序

所長　倉根一郎

国立感染症研究所は、本年度も国立研究機関として研究業務、サーベイランス業務、レファレンス業務、生物製剤の品質管理業務を一層推進するとともに、国内外における感染症健康危機事案に対しても対応し、厚生労働行政に於ける役割を果たした。

平成 27 年 8 月 7 日、国立感染症研究所村山庁舎の高度封じ込め施設は BSL4 施設の指定を受けたが、その指定を受けて、BSL4 施設における安全管理のみならず、村山庁舎全体のセキュリティー強化を推進した。また、村山庁舎施設運営連絡協議会を継続的に行い情報の公開を行うとともに、村山庁舎においても一般公開を開始し、国立感染症研究所の業務に関して、地域の方々の理解を深めることに努めた。

西アフリカにおけるエボラ出血熱の流行への対応として、平成 26 年度に続き本年度もシエラレオネやリベリアへの職員の派遣を行った。国立感染症研研究所のこのような対応に対し、リベリア共和国サーリーフ大統領（2011 年ノーベル平和賞受賞者）の感染研への訪問があり、協力への感謝のお言葉があった。また、本年度も海外からの帰国者・入国者におけるエボラ出血熱疑い者の検体を受け入れた。本年度は 3 例の検査を行ったが、いずれも陰性であった。また、韓国における MERS の流行を受けて、海外からの帰国者・入国者における MERS 疑い者の検体を受け入れ本年度は 7 例の検査を行ったが、いずれも陰性であった。一方、新たにブラジルを中心として南米で流行したジカウイルス感染症にいては、最新の知見に基づき、リスクアセスメントを行い、ホームページ上で公開した。また、ジカウイルス感染の検査法の確立をおこない、全国の地方衛生研究所への検査キットの送付や講習会の開催を行った。さらに、本年度は 4 例のジカウイルス感染症の確定を行った。これらの活動を通してジカウイルス感染症対応に大きく貢献した。また、このようなエボラ出血熱、中東呼吸器症候群、ジカウイルス感染症等の新興感染症に関して最新情報をホームページに掲載する等、国、地方自治体における感染症対策にも貢献した。さらに、平成 26 年度において、デング熱国内流行があったことから、地方自治体および関連機関に対する蚊対策に関する技術指導を行うとともに、蚊媒介感染症の対応・対策の手引き、デング熱・チクングニア熱の診療ガイドラインを改訂した。

国立感染症研究所は麻疹排除およびポリオ根絶計画についても国内外においてその役割を果たした。平成 27 年 3 月、日本が麻疹排除状態にあることが WHO 西太平洋地域麻疹排除認定委員会より認定されたが、WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワーク、ならびに西太平洋地域 のレファレンスラボラトリーとしての業務を遂行した。また、ポリ

オ根絶計画に関しては、世界特殊専門ラボラトリーとして、また WHO 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行った。また、JICA との共催により、ポリオ実験室診断技術研修会、麻疹・風疹診断、及びエイズ研修を海外からの参加者に対し行った。これらの研修を通して国立感染症研究所は国際的大きな貢献を行った。

海外の国立研究機関との共同研究においては、中国 CDC 及び韓国 CDC との第９回日中韓共同シンポジウム（京都）、台湾 CDC との第 12 回日台シンポジウム（東京）を開催した。ベトナムとの共同研究に関して NIHE と今後の協力体制の意見交換を行った。また、インド NICED との共同研究についても研究発表会を開催した。

国内における薬剤耐性菌対策においても貢献した。特に、JANIS に関して、参加医療機関が増加し都道府県別の集計を開始も開始した。また、レファレンス業務についても、地方衛生研究所との協力により薬剤耐性菌に関する全国的な検査体制を充実させるべく、薬剤耐性菌レファレンスセンターを新たに立ち上げた。

平成 27 年度は村山庁舎についてヒューマンサイエンス振興財団動物実験実施施設認証センターに外部検証を依頼し、実地調査が行われた。昨年度の戸山庁舎に続き厚労省基本指針に適合していることの認定を受けた。

研究評価委員会が平成 28 年 2 月 10 日に行われ、5 部、4 センター、3 省令室の研究業務及び通常業務について、①研究課題の選定、②共同研究・競争的資金の導入状況、産学官の連携、国際協力等外部との交流、③研究・試験・調査等の状況と成果、の観点から評価が行われた。同時に基盤的研究費 11 課題の中間評価、研究事業費 1 課題の事前評価、研究事業費 1 課題の中間評価、研究事業費 2 課題の事後評価が行われた。評価委員からは種々の指摘があったが、概ね高い評価を受けた。

人事においては平成 27 年 4 月 1 日に花木賢一（動物管理室長）、熊谷優子（国際協力室長）が、平成 27 年 7 月 1 日に山内和志（企画調整主幹）が就任した。

1．ウイルス第一部

部　長　　西條　政幸

概　要

ウイルス第一部において，2015 年度には以下の人事異動があった．高崎智彦（第二室長）が 2016 年 3 月 31 日付けで退職し，神奈川県衛生研究所所長に就任した．また，福間藍子（第一室研究員）及び藤井ひかる（第四室研究員）が 2015 年 3 月 31 日付けで退職した．一方，佐藤正明（第五室研究員）が 2015 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，他），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学術雑誌及び国内外の学会等において発表された．

ウイルス第一部の研究・業務領域に，エボラ出血熱（エボラウイルス病）等のウイルス性出血熱の診断・治療・予防法，病態発現機構の研究が含まれる．これらの業務を遂行するためには，感染性ウイルスを用いる必要があった．しかし，これまで村山庁舎に設置されていた高度封じ込め施設はBSL-4 施設としての稼働されてこなかったため，感染性のあるウイルスを用いた研究は行えなかった．しかし，2015 年 8 月 7 日に厚生労働大臣による BSL-4 施設としての指定を受け，今後高度封じ込め施設を BSL-4 施設として稼働させることになった．

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）に関する研究が継続された．SFTS ウイルス（SFTS virus，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，日本の SFTSV に関する分子疫学，SFTS に対するワクチン開発，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．エボラ出血熱等のウイルス性出血熱に対するワクチン開発が開始された．クリミア・コンゴ出血熱ウイルスやアレナウイルスの細胞への侵入機構に関する研究も実施された．

第二室においては，これまでから引き続きデングウイルス，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の診断・治療・予防法，病態解明機構に関する研究がなされた．また，2015 年から中南米で大流行したジカウイルス感染症に対する検査法の開発，地方衛生研究所への検査技術支援等を担当した．デング熱輸入感染事例の診断に加え，チクングニア熱，ジカウイルス感染症疑い事例のウイルス学的検査も担当した．

デングウイルスに関する研究では，デングウイルスに抗ウイルス活性を示す薬剤サイクロフェニル（CF）を見出し，その増殖抑制効果の評価および作用機序を解析した．デングウイルス感染症は通常良好な経過をとり回復するが，時に出血熱等を引き起こし重篤な病態を引き起こす．その病態出現機序をインターフェロン系ノックアウトマウス（IFN-NO マウス）感染動物モデル系を用いて解析した．

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がⅤ型の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体誘導能を解析するとともに，遺伝子型Ⅴ型の日本脳炎ウイルス遺伝子増幅法を開発した．

その他，フラビウイルスに関する研究として，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を樹立し，治療薬としての有用性を動物モデルを用いて評価した．また，ジカウイルスにおいてデングウイルスと同様にNS1が検査の標的になり得るかどうかを検証し，迅速検査システム開発に着手した．

チクングニアウイルス感染症の病態解明に関する研

究，感染動物モデル開発を継続した．

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に，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導入・改良について検討した．また，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．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，その効果の発現機序について解析するとともに，同様の手法を用いて MERS コロナウイルスに対するワクチン開発も開始された．

狂犬病ウイルスの P 遺伝子，G 膜蛋白質，等の機能解析に関する研究が継続された．

進行性多巣性白質脳症（PML）患者の脳脊髄液（CSF）に出現する JC ウイルス（JCV）のウイルス遺伝子定量によるウイルス学的検査依頼を全国の医療機関から受けた．2007 年度から 2015 年度までに約 1,500 件の検査依頼に対応し，約 140 名の CSF 中 JCV-DNA 陽性者を確認した．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を有する患者において PML と診断される患者が増加していることが明らかにされた．JCV に関する基礎研究として，高速演算によるシミュレーションによって JCV の調節領域に存在する短鎖 DNA 配列の頻度を解析し，得られたデータを統計学的に解析した．その結果，PML 患者において検出される JCV の変異には一定の規則性が存在することが示唆された．このように，PML については臨床的な側面の研究から基礎研究まで，幅広い研究がなされた．

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（HSV-1），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）感染症の研究が継続された．

HSV-1 に関する研究として，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 の迅速な検査系の開発に関する研究が継続された．アシクロビル等の抗ウイルス薬の治療に抵抗性を示す免疫抑制下にある患者の病変から採取された検体について，薬剤感受性検査を含むウイルス学的な検査を引き受け，いくつかの例で薬剤耐性 HSV-1 感染症が証明された．

高度弱毒化痘瘡ワクチン LC16m8 株をベクターとした HSV，CMV，B ウイルスに対するワクチン開発の基盤的研究が開始された．

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．

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を実施し，ヒゲナガチマダニから分離されていたリケッチアは，多座配列タイピング（multi locus sequence typing）解析から *R. rickettsi* や *R. phillipii* のクラスターに属することが明らかにされた．国内でさらに既知の病原リケッチア以外の種による患者発生の可能性が示唆された．

リケッチア属菌遺伝子を検出するための LAMP 法を開発し，その診断における有用性を評価した．

200 名を超えるリケッチア症疑い患者の中に，SFTS 患者が含まれるか否かについて，当部に保管されているリケッチア症疑い患者血清を用いて後方視的に調べた．1 名が SFTS であったことが証明された．

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の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．2015 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．AMED 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 の検査法に関する研究

SFTS は, 新規フレボウイルスの一種である SFTS ウイルス（SFTSV）によって引き起こされるマダニ媒介性感染症であり，その致死率は極めて高い．本研究では，SFTSV の遺伝子量を定量的に，かつ，迅速に測定するためのリアルタイム PCR による SFTSV 遺伝子検出法を開発し，全国地方衛生研究所に配布するための検討を行った．SFTSV の M セグメントの塩基配列のバリエーションが多いため，リアルタイム定量 PCR で検出できないウイルスが存在することが明らかにされた. M セグメントのバリエーションが多い SFTSV 株が最近増えているかどうか，さらに継続した調査が必要である．本研究により，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 SFTS 診断が可能となった．［福士秀悦，福間藍子，谷英樹，黒須剛，谷口怜，下島昌幸］

2) SFTS の血清学的検査法の開発及び疫学調査に関する研究

国内外における SFTS の病態解明，疫学調査，感染リスク評価を行うためには，SFTS の正確な検査法を確立する必要がある．そこで，ウイルス感染細胞または組換え核蛋白質を抗原とした間接蛍光抗体法（IFA）及び ELISA 法を開発し，SFTS 疑い患者の血清を用いて，その血清学的診断における有用性を評価した．感染細胞を抗原とした IFA 及び ELISA 法による血清中の IgM・IgG 抗体の検出が可能であった．また，組換え核蛋白質を抗原とした抗体検出方法の抗体検出感度は，感染細胞を抗原とした方法のそれと同程度であった．感染細胞または組換え核蛋白質を抗原とした抗体検出により, 回復期での診断が可能になると考えられた.

これまでに SFTS 患者報告数が国内で 2 番目に多い愛媛県において，患者発生地域を中心とした農林業に従事する 50 歳以上のハイリスクグループを対象に抗 SFTSV 抗体保有率に関する調査が行われた. ELISA 法及び IFA で共に陽性を示した検体は，694 検体中 2 検体で（0.29%），そのうち 1 検体のみ中和活性が陽性を示した．この結果から，SFTS 流行地域においても抗 SFTSV 抗体保有率は非常に低いことが明らかとなった．［福間藍子，福士秀悦，谷英樹，谷口怜，吉河智城，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；四宮博人（愛媛県立衛生環境研究所）］

3) SFTSV の細胞侵入機構の解析

SFTSV の細胞侵入に関して，エンベロープ蛋白質遺伝子欠損水疱性口内炎ウイルス（VSVΔG）に SFTSV のエンベロープ蛋白質（GP）を外套したシュードタイプウイルス（SFTSVpv）を作製し，様々な哺乳動物細胞に高い効率で細胞侵入することが明らかにされた．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）が細胞侵入効率を増強させることも明らかにされた．さらに，コレステロールから生合成される 25-hydroxycholesterol（25-HC）が SFTSV の細胞への感染を阻害するか否かを検証した．25-HC は SFTSV の増殖を抑制するとともに，SFTSVpv の細胞侵入も阻害することが明らかにされた. 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）］

4) SFTSV エンベロープ蛋白質の融合に関わるアミノ酸部位の同定

SFTSV のエンベロープ蛋白質（GP）を発現するプラスミドを用いて, 酸性下での膜融合能を調べると，複数の日本株では pH5 で膜融合が観察されるのに対し，中国株である HB29 ではほとんど膜融合が見られなかった．そこで，これらのアミノ酸配列を比較して，異なる部位をそれぞれ，日本株もしくは HB29 株のアミノ酸に置換して，どのアミノ酸配列が膜融合に関与しているのかを検証した．その結果，962 番目のアミノ酸がセリンであることが膜融合を誘導することに重要であることが明らかにされた．［谷英樹，福士秀悦，黒須剛，谷口怜，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；河内健吾（日本獣医

生命科学大学)］

5) SFTSV の感染中和抗体開発に関する基盤研究

SFTSV の感染を抑制･阻害する方法の一つとして，SFTSV 感染を中和（阻害）する効力のある抗体製剤を開発することが考えられる．これまでの私たちの解析で感染回復患者血清中には，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. そこで 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．現在，感染マウスモデルでの抗ウイルス効果を検証するための準備がなされている．［谷英樹，福間藍子，福士秀悦，谷口怜，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸］

6) SFTSV に対する T-705 の動物モデルでの評価

SFTS は，死亡率が高く極めて予後不良の感染症であるが，有効な特異的治療薬はない．昨年度，インターフェロン受容体ノックアウトマウスを用いて，抗ウイルス薬 T-705（favipiravir，富山化学工業）の SFTSV 感染症に対する治療薬としての有用性を評価した．本年度は，人への臨床試験を想定した T-705 の用量，投与方法（経口投与）による治療効果を評価した．その結果，低用量の T-705 投与であっても，マウスの生存率は高く，治療効果も認められることが明らかにされた．また，T-705 を用いて治療されたマウスにおいても，血中には中和抗体が誘導されていることが明らかにされた.［谷英樹，福間藍子，福士秀悦，吉河智城，黒須剛，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)］

2. クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）に関する研究

1) CCHF ウイルスの感染機構および中和抗体測定に関する研究

CCHF ウイルス（Crimean-Congo hemorrhagic fever virus，CCHFV）等の病原性の高い出血熱ウイルスは BSL-4 施設内で取り扱われる必要があるが，BSL-4 施設がない国々では CCHFV の細胞への感染機構の解析等の性状解析や中和抗体価測定等のウイルス学的検査はできない．CCHFV のエンベロープ蛋白質を水疱性口炎ウイルス（vesicular stomatitis virus，VSV）に外套させたシュードタイプウイルスは BSL-2 で取り扱いが可能であり，シュードタイプウイルスを用いることで BSL-2 で感染機構を解析することができるようになるが，私たちは CCHFV の（GP）エンベロープ蛋白質の C 末端の 53 アミノ酸を欠損させることで力価の高い感染性のシュードタイプウイルスが得られること，またその感染機序が野生型の CCHFV と一致することを見出した．このシュードタイプウイルスを用いることで，CCHFV が宿主膜蛋白質である DC-SIGN を細胞への感染に用いうることが明らかにされた．一方で，GP 蛋白質が中和抗体の主要な標的であることから, CCHF 患者および健常者の血清についてシュードタイプウイルスを用いて得られた中和抗体価と野生型 CCHFV を用いて得られた中和抗体価を比較した．両者間に高い相関があることが明らかにされた．シュードタイプウイルスを用いることにより，ヒト血清中の CCHFV に対する中和抗体を間接的に測定できることが示された．［下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，西條政幸；須田遊人，村上晋，堀本泰介（東京大学）; Roger Hewson, Stuart Dowall（英国 PHE)］

3.プテロパインオルソレオウイルス（PRV）に関する研究

1) PRV 感染症の血清診断法に関する研究

近年，マレーシアやインドネシアで呼吸器症状をヒトに引き起こすコウモリ由来オルソレオウイルス Pteropine orthoreovirus（PRV）について，私たちはこれまでに抗体測定法として組換え蛋白質を用いた ELISA やウイルス感染細胞を用いた間接蛍光抗体法，感染性ウイルスを用いた中和抗体測定法を確立した．この方法を用い，PRV 感染症の報告がなかったベトナムに居住する人々の血清を用いて PRV に対する抗体の有無を調べた．そ

の結果，ELISA 陽性者が 6 人確認され，うち 2 人は高い中和抗体価を呈した．このことはベトナムにおいても PRV 感染症が発生していることを示している．一方，PRV の分離株間で major outer capsid（MOC）蛋白質は高度に保存され，逆に cell attachment protein（CAP）蛋白質は保存性が低くヒト由来分離株は大きく分けて3グループに分類された．MOC 蛋白質を抗原として感染の有無を調べる ELISA と CAP 蛋白質を抗原として感染していた株を推測する ELISA を構築した．PRV のある株に感染していた患者の回復期血清を評価したところ，予想通りの結果が得られた．［下島昌幸，Singh H，福士秀悦，黒須剛，谷口怜，西條政幸；江川和孝（岐阜大学連合獣医学）；Ngoc TC, Quoc Huy NV, Chuong TX, Le Van A（ベトナムフエ医科薬科大学）；楊明，菅又昌実（首都大学東京）］

2) PRV 感染症の感染動物モデル開発に関する研究

PRV のマウスにおける病原性を解析するとともに，感染動物モデルを開発した．経気道感染経路でマウスに PRV を感染させた場合，PRV は肺で顕著に増殖し，急性肺炎の病理所見を誘導した．また，PRV 抗原は主に細気管支から肺胞道，肺胞において検出された．PRV 感染症の病態の解明，治療・予防法の開発に有用なモデルになると考えられた．［下島昌幸，Singh H，福士秀悦，黒須剛，谷口怜，西條政幸；江川和孝（岐阜大学連合獣医学）］

4. 中東呼吸器症候群（MERS）に関する研究

1) MERS の診断法に関する研究

中東呼吸器症候群（Middle East Respiratory Syndrome, MERS）は 2012 年にサウジアラビアで最初に報告のあった，新種のコロナウイルス MERS コロナウイルス（MERS-CoV）による致命率の高い感染症である．

MERS-CoV 感染 Vero 細胞溶解液を抗原とした ELISA 法を開発した．本法は MERS-CoV のスパイク（S）蛋白質抗原に対する抗体を検出できるため，MERS に特異的な血清学的診断に有用である．また，この ELISA 法を安全に行うため，MERS-CoV 感染細胞ライセートの調製法（界面活性剤および UV 照射処理）により MERS-CoV が十分に不活化されるかどうか検討した．MERS-CoV 培養液を 1%NP40 で処理することにより，ウイルス感染価は $10^{5.4}$ 以上低下した．このウイルス液を Vero 細胞に接種し，その後 28 日間（継代 3 回含む）培養しても感染性のある MERS-CoV は検出されなかった．ウイルス培養液を UV トランスイルミネーター上で UV 照射 1min 処理することにより，ウイルス感染価は $10^{5.8}$ 以上低下した．これらの結果から MERS-CoV は 1% NP 40 処理で完全に不活化することができ，UV 照射 1 min により二重に不活化できることが明らかになった．［福士秀悦，福間藍子，谷英樹，黒須剛，谷口怜，下島昌幸］

2) MERS の血清学的診断に関する研究

MERS-CoV の膜蛋白質を外套したシュードタイプウイルスは，ウイルスの侵入機構や指向性の研究，侵入機構の阻害剤の検討，中和活性の測定に利用することができる．本研究では，MERS-CoV のスパイク（S）蛋白質を外套した VSV シュードタイプウイルス（MERSpv）を作製した．まず，C 末端を 16 アミノ酸欠損した S 蛋白質を外套した MERSpv を作製し，本来の MERS-CoV と同様の侵入機構を示すか否かについて検討した．その結果，MERS-CoV の受容体である DPP4 に対する抗体，及び S 蛋白質を免疫したウサギ抗血清により MERSpv の Vero 細胞への感染が阻害された．MERSpv が MERS-CoV と同様に S 蛋白質と DPP4 との結合を介して細胞に侵入することが示された．MERSpv を用いて，エチオピアのヒトコブラクダの血清の中和活性を測定したところ，93%以上が陽性を示した．この結果から，エチオピアのヒトコブラクダ間で MERS-CoV 感染が蔓延していることが示された．また，MERSpv を用いて測定された中和抗体価は，感染性のある MERS-CoV を用いて測定された中和抗体価とほぼ一致した（感度 98.8%）．このことから MERSpv を用いた中和活性測定法は，MERS の診断や MERS-CoV の疫学的解析に有用であると考えられた．［福間藍子，

福士秀悦，谷英樹，谷口怜，吉河智城，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）］

5. 新規ブニヤウイルスに関する研究

1) Soft tick bunyavirus（STBV）の性状解析及び血清診断法に関する研究

近年国内で分離されsoft tick bunyavirus（STBV）と名付けられたブニヤウイルスは中央アジアでイシククル熱を引き起こしている Issyk-kul virus（ISKV）と系統樹解析により近縁のウイルスであると考えられている．本研究では，STBV の性状が ISKV のそれとウイルス学的に類似しているか否かについて検討した. SW13, Vero, Jurkat 細胞における増殖性は類似し，Jurkat 細胞では C 型レクチン DC-SIGN あるいは LSECtin を発現させると増殖性が高まることも類似していた．STBV を感染させたマウスから得られた血清は間接蛍光抗体法において ISKV に交叉反応を示した．つまり ISKV と STBV の抗原性は互いに類似するウイルスであった．国内の血清バンク 1,000 検体を組換え N 蛋白質を抗原とした ELISA でスクリーニングし，高 OD 値を示した検体について間接蛍光抗体法で抗体の有無を調べたが全て陰性であり，STBV によるヒトの感染はほとんど生じていないと考えられた.［下島昌幸，西條政幸；須田遊人，村上晋，堀本泰介（東京大学)］

6. アレナウイルスに関する研究

1) 新興出血熱ウイルスの細胞内侵入受容体の評価

ラッサウイルスで新たに報告された新規細胞内侵入受容体であるリソソーム関連膜蛋白質 1（LAMP-1）のラッサウイルスおよび近縁のルジョウイルスでの関与について検討した．LAMP-1 は，通常リソソーム内に発現しており細胞表面にはほとんど発現していないため，この残留シグナルを欠損させた，もしくは変異を入れた変異体を作製した．この発現プラスミドを用いて，細胞内でLAMP-1およびLAMP-1変異体を発現させて，ラッサウイルスおよびルジョウイルスのエンベロープ蛋白質（GP）の発現細胞と共培養し，酸性条件下で処理後の膜融合活性を，同じく T7 ポリメラーゼ発現プラスミドと T7 ルシフェラーゼプラスミドの高感度リポーターアッセイ系を用いて検証した．その結果，LAMP-1 の発現は免疫蛍光抗体法を用いて確認できたものの，LAMP-1 と変異体とで発現局在が変わらず，リポーター活性もほぼ同等の値を呈した.［谷英樹，福士秀悦，黒須剛，谷口怜，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；河内健吾（日本獣医生命科学大学)］

Ⅱ．ポックスウイルスに関する研究

1. 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした出血熱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であるワクチニアウイルス LC16m8 株は，免疫原性を維持しつつ安全性は高いことが知られている．遺伝子組換え技術を用いて，2013 年に初めて国内でも流行していることが確認された SFTSV 感染症，更には 2014 年にアフリカ地域で大流行を起こしたエボラ出血熱の原因ウイルスであるエボラウイルス，同じくフィロウイルス科に分類されるマールブルグウイルスに対するワクチンを LC16m8 をベクターとして開発した. 本年度は前年度に作製した SFTSV の GPC, NP，そして膜裏打ち抗原である Z 抗原を，単価または複数価発現する組換え LC16m8（recLC）をマウスに接種することで，SFTSV に特異的な抗体が誘導されることが確認された．また，エボラウイルス（ザイール，スーダン，ブンディブギョ，タイフォレスト株）及びマールブルグウイルスの膜表面抗原である GPC を発現する組換え LC16m8 を作製した．これらのワクチンとしての有効性を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）システムによる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することが望ま

しい. そこでワクシニアウイルス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出来る，組換えLC16m8の作製系（VAC-BACシステム）の確立を試みた．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の必須遺伝子が組み込まれた組換えLC16m8（m8-BAC）を作製した．このm8-BACを細胞に感染させた後にウイルス遺伝子を回収し，この遺伝子を用いて大腸菌をトランスフォーム，薬剤選択により，LC16m8の遺伝子がクローニングされたBACプラスミド, pLC16m8-BACの作出に成功した．更にこのプラスミドをHEK293細胞にトランスフェクションと同時にヘルパーウイルスを感染させることで，感染性のある組換えLC16m8が産生された．［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) サイクロフェニルのフラビウイルス増殖抑制効果

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）のデングウイルスに対する増殖抑制効果を評価し，さらにその作用機序を解明した．デングウイルス（dengue virus，DENV）の血清型（1型から4型）間によって効果に差異があるものの，各種哺乳類由来培養細胞においてCFがDENV増殖をCF濃度依存的に抑制した．一方，蚊由来C6/36細胞ではDENV増殖を抑制しなかった．CFは哺乳類由来培養細胞に存在する宿主側因子を介してDENV増殖抑制作用を発揮することが示唆された．Time-of-additionアッセイにより，DENV感染後18時間以上経過してからCFを添加しても放出される感染性ウイルス粒子及び細胞内ウイルスRNA合成が有意に抑制されなかった．一方CF添加がDENV感染後18時間未満の場合では，ウイルスRNA量に比べ，感染性ウイルス粒子数が有意に減少した．また，レポーターレプリコンアッセイにおいても，CF濃度依存的なRNA量の減少が認められた．これらの結果より，CFは遺伝子複製，および遺伝子複製より後期の過程に複合的に作用することでDENV増殖を抑制することが示唆された．［田島茂, 加藤文博, 西條政幸; 藤間大貴（早稲田大学）］

2) データベース構築のためのデングウイルス遺伝子解析

DENVの塩基配列データベース構築のため，デング熱患者検体に含まれるDENVの遺伝子配列を解析した．患者血清102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，増幅産物を次世代シークエンサーを用いて全遺伝子配列を決定した．その結果，86検体において全長に近いウイルスの遺伝子配列を得ることができた．また，台湾においては2015年にデング熱の大流行が起き，4万件を超える症例が報告されている．台湾CDCとの共同研究で，デング熱・出血熱患者22例の血清から同様の方法でDENVの全遺伝子配列を解析した．その結果，台湾の流行株は遺伝子型がコスモポリタンIII型のDENV 2型であった．［中山絵里，田島茂，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) 出血熱ウイルス感染モデルを用いたデングウイルス病原機序の解析

デング出血熱は，その致死率は比較的高く，広義のウイルス性出血熱に分類される，DENV感染症の病態のひとつである．熱帯・亜熱帯地域で毎年多数のデング出血熱感染者が報告されているが，病態発現機序は詳細には明らかにされていない．本研究ではインターフェロン系ノックアウトマウス（IFN-NOマウス）感染動物モデル系を用いてデング出血熱病態発現機序を解析した．

DENV-3型（DV3P12/08）株は，IFN-NOマウスに血漿漏出を伴う致死的を引き起こした．

DV3P12/08を感染させたこのマウスに抗TNF-α

中和抗体を導入することにより生存期間は延長された．また，アンジオポエチン I を投与することによっても生存期間が延長した．抗 TNF-α 中和抗体による防御機序を解明するため，抗 TNF-α 中和抗体を投与した感染マウスの肝臓から得られた RNA を用いてマイクロアレイ解析を行った．比較解析により得られた，血漿漏出に関与すると考えられる候補因子を得た．現在候補因子の病態への関与について検討している．これらの候補の中には，その他のウイルス性出血感染にも関与すると考えられる因子が含まれていた．今後更にデング出血熱の病態発現機構について解析する必要がある．［黒須剛，下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，西條政幸；奥崎大介（大阪大学微生物病研究所）］

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の性状解析

近年，中国と韓国の蚊から相次いで遺伝子型 V 型（GV）の日本脳炎ウイルス（Japanese encephalitis virus，JEV）が約 60 年ぶりに分離された．GV に分類される JEV（JEV- GV）は中国分離株を含めこれまでに 2 株しか分離されていない．系統樹解析から GV は，現在の主流株である GI や GIII とは遺伝学的に離れていることがあきらかにされているが，ウイルス性状に関する解析はあまりなされていない．そこで私たちは，当研究室で保有されている JEV- GV（Muar 株）を用いて，Muar 株の in vitro での増殖性，マウスに対する病原性，および現行ワクチンの JEV- GV に対する有効性について解析した．GI に分類される JEV（JEV- GI，Mie/41/2002 株），GIII に分類される JEV（JEV-GIII，Beijing-1 株）および JEV- GV（Muar 株）の in vitro での増殖性およびマウス病原性をそれぞれ比較した．Vero 細胞では Muar 株は Beijing-1 株と同等の増殖能を示し，Mie/41/2002 株のそれよりも低い増殖能を示した．マウス神経芽細胞腫由来 N18 細胞では，Beijing-1 株の増殖能は他株の増殖能に比べ顕著に高く，Muar 株は 3 株の中で最も増殖能が低かった．しかし，マウスに対する病原性は Muar 株と Beijing-1 株で同等であり，Mie/41/2002 株のそれよりも有意に高かった．現行ワクチンの Muar 株に対する中和力価は Mie/41/2002 株（JEV- GI）や Beijing-1 株（JEV-GIII）に比べ低い値を示した．Mie/41/2002 株の E 配列を近年中国で分離された GV 株 XZ0934 株のものに置換した組換え JEV を作製し中和試験を行ったところ，中和力価が Muar 株と同等レベルまで低下した．現行ワクチンを接種したマウスに Muar 株および Beijing-1 株を接種し死亡率を比較したが，両者で差はみられなかった．Muar 株を接種したマウス血清を用いて中和試験を行ったところ，GI，GIII 株に比べ Muar 株に対して高い中和能を示した．以上の結果から，Muar 株のマウス病原性は Beijing-1 株と同等であるが，培養細胞での増殖性については両者で異なることが明らかにされた．JEV-GV に対する現行ワクチンの中和抗体誘導能は他の遺伝子型に比べ低いものの，発症阻止効果は JEV-GV 株に対しても認められた．［田島茂，谷ヶ崎和美，中山絵里，高崎智彦］

2) 遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスの遺伝子検出法の開発

国内で JEV- GV は分離されていないが，すでに国内に存在している可能性がある．今後国内における JEV-GV の存否を調査する必要がある．そこで，JEV- GV の遺伝子検出システムを開発した．その成果として，1）現在までに私たちが使用してきた JEV- GI，JEV-GIII 検出用プライマー・プローブセットでは JEV- GV を検出できないことが明らかにされ，2）最近使用し始めた 3’非翻訳領域を標的とした同セットでは，JEV- GV が検出されるが，同時にウエストナイルウイルス遺伝子も高感度に検出されることが示され，3）JEV- GV 特異的 TaqMan 法を開発した．新たな検出系は，日本脳炎の診断だけでなく，野外における感染動物のスクリーニングにも有用であると考えられる．［田島茂，高崎智彦］

3. その他のフラビウイルスに関する研究

1) 全てのウエストナイルウイルス lineage の遺伝子を検出可能なリアルタイム RT-PCR 法の開発

ウエストナイルウイルス（West Nile virus, WNV）感染症は，アフリカやアメリカ大陸で流行している蚊媒介性ウイルス感染症である. 日本ではWNVによる国内感染事例は確認されていない．また，動物や蚊から分離されてもいない．しかし，日本国内での WNV 感染症流行に備えて，検査体制を整備する必要がある．WNV は 6 種類の lineage に分類されるが，現在私たちが WNV 同定に使用している検出系やその他国外の研究機関から発表された検出系が全ての WNV に対応できているかは不明である．そこで本研究では，これら私たちが有する現行，および最近発表された方法（TaqMan qRT-PCR 法）が全 lineage に対応可能かを調べた．さらに新たな TaqMan qRT-PCR セットを開発し，その特異性および検出感度について考察した．その結果 1）現行の WNV 用プライマー・プローブセットでは, lineage によっては検出されないことが明らかにされた．2）最近，報告された WNV 遺伝子検出法（TaqMan 法）の有用性についても検討した．現行セットと同様検出不能な lineage があることが明らかにされた. 3)すべての lineage に対応可能な新規 TaqMan プライマー・プローブセットを開発した．［田島茂］

2) NS1 蛋白質を標的としたジカウイルス感染症迅速診断系の確立

ジカウイルス（Zika virus，ZIKV）はフラビウイルス科フラビウイルス属に分類され，1947 年に，黄熱研究のためにジカ森林公園で飼育されていたおとりザルから分離された．ZIKV 感染症が中南米で大規模流行し，妊娠女性が ZIKV に感染すると胎児における小頭症の原因となることが明らかにされた．2016 年に世界保健機関は中南米における ZIKV 感染症の大規模流行を「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」と宣言した．フラビウイルスの非構造蛋白質である NS1 は，DENV 感染症では発症後，血中に大量に分泌されることから迅速診断系の標的として用いられている．本研究では ZIKV 感染症において DENV と同様に ZIKV-NS1 が迅速診断系の標的になり得るか否かを検討した. ZIKV-NS1 遺伝子の 3 末端側に FLAG タグが付加された ZIKV-NS1（FLAG- ZIKV-NS1）を発現する哺乳類細胞発現ベクターを作製した. 哺乳類細胞における FLAG-ZIKV-NS1 発現を，DENV および WNV の NS1 を発現する同ベクターをそれぞれ用いた時の発現と比較した．その結果，培養細胞上清における NS1 の分泌量は DENV-NS1 とほぼ同程度であり，ZIKV 感染症においても NS1 が迅速診断系の標的になり得ることが示唆された．［谷口怜，谷ヶ崎和美, 加藤文博, 中山絵里, 高崎智彦, 田島茂, 西條政幸］

3) 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 WNV 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結果, WNV（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．それらの抗体に関してエピトープマッピングをした．［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

1) 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

当研究室において 2006 年から 2016 年 3 月の間に 53 例の輸入チクングニア熱患者がウイルス学的に証明され，これらの患者から 12 株のチクングニアウイルス（Chikungunya virus，CHIKV）が分離された. CHIKV 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．患者から分離された CHIKV の全遺伝子配列を次世代シークエンサーを使用して決定し，系統学的に解析した. 2013 年 12 月以降にチクングニア熱の流行が確認されているカリブ

海諸国からの 3 人の患者および フィリピン, インドネシアからの 6 人の患者から分離された, 計 9 株の CHIKV はすべてアジア型に分類された. スリランカ, マレーシアからの 2 人の患者から分離された 3 株の CHIKV は ECSA 型に分類された. また, 2016 年 2 月にキューバを訪問した患者から分離された CHIKV は, カリブ海諸国で分離されている CHIKV と近縁であった. 近隣諸国から CHIKV がキューバに侵入していることが示唆された. これまでキューバでは CHIKV の国内流行の報告はなく, すでにキューバに CHIKV 感染症が拡大していることが明らかにされた. ［中山絵里, 田島茂, 谷口怜, 柴崎謙一, 高崎智彦］

2) 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

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について報告されているが, 私たちのこれまでの研究では CHIKV 臨床分離株は同マウスに対して病原性を示さなかった. そこで, マウスモデルを構築したオーストラリアの QIMR Berghofer Medical Research Institute の Andreas Suhrbier 博士の支援を得て, Suhrbier 博士の保有する 2 株の CHIKV をそれぞれマウスの足背部に皮下接種することでマウスに関節炎を発症させることができた. 発症したマウスでは感染 2 日目にウイルス血症が最大となった. 関節腫脹は感染 6 日目で最大となり, 感染 10 日目には治癒することが確認された. また, 接種する CHIKV 株によってウイルス血症, 関節の症状の程度に差があることも明らかにされた. 今後, 採取した組織における CHIKV 感染症に関する組織学的・ウイルス学的解析を実施する. ［中山絵里, 高崎智彦；河合康洋（動物管理室）；高橋健太（感染病理部）］

3) チクングニアウイルスレプリコンの作製

CHIKV は約 12kp の一本鎖＋RNA ウイルスである. その遺伝子には 5'から非構造蛋白質, 構造蛋白質がそれぞれ順にコードされている. 翻訳された非構造蛋白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. CHIKV 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, CHIKV 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 CHIKV 遺伝子のうち, 非構造蛋白質をコードする領域およびサブゲノミックプロモーター領域のクローニングを行い, レプリコンを作製した. ［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と考えられ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ついて検討してきた. その結果, 人道的エンドポイントとして麻痺の症状を指標とするのが適当と考えられた. 今年度の国家検定試験2ロット（ロットA, B）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も評価した. 狂犬病ウイルスHEP-Flury株が接種されたマウスはウイルス接種4日目から症状を呈し始め, 6.9から7.3日（平均7.1日）で全身麻痺の症状が観察され始めた. 死亡する個体が最も多かったのは12日目（平均11.4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はロットAでは平均4.4日, ロットBでは平均4.3日短縮されることが明らかにされた. 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ところ，両方法により算出されたワクチン力価に優位な差はなかった．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，西條政幸］

3) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスに対するワクチン開発に関する研究

非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いてアレナウイルスに分類されるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（lymphocytic choriomeningitis virus，LCMV）に対するワクチンを開発し，マウス感染モデルを用いてその効果を解析をした．攻撃試験の再試験を２回実施したところ，それぞれ100%および83%の発症防御率であり，LCMVに対して免疫が誘導された．この成績は、開発された組換えウイルスがLCMVワクチンとして有用であること，また，非増殖性狂犬病ウイルスベクターがラッサウイルス（アレナウイルスに分類される）に対するワクチン開発に応用できる可能性を示唆する．［伊藤（高山）睦代，林昌宏，塩田愛恵，堀谷まどか，Guillermo Posadas Herrera，西條政幸］

4) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いた中東呼吸器症候群（MERS）のワクチン開発

中東呼吸器症候群（MERS）に対するワクチンは開発途上にある．本研究ではMERSコロナウイルス（MERS-CoV）のS蛋白質をP欠損狂犬病ウイルスベクターに発現させることにより，免疫原性の高い生ワクチンを作出することを目的とした．既に確立されているP遺伝子欠損非増殖型狂犬病ウイルスベクターの系を用いて，MERS-CoVのS蛋白質のS1ドメインを発現する組換え狂犬病ウイルス⊿P-MS1を作出した．当該組換え狂犬病ウイルスにMERS CoV S1ドメインが挿入されていることはRT-PCRにより確認された．今後，MERS-CoV S1ドメインが発現していることを蛍光抗体法およびウェスタンブロッティングを用いて確認し，そのワクチンとしての効果を解析する予定である．［飯塚愛恵，林昌宏，伊藤（高山）睦代，福士秀悦，堀谷まどか，Guillermo Posadas Herrera，西條政幸］

5) 狂犬病ウイルスP蛋白質の精製法の確立

狂犬病ウイルスのP蛋白質はL蛋白とRNP結合体を形成し，ヌクレオキャプシドとL蛋白質の結合の仲介や，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が，その機能についてはいまだ不明な点が多い．そこでP蛋白質の機能を解析するためにP蛋白質を発現する組換えバキュロウイルスを作製した．得られたP蛋白質に対する精製条件をHisタグカラム，陰イオンカラムおよび硫安沈降法を用いて行い，その精製条件を確立した．今後P蛋白質の抗原性およびその性状を検討する．［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］

6) 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蛋白質（RV-G）は防御免疫を誘導する主な蛋白質であり，中和抗体を誘導する唯一の蛋白質である．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，低pH下においてRV-GSおよびRV-GLはそれぞれ膜融合活性を有すことを示した．［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) 脳脊髄液中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（progressive multifocal

leukoencephalopathy，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（JC virus，JCV）によって引き起こされる．PMLの診断には，脳脊髄液（cerebrospinal fluid，CSF）中のJCV遺伝子DNAのPCRによる検出が有用である．当研究室では2007年度より医療機関への診断支援およびPML実験室サーベイランスを目的として本検査を継続して受け入れた．2007から2015度までに約1,500件の検査依頼に対応し，約140名のCSF中 JCV-DNA陽性者を確認した．被検者の情報をデータベースに登録し解析し，近年では自己免疫疾患を有する患者におけるPML患者が増加していることが示唆された．また，PMLの診断や治療において臨床医と連携を取りながらPML症例の解析およびサーベイランスが実施された．［中道一生，林昌宏，西條政幸］

2) JCウイルス遺伝子の変異様式のin silico解析

JCVは多くの健常人において無症候性に持続感染しており，ウイルス遺伝子のDNA配列は終生にわたって安定している．一方，PML患者の脳および脳脊髄液に出現するJCVでは，ウイルス遺伝子の調節領域に患者個人レベルの多様な変異が認められる．本研究では，高速演算によるシミュレーションによって調節領域に存在する短鎖DNA配列の頻度を解析し，得られたデータを統計学的に解析した．PML患者において検出されるJCVの変異には一定の規則性が存在することが示唆された．［中道一生，林昌宏，西條政幸］

3) LAMP法を用いたPML患者の脳脊髄液中のJCV遺伝子検出法の診断における有用性の評価

LAMP法を用いて，CSF中のJCV遺伝子の検出および定量する迅速・簡便な検査法を開発し，その有用性を検討した．JCV検査のため全国の医療機関から送られてきたCSF（153検体）を用いてLAMP法を行ったところ，反応あたり最少20コピー（3,000コピー/mL CSF）のJCV遺伝子が100％の率で検出された．TaqMan-リアルタイムPCR法と比較したところ，感度は84％（42/50），特異度は97％（100/103），κ係数は0.83，陽性的中率および陰性的中率はそれぞれ93％と93％であった．LAMP法で決定されたJCV遺伝子量は，リアルタイムPCR法によるそれと高い相関を呈した．LAMP法では，他のポリオーマウイルス（BKV，SV40，MPyV）や脳炎を引き起こすウイルス（HSV1，VZV，measles virus，JEV，WNV），プロウイルス（HIV-1 subtype B & C）の遺伝子には非特異的な濁度の上昇を示さず，交差反応を示さなかった．したがってLAMP法によるJCVの検出・定量は，PMLの診断や治療方針の指標に有用であり，治療薬のモニタリング等に期待できると考えられた．［木下一美，中道一生，伊藤睦代，塩田愛恵，林昌宏，西條政幸］

Ⅵ．ヘルペスウイルスに関する研究

1．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．昨年度，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，in vitro における表現型と中枢神経における病原性の評価を行った．本年度はこれらのクローンについて末梢感染時の病原性評価を行い，野生株と同程度であったクローンについて，組換えヘルペスウイルス作製系の構築にあたり，その遺伝子内に EGFP/BAC 配列を挿入した．［藤井ひかる，山田壮一，吉河智城，原田志津子，西條政幸］

2) HSV-1 臨床由来株の病原性評価と病原性低下要因の探索

昨年度，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，in vitro における表現型と中枢神経における病原性を評価した．本年度はこれらのクローンについて末梢感染時の病原性を評価した．更に，末梢感染時に病原性が著しく低下していたクローンについて次世代シークエンス法を用いて，病原性低下の原因を探索した．［藤井ひかる，山田壮一，吉河智城，原田志津子，西條政幸］

3) 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した. 本年度は，昨年度作製した候補因子発現ベクターを 293T 細胞に導入した際の細胞周期の変化の観察を行うことで，候補因子を絞り込んだ. ［藤井ひかる, 山田壮一, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸］

4) HSV-1 臨床サンプルにおける TK 遺伝子の variation 解析法の構築

造血幹細胞移植等による免疫抑制状態患者において，HSV-1 はしばしば重篤な症状を引き起こす. そのため，予防的にアシクロビル（ACV）をはじめとする抗ヘルペスウイルス薬投与がなされるが, 長期にわたる抗ウイルス薬投与は薬剤耐性 HSV-1 の出現を誘導する. しかし，薬剤耐性 HSV-1 の出現および消失過程における解析はほとんどなされていない. そこで本研究では, HSV-1 患者から採取したサンプルを用いて，耐性獲得の原因遺伝子の一つであるチミジンキナーゼ（TK）遺伝子の変異の変遷を高感度に解析可能な系を構築した. 本系はサンプル中に存在する 5～95%の variation を定量可能であり，またサンガー法では検出されなかった variation についても検出されることが明らかにされた. ［藤井ひかる，山田壮一，吉河智城，原田志津子，西條政幸 ; 垣内五月（東京大学)］

2. 水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に関する研究

1) 弱毒生水痘ワクチン株弱毒化機序の解析

弱毒生水痘ワクチン株である vOka 株は，Oka 株（pOka 株）をヒト及びモルモット由来細胞にて継代することにより弱毒化されたワクチンであり，有効性及び安全性が高いワクチン株として世界中で使用されている. しかしながら，その弱毒化の機序は未だ詳細に明らかにされていない. 一方，日本では最近になって，水痘ワクチンが定期接種化された. その有効性を評価する事業（流行予測事業）が開始された. 定期接種により水痘発症や重症化が減少することが考えられる一方で，break through 水痘の増加などが懸念される. そこで本研究では，水痘ワクチンの安定性及び有効性の根拠ともなるその弱毒化機序を明らかにすること及び有効性を評価すること（血清学的検査）や break through 水痘におけるワクチン株と野生株の判別等のサーベイランス検査の強化を図ることを目的とした. 本年度は，ワクチン株遺伝子を次世代シーケンスにより解読し，既知の報告及び海外株との比較により弱毒化の原因となる遺伝子変異の詳細を解析した. 既知の報告と異なる 16 塩基の変異（遺伝子内変異 14, 内アミノ酸置換 10）が同定された. 今後それらの変異の弱毒化への影響に関して解析する予定である. ［山田壮一，藤井ひかる，吉河智城，原田志津子，西條政幸］

2) 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）が用いられるが，長期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，早期検出により，より有効な他の抗ウイルス薬に切り替えることが望まれる. 薬剤治療に抵抗性を示す患者の病変から分離された水痘・帯状疱疹ウイルス（varicella-zoster virus，VZV）の ACV に対する感受性は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, 病変からのウイルス分離率は 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，細胞変性効果が出るまでに一般的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 HSV-1 や HSV-2 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用いられるようになった. 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．

本研究では，二つの方法を用いて VZV チミジンキナーゼ（TK）遺伝子変異に起因する VZV 薬剤耐性株の迅速な診断系の樹立を目指した．一つ目は，VZV-TK 遺伝子変異による薬剤耐性の獲得はその ACV リン酸化能消失に起因するため，試験管内で VZV-TK の ACV リン酸化能を定量化する系を構築し，これを指標とすることで迅速に薬剤耐性の診断可能な系を確立する．本年度は昨年度に引き続き，リン酸化能定量系の確立のために，in vitro における VZV-TK 発現系を構築した．二つ目は，網羅的に ACV 耐性獲得に重要な TK におけるアミノ酸変異を探索し，データベース化することで薬剤耐性 VZV の迅速な診断系の確立を目指す．方法としては，HSV-1-TK の代わりに VZV-TK を発現する HSV-1 キメラウイルスを作製し，これを薬剤存在下で増殖させることで薬剤耐性株を分離する．分離されたウイルスについて薬剤耐性の原因となった変異を同定し，耐性獲得に関与する変異のデータベースを作製する．本年度は HSV-1-TK の代わりに VZV-TK を発現する HSV-1 キメラウイルスを作製し，HSV-1-TK の欠損，VZV-TK の発現を感染細胞において確認した．また，キメラウイルスの薬剤感受性を評価した．［藤井ひかる，山田壮一，吉河智城，原田志津子，西條政幸；大村夏美（早稲田大学)］

3. その他のヘルペスウイルスに関する研究

1) B ウイルス（MaHV-1）に関する研究

Macacine herpesvirus 1（MaHV1，通称 B ウイルス）は，アジア産マカク属のサルからヒトへと致死的感染を起こすことから，サルを扱う実験従事者における安全性の確保が必要である．現在では，適切な実験時の安全管理，供給コロニーでの B ウイルス陽性サルの排除等により B ウイルス感染症患者報告は減少している．しかし，野生サルを含め高い割合で抗体陽性サルが存在しており，潜在的な脅威は残ったままである．本研究では，B ウイルス感染症に対する予防としてワクシニアウイルス LC16m8 に B ウイルス蛋白質を組み込んだワクチンを開発する研究を開始した．本年度は，B ウイルスの膜糖蛋白である gD，gE，gI，gL，gG を PCR により B ウイルス遺伝子より調整及び gB，gH をオリゴ生成し，発現ベクター及び相同組換え用のベクターへのクローニングを試みた．gD に関して発現ベクター及びワクシニアベクターへの組込み及び同蛋白質の発現を確認した．［山田壮一，吉河智城，藤井ひかる，原田志津子，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) リケッチア・レファレンスセンター活動に関する研究（2015 年度）

国内のリケッチア症は，ベクターやリケッチアの種類により，地域特性が強い疾患であるため，リケッチア症の国内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く，全国の横糸となる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構築を目指している．27 年度は，センター会議等においてリケッチア症の疫学，診断法情報のアップデートを継続した．［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），鈴木理恵（福島県衛生研究所），坂恭平（青森県環境保健センター）；山本徳栄（埼玉県衛生研究所）；長島真美（東京都健康安全研究センター）；赤地重宏（三重県保健環境研究所），名古屋真由美，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）；中堂園文子，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)］

2) 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 2015

千葉県，鹿児島県の協力者を中心に，イノシシ，

シカ等の材料をそれぞれ数十検体確保するとともに，*Rickettsia* 属のスクリーニング進めた．マダニは 1,000 を超える新規検体を確保，過去の未解析材料とともにスクリーニングを進めた．ヒゲナガチマダニから分離されていたリケッチアは，MLS 解析から米国で患者が報告される *R. rickettsi* や *R. phillipii* のクラスターに属したことから，国内でさらに既知の病原リケッチア以外の種による患者発生の可能性がある．［安藤秀二；藤田博己，藤田信子（馬原アカリ医学研究所）；平良雅克（千葉県衛生研究所）；門馬直太（福島県県北保健福祉事務所）；安藤匡子（鹿児島大学)］

3) リケッチア症疑い患者における重症熱性血小板減少症候群の後方視的行調査

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は SFTS ウイルス（SFTSV）によるマダニ媒介性感染症で，中国では 2011 年に，日本では 2013 年に初めて患者報告された．リケッチア症など他のダニ関連疾患を疑われた患者の中には SFTS 患者が含まれる可能性があり，過去に日本紅斑熱やつつが虫病が疑われた患者血清を用いて，SFTS 患者の後方視的調査を行った．患者（1995～2012 年）血清のべ 762 検体について ELISA 法にて SFTSV に対する抗体を測定，1 症例の血清が ELISA と間接蛍光抗体で SFTSV 抗体陽性を示した．急性期血清から SFTSV 遺伝子も検出された．当該患者は 2011 年の診察でダニ刺咬が認められ，発熱はあったが発疹は認められなかった．マダニ関連疾病を疑う患者ではリケッチア症等だけでなく，SFTS も鑑別診断に加える必要がある．［佐藤正明，小川基彦，福間藍子，谷口玲，谷英樹，福士秀悦，黒須剛，下島昌幸，安藤秀二，西條政幸；明石晋太郎（国立病院機構浜田医療センター）；小川宏，分山隆敏（独立行政法人地域医療機能推進機構徳山中央病院)］

4) リケッチア属 LAMP 法の適用に関する検討

国内のリケッチア性疾患は多様で，感染症法では届け出られない関連疾患も散発している．輸入感染症も踏まえ全リケッチア種検出用に開発された LAMP 法について，プライマー設計当時未登録で近年急速に登録数が増えたリケッチア種の全遺伝子情報とともに in silico 再解析を行った．また日本紅斑熱，African tick bite fever（ATBF），つつが虫病患者それぞれ数検体に適用したところ，つつが虫病患者材料は陰性の一方，日本紅斑熱と ATBF 患者材料から遺伝子増幅が可能であった．［安藤秀二，佐藤正明，小川基彦；花岡希（感染症疫学センター），松谷峰之介，白井睦訓（山口大学医学部)］

2. リケッチア症基礎的研究

1) つつが虫病リケッチアのマクロファージ系細胞における増殖に関する研究

マウスマクロファージ系 Raw264.7 細胞における一酸化窒素（NO）によるつつが虫病リケッチアの増殖促進効果に関する研究を行っている．これまでに，リケッチアは，感染後初期に，細胞質に逃れ NO や他の殺菌メカニズムを回避していることが示された．引き続き，マクロファージ内で細胞質に逃れたあと，殺菌に働くはずの NO が逆にリケッチアの増殖に関与しているメカニズムの解明を行っている．［小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二］

2) プラーク形成法を用いた *R. japonica* 感染価測定系の確立と応用

*Rickettsia spp.*は細胞内寄生細菌であるので，*R. japonica* の感染価を測定するためのプラーク形成法を確立した．*R. japonica* 感染細胞の上清懸濁液を段階希釈し，L929 および Vero 細胞に接種し，0.5%メチルセルロース入りの培地で重層し培養した．接種後 7-8 日後クリスタルバイオレットやメチレンブルーを用いて細胞単層を染色することで，形成されたプラークが明瞭に観察された．この結果からこの系を用いて *R. japonica* 感染価を測定したり抗菌薬に対する感受性を簡便に調べたりすることが可能になった．［佐藤正明，小川基彦，西條政幸，安藤秀二］

3) リケッチア感染症の病態解明のための実験学的解析

血清型により病原性も多様な *Orientia tsutsugamushi*（*O. tsutsugamushi*）を中心に，マウ

ス感染実験を行った．強毒型３株と弱毒２株，抗原性が大きく異なる Shimokoshi 型等を，KO と野生型マウスに接種した．強毒株接種 KO マウスにおいて観察期間終了を迎えずに人道的エンドポイントに達し，マウス系統と株の組み合わせにより，腹水貯留，サイトカイン産生に差があり，弱毒株２株間でもサイトカイン産生等に差があった．Shimokoshi 型では KO マウスに体重減少が見られたもののそれは一過性で，観察期間の接種２週間後には野生型マウス血中から *O. tsutsugamushi* は完全にクリアされた．［安藤秀二；安藤匡子（鹿児島大学）；松村隆之，阿戸学（免疫部）］

4) つつが虫病リケッチア感染細胞を抗原とした ELISA 法の開発

結果判定がより客観的なつつが虫病の血清診断法の開発を目指し，感染細胞を抗原とした ELISA 法の開発を検討した．間接蛍光抗体法（IF）と比較し評価を行ったところ，カットオフ値が平均+3×標準偏差のとき，感度および特異性ともに良い結果が得られた．また，血清診断基準を IgM＞平均+3×標準偏差 and/or ペア血清で 4 倍以上の抗体価の上昇と定めると，患者すべてが陽性と診断された．さらに，陰性血清や他のリケッチア患者の血清との反応についても解析を行っており，詳細な検討を行っている．［小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二］

5) 組換え発現リケッチア抗原蛋白質の作製と臨床応用への試み

日本のリケッチア症は，主に日本紅斑熱とつつが虫病で，感染症法の四類感染症に属し，診断後直ちに届出が必要な疾病である．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る．本研究では病原体を扱うことなく *Rickettsia spp.*の遺伝子 DNA をもとに特定の部位について組換え発現蛋白質を作製することで，より的確なリケッチア症の早期血清診断の実現を目指した．菌体表面に存在するとされている既報の蛋白質 GroEL（シャペロニン蛋白質全長），外膜蛋白質である Partial rOmpA（C 末端から 503 アミノ酸）のおよび rOmpB（全長）について 6xHis 融合蛋白質を作製した．GroEL と rOmpB は *R. japonica* 菌体で免疫した抗血清に反応した．［佐藤正明，小川基彦，西條政幸，安藤秀二］

6) エーリキア属の探索

マダニ関連疾患では原因不明となる症例は多い．その対象疾患として，国内状況が不明なエーリキア属の検討を開始した．ヤマトマダニ約 200 匹に対して，エーリキア属標的の PCR，Realtime PCR を行った．20 件の検体が陽性，陽性ヤマトマダニ 5 検体をマウスに接種することにより，1 株の *Candidatus* Ehrlichia ovata が分離された．本菌は実験動物マウスに急性の致死的病態を示すことが報告されていた．今後，分離株を増やすことを試みるとともに，マウスでしか安定的に維持できないことから，検査系開発のため in vitro での順化条件の検討を開始した．［安藤秀二；平良雅克（千葉県衛生研究所）；藤田博己（馬原アカリ医学研究所），角坂照貴（愛知医科大学）］

3. その他の研究

1) バイオセーフティに関する研究（感染性物質輸送におけるヒヤリハット事例収集とリスク評価）

臨床検体を含む感染性物質は，現在，一定条件の梱包等をクリアしたものだけが限られた輸送業者により移動可能である．しかし実態は，必ずしも適切な梱包や輸送業者によって行われているとはいえない．実例を示した．バイオリスクを考える際，実験室，施設の管理運営ばかり目が行きがちであるが，感染性物質の専門家ではない者がかかわる輸送では，包装容器の使用法はじめ，感染性物質が安全・確実に輸送されることが，医療・医学等の社会的信頼に繋がる．そのためには，医学部等，将来これらの分野にかかわる者の基礎レベルでの教育導入が必須である．［安藤秀二］

レファレンス業務

1. 行政検査

1) SFTS に対する行政検査

72 件の SFTS に関する行政検査が実施された．［下島昌幸，谷口怜，谷英樹，黒須剛，福士秀悦，福間藍子，緒方もも子，西條政幸］

2) エボラ出血熱に対する行政検査

3 件のエボラ出血熱に関する行政検査が実施された.［下島昌幸，谷口怜，谷英樹，黒須剛，福士秀悦，福間藍子，緒方もも子，西條政幸］

3) ラッサ熱に対する行政検査

1 件のラッサ熱に関する行政検査が実施された.［下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 黒須剛, 福士秀悦, 福間藍子，緒方もも子，西條政幸］

4) ヘルペスウイルス感染症に関する行政検査

HSV 及び VZV に関する行政検査をそれぞれ 1 件ずつ計 2 件が実施された.［山田壮一，吉河智城，藤井ひかる，原田志津子，西條政幸］

5) ヘルペスウイルス検査コントロール DNA 配布

HSV-1，VZV 及び HHV-6A，6B，7 の検査に用いるコントロール DNA を要望のあった地方衛生研究所に配布した.［山田壮一，吉河智城，藤井ひかる，原田志津子，西條政幸］

2. その他のレファランス業務

1) HSV-1，HCMV 及び VZV の検査

HSV-1, HCMV 及び VZV 感染症に関するウイルス学的検査が，それぞれ 3 検体，2 検体及び 1 検体実施された.［山田壮一，津田美穂子，福井良子，西條政幸］

2) ジカ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，ジカウイルス IgM 抗体検出システムおよびジカウイルス遺伝子検出試薬を配布した.［高崎智彦，田島茂，中山絵里，谷口怜］

3) 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，標準株を配布した.［安藤秀二］

サーベイランス業務

1. リケッチアならびにクラミジアに関する検査業務

リケッチアならびにクラミジアに関する病原体診断と血清診断を，行政検査依頼以外にも，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について多数検討された.［安藤秀二］

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

中間段階 1 ロットの痘そうワクチンの国家検定が実施され合格と判定された.［福士秀悦, 谷英樹, 谷口怜，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸］

2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

2015 年度は 38 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定が実施され，38 ロットすべてが合格と判定された.［田島茂，中山絵里，谷口怜，池田真紀子，谷ヶ崎和美，伊藤睦代，林昌宏，中道一生，高崎智彦，西條政幸］

3. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

2015 年度は，2 ロット（RB24，RB25）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）が実施され，合格と判定された.［伊藤（高山）睦代，林昌宏，佐藤正明，堀谷まどか，塩田愛恵，Guillermo Posadas Herrera，西條政幸］

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ウイルス（ラビピュール筋注用）承認前試験

乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン（ラビピュール筋注用）の承認前試験（不活化試験および力価試験）が実施された.［伊藤（高山）睦代，林昌宏，佐藤正明，堀谷まどか，塩田愛恵，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 34 ロット及び水痘抗原国家検定 1 ロットが実施され，全ロットとも合格と判定された.［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 件が実施された．また，in silico 解析と標的遺伝子領域のみ組み込んだプラスミドによって

評価された申請品について問題提起するとともに，体外診断薬実務者ワーキンググループにおいて，今後の承認前試験に関する取り組みに方について議論した．［安藤秀二］

国際協力関係業務

1. インドにおけるウイルス感染症に対する鑑別診断法の精度向上

AMED 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業「インドにおける高品質迅速診断キットの普及によるデングウイルス，チクングニアウイルス及びインフルエンザウイルスなどのウイルス感染症に対する鑑別診断法の精度向上」において，インド人 2 名（Shilpee Kumar 氏と Jaspreet Jain 氏）を 2016 年 1 月 16 日から 3 月 6 日まで研修生として受け入れた．また Rajni Gaind 氏と Sujatha Sunil 氏を 2016 年 2 月 20 日から 2 月 23 日まで招へいし，研究内容・方針について打合せした．［黒須剛，西條政幸］

2. フィリピンのサルにおけるレストンエボラウイルスの流行調査

フィリピン RITM によるフィリピン国内のサルにおけるレストンエボラウイルスの流行状況の調査をサポートするため，同施設を訪問し病原体あるいは抗体検出について技術支援した．［福士秀悦，谷口怜，下島昌幸］

3. JICA 国際技術研修会への参画

2106 年 2 月 1 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について講義するとともに，不活化試験に用いられる蛍光抗体法を実習指導をした．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，佐藤正明，堀谷まどか，塩田愛恵，Guillermo Posadas Herrera；塩田智之（ウイルス第 2 部）］

4. 内モンゴル河套学院（Hetao College）への技術支援

河套学院（Hetao College）におけるダニ媒介感染症研究室の立ち上げ支援のため，セミナー参加とダニ媒介性人獣共通感染症に関して研究打ち合わせした．あわせて河套学院と協力関係のある Bayannur CDC, Inner Mongolia CDC スタッフと情報交換とともに現地野外視察を行い，一部マダニ採集を試みた．［安藤秀二（ウイルス第一部），川端寛樹（細菌第一部），大橋典男（静岡県立大学）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Ramadhany R, Hirai I, Sasaki T, Ono K, Ramasoota P, Ikuta K, Kurosu T. Antibody with an engineered Fc region as a therapeutic agent against dengue virus infection. Antiviral Res 124:61-68, 2015

2) Kurosu T. The current situation of dengue research. Juntendo Med J 61:407-412, 2015

3) Okabayashi T, Sasaki T, Masrinoul P, Chantawat N, Yoksan S, Nitatpattana N, Chusri S, Morales Vargas RE, Grandadam M, Brey PT, Soegijanto S, Mulyantno KC, Churrotin S, Kotaki T, Faye O, Faye O, Sow A, Sall AA, Puiprom O, Chaichana P, Kurosu T, Kato S, Kosaka M, Ramasoota P, Ikuta K. Detection of chikungunya virus antigen by a novel rapid immunochromatographic test. J Clin Microbiol 53:382-388, 2015

4) Phanthanawiboon S, Limkittikul K, Sakai Y, Takakura N, Saijo M, Kurosu T. Acute systemic infection with dengue virus leads to vascular leakage and death through tumor necrosis factor-α and Tie2/Angiopoietin signaling in mice lacking type I and II interferon receptors. PLoS One 11(2):e0148564, 2016

5) Kaneyuki S, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Taniguchi S, Fukuma A, Shimojima M, Kurosu T, Morikawa S, Saijo M. Ulcerative lesions with hemorrhage in a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome observed via upper gastrointestinal endoscopy. Jpn J Infect Dis (in press, 2015)

6) Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H,

Nagata N. No susceptibility of neonatal and adult rats against the Middle East respiratory syndrome coronavirus. Jpn J Infect Dis (in press, 2016)

7) Fukuma A, Fukushi S, Yoshikawa T, Tani H, Taniguchi S, Kurosu T, Egawa K, Suda Y, Singh H, Nomachi T, Gokuden M, Ando K, Kida K, Kan M, Kato N, Yoshikawa A, Kitamoto H, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Morikawa S, Shimojima M, Saijo M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus antigen detection using monoclonal antibodies to the nucleocapsid protein. PLoS Negl Trop Dis 10(4):e0004595, 2016

8) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Shimojima M, Watanabe H, Saijo M. Efficacy of T-705 (favipiravir) in the treatment of infections with lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. mSphere1(1). pii: e00061-15, 2016

9) Singh H, Shimojima M, Ngoc TC, Quoc Huy NV, Chuong TX, Le Van A, Saijo M, Yang M, Sugamata M. Serological evidence of human infection with Pteropine orthoreovirus in Central Vietnam. J Med Virol 87(12):2145-2148, 2015

10) Singh H, Morioka K, Shimojima M, Van An L, Nakajima H, Hemmi A, Uchiyama K, Loong SK, AbuBakar S, Yang M, Sugamata M. A handy field portable ELISA-system for rapid onsite diagnosis of infectious diseases. Jpn J Infect Dis (in press, 2015)

11) Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Saijo M. Combination effects of ribavirin and interferons on severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. Virol J 12:181, 2015

12) Singh H, Yoshikawa T, Kobayashi T, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Yang, M, Sugamata M, Shimojima M, Saijo M. Rapid whole genome sequencing of Miyazaki-Bali/2007 pteropine orthoreovirus by modified rolling circular amplification with adaptor ligation – next generation sequencing. Sci Rep 5:16517, 2015

13) Fukuma A, Tani H, Taniguchi S, Shimojima M, Saijo M, Fukushi S. Inability of rat DPP4 to allow MERS-CoV infection revealed by using a VSV pseudotype bearing truncated MERS-CoV spike protein. Arch Virol 160(9):2293-2300, 2015

14) Shinohara N, Matsumoto C, Chatani M, Uchida S, Yoshikawa T, Shimojima M, Satake M, Tadokoro K. Efficacy of the Mirasol pathogen reduction technology system against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV). Vox Sang (109:417-419, 2015)

15) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Le Van A, Sugamata M, Yang M. Increased sensitivity of 3D-Well enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for infectious disease detection using 3D-printing fabrication technology. Biomed Mater Eng Suppl 1:S45-53, 2015

16) Singh H, Shimojima M, Shiratori T, An le V, Sugamata M, Yang M. Application of 3D printing technology in increasing the diagnostic performance of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for infectious diseases. Sensors (Basel) 15(7):16503-165015, 2015

17) 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

18) Tajima S, Nakayama E, Kotaki A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Saito Y, Shibasaki K, Saijo M, Takasaki T. Whole genome sequencing–based molecular epidemiologic analysis of autochthonous dengue virus type 1 strains circulating in Japan in 2014. Jpn J Infect Dis (in press, 2016)

19) Kato F, Ishida Y, Oishi S, Fujii N, Watanabe S, Vasudevan SG, Tajima S, Takasaki T, Suzuki Y, Ichiyama K, Yamamoto N, Yoshii K, Takashima I, Kobayashi T, Miura T, Igarashi T, Hishiki T. Novel antiviral activity of bromocriptine against dengue virus replication. Antiviral Res 12:141-147, 2016

20) Imai K, Nakayama E, Maeda T, Mikita K, Kobayashi Y, Mitarai A, Honma Y, Miyake S, Kaku K, Miyahira Y, Kawana A. Chikungunya fever in Japan imported from the Caribbean islands. Jpn J Infect Dis (in press, 2016)

21) 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

22) Sano Y, Nakano Y, Omoto M, Takao M, Ikeda E, Oga A, Nakamichi K, Saijo M, Maoka T, Sano H, Kawai M, Kanda T. Rituximab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy derived from non-Hodgkin lymphoma: neuropathological findings and results of mefloquine treatment. Intern Med 54(8):965-970, 2015.

23) Nukuzuma S, Sugiura S, Nakamichi K, Kameoka M, Nukuzuma C, Tasaki T, Takegami T. Replication of IMR-32-adapted JC virus clones in human embryonic kidney cells. Microbiol Immunol 59(4):238-242, 2015

24) Yoshida T, Kawamoto M, Togo M, Kohara N, Ito T, Nakamichi K, Saijo M, Mizuno T. Progressive multifocal leukoencephalopathy developing after liver transplantation showing marked neurological symptom improvement and arrest of further deterioration of imaging findings: A case report. J Neurological Sci 359(1-2):1-3, 2015.

25) Ejiri H, Lim CK, Isawa H, Kuwata R, Kobayashi D, Yamaguchi Y, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Kakiuchi S, Horiya M, Kotaki A, Takasaki T, Maeda K, Hayashi T, Sasaki T, Kobayashi M, Saijo M, Sawabe K. Genetic and biological characterization of Muko virus, a new distinct member of the species Great Island virus (genus Orbivirus, family Reoviridae), isolated from ixodid ticks in Japan. Arch Virol 160(12):2965-2977, 2015

26) 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

27) Takajo I, Sekizuka T, Fujita H, Kawano A, Kawaguchi T, Matsuda M, Kubo K, Miyauchi S, Umekita K, Nagatomo Y, Kuroda M, Takasaki T, Okayama A, Ando S. Possible case of novel spotted fever group rickettsiosis in a Japanese traveler returning from India. Emerg Infect Dis (in press, 2015)

28) Oba M, Omatsu T, Takano A, Kawabata H, Ando S, Mizutani T. A Novel bunyavirus from the doft tick, Argas vespertilionis, in Japan. J Vet Med Sci 78:443-445, 2016

29) Toyomane K, Konnai S, Niwa A, Githaka WN, Isezaki M, Yamada S, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. Identification and the preliminary in vitro characterization of IRIS homologue from salivary glands of Ixodes persulcatus Schulze. Ticks Tick Borne Dis 7:119-125, 2016

30) Andoh M, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Fujita H, Une Y, Goka K, Kishimoto T, Ando S. Detection of *Rickettsia* and *Ehrlichia* spp. in Ticks Associated with Exotic Reptiles and Amphibians Imported into Japan. PLoS One 10(7):e0133700, 2015

31) Shinohara K, Kutsuna S, Takasaki T, Moi ML, Ikeda M, Kotaki A, Yamamoto K, Fujiya Y, Mawatari M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines. J Travel Med 23(1): pii: tav011, 2016

32) Pok KY, Squires RC, Tan LK, Takasaki T, Abubakar S, Hasebe F, Partridge J, Lee CK, Lo J, Aaskov J, Ng LC, Konings F. First round of external quality assessment of dengue diagnostics in the WHO Western Pacific Region, 2013. Western Pac Surveill Response J 6(2):73-81, 2015

33) Hayakawa K, Takasaki T, Tsunemine H, Kanagawa S, Kutsuna S, Takeshita N, Mawatari M, Fujiya Y, Yamamoto K, Ohmagari N, Kato Y. Persistent seropositivity for yellow fever in a previously vaccinated autologous hematopoietic stem cell transplantation recipient. Int J Infect Dis 37:9-10, 2015

34) Sato R, Hamada N, Kashiwagi T, Imamura Y, Hara K, Nishimura M, Kamimura T, Takasaki T, Watanabe H, Koga T. Dengue hemorrhagic fever in a Japanese traveler with pre-existing Japanese encephalitis virus antibody. Trop Med Health 43(2):85-88, 2015

35) Saito Y, Moi ML, Kotaki A, Ikeda M, Tajima S, Shiba H, Hosono K, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Detecting dengue virus nonstructural protein 1 (NS1) in urine samples using ELISA for the diagnosis of dengue virus infection. Jpn J Infect Dis 68(6):455-460, 2015

36) 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 Cell Dev Biol Anim 51(7):672-679, 2015

37) Kutsuna S, Kato Y, Moi ML, Kotaki A, Ota M, Shinohara K, Kobayashi T, Yamamoto K, Fujiya Y, Mawatari M, Sato T, Kunimatsu J, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Takasaki T, Ohmagari N. Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan, 2014. Emerg Infect Dis 21(3):517-520, 2015

38) Moi ML, Honma Y, Mori S, Kuze T, Kanekawa M, Isoda T, Moriwaki N, Hosogai T, Kotaki A, Kurane I, Saijo M, Miyake S, Takasaki T. Virological confirmation of concurrent dengue virus serotypes 1 and 4 by virus isolation using Fc-gamma receptor-expressing BHK cells. Int J Infect Dis 33:177-178, 2015

39) 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 74:250-260, 2015

40) Kitao A, Ieki R, Takatsu H, Tachibana Y, Nagae M, Hino T, Nakaji H, Shimojima M, Saijo M, Okayama M, Kenzaka T. Severe fever with thrombocytopenia syndrome presenting as hemophagocytic syndrome: two case reports. Springerplus. 22;5:361, 2016

41) Kawagishi T, Kanai Y, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Reverse genetics for fusogenic bat-borne orthoreovirus associated with acute respiratory tract infections in Humans: Role of outer capsid protein σC in viral replication and pathogenesis. PLoS Pathog 12(2):e1005455, 2016

42) Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. No susceptibility of neonatal and adult rats against the Middle East respiratory syndrome coronavirus. Jpn J Infect Dis (in press, 2016)

2. 和文発表

1) 西條政幸. 社会のあり方とウイルス感染症(総論). 臨床とウイルス 44(1):5-10, 2016

2) 西條政幸. 環境の変化とウイルス感染症:緒言. 臨床とウイルス 44(1):3-4, 2016

3) 西條政幸. 高病原性病原体の感染が疑われる患者の検査 ウイルス性出血熱. Medical Technology 43(13):1442-1449, 2015

4) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群. 血液内科 71(3):371-375, 2015

5) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS) -マダニが媒介するウイルス感染症. 実験医学 33(17):2708-2713, 2015

6) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群と日本におけるその流行状況. Medical Science Digest 41(12):435-438, 2015

7) 西條政幸. 新興・再興ウイルス感染症 -SFTS, MERS および EVD-. 現代化学 534:18-21, 2015

8) 西條政幸. マダニが媒介する新しい感染症 -重症熱性血小板減少症候群-. MB Derma 233:55-62, 2015

9) 西條政幸. ウイルス性出血熱 エボラウイルス病およびその他. 感染・炎症・免疫 45(1):2-9, 2015

10) 西條政幸, 森田公一. エボラウイルス病の国内対策: BSL-4 施設の必要性. ウイルス 65(1):89-94, 2015

11) 高崎智彦. 国内で発生したデング熱流行2014年. ウイルス 65(1):115-118, 2015

12) 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った 1 例. 感染症学雑誌 89(2):279-282, 2015

13) 下島昌幸. 一類感染症へのわが国の対策と BSL-4 施設の必要性. 感染症いま何が起きているのか. 実験医学増刊(羊土社)33(17): 2857-2860, 2015

14) 西條政幸. 序-国境を越える重症新興・再興感染症-. 化学療法の領域(特集・国境を超える重症新興・再興感染症)(医薬ジャーナル社. 31(6):1246-1247, 2015

15) 下島昌幸. 西アフリカにおけるエボラ出血熱の流行の背景と対策. 化学療法の領域(特集・国境を超える重症新興・再興感染症)(医薬ジャーナル社. 31(6):1254-1258, 2015

16) 西條政幸. 常時警戒すべき輸入感染症 –日本において監視されるべき輸入感染症-. 化学療法の領域(特集・国境を超える重症新興・再興感染症)(医薬ジャーナル社. 31(6):1246-1247, 2015

17) 西條政幸.【エボラ出血熱とマールブルグ病】疫学と感染症対策のあり方. 医学のあゆみ(感染症最前線とグローバル・ヘルス, 医歯薬出版株式会社) 253:19-25, 2015

18) 須田遊人, 下島昌幸. クリミア・コンゴ出血熱－治療法, 予防法, 診断法の展望. 医学のあゆみ(感染症最前線とグローバル・ヘルス, 医歯薬出版株式会社) 253:31-35, 2015

19) 黒須剛, 西條政幸. エボラウイルス, エボラウイルス病とは. IASR 36:96, 2015.

20) 福間藍子, 西條政幸. エボラウイルスの分子疫学的解析. IASR 36:100-101, 2015

21) 谷英樹, 西條政幸. エボラワクチン, 治療薬の開発状況. IASR 36:101-103, 2015

22) 福士秀悦. エボラ出血熱:感染研の検査対応. IASR 36:109-111, 2015

23) 吉河智城, 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 西條政幸, 大石和徳, 森川茂. 国内で確認された株を含む SFTS ウイルスの分子系統学的解析. IASR 37:44-45, 2016

24) 福間藍子, 吉河智城, 福士秀悦, 下島昌幸, 西條政幸. SFTSV 定量的リアルタイム RT-PCR 法と, SFTS 患者のウイルス量と予後の関係性について IASR 37:45-47, 2016
25) 下島昌幸. 中国・韓国における SFTS 流行状況:更新情報. IASR 37:47-48, 2016
26) 谷英樹. 抗 SFTS ウイルス薬開発の進捗状況. IASR 37:49-50, 2016
27) 福士秀悦. SFTS 以外の新規ダニ媒介性ウイルス感染症について. IASR 37:53-54, 2016
28) 田島茂. Advanced Communication. ワクチンジャーナル 3: 32, 2015
29) 中山絵里, 西條政幸. エボラウイルス感染症. Surgery Frontier. 22(3):44-49, 2015.
30) 中山絵里, 西條政幸. エボラウイルス感染症:疫学, 臨床, 治療薬・ワクチン開発. Infection Front 34:5-7, 2015
31) 中山絵里, 高崎智彦. デング熱. 化学療法の領域 31(6): 1268-1274, 2015
32) 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
33) 伊﨑祥子, 田中覚, 田島孝士, 中道一生, 西條政幸, 野村恭一. 特発性 CD4+リンパ球減少症の関連が示唆された小脳・脳幹型進行性多巣性白質脳症の 1 例. 臨床神経学 55(5):345-348, 2015
34) 林昌宏. チクングニア熱の流行域の拡大. 化学療法の領域 31(6):1276-1282, 2015
35) 林昌宏. 致死的な人獣共通感染症である狂犬病. 日本医事新報 4749:49, 2015
36) 森川茂, 木村昌伸, 朴ウンシル, 今岡浩一, 宇田晶彦, 堀田明豊, 藤田 修, 古山裕樹, 加来義浩, 澤辺京子, 川端寛樹, 安藤秀二, 西條政幸, 前田健, 鍬田龍生, 下田宙, 高野愛, 藤田博己, 高田伸弘. SFTSウイルスの国内分布調査(第三報). IASR 37: 50-51, 2016
37) 安藤秀二. つつが虫病, 木村哲・喜田宏編 人獣共通感染症 第3版, p192-196, 医薬ジャーナル社, 大阪, 2016 年 2 月
38) 瀧口純司, 置村健二郎, 石井真梨子, 岡村佳代子, 坂本浩一, 稲本真也, 安藤秀二. 神戸市内で発生し呼吸不全を伴った重症日本紅斑熱の一例. 感染症学会誌, 90:120-124, 2015
39) 角坂照貴, 安藤秀二. 病気を起こすダニ⑧ツツガムシ, 島野智之, 高久元編 ダニの話し, p43-52, 朝倉書店, 東京, 2016年1月
40) 安藤秀二. チフス群リケッチア症, 岡部信彦編集代表, 感染症予防必携第3版, p573-576, 日本公衆衛生協会, 東京, 2015年6月

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Taniguchi S, Fukuma A, Morikawa S, Saijo M. Analyses of cell entry and fusion mechanisms of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. XVIth International Conference on Negative Strand Viruses. Italy, 14-19 June 2015
2) Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Tani H, Yoshikawa T, Suzuki T, Hasegawa H, Morikawa S, Shimojima M, Saijo M. Development of nucleocapsid protein monoclonal antibody based antigen-capture ELISA for detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. XVIth International Conference on Negative Strand Viruses. Italy, 14-19 June 2015
3) Sakata M, Tani H, Otsuki N, Okamoto K, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y: Analysis of susceptibility of a variety of human cell lines to rubella virus. 4th Measles-Rubella Mini Symposium. Georgia USA, October 6-7, 2015.
4) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Komeno T, Furuta Y, Shimojima M, Saijo M. Efficacy of favipiravir in the treatment of lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. 18th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). USA, January 13-14,

2016.

5) Ando S, Hanaoka N: Rapid and High Sensitivity Detection Assay, Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) System, for Rickettsia spp. ESCCAR2015 International Congress on Rickettsia and other Intracellular Bacteria, Lausanne, Switzerland, June 13-16, 2015
6) Saijo M. Clinical and virological aspects of SFTS in Japan: what we have studied and what we should study. The 9th Japan-China-Korea forum on communicable disease control and prevention（第 9 回日中韓感染症シンポジウム）, Kyoto, November 2015

2. 国内学会

1) 田島茂. 日本脳炎ウイルス遺伝子型Ⅴ型 Muar 株の性状解析. 第50回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 京都, 2015 年 5 月
2) 池田淳司, 松嶋聡, 小平農, 石井亘, 関島良樹, 高橋健太, 長谷川秀樹, 中道一生, 西條政幸, 池田修一. 髄液 JCV-PCR 陰性で脳生検で確定診断した進行性多巣性白質脳症 2 症例の検討. 第 56 回日本神経学会学術集会, 新潟, 2015 年 5 月
3) 三浦義治, 岸田修二, 中道一生, 西條政幸, 三條伸夫, 雪竹基弘, 浜口毅, 水澤英洋, 山田正仁. 本邦発症の進行性多巣性白質脳症に関する疫学調査と塩酸メフロキンの効果に関する検討. 第 56 回日本神経学会学術集会, 新潟, 2015 年 5 月
4) 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 谷口怜, 福間藍子, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する ribavirin および interferon の in vitro 併用効果. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 東京, 2015年5月
5) 谷英樹, 福士秀悦, 福間藍子, 谷口怜, 吉河智城, 宇田晶彦, 森川茂, 古田要介, 米納孝, 下島昌幸, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルス増殖におけるファビピラビル(T-705)の抑制効果. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 東京, 2015 年 5 月
6) 江川和孝, 下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 福間藍子, 吉河智城, 福士秀悦, 西條政幸:プテロパインオルソレオウイルスに対するリバビリンの増殖抑制効果の検討. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 東京, 2015年5月
7) 安藤秀二. 仙台市内で発生した *R. heilongjiangensis* による紅斑熱群リケッチア症. 第 23 回 SADI, 名取市, 2015 年 6 月
8) 今内覚, 村瀬優介, 伊東拓也, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋和彦. *Ixodes persulcatus* Salp15 による Lyme disease spirochetes 伝播促進効果. 第 23 回 SADI, 名取市, 2015 年 6 月
9) 角坂照貴, 藤田博己, 藤田信子, 高野愛, 安藤秀二. 写真でマダニの同定は可能か(2). 第 23 回 SADI, 名取市, 2015 年 6 月
10) 夏秋優, 川端寛樹, 安藤秀二. マダニ刺症に伴う persistent arthropod bite reaction. 第 23 回 SADI, 名取市, 2015 年 6 月
11) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラウイルス病と西日本における SFTS. 第 29 回ヘルペスウイルス研究会, 長崎市, 2015 年 6 月
12) 西條政幸. エボラ出血熱, デング熱に関する話題. 第826回松本市医師会生涯教育講座, 松本市, 2015年 6 月
13) 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 209 回 ICD 講習会, 神奈川, 2015 年 6 月
14) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の流行の現状と課題. 鹿児島県医師会, 鹿児島 ICT ネットワーク講演会, 鹿児島市, 2016 年 6 月
15) 西條政幸. 中東呼吸器症候群（MERS）についての解説. 第56回日本臨床ウイルス学会, 岡山市, 2016年 6 月
16) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラ出血熱と日本国内におけるデング熱の流行の背景を考える. 函館小児科医会講演会, 函館市, 2015 年 6 月
17) 西條政幸. 国内外の新興・再興ウイルス感染症の流行状況と対策:エボラウイルス病, 重症熱性血小板減少症候群, デング熱. 月例医学研究会（市立函館病

院), 函館市, 2015 年 7 月

18) 西條政幸. 国境を越える感染症:エボラウイルス病. H27 年度にいがた市民大学, 新潟市, 2015 年 7 月

19) 西條政幸. 日本における SFTS の流行と最近の話題. 第 20 回日赤臨床検査技師学会, 東京, 2015 年 7 月

20) 西條政幸. 西アフリカでのエボラウイルス感染症の流行と日本の対応(検査体制). 衛生微生物技術協議会第 36 回研究会, 仙台市, 2015 年 7 月

21) 西條政幸. SARS と MERS:動物由来コロナウイルスによるヒトにおける感染症の病態, 疫学, そして, 対策. 日本学術会議 公開学術講演会「感染症との戦い」, 札幌市, 2015 年 8 月

22) 西條政幸. SFTSとは. 第15回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 東京, 2015 年 9 月

23) 下島昌幸. 我が国における新興・再興感染症について -エボラ出血熱-国内検査法と体制. 第 15 回日本バイオセーフティ学会学術集会, 東京, 2015 年 9 月

24) 下島昌幸. エボラ検査. 第 15 回日本バイオセーフティ学会学術集会, 東京, 2015 年 9 月

25) 林昌宏, Braak WVD, 堀谷まどか, 伊藤(高山)睦代, Guillermo PH, 塩田愛恵, 山口幸恵, 垣内五月, 西條政幸. バキュロウイルス発現系を用いた狂犬病ウイルス G タンパク質の発現. 第 158 回日本獣医学会学術集会, 青森(十和田市), 2015 年 9 月

26) 黒須剛, Phanthanawiboon S, 坂井祐介, Limkittikul K. デングウイルス感染マウスモデルを用いた重症化機序の解析. 第158回日本獣医学会, 青森(十和田市), 2015 年 9 月

27) 江川和孝, 下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 福間藍子, 吉河智城, 福士秀悦, 西條政幸. 既存抗ウイルス薬によるプテロパインオルソレオウイルスの増殖抑制作用の検討. 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田市), 2015 年 9 月

28) 谷口怜, 前田健, 堀本泰介, Masamgkay J, uentespina R Jr, 大松勉, 永田典代, 江川和孝, 福士秀悦, 谷英樹, 吉川泰弘, 久和茂, 下島昌幸, 西條政幸. 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性状解析及び疫学的研究. 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田市), 2015 年 9 月

29) 村瀬優介, 今内覚, 伊東拓也, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋 和彦. シュルツェマダニ(*Ixodes persulcatus*)由来Salp15因子によるライム病ボレリア伝播促進機能の解析, 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田), 2015 年 9 月

30) 安藤秀二. リケッチア症. 第 1 回節足動物媒介感染症研修会(国際医療センター), 東京, 2015 年 9 月

31) 池田淳司, 松嶋聡, 小平農, 石井亘, 関島良樹, 浅沼恵, 後藤哲哉, 高橋健太, 中道一生, 池田 修一. 脳生検で診断し早期治療により良好な経過をとった全身性エリテマトーデス合併進行性多巣性白質脳症の一例. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015 年 10 月

32) 吉田誠克, 川本未知, 十河正弥, 幸原伸夫, 伊藤孝司, 中道一生, 西條政幸, 水野敏樹. メフロキン投与により神経症状の改善と画像所見の進行停止がみられた, 肝移植後発症の進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015 年 10 月

33) 三浦義治, 中道一生, 岸田修二, 西條政幸, 高橋健太, 鈴木忠樹, 三條伸夫, 阿江竜介, 澤洋文, 奴久妻聡一, 原由紀子, 雪竹基弘, 濱口毅, 水澤英洋, 山田正仁. 本邦発症の進行性多巣性白質脳症サーベイランスの現状と課題－厚労科研 PML 研究班 PML サーベイランス報告－. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015 年 10 月

34) 木下一美, 中道一生, 伊藤睦代, 塩田愛恵, 林昌宏, 倉根一郎, 西條政幸. LAMP 法を用いた PML 患者の脳脊髄液中のJCウイルス診断. 第20回日本神経感染症学会, 長野市, 2015 年 10 月

35) 中道一生, 林昌宏, 西條政幸. コンピューターシミュレーションによるJCウイルスゲノムの変異様式の解析. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野, 2015 年 10 月

36) 熊谷圭悟, 山地俊之, 山本章嗣, 安藤秀二, 花田賢太郎. 宿主細胞因子 CERT が *Chlamydia trachomatis* 感染に果たす役割. 第 33 回日本クラミジア研究会, 岡山市, 2015 年 10 月

37) 西條政幸. グローバル時代の感染症:最近発生した新興・再興ウイルス感染症(エボラウイルス病, MERS,

SFTS 等)の流行状況と今後の課題. 第 64 回日本感染症学会東日本地方会学術集会, 札幌市, 2015 年 10 月

38) 西條政幸. 日本における節足動物媒介性ウイルス感染症の流行:デング熱, TBE と SFTS の流行状況, および, 今後の対策. 第 47 回日本小児感染症学会総会, 福島, 2015 年 10 月

39) Dhole P, Nakayama EE, Phanthanawiboon S, Limkittikul K, Ikuta K, Shioda T, KurosuT. Sequence analysis of dengue virus type 2 in brain and thymus of infected interferon receptor KO mice: Implication for neuroinvasiveness. 日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

40) Kurosu T, Phanthanawiboon S, Sakai Y, Limkittikul K, Saijo M. Acute systemic infection with dengue virus leads vascular leakage and death through TNF-alpha and Tie2/Angiopoietin signaling in mice. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

41) Shimojima M, Taniguchi S, Fukushi S, Tani H, Saijo M. 1 アミノ酸変異による SFTS ウイルス GP 蛋白質の細胞融合能の変化 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

42) Yamada S, Shimojima M, Narita R, Kato H, Saijo M, Fujita T. SFTS ウイルス感染時における自然免疫応答の解析 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

43) Sakata M, Tani H, Okamoto K, Otsuki N, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y. Analysis of pseudotyped VSV bearing rubella virus envelope proteins. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

44) Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. E 型肝炎ウイルス受容体候補の妥当性検証. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

45) Kawagishi T, Kanai Y, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. コウモリ由来レオウイルスにおける cell attachment タンパク質の機能解析. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

46) Kanai Y, Kawagishi T, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. オルソレオウイルスがコードする FAST 蛋白質の機能解析. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

47) Taniguchi S, Fukushi S, Yoshikawa T, Tani H, Fukuma A, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスのゲノム末端の非翻訳領域の機能解析. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

48) Kitagawa Y, Sakai M, Shimojima M, Saijo M, Itoh M, Gotoh B. SFTS ウイルス NSs 蛋白質による I 型 IFN 応答経路の阻害. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

49) Satoh M, Ogawa M, Akashi S, Ogawa H, Wakeyama T, Ando S, Shimojima M, Saijo M. 過去のダニ疾病疑い患者における SFTS の後方視的流行調査. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

50) Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Taniguchi S, Shimojima M, Saijo M. Inability of rat DPP4 to allow MERS-CoV infection revealed by using a VSV pseudotype bearing truncated MERS-CoV spike protein. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

51) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Yang M, Sugamata M, Saijo M. Serologic assays for detection of human infection with Pteropine orthoreovirus and evidence of human infection with PRV in Vietnam. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

52) Tajima S, Tomikawa T, Nakayama E, Kotaki A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Saito Y, Shibasaki K, Saijo M, Takasaki T. Complete nucleotide sequences of two groups of autochthonous DENV-1 strains in Japan, 2014. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

53) 藤間大貴, 佐藤洋隆, 柿坂道範, 加藤博文, 日紫喜隆行, 竹山春子, 西條政幸, 高崎智彦, 間陽子, 田島茂. サイクロフェニルのフラビウイルス増殖抑制効果. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

54) Kato F, Tajima S, Takasaki T, Miura T, Igarashi T, Hishiki T. Generation of novel recombinant DENV for development of non-human primate model. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

55) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Tajima S, Takasaki T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivaent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicit neutralizing antibodies against JEV and Hepatitis C virus. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

56) Yamaguchi Y, Lim CK, Ito-Takayama M, Kakiuchi S, Horiya M, Tajima S, Takasaki T, Kuane I, Watanabe H, Saijo M. The role of matriz metalloproteinase-3 in Japanese encephalitis virus entry into the mouse brain. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

57) Lim CK, Ejiri H, Isawa H, Kuwata R, Kobayashi D, Yamaguchi Y, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Kakiuchi S, Horiya M, Kotaki A, Takasaki T, Maeda K, Hayashi T, Sasaki T, Hamasaki C, Kobayashi M, Saijo M, Sawabe K. Characterization of Muko virus, a new distinct member of the species Great Island virus, isolated from ixodid ticks in Japan. 第63回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

58) Iizuka-Shiota I, Lim CK, Takayama-Ito M, Fukushi S, Horiya M, Posadas-Herrera G, Saijo M. Characterization of Recombinant ΔP-R bearing MERS-CoV S protein. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

59) Horiya M, Lim CK, Ito-Takayama M, Posadas-Herrera G, Iizuka-Shiota I, Yamaguchi Y, Saijo M. バキュロウイルス発現系を用いた狂犬病ウイルスP タンパク質の精製法の確立. 第63回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

60) Yamaguchi Y, Lim CK, Ito-Takayama M, Kakiuchi S, Horiya M, Tajima S, Takasaki T, Kurane I, Watanabe H, Saijo M. The role of matrix metalloproteinase-3 in Japanese encephalitis virus entry into the mouse brain. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

61) Moi ML, Shirai K, Ami Y, Lim CK, Suzaki Y, Kitaura K, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Dengue virus induced viremia and hemorrhagic signs in a nonhuman primate model, marmosets (Callithrix jacchus), during secondary infection. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

62) Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Uda A, Morikawa S, Komeno T, Furuta Y, Shimojima M, Saijo M. Efficacy of favipiravir (T-705) against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. 第63回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月

63) 伊藤(高山)睦代, 林昌宏, 森本金次郎, 山口幸恵, 垣内五月, 堀谷まどか, 塩田(飯塚)愛恵, Guillermo PH, 西條政幸. 非増殖性狂犬病ウイルスベクターのアレナウイルスワクチンとしての有用性. 第19回日本ワクチン学会総会, 犬山市, 2015 年 11 月

64) Nakayama E, Tajima S, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Takasaki T. Next-Generation Sequencing of dengue virus genome. 第 22 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 福岡市, 2015 年 11 月,

65) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラ出血熱と日本における SFTS の流行:求められる対策」. 第 3 回日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム「越

境性感染症の現状と課題」, 東京, 2015 年 11 月

66) 安藤秀二. 紅斑熱群リケッチア・つつが虫病　情報 update. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月

67) 藤田信子, 藤田博己, 角坂照貴, 安藤秀二, 川端寛樹:西日本の夏季発生ツツガムシ病の現状と媒介者について. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月

68) 小川基彦, 佐藤正明, 西條政幸, 安藤秀二. リケッチア感染細胞を抗原として用いた ELISA 法の検討. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月

69) 佐藤正明, 小川基彦, 安藤秀二, 下島昌幸, 西條政幸. 過去のダニ疾病疑い患者における SFTS の後方視的流行調査. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月

70) 山本徳栄, 近 真理奈, 大山通夫, 大山龍也, 藤田博己, 新倉(座本)綾, 安藤秀二. 埼玉県内の野生化アライグマから採取したマダニ類(第1報). 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月

71) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の流行状況と課題. 第 27 回遺伝子病制御研究所研究集会(北海道大学), 札幌市, 2015 年 12 月

72) 加藤文博, 石田祐樹, 大石真也, 藤井信孝, 田島茂, 高崎智彦, 三浦智之, 五十嵐樹彦, 日紫喜隆行. Bromocriptine による抗デングウイルス活性機構の解析. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 神戸市, 2015 年 12 月

73) 鈴木亮介, 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, 加藤孝宜, 田島茂, 高崎智彦, 竹山春子, 脇田隆字. 日本脳炎ウイルスを利用した新規ワクチンプラットフォームの開発. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 神戸市, 2015 年 12 月

74) 高城一郎, 松田基弘, 高崎智彦, 小笠原由美子, 安藤秀二, 岡山昭彦. インドより帰国後, 発熱, 頭痛, 皮疹, 飛蚊症様症状を呈した 66 歳の日本人女性. 第 56 回日本熱帯医学会, 大阪市, 2015 年 12 月

75) 安藤秀二. リケッチア症の最新の検査情報と知見. 第 8回日本リケッチア症臨床研究会, 大津市, 2016 年 1 月

76) 川森文彦, 池ヶ谷朝香, 荒畑沙織, 佐原啓二, 安藤秀二, 大橋典男. リケッチア感染症(つつが虫病, 紅斑熱)の迅速検査法体系の構築. 獣医学術学会年次大会「日本獣医公衆衛生学会」, 秋田市, 2016 年 2 月

77) 西條政幸. 最近の新興・再興ウイルス感染症の流行と課題(エボラ, デング, SFTS 等). 第 16 回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム, 東京, 2016 年 2 月

78) 安藤秀二. わが国で問題となっているダニ媒介性感染症～ウイルスからリケッチア. 山形県獣医師会 平成 27 年度公衆衛生講習会(村山支部), 山形市, 2016 年 3 月

79) 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抗原とした ELISA 法の開発. 第 89 回日本細菌学会, 大阪市, 2016 年 3 月

80) 加倉井真樹, 島田瑞穂, 安藤秀二, 出光俊郎. 茨城県西部でみられた多数のチマダニ属のマダニ若虫による刺咬症. 第 275 回日本皮膚科学会東海地方会, 名古屋市, 2016 年 3 月

2．ウ イ ル ス 第 二 部

部 長　脇田 隆字

概　要

当部が対応するウイルスは主として消化器系疾患の原因ウイルスであり，Ａ，Ｂ型肝炎ワクチン，不活化ポリオワクチン,弱毒生ロタワクチンを検定，検査対象としている.

第１室は下痢症ウイルスを担当するとともに、ポリオワクチン、ロタワクチンの検定、検査を担当する.本年度はポリオ単独不活化ワクチン（サノフィ：イモバックスポリオ）の出検は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 3 件,小分け製品 12 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､6 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 2 件、MSD：ロタテックが 9 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。接種率は全国平均で50%を上回り、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と共に 3 月以降に見られるロタウイルスによる胃腸炎の流行のピークも低下しつつあることが明らかになった。

ノロウイルスに関しては,ノロウイルスワクチンシーズの開発研究が予定通りに進行している。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継続され、ゲノム全長データの蓄積が続いている。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.未だに培養細胞で増殖させることのできないヒトノロウイルスに対して、慶応大学医学部との共同研究によりオルガノイドテクノロジーを導入し、ヒト腸管の試験管内培養の試みがスタートした。昨年度完成した、ヒト及びネズミ,ノロウイルスのリバースジェネティックスシステム、ゲノムワイドの遺伝子ノックアウトシステムである CRISPER/Cas9 システムを用いたノロウイルスのレセプター検索が稼働し始めた。ノロウイルス感受性細胞の構築を目指し、基盤研究が進行している。

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 ケ国となり、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.その一方､2015 年 9 月から 2016 年にかけて、ラオスで 1 型ワクチン由来ポリオウイルスの大規模な流行が発生し、多くの AFP 症例および接触者の糞便検体の検査を実施した.ワクチン接種率の低いハイリスク地域では、ワクチン由来ポリオウイルスの流行に、依然留意が必要とされる．糞便および環境水検体からポリオウイルスを直接検出・同定する手法の検討を進め、PVR-MB 法および ECRA 法によりポリオウイルスを迅速かつ高感度に検出する系を開発した．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 25 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 6 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.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、および神経病原性に関与する事を明らかにした．抗エンテロウイルス薬候補化合物の標的として、宿主因子 PI4KB および OSBP を介した経路を特定し、抗エンテロウイルス活性の発現機序の解析を進めた.環境中のエンテロウイルスサーベイランスも進めている.

第３室及び第４室ではＢ型およびＣ型肝炎ウイルスの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１７の県、市町村にて約１５００人の肝炎ウイルス検査陽性者をフォローアップしている．厚生労働省肝炎総合対策推進国民運動事業「知って、肝炎プロジェクト」と共同して、感染研の一般公開に元サッカー日本代表の岩本輝雄氏を招き、肝炎ウイルス検査の重要性等の広報活動を行った.基礎研究促進を目的に、肝炎研究基盤整備事業で肝炎セミナーを 5 回開催した。さらに、3 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２件，Ｂ型肝炎ワクチン２０件の検定をおこなった.Ｂ型肝炎ワクチンは平成 28 年 10 月より定期接種化される.平成 28 年度以降は出検数の増加がみこまれており、部全体で検定増に備える必要がある.肝炎ワクチンは動物を用いた力価試験を実施しているが、試験管内力価試験への切り替えが望まれる.Ａ型肝炎ウイルスの研究では、2015 年の日本におけるＡ型肝炎の流行状況の分子疫学的解析を行った。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、全国における出荷豚の抗 HEV 抗体保有状況の調査を行い、養豚場での HEV 汚染状況について調べた。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１室

Dr. Rury Mega Wahyuni （インドネシア・アイルランガ大学）平成 27 年 6 月 25 日～平成 27 年 7 月 11 日、下痢症ウイルスの検出、分子疫学の研修

Dr. Fangtzy Wu（台湾 CDC）＜Taiwan CDC＞平成 28 年 2 月 17 日～平成 28 年 2 月 27 日,次世代シーケンスを用いた下痢症ウイルスのゲノム解析に関する研修.

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、定員削減の影響もあり新規の職員採用が困難な状況が続いている。様々な問題に対応するためにも新規職員の採用に努力していく.

平成 ２７年６月に第一室に帰国予定であった村上耕介研究員が一年間の研究留学延長を行った。

片岡周子研究官は、平成 27 年 3 月退職後、AMED リ

サーチレジデントとして研究を継続していたが、平成27年10月より、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンターに転出した。中村朋史研究官は、平成27年12月末をもって退職し、一般財団法人阪大微生物病研究会に転出した.

政木隆博主任研究官は平成28年3月末で退職し、慈恵医科大学に転出した.

＜別＞　検査業務

検定業務

第１室：

- 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）

第５室：

- 乾燥組織培養不活化Ａ型肝炎ワクチン 2 ロット
- 組換沈降Ｂ型肝炎ワクチン（酵母由来） 20 ロット

- 次期参照沈降Ｂ型肝炎ワクチンの値付け 1回（3回繰り返しのうちの1回）

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３室

体外診断薬承認前試験；コバス 6800/8800 システム HCV（ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社）

第４室

平成２７年度は兵庫県神戸市保健所から依頼された行政検査を行った。

第５室：

A 型肝炎　11 件

E 型肝炎　0 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、に GII.4 Saga-1 株、GII.P21-GII.3 TCH04-577, Norwalk virus prototype NV68 のゲノム配列を挿入したクローンを作製し、ノロウイルス複製効率を比較検討した。HEK293T, COSO-7, Huh7 細胞を用いた場合、U201 は COS7 にて $8x10^4/10^6$cells, Saga-1 は COS7 にて $1.3x10^3$ cells, TCH577 は Huh7 にて $3.3x10^2/10^6$cells, NV68 は HEK293T にて $2.6x10^2/10^6$cells の最高の新生ウイルス粒子産生量を示した。各株によって最高の新生ウイルス産生量を示す細胞株が異なっていた。しかし、HuNoV は、細胞内にゲノムを導入すれば、ヒトの細胞でもサルの細胞でも新生ウイルス粒子を産生可能であることが示された。HuNoV の感染増殖は、細胞への接着と侵入に関与するレセプターに依存的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) ヒトエンテロイドを用いた HuNoV 増殖システムの構築

エンテロイドは，腸管生検から単離した腸管上皮幹細胞を培養することで得られる腸管上皮構造体である．ヒト腸管から作製したヒトエンテロイドへの HuNoV 感染実験を行った結果，GI.1，GII.3，GII.4，GII.17 の HuNoV が感染することを明らかにした．なお GI.1，GII.3，GII.17 は，胆汁存在下でのみ感染可能であった．加熱，ガンマ線照射による HuNoV 不活化を評価したところ，いずれの方法でもウイルス増殖が抑えられた．本法は,これまで代替ウイルスの使用を余儀なくされていた HuNoV 不活化の直接的な評価，さらに HuNoV の感染メカニズムの理解に利用されることが期待される.。

[Ettayebi K, Crawford SE, 村上耕介, Estes MK (ベイラー医科大学)]

(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(VP2)を定常的に発現する HEK293T 細胞を構築し、そこに VP2 部分を外来性遺伝子（VENUS）に入れ替えた pKS-MNV-S7-ORF3VENUS をトランスフェクションした。VP2 はトランスに供給され、このシステムは ORF3 が VENUS に組み換わった感染性粒子を産生した。本年度は、さらにルシフェラーゼ遺伝子を導入することにも成功した。

[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

2003 年以降 2016 年までの下痢症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することにより、ウイルスの網羅的なゲノム全長の塩基配列の解析を次世代シーケンサー（MiSeq：イルミナ）を用いて行うプロジェクトが進行中である。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。

[Doan Hai Yen, 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、データベース登録が進行中である。また、NoroNet typing tool へのリンクを行いサブデータベースとして、使い勝手の向上が図られた。今後、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。また、ロタウイルスタイピングツールの開発が進んでおり、島津株式会社と共にウェブに搭載可能な判定ソフトウェアの開発が進んでいる。

[三瀬敬治（札幌医大)、Doan Hai Yen, 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。昨年度は、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。今年度は、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、IASR に特集号を組み、遺伝子型表記方法に関する換算表を準備し、NESID、IASR, IDWR の遺伝子型表記を改訂するした。

[片山和彦, 戸高玲子, Doan Hai Yen,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導入をした。腸管オルガノイドは、順調に増殖を続け、ストックを作製することに成功した。現在、オルガノイドのモノレイヤー化を試みている。

[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　の継続を行っている。

[三木元博（デンカ生研）, 杉本陽、朴英斌,戸高玲子,芳賀慧, 染谷雄一、脇田隆字,片山和彦]

(9)ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼの鋳型特異的 in vitro RNA 合成

昨年度に構築したノロウイルスの RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ(RdRp)の in vitro RNA 転写活性を測定する系を用いて、ヒトノロウイルス RdRp の鋳型 RNA 特異性を調べた。その結果、鋳型 RNA: -鎖 3’末端 100nt のうち、3’末端 31nt(+鎖 5’末端の 31nt の相補的配列)を欠失させるとRdRp の転写活性が無くなり、この配列がヒトノロウイルス +鎖ゲノム RNA 合成に重要であることが示唆された。

［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

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。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するため、RdRp に人工合成 RNA を反応させ、共結晶化を試みたが、成功しなかった。
[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)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。さらにコンストラクトを拡充するため、GII.4 Saga-1, GII.4/3 のキメラウイルスである TCH04-577, GI.1 NV68 のインフェクシャスクローンを用いて、同様のコンストラクトを作製した。
[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）]

(12)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。今年度は、腸管オルガノイドにノロウイルスを感染させ、感染細胞の 1 細胞トランスクリプトーム解析を行う準備を始めた。
[藤本陽、,芳賀慧、戸高玲子、染谷雄一，片山和彦]

(13)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、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。しかし、マウスノロウイルスは、我々が、マウスノロウイルス VLP の安定した作成に成功したことにより、中和活性のある抗血清および、モノクローナル抗体を得ることに成功した。昨年度より、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が、エピトープは立体構造を有しており、変性条件下では抗体が VP1 に反応できなくなることが明らかになった。モノクローナル抗体の結合部位を明らかにするため、感染性 MNV に中和モノクローナル抗体の Fab 部分分離精製して結合させ、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,　芳賀慧 ,村田和義（岡崎生理学研究所)、片山和彦]

(14)マウスノロウイルスレセプターの検索
マウスノロウイルス（MNV）感受性細胞である RAW 細胞は、マウスノロウイルスを感染させると、2-3 日後に死滅する。我々は、ゲノムワイドな遺伝子ノックアウトシステムである CRISPER/Cas9 システムを用いて、RAW 細胞の遺伝子をランダムにノックアウトした RAW 細胞ライブラリーを作製することとした。このランダムノックアウト RAW 細胞に MNV を感染させると、レセプターがノックアウトされた細胞のみが生き残るはずである。生き残った細胞に導入された gRNA を次世代シーケンサーで検出すれば、ノックアウトされたターゲット遺伝子を明らかにすることが可能である。そして、その遺伝子は、RAW の MNV 感受性を司る遺伝子、つまり、機能性レセプターの候補と成る。
［芳賀慧、藤本陽、戸高玲子,三木元博（デンカ生研)、村上耕介,　中西章(国立長寿医療研究センター)、,片山和彦]

(15)ノロウイルス RNA レプリコン遺伝子作成の試み
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したす。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。合成 RNA を Vero 細胞、あるいは、Alexander 細胞にエレクトロポレーションで導入し、薬剤による選択を行ったが、耐性細胞群を得ることはできなかった。

[染谷雄一]

(16) ヒトエンテロイドへの GII.3 HuNoV 感染に関与する胆汁成分に関する研究

GII.3 HuNoV は胆汁存在下でのみヒトエンテロイドへ感染可能である．GII.3 の感染に関与する胆汁成分を明らかにするため，様々な動物種の胆汁を検討したところ，ヒト以外に雌ブタ，仔ブタ，ウシの胆汁でも感染を促進することを明らかにした．また胆汁を加熱あるいはトリプシン処理しても感染に影響がなかったことから，感染に関与する胆汁成分はタンパク質ではないことが示唆された．今後は，感染に関与する胆汁成分を同定するとともに，そのメカニズムを明らかにしていく予定である．

［村上耕介，Tenge VR，Ettayebi K，Crawford SE，Estes MK（ベイラー医科大学)］

(17)ノロウイルス VLP の X 線結晶構造解析

ノロウイルスチバ株（GI.4）の VLP を昆虫細胞で調製し、三次元結晶化を行った。高輝度光科学研究センターにおいて X 線結晶構造解析を実施し、直径 23 nm 粒子の X 線回折データを得ることができた。高解像度化を実施すると共に、直径 38nm 粒子の三次元結晶化を行う。

[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）]

(18)ノロウイルス VLP の電子顕微鏡単粒子解析

ノロウイルスチバ株（GI.4）を除く、GI 株（GI.1～GI.9）の VLP を昆虫細胞で調製するべく、VP1 タンパク質の遺伝子を有する組換えバキュロウイルスを調製した。いくつかの株に由来する VLP 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に供給し、電子顕微鏡単粒子解析を実施しているが、高解像度の電子顕微鏡像はまだ得られていない。

[染谷雄一、染谷友美（理化学研究所）]

(18) 抗ノロウイルスヒト型モノクローナル抗体エピトープの決定

ノロウイルスチバ株（GI.4）に反応性を有するヒト型モノクローナル抗体 3 種は藤田保健衛生大学医学部で得られた。それらのエピトープを決定するための抗原タンパク質を大量に得るため、チバ株 VP1 タンパク質を 5 つのサブドメイン（N 末、S ドメイン、P1N ドメイン、P2 ドメイン、P1C ドメイン）に分割し、それぞれの SUMO 融合タンパク質を大腸菌で発現させた。また、3 種の抗体を同様に大腸菌で大量に得るために、Strep タグ標識の抗体の合成遺伝子を pET22b ベクターに組み込んだ。今後、抗体の発現とエピトープ決定を行う。

[染谷雄一、守口匡子（藤田保健衛生大学医学部)、谷口孝喜（藤田保健衛生大学医学部）]

(19) ノロウイルス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

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,自由エネルギー変化を成分分割する事で, 両者の違いを比較した. タンパク質との相互作用以上に溶媒和の影響が大きくなっている事が示され, 結合サイトにおけるアミノ酸置換が局所的な構造変化を誘発し, これに伴った水和構造の変化が糖鎖認識に強く影響を与えた事が確かめられた.

[白土東子, 石田豊和（産総研）, 久保田智巳（産総研）]

(20) 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

ヒト由来ファージ抗体ライブラリー12A2 から，GI.4 遺伝子型株, GII.4 遺伝子型株を抗原として単離してきたヒト型モノクローナル抗体が GI.4 遺伝子型株, GI.4 遺伝子型株だけでなく, 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昨年度までに明らかにしている. 今年度は, 異なるライブラリー1A9 および 5A8 から GII.4 遺伝子型株を抗原として単離してきた抗体も同様の阻害効果を示すかどうかの確認を行った結果, ライブラリー12A2 から単離してきた抗体と同様に 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.

[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）]

(21)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 の構造を解析をさらに進め、8 Åを下回る解像度を得ることに成功した。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。P ドメインの位置関係が、MNV-1 と異なることも発見した。

[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]

2. カリシウイルスに関する研究

(1) 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

結合シミュレーションで選択したネコカリシウイルス(feline calicivirus: 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のin vitroでのFCVプロテアーゼ活性阻害能とネコ由来腎臓細胞におけるFCV増殖阻害能を確認した。今後、ヒト由来のノロウイルスやサポウイルスが効率的に増殖可能となった場合、これらのウイルスプロテアーゼをターゲットにしたリード化合物の探索手法の１つとして有用と考えられる。

[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）, 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）わが国におけるロタウイルス分子疫学研究

ア）ロタウイルス検体の収集

わが国におけるロタウイルス流行株の変遷を調査するため、2003年から2014年の間に全国の地方衛生研究所で採取され、保存されていた下痢症患者の便検体を収集した。結果的に北海道、青森、宮城、栃木、群馬、埼玉、神奈川、静岡、大阪、広島、山口、愛媛、熊本の全国13の都道府県から、A群ロタウイルス（RVA）49検体およびC群ロタウイルス（RVC）8検体の合計57検体を収集することができた。RVCの検体が含まれていたのは北海道、大阪、広島、山口の4箇所だった。

[藤井克樹、団海燕、片山和彦]

イ）ロタウイルスのフルゲノムシークエンス解析

採取したロタウイルス 57 検体について、次世代シーケンサーを行いて全ゲノム配列を解析した。RVA の遺伝子型分布は Wa-like G1P[8]が 40%、DS-1-like G1P[8]が 4%、G2P[4]が 11%、G3P[8]が 22%、G9P[8]が 20%、G4P[8]が 2%であった。G3P[8]の 1 株は NSP2 が N2 タイプであり、DS-1 型ウイルスとリアソートメントを起こしていると考えられた。また、非定型的遺伝子型構成である DS-1-like G1P[8]株（G1-P[8]-I2-R2-C2-M2-

A2-N2-T2-E2-H2）が検出されたのは全て 2012 年以降の検体であった。

[藤井克樹、団海燕、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・迅速な検査法の実用化を目指し、核酸自動電気泳動装置MultiNA（島津製作所）を用いたロタウイルスゲノムの電気泳動パターンを検証した。３台の装置、12枚のチップを用いて再現性を確認したところ、波形データのフィッティング処理を行い、相関係数を算出することにより、実験間差の補正ができ、再現性の高い結果が得られることが判明した。また、リファレンス株（Wa-like G1P[8]、DS-1-like G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G9P[8]およびRVC株）との相関係数を比較することにより、検体の遺伝子型を推定できる方法を見出した。

[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BCR（B cell receptor）レパトア解析

マウスロタウイルスEW株をBALB/cマウスに経口接種して7日後に採取した回腸について、次世代シーケンサーによるBCRレパトア解析を行った（n=4）。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、H鎖ではIGHV3-6、IGHV5-17、IGHV13-2においてIgM、IgG、IgAで共通して特徴的なCDR3の配列が認められた。また、L鎖ではIGKV6-32およびIGKV8-27において特徴的なCDR3の配列が認められた。特にL鎖（Igκ）は偏りが大きく、4種類のCDR3配列の存在頻度が際立っていた。これらの配列がロタウイルス特異的抗体を構成していると考えられる。

[藤井克樹、片山和彦]

4. その他

（1）セービンワクチン力価試験およびD抗原量試験共通化に関する国際共同研究

WHO、NIBSCが中心となり、セービンワクチンの力価試験およびD抗原量試験を共通化するための国際共同研究が、セービンワクチン国際標準品制定を最終目的に進められている。その第一歩として、世界のいくつかのワクチン製造所が製造するセービンワクチン国際標準品候補品（7種）のD抗原量試験を実施した。得られたデータはNIBSCに提出し、現在NIBSCが総括を行っている。

[染谷雄一]

（２）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昨年度に確立した実験室レベルでのCohnエタノール分画法を用いて調べた。その結果グロブリン分画（上清）を得るために行う17%エタノール処理により、HCVの感染性はグロブリンを含まない沈殿画分に分画されることが明らかとなった。

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

レファレンス業務

Ⅰ．標準品の作製

リアルタイムRT-PCR、通常のRT-PCRで標準品として使用する下痢症ウイルス遺伝子を組み込んだスタンダードプラスミドDNAを再調整し、検出・定量する際の標準品として新たに配布する準備を整えた。来年度には、、各衛生研究所のブロック担当研究所に配布する予定。

[藤井克樹、片山和彦、木村博一（感染症疫学センター）]

II. エンテロウイルスに関する研究

1. 実験室診断およびレファレンス活動

(1) 国内エンテロウイルスレファレンスセンターとしての活動

ア) レファレンスセンターとしてエンテロウイルス標準株と標準抗血清を保管し，要望に応じて地方衛生研究所等に配付した. 2015 年度は、エンテロウイルス抗血清パネル EP95 を 10 セット、単味抗血清 3 種類、細胞 3 種類を配布した。

[吉田 弘，有田峰太郎， 中村朋史、 清水博之]

イ) 感染症法改正に伴う病原体検査標準作業書ひな形検討

H26 年 11 月に成立した改正感染法は H28 年 4 月に施行することを踏まえ、各種技術文書を通知にて発出することとなった。平成 27 年 8 月 11-12 日に、エンテロウイルスリファレンスセンター及びインフルエンザコアサポート地衛研の一部協力を得て、2 類及び 5 類病原体検査に関わる標準作業書のひな形作成のためのワークショップを開催。その後取りまとめを行い、「検査施設における病原体検査の業務管理要領」(健感発 1117 第 2 号平成 27 年 11 月 17 日)に反映させた。」

[秋場哲哉、千葉隆司、長島真美（東京都健安研セ)、加瀬哲男（大阪府公衛研)、川上千春（横浜市衛研)、調恒明(山口県環保研)、高橋雅輝(岩手県環保研セ)、滝澤剛則（富山県衛研)、皆川洋子、安井善宏（愛知県衛研)、濱﨑光宏（福岡県保環研)、山下育孝（愛媛県衛環研）吉田弘（感染研)]

ウ) 病原体検査における信頼性確保に関する検討

感染症法改正に伴い、病原体検査の信頼性確保の取り組みについて、WHO による実験室評価指標について国内の状況と比較を行い、応用可能性について検討した。今般の改正において地衛研にて実施する病原体検査は独自の取り組みにより信頼性を保証してゆくことが通知で示されており、外部精度管理調査は、検査の質保証には有効な指標であると認められる。他方、法改正ではサーベイランス実施体制の見直しも含まれているため、検査施設の改善のみでは不十分であり、検体採取から検査、報告までの一連のフローの中で、信頼性を保証する必要がある。そのため、包括的な検査の質評価の指標開発を行う必要性が認められた。

[調恒明（山口県環保セ)、皆川洋子（愛知県衛研)、四宮博人（愛媛県衛環研)、岸本剛（埼玉県衛研
北川和寛(福島県衛研)、高橋雅輝(岩手県環保研セ)、児玉洋江(石川県保環セ)、濱崎光宏(福岡県保環研)、吉田弘（感染研）]

(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(3 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 13 か所にて平成 25（2013）年度春より開始した。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。27 年度は事業として 16 か所、調査研究として 2 か所の地衛研の協力を得て調査を実施し、ポリオウイルスが検出されないことを確認している。引き続きポリオウイルスの監視を行っていく。

[板持雅恵（富山県衛研）、伊藤雅（愛知県衛研）、伊東愛梨（宮崎県衛環研）、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)、島あかり（佐賀県衛薬セ）、下野尚悦（和歌山県環衛研セ）、高橋雅輝（岩手県環保研セ）、筒井理華（青森県環保セ）、中田恵子（大阪府公衛研)、中野守(奈良県保研セ)、西澤佳奈子(長野県環保研）、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)、三好龍也（堺市衛研）、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 25 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6回目）を実施した。感染研での研修期間は2016年1月18日～2月12日，研修参加者は,アフガニスタンから2名、フィジーから2名、モザンビークから1名、ナイジェリアから2名、パキスタンから2名、フィリピンから1名、スーダンから2名、ベトナムから2名の計14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 。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，西村順裕、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171検体およびラオス601検体の糞便からポリオウイルスの分離および同定を行った。カンボジアの糞便検体からポリオウイルス2型が検出されたが、ワクチンと同定された。2015年9月に発症したラオスの AFP 症例由来糞便検体から1型ポリオウイルスが分離され、型内鑑別試験および VP1 領域の塩基配列解析により、分離株は Sabin 1 型との比較で 3.3%の変異を有する 1 型 VDPV と同定された。強化 AFP サーベイランスに由来するポリオウイルス分離株の解析により、2015 年 9 月から 2016 年 1 月にかけて発症した 11 例の AFP 症例が、1 型 VDPV によるポリオ症例であることが明らかとなった。
[吉田 弘，有田峰太郎， 中村朋史、西村順裕、和田純子、清水博之]

イ) ラオスにおける1型ワクチン由来ポリオウイルスの流行
2015年9月7日に発症したAFP症例由来の糞便検体から1型ポリオウイルスが分離され、型内鑑別試験およびVP1領域の塩基配列解析により、分離株はSabin 1型との比較で3.3%の変異を有する1型VDPVと同定された。第一症例は検体採取直後に死亡したが、複数の接触者から分子系統学的関連性を有する1型VDPVが検出されたことから、地域集団における1型VDPVの長期的伝播が示唆された。強化AFPサーベイランスに由来するポリオウイルス分離株の解析により、2015年9月から2016年1月にかけて発症した11例のAFP症例が、1型VDPVによるポリオ症例であることが明らかとなった。11例のAFP症例は、8ヶ月齢から44歳(平均15歳)で、AFP症例の多くは不十分なポリオワクチン接種歴であった。第一症例が発生した地区(Bolikhamxay Province)の2009年～2014年におけるOPV3回接種率は40～66%と報告されており、ラオスでは、長期にわたりポリオワクチン接種が不十分な民族集団が残されていた可能性が高い。
[吉田 弘，有田峰太郎，中村朋史、西村順裕、和田純子、清水博之、Phengta Vongphrachanh，Bouaphanh Khamphaphongphane， Bounthanom Sengkeopraseuth (Laos EPI)、Walter William Schluter (WHO/WPRO)，Siddhartha Sankar Datta (WHO/Laos)]

ウ) 2015 年 5 月 18 日～20 日にかけて、JICA 短期専門家として、ナイジェリアに２カ所ある WHO National Polio Laboratory のうち、イバダン・ポリオ実験室を訪問し、ポリオウイルス実験室診断および機器・備品の維持管理等に関する技術指導を実施した。
[清水博之]

エ)2015年5月25日－5月30日に､WHO/WPRO(マニラ)において開催された The 5th Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks および GAP III Poliovirus Biorisk Management Training に、WHO 短期専門家として参加し、WPRO ポリオ実験室ネットワークの現状と今後の課題に関する発表・情報交換を行うとともに、WHO ポリオウイルス病原体管理新基準(GAP III)に基づくバイオリスクマネージメント研修課程に参加した。
[清水博之、伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)]

オ)2015 年 6 月 24-26 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 および The 21th Informal Consultation of the Global Polio Laboratory Network に WHO 短期専門家として参加し、ポリオ実験室診断の精度管理の改善、環境サーベイランス手法の標準化、ポリオウイルス遺伝子診断法の技術的改良および精度管理試験等について検討を行った。感染研ウイルス二部からは、臨床検体からポリオウイルスを直接検出同定するための新たなアプローチに関する発表(Direct detection of polioviruses from AFP specimens and environmental samples)を行った。
[清水博之]

カ) 2015 年 7 月 5 日－7 月 15 日にベトナム・ホーチミン・パスツール研究所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 JICA 専門家として参加し、四カ所の基幹国立研究所、および、四カ所の省予防医療センターからの研修参加者に対して、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した。また、各研究所および省予防医療センター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]

キ) WHO/WPRO および感染研国際協力室と協力し、2015 年 11 月 5 日－11 月 12 日に感染研戸山庁舎において開催された、TWENTY FIRST MEETING THE REGIONAL COMMISSION FOR THE CERTIFICATION OF POLIOMYELITIS ERADICATION IN THE WESTERN PACIFIC の開催準備および会議運営を担当した。また、日本ポリオ根絶会議委員長代理として、日本におけるポリオフリー状況およびポリオ流行のリスク、ラオスにおける VDPV 流行状況等に関する発表を行った。
[吉田 弘, 有田峰太郎, 中村朋史、西村順裕、和田純子、清水博之、内藤万佐子、熊谷優子 (国際協力室)]

ク) 2016 年 2 月 22 日～26 日にかけて、JICA 短期専門家として、ナイジェリアに 2 カ所ある WHO National Polio Laboratory のうち、イバダン・ポリオ実験室を訪問し、イバダン・ポリオ実験室において、安全キャビネットを含むポリオウイルス実験室診断に関わる主要機器・備品が適切に維持管理されていることを、同行した技術コンサルタントとともに確認し、スモークテスターを使用した安全キャビネットの日常点検について、技術スタッフに対する技術研修を実施した。国家ポリオ実験室技術スタッフ (イバダンおよびマイドゥグリ)を対象とした、日常的な機器・備品の維持管理に関する技術研修を実施した。
[清水博之]

ケ) 2016 年 3 月 8 日－3 月 10 日に Hotel President Wilson (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 および 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、Polio Endgame 後を見すえた GSL の役割と貢献についての情報提供を行った。とくに、世界ポリオ根絶計画の進展とワクチンポリシーの変更(tOPV-bOPV スイッチ)にともなう実験室診断の技術的課題(VDPV の再定義および 2 型ポリオウイルス検出法の改良、2 型ポリオウイルス管理の厳格化への対応)および実験室ネットワークの役割分担について検討した。
[清水博之]

コ) 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 21th 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]

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

2015 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。

2015 年 9 月 7 日に発症した AFP 症例由来の糞便検体から 1 型ポリオウイルスが分離され、型内鑑別試験および VP1 領域の塩基配列解析により、分離株は Sabin 1 型との比較で 3.3%の変異を有する 1 型 VDPV と同定された。第一症例は検体採取直後に死亡したが、複数の接触者から分子系統学的関連性を有する 1 型 VDPV が検出されたことから、地域集団における 1 型 VDPV の長期的伝播が示唆された。強化 AFP サーベイランスに由来するポリオウイルス分離株の解析により、2015 年 9 月から 2016 年 1 月にかけて発症した 11 例の AFP 症例が、1 型 VDPV によるポリオ症例であることが明らかとなった。広範な地域における AFP 症例および接触者の糞便検体から、分子系統学的関連性を有する計 26 株の 1 型 VDPV が検出されている。ラオスの 1 型 VDPV 株の遺伝子解析によると、すべての VDPV 株は分子系統学的関連性を有する一方、分離株間で比較的高い多様性を有しており、長期間かつ広範な VDPV 伝播が示唆される。VP1 以外のゲノム遺伝子領域の予備的解析によると、ラオスの 1 型 VDPV 株は、これまで報告された VDPV 株の多くで報告されている C 群エンテロウイルスとのゲノム遺伝子組換えは認められておらず、すべてのゲノム領域が Sabin1 株に由来する非組み換えウイルスである可能性が高い。

[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) ポリオウイルスの直接検出法の開発

これまでに培養細胞と同程度もしくはより効率のよいポリオウイルス同定方法を開発することを目的として、便検体中のポリオウイルスを直接検出する系の開発を行ってきた。その中で、ポリオウイルスレセプターを付けた磁気ナノビーズ（PVR MB）を用いたポリオウイルス抽出法、やポリオウイルスゲノムのカプシド全領域を効率よく増幅する系（ECRA 法）を開発してきた。これら２つの新規法は、これまでのアッセイにおける特異性および感度の問題を根本的に解決できる方法として注目されている。ECRA 法の効率をさらに上げることを目的とし、ECRA 法で得られた cDNA の回収方法の改善を検討した。PCR 産物精製段階を検討し、ECRA 法の産物を以前の方法の 5~10 倍の効率で効率よく回収できる条件を見出した。

[有田峰太郎]

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

細胞培養を経ず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(WHO/HQ)，Sohail Zaidi（NIH/Pakistan)，清水博之］

(3) PI4KB 阻害剤に耐性を示すポリオウイルス変異株

の解析

これまでの解析により、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β（PI4KB）/オキシステロール結合タンパク（OSBP）経路が同定され、この経路がウイルスの RNA 複製の場の形成に重要であることを示してきた。宿主の PI4KB/OSBP 阻害剤に対するエンテロウイルスの耐性変異はウイルスタンパク 3A の様々な箇所に生じうることが知られていたが、これらの変異がどのように PI4KB/OSBP 阻害剤に対する耐性をもたらすのか不明であった。今回、PI4KB 阻害剤に対する耐性変異（G5318A（3A-Ala70Thr）変異））を持ったポリオウイルスの感染を解析し、この変異ウイルス株が感染した細胞では、ホスファチジルイノシトール 4-リン酸（PI4P）が 1.3 倍程度上昇し、一方、3B タンパクの量が 0.7 倍程度に減っていることが明らかになった。

[有田峰太郎]

(4) ポリオウイルスタンパク発現による *trans*-complementation アッセイの構築

ホスファチジルイノシトール 4-キナーゼβ（PI4KB）/オキシステロール結合タンパク（OSBP）経路の阻害剤に対して耐性を示すポリオウイルスは、ウイルスタンパク 3A を高発現していることが見出されたが、3A タンパクの発現自体が PI4KB 阻害剤に対する耐性に関与しているかどうかを明らかにするために、ウイルスタンパクを異所性に高発現することで、PI4KB 阻害剤存在下におけるポリオウイルスの複製の阻害が解除されうるかどうかを検討した。ウイルスタンパクを細胞に高発現させ、その細胞において PI4KB 阻害剤存在下でポリオウイルス感染を測定したところ、3A, 3AB タンパクを発現させた場合にのみ、ポリオウイルスの感染が上昇することが見出された。さらに、G5318A 変異を導入した 3A, 3AB タンパク質を発現させて、変異がない 3A, 3AB タンパクを発現させた細胞と比較したところ、3AB タンパクでのみ G5318A 変異の導入で PI4KB 阻害剤存在下におけるポリオウイルス感染が顕著に上昇した。このことから、G5318A 変異の直接の標的は、3A タンパクではなく 3AB タンパクであることが示唆された。

[有田峰太郎]

(5) ウイルスタンパクの PI4KB 活性への影響の解析

エンテロウイルス感染細胞では、ホスファチジルイノシトール 4-キナーゼβ（PI4KB）によりホスファチジルイノシトール 4-リン酸（PI4P）が過剰に産生されていることが知られているが、ウイルス感染細胞のの中でどのように PI4KB が活性化されているのか不明であった。今回、ポリオウイルスタンパクを発現・精製する系を構築し、in vitro における PI4KB 活性への直接の影響を解析することに成功した。その結果、ウイルスタンパク 2C, 2BC, 3AB, および 3D が、直接 *in vitro* の PI4KB 活性を上昇させることを見出した。3A タンパクは、PI4KB 活性に影響を与えなかった。G5318A 変異を導入した 3AB タンパクは、変異のない 3AB タンパクと同程度の PI4KB 活性上昇しかもたらさなかったため、G5318A 変異が PI4KB 活性の上昇に直接的に関与しているという証拠は得られなかった。これらの結果は、ウイルスタンパク質が直接的に PI4KB に作用し、活性化していることを示唆する。

[有田峰太郎]

(6) PI4KB 阻害剤に対するポリオウイルスの新規耐性変異の同定

これまで標的未知であった抗エンテロウイルス阻害剤 AN-22-A6 の解析を行った。その結果、これが新規の骨格を持つホスファチジルイノシトール 4-キナーゼβ（PI4KB）阻害剤であることが判明した。AN-22-A6 に対する耐性を示すポリオウイルス株の中の C5151U（3A-Thr14Met）変異および C5366U（3A-His86Tyr）変異が、PI4KB 阻害剤に対する耐性変異であることを示し、これらがウイルスプロテアーゼによるウイルスタンパク 3AB の切断効率を上昇させることを見出した。さらに、これらの変異を２つ同時に持ったウイルス変異株では、3AB の切断効率および PI4KB に対する耐性が顕著に上昇することを見出した。また、G5318A

変異の結果と合わせて、PI4KB 阻害剤に対するポリオウイルスの耐性の程度と 3AB の切断効率に、正の相関があることが見出された。
[有田峰太郎]

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

全国から 5,000 人の 2 歳児を無作為に抽出し、居住する市区町村に四種混合ワクチン等を接種した月齢の調査を依頼し、回収された調査票をもとに全国累積接種率を推計した。今回調査対象となった 2 歳児は、全員、4 種混合ワクチン接種対象者なので、4 種混合ワクチンのみ調査を行った。2015 年の調査では, 4 種混合ワクチン 1 回目累積接種率は、生後 12 ヶ月で 98.9%、生後 24 ヶ月で 99.3%であった。4 種混合ワクチン追加接種率は、生後 24 ヶ月で 83.3%であった。今回の調査では、OPV ならびに DPT 接種を受けた者はいなかった。
[崎山 弘（崎山小児科)、清水博之]

(2) 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

わが国におけるポリオの定期予防接種には、従来、OPV が用いられてきたが、2012 年 9 月に単独不活化ポリオワクチンに切り替わり、同年 11 月からは 4 種混合ワクチンも使用可能となった。5 歳未満の乳幼児における IPV 含有ワクチン導入前後の予防接種状況ならびに抗体保有状況について検討を行った。2011～2015 年度の感染症流行予測調査をもとにした解析により、予防接種歴が不明であった者を除き、OPV または IPV 含有ワクチンの 1 回以上の接種歴があった者の割合(1 回以上接種率）をみると、OPV の接種控えが問題となった 2011 年度は 0 歳で 45%、1 歳で 89%と低く、0～4 歳では 87%であった。翌 2012 年度も 0 歳で 67%、1 歳で 86%と低く、0～4 歳の 1 回以上接種率は 93%であった。IPV 含有ワクチンが定期接種に導入以降、2013～2015 年度の 0 歳、1 歳の 1 回以上接種率は 95%以上と高く、0～4 歳でも 95%以上を示した。また、2011～2012 年度に 1 回以上接種率が低かった年齢層も 95%以上に上昇しており、接種控えによる影響は解消されたと考えられた。0～4 歳の接種歴が明らかな者における抗体保有状況（中和抗体価 1:4 以上）をみると、2011 年度および 2012 年は 1 型・2 型に対して 95%未満の抗体保有率であり、3 型に対してはさらに 20 ポイント以上低かった。また、0 歳、1 歳では低い接種率を反映し、抗体保有率も低かった。1 回以上接種率が上昇し、IPV 含有ワクチンを受けた者の割合が増加した 2013 年度、2014 年度は 1 型・2 型に対して 95%以上であり、3 型との抗体保有率の差も小さくなった。2015 年度（同 99%、100%、97%）は血清型間の差はほとんどなく、すべての血清型に対して 95%以上の抗体保有率であった。
［佐藤 弘，多屋馨子（感染症疫学センター)、清水博之］

(3) 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麻痺(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した。9例の被験者に由来する糞便検体合計26検体について検査を行った。いずれの糞便検体もウイルス分離陰性であった。また、糞便検体からRNAを抽出し、ポリオウイルスを含むエンテロウイルス遺伝子を高感度に増殖することが出来るCODEHOP-snPCR法によるエンテロウイルス遺伝子検出を試みたところ、すべての糞便検体において、ポリオウイルス遺伝子の増幅および検出は認められなかった。以上の結果より、今回検査を実施した被験者において、ワクチン株を含むポリオウイルスの持続感染は認められなかった。エンテロウイルス遺伝子を高感度に増殖することが出来るCODEHOP-s

nPCR法により、3名の異なる被験者より、3種類のエンテロウイルス遺伝子が検出された。塩基配列解析の結果、それぞれ、CV-A14、CV-B2およびCV-A16と同定された。今回検査を実施した被験者においては、エンテロウイルス持続感染は認められず、一過性エンテロウイルス感染であることが示唆された。

［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) NF449 類似化合物の RD 細胞に対する毒性

低分子化合物 NF449 は、おそらくエンテロウイルス 71 に結合することにより､エンテロウイルス 71 の RD 細胞への感染を阻害する。NF449 に類似した構造をもつ化合物 25 種類のエンテロウイルス 71 感染阻害効果を調べるにあたり、各化合物のもつ RD 細胞に対する細胞毒性を検討した。いずれの化合物もエンテロウイルス 71 の感染阻害を解析する濃度域においては目立った細胞障害性を示さなかった。したがって、各化合物の細胞への非特異な影響を考慮することなく、エンテロウイルス 71 感染阻害活性を評価できることが明らかとなった。

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

(2) NF449 とエンテロウイルス 71 のドッキングモデル構築

NF449 に耐性を示すエンテロウイルス 71 はキャプシド蛋白質 VP1 の 98 番目のアミノ酸(VP1-98)と 244 番目のアミノ酸（VP1-244）に変異をもつことが報告されている。VP1-244 は陽性電荷をもつリシンであり、NF449 のもつ硫酸基と相互作用することが考えられた。この情報をもとに、分子シミュレーションプログラム MOE を用いてドッキングモデル構築を試みた。NF449 は様々な構造を取りうるが、VP1-244 のみ、あるいは VP1-244 と VP1-98 の両方と結合するモデルを構築することができた。

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

(3) 抗エンテロウイルス 71 モノクローナル抗体とエンテロウイルス 71 粒子との結合解析

当室の所有する抗エンテロウイルス 71 モノクローナル抗体について､エンテロウイルス 71 の成熟粒子（キャプシド蛋白質 VP2,VP4 を含む）および空粒子（キャプシド蛋白質 VP0 を含む）への結合性を検討した。その結果、抗エンテロウイルス 71 モノクローナル抗体は、①空粒子にのみ結合する抗体、②空粒子に強く結合するが、成熟粒子にも弱く結合する抗体、③空粒子にも成熟粒子にも強く結合する抗体、の３種類に大別されることが明らかとなった。エンテロウイルス 71 の成熟粒子と空粒子では立体構造が異なっていることが近年報告されている。特に①のモノクローナル抗体は空粒子構造の解析に有用と考えられた。

[西村順裕、清水博之]

(4) 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。VP1-145 は、EV71 分離株間で多様性を有し、①PSGL-1 受容体特異性、②マウス感染モデルにおける病原性、③中和抗原性エピトープ、④低分子抗 EV71 化合物や中和抗体の結合、⑤サルモデルにおける適応変異と神経病原性発現、⑤ヒト EV71 感染重篤化への関与の可能性等、in vitro および in vivo における、さまざまなウイルス表現型に関与することが明らかとなった。

[片岡周子(北海道大学)、清水博之、西村順裕、網康至(動物管理室)、鈴木忠樹、小谷治(病原体ゲノム解析研究とセンター)、岩田奈織子、永田典代(感染病理部)]

(5) PSGL-1 結合性エンテロウイルス 71 株のカニクイザルにおける病原性の解析

我々は EV71 特異的受容体として PSGL-1 を同定し、PSGL-1 結合性 EV71 株は PSGL-1 を介して T 細胞に感染することを培養細胞レベルで明らかにした。PSGL-1 結合性 EV71 株は二種類に分類される。ウイルスキャプシド蛋白質 VP1 の 145 番目のアミノ酸がグリシン（VP1-145G）の株と、グルタミン（VP1-145Q）の株である。このうち後者 VP1-145Q のウイルスが重症の EV71 感染者から高頻度に分離されるという報告もある。これまで我々は、カニクイザル EV71 感染モデルを確立し、EV71 臨床分離株の病原性の比較・免疫原性等の研究を進めてきた。EV71-02363 株を基に作製した VP1-145G あるいは VP1-145E（E の場合は PSGL-1 非結合株である）をもつウイルスによるカニクイザル感染実験では、両群とも重篤な症状を示さなかった。本研究では VP1-145Q のウイルス（EV71-02363 株を基に作製）を用いて、VP1-145 のアミノ酸の違いが PSGL-1 結合性ウイルスの病原性に影響するかどうかを、ヒト感染に近いカニクイザル EV71 感染モデルを用いて in vivo で解析する。病原性発現、ウイルス増殖、病変の局在等について比較し、PSGL-1 依存性のウイルスが起こす病原性発現機構について、VP1-145 のアミノ酸の違いによる影響を詳細に解析する。

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

(6) 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。本年度は、おもに、2015 年に北部ベトナムで報告された手足口病症例の実験室診断を行い、EV71 を含めた原因ウイルスの解析を行った。手足口病症例由来臨床検体から RNA を抽出し、汎エンテロウイルス RT-PCR およびマルチプレックス・リアルタイム RT-PCR(EV71, CVA6, CVA10, CVA16)により、エンテロウイルスの検出・同定を行った。ベトナム北部では、2011-2012 年は EV71 が高頻度で検出されていたが、2013 年は、日本を含む他のアジア諸国同様 CVA6 が比較的多く検出された。2014 年は、CVA16 が高頻度に検出されたが、2015 年は、CVA6 および EV71 が北部ベトナムにおける手足口病の主要な原因ウイルスであった。EV71 分離株の分子疫学的解析によると、2013 年には Sub-genogroup B5 の検出頻度が増加し、2014-2015 年も引き続き、Sub-genogroup B5 が北部ベトナムにおける主要な EV71 遺伝子型であった。

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

(7) 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。臨床試験における有効性・安全性の結果を踏まえ、2015年12月、中国で、世界初の不活化エンテロウイルス71ワクチンが承認され、中国市場に導入された。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EV71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)とEV71 C4 523 株を用いたEV71中和抗体価測定を実施した。その結果、EV71抗血清国際標準品候補のうち、14/140が the 1st IS for anti-EV71 serum (Human)に選定された。

[西村順裕、片岡周子、中村朋史、清水博之]

(8) エンテロウイルス D68(EV-D68)流行対応と実験室診断体制の整備

EV-D68 は *Enterovirus D* に分類されるが、温度感受性および酸耐性等のウイルス学的性状から、EV-D68 はライノウイルス同様、主として呼吸器感染症に関与するユニークなエンテロウイルスであると考えられている。2014 年、米国で、EV-D68 感染症の広範な流行が発生し、呼吸器感染症だけでなく、急性弛緩性脊髄炎(Acute Flaccid Myelitis: AFM)・急性弛緩性麻痺(Acute Flaccid Paralysis: AFP)や脳神経障害等、中枢神経疾患合併症症例から EV-D68 が検出されたことから、エンテロウイルスによる再興感染症として注目を集めた。しかし、EV-D68 の疫学および病原性については、いまだ不明な点が多く残されており、EV-D68 感染と AFM・AFP を含む中枢神経疾患発症との関連性について、現在も慎重な検討が進められている。日本でも、2015 年 8 月以降、病原微生物検出情報における EV-D68 検出数の増加が認められ、重症例を含む呼吸器感染症由来検体からの EV-D68 検出事例が相次いで報告された。EV-D68 検出数は、2015 年 9 月をピークに急増したが、EV-D68 感染症流行とほぼ同時期に、小児を中心とした AFP 症例の報告が相次ぎ、一部 AFP 症例から EV-D68 が検出された。そのため、厚生労働省は、2015 年 10 月 21 日付の事務連絡として、「急性弛緩性麻痺（AFP）を認める症例の実態把握について（協力依頼)」を発出し、積極的疫学調査の枠組みによる AFP 症例報告および病原体検査による、原因究明のための調査を進めた。感染研では、EV-D68 特異的リアルタイム PCR 法が、他のエンテロウイルス遺伝子検出法と比較して感度が高いという結果を得、EV-D68 以外の病原体の関与の可能性も含めた検査体制の整備を進めた。髄液や血液からの EV-D68 検出頻度は低く、多くの EV-D68 感染事例では、呼吸器由来検体から EV-D68 遺伝子が検出された。

[多屋馨子、花岡希、藤本嗣人(感染症疫学センター)、清水博之]

(9) 我が国のサーベイランスデータからみるエンテロウイルス D68 検出症例

全国の地方衛生研究所（地衛研）において行われた病原体検査の結果が、感染症サーベイランスシステムの病原体検出情報に報告されている。病原体検出情報を基にエンテロウイルス D68 型（EV-D68）の流行実態の把握を試みた。2000 年から 2015 年までに報告された EV-D68 検出例の年齢群、診断名等について特徴を調べた。2005 年以降、34 都府県から 451 例(男性 54%)が報告された。2009 年までは年間に数例程度であったが、2010 年 129 例、2013 年 122 例、2015 年は 11 月 19 日現在で 171 例の報告があった(その後 2015 年の報告数は 258 例に増加)。検体採取月別では、どの年も 9 月をピークに夏から秋にかけて検出が増加していた。年齢中央値は 3 歳で、1 歳を中心に 0-4 歳群が最も多く、5-9 歳群が続いた。主な診断名は、下気道炎、上気道炎、気管支喘息など呼吸器疾患が大半であった。急性脳炎、心肺停止、急性片麻痺、末梢神経麻痺など

の症例も報告されていた。74%は発熱を呈していた。EV-D68 を検出した検体の大多数(97%)は咽頭拭い液であったが、糞便、血液、等からの検出例の報告もあった。2014 年に米国で呼吸器疾患のアウトブレイクを起こした EV-D68 は過去に日本でも流行していたことが示唆された。

[木下一美、砂川富正、多屋馨子、大石和徳（感染症疫学センター)、清水博之]

6. ポリオウイルスのバイオセーフティ及びバイオセキュリィティシステムに関する調査研究

(1) WHO ポリオウイルス病原体バイオリスク管理行動計画(GAPIII)について

2016 年 6 月現在、1 型野生株ポリオウイルス流行国は、パキスタンおよびアフガニスタンに限局しており、WHO は、世界ポリオ根絶計画の早期達成を目指している。WHO Polio Eradication and Endgame Strategic Plan 2013-2018 では、世界ポリオ根絶達成の要件のひとつとして、ポリオウイルス取扱い施設から地域社会へのポリオウイルス再侵入のリスクを最小限とするための、ポリオウイルスの安全な取扱いと封じ込め活動の徹底を挙げている。そのため、WHO は、2014 年 12 月に、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する世界的行動計画改訂第三版である WHO Global Action Plan to minimize poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of OPV use(野生株ポリオウイルスの型特異的根絶および経口ポリオワクチン使用の段階的停止後におけるポリオウイルス取扱い施設関連リスクを最小化するための WHO 世界的行動計画; GAPIII)を公開し、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理の厳格化を求めている。GAPIII は、ポリオ根絶最終段階におけるポリオウイルスのバイオリスク管理標準について、具体的かつ詳細に示した行動計画であり、世界中のポリオウイルス取扱い施設を、診断・研究・ワクチン製造等に関わる必須な機能を遂行するために必要とされる最小限の認証された施設(Essential Poliovirus Facility)に限定し、これらの施設では、GAPIII に示されたバイオリスク管理標準に準じてポリオウイルスを取扱うことを求めている。OPV 使用国で、2016 年 4～5 月に実施された trivalent OPV 接種の世界的停止にともない、Essential Poliovirus Facility 以外の施設では、2016 年 7 月末までに、不必要な 2 型ポリオウイルス感染性材料を廃棄する必要がある。ワクチン株(Sabin 2 株)を含む 2 型ポリオウイルス感染性材料を保有する施設では、GAPIII に準じたポリオウイルス病原体バイオリスク管理に対応する必要がある。そのため、厚労省結核感染症課、日本ポリオ根絶会議等と協力して、WHO GAPIII によるポリオウイルス病原体バイオリスク管理体制整備に向けた周知と国内対応を進めた。

[清水博之]

(2) WHO ポリオウイルス病原体バイオリスク管理行動計画(GAPIII)国内対応活動

ポリオ根絶最終段階に向けたポリオワクチン戦略の一環として、2016年4月のbivalent OPV導入後は、2型ワクチン株(Sabin2/OPV2株)についても、GAPIIIに基づく病原体管理の対象となる。標準株として広く用いられているワクチン株も病原体管理の対象となることから、ポリオウイルス検査・研究施設だけでなく、より広範な医学生物学施設へのポリオウイルス病原体廃棄・管理の必要性についての周知が必要とされる。そのため、National Poliovirus Containment Coordinator として、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する周知を進めるため、GAPIIIの和訳版を作成し、内容について整理するとともにGAPIIIを反映したポリオウイルス病原体バイオリスク管理国内ガイドラインの策定を進めた。また、sIPVワーキンググループを組織し、sIPV製造施設におけるポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する技術的情報交換と2型ポリオウイル感染性材料を使用しないsIPV品質管理方法の検討を開始した。2型ポリオウイルスを用いたIPV検定業務および品質管理研究のため、GAPIIIに基づ

くpoliovirus-essential facilityとして、感染研村山庁舎BSL3実験室の整備を行った。
[染谷雄一、西村順裕、有田峰太郎、吉田弘、片山和彦、清水博之、脇田隆字]

(3) 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。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］

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) 2015 年の A 型肝炎流行状況の分子疫学的解析

2015 年の A 型肝炎は 242 例の報告があった。本年はそのうち 37 例の構造/非構造ジャンクション領域の配列を決定した。30 例（81%）が IA、5 例（14%）が IB、2 例（5%）が IIIA であった。秋田県で家族内感染と思われる事例が発生し、5 名が感染し 4 名が発症、1 名が死亡した。2 例の配列を決定することができ、いずれも IB で同一の配列であった。
［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、*砂川富正、**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) 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発生した A 型肝炎の集団発生事例について、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。1 検体から全長配列を決定することができた。
[*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）]

(3) Havrix の相対力価

海外で広く使用されている GSK 社のＡ型肝炎ワクチン Havrix（Havrix 1440, Lot: AHAVB824AK）について in vivo 相対力価試験を行った。方法はＡ型肝炎ワクチンの国家検定力価試験に従った。国内参照Ａ型肝炎ワクチンに対する Havrix の相対力価は 1.045（95%信頼区間 0.502～1.724）であった。in vivo 相対力価において、Havrix は合格基準の力価 1 以上に達しているものの、日本のワクチンよりは力価が低かった。
Ａ型肝炎ワクチンは各メーカーで製剤の特性（抗原特異性、アジュバントの有無、アジュバント除去後の抗原回収率等）が異なり、共通基準によるメーカー間の抗原性比較は難しい。一方、マウスに対する抗体誘導能（in vivo 相対力価試験）は抗原特異性や抗原回収率の影響による部分が無いあるいは少なく、メーカー間の比較が可能である。国内未承認ワクチンと日本の承認ワクチンを比較検討することは、多様なニーズに対するワクチン接種計画を立てる際に有用である。

［清原知子、佐藤知子、李天成、塩田智之、吉崎佐矢香、石井孝司、脇田隆字］

２．B 型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究

(1) B 型慢性肝炎のエンテカビル投与中に再燃した症例から得られた耐性株の解析

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中に rtV173L/rtL180M/rtM204V の変異を有する株を確認した．これらの 3 つの変異を有する株,rtL180M/rtM204V 変異のみを有する株,変異を持たないコンセンサス株をもとに 1.4 倍長の HBV コンストラクトを構築し培養細胞に導入し RTD-PCR にてエンテカビル感受性の評価を行った．rtL180M/rtM204V の変異を有する株,rtV173L/rtL180M/rtM204V の変異を有する株は両方ともエンテカビルに耐性を示した．どちらの株も変異を持たない株と比較し EC50 は高価を示したが,rtL180M/rtM204V に rtV173L が加わることによりウイルスの複製が上昇す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]

(2) B 型慢性肝炎のエンテカビル長期投与中に再燃をきたした症例の解析

エンテカビル投与中 6.8 年後に HBV DNA の再上昇を認めた症例の患者血清中に rtL180Q/rtM204V/rtN238H/rtL269I の変異を有する HBV 株を確認した．これら 4 つの変異を有する株とこれらの変異を持たないコンセンサス株をもとに 1.4 倍長の HBV コンストラクトを構築し培養細胞に導入し RTD-PCR にてエンテカビル感受性の評価を行った．これら 4 つ変異を有する株は変異を持たない株と比較し,エンテカビル感受性が不良であり EC50 は約 60 倍高く,これらの変異はエンテカビルに耐性であることが明らかとなった.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏（東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(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

エンテカビル耐性が確認された rtL180Q/rtM204V/N238H/L269I の変異を有する株のうち,これまでに報告のない N238H/L269I について検討した．ラミブジン耐性変異である rtL180Q/rtM204V に rtN238H または L269I をいれたコンストラクトを作成し培養細胞に導入し RTD-PCR にてエンテカビル感受性の評価を行った．rtL180Q/rtM204V の変異のみを有する株は変異を持たない株と比較し EC50 は約 4 倍であり,rtN238H が加わることでは EC50 に変化はなかったが,rtL269I が加わることにより EC50 は約 60 倍高くな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 エンテカビル耐性株のテノホビル感受性評価

エンテカビル耐性が確認された変異 rtV173L/rtL180M/rtM204 および rtL180Q/rtM204V/N238H/L269I についてテノホビルに対する感受性を検討した．これらの変異を有するコンストラクトと変異を持たないコンストラクトを培養細胞に導入し RTD-PCR にてテノホビル感受性の評価を行った．これらの変異を有する株と変異を持たない株はともにテノホビル感受性を示し,テノホビルに対する EC50 は同等であった.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏（東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(5) B 型急性肝炎症例における HBs 領域のアミノ酸変異の検討

B 型急性肝炎症例 128 例（Genotype；A 66 例 ,B 19 例 ,C 43 例）の中和エピトープとなる S 領域のアミノ酸変異を検討した．128 例中,hydrophilic region (aa 110-160）では 13 例（10.2%）,a determinant 領域（aa 124-147）では 9 例（7.0%）に変異を認めた．ワクチンエスケープ変異として知られる T126S と,これまでに報告のない T131P/A,M133L,F134Y,P135H を認めた．これらはオーバーラップする RT 領域の変異を伴うものが認められたが,核酸アナログ耐性変異とし

て知られている変異は認めなかった.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏 (東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(6) HBV 感染が NK 細胞により誘導されるアポトーシスの感受性に与える影響の解析

HBV の複製モデル導入細胞に NK 細胞を加える事で, HBV 複製が NK 細胞により誘導されるアポトーシスの感受性に与える影響を解析した. 遺伝子型が異なる HBV 株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 NK 細胞を加えアポトーシスを誘導した. その結果, 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. 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.
[椎名正明 (新百合ヶ丘総合病院), 杉山奈央, 山田典栄, 杉山隆一, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(7) HBV 検体パネルを用いた HBV DNA 定量系の性能評価

献血検体を用いて整備した HBV 陽性および陰性検体パネルを用いて, HBV DNA 定量用体外診断薬 2 種類の性能評価を行った. HBV 陰性検体パネルとして整備した 53 検体は, どちらの診断薬での測定においても陰性であった. HBV 陽性検体パネルとして整備した 80 検体を測定では, 検出感度にまさるキットで, より多くの検体が定量可能であった. 次にこれらのキットで定量された HBV DNA 量の相関について検討を行った. その結果, 両者の HBV DNA 量の測定値に高い相関を認め, 回帰直線式の傾きもほぼ１に近い値であった. 遺伝子型によるこの相関への影響は認めなかった.
[百瀬暖佳, 松岡佐保子, 浜口功 (血液・安全性研究部), 杉山奈央, 山田典栄, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(8) HBV 検体パネルを用いた HBs 抗原測定系の性能評価

HBV 陽性および陰性検体パネルを用いて, HBs 抗原測定用体外診断薬の性能評価を行った. HBV 陽性検体パネルの測定では, 一部のキットで測定感度以下となる検体があったが, これはキットの検出感度に依るものと考えられた. HBV 陰性検体パネルを用いた評価ではすべての試薬で陰性の結果が得られた. HBs 抗原定量用試薬による HBV 陽性検体パネルの測定では, 相互に測定値の相関の低い組み合わせがあることが明らかとなった. HBV の遺伝子型別の相関の検討により, これらの定量系の測定値は遺伝子型に強く影響を受けていることが明らかとなった.
[百瀬暖佳, 松岡佐保子, 浜口功 (血液・安全性研究部), 杉山奈央, 山田典栄, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(9) Non-Stop RNA decay targets HBV X mRNA for degradation at the RNA exosome complex.

Hepatitis B virus (HBV) is a stealth virus, minimally inducing the Interferon system required for efficient induction of both innate and adaptive immune responses. However, 90% of acutely infected adults can clear the virus, suggesting the presence of other, interferon-independent pathways leading to viral clearance. Given the known ability of helicases to bind viral nucleic acids, we performed a functional screening assay to identify helicases that regulate HBV replication. We identified the superkiller viralicidic activity 2-like (SKIV2L) RNA helicase (a homolog of the S. cerevisiae Ski2 protein) on the basis of its direct and preferential interaction with HBV X-mRNA. This interaction was essential for HBV X-mRNA degradation at the RNA exosome. The degradation of HBV X-mRNA at the RNA exosome was also mediated by HBS1L protein, a known component of the host RNA quality control system. We found that the redundant HBV-precore translation initiation site present at the 3′ end of HBV X-mRNA (3′ precore) is translationally active. The initiation of translation from this site without a proper stop codon was identified by the Non-Stop mediated RNA decay mechanism (NSD) leading to its degradation. Although 3′

precore is present in the 5 main HBV-RNA transcripts; only X-mRNA lacks the presence of an upstream start codons for Large, Middle, and Small (L, M, and S) HBV surface proteins. These upstream codons are in-frame with 3′ precore translation initiation site, blocking its translation from the other HBV-mRNA transcripts. To our knowledge, this is the first demonstration of the anti-viral function of NSD.

[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(10) 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]

(11)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

シクロスポリンは細胞毒性を示すことなく HBV 感染受容体 NTCP とエンベロープタンパク質 LHBs の結合を阻害し、HBV 感染を阻害する。シクロスポリン誘導体を用いた解析により、HBV 感染にはシクロスポリンの免疫抑制作用及びシクロフィリン阻害作用は必要でないことが示唆された。

[志村聡美，渡士幸一，Michael Peel（SCYNEXIS），河合文啓（横浜市立大），朴三用（横浜市立大），脇隆字]

(12)微小管による HBV 複製制御機構の解析

HBV 複製細胞株 Hep38.7-Tet 細胞を用いた解析より、ノコダゾールが HBV 複製を阻害することが示された。また微小管合成を阻害する別の化合物も同等の効果を有していたことより、微小管は効率良い HBV 複製に必要であることが示唆された。

[岩本将士，渡士幸一，脇田隆字]

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

Ro41-5253 を前処理した細胞では NTCP タンパク質発現低下により HBV 感染感受性が低下することを見出した。Ro41-5253 はレチノイン酸受容体の転写活性を低下させることにより NTCP 遺伝子転写を減少させることが示唆された。またレチノイン酸受容体が、ヒト NTCP 遺伝子プロモーターの-112 から-96 領域を介して NTCP 遺伝子の発現を制御していることを明らかとした。

[九十田千子，渡士幸一，岩本将士，脇田隆字]

(14)新規天然物 vanitaracin A の HBV 侵入阻害効果の解析

HepG2-hNTCP-C4 細胞を用いたスクリーニングより、新規真菌二次代謝産物が HBV 感染を強く阻害することを明らかとし、この化合物を vanitaracin A と命名した。vanitaracin A は HBV 受容体 NTCP と直接相互作用し HBV 侵入を阻害することを明らかにした。またこの化合物は NTCP 依存的胆汁酸取り込みも同様に阻害することを示した。

[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），河合文啓（横浜市立大），朴三用（横浜市立大），脇田隆字]

(15)FDA 承認化合物を用いた HBV 感染阻害化合物の同定

HepaRG 細胞を用いて FDA 承認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。この化合物は既存の治療薬としての薬理作用とは異なる作用機序により感染阻害を引き起こすことが示唆された。

[深野顕人，渡士幸一，河合文啓（横浜市立大），朴三用（横浜市立大），脇田隆字]

(16)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]

(17)創薬スクリーニングのための HBV mRNA 測定法の開発

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]

(18)　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]

(19) 参照Ｂ型肝炎ワクチンのロット更新

参照Ｂ型肝炎ワクチン Lot. P3 の在庫が少なくなったため、次期参照ワクチンの更新及び値付けを実施した。次期参照ワクチン候補として化学及血清療法研究所の組換え沈降Ｂ型肝炎ワクチン「ビームゲン Y086」を粗材買い上げした。各メーカー了承の元、当室で力価試験（in vivo）を 3 回繰り返して値を決定した。参照ワクチン候補品の相対力価は 5.8 参照単位/mL とし、次期参照 B 型肝炎ワクチン Lot. P4 として業務委員会、検定協議会に報告、承認された（平成 27 年 7 月 2 日）。

［清原知子、佐藤知子、李天成、塩田智之、吉崎佐矢香、石井孝司、落合雅樹（品質保証・管理部）、脇田隆字］

(20) 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）］

(21)cccDNA 複製に係わる宿主因子の同定と解析

HBV の持続感染には cccDNA の複製機構が重要な役割を果たしている。抗ウイルス療法に対して cccDNA が抵抗性なため、ウイルス排除が困難である。そこで、HBV 複製細胞内で cccDNA 合成あるいは安定化に関与する宿主因子を探索し、RNA スプライシングに関与する因子を同定した。現在その機能解析を進めている。
[木下渉、小倉直樹（日本たばこ産業（株）医薬総合研究所)、アリ・フセイン、脇田隆字]

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培養細胞で作製した JFH-1 ウイルスを感染させると,その感染増殖が著明に抑制されることわかった.作用機序の検討の結果，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た．また,この感染増殖の抑制は JFH-1 株のみでなく遺伝子型 1 株を含む他の株においても認める事が明らかとなった.
［松村卓哉(昭和大),井廻道夫(新百合ヶ丘総合病院),椎名正明(新百合ヶ丘総合病院),杉山奈央,村山麻子,藤田めぐみ，脇田隆字，加藤孝宣]

(2) ビタミン D アナログの抗 HCV 活性の解析

ビタミン D 前駆体の一つである 25 ヒドロキシビタミン D3 には抗 HCV 作用があることが知られている.その作用機序を解明するために,25 ヒドロキシビタミン D3 の様々なアナログの抗 HCV 作用を比較検討した.その結果,アナログの中には強い抗 HCV 活性を持つもの,抗 HCV 活性の低いもの,抗 HCV 活性のないものが含まれていた．さらに,その抗 HCV 活性の作用機序を解析すると,感染を阻害するものと,粒子形成を阻害するものとが見られた.
[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(3) ベロ細胞における HCV 感染の検討

ベロ細胞では HCV の感染はみられないが,HCV の 4 種類のヒト HCV 受容体(CD81，Occludin，Claudin-1，SR-BI)をレンチウイルスベクターで発現させると HCV 感染が観察できるようになった．さらに,4 種類のヒト HCV 受容体のうち,ヒト SR-BI を発現させると HCV 感染が可能となったが,CD81，Occludin，Claudin-1 の発現では HCV 感染はみられなかった．以上の結果から,ベロ細胞にヒト SR-BI を発現させると HCV 感染が可能となることが判明した.
[村山麻子，杉山奈央，脇田隆字，加藤孝宣]

(4) ベロ細胞の HCV 受容体分子の機能解析

ベロ細胞では HCV の感染はみられないことから,ベロ細胞で発現している HCV 受容体分子の発現量と配列を調べたところ,ベロ細胞では Huh-7.5.1 と比較して Clausin-1 と SR-BI の発現量が低かった.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（CD81；4 か所，Occludin；15 か所，Claudin-1；2 か所，SR-BI；12 か所).そこで,ベロ細胞で発現している HCV 受容体分子が HCV 受容体として機能できるかを,それぞれの受容体欠損細胞を用いて調べた．その結果,4 種類の HCV 受容体分子は,いずれも高発現させればヒト HCV 受容体と同様に機能することが判明した.
[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 HCV ライフサイクルの検討

複製に重要な宿主因子である miR-122,感染に重要な因子である SR-BI,感染性ウイルス粒子産生に重要な因子である ApoE をレンチウイルスベクターによりベロ細胞に発現させた．この細胞では,感染,ゲノム複製,ウイルス産生が見られ,ベロ細胞で HCV ライフサイクル全体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]

(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認めた. 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株の再感染ではなく,HCVの再燃が疑われた.

[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 陽性となった症例の保存血清を用いて,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 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法では陽性と判定され,HCVの残存が確認された. 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 変異を含む株では培養上清中,培養細胞内の感染力価が高く,感染性粒子の生成効率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 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．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]

(13) 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，加藤孝宣，脇田隆字]

(14) フルタミドを用いた感染性 HCV 粒子産生機構の解析

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。またこの化合物は肝細胞内の脂肪滴量を減少させること、その作用には芳香族炭化水素受容体阻害効果が重要であることが示唆された。一方芳香族炭化水素受容体アゴニスト処理により感染性 HCV 粒子産生が上昇することが認められた。

[大橋啓史，渡士幸一，脇田隆字]

(15) ネオエキヌリン B の HCV 複製抑制作用及び生理活性の解析

真菌抽出物よりネオエキヌリン B が HCV 複製を低下させることを見出した。またトランスクリプトーム解析よりこれは肝臓 X 受容体の転写活性を阻害し、その下流遺伝子誘導をブロックすることが明らかとなった。本研究より肝臓 X 受容体転写活性と HCV 複製レベルに相関があることが明らかとなった。

[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），鈴木治和（理化学研究所），脇田隆字]

(16) 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]

(17) 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]

(18) 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)]

(19) HCV 感染に伴う細胞内代謝の変化

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]

(20) 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]

(21) 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］

(22) 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。SVR症例の肝組織の電顕観察を進め､SVR後Ｆ値が改善しない症例で優位に発がんを認めた。また､SVR後も長期にわたりオルガネラ異常が観察され､｢post-SVR syndrome｣というような病態を見出した。SVR後も継続する指標としてミトコンドリア障害､核膜異常､軽減する指標としてDMVを見出した。

[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］

(23) 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。

[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］

(24) 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形成に関わっている可能性が示された。

[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］

(25) 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］

(26) 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］

(27) 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］

(28) 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。HCVRNA が複製活性を維持したまま、細胞間をエクソゾームを介して移動することを見いだした。

[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］

(29) 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］

(30) 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。１７の県・市（A 県、東京都 A 市、神奈川県 A 市、愛知県 A 市、静岡県・香川県・福井県の市）をモデル地区として、1555 人の陽性者をフォローアップした。結核予防会、JCHO 等の大規模検診機関へ支援している。

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

(31) 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］

(32) 本邦における急性 C 型肝炎のサーベイランス

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、遺伝子を調べたところ、同じウイルスが蔓延している可能性が示唆された。

[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］

(33) 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]

(34)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、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血漿より精製したIgG抗体は、免疫抗原である遺伝子型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。またK3-SPG免疫群マーモセットより得た脾臓細胞は、遺伝子型2aのコアタンパク質による刺激によりIFNgammaの発現を促進することが示され、HCV粒子ワクチンにより細胞性免疫が誘導される可能性が示唆された。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），鈴木亮介、石井孝司，加藤孝宣，脇田隆字］

(35) 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種の抗体に関して、HCVccに対する感染阻害活性を検討した結果、これら3種のIgG抗体および単鎖抗体(scFv)は遺伝子型1a, 1b, 2a, 3aのJFH-1キメラHCVccに対して既知E2抗体より強い感染阻害活性を示した。またエスケープ変異株が発生しづらい抗体であり、エスケープ変異株の発生に耐性を持つ事が報告されている既知E2抗体と比べて同等かそれ以上の変異株発生耐性を示した。

［横川寛，岩村智勝（東レ医薬研），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］

(36)遺伝子型 2b ウイルスのコアと脂肪滴の局在の検討

遺伝子型2b 感染細胞内の HCV コアと脂肪滴の局在を免疫染色し、免疫蛍光法で検出し、蛍光顕微鏡で観察した。その結果、JFH1のコア蛋白質の大部分が脂肪滴周囲に局在しており、一方 J6/JFH1 と 2b では JFH1 とは異なる局在が見られた。

[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

(37) 遺伝子型3aの患者血清から分離したHCV株の解析

フランスの遺伝子型 3a の C 型肝炎患者 16 人の血清から HCV RNA を抽出し、cDNA を合成し、HCV コア領域を含むように PCR を行い、シーケンスした。その HCV 株の遺伝子型 3a(S52)のコンセンサス配列と比較した。その塩基配列を解析した結果、脂肪肝とコアのアミノ酸の配列の関係が確認出来なかった。

[Su Su Hmwe, Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(38) 複製効率の良い遺伝子型 1b(NC1 株)のサブジェノミックレプリコン構築の検討

細胞培養で複製効率の良い遺伝子型 1b のウイルス株

は未だに存在しない。Wild type 遺伝子型 1b の RNA をエレクトロポレーション法により肝癌由来の Huh7.5.1 細胞に導入しコロニー形成アッセイを行った。得られた 12 クローンの塩基配列をシーケンスした結果、NS4B と NS5A 領域に変異を同定した。得られた NS4B と NS5A の変異を wild type のネオマイシン耐性遺伝子を持つサブジエノミックレプリコンに導入し、8 つのコンストラクトを作製した,複製が上昇するかを検討してる。

[Su Su Hmwe, Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(39)HCV E1(282-311)領域に対する抗体の樹立

アミノ酸配列から抗原性の高いと予想される12アミノ酸（293-304）と30アミノ酸（282-311）のペプチドをウサギに免疫してポリクローナル抗体を作製した。作製した抗体の反応性について組換えタンパク質を用いて解析したところ、12アミノ酸の抗体は主にE1(282-311)の真ん中、30アミノ酸の抗体はC端側の配列を認識した。ウサギ血清から精製したIgGを用いてウイルス感染の阻害実験を行ったところ、12アミノ酸の抗体については感染阻害効果が観察された。12アミノ酸の領域は抗体による感染阻害のターゲットとなり得ると考えられる。

[渡邉則幸、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字]

(40)Gaussia Luciferase（GLuc）を組み込んだ HCV 感染系の樹立

HCV 培養系で最も増えるキメラ HCV である Jc1（J6 株の構造領域＋JFH-1 株の非構造領域）に分泌型ルシフェラーゼの GLuc を組み込んだ Jc1-GLuc を作製して、その性状を解析した。Jc1-GLuc については、Jc1 の非構造領域の p7 と NS2 の切断部位に GLuc と自己切断配列を付加した遺伝子配列を組み込んで作製した。鋳型となる Jc1-GLuc プラスミドから RNA を合成し、細胞にトランスフェクションしてウイルスの増殖について解析した。培養上清中の HCV コア量、ルシフェラーゼ活性を継時的に測定して、ウイルスの増加を確認した。更に、力価は低いがウイルスの感染性についても確認できた。

[渡邉則幸、脇田隆字]

(41)適応変異を獲得した Jc1-GLuc の樹立

Jc1-GLuc ウイルスが自己の増殖を上昇させるような適応変異を獲得するかを調べるために長期培養を行った。細胞に合成 RNA をトランスフェクション後、継代培養して継時的に培養上清中のコアタンパク質量を測定した。トランスフェクション後 5 日から 15 日にかけて培養上清中のコアタンパク質が 100 倍以上に上昇した。更に、ルシフェラーゼ活性、ウイルスの感染力価についてもコアと同様に上昇した。遺伝子の全長配列を調べたが Jc1 配列にアミノ酸変異はなく、GLuc 配列中に 9 アミノ酸の欠損が観察された。9 アミノ酸を欠失する Jc1-GLuc を作製してこの欠失がコア量の上昇に関係するのかを調べる予定である。

[渡邉則幸、脇田隆字]

(42)遺伝子型 4a の C 型肝炎ウイルス感染系の構築

主にエジプトに感染者が存在する遺伝子型 4aHCV のウイルス感染系の構築を試みた。ED41 レプリコンの適合変異を有する全長配列を有するプラスミドを構築して全長 RNA を合成し、Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションした。一部の構築では培養上清中に感染性ウイルスの産生を認めた。さらに naïve 細胞への感染を繰り返して、感染性の増強を観察した。現在ウイルスゲノム上の適合変異について解析している

[相原那々子、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)昨年度提示した HEV 受容体候補のウイルスへの結合および阻害解析

Fc 融合受容体候補タンパク質を作製し、免疫沈降法によって受容体候補とウイルス間の直接結合が確認された。また、抗受容体候補タンパク質ポリクローナル抗体によって両者の結合が阻害されたことから、今後、当該抗体を用いた感染阻害能を評価したい。

[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）]

(2) 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(4-21KO)の作製をタカラバイオに委託し、納品された。まず、複数得られた 4-21KO 株の表現型解析を行い、完全に受容体候補タンパク質の発現が KO された株に対して、感染感受性を評価した所、4-21 親株に比べて大きく感染感受性が低下していることが確認された。

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

(3) 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

昨年度、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、抗原の分泌を確認した。また、(2)で得た 4-21KO 株に対して同様の操作によって HEV 受容体候補タンパク質をノックインした株を作出した。今後、本株の感受性を評価したい。

[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）]

(4) 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の一部に共通の作用機序が存在することを見出した。また、植物エキスライブラリーの一部にも強い増殖抑制活性を持つものが存在するため、これらのエキスの分画を行い活性成分の単離を行っている。[吉崎佐矢香, 脇田隆字, 石井孝司]

(5) HEV プロテアーゼのコムギ胚芽無細胞系での発現と活性検出

HEV のプロテアーゼと推定される領域は、活性中心に変異を導入するとレプリコンの複製が見られなくなることからウイルス増殖に必須と考えられるが、プロセシング機構等については不明のままであり、また毒性が強く大腸菌や哺乳類細胞での発現が極めて困難である。そのため、非構造蛋白をコードする ORF1 全長とプロテアーゼと推定される領域の２種について、コムギ胚芽無細胞系での発現を行い活性を検討した。その結果、ORF1 全長蛋白から弱いプロテアーゼ活性を確認することができた。今後、プロテアーゼ活性発現領域の同定と、ウイルス複製に果たす役割について検討する。[高橋宏隆、澤崎達也（愛媛大学プロテオサイエンス研究センター）、吉崎佐矢香, 脇田隆字, 石井孝司]

(6) リバースジェネティク法を用いて DcHEV 感染クローンの作製

本研究では、体外で合成したラクダ由来の DcHEV の全長 RNA ををヒト肝癌細胞 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た。ウイルス抗原と RNA を ELISA および RT-PCR により測定し、ウイルス増殖を確認した。さらに培養上清から取れた DcHEV カニクイザルに接種し、その感染性を評価した。その結果、DcHEV がカニクイザルにも感染することが明らかになった。

[李　天成、周顕鳳、吉崎　佐矢香、*網　康至、*須崎百合子、脇田隆字 (*動物管理室)]

(7) DcHEV に対するラット,フェレットおよびウサギの感受性

DcHEV ラクダとサル以外の動物に感染するかどうかまだ明らかにされていない。本実験では DcHEV に対するラット,フェレットおよびウサギの感受性を感染実験で確認した。DcHEV を Nude rat, フェレットおよびウサギに接種し、経時的に採血と採便を行った。血中と便中の DcHEV 抗原、DcHEV RNA、さらに血中の anti-DcHEV-IgG、ALT/AST を測定しウイルスの感染の有無を評価した。その結果は DcHEV がラット,フェレットおよびウサギに感染しなかった。

［李天成、吉崎佐矢香、*網康至、*須崎百合子、脇田隆字 (*動物管理室)］

(8) 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 というユニークなモチーフを持っている。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。現在組換えバキュロウイルスやバクテリア発現システムを用いて ORF4 を発現している。

［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)］

(9) 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を用いて薬剤の抗ウイルス効果を観察するには非常に便利だと思う。本実験ではリバビリンを rat HEV に感染されたヌードラットに経口投与し、抗ウイルス効果を観察してみた。観察の結果により、リバビリンを経口投与による抗ウイルス作用が確認された。抗ウイルス作用が投与量に相関している。また、リバビリンによる副作用が確認された。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)］

(10) Rat HEV はラット尿に分泌されない

最近、HEV は患者、サルの尿から検出された報告があったが、HEV は宿主の尿に分泌されるのは HEV 感染の共通現象かどうかを検証するため、我々は ratHEV に感染されたヌードラット及び Wistar rat の尿検体を用いて rat HEV 検査した結果、ウイルスが尿に出ないことが判明した。

[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）

(11) 全国の飼育豚における HEV および抗 HEV 抗体保有状況の調査

全国 13 県の地方衛生研究所より食肉検査所と共同で、飼育豚の出荷時（6 ヶ月齢）血清を採取し、HEV および抗 HEV 抗体保有状況の調査を行った。地域に偏りなく状況は同様で、抗体保有率はほぼ 100%であったが、ウイルス核酸の検出率はほぼ 0%であり、日本全国で飼育豚は出荷までに HEV に感染するが、ウイルスは出荷時には血中からは排除されていることが確認された。

[石井孝司、吉崎佐矢香、李　天成、脇田隆字、高橋知子（岩手県食肉衛生検査所）、斎藤博之、秋野和華子（秋田県健康環境センター）、植木　洋（宮城県保健環境センター）、小黒雅史（新潟市食肉衛生検査所）、本谷　匠（茨城県衛生研究所）、佐原啓二（静岡県環境衛生科学研究所）、楠原　一（三重県保険環境研究所）、金澤謙介（岡山市食肉衛生検査所）、永田麻理子（鳥取県食肉衛生検査所）、飛梅三喜（徳島県食肉衛生検査所）、吉川　亮（長崎県環境保健研究センター）、岩切　章（宮崎県小林食肉衛生検査所）、加藤峰史（沖縄県衛生環境

研究所）]

(12)HEV の加熱抵抗性

HEV を種々の温度と時間で加熱後 PLC/PRF/5 細胞に感染させ、約 4 週間培養上清中のウイルス RNA 量を観察し、4 週間後もウイルスの増殖は観察されない場合に不活化されていると判断した。その結果、遺伝子型 G3 は 58℃ 1 時間、60℃ 30 分、65℃ 5 分、75℃ 1 分以上の条件で不活化された。遺伝子型 G4 についても一部の条件で試行したところ、75℃ 1 分、65℃ 5 分以上の条件で不活化した。現在、肉中に存在する HEV の不活化条件について検討している。

［今川稔文、李　天成、吉崎佐矢香、石井孝司、脇田隆字］

(13)HEV 感染モデル動物の確立

培養細胞由来の HEV(83-2 株)を子豚に対して経口的に投与した際においても感染が成立することを確認した。またその際、感染が成立するための最小感染量は 10^6 GE/ml であった。ウイルス投与量に依存するが、投与された個体において HEV は血中、糞便ともに投与後 11 日目より検出されることが明らかとなった。また、抗体価については投与後 17 日目より有意に検出されることが明らかとなった。

［鈴木　亨、宮崎綾子、大橋誠一（動物衛生研究所）今川稔文、李　天成、吉崎佐矢香、石井孝司、脇田隆字］

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）の作製をした、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。現在この検出系を用いて健常人における抗体保有率を検査している。

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

(2) Porcine bocavirus(PBoV)のウイルス様粒子の作製

PBoV はブタから分離された新しいウイルスであり、ブタの呼吸器及び消化器疾患と関連していると思われている。現在、PBoV の抗体検出方法がまだ樹立されていない。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 PBoV の VP2 を発現し、ウイルス様粒子（VLP）の作製をした、VLPs を用いてに対する抗体検出 ELISA 法を確立した。さらにこの抗体検出系を用いて日本におけるブタ及びイノシシの抗体保有状況を調査した。

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

(3) 一回感染性ウイルスを用いたジカウイルス中和抗体アッセイ系の開発

感染性ジカウイルス(ZIKV)の代替として、ジカウイルスのエンベロープタンパク質をもつ一回感染性ウイルス(ZIK-SRIP)を作製した。段階希釈した中和活性を持つモノクローナル抗体および ZIKV 感染既往者血清は ZIKV と ZIK-SRIP について同等の中和活性を示した。この結果から ZIK-SRIP は生のウイルスの代替として中和アッセイに用いる事が出来ると考えられた。

[松田麻未, 山中敦史(タイ,マヒドン大),小西英二(タイ,マヒドン大), 高崎智彦(ウイルス第一部), 鈴木亮介]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1） Aoudjehane L, Bisch G, Scatton O, Granier C, Gaston J, Housset C, Roingeard P, Cosset FL, Perdigao F, Balladur P, Wakita T, Calmus Y, Conti F. Infection of

Human Liver Myofibroblasts by Hepatitis C Virus: A Direct Mechanism of Liver Fibrosis in Hepatitis C. PLoS One. 2015 Jul 27;10(7):e0134141.

2) Arita M. Mechanism of poliovirus resistance to host phosphatidylinositol-4 kinase III beta inhibitor. ACS Infectious Diseases, 2: 140-148, 2016

3) Chapellier B, Tange S, Tasaki H, Yoshida K, Zhou Y, Sakon N, Katayama K, Nakanishi A. Examination of a plasmid-based reverse genetics system for human astrovirus. Microbiol Immunol. 2015 Oct;59(10):586-96.

4) Chu PS, Ebinuma H, Nakamoto N, Sugiyama K, Usui S, Wakayama Y, Taniki N, Yamaguchi A, Shiba S, Yamagishi Y, Wakita T, Hibi T, Saito H, Kanai T. Genotype-Associated Differential NKG2D Expression on CD56+CD3+ Lymphocytes Predicts Response to Pegylated-Interferon/Ribavirin Therapy in Chronic Hepatitis C. PLoS One. 2015 May 12;10(5):e0125664.

5) 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. 2015;69(2):71-8. PubMed PMID: 25899628.

6) Ide T, Komoto S, Higo-Moriguchi K, Htun KW, Myint YY, Myat TW, Thant KZ, Thu HM, Win MM, Oo HN, Htut T, Wakuda M, Dennis FE, Haga K, Fujii Y, Katayama K, Rahman S, Nguyen SV, Umeda K, Oguma K, Tsuji T, Taniguchi K. Whole Genomic Analysis of Human G12P[6] and G12P[8] Rotavirus Strains that Have Emerged in Myanmar. PLoS One. 2015 May 4;10(5):e0124965.

7) Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Yoshizane Y, Fujikawa K, Watashi K, Abe H, Wakita T, Hayes CN, Chayama K, Tateno C. Novel robust in vitro hepatitis B virus infection model using fresh human hepatocytes isolated from humanized mice. Am J Pathol: 185. 2015. 1275-1285

8) Ishida Y, Yamasaki C, Yanagi A, Yoshizane Y, Fujikawa K, Watashi K, Abe H, Wakita T, Hayes CN, Chayama K, Tateno C. Novel robust in vitro hepatitis B virus infection model using fresh human hepatocytes isolated from humanized mice. Am J Pathol. 2015 May;185(5):1275-85.

9) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015 Nov 9;33(45):6029-36.

10) 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. 2015;36(3):159-67. doi: 10.2220/biomedres.36.159. PubMed PMID: 26106045.

11) Ito M, Tsuchiaka S, Naoi Y, Otomaru K, Sato M, Masuda T, Haga K, Oka T, Yamasato H, Omatsu T, Sugimura S, Aoki H, Furuya T, Katayama Y, Oba M, Shirai J, Katayama K, Mizutani T, Nagai M. Infect Genet Evol. 2016 Mar;38:90-5.

12) Jiang X, Kanda T, Wu S, Nakamoto S, Nakamura M, Sasaki R, Haga Y, Wakita T, Shirasawa H, Yokosuka O. Hepatitis C Virus Nonstructural Protein 5A Inhibits MG132-Induced Apoptosis of Hepatocytes in Line with NF-κB-Nuclear Translocation. PLoS One. 2015 Jul 2;10(7):e0131973.

13) Kanayama A, Arima Y, Yamagishi T, Kinoshita H, Sunagawa T, Yahata Y, Matsui T, Ishii K, Wakita T, Oishi K. Epidemiology of domestically acquired hepatitis E virus infection in Japan: assessment of the nationally reported surveillance data, 2007-2013. J Med Microbiol. 2015 Jul;64(7):752-8.

14) Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Matsunaga H, Iwamoto M, Kawai F, Ohashi H, Tsukuda S, Shimura S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park SY, Ito T, Ohtani N, Sugawara F, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. A Novel Tricyclic Polyketide, Vanitaracin A, Specifically Inhibits the Entry of Hepatitis B and D Viruses by Targeting Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide. J Virol. 2015 Dec 1;89(23):11945-53.

15) Kataoka C, Suzuki T, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ami Y, Wakita T, Nishimura Y, Shimizu H. The Role of VP1 Amino Acid Residue 145 of Enterovirus 71 in Viral Fitness and Pathogenesis in a Cynomolgus Monkey Model. PLoS Pathog 11: e1005033, 2015

16) Kiyohara T., Ishii K., Sugiyama M., Mizokami M. and Wakita T. Seroepidemiological study of hepatitis B virus markers in Japan. Vaccine. 2015 Nov 9;33(45):6037-42.

17) Kobayashi M, Yoshizumi S, Kogawa S, Takahashi T, Ueki Y, Shinohara M, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Sasaki Y, Suzuki R, Shimizu H, Iwakiri A, Okabe N, Shirabe K, Shinomiya H, Kozawa K, Kusunoki H, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the Capsid Gene in Norovirus Genogroup I. Sci Rep. 2015 Sep 4;5:13806.

18) Komada K, Sugiyama M, Vongphrachanh P, Xeuatvongsa A, Khamphaphongphane B, Kitamura T, Kiyohara T, Wakita T, Oshitani H, Hachiya M. Seroprevalence of chronic hepatitis B, as determined from dried blood spots, among children and their mothers in central Lao People's Democratic Republic: a multistage, stratified cluster sampling survey. Int J Infect Dis. 2015 Jul;36:21-6.

19) Komoto S, Tacharoenmuang R, Guntapong R, Ide T, Haga K, Katayama K, Kato T, Ouchi Y, Kurahashi H, Tsuji T, Sangkitporn S, Taniguchi K. Emergence and Characterization of Unusual DS-1-Like G1P[8] Rotavirus Strains in Children with Diarrhea in Thailand. PLoS One. 2015 Nov 5;10(11):e0141739.

20) Kong L, Fujimoto A, Nakamura M, Aoyagi H, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Arita M, Yamagoe S, Dohmae N, Suzuki T, Sakamaki Y, Ichinose S, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H. Prolactin regulatory element binding protein is involved in hepatitis C virus replication compartment by interacting with NS4B. J Virol. 2016 Jan 6;90(6):3093-111.

21) Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Sato Y, Nakajima N, Koike S, Iwasaki T, Sata T, Yamashita T, Minagawa H, Taguchi F, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Establishment of a panel of in-house polyclonal antibodies for the diagnosis of enterovirus infections. Neuropathology 35: 107-121, 2015

22) Kotani O, Naeem A, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Nakajima N, Hosomi T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Neuropathogenicity of Two Saffold Virus Type 3 Isolates in Mouse Models. PLoS One 11: e0148184, 2016.

23) Kouwaki T, Okamoto T, Ito A, Sugiyama Y, Yamashita K, Suzuki T, Kusakabe S, Hirano J, Fukuhara T, Yamashita A, Saito K, Okuzaki D, Watashi K, Sugiyama M, Yoshio S, Standley D, Kanto T, Mizokami M, Moriishi K, Matsuura Y. Hepatocyte factor JMJD5 regulates HBV replication through interaction with HBx. J Virol: 90. 3530-3542 (2016)

24) Lee EM, Alsagheir A, Wu X, Hammack C, McLauchlan J, Watanabe N, Wakita T, Kneteman NM, Douglas DN, Tang H. Hepatitis C Virus-Induced Degradation of Cell. Death-Inducing DFFA-Like Effector B Leads to Hepatic Lipid Dysregulation. J Virol. 2016 Mar 28;90(8):4174-85.

25) Li T.C., Kataoka M., Takahashi K., Yoshizaki S., Kato T., Ishii K., Takeda N., Mishiro S. and Wakita T. Generation of hepatitis E virus-like particles of two

new genotypes G5 and G6 and comparison of antigenic properties with those of known genotypes. Veterinary Microbiology 178: 150-157 (2015)

26) Li T.C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzaki Y., Ishii K., Kishida N., Shirakura M., Asanuma H., Takeda N. and Wakita T. Ferret Hepatitis E Virus Infection Induces Acute Hepatitis and Persistent Infection in Ferrets. Veterinary Microbiology, 2016 Feb 1;183:30-6.

27) Li T.C., Yoshizaki S., Ami Y., Suzaki Y., Yang T., Takeda N., and Wakita T. Monkeys and rats are not susceptible to ferret hepatitis E virus infection. Intervilorogy. 58: 139-142 (2015)

28) Li T.C., Yoshizaki S., Yang T,, Kataoka M., Nakamura T, Ami Y., Suzaki Y., Takeda N., and Wakita T. Production of infectious ferret hepatitis E virus in a human hepatocarcinoma cell line PLC/PRF/5. Virus Research. 213:283-8 (2016)

29) Li Y, Yamane D, Masaki T, Lemon SM. The yin and yang of hepatitis C: synthesis and decay of hepatitis C virus RNA. Nat Rev Microbiol 13(9): 544-558, 2015.

30) Liu X, Oka T, Wang Q. Genomic characterization of a US porcine kobuvirus strain. Arch Microbiol. 197: 1033-40, 2015

31) Liu Z., Guo F., Wang F., Li T.C. and Jiang W. 2.9 A Resolution Cryo-EM 3D Reconstruction of Close-Packed Virus Particles. Structure. 24:319-28 (2016)

32) Lu L, An Y, Zou J, Gu L, Zhao Z, Zhang X, Li C, Kurihara C, Hokari R, Itakura J, Kurosaki M, Izumi N, Fu Y, Nakano T, Kato T, Negro F, Chen G. The evolutionary patterns of hepatitis C virus subtype 2a and 6a isolates linked to an outbreak in China in 2012. Virology, 485, 431-8, 2015.

33) Lu Z, Yokoyama M, Chen N, Oka T, Jung K, Chang KO, Annamalai T, Wang Q, Saif LJ. Mechanism of cell culture adaptation of an enteric calicivirus, porcine sapovirus Cowden strain. J Virol. 90 : 1345-58, 2016

34) Masaki T, Suzuki T. NS5A phosphorylation: its functional role in the life cycle of hepatitis C virus. Future Virol 10(6): 751–762, 2015.

35) Matsunaga H, Kamisuki S, Kaneko M, Yamaguchi Y, Takeuchi T, Watashi K, Sugawara F. Isolation and structure of vanitaracin A, a novel anti-hepatitis B virus compound from Talaromyces sp. Bioorg Med Chem Lett: 25. 2015. 4325-4328

36) Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, Komane A, Kasuo S, Shinohara M, Nagasawa K, Kimura H, Ryo A, Okabe N, Haga K, Doan HY, Katayama K, Shimizu H. Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. Eurosurveillance July 2, 1-6, 2015.

37) McGivern DR, Masaki T, Lovell W, Hamlett C, Saalau-Bethell S, Graham B. Protease inhibitors block multiple functions of the NS3/4A protease-helicase during the hepatitis C virus life cycle. J Virol 89(10): 5362-5370, 2015.

38) Miyakawa K, Matsunaga S, Watashi K, Sugiyama M, Kimura H, Yamamoto N, Mizokami M, Wakita T, Ryo A. Molecular dissection of HBV evasion from restriction factor tetherin: A new perspective for antiviral cell therapy. Oncotarget: 6. 2015. 21840-21852

39) Motoya T., Nagata N., Komori H., Doi I., Kurosawa M., Keta T., Sasaki N and Ishii K. The high prevalence of hepatitis E virus infection in wild boars in Ibaraki Prefecture, Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 77: 1705-1709 (2016)

40) Nagai M, Omatsu T, Aoki H, Kaku Y, Belsham GJ, Haga K, Naoi Y, Sano K, Umetsu M, Shiokawa M, Tsuchiaka S, Furuya T, Okazaki S, Katayama Y, Oba

M, Shirai J, Katayama K, Mizutani T. Identification and complete genome analysis of a novel bovine picornavirus in Japan. Virus Res. 2015 Aug 7;210:205-212.

41) Nagai M, Shimada S, Fujii Y, Moriyama H, Oba M, Katayama Y, Tsuchiaka S, Okazaki S, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Katayama K, Mizutani T. H2 genotypes of G4P[6], G5P[7], and G9[23] porcine rotaviruses show super-short RNA electropherotypes. Vet Microbiol. 2015 Apr 17;176(3-4):250-6.

42) Nemoto M, Nagai M, Tsunemitsu H, Omatsu T, Furuya T, Shirai J, Kondo T, Fujii Y, Todaka R, Katayama K, Mizutani T. Whole-genome sequence analysis of G3 and G14 equine group A rotaviruses isolated in the late 1990s and 2009-2010. Arch Virol. 2015 May;160(5):1171-9.

43) Nishikori S, Takemoto K, Kamisuki S, Nakajima S, Kuramochi K, Tsukuda S, Iwamoto M, Katayama Y, Suzuki T, Kobayashi S, Watashi K, Sugawara F. Anti-hepatitis C virus natural product from a fungus, Penicillium herquei. J Nat Prod: 79. 442-446 (2016)

44) Nishimura Y, McLaughlin NP, Pan J, Goldstein S, Hafenstein S, Shimizu H, Winkler JD, Bergelson JM. The Suramin Derivative NF449 Interacts with the 5-fold Vertex of the Enterovirus A71 Capsid to Prevent Virus Attachment to PSGL-1 and Heparan Sulfate. PLoS Pathog 11: e1005184, 2015

45) Okitsu S, Khamrin P, Hanaoka N, Thongprachum A, Takanashi S, Fujimoto T, Mizuguchi M, Shimizu H, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Cosavirus (family Picornaviridae) in pigs in Thailand and Japan. Arch Virol 161: 159-163, 2016

46) Okuyama-Dobashi K, Kasai H, Tanaka T, Yamashita A, Yasumoto J, Chen W, Okamoto T, Maekawa S, Watashi K, Wakita T, Ryo A, Suzuki T, Matsuura Y, Enomoto N, Moriishi K. Hepatitis B virus efficiently infects non-adherent hepatoma cells via human sodium taurocholate cotransporting polypeptide. Sci Rep: 5. 2015. 17047

47) Otomaru K, Naoi Y, Haga K, Omatsu T, Uto T, Koizumi M, Masuda T, Yamasato H, Takai H, Aoki H, Tsuchiaka S, Sano K, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Furuya T, Shirai J, Katayama K, Mizutani T, Nagai M. Detection of novel kobu-like viruses in Japanese black cattle in Japan. J Vet Med Sci. 2016 Feb;78(2):321-4.

48) Ricco G., Bonino F., Lanza M., Scatena F., Alfieri C.M., Messa P., Marchisio E., Mascolo G., Romanò L., Galli C., Li T.C., Wakita T., Miyamura T., Brunetto M.R. New immunoassays for total, IgA and IgM antibodies against hepatitis E virus: Prevalence in Italian blood donors and patients with chronic liver or kidney diseases. Dig Liver Dis. 2016 May;48(5):536-41. Epub 2016 Feb 10.

49) Sankhyan A, Sharma C, Dutta D, Sharma T, Chosdol K, Wakita T, Watashi K, Awasthi A, Acharya S, Khanna N, Tiwari A, Sinha S. Inhibition of preS1-hepatocyte interaction by an array of recombinant human antibodies from naturally recovered individuals. Sci Rep: 6. 21240 (2016)

50) Shi G, Ando T, Suzuki R, Matsuda M, Nakashima K, Ito M, Omatsu T, Oba M, Ochiai H, Kato T, Mizutani T, Sawasaki T, Wakita T, Suzuki T. Involvement of the 3' Untranslated Region in Encapsidation of the Hepatitis C Virus. PLoS Pathog. e1005441 (2016).

51) Shima R., Li T.C., Sendai Y., Kataoka C., Mori Y., Abe T., Takeda N., Okamoto T. and Matsuura Y. Production of hepatitis E virus-like particles presenting multiple foreign epitops by co-infection of recombinant baculovirus. Sci Rep. 6:21638 (2016)

52) Shirasago Y, Shimizu Y, Tanida I, Suzuki T, Suzuki R, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M, Fukasawa M. Occludin-Knockout Human Hepatic Huh7.5.1-8-Derived Cells Are Completely Resistant to Hepatitis C Virus Infection. Biol Pharm Bull.

5:839-848. (2016).

53) Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Shi G, 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-κB Activation. J Gen Virol. 2016 Apr;97(4):887-92.

54) Tacharoenmuang R, Komoto S, Guntapong R, Ide T, Haga K, Katayama K, Kato T, Ouchi Y, Kurahashi H, Tsuji T, Sangkitporn S, Taniguchi K. Whole Genomic Analysis of an Unusual Human G6P[14] Rotavirus Strain Isolated from a Child with Diarrhea in Thailand: Evidence for Bovine-To-Human Interspecies Transmission and Reassortment Events. PLoS One. 2015 Sep 30;10(9):e0139381.

55) Tasaka-Fujita M, Sugiyama N, Kang W, Masaski T, Murayama A, Yamada N, Sugiyama R, Tsukuda S, Watashi K, Asahina Y, Sakamoto N, Wakita T, Shin EC, Kato T. Amino Acid Polymorphisms in Hepatitis C Virus Core Affect Infectious Virus Production and Major Histocompatibility Complex Class I Molecule Expression. Sci Rep: 2015. 13994 (2015)

56) Tran DN, Trinh QD, Pham NT, Pham TM, Ha MT, Nguyen TQ, Okitsu S, Shimizu H, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Human rhinovirus infections in hospitalized children: clinical, epidemiological and virological features. Epidemiology and infection 144: 346-354, 2016

57) Watashi K, Wakita T. Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus Entry, Species Specificity, and Tissue Tropism. Cold Spring Harb Perspect Med: 5. 2015. a021378

58) Wu FT, Chen HC, Yen C, Wu CY, Katayama K, Park Y, Hall AJ, Vinjé J, Huang JC, Wu HS. Epidemiology and molecular characteristics of norovirus GII.4 Sydney outbreaks in Taiwan, January 2012-December 2013. J Med Virol. 2015 Sep;87(9):1462-70.

59) Yamashita A, Fujimoto Y, Tamaki M, Setiawan A, Tanaka T, Okuyama-Dobashi K, Kasai H, Watashi K, Wakita T, Toyama M, Baba M, de Voogd NJ, Maekawa S, Enomoto N, Tanaka J, Moriishi K. Identification of Antiviral Agents Targeting Hepatitis B Virus Promoter from Extracts of Indonesian Marine Organisms by a Novel Cell-Based Screening Assay. Mar Drugs. 2015 Nov 6;13(11):6759-73. doi: 10.3390/md13116759.PubMed PMID: 26561821.

60) Yumiketa Y, Narita T, Inoue Y, Sato G, Kamitani W, Oka T, Katayama K, Sakaguchi T and Tohya Y. Nonstructural protein p39 of feline calicivirus suppresses host innate immune response by preventing IRF-3 activation. Veterinary Microbiology. 2016 Mar 15;185:62-7.

61) Zhang W., Sano N., Kataoka M., Ami Y., Suzaki Y., Wakita T., Ikeda H. and Li T.C. Virus-Like Particles of Porcine Bocavirus Generated by Recombinant Baculoviruses Can be Applied to Sero-epidemic Studies. Virus Res. 217:85-91 (2016)

62) Zhang Y, Yan D, Zhu S, Nishimura Y, Ye X, Wang D, Jorba J, Zhu H, An H, Shimizu H, Kew O, Xu W. An Insight into Recombination with Enterovirus Species C and Nucleotide G-480 Reversion from the Viewpoint of Neurovirulence of Vaccine-Derived Polioviruses. Scientific Reports 5: 17291, 2015

63) Zhou X., Kataoka M., Liu Z., Takeda N., Wakita T., Li T.C. Characterization of self assembled virus-like particles of dromedary camel hepatitis e virus generated by recombinant baculoviruses. Virus Research, 6; 210: 8-17 (2015)

64) Zhou X, Xu L, Wang W, Watashi K, Wang Y, Sprengers D, de Ruiter PE, van der Laan LJ, Metselaar HJ, Kamar N, Peppelenbosch MP, Pan Q. Disparity of basal and therapeutically activated interferon signalling in constraining hepatitis E virus infection. J Viral Hepat: 23. 294-304 (2016)

2. 和文発表

1) 相崎英樹, 脇田隆字. C型肝炎ウイルスの複製・増殖のメカニズム. 医薬ジャーナル (0287-4741)52巻1号 Page67-70(2016.01

2) 安藤克幸、伊藤雅、伊東愛梨、内野清子、岡山文香、内山友里恵、小澤広規、北川和寛、葛口剛、後藤明子、下野尚悦、神保達也、高橋雅輝、滝澤剛則、筒井理華、中野守、濱崎光宏、堀田千恵美、松岡保博、山崎謙治、中田恵子、吉田弘 : 平成26年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査にて検出されたウイルスについて. 病原微生物検出情報 37; 27-29, 2016

3) 石井孝司 A型肝炎 救急医学 39: 1434-1437 (2015)

4) 石井孝司 A型肝炎ウイルスのウイルス学的特徴 日本臨床 73: 576-583 (2015)

5) 石井孝司 A型肝炎の現状 臨床検査 59: 1358-1364 (2015)

6) 石井孝司 A型肝炎の分子疫学的解析 肝胆膵 71: 983-989 (2015)

7) 石井孝司、今川稔文 生肉食とE型肝炎 日本臨床 73: 693-698 (2015)

8) 片山和彦 BIO Clinica 新興･再興感染症-感染予防ワクチン ノロウイルス最新の研究動向

9) 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

10) 片山和彦 ウイルス性胃腸炎 SRL社 宝函 vol.35, No.4,p23-34、2015.

11) 片山和彦 キューピーニュース ノロウイルス予防と対策 499号 9月 2015

12) 片山和彦 月刊HACCP ノロウイルス予防と対策 12月 vol.21 p20-27, 2015

13) 片山和彦 最新医学 ノロウイルスのウイルス学的基礎研究・最近のトピックス vol.70.,11月号増刊号 p88-96, 2015

14) 片山和彦 木村博一 ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型2015年改訂版 IASR ノロウイルス特集号 Sep 8, 2015.

15) 齊藤 恭子, 白砂 圭崇, 鈴木 哲朗, 相崎 英樹, 花田 賢太郎, 脇田 隆字, 西島 正弘, 深澤 征義 : スクアレン合成酵素阻害剤の C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス効果について. 脂質生化学研究(0285-1520)57巻 Page247-250(2015.05)

16) 佐藤 弘、多屋馨子、清水博之: 2011～2014年度ポリオ感受性調査実施都道府県(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) : 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－感染症流行予測調査より. 病原微生物検出情報 37: 26-27, 2016

17) 清水博之、「Q25 弱毒生ポリオワクチン株での麻痺の副反応としてワクチン関連麻痺が起きることがありますが、ワクチン由来株による麻痺とはどのように区別するのですか」の項を担当、まるわかりワクチン Q&A、中野貴司編、141-142, 日本医事新報社、東京、2015

18) 清水博之、「Q26 不活化ポリオワクチンの成分に表示されているD抗原量(D antigen unit)とは何のことですか」の項を担当、まるわかりワクチン Q&A、中野貴司編、143-145, 日本医事新報社、東京、2015

19) 清水博之、「急性灰白髄炎」の項を担当、岡部信彦、岩本愛吉、大西真、西條政幸、谷口清洲、野崎智義、宮崎義継、編、感染症予防必携（第３版）、220-224、日本公衆衛生協会, 2015

20) 清水博之、厚生労働省健康局結核感染症課: ポリオウイルスのバイオリスク管理. 病原微生物検出情報 37: 22-24, 2016

21) 清水博之.日本ウイルス学会における利益相反の開示と申告について. ウイルス 65: 119-125, 2015

22) 清水博之: WHOポリオ根絶最終段階戦略とその実施計画2013-2018の進捗. 病原微生物検出情報 37: 19-20, 2016

23) 清水博之: エンテロウイルスワクチン開発の現状. 外来小児科 18,196-201, 2015

24) 清水博之: ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関するWHO行動計画(GAP III)と今後の課題. JBSA Newsletter 6, 2016

25) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画- 最近の動向-. 感染・炎症・免疫 45,312-322, 2015

26) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画の現状と最終段階戦略. 化学療法の領域 31,85-92, 2015

27) 白土東子 : ノロウイルスと血液型抗原 最新医学 第 70 巻 11 月増刊号, 2015

28) 鈴木哲朗、石井孝司 A 型肝炎ウイルス (HAV) の疫学 日本臨床 73: 571-575 (2015)

29) 筒井理華、武差愛美、坂 恭平、藤田真司。鈴木豊、吉田 弘: エンテロウイルス D68 型が検出された麻痺症状を呈する小児症例を含む２症例—青森県. 病原微生物検出情報 37, 12-13, 2016

30) 中村 朋史、西村順裕、有田峰太郎、吉田 弘、和田純子、清水博之: ワクチン由来ポリオウイルスによるポリオ流行の現状とリスク. 病原微生物検出情報 37: 24-26, 2016

31) 中村朋史、清水博之: エンテロウイルス D68 感染症. 臨床と微生物 42,69-75, 2015

32) 藤井克樹 : ロタウイルスゲノム解析における次世代シーケンサーの有用性 臨床とウイルス 2015, 43(3) 100-107.

33) 政木隆博, Lemon SM. microRNA-122によるC型肝炎ウイルスの複製制御. ウイルス 65(2): 277-286, 2015.

34) 政木隆博, 加藤孝宣. マイクロRNA-122によるC型肝炎ウイルスゲノム複製の制御機構. Annual Review消化器2016 (中外医学社): 68-73, 2016.

35) 松島勇紀 石川真理子 清水智美 駒根綾子 清水英明 松尾千秋 三﨑貴子 岡部信彦 篠原美千代 峯岸俊貴 小川泰卓 粕尾しず子 中沢春幸 水越文徳 鈴木尚子 舩渡川圭次 梁 明秀 木村博一 長澤耕男 芳賀 慧 Doan Hai Yen 片山和彦 新規遺伝子型ノロウイルス GII.P17-GII.17 の流行 IASR Vol. 36, No.9 (No. 427) Sep 2015

36) 三木元博、片山和彦 臨床とウイルス ディープシーケンス法を用いたノロウイルスの分子疫学、進化の研究 vol. 43,3 p92-99, 2015

37) 村山麻子, 加藤孝宣. HCV J6CF株培養細胞増殖とウイルス遺伝子変位の同定. 日本臨床 新ウイルス性肝炎学 -最新の基礎・臨床研究情報- 73 (Suppl9) : 105-10, 2015

38) 山田典栄,小林稔,奥瀬千晃,鈴木通博,今井康晴,四柳宏,加藤孝宣,安田清美. ペグインターフェロン・リバビリン治療にて著効と判定された9年後にHCV陽性および肝細胞癌と診断された1例. 肝臓 56 (11): 610-616, 2015.

39) 吉田弘、伊藤俊之、梅木和宣、中嶋健介: 平成 26 年 5 月に実施した病原体サーベイランス等に関する調査より—地方衛生研究所における検査実施体制について. 病原微生物検出情報 36 : 114-116, 2015

40) 脇田隆字. 肝炎ウイルス研究の進歩 培養細胞を用いた肝炎ウイルス複製 肝炎ウイルス培養系と抗ウイルス薬開発への応用. 日本臨床(0047-1852)73 巻増刊 9 新ウイルス性肝炎学 Page63-68(2015.12)

41) 脇田隆字. 肝炎ウイルス総論 基礎・疫学・臨床の接点 C 型肝炎ウイルス感染培養系から抗ウイルス薬へ. 最新医学(0370-8241)70 巻 9 号 Page1748-1755(2015.09)

42) 脇田隆字. 創薬を目的とした肝炎ウイルス学. 細胞(1346-7557)47 巻 11 号 Page530-533(2015.10)

43) 渡士幸一, 脇田隆字. B 型肝炎ウイルスエントリーについて : メカニズムとその阻害. 肝胆膵 71: 1053-1058 (2015)

44) 渡士幸一, 脇田隆字. B 型肝炎ウイルス研究の進歩. Pharma Medica 4 巻 2 号 Page15-18(2016.02)

45) 渡士幸一, 脇田隆字. 新規 B 型肝炎抗ウイルス薬開発の現状. カレントテラピー 33 巻 9 号 Page903-907(2015.09)

46) 渡士幸一. HBV の細胞内侵入機構とこれを標的とした創薬. 日本臨床 in press: (2015)

47) 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 D68 型 (EV-D68) に関する国内の疫学情報のまとめ（更新）(2016 年 1 月 20 日現在) 病原微生物検出情報 37: 33-35, 2016

3.その他

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

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, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Development of a cell culture and infection system for hepatitis B virus using 3D cultured immortalized human hepatocytes. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

2) Aly HH, Chayama K, Watashi K, Wakita T. The regulation of Hepatitis B virus-replication by the RNA exosome complex. 3rd Japan-Taiwan research symposium on the study of hepatitis B virus. April 11-12, 2015. Tokyo, Japan.

3) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. The regulation of HBV-replication by the RNA exosome complex. ibid.

4) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. SKIV2L-dependent HBV-RNS degradation by the RNA-Exosome, a new anti-HBV host mechanism. 2015 International Meeting, molecular Biology of Hepatitis B virus. Octber 4-8, 2015. Bad Nauheim, Germany.

5) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. SKIV2L/RNA exosome mediated regulation of hepatitis B virus. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016. Tokyo, Japan.

6) P Briolotti, S Kim, C Duret, P Roingeard, JM Fabre, J Ramos, D Larrey, M Daujat-Chavanieu, T Wakita, C Gondeau. Cell culture-derived S310 particles: a new tool for studying Hepatitis C Virus Genotype 3 in primary cultures of human adult hepatocytes. 22st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Strasbourg, France, Oct9-13, 2015 ポスター

7) Y Fujii : Molecular epidemiological study of rotavirus based on full genome sequencing. NIID International Seminar on Infectious Diseases（東京）2016 年 1 月 26-27 日

8) M Fukasawa, Y Shimizu, Y Shirasago, T Suzuki, T Wakita, K Hanada, K Yagi, M Kondoh. Prevention of Hepatitis C virus infection by monoclonal antibodies against occluding. HEP DART 2015, Wailea, Hawaii, Dec 6-10, 2015

9) Fukasawa M, Shimizu Y, Shirasago Y, Watashi K, Tanaka Y, Wakita T, Kondoh M, Yagi K, Hanada K. Inhibition of hepatitis B virus infection by docosahexaenoic acid in cultured cells. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

10) Fukushima S, Nakano T, Shimizu H, Hamada: Immunogenicity of Booster Doses of the Inactivated Polio Vaccine among Japanese adult travelers. The 14th Conference of International society of Travel Medicine, Québec City, Canada, May 2015

11) Fukushima S., Nakano T., Kiyohara T., Ishii K. and Hamada A. Immunogenicity of Booster Vaccination with an Aluminum-absorbed Hepatitis A Vaccine after Primary Immunization with Aluminum-free Japanese Hepatitis A Vaccine. **9th Vaccine & ISV Congress. Seoul, South Korea,** October 18-20, 2015

12) Ishida T, Kubota T, Shirato H. Computational modeling of carbohydrate recognition in norovirus capsid protein with lewis antigen. THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015. in Honolulu, Hawaii, USA, Nov, 2015

13) Ito K, Yoneda M, Angata K, Watashi K, Wakita T, Iijima S, Tanaka Y, Tong S, Kuno A, Sugiyama M, Mizokami M, Narimatsu H. Investigation of the mechanism of interaction between host glycosylation system and hepatitis B virus replication system. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

14) Iwami S, Tanaka Y, Wakita T, Watashi K. Quantifying activity optimizes drug combinations against hepatitis C virus infection. 22nd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Oct, 2015, Strasbourg(France)

15) 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, March 18–21 2015

16) Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Matsunaga H, Iwamoto M, Kawai F, Ohashi H, Tsukuda S, Shimura S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park SY, Ohtani N, Sugawara F, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. Identification of a new tricyclic polyketide, vanitaracin A, which inhibits the entry of HBV, HDV, and nucleoside analog-resistant HBV though targeting NTCP. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

17) Kato T. Amino Acid Polymorphism in HCV Core Affects Infectious Virus Production and MHC Class I Expression. KSBMB International Conference 2015. May 12-14, Seoul, Korea.

18) L Kong, A Fujimoto, H Aoyagi, M Matsuda, K Watashi, R Suzuki, S Yamagoe, N Dohmae, T Suzuki, T Suzuki, T Wakita, H Aizaki. Prolactin regulatory element binding protein promotes the formation of hepatitis C virus membranous replication compartment by interacting with NS4B. 22st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Strasbourg, France, Oct9-13, 2015

19) Masaki T, Kato T, Wakita T. Suppression of host cellular microRNA functions by HCV infection and its implication in the aggressiveness of hepatocellular carcinoma cells. ibid.

20) Matsunaga S, Miyakawa K, Watashi K, Sugiyama M, Mizokami M, Wakita T, Ryo A. Development of anti-HBs monoclonal antibody targeting HBs-NTCP interaction. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

21) Miyakawa K, Matsunaga S, Watashi K, Sugiyama M, Mizokami M, Wakita T, Ryo A. Molecular dissection of HBV evasion from restriction factor tetherin. ibid.

22) Moyo B, Nicholson S, Roelofse I, Bloom K, Mussolino C, Cathomen T, Watashi K, Ely A, Arbuthnot P. AAV-delivered engineered repressor transcription activator-like effectors (rTALEs) inactivate hepatitis B virus replication in hNTCP cells and in mice. ibid.

23) Murakami K, Ettayebi K, Tenge VR, Neill FH, Crawford SE, Atmar RL and Estes MK. Replication

of GII.3 human norovirus in human intestinal enteroids. Seventh Annual Frontiers in Digestive Diseases Symposium, Houston (USA), Feb, 2016

24) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Essential Factors for Reconstitution of Entire Life Cycle of Hepatitis C Virus in Monkey Kidney Derived Cell Line. 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, November 13-17, 2015 San Francisco, USA.

25) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Establishment of Novel Hepatitis C Virus Culture System with Vero Cells. 22nd International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses, October 9-13, 2015. Strasbourg, France.

26) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Host factors for HCV replication and infectious virus production in Vero cells. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016 Tokyo, Japan.

27) Nicholson S, Moyo B, Bloom K, Mussolino C, Cathomen T, Watashi K, Ely A, Arbuthnot P. Anti-HBV talens delivered by recombinant adeno-associated viral vectors (rAAV) efficiently inhibit HBV replication in vivo and in vitro. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

28) Nishimura Y, McLaughlin N, Pan J, Goldstein S, Hafenstein S, Shimizu H, Winkler JD, Bergelson JM: The suramin derivative NF449 interacts with the 5-fold vertex of the EV71 capsid to prevent virus attachment to PSGL-1 and heparan sulfate. 10th Asia-Pacific Congress of Medical Virology 2015, Taipei, 2015. 10. 15-18

29) Nitta S, Asahina Y, Wakita T, Kato T. Effects of Resistance Mutations of NS5A Inhibitor on Viral Production and Susceptibility to Anti-HCV Reagents in Recombinant Hepatitis C Viruses with NS5A of Genotype 1b. 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, November 13-17, 2015 San Francisco, USA.

30) Nitta S, Asahina Y, Wakita T, Kato T. In vitro characterization and drug sensitivity analysis for HCV NS5A resistance-associated variants25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016. Tokyo, Japan.

31) Okamura H, Akahori Y, Kim S, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Long chain saturated fatty acid contributes to efficient egression of hepatitis B virus particles. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

32) 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 (JEV)-subviral particles harboring HCV neutralization epitopes elicit neutralizing antibodies against JEV and HCV. 22nd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Oct, 2015, Strasbourg(France)

33) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivalent vaccine antigen for Japanese encephalitis virus and Hepatitis C virus. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016 Tokyo, Japan.

34) 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. Dual function of RIG-I as innate antiviral mediator against hepatitis B virus. 2015 International Meeting of Molecular Biology of

Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

35) Shimizu H: Current Outbreaks of Acute Flaccid Paralysis in Laos and Japan. NIID International Seminar on Infectious Diseases, Tokyo, 26 January, 2016

36) Y Shimizu, Ya Shirasago, M Kondoh, T Suzuki, T Wakita, K Hanada, K Yagi, M Fukasawa. Inhibition of Hepatitis C virus infection by anti-occludin monoclonal antibodies. 22st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Strasbourg, France, Oct9-13, 2015 ポスター

37) Shimura S, Watashi K, Sluder A, Peel M, Kawai F, Sugiyama M, Park SY, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Identification of HBV entry inhibitors, based on the cyclosporin structure. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

38) Shiota T. HEV methodology group, International workshop on Foodborne Viruses (FSA-EFSA Foodborne Viruses Workshop), Royal Society in London, UK, from 23-25 February 2016

39) Y Shirasago, Y Shimizu, I Tanida, T Suzuki, T Wakita, K Hanada, K Yagi, M Kondoh, M Fukasawa. Establishment and characterization of occludin knock-out human hepatic Huh7.5.1 cells. 22st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Strasbourg, France, Oct9-13, 2015

40) Someya Y. FSA-EFSA Workshop on Foodborne Viruses 2016（FSA (Food Standards Agency)、および、EFSA (European Food Safety Authority)主催）2016年2月23日～25日　ロンドン

41) Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Yamada N, Nitta S, Masaki T, Ryo A, Wakita T, Kato T. Amino acid substitutions in ISDR of HCV-NS5A affect infectious virus production and ISG induction. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016 Tokyo, Japan.

42) Suzuki J, Aly HH, Wakita T. Analyzing RNA exosome mediated HBV-RNA degradation mechanism. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016 Tokyo, Japan.

43) Tasaka-Fujita M, Sugiyama N, Kang W, Masaki T, Murayama A, Wakita T, Shin EC, Kato T. Amino acid polymorphisms in HCV core affect infectious virus production and MHC class I molecule expression. 22nd International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses, October 9-13, 2015. Strasbourg, France.

44) Toyama M, Hamasaki T, Okamoto M, Watashi K, Wakita T, Baba M. Pyrimidotriazinone derivatives as novel inhibitors of hepatitis B virus core assembly. 2015 International Meeting of Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, Oct, 2015, Bad Nauheim(Germany)

45) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Tanaka Y, Wakita T. Cilnidipine inhibits the early phase of HBV infection in a NTCP-independent mechanism. ibid.

46) T Wakita, L Kong, H Aizaki, HCV Biology in the future: Molecular mechanisms of HCV membrane replication complex formation. APASL 2016, 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Tokyo, Feb 20-24, 2016

47) T Wakita, L Kong, H Aizaki, Molecular mechanisms of hepatitis C virus membrane replication complex formation. 13th IGAKUKEN International Symposium on ”Molecular Basis of Viral Disease”, 東京都医学総合研究所、（2015. 11.20）

48) T Wakita, L Kong, H Aizaki. Molecular mechanisms of hepatitis C virus membrane replication complex formation. Chinese HCV meeting. Guangzhou,

China, January 7-9, 2016

49) T Wakita, Virology of Hepatitis B and C viruses. APASL 2016, 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Tokyo, Feb 20-24, 2016

50) T Wakita. Translational researches on HBV. APDW 2015. Taipei, Taiwan, Dec 3-6, 2015

51) N Watanabe, T Date, H Aly, H Aizaki, T Wakita. Analysis of E1(282-311) region as potential target for vaccine development. 22st International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Strasbourg, France, Oct9-13, 2015

52) Watashi K. Hepatitis C virus cell culture system identifies fungi-derived NeoB as a liver X receptor inhibitor. Pacifichem 2015, Dec, 2015, Honolulu(USA)

53) K Watashi, S Tsukuda, S Shimura, M Kaneko, A Sluder, M Peel, S Kamisuki, S Matsunaga, R Morishita, Y Futamura, Y Kondoh, R Suzuki, H Aizaki, M Sugiyama, K Borroto-Esoda, A Ryo, F Sugawara, H Osada, Y Tanaka, M Mizokami, T Wakita. Identification of NTCP-targeting small molecules that inhibit HBV entry by cell-based and in vitro technologies. 2015 International meeting on the Molecular biology of Hepatitis B Viruses, Dolce Bad Nauheim, Germany, Oct 4-8, 2015 口頭発表

54) Yamada N, Kobayashi M, Okuse C, Suzuki M, Imai Y, Yotsuyanagi H, Kato T, Yasuda K. HCV reactivation and HCC development after achievement of HCV RNA negative by Peg-IFN/Rbv therapy. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016 Tokyo, Japan.

55) Yokokawa H, Higashino A, Suzuki S, Suzuki T, Akari H, Kato T, Ishii K, Wakita T. Neutralizing antibody induction by vaccination of cell culture-generated hepatitis C virus particles in non-human primate model. 22nd International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses, October 9-13, 2015. Strasbourg, France.

56) Yokokawa H, Higashino A, Suzuki S, Suzuki T, Akari H, Kato T, Ishii K, Wakita T. Vaccination study of cell culture-generated hepatitis C virus particles in non-human primate model. 25th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, February 20-24, 2016 Tokyo, Japan.

2. 国内学会

1) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Development ofa cell culture and infection system for hepatitis B virus using 3D cultured non-neoplasmic HuS-E/2 cells. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、（2015. 11.22-24）

2) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. SKIV2L-mediated RNA-exosome regulation of HBV replication. 同上

3) Asabe S, Kato T, Nakamura I. Possible contribution of TNFα producing T cells in drug-induced liver injury. International Session 第 19 回 日本肝臓学会大会. 東京, （2015. 10. 8-9）

4) YH Doan, K Haga, A Fujimoto, Y Fujii, R Takai-Todaka, T Oka, S Yoshizumi, N Shigemoto, R Okamoto, K Shirabe, M Shinohara, H Shinomiya, N Tanaka-Sakon K Katayama : Genetic analyses of human group C rotaviruses detected in Japan between 2005 and 2012　第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、（2015. 11.22-24）

5) Y Fujii, YH Doan, T Nakagomi, O Nakagomi, K Katayama : Molecular epidemiology of rotaviruses based on nearly-full length sequencing across Japan in 2014.　同上

6) Guoli S, Ando T, Suzuki R, Matsuda M, Nakashima K, Ito M, Mizutani T, Sawasaki T, Wakita T, Suzuki T. The 3’ untranslated region is required for Hepatitis C virus genome encapsidation. 同上

7） Iwamoto M, Watashi K, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Tanaka Y, Mizokami M, Ohtani N, Koiwai O, Wakita T. Multimerization of hepatitis B virus core protein regulated by microtubules. 同上

8） Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Matsunaga H, Iwamoto M, Kawai F, Ohashi H, Tsukuda S, Shimura S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park Sy, Ohtani N, Sugawara F, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. A new fungi-derived vanitaracin A specifically inhibits the entry of hepatitis B and D viruses through interacting with NTCP. 同上

9） K Kondo, M Ono, T Tsugawa, H Tsutsumi, Y Fujii, K Katayama : Molecular characterization of G8P[8] rotavirus strains emerge in Hokkaido in 2014. 同上

10） Kong L, Aoyagi H, Matsuda M, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Dohmae N, Suzuki T, Sakamaki Y, Ichinose S, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H. Surfeit 4 is involved in HCV replication by interacting with NS4B. 同上

11） Kotani O, Yokoyama M, Suzuki T, Iwata-Yosikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Sato H, Nagata N: A molecular mechanism of adaptive evolution of Saffold virus type 3 in cerebellum of mouse. 同上

12） Li TC, Yang T, Ami Y, Suzaki ., Yoshizaki S, Ishii K, Haga K, Nakamura T, Ochiai S, Takeda N. Johne R. Wakita T. A reverse genetic system to explore the function of rat hepatitis E virus ORF4. 同上

13） Masaki T, Kato T, Wakita T. Inhibition of Host Cellular microRNA Functions by Hepatitis C Virus Infection. 同上

14） Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Simizu H, Hasegawa H: Utility of a neonatal mouse model for studying coxsackievirus B2. 同上

15） Nakamura T, Arita M, Shimizu H: Development of direct detection method of polioviruses from environmental samples. 同上

16） Nishimura Y, McLaughlin N, Pan J, Goldstein S, Hafenstein S, Shimizu H, Winkler JD, Bergelson JM: The suramin derivative NF449 interacts with the 5-fold vertex of the EV71 capsid to prevent virus attachment to PSGL-1 and heparan sulfate. 同上

17） Ohashi H, Watashi K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T. Flutamide-mediated disruption of lipid droplets impairs the host permisiveness to hepatitis C virus production. 同上

18） Okamura H, Akahori Y, Kim S, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Egression of hepatitis B virus particles is promoted by long chain saturated fatty acid. 同上

19） Okutsu S, Ito K, Yoneda M, Angata K, Watashi K, Wakita T, Iijima S, Tanaka Y, Tong S, Mizokami M, Narimatsu H. Investigation of mechanisms of interaction between host glycosylation system and hepatitis B virus replication system. 同上

20） Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Tajima S, Takasaki T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicit neutralizing antibodies against JEV and hepatitis C virus. 同上

21） Sakurai F, Yamamoto T, Mitani S, Takayama K, Tachibana M, Watashi K, Wakita T, Iijima S, Tanaka Y, Mizuguchi H. Human iPS-derived hepatocytes as an in vitro HBV infection model. 同上

22） Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T. Ishii K. The validation study of hepatitis E virus receptor candidate. 同上

23） Y Shimizu, Y Shirasago, M Kondoh, K Yagi, T Suzuki, T Wakita, K Hanada, M Fukasawa. Establishment of anti-occludin monoclonal antibodies that inhibit HCV infection in cell culture system. 同上

24) Suzuki R, Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Tajima S, Takasaki T, Takeyama H, Wakita T. Development of a novel vaccine platform based on Japanese encephalitis viruses. BMB 2015, 12月, 2015年, 神戸ポートアイランド（神戸）

25) M Tasaka-Fujita, N Sugiyama, T Masaski, A Murayama, T Wakita, T Kato. Attenuation of MHC class I Expression by Intracellular Accumulation of HCV Core Protein. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、(2015. 11.22-24)

26) Toyama M, Hamasaki T, Okamoto M, Watashi K, Wakita T, Baba M. Identification of novel pyrimidotriazinone derivatives as inhibitors of HBV replication. 同上

27) Tsukuda S, Watashi K, Hamada Y, Isogawa M, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Identification of flavonoid derivative that directly acts on hepatitis B virus surface protein and inhibits viral entry. 同上

28) Yamada S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N: The pathogenesis of a Saffold virus isolate from upper respiratory inflammation in a mouse model. 同上

29) Yamashita A, Tanaka T, Okuyama-Dobashi K, Kasai H, Watashi K, Wakita T, Toyama M, Baba M, Moriishi K. Metachromin A, sesquiterpene from marine sponge Dactylospongia metachromia, exerts anti-HBV activity via inhibition of HBV core promoter. 同上

30) Yasumoto J, Kasai H, Tanaka T, Watashi K, Wakita T, Yamashita A, Dobashi-Okuyama K, Moriishi K. Hepatitis B virus downregulates expression of CIDE-B and CIDE-C and impairs lipid droplet growth. 同上

31) Yokokawa H, Higashino A, Suzuki S, Suzuki T, Akari H, Kato T, Ishii K, Wakita T. Neutralizing antibody induction by vaccination of cell culture-generated hepatitis C virus particles in non-human primate model. 第３８回日本分子生物学会年会・第８８回日本生化学会合同大会、平成２７年１２月、神戸

32) Yokokawa H, Higashino A, Suzuki S, Suzuki T, Akari H, Kato T, Ishii K, Wakita T. Vaccination of cell culture-generated hepatitis C virus particles induces neutralizing antibody in non-human primate model. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、(2015. 11.22-24)

33) P YoungBin, R Todaka, K Haga, T Shimoike, S Fukushi, Y Someya, M Yokoyama, H Sato, F Kawai, P Sam-Yong : Functional Analysis of Human Norovirus RNA-dependent RNA Polymerase 同上

34) Zaitsu T, Aoyagi H, Fujimoto A, Matsuda M, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Fukuhara T, Matsuura Y, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Suzuki T, Iijima H, Matsuura T, Tamura K, Wakita T, Aizaki H. Transfer hepatitis C virus from human liver cells to hepatic stellate cells. 同上

35) 浅部伸一，加藤孝宣，浅野岳晴，吉田行雄，中村郁夫．B 型慢性患者における HBV 抗原特異的 CD4 陽性 T 細胞の解析．第 51 回日本肝臓学会総会、ホテル日航熊本、(2015． 5. 21-22)

36) アリ・ハッサン・フセイン, 渡士幸一, 茶山一彰, 加藤孝宣, 脇田隆字. The RNA exosome as an anti-viral agent. 平成 27 年度北海道大学遺伝子病制御研究所研究集会 感染・免疫・炎症・発癌. 札幌, 2015. 12. 18.

37) 有田峰太郎: PI4KB は、抗ピコルナウイルス化合物 oxoglaucine および pachypodol (Ro 09-0179)の直接の標的である. 第25回抗ウイルス療法学会総会、東京, 2015.5.24

38) 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

39） 石田豊和，久保田智巳，白土東子：ノロウィルスキャプシドタンパク質とルイス抗原との糖鎖認識:計算科学による相互作用解析，第15回日本蛋白質科学会年会，2015年6月，徳島

40） 石田豊和，久保田智巳，白土東子：ノロウィルスキャプシドタンパク質と血液型糖鎖抗原との糖鎖認識機構，第18回理論化学討論会，2015年5月，大阪

41） 石田豊和，久保田智巳，白土東子：ノロウィルスキャプシドタンパク質の糖鎖認識における糖鎖構造依存性，第9回分子科学討論会，2015年9月，東京

42） 大場舞、 岡智一郎、 安藤隆幸、 荒畑沙織、 池ヶ谷朝香、 高木弘隆、 小郷尚久、小和田和宏、川森文彦、 浅井章良 抗ノロウイルス活性を有する低分子化合物の探索 日本薬学会第 136 年会. 2016. 3. 26-29. 横浜

43） 岡　智一郎、高木 弘隆、横山 勝、*小島 宏建*、*岡部 隆義*、*長野 哲雄*、佐藤 裕徳　ネコカリシウイルスプロテアーゼの基質特徴を有する非ペプチド性低分子化合物の抗ウイルス活性　日本薬学会第136年会. 2016.3.26-29. 横浜

44） 岡智一郎:サポウイルスの新知見　ウイルス性下痢症研究会. 第２７回学術集会. 福岡. 2015.11.21.

45） 片岡周子、Tran Thi Nguyen Hoa、中村朋史、Nguyen Thi Hien Thanh、清水博之: 2011年と2012年の北部ベトナムにおける手足口病の流行状況第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡, 2015. 11. 22-24

46） 加藤孝宣, 松村卓哉, 井廻道夫. 抗菌ペプチドLL-37による抗HCV作用. 第51回日本肝臓学会総会、ホテル日航熊本、(2015. 5. 21-22)

47） 加藤孝宣, 政木隆博, 脇田隆字. C型肝炎ウイルスISDR変異によるインターフェロン耐性発現機序の解析. 同上

48） 加藤孝宣, 藤田めぐみ, 杉山奈央, 政木隆博, 村山麻子, 脇田隆字. Attenuation of MHC class I expression by intracellular accumulation of HCV core protein. 第63回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、(2015. 11.22-24)

49） 金子学, 渡士幸一, 松永大輝, 紙透伸治, 岩本将士, 河合文啓, 鈴木亮介, 相崎英樹, 朴三用, 菅原二三男, 脇田隆字.新規真菌二次代謝産物 SF177 の B 型肝炎ウイルス感染阻害活性および NTCP トランスポーター阻害活性の同定、第 25 回抗ウイルス療法研究会総会、国立感染症研究所、（2015. 5. 22-24）

50） 清原知子、石井孝司、脇田隆字：本邦におけるB型肝炎流行状況の調査、第５１回日本肝臓学会総会、平成２７年５月、熊本

51） 久保田智巳, 伊藤浩美, 成松久, 石田豊和, 白土東子：ノロウィルスキャプシドタンパク質と血液型糖鎖抗原との相互作用の結晶学的解析, 第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015 年 6 月, 徳島

52） 佐藤精一, 李凱, 亀山武志, 林隆也, 石田雄二, 村上周子, 渡邊綱正, 飯島沙幸, 櫻井遊, 渡士幸一, 堤進, 佐藤悠介, 秋田英万, 脇田隆字, Rice Cm, 原島秀吉, 小原道法, 田中靖人, 高岡晃教. B 型肝炎ウイルスの感染に対する RIG-I を介した自然免疫応答機構. 第 25 回抗ウイルス療法学会総会, 5 月, 2015 年, 国立感染症研究所（東京）.

53） 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳、清水博之: 不活化ポリオワクチン導入によるポリオの予防接種状況および抗体保有状況の推移について（2012～2014年度感染症流行予測調査より）第47回日本小児感染症学会学術集会、福島,2015.10.31-11.1

54） 清水博之．ポリオウイルス病原体管理に関するWHO行動計画(GAP III)と今後の課題．第15回日本バイオセーフティ学会総会、東京、2015. 9. 17.

55） 下池貴志、In vitro template-specific RNA transcription by Norovirus RNA-dependent RNA Polymerase 第63回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、(2015. 11.22-24)

56） 鈴木亮介．　日本脳炎ウイルスを利用した新規ワクチンプラットフォームの開発．第50回日本脳炎ウイルス生態学研究会、京都、2015年5月15-16

日.

57) 鈴木亮介、嵯峨涼平、藤本陽、渡邉則幸、松田麻未. ワクチン抗原をデザインする：フラビウイルス粒子を利用した二価ワクチン抗原の開発. 第１回デザイン生命工学研究会、横浜、2016 年 3 月 8 日.

58) 外山政明, 濱崎隆之, 岡本実佳, 渡士幸一, 脇田隆字, Ashoke Sharon, 馬場昌範. 新規核酸誘導体 7-deazaneplanocin A 誘導体の抗 HBV 効果について. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 5月, 2015年, 国立感染症研究所（東京）

59) 新田沙由梨, 村山麻子, 藤田めぐみ, 山田典栄, 政木隆博, 脇田隆字, 朝比奈靖浩, 加藤孝宣. HCV 感染培養系を用いた Daclatasvir 耐性変異株の抗 HCV 薬に対する薬剤感受性の評価. 第 51 回日本肝臓学会総会、ホテル日航熊本、(2015. 5. 21-22)

60) 福島慎二、清原知子、石井孝司、中野貴司、濱田篤郎:A 型肝炎ワクチン(エイムゲン®と HAVRIX®)の互換性に関する研究、第１８回日本渡航医学会学術集会、平成２７年７月、名古屋

61) 深澤 征義 、清水 芳実、白砂 圭崇、近藤 昌夫、八木 清仁、鈴木 哲朗、脇田 隆字、花田 賢太郎、Occludin 細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体の樹立と本抗体による C 型肝炎ウイルス感染阻害、第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、(2015. 12.1-4)

62) 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

63) 政木隆博, 加藤孝宣, 脇田隆字. microRNA-122 による C 型肝炎ウイルスゲノム複製の新規制御機構. 第 51 回日本肝臓学会総会、ホテル日航熊本、（2015. 5. 21-22）

64) 松浦知和, 松本喜弘, 永森収志, 渡士幸一, 金井好克, 小嶋聡一, 脇田隆字, 相崎英樹. ヒト肝癌細胞 FLC4 における B 型肝炎ウイルスレセプター NTCP の発現と誘導に関する検討. 同上

65) 村山麻子、杉山奈央、脇田隆字、加藤孝宣. Reconstitution of the Entire Hepatitis C virus Life Cycle in Monkey Kidney Derived Cell Line. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡国際会議場、（2015. 11.22-24）

66) 村山麻子、杉山奈央、脇田隆字、加藤孝宣. Replication and Infectious Virus Production of HCV in Vero Cells. 第 38 回日本分子生物学会年会. 神戸, 2015. 12. 1-4.

67) 村山麻子、脇田隆字、加藤孝宣. サル腎臓由来のベロ細胞を用いた C 型肝炎ウイルス感染複製系の樹立. 第 51 回日本肝臓学会総会, 熊本, 2015. 5. 21-22.

68) 山下篤哉, 田中智久, 葛西宏威, 渡士幸一, 脇田隆字, 外山政明, 馬場昌範, 前川伸哉, 榎本信幸, 玉城麻友美, 田中淳一, 森石恆司. カイメン由来化合物 metachromin A 及びその類縁化合物の抗 HBV 活性の検討. 第 25 回抗ウイルス療法学会総会, 5 月, 2015 年, 国立感染症研究所（東京）

69) 山下篤哉, 田中智久, 土橋香織, 葛西宏威, 渡士幸一, 脇田隆字, 外山正明, 馬場昌範, 前川伸哉, 榎本信幸, 玉城麻友美, 田中淳一, 森石恆司. 海綿由来セキステルペン系化合物 metachromin A の B 型肝炎ウイルスコアプロモーター抑制活性を介した抗ウイルス活性. BMB 2015, 12 月, 2015 年, 神戸ポートアイランド（神戸）

70) 山田典栄、加藤孝宣、四柳 宏. B 型急性肝炎症例におけるワクチンエスケープ変異. 第51回日本肝臓学会総会. 熊本, 2015. 5. 21-22.

71) 山田典栄、四柳 宏、加藤孝宣. エンテカビル耐性例、反応不良例における HBV 株の薬剤耐性機序の検討. 同上

72) 山中敦史、モイメンリン、松田麻未、高崎智彦、倉根一郎、鈴木亮介、小西英二. 国外の昆虫媒介性フラビウイルス感染症の侵入に備えた診断用抗原の作製. 第 56 回日本熱帯医学会大会、大阪、2015 年 12 月 4-6 日.

73) 脇田隆宇、肝炎ウイルス研究：B から C、そして C から B、第 51 回日本肝臓学会総会、ホテル日航熊本、(2015. 5.21-22) サテライトセミナー

74) 脇田隆宇、C 型肝炎ウイルスの増殖機構と増殖系の開発、第 80 回日本インターフェロン・サイトカイン学会大会、東京工業大学、(2015. 7.17-１８)

75) 渡士幸一. C 型肝炎治療薬の個性を探る ～多剤併用から費用対効果の考察まで～. ウイルス感染現象における宿主細胞コンピテンシーの分子基盤 第 2 回若手研究会, 7 月, 2015 年, マホロバマインズ三浦（三浦）

76) 渡士幸一. ウイルス感染増殖系を基盤とした天然化合物の新規生理機能の解析. 天然物ケミカルバイオロジー 分子標的と活性制御 第 8 回公開シンポジウム, 6 月, 2015 年, 東北大学片平キャンパス（仙台）

77) 渡士幸一, 九十田千子, 金子学, 松永大輝, 紙透伸治, 齊藤安貴子, 鈴木亮介, 相崎英樹, 杉山真也, 溝上雅史, 菅原二三男, 田中靖人, 脇田隆宇. B 型肝炎ウイルスに対する直接標的薬 proanthocyanidin および宿主標的薬 vanitaracin の同定および感染阻害機構の解析. 第 25 回抗ウイルス療法学会総会, 5 月, 2015 年, 国立感染症研究所（東京）

78) 渡士幸一, 中嶋翔, 紙透伸治, Izaguirre-Carbonell J, Kwon Atj, 鈴木治和, 九十田千子, 岡田麻衣子, 鈴木亮介, 相崎英樹, 菅原二三男, 脇田隆宇. Neoechinulin B の liver X receptor 転写阻害効果の同定およびそれによる C 型肝炎ウイルス複製制御機構の解析. 同上

III. その他

1) 片山和彦 平成 28 年 3 月 25 日 新興再興 J-GRID 合同シンポジウム（AMED 主催） 感染症研究連携のフロンティア JGRID との連携による下痢症ウイルス分子疫学プロジェクト （国立感染症研究所戸山庁舎共用第一会議室）

2) 片山和彦 平成 28 年 2 月 6 日 感染症と闘う：感染症を科学する （東京農工大学工学部(博物館)）

3) 片山和彦 平成 28 年 2 月 20 日 食品衛生管理セミナー金谷 新型ノロウイルスの流行について（島田市金谷夢づくり会館）

4) 片山和彦 平成 28 年 2 月 19 日 日本環境感染症学会シンポジウム ノロウイルスの世界的流行は何故起こっているのか （京都国際会館グランドプリンスホテル京都 1F ロイヤルルーム）

5) 片山和彦 平成 28 年 2 月 13 日 第 16 回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム ノロウイルスとワクチン （東京医科歯科大学歯学部特別講堂）

6) 片山和彦 平成 28 年 2 月 12 日 日本感染性腸炎学会 特別講演 食中毒の新しいトレンド、疫学情報を中心に ノロウイルス （国立感染症研究所戸山庁舎共用第一会議室）

7) 片山和彦 平成 28 年 1 月 27 日 国立感染症研究所・AMED 共催 感染制御セミナー 下痢症ウイルスの分子疫学(ノロウイルス・ロタウイルス）（国立感染症研究所戸山庁舎共用第一会議室

8) 片山和彦 平成 28 年 1 月 19 日 厚生労働省健康局記者勉強会(第二回) 講師 今話題の感染症～ノロウイルス、エンテロウイルス D68 厚生労働省会見室

9) 片山和彦 平成 27 年 9 月 25 日 第 87 回日本遺伝学会大会 ロタウイルス構造タンパク質の分子間インタラクションが規定するゲノムリアソートメント（東北大学）

10) 片山和彦 平成 27 年 12 月 18 日 さいたま市サイエンスカフェ さいたま市保健福祉局保健部食品安全推進課食品安全係主催 講師 ホントに知ってる？ノロウイルスのこと(ノロウイルス都市伝説） （浦和コミュニティーセンター第 13 回議室

11) 片山和彦 平成 27 年 11 月 27 日 川崎市健康安全研究所講演会 ノロウイルス研究のトピックス（川崎市健康安全研究所講堂

12) 片山和彦　平成 27 年 11 月 19 日　公立昭和病院院内感染対策講習会　ノロウイルス感染症　（公立昭和病院ホール

13) 片山和彦　平成 27 年 11 月 15 日　第 8 回日本旅行医学会東京大会ランチョンセミナー　知っているようで知らないノロウイルス （東医保険会館）

14) 片山和彦 平成 27 年 10 月 20 日 郡山市保健所、郡山職員衛生協会主催　平成 27 年度ノロウイルス対策講習会　“ノロウイルス食中毒発生防止対策及び感染症発生防止対策について”　（ビッグパレット福島）

15) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画とポリオワクチン. 知の市場･市民連携セミナ. 東京､2015.12.15

16) 清水博之: ポリオウイルス病原体管理. 平成 27 年度 希少感染症診断技術研修会、東京、2016. 2.17

17) 清水博之: エンテロウイルス感染症. ラジオ NIKKEI 医学情報番組「杏林シンポジア」、東京、2015. 9.3.収録

18) 清水博之: エンテロウイルス感染症. ラジオ NIKKEI ドクターサロン. 東京、2015.10.9.収録

19) 清水博之: エンテロウイルス D68(EV-D68)感染症. 平成 27 年度 希少感染症診断技術研修会、東京、2016. 2.17.

20) 清水博之: エンテロウイルス D68(EV-D68)感染症. 第２回健康局記者勉強会厚生労働省､東京､2016. 1.19.

21) 清水博之: エンテロウイルス D68(EV-D68)感染症. 第７０回感染・免疫懇話会講演会、葛飾区医師会館, 2016. 2.13.

22) 吉田弘「病原体検査指針（仮称）について」衛生微生物技術協議会第 36 回研究会　仙台市 2015.7.23-24.

23) 吉田弘「病原体検査の信頼性保証」H27 年度地全協関東甲信静支部細菌研究部会、静岡、2016. 2.9.

24) 吉田弘「感染症法改正に伴う病原体検査の信頼性確保に関わる検討状況について」平成 27 年度地域保健総合推進事業　地全協中国四国支部地域専門家会議、岡山市 2015.9.10.

25) 吉田弘「感染症法改正に伴う病原体サーベイランスと 信頼性確保について」平成 27 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、神戸市、2015. 10.2.

26) 吉田弘「感染症法改正に伴う病原体サーベイランスと 信頼性確保について」平成 27 年度地域保健総合推進事業　地全協東海北陸支部地域専門家会議、名古屋市、2015. 10.8.

27) 吉田弘「感染症法改正に伴う地方衛生研究所における検査精度管理について」平成 27 年度地域保健総合推進事業　地全協関東甲信静支部地域専門家会議、甲府市、2015.10.7.

28) 吉田弘「感染症法改正に係る今後の病源体サーベイランス検査と信頼性確保について」平成 27 年度地域保健総合推進事業 北海道・東北・新潟 ブロック地域専門家会議、新潟市、2015. 10.1.

29) 吉田弘「感染症法改正に係る今後の病原体サーベイランス検査と信頼性確保について」平成 27 年度技術懇話会　東京都健康安全健康センター、東京、2015.12.9.

30) 吉田弘「感染症法改正に係る今後の病原体サーベイランス検査と信頼性確保について」平成 27 年度地域保健総合推進事業　地全協九州支部地域専門家会議、佐賀市、2015.10.22.

31) 吉田弘「ポリオの環境水サーベイランス」平成 27 年度感染症危機管理研修会、戸山庁舎、10.14-15.

32) 吉田弘:「感染症法一部改正に伴う病原体検査の信頼性確保に関わる検討状況について」神奈川県衛生研究所　平成２７年度第１回公衆衛生専門技術研修　2015.5.26.

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、麻疹ウイルスの抗原性に関する研究、細胞内動態に関する研究等を進めている。また、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等を行っている。麻疹ウイルスの近縁ウイルスである犬ジステンパーウイルス(CDV)は、サルに致死性のアウトブレイクを起こす事がある。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、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、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

麻疹は WHO が中心となり排除、根絶を目指している感染症である。麻疹排除は「ある地域において、質の高いサーベイランス体制が存在する下で、土着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等が求められている。また、WHO より排除認定を受けるには 36 ヶ月間、土着麻疹ウイルスによる流行がない事、適切なサーベイランス体制が存在する事、土着株による感染が遮断されている事を示唆するウイルスの遺伝子情報がある事が求められている。2007 年以降、地方衛生研究所を中心とした麻疹遺伝子検査診断体制の整備を進め、2014 年には麻疹症例数の約 80%で PCR 検査が実施され、麻疹ウイルスの遺伝子型解析がなされた。その結果、日本の土着株である遺伝子型 D5 のウイルスは検出されず、麻疹症例は輸入麻疹、あるいは輸入関連麻疹であると考えられた。さらにウイルスの遺伝子解析、疫学調査から、輸入株による流行は 1 年間継続していない事を明らかにした。また民間検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査の実態も把握した。これらの情報を含めた報告書により、2015 年 3 月に日本は麻疹排除状態にあると WHO 西太平洋地域麻疹排除認定委員会より認定された。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、プローブ、プライマーを地衛研に配布し、地衛研への導入を促した。また、20 カ所の地方衛生研究を対象に、RT-PCR 法、real-time PCR 法の精度管理を行った。今後も地方衛生研究所と協力し、これらの活動を通して、より精度の高い麻疹検査診断体制を維持、改善していく。[駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、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

免疫抑制剤療法中の臓器移植児では、ウイルスの罹患による死亡率が高いことが報告されており、日本小児腎臓病学会では、ハイリスク患者への積極的な生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細胞性・液性免疫応答の解析を行い、そのワクチン効果についての評価を行った。IFN-γ ELISPOT 法を用いて麻疹に特異的な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、HI 法、中和法を用いて測定したところ、PA 法では 216 検体(陽性率 77.7%)、HI 法では 153 検体(陽性率 55.2%)、中和では 183 検体(陽性率 65.8%)で麻疹特異的抗体が検出できた。細胞性免疫応答及び液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、細胞性免疫応答では陽性率と接種回数に関連は認められなかったが液性免疫では PA 法において、ワクチンの 2 回接種が有意な抗体応答を誘導することが示された。今後は、得られたデータのより詳細な解析を進める予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓、竹田誠、国立成育医療研究センター:宮田一平、宮入烈、船木孝則、新潟大学医学部小児科:斉藤昭彦]

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

リバースジェネティクス法の確立と相まって、麻疹ウイルスをベクターとした組換えワクチンについては、国内外の多くの研究室から報告がある。本研究では、本邦で使用されている麻疹ワクチン株、AIK-Cを用いた組換えワクチン、特にHIVや結核に対する候補ワクチンの開発を進めている。これまでのところ、緑色蛍光タンパク遺伝子(EGFP)、可変型 HIV env 遺伝子 (gp145)を H-L 遺伝子間、結核抗原遺伝子 (Ag85)を発現する組換えAIK-Cの作製が終了し、小動物モデル(マウス)を用いた *Ex vivo* における研究では、EGFP を発現する組換えAIK-C は、骨髄由来の未熟樹状細胞 (immature DC)へ感染することを確認している。現在、マウスを用いた免疫誘導効果の実験を進めており、組換えワクチンとしての効果を評価する予定である。［染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、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、CEF に nectin-4 相同分子(CEF nectin-4)が発現していることを明らかにし、加えてMVがCEF nectin-4 をウイルス受容体として利用できることを明らかにした。今年度は、MV ワクチン株が CEF への感染において実際に CEF nectin-4 を利用しているかについて、nectin-4 の利用能を減少させるアミノ酸変異を導入したワクチン株組換えウイルス(AIK/H(Y543A)-le-EGFP)を用いて解析した。CEF に感染させたところ、変異ウイルスでは巨細胞形成が認められず、感染効率が減少した。一方で、ポリクローナル抗ヒトnectin-4 抗体を用いてAIK-le-EGFPのCEF感染が阻止できるか解析したところ、感染の減少が認められたが完全な感染阻止は出来なかった。CEF nectin-4 が CEF における主要なMV 受容体かを解析する為に、CEF nectin-4 のアミノ酸配列をもとにペプチド抗体を作製した。作製した抗体が感染阻止能力をもつかCEF nectin-4 発現 CHO 細胞とMVを用いて解析を行ったが、感染の減少が認められなかった為、CEF におけるCEF nectin-4の感染阻止実験は実施できなかった。以上より、MV ワクチン株の CEF への感染において CEF nectin-4 が主要な受容体かは明らかに出来なかったが、本分子を利用して感染していることが示された。［關文緒、染谷健二、中津祐一郎、田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠］

5. 麻疹および風疹ウイルス分離に有用な細胞株の開発

現在、麻疹ウイルス分離用細胞として Vero/SLAM 細胞をWHO が推奨している。本細胞は風疹ウイルス分離においても有用であり、麻疹および風疹ウイルスの解析に役立っている。一方で、Vero 細胞はアフリカミドリザル由来であり、ワシントン条約加盟国では規制の対象となる。このため輸出入における手続きが煩雑となり海外への配布が難しい。このため、Vero/SLAM の代わりとなるウイルス分離用細胞の開発を目的として、サル由来以外の細胞株から麻疹ウイルスおよび風疹ウイルスに十分な感受性を持つ細胞を探索した。麻疹ウイルスはウイルス受容体を発現させることにより多くの細胞へ感染が可能になる。このため、まず風疹ウイルス感受性の高い細胞を選択し、これに麻疹ウイルス受容体 SLAM を発現した細胞株を作製し、各ウイルスの感染性を解析した。作製した細胞株におけるウイルス侵入効率を組換え麻疹ウイルスを用いて解析したところ、Vero/SLAM と同程度の侵入効率が得られた。一方で、麻疹ウイルスの細胞内増殖の解析から、げっ歯類由来の細胞株(BHK21、RK13)では麻疹ウイルスが十分に増殖できないことが明らかとなった。このことから、作製した他の細胞株についてさらに検討を進める予定である。
［關文緒、中津祐一郎、坂田真史、駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠］

6.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と宿主のタンパク質が協調的に働くことにより、麻疹ウイルスの複製が起こると考えられるが、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、感染細胞内でウイルスタンパク質と相互作用する宿主因子を共精製し、麻疹ウイルスの複製に関与する新規宿主因子の同定を試みた。感染細胞内から宿主因子を共精製するために、RNP 複合体と相互作

用することが知られている C タンパク質に親和性タグを導入し、精製に利用した。精製産物をSDS-PAGEにより解析したところ、コントロールと比較して、親和性タグ融合 C タンパク質で精製した場合にのみ見られるバンドが無数に存在した。タンパク質質量分析法によりタンパク質を同定したところ、これまでには麻疹ウイルスとの相互作用が未知の新規宿主因子が複数同定できた。今後、それらの宿主因子が麻疹ウイルスの感染サイクルのどの段階に重要かを詳細に解析していく予定である。[中津祐一郎、加藤大志、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠]

7. 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]

8. 麻疹ウイルスＨタンパク質のエピトープ解析

Hタンパク質上のエピトープについて多くの論文が発表されているが、それぞれが独自の解析手法やエピトープ名を用いているため、相互の関連を理解することが難しい。近年、Hタンパク質と受容体との複合体の立体構造も明らかにされており、これらのデータを再評価し、補完的データを加えることによりHタンパク質のエピトープの全体像を明らかにした。Dr.Claude P. MulerからHタンパク質に対するモノクローナル抗体の分与を受け、ルシフェラーゼ発現組換えウイルスを用いて中和解析を行い、これまでに得られている結果と比較した。Hタンパク質は、二量体を形成し、二量体同士がさらに結合した二量体による二量体(四量体)を形成している。エピトープは、大きく5つに分かれた。Hemagglutinating and noose epitopeと呼ばれているエピトープは、受容体結合部位の近傍にあり、免疫誘導能の強いエピトープであると考えられた。第二のエピトープは、受容体結合部位そのもので、免疫誘導能の強いエピトープであった。このエピトープ内の変異によって、一部の抗体による中和からエスケープするが、同時に受容体との結合能が消失した。。第三のエピトープ(sugar-shielded epitopeと命名)も受容体結合部近傍に位置しているが、流行株の一部では、新たに獲得したN結合型糖鎖によって隠された状態になっていた。ワクチンの有効性には、影響はないと考えられた。第四のエピトープ(loop epitopeと命名)は、受容体結合部位とは離れた場所にある比較的長いループ構造上に位置していた。、二量体同士の結合や膜融合を担うFタンパクとの相互作用に関係すると考えられた。第五のエピトープも、受容体結合部位とは離れた場所に位置しており、Neutralizing epitopeと呼ばれているエピトープである。このエピトープも二量体同士の結合に関係すると考えられた。

[田原舞乃、Jean-Philippe Bürckert[1]、加納和彦[2]、前仲勝実[3]、Claude P. Muller[1]、駒瀬勝啓、竹田誠：1: Luxembourg Institute of Health 、2:感染症疫学センター、3:北海道大学薬学研究院生体分子機能学]

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 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して発生した風疹の流行が終息し、2014～2015年には風疹患者数が減少した。風疹の排除を達成し、証明するためには、土着株による流行が途切れていることを明らかにしなくてはならない。そこで、日本の土着株と定義されるものがどのようなウイルス株であり、それが継続して検出されるかを検討した。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行ったところ、2010年から2013年までの風疹ウイルス株は、系統

樹上で少なくとも 6 つの異なるクラスターに分類されることがわかった。そのうち、遺伝子型 2B ウイルスの2系統および遺伝子型 1E ウイルスの1系統は、土着株と定義される12ヶ月間を越えて検出されたことからこれらの系統のウイルスが現在の日本の土着株と定義できるものと考えられた。2015 年に検出された株について遺伝子配列が解析できたものについてはこれらの系統のウイルスとは異なっていたことから、少なくともこれらについては土着株の継続的な流行に由来しないことが分かった。今後も継続的に解析調査を行い、風疹排除証明のための基礎情報を蓄積していく必要がある。[森嘉生、坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、全国地方衛生研究所、感染症疫学センター]

2. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の確立に関する研究

昨年度までに設計した RT-LAMP プライマーを使用し、合成 RNA（風疹ウイルス遺伝子型 1a）に対する感度を測定したところ、リアルタイム RT-PCR と比較して若干感度が落ちるものの、十分な感度があった。次に実際の臨床検体 13 検体を用いてリアルタイム RT-PCR 法との比較検討を行った。リアルタイム RT-PCR 法で陰性であった 4 検体はいずれも RT-LAMP 法でも陰性であった。一方、リアルタイム RT-PCR 法で陽性であった 11 検体のうち、6 検体は陽性となったが、5 検体は陰性となった。判定が一致しなかった 5 検体のうち 3 検体はウイルスコピー濃度が低くリアルタイム RT-PCR 法でも検出感度に近い検体であった。残りの 2 検体は同一患者の検体で十分な遺伝子コピー濃度があるにもかかわらず、RT-LAMP 法では検出できなかった。検体に含まれるウイルスを分離し解析したところ、遺伝子型 1E ウイルスであった。このウイルスの RT-LAMP 法のプライマー認識配列を解析したところ、F2c 部分に変異が蓄積していた。そのため、新規にプライマー配列を設計し、検出感度の悪かった検体由来ウイルスに対する検出感度が改善するかを検討したが、十分な改善は認められなかった。今後プライマーセットの再設計を行う予定である。[森嘉生、岡本貴世子、永井美智、影山努＊、竹田誠：＊インフルエンザ研究センター]

3. 風疹ウイルスワクチン株の温度感受性を規定する分子生物学的基盤の解明

現在日本国内では 3 株の風疹生ワクチンが使用されており、いずれの株も高温(39℃)でウイルスの増殖が著しく抑制される特徴を有している（温度感受性を有する）。温度感受性を規定する分子生物学的基盤は 3 株のうち 2 株（TO-336 株・高橋株）についてはある程度解明されているものの、残りの 1 株である松浦株においては解明されていない。これまでの研究により松浦株の温度感受性にはウイルスの非構造タンパク(NSP)および構造タンパク(SP)の両方が関係することが推測されている。そこで NSP 領域における温度感受性を規定する責任領域を決定するため、松浦ワクチン株およびその親株である松浦 B3 株温度感受性を有さない）の感染性クローンを基に各種キメラウイルスを多数作製し検討した。その結果、NSP 領域で温度感受性を規定する遺伝子はウイルスゲノム上 5‘末側に存在する 2 つの遺伝子が強く疑われたが特定には至らなかった。今後さらにキメラウイルスを作製し温度感受性規定遺伝子を特定する予定である。[大槻紀之、坂田真史、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生]

4. 第二次抗風疹血清パネルの値付けと抗風疹抗体検出キットの性能評価

妊娠早期の風疹感染により、出生児に先天性風疹症候群(CRS) と呼ばれる先天性疾患が現れる事がある。妊娠前の検査において感染防御に十分な風疹抗体価がある事を確認し、必要に応じてワクチンを接種することが CRS の唯一の予防法である。したがって、風疹抗体価測定法の精度の維持が重要となる。国内では主に赤血球凝集阻止（HI）法で測定されていたが、近年、酵素免疫法（EIA）、ラテックス免疫凝集法（LTI）等、種々のキットが発売されている。一方で、国外では測定キット間で陽性検出率や抗体価が大きく異なる報告があることから、国内での検証が急務となっている。風疹抗体価測定用の体外診断薬キットの精度の維持を目的として、国内で承認されている抗風疹 IgG 測定キットの性能評価を行うこととした。日本で承認されている抗風疹抗体価測定キットはウイルス抗体 EIA「生研」ルベラ IgG、エンザイグノスト B 風疹、ランピアラテックス RUBELLA、バイダス 風疹ウイルス IgG、アクセス ルベラ IgG、デタミナーCL 風疹 IgG であり、これらを用いて新規抗風疹国内血清パネルの値付けを行うと同時に、キットの性能評

価を行った。各キットとも良好な相関を示し、陽性率は84.5%〜88.8%と大きな乖離は見られなかった。WHO が風疹感染防御抗体のカットオフ値としている 10 IU/ml 相当値は、エンザイグノスト、アクセスでは WHO の基準を満たしたが、バイダス、「生研」、デタミナーでは満たさなかった。しかしながら、その差は小さく、大きな影響はないと考えられる。本研究の結果より、日本で使用されている抗風疹抗体測定キットの性能はほぼ同等であることが示された。[岡本貴世子、永井美智、竹田誠、森嘉生]

5. 風疹ウイルス受容体の探索

風疹ウイルスの細胞への感染及び赤血球凝集活性には細胞・赤血球上の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、細胞への感染においては、その初期に SM が役割を果たすことを同時に明らかとした。そこで、SM が感染初期のどの段階で影響を与えるかを確認したところ、SM 分解酵素であるスフィンゴミエリナーゼ(SMase)で細胞を処理することによりウイルスによる細胞の膜融合が引き起こされないことが明らかとなった。このことは、細胞上の SM がウイルス感染のうちウイルスの吸着〜膜融合を引き起こすまでのいずれかの段階で SM が重要な役割を果たすことを示すものと考えられた。また SM の有無がウイルスゲノムの複製に影響を与えるかを検討した結果、SMase 処理によりゲノム複製は抑制されないことを明らかとした。これらのことより、細胞の SM はウイルス感染において吸着〜膜融合に重要な役割を果たし、ウイルスの複製ステップには重要な役割を果たさないことを明らかとすることができた。[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. シュードタイプウイルスを用いた風疹ウイルス細胞侵入機構の解析

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や細胞等については、不明な点が多い。これまでに、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)を作製したことを報告した。本研究では、RVpvを用いて風疹ウイルスのヒト細胞への侵入機構について解析を行った。種々の接着系ヒト細胞株と浮遊系ヒト免疫細胞へ RVpv を接種して、Vero 細胞(風疹ウイルスの実験に用いられる標準的な細胞株)を比較対象として感染性を検討した。本研究に用いた一部の接着系ヒト細胞株(HEK293T, Huh7, NJG, JAR, JEG3)に RVpv は Vero 細胞と同等以上の感染性を示した。一方、浮遊系ヒト免疫系細胞株(U937, THP-1, Raji, M8166, Jurkat, MT2)には RVpv は全く感染性を示さなかった。以上の結果より、風疹ウイルスが一部のヒト接着系細胞株へ Vero 細胞と同等に侵入すること、並びに浮遊系免疫細胞への侵入効率が極めて低いことが示唆された。[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]

7. 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に限定される。しかし、ヒトに由来する培養細胞において、効率よく風疹ウイルスが増殖する細胞株はほとんど明らかになっていない。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、ヒト胎盤絨毛組織に由来する細胞株(NJG, JAR, JEG3)が風疹ウイルスに Vero 細胞と同等の高い感受性を示すことを明らかにしている。本研究では、更に胎盤絨毛由来の細胞株における風疹ウイルスの感染動態を解析するために、ウイルス産生能を検討した。Vero, NJG, JAR, JEG3 細胞へ風疹ウイルスを感染させて、感染後 120 時間まで 24 時間毎に培養上清を回収した。プラーク法により培養上清のウイルス力価を測定した。感染 24-48 時間後のウイルス力価は NJG, JAR, JEG3 全ての細胞で Vero 細胞と同等だった。感染 72-120 時間では、NJG と JAR は Vero 細胞と比較して 10-100 倍低いウイルス力価を示した。一方、JEG3 細胞は Vero 細胞と同等のウイルス力価を示した。以上の結果より、JEG3 細胞が風疹ウイルスに対して Vero 細胞と同等の感受性とウイルス産生能を持つことが明らかになった。JEG3 細胞はヒト細胞における風疹ウイルスの感染動態を解析するために有用であると考えられた。[坂田真史、安楽正輝、大槻紀之、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 MuV の増殖を上衣細胞特異的に抑制するため、上衣細胞において高発現する 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た。培養細胞およびラットを用いて検討した結果、rOdate/miR449 は防御免疫を付与するのに十分な末梢での増殖を保持しつつ、無菌性髄膜炎の発生リスクを軽減しうることが示唆されたため、霊長類を用いてさらにワクチンとしての有用性について評価を行った。マーモセットを用いて rOdate/miR449 の全身での増殖性および免疫原性について評価した結果、親株である rOdate 接種群では 5 頭中 2 頭の中枢神経(橋および視床を含む)からウイルス RNA が検出され、そのうち 1 頭では発熱症状を認めたのに対し、rOdate/miR449 接種群の中枢神経からはウイルス RNA は検出されなかった。一方、誘導された中和抗体価については両群で有意な差は認められなかった。カニクイザルを用いた免疫実験においても、rOdate/miR449 によって誘導された中和抗体価は親株と同等以上であり、さらに現行のワクチン株である Jeryl-Lynn 接種群に比べ有意に高い値であった。以上の結果より、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な手法であると考えられた。[加藤大志、網康至*、永田典代**、須崎百合子*、岩田奈織子**、竹田誠、木所稔:*動物管理室、**感染病理部]

2.ムンプスウイルス L タンパク質の機能発現における Heat shock protein 90 の役割

分子シャペロンの一つである Heat shock protein 90 (Hsp90)は多くの RNA ウイルスの増殖に重要な役割を果たしていることが知られている。そこでムンプスウイルス感染における Hsp90 の役割について、Hsp90 阻害剤である 17-AAG を用いて検討した。17-AAG 処理によって、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼである L タンパク質の発現量が低下し、ウイルス RNA 合成およびウイルス産生が抑制された。17-AAG 処理下では、L タンパク質は Heat shock protein 70 (Hsp70)およびユビキチンリガーゼである CHIP との相互作用が増加したことから、Hsp90 の機能を阻害すると、L タンパク質は Hsp70/CHIP 依存的にプロテアソームによって分解されることが示唆された。一方、17-AAG は P タンパク質と相互作用した L タンパク質の安定性およびポリメラーゼ活性には影響を及ぼさなかったことから、Hsp90 の L タンパク質に対するシャペロンとしての役割は一過性であると考えられた。以上の結果より、L タンパク質は Hsp90 によって適切にフォールディングされた後、P タンパク質へと受け渡され、ポリメラーゼとしての機能を発揮することが明らかになった。[加藤大志、久保田耐、中津祐一郎、木所稔、竹田誠]

3. 現行ムンプスワクチンの利点を生かした相互補完免疫プログラムのマーモセットモデルによる評価

国内におけるムンプスワクチン(MuVac)の定期接種化は喫緊の課題である。しかし、有効性が高いとされる国産 MuVac には安全性に懸念が有り、安全性の高い Jeryl-Lynn (JL)株では有効性に疑義がある。一方で、新規ワクチンの開発は容易ではない。そこで我々はこれらの問題点を早期に解消するため、現行ワクチンの利点を補完的に生かし、初回免疫を JL 株、追加免疫を国産ワクチン株で行う相互補完免疫法を考案し、その評価をマーモセットの感染モデル系で行った。

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(各群 3 頭)に初回免疫を JL 株で、追加免疫を国産株で行う相互補完免疫群 2 群(JL＋星野、および JL＋鳥居接種群)と、3 群の対照群(JL＋JL、星野＋星野、鳥居＋鳥居)をおいた。100 PFU の各ワクチン株を 8 週間隔で 2 回皮下接種した。その 8 週後に 10^4 PFU/頭の大館株を経鼻で攻撃接種し、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。攻撃後 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。

ワクチン接種後の中和抗体価の上昇は個体差が大きく、JL＋鳥居接種群以外では、3頭中1頭で抗体が陽転化しなかった。また、攻撃時の各群の平均中和抗体価は JL＋鳥居接種群が最も高く、次いで JL＋JL、JL＋星野、鳥居＋鳥居、星野＋星野接種群の順で高く、星野＋星野接種群が最も低かっ

た。攻撃接種後、ウイルス血症を認めなかったのは JL＋星野群のみであり、JL＋JL 接種群で 1 頭、JL＋鳥居、鳥居＋鳥居接種群で 2 頭、星野＋星野接種群では3頭全頭でウイルス血症を認めた。

以上の結果から、マーモセットにおいては JL 株に対する国産ワクチン株の免疫原性における優位性は認められず、従って相互補完免疫法の有効性も立証されなかった。また、感染防御と中和抗体価の相関を調べるため、攻撃後ウイルス血症陰性の個体群と陽性の個体群との中和抗体価の平均値を比較したところ、有意差が認められず(P=0.284)、中和抗体陰性の個体においても感染防御が認められた。以上の結果から、抗ムンプス中和抗体価はワクチンの感染防御能のサロゲートマーカー(代替指標)として参考にならない可能性が示唆された。

[木所稔、加藤大志、村野けい子、須崎百合子＊、永田典代**、岩田奈織子**、長谷川秀樹**、安楽正輝、竹田誠、網康至＊:＊動物管理室、**感染病理部]

4. マーモセットモデル系による次世代ムンプスワクチンの評価

麻しんワクチン AIK-C 株に MuV 遺伝子を組み込んだ組換え二価ワクチンの有効性をマーモセットモデル系で評価した。まず、その基礎実験として、リバースジェネティクス法で作成した組換え AIK-C 株(rAIK-C)をマーモセットに皮下接種したところ、発疹と共に、高い抗麻疹抗体が誘導され、マーモセットが麻疹ウイルスに対しても高い感受性を持つことが確認された。そこで、麻しんワクチン AIK-C 株に MuV の F(rAIK-C/F)、もしくは HN 遺伝子を組み込んだ(rAIK-C/HN)組換え二価ワクチンウイルスをそれぞれマーモセットに 4 回皮下接種したところ、rAIK-C/HN 接種群では全頭で、rAIK-C/F 接種群では 3 頭中1頭で抗麻疹抗体が誘導された。しかし、抗ムンプス中和抗体はいずれの接種群においても誘導されなかった。マーモセットの活動時の体温は 39℃と高く、また外来遺伝子の導入によって AIK-C 株の温度感受性が更に強くなったことが、抗体誘導にマイナスの影響を及ぼしたことが示唆された。

[木所稔、加藤大志、村野けい子、須崎百合子＊、網康至＊、中山哲夫**:＊動物管理室、**北里大学生命科学研究所]

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

ムンプスワクチンの定期接種化が強く求められている現在、国内におけるムンプスサーベイランス網の整備と国内で流行するムンプスウイルスの分子疫学データの集積は喫緊の課題である。我々はその雛形となるネットワークを構築すべく、全国の地方衛生研究所に協力を求め、各地衛研で検出されているムンプスウイルスの情報の集約と解析を行った。

全国 16 ヶ所の地衛研と三重病院の協力の下に、ムンプスウイルスの検出情報(配列情報、および検体情報)を主にメールで国立感染症研究所に集約した。また、分離ウイルスの分与を受け、感染研でシーケンス解析を行った。感染研からは、実験室診断用プロトコールや RT-PCR 用プライマー、陽性コントロールを提供した。集約されたムンプスウイルスの塩基配列は、2012 年に WHO から提案されたプロトコールと遺伝子型標準株を基準として、NJ 法を用いて遺伝子型を決定した。

全国の 14 施設から検体情報、および分離株の提供が得られた。その結果、2015 年のムンプスの流行を反映して 118 検体の情報が集約された。その全てが遺伝子型 G であった。これらのほとんど(98 例、83%)は、いわゆる西日本型(Gw)であり、2014 年までの傾向を維持していた。しかし、2014 年には検出されていなかった東日本型(Ge)が茨城県、神奈川県、三重県、沖縄県で検出された。これらの中で、茨城県と三重県内で検出された 2 例は，沖縄県での分離例と SH 領域の配列が同一であった。一方、沖縄県内の流行状況は他の地域と異なり、Gw と Ge の比率はほぼ同じであった。しかし、それらの地理的分布には明確な偏りが有り、沖縄本島ではほとんどが Ge であるのに対し、離島の宮古では全てが Gw 型であった。また、八重山地域で分離された 1 例はこれまで国内で分離例の無い系統であった。この株は、2014 年に香港で分離された株に最も近縁であることから、中国からの輸入感染例であることが示唆された。

[木所稔、村野けい子、竹田誠、庵原俊昭*、各地方衛生研究所の研究協力者**:*国立病院機構三重病院、 **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、静岡市環境保健研究所、愛知県衛生研究所、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、北九州市環境局環境科学研究所、佐賀県衛生薬業センター、熊本県保健環境科学研究所、沖縄衛生環境研究所]

6. ムンプスのラボ診断用新規アッセイ系の確立

ムンプスワクチン定期接種導入後のワクチン効果を評価するために、国内におけるムンプスウイルス(以下 MuV)の流行状況を正確に把握する体制を整備することが喫緊の課題となっている。そのためには迅速で精度の高いラボ診断技術が必須となる。現在国内のムンプスのラボ診断は RT-PCR 法が主流となっている。RT-PCR 法は感度が高く、ウイルスのゲノム配列情報が得られる等の利点がある一方で、交差汚染のリスクが高い点が問題となっている。そこで、交差汚染リスクの低い Real-time PCR 法を確立し、その手技をムンプスサーベイランス網の主体となる地方衛生研究所に導入することを目指す。RT-PCR 法の欠点を補完する新たな診断方法として、RNA から直接診断できるワンステップ Real-time PCR 法について 2 種類の市販キット(QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen)、および LightCycler 480 RNA Master Hydrolysis Probes(Roche))について、その検出感度、信頼性について検討した。その結果、いずれのキットにおいても少なくとも 4 コピーからウイルス RNA が検出可能であり、感度の点では両キットとも申し分ないことが確認された。一方、信頼性の点では再現性と定量性の点で QuantiTect Probe RT-PCR Kit が優れていた。

[木所稔、村野けい子、加藤大志]

7. 次世代シーケンサによる全ゲノム配列決定による精度の高い系統解析法の検討

現行のムンプスウイルスの分類と同定は、もっぱら SH 遺伝子領域の 316 塩基に基づく系統解析によって行われる。しかし、野外分離株ではしばしば 10 年以上にわたって全く同じ塩基配列を持つウイルスが流行し続ける場合がある。一方、ワクチンの定期接種導入後のワクチン効果の評価においては、個々の流行の関連性を厳密に評価する事が求められることから、従来の SH 遺伝子での系統解析には自ずと限界が生じる。そこで我々は、次世代シーケンサ(NGS)による全ゲノム配列決定による、ムンプスウイルス分離株の系統解析を試みた。材料として、三重県内で 1999 年、2003 年、2007 年、2010 年分離され 10 年以上にわたって全く同じ SH 遺伝子配列を持つ 4 株を用いた。ウイルス培養上清から、総 RNA を抽出し、RNA シーケンスキットによってサンプル調製を行い、MiSeq を用いて全ゲノム配列情報を取得した。ゲノム配列情報の解析は CLC WorkBench を用いた。

その結果、4 株の培養上清から、1 回の解析で全ゲノム配列を決定することができた。この情報を元に系統解析したところ、各株間で 0.4～0.9%の範囲で塩基の違いが 認められ、系統関係はほぼ時系列に沿った形になった。

[木所稔、村野けい子、白銀勇太]

IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1. Vero/TMPRSS2 細胞を用いた迅速な MERS-CoV ウイルス中和試験法の開発

MERS-CoV の検査は RT-PCR によるウイルス遺伝子検出が主となっている。ウイルス感染の多面的な診断を行うためには遺伝子検出のみならず血清学的診断方法の開発も必要である。MERS-CoV は Vero 細胞で分離されるが、その CPE はラウンディング等であり、感染が原因ではない細胞死と区別がしにくい。しかし膜型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 を発現させた Vero 細胞では MERS-CoV は非常にクリアなシンシチウムを形成することがわかっており、これを利用して中和試験を行えるか否かの検討を行った。日本大学の協力を得、2012 年にエチオピアで採取されたヒトコブラクダ血清を用いて中和試験を行った。結果として Vero/TMPRSS2 細胞を用いれば培養 1 日を含む 2 日で中和試験を完了させることが出来、調べた検体のうち 95%が MERS-CoV 陽性であることがわかった。なかには 2 万倍の希釈倍率を示した検体も存在した。従って Vero/TMPRSS2 細胞は中和試験にも有用であり、またこれらのラクダ血清は中和反応において陽性コントロールとして利用する事が可能であると考えられる。[白戸憲也、松山州徳]

2. 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 MERS-CoV による重症肺炎は、現在でも中東を中心として発生が続いている。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。これに加え、我々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検出法の開発をおこなっている。これまでにウイルスのNucleocapsid (N) proteinの保存領域を検出するLAMPプライマーセットを開発したが、さらに他の遺伝子領域でウイルス検出ができるように、開発を続けている。現在までに、2領域でリアルタイムPCRと同程度の感度でウイルスを検出することに成功している。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、既存のリアルタイムRT-PCR法に加えて運用することで、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］

3. コロナウイルスの細胞侵入機構について

ヒトコロナウイルス229E（HCoV-229E）は小児に蔓延している風邪の病原体である。このウイルスが細胞侵入するとき、細胞のプロテアーゼを利用することが知られている。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。コロナウイルスがエンドソームを介して侵入する場合、ウイルス増殖に不利であるため、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、松山州徳］

4. ヒトRSウイルスの複製に関与する宿主因子の特定

Respiratory syncytial virus(RSV)は世界中に広く分布しており、生涯にわたり再感染を繰り返す。特に生後6カ月以内の乳幼児で重症化するが、近年では高齢者での重症患者も増加している。RSVに対するワクチンは未だ存在せず、過去のワクチントライアルにおいては逆に重症化した。従ってRSV感染症のコントロールには、ワクチン以外にも抗ウイルス薬の開発が有用と考えられる。抗ウイルス薬開発の標的を検索するためにはウイルス複製のメカニズムが明らかになっている必要がある。RSウイルスはnucleolinが主要なreceptorであるということが報告されているが、他のco-receptorやウイルス複製に関与する宿主因子はよくわかっていない。そこでRSV低感受性のMDCK細胞にRSウイルス感受性のヒト細胞由来のcDNAライブラリーを導入し、RSウイルス感受性化した細胞クローンと親株のMDCKを用いたマイクロアレイ解析を行い、高発現分子、膜型分子、プロテアーゼなどを条件としたスクリーニングを行った結果、いくつかの分子がピックアップされ、なかでもCCL2、Ephrin-B2、およびRARRES2の3分子がRSウイルス複製に関与している可能性が示唆された。すなわち、これらの強制発現により、RSウイルス複製は上昇した。Ephrin-B2およびRARRES2は膜型分子であるが、これらに対するsiRNA処理により、ウイルス複製が低下することが明らかとなった。［白戸憲也、松山州徳］

5. 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インフルエンザAウイルス（IAV）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.）。本研究ではIAVと同じオルソミクソウイルス科に属するインフルエンザBウイルス（IBV）のヒト臨床分離株3株とマウス馴化株1株の計4株を用いて、培養細胞及びマウス生体内におけるTMPRSS2の影響を解析した。IBV感染HeLa細胞ではHAタンパク質の開裂は認められなかったが、IBV感染ヒトTMPRSS2発現HeLa細胞及びIBV感染マウスTMPRSS2発現HeLa細胞培養細胞ではそれぞれHAタンパク質の開裂が認められた。次に、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IBVをそれぞれ経鼻感染させ、ウイルス学的解析を実施した。マウスの致死率、体重変動、肺洗浄液のウイルス力価の結果とほぼ同様に、KOマウスとWTマウスの肺乳剤のウイルス力価やHA開裂率についても、顕著な差は認められなかった。したがって、IAVとは異なり、IBV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**、高山郁代***、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］

6. H3N2 亜型 HA タンパク質ストーク領域糖鎖欠失インフルエンザウイルスを用いた抗原性解析

我々は、季節性インフルエンザ A ウイルス（IAV）H3N2 MA-GZX 株（H3p0）の増殖に宿主プロテアーゼである TMPRSS2 が必須であること（Sakai et al. 2014. J. Virol.）、MA-GZX 株の HA タンパク質の 1 アミノ酸変異を伴い、HA ストーク領域の糖鎖が欠失したウイルス（H3p10）は、TMPRSS2 以外のプロテアーゼを用いて TMPRSS2 遺伝子欠損マウスで病原性を示すこと（Sakai et al. 2015. J. Virol.）をこれまでに明らかにした。これまでの解析から、HA ストーク領域のこの糖鎖の欠失によるウイルスのデメリットは認められず、しかしながら、自然界で流行している大部分は糖鎖が存在している。この糖鎖が HA タンパク質開裂部位近傍で、TMPRSS2 などのプロテーゼのアクセスに関与していることが考えられるが、HA タンパク質ストーク領域の糖鎖の存在意義については不明である。一方、近年、異なる亜型間の IAV 共通抗原認識領域が HA ストーク領域に存在することが報告されている。この糖鎖は、その共通抗原認識領域の抗体認識を回避するために、ウイルスが獲得した回避機構と仮説を立て、H3p0 と H3p10 の感染耐過血清を用いて、抗原性が異なる H3N2 ウイルスとの抗原交叉性の解析を実施した。同一抗原性の H3p0 に対して十分な中和活性を示す H3p0 と H3p10 感染耐過血清と 2015/16 シーズンインフルエンザワクチンとして WHO が推薦する A/Switzerland/9715293/2013（H3N2）のウイルス中和試験では、いずれの血清においても、交叉反応は検出限界以下であった。今後、他の抗原性の異なる H3N2 のウイルス中和試験や H3p10 の感染耐過血清中に HA ストーク領域に対する抗体が十分に誘導できているのか、詳細な解析を試みる。［酒井宏治、高山郁代**、網康至*、小田切孝人**、駒瀬勝啓、竹田誠：*動物管理室、**インフルエンザウイルス研究センター］

7. ヒトメタニューモウイルスの C57BL/6 マウス重症化感染モデル作出の試みと病原性発現必須因子の検索

ヒトメタニュウーモウイルス（hMPV）及びヒト RS ウイルスは、共にパラミクソウイルス科 ニューモウイルス亜科に分類され、特に乳児及び高齢者において、重篤な下気道感染症を引き起こす。また、これらウイルス感染に対する免疫応答は、再感染を予防することができず、発症を繰り返す。しかしながら、これらウイルスの発症を阻止できる有効なワクチンや重症化を阻止できる抗ウイルス薬は、現時点では存在しない。更に、重篤な細気管支炎や肺炎などの下気道症状を再現できるマウス感染モデルも未開発である。ワクチンや抗ウイルス薬の開発・性能評価、病原性発現必須因子の検索にも有用な、hMPV の C57BL/6 マウスでの感染モデルの作出のため、C57BL/6 マウスでの連続継代を試みた。高力価ウイルス感染後（10^6pfu/head）、肺病変を伴う一過性の体重減少（感染 6 日後に約 25%減少）が認められたが、その後予後良好に回復した。感染 2,4,6 日後の感染肺から回収した感染性ウイルスについては、新たなマウスに継代することはできず、マウスの免疫系によりウイルスが排除された。用いた hMPV 株は、Vero 細胞では F 蛋白質が開裂せず、多段増殖できなかったが、TMPRSS2 発現 Vero 細胞では、F 蛋白質が効率よく開裂し、多段増殖した。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 hMPV をそれぞれ経鼻感染させたところ、TMPRSS2 KO マウスでも一過性の体重減少と肺病変、組換え hMPV のレポーター遺伝子ルシフェラーゼの発現が、野生型マウスと同様に認められ、病原性発現に必須の宿主因子でないことが示唆された。しかしながら、両マウスの感染肺での F 蛋白質の開裂については、検出限界以下であり、開裂の有無を検証することが出来なかった。今後、免疫関連遺伝子ノックアウトマウスを用いて、F 蛋白質の開裂が確認できる感染モデルを作出し、C57BL/6 マウス重症化感染モデルの作出を試みる。また、その免疫関連遺伝子ノックアウトマウスと TMPRSS2 KO マウスのダブルノックアウトマウスを作出し、hMPV の病原性発現に TMPRSS2 が必須かどうか明らかにする。［酒井宏治、網康至*、安楽正輝、駒瀬勝啓、竹田誠：*動物管理室］

サーベイランス業務

1. 平成 27 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。HI 試験誤差の有無を検討するための調査用検体を整備・配布し、各施設で測定してもらい、その結果を集計した。また、平

成 25, 26 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 4 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 3 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 36 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 215 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、白銀勇太、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。所内ボランティアより週種したヒト血清約 120 検体について、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 6 種による値付けを行った。[岡本貴世子、永井美智、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、山田裕加里、駒瀬勝啓]
2. 1 ヵ所の地方衛生研究所に Vero/hSLAM 細胞を配布した。[關文緒、山田裕加里、駒瀬勝啓]
3. 麻疹病原体検出マニュアルを一部、改訂した [中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓]
4. 全国 73 カ所の地方衛生研究所に麻疹リアルタイム PCR 用、プライマー、プローブ、標準 RNA を配布した。また 1 カ所の地方衛生研究所に RT-PCR 用参照 RNA を配布した。[中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓]
5. 20 ヶ所の地方衛生研究所に麻疹検査法に関する外部精度管理を実施した。[中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓]
6. 第 36 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]2015 年 7 月 22-24 日
7. 風疹に関する行政検査 1 件を実施した。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生]
8. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 13 カ所の地方衛生研究所等に配布した。[森嘉生、永井美智]
9. 病原体検出マニュアル・風疹(第 3.1 版)の改訂を行った。[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]
10. ムンプスの行政検査を 4 件実施した。[木所稔]
11. MERS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 22 件 海外 3 件。[白戸憲也、松山州徳]
12. SARS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件。[白戸憲也、松山州徳]
13. MERS コロナウイルス確定診断、行政検査 8 件。[白戸憲也、白銀勇太、松山州徳]
14. 6ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス RT-PCR 用のプライマーセット及び陽性コントロールウイルス RNA を送付した。[木所稔、村野けい子]

国際協力業務

1. 5th Meeting on Vaccine-Priventable Diseases Laboratory Network and Polio Biorisk Management Training in The Western Pacfic Region に参加し、日本の活動内容、ならびに麻疹、風疹の状況を報告し、また、ネットワーク機能の向上に関する議論を行った。[駒瀬勝啓](2015 年 5 月 26 日～29 日)
2. 13th Global measles and rubella laboratory network

meeting(2015年6月30〜7月2日:スイス、ジュネーブ)に参加し、日本の麻疹ウイルス、風疹ウイルスの分子疫学、CRS サーベイランスについての発表を行うとともに、診断法、検体輸送法、精度管理等に関して議論した。[駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠]

3. ベトナムハノイの NIHE を訪問し、麻疹の検査診断法について協議した[駒瀬勝啓](2015 年 9 月 7 日〜11 日)
4. 第 12 回日本台湾感染症シンポジウム(2015 年 9 月 10-11 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]
5. MERS-CoV, 50th US-Japan Cooperative Medical Science Program (2016 年 1 月 11〜15 日、メリーランド、USA) に参加 [松山州徳]
6. WHO Expert Working Group Meeting on RSV Surveillance based on the GISRS Platform, 2016 年 2 月 2〜3 日、スイス、ジュネーブ) に参加、[白戸憲也]
7. 中国、香港で行なわれた「The Sixth Regional Hands-on Training on Laboratory Molecular Diagnosis of Measles and Rubella」に temprorary adiviser として参加し、麻疹、風疹の分子生物学的検査診断法の研修を行なった。[駒瀬勝啓](2016 年 2 月 29 日〜3 月 4 日)

研修業務

1. 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]2015 年 6 月 11 日
2. ベトナムからの研修生 8 名に「麻疹と麻疹ワクチン」に関する講義を行った。[駒瀬勝啓](2015 年 9 月 2 日)
3. MERS 国際研修、2015 年 12 月 7〜11 日、感染研村山庁舎 [白戸憲也, 松山州徳]
4. JICA「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)」研修生 9 名に「麻疹と麻疹ワクチン」の講義を行なった。[駒瀬勝啓](2016年1月 28 日)
5. JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生 14 名に麻疹抗体測定法、PCR 法等の実習を行った。[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] 2016 年 1 -2 月
6. 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 14 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] 2016 年 1-2 月
7. 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」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(2016 年 1 月 28 日)[森嘉生]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Seki F, Someya K, Komase K, Takeda M. A chicken homologue of nectin-4 functions as a measles virus receptor. Vaccine. 2016 Jan 2;34(1):7-12.
2. Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takeyama I, Sangsriatanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. (2016) TMPRSS2 independency for haemagglutinin cleavage in vivo differentiates influenaza B virus from influenza A virus. Sci Rep 6:29430
3. 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.
4. Sakai K, Hagiwara K, Omatsu T, Hamasaki C, Kuwata R, Shimoda H, Suzuki K, Endoh D, Nagata N, Nagai M,

Katayama Y, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Mizutani T, Maeda K. (2015) Isolation and characterization of a novel Rhabdovirus from a wild boar (*Sus scrofa*) in Japan. Vet Microbiol. 179(3-4):197-203.

5. Tahara M, Burckert J, Kanou K, Maenaka K, Muller CP, Takeda M. (2016) Measles virus hemagglutinin protein epitopes: The basis of antigenic stability. Viruses 8:E216
6. Okamoto K, Mori Y, Komagome R, Nagano H, Miyoshi M, Okano M, Aoki Y, Ogura A, Hotta C, Ogawa T, Saikusa M, Kodama H, Yasui Y, Minagawa H, Kurata T, Kanbayashi D, Kase T, Murata S, Shirabe K, Hamasaki M, Kato T, Otsuki N, Sakata M, Komase K, Takeda M. (2016) Evaluation of sensitivity of TaqMan RT-PCR for rubella virus detection in clinical specimens. J. Clin. Virol. 80: 98-101.
7. Okamoto K, Ami Y, Suzaki Y, Otsuki N, Sakata M, Takeda M, Mori Y. (2016) Analysis of the temperature sensitivity of Japanese rubella vaccine strain TO-336.vac and its effect on immunogenicity in the guinea pig. Virology 491:89-95.
8. 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.
9. Katoh H, Nakatsu Y, Kubota T, Sakata M, Takeda M, Kidokoro M. (2015) Mumps virus is released from the apical surface of polarized epithelial cells, and the release is facilitated by a Rab11-mediated transport system. *J. Virol.*, 89(23), 12026-34.
10. Katoh H, Kubota T, Ihara T, Maeda K, Takeda M, Kidokoro M. (2016) Cross-neutralization between human and African bat mumps viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 22(4), 703-6.
11. Shirato K, Azumano A, Nakao T, Hagihara D, Ishida M, Tamai K, Yamazaki K, Kawase M, Okamoto Y, Kawakami S, Okada N, Fukushima K, Nakajima K and Matsuyama S. (2015). Middle East respiratory syndrome coronavirus infection not found in camels in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 68(3):256-258
12. Shirato K, Ujike M, Kawase M and Matsuyama S. (2015). Identification of CCL2, RARRES2 and EFNB2 as Host Cell Factors that Influence the Multistep Replication of Respiratory Syncytial Virus. Virus Research. 210:213-226.
13. Rota P, Moss WJ, Takeda M, de Swart RL, Thompson KM, Goodson JL.(2016) Measles. Nat Rev Dis Primers 2:16049
14. Mulders MN, Rota PA, Icenogle JP, Brown KE, Takeda M, Rey GJ, Mamou MCB, Dosseh ARGA, Byabamazima CR, Ahmed HJ, Pattamadilok S, Zhang Y, Gacic-Dobo M, Strebel PM, Goodson JL. (2016) Global measles and rubella laboratory network support for elimination goals, 2010-2015. MMWR 65:438-442
15. 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.
16. Yamamoto M, Matsuyama S, Li X, Takeda M, Kawaguchi Y, Inoue J, Matsuda Z. (2016) Identification of nafamostat as a potent inhibitor of Middle East respiratory syndrome (MERS) corona virus S-mediated membrane fusion using the split protein-based cell-cell fusion assay. Antimicrob Agents Chemother (in press)
17. Okamoto M, Miyazawa T, Morikawa S, Ono F, Nakamura S, Sato E, Yoshida T, Yoshikawa R, Sakai K, Mizutani T, Nagata N, Takano J, Okabayashi S, Hamano M, Fujimoto K, Nakaya T, Iida T, Horii T, Miyabe-Nishiwaki T, Watanabe A, Kaneko A, Saito A, Matsui A, Hayakawa T, Suzuki J, Akari H, Matsuzawa T, Hirai H. (2015) Emergence of infectious malignant thrombocytopenia in Japanese macaques (Macaca fuscata) by SRV-4 after transmission to a novel host. Sci Rep. 5:8850.
18. Sakata R, Nagita A, Kidokoro M, Kato A, Ogino K.

(2015) Virus genotypes and responses of serum-specific antibodies in children with primary mumps and mumps reinfection. Pediatr Res. 78(5), 580-4.

和文発表

1. 竹田誠、酒井宏治、關文緒、(2016)イヌジステンパーウイルスの流行と宿主域の拡大、感染症 46:8-12
2. 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
3. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 駒瀬勝啓(2015)欧米における麻疹の状況と日本の麻疹の排除の維持、感染炎症免疫 45(3): 259-261
8. 駒瀬勝啓(2015) 日本の麻疹の状況と麻疹排除の進捗、モダンメディア 61(4); 81-90.
9. 駒瀬勝啓、竹田誠、(2016)インドネシアにおける麻疹の状況、病原微生物検出情報 37:67-68.
10. 酒井宏治、関塚剛史、(2015)インフルエンザ A ウイルスの HA ストーク領域の糖鎖欠失によるプロテアーゼ特異性の変化、臨床とウイルス 43(3):75-85.
11. 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
12. 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
13. 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.
14. 松山州徳, 13年前の SARS コロナウイルスのアウトブレイク, LABIO21,1 月号 (2016)
15. 松山州徳, MERS-CoV の基礎研究, IASR 12 月号, 2015
16. 白戸憲也, MERS コロナウイルスの宿主としてのラクダについて, IASR 12 月号, 2015
17. 松山州徳, 韓国における MERS の感染拡大と日本の対応, 獣医疫学雑誌 19(2),(2015)
18. 松山州徳, 感染症法において規制対象となるコロナウイルス, SARS と MERS,JBSANL,No.14(2015)
19. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス, 大阪大学学友会誌 10 月号(2015)
20. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス, LABIO21,10 月号 (2015)
21. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS), 小中高学保健ニュース,9/28 号(2015)
22. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS),救急医学, 9月臨時増刊号 Vol.39 No10 (2015)
23. 松山州徳, MERS-CoVーコロナウイルス感染症, 獨協医学会雑誌 特集号 (2015)
24. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS), 公衆衛生, 79 巻 7 号 (2015)
25. 松山州徳, MERSコロナウイルス, 公衆衛生情報,4 月号 (2015)
26. 白戸憲也, MERS コロナウイルスの検査法について, IASR 12 月号, 2015
27. 久場由真仁、喜屋武向子 新垣絵理、髙良武俊、加藤峰史、岡野祥、久高潤、大城裕子、宜保諒、森近省吾 安里とも子、大城勇磨、饒平名長令、座嘉比照子、大野惇、砂川洋子、木村太一 金城房枝、當間卓弥、池田勉、大屋記子、木所稔、(2016) 遺伝子型 G ムンプスウイルスによる 5 年ぶりの流行性耳下腺炎の流行—沖縄県、病原微生物検出情報(速報) 3 月 29 日

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Takeda M. (2015 August 28-29, Evanston, IL, USA) Proteolytic activation of influenza and parainfluenzaviruses in vivo. From Flu to Parainflu and Beyond: Honoring Four Decades of RNA Virus Research and Teaching (Dr. Robert A. Lamb) at Northwestern University.
2. Takeda M. (2015 November 28, Kyoto, Japan) Recent

progress, current situation and future prospects of measles and rubella in Japan. The 9th Japan-China-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention.

3. Seki F, Someya K, Tahara M, Nakatsu Y, Komase K, Takeda M. (2015 June 14-19 Siena Italy) Measles virus has the ability to infect chicken embryonic fibroblasts through chicken nectin-4. Negative strand virus meeteing 2015.
4. Seki F, Someya K, Komase K, Takeda M. (2015 October 6-7, Decatur, GA, USA) A possible role of the nectin-4 homologue chicken mokecule as a cellular receptor for measles virus vaccines to spread in chicken embryonic fibroblasts. 4th Mini Measles Rubella Symposium.
5. Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Sekizuka T, Nakajima N, Anraku M, Tahara M, Kubota T, Komase K, Takehara K, Odagiri T, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. (2015 June 14-19, Siena, Italy) Host and viral determinants of proteolytic activation of influenza viruses. Negative Strand Virus Meeting 2015.
6. Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Sekizuka T, Nakajima N, Anraku M, Kubota T, Odagiri T, Kuroda M, Hasegawa H, Tashiro M, Takeda M. (2015 September 17-20, Potomac, MD, USA) Host and viral determinants of in vivo proteolytic activation of influenza viruses. 2015 ASBMB Special Symposia Series. Membrane-Anchored Serine Proteases.
7. Sakai K, Ami Y, Sekizuka T, Kitazawa M, Nakajima K, Anraku M, Nakajima N, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M (2015 September 6-9, Hyogo, Japan) Molecular determinants of proteolytic activation of respiratory Ortho- and Paramyxoviruses in vivo. The 14th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
8. Mori Y, Sakata M, Takeda M. (2015 Oct 6-7, Atlanta, Georgia, USA) Molecular epidemiology of rubella epidemic in Japan between 2012 and 2013 The 4th 4th Measles-Rubella Mini Symposium.
9. Sakata M, Tani H, Otsuki N, Okamoto K, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y. (2015 Oct 6-7, Atlanta, Georgia, USA) Analysis of susceptibility of a variety of human cell lines to rubella virus. The 4th 4th Measles-Rubella Mini Symposium.
10. Shirato K, Ujike M, Kawase M and Matsuyama S, Identification of host cell factors that influence the multistep replication of respiratory syncytial virus. (2015). American Society for Virology 34th Annual Meeting, London, Ontario, Canada. July 11-15.
11. 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. Takeda M, Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Natthanan S, Anraku M, Nakajima N, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M、A natural host model revealed the essential role of the host protease TMPRSS2 for respiratory paraxyxovirus pathogenicity、W1-E-01、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月
2. 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
3. 竹田誠、酒井宏治、A 型ならびに B 型インフルエンザウイルスの病原性発現における宿主プロテアーゼ要求性の明確な違いについて、第 47 回日本小児科学会、福島、2015 年 10 月 31 日～11 月 1 日
4. 駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹排除の進捗状況- 流行ウイルスの解析による評価 -、第 56 回日本臨床ウイルス学会学術集会、岡山、2015 年 6 月 13-14 日
5. 駒瀬勝啓、大園強、緑川圭、三柴雅昭、渡辺創、永田明義、梅木和宣、竹田誠、麻疹 IgM EIA キットの改良が麻疹排除に与えたインパクト、第 18 回日本ワクチン学会学

術集、2015 年 11 月 14-15 日

6. Seki F, Someya K, Tahara M, Nakatsu Y, Sakai K, Komase K, Takeda M. ニワトリ nectin-4 の同定と初代鶏胚線維芽細胞への麻疹ウイルス感染における役割、第 63 回日本ウイルス学会、福岡(2015 年 11 月 22-24)
7. Sakai K, Sekizuka T, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Nakajima N, Anraku M, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M、The stalk oligosaccharide of influenza A virus hemagglutinin protein modulates protease specificity for virus activation and pathogenicity、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月
8. 酒井宏治、野生水禽由来 H7N1 IAV と宿主プロテアーゼ TMPRSS2、5th Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2015 年 1 月
9. 酒井宏治、網康至、中島勝紘、北沢実乃莉、中島典子、関塚剛史、安楽正輝、竹原一明、小田切孝人、長谷川秀樹、黒田誠、田代眞人、竹田誠、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 非依存的インフルエンザウイルスの *in vivo* 増殖機構、9、第 29 回 インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、東京、2015 年 5 月
10. 北沢実乃莉、酒井宏治、関塚剛史、中島勝紘、網康至、安楽正輝、中島典子、久保田耐、駒瀬勝啓、竹原一明、長谷川秀樹、田代眞人、黒田誠、竹田誠、H3N2 インフルエンザ A 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、DVO-4、第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年 9 月
11. 中島勝紘、酒井宏治、北沢実乃莉、Natthanan S、安楽正輝、網康至、駒瀬勝啓、竹原一明、竹田誠、カモ由来 H7N1 インフルエンザ分離株の性状解析、第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年 9 月
12. Natthanan S、酒井宏治、高木翼、北沢実乃莉、中島勝紘、安楽正輝、駒瀬勝啓、竹原一明、竹田誠、Activation of human metapneumovirus subtype A2 strain by TMPRSS2、DVO-70、第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年 9 月
13. Angeline Ping Ping、平井卓哉、山口良二、酒井宏治、闕文緒、竹田誠、イヌジステンパーウイルスのマウス脳接種とマウスネクチン 4 発現 Vero 細胞の感受性についての検討、DVO-40、第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年 9 月
14. 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 宿主細胞のスフィンゴミエリンは風疹ウイルスの感染において重要な役割を有する 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月 22-24 日
15. 坂田真史、谷英樹、大槻紀之、岡本貴世子、大槻紀之、安楽正輝、永井美智、竹田誠、森嘉生、シュードタイプ VSV を用いた風疹ウイルス細胞侵入機構の解析、第 63 回日本ウイルス学会、福岡、2015 年 11 月 22-24 日
16. 木所稔、駒瀬勝啓、竹田誠、東アジア地域で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 56 回日本臨床ウイルス学会、岡山、2015 年 6 月 13-14 日
17. 木所稔、加藤大志、青木なつ子、村野けい子、永田典代、須崎百合子、竹田誠、長谷川秀樹、安楽正輝、網康至、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、第 19 回日本ワクチン学会学術集会、犬山、2015 年 11 月 14-15 日
18. Katoh H, Nakatsu Y, Kubota T, Takeda M, Kidokoro M. Mumps virus is released from the apical surface of polarized epithelial cells, and the release is facilitated by a Rab11-mediated transport system. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月 22-24 日
19. 加藤大志、中津祐一郎、久保田耐、竹田誠、木所稔、Rab11 を介したリボ核タンパク質複合体の Apical 輸送がムンプスウイルスの極性上皮細胞における増殖を促進する、第 67 回日本細胞生物学会大会、東京、2015 年 6 月 30 日-7 月 2 日
20. 安楽正輝、網康至、木所稔、村野けい子、青木なつ子、梁明秀、竹田誠、コモンマーモセットを動物モデルとしたムンプスワクチン特異的な細胞性免疫ならびにサイトカイン変動測定評価系の構築、第 19 回日本ワクチン学会学術集会、犬山、2015 年 11 月 14-15 日
21. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)とは, バイオセーフティー学会, 2015 年9月 (東京) 口演
22. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)の現状について,

バイオセーフティー学会, 2015 年9月 (東京) 口演

23. 松山州徳, 海外でのMERSの流行と日本の対応, 生活と環境全国大会, 2015 年10月(京都)口演
24. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)の現状と対策, 日本医師会獣医師会, 2015 年11月(東京)口演
25. 松山州徳, 重症急性呼吸器ウイルス, SARS と MERS, 日本獣医公衆衛生学会, 2016 年 2 月 26 日(秋田) 口演
26. 松山州徳, LAMP 法による中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの検出, LAMP 研究会, 2016 年 2 月 27 日(名古屋) 口演
27. Shirato K, MERS Surveillance Team, Kawase M, Fukushima K, Nakajima K and Matsuyama S, Middle East respiratory syndrome coronavirus infection not found in camels in Japan, 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 2015 年 11 月(福岡) ポスター
28. 白戸憲也, 前嶋円, 川瀬みゆき, 松山州徳, 田口文広, 豚 aminopeptidase N は豚流行性下痢ウイルスの受容体ではないが, 酵素活性によりウイルス感染を促進する, 第158回日本獣医学会学術集会 2015年9月(北海道) 口演
29. 白戸憲也, 中東呼吸器症候群(MERS)について, 第 31 回日本環境感染学会総会, 2016 年 2 月 19 日(京都)口演
30. 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
31. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Fukushi S, Sekimukai H, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice as an infectious animal model for MERS-CoV. 第 63 回日本ウイルス学会、福岡、2015 年 11 月 22-24 日
32. 金井瑞恵、砂川富正、神谷元、奥野英雄、多屋馨子、大石和徳、竹田誠、北島博之:Follow-up information of congenital rubella syndrome in Japan, 2012-2014 (2012-2014 年出生の先天性風しん症候群児フォローアップ調査:暫定情報)、第 119 回日本小児科学会、札幌、2016 年 5 月 13-15 日
33. 宮野真輔、木多村知美、Xeuatvongsa Anonh, Vongphrachanh Phengta, 森嘉生、駒瀬勝啓、竹田誠、蜂矢正彦、ラオス人民民主共和国における全国血清疫学調査による麻疹および風疹抗体価測定と予防接種プログラムの有効性の評価、第19回日本ワクチン学会学術集会、2015.11.14-15
34. 加藤博史、八幡祐一郎、神谷元、森野紗衣子、奥野英雄、福住宗久、多屋馨子、砂川富正、松井珠乃、森嘉生、大石和徳、事業所における風疹集団発生後の緊急ワクチン接種に関する状況と課題、第19回日本ワクチン学会学術集会、2015.11.14-15
35. 加藤博史、神谷元、八幡祐一郎、森野紗衣子、奥野英雄、福住宗久、多屋馨子、砂川富正、松井珠乃、森嘉生、大石和徳、企業における海外渡航者への風しんワクチン接種の重要性について―X 券事業所での風しんアウトブレイク調査より、第 19 回日本渡航医学会学術集会、2015.7.25-26
36. 蜂屋佑磨 白戸憲也 松山州徳 小熊圭介 泉對博, 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)抗体検出法の検討 第 158 回日本獣医学会学術集会 2015 年 9 月(北海道) 口演
37. Taguchi F, Shirato K, Maejima M, Kawase M, Matsuyama S, Porcine aminopeptidase N (pAPN) is not a receptor for porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), but promotes its infection via protease activity, 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015 年 11 月(福岡) 口演

III. そ の 他

1. 竹田誠、麻疹ウイルスの特性とウイルスサーベイランスの必要性、NPO 法人医師と団塊シニアの会、麻疹排除記念講演会、麻疹排除への道のりと今後、東京、2016 年 1 月 23 日
2. Takeda M. Molecular basis for pathogenesis of Orthomyxo- and Paramyxoviruses、2015 年 10 月 10 日、University of Georgia、USA
3. 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

4. 駒瀬勝啓、麻疹、風疹の現状とワクチン、知の市場、国立感染症研究所、東京、2015 年 11 月 10 日
5. 駒瀬勝啓、麻疹ウイルスの性状からみた麻疹排除、感染症意見交換会、国立感染症研究所、東京、2015 年 4 月 27 日
6. 酒井宏治、「インフルエンザウイルスと宿主プロテアーゼ TMPRSS2」、東京大学農学部シンポジウム「若手獣医出身者による最先端感染症研究」、東京、2015 年
7. 木所稔、国内とアジア近隣諸国で流行するムンプスウイルス−分子疫学的解析から見えてくるワクチンの諸問題−、一般財団法人阪大微生物病研究会所内研修会、観音寺市、2015 年 9 月 28 日
8. 松山州徳, MERS コロナウイルスについて, 山形県獣医師会にて講演, 2015 年9月 (山形)
9. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS), ICD 講習会にて講演, 2015 年11月(福岡)
10. 松山州徳, MERS コロナウイルス, 日大シンポジウムにて講演, 2015 年12月(神奈川)
11. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS), 感染症意見交換会にて講演, 2016 年 12 月 21 日(感染研)
12. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS), 希少感染症技術研修会にて講演, 2016 年 2 月 17 日(感染研)

4.細菌第一部

部長　大西　真

概　要

当部では、多様な病原細菌に対する菌種内多様性の解析、病原機構の解明、新規検査法の開発に関する研究を行っている。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。地方衛生研究所から送付される EHEC O157, O26, O111 菌株（n=2680)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り、結果を速やかに返送するとともにデータの蓄積につとめた。同時にドラフトゲノムデータを取得し、その解析手法の検討を実施した。特に既存の分子型別方法との比較に重点を置き、その評価を開始した。

感染症研究国際ネットワーク推進プログラムに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(2014 年度途中から開始)を引き続き実施した。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の比較解析を感染症研究国際ネットワーク推進プログラム海外研究として実施した。現在、より広いネットワーク構築を試みている。ドラフトゲノム比較解析に加えて、完全長ゲノム配列の決定方法について検討した。今後のゲノムデータを利用した疫学解析に十分に活用していくことが重要となる。また、これらの解析技術は腸管出血性大腸菌、コレラ菌にとどまらず、他の病原細菌の解析へ応用し、一部成果があげることができた。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症、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。特に、培養不能菌である梅毒トレポネーマの分子タイピング法によるデータ蓄積が進み、さらに国内伝播株のゲノム解析手法の検討が進められた。

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

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）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　ヒト由来 EHEC の血清型別

2015 年に全国の地方衛生研究所（地衛研）等から受け付けたヒト由来の EHEC は 3,144 株であった。頻度の高い O 血清群の順に O157（54.1%)、O26（25.8%)、O111（4.8%)、O121（3.1%)、O103（2.9%)、O145（2.4%）で、その他は 53 の O 群、71 の血清型（O:H 型）に型別された。ヒトの重症例（血便、溶血性尿毒症症候群 [HUS]、脳症、死亡例など）由来株はこのうち 1,004 株で、上記の 6 血清群に O165 を含めた 7 血清群で重症例由来株全体の 98%以上を占めた [伊豫田 淳、小澤さお美、高井信子、李 謙一、石原朋子、大西 真]。

イ　EHEC O26 の高病原性系統株の解析

EHEC O26 の多くは志賀毒素遺伝子として *stx1* のみを有するが、近年 *stx2* 保有株が多数分離されている。*stx2* のみを保有する O26 は、MLST によって ST21 または ST29 に分類される。*stx2* を保有する 27 株の全ゲノム配列を用いた系統解析を行ったところ、ST29 はさらに 2 つの亜系

統に分類された。このうち一方の亜系統は、Stx2 産生量および Vero 細胞傷害性が他の系統に比べて高いことが明らかとなり、マウスへの感染実験でも他の系統に比べて高病原性であることが判明した [石嶋 希、李 謙一、米田早織（香川大）、桑原知巳（香川大）、大西 真、伊豫田 淳] 。

(2) 分子疫学的解析

ア　EHEC の MLVA 解析（血清群 O157,O26,O111）

腸管出血性大腸菌の分子疫学解析（血清群 O157,O26,O111）

2015 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 3,187 株であった。このうち血清群 O157、O26 および O111 として送付された 2,680 株について MLVA による型別を行った。また 1,077 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 947 の型が同定された。最も多かった型は 15m2036 で 158 株であり、次いで 13m0551（103 株）、15m0201（72 株）であった。15m2036 は、2015 年 6 月に発生した大規模集団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、O157　667 株についてはそれぞれ 0.992 および 0.996 であった。同じく O26 333 株についてはともに 0.993 および 0.995 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　EHEC の PFGE 解析

2015 年に国内で分離された EHEC O157、O26、O111 の 1,082 株とその他の O 群 505 株を *Xba*I 消化によるパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）で解析した。複数の都道府県で検出された PFGE 型が同定された O 群として、O5（Type No [TN] TN5L1）、O103（TN103i1、TN103L1、TN103L2）、O121（TN121k6、TN121k9、TN121L1）、O146（TN146k1）等があり、様々な PFGE 型を持つ O 群による広域発生事例の存在が明らかになった [石原朋子、吉田 愛、斉藤康憲、中島雪絵、高井信子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、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アップデートした。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アップデートした。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、熊谷優子（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）、鈴木匡弘（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］

エ　EHEC O121 による散在的集団感染事例のゲノム解析

2014-2015 年にかけて、PFGE 型が極めて類似した O121 の散在性集団感染が疑われる事例が発生した。PFGE 解析の補助的手段として全ゲノム配列から得られた SNP 解析を行ったところ、PFGE 型の完全一致株を含む 23 株では同一クラスターを形成し、その他の株とは明確に区別が可能となった。さらに、同一クラスターに特異的な塩基配列を抽出することで、PCR による簡易スクリーニング系の構築が可能となった [李 謙一、石原朋子、伊豫田 淳、小澤さお美、小椋義俊（九州大）、林 哲也（九州大）、関塚剛史（ゲノム解析セ）、黒田 誠（ゲノム解析セ）、大西 真]。

(3) 血清診断による EHEC 感染症の確定診断

EHEC が不分離の HUS 発症例（全体の 20-30%）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 11 例中 HUS 症例は 8 例あり、このうち大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となった事例は O157 が 4 例、O121 が 2 例、O145 が各 1 例で、いずれの事例も EHEC 感染による HUS 症例と確定した［伊豫田 淳、小澤さお美、高井信子、齊藤剛仁（疫学セ）、大西 真］。

(4) マルチプレックス PCR による大腸菌 O 群型別法の実用化と新規 Og 型 EHEC の同定

大腸菌 O 群の PCR 検出法である *E. coli* O-genotyping PCR 法（Iguchi et al., 2015）を実用化し、主要 O 群以外の O 群型別法として細菌第一部で運用を開始した。同法による型別結果を血清学的な型別結果と比較したところ、血清学的に OUT となる OgUT 型（n=2）と O1, O39, O40, O141 にそれぞれ型別される OgUT 型（n=4）の計 6 つの新規 Og 型をいずれも EHEC 株で同定した［井口 純（宮崎大）、伊豫田 淳、小澤さお美、李 謙一、大西 真］。

2. その他の病原性大腸菌に関する研究

(1) 食中毒事例由来株の解析

2015年に地衛研等から受け付けたEHEC以外の病原性大腸菌（n=18）について、血清型別およびPFGE解析を実施したところ、同一および類似のPFGE型を示す食中毒事例の存在が明らかとなった [石原朋子、吉田 愛、中島雪絵、高井信子、伊豫田 淳、大西 真]。

3. 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 2015 年に当研究所に送付された赤痢菌 138 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* 119株、*S. flexneri* 19 株であった。*Shigella sonnei* では 2015 年に78 の MLVA 型が検出された。［泉谷秀昌、李志英、高井信子、森佳津美、大西真］

イ 赤痢菌群に対するユニバーサルワクチンの開発

これまで開発された赤痢ワクチンの多くはワクチン株と同じ血清型の菌には有効であるが、血清型が異なる赤痢菌には無効で、多様な血清型で構成される赤痢菌群に対して効果を示すワクチンは実用化されていない。

担当者は赤痢菌群に共通するIII型分泌装置遺伝子の発現が増加する一方、ストレス応答の低下で生存性が低下する変異体を分離した。これが血清型を超えた免疫効果を示すユニバーサルワクチンとして利用できないか、モルモット眼球感染モデルを用いて調べた。

血清型 *S. flexneri* 2a 株で作製したワクチン候補株で免疫した動物は、血清型が異なる *S. sonnei* 株に対し防御効果を示した。これが腸管でも効果があることを示すため、モルモットの経口感染モデルを開発したインド国立コレラ・腸管感染症研究所(NICED)の Dr. Hemanta Koley らと共同研究を行っている。［三戸部治郎］

4. 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

2015 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 32 株、パラチフスA菌 30 株であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が 7 株と最多となり、それに次いで D2、28 が5 株検出された。パラチフスA菌ではファージ型 1 が 23株検出され大部分を占めた。［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

2015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世代セファロスポリン系薬剤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 68.9%,、パラチフスA菌で 80.0%であった。両菌とも第 3 世代セファロスポリンに耐性を示す株は検出されなかった。［森田昌知、泉谷秀昌、高井信子、大西真］

ウ サルモネラの血清型別、遺伝子型別、ファージ型別

2014年に当研究所に送付されたサルモネラ株は101株であった。血清型は26種類からなり、上位5位はEnteritidis、Montevideo、Chester、Thompson、Saintpaulであった。これらは、*Xba*I消化によるPFGE解析により48パターンに分かれた。血清型Enteritidis 20株についてファージ型別を実施し、RDNC（reacted but did not conform）が8株、UT（untypable）が5株、ファージ型1が4株となった。血清型Typhimurium 4株についてファージ型を実施しすべてRDNCとなった。

［泉谷秀昌、李志英、高井信子、森佳津美、大西真］

エ サルモネラのMLSTによる解析

S. I 4:b:-についてMLSTおよびPFGEによる遺伝子解析を行い類似血清型株34株（Paratyphi B、Paratyphi B var Java、SchleissheimおよびII:4:b:-）と比較した。単相株は3つのSTC（19、32、155）に含まれ、既報のSTデータベースのデータも考慮するといずれもParatyphi B var Java（およびその単相菌）のSTCに含まれた。これらの結果から、今回試験した単相株はいずれも多様なParatyphi B var Javaに由来するものと推定された。本単相株の抗原構造は血清型Schleissheimなどとも類似しており、遺伝子解析の併用は、菌株の由来の推定に有用であると考えられた。［泉谷秀昌、李志英、高井信子、大西真、黒木俊郎（神奈川県衛生研究所）、林賢一（滋賀県衛生科学センター（元））、齊藤志保子、八柳潤、今野貴之（秋田県健康環境センター）］

5. 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 コレラ菌の分子疫学解析

2015年に当研究所に送付されたコレラ菌は3株であり、いずれも01であった。3株とも異なる遺伝子型を示した。［泉谷秀昌、李志英、高井信子、森佳津美、荒川英二、森田昌知、大西真］

イ　*V. cholerae* のゲノム解析

国内及びアジア地域で分離された *V. cholerae* のゲノム DNA を精製し、次世代シーケンサーによりゲノム配列を継続的に取得している。これまでに *V. cholerae* 及び他のビブリオ科細菌も含め 970 株のドラフト配列を取得した。それらの中で *V. cholerae* 01 については、コアゲノムに存在する一塩基多型を抽出し、分子系統解析を行った。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

ウ　*Vibrionaceae および Aeromonadaceae 菌株*

平成 27 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 89 株で、53 株が *Vibrio cholerae* non-01/non-0139 であり、うち 11 株は国内、42 株は海外からの依頼であった。国内株 11 株は、1 株が肝疾患患者の敗血症由来で、その他は下痢症から分離された株であった。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 O 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 42 株は中国と台湾の分離株であった。また、18 株が *Vibrio fluvialis* で、1 株が下痢症由来の国内株で、17 株は中国の分離株であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

エ　コレラ菌におけるキチン応答性シグナル伝達の PTS による制御

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制御因子 TfoS を活性化するものの，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。また，ChiS によるシグナル伝達は，細胞外からのキチン刺激だけでなく，グルコース等の糖の取り込みに関わるリン酸基転移系 PTS（phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system）を介して細胞内からも調節される。PTS はリン酸基の転移と糖の取り込みが共役した機構であり，共通の蛋白質成分である EI と HPr および糖特異的な EII から構成されている。PTS の初期ステップに関わる EI の欠損下では，ChiS/TfoS 制御下にある遺伝子の転写が活性化されないものの，後期ステップの成分 $EIIA^{Glc}$ を追加的に欠損させるとその効果が抑圧された。また，各 PTS 成分の欠損は ChiS と TfoS の発現には影響を与えなかった。以上の結果は，非リン酸化型の $EIIA^{Glc}$ が ChiS のシグナル伝達を阻害する作用をもつことを示唆している。現在，ChiS と $EIIA^{Glc}$ 間の相互作用を詳細に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、真菌部との共同研究により、O 多糖の構造解析を行っている。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た。109 種類の O 血清群が 1 つの contig として O 抗原合成遺伝子領域を抽出できた。この遺伝子領域中の ORF についてそのアノテーションから、機能について分類、マッピングを行い、遺伝子構造の比較を行った。[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　コレラ菌の検査における精度管理

厚労科研費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「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構築に関する研究」(研究代表者：佐多徹太郎(富山県衛生研究所))の対象病原体としてコレラ菌について、検討を行った。コレラ菌検査マニュアルの全面改訂を行い、ワーキンググループによる菌株選定、予備試験を経て、全国 74 地研の参加のもと、感染研より精度管理菌株 3 株を発送し、検査の実施を依頼した。O1 抗原については、陰性とされる例も少数見られたが、菌株あるいは抗血清の問題として原因が特定できた。コレラ毒素に関しては、遺伝子検査、毒素産生試験ともに良好な成績であった。[荒川英二、緒方喜久代、森田昌知、泉谷秀昌、大西真；森本洋(北海道立衛研)、倉園貴至(埼玉県衛研)、勢戸和子(大阪公衛研)、磯部順子、佐多徹太郎(富山県衛研)]

II. 呼吸器感染症ならびに侵襲性感染に関する研究

１．Streptococcus 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 2014 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

2014 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、947 株であり、すべての株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、TB3264 (257/947, 27.1%)、T12 (179/947, 18.9%)、T4 (136/947, 14.4%)、T1 (113/947, 11.9)であった。TB3264 型の分離比率は、2010 年に急激に上昇し、2014 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%、2014 年, 27.1%）。T12 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。2010 年に分離頻度が減少した T4 型は、それ以降増加傾向にある (2010 年, 5.6%、2011 年, 9.8%、2012 年, 10.9%、2013 年, 11.7%、2014 年, 14.4%)。2011 年最も分離比率の高かった T1 型は、2014 年さらに減少した(2011 年, 31.1%、2012 年, 26.8%、2013 年, 12.1%、2014 年, 11.9%)。[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）、亀山光博（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 2014 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

2014 年、A 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)の報告が 74 症例あった。70 例が *S. pyogenes*、4 例が *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による症例であった。

最も分離された型は、T1 型であり、2013 年と比較して分離比率が増加した(2013 年, 26.2%; 2014 年, 39.2%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(11.9%)に比べ、高い分離比率を示している。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して減少した(2013 年, 31.1%; 2014 年, 16.2%)。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 74 例中、*emm1* 型が 29 例(39.2%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 12 例(16.2%)、*emm3* 型が 4 例(5.4%)と多かった。2013 年と比較し、*emm1* 型は、26.2% (16/61)から 39.2% (29/74)に増加し、*emm89* 型は 31.1% (19/61)から 16.2% (12/74)に減少した。

[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）、亀山光博（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

2014 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 74 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、メロペネム、リネゾリドに対して感受性を示した。クリンダマイシンに対して 16.2% (12/74)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（2013 年, 6.6% (4/61)）より分離率が増加した。[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）、亀山光博（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

2014 年、G 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 38 例あった。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 16 例(42.1%)と最も多く、次いで、*stG485* が 4 例(10.5%)と多かった。

[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）、亀山光博（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

2014 年、B 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 17 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、Ib 型が最も多く 8 例(47.1%)であり、次いで III 型が 4 例(23.5%)、V 型が 3 例(17.6%)であった。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 4 例あった。菌種はすべて *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であり、*emm* 遺伝子型は、それぞれ *stC15.0, stG643, stC6979, stGM220* であった。これらのほか 1 例の F 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告があった。菌種は、*S. constellatus* subsp. *constellatus* 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）、亀山光博（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肺炎球菌の疫学調査。日本医療研究開発機構研究費（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）の研究協力者として、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

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。

ア　肺炎球菌病原因子の機能解析

肺炎球菌の 42 種類の病原因子に関して欠失変異株を作製しそれらを MEF 細胞に感染させ、細胞内生残性を野生株と比較することにより解析した。その結果、細胞内生残性が野生株と比較して顕著に低下する株を 15 株同定することができた。現在、細胞内生残性が低下した変異株 15 株について、当該病原因子の機能解析を行っているところである。[小川道永]

イ　宿主細胞内に侵入した肺炎球菌と Rab タンパク質との共局在性解析

58 種類の GFP-Rab タンパク質発現ベクターを用いて、各 Rab タンパク質を発現させた培養細胞に、肺炎球菌を感染させ、菌を内包するエンドソームと各種 GFP-Rab タンパク質との経時的な局在性について現在解析を行った結果、10 種類の Rab タンパク質が肺炎球菌を内包するエンドソームと共局在しすることを見出した。それぞれの Rab タンパク質が肺炎球菌感染により菌を内包するエンドソームにリクルートされる意義について今後解析を行う予定である。[小川道永]

２．レジオネラ属細菌に関する研究

（1）遺伝子型別に関する研究

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平成 27 年度に収集した *Legionella pneumophila* 51 株（血清群（SG）1 が 48 株、SG2、9、13 が各 1 株）について、SBT 法による遺伝子型別を実施した。2015 年は、入浴施設での集団感染事例が 2 例あり、1 例は SG1 と SG13 の混合感染事例で、もう 1 例からも 2 種類の遺伝子型の菌株が分離され、入浴施設からも、それぞれ臨床分離株と同じ遺伝子型および PFGE パターンの菌株が分離された。推定感染源については、3 分の 1 は感染源が不明で、入浴施設が感染源と推定されているのは 3 分の 1 で、残りの 3 分の 1 については土壌あるいは塵埃等が感染源であると推定されている。また、菌株が分離されなかった臨床検体（喀痰）から DNA 分離を行い、浴槽水から分離された菌株と遺伝子型が一致した。

平成 27 年度末現在で、合計 426 株の *L. pneumophila* 臨床分離株が収集され、ST1 から ST2134 まで 187 種類の遺伝子型に分けられた。遺伝子型別の結果は分与元に還元している。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）；大屋日登美（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　*Legionella pneumophila* 血清群 1 の PCR によるサブグルーピング

Legionella pneumophila はそのリポ多糖体（LPS）の免疫性の違いにより、血清群 1 から 15 に分けられるが、*L. pneumophila* 血清群 1 がレジオネラ症起因菌のおよそ 8 割を占めている。血清群 1 は他の血清群に比べ、血清群内での免疫多様性が高いことが知られている。*L.*

pneumophila 血清群 1 の LPS 構造は 28（あるいは 29）の ORF から成る LPS 生合成遺伝子群により規定されている。環境分離株のおよそ 2 割に見られる ORF2 と ORF3 の間に位置する *lag-1* 遺伝子は、臨床分離株では、その 9 割に存在することから、病原性に関与していると考えられる。また、ORF7 と ORF8 の遺伝子配列は株によりそれぞれ大きく 2 種類に分けられ、その違いが、LPS のエピトープの差異をもたらしているとされるが、その機能は不明である。*lag-1* 遺伝子の有無と、それぞれ特異的な ORF7、ORF8 を検出する 3 種類の PCR を行うことにより、血清群 1 株のサブグルーピングが可能となった。さらに *lag-1* 遺伝子の多形を検出する PCR を行うことにより、*L. pneumophila* 血清群 1 株は 12 種類の型に分けられた。PCR による血清群 1 株のサブグルーピングは簡便で、疫学的解析に有用であると考えられる。［前川純子、倉文明；坂田美穂、村井美代（埼玉県立大・健康開発）；大西　真］。

（2）検査法の開発に関する研究

ア　*Legionella pneumophila* SG2 によるレジオネラ症の診断における脳梁膨大部病変の有用性

L. pneumophila SG1 以外の起因菌によるレジオネラ症の診断は、尿中抗原陰性のため容易ではない。今回、可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症を伴う 49 歳男性の肺炎事例において、入院 1 週間後から 4 週間後にかけて、*L. pneumophila* SG2 に対する血清抗体価が 1:64 まで 8 倍以上に上昇した(マイクロプレート凝集テスト)。肺炎を伴う脳梁膨大部病変の場合の診断には、レジオネラ感染が考慮されるべきである。

(富沢雄二、河尻澄宏、野田和幸、大熊 泰之[順天堂大学静岡病院]；星野泰延、佐々木芙悠子、栗田尚英、服部信孝［順天堂大学医学部］；前川純子、倉　文明)

イ　レジオネラ DNA 陽性検体からの直接遺伝子型別

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、nested sequence-based typing（SBT）法を行うことで、起因菌が *L. pneumophila* である場合、遺伝子型別が可能となった。2015 年度は、菌が分離不能でレジオネラ DNA 陽性の喀痰から抽出された DNA 3 検体について、遺伝子型別を行うことができた。［前川純子、倉 文明、大西 真］

ウ　レジオネラ症の診断のための検査等

レジオネラ症の診断のための依頼検査を実施した。臨床検体からのレジオネラ DNA の検出が 5 件（内陽性 1 件）、MAT による血清抗体価の測定が 2 件（いずれも陰性）あった。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。市販の免疫血清に反応しない臨床分離株の菌種の依頼同定が 1 件あり、*Legionella bozemanae* 血清群 2 であった。［前川純子、倉文明、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　マンガンイオンを含む浴槽水へのモノクロラミン消毒の適用と、高濃度モノクロラミン消毒の条件検討

より広範囲な泉質への、モノクロラミン消毒の適用を目指している。マンガンイオン(1.1 mg/L)を含む地下水を利用した循環式入浴施設において、モノクロラミン消毒の実証試験を行った。過去にレジオネラの集団感染を起こした気泡発生装置使用の浴槽水において，モノクロラミン濃度（3 mg/L）を維持する 6 週間の試験中に，レジオネラやアメーバは検出されなかった。塩素消毒臭の原因であるトリクロラミンや，消毒副生成物のトリハロメタン類の生成はなく，N-ニトロソジメチルアミン（NDMA）の生成量は遊離塩素管理時と変わらなかった。マンガンイオンを含む浴槽水の消毒にもモノクロラミンは適用可能であった。高濃度塩素消毒に従来から用いられてきた遊離塩素消毒と、モノクロラミン消毒とは適合せず、不連続点処理あるいは完全換水が必要となる。この相性問題を回避するべく、高濃度塩素消毒の代替として、高濃度モノクロラミン消毒を検討した。実験室内の回流装置試験、循環式モデル浴槽、現場施設での実証試験より、モノクロラミン濃度（10 mg/L 以上）と処理時間（1 時間以上）の条件を求めた。浴槽水へのモノクロラミン消毒の普及が期待される。

［長岡宏美（静岡県環境衛生科学研究所）、縣 邦雄（アクアス株式会社つくば総合研究所）、八木田健司、泉山信司（寄生動物部）、杉山寛治（株式会社マルマ　研究開発部）、小坂浩司（国立保健医療科学院生活環境研究部）、前林公男、加藤千裕（静岡市保健所）、和田裕久、鈴木史恵（静岡市環境保健研究所）、寺田善直、壁谷美加（浜松市保健所）、土屋祐司（浜松市保健環境研究所）、市村祐二、青木信和（ケイ・アイ化成株式会社）、倉文明］

3.　髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および疫学解析

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

本年度は 27 株の国内分離株が収集され、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 19 株、B 群 2 株、C 群 1 株、W 群 1 株及び non-typable が 4 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は ST-23 株が 5 株、ST-1655 株が 13 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 1 株は新規遺伝子型の ST-11316 であった。血清群 B の株は ST-687 及び ST-2057、血清群 C の株は ST-211、血清群 W の株は ST-11、non-typable の血清群は ST-1448（新規）、ST-2057 が 1 株ずつ、ST-11026 が 2 株であった。

今年度の分離株の中ではまず ST–23 complex に属する ST-23 及び 1655 が 18 株（全株中の 66.6%）を占めることが注目される。日本の侵襲性髄膜炎感染症の起炎菌の大部分は血清群 Y、ST–23＆1655 で占められていることになり、この結果から日本の髄膜炎菌の分布としてはやはりこの株が潜在している可能性が推測される。

また一方で、今回 non-typable の髄膜炎菌株が 4 株分離された。ST-11026 の 1 例は眼脂からの分離であるが、他の 3 例の ST-2057、ST-11026、ST-11448 はいずれも菌血症患者の血液からの分離株であった。一般に、血清群の抗原決定基は莢膜多糖体であり、莢膜多糖体は補体抵抗性を示すため、一般的には

患者分離株は莢膜多糖体があり、血清群が決まる一方で、健康保菌者からの分離株は莢膜多糖体非産生株であるケースも多く、それ故に血清群が決まらない（抗原決定基がないため）と考えられている。健康保菌者でもいわゆる「不顕性感染」のような状態で「莢膜多糖体あり」の髄膜炎菌が分離される例もあるが、莢膜多糖体を持たない株は侵襲性の患者から分離されたケースは数例を除いて殆どなく、疫学的には「侵襲性髄膜炎菌感染症」を起こさない株として考えられている。その観点から、今年度経験した 3 例の症例は莢膜多糖体非産生髄膜炎菌株でも侵襲性髄膜炎感染症の起炎菌になりうることを示しており、今後は Non-typable の髄膜炎菌株に関しても注視していく必要性を示唆する結果であると考えられた。

さらには血清群 Y の ST-11316、及び Non-typable の ST-11448 の 2 株は新規の遺伝子型で、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の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。今後も国内分離株の積極的な回収とその解析を継続して行く予定である。[高橋英之、福住宗久、蜂巣友嗣、金井瑞恵（FETP）、神谷元、砂川富正、（感染症疫学センター）、大西真]

イ　都内訓練学校における髄膜炎菌の健康保菌者の調査

都内の某訓練学校にて上気道炎の症状を示す学生が多く認められ、それらの学生から髄膜炎菌が分離されたことから、訓練学校における保菌調査を行なった。職員、学生を含む 939 名の咽頭スワブを髄膜炎菌の選択培地である Thyer Martin 培地に塗布後に、炭酸ガス培養にて一晩 37 度で培養後、髄膜炎菌の有無を調べた。その結果、296 名から髄膜炎菌が検出され、その陽性率は 31.5%になると計算された。過去の小規模の健康保菌調査では一般的な集団では 0.4～0.8%程度の保菌率であると考えられていたため、このような高い保菌率を示す集団が日本に存在するということは驚きであった。今後は某訓練学校が髄膜炎菌 4 価ワクチン（メナクトラ）の導入を行うという情報もあり、さらなる調査を行う必要が考えられた。 [高橋英之、大西真（細菌第一部）、福住宗久、蜂巣友嗣(FETP)、神谷元、砂川富正、斎藤剛仁（感染症疫学センター）]

(2) 検査法に関する研究

ア　LAMP 法を適用した髄膜炎菌の検出法及び血清群決定法の開発

髄膜炎菌の簡便な検出法としては今まで積極的には開発されてこなかった状況を踏まえ、新たに LAMP 法を適用した髄膜炎菌の迅速検出法を開発した。莢膜多糖体合成遺伝子の一つである ctrA を検出のターゲットとしてプライマーを設定し、系の開発を試みた。その結果、反応液あたり 10 コピー前後の染色体が存在する条件下でも検出可能とする系が確立できた。従来の PCR 法による検出では 10^4 コピー前後は必要であるとされており、検出感度を従来法より 1000 倍高めることが出来た。

さらには血清群特異的な遺伝子をターゲットにした LAMP 法も開発し、LAMP 法を用いて髄膜炎菌の血清群の同定ができる系も開発することが出来た。

[高橋英之、大西真（細菌第一部）、関みつ子（日本大学）]

(3) 病原機構に関する研究

ア　髄膜炎菌グルタミン酸トランスポーター*gltT-gltM* の細胞侵入時における機能解析

一昨年及び昨年までの解析から、1）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、2）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、3) その *gltT-gltM* 欠損株の細胞侵入能低下の抑圧が AM(-S)への 500μM グルタミン酸添加で解除された、4) 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。5) 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、6) 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、7) 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、ことを明らかにし、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ていることを明らかにしていた。

今年度はさらに詳細な解析を進め、1) 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、2) グルタチオン合成酵素欠損株では野生株に比べ、細胞内での生存が低下していた。また、3) *gltT-gltM* 欠損株では野生株に比べ、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すると共に、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な普遍的な生物因子が髄膜炎菌の病原性に多面的に関与している、いわゆる"moonlight molecule"として機能していることを見い出した。[高橋英之、大西真、柳沢達男、横山茂之（理研）、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ）]

イ　髄膜炎菌翻訳促進因子 EF-P の機能解析

プロリンが連続する、いわゆるプロリンリッチ配列ではリボソームが遅滞し翻訳が止まりやすい場合があり、大腸菌のタンパク質では少なくとも 1400 カ所以上の Pro-Pro 配列を含むことが知られている。その停滞を解除するのが翻訳因子 EF-P であり、EF-P や EF-P の翻訳後修飾に関わるタンパク質は細菌にのみ存在しヒトなどの真核生物には存在しない。これまで大腸菌やサルモネラといった腸内細菌では EF-P の機能解析はされてきたが、それ以外の細菌類に関しては未解析であったため、髄膜炎菌由来の EF-P に着目し解析を進めた。髄膜炎菌をプレート 1000 枚分培養し、その抽出液を調製し、内在性の髄膜炎菌 EF-P を精製してリコンビナント EF-P と MALDI-TOF MS による比較解析を行なった。その結果、髄膜炎菌 EF-P は大腸菌 EF-P とは異なり、翻訳後修飾であるラムノースが付加されていることが明らかとなった。さらに、そのラミノース修飾因子の遺伝子、*earP* も同定し、その欠損株を作成して検証した結果、EF-P が活性を示すためにはラムノース修飾が重要であることが明らかとなった。さらには髄膜炎菌 EF-P の遺伝子 *efp* の破壊株の作成を試みたが破壊株は作成されず、プラスミド上に *efp* 遺伝子を保持したプラスミドを導入した髄膜炎菌のみが誘導下でのみ染色体上の *efp* 遺伝子の破壊が可能であることを証明し、EF-P が髄膜炎菌の生育に不可欠であることを見出した。髄膜炎菌の他、淋菌、百日咳菌、セパシア菌など病原性細菌由来の EF-P およびその糖鎖修飾を阻害するような特定の細菌種に特化した薬剤は生体を維持して行くのに必要な常在細菌を殺さずに特定の病原細菌のみの生育を抑えることが可能で、副作用の無い有効な抗菌剤になる可能性があり、EF-P と関連するタンパク質をターゲットとした阻害剤を設計することで創薬開発にも繋がることが期待される。[高橋英之、柳沢達男、横山茂之（理研）]

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) 検査法に関する研究

ア　新興回帰熱(*Borrelia miyamotoi* diseas: BMD)患者血清を用い新規検査抗原を用いた検査法開発を開始した。本年度は、1)BOM1441 を抗原とした場合、ライム病感染による交叉反応が出現する可能性が見出されたため、この部分を欠失させた組換え体を作成し、交叉反応が消失することを確認し、また 2)GlpQ 抗原の N 末端部分がエピトープとして重要であることを見出した．今後、診断抗原の合成化のための基礎データを積み重ねる予定である．[佐藤梢，熊谷由美，大西真，川端寛樹（細菌第一部）]

(2) ボレリア感染症の疫学研究

ア　組換え抗原(GlpQ 抗原)を用いた血清疫学的後向きケースコントロールスタディを実施し、BMD 国内感染実態の把握を試み、以下の知見を得た．1）ライム病もしくはライム病が疑われた患者(以下ライム群)ならびに健

常者群での BMD 感染率は米国の先行研究とほぼ同等で各々2.6%、0.2%であった。２）ライム群と健常者群では有意差(Odds 比=14.5, 95%CI1.88-112.13)があり、ライム群はBMD ハイリスク群であると考えられた．３）抗 BMD 抗体陽性例の発生動向解析により、患者発生はダニの活動期と一致した．４）北海道以外においてもBMD 抗体陽性者を確認した．陽性例は中部地方から九州まで幅広く見出された．これまでの推定媒介マダニの生息域とは一致しない地域もあることから未知の媒介ベクターの存在が考えられた．５）輸入例を経験した．国外感染例について、試験感度の特異性については今後の検討課題である．６）行政検査等依頼検査検体を用いざるを得なかったため、臨床症状、生化学検査データに乏しい。今後の症例の積み重ねが必要である．

イ　Drug compliance が高いアジスロマイシンに対するBMD 病原体の MIC/MBC を決定した。ライム病ボレリアと同様の感受性が認められることを確認した．試験菌数は５株ではあるが、いずれも薬剤耐性は見られなかった．[佐藤梢，熊谷由美，大西真，川端寛樹（細菌第一部）]

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　東アジアの小型哺乳動物から分離されたレプトスピラの反復配列多型解析法による分子型別

レプトスピラ分子型と維持宿主動物との関連性を明らかにするため，日本，フィリピン，台湾，ベトナムの小型野生哺乳動物から分離された *L. interrogans* 110 株および *L. borgpetersenii* 52 株の分子型別を反復配列多型解析法（MLVA 法）により行った．*L. interrogans* 血清群 Autumnalis および Hebdomadis は，血清群 Bataviae, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona あるいは Pyrogenes よりも遺伝的多様性が高かった．前者の血清群はHebdomadisの1株を除いてすべてアカネズミから分離されており，後者はGrippotyphosa を除いてドブネズミから分離された．*L. interrogans* は５種類の動物から分離されたのに対して，*L. borgpetersenii* は 11 種類と宿主域が広く，また１つのレプトスピラ分子型が同じ属だけでなく異なる属の動物から分離された．本研究により，レプトスピラ血清群間で遺伝的多様性に差異があり，これは維持動物および環境因子に起因すること示唆された．一方で，1 つのレプトスピラ分子型が複数の属の動物に定着できることも明らかとなった．[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　トランスポゾンランダム変異法によるレプトスピラの溶血活性関連因子の探索

ゲノムワイドな病原因子の探索のために，既報のトランスポゾンランダム変異法の改変を行い，ゲノムワイドなレプトスピラの溶血活性関連因子の探索を行った．大腸菌との接合方法および培地組成を改変することで，既報では $1/8.5\times10^{-8}$ であった形質転換効率が $1/1.6\times10^{-6}$ に改善することができた．またウシ赤血球を用いた溶液中での溶血アッセイ法を構築し，変法により作製したランダム変異体 5000 株のスクリーニングを行った.親株と比較して溶血活性が 50%以下となった変異体を５株得て，トランスポゾンの挿入部位を決定した.［小泉信夫，大西真（細菌第一部）冨澤莉那（東京農工大学）］

(3)　運動制御機構に関する研究

ア　トランスポゾンランダム変異法によるレプトスピラ運動性欠損変異株の探索

レプトスピラに特徴的な運動様式に関わる遺伝子群を同定するために，上記トランスポゾン変異法により 0.4%寒天培地中で運動性を欠失した変異体のスクリーニングを行った．運動性を欠失した変異体の１つ LBMD4-3 は，菌体末端のフックが消失し，螺旋の間隔が親株と異なっていた．また鞭毛の形態および鞭毛コアと鞘の結合に異常があることが示唆されたた．［小泉信夫，大西真（細菌第一部）中村修一（東北大学大学院）］

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　アジスロマイシン耐性淋菌の解析

2010 年 4 月から 2015 年 3 月までの５年間で京都府および大阪府の５つのクリニックで分離された淋菌 777 株のうちアジスロマイシン(AZM)に対して耐性を示した 42 株について、分子タイピングの解析を行った。AZM 耐性菌の MIC 値は 1-8 mg/L を示した。2010-2015 年における耐性株の分離率はそれぞれ 4.8%、3.1%、3.2%、2.8%、12.3%、13.2%であった。また、AZM 耐性に加えて CFM 低感受性を示す株の分離率は、この５年でそれぞれ、0%、2.3%、0.9%、1.4%、10.1%、7.5%と増加傾向にあった。MLST 解析では、AZM 耐性株の中では MLST1579 と MLST1901 優占（占有率 85.7%）であり、 NG-MAST 解析では、ST1407、ST6798、ST11863 の３つの ST が優占(74.1%)であることを示した。

(志牟田　健、中山周一、大西　真)

イ 神奈川県で分離同定された淋菌株の解析

神奈川県における 1998-2005 年での淋菌分離株(n=372)における分子タイピングの解析を行った。第三世代セファロスポリン剤に対して非感受性を示す株では、MLST 型 7363 を示しかつ *penA*X 遺伝子を保持する株が優勢株であった。また、近年世界的に問題となっている第三世代セファロスポリン剤に対して非感受性を示す株の優先株の一つである、MLST1901/NG-MAST1407、かつ *penA*XXXIV に派生した *penA* 遺伝子を保持する株が 2003 年にすでに本邦に存在したことを明らかにした。このタイプの株は世界でも、2003 年以前に分離報告された例はない。よって以上のことより、現在、世界で拡散している第三世代セファロスポリン剤耐性淋菌は、神奈川県で 2000 年代初頭に見られた MLST7363、MLST1901 に属した株が起因となっている可能性を示した。 (志牟田 健、渡辺祐子(神奈川衛研)、黒木俊郎(神奈川衛研)、大西 真)

ウ 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

2015 年 4 月から 2016 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 173 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 3.5%、49.1%、96.5%、16.8 %、64.7%、100%が感受性株であった。昨年度と比較して 100% 感受性が続いている spectinomycin 以外の 5 剤での感受性率改善がみられ、特に cefixime でのそれが顕著であった。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 株検出されたことを昨年度報告した。この株を解析を行い、分子型別により系統的に国内ではこれまで報告であるが海外のペニシリナーゼ産生淋菌には一定の比率で見られる型であることが分かった。また、この株の ceftriaxonet 耐性責任遺伝子、*penA* が新規なモザイク型構造を持っていることを見いだし、報告した。 [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]

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、93 の PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 60 例で、このうち 40 例は海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 14d/c と 11o/c が 4 例ずつ、14e/f が 3 例、14d/g と 10b/a が 2 例ずつ、10d/f、11d/f、11o/f、14d/d、19d/f が 1 例ずつ、であった。昨年度も報告したように 14d/g 型は 2 例とも macrolide 耐性型 23S rRNA A2058G 変異を有し、他の型では変異を持つものは検出されていない。
[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、等を行いた検討を昨年に引き続き行っている。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。また通常のタイピングで用いる *tprE,G,J* 混合 PCR 産物からのクローニングによるそれぞれの遺伝子断片の選択を試みたが、クローニングによる点変異生成が多く、手法として適当ではないことがわかった。今後は座位特異的 PCR での解析を進め、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* のクオラムセンシングを抑制するフルクタナーゼの活性

*Streptococcus mutans*は、歯面上で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。一方、*Streptococcus salivarius* は口腔粘膜に多く存在する菌である。両者は口腔内で歯と粘膜に住み分かれて存在している。我々の研究により*S. salivarius*の産生するフルクタナーゼ(FruA)は、*S. mutans*のバイオフィルム形成を阻害することが明らかになった。この FruA の*S. mutans*におけるクオラムセンシングへの影響について新たに検討した。その結果、FruA 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や遺伝子の取り込みを抑制した。よって、FruA はバイオフィルム形成に加えクオラムセンシングも抑制することが明らかとなった。[泉福英信、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

昨年に引き続き、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 (Raffinose) の影響を検討した。0.25% raffinose が含まれる Triptic Soy Broth (TSB)培地において、*S. mutans*のバイオフィルムが観察された。*S. mutans*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た。このバイオフィルム形成には、TSB に含まれる微量の sucrose が関与していることも明らかとなった。よって、raffinose のようなオリゴ糖は、微量の sucrose と共に、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　Polypyrrole の *Streptococcus* のバイオフィルム形成への効果

Polypyrrole は、連続したカチオン（陽電荷）と電荷のバランスを有する高分子化合物で電導性と安定性を持ち基板上で簡単な膜を作る物質である。この物質の *S. mutans* や歯表面の初期付着菌である *Streptococcus sanguinis* のバイオフィルム形成への効果を検討した。その結果、Polypyrrole は 0.002%以上の濃度で *S. mutans* のバイオフィルムを抑制する事が明らかとなった。一方、0.00003125%の濃度で *S. sanguinis* バイオフィルム形成を一時的に上昇させることも明らかとなった。菌種間でこのような効果の違いが生まれた理由を現在検討している。

[泉福英信、大西　真]

エ　*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

昨年に引き続き、*Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成を抑制するミズナ成分を同定するために、ミズナ成分の中で抑制分子の候補として明らかになった以下の６つの蛋白質を含む抗原を用いてラット抗体を作製した。Pentatricopeptide repeat-containing protein, Putative methyltransferase、Malate dehydrogenase, Myosin heavy chain、predicted protein、isopentenyl diphosphate isomerase。それらの抗体の中で、15kDa から 50kD の中に存在するいくつかの蛋白質群に反応する抗体が、ミズナ成分によるバイオフィルム抑制を解除することが明らかとなった。Malate dehydrogenase や Myosin heavy chain が、15kDa から 50kDa の範囲蛋白質群に含まれていた。[泉福英信、鈴木到、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等に関する研究

(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)の経鼻免疫によるワクチン効果

*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、ワクチン効果に関連する検討を行った。MV のマウスへの経鼻免疫実験により得られた血清は *P. gingivalis* ワクチン株及び同種の異なる菌株のタンパク分解酵素ジンジパインの酵素活性を有意に阻害した。MV のマウスへの経鼻免疫により、全身に *P. gingivalis* 特異的抗体が産生されるが、血清 IgG、及び唾液 S-IgA は免疫後少なくともそれぞれ 18 週、及び 28 週間は高い抗体価で維持された。また、*P. gingivalis* MV の経鼻免疫によりマウス口腔内における *P. gingivalis* の排除効果が確認された。 [中尾龍馬、長谷川秀樹（感染病理部)、大西真、泉福英信]

イ　歯周病原細菌 *P. gingivalis* の MV 経鼻免疫の安全性の評価

ワクチン投与時と同量の *P. gingivalis* の MV をマウス鼻腔へ接種し、MV が近傍組織へ蓄積するか否かをリアルタイム PCR で調べた。鼻腔接種 48 時間後の肺、嗅球、頸部リンパ組織、鼻咽頭関連リンパ組織における検出量はいずれも 0.8 ng 以下と算出された。また、MV の中枢神経毒性について、マウス脳内接種を行い検討したところ、嗅球への蓄積量の 125 倍量以上に相当する MV を脳内に接種しても、脳実質における肉眼的及び病理学的な

炎症所見、体重減少を含めたマクロな異常所見は認められなかった。以上より、当該 MV 経鼻免疫に伴う中枢神経毒性の可能性は極めて低いことが確認された。[中尾龍馬、長谷川秀樹（感染病理部）、大西真、泉福英信]

ウ　ウェルシュ菌の MV の動物細胞に対する影響に関する研究

ウェルシュ菌の MV をマウス培養細胞に添加したところ、炎症性サイトカインの分泌を促進することが明らかとなった。MV の構成成分を解析したところ、MV は細胞膜および複数のタンパク質だけでなく、細胞壁成分を豊富に含むことが明らかとなった。単離したウェルシュ菌の細胞膜画分はマウス培養細胞の IL-6 分泌を誘導しなかったことから、MV に含まれる細胞壁成分が炎症性サイトカイン誘導因子であることが示唆された。複数のウェルシュ菌株の *spo0A* 遺伝子欠損株において MV 産生の低下が観察された。Spo0A は応答調節因子であることから、周囲の環境が MV 産生のトリガーになると考えられた。[尾花望、中尾龍馬、永山恭子、泉福英信、野村暢彦（筑波大学）]

エ　食品由来抗菌物質の歯周病細菌等に対する殺菌過程のリアルタイムイメージング

高速原子間力顕微鏡は数十ナノメートルスケールの微細な物質の運動を測定することが可能であり、生体物質への応用が期待されている。本研究では、抗菌物質の添加に伴う菌体の形態変化をリアルタイムで観察することを目指し、その抗菌機序の詳細を構造の面から解明する試みである。今年度は、プロポリス、カレーリーフ、ジンジャー、クローブ等をスライドグラス上に定着させた *Porphromonas gingivalis* に添加した。その結果、菌体表層での様々な形態変化、例えばナノスケールの小胞形成などのリアルタイムイメージングに成功した。[中尾龍馬、吉益由莉、八木明（オリンパス）古川壮一（日本大学)、森永康(日本大学)]

オ　歯周病原細菌 *P. gingivalis* 抑制活性を有するプレニル化フラボノイドの同定

植物性生薬のイカリソウに含まれるフラボノイドを単離・同定した結果、既知、未報告も含め 30 以上のプレニル基を有するフラボノイド類(プレニル化フラボノイド)が見出された。それらのジンジパイン阻害能を解析した結果、数種が非競合的に阻害することを明らかとした。さらにプレニル化フラボノイドは、*P. gingivalis* の増殖及びバイオフィルム形成も抑制することが出来たが、阻害活性と必ずしも相関しないことから、ジンジパイン阻害以外の増殖抑制機序の可能性が示唆された。[狩生徹(尚絅大学)、中尾龍馬]

3. 癌手術前後の口腔内微生物叢の変化の研究

３０の国立病院において癌手術を行う患者を対象に、癌手術前と後の口腔内微生物量の測定を行っている。口腔粘膜をスワブしたサンプル中の好気性菌、嫌気性菌、Staphylococcus, Candida の菌量を培養法で測定した。現在、データの集積を行っている。個々被験者の口腔内微生物量の変化を検討し、データをまとめ、最終的な口腔微生物叢への癌手術の影響を明らかにする。[泉福英信、岩渕博史（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 27 年度は、地方衛生研究所、保健所、病院等からレジオネラ属菌 206 株（分離株臨床分離株 67 株、環境分離株 139 株）を受け入れた。臨床分離株は、*L. pneumophila*（Lp）SG1 の 62 株、Lp SG2・SG9・SG13 各 1 株、Lp 以外では *L. bozemanae* SG2 、*L. longbeachae* SG2 各 1 株であった。環境分離株は、Lp SG1 の 85 株、Lp SG3 の 27 株、SG10 の 5 株、Lp SG6・SG12・SG13 の各 3 株、Lp SG5、Lp untypable が各 1 株、Lp 以外では *L. feeleii* SG1 が 1 株、*L. micdadei* 1 株、*L. quinlivqnii* が 6 株、*L. spiritensis* が 3 株であった。なお、収集された株は、必ずしも平成 27 年度に分離された株とは限らない。[前川純子、倉　文明、大西　真]

2.　市販されていないレジオネラ免疫血清等の依頼作製

DDH レジオネラ’極東’が販売中止となったことから、レジオネラ属菌同定のための免疫血清が要望されている。これまでロングビーチ 1 群、2 群、フィーレイ 1 群、2

群、ハッケリ、アニサ、ロンディニエンシス 1 群、2 群をデンカ生研に依頼作製し、レジオネラ・レファレンスセンターを通じて地衛研に配布してきたが、平成 27 年度はセントヘレンシ 1 群、2 群、ジョルダニスを依頼作製し、感度、交差性を検証した。[前川純子、倉　文明、大西　真]

品質管理に関する業務

I. 4 価髄膜炎菌ワクチンに関する検定検査業務
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
国家検定：1 lot ［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：25 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：20 lot ［前川純子、小川道永、大西真］

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

1. 平成 27 年度国立保健医療科学院・国立感染症研究所細菌研修講義. 「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 11 月、東京都 ［伊豫田 淳］.

2. 平成 27 年度国立保健医療科学院・国立感染症研究所細菌研修. 平成 27 年 11 月、東京都 [石嶋 希、李 謙一、森田昌知、石原朋子、山本章治、三戸部治郎、泉谷秀昌、大西 真] .

3. 神奈川県衛生研究所平成 27 年度第 1 回病原細菌遺伝学的解析法研修、2015 年 6 月、神奈川県茅ケ崎市［泉谷秀昌］。

4. 泉谷秀昌:標準法から通知法に採用されたサルモネラ試験法解説。食の安全を確保するための微生物検査協議会平成 27 年度研修会、2015 年 11 月、東京都［泉谷秀昌］。

5, 泉谷秀昌:腸管出血性大腸菌の MLVA 法について。平成 27 年度全国地研協議会中国四国リファレンスセンター連絡会議、2015 年 12 月、岡山県岡山市 ［泉谷秀昌］。

6. RITM 研究者研修: フィリピン RITM 研究者 1 名に対し、赤痢菌およびコレラ菌の分子疫学解析に関する研修を感染研細菌第一部において実施した。2016 年 2 月［泉谷秀昌、大西真］

7. JICA 研修: JICA「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」に関連し、コレラの病原体検査に係るバイオセーフティおよび GMT の研修をベトナム ゲアン省において実施した。2015 年 7 月［泉谷秀昌］

II. レジオネラ属菌に関する講習会

1. 平成２７年度富山県環境衛生監視員研修会「レジオネラ症　多様な感染源と感染事例」2015 年 6 月、富山［倉文明］

2. 平成２７年度埼玉県環境衛生監視員等研修会、特別講義「レジオネラ症　多様な感染事例に学ぶ」、2015 年 7 月、さいたま［倉　文明］

3. 国立保健医療科学院平成 27 年度短期研修環境衛生監視指導「レジオネラ属菌の検査と感染対策」、2015 年 11 月、和光市［倉　文明］

4. 平成 27 年度生活衛生関係技術担当者研修会（厚生労働省健康局生活衛生課)「レジオネラ症をめぐる話題と動向」2016 年 2 月、東京都［倉　文明］

5. 平成 27 年度第 4 回病原細菌遺伝学的解析法研修（神奈川県衛生研究所)「レジオネラの感染事例と分子疫学解析」 2016 年 3 月、茅ヶ崎市［倉　文明］

6. 平成 27 年度短期研修　細菌研修「レジオネラ感染症検査法総論」2015 年 11 月、東京都［前川純子］

7. 病原細菌遺伝学的解析法研修（神奈川県衛生研究所）「レジオネラの遺伝学的解析法」2015 年 12 月、神奈川県［前川純子］

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M; Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping. J Clin Microbiol. 2015, 53(8): 2427-32.

2) Harada T, Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Taguchi M, Kumeda Y. Multiplex Real-Time PCR Assays for Screening of Shiga Toxin 1 and 2 Genes, Including All Known Subtypes, and *Escherichia coli* O26-, O111-, and O157-Specific Genes in

Beef and Sprout Enrichment Cultures. J Food Prot. 2015, 78(10), 1800-11.

3) Sakai T, Sawai T, Shimizu Y, Morimune T, Okuda Y, Maruo Y, Iyoda S, Takeuchi Y. *Escherichia coli* O121:H19 infection identified on microagglutination assay and PCR. Pediatr Int. 2015, 57(5), 1001-3.

4) Akiba M, Senba H, Otagiri H, Prabhasankar VP, Taniyasu S, Yamashita N, Lee K, Yamamoto T, Tsutsui T, Ian Joshua D, Balakrishna K, Bairy I, Iwata T, Kusumoto M, Kannan K, Guruge KS. Impact of wastewater from different sources on the prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in sewage treatment plants in South India. Ecotoxicol Environ Saf. 2015, 115: 203-8.

5) Diep TT, Nguyen NT, Nguyen TN, An HK, Nguyen TQ, Nguyen VH, Nguyen TV, Nguyen TN, Izumiya H, Ohnishi M, Yamashiro T, Nguyen LT. Isolation of New Delhi metallo-β-lactamase 1-producing *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 strain carrying *ctxA*, *st* and *hly* genes in southern Vietnam. Microbiol Immunol. 2015 May;59(5):262-7. doi: 10.1111/1348-0421.12248. PubMed PMID: 25683557.

6) Saitoh T, Morita M, Shimada T, Izumiya H, Kanayama A, Oishi K, Ohnishi M, Sunagawa T. Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013. Epidemiology and Infection. 2016, 114(3): 602-606

7) Klionsky, DJ et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). Autophagy. 12:1-222. (2016)

8) 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. 11:748-55. (2015)

9) Chang B, Nariai A, Sekizuka T, Akeda Y, Kuroda M, Oishi K, Ohnishi M. Capsule switching and antimicrobial resistance acquired during repeated *Streptococcus pneumoniae* pneumonia episodes. Journal of Clinical Microbiology. 2015. 53:3318-3324.

10) Suga S, Chang B, Asada K, Akeda H, Nishi J, Okada K, Wakiguchi H, Maeda A, Oda M, Ishiwada N, Saitoh A, Oishi T, Hosoya M, Togashi T, Oishi K, Ihara T.

11) Nationwide population-based surveillance of invasive pneumococcal disease in Japanese children: Effects of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine.
Vaccine. 2015. 33:6054-6060.

12) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Suga S, Noguchi T, Yamamoto M, Matsumura Y, Nagao M, Takakura S, Ohnishi M, Ihara T, Ichiyama S. Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012-2014. Vaccine. 2016. 34:67-76.

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; 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. 21:207-211.

14) Akata K, Chang B, Yatera K, Kawanami T, Yamasaki K, Naito K, Noguchi S, Ishimoto H, Mukae H. Distribution and annual changes in *Streptococcus pneumoniae* serotypes in adult Japanese patients with pneumonia. Journal of Infection and Chemotherapy. 2015. 21:723-728.

15) Nakano S, Matsumura Y, Ito Y, Fujisawa T, Chang B, Suga S, Kato K, Yunoki T, Hotta G, Noguchi T, Yamamoto M, Nagao M, Takakura S, Ohnishi M, Ihara T, Ichiyama S. Development and evaluation of MALDI-TOF MS-based serotyping for *Streptococcus pneumoniae*. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2015. 34:2191-2198.

16) Matsubara K, Maihara T, Chang B. Ultra-late onset meningitis caused by serotype IX group B *Streptococcus*. The Pediatric Infectious Disease Journal. 2015. 34:801.

17) Naito S, Tanaka J, Nagashima K, Chang B, Hishiki H, Takahashi Y, Oikawa J, Nagasawa K, Shimojo N, Ishiwada N. The impact of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine on the incidence of childhood community-acquired pneumonia and bacteriologically confirmed pneumococcal pneumonia in Japan. Epidemiology and Infection. 2015. 30:1-13.

18) Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Hanayama M, Ikebe T. Acute abdomen due to group A streptococcus bacteremia caused by an isolate with a mutation in the *csrS* gene. J Infect Chemother. 2015, 21 (11): 816-819.

19) Tomizawa Y, Hoshino Y, Sasaki F, Kurita N, Kawajiri S, Noda K, Hattori N, Amemura-Maekawa J, Kura F, Okuma Y. Diagnostic Utility of Splenial Lesions in a Case of

Legionnaires' Disease due to *Legionella pneumophila* Serogroup 2. Intern Med. 2015, 54(23): 3079-3082.

20) Andoh M, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Fujita H, Une Y, Goka K, Kishimoto T, Ando S. *Rickettsia* and *Ehrlichia* detection from exotic animal-associated hard ticks. PLoS One 2015. 10(7): e0133700.

21) Gatzmann F, Metzler D, Krebs S, Blum H, Sing A, Takano A, Kawabata H, Fingerle V, Margos G, Becker NS. NGS population genetics analyses reveal divergent evolution of a Lyme Borreliosis agent in Europe and Asia. Ticks and Tick-borne Diseases. 2015. 6 (3): 344-351.

22) Murase Y, Konnai S, Yamada S, Githaka N, Isezaki M, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. An investigation of binding ability of *Ixodes persulcatus* Schulze Salp15 with Lyme disease spirochetes. Insect Biochemistry and Molecular Biology 2015. 60: 59-67.

23) Kutsuna S, Kawabata H, Ohmagari N. Imported Lyme disease. Internal Medicine. 2015. 54(6): 691.

24) Oda S, Kabeya H, Sato S, Shimonagane A, Inoue K, Hayashidani H, Takada N, Fujita H, Kawabata H, Maruyama S. Isolation of pathogenic *Yersinia enterocolitica* 1B/O:8 in from *Apodemus* mice in Japan. Journal of Wildlife Diseases 51(1):260-264, 2015.

25) Lee DK, Kim EJ, Kilgore PE, Kim SA, Takahashi H, Ohnishi M, Anh DD, Dong BQ, Kim JS, Tomono J, Miyamoto S, Notomi T, Kim DW, Seki M. Clinical Evaluation of a Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Rapid Detection of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. *Plos One* **10**(4):e0122922, 2015.

26) Takahashi H, Yanagisawa T, Kim KS, Yokoyama S, Ohnishi M. Multiple Functions of Glutamate Uptake via Meningococcal GltT-GltM L-Glutamate ABC Transporter in *Neisseria meningitidis* Internal Internalization into Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Infect Immun* **83**: 3555-3567, 2015.

27) Yanagisawa T, Takahashi H, Suzuki T, Masuda A, Dohmae N, Yokoyama S. *Neisseria meningitidis* Translation Elongation Factor P and Its Active-Site Arginine Residue Are Essential for Cell Viability. *Plos One* **11(**2): e0147907, 2016.

28) Lee DK, Kim EJ, Kilgore P, Takahashi H, Ohnishi M, Tomono J, Miyamoto S, Omagari D, Kim DW and Seki M. A Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Serogroup Identification of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. *Frontiers in Microbiology* **6**:1548, 2016.

29) Villanueva MA, Mingala CN, Gloriani NG, Yanagihara Y, Isoda N, Nakajima C, Suzuki Y, Koizumi N. Investigation of *Leptospira* infection and its circulation in one intensive-type water buffalo farm in the Philippines. Jpn J Vet Res. 2016. 64 (1):15–24.

30) Shiokawa K, Gamage CD, Koizumi N, Sakoda Y, Shimizu K, Tsuda Y, Yoshimatsu K, Arikawa J. Evaluation of truncated LipL32 expressed by *Escherichia coli* and *Pichia pastoris* for serodiagnosis of *Leptospira* infection in rodents. J Vet Med Sci. 2016. 78 (2):221–230.

31) Koizumi N, Izumiya H, Mu JJ, Arent Z, Okano S, Nakajima C, Suzuki Y, Mizutani Muto M, Tanikawa T, Taylor TR, Komatsu N, Yoshimatsu K, Ha HTT, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of *Leptospira interrogans* and *Leptospira borgpetersenii* isolated from small feral and wild mammals in East Asia. Infect Gen Evol. 2015. 36: 434–440.

32) Matono T, Kutsuna S, Koizumi N, Fujitani Y, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Imported flood-related leptospirosis from Palau: Awareness of risk factors leads to early treatment. J Travel Med. 2015. 22 (6): 422–424.

33) Satou K, Shimoji M, Tamotsu H, Juan A, Ashimine N, Shinzato M, Toma C, Nohara T, Shiroma A, Nakano K, Teruya K, Terabayashi Y, Ohki S, Koizumi N, Okano S, Suzuki T, Hirano T. Complete genome sequences of low-Passage virulent and high-Passage avirulent variants of pathogenic *Leptospira interrogans* serovar Manilae strain UP-MMC-NIID, originally isolated from a patient with severe leptospirosis, determined using PacBio single molecule, real-time technology. Genome Announc. 2015. 3 (4): e00882-15.

34) Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H, Tomizawa R, Sato R, Ohnishi M. Comparison of bacterial burden and cytokine gene expression in golden hamsters in early phase of infection with two different strains of *Leptospira interrogans*. PLoS ONE 2015. 10 (7): e0132694.

35) Kitashoji E, Koizumi N, Lacuesta TLV, Usuda D, Ribo MR, Tria ES, Go WS, Kojiro M, Parry CM, Dimaano EM, Villarama JB, Ohnishi M, Suzuki M, Ariyoshi K. Diagnostic accuracy of recombinant immunoglobulin-like protein A-based IgM ELISA for the early diagnosis of leptospirosis in the Philippines. PLoS Neglected Trop Dis. 2015. 9 (6): e0003879.

36) Saitoh H, Koizumi N, Seto J, Ajitsu S, Fujii A, Takasaki S, Yamakage S, Aoki S, Nakayama K, Ashino Y,

Chagan-Yasutan H, Kiyomoto H, Hattori T. Leptospirosis in the Tohoku region: re-emerging infections disease. Tohoku J Exp Med. 2015. 236 (1): 33-37.

37) Ogawa H, Koizumi N, Ohnuma A, Mutemwa A, Hang'ombe BM, Mweene AS, Takada A, Sugimoto C, Suzuki Y, Kida H, Sawa H. Molecular epidemiology of pathogenic *Leptospira* spp. in the straw-colored fruit bat (*Eidolon helvum*) migrating to Zambia from the Democratic Republic of Congo. Infect Gen Evol. 32: 143-147, 2015.

38) Shimuta K, Watanabe, Y, Nakayama, S, Morita-Ishihara T, Kuroki T, Unemo M, and Ohnishi M. Emergence and evolution of internationally disseminated cephalosporin-resistant Neisseria gonorrhoeae clones from 1995 to 2005 in Japan. BMC infectious dis. 2015; 15:378

39) Shaughnessy J, Gulati S, Agarwal S, Unemo M, Ohnishi M, Su XH, Monks BG, Visintin A, Madico G, Lewis LA, Golenbock DT, Reed GW, Rice PA, Ram S. A Novel Factor H-Fc Chimeric Immunotherapeutic Molecule against Neisseria gonorrhoeae. J Immunol. 196 1732-1740, 2016.

40) Gulati S, Schoenhofen IC, Whitfield DM, Cox AD, Li J, St Michael F, Vinogradov EV, Stupak J, Zheng B, Ohnishi M, Unemo M, Lewis LA, Taylor RE, Landig CS, Diaz S, Reed GW, Varki A, Rice PA, Ram S. Utilizing CMP-Sialic Acid Analogs to Unravel Neisseria gonorrhoeae Lipooligosaccharide-Mediated Complement Resistance and Design Novel Therapeutics. PLoS Pathog. 11(12): e1005290, 2015.

41) Kobayashi T, Kutsuna S, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N, Uryu H, Yamada R, Kashiwa N, Nei T, Ehara A, Takei R, Mori N, Yamada Y, Hayasaka T, Kagawa N, Sugawara M, Suzaki A, Takahashi Y, Nishiyama H, Morita M, Izumiya H, Ohnishi M. Case Report: An Outbreak of Food-Borne Typhoid Fever Due to Salmonella enterica Serotype Typhi in Japan Reported for the First Time in 16 Years. Am J Trop Med Hyg. 2016 Feb;94(2):289-91.

42) Ogura Y, Mondal SI, Islam MR, Mako T, Arisawa K, Katsura K, Ooka T, Gotoh Y, Murase K, Ohnishi M, Hayashi T. The Shiga toxin 2 production level in enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 is correlated with the subtypes of toxin-encoding phage. Sci Rep. 2015 Nov 16;5:16663.

43) Rashid MU, Rashed SM, Islam T, Johura FT, Watanabe H, Ohnishi M, Alam M. CtxB1 outcompetes CtxB7 in Vibrio cholerae O1, Bangladesh. J Med Microbiol. 2016 Jan;65(1):101-3

44) 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.

45) 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 adhesion and biofilm re-development. PLoS ONE. 2015. 10(1): e0116647.

46) Ito T, Senpuku H, Ichinosawa T, Ikematsu-Ito N, Kimura N, Shimizu T. SspB peptide assay reveals saliva-mediated *Porphyromonas gingivalis* attachment. Open Journal of Stomatology. 2015. 5(11): 259-267.

47) Merritt J, Senpuku H, Kreth J, Let there be bioluminescence – 1 Development of a biophotonic imaging platform for in situ analyses of oral biofilms in animal models. Environmental Microbiology. 2016. 18(1):174-190.

48) Kawarai T, Narisawa N, Suzuki Y, Nagasawa R, Senpuku H. *Streptococcus mutans* biofilm formation is dependent on extracellular DNA in primary low pH condition. Journal of Oral Biosciences. 2016. 58(2): 55-61.

49) 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：Pathogens and Disease. 2015 April 73(3). pii: ftu006.

50) Kariu T, Nakao R, Ikeda T, Nakashima K, Potempa J, and Imamura T：Inhibition of gingipains and *Porphyromonas gingivalis* growth and biofilm formation by prenylated flavonoids : Journal of Periodontal Research. 2016 Feb.doi:10.1111/jre.12372

2. 和文発表

1) 井口 純、秋吉充子、伊豫田 淳、大西 真. 腸管出血性大腸菌の主要な O 血清群と病原性遺伝子を判定する One-shot マルチプレックス PCR 法の開発と評価. 日本食品微生物学会誌. 2015, 32(4): 215-8.

2) 秋吉充子、中村寛海、伊豫田 淳、石原朋子、加藤結子、井口 純. 様々なO血清群に属する志賀毒素産生性大腸菌の市販選択培地上での生育特性. 日本食品微生物学会誌. 2015, 32(4): 192-8.

3) 石原朋子, 伊豫田 淳. 腸管出血性大腸菌感染症の現状と課題. 感染と消毒. 2015, 22(2): 117-20.

4) 泉谷秀昌、石原朋子、伊豫田淳、大西真:2014 年に分離された腸管出血性大腸菌 O157、O26 および O111 株の

MLVA 解析について。IASR、第 36 巻、83-84、2015 年 5 月

5) 妹尾充敏、森田昌知. Infectious diseases in Asia/細菌感染症領域における国際協力. 日本細菌学雑誌. 70(2): 329-332, 2015.

6) 小川道永.病原細菌と宿主オートファジーとの攻防 化学と生物, 53:389-397. (2015)

7) 小川道永. 肺炎球菌の基礎（金澤實、大石和徳編、肺炎球菌ワクチンの新しい展開 改訂 4 版)、医薬ジャーナル社（2015）

8) 阿戸学、池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症メカニズムと検査. 検査と技術. 医学書院. 44(1):40-46(2016).

9) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌について. バムサジャーナル. バイオメディカルサイエンス研究所. 27 (2): 37-40 (2015).

10) 倉 文明：レジオネラ症の国内外の動向、ビルと環境 149:36-44, 2015. 中臣昌広著、倉 文明監修：レジオネラ症対策のてびき、一般財団法人日本環境衛生センター、2015 年 8 月 21 日第 2 版発行

11) 高橋英之 髄膜炎菌性髄膜炎（侵襲性髄膜炎菌感染症）、体と心 保健総合大百科 小学校編 2015 年 101-103.

12) 高橋英之 髄膜炎菌性髄膜炎（侵襲性髄膜炎菌感染症）、体と心 保健総合大百科 中・高校編 2015 年 136-138.

13) 高橋英之、大西真 髄膜炎菌感染症 感染症 **46**(2): 34-39, 2016.

14) 泉福英信、病原性バイオフィルム形成メカニズムと全身疾患の制御手段、ザ. クインテッセンス、2015. 34(1): 118-119.

15) 泉福英信、口腔バイオフィルムと糖および代謝産物、化学療法の領域、2015. 31(11): 45-51.

16) 緒方喜久代、荒川英二 「15 コレラ菌」p. 463-477 食品衛生検査指針 微生物編 2015 日本食品衛生協会

17) 荒川英二 小・中・高保健ニュース (小中高保 11/28 「感染症」7 赤痢、コレラ) 少年写真新聞社

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Akiba M, Senba H, Otagiri H, Prabhasankar VP, Taniyasu S, Yamashita N, Lee K, Yamamoto T, Tsutsui T, Joshua DI, Balakrishna K, Bairy I, Iwata T, Kusumoto M, Kannan K, Guruge KS. Impact of wastewater from different sources on the prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in sewage treatment plants in South India. 3rd International Symposium on the Environmental Dimension of Antibiotic Resistance. Wernigerode, Germany, May, 2015.

2) Lee K, Kusumoto M, Iwata T, Akiba M. Virulence and phylogenetic characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from cattle in Japan. The 9th triennial International Shiga toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections Symposium 2015. Boston, USA, September, 2015.

3) Lee K, Morita-Ishihara T, Iyoda S, Ogura Y, Hayashi T, Sekizuka T, Kuroda M, Ohnishi M, EHEC Working Group. Diffuse outbreak investigation in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O121 by whole genome sequence. SMBE Satellite Workshop on Genome Evolution in Pathogen Transmission and Disease. Nagano, Japan, Febrarury, 2016.

4) Morita-Ishihara T, Iyoda S, Iguchi A, Ohnishi M. Potential risk of Shiga-toxin producing *E. coli* (STEC) infection: investigation of STEC isolates from asymptomatic carrier in Japan. VTEC 2015. The 9th triennial International Shiga toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections Symposium 2015. Boston, USA, September, 2015.

5) Ishijima N, Iyoda S, Iguchi A, Izumiya H, Ishihara T, Saitoh T, Ohnishi M, and EHEC Working Group in Japan. Identification of an aggravation risk factor of EHEC O26 ST29, a possible high-virulence lineage. The 9th triennial International Shiga toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections Symposium 2015. Boston, USA, September, 2015.

6) Morita M, Izumiya H, Ohnishi M. Unusual increase of typhoid fever cases in Japan and molecular epidemiological analysis of the causative agent, *Salmonella* Typhi. The 6th Congress of European Microbiologists (FEMS 2015), Maastricht, The Netherlands, June 2016.

7) Amemura-Maekawa J, Chida K, Ohya H, Kanatani J-I, Tanaka S, Nakajima H, Yoshino S, Ohnishi M, Kura F. Genetic features of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila* SG1 in Japan. ESGLI 2015. London, September 2015.

8) Isobe J, Kanatani J-I, Nakagawa T, Kimata K, Mitsui C, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M. Case report of legionellosis with infections at two different bath facilities within a single incubation period. ESGLI 2015. London, September 2015.

9) Kanatani J-I, Isobe J, Kimata K, Mitsui C, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M: ATP bioluminescence assay as an indicator of bacterial counts and

risk for *Legionella* occurrence in bath water. ESGLI 2015. London, September 2015.

10) Suzuki Y, Arai T, Ogura N, Kondoh T, Senpuku H. Inhibiting effects of fructanase on the competence-stimulating peptide-dependent genetic transformation and biofilm formation by *Streptococcus mutans*. EUROBIOFILMS 2015 – 4th European Congress on Microbial Biofilms. Brno, Czech, June 2015.

11) Nakao R, Yoshimasu Y, Furukawa S, Morinaga Y, Senpuku H：The mode of antimicrobial action of propolis on periodontopathic Gram-negative bacteria：Keystone Symposia, Gram-negative resistance,Tahoe, CA, USA.April. 2015.

12) Nakao R, Obana N, Nagayama K, Nomura N, Ohnishi M, Senpuku H.：Assessment of immune responses in mice after intranasal immunization using outer membrane vesicles derive from 3 different Gram- negative pathogens : International Congress of Mucosal Immunolgy 2015, Berlin, Germany, July, 2015.

13) Nagayama K, Obana N, Nakao R, Senpuku H, Nakamura K, Nomura N：Functional analysis of membrane vesicles produced by gram-positive intestinal bacteria : Interdisciplinary Workshop on Science and Patents (IWP) , Tsukuba Japan, September, 2015

2. 国内学会

1）秋庭正人、仙波裕信、清水春菜、Valipparambil P. Prabhasankar、谷保佐知、山下信義、李 謙一、山本健久、筒井俊之、Derrick Ian Joshua、Keshava Balakrishna、Indira Bairy、岩田剛敏、楠本正博、Kurunthachalam Kannan、Keerthi S. Guruge. インド下水処理施設の薬剤耐性大腸菌分布率に及ぼす汚水流入源の影響. 第 44 回薬剤耐性菌研究会、宮城、2015 年.

2）李 謙一、楠本正博、岩田剛敏、伊豫田 淳、秋庭正人. 国内牛群における志賀毒素産生性大腸菌の保有に関わる衛生管理指標の究明および分離株の性状解析. 第 19 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2015 年.

3）李 謙一、石原朋子、伊豫田 淳、小椋義俊、林 哲也、関塚剛史、黒田 誠、大西 真、EHEC Working Group. 全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 O121 の散在的集団感染事例の解析. 第 88 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

4）伊豫田 淳、井口 純、勢戸和子、李 謙一、石原朋子、大西真、Working Group EHEC. 腸管出血性大腸菌 OUT 株の *E. coli* O-genotyping 法による O 型別. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

5）井口 純、伊豫田 淳. ヒト由来 STEC から見出した 8 種類の新規 O 群遺伝子型と牛由来 STEC における分布. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

6）西田留梨子、村瀬一典、後藤恭宏、大岡唯祐、中島遥子、片平雄之、伊豫田 淳、大西 真、小椋義俊、林 哲也. 腸管出血性大腸菌 O121:H19 の比較ゲノム解析. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

7）須藤直樹、相馬亜希子、伊豫田 淳、齋藤健太、関根靖彦. Small regulatory RNA Esr41 による腸管出血性大腸菌 LEE 遺伝子群の発現制御、第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

8）石嶋 希、伊豫田 淳、井口 純、大西 真、EHEC Working Group. 腸管出血性大腸菌 O26 の高病原性系統の同定. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

9）井口 純、伊豫田 淳. 腸管出血性大腸菌で見つかった新規 O 血清群遺伝子型（O-genotype）について. 第 36 回日本食品微生物学会学術総会、川崎、2015 年.

10）石原朋子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真. 最近の EHEC の発生動向について. 衛生微生物技術協議会第 36 回研究会、仙台、2015 年.

11）石原朋子、伊豫田 淳、泉谷秀昌、大西 真、EHEC ワーキング グループ. O157、O26、O111 以外の腸管出血性大菌 2014 年分離株における PFGE 解析. 第 19 回腸管出血性大菌感染症研究会、東京、2015 年.

12）石原朋子、伊豫田 淳、寺嶋 淳、泉谷秀昌、大西 真、EHEC Working Group. 国内における腸管出血性大腸菌 O146 の発生動向について. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年.

13）泉谷秀昌：赤痢菌の薬剤耐性と分子疫学の傾向について。第 15 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2015 年 9 月、東京都。

14）泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真：腸管出血性大腸菌の分子疫学解析について（血清群 O157、O26、O111 を中心に）。第 36 回日本食品微生物学会学術総会、2015 年 11 月、神奈川県川崎市。

15）山本章治. コレラ菌におけるキチン応答性シグナル伝達の PTS による制御. 第89回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

15）森田昌知、泉谷秀昌、大西真. 2015 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 回感染性腸炎学会総会、東京、2016 年 3 月.

16）森田昌知、齊藤剛仁、李謙一、泉谷秀昌、大西真. Genomic epidemiological analysis of *Salmonella* Paratyphi A isolated in Japan. 第 89 回日本細菌学会

総会、大阪、2016 年 3 月.

17) 中野哲志、伊藤穣、常彬、菅秀、野口太郎、山本正樹、松村康史、長尾美紀、高倉俊二、大西真、庵原俊昭、一山智。小児侵襲性肺炎球菌感染症全国サーベイランス（ニューモキャッチ）の菌株解析結果（2012-2014 年)。第 85 回日本感染症学会西日本地方総会学術集会・第 58 回日本感染症学会中日本地方総会学術集会･第 63 回日本化学療法学会西日本支部総会　合同学会、奈良市、2015 年。

18)李相太、笠原敬、今北菜津子、米川真輔、中村ふくみ、小川拓、梶田明裕、平田一記、平位暢康、今井雄一郎、小川吉彦、宇野健司、前田光一、三笠桂一、山崎正晴、常彬。セフトリアキソン耐性・マクロライド耐性肺炎球菌による侵襲性肺炎球菌感染症の一例。第 85 回日本感染症学会西日本地方総会学術集会･第 58 回日本感染症学会中日本地方総会学術集会･第 63 回日本化学療法学会西日本支部総会　合同学会、奈良市、2015 年。

19) 福住宗久、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、大島謙吾、青柳哲史、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、常彬、大西真、高橋琢理、松井珠乃、砂川富正、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-2014 年)。第 64 回日本感染症学会東日本地方総会学術集会･第 62 回日本化学療法学会東日本支部総会　合同学会、札幌市、2015 年。

20) 黒沼幸治、小林智史、錦織博貴、常彬、大石和徳、高橋弘毅。北海道における成人侵襲性肺炎球菌感染症のサーベイランス。第 64 回日本感染症学会東日本地方総会学術集会･第 62 回日本化学療法学会東日本支部総会　合同学会、札幌市、2015 年。

21) 鈴木博貴、佐藤千紗、土田文広、常彬、山本友香、西塚碧、渡邊麻莉、大石和徳、武田博明。当院の *Streptococcus pneumoniae* の莢膜血清型および PPSV23 の接種効果の検討。第 64 回日本感染症学会東日本地方総会学術集会・第 62 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、札幌市、2015 年。

22) 池辺忠義. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016.

23)松村隆之、池辺忠義、大西真、阿戸学. The defensive role of IL-6-producing immature myeloid cells in group A streptococcal infections. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016.

24) 池辺忠義、緒方喜久代、大屋日登美、河原隆二、奥野ルミ、久保田寛顕、内谷友美、矢端順子、多田有希、岡部信彦、常彬、渡邉治雄、大西真. 2009-2013 年における劇症型 B 群レンサ球菌感染症の検討.第 89 回日本感染症学会学術講演会、京都、2015 年.

25) 吉澤定子、池辺忠義、福井悠人、石井良和、舘田一博. 当院における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の臨床的特徴と免疫学的検討.第 89 回日本感染症学会学術講演会、京都、2015 年.

26) 金子政彦、丸田雅樹、池辺忠義. 致死的経過を辿った *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimiis* (SDSE)による劇症型β溶血性連鎖球菌感染症の 3 例. 第 85 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、奈良、2015 年.

27) 泉山信司、倉　文明、黒木俊郎、渡辺祐子：家庭の水環境における *Legionella* 汚染、2015 年度 環境技術学会 第 15 回 年次大会、2015 年 9 月、大阪府.

28) 浦山みどり、田栗利紹、石本陽介、金谷潤一、倉　文明：LC　EMA-ｑPCR 法（レジオネラ生菌迅速検査法）に与える夾雑菌の影響、日本防菌防黴学会第 42 回年次大会、大阪府、2015 年 9 月.

29) 倉　文明:「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の改正について、パネルディスカッション、第 27 回レジオネラ対策シンポジウム、NPO 入浴施設衛生管理推進協議会主催、東京、2015 年５月.

30) 倉　文明：入浴施設などにおける衛生管理・レジオネラ対策と ATP 検査法の活用、ATP・迅速検査研究会第 33 会講演会、特別講演、2014 年 10 月、東京.

31) 杉山寛治、長岡宏美、片山富士男、和田裕久、江原広里、市村祐二、青木信和、江口大介、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、縣　邦雄、田中慶郎、倉　文明：循環式浴槽水のモノクロラミン消毒による長期間にわたるレジオネラ属菌の制御、日本防菌防黴学会第 42 回年次大会、大阪府、2015 年 9 月.

32) 高野さかえ、前川純子、倉　文明、山元　佳: 呼吸器検体から菌の分離を経ず直接 Sequence-based typing 法を行ったレジオネラ肺炎症例. 第 89 回日本感染症学会学術講演会. 京都、2015 年 4 月.

33) 長岡宏美、市村祐二、青木信和、江口大介、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、縣邦雄、片山富士男、江原広里、和田裕久、杉山寛治、倉　文明：気泡発生装置使用浴槽におけるモノクロラミン消毒効果の検証、日本防菌防黴学会第 42 回年次大会、大阪府、2015 年 9 月.

34) 西堀武明, 前川純子: *Legionella pneumophila* 血清群 13 によるレジオネラ肺炎の 1 例. 日本感染症学会第 62 回東日本地方会学術集会. 札幌、2015 年 10 月.

35) 前川純子、倉　文明、村井美代、大西　真: *Legionella*

pneumophila 血清群 1 の PCR によるサブグルーピング. 第 89 回日本細菌学会総会. 大阪、2016 年 3 月.

10) 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 A 領域の多型と clonal complex の関連. 第 89 回日本細菌学会総会. 大阪、2016 年 3 月.

36)川端寛樹. Borrelia miyamotoi 感染症の現状. 第 23 回ダニと疾患のインターフェイス. 2015 年 6 月. 仙台.

37)村瀬優介、今内覚、伊東 拓也、高野 愛、川端 寛樹、安藤秀二、村田史郎、大橋 和彦. シュルツェマダニ(*Ixodes persulcatus*)由来Salp15因子によるライム病ボレリア伝播促進機能の解析. 第 158 回日本獣医学会学術集会. 2015 年 9 月. 青森.

38) 川 端 寛 樹 *Borrelia miyamotoi* disease (BMD)-*Borrelia miyamotoi* 感染症の現状-. 第 3 回感染症を考える会(DEKABEN). 2015 年 12 月. 静岡県

39) 高橋英之：侵襲性髄膜炎菌感染症の世界及び国内の実態、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月

40) 小泉信夫, 泉谷秀昌, Jung-Jung Mu, 岡野祥, 中島千絵, 鈴木定彦, 武藤（水谷）麻紀, 大西真. MLVA typing of *Leptospira interrogans* and *L. borgpetersenii* isolated from small mammals in East Asia. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

41) 冨澤莉那, 小泉信夫, 大西真. Global identification of hemolysis-associated genes in *Leptospira* by transposon random mutagenesis. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

42) 三戸部治郎, 小泉信夫, 志牟田健, Shiha Ritam, Soma Mitra, Dhrubajyoti Nag, Hemanta Koley. 赤痢菌の病原性発現機構にもとづいた, 汎血清型に作用するユニバーサル弱毒ワクチン候補株の開発. 第 89 回日本細菌学会総会, 大阪, 2016 年 3 月.

43) 小泉信夫, 泉谷秀昌, 慕蓉蓉, 岡野祥, 中島千絵, 鈴木定彦, 谷川力, 小松謙之, 吉松組子, 武藤（水谷）麻紀, 大西真. 東アジアの小型哺乳動物から分離されたレプトスピラの反復配列多型解析法による分子型別. 第 53 回レプトスピラシンポジウム, 大阪, 2016 年 3 月.

44) 冨澤莉那, 小泉信夫, 佐藤令一, 大西真. トランスポゾンランダム挿入変異法によるレプトスピラの溶血活性関連因子の探索. 第 53 回レプトスピラシンポジウム, 大阪, 2016 年 3 月

45) 志牟田 健、中山周一、石原朋子、大 西 真: 2010-2015 年に京都府-大阪府で分離されたアジスロマイシン耐性淋菌の性状解析, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京、2015 年 12 月

46) 中山周一、古林 敬一、志牟田健、大 西 真: 新たな CTRX 耐性 PPNG 株 FC-428 の検出とその解析, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京、2015 年 12 月

47) 中西典子、田中忍、志牟田健、石原朋子、中山周一、大澤佳代、吉田弘之、重村克己、荒川創一、安田満、出口隆、岩本朋忠、大西真:MLVA によって見出された NG-MAST ST1407 型淋菌の遺伝学的特徴, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京、2015 年 12 月

48) 川畑拓也、中山周一、古林敬一、亀岡 博、安本亮二、志牟田健、石原朋子、大西 真: 大阪府内で分離された淋菌株におけるアジスロマイシン感受性率の低下, 日本性感染症学会 第 28 回学術大会, 東京、2015 年 12 月

49) 村田敬寛、杉本美紀、武井剛、谷田川聡也、檜垣（狩野）博嗣、井田孔明、渡辺博、志牟田健、大西真: インフルエンザ菌無莢膜株による急性巣状細菌性腎炎の 1 例. 第 47 会小児感染症学会総会・学術集会 、福島、2015、10 月

50) 桜井博毅、深澤光晴、中山周一、 本郷偉元、堀越裕歩。新生児期に PCR 法による診断が有用であった先天性梅毒の２例。日本性感染症学会第２８回学術大会 2015 年 12 月 東京

51) 石金正裕, 山岸拓也, 井戸田一朗, 加藤博史, 有馬雄三, 高橋琢理, 加納和彦, 砂川富正, 大石和徳, 大西真. 男性と性交する男性における梅毒罹患リスクを評価する質問紙の開発：Pilot Study. 第 64 回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会 2015 年 11 月 札幌

52) 泉福英信. 口腔常在菌の特殊性とその口腔における意義、シンポジウム「口腔常在菌とその臨床的意義」、第１８回日本臨床腸内微生物学会総会･学術集会､東京、2015 年 8 月.

53) 泉福英信. 口腔という特殊環境において繰り広げられる Biofilm/cell-cell cpmmunication、シンポジウム４ Biofilm/cell-cell communication 研究が切り開く農芸化学分野～食品・環境から医薬まで～ 日本農芸化学会 2016、札幌、2016 年 3 月.

54) 尾花 望、中尾龍馬、永山恭子、泉福英信、野村暢彦. Immunoactive membrane vesicles are actively produced by the Gram-positive clostridial pathogen. WS12 細菌由来メンブランヴェジクル研究、基礎と応用、第８９回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月.

55) 中尾龍馬、大西 真、泉福英信. *Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェジクルー歯周病粘膜ワクチンの候補抗原としての効果―､WS12 細菌由来メンブランヴェジクル研究、基礎と応用、第８９回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月.

56) 中尾龍馬、泉福英信、*Porphyromonas gingivalis* の外膜ヴェジクルは２型免疫応答を誘導する、第５７回歯科基礎医学会、新潟、2015 年 9 月.

57) 筑丸寛、上田敦久、小森康雄、泉福英信、竹林早苗、松山奈央、金子明寛、池田正一、臼井輝、石々坪良明、藤内祝. 神奈川県 HIV 歯科診療ネットワーク構築事業の経緯、第２９回日本エイズ学会学術集会、東京、2015 年 11 月.

58) 泉福英信、有家　巧、富永　燦、吉村和久. HIV 感染者における口腔疾患関連マーカーの検討、第２９回日本エイズ学会学術集会、東京、2015 年 11 月.

59) 泉福英信、中尾龍馬：歯周病関連菌の LPS とその特徴：第５８回春季日本歯周病学会学術大会、東京、2015 年 5 月

60) 永山 恭子, 尾花 望, 中尾 龍馬, 泉福 英信, 中村幸治, 野村 暢彦:ウェルシュ菌のメンブランベシクルを介した宿主免疫誘導.:第 30 回日本微生物生態学会 2015、土浦市、2015 年 10 月

61) 中尾龍馬：ミツバチ産品による歯周病バイオフィルム制御方法の開発：山田養蜂場みつばち研究助成基金第 7 回成果発表会、津山市、岡山、2016 年 3 月

62) 吉益由莉、中尾龍馬：プロポリスによる *Porphyormonas gingivalis* の殺菌機序。第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

63) 永山恭子、尾花 望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦：Membrane vesicels of *Clostridium perfringens* induce host immune response：日本農芸化学会 2016、札幌、2016 年 3 月

５．細菌第二部

部長　　柴山　恵吾

概　要

細菌第二部では、呼吸器系感染症、毒素産生細菌感染症、日和見感染症及び薬剤耐性菌に起因する感染症に関し、細菌学的な基礎、応用研究、行政検査業務、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、行政検査業務、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寄与することを目指している。

研究業務に関しては、所掌する病原体について分子疫学解析、検査法開発、新規薬剤開発、新規ワクチン開発、病原性に関する基礎研究などを進めた。特に薬剤耐性については、病原体ゲノム解析研究センターと共同で薬剤耐性菌ゲノムデータベースの充実を図るとともに、海外の研究機関との連携を進めるなど研究内容が拡大された。

JANIS に関しては、参加医療機関の増加に対応するとともに、都道府県別の集計を開始するなど、事業の内容が大幅に拡大され、また研究面でも海外への展開を進めるなど業務内容が拡大された。

行政検査業務として、検査・解析を行うだけでなく、医療機関、保健所、地方衛生研究所と連携して、検査や感染管理の改善への支援につながるよう展開させている。

レファレンス業務に関しては、新たに薬剤耐性菌のレファレンスセンターが立ち上がったことが特記すべきこととして挙げられる。今後、地方衛生研究所での薬剤耐性菌に関する検査体制の充実が期待される。

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、承認前試験などを担当し、また標準品の製造や交付を行った。その他、ワクチンの品質管理に関する研究や JICA 研修などを担当した。品質管理業務に関しては近年予算削減の影響で、標準品の製造が遅延したり、検定業務に必要な機器の更新やメンテナンスが十分にできなかったりなどにより、状況が非常に厳しくなっている。今後、所全体の問題として善処が強く望まれるところである。

組織定員について特記すべきこととして、１０月１日付けでJANISを担当する室として第６室が新規に設置された。

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と DNA プラグ計 200 株分について、薬剤耐性菌の耐性遺伝子検査、菌種同定及びプラスミド解析を含む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. （5 株）、腸内細菌科細菌（101 株）、*Pseudomonas* spp. (13 株)、腸球菌（55 株）、*Staphylococcus* spp.（26 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、鈴木里和、筒井敦子、瀬川孝耶、甲斐久美子、鰺坂裕美、瀧世志江、柴山恵吾]

2. わが国で分離されるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の分子疫学解析

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）は、CRE の中でも臨床的・疫学的に注意が必要とされているが、医療機関で実施可能な検査では CPE の判別は困難なため、その国内疫学情報は少ない。CRE に占める CPE の分離状況等の分子疫学解析及び CPE 検出に適した検査法検討のため、国立病院機構に協力を依頼し、承諾の得られた 78 医療機関で CRE を収集した。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、筒井敦子、鰺坂裕実、瀧世志江、甲斐久美子、柴山恵吾]

3. アシネトバクター属菌のカルバペネム耐性機構に関する検討
国立病院機構78施設分離アシネトバクター属菌866株を対象に、メロペネム最小発育阻止濃度（MIC）とカルバペネマーゼ遺伝子型を比較した。獲得型カルバペネマーゼ遺伝子（bla_{IMP}, IS*Aba1*-$bla_{OXA-23-like}$）保有株はいずれも高い MIC を示した。一方、内因性カルバペネマーゼ過剰発現株（IS*Aba1*-$bla_{OXA-51-like}$）の MIC 分布は広域であった。$bla_{OXA-51-like}$ の遺伝子型別の結果、メロペネム MIC と $bla_{OXA-51-like}$ の遺伝子型の相関が示唆された。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、甲斐久美子、瀧世志江、柴山恵吾]

4. 薬剤耐性菌のプラスミド解析とデータベース拡充
薬剤耐性菌のゲノムデータベース（GenEpid-J）の拡充を目的に、平成 27 年度はプラスミドゲノム DNA（779 サンプル）及び染色体ゲノム DNA（305 サンプル）を抽出し、配列解読および解析を行った。プラスミド DNA 内訳は、国内ヒト臨床分離株由来が 67%と最も多くを占めた。菌種は *Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Enterobacter cloacae* など腸内細菌科細菌を中心に *Acinetobacter* 属なども解析対象とした。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、甲斐久美子、鰺坂裕美、瀧世志江、柴山恵吾、（以下 病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、山下明史、加藤健吾、黒田誠]

5. 薬剤耐性菌ゲノムデータベース（GenEpid-J）を用いた薬剤耐性菌分子疫学解析
病原体ゲノム解析研究センターと構築している薬剤耐性菌ゲノムデータベース（GenEpid-J）および、同センターが開発したプラスミド解析ツール Global Plasmidome Analyzing Tool（GPAT）を用いて様々な薬剤耐性菌の分子疫学的解析を実施した。それにより、中国より報告されたプラスミド性コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* 保有株の迅速な探知や、これまでほとんどが輸入例であった NDM 型カルバペネマーゼ産生菌の国内における伝播などを報告した。また、薬剤耐性菌による院内感染事例では、プラスミドの水平伝達経路に関する解析を行い疫学調査および対策に必要な解析結果を提供した。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、甲斐久美子、鰺坂裕美、瀧世志江、柴山恵吾、（以下 病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、山下明史、加藤健吾、黒田誠]

6. 薬剤耐性菌研究における海外研究拠点との連携
大阪大学の感染症研究国際展開戦略プログラム（J-GRID）タイ拠点、東京大学の J-GRID 中国拠点、WHO カンボジアオフィスと連携し、バンコク・マヒドン大学ラマチボディ病院、北京・協和医院、ベトナム・国立衛生疫学研究所（NIHE）、ベトナム・軍医病院、カンボジア・国立公衆衛生研究所（NIPH）との研究体制を構築し、アジア諸国において分離された CRE の解析を行った。[鈴木仁人、松井真理、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

7. 多剤耐性菌に対する新規抗菌手法および抗菌化合物の開発
JSR 株式会社との共同研究で多剤耐性 ESKAPE 病原細菌にも有用な新規抗菌化合物の開発を進めた。高知大学との共同研究で海洋深層水から新種細菌を分離し、同菌が産生する新規抗菌物質を同定した。麻布大学との共同研究で緑膿菌の広範な血清型株に対して殺菌活性を有する新規ファージを分離・同定した。[鈴木仁人、成瀬秀則（協力研究員）、一久和弘（協力研究員）、平山隆一郎（研究生）、柴山恵吾]

8. bla_{IMP-6}保有 IMP-6 メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)非産生大腸菌のカルバペネマーゼ発現抑制機構の解析
国内で収集された薬剤耐性菌のうち、bla_{IMP-6} 陽性・IMP-6 MBL 非産生性の大腸菌が見つかった。さらにメロペネム含有培地による継代によって、IMP-6 MBL 産生性の株が得られた。ゲノム・トランスクリプトーム解析の結果、IMP-6 MBL 産生性の株で転写抑制遺伝子に変異があった。その補完株では bla_{IMP-6} の転写が抑制されたため、その遺伝子の IMP-6 MBL 発現への関与が示唆された。[瀬川孝耶、黒田誠、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾]

9. コリスチン感受性測定の比較および耐性機構の解析
国内の病院で分離されたコリスチン耐性のアシネトバクター属菌および肺炎桿菌を用い、各種コリスチン感受性試験の比較を行った。コリスチンの最小発育阻止濃度は測定法によりばらついた。コリスチン耐性肺炎桿菌の全ゲノム配列の解析により既知のコリスチン耐性に関わる変異を有することを明らかにした。[島綾香、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

10. 国内の家畜から分離された *mcr-1* 陽性大腸菌の解析
乳房炎を呈する乳牛および健常豚から分離された *mcr-1* 陽性大腸菌の性状および全ゲノム配列を解析した。乳牛由来株はヒト由来の大腸菌に似た特徴を有し、豚由来株は豚や他の家畜由来の大腸菌に似た特徴を有していた。

乳牛由来株はコリスチン非存在下で他の抗菌薬の選択圧により一定期間維持されていた可能性が考えられた。[島綾香、鈴木里和、柴山恵吾、大西守（協力研究員)、川西路子（協力研究員)、(以下 病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、山下明史、加藤健吾、黒田誠、]

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。これまでに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。現在このタンパクについて検討を継続中である。[堀野敦子]

Ⅲ．インフルエンザ菌ならびに細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

1. 成人由来インフルエンザ菌の解析

(1) 新潟県の老健施設で、昨年度に引き続き分離された非侵襲性インフルエンザ菌のキノロン系薬剤耐性の解析を行い、キノロン耐性菌 *H. haemolyticus* と耐性遺伝子の比較を行った。さらに MALDI-TOF-MS を用い両菌の類遠性を比較した。(2) 全国各地より分離された成人由来侵襲性インフルエンザ菌 62 株について、MLST 解析に着手。 [久保田眞由美、見理 剛]

2. 小児侵襲性インフルエンザ菌の解析

髄液、血液から分離された *H. influenzae* のうち、血清型 non-typable の株について、血清型 b の type 遺伝子を欠損した株とβラクタム系薬剤に耐性を示す菌についてゲノム解析を行い、侵襲性と血清型との関連及び耐性メカニズムについて解析中。[久保田眞由美、鈴木仁人、見理 剛]

3. 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

Haemophilus influenzae b 型(Hib)ワクチンの定期接種化前後で小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症患者から分離される *H. influenzae* の莢膜型別解析と主要な薬剤に対する薬剤感受性試験を実施している。平成 27 年度における Hib、ならびに他の莢膜型株の分離は無く、分離株は Non-typable *H. influenzae* (NTHi)であった。薬剤感受性パターンの大きな変化は見られなかった。

［佐々木裕子、増田まり子、久保田眞由美、見理 剛、柴山恵吾］

4. 髄膜炎症例の髄液中の微生物遺伝子検出法の検討

細菌性髄膜炎疑い患者において細菌培養が陰性となった髄液検体からの微生物遺伝子の検出を行った。細菌の 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域を増幅後、増幅産物を MiSeq で解読し、配列を既存のデータベースと照合することにより網羅的（属レベル）に解析した。この方法で *Streptococcus* 属、*Haemophilus* 属等の遺伝子が検出された検体については、*S. pneumoniae*、*S. agalactiae, H. influenzae* 等の Realtime-PCR による解析結果と結果が一致する症例が複数認められた。エンテロウイルス属については Realtime-PCR による解析を行った。

［佐々木裕子、久保田眞由美、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

12 医療機関における疫学調査本試験が 5 月で終了し、乖離した解析結果が得られた検体の再試験を行い、菌株による解析をスタートした。 [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見通しが立ち、具体的な製品化についての検討を開始した。[福田靖、妹尾充敏、加藤はる]

3.アジアにおける *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、平成 27 年 10 月 NIHE から Do Thi Quynh Nga が来日し、研修を行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる、柴山恵吾、Vu Thi Thu Huong, Do Thi Quynh Nga (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

毒素非産生性 *C. difficile* 膜画分(ntCDMF)の効果をマウスの腸管定着菌数やハムスターの致死活性を指標に調べたところ、ntCDMF が CDI ワクチンとして有用であることが示された。[妹尾充敏、岩城正昭、加藤はる、福田靖]

Ⅴ. マイコプラズマに関する研究

1. *M. pneumoniae* 分離菌株の *p1* 遺伝子型とマクロライド耐性の動向調査

岡山県で分離された *M. pneumoniae* 株の *p1* 遺伝子型とマクロライド耐性の分析を行った。また *p1* 遺伝子が 2b 型と 2c 型の菌についてリファレンス配列を得るためゲノム解析を行った。[藤井寛之、橋本 徹（倉敷中央病院）中嶋 洋（岡山県環境保健センター）、堀野敦子、鈴木仁人、関塚剛史、見理 剛、黒田 誠、柴山恵吾]

2. *M. pneumoniae* の接着器官の構造と機能に関する研究

M. pneumoniae の接着器官の構造を明らかにするため、接着器官内部の rod 構造を密度勾配遠心法で分離した。分離した rod 構造を電子顕微鏡で観察するとともに質量分析によって構成成分を網羅的に同定した。同定された構成成分の細胞内局在を蛍光タンパク質タグ法で詳細に分析し、接着器官の構成成分のマップをこれまで以上の精度で作成した。[中根大介（学習院大学）、見理 剛、松尾里沙、宮田真人（大阪市立大学）]

3. *M. pneumoniae* の P1 タンパク質の構造解析

M. pneumoniae の病原性に必須な細胞接着タンパク質 P1 を遺伝子組換えで大腸菌で大量生産し、高純度に精製した。精製した組換え P1 タンパク質を X 線小角散乱法（SAXS）で分析した結果、組換え P1 は単量体であり約 7 x 13 nm の球状タンパク質であることがわかった。[林勇樹、新井宗仁（東京大学）、松本 優、川北祥人、宮田真人（大阪市立大学）、森茂太郎、見理 剛]

4.非流行期におけるマイコプラズマ肺炎流行実態の解析

2015 年 7 月頃から静岡市でマイコプラズマ肺炎が疑われる学級閉鎖が起こった。2015 年は秋からマイコプラズマ肺炎の報告数が増加し、その先駆けの流行と考えられた。この実態調査を静岡市環境保健研究所と共同で行った。その結果、核酸検出法の陽性率は 27.8%(5/18)、培養法では 22.2%(4/18)でこれまでと同程度の陽性率を示した。マクロライド耐性では 4 株中 3 株が A2064G 変異の耐性株であった。MIC 値は既報と同程度であった。*p1* 遺伝子型は 3 株が variant2c、1 株が subtype1 で subtype1 優位であった前回の流行時から分離される型が変わってきたように見受けられた。今後も検討を継続し耐性と遺伝子型について観察を続ける必要があると考える。［堀野敦子、和田裕久（静岡市環境保健研究所）］

Ⅵ. ボツリヌス菌、ボツリヌス毒素に関する研究

診断用ボツリヌス抗毒素（C 型、D 型、G 型）の値付け

診断用ボツリヌス C、D、G 型抗毒素の標準化に伴い、それぞれの抗毒素について値付けを行なった。C 型および D 型ヤギ抗毒素については化血研、大阪府立大学、感染研の 3 機関における定量的中和試験の結果、それぞれ約 150 単位／バイアル、約 750 単位／バイアルと値付けされた。G 型ウサギ抗毒素については中和活性があることが定性的に確認された。

[岩城正昭、加藤はる、妹尾充敏、小宮貴子、与那嶺澄代、幸田知子（大阪府立大学）、鳥居恭司（化血研、現東京農業大学）]

Ⅶ. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

Corynebacterium ulcerans の形質転換系の構築

ジフテリア類似疾患の原因菌 *C. ulcerans* の病原因子探索のためには遺伝子操作系が不可欠であるが、効率の良い遺伝子導入法が知られていない。そこでエレクトロポレーションによる形質転換系の開発を試みた。大腸菌 -*Corynebacerium* シャトルベクターpEC-K18mob2（カナマイシン耐性）を用いて、$1x10^4$cfu/μgDNA の頻度で形質転換体を得ることができた。[岸本磨理朗、岩城正昭]

Ⅷ. 結核等抗酸菌に関する研究

1. 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 タンパク質を作製し、詳細な機能解析を行った。その結果、新たに見出した 7 箇所の新規遺伝子変異のうち 5 箇所の新規変異が KatG タンパク質の酵素活性に影響を与えていることを明らかにした。[金玄、森茂太郎]

2. 結核菌由来 Rv2614c タンパク質の機能解析

結核菌由来 Rv2614c タンパク質を *Mycobacterium smegmatis* 内で発現させて精製し、その機能解析を行った。その結果、Rv2614c タンパク質は tRNA 合成酵素であり、反応副産物として diadenosine tetraphosphate を生成することが示された。[本田尚子（品質保証・管理部）、森茂太郎]

3. 結核菌由来タンパク質を標的とした新規薬剤の開発

これまでに同定した、結核菌由来ヌクレオチド加リン酸分解酵素の活性を阻害するとともに抗結核菌活性を示す新規化合物がヒト由来培養細胞には細胞毒性を示さない

ことを明らかにした。[森茂太郎]

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

H. cinaedi の β-ラクタム薬耐性について研究を行い、アキソン高度耐性化にはペニシリン結合たんぱく質の変異が関与している可能性を明らかにした。[林原絵美子、柴山恵吾]

2. *Helicobacter cinaedi* の病原性に関する研究

H. cinaedi の病原因子である Cytolethal distending toxin（CDT）のノックアウト株を作成し、細胞増殖阻害活性、IL-8 発現誘導について野生株と比較したところ、CDT ノックアウト株は野生株と同等の細胞増殖阻害活性を示すことを確認した。[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. 百日咳菌の病原体サーベイランスに関する研究

2000~15 年の百日咳菌国内臨床分離株について，パータクチン（Prn）欠損株の流行状況を調査した。2000 年以降，臨床分離株の約 30%が Prn 欠損株であったが，近年は分離率が減少し，2014~15 年は 10%を下回った。2000 年以降流行株の遺伝子型は MT186 から MT27 に変化しており、この変化が Prn 欠損株の分離率減少に関与した可能性が指摘された。また, 2010~15 年の臨床分離株（n=78）はすべてエリスロマシン感性菌であった。［平松征洋，大塚菜緒，蒲地一成］

2. 百日咳菌の自己凝集に関する研究

百日咳菌臨床分離株には自己凝集能を示すものがあり，抗血清を用いた簡易な菌同定法が適用できないことがある。本研究ではまず，強い自己凝集能を示す百日咳菌株から，継代培養により自己凝集能を消失した変異株を得た。次世代シーケンサーを用いた両株の全ゲノム解析，およびタンパク質発現解析により，自己凝集には線毛 Fim3 の関与が指摘された。これに基づき，自己凝集株の fim3 遺伝子を破壊すると自己凝集能が消失した。また Δfim3 株への fim3 遺伝子相補により自己凝集能の復帰が確認された。以上のことから，百日咳菌の自己凝集は Fim3 が高発現することで引き起こされることが示された。さらに，百日咳菌を培養する培地成分が線毛産生量に影響を与えることが指摘された。［大塚菜緒, 平松征洋, 蒲地一成］

3. 遺伝子組換えによる百日せきワクチン株の改良

有効な百日咳ワクチンの開発を目的に，現行ワクチン株である東浜株の遺伝子改変を行った。相同組換えにより線毛 2/3 を発現する組換え東浜株（5 株）を作出し，組換え株の遺伝的安定性を確認した。さらに，得られた組換え株についてゲノム解析を実施し，ワクチン株としての遺伝情報を取得した。［大塚菜緒, 平松征洋, 蒲地一成］

4. 小児と成人における百日咳抗体の量的・質的解析

小児と成人を対象に抗 PT IgG，抗 FHA IgG，抗 PT 中和抗体，およびそれらの抗体結合力を解析した。成人は小児と質的に等しい抗 PT 抗体を保有し，一部の成人血清には IgG 以外の抗 PT 抗体（IgM，IgA）の存在が確認された。このことから，成人では不顕性感染により抗 PT 抗体が誘導されている可能性が指摘された。一方，成人における抗 FHA IgG の結合力は小児に比較して低く，百日咳菌以外の細菌が産生する FHA 類似蛋白質により抗体誘導を受けている可能性が示された。［森内巧，大塚菜緒，平松征洋，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。ELP は，生体内では 4 週間以内に完全に分解されると考えられているが，ELP 混合破傷風トキソイドを皮下接種（0.5mL/mouse）したマウスでは，接種 20 週間後においても皮下に ELP と考えられる物質が残存していることを確認した。［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

ELP 混合破傷風トキソイドを皮下接種したマウスの皮下に 20 週後に ELP が残存していた。我々の検討では生物学的製剤基準における破傷風トキソイドの力価試験で規定されている投与量「0.5mL」を用いてきたが，薬剤徐放担体として ELP を検討する報告では「0.05-0.1mL」が多い。そこでこれらの投与量を比較した結果，接種 20 週後に「0.5mL」ではマウス皮下に ELP が残存していたが，「0.1mL」では確認できなかった。また，「0.1mL」では「0.5mL」より破傷風抗体価が高い傾向がみられた。［福田靖，浅井大輔］

Ⅻ．バルトネラ菌に関する研究

1. 猫ひっかき病の原因菌である *Bartonella henselae* の診断系確立を目的とし、２カ所の病院から問い合わせのあった猫ひっかき病疑い患者の血清抗体価の測定と PCR による病原菌検出を行い、高抗体価血清の収集に努めた。[久保田眞由美、佐々木裕子、高木弘隆、見理 剛、柴山恵吾]

XⅢ．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。JANIS の海外展開は、これらの国の AMR サーベイランスを支援し、海外の AMR に関するデータベースを構築することが目的である。

アジア諸国では、医療機関における薬剤耐性菌等の発生状況を解析するソフトである WHONET が普及しているため、WHONET データを JANIS システムで集計するプラットフォームが効率的でかつ実用的であると考えられた。WHONET 開発者と連携し、WHONET 2016（デスクトップ版・ウェブ版）に JANIS データ出力形式が装備された。また、データフォーマットの改訂（固定長延長）への対応も完了した。WHONET-JANIS サーバを構築し、WHONET 2016 の公式リリース後にプログラムを入れる予定である。 [筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

2. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）とコリスチン耐性率集計における問題点の解析

2014 年 9 月より CRE 感染症が感染症法の 5 類感染症に加わり、2015 年 1 月より JANIS でも CRE が集計対象となった。JANIS 検査部門 2014 年報データをもとに CRE 分離率を試集計したところ、0.55％と想定よりも高値であった。データの精度管理の結果、CRE 分離率の上位 5 施設は医療機関における報告用データの設定ミスであった。また、緑膿菌とアシネトバクター属に対するコリスチンの感受性測定状況を試集計したところ、緑膿菌のコリスチン耐性率は 0.59%と低値だったものの、アシネトバクター属のコリスチン耐性率は 8.7%と高値を示した。アシネトバクター属の薬剤感受性測定機器ごとに耐性率を比較したところ、機器 A で測定された 4270 株の耐性は 9.4％、その他の機器では 694 株中 4.5％であった（$p < 0.0001$）。機器 A のコリスチン感受性測定には、技術的な問題点があることが判明したため、今後共同で検討していくこととなった。[筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

3. 臨床検体由来 *Bacillus* 属分離率の施設間比較による院内感染対策の指標作成

Bacillus spp. 特に *Bacillus cereus* による血流感染は国内の医療機関における院内感染として注目され、集団発生も報告されている。*Bacillus* spp.は環境常在菌であり、病院環境の汚染が院内感染発生の要因の一つと考えられる。2014 年 JANIS の検査部門データでは 998 医療機関のうち、134 施設（13.4％）では *Bacillus* 属の分離がなく、457 施設(45.8%)では *B. cereus* の分離がなかった。無菌検体に限ると 987 施設のうち 543 施設（55.0％）では *B. cereus* の分離がなく、*Bacillus* 属が定常的に分離される医療機関は全体の 10%未満であった。今後、これらの医療機関について *Bacillus* 属分離の背景を解析する。[鈴木里和]

4. JANIS データの精度の担保に関する研究

JANIS に提出されているサーベイランスデータが医療機関においてどのように収集され、またその精度を担保するうえでのどのような問題があるのかについて、全国の 21 医療機関を訪問し、共通した調査票を用いて面談による聞き取り調査を実施した。サーベイランスはほとんどの医療機関で多職種の協働により効率的に実施されていたが、電子カルテの普及や回診の廃止により、実際の診察を伴わない感染症の判定が一般化しつつあった。診療体制の変化に伴い、院内感染のサーベイランス手法も検討が必要と思われた。[筒井敦子、鈴木里和、山根一和（国立病院機構米子医療センター）]

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 11 施設に *Bordetella holmesii*-LAMP キット（2 キット）ならびに 4Plex リアルタイム PCR キット（11 キット）を供与した。［蒲地一成，柴田美幸，平松征洋，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 28 年 1 月時点で参加医療機関数は 1859 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、新たに都道府県別の集計結果が追加された。一方、還元情報では、病床数別（200 床以上/200 床未満）の集計結果が作成されるようになった。

検査部門公開情報 2014 年年報は、全体と病床数別（200 床以上/200 床未満）に CLSI 2007 版と CLSI 2012 試行版を作成し、アンチバイオグラムを改修した。また、検査部門公開情報 2013 年年報、2014 年年報の英訳版を作成した。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、2350 件の医療機関等からの問い合わせに対応した。平成 28 年度から JANIS システムが政府共通プラットフォームに移行する予定で準備をすすめた。
[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、中村眞由美]

Ⅱ．百日咳関係

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 33 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

破傷風トキソイドワクチン力価試験の in vitro 化に関する研究

破傷風毒素とそのレセプターとして最近新たに同定された蛋白質 nidogen の結合を定量的に測定する系の開発を目指して実験を行なった。nidogen の毒素結合領域を固相に固定化して蛍光標識破傷風毒素を加え、結合の検出を試みたが、非特異結合と考えられるバックグラウンドの影響のため結合を定量的に検出するには至っていない。
[岩城正昭]

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．26 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 3 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) 組換え沈降 9 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（酵母由来）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（5 品目）: テトラサイクリン塩酸塩、セフトリアキソンナトリウム､オキシテトラサイクリン塩酸塩、セフメタゾール、メロペネム
サブロット更新（4 品目）: アズトレオナム、クリンダマイシンリン酸エステル、セフポドキシムプロキセチル、セフテラムピボキシルメシチレンスルホン酸塩
[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、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代]

3)ジフテリア試験毒素（モルモット用）ジフテリアウマ抗毒素力価試験用試験毒素量制定を行った。[岩城正昭、小宮貴子、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代]

4)参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）の標準化作業を開始した。[岩城正昭、小宮貴子、妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾、与那嶺澄代]

4.行政検査

Clostridium difficile による院内アウトブレイク事例が二件あり、院内でどの程度広まっているのか、またどのタイプが広がっているのかを調べ、アウトブレイク終息のための支援を保健所とともに行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

5.依頼検査

1) 医療機関（1 施設）からの依頼を受けて、*Helicobacter cinaedi* による感染が疑われた事例について患者の病原体診断とタイピングを実施した。[林原絵美子]

国際協力関係業務

Ⅰ．JICA 関係

1. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化研修」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 28 年 2 月）[佐々木裕子]

2. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」において、BCG ワクチンに関する講義を行った。（2016 年 2 月）[森茂太郎]

3. 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。（2016 年 2 月）［岩城正昭，大塚菜緒］

Ⅱ．WHO 関係

1. WHO 西太平洋地域事務局（WPRO）からの依頼により、WHONET の開発者である米国 WHO Collaborating Centers for Surveillance of Infectious Diseases の John Stelling 博士と共同で厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）と WHONET を連携させた WPRO における薬剤耐性菌サーベイランス体制を提案した。[筒井敦子、鈴木里和]

2. ニューデリーで 2016 年 2 月 23-25 日に開催された WHO とインド厚生省共催の会議 Combating Antimicrobial Resistance: Publich Health Challenge and Priority において JANIS について紹介した。[柴山恵吾]

3. ソウルで 2015 年 9 月 7-8 日に開催された APEC-GHSA Policy Forum on Infection Control Infrastructure において、日本の薬剤耐性の状況について概説した。[柴山恵吾]

4. バンコクで 2015 年 5 月 6-8 日に開催された GHSA Meeting on “Step towards Regional Strategic Collaboration in Asia-Pacific on Workforce Development, National Laboratory System Strengthening & Antimicrobial Resistance Prevention to Respond Global Challenges”において薬剤耐性サーベイランスの各国連携について討議した。[柴山恵吾]

研修業務

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研修

1.2015 年 8 月、 10 月および 11 月に、地方衛生研究所を対象に薬剤耐性菌および *Clostridium difficile* 等の院内感染関連病原体の座学および実習を行った。[松井真理、鈴木仁人、鈴木里和、瀧世志江、甲斐久美子、鰺坂裕美、妹尾充敏、福田靖、加藤はる、与那嶺澄代]

2．大阪大学の感染症研究国際展開戦略プログラム（J-GRID）に関連して、タイおよびインドの薬剤耐性菌研究者らに対して、次世代シークエンサーを用いたプラスミド解析手法および我が国における薬剤耐性菌サーベイランス体制に関する研修を行った。[松井真理、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾、瀧世志江、甲斐久美子、鰺坂裕美、関塚剛史*、山下明史*、加藤健吾*、黒田誠*（*病原体ゲノム解析研究センター)］

3．カンボジア National Institute of Public Health の微生物担当者 3 名、インドネシア Airlangga 大学教員およびベトナム Military Medical Hospital の微生物部部長の 5 名に対し、薬剤耐性菌と *Clostridium difficile* の解析方法に関する実習と座学による研修を実施した。[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、鈴木里和、瀧世志江、甲斐久美子、鰺坂裕美、妹尾充敏、福田靖、加藤はる、与那嶺澄代、柴山恵吾]

Ⅱ．生物学的製剤の品質保証に関する研修

1. 国立保健医療科学院における短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて「微生物管理と試験法」について講義した。（平成 27 年 5 月）［佐々木裕子］

Ⅲ．ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

2015 年 11 月 4 日から 6 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。千葉市、福岡県、熊本県、愛知県から 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. 日本薬局方、生物試験法委員会が開催され（3 回）、第十七改正の原案等について協議した。［佐々木裕子］

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 107 件の質問、相談、解析依頼に対応した。［鈴木里和、松井真理、甲斐久美子、瀧世志江、鯵坂裕実、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) Suzuki S, Ohnishi M, Kawanishi M, Akiba M, Kuroda M. Investigation of a plasmid genome database for colistin-resistance gene *mcr-1*. Lancet Infect Dis. 2016 Mar;16(3):284-5.

2) Ushizawa H, Yahata Y, Endo T, Iwashita T, Misawa M, Sonobe M, Yamagishi T, Kamiya H, Nakashima K, Matsui T, Matsui M, Suzuki S, Shibayama K, Doi M, Irie F, Yamato S, Otomo Y, Oishi K. A epidemiological investigation of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a critical care center in Japan, 2011-2012. Jpn J Infect Dis 2016, 69:143-148.

3) Omori R, Nakata Y, Tessmer HL, Suzuki S, Shibayama K. The determinant of periodicity in *Mycoplasma pneumoniae* incidence: an insight from mathematical modelling. Sci Rep. 2015 Sep 28;5:14473.

4) Suzuki M, Nishio H, Asagoe K, Kida K, Suzuki S, Matsui M, Shibayama K. Genome Sequence of a Carbapenem-Resistant Strain of *Ralstonia mannitolilytica*. Genome Announc. 2015 May 7;3(3).

5) Yamada R, Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Suzuki S, Jin W, Wachino J, Yamada K, Shibayama K, Arakawa Y. Comparative Analysis of Penicillin-Susceptible and Non-Susceptible Isolates of Group B *Streptococci* by Multilocus Sequence Typing. Jpn J Infect Dis. 2015;68(4):326-9.

6) Nakane D, Kenri T, Matsuo L and Miyata M. Systematic Structural Analyses of Attachment Organelle in *Mycoplasma pneumoniae*. PLoS Pathog. 2015, 11 : e1005299. PMID: 26633540

7) Senoh M, Kato H, Fukuda T, Niikawa A, Hori Y, Hagiya H, Ito Y, Miki H, Abe Y, Furuta K, Takeuchi H, Tajima H, Tominaga H, Satomura H, Morita S, Tanada A, Hara T, Kawada M, Sato Y, Takahashi M, Higuchi A, Nakajima T, Wakamatsu Y, Toyokawa M, Ueda A, Roberts P, Miyajima F, Shibayama K. Predominance of PCR-ribotypes, 018 (smz) and 369 (trf) of *Clostridium difficile* in Japan: A potential relationship with other global circulating strains? J Med Microbiol 2015, 64:1226-1236.

8) Tanaka T, Kato H, FujimotoT. Successful fecal microbiota transplantation as an initial therapy for *Clostridium difficile* infection on an outpatient basis. Internal Medicine 2016, 55:999-1000.

9) Senoh M, Hamabata T, Takeda Y. A factor converting viable but nonculturable *Vibrio cholerae* to a culturable state in eukaryotic cells is a human catalase. Microbiologyopen 2015, 4:589-596.

10) Mochizuki Y, Saeki H, Iwaki M, Takagi H, Shibayama K, Amao H, Yamamoto A. A novel experimental platform for toxigenic and nontoxigenic *Corynebacterium ulcerans* infection in mice. FEMS Pathogens and Disease 2016, 74:ftv109.

11) Iwaki M, Konda T. Adenylate cyclase toxin-mediated delivery of the S1 subunit of pertussis toxin into mammalian cells. FEMS Pathogens and Disease 2016, 74:ftv110.

12) Mottate K, Yokote H, Mori S, Horita A, Miyatsu Y, Torii

Y, Kozaki S, Iwaki M, Takahashi M, Ginnaga A. Retrospective survey to evaluate the safety and efficacy of Japanese botulinum antitoxin therapy in Japan. Toxicon 2016, 110:12-18.

13) Katsukawa C, Komiya T, Umeda K, Goto M, Yanai T, Takahashi M, Yamamoto A, Iwaki M. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a hunting dog and its diphtheria toxin antibody titer. Microbiology and Immunology 2016, 60:177-186.

14) Katsukawa C, Umeda K, Inamori I, Kosono Y, Tanigawa T. Komiya T, Iwaki M, Yamamoto A, Nakatsu S. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a wild bird (ural owl) and its feed (shrew-moles): comparison of molecular types with human isolates. BMC Research Notes 2016, 9:181.

15) Murata S, Suzuki H, Sakamoto S, Miki T, Rimbara E, Shibayama K, Koyama S, Tamai K, Yaguchi Y, Tada M. *Helicobacter cinaedi*-associated Vertebral Osteomyelitis in an Immunocompetent Patient. Intern Med. 2015;54(24):3221-4.

16) Flahou B, Rimbara E, Mori S, Haesebrouck F, Shibayama K. The Other Helicobacters. Helicobacter. 2015;20 Suppl 1:62-7.

17) Akashi Y, Igarashi J, Suzuki H, Rimbara E, Shibayama K, Nin S, Tamai K, Yaguchi Y, Shiigai M, Oikawa T, Suzuki M. Pararenal Lymphatic Cyst Infection Caused by *Helicobacter cinaedi*. Intern Med. 2015;54(11):1437-40.

18) Honda N, Kim H, Rimbara E, Kato A, Shibayama K, Mori S. Purification and functional characterization of diadenosine 5',5‴-P(1),P(4)-tetraphosphate phosphorylases from *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium avium*. Protein Expr Purif. 2015;112:37-42.

19) Trespalacios AA, Rimbara E, Otero W, Reddy R, Graham DY. Improved allele-specific PCR assays for detection of clarithromycin and fluoroquinolone resistant of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies: identification of N87I mutation in GyrA. Diagn Microbiol Infect Dis. 2015;81(4):251-5.

20) Changkwanyeun R, Usui M, Kongsoi S, Yokoyama K, Kim H, Suthienkul O, Changkaew K, Nakajima C, Tamura Y, Suzuki Y. Characterization of *Campylobacter jejuni* DNA gyrase as the target of quinolones. Journal of Infection and Chemotherapy. 2015;21(8):604-9.

21) Graham DY, Rimbara E. *Helicobacter pylori* infection. Clinical Infectious Disease, 2nd edition . 2015;138:907-14.

22) Kamachi K, Yoshino S, Katsukawa C, Otsuka N, Hiramatsu Y, Shibayama K. Laboratory-based surveillance of pertussis using multitarget real-time PCR in Japan: evidence for *Bordetella pertussis* infection in preteens and teens. New Microbes New Infect. 2015 Oct 22;8:70-4.

23) Hanawa T, Kamachi K, Yonezawa H, Fukutomi T, Kawakami H, Kamiya S. Glutamate limitation, BvgAS activation, and (p)ppGpp regulate the expression of the *Bordetella pertussis* type 3 secretion system. J Bacteriol. 2015 Nov 2;198(2):343-51.

24) Galit SR, Otsuka N, Furuse Y, Almonia DJ, Sombrero LT, Capeding RZ, Lupisan SP, Saito M, Oshitani H, Hiramatsu Y, Shibayama K, Kamachi K; Tohoku-RITM Collaborating Research Team. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* in the Philippines in 2012-2014. Int J Infect Dis. 2015 Jun;35:24-6.

25) Torkaman MR, Kamachi K, Nikbin VS, Lotfi MN, Shahcheraghi F. Comparison of loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR for detecting *Bordetella pertussis*. J Med Microbiol. 2015 Apr;64(Pt 4):463-5.

2. 和文発表

1) 鈴木里和　厚生労働省 JANIS 事業公開情報の活用方法. INFECTION CONTROL 2015 秋季増刊 p216-217

2) 鈴木里和　耐性菌のアウトブレイクの発見・対策・終息宣言　単一プラスミドのアウトブレイクに

注意.臨床と微生物 42 巻増刊 p609-614, 2015 年 10 月

3) 筒井敦子　JANIS(厚生労働省院内感染対策サーベイランス）事業　概要と今後．臨床と微生物 42 巻増刊号, 624-630, 2015 年 10 月

4) 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　検査部門の概要．臨床検査．第 59 巻 8 号 774-779．2015 年 8 月．

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　検査部門の概要と参加方法．モダンメディア第 61 巻 7 号 208-213．2015 年 7 月．

6) 筒井敦子　JANIS 検査部門の概要と今後の展望. 感染症道場 Vol.4(2)50－53, 2015 年 5 月.

7) 鈴木里和　新しく届出義務の生じた感染症. 検査と技術 43 巻 5 号 Page367-370 (2015 年 5 月)

8) 近田 俊文、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾　微生物試験法 Q&A　現場の困った!に答える誌上セミナー(第 24 回)(Q&A).PHARM TECH JAPAN 31 巻 14 号 Page2677-2679, 2015

9) 近田俊文、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾　微生物試験法 Q&A　現場の困った!に答える誌上セミナー(第 20 回)(Q&A)　PHARM TECH JAPAN (0910-4739)31 巻 9 号 Page1627-1629, 2015

10) 見理 剛　ヒトマイコプラズマ感染症の疫学　最新マイコプラズマ学（日本マイコプラズマ学会 編）、近代出版, 82-87, 2016

11) 見理 剛　マイコプラズマの遺伝子操作法　最新マイコプラズマ学（日本マイコプラズマ学会 編）、近代出版, 191-197, 2016

12) 堺 隆大、石田 直、有田真知子、橘 洋正、吉岡　弘鎮、野山麻紀、時岡史明、伊藤明広、古田健二郎、西山明宏、橋本 徹、藤井寛之、中嶋 洋、見理 剛、柴山恵吾　市中病院における *Mycoplasma pneumoniae* の抗菌薬感受性および臨床経過に関する検討　感染症学雑誌　89, 468-464, 2015

13) 森 伸晃、吉田心慈、青木泰子、滝川 彩、香川成人、見理 剛、柴山恵吾　*Mycoplasma hominis* による帝王切開後骨盤内膿瘍の1例 病原微生物検出情報(IASR), Vol. 37, p. 38, 2016

14) 佐々木裕子、久保田眞由美、柴山恵吾　髄膜炎患者由来髄液からのマイコプラズマを含む細菌遺伝子の網羅的検出手法の検討　日本マイコプラズマ学会雑誌 42, 48-49, 2015

15) 佐々木裕子　マイコプラズマのゲノムと進化、最新マイコプラズマ学　日本マイコプラズマ学会（編）、近代出版、16-18, 2016

16) 佐々木裕子　マイコプラズマの同定、鑑別法　最新マイコプラズマ学（日本マイコプラズマ学会編）、近代出版、182-190, 2016

17) 佐々木裕子　微生物試験法 Q&A−現場の困った！に答える誌上セミナー（第 26 回）、PHARM TECH JAPAN 31: 59-62、2015

18) 松本 優、川北祥人、見理 剛、森茂太郎、木下実紀、浜口 祐、宮田真人 *Mycoplasma pneumoniae*、P1 adhesin の構造と機能　日本マイコプラズマ学会雑誌 42,59-60, 2015

19) 加藤はる、多屋馨子　ジフテリア. 感染症予防必携第三版 2015, p299-303.日本公衆衛生協会

20) 加藤はる　日本の *Clostridium difficile* 感染症の疫学. 臨床と微生物　2015, 42(5):395-399.

21) 妹尾充敏、森田昌知　Infectious diseases in Asia/細菌感染症領域における国際協力．日本細菌学雑誌 2015, 70:329-332.

22) 林原絵美子、森茂太郎、金玄、高橋俊司、柴山恵吾 *Helicobacter cinaedi* の分子疫学と薬剤耐性，日本ヘリコバクター学会誌，2016 年，17 (2)

23) 大塚菜緒、蒲地一成　百日咳の国際動向と検査法・

ワクチンの問題点. 感染・炎症・免疫, 45: 46-56, 2015.

24) 柴山恵吾　CRE アウトブレイクに見る β-ラクタマーゼ産生菌の問題　臨床と微生物　2015 年 42(4):377-360

25) 柴山恵吾　多剤耐性菌感染症の世界的な広がり　化学療法の領域　2015 年 31(6):1283-1288

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Matsui M, Suzuki S, Sekizuka T, Yamashita A, Kuroda M, Oishi K, Shibayama K. A large-scale nosocomial outbreak of *Enterobacteriaceae* carrying IMP-6 metallo-□-lactamase gene on IncN plasmids. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2015 (ICAAC 2015). September 2015. San Diego, California, USA.

2) Suzuki S, Matsui M, Sekizuka T, Yamashita A, Kuroda M, Shibayama K. Investigating a multispecies nosocomial outbreak of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* by tracking carbapenemase-encoding plasmid. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2015 (ICAAC 2015). September 2015. San Diego, California, USA.

3) Segawa T, Suzuki S, Matsui M, Suzuki M, Tsutsui A, Shibayama K. Evaluation of Carba NP Test for Imipenem Susceptible Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2015 (ICAAC 2015). September 2015. San Diego, California, USA.

4) Gomes C, Kubota M, Palma N, Tinco C, Sandoval I, Gutarra C, Valle JD, Ruiz J. Identification of new antigen candidates of *Bartonella bacilliformis*, American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) 64th Annual Meeting, Pennsylvania, USA, October 25-29, 2015

5) Kenri, T. Structure and function of the attachment organelle of *Mycoplasma pneumoniae*. The U.S.–Japan Cooperative Medical Sciences Program, ARI panel meeting, North Bethesda, MD, USA, January 11-15, 2016

6) Kato H, Senoh M, Fukuda T, Roberts P, Miyajima P, Shibayama K. Prevalence of two PCR ribotypes, smz (018) and trf (369) of *Clostridium difficile* in Japan. 5th International *Clostridium difficile* Symposium May 2015 Slovenia.

7) Murabata M, Kato H, Oinishi K, Yano H. Environmental contamination of *Clostridium difficile* in the pediatric ward of a hospital in Japan. 5th International *Clostridium difficile* Symposium May 2015 Slovenia.

8) Niwa H, Kato H, Senoh M, Fukuda T, Kinoshita Y, Kuroda T, Ueno T, Ochi A, Katayama Y. Transition of genotype of *Clostridium difficile* at a Thoroughbred racehorse clinic in 2010-2014 in Japan. 5th International *Clostridium difficile* Symposium May 2015 Slovenia.

9) Ito Y, Kato H, Senoh M, Fukuda T, Sugie T, Ogawa K, Matsushita T, Takahashi Y, Nagura K, Hatano Y, Morita E. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* at a hospital in Japan:shift in the predominant PCR ribotype over a nine-year period. 5th International *Clostridium difficile* Symposium May 2015 Slovenia.

10) Senoh M, Iwaki M, Yamamoto A, Kato H, Fukuda T, Shibayama K. Nontoxigenic *Clostridium difficile* membrane fraction as a vaccine candidate. 6th Congress of European Microbiologists June 2015 The Netherlands.

11) Mochizuki Y, Saeki H, Iwaki M, Takagi H, Shibayama K, Amao H, Yamamoto A. Experimental infection of mice with toxigenic and nontoxigenic *Corynebacterium ulcerans*. 17th European Workshop on Bacterial Protein Toxins June 2015 Portugal.

12) Mori, S., Kim, H., Shibayama, K. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance of

Mycobacterium tuberculosis. The 12th Japan-Taiwan Symposium. September 10-11, 2015, Tokyo.

13) Mori, S., Honda, N., Kim, H., Rimbara, E., Shibayama, K. Design of a new inhibitor of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*, and its antimycobacterial activity. The 50th US-Japan Cooperative Medical Science Program: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting. January 11-15, 2016, MD, USA.

14) Kamachi K. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* in Asia. The 12th Japan-Taiwan symposium on emerging and re-emerging infectious diseases, vaccine preventable diseases and collaborative project reports. Tokyo. September 2015.

2. 国内学会

1) 島 綾香、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾 Prevalence and characteristics of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated in Japan.89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

2) 林美智子、川村久美子、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、荒川宜親　多剤耐性アシネトバクター属菌に対する低水準 消毒薬の効果 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

3) 鈴木里和　複雑化する薬剤耐性菌のタイピング解析.第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

4) 鈴木里和　統計学への準備体操. 89 回日本細菌学会総会、大阪、 2016 年 3 月

5) 島 綾香、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾 Prevalence and characteristics of colistin -resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated in Japan.89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

6) 那須川忠弥、内山淳平、鈴木仁人、宮田玲奈、山口琴絵、内山伊代、阪口義彦、柴山恵吾、阪 雅弘、松崎茂展　緑膿菌 PAO1 株とファージ KPP22 の短期間進化的軍拡競走の解析. 89 回日本細菌学会総会、大阪、 2016 年 3 月

7) 鈴木仁人、柴山恵吾、明田幸宏、坂本典子、朝野和典、浜田茂幸　J-GRID 拠点と連携したカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の解析新興・再興感染症制御プロジェクト 新興再興事業・J-GRID 合同シンポジウム −感染症研究連携のフロンティア− (国立感染症研究所、東京都新宿区)、2016 年 3 月

8) 筒井敦子、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、藤本修平、本間　操、永田邦昭　ワークショップ３「JANIS 検査部門のデータ活用について」薬剤耐性菌のイロハと JANIS 検査部門還元情報の見かたがわかる！第 31 回日本環境感染学会総会・学術集会、京都、2016 年 2 月

9) 松井真理　多剤耐性アシネトバクター属について、第 31 回日本環境感染学会総会ワークショップ、京都、2016 年 2 月

10) 武良由香、筒井敦子、鈴木里和　下部消化管手術における抗菌縫合糸使用による表層切開創 SSI 予防効果の検討.第 31 回日本環境感染学総会、京都、平成 28 年 2 月

11) 蓑原かおり、 田中文子、 筒井敦子、鈴木里和　手術中の眼周囲への血液・体液飛散リスクに関する実態調査.第 31 回日本環境感染学総会、京都、平成 28 年 2 月

12) 鈴木里和　JVARM と厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業の連携。平成 27 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、秋田、平成 28 年 2 月

13) 鈴木仁人　アシネトバクター・バウマニおよび緑膿菌の流行株の解析.第 50 回緑膿菌感染症研究会、東京、2016 年 2 月

14) 筒井敦子、鈴木里和、松井真理、柴山恵吾　厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業検査部門におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌とアシネトバクター属・緑膿菌のコリスチン耐性率集計における問題点. 第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月

15) 鈴木里和、松井真理、柴山恵吾　関西地区の医療

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、第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月

16) 鈴木里和　サーベイランスと地域連携 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業検査部門データの地域における活用.第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、平成 28 年 1 月

17) 松井真理、鈴木里和、筒井敦子、柴山恵吾　国内分離アシネトバクター属菌のカルバペネム耐性機構に関する研究、第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月

18) 瀬川孝耶、鈴木里和、松井真理、筒井敦子、柴山恵吾　国内で分離された *bla*$_{IMP}$ 保有菌株に対する Carba NP test の有用性の検討、第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月

19) 芳賀由美、廣永道隆、鈴木里和、柴山 恵吾　血液培養から NDM 産生大腸菌が分離された 1 例.第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、平成 28 年 1 月

20) 安部朋子、渡邊真理、堀内寿志、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾　アウトブレイク収束後の IMP-1 メタロ-β-ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況、第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月

21) 福岡義久、金谷誠久、清水真人、柴山恵吾、松井真理　便より検出された GES 型□-ラクタマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* の一例、第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月、

22) 木谷美紀、山本章文、木原孝則、白柳真麻、綾城正子、井戸田篤、松井真理、柴山恵吾　稀な耐性遺伝子 KHM 型メタロ-β-ラクタマーゼを有する *Citrobacter freundii* の一例.　第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術総会、仙台、2016 年 1 月

23) 吉田英樹、 廣川秀徹、 中山浩二、 奥町彰礼、 津田侑子、 松本健二、 吉村高尚、 松井真理、 鈴木里和、 柴山恵吾　大阪市内医療機関におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)検出状況.第 74 回日本公衆衛生学会総会、長崎、2015 年 11 月

24) 筒井敦子、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、瀬川孝耶、柴山恵吾　厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業検査部門におけるカルバペネム腸内細菌科細菌（CRE）の集計とアシネトバクター属・緑膿菌のコリスチン感受性結果について．第 44 回薬剤耐性菌研究会、松島、2015 年 10 月

25) 鈴木仁人、松井真理、平山隆一郎、瀬川孝耶、鈴木里和、柴山恵吾　TMB 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の進化と拡散.　第 44 回薬剤耐性菌研究会、松島、2015 年 10 月

26) 瀬川孝耶、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾　国内で分離された *bla*$_{IMP}$ 保有菌株に対する Carba NP test と SMA テストの比較検討 第 44 回薬剤耐性菌研究会、松島、2015 年 10 月

27) 赤松玲子、鈴木仁人、冲中敬二、大西なおみ、鈴木里和、馬場尚志、柴山恵吾、東　秀明
致死性菌血症を惹起するセレウス菌の系統解析
第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年　9 月

28) 平山隆一郎、鈴木仁人、内山淳平、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同定と全ゲノム配列解析.第 158 回日本獣医学会学術集会、第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年 9 月

29) 川西路子、鈴木里和、 比企基高、阿保 均、小澤真名緒、小池良治、 柴山恵吾、 濱本修一　院内感染対策サーベイランス(JANIS)と家畜由来細菌の薬剤耐性モニタリング(JVARM)の連携について. 第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、2015 年 9 月

30) 鈴木仁人　細菌の”株”特異的な病原因子とその多様性 日本細菌学会関東支部インターラボセミナー (国立国際医療研究センター研究所、東京都新宿区)、2015 年 8 月

31) 松井真理、鈴木里和、筒井敦子、鈴木匡弘、綿引正則、平木洋一、河野文夫、柴山恵吾　*Acinetobacter baumannii* 流行株 International clone II 分離施設特性

に関する研究、第 89 回日本感染症学会総会、京都、2015 年 4 月

32) 鈴木里和、松井真理、筒井敦子、柴山恵吾　わが国における外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌検出例、第 89 回日本感染症学会総会、京都、2015 年 4 月

33) 鈴木里和　医療現場を脅かす薬剤耐性菌はどこから来たのか―厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）と家畜抗菌薬モニタリング事業（JVARM）からみる我が国の薬剤耐性菌動物用抗菌剤研究会第 42 回シンポジウム特別講演、2015 年 4 月

34) 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、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、金沢市、2015 年 3 月 27–29 日

35) 佐々木年則、久保田眞由美、澤邉京子、平山幸雄、鍬田龍星、 伊澤晴彦、 針原重義、柴山恵吾、小林睦生　大阪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東日本支部大会、東京、2015 年 10 月 23 日

36) 本間康夫、田端篤、久保田眞由美　当院で検出されたニューキノロン非感 *Haemophilus influenzae* の細菌学的検討 第 27 回日本臨床微生物学会、仙台市、2016 年 1 月 29-31 日

37) 松本 優、川北祥人、見理 剛、森茂太郎、木下実紀、浜口 祐、宮田真人　*Mycoplasma pneumoniae*、P1 adhesin の構造と機能　日本マイコプラズマ学会第 42 回学術集会、東京、2015 年 5 月 22 日～23 日

38) 佐々木裕子、久保田眞由美、柴山恵吾　髄膜炎患者由来髄液からのマイコプラズマを含む細菌遺伝子の網羅的検出手法の検討、日本マイコプラズマ学会第 42 回学術集会、東京、2015 年 5 月 22-23 日

39) 加藤はる　ベーシックレクチャー 7　*Clostridium difficile* 感染症、知っておきたいこと. 第 89 回日本感染症学会学術講演会、京都、 2015 年 4 月

40) 加藤はる　モーニングセミナー　*Clostridium difficile* infection, here, there, and everywhere. 第 46 回日本嫌気性菌感染症学会、長崎、 2016 年 3 月

41) 加藤はる　ワークショップ 7 事例に学ぶ細菌学 *Corynebacterium striatum* による院内アウトブレイク事例. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

42) 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 in vivo 効果. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、 2016 年 3 月

43) 林原絵美子、柴山恵吾　*Helicobacter cinaedi* の分子疫学と薬剤耐性. 第 21 回日本ヘリコバクター学会、神戸、2015 年 6 月

44) 林原絵美子　「ピロリ菌 Helicobacter pylori -胃がんとの関連性と薬剤耐性について-」, 第六回北里感染症教育フォーラム、東京、2015 年 5 月

45) 金玄、森茂太郎、Ruwen Jou、林原絵美子、 柴山恵吾　Identification of *katG* gene mutations associated with isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

46) 森茂太郎、本田尚子、金玄、林原絵美子、 柴山恵吾　Novel inhibitors of diadenosine tetraphosphate phosphorylase and their antituberculosis activity. 第 89 回日本細菌学会総会、大阪、2016 年 3 月

47) 浅井大輔、福田靖、諸熊一則、Ashutosh Chilkoti、柴山恵吾、中島秀喜　インジェクタブル人工エラスチンゲルによる抗原デポ剤：破傷風トキソイドの除放効果の検討. 第 31 回日本 DDS 学会学術集会、東京、平成 27 年 7 月

48) 福田靖、浅井大輔、諸熊一則、山口優子、Ashutosh Chilkoti、中島秀喜、柴山恵吾　破傷風トキソイドを用いた人工エラスチン蛋白のアジュバントとし

ての可能性．第 19 回日本ワクチン学会学術集会、愛知、平成 27 年 11 月

49) 蒲地一成、大塚菜緒、平松征洋、岡田賢司　遺伝子組換えによる百日せきワクチン株の改良．第 19 回日本ワクチン学会学術集会、愛知、平成 27 年 11 月

50) 平松征洋、齋藤桃子、大塚菜緒、渡邉峰雄、柴山恵吾、蒲地一成　BipA is an autoagglutination inhibitor required for biofilm formation in *Bordetella holmesii*．第 89 回日本細菌学会総会、大阪、平成 28 年 3 月

51) 大塚菜緒、平松征洋、蒲地一成、柴山恵吾 Fimbriae-mediated autoagglutination of *Bordetella pertussis*.第 89 回日本細菌学会総会、大阪、平成 28 年 3 月

52) 柴山恵吾　JANIS データからみた薬剤耐性菌の現状　第３１回日本環境感染学会、京都、平成 28 年 2 月 19-20 日

53) 柴山恵吾　厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)　日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会、札幌、平成 27 年 7 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、マンソン孤虫症など）、ならびに動物由来寄生蠕虫症（エキノコックス症、キンカジュー回虫症、顎口虫症など）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、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･調査を進めた。裂頭条虫症に関連しては、感染源と考えられるシロザケにおける幼虫の寄生状況を調査した。土壌媒介寄生虫症に関しては、虫卵検出のための新たな検査方法の確立に取り組み、その方法で輸入キムチとエキノコックス流行地で栽培された行者ニンニクの虫卵汚染状況を調べた。また本症の発生状況に関して、文献的および検査機関データを用いた解析に取り組んだ。さらに、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体(病理組織標本を含む)については、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、検査・診断のサポートを行った。

第三室では、国際的に重要な寄生虫症、マラリア、シャーガス病などを主な研究対象としている。マラリアやシャーガス病は、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、国内にもベクターとなるがハマダラカが生息しており、また近年は輸血を介する感染の危険性も報告されており、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、再任用職員として山﨑 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，記野秀人、松田 肇、千種雄一、亀井喜

世子、協力研究員として渡辺恒二、柳川泰昭、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、荒井絢子、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、Arif Nurkanto、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、山岸美菜、荒木球沙、吉田猛敏、鈴木桜織が在籍し、研究等に従事した。更にインドネシアバイオテックセンター、BPPTからアイルランガ大学からDwi Peni Kartika、Ratna Wahyuniが共同研究員としてに約2ヶ月間共同研究に従事した。非常勤職員として、中川玲子、村上裕子、坂本怜子、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）クリプトスポリジウム抗原検出イムノクロマト（IC）の開発

クリプトスポリジウム検出用モノクロ抗体の糞便内抗原に対する反応性を試作ICでテストした。まずELISAならびにドットブロット法により3種類のモノクロナル抗体クローンを選択した。これらのモノクロ抗体は、糞便検体の遠心上清に対しても反応を示し、オーシスト壁の可溶化抗原あるいは微細に断片化されたものと反応するものと考えられた。3種類の抗体より6組の抗体セットを考案し、検出用抗体ならびに金コロイド感作用抗体にわけて使用したICを試作、ジアルジア、クリプトスポリジウム、サイクロスポラ各陽性試料を用いてその反応性を調べた。6種類の抗体組合せの中で5種類はクリプトスポリジウム検出に適するという結果を得た。

［八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）］

（2）ジアルジア・クリプトスポリジウム同時検出イムノクロマト（IC）の開発

試作段階で最も感度、特異性が優れたクリプトスポリジウム検出用モノクロナル抗体セットと、既に開発したジアルジア抗体セットをともに同一ICに組み込んだジアルジア･クリプトスポリジウム同時検出ICを試作した。各種消化管原虫陽性便検体、およびこれら原虫類の陰性便検体を用いて試作ICの性能を調べた。ジアルジアとクリプトスポリジウムに対して各原虫の特異的反応を、また実験的に調製した両原虫陽性検体に対する重複反応も確認した。他原虫陽性および原虫陰性検体での反応は見られなかった。両原虫陽性の臨床材料の中では、一方の原虫反応が単独検出用ICの場合よりも減弱する場合があり、感度調整の問題が残された。

［八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）］

（3）格子入り観察フィルター上でのMPN法を用いたクリプトスポリジウム定量

格子入り観察フィルター上で均一に分散させたクリプトスポリジウムの、MPN法を用いた定量法を検討した。静置してからゆっくりろ過する分散性の高いプレパラート作成法を用いて、少数のオーシストを含む試料をろ過し、プレパラートを作成した。現行の方法でオーシストを計数して実計測値を求めると同時に、メンブランフィルターの陽性区画を計数して、ろ過水量からMPN値を求め、両者を比較した。MPN値と実計測値では、MPN値が若干高めの値となるものの、その平均値に有意差はなく、両者は同等であった。すなわち、格子入り観察フィルター上で均一に分散させたクリプトスポリジウムの、MPN法による計数が可能となった。

［橋本　温（県立広島大学）、遠藤卓郎、泉山信司］

（4）クリプトスポリジウム症の大規模集団感染を防ぐのに必要なバリア

クリプトスポリジウム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。定量的なリスク管理を試みるには、種類ごとの感染確率、水道原水中の濃度と種類、浄水処理による除去率といった数値が必要となり、そこから複雑に計算しリスク管理しようとする向きもあるのかも知れないが、これらの情報は非常に限られている。そこで本研究では

過去の大規模集団感染における患者発生数に着目した。感染確率や濃度は桁違いに変動することはあっても、この患者発生数が桁違いに大きく誤まる可能性は少なく、信頼できる値といえる。病原体の濃度が1桁減少すれば、患者発生数は1桁減少するという前提で、計算した。過去の集団感染では数千人から数十万人（4-Log弱から6-Log弱）が発生しており、これを抑えるのに必要な病原体除去は、単純に4～6-Logとなる。10日間患者が発生し続けて、1日あたりの患者発生数が総数の1割の数百人から数万人と想定すると、3～5-Log程度となるマルチプルバリアの導入が推奨と単純計算できた。

［泉山信司］

（５）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－

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、新たな見地からの水道水の微生物学的な安全性向上の研究が求められている。配管内面の汚染を滅菌綿棒を使用して測定したところ、従属栄養細菌数が多数検出される場所を見出した。滞留、あるいは遅い流速からバイオフィルムが生じたと考えられた。協力が得られた特定建築物と病院の水道蛇口から、十分に捨て水をしていない開栓直後の初流水を検査し、Legionella属菌が培養により検出された。開栓直後の水を捨てること、定期的な捨て水を行い滞留させないこと、残留塩素濃度の維持、といった対策が推奨と考えられた。凝集沈澱処理を実施している全国の浄水場の協力を得て、水道原水にウイルス（アデノウイルス、トウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）他）を添加して人工原水とし、これを用いて凝集沈殿-砂ろ過処理を行うことで、処理性（除去率）を評価した。PMMoVと各種ウイルスは1～2-Log程度の同程度の除去が得られ、PMMoVは凝集沈殿-砂ろ過処理におけるウイルスの指標として有効と期待された。相模川河川水を試料として検鏡法とqRT-PCR法の比較を継続し、両法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムが78%、ジアルジアが81%と概ね対応が得られた。遺伝子増幅産物の塩基配列を決定したところ、ブタ由来のC. suisが多く検出され、汚染源の推定に活用できると考えられた。過去の大規模集団感染における患者発生数に着目し、水道水中の病原体濃度が1桁減少すれば、患者発生は1桁減少するという前提で、クリプトスポリジウム症の大規模集団感染を防ぐのに必要なバリアの程度を計算した。国外では、2011年にスウェーデンで推定20,000人が発症する、水道が原因と推測されるクリプトスポリジウムによる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。

［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）］

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（感染症法四類）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。今年度は多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30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93.3%、後者は80.0%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顎口虫症血清診断キットのタイにおける評価

幼虫移行症の1つである顎口虫症は、わが国では輸入症例も含めて散発的な発生が見られる。今回はキットの感度、ならびに特異性について、顎口虫症の流行が見られるタイにおいて評価を行った。評価試験は顎口虫症患者血清32、顎口虫症以外の寄生虫症患者血清114、健常人血清20、計166検体を用いて、イムノクロマト法と従来のウェスタンブロッティング法と比較した。その結果、イムノクロマトキットによる感度は94%、特異性は97%とウェスタンブロッティングに匹敵する感度と特異性を有していた。［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，坂本怜子，山﨑 浩]

（４）土壌媒介寄生虫卵検出のための新たな検査方法の確立：ストマッカー法および超音波法の検討

「食品衛生検査指針」では、検体となる野菜から土壌媒介寄生虫の虫卵を分離するに、野菜表面を歯ブラシなどで丁寧に洗うと記述されている。一方、食品細菌の検査分野では，ストマッカーや超音波洗浄機を機材として使用し、検体に付着する菌体を効率よく分離している．そこで、回虫卵を実験的に付着させた白菜を検体とし、これらの機材を導入した場合の虫卵検出能力を明らかにして，従来法との比較を試みた．その結果、虫卵の検出数についてはストマッカー法が最も勝ることが分かった。しかし夾雑物が増えて観察に相当の時間を要した。一方、超音波法は、一度に処理できる検体量が多く、検体処理に必要な時間や顕微鏡観察のための時間も短く、総合的な検査の効率化という観点から、最も秀でた方法との結論に至った。本法を標準的な試験法として推奨すべきではないかと考えられた。[杉山 広，荒川京子，森嶋康之，山﨑 浩，堀内朗子（日本食品衛生協会食品衛生研究所)]

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）クドア食中毒事例におけるヒラメのクドア汚染量調査

2011年－2013年に自治体､地方衛生研究所が報告したクドア食中毒事例に関して、ヒラメ残品検査で測定された *kudoa septempunctata* 胞子数のデータを収集し解析した。12自治体からの25事例を調べた結果、21例で食品衛生法におけるクドア胞子数の基準 10^6個/g 筋肉を超える胞子が検出されており、さらにその中の８例では胞子数が 10^7個/g 筋肉を超えていた。食中毒リスクのある汚染ヒラメが流通していた実態が示される一方、基準以下の 10^5個/g 筋肉台の胞子数（最少は 3.2×10^5個/g 筋肉）の残品も報告されていることから、胞子数の基準設定に関しては継続的な残品のクドア汚染量の調査が重要と考えられた。

［八木田健司］

（２）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－

クリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の混入による大規模な水系集団感染の経験を契機として、新たな見地からの水道水の微生物学的な安全性向上の研究が求められている。配管内面の汚染を滅菌綿棒を使用して測定したところ、従属栄養細菌数が多数検出される場所を見出した。滞留、あるいは遅い流速からバイオフィルムが生じたと考えられた。協力が得られた特定建築物と病院の水道蛇口から、十分に捨て水をしていない開栓直後の初流水を検査し、*Legionella* 属菌が培養により検出された。開栓直後の水を捨てること、定期的な捨て水を行い滞留させないこと、残留塩素濃度の維持、といった対策が推奨と考えられた。凝集沈澱処理を実施している全国の浄水場の協力を得て、水道原水にウイルス（アデノウイルス、トウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）他）を添加して人工原水とし､これを用いて凝集沈殿-砂ろ過処理を行うことで、処理性（除去率）を評価した。PMMoV と

各種ウイルスは1～2-Log程度の同程度の除去が得られ、PMMoVは凝集沈殿-砂ろ過処理におけるウイルスの指標として有効と期待された。相模川河川水を試料として検鏡法とqRT-PCR法の比較を継続し、2法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムが78%、ジアルジアが81%と概ね対応が得られた。遺伝子増幅産物の塩基配列を決定したところ、ブタ由来の*C. suis*が多く検出され、汚染源の推定に活用できると考えられた。過去の大規模集団感染における患者発生数に着目し、水道水中の病原体濃度が1桁減少すれば、患者発生は1桁減少するという前提で、クリプトスポリジウム症の大規模集団感染を防ぐのに必要なバリアの程度を計算した。国外では、2011年にスウェーデンで推定20,000人が発症する、水道が原因と推測されるクリプトスポリジウムによる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。

［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院）、片山　浩之（東京大学大学院工学研究科）］

（３）水道配管内における従属栄養細菌の調査について

水道配管内の汚染状況を把握するため、漏水や配管修繕の工事で発生した使用配管の内壁を対象に、従属栄養細菌数の調査を行った。従属栄養細菌数に影響を与えるのは水の停滞状況であり、工事内容の種類、使用年数、管種、材質の違いは細菌数に寄与しなかった。使用年数が長期の配管内部には鉄さび由来と思われる汚れが付着していたが、汚れと従属栄養細菌数の関連性は確認されなかった。給水管の設置条件により水の停滞が発生している配水管において検出数が極端に多かった。できる限り停滞が発生しないように水道配管の設計や設置方法の工夫を行うことが重要と考えられた。

［高藤　俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、泉山　信司］

（４）ブロック化された配水管網の管内壁における高い従属栄養細菌数

近年、地震等の災害時の迂回経路や需要増大時の水圧水量の均等化を目的に、配水区域のブロック化が行われている。すなわち、適当な広さの配水区域に、複数の本管が接続されたり、隣接ブロックと接続されているなど、その区域に2,3箇所から水が流入出し、水圧の変動や非常時への備えがなされている。ところがこうしたブロック内では水が滞留し、残留塩素濃度が低下したり赤水が発生するなど、実際の管理は容易ではないらしい。流速が遅ければ配管内で水道水中に含まれる夾雑物が沈降し、蓄積する恐れがある。例えば0.4m/s(少なくとも0.2m/s)の流速が1日1回あれば、配管はセルフクリーニングされると考えられており、配管を衛生的に維持するためにはそのような配慮が求められている。当該研究では、ブロック化により2方向から水の流入する配水管において、赤水苦情に伴う配管の布設替え工事があり、偶然に従属栄養細菌数の測定を行うことができた。2箇所の配管内面試料において高い従属栄養細菌数となったが、使用年数は他の比較した地点に比べて最も浅かった。問題の地点は、障害物を回避するために配管が上に立ち上がる場所であった。複雑な配管を極力避けること、流速を高めることが対策として考えられた。塩素濃度は最低限維持されているので、大腸菌、一般細菌で検出できる問題ではなく、従属栄養細菌数の活用など、配管を健全に維持するための対策が必要と考えられた。

［高藤　俊（浜松市上下水道部浄水課水質管理グループ）、松島　有希子　（桐生市水道局水質センター）、水野　聰（新潟市水道局技術部水質管理課）、泉山　信司］

（５）新築の特定建築物における蛇口初流水の微生物汚染実態

新築の特定建築物における水道配管内の微生物汚染の実態把握を目的として、入居直前から入居11か月後までの2か月毎に、水道末端等12か所から初流水を採取し、一般細菌数、大腸菌、従属栄養細菌数及びレジオネラ属菌について調査した。通常は検査対象とされない、開栓直後の初流水を試験した。入居前は、一般細菌数は11か所で100 CFU/mLを超えて検出され、従属栄養細菌数は12か所全てで2,000 CFU/mLを超えて検出された。入居1ヶ月後には大幅に減少し、これ以降は夏季に一時的な増加が見られたものの、経時的に減少した。レジオネラ属菌は、入居前の初流水において3か所で検出され、入居後に若干の変動はあったが、その後も継続して検出され

た。新築の特定建築物の水道配管は、入居前の時点で既に水道水の停滞による微生物汚染が起きており、入居後は水道使用により水の停滞が解消され、検出菌数が減少したと推察された。しかし、レジオネラ属菌の汚染は解消されず、汚染除去が困難なバイオフィルムの定着が想像された。

［田部井　由紀子（東京都健康安全研究センター）、泉山　信司］

（６）相模川水系における遺伝子検出法を用いた原虫調査

顕微鏡観察による原虫類の計数には技術の習熟が必要であり、それに代わる試験方法として遺伝子検出法が平成 24 年に追加された。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。本研究では、相模川河川水を試料として検鏡法と遺伝子検出法の比較を行った。両法の定性的な一致率は、クリプトスポリジウムは 78%、ジアルジアは 81%と概ね良好であった。クリプトスポリジウムの塩基配列は、ブタ由来の *C. suis* が多く検出され、支川の影響が大きいと推察された。遺伝子増幅産物の塩基配列の解読は、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］

（７）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。我々の今までの研究により、タイプ 2 との近縁性が示された日本分離株のうちの 1 株は、タイプ 1 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を見出してきた。今回、この株の遺伝子を詳細に検討した結果、配列決定した遺伝子の多くはタイプ 2 と近縁であるが、タイプ 1-3 の病原性の違いに関与するとされる 3 つの遺伝子、ROP5, ROP16, ROP18 の SNPs のみが高病原性株のものと一致していた。このことは日本由来株の病原性の強弱も欧米由来株と同様、これら 3 つの遺伝子の SNPs で説明できる可能性が考えられた。現在、全ゲノム情報の配列決定および解析を進めている。

［福本隼平、喜屋武向子（沖縄県衛生環境研究所）、山野安規徳、永宗喜三郎］

（８）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。1968 年から 1993 年までの東南アジア、アフリカ、南アメリカで単離された培養株 13 line について、今日アルテミシニン耐性の原因であると報告されている kelch protein K13 の SNPs を確認した。その結果、耐性の原因である SNPs は K13 遺伝子の C 末端側のドメインに存在していることが報告されているが、今回解析したのアーカイブサンプルでは、N 末端ドメインに新規の K189T 変異を 1 株から同定した。また、4 株から 143 と 144 番目に Asn 残基の挿入が検出された。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)］

（９）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（感染症法四類）はイヌの感染事例についても届出が義務づけられている。北海道以外、すなわち非流行地である本州以南の都府県からの届出は2005 年の埼玉県で見つかった一例にとどまってきたが、2014年に愛知県阿久比町で捕獲されたイヌ1頭に多包条虫感染が発見され、本州2例目として報告された。そこでエキノコックスの侵入と定着の有無をみるため、2015年、阿久比町とその隣接2市（半田市・常滑市）においてイヌの糞便67検体を採集し、PCR法による特異的DNAの検出を試みたところ、常滑市内で採集された1検体から陽性反応を得、その塩基配列は多包条虫と一致した。陽性検体が地理的に接する地区である程度の間隔をおいて採取されたことから、エキノコックス定着の可能性が示唆された。[森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩, 八木欣平（北海道立衛生研究所)]

（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原虫症の発生推定

わが国における寄生原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トリコモナス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10.9万人と推定された。推定発生数の妥当性を評価するため、同データベースからトリコモナス症に対する承認薬（メトロニダゾール）処方数を抽出し、同様に拡大推計して比較を行ったところ、両者は概ね一致することが確認された。レセプトデータを用いた発生推定は比較的発生数の多い寄生虫症に対しては有用であると考えられる一方、発生頻度の低い疾患の推定法が今後の課題として残された。[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，大分のイノシシ肉の検査したところ,5検体のうち2検体から1隻，あるいは3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（2 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,川上 泰（麻布大）]

（４）シロザケ（秋鮭）における日本海裂頭条虫幼虫の寄生状況調査

わが国で見られる裂頭条虫症のほとんどは日本海裂頭条虫の感染による。ヒトはシロザケやサクラマスなどに寄生する日本海裂頭条虫の幼虫を経口的に摂取して感染するために、サケ・マスにおける幼虫の感染実態を調査した。2015年には北海道厚岸沖、あるいは新潟県村上市三面川で水揚げされたシロザケ（秋鮭）を計１９尾調べたが、日本海裂頭条虫幼虫の検出には至らなかった[山﨑浩，森嶋康之]。

（５）タイ東北部、ならびにラオス中部におけるテニア属条虫の分子疫学的調査

タイ・コンケーン大学とラオス厚生省との国際共同研究として、タイ東北部（コンケーン）とラオス中部カムオン県におけるテニア属条虫の分子疫学調査を実施した。タイ東北部からはテニア属条虫24隻、ラオス中部からは30隻、計54隻のテニア属条虫をヒト感染者から採取した。これらのテニア属条虫はミトコンドリアDNAの解析から全て無鉤条虫と同定された。さらに、cox1遺伝子のハプロタイプ解析を行ったところ、タイ東北部とラオスの無鉤条虫は2つの大きな遺伝的集団によって構成されていることが判明した。さらに、タイ西部（カンチャナブリ県）に分布する無鉤条虫集団とタイ東北部やラオスの無鉤条虫集団とはは明らかに別のハプロタイプで構成されていることが明らかになった[山﨑 浩，Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (Khon Kaen University,

Thailand), Sakhone Laymanivong (Centre of Malariology, Parasitology and Entomology, Ministry of Health, Lao PDR)]

（６）アニサキス(症）に関する疫学調査

ア．サンマにおける本虫の寄生状況調査・続報

秋の漁期に北海道と三陸沖で漁獲されたサンマの筋肉から、人体寄生種のアニサキス *Anisakis simplex* sensu stricto が検出され、食中毒予防の観点からサンマの生食には注意を払う必要があると､昨年の年報で報告した。今年度は冬季に南下して紀伊半島沖で漁獲されたサンマを入手し、アニサキスの寄生状況を調べた。検査した 10 尾のうち陽性は 4 尾で，このうち 3 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 5 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 *A. simplex* sensu stricto（人体寄生種）と同定された。以上の結果から、漁期を問わずサンマの筋肉にはアニサキス幼虫の寄生が見られ，サンマの生食には常時注意が必要と考えられた．[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]

（７）土壌媒介寄生虫症に関する疫学調査

ア．文献的検索による発生状況調査

回虫・鞭虫・鉤虫は土壌媒介寄生虫とも呼ばれ、野菜を主な感染源とする食品媒介の寄生虫である．感染者数は最近では激減したとされるが、実態は明らかでない。そこで医中誌 Web を用い，1990 年 1 月から 2015 年 12 月までの原著論文から，日本国内で感染した症例を抽出した．その結果、回虫が 225 例，鞭虫が 23 例，鉤虫は 8 例であることが分かった。少数ながらも土壌媒介寄生虫症は継続して国内発生していた。感染源となる野菜の虫卵汚染が継続していると示唆されたことから、全症例について感染源を調べた。しかし感染源が明らかな症例はわずか 32 例で（生野菜、11 例；無農薬野菜、14 例；有機野菜、7 例），残り 224 例は明らかでなかった。原因となる野菜を特定しての感染予防対策は、立案が容易でないことが分かった。[杉山 広，賀川千里，荒川京子，森嶋康之，山﨑 浩]

イ．検査機関データを用いた発生状況検索

臨床検体の検査会社が、全国の医療機関から原因虫種の同定を依頼された症例のうち、土壌媒介寄生虫症の例数に関して提示を受け、その発生状況を整理した．その結果、2000 年から 2015 年までの 16 年間に、回虫が 272 例，鞭虫が 283 例，鉤虫は 215 例であった．症例数が文献検索より多いのは、経口感染だけではなく経皮感染の鉤虫症例（主にアメリカ鉤虫症）も含まれること、海外で感染した症例（日本人と外国人）が含まれることなどが原因と考えられた。臨床の現場では、より多数の土壌媒介寄生虫症例が診断されている事実が示された.[杉山 広，賀川千里，荒川京子，森嶋康之，山﨑 浩、生野 博（BML)]

ウ．輸入キムチの汚染状況調査

輸入キムチの土壌媒介寄生虫卵検査は，最近ではほとんど実施されておらず,汚染実態は明らかでない.一方，土壌媒介寄生虫の感染事例はいまだに発生があり，その感染源として輸入キムチを疑う症例も認める．そこで輸入キムチ（中国産 3 検体、韓国産 2 検体）を購入し、超音波法による寄生虫卵の検出を試みた．その結果、韓国産の 1 検体からダニの卵が検出された．しかし人体寄生性の寄生虫卵はいずれの検体からも検出されなかった。[杉山 広，荒川京子，森嶋康之，山﨑 浩，堀内朗子（日本食品衛生協会食品衛生研究所)]

エ．北海道産行者ニンニクのエキノコックス虫卵汚染調査

寄生虫エキノコックスによる人体症例は，感染症法で第 4 類に規定され，全例報告が義務付けられている．我が国では北海道全域にエキノコックス（多包条虫）分布し，地域住民に対する健康被害の原因として，大きな脅威となっている．北海道では陽性キツネの糞便にエキノコックスの虫卵を多数認めることから，その糞便で汚染された野草にはエキノコックスの虫卵が多数付着して，人への感染源になる可能性が高いと考えられた．特に行者ニンニクは非加熱で，あるいは加熱不充分で喫食される場合も多いと聞いた．そこで北海道の帯広市周辺で入手した行者ニンニク（41 検体を 2 月末から 5 月上旬までの期間に 6 回に分けて購入）を対象として、超音波法による寄生虫卵検査を実施した．その結果、検体からは、

エキノコックスの虫卵が全く検出できなかった．今回の調査では，超音波法を用いることで，複数の検体を短時間のうちに洗浄処理した.被験物質の破損も認められず，特に集卵の目的に浮遊法を用いた場合には，顕微鏡下での虫卵観察が容易となった．このような利点は，野菜の寄生虫卵汚染検査を実施するに当たり，大きな利点になると考えられた。[杉山 広,荒川京子,森嶋康之,山﨑 浩,堀内朗子（日本食品衛生協会食品衛生研究所)，廣井豊子（帯広畜産大学)]

III. 分類・同定・臨床

1.原虫

１．移植患者でのアメーバ性脳炎の国内初症例

国内で同種造血幹細胞移植後に発症した脳炎について、アメーバ性脳炎が疑われたことから遺伝子検査、および免疫組織的検査を行った。その結果、免疫組織学的に剖検脳組織病変部に*Acanthamoeba*陽性の所見を得たことに加え、18SrDNA 遺伝子検査において *Acanthamoeba* DNA 増幅を認め、シークエンス解析からこれまで非病原性と考えられてきた Group1 と同定。またその遺伝子型は 2013 年に初めて症例報告された T18 タイプのアメーバと 98%一致した。今回の症例では患者抗体検査をしていないので感染時期および感染経路は不明であった。移植においては術後免疫低下ならびに不顕性感染ドナーからの感染リスクに注意が必要である。

[八木田健司、岡村登喜子]

2. 蠕虫

裂頭条虫属（*Diphyllobothrium*）の模式種である *Diphyllobothrium stemmacephalum* の全ゲノム解析

裂頭条虫属条虫の中には未だ分類学的位置が不確定な種が含まれており、そのためには本属の模式種である *D. stemmacephalum* の DNA データが基本となるが、これまでに全ゲノムデータは全く解析されたことはなかった。そこで、*D. stemmacephalum* に感染した邦人症例を経験したのを機に、*D. stemmacephalum* の全ゲノム解析について次世代シークエンサーを用いて行った。その結果、まず、ミトコンドリアゲノムが解読され、大きさは 13,716 bp であった。近縁種のミトコンドリアゲノムと比較したところ、酸化的リン酸化に関与する 12 個の遺伝子、2 個の rRNA 遺伝子、22 個の tRNA 遺伝子と 2 個の non-coding regions で構成され、基本的な構造、遺伝子の配列順序、転写方向は既知の裂頭条虫科条虫やテニア科条虫のミトコンドリアゲノムと同じであった。全ゲノム解析は今後の課題として残った［山﨑 浩，泉山信司，野崎智義].

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 36 回衛生微生物技術協議会（7 月 23～24 日,仙台）においてレファレンスセンター等関連会議「寄生虫」を担当した。クドアに関するミニシンポジウム形式の情報交換の場として,主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を進めた．寄生虫性食中毒・有症苦情事例に関しては，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ことを確認した。[杉山 広，八木田健司，森嶋康之，永宗喜三郎，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]

台湾 CDC・陽明大学との共同研究により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 株のゲノムデータの解析を進めた。[津久井久美子、泉山信司、Avik Mukherjee、野崎智義、Dar-der Ji（陽明大学)]

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 6 件受け入れ、形態検査の再確認と遺伝子検査を併用して同定した。[案浦健、中野由美子]

第 36 回衛生微生物技術協議会研究会において寄生虫に関するレファレンスセンター関連会議を行った。[八木田健司、永宗喜三郎]

III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成27年度には､計51件の寄生虫症依頼検査があり、うち33件が寄生虫症と確定診断された。

(1) 免疫学的方法による寄生虫症検査

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。免疫学的検査依頼件数 16 検体のうちエキノコックス症1検体で特異抗体が検出された。［山﨑 浩，杉山 広，森嶋康之］

(2) 遺伝子解析等による寄生虫症検査

各種臨床検体中に見出された虫体（様物）の同定依頼数は35件あり､遺伝子の塩基解析結果もしくは形態学的観察に基づいて種の同定を行った｡その結果31例が寄生虫で，遺伝子解析では，条虫症：日本海裂頭条虫（13)，無鉤条虫（5)，多包条虫（1)，*Hymenolepis* sp.（1)，豆状条虫(1)，線虫症：*Anisakis simplex* sensu stricto (4)，*Anisakis pegreffii*(2)，*Crassiocauda giliakiana* (2)，吸虫症：*Paragonimus westermani* (3n)（1)，形態学的観察では線虫症：鞭虫（1）であった。[山﨑 浩・杉山 広・森嶋康之]

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

角膜炎患者のコンタクトレンズケースより分離された、*Acanthamoeba* に感染するウイルスゲノムを解析した。MiSeqによる読み取りとアセンブルの結果､1Mb ものゲノムサイズがあり、1000 強の ORF が検出された。近縁の配列は、*Megavirus chilensis* であった。この様なゲノムサイズの大きい、いわゆる巨大核質ウイルスに共通する遺伝子も、多く保存されていた。しかし多くの遺伝子は機能が不明であった。本分離ウイルスが果たして角膜炎に関与するのか、疫学、検査診断等を進める上で、本ゲノム情報は有用と考えられた。*Entamoeba* 株の解析は、リファレンス株の解析を進めた。従来の標準配列は 20Mb 強が約 1,500 コンティグに分断され、101 遺伝子に N を含むなど多数の N をギャップとして含み、他の株を解析するための基準とするには難があった。PacBio RSII を用いた読み取りができたことから、ゲノム配列のアセンブルを試みた｡HGAP ソフトウェアによるアセンブルでは、255 コンティグと概ね良好な結果が得られたが、ゲノムサイズは 16Mb と小さく､配列の不足が懸念された｡Sprai ソフトウェアでは、246 コンティグとさらに向上し、ゲノムサイズは 26.9Mb と欠落の心配がなく､より良い結果であった。

［泉山 信司、八木田 健司、津久井 久美子、Avik Kumar Mukherjee､岡崎 隆三､野崎 智義(寄生動物部)､関塚 剛史、黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター)］

（２）アカントアメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. メガウイルスの培養細胞に対する感染

Acanthamoeba を宿主とするメガウイルス（MV）は、培養細胞の vero および HCSC にも感染する。しかしその感染は致死的ではなく､一方で抗 MV 抗体に反応する物質の粒子状蓄積が細胞内に観察される。今回、電顕的に抗 MV 抗体陽性の vero 細胞を観察した結果､感染 1 日および 4 日後の細胞で､感染 *Acanthamoeba* 内に見られるようなウイルス粒子は vero 細胞の細胞質また核内に観察されず、また正常細胞には見られないウイルス工場のようなウイルス形成関連構造も特に確認できなかった｡抗 MV 抗体に反応する粒子に関しては免疫電顕での解析でその実体を明らかにする。

［八木田健司］

イ. レジオネラ属菌のアメーバ感染における糖鎖の関与

レジオネラ属菌は環境中でアメーバを宿主として増殖する。菌の感染性はアメーバの種類また株により異なり、感染に関与する受容体とそのリガンドの多様性が想定される。今回、菌－アメーバ感染系を用いて糖鎖およびレ

クチンの関与を調べた結果、ConA とセルビオースの試験から Glc 残基が、WGA とヘパリンの試験から GlcNAc 残基が、菌のアメーバ感染初期に関与していることが示された。WGA 等レクチンが感染阻害に作用する一方で、同じレクチンの ConA ならびに高分子多糖のヘパリンに逆の感染促進効果が認められた。ヘパリンについては BCYE 培養で経時低下する菌の感染性の回復作用、また低濃度の菌をアメーバで増殖する菌検出法において検出感度向上に働く可能性も示された。

[八木田健司、泉山信司]

（３）トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．トキソプラズマ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、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、Ca^{2+}依存性タンパク質分泌能、および宿主細胞への侵入能、マウスへの病原性のいずれの形質も明らかに低下していた。また、運動性についても明らかな変化が認められた。

［松原立真（筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎］

イ．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。本研究では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行った。さらにこれらのタンパク質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し、その結果、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 6 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のうち、特に誘引率が大きい２つの遺伝子についてノックアウト株を作成、解析中である。

［福本隼平（筑波大学)、佐倉孝哉、永宗喜三郎］

（４）赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．赤痢アメーバにユニークなマイトソーム膜タンパク質の同定

赤痢アメーバは嫌気環境へ適応した進化により、ミトコンドリアが縮退した DNA, ATP 産生能力を失った痕跡オルガネラ・マイトソームを持つ。このユニークなオルガネラの理解を深めるため、以前我々が発見したαヘリックスからなる膜貫通ドメインを持つマイトソームタンパク質の検索を行った。情報生物学的手法で赤痢アメーバゲノムデータから抽出された 25 の候補タンパク質のうち、20 について局在を解析したところ全てがマイトソーム様のドット状の局在を示したが、マイトソームタンパク質と共局在したのは 2 つであった。この 2 タンパク質は電子顕微鏡観察でもマイトソーム、特に内膜への局在が示唆された。赤痢アメーバマイトソーム内膜タンパク質の

初めての発見であった。[Herbert Santos, 今井賢一郎(産業技術総合研究所)、花舘有希、深沢嘉紀（産業技術総合研究所)、小田俊之（産業技術総合研究所)、見市文香（佐賀大学)、野崎智義]

イ．赤痢アメーバにおけるフォスファチジルイノシトール(3,4,5) 3-リン酸（PIP3）結合タンパク質の同定と解析

真核細胞において運動や貪食は細胞膜上のリン脂質、特にリン酸化されたフォスファチジルイノシトール（PIP）により制御されることが知られている。赤痢アメーバもPIP を有するが、そのエフェクターとなるタンパク質は保存されていない。そこで PIP3 結合タンパク質を PIP3 結合ビーズとのアフィニティで同定した。153 タンパク質が同定され、うち 19 個が PI ビーズでのコントロール実験では検出されず､カバレッジ２%以上で検出され､PI3P 結合タンパク質候補とした。このうち７つについてタグ付き高発現株を作成し機能解析を行っている。PIP3 はアクチン制御に重要な分子と考えられており、運動、貪食制御に新しい知見が得られることが期待される。[Somlata, 津久井久美子、野崎智義]

ウ．赤痢アメーバにおけるフォスファチジルイノシトール 3-リン酸(PI3P)エフェクターの同定

赤痢アメーバにおいて貪食胞の成熟過程にPI3Pの関与が示されている。しかし既知のエフェクタータンパク質は保存されていない。PI3P シグナルの実体を明らかにするため、GFP 融合 PI3P 結合ドメイン（Hrs-FYVE）発現細胞とコントロール細胞から貪食胞を精製し､FYVE 発現細胞で貪食胞への動員が低下するタンパク質の検索を行った。980 タンパク質が検出されたうち、FYVE 発現株で動員が減少していたタンパク質は 504 存在した。ノーマライズされた検出されたスペクトル数である quantitative value がコントロールで 2 以上の 279 遺伝子から小胞輸送への関与が予想されるものを優先にタグ融合発現株を作成し､局在解析と脂質結合性の検討を行う予定である。[渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子]

エ．赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体の機能解析

我々が同定した赤痢アメーバにユニークなリソソーム酵素輸送受容体 cysteine protease binding protein family (CPBF)について、病原性との関与を明らかにする目的でブタ大腸組織の Ex-vivo 培養系にて組織侵入への効果を検討した。１１あるファミリー分子の全ての遺伝子発現抑制株について検討したが、有意な変化を見出すに至らなかった。そこでより単純なモデルであるムチンゲルへの侵入効率を評価するトランスウェルアッセイを準備し、評価中である。CPBF1 ドメイン３の結晶化について、組み換えタンパク質が不均一な集合体となり、結晶化が期待できないことが明らかとなった。リガンドとの結合に関わるオルガネラ内部部分とリガンドとの共発現を試み、機能的な構造を持つ組み換え体の作成を目指す。[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]

オ．赤痢アメーバ新規薬剤開発に関する研究

新規赤痢アメーバ薬の薬剤ターゲットとしてコエンザイム A 合成過程に関わる pantothenate kinase と dephospho-CoA kinase1、2 について研究を行った。各タグ付きタンパク質の高発現株並びに遺伝子発現抑制株の解析と組み換えタンパク質を用いた活性測定系の確立を行った。遺伝子発現抑制株では強い増殖阻害が pantothenate kinase, dephospho-CoA kinase 2 遺伝子発現抑制株で観察され、生存に必須なタンパク質であることが示唆された。各酵素の組み換えタンパク質を作成し、リン酸化活性を測定する系を立ち上げ、400 種類の天然物ライブラリーをスクリーニングした。酵素活性が２５%以下に低下した化合物を合計 8 種類見出した。今後赤痢アメーバへの効果、哺乳動物細胞への毒性を検討する。[Arif Nurkanto, Ghulam Jeelani, 野崎智義]

カ．赤痢アメーバポリアミン代謝の解明

タンパク質伸長因子である eIF5A はポリアミンであるスペルミジンが付加（ハイプシン化）することが知られる唯一のタンパク質であり、原核生物を含むすべての生物に保存されている。赤痢アメーバにも eIF5A が存在しているがハイプシン化の最終過程に必須な deoxyhypusine hydroxylase がゲノムに存在しない。これが事実なら水

酸基のない未熟なハイプシン化修飾を受けたelF5Aはスペルミジン、ホモスペルミジン合成に関与する可能性がある。赤痢アメーバのポリアミン代謝を明らかにするため、ハイプシン化の第一段階の酵素 deoxyhypusin synthase (DSH)の同定と性状解析、elF5A1, 2 の性状解析を行った。赤痢アメーバゲノムにはDSHが2種類存在したが、一つは活性中心のLysが保存されておらず、組み換え体でも活性が無いことが示された。DSH1, elF5A1, 2 について遺伝子発現抑制ができなかったことから生存に必須な遺伝子であったと考えられた。さらにタグ付きタンパク質として高発現させ、その局在を細胞分画により評価したところ、どのタンパク質も主にサイトゾルに局在する一方100kgペレットにも分画された。サイトゾル以外での機能が存在する可能性が示唆された。今後elF5A のハイプシン化の有無を明らかにし、ユニークなポリアミン代謝を明らかにする。[Ghulam Jeelani, 野崎智義]

キ. 赤痢アメーバにおけるグリセロール代謝と酸化ストレスの関係解明

嫌気環境に適応した赤痢アメーバにおいて酸化ストレスの回避は生存に必須である。以前我々はパラコートを用いた酸化ストレス条件下、解糖系の中間産物であるdihydroxyacetone phosphate が glycerol 3-phosphate dehydrogenase(G3PDH)と glycerol kinase (GK)によりグリセロールに代謝されることを見出した。代謝産物であるグリセロールの蓄積と抗酸化効果の関係は低いと考えられ、この代謝系を活性化させる意義が不明であった。そこで、G3PDH, GK によりそれぞれ NAD+, ATP が産生されることに着目し、これらの酵素活性が抗酸化効果を生むと考え解析を行った。組み換えタンパク質の精製、タグ付きタンパク質高発現株の樹立、遺伝子発現抑制株の準備ができた。今後活性測定、遺伝子発現抑制株での酸化ストレス耐性、細胞内局在を明らかにしていく。[山岸美菜、Ghulam Jeelani, 野崎智義]

ク. 赤痢アメーバオートファジーの解析

(i) Atg5/12-16 複合体の同定

オートファジー（自食作用）は真核生物に広く保存している分子過程である。一般的にはストレス条件下、サイトゾルにある分子やオルガネラをリソソームに送りアミノ酸を再取得する分子機構として理解されている。赤痢アメーバにおいてもオートファジーのマーカー分子であるAtg8とこの脂質修飾に関与するAtg3, 4, 7, は保存しているがAtg5/12-16複合体の存在は明らかでなかった。そこで遺伝子検索でホモロジーが示唆されたAtg5, Atg12候補遺伝子の遺伝子発現抑制株を作成し、Atg8の脂質修飾が阻害されることを見出した。さらにそれぞれを GFP融合タンパク質として発現させ抗GFP抗体で免疫沈降し、銀染色で見出されたバンドの質量分析から Atg5/12-16遺伝子とそこに結合していると考えられる赤痢アメーバにユニークなタンパク質を同定した。[柴田久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子]

(ii) Atg8 結合タンパク質の同定

赤痢アメーバAtg8は貪食胞の酸性化に関与することが示されている。そこでAtg8がどのような分子と相互作用し貪食胞成熟過程を制御するのかを知るため、Atg8抗体で免疫沈降し、免疫複合体の質量分析から結合タンパク質の同定を試みた。赤痢アメーバAtg8は定常状態で脂質修飾型も存在するため、膜画分とサイトゾルに分け免疫沈降を行った。結果、サイトゾル画分から解糖系で連続した反応に関与するfructose-1,6-bisphosphate aldolase と triosephosphate isomeraseを同定した。さらにタグ付きタンパク質として発現させ、Atg8との結合を再確認した。解糖系の活性とAtg8の関係を明らかにしたい。[宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子]

ケ. 赤痢アメーバ脂質輸送タンパク質の解析

生物の生存に細胞膜系は必須である。膜を構成する脂質は主に小胞体またはミトコンドリアで合成され、PH, START, Sec14 ドメインなどの脂質結合ドメインを持つ脂質輸送タンパク質により各オルガネラに輸送される。赤痢アメーバはミトコンドリアが縮退し、痕跡オルガネラであるマイトソームを持ち、コレステロール合成系は持たず宿主から取り込んでいる。よって赤痢アメーバの脂質合成、輸送はユニークに制御されると考えられた。そこで脂質輸送タンパク質の解析を行うため、既知の脂質輸送タンパク質のゲノム検索と転写解析で発現の高いと考えられた11のタンパク質について高発現株、組み換えタンパク

質、遺伝子発現抑制株を作成し、その局在、脂質結合能、赤痢アメーバ栄養体での機能解析を目指した。赤痢アメーバゲノムには他種生物で知られていた 4 種類の脂質輸送タンパク質群（ORP, START-containing, Sec14-like, PRELI-containing）すべてについてホモログが存在していた。しかし特に START ドメインを持つタンパク質群が 15 ある一方 ORP, Sec14-like, PRELI-containing はそれぞれ 4, 2, 1 遺伝子しか見出せず、START ドメインタンパク質が重要な働きをしていると考えられた。注目した 11 遺伝子のうち４遺伝子について高発現株と遺伝子発現抑制株が樹立され、2 遺伝子について組み換えタンパク質の精製のめどが立っている。今後各タンパク質の局在、細胞への機能、脂質結合活性の評価を行う。[Koushik Das、Ghulam Jeelani、野崎智義]

コ．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。他種生物とは異なり EhRab8A の細胞内局在はエンドソーム系ではなく、小胞体であった。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、小胞体に局在する CDC50 フリッパーゼを同定した。よって、EhRab8A は小胞体脂質ドメインの制御を行いながら、表面タンパク質の選別と輸送を行っているモデルが考えられた。[花舘有希(筑波大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

サ．赤痢アメーバの膜輸送：貪食における EhRab8A ホモログ EhRab8B の解析

EhRab8A と 55%のアミノ酸相同性を示す EhRab8B は、病原株では発現が観察されるが、非病原株では intron-retention が起きているためタンパク質の翻訳が行われない。非病原株で EhRab8B を大量発現させると、細胞障害性が回復することを発見した。そこで EhRab8B の局在と機能を解析するために、EhRab8B のポリクロナル抗体の作製に着手した。また N 末端に myc タグを付加した EhRab8B の局在は、小胞体ではなく小さな小胞であった。現在、EhRab8B がどのように貪食を制御するのかの解析を進めている。[花館有希(筑波大学)、中野由美子、中曽根英子、Felipe Fadilla-Vaca (Guanajuat 大学)、野崎智義]

シ．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。赤痢アメーバの CP の分泌機構をさらに解明するために，本研究では Rab11B の活性制御を行うエフェクタータンパク質の同定と機能解析を行った.Rab11B-GTP 型アフィニティカラムから溶出されたタンパク質を質量解析によって同定した結果，アダプター複合体 の 大サブユニット β-adaptin と γ-adaptin，およびエキソシスト複合体の Sec6 のホモログを得た.哺乳類細胞では，Rab11 がエキソシスト複合体の別の因子である Sec15 に結合することが，Rab11 の形質膜への輸送に必要であることが報告されている.Rab11 とエキソシスト複合体 の Sec15 以外の因子との相互作用は報告されておらず，赤痢アメーバ特異的な機構を介した細胞外分泌の制御が存在する可能性がある．[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]

ス.タンデムな GTPase ドメインを有する EhRabX3 の結合因子の同定

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、GTP 加水分解能が遅く、細胞内で GTP 型を取ると予測されている。細胞内で GTPase としての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、結合タンパク質の単離を試みた。その結果、膜融合の終了後に SNARE complex を解離させるのに必要な N-ethylmaleimide sensitive fusion protein (NSF) と

soluble NSF attachment protein (SNAP)を得た。よって、EhRabX3 は従来の Rab と異なり、SNARE による膜融合の完了の後で機能すると考えられた。
[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]

（５）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で 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 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、Loss-of-function スクリーニング解析から、肝内型原虫に特異的な新規機能分子 B9 を見出した。*b9* 欠損原虫株を用いた詳細な解析から、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。また様々な解析結果から *b9* は転写後制御により発現調節される分子であり、原虫 plasma membrane に局在する分子である事が明らかとなった。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、荒井絢子、川上泰（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。NG2 の詳細な機能解析を行うため、肝細胞での一過性の遺伝子発現が可能な DNA コンストラクトの作製を行った。今後、NG2 の原虫細胞内局在性や輸送基質の同定を試みることで、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、荒井絢子、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を制御する分子メカニズムは極めて興味深いが、その分子機構は未だほとんど明らかとなっていない。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。これまでに我々が詳細な in silico 解析を実施したところ、ヒストンメチル化酵素 9 遺伝子、脱メチル化酵素 4 遺伝子は全てのマラリア原虫種において高度に保存されており、また一方で原虫種により特異的に欠損するヒストンメチル化酵素遺伝子と脱メチル化酵素遺伝子を見出す事に成功した。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ており、現在組み換えタンパク質の調整を開始しており、今後、酵素アッセイや本遺伝子変異株の作出を試みる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、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。現在までに本実験に適したハマダラカ株の系統維持に着手しており、実験開始に必要な質と数を担保できるよう調整している。
［案浦健、荒木球沙、荒井絢子、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。PfRab5b は寄生胞の感染赤血球側に輸送されることから、PfRab5b 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。その結果、ゴルジ体に局在するタンパク質の他、寄生胞に局在するETRAMPファミリーの膜タンパク質を同定した。よってPfRab5bはゴルジ体周辺から出芽して寄生胞に輸送する新規の経路を制御していると考えられた。［平井智浩(筑波大学)、海老根一生（東京大学)、野崎智義、中野由美子］

研修業務・審議会など

I．平成27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)。［八木田健司、泉山信司］

II．平成27年度　感染症検査技術研修会にて、マラリアについての講義を行った。(2015年6月12日、村山庁舎）［案浦健、中野由美子］

III．Field Epidemiology Training Program（FETP）初期研修に協力し、「性感染症としてのアメーバ赤痢と輸入感染症としてのマラリア」に関する講義を行った。(2015年4月19日、戸山庁舎）［中野由美子］

国際協力関業務

3．国際協力機構（JICA）の研修コース「安全な血液確保による感染症予防」に協力して、マラリアの診断法について講義を行うとともに、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。［案浦健、中野由美子］

発表業績一覧

I．誌上発表

1．原著論文、総説（欧文）

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. doi: 10.1016/j.exppara.2014.12.001.

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. doi: 10.1371/journal.ppat.1004666.

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. doi: 10.1038/srep08545. (* 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. doi: 10.3389/fmicb.2015.00354. eCollection.

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. doi: 10.1073/pnas.1423718112. (＃correspondence) pii: 201423718.

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. doi: 10.1371/journal.pone.0132030. eCollection 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 39:667-72, 2015. doi:10.1111/jfd.12395..

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. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.04.058. [Epub ahead of print]

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. 17(12):1779-1796, 2015. doi: 10.1111/cmi.12470.

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. doi: 10.3389/fmicb.2015.00962 (# 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, 23960-23970, 2015. doi: 10.1074/jbc.M115.672907

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 14(11):1144-1150, 2015 (*Equal first authors; #Double correspondence) doi: 10.1128/EC.00130-15.

Srivastava, V. K., Chandra, M., Saito-Nakano, Y., Nozaki, T., Datta, S. Crystal structure analysis of wild type and fast hydrolyzing mutant of EhRabX3, a tandem Ras superfamily GTPase from *Entamoeba histolytica*. J Mol Biol. 428(1):41-51, 2015 Nov 7. pii: S0022-2836(15)00624-5. doi: 10.1016/j.jmb.2015.11.003.

Santos, H. J., Imai, K., Hanadate, Y., Fukasawa, Y., Oda, T., Mi-ichi, F., and Nozaki, T. Screening and discovery of lineage-specific mitosomal membrane proteins in *Entamoeba histolytica.* Mol. Biochem. Parasitol. 209(1-2):10-17, 2016. doi: 10.1016/j.molbiopara.2016.01.001.

Jeelani, G. and Nozaki, T. *Entamoeba* thiol-based redox metabolism: a potential target for drug development. Mol. Biochem. Parasitol. 207(2):56-60, 2016. doi: 10.1016/j.molbiopara.2016.01.004.

Pineda, E., Vázquez, C., Encalada, R., Nozaki, T., Sato, E., Hanadate, Y., Néquiz, M, Olivos-García, A., Moreno-Sánchez, R., Saavedra, E. Roles of acetyl-CoA synthetase (ADP-forming) and acetate kinase (PPi-forming) in ATP and PPi supply in *Entamoeba histolytica.* Biochim. Biophys. Acta

1860(6):1163-1172, 2016. doi: 10.1016/j.bbagen.2016.02.010.

Yamaguchi H, Matsuo J, Yamazaki T, Ishida K, Yagita K, Draft Genome Sequence of High-Temperature-Adapted Protochlamydia sp. HS-T3, an Amoebal Endosymbiotic Bacterium Found in *Acanthamoeba* Isolated from a Hot Spring in Japan. Genome Announc. 3(1). pii: e01507-14. doi: 10.1128/genomeA.01507-14. 2015

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

Kobayashi S, Tsukadaira A, Kobayashi S, Izumiyama S, Yoon HS. Amoebic encephalitis in a farmer. Pathology. 47(7), 720-722, 2015.

Rahman M, Alauddin M, Hossain KM, Islam MH, Kitoh K, Nagamune K, Takashima Y, Prevalence and dynamics of antibodies against *Toxoplasma gondii* in kids born from naturally infected goats. Parasitol. Int. 64 (5), 389-391, 2015

Bhat HB, Ishitsuka R, Inaba T, Murate M, Abe M, Makino A, Kohyama-Koganeya A, Nagao K, Kurahashi A, Kishimoto T, Tahara M, Yamano A, Nagamune K, Hirabayashi Y, Jyuni N, Umeda M, Fujimori F, Nishibori K, Yamaji-Hasegawa A, Greimel P, Kobayashi T, Evaluation of aegerolysins as novel tools to detect and visualize ceramide phosphoethanolamine, a major sphingolipid in invertebrates." FASEB J. 29 (9), 3920-34, 2015

Matsubara R, Aonuma H, Kojima M, Tahara M, Andrabi SBA, Sakakibara H, Nagamune K, Plant Hormone Salicylic Acid Produced by a Malaria Parasite Controls Host Immunity and Cerebral Malaria Outcome. PLoS ONE 10 (10), e0140559, 2015

Ybañez RH, Leesombun A, Nishimura M, Matsubara R, Kojima M, Sakakibara H, Nagamune K, Nishikawa Y, *In vitro* and *in vivo* effects of the phytohormone inhibitor fluridone against *Neospora caninum* infection. Parasitol. Int. 65 (4), 319-322, 2016

Tahara M, Andrabi SBA, Matsubara R, Aonuma H, Nagamune K, A host cell membrane microdomain is a critical factor for organelle discharge by *Toxoplasma gondii*. Parasitol. Int. 65 (5), 378-388, 2016

Lim PKC, Yamasaki H, Mak JW, Wong SF, Chong CW, Yap IKS, Ambu S, Kumarasamy V. Field evaluation of a rapid diagnostic test to detect antibodies in human toxocariasis. Acta Trop, 148:32-37, 2015.

Weitzel T, Sugiyama H, Yamasaki H, Ramirez C, Rosas R, Mercado R, Human infections with *Pseudoterranova cattani* nematodes, Chile. Emerg Infect Dis, 21, 1874-1875, 2015.

Takamiya S., Hashimoto M., Mita T., Yokota T., Nakajima Y., Yamakura F., Sugio S., Fujimura T., Ueno T., Yamasaki H. Bioinformatic identification of cytochrome b_5 homologues from the parasitric nematode *Ascaris suum* and the free-living nematode *Caenorhabditis elegans* highlights the crucial role of *A. suum* adult-specific secretory cytochrome b_5 in parasitic adaptation. Parasitol Int, 65:113-120, 2015.

Sugiyama H, Shibata K, Arakawa K, Morishima Y, Yamasaki H, Gokudan M, Iwakiri T, Fukumori J, Paragonimiasis due to the consumption of wild boar meat in Japan: Contamination levels of lung fluke larvae in muscle samples of wild boars caught in the Kagoshima Prefecture. Jpn J Infect Dis, 68, 536-537, 2015.

Singh TS, Sugiyama H, Devi KR, Singh WA, First case of *Paragonimus westermani* infection in a female patient in India. Indian J Med Microbiol, 33 (Suppl), 156-159, 2015.

Hayashi K, Ichikawa-Seki M, Mohanta UK, Singh TS, Shoriki T, Sugiyama H, Itagaki T. Molecular phylogenetic analysis of *Fasciola* flukes from eastern India. Parasitol Int, 64, 334-338, 2015.

Li J, Zhao GH, Lin R, Blair D, Sugiyama H, Zhu XQ, Rapid detection and identification of four major *Schistosoma* species by high-resolution melt (HRM) analysis. Parasitol Res, 114, 4225-4232, 2015.

Li J, Chen F, Sugiyama H, Blair D, Lin RQ, Zhu XQ, A specific indel marker for the Philippines *Schistosoma japonicum* revealed by analysis of mitochondrial genome sequences. Parasitol Res, 114, 2697-2704, 2015.

Chen F, Li J, Sugiyama H, Zhou DH, Song HQ, Zhao GH, Zhu XQ, Genetic variability among *Schistosoma japonicum* isolates from the Philippines, Japan and China revealed by sequence analysis of three mitochondrial genes. Mitochondrial DNA, 26, 35-40, 2015.

Sanpool O, Intapan PM, Thanchomnang T, Janwan P, Laymanivong S, Sugiyama H, Maleewong W, Morphological and molecular identification of a lung fluke, *Paragonimus macrorchis* (Trematoda, Paragonimidae), found in central Lao PDR and its molecular phylogenetic status in the genus *Paragonimus*. Parasitol Int, 64, 513-518, 2015.

Fujita R, Koizumi N, Sugiyama H, Tomizawa R, Sato R, Ohnishi M, Comparison of bacterial burden and cytokine gene expression in golden hamsters in early phase of infection with two different strains of *Leptospira interrogans*. PLoS One, 10(7):e0132694, 1-16, 2015.

Calvopina, M., Cevallos, W., Atherton, R., Saunders, M., Small, A., Kumazawa, H., Sugiyama, H. High prevalence of the liver fluke *Amphimerus* sp. in domestic cats and dogs in an area for human amphimeriasis in Ecuador. PLoS Negl Trop Dis, 9(2):e0003526, 1-9, 2015.

Rijpma SR, van der Velden M, González-Pons M, Annoura T, van Schaijk BC, van Gemert GJ, van den Heuvel JJ, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, Ploemen IH, Khan SM, Franetich JF, Mazier D, de Wilt JH, Serrano AE, Russel FG, Janse CJ, Sauerwein RW, Koenderink JB, Franke-Fayard BM. Multidrug ABC transporters are essential for hepatic development of *Plasmodium* sporozoites. Cell Microbiol. Mar;18(3):369-83. 2016.

Lin JW, Spaccapelo R, Schwarzer E, Sajid M, Annoura T, Deroost K, Ravelli RB, Aime E, Capuccini B, Mommaas-Kienhuis AM, O'Toole T, Prins F, Franke-Fayard BM, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, Kroeze H, Koster AJ, Tanke HJ, Crisanti A, Langhorne J, Arese P, Van den Steen PE, Janse CJ, Khan SM. Replication of *Plasmodium* in reticulocytes can occur without hemozoin formation, resulting in chloroquine resistance. J Exp Med. Jun 1;212(6):893-903. 2015.

De Niz M, Helm S, Horstmann S, Annoura T, Del Portillo HA, Khan SM, Heussler VT. *In vivo* and *in vitro* characterization of a *Plasmodium* liver stage-specific promoter. PLoS One. Apr 15;10(4):e0123473. 2015.

Hanadate Y, Saito-Nakano Y, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Endoplasmic reticulum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Cell. Microbiol. Jan 25. 2016.

2. 原著論文、総説（和文）

野崎智義 動物との接触・飲料水等を介した寄生虫症 in 野外活動と感染症 化学療法の領域、医薬ジャーナル 31 (5) , pp800-807, 2015

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.

有阪高洋、河合覚、津久井久美子、野崎智義、平石秀幸、千種雄一 大腸内視鏡検査により診断のついたアメーバ大腸炎一例 Clin Parasitol 26 (1), 100-103, 2015.

野崎智義 赤痢アメーバ感染症-オルガネラ進化の多様性をみせるすばらしき生物モデル-感染症Hot Topics ～新興再興感染症を中心に 感染症 いま何が起きているのか 33(17), 2752-2756, 2015、実験医学 羊土社

牧内貴志､野崎智義 ミトコンドリアの多様な進化― 赤痢アメーバマイトソームから見えるミトコンドリアのタンパク質輸送と代謝の進化 真核細胞の共生由来オルガネラ研究最前線 広がり続ける多様性と機能 70(2), 93-98, 2016、生物の科学 遺伝 エヌ・ティー・エス

松原立真、永宗喜三郎 アピコンプレクサ生物におけるカルシウム・シグナリングと植物ホルモン、 化学療法の領域 32: 117-126、2016

松原立真、永宗喜三郎 アピコンプレクサ類のもつ植物様オルガネラと植物ホルモン -オルガネラ進化学から考える感染症対策、遺伝 70:99-104、2016

山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 齋藤典子, 土田孝信, 関川喜之, 織田錬太郎, 本郷偉元.イルカ裂頭条虫 *Diphyllobothrium stemmacephalum* による人体寄生例. Clinical Parasitology 26:121-124, 2015.

保科斉生, 李 広烈, 中拂一彦, 河野真二, 清水昭宏, 保坂由美子, 佐藤文哉, 堀野哲也, 中澤 靖, 熊谷正広, 山﨑 浩. 台湾での感染が疑われたアジア条虫の１例. Clinical Parasitology 26:117-120, 2015.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 賀川千里, 森嶋康之, 山﨑 浩, 大前比呂思.我が国の肺吸虫症の症状と診断根拠：症例報告からの解析. Clinical Parasitology 26:65-67, 2015.

森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩. レセプトデータを用いた蟯虫症発生数の推定. Clinical Parasitology 26:43-45, 2015.

吉田猛敏, 柴田勝優, 杉山 広, 川上 泰, 荒木 潤, 森嶋康之, 山﨑 浩. サンマにおけるアニサキス虫体の寄生状況調査. Clinical Parasitology 26:13-16, 2015.

杉山 広, 荒川京子, 柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山﨑 浩, 荒木 潤, 生野 博, 朝倉 宏. わが国における土壌媒介寄生中症, 特に回虫症の発生とその汚染源の文献的および検査期間データに基づく調査, 食品衛生研究, 65, 37-41, 2015.

堀内朗子, 荒川京子, 秋庭達也, 吉田建介, 平田史子, 松本奈保子,丸山弓美,奥津敬右,朝倉 宏,杉山 広, ストマッカーを利用した野菜等の回虫卵検査法の検討, 食品衛生研究, 65, 45-50, 2015.

林 亮, 菅井恭平, 楊 寛隆, 佐藤 孝, 阿保亜紀子, 菅井 有, 増田友之, 千種雄一, 杉山 広. 直腸癌の術後経過観察中にみられた肝アニサキス症の 1 例, Clinical Parasitology 26, 20-23 , 2015.

常盤俊大, 中村翔平, 平 健介, 杉山 広, 吉川泰弘, 宇根有美, エキゾチックアニマルと動物由来感染症 -キンカジューと回虫- , 獣畜新報, 68, 267-269, 2015.

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）

泉山信司、八木田健司、消化管寄生性原虫類の検査法、食品衛生検査指針 2015 微生物編より pp. 777-790、日本食品衛生協会、2015 年 3 月

八木田健司、泉山信司、組織内寄生性原虫類、食品衛生検査指針 2015 微生物編より pp. 805-808. 日本食品衛生協会、2015 年 3 月

II. 学会発表

1. 国際学会

Nagamune K, Yamano A, Fukumoto J, Tahara M, Matsubara R, Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* isolated in Japan. 13th International Congress on Toxoplasmosis and *Toxoplasma gondii* Research, Gettysburg, PA, June 2015

Matsubara R. Nagamune K, Functional analysis of Apicomplexa- producing plant hormone. Molecular Parasitology Meeting XXVI, Woods Hole, MA, USA, September 2015

Fukumoto J, Sakura T, Matsubara R, Nagamune K, Investigation for the Understanding of the

Mechanism of Host Organelle Recruitment by *Toxoplasma gondii*. 2nd International Symposium and 4th Annual Research Meeting on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, Tsukuba, September 2015

Matsubara R, Sakura T, Nagamune K, Searching for IP_3 and Ryanodine receptor like proteins of *Toxoplasma gondii*. 2nd International Symposium and 4th Annual Research Meeting on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, Tsukuba, September 2015

Ihara F, Nishimura M, Mahmoud ME, Muroi Y, Yokoyama N, Nagamune K, Nishikawa Y, *Toxoplasma gondii* infection in mouse impairs long-term fear memory consolidation and downregulates Arc expression. 2nd International Symposium and 4th Annual Research Meeting on Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells, Tsukuba, September 2015

Nozaki, T. Metabolism, pathogenesis, and unique organelles in the enteric protozoon *Entamoeba histolytica*. The 44th Annual Convention and Scientific Meeting of the Philippine Society for Microbiology. July 16-17, 2015, Pasay City, The Philippines. (Plenary lecture)

Somlata, Kumiko Tsukui, Kentaro Tomii, Tomoyoshi Nozaki, Analyzing role of BAR domain proteins in *Entamoeba histolytica*. XVIII International Seminar on Amebiasis 2015 2015.10.13-16, Campeche, Mexico

Yuki Hanadate, Yumiko Saito-Nakano, Kumiko Nakda-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki. Endoplasmic retrculum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* XVIII International Seminar on Amebiasis 2015 2015.10.13-16, Campeche, Mexico

Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta, Dar-der Ji, Makoto Kuroda, and Tomoyoshi Nozaki. Identification of an AIG1 gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates. XVIII International Seminar on Amebiasis 2015. 2015.10.13-16, Campeche, Mexico

Srivastava VK, Chandra M, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Datta S. Crystal structure analysis of wild-type and fast hydrolyzing mutant of EhRabX3, a tandem Ras superfamily GTPase from *Entamoeba histolytica*. XVIII International Seminar on Amoebiasis 2015. Oct. 13-16, Campeche, Mexico.

Valdés J, Nozaki T, Sato E, Chiba Y, Nakada-Tsukui K, Villegas-Sepúlveda N, Winkler R, Azuara-Liceaga E, Mendoza-Figueroa MS, Watanabe N, Santos HJ, Saito-Nakano Y, Galindo-Rosales JM. Proteomic analysis of *Entamoeba histolytica in vivo* assembled pre-mRNA splicing complexes. XVIII International Seminar on Amoebiasis 2015. Oct. 13-16, Campeche, Mexico.

Amidou Samie, Patricia Theko Ramollo, Tomoyoshi Nozaki. Antimicrobial activity of Selected Venda medicinal plants against *Entamoeba moshkovskii* and their immunomodulatory against *Entamoeba moshkovskii* and their immunomodulatory effect on Interleukin 6. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.

Takashi Makiuchi, Herbert J. Santos, Tomoyoshi Nozaki, Hiroshi Tachibana. Analysis of the fission mechanism of mitosomes in *Entamoeba histolytica*. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.

Ghulam Jeelani, Yoko Chiba, Tomoyoshi Nozaki. Exploring the polyamine pathway in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.

Herbert J. Santos, Ghulam Jeelani, Mihoko Mori, Kazuro Shiomi, and Tomoyoshi Nozaki. Screening of microbial metabolites for inhibitors of cysteine biosynthesis pathway in *Entamoeba histolytica*. Seminar on Amebiasis, Campeche, Oct 13-16, 2015.

Tomoyoshi Nozaki. Endoplasmic reticulum-resident

Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 18th International Conference on Emerging Infectious Diseases, The U.S. - Japan Cooperative Medical Sciences Program, Bethesda, U.S.A., January 13-14, 2016.

Kumiko Nakada-Tsukui, Conservation and uniqueness of the lysosome traffic in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. 25th Annual Molecular Parasitology/Vector Biology Symposium, 2015.4.29-28, UGA Hotel and Conference Center, Athens, GA

Annoura T, van Schaijk BC, Ploemen IH, Sajid M, Lin JW, Vos MW, Dinmohamed AG, Inaoka DK, Rijpma SR, van Gemert GJ, Chevalley-Maurel S, Kiełbasa SM, Scheltinga F, Franke-Fayard B, Klop O, Hermsen CC, Kita K, Gego A, Franetich JF, Mazier D, Nozaki T, Hoffman SL, Janse CJ, Sauerwein RW, Khan SM. New members of the Plasmodium 6-Cys family-related proteins have distinct and critical roles in liver stage development. 26th Annual Molecular Parasitology/Vector Biology Symposium. 2015. April. 28-29, Athens, Georgia. USA.

Annoura T, van Schaijk BC, Ploemen IH, Sajid M, Lin JW, Vos MW, Dinmohamed AG, Inaoka DK, Rijpma SR, van Gemert GJ, Chevalley-Maurel S, Kiełbasa SM, Scheltinga F, Franke-Fayard B, Klop O, Hermsen CC, Kita K, Gego A, Franetich JF, Mazier D, Nozaki T, Hoffman SL, Janse CJ, Sauerwein RW, Khan SM. New members of the Plasmodium 6-Cys family-related proteins have distinct and critical roles in liver stage development. 2nd International Symposium Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells. 2015. Sept. 30.- Oct. 2, Tsukuba, Japan.

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

松原立真、佐倉孝哉、永宗喜三郎、トキソプラズマの IP_3・リアノジンレセプター様タンパク質の探索、第48回日本原生生物学会大会、2015年11月、東京

永宗喜三郎、山野安規徳、福本隼平、喜屋武向子、正谷達謄、松尾智英、松井利博、村上麻美、高島康弘、佐倉孝哉、松原立真、日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性、第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会、2015 年 12 月、神戸

高島康弘、川原史也、永宗喜三郎、戸田なつき、鬼頭克也、実験感染ニワトリにおける抗トキソプラズマ抗体の産生状況、第85回日本寄生虫学会大会、2016年3月、宮崎

喜屋武向子、高良武俊、岡野祥、永宗喜三郎、沖縄県におけるトキソプラズマ感染実態調査と感染要因の推定、第85回日本寄生虫学会大会、2016年3月、宮崎

永宗喜三郎、Plant hormones and apicomplexan parasites、第89回日本細菌学会総会、2016年3月、大阪

八木田 健司、内田雄治、国産重種馬肉喫食における *Sarcocystis fayeril* の定量的汚染調査 2012-2013、第８４回日本寄生虫学会大会、2015年3月、東京

泉山信司、木下一美、村上裕子、八木田健司、クリプトスポリジウム等耐塩素性微生物による集団感染の発生動向、日本水道協会水道研究発表会、2015年10月、さいたま市

小林華奈子、水野聰、庭山秀一、川瀬悦郎、泉山信司、高藤俊、松島有希子、山口恵司、飲料水兼用耐震性貯水槽の衛生管理を目的とした従属栄養細菌数の活用、日本水道協会水道研究発表会、2015年10月、さいたま市

泉山信司、木下一美、村上裕子、八木田健司、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、第84回日本寄生虫学会、2015年3月、東京都

福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて、第23 回分子寄生虫学ワークショップ・第13回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2015年8月、帯広

永宗喜三郎、山野安規徳、福本隼平、喜屋武向子、正谷達謄、松尾智英、松井利博、村上麻美、高島康弘、佐倉孝哉、松原立真、日本におけるトキソプラズマ

の分子系統と病原性の解析、第23 回分子寄生虫学ワークショップ・第13回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2015年8月、帯広

福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて、第48回日本原生生物学会大会、2015年11月、東京

永宗喜三郎、山野安規徳、福本隼平、喜屋武向子、正谷達謄、松尾智英、松井利博、村上麻美、高島康弘、佐倉孝哉、松原立真、日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性、第 85 回日本寄生虫学会大会、2016年3月、宮崎

松原立真、佐倉孝哉、福本隼平、田原美智留、山岸潤也、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける IP_3受容体の探索、第85回日本寄生虫学会大会、2016年3月、宮崎

福本隼平、佐倉孝哉、永宗喜三郎、トキソプラズマにおける宿主オルガネラリクルート機構の解析にむけて、第85回日本寄生虫学会大会、2016年3月、宮崎

大橋 拓未、稲岡 ダニエル 健、小松谷 啓介、Balogun Emmanuel O.、Eri Amalia、山下 哲生、志波 智生、佐藤 暖、野崎 智義、原田 繁春、北 潔、マラリア原虫のミトコンドリア型Type II NADH dehydrogenaseの生化学的解析及び新規阻害剤の探索、第85回日本寄生虫学会大会、宮崎、March 19-20, 2016.

見市 文香、野澤 彰、吉田 裕樹、戸澤 譲、野崎 智義、赤痢アメーバ“マイトソーム”のPAPS輸送体の同定、第 85 回日本寄生虫学会大会、宮崎、March 19-20, 2016.

牧内 貴志、Santos Herbert J.、野崎 智義、橘 裕司、赤痢アメーバの特殊化ミトコンドリアにおける分裂機構の解析、第85回日本寄生虫学会大会、宮崎、March 19-20, 2016.

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Tomohiko Maehama, Kumiko Nakada-Tsukui Phosphoinositide metabolism and unique localization of phosphatidylinositol 4-phoshate in the enteric protozoan parasite Entamoeba histolytica Signalling 2015: Cellular functions of phosphoinositides and inositol phosphates 新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理、第 2 回国際シンポジウム・第 4 回マトリョーシカ型生物学研究会 2015年9月 茨城県

Kumiko Nakada-Tsukui, Konomi Marumo, Kentaro Tomii, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Tomoyoshi Nozaki Conservation and uniqueness of the lysosomal targeting system in the enteric protozoan parasite Entamoeba histolytica. 新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理、第 2 回国際シンポジウム・第 4 回マトリョーシカ型生物学研究会 2015年9月 茨城県

Kumiko Nakada-Tsukui, Konomi Marumo, Kentaro Tomii, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Tomoyoshi Nozaki Conservation and uniqueness of the lysosomal targeting system in the enteric protozoan parasite Entamoeba histolytica.プロテイン・アイランド・松山 国際シンポジウム２０１５ 若手の会 2015年9月 愛媛県

Natsuki Watanabe, Tomohiko Maehama, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui, Phosphoinositide metabolism and unique localization of phosphatidylinositol 4-phoshate in the enteric protozoan parasite Entamoeba histolytica Signalling 2015: Cellular functions of phosphoinositides and inositol phosphates 2015.9.1-5, Cambridge, UK

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子、赤痢アメーバリソソーム酵素輸送受容体ファミリーの組織侵入への関与 第 23 回分子寄生虫学ワークショップ第 13 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2015年8月帯広市

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、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遺伝子 Atg8 の解析 第 67 回日本細胞生物学会大会 2015年6月東京都

渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義、津久井久美子 寄生性原虫 Entamoeba histolytica におけるホスファチジルイノシトールシグナルの解析 第67回細胞生物学会 2015年6月東京都

渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義、津久井久美子 赤痢

アメーバにおけるホスファチジルイノシトールシグナルの解析　第５７回脂質生化学会　2015 年 5 月　東京

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、赤痢アメーバ原虫における Atg5-12/16 複合体の同定　第85回日本寄生虫学会大会　2016年3月　宮崎市

津久井久美子　赤痢アメーバにおけるAtg5-12/16複合体の同定　新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理 H27 年度全体班会議　2016 年 1 月　東京都

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、赤痢アメーバ原虫における Atg5-Atg12 遺伝子の同定　第 39 回日本分子生物学会年会・第 89 回日本生化学会大会合同大会　2015 年 12 月兵庫県

渡辺菜月　腸管寄生性原虫 Entamoeba histolytica における Atg5-12 複合体の解析と Atg8 により制御される貪食胞成熟化に関わる分子機構の探索　第 9 回オートファジー研究会・第 3 回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議　2015 年 11 月 1 兵庫県

宮本絵梨　腸管寄生性原虫赤痢アメーバAtg8結合タンパク質の解析　オートファジー班会議　絵梨第 9 回オートファジー研究会・第 3 回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議　2015年11月兵庫県

津久井久美子 赤痢アメーバ原虫における独特な Atg8 機能と制御　第 9 回オートファジー研究会・第 3 回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議 2015 年 11 月兵庫県

杉山 広．食品安全行政から見た寄生虫対策について．平成 27 年度 食品安全行政講習会．東京，2015 年 5 月 11 日．

杉山 広.寄生虫に関する食品衛生上の話題とその対策．平成 27 年度愛知県食品衛生監視員研修会．名古屋，2015 年 5 月 29 日．

山﨑 浩，森嶋康之，杉山 広，土田孝信，関川喜之，織田錬太郎，本郷偉元．イルカ裂頭条虫 *Diphyllobothrium stemmacephalum* によると考えられた人体寄生例．第 26 回日本臨床寄生虫学会．宇都宮市．2015 年 6 月 20 日．

保科斉生，李 広烈，中拂一彦，河野真二，清水昭宏，保坂由美子，佐藤文哉，堀野哲也，中澤 靖，熊谷正広，山﨑 浩．台湾での感染が疑われたアジア条虫症の 1 例．第 26 回日本臨床寄生虫学会．宇都宮市．2015 年 6 月 20 日．

山田 稔，赤尾信明，山﨑 浩，丸山治彦.異物病理画像デジタルアーカイブの構築．第 26 回日本臨床寄生虫学会．宇都宮市．2015 年 6 月 20 日．

吉田猛敏，柴田勝優，杉山 広，川上 泰，荒木 潤，森嶋康之，山﨑 浩．サンマにおけるアニサキス虫体の寄生状況．第 26 回日本臨床寄生虫学会．宇都宮市．2015 年 6 月 20 日．

森嶋康之，杉山 広，山﨑 浩.レセプトデータを用いた蟯虫症発生数の推定．第 26 回日本臨床寄生虫学会．宇都宮市．2015 年 6 月 20 日．

杉山 広，柴田勝優，川上 泰，賀川千里，森嶋康之，山﨑 浩，大前比呂思．我が国の肺吸虫症の症状と診断根拠：症例報告からの解析．第 26 回日本臨床寄生虫学会．宇都宮市．2015 年 6 月 20 日．

柴田勝優，川上 泰，森嶋康之，山﨑 浩，杉山 広．鹿児島県のウェステルマン肺吸虫流行地における中間宿主カニのメタセルカリア寄生状況調査．第 75 回日本寄生虫学会東日本支部大会．東京・御茶ノ水．2015 年 9 月 26 日．

杉山 広，柴田勝優，川上 泰，森嶋康之，山﨑 浩，熊澤秀雄，マヌエル・カルボピーニャ．エクアドルで人体症例の原因となる肝吸虫 *Amphimerus* sp.に関する検討．第 75 回日本寄生虫学会東日本支部大会．東京・御茶ノ水．2015 年 9 月 26 日．

杉山 広．過去に学ぶ食文化の誤認．日本食品衛生学会第 18 回 特別シンポジウム．東京,2015 年 10 月 1 日．

杉山 広．食中毒としての食品媒介寄生虫症：現状と検査の課題．第 36 回日本食品微生物学会学術総会．川崎，2015 年 11 月 16 日．

杉山 広，柴田勝優，川上 泰，森嶋康之，山﨑 浩，熊澤秀雄，カルボピーニャ・マヌエル．エクアドルで人体症例の原因となる肝吸虫 *Amphimerus* sp.に関する検討．日本獣医臨床寄生虫学会大会、東京，2015 年 12 月 19 日．

杉山 広．寄生虫性食中毒：日本の実態と対応．平成 27 年度食品衛生危機管理研修.和光，2016 年 2 月 1 日．

杉山 広. アニサキスによる食中毒. 第 55 回日本感染性腸炎学会総会. 東京, 2016 年 3 月 12 日.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 御供田睦代, 森嶋康之, 山﨑 浩. シカ肉の生食が原因と推定される肺吸虫症に関する調査. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-20 日.

高宮信三郎, 橋本宗明, 山﨑 浩, 美田敏弘. 分泌型シトクロム *b5* の寄生線虫類における分布. 第85回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.

森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩, 八木欣平, 福本真一. 非流行地におけるエキノコックス症動物疫学調査の問題点. .第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.

八木欣平, 奥祐三郎, 浦口宏二, 孝口裕一, 山野公明, 入江隆夫, 野中成晃, 福本真一郎, 森嶋康之, 小林文夫, 神谷正男, 吉川泰弘. 北海道のエキノコックス症媒介動物対策. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.

福本真一郎, 山田清太郎, 豊田章一郎, 西川友貴, 伏木田真人, 樋口豪紀, 植田弘美, 上野弘志, 森嶋康之, 杉山 広. 北海道の建物内での感染が示唆されたドブネズミ多包虫症例について. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.

山﨑 浩, 熊澤秀雄, 斉藤典子, 森嶋康之, 杉山 広 Molecular evidence for the invalidity of *Diphyllobothrium yonagoense* as a species. 第 85 回日本寄生虫学会大会, 宮崎. 2016 年 3 月 19 日-3 月 20 日.

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. 寄生原虫赤痢アメーバに保存したタンデムな GTPase ドメインを有する EhRabX3 の機能解析. 第 67 回日本細胞生物学会大会. 2015 年 6 月 30 日-7 月 2 日. 東京.

花館有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子. 赤痢アメーバのER局在Rab8A GTPaseが制御する表面タンパク質輸送. 分子寄生虫学マラリアワークショップ. 2015年8月30日-9月2日. 帯広.

川野哲郎, 中野由美子, Gil M. Penuliar, 野崎智義. 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. 第38回日本分子生物学会年会・第88回日本生化学会大会 合同大会. 2015年12月1日-4日. 神戸.

海老根一生, 平井智浩, 平井誠, 坂口美亜子, 矢幡一英, 金子修, 野崎智義, 中野由美子. マラリア原虫の Rab5b GTPaseは寄生胞膜の感染赤血球側に運ばれる. 第85回日本寄生虫学会大会. 2016年3月19日-20日. 宮崎.

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 浅井 史敏, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 肝内型マラリア原虫と宿主の“鬩ぎ合い”生物学の解明にむけて・・・. 第２３回分子寄生虫学ワークショップ／第１３回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2015年8月30日-9月2日. 帯広畜産大学・原虫病研究センター.

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 浅井 史敏, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 細胞内・寄生原虫による“宿主ハイジャック生物学 ”の解明. 第9回細菌学若手コロッセウム. 2015年11月23日-11月25日. KKR ホテル敬天閣.

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 浅井 史敏, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 肝内型マラリア原虫-宿主間“鬩ぎ合い”分子メカニズムの解明. BMB2015（第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会）. 2015年11月30日-12月4日. 神戸ポートピアホテル.

案浦 健, Fonager J., Braks JA., Klop O., Janse CJ., Khan SM., Franke-Fayard B. 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発現バリエーションシフト. 文部科学省新学術領域研究（領域提案型）「マトリョーシカ型進化原理」平成２７年度全体班会議・研究報告会. 2016年1月9日-1月10日. 東海大学（高輪キャンパス）.

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、赤痢アメーバ原虫におけるAtg5-12/16複合体の同定　第85回日本寄生虫学会大会　2016年3月　宮崎市

津久井久美子　赤痢アメーバにおけるAtg5-12/16複合体の同定　新学術領域研究マトリョーシカ型進化原理 H27年度全体班会議　2016年1月　東京都

津久井久美子、宮本絵梨、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義、赤痢アメーバ原虫におけるAtg5-Atg12遺伝子の同定　第39回日本分子生物学会年会・第89回日本生化学会大会合同大会　2015年12月兵庫県

渡辺菜月　腸管寄生性原虫 Entamoeba histolytica におけるAtg5-12 複合体の解析とAtg8 により制御される貪食胞成熟化に関わる分子機構の探索　第9回オートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議　2015年11月1兵庫県

宮本絵梨　腸管寄生性原虫赤痢アメーバAtg8結合タンパク質の解析　オートファジー班会議　絵梨第9回オートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議　2015年11月兵庫県

津久井久美子 赤痢アメーバ原虫における独特なAtg8機能と制御　第9回オートファジー研究会・第3回新学術領域研究オートファジーの集学的研究班会議　2015年11月兵庫県

7．感 染 病 理 部

部長　長谷川　秀樹

概　要

1. 人事等

感染病理部の職員数は現在 13 名で、内訳は部長 1 名、室長 4 名、主任研究官 7 名、研究員 1 名である。戸山庁舎に 11 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. インフルエンザ感染症に関する研究
4. 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
5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究
6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究

Ⅱ. ウイルス感染の発生機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究
2. ポリオーマ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. 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
5. ピコルナウイルスに関する研究
6. HIV に関する研究
7. 狂犬病に関する研究
8. フラビ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
5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

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

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

2. 和文発表

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

2. 国内学会

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。2015 年度人体由来検体数は 84 症例であった。検索の結果 JC ウイルス感染症 6 例、種々のヘルペスウイルス感染症 9 例、重症熱性血小板減少症 2 例、アデノウイルス感染症 1 例など他にトレポネーマや赤痢アメーバー、ヒストプラズマなどウイルス以外の病原体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) 病理検体から細菌と真菌を網羅的に検出する real-time PCR 法の開発

病原体が不明の病理検体において細菌と真菌を同時に検出する real-time PCR 法(multi-microbial real-time PCR 法)を開発した。68 種類の細菌と 9 種類の真菌を網羅的に検出可能であり、ホルマリン固定パラフィン切片(FFPE)サンプル、凍結サンプルを検討し、結核菌、リステリア菌、クリプトコッカス、アスペルギルスなどを検出した。本方法は病原体不明の病理検体において細菌、真菌を検出するのに有用な方法と考える。(福本 瞳[協力研究員]、佐藤 由子、長谷川 秀樹、佐伯 秀久[日本医科大学皮膚科]、片野 晴隆)

(2) 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)

3. 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

2009 年パンデミック時と 2011 年パンデミック終息後の A/H1N1pdm09-急性呼吸速迫症候群(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。インフルエンザに併発する ARDS ではウイルス感染による上皮障害が主である場合と炎症性メデイエーターなどの作用による内皮障害が主となる場合があることが示唆された。(中島 典子、佐藤 由子、林 健太郎[協力研究員]、長谷川 秀樹)

4. 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) ベトナムにおける原発性肝癌の要因に関する研究

ベトナムにおける肝癌の成因について解析を加えた。対象となったのは、総数 196 例のベトナム人肝癌患者である。外科的に切除された新鮮肝癌組織を材料にして、肝炎ウイルス感染の有無を PCR 法による高感度検出法で検索した。肝癌患者の年齢分布は、22 歳から 80 歳（平均 53 歳）、性差は男性 4.8：女性 1 の比率であった。196 例中 HBV DNA が 148 例（76%）、HCV RNA が 31 例（16%）で肝癌組織中に検出された。HEV RNA は全例で陰性であった。これに対し、コントロールとして調べた無症候性キャリア群（非肝癌患者群）24 例（16 歳から 79 歳：平均 49 歳）では、性差が 1：1 であった。重要なのは、肝癌群で血中の HBsAg/HBV DNA が陰性であっても、肝内 HBV DNA 陽性を示した occult B の症例が 18/48 例（37.5%）で存在した事実である。この occult B は、男性 15 例、女性 3 例に認められた。また、ocuult B 群の 11 例で、血中 anti-HBc 陽性（ELISA 法）を示し、その多くで高い OD 値を示した。これに対して血中 anti-HCV/HCV RNA 陰性の 165 例では、全例で肝内 HCV RNA 陰性であった。この occult B を加えると、ベトナム人の肝癌発生要因としての HBV の関与は、196 例中 163 例（82%）にも及んだ。以上の成績から、HBV と HCV の関与が否定された成因不明の肝癌（非 B 非 C 型肝癌）が 196 例中 11 例（5.6%）で存在した。病理組織学的には、11 例全例で肝硬変を伴っていると共に、非癌部では門脈域におけるリンパ球を主体とする慢性活動性炎症反応が出現していた。この病理所見から、何らかのウイルスの関与が示唆された。（阿部 賢治［再任用職員］、Phat Tan Ho［チョーライ病院消化器科：ベトナム］、Van Hung Pham［ナムコアバイオテックラボ：ベトナム］）

(2) ヒト胎児における先天性風疹症候群の病理学的特徴と白内障の成因に関する考察

先天性風疹症候群の胎児 3 例の剖検を行い、その病理学的特徴を検討した。剖検時の肉眼所見では、3 例共に先天性白内障が観察された。病理組織学的には、最も顕著な病変は肝臓に観察された。免疫組織化学および遺伝子診断法にて、風疹ウイルスがほぼ全身臓器と流血中の造血幹細胞に検出された。注目すべきは、ウイルス抗原が眼球の毛様体細胞に検出されたことである。毛様体は房水を産生し、水晶体に酸素や栄養素を提供すると共に、老廃物を運搬する重要な生理的機能を有す。この生理的機能がウイルス感染により阻害されることが、結果として白内障を誘発する可能性が強く示唆された。先天性風疹症候群に罹患した胎児の病理学的特徴を、免疫組織化学的及び遺伝子診断法で明らかにした最初の報告である。（阿部 賢治［再任用職員］、佐藤 由子、Thong Van Nguyen［Hung Vuong 病院病理部：ベトナム］、Van Hung Pham［ナムコアバイオテックラボ：ベトナム］）

(3) ベトナムで集団発生した麻疹の分子疫学的特徴

東南アジア地域で流行する麻疹ウイルスの遺伝的特徴を明らかにすることは、本邦における麻疹予防対策を講じる上で重要である。そこで、2014 年にベトナム南部のホーチミン市で集団発生した麻疹のウイルス学的特徴を分子疫学的に解析した。麻疹に罹患したと思われる小児 122 例の咽頭ぬぐい液を用いて、PCR 法にて麻疹ウイルス RNA を検出した。その結果、全例でウイルス RNA が陽性を示した。シークエンスを行った 118 例のウイルス株は、分子系統樹解析にて、全例ゲノタイプ D8 に属すことが示された。しかし、今回分離された D8 ベトナム株は、全て既知の D8 株とは異なる集簇を形成し、ベトナム独自のウイルス株が流行していることが示された。N 遺伝子の N-450 領域における塩基配列解析から、3 ヵ所のアミノ酸の置換（R442, S451, G452）が観察されたのが、特徴的であった。（阿部 賢治［再任用職員］、Diem P.H.Nguyet、Khanh N.H.Mai、Khanh H.Truong［ホーチミン第一小児病院：ベトナム］、Van Hung Pham［ナムコアバイオテックラボ：ベトナム］）

(4) 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 16 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 10 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。麻疹後アデノウイルス肺炎併発例では肺組織中の炎症性サイトカインケモカインの発現が高く、IL-6mRNA が in situ hybridization で検出された。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）

5. 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剖検例について病理解析を行った結果、SFTS 症例の壊死性リンパ節炎のリンパ節内のウイルス感染細胞の主体は CD38（＋）、CD20（＋）の B 細胞であることを明らかにした。さらに健常人から得られた PBMC を用いたウイルス感染実験により、健常人の PBMC 中の細胞において SFTS ウイルスの主要標的は B 細胞であることを明らかにした。また、SFTS 症例について、その病理像の特徴とともに安全な剖検を実施するために必要と考えられる感染予防策についてまとめた。（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）

6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究

進行性多巣性白質脳症の病理組織検体の解析

進行性多巣性白質脳症（PML）の確定診断（definite PML）のためには、生検脳あるいは剖検脳からの組織の病理学的検索が必要である。国立感染症研究所感染病理部では、全国の大学および医療機関から依頼される PML の病理組織検体の検査を行っている。解析では HE 染色と免疫組織化学による形態学的検索に加え JC ウイルス（JCV）ゲノムの遺伝子検索を併用して確度の高い病理組織診断を行い、平成 3 年から平成 27 年 12 月現在までに 45 例の PML の診断を確定した。PML 確定症例の年齢は平均 55.4 歳で、基礎疾患では後天性免疫不全症候群と血液悪性腫瘍がそれぞれ 29%の症例に認められ、続いて自己免疫疾患が 16%に見られた。なお、脳の組織学的検索にて PML と診断確定された症例の中には、脳組織採取前の脳脊髄液からの検索において、JCV ゲノムが検出限界以下であったものも含まれていた。（高橋 健太、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、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

抗血管新生薬フマギリンによる KSHV ゲノム複製

抗血管新生薬フマギリンは KSHV 感染原発性体腔液性リンパ腫細胞株において再活性化スイッチ蛋白 RTA を誘導し、ウイルスゲノム複製を誘導する。1 細胞あたりのウイルスゲノムコピー数は TPA が 2 倍程度なのに対して 1.3~1.5 倍程度増加した。また全ウイルスゲノム遺伝子を検出するリアルタイム PCR アレイで検討した結果、TPA より誘導比率は低いものの潜伏感染遺伝子を除く全てのウイルス遺伝子が誘導された。（菅野 隆行、上原 妙子［協力研究員］、大澤 麻登里［協力研究員］、峰 宗太郎［研究生］、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に関する研究

(1) 日本における Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus の血清抗体保有率の検討

2010 年に発見されたヒトポリオーマウイルス Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus（TSV）の日本人における血清抗体保有率を調査した。抗 TSV 抗体を検出する ELISA を開発し、日本人健常者 1000 人を調査したところ、629 人(62.9%)が TSV 抗体陽性であった。TSV 抗体陽性率は 4 歳以下で 17.1%、20 歳以上の成人では 78.7%であり、年齢とともに上昇した。TSV は日本人においても広く蔓延しており、小児期に初感染していることが示唆された。(福本 瞳、李 天成[ウイルス第二部]、長谷川 秀樹、脇田 隆宇[ウイルス第二部]、佐伯 秀久[日本医科大学皮膚科]、鈴木 哲朗[浜松医大]、片野 晴隆)

(2) 進行性多巣性白質脳症の組織検体における免疫組織化学とウイルス核酸定量の検討

感染病理部にて病理組織学的に検索、診断確定された PML 症例の生検および剖検材料 43 検体を使用し、JCV の T 抗原、VP1、VP2/3、Agnoprotein について免疫組織化学を施行し、検体毎に陽性細胞数のスコアリングを行った。またこれらの検体より抽出した核酸を使用し、リアルタイム PCR 法にて JC ウイルスゲノムを定量した。免疫組織化学によるスコアリングとリアルタイム PCR によるウイルスコピー数に正の相関を認め、PML の組織検索における免疫組織化学による陽性細胞数のスコアリングは病勢の評価に有用であると考えられた。(高橋 健太、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究
MERS-CoV に対するマウスモデル作製とそのマウスの MERS-CoV 感受性について

中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)の病原性と病態の解明、治療法の検討を最終目的として感染動物モデルの開発を試み、MERS-CoV のレセプターであるヒト Dipeptidyl peptidase 4 を導入した遺伝子改変マウスを作製した。そして、このマウスに MERS-CoV を接種し、遺伝子改変マウスの MERS-CoV に対する感受性を検討した。その結果、若齢のマウスでは重症肺炎は見られなかったが、下気道でウイルスが感染増殖し、軽度の急性肺炎を起こす事が分かった。(岩田 奈織子、岡村　匡史[協力研究員]、関向 華子[研究生]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、永田 典代)

4. 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して、サル痘ウイルスのマウス感染実験系の基礎検討を行っている。BALB/c マウスに 2 種類のサル痘ウイルスを皮下接種したところ、感染成立を示唆する所見が得られたので、この感染系を利用し、抗 Ly6G 抗体投与による好中球枯渇マウスに対する感染実験を行った。その結果、一部の個体で感染の増悪が見られた。引き続き検討を行っている。(永田 典代、佐藤 由子、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、福士 秀悦[ウイルス第一部]、西條 政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[獣医科学部])

5. 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、各種実験動物における感染性と病原性を解析している。ヒト由来の二つの臨床分離株は、新生仔マウスと若齢マウスのグリア細胞に感染し、増殖するため、弱い神経病原性を発揮することが明らかとなった。また、このうち上気道炎患者由来株は、免疫不全マウスにおいて経鼻感染後にウイルス血症を発症し、膵、心に強い親和性を示した。さらに、臨床分離株は静脈内接種後にカニクイザルに対して感染性を有し、このうち上気道炎患者由来株は、中枢神経組織に侵入し一過性の中枢神経症状の発現に関与したと考えられた。(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、小谷 治[協力研究員][病原体ゲノム解析研究センター]、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。最近の臨床分離株の病原性について新生仔マウスを用いて検討したところ、2008 年に島根県で胃腸炎患者から分離された株は、コクサッキーウイルス A 群の表現型を有しており、VP1 領域の塩基配列解析の結果、日本で近年流行している株と異なるクラスターに属することが示唆された。(永田 典代、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、清水 博之[ウイルス第二部]、中村 朋史[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])

6. HIV に関する研究

(1)新規宿主因子 MARCH8 による HIV-1 エンベロープのダウンレギュレーション

RING-CH フィンガー型 E3 ユビキチンリガーゼである MARCH8 が HIV-1 エンベロープまたは VSV-G のウイルス粒子への取り込みを抑制する抗ウイルス宿主因子であることを昨年までに明らかにしたが、本年度の研究においてまず、MARCH8 の RING-CH ドメインが抗ウイルス活性に重要であることを見出した。更に MARCH8 が HIV-1 エンベロープおよび VSV-G との相互作用を介して細胞表面から減少させることにより、ウイルス粒子への取り込みを抑制すること、MARCH8 自体がウイルス粒子中に取り込まれること、また MARCH8 が HIV-1 エンベロープを細胞内コンパートメントに滞留させ、VSV-G をリソソーム分解することを明らかにした。(多田 卓哉[協力研究員]、張 延昭[研究生・東京医科歯科大]、小山 貴芳[協力研究員]、飛梅 実、横田 恭子[免疫部]、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)MARCH8 の抗 HIV-1 活性における細胞質領域の重要性

前述の宿主膜タンパク質 MARCH8 の C 末端側細胞質領域にクラスリン依存的エンドサイトーシスに関わる YxxΦモチーフが HIV-1 感染抑制および Env のダウンレギュレーションに関与するか否かについて変異体解析により検討した。その結果、YxxΦモチーフ変異体において HIV-1 感染抑制能が消失し、ウイルスエントリー抑制能も失われていた。更にウイルス産生細胞における細胞表面 HIV-1 Env は、野生型 MARCH8 の共発現によってダウンレギュレートされるのに対し、YxxΦ変異体では変化しなかった。このことからこのモチーフが抗ウイルス活性における責任領域のひとつであることが明らかになった。(張 延昭[研究生・東京医科歯科大]、多田 卓哉[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)

7. 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。臨床分離株である kyoto 株と固定毒である cvs,HEP-Furely,SED 株の感染細胞でのウイルス抗原の分布ならびにウイルス流出放出部位について検討した。間接蛍光抗体法では、固定毒である CVS・hep-Frely,SED 株では糖鎖タンパクである G 抗原は細胞膜上に存在したが、街上毒である Kyoto 株では細胞質に局在した。電子顕微鏡での観察では、固定毒感染細胞の細胞膜から豊富なウイルス粒子放出が観察されるのに対して、街上毒では樹状突起のみからの放出であった。街上毒感染では発症まで免疫が誘導されないことが示されており、特定部位からのウイルス放出はこれに関与している可能性が示唆された。(飛梅　実、佐藤 由子、片岡 紀代)

8. フラビウイルスに関する研究

ウエストナイルウイルスのウイルス粒子放出に関わる宿主因子の同定

フラビウイルス粒子の放出はウイルス増殖の最終段階であり、宿主の持つ分泌経路を利用していることが

知られているが、その詳細な分子機構については明らかになていなかった。そこで、ウエストナイルウイルスのウイルス粒子が、どのような分泌経路を経て細胞外へ放出されるかを明らかにするために細胞内小胞輸送の重要な制御分子である Rab ファミリータンパク質に注目し、ER から細胞膜までの anterograde な小胞輸送に重要であることが報告されている約 30 種類の Rab タンパク質を選択し、Rab タンパク質の抑制によるウイルス粒子放出への影響を検討した。その結果、Rab8 がウエストナイルウイルスのウイルス粒子放出を制御しており、リサイクリングエンドソームが粒子放出に関与していることが明らかになった。(小林 進太郎[北海道大学]、鈴木 忠樹、川口 晶[協力研究員]、大場 靖子[北海道大学]、澤 洋文[北海道大学])

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

これまで実施した経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンの臨床研究では、経鼻ワクチン接種直前に抗体価測定用の鼻腔洗浄液を回収していたため、その洗浄操作が抗体応答の誘導に必須か否かの判断が難しかった。そこで、2013/14 シーズンの経鼻インフルエンザワクチン臨床研究(ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会承認済み)では、被験者を鼻腔洗浄液回収のタイミングをワクチン接種直前あるいは前日に行う二群に分け、誘導される抗体応答を比較した。ワクチン接種は、ウイルス株毎に接種あたり 45 μg HA を含む 3 価不活化全粒子ワクチンを CVP 存在下で、3 週間隔で 2 回接種した。本年度は、血清の HI ならびに中和抗体価の比較を行った。両群において、接種に伴い抗体応答は上昇するが、誘導される抗体価に優位な差が認められなかった。以上から、抗体応答の誘導に直前の鼻腔洗浄は必ずしも必須ではないことが示唆された。今後、鼻腔洗浄液の抗体価を比較する。(相内 章、鈴木 忠樹、寺内 芳彦[協力研究員]、齊藤 慎二[研究生]、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)経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチン接種による安全性の比較検討

ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会承認のもと、2014/15 シーズンの経鼻インフルエンザワクチン臨床研究を実施し、経鼻ワクチン接種群で認められる耳鼻咽喉領域あるいは全身性の有害事象を現行ワクチン接種群と比較検討した。鼻咽喉領域の有害事象として、経鼻ワクチン接種群では耳咽頭痛、くしゃみ、咳嗽、鼻汁を約 1/4 程度に認めた。このうち鼻汁については接種 3 日後まで認められ、現行ワクチン接種群と比較して有意に高く、経鼻ワクチン接種に関連する有害事象として考えられた。全身性の有害事象の発現率は、両群において有意な差を認めなかった。以上より、経鼻ワクチン接種の安全性は、現行の皮下注射ワクチンに劣らず、局所反応として接種後数日間の鼻汁を認める程度で忍容性は良好と考えられた。(寺内 芳彦[協力研究員]、相内 章、鈴木 忠樹、齊藤 慎二[研究生]、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]

(3)経鼻インフルエンザワクチンにより誘導されたヒト粘膜抗体の特性解析

経鼻不活化インフルエンザワクチンのヒトにおける有効性発現機序を理解するためにワクチン接種によりヒトの気道粘膜上に誘導される抗体の四次構造と機能を解析し、ヒトの呼吸器粘膜には二量体に加え、三量体、四量体、四量体よりも大きな多量体を形成する分泌型 IgA 抗体が存在することと、それらの大きな分泌型 IgA 抗体は二量体よりも高いウイルス中和活性を有しているほか、抗原性の離れたウイルスに対しても中和活性を持っていることを明らかにした。さらに、高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)により抗体分子を 1 分子レベルで解析することにより、アスタリスクもしくは四葉のクローバーのような形状をした三量体、四量体の分泌型 IgA 抗体が抗体外周部に存在する多数の抗原結合部位でウイルス抗原を効率良く捕らえていること

も明らかにした。本研究成果は、二量体以上の多量体の分泌型 IgA 抗体の四次構造と生理的機能の関係性を明らかにするという免疫学の分野における重要な成果であるだけでなく、ヒトにおいて経鼻ワクチン有効性発現機序とウイルス感染に対する生体免疫機構についても重要な知見をもたらし、理想的な経鼻ワクチンの設計において多くの示唆を与えるものである。（鈴木 忠樹、川口 晶[協力研究員]、相内 章、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）

(4) 分泌型 IgA 抗体多量体の作製法の開発

分泌型多量体 IgA 抗体の生物学的な意義をより詳細に解析するためには、モノクローナル抗体を用いた解析が必須となる。組換えヒトモノクローナル多量体 IgA 抗体の試験管内での作製法を検討した。抗体を形成する H 鎖と L 鎖、多量体化に必要とされる J 鎖、ならびに分泌型 IgA 抗体に付与される SC（Secretory Compornent）を Expi293F 細胞へ共導入することにより組換えモノクローナル IgA 抗体の多量体を作製する系を構築した。ヒト鼻腔洗浄液中の分泌型 IgA 抗体同様に、作製した組換え IgA 抗体は、多量体化により中和活性が増強することが明らかになった。構築した分泌型 IgA 抗体多量体の作製法により、IgA 抗体の多量体形成や交叉防御に寄与するメカニズムの研究が可能になると考えられる。（齊藤 慎二[研究生] 、鈴木 忠樹、Elly van Riet[協力研究員]、佐野 芳[実習生]、相内 章、大原 有樹[研究生]、高橋 宜聖[免疫部]、田村 愼一[客員研究員]、竹山 春子*、長谷川 秀樹、*;早稲田大学）

(5) インフルエンザ経鼻ワクチンの体内動態評価

インフルエンザウイルスの感染防御には、上気道粘膜上への分泌型 IgA 抗体誘導が特に重要であることが、マウスを用いたモデル実験等で明らかにされている。この分泌型 IgA 抗体を誘導するためには、インフルエンザワクチンを鼻腔領域内に噴無する経鼻ワクチンが有効である。しかしながら、不活化抗原を鼻粘膜に投与するワクチンは、インフルエンザワクチンに限らず未だにヒトでは実用化されておらず、その安全性については十分な評価がされていない。そこで本研究では、18F 標識した不活化抗原と PET を用いて経鼻不活化インフルエンザワクチンの体内動態を明らかにし、その安全性を評価した。その結果、マウス及びサルを用いた試験により経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンは、経鼻投与後に脳内に移行することはなく、数時間で体内に吸収され代謝されていると考えられた。（齊藤 慎二[研究生]、相内 章、鈴木 忠樹、原田 典弘*、塚田 秀夫*、幸 義和**、清野 宏**、長谷川 秀樹、*;浜松ホトニクス株式会社、**;東京大学医科学研究所）

(6) 金ナノ粒子を用いた経鼻不活化インフルエンザワクチン用の新規粘膜アジュバント開発

金ナノ粒子はそれ自身に対する抗体産生が無いため、ワクチン抗原のキャリアとなりうる可能性があり、サイズ・形状依存的な免疫応答が近年報告されている。金ナノ粒子が単なるキャリアだけでなく、アジュバントとして有効である可能性がある。しかし、ナノ粒子を用いるだけでは十分な免疫応答が得られず、さらなる改良が必要である。そこで、金ナノ粒子上に鎖長の短く安全性の高い Poly(I:C)をコーティングした金ナノ粒子の粘膜アジュバント活性の検討を行った。その結果、鎖長が短く毒性の低い Poly(I:C)と金ナノ粒子は、それ単体ではアジュバント活性は見られなかったが、Poly(I:C)を被覆した金ナノ粒子にはアジュバント活性が認められた。核酸のナノ粒子化によるアジュバント効果の制御は、全く新しい観点でのアジュバント開発につながる可能性が考えられ、様々なワクチンに応用できることが期待される。（大原 有樹[研究生]、鈴木 忠樹、相内 章、新倉 謙一*、田崎 太悠*、齊藤 慎二[研究生]、長谷川 秀樹、*;北海道大学）

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

DENV の膜タンパク質を有するウイルス様粒子（Virus-Like Particle/VLP）をワクチン抗原とすることを

目標とし、DENV-VLP 作製法の確立とその性状を野生型ウイルス粒子と比較解析した。一過性発現系で作製したDENV-VLP及びDENVをショ糖密度勾配遠心により分画したところ、それぞれ二相性のピークを形成しDENVの軽い分画はDENV-VLPの重い分画と一致した。プラークアッセイの結果、DENV の重い分画は感染性があり、軽い分画は感染性がなかった。DENV-VLP は、DENV の非感染性の分画と同一の比重を持つピーク分画に存在することが分かり、DENV のサブウイルス粒子と同等の粒子であると考えられた。さらに、DENV-VLP と DENV を電子顕微鏡観察し粒径ならびに構造を検討した結果、それぞれ同様に球状の構造を呈する事を確認した。この VLP をマウスに接種したところ、野生型デングウイルスに対する抗体反応を認めた。（山口 喜之[研究生]、小島 朝人[客員研究員]、相内 章、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 タンパク質全長の発現により、不溶画分に非常に高い発現が得られることが明らかになった。そこで、Env タンパク質の発現量が最も多くなる培養条件と可溶化する条件の検討を行った。陽イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、両性界面活性剤ならびに非イオン界面活性剤に関して、単独あるいは混合使用ならびにそれぞれの濃度等の検討を行うことで、Env タンパク質の発現量を最も多くする培養時間と可溶化効率の最も高い抽出条件を決定した。さらに、この不溶画分からの抽出液に関する Native-PAGE ならびにサイズ排除クロマトグラフィーを用いた解析から、設定した抽出条件で可溶化された Env タンパク質は、三量体構造を保持している可能性が示唆された。（鈴木 忠樹、齊藤 慎二[研究生]、相内 章、長谷川 秀樹）

4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究

マーモセットモデル系を用いたムンプスワクチンの安全性評価に必要な病理学的評価法の確立をおこなっている。弱毒生ワクチン免疫後および非免疫群のマーモセットに対し、ムンプスウイルス野外株を攻撃接種した。その後のマーモセットの病態、病理を解析し、ワクチンの有効性、安全性を評価するための病理学的評価系を構築した。また新生仔ラットを用いて次世代ワクチン候補株の安全性評価の基礎検討を行った。（永田 典代、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、小谷 治[協力研究員]［病原体ゲノム解析研究センター］、高橋 健太、長谷川 秀樹、木所 稔[ウイルス第三部]）

5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

重症肺炎を引き起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス（SARS-CoV）と MERS-CoV に対する感染防御を目的として、両ウイルスに対するワクチン開発を試みた。抗原はそれぞれのウイルスのスパイクタンパクを用い、アジュバントには自然免疫誘導能が高い金ナノ粒子を使用した。抗体誘導能を確認するため、マウスに免疫を行った結果、3 から 4 回免疫後に SARS-CoV に対する中和抗体の上昇が見られたが、非常に低い値であった。MERS-CoV に対する中和抗体については、検査法がまだ確立できていないため、検討できなかった。SARS-CoV に対する中和抗体が低い原因として、抗原の精製度が低いことが考えられ、現在、タンパク精製度の改良を行っている。（岩田 奈織子、関向 華子[研究生]、福士 秀悦[ウイルス第一部]、鈴木 忠樹、新倉 謙一[北海道大学]、長谷川 秀樹、永田　典代）

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。この特徴的な病理組織像は三代目まで保存された。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、従来の c-BSE にみられる特徴的な所見は無く、孤発性 CJD に類似した。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。本研究では、従来の PMCA 法を改良し、薬剤原料から効率的に検出できる条件検討を行っている。(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 27 年度も順調に運用された。

本年度中に処理した検体数は 338 検体で、その内訳は感染研内部 296 検体、共同研究 10 検体、外部のみ 32 検体であった。今年度はイオン液体による試料調製を試み、どうにか観察の条件が固まりつつある。

また、見学者の対応は 15 回、141 名であった。公務員が 15 名、学生ら 76 名、一般 29 名(一般公開の見学者)、外国人 21 名であった。8 月 29 日にはリベリアの大統領が視察に訪れている。(齋藤 典子[期間業務職員])

2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

電子顕微鏡に接続しているパソコンにトラブルがあったが、マザーボード交換と Log を取ることにより解消された。

本年度中の依頼数は 63 件で、樹脂包埋検体数 87 検体、ネガティブ染色数 106 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 13 件(樹脂包埋検体 2、ネガティブ染色数 298)、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、ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、獣医科学部、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−感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。(飛梅 実、長谷川 秀樹、萩原 健一、中村 優子、花田 賢太郎[細胞化学部])

国際協力関係業務

1. 永田 典代：JICA 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」および「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」 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 28 年 1 月 28 日。於：村山庁舎）

2. 岩田 奈織子、永田 典代：Global Health Security Action Group Laboratory-Network の活動の一環である、GHSAG Wet-Lab Workshop on Diagnostic Electron Microscopy of Pathogens, Winnipeg 2015 に参加し、バイオテロに使用される可能性のある病原体等の電子顕微鏡を用いた迅速検出法の実習と情報交換を行った。（平成 27 年 9 月 24、25 日 National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada 主催）

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いて、感染症に関する研究・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連携研究・技術指導を行った。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kumano S, Sugiyama M, Yamada M, Nishimura K, Hasegawa H, Morokuma H, Inoue H, Hashimoto Y: Probe Heating Method for the Analysis of Solid Samples Using a Portable Mass Spectrometer. Mass Spectrom (Tokyo). 4(1):A0038. 2015

2) Ikeda K, Ainai A, Hasegawa H: Protective antibody responses against A(H1N1)pdm09 primed by infection and recalled by intranasal vaccination. Vaccine. 33(45):6066-6069. 2015

3) Ainai A, Hasegawa H, Obuchi M, Odagiri T, Ujike M, Shirakura M, Nobusawa E, Tashiro M, Asanuma H: Host Adaptation and the Alteration of Viral Properties of the First Influenza A/H1N1pdm09 Virus Isolated in Japan. PLoS One. 10(6):e0130208. 2015

4) Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Multihartina P, Setiawaty V, Pangesti KN, Odagiri T, Tashiro M, Hasegawa H: Relationship of the quaternary structure of human secretory IgA to neutralization of influenza virus. Proc Natl Acad Sci U S A. 112(25):7809-14. 2015

5) 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: 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(9):5154-5158. 2015

6) Hasegawa H, van Reit E, Kida H: Mucosal immunization and adjuvants. Curr Top Microbiol Immunol. 386:371-80. 2015

7) 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. 37(8):829-832. 2015

8) Yamagishi M, Katano H, Hishima T, Shimoyama T, Ota Y, Nakano K, Ishida T, Okada S, Watanabe T: Coordinated loss of microRNA group causes defenseless signaling in malignant lymphoma. Sci Rep. 5: 17868. 2015

9) Mizuno Y, Kato G, Shu E, Ohnishi H, Fukao T, Ohara O, Fukumoto H, Katano H, Seishima M: Merkel cell polyomavirus-positive Merkel cell carcinoma in a patient with epidermodysplasia verruciformis. Acta Derm Venereol. 95(1): 98-99. 2015

10) Li TC, Iwasaki K, Katano H, Kataoka M, Nagata N, Kobayashi K, Mizutani T, Takeda N, Wakita T, Suzuki T: Characterization of self-assembled virus-like particles of Merkel cell polyomavirus. PLoS One. 10(2):e0115646. 2015

11) Kanno T, Uehara T, Osawa M, Fukumoto H, Mine S, Ueda K, Hasegawa H, Katano H: Fumagillin, a potent angiogenesis inhibitor, induces Kaposi sarcoma-associated herpesvirus replication in primary effusion lymphoma cells. Biochem Biophys Res Commun. 463(4): 1267-1272. 2015

12) 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): 64-69. 2015

13) Goto H, Kudo E, Kariya R, Taura M, Katano H, Okada S: Targeting VEGF and interleukin-6 for controlling malignant effusion of primary effusion lymphoma. J Cancer Res Clin Oncol. 141(3): 465-474. 2015

14) Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Saeki H, Katano H: Development of a new real-time PCR system for simultaneous detection of bacteria and fungi in pathological samples. Int J Clin Exp Pathol. 8(11): 15479-15488. 2015

15) Fukumoto H, Li TC, Kataoka M, Hasegawa H, Wakita T, Saeki H, Suzuki T, Katano H: Seroprevalence of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus in Japan. J Clin Virol. 65: 76-82. 2015

16) Ansai S, Noro S, Ogita A, Fukumoto H, Katano H, Kawana S: Case of Merkel cell carcinoma with squamous cell carcinoma possibly arising in chronic radiodermatitis of the hand. J Dermatol. 42(2):207-209. 2015

17) 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

18) Okamoto M, Miyazawa T, Morikawa S, Ono F, Nakamura S, Sato E, Yoshida T, Yoshikawa R, Sakai K, Mizutani T, Nagata N, Takano J, Okabayashi S, Hamano M, Fujimoto K, Nakaya T, Iida T, Horii T, Miyabe-Nishiwaki T, Watanabe A, Kaneko A, Saito A, Matsui A, Hayakawa T, Suzuki J, Akari H, Matsuzawa T, Hirai H: Emergence of infectious malignant thrombocytopenia in Japanese macaques（Macaca fuscata）by SRV-4 after transmission to a novel host. Sci Rep. 5:8850. 2015

19) Sakai K, Hagiwara K, Omatsu T, Hamasaki C, Kuwata R, Shimoda H, Suzuki K, Endoh D, Nagata N, Nagai M, Katayama Y, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Mizutani T, Maeda K: Isolation and characterization of a novel Rhabdovirus from a wild boar（Sus scrofa）in Japan. Vet Microbiol. 179(3-4):197-203. 2015

20) Kataoka C, Suzuki T, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ami Y, Wakita T, Nishimura Y, Shimizu H: The Role of VP1 Amino Acid Residue 145 of Enterovirus 71 in Viral Fitness and Pathogenesis in a Cynomolgus Monkey Model. PLoS Pathog. 11(7):e1005033. 2015

21) Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Sato Y, Nakajima N, Koike S, Iwasaki T, Sata T, Yamashita T, Minagawa H, Taguchi F, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N: Establishment of a panel of in-house polyclonal antibodies for the diagnosis of enterovirus infections. Neuropathology. 35(2):107-121. 2015

22) Zhou D, Wang Y, Tokunaga K, Huang F, Sun B, Yang R: The HIV-1 accessory protein Vpr induces the degradation of the anti-HIV-1 agent APOBEC3G through a VprBP-mediated proteasomal pathway. Virus Res. 195:25-34. 2015

23) Kikuchi T, Iwabu Y, Tada T, Kawana-Tachikawa A, Koga M, Hosoya N, Nomura S, Brumme, ZL, Jessen H, Pereyra F, Trocha A, Walker BD, Iwamoto A,

Tokunaga K(co-corresponding author), Miura T: Anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif protein is attenuated in elite controllers. J. Virol. 89(9):4992-5001. 2015

24) Tada T, Zhang Y, Koyama T, Tobiume M, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga K (corresponding author): MARCH8 inhibits HIV-1 infection by reducing virion incorporation of envelope glycoproteins. Nat. Med. 21:1502–1507. 2015.

25) Ohba U, Koga Y, Hoshina T, Suminoe A, Abe K, Hayashida M, Taguchi T, Hara T: An adolescent female having hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B virus genotype H with a deletion mutation in the pre-S2 region. J Inf Chemother. 21(4):302-304. 2015

2. 和文発表

1) 長谷川 俊史、脇口 宏之、松重 武志、市山 高志、大賀 正一、長谷川 秀樹、相内 章、調 恒明、戸田 昌一、熱田 了: 喘息モデルマウスを用いたインフルエンザ感染に対する免疫応答の検討. アレルギー. 64(3/4): 601-601. 2015

2) 長谷川 秀樹: インフルエンザ皮下接種ワクチンと経鼻ワクチン併用の効果. 日本医事新報. (4755): 62-63. 2015

3) 長谷川 秀樹: Middle East respiratory syndrome（MERS）/ severe acute respiratory syndrome（SARS）の病理. 病理と臨床. 33(8): 877-880. 2015

4) 高橋 健太、鈴木 忠樹、片野 晴隆、佐藤 由子、長谷川 秀樹: 新興・再興感染症診断の国際比較. 病理と臨床. 33(8):827-831. 2015

5) 鈴木 忠樹、長谷川 秀樹: 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の病理. 病理と臨床. 33(8):839-846. 2015

6) 長谷川 秀樹: インフルエンザ経鼻ワクチンについて. インフルエンザ. 16(2):119-123. 2015

7) 鈴木 忠樹、長谷川 秀樹: マダニ媒介性ウイルス感染症「重症熱性血小板減少症候群」の診断と発病機構. Derma. 232: 27-34. 2015

8) 峰 宗太郎、片野 晴隆: リンパ腫学-最新の研究動向 リンパ腫の疫学と危険因子 リンパ腫の危険因子 ウイルス HHV-8 関連 PEL、多中心性キャッスルマン病（MCD）の病因メカニズム. 日本臨床 73 巻増刊 8 リンパ腫学. Page60-64. 2015

9) 片野 晴隆、峰 宗太郎: エイズ関連リンパ腫 EB ウイルス. 改訂第 3 版 高田 賢蔵監修、柳井 秀雄、清水 則夫、吉山 裕規 編集 診断と治療社. Page100-104. 2015

10) 中島 典子: 季節性および鳥インフルエンザウイルス感染症の病理. 病理と臨床. 33:1146-1153. 2015

11) 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. ウイルス. 65(1):135-144. 2015

12) 鈴木 忠樹: 分泌型 IgA 分子の多量体構造と機能. 感染・炎症・免疫. 45(3):204-212. 2015

13) 徳永 研三: 抗ウイルス宿主膜貫通タンパク質 MARCH8 の同定. ウイルス. 65: 173-178. 2015

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hasegawa H: Development of mucosal vaccine for influenza. 2015 TEPIK International Influenza Symposium.（Seoul, Korea）2015.4

2) Hasegawa H: Development of inactivated intranasal Influenza vaccine. 7th Annual Global Virus Network Meeting.（Beijing, China）2015.5

3) Suzuki T, Arashiro T, Katano H, Sato Y, Nakajima N, Nagata N, Morikawa S, Saijo M, Hasegawa H: Pathology and pathogenesis of severe fever with thrombocytopenia syndrome. 7th Annual Global Virus Network Meeting.（Beijing, China）2015.5

4) Ainai A, van Riet E, Suzuki T, Kawaguchi A, Ito R, Ikeda K, Senchi K, Asanuma H, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Hasegawa H: Neutralizing antibody responses induced by intranasal vaccination with an inactivated whole virion of influenza

A（H5N1） virus in healthy human adults. Modern Vaccines Adjuvants & Delivery Systems.（Leiden, The Netherlands）2015.5

5) Suzuki T, Ainai A, Senchi K, Matsunaga S, Ryo A, Hasegawa H: Maternal intranasal immunization with HTLV-1 Env induces Env-specific antibody responses in breast milk. HTLV 2015 17th International Conference on Human Retrovirology: HTLV & Related Viruses.（Trois Ilets, Martinique）2015.6
6) Abe K, Invited lecture: Rubella outbreak among children in Vietnam: Molecular characterization of virus and its pathogenesis in human fetuses. 2nd Conference on International Asian Pediatric Infectious Diseases.（Tokyo, Japan）2015.6
7) Hasegawa H, Suzuki T, Katano H, Nakajima N, Saijo M, Morikawa S: Pathological analysis of severe fever with thrombocytopenia syndrome. ASV2015:34th Annual Meeting of the American Society for Virology.（London, Ontario, Canada）2015.7
8) Hasegawa H: Development of intranasal inactivated influenza vaccine and immune system induced by the vaccine. 9th Vaccine & ISV Congress.（Seoul, Korea）2015.10
9) Ohara Y, Suzuki T, Nakano T, Saito S, Ainai A, Akimoto K, Hasegawa H: Inactivated influenza vaccine combined with low toxicity dsRNAs induces mucosal and systemic immunity after intranasal immunization in mice. 9th Vaccine & ISV Congress.（Seoul, Korea）2015.10
10) Saito S, Ainai A, Suzuki T, Harada N, Tamura S, Yuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takeyama H, Tsukada H, Kiyono H, Hasegawa H: Impact of a nasal mucoadhesive excipient, carboxy-vinyl polymer, on enhancement of immune responses induced by intranasal administration of an inactivated influenza vaccine. 9th Vaccine & ISV Congress.（Seoul, Korea）2015.10
11) Ainai A, Ikeda K, Ito R, Suzuki T, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M, Asanuma H, Hasegawa H: Strong induction of nasal IgA antibodies after intranasal vaccination among mice primed by preceding infection. 9th Vaccine & ISV Congress.（Seoul, Korea）2015.10
12) Tokunaga K: Novel antiviral factor MARCH8 restricts HIV-1 infection by reducing virion incorporation of envelope glycoproteins. Virus/Immunity Unit Seminar at Pasteur Institute.（Paris, France）2015. 10
13) Nakajima N, Thach HN, Tuan TA, Nam DH, Kumasaka T, Sato Y, Kawachi S, Hasegawa H, Dien TM, Hai Le T: Pathological and molecular biological study of measles-associated pneumonia during measles outbreak in Vietnam, in 2014. Pediatric Scientific Conference National Hospital of Pediatrics 2015.（Hanoi, Vietnam）2015.11
14) Kawachi S, Nakajima N, Takasaki J, Phuc PH, Thuy NT, Dien TM, Hai Le T: Severe ARDS cases due to influenza infection in Vietnamese children-The sfficacy of IVIG treatment on severe ARDS with influenza. Pediatric Scientific Conference National Hospital of Pediatrics 2015.（Hanoi, Vietnam）2015.11
15) Hasegawa H: Impact of the quaternary structure of human secretory-IgA on neutralization potency to influenza A virus in upper respiratory tract. The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program（USJCMSP）50th Anniversary and 18th International Conference on Emerging Infectious Diseases（EID）in the Pacific Rim.（North Bethesda, Maryland, USA）2016.1
16) Tada T, Zhang Y, Koyama T, Tobiume M, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga K（presenter）: MARCH8 restricts HIV-1 infection by reducing envelope incorporation into virions. 23rd Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections（CROI 2016）.（Boston, Massachusetts, USA）2016. 2
17) Hasegawa H, Saito S, Ainai A, Suzuki T: Production

and characterization of human polymeric monoclonal secretary IgA antibodies for influenza virus protection. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology Antibodies as Drugs. (Whistler, British Columbia, Canada) 2016.3

18) Hasegawa H: Impact of Pathological Analysis of Human Severe Influenza Cases. TEPIK International Influenza Symposium. (Seoul, Korea) 2016.3

2. 国内学会

1) 中島 典子、佐藤 由子、熊坂 利夫、藤本 嗣人、花岡 希、片野 晴隆、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹: 麻疹に併発した肺炎で死亡した 19 例の肺組織の分子病理学的解析. 第 104 回日本病理学会総会. (名古屋) 2015.4
2) 石原 明、上原 なつみ、矢野 隆郎、鈴木 忠樹、片野 晴隆、長谷川 秀樹、佐藤 由子: SFTS の一剖検例 (An autopsy case of severe fever with thrombocytopenia syndrome(SFTS)). 第 104 回日本病理学会総会. (名古屋) 2015.4
3) 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における原因ウイルスの網羅的検索. 第 104 回日本病理学会総会. (名古屋) 2015.4
4) 福本 瞳、李 天成、長谷川 秀樹、脇田 隆字、佐伯 秀久、鈴木 哲朗、片野 晴隆: 日本における Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus の血清抗体保有率. 第 114 回日本皮膚科学会総会. (横浜) 2015.5
5) 鈴木 忠樹、齊藤 慎二、相内 章、Elly van Riet、大原 有樹、高橋 宜聖、長谷川 秀樹: 四量体 IgA 型抗体変換によるモノクローナル抗体高機能化に関する技術開発. 第 29 回 インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. (東京) 2015.5.
6) 峰 宗太郎、福本 瞳、菅野 隆行、佐藤 由子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、比島 恒和、片野 晴隆: EBV 陽性 plasmablastic lymphoma 細胞株の樹立. 第 29 回ヘルペスウイルス研究会. (長崎) 2015.6
7) 峰 宗太郎、福本 瞳、菅野 隆行、佐藤 由子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、比島 恒和、片野 晴隆: EBV 陽性 plasmablastic lymphoma 細胞株の樹立. 第 12 回 EB ウイルス研究会. (出雲) 2015.6
8) 長谷川 秀樹: HTLV-1 ワクチン研究の現状. 第 2 回日本 HTLV-1 学会学術集会. (東京) 2015.8
9) 岩附 研子、中島 典子、柴田 昌利、高橋 健太、佐藤 由子、木曽 真紀、山吉 誠也、伊藤 睦美、塩谷 聡子、大竹 正剛、寒川 彰久、伊東 祐孝、長谷川 秀樹、河岡 義裕: マイクロミニピッグのインフルエンザ感染モデル動物としての有用性. 第 158 回日本獣医学会学術集会. (青森) 2015.9
10) 高橋 健太、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹: 進行性多巣性白質脳症の組織検体における免疫組織化学とウイルス核酸定量による病勢の検討. 第 20 回日本神経感染症学会総会・学術大会. (長野) 2015.10
11) 北崎 佑樹、池ヶ谷 諭史、北井 隆平、高橋 健太: 脳生検にて確定診断に至った HIV 陽性の進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 20 回日本神経感染症学会総会・学術大会. (長野) 2015.10
12) 三浦 義治、中道 一生、岸田 修二、西條 政幸、高橋 健太、鈴木 忠樹、三條 伸夫、阿江 竜介、澤 洋文、奴久妻 聡一、原 由紀子、雪竹 基弘、濱口 毅、水澤 英洋、山田 正仁: 本邦発症の進行性多巣性白質脳症患者サーベイランスの現状と課題－厚労科研 PML 研究班 PML サーベイランス報告. 第 20 回日本神経感染症学会総会・学術大会. (長野) 2015.10
13) 木所 稔、加藤 大志、村野 けい子、青木 なつ子、永田 典代、須崎 百合子、安楽 正輝、竹田 誠、長谷川 秀樹、網 康至: 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. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会. (犬山) 2015.11
14) 相内 章、鈴木 忠樹、池田 千将、寺内 芳彦、齊藤 慎二、田村 愼一、小田切 孝人、田代 眞人、長谷川 秀樹: 経鼻インフルエンザワクチン接種

直前の鼻腔洗浄が誘導される抗体応答に与える影響. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会.（犬山）2015.11

15) 寺内 芳彦、齊藤 慎二、大原 有樹、山口 喜之、八幡 美穂、相内 章、鈴木 忠樹、藤枝 幹也、長谷川 秀樹: 経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンと皮下注射型インフルエンザ HA ワクチンのヒトにおける安全性の比較検討. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会.（犬山）2015.11

16) 山口 喜之、小島 朝人、片岡 紀代、相内 章、北村 大介、長谷川 秀樹、鈴木 忠樹: デングウイルスワクチン候補としてのウイルス様粒子の作製と性状解析. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会.（犬山）2015.11

17) 北山 裕貴、田井 麻未、針谷 円、高橋 泰章、Haredy Ahmad、小川 博暢、谷本 武史、五味 康行、生田和良、石川 豊数、鈴木 忠樹、相内 章、長谷川 秀樹、田村 愼一、山西 弘一: マウスモデルを用いた経鼻投与型 4 価季節性インフルエンザワクチンの感染防御効果に関する検討. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会.（犬山）2015.11

18) 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誘導メカニズムの解析. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会.（犬山）2015.11

19) 大原 有樹、鈴木 忠樹、中野 哲郎、齊藤 慎二、林 健太郎、寺内 芳彦、矢野 遥香、相内 章、秋本 和憲、長谷川 秀樹: 経鼻不活化インフルエンザワクチンにおける合成二重鎖 RNAuPIC のアジュバント活性の検討. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会.（犬山）2015.11

20) Hasegawa H, Ainai A, Tamura S, Tashiro M, Suzuki T: Impact of the quaternary structure of human Secretory-IgA on neutralization potency to Influenza A virus in upper respiratory tract. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

21) Takeda M, Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Sangsriratanakul N, Anraku M, Nakajima N, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M: A natural host model revealed the essential role of the host protease TMPRSS2 for respiratory paramyxovirus pathogenicity. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

22) Moriyama M, Chen IY, Takeyama H, Hasegawa H, Ichinohe T: Regulation of inflammasomes by the nonstructural proteins of RNA viruses. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

23) Ainai A, Saito S, Suzuki T, Harada N, Tamura S, Yuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takeyama H, Tsukada H, Kiyono H, Hasegawa H: Impact of a nasal mucoadhesive excipient on enhancement of immune responses induced by intranasal vaccination against influenza. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

24) Sakai K, Sekizuka T, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Nakajima N, Anraku M, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M: The stalk oligosaccharide of influenza A virus hemagglutinin protein modulates protease specificity for virus activation and pathogenicity. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

25) Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Shimizu H, Hasegawa H: Utility of a neonatal mouse model for studying coxsackievirus B2. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

26) Nakajima N, Thach HN, Sato Y, Hanaoka N, Fujimoto T, Suzuki T, Katano H, Hai le T, Hasegawa H: Human Adenovirus Serotype 7-associated pneumonia in fatal cases of measles. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

27) Yamada S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N: The pathogenesis of a Saffold virus isolate from upper respiratory inflammation in a mouse model. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11

28) Kotani O, Yokoyama M, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Sato H, Nagata N: A molecular mechanism of adaptive evolution of Saffold virus type 3 in cerebellum of mouse. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11
29) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Fukushi S, Sekimukai H, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N: Human Dipeptidyl Peptidase 4 Transgenic Mice as an Infectious Animal Model for MERS-CoV. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11
30) Saito S, Suzuki T, Ainai A, van Riet E, Ohara Y, Takahashi Y, Tamura S, Takeyama H, Hasegawa H: Efficient generation of human polymeric S-IgA monoclonal antibodies. 第63回日本ウイルス学会学術集会.（福岡）2015.11
31) Tada T, Zhang Y, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga K（speaker）: MARCH8 downregulates HIV-1 envelope glycoproteins from the cell surface through a physical interaction.（ワークショップ）第 63 回日本ウイルス学会総会.（福岡）2015. 11
32) 張 延昭、多田 卓哉、山岡 昇司、藤田 英明、徳永 研三: MARCH8 の細胞質領域の YxxΦ モチーフは HIV-1 エンベロープのダウンレギュレーションに重要である. 第63回日本ウイルス学会総会.（福岡）2015. 11
33) Tokunaga K: Membrane-associated RING-CH（MARCH）8 restricts HIV-1 infection through downregulation of viral envelope glycoproteins from the cell surface（seminar in English）. 第701回九州大学生医研セミナー.（福岡）2015. 11
34) 高畑 辰郎、徳永 研三、長谷川 温彦、神奈木 真理、増田 貴夫: HIV-1 インテグラーゼの変異が及ぼす酵素活性以外への影響と機序の解析. 第29回日本エイズ学会.（東京）2015. 11
35) Tada T, Zhang Y, Koyama T, Tobiume M, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga K（speaker）: Novel antiviral factor MARCH8 restricts HIV-1 infectivity by reducing virion incorporation of envelope glycoprotein. 第 38 回日本分子生物学会.（神戸）2015. 12
36) 徳永 研三: 抗ウイルス宿主因子 MARCH8 の同定とその分子制御機構の解明. H27 年度日本薬学会九州支部特別講演会.（長崎）2016. 3
37) 長谷川 秀樹: Pathology of Viral Myocarditis. 第 80 回日本循環器学会学術集会.（仙台）2016.3

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、生物毒生物毒素および抗毒素治療に関する研究、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. ノロウイルスに関する研究
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 27 年 4 月 01 日に免疫部第一室任期付研究員として小林美栄が任用された。

業　績

調査・研究

Ⅰ．ウイルス感染症

１．ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の増殖制御と病態に関する研究

（１）ヒト化マウスを用いた in vivo における HIV 感染機構の解析

これまでに我々は、HIV-1 感染ヒト化マウスモデルでの血中ウイルス動態解析において、初期感染ウイルス伝播に CD4 陽性 T 細胞数は関連しないことを見出してきた。そこで我々は、マクロファージ・樹状細胞といった骨髄系細胞の関与に着目し、ヒト GM-CSF、Flt3-L をそれぞれ発現するプラスミドを in vivo transfection 法によりヒト化マウスに導入して骨髄系細胞を分化誘導させた状況下でのウイルス伝播について検討した。その結果、誘導群では非誘導群と比較して感染後 1 週目の血中ウイルス量が有意に高く、感染前の末梢血単球数と感染後 1 週目の血中ウイルス量との間で正の相関が認められた。現在は骨髄系細胞について集団レベルでの解析を進めている。

また、HIV 感染症の病態への関与として bystander CD4 陽性 T 細胞死が示唆されていることから、HIV-1 初期感染時の細胞死誘導についてヒト化マウスモデルでの解析を開始した。これまでのところ、ウイルス感染の進行に伴い CD4 陽性 T 細胞の細胞死が誘導されることを確認している。

[寺原和孝、池野翔太（早稲田大学大学院、研究生）、岩渕龍太郎（早稲田大学、実習生）、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科、阿戸　学、横田恭子(客員研究員)]

（２）HIV が潜伏感染するナイーブ $CD4^+$ T 細胞のウイルス制御機構の解析

サイトカインによる $CD4^+$ T 細胞長期維持培養下に GFP 発現 HIV の潜伏感染系を確立した。この培養条件で、GFP 蛋白発現陰性の静止期ナイーブ T 細胞集団は低レベルの GFP mRNA を発現し、TCR 刺激や脱アセチル化剤 SAHA による再活性化を認めないのに対し、T 細胞受容体（TCR）刺激後に一度静止化して GFP 陰性となった記憶 T 細胞に SAHA を加えると GFP mRNA や蛋白発現細胞集団が再度出現した。従って、一度 TCR 刺激を受けた記憶 T 細胞とナイーブ T 細胞の感染制御機構は異なることが示唆された。このような HSP 条件下で静止期のまま長期維持される HIV 潜伏ナイーブ T 細胞集団が、生体内で容易には再活性化されない HIV

潜伏細胞として病態に関与しうるのか、あるいはHIV ゲノムをもちながら発現を完全にシャットダウンしているのかを明らかにするため、細胞内制御分子について検討している。
[横田恭子(客員研究員)、小林(石原)美栄、寺原和孝、池野翔太（早稲田大学大学院、研究生）、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）HIV 潜伏化におけるウイルス由来アンチセンス鎖 RNA の発現解析
近年、HIV プロウイルスのセンス鎖に加え、アンチセンス鎖からも RNA(asRNA)が転写され、センス鎖 RNA(sRNA)の転写を抑制していることがわかってきた。そこで我々は、一細胞レベルで HIV の sRNA 及び asRNA の発現を解析した。本解析のため、それぞれの RNA 発現を異なる蛍光タンパク質によりモニターできるモデル HIV を作製し、T 細胞株に感染させた。この結果、感染細胞は①sRNA のみを発現する細胞群、②asRNA のみを発現する細胞群、③どちらも発現しない細胞群に分画された。従って、HIV 由来 asRNA は潜伏化細胞の一部で発現しており、asRNA の機能が HIV 潜伏化の成立及び維持に影響を及ぼしている可能性があると示唆された。
[小林(石原)美栄、寺原和孝、阿戸　学、横田恭子(客員研究員)]

２．麻疹に関する研究
（１）麻疹ウイルスワクチン株が誘導する免疫応答のヒト化マウスを用いた解析
これまでの解析から、麻疹ウイルスに対するヒト T 細胞応答をヒト化マウスで解析する系の確立のためには骨髄系細胞の分化・増殖を補う必要があることが示唆された。そこでヒト GM-CSF、IL-4、Flt3-L 発現プラスミドを in vivo transfection 法でヒト化マウスに導入した。麻疹ウイルスに対する $CD4^+$ T 細胞の応答誘導には十分ではなかったものの、in vivo transfection により血中ヒト単球や骨髄中の樹状細胞は明らかに一過性に増加した。更に条件を検討することにより、ヒト免疫応答の誘導改善も可能であると思われる。
［池野翔太(早稲田大学大学院、研究生)、寺原和孝、駒瀬勝啓（ウイルス３部）、竹山春子（早稲田大学先進理工学部生命医科学科）、森川裕子（北里大学生命科学研）、横田恭子(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。免疫原性を改善した H7N9 ワクチンを開発するため、バイオインフォマティクス的手法によりヒト免疫原性を改善するために最適な H7 アミノ酸一次配列をデザインした。この配列をもとに、変異型 H7 ヘマグルチニンタンパクを作製したところ、ヒト化マウスにおいて免疫原性の改善効果が確認され、より高濃度の抗ヘマグルチニン抗体が惹起された。しかし、試験管内中和試験ではウイルス中和効果が観察されなかったため、変異型 H7 ヘマグルチニンタンパクが惹起する抗ヘマグルチニン抗体は、典型的な中和抗体と異なる抗原部位を認識していると考えられた。実際、惹起された抗体の一部は、ヘマグルチニンステム部分という特殊な抗原領域を認識しており、この部位に結合することによって生体内での感染防御に寄与することが期待された。
[和田倭（研究生)、信澤枝里（インフルエンザウイルス研究センター)、竹山春子（早稲田大学)、Anne De Groot（EpiVax)、阿戸学、高橋宜聖]

（２）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B細胞が胚中心において産生されることをこれまでに見いだした。気道に形成される胚中心は、構造的に通常の胚中心と異なることや、その中でB細胞がより活発に分裂していることを明らかにした。急性感染であるインフルエンザウイルスは、通常感染後２週間以内に生体から排除されると考えられているが、一ヶ月を経過した後でも気道組織ではウイルス RNA が検出されていることを見いだした。この気道選択的な持続感染が胚中心の性質に大きな影響を与えていると考えられる。
[安達悠、小野寺大志、阿戸学、高橋宜聖]

（３）インフルエンザ交叉性免疫に特有の免疫パラメーター解析
複数のヘマグルチニンに交叉結合するB細胞と抗体を迅速かつ網羅的に解析する新技術をヒト末梢血細胞に応用し、ヒト交叉性 B 細胞と抗体を迅速かつ網羅的に開発する技術開発を行った。その結果、ヒト交叉性 B 細胞に特有の表現型を明らかにするとともに、交叉性抗体が認識する抗原構造を見いだし、経鼻インフルエンザワクチンの評価に応用可能な新規免疫パラメーターを同定した。
[Rajni Kant Shukla（流動研究員)、小野寺大志、安達悠、長谷川秀樹（感染病理部)、阿戸学、高橋宜聖]

４．ノロウイルスに関する研究
（１）ノロウイルス防御免疫応答に関する研究
ノロウイルスをコントロールするためには、ワクチン開発が重要となる。しかし、防御免疫機構の詳細は不明な点が多く、防御機能と相関する免疫パラメーターはこれまで特定されていない。本研究では、現在開発の進められている VLP ワクチンに着目し、ヒト化マウスを用いて VLP ワクチンの免疫原性と有効性を評価した結果、IgG と IgA からなる液性免疫を誘導可能な免疫原性を有することを明らかにした。さらに、ノロウイルス防御免疫の主体をなすリンパ球を同定する技術開発に成功した。

[小野寺大志、三木元博（ウイルス第二部)、片山和彦（ウイルス第二部)、三好龍也（堺市衛生研究所)、小林和夫（堺市衛生研究所、客員研究員)、阿戸学、高橋宜聖]

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。これまで、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 細胞反応についての解析から、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すことを見出した。そこでさらに多機能性について解析を進めたところ、CD107a 誘導画分の多機能性はワクチン誘導後（SIV 感染前）と比較して低下していた。このことから、CD107a 誘導画分は SIV 感染を契機にセントラルメモリー型からエフェクターメモリー型へ分化成熟した可能性が示唆された。

［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

これまで、サル腸管粘膜固有層から単核球を分取するにあたりコラゲナーゼを主体とした細胞分散法（従来法）を確立したが、新たに gentleMACS（Miltenyi）法について検討した。その結果、分取された細胞の生存性は従来法と gentleMACS 法で同等であるものの、細胞数は gentleMACS 法の方が 2-5 倍多かった。さらに、PMA/ionomycin 刺激下での T 細胞における IFN-γ/IL-17A 産生について解析した結果、gentleMACS 法の方が高い反応性を示した。以上の結果から、腸管粘膜 T 細胞の免疫誘導・応答を解析するにあたり、gentleMACS 法による細胞分取が有用であることが強く示唆された。

［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）インフルエンザ・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

我々が新規に開発した次世代シークエンサ（NGS）により抗体レパトアを網羅的に解析する技術をもちいて、インフルエンザ・ワクチンの免疫によって惹起される抗体群を網羅的に解析した。鶏卵製造ワクチンと培養細胞製造ワクチンの免疫によって誘導される抗体群は、それぞれのワクチン免疫で共通に誘導されるレパトアとそれぞれのワクチン特異的に誘導されるレパトアが明瞭に区別された。それらの特徴的なレパトアに分類される抗体を遺伝子合成して発現させ、ワクチン成分との反応性を検討することにより、製造法の異なるワクチンの免疫賦与能の差を解析している。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、孫琳、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）]

（４）ワクチン起因性の自己免疫反応回避に向けた評価系構築に関する研究

ワクチン接種や病原体感染が自己免疫疾患発症の起因の一つとなり得ることが示唆されているが、ここに関わる自己反応性リンパ球の免疫寛容破綻機構に関してはほとんど明らかになっていない。このメカニズムを明らかにし、そこに関わる基底因子の評価系を構築することは、より安全なワクチンを提供する上で必須の課題である。近年の知見から自己免疫疾患発症には自己反応性 B 細胞の記憶化が関与している事が示唆されているが、その動態を追跡するシステムは皆無であった。我々は自己抗原として知られている SmD1, hnRNP をベースとした蛍光プローブを作出し、生体内における自己反応性記憶型 B 細胞の動態を追跡する事に成功した。また、この技術を応用し、SLE モデルマウスにおける自己反応性記憶型 B 細胞の蓄積と疾患発症との相関を解析した結果、疾患発症には自己反応性 B 細胞の記憶化ではなく、抗体産生細胞への分化過程における制御機構の破綻が大きく関わっている可能性を明らかにした。

[小野寺大志、鍔田武志（東京医科歯科大学)、阿戸学、高橋宜聖]

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］

（４）RSV による Gas6 産生誘導機構と Th1 免疫応答抑制機構の解明
RSV の glycoprotein(G protein)により Th2 免疫応答が誘導されることはよく知られているが、これまでその機構は不明であった。我々は、リコンビナント RSV G protein の添加により、樹状細胞から Gas6 が産生されることを発見した。一方、RSV の fusion(F)protein は toll-like receptor 4 からのシグナルを惹起することが知られているが、樹状細胞へのその添加は、ナイーブ T 細胞から Th1 細胞に分化させる IL-12 の産生を誘導することを見出した。一方、F protein により誘導された IL-12 は、G protein の添加により有意に抑制された。また、RSV や FI-RSV 処理ではほとんど IL-12 産生が誘導されなかったが、あらかじめ樹状細胞を抗 Axl 抗体で処理すると、IL-12 産生の増大がみられた。すなわち、RSV G protein により Gas6 が誘導され、Gas6 は Axl を介して F protein により誘導される IL-12 産生を抑制し、免疫応答を Th1 から Th2 にシフトさせることが示唆せれた。以上の結果より、FI-RSV VED における Th2 免疫応答誘導機構の一部が解明され、現在世界的に進められている G protein を除いた F protein ワクチン開発にさらに意味をもたせることとなった。
［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おり、平成 26 年度に我々が行った臨床機関へのアンケート調査により、非結核性抗酸菌症の罹患率は推定 14.7 人／10 万人と同時期に報告された結核よりも多いということが明らかになった。平成 27 年度は、主要検査センター3 社にデータセットの抽出を依頼し、抗酸菌症診断例の性年齢分布、地域差、菌種分布および感受性検査データを直接解析した。期間有病率は 9.01/10 万と、死亡統計からの推定値と比較して低値であった。この原因として、院内検査室を持たない小規模医療機関が本調査の主な対象となり、大規模専門病院でのデータが含まれないバイアスが考えられた。菌の地域別構成や性・年齢分布はアンケートによる調査とほぼ一致し、全国の本疾患状況が別の視点からも確認できた。
[阿戸 学、森本耕三（複十字病院）、南宮 湖、長谷川直樹（慶應大学呼吸器内科）、倉島篤行、 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。また、野生型IMCsと比べ、IFN-γ欠損IMC-like cellsおよびIL-6欠損IMC-like cellsはGASに対する初期応答に異常があることが示された。IFN-γおよびIL-6の欠損がIMCsの初期応答に影響することから、これらのサイトカインは細胞の活性化あるいは分化に寄与することが示唆された。また、このことは野生型マウスに比べ、IFN-γ欠損マウスおよびIL-6欠損マウスはGASに抵抗性がない一つの理由であると考えられた。

[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）類鼻疽感染好中球における新規殺菌機構の解析

類鼻疽は類鼻疽菌 *Burkholderia pseudomallei* の細胞内寄生によって起こる重篤で治療困難な感染症（感染症法 4 類感染症）である。好中球が防御因子であることが知られているが、その防御メカニズムは不明であった。我々は、好中球食胞に取り込まれた類鼻疽菌が、細胞質内へ脱出することなく、LC3 陽性オートファゴソームが食胞近傍に形成され菌を含む食胞と融合して、殺菌するということを明らかにした。また、このオートファゴソーム形成誘導は、類鼻疽菌の持つ III 型分泌装置に依存していた。以上、好中球の新規オートファゴソーム関連殺菌機構を発見した。

[Darawan Rinchai、Donporn Ripaya、小川道永（細菌第一部）、谷田以誠（細胞科学部）、Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学医療学部、タイ王国）、阿戸 学]

III. 免疫機能に関する研究

１．次世代シークエンサを用いて予測された有用抗体を人工合成して発現する技術の開発

ワクチン抗原に対する免疫応答において重要な役割を果たす抗体を検出するために次世代シーケンサー（NGS）を用いた網羅的な抗体 H 鎖(IgH)解析を行っている。検出された重要な抗体遺伝子を合成して分子発現する系を確立するために、IgH の抗原特異性に影響せずに幅広い IgH レパートリーと適合するユニバーサル IgL の作製を進めている。抗体産生 B 細胞の分化初期に発現する代替 L 鎖は理論的に任意の IgH 鎖と組み合わさることができる。この性質を利用していわゆる「ユニバーサル IgL」のモデルを複数作製して性能評価を行っている。有用な抗体の人工合成技術が確立すれば、感染症に対する免疫応答に重要な役割を持つ抗体の利用に新しい方法論を与えることになる。

[大西和夫、孫琳、薛漢兵、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）]

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、品質管理試験

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。セアカゴケグモ抗毒素の製造に関しては、CSL社からは製造法が供与されなかったために、公表された文献情報から免疫計画や品質管理試験を計画することになった。昨年のウサギでの試験的な免疫試験結果を参考にして、1956、1961年に発表された論文を参照した無処置毒素とリン酸アルミニウムアジュバントの組み合わせと化血研で行われていた免疫方法を参考にして、複数の免疫法を施行し、力価の高いサンプルを採用して製剤価を行うという方針を採用した。その結果、トキソイド増量追加免疫法で最も高い中和抗体価が測定された。また、免疫終了後部分採血を行った場合、急速に血漿中抗体価が低下することが明らかになった。結果として、製剤化によっても十分な収量と力価が期待できる血漿を原材料としてセアカゴケグモ抗毒素の製品化が実施され、必要とされる力価を維持し、かつ安定な抗毒素小分け製品が確保された。

[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

乾燥まむしウマ抗毒素 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

標準はぶ抗毒素（抗致死、抗出血 I 及び抗出血 II）、まむし抗毒素（抗致死、抗出血）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ことになっている。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。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。
[高橋宜聖、阿戸 学]

Ⅰ．A 型肝炎ウイルス(HAV)検体パネルの整備

HAV 感染予防対策の基礎となる感染診断法のうち最も多用されるのは IgM 型および IgG 型 HAV 抗体検出キットで、A 型肝炎診断補助検査全体の 95%以上を占める。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、新しいバージョンが開発されている。そのため、新しい HAV 抗体検出キットを継続的に性能評価することが必要とされ、免疫部ではその性能評価の基礎となる感染症検体パネル（IgM、IgG 型 HAV 抗体パネル）の整備を進めている。平成 27 年度は、日本赤十字社の協力をえて新規に血漿検体を収集するとともに、これまで収集した検体パネルの再評価を行った結果、IgG 型 HAV 抗体陽性血漿、陰性血漿ともに 60 以上の検体からなる IgG 型 HAV 抗体陽性、陰性パネルを整備することができた。また、国立病院機構の協力を得て、急性 HAV 発生時に IgM 抗体陽性国内検体を収集するシステムの構築を行った。
[高橋宜聖、正木尚彦（国立国際医療研究センター　肝炎･免疫研究センター）、八橋弘（国立病院機構長崎医療センター）、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 26 日、講義した[阿戸 学]

Ⅱ．大学など教育機関における講義や研修

大阪市立大学医学部（4 月 15 日）、新潟大学医学部、理学部（5 月 15 日）、慶応大学医学部（5 月 21 日）、知の市場：感染症総合管理 1b、9 月 1 日）、東京大学大学院農学研究科（11 月 13 日）、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(2 月 16 日)、山口大学共同獣医学部(2 月 17 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 11 日、18 日）、筑波大学大学院生命科学研究科（11 月 5 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 27 年度の使用実績は、1023 回、2680 時間であった。
[泉山枝里子（非常勤職員）、高橋宜聖、阿戸学]

広報委員会（広報運営委員会）において、所の広報活動全般（見学研修、Info 対応、所内行事記録、「知の市場」の連絡・会場設営、一般公開等）の企画・運営に参画した。[大西和夫]

発　表　業　績　一　覧

Ⅰ．誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Mitsuki Y-y, Yamamoto T, Mizukoshi F, Momota M, Terahara K, Yoshimura K, Harada S, Tsunetsugu-Yokota Y. 2016. A novel dual luciferase assay for the simultaneous monitoring of HIV infection and cell viability. J. Virol. Methods. 231: 25-33.
2) Li, Y., Takahashi, Y., Fujii, S., Zhou, Y., Hong, R., Suzuki, A., Tsubata, T., Hase, K., Wang, J.-Y. 2016 EAF2 mediates germinal center B cell apoptosis to suppress excessive immune responses and prevents autoimmunity. Nat. Commun. 7, 10836.
3) Terahara K, Ishige M, Ikeno S, Okada S, Kobayashi-Ishihara M, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y. 2015. Humanized mice dually challenged with R5 and X4 HIV-1 show preferential R5 viremia and restricted X4 infection of $CCR5^{+}CD4^{+}$ T cells. Microbes Infect. 17: 378-386.
4) Tada, T., Zhang, Y., Koyama, T., Tobiume, M., Tsunetsugu-Yokota, Y., Yamaoka, S., Fujita, H., Tokunaga, K. 2015. March8 inhibits HIV-1 infection by reducing virion incorporation of envelope glycoproteins. Nat. Med., 21:1502-1507.
5) Hagiwara, K., Ishii, H., Murakami, T., Takeshima, S., Chutiwitoonchai, N., Kondoh, Y., Honda, K., Osada, H., Tsunetsugu-Yokota, Y., Suzuki, M., Aida, Y. 2015. Synthesis of Vpr-binding derivative as a novel HIV-1 inhibitor: Vpr is potential target for development of antiviral agent. PLoS One 10(12);1-15.
6) Matsuda Y, Kobayashi-Ishihara M, Fujikawa D, Ishida T, Watanabe T, Yamagishi M. 2015. Epigenetic heterogeneity in HIV-1 latency establishment. Scientific Reports 5:7701.
7) Varney, M.E., M. Niederkorn, H. Konno, T. Matsumura, J. Gohda, N. Yoshida, T. Akiyama, S.

Christie, J. Fang, D. Miller, A. Jerez, A. Karsan, J.P. Maciejewski, R.A. Meetei, J. Inoue, and D.T. Starczynowski. 2015. Loss of Tifab, a del(5q) MDS gene, alters hematopoiesis through derepression of Toll-like receptor-TRAF6 signaling. J Exp Med. 212(11):1967-1985.

8) Adachi, Y., Onodera, T., Yamada, Y., Daio, R., Tsuiji, M., Inoue, T., Kobayashi, K., Kurosaki, T., Ato, M., Takahashi, Y. 2015 Distinct germinal center selection at local sites shapes memory B cell response to viral escape. J. Exp. Med., 212, 1709-1723.
9) Sato M, Sasaki N, Ato M, Hirakawa S, Sato K, Sato K. Microcirculation-on-a-chip: a microfluidic platform for assaying blood- and lymphatic-vessel permeability. PLoS One. 2015 Sep 2;10(9):e0137301. doi: 10.1371/journal.pone.0137301.
10) Buddhisa S, Rinchai D, Ato M, Bancroft G, Lertmemongkolchai G. Programmed Death-Ligand 1 on *Burkholderia pseudomallei* infected human polymorphonuclear neutrophils impairs T cell functions. J Immunol. 2015 May 1;194(9):4413-21. doi: 10.4049/jimmunol.1402417.
11) Rinchai D, Riyapa D, Buddhisa S, Utispan K, Titball RW, Stevens MP, Stevens JM, 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. 2015 May 4:11(5) 748-755. doi: 10.1080/15548627.2015.1040969.
12) Hifumi T, Sakai A, Kondo Y, Yamamoto A, Morine N, Ato M, Shibayama K, Umezawa K, Kiriu N, Kato H, Koido Y, Inoue J, Kawakita K, Kuroda Y.Venomous snake bites: clinical diagnosis and treatment. J Intensive Care. 2015 Apr 1;3(1):16. doi: 10.1186/s40560-015-0081-8. eCollection 2015. Review.
13) Hifumi T, Taki H, Yamamoto A, Ato M, Koido Y, Kuroda Y. Update of antivenom supply for redback spider bites in Japan. J Intensive Care. 2015 Feb 11;3(1):7. doi: 10.1186/s40560-014-0070-3. eCollection 2015.
14) Funakoshi S, Shimizu T, Numata O, Ato M, Melchers F, Ohnishi K. BILL-1 cadherin/cadherin-17 contributes to the survival of memory B cells PLoS One. 2015 Jan 22;10(1):e0117566. doi: 10.1371/journal.pone.0117566. eCollection 2015.

2．和文発表

1) 阿戸　学、池辺忠義．A 郡溶血性レンサ球菌の細菌学的特徴　こどもの感染症　3(2). 74-8. 2015
2) 松村隆之、阿戸　学. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における宿主免疫応答　ファルマシア 51(8)　760-64. 2015
3) 阿戸 学　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. 2015.
4) 高橋宜聖、安達悠　細胞工学　ウイルス抗原変異に対抗する新しい防御抗体　516-520、第 34 巻・第 5 号、2015
5) 小野寺大志. 2015．スパイク内部の gp120 を抗体の両手の間隔を調整して架橋し、HIV の抗体回避を克服．細胞工学、秀潤社、p407、vol.34 No.4.
6) 小野寺大志. 2015．IL-3 は急性炎症応答を増強する:敗血症のあらたな治療ターゲット．細胞工学、秀潤社、p507、vol.34 No.5.
7) 小野寺大志. 2015 ミトコンドリア DNA ストレスは抗ウイルス自然免疫応答を刺激する．細胞工学、秀潤社、p594、vol.34 No.6.
8) 小野寺大志. 2015．同種異型 IgG 抗体により活性化される樹状細胞は抗腫瘍 T 細胞免疫を誘導する．細胞工学、秀潤社、p687、vol.34 No.7.
9) 小野寺大志. 2015．全身性エリテマトーデスにおける自己抗体産生細胞の多様性と細胞起源の同定．細胞工学、秀潤社、p795、vol.34 No.8.
10) 小野寺大志. 2015．Th17 細胞は炎症反応の収束過程において制御性 T 細胞へ分化転換する．細胞工学、秀潤社、p890、vol.34 No.9.
11) 小野寺大志. 2015．腸内共生細菌は RORγ陽性制御性 T 細胞を誘導する．細胞工学、秀潤社、p981、vol.34 No.10.
12) 小野寺大志. 2015．好中球の老化は腸内細菌叢によって調整される．細胞工学、秀潤社、p1074、vol.34 No.11.
13) 小野寺大志. 2016．組織局在性自然リンパ球の供給・維持過程の解明．細胞工学、秀潤社、p56、vol.35 No.1.
14) 小野寺大志. 2016．ポリシアル酸化によるケモカイン認識制御が樹状細胞の遊走をコントロールする．細胞工学、秀潤社、p228、vol.35 No.3.

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会.

1) Naoya Ohara, Mayuko Okabe, Chie Nakajima, Manabu Ato, Masaaki Nakayama, Tetsuyoshi Inoue, Yoshihiko Suzuki and Kazuo Kobayashi, Effect of Para-Aminosalicylic Acid (PAS) on the Growth of PAS Resistant Mycobacteria. US-JAPAN COOPERATIVE MEDICAL SCIENCE PROGRAM: Tuberculosis and Leprosy Panel Meeting in Japan 平成 28 年 1 月、米国
2) M.ATO, Immunogemocotu assessment influenza vaccines by humanized mouse system. 9th Annual Vaccin Renaissance Conference　平成 27 年 11 月、米国
3) K. Morimoto, N. Hasegawa, K. Izumi, H. Namkoong, K. Uchimura, Y. Hoshino, A. Kurashima, J. Sokunaga, S. Shibuya, M. Shimojima, M. Ato, S. Mitarai. Laboratory Based Survey for Pulmonary Non-Tuberculous Mycobacteriosis in Japan: 2012-2013. American Thoracic Society 2015 International Conference,

平成 27 年 5 月、米国

2. 国内学会

1) 松村隆之, 池辺忠義, 大西 真, 阿戸学. 2016. Immature myeloid cells are the producers of host protective factors in severe invasive group A streptococcal infections. 第 89 回細菌学会総会(大阪、3 月)
2) 阿戸学, 松村隆之, 本田尚子, 黒田誠, 大原直也, 小林和夫. 2016. ストレプトマイシン依存性結核菌 18b を用いた潜在性結核研究. 第 89 回細菌学会総会(大阪、3 月)
3) 小林―石原美栄、寺原和孝、池野翔太、阿戸学、横田―恒次恭子. 2015. アンチセンス鎖を介した HIV-1 潜伏化制御について　第 38 回日本分子生物学会年会　第 88 回日本生化学会大会　合同大会（神戸、12 月）
4) Adachi, Y., Onodera, T., Ato, M., Takahashi, Y. Distinct germinal center selection at local sites shapes memory B cell response to viral escape. 第 44 回日本免疫学会総会　（札幌　11 月）
5) Shibata T. and Ato M. The role of Gas6/Axl signaling during formalin-inactivated RSV vaccine enhanced disease in mice. 2015. 第 44 回日本免疫学会総会（札幌　11 月）
6) 松村隆之, 阿戸学. 2015. Immature myeloid cells are the producers of host protective factors in severe invasive group A streptococcal infections. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会(札幌、11 月)
7) SUN Lin, KONO Naoko, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2015.Search for a Universal-IgL that is able to associate with wide range of IgH species and the optimization of NGS-predicted antibody synthesis. Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, Sapporo, November 18-20, 2015.
8) KONO Naoko, XUE Hanbing, SUN Lin, SHIMIZU Takeyuki, OHNISHI Kazuo. 2015. Deep Sequence Landscape of Antibody Repertoire and its Antigen Responding Dynamics of Individual Mice Analyzed by Next Generation Sequencer (NGS). Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology, Sapporo, November 18-20, 2015.
9) 高橋宜聖　B 細胞の分化・活性化と液性免疫記憶 Overview Talk 第 44 回日本免疫学会総会シンポジウム　(札幌 11 月)
10) Wada, Y., Okada, S., Ato, M., Takahashi, Y. Low immunogenicity of influenza H7N9 vaccines as revealed by hu-SCID mouse system. 第 44 回日本免疫学会総会　(札幌 11 月)
11) Miyauchi, K., Sugimoto-Ishige, A., Takahashi, Y., Hasegawa, H., Takemori, T., Kubo, M. Germinal centers and follicular helper T cells are dispensable for a protective antibody response to acute influenza A virus infection. 第 44 回日本免疫学会総会　（札幌　11 月）
12) Adachi, T., Yoshikawa, S., Karasuyama, H., Onodera, T., Takahashi, Y., Kikuta, J., Ishii, M., Tedder, T. Intravital imaging of Ca2+ signals in lymphocytes of the Ca2+ biosensor YC3.60 transgenic mice. 第 44 回日本免疫学会総会　（札幌　11 月）
13) Onodera, T., Adachi, T., Tsubata, T., Ato, M., Takahashi, Y. Visualization of anti-nuclear Ab producing B cells by flow-cytometry in a SLE mouse model. 第 44 回日本免疫学会総会(札幌 11 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、真菌感染症に関する調査研究を主な任務としている。真菌症の疫学研究、ならびに、病原真菌の病原因子や宿主免疫制御機構の解明、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。

わが国の三大侵襲性真菌症は、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。平成26年9月に五類全数把握疾患に規定された播種性クリプトコックス症については、発生率や患者背景、予後等の情報が明らかになりつつある。真菌感染症の公衆衛生学的重要性が増す中、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27年度は播種性クリプトコックス症の疫学研究、各種真菌に関する病原因子解明に関する基盤研究、アスペルギルス属の分子疫学や治療法に関する研究、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制御に関する研究

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、真菌症の疫学研究、真菌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た。病原体としては、侵襲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アスペルギルス等の糸状菌感染症に関しては、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、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、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、インフルエンザ等を対象として宿主因子や免疫機構の解明と、その制御に基づく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実施した。

また、真菌検査業務のうち法的規制にかかる病原体とBSL3真菌の管理業務を担当した。

第4室は、放線菌や真菌の二次代謝産物等の探索と代謝経路の解明や、新規感染症薬の探索研究等を実施した。また、検査業務として、病原真菌検査の標準作業手順書の作成や、後発医薬品の収去検査を分担し実施した。

行政対応として、真菌に関する各種行政検査、独立行政法人医薬品医療機器総合機構の専門審査等を実施した。国際交流では、ベトナムNIHE、タイNIH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

C. neoformans によるクリプトコックス症は免疫不全患者で重症化するといわれている。一方、健常者に致死的感染症を起こす *C. gattii* が報告されているが、高病原性の原因は明らかでない。これまでに、高病原性 *C. gattii* は宿主免疫を誘導しにくいことを示唆してきた。そこで、高病原性株および通常株の細胞表層に存在する莢膜多糖を精製し、その化学構造と樹状細胞に対する炎症性サイトカイン産生誘導能を比較した結果、高病原性株の莢膜多糖は免疫誘導能の低い構造であることが示唆された。

［浦井 誠、上野圭吾、金城雄樹、宮﨑義継］

(2) マクロライド系薬による高病原性クリプトコックス症の病原性制御に関する研究

Clarithromycin (CAM)の*C. gattii*に対する病原性抑制効果について検討した。CAMと共培養した高病原性*C. gattii*では、H_2O_2やβ-defensinに対する感受性が亢進し、好中球殺菌に対する抵抗性も低下していた。さらにCAM処理による莢膜の菲薄化を確認しており、自然免疫による排除促進との関連が示唆された。

［中村茂樹、壇辻百合香、名木 稔、梅山 隆、山越智、宮﨑義継］

(3) 高病原性クリプトコックス脳髄膜炎に対する IFN-γ 補充療法の有効性に関する検討

クリプトコックス脳髄膜炎マウスモデルを作成し、高病原性 *C. gattii* 及び *C. neoformans* の IFN-γ 補充療法に対する反応を比較した。*C. gattii* では IFN-γ 補充療法の有効性は認められなかったが、*C. neoformans* では生存率が有意に改善した。

［壇辻百合香、中村茂樹、名木 稔、梅山 隆、山越智、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 タンパク質に対するファージ抗体の作成

これまでに、血液を対象とした新規アスペルギルス症診断薬の作成を目的として高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ることが判明し、反応条件検討および得られた抗体のすべての組み合わせを変えても改善されなかった。そこでヒト血清の影響の少ない新たな抗体の取得を目的として、ヒト抗体ファージライブラリーを用いて、大量スクリーングにより各タンパク質に対するファージ抗体を数十種類取得し、その中から血清の影響の少ない抗体を選別した。

［山越 智、梶川益紀（医学生物学研究所）、橋本ゆき、梅山 隆、名木 稔、中村茂樹、宮﨑義継］

(2) *A. fumigatus* 分泌タンパク質遺伝子欠損株の血清応答

これまでに、分泌タンパク質 Y52、Y69、B11a、B11b、B11c の遺伝子欠損株が、マウス侵襲性肺アスペルギルス症マウスモデルにおいて病原性が低下すること10%の血清を含む寒天培地での培養において37℃では生育に影響はないが、25℃で低下が観察されていた。そこで、今年度は血清を含む液体培養での生育およびバイオフィルム形成への影響について検討した。37℃の 10% FCS-DMEM 液体培養において、Y52、B11a、B11b、B11c の遺伝子欠損株で生育の低下が観察された。一方、Y69 の生育ではほとんど影響が見られなかったが、バイオフィルム形成において著しい低下が見られた。それら分泌タンパク質遺伝子欠損株の

体液中での生育およびバイオフィルム形成の低下が病原性の低下につながる可能性が示唆された。
［犬飼達也、山越　智、梅山　隆、名木　稔、中村茂樹、宮﨑義継］

(3) *A. fumigatus* の増殖制御とバイオフィルムの研究

Aspergillus fumigatus の治療抵抗性の因子に、ヒト体内で慢性的に定着・増殖し、薬剤抵抗性を示す理由のひとつと推測されるバイオフィルム形成が示唆されている。本菌のバイオフィルム形成は、宿主の血清成分に応答して亢進することが知られているがメカニズムは未解明である。このメカニズムの手がかりを得るために、シグナル伝達や細胞外分泌に関与すると予測されるいくつかの遺伝子の破壊株を作製し、これらの株を用いて、血清添加有無の条件でバイオフィルムを形成させ、Crystal violet を用いてバイオマスの定量および XTT assay により抗真菌薬感受性に及ぼす影響を評価した。いくつかの遺伝子破壊株で、血清添加によるバイオフィルム形成の亢進が観察されず、抗真菌薬への感受性低下も抑制された。血清存在下での菌糸生育能に必須な因子が示唆されたため、遺伝子破壊株を手がかりに遺伝子発現をマイクロアレイにより網羅的に解析し、血清応答に関連する因子の探索研究を開始した。
［犬飼達也、梅山　隆、宇田晶彦（獣医科学部）、山越　智、中村茂樹、名木　稔、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予想されているアゾール薬標的の CYP51A には変異を確認できず、それ以外の耐性に寄与する可能性のある遺伝子の変異について逐一検討したが、特定には至らなかった。
［梅山　隆、石川　淳、壇辻百合香、中山靖子、犬飼達也、中村茂樹、山越　智、名木　稔、宮﨑義継］

3.　カンジダ症に関する研究

(1) 薬剤耐性メカニズムとしてのステロール合成・代謝に関連する研究

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。また、ステロール取り込みが活性化する低酸素条件や鉄欠乏条件では *TIR3* の遺伝子発現量が顕著に増加していることを明らかにした。ステロール恒常性維持に関与している転写調節因子である *CgUPC2A* の遺伝子破壊株では *TIR3* の発現量の増加が消失したことから、*TIR3* 発現調節を介したステロール取り込みの活性化に *CgUPC2A* が関与していることが示唆された。
［名木　稔、田辺公一（龍谷大・農学部）、中山浩伸(鈴鹿医療科学大・薬学部)、山越　智、梅山　隆、中村茂樹、宮﨑義継］

(2) *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

C. glabrata の生息する宿主体内環境には多量の鉄結合タンパク質が存在し、菌が利用することのできる遊離鉄の濃度は極めて低い。鉄欠乏応答機構が宿主体内での生育や病原性に重要であるとの仮説の基、網羅的遺伝子発現解析を行った結果、*C. glabrata* では鉄欠乏条件においてマイトファジーに必須な ATG32 の発現量が増加することがわかった。鉄欠乏

環境での生育や病原性におけるマイトファジーの役割を解明することを目的として研究を行った。鉄欠乏培地で野生株および*ATG32*破壊株を長期間(-12日間)培養し、生存率を比較したところ、野生株では12日間培養時点で約 20%程度の生存率を維持していたが、*ATG32*破壊株では4日間で死滅することがわかった。マウス感染実験により、*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明らかとなった。*C. glabrata* のマイトファジーは鉄欠乏条件における生存に必要であり、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(龍谷大・農学部)、山越 智、梅山 隆、中村茂樹、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. *Cryptococcus gattii* に対する樹状細胞ワクチンの感染防御効果持続性に関する検証

我々は高病原性 *Cryptococcus gattii* (*Cg*)に対する樹状細胞 (DC) ワクチンを開発し、このワクチンが感染制御に有効であることを示した（Ueno *et al.*, Infect Immunol, 2015)。これまでの解析では、DCワクチン投与後、直ちに感染実験を実施していたため、このワクチンの持続性は不明であり、どのような記憶免疫が誘導されたかも不明であった。平成27年度の解析では、DCワクチンを投与し、2–7ヶ月経過後に *Cg* を経気道感染または尾静脈感染させた。その結果、どちらの感染モデルにおいても、感染後の生存率や臓器内菌数は有意に改善され、DCワクチンの感染制御効果に持続性があることが明らかになった。DCワクチン投与後にどのような記憶免疫が誘導されているかを検証したところ、ワクチン投与後の非感染状態の肺で組織常在性記憶型 $CD4^+$ T細胞 (Lung CD4 TRM)が有意に増加していることを見出した。現在、Lung CD4 TRMの性状解析を進めるとともに、Lung CD4 TRMがDCワクチンによる感染制御効果に関与しているかを検証している。

［上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、大河内香代、高塚翔吾、清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、宮﨑義継］

2. *Cryptococcus gattii* における莢膜合成の生理学的意義に関する解析

従来、莢膜多糖はクリプトコックス属菌の病原性因子と考えられてきた。しかし、近年、莢膜多糖に依存しない病原性機構も指摘されており、莢膜多糖の生理学的意義については十分に整理されていない。また、*Cryptococcus gattii* (*Cg*)において *Cryptococcus neoformans* (*Cn*)と同様に、莢膜多糖が病原性因子である証拠もない。平成27年度は、遺伝子組換え技術で作製した *CAP60* 遺伝子欠損株 (CAP60Δ)とその相補株 (CAP60C)について、マウス経気道感染実験における病原性を検証した。その結果、CAP60Δの病原性は完全に消失することが確認された。その後の解析で、CAP60Δの生育は、低酸素条件や低栄養条件で障害されることが明らかになった。これは、*Cn* の莢膜欠損株では報告されていない現象である。低酸素・低栄養適応性は、病原性真菌の一般的な病原性因子であることから、CAP60Δの低酸素・低栄養適応障害は低病原性の一因になることが推察された。現在、CAP60Δで低酸素・低栄養適応障害が生じる機序について解析を進めている。

［上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、大河内香代、清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、宮﨑義継］

3. 好中球に発現するLMIR3の機能解析

抑制型受容体 LMIR3 (leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor 3)は好中球の細胞表面に発現し、病原体の刺激で発現が増加する。この発現上昇は、TLR4/MyD88経路依存的である。一方で、LMIR3の発現が好中球機能を制御しているかは不明であった。平成27年度の解析で、LMIR3遺伝子欠損マウスの好中球では、Cyto-ID green DyeやLysotrackerで染色される酸性小胞を有意に多く含むことが明らかになったが、LC3分子のウェスタンブロッ

ト解析では、オートファジーが亢進している証拠を得ることができなかった。上記の染色剤はアズール顆粒も染色する可能性が推察されることから、現在、LMIR3がアズール顆粒の分化を制御するかを検証している。
［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］

4. 新規抗真菌薬の開発研究

カンジダ属菌などによっておこる深在性真菌感染症は、積極的な抗真菌薬治療においても致死率が高いことが問題となる。抗真菌薬の種類が限られていることが要因の一つであることから、新規抗真菌薬の開発が求められている。本研究では、新規抗真菌薬の候補として、S-ニトロソ化蛋白に着目し、カンジダ属 4 菌種及びクリプトコックス属 2 菌種に対する薬剤感受性試験を行った。標準的試験法である CLSI 法に準じて解析を行ったところ、S-ニトロソ化蛋白は解析した 6 菌種全てに対して、抗真菌活性を示した。今後更なる解析を行い、S-ニトロソ化蛋白の抗真菌作用を評価する予定である。
［金城雄樹、酒井 純、仲原真貴子、大河内香代、上野圭吾、異島 優・丸山 徹（熊本大学薬学部）、宮﨑義継］

5. 肺炎を予防する新規ワクチンの開発研究

肺炎は日本人の死因で 3 番目に多い。肺炎球菌はその起炎菌として頻度が高く、小児における髄膜炎などの侵襲性感染症の起炎菌としても重要である。また、肺炎球菌はインフルエンザウイルス感染に続発する細菌性肺炎の原因菌として最も頻度が高く、続発性肺炎球菌感染は重篤化することが多い。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。これまでに肺炎球菌蛋白・糖脂質経鼻ワクチンを接種したマウスでは、血中に抗原特異的 IgG 抗体価の上昇を認め、感染防御効果を認めることを明らかにした。今年度は、現行の結合型多糖体ワクチンに含まれない非ワクチン血清型の菌株に対する感染防御効果を明らかにした。また、インフルエンザ続発性肺炎球菌感染マウスモデルを構築し、本肺炎球菌蛋白・糖脂質経鼻ワクチンがインフルエンザ続発性肺炎球菌感染に対しても防御効果をもたらすことを示唆する結果を得た。これらの結果は、肺炎球菌蛋白・糖脂質ワクチンの有効性を示唆するものである。現在、本ワクチンの有効性及び感染防御効果をもたらす機序について解析を進めている。
［金城雄樹、仲原真貴子、大河内香代、高塚翔吾、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］

6. 侵襲性感染症起炎菌の蛋白抗原の解析

肺炎球菌性肺炎や侵襲性肺炎球菌感染症の病態を明らかにするうえで肺炎球菌の菌学的解析は重要である。本研究では、昨年度に引き続き、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)蛋白の clade 解析を行った。今年度までに、侵襲性肺炎球菌感染症例から分離した 434 株の PspA 蛋白の型を決定した。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が、血清型置換に伴い、PspA 蛋白の型にも変化が生じていることが示唆された。
［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)、宮﨑義継］

7. サイトカイン LECT2 の *Aspergillus fumigatus* 感染における生体防御に関する研究

これまでに、サイトカインLECT2が*A. fumigatus*肺感染において、菌体排除に関与することがLECT2遺伝子欠損マウスの解析により分かっていた。今年度は、炎症性サイトカインの産生等について解析した。その結果、LECT2が肺胞マクロファージの機能に関わることが示唆された。

［山越　智、橋本ゆき、上野圭吾、浦井　誠、梅山　隆、名木　稔、中村茂樹、金城雄樹、宮﨑義継］

III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

1. 感染症治療薬開発に関する研究

(1) 次世代シークエンサーを用いた放線菌プロモーターの検索

感染症治療薬の開発において極めて重要な役割を担う放線菌株のプロモーター配列を網羅的に調査するために、ストレプトマイシン生産菌である *Streptomyces griseus* から抽出した RNA を次世代シークエンサーを用いて解析し、転写開始点を含む約 45 万リード（rRNA に由来するものを除く）を得た。

［石川　淳、大原菜月］

(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/）を前年度に引き続き運用し、年度内に国内外から 18,499 回の利用があり、前年度より 39%増加した。

［石川　淳］

(3) キャンディン系抗真菌化合物の生合成

キャンディン系抗真菌化合物の生合成を明らかにすることを目的とし、これまでに次世代シークエンサーを用いたゲノム解析・ゲノム情報を用いた生合成遺伝子の探索や遺伝子破壊株を用いた解析を行ってきた。本年度は、キャンディン系抗真菌化合物の生合成において、クラスター内に存在するプロリン水酸化酵素が、構造内に存在する 2 つのプロリン骨格の、どこを水酸化しているかを明らかにするために、破壊株の解析を行った。破壊株で生産される化合物は、酸素分子 1 つ小さい化合物であったことから、どちらかの一方のプロリン骨格の水酸化に関与していると示唆された。

［星野泰隆、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、細菌が外界（鉄濃度の低い環境：生体内等）から鉄を獲得し、利用するために生産するキレート化合物であり、病原菌においては病原因子とも言われている。そこで、病原性放線菌ノカルジアにおけるシデロフォアの生産を確認、検討した。その結果、いくつかの種において、菌体内および菌体外生産されているシデロフォアの生産が確認され、それらの単離・精製を行った。

［星野泰隆、石川　淳］

2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) *Aspergillus* のアゾール耐性メカニズムの解明

Aspergillus 属におけるアゾール耐性メカニズムとして、アゾールの標的分子である CYP51 の変異が挙げられる。しかし、CYP51 に変異のない耐性株が、臨床から分離されていることから、CYP51 の変異以外の分子の関与が考えられる。そこで、CYP51 に耐性の変異がない臨床分離株を用いて、CYP51 の変異以外のアゾール耐性に関与する分子の探索を行った。結果、アゾール耐性に関与する領域を明らかにした。

［星野泰隆、石川　淳］

IV. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明と応用に関する研究

プロテインキナーゼ阻害物質の検定

文部科学省新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」化学療法基盤支援活動において、プロテインキナーゼ阻害の検定（II）を担当した。前年度に引き続き、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 146 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 15 サンプルあった。いずれも活性は強くなく、二次評価の必要はないと判断した。アッセイ系 2 では陽性と判定されたものは 2 サンプルあったが、やはり阻害活性はそれほど強くはなく、二次評価は行わなかった。

［福山まり、旦　慎吾・矢守隆夫（癌研）、深澤秀輔］

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に関する相談業務などを行った。平成 27 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 41 件（菌株数：110 件、臨床検体数：45 件、環境検体数：18 件、核酸検体数：2 件、パラフィン検体数：13 件、抗真菌薬感受性試験依頼数：34 件）、ならびに行政検査 5 件の対応にあたった。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、感染症法 5 類全数把握疾患の対象となる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 4 件であった。

［梅山　隆、中村茂樹、中山靖子、壇辻百合香、山越智、橋本ゆき、名木　稔、星野泰隆、浦井　誠、上野圭吾、金城雄樹、宮﨑義継］

品質管理に関する業務

収去検査による抗生物質医薬品の力価試験

今年度の医薬品等一斉監視指導・収去検査（後発医薬品品質確保対策）においては、抗生物質医薬品 2 品目 28 ロット（注射用セフォチアム塩酸塩 20 ロット、ロキシスロマイシン錠 8 ロット）について力価試験を担当し、日本薬局方及び日本薬局方外医薬品規格の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、浦井　誠、福山まり、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、クリプトコックス症およびカンジダ症の診断法と疫学調査に関する技術協力を実施した。

［名木　稔、宮﨑義継］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Ikeda-Dantsuji Y, Ohno H, Tanabe K, Umeyama T, Ueno K, Nagi M, Yamagoe S, Kinjo Y, Miyazaki Y. Interferon-γ promotes phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* but not *Cryptococcus gattii* by murine macrophages. J Infect Chemother. 21(12):831-6, 2015.

2) Ide S, Nakamura S, Yamamoto Y, Kohno Y, Fukuda Y, Ikeda H, Sasaki E, Yanagihara Y, Higashiyama Y, Hashiguchi K, Futsuki Y, Inoue Y, Fukushima K, Suyama N, Kohno S. Epidemiology and Clinical features of pul-

monary nontuberculous mycobacteriosis in Nagasaki, Japan. PLoS One. 10(5):e0128394, 2015.

3) Iwanaga N, Nakamura S, Oshima K, Kajihara T, Takazono T, Izumikawa K, Yanagihara K, Sugawara A, Sunazuka T, Omura S, Kohno S. Macrolides promotes CCL2-mediated macrophage rectuitement and clearance of nasopharyngeal pneumoccoccal colonization in mice..J Infect Dis. 1;212(7):1150-9, 2015.

4) Kajihara T, Nakamura S, Iwanaga N, Oshima K, Takazono T, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno N, Kohno S. Clinical characteristics and risk factors of enterococcal infection in Nagasaki, Japan: a retrospective study. BMC Infect Dis.15:426, 2015.

5) Yoshida H, Seki M, Umeyama T, Urai M, Kinjo Y, Nishi I, Toyokawa M, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Tomono K. Invasive pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus lentulus*: Successful treatment of a liver transplant patient. J Infect Chemother. 21(6):479-81, 2015.

6) Liu C, Tagami K, Minami A, Matsumoto T, Frisvad JC, Suzuki H, Ishikawa J, Gomi K, Oikawa H. Reconstitution of biosynthetic machinery for highly elaborated indole diterpene penitrem. Angew. Chem. 54(19):5748-52, 2015.

7) Asano M, Mizutani M, Nagahara Y, Inagaki K, Kariya T, Masamoto D, Urai M, Kaneko Y, Ohno H, Miyazaki Y, Mizuno M, Ito Y Successful Treatment of *Cryptococcus laurentii* Peritonitis in a Patient on Peritoneal Dialysis. Intern Med. 54(8):941-4, 2015.

8) Ueno K, Kinjo Y, Okubo Y, Aki K, Urai M, Kaneko Y, Shimizu K, Wang D, Okawara A, Nara T, Ohkouchi K, Mizuguchi Y, Kawamoto S, Kamei K, Ohno H, Niki Y, Shibuya K, Miyazaki Y. Dendritic cell-based immunization ameliorates pulmonary infection with highly virulent *Cryptococcus gattii*. Infect Immun. 83(4):1577-86, 2015.

9) 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. 65(6):329-31, 2015.

10) 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(1):23-30, 2015.

11) Okachi S, Wakahara K, Kato D, Umeyama T, Yagi T, Hasegawa Y. Massive mediastinal cryptococcosis in a young immunocompetent patient. Respirol Case Rep. 3(3):95-8, 2015.

12) Takeda K, Imamura Y, Takazono T, Yoshida M, Ide S, Hirano K, Tashiro M, Saijo T, Kosai K, Morinaga Y, Nakamura S, Kurihara S, Tsukamoto M, Miyazaki T, Tashiro T, Kohno S, Yanagihara K, Izumikawa K. The risk factors for developing of chronic pulmonary aspergillosis in nontuberculous mycobacteria patients and clinical characteristics and outcomes in chronic pulmonary aspergillosis patients coinfected with nontuberculous mycobacteria. Med mycol. 54(2):120-7, 2015.

13) Ueno K, Urai M, Ohkouchi K, Miyazaki Y, Kinjo Y. Dendritic cell-based vaccine against fungal infection. Methods Mol Biol. 1403:537-49, 2016.

14) Akahori Y, Miyasaka T, Toyama M, Matsumoto I, Miyahara A, Zong T, Ishii K, Kinjo Y,

Miyazaki Y, Saijo S, Iwakura Y, Kawakami K. Dectin-2-dependent host defense in mice infected with serotype 3 *Streptococcus pneumoniae*. BMC Immunol. 17(1):1, 2016.

15) Urai M, Kaneko Y, Ueno K, Okubo Y, Aizawa T, Fukazawa H, Sugita T, Ohno H, Shibuya K, Kinjo Y, Miyazaki Y. Evasion of innate immune responses by the highly virulent *Cryptococcus gattii* by altering capsule glucuronoxylomannan structure. Front Cell Infec Microbiol. 5:101, 2016.

2. 和文発表

1) 中村茂樹、宮﨑義継. 臨床で注意すべき感染症治療薬の相互作用とメカニズム 抗真菌薬における相互作用. 化学療法の領域. 31(10):104-11, 2015 年.

2) 金城雄樹、金子幸弘、梅山 隆、宮﨑義継. 特集 播種性クリプトコックス症の発生動向, 2014 年第 39 週～2015 年第 37 週; 特集関連情報 クリプトコックス症の概要. IASR. 36(10):185-6, 2015.

3) 中村茂樹. 特集 播種性クリプトコックス症の発生動向, 2014 年第 39 週～2015 年第 37 週; 特集関連情報 クリプトコックス症の治療. IASR. 36(10):191-2, 2015.

4) 梅山 隆、宮﨑義継. 播種性クリプトコックス症の感染症法に基づく届け出について. モダンメディア. 61(7):10-15, 2015 年.

5) 中村茂樹、宮﨑義継. 真菌の耐性化と治療戦略の変化—最新の疫学知見から—. 感染と抗菌薬. 18(2):178-85, 2015 年.

6) 金城雄樹. クリプトコックス症. 日本公衆衛生協会. 第 3 版, 2015 年.

7) 梅山 隆、宮﨑義継. アスペルギルス症の問題点と *Aspergillus fumigatus* 関連菌種. 医薬ジャーナル. 51(6):103-7, 2015 年.

8) 金城雄樹、田辺公一、上野圭吾、北野尚樹、名木 稔、浦井 誠、星野泰隆、梅山 隆、山越 智、宮﨑義継. 侵襲性カンジダ感染症の発症、炎症反応および薬剤耐性に関する基盤的研究. 化学療法の領域. 31(5):113-9, 2015 年.

9) 掛屋 弘、金子幸弘、宮﨑義継. 本症例の疑問点から研究的考察へ. 感染症学雑誌. 第 89 巻第 3 号付録, 19-20, 2015 年.

10) 堀内一宏、掛屋 弘、金子幸弘、宮﨑義継. 健常人に生じ、治療に難渋した肺クリプトコックス症を合併した脳クリプトコックス症. 感染症学雑誌. 第 89 巻第 3 号付録.15-20, 2015 年.

11) 中村茂樹、宮﨑義継. 重要な真菌症の臨床～治療を中心として～アスペルギルス症. 臨床と微生物. 43(1):45-51, 2016 年.

12) 東 祥嗣、中村茂樹、朝野寛視、井手昇太郎、高園貴弘、宮崎泰可、泉川公一、柳原克紀、山本善裕、河野 茂. キャピリア MAC 抗体検査の精度評価と患者背景の臨床的検討. 結核. 91(2):27-32, 2016 年.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kinjo Y, Nakahara M, Mizuguchi Y, Izawa Y, Kitano N, Ohkouchi K, Ueno K, Piao Z, Akeda Y, Miyazaki Y, Oishi K. NKT cell mediated protection against pneumococcal infection. CD1-MR1. November 15-19, 2015,Australia.

2) Nakamura S, Takazono T, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno S. 55th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. September 17-21, 2015,San Diego, USA.

3) Nakamura S, Oshima K, Iwanaga N, Kajihara T, Takemoto K, Takazono T, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno S. Effi-

cacy of high dose meropenem (6g/day) in the treatment of experimental murine pneumonia induced by the meropenem resistant *Pseudomonas aeruginosa*. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. April 25-28, 2015, Copenhagen, Denmark.

2. 国内学会等

1) 宮﨑義継. 真菌. 結核・真菌コース (大阪市大医学部)、4 月 28 日、2015 年、大阪.
2) 中村茂樹、岩永直樹、宮崎泰可、関 雅文、泉川公一、柳原克紀、宮﨑義継、河野 茂. 自然免疫賦活薬による緑膿菌慢性気道感染症に対する新規治療法開発への試み～動物モデルを用いた検討～. 第 64 回日本感染症学会東日本地方会、10 月 21-23 日、2015 年、札幌.
3) 上野圭吾、金城雄樹、金子幸弘、大野秀明、亀井克彦、二木芳人、宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* を制御する樹状細胞療法はサイトカイン産生 CD4 細胞を誘導する. 第 63 回日本化学療法学会総会、6 月 4-6 日、2015 年、東京.
4) 金城雄樹、金子幸弘、上野圭吾、川上和義、二木芳人、大石和徳、宮﨑義継. 肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチン効果の基礎的解析. 第 63 回日本化学療法学会総会、6 月 4-6 日、2015 年、東京.
5) 中村茂樹. MRSA 感染症の最近の話題. 第 63 回日本化学療法学会総会、6 月 4-6 日、2015 年、東京.化学療法学会総会、6 月 4-6 日、2015 年、東京.
6) 名木 稔、田辺公一、犬飼達也、梅山 隆、山越 智、大野秀明、宮﨑義継. *Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込みが抗真菌薬感受性、病原性に及ぼす影響. 第 63 回日本化学療法学会総会、6 月 4-6 日、2015 年、東京.
7) 犬飼達也、梅山 隆、山越 智、田辺公一、名木 稔、大野秀明、宮﨑義継. 病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* のプロテインキナーゼ AUK4 破壊株の菌糸成長・バイオフィルム形成・抗真菌薬感受性に及ぼす影響. 第 63 回日本化学療法学会総会、6 月 4-6 日、2015 年、東京.
8) 犬飼達也、梅山 隆、山越 智、田辺公一、名木 稔、大野秀明、宮﨑義継. 病原糸状菌 *Aspergillus fumigatus* のプロテインキナーゼ AUK4 破壊株の菌糸成長・バイオフィルム形成に及ぼす影響. 第 36 回関東医真菌懇話会、6 月 27 日、2015 年、東京.
9) 上野圭吾、浦井 誠、水口裕紀、大河内香代、宮﨑義継、金城雄樹. 病原性真菌 *Cryptococcus gattii* に対する樹状細胞ワクチンとその感染制御作用-ワクチンで誘導される Th1/Th17 応答と多核巨細胞の形成について–. 第 26 回日本生体防御学会総会、7 月 10-12 日、2015 年、東京.
10) 仲原真貴子、水口裕紀、上野圭吾、浦井 誠、川上和義、竹山春子、宮﨑義継、大石和徳、金城雄樹. 糖脂質アジュバントを含む肺炎球菌ワクチンの感染防御効果解析. 第 26 回日本生体防御学会総会、7 月 10-12 日、2015 年、東京.
11) 金城雄樹. 糖脂質によるアジュバント作用を活かした肺炎球菌ワクチン開発. 第 34 回日本糖質学会総会、7 月 31 日-8 月 2 日、2015 年、東京.
12) 中村茂樹. 動物実験モデルを用いたマクロライド作用の解析. 第 22 回マクロライド新作用研究会、7 月 17-18 日、2015 年、東京.
13) 金城雄樹. 糖脂質による NKT 細胞活性化を介した肺炎球菌感染防御. Glyco-Immunology、8 月 19-20 日、2015 年、東京.
14) 仲原真貴子、水口裕紀、上野圭吾、浦井 誠、大河内香代、明田幸宏、小野寺大志、高橋宜聖、竹山春子、宮﨑義継、大石和徳、金城雄

樹. 肺炎球菌蛋白・糖脂質併用ワクチンの感染防御効果解析. 第 4 回感染症若手フォーラム、9 月 6-8 日、2015 年、兵庫.

15) 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. 第 30 回日本放線菌学会大会、9 月 7-8 日、2015 年、富山.

16) 稲田晋宣、Yosi Nindita、曹　志生、田上道平、Alexander Lezhava、志波　優、吉川博文、石川　淳、木梨陽康、荒川賢治. *Streptomyces rochei* 7434AN4 株の線状ゲノムの全塩基配列決定. 第 30 回日本放線菌学会大会、9 月 7-8 日、2015 年、富山.

17) 南　篤志、劉　成偉、田上紘一、松本知之、Jens Christian Frisvadc、鈴木秀幸、石川　淳、五味勝也、及川英秋. 麹菌異種発現系を利用したペニトレム生合成マシナリーの解明. 第 57 回 天然有機化合物討論会、9 月 9-11 日、2015 年、横浜.

18) 宮﨑義継. 感染症対策について-院内感染防止対策と感染に関する医療安全について. 医療安全講習会 (長崎県五島中央病院)、9 月 11 日、2015 年、長崎.

19) 宮﨑義継. 侵襲性真菌感染症. 感染症学講義 (富山大学医学部)、10 月 2 日、2015 年、富山.

20) 上野圭吾、金城雄樹、浦井　誠、大久保陽一郎、清水公徳、金子幸弘、亀井克彦、大野秀明、二木芳人、澁谷和俊、宮﨑義継. 樹状細胞ワクチンを用いた高病原性 *Cryptococcus gattii* に対する感染制御機構の解析. 第 59 回日本医真菌学会総会、10 月 9-10 日、2015 年、札幌.

21) 梅山　隆、中村茂樹、山越　智、名木　稔、壇辻百合香、中山靖子、浦井　誠、金城雄樹、上野圭吾、星野泰隆、宮﨑義継. 治療薬選択に必要な真菌の菌種同定. 第 59 回 日本医真菌学会総会、10 月 9-10 日、2015 年、札幌.

22) 犬飼達也、梅山　隆、山越　智、中村茂樹、名木　稔、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* AUK4 の細胞接着およびバイオフィルム形成に及ぼす影響. 第 59 回 日本医真菌学会総会、10 月 9-10 日、2015 年、札幌.

23) 名木　稔、田辺公一、中山浩伸、犬飼達也、梅山　隆、山越　智、中村茂樹、大野秀明、宮﨑義継. カンジダ属の薬剤耐性の現状と課題. 第 59 回 日本医真菌学会総会、10 月 9-10 日、2015 年、札幌.

24) 名木　稔、田辺公一、犬飼達也、中山浩伸、梅山　隆、山越　智、大野秀明、宮﨑義継. *Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込みが抗真菌薬感受性・病原性に及ぼす影響. 第 59 回日本医真菌学会総会、10 月 9-10 日、2015 年、札幌.

25) 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. 日本生物工学会 2015 年大会、10 月 26-28 日、2015 年、鹿児島.

26) 宮﨑義継. 侵襲性真菌感染症の概要. 感染症意見交換会 (国立感染症研究所)、10 月 26 日、2015 年、東京.

27) 宮﨑義継. 侵襲性真菌症について. 医師卒後臨床研修 (国立感染症研究所)、10 月 27 日、2015 年、東京.

28) 宮﨑義継、中村茂樹、金城雄樹、名木　稔、山越　智、梅山　隆. 院内感染症としてのカンジダ症. 感染症対策セミナー (埼玉医科大学国際医療センター)、11 月 6 日、2015 年、埼玉.

29) 宮﨑義継. 真菌と真菌症,感染系講義 (長崎大学医学部)、11 月 13 日、2015 年、長崎.

30) 宮﨑義継. 肺炎について; 肺炎球菌ワクチンを含めて (新宿区高齢者学級)、11 月 27 日、2015 年、東京.

31) 中村茂樹. 御存知ですか?誤嚥性肺炎のこと. (新宿区高齢者学級)、11 月 27 日、2015 年、東京.

32) 宮﨑義継、中村茂樹、浦井　誠、名木　稔、山越　智、梅山　隆、上野圭吾、金城雄樹.　クリプトコックス・ガッティ感染症, 日本臨床検査医学会東北支部例会 (仙台 TKP カンファランスセンター)、1 月 16 日、2016 年、仙台.

33) 宮﨑義継、梅山　隆、中村茂樹、名木　稔、星野泰隆、壇辻百合香、中山靖子、浦井　誠、上野圭吾、金城雄樹、山越　智. 感染症法に規定されている病原真菌とその対策. 第 27 回日本臨床微生物学会総会、1 月 29-31 日、2016 年、仙台.

34) 中村茂樹、名木　稔、梅山　隆、山越　智、宮﨑義継. 国立感染症研究所としての真菌検査の役割. 第 27 回日本臨床微生物学会総会、1 月 29-31 日、2016 年、仙台.

35) 壇辻百合香、星野泰隆、梅山　隆、中村茂樹、中山靖子、浦井　誠、名木　稔、山越　智、上野圭吾、金城雄樹、宮﨑義継. 真菌遺伝子検査標準化に向けた PCR 法の検出感度の検討. 第 27 回日本臨床微生物学会総会、1 月 29-31 日、2016 年、仙台.

36) 中村茂樹. Looking Back, Dreaming up シンポジウム: Dreaming up the Next. 第 50 回 緑膿菌感染症研究会. 2 月 4-6 日、2016 年、東京.

37) 宮﨑義継. わが国に多い侵襲性真菌症の治療と展望. 第 119 回 沖縄臨床血液研究会 (沖縄医師会館)、2 月 19 日、2016 年、沖縄.

38) 上野圭吾、金子幸弘、金城雄樹. 肺真菌症に対する樹状細胞ワクチン: 肺で誘導される記憶型 T 細胞の解析. 第 89 回 日本細菌学会総会. 3 月 23-25 日、2016 年、大阪.

39) 中村茂樹. インフルエンザ感染後の二次性肺炎球菌性肺炎の発症メカニズム～肺炎球菌の鼻咽頭定着を中心とした解析～. 第 89 回 日本細菌学会総会. 3 月 23-25 日、2016 年、大阪.

40) 仲原真貴子、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・糖脂質経鼻ワクチンによる肺炎球菌感染防御機構の解析. 第 89 回 日本細菌学会総会. 3 月 23-25 日、2016 年、大阪.

41) 宮武　浩、朴　貞玉、西川隆顕、井上雄嗣、生田和良、古泉ゆか、明田幸宏、金城雄樹、大石和徳.肺炎球菌表層タンパク質 A（PspA）を用いた肺炎球菌ワクチンの開発.第 89 回 日本細菌学会総会. 3 月 23-25 日、2016 年、大阪.

42) 春日　和、佐羽内彩香、牟田口祐太、志村洋一郎、石川　淳、池田治生、小嶋郁夫. 放線菌 *Streptomyces avermitilis* におけるセルラーゼ遺伝子発現と avermectin 生産. 日本農芸化学会 2016 年度大会. 3 月 27-30 日、2016 年、札幌.

１０．細胞化学部

部長　花田　賢太郎

概　要

細胞化学部の設置目的は､「感染症その他の特定疾病に関する細胞化学的及び細胞生物学的研究に関することをつかさどる」ことであり、細菌、ウイルス、プリオン等病原体の感染増殖に関わる宿主細胞の分子や機能を生化学、細胞生物学、遺伝学を中心とした手法を用いて解明し、感染症対策に資する知見や材料を世の中に提供している。また、伝達性海綿状脳症（TSE）検査に関する調査・研究も行っている。

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、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。感染症対策に資する細胞の改良・開発研究にも着手した。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、ゲノム編集技術などを用いて正常型プリオン蛋白質（PrP^C）の産生量および時期を調節することが可能なヒト由来培養細胞株を樹立した。本邦の BSE スクリーニング検査検査キットが、C-、L-、H-のいずれのタイプの罹患ウシの摘発にも有効である科学的エビデンスを示した。

C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に Occludin が必須の因子であることを Occludin ノックアウト肝細胞株を用いた解析を通じて明らかにした。そして、Occludin が抗 HCV 創薬の標的になり得る可能性を考え、Occludin の細胞外ドメインに対して高親和性を有するモノクローナル抗体を複数樹立した。その他にも、宿主細胞の脂質が B 型肝炎ウイルス（HBV）の感染増殖に果たす役割の一部を明らかにした。

ヒト・パピロマウイルス（HPV）16 エピソームの維持に関わる宿主因子の探索のため、HPV16 エピソームを保持する U2OS 細胞に siRNA ライブラリを導入し、エピソーム量の変化を指標としたスクリーニングを行ったところ、エピソーム量を増加あるいは減少させる siRNA を複数見出した。さらに、HPV16-P670 プロモータの制御に関わる宿主因子の探索系も開発しつつある。一方で、小胞体-ゴルジ体間のセラミド輸送を担うタンパク質 CERT を完全欠失させた HeLa 細胞変異株を用いた解析などから、宿主細胞の CERT は偏性細胞内寄生細菌クラミジアトラコマティスの増殖に不可欠な因子であることを明確にした。

当部では、哺乳動物培養細胞を用いた研究に発展著しいゲノム編集技術を含む新しい遺伝学的手法を積極的に取り入れており、細菌由来毒素への耐性を付与するヒト細胞遺伝子欠損を CRISPR ライブラリを用いてゲノムワイドで探索する研究も着々と進行しつつある。

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。当部では、多施設共同研究として Vero 細胞のゲノム配列を決定し、昨年度発表した。本年度は、遺伝学的改変によってフラビウイルス産生能を高めた Vero 細胞を作製するための準備として、4 種の Vero 細胞亜株（Vero 76、JCRB9013 Vero、JCRB0111 Vero、Vero C1008）について、フラビウイルスの一種、日本脳炎ウイルス（Nakayama 株）の産生能を比較し、遺伝学的改変の親株としては Vero 76 株が適していると考えられる結果を得た。

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。

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。昨年度に引き続き、ヒト由来の株化培養細胞を用いて効率良くウシ海綿状脳症（BSE）プリオンを増殖・検出する系の開発を目指し、検討を行った。まず、正常型プリオン蛋白質（PrP^C）の産生量および時期を調節することが可能な培養細胞株を樹立した。さらにこれらの細胞を用いた感染実験を行い、プリオン感染性評価が可能であるか検討を継続中である。［中村優子、萩原健一、花田賢太郎］

（２）カニクイザルへ伝播後の BSE プリオンに関する研究

従来型 BSE プリオン（C-BSE プリオン）および非定型 L-BSE プリオンを脳内接種により伝播させたカニクイザルについて、昨年度に引き続き感染研・感染病理部、医薬基盤・健康・栄養研究所（医薬健栄研）、千葉科学大学と協力して、ヒト・プリオン病の霊長類モデルとしての観点からの解析を行った。さらに、接種材のウシ脳組織および伝播ザルの脳組織に由来する C-／L-BSE プリオンの異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）について、蛋白質化学上の特質の興味深い相違点を新たに見出した。この点の詳しい分析を進めている。[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（医薬健栄研）]

（３）BSE 迅速 ELISA キットの有効性の評価試験

本邦の BSE スクリーニング検査検査キットが、C-BSE 罹患ウシのみならず非定型 L-BSE 罹患ウシの摘発にも有効であることを昨年度に示した。本年度は、非定型 H-BSE 罹患ウシ（国内農場での発生例は無い）に対しても検査キットが有効であることを検証するため、（独）動物衛生研究所との共同研究を行った。その結果、昨年度の成果と合わせて、検査キットが C-、L-、H-のいずれのタイプの BSE 罹患ウシの摘発にも有効であると結論された。[萩原健一、花田賢太郎；飛梅実（感染病理部）；岩丸祥史、多辺田奈保子（動衛研）]

（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。経過を観察中である。[萩原健一；柴田宏昭（医薬健栄研）；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）Occludin ノックアウトヒト肝細胞株の樹立と性状解析

Occludin は C 型肝炎ウイルス（HCV）の侵入過程に関わる因子として知られているが、本因子が感染に必須であるかは最終結論が得られていなかった。そこで、我々は、CRISPR/Cas9 系を用いたゲノム編集技術により、ヒト肝培養細胞より Occludin ノックアウト細胞の作製を行った。複数の Occludin ノックアウト細胞が得られ、これら細胞株では HCV 感染が完全に欠損していること、本細胞株に Occludin を発現させると HCV 感受性が完全に回復することから、Occludin が HCV 感染に必須の因子であることの最終確認が出来た。[深澤征義、白砂圭崇、清水芳実、谷田以誠、花田賢太郎；鈴木亮介、脇田隆宇（ウイルス２部）；鈴木哲朗（浜松医大）]

（２）Occludin の細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体の作製

Occludin ノックアウト肝細胞株を用いた解析を通じて、HCV 感染に Occludin が必須の因子であることを示してきた。以上の結果から Occludin が抗 HCV 創薬の標的になり得る可能性を考え、Occludin の細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体の作製を試みた。方法は、これまでに抗 Claudin-1 モノクローナル抗体の作製に成功した方法と同様の方法を用いた。すなわち、DNA 免疫法、そして、樹立した Occludin ノックアウト肝細胞株をスクリーニング系に用いることで、4 種のラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体の樹立に成功した。[深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、花田賢太郎；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬）]

（３）樹立した抗 Occludin モノクロ-ナル抗体の性状解析

4 種のラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体の性状解析を行った結果、4 種類のうち 3 種類は第 1 細胞外ドメインを、1 種類は第 2 細胞外ドメインを認識する抗体であることがわかった。さらに第 2 細胞外ドメインを認識する 1 種は、ヒト、サルのみならず、マウスやラットの Occludin も認識できることがわかった。抗体のアプリケーションとしては、全ての抗体で、FACS、cell ELISA、免疫染色、免疫沈降実験に利用できることがわかった。cell ELISA の検討から、全ての抗体は、Occludin に対してみかけの Kd 値が nM オーダー以下と、非常に高い親和性を示すことも明らかとなった。[深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、花田賢太郎；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬）]

（４）B 型肝炎ウイルス感染培養細胞系を用いた解析

HBV 感染細胞系を用いて、HBV 感染により発現変動する遺伝子をマイクロアレイ解析により検討し、多数の変動遺伝子を同定した。この中で、特に脂質関連代謝系に注目して検討を進めている。さらに、HBV 感染細胞系を用いて各種脂質関連化合物の影響を検討した結果、lathosterol や高度不飽和脂肪酸により HBV 産生が抑制されることを見出した。[深澤征義、花田賢太郎；渡士幸一、脇田隆宇（ウイルス２部）；田中靖人（名市大）]

（５）HCV NS4B 蛋白質の細胞内分布の解析

これまでに、HCV NS4B 蛋白質を単独で細胞に発現させると、ミトコンドリア外膜蛋白質 TOMM20 との共局在が観察されていた。この現象が HCV 感染細胞内でも起こっているかを調べるため、感染細胞内での両蛋白質の分布を調べた。NS4B 蛋白質の多くは TOMM20 とは分布が一致しなかったが、感染中～後期に一部共局在が観察されており、解析を継続している。[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎]

III. 感染症に関わる宿主細胞因子の遺伝学的研究

（1）CRISPR ライブラリを用いた志賀毒素関連因子探索のためのゲノムワイドスクリーニング

志賀毒素（ベロ毒素）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。レンチウイルス CRISPR ライブラリを用いて、遺伝子破壊により志賀毒素に耐性を示す遺伝子の探索を行った。その結果Gb3 生合成に関与することが知られているほぼ全ての遺伝子がコントロールと比較し濃縮されていた。また細胞内輸送に関与する因子群も耐性遺伝子候補として同定された。[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)]

（2）CRISPR ライブラリを用いた Subtilase cytotoxin 関連因子探索のためのゲノムワイドスクリーニング

志賀毒素の他に腸管出血性大腸菌により産生される毒素として Subtilase cytotoxin（SubAB）が知られている。SubAB はシアロ糖鎖を受容体として細胞内に侵入し、細胞死を引き起こす。この細胞死に対し上記の CRISPR ライブラリを用いて、遺伝子破壊により耐性を示す遺伝子の探索を行った。その結果受容体であるシアロ糖鎖関連因子の他、複数の細胞内輸送関連因子が同定された。[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）；八尋錦之助（千葉大・医)]

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 315 番目のセリン残基（CERT S315）がリン酸化されると、小胞体膜タンパク質 VAP との結合が強まり、結果として、スフィンゴミエリン生合成を促進する。我々はこれまでに、発現を抑制することによって CERT S315 のリン酸化が上昇するキナーゼを見出していた。当該キナーゼの発現抑制は細胞にある種のストレス状態をもたらすと予想されたので、そのようなストレス条件下での CERT S315 のリン酸化を検討したところ、リン酸化が顕著に亢進していることを見出した。[熊谷圭悟、花田賢太郎]

（2）CERT 欠損細胞におけるクラミジアトラコマティスの増殖性の検討

クラミジアトラコマティスは宿主細胞内で増殖する偏性細胞内寄生細菌であり、CERT をはじめとする各種スフィンゴ脂質代謝関連因子をハイジャックすることにより、宿主のスフィンゴ脂質を利用しながら増殖する。本年度は､CERT 欠損 HeLa 細胞におけるクラミジアトラコマティスの増殖について検討した。CERT を欠損した細胞では菌の増殖が著しく低下していたが、この細胞に CERT の cDNA を戻すと、菌の増殖が回復した。CERT はクラミジアの増殖に不可欠な因子であることが確認された。[熊谷圭悟、山地俊之、花田賢太郎；安藤秀二（ウイルス 1 部)]

（3）CERS2 遺伝子ノックアウト細胞株の解析

遺伝子編集法を用いて樹立したセラミド合成酵素 2（CERS2）遺伝子変異株に関して、スフィンゴ脂質代謝の解析を行った。スフィンゴミエリンと比較し糖脂質グルコシルセラミドのほうが極長鎖脂肪酸含有セラミドをより選択的に使用することが示唆され、その選択性はセラミド輸送タンパク CERT を破壊しても維持された。一方 Brefeldin A 処理により、その選択性は低下したことより、グルコシルセラミド合成酵素と基質であるセラミドの Accessibility がセラミド分子種の選択性に影響することが示唆された。[山地俊之、花田賢太郎]

V. 感染症対策に資する培養細胞の開発研究

（1）HPV16 ウイルス増殖に関わる宿主因子の探索

HPV16-P670 プロモータの制御に関わる宿主因子の探索のため、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を保持した U2OS 細胞にヒト角化細胞 cDNA 発現ライブラリを導入し、薬剤耐性を指標にしたスクリーニングを行ったところ 68 の陽性クローンを取得した。また、HPV16 エピソームの維持に関わる宿主因子の探索のため、HPV16 エピソームを保持する U2OS 細胞に siRNA ライブラリを導入し、エピソーム量の変化を指標としたスクリーニングを行ったところ、エピソーム量を増加あるいは減少させる siRNA を複数見出した。[前濱朝彦、花田賢太郎；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター)]

（2）Vero 細胞亜株間での日本脳炎ウイルス（JEV）産生能の比較

遺伝学的改変によってフラビウイルス産生能を高めた Vero 細胞を作製するための準備として、4 種の Vero 細胞

亜株（Vero 76、JCRB9013 Vero、JCRB0111 Vero、Vero C1008）について、フラビウイルスの一種、JEV （Nakayama 株）の産生能を比較した。C1008 株以外の 3 株では感染性粒子の産生量に大きな差はなかったが、C1008 株は他株の 1/10 程度であった。プラーク形成能についても比較したところ、76、9013、0111 株では明瞭なプラークが観察されたが、C1008 株ではプラークがほとんど観察されなかった。さらに、76 株が安定して大きなプラークを形成する傾向が認められた。以上の結果から、遺伝学的改変の親株としては Vero 76 株が適しているものと考えられた。［齊藤恭子、山地俊之、深澤征義、花田賢太郎；鈴木亮介（ウイルス 2 部）；小原有弘（医薬基盤研）］

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 を起点とした核小体ストレス応答を担う分子の一つであるリボソームタンパク質 L11 の発現阻害を行った場合に PICT1 が増加することを見出した。この時 PICT1 の合成、分解、および mRNA 量に変化は起こらないことから、L11 結合性の PICT1 安定化因子の存在が示唆された。また PICT1 の機能解析や阻害薬開発に不可欠となる全長 PICT1 のリコンビナント体の調製法を確立した。［前濱朝彦、花田賢太郎；鈴木聡（九州大）］

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イ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２７年１１月～平成２８年３月。18 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年度から毎年実施しており、本年度を以て、対象とした全国の検査所を一巡した。［萩原健一、中村優子、花田賢太郎；飛梅実、長谷川秀樹（感染病理部）］

（２）TSE 行政検査（ウエスタンブロット法による確認検査）業務の担当

TSE 行政検査の依頼検体の受け入れを通年維持した。また、試薬等の品質の適正管理、検査手技の維持を目的として、BSE 陽性ウシおよび陰性ウシの標準試料を模擬検体とする内部精度管理を行い、検査手技と試薬等が適正に管理されていることを確認した（平成２７年９月、平成２８年３月実施）。なお、試薬類の１品がメーカーの生産終了となったため代替品の比較検討を行い、従前と同等の感度が得られる代替品を選定した（平成２７年８月実施）。以上のデータを厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課へ報告した。［萩原健一、中村優子］

品質管理に関する業務

Ⅰ．検定検査業務における内部監査

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 27 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、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。細胞化学部長は平成 24 年度から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い、最長４年間任期の当委員長活動を所内関係者の理解と協力によって全うすることができた。［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、品質保証・管理部、総務部業務管理課］

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’ 2015.10.26［萩原健一］

‘試験研究機関の QMS について’2015.10.26［花田賢太郎］

（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’2015.6.11［花田賢太郎］

（３）検定検査業務継続者講習会の講師

‘ISO 17025 と内部監査および検定検査業務自己点検表について’ 2016.1.20［花田賢太郎］

その他

（１）（独）医薬品医療機器総合機構　平成 27 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）食品安全委員会プリオン専門調査会　専門委員［中村優子］

（４）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）および トリプル四重極リニアイオントラップ型質量分析機（3200QTRAP）の保守・運用を行い、また、適切な節電対策を講じた。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、齊藤恭子、花田賢太郎］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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., 56, 644-652, 2015

2) 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, 43, 153-157, 2015

3) Sawada, K., Tomoya T., Hamajima, H., Jayakody, L.N., Hirata, M., Yamashiro, M., Tajima, M., Mitsutake, S., Nagao, K., Tsuge, K., Abe, F., Hanada, K., and Kitagaki, H.: Glucosylceramide contained in mold-cultured cereal confers membrane and flavor modification and stress tolerance to yeast during co-culture fermentation, Appl. Environ. Microbiol., 81, 3688-3698, 2015

4) Tanida, I., Shirasago, Y., Suzuki, R., Abe, R., Wakita, T., Hanada, K., Fukasawa, M.: Inhibitory Effects of Caffeic Acid, a Coffee-Related Organic Acid, on the Propagation of Hepatitis C Virus. Jpn. J. Infect. Dis., 68, 268-275, 2015

5) 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., 89, 4866-4879, 2015

6) 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., 353, 112-118, 2015

7) Nakajima, M., Nagase, S., Iida, M., Takeda, S., Yamashita, M., Watari, A., Shirasago, Y., Fukasawa, M., Takeda, H., Sawasaki, T., Yagi K., Kondoh, M.: Claudin-1 binder enhances epidermal permeability in a human keratinocyte model. J. Pharmacol. Exp. Ther., 354, 440-447, 2015

8) Shirasago, Y., Shimizu, Y., Tanida, I., Suzuki, T., Suzuki, R., Sugiyama, K., Wakita, T., Hanada, K., Yagi, K., Kondoh, M., Fukasawa, M.: Occludin-Knockout Human Hepatic Huh7.5.1-8-Derived Cells Are Completely Resistant to Hepatitis C Virus Infection. Biol. Pharm. Bull., in press

9) Hanada, K., Sugiki, T.: *In vitro* assay to extract specific lipid types from phospholipid membranes using lipid-transfer proteins: a lesson from the ceramide transport protein CERT, Neuromethods, in press

2. 和文発表

1) 花田賢太郎 : オルガネラ膜接触部位は狭さを活用するナノ機能場：オルガネラ間脂質輸送タンパク質からみえてきたこと、実験医学、33, 2560-2566, 2015

2) 深澤征義：宿主侵入因子 Claudin-1 を標的とした抗 C 型肝炎ウイルス戦略、ウイルス、65、245-254、2015

3) 深澤征義 : C 型肝炎は治る時代に～これまでの進歩と今後の課題～、理大 科学フォーラム、381、22-27, 2016

4) 齊藤恭子、深澤征義 : 宿主細胞コレステロール生合成系を標的とした C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス戦略、生化学、in press

5) 前濱朝彦、鈴木聡 : PTEN、日本臨牀、73（増刊号 6）、285-290、2015

6) 前濱朝彦、鈴木聡：PTEN:脂質ホスファターゼとしての機能と発がんへの関与、実験医学、33（増刊号 15）、157-163、2015

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hanada K: Host sphingolipid-transfer proteins and infectious diseases, 2015 International Ceramide Conference/Sphingolipid Club (iCC/SLC) Joint Meeting, 2015.5.6-10, Izmir, Turk.

2) Hanada, K., Yamaji, T., and Kumagai, K,: *Chlamydia*

hijacking of the host cell CERT,, 10th Sphingotherapy conference, 2015.6.16-18, Kaga, Japan.

3) Hanada K: Phosphoregulation of lipid-transfer proteins: A lesson from the ceramide transfer protein CERT, 56th International Conference on the Bioscience of Lipids, 2015.9.22-26, Puerto Iguazu, Argentina.

4) Hanada K: Phosphoregulation of the ceramide transport protein CERT: from biochemistry to genetic disease, SPHINGONETs Colloquium “New Frontiers in Membrane Biology”, 2016.1.27-29, Amsterdam, Netherlands.

5) Fukasawa, M., Shimizu, Y., Shirasago, Y., Watashi, K., Tanaka, Y., Wakita, T., Kondoh, M., Yagi, K., Hanada, K.: Inhibition of hepatitis B virus infection by docosahexaenoic acid in cultured cells, 2015 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses, 2015.10.4-8, Bad Nauheim, Germany

6) Shirasago, Y., Shimizu, Y., Tanida, I., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Yagi, K., Kondoh, M., Fukasawa, M.: Establishment and characterization of occludin knock-out human hepatic Huh7.5.1, The 22th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2015.10.12, Strasbourg, France

7) Shimizu, Y., Shirasago, Y., Kondoh, M., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Yagi, K., Fukasawa, M.: Inhibition of hepatitis C virus infection by anti-occludin monoclonal antibodies, The 22th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2015.10.12, Strasbourg, France

8) Ito, M., Fukasawa, M., Kohara, M., Suzuki, T.: Lipidomic analysis of the livers in HCV-infected humanized mice by imaging mass spectrometry, The 22th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2015.10.9-13, Strasbourg, France

9) Fukasawa, M., Shimizu, Y., Shirasago, Y., Suzuki, T., Wakita, T., Hanada, K., Yagi, K., Kondoh, M .: Prevention of Hepatitis C virus infection by monoclonal antibodies against occludin, HEP DART 2015 frontiers in drug development for viral hepatitis, 2015.12.8, Hawaii, USA

2. 国内学会

1) Hanada, K. : Intracellular pathogens hijack host sphingolipid-transfer proteins to create parasitophorous membrane fields, 第67回日本細胞生物学大会、2015.6.30-7.2、東京.

2) 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：宿主細胞のスフィンゴミエリンは風疹ウイルスの感染において重要な役割を有する、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、2015.11.22-24、福岡.

3) Hanada, K : Lipid trafficking at organelle membrane contact sites and its regulation, BMB2015, 2015.12.1-4、神戸.

4) 花田賢太郎 : Vero細胞基材の品質管理に資する基盤研究、バイオロジクスフォーラム第13回学術集会、2016.2.29、東京

5) 齊藤恭子、白砂圭崇、鈴木哲朗、相崎英樹、花田賢太郎、脇田隆字、西島正弘、深澤征義：スクアレン合成酵素阻害剤のC型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス効果について、 第57回日本脂質生化学会、2015.5.28-29、東京

6) 深澤征義、白砂圭崇、長瀬翔太朗、飯田愛未、山下真代、八木清仁、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、近藤昌夫:Claudin-1 を標的とした抗 HCV 創薬の可能性に関する検討、第 22 回肝細胞研究会、2015.6.4-5、鳥取

7) 白砂圭崇、清水芳実、谷田以誠、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、近藤昌夫、八木清仁、深澤征義：ヒト肝臓由来培養細胞株からの Occludin ノックアウト細胞株の樹立と本細胞株を用いた HCV 感染の解析、第 22 回肝細胞研究会、2015.6.4-5、鳥取

8) 白砂圭崇、深澤征義、長瀬翔太朗、飯田愛未、山下真代、八木清仁、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、近藤昌夫 : Claudin-1を介したC型肝炎ウイルス感染の検討、第67回日本細胞生物学会大会、2015.6.30-7.2、東京

9) 中嶋美咲、山下真代、渡利彰浩、深澤征義、八木清仁、近藤昌夫：Claudin-1 を標的とした経皮吸収促進の可能性、第 31 回日本 DDS 学会学術集会、2015.7.2-3、東京

10) 清水芳実、白砂圭崇、近藤昌夫、八木清仁、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、深澤征義：C 型肝炎ウイルス感染阻害活性を有する Occludin 抗体の樹立と性状解析、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、2015.11.22-24、福岡

11) Ohashi, H., Watashi, K., Nakajima, S., Kim, S., Suzuki, R., Aizaki, H., Fukasawa, M., Kamisuki, S., Sugawara, F., Ohtani, N., Wakita, T. : Flutamide-mediated Disruption of Lipid Droplets Impairs the Host Permissiveness to

Hepatitis C Virus Production、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、2015.11.22-24、福岡

12) Ito, M., Fukasawa, M., Kohara, M., Suzuki, T. : HCV infection upregulates expression of cytosolic phospholipase A2 gamma via activation of c-Myc and NFkB pathways、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、2015.11.22-24、福岡

13) 深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、近藤昌夫、八木清仁、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎：Occludin 細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体の樹立と本抗体による C 型肝炎ウイルス感染阻害、BMB2015、2015.12.1-4、神戸

14) 清水芳実、白砂圭崇、米田宏平、近藤昌夫、八木清仁、花田賢太郎、深澤征義：上皮細胞を標的とした創薬基盤研究～抗 Occludin 抗体の作製と性状解析～、日本薬学会第１３６年会、2016.3.26-29、神奈川

15) 松田基、橋本洋佑、川東裕美、畑智幸、渡利彰浩、近藤昌夫、岡田欣晃、多田稔、石井明子、深澤征義、土井健史、八木清仁：Claudin を標的とした創薬基盤技術の開発～claudin-4 を標的としたがん治療戦略の有効性及び安全性の評価～、日本薬学会第１３６年会、2016.3.26-29、神奈川

16) 熊谷圭悟、山地俊之、山本章嗣、安藤秀二、花田賢太郎：宿主細胞因子 CERT が Chlamydia trachomatis 感染に果たす役割、第 33 回日本クラミジア研究会、2015.10.24-25、岡山

17) 熊谷圭悟、山地俊之、山本章嗣、花田賢太郎：クラミジア・トラコマティスによってハイジャックされる宿主セラミド輸送機構、BMB2015、2015.12.1-4、神戸

18) 渡邊菜月、野崎智義、前濱朝彦、津久井久美子：赤痢アメーバにおけるホスファチジルイノシトールシグナルの解析、第 57 回日本脂質生化学会、2015.5.28-29、東京

19) 山地俊之、堀江亜矢、関塚剛史、竹内史比古、黒田誠、花田賢太郎：志賀毒素の細胞障害作用を指標としたゲノムワイド shRNA スクリーニング、第 57 回日本脂質生化学会、2015.5.28-29、東京

20) 田村恭祐、鈴木佑典、山地俊之、長谷川拓馬、稲岡夏希、野崎真李果、櫛泰典：慢性骨髄性白血病細胞株 K562 細胞の膜脂質組成による γ-グロビン発現制御機構、BMB2015、2015.12.1-4、神戸

21) 三宅秀斗、樺山一哉、真鍋良幸、Siyu Chen、山地俊之、花田賢太郎、深瀬浩一：HaloTag テクノロジーを用いた細胞表面への Gb3 糖鎖提示システムの構築と評価、日本化学会第 96 春季年会、2016.3.24-27、京田辺

１１．昆虫医科学部

部長　澤邉　京子

概　要

昆虫医科学部は，疾病媒介動物を対象とする基礎的調査および研究に加え，実際の防除対策に寄与する情報の提供，講義，技術研修等による社会への貢献に努めている．平成 27 年度は，前年に約 70 年ぶりのデング熱国内流行を経験したことから，地方自治体および関連機関に向けて，媒介蚊の基礎知識ならびに蚊対策に関する技術指導を行い,「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」および「デング熱・チクングニア熱の診療ガイドライン」を改訂し，今後の国内流行の発生に備えた．ジカウイルス感染症の流行は中南米から北米へと拡大しており，国内における輸入症例も増えてきている．ジカウイルス感染症に対する国内対応も求められるようになったことから，ブラジルの流行地を視察し，研究・技術支援および共同研究課題を検討した．また，視察訪問した各地では，現地在留邦人に向けた「健康安全講和」を行った．昨年度中に作製したセアカゴケグモ粗毒素から 6 千本（500U）のウマ免疫抗毒素が作製され,製剤化に向け準備が進んでいる．各室の研究・業務の概要は以下のとおりである．

第一室においては，デング熱，日本脳炎，重症熱性血小板減少症候群（SFTS）等各種ベクターの基礎的情報の収集に努めた．ヒトスジシマカ対策のためにモデル地区を複数設定し,成虫･幼虫の分布調査を定期的に行った．調査地の類型毎にリスク評価を行い，必要な蚊対策を自治体および施設管理者に助言した．住宅街においてマーク虫放逐・再捕獲実験を行い，ヒトスジシマカおよびオオクロヤブカの移動距離を推定した．蚊およびマダニの全国調査を継続し，国内に生息する個体の標本および DNA バーコーディングにより整理した. 現在までに蚊約 110 種類のうち 45 種類の整理を終え学会誌等で報告した. SFTS は平成 25 年 1 月に国内で初めて死亡例が報告されたが，その後も患者数は増加している．マダニの国内分布調査を継続し，ヒトへの感染リスクを評価した．

第二室においては，国内でのアルボウイルスの活動状況を把握し，外来性病原体の国内侵入に備えるために，主に蚊およびマダニを対象として，それら節足動物からの病原体の検出および分離技術の向上に努め，分離病原体の遺伝的解析を行った. 平成 26 年に長崎県の定点で捕集したコガタアカイエカから日本脳炎ウイルスを，同年デング熱流行時に東京都内の公園で捕集したヒトスジシマカから複数のデングウイルスを分離した．次世代シーケンサーを用いた解析により，国内の蚊およびマダニ，フィリピンの蚊からそれぞれ新規のウイルスを複数種発見することができた．また，蚊へのウイルス感染実験から，蚊の唾液腺における RNA 干渉経路が蚊のウイルス感受性に関与していることを明らかにした．SFTS ウイルスのヒトへの感染経路を探るためにはマダニの自然生態を解明する必要があると考え，Reverse Line Blot 法によるマダニからの吸血源動物の遺伝子検出系を確立した．

第三室においては，化学防除の安全性と効果に関する啓発，実用的防除法の地方自治体への技術移転，殺虫剤抵抗性の発達状況の調査等を迅速に行う体制の構築に努めた．デング熱媒介蚊であるネッタイシマカのピレスロイド系殺虫剤抵抗性に関与すると推察されるシトクロム P450 *CYP6BB2* の遺伝子をゲノム編集技術によりノックアウトし，本遺伝子の過剰発現が抵抗性を誘導していることを証明した．一方でネッタイイエカを用いてノックイン効率を検証したが，ナトリウムチャンネルを直接標的にした場合，遺伝子が破壊され処理個体が死亡する可能性が高いことが判明した．また，国内のヒトスジシマカ集団はすべて殺虫剤感受性であり殺虫剤の効力が維持されていること，沖縄県のアタマジラミの 95%は抵抗性であり殺虫効果が期待できないことが明らかになった．

人事面では，当該部の定員 7 名に加え，任期付研究員として前川芳秀,再任用職員として小林睦生,津田良夫,AMED リサーチレジデントとして糸川健太郎，藤田龍介,研究生として小林大介（医科歯科大院），佐藤智美（明治大院），実習生として益子玲於奈，角田ひかり（明治大），臨時職員として石川久仁子，古城一美，皆川こごみ，客員研究員 9 名，協力研究員 17 名により研究・業務を推進した．また，平成 27 年 3 月をもって小川浩平研究員が任期終了で退所し，4 月には第三室の葛西真治主任研究官がコーネル大学の留学から復帰した．

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) 岡山県におけるデング熱媒介蚊の発生状況調査

岡山市内の県の施設と住宅地を対象にして，ヒトスジシマカ成虫の生息密度と主要な幼虫発生源を明らかにするために，2015 年 5 月から 9 月に生息状況調査を実施した．成虫の生息密度は 5 月から 7 月に増加し，7 月あるいは 8 月に最高密度 3.7～6.7 雌／8 分に達した．県施設における幼虫の主要発生源として，主に雨水マスを対象にした調査を実施した．成虫の分布と幼虫が発生していた雨水マスの分布を比較したところ，幼虫発生が確認された場所は数が少なく局所的であり，調査地全体の成虫の分布と密度を説明するためには不十分と考えられた．各調査地における主要な幼虫発生場所を特定するにはより広範囲な調査を実施する必要があると思われる．

［津田良夫，前川芳秀，葛西真治，澤邉京子；皆川恵子，数間 亨（日本環境衛生センター）；山内健生（兵庫県立大）］

(2) 岡山県蒜山高原における蚊類の生息調査

岡山県真庭市にある鳥取大学農学部附属フィールドサイエンスセンター教育研究林「蒜山の森」（標高 560～870 m）で生息する蚊類の種類相を調査した．2015 年 7 月と 8 月にドライアイスを誘引源としたトラップによって，以下の 6 種類が採集された．カラツイエカ，クシヒゲカの一種，シロカタヤブカ，ハマダライエカ，ミスジシマカ，コガタアカイエカ．また，湿地や地表の水溜り，樹洞を対象とした幼虫採集によって，キョウトクシヒゲカ，ヤマトハマダラカ，ブナノキヤブカが採集された．この調査地ではカラツイエカが優占種であることやミスジシマカやブナノキヤブカのように冷涼地に生息する種類が採集されるなど，独特の蚊相であることが示唆された．

［津田良夫；金 京純（鳥取大）］

(3) 明治神宮における蚊類の生息調査

明治神宮の森（神宮の森）は造成されてから約 100 年の歴史があり，この間に植物群落の遷移が進行し，現在は樹種豊かな森が形成され東京都内に存在する非常に貴重な森（緑地）となっている．神宮の森には蚊の発生源となりうる種々の水域が存在しており，吸血源となる動物も生息していることから，明治神宮の協力の下に，神宮の森に生息している蚊類の調査を実施した．その結果，以下の 10 種類の蚊が生息していることが分かった．ヒトスジシマカ，キンパラナガハシカ，ヤマダシマカ，シロカタヤブカ，アカイエカ，ハマダラナガスネカ，トラフカクイカ，ヤマトクシヒゲカ，オオクロヤブカ，コガタアカイエカ．

［津田良夫，前川芳秀，葛西真治］

(4) 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（2）

住宅街の中に 5 つの緑地が存在する調査地で，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 つの緑地で採集しマークしたヒトスジシマカ合計 196 個体，オオクロヤブカ合計 51 個体を 5 つの緑地から放逐した．放逐後 5 日間再捕獲を行い，ヒトスジシマカ 32.1%（63 個体），オオクロヤブカ 15.7%（8 個体）が再捕獲された．再捕獲されたヒトスジシマカ 63 個体のうち放逐場所と異なる場所で捕獲されたのは 3 個体（4.8%）で，オオクロヤブカは 2 個体（25%）が放逐場所以外で捕獲された．

［津田良夫，前川芳秀，糸川健太郎，葛西真治；木村悟朗（イカリ消毒）］

(5) 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

日本産フンコバエ科のマルガタフンコバエ属（Genus *Eximilimosina*）について調べた．日本には 2 種が確認され，そのうち 1 種は未記載種であった．本属は日本から従来記録されていない属であり，また，旧北区からも初めて記録される属であった．

［林 利彦］

(6) シカシラミバエ類の国内分布に関する調査

日本からシカシラミバエ類は 3 種が知られている．これらはいずれもシカに外部寄生するが，その分布に関しては断片的な情報のみが報告されてきた．狩猟によって得られたシカの体表に寄生していたシカシラミバエ類を採集してもらい，それらを同定した．最も普通に見られたのはヒメシカシラミバエで，ほとんど全国的に分布していた．クロシカシラミバエは本州のみで見られ，その分布は局地的であった．ニッポンシカシラミバエは現在

までに数個体が知られるだけの珍しい種であるが，本州高標高地帯で得られたシカにいくつか発見され，寄生が確認されたシカ個体には複数個体が寄生していた．本種は原記載ではニホンカモシカから採取されたとされていたが,ニホンジカが本来の宿主であることが確認できた．［林 利彦］

(7) 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

これまでの調査で得られた日本産蚊の標本を用いて，COI 遺伝子情報（650bp）の整備を試み，19 種と既に登録のある 26 種の合計 45 種 240 個体の遺伝子情報を GenBank に登録した．雌成虫では形態学的な種同定が難しいとされていた分類群，特に北方系ヤブカの punctor subgroup とクシヒゲカ亜属の種に関しては, DNA バーコーディングより得られた情報に基づいた系統解析に加え，解析によって得られた複数の集団間での比較形態学的検討を行い，5 種類（ヤマトハマダラカ，コガタクロウスカ，キョウトクシヒゲカ，エゾヤブカ，トワダオオカ）で遺伝的に異なる 2 つの集団の存在が示唆された．

［前川芳秀，津田良夫，小川浩平，林 利彦，澤邉京子］

(8) 九州北方におけるアジア型コガタアカイエカの生息調査

日本脳炎ウイルス（JEV）媒介蚊の海外よりの飛来と定着を検討するために，韓国と九州との中間に位置する長崎県対馬市北部で毎月コガタアカイエカの発生調査を行い，得られた個体のミトコンドリア遺伝子を確認し，海外由来の個体の混入を確認した．その結果，少なくとも 5 月初旬には アジア型個体が混在することが判明したが，6 月以前に海外より飛来しているのか，すでにアジア型個体が定着しているのかについては結論づけるだけの情報は得られなかった．

［澤邉京子，前川芳秀，津田良夫；今西 望（長崎大院）；小林大介（医科歯科大院）］

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) 2014 年に国内で捕集されたコガタアカイエカの日本脳炎ウイルス保有状況調査

国内における日本脳炎媒介蚊の日本脳炎ウイルス（JEV）保有状況を調査するため，2014 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（1,000 頭，40 プール検体）からウイルス分離を試みた．その結果，5 プールから JEV I 型が分離された．

［藤田龍介，伊澤晴彦，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；高崎智彦（ウイルス第一部）；小林大介（医科歯科大院）；江尻寛子（防衛医大）；鍬田龍星（山口大）；今西 望（長崎大院）；砂原俊彦，二見恭子，皆川 昇（長崎大熱研）；松本文昭，吉川 亮，吾郷昌信（長崎県環境保健研究センター）］

(2) 野外捕集蚊からのデングウイルス検出ならびに分離

2014 年 8 月から 9 月にかけて都内公園各所でヒトスジシマカの捕集を行い，RT-PCR によりデングウイルス（DENV）保有状況を調査した．また，これと同時に培養細胞を用いてウイルス分離を試みた．その結果，複数検体から DENV1 遺伝子が検出され，それらのエンベロープ遺伝子の塩基配列は国内発生第一例のヒト検体由来 DENV の配列と一致した．さらにウイルス遺伝子が検出された一部検体において DENV の分離にも成功した．

［小林大介（医科歯科大院）；伊澤晴彦，津田良夫，前川芳秀，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；モイメンリン，小滝 徹，高崎智彦（ウイルス第一部）；江尻寛子（防衛医大）；佐藤智美（明治大院）；太田伸生（医科歯科大）］

(3) 疾病媒介節足動物から分離されたウイルスの迅速同定システムの開発

疾病媒介節足動物から分離されたウイルスについて，ウイルスの大量培養や精製をすることなくウイルス核酸を選択的に回収し，これを次世代シーケンサーで解析することにより，迅速かつ網羅的に分離ウイルスゲノムの配列情報を得ることのできる解析系を構築した．未同定分離検体において本法を適用し,その有用性を検討した．

［小林大介（医科歯科大院）；伊澤晴彦，藤田龍介，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；江尻寛子（防衛医大）；水谷哲也（農工大）；比嘉由紀子（長崎大熱研）；Bertuso A.G.（フィリピン大マニラ校）；太田伸生（医科歯科大）］

(4) フィリピンで捕集された蚊から分離された未知ウイルスの性状解析

フィリピンのブラカン州において捕集された蚊より分離されたウイルス 2 種について純化を行い，全ゲノム配列を決定した．その結果，ニセシロハシイエカ由来検体

より分離されたウイルスは Negev virus であることが判明した．また，ヌマカ属蚊より分離されたウイルスは Negevirus グループに属すると考えられる新規の 1 本鎖 RNA ウイルスであることが判明した．ゲノム配列解析の結果，本ウイルスは約 8kb のゲノム中に 3 つの遺伝子をコードしていることが明らかとなった．

［藤田龍介，伊澤晴彦，澤邉京子；鍬田龍星（山口大）；小林大介（医科歯科大院）；Bertuso A.G.（フィリピン大マニラ校)］

(5) 日本国内におけるマダニ類のアルボウイルス保有状況調査と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試みた．これまでの結果，接種した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ている．現在，これら分離ウイルスについて詳細な性状解析を進めている．

［藤田龍介，伊澤晴彦，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；林 昌宏，山口幸恵，伊藤睦代，西條政幸（ウイルス第一部）；小林大介（医科歯科大院）；江尻寛子（防衛医大）；鍬田龍星（山口大）；水谷哲也（農工大)］

(6) 国内外から採取されたヒトスジシマカにおけるデングウイルス媒介能の評価

2014 年我が国でアウトブレイクしたデング熱の病原ウイルスであるデングウイルスについて，国内外の各種蚊系統を用いてウイルス媒介能の評価を行った．今回，経口感染による蚊のウイルス媒介能の評価系を確立して検討したところ，国内のヒトスジシマカ系統が高いデングウイルス媒介能を有する結果を得た．この結果から，今回のデング熱国内流行の背景と拡大要因について分析し考察した．

［佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子；高崎智彦（ウイルス第一部）；比嘉由紀子，皆川 昇（長崎大熱研）；Bertuso A.G.（フィリピン大マニラ校）］

(7) ネッタイシマカにおける日本脳炎ウイルス非感受性機構の解析

ネッタイシマカにおけるデングウイルスに対する非感受性機構として 3 つの経路が知られている．そこで，ネッタイシマカが，日本脳炎ウイルスに対して非感受性でありそのメカニズムを明らかにすることにした．その結果，ネッタイシマカの唾液腺における RNA 干渉経路が重要であることが明らかになった．

［佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子，小林睦生；鍬田龍星（山口大）；星野啓太（農工大）］

(8) 環境の異なる 2 地点のマダニ相および動物相の関係

マダニは日本紅斑熱やライム病などの病原体を媒介することで知られているが，マダニの生態や野生動物との相互関係については詳しく分かっていない．本研究では，マダニの自然生態を解明するため，環境の異なる 2 地点においてフランネル法によるマダニ相調査を行った．さらに，マダニが自然界において実際にどのような動物から吸血しているかを明らかにするため，Reverse Line Blot 法を用いた吸血源動物種の同定を試みた．これらの結果からマダニ相および動物相の関係について考察を行った．

［佐藤智美（明治大院）；林 利彦，伊澤晴彦，澤邉京子；糸山 享（明治大）］

III. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性のモニタリング，遺伝学的・分子生物学的解析

(1) ゲノム編集技術を用いたネッタイシマカの解毒抵抗性機構の解明

マイクロアレイ解析および QTL 解析の結果，ネッタイシマカ SP 系統のピレスロイド抵抗性への関与が示唆されたシトクロム P450, *CYP6BB2* の遺伝子を CRIPSR/Cas9 システムによってノックアウト（KO）し，ピレスロイド代謝への関与の有無を調べた．KO された *CYP6BB2* の遺伝子頻度が約 50%となる集団を作出し，ペルメトリンの *in vivo* 代謝試験を行ったところ，KO された遺伝子をホモ接合体として有する個体の代謝率が非 KO 遺伝子ホモの集団に比べて約 7 ポイント低く，多重統計解析によって有意な差が認められた．これにより，*CYP6BB2* 遺伝子の過剰発現が SP 系統のペルメトリン代謝活性を高め，結果として抵抗性をもたらしていることが証明された．

［葛西真治，小川浩平，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史］

(2) デング熱媒介蚊のピレスロイド抵抗性に関わる新規突然変異遺伝子の探索

ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）を訪問し，今後 3 年間にわたる共同研究の計画・打ち合わせを行うとともに，デング熱流行地においてヒトスジシマカおよびネ

ッタイシマカ幼虫を採集した．殺虫剤感受性系統に対する LD_{99} および LD_{99}×10 のペルメトリン薬量を中部産ネッタイシマカに処理したところ，LD_{99} では死亡率がわずか 1%で，その 10 倍の薬量でも半数が生き残った．LD_{99} ×10 に用いた 80 個体すべてについてピレスロイド剤の作用点ナトリウムチャネル遺伝子の解析を行ったところ，生存個体から既知のアミノ酸変異がほとんど見つからなかった．これらのことから，未知の突然変異がこの国のネッタイシマカの強い殺虫剤抵抗性をもたらしている可能性が示唆された．

［葛西真治, 駒形 修, 糸川健太郎, 前川芳秀, 澤邉京子, 冨田隆史；角田 隆（長崎大熱研）］

(3) ネッタイシマカ卵への顕微注入（microinjection）法の最適化

これまで我々が行っていたイエカ卵への顕微注入法では，ネッタイシマカ卵に対して顕微注入を行う上でいくつか問題が有ることが分かった．ネッタイシマカ卵では，表面構造の違いのためか産下直後の卵では両面テープの粘着面に付着せず固定ができなかった．そこで，両面テープへの固定を 30 分ほど遅らせ，卵が伸長し卵殻の硬化がある程度進んだ段階で行うことでこの問題がいくらか改善されることが分かった．また乾燥防止に用いる液体は水溶性のカルボキシメチルセルロース水溶液よりも，油性のハロカーボンオイルを用いるほうが卵の固定が安定することもわかった．

［糸川健太郎，葛西真治，駒形 修，冨田隆史］

(4) ノックイン効率の検証

ネッタイイエカの遺伝子に対して既に高効率で変異を導入することが分かっている CRISPR/Cas9 システムの gRNA を用いてノックイン効率の検証を行った．オリゴヌクレオチドを修復用鋳型として切断個所に 6 bp の標識配列を導入したが，鋳型による修復が行われない変異（ノックアウト）が鋳型によって修復される変異（ノックイン）を大きく上回る頻度で起きていた．したがってナトリウムチャンネルのような生存に必須の遺伝子のコード領域を直接標的にした場合，遺伝子の破壊によって第一世代で個体が死亡する恐れがあることが分かった．

［糸川健太郎，葛西真治，駒形 修，冨田隆史］

(5) 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（2）

ネッタイシマカの電位依存性ナトリウムチャンネルの 5 アミノ酸座位の殺虫剤抵抗性関連変異（計 7 置換変異）を座位ごとに検出するための Universal QProbe 法（PCR 産物と蛍光消光 DNA プローブを用いる融解曲線解析法）について，野生型配列プローブに加え，今年度は一つの変異型配列プローブを併用することによりヘテロ接合体検出精度を上げる改良を行った．改良法を 2014 年台湾高雄市採集に由来する蚊コロニーに適用し，台湾で初検出となる 2 つの変異（S989P，V1016G）を含む合わせて 4 つの変異を検出できた．

［冨田隆史, 駒形 修, 糸川健太郎, 葛西真治；陳 典煌, 鄧 華真（台湾 CDC）］

(6) 国内のヒトスジシマカ集団の殺虫剤感受性

首都圏を中心とした日本国内でヒトスジシマカを採集し，これらの集団の 3 種の幼虫用殺虫剤と 3 種の成虫用殺虫剤に対する薬剤感受性を調べた．実験に先立ち，感受性系統 HKM を用いて 6 種の殺虫剤に対する感受性レベルを求め，LD_{99}（成虫）もしくは LC_{99}（幼虫）値を算出した．野外採集蚊に対し LD_{99}（もしくは LC_{99}）およびその 10 倍の薬量を処理し，死亡率もしくは羽化率を求めた．その結果，いずれの集団もすべての殺虫剤に高い感受性を示すことが明らかになった．供試した蚊集団の中には過去 10 年以上にわたって幼若ホルモン様殺虫剤が使用された地域も複数含まれていたが，いずれも高い感受性を示し，依然として殺虫剤の効力が維持されていることが示された．

［葛西真治，冨田隆史，駒形 修，津田良夫，前川芳秀；矢口 昇（池袋保健所）］

(7) ヒトスジシマカの VGSC 全コード領域配列の決定

ヒトスジシマカの約 6kb の電位依存性ナトリウムチャンネルの全コード領域配列を幼虫 RNA の RNA-seq 解析に基づき初めて決定した．殺虫剤感受性系統 HKM のコード領域には，恒常的に含まれる 27 のエクソン配列，ならびに翻訳枠を保つことのできる 2 対の相互排他的エクソン（4 つ）とオプション（cassette exon, intron retention, alternative 5'/3' splice sites）により生じる 12 のコード配列が含まれていた．

［冨田隆史，糸川健太郎，駒形 修，葛西真治］

(8) アタマジラミのピレスロイド抵抗性の全国調査

2011–5 年に 16 都道府県で収集したアタマジラミ（コロニー数 *N*=90）を検体とし，ピレスロイド作用点である電位依存性ナトリウムチャンネルの殺虫剤感受性低下の原因変異である L929I と T932F の変異に関する遺伝子型を QProbe 法で判定した．沖縄県の検体における二重変異遺伝子を保有するコロニー率は 95%で，沖縄県を除く医療施設・保健所より提供された検体における 4%に比べ高低相反する変異遺伝子保有率が示されたが, 2006–10 年に実施した同様な調査（*N*=151）の結果と比較して，沖縄県内外それぞれの抵抗性コロニー率に顕著な増減はなかった．

［冨田隆史，葛西真治，駒形 修；石井則久（ハンセン病研究センター)］

(9) トコジラミアセチルコリンエステラーゼ（AChE）の大腸菌による発現システムの構築

大腸菌を用いたトコジラミ AChE の発現を試みた．発現は可溶性タグである FATT タグ融合タンパクとし，コールドショックプロモータを用いて，発現させた．培養後，界面活性剤処理により抽出した後，陰イオン交換カラムで精製し，粗抽出画分とした．AChE の活性の測定は，常法である Ellman らの方法と，発光による Birman らの方法を改良して行った．大腸菌で AChE は発現したが，その収量は少なく，培養および精製条件に関しては更なる検討が必要であった．

［駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史；益子玲於奈，糸山 享（明治大)］

Ⅳ．その他

(1) 環境快適化を目指した媒介蚊対策への取り組み

デング熱が国内で流行する可能性は今後も高いとされており，平常時から媒介蚊の少ない衛生的な環境作りを目指すことが必要である．そこで，岡山県下にモデル地域（学校，空港，大規模公園，複合施設，地域住宅地など）を 8 か所設定し，デング熱媒介蚊対策を実施するための基礎調査を計画した．蚊成虫および幼虫の密度調査は，2015 年 5 月から 10 月まで，毎月 1 回実施した．原則として，調査地はそれぞれ 25 m^2 あるいは 50 m^2 の区画に分け，その区画内の少なくとも 1 地点で 8 分間人囮法により成虫を捕集した．同じ区画内で幼虫発生源の有無を確認し，柄杓による幼虫採取を行った．これらの結果を評価し, 次年度の調査および媒介蚊対策を検討した．

［澤邉京子，津田良夫，前川芳秀，葛西真治；皆川恵子，數間 享（日本環境衛生センター）；山内健生（兵庫県立大）；芦田顕彦，兼信定夫（岡山県)］

(2) 抗毒素の品質管理及び抗毒素を使用した治療法に関する研究

昨年度中に，大阪府内と西宮市近郊で捕獲されたセアカゴケグモ約 1 万個体から毒腺を摘出し，粗精製し 1 ロット化した粗毒素（タンパク量は約 236 mg と算出）を化学及血清療法研究所に送付した．その後，ウマへの免疫が行われ，平成 27 年度中に試作品（力価 500U／dose）約 6,000 本が製造された．その間に行われたクモ粗毒素はタンパク質量を基準とした場合，品質上均一であり，長期間毒性を保持できることが明らかになった．また，本粗毒素のマウスに対する毒性試験の結果，4 週齢 ddY メスマウスに対する LD_{50} は，タンパク質量に換算して 9.16899 μg であった．一連の調査・研究の結果をもとに技術研修を行った．

［益子玲於奈，佐藤智美（明治大）；前川芳秀，糸川健太郎，伊澤晴彦，澤邉京子；松村隆之，阿戸学（免疫部）；山本明彦（バイオセーフティー管理室）；銀永明弘（化学及血清療法研）；一二三亨（香川大救命救急センター)］

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月までの間，13 件の昆虫・ダニ類の同定依頼を受けた．ヒトに寄生したマダニ類が 4 件，ハエ症の症例が 2 例あった．輸入症例では，南米からのスナノミ 1 件と東南アジアからのキララマダニ属の 1 種の 2 件があった．また，最近アレルギーの原因として問題になっているお好み焼き粉で大量発生するコナヒョウヒダニの例があった．

［林 利彦，津田良夫］

Ⅱ．病原体検査報告

マダニからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスの保有検査について 1 件依頼があった．報告書を作成し，結果を通知した．

［伊澤晴彦，佐々木年則，澤邉京子］

研修業務

1) 第 4 回蚊類調査に関わる技術研修（H27 年度）. 2015 年 5 月 28-29 日. 東京.［澤邉京子，津田良夫，前川芳秀，小林睦生］
2) 平時からの媒介蚊対策について. 福島県蚊媒介感染症対策研修会. 2015 年 6 月 1 日, 郡山市.［澤邉京子］
3) 豊岡市におけるマダニ調査の結果について. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）等症例検討会. 2015 年 7 月 11 日，豊岡市.［澤邉京子］
4) 蚊の生態・防除対策，蚊の捕集. 節足動物媒介感染症研修会. 2015 年 9 月 7 日，東京.［澤邉京子，津田良夫，前川芳秀，小林睦生］
5) 蚊の捕集と分類，蚊からのデングウイルス検出法について. 平成 27 年度専門研修「検査技術」. 2015 年 9 月 30 日，東京.［伊澤晴彦］
6) アルボウイルス感染症とそのベクター. 平成 27 年度医師卒後臨床研修プログラム. 2015 年 10 月 26 日，東京.［伊澤晴彦］
7) マダニ相に関する国内調査より－豊岡市におけるマダニ調査結果－. ダニ媒介感染症に関する医療関係者等研修会. 2015 年 11 月 7 日，養父市.［澤邉京子］
8) 蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針に基づく感染症対策と防除－ヒトスジシマカを中心に－. 平成 27 年度感染症対策指導者講習会. 2015 年 11 月 20 日，東京.［澤邉京子］
9) 感染症媒介蚊の防除対策. 平成 27 年度特定建築物衛生管理講習会. 2015 年 11 月 12 日, 東京.［澤邉京子］
10) 蚊検体からのフラビウイルス分離. 2015 年 11 月 17-18 日，東京.［伊澤晴彦，佐々木年則，江尻寛子，藤田龍介，小林大介，澤邉京子］
11) 蚊媒介感染症対策の現状と課題. 第 43 回建築物環境衛生管理全国大会専門講座. 2016 年 1 月 21 日, 東京.［澤邉京子］
12) 蚊およびマダニ等媒介節足動物について. 平成 27 年度希少感染症診断技術研修会. 2016 年 2 月 17-18 日，東京.［佐々木年則］
13) 衛生害虫に関する最近の話題. 第 51 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会. 2016 年 3 月 8 日，川崎市.［澤邉京子］
14) デング熱・チクングニア熱・ジカウイルス感染症媒介蚊対策について.「ジカウイルス感染症」に関する全国担当者会議. 2016 年 3 月 11 日，東京.［冨田隆史］
15) ジカウイルス感染症について. 在留邦人向け健康安全講話. 2016 年 3 月 12 日，ブラジル・レシフェ市.［澤邉京子］
16) ジカウイルス感染症について. 在留邦人向け健康安全講話. 2016 年 3 月 12 日，ブラジル・リオデジャネイロ市.［澤邉京子］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Hirabayashi, K., Takeda, M., Tsuda, Y. Two-year after effects of Tsunami on abundance of mosquitoes in suburban Sendai area in Miyagi Prefecture, Japan in 2013. Bulletin of Entomological Research, 31: 27-31, 2015.
2) Tanikawa, T., Yamauchi, M., Ishihara, S., Tomioka, Y., Kimura, G., Tanaka, K., Suzuki, S., Komagata, O., Tsuda, Y., Sawabe, K. Operation note on dengue vector control against *Aedes albopictus* in Chiba City, Japan, where an autochthonous dengue case was confirmed in September 2014. Medical Entomology and Zoology, 66: 31-33, 2015.
3) Chen, T.H., Aure, W.E., Cruz, E.I., Malbas Jr, F.F., Teng, H.J., Lu, L.C., Kim, K.S., Tsuda, Y. Shu, P.Y. Avian *Plasmodium* infection in field-collected mosquitoes during 2012-2013 in talac, Philippines. Journal of Vector Ecology, 40: 386-395, 2015.
4) Kim, K.S., Tsuda, Y. Sporogony and sporozoite rates of avian malaria parasites in wild *Culex pipiens pallens* and *C. inatomii* in Japan. Parasites & Vectors, 8: 633-637, 2015.
5) Hellgren, O., Atkinson, C.T., Bensch, S., Albayrak, T., Dimitrov, D., Ewen, J.G., Kim, K.S., Lima, M.R., Martin, L., Palinauskas, V., Ricklefs, R., Sehgal, R.N.M., Valkiūnas, G., Tsuda, Y., Marzal, A. Global phylogeography of the avian malaria pathogen *Plasmodium relictum* based on MSP1 allelic diversity. Ecography, 38: 842-850, 2015.
6) Heo, C.C., Latif, B., Kurahashi, H., Hayashi, T., Nazni, W.A., Omar, B. Coprophilic dipteran community associated with horse dung in Malaysia. Halteres, 6: 33-50, 2015.
7) 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, 51: 672-679, 2015.

8) Sasaki, T., Higa, Y., Bertuso, A.G., Isawa, H., Takasaki, T., Minakawa, N., Sawabe, K. Susceptibility of indigenous and transplanted mosquito spp. in Japan to dengue virus. Japanese Journal of Infectious Diseases, 68: 425-427, 2015.
9) Gillich, N., Kuwata, R., Isawa, H., Horie, M. Persistent natural infection of a *Culex tritaeniorhynchus* cell line with a novel *Culex tritaeniorhynchus* rhabdovirus strain. Microbiology and Immunology, 59: 562-566, 2015.
10) Ejiri, H., Lim, C.K., Isawa, H., Kuwata, R., Kobayashi, D., Yamaguchi, Y., Takayama-Ito, M., Kinoshita, H., Kakiuchi, S., Horiya, M., Kotaki, A., Takasaki, T., Maeda, K., Hayashi, T., Sasaki, T., Kobayashi, M., Saijo, M., Sawabe, K. Genetic and biological characterization of Muko virus, a new distinct member of the species *Great Island virus* (genus Orbivirus, family Reoviridae), isolated from *Ixodid* ticks in Japan. Archives of Virology, 160: 2965-2977, 2015.
11) Kuwata, R., Isawa, H., Hoshino, K., Sasaki, S., Kobayashi, M., Maeda, M., Sawabe, K. Analysis of mosquito-borne flavivirus superinfection in *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) cells persistently infected with Culex flavivirus (Flaviviridae). Journal of Medical Entomology, 52: 222-229, 2015.
12) Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T. A single nucleotide change in a core promoter is involved in the progressive overexpression of the duplicated *CYP9M10* haplotype lineage in *Culex quinquefasciatus*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 66: 96-102, 2015.
13) Ogawa, K., Komagata, O., Hayashi, T., Itokawa, K., Morikawa, S., Sawabe, K., Tomita, T. Field and laboratory evaluations of the efficacy of DEET repellent against *Ixodes* ticks. Japanese Journal of Infectious Diseases, Epub 2015/06/16. doi: 10.7883/yoken.JJID. 2015.038, 2015.
14) Scott, J.G., Yoshimizu, M., Kasai, S. Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. Pesticide Biochemistry and Physiology, 120: 68-76, 2015.

2. 和文発表

1) 橋本知幸，數間 亨，武藤敦彦，皆川恵子，永廣香菜，冨田隆史，駒形 修，澤邉京子，當山啓介，足立雅也，池田文明．野外に生息するマダニ類に対する数種殺虫製剤の防除効果．衛生動物，66: 7-12，2015.
2) 沢辺京子．70 年ぶりのデング熱国内流行と将来予測．衛生動物，66: 203-205, 2015.
3) 沢辺京子．衛生害虫の最新情報と動向－東京都内で実施したデング熱媒介蚊対策－．ペストロジー，30: 31-33, 2015.
4) 沢辺京子．2014 年のデング熱対策から学ぶこと－デング熱媒介蚊ヒトスジシマカの特徴から考える－．人と動物の共通感染症研究会ニュースレター，14: 12-14, 2015.
5) 津田良夫．代々木公園周辺で起きたデング熱流行時の媒介蚊調査に基づくデングウイルス感染リスクの評価．衛生動物，66: 211-217, 2015.
6) 米島万有子，中谷友樹，渡辺 護，二瓶直子，津田良夫，小林睦生．土地被覆データにもとづく疾病媒介蚊の生息分布域の分析―琵琶湖東沿岸地域を対象に―．地理学評論，88: 138-158, 2015.
7) 安居院宜昭．70 年ぶりに発生したデング熱は、どんな病気で、どのように感染するのですか？Pest Control Tokyo，68: 40-42，2015.
8) 林 利彦．野外活動と感染症 1. 野外活動で出会う媒介動物 1) 節足動物．化学療法の領域，31: 724-730，2015.
9) 葛西真治．迫りくる「蚊の感染症」に備える．イミダス時事オピニオン 8 月号，2015.
10) 葛西真治．ハエとの距離感に悩む．イミダス時事オピニオン 9 月号， 2015.
11) 栗原 毅．我国のデング熱流行の歴史．Pest Control Tokyo，68: 15-21，2015.
12) 小林睦生．今どきなぜ東京にデング熱が．Pest Control Tokyo，68: 8-14，2015.
13) 小林睦生．超高齢社会に適応した衛生対策―感染症を中心に．生活と環境，日本環境衛生センター，714: 4-8，2015.
14) 関 なおみ．超高齢少子化社会におけるアタマジラミ対策．生活と環境，日本環境衛生センター，714: 22-28，2015.
15) 関 なおみ．デング熱，国境を越えて広がる感染症．臨床と微生物，42: 39-45，2015.
16) モイメイリン，小林睦生．ウエストナイル熱．新興・

再興感染症－感染予防ワクチン－．BIO Clinica，343: 22-26，2015.

17) 沢辺京子．SFTS 対策に向けたマダニ類の全国調査．ペストコントロール，169: 33-39，2015.

18) 沢辺京子．こんな虫には要注意！感染症「傾向と対策」．Special Feature 2 第 3 回虫刺され．ヘルシスト，233: 22-25，2015.

19) 沢辺京子．我が国に侵入してくる蚊媒介性感染症とそのベクター．昆虫科学読本　虫の目で見た驚きの世界．（日本昆虫科学連合編），pp. 138-154，2015，東海大学出版部，神奈川県.

20) 沢辺京子．油断は禁物　デング熱は終わっていない．化学と工業，68: 793-795.

21) 沢辺京子．蚊媒介性感染症の予防．国境を越えて広がる感染症．臨床と微生物，42: 17-24，2015.

22) 津田良夫．ヒトスジシマカの生態と防除．ペストコントロール，170: 32-36，2015.

Ⅱ．学会発表

1. 国際学会

1) Sasaki T, Kuwata R, Hoshino K, Isawa H, Sawabe K, Kobayashi M. Defense mechanism in the mosquito, *Aedes aegypti*, against Japanese encephalitis virus. The 13th ISDCI Congress, 2015 年 6 月 28 日－7 月 3 日，スペイン ムルシア市.

2) Kasai S, Hirata K, Komagata O, Itokawa K, Tomita T: Knockdown resistance and detoxification enzymes as mechanisms of pyrethroid resistance in dengue mosquito vector. II International Symposium on Pyrethrum, 2015 年 8 月 7 日，京都市.

3) Tomita T. Development of molecular genotyping for detecting pyrethroid-insensitive sodium channel of the dengue vector mosquito, *Aedes aegypti*. 第 12 回日本－台湾シンポジウム，2015 年 9 月 10－11 日，東京

2. 国内学会

1) 小林大介，伊澤晴彦，江尻寛子，佐藤智美，津田良夫，前川芳秀，モイメンリン，小滝徹，高崎智彦，佐々木年則，小林睦生，太田伸生，沢辺京子．2014 年野外捕集蚊からのデングウイルスの検出ならびに分離．第 50 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2015 年 5 月 15－16 日，京都市.

2) 沢辺京子，前川芳秀，小川浩平，糸川健太郎，駒形修，伊澤晴彦，冨田隆史，佐々木年則，林 利彦，小林睦夫，津田良夫．2014 年東京都内で実施したデング熱媒介蚊対策．第 50 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，2015 年 5 月 15－16 日，京都市.

3) 佐々木年則, 鍬田龍星, 星野啓太, 伊澤晴彦, 澤邉京子,小林睦生. 日本脳炎ウイルスに対するネッタイシマカの防御機構. 日本比較免疫学会第 27 回学術集会, 2015 年 8 月 21－23 日, 小浜市

4) 沢辺京子．国内におけるデング熱媒介蚊対応について．第 15 回日本バイセーフティー学会，シンポジウム「我が国における新興・再興感染症対応について」II　2．国内におけるデング熱発生，2015 年 9 月 15－17 日，東京.

5) 藤田龍介．フィリピン捕集ヌマカ属蚊より分離された新規ウイルスの性状解析. 第 75 回昆虫病理研究会，2015 年 9 月 25 日，札幌市.

6) Sawabe K. Strategy of Dengue Vector Control in Japan. Dengue surveillance: Information-sharing among Asian countries for a better prepared region. 9 月 30 日－10 月 2 日，東京.

7) 渡辺 護，沢辺京子．福井県と石川県の北潟湖における疾病媒介蚊の発生状況調査（2015 年）．第 70 回日本衛生動物学会西日本支部大会，2015 年 10 月 17－18 日，大津市.

8) 津田良夫，前川芳秀，糸川健太郎，小川浩平．市街地におけるヒトスジシマカとオオクロヤブカの mark- release-recapture 実験．第 67 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2015 年 10 月 23 日，東京.

9) 沢辺京子，津田良夫，前川芳秀，葛西真治，皆川恵子，數間 享，山内健生，芦田顕彦，兼信定夫．環境快適化を目指した媒介蚊対策への取り組み．第 67 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2015 年 10 月 23 日，東京.

10) 渡辺 護，沢辺京子．石川県能登半島における疾病蚊媒介蚊の発生状況調査，2013～14 年の成果．第 67 回日本衛生動物学会東日本支部大会，2015 年 10 月 23 日，東京.

11) 佐々木年則，久保田眞由美，澤邉京子，平山幸雄，鍬田龍星，伊澤晴彦，針原重義，柴山恵吾，小林睦生．大阪におけるシラミ媒介性最近 *Bartonella*

quintana の疫学研究，2015 年 10 月 23 日，東京.

12) 倉橋 弘，柿沼 進．千葉県で採集されたニクバエの新属新種，2015 年 10 月 23 日，東京.

13) 小林睦生．感染症対策をどう展開するか．第 67 回日本衛生動物学会東日本支部大会．シンポジウム「衛生動物防除の最前線―PCO が抱える現下の問題点」，2015 年 10 月 23 日，東京.

14) 小林睦生．国立試験研究機関における研究課題と若手研究者育成の問題点．有害生物研究会．第 26 回フォーラム「有害生物に関わる人材の育成：現状と今後の在り方を探る」，2015 年 11 月 7 日，川崎市.

15) Lim C.K., Ejiri H., Isawa H., Kuwata R., Kobayashi D., Yamaguchi Y., Takayama-Ito M., Kinoshita H., Kakiuchi S., Horiya M., Kotaki A., Takasaki T., Maeda K., Hayashi T., Sasaki T., Hamasaki C., Kobayashi M., Saijo M., Sawabe K. Characterization of Muko virus, a new distinct member of the species Great Island virus, isolated from ixodid ticks in Japan. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会，2015 年 11 月 22－24 日，福岡市.

16) 渡辺 護．東北被災地における蚊発生数と蚊相の変遷について. 第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会 特別講演①，2015 年 11 月 12－13 日，仙台市.

17) 津田良夫．わが国におけるヒトスジシマカの生態及び防除．第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会 特別講演②，2015 年 11 月 12－13 日，仙台市.

18) 渡辺 護．富山県の 1 民家における CDC トラップによるヒトスジシマカの捕集状況（2006～2015 年）．第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会，2015 年 11 月 12－13 日，仙台市.

19) 元木 貢，谷川 力，村田 光，月城熙城，安居院宣昭，春成 新．建築物におけるねずみ・昆虫の生息状況に関するアンケート調査．第 31 回日本ペストロジー学会宮城大会，2015 年 11 月 12－13 日，仙台市.

20) 藤田龍介，江尻寛子，伊澤晴彦，沢辺京子．NGS による吸血性節足動物保有ウイルスの探索と解析．第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会合同大会，2015 年 12 月 1－4 日，神戸市.

21) Itokawa, K., Komagata, O., Ogawa, K., Kasai, S., Tomita, T. Knocking-out a detoxification enzyme gene responsible for insecticide resistance in the southern house-mosquito. 第 38 回日本分子生物学会年会，2015 年 12 月 1－4 日，神戸市.

22) 沢辺京子．セアカゴケグモ抗毒素製造計画の進捗状況．蚊媒介感染症最近の話題．大阪府ペストコントロール協会創立 50 周年記念講演会 1・2，2015 年 2 月 26 日，大阪市.

23) 沢辺京子．デング熱の国内発生以降の媒介蚊対策．第 50 回ペストコントロールフォーラム（第 50 回ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会）シンポジウム，2015 年 2 月 19 日，京都市.

24) 沢辺京子. 蚊が媒介する感染症と媒介蚊の特徴. 平成 27 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会．日本獣医公衆衛生学会－シンポジウム「蚊媒介性感染症」，2015 年 2 月 26－28 日，秋田市.

25) 藤田龍介，江尻寛子，小林大介，伊澤晴彦，加藤大智，三條場千寿，山内健生，沢辺京子．吸血性節足動物保有ウイルス及び培養細胞持続感染ウイルスの NGS 解析．平成 28 年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会，2016 年 3 月 17－18 日，京都市.

26) 葛西真治，小川浩平，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史．QTL 解析とゲノム編集技術を用いたネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性遺伝子探索．日本農薬学会第 41 回大会，2016 年 3 月 17－19 日，松江市.

27) 佐藤智美，林利彦，伊澤晴彦，糸山 享，沢辺京子．環境の異なる 2 地点のマダニ相と吸血源動物の探索．日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会合同大会，2016 年 3 月 26－29 日，堺市.

28) 小林大介，伊澤晴彦，藤田龍介，江尻寛子，水谷哲也，比嘉由紀子，Bertuso A. G.，佐々木年則，小林睦生，太田伸生，沢辺京子．疾病媒介蚊が保有するウイルスの迅速・網羅的な同定手法の開発．日本昆虫学会第 76 回大会・第 60 回日本応用動物昆虫学会大会合同大会，2016 年 3 月 26－29 日，堺市.

29) 冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，小川浩平，葛西真治，陳 典煌，鄧 華真．デング熱媒介蚊のピレスロイド作用点変異を対象とする簡易遺伝子型決定法の開発． 第 60 回日本応用動物昆虫学会，2016 年 3 月 26－29 日，堺市.

30) 糸川健太郎，駒形 修，葛西真治，小川浩平，冨田隆史．チカイエカにおけるピリプロキシフェン抵抗性の機構．第 60 回日本応用動物昆虫学会，2016 年 3 月 26－29 日，堺市.

31) 葛西真治．ヒトスジシマカにおける殺虫剤抵抗性発

達の可能性と将来の展望．2015 年度日本衛生動物学会東日本支部例会「2014 年に流行したデング熱から，今後の媒介蚊対策に何を学ぶか」, 2016 年 3 月 30 日，東京．

32) 伊澤晴彦．2014 年のヒトスジシマカからのデングウイルスの分離状況とその評価．2015 年度日本衛生動物学会東日本支部例会「2014 年に流行したデング熱から，今後の媒介蚊対策に何を学ぶか」，2016 年 3 月 30 日，東京．

33) 沢辺京子．ブラジルにおけるジカウイルス感染症の現状と媒介蚊．2015 年度日本衛生動物学会東日本支部例会「2014 年に流行したデング熱から，今後の媒介蚊対策に何を学ぶか」緊急報告, 2016 年 3 月 30 日，東京．

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。動物由来ウイルス感染症、動物由来細菌感染症のリファレンス・研究業務を行っている。第 1 室はブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、鼠咬症、新興ウイルス感染症を、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分離と性状、遺伝的解析を行った。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 6 名の患者を実験室診断し、これまでの調査と併せると中高年齢の男性が多く、ネコ咬傷・掻傷による感染が海外よりも多かった。近年同定されたネコモルビリウイルスは、ネコの疫学的研究から国内でもネコが高率に感染しているが、イヌにはほとんど感染していないことから感染宿主域が狭く人へのリスクは高くないと考えられた。また、他のモルビリウイルスと血清学的に交叉せず、モルビリウイルス属とは別属のウイルスと考えられた。無尾類から分離されたブルセラ属菌は、既知のブルセラ属菌のゲノム領域が数か所大きく欠損していることから鑑別検査法が作製された。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とから、国内の狂犬病の危機管理に関わる調査・研究を継続して行い、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。国内の機関に配布する脳スタンプ標本の安全性を担保するためにウイルス不活化条件を検討した。炭疽菌・セレウス菌のゲノム解析から日本に分布する菌のゲノムデータライブラリーを作成した。ニパウイルス感染症の遅発性・再発性脳炎の診断法をマレーシアと協力して実施した。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。病原性遺伝子をノックアウトした人為的弱毒株による野兎病ワクチン開発に関する研究も行っている。これらの研究活動に対して、厚生労働省科学研究費、文部科学省科学研究費等の研究費の援助を受けた。

当該年度は、客員研究員 1 名　本道栄一（名古屋大学農学部）、協力研究員　1 名　岡田貴志（東京農工大農学部）、　実習生 1 名　稲木由衣（日本獣医生命科学大学）が入所した。　また、研究協力者 2 名　仁和岳史（千葉県衛生研究所）、葛西秀美（東京都動物愛護相談センター）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。

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 27 年度には、4 例（*B.melitensis* 感染 2 例、*B.canis* 感染 2 例）が届け出られ、1999 年度からの累計では、36 例（*B.melitensis* または *B.abortus* 感染 12 例、*B.canis* 感染 24 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 27 年度も 1 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 27 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 2/8 頭（25~27 年度 : 7/104 頭）、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、朴ウンシル、鈴木道雄、木村昌伸、森川茂（感染研・獣医科学部）、蓮池陽子、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

これまでに、国内繁殖の無尾類 3 種から、ブルセラ特異的 PCR により ブルセラ属菌と判定される菌を 5 株分離した。これらは、ブルセラ属菌の遺伝子タイピングに用いられる 9 座の遺伝子について、ホモロジー解析と系統樹解析を実施した結果、ヒト患者から分離された *B. inopinata* に近縁であることがわかっている。しかしながら、これら分離株の抗原性は一様ではなく、*B. abortus* タイプ（A9h）、*B. canis* タイプ（A141）、既知のブルセラ属菌とは反応しないタイプ（A105）と、それぞれ異なる抗原性を持つことが明らかとなった。これまでに、ヒト培養細胞に感染し、細胞内で増殖することを明らかにしているが、今後さらにその病原性について、より詳細に *in vitro*、*in vivo* で検討を加え、3 種それぞれの特徴を確認し、ヒトへの感染リスクを評価する必要があると考えられた。

今回、ブルセラ属菌特異的診断法の開発のため、質量分析により特異的抗原を同定し、これの組換えタンパク作成を行った。その結果、10 kDa シャペロニンが良好な抗原性を示した。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、朴ウンシル、森川茂（感染研・獣医科学部）、宇根有美（麻布大学・病理学研究室）]

II. カプノサイトファーガ感染症に関する研究

1. カプノサイトファーガ感染症の調査研究

カプノサイトファーガ属菌はイヌやネコの口腔内に常在するグラム陰性桿菌である。特に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、今年度 6 例（うち死亡 1 例）、累計 64 例（うち死亡 16 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。さらに、疫学的調査として昨年度に引き続いて東京都動物愛護相談センター引取りネコの *C. canimorsus* 保菌率を調査した。全体では 36.6%、1 歳以上では 66.1%、1 歳未満では 18.6%と、保菌率には年齢差が認められたが。その理由として、歯の萌出の有無が挙げられ、保菌率は歯の既萌出群の 48.4%に対して、未萌出群では 13.5%と大きな差がみられた。

また、*C. canimorsus* 感染症疑いの重症敗血症例 3 例から分離された新規 *Capnocytophaga* 属菌について、国内のイヌおよびネコの保菌率調査を開始した。その結果、イヌ・ネコとも 50%を超える保菌率を示した。[鈴木道雄、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、岡島淳悟（東京都動物愛護相談センター）]

III. 鼠咬症に関する研究

1. 鼠咬症の調査研究

いわゆる鼠咬症（Rat-bite fever）の原因病原体として、*Streptobacillus moniliformis* と *Spirillum minus* が知られている。我々の調査では、首都圏のドブネズミ（*Rattus norvegicus*）は 92%、クマネズミ（*R. rattus*）は 58%に、*S. moniliformis* の保菌が確認された。今回、首都圏の野生クマネズミ由来株の遺伝子を詳細に検討したところ、これまで *S. moniliformis* と考えられていた物が、実は *S. moniliformis* とは遺伝子的に異なり、オーストラリアのホッピングマウス由来株と同じであることが明らかとなった。そこで、新菌種登録に必要な各種解析を実施し、新規 *Streptobacullus* 属菌、*S.notomytis* として報告した。さらに、各菌種特異的遺伝子検出法を作成した。[今岡浩一、木村昌伸（感染研・獣医科学部）、谷川力（イカリ消毒）、Eisenberg T.（Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Germany）]

IV. 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 年に新興ウイルスとして同定されたネコモルビリウイルス（FmoPV）はモルビリウイルス属と最も近縁関係にあると考えられてきたが、モルビリウイルス属の麻疹ウイルス（MV）やイヌジステンパーウイルス(CDV)との血清学的交差性が認められず、分類についてはまだ不明である。また、昨年までの調査で、日本のネコにウイルス抗原および抗体陽性個体が多数発見されたが、FmoPV とネコの腎疾患との関連は疫学的には有意にあるが、病理組織学的にはその関連が不明であった。一方、イヌでは抗体陽性個体がほとんどなく、FmoPV の宿主域特異性が示唆され、ヒトへのリスクは低いと考えられた。

感染性 FmoPV が分離できなかったため、FmoPV の F および H タンパク質を外套した VSV pseudotype の作製

を試みた。I 型膜糖タンパク質である FmoPV F タンパク質の野生型、 細胞質内領域のアミノ酸を欠失した Fc Δ24 および Fc Δ30 発現プラスミドを作製した。また、受容体結合能を持つ II 型膜糖タンパク質である FmoPV H タンパク質の野生型、細胞質内領域のアミノ酸を欠失した Hc Δ11 および Hc Δ16 発現プラスミドを作製した。

それぞれ 3 種類の発現プラスミドを組み合わせた 9 種類の F、H タンパク質を外套する VSV pseudotype を作製したが、いずれもネコの腎細胞由来の CRFK 細胞に有意な感染性を示さなかった。

[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）、佐藤由子、中島典子（同・感染病理部）]

V. 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

地方自治体の狂犬病対策関係部局の協力を得て、現行の国内対策における動物管理関係事業所（動物愛護・管理・指導等センター）の狂犬病に対する体制整備状況と課題点を明らかにするために、狂犬病の発生を想定した国・自治体・獣医系大学の狂犬病等動物由来感染症の危機管理研修を行い、かつこれを利用して現状把握と課題の明確化を行った。海外の狂犬病発生国の関係機関等の協力を得て、日本では経験困難な発生時対応等に係る知見の共有と免疫組織法を応用した新しい簡易実験室内診断系の野外における検証試験を行った。また、狂犬病の検査に必要な解剖方法等に係る啓発用映像資料（DVD）の作製と関係者への配布を行った。[井上智、堀田明豊、野口章、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）、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）、浦口宏二（北海道衛生環境研究所）、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所）、大迫英夫、戸田純子（熊本県保健環境科学研究所）；柴田伸一郎、小平彩里（名古屋市衛生研究所）；西條和芳、矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）；朴天鎬（北里大学）、加藤卓也、常盤俊大（日本獣医科学生命大学）、山田健太郎（大分大学医学部）、前田健（山口大学）、三澤尚朗、桐野有美（宮崎大学）；佐藤克（狂犬病臨床研究会）；Daria Manalo（フィリピン熱帯学研究所）、楊志元（台湾 CDC）；費昌勇（台湾大学獣医大学院）；協力自治体（岩手県、青森県、宮城県、秋田県、山形県、福島県、仙台市、盛岡市、青森市、秋田市、郡山市、いわき市；京都府、大阪府、兵庫県、滋賀県、京都市、大阪市、神戸市、高槻市、西宮市、豊中市、東大阪市、枚方市、堺市、大津市；広島県、岡山県、鳥取県、島根県、山口県、広島市、岡山市、姫路市、呉市、福山市；徳島県、愛媛県、香川県、高知県、松山市、高松市、高知市、和歌山県、和歌山市、名古屋市；宮崎県、福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県、鹿児島県、沖縄県、福岡市、長崎市、佐世保市；千葉市、埼玉県、千葉県；北海道）]

2. ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Health and Environments：NIHE)との狂犬病ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究

国内に保存されている狂犬病ウイルス株を利用してリアルタイム RT-PCR 系を構築して NIHE で診断された狂犬病患者・患畜の検体に対して診断可能なことを検証した。現在、PI-HCMC と連携してベトナム全土で流行しているウイルス株に対する検証を進めている。また、NIHE を基点としたアジアの狂犬病ラボラトリーネットワークを構築するためにフィリピン RITM と台湾 CDC および AHRI 等の感染症研究機関を訪ねて最新の疫学情報と診断技術の共有化に関する共同研究等の打ち合わせを行った。また、海外の感染症機関に自治体の狂犬病担当者を同行して狂犬病の患者や検査の実際を経験して実際的な狂犬病対策の課題把握と啓発を行った。[井上智、野口章、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）；小平彩里（名古屋市衛生研究所）；矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）；浦口宏二（北海道衛生環境研究所）、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所）、大迫英夫（熊本県保健環境科学研究所）；Nguyen Vinh Dong, Nguyen Tuyet Thu, Ngo Chau Giang, Dr.Hoan Thi Thu Ha（NIHE）；Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam（PI-HCMC）、Hồ Bang（Gialai Preventive Medicine Centre）；Daria Manalo（フィリピン熱帯学研究所）、楊志元（台湾 CDC）；費昌勇（台湾大学獣医大学院）]

3. 狂犬病ウイルスのガンマ線照射による不活化条件

狂犬病が疑われた動物の実験室診断は、脳の塗抹標本をアセトン固定して直接蛍光抗体法でウイルス抗原を検出するのが標準法（OIE）とされているが、アセトン固定では塗抹標本中の狂犬病ウイルスを完全に不活化できないという報告があるため、検査に使用する配布用の狂犬病ウイルス陽性対照用塗抹標本をガンマ線照射してウイルスが不活化される条件を検討した。ガンマ線照射前の乳のみマウスの感染脳組織中には 10^6FFU/mg 前後の感染価が検出されたが、80kGy を照射することで検出限界以下まで感染価を低減することができ、ガンマ線照射前と 80kGy 照射後での直接蛍光抗体法の反応性は同等であった。現在、自治体に配布する塗抹標本には人を発病さ

せるおそれはほとんどないものとして感染症法の対象病原体から規制除外されている HEP-Flury 株を使用している。[野口 章、井上 智、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂]

VI. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

1．ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Health and Environments：NIHE)との炭疽ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究

ベトナム・ディエンビン省の炭疽疑い患者・患畜および土壌から分離された検体を利用して LAMP 法を検証した。また、炭疽菌の病原性遺伝子を標的とした PCR でゲノムが増幅した土壌由来セレウス属菌株についてライブラリを作製して次世代シークエンサ（MiSeq）による全ゲノム解読を行った後に SNP による分子系統解析と病原性遺伝子保有プロファイル解析によって炭疽菌と近縁の土壌由来セレウス菌の鑑別を可能にした。[奥谷晶子、井上智、野口章、森川茂； Hoan Thi Thu Ha（NIHE）]

2. 国内土壌からのセレウス菌グループ菌種の分離とその分子遺伝学的解析について

セレウス菌群の各菌種の国内土壌からの分離同定および遺伝学的解析による病原性のリスク評価を行うため、国内土壌中からセレウス菌群であるセレウス菌やチュリンゲンシス菌を多数分離している。遺伝学的タイピングにより、複数の土壌由来セレウス菌は、敗血症由来および食中毒由来セレウス菌と近縁であることがわかった。また、炭疽菌と類似の病原性遺伝子は保持していない、複数の下痢毒遺伝子の保有プロファイルは食中毒由来セレウス菌のものとは異なることが明らかとなった。
過去に国内で発生した炭疽菌のフルゲノム解析を行い、病原性遺伝子比較解析の対照データに利用した。[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

3．緑茶由来カテキンの炭疽菌抗菌効果の検証

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ているが、ガレート型のカテキンにおいては通常のもののみならず抗菌剤耐性炭疽菌に対しても極めて高い抗菌効果を示し、多機能に作用するものであることが明らかになった。高濃度のカテキン添加下においては抗菌効果が得られるが、最小有効濃度を少し超えた程度の濃度添加下では抗菌効果が減弱・消失することが明らかとなった。[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VII. ヘニパウイルス及びその他のラブドウイルスに関する研究

1. ヘニパ関連ウイルスの診断法の整備

ガーナのオオコウモリから全ゲノム配列が得られたヘニパ関連ウイルス（Ghana virus：GhV）について、海外研究機関より GhV-F, G 蛋白質遺伝子を導入して、i) RT-PCR による GhV 遺伝子検出法、ii) シュードタイプ VSV を用いた中和試験法、iii) GhV ウサギ抗血清の作製を行いこれまで未整備だったヘニパ関連ウイルスの診断およびサーベイランスに必要な技術的基盤を整備した。[加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

2. ニパウイルス（NiV）による遅発性・再発性脳炎の診断法の検討

マレーシアの研究機関と協力して、i) 遅発性・再発性脳炎の血清学的診断法の検証、ii) 血清バンク保存血清を用いた NiV 不顕性感染者の探索を行い、発生国研究機関と協力関係を築いた。98-99 年のマレーシアでの NiV 感染症流行が全国的に拡大した直接の原因は「感染豚の流通」であり、発端となった「オオコウモリから豚への伝播」は、流行の初発地域である Ipoh 周辺で、限定的に起きたと考えられた。[加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

3. 国内で分離された未分類のラブドウイルスの血清学的診断法の開発

オオイタウイルス（OITAV）とフクオカウイルス（FUKV）のヒト、家畜、野生動物における浸潤調査を可能にするためにハムスター肺由来 HmLu-1 細胞を利用した IFA 用抗原スライドとウサギ陽性対照血清を作製した。作成した両陽性対照血清を利用した IFA と中和試験において両ウイルス間で交差反応は認められなかった。未整備だったラブドウイルスの血清学的診断法が構築されたことで、診断およびサーベイランスに必要な技術的基盤が整備された。 [加来義浩、野口章、奥谷晶子、井上智、森川茂]

4. Bas-Congo ウイルスの G 蛋白質を外套した偽水疱性口内ウイルスの作製

Bas-Congo ウイルスは、コンゴ民主共和国で 3 名の出血熱患者から遺伝子が検出されたがウイルスは分離されていないため、そのリスクは未知数である。Bas-Congo ウイルスの G 蛋白質の遺伝子配列は既知であるため、人工合成により cDNA を作製した。Bas-Congo ウイルスの G 蛋白質発現プラスミドを作製し、これを外套した GFP 発現型シュードタイプ VSV を作製した。本シュードタイプ VSV の感染力価は、10^8/mL と高力価であった。また、

感受性細胞域も広く、調べた全ての哺乳類細胞に感染したことから、Bas-Congo ウイルスの受容体は普遍的なものであると考えられる。シュードタイプ VSV を用いた中和抗体測定系の基礎ができた。今後、種々の組換え蛋白等を免疫した動物血清による中和抗体誘導能を、この系を用いて測定する予定である。

[朴ウンシル、加来義浩、鈴木道雄、木村昌伸、今岡浩一、森川茂（感染研・獣医科学部）]

5. Bas-Congo ウイルス N 蛋白質の発現

Bas-Congo ウイルスの N 蛋白質の遺伝子配列は 5’末端の配列が未知である。近年ラブドウイルス科に Tibovirus 属が新規に規定され Tibrogargan, Coastal plant virus が本属に分類された。昨年、西アフリカの健常人の血液から次世代シークエンサー解析により新規のラブドウイルス Ekpoma virus-1, Ekpoma virus-2 が同定された。これらは Bas-Congo ウイルスに比較的近縁であり N 蛋白質のアミノ酸配列が 40～45%一致する。これらの N 蛋白質配列のアライメントから Bas-Congo ウイルスの N 蛋白質の配列不明領域は 23 アミノ酸であると考えられた。

一方、N 末端に FLAG タグを付加した Bas-Congo ウイルスの N 蛋白質を哺乳類細胞に導入した結果、細胞質に蛋白の発現が認められた。また、大腸菌発現系で Nus-His タグ付加した Bas-Congo ウイルスの N 蛋白質を発現した結果、多量の組換え蛋白が発現された。今後、精製蛋白を用いて免疫血清を作製し、血清診断系を確立する予定である。

[朴ウンシル、加来義浩、鈴木道雄、木村昌伸、今岡浩一、森川茂（感染研・獣医科学部）、阪井弘治、俣野哲朗（感染研・エイズ研究センター]

VIII. 野兎病に関する研究

1. 野兎病菌感染回復マウスの血清抗体に関する研究

野兎病菌 Yama 株を皮内接種後 21 日生残したマウスの血清中の抗野兎病菌抗体の主要 Ig クラス、サブクラスについて ELISA および WB にて解析した。主要 IgG は C57BL/6J マウスでは IgG2c であり、BALB/c マウスでは IgG2a および IgG3 であった。それら IgG が認識する抗原は全菌体抗原の SDS-PAGE 泳動時の 17、19 および 43kDa のバンドに相当するプロテナーゼ K 感受性の構造体であった。IgM の認識抗原はプロテナーゼ K 耐性であったことから、リポ多糖体と考えられた。抗野兎病菌 IgA 抗体は検出されなかった。これより野兎病菌感染マウスは Th1 免疫応答することが血清学的にも示唆され、抗野兎病菌抗体検出の発展に有用な情報が得られた。

[堀田明豊、宇田晶彦、田徳雨、藤田修、森川茂]

2. 新たな野兎病菌病原遺伝子候補の同定

野兎病菌が *pdpC* 遺伝子欠損によって弱毒化するメカニズムを解明するために、野兎病菌マイクロアレイにより強毒株と *pdpC* 遺伝子欠損株である Δ*pdpC* 株の遺伝子発現比較解析を行った。その結果、野兎病菌の弱毒株と強毒株で、1,834 遺伝子中 21 遺伝子の発現レベルが有意に異なった。強毒株では 11 種類の tRNA、6 遺伝子（hupB、Isflu1、usp、FTT_0272、FTT_1140、5S rRNA）、および 2 種類の偽遺伝子の発現が上昇し、2 遺伝子（FTT_965c、16S rRNA）の発現が減少していた。これらの結果から、野兎病菌強毒株の高い感染性と病原性は、活発なタンパク質生合成に支えられている可能性が示唆された。また、強毒株で発現上昇していた 6 遺伝子産物が病原性に関与している可能性が示唆された。

[宇田晶彦、田徳雨、古山裕樹、堀田明豊、藤田修、森川茂]

IX. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する研究

1. ニホンジカより採取したマダニ類の SFTS ウイルス遺伝子保有状況から見た自然界における SFTS ウイルスの維持様式

狩猟期に捕獲されたニホンジカ体表より採取されたマダニ類から SFTS ウイルス遺伝子の検出を行い、SFTS ウイルスの維持におけるニホンジカとマダニ類の役割について検討した。その結果、マダニ類の SFTS 遺伝子の陽性率は、*Haemaphysalis* 属と *Ixodes* 属マダニ間に差はなく、平均約 20%を示した。また、現在まで SFTS 患者の発生が報告されていない地域を含む全調査地由来のマダニ類において SFTS ウイルス遺伝子の高い陽性率(10-30%)を示した。さらに、SFTS ウイルス遺伝子の高いコピー数を示すマダニ類は、SFTS 患者発生県で採取された個体に数多く見られる傾向にあった。今回の結果より、日本の自然界における SFTS ウイルスの維持には、少なくともニホンジカとそれに大きく依存する *Haemaphysalis* 属および *Ixodes* 属マダニからなる宿主−寄生体関係が深く関与していると推察された。

[藤田修、宇田晶彦、木村昌伸、藤田博己（馬原アカリ医学研究所）、今岡浩一、森川茂]

2. シカシラミバエは自然界での SFTS ウイルスの維持への関与について

ニホンジカ等の体表より採取されたシカシラミバエ(genus *Lipoptena*)から SFTS ウイルス遺伝子の検出を行い、

シカシラミバエの自然界での SFTS ウイルスの維持様式について検討した。その結果、シカシラミバエの SFTS ウイルス遺伝子の陽性率は 10%以上と高く、ダニ目以外の生物から初めてこのウイルスの遺伝子が検出された。さらに、現在まで SFTS 患者の発生が報告されていない地域を含む全ての調査地由来のシカシラミバエにおいて SFTS ウイルス遺伝子の陽性個体が認められた。シカシラミバエが、野生動物とマダニ類間で形成される感染環に入り込み偶発的にウイルスを含む血液を吸血して遺伝子を保有しているのか、より積極的に野生動物との間での感染環に関与しているのかは、さらなる検討が必要である。

[藤田修、林利彦（昆虫医科学部）、宇田晶彦、木村昌伸、朴ウンシル、今岡浩一、森川茂]

3. 野生ニホンジカ血清中の重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス遺伝子の検出

野生ニホンジカの血清から SFTS ウイルス遺伝子の検出を試みた。2014 年 11 月から 2015 年 2 月の狩猟期間に 15 府県で採取されたシカ血清 423 検体を用いた。血清から RNA を抽出し、qRT-PCR により SFTSV 遺伝子の検出および RNA の定量を行い、陽性血清については増幅産物の塩基配列を決定し、近隣結合法により分子系統解析した。この結果、東日本の自治体で採取された 2 検体が SFTSV 陽性であり、RNA コピー数は $4x10^2$、$3x10^3$ コピー/mL であった。また、分子系統樹解析の結果、前者は主要な日本株クラスター内に位置し、後者は和歌山県の 2014 年の患者分離株に近縁であった。東日本では SFTS 患者発生の報告はないが、SFTSV 陽性マダニや抗 SFTSV 抗体陽性シカは認められている。今回、東日本の野生シカ血清から SFTSV が検出されたことから、東日本においてもマダニーシカ間で SFTSV が維持されていることが強く示唆された。また、これらの地域においても患者発生リスクがあると考えられる。

[古山裕樹、宇田晶彦、吉川智城、木村昌伸、藤田修、堀田明豊、田徳雨、今岡浩一、森川茂]

4. ニホンジカの SFTS ウイルス抗体保有状況

九州から北海道の 28 自治体で 2007 年から 2015 年度にかけて捕獲されたニホンジカの SFTS ウイルス抗体保有率を調査した結果、患者の発生している自治体、患者の発生していない自治体のいずれからも抗体陽性動物が見出された。既に 2007 年には国内のニホンジカに SFTS ウイルスが感染していたことが明らかになった。なお、他種動物の調査結果では 2005 年には国内の野生動物に SFTS ウイルスが感染していたことが分かっている。これらのことから、国内には 10 年以上前から SFTS ウイルスが存在していたことが明らかになった。ニホンジカ全体での SFTS ウイルス抗体陽性率は 24%であった。患者の発生している自治体ではニホンジカの抗体陽性率は 37%で、発生していない自治体では陽性率は 8.4%と有意差が認められ、動物の抗体陽性率と患者数には相関関係があると推定された。そこで、2015 年度に調査した 20 自治体のニホンジカの SFTS ウイルス抗体保有率と SFTS 患者発生数に相関関係があるかを解析した結果、有意な正の相関があった。野生動物の血清疫学データは SFTS 患者発生のリスクをはかる指標となることが分かった。

[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、森川茂（獣医科学部）；前田健（山口大学）]

5. 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

C57BL/6J に I 型インターフェロン受容体欠損を導入したマウス(C57BL/6J-IFNAR1-/-)が SFTS 発症モデルとして有用である。C57BL/6J-IFNAR1-/-に SFTS ウイルス HB29 株、YG1 株を感染させると致死的感染を起こす。いずれも LD_{50} は皮下接種で約 10^1TCID_{50}/mL であった。感染動物は感染ウイルス量によるが、6〜10 日で死亡した。C57BL/6J では非顕性感染で死亡しないことから、マウスにおいては I 型インターフェロンが感染防御に重要である。C57BL/6J-IFNAR1-/-では感染 3 日目には高レベルのウイルス血症をおこし、各臓器・組織でもウイルスが検出された。C57BL/6J-IFNAR1-/-では、C57BL/6J と比較して IFN-γ, IL-12, IP-10, MIG, TNF-α, IL-6 が感染後数日で有意に上昇した。病理組織学的には壊死性リンパ節炎が認められ、主要な感染細胞はリンパ球系細胞であった。これは患者の剖検例の病理組織学的所見と類似することから、発症モデルとして有用であると考えられた。本モデル系では、患者では顕著な血球貪食像は不明瞭であった。

[古山裕樹、宇田晶彦、河合康洋[1]、朴ウンシル、鈴木忠樹[2]、高橋健太[2]、田徳雨、堀田明豊、藤田修、長谷川秀樹[2]、森川茂（1.動物管理室、2.感染病理部）]

6. 日本の動物における Bhanja ウイルス抗体保有調査

SFTS ウイルスに比較的近縁な Bhanja 血清グループの Forecariah ウイルスは、血清学的に交叉するという報告がある。そこで、高度免疫血清を作製し交差反応性を検討したところ、殆ど交叉しなかった。そこで、2014 年に採取されたニホンジカ、2010 年に採取されたイヌ、2011-13 年に採取されたイノシシの血清（それぞれ 434,

142, 110 検体）の Bhanja ウイルス抗体保有状況を ELISA 及び間接蛍光抗体法により調べた結果、全てが陰性であった。これらの動物には SFTS 抗体保有動物が含まれるが、交叉反応も見られなかった。このことから、国内の動物の SFTSV の血清疫学では Bhanja ウイルス抗体との交叉によるものはないこと、国内の動物は Bhanja ウイルスに感染していないことが分かった。
[木村昌伸、堀田明豊、鈴木道雄、朴ウンシル、今岡浩一、森川茂]

7. Bhanja ウイルスの病原性に関する研究

SFTS ウイルスに比較的近縁な Bhanja 血清グループの Forecariah および Palma ウイルスの I 型インターフェロンレセプター欠損マウス(C57BL/6J-IFNAR1-/-)および C57BL/6J マウスへの病原性を確認した。Forecariah および Palma ウイルスはそれぞれ $10^{4.5}$ $TCID_{50}$/50 μL/匹、$2x10^{0.3}TCID_{50}$/100 μL/匹を皮下接種した。C57BL/6J マウスは全個体が接種 3 週後まで症状を示さなかったため、これらウイルスの一般動物への病原性は極めて弱いと考えられた。一方、C57BL/6J-IFNAR1-/-では接種後 3 日に体重減少し、4〜6 日で体重が接種時より 10%程減少後、斃死ないし安楽殺された。これらマウスでは脾臓の腫大、HV、胸腺の退縮が認められた。C57BL/6J-IFNAR1-/-は Bhanja ウイルス発症動物モデルとして有用と考えられ、Bhanja ウイルスにおいても他のフレボウイルス同様、宿主の I 型 IFN 応答が病原性に大きく関与すると考えられた。
[堀田明豊、鈴木道雄、古山祐樹、宇田晶彦、森川茂]

レファレンス業務等

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、木村昌伸、森川茂）

平成 27 年度は、動物の SFTS ウイルスの血清疫学のレファレンス機能を向上させるため、衛生微生物協議会の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 19 地衛研とレファレンスネットワークを構築して、ELISA による動物パネル血清の抗体検出の EQA を実施した。その結果、14 自治体が感度・精度よく抗体を検出できた。低感度の成績であった 1 自治体は感染研で研修した結果、問題が解決できた。幾つかの地衛研では ELISA の経験が殆ど無いか実施していないことがわかったが、多くの地衛研では今後 SFTS ウイルスの血清疫学が可能となった。

2. 行政検査・依頼検査等

今年度は以下の行政検査・依頼検査等を実施した。

1) ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査：２件（行政）、１件（依頼） [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：８件（依頼）[鈴木道雄、今岡浩一]
3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：３件（依頼）[木村昌伸、今岡浩一]
4) 野兎病疑い患者検体の行政検査４件（静岡県２件、東京都、福島県各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１件 [宇田晶彦]

研修業務

1) 奥谷晶子　動物由来感染症。FETP17 期生対象初期研修。2016 年 4 月 16 日、国立感染症研究所。
2) 奥谷晶子　全国のテロ対策に従事する警察官対象の細菌性生物剤に関する基礎知識(特に炭疽菌について)。2016 年 12 月 17 日、東京都府中市警察大学校。
3) 井上智　狂犬病：ガイドライン等に基づいた注意点等及び狂犬病検査について。平成 27 年度狂犬病予防業務地方ブロック技術研修会、厚生労働省健康局結核感染症課。2015 年 6 月 22-23 日、岩手県環境保健研究センター、岩手県。
4) 井上智　狂犬病：ガイドライン等に基づいた注意点等。平成 27 年度狂犬病診断研修会、山口県環境生活部。2015 年 8 月 24 日、国立大学法人山口大学共同獣医学部 Icover 棟・病理解剖棟、山口県。
5) 井上智　研修・特別講演：世界における狂犬病の発生状況と国内対策について。平成 27 年度全国公衆衛生獣医師協議会調査研究発表会、全国公衆衛生獣医師協議会。2015 年 9 月 4 日、明治記念館、東京都
6) 井上智　狂犬病：ガイドライン等に基づいた注意点等及び狂犬病検査について。平成 27 年度狂犬病予防業務地方ブロック技術研修会、厚生労働省健康局結核感染症課。2015 年 11 月 17-18 日、京都府保健環境研究所、京都府。
7) 井上智　狂犬病：ガイドライン等に基づいた注意点等及び狂犬病検査について。平成 27 年度狂犬病予防業務地方ブロック技術研修会、厚生労働省健康局結核感染症課。2015 年 11 月 19-20 日、広島県立総合技術研究所保健環境センター、広島県。
8) 井上智　地域における危機管理対応について。第 3 回九州地区狂犬病診断研修会。宮崎大学人獣共通感染症教育・研究プロジェクト、宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター、宮崎県福祉部保健部衛生管理

課。2015 年 12 月 16 日、宮崎大学、宮崎県。

9) 井上智　狂犬病の発生状況について。第 3 回九州地区狂犬病診断研修会。宮崎大学人獣共通感染症教育・研究プロジェクト、宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター、宮崎県福祉部保健部衛生管理課。2015 年 12 月 16 日、宮崎大学、宮崎県。

10) 井上智　狂犬病：ガイドライン等に基づいた注意点等及び狂犬病検査について。平成 27 年度狂犬病予防業務地方ブロック技術研修会、厚生労働省健康局結核感染症課。2016 年 2 月 18-19 日、徳島県動物愛護管理センター・食肉衛生検査所、徳島県。

11) 井上智　各国の発生状況を踏まえた日本のリスクへの対応について。平成 27 年度狂犬病予防業務担当者会議、厚生労働省健康局結核感染症課。2016 年 2 月 23 日、三田共用会議所（講堂）、東京都。

12) 今岡浩一 動物由来感染症. 平成 27 年度国立感染症研究所・医師卒後臨床研修プログラム, 東京, 2015 年 10 月

13) 今岡浩一 ブルセラ症. 平成 27 年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2016 年 2 月

14) 堀田明豊　狂犬病の検査に関わるバイオセ-フティ上の注意点等。平成 27 年度狂犬病予防業務東北地方ブロック技術研修会。2015 年 6 月 22-23 日、岩手県環境保健研究センター、盛岡市、岩手県

15) 堀田明豊　個人用保護具（PPE）装着の注意点について。平成 27 年度狂犬病予防業務近畿地方ブロック技術研修会。2015 年 11 月 17 日、京都府保健環境研究所、京都市、京都府

16) 堀田明豊　個人用保護具（PPE）装着の注意点について。平成 27 年度狂犬病予防業務中国地方ブロック技術研修会。2015 年 11 月 19 日、広島県立総合技術研究所保健環境センター、広島市、広島県

17) 堀田明豊　個人用保護具（PPE）装着の注意点について。平成 27 年度狂犬病予防業務四国地方ブロック技術研修会。2016 年 2 月 18 日、徳島県動物愛護管理センター、徳島市、徳島県

18) 高田伸弘, 夏秋優, 石畝史, 藤田博己, 宇田晶彦, 矢野泰弘, 北近畿日本海側でみたダニ媒介感染症－SFTS, 紅斑熱また恙虫病の感染環調査 2014 年－, 第 33 回北陸病害動物研究会, 2015 年 6 月.

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、平成 27 年 8 月 31 日～9 月 4 日まで感染研にて実施した。（獣医科学部、感染症疫学センター、動物管理室、バイオセーフティ管理室）

2. 岐阜大学大学院連合獣医学研究科・獣医学特別実験

平成 27 年年 12 月 1 日～4 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・講義を担当した。

競争的外部資金

I. ＡＭＥＤ（国立研究開発法人日本医療研究開発機構）委託費　感染症実用化研究事業（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」（新興実用化一般）（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」（新興実用化一般）（研究代表者：倉田毅）研究分担：森川茂

3) 「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」（新興実用化一般）（研究代表者：脇田隆字）研究分担：森川茂、井上智

4) 「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」（新興実用化一般）（研究代表者：下島昌幸）研究分担：森川茂、加来義浩

5) 「迅速・網羅的病原体ゲノム解析法を基盤とした感染症対策ネットワーク構築に関する研究」（新興実用化一般）（研究代表者：黒田誠）研究分担者：森川茂

6) 「我が国における高病原性病原体取扱い者の安全を確保するための研究」（新興実用化一般）（研究代表者：西條政幸）研究分担者：森川茂

7) 「動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究」（新興実用化）（研究代表者：吉川泰弘）研究分担：今岡浩一、井上智

II. 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）

1) 「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」（新興行政指定）（研究代表者：西條政幸）研究分担：森川茂

2) 「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」（新興指定）

（研究代表者：宮崎義継）研究分担：森川茂

3) 「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）」（新興一般）（研究代表者：苅和宏明）研究分担：井上智、今岡浩一

Ⅲ 文部科学省（学術研究助成基金助成事業）

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 」（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 」（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 」（研究代表者：森川茂）研究分担：加来義浩
4) 基盤研究（C）「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」(研究代表者：春原正隆)研究分担：森川茂
5) 基盤研究（C）「重症敗血症患者から分離された新規 Capnocytophaga 属菌に関する研究」研究代表者：鈴木道雄

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

１． 欧文発表

1) Eisenberg,T., Glaeser,SP., Ewers,C., Semmler,T., Nicklas,W., Rau,J., Mauder,N., Hofmann,N., Imaoka,K., Kimura,M. and Kämpfer,P. *Streptobacillus notomytis* sp. nov. isolated from an Australian spinifex hopping mouse (*Notomys alexis*) THOMAS, 1922 and emended description of Streptobacillus Levaditi et al. 1925, Eisenberg et al. 2015 emend. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 65(12):4823-4829, 2015
2) 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
3) Lee S, Kaku Y, Inoue S, Nagamune T, Kawahara M. Growth signalobody selects functional intrabodies in the mammalian cytoplasm Biotechnol J. 2016 Mar;11(4):565-73.
4) Okutani A, Osaki M, Takamatsu D, Kaku Y, Inoue S, Morikawa S. Draft genome sequences of *Bacillus anthracis* strains stored for several decades in Japan. Genome announcements. 2015. Jun 18;3(3).
5) Inoue, S., Park, C.-H., Hatta, H. 25. Production of polyclonal rabies virus antibodies in birds. Section H: Rabies antibodies/Fragments. In: Rupprecht, C. and Nagarajan, T., editors. Current laboratory techniques in rabies diagnosis, research, and prevention. Volume 2: Rabies biologics. Academic press. Elsevier, 305-316, 2015.
6) Ogawa K, Komagata O, Hayashi T, Itokawa K, Morikawa S, Sawabe K, Tomita T. Field and laboratory evaluations of the efficacy of DEET repellent against Ixodes ticks. Jpn J Infect Dis. in press
7) Sakai K, Hagiwara K, Omatsu T, Hamasaki C, Kuwata R, Shimoda H, Suzuki K, Endoh D, Nagata N, Nagai M, Katayama Y, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Mizutani T, Maeda K. Isolation and Characterization of a Novel Rhabdovirus from a Wild Boar (Sus scrofa) in Japan. Veterinary Microbiology, 2015 Sep 30;179(3-4):197-203.
8) Hamamoto N, Uda A, Tobiume M, Park CH, Noguchi A, Kaku Y, Okutani A, Morikawa S, Inoue S. Association between RABV G Proteins Transported from the Perinuclear Space to Cell Surface Membrane and N-glycosylation of the Sequon at Asn204. Jpn J Infect Dis. 2015, 68(5):387-93.
9) 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.
10) Okamoto M, Miyazawa T, Morikawa S, Ono F, Nakamura S, Sato E, Yoshida T, Yoshikawa R, Sakai K, Mizutani T, Nagata N, Takano J, Okabayashi S, Hamano M, Fujimoto K, Nakaya T, Iida T, Horii T, Miyabe-Nishiwaki T, Watanabe A, Kaneko A, Saito A, Matsui A, Hayakawa T, Suzuki J, Akari H, Matsuzawa T, Hirai H. Emergence of infectious malignant thrombocytopenia in Japanese macaques (*Macaca fuscata*) by SRV-4 after transmission to a novel host.

Sci Rep. 2015, 5:8850.

11) 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. Emerg Infect Dis. 2015, 21(2):328-31.

12) 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;96(Pt2):390-4.

13) Hotta A, Tanabayashi K, Fujita O, Shindo J, Park CH, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamamoto Y, Takano A, Kawabata H, Sharma N, Uda A, Yamada A, and Morikawa S., Survey of *Francisella Tularensis* in Wild Animals in the Endemic Areas in Japan., Japanese Journal of Infectious Diseases, in press.

14) Hotta A, Fujita O, Uda A, Yamamoto Y, Sharma N, Tanabayashi K, Yamada A, and Morikawa S., Virulence of Representative Japanese *Francisella Tularensis* and Immunologic Consequences of Infection in Mice., Microbiol Immunol, 60(3):168-176, 2016.

15) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Shimojima M, Watanabe H, and Saijo M, Efficacy of T-705 (Favipiravir) in the Treatment of Infections with Lethal Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus, mSphere, 1(1):e00061-15, 2016.

２．和文発表

1) 堀田明豊、棚林清、山田章雄. 日本の医師と獣医師における One Health に関するアンケート調査. 感染症学雑誌, 89(5):606-608, 2015

2) 堀田明豊. 野兎病（解説）. 日本バイオセーフティ学会(The Japanese Biosafety Association). JBSA Newsletter, 5(2):13-15, 2015

3) 奥谷晶子. 炭疽（解説）. 日本バイオセーフティ学会ニュースレター.2015.VOL.5 No.2

4) 濱本紀子、井上智。狂犬病とその対策。山口獣医学雑誌。41:1-12、2015（Hamamoto N. and Inoue S. Rabies and rabies prevention in Japan. Yamaguchi J. Vet. Med. 41:1-12.）

5) 井上智、畠山薫、水越文徳、野口章。特集：国境を越える感染症。狂犬病。獨協医学会（Dokkyo Journal of Medical Scienceas）。42:215-223、2015

6) 森川茂. いま注目のウイルス感染症　SFTS（重症熱性血小板減少症候群）医学のあゆみ　253(1): 43-49 2015

7) 森川茂. SFTS（重症熱性血小板減少症候群）　別冊・医学のあゆみ感染症最前線とグローバル・ヘルス（医歯薬出版）p42-48, 2016

8) 森川茂　重症熱性血小板減少症候群（SFTS）Progress in Medicine　2015；35 (12)；1907-1911

9) 森川茂　ペットとウイルス感染症　臨床とウイルス（特集 環境の変化とウイルス感染症）44(1): 47-52 2016

10) 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.

11) 森川茂　重症熱性血小板減少症候群（SFTS）皮膚病臨床 37(6): 522-528, 2015

12) 森川茂　【話題の疾患と治療】重症熱性血小板減少症候群(SFTS) 感染・炎症・免疫 45(3): 58-85, 2015

13) 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

14) 武藤義和, 山元佳, 橋本武博, 片浪雄一, 忽那賢志, 竹下望, 早川佳代子, 金川修造, 大曲貴夫, 加藤康幸, 今岡浩一. Brucella melitensis 感染症と診断されたソマリア人男性の１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, 36(10): 195-196, 2015

15) 今岡浩一. 動物由来感染症（ペットは家族－でもご注意を）－Topics・現代の感染症. in：月刊保団連, 保団連, 1199: 30-36, 2015

16) 森川茂, 木村昌伸, 朴ウンシル, 今岡浩一, 宇田晶彦, 堀田明豊, 藤田修, 古山裕樹, 加来義浩, 澤辺京子, 川端寛樹, 安藤秀二, 西條政幸, 前田健, 鍬田龍生, 下田宙, 高野愛, 藤田博己, 高田伸弘. SFTS ウイルスの国内分布調査結果（第三報）. 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, 37(3): 50-51, 2016

17) 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) Akiko Okutani. Genetic and biological analysis of Bacillus cereus group bacteria isolated from soil in Japan. Bacillus ACT 2015. Oct., 2015. Delhi, India

2) Yamamoto K., Ujiie M., Noguchi A., Kato Y., Takeuchi S., Shinohara K., Matono T., Uemura H., Fujiya Y.,

Mawatari M., Kutsuna S., Takeshita N., Hayakawa K., Kanagawa S., Inoue S., Morikawa S., Ohmagari, N. Rabies Post-exposure Prophylactic Vaccination for Japanese Travelers. Conference of the International Society of Travel Medicine. 24-28 May, 2015. Centre des Congrès de Québec, Canada.

3) Kimitsuki K., Boonsriroj H., Manalo L.D., Shimatsu T., Shiwa N., Takahashi Y., Tanaka N., Inoue S. and Park, C.-H. A pathological study of the salivary glands of rabid dogs in the Philippines. 7th Asian Society of Veterinary Pathology (ASVP) meeting and symposium 2015. 8-11 November, 2015.

２．国内学会

1) 古山裕樹, 朴ウンシル, 田徳雨, 宇田晶彦, 鈴木道雄, 鈴木忠樹, 森川茂. Establishment of Highly Susceptible C57bl/6j Mice Lacking the Type I Ifn Receptor to Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection, 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡, 2015 年 11 月

2) 古山裕樹, 宇田晶彦, 吉河智城, 木村昌伸, 藤田修, 堀田明豊, 田徳雨, 今岡浩一, 森川茂. 野生ニホンジカ血清中の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）ウイルス遺伝子の検出, 158 回日本獣医学会学術集会, 十和田, 2015 年 9 月

3) 堀田明豊, 山本美江, 藤田修, 宇田晶彦, 棚林清, 森川茂. 野兎病菌日本分離株のラットにおける病原性, 158 回日本獣医学会学術集会, 十和田, 2015 年 9 月

4) 宇田晶彦, 田徳雨, 古山裕樹, 堀田明豊, 藤田修, 森川茂. 野兎病菌強毒株と弱毒株の遺伝子発現比較, 158 回日本獣医学会学術集会, 十和田, 2015 年 9 月

5) 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, 山田章雄, 平山和宏, 堀田こずえ, 藤田修, 古山裕樹, 森川茂. Evaluation of A Novel Francisella Live Attenuated Vaccine Candidate Deleting A Pdpc Gene In A Monkey Lethal Model 158 回日本獣医学会学術集会, 十和田, 2015 年 9 月

6) 音成紫帆, 宇田晶彦, 渡邉健太, 清水隆, 度会雅久. Francisella tularensis における VI 型分泌機構関連タンパク質 IglE の細胞内動態解析, 158 回日本獣医学会学術集会, 十和田, 2015 年 9 月

7) 田口由起, 今岡浩一, 片岡紀代, 宇田晶彦, 中津大貴, 堀井咲耶, 國重莉奈, 加納ふみ, 村田昌之. Yip1A は Brucella abortus 感染下での小胞体ストレス応答の IRE1 経路の活性化に必要な新規宿主因子である, 第 67 回日本細胞生物学会大会, 東京, 2015 年 6 月

8) 佐藤昭裕, 藤田裕晃, 月森彩加, 小林勇仁, 中村造, 福島慎二, 水野泰孝, 大楠清文, 藤井毅, 今岡浩一, 松本哲哉. アニマルケアスタッフの *B. canis* 無症候性保菌. 第 89 回日本感染症学会総会, 京都, 2015 年 4 月

9) 福島一彰, 柳澤如樹, 古畑匡規, 佐々木秀悟, 関谷紀貴, 菅沼明彦, 木村昌伸, 今岡浩一,今村顕史. 四肢末端に有痛性膿疱を呈し、皮膚生検検体の PCR 検査で診断に至った鼠咬症の一例. 第 89 回日本感染症学会総会, 京都, 2015 年 4 月

10) 新倉(座本)綾, 今岡浩一, 森川茂, 萩原克郎, 加藤(森)ゆうこ, 平田晴之, 石原智明, 花木賢一. 全国のシカにおける *Babesia divergens* 感染状況調査. 第 158 回日本獣医学会学術集会, 十和田, 2015 年 9 月

11) 谷山大輔, 井本一也, 鈴木道雄, 今岡浩一. 免疫健常者に発症した *Capnocytophaga canimorsus* の菌血症の一例. 第 64 回日本感染症学会東日本地方会学術集会, 札幌, 2015 年 10 月

12) Morikawa, S., Kimura, M., Kaku, Y., Park, E-S., Imaoka, K., Saijo, M., Maeda, K. Prevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus antibodies in wild Japanese deer (日本ジカにおける SFTS ウイルス抗体保有状況). The 63rd Annual Meeting of the Japanese Society for Virology (第 63 回日本ウイルス学会学術集会), 福岡, 2015 年 11 月
坂本健次, 尾形佳子, 宇都宮俊之, 村田順之, 大石景士, 大藤貴, 近森研一, 前田忠士, 上岡博, 鈴木道雄, 今岡浩一. 犬咬傷によると思われる *Capnocytophaga canimorsus* 感染症から敗血症、電撃性紫斑病を発症し死亡された一例. 第 113 回日本内科学会中国地方会, 広島, 2015 年 12 月

13) 加来義浩、朴ウンシル、木村昌伸、野口章、井上智、森川茂。サル免疫血清を陽性対照に用いたニパウイルス IgM 検出系の開発。第 158 回日本獣医学会 2015 年 9 月

14) 加来義浩、黒田誠、齊藤［小畑］麻理子、野口章、奥谷晶子、関塚剛史、井上智、森川茂。フィリピンにおける 2014 年のニパウイルス感染症の流行。第 63 回日本ウイルス学会　2015 年 11 月

15) 奥谷晶子、井上智、加来義浩、野口章、森川茂。国内の土壌から分離されるセレウス属菌の遺伝学的・生物学的解析。第 158 回日本獣医学会学術集会、公衆衛生分科会。2015 年 9 月 7 日-9 日、北里大学獣医学部、十和田市、青森県

16) Daria Manalo、Boldbaatar Bazartseren、朴天鎬、井上

智。直接迅速免疫組織化学（DRIT）法を利用したフィリピンにおける狂犬病検査法の検討。第 158 回日本獣医学会学術集会、公衆衛生分科会。2015 年 9 月 7 日-9 日、北里大学獣医学部、十和田市、青森県

17) 野口章、町田一哉、徳本誠治、寺原孝明、加来義浩、奥谷晶子、内藤誠之助、森川茂、井上智。マイクロニードル皮内免疫法による簡便で効果的な狂犬病ワクチンの接種法に関する研究。第 158 回日本獣医学会学術集会、公衆衛生分科会。2015 年 9 月 7 日-9 日、北里大学獣医学部、十和田市、青森県

18) 志和希、島津太一、君付和範、Hassadin Boonsriroj、Daria L. Manalo、井上智、朴天鎬。狂犬病発病犬の味蕾乳頭（有郭乳頭）と舌小唾液腺（エブネル腺）に関する病理学的研究。第 158 回日本獣医学会学術集会、公衆衛生分科会。2015 年 9 月 7 日-9 日、北里大学獣医学部、十和田市、青森県

19) 島津太一、志和希、君付和範、Hassadin Boonsriroj、Daria L. Manalo、井上智、朴天鎬。狂犬病発病犬の鼻口部洞毛は死後組織診断材料として極めて有用である。第 158 回日本獣医学会学術集会、公衆衛生分科会。2015 年 9 月 7 日-9 日、北里大学獣医学部、十和田市、青森県

20) グエン・トゥイズオン、加来義浩、井上智、長棟輝行、河原正浩。Increasing signal-to-noise of an scFv-c-kit biosensor by insertion of a flexible linker。化学工学会第 47 回秋季大会、2015 年 9 月 9 日-11 日、北海道大学、札幌市、北海道

21) 水越文徳、畠山　薫、野口章、井上智、船渡川圭次。狂犬病ウイルス遺伝子検査の精度向上に関する研究。平成 27 年度日本獣医師会獣医学術年次大会。2016 年 2 月 26-28 日、日本獣医師会、秋田市、秋田県

３．セミナー・講演等

1) Inoue S. Laboratory network for diagnosis of animal rabies. The 12th Japan-Taiwan symposium on vector-borne diseases, vaccine preventable diseases. 10-11 Sep, 2015. National Institute of Infectious Diseases. Tokyo, Japan.

2) Inoue S. 日本狂犬病監測(Rabies surveillance in Japan). 專題演講 (Specialized seminar). 29 Jan, 2016. 行政院農業委員會家畜衛生試驗所（Council of Agriculture, Executive Yuan, Animal Health Research Institute）. 新北市(New Taipei city), 台湾 (Taiwan).

3) Inoue S. 日本寵物狂犬病疫苗注射概況(An introduction of pet rabies vaccination in Japan). 台日狂犬病研討會 (Taiwan-Japan rabies conference). 30 Jan, 2016. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局、高雄市動物保護處. 高雄市(Kaohsiung city), 台湾 (Taiwan).

4) Inoue S. Rabies surveillance in Japan. Laboratory network for animal rabies diagnosis. Specialized seminar. 3 Feb, 2016.Taiwan DCD, Kun-Yang office. Taipei city, Taiwan.

5) Inoue S. Overview of prevention and control of zoonosis diseases in public health. Hoi nghi khoa hoc y te du phong Thanh pho Ha Noi lan thur nhat 2016. 26 Feb, 2016. Trung tam Y te Dur phong Ha Noi. Hanoi city, Vietnam.

6) Hotta A. and Inoue S. Rabies surveillance in Japan (To warrant rabies-free country). Session 10: Partners forum. Follow up workshop on relevant international standards for dog rabies. 17-19 May, 2016. Bangkok, Thailand.

7) 井上智。特別講義:最近話題となっている感染症。2015 年 4 月 27 日、日本獣医生命科学大学、東京都。

8) 井上智。狂犬病、公衆衛生における課題。平成 27 年度学際領域特別講義、岐阜大学連合獣医学研究科。2015 年 6 月 11 日、帯広畜産大学、北海道。

9) 井上智。公開講座：狂犬病対策における獣医師の役割。第 64 回九州地区獣医師大会：平成 27 年度日本獣医公衆衛生学会（九州地区）。2015 年 10 月 16 日、メルパルク熊本、熊本市、熊本県。

10) 井上智。日本に必要な狂犬病の予防対策について（Rabies: Crisis preparedness for rabies in Japan）、第 1 部 国境なき人獣共通感染症-拡大阻止へ-。迫り来る感染症への備え-人獣共通感染症に焦点を当てて-国境なき家畜伝染病防疫対策の取り組み（Part 1. Preparation for Zoonotic Diseases in a Borderless World - To stop spreading. Preparing for Looming Disease Threats – Special Emphasis on Zoonosis Control – The Global Countermeasures against Trans-boundary Animal Diseases）。2015 年 11 月 13 日、宮崎大学 第 5 回第国際シンポジウム（The 5th International Symposium））。宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター（Center for Animal Disease Control University of Miyazaki）。宮崎観光ホテル、宮崎市、宮崎県。

11) 井上智。狂犬病:公衆衛生における専門家の役割。平成２７年度岡山県獣医師会公衆衛生講習会。岡

山県獣医師会公衆衛生部会。2016 年 2 月 10 日、ピュアリティまきび、岡山市、岡山県。

12) 今岡浩一. 人獣共通感染症の動向とリスク評価について. 平成 27 年度中央畜産技術研修会(畜産物安全行政), 白河, 2015 年 6 月

13) 今岡浩一. 愛玩動物由来感染症について. 2015 獣医学生のための実習・インターンシッププログラム（公衆衛生獣医師インターンシップ）事前講義動画, 2015 年 8 月

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２７年度は乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン、組換え沈降９価ヒトパピローマウイルス様粒子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。また、血液製剤に対する免疫グロブリンG重合物否定試験、抗補体性否定試験法の標準化を完了した。これらの試験に用いる参照品の整備を行い、試験精度の向上を積極的に図っている。一方で試験体制の効率化を図るべく、平成２７年度は乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの国家検定からたんぱく質含量試験（ローリー法）の削除、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）の削除の検討を終了した。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。これまでに、血液製剤のロットリリースのあり方については検討してきたが、ワクチンにおいて既に導入が図られているSLP審査を、血液製剤においても導入を検討する時期に来ていると思われる。ロットリリースにおいて製剤の製造工程のレビューを行う体制を整えたい。

体外診断用医薬品においては、B 型肝炎ウイルス表面抗原キット及びABO式血液型キット、Rh式血液型キット(ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体)の承認前検査を担当した。合わせて体外診断用医薬品の承認前検査の効率的な進め方についての検討を行った。

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､血清/血漿中の抗A抗B抗体価の評価を目的としたWHO参照品、C型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品、B 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品のための 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、血液製剤安全性確保のためのデングウイルス、チクグニアウイルス高感度核酸検査法の開発、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を行っている。この他にも、HTLV-1感染症の疫学、診断、感染予防、ATLの発症予防に関する研究を重点的に推進している。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、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等、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、日本研究開発機構、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。

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

末梢血中の HTLV-1 プロウイルス量は、HTLV-1 キャリアからの ATL 発症の予測因子として注目されている。しかし､施設毎の HTLV-1 核酸検査の測定結果には乖離があることが知られているため､ATL 由来 HTLV-1 感染細胞株の TL-Om1 細胞を HTLV-1 核酸検査の標準物質として設定した。現在、この細胞を用いた HTLV-1 核酸検査標準品の候補品の作製に取り組んでいる。また HTLV-1 感染のより正確な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 法と核酸検査法を同時に実施し、核酸検査の有効性について多施設共同研究にて確認した。本核酸検査は、妊婦の Western Blot 法判定保留例に対する検査として保険収載されることとなった。さらに、推奨検査手順フローに核酸検査法を組込んだ「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針（案）」も作成している。
[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、チクグニアウイルス高感度核酸検査法の開発

本邦でも、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とチクングニアウイルスの高感度核酸検査系の構築を目指した。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。デングウイルスについては、1 チューブでデング 4 血清型全てを同時に検出できる multiplex RT-qPCR 法を構築した。これまでの方法に比べても、感度・特性は同等以上であることを確認した。
[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、高崎智彦（ウイルス１部）、倉根一郎（所長）、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 とは異なり、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､献血検査においても 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 qPCR primer & probe セットを新規に大規模スクリーニングし､高感度 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（所長）]

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の検討

HBV の再活性化が大きな問題となり、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、日本赤十字社の協力のもと、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。現在、次期性能調査実施に向けて、検討をより詳細に行うための、HBV genotype 既知の献血由来検体を用いた新たな評価検体を整備している。
[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）]

5) 血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)のコントロールサーベイ事業

平成 25～26 年に血液製剤の NAT が新しいマルチプレックス試験法に更新され、NAT ガイドラインと輸血用血液の NAT 感度の改正が行われた。本年度は新試験法において改訂後の感度とガイドラインに従って B 型肝炎ウイルス, C 型肝炎ウイルス及びヒト免疫不全ウイルスの NAT の感度と同定が適切に精度管理されているかの実情を把握する目的で 3 ウイルスのブラインドパネルを用いて第 7 回 NAT コントロールサーベイを実施した。対象とした全施設（分画製剤製造所等 5、輸血用血液スリーニング施設 8）において上述の 3 ウイルスを正しく検出・同定出来た。
[水澤左衛子、松岡佐保子、濵口功]

6) C型肝炎ウイルス検出を目的とした体外診断用医薬品の性能調査

国内採取検体を用いて整備したHCV感染症検体パネル候補品の適性評価、およびC型肝炎ウイルスの体外診断用医薬品の性能調査を行った。HCV抗体は国内で市販されているキットの一部を対象としたが､正確性に問題はなかった。HCV-RNA､HCVコア抗原について、各キット間の相関は高く､遺伝子型による差異も認められなかった。

コア抗原が低値を示した一部検体についてはアミノ酸点変異の可能性が報告されており、該当箇所の配列解析を行っている。
[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、松岡佐保子、大隈和、濵口功]

２．国際・国内標準品整備に関する研究

1) 血清/血漿中の抗A抗B抗体価の評価を目的としたWHO参照品整備のための国際共同研究への参加

溶血の原因となる高力価の抗A抗Bを含む製剤のスクリーニングやABO不適合腎移植の可否を判定するため、試験品と並行して力価を測定する参照品が必要とされ、NIBSCにおいて抗A、抗B抗体価のWHO参照品(血清、血漿)候補品が製造された。NIBSC担当者より力価評価のための国際共同研究へ参加依頼があり、参加して結果を報告した。 [百瀬暖佳、松岡佐保子、濵口功]

2) C型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のための WHO 国際共同研究への参加

イギリスの NIBSC が組織する国際共同研究に我々も含めて 11 か国 17 研究室が参加した。参加者の大半は日常使用している市販の real-time PCR 法キットを用いた定量法あるいは定性法で測定した。第 2 次国際標準品(IS)に対して第5次IS候補品の力価を決定した。HCV 抗体陰性の第 4 次 IS の力価が常温輸送で低下したことから抗体陰性の第5次IS候補御品の安定性を慎重に検討した結果、常温輸送可能であるが安定性の監視は継続することになった。共同研究の結果は 2015 年の ECBS に報告され、力価 1,000,000 IU/mL の第 5 次 HCV-NAT 国際標準品 (code 14/150) が制定された。
[水澤左衛子、松岡佐保子、濵口功]

3) B型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のための WHO 国際共同研究への参加

イギリスの NIBSC が組織する国際共同研究に我々も含めて 7 か国 13 研究室が参加した。参加者の大半は日常使用している市販の real-time PCR 法キットを用いた定量法あるいは定性法で測定した。第 3 次 IS と第 4 次 IS 候補品(10/266)の測定力価はそれぞれ 5.94 と 5.97 $\log_{10}$IU/mL で、2011 年の共同研究における第 2 次 IS に対する相対力価と僅差であった。候補品の力価は製造後 5 年間安定性であった。よって、国際標準品の更新の度に生じる誤差を最小にするため、候補品(10/266)の力価は前回の共同研究における第 2 次 IS に対する相対力価 5.98$\log_{10}$IU/mL 即ち 955,500IU/mL を採用することになった。共同研究の結果は 2016 年の ECBS に報告され第 4 次国内標準品が制定される。
[水澤左衛子、松岡佐保子、濵口功]

4) 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

2015年度のWHO ECBSにおいて、臓器移植で問題となるJCV-DNA、およびBKV-DNA国際標準品、第5次HCV-RNA国際標準品が制定された。近年アフリカを中心に大流行したエボラウイルスの抗体、核酸の国際標準品の制定も進められている。また、ウイルス抗体の体外診断薬については判定や測定値の乖離が各国で大きな問題となっており、これを改善するための議論が始まった。
[百瀬暖佳、水澤左衛子、松岡佐保子、濵口功]

5) HBV-DNA 国内標準品の力価の再評価

血液製剤の HBV 核酸検査の国内標準品が製造されて 10 年以上経つ。現在の定量法を用いて国内標準品の力価を再評価した。共同研究に国内 7 施設が参加し、測定結果 9 組が報告され、国立感染症研究所が解析した。コバス TaqMan HBV「オート」v2.0、アキュジーン m-HBV、In-house TaqMan PCR 法が測定に使用された。第 3 次 WHO 国際標準品に対する国内標準品の相対力価は 1,057,000 IU/mL (95%信頼区間 804,100～1,391,000 IU/mL)と評価され、エンドポイント法で決定した現行の力価の約 2.5 倍であったが、定量法により信頼性の高い力価が得られた。研究結果は薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告され、正式な力価が策定される。
[水澤左衛子、落合雅樹 (品質保証・管理部)、山口照英 (日本薬科大学)、松岡佐保子、濵口功]

6) HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価

血液製剤の HIV 核酸検査の国内標準品が製造されて 10 年以上経つ。現在の定量法を用いて国内標準品の力価を再評価した。共同研究に国内 6 施設が参加し、測定結果 6 組が報告され、国立感染症研究所が解析した。コバス TaqMan HIV-1「オート」v2.0、アキュジーン m-HIV-1、In-house TaqMan RT-PCR 法が測定に使用された。第 3 次 WHO 国際標準品に対する国内標準品の相対力価は 75,200IU/mL (95％信頼区間 61,400～92,100IU/mL)と評価され、エンドポイント法で決定した現行の力価の約 0.42 倍であるが、定量法によって信頼性の高い力価が得られた。研究結果は薬事・食品衛

生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告され、正式な力価が策定される。
[水澤左衛子、落合雅樹（品質保証管理部）、草川茂（エイズ研究センター）、古田美玲(エイズ研究センター)、内田恵理子（国立医薬品食品衛生研究所）、川村利江子（埼玉医科大学病院）、岡田義昭(埼玉医科大学病院)、山口照英（日本薬科大学）、松岡佐保子、濵口功]

7）血液凝固第IX因子の第3次国内標準品更新のための力価測定共同研究

現行の第2次血液凝固第IX因子国内標準品(75.0 IU/ml)の更新のため、NIBSCの血液凝固第IX因子国際標準品(7.9 IU/ampoule)を用いて、候補品の力価測定のための共同研究を行った（参加6施設：感染研、化血研、日本製薬、JB、バクスター（現バクスアルタ）、CSLベーリング）。各施設の測定値の幾何平均から、第3次血液凝固第IX因子国内標準品（NS1201）の力価は、77.5 IU/mlと値付けし制定した。　　[倉光球、大隈和、濵口功]

8）体外診断用医薬品の二次標準品整備に関わるWHOガイドライン進捗状況

一部のWHO国際標準品は消費が非常に早く、各国や地域、メーカーは国際標準品を基準とした二次標準品を作製し、体外診断薬の管理に使用することが推奨されている。二次標準品の整備を促すため、NIBSC、PEI、WHO等が二次標準品整備のためのガイドライン作成を進めている。SoGATワーキンググループにおいて、二次標準品の定義、国際標準品との遺伝型・血清型の相違、試験数、安定性評価、凍結融解の影響、検体の不活化、解析手法等について議論がなされた。
[百瀬暖佳、水澤左衛子、松岡佐保子、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

平成 26 年に約 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の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に備えるため、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、関東地域の平成 27 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）について、デングウイルスの核酸検査を実施した。
[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、荒木久美子、濵口功]

2）Cohn の血漿分画法における実ウイルスを用いた除去不活化効果の検討

培養可能となった HCV-JFH1 株を用い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て HCV の感染性の移行を評価した。クリオ分画→8%→25%→20%エタノール処理までは感染性が残存するが、グロブリン凝集体を除く 17%エタノール処理後感染性は認められなかった。薬害の時代において、HCV 混入原料血漿から日本で製造されたグロブリン製剤からの感染の報告はないが、これは日本特有の分画工程である 17%エタノール処理が感染性の低減化に重要である可能性が示された。
[野島清子、下池貴志（ウイルス２部）、濵口功、岡田義昭(埼玉医大)]

3）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

HTLV-1 関連疾患である ATL は一旦発症すると、標準的で効果的な治療法がないため、未だに予後不良な疾患である。最近 HTLV-1 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 ATL 発症予防法の開発に取り組んでいる。本組換えタンパク質は、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。現在、より効果的で安全な薬剤の開発を目指した改良を進めている。　　[大隈和、濵口功]

4）HTLV-1 アクセサリータンパク質の構造生物学的研究

HTLV-1 アクセサリータンパク質による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。その結果、ブレビバチルス分泌発現系を用いることで Rex 変異体の大量発現が可能であることが分かった。精製 Rex 変異体は、生物学的意義は不明であるが、ある条件下で可逆的凝集を起こすことが示唆された。一方、発現タンパク質の N 末端が一部切断されている可能性が示唆されたため、切断部位の同定および切断回

避のための変異導入を検討している。
[谷生道一、濵口功]

5) 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。HTLV-1 Env 蛋白質由来ペプチドと Neuropilin-1 B1 ドメインの分子間相互作用を解明するため、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ことを NMR 解析結果から同定した。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]

6) 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。また、各世代の HTLV-1 陽転者を詳細に解析したところ、50～60 歳の女性において陽転率が高いことが明らかとなっている。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。ヒト臍帯血を移植した免疫不全マウス（NOJ マウス）に HTLV-1 感染細胞を移植し感染させた後、６週目に解析したところ、末梢血、脾臓、肝臓および卵巣において HTLV-1 感染が確認できた。一方で、精巣には感染細胞の存在が認められなかった。現在、この免疫不全マウスで得られた結果がヒトにおける性差を反映している可能性を検証するため、STLV-1 感染サル等を用いて検証を行い、HTLV-1 感染メカニズムの解明を試みる予定である。
［斎藤益満、日吉真照、濵口功］

7) 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と安全性評価

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。抗体検査陽性検体を用いて 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。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、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。本製剤は、HTLV-1 陽性の方の血液より製剤化されることから、その安全性の担保は非常に重要である。そこで、これらの HTLV-IG にウイルスが混入していないこと、感染性がないことを核酸検査及び、in vitro の細胞培養系で確認した。さらに現在、ヒト化マウスを用いた安全性評価を行っている。
[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)、大隈和、松岡佐保子、内丸薫(東京大学)、明里宏文(京都大学)、山口一成、濵口功]

8) STLV-1 をモデルとした抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンの有効性の検討

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。ヒト化マウスを用いた結果、HTLV-IG に高い感染防御効果がある事が明らかとなった。そこで、ヒトに近い霊長類での有効性の検討と実現する第１段階として、HTLV-1 と類縁の STLV-1 においても HTLV-IG が有効かについて STLV-1 感染細胞を用いて検討した。その結果、HTLV-IG は STLV-1 感染を in vitro で完全に防御することが明らかとなった。さらに京都大学霊長類研究所における STLV-1 感染状態を調べた結果、母子感染が起こっていることが推測された。さらにモニターを進め、HTLV-IG を用いた母子感染予防の対象となる適切な個体がいるか調査する。
[野島清子・明里宏文(京都大学)・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)、大隈和、松岡佐保子、内丸薫（東京大学)、山口一成、濵口功]

9) HTLV-1 感染における細胞間 Nanotube の機能解明

近年、細胞間を直接連結する Nanotube という構造を介して細胞間の情報伝達が行われることが明らかにされた。この Nanotube は、特にマクロファージや樹状細胞において特異的に発現する M-Sec によって形成が促進されることがわかっている。これまでに我々は、HIV-1 は Nanotube の機能を逆手にとり、Nanotube 形成を促進して Nanotube を介して細胞間感染を広げることを明らかにしてきた。今回、HTLV-1 における M-Sec 誘導 Nanotube の役割を解析した。その結果、本来は

M-Sec が発現しない T 細胞が、HTLV-1 感染すると M-Sec が強制的に発現することを明らかにした。さらに、HTLV-1 感染 T 細胞は Nanotube 様の構造が観察され、そこには HTLV-1 のエンベロープタンパク質（gp46）が局在することがわかった。現在、HTLV-1 感染 T 細胞でみられる Nanotube が HTLV-1 感染にどのように関与するのか解析を行っている。

［日吉真照、鈴伸也（熊本大学）、大野博司（理化学研究所）、相良康子（日本赤十字社）、濵口功］

10）早期ATLL発症マウスにおける発症原因遺伝子の探索

HTLV-１感染から成人T細胞白血病･リンパ腫(ATL)発症までにはおよそ 50 年以上を要する。ATL の高頻度かつ複雑な染色体異常は、長い年月の間のさまざまな遺伝子変異の蓄積が発症原因であることを意味する一方、ゲノム解析技術が発達した今日でも発症原因遺伝子の特定を困難にさせている要因である。われわれが作製した ATL 発症ヒト化マウスは極めて有用なツールと考えられる。なぜならこのマウスでは HTLV-１感染後わずか 8 週間で ATL を発症するため、染色体異常が単純かつ必要最小限の遺伝子変異だけが誘導されている可能性が高い。そこでわれわれはヒト化マウス由来 ATL から発症原因遺伝子の同定を目的に研究を行っている。　［斎藤益満、日吉真照、濵口功］

11）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。日本赤十字社の献血検査を用いた疫学的検討により、全国で推計で年間3000～4000人の新規HTLV-1水平感染者が発生していることが明らかになった。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、本年度は東京都でも同様のシステム稼働を目指すべく準備をすすめた。

［松岡佐保子、佐竹正博（日本赤十字社）、岩永正子（長崎大学）、相良康子（日本赤十字社）、濵口功］

12）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 年に開始し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を進めている。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・確認できるトレーサビリティシステムの実施に向け、日本赤十字社と 16 医療施設にて１ヶ月間のパイロットスタディを実施した。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］

13）B 型肝炎ウイルス X 蛋白質(HBx)による細胞死制御機構の解明に向けた構造生物学的研究

HBx はアミノ酸 154 残基からなる蛋白質で、Bcl-x_L（抗アポトーシス蛋白質）と相互作用し、細胞死を誘導することが知られている。そこで、HBx の BH3 様モチーフに着目し、Bcl-x_Lとの相互作用を NMR で解析した。その結果、HBx BH3 様モチーフ含有ペプチドは、他の BH3 ペプチドと同様に Bcl-x_Lの疎水性領域に結合することが明らかになった。また、HBx BH3 様モチーフにあるトリプトファン残基が Bcl-x_Lの結合に重要であることを見出した。　［楠英樹、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。抗補体価を定めた「抗補体性否定試験国内参照品」を整備した。参照品の値を基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、大隈和、濵口功］

2）免疫グロブリン G 重合物否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションついての研究

グロブリン重合物は非特異的に補体系を活性化しアナフィラキシーショック等の副反応を生じる可能性がある。本試験は重合物含量が 1.0%以下であることを確認する試験であるが、製剤中には補体価活性化能を示す三量体が含まれることが明らかとなった。血液製剤メーカーとの共同研究により、三量体を含む分析参照品を整備し、三量体を分離する条件で試験を実施することを目指し、生物学的製剤基準の新規格値を決定した。現在の分析技術に見合った分析方法で品質管理を実施することにより製剤の安全性を確保に貢献できると考えられる。　［野島清子、大隈和、濵口功］

3）ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤のヒスタミン確認試験の検討

ヒスタミン確認試験は、ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤からグリック法で抽出したヒスタミンをろ紙クロマトグラフ法で確認すること、抽出液にO-フタルアルデヒドを加え蛍光を測定する時、その蛍光度が、ヒスタミン二塩酸塩 0.5μｇに O-フタルアルデヒドを加え発色させた蛍光度以下であることを確認する試験である。本研究では、抽出液に O-フタルアルデヒドを加え蛍光を測定する時、蛍光スキャンスペクトルパターン（励起 360nm、発光波長 390-600nm）とその極大値（450nm 付近）を得ることで、ヒスタミンの確認と基準蛍光度以下であることを精度よく確認ができることを検証した。また、ヒスタミンデヒドロゲナーゼを用いた酵素反応法が当該製剤のヒスタミンの確認と定量にも適している可能性が示唆された。現在、HPLC/UPLC 法を当該製剤のヒスタミン確認試験として導入することを目的として、メーカーと共同研究を実施しているところである。

［楠英樹、谷生道一、濵口功］

4）血液製剤へのサマリーロットプロトコール(SLP)審査制度の導入に向けた検討

血液製剤への SLP 審査制度導入に向けて、ワーキンググループを作成し活動を開始した。血液製剤の国家検定は年間 500 ロットを超え、すべて当部で総合判定を実施している。まずグロブリン約 220 ロットについて先行して導入し、他の血液製剤についても順次導入する方向を定め、SLP 審査導入に向けた作業計画を立て準備を開始した。血液製剤への SLP 審査が導入により我が国のロットリリースで、安全性や有効性に関する国家検定に加えて、製剤が承認書通りに製造されているかについても確認するシステムが構築され、国民に貢献出来ることが期待される。

［野島清子、大隈和、松岡佐保子、楠英樹、水上拓郎、佐々木永太、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）、近田俊文（品質保証・管理部）、加藤篤（品質保証・管理部）、濵口功］

２．ワクチン・抗生物質

1)新規ワクチン承認前試験における異常毒性否定試験

(1)乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン（化学及血清療法研究所）

承認前試験としての当該ワクチンの異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。提出された全ロットを用いて母集団を作成し、判定評価用として試験に用いた。その結果、試験成績においては、提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。

［佐々木永太、水上拓郎、益見厚子、平松竜司、古畑啓子、高井麻海子、濵口功］

(2) 組換え沈降 9 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（酵母由来）(MSD 株式会社)

承認前試験としての当該ワクチンの異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。当該ワクチンにおいては、メーカーの自家試験に従い、注射用水により 1:1 に混和したものを検体とした。提出された全ロットを用いて母集団を作成し、判定評価用として試験に用いた。その結果、病理評価を含めた試験成績においては、提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。

［佐々木永太、水上拓郎、古畑啓子、高井麻海子、濵口功］

2）組換え沈降 9 価ヒトパピローマウイルス粒子ワクチン（酵母由来）(MSD)

当該ワクチンのアルミニウム含量試験を製造所 SOP と感染研 SOP に従って、誘導結合プラズマ（ICP）法により実施した。その結果、各 SOP で得られた感染研試験値は、互いに良い一致を示し、全ロットにおいて規格値を満たした。全ロットで感染研値は、自家試験値

よりもやや高い値を示したが、これは施設間差であることが推定された。　［谷生道一、楠英樹］

３．体外診断薬用医薬品

1）B 型肝炎ウイルス表面抗原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、松岡佐保子、大隈和、濵口功］

2）ABO 式血液型キット、Rh 式血液型キット(ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体)の承認前試験

抗 A 血液型判定用抗体、抗 B 血液型判定用抗体、抗 D 血液型判定用抗体につき、特異性試験、および力価試験の 2 試験を実施した。

［百瀬暖佳、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）インフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価法構築へ向けた試み

ワクチンの安全性評価法は、ワクチン接種動物に見られる生体変化を指標としている事が多い。一方で、動物愛護の観点から動物試験に代わる試験法の構築も求められている。インフルエンザワクチンの安全性評価における *in vitro* 試験の可能性を検討するため、ラット肺初代培養細胞に毒性参照品を添加し、我々が同定した安全性評価のためのマーカー遺伝子群の発現解析を行った。その結果、17 のマーカー遺伝子中 5～9 遺伝子で発現の亢進が認められ、*in vitro* 安全性評価系構築の可能性が示唆された。

［百瀬暖佳、佐々木永太、水上拓郎、濵口 功］

2）結核ブースターワクチンのマウスでの遅延型過敏反応（DTH）による最適化の検討

ヒト細胞での in vitro のサイトカイン産生実験を参考にして、マウスを用いて混合比の最適化のための実験を行った。その結果、MDP1 免疫による強い DTH は認められた一方、G9.1 による DTH 増強作用、各混合比に DTH の有意差は認められなかった。これは、足蹠反応が MDP1 単独免疫で生じる反応の最大値程度であったことが考えられる。in vitro での実験で求められた MDP1 と G9.1 の相乗作用を示す混合比の幅が広く、さらにそのサイトカイン産生作用に有意差が出ないということから、その比を用いたマウスでも DTH に有意差は得られなかったと考えられる。また、これには BCG によるプライミングを行わなかったことも考慮する必要があると考えられる。

［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）結核ブースターワクチンのモルモットでの遅延型過敏反応（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した。抗原アジュバントの混合比は、MDP1 と G9.1 のモル比等を検討したところ、免疫期間が短期間でも DTH が観察され、さらに免疫期間を長く取った場合、モル比の約 1：3、1：1 で、目標であった 10mm 以上の DTH が MDP1 および PPD に対して認められた。

［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）］

4）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

BCG 免疫、非免疫モルモットのレジデント肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージならびに腹腔マクロファージの分離方法を確立できた。肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージならびに腹腔マクロファージの細胞表面抗原の発現を Flow cytometer で分析し各々の特徴を明らかにした。その結果、肺胞マクロファージと肺組織マクロファージは腹腔マクロファージに比べ抗原提示能が低いことが示唆された。結核菌感染後の肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージ、腹腔マクロファージ細胞表面抗原の変動ならびに血液、脾臓、肺のリンパ球中の CD4, CD8, B cell の比率の変動については現在得られたデータを詳細に解析中である。

［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）］

5）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。アジュバントの安全

性に関しては､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 年度よりアジュバントデータベースの作成を行い､平成 27 年度は我々の同定したマーカー遺伝子を用いて、アジュバント含有インフルエンザの品質管理が可能か検討した。アジュバントとしては、現在臨床開発がなされ､精力的な開発が進んでいる CpG K3 アジュバントを選択した。その結果マーカー遺伝子はアジュバントとワクチンによる相乗的な免疫原性を反映し、アジュバント含有ワクチンの評価が可能であることが示された。さらに、米国においてすでに承認されている経鼻ワクチン等の試験を考慮し、経鼻接種における評価を実施したところ、マーカー遺伝子は経鼻接種によるワクチン・アジュバント評価にも適用可能であることが示された。

[佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、栗林和華子、倉光球、濵口功]

6) インフルエンザワクチン接種時に認められる白血球減少ならびにマーカー遺伝子発現における肺リンパ球変化とその機能解析

白血球減少試験は、国家検定として、ワクチンの安全性試験の一環として実施されている試験である。また、インフルエンザワクチンの安全性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。これまでの結果から、白血球減少と肺におけるマーカー遺伝子の発現には相関が認められることから、肺において、白血球減少やワクチンの毒性発現に関与する現象が惹起されているものと推察し、肺におけるリンパ球を解析した。その結果、白血球減少を示すワクチンにおいては、CD4+細胞, CD8+細胞および B220+ B 細胞が血中および肺において顕著に減少するが、CD11c+ B220+または CD11c+ PDCA-1+ pDC の増加が認められた。また、肺における pDC 数はマーカー遺伝子発現と相関傾向を示していた。今後、ワクチン接種時の肺における pDC の機能的役割について解析を行う予定である。

[佐々木永太、水上拓郎、栗林和華子、濵口功]

7) 末梢血ヒト化マウスならびに PBMC 培養系を用いたワクチン安全性評価の検討

これまでに、インフルエンザワクチンの安全性指標となるマーカー遺伝子を同定し、ラットやマウスを用いた検討において、有用な評価系であることが示されている。そこで、マーカー遺伝子による評価がヒトに外挿可能か検討するため、ヒト化マウスを用い、マーカー遺伝子発現が認められるか検討した。PBMC を重度免疫不全マウスである NOG マウスに PBMC を移植し､肺、脾臓および血液においてヒトリンパ球の定着が認められる末梢血ヒト化マウスを作成した。このマウスに、インフルエンザワクチンを接種し、ヒトマーカー遺伝子発現量を解析したところ、一部のマーカー遺伝子の発現上昇が認められた。また、in vitro PBMC 培養細胞にインフルエンザワクチンを添加したところ、一部のマーカー遺伝子の発現上昇が認められた。今後は複数 lot の PBMC での検討や､再現性を得るための実験を実施する予定である。

[佐々木永太、水上拓郎、栗林和華子、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

Tie ファミリーは血管内皮細胞に加え、造血幹細胞に高発現している受容体型チロシンキナーゼである。近年、造血幹細胞と巨核球の遺伝子発現パターンの類似性が指摘され、造血幹細胞に加えて巨核球や血小板における Tie ファミリーの機能にも興味が持たれる。そこで、野生型、活性化型、不活性化型の Tie を発現させた血液細胞を準備し、細胞増殖活性、各種阻害剤等の添加効果を検討している。　[百瀬暖佳､濵口功]

2) 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。また、阻害剤によって高カルシウム血症の状態が改善するが、最終的には脾臓への浸潤等により ATL を発症することからも、今後は

脾臓における標的の探索を進め、ニッチを標的とした治療法の開発を行う。
[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]

3) 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、さらに ATLSCs の増殖に SCF シグナリングが重要なことを in vitro 及び in vivo で明にした。
[栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄 (京都大学)、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：84 ロット
(血液凝固第Ⅷ因子力価試験：42、アンチトロンビンⅢ力価試験:26、ハプトグロビン力価試験:4、活性化第Ⅶ因子力価試験:2、第Ⅹ因子力価試験:2、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：2、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：1、乾燥抗 D 人免疫グロブリン力価試験：3)
免疫グロブリン G 重合物否定試験：136 ロット
抗補体性否定試験：68 ロット
含湿度試験：159 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：32 ロット
たん白質含量試験（ローリー法)：117 ロット
たん白窒素含量試験：8 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)：1 ロット
アルミニウム含量試験（ICP)：19 ロット
フェノール含量試験：13 ロット
ヘモグロビン含量試験：4 ロット
クエン酸ナトリウム含量試験：4 ロット
MPL 含量試験：1 ロット
異常毒性否定試験：217 ロット
発熱試験：35 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：5 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：5 ロット
活性化凝固因子否定試験：5 ロット
たん白窒素含量試験：5 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)：2 ロット
チメロサール含量試験：2 ロット

5. 承認前検査

アルミニウム含量試験：3 サンプル
異常毒性否定試験：5 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：42 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：26 ロット
人ハプトグロビン：4 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性第Ⅶ因子：2 ロット
筋注用人免疫グロブリン：6 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：3 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン：68 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン：23 ロット
乾燥 pH４処理人免疫グロブリン：8 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン：31 ロット

乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン：56 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）：13 ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：2 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：1 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：2 ロット
ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン：1 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：201 ロット
加熱人血漿たん白：7 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）：5 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：5 ロット
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

8. 体外診断用医薬品の承認前検査
1) B型肝炎ウイルス表面抗原キット：1キット(3ロット)
2)ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体：１件(3 ロット)

国際協力関係業務

研修業務

1) 2015 年 6 月 11 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) 2015 年 7 月 21 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) 2015 年 9 月 29 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) 2015 年 10 月 29 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) 2016年2月2日： JICA研修「安全な輸血医療による感染予防」コースで、ヘモビジランスの講義を担当した。［濵口功］

6) 2016年2月2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) 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***. 2015;53(11):3485-3491.

2) 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, 4341-4350, 2015.

3) 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***, 12: 73, 2015.

4) 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.***, 68, 203-208, 2015.

5) Kobayashi M, Yoshizumi S, Kogawa S, Takahashi T, Ueki Y, Shinohara M, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Sasaki Y, Suzuki R, Shimizu H, Iwakiri A, Okabe N, Shirabe K, Shinomiya H, Kozawa K, Kusunoki H, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the Capsid Gene in Norovirus Genogroup I. ***Sci. Rep.*** 5: 13806, 2015

6) 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***. 2015; 10: e0124392.

7) Sasaki E, Iida A, Oda S, Tsuneyama K, Fukami T, Nakajima M, Yokoi T, Pathogenetic analyses of carbamazepine-induced liver injury in F344 rats focused on immune- and inflammation-related factors. ***Exp. Toxicol. Pathol.*** 2016; 68, 27–38,

8) Hashimoto M , Bhuyan F, Hiyoshi M, Noyori O, Nasser H, Miyazaki M, Saito T, Kondoh Y, Osada H, Kimura S, Hase K, Ohno H, Suzu S, Potential Role of the Formation of Tunneling Nanotubes in HIV-1 Spread in Macrophages 2016, ***J. Immunol***. 2016; 196, 1832-1841.

9) Isaka M, Tatsuno I, Maeyama J, Matsui H, Zhang Y, Hasegawa T. The YvqE two-component system controls biofilm formation and acid production in Streptococcus pyogenes. ***APMIS***. 2016, 124(7), 574-85.

10) Buono M, Facchini R, Matsuoka S, Thongjuea S, Waithe D, Luis TC, Giustacchini A, Besmer P, Mead AJ, Jacobsen SE, Nerlov C.A dynamic niche provides Kit ligand in a stage-specific manner to the earliest thymocyte progenitors. ***Nat. Cell. Biol.***, 2016; 18:157- 67.

11) Kuribayashi W, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Sasaki E, Hiradate Y, Furuhata K, Asada Y, Iwama A, Matsuoka M, Mizukami T, Hamaguchi I. Impact of the SCF signaling pathway on leukemia stem cell-mediated ATL initiation and progression in an HBZ transgenic mouse model, ***Oncotarget,*** in press

12) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S: Ito E, Kanno H, Red cell reduced glutathione is a novel biomarker of Diamond- Blackfan Anemia. ***Bood. Cell. Mol. Dis.***, *in press*

13) Ohsaka A, Kato H, Kino S, Kawabata K, Kitazawa J, Sugimoto T, Takeshita A, Baba K, Hamaguchi M, Fuji Y, Horiuchi K, Yonemura Y, Hamaguchi I, Handa M, on behalf of the Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy Working Party on Safety Management of Blood Transfusions: Recommendations for the electronic pre-transfusion check for blood administration at the bedside. ***Blood Transfusion,*** *In press*

14) Satake M, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I, Incidence of new HTLV-1 infections among adolescents and adults in Japan: a nationwide retrospective cohort analysis of repeat blood donors. ***The Lancet Infectious Diseases*** *In press*

15) Masumi A, Mochida K, Takizawa K, Mizukami T, Kuramitsu M, Tsuruhara M, Mori S, Shibayama K, Yamaguchi K, Hamaguchi I, Mycobacterium avium infection induces the resistance of the interferon-γ response in mouse spleen cells at late stages of infection. ***Inflammation and Regeneration*** *In press*

16) Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nojima K, Araki K, Shinohara N, Matsumoto C, Satake M, Takasaki T, Saijo M, Kurane I, Hamaguchi I, Development of a novel dengue virus serotype-specific multiplex real-time RT-PCR assay for blood screening ***Transfusion*** *In press*

2. 和文発表

1）濵口功：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、253:613−617, 2015

2) 岩尾憲明、加藤栄史、小高千加子、高本滋、佐川公矯、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、岡田義昭、大日康史、野村久子、松下明夫、北澤淳一、森宏、八十嶋仁、大隈和、山口一成、大坂顯通、濵口功: 輸血副作用サーベイランスにおける underreporting、日本輸血細胞治療学会誌、6(16):561―566, 2015

3) 濵口功: ワクチン開発をめぐるレギュレーションの最近動向について、薬剤学、76: 51-54, 2016

4) 濵口功：輸血と感染症（小児と感染症）、小児科、印刷中

5) 藤井康彦、田中朝志、小高千加子、加藤栄史、米村雄士、藤島直仁、佐々木さき子、奈良崎正俊、大澤俊也、田崎哲典、吉場史朗、岩尾憲明、越知則予、小林洋子、橋本誠、児玉るみ、川野洋之、竹ノ内博之、金光靖、野間口由利子、紀野修一、五十嵐滋、石井博之、大谷慎一、大隈和、岡崎仁、北澤淳一、日野学、百瀬

俊也、濵口功、診療科別輸血製剤副作用発生率の調査、日本輸血細胞治療学会誌、印刷中

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Mizukami T, Nojima K, Matsumoto C , Kuribayashi W , Sobata R , Kuramitsu M , Furuhata K , Matsuoka S, Okuma K, Masahiro S, Tadokoro K , Yamaguchi K, Hamaguchi I. Immunoglobulin prophylaxis against human t cell lymphotropic virus type I prevents infection in a humanized mouse model. European Hematology Association (EHA) Congress, オーストリア、ウィーン、2015 年 6 月

2) Kuribayashi W, Mizukami T, Takizawa K , Sugata K, Kuramitsu M , Nozima K, Momose H, Asada Y, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. IDENTIFICATION OF LEUKEMIC STEM CELL CANDIDATES IN AN ATL MOUSE MODEL OF HBZ TRANSGENIC MICE. European Hematology Association (EHA) Congress, オーストリア、ウィーン、2015 年 6 月

3) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Kenji Sugata, Madoka Kuramitsu, Haruka Momose, Atsushi Iwama, Isao Hamaguchi. Identification of ATL stem cells in an ATL model HBZ transgenic mouse. International Society of Experimental Hematology, 京都、2015 年 9 月

4) Tiago C. Luis, Sidinh Luc, Takuo Mizukami, Hanane Boukarabila1, Supat Thongjuea, Petter S. Woll1, Emanuele Azzoni, Michael Lutteropp, Tiphaine Bouriez-Jones, Harsh Vaidya, Adam J. Mead, Deborah Atkinson, Charlotta Böiers, Joana Carrelha, Iain C. Macaulay, Roger Patient, Claus Nerlov, Rickard Sandberg, Marella F.T.R. de Bruijn, C. Clare Blackburn, Isabelle Godin, Sten Eirik W. Jacobsen. Embryonic thymopoiesis is initiated by an immune-restricted lympho-myeloid progenitor independently of Notch signaling. International Society of Experimental Hematology, 京都、 2015 年 9 月

5) Yamamoto S, Yamamoto T, Hayashi D, Iho S, Matsumoto S and Maeyama J, Discovery of CpG-DNA and Research on Novel TB Vaccine Candidate Development, 50th U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, TB, Leprosy Panel, アメリカ、ベテスダ、2016 年 1 月

2. 国内学会

1）田崎哲典、岡崎仁、稲田英一、桑名和善、荒屋潤、塩野則次、藤井康彦、濵口功、星順隆、飯島毅彦、名取一彦、相葉惠介、矢野慎吾、佐竹正博、中島文明、梶本昌子、長谷川智子. TRALII/TACO の診断基準とアルゴリズム．第６３回日本輸血細胞治療学会、東京、2015 年 4 月

2）濵口功．ヘモビジランスがタスクフォースに期待すること．第６３回日本輸血細胞治療学会、東京、2015 年 4 月

3）北澤淳一、加藤栄史、岡田義昭、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、百瀬俊也、佐川公矯、岩尾憲明、松下明夫、野村久子、高本滋、山口一成、濵口功. 「輸血製剤副作用情報収集システム」における輸血副反応の現状．第６３回日本輸血細胞治療学会、東京、2015 年 4 月

4）水澤左衛子、落合雅樹、内田茂治、高倉明子、内田恵理子、山口照英、浜口功. パルボウイルス B19 国内標準品作製のための共同研究．第６３回日本輸血細胞治療学会、東京、2015 年 4 月

5）相良康子、井上由紀子、守田麻衣子、後藤信代、倉光球、大隈和、濵口功、蕎麦田理英子、松本知惠子、迫田岩根、入田和男、清川博之. HTLV-1 感染確認検査に関する考察-WB 陰性プロウイルス陽性事例について-. 第６３回日本輸血細胞治療学会、東京、2015 年 4 月

6）井上由紀子、倉光球、相良康子、守田麻衣子、後藤信代、大隈和、濵口功、迫田岩根、入田和男、清川博之. HTLV-1 感染初期に観察されたプロウイルス量の抑制現象．第６３回日本輸血細胞治療学会、東京、2015 年 4 月

7）水上拓郎, 百瀬暖佳, 倉光球, 平松竜司, 益見厚子, 栗林和華子, 古畑啓子, 高井麻海子, 山田弘, 石井健, 濵口功．バイオマーカーを用いたアジュバント添加インフルエンザワクチンの次世代安全性評価法の開発. 第 42 回 日本毒性学、金沢、2015 年 6 月

8）相良康子、守田麻衣子、井上由紀子、倉光球、大隈和、後藤信代、平山秀明、岩永正子、矢持忠徳、渡邉俊樹、濵口功、迫田岩根、入田和男、清川博之．九州の HTLV-1 水平感染の現状と感染初期の産生交代による PVL 抑制効果．第２回日本 HTLV-１学会学術集会、東京、2015 年 8 月

9）倉光球、大隈和、矢持忠徳、山野嘉久、長谷川寛雄、上平憲、岡山昭彦、久保田龍二、出雲周二、成瀬功、相良康子、佐竹正博、渡邉俊樹、山口一成、濵口功. HTLV-1 核酸検査の標準化および検出感度の検討：多施設共同研究．第２回日本 HTLV-１学会学術集会、東京、

2015 年 8 月

10）大隈和、日吉真照、滝澤和也、齋藤益満、倉光球、濵口功. TARC 結合組換えトキシンによる CCR4・Furin 依存的な HTLV-1 感染制御. 第２回日本 HTLV-１学会学術集会、東京、2015 年 8 月

11）水上拓郎, HTLV-1 感染防止を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発. 第２回 HTLV-1 学会公開学術シンポジウムーHTLV-1 ワクチン開発の現状ー, 東京、2015 年８月

12) 栗林和華子, 水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雅雄、濵口功. HBZ-Tg マウスモデルにおける癌幹細胞の機能解析. 第２回 HTLV-1 学会、東京、 2015 年８月

13) 佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、蒲地一成、山田弘、石井健、濵口功. ヒト化マウスを用いたインフルエンザワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法開発の試み. 第 22 回日本免疫毒性学会学術年会、京都、2015 年 8 月

14) 水上拓郎, 野島清子, 栗林和華子, 倉光球, 蕎麦田理英子, 松本千恵子,古畑啓子, 佐藤結子, 大隈和, 佐竹正博, 田所憲治, 山口一成, 濵口功. ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染モデルの構築と抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる感染 防御法の開発. 第 158 回日本獣医学会, 十和田, 2015 年 9 月

15) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi. The c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells development and differentiation in ATL model mice. 日本癌学会、名古屋、2016 年 10 月

16) Takuo Mizukami, Kiyoko Nojima, Wakako Kuribayashi, Madoka Kuramitsu, Kazu Okuma, Sahoko Matsuoka, Keiko Furuhata, Rieko Sobata, Chieko Matsumoto, Masahiro Satake, Kenji Tadokoro, Kazunari Yamaguchi, Isao Hamaguchi. Evaluation of HTLV-1 hyperimmune globlins against HTLV-1 infection in a humanized mouse model. 第 77 回日本血液学会, 金沢, 2015 年 10 月

17) Wakako Kuribayashi, Takuo Mizukami, Kazuya Takizawa, Kenji Sugata, Madoka Kuramitsu, Kiyoko Nozima, Haruka Momose, Yoshihisa Asada, Atsushi Iwama, Masao Matsuoka, Isao Hamaguchi. The c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells development and differentiation in ATL model mice. 第 77 回日本血液学会, 金沢, 2015 年 10 月

18）佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、蒲地一成、濵口功. ワクチン・アジュバントの新規安全性評価法構築のための基盤研究. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会、犬山、2015 年 11 月

19） Maeyama J, Hayashi D, Suzuki F, Ozeki Y, Matsumoto S, Yamamoto S, Development and evaluation of new tuberculosis booster vaccine candidates, 第 44 回日本免疫学会、札幌、2015 年 11 月

20）大隈和、内田茂治、出口松夫、藤野達也、松林圭二、杉山真也、百瀬暖佳、濵口功、溝上雅史. 国内で使用されているHBs抗原検出／測定キットに関する性能調査：HBV genotype 既知の献血由来検体による検討. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月

21）野島清子、水上拓郎、松本千惠子、倉光球、手塚健太、山口一成、大隈和、濵口功. HTLV-1 感染防止を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発:第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月

22）百瀬暖佳、佐々木永太、水上拓郎、濵口功.遺伝子発現解析によるインフルエンザワクチンの安全性評価法と *in vitro* 評価系構築へ向けた試み. 第 9 回次世代アジュバント研究会. 大阪. 2016 年 1 月

23) 濵口功.アジュバント含有ワクチンの新しい安全性評価法の開発　第 9 回次世代アジュバント研究会. 大阪. 2016 年 1 月

24）佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、蒲地一成、山田弘、石井健、濵口功. ヒト化マウスを用いたインフルエンザワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法開発の試み. 第 9 回　次世代アジュバント研究会、大阪、2016 年 1 月

25）前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、鈴木史子、尾関百合子、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎、組換え結核菌抗原 MDP1 および DNA アジュバント G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の最適化の試み、第 89 回日本細菌学会、大阪、2016 年 3 月

１４．品質保証･管理部

部 長　加藤　篤

概　要

品質保証・管理部は、平成 26 年 4 月に放射能管理室を第一室に、検定検査品質保証室を第二室にして組織再編した結果、誕生した部である。それまではそれぞれ省令室として放射線取扱いに係る管理と検定検査の信頼性保証に係る業務をどちらも所内横断的に行ってきた。組織再編の契機となったのが、国立感染症研究所（感染研）を取り巻く環境の変化である。近年、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、特色を付けざるを得なくなっている。病原体・疾病の発生動向調査と対策、感染症に係る予防、治療に係る研究、その感染症予防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 3 つの大きな柱である。3 つの機能を組織として分離させず、3 つの柱の比率の大小はあったとしても部・室・センターがそれぞれの専門性を活かして何らかの形で関わるような方策を取っている。放射能管理室はそれまで自ら生物学的研究をしつつ、戸山庁舎、村山庁舎の放射線取扱いに関する実務ならびにハンセン病研究センターでの放射線取扱いについての助言および所内の放射線業務従事者の教育及び訓練、ならびに放射線を用いた研究を技術的に支援していく業務を行っており、柱に関わる業務は主に間接的であった。しかし、組織再編により検定検査品質保証室と統合して部となることにより柱の一翼を直接的に担うことになった。加えて、感染研内の変化がある。検定検査品質保証室がワクチン等の標準規格、標準品に関する WHO の共同研究センター（WHO-cc）の業務を任されたことである。 この WHO-cc 活動は永らく細菌第二部が担ってきた。しかし、関わる内容が細菌製剤から、より幅広い多くの製剤に変化し、生物学的製剤を所内横断的に扱う部署で担当したほうが適切であると判断され、検定検査品質保証室の活動となったのである。これにより、検定検査品質保証室は今まで以上に所内外の調整作業、国際的な活動を行う立場となり、省令室としてよりも部として活動したほうがやりやすいだろうという感染研の考えから、放射能管理室と統合するという手段で部になった。

この様な流れの中で誕生した当部は、ただ単に 2 つの室が統合しただけでなく、部内の連携も求められている。所内横断的な管理業務でそれぞれの知見や手法を第一室と第二室が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おり、少しずつではあるが部としての共同作業を前進させている。

第一室は、放射線障害防止法に則った適切な施設及び機器の維持管理、並びに施設を使用する放射線業務従事者に対する教育および訓練を行い、この一方で、生物学的な事に関する研究を行っている。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、藤本浩文が同年 7 月から第一室の室長となった。主任研究官の作道隆は、平成 26 年 4 月から 2 年間の予定で研究休職して米国に留学したが、本人の希望により今年度研究休職期間を 1 年間延長し、平成 29 年 3 月までとした。その間、任期付研究員として第一室のメンバーに加わった田村克は、作道隆の研究休職の延長に伴い、その任期を一年延長した。研究員の本田尚子は、平成 26 年 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ているが、引き続き村山庁舎で結核菌の研究を継続している。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、所内横断的な第一室の活動に貢献した。再任用職員の土田耕三（元放射能管理室長・現動物管理室、品質保証･管理部を併任）は、村山庁舎の放射線管理業務の実務を担当し、不在時等に本田尚子がそれを補佐した。放射線取扱主任者は、戸山庁舎では加藤篤と藤本浩文が、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平成 27 年 3 月末に主任者の一人であった鈴木幸一（感染制御部・第三室長）が退職したのに伴い、中永和枝（感染制御部・主任研究官）が一人で主任者を務めた。加えてハンセン病研究センターの放射線管理区域責任者であった牧野正彦感染制御部長が平成 27 年 3 月末に定年退職され、後任部長が定まらなかったため石井則久ハンセン病研究センター長が管理区域責任者を併任した。

放射性同位元素の保管、使用、廃棄に関しては、日頃より放

射線取扱業務従事者、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おり、各施設も適切に点検を受けて正常に作動している。このような中、平成 27 年 9 月 28 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、放射線規制室の検査官による立ち入り検査が戸山研究庁舎に対して行われ、施設が適切に運用されていることが確認された。

平成 28 年 3 月にハンセン病研究センターの中永和枝主任が定年を迎えることになっており、定年退職後はセンター所属の第一種放射線取扱主任者資格保持者がゼロになる。そこで、石井則久センター長（ハンセン病研究センター管理区域責任者併任）、脇田隆字感染研副所長と相談し、次年度は品質保証･管理部所属の資格保持者が臨時でハンセン病研究センターの主任者を務めることにした。これに伴い、センター所属の中永和枝主任が在籍中に、ハンセン病研究センター放射線取扱施設の保守管理で修繕が必要とされていた屋上に設置されている排水設備の修理と施設内で保管している放射性同位元素、並びに保管廃棄物の整理を行い、将来センター所属の主任者が復活したときの業務負担が少なくなるように配慮した。

第二室は、生物学的製剤及び抗菌性物質製剤の国家検定・検査における成績の信頼性保証並びにこれらに必要な調査及び研究を行っている。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、落合雅樹が同年 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。熊谷友望は、平成 28 年 1 月をもって退職し、富樫祐子（業務管理課所属）が平成 28 年 1 月から仲間に加わった。

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 27 年 8 月 10 日、所長による平成 26 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 27 年 9 月 24 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）による試験検査機関認定調査を受け、真菌部の抗菌性物質製剤の収去検査及びウイルス第一部の水痘ワクチンの検定の現場が確認された。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 27 年 10 月 28 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公的医薬品試験検査機関としての認定（継続）を得た。

ワクチンや血液製剤等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、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。WHO からの要請により平成 27 年 4 月感染研当部はベトナムのワクチン規制当局を評価する国際チームの一員として加わり、ベトナム保健省の国立生物学的製剤検査研究所（NICVB）の評価に携わった。ベトナム保健省は、WHO 評価チームからの改善要求に対して半年以内に回答することを約束し、同年 10 月ベトナム国は正式に WHO から「適正」との評価を得た。平成 27 年 12 月に韓国、ソウルで行われたワクチン規制当局強化会議では、感染研当部は PMDA、JICA の担当者と共に参加し、WHO に対する日本の貢献を説明した。また、日本の協力として打ち出された JICA 国際研修も今年で 3 回目を迎え、当初、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。

WHO のベトナム評価チームに感染研当部が加わったことを契機として、平成 27 年 9 月にはベトナム保健省の日本調査団 8 名を受け入れ、品質保証・管理部は感染研の品質管理システムについて説明し、所内のワクチンの品質管理の説明のため各部関係者と調整を行った。こうした一連の流れがベトナム側に高く評価され、平成 28 年 1 月には感染研と NICVB が品質管理関係では初めての国際協力に係る覚書を取り交わした。

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（国立研究開発法人国立健康・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	1,308.713*	27.750	175.157
^{14}C	137.831	0.000	7.640
^{32}P	371.480	74.000	72.120
^{35}S	230.738	74.000	66.650

（*平成 26 年度年報発行後に入庫量に訂正があったため前年度繰越量に反映させた。）

保管量下限数量比合計 3,750.2

2. 村山

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	37.000	0.000	37.000
^{14}C	0.000	9.250	1.850
^{32}P	0.000	37.000	18.500
^{33}P	0.000	148.000	118.400
^{35}S	333.000	407.000	559.000

保管量下限数量比合計 187.8

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	110.260

保管量下限数量比合計 0.0

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 ２３２名（国立研究開発法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山 ２５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 27 年 4 月 7 日	26	新規
5 月 11 日	182	継続
5 月 14 日	15	継続(ハンセン)
5 月 15 日	55	継続(村山)
5 月 26 日	80	継続
6 月 2 日	11	新規・継続
6 月 16 日	4	継続
6 月 26 日	3	継続
6 月 29 日	1	継続
8 月 5 日	3	新規
10 月 5 日	7	新規
平成 28 年 2 月 1 日	6	新規
合 計	393	

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 27 年 9 月 29 日	1	新規
合 計	1	

3. 特別講習会

平成 27 年 7 月 8 日	25	戸山 TBS、防災センター
10 月 20 日	27	ハンセン TBS、防災センター
10 月 22 日	1	村山 TBS、防災センター
合 計	53	

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

電離放射線による DNA 損傷には放射線の飛跡に沿って損傷が集中しやすい特徴があると考えられ、クラスターDNA 損傷と呼ばれる。単独の損傷の場合と比べるとクラスターDNA 損傷は修復されにくいと考えられているがその理由はよくわかっていない。そこでクラスターDNA 損傷のモデルとして、主要な酸化損傷塩基の一つである7,8-dihydro–8–oxo–2'–deoxyguanosine（8oxoG）の近傍にAPサイト、および一本鎖切断(SSB)部位を挿入した DNA 分子を設計し、2 損傷が近接した場合の DNA 分子の構造特性を解析したところ、単独損傷の場合と比較して2カ所に損傷を持つ DNA 分子では、損傷部位における振動が大きく、また、DNA 分子が損傷箇所において過度に屈曲したままの状態に陥りやすいことが判明した。これらクラ

スター損傷部位における分子構造の急激な変化や変形が修復酵素の作用を阻害している可能性が示唆される。また、クラスターDNA 損傷は狭い範囲に損傷が集中するために二本鎖切断(DSB)を誘発しやすいと考えられる。前述のDNAモデルを利用しDSB修復酵素の1つであるKu タンパク質がクラスターDNA 損傷によって誘発される DSB 末端をどのように認識し結合するのか解析を行った。[藤本浩文、加藤篤、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)]

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、土田耕三、加藤篤;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)、]

２．ジアデノシン四リン酸加リン酸分解酵素と合成酵素の解析

生存に必須とされる結核菌ジアデノシン四リン酸の合成酵素の解析および菌体内濃度の測定を行った。また分解酵素 の欠失株および過剰発現株を *M. smegmatis* において作成し解析した。[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RNA分解におけるリン酸基転移の役割

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いる。我々が構築した、Tn10挿入によるサプレッサー変異によりコロニー形成能が回復したΔ*rne*株を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おり、その原因がホスホエノールピルビン酸合成酵素(PpsA)のタンパク質量低下であることを突き止めた。また興味深いことに、Δ*rne*株の致死性はプラスミドからのPpsAの供給のみによって回復可能であることが明らかになった。さらにこの回復はPpsAのリン酸基転移活性に依存しており、リン酸基の転移が大腸菌RNA分解のシグナルとなる可能性が示唆された。[田村克、本田尚子、藤本浩文、加藤篤、Stanley N. Cohen(Stanford University)]

IV. 生物学的製剤等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」の共同研究に参加した。希釈により細胞毒性の除去を試みたDirect methodでは、十分な細胞毒性の除去ができず、ワクチンに添加した百日咳毒素を検出することが困難であった。一方、トランズウェルメンブレンを用いるIndirect methodでは、ワクチンに添加した百日咳毒素を検出することが可能であった。引き続き、本測定法の妥当性の検証及び改良検討等が必要である。[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(バイオセーフティ管理室)]

２．生物学的製剤の標準化等に対する統計解析支援

１)参照沈降B型肝炎ワクチンのロット更新に対する統計解析支援

参照沈降B型肝炎ワクチンロット更新のために感染研で実施された力価試験成績の解析を支援した。現行の国内参照品(Lot. P3)の力価に対する候補品(Lot. P4)の相対力価から加重平均を求め、候補品の単位(力価)を算出した。候補品ロットは、次期国内参照品として制定された。[落合雅樹;清原知子、石井孝司(ウイルス第二部)]

２)4価インフルエンザHAワクチンの導入における一元放射免疫拡散試験法の評価に対する統計解析支援

4価インフルエンザHAワクチンのB型2系統株のHA抗原量を適正に測定するための一元放射免疫拡散試験法の評価及び実施手順の確立に対する統計学的な解析支援を行った。株やワクチンによって交差反応の挙動が異なるため、4価インフルエンザHAワクチンのB型株HA抗原量を一元放射免疫拡散試験法で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手順が必要であることが明らかとなり、力価試験方法の制定手順が作成された。［落合雅樹；嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、小田切孝人（インフルエンザウイルス研究センター）］

３．ワクチン等の品質確保のための国家検定に関する研究

諸外国のロットリリース制度を参考に、我が国に適した国家検定制度を検討した。我が国の国家検定は、すべてのロットに対してSLP審査（対象：予防用ワクチン）と試験を行っている。しかし、米国、カナダ、中国、韓国等では、国の機関で実施する試験を製品の品質に係るリスクの程度に応じて柔軟に設定できる制度が導入されている。医薬品の製造技術の高度化や流通の国際化等にあわせ、製剤・製品毎のリスクを評価し、国家検定で実施する試験頻度等を定める仕組みを我が国に導入することは、科学的にも合理的であり、透明性が高い制度と考えられた。また、血液製剤へのSLP審査導入に向けた検討を行い、WHOのBlood Regulators Networkのアセスメントクライテリアでは、血液製剤のロットリリースにおいてSLP審査を要件としていること、医薬品が承認書通りに製造されていなかった事例が報告されたこと等に鑑み、我が国においても血液製剤の国家検定にSLP審査を導入する必要があるとの結論に達した。［加藤篤、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、近田俊文］

４．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、B型肝炎ワクチンの力価試験、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）、石井孝司（ウイルス第二部）、小島肇（国立医薬品食品衛生研究所）］

５．生物由来原料に含まれる病原体遺伝子の解析

生物学的製剤等の製造や感染症の研究等に用いられる生物由来原料への病原体混入リスクに関する研究を行っている。生物由来原料のうち、特に使用頻度の高いウシ血清に含まれる病原体遺伝子の探索を行った。複数の血清ロットからそれぞれ核酸を抽出し、ウシポリオーマウイルス（BPyV）、ウシパルボウイルス（BPV）、ウシウイルス性下痢ウイルス（BVDV）の遺伝子に対するPCR又はRT-PCRにより解析したところ、BPyVは27.6%（1型のみ）、BPVは17.2%（3型のみ）、BVDVは96.5%（1型、2型、3型のうちいずれか又は複数）のロットで遺伝子断片が検出された。今後、より網羅的な解析や、感染性の有無を含めた病原体混入に関するリスク評価等を行う必要があると考えられた。［藤田賢太郎、加藤篤、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

６．標準品の候補品準備手順の制定と安定供給手法の検討

日本薬局方（日局）抗生物質標準品について、AMED医薬品等規制調和・評価研究事業「抗生物質の標準品の分析・評価手法の標準化の検討に関する研究（研究代表者：柴山恵吾）」の分担研究者として、標題の研究を行った。今年度は感染研における日局抗生物質標準品の交付状況、在庫管理状況、現行のロット更新手順と作業スケジュール日程及びそれらの問題点、メーカーの意見と要望の予備調査、今後のロット更新における標準候補品の打診状況などの情報提示について、それぞれ調査を行いまとめた。［近田俊文；鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾（細菌第二部）］

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。将来の量産化も視野に入れて、液剤の流路を持つ中空型MNと市販品のシリンジとの接合部までを一体成型した樹脂製MNデバイスと、小型アプリケータ（投与補助器具）を試作した。これらを用いてラットの背部皮内にA型肝炎ワクチン抗原を投与した。抗原液は皮膚外に漏れることなく高い再現性で皮内に投与され、同量の抗原を皮下注射した場合と比較して有意に高い抗体応答が誘導された。［内藤誠之郎；兒玉賢洋、住田知也、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、放射性同位元素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（ウイルス第二部）；松原久美子、甲斐雅規、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27年5月25日（戸山庁舎、新宿区震度4）、平成27年9月12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6月に厚生労働大臣名で原子力規制委員会に研究支援係を経由して提出した。

４．放射線源登録管理制度に基づき戸山と村山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、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27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 45件、修正 1件、改訂 163件、廃止 37件、有効SOP数 540通。検査SOP：新規作成0件、修正 0件、改訂 2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。また、SOP案の確認を依頼されたものについて、その後のSOP原本の提出状況を確認することとした。［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27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24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、橋本光彦（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、橋本光彦（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27年8月10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27年9月24日に厚労省監麻課とPMDAによるOMCLの認定に係る調査を受け、平成27年10月28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、脇田隆字（副所長）、山内和志（企画調整主幹）；橋本光彦、熊谷正仁（業務管理課）］

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、富樫祐子（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、講習会の出席者名簿の整備、出席者への受講証の発行、講習会の記録の整理とウェブページへの掲載等の面で、検定検査教育小委員会に協力した。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）、加藤篤］

９．検定・検査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、平成 27 年 8 月 28 日に一部改正、同日から施行された。［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、「検定・検査の実施に関わる標準作業手順書（検定等 SOP）作成要綱」第6版改正案、「検定・検査に係る逸脱管理に関する手順書」第2版案及び「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、各文書は一部改正又は新規制定された。［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27年10月12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8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（有害事象）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、定期的に所内報告を行った。また、予防接種後副反応報告書を電子媒体として作成する入力フォーム及び報告された情報を集計・解析する副反応アプリの開発を感染症疫学センターと協力して行った。［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、富樫祐子（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、富樫祐子（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、富樫祐子（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。［熊谷友望、富樫祐子（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；橋本光彦、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）Strengthening QMS and Laboratories System Training（ベトナム保健省２名、National Institute for Control of Vaccines and Biologicals (NICVB) ５名、他１名（計８名）；平成27年9月2日～平成27年9月5日）［加藤篤、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、藤本浩文、田村克、内田孝子、熊谷友望（業務管理課）、林昌宏（ウイルス第一部）；清水博之、Yen Hai Doan（ウイルス第二部）、駒瀬勝啓（ウイルス第三部）；堀野敦子、見理剛、大塚菜緒、岩城正昭（細菌第二部）、網康至（動物管理室）；砂川富正、多屋馨子、神谷元（感染症疫学センター）、棚林清（バイオセーフティ管理室）、片野晴隆（感染病理部）］

２）JICA International Program “Strengthening the National Regulatory Authorities (NRA) for Vaccine’s Quality and Safety”（J15-04407）（研修員９名；平成28年1月12日～平成28年2月6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、富樫祐子（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．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27年5月27日、埼玉県和光市）［内藤誠之郎］

２．国立保健医療科学院における専門課程Ⅲ地域保健臨床研修専攻科の研修生に対する医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「生物学的製剤の国家検定」について講義した。（平成27年10月29日）［落合雅樹］

Ⅱ．国際会議参加

１．1st Asia National Control Laboratory Network (Asia Lab-Net) Workshop（平成27年9月、韓国、ソウル及びオソン）［加藤篤、落合雅樹］

２．Towards global harmonization of 3Rs in Biologicals（平成27年9月、オランダ、エグモント・アーン・ゼー）［落合雅樹］

３．WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（ECBS；平成27年10月、スイス、ジュネーブWHO本部）［加藤篤、落合雅樹、浜口功（血液・安全性研究部）］

４．Regional Alliance Steering Committee Meeting for National Regulatory Authorities for Vaccine in the Western Pacific RegionとWorkshop for National Regulatory Authorities for Vaccines in the Western Pacific Region（平成27年12月、韓国、ソウル）［加藤篤］

その他

I. 放射線管理に係る事項

1. 平成27年4月に放射能委員会を開催し、昨年度改訂作業を行った戸山、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承認を得、5月から6月にかけて開催された放射線業務従事者継続講習会において従事者に周知された。［本田尚子、田村克、藤本浩文、加藤篤、鈴木寿子、髙舘信行(総務部･研究支援係)］

2. 3年に1度の受講が義務づけられている放射線取扱主任者のための定期講習（平成27年5月）を受講した。［加藤篤、石井孝司］

3. 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27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、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)］

4. 戸山庁舎の安全連絡協議会（平成27年9月、平成28年3月の2回）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、髙舘信行(総務部･研究支援係)］

5. ハンセン病研究センターの安全連絡協議会（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;中永和枝、甲斐雅規、松原久美子、(ハンセン病研究センター)、髙舘信行(総務部･研究支援係)］

6. 村山庁舎施設運営連絡協議会（第6回平成27年7月、第7回平成27年11月、第9回平成28年3月）に出席し、必要に応じて委員に放射線管理の状況を説明した。［加藤篤、土田耕三］

7. 所の節電対応方針に従い、昨年に引続き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、田村克、藤本浩文、脇田隆字(副所長)］

8. 放射線障害防止法の第43条の2に基づいて平成27年9月28日に原子力規制庁の調査官二名による立入検査が行われた（前回は平成16年10月12日実施）。この検査で特段の指摘事項を受けなかったが、当日の講評時に口頭で軽微な注意及び助言を受けた。［鈴木寿子、本田尚子、田村克、藤本浩文、加藤篤、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（追補を含む）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。第十七改正日本薬局方は平成28年3月7日付で告示された。［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、7 機関（国外：1 機関、国内：6 機関）であった。［落合雅樹、藤田賢太郎、熊谷友望、富樫祐子（業務管理課）、内藤誠之郎、内田孝子、堀内善信（客員研究員）、倉根一郎（所長）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１． 欧文発表

1) Tamura M, Honda N, Fujimoto H, Cohen SN, Kato A. PpsA-mediated alternative pathway to complement RNase E essentiality in *Escherichia coli*. Arch Microbiol, 198: 409-421, 2016

2) Honda N, Kim H, Rimbara E, Kato A, Shibayama K, Mori S. Purification and functional characterization of diadenosine 5′, 5”-P1, P4 -tetraphosphate phosphorylases from *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium avium*., Protein Expr Purif, 112: 37-42, 2015

3) 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 KR, 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, 53: 3485-91, 2015

4) Siebeneicher S, Reuter S, Wangorsch A, Krause M, Foetisch K, Heinz A, Naito S, Reuter A, Taube C, Vieths S, Scheurer S, Toda M. Epicutaneous immunotherapy with a hypoallergenic Bet v1 suppresses allergic asthma in a murine model. Allergy, 70: 1559-68, 2015

5) Iwaki M, Konda T, Adenylate cyclase toxin-mediated delivery of the S1 subunit of pertussis toxin into mammalian cells. FEMS Pathog Dis, 74(1): 1-8, 2016

6) Sakata R, Nagita A, Kidokoro M, Kato A, Ogino K. Virus genotypes and responses of serum-specific antibodies in children with primary mumps and mumps reinfection. Pediatr Res, 78: 280-584 2015

7) Okazaki T, Higuchi M, Takeda K, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Miyagishi M, Yanai H, Kato A, Yoneyama M, Fujita T, Taniguchi T, Kawaoka Y, Ichijyo H, Gotoh Y. The ASK family kinases differentially mediate interferon induction and apoptosis in antiviral response. Science Signaling, 8(388): ra78, 2015

２． 和文発表

1) 近田俊文，鈴木里和，松井真理，鈴木仁人，柴山恵吾：微生物試験法Q＆A（第 18 回）抗生物質の微生物学的力価試験法における至適な阻止円直径とその調製方法について．Pharm Tech Japan，31(6): 121-122, 2015

2) 近田俊文，鈴木里和，松井真理，鈴木仁人，柴山恵吾：微生物試験法Q＆A（第 20 回）抗生物質の微生物学的力価試験法の円筒平板法と穿孔平板法について．Pharm Tech Japan，31(9): 75-77, 2015

3) 近田俊文，鈴木里和，松井真理，鈴木仁人，柴山恵吾：微生物試験法Q＆A（第 24 回）微生物を用いた抗生物質の力価試験に用いる試験菌について．Pharm Tech Japan, 31(14): 61-63, 2015

Ⅱ. 学 会 発 表

１． 国際学会等

1) Mori S, Honda N, Kim H, Rimbara E, Shibayama S. Design of a new inhibitor of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*, and its antimycobacterial activity. The United states-Japan Cooperative Medical Sciences Program (CMSP) 50th anniversary celebration. Maryland, USA, July, 2015

2) Ohara N, Arimura Y, Na Z, Honda N, Nakayama M, Sekizuka T, Kuroda K, Ato M, Nakajima C, Suzuki Y, Kobayashi K. New Insights into the Para-Amino-Salicylic Acid-Resistant Mechanisms of *Mycobacterium*. CMSP 50th anniversary celebration. Maryland, USA, July, 2015

２． 国内学会等

1) 水澤左衛子、落合雅樹、内田茂治、高倉明子、内田恵理子、山口照英、浜口功、パルボウイルス B19 DNA 国内標準品作製のための共同研究、第 63 回日本輸血・細胞治療学会総会、東京、5 月、2015

2) 田村克、本田尚子、藤本浩文、加藤篤：大腸菌の生育に

おける RNase E 必須性に糖新生酵素がはたす役割、第 12 回 21 世紀大腸菌研究会、滋賀、6 月、2015

3) 野口章、町田一哉、徳本誠治、寺原孝明、加来義浩、奥谷晶子、内藤誠之郎、森川茂、井上智：マイクロニードル皮内免疫法による簡便で効果的な狂犬病ワクチンの接種法に関する研究、第 158 回日本獣医学会学術集会、青森、9 月、2015

4) 嶋崎典子、原田勇一、落合雅樹、板村繁之、小田切孝人、4 価インフルエンザ HA ワクチン B 型 2 系統株 HA 抗原量を適正に測定するための一元放射免疫拡散試験法の評価及び実施手順の確立、第 19 回日本ワクチン学会学術集会、愛知、11 月、2015

5) 兒玉賢洋、住田知也、清原知子、内藤誠之郎：樹脂製中空マイクロニードルを用いた皮内投与法の検討、第 19 回日本ワクチン学会学術集会、愛知、11 月、2015

6) 内藤誠之郎、住田知也、兒玉賢洋：凍結乾燥製剤を充填したポケット型マイクロニードルアレイによる経皮免疫、第 19 回日本ワクチン学会学術集会、愛知、11 月、2015

7) 藤本浩文、樋口真理子、渡辺立子、甲斐健師、藪英治、斎藤公明、Miroslav Pinak、加藤篤：クラスターDNA 損傷とその修復酵素の構造解析、BMB2015（第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会）：兵庫、12 月、2015

8) 森茂太郎、本田尚子、金玄、林原絵美子、柴山恵吾：結核菌由来 diadenosine tetraphosphate 加リン酸分解酵素の新規阻害剤とその抗結核菌作用、第 89 回日本細菌学会総会：大阪、3 月、2016

9) 阿戸学、松村隆之、本田尚子、黒田誠、大原直也、小林和夫：ストレプトマイシン依存性結核菌 18b 株を用いた潜在性結核研究、第 89 回日本細菌学会総会：大阪、3 月、2016

１５．国際協力室

室長　　熊谷　優子

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 27 年 4 月から平成 28 年 3 月までに、53 カ国から 241 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 27 年 4 月から平成 28 年 3 月までに、41 カ国 384 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 27 年 9 月 10-11 日　公益法人台湾交流協会からの依頼に基づく第 12 回日台シンポジウムの開催（日本において、新興再興感染症、動物媒介性疾患（デング熱、ワクチン予防可能疾患等並びに共同研究を題材にした。)。

(ｲ) 平成 27 年 11 月 28 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 9 回共同シンポジウムの開催(京都、ザ・パレスサイドホテルにおいて、「新興・再興感染症」、「グローバルワクチンアクション行動計画の対応」及び「薬剤耐性菌」を題材にした。各機関の取り組みなど情報共有した。)。

(ｳ) 平成 28 年 1 月 26-28 日　平成 27 年度日本医療研究開発機構「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」による、「感染症制御セミナーNIID International Seminar on Infectious Diseases」の開催　(当所において、「薬剤耐性」、「ウイルス性・細菌性下痢症」、「呼吸器感染症」、「デング熱」を題材にした。国立ハンセン病資料館を視察した。)。

ｲ 外国機関へのワクチン株供与

平成 27 年 5 月 インドネシア国家医薬品食品監督庁へ国内参照品のキャリブレーションのため「無細胞百日咳ワクチン」を供与

ｳ 共同研究報告会ほか

平成 28 年 1 月 25-26 日 日印共同研究発表会を開催

２．国際協力・研修業務

(1) JICA との研修協力

ｱ 集団研修

(ｱ) 平成 27 年 6 月 9 日-7 月 10 日 課題別研修「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」(6 カ国・10 名・エイズ研究センター)。

(ｲ) 平成 28 年 1 月 18 日-2 月 12 日 課題別研修「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」(8 カ国・14 名・ウイルス第二部、ウイルス第三部)。

ｲ 集団研修フォローアップ

課題別研修「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」に係る調査団員としてエイズ研究センター職員 1 名をタイへ派遣。

ｳ その他研修

(ｱ)平成 27 年 6 月 10 日「地域保健システム強化による感染症対策(A)」(6 カ国・12 名・寄生動物部・感染症疫学センター)

(ｲ)平成 27 年 6 月 16 日「保健衛生管理」(12 カ国・14 名・国際協力室・感染症疫学センター)

(ｳ)平成 27 年 6 月 25 日「突発的公衆衛生課題」(中国・10 名・感染症疫学センター)

(ｴ)平成 27 年 8 月 25～26 日「感染症対策行政」(11 カ国・12 名・感染症疫学センター)

(ｵ)平成 27 年 11 月 5 日「地域保健システム強化による感染症対策(B)」(6 カ国・10 名・寄生動物部・感染症疫学センター)

(ｶ)平成 27 年 11 月 6 日「ウイルス肝炎セミナー：疫学、予防及び治療」(2 カ国・12 名・ウイルス第二部・感染症疫学センター)

(ｷ)平成 28 年 1 月 12 日～2 月 6 日「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化」(5 カ国・9 名・品質保証・管理部)

(ｸ)平成 28 年 1 月 19 日「パキスタン母子保健における定期予防接種」(5 名・感染症疫学センター・国際協力室)

(ｹ)平成 28 年 1 月 25 日「コンゴ民主共和国保健省次官研修」(3 名・所長・副所長・企画調整主幹・ウイルス第一部・感染症疫学センター・バイオセーフティ管理室・国際協力室)

(ｺ)平成 28 年 1 月 25～27 日「安全な輸血確保による感染症予防」(5 カ国・10 名・ウイルス第一部・ウイルス第二部・細菌第一部・寄生動物部・血液・安全性研究部・バイオセーフティ管理室・感染症疫学センター・エイズ研究センター)

(ｻ)平成 28 年 2 月 23 日「HIV/エイズ予防および対策～MDG6 達成に向けて～」(5 カ国・10 名・感染症疫学センター・エイズ研究センター・バイオセーフティ管理室・国際協力室)

(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 27 年 7 月 5-15 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。

② 平成 27 年 7 月 5-15 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。

③ 平成 27 年 7 月 11-22 日 GMT(狂犬病)に関する指導を行うため、獣医科学部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

④ 平成 27 年 7 月 19-29 日 GMT(コレラ)に関する指導を行うため、最近第一部職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑤ 平成 27 年 8 月 23-29 日 バイオセーフティに関する指導を行うため、バイオセーフティ管理室職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑥ 平成 27 年 8 月 23-29 日 実験室診断に関する指導を行うためインフルエンザウイルス研究センター職員 1 名をベトナム NIHE に派遣。

⑦ 平成 27 年 10 月 27-30 日 広域シンポジウムに係る調査のため、所長ほか 6 名をベトナム NIHE に派遣。

(ｲ) 受入

平成 27 年 8 月 17 日-9 月 11 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 ナイジェリア連邦共和国における JICA 協力

(ｱ) 派遣

①平成 27 年 5 月 17-22 日 検査機材メンテナンス技術研修在外講師としてウイルス第二部職員 1 名を派遣。

② 平成 28 年 2 月 20 日-3 月 1 日 検査機材メンテナンス技術研修在外講師としてウイルス第二部職員 1 名を派遣。

③平成 28 年 3 月 6-19 日 「ラゴス州における貧困層のための地域保健サービス強化プロジェクト」ナイジェリア疾病予防センターへの運営指導調査としてウイルス第一部職員 2 名を派遣。

ｳ フィリピン共和国における JICA 協力

(ｱ)派遣

平成 27 年 7 月 27-30 日 保健省熱帯医学研究所における BSL-3 検査室整備に関す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。

ｴ コンゴ民主共和国における JICA 協力

(ｱ)派遣

①平成 27 年 12 月 8-15 日 感染症(特にエボラウイルス病)サーベイランス現状調査に係る調査団員として企画調整主幹 1 名、ウイルス第一部職員 1 名を派遣。

②平成 28 年 2 月 21-27 日 国立生物医学研究所拡充計画事前調査に係る調査団員としてバイオセーフティ管理室職員 1 名を派遣。

(3)研修協力

(ｱ)平成 27 年 6 月 24-26 日 JE 標準ワクチン品質管理研修（タイ・11 名）

(ｲ)平成 27 年 9 月 1-6 日 ワクチン検定システム研修（ベトナム・8 名）

３．国際機関及び外国政府機関等との協力の調整

(1) WHO・WPRO 関連調整

ｱ 会議等開催

平成 27 年 11 月 10-12 日 第 21 回ﾎﾟﾘｵ会議
TWENTY FIRST MEETING OF
THE REGIONAL COMMISSION FOR THE
CERTIFICATION OF
POLIOMYELITIS ERADICATION
IN THE WESTERN PACIFIC

ｲ 会議等派遣

(ｱ) 平成 27 年 4 月 12-18 日 ベトナム国のワクチンに関する NRA 機能評価に参加（ベトナム・1 名）

(ｲ) 平成 27 年 4 月 14-19 日 痘瘡ウイルスおよび天然痘のコントロールと準備のためのウイルス合成技術のあり方に関する科学的ワーキンググループ会議（スイス・1 名）

(ｳ) 平成 27 年 4 月 19 日-5 月 29 日 ①WPRO でのエボラ対策への訓練参加する②WHO／GORN のシエラレオネでのエボラ対策へ参加（フィリピン・シエラレオネ 1 名）

(ｴ)平成 27 年 4 月 26～5 月 1 日 サーベイランス業務を支援し、データマネジメントおよび疫学に関する技術的な援助（フィリピン・1 名）。

(ｵ) 平成 27 年 5 月 25-29 日 カンボジアにおける食品媒介感染症のアウトブレイク調査のコンサルテーション（カンボジア・1 名）。

(ｶ) 平成 27 年 5 月 26-29 日 第 5 回ワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議（フィリピン・2 名）。

(ｷ) 平成 27 年 5 月 31-6 月 4 日 パンデミックインフルエンザリスク評価会議（スイス・1 名）

(ｸ) 平成 27 年 6 月 7-13 日 第 24 回 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・3 名）

(ｹ) 平成 27 年 6 月 23-27 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 27 年 6 月 23-27 日 WHO ポリオ実験室診断小委員会、第 21 回ポリオ実験室ネットワーク非公式会議（スイス・1 名）。

(ｻ)平成27年6月22-26日　PCRワーキンググループミーティングにおけるインフルエンザ診断に関する会議（スイス・1名）
(ｼ) 平成27年6月28日-7月3日　第１３回麻疹風疹実験室診断グローバルネットワーク会議（スイス・3名)。
(ｽ) 平成27年6月28-7月2日　パンデミック初期におけるインフルエンザワクチン対策WHO会議（スイス・1名)。
(ｾ) 平成27年7月20-24日　WHOアジア太平洋地域における新興感染症への対処方針に関するTAG会議（フィリピン・1名）
(ｿ) 平成27年8月2-9日　ベトナムFETPに対する合同評価ミッション（ベトナム・1名）
(ﾀ) 平成27年8月16-22日　第９回WHO西太平洋地域－東南アジア地域ナショナルインフルエンザセンター会議（カンボジア・4名)。
(ﾁ) 平成27年9月6-23日　サーベイランスと対応強化に関するインフォーマルコンサルテーションの支援（フィリピン・2名)。
(ﾂ) 平成27年9月7-11日　緊急備蓄としての天然痘ワクチン選定に係る必要条件に関する諮問会議（スイス・1名)。
(ﾃ) 平成27年9月20-27日　南半球用インフルエンザワクチン株選定会議(米国･3名)。
(ﾄ) 平成27年10月11-17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)
(ﾅ) 平成27年11月11日-13日　第６回WHO西太平洋地域日本脳炎レファレンスセンター会議（韓国・1名）
(ﾆ) 平成27年11月17-20日　第４回WHOインフルエンザワクチン株選定法の改善会議（香港・2名）
(ﾇ) 平成27年11月30日-12月3日　WPROが主催するデング熱の予防と対策に係るインフォーマルコンサルテーションに参加（フィリピン・1名)。
(ﾈ) 平成27年12月14-16日　２０１５ＭＥＲＳ国際シンポジウム（韓国・1名)。
(ﾉ) 平成27年12月14-17日　WPRO地域内連携運営委員会および第４回ワクチンに関する規制当局会議（韓国・1名)。
(ﾊ) 平成27年12月17-19日　WPROが開催するGOARNの会議（ベトナム・1名)。
(ﾋ) 平成28年1月11-15日　第17回WHO痘瘡ウイルス研究アドバイザリー委員会（スイス・1名)。
(ﾌ) 平成28年2月1-5日　WHO専門家会合(GISRSシステムを用いたRSウイルスのサーベイランス)（スイス・2名)。
(ﾍ) 平成28年2月21-27日　WHO北半球用インフルエンザワクチン株選定会議、WHOコラボレーションセンター全体会議、インフルエンザの世界的監視･対応システム会議(スイス・3名)。
(ﾎ) 平成28年3月7日-3月12日　ポリオ実験室診断小委員会会議および第22回ポリオ実験室ネットワーク非公式会議(スイス･1名)。
(ﾏ) 平成28年3月8-17日　WPROが主催する域内のサーベイランス強化にかかる会議開催についての支援（フィリピン・1名)。
(ﾐ) 平成28年3月13-17日　WPROで開催される日本脳炎ワクチン専門家会議（フィリピン・1名)。
(ﾑ) 平成28年3月30-4月5日　西太平洋地域薬剤耐性サーベイランスシステムについてWPROにて概念論文のまとめ（フィリピン・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27年8月29日 リベリア共和国大統領(H.E. Mrs. Ellen Johnson Sirleaf, President of the Republic of Liberia)他5名表敬訪問。見学・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 4 月 29 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 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」

ｲ　平成 25 年 4 月 1 日-平成 28 年 3 月 31 日

タイ（NRCT）（ウイルス第一部）

「デングウイルスを広く中和するヒト型単クローン抗体のエピトープに基づくワクチン開発」

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 27 年度より山本明彦および倉文明がバイオセーフティ管理室に主任研究官（再任用）として勤務することとなった。

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。本年は、所内病原体取扱者全員を対象とした講習会を実施した。　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第二研究棟 BSL3、ABSL3 実験室及び BSL4 実験室の日常の維持管理および施設整備の年次総合点検を実施した。BSL4 実験室を備える村山庁舎高度封じ込め施設については、エボラ出血熱などの一類感染症などの病原体等の確実な検査実施のために BSL4 実験室の稼働が必要であり､平成 27 年 8 月 7 日付で厚生労働大臣より特定一種病原体等所持施設として指定された。

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関する研究、病原体等の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、送付元の機関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。

また、WHO ポリオウイルス根絶計画に関わる研修への参加、米国バイオセーフティ学会総会や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加え村山庁舎では高度封じ込め施設を含めた施設運営等のために設立された村山庁舎施設運営連絡協議会が継続して開催された。村山庁舎においては協議会委員、関係自治体や住民など多数の関係者の施設視察や見学が行われ説明案内をおこなった。また､戸山・村山庁舎で開催された一般公開においてバイオセーフティに関わる企画に参加した。

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ポリオ制圧に伴う病原体管理等での国内外

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。

［伊木繁雄、棚林清、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）］

2. 病原体輸送容器の消毒･滅菌処理後の強度に関する検討

国内で販売されている病原体輸送容器は再利用が担保されていないが、その根拠は明確ではない。再利用の場合、内装容器は安全性を図るため滅菌等の処理が必要と考えられる。これまで、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とから、各種容器について複数のロット製品を用い消毒･滅菌処理を施し､劣化の度合を比較した。

［伊木繁雄、棚林清、安藤秀二(ウイルス 1)］

3. 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］

4. 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・研究

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。 医療現場で用いられるバイオハザード対策専用防護服の高負荷条件下での性能評価を行っている。［篠原克明］

5. 高機能防護服の防護性能に関する研究

特殊環境下（高危険度病原体）で用いられる防護服の要求性能について検討を行っている。文部科研費（基盤Ａ）「防護服・PPE のための新規機能・構造材料の創製および現場活動に即した評価法の確立」（研究代表者：信州大学　森川英明、研究分担者：篠原克明)。

[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性能検証並びにフィールド試験と実使用に関するアンケート調査など実施している。それらの結果を基に、一括管理システムの改良を行っている。また、国内外の関連情報の収集を行い、その都度システムの改良に反映している。

［篠原克明］

7. 病原体の不活性化方等に関する研究

(1)FCV(Feline calicivirus)の過酸化水素処理による抵抗性株作出の試みと処理後分離 FCV の化学製剤感受性変化について

遺伝子多様性を示す FCV を用いて過酸化水素抵抗性株の作出を試みるもこれを得ることはできなかった。しかしながらこの処理過程で分離された FCV について50%エタノールに対する感受性が顕著に向上し、短時間で不活性化されることが認められた。現在この処理条件とエタノール感受性変化の相関について検証している。

［髙木弘隆］

(2)ヒトノロウイルス代替として FCV/MNV(murine norovirus)を用いた新規 detergent モデリングの試み

タイプの異なる 2 系統の detergent について、検討のためのプロトコール開発を行い、うち 1 系統については検討評価が可能な状況となった。このプロトコールを用いて検討したところ、FCV、MNV 各々で detergent に対する感受性に顕著な差が認められた。今後構造活性相関などの解析を目指す。［髙木弘隆］（花王株式会社との共同研究)

(3) *Bartonella henselae* を起因とする猫ひっかき病感染後検査における ELISA 転用への試み

近年の猫ブームにより猫ひっかき病を疑う症例が増加傾向にあるが､疾患及び検査法の認識は浸透しておらず、猫が病気にならないため獣医における認識も高くはない。また現在検査手法については感染細胞を用いた IF 抗体検査を実施するが、医療機関ではかなり困難である。マイナーな疾患ゆえに検査手法の改良が行き届いていないため、菌体固相化による抗体 ELISA へ転用すべく検討を開始した。

［髙木弘隆、久保田眞由美、佐々木裕子（細菌 2 部）］

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、原田俊彦、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

ヒト細胞での *in vitro* のサイトカイン産生実験を参考にして、マウスを用いて混合比の最適化のための実験を行った。その結果、MDP1 免疫による強い DTH は認められた一方、G9.1 による DTH 増強作用、各混合比に DTH の有意差は認められなかった。これは、足蹠反応が MDP1 単独免疫で生じる反応の最大値程度であったことが考えられる。*in vitro* での実験で求められた MDP1 と G9.1 の相乗作用を示す混合比の幅が広く、さらにそのサイトカイン産生作用に有意差が出ないということから、その比を用いたマウスでも DTH に有意差は得られなかったと考えられる。また、これには BCG によるプライミングを行わなかったことも考慮する必要があると考えられる。

[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. 結核ブースターワクチンのモルモットでの遅延型過敏反応（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した。抗原アジュバントの混合比は、MDP1 と G9.1 のモル比等を検討したところ、免疫期間が短期間でも DTH が観察され、さらに免疫期間を長く取った場合、モル比の約 1：3、1：1 で、目標であった 10mm 以上の DTH が MDP1 および PPD に対して認められた。

[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）]

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

BCG免疫、非免疫モルモットのレジデント肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージならびに腹腔マクロファージの分離方法を確立できた。肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージならびに腹腔マクロファージの細胞表面抗原の発現をFlow cytometerで分析し各々の特徴を明らかにした。その結果、肺胞マクロファージと肺組織マクロファージは腹腔マクロファージに比べ抗原提示能が低いことが示唆された。

結核菌感染後の肺胞マクロファージ、肺組織マクロファージ、腹腔マクロファージ細胞表面抗原の変動ならびに血液、脾臓、肺のリンパ球中の CD4, CD8, B cell の比率の変動については現在得られたデータを詳細に解析中である。

[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 10 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]

3. コンゴ民主共和国「国立生物医学研究所拡充計画」プロジェクト

JICA国際技術協力の一環として、コンゴ民主共和国（コンゴ民国）における実験室診断能力強化を目的としたプロジェクトに短期専門家として参加し、コンゴ民国の主要研究機関である国立生物医学研究所の現状調査と新設する実験室の基本設計と運転計画、メンテナンス計画などについて検討を行っている。　[篠原克明]

4. ワクチン予防可能疾病の実験室ネットワークとポリオウイルスバイオリスク管理研修への参加

WPRO（マニラ）にて開催された FIFTH MEETING ON VACCINE-PREVENTABLE DISEASES LABORATORY NETWORKS AND POLIOVIRUS BIORISK MANAGEMENT TRAINING IN THE WESTERN PACIFIC REGION に参加し、ポリオサーベイランスで得られたデータの管理と報告及び使用について議論した。また WHO Global Action Plan Ⅲ(GAPⅢ) 施行に際し必要となるバイオリスク管理トレーニングを受講し、様々な状況におけるバイオリスク管理の考え方や対応方法について議論した。また、GAPⅢ施行時に生じ得る問題点や考えられる解決案について提言した。

［伊木繁雄、清水博之(ウイルス 2)］

研修業務

Ⅰ．バイオリスク管理講習会

1. 新規者･継続者を対象としたバイオリスク管理講習会

新規者を対象として 2 ヶ月に一度、計 6 回実施し 121 名の受講者があった(表 1)。森川茂獣医科学部長（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)。また、個人防護具（PPE）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、9 回開催し 22 名の受講者があった(表 3)。継続して病原体等の取り扱いを行う者を対象の講習は 2 年毎に実施しており、27 年度は表 1 に示すように 620 名が受講した。病原体等の取り扱いで注意すべき点及び規則や手続き、さらに話題の感染症として MERS 感染症についてウイルス 3 部松山室長の講演が行われた。

表 1 平成 27 年度新規・継続取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数	継続受講者数
4 月 6 日	39	0
5 月 12 日	0	269
5 月 13 日	0	30
5 月 14 日	0	175
5 月 27 日	0	131
6 月 8 日	36	4
6 月 19 日	0	9
8 月 3 日	16	2
10 月 16 日	6	0
12 月 10 日	9	0
2 月 3 日	15	0
計	121	620

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	森川茂(獣医科学部)
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	伊木、原田、山崎
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)	原田俊彦
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 27 年度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 28 日	5
5 月 22 日	2
7 月 1 日	1
7 月 17 日	2
8 月 19 日	4
9 月 28 日	2
10 月 9 日	1
12 月 7 日	2
1 月 20 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特定病原体等の取扱いに関する規則や病原の特徴、運搬方法および立入検査の内容について講習会を実施した（5 月 25 日)。

［棚林　清］

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎（7 月 8 日)、村山庁舎（9 月 9 日）およびハンセン病研究センター（10 月 22 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 11 日および 14、16、18 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 10 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］

3. 感染症診断技術研修（細菌コース）その他の研修

都道府県地方衛生研究所職員 24 名に対し、バイオセーフティ・バイオセキュリティについての講義と安全キャビネットの使い方及び病原体輸送に関する実技指導を行った。その他、感染研で実施される短期の研修においてバイオリスク管理についての講習を行った。[伊木繁雄、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 4 回）。

［伊木繁雄、棚林清］

2. 特定病原体等の運搬に関する講習会（厚生労働省主催）において、病原体等の輸送時の梱包についての講義および緊急時対応の実習指導を行った。

［伊木繁雄、棚林　清］

3. 大阪市立大学バイオセーフティ委員会に出席し、病原体等安全管理要綱、病原体等安全管理区域運営規則、その他管理要領の内容及びバイオリスク管理技術に関する助言を行った。

［伊木繁雄］

安全管理、教育および情報提供等に関する業務

I. BSL3、4 実験室の管理・運営および利用状況

BSL3、４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、原田俊彦、篠原克明倉文明および非常勤職員 2 名が担当した。村山庁舎においては、伊木繁雄、高木弘隆、山本明彦および非常勤職員 2 名が担当した。ハンセン病研究センターにおいては向井徹（併任）および非常勤職員 2 名が担当した。引き続き、各庁舎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実験室利用者に対する講習等の教育指導等を行った。また、施設技術者警備担当者に対する講習並びに施設入室者に対する講習指導を行った。

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の講義を行なった。

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、原田俊彦、棚林清］

III. 研究所一般公開

研究所の一般公開 (戸山庁舎: 平成 27 年 10 月 4 日, 村山庁舎: 平成 27 年 12 月 19 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。戸山庁舎でのラボ体験では、バイオセーフティについての説明、PPE 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及び P4 実験室模型の展示などを行った。企画内容は昨年度と同様であるが、室内レイアウトや運営を変更して来場者がスムーズに流れる様に改良した。食堂前では手洗い実習を行い、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。今年度より村山庁舎でも開催され、戸山と同じくラボ体験と手洗い実習の二つの企画を実施した。ラボ体験はスペースの関係上、安全キャビネットの設置はできなかったが、大人の来場者にはバイオセーフティについて理解していただき、小さな子供には PPE を

着てピペット操作に挑戦し楽しんでいただけた。両庁舎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、山﨑利雄、倉文明、山本明彦、篠原克明、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 病原体等及び監視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たことでより多角的に管理できるシステムへと発展させた。また、ホームページ管理では、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を行い、特に取扱い病原体等の BSL/ABSL 分類と応急措置法に関するページを検索・閲覧が容易になるよう一新し、さらに取扱いがあるが記載がなかったものを追加し、情報の拡充を図った。
［中西三季、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) Hotta A, Tanabayashi K, Fujita O, Shindo J, Park CH, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamamoto Y, Takano A, Kawabata H, Sharma N, Uda A, Yamada A, Morikawa S. Survey of Francisella tularensis in Wild Animals in Japan in Areas Where Tularemia is Endemic. Jpn J Infect Dis. 21: 431-44, 2016

2) Julan Liao, Masayuki Okuyama, Keigo Ishihara, Yoshinori Yamori, Shigeo Iki, Takayoshi Tagami, Haruhide Mori, Seiya Chiba and Atsuo Kimura. Kinetic Properties and substrate inhibition of α-galactosidase from *Aspergillus niger.* Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 80: 1747-1752, 2016

3) Shimasaki N., Nojima, Y., Okaue, A., Takahashi, H., Kageyama, T., Hamamoto, I. and Shinohara, K.：A novel method of safely measuring Influenza virus aerosol using Antigen-captureEnzyme-Linked Immunosorbent Assay for the performance evaluation of protective clothing materials. Biocontrol Science, 21: 81-89, 2016.

2. 和文発表

1) 堀田　明豊, 棚林　清, 山田　章雄:日本の医師と獣医師における One Health に関するアンケート調査 感染症誌　89: 606～608, 2015

2) 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. and Tanabayashi, K. Possibility of packaging to prevent pathogen splash by causing of miss-packed with dry ice into the inner packing of pathogen transport containers. American Biological Safety Association, 58th Annual Biological Safety Conference, October 9-14, 2015. Bangkok, Thailand.

2. 国内学会

1) 伊木繁雄、棚林清：バイオセーフティの手法に関する考察。第 15 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2015 年 9 月、東京

2) 篠原克明：JBSA バイオセーフティガイドライン案の解説、概要。 第 15 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会　特別シンポジウム、2015 年 9 月、東京

3) 篠原克明：エボラ曝露対応防護具など。第 15 回日本バイオセーフティ学会　総会・学術集会　特別シンポジウム、2015 年 9 月、東京

4) 篠原克明：JBSA ガイドライン案（安全管理全般）。第 15 回日本バイオセーフティ学会　総会･学術集会、2015 年 9 月 16-17 日、東京

5) 原田俊彦：病原体輸送。第 15 回日本バイオセーフティ学会　総会・学術集会、2015 年 9 月 16-17 日、東京

6) 野島康弘、嶋崎典子、岡上晃、高橋仁、影山努、浜本いつき、篠原克明、森本美智子：防護服素材の防護性能評価のための、antigen-capture ELISA を用いたインフルエンザウイルスエアロゾルを安全に測定する新規方法。日本防菌防黴学会第 42 回年次大会、2015 年 9 月、大阪

7) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、鈴木史子、尾関百合子、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎：組換え結核菌抗原 MDP1 および DNA アジュバント G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の最適化の試み。第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月、大阪市

8) 氏原隆子、大原直也。谷口初美、山崎利雄、村上雅：尚、大畑雅典、松崎茂展：*Myco-bacterium smegmatis* に感染するバクテリオファージの形態学的解析。第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月、大阪市。

9) 小川翔大、山本龍二、伊藤佐生智、堀田康弘、大原直也、小川賢二、八木哲也、前田伸司、藤原永年、山崎利雄、西森　敬、後藤義孝、肥田重明、小野嵜菊夫、瀧井猛将：*Mycobacterium avium* の酸性環境下で誘導されるアルギニンデイミナーゼの解析。第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月、大阪市

10) 高木弘隆：Feline calicivirus をモデルとした H_2O_2 抵抗性株獲得と他製剤に対する感受性変化について 日本食品微生物学会 36th 学術大会、2015 年 11 月 川崎

11) 高木弘隆：国のノロウイルス対策と機能水　第 14 回機能水学会　市民セミナー　2015 年 10 月　浜松

１７．動 物 管 理 室

室長　　花木　賢一

概　要

動物管理室は医学用実験動物の飼育及び健康管理並びにこれらに関する科学的調査及び研究を行うことを業務としている。実験動物の飼育及び健康管理では動物実験施設の管理運営と微生物モニタリング、研究者が行う動物実験への支援、受精卵・精子の凍結保存による系統維持と清浄化を行っている。また、庁舎毎に設置されている連絡協議会では、室長が動物実験施設の管理運営状況と動物実験の実施状況についての説明を担当している。科学的調査・研究では、実験動物の感染症に関する研究としてマウスノロウイルス持続感染細胞に関する研究、マウス肝炎ウイルスの病原性に関する研究、及び 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ムンプスウイルス感染モデル動物の開発、イヌジステンパーウイルス感受性マウスの開発、及び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、ヒトバベシア症に関する研究を実施している。

我が国における動物実験に関する法規では、平成 18 年 6 月 1 日に改正施行された「動物の愛護及び管理に関する法律」第 41 条で動物実験の国際的倫理原則３Ｒ（Replacement, Reduction, Refinement）が明文化され、同日施行された「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（厚労省基本指針）」で動物実験の機関管理が明示された。そこで、感染研における動物実験の最終責任者は所長とし、動物実験の適正な実施を諮問する組織として動物実験委員会、実験動物の適正な飼養保管を担保する組織として庁舎毎に実験動物管理運営委員会が設置されている。動物管理室は動物実験委員会の事務局、実験動物管理運営委員会の庶務を担当している。また、「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」と厚労省基本指針に基づく年一回の自己点検評価において原案の策定、第三者機関による外部検証に際して実地調査対応を行っている。平成 27 年度は村山庁舎についてヒューマンサイエンス振興財団動物実験実施施設認証センターに外部検証を依頼し、平成 27 年 12 月 10 日に実地調査が行われた。そして、昨年度の戸山庁舎に続き厚労省基本指針に適合していることの認定を受けた。

動物管理室は国内外からの動物実験施設見学と動物実験施設管理運営の研修を受け入れている。主なものとして、平成 27 年度は獣医系大学学部生を対象とした学生インターンシップ・プログラム、東京農業大学短期大学部学生の研究調査、東京大学農学部獣医学課程学生実習、JICA「ワクチン品質管理技術コース」に対応した。

人事異動として、平成 27 年 4 月 1 日に動物管理室長として花木賢一（前職：岩手医科大学医学部准教授、動物研究センター長兼任）が任用された。

講習会開催及び動物管理区の利用状況

動物管理室は動物実験委員会が主催する動物実験講習会の運営を担当している。講習会では受講者に対して実験動物の飼養及び動物実験に関する法規制、機関内規程、動物実験の 3Rs を実践するための基本的な事項、動物感染実験におけるバイオセーフティを解説している。また、講習会会場では実技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、実技研修に代えて国内の団体が制作した動物飼育と基本実験手技に関するビデオ講義を行っている。平成 27 年度は継続従事者を対象とした講習会を実施しており、新規受講者と合わせた講習会参加者は 415 名であった。関連して、平成 27 年度の動物実験計画申請は 412 件であった。

動物実験委員会の講習会とは別に、各庁舎の動物実験施設ではそれぞれの利用方法と実験動物の飼養・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 28 年 3 月 31 日現在、戸山庁舎 259 人、村山庁舎 261 人、ハンセン病研究センター25 人である。また、3 庁舎で飼養保管している動物の合計は平成 28 年 3 月 31 日現在、マウス（5,985 匹）、ラット（196 匹）、モルモット（184 匹）、ウサギ（38 羽）、スナネズミ

（9 匹）、ハムスター（11 匹）、フェレット（62 匹）、ネコ（7 匹）、霊長類（92 匹）、ニワトリ（11 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 14 日	戸山	21			26
6 月 9 日	戸山	4			12
6 月 29 日	ハンセン			1	
10 月 7 日	戸山	12			15
10 月 24 日	ハンセン			1	
12 月 31 日	村山		8		
1 月 6 日	戸山	1			
1 月 12 日	戸山				177
1 月 15 日	村山				124
1 月 28 日	ハンセン				22
2 月 1 日	ハンセン			1	
2 月 9 日	戸山	8			36
3 月 10 日	*戸山*	*2*			*2*
3 月 23 日	*戸山*	*1*			*1*
3 月 28 日	ハンセン			1	
3 月 31 日	村山		4		
合計		49 新規	12 新規	4 新規	415 年度内

（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

戸山庁舎と村山庁舎の各飼育室にはモニター動物を配置し、庁舎毎に月一回の微生物検査を実施している。また、ハンセン病研究センターでも同様の微生物モニタリングを行っているが、微生物検査は戸山庁舎で実施している。モニタリング結果は別表 1 に示す。緑膿菌と黄色ブドウ球菌について陽性例を多数認めるが、これらは免疫機能が正常な動物には病原性のない日和見病原体であり、免疫不全動物を用いる実験以外では許容されるものである。その他の病原体は全て陰性であり、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、花木賢一）

2. 胚操作業務

感染研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、利用者の依頼を受けて受精卵と精子の凍結保存、及び胚移植による個体復元と SPF 化（クリーニング）の支援業務を行っている。平成 27 年度は 8 系統の依頼があり、受精卵・精子の凍結保存とクリーニングを実施した。（田原口元子、河合康洋、花木賢一）

II. 実験動物の感染症に関する研究

1. マウスノロウイルス持続感染細胞に関する研究

マウスノロウイルス（MNV）は病原性が低いことから、SPF の対象微生物とするか議論が続いている。多くの MNV 分離株は免疫機能の正常なマウスへ接種すると、一ヶ月近くの慢性感染を引き起こす。そこで、本研究は慢性感染の *in vitro* モデルを作出することを目的として行っている。これまでに国際的標準株と位置づけられる MNV-1 と国内分離株 MNV-S7 の持続感染細胞を樹立しており、本年度は MNV-S7 持続感染細胞について性状解析を行った。培養上清中ウイルス RNA 量を定量 RT-PCR で測定すると、培養時間とウイルス RNA 量との間に高い相関を認めた。また、ウイルス RNA 量は生細胞数よりも死細胞数と高い相関を示した。電子顕微鏡解析では初感染細胞の細胞質でウイルス増殖に伴う膜様構造物を認めるが、持続感染細胞では膜様構造物を認めない代わりに細胞質でウイルス粒子の顆粒状集積を認めた。この細胞質内集積部位を同定するため、細胞内小胞マーカーとウイルス抗原に対する二重蛍光抗体法を行った持続感染細胞を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。その結果、ウイルス粒子は後期エンドソームに集積していることが明らかになった。

［花木賢一、滝本一広、網 康至、石山絵里[1]、石田欣二[1]（[1]岩手医科大学）］

2. マウス肝炎ウイルスの病原性に関する研究

マウス肝炎ウイルスの親株 MHV2 とその変異株 MHV-2f は、マウスへの感染実験により病原性の著しい相違が明らかになっている。そして、臓器別によるウイルス増殖を経時的に採取した感染マウスの肝臓、脳、及び大腸で調べると、MHV2 が MHV-2f よりウイルス価（PFU）が 10^3 から 10^5 以上高かった。特に、MHV2 を 10^4 PFU 接種したマウスでは 2 日目から 5 日目まで感染価が上昇傾向にあり、さらに 10^7 PFU 接種したマウスでは 1 日目から人道的エンドポイントに至るまで高い感染価を示した。

（田原口元子、新倉 綾、花木賢一）

3. Tyzzer 菌（*Clostridium piliforme*）の組換え鞭毛蛋

白の発現

Tyzzer 菌鞭毛蛋白の塩基配列について再検討するため、遺伝子情報の少ない Tyzzer 菌の全ゲノム塩基配列の解読を試みた。Tyzzer 菌（RT 株）をラット肝癌由来 H4IIE 細胞で大量培養し、ゲノム DNA を抽出して次世代シーケンサーによりゲノム情報を得た。しかし、この抽出 DNA には H4IIE 細胞由来の DNA も含まれていることが判明した。そこで、細胞由来の DNA を除去した上で、再度シーケンス解析を行うこととし、ゲノム DNA の調製を進めている。

（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

カニクイザルにムンプスウイルスのワクチン株と野外株をそれぞれ皮下接種し、末梢血リンパ球数と血中アミラーゼの変動を解析した。いずれの株を接種した場合でも、接種３週後に末梢血リンパ球数の減少を認めた。また、血中アミラーゼは接種後 4 日から 14 日に上昇する個体を認めた。野外株接種群で早期に上昇する傾向があった。しかし、有意な差は認められなかった。この結果は、カニクイザルへの皮下接種では、ムンプスウイルス株間の病原性差を検出することが困難であることを示唆している。

[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）は野生動物を中心に蔓延しており、マカク属サルにまで宿主域を拡大している。CDV 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。しかし、CDV の病原性解明において重要な役割を担うことが期待される CDV 感受性マウスは存在しない。そこで、本研究では CDV が感染、発症するモデルマウスの作製を目指している。昨年度までにカニクイザル SLAM Knock-in と Nectin4 TG マウス作製のための相同組換え ES 細胞を樹立した。しかし、それら ES 細胞を用いる方法では目的とするマウスの作出が困難であった。そこで、新たに遺伝子編集技術（CRISPR/Cas9 システム）を用いた作出方法を試みている。

[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、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できる事例は少ない。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 CRISPR/Cas9 システムを用いてノックアウトすることにより、効率的にコウモリ由来ウイルスが分離できる細胞株の樹立を試みた。そして、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を樹立した。この細胞株は Myd88 遺伝子欠損により IFN 産生が低下していること、pseudotype ウイルスの感染効率が増加することを確認した。今後、様々なコウモリ由来ウイルスを用いて樹立し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 は欧州のウシやヒトのバベシア症の原因原虫である。その近縁種は米国で死亡者を出す新興感染症の病原体として知られている。我々は欧州種と米国種に類似した *B. divergens* 遺伝子が日本のシカから検出されることを報告している。本研究では我が国における *B. divergens* の感染状況を詳細に把握するため、2012～2015 年に 19 道府県で捕獲された日本シカの血液を検体として *B. divergens* 特異的 PCR を実施した。合計 844 頭の内 73 検体（8.6%）から *B. divergens* 遺伝子を検出した。陽性率の最も高かったのは北海道の 48%であった。また、岩手、宮城、栃木、群馬、山梨、長野、岐阜、静岡、滋賀で捕獲されたシカが *B. divergens* 遺伝子陽性であった。残る青森（N=1）、福島(4)、三重（44）、和歌山（35）、京都（46）、兵庫（55）、鳥取(18)、島根(62)、福岡（27）で捕獲されたシカは陰性であった。日本では本原虫によるバベシア症患者の報告はないが、近年、新型原虫によるヒトバベシア症の発生が続いている。そのため、本原虫については注意深く監視していく必要がある。[新倉 綾、森川 茂[1]、平田晴之[2]、石原智明[2]、花木賢一（[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) Saito S, Ainai A, Suzuki T, Harada N, Ami Y, Yuki Y, Takeyama H, Kiyono H, Tsukada H, Hasegawa H. The effect of mucoadhesive excipient on the nasal retention time of and the antibody responses induced by an intranasal influenza vaccine. Vaccine 34:1201-7. 2016

2) Li TC, Yoshizaki S, Yang T, Kataoka M, Nakamura T, Ami Y, Yuriko S, Takeda N, Wakita T. Production of infectious ferret hepatitis E virus in a human hepatocarcinoma cell line PLC/PRF/5. Virus Res. 213:283-8. 2016

3) Li TC, Yang T, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Ishii K, Kishida N, Shirakura M, Asanuma H, Takeda N, Wakita T. Ferret hepatitis E virus infection induces acute hepatitis and persistent infection in ferrets. Vet Microbiol. 183:30-6. 2016

4) Kataoka C, Suzuki T, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ami Y, Wakita T, Nishimura Y, Shimizu H. The Role of VP1 Amino Acid Residue 145 of Enterovirus 71 in Viral Fitness and Pathogenesis in a Cynomolgus Monkey Model. PLoS Pathog. 11:e1005033. 2015

5) Li TC, Yang T, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Ishii K, Haga K, Nakamura T, Ochiai S, Takaji W, Johne R. Construction and characterization of an infectious cDNA clone of rat hepatitis E virus. J Gen Virol. 96:1320-7. 2015

6) 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. 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. 2015

7) Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Yang T, Takeda N, Takaji W. Monkeys and rats are not susceptible to ferret hepatitis E virus infection. Intervirology 58:139-42. 2015

8) Zamoto-Niikura A, Tsuji M, Qiang W, Hirata H, Nakajima R, Morikawa S, Holman PJ, 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. 2015

9) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Shimojima M, Watanabe H, Saijo M. Efficacy of T-705 (Favipiravir) in the Treatment of Infections with Lethal Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus. mSphere. 1:pii: e00061-15, 2016

2. 和文発表

1) 河合康洋：ゲノム編集技術の現状と可能性. 動物遺伝育種研究 44: 23-34, 2016

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Aya Zamoto-Niikura. Epidemilogical survey and molecular analysis of *Babesia divergens* in Japan. Vegterinary Paathobiology Seminar Series in Texas A&M University. Texas, USA, January 2016

2. 国内学会

1) 花木賢一、大岡静衣、松浦絵里、小笠原勝利、花坂智人、石田欣二、平野紀夫：マウスノロウイルス持続感染細胞におけるウイルス粒子の分布. 第 62 回日日本実験動物学会総会. 平成 27 年 5 月. 京都.

2) 新倉(座本)綾、今岡浩一、森川 茂、萩原克郎、加藤(森)ゆうこ、平田晴之、石原智明、花木賢一：全国の日本シカにおける *Babesia divergens* 感染状況調査. 第 158 回 日本獣医学会学術集会. 平成 27 年 9 月. 青森.

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 27 年度には 17 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効性・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・三室が合同で行っている。その他、予防接種で予防可能な疾患のアウトブレイク時の対応、対策に資する研究については、第一・二室と共同で行っている。

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、感染病理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：村上光一室長)

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ゲノムの分子疫学および進化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(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント」(研究代表者松井珠乃)を組織し、感染症発生動向調査の評価と改善、感染症発生動向調査の利用の促進、新興・再興感染症発生への準備について検討を行っている［松井珠乃、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、木下一美、有馬雄三、島田智恵、他、所外分担研究者］

2. 感染症発生動向調査に基づく注意報・警報システムおよび全国罹患数推計に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント」(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。特に、水痘については、警報の発生割合が低く、予防接種の導入に伴い今後も患者数の減少が想定されることから、警報・注意報の基準値を変更することが必要であると結論した。

［松井珠乃、砂川富正、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前 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

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、全国の地方衛生研究所や保健所からの、NESID に関する改善要望等に関する情報収集や過去のアンケート調査の結果を総合する作業を行い厚生労働省等との協議を継続した。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が策定され、その内容を継続して検討し、システム上により良い形で反映させることを目標に対応がなされた。

［砂川富正、高橋琢理、齊藤剛仁、木下一美、加納和彦、有馬雄三、小林祐介、赤塚昌江、野地元子、加藤信子、徳永真里子、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印刷のうえ、自治体衛生主管部および日本医師会に送付した。また、PDF ファイル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他、NESID システム内マニュアル・FAQ ページへの掲載を行った。

［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、研究等の技術的支援を行っている。2015 年 3 月末で 25 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。［大日康史、菅原民枝］

(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。2015 年 3 月末で県単位は 6 県、多くは市区町村単位で実施し、約 8000 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］

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、有馬雄三、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っている。MERS、エボラ出血熱、ジカウイルス感染症等について、リスク評価を実施し、ウエブサイトにおいてその結果を適時に公表している。

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)「新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント」(研究代表者松井珠乃)において、「急性の感染症事例に対するリスク評価の標準的手順」を作成した。

［FETP 一同、島田智恵、八幡裕一郎、神谷元、松井珠乃、有馬雄三、砂川富正、大石和徳］

9. 災害時の避難所サーベイランス運用に関する評価

2015 年 9 月に発生した関東・東北豪雨による避難所における感染症のサーベイランス運用に関して評価を行った。評価は茨城県所管の保健所に勤務する職員で避難所において業務を行った者（医師及び保健師）と常総市職員で避難所において業務を行った者（保健師及び事務系職員）に対して半構造化質問票によるインタビューを行った。インタビュー項目はサーベイランス項目の Simplicity、Flexibility、Acceptability、Data quality、Timeliness、Stability、Usefulness 半構造化質問票の結果から構造化質問票を作成し、インターネットにより調査を行った。現在、調査は解析中である。解析結果は茨城県及び常総市にフィードバックする予定である。

［渡邊愛可（FETP)、栗田順子、八幡裕一郎、マットグリフィス、神谷元、松井珠乃、砂川富正］

II. パンデミック、バイオテロ、公衆衛生対策に関する研究

1. 新型インフルエンザのパンデミック対策に関する研究

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 Influenza 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 Influenza 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。本手法に関しては、危機管理研修会等でも還元し、カンボジアのデータにも活用し、2015 年の「WHO 西太平洋地域事務局・南東アジア事務局地域のナショナルインフルエンザセンターとインフルエンザサーベイランスにかかる会議」でカンボジアの発表を支援した。また、ＣＤＣ／ＷＨＯによる新型インフルエンザの新たなリスクアセスメント手法「ＩＲＡＴ・ＴＩＰＲＡ」に関する検討、情報収集、情報還元を行った。

［有馬雄三、新城雄士、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：本間正人)の分担研究として、マスギャザリングへの備えとして、救急外来など最前線に立つ医療機関と、行政部門（保健所、県庁、地方衛生研究所）との積極的な連携作りの重要性について検討を行った。

［松井珠乃］

3. 伊勢志摩サミットの NBC テロ対策に関する研究

厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)「平成 28 年主要国首脳会議（G8）に向けての救急・災害医療体制の構築に関する研究」の分担研究「NBC テロ対応における医療体制整備に関する研究」（分担研究者：吉岡敏治）の研究協力として、感染症発生動向調査を基盤にした上で、サミット会場周辺の医療機関において、感染症が疑われる不明疾患の早期探知と診断支援、輸入感染症の早期探知と診断支援等を目的としてアクテイブな情報収集を行うこと、また炭疽菌テロ発生時の公衆衛生対応マニュアルを整備しておくことを提案した。

［大石和徳、松井珠乃、神谷元、蜂巣友嗣］

4. 一類感染症の対応に関する検討

厚生労働省結核感染症課による「一類感染症に関する検討会」において、「ウイルス性出血熱への行政対応の手引き」、「一類感染症に関する検討会　報告書」の作製に協力した。また、エボ

ラ出血熱用に作成していた積極的疫学調査要領を、一類感染症に含まれるウイルス性出血熱用として内容を更新する作業を行った。［松井珠乃、安藤美恵、藤谷好弘］

5. 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、八幡裕一郎、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、人口寄与危険割合（PAR%）を算出した。「十分に加熱した牛ホルモン喫食」の PAR% は 47.2%であった。

［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。これらの結果をもとにガイドラインの改訂を行った。

［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. 広域散発例発生リスクの検討に関する研究

近年我が国では、腸管出血性大腸菌、細菌性赤痢、腸チフス、A 型肝炎などの感染症が広域で散発的に発生が感染症発生動向調査で報告されている。これらの多くは原因が不明である。しかしながら、これらのうち分子サブタイピングにより、同一起源であることが判明したものについて疫学調査の方法や情報の集約方法などについては確立されていない。そこで、本研究は腸

管出血性大腸菌、細菌性赤痢、腸チフス、A 型肝炎などの感染症について統一した疫学調査票を利用し、分子サブタイピングの解析結果を利用し、症例対照研究を試みるとともに、国内での普及について検討することを目的とした。腸管出血性大腸菌で、寮におけるアウトブレイクの原因が広域散発例と関連があり牛肉または牛肉との交差汚染が原因であること考えられた。この他に、複数の自治体から同一時期に同一の MLVA コンプレックスが報告された自治体で同一 MLVA コンプレックス腸管出血性大腸菌を症例とし、異なる MLVA コンプレックスまたは異なる血清群あるいは異なる VT 型別の腸管出血性大腸菌を対照として症例対照研究を行なった。また、食材のさかのぼり調査を行った。これらから、この広域散発例は検討すると牛ホルモンの可能性が考えられた。

［八幡裕一郎、加納和彦、高橋琢理、有馬雄三、齊藤剛仁、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、2015 年 4 月号：麻疹、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：エボラ出血熱、7 月号：風疹・先天性風疹症候群、8 月号：溶血性レンサ球菌感染症、9 月号 : HIV/AIDS、10 月号：播種性クリプトコックス症、11 月号：インフルエンザ、12 月号：中東呼吸器症候群（MERS）、2016 年 1 月号：伝染性紅斑、2 月号：ポリオ、3 月号：重症熱性血小板減少症候群である。

［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、小林祐介、多屋馨子、佐藤弘、島田智恵、藤谷好弘（FETP）、松井珠乃、藤本嗣人、木村博一、大石和徳、石井則久(ハンセン病研究センター)、大西真、伊豫田淳、石原朋子、泉谷秀昌、池辺忠義(細菌第一部)、柴山恵吾、加藤はる(細菌第二部)、、西條政幸、下島昌幸安藤秀二(ウイルス第一部)、清水博之 (ウイルス第二部)、竹田誠、駒瀬勝啓、森嘉生(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(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（真菌部）、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）、熊谷優子 (国際協力室)、山内和志 (企画調整主幹)、倉根一郎(所長)、脇田隆字(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)、宮川昭二、大島和輝、氏家無限、 (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、2014 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学会で報告を行うとともに、当所の病原体検出情報に報告した。男性と性交する男性における梅毒罹患リスクを評価する調査を行い、先天梅毒児の臨床像・治療実態および児の親の梅毒感染・治療に関連する背景を明らかにする研究も倫理審査に承認された。また、アメーバ赤痢の報告数の年次推移と分布を解析し、近年、従来とは異なる性感染の可能性を示した。

［岡部信彦(川崎市衛生研究所)、山岸拓也、石金正裕、加藤博史、金井瑞恵、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、塩基配列データからの疫学・進化過程の推定を基にさまざまな解析を行っている。今年度はサブタイプ B と同定された 4398 検体に見出された 227 個の感染クラスタについて、クラスタに所属する感染者と所属しない感染者の差異を解析するとともに、20 人以上の感染者を含む 44 の大きな感染クラスタについて、伝播ネットワーク解析を行いネットワークの特徴と関連する感染者の因子の同定をおこなった。感染クラスタに含まれる感染者はそうでない感染者（孤発例）に較べて、感染初期の指標である BED assay の陽性者が有意に多かった。また、初回来院時の CD4 値の中央値が有意に高かった。44 個の主要クラスタはすべて、MSM 行動を感染リスクとする。これらの MSM 伝播集団の伝播ネットワーク解析からは、グラフ密度・度数集中度・tMRCA の三者の高い相関が観察されている。グラフ密度はまた、初回来院時の CD4 中央値とも相関していた。初回感染時の血中ウイルス量では、こうした関連は観察されなかった。これらの結果から、サブタイプ B の感染クラスタの主な構成者である国内の MSM は、明確な感染クラスタ内の感染者ほど早期に診断され、病状も良いことが示唆された。また、クラスタの中でも、起源の古いものほど病状の悪い患者を含むことも示唆された。日本における HIV/AIDS 予防の方針の一つは、早期診断・治療の促進であるが、診断が遅れがちな病状の進んだ感染者は古いクラスタやクラスタを形成しない孤発例に潜む可能性がある。日本全体への HIV-1 の拡散の防止のためには、こうした感染者を診療現場で効率的に見つけ出し、検査の場に誘導できるような施策が必要と考えられる。

［椎野禎一郎］

9. 成人インフルエンザ脳症の疫学に関する全国調査

厚生労働科学研究「感染症実用化研究事業（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）
「新型インフルエンザ等への対応に関する研究」班
」(研究代表者　森島恒雄、研究分担者　亀井聡)の研究協力者として、成人インフルエンザ脳症の疫学に関する全国調査を計画し、調査用紙の作成を行った。次年度からの研究開始に向けて、感染研の倫理承認を得た。

［奥野英雄、多屋馨子、亀井聡（日本大学医学部神経内科)、森島恒雄（岡山ろうさい病院)］

10. 多剤耐性菌による院内感染の疫学研究に関する研究

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、関西地域の医療機関におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による院内アウトブレイクの実地疫学調査を行い、リスク因子の同定を行い感染対策に反映させた。また、多剤耐性緑膿菌アウトブレイク事例調査についても論文で報告をした。

［山岸拓也、FETP 金山敦宏、松井珠乃、大石和徳］

11. 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。また、2015 年秋に多発した急性弛緩性麻痺について、感染症法に基づく積極的疫学調査による一次調査について臨床疫学的なまとめを行い、届けられた症例について、詳細な臨床疫学情報を得るために、感染研の倫理承認を得た上で、上記研究班の枠組みで全国調査を行った（二次調査)。以上の解析は日本小児神経学会、日本小児科学会とも合同で実施した。

［多屋馨子、奥野英雄、佐藤弘、新井智、森野紗衣子、田中佳織、砂川富正、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)、吉良龍太郎（福岡市立こども病院)、チョンピンフィー（福岡市立こども病院)、奥村彰久（愛知医科大学)、森墾（東京大学大学院放射線医学)、鳥巣浩幸 (福岡歯科大学)、安元佐和 (福岡大学)］

12. 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、過去にセアカゴケグモ咬傷事例の確認されている奈良県の内科、小児科、皮膚科を対象に全数調査を実施した。

［新井智、山岸拓也、大石和徳］

13. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学研究

厚生労働科学研究「SFTS の制圧に向けた総合的研究」（研究代表者　倉田毅、研究分担者　西條政幸）の一環として、感染症発生動向調査に報告された症例に関し、後方視的疫学調査を実施した。

［山岸拓也、FETP 加藤博史、大石和徳、西條政幸（ウイルス第一部）］

14. 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。また、渡航者におけるデング熱患者データをリスク評価に活用する為、渡航者サーベイランスを積極的に進めてきた。AMED 高崎班（国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス感染症に対する総合的対策に関する研究）の一環として、平成 27 年 9 月 30 日～10 月 2 日の期間、感染研において、オーストラリア、台湾、シンガポール、マレーシアのデング熱サーベイランス担当者、研究者を招いて、Dengue Surveillance: Information-sharing among Asian countries for a better prepared region を開催し、デング熱・チクングニア熱の輸入例情報を共有する仕組みの有用性について検討を行った。［木下一美、有馬雄三、新城雄士、島田智恵、松井珠乃、砂川富正、大石和徳］

15. 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、医療負荷を評価するための指標づくりを目的とし、協力医療機関（基幹定点医療機関 3 施設）において、2013/14 シーズンよりパイロット的研究を行いその成果をまとめた。

［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、風疹、水痘、ムンプスに関する疫学情報をまとめるとともに､麻疹については自治体間（埼玉県、群馬県）をまたぐ発生に対する調査支援と対策に関する助言を行った。

［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 福住宗久、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（2014 年度最終評価・2015 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（2015 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〉

- 医師による麻しん届出ガイドライン第 5 版の作成

［多屋馨子、砂川富正、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、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 16 期&17 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状態の維持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。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、風疹の予防啓発資料を作成するとともに、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。

［多屋馨子、松井珠乃、砂川富正、FETP 加藤博史、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. 成人男性に対する風疹予防啓発資料の作成

抗体保有率が低い成人男性に対する風疹対策の一環として、毎月季節に合わせた啓発ポスターを作成した。感染研の一般公開にあわせて風疹の予防啓発のためのマンガによる啓発資料を作成した。［熊田萌、森野紗衣子、奥野英雄、佐藤弘、新井智、多屋馨子］

7. 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

AMED 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 74 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。同時接種例が多い点も報告された各ワクチンの関与の可能性について今後も情報の集積、検討を要する。また、研究班で実施する症例対照研究の円滑な実施に向けて、分母情報を把握する意味も込めて、全国の血小板減少性紫斑病症例数調査を実施した

［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に関するインターネット調査を行った。ワクチンに関する説明効果がワクチンの種類による違いが見られるかの検討を行った。

［吉川肇子(慶応義塾大学)、奥野英雄、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、シンガポールで実施されている Active Surveillance について情報を収集した。小児病院において毎日入院患者のリストからワクチン接種後の発症しうる疾患の診断で入院した患者のワクチン接種歴を確認し、ワクチンと副反応の因果関係について検討していた。受動的なサーベイランスが主であるワクチン接種後の副反応サーベイランスにおいて能動的な方法で事象を探知する試みは、今後理想的なワクチン接種後有害事象サーベイランスを構築するうえで重要な要素であることを報告した。
［砂川富正、神谷　元、多屋馨子］

8. 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)｢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 (研究代表者　庵原俊昭、研究分担者　大石和徳)」の一環として13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(IPD)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の測定を行った。患者のIPD発症時の原因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。一方で特定の血清型についてはオプソニン活性の上昇を認め、血清型ごとの反応性の違いについて引き続き検討課題として挙げられた。
［明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）、北上悦子、森野紗衣子、常琳、多屋馨子、大石和徳］

9. 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）、明田幸宏（大阪大学微生物病研究所）、大石和徳］

10. 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。

[FETP 福住宗久、松井珠乃、砂川富正、高橋琢理、村上光一、木村博一、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、乳児の百日咳感染予防を目的とした妊婦に対する百日咳含有ワクチンの接種についての知識（Knowledge）、態度（Attitude）、行動（Practice）に関する調査を KAP study に基づく断面研究で行うこととした。海外の妊婦の百日咳含有ワクチン接種に関する文献及び妊婦のインフルエンザワクチン接種に関する文献をもとに調査票の開発を行った。また、調査協力の得られた産婦人科（年間分娩数 3000 例程度）への説明及び調査方法についての検討を産科で行った。次年度、調査を行なう予定である。

［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. 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の検討

AMED 委託費（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）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、不活化ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況および抗体保有状況について検討を行った。

2014 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、ポリオワクチンの 1 回以上接種率（接種歴不明者を除く）は 5 歳未満の各年齢で 95%以上であり、ワクチンの種類別にみると 0～2 歳では 8 割以上が不活化ポリオワクチンのみの被接種者であった。また、中和抗体価 1:4 以上の抗体保有率についてみると、ポリオウイルス 1 型および 2 型に対しては各年齢で概ね 95%以上を示した。一方、3 型に対しては、不活化ポリオワクチン被接種者の割合が高かった 0～2 歳は 90%以上の抗体保有率であったが、3 歳および 4 歳では 80%前後であった。

［佐藤弘、多屋馨子、清水博之（ウイルス第二部)］

13. ムンプスウイルス抗体保有調査

平成 27 年度ワクチン等国内需要安定化調査事業として、血清銀行より血清分与を受け、ムンプスウイルス抗体保有率の検討を行った。各年齢群の抗体保有率および、流行前後の抗体保有状況の変化を評価し、疾病負荷を検討することを目的に 2010～2011 年の流行前後（2007～2008

年および 2012～2013 年）の 2 期間で年齢群、地域を一致させ抗体保有率を検討した。
［森野紗衣子、佐藤弘、奥野英雄、新井智、多屋馨子］

14. ロタウイルスワクチンに関する作業班報告書の作成

ロタウイルスワクチンの国内定期接種化に向けて、これまでの国内外のファクトを収集するとともに、症状、疫学、ウイルス学、ワクチンの有効性、安全性、医療経済効果に関して報告書を作成した。［多屋馨子、池田俊也（国際医療福祉大学)、岩田敏（慶應義塾大学)、大西浩文（札幌医科大学)、片山和彦（国立感染症研究所ウイルス第二部)、谷口孝喜（藤田保健衛生大学)、津川毅（札幌医科大学)、中込治（長崎大学)］

V. 病原体等の研究

1. 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、新井智、大石和徳、多屋馨子］

2. 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、青木啓太、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)、谷口怜(ウイルス第一部)、Son Truong Nguyen、Vuong Tan Tu (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)］

3. 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、マダガスカ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、青木啓太、多屋馨子、大石和徳(感染症疫学センター)、Son Truong Nguyen、Vuong Tan Tu (ベトナム、Institute of Ecology and Biological Resources)、大館智志、鈴木仁(北大)、Richard Yanagihara(米国ハワイ大学医学部)］

4. 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）「尿道炎におけるアデノウイルスの分子疫学的研究及び病原性の解析（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、網羅的な原因微生物検出スクリーニング系を性感染症クリニックと共同で実施した。その結果、尿道炎患者の 9 割から病原微生物を検出した。
［花岡希、藤本嗣人、伊藤晋(あいクリニック)］

5. 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。現在，サブジェノグループのうち C2 と B5 が流行しているが，日本で 2015 年度に EV71 検出は極めて少なかった.

［藤本嗣人、花岡希、加納和彦、清水博之］

6. 全国的なエンテロウイルス D68 流行時のウイルス検査

2015 年 9 月に全国規模の重症呼吸器感染症(喘息様）および急性弛緩性麻痺の流行が発生した．その際のウイルス検索を実施した．その結果，急性弛緩性麻痺の髄液を含む検体からエンテロウイルス D68 を検出した.

[藤本嗣人，花岡希，小長谷昌美，多屋馨子，中村朋史, 清水博之]

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。2015 年に流行性角結膜炎の大規模な国内流行がみられたので，地方衛生研究所に対するアンケートを 5 類定点疾患である流行性角結膜炎について実施した。検出数が最も多かったのは 54 型で九州・関東を中心に全国的に検出がみられた。54 検出地域の関東、九州等において流行性角結膜炎が過去 5 年のうち最大規模で観察された。

[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 27 年度感染症実用化研究事業　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（研究開発課題名：下痢症ウイルスの分子疫学と感染制御に関する研究　研究開発代表者　片山和彦　研究開発分担者　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 GII(NoVGII)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 22 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。また、GI キャプシドに比し、宿主の生態防御圧力による正の選択を受けやすいことも明らかになった。[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(肺炎球菌やインフルエンザ菌)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知られているが、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. 麻疹ウイルス *H* 遺伝子の分子進化に関する研究

麻疹ウイルス全遺伝子型(24 遺伝子型)の H 遺伝子の分子進化に関する研究を行った。その結果、MeV は、3 系統に分類され、RPV と約 250 年前に分岐し、 約 100 年間で 24 遺伝子型を形成した。***H*** 遺伝子の進化速度は、比較的遅いことが推察された。MeV の H 蛋白には、positive selection site はきわめて少なく、かつ中和抗体の反応にはほとんど影響ないと思われた。主要検出遺伝子型(B3, D4, D8, D9 および H1)の population size は、検出頻度が少ない遺伝子型(B1, E, F, G1 および G2)と 1990 年頃に逆転した。MeV H 遺伝子および H 蛋白は極めて抗原的に安定であることが示唆された。[木村博一、竹田誠（ウイルス第 3 部）、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、小林美保、塚越博之（群馬県衛生環境研究所）、石井晴之（杏林大学第 1 内科）、梁明秀（横浜市立大学医学部）]

11. 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 27 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、62 機関の参加を得て、ノロウイルスキャプシド遺伝子のシークエンス・系統樹解析に関する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、長澤耕男、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）、岸本寿夫（岡山県環境保健センター）、佐多徹太郎（富山県衛生研究所）]

12. ヒト RS ウイルスサブグループ B(HRSV-B) 遺伝子型 BA9 および BA10 型の分子進化に関する研究

HRSV-B の 21 遺伝子型のうち、現在の主要流行遺伝子型である BA9 および BA10 の *G* 遺伝子の分子進化に関する研究を行った。その結果、HRSV-B 遺伝子型 BA9 は BA7･BA8･BA10 との共通始祖ウイルスから 1999 年頃分岐し、遺伝子型 BA10 は BA7･BA8 との共通始祖ウイルスより 2001 年頃に分岐したと推定された。HRSV-B 遺伝子型 BA9 および BA10 の進化速度は 4.8×10^{-3} substitution/site/year であり HRSV-A と同程度の進化速度を持つことが推定された。遺伝子型 BA10 の中には pairwise-distances >0.07 を超える株があり新たな遺伝子型 BA11 が出現していると推定された。一方で遺伝子型 BA10 の effective population size は 2010 年以降減少傾向にあり、今後同遺伝子型の流行パターンが変化する可能性があると考えられた。[長澤耕男、野田雅博、木村博一、大石和徳、平野映子（福井県衛生環境研究センター)、小林美保（群馬県衛生環境研究所)、梁明秀（横浜市立大学医学部)、石和田稔彦（千葉大学真菌医学研究センター)、下条直樹（千葉大学大学院小児病態学）]

VI. 学会等の中での研究、貢献

１．　日本感染症学会

2014~2015 年度の本部理事、2015 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。とくに、危機管理委員会として、蚊媒介感染症専門医療機関ネットワークを構築し、講習会を開催した。［大石和徳］

2015 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

2015 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

2015 年度予防接種・感染症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学会における感染症リスクアセスメント研修会講師を務めるなど、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。65 歳以上の高齢者における肺炎球菌ワクチン選手の考え方をホームページ上で公表した。

［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」(平成十年十月二日法律第百十四号)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 16 期&17 期生、八幡裕一郎、山岸拓也、宮間浩史、大竹由里子、新井伸一、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 2014 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、新井伸一、佐藤弘、赤塚昌江、野地元子、徳永真里子、FETP 研修生 16 期&17 期生、八幡裕一郎、山岸拓也、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。2015 年 1 月~2015 年 12 月の病原体検出報告数（2016 年 6 月 29 日現在）は、病原菌検出報告(３A：地研・保健所)は 3,324 件、病原体個票は病原菌(原虫・寄生虫を含む)が地研・保健所 3,186 件、ウイルス(リケッチア，クラミジアを含む)が地研 21,1360 件(うち最多はインフルエンザ A(H3)で 3,287)、検疫所 11 件（ウイルス、原虫）、集団発生病原体票は病原菌等が地研 180 件、ウイルス等が地研 644 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地研 292 件、ウイルス等が地研 60 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 36 巻)および第 35 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、吉倉廣（元所長）］

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。

［大竹由里子、新井伸一、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。2015/2016 年シーズンのインフルエンザは前シーズンと異なり A/H1pdm09 亜型が最も多かった。定点医療機関からのインフルエンザ患者数と　基幹定点からのインフルエンザによる入院患者数の増加が小児において観察された。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、新井伸一、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、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］

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(2016 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(2016 年 3 月現在 9 種類のグラフ・マップ)。
［多屋馨子、佐藤弘、新井智、加納和彦、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。アデノウイルスレファレンスセンターとともに、ダイジェスト版を作成してレファランスセンターとともに全国の地方衛生研究所に配布した。
［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

（1）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・変更を行い、毎年インフルエンザ抗血清を新規にマスタに追加し（2015 年は地方衛生研究所からの要望で、コロナウイルスの型別、サフォードウイルスの遺伝子型別入力を可能にした)、最近の情報の収集・還元・公開を可能にしている。ノロウイルスの遺伝子型表記に変更があったためマスタに約 30 件新規追加を行い、表記の読み替え表を作成した。
［木下一美、赤塚昌江、徳永真里子、野地元子、加納和彦、砂川富正］

（2）感染症流行予測調査システム
1972 年度からの累積データを保有する感染症流行予測調査システムは、幾度かの大きなシステム改修を行いながら運用してきた。40 年以上にわたって累積された感受性調査データは今でも検索可能である。近年は複数のあらたな調査も加わっており、2015 年度はＢ型肝炎感受性調査データが加わった。現在、11 疾病の感受性調査が登録されている。また、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感受性データおよび感染源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。
2. ［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。

［新井伸一、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］

（1）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随時行った。

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。厚生労働省の情報システムのセキュリティに関する（A-B 遮断問題）のため、病原体検出 情報の速報グラフ･集計表は､2015 年 6 月 10 日以降、自動更新が停止し、週に 1 回手動作業によりデータ公開を行っている。

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更新した。

［木下一美、赤塚昌江、徳永真里子、野地元子、砂川富正、大石和徳］

2. 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 16 期&17 期生、齊藤剛仁、高橋琢理、加納和彦、木下一美、有馬雄三、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、山岸拓也、神谷元、島田智恵、新井智、佐藤弘、森野紗衣子、奥野英雄、花岡希、小林祐介、砂川富正、多屋馨子、藤本嗣人、大石和徳（以上、国立感染症研究所）、忽那賢志（国立国際医療研究センター）、金山敦宏（防衛医科大学）、栗田順子（茨城県）、都築慎也（IDES 研修生）］

3. 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、新井伸一、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］

4. **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 25 年度(2013 年度)報告書を作成した。
［多屋馨子、佐藤弘、北本理恵、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
2015 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 2015 年 11 月 20 日から 2016 年 1 月 5 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 2015 年 7 月 17 日から 10 月 29 日まで計 15 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、ヒトパピローマウイルス感染症、水痘、B 型肝炎、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、森野紗衣子、北本理恵、田中佳織、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、2015 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 2015 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 2015 年 7 月 24 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、森野紗衣子、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、脇田隆字(副

所長)］

2. 新興感染症のリスクアセスメント

2015 年度には、エボラウイルス病（1 回)、中東呼吸器症候群（2 回)、ジカウイルス感染症（4 回）について最新の知見に基づき、リスクアセスメントを行い、ホームページ上で公開した。

3. 蚊媒介感染症の診療ガイドライン

2015 年度末にジカウイルス感染症の発生に伴って、有識者の協力を得て蚊媒介感染症の診療ガイドライン 2 版を公開した。

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。2015 年度(2014 年採血血清)に受け入れた血清は、14 県、合計 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。2015 年度は 5 件の申請があり、これら件に対し計 2,144 本の血清を分与した。また、血清銀行規約について変更を前提に議論、検討を進めた。

［新井智、田中佳織、多屋馨子、佐藤弘、玉元悠里、大石和徳］

2. 職員血清の保管業務

2015 年度の職員血清を受け入れ保管し、規定の保管期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、多屋馨子、新井　智、大石和徳］

VII. 予防接種後副反応報告の入力・集計に関する業務

厚生労働省からの依頼に基づき、副反応解析事業の一環として予防接種後副反応報告書の電子化（入力アプリの構築）、及びデータ落とし込みの自動化によるデータ分析基盤の確立と、データ分析ツールの導入を行い、副反応データ分析環境の構築を行った。［多屋馨子、新井智、佐藤弘、奥野英雄、森野紗衣子、田中佳織］

VIII. 国際協力関係業務

1. 国際的調査協力及び支援

国際協力関係業務

（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、メキシコ、E.U.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、ワークショップに参加し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。

［マットグリフィス、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 Global Outbreak Alertand Response Network(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. 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 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］

4. WHO 西太平洋地域事務局(WPRO)の支援

以下の WPRO における会議について、テンポラリーアドバイザーもしくはコンサルタントとして、会議開催を支援した：域内国のデング熱サーベイランスに関する会議(平成 27 年 12 月)、域内の GOARN の運営についての会議 （平成 27 年 12 月)、サーベイランスシステムについてのインフォーマルコンサルテーション （平成 27 年 9 月、平成 28 年 3 月)。新興・再興感染症対応の人員が不足しているということで、WPRO オフィスに対する人的支援を行った（平成 27 年 4 月)。カンボジアにおけるアウトブイレクレビュー（平成 27 年 5 月)、ベトナムの FETP のプログラム評価 （平成 27 年 8 月）にも協力した。また技術協力の一環として、主任研究官 1 名を WPRO の健康危機管理部に派遣している。
［有馬雄三、山岸拓也、八幡裕一郎、松井珠乃］

5. ベトナムにおける麻しん流行への対応

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］

6. JICA 国際緊急援助隊感染症対策チームへの支援

2015 年に立ち上げられた、当チームに関して、研修計画の立案と実施について支援している
[神谷元、島田智恵、松井珠乃、大石和徳]

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。その後、依頼により、所内の学友会にエボラの記事を投稿、厚生労働省でエボラの派遣者報告会に参加し意見交換、感染研シンポジウムで議題の発表、リベリアの大統領へのプレゼン等を行い情報還元を行った。
［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 月の 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。
・2015 年 5 月、ベトナムで開催された第 6 回 FETN 運営委員会議に出席した。
［山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

9. ベトナム NIHE に対する肺炎球菌特異抗体測定法の技術移転

平成 27 年度の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（脇田班）において、ベトナム NIHE に対する肺炎球菌特異抗体測定法の技術移転を行った。
［森野紗栄子、大石和徳、細菌一部 常 彬］

10. 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］

11. 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］

IX. 研修業務

1. 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、マットグリフィス、松井珠乃、大石和徳］

1. 全般実施状況

FETP の実施は 17 年目となり、平成 27 年 4 月には、17 期 5 名を迎え、平成 28 年 3 月に 16 期生 4 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、サーベイランスやメディア情報などから探知したアウトブレイク、また実際に関与した積極的疫学調査を管理し、感染症のモニタリングを実施した。また、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 の研修の進捗状況の確認、疑問点の明確化などを行いながら指導を実施した。

［松井珠乃、八幡裕一郎、山岸拓也、島田智恵、マットグリフィス、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、神谷元、島田智恵、松井珠乃］

3. 感染症集団発生事例に対する実地疫学調査協力

平成 27 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。

- 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）
- 都立病院における CRE 院内感染事例（渋谷区）
- 中核病院における CRE 院内感染事例（佐賀県）
- 大曲班の活動：中核病院における CRE 院内感染事例（沖縄県）
- 大曲班の活動:中核病院におけるヘリコバクター・シネジ院内感染事例（広島県）
- 高校寮における腸管出血性大腸菌感染症のアウトブレイク事例（島根県）

［FETP 一同、八幡裕一郎、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; 7 月)、Healthcare Epidemiology セミナー（Michael Bell: 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(東京都、宮城県、富山県、三重県、埼玉県、滋賀県、群馬県、静岡県、国立保健医療科学院)での講義・演習を実施した。

・東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻の学生向けに、アウトブレイク調査のケーススタディを行った。・厚生労働省検疫所初任者研修会において、感染症に関する情報収集、リスク評価についての講義を行った。

［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 27 年度に研修終了した 16 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。

加藤　博史「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する記述疫学研究」

石金　正裕「男性と性交する男性（MSM）における梅毒罹患リスクを明らかにする症例対照研究」

福住　宗久「成人の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疫学」

河端　邦夫「生食用食肉の規制による成人の腸管出血性大腸菌 O157 感染症の予防効果について」

7. 感染症サーベイランス活動

毎週ごとに収集されるサーベイランス報告対象疾患の情　報を監視・解析し、必要に応じて地方自治体とともに公衆衛生的介入を実施した。

- 腸管出血性大腸菌感染症サーベイランスに対する情報交換・還元
- 性感染症の発生動向に基づいた提言
- 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、神谷元、奥野英雄、森野紗衣子］

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］

11. 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 14 日、15 日に開催した。2015 年度の事務局は、第 1・4 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・麻疹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 3 演題、食品媒介感染症に関する最近の話題 1 演題、輸入感染症に関する最近の話題 6 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 1 ・ 4 室)、FETP 一同］

12. 国立保健医療科学院による研修

（1） 国立保健医療科学院による短期研修新興再興感染症技術研修の実施

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、2015 年 10 月 5 日から 10 月 9 日まで、国立感染症研究所村山庁舎で行った。本研修は、地方衛生研究所等においてウイルス検査業務に従事する専門職員を対象とし、麻疹・風疹ウイルス感染症の新しい知識及び検査診断技術の習得を目的としている。受講生は、定員 20 名に対し、17 名であった。なお、本研修は、感染症情報センター、ウイルス第 3 部、病原体ゲノム解析センター、バイオセーフィティ管理室および全国の衛生環境研究所（東京都、山口県、川崎市）の協力を得て遂行された。

[木村博一、村上光一、高橋真希、長澤耕男、野田雅博、大石和徳、岡本貴世子、森嘉生、竹田誠]

（2）国立保健医療科学院による短期研修細菌研修の実施

細菌研修 : 2015 年 11 月 6 日から 11 月 27 日まで 14 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修細菌研修（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、細菌検査業務に従事する専門職員を対象とし、種々の細菌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実施した。受講生は、24 名であった。なお、本研修は、感染症疫学センターをはじめ、当所関連各部・センター・室、全国衛生研究所（東京都、神奈川県、埼玉県、千葉県、栃木県、大阪府、福岡県）高崎市、東京家政大学、日本 BCG 研究所等の協力を得て遂行された。

［村上光一、木村博一、大石和徳、片山朝子］

（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］

13. 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］

14. 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

2016 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）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、大石和徳］

（３）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

アデノウイルスの同定・型別検査法を研修した。
[藤本嗣人、花岡希、中村晴菜（三重病院）]

（４）北海道大学工学部との共同研究にかかるアデノウイルスに関する研修

北海道大学工学部の修士課程学生１名の研修を半年間実施した。
[藤本嗣人、花岡希]

X. その他

1. 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@nih.go.jp）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］

・2015 年 5 月に、韓国における MERS が報告され、一般からの問合せが急増した。これらに対して、FETP と一室のスタッフで対応にあたった。6 月 2 日～20 日までの間に計 33 件の問合せに対応した。
[FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、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、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、花岡希、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、伝染性紅斑、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、熊田萌、大石和徳］

（５）感染症意見交換会の開催

IASR で特集された疾患を対象として、メディア等を対象とした感染症意見交換会を、毎月最

終週の月曜日に開催した。［多屋馨子、砂川富正、宮間浩史、松石みゆき、大石和徳他］

XI. 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ワクチン評価に関する小委員会　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］

XII. 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 型が流行性角結膜炎を全国規模で流行していることが明らかになった。

・細胞の送付
・難同定株の同定
・検査法の標準化
・マニュアル(簡略版の送付)
・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］

XIII. 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]

3. 業務委員会での副反応報告

ワクチンの検定に従事する担当者が毎月集まる業務委員会で、四半期毎に副反応サーベイランスについて検討し報告した。[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］

XIV. 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
石岡　大成	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

感染症疫学センター

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
山口　亮	協力研究員	1 室
牧野　友彦	協力研究員	1 室
田中　好太郎	協力研究員	1 室
ストゥーキー・アシュリー	協力研究員	1 室
栗田　順子	協力研究員	1 室
小林　祐介	協力研究員	2 室
山本　久美	協力研究員	3 室
松永　泰子	協力研究員	3 室
中村　晴菜	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
藤巻　明日香	協力研究員	4 室
高橋　健一郎	協力研究員	4 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
岡崎　薫	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
高原　理	実習生	1 室
捧　建蔵	実習生	2 室
田代　直樹	実習生	2 室
山村　美優	実習生	2 室
橋爪　芽衣	研修生	4 室

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Kanayama A, Kawahara R, Yamagishi T, Goto K, Kobaru Y, Takano M, Morisada K, Ukimura A, Kawanishi F, Tabuchi A, Matsui T, Oishi K. Successful control of an outbreak of GES-5 extended-spectrum β-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa in a long-term care facility in Japan. J Hosp Infect. 2016 May;93(1):35-41. Epub 2016 Jan 18.

2) Tabuchi A, Wakui T, Yahata Y, Yano K, Azuma K, Yamagishi T, Nakashima K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. A large outbreak of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157, caused by low-salt pickled Napa cabbage in nursing homes, Japan, 2012. Western Pac Surveill Response J. 2015 Apr 16;6(2):7-11.

3) Imai H, Nakao H, Shinohara H, Watarai M, Matsumoto N, Yamagishi T, Saito M, Kitamura T. Prevalence, Potential Predictors, and Genotype-Specific Prevalence of Human Papillomavirus Infection among Sexually Active Students in Japan. PLoS One. 2015 Jul 15;10(7):e0132462.

4) Ushizawa H, Yahata Y, Endo T, Iwashima T, Misawa M, Sonobe M, Yamagishi T, Kamiya H, Nakashima K, Matsui T, Matsui M, Suzuki S, Shibayama K, Doi M, Irie F, Yamato S, Otomo Y, Oishi K. A Epidemiological Investigation of a Nosocomial Outbreak of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii in a Critical Care Center in Japan, 2011-2012. Jpn J Infect Dis. 2016 Mar 23;69(2):143-8.

5) Kanayama A, Arima Y, Yamagishi T, Kinoshita H, Sunagawa T, Yahata Y, Matsui T, Ishii K, Wakita T, Oishi K. Epidemiology of domestically acquired hepatitis E virus infection in Japan: assessment of the nationally reported surveillance data, 2007-2013. J Med Microbiol. 2015 Jul;64(7):752-8.

6) Kanayama A, Yahata Y, Arima Y, Takahashi T, Saitoh T, Kanou K, Kawabata K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. Enterohemorrhagic Escherichia coli outbreaks related to childcare facilities in Japan, 2010-2013. BMC Infect Dis. 2015 Nov 20;15(1):539.

7) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015; 33(45):6029-36.

8) Tabuchi A, Wakui T, Yahata Y, Yano K, Azuma K, Yamagishi T, Nakashima K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. A large outbreak of enterohemorrhagic Escherichia coli O157, caused by low-salt pickled napa cabbage in nursing homes, Japan, 2012. Western Pac Surveill Response J. 2015 Apr 16;6(2):7-11.

9) 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. 2015 Oct;143(13):1-12.

10) 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.

11) Takahashi H, Haga M, Sunagawa T, Saitoh T, Kitahara T, Matsumoto S, Ohnishi M. Meningococcal carriage rates in healthy individuals in Japan determined using Loop-Mediated Isothermal Amplification and oral throat wash specimens. J Infect Chemother. 2016 Jul;22(7):501-4. doi: 10.1016/j.jiac.2015.12.016. Epub 2016 Feb 16.

12) Murakami Y, Hashimoto S, Kawado M, Ohta A, Taniguchi K, Sunagawa T, Matsui T, Nagai M. Estimated Number of Patients with Influenza A(H1)pdm09, or Other Viral Types, from 2010 to 2014 in Japan. PLoS One. 2016 Jan 19;11(1):e0146520. doi: 10.1371/journal.pone.0146520. eCollection 2016.

13) Ishii K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic

analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan. Vaccine. 2015 Nov 9;33(45):6029-36. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.04.061. Epub 2015 May 6.

14) Sawada I, Tanuma J, Do CD, Doan TT,Luu QP, Nguyen LAT, V TVT, Nguyen TQ,Tsuchiya N, Shiino T, Yoshida L-M, Pham TTT, Ariyoshi K, Oka S (2015) High Proportion of HIV Serodiscordance among HIV-Affected Married Couples in Northern Vietnam. PLoS One 10(4): e0125299. doi:10.1371/journal.pone.0125299

15) Nishizawa M, Matsuda M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W (2015) Longitudinal Detection and Persistence of Minority Drug-Resistant Populations and Their Effect on Salvage Therapy. PLoS One 10(9): e0135941. doi:10.1371/journal. pone.0135941

16) Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Mori H, Minami R, Uchida K, Sadamasu K, Kondo M, Sugiura W, and the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network (2015) Characteristics of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Recently Infected Treatment-Naive Patients in Japan. J Acquir Immune Defic Syndr. September 29, 2015, doi: 10.1097/QAI.0000000000000861

17) Hosaka M, Fujisaki S, Masakane A, Hattori J, Teiichiro S, Gatanaga H, Shigemi U, Okazaki R, Hachiya A, Matsuda M, Ibe S, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W (2015) HIV-1 CRF01_AE and subtype B transmission networks cross over: a new AE/B recombinant identified in Japan. AIDS Res Hum Retroviruses 10/2015; DOI: 10.1089/AID.2015.0192

18) Kanayama A, Yahata Y, Arima Y, Takahashi T, Saitoh T, Kanou K, Kawabata K, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. Enterohemorrhagic Escherichia coli outbreaks related to childcare facilities in Japan, 2010-2013. BMC Infect Dis. 2015 Nov 20;15(1):539.

19) Ayata M, Tanaka M, Kameoka K, Kuwamura M, Takeuchi K, Takeda M, Kanou K, Ogura H, Amino acid substitutions in the heptad repeat A and C regions of the F protein responsible for neurovirulence of measles virus Osaka-1 strain from a patient with subacute sclerosing panencephalitis., Virology. 2015 Oct 30;487:141-149. doi: 10.1016/j.virol.2015.10.004.

20) Miyakawa K, Matsunaga S, Kanou K, Matsuzawa A, Morishita R, Kudoh A, Shindo K, Yokoyama M, Sato H, Kimura H, Tamura T, Yamamoto N, Ichijo H, Takaori-Kondo A, Ryo A., ASK1 restores the antiviral activity of APOBEC3G by disrupting HIV-1 Vif-mediated counteraction., Nat Commun. 2015 Apr 22;6:6945. doi: 10.1038/ncomms7945.

21) Sugishita Y, Shimatani N, Katow S, Takahashi T, and Hori N. Epidemiological Characteristics of Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the 2012–2013 Epidemics in Tokyo, Japan. Jpn. J. Infect. Dis., 68, 159–165, 2015.

22) Ishiia K, Kiyohara T, Yoshizaki S, Kawabata K, Kanayama A, Yahata Y, Takahashi T, Kinoshita H, Saitou T, Sunagawa T, Oishi K, Uema M, Noda M, Wakita T. Epidemiological and genetic analysis of a 2014 outbreak of hepatitis A in Japan.Vaccine. 33(45):6029-36, 2015

23) Saitoh T, Morita M, Shimada T, Izumiya H, Kanayama A, Oishi K, Ohnishi M, Sunagawa T. Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013. Epidemiol Infect. 34(34):4068-71, 2016.

24) Tu, V. T., Csorba, G., Görföl, T., Arai, S., Son, N. T., Thanh, H. T., Hasanin, A. Description of a new species of the genus Aselliscus (Chiroptera, Hipposideridae) from Vietnam. Acta Chiropterologica, 17(2): 233-254, 2015.

25) Hai le T, Thach HN, Tuan TA, Nam DH, Dien TM, Sato Y, Kumasaka T, Suzuki T, Hanaoka N, Fujimoto T, Katano H, Hasegawa H, Kawachi S, Nakajima N. Adenovirus Type 7 Pneumonia in

Children Who Died from Measles-Associated Pneumonia, Hanoi, Vietnam, 2014. Emerg Infect Dis. 2016 Apr;22(4):687-90.

26) 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. 2015; 61(1-2):195-9.

27) Okitsu S, Khamrin P, Hanaoka N, Thongprachum A, Takanashi S, Fujimoto T, Mizuguchi M, Shimizu H, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Cosavirus (family Picornaviridae) in pigs in Thailand and Japan. Arch Virol. 2015 Oct 14.

28) 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. Clin Ophthalmol. 2015 Jun 15; 9:1085-92.

29) Ito S, Hanaoka N, Shimuta K, Seike K, Tsuchiya T, Yasuda M, Yokoi S, Nakano M, Ohnishi M, Deguchi T. Male non-gonococcal urethritis: From microbiological etiologies to demographic and clinical features. Int J Urol. 23(4):325-31, 2016.

30) Noda T, Murakami K, Etoh Y, Okamoto F, Yatsuyanagi J, Sera N, Furuta M, Onozuka D, Oda T, Asai T, Fujimoto S. Increase in resistance to extended-spectrum cephalosporins in *Salmonella* isolated from retail chicken products in Japan. PLoS One. 10:e0116927. 2015.

31) 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. 53: 362-364. 2015.

32) Yokoyama E, Ando N, Ohta T, Kanada A, Shiwa Y, Ishige T, Murakami K, Kikuchi T, Murakami S. A novel subpopulation of *Salmonella enterica* serovar Infantis strains isolated from broiler chicken organs other than the gastrointestinal tract. Vet Microbiol 175: 312-318. 2015.

33) Maeda E, Murakami K, Sera N, Ito K, Fujimoto S. Detection of *Escherichia albertii* from chicken meat and giblets. J Vet Med Sci 77:871-873. 2015.

34) Seto J, Wada T, Iwamoto T, Tamaru A, Maeda S, Yamamoto K, Hase A, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Migita Y, Yamamoto T, Ahiko T. Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation. Infect Genet Evol. 35: 82-88. 2015.

35) Saraya T, Kimura H, Takizawa H, Is Mycoplasma pneumoniae infection associated with adult asthma exacerbation? Pulm Res Respir Med Open J, 2(4):126-127, 2015.

36) Nagasawa K, Hirano E, Kobayashi M, Ryo A, Oishi K, Obuchi M, Ishiwada N, Noda M, Kuroda M, Shimojo N, Kimura H. Molecular evolution of the hypervariable region of the attachment glycoprotein gene in human respiratory syncytial virus subgroup B genotypes BA9 and BA10. Infect Genet Evol. 36, 217-223, 2015.

37) Miyakawa K, Matsunaga S, Watashi K, Sugiyama M, Kimura H, Yamamoto N, Mizokami M, Wakita T, Ryo A. Molecular dissection of HBV evasion from restriction factor tetherin: A new perspective for antiviral cell therapy. Oncotarget. 8;6(26):21840-52, 2015.

38) Kobayashi M, Yoshizumi S, Takahashi T, Ueki Y, Shinohara M, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Sasaki Y, Suzuki R, Shimizu H, Iwakiri A, Okabe N, Shirabe K, Shinomiya H, Kozawa K, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H, Molecular Evolution of the capsid gene in norovirus genogroup I. Sci Rep. 4;5:13806, 2015.

39) Nishina A, Ukiya M, Fukatsu M, Koketsu M, Ninomiya M, Sato D, Yamamoto J,

Kobayashi-Hattori K, Okubo T, Tokuoka H, Kimura H. Effects of various 5,7-dihydroxyflavone analogs on adipogenesis in 3T3-L1 cells. Biol. Pharm Bull.38, 1794–1800, 2015.

40) Kimura H, Tsukagoshi H, Ryo A, Oda Y, Kawabata T, Majima T, Kozawa K, Shimojima M. Ebola virus disease: a literature review. Jo Coastal Life Med. 3(2): 85-90, 2015.

41) Nishina A, Ebina K, Ukiya M, Fukatsu M, Koketsu M, Ninomiya M, Sato D, Kimura H. Dioscin derived from Solanum melongena L.'Usukawamarunasu' attenuates α-MSH-induced melanogenesis in B16 murine melanoma cells via downregulation of phospho-CREB and MITF. J Food Chem. J Food Sci. 80(10):H2354-2359, 2015.

42) Miyaji Y, Sugai K, Nozawa A, Kobayashi M, Niwa S, Tsukagoshi H, Kozawa K, Noda M, Kimura H, Mori M. Pediatric respiratory severity score (PRESS) for respiratory tract infections in children. Austin Virology and Retrovirology. 2(1): id1009, 2015.

43) Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, Komane A, Kasuo S, Shinohara M, Nagasawa K, Kimura H, Ryo A, Okabe N, Haga K, Doan YH, Katayama K, Shimizu H. Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. Euro Surveill. 20(26), 2015. pii: 21173.

44) Sugai K, Tsukagoshi H, Nojima I, Fujiwara K, Kodera A, Kimura N, Tsuchimoto K, Sekimoto K, Kitada K,Takahashi N, Araki T, Fujii Y, Miyaji Y, Ikeda M, Kozawa K, Noda M, Kuroda M, Kimura H. Severe acute encephalopathy related to human parainfluenza virus type 2 infection in an infant: A case report. J Med Microbiol Case Rep. 2 (4) 10.1099/jmmcr.0.000072, 2015.

45) Tsujimoto N, Saraya T, Light RW, Tsukahara Y, Koide T, Kurai D, Ishii H, Kimura H, Goto H, Takizawa H. A simple method for differentiating complicated parapneumonic effusion/empyema from parapneumonic effusion using the split pleura sign and the amount of pleural effusion on thoracic CT. PLoS One 15;10(6):e0130141, 2015.

46) Obuchi M, Yagi S, Oguri A, Takizawa T, Kimura H, Sata T. Outbreak of human bocavirus 1 infection in young children in Toyama, Japan. Jpn J Infect Dis. 68:259–261, 2015.

47) 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. Molecular evolution of haemagglutinin (*H*) gene in measles virus. Sci Rep. 5:11648, 2015.

48) Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S,Tani H, Fukuma A,Taniguchi S,Singh H, Suda Y, Shirabe K, Shoichi 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):889-98,2015

49) Shikano H, Ohnishi H, Fukutomi H, Morimoto M, Teramoto T, Aoki M, Nishihori T, Akeda Y, Oishi K, Fukao T. A case of Mondini dysplasia with recurrent bacterial meningitis caused by three different pathogens. Ped International 56(6) 1192-5, 2015

50) Migita K, Akeda Y, Akazawa M, Tohma S, Hirano F, Ideguchi H, Matsumura R, Suematsu E, Miyamura T, Mori S, Fukui T, Izumi Y, Iwanaga N, Tsutani H, Saisyo K, Yamanaka T, Ohshima S, Sugiyama T,

Kawabe Y, Katayama M, Suenaga Y, Okamoto A, Ohshima H, Okada Y, Ichikawa K, Yoshizawa S, Kawakami K, Matsui T, Furukawa H, Oishi K. Pneumococcal polysaccharide vaccination in rheumatoid arthritis patients receiving tacrolimus. Arthritis Research & Therapy 2015 Jun 3;17:149. doi: 10.1186/s13075-015-0662-x.

51) Uraki R, Piao Z, Akeda Y, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Ozawa M, Oishi K, Kawaoka Y. A bivalent vaccine based on a PB2-knockout influenza virus protects mice from secondary pneumococcal pneumonia. J Infect Dis 212(12):1939-48,2015

52) Yamamoto N, Hamaguchi S, Akeda Y, Santanirand P, Kerdsin A, Seki M, Ishii Y, Paveenkittiporn W, Bonomo RA, Oish K, Malathum K, Tomono K. Clinical specimen-direct LAMP: a useful tool for the surveillance of bla_{OXA-23}-positive carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii.* PLoS One 2015 Jul 30. pii: S0264-410X(15)01038-5.

53) Suga S, Chang B, Asada K, Akeda H, Nishi J, Okada K, Wakiguchi H, Maeda A, Oda M, Ishiwada N, Saitoh A, Oishi T, Hosoya M, Togashi T, Oishi K, Ihara T. Nationwide population-based surveillance of invasive pneumococcal disease in Japanese children: Effects of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine. Vaccine 33(45):6054-60,2015.

54) Chang B, Nariai A, Sekizuka T, Akeda Y, Kuroda M, Oishi K, Ohnishi M. Capsule switching and antimicrobial resistance acquired during repeated *Streptococcus pneumoniae* pneumonia episodes. J Clin Microbiol 53(10):3318-24, 2015

55) Hatrongjit R, Kerdsin A, Gottschalk M, Takeuchi D, Hamada S, Oishi K, Akeda Y. First human case of sepsis due to infection with *Streptococcus suis* serotype 31 in Thailand. BMC Infect Dis 2015 Sep 30;15:392. doi: 10.1186/s12879-015-1136-0.

56) Migita K, Akeda Y, Akazawa M, Tohma S, Hirano F, Ideguchi H, Kozuru H, Jiuchi Y, Matsumura R, Suematsu E, Miyamura T, Mori S, Fukui T, Izumi Y, Iwanaga N, Tsutani H, Saisyo K, Yamanaka T, Ohshima S, Mori N, Matsumori A, Takahi K, Yoshizawa S, Kawabe Y, Suenaga Y, Ozawa T, Hamada N, Komiya Y, Matsui T, Furukawa H, Oishi K. Effect of abatacept on the immunogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination (PPSV23) in rheumatoid arthritis patients. Arthritis Res Ther. 2015 Dec 10;17:357.

57) Migita K, Akeda Y, Akazawa M, Tohma S, Hirano F, Ideguchi H, Matsumura R, Suematsu E, Miyamura T, Mori S, Fukui T, Izumi Y, Iwanaga N, Jiuchi Y, Kozuru H, Tsutani H, Saisyo K, Yamanaka T, Ohshima S, Mori N, Matsumori A, Kitagawa K, Takahi K, Ozawa T, Hamada N, Nakajima K, Nagai H, Tamura N, Suenaga Y, Kawabata M, Matsui T, Furukawa H, Kawakami K, Oishi K. Opsonic and antibody responses to pneumococcal polysaccharide in rheumatoid arthritis patients receiving golimumab plus methotrexate. Medicine (Baltimore). 2015 Dec;94(52):e2184. doi: 10.1097/MD.0000000000002184.

58) Kerdsin A, Hatrongjit R, Gottschalk M, Takeuchi D, Shigeyuki Hamada S, Akeda Y, Oishi K. Emergence of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in human. J Microbiol Immunol Infect 65(5):392-6. 2016

59) Hoshina T, Ohga S, Fujiyoshi J, Nanishi E, Takimoto T, Kanno S, Nishio H, Saito M, Akeda Y, Oishi K, Hara T. Memory B-Cell Pools Predict the Immune Response to Pneumococcal Conjugate Vaccine in Immunocompromised

Children. J Infect Dis. 213(5):848-55, 2016.

２．和文発表

1) 神谷元：【混合ワクチン最前線】 海外における混合ワクチンの最新状況. メディカル朝日 44 巻 7 号 Page16-17(2015.07)
2) 神谷元：【ロタウイルスワクチン定期接種化への課題:徹底解析】 グローバルレベルでのロタウイルスワクチン　WHO/CDC の戦略. 日本医事新報 4782 号 Page20-25(2015.12)
3) 浅田和豊、神谷元：小児感染症 Q&A　小児の冬季における腸管感染症について、最近のトピックスを教えてください. Up-to-date 子どもの感染症 3 巻 2 号 Page84-85(2016.01)
4) 神谷元：【感染症動向 2016】 侵襲性髄膜炎菌感染症. メディカル朝日 45 巻 1 号 Page18-19(2016.01)
5) 神谷元：感染医学講座　ロタウイルス　検査を通して考える感染症対策. 看護実践の科学 41 巻 3 号 Page36-41(2016.03)
6) 砂川富正．ワクチンによる麻疹, 風疹の排除とムンプスのコントロールに関する今後の課題．臨床とウイルス 44(1): 40-46, 2016.
7) 小林祐介，砂川冨正．伝染性紅斑の全体像と疫学情報．小児科．56(12) : 1839-1845，2015
8) 石橋孝勇, 砂川富正, 安慶田英樹．沖縄県における腸重積症の疫学調査の暫定報告 - 厚労科研予防接種大石班 (腸重積症の疫学に関する分担研究) の地域調査として．外来小児科 19(1): 124-124, 2016.
9) 砂川富正．災害から子どもたちをどう守るか ~危機管理の観点から~．チャイルドヘルス 18(6): 451-453, 2015.
10) 杉下由行，菅原民枝，大日康史，島谷直孝，高橋琢理，安井良則，中島一敏，砂川富正，神谷信行，灘岡陽子，谷口清州，岡部信彦. 東日本大震災時に実施された避難所サーベイランスの評価と今後に向けた準備. 厚生の指標, 62(11),39-44,2015.
11) 奥野英雄、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課題. 小児科. 56（6）：Page831-837（2015.06）.
12) 奥野英雄：インフルエンザ脳症．保育界. 492：Page34-37（2015.08）.
13) 奥野英雄、多屋馨子：救急医学 2015 年 9 月増刊号
感染制御の最前線 救急領域のベストプラクティス ワクチン接種．救急医学．39（10）：Page1197-1202（2015.09）.
14) 奥野英雄：呼吸器ウイルス感染症に関する総論～疫学情報を中心に～．小児科診療．78（10）：Page1297-1302(2015.10).
15) 森野紗衣子、多屋馨子：　【わが国の予防接種の現状】 2.定期接種．基礎疾患をもつ小児に対する予防接種ガイドブック．Page 5-11（2015．10）
16) 森野紗衣子、多屋馨子：　【わが国の予防接種の現状】 3.任意接種．基礎疾患をもつ小児に対する予防接種ガイドブック．Page 12-14（2015．10）
17) 森野紗衣子、多屋馨子：寄生虫検査 ～学校検診での必須項目削除をふまえて～．学校保健の動向．　Page 12（2015．11）
18) 山本 弘江, 西垣 佳織, 宮崎 博子, 藤城 富美子, 多屋 馨子, 上別府 圭子：看護師等の配置に関する保育所長のニーズ　保育所の人的配置としての看護師等の配置．小児保健研究(0037-4113)75 巻 2 号 Page236-241(2016.03)
19) 多屋 馨子：【感染症ガイドラインのすべて】厚生労働省　保育所における感染症対策ガイドライン. 化学療法の領域(0913-2384)32 巻増刊 Page810-815(2016.03)
20) 山本 弘江, 西垣 佳織, 宮崎 博子, 藤城 富美子, 多屋 馨子, 上別府 圭子：保育所における保育所看護師等の保健活動に対する自信とその影響要因について．小児保健研究(0037-4113)75 巻 1 号 Page63-68(2016.01)
21) 多屋 馨子：ワクチンによる副反応?　きちんと説明するために持っておきたい知識!　乳児突然死症候群．薬局(0044-0035)67 巻 3 号 Page415-419(2016.03)
22) 水野 真介(日本赤十字社和歌山医療センター), 岩田 実穂子, 富樫 篤生, 近藤 亜矢, 浦木 諒, 岡田 麻里, 南 希成, 多屋 馨子：わかりたいあなたのためのクリニカル耐性菌入門．小児感染免疫(0917-4931)27 巻 4 号 Page351-355(2016.02)

23) 多屋 馨子:子どもの病気?大人の病気? 風疹. 医学と薬学(0389-3898)73 巻 2 号 Page131-140(2016.01)
24) 多屋 馨子：風疹の流行と風疹対策のこれまで、これから．日本小児科医会会報 (0912-1781)49 号 Page37-43(2015.04)
25) 多屋 馨子：我が国の予防接種制度と予防接種後副反応サーベイランス．医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス(1884-6076)47 巻 1 号 Page4-9(2016.01)
26) 多屋 馨子：種々の状況下における予防接種のあり方 子どものときに接種していなかったワクチン 麻疹・風疹・ムンプス．診断と治療(0370-999X)103 巻 11 号 Page1461-1467(2015.11)
27) 新井 智, 多屋 馨子：【内科医に求められる肺炎球菌ワクチン・ストラテジー】 接種スケジュール．日本内科学会雑誌 (0021-5384)104 巻 11 号 Page2330-2335(2015.11)
28) 多屋 馨子：感染研・地衛研の連携 その時その場の使命 急性脳炎・脳症の原因究明医療機関・保健所・地研・感染研の連携の重要性．臨床とウイルス(0303-8092)43 巻 4 号 Page198-205(2015.10)
29) 多屋 馨子：Focus On 麻疹・風疹のワクチン 麻疹排除の維持と風疹排除に向けて．内科 (0022-1961)116 巻 5 号 Page865-872(2015.11)
30) 奥野 英雄, 多屋 馨子：感染制御の基礎 職業感染予防策 ワクチン接種．救急医学 (0385-8162)39 巻 10 号 Page1197-1202(2015.09)
31) 庵原 俊昭, 岡田 賢司, 乾 幸治, 多屋 馨子, 三田村 敬子, 菅原 美絵, 津川 毅, 古賀 伸子, 日本小児保健協会予防接種・感染症委員会.既に出てきた水痘ワクチン定期接種の効果. 小児保健研究(0037-4113)74 巻 4 号 Page595-596(2015.07)
32) 多屋 馨子：ウイルス感染症の現在 水痘ワクチン定期接種で流行はどう変わる?. Visual Dermatology(2186-6589)14 巻 8 号 Page954-957(2015.07)
33) 奥野 英雄、多屋 馨子：肺炎球菌・Hib ワクチンの接種年齢と回数．日本医事新報 (0385-9215)4767 号 Page64-65(2015.09)
34) 多屋 馨子：『医療関係者のためのワクチンガイドライン第 2 版』 改訂のポイントと現場での活用法．感染対策 ICT ジャーナル (1881-4964)10 巻 3 号 Page257-261(2015.07)
35) 多屋 馨子：風疹 2015．Derma.(1343-0831)233 号 Page63-69(2015.07)
36) 多屋 馨子：医療従事者のワクチン接種プログラム．感染と消毒(1346-2326)22 巻 1 号 Page30-34(2015.05)
37) 奥野 英雄, 多屋 馨子：医学と医療の最前線 麻疹対策の実際と感染対策の問題点．日本内科学会雑誌(0021-5384)104 巻 4 号 Page782-787(2015.04)
38) 佐藤 弘, 多屋 馨子：厚生労働省が毎年実施しているインフルエンザの抗体保有状況調査について教えてください．インフルエンザ (1345-8345)16 巻 2 号 Page110-111(2015.04)
39) 佐地 勉, 多屋 馨子, 宮入 烈, 増谷 聡:先天性風疹症候群と心疾患．Fetal & Neonatal Medicine(1884-555X)7 巻 1 号 Page8-16(2015.04)
40) 佐地 勉, 多屋 馨子：目で見る胎児・新生児の病態 先天性風疹症候群．Fetal & Neonatal Medicine(1884-555X)7 巻 1 号 Page5-6(2015.04)
41) 大石明, 村上光一, 江藤良樹, 世良暢之, 堀川和美 ：食肉およびヒトの便から分離した *Campylobacter jejuni/ coli* の薬剤感受性試験並びに耐性遺伝子変異の検討． 感染症学会誌.. 89：244-253． 2015.
42) 木村博一，塚越博之，梁明秀，黒田誠．次世代シークエンサーによる呼吸器ウイルスのゲノム解析－ライノウイルス主要抗原遺伝子解析への応用－臨床とウイルス．43(3):68-74, 2015.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) 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 and the E. coli O111 Outbreak Investigation

Team: Epidemiological analysis of a large enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 outbreak in Japan associated with hemolytic uremic syndrome and acute encephalopathy. InForm 2015, Phoenix, USA, November 2015.

2) Yahata Y, Sunagawa T, Kono Y, Sugishita Y, Kasuga F, Matsui T, Oishi K, Okabe N, and the enterohemorrhagic *E. coli* Investigation Team. Evaluation of population-attributable risk for sporadic case of enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157 before and after the control measure in Japan. VTEC 2015. Boston, USA, November, 2015.
3) Kanayama A, Yahata Y, Sunagawa T, Sugishita Y, Kono Y, Weiss P, Matsui T, Kasuga F, Oishi K, Okabe N. Risk factors for sporadic infection with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 in Japan: a case-control study based on national surveillance data. VTEC 2015. Boston, USA, November, 2015.
4) Kawabata K, Yahata Y, Sunagawa T, Kono Y, Kasuga F, Matsui T, Oishi K, Nobuhiko Okabe, and the enterohemorrhagic *E. coli* Investigation Team. Effectiveness of prevention for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 by the revised regulation for raw beef processing and prohibition of raw beef liver serving. VTEC 2015. Boston, USA, November, 2015.
5) K Kawabata, M Ishikane, T Yamagishi, N Ohmagari, Y Sugiki, T Odagiri, T Matsui, K Oishi, H Kamiya. Keys to control influenza outbreaks in long-term care facilities. IDSA 2015, Ssn Diego, USA, Oct 2015
6) H Kamiya, T Sunagawa, H Takahashi, K Oishi, M Ohnishi
Unexpected High Carriage Rate of Neisseria Meningitidis Among Dormitory Residents in Tokyo, Japan. IDSA 2015, Ssn Diego, USA, Oct 2015
7) H Kato, H. Kamiya, H. Kinoshita, Y. Arima, T. Shimada, T. Yamagishi, Y. Yahata, K. Tanaka-Taya, T. Sunagawa, T. Matsui, K. Oishi. Export to Import:;Dramatic change in Measles genotypes in Japan 2008-2014. 8th TEPHINET, Mexico City, Mexico, Sept. 2015
8) Teiichiro Shiino, Sadamasu, K., Nagashima, M., Hattori, J., Hachiya, A., Sugiura, W., on behalf of the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Some Mediators Contribute Critically to transmit HIV-1 Subtype B to various MSM communities in Japan. 8th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention 19 - 22 July 2015, Vancouver, Canada.
9) Teiichiro Shiino, HIV-1 transmission clusters expanded along a social network of MSM in Japan. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) AIDS Panel Meeting. January 13-14, 2016. Marriott North Bethesda, Maryland, USA
10) Masahiro Ishikane, Yuzo Arima, Takuri Takahashi, Atsuhiro Kanayama,Takuya Yamagishi, Yuichiro Yahata, Tamano Matsui,Tomimasa Sunagawa, Tomoyoshi Nozaki, Kazunori Oishi: Epidemiology of domestically-acquired Entamoeba histolytica in Japan, 2000-2013.25th ECCMID.2015.
11) Saitoh T, Morita M, Shimada T, Izumiya H, Kanayama A, Oishi K, Ohnishi M, Sunagawa T. Increase in paratyphoid fever cases in Japanese travellers returning from Cambodia in 2013. International Conference on Emerging Infectious Diseases 2015. Atlanta, Georgia, USA, August 24-26 2015.
12) Arai, S., Bennett, S. N., Ohdachi, S. D., Tanaka-Taya, K., Morikawa, S., Oishi, K., Yanagihara, R. Genetic Diversity and Phylogeography of Asama Virus in the Japanese Shrew Mole (Urotrichus talpoides). The Vth International Wildlife Management Congress (IWMC 2015). July 26 to 30, 2015. Sapporo, Hokkaido, Japan
13) H. Okuno, T. Sunagawa, S. Morino, H. Satoh, S. Arai, K. Oishi, K. Tanaka-Taya. Acute encephalitis and encephalopathy associated with vaccine preventable diseases in children, Japan, 2006-2013. 9th Vaccine Congress, Seoul, Korea, October 2015.
14) Fujimoto T. A surveillance of adenoviruses in

patients with respiratory and ocular Infections, 2nd Conference on International Asian Pediatric Infectious Diseases, Tokyo, Japan, June 2015

15) 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

２．国内学会

1） 金成由美子, 中島一敏, 吉田眞紀子, 砂川富正, 八幡裕一郎, 鈴木智之, 谷口清州, 緒方剛, 金谷泰宏, 齋藤智也, 角野文彦, 押谷仁, 神垣太郎, 加來浩器：我が国の健康危機管理におけるEBSの効果的な研修のあり方　研修前後アンケート調査、第74回日本公衆衛生学会総会. 2015.10

2） 丸山絢, 八幡裕一郎, 三崎貴子, 岡部信彦：自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例のリスク推定の試行、第74回日本公衆衛生学会総会. 2015.10

3） 加藤博史, 神谷元, 八幡裕一郎, 森野紗衣子, 奥野英雄, 福住宗久, 多屋馨子, 砂川富正, 松井珠乃, 森嘉生, 大石和徳 : ワクチン　企業における海外渡航者への風しんワクチン接種の重要性について　X県事業所での風しんアウトブレイク調査より、第19回日本渡航医学会学. 2015.7

4） 蜂巣友嗣、金井 瑞恵、福住 宗久、高橋　英之、大西　真、神谷 元、齊藤 剛仁、砂川　富正. 国内で開催されたイベントに関連した侵襲性髄膜炎菌感染症集団発生事例について. 日本国際保健医療学会 第34回西日本地方会. 2016年2月　倉敷

5） 椎野禎一郎、蜂谷敦子、潟永博之、吉田 繁、石ヶ坪良明、近藤真規子、貞升健志、横幕能行、古賀道子、中谷安宏、田邊嘉也、渡邊 大、森 治代、南 留美、健山正男、杉浦 亙、吉村和久. 国内感染者集団の大規模塩基配列解析に 見る MSM 伝播ネットワークの感染拡大パターン. 第 29 回日本エイズ学会学術集会総会. 2015 年 11 月. 東京

6） 岡崎玲子、蜂谷敦子、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、小島洋子、森 治代、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、豊嶋崇徳、伊藤俊広、猪狩英俊、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、西澤雅子、林田庸総、岡 慎一、松田昌和、服部純子、重見 麗、保坂真澄、横幕能行、中谷安宏、田邊嘉也、白阪琢磨、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、岩谷靖雅、吉村和久. 本邦の新規 HIVAIDS 診断症例における 薬剤耐性 HIV の動向. 第 29 回日本エイズ学会学術集会総会. 2015 年 11 月. 東京

7） 吉田 繁、蜂谷敦子、松田昌和、橋本 修、齊藤浩一、岡田清美、伊部史朗、和山行正、椎野禎一郎、加藤真吾、佐藤かおり、豊嶋崇徳、杉浦 亙、吉村和久. 2015 年度 HIV 薬剤耐性検査外部精度 評価の報告. 第 29 回日本エイズ学会学術集会総会. 2015 年 11 月. 東京

8） 金山敦宏, 八幡裕一郎, 有馬雄三, 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89回日本感染症学会学術講演会.京都.2015.

9） 加納 和彦, 八幡 裕一郎, 捧 建蔵, 金山 敦宏, 有馬 雄三, 高橋 琢理, 齊藤 剛仁, 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89回日本感染症学会学術講演会.京都.2015.

10） 石金正裕,山岸拓也,井戸田一朗,加藤博史, 有馬雄三, 高橋琢理, 加納和彦, 砂川富正, 大石和徳, 大西真:男性と性交する男性における梅毒罹患リスクを評価する質問紙の開発：Pilot Study.第64回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会.札幌.2015.

11） 福住宗久、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、大島謙吾、青柳哲史、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、常彬、大西真、高橋琢理、松井珠乃、砂川富正、大石和徳:成人の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疫学（2013年-2014年）.第64回日本感染症学会東日本地方会総会学術集会.札幌.2015.

12) 森野紗衣子、砂川富正、高橋琢理、奥野英雄、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子:感染症発生動向調査からみた水痘ワクチン定期接種化後の水痘発生動向の変化.第47回日本小児感染症学会学術集会.福島.2015.

13) 森野紗衣子、砂川富正、高橋琢理、奥野英雄、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子:水痘ワクチン定期接種化後の水痘発生動向と水痘入院例のワクチン接種状況. 第19回日本ワクチン学会学術集会. 犬山市. 2015.

14) 福住宗久、蜂巣友嗣、神谷元、高橋琢理、齊藤剛仁、松井珠乃、砂川富正、大石和徳、高橋英之、大西真：侵襲性髄膜炎菌感染症の発生動向～4価髄膜炎菌ワクチンの有効な活用に向けて～. 第19回日本ワクチン学会学術集会. 犬山市. 2015.

15) 木下一美、中道一生、伊藤睦代、塩田愛恵、林昌宏、倉根一郎、西條政幸. LAMP法を用いたPML患者の脳脊髄液中のJCウイルス診断. 第20回日本神経感染症学会. 長野県長野市. 2015.10.

16) 泉山信司、木下一美、村上裕子、八木田健司、クリプトスポリジウム等耐塩素性微生物による集団感染の発生動向、第87回水道研究発表会. 埼玉県さいたま市、2015.10

17) 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳：2009/10シーズン以降のインフルエンザの抗体保有状況の推移（感染症流行予測調査より）. 第56回日本臨床ウイルス学会. 岡山県岡山市. 2015.6

18) 佐藤 弘、多屋馨子、清水博之、大石和徳：不活化ワクチン導入後のポリオの予防接種状況および抗体保有状況の推移について（感染症流行予測調査より）. 第47回日本小児感染症学会. 福島県福島市. 2015.10

19) 佐藤 弘、多屋馨子、森 嘉生、大石和徳：成人男性における風疹の抗体保有状況の推移について（感染症流行予測調査より）. 第19回日本ワクチン学会. 愛知県犬山市. 2015.11

20) 奥野英雄、多屋馨子、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、神谷元、木下一美、砂川富正、大石和徳. ロタウイルス胃腸炎の発生動向とワクチン導入後の報告数の推移. 第56回日本臨床ウイルス学会. 岡山県岡山市. 2015.6.

21) 奥野英雄、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、高橋琢理、砂川富正、大石和徳、多屋馨子. 成人のインフルエンザ脳症報告例の検討（感染症発生動向調査より）. 第20回日本神経感染症学会総会・学術大会. 長野県長野市. 2015.10.

22) 奥野英雄、新井智、森野紗衣子、佐藤弘、砂川富正、大石和徳、多屋馨子. 感染症発生動向調査における、急性脳炎（脳症を含む）の小児例のまとめ. 第47回日本小児感染症学会総会・学術集会. 福島県福島市. 2015.10.

23) 奥野英雄, 砂川富正, 森野紗衣子, 佐藤弘, 新井智, 大石和徳, 多屋馨子. 日本国内での、小児における、ワクチンにより予防可能な疾患に関連した急性脳炎(脳症を含む)の検討～2006 年から 2014 年までの発生動向調査より～. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会. 愛知県犬山市. 2015.11.

24) 森野紗衣子、砂川富正、大石和徳、多屋馨子：水痘入院例と定期接種化前後の小児科定点あたり水痘報告数の推移～感染症発生動向調査より～. 日本臨床ウイルス学会. 岡山県岡山市. 2015. 6.

25) 森野紗衣子、砂川富正、高橋琢理、奥野英雄、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子：感染症発生動向調査からみた水痘ワクチン定期接種化後の水痘発生動向の変化. 日本小児感染症学会. 福島県福島市. 2015.10-11

26) 森野紗衣子、砂川富正、高橋琢理、奥野英雄、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子：水痘ワクチン定期接種化後の水痘発生動向と水痘入院例のワクチン接種状況. 日本ワクチン学会. 愛知県犬山市. 2015. 11. 多屋 馨子：小児4種ウイルスのワクチンの基本小児4種ウイルスのワクチンの基本. 日本臨床微生物学

会．宮城県仙台市．2016.1.

27) 多屋 馨子：ワクチン「up to date 2015夏」日本小児感染症学会．福島県福島市． 2015.10-11.

28) 多屋 馨子：ワクチンの基礎．日本性感染症学会.東京都． 2015．12.

29) 多屋 馨子：感染症から守ろう!子どもと高齢者、そして私も!予防接種大切です．日本医学検査学会．福岡県福岡市．2015．5.

30) 山本 志保(旭川医科大学 小児科), 田中 亮介, 岡山 亜貴恵, 荒木 章子, 高橋 悟, 東 寛, 片野 晴隆, 多屋 馨子：突発性発疹を呈さなかったヒトヘルペスウイルス-6(HHV-6)脳症の1例．日本小児神経学会．大阪府大阪市．2015.5.

31) 多屋 馨子：母子感染対策の最前線2015 風疹．日本周産期・新生児医学会．福岡県福岡市．2015.7.

32) 多屋 馨子：感染研・地衛研の連携　その時その場の使命 急性脳炎・脳症の原因究明　医療機関・保健所・地研・感染研の連携の重要性．日本臨床ウイルス学会．岡山県岡山市．2015.6.

33) 多屋 馨子：水痘の疫学と帯状疱疹　水痘ワクチン定期接種化の効果．日本皮膚科学会．神奈川県横浜市．2015．5.

34) 辰己智香、飯塚節子、和田美江子、三田哲朗、花岡 希、藤本嗣人：本邦で初めて分離されたヒトアデノウイルス５７型(HAdV57)．平成27年度獣医学術中国地区学会、岡山市 2015 10月(優秀研究発表)

35) 藤本嗣人．アデノウイルスレファレンスセンター報告．仙台市　7月, 2015

36) 花岡希、萬田和志、草刈栄治、藤本嗣人．郵送検査残渣を用いた尿道炎起因微生物の探索．日本性感染症学会第28回学術大会.東京 11月 2015（座長推薦発表）

37) 花岡希、伊藤晋、 安田満、 高梨真樹、 出口隆、山岸拓也、藤本嗣人.アデノウイルス性尿道炎患者変遷と市中アデノウイルス流行状況との関連性．日本性感染症学会 第28回学術大会．東京 11月 2015（座長推薦発表）

38) 伊藤晋、 花岡希、 安田満、 高梨真樹、 伊藤貴子、 出口隆: ヒトアデノウイルス陽性男子尿道炎の臨床的特徴．日本性感染症学会第28回学術大会．東京　11月　2015

39) Fujimoto T, Kobayashi M, Hanaoka N, Taniguchi K, Watanabe H. Four year micro-surveillance of adenoviruses inJapan including new genotypes and second detection of HAdV-48 [P65H48F60]. The 63nd Annual meeting of the Japanese Society of Virology, Nov Fukuoka,2015

40) Hashizume M, Morikawa S, Hiroi S, Kase T, Oishi K, Konagaya M, Fujimoto T, Hanaoka N, Fujii Y, Chikahira M, Watanabe H, Koyamagi K. 日本において新規に発見されたヒトアデノウイルスのゲノム構造に基づく分類．第 63 回日本ウイルス学会学術集会．福岡市．2015.11

41) 藤本嗣人、花岡希、木下一美、砂川富正、大石和徳．アデノウイルス53, 54および56型の流行状況．第16回　日本アデノウイルス研究会．福岡市．2015.11

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200万人あまりが新たにHIVに感染し、年間100万人以上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件前後（平成27年：1,434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27年：428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HIV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HIVワクチン開発を目的とする研究では、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、優れた免疫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ならびにサーベイランス強化を目的として、国際協力機構の協力によるHIV感染診断技術・サーベイランス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4月1日付で関紗由里研究員、中村碧研究員が着任し、平成28年3月31日付で野村拓志研究員が退職した。

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) 宿主細胞性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

ア. サルエイズモデルにおけるウイルス CTL 逃避変異の逃避機序に関する研究

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、各種 MHC-I 関連 CTL エピトープおよび CTL 逃避変異の同定を進めてきた。本研究では、これまでに同定した各種 CTL 逃避変異の逃避機序の解析を推進した。MHC-I ハプロタイプ A に拘束される SIV Gag・Nef 領域の主要エピトープについて、MHC-I 分子と各変異ペプチドとの結合能を RMA-S 細胞による MHC-I stability assay を用いて解析した結果、GagD244E 変異および NefS201Y 変異は MHC-I とペプチドとの結合能に影響を及ぼさず、CTL の TCR によるペプチド MHC-I 複合体の認識を低下させることが示唆された。このような MHC-I への結合能を維持した逃避変異は、新たな CTL 反応誘導の可能性も考えられる。本研究成果は、ウイルスと宿主細胞性免疫との相互作用の解明に有用である。

[石井　洋、城森　萌、野村拓志、関紗由里、中村　碧、佐野雅人、松岡佐織、武田明子、横山　勝（病原体ゲノム解析研究センター）、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター）、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）、滝口雅文（熊本大学）、俣野哲朗]

イ．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。さらに、SIV 複製制御状態維持機序の解明に向けた研究を推進し、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、感染後 2 年のプロウイルス gag 領域に CTL 逃避変異蓄積が認められる群と認められない群があることを見出した。平成 27 年度の解析で、前者では、感染早期に誘導された Gag・Nef 抗原特異的 CTL 反応以外の各種 SIV 抗原特異的 CTL 反応の誘導が感染 4 か月の時点で認められ、CTL 標的抗原の広範化が、ウイルス複製制御破綻の指標となることが示唆された。一方、後者では、CTL 標的抗原の広範化がみられず、長期永続的な SIV 複製制御維持モデルの一つとなりうると考えられた。

[野村拓志、石井　洋、高橋尚史、山本浩之、椎野禎一郎、Mark de Souza、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]

ウ．サルエイズモデルにおけるSIVの持続感染・伝播に伴う変異蓄積に関する研究

HIV/SIV 感染において、CTL 反応は強いウイルス複製抑制圧を有し、ウイルスゲノムに CTL 逃避変異が頻繁に選択されることが知られている。このような MHC-I 関連 CTL 逃避変異の選択はウイルス複製能の低下に結びつくこともあることから、多様な MHC-I 遺伝子型を有する集団におけるウイルス伝播では、変異選択と復帰変異によってウイルスが変化していくと考えられており、近年、HIV における MHC-I 関連変異の蓄積が示唆されている。本研究では、このような伝播に伴うウイルス変化を検証する目的で、サルエイズモデルにおける SIV 伝播実験を行った。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 3 代にわたって行い、1 代目で選択された非同義変異の多くが、3 代目でも維持されていることを見出した。さらに 2・3 代目の個体内でも新たな非同義変異が獲得され、伝播を重ねることにより変異は蓄積することを明らかにした。

[関紗由里、野村拓志、西澤雅子、山本浩之、石井　洋、横山　勝（病原体ゲノム解析研究センター）、佐藤裕徳（病原体ゲノム解析研究センター）、三浦智行（京都大学）、小柳義夫（京都大学）、俣野哲朗]

エ．HIV の宿主免疫選択圧への適応と病態進行の関連に関する研究

HIV はアミノ酸置換により宿主の CTL 選択圧から容易に逃避することが知られている。CTL 応答は HLA 拘束性に作用するため、HIV での CTL からの逃避変異は

HLA 関連変異として多数報告されている。同一の HLA を共有する個人から HIV に感染した場合、CTL 逃避変異ウイルスに感染する可能性が高いことが予想されるが、その臨床における感染病態への関与は明らかとなっていない。日本人集団は他人種に比べ HLA 遺伝子型分布が狭く、感染者間で同一の HLA 遺伝子型を共有する可能性が高い。特に HLA-A*24:02 は日本人の 6 割以上が保有しており、我々は、これまでに HLA-A*24:02 関連変異を有する HIV が日本人集団で流行していることを報告した。このような状況下で、CTL からの逃避変異ウイルスによる感染が病態進行に与える影響を明らかにするため、HLA*A24:02 陽性の HIV 感染者でウイルスの遺伝子解析や免疫学的解析を行い、CTL 逃避変異ウイルスによる感染が強く疑われる感染者は病態進行が早いことを明らかにした。HIV の集団レベルでの宿主選択圧への適応は、臨床経過に負の影響を与えることが示唆された。

[立川　愛、加藤次朗（東京大学）、清水晃尚（東京大学）、Zabrina L Brumme（カナダ Simon Fraser 大学）、Gerge F Gao（中国科学院）、岩本愛吉（東京大学）]

(2) 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・SIV 制御群の 100 週単位に亘る長期制御（elite controller : EC 状態）の同定を行い、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、MHC クラス I ハプロタイプ *90-030-Ih* において 3 つ（Nef_{45-53}, $Nef_{107-116}$, Vpr_{91-101}）、*90-010-Ie* につき $Nef_{121-129}$、及び *90-010-Id* につき Nef_{35-43} のドミナントな CTL エピトープを新規に同定した。SIV 初期制御直前に、EC 個体の血中ウイルス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り、完全な逃避に至っていなかったことから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ため、各 CTL エスケープ変異を有する変異体 SIV を系統作製し、それらの *in vitro* 複製抑制能を並列に評価した。その結果、NAb 受動免疫 EC 個体では CTL エスケープ変異体の抑制能が亢進していることを見出した。これと対応し、感染後 2 年時点での末梢血 CD4 陽性 T 細胞中プロウイルス配列を解析した結果、NAb 受動免疫個体では当該の CTL エスケープ変異の蓄積が阻止されていることが明らかとなった。即ち、NAb 受動免疫 EC 群の特異的 CTL による SIV 制御状態は質の高いものである可能性が示唆された。

また新規 10 カラーFACS 解析パネルの作出を試み、IFN-γ陽性エピトープ特異的 CTL 集団中の抗原刺激下の代謝状態が PTEN、リン酸化 S6 ribosomal protein、リン酸化 pAMPK、リン酸化 ERK の 4 重染色で描出可能であることが明らかとなり、NAb 誘導群では代表的な CTL が pAMPK 低発現の亜集団を有した代謝的静謐性（metabolic quiescence）を SIV 持続制御期に示す可能性が見出された。これは、CTL の機能性を「機能亢進」ではなく「機能過剰発現の抑止」の観点から評価する点で新規性が高い結果であり、消耗性マーカーの発現と類似しつつ新しい視点を感染免疫学的に提供するものである。今後は非中和抗体受動免疫群との SIV 複製抑制能の比較などを解析目標としてゆくことを予定している。

[伊勢田すみれ、野村拓志、高橋尚史、俣野哲朗、山本浩之]

イ．抗 SIV 中和抗体誘導サル群の同定と免疫相関解析

前年までに高度の NAb 抵抗性（誘導障害）を自然感染経過で示す SIV_{mac239} 株感染アカゲサル群を継続スクリーニングした結果、NAb 高誘導を示す新規サル群を同定した。当該群における *in vivo* のイベント解析を開始し、NAb 誘導群と関連する T 細胞関連遺伝因子及びウイルス学的因子の包括的な解析を進めた。引き続いて、NAb 誘導群における特異的 B 細胞応答の解析を検討しており、来年度以降にその結果が明らかとなる予定である。本実験系は新たな NAb 誘導型ワクチン開発への基礎知見として有用となりうる。

[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、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。

前年度に引き続き、我々が独自開発中の中和感受性の異なる subtype B 感染性ウイルスパネル(KP-5pc, KP-5mvcR, KP-5pm1)を用いて、HIV-1mt 感染サルの血清

の中和感受性と結合抗体の力価を測定した。P0(C92-224)のサルからとった血清の、パネルウイルス(KP-5pc, KP-5mvcR, KP-5pm1)と 89.6 の抑え方のパターンをみると、KP-5pc に比較してもともとの接種ウイルスに近い 89.6 の抑制が KP-5mvcR, KP-5pm1 と同程度認められる(45wpi)。このことは、2G12 の様な glyacan 抗体や、V3 抗体が出ている可能性を示唆している。一方で、P1(C98-051)は, 89.6 の抑制が KP-5pc と同程度でしかもあまり強くない。また、感染経過の全体を通じて KP-5pm1 抑制優位(KP-5mvcR<KP-5pm1)の上がり方であり、CD4bs や gp41 抗体優位のパターンではないかと予測される。また、全体の血中抗体量も高く維持されていた(End point titer; >1x10^5)。P2(C94-044)は、P1(C98-051)とほぼ同様のパターンがみられ、89.6 に対しては弱く KP-5pm1 抑制優位 (KP-5mvcR <KP-5pm1) の上がり方で、血中抗体量も高い(End point titer; >1x10^5)。ところが、P2(C03-108)は、P0(C92-224)のパターンに近く、89.6 に対する中和活性が高く KP-5mvcR, KP-5pm1 と比較しても、早い時期は 89.6 に対する中和活性の方が強いぐらいであった。また、結合抗体量も全体的に抑えられていた(End point titer; <1x10^5)。2 頭の P2 のサルの結果でこれだけの違いが出た理由はまだはっきりしないが、感染初期段階に何らかの理由で強力な中和抗体（2G12 の様な glyacan 抗体や、抗 V3 抗体のようなもの）が誘導されることにより、ウイルスの抑制がそうでないものより良かったのではないかといえるのかもしれない。なぜなら、これまで報告されている SHIV を用いた実験でも、感染初期に強力な中和抗体を投与すると、ウイルスのリバウンドを遅らせたりリバウンドのピークを下げたりできるというものがあり、強力な中和抗体によりリザーバが減らせるのではないかといわれているからである。また、誘導される抗体量も抗原の少なさから相対的に低くなっており、強力な中和抗体が存在することで、増殖も効果的に抑えられているため、少ない抗体でも十分抑制できるという好循環を生んでいるとも考えられる。コントロールにおいた 89.6 は今回使用された一連のウイルスの Env の元となった株であり、シークエンスの比較から、パッセージにより変異が見られる部位が限定されており、あまり耐性に関与していない可能性が高いと推測される。よって、in vivo ウイルスの血中抗体に対する感受性は比較的維持されていると考えている。ただ最初から中和耐性 89.6 ウイルスが増えたのではないかという疑いも否定できないのも事実であるため、現在作製しているパッセージ前後のウイルスで確認作業中である。近年、慢性感染症例の血清から樹立される抗体で広く強力に抑える中和抗体の本体は、V1V2 抗体や CD4bs 抗体ではなく抗 V3 抗体であるという報告がなされている。このことは、我々の仮説をサポートしていると言える。

[原田恵嘉、明里宏文（京都大学)、吉村和久]

(3) エイズウイルス病原性を決定する TH1 細胞 targeting 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の可能性がサルエイズ動物モデルにより証明された。我々は、SIV スパイク(Env)の糖鎖修飾が初期感染の制御に関わることを明らかにした。SIVmac239 Env gp120 の 5 カ所の N 型糖鎖を欠失した変異株Δ5G は、初期感染において SIVmac239 と同等の感染・増殖後、感染制御された。感染組織・標的細胞の解析から、SIVmac239 は 2 次リンパ組織の CD4+T 細胞、Δ5G は小腸粘膜固有層の CD4+T 細胞を主な標的細胞とした。2 次リンパ組織の解析から SIVmac239 は CXCR3+CCR5+CD4+T(TH1)細胞を選択的に減少させていた。そこで TH1 細胞が標的になるメカニズムについて研究を行った。血中の免疫細胞の解析から、CXCR3+CD4+T 細胞、CXCR3+CD8+T 細胞の頻度が SIVmac239 感染で有意に低下したことから、CXCR3+細胞の 2 次リンパ組織への遊走と感染の関連性が示唆された。遺伝子発現解析､血中のケモカイン測定から CXCL10 の役割が示唆された。血中 CXCL10 量は主産生細胞である CD14+CD16+Mo の絶対数と比例した。2 次リンパ組織では血中からの組織内に流入した Mo である CD14+macrophage が SIVmac239 感染で有意に増加していた。以上から、SIVmac239 感染は、宿主に炎症性・TH1 型免疫を誘導､免疫細胞を 2 次リンパ組織に集積させる。T 細胞領域においては、CXCR3+CD4+T 細胞を活性化・活発なウイルス感染を引き起こしたと推測される。

[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 細胞反応解析系を樹立した。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。

[石井　洋、中村　碧、武田明子、寺原和孝（免疫部)、

三浦智行（京都大学）、小柳義夫（京都大学）、Tomas Hope（ノースウエスタン大）、David Watkins（マイアミ大）、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、これら Gag・Vif 抗原を断片化し連結した抗原を設計し、発現する SeV ベクターを構築した。

[石井　洋、関紗由里、山本浩之、武田明子、井上　誠（ID ファーマ）、弘中孝史（ID ファーマ）、原　裕人（ID ファーマ）、朱　亜峰（ID ファーマ）、Angela Lombardo（IAVI）、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) 複製前期過程に障害を有する HIV-1 マトリックス (MA) 変異体のウイルス学的解析

本研究では、膜結合能に異常を生じ、ウイルス複製前期過程に障害を有する MA 変異体を使用して、MA の複製過程における役割を粒子形成過程も含めて解析した。まず、今回使用した V6R と L20K は膜結合能の異常等の複製後期過程に異常を持ちながらも、産生されたウイルスの構成は WT とほぼ同等であることを確認し、さらに低下した感染価は VSV-G でシュードタイプしても回復しないことを確認した。VSV-G シュードタイプウイルスの感染価測定実験の結果より、V6R,と L20K はポストエントリーに障害をもつことが示唆されたため、感染した Jurkat T 細胞内のウイルス DNA 量を経時的に測定したところ、V6R 変異は核移行効率に影響しないものの、逆転写や組込過程に影響を及ぼすことが示唆された。一方で、L20K 変異は組込過程に影響をおよぼすことが示唆された。また V6R と L20K 変異体はともに組込過程に障害を持ちながらも、その障害のメカニズムは異なっている可能性が Raltegravir 添加実験より示唆された。V6R の逆転写過程の欠損を、より詳細に検討するために粒子内逆転写活性を測定したところ、V6R 変異体では逆転写開始時点で欠損が生じており、V6R/K97E はこの過程の欠損を回復させていることが確認された。しかし、L20K と V6R/K97E は WT と比べると ERT 反応が遅延していることが確認された。次に、MA 変異体のコアの物理的な安定性を評価した。本実験の目的は、MA V6R 変異により、コア自体の物理的な安定性を生化学的な試験によって検討することにある。細胞因子の影響を排除するため、Christopher Aiken のグループを中心に開発された” in vitro disassembly assay”によってコアの物理的な安定性を評価した。MA V6R のコアは電子顕微鏡による観察により、野生株よりもコアの大きさが有意に大きいことが示され、in situ uncoating assay により HeLa 細胞内における脱殻速度が野生株よりも速いことが示された。そのため、コアの物理的な安定性も低いことが予想されたが、本実験によってコア自身の物理的安定性は野生株とほぼ同等であることが示された。本実験ではコアが細胞因子等の外的要因が排除されていることを考慮すると、細胞内での V6R 変異体の脱殻速度の亢進の原因はコア自身の安定性ではなく、細胞因子等の外的要因の感受性が高いことに由来する可能性が考えられる。

[引地優太、武田英里（大阪大学）、藤野真之、Eric O. Freed（米国 NIH）、中山英美（大阪大学）、俣野哲朗、村上　努]

(2) HIV やその他ウイルス感染症特異的 T 細胞を用いた免疫細胞療法の開発に関する研究

現行の cART のみによる現在の抗 HIV 治療において、治癒を達成することは非常に困難であると考えられており、治癒あるいは機能的治癒を目指した新たな治療法の開発が待たれている。近年、治癒を妨げる潜伏感染細胞を積極的に排除する新たな治療戦略が提唱されており、HIV 特異的 T 細胞は潜伏感染細胞排除における有用なエフェクターとなり得る。しかしながら、慢性 HIV 感染者の T 細胞は持続的な活性化状態により免疫老化と呼ばれる状態にあり、不可逆的なダメージを受け十分に機能できないと考えられている。我々は、我が国初の新規技術である人工多能性幹細胞(iPS 細胞)技術を用いて HIV 特異的 T 細胞を再生し、新たな免疫細胞療法の開発を目指している。HIV 感染者 PBMC から得られた CTL クローンから iPS 細胞を樹立(T-iPSC)、さらに抗原特異性を維持した T 細胞へ再分化した。作製した T-iPSC 由来 T 細胞は、高い増殖能とサイトカイン産生能を有し、HIV 感染

細胞を効率良く傷害した。動物モデルでの効果検証実験に向け、基盤整備を進めている。

また、各種移植医療において、移植後の免疫抑制状態での CMV, EBV, AdV などの日和見ウイルス感染症が問題となっている。米国ではウイルス特異的 T 細胞を用いた免疫細胞療法が有効であることが報告されており、我が国でも臨床実用化が待たれている。HIV 感染症、その他ウイルス感染症いずれに対しても、我が国でのウイルス特異的 T 細胞療法の実用化に際しては、日本人の HLA 遺伝子型背景を考慮した抗原デザインや評価系の構築が重要である。我々は、HIV,CMV, EBV, AdV 由来ウイルスタンパク質の Overlapping peptide (OLP)を用いて、エピトープマッピング法を確立し、各ウイルスタンパク質において日本人集団で高頻度に T 細胞応答の標的となる部位の同定を行った。本解析結果は、ウイルス感染症に対する新規治療戦略として我が国で免疫細胞療法導入を考慮する際、抗原選択等において重要な情報源となる。

[立川　愛、俣野哲朗、石井　洋、横田恭子（免疫部)、寺原和孝（免疫部)、金子　新（京都大学)、三浦智行（京都大学)、高橋　聡（東京大学)、森尾友宏（東京医科歯科大学）]

(3) 抗 HIV 療法中の CTL 誘導によるウイルス複製抑制に関する研究

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。本年度はさらにウイルスゲノム塩基配列の解析を進め、Gag・Vif 特異的 CTL の逃避変異が選択されていることを確認した。この結果は、ART 下の治療ワクチン接種によって誘導された Gag・Vif 特異的 CTL 反応のウイルス複製に対する強い抑制圧を示している。

[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（ID ファーマ）、朱　亜峰（ID ファーマ）、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．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。

本年度は、これらを用いて多くの耐性誘導をおこなった結果、３つの耐性変異(V255M, T375I, M426I)が同定できた。これらの耐性変異を含む組み換えウイルスの作製により、これらの変異と耐性発現が密接に関与している事が確認された。また、新たに合成された侵入阻害剤が、これらの変異ウイルスに対して交差耐性を持つかどうかを検討した結果、基本骨格を共通に持つ、中和抗体の感受性を増強させる 5 つの CD4 類似低分子化合物 (NBD-556, YYA-021, HAR-171, JRC-II-19, HAR-431)に関しては、ほとんどすべてに交差耐性を示した。しかし、耐性変異体にも有効な今般どもいくつか見つかってきている。これまでの研究で Env 三量体の構造・機能に影響を及ぼす運動を制御する部位の情報が蓄積されてきており、これらの情報が立体構造ベースの抗原デザインや新たな薬剤標的部位の検出が期待される。確認できた３つの耐性変異のうち、M426I と V255M について、病原体ゲノム解析研究センターの横山勝主任研究官にお願いし、横山主任研究官が本共同研究で構築した HIV-1 gp120 全長分子モデルを用いて CD4MC 耐性 Env と薬剤との結合様式の MD シミュレーションを行って頂いた。昨年度は NBD-556 だけだったが、本年度は YYA-021 と JRC-II-191

も追加して行った。その結果、それぞれの変異と Env の構造変化と耐性度の関係が、われわれの行った in vitro の結果と強い相関を示した。これにより、逃避ウイルス変異と薬剤の効果の比較検討を行う事で、モデリングの精度をより上げて行く事が可能となる事が強く示唆された。

[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) 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。

本年は我々が、in vitro で誘導したウイルス株の中から、中和感受性の異なるウイルスの Env シークエンスを選び、中和抗体感受性の異なる 3 種の感染性クローンウイルスの作製に成功した。ウイルスの増殖性に大きな違いが無いことを確認した後、中和エピトープが知られている中和単クローン抗体を用いて、作製したウイルスの中和感受性の違いを WST-8 アッセイにて判定した。その結果、今回作製した 3 種類のウイルス株、KP5-PC、KP5-MVC-R(4+)、KP5-MVC-R(M434I)は、数カ所のアミノ酸の違いだけで、ほとんどのバックグランドが同じであるにもかかわらず、中和単クローン抗体に対する感受性は、大きく異なっていた。KP5-PC はほとんどの抗体に高度耐性を示した。また、KP5-MVC-R(4+)は今回試したほとんどの中和抗体に感受性を示した。KP5-MVC-R(M434I)は、KP5-MVC-R(4+)と同じ種類の抗体に感受性を示しただけでなく、より低濃度で中和されることがわかった。

[Samatchaya Boonchawalit、原田恵嘉、吉村和久]

(3) 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

CXCR4 阻害剤は CXCR4-gp120 結合を阻害し、ウイルス侵入を阻害する。現在までに報告のある CXCR4 阻害剤は *in vitro* で耐性誘導を行なうと、Env 領域に蓄積するため、耐性獲得に伴い、抗 Env 中和抗体に対する感受性が変化することが期待される。PM1/CCR5 細胞を用いて、KRH-3955, AMD3100, AMD070 のそれぞれに対する耐性誘導を行なった。Env 領域の配列を確認したところ、V3 に変異の蓄積が集中していることが確認された。さらに、V3 内の 306 番目のアミノ酸変異が全ての耐性ウイルス内で確認された。続いて、各 CXCR4 阻害剤における各種抗 Env 中和抗体感受性を検討したところ、KRH-3955 耐性ウイルスは抗 V3 抗体 (447-52D)、抗 CD4 binding site 抗体 (b12)、抗 CD4 induced epitope 抗体 (17b)、抗 gp41 MPER 抗体 (2F5)に対する感受性が増強し、抗 V1/V2 抗体 (PG16)に対する感受性が低下した。AMD3100 耐性ウイルスは 447-52D と PG16 に対する感受性が増加し、抗 gp120 糖鎖抗体 (2G12)に対する感受性が低下した。一方、AMD070 耐性ウイルスにおいては、抗体感受性は増加せず、17b に対する感受性は大幅に低下した。さらに、中和抗体感受性が変化した原因を特定するため、V3 領域を置換したウイルスと、V3 内の点変異を導入したウイルスを作製し、中和抗体感受性を検討した。その結果、全ての V3 置換ウイルスにおいて、447-52D, b12 に対する感受性が大幅に増加していた。また単一の変異 (S306R)により、447-52D, b12 に対する感受性が増加した。CXCR4 阻害剤に対する耐性獲得とともに、中和抗体感受性が変化することを示した。また、V3 内の特定のアミノ酸変異 (S306R)は耐性ウイルスの中和抗体感受性を変化させる要因の一つであることが示された。S306R 変異は単独で Env の立体構造を変化させている可能性がある。このような情報は HIV-1 の侵入阻害剤と中和抗体の併用法を開発する上で有用であると考えられる。

[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]

(4) 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。H27 年度は、これまで抗 HIV-1 活

性を見出しているMA部分ペプチドfragment9およびCA部分ペプチドfragment15の抗HIV-1活性発現に重要なアミノ酸残基の検討を行った。その結果、どちらもfragmentそのものが一番高い活性を示すことが判明した。

[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]

(5) 高度ダルナビル耐性プロテアーゼの構造解析に関する研究

ダルナビル（DRV）は、ヒト免疫不全ウイルス 1 型（HIV-1）感染を治療するための最も強力なプロテアーゼ阻害剤（PI）の一つであり、耐性ウイルスの発生が起きにくい。しかし、DRV-耐性 HIV-1 は、他のプロテアーゼ阻害剤に対する耐性を示すウイルスから出現する事がある。この耐性ウイルスに対処するために、DRV 耐性の遺伝子解析および、DRV 耐性に関する機序に関して構造学的解析を行う必要がある。その為に、我々は in vitro 選択により生成された高度 DRV 耐性で、I47V と I50V を含む 6 個の DRV 耐性関連変異を有するリガンドフリーのプロテアーゼの結晶構造を決定した。この結晶構造は、以前に報告されたリガンドフリーのプロテアーゼ構造では見られなかったフラップ領域でユニークなカーリング構造を示した。分子動力学シミュレーションは、カールしたフラップ構造が、フラップの動態を変えている事を示した。これらの結果は、ユニークなフラップ構造への嗜好性が DRV の結合に影響を及ぼすことを示唆しており、DRV 耐性の分子機序を解明する為の新たな構造的な知見をもたらすと共に、DRV 耐性ウイルスに対する効果的な PI の開発の助けとなる。

[藤野真之、中島雅晶（名古屋医療センター）、大出裕高（名古屋医療センター）、鈴木康二（名古屋医療センター）、前島雅美（名古屋医療センター）、木村雄貴（名古屋医療センター）、正岡崇志（名古屋医療センター）、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）、蜂谷敦子（名古屋医療センター）、横幕能行（名古屋医療センター）、鈴木淳巨（名古屋大学）、渡邉信久（名古屋大学）、杉浦　亙（名古屋医療センター）、岩谷靖雅（名古屋医療センター）]

(6) 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。我々は 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。細胞に導入する Sox2 および Oct3/4 タンパクの機能増強させるため、N 末側に転写活性化因子として知られる VP16 を融合させたベクターを構築した。このベクターを用い、まず transfection による Sox2 および Oct3/4 タンパクの機能増強が見られるか確認したところ、VP16 を融合させていない Sox2 および Oct3/4 よりも機能の増強が確認された。今後、このベクターを用い、実際に LENA を産生させ、機能確認および脱分化試験を行っていく予定である。

[武田　哲、駒野　淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

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) ベトナムにおける感染者の HIV ゲノムと HLA ゲノムの解析

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。さらに、これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異を Gag および Nef コード領域に同定した。

[立川　愛、今成百合子、高橋尚史、武田　哲、石川晃一、松岡佐織、椎野禎一郎、Nguyen Thi Lan Anh（NIHE）、成瀬妙子（東京医科歯科大学）、木村彰方（東京医科歯科大学）、俣野哲朗]

(2) ガーナにおける感染者の HIV ゲノムと HLA ゲノムの解析

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。初期解析では約 300 検体に関して、Luninex 法、SBT 法により HLA タイプを決定した。

[石川晃一、Nicholas Nii-Trebi、Mildred Amoa-Bosompem、松岡佐織、武田　哲、椎野禎一郎、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) 国内で流行する HIV とその薬剤耐性株の動向把握に関する研究

抗ウイルス療法(ART)の早期開始の有用性に関しては科学的な議論の余地はないとの見解が示された事を受け、2015 年 9 月に WHO が全ての HIV 感染症例に治療を施す事を提唱する旨の宣言を行った。また、積極的な ART の導入が HIV 感染者からの新たな感染拡大を防ぐことに有効であることも大規模トライアルで実証され(HPTN052 試験)、治療開始のタイミングは診断がついたときである事が確定した。我が国においても診断確定即治療開始の流れが加速していくことは確実であり、HIV 感染症の現状、すなわち国内に流行する HIV 株の特徴と対象集団の疫学的特徴等を詳細に把握する事の重要性は増してきている。なぜなら、近年治療薬の組み合わせはインテグラーゼ阻害剤を中心とした ART に急激に変わりつつあり、これまでとは明らかに出現してくる耐性変異が変わる事が予想されるためである。また、新たな治療薬の開発や治療法の変更が行われたとき、どのようなウイルスが主流となるかの予測をする必要もある。10 年以上継続的に進めている日本における薬剤耐性 HIV 動向調査を引き継き、我が国の薬剤耐性 HIV の発生動向調査を主軸に国内で流行するHIV株の動向と薬剤耐性HIV感染拡大等の背景等を明らかにし、今後の HIV 感染拡大予防策に有益な情報の抽出とその活用を目的とし、以下 3 項目の研究に取り組んだ。(1) 分子疫学調査研究:新規 HIV/AIDS 診断症例および治療中患者を対象に、薬剤耐性変異の種類と頻度、サブタイプ、指向性、微少集族の検出、B 型肝炎等合併感染症など様々な側面から本邦における HIV 感染症の変遷とトレンドを明らかにする。(2) 情報分析研究:収集した HIV 遺伝子配列情報と疫学的情報をバイオインフォマティクス学的手法を用いて分析する。(3) 血中濃度モニタリング研究: 至適服薬の実現の為に薬剤血中濃度測定検査の提供を行う。

本年度は、分子疫学調査研究に関しては、1) 薬剤耐性検査結果の分析として、新規 HIV/AIDS 診断症例については 577 例（平成 27 年 1 月~12 月）が収集された。同時点の補足率は 41%であった。収集された症例の主体は日本人、男性、20-40 歳台、MSM、そしてサブタイプは B であり、この傾向は 2003 年に調査を開始して以来一貫している。何らかの薬剤耐性変異を有するものは 46 例(8%)確認された。薬剤クラス別内訳では核酸系逆転写酵素阻害剤 31 例（5.4%）、プロテアーゼ阻害剤 11 例（1.9%）、非核酸系逆転写酵素阻害剤 4 例（0.7%）であった。個別の耐性変異を見ると AZT 耐性変異の T215X は 26 例（4.6%）、３TC 耐性変異の M184V は 3 例（0.5%）、PI 耐性変異の M46I/L は 9 例（1.6%）、そして NNRTI 耐性変異の K103N は 2 例（0.4%）が観察されており、過去にも報告してきたようにこれらの変異を保有する株はすでに耐性株の一つとして集団に定着したことを裏付けている。多剤耐性の頻度に関しては、1 例（0.4%）と低く、2 クラス耐性であった。次に、2) 指向性検査結果の分析に関しては、2015 年に集計した 307 件のうち、R5 は 251 件（82%）、X4 は 56 件（18%）であった。2014 年の名古屋医療センターでの X4 の出現率は 13.5%、名古屋以外の場合は 20.4%となっており、2015 年の結果も 18%であったので、X4 ウイルスの出現の傾向は変わっていないといえる。さらに、3) サブタイピングの結果分析に対しては、サブタイピングを実施した 577 例中、B は 497 例（86%）で最も多いが、昨年より 2%低下が見られた。一方、昨年 710 例中 39 例（５%）であった AE は今年は 55 例の報告があり、10%になっていた。また、B と AE（2 例）、AG（1 例）、C（2 例）、F（1 例）、G（1 例）報告があり、B+その他のサブタイプによる組み替えウイルスの増加が認められる。

薬剤耐性検査の外部制度管理に関しては、1) 薬剤耐性検査推奨法の検討を目的に、外部精度管理に関して国内 12 施設が参加して実施した。一致率は PR-RT，INT ともに全施設が目標値を上回る結果であった。ミックス塩基検出率は INT では全施設が目標値を上回ったが、PR-RT では 2 施設が目標値以下であった。過去 3 回実施した外部精度評価ではミックス塩基平均検出率が 60.7～69.9%，標準偏差は 33.2～38.1%であり，それと比較すると今回は 88.8%±19.5 %と検出率の増加とバラツキの低下が見られた。

最後に、情報分析研究に関しては、シークエンスデータ解析として、5,018 検体のサブタイプ B 配列の中に、312 個の感染クラスタを見出した。感染クラスタのサイズは最大で 365 であり、20 以上の個体を含む大きなクラスタは 44 個あった。これらの大きなクラスタの主要な感

染リスクは、すべて MSM 行動であり、構成メンバの検出地域の構成に大きな偏りがあることがわかった。20 人以上のメンバを含む大きなクラスタをネットワーク解析し、密度・推移性・集中度を計算し、感染クラスタのサイズ・tMRCA・年齢中央値とのの相関を見たところ、グラフの密度および度数集中度と tMRCA との間に高い相関が観察された。

[吉村和久、杉浦　亙、西澤雅子、椎野禎一郎、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) 国内異性間性的接触感染例から分離された HIV-1 株のゲノム構造解析

我が国における HIV 流行株のおよそ 9 割近くは HIV-1 サブタイプ B であり、続いて CRF01_AE が 8%程度で続いているが、近年、これまでに報告されていなかった HIV-1 サブタイプ/CRF や HIV-2 感染例が報告されている。国内で異性間性的接触により感染したミャンマー人の症例から分離した HIV-1 株の全ゲノムを解析したところ、HIV-1 CRF69_01B と同じサブタイプ間組換え構造を持つことが明らかになった。HIV-1 CRF69_01B は、国内の複数の男性同性愛者で初めて感染が報告された CRF であるが、異なるリスク因子を持つ感染者にも感染が広がっている可能性が示唆された。HIV 流行の疫学および HIV 診断薬の対応の評価の観点から、今後も国内 HIV 流行株の動向を注視していく必要がある。

[草川　茂、武部　豊、加藤真吾（慶応大学）]

(3) 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。さらに、感染者の感染時期推定のための、血清抗体検査を開始した。

[松岡佐織、貞升健志（東京都健康安全研究センター）、森　治代（大阪府立公衆衛生研究所）、俣野哲朗]

(4) 感染性分子クローンを用いた新型変異 HIV のウイルス学的解析

大阪府の南部で局地的に新型変異を有する HIV 感染者の増加が検出された。中には、ウイルスに対する抗体価が上昇するまでの期間が長く、病期進行が早い事を示唆するセロネガティブ感染例も含まれていた。臨床的な見地から、新型変異が感染者の病態を進行させる可能性が示唆される。HIV 感染症の病期進行はウイルスと宿主因子が密接に絡み合うが、疫学的に同時多発的に症例群が認められたことからウイルス因子が強く疑われる。しかし、直接的に変異が持つ病態への関与を感染者で解析する事は困難である。そこで本研究では、新型変異 HIV に共通する特徴的な p6 と IN の遺伝的変化を分子クローンに導入して、ウイルス学的な性質がどのように変化するのかを検討している。今年度は昨年度作製した新型変異を有する分子クローンにおいて導入した変異がウイルスの粒子形成や産生ウイルスの感染価におよぼす影響について検討した。その結果、作製した変異株と野生型との間に粒子形成や産生ウイルスの感染価の明確な差は認められなかった。

[藤野真之、引地優太、森　治代（大阪府立公衆衛生研究所）、小島洋子（大阪府立公衆衛生研究所）、川畑拓也（大阪府立公衆衛生研究所）、駒野　淳（名古屋医療センター）、村上　努]

3．検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) HIV-1 抗原検出感度試験法の確立

現在 HIV スクリーニング検査に用いられている検出試薬は、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体と同時に HIV-1 p24 抗原を検出する、いわゆる第四世代検出試薬が主流である。これらの試薬の抗原検出感度評価には、市販の抗原ミックスタイターパネルやセロコンバージョンパネルが用いられるが、従来法による性能評価の結果をもって製造販売承認を受けた一部の試薬で「検体ごとに抗原検出感度のばらつきがある」「抗原検出感度が臨床的に有用なレベルではない」等の市販後評価の報告がある。加えてこれら市販のパネルは高価で、HIV-1 サブタイプ等の情報も提供されない。新たな抗原検出感度評価系を構築する目的で、in-house real-time RT-PCR 法を使って定量し一定コピー数の HIV-1 サブタイプ/CRF/グループの分離ウイルスをスパイクしたパネルを作製した。本パネルの RNA コピー数と HIV p24 抗原量検出試薬による定量結果には高い相関が見られた。本パネルを使って第四世代 ELISA および IC 法試薬の性能評価を行ったところ、これまで検査の現場から報告されてきた問題点を再現できることがわかった。この方法が、第四世代検出試薬の HIV-1 抗原検出感度試験法として有用であることが示された。

[草川　茂、巽　正志]

(2) HIV-1 NAT 国内標準品再測定

血液製剤の安全性確保のために行われる HIV-1 NAT 検査のバリデーション用に整備された国内標準品再測定の

共同研究に参加した。エイズ研究センターでは、KK-TaqMan 法を用いて第三次 HIV-RNA 国際標準品(10/152)と同時に 3 回の測定を行い、結果を報告した。参加した 6 施設の測定結果には、測定方法が異なっている場合でも、統計学的に問題となるような大きなばらつきは見られなかった。本共同研究の結果、国内標準品の力価は 75,200IU/mL と評価された。

[草川　茂、水澤左衛子（血液・安全性研究部）、浜口　功（血液・安全性研究部）、落合雅樹（品質保証・管理部）、古田美麗（国立医薬品食品衛生研究所）、内田恵理子（国立医薬品食品衛生研究所）、川村利江子（埼玉医科大学病院）、岡田義昭（埼玉医科大学病院）、山口照英（日本薬科大学）]

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。細胞内 tax cDNA 定量系を構築し、Tax トランスジェニックマウス由来 ATL 細胞（mATL）を同系のマウスへ移植した後の mATL 体内動態を解析した。その結果、移植後 3 週間は、mATL が排除されずに残存しうることが確認された。さらに、Tax 発現アデノウイルス（AdV）ベクターを構築し、同系マウスへの mATL 移植系において、移植前に Tax 発現 AdV ベクター接種を行った。その結果、Tax 発現 AdV ベクター接種によって、効率よい Tax 特異的 CD4 陽性 T 細胞反応の誘導がみられたが、効率よい Tax 特異的 CD8 陽性 T 細胞（CTL）反応の誘導は認められず、mATL の早期排除には至らなかった。

[中村　碧、石井　洋、松岡佐織、鈴木忠樹（感染病理部）、長谷川秀樹（感染病理部）、俣野哲朗]

(2) HTLV-1 プロウイルスゲノムを特異的に認識する ZFN のヒトゲノム毒性評価にかかる実験系の構築

現在日本の HTLV-1 感染者数は増加していることが危惧されている。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。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とから、昨年度、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た。組換えレンチウイルスを作製し、ATL 細胞に導入して ZFN の細胞毒性の評価を行ったが、IRES 配列の後ろに挿入した遺伝子の発現が低く、ZFN による LTR 領域への変異導入は確認されなかった。これを解決すべく、異なる薬剤で選択できるレトロウイルスベクターを ZFN1 および ZFN2 で別々に構築し、同時に遺伝子導入することにより ZFN の機能確認を行うことを計画している。

[武田　哲、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。我々は主に感染研における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。過去 4 年間の累積検査頭数は 112 頭、うち FV 陽性は 47 頭（42%）であった。また、1 個体からの複数ウイルス株分離も含めて合計 49 株のウイルス分離に成功した。Integrase 遺伝子の比較系統解析により、ウイルスは数個の明瞭なクラスターに分けられることが判明した。各々サルの原産地の違いを反映すると推定している。また、全ゲノム配列を決定したウイルスの中には、アカゲザル FV との組換え体を疑わせる事例があった。詳細は調査中である。

[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、HIV 検査試薬 3 件、HTLV 検査試薬 2 件の承認前試験を行い、試験成績書を提出した。

[草川　茂、立川　愛]

2．行政検査

山口県より、HIV スクリーニング検査（イムノクロマト法）陽性、HIV-1 確認検査（ウエスタンブロット法）判定保留例の行政検査依頼があり対応した。当所にて別のイムノクロマト法試薬および第4世代ELISA法により再スクリーニング検査を行ったところ、いずれも陰性判定となった。HIV-1 および HIV-2 核酸増幅検査においても特異的な増幅が認められなかったことから、最初の HIV スクリーニング検査偽陽性例であると判定した。
[草川　茂、立川　愛]

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-1陽性検体パネルは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、HIV-1陰性パネルは80検体からなる。本年度はパネル譲渡の申請はなかったが、２社からパネル検体の概要について問い合わせがあり対応した。また別の１社からパネル譲渡申請書が提出され、審査が進行中である。承認前試験でHIV-1陽性パネル３セット、HIV陰性パネル１セットを使用したため、残数は前者が27セット、後者が29セットとなった。
[吉村和久、草川　茂、立川　愛]

2．日赤献血由来検体を用いた新たなパネル検体の整備

ゲノムRNAの変異の蓄積や従来とは異なるウイルス株の浸淫により、HIV流行株は年代によって絶えず変化していくため、体外診断薬の最新の国内HIV陽性検体に対する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を行っている。今年度は、日本赤十字社より2013年度及び2014年度に譲渡を受けたHIV-1陽性64検体をパネル検体として整備、HIVスクリーニング試薬及びHIV-1 RNA定量試薬による値付けを行った。2015年度に新たに譲渡された25検体について、次年度以降にこれらの検体をパネル検体として整備し、HIV-1陽性検体パネルの更新を行う予定である。またHIV-1陰性検体として譲渡を受けた44検体も同様の値付けを行い、古い検体との入れ換えによる更新を行った。
[吉村和久、草川　茂、立川　愛、加藤孝宣（ウイルス二部）、浜口　功（血液・安全性研究部）、松岡佐保子（血液・安全性研究部）、高橋宣聖（免疫部）、森　嘉生（ウイルス三部）、豊田九朗（日本赤十字社血液事業本部）]

国際協力関係業務

I. 平成 27 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 27 年 6 月 8 日-7 月 10 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2回を実施した。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６カ国１０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、見学は昨年度とまでの富士レビオを止め、新たに国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターを加えて、計４施設（国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センター、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター、SRL、大阪府公衆衛生研究所）で実施した。

[村上　努、吉村和久、立川　愛、山本浩之、原田恵嘉、草川　茂、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、関紗由里、中村　碧、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)、武部　豊（横浜市立大学)、Jintana Ngamvithayapong-Yanai（財団法人結核予防会結核研究所)、西島　健（独立行政法人国立国際医療研究センター)、小柳義夫（京都大学ウイルス研究所)、Lay Myint（長崎大学熱帯医学研究所)、半田祐二朗（脳神経疾患研究所附属総合南東北病院)、鈴木雅治(日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター)、小林洋輔（国際協力機構人間開発部）]

II. その他

1. 平成 27 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 28 年 2 月 23 日）[立川　愛、石川晃一]

研修業務

1. 医師卒後臨床研修プログラム　講義　感染研（平成 27 年 10 月 29 日）[山本浩之]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Ishii H, Matano T: Development of an AIDS vaccine using Sendai virus vectors. Vaccine 33: 6061-6065, 2015.
2) Nomura T, Yamamoto H, Ishii H, Akari H, Naruse TK, Kimura A, Matano T: Broadening of virus-specific CD8+ T-cell responses is indicative of residual viral replication in aviremic SIV controllers. PLoS Pathog 11: e1005247, 2015.
3) Nishizawa M, Matsuda M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Sugiura W: Longitudinal detection and persistence of minority drug-resistant populations and their effect on salvage therapy. PLoS One 10:e0135941, 2015.
4) 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: 70-80, 2015.
5) Ramirez Valdez KP, 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.
6) Matsushita S, Yoshimura K, Ramirez KP, 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: 453-462, 2015.
7) 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 69: 236-243, 2015.
8) 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: 4341-4350, 2015.
9) Mizuguchia T, Harada S, Miura T, Ohashi N, Narumi T, Mori H, Irahara Y, Yamada Y, Nomura W, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H: A minimally cytotoxic CD4 mimic as an HIV entry inhibitor. Bioorg Med Chem Lett 26: 397-400, 2015.
10) Katoh J, Kawana-Tachikawa A, Shimizu A, Zhu D, Han C, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Gao GF, Brumme ZL, Iwamoto A: Rapid HIV-1 disease progression in individuals infected with a virus adapted to its host population. PLoS One 11(3): e0150397, 2015.
11) Ando M, Nishimura T, Yamazaki S, Yamaguchi T, Kawana-Tachikawa A, Hayama T, Nakauchi Y, Ando J, Ota Y, Takahashi S, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Miles JJ, Burrows SR, Brenner MK, Nakauchi H: A safeguard system for induced pluripotent stem cell-derived rejuvenated T cell therapy. Stem Cell Reports 5: 597-608, 2015.
12) Meribe SC, Hasan Z, Mahiti M, Mwimanzi F, Toyoda M, Mori M, Gatanaga H, Kikuchi T, Miura T, Kawana-Tachikawa A, Iwamoto A, Oka S, Ueno T:

Association between a naturally arising polymorphism within a functional region of HIV-1 Nef and disease progression in chronic HIV-1 infection. Arch Virol 160: 2033-2041, 2015.

13) Kikuchi T, Iwabu Y, Tada T, Kawana-Tachikawa A, Koga M, Hosoya N, Nomura S, Brumme ZL, Jessen H, Pereyra F, Trocha A, Walker BD, Iwamoto A, Tokunaga K, Miura T: Anti-APOBEC3G activity of HIV-1 Vif protein is attenuated in elite controllers. J Virol 89: 4992-5001, 2015.

14) Gu L, Han Y, Li Y, Zhu T, Song X, Huang Y, Yang F, Guan S, Xie J, Gohda J, Hosoya N, Kawana-Tachikawa A, Liu W, Gao GF, Iwamoto A, Li T, Ishida T: Emergence of lamivudine-resistant HBV during antiretroviral therapy including lamivudine for patients coinfected with HIV and HBV in China. PLoS One 10(8): e0134539, 2015.

15) 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(17): e00196-15, 2015.

16) Mizuguchi T, Ohashi N, Nomura W, Komoriya M, Hashimoto C, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: Conjugation of cell-penetrating peptides leads to identification of anti-HIV peptides from matrix proteins. Bioorg Med Chem 23(15): 4423-4427, 2015.

17) 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 195:1774-1781, 2015.

18) Seki S, Matano T: Development of a Sendai virus vector-based AIDS vaccine inducing T cell responses. Expert Rev Vaccines 15(1): 119-127, 2016.

19) Takeda S, Takizawa M, Miyauchi K, Urano E, Fujino M, Murakami T, Komano J: Conformational properties of the third variable loop of HIV-1AD8 envelope glycoprotein in the liganded conditions. Biochem Biophys Res Commun 475(1): 113-118, 2016.

20) Nakashima M, Ode H, Suzuki K, Fujino M, Maejima M, Kimura Y, Masaoka T, Hattori J, Matsuda M, Hachiya A, Yokomaku Y, Suzuki A, Watanabe N, Sugiura W, Iwatani Y: Unique flap conformation in an HIV-1 protease with high-level darunavir resistance and the I50V mutation. Front Microbiol 7: 61, 2016.

2．和文発表

1) 伊勢田すみれ、俣野哲朗：HIV 感染症の予防と治癒に向けて. 実験医学（羊土社）33:2727-2731, 2015.

2) 竹村太地郎、俣野哲朗：次世代シークエンスを利用した HIV 研究の新展開．臨床とウイルス（日本臨床ウイルス学会） 43:131-136, 2015.

3) 俣野哲朗：HIV 感染症制圧に向けて．医学のあゆみ：感染症最前線とグローバル・ヘルス（医歯薬出版株式会社）253(1):99-104, 2015.

4) 村上　努：HIV 感染症の治癒を目指して．日本エイズ学会誌 17(2): 71-77, 2015.

5) 森　一泰：エイズウイルス(HIV/SIV)病原性における糖鎖の役割．Glycoforum,Glycomicrobiology Now, 2015.(http://www.glycoforum.gr.jp/science/glycomicrobiology/GM12/GM12J.html)

II．学会発表

1．国際学会

1) 俣野哲朗：エイズってなに？ーHIV 感染動向とワクチン開発ー．隣組特別セミナー．Jul 17, 2015. Vancouver, BC, Canada.

2) Nomura T, Seki S, Nishizawa M, Harada S, Yoshimura K, Matano T: SIV CTL escape mutations resulting in loss of viral fitness can be maintained after transmission into MHC-I-mismatched hosts. 8th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jul 19-22, 2015, Vancouver, BC, Canada.

3) Harada S, Irahara Y, Tamamura H, Matano T, Matsushita S, Yoshimura K: Novel CD4-mimetic small molecules show enhancement of the neutralization activity of anti-cryptic V3 neutralizing antibody, KD-247. 8th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention, Jul 19-22, 2015, Vancouver, BC, Canada.

4) Nakamura M, Matsuoka S, Matano T: Nucleotide changes in viral genome $CD8^+$ T-cell target regions before and after anti-retroviral therapy in a macaque AIDS model. 14th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 8-11, 2015, Awaji, Japan.

5) Matano T: Antigen-specific $CD8^+$ T-cell responses in rhesus macaque lymph nodes in the chronic phase of

SIVmac239 infection. 16th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 7-9, 2015, Kumamoto, Japan.

6) Nii-Trebi N, Ishikawa K, Matsuoka S, Takeda S, Naruse TK, Kimura A, Yoshimura K, Ampofo W, Matano T: Analysis of HLA genotypes in HIV-1-infected Ghanaians. 16th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 7-9, 2015, Kumamoto, Japan.

7) Harada S, Yokoyama M, Matsushita S, Sato H, Yoshimura K: Genetic and molecular dynamics studies of the NBD-556, YYA-021 and JRC-II-191 binding to the wild type and mutant HIV-1 gp120. 16th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 7-9, 2015, Kumamoto, Japan.

8) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yokoyama M, Sato H, Miura T, Koyanagi Y, Matano T: Viral genome mutations resulting in escape from protective MHC-I-associated CD8+ T cells can be maintained after multiple SIV transmissions among MHC-I-mismatched macaques. 33rd Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 13-16, 2015, Monterey, CA, USA.

9) Seki Y, Saito A, Yoshida T, Sato Y, Harada S, Yoshimura K, Watanabe Y, Iwatani Y, Yasutomi Y, Matano T, Miura T, Akari H. Novel elite controller model by HIV-1mt-infected cynomolgus macaque. 33rd Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 13-16, 2015, Monterey, CA, USA.

10) Harada S, Saito A, Yoshida T, Seki Y, Watanabe Y, Iwatani Y, Yasutomi Y, Miura T, Matano T, Akari H, Yoshimura K: Detection of potency and breadth of HIV-1 neutralizing antibodies in macaque-tropic HIV-1 infected cynomolgus monkeys using novel test panel viruses. 33rd Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 13-16, 2015, Monterey, CA, USA.

11) Matano T: HIV/SIV-specific antibody/T cell responses. International AIDS Vaccine Initiative, Oct 19, 2015, Brooklyn, NY, USA.

12) Matano T: Lasting viral control by $CD8^+$ T cells in a macaque AIDS model. 13th International Symposium on Molecular Basis of Viral Diseases, Nov 20, 2015, Tokyo, Japan.

13) Matano T: Virus evolution accumulating MHC-I-associated mutations in multiple SIV transmissions. Tulane National Primate Research Center, Tulane University, Dec 14, 2015, Covington, LA, USA.

14) Matano T: Virus-host T cell interaction in SIV infection. AIDS Panel Meeting, U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, Jan 11-14, 2016, Bethesda, MD, USA.

15) Yamamoto H: Neutralizing antibody responses in SIV infection. AIDS Panel Meeting, U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, Jan 11-14, 2016, Bethesda, MD, USA.

16) Harada S, Yokoyama M, Matsushita S, Sato H, Matano T, Yoshimura K: Molecular Dynamics of the CD4-Mimetic Resistant HIV-1 Gp120 by MD Simulation, 23th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2016), Feb 22-25, 2016, Boston, MA, USA.

2．国内学会

1) 原田恵嘉，苛原　優，玉村啓和，吉村和久：新規 mono-cyclohexyl 型 CD4 類似低分子化合物の抗 HIV 活性および抗 HIV 中和抗体活性増強能の検討．第 25 回抗ウイルス療法学会総会，2015 年 5 月 22-24 日，東京．

2) 原田恵嘉，苛原　優，玉村啓和，俣野哲朗，吉村和久：Asp368 および Val430 と相互作用を有する新規 CD4 類似低分子化合物の開発．第 17 回白馬シンポジウム，2015 年 6 月 19-20 日，米子．

3) 立川(川名)愛，細谷(中山)香，吉村和久，俣野哲朗：慢性 HIV-1 感染者の CD4 陽性 T 細胞における *IL2* 遺伝子発現抑制機序の解析．第 17 回白馬シンポジウム．2015 年 6 月 19-20 日，米子．

4) 石井　洋：Env 由来抗原の MHC クラス I 抗原提示効率の解析．第 18 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE，2015 年 7 月 10-11 日，名古屋．

5) 中村　碧：正常マウスにおける Tax トランスジェニックマウス由来 ATL 細胞移植後の動態解析．第 18 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE, 2015 年 7 月 10-11 日，名古屋．

6) 原田恵嘉：gp120 相互作用強化型 CD4 ミミック化合物の開発．第 18 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE，2015 年 7 月 10-11 日，名古屋．

7) 立川(川名)愛，小野敏明，藤田由利子，田中ゆきえ，高橋　聡，森尾友宏：多ウイルス特異的 T 細胞療法における標的部位の同定(エピトープマッピング)

法の確立．第 7 回血液疾患免疫療法研究会．2015 年 9 月 26 日，東京．

8) 俣野哲朗：HIV ワクチン開発の現況．エイズ：後天性免疫不全症候群講演会、那覇市保健所． 2015 年 11 月 12 日，那覇．

9) Yamamoto H: Akt-modulating nef mutant selection is a hallmark of neutralizing antibody induction in simian immunodeficiency virus infection. 第 44 回日本免疫学会学術集会, 2015 年 11 月 18-20 日，札幌．

10) Matano T: Virus evolution with accumulation of $CD8^+$ T-cell escape mutations after multiple SIV transmissions among MHC-I-mismatched macaques. Prof. Akio Nomoto Memorial Symposium，第 63 回日本ウイルス学会学術集会、2015 年 11 月 22-24 日，福岡.

11) Ishii H, Nomura T, Matsuoka S, Matano T : Impact of CTL escape mutations on antigen presentation via MHC class I in a macaque AIDS model. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会、2015 年 11 月 22-24 日，福岡.

12) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yokoyama M, Sato H, Miura T, Koyanagi Y, Matano T: Accumulation of viral genome mutations in multiple SIV transmissions. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会，2015 年 11 月 22-24 日，福岡．

13) Nomura T, Yamamoto H, Matano T. Effects of IL-7 and IL-15 administration on SIV controllers. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会，2015 年 11 月 22-24 日，福岡．

14) Harada S, Irahara Y, Tamamura H, Matsushita S, Matano T, Yoshimura K : Design, synthesis and virological evaluation of novel CD4-mimetic small molecules. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 2015 年 11 月 22-24 日，福岡．

15) Yuzuna Honda, Masayuki Fujino, Wataru Nomura, Hirokazu Tamamura, Tsutomu Murakami: Dimerization of C34 Derivatives with C-Terminal Disulfide Bridge and Addition of an N-Terminal GCGG Markedly Enhance anti-HIV-1 Activity. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 2015 年 11 月 22 -24 日，福岡.

16) 山本浩之，伊勢田すみれ，野村拓志，高橋尚史，関紗由里，俣野哲朗：感染急性期の中和抗体受動免疫による SIV 持続制御における特異的 CTL 応答の解析．第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会，2015 年 11 月 30-日 12 月 1 日，東京．

17) 関　洋平、芳田　剛、齊藤　暁、佐藤賢文、原田恵嘉、吉村和久、渡部祐司、岩谷靖雅、保富康宏、俣野哲朗、三浦智行、明里宏文. R5 指向性 HIV-1mt 感染カニクイザルによる新規エリートコントローラーモデルの開発．第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会，2015 年 11 月 30-12 月 1 日，東京．

18) 原田恵嘉，横山勝，佐藤裕徳，松下修三，俣野哲朗，玉村啓和，吉村和久：CD4 類似低分子化合物誘導体（CD4MCs）の耐性機序解析．第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会，2015 年 11 月 30-12 月 1 日，東京．

19) 安達英輔, 大田泰徳, 佐藤秀憲, 福田直到, 大亀路生, 菊地　正, 古賀道子, 松原康朗, 立川　愛, 鯉渕智彦：HIV 感染者における Helicobacter pylori 感染と慢性胃炎. 第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2015 年 11 月 30 日-12 月 1 日，東京.

20) 藤野真之,引地優太, 森　治代, 小島洋子, 川畑拓也, 俣野哲朗, 駒野　淳, 村上　努: 新型変異 HIV のウイルス学的解析．第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会,2015 年 11 月 30 日-12 月 1 日,東京.

21) 宮木大輔, 水口貴章, 村上　努, 野村　渉, 玉村啓和: HIV-1 遺伝子産物ペプチドを基とするインテグラーゼ阻害剤の構造活性相関研究. 第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015 年 11 月 30 日-12 月 1 日，東京.

22) 本田柚子奈, 野村　渉, 藤野真之, 村上　努, 玉村啓和: HIV-1 外被タンパク質 gp41C34 二量体を基にした膜融合阻害剤の創製. 第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015 年 11 月 30 日-12 月 1 日，東京.

23) 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: CXCR4 阻害剤耐性変異が中和抗体感受性に及ぼす影響の解析. 第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015 年 11 月 30 日-12 月 1 日，東京.

24) 谷田部夏香, 松本大地, 橋本知恵, 藤野真之, 水口貴章, 大橋南美, 野村　渉, 村上　努, 玉村啓和: HIV-1 カプシドタンパク質由来ペプチドライブラリーの構築と阻害剤の創出. 第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015 年 11 月 30 日-12 月 1 日，東京.

25) 俣野哲朗：HIV ワクチン開発研究の進展状況．シンポジウム「世界三大感染症の克服を目指して」．第 56 回日本熱帯医学会大会，2015 年 12 月 5 日，大阪．

26) 俣野哲朗：HIV と宿主免疫の相互作用．宿主との攻防の観点から見た感染症．愛媛大学プロテオサイエンスセンター第３回学術シンポジウム，2016 年 2 月 13 日，松山．

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ワクチンの承認前検査、国家検定を担当した。

第二室では、主に新興・再興感染症の発生に深く関与するRNAウイルスを研究対象とする。計算・情報・理論の先端科学に着目し、これらを感染症の流行防止に活用する新しい研究基盤を開発している。一般に未報告の変異のリスクは不明である。また分離ウイルスの迅速入手はしばしば困難で、さらには実験によるウイルスのリスク決定には時間がかかる。迅速な初動対応を補強する新たな基盤技術の創出は喫緊の課題である。二室では、病原体のゲノム情報から蛋白質の物性とその変化に関する情報を抽出し、病原体の生活環と生存戦略の理解向上に役立てている。これにはウイルスの感染・増殖、免疫逃避、薬剤耐性、病原性発現、流行、進化の構造基盤解明が含まれる。これにより、計算・情報科学は、ウイルスの生存戦略と性質変化の理解に極めて重要な貢献を果たすことを立証してきた。そこで現在、次の応用段階への挑戦を始めている。すなわち、ウイルスの制御法開発と将来予測である。前者には、ウイルスの感染・増殖・変異の理解向上に基づく論理的創薬が含まれる。後者には、将来発生しうるリスク変異の包括的予測が含まれる。研究成果は、ウイルス感染症対策の補強に大きく貢献することが期待される。平成２７年度は、ウイルスのリスク管理と制御法開発の基盤となる以下の情報を収集した。（１）HIVの抗体逃避機構、（２）HIVの薬剤耐性機構、（３）HIV Vpr蛋白質の機能発現機構、（４）ノロウイルスポリメラーゼの物性、（５）サフォードウイルスの神経細胞指向性、（６）サフォードウイルスの感染受容体候探索、（７）神経向性ピコルナウイルスのカプシド蛋白質多様性。

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、大規模細菌ゲノム解析を行うための基盤作成、ゲノムデータベース作成を中心に行い、腸管出血性大腸菌、結核菌、薬剤耐性菌のゲノム比較解析、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、結核菌のゲノム分子疫学解析ツール TGS-TB、炭疽菌用の分子疫学解析ツール GcoGSA-BA を構築した。感染症が疑われる難病も不明症例の一つでもあり、その観点から潰瘍性大腸炎や川崎病の臨床検体から病態に関連する微生物因子の特定を行った。

業　績

調査・研究

I. HPVに関する研究

1. HPVの感染増殖機構の研究

(1) HPV感染初期過程におけるキャプシドタンパク質L2の役割

HPV感染初期過程において、キャプシドタンパク質L2

は膜融合制御タンパク質の一つ TRAPPC8 と相互作用する。これによりウイルスを包む輸送小胞膜とゴルジ体膜との融合を阻害すると考えられるがその意義は不明である。TRAPPC8 非結合型 L2 を含む偽ウイルス粒子を作成し、細胞内粒子数変化を共焦点蛍光顕微鏡で観察した。粒子数の減少速度は野生型のそれに比べ上昇し、これはリソソーム阻害剤である NH_4Cl の添加で回復した。L2 による小胞膜-ゴルジ膜融合阻害の役割の一つとして、リソソームによるウイルス粒子分解回避が考えられた。(石井克幸)

(2) HPV 複製蛋白質 E1 のレベルを変化させる細胞 E3 ユビキチンリガーゼの探索

HPV16 ゲノムの複製に必須のウイルス蛋白質 E1 は、細胞内でユビキチン化を受けて分解され、低レベルに維持される。約 400 種類の細胞 E3 ユビキチンリガーゼを発現するプラスミドライブラリーを用いて、C33A 細胞での HPV 複製アッセイ系にてスクリーニングを行い、E1 レベルを減少させる複数の E3 ユビキチンリガーゼを見出した。また E1 レベルを著しく上昇させる E3 ユビキチンリガーゼとして、RNF146 が同定された。さらに細胞内 E1 レベルへの各種阻害剤の効果を調べる中で、ポリ ADP リボースポリメラーゼであるタンキレースの阻害剤 XAV939 の処理により、293 細胞での E1 レベルが上昇することが分かった。タンキレースまたは他のポリ ADP リボースポリメラーゼが HPV 複製を負に制御することが示唆された。(柊元　巌、松尾理加[名古屋大学]、梁　明秀[横浜市立大学医学部])

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

子宮頸癌及び前癌病変 (CIN2/3) の擦過細胞検体を慶應大学病院にて定期的に収集して、HPV DNA 検出と型同定を継続的に行った。これまでの結果を集計したところ、CIN2 (300 検体) では HPV52 (32.3%)、HPV16 (31.0%)、HPV58 (20.0%)、CIN3 (283 検体) では HPV16 (45.9%)、HPV52 (24.7%)、HPV58 (14.1%)、子宮頸癌 (232 検体) では HPV16 (55.2%)、HPV18 (20.7%)、HPV52 (9.1%) 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ベースラインデータとして有用である。(中村浩美、柊元　巌、岩田　卓[慶應大学病院])

(2) ホルマリン固定パラフィン切片を用いた HPV 遺伝子型分布の調査

子宮頸部擦過細胞検体では複数の HPV 型がしばしば検出されることから、実際に病変を引き起こしている原因型 HPV の同定が難しい。そこで、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を用いて、HPV 遺伝子型の分布を調べた。合計 156 検体の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 HPV 型同定を行った。その結果、CIN1 (53 検体) では HPV16 (11.3%)、HPV52 (11.3%)、HPV56 (11.3%)、CIN2 (39 検体) では HPV16 (30.8%)、HPV52 (15.4%)、HPV31 (10.3%)、HPV51 (10.3%)、HPV58 (10.3%)、CIN3 (64 検体) では HPV16 (48.4%)、HPV52 (15.6%)、HPV31 (10.9%) が検出された。(中村浩美、柊元　巌、藤井多久磨[藤田保健衛生大学])

(3) HPV 抗体の血清疫学調査

14 種類の HPV (HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 68) のウイルス様粒子を用いたハイスループット抗体測定系により、日本人健常人 (男 97 人、女 103 人) での HPV 抗体保有率を調べた結果、男女ともに幅広い年齢層で HPV35, 31, 6 の抗体保有率が高いことが分かった。それぞれの抗体保有率は HPV35: 男 23.7%, 女 13.6%、HPV31: 男 17.5%, 女 18.4%、HPV6: 男 14.4%, 女 17.5%であった。一方、子宮頸癌で高頻度に検出される HPV 型の抗体保有率は、HPV16: 男 3.1%, 女 1.9%、HPV18: 男 4.1%, 女 1.0%、HPV52: 男 5.2%, 女 3.9%、HPV58: 男 4.1%, 女 4.9%であった。(柊元　巌、石井克幸、Joakim Dillner[Karolinska Institute])

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

子宮頸癌を含む種々の癌で、細胞の DNA/RNA 改編酵素 APOBEC3B(A3B)の高発現が認められ、APOBEC に特徴的な変異が癌ゲノムに蓄積していることから、発癌における変異原として A3B が注目されている。これまでに、HPV の癌蛋白質 E6 が A3B 遺伝子の発現を誘導することを見出し、A3B プロモーター内の E6 応答領域を特定した。今年度は、E6 による A3B プロモーター活性化機構の詳細を調べた。A3B プロモーターの E6 応答領域にある MCAT motif に宿主転写因子 TEAD が結合した。レポーター実験で、TEAD は MCAT motif 依存的に A3B プロモーターを活性化した。表皮角化細胞に E6 を発現させると、TEAD の発現が上昇し、A3B プロモーターへの TEAD 結合が増加した。E6 を発現する表皮角化細胞で TEAD をノックダウンすると、A3B の mRNA レベルが減少した。一方、表皮角化細胞に TEAD を過剰発現させると、A3B の mRNA レベルが上昇した。こ

れらの結果は、E6 が TEAD の発現上昇を介して、A3B 発現を誘導することを示しており、発癌における E6 の新たな機能と考えられる。(森　清一郎、柊元　巌)

(2) 次世代シークエンサーを用いた HPV ゲノム解析

感染者体内での HPV16 ゲノム配列の多様性を、次世代シークエンサーで解析することを目的に、CIN および子宮頸癌患者から子宮頸部擦過細胞を採取した。筑波大学病院を受診する患者から、これまでに 55 検体を収集し、DNA 抽出、HPV ジェノタイピングの後、HPV16 陽性の検体に対して全長 HPV16 ゲノムを long PCR にて増幅した。得られた PCR 産物を Nextera XT kit（イルミナ）を用いてライブラリー化した。また HPV52 についても同様の作業を行った。今後、次世代シークエンサーによる配列解析を行う。(柊元　巌、中村浩美、小貫麻美子[筑波大学病院])

4. 次世代 HPV ワクチンの開発

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いて抗 HPV 交叉性中和抗体を生体内で安定して発現させることにより幅広い型の HPV 感染を防ぐことを目的とした受動免疫ワクチンの開発を行なった。ヒトでの使用を念頭に、マウス由来の抗 HPV 交叉性中和抗体の可変領域とヒト IgG 定常領域を融合したキメラ抗体を作成した。キメラ抗体は、調べた８つの発癌性 HPV を全て中和したことから、中和活性と交叉性を維持していることがわかった。続いて、このキメラ抗体を発現する AAV ベクターを作成し、マウス骨格筋に接種した。接種 3 ヶ月後、血清中に最大約 100μg/ml のキメラ抗体が分泌されていることを ELISA により確認した。今後、このマウスを用いて HPV 感染実験を行い、受動免疫ワクチンによる感染防御効果を評価する。(森　清一郎)

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。CRISPR/Cas9 システムを用いて自然免疫系遺伝子をノックアウトしたヒト iPS 細胞クローンを得た。二本鎖 RNA 認識経路上の MAVS (IPS-1) 遺伝子を標的とする gRNA と Cas9 蛋白質の複合体を iPS 細胞にエレクトロポレーションにより導入した。ミスマッチ切断酵素を用いたアッセイでは変異導入率は 40%強であった。細胞をクローニングし塩基配列を確認したところ、両アレルにフレームシフト変異が導入されているものが 20 クローン中 6 クローンあった。ヒトゲノム上でミスマッチ塩基数に基づいてオフターゲット候補を検索すると 1 ミスマッチ、2 ミスマッチのものはなく、3 ミスマッチのものが 4 箇所あった。20 クローンにおいてこれら 4 箇所の塩基配列に変異があるものはなかった。マーカーによる選択を行うことなく、効率よく遺伝子ノックアウト iPS 細胞を得ることができた。(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）抗体中和抵抗性 gp120 構造を維持する Glycan shield の分子メカニズム

HIV-1 gp120 の中和抗体逃避メカニズムの１つとして Glycan shield が知られている。しかし、立体構造を見ると必ずしも糖鎖はエピトープを隠しておらず、Glycan shield のメカニズムは未だ明らかでない。本研究では、糖鎖有または糖鎖無の HIV-1 gp120 の動的性質を分子動力学計算により調べ、Glycan shield の分子メカニズムを検討した。初期構造からの構造変化の指標として RMSD を調べた。糖鎖無 gp120 の RMSD は、糖鎖有 gp120 のそれより大きく、糖鎖無 gp120 は糖鎖有 gp120 よりも大きく構造変化した。これは V1/V2 の配置が大きく変化していることに起因していた。次に、構造の揺らぎを調べた。糖鎖無 gp120 では V3 が大きく揺らぎ、gp120 コアから離れる構造も観察された。一方、糖鎖有 gp120 では V3 が gp120 コアの近傍で揺らぎ、gp120 コアから離れる構造は観察されなかった。これは糖鎖有ならば gp120 が三量体配置に置かれた時、抗 V3 抗体エピトープの V3 先端が、抗体のアクセスできない位置に保持されることを意味する。すなわち、糖鎖は V1/V2、V3 の構造動態制御因子であり、これらの配置と揺らぎを調節してエピトープ暴露を抑制し、抗体中和低感受性構造を維持する機能をもつことを示唆する。(横山勝、佐藤裕徳)

（２）CD4 類似低分子化合物誘導体（CD4MCs）の耐性機

序解析

CD4 類似低分子化合物（CD4MCs）は HIV-1 gp120 を標的とする。HIV-1 gp120 の CD4MCs 耐性獲得機序を明らかにするために、分子動力学(MD)計算を行った。野生株では NBD556、JRC-II-191 および YYA021 は、いずれも抗 HIV 活性を示す。これらは、MD 計算においても各誘導体の Phe43 キャビティへの結合が認められた。次に、V255M 変異体の MD 計算を行った。V255M 変異体では全ての誘導体が抗 HIV 活性を示さない。MD 計算においても、50 ns までに NBD-556 および YYA021 は既に結合を消失し、結合親和性の減少することが示された。M426I 変異体は、NBD556 および JRC-II-191 は野生株よりも約 10 倍低下の抗 HIV 活性を示すが、YYA021 のみ活性が認められない。この M426I 変異体の MD 計算を行うと、YYA021 のみ 50 ns までに既に結合しておらず、V255M 変異体同様に結合親和性の減少が示唆された。(横山勝、原田恵嘉[エイズセンター]、松下修三[熊本大]、俣野哲朗[エイズセンター]、玉村啓和[東京医科歯科大]、吉村和久[エイズセンター]、佐藤裕徳)

（３）X 線結晶構造解析による HIV-1 Vpr の importin-α への結合機構の解析

Vpr は 96 アミノ酸からなる、HIV-1 のアクセサリー遺伝子産物の一つであり、ウイルスの生活環の様々なステップにおいて多様な機能を発揮する。Vpr のインポーチン α 結合機構を解明するため、X 線結晶構造解析、物理化学的測定および GST プルダウン法等を行った。Vpr とインポーチン α の相互作用領域を決定するためにカロリメトリーを行った。その結果、インポーチン α は Vpr C 末端と結合したが、Vpr N 末端には結合しなかった。GST プルダウン法でも、Vpr C 末端がインポーチン α の結合に必須であることが確認された。Vpr C 末端ペプチドとインポーチン α との複合体結晶の調製に成功し、X 線結晶構造を解析すると、Vpr C 末端はねじれた β ターン構造を形成し、インポーチン α の２量体化を引き起こしつつ、minor-NLS 結合部位に結合することが分かった。一方、Vpr C 末端は、インポーチン α の major-NLS 結合部位にも、異なる立体構造で結合していた。このことは、Vpr が誘導適合機構により構造を変化させ、様々な構造で宿主タンパク質と結合することを示唆している。(宮武秀行[理研]、三城 明[プロテインウエーブ]、村上知行[理研]、村上裕信[理研]、松田 剛[理研]、萩原恭二[理研]、横山 勝、佐藤裕徳、宮本洋一[健康・栄養研]、堂前 直[理研]、間 陽子[理研])

（４）分子動力学計算によるノロウイルスポリメラーゼの動的性質の解析

ノロウイルスはウイルス性食中毒・急性胃腸炎の原因ウイルスである。ノロウイルスの抗ウイルス薬は未だ実用化されていないため、抗ウイルス薬の実用化が望まれている。本研究では、ノロウイルスポリメラーゼを標的とする阻害剤開発のための構造特性情報を得るために、ノロウイルスポリメラーゼの分子動力学計算を行い、機能発現に重要な動的性質を調べた。平衡構造のゆらぎを調べると、いずれも Thumb ドメインのゆらぎが大きく、Palm ドメインのゆらぎが小さかった。それぞれの構造の中で連動して運動する部位を知るために、動的相互相関行列を計算した。いずれにおいても、Thumb ドメインと Fingers ドメインに連動して反対方向に運動している結果が得られた。Thumb ドメインと Fingers ドメインの連動する運動は、これらのドメインの間にテンプレート/プライマーを挟むことから、ホスホジエステル結合形成後に、次の基質を取り込むために重要な動的性質と考えられる。(横山　勝、朴　英斌[ウイルス２部]、片山和彦[ウイルス２部]、佐藤裕徳)

（５）サフォードウイルスの神経系細胞での増殖性に関する研究

サフォードウイルスは、神経病原性が懸念されている。無菌性髄膜炎を発症したサフォードウイルス感染者の脳脊髄液から分離された臨床分離株をマウス小脳で継代し、ゲノムと細胞指向性の変化を調べた。継代株では、カプシド蛋白質のみに３箇所のアミノ酸置換が生じていた。この馴化株の神経系細胞での感染・増殖能をマウス神経前駆細胞、マウスアストログリア細胞、ヒト小脳神経前駆細胞由来 ONS-76 細胞、ヒトアストログリア由来 U-251MG 細胞を用いて調べた。その結果、カプシド蛋白質の３箇所のアミノ酸変異は、マウス、及びヒト由来神経系細胞での感染・増殖能に変化をもたらすことがわかった。(小谷治、横山勝、永田典代[感染病理部]、佐藤裕徳)

（６）*in silico* 構造解析を用いたサフォードウイルスの感染受容体候補探索

糖鎖がサフォードウイルスの感染受容体となりうるか否かを予備的に検討した。ヒト上皮細胞表面に発現する種々の糖鎖構造を構築し、カプシドタンパク質と糖鎖の結合シミュレーションを行った。その結果、VP2 領域には、糖鎖が結合するポケットが存在することが判明した。(小谷治、横山勝、佐藤裕徳)

（７）神経向性ピコルナウイルスカプシド蛋白質の多様性

近年、ヒトピコルナウイルスの一部でヒト神経病原性が懸念されている。ピコルナウイルスのリスク管理と制御を念頭に、Enterovirus A71、Enterovirus D68、Saffold virus の多様性と構造生物学知見の収集を開始した。公共データベースからゲノムおよびアミノ酸情報を収集し、株名、遺伝子型、採取材料、患者の臨床症状、および引用文献を付加したウイルスゲノムデータベースを作成した。データベースを用いてカプシドタンパク質の情報エントロピー値を算出した結果、可変部位は、推定レセプター溝や抗体結合部位近傍に位置することがわかった。免疫逃避の過程で受容体指向性の変化が生じる可能性がある（小谷治、横山勝、佐藤裕徳）

V. バイオテロ・新興再興感染症・薬剤耐性菌対策としての超高速ゲノム解読・解析システムの構築

バイオテロ・新興再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み、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 を構築してきた。本年度は、未だ先進国内において罹患率が高く、世界的にも多剤耐性が問題になっている結核菌のためのゲノム分子疫学解析パイプライン TGS-TB (Total Genotyping Solution for *Mycobacterium tuberculosis* (TB))を構築した。TGS-TB は、ネットワーク経由で操作でき、次世代シークエンサーのゲノム解読データを用いて、薬剤耐性予測、スポリゴタイピング、IS*6100* 挿入位置タイピング、MIRU-VNTR およびゲノム分子系統解析を一度に行い、株間の比較解析をする。ゲノム分子系統解析のみならず、従来使用されていたタイピング法(スポリゴタイピング、IS*6100* 挿入位置タイピング、MIRU-VNTR)も組み込むことで、より詳細な分子疫学解析を行うことが可能となった。集団事例を含む、MIRU-VNTR が同一パターンであった株を用いて解析を行ったところ、ゲノム分子系統解析および IS*6100* 挿入位置タイピング結果により、集団事例株と散発事例を明確に分類することができた。更に、バイオテロ対策として、ネットワーク経由で炭疽菌のゲノム分子疫学解析を行うための情報解析パイプライン Global core Genome SNP Analysis *Bacillus anthracis*: GcoGSA-BA も構築した。

（関塚剛史、山下明史、黒田誠、村瀬良朗[公益財団法人結核予防会結核研究所]、岩本朋忠[神戸市環境保健研究所]、御手洗聡[公益財団法人結核予防会結核研究所]、加藤誠也[公益財団法人結核予防会結核研究所]）

VI. 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

薬剤耐性(AMR)感染症が世界的に拡大しており、2015 年には WHO から AMR グローバルアクションプランが提唱され、サーベイランス・研究を通じた実態把握の強化が急務となっている。これまでに、ゲノムセンターでは所内および所外の研究者との共同研究で、多数の薬剤耐性菌のゲノム解析を行ってきた。それらデータを管理・運用し、且つ、多検体の解析を簡便に行うためのシステム GenEpid-J (Genomics and Epidemiology in Japan)を構築した。GenEpid-J には、臨床・動物・環境由来の多種にわたる細菌のゲノムデータが蓄積されており、今年度までに約 600 株、約 1,700 プラスミド配列を決定し、データベースを作成した。2015 年にコリスチン耐性に関与する新規因子 MCR-1 が中国から報告されたため、上記データベースにて検索したところ、国内で分離された４株の大腸菌と１株のサルモネラ菌が MCR-1 を保有していたことを明らかにした。国内での新規薬剤耐性遺伝子保有細菌の存在を迅速に報告するには、データベースの作成･拡充が非常に重要であることが強く示唆された。(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]、大西守[大西獣医微生物ラボラトリー]、秋庭正人[国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構]、川西路子[農林水産省動物医薬品検査所])

VII. 大規模ゲノム解析のための自動解析パイプラインの開発

細菌ゲノム解析を行う対象種が格段に増え、ゲノム解析を行う業務が多岐に渡ってきた。そのため、次世代シークエンサー(NGS)の解読リードを用いた *de novo* assemble、解析対象サンプルの生物種推定、血清型推定、コンタミネーションの確認、MLST によるタイピング、薬剤耐性遺伝子・病原遺伝子検索、プラスミド検索、遺伝子抽出および遺伝子のアノテーションを全て自動で行うためのパイプライン Automatic Microbial Genome

Annotation (AMiGA)を構築した。AMiGA は GenEpid-J に組み込まれている。全自動化にしたことで、効率良く大規模ゲノム解析が行えるようになった。また、コンタミネーションのチェックが可能になったことで、ゲノム分子系統解析や比較ゲノム解析などの二次解析をさらに効率良く行えるようになった。
(関塚剛史、山下明史、黒田誠)

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深刻化しており、WHO 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が持つ薬剤耐性プラスミドの動向をも把握することが重要である。我々は平成 25 年度から、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円滑に行うことのできるシステム（Global Plasmidome Analyzing Tool: GPAT）と、GPAT 解析結果から得られた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、毎年改良を加えてきた。平成 27 年度は GPAT 中で使用する不和合性タイプ（Inc type）推定データベースの見直しを行い、より詳細な不和合性タイプの推定を可能にした。また、iPAT は従来、GPAT で解析したデータ同士を比較する目的で作成されていたが、GPAT 以外で作成したデータを解析する必要性が出てきたため、GPAT とは独立したアプリケーションとして open iPAT をスピンアウトさせた。
（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

IX. 院内感染事例に係る薬剤耐性細菌の比較ゲノム解析

国内で発生した院内感染事例由来分離株の比較ゲノム解析を行った。これら解析の一部は、GenEpid-J 上で解析を行った。分離日の時系列に合わせてゲノム上に塩基置換が段階的に数カ所ずつ入る事例と、時系列に添わず、菌株間で多数の塩基置換が確認される事例が確認された。時系列と塩基置換数との相関は、原因となる耐性菌が近い過去で蔓延したのか、長期間に渡り蔓延していたかに関与する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])

X. 集団食中毒事例に係る病原細菌の比較ゲノム解析

2011 年に富山県、福井県および神奈川県で腸管出血性大腸菌（EHEC）血清型 O111 を中心とする重症化の傾向が高い集団食中毒事例が発生した。本事例分離菌株の特徴を俯瞰的かつ包括的にゲノムレベルで解明するため、本事例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た。Illumina 社および Pacific Biosciences 社の２種類の次世代シークエンサーを用いたことで、効率良く完全長全ゲノム配列を決定することができた。上記完全長配列を用いた解析により、重症患者由来 EHEC に特徴的な遺伝子が Stx2 prophage 上に存在することが示唆された。
（関塚剛史、黒田 誠、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]）

XI. 難治性腸疾患患者の腸内細菌フローラの網羅解析

難治性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎（UC）は、個有の遺伝的背景と腸内細菌叢が密接に関連して発症する事が示唆されている。三種の抗菌剤（アモキシシリン／テトラサイクリン若しくはホスホマイシン／メトロニダゾール）を二週間投薬するだけで、その疾患が１年以上緩解する治療例が報告されている。しかしながら、その患者腸管内の膨大な細菌叢の中で、どの細菌が最もその疾患と相関するのかは不明である。本研究では、UC発症の環境要因となる細菌叢を抗菌剤治療前後でメタゲノム解析を行い、本疾患と密接に関連する細菌の探索を行なった。UC患者61名の治療前、治療後の腸内フローラの比較解析を横断的に行った。その結果、抗菌剤治療前では*Bacteroides*属と*Clostridiales*が多い群および*Proteobacteria*と*Clostridiales*が多い群が存在し、治療後で*Bifidobacterium*と*Lactobacillus*が有意に上昇していた。一方、再燃寛解を繰り返す患者では、治療によって*Bacteroides*属と*Clostridiales*が減少していなかった。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後の比較ゲノム解析により、本菌株は、基準株である*F. varium* ATCC株よりも多数の病原性に関与すると思われる遺伝子が存在していることが明らかとなった。　（関塚剛史、黒田　誠）

XII. 次世代シークエンスデータからウイルス配列を構築するシステムの開発

近年、塩基配列決定技術は著しい発展をしており、患者由来の臨床サンプルから次世代シークエンサーを用いて

病原体を検出することは珍しくなくなってきている。このため、次世代シークエンサーを用いた病原体の検出は今後ますます一般化してゆくものと思われる。次世代シークエンサーを用いて病原体ウイルスを検出した場合、そのウイルスの完全長配列を再構築し、系統関係や性質を調べることは疫学上重要である。しかしながら、次世代シークエンサーを用いて検出した病原体ウイルスの配列断片から全長配列を再構築するには高価なソフトウエアを使うか、コンピュータ上で複雑なコマンド操作をする必要があるなどの問題により一般化していない。そこで我々は、ブラウザ経由で次世代シークエンスデータからウイルス全長配列を再構築するシステム（Virus Genome-Targeted Assembly Pipeline: VirusTAP）を構築した。VirusTAP は入力された次世代シークエンスデータから品質の悪い部分やウイルス以外の配列を取り除いた後、配列アセンブルを行い、ウイルス全長配列を推定するソフトウエアである。VirusTAP はまた、再構築した配列を公共塩基配列データベース（NCBI NT）と相同性検索を行い、ウイルス種を推定することができる。さらに、再構築した配列に入力データをマッピングし、再構築した配列が正しいかどうか評価を行うことができる。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

XIII. デングウイルス遺伝子型データベースおよびブラウザアプリの開発

地球温暖化に伴う蚊の生息域拡大に伴い、従来熱帯地域からの輸入感染症であったデング熱などの感染症が日本国内でも蔓延する可能性が懸念されている。実際、2014 年にはデング熱の国内感染症例が 70 年ぶりに国内で報告された。デングウイルスは 4 つの血清型が知られており、それぞれの血清型は 5-6 種類の遺伝子型に分類することができる。デングウイルスの 4 つの血清型は地域分布に特徴を持たないが、遺伝子型は地域により特徴的な分布を示すため、感染源推定の重要な手掛かりになると考えられる。一方、デングウイルスの血清型は公共データベース（NCBI 等）を参照することで容易に判別することができるが、遺伝子型について最新の情報を提供しているサイトは Virus Pathogen Database and Analysis Resource (ViPR) のみが知られている。しかしながら ViPR では遺伝子型と地域的な分布との関係を知ることができないため、我々は最新の公共データベースから取得したデングウイルス配列を遺伝子型ごとに分類し、世界地図上にその分布を示す web アプリケーション Dengue Genographic Viewer (DGV) を開発した。DGV はデングウイルスの遺伝子型分布を地図上に示すだけでなく、相同配列検索機能や日本への輸入症例の図示機能も備えており、上で紹介した VirusTAP と組み合わせて使用することにより、輸入症例ウイルスの起源推定や、国内感染症例かどうかを判断する助けになることが期待される。　（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

XIV. 原因不明脳炎症例における網羅配列解読・病原体データベースの作成

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 23 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（P45-P89, 45 症例のうち 7 症例は NGS 検査前に当該病原体が確定、15 症例は RNA 分解等で不適当な臨床検体であったため NGS 検査未実施)。それぞれの患者髄液から Human astrovirus MLB-1, HHV-3, 細菌等の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 parainfluenzavirus 4, Human parechovirus 6, Saffold virus 2 を検出し､呼吸器感染症の増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。Enterovirus 等を起因病原体として疑う場合、便検体の検査は有効である。

（黒田誠､関塚剛史､片野晴隆[感染病理部]､高崎智彦[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　巖、黒田　誠)

HPV ワクチンの承認前検査

承認申請された新規 9 価 HPV ワクチンの承認前検査を製剤担当室として担当した。感染研にて実施する試験項目を選定して、メーカーから試験品の提供を受け、試験方法の妥当性について検討を行った。（石井克幸、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 DNA proficiency panel study に参加し、タイピング結果を WHO に報告した。その結果、信頼性のあるリファレンスラボとして認定を受けた。（中村浩美、石井克幸、柊元　巌）

発 表 業 績 一 覧

I.　I. 誌 上 発 表

1.　欧文発表

1) I. Kukimoto, and M. Muramatsu. Genetic variations of human papillomavirus type 16: implications for cervical carcinogenesis. ***Japanese Journal of Infectious Diseases,*** 68:169-175 (2015)

2) I. Kukimoto, S. Mori, S. Aoyama, K. Wakae, M. Muramatsu, and K. Kondo. Hypermutation in the E2 gene of human papillomavirus type 16 in cervical intraepithelial neoplasia. ***Journal of Medical Virology***, 87:1754-1760 (2015)

3) K. Wakae, S. Aoyama, Z. Wang, K. Kitamura, G. Liu, A. M. Monjurul, M. Koura, M. Imayasu, N. Sakamoto, M. Nakamura, S. Kyo, S. Kondo, H. Fujiwara, T. Yoshizaki, I. Kukimoto, K. Yamaguchi, S. Shigenobu, T. Nishiyama, and M. Muramatsu. Detection of hypermutated human papillomavirus type 16 genome by Next-Generation Sequencing. ***Virology,*** 485:460-466 (2015)

4) Miyakawa K, Matsunaga S, Kanou K, Matsuzawa A, Morishita R, Kudoh A, Shindo K, Yokoyama M, Sato, H, Kimura H, Tamura T, Yamamoto N, Ichijo H, Takaori-Kondo A, Ryo A. ASK1 restores the antiviral activity of APOBEC3G by disrupting HIV-1 Vif-mediated counteraction. ***Nat. Commun.***, 6:6945, 2015.

5) Lim HW, Kang SG, Ryu JK, Schilling B, Fei M, Lee IS, Kehasse A, Shirakawa K, Yokoyama M, Schnölzer M, Kasler HG, Kwon HS, Gibson BW, Sato, H, Akassoglou K, Xiao C, Littman DR, Ott M, Verdin E. SIRT1 deacetylates RORγt and enhances Th17 cell generation. ***J. Exp. Med.***, 212(5):607-617, 2015.

6) Lu Z, Yokoyama M, Chen N, Oka T, Jung K, Chang KO, Annamalai T, Wang Q, Saif LJ. Mechanism of cell culture adaptation of an enteric calicivirus, porcine sapovirus Cowden strain. ***J. Virol.***, 90(3):1345–1358, 2016.

7) Yokoyama M, Nomaguchi M, Doi N, Kanda T, Adachi A, Sato, H. *In silico* Analysis of HIV-1 Env-gp120 Reveals Structural Bases for Viral Adaptationin Growth-Restrictive Cells. ***Front. Microbiol.*** 7:110, 2016.

8) Sultana T, Nakayama EE, Tobita S, Yokoyama M, Seki Y, Saito A, Nomaguchi M, Adachi A, Akari H, Sato, H, Shioda T. Novel mutant HIV-1 strains with high degree of resistance to cynomolgus macaque TRIMCyp generated by random mutagenesis. ***J. Gen. Virol.***, 97(4):963-76, 2016.

9) Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Sato Y, Nakajima N, Koike S, Iwasaki T, Sata T, Yamashita T, Minagawa H, Taguchi F, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Establishment of a panel of in-house polyclonal antibodies for the diagnosis of enterovirus infections. ***Neuropathology***. 35(2):107-21, 2015.

10) Kataoka C, Suzuki T, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ami Y, Wakita T, Nishimura Y, Shimizu H. The Role of VP1 Amino Acid Residue 145 of Enterovirus 71 in Viral Fitness and Pathogenesis in a Cynomolgus Monkey Model. ***PLoS Pathog***. 16;11(7):e1005033, 2015.

11) Kotani O, Naeem A, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Nakajima N, Hosomi T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Neuropathogenicity of Two Saffold Virus Type 3 Isolates in Mouse Models. ***PLoS One***. 11(2):e0148184, 2016.

12) Satowa Suzuki, Mamoru Ohnishi, Michiko Kawanishi, Masato Akiba and Makoto Kuroda Investigation of a plasmid genome database for colistin-resistance gene *mcr-1*. ***Lancet Infect Dis***. 16(3):284-285, 2016

13) Akifumi Yamashita, Tsuyoshi Sekizuka and Makoto Kuroda. VirusTAP: Viral Genome-Targeted Assembly Pipeline. ***Front. Microbiol***. 7:32 2016.

14) Tsuyoshi Sekizuka, Akifumi Yamashita, Yoshiro Murase, Tomotada Iwamoto, Satoshi Mitarai, Seiya Kato and Makoto Kuroda. TGS-TB: Total Genotyping Solution for *Mycobacterium tuberculosis* Using Short-Read

Whole-Genome Sequencing. ***PLoS One.*** 10(11):e0142951, 2015.

15) Akiko Kinumaki, Tsuyoshi Sekizuka, Hiromichi Hamada, Kengo Kato, Akifumi Yamashita and Makoto Kuroda. Characterization of the gut microbiota of Kawasaki disease patients by metagenomic analysis. ***Front Microbiol***. 6:824, 2015.

16) Bin Chang, Akiyoshi Nariai, Tsuyoshi Sekizuka, Yukihiro Akeda, Makoto Kuroda, Kazunori Oishi and Makoto Ohnishi. Capsule Switching and Antimicrobial Resistance Acquired during Repeated *Streptococcus pneumoniae* Pneumonia Episodes. ***J Clin Microbiol.*** 53(10):3318-3324, 2015.

17) Tohru Daikoku, Yukari Oyama, Misako Yajima, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Yuka Shimada, Kazuhiko Takehara, Naoko Miwa, Tomoko Okuda, Tetsutaro Sata and Kimiyasu Shiraki. Identification of ribonucleotide reductase mutation causing temperature-sensitivity of herpes simplex virus isolates from whitlow by deep sequencing. ***Clin Case Rep.*** 3(6):461-7, 2015.

18) Hirokazu Kimura, Mika Saitoh, Miho Kobayashi, Haruyuki Ishii, Takeshi Saraya, Daisuke Kurai, Hiroyuki Tsukagoshi, Komei Shirabe, Atsuyoshi Nishina, Kunihisa Kozawa, Makoto Kuroda, Fumihiko Takeuchi, Tsuyoshi Sekizuka, Hisanori Minakami, Akihide Ryo and Makoto Takeda. Molecular evolution of haemagglutinin (H) gene in measles virus. ***Sci Rep.*** 5:11648, 2015.

19) Fumihiko Takeuchi, Tsuyoshi Sekizuka, Yumiko Ogasawara, Hiroshi Yokoyama, Ryoma Kamikawa, Yuji Inagaki, Tomoyoshi Nozaki, Yoshiko Sugita-Konishi, Takahiro Ohnishi and Makoto Kuroda. The Mitochondrial Genomes of a Myxozoan Genus *Kudoa* are Extremely Divergent in Metazoa. ***PLoS One.*** 10(7):e0132030, 2015

20) Fumihiko Takeuchi, Yumiko Ogasawara, Kengo Kato, Tsuyoshi Sekizuka, Tomoyoshi Nozaki, Yoshiko Sugita-Konishi, Takahiro Ohnishi and Makoto Kuroda. Genetic variants of *Kudoa septempunctata* (Myxozoa: Multivalvulida), a flounder parasite causing foodborne disease. Journal of Fish Diseases. 667-72, 2016

21) Akifumi Yamashita, Tsuyoshi Sekizuka and Makoto Kuroda. GcoGSA-BA: A Global Core Genome SNP Analysis for *Bacillus anthracis*. ***Health Security***. 13(1) 64-68, 2015.

22) Ken-ichi Lee, Masahiro Kusumoto, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Ikuo Uchida, Taketoshi Iwata, Susumu Okamoto, Kimiko Yabe, Takashi Inaoka and Masato Akiba. Extensive amplification of GI-VII-6, a multidrug resistance genomic island of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, increases resistance to extended-spectrum cephalosporins. ***Front Microbiol.*** 6:78, 2015

23) Shinichiro Shibata, Tsuyoshi Sekizuka, Akari Kodaira, Makoto Kuroda, Kei Haga, Yen Hai Doan, Reiko Takai-Todaka, Kazuhiko Katayama, Takaji Wakita, Tomoichiro Oka and Hiroyuki Hirata. Complete Genome Sequence of a Novel GV.2 Sapovirus Strain, NGY-1, Detected from a Suspected Foodborne Gastroenteritis Outbreak. ***Genome Announc.*** e01553-14, 2015

24) Kouji Sakai, Tsuyoshi Sekizuka, Yasushi Ami, Noriko Nakajima, Minori Kitazawa, Yuko Sato, Katsuhiro Nakajima, Masaki Anraku, Toru Kubota, Katsuhiro Komase, Kazuaki Takehara, Hideki Hasegawa, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Makoto Kuroda and Makoto Takeda. 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.*** 5154-5158, 2015

25) Makoto Kuroda, Shoichi Niwa, Tsuyoshi Sekizuka, Hiroyuki Tsukagoshi, Masaru Yokoyama, Akihide Ryo, Hironori Sato, Naoko Kiyota, Masahiro Noda, Kunihisa Kozawa, Komei Shirabe, Takashi Kusaka, Naoki Shimojo, Shunji Hasegawa, Kazuko Sugai, Masatsugu Obuchi, Masato Tashiro, Kazunori Oishi, Haruyuki Ishii and Hirokazu Kimura. Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C. ***Sci Rep***. 5:8185, 2015.

26) Nagasawa K, Hirano E, Kobayashi M, Ryo A, Oishi K, Obuchi M, Ishiwada N, Noda M, Kuroda M, Shimojo N, Kimura H. Molecular evolution of the hypervariable region of the attachment glycoprotein gene in human respiratory syncytial virus subgroup B genotypes BA9 and BA10. ***Infect Genet Evol.*** 2015 Dec;36:217-23. doi: 10.1016/j.meegid.2015.09.020. Epub 2015 Sep 25. PubMed PMID: 26408340.

27) Kobayashi M, Yoshizumi S, Kogawa S, Takahashi T, Ueki Y, Shinohara M, Mizukoshi F, Tsukagoshi H, Sasaki Y, Suzuki R, Shimizu H, Iwakiri A, Okabe N, Shirabe K, Shinomiya H, Kozawa K, Kusunoki H, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the Capsid Gene in Norovirus Genogroup I. ***Sci Rep***. 2015 Sep 4;5:13806. doi: 10.1038/srep13806. PubMed PMID:

26338545; PubMed Central PMCID: PMC4559769.

2. 和文発表

1) 黒田誠　薬剤耐性プラスミドの菌株間伝達や菌種間伝達を考慮したアウトブレイク発生時のプラスミド解析　「化学療法の領域」７月号　（2015 年 6 月）

2) 黒田誠　ウイルス分野における次世代 DNA シーケエンサーの活用　「臨床とウイルス」特集号　43/3　2015 年 7 月号（2015 年 7 月）

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) I. Kukimoto, K. Kondo, M. Muramatsu, and S. Mori. Hypermutation in the *E2* gene of HPV16 in cervical intraepithelial neoplasia. DNA Tumour Virus Meeting（2015 年 7 月、トリエステ）

2) K. Wakae, M. Nakamura, S. Kondo, H. Fujiwara, T. Yoshizaki, I. Kukimoto, T. Nishiyama, and M. Muramatsu. Next generation sequencing detects APOBEC3 mediated hypermutation in human papillomavirus type 16 genome in vivo. DNA Tumour Virus Meeting（2015 年 7 月、トリエステ）

3) A. Taguchi, K. Nagasaka, K. Kawana, H. Nakamura, K. Hashimoto, S. Kato, R. Kusumoto-Matsuo, K. Oda, C. Plessy, I. Kukimoto, P. Carninci, L. Banks, Y. Osuga, and T. Fujii. Characterization of novel antisense RNAs of HPV16 genome and the possibility of clinical application as a diagnostic biomarker. DNA Tumour Virus Meeting（2015 年 7 月、トリエステ）

4) S. Mori, T. Takeuchi, Y. Ishii, and I. Kukimoto. Mechanisms of *APOBEC3B* promoter activation by HPV16 E6. 30th International Papillomavirus Conference（2015 年 9 月、リスボン）

5) T. Fujii, A. Ohwaki, M. Saito, T. Iwata, I. Kukimoto, H. Sato, O. Takayuki, and T. Yutaka. How do we treat and care the patient with multiple primaries followed with a recurrent anogenital cancer? : a case report. 30th International Papillomavirus Conference（2015 年 9 月、リスボン）

6) K. Nagasaka, A. Taguchi, K. Kawana, K. Hashimoto, C. Plessy, H. Nakamura, M. Thomas, K. Oda, I. Kukimoto, P. Carninci, L. Banks, Y. Osuga, and T. Fujii. A new approach for screening cervical cancer by characterization of transcripts using CAGE technology. ASCO Annual Meeting（2015 年 6 月、シカゴ）

7) Y. Masuda, I. Kukimoto, C. Masutani. Mechanism of Lysine 48-linked Multiple Ubiquitin Chain Synthesis by an HECT Ubiquitin Ligase. EMBO Conference on Ubiquitin and ubiquitin-like modifiers: From molecular mechanisms to human diseases（2015 年 9 月、 サブタット・クロアチア）

8) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yokoyama M, Sato, H, Miura T, Koyanagi Y, Matano T. Viral genome mutations resulting in escape from protective MHC-I-associated $CD8^+$ T cells can be maintained after multiple SIV transmissions among MHC-I-mismatched macaques. 33rd Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. October 13 – 16, 2015, Monterey, CA, USA.

9) Harada S, Yokoyama M, Matsushita S, Sato, H, Matano T, Yoshimura K. Molecular Dynamics of the CD4-Mimetic Resistant HIV-1 Gp120 by MD Simulation. The 2016 Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), Boston, Massachusetts, USA, 2016.

10) Sultana T, Nakayama E, Tobita S, Yokoyama M, Seki Y, Saito A, Nomaguchi M, Adachi A, Akari H, Sato, H, Shioda T. Novel mutant HIV-1 strains with high degree of resistance to cynomolgus macaque TRIMCyp generated by random mutagenesis. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). February 22 -25, 2016, Boston, USA.

11) Akifumi Yamashita, Tetsuya Sakamoto, Tsuyoshi Sekizuka, and Makoto Kuroda, Geographical view of dengue genotype distribution. DENGUE SURVEILLANCE: INFORMATION-SHARING AMONG ASIAN COUNTRIES FOR A BETTER PREPARED REGION (2015 年 9 月 国立感染症研究所)

12) Tsuyoshi Sekizuka, Akifumi Yamashita, Yoshiro Murase, Tomotada Iwamoto, Satoshi Mitarai, Seiya Kato, Makoto Kuroda. TGS-TB: Total Genotyping Solution for *Mycobacterium tuberculosis* using short-read whole-genome sequencing. 1st ASM Conference on Rapid NGS Bioinformatic Pipelines for Enhanced Molecular Epidemiologic Investigation of Pathogens (2015 年 9 月 アメリカ・ワシントン DC)

13) Tsuyoshi Sekizuka, Akifumi Yamashita, Makoto Kuroda. TGS-TB: Total Genotyping Solution for *Mycobacterium tuberculosis* using short-read whole-genome sequencing. 8th Meeting on Global Microbial Identifier (GMI) (2015 年 5 月 中国・北京)

2. 国内学会

1) I. Kukimoto, S. Mori, and K. Kondo. Hypermutation in the *E2* gene of HPV16 in cervical intraepithelial neoplasia. 第74回日本癌学会学術総会（2015年10月、名古屋）

2) A. Taguchi, K. Nagasaka, K. Kawana, H. Nakamura, I. Kukimoto, K. Oda, and T. Fujii. The significance of the existence of novel HPV16 derived antisense RNAs and the TSS-switch of HPV16 transcriptomes. 第74回日本癌学会学術総会（2015年10月、名古屋）

3) 石井克幸、森　清一郎、竹内隆正、柊元　巖、The L2 capsid protein of HPV16 promotes viral uncoating by inhibiting virus entry into the Golgi body through the L2-TRAPPC8 interaction. 第68回日本ウイルス学会学術集会(2015年11月、福岡)

4) 柊元　巖、森　清一郎、ヒトパピローマウイルス癌蛋白質 E6 による APOBEC3B プロモーター活性化の分子機構、第14回生命科学研究会(2015年6月、三崎)

5) 増田雄司、柊元　巖、益谷央豪、HECT タイプユビキチンリガーゼによる K48 ユビキチン鎖合成の分子機構 第 38 回日本分子生物学会年会/第 88 回日本生化学会大会合同大会（2015年12月、神戸）

6) 石井克幸、森　清一郎、竹内隆正、柊元　巖、ヒトパピローマウイルス生活環におけるキャプシドタンパク質L2と細胞内タンパク質TRAPPC8との相互作用の役割、第38回日本分子生物学会年会/第88回日本生化学会大会合同大会(2015年12月、神戸)

7) 大脇晶子、石井梨沙、河合智之、市川亮子、鳥居裕、西尾永司、西澤春紀、山本直樹、柊元　巖、斎藤深雪、岩田　卓、藤井多久磨、肛門管癌治療後に外陰・膣・子宮頸部に腫瘍が発生し、治療に苦慮した肛門性器癌の1例、第53回日本癌治療学会学術集会（2015年10月、京都）

8) 佐藤裕徳.　コンピュータ科学が HIV を追いつめる―HIV Gag 研究班の取り組み―シンポジウム 5（基礎）ウイルス標的：持続感染・潜伏感染. 第29回日本エイズ学会学術集会・総会,　2015年12月1日（火）、東京（東京ドームホテル）.

9) 横山勝、朴　英斌、片山和彦、佐藤裕徳. 分子動力学計算によるノロウイルスポリメラーゼの動的性質の解析. 第63回日本ウイルス学会学術集会. 2015年11月22-24日（日-火）、福岡.

10) 横山勝、佐藤裕徳.　抗体中和抵抗性gp120 構造を維持するGlycan shield の分子メカニズム.　第29回日本エイズ学会学術集会・総会,　2015年12月1日（火）、東京（東京ドームホテル）.

11) 横山勝、佐藤裕徳. HIV-1 gp120 における Glycan shieldの分子メカニズム. 第38回日本分子生物学会年会･第88回日本生化学会大会 合同大会(BMB2015), 神戸, 2015.

12) 小谷治、横山勝、鈴木忠樹、岩田奈織子、長谷川秀樹、清水博之、佐藤裕徳、永田典代. A molecular mechanism of adaptive evolution of Saffold virus type 3 in cerebellum of mouse（サフォードウイルス3型のマウス小脳馴化の分子機構）.　第63回日本ウイルス学会学術集会. 2015年11月22-24日（日-火）、福岡.

13) 本村和嗣、横山勝、中村浩美、岡智一郎、片山和彦、野田衛、田中智之、武田直和、佐藤裕徳、Norovirus Surveillance Group of Japan（ノロウイルスGII.4_2006bとGII.4_Sydney2012亜株におけるカプシド蛋白質の多様性と進化の比較）. 第89回日本感染症学会総会・学術講演会. 2015年4月16-17日（木～金)、京都（国立京都国際会館）.

14) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yokoyama M, Sato H, Miura T, Koyanagi Y, Matano T. Accumulation of viral genome mutations in multiple SIV transmissions.第63回日本ウイルス学会学術集会. 2015年11月22-24日（日-火)、福岡.

15) 朴英斌、戸高玲子、芳賀慧、下池貴志、福士秀悦、染谷雄一、横山勝、佐藤裕徳、河合文啓、朴三用、片山和彦. Functional Analysis of Human Norovirus RNA-dependent RNA Polymerase. 第63回日本ウイルス学会学術集会. 2015年11月22-24日（日-火)、福岡.

16) 山田祥平、小谷治、 岩田奈織子、長谷川秀樹、清水博之 永田典代。The pathogenesis of a Saffold virus isolate from upper respiratory inflammation in a mouse model（マウスモデルにおけるSaffold virus上気道炎株の病原性）. 第63回日本ウイルス学会学術集会（2015年11月、福岡）

17) 永田典代、潮田和佳、中村朋史、飯塚節子、小谷治、岩田奈織子、清水博之、長谷川秀樹。Utility of a neonatal mouse model for studying coxsackievirus B2. 新生仔マウスを用いたコクサッキーウイルスB2の病原性評価の有用性. 第63回日本ウイルス学会学術集会（2015年11月、福岡）

18) 宮武秀行、三城明、村上知行、村上裕信、松田剛、萩原恭二、横山勝、佐藤裕徳、宮本洋一、堂前直、間陽子.X 線結晶構造解析によるHIV_1 Vpr の importin_α への結合機構の解析. 第29回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015年12月1日（火)、東京（東京ドームホテル）.

19) 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. CXCR4 阻害剤耐性変異が中和抗体感受性に及ぼす影響の解析. 第29回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015年12月1日（火)、東京（東京ドームホテル）.

20) 原田恵嘉、横山勝、佐藤裕徳、松下修三、俣野哲朗、玉村啓和、吉村和久. CD4 類似低分子化合物誘導体（CD4MCs）の耐性機序解析. 第 29 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2015 年 12 月 1 日（火)、東京（東京ドームホテル）.

21) 岡智一郎、高木弘隆、横山勝、小島宏建、岡部隆義、長野哲雄、佐藤裕徳. ネコカリシウイルスプロテアーゼの基質特徴を有する非ペプチド性低分子化合物の抗ウイルス活性. 日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016.

22) 杉由高、長谷川紀子、山下明史、関塚剛史、黒田誠。*Streptococcus intermedius* のマウス皮下膿瘍における転写調節機構。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 月）

23) 李謙一、石原朋子、伊豫田淳、小椋義俊、林哲也、関塚剛史、黒田誠、大西真、Working Group EHEC。全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 O121 の散在的集団感染事例の解析。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 月）

24) 仙波敬子、山下まゆみ、園部祥代、横山栄二、関塚剛史、調恒明、黒田誠、四宮博人。患者及び食材から分離された *Salmonella* Infantis 株の次世代シークエンサーによるゲノム系統解析。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 月）

25) 加藤健吾、関塚剛史、稲嶺由羽、山下明史、黒田誠。急性膀胱炎の起因菌 *Staphylococcus saprophyticus* 分離株におけるゲノムアイランド SCC の構造比較解析。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 月）

26) 秋庭正人、関塚剛史、山下明史、黒田誠、李謙一、岩田剛敏、楠本正博、Keerthi Guruge。インドの環境由来β-ラクタム系抗生物質耐性大腸菌における耐性遺伝子の分布。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 月）

27) 関塚剛史、山下明史、村瀬良朗、岩本朋忠、御手洗聡、加藤誠也、黒田誠。次世代シークエンスリードによる結核菌ゲノム分子疫学解析ツール。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 月）

28) 今村大輔、森田昌知、関塚剛史、水野環、竹村太地郎、山城哲、三好伸一、黒田誠、大西真、篠田純男。コルカタにおける 2007-2014 年コレラ流行株の全ゲノム解析によって明らかになった VSP-II の変化。第 88 回日本細菌学会（大阪市, 2016 年 3 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海外情報の収集機能の強化、東アジア地域を包括したサーベイランス網の活性化と技術支援および WHO 世界インフルエンザ監視対応機構の運営への参画、及びワクチン製剤の品質管理体制の維持と改善などをめざして、平成 21 年 4 月 1 日に 6 室体制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 27 年 4 月 1 日付けで桑原朋子が任期付研究員に採用された。また、相内章主任研究官が感染病理部に配置換となった。平成 27 年 4 月 13 日付で岸田典子主任研究官が育児休業より職務復帰した。

研究開発業務としては、インフルエンザワクチン株に採用できる発育鶏卵分離株の確保および鶏卵馴化による抗原変異を克服するウイルスの検索に関する研究、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 H7 亜型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、新型ウイルス発生時にヒト型レセプター親和性の程度を簡便に評価できる測定系の構築を行った。

流行動向調査（サーベイランス）およびレファレンス業務では、地衛研、感染症疫学センターと連携して、国内および周辺諸国から流行株を収集し、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 27 年度のワクチン株の選定を行った。また、改正感染症の施行に先駆けて、第 3 回目の 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。これは H28 年度から国の事業として継続的に実施される各病原体の外部精度管理事業の基盤となり、国の流行予測事業への直接的な貢献となった。さらに、ウイルスサーベイランスに必須な全国地衛研におけるウイルス分離技術の改善への指導、助言を開始し、ウイルス分離技術の外部精度管理試験の事業化へ向けた取り組みに着手した。

インフルエンザワクチンに関する研究業務としては、細胞培養法による季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けて、ワクチンシードウイルス分離用の品質管理された MDCK 細胞（NIID－MDCK）の新規開発、その製造株の供給と適性を評価する体制整備（製造用シードウイルスの作製法、高増殖性母体ウイルスの開発、安定供給戦略の企画、迷入ウイルス検出などシードウイルスの品質確保のための試験系の確立）を国内ワクチンメーカー、厚労省と共同で進めた。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。さらに、平成 27 年度から導入される 4 価ワクチンの力価を正確に測定するための手法見直しと評価法の策定を行った。また、新型インフルエンザ対策として国家備蓄されている H5N1 プレパンデミックワクチンの株選定および今後の備蓄戦略の再検討のために、備蓄 H5N1 ワクチンで誘導されるヒト血清抗体の交差反応性の評価成績を厚生科学審議会へ提供した。

国際協力では、新たな WHO パンデミックインフルエンザ基本構想（PIP-Framework）に基づく世界インフルエンザ監視対応体制（GISRS）の基幹である WHO インフルエンザ協力センターとして、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会議、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（ベトナム、モンゴルなど）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。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから 6 年が経過し、研究業務およびセンター通常業務を円滑に推進し、センター機能を強化するため、適正な人材の確保、現有若手研究者の育成法の見直しなども重点課題となっている。

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. 北海道内で地域流行を起こした抗インフルエンザ薬耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状解析

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地域流行を起こしたオセルタミビル・ペラミビル耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状解析を行った。その結果、すべての耐性ウイルスは NA 蛋白質に、H275Y 耐性変異に加えて V241I および N369K 変異をもち、感受性ウイルスと同等の増殖・伝播能をもつことが示された。一方で N386K 変異によって耐性ウイルスの NA 蛋白質の安定性が低下しており、感受性ウイルスの感染拡大に伴って耐性ウイルスの流行が終息したと推測された。[高下恵美、木曽真紀*、藤崎誠一郎、横山　勝**、中村一哉、白倉雅之、佐藤裕徳**、菅原裕美、佐藤彩、小田切孝人、河岡義裕*、田代眞人：*東京大学医科学研究所、**病原体ゲノム解析センター]

2. インドで大流行を起こした A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状解析

2014 年 12 月からインドで大流行を起こした A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状を知るために、インド滞在中に感染し日本帰国後に発症した患者から分離された A(H1N1)pdm09 ウイルスについて性状解析を行った。その結果、インド由来株は HA 蛋白質および NA 蛋白質に特徴的な変異をもつことが明らかになったが、病原性に関わる変異は認められなかった。また、抗原性はワクチン株と類似しており、抗インフルエンザ薬に対しても感受性を保持していた。[高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、大宮　卓*、佐藤　光*、伊藤洋子*、千葉ふみ子*、西村秀一*、進藤静生**、菅原裕美、佐藤　彩、小川理恵、三浦秀佳、秋元未来、渡邉真治、小田切孝人：*仙台医療センター、**しんどう小児科]

3. A/Saitama/103/2014 (H3N2)インフルエンザウイルスの性状解析

近年、H3N2 ウイルスを鶏卵で分離すると、HA の抗原部位に変異が入るため抗原性が変化し、流行株とワクチン株の抗原性が乖離する現象が起きている。これは、ワクチン株を選定する際の大きな問題となっている。本研究では、ワクチン候補株として分離した A/Saitama/103/2014 (H3N2)株（埼玉株）に着目した。このウイルスは、鶏卵で 8 代（羊膜腔で 4 代、漿尿膜腔で 4 代）継代したところ、細胞分離の埼玉株と比較して、NA に 10 ヶ所の変異を持っていた。一方で、HA には抗原部位ではない場所の 1 ヶ所にしか変異を持っていなかった。このウイルスのフェレット抗血清を作製し、流行株との反応性を調べたところ、現行のワクチン株よりも流行株と高い反応性を示した。これは、鶏卵分離埼玉株では、HA の抗原部位に変異が入らなかったためと考えられる。今後、リバースジェネティクス法で組換えウイルスを作製し、鶏卵分離埼玉株の NA の変異に関して、その意義について検証する。[桑原朋子、中村一哉、岸田典子、白倉雅之、藤崎誠一郎、高下恵美、高橋　仁、秋元未来、小川理恵、佐藤　彩、三浦秀佳、菅原裕美、信澤枝里、渡邉真治、小田切孝人]

4. 動物由来インフルエンザウイルスのレセプター結合特異性に関する研究

現在、主に東南アジアや中近東では高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。さらに、2013 年に発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスは、季節に応じて発生と消失を繰り返している。このような背景から、迅速かつ的確にウイルスの詳細な性状解析を実施し、ヒトへの感染リスク評価を実施することは、重要な意義を持つと考えられる。本研究では、動物由来インフルエンザウイルスのリスク評価のため、合成シアロ糖鎖ポリマーを用いたレセプター結合特異性実験を試みた。その結果、ウイルスのレセプター特異性を簡便に判定することが可能となった。今後、ウイルスの遺伝子解析、抗原性解析に加え、レセプター結合特異性を含めた継続的な動物由来インフルエンザウイルスのサーベイランスを実施することが重要であると考えられる。[白倉雅之、鈴木康夫*、小田切孝人、渡邉真治：*中部大学]

5. 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 73 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 3 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、小田切孝人]

6. 呼吸器感染症ウイルス群の核酸検出系の構築

核酸増幅法として知られている RT-LAMP 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ライノウイルス A 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 法を用いたライノウイルス A 型検出系は、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]

7. 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い、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を確認している。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い、精製抗体を標識して、サンドイッチ ELISA 系の構築を試みたところ、H1pdm、H3 および H5 HA 蛋白質には反応せず、H7 HA 蛋白質を特異的に検出可能な抗体の組み合わせを得ることができた。この抗体を用いた迅速診断キットの構築を進めている。[高橋　仁、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山　努]

8. Direct RT-LAMP 法を用いた A 型インフルエンザウイルス亜型同定および B 型インフルエンザウイルス系統識別キットの構築

これまで分離したインフルエンザウイルスの型・亜型・系統の同定には HI 法が用いられてきた。HI 法は安価ではあるが、抗血清が必要で手技が煩雑で判定までに時間がかかる。一方 Direct RT-LAMP 法は、ウイルス分離上清を抽出試薬で希釈した液を、乾燥化した試薬に混合し 30 分間等温反応を行うことで、型・亜型・系統を同定することが可能である。これまで当室で構築してきた検出系を 8 連チューブに固相化し、インフルエンザウイルスの型・亜型・系統の同定の迅速化についての検討を行

った。[高山郁代、中内美名、影山　努]

9. Antigen-capture ELISA を用いたインフルエンザウイルスエアロゾルを安全に測定する新規方法

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、昨年度、インフルエンザウイルスの粒子エアロゾルを定量するための、ペプチド抗体による M1 蛋白を標的とした antigen-capture ELISA を構築した。本 ELSIA 系では、試験ウイルス PR8 株の粒子量に対する容量反応性の直線性や定量再現性は良好であった。

本年度は、ウイルスエアロゾル試験を安全に実施するための方法として、生ウイルスによる試験者の感染を避けるため不活化ウイルスを用いた試験方法を公案し、適用可能性について検証した。まず、β-プロピオラクトン処理を行った不活化ウイルス PR8 液について、動的光散乱計(DLS)と透過電子顕微鏡(TEM)で粒子状態を性状解析したところ、intact な単粒子分散状態を保持していることが観察された。次に、エアロゾル実験中の実験者又は環境由来の混入汚染を想定して、*B.subtilis*、*S.epidermidis*、Adenovirus 3 を混在させ、本 ELSIA の PR8 測定に影響のないことを確認した。また、本 ELSIA による M1 蛋白量は PR8 ウイルスの感染価(不活化前)と相関性があることも確認した。更に、この方法を用いて、PPE の不織布素材 2 サンプル(Spunlace、SMS)の不活化 PR8 エアロゾルに対する防護性能を評価したところ、素材間の有意差が認められ、性能評価におけるこの新規方法の適用可能性が示唆された。[嶋崎典子、野島康弘*、岡上晃*、篠原克明**：*(一財)北里環境科学センター、**バイオセーフティ管理室]

10. 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、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認めないことを示した。またマウス馴化株（Anhui-M3）は原株（Anhui-E）よりおよそ 500 倍もの非常に高い致死性を有し、上気道に限局した局所感染においても上気道から速やかに肺へ感染が移行することも明らかとなった。このような増殖性の変化には、PA 分子に変異が関与していることが示唆されたが、生体側の要因が検討されていないため、今年度は引き続き、マウス馴化株（Anhui-M3）の感染後の生体防御機構、特に自然免疫因子である Type I IFN 関連遺伝子群について原株（Anhui-E）の感染時と比較検討を行った。

BALB/c マウス（6-8 週齢、メス）に $10\times LD_{50}$ 量、もしくは $0.1\times LD_{50}$ 量の Anhui-E もしくは Anhui-M3 を感染させ（50μL、i.n.）1 日もしくは 3 日目に肺を採取し、乳剤を作製し、全 RNA を抽出後、Type I IFN 関連遺伝子群の解析を行った。その結果、CCL2、CXCL10、IFIT2、MX1 において共通かつ顕著な動態の違いが認められた。$0.1\times LD_{50}$ 量では Anhui-E 感染群、Anhui-M3 感染群ともに、感染 1 日目は.非感染群と同等の発現で、感染 3 日目には顕著な発現の増加が認められた。しかし $10\times LD_{50}$ 量を感染させた 1 日目において、Anhui-M3 感染群は Anhui-E 感染群よりも有意に低い発現しか認められなかった。このことは馴化によって高い増殖性を獲得しただけでなく、生体の自然免疫群から逃避していることも示唆された。[浅沼秀樹、小田切孝人、相内　章*：*感染病理部]

11. インフルエンザウイルスの適切な不活化工程の策定に関する研究

インフルエンザウイルスは病原性が多様であるため、その性状によって適切なバイオセーフティレベル（BSL）を遵守して使用する必要がある。また様々な性状を有するために、ウイルスを不活化する場合には科学的根拠に基づいた適切な不活化手技が必要となる。そのため特に BSL3 インフルエンザウイルスの適切な不活化法の構築とそのバリデーションならびに文書整備を行っている。今年度は現在実験に用いるインフルエンザウイルスの不活化に主に使用されている β―プロピオラクトン（BPL）

の適切な使用に関するバリデーションの一環として、環境要因、特に温度変化による BPL の活性の変化について検討した。新規購入した BPL を 100μL ずつ分注後、-30℃で保管し、37℃、1 時間もしくは 5 時間保温を 1 日、3 日もしくは 5 日連続で処理し、それぞれの BPL を 0.1%の濃度となるよう A/Narita（A(H1N1)pdm09）株と混合し、9 日間作用させ、培養細胞を用い不活化活性を確認した。その結果、全ての BPL で不活化が認められた。このことから最も温度変化が顕著であった条件である 5 日連続で 37℃、5 時間の環境においても、BPL の高い不活化能が確認できた。[浅沼秀樹、小田切孝人]

II. インフルエンザワクチンに関する研究

1. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種者血清の抗体保有率、陽転率、および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、2015/16 シーズンの季節性インフルエンザワクチン接種をうけた成人層および老人層の各群 30 名のペア血清検体を用いて、ワクチン製造株および流行株に対する反応性を赤血球凝集抑制試験にて評価した。その結果、B 型ワクチンについては山形系統、ビクトリア系統ともに抗体保有率と陽転率で低い値を示したが、A(H1N1)pdm09 および A(H3N2)ワクチン製造株に対しては、高い抗体保有率を示した。A(H3N2)では陽転率においても高い値を示した。しかしながら、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 山形系統および B ビクトリア系統のいずれにおいても流行株との交差反応性は低く、2015/16 シーズンワクチンの効果の減弱が懸念された。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。その成績を WHO インフルエンザ協力センター間で共有し、9 月と 2 月に開催された WHO インフルエンザワクチン推奨株選定会議で議論され、ワクチン株選定の資料として活用された。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、佐藤　彩、秋元未来、菅原裕美、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、三浦秀佳、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. フェレットを用いた H3 インフルエンザワクチン効果の評価に関する研究

季節性インフルエンザワクチン接種者の血清学的調査で、ワクチン接種により誘導された抗体と実際の流行株との反応性が低く、ワクチン効果の減弱が懸念されている。ワクチン製造株が発育鶏卵で培養される過程で起こる HA のアミノ酸置換が、ワクチン製造株と流行株との抗原性の乖離をまねき、ワクチンで誘導される抗体と流行株の反応性を低下させると考えられる。そこで、フェレットを用いて、市販の 2012/13 シーズンの 3 価のスプリットワクチンと、スプリットワクチンに比べて高い免疫原性と交差反応性が期待される不活化全粒子ワクチンの効果を比較評価した。不活化全粒子ワクチンについては、スプリットと同じ抗原を含む３価のワクチンを作製し、使用した。2012/13 シーズンのスプリットワクチンまたは不活化全粒子ワクチン接種により抗体価の上昇が認められたフェレットに 2012/13 シーズンの H3 ワクチン製造株 IVR-165 を感染させると、いずれも非免疫群に比べてウイルス排泄期間が短縮された。しかしながら、MDCK 細胞で分離された 2012/13 シーズンワクチンのオリジナル株 A/Victoria/361/2011 を感染させると、不活化全粒子ワクチンを免疫したフェレットでは、ウイルス排泄期間が短縮されたが、スプリットワクチンではウイルス排泄期間は短縮されなかった。不活化全粒子ワクチンで免疫したフェレットでは、さらに抗原性の乖離した 2015 年の H3 流行株を感染させた場合にも、ウイルス排泄期間の短縮が認められた。以上から、スプリットワクチンでは、抗原性の乖離がワクチン効果の減弱に大きく影響するが、不活化全粒子ワクチンは抗原性が乖離したウイルスに対しても効果が期待できることがわかった。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

3. 4 価インフルエンザワクチンの導入における一元放射免疫拡散試験法の評価の研究

平成 27 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、ワクチンの有効成分である HA 抗原量が、従来通り一元放射免疫拡散（SRD）試験法によって、正確

に測定できるか評価してきた。これまでの検討において、B 型 2 系統は、ウイルス株、標準抗原及び参照抗血清などの SRD 試薬やワクチンの由来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（試験方法の区分）を決める必要があることがわかっている。そこで、本年度の 4 価ワクチンの B 型ワクチン株 B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 について、国内製造所 4 所社と共同で、試験区分を制定するための試験を実施した。そのために必要な、区分判定の閾値設定も行った。その結果、Phuket 株は区分 1（標準抗原を単独で従来法によって試験を実施する）、Texas 株は区分 2（2 系統の B 型ウイルス標準抗原を等量混合して試験を実施する）で SRD 試験を実施することが妥当であると結論づけられた。[嶋崎典子、原田勇一、落合雅樹*、小田切孝人、板村繁之：*品質保証・管理部]

4. ワクチン力価(HA 抗原量)の新規試験法の開発に関する研究

B 型 2 系統を含有する 4 価ワクチンは、現行の SRD 試験法では、B 型ウイルス 2 株間に交差反応が起こり、正確な HA 抗原量測定が困難な場合がある。そこで交差反応がないモノクローナル抗体による ELISA 等新規法の開発を検討した。まず、マウスハイブリドーマとして、山形系統の B/Massachusetts/02/2012(BX-51B)株の HA 特異的モノクローナル抗体を産生する 2 クローンと、ビクトリア系統の B/Brisbane/60/2008 の HA 特異的モノクローナル抗体を産生する 6 クローンを樹立した。これらのモノクローナル抗体について、複数のワクチン株との ELISA 反応性や、ウエスタンブロット反応性、中和能などの性状解析を行った。次に、いくつかのモノクローナル抗体を選択して、antigen-capture sandwich ELISA を構築した。以前の検討で SRD 試験では測定不能（2 株混合では沈降輪形成不良が生じた）となった B/Wisconsin/01/2010(BX-41A)と B/Brisbane/60/2008 株の混合ワクチンについて、本 ELISA 系で測定したところ、両株とも問題なく HA 抗原量が測定可能であり、交差反応も認められなかった。また、本年度の B 型ワクチン株 B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 のワクチンに対しても、系統特異的に測定可能であることがわかった。現在、SRD 試験との相関性について検討中である。[嶋崎典子、板村繁之]

5. ワクチンの免疫原性に関与する免疫応答測定方法の開発に関する研究

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するとされている。本年度は昨年度に引き続き、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できるかについて、ヒトマクロファージ細胞株における NF-κB の活性化または ISG の活性化を指標に検討した。インフルエンザ全粒子ワクチンは用量に依存して定量的にマクロファージの活性化を誘導し、この活性は SRD 試験による力価とマウスにおける抗体産生、感染防御能と同様に用量依存性を示した。次に熱処理したワクチンについてマクロファージ活性化のレベルを調べた結果、未処理ワクチンに比べて 50℃、18 時間熱処理ワクチンの活性化能は有意に低下し、100℃、5 分熱処理ワクチンでは活性化能は検出されなかった。SRD 試験での力価も同様であったが、SDS−PAGE の泳動像には大きな変化はなかった。マウスに対する防御効果の誘導では、50℃、18 時間熱処理ワクチン接種群では未処理ワクチン接種群に比べて顕著な低下が認められた。100℃、5 分間の熱処理ワクチンには防御効果の誘導はほとんど認められなかった。抗体価についても同様の傾向であった。これらの結果から、マクロファージ活性化を指標とする試験法がインフルエンザ全粒子ワクチンの免疫原性の評価に有用であることが判った。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之、小田切孝人]

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、日本では季節性インフルエンザワクチン製造に細胞培養法を導入することが検討されている。しかし、実用化に適した細胞培養ワクチン製造用母体ウイルスの開発は遅れている。そこで昨年度は、既存の A/PR/8/34 株(元株)を NIID-MDCK 細胞（無血清培地に馴化し、品質管理された MDCK 細胞）で連続継代することで、高ウイルス力価（約 10^9 pfu/mL）を示す PR8 株（hg-PR8）を

作出した。さらにHg-PR8を母体ウイルスとして、HA, NA遺伝子が、A/Anhui/1/2013(H7N9)に由来するリアソータントウイルス(NIIDRG-10.1C, NIIDRG-10C)を作出し、hg-PR8 株のワクチン株開発における有用性も検討した。本年度は、その有用性の検討を引き続き行った。そのため、両ウイルスを NIID-MDCK 細胞で連続継代し、継代後に抗原解析を行った。その結果、NIIDRG-10.1C と NIIDRG-10C は NIID-MDCK 細胞で 10 連続継代を行っても親株である A/Anhui/1/2013 と同等の抗原性を示し、母体ウイルスとしての有用性が確認された。

また、hg-PR8 株が高増殖性となった要因の探索を行った。そのため、元株である PR8 株に hg-PR8 が獲得したアミノ酸変異を導入したウイルスを作製し、ウイルス力価を測定した。その結果、PB2 の遺伝子に変異を持つウイルスの力価が元株よりも有意に増加していることが確認された。しかし、PB2 だけの変異をもつリアソータントのウイルス力価は、hg-PR8 のそれより低かったことから、他の変異も増殖性に関与している可能性が考えられる。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

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製造に細胞培養法を導入するために、昨年度に引き続き下記課題への取り組みを行っている。[(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.] 課題(1) : 感染研所有の NIID-MDCK 細胞を用いて臨床検体から分離したウイルスをワクチン製造所へ分与し、各ワクチン製造所社により、各所社保有細胞での第一回ワクチン製造種株候補の開発およびその評価を行った（詳細は別記）。課題(2):課題(1)で開発されたワクチン株から作製した SRD 試薬を用いて SRD 試験が行えることが確認された（詳細は別記）。課題(3) : 第二回「新規インフルエンザワクチンの製造株指定法に関するワーキンググループ会議」を開催し、検討が行われた。本取り組みに関しては、第 10 回、第 11 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、小田切孝人]

8. 細胞培養ワクチン株作製のための NIID-MDCK 細胞からのウイルス分離条件の最適化の検討

NIID-MDCK 細胞を用いて臨床検体からウイルス(元株)の分離を効率良く行うために、臨床検体中のウイルスゲノム量とウイルス分離効率の相関関係について検討を行った。ウイルスゲノム量は Real-time RT-PCR 法により測定した。A(H1N1)pdm09 および A(H3N2)亜型ウイルスのウイルス分離が可能なウイルスゲノム量を推定した結果、Ct 値が 25 以下の検体からは、ウイルス分離が可能である事が示唆された。一方、B 型ウイルスの分離効率は、検体中のウイルスゲノム量に、大きく影響される事はなく、検討した全ての検体からウイルスが分離された。このことから、A 型ウイルスについては事前に検体中のウイルスゲノム量を測定し、ウイルス分離を行う事とした。[原田勇一、高橋　仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里]

9. 細胞培養ワクチン株（種株）の開発 I

2011/2012 および 2012/2013 インフルエンザシーズン用種株の試験的作製を行うために、2010 年から 2012 年に採取された臨床検体を用いて NIID-MDCK 細胞による A(H1N1)pdm09, A(H3N2), B/Vic, B/Yam ウイルス(元株)の分離を行った。得られた元株は当該シーズンを代表するウイルス株の抗原性と同等であることが確認された。研究協力者である各ワクチン製造所は、この元株を各社が所有する細胞で馴化・増殖させ、種株候補を作製した。製造所社により検討株が必ずしも一致しなかったが、5 社で 20 株が検討された。このうち現時点で評価が終わり当該シーズンを代表するプロトタイプ株と同等の抗原性を示したのは、9 株であった。各所社により進捗状況等が異なるため、現時点で結論は出せないものの、各所社の細胞で種株候補の作製は可能であると判断された。引き続き検討を続け、実用化に向けての問題点を明らかにしていくことが必要である。[原田勇一、高橋　仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里]

10. 細胞培養ワクチン株（種株）の開発 II

2016/2017 インフルエンザシーズン用種株の試験的作製を行うために、2015 年から 2016 年に採取された臨床

検体を用いて NIID-MDCK 細胞による A(H1N1)pdm09, A(H3N2), B/Vic, B/Yam ウイルス(元株)の分離を行った。得られた元株は当該シーズンを代表するウイルス株の抗原性と同等であることが確認された。研究協力者である各ワクチン製造所は、この元株を各社が所有する細胞で馴化・増殖させ、種株候補を作製した。今後、これら候補ウイルスの抗原性等の評価を行う。[高橋　仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里]

11. 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発

NIID-MDCK 細胞分離株に由来する A(H1N1)pdm09 亜型の種株を用いて HA 抗原量測定試薬（SRD 試験用の標準抗原および参照抗血清）および細胞培養ワクチンの作製を行った。参照抗血清作製の際、ヒツジへの免疫に用いる不活化 HA 抗原の量、アジュバントの種類、免疫間隔に関して条件検討を行い、ヒツジ抗血清を作製した。これらの抗血清を用いて、標準抗原の値付けを行った結果、試験によるリング形成の明瞭差は多少あったものの、作製した血清から推定される標準抗原量に大きな差は認められず、全て SRD 試験に使用可能であることが確認された。今後、細胞培養ワクチン中の HA 抗原量の測定を行う。[高橋　仁、藤本貴男*、堀越史朗*、落合　晋*、五味康行*、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里：*阪大微生物病研究会]

12. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

ヒトに感染性や病原性を示す 26 種類の病原体を対象とした迷入ウイルス検出系を構築した。各ウイルス株からウイルス核酸を抽出し、RT-PCR 法にて標的遺伝子領域を増幅させて精製後、RNA を合成した。得られた RNA の吸光度から濃度を求め、標準 RNA の分子量からコピー数を算出し、定量 RT-PCR 法の陽性コントロール核酸を作成した。マルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法にて陽性コントロール核酸の検出限界値を調べた結果、検出系に 1〜100 コピー以上のウイルスが存在していれば、ウイルスの検出が可能であることが示された。また、市販の呼吸器感染症病原体検出キットと比較した結果、概ね今回構築した検出系の方が、検出感度が高いことが示された。構築した検出系を用いて NIID-MDCK 細胞分離株中の迷入ウイルスの検出を試みた。その結果、検討した全てのウイルスは検出限界値以下であった。 [浜本いつき、高橋　仁、小田切孝人、信澤枝里]

13. H5N1 ワクチン株の総ウイルスタンパク収量・HA 収量の改善法の検討

H5N1 ワクチン候補株 20 株について、鶏卵培養後に各株の総ウイルスタンパク収量/HA 収量を測定したところ、株により収量に大きな違いがあることが明らかになった。このうち、クレード 2.2 に属する 2 株は、HA および NA のアミノ酸配列に大きな違いはない（HA に 2 アミノ酸、NA に1アミノ酸の違いがある）が、その HA 収量は大きく異なっていた。そこで、その違いの原因を明らかにするため、各ウイルスの HA, NA 遺伝子とそれ以外の遺伝子は、同じ PR8 株に由来するリアソータントウイルスを作出し、HA 収量を測定した結果、HA 収量の有意差は解消した。この結果から HA 収量への母体ウイルスの影響が大きい場合があることが示唆された。[有田知子、鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

14. 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 A(H3N2)株の中から、リファランス株と類似の 6 株に対するフェレット感染抗血清ならびに不活化抗原を用いたフェレット抗血清を作製し、臨床分離株に対する HI 試験による抗原認識パターンを検討した結果、感染抗血清と免疫抗血清のパターンが類似していた。引き続き ELISA を用いた抗原認識についても検討した。その結果、HI 試験と同様、感染抗血清と免疫抗血清のパターンの一致が認められた。このことは HI と ELISA どちらの反応系を用いても同様にウイルスの感染免疫による抗体誘導のパターンからワクチンを作製した場合の免疫原性を予測できることを示唆している。[浅沼秀樹、佐藤佳代子、岸田典子、小田切孝人、相内 章*、許斐奈美**、湯浅徳行***、山口陽子****：*感染病理部、**日本大学・医、***東京化成工業、****東海大学]

15. ウイルス様粒子（VLP）を用いた新規経鼻インフルエンザワクチン開発に関する研究

現行のインフルエンザワクチンは主に以下の問題を抱えている。

・製造過程でのワクチン抗原の変異
・鶏卵の使用よる製造量の制約と迷入因子の混入
・流行株変異による有効性の低下
・ウイルス侵入門戸の分泌型 IgA 誘導不能

このような問題点を解消するためにウイルス様粒子型（VLP）経鼻インフルエンザワクチンの開発を行っている。A/California/7/2009(A(H1N1)pdm09)株の HA 遺伝子を用いた VLP（Cal7 HA-VLP）を経粘膜アジュバントの CpG-ODN G9.1（G9.1）とともにマウスに経鼻投与した場合の免疫応答ならびに防御効果を検討した。その結果、Cal7 HA-VLP を G9.1 とともに経鼻２回投与し、Cal7 をチャレンジした場合、完全な感染阻止が認められた。また G9.1 を添加せずに Cal7 HA-VLP のみを経鼻２回投与した群においても現行のスプリットワクチン（X-179A）のみを経鼻２回投与した群よりも高い防御効果が認められた。また鼻腔洗浄液中には防御効果と相関した特異的 IgA 応答も認められた。これらの結果から、Cal7 HA-VLP は X-179A よりも免疫原性が高いこと、ならびに G9.1 は粘膜経由で高い免疫増強効果を有することが示唆された。[浅沼秀樹、前山順一*、山本典生**、伊保澄子***、山本三郎****、藤橋浩太郎*****：*血液安全性研究部、**順天堂大・医、***福井大・医、****日本 BCG 研究所、*****アラバマ大・バーミンハム校]

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、岸田典子、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤　彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

2. フェレット感染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 山形系統(細胞株)、B ビクトリア系統(細胞株)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 11 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（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。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤　彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、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－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 6 年目を迎えた。今年度は、全国 73 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 3 回全国地衛研外部精度評価（EQA）を実施した。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追跡調査を目的とした 2 回目のアンケート調査結果行った。さらには、現地での研修を要望した地衛研に対し実地研修を実施した。[小田切孝人、影山　努、今井正樹*、渡邉真治、中内美名、高山郁代、皆川洋子**、安井善宏**、駒込理佳***、三好正浩***、長野秀樹***、高橋雅輝****、川上千春*****、長島真美******、秋場哲哉******、貞升健志******、小渕正次*******、滝沢剛則*******、森川佐衣子********、廣井聡********、加瀬哲男********、三好龍也*********、芦塚由紀**********、千々和勝己**********、山下育孝**********、久場由真仁**********、喜屋武尚子**********：*東京大学医科学研究所、**愛知県衛生研

究所、***北海道立衛生研究所、****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、********大阪府立公衆衛生研究所、*********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. 鳥インフルエンザウイルス(H7) および中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスを検出できる蛍光 Direct RT-LAMP 法の地方自治体への導入

蛍光 Direct RT-LAMP 法を用いた簡便･迅速な鳥インフルエンザウイルス(H7)、季節性インフルエンザウイルス(H1pdm，H3)、MERS コロナウイルスを一度に検出可能な遺伝子検査キットを構築し、全国の地方衛生研究所および検疫所において､本キットの試用を希望する 15 カ所の地方衛生研究所と 6 カ所の検疫所に配布し､H7 亜型の鳥インフルエンザウイルスおよびMERSコロナウイルス感染疑い患者に対して､30 分以内に迅速診断を行える体制を整えた。[高山郁代、中内美名、影山　努]

5. 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/South Australia/55/2014 (H3N2)-cell derived [NIBSC]、A/South Australia/55/2014 (H3N2)-cell derived [CBER]、A/South Australia/55/2014 (IVR-175) (H3N2) 、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263B) (H3N2) 、A/New Caledonia/71/2014 (X-257A) (H3N2) [NIBSC] 、A/New Caledonia/71/2014 (X-257A) (H3N2) [TGA] 、B/Brisbane/60/2008-cell derived 、B/Phuket/3073/2014 、B/Utah/9/2014-cell derived [NIBSC] 、B/Utah/9/2014-cell derived [CBER] 、A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (IBCDC-RG2) 、A/Anhui/1/2005 (H5N1) (NIBRG-268) 、A/duck/Bangladesh/19097/2013 (H5N1)-cell derived 、A/Indonesia/5/2005 (H5N1) (IBCDC-RG2)-EB66 cell derived 、A/turkey/Turkey/1/2005 (H5N1)-cell derived 、A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014 (H5N1)-cell derived 、A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014 (H5N1)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。本年度より血液・安全性研究部からたん白質含量試験の技術移管を行い、一次標準抗原のたん白質含量の測定を実施した。［原田勇一、河野直子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人］

6. インフルエザワクチンの力価測定用標準抗原の性状解析

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する中で、A/Anhui/1/2013 (NIBRG-268)(H7N9)について、SRD 試験の再現性が通常よりも低かったため、Primary Liquid Standard(PLS)の物理化学的な性状解析を実施した。動的光散乱計(DLS)と透過電子顕微鏡(TEM)によって粒子状態を解析したところ、当該 PLS に異常な粒子凝集が起こっていることが判明し、英国、豪州、米国の各 ERL に情報提供した。［嶋崎典子、板村繁之］

7. 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 27 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) (H1N1)pdm09、A/Switzerland/9715293/2013 （ NIB-88 ） (H3N2) 、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 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。また、B 型ウイルスの 2 株については、SRD 試験方法の評価研究結果に基づき、SRD 試験の実施区分を制定した｡［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］

8. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための参照インフルエンザ HA ワクチンの作製

国家検定の力価試験として一元放射免疫拡散（SRD）試験あるいは卵中和試験を行うこととされているが、通常は SRD 試験が力価試験として実施されている。SRD 試験で HA 含量が規定されたワクチンのマウスにおける

免疫原性を確認することを主な目的として、卵中和試験に使用するウイルス株ごとに 15μg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを作製している。本年度の参照ワクチンとして、平成 27 年度のワクチン製造株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1)pdm09、A/Switzerland/9715293/2013（NIB-88）(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 の 4 株のワクチンを含有するものを作製した。参照ワクチンの作製に使用する原液について HA 価測定及び分画試験を実施して原液の品質規格を確認した。また、SRD 試験によって原液の HA 含量を測定して、ウイルス株ごとに 15μg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを調製した。得られた参照ワクチンについて、物理化学試験（たん白質含量、チメロサール含量）、マウス白血球数減少試験を実施して規格に適合していることを確認し、卵中和試験によってその力価を測定した。[佐藤佳代子、河野直子、嶋崎典子、原田勇一、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]

9. 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/Indonesia/05/2005 (Indo05/PR8-RG2) (H5N1)について国家検定の力価試験に使用する標準インフルエンザ HA 抗原（一元放射免疫拡散試験用）の更新ロットを作製し、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量の設定を実施し、国内標準品として制定した。[嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、小田切孝人]

10. 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。[佐藤佳代子、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. 2015/16 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)pdm09：297 株、A(H3N2)：110 株、B 山形系統：139 株、B ビクトリア系統：132 株について抗原性解析を行った。また、病院から臨床検体の提供を受けて分離培養した A(H1N1)pdm09：49 株、A(H3N2)：4 株、B 山形系統：21 株、B ビクトリア系統：44 株についても同様に解析した。2015/16 シーズンは A(H1N1)pdm09 ウイルスが流行株の半数を占めた。次に B 型ウイルスが 4 割を占め、H3 ウイルスは 1 割未満と最も少なかった。B 型ウイルスの割合は山形系統株が 55%、ビクトリア系統株が 45%と拮抗した。A(H1N1)pdm09 分離株のほとんどはワクチン株である A/California/7/2009 類似株であった。A(H3N2)分離株はワクチン株の A/Switzerland/9715293/2013 と抗原性の異なる株が増加し、流行株の半数を占めたことから、ワクチン株変更の必要性が示唆された。B 山形系統および B ビクトリア系統の流行株は、いずれも B 山形系統ワクチン株 B/Phuket/3073/2013、B ビクトリア系統ワクチン株 B/Texas/02/2013 にそれぞれ抗原性が類似していた。[岸田典子、中村一哉、桑原朋子、佐藤　彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、小川理恵、三浦秀佳、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 294 株（台湾 73 株、ミャンマー10 株、ラオス 77 株、ネパール 92 株、モンゴル 25 株、インド 10 株、ベトナム 7 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)ウイルスのほとんどが 2014/15 シーズンワクチン株 A/New York/39/2012 との抗原性の乖離が認められた。2015 年秋期以前の分離株の多くは 2015/16 シーズンワクチン株 A/Switzerland/9715293/2013 と抗原的に類似していたが、それ以降 2015/16 シーズンの分離株は抗原性が異なる株が増加傾向にあった。B 型ウイルスではビクトリア系統と山形系統が混合流行し、その割合は国、地域により違いが認められた。ビクトリア系統分離株は B/Brisbane/60/2008、

B/Texas/02/2013 の抗原性類似株が、山形系統分離株は B/Phuket/3073/2013 抗原性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、岸田典子、桑原朋子、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、高下恵美、菅原裕美、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人］

3. A/H3N2 亜型分離株の抗原性解析手法の改良

近年の A/H3N2 亜型株は HA 蛋白質による赤血球凝集活性が極めて弱く、従来、分離株抗原性解析の主流な手法として用いられてきた HI 試験の実施が困難な状況になっている。そこで中和試験法の分離株抗原性解析への応用の可否を検討し、HI 試験による抗原性解析の代替手法としての有用性を確認するとともに、新たな分離株抗原性解析手法として確立、導入を行った。本手法によって 2014/15 および 2015/16 シーズンの A/H3N2 亜型分離株の抗原性について必要十分な解析を行い、得られた結果は WHO および国内向けワクチン株選定会議へ提供、活用された。［中村一哉、桑原朋子、岸田典子、秋元未来、佐藤　彩、渡邉真治、小田切孝人］

4. 2015/16 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。全国地衛研の協力の元に、本シーズンは A(H1N1)pdm09 亜型 131 株, A(H3N2)亜型 88 株, B 型山形系統 77 株、B 型ビクトリア系統 52 株について HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行った。15/16 シーズンに流行の主流であった A(H1N1)pdm09 亜型は、HA 遺伝子系統樹上でクレード 6B (K163Q, A256T)に属し、さらにサブクレード 6B.1 (S84N, S162N, I216T)と 6B.2 (V152T, V173I, E491G, D501E)を形成した。A(H3N2)亜型は全てクレード 3C.2a（N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H）に属し、さらに N171K, I406V, G484E サブクレード、R142K, Q197R サブクレードを形成した。B 型山形系統は全てクレード 3 (S150I, N165Y, N202S, S229D)に、ビクトリア系統は全てクレード 1A(N75K, N165K, S172P)に属した。データベース充実化のために、上述した株のうち 56%については全セグメントの遺伝子解析を実施した。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、岸田典子、中村一哉、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、菅原裕美、佐藤　彩、小川理恵、秋元未来、渡邉真治、小田切孝人］

5. 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 27 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 342 株、A(H3N2)分離株 319 株、B 型分離株 453 株の薬剤感受性を解析した。その結果、A(H1N1)pdm09 では H275Y 耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性株が 6 株検出され、A(H3N2)では R292K 耐性変異をもつオセルタミビル・ペラミビル耐性株が 1 株検出された。耐性株はいずれも散発例で、地域への感染拡大は認められなかった。薬剤耐性株サーベイランスで得られた結果は、NESID（感染症サーベイランスシステム）を通して毎週、各関係機関に情報提供した。また感染症疫学センターの IASR ウェブサイトにおいて毎週一般公開し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。[高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、菅原裕美、佐藤　彩、秋元未来、渡邉真治、小田切孝人]

6. 季節性インフルエンザワクチン候補株の鶏卵における分離

現行のインフルエンザワクチンは、臨床検体を発育鶏卵（鶏卵）に接種し、鶏卵で分離されたウイルスを用いて作製しなければならない。より有効性の高いワクチン株の選定に貢献することを目的として、全国の地方衛生研究所から分与された臨床検体を鶏卵に接種し、ワクチン候補株の分離を試みた。その結果、ワクチン候補株として 4 株のウイルス［A(H1N1)pdm09 亜型 2 株、A(H3N2)亜型 1 株、B 型山形系統 1 株］を鶏卵で分離することに

成功した。そのうちの 3 株に対してはフェレット感染血清を作製し流行株との反応性を調べた。その結果、どの血清も流行株とよく反応することが明らかとなり、ワクチン候補株となり得ることが分かった。[桑原朋子、中村一哉、岸田典子、秋元未来、佐藤　彩、渡邉真治、小田切孝人]

7. 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に続いて、その追跡アンケート調査を行った。前回同様に分離効率の低い地衛研のうち、研修要望のあった研究所に対し研修を行った。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：*東大医科学研究所]

8. 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 H5N6、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し、ウイルスライブラリーの構築を目的として、地方衛生研究所の協力のもと、渡り鳥より採取した糞便を用いて鳥インフルエンザウイルスの分離培養を試みたが、本年度はウイルス分離ができなかった。[高山郁代、中内美名、影山　努、小田切孝人]

9. 日本のブタにおける新型インフルエンザウイルスの発生の監視

全国 10 カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行ったが、本年度は、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、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

2016/2017 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-ストックを増殖後、保存した[H3N2 亜型：A/New Caledonia/71/2014 (X-257A), A/Hong Kong/7127/2014(X-261, NIB-93), A/Hong Kong/4801/2014(X-263, X-263A, X-263B), A/Victoria/673/2014(NIB-92), A/South Australia/9/2015 (X-265), A/Saitama/103/2014, B 型：B/California/12/ 2015 (BX-59A, BX-59B)]。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 8 株を試験交付、A 型 H3N2 亜型 3 株、B 型 2 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、2016/17 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。 [鈴木康司、有田知子、信澤枝里、小田切孝人]

2. H27 年度 H5N1 備蓄ワクチン株選定資料の作成

(i)H27 年度で期限が切れる鶏卵培養 H5N1 備蓄ワクチン株クレード 2.2 の更新について

現在の備蓄株 A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRG-163222) に代わる新規株として A/Egypt/N03072/ 2010 (H5N1) (IDCDC-RG29)への変更の妥当性を検討するため、それぞれの株を用いて作製されたワクチンを接種した被験者の血清と近年のクレード 2.2 に属するウイルスとの反応性を中和試験により調べた。ワクチン接種前後(接種前、2 回目接種後 21 日目)の血清 50 検体ずつを用いて、クレード 2.2 に属するワクチン株 4 株（SJRG-163222、IDCDC-11、IDCDC-RG29、IDCDC-RG13）との反応性を検討した。その結果、SJRG-163222 接種者の接種後血清では、ホモ価が 40 以上の血清のうち、少なくとも 76%以上が、近年のワクチン株(IDCDC-11、IDCDC-RG29、IDCDC-RG13)に対して中和抗体価 40 以上を示したのに対し、IDCDC-RG29 接種

者血清は、SJRG-163222 に対しては、32%、近年のワクチン株(IDCDC-11、IDCDC-RG29、IDCDC-RG13)に対しては、少なくとも 60%以上が接種後中和抗体価 40 以上を示した。その結果、ワクチン株としては、SJRG-163222 の方が交差反応性の高い中和抗体を誘導する可能性が示唆された。[有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人]

(ii)細胞培養 H5N1 ワクチン接種後の交差反応性の検討

平成 27 年度の備蓄ワクチン株としては、交差反応性が期待できる細胞培養 H5N1 ワクチン株 A/Indonesia/5/2005(H5N1)(CDC-RG2)が選定された（ワクチン接種時、アジュバント (AS03)添加)。しかし、選定時に検討されたのは、当該ワクチン接種者の接種後血清の各クレードのワクチン株に対する中和抗体価の比較であった。そのため、近年分離された各クレードの野生株に対する中和抗体価の検討も必要とされ、当該ワクチン接種前後の血清を用いて、野生株 7 株を用いた中和試験を行った。その結果、接種後に中和抗体価 40 以上を示す割合は、A/Vietnam/VP13-28H/2013 (H5N1)[クレード 1.1] 4%、 A/Indonesia/NIHRD12379/2012 (H5N1) [クレード 2.1.3.2] に対して 80%、ワクチンの元株である A/Indonesia/5/2005 (H5N1)に対して 100%、A/Egypt/N04915/2014 (H5N1)[クレード 2.2.1]に対して 25%、A/chicken/Bangladesh/11rs1984-30/2011 (H5N1)[クレード 2.3.4.2]に対して 24%、A/chicken/Shimane/1/2010 (H5N1)[クレード 2.3.2.1c] に対して 12%、A/chicken/Kumamoto/1-7/2014 (H5N8)[クレード 2.3.4.4] に対して 0%であった。当ワクチンは当該クレード 2.1.3.2 に属するワクチン株の元株および近年の株には高い中和抗体を誘導していたが、他クレードの株に対しては充分な中和抗体を誘導できるとは言えなかった。

[有田知子、鈴木康司、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(SRD)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。更に、平成 27 年度からの 4 価ワクチン導入にともない、生物学的製剤基準の一部改正が実施され、B 型株の SRD 試験方法の実施区分が制定された。このような状況に対応するため、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、また、各製造所の測定値との乖離についての検討を実施した。また、生物学的製剤基準の一部改正によって蛋白質含量試験の規格は変更となったが、これまで蛋白質含量試験やマウス白血球数減少試験において、毎年のワクチンが規格に適合しているのか確認してきたため、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。［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. 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

2015-16 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 7 株、B 型 4 株の試験交付株、A(H3N2)亜型 3 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・抗原的安定性を解析し、ワクチン製造用株としての適性を確認した。また、インフルエンザワクチン製造用に試験交付及び仮交付株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. ミャンマーNIC 研究者に対するサーベイランスの解析技術の研修

インフルエンザウイルスサーベイランスのための技術向上を目的として、2016 年 1 月 18～29 日に、ミャンマーNIC から Pan Ei Soe 氏と Zin Pwint Phyu Aung 氏の 2 名を招聘した。研修期間中は、MDCK 細胞培養およびその管理法、MDCK 細胞によるウイルスの分離培養法、赤血球凝集試験と赤血球凝集阻止試験を用いた分離ウイルスの型・亜型・系統の同定および抗原性解析試験について研修を実施した。また、中和試験、発育鶏卵によるウイ

ルス分離､遺伝子系統樹解析についても講習を行なった。［岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、高山郁代、中内美名、影山　努、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、2013 年第 21 週から 2014 年第 20 週に検出された世界 113 ヶ国の 10,641 株のインフルエンザウイルスについて、抗インフルエンザ薬に対する感受性試験の結果を総括した。その結果、耐性株の検出率は 1.9％で、前シーズンの検出率 0.6%より上昇していることが明らかになった。[高下恵美]

3. 国際インフルエンザウイルスデータベース(GISAID)ワーキンググループへの参加およびデータベース改良への貢献

2006 年 8 月に公開されたインフルエンザウイルスの国際データベース(GISAID)は、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 技術担当者が GISAID 利用上の問題点、要望などを提示・検討しており、これに基づいて現在、GISAID version 2 へのアップデートが進められている。［藤崎誠一郎、高下恵美、白倉雅之、三浦秀佳、渡邉真治、小田切孝人］

4. 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、岸田典子、桑原朋子、菅原裕美、佐藤　彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳、渡邉真治、小田切孝人］

5. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定および選定法の改良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。2016 年度用南半球向けワクチン株選定会議では、議長国として WHO 推奨株の取りまとめを行った。また、2015 年 11 月に香港で開催されたワクチン株選定法改良会議では、WHO ワクチン推奨株の決定時期の見直し戦略策定班の議長を担当した。［小田切孝人、渡邉真治、中村一哉、岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、桑原朋子、菅原裕美、佐藤　彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳］

6. ベトナム・ホーチミン・パスツール研究所におけるインフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断、さらい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・ホーチミン・パスツール研究所にて、これまで当センターで構築したリアルタイム 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、ウイルス性呼吸器感染症の検出についての技術供与を行った。また、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、抗原性解析など）の技術指導および現地流行状況の情報収集を行った。［高山郁代、白倉雅之、影山　努］

7. 国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「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」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 27 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. 鳥インフルエンザ感染疑い患者のインフルエンザウイルスの遺伝子検査

ラオス NIC より送付された鳥インフルエンザ感染疑い患者から採取された 5 臨床検体に対して、インフルエンザウイルスの遺伝子検査を行った。 [影山　努、中内美名、高橋　仁、高山郁代、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 in NIHE and Nhatrang Pasteur Institute (2015 年 7 月 6 日－10 日)」を NIHE およびニャチャン・パスツール研究所において開催し、RT-PCR 法を用いたインフルエンザウイルスの型・亜型同定法に関する外部精度評価、RT-LAMP 法を用いたインフルエンザウイルスの型・亜型同定法およびリアルタイム RT-PCR 法を用いた薬剤耐性株のスクリーニング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 におけるインフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断に関する技術支援

モンゴル NIC において、これまで当センターで構築したリアルタイム 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、ウイルス性呼吸器感染症の検出についての技術供与を行った。[中内美名、影山　努]

12. 米国 CDC における Information meeting on surveillance on drug resistance influenza virus への参加

平成 27 年 6 月 8 日に米国 CDC で開催された Information meeting に参加し、日本と米国の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスについて情報交換を行った。[高下恵美]

研修業務

1. 平成 27 年度所内で実施された各種研修プログラムにおける講義

平成 27 年 4 月 14 日に実施された FETP 初期研修、平成 27 年 10 月 14 日に実施された感染症危機管理研修会および平成 27 年 10 月 29 日に実施された医師卒後研修にて、それぞれ季節性および動物由来インフルエンザウイルスとワクチン開発の現状と問題点に関する講義を担当した。［渡邉真治、小田切孝人］

2. 細胞培養およびウイルス分離に関する技術指導

2 か所の地方衛生研究所に対して細胞培養およびウイルス分離に関する技術指導を行った。［今井正樹*、渡邉真治：*東大医科学研究所］

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を導入した遺伝子検査の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、遺伝子検査の時間短縮および検査精度の向上のため、遺伝子検査で使用する試薬を変更し、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本邦研修

平成 27 年 11 月 29 日から 12 月 12 日まで、モンゴルの National Influenza Center より研究員 2 名を、平成 28 年 3

月 22 日から 30 日までベトナムの NIC であるホーチミン・パスツール研究所から研究員 2 名を招聘して、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、小田切孝人]

5. インフルエンザおよびウイルス性呼吸器感染症診断に関する技術指導

ベトナムバクマイ病院において､リアルタイム 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、ウイルス性呼吸器感染症の検出について技術指導を行った。[影山　努、高山郁代]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１. 欧文発表

1. Takashita E, Kiso M, Fujisaki S, Yokoyama M, Nakamura K, Shirakura M, Sato H, Odagiri T, Kawaoka Y, Tashiro M. Characterization of a large cluster of influenza A(H1N1)pdm09 viruses cross-resistant to oseltamivir and peramivir during the 2013-2014 influenza season in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2015 May;59(5):2607-17.
2. Takashita E, Meijer A, Lackenby A, Gubareva L, Rebelo-de-Andrade H, Besselaar T, Fry A, Gregory V, Leang SK, Huang W, Lo J, Pereyaslov D, Siqueira MM, Wang D, Mak GC, Zhang W, Daniels RS, Hurt AC, Tashiro M. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2013-2014. Antiviral Res. 2015 May;117:27-38.
3. Sriwilaijaroen N, Suzuki K, Takashita E, Hiramatsu H, Kanie O, Suzuki Y. 6SLN-lipo PGA specifically catches (coats) human influenza virus and synergizes neuraminidase-targeting drugs for human influenza therapeutic potential. J Antimicrob Chemother. 2015 Oct;70(10):2797-809.
4. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Ohmiya S, Sato K, Ito H, Chiba F, Nishimura H, Shindo S, Watanabe S, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Characterization of an A (H1N1)pdm09 Virus Imported from India in March 2015. Jpn J Infect Dis. 2016;69(1):83-6.
5. Zhao D, Fukuyama S, Sakai-Tagawa Y, Takashita E, Shoemaker JE, Kawaoka Y. C646, a Novel p300/CREB-Binding Protein-Specific Inhibitor of Histone Acetyltransferase, Attenuates Influenza A Virus Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2015 Dec 28;60(3):1902-6.
6. Takayama I, Hieu NT, Shirakura M, Nakauchi M, Fujisaki S, Takahashi H, Nagata S, Long NT, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T. Novel Reassortant Avian Influenza A(H5N1) Virus in Human, Southern Vietnam, 2014. Emerg Infect Dis. 2016 Mar;22(3).
7. Nakamura K, Shirakura M, Suzuki Y, Naito T, Fujisaki S, Tashiro M, Nobusawa E. Development of a high-yield reassortant influenza vaccine virus derived from the A/Anhui/1/2013 (H7N9) strain. Vaccine. 2016. Jan. 34(3) 328-33.
8. Rhee SY, Blanco JL, Jordan MR, Taylor J, Lemey P, Varghese V, Hamers RL, Bertagnolio S, Rinke de Wit TF, Aghokeng AF, Albert J, Avi R, Avila-Rios S, Bessong PO, Brooks JI, Boucher CA, Brumme ZL, Busch MP, Bussmann H, Chaix ML, Chin BS, D'Aquin TT, De Gascun CF, Derache A, Descamps D, Deshpande AK, Djoko CF, Eshleman SH, Fleury H, Frange P, Fujisaki S, Harrigan PR, Hattori J, Holguin A, Hunt GM, Ichimura H, Kaleebu P, Katzenstein D, Kiertiburanakul S, Kim JH, Kim SS, Li Y, Lutsar I, Morris L, Ndembi N, Ng KP, Paranjape RS, Peeters M, Poljak M, Price MA, Ragonnet-Cronin ML, Reyes-Terán G, Rolland M, Sirivichayakul S, Smith DM, Soares MA, Soriano VV, Ssemwanga D, Stanojevic M, Stefani MA, Sugiura W, Sungkanuparph S, Tanuri A, Tee KK, Truong HH, van de Vijver DA, Vidal N, Yang C, Yang R, Yebra G, Ioannidis JP, Vandamme AM, Shafer RW. Geographic and temporal trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted HIV-1 drug resistance: an

individual-patient- and sequence-level meta-analysis. PLoS Med. 2015 Apr 7;12(4):e1001810.

9. Li TC, Yang T, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Ishii K, Kishida N, Shirakura M, Asanuma H, Takeda N, Wakita T. Ferret hepatitis E virus infection induces acute hepatitis and persistent infection in ferrets. Vet Microbiol. 183: 30-36. 2016.
10. Shoemaker JE, Fukuyama S, Eisfeld AJ, Zhao D, Kawakami E, Sakabe S, Maemura T, Gorai T, Katsura H, Muramoto Y, Watanabe S, Watanabe T, Fuji K, Matsuoka Y, Kitano H, Kawaoka Y. An Ultrasensitive Mechanism Regulates Influenza Virus-Induced Inflammation. PLoS Pathog. 11:e1004856, 2015.
11. Zhao D, Fukuyama S, Yamada S, Lopes TJ, Maemura T, Katsura H, Ozawa M, Watanabe S, Neumann G, Kawaoka Y. Molecular Determinants of Virulence and Stability of a Reporter-Expressing H5N1 Influenza A Virus. J Virol. 89:11337-11346, 2015.
12. Katsura H, Fukuyama S, Watanabe S, Ozawa M, Neumann G, Kawaoka Y. Amino acid changes in PB2 and HA affect the growth of a recombinant influenza virus expressing a fluorescent reporter protein. Sci Rep. 6:19933, 2016.
13. Shimasaki N, Nojima Y, Okaue A, Takahashi H, Kageyama T, Hamamoto I, Shinohara K. A Novel Method of Safely Measuring Influenza Virus Aerosol Using Antigen-Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Performance Evaluation of Protective Clothing Materials. Biocontrol Sci., 2016;21(2):81-89.
14. Shimasaki N, Hara M, Kikuno R, Shinohara K. A highly sensitive assay using synthetic blood containing test microbes for evaluation of the penetration resistance of protective clothing material under applied pressure. Biocontrol Sci., 2016;21(3):161-169.
15. Sugimura T, Takahashi H, Jounai K, Ohshio K, Kanayama M, Tazumi K, Tanihata Y, Miura Y, Fujiwara D and Yamamoto N. Effects of oral intake of plasmacytoid dendritic cells-stimulative lactic acid bacterial strain on pathogenesis of influenza-like illness and immunological response to influenza virus. British Journal of Nutrition, 114(5):727-733, 2015.
16. Ainai A, Hasegawa H, Obuchi M, Odagiri T, Ujike M, Shirakura M, Nobusawa E, Tashiro T, Asanuma H. Host adaptation and the alteration of viral properties of the first influenza A/H1N1pdm09 virus isolated in Japan. PLOS ONE 2015; 10(6): e0130208.
17. Asanuma H, Ohori J, McGhee JR, Fujihashi K. Past Efforts and Future Prospects for a Nasal Influenza Vaccine. Clinical Immunology, Endocrine & Metabolic Drugs. 2015 VOL.2 ISSUE:1 13-26.

２．和文発表

1. 高下恵美: 4th isirv-AVG Conference Novel Antiviral Therapies for Influenza and other Respiratory 参加報告. インフルエンザ. 56:228-9, 2015.
2. 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 2015-16. 173-6, 2015.
3. 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.
4. 渡邉真治: 4 種混合インフルエンザワクチンで感染リスクは減るのでしょうか？　インフルエンザ. 17(1):28, 2016.
5. 影山　努　必携　検査室の感染管理 高病原性病原体の感染が疑われる患者の検査　1)鳥インフルエンザ (H5N1) および (H7N9). Medical Technology 43(13):1436-1441, 2015
6. 影山　努, 小田切孝人　鳥インフルエンザの流行状況について. 病原微生物検出情報 36(11):220-221, 2015

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1. Kaida A, Yamamoto SP, Iritani N, Kohdera U, Togawa M, Amo K, Nishigaki T, Kageyama T, Kubo H. Re-emergence of enterovirus D68 in 2013, Osaka, Japan. 31st Clinical Virology Symposium, Florida 26-29 April 2015.
2. Takahashi H, Nakauchi M, Nagata S, Odagiri T,

Kageyama T. Development of monoclonal antibodies specific for H7 HA and their application to rapid detection of influenza A/H7N9 virus. Negative Strand Virus Meeting 2015, Siena 14-19 June 2015.

3. Takashita E, Kiso M, Fujisaki S, Yokoyama M, Nakamura K, Shirakura M, Sato H, Odagiri T, Kawaoka Y, Tashiro M. 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. 4th isirv-AVG Conference. Austin, USA. June 2015.
4. Kawakami C, Momoki T, Saikusa M, Ozawa H, Shimizu K, Usuku S, Mitamura K, Takashita E, Fujisaki S, Odagiri T. Genetic analysis of influenza B viruses isolated during the five seasons in Yokohama, Japan. 4th isirv-AVG Conference. Austin, USA. June 2015.

２．国内学会

1. 板村繁之、河野直子、孫　琳、藤　博幸、大西和夫：次世代シークエンスを用いたインフルエンザワクチンに応答する抗体レパトアの網羅的解析（１）第 29 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　東京　2015 年 5 月
2. 河野直子、板村繁之、孫　琳、藤　博幸、大西和夫：次世代シークエンスを用いたインフルエンザワクチンに応答する抗体レパトアの網羅的解析（２）第 29 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　東京　2015 年 5 月.
3. 大場邦弘 、高山郁代 、中内美名 、高橋 仁、影山 努　インフルエンザ A 型感染症における亜型別の小児入院診断名の比較　第 29 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　東京　2015 年 5 月
4. Kayoko Sato, Manabu Ato, Hideki Asanuma, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Shigeyuki Itamura : Influenza vaccines activate NF-κB in macrophages through TLR3, TLR7, and RIG-I. International Conference of Cancer Immunotherapy and macrophages 2015　東京　2015 年 7 月
5. 影山　努　海外における鳥インフルエンザの発生状況と国内の検査体制　衛生微生物技術協議会総会第 35 回研究会　仙台　2015 年 7 月
6. 仙波晶平、高山郁代、中内美名、高橋　仁、米川俊広、瀬川雄司、影山　努　RT-LAMP 法による多項目同時遺伝子検査法を用いたインフルエンザウイルスの型・亜型判別　第 22 回日本遺伝子診療学会　横浜　2015 年 7 月
7. 野島康弘、嶋崎典子、岡上晃、高橋　仁、影山　努、浜本いつき、篠原克明　防護服素材の防護性能評価のための、antigen-capture ELISA を用いたインフルエンザウイルスエアロゾルを安全に測定する新規方法　日本防菌防黴学会　第 42 回年次大会　豊中　2015 年 9 月
8. 大場邦弘、名井栄実菜、秋山聡香、小花奈都子、川口隆弘、林健太、野田雅裕、吉田知広、小鍛治雅之、高橋　仁、高山郁代、中内美名、影山　努　2014/15 シーズンのインフルエンザ流行期における小児ウイルス性呼吸器感染症の検討　第 47 回日本小児感染症学会総会・学術集会　福島　2015 年 10 月
9. 高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、桑原朋子、菅原裕美、佐藤　彩、三浦秀佳、秋元未来、渡邉真治、小田切孝人：2014/15 シーズンにおける日本国内の抗インフルエンザ薬耐性ウイルス検出状況　第 47 回日本小児感染症学会総会・学術集会　福島　2015 年 10 月
10. 川上千春、七種美和子、豊澤隆弘、高下恵美：横浜市における過去5シーズンのB型インフルエンザウイルスの遺伝子解析　第 47 回日本小児感染症学会総会・学術集会　福島　2015 年 10 月
11. 嶋崎典子、原田勇一、落合雅樹、板村繁之、小田切孝人：4 価インフルエンザ HA ワクチン B 型 2 系統株 HA 抗原量を適正に測定するための一元放射免疫拡散試験法の評価及び実施手順の確立　第 19 回日本ワクチン学会学術集会　愛知　2015 年 11 月
12. Takashita E, Fujisaki S, Neumann G, Furuta Y, Kawaoka Y, Tashiro M, Odagiri T : Antiviral susceptibility of influenza viruses isolated from patients pre- and post-administration of favipiravir.　第 63 回日本ウイルス学会学術集会　福岡　2015 年 11 月
13. Watanabe S, Nakamura K, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kishida N, Kuwahara T, Sato A, Ogawa R,

Sugawara H, Akimoto M, Miura H, Odagiri T, The Influenza Surveillance Group of Japan : Characterizations of circulating influenza viruses in the 2014/2015 season and vaccine viruses selected for the 2015/16 season. 第63回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月

14. Kawakami C, Takashita E, Fujisaki S, Saikusa M, Usuku S, Odagiri T, Mitamura K : Genetic Analysis of Influenza B Viruses isolated during the Five Seasons in Yokohama. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
15. Ando T, Yamayoshi S, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. A novel host factor plays a key role in the nuclear export of influenza viral ribonucleoprotein complexes. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
16. Dongming Z, Fukuyama S, Yamada S, Tiago L, Maemura T, Katsura H, Ozawa M, Watanabe S, Neumann G, Kawaoka Y. In vitro and in vivo characterization of an H5N1 influenza A virus expressing a reporter gene. 第63回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
17. 河野直子、大西和夫、孫 琳、藤 博幸、板村繁之：増殖基材の異なるインフルエンザワクチンに応答する抗体レパトアの網羅的解析. 第 19 回日本ワクチン学会学術集会 愛知 2015年11月
18. 嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、小田切孝人：4価インフルエンザHAワクチンの一元放射免疫拡散試験におけるB型2系統ワクチン株HA蛋白の交差反応性の解析. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
19. 原田勇一、高橋 仁、浜本いつき、浅沼秀樹、許斐奈美、小田切孝人、信澤枝里：季節性細胞培養インフルエンザワクチン製造株開発への取り組み（製造株作製用ウイルスの分離） 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
20. Shigeyuki Itamura, Naoko Kono, Sun Lin, Kazuo Ohnishi, Hiroyuki Toh: Systematic analysis of antibody repertoire elicited by influenza vaccine by next generation sequencer (NGS). 第63回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
21. 久保英幸, 改田 厚, 入谷展弘, 山元誠司, 高山郁代, 中内美名, 高橋 仁, 影山 努 マイクロ流路チップ－Direct RT-LAMP 法を用いた呼吸器病原ウイルス遺伝子検出 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
22. 高橋 仁, 中内美名, 永田志保, 小田切孝人, 影山努 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. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015 年11月
23. 高山郁代, 仙波晶平, 中内美名, 高橋 仁, 白戸憲也, 米川俊広, 大場邦弘, 松山州徳, 瀬川雄司, 小田切孝人, 影山 努 RT-LAMP 法による多項目同時遺伝子検査法を用いたインフルエンザウイルスおよび MERS コロナウイルスを含む呼吸器感染症ウイルスの同定 第63回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
24. Suzuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Nobusawa E：Development of a high-growth PR8 master virus for influenza vaccine production in cell culture systems. 第63回日本ウイルス学会学術集会 福岡 2015年11月
25. Kayoko Sato, Manabu Ato, Hideki Asanuma : NF-kB activations by influenza vaccines were mediated through RIG-I, TLR3, and TLR7. 第45回日本免疫学会学術集会 札幌 2015年11月.
26. Ohori J, Asanuma H, Aso K, Ikeda Y, Sugita G, Fujihashi K, McGhee JR, Fujihashi K. Nasal Delivery Of Plasmid Flt3 Ligand And CpG ODN Restore Influenza Virus-Specific Secretory IgA Ab Responses. 第 44 回日本免疫学会学術集会 札幌 2015 年11月
27. 高下恵美：日本国内における NA 阻害薬耐性インフルエンザウイルス検出状況 5th Negative Strand Virus-Japan 沖縄 2016年1月
28. 桑原朋子：インフルエンザウイルスワクチン株の鶏卵における分離 5th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄 2016年1月
29. 渡邉真治：2014/15 シーズンのインフルエンザ流行

株と平成 27 年度ワクチン株について　5th Negative Strand Virus-Japan.　沖縄　2016 年 1 月

30. 影山　努　鳥インフルエンザ　平成 27 年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2016 年 2 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。2016 年 1 月 26 日には日本財団と各国の青年会議所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 2016」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 8 回協議会を平成 28 年 3 月 4 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 15 回市民公開講座」を平成 27 年度科学技術週間にあわせて 4 月 25 日(土)に行った。内容は「ブルーリ潰瘍」で中永和枝主任研究員が講演した。さらに 10 月 24 日には「第 16 回市民公開講座」として星野仁彦第六室長が「女性に増えている身近な肺炎のお話」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 27 年度の第 37 回夏期大学迄に 1,486 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 27 年度は 8 月 3 日～7 日までの 5 日間実施され、45 人が受講した。

国際協力事業

1. 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。

行政検査実績（石井則久、森　修一、町田聡子）

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 27 年度（平成 27 年 4 月～平成 28 月 3 月）の検査

件数は表 1 のごとく 14 症例、37 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。

14 症例の最終診断は、5 例は新規にハンセン病と診断、2 例はハンセン病の既往・再発と診断し、7 例はハンセン病でなしと診断した。

また皮膚スメア検査のサポートも行い、平成 27 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 27 年は 7 名(日本人男 1 名、フィリピン人女 2 名､ネパール人男 1 名､ブラジル人男 1 名、インドネシア人男 1 名、東チモール人男 1 名)であった。日本人は本州出身者であった。

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 2 例、耐性なし（但し DDS 検査不能）3 例、耐性なし(ただしキノロン、DDS 検査不能) 1 例であった。

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 27 年度（2015 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	18
総検査件数	37
病理学的検査件数	0
血清抗体価検査件数	8
PCR 検査件数	18
薬剤耐性遺伝子検査件数	11
実症例数	14

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
H27 年度	18	37	0	8	18	11	14

らい菌の供給（甲斐雅規・天内 肇）

平成 27 年 4 月より同 28 年 3 月までの 1 年間において、のべ 21 回、31 匹、 3 施設（国内 3、国外 0）、5 名（国内 5、国外 0）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

感染制御部では、(1) らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌により発症する疾病の病理・診断・治療・予防・薬剤感受性に関する研究業務に加えて、(2) らい菌の分離・同定・薬剤感受性試験（行政検査、2006 年以降、日本でのほぼ全症例を行っている)、(3) 希少非結核性抗酸菌の分離・同定・薬剤感受性試験（依頼検査)、(4) ハンセン病の社会疫学に関する研究業務を行っている。

らい菌(*Mycobacterium leprae*)に関する基礎研究においては、薬剤耐性機構および簡便な検出法に対する研究に進展が見られた。

M.leprae は人工培地培養が現在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、*M.leprae* の薬剤標的遺伝子を *M.smegmatis* の ortholog と交換することで、*M.leprae* 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。今年度はフルオロキノロン感受性に関連する *gyrase BA* の変異株を作成した。同様の解析を結核菌に対するフルオロキノロン感受性についても施行した。さらに、ハンセン病の 3 大主要治療薬の一つであるクロファジミンについては長い間、薬剤耐性関連遺伝子が不明であったが、クロファジミンに対する耐性株を *M.avium* を用いて作成し、全ゲノムシークエンス解析を行い、未知であったクロファジミン感受性関連遺伝子の同定に成功した。

また、途上国において利用可能な簡便な *M.leprae* 検出法の開発は喫緊の課題であり、LAMP 法を用いた *M.leprae* 特異的検出法を開発した。現在、ザンビアにおいて国際共同研究が進展している。

非結核性抗酸菌に関する基礎研究は *M. ulcerans* の subspecies である *M. shinshuense* および、*M. leprae* の近縁と考えられる *M. haemophilum* の全ゲノムシークエンス解析が進展した。

M. ulcerans によって生じるブルーリ潰瘍は無痛性難治性潰瘍を特徴とする皮膚疾患である。ブルーリ潰瘍は重篤な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（NTDs、顧みられない熱帯病）の一つに定め、その疫学・診断・治療・予防などに精力的に活動を行っている。世界では毎年数千人規模の新規患者が登録されており、WHO の *M. ulcerans* 感染症対策には感染制御部が連携を行って活発に活動を展開している。日本においては 2016 年 3 月末までに累計 58 例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*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 (ATCC33728)および全臨床分離株に関して全ゲノムシークエンス解析を終了し、*M. marinum* や *M. ulcerans* との比較ゲノム解析を行った。

また、*M. haemophilum* は *M. leprae* やハンセン病類似疾患である「Lucio 型ハンセン病」の起因菌である *M. lepromatosis* の近縁に位置する培養可能菌であり、これらの菌との関連やハンセン病研究への応用を目指し *M. haemophilum* の標準株および臨床分離株の全ゲノム解析を進めた。

ハンセン病に関しての社会疫学研究が進展した。日本と世界のハンセン病医学に関する医学史的研究、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などが進展し、日本のハンセン病療養所の入退所者数動向を 100 年間のデータとして年次・法律・療養所別に明らかにした。また、ハンセン病対策の進展要因検証に寄与することを目的として、Web 公開学術データベース「ハンセン病近現代資料アーカイブス」の作成を行い、ハンセン病医学・公衆衛生政策に関する資料を中心に数万点の資料をデジタル化しデータベース公開を始めた。

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で、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。

最後に人事であるが、2016 年 3 月 31 日付で中永和枝が定年退官した。また、2015 年 10 月 1 日付で吉田光範が研究員として着任した。

業績

調査・研究

I. らい菌の病変発症機構に関する研究

１．シュワン細胞を用いた末梢神経障害機構の解明

シュワン細胞において、らい菌感染後に細胞質内に脂肪滴が形成されることが示されており、この脂肪の蓄積がシュワン細胞の脂質代謝を調節する結果、ほぼ脂質で構成されるミエリンの再生、並びに末梢神経修復機構に影響を及ぼすことが考えられる。そこでらい菌感染による末梢神経障害機構解明の一環として、感染後のミエリン再生機能に着目し、正常、及びミエリン蛋白欠損シュワン細胞における脂質の蓄積を比較解析した。らい菌はThai53 株を用い、その感染量、感染期間、阻害剤の添加等が脂質蓄積に及ぼす影響について検討し、脂質蓄積とミエリン再生との関連についての研究を進めていく上での基盤作りに努めた。その他、シュワン細胞とらい菌相互作用の解析に関連する研究を随時遂行した。

［遠藤真澄、前田百美］

II. 生体防御機構とワクチン開発に関する研究

１． ハンセン病のワクチン開発に関する研究

らい菌感染樹状細胞から得られたエキソソームを精製し、自己 T 細胞と混合培養すると、T 細胞が活性化し、リポペプチド LipoK によってさらに T 細胞活性が増加した。そこで、エキソソームに含まれる miRNA を網羅的に解析するため、東レ(株)らが独自に開発した高性能 DNA チップ基盤 3D-Gene で解析を行った。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 をより多く含んでいた。ハンセン病特異的な miRNA が同定できれば、その miRNA をターゲットとした、新たな発想に基づくワクチン開発が期待できる。

[前田百美、向井　徹、福富康夫、田村敏生]

２．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-

末梢を循環するエフェクターメモリー様細胞傷害性 T 細胞(CTL)の分化には Th17 細胞とは異なる CD4 T 細胞が産生する IL-17F と未知の液性因子の共作用によって成熟化した樹状細胞による抗原提示が必須であること、BCG 及び結核菌はエフェクターメモリー様 CTL の分化に必須の IL-17F 産生 CD4 T 細胞の分化・活性化を抑制する機構を有している可能性を明らかにした。

[田村敏生、下袴田陽子]

(2)抗酸菌感染防御における濾胞ヘルパーT細胞の役割

リンパ濾胞に存在する CD4 ヘルパーT 細胞(TFH：PD1 陽性-CXCR5 陽性)は IL-21 を産生することによって B 細胞、T 細胞及び NK 細胞の分化、活性化を制御しているが、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、抗酸菌感染後に IL-21 を産生する TFH の分化が誘導されると同時に PD1 陽性-CXCR5 陽性-Foxp3 陽性で IL で xR を産生しない抑制性 CD4 T 細胞の分化が顕著に誘導されることを明らかにした。

[下袴田陽子、田村敏生]

３．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 を作製した。そのワクチン効果についてマウス、モルモット、サルの個体を使用した解析を行った。

(2) (1)の組換え BCG ワクチン株について、長期間継代した場合の安定性について解析を行った。

[塚本裕美子、前田百美、田村敏生、宮本友司、向井　徹]

４．結核菌に対する液性免疫を利用したワクチン開発のための基礎研究

最近になって結核菌に対する新規アジュバントを用いた新規 BCG ワクチンや新規組み換え BCG ワクチンの臨床治験の結果が、次々報告されているがいずれも果々しい成績を示していない。これは結核菌に対する BCG による細胞性免疫を利用した感染防御が限界に達している可能性もある。結核菌においても現在市販されている殆どのワクチンと同様液性免疫を利用したワクチン開発の基礎研究を行い、性別年齢を一致させた健常者においては活動性結核患者と比べて結核特異的 IgA が有意に上昇していることを見出した。

[仁木満美子（大阪市大細菌学）、松本宗吉（新潟大学細菌学）、永井英明（国立病院機構東京病院）、工藤翔二（複十字病院）、星野仁彦]

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。中国南西地方で調査した結果、家族内接触者の抗体陽性者の33.3%が発病したことが明らかとなった。このことから、流行地ではハイリスク患者を発見するため、簡便、かつローコストなキットの開発が重要である。現在、キットの感度を上げるため、高純度の MMP-II の精製を行い、さらに MMP-I など、幾つかの他の抗原との組み合わせを検討している。

[前田百美、Wang Hongsheng (Chinese Academy of Medical Sciences)、遠藤真澄、塚本裕美子、田村敏生、向井　徹]

２．ハンセン病診断抗原の開発

ハンセン病の血清診断は、PGL-1 を抗原とした凝集反応キットが市販されている。しかし、ハンセン病の病型により低い検出率である。そのため、血清診断に用いる新規らい菌抗原の検索のため、迅速発育抗酸菌である *M. smegmatis* を宿主とし、N 末および C 末に精製用 tag を付加する抗酸菌蛋白発現ベクターを構築した。さらに、公表されているらい菌塩基配列より、他の抗酸菌と相同性の低い ORF 数十種を選択し、同ベクターにクローニングを行った。今後組換えらい菌蛋白の発現精製を行い抗原性の検討により検出率の向上が図られると考えられた。

[向井　徹、宮本友司、前田百美]

３．LAMP 法によるらい菌検出法の開発

途上国において、利用可能ならい菌遺伝子検出法として、特殊ろ紙を用いた試料からの核酸抽出・保存と恒温遺伝子増幅法であるらい菌特異 LAMP 法を組み合わせ、検出感度は 50 菌体であった。この系と Nested-PCR 法との比較では、多菌型では同一の結果、少菌型ではややばらつきが認められたが、感染原の一つと考えられる無症候性排菌者の screening には十分使用可能と考えられた。試薬の乾燥化、さらなるコストの低減により実装可能な検出系開発が可能であると考えられた。

［向井　徹、宮本友司、前田百美］

４．　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* 感染症や *M. haemophilum* 感染症に関して、早期診断法の開発や細菌学的な研究を展開中である。

［中永和枝、宮本友司、塚本裕美子、石井則久］

５．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、早期診断への応用を展開中である。

［中永和枝、宮本友司、塚本裕美子、星野仁彦、石井則久］

６．病原性抗酸菌 *M. haemophilum* の遺伝子解析

M. haemophilum は、各種抗酸菌の ORF を用いた系統樹解析では、*M. leprae* や *M. lepromatosis* とどの抗酸菌よりも近縁に位置する培養可能菌である。しかし、全塩基配列は、報告されていないため、標準株、臨床分離株の全塩基配列解析を進めた。その結果、標準株の遺伝子配列の決定、および臨床分離株の配列データの取得を行った。今後これらのデータを基に細菌学的特性の解析、簡易同定法の開発を可能にすると考えられた。

[向井　徹、宮本友司、中永和枝、石井則久、甲斐雅規]

７．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）］

８．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)］

９．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。

［吉田光範、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］

１０．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 を欠失したマウスを利用して抗酸菌と宿主自然免疫の相互作用を検討中である。

［星野仁彦、片野晴隆（感染病理部)、鈴川真穂（東京病院)、西城　忍（千葉大学医学部)、山崎　晶（九州大学生体防御医学研究所)］

Ⅳ.らい菌生存度の判定に関する研究

１．らい菌 16S-rRNA 前駆体の解析

ハンセン病の起因菌であるらい菌は試験管培養することが不可能なため、ハンセン病の治療効果等の評価に不可欠であるらい菌の生存度を判定する際に困難を伴う。本研究では生存度と関連することが知られているらい菌 RNA の動きに注目し､生存度の評価においてより優れた RNA 分子の探索を試みた。その結果、これまでの研究で知られていた 16S-rRNA よりも鋭敏に生存度を評価でき得る新たならい菌 RNA 分子 (16S-rRNA 前駆体) を同定した。

[宮本友司、甲斐雅規、向井　徹、牧野正彦]

２．蛍光色素を利用したらい菌の生死鑑別法の開発

これまで､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てきた。また、CTC と呼ばれる分子が、生菌の電子伝達系を介した呼吸反応により還元され蛍光発光を伴う CTF に変化するのに着目し、共焦点レーザー顕微鏡を利用して細胞内らい菌の生死を評価してきた。その結果、マクロファージの活性化が高まると中のらい菌の代謝は減少し CTF 発光率も減少し、さらに、抗菌薬によりらい菌の代謝が低下するのに伴い、CTC から CTF への変換も低下した。以上のことから､蛍光色素を用いた方法は RI を利用した測定法に劣らず鋭敏にらい菌の生存率を評価できることが示唆された。

[福富康夫、前田百美、星野仁彦]

Ⅴ． 抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

１．らい菌 *gyrBA* 遺伝子のフルオロキノロン耐性と温度感受性に関する研究

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 33℃で良好に増殖し、37℃で増殖しないことがわかった。この菌を用いてオフロキサシン耐性変異株を 20 株程度分離したところ､*gyrA* のコドン 95 に 3 種類の変異が見られ、これらのうち 2 種類はらい菌ではまだ報告されていない変異であった。

[中田　登､吉田光範､星野仁彦]

２．結核菌 *gyrBA* 遺伝子のフルオロキノロン耐性に関する研究

フルオロキノロン耐性を示した結核菌臨床分離株に見られる *gyrBA* 変異について文献調査を行い､*M. smegmatis* の *gyrBA* を結核菌の変異型 *gyrBA* と交換した株を 27 種作製した。変異株セットに対して 5 種類のフルオロキノロンの感受性試験を行ったところ、シタフロキサシンの菌に対する増殖抑制効果が特に高いことがわかった。さらに、作成した 27 変異株の倍加時間を比較したところ、フルオロキノロン耐性に加えて、高い増殖能をもつ *gyrBA* 変異株の存在が示唆された。

[吉田光範､中田　登､星野仁彦]

３．抗酸菌のクロファジミン耐性に関する研究

クロファジミンはハンセン病主要治療薬の一つであるが、*M. avium* を用いて分離した 2 種類のクロファジミン耐性変異株は、親株に対してそれぞれ 4 倍、16 倍の最小発育阻害濃度を示した。全ゲノム解析の結果、両株は共に mmpL 遺伝子と tetR 遺伝子に非同義変異が見られ、それらの変異は両株で 2 遺伝子とも異なるものであった。

[中田　登、吉田光範、小椋義俊（九州大学細菌学)、林　哲也（九州大学細菌学)、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．*M.ulcerans* および *M. shinshuense* のゲノム解析

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）58 症例（2016 年 3 月末まで）を収集し、世界のブルーリ潰瘍との比較ゲノム研究、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ゲノム研究を展開中である。

［星野仁彦、吉田光範、中永和枝、宮本友司、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］

２．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）58 症例（2016 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。特に小児について、治療経過が不良な罹患例もみられることから、治療経過を予測できる検査法の開発をめざしている。

［中永和枝、宮本友司、塚本裕美子、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］

Ⅶ．ハンセン病の社会疫学に関する研究

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］

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 5 千点の資料のデータベース化が行われ、公開が開始されている。データベース名「近現代ハンセン病近現代資料アーカイブス : The archives of materials on Hansen's disease in modern times（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)、川西健登（国立療養所松丘保養園]

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、インド、香港、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（東京大学大学院総合文化研究科相関基礎科学系)、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．新規ウイルス感染マウスモデルの開発と応用に関する研究

１．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細菌感染モデルへの応用に関する研究

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の樹立に成功し、これらのモデルへ、らい菌・結核菌・非結核性抗酸菌の重感染を行うという方法でこれらの抗酸菌の感染モデル樹立を試みている。この他、新たな感染マウスモデルの樹立を目指し、RS ウイルス臨床分離株、麻疹ウイルス臨床分離株を試みている。

[森　修一、細谷光亮（福島県立医科大学小児科学講座）、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．新しいハンセン病の病原体 *M. lepromatosis* に関する研究

１．*M. lepromatosis* の検出と薬剤耐性変異

2008 年、メキシコのハンセン病患者から *M. leprae* と非常に似ているが異なる *M. lepromatosis* が報告された。我々はメキシコ患者由来バイオプシーサンプルを得たので、本菌の検出、薬剤耐性関連遺伝子の変異の有無を調べた。検出では 16S rDNA と *rpoT* の特徴的な塩基配列の違いを指標にした PCR 法にて 19 サンプル中 2 サンプルで *M. lepromatosis* を検出した。2 サンプルの薬剤耐性遺伝子配列で数カ所の変異を検出したが、ほとんどがアミノ酸置換のないマイナー変異であった。１カ所だけアミノ酸の置換を伴う変異がダプソン耐性と関連する遺伝子 *folP1* の既知耐性変異領域近傍にあり、２サンプルともに同じ変異を持つことが判明した。今後、この変異がダプソン耐性に影響するかどうかを検討する。

［甲斐雅規、松岡正典、宮本友司、向井　徹］

Ⅹ．ハンセン病の伝播に関する研究

１．らい菌の環境リザーバー探索とハンセン病の伝播に関する研究

ハンセン病の感染ルートとしては主に濃厚接触によりヒトからヒトへ移ると考えられているが、多剤併用療法によりハンセン病の発生が顕著に減少してきたにもかかわらず、ハンセン病の伝播が相変わらず続くことから、環境中にヒト以外の感染源が存在することが疑われている。これまでに環境中の水や土壌からもらい菌 DNA が検出されたという報告もある。そこで、らい菌の環境リザーバー探索とハンセン病伝播の解析のため、環境中に常在している原虫や蠕虫とらい菌との共生の有無について調査研究を開始した。これまでに実験的にらい菌がアメーバや線虫に取込まれることを確認した。

［甲斐雅規、中島千絵（北大）、鈴木定彦（北大）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Wang H, W. Liu, Y. Jin, M. Yu, H. Jiang, T. Tamura, Y. Maeda, and M. Makino. 2015. Detection of antibodies to both *M. leprae* PGL-I and MMP-II to recognize leprosy patients at an early stage of disease progression. 2014. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 83: 274-277. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.07.012.

2) Hoshino Y, and K. Suzuki. 2015. Differential diagnostic assays for discriminating mycobacteria, especially for nontuberculous mycobacteria: what does the future hold? *Future Microbiol* 10: 205-216. doi: 10.2217 /fmb.14.120.

3) Reche P.A, E. Fernandez-Caldas, D. R. Flower, M. Fridkis-Hareli, and Y. Hoshino. 2015. Peptide-Based immunotherapeutics and vaccines 2015. *J Immunol Res.* 2015: 349049.

4) Fukano H, S. Wada, O. Kurata, K. Mizuno, K. Nakanaga and Y. Hoshino. 2015. Nontuberculous mycobacteriosis in farmed thread-sail filefish *Stephanolepis cirrhife*. *Fish Pathology* 50: 68-76.

5) Niki M, M. Suzukawa, S. Akashi, H. Nagai, K. Ohta, M. Inoue, M. Niki, Y. Kaneko, K. Morimoto, A. Kurashima, S. Kitada, S. Matsumoto, K. Suzuki and Y. Hoshino. 2015. Evaluation of humoral immunity to *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens for correlation with clinical status and effective vaccine development. *J Immunol Res*. 2015: 527395. doi:10.1155/2015/527395

6) Luo Y, D. Yang, M. Ohtsuka, Y. Ishido, N. Ishii, and K. Suzuki. 2015. Detection of *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* DNA from a water channel in familial Buruli ulcer cases in Japan. *Future Microbiol* 10: 461-469.

7) Sugawara M, N. Ishii, K. Nakanaga, K. Suzuki, Y. Umebayashi, K. Makigami, and M. Aihara. 2015. Exploration of a standard treatment for Buruli ulcer through a comprehensive analysis of all cases diagnosed in Japan. *J Dermatol* 42: 588-595.

8) Ishii K, N. Ishii, K. Nakanaga, K. Nakano, I. Saito, and A. Asahina. 2015. *Mycobacterium haemophilum* infection with prominent facial manifestation mimicking leprosy. *J Dermatol* 42: 992-995.

9) Murase C, M. Kono, K. Nakanaga, N. Ishii, and M. Akiyama. 2015. Buruli ulcer successfully treated with negative- pressure wound therapy. *JAMA Dermatol* 151: 1137-1139.

10) Yotsu RR, C. Murase, M. Sugawara, K. Suzuki, K. Nakanaga, N. Ishii, and K. Asiedu. 2015. Revisiting Buruli ulcer. *J Dermatol* 42: 1033-1041.

11) Enomoto Y, M. Oba, N. Ishii, K. Nakanaga, Y. Yagi, H. Hasegawa, Y. Ozawa, T. Matsui, K. Yokomura, and T. Suda. 2015. Rhinosinusitis and disseminated cutaneous infection caused by *Mycobacterium chelonae* in an immunocompromised patient. *J Infect Chemother* 21: 691-694.

12) Asakura T, M. Ishii, T. Kikuchi, K. Kameyama, H. Namkoong, N. Nakata, K. Sugita, S. Tasaka, T. Shimizu, Y. Hoshino, S. Okamoto, T. Betsuyaku, and N. Hasegawa. 2016. Disseminated *Mycobacterium marinum* infection with a destructive nasal lesion mimicking extranodal NK/T cell lymphoma. *Medicine (Baltimore)*, 95: e3131. doi: 10.1097/MD.0000000000003131 2016.

13) Hatano S, T. Tamura, M. Umemura, G. Matsuzaki, N. Ohara, and Y. Yoshikai. 2016. Recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin expressing Ag85B-IL-7 fusion protein enhances IL-17A-producing innate γδ T cells. *Vaccine* 34: 2490-2495.

14) Tsutsumi R, N. Yamada, Y. Yoshida, K. Nakanaga, N. Ishii, and O. Yamamoto. 2016. Disseminated *Mycobacterium chelonae* infection identified by repeated skin sampling and molecular methods in a patient with rheumatoid arthritis. *Acta Derm Venereol* 96: 132-133.

15) Hattori M, S. Motegi, H. Amano, N. Ishii, and O. Ishikawa. 2016. Borderline lepromatous leprosy: Cutaneous Manifestation and type 1 reversal reaction. *Acta Derm Venereol* 96: 422-423.

16) Yotsu RR, N. Ishii, and S. Rajagopalan. 2016. Leprosy. Taylor and Kelly's Dermatology for Skin of Color , 2nd Ed, (Kelly AP, Taylor SC ed.) pp469-474, McGraw-Hill Education, New York.

2. 和文発表

1) 結城明彦、浅野幸恵、伊藤　薫、中永和枝、石井則久：*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* による Buruli 潰瘍の 1 例. 臨床皮膚科 69: 337-342, 2015.

2) 四津里英、村瀬千晶、石井則久: 潰瘍を伴う抗酸菌症－Buruli 潰瘍とその病理－. 病理と臨床 33: 862-868, 2015.

3) 大橋理加、谷　冴香、辻岡　馨、井上真一、中永和枝、石井則久: *Mycobacterium haemophilum* による皮膚非結核性抗酸菌症の 1 例. 臨床皮膚科 69: 868-872, 2015.

4) 石井則久: 総論. 非結核性抗酸菌の基礎と臨床（藤田次郎、阿部千代治、一山　智、飯沼由嗣、森　享、石井則久編集）, p530-532, 医薬ジャーナル社（大阪）, 2015.

5) 斎藤　肇、石井則久: *Mycobacterium marinum* 症. 非結核性抗酸菌の基礎と臨床（藤田次郎、阿部千代治、一山　智、飯沼由嗣、森　享、石井則久編集）, p533-547, 医薬ジャーナル社（大阪）, 2015.

6) 堀田亜紗、大川智子、石田修一、山口由衣、中永和枝、石井則久、相原道子: 皮膚 *Mycobacterium abscessus* 感染症の 1 例. 皮膚臨床 58: 445-450, 2016.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tsukamoto Y, Y. Maeda, T. Tamura, T. Mukai. Y. Miyamoto, and M. Makino: Polyclonal activation od naïve T cells by urease deficient-recombinant BCG that produced protein complex composed of heat shock protein 70, CysO and major membrane protein-II. 4th Global Forum on TB vaccines, 21-23 April 2015. Shanghai, China.

2) Ishii N: Introduction. Symposium “Cutaneous TB and Atypical Mycobacterioses”. 23rd World Congress of Dermatology, 8-13 June 2015. Vancouver, Canada.

3) Ishii N: Atypical mycobacterioses. Symposium “Cutaneous TB and Atypical Mycobacterioses”. 23rd World Congress of Dermatology, 8-13 June 2015. Vancouver, Canada.

4) Tsukamoto Y, Y. Maeda, T. Tamura, T. Mukai, S. Mitarai, S. Yamamoto, and M. Makino: Development of recombinant BCG utilizing major membrane protein (MMP)-II . 50th Anniversary of the U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 13-14 January 2016. Bethesda, MD, USA.

5) Shimohakamada Y, T. Tamura, and M. Umemura: Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of CD8 cytotoxic T lymphocytes. 50th Anniversary of the U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 13-14 January 2016. Bethesda, MD, USA.

6) Mukai T, S. Srisungngam, J. Rudeeaneksin, S. Sangkitporn, A. Ruch, S. Hamada, Y. Suzuki, M. Matsuoka, and B. Phetsuksiri: Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of *Mycobacterium leprae*. 50th Anniversary of the U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 13-14 January 2016. Bethesda, MD, USA.

7) Miyamoto Y, T. Mukai, M. Matsuoka, M. Kai, Y. Maeda, and M. Makino: Comprehensive profiling of cellular components: an approach to understanding the characteristic physiology of *Mycobacterium leprae*. 50th Anniversary of the U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 13-14 January 2016. Bethesda, MD, USA.

8) Maeda Y: Detection of MMP-II antibody coupled to PGL-I antibody in the sera of leprosy patients, facilitate diagnosis of leprosy. 50th Anniversary of the U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, 13-14 January, 2016. Bethesda, MD, USA.

9) Maeda Y, Y. Miyamoto, and T. Mukai: Development of kits for measuring antibody titer for the diagnosis of leprosy. The 1st International conference on the control measure of neglected tropical diseases. 7 March, 2016. Lusaka, Zambia.

10) Mukai T, S. Srisungngam, J. Rudeeaneksin, S Sangkitporn, A. Ruch, S. Hamada, Y. Suzuki, M. Matsuoka, and B. Phetsuksiri: Development and evaluation of loop‐mediated isothermal amplification for rapid detection of *Mycobacterium leprae.* The 1st International conference on the control measure of neglected tropical diseases. 7 March, 2016. Lusaka, Zambia.

2. 国内学会

1) 村瀬千晶、河野通浩、松本高明、横田憲二、長谷川佳恵、中永和枝、石井則久、秋山真志: 日本におけるブルーリ潰瘍の疫学と新規治療法の提唱. 第 114 回日本皮膚科学会総会. 2015 年 5 月 横浜市

2) 鵜飼佳子、杉本俊郎、川内康弘、大井綱郎、藤井紀和、中西健史、石井則久: 日本で発症したフィリピン人の BL 型ハンセン病の 1 例. 第 114 回日本皮膚科学会総会. 2015 年 5 月　横浜市

3) 松岡正典、黒尾和久、甲斐雅規、北原　誠: 特別病室(重監房)跡地の土壌からのらい菌 DNA の検出. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
4) 北原　誠、黒尾和久、松岡正典、甲斐雅規: 特別病室(重監房)跡地の基礎調査と保全対策. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
5) 天児和暢、飯田健一郎、斎藤光正、甲斐雅規、松岡正典、吉田真一: らい菌増殖に於ける globi 形成の意義. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
6) 前田百美、田村敏生、向井　徹、牧野正彦: らい菌感染細胞が放出するエキソソームの機能解析. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会.　2015 年 6 月　高松市
7) 森　修一、田中丹史、廣野喜幸: 台湾でのハンセン病解放医療の進展に関する研究. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
8) 瀬川将広、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（第二報）. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
9) 森山一隆、森　修一: 奄美大島での小笠原　登に関する研究. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
10) 向井 徹、松岡正典、宮本友司、牧野正彦: ハンセン病病原菌 *Mycobacterium lepromatosis* の簡易判別法の開発.　第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月　高松市
11) 福富康夫: マクロファージの抗らい菌活性発現機構のヒトマウス間の比較－ヒトハンセン病においてIFN γはマクロファージの抗らい菌活性を誘導するサイトカインとして機能しているのかー. 第 88 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2015 年 6 月 高松市
12) 高濱英人、村井見華、中永和枝、石井則久: 健常女性に皮膚潰瘍を多発した皮膚 *Mycobacterium abscessus* 感染症の 1 例. 第 31 回日本臨床皮膚科会総会・臨床学術大会. 2015 年 6 月 網走市
13) 水野雄貴、伊藤　満、周　円、清島真理子、中山麻美、山内雅裕、石井則久: 滞日東チモール人にみられた多菌型ハンセン病の 1 例. 第 272 回日本皮膚科学会東海地方会. 2015 年 6 月 名古屋市
14) 石井則久: 皮膚非結核性抗酸菌症. 第 66 回日本皮膚科学会中部支部学術大会. 2015 年 10 月 神戸市
15) Tsukamoto Y, and T. Tamura: Improvement of *Mycobacterium bovis* BCG as a vaccine against tuberculosis by the usage of proteolysis-inducing signal. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会. 2015 年 11 月 札幌市
16) 梅村正幸、福井雅之、山﨑雅俊、福井知穂、照屋尚子、田村敏生、中江　進、岩倉洋一郎、松﨑吾朗: マイコバクテリア感染肺における IL-17 サイトカイン・ファミリーの防御能の相違. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会. 2015 年 11 月 札幌市
17) 下袴田陽子、田村敏生、梅村正幸: The role of IL-21 produing and non-producing follicular helper T cells in mycobacterial infection. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会. 2015 年 11 月 札幌市
18) 田村敏生、下袴田陽子, 梅村正幸: Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of CD8 cytotoxic T lymphocytes. 第 44 回日本免疫学会総会・学術集会. 2015 年 11 月 札幌市
19) 甲斐雅規: らい菌日本株のゲノム解析.　第 49 回日本無菌生物ノートバイオロジー学会. 2016 年 1 月 仙台市
20) 上條宏章、青笹尚彦、五十棲　健、中永和枝、石井則久: 左前腕に生じた *Mycobacterium marinum* による非結核性抗酸菌症の 1 例. 第 79 回日本皮膚科学会東京・東部支部合同学術大会. 2016 年 2 月. 新宿区
21) 海野俊徳、久保仁美、夏目岳典、塚原恵子、天野芳郎、岩澤幹直、中永和枝、石井則久: 広範囲のデブリードメントを行った小児の Buruli 潰瘍の 1 例. 第 79 回日本皮膚科学会東京・東部支部合同学術大会. 2016 年 2 月 新宿区
22) 石井則久、四津里英: 日本におけるハンセン病新規患者の動向. 日本皮膚科学会第 76 回沖縄地方会. 2016 年 2 月 中頭郡
23) 天児和暢、飯田健一郎、斎藤光正、甲斐雅規、小椋義俊、吉田真一、林　哲也: らい菌増殖に於ける globi 形成の意義. 第 89 回日本細菌学会総会. 2016 年 3 月　大阪市

２４．総務部総務課図書室

図書室長（総務課長併任）金山　和弘

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 27 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			116	229	345
	購入		51	2	53
		電子版	47	0	47
	交　換		21	4	25
	寄　贈		44	223	267
単行本			71	256	327
	購入		13	5	18
		電子版	0	0	0
	寄　贈		58	251	309

文献相互貸借状況		供与	依頼	合計
総数		222	1,276	1,498
三庁舎間		129	129	258
外部機関総数		93	1,147	1,240
	協力機関	58	104	162
	国公立大学/機関	20	639	659
	私立大学/機関	15	404	419

[編集翻訳係]

編集翻訳係では,平成 27 年度は JJID vol. 68 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 月末に渡邉治雄，牧野正彦が退官し，4 月に石井則久が加わった．編集方針に変更はない．

11 月の編集委員会において Instruction の最終改定(案)が承認され，翌年 1 月より Web 公開し改定することが決定された．科学技術振興機構（JST）が運営する電子ジャーナル共同利用センター（J-STAGE）でのシステムも順調に運用され，投稿数も 3.2 倍に増えた．海外からの投稿が 84%を占め，42 ヵ国に及ぶ．

第 25 回感染研シンポジウムの演者及び 27 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. 1/80 頁(18 編)，2/88(17)，3/94(19)，4/90(19)，5/102(20)，6/83(17)

投稿論文数　感染研内　14 編
国内　94 編
海外　574 編 (42 ヵ国)

採択率　11%

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）を商用 IaaS 環境で運用する、いわゆるシステムのクラウド化を実現した。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と同時に、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の性格を持たせ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。平成 27 年 4 月から、所外向け Web サーバは「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、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」を平成 18 年 10 月より運用開始をした。「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 年度から実施されている。その後、感染症の脅威の増大に伴い感染研が国内外と即時的な情報交換をする機会が増して情報管理が一層重要視されたため、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必要が生じ、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。平成27年度6月に発覚した日本年金機構における情報漏

えい事案は、厚生労働省管轄の各機関に標的型メール攻撃対策の強化を強いるものとなった。また、インシデンス発生時の即応能力がないと、長期間の業務停止を招くことも再認識され、これらの対策が急務となった。研究情報運営委員会は、本省情参室に対策の調整を働きかけるとともに、インシデンスの収集をはかる新たな組織である CSIRT（Computer Security Incidence Response Team）の設立を所に促した。その結果、標的型メールの緊急対策システムの導入、CSIRT の次年度における発足が実現した。

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各部署の正職員からそれぞれ選出された運営委員からなる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、登録ユーザ・機器の管理とトラブル支援を行い、通常のネットワーク運用業務は数名の研究職員と期間業務職員からなる運営委員会事務局によって行われる。情報セキュリティ上のインシデンスが発生した際には、CSIRT 事務局が CSIRT 対応要員（ほぼ運営委員と同一）と共にその収拾にあたる。このほかに、障害対応・情報セキュリティ監視（SOC 機能）・運営技術支援のため、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外部研究機関等の 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。情報セキュリティ対策の妥当性は、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

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。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 e-learning によって行っている。

Ⅳ．今年度の活動内容

平成 27 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) CSIRT 発足に先立ち、定義書とインシデンス手

順書を作成した

(2)利用ソフトウェア等の届出のための Web インターフェースを作成した

(3) 標的型メール攻撃訓練を実施した

(4) 標的型メール攻撃への対策として、クラウドサービスによるメールの振舞い検知システムを導入した

Ⅴ.平成 27 年度中の主なシステム障害とセキュリティインシデンス、以下の通り

である。

１．15/08/20	所外向け Web サーバのデータベース障害 HDD の一時記憶領域の容量が制限を超えたため、書き込みができなくなった
２．15/11/05	インターネット通信障害 Firewall のファームウェア更新作業中の作業ミス
３．15/12/09	感染研所有のマシンで利用した USB メモリが国立医療科学院にてマルウェア感染と判定された 村山庁舎での研修時に感染した者と思われるが、痕跡はみつからなかった
３．16/03/02	Macintosh 端末数台が DHCP による IP 配信を受けられない MacOS 10.11 のアップデートに、有線ネットワークカードをうまく制御できないエラーがあったため