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

41) 長谷川紀子、関塚剛史、山下明史、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 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

42) 山下明史、関塚剛史、黒田誠。GcoGSA-BA: NGS データから炭疽菌のコアゲノム系統解析を行うウェブアプリケーション。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

43) 松井真理、鈴木里和、関塚剛史、山下明史、鈴木仁人、黒田誠、柴山恵吾。IMP-1 メタロ-β-ラクタマーゼ保有プラスミドの全塩基配列解読で判明した他菌種の腸内科細菌の院内感染。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

44) 鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、関塚剛史、黒田誠、柴山恵吾。VI 型エフェクター・免疫蛋白質の進化と多様性。第 88 回日本細菌学会 (岐阜市, 2015 年 3 月)

45) 長谷川紀子、川上展弘、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 88 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 合同学会（福岡市, 2014 年 6 月）

46) 黒田誠。新規 *Enterobacter* sp. のゲノム解読と染色体性β-lactamase bla MIR-KINAN の解析。第 88 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 合同学会（福岡市, 2014 年 6 月）

47) 山下明史、黒田誠。プラスミドームネットワーク解析：プラスミド上の遺伝子水平伝達ネットワーク解析。第 88 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 合同学会（福岡市, 2014 年 6 月）

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

２１．インフルエンザウイルス研究センター

センター長　小田切　孝人

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、WHO インフルエンザ協力センターとしての国際貢献、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 26 年 4 月 1 日付で第 1 室長小田切孝人がセンター長に就任した。平成 26 年 4 月 30 日から主任研究官岸田典子が育児休業に入り、平成 26 年 5 月 1 日から研究員有田知子および研究員浜本いつきが育児休業から職務復帰した。平成 26 年 5 月 31 日付で任期付研究員内藤忠相が退職、平成 26 年 9 月 30 日付で第 5 室長山本典生が退職した。平成 26 年 9 月 1 日付で渡邉真治が第 1 室長に就任した。

国際関連の人事では、平成 26 年 8 月からセンター長小田切孝人が WHO インフルエンザ協力センター長、WHO 国内インフルエンザセンター長、WHO-H5 レファランス診断研究室長、WHO 重要品質管理規制室長、にそれぞれ就任した。

平成 26 年度開始早々に熊本県の養鶏場で高病原性鳥インフルエンザ A(H5N8)ウイルスによる流行が発生した。これへの緊急対応として、発生養鶏場から採取した検体から分離したウイルスを速やかに入手し、当センターで既に構築し配布済みの PCR 診断系が本ウイルスの検出にも機能することを確認し、全国地方衛生研究所（地衛研）に情報提供と助言を行った。

研究開発業務としては、インフルエンザウイルスサーベイランスの効率化のために PCR による B 型ウイルス系統鑑別系を構築し、各地衛研へ情報提供した。また、インフルエンザ以外の呼吸器系ウイルスの同定検査系の新規構築、単クローン抗体を用いた H5 および H7 鳥インフルエンザウイルス検出用迅速診断キットの開発を行った。

流行動向調査（サーベイランス）業務では、例年どおり地衛研、感染症疫学センターと連携して、国内で流行したインフルエンザウイルスを収集し、それらの抗原性・遺伝子解析、薬剤感受性試験などを実施し、解析結果を感染症疫学センターHP を通じて週ごとに情報還元した。これらの解析情報をもとに次シーズン向けのワクチン候補株の検索を行い、WHO ワクチン推奨株など海外情報も考慮して平成 26 年度のワクチン株の選定を行った。

2013/14 シーズン前半に札幌市周辺で発生した薬剤耐性株の地域流行に際しては、その後の流行状況やウイルスの性状を医療機関へ情報提供した。また、これを踏まえて日本小児科学会から緊急に発出されたインフルエンザ治療指針改訂版の作成にも関与し適切な助言を行った。

レファランス業務としては、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、および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、本年度は第２回目となるインフルエンザ PCR 検査の外部精度管理を全国地衛研に実施し、検査精度の向上と改善への助言を行った。さらに、ウイルスサーベイランスに必須なウイルス分離技術の改善に向けたアンケート調査を全国地衛研を対象に行い、その結果に基づいて個別の助言を行った。

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、周辺諸国と連携した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 ワクチン推奨株をそれぞれ選定した。WHO 世界インフルエンザ行動計画に主要メンバーとして参画し、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、ワクチン株選定法の改良、ワクチン品質管理、などで重要な役割を果たした。また WHO、JICA 等の依頼に応じて、海外インフルエンザセンターへの技術指導、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 重要品質管理規制研究室として、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。

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、生物学的製剤基準改定への協力、標準品の開発整備、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。

新規ワクチンの実用化へ向けた研究業務としては、平成 25 年度に完成した細胞培養法による H5N1 ワクチンの製造基盤を有効活用するため、細胞培養法による季節性インフルエンザワクチンの導入と実用化に向けた研究開発と体制整備を国内ワクチンメーカー、厚労省と共同で進めた。本プロジェクトを効果的に推進するための研究開発会議体を設置し、製造用シードウイルスの作製法、安定供給戦略の企画、シードウイルスの品質確保のための試験法の確立を国内ワクチンメーカーと共同で進めた。さらに、細胞培養ワクチン候補株の国際的認定の枠組みを海外 WHO インフルエンザ協力センターと共同で策定した。

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. 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、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、継続的に耐性ウイルスの監視を行っている。2013 年 11 月から 2014 年 2 月にかけて札幌市を中心とした北海道内で 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た。北海道内で流行した耐性ウイルスは、アミノ酸変異によりヒトの間で伝播するのに十分な適合性を獲得している可能性が示唆された。[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、横山勝*、佐藤裕徳*、小田切孝人：*病原体ゲノム解析センター]

2. RT-LAMP 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には 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。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 法による遺伝子診断系に加え、RT-LAMP 法による系統識別系を新たに構築した。[中内美名、高山郁代、高橋仁、影山努]

3. 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 72 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 2 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]

4. 呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系の構築

核酸増幅法として知られている RT-LAMP 法を用いて、インフルエンザウイルスを除く呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系を構築し、感染症診断に応用することを目的とした研究を行っている。本年度は検出候補としてヒトパラインフルエンザウイルス（1 型、2 型、4a 型、4b 型）を選択し、RT-LAMP 法による検出系の構築を行った。その結果、今回構築を行った RT-LAMP 法を用いたヒトパラインフルエンザウイルス検出系は、高感度にウイルス遺伝子を検出できることが確認された。以上の結果から、設計したプライマーセットは呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系として有用であることが示唆された。[高橋仁、高山郁代、中内美名、永田志保、改田厚*、久保英幸*、小田切孝人、影山努：*大阪市立環境科学研究所]

5. 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

感度と特異性に優れた H5 HA 特異的なモノクローナル抗体を作製し、これを用いた H5N1 インフルエンザ迅速診断法の構築を目的とした研究を行っている。H5 HA 特異的で保全性の高い領域のアミノ酸配列の選択と、そのペプチド合成を新たに行い、これを用いたマウスモノクローナル抗体の作製を行った。得られた抗体クローンは H5 HA 蛋白質を認識し、H1pdm、H3 および H7 HA 蛋白質には反応しないことが示された。この中から反応性の高い抗体クローンを選択し、そのハイブリドーマ細胞を用いてマウス腹水作製および抗体精製を行った。得られた精製抗体を標識し、サンドイッチ ELISA 系の構築を試みた。 [高橋仁、高山郁代、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山努]

6. H7 HA 特異的なモノクローナル抗体の作製と H7N9 インフルエンザ迅速診断系構築の検討

今後、パンデミックを引き起こす可能性のある A(H7N9)インフルエンザの高感度・特異的な迅速診断系を構築することを目的とした研究を行っている。A(H7N9)ウイルスの HA アミノ酸配列の比較を行い、H7 HA 特異的で保存性の高い領域を選び出し、そこから合成したペプチドをマウスに免疫し、モノクローナル抗体の作製を行った。得られたモノクローナル抗体クローンは H7 HA 蛋白質を認識し、H1pdm、H3 および H5 HA 蛋白質には反応しないことが示された。この中から反応性の高い抗体クローンを選択し、そのハイブリドーマ細胞を用いてマウス腹水作製および抗体精製を行った。得られた精製抗体を標識し、サンドイッチ ELISA 系の構築を試みたところ、H7 HA 蛋白質を特異的に検出可能な抗体の組み合わせが得られた。 [高橋仁、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山努]

7.インフルエンザウイルスエアロゾルを定量するための antigen-capture ELISA の構築

新型インフルエンザ等の輸入・新興感染症患者を治療する際やその臨床検体を検査する際、医療従事者にとって防護具は不可欠であり、防護具の病原体に対する防護性能を評価しておくことは必要である。我が国では、日本工業規格(JIS)に防護具やその素材の病原体に対する防護性能評価試験がいくつか制定されているが、暴露形態の１つであるエアロゾル感染を想定したウイルスエアロゾルによる評価試験法が無い。この評価試験法開発の基盤として、本研究では、モデルウイルス粒子としてインフルエンザウイルス PR8 株を選択し、ウイルス粒子エアロゾルを定量するための、インフルエンザウイルス粒子の構造蛋白である M1 蛋白を標的とした antigen-capture ELISA の構築を検討した。Capture 抗体には M1 蛋白の 15 アミノ酸を抗原としたペプチド免疫モノクローナル抗体を作製して用いた。その結果、本 ELISA 系の PR8 に対する容量反応性の直線性や定量再現性は良好であることが確認され、M1 蛋白標品を用いた検量線から、検出限界は 2.5 ng/ml であることがわかった。また、感染性粒子量（ウイルス感染価）と本 ELISA 系による M1 蛋白量との間に高い相関性があることも確認された。以上から、インフルエンザウイルス粒子の M1 蛋白を定量する antigen-capture ELISA が構築できた。今後、防護服やマスクの素材に対するウイルスエアロゾル防護性能評価試

験に、本 ELISA 系が適用可能か検証する予定である。[嶋崎典子、高橋仁、影山努、浜本いつき、篠原克明*：*バイオセーフティ管理室]

8. シクロスポリン A(CsA)およびその誘導体によるインフルエンザウイルスの増殖性に関する研究

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。[山本典生、浜本いつき]

9. 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おり、前年度までに A/Anhui/1/2013（Anhui 株：H7N9）株がマウスにおいて高い致死性を有していること、ならびに高病原性トリインフルエンザ（HPAI）に認められるような全身的な感染は示さないことを明らかにした。引き続き H7N9 株の病原性について明らかにするため、マウスにおける馴化後の性状の変化を検討した。Anhui 株をマウスに経鼻感染後、肺洗浄液を回収し、次のマウスに回収された肺洗浄液を経鼻投与し、肺洗浄液を回収した。これを 10 代繰り返した後、発育鶏卵で増殖したウイルスの性状解析を行った。馴化前の Anhui 株の 50%致死量値は $10^{4.4}$pfu/mouse だったのに対し、継代株は $10^{1.7}$pfu/mouse となり、継代前の株と比較しおよそ 500 倍程度の高い致死性を獲得した。また馴化株をマウスに鼻腔限局感染させた場合、継代前の株と比べ、早い時期にウイルスが肺に到達しただけでなく、ピーク時のウイルス価も有意に高いことが明らかとなった。馴化後の Anhui 株の遺伝子・アミノ酸解析を行ったところ、PA 分子に変異が認められた。このことから H7N9 株の馴化後の高い致死性には PA 分子の変異が関与していることが示唆された。[浅沼秀樹、相内章]

10.インフルエンザウイルスに対する細胞内発現抗体の効果に関する研究

抗体は、その可変領域の抗原に対する特異性と定常領域が有するエフェクター機能により、生体防御に大きく貢献している。また、その可変領域の特異性から、通常の分子生物学的な実験においてもツールとして利用されている。インフルエンザウイルスに対する抗体を細胞内で発現させることで、ウイルス由来タンパク質の細胞内での機能解析、また細胞間でのウイルス伝播を阻止できる可能性が考えられる。そこで本研究では、インフルエンザウイルス PR8 株の HA タンパク質に対するモノクローナル抗体を細胞内に発現させ、その効果を検討することを目的とした。抗体を形成する H 鎖および L 鎖の可変領域のみを連結した一本鎖抗体（scFv）、それぞれの可変領域のみからなる VH、VL を細胞内発現抗体として発現するプラスミドを MDCK に導入し、その発現を確認した。いずれの細胞内発現抗体に関してもその発現を確認した。今後、これら細胞内発現抗体を発現する MDCK 細胞に対して PR8 株の感染を行い、ウイルス増殖を抑制するか、またその機能を検討する予定である。[相内章、佐藤充*：*農業生物資源研究所]

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差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、流行株に対する交差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。[中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、菅原裕美、藤崎誠一郎、高下恵美、小川

理恵、菖蒲川由郷*、齋藤玲子*、渡邉真治、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 B 型 2 系統 HA 抗原量を適正に測定するための SRD 試験に関する研究

2015 年度から、B 型 2 系統(ビクトリア系統と山形系統)を含有する 4 価ワクチンが我が国にも導入されるにあたり、従来通り、一元放射免疫拡散（SRD）試験法によって、ワクチン力価(HA 抗原量)を正確に測定できるか、昨年度から検討してきた。その結果、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、両系統の標準抗原を混合して SRD 試験を行う方法を検討したが、株や標準抗原やワクチンによっては、3 価ワクチンを従来法で測定した値(真値)と統計学的に有意差が認められ、標準抗原を混合しても真値が得られない場合があることが判明した。また、両系統の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。このように、株や SRD 試薬やワクチンによって交差反応の挙動が異なるため、4 価ワクチンの SRD 試験で B 型株 HA 抗原量を適正に測定するには、各製造所のワクチンに対する抗血清や標準抗原の特性を事前検討して使用方法を決定するという手順が必要とわかった。更に、あらゆる交差反応の挙動に対応できるように、場合分けを想定した試験方法の制定（試験区分）が必要と考えられた。本検討結果は、本省の審査管理課に情報提供され、生物学的製剤基準の一部改正の資料として活用された。[嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、小田切孝人]

3. ワクチン力価(HA 抗原量)試験法の開発に関する研究

B 型 2 系統を含有する 4 価ワクチンについて、ワクチンの有効成分である HA 抗原量を測定する SRD 試験法によって、ワクチン力価測定が可能であるかを検証したところ、B/Wisconsin/01/2010 (BX-41A)株と B/Brisbane/60/2008 株の組み合わせの場合、各株単独では SRD 測定できたにもかかわらず、2 株混合では B/Wisconsin/01/2010(BX-41A)抗血清上でリング形成不良が起こり、SRD 測定不能となった。そこで本研究では、SRD 試験で測定不能となった B 型混合抗原について、逆相 HPLC 法を用いて 4 価ワクチン中の B 型 2 系統の HA 含量を定量できるか検討した。その結果、B 型 2 系統の HA 蛋白の分離ピークをそれぞれ定量できることが確認され、その値は SRD 試験法の値と概ね一致した。以上から、逆相 HPLC 法が、4 価ワクチンの B 型について SRD 試験が使用できない場合の代替え法になりうることが示唆された。[嶋崎典子、板村繁之]

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

ワクチンによる免疫応答は、投与されたワクチンを抗原提示細胞が取り込むことから開始される。本年度は、抗原提示細胞のワクチン取り込みの評価をすることでワクチンの免疫原性を評価出来るかについて、ヒト細胞株における NF-kB の活性化を指標に検討した。全粒子ワクチンとスプリットワクチンで有意に NF-kB の活性化が誘導されることが確認できた。さらに NF-kB の活性化の程度とマウスにおける抗体産生誘導能に相関が有ることが確認された。同時にこの系を用いることにより、細胞傷害活性を測定することも可能であることから、ワクチンの免疫原性を評価する上で有用なシステムとなりうることが期待される。 [佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之、小田切孝人]

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。これまでに、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。解析手法について確立することができたので、次ぎに、鶏卵馴化したワクチン株で製造したワクチンが馴化を受けていないワクチン株で製造したワクチンとの間で、抗体レパトアの観点からどのような違いが認められるか検討した。その結果、それぞれのワクチンに特徴的なレパトアを検出することができた。検出できたレパトアが実際にワクチンのどの成分と反応するのかを遺伝子

配列から人工合成した抗体遺伝子を発現させて検証を行っている。　[河野直子、大西和夫*、藤 博幸**、板村繁之：*免疫部、**関西学院大・理工学部]

6. 細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルスベクターの開発とその応用

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。昨年度、NIID-MDCK 細胞（無血清培地に馴化し、品質管理された MDCK 細胞）で約 10^9 pfu/mL の高いウイルス力価を示す PR8 株（hg-PR8）を開発したので、このウイルスを母体ウイルスの候補株とし、リアソータントウイルス（H7N9）を作出して、hg-PR8 のワクチン株開発における有用性を検討した。Reverse Genetics 法により、HA、NA 遺伝子が A/Anhui/1/2013(H7N9)株由来、残りの遺伝子が hg−PR8 株由来のリアソータントウイルス NIIDRG-10.1C と NIIDRG-10C を作出した(NIIDRG-10C と NIIDRG-10.1C は、HA 上に 1 アミノ酸の相違がある)。NIIDRG-10.1C のウイルス力価は 10^8 pfu/mL、NIIDRG-10C のウイルス力価は 10^7 pfu/mL とどちらも高いウイルス力価を維持していた。HI 試験により各ウイルスの抗原解析を行った結果 A/Anhui/1/2013 (H7N9)株に対するフェレット感染血清の血球凝集阻止(HI)価は、NIIDRG-10.1C および NIIDRG-10C のいずれの株に対しても、A/Anhui/1/2013 に対する HI 価と同程度で、その差は 2 倍以内であった。細胞でのウイルス蛋白収量を測定した結果、今回作出したリアソータントウイルスは、各ウイルスの HA, NA と同じ配列を有する鶏卵培養用リアソータントウイルスよりも 1.5〜2 倍高いタンパク収量を示した。今回開発した hg-PR8 が、細胞培養ワクチンの母体ウイルスとして有用であることが確認できた。[鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

7. 季節性細胞培養インフルエンザワクチンの実用化に向けての取り組み

日本の季節性インフルエンザワクチンに細胞培養ワクチンを導入するためには、克服するべき課題として以前から指摘されていた下記課題がある。[(1)細胞培養ワクチン株作製法の確立. (2) 細胞培養ワクチンの HA 抗原量測定試薬(SRD 試薬)作製法の確立. (3) 細胞培養ワクチン製造株の指定法の確立.] そこで、(1)(2)の課題に取り組むため「細胞培養ワクチン開発研究会議」を厚生労働省結核感染症課及びワクチン製造所とともに立ち上げた。課題(1)への対応として、感染研からワクチン製造所へのワクチン種株開発用ウイルスの分与を行い、各ワクチン製造所社は、各所社保有細胞でのワクチン製造株候補開発を開始した（詳細は別記）。課題(3)は、細胞培養ワクチンのみならず、今後、導入が検討されている新規インフルエンザワクチンの製造株指定法も合わせて確立する必要があるため、「第一回季節性インフルエンザワクチン製造株の指定法に関するワーキンググループ会議」を開催し、検討を行った。本取り組みに関しては、第 9 回厚生科学審議会（予防接種・ワクチン分科会　研究開発及び生産流通部会）で、報告しており、引き続き、進捗状況の報告は本審議会で報告する予定である。[信澤枝里、山本典生、小田切孝人]

8. 細胞培養法による NIID-MDCK 細胞からのウイルス分離効率の解析

一定の品質試験（ICH Q5A, ICH Q5D）に合格した MDCK 細胞株(NIID-MDCK)を用いて、2010/2011 及び 2011/2012 シーズンの臨床検体から、A/H1N1pdm09、A/H3N2、B/Victoria 系統、B/Yamagata 系統ウイルスの分離を行う際の効率を検討し、NIID-MDCK 細胞の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通常の 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、原田勇一、高橋仁、小田切孝人、山本典生、信澤枝里]

9. 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

細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けて、ワクチン製造の元株となるウイルスの遺伝的安定性の評価を行った。NIID-MDCK 細胞を用いて臨床検体から分離継代したウイルス株の HA と NA の遺伝子解析を行った結果、A/H1N1pdm 株の一部で HA の抗原領域近傍に、また、A/H3N2 株の一部で NA の HA 活性に関わるとされる部位に変異が確認された。B 型株では特徴的

な変異はみられなかった。NIID-MDCK 細胞を用いて分離継代したウイルス株の中には遺伝的安定性が保持されにくい株も存在したため、その株で生じた変異が抗原性に及ぼす影響を、今後、検討する [高橋仁、原田勇一、浜本いつき、小田切孝人、山本典生、信澤枝里]

10. 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

NIID-MDCK 細胞から分離したウイルスについて、抗原性解析を行った。ウイルス分離に用いた臨床検体が採取されたシーズンの「基準ウイルス」と分離ウイルスの抗原性の比較を行った。その結果、 (H1N1)pdm09 及び B 型の分離ウイルスは、基準ウイルスと類似の抗原性を示した。一方、A(H3N2)分離ウイルスの一部は、「基準ウイルス」とは、異なる抗原性を示した。今後、抗原的に安定なウイルスの分離法を検討する必要がある。 [原田勇一、高橋仁、浜本いつき、山本典生、小田切孝人、信澤枝里]

11. 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の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呼吸器系ウイルスを選択し、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。

[浜本いつき、高橋仁、原田勇一、小田切孝人、山本典生、信澤枝里]

12. 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 株の中から、リファランス株と類似の６株（N273、N284、N316、N321、N337、N382）に対するフェレット感染抗血清を作製し、抗原性の認識に関する解析（HI 試験）を行ったところ、これら６株はリファランス株の類似株であるにも関わらず、各株の抗血清を用いた場合には、必ずしも 2-way での抗原性の認識は一致しなかった。また同時期に分離されたリファランス株との類似株に対する抗原性の認識パターンが異なっていた。それに加え、各株におけるホモ値にもバラつきが認められた。引き続きこれら６株のうち３株（N273、N316、N337）の不活化抗原を作製し、フェレット抗血清を作製し、感染血清と同様に抗原性の認識に関する解析（HI 試験）を行った。その結果、抗血清の臨床分離株に対する認識パターンは感染抗血清と類似していた。以上の結果は不活化抗原による免疫誘導能は、ウイルスの感染免疫による抗体誘導のパターンから予測できることが示唆された。[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]

レファランス業務

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 系統のレファラ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。[中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、渡邉真治、小田切孝人]

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)系統のレファラ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。[中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、渡邉真治、小田切孝人]

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5年目を迎えた。今年度は、全国72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についての第2回全国地衛研外部精度管理（EQA）実施した。また、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結果に基づき、ウイルス分離効率が低いと思われた一部の地衛研と電話による情報交換、効率改善の助言を行った。[小田切孝人、影山努、今井正樹*、渡邉真治、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********、岡山文香*********、千々和勝己**********、山下育孝**********、喜屋武尚子********** : *岩手大学、**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、**********福岡県保健環境研究所、**********愛媛県立衛生環境研究所、**********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/California/7/2009(X-179A)(H1N1)pdm09、A/New York/39/2012(X-233A)(H3N2)、B/Brisbane/60/2008(BX-35)-cell derived、B/Brisbane/60/2008、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。[原田勇一、河野直子、嶋崎典子、板村繁之、小田切孝人]

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26年度のインフルエンザ HA ワクチンのワクチン製造株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1pdm09)、A/New York/39/2012（X-233A）(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、原田勇一、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

6. 沈降インフルエンザワクチン(H5N1 株)の国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

国家備蓄用の沈降インフルエンザワクチン(H5N1 株)のワクチン製造株である A/bar-headed goose/Qinghai lake/1a/05(SJ163222)(H5N1)、A/Viet Nam/1194/2004 (NIBRG-14)(H5N1) 、A/Indonesia/05/2005 (Indo05/PR8-RG2) (H5N1)、A/Anhui/01/2005 (Anhui01/PR8-RG5) (H5N1)の4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、原田勇一、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人]

7. 標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)の作製

使用期限をむかえる標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)について、新規ロットを作製し、含有される抗原の CCA 価を測定し、本年度国内標準品として制定

した。[嶋崎典子、高橋仁、鈴木康司、板村繁之、小田切孝人]

サーベイランス業務

1. 2014/15 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 25 株、A(H3N2)は 350 株、B/Yamagata 系統 210 株、B/Victoria 系統は 35 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。2014/15 シーズンは A(H3N2)ウイルスの流行が先行し、流行株の大半を占めたが、2015 年 3 月期には B 型ウイルスの流行も拡大した。B 型ウイルス流行の割合は 9:1 で Yamagata 系統株が Victoria 系統株よりも大勢を占めた。A(H1N1)pdm09 分離株は少数であり、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)分離株はワクチン株の A/New York/39/2012 と抗原的に異なる株が支配的に流行し、ワクチン株変更の必要性が示唆された。B/Yamagata 系統流行株についてはワクチン株 B/Massachusetts/02/12 と抗原類似性を示していたが、遺伝学的、抗原的に新規ワクチン候補株である B/Phuket/3073/2013 により近い傾向が認められた。B/Victoria 系統流行株のほぼ全てはワクチン株 B/Brisbane/60/08 と抗原的に類似していた。[中村一哉、佐藤彩、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、江島美穂、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

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 257 株（台湾 34 株、ミャンマー9 株、ラオス 108 株、ネパール 95 株、モンゴル 2 株、韓国 10 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。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 2013/14 シーズンワクチン株 A/Texas/50/2012 あるいは 2014/15 シーズンワクチン株 A/New York/39/2012 と抗原性の乖離が認められた。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、WHO 世界インフルエンザ監視対応ネットワークにおける近隣諸国と感染研の連携や WHO によるインフルエンザワクチン株選定に貢献した。[中村一哉、佐藤彩、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、江島美穂、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

3. 2014/15 シーズンのヒトインフルエンザウイルス流行株の遺伝子解析

インフルエンザウイルスの HA と NA 遺伝子の変化に関する情報は、次シーズンのインフルエンザ流行予測とワクチン株選定時の基盤となり、公衆衛生上極めて重要な役割を担っている。このため、現在流行している A(H1N1)pdm09 亜型, A(H3N2)亜型, B 型分離株について、全国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。14/15 シーズンに流行の主流であった A(H3N2)亜型は主に、HA 遺伝子系統樹上でクレード 3C.2a（N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H）と 3C.3a（A138S, F159S, N225D）に分かれて 2 つの集団を形成した。3C.2a および 3C.3a に属するウイルスは、昨シーズンまでに検出されていた 3C.2 および 3C.3（代表株 : A/New York/39/2012 ワクチン株）に属するウイルスとは抗原性が異なっていた。A(H1N1)pdm09 亜型は、HA 遺伝子系統樹上でクレード 6（D97N, K283E, E499K）内のサブクレード 6B(K163Q, A256T)に属した。B 型では、山形系統の主流はクレード 3 (S150I, N165Y, S229D)であり、B/Massachusettes/02/2012 株に代表されるクレード 2 (R48K, P108A, T181A, S229G)とは異なる集団であった。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。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 へ登録した。[藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、高下恵美、菅原裕美、江島美穂、佐藤彩、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

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

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。平成

26 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、国内外の A(H1N1)pdm09 分離株 411 株、A(H3N2)分離株 374 株、B 型分離株 354 株の薬剤感受性を解析した。その結果、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札幌市を中心とする北海道内で地域流行を起こしたことを明らかにした。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。[高下恵美、江島美穂、小川理恵、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、菅原裕美、佐藤彩、渡邉真治、小田切孝人]

5. 株サーベイランス体制の強化に関する研究

平成 25 年度に行った地方衛生研究所（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の把握のためのアンケート調査の結果から、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が 3 シーズン連続して低かった研究機関に対し、個別の聞取り調査を実施、問題点の確認、改善方法等についての助言を行った。分離効率の低い原因の一つに、担当職員の交代の際の引継ぎに必要な期間を設定できず、ウイルス分離・検査の知識・技能を持たない職員が検査を実施したことが挙げられた。また、感染研主催の技術研修会開催の要望は高いが、自己負担での参加は困難であることも判明した。我が国の株サーベイランス体制を維持するためには、人材育成が不可欠である。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*、渡邉真治、小田切孝人：*岩手大学]

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 3 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も分離報告はなかった。[高山郁代、中内美名、影山努]

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 11 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 2 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、1 株は、A(H1N1)pdm09 ウイルスと A(H1N2)ブタインフルエンザウイルスの混合ウイルスである事が判明した。また、もう 1 株は、HA 遺伝子は A/H1 亜型ブタインフルエンザウイルス、NA 遺伝子は A(H1N2)ブタインフルエンザウイルス、その他の遺伝子は A(H1N1)pdm09 ウイルス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出現したウイルスと考えられた。[高山郁代、中内美名、影山努]

8. 日本で分離された H5N8 高病原性トリンフルエンザウイルスの入手及び増殖

2014 年 4 月に熊本県で高病原性鳥インフルエンザ（H5N8）によるアウトブレークが発生した。病鳥から分離された A/chicken/Kumamoto1-7/2014（H5N8）を動物衛生研究所より入手し、検査系確立に供すると同時に、ウイルスの増殖を行い、フェレット抗血清作製に供した。[鈴木康司、有田知子、信澤枝里、高山郁代、中内美名、影山努、小田切孝人]

9. 日本においてニワトリから分離された A(H5N8)高病原性鳥インフルエンザウイルスの抗原解析

H5N8 型高病原性鳥インフルエンザウイルス

(A/chicken/Kumamoto/1-7/2014 (H5N8))の抗原解析を行った。当該ウイルスは、遺伝子配列上は、クレード 2.3.4 に属する。しかし、当該クレードウイルスに対するフェレット抗血清を用いての HI 試験では、ホモ価から８倍以上離れており、抗原性が異なることが示された。そこで、新たに当該ウイルスに対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を行った。その結果、同クレード(既存の 2.3.4 クレード)および異クレードのいずれの株との反応性もホモ価から 16 倍以上離れていることが明らかとなった。

作製したフェレット抗血清は、米国 St. Jude Children's Research Hosp. USCDC にも分与し、当該ウイルスの抗原解析に用いられた。[有田知子、鈴木康司、白倉雅之、相内章、浅沼秀樹、信澤枝里、小田切孝人]

10. 2014 年台湾で分離された H7N9 ウイルスの抗原解析

A/Taiwan/1/2014(H7N9)と A/Taiwan/2/2014(H7N9)の HI 試験を行った。2013 年に中国で分離された A/Anhui/1/2013(H7N9)および、それを元に作製したワクチン株 A/Anhui/1/2013(H7N9)(NIIDRG-10.1)、A/Shanghai/1/2013 のいずれに対するフェレット抗血清は、台湾で新たに分離された２株とよく反応し、HI 価は、ホモ価から 4 倍以内であり、大きな抗原変異はおきていないことが示唆された。 [有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

ワクチンの安定供給に関する業務

1.季節性インフルエンザワクチン製造株候補の増殖、検討、交付

2015/2016 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増殖後、保存した[IVR-175、IVR-178、X-247、NIB-88、A/Switzerland/9715293/2013、A/New Caledonia/71/2014、A/Canberra/82/2014（H3N2 亜型）, BX-53C、B/Texas/02/2013（B 型）]。ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、H3N2 亜型 3 株、B 型 2 株を試験交付、A 型 H3N2 亜型 7 株、B 型 4 株を仮交付した。ワクチン製造所における、増殖性、蛋白収量等の情報は、2015/16 シーズンワクチン株選定会議に供され、ワクチン製造株選定資料として共有された。[有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

2. H26 年度 H5N1 備蓄ワクチン株選定資料の作成

(i) H26 年度に使用期限が切れるクレード 2.3.4 の H5N1 備蓄ワクチンの更新について

備蓄株 A/Anhui/01/2005(H5N1)(IBCDC-RG5)および、同株を HA の開裂部位上流に同義置換を挿入し病原性復帰の可能性を低減した株である A/Anhui/01/2005 (H5N1) (IBCDC-RG6)を新たに備蓄するかを検討するための選定資料を作成した。IBCDC-RG5 については臨床試験でワクチン接種前後(接種前、2 回目接種後 21 日目)の血清が採取してあり、接種ワクチン株に対する中和試験（NT）結果が提供された。そこで、これら血清のうち接種後の NT 値の高い血清を選んで IBCDC-RG5 および IBCDC-RG6 に対する抗体価を調べた。IBCDC-RG5 ワクチン接種者血清の IBCDC-RG6 に対する HI 価と、ホモである IBCDC-RG5 に対する HI 価がほぼ同じであったため、IBCDC-RG5 と IBCDC-RG6 の抗原性は、ほぼ一致していると考えられた。IBCDC-RG6 を用いての臨床試験は行われていなかったことと両株の抗原性が一致していることが確認されたことから、IBCDC-RG5 の再備蓄が決定された。[有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

(ii)備蓄 H5N1 ワクチン接種後の交差反応性の検討

これまで H5N1 備蓄ワクチン製造用として、4 クレードに属する H5N1 ワクチン株[ベトナム株(clade 1)、インドネシア株(clade 2.1.3.2)、チンハイ株(clade 2.1)、アンフィ株(clade 2.3.4)]が、用いられてきた。従来、備蓄株の選定のため既存の備蓄ワクチン候補株を接種した血清(接種前、2 回目接種後 21 日目)を用いて、同クレードの近年の流行株（ワクチン株）への反応性を検討してきたが、他クレードの株への交差反応性は検討していなかった。同クレードのみならず他クレードの近年の分離株に対して高い中和抗体価を誘導できる備蓄ワクチン候補株が見いだせれば、より効率的なワクチンの備蓄が可能になる。そこで、既存の H5N1 ワクチン株の交差反応性抗体誘導能を調べることを目的とし、既存の H5N1 ワクチン接種者の臨床試験で得られた血清（クレード 1 の A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) (NIBRG-14)、クレード 2.1.3.2 の A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (CDC-RG2)、クレー

ド 2.2 の A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRG-163222)、クレード 2.3.4 の A/Anhui/1/2005 (H5N1) (IBCDC-RG5)接種者血清）を用いて他クレードの近年の流行株（クレード 1 .1 の A/Vietnam/VP13-28H/2013 （H5N1)、クレード 2.3.2.1 の A/Indonesia/NIHRD12379/2012 (H5N1)、クレード 2.2.1 の A/Egypt/N03072/2010 (H5N1) (IDCDC -RG29)、クレード 2.3.4.2 の A/chicken/Bangladesh/11rs 1984-30/2011 (H5N1)(IDCDC-RG36)、クレード 2.3.2.1 の A/chicken/ Shimane/1/2010 (H5N1)）との交差反応性の有無を検討した。

各ワクチン接種群のうち、ホモ価 40 以上の中和抗体価を示すワクチン接種後血清(post 血清)を用いたにも拘らず、近年分離/開発された供試ウイルス（野生株/ワクチン株）に対して低い中和抗体価を示すものがあった。

NIBRG-14 接種者の post 血清は同クレードの A/Vietnam/VP13-28H/2013 に中和活性をほとんど示さなかった。20%が SJRG-163222 に、62%が IDCDC-RG29 に、8%が IBCDC-RG5 に対して 40 以上の中和抗体価を有した。

CDC-RG2 接種者 post 血清の 21%が同クレードの A/Indonesia/NIHRD12379/2012 に、15%が SJRG-163222 に、79%が IDCDC-RG29 に、32%が IBCDC-RG5 に、17%が IDCDC-RG36 に対して 40 以上の中和抗体価を有した。

SJRG-163222 接種者 post 血清の 90%が同クレードの IDCDC-RG29 に、 10%が IBCDC-RG5 に対して 40 以上の中和抗体価を示した。

IBCDC-RG5 接種者の post 血清のうち 4%が同クレードの IDCDC-RG36 に、8%が A/Indonesia/NIHRD12379/2012 に、54%が IDCDC-RG29 に対して 40 以上の中和抗体を有した。

現行の備蓄ワクチンそれぞれ単独ではクレードを超え幅広い中和抗体を誘導することは期待できないことが示された。また、ワクチンが備蓄されていないクレードであるクレード 2.3.2.1 の A/chicken/Shimane/1/2010 に対して、40 以上の中和抗体価を示す血清は、高々1%であった。 [有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

(iii) (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、小田切孝人]

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**、小田切孝人：*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乳濁細胞培養インフルエンザ HA ワクチン（プロトタイプ）について、承認前検査として当該製剤の書面審査を実施した。[原田勇一、板村繁之、小田切孝人]

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

2014-15 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 A(H3N2)亜型 2 株、B 型 2 株の試験交付株、A(H3N2)亜型 10 株、B 型 2 株の仮交付株について、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・抗原的にワクチン製造用株としての適性を確認した。また、ワクチン製造用株として作製、保存したウイルス

の無菌試験を実施した。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、佐藤佳代子、河野直子、中村一哉、佐藤 彩、信澤枝里、板村繁之、小田切孝人]

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システムメンバーである 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）を用いて流行株の解析をするため、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型ウイルスの抗原解析データおよび遺伝子解析データを 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。[高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、江島美穂、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

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]

3. 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、交差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、渡邉真治、中村一哉、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、小川理恵]

4. 国際インフルエンザウイルスデータベース(GISAID)ワーキンググループへの参加およびデータベース改良への貢献

インフルエンザウイルスの国際データベース(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、渡邉真治、小田切孝人]

5. 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 26 年 10 月 22 日から 10 月 25 日の期間にシンガポールにて開催された「2nd GISAID Symposium & Training Workshop」にインストラクターとして参加した。GISAID 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. ベトナム・パスツール研究所（ホーチミン）におけるインフルエンザ株サーベイランスに関わる基本的な技術の技術支援

ベトナム・パスツール研究所（ホーチミン）にて、ベトナムにおけるインフルエンザ株サーベイランスの強化を目的に、サーベイランスに関わる基本的な技術（細胞培養、ウイルス分離、遺伝子解析など）の実技指導を行った。またベトナムにおけるインフルエンザウイルスの発生状況について情報提供を受け、議論した。[白倉雅之]

7. 国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」研修に講師として参画し、インフルエンザとインフルエンザワクチンついて講義を行った。[渡邉真治]

8. 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 26 年 6 月 23 日～24 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]

9. 重症化 A(H1N1)pdm09 感染疑い患者のインフルエンザウイルスの遺伝子検査

重症化した A(H1N1)pdm09 感染疑い患者から採取された 50 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の遺伝子検査を行った。 [影山努、高山郁代、中内美名、高橋仁、小田切孝人]

10. 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の職員を対象とした研修会「Influenza virus training course in Ho Chi Minh Pasteur Institute (2014 年 7 月 23 日－25 日)」をホーチミン・パスツール研究所において開催し、インフルエンザウイルスの分離培養に関連する培養細胞の維持管理、細胞培養法によるインフルエンザウイルス分離法、発育鶏卵を用いたインフルエンザウイルスの分離および赤血球凝集素反応法によるインフルエンザウイルスの HA 価測定方法について講義および実技指導を行った。 [影山努]

11.モンゴル National Influenza Center (NIC)におけるインフルエンザウイルスサーベイランスへの技術支援

モンゴル NIC において、これまで当センターで構築した遺伝子検査法の技術供与を行った。[中内美名]

12. 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、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。[板村繁之]

13. 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

WHO ERL の一員として 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、原田勇一]

14. 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

現在、世界的に季節性インフルエンザワクチン製造に使用できる培養細胞由来ワクチン種ウイルス推奨株は存在しないが、日本国内での細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化のためには、種株選定法確立が必要である。そこで、WHO インフルエンザ研究協力センターにおいて、他国のセンターとも協調しつつ、培養細胞由来ワクチン種ウイルス株推奨の国際的な枠組み作りに取り組んでいる。[信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、原田勇一、山本典生、小田切孝人]

研修業務

1. 平成 26 年度国立保健医療科学院ウイルス研修における講義および赤血球凝集抑制試験の技術研修

平成 26 年 10 月 10 日に当該研修参加の地衛研職員を対象にインフルエンザウイルスの講義を行った。また同 22 日に赤血球凝集抑制試験の技術研修を行った。[中村一哉、佐藤彩、白倉雅之、藤崎誠一郎、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人]

2. 平成 26 年度医師卒後臨床研修プログラムにおける講義

平成 26 年 10 月 24 日に実施された H26 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。[渡邉真治]

3.検疫所へのインフルエンザウイルスの遺伝子検出および亜型同定法についての診断検査技術研修

主要検疫所 13 ヶ所の検査担当職員を感染研に招聘し、リアルタイム RT-PCR 検査を中心とした A 型インフルエンザウイルスの亜型同定法およびマーカー入陽性コントロール導入を始めとした検査における精度管理に関する診断検査技術研修を行った。研修では各検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で反映されるように連携の強化が図られた。また、検疫所における鳥インフルエンザ検査マニュアルの改訂を行った。[影山努、高山郁代、中内美名]

4. インフルエンザの実験室診断についての研修

アイルランガ大学熱帯病研究所(インドネシア スラバヤ市)から研究員 1 名を平成 26 年 12 月 8 日から 19 日まで受け入れ、インフルエンザウイルスの分離・培養で使われる MDCK 細胞の維持管理法やウイルスの分離法、インフルエンザ遺伝子診断法などに関する技術研修を行なった。[影山努、高山郁代、中内美名]

5. インフルエンザ診断に関する技術指導

ベトナムハノイ小児病院において、RT-PCR 法および RT-LAMP 法によるインフルエンザウイルスの亜型同定について技術指導を行った。[影山努]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１．欧文発表

1) Watanabe T, Zhong G, Russell CA, Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y. Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential. Cell Host Microbe 15:692-705, 2014.

2) Katsura H, Piao Z, Iwatsuki-Horimoto K, Akeda Y, Watanabe S, Horimoto T, Oishi K, Kawaoka Y. A bivalent vaccine based on a replication-incompetent influenza virus protects against Streptococcus pneumoniae and influenza virus infection. J Virol 88:13410-13417, 2014.

3) Watanabe T, Watanabe S, Maher EA, Neumann G, Kawaoka Y. Pandemic potential of avian influenza A (H7N9) viruses. Trends Microbiol 22:623-631, 2014.

4) Watanabe T, Kawakami E, Shoemaker JE, Lopes TJ, Matsuoka Y, Tomita Y, Kozuka-Hata H, Gorai T, Kuwahara T, Takeda E, Nagata A, Takano R, Kiso M, Yamashita M, Sakai-Tagawa Y, Katsura H, Nonaka N, Fujii H, Fujii K, Sugita Y, Noda T, Goto H, Fukuyama S, Watanabe S, Neumann G, Oyama M, Kitano H, Kawaoka Y. Influenza virus-host interactome screen as a platform for antiviral drug development. Cell Host Microbe 16:795-805, 2014.

5) Schultz-Cherry S, Webby RJ, Webster RG, Kelso A, Barr IG, McCauley JW, Daniels RS, Wang D, Shu Y, Nobusawa E, Itamura S, Tashiro M, Harada Y, Watanabe S, Odagiri T, Ye Z, Grohmann G, Harvey R, Engelhardt O, Smith D, Hamilton K, Claes F, Dauphin G. Influenza gain-of-function experiments: their role in vaccine virus recommendation and pandemic preparedness. MBio 5:e02430-14, 2014.

6) Meijer A, Rebelo-de-Andrade H, Correia V, Besselaar T, Drager-Dayal R, Fry A, Gregory V, Gubareva L, Kageyama T, Lackenby A, Lo J, Odagiri T, Pereyaslov D, Siqueira MM, Takashita E, Tashiro M, Wang D, Wong S, Zhang W, Daniels RS, Hurt AC. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2012-2013. Antiviral Res. 110:31-41, 2014

7) Takayama I, Takahashi H, Nakauchi M, Nagata S, Tashiro M, Kageyama T. Development of a diagnostic system for novel influenza A(H7N9) virus using real-time

RT-PCR assay in Japan. Jpn J Infect Dis. 2014 Nov 25. [Epub ahead of print]

8) Tsunetsugu-Yokota Y, Nishimura K, Misawa S, Kobayashi-Ishihara M, Takahashi H, Takayama I, Ohnishi K, Itamura S, Nguyen LK H, Le TQ M, Dang T G, Nguyen T L, Tashiro M, Kageyama T. Development of a sensitive novel diagnostic kit for the highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus. BMC Infect Dis. 14:362, 2014.

9) Kobayashi-Ishihara M, Takahashi H, Ohnishi K, Nishimura K, Terahara K, Ato M, Itamura S, Kageyama T, Tsunetsugu-Yokota Y. Broad cross-reactive epitopes of the H5N1 influenza virus identified by murine antibodies against the A/Vietnam/1194/2004 hemagglutinin. PLoS One. 9(6):e99201, 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. 205C:110-115, 2014

11) 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

12) Ian G Barr, Colin Russell, Terry G Besselaar, Nancy J Cox, Rod S Daniels, Ruben Donis, Othmar G Engelhardt, Gary Grohmann, Shigeyuki Itamura, Anne Kelso, John McCauley, Takato Odagiri, Stacey Schultz-Cherry, Yuelong Shu, Derek Smith, Masato Tashiro, Dayan Wang, Richard Webby, Xiyan Xu, Zhiping Ye, Wenqing Zhang, and Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2013–2014. WHO recommendations for the viruses used in the 2013-2014 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 32, 4713–4725 (2014)

13) Shimasaki N, Okaue A, Kikuno R, Okuda S, Abe K. Development of a New Technique Using Glass beads for Dry Dispersion of Airborne Fungal Spores. Biocontrol Science. 20:53-58(2015).

14) Suzuki Y, Uchida Y, Tanikawa T, Maeda N, Takemae N, Saito T. Amino acid substitutions in PB1 of avian influenza viruses influence pathogenicity and transmissibility in chickens. J Virol. 88:11130-11139. 2014.

15) Matsuzaki Y, Sugawara K, Nakauchi M, Takahashi Y, Onodera T, Tsunetsugu-Yokota Y, Matsumura T, Ato M, Kobayashi K, Shimotai Y, Mizuta K, Hongo S, Tashiro M, Nobusawa E. Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1)pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutants. J Virol. 2014 Nov;88(21):12364-73. doi:10.1128/JVI.01381-14.

16) 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. doi: 10.1128/JVI.03677-13. Epub 2014 Mar 5.

２．和文発表

1) 渡邉真治: 南半球と北半球のインフルエンザ流行に、関連性はあるのでしょうか？　インフルエンザ. 16(2):28, 2015

2) 高下恵美: 抗インフルエンザ薬耐性A(H1N1)pdm09インフルエンザの流行. 感染・炎症・免疫. 44(3):75-76,

2014

3) 高下恵美: 各都道府県の抗インフルエンザ薬耐性ウイルス調査はどのように行われているのでしょうか. インフルエンザ. 15(3):22, 2014.

4) 高下恵美: タミフル・ラピアクタ耐性インフルエンザウイルス. 医学のあゆみ. 252(4): 312-313, 2015

5) 高下恵美: 耐性インフルエンザウイルスの動向. 臨床と研究. 91(12):45-48, 2014

6) 高下恵美: オセルタミビル・ペラミビル耐性インフルエンザの状況と対処法は？ インフルエンザ診療ガイド 2014-15. 157-160, 2014

7) 白倉雅之、今井正樹: 鳥インフルエンザの動向. 周産期医学. 44（増刊号）: 26-32, 2014

8) 白倉雅之、小田切孝人: 鳥インフルエンザ -鳥インフルエンザ A(H7N9)の現状-. 公衆衛生情報. 44(9): 20-21, 2014

9) 大場邦弘, 加藤昭生, 古谷智子, 小花奈都子, 林健太, 村田岳哉, 野田雅裕, 石川涼子, 吉田知広, 野田絵理, 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/H1 pdm09 亜型及び A/H3 亜型感染症による小児の入院診断名の比較　小児科臨床 68(1):47-51, 2014

10) 鈴木康司、田代眞人、信澤枝里. インフルエンザウイルスの特徴と型別分類. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科. 86:890-897. 2014.

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1) Takashita E, Ejima M, Fujisaki S, Nakamura K, Sato A, Sugawara H, Tashiro M, Odagiri T. A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan. 3rd isirv-AVG Conference; Influenza and other Respiratory Virus Infections: Advances in Clinical Management. Tokyo, Japan. June 2014.

2) Kawakami C, Takeuchi M, Mitamura K, Takashita E, Odagiri T. Analysis of influenza virus responsible for persistent infection after drug administration in an immunosuppressed patient. 3rd isirv-AVG Conference; Influenza and other Respiratory Virus Infections: Advances in Clinical Management. Tokyo, Japan. June 2014.

3) Takashita E, Ejima M, Fujisaki S, Yokoyama M, Nakamura K, Shirakura M, Sugawara H, Sato A, Sato H, Tashiro M, Odagiri T. A community cluster of influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November 2013 to February 2014. 5th ESWI Influenza Conference. Riga, Latvia. September 2014.

4) Asanuma H, Ainai A, Nagata N, Tashiro M, Odagiri T. Relationship between innate immune responses and pathogenicity of influenza H7N9 virus that is adapted to mice. 4th International Influenza meeting, Münster, Germany September 2014

5) Ikeda K, Ito R, Ainai A, Suzuki T, Ohara Y, Tamura S-I, Odagiri T, Tashiro M, Asanuma H, Hasegawa H. The influence of previous infection or vaccination prior to the intranasal vaccination against influenza virus infectio.n. 4th International Influenza meeting, Münster, Germany September 2014

２．国内学会

1) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、中村一哉、 白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、小田切孝人：札幌市を中心とした抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの地域流行 第 28 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 鳥取　2014 年 7 月

2) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、小田切孝人：2013/14 シーズンにおける抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの地域流行と高度耐性ウイルスの検出について
第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会　東京　2014 年 10 月

3) 高下恵美、江島美穂、藤崎誠一郎、横山勝、中村一哉、白倉雅之、菅原裕美、佐藤彩、佐藤裕徳、小田切孝人：2013/14 シーズンにおける NA 阻害剤耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの地域流行
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

4) 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘、高下恵美：入院・重症例における AH1pdm09 インフルエンザウイルスの解析
第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会　東京　2014 年 10 月

5) Emi Takashita： Global update on the antiviral susceptibility of influenza viruses
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜 2014 年 11 月

6) 高下恵美：オセルタミビル・ペラミビル耐性 A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルスの地域流行
4th Negative Strand Virus-Japan　沖縄　2015 年 1 月

7) 川上千春、高下恵美、藤崎誠一郎、江島美穂、七種美和子、宇宿秀三、小田切孝人：過去 3 シーズンに混合流行した B 型インフルエンザウイルスの遺伝子解析
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

8) 渡辺登喜子、Gongxun Zhong、Colin Russell、中島典子、八田正人、Anthony Hanson、高橋健太、渡邉真治、今井正樹、長谷川秀樹、河岡義裕：スペイン風邪ウイルスに類似の鳥インフルエンザウイルスのパンデミックポテンシャル
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

9) 中内美名, 高山郁代, 大場邦弘, 高橋仁, 田代眞人, 影山努 : RT-LAMP 法を用いた A/H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルス検出系の構築
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

10) 高山郁代、Nguyen Trung Hieu、中内美名、高橋仁、Nguyen Thanh Long、小田切孝人、田代眞人、影山努：2014 年にベトナムでヒト感染が確認された高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスの遺伝子解析
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

11) A Yoppy R Candra, Anna L Poetranto, Aldise M Nastri, Edith F Puruhito, 横田(恒次)恭子, 西村 研吾, 影山 努, 高原 悠佑, 堀田 博, 清水 一史 : Comparative analysis for the detection of avian influenza H5N1 virus by using a novel luminescence analyzer(POCube) and real-time RT-PCR
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

12) 改田　厚, 入谷展弘, 山元誠司, 平井有紀, 廣川秀徹, 影山　努, 久保英幸 : 麻しん診断例から検出された麻しんウイルス株の分子疫学解析(大阪市 2007～2014 年)
第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会　東京　2014 年 10 月

13) 大場邦弘, 高橋仁, 高山郁代, 中内美名, 影山努 : ARDS から多臓器不全に至ったインフルンザ A/H1pdm 重症肺炎成人例におけるウイルス学的検討
第 28 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　鳥取　2014 年 7 月

14) 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に対する TLR アゴニストの影響
第 18 回日本ワクチン学会学術集会　博多　2014 年 12 月

15) Kayoko Sato, Manabu Ato, Hideki Asanuma：Evaluations of influenza vaccine immunogenicity using human cell lines
第 44 回日本免疫学会学術集会　京都　2014 年 12 月

16) KONO Naoko, SUN Lin, ITAMURA Shigeyuki, TOH Hiroyuki, OHNISHI Kazuo：Next Generation Sequencer Analysis of the Antibody Repertoire in Response to a Model Antigen
第 44 回日本免疫学会学術集会　京都 2014 年 12 月

17) SUN Lin, KONO Naoko, SHIMIZU Takeyuki, ITAMURA Shigeyuki, TOH Hiroyuki, OHNISHI Kazuo：Statistical prediction of antigen-specific antibodies using next generation sequencer (NGS) and its confirmation by antibody protein expression
第 44 回日本免疫学会学術集会 京都　2014 年 12 月

18) 嶋崎典子、篠原克明：防護服素材の飛沫曝露に対する防護性能評価
日本防菌防黴学会第 41 回年次大会　東京　2014 年 9 月

19) 酒井宏治、網康至、田原舞乃、久保田耐、安楽正輝、中島典子、高下恵美、関塚剛史、駒瀬勝啓、信澤枝里、小田切孝人、前仲勝実、黒田誠、長谷川秀樹、河岡義裕、田代眞人、竹田誠：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 なアミノ酸配列を持つ A 型インフルエンザウイルスに対する肺内必須活性化酵素である
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

20) 内藤忠相、齊藤峰輝、信澤枝里、小田切孝人、田代眞人：インフルエンザウイルスのゲノム変異導入率を制御する RNA ポリメラーゼの機能領域
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

21) 山本典生、浜本いつき、田代眞人：シクロスポリン A およびその誘導体のインフルエンザウイルス増殖に与える影響についての解析
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

22) Asanuma H, Ainai A：Innate immune responses in mice lung given novel influenza H7N9 virus acquired increased mortality by prolonged passage in mice
第 44 回日本免疫学会学術集会　京都　2014 年 12 月

23) 齊藤慎二、van Riet Elly、相内章、鈴木忠樹、大原有樹、池田千将、伊藤良、泉池恭輔、高橋宜聖、浅沼秀樹、小田切孝人、田代眞人、田村愼一、竹山春子、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たヒトモノクローナル抗体の特性解析
第 18 回日本ワクチン学会学術集会　博多　2014 年 12 月

24) 李 天成、網 康至、須崎百合子、浅沼秀樹、岸田典子、白倉雅之、武田直和、脇田隆字：フェレット E 型肝炎ウイルスの病原性と E 型肝炎動物モデル
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

25) 齊藤慎二、Elly van Riet、相内章、鈴木忠樹、池田千将、伊藤 良、泉池恭輔、高橋宜聖、浅沼秀樹、小田切孝人、田代眞人、田村愼一、竹山春子、長谷川秀樹：高病原性鳥インフルエンザ A（H5N1）ウイルスの経鼻不活化全粒子ワクチンにより誘導されたヒトモノクローナル抗体の特性解析
第 62 回日本ウイルス学会学術集会　横浜　2014 年 11 月

26) 浅沼秀樹、相内章、佐藤佳代子、許斐奈美、田代眞人、小田切孝人：フェレットに対する免疫原性を基盤

とした細胞培養ワクチン用種株選定法の確立

第 62 回日本ウイルス学会学術集会　　横浜　2014 年 11

月

２２．ハンセン病研究センター

センター長　　石井　則久

概　要

ハンセン病は世界で約 22 万人の人々が新規に発症し、多剤の抗菌剤による治療(multidrug therapy: MDT)が行われている。しかし治癒しても後遺症や偏見・差別、さらに人権侵害にさらされている人も多数いる。その大半は貧困にあえぐ開発途上国に集中している。

ハンセン病は医療の問題も重要であるが、社会的な問題も大きな比重がある。偏見・差別、人権の問題は国連でも大きな課題となっている。2015 年 1 月 27 日には日本財団と国際看護師協会がハンセン病に対する差別撤廃を世界に訴える「グローバル・アピール 2015」を東京で発表した。宣言式典には安部晋三首相、塩崎恭久厚生労働大臣も出席した。

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 7 回協議会を平成 27 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 13 回市民公開講座」を平成 26 年度科学技術週間にあわせて 4 月 19 日(土)に行った。内容は「人類の移動と遺伝子が教えるハンセン病発症の地」で松岡正典客員研究員が講演した。さらに 11 月 1 日には「第 14 回市民公開講座」として多屋馨子感染症疫学センター第三室長が「ワクチンで予防しよう～はしか、風しん、水ぼうそう、おたふくかぜ～」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 26 年度の第 36 回夏期大学迄に 1,441 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 26 年度は 8 月 4 日～8 日までの 5 日間実施され、40 人が受講した。

国際協力事業

1. フィリピン共和国：WHO の西太平洋地域事務局（WPRO）が同国セブにて開催した「各国ハンセン病対策マネージャー会議」に参加し、東アジア地域におけるハンセン病状況の情報収集と意見交換を行うことを目的に、職員 1 名を派遣した。
2. ベトナム社会主義共和国：ベトナム中部のクイニョン市にあるクイホーハンセン病病院において、らい菌由来核酸を及び菌体成分を利用した新たなハンセン病診断法開発、らい菌のゲノム解析へ向けた試料調製、情報交換を行うため、職員 1 名を派遣した。
3. ブラジル連邦共和国：ブラジル国サンパウロ郊外にある ILSL (Institute Lauro de Souza Lima ハンセン

病研究所)においてハンセン病の原因菌であるらい菌の薬剤耐性調査に関する情報交換およびその他共同研究の打合せをするとともに技術指導を行うため、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 26 年度（平成 26 年 4 月～平成 27 月 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 17 症例、39 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。

17 症例の最終診断は、7 例は新規にハンセン病と診断、3 例はハンセン病の既往・再発と診断し、6 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 26 年度は 16 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 26 年は 5 名(日本人男 1 名、フィリピン人男 1 名、フィリピン人女 1 名、ネパール人女 1 名、ブラジル人女 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。PCR 検査陽性例の薬剤耐性遺伝子検査は、耐性なし 7 例、耐性なし（但し DDS 検査不能）1 例、耐性は 1 例（再発患者）で、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 26 年度（2014 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	23
総検査件数	39
病理学的検査件数	0
血清抗体価検査件数	7
PCR 検査件数	23
薬剤耐性遺伝子検査件数	9
実症例数	17

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
H26 年度	23	39	0	7	23	9	17

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 26 年 4 月より同 27 年 3 月までの 1 年間において、のべ 21 回、63 匹、 5 施設（国内 2、国外 3)、8 名（国内 4、国外 4）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

２３．ハンセン病研究センター

感染制御部

部長　石井　則久

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。

Mycobacterium leprae (*M. leprae*、らい菌)に関する研究においては、らい菌の宿主細胞内寄生機構に関する研究がなされた。らい菌は感染後宿主マクロファージに豊富な脂質とともに寄生する機構が知られているが、感染後宿主細胞から脂質を抽出して構造解析を行う一方で、細胞内の遺伝子発現をマイクロアレイ法で解析した。その結果、らい菌貪食後に細胞内遺伝子発現変化が起き、triglycerol の細胞内合成に起用する遺伝子を誘導することを発見した。また、らい菌は人工培地による培養が現在に至るまで実現しておらず、薬剤感受性試験を容易に施行することができなかったが、らい菌の薬剤標的遺伝子を迅速発育抗酸菌である *M.smegmatis* の ortholog と交換したところ、らい菌の薬剤感受性表現型を人工培地に発育する抗酸菌で評価することに成功した。

ハンセン病に関しては積極的に疫学研究が行われ、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与えた影響を解析するため、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などを使用した考証が進展し、この過程で日本の 100 年の隔離政策下での入退所数がデータとして明らかとなってきた。また、ハンセン病対策の進展要因（隔離から解放へ）の検証に寄与することを目的として、ハンセン病近現代資料データベースの作成が開始され、医学的資料を中心に数万点の資料の収集・検証が進み、約 3 千点の資料のデータベース化が行われ、部分的公開が始まっている。

非結核性抗酸菌の一つである、*M. ulcerans* によって生じるブルーリ潰瘍は無痛の難治性潰瘍を特徴とする皮膚疾患である。*M. ulcerans* 感染症は世界では結核、ハンセン病に次いで 3 番目に患者数が多い抗酸菌感染症である。ブルーリ潰瘍は重篤な身体後遺症を残す事が多くハンセン病同様社会的偏見差別を受けやすい。WHO はブルーリ潰瘍を neglected tropical diseases（貧困、偏見、差別のために顧みられない熱帯病）の一つに定め、その検査、診断、治療、予防、感染源検索、疫学などに精力的に活動を行っており、世界で毎年数千人規模の新規患者が登録されている。WHO の *M. ulcerans* 感染症対策には感染制御部が連携を行っており、石井が日本の責任者であり、中永が検査の責任者となり、活発に活動を展開している。我々は 2015 年 3 月 23 日から 25 日にスイス連邦ジュネーブ市で開催された WHO 主催の Global Buruli Ulcer Initiative events において、日本においても 2015 年 3 月末までに累計 55 例のブルーリ潰瘍が集積されている現状を報告すると共に、新たな治療法の提案を行い、日本におけるブルーリ潰瘍研究の進歩を参加者に印象づけた。また、*M. ulcerans* における日本の subspecies と考えられる *M. shinshuense* については全ゲノム解析が行われておらず、類縁種の *M. marinum* や *M. ulcerans* との類似や相違について不明であったが、*M. shinshuense* の type strain に関して全ゲノム解析を終了し、また *M. marinum* や *M. ulcerans* との比較ゲノム解析を行った。

また、ハンセン病の血清診断、ハンセン病や結核に対する組み換え BCG ワクチンの開発、らい菌以外のハンセン病のもう一つの病原体である *M. lepromatosis* に関する研究、らい菌日本株ゲノムの解析、病原性抗酸菌の分離・同定・薬剤感受性に関する研究などが行われた。

BSL3、ABSL3 施設が稼動している第二研究棟においては、結核菌に関する研究を行っている。結核菌の培養、保存、*in vitro* での結核菌の各種解析を行うとともにマウス、サルを使用した *in vivo* における感染実験を行っている。この感染実験により抗結核菌ワクチンの予防効果を個体レベルで解析することが可能となっており、研究が進んでいる。

最後に人事であるが、3 月 31 日付で牧野正彦が定年退職した。鈴木幸一は 4 月 1 日付で帝京大学医療技術学部

教授として転出した。

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エキソソームを放出することが、今回初めて明らかになった。エキソソームを介した細胞間情報伝達機構が存在すると考えられ、神経障害機構にどのような影響をもたらすか、興味深いところである。

[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。らい菌感染後の宿主細胞から Bligh-Dyer 法で全脂質を抽出し蓄積する脂質を TLC によって分析を行い、さらにその構造について LC/MS/MS 解析を行った。細胞より RNA を抽出し cDNA を合成し細胞内の遺伝子発現の変動について DNA マイクロアレイを行った。その結果をふまえ、蓄積される脂質について細胞内合成に寄与する遺伝子について RT-PCR, qPCR で評価した。その結果、らい菌がマクロファージに貪食されると、細胞内の遺伝子発現変化が起こり、triglycerol (TG)の細胞内合成に寄与する遺伝子を誘導することが判明した。

[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、TLR２を介して樹状細胞を成熟し、自己 T 細胞を活性化することを明らかにした。樹状細胞をらい菌感染し、LipoK 存在下または非存在下で放出されるエキソソームが保有するマイクロ RNA の解析を行った。らい菌感染樹状細胞から得られたエキソソームは幾つかの miRNA を多く含んでいた。その中で miR27 は、プロヒビチンをターゲットとし、ミトコンドリアの機能または脂肪細胞の分化を抑制する因子であった。miR27 は LipoK 存在下では量比が変化しないことから、らい菌感染特異的に放出される miRNA であることが考えられた。

[前田百美、田村敏生、福富康夫、牧野正彦]

２．ハンセン病のワクチン開発に関する研究

結核由来蛋白からなるキメラ蛋白 ID83 及び ID93 を作製した。これら抗原は少菌型ハンセン病患者、結核患者の PBMC から、有意に IFN-γ産生を誘導した。この事はらい菌と結核菌に共通抗原が存在することを示す。C57BL/6J マウスを用いてらい菌の増殖制御を検討した結果 ID83 及び 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

ハンセン病の神経障害症状は、ヒトとサル以外に知られていない。そのためワクチンの候補実用化における安全性・効果判定のためカニクイザルを用いたらい菌感染系構築を試みた。生後 1 年以内の幼若群 3 頭、妊娠期及びその出生仔にらい菌を接種し、その感染の解析を進めた。今年度は、幼若期接種群の 1 頭、妊娠期接種群 2 頭、新生仔群 2 頭の鼻腔洗浄液よりらい菌 DNA が認められ感染持続が確認された。

[向井　徹、松岡正典、片貝裕子（予防衛生協会）、牧野正彦]

４．安定した十分量抗原発現を行う組換え BCG の開発

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、ファージプロモーター３領域を用い、抗酸菌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い、各種検討を行った。抗原発現安定性では、弱、中等度のプロモーターでは少なくとも２０継代までは安定発現を示した。非常に強いプロモーターでは、15 継代までは安定した発現であったが、その後 extra band が出現し、完全長抗原の発現量は減少し、長期継代では発現が不安定化することを明らかにした。

[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)を介した CD4 T 細胞との相互作用によって成熟化した樹状細胞のみがグランザイム B の発現を伴うエフェクターメモリー様細胞傷害性 T 細胞の分化を誘導すること、この樹状細胞の成熟化には Peptide-25 刺激によって誘導される Th1

細胞、Th17 細胞とは異なるレジデントメモリー様 CD4 T 細胞から産生される IL-17F が重要な役割を果たしていること、IL-17F による樹状細胞の成熟化には CD4 T 細胞が産生する共因子が必要であることを明らかにした。

[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濾胞ヘルパーT 細胞の役割

濾胞ヘルパーT 細胞(TFH)が産生する IL-21 は T 細胞、B 細胞及び NK 細胞の分化、活性化を制御する作用を有しているが、抗酸菌感染防御における TFH の動態に関しては明らかではない。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 TFH 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 IL-21 を産生する TFH と IL−21 を産生しない TFH が共局在していることが示された。現在 IL-21 を産生しない TFH の機能に関して検討している。

[下袴田陽子、田村敏生、牧野正彦]

６. HSP70-MMP-II 融合蛋白質発現組み換え BCG の改良

(1)これまでの組み換え BCG の研究から、シャペロン分子 HSP70 およびらい菌由来膜蛋白質 MMP-II の融合抗原を発現させた組み換え BCG をワクチンとしてマウスに投与すると結核菌、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、蛋白質分解のシグナルとなる配列を融合抗原に挿入した組換え BCG を作製しそのワクチン効果について解析を行った。

(2) (1)とは別個に、HSP70 と MMP-II、結核菌抗原 Ag85B の融合抗原を発現する組換え 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論文に報告した。

[塚本裕美子、前田百美、牧野正彦]

２.ハンセン病の血清診断法の開発

らい菌由来膜タンパク MMP-II を使用したハンセン病の血清診断法は、従来のものより、少菌型ハンセン病患者を高感度に検出できることを明らかにした。今回、中国南西地方の患者血清を用いて、MMP-II と従来使用されていた、NDO-BSA 抗原を用いて検討を行った。これら、抗原を併用することで、患者の陽性率が上がり、３年間家族内接触者をフォローアップした結果、抗体陽性者 21 人中 7 人が発病したことから、この血清診断法は早期診断に有効であることが判明した。

[前田百美、Wang Hongsheng (Chinese Academy of Medical Sciences)、田村敏生、牧野正彦]

３． 病原性抗酸菌 *M. chelonae* と *M. haemophilum* 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、特に皮膚疾患における新種抗酸菌の分離・同定に成功し、症例を収集中である。また、一般の抗酸菌培養方法では分離されにくい *M. chelonae* 症や *M. haemophilum* 感染症に関する研究を展開中である。

［中永和枝、石井則久］

４．らい菌 RNA の治療評価への応用

ハンセン病に対する治療法である多剤併用療法は、顕著な効果を示す一方で、副作用であるらい反応が問題となっている。本研究では、らい反応を予防・制御することを目的として、らい菌由来 RNA を指標とした多剤併用療法の評価を試みた。各治療段階における患者由来のらい菌から RNA を抽出し、それらを定量化した結果、多剤併用療法の進行に伴い RNA 量が減少し、らい菌の生存度が低下していることが明らかとなった。このことは、らい反応と密接な関わりを持つ多剤併用療法の効果を評価する上で、らい菌 RNA が重要な指標となり得ることが示唆された。

[宮本友司、甲斐雅規、向井　徹、牧野正彦]

５．ハンセン病のもう一つの病原体 *M. lepromatosis* の判別法開発

近年、ハンセン病検体より塩基配列ではらい菌と非常によく似ているがらい菌とは異なる *M. lepromatosis* が報告された。しかし、未だ疫学調査等が未整備なため、産物の大きさによりらい菌と *M. lepromatosis* の判別可能な

PCR　primer の設計を行った。*M. lepromatosis* 数株 DNA を用いて試行したところ、全株において想定された位置に産物バンドが増幅された。今後、この系により簡易に判別が可能と考えられた。

［向井　徹、松岡正典、宮本友司、甲斐雅規］

６．病原性抗酸菌 *M. abscessus* と *M. massiliense* 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。

［中永和枝、星野仁彦、石井則久］

７．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］

８．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）］

９．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）］

１０．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、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）、石井則久、星野仁彦］

１１．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）］

１２．生体内でのらい菌の殺菌に関する研究

RI 標識脂肪酸を基質とした代謝系に着目し、マウスやヒトマクロファージの活性化状態と同細胞中のらい菌の生存率との関係を検討した。IFNγ刺激を受けたマウスマクロファージはＴＮＦによる二次刺激で活性化して、刺激後 24 時間以内に抗らい菌活性を発現(らい菌の代謝活性の著しい減少）した。しかし、ヒト末梢血単球由来マクロファージでは IFNγ刺激による抗らい菌活性発現には 1 週間程度かかった。また、マウスマクロファージでは酸化窒素の殺菌への関与は大きいが、ヒトマクロファージでは酸化窒素の殺菌への関与は少なく、酸素ラジカル生成に関わる NADPH オキシダーゼの発現増強と菌周囲への集積はみられることから、酸素ラジカルの殺菌への関与は示唆された。

[福富康夫、前田百美、牧野正彦]

Ⅳ.らい菌の生理機能及び遺伝情報に関する研究

１．らい菌日本株ゲノムの解析

日本の分離株である Kyoto-2 株は日本で標準株として一般に利用されているタイ国由来の Thai-53 株や他の多くの分離株と比べ増殖が遅い傾向にある。Kyoto-2 株全ゲノムシーケンスが決定されたので、この増殖に関与する因子の探索を行った。ゲノム情報がデータベース化され利用可能な TN 株との比較解析から約 200 の SNPs を検出したので、そのうち機能している遺伝子のアミノ酸配列に変異をもたらす SNPs を選出し、その中から増殖への関与が疑われた遺伝子として *rplS* 遺伝子に着目し解析を行った。Kyoto-2 株では 74 位のアミノ酸がプロリンからロイシンに変化していることから、遺伝子操作のできないらい菌に代わり *Mycobacterium smegmatis* を用いて *rplS* のオーソログ遺伝子が高い相同性を持つので、Kyoto-2 株と同じ変異を持つ株を作成し変異の有無で増殖違いを示すのかを調べた。その結果若干ではあるもののこの変異により *M. smegmatis* も増殖が遅くなることを明らかとした。

［甲斐雅規、中田　登、松岡正典、松原久美子、牧野正彦］

Ⅴ．　らい菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

１．抗酸菌の *gyrBA* 遺伝子とフルオロキノロン耐性、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. smegmatis* の *gyrBA* をらい菌の *gyrBA* と交換した菌を作製したところ、得られた菌は温度感受性を示し、37℃で増殖しないことがわかった。この実験系で *gyrBA* 遺伝子に変異を導入しフルオロキノロン感受性を調べる予定である。

[中田登、甲斐雅規、星野仁彦]

２．抗酸菌のリボゾームRNA遺伝子変異と薬剤耐性の研究

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。*M. smegmatis*の*rrn*２コピーを、*M. avium*の*rrn*で置換して変異の影響を調べたところ、*rrl*のA2058CとA2059Cの変異ではクラリスロマイシンの最小発育阻害濃度がそれぞれ野生型の8倍、4倍を示し、薬剤耐性を引き起こすことがわかった。

[中田登、甲斐雅規]

３．抗酸菌のクロファジミン耐性に関する研究

ハンセン病主要治療薬の一つであるクロファジミンの作用機序は不明であり、耐性変異についても知見が無く、DNA診断も不可能である。これらを調べるため、*M. avium*を用いてクロファジミン耐性を示す変異株を2株分離した。これらはそれぞれ親株に対して4倍、16倍の最小発育阻害濃度を示した。これら菌株のゲノム塩基配列比較解析を行う予定である。

[中田登、星野仁彦]

Ⅵ.ブルーリ潰瘍および近似疾患に関する研究

１．ブルーリ潰瘍に関する疫学研究

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、日本のブルーリ潰瘍（“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”感染症）55 症例（2015 年 3 月末まで）を収集し、世界のブルーリ潰瘍との比較研究を展開中である。

［中永和枝、四津里英（国立駿河療養所・国立国際医療研究センター）、石井則久］

２．*M.ulcerans* の細菌学的検討

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）55 症例（2015 年 3 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、四津里英（国立駿河療養所）、小椋義俊（九州大学細菌学）、林哲也（九州大学細菌学）、石井則久、

星野仁彦］

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。

［森　修一、石井則久］

２．ハンセン病近現代資料データベースの作成

ハンセン病の隔離政策は 19 世紀後半から 20 世紀にかけて公衆衛生政策として世界中で行われた。また、20 世紀半ばからは隔離から解放医療への移行が WHO 主導により行われた。しかし、世界および日本におけるこれらのダイナミズムは未だ明らかでない。これまでの一般的研究は社会科学を主としたものであるが、非常に概念的な研究が多く、その実態は見えない。本研究では医学、公衆衛生政策、ハンセン病療養所 OB などの資料を中心に研究を行うと共に、収集した資料をデータベース化して公開し（専門性の高い資料はサマライズを行う）、ハンセン病対策の進展要因（隔離→解放）を広く検証するため寄与することを目的とする。現在は数万点の資料の収集が進み、約 3 千点の資料のデータベース化が行われ、部分的公開が開始されている。データベース名：ハンセン病近現代資料アーカイブス（ARCHHDJP）

[森　修一、廣野義幸（東京大学大学院総合文化研究科相関基礎科学系）]

３．日本におけるハンセン病解放医療に関する研究

日本のハンセン病隔離政策は 1907 年-1996 年の 89 年間にわたり継続されたが、戦前・戦後を通じ解放医療を目指す動きも活発であった。本研究では昭和 20 年代よりプロミン治療を中心として進展する解放医療の実態をハンセン病療養所 OB(医師、看護師、事務官)、厚生省 OB、社会復帰者（退所者）、入所者への調査から明らかにすると共に、世界の解放医療（台湾、韓国、沖縄など）との比較研究から検証している。

[森　修一、瀬川将広(国立療養所東北新生園)、廣野義幸、田中丹史（東京大学大学院総合文化研究科　相関基礎科学系）]

Ⅷ.自然免疫抑制を生じるウイルス感染マウスモデルの開発と応用に関する研究

種々のウイルス(インフルエンザウイルス、RS ウイルス、麻疹ウイルスなど)の感染により生体では TLR などの脱感作や種々の免疫応答の不全が生じる。本研究で通常の H3N2 インフルエンザ株を用い、免疫抑制剤による生体免疫の操作により、スペイン風邪様インフルエンザ感染マウスモデル、トリインフルエンザ様インフルエンザ感染マウスモデルを樹立に成功し、そのモデルの細菌感染モデルへの応用を試みている。この他、RS ウイルス感染マウスモデルの樹立に成功した。

[森　修一、細谷光亮、橋本浩一（福島県立医科大学小児科学講座）佐藤由起夫（東北大学医学部）]

Ⅸ．らい菌株の樹立に関する研究

１．*M, leprae* 並びに *M. lepromatosis* の株樹立

ハンセン病の起因菌である *Mycobacterium leprae* は人工培養がいまだ成功しておらず、ヌードマウスでの培養も世代時間が 13 日と非常に遅く、組換え体の作製もできない等の多くの制約により、十分な研究成果が得られていない。これは最近ハンセン病の起因菌として報告された *Mycobactrium lepromatosis* も同様である。しかし、菌の解析が不十分のままでも強力なハンセン病対策により世界のハンセン病が減少してきた。このことは一方で研究資源としてのらい菌の減少でもあり、研究資源としてのらい菌株の樹立が必要と考えられている。そこで、各国で獲得された患者由来皮膚生検かららい菌を抽出し、日本の実験室で唯一らい菌を培養することができる当センター施設でヌードマウスフットパッド内増殖を試みている。これまでに 27 株のらい菌を樹立してきたが、最近フィリピン由来のサンプルから 2 株の *M. leprae* を樹立した。*M. lepromatosis* の分離が比較的多いメキシコからのサンプルを検討中ではあるが、現在のところ *M. lepromatosis* の株樹立はできていない。世界でも *M. lepromatosis* の株化はまだ例がない。

［甲斐雅規、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、らい菌の Genotyping を継続実施している。また、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予備実験を行った。さらに、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）を継続して実施している。

［甲斐雅規、福富康夫、向井　徹、前田百美、宮本友司、松岡正典、牧野正彦］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1. 欧文発表

1) Ohtsuka M, N. Kikuchi, T. Yamamoto, T. Suzutani, K. Nakanaga, K. Suzuki, and 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 Dermatol* 150, 64-67.

2) Nagai H, M. Suzukawa, Y. Sakakibara, K. Ohta, Reche PA, K. Suzuki, and Y. Hoshino. 2014. Immunological responses and epitope mapping by tuberculosis-associated antigens within the RD1 region in Japanese patients. *J Immunol Res*, ID764028.

3) Suzuki K, A. Saso, K. Hoshino, J. Sakurai, K. Tanigawa, Y. Luo, Y. Ishido, S. Mori, K. Hirata, and N. Ishii. 2014. Paleopathological evidence and detection of *Mycobacterium leprae* DNA from archaeological skeletal remains of *Nabe-kaburi* (head-covered with iron pots) burials in Japan. *PLoS One* 9(2), e88356.

4) Matsumoto T, M. Suzuki, Y. Iinuma, S. Maeda, H. Ano, Y. Koshi, T. Murakawa, K. Suzuki, and Y. Hoshino. 2014. A molecular typing methodology of *Mycobacterium tuberculosis* using small genomic islet patterns (TB-SGIP): a novel genotyping methodology to discriminate clinical strains between Beijing family and T3-OSAKA. *J Infect Dis Ther* 2:35-45.

5) Degang Y, K. Nakamura, T. Akama, Y. Ishido, Y. Luo, N. Ishii , and K. Suzuki. 2014. Leprosy as a model of immunity. *Future Microbiol* 9: 43-54.

6) Nakanaga K, T. Sekizuka, H. Fukano, Y. Sakakibara, F. Takeuchi, S. Wada, N. Ishii, M. Makino, M. Kuroda, and Y. Hoshino. 2014. Discrimination of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* from *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* in clinical isolates by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 52: 251-259.

7) Tsukamoto Y, Y. Maeda, and M. Makino. 2014. Evaluation of major membrane protein-I as a serodiagnostic tool of pauci-bacillary leprosy. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 80: 62.

8) Sekizuka T, M. Kai, K. Nakanaga, N. Nakata, Y. Kazumi, S. Maeda, M. Makino, Y. Hoshino, and M. Kuroda. 2014. Comparative genome analysis of *Mycobacterium massiliense* JCM 15300 among *Mycobacterium abscessus* group reveals the potential pathogenicity related in subcutaneous tissue. *PLoS One*; doi:10.1371/journal.pone.0114848.

9) Miyamoto Y, M. Komine, Y. Takatsuka, T. Maekawa, S. Murata, K. Nakanaga, N. Ishii, and M. Ohtsuki. 2014. Two cases of Buruli ulcer in Japanese brothers. *J Dermatol* 41:771-772.

10) Duthie MS, RN. Coler, JD. Laurance, LH. Sampaio, RM. Oliveira, AL. Sousa, MM. Stefani, Y. Maeda, M. Matsuoka, M. Makino, and SG. Reed. 2014. Protection against *Mycobacterium leprae* infection by the ID83/GLA-SE and ID93/GLA-SE vaccines developed for tuberculosis. *Infect. Immun*. 82:3979-3985, doi: 10.1128/IAI.02145-14.

11) Sugawara M, N. Ishii, K Nakanaga, K. Suzuki, Y. Umebayashi, K. Makigami, M. Aihara. 2015. Exploration of a standard treatment for Buruli ulcer through a comprehensive analysis of all Japanese cases. *J Dermatol* 42: 588–595.

2. 和文発表

1) 石井則久：ハンセン病. 今日の治療指針 2014（福井次矢、高木　誠、小室一成総編集）, p1122-1123, 医学書院, 2014.

2) 石井則久、四津里英、菅原万理子：稀だけど見逃してはいけない抗酸菌症. 感染症内科 2: 84-90, 2014.

3) 四津里英、石井則久、玉木　毅：抗酸菌の検査. MB Derma 216(増): 103-112, 2014.

4) 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.

5) 石井則久、中永和枝、四津里英：3.新しい検査法と診断法　QFT と T-SPOT　臨床皮膚科　68（5 増）: 78-81,2014.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kai M., N. Nakata, T. Sekizuka, A. A. Maghanoy, M. F. Balagon, P. Saunderson, M. Makino, M. Kuroda. Comparison of genome sequences between *Mycobacterium leprae* prepared before and after passaging in nude mice footpad. XVIII-International Symposium on Gnotobiology, 21-23 September, 2014.

St. Petersburg, Russian Federation.

2) Maeda S, N. Nakata, T. Naka, and N. Fujiwara: Isolation of Mycobacterial Mutants that Disrupted the Phospholipid Synthetase Gene, and Their Properties. FEBS-EMBO 2014, September 2014. Paris, France.

3) Yotsu R R, C. Murase, M. Sugawara, K. Suzuki, K. Nakanaga, N. Ishii: Buruli ulcer in Japan: update, WHO Meeting on Buruli ulcer, 23–25 March 2015. Geneva, Switzerland.

4) Murase C., M. Sugawara, R. R. Yotsu, K. Suzuki, K . Nakanaga, N. Ishii, M. Kono, M. Akiyama: A case of Buruli ulcer caused by *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*: Treatment approach with negative-pressure wound therapy, WHO Meeting on Buruli ulcer, 23–25 March 2015. Geneva, Switzerland.

5) Suzuki K, Y. Degang, Y. Luo, M. Ohtsuka, Y. Ishido, K. Nakanaga, N. Ishii: Detection of *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* DNA from a water channel in familial Buruli ulcer cases in Japan, WHO Meeting on Buruli ulcer, 23–25 March 2015. Geneva, Switzerland.

6) Sugawara M, C. Murase, R. R. Yotsu, K. Nakanaga, K. Suzuki, N. Ishii: Exploration of a standard treatment for Buruli ulcer through a comprehensive analysis of all cases diagnosed in Japan, WHO Meeting on Buruli ulcer, 23–25 March 2015. Geneva, Switzerland.

2. 国内学会

1) 若林麻記子、藤井紀和、田中俊宏、佐々木一夫、中永和枝、石井則久：ブルーリ潰瘍の 1 例. 第 113 回日本皮膚科学会総会 2014 年 5 月 京都市

2) 宮本友司、向井徹、牧野正彦：*Mycobacterium leprae* のアミノ酸代謝解析　第 87 回日本ハンセン病学会総会．2014 年 9 月　所沢市

3) 森　修一、田中丹史、廣野善幸：1961 年 WHO マニラ講習会が日本ハンセン病外来診療に与えた影響- 石原重徳資料から見えてくるもの - 第 87 回日本ハンセン病学会総会．2014 年 9 月　所沢市

4) 森山一隆、森　修一：アメリカ軍政下の奄美諸島での隔離政策の進展とその要因に関する研究　第 87 回日本ハンセン病学会総会．2014 年 9 月　所沢市

5) 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の活動について（第一報）第 87 回日本ハンセン病学会総会．2014 年 9 月 所沢市

6) 甲斐雅規、中田　登、松岡正典、牧野正彦：らい菌 Kyoto-2 株の増殖能への関与が疑われる遺伝子の解析. 第 87 回日本ハンセン病学会総会、2014 年 9 月 所沢市

7) 甲斐雅規：　ハンセン病の基礎医学分野のトピックス（シンポジウム）. 第 87 回日本ハンセン病学会総会．2014 年 9 月　所沢市

8) 圓純一郎, 鈴木幸一, 北島信一, Htet Lin, Kyaw Kyaw, 米澤傑, 後藤正道：ハンセン病による末梢神経障害の神経生理学的評価及び電気刺激を用いた治療についての研究(第 1 報). 第 87 回日本ハンセン病学会. 2014 年 9 月 所沢市

9) 福富康夫、前田百美、牧野正彦：蛍光色素を利用したらい菌活性の新しい評価法-薬剤の抗らい菌活性評価への応用. 第 87 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2014 年 9 月　所沢市

10) 田村敏生, 下袴田陽子, 前田百美, 牧野正彦：追加免疫法の開発に向けた樹状細胞によ細胞障害性メモリーT 細胞の分化調節機構の解析. 第 87 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2014 年 9 月 所沢市

11) 前田百美, 田村敏生, 向井　徹, 福富康夫, 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の miRNA 解析. 第 87 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2014 年 9 月　所沢市

12) 堤　玲子、山田七子、吉田雄一、山本　修、中永和枝、石井則久：関節リウマチ患者に生じた *Mycobacterium chelonae* 感染症の 1 例. 第 66 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 2014 年 11 月 高松市

13) 本田聡子、内藤洋子、増地　裕、中永和枝、石井則久：認知症患者に生じたブルーリ潰瘍の一例. 第 66 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 2014 年 11 月 高松市

14) 大日方夏美、常深祐一郎、中永和枝、石井則久：皮膚 *Mycobacterium colombiense* 感染症の一例. 第 858 回日本皮膚科学会東京地方会 2014 年 12 月　東京

15) 三井田　博、有波　浩、三輪　仁、池滝勝史、石井則久、中永和枝：新潟県で 4 例目となるブルーリ潰瘍の 1 例. 第 376 回日本皮膚科学会新潟地方会 2014 年 12 月　新潟市

16) Tsukamoto Y, and T. Tamura: Functional improvement of *Mycobacterium bovis BCG* as a vaccine against tuberculosis. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月　京都市

17) 田村敏生、下袴田陽子、梅村正幸: Effect of peptide-25

of Ag85B on the induction of functional activation of CD8+ cytotoxic T lymphocytes. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 京都市

18) 下袴田陽子、田村敏生: The role of follicular helper T cells in mycobacterial infection、第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 京都市

19) 梅村正幸、福井雅之、山崎雅俊、福井知穂、田村敏生、中江 進、松崎吾朗: Involvement of IL-33 in the protective immunity against lung mycobacterial infection. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 京都市

20) 関塚剛史、甲斐雅規、中永和枝、中田登、前田伸司、牧野正彦、黒田誠 : 比較ゲノム解析により明らかとなった *Mycobacterium massiliense* の脂質代謝関連ゲノムアイランド 第 88 回日本細菌学会総会 2015 年 3 月 岐阜市

21) Nakata N, M. Kai, and M. Makino: Analysis of mycobacterial rrl genes and macrolide resistance. 第 88 回日本細菌学会総会 2015 年 3 月 岐阜市

22) Kai M, N. Nakata, T. Sekizuka, M. Kuroda, and M. Makino: Genotyping and analyses of *Mycobacterium leprae* Kyoto-2 isolated in Japan. 第 88 回日本細菌学会総会 2015 年 3 月 岐阜市

２４．総務部総務課図書室

図書室長（総務課長併任）萩原　秀明

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 26 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			147	160	307
	購入		104	20	124
		電子版	90	0	90
	交　換		21	4	25
	寄　贈		22	136	158
単行本			227	196	423
	購入		47	23	70
		電子版	7	0	7
	寄　贈		180	173	353

文献相互貸借状況		供与	依頼	合計
総数		271	1,614	1,885
三庁舎間		158	158	316
外部機関総数		113	1,456	1,569
	協力機関	71	286	357
	国公立大学/機関	25	883	908
	私立大学/機関	17	287	304

[編集翻訳係]

編集翻訳係では,平成 26 年度は JJID vol. 67 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 月末に田代眞人が退官し,4 月に小田切孝人，加藤篤，棚林清が加わった.編集方針に変更はない．

JJID で再任用職員の増員 1 名が認められ，係長 1 名，再任用職員 2 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．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）でのシステムも順調に運用され，投稿数も 2.6 倍に増えた．海外からの投稿が 80%を占め，41 ヵ国に及ぶ．11 月末から Advance Publication を導入し採択された著者の最終原稿（校正前）を Web 上で公開を進めている．

第 24 回感染研シンポジウムの演者及び 26 年 3 月 31 日をもって退官した方々にreviewを投稿して頂くようにお願いした．

今年度の 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. 1/72 頁(16 編)，2/76(17)，3/92(16)，4/96(19)，5/90(21)，6/104(18)

投稿論文数　感染研内　21 編
国内　85 編
海外　487 編 (41 ヵ国)

採択率　16%

２５．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、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・事業費等で構築・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。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、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。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、㈱NEC ネクサの提供する IaaS 環境を借り受けることで、運用のクラウド化が実現した。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。平成 27 年 4 月から、所外向け Web サーバは厚生労働省所管の情報システムの中ではもっとも早い時期に「政府共通プラットフォーム」上に移行され、さらに効率化された。

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

技術的セキュリティ対策を担う firewall やプロキシサーバに、政府機関等から得た不正アクセス情報を適用している。また、運用的セキュリティ対策として、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。これらの対策の妥当性は、毎年第三四半期に行われるセキュリティ監査で検証され、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ている。

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 26 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) 村山庁舎の無線 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

(2) 標的型メール攻撃訓練を実施した

(3)相互コミュニケーション機能を持つ新ユーザページの運用を開始した

(4) B0 プリンタを更新した

Ⅴ．平成 26 年度中の主なシステム障害は、以下の通りである。

１．14/09/04　　ロードバランサの機器障害

9/5 18:00 から機器交換作業を行う