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 年における高度封じ込め施設の BSL4 指定以降、村山庁舎においては BSL4 施設における安全管理のみならず、庁舎全体のセキュリティー強化を推進してきたが、本年度も進展があった。特に、村山庁舎西側に避難のための南北通路が完成し、平成 29 年 3 月 8 日開通式を行った。さらに、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、2 回目となる村山庁舎一般公開を 7 月 30 日に開催し、地域の方々に所の研究・業務に関して理解を深めていただくことに努めた。

戸山庁舎においては一般公開を 10 月 1 日に開催するとともに、5 月 23 日には感染研シンポジウム“WHO EPI と麻疹・ポリオの排除・根絶”を行った。また、アウトリーチ活動の一環として、知の市場を本年度も前後期にわたり開催した。

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 10 回日中韓共同シンポジウム（中国、北京）、台湾 CDC との第 13 回日台感染症シンポジウム（台湾、台北）が開催された。また、インド国立コレラ腸管感染症研究所（NICED）との日印共同研究発表会（インド、コルカタ）が開催された。ベトナムとの共同研究に関しては NIHE と今後の協力体制の意見交換を行った。

新たな国際協力体制の構築のため、平成 29 年 2 月 23 日、韓国国立医薬品食品評価研究所（NFDS）とワクチン及び生物製剤の品質管理分野の研究協力等に関する覚書を締結した。

海外における健康危機対応においては、国際緊急援助隊として、コンゴ民主共和国における黄熱の拡大に対して、JICA との協力のもと、平成 28 年 7 月 10-19 日 調査チームの隊員として 2 名を派遣、さらに、平成 28 年 7 月 20-31 日 黄熱緊急援助隊員として 2 名を派遣した。海外諸国との技術協力として、50 カ国から 220 名の外国人研修生等を受け入れ、一方、専門家の派遣については、41 カ国 464 名の派遣を行った。

国立感染症研究所は麻疹排除の維持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。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ラトリーとしての活動を行った。さらに、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際的にも大きな貢献を行った。

感染症疫学センターは国のサーベイランス事業において中央感染症情報センターとして位置づけられているが、感染症発生動向調査(NESID)、病原微生物検出情報(IASR)、感染症発生動向調査週報（IDWR）等により感染症情報の収集、還元を行った。また、実地疫学専門家養成コース（FETP）を実施し、本年度は18期生を迎えた。予防接種法の改正により始まった副反応報告については集計、解析を行い、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共有し我が国のワクチン行政に貢献した。

薬剤耐性菌に関する業務においても進展があった。院内感染対策サーベイランス（JANIS）に関しては本年度も参加医療機関の増加があった。また、WHO の薬剤耐性サーベイランス(GLASS)に提出するデータをJANIS のデータベースから抽出・集計し、国際的な薬剤耐性対策にも貢献した。

平成 28 年 4 月 5 日、国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議から発出された「薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン」において、“院内感染症対策サーベイランス事業（JANIS)の強化とともに薬剤耐性に関する包括的なシンクタンク機能を担う組織として薬剤耐性感染制御研究センター（仮称）を国立感染症研究所に設立すること“と明記された。その後、国立感染症研究所薬剤耐性研究センターの設置が承認され、平成29年4月1日から設立されることとなった。

生物製剤の品質管理においては、平成 28 年 10 月 31 日に厚生労働省監視指導・麻薬対策課、独立行政法人医薬品医療機器総合機構による試験検査機関認定調査を受けた。平成 29 年 1 月 13 日付で、公的医薬品試験検査機関としての認定（継続）を受けた。

国立感染症研究所研究評価委員会が平成 29 年 2 月 15 日に開催された。本年度は機関評価が主であり、①研究、開発、検定、検査の状況と成果、②研究開発課題の設定、③公的研究資金・競争的資金及び民間資金の導入状況等計 10 項目に関し評価が行われた。同時に、研究課題評価も行われ、研究事業費における 2 課題にかかる中間評価、及び 2 課題にかかる事前評価が行われた。評価委員からは種々の指摘があったものの、概ね高い評価を受けた。

なお、本年度は部長センター長等の人事異動はなかった。

1．ウイルス第一部

部　長　　西條　政幸

概　要

2016 年度には以下の人事異動があった. 主任研究官谷英樹氏が 2016 年 10 月 1 日付けで退職し, 富山大学医学部ウイルス学教室准教授に就任した.

出血熱ウイルス，新興ウイルス感染症，ポックスウイルス，アルボウイルス（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，ジカウイルス等），神経ウイルス（狂犬病ウイルス，JC ウイルス等），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，予防方法の開発に関する研究が行われた．それぞれの研究成果は学術雑誌において学術論文として発表され，また，国内外の学会等においも学術発表された.

2016 年には，アンゴラ・コンゴ民主共和国で黄熱の大規模流行が発生した．外務省がコンゴ民主共和国への黄熱対策に協力するための国際援助隊(感染症対策)の派遣を決定し，ウイルス第一部からは 3 名のスタッフが派遣され，黄熱の診断のための検査を支援した.

第一室においては，感染性ウイルスを用いることなくクリミア・コンゴ出血熱ウイルスに対する中和抗体を測定するシステムが開発された．また，中国に続いて 2013 年に 1 月に日本でも流行が確認された重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する基礎的ウイルス学，臨床・疫学的解析，治療法・ワクチン開発，等の研究が精力的になされた．ポックスウイルスに関する研究では，組換え LC16m8（高度弱毒化細胞培養痘瘡ワクチン）を比較的容易に作製するための BAC システムが開発された. この LC16m8 を基盤とした高病原性ウイルスに対するワクチンを開発する研究が進められた.

第二室においては，デングウイルスに対する抗ウイルス薬開発に関する研究，ジカウイルス感染症関連研究（分離されたジカウイルスの性状解析，動物モデル開発，組換えジカウイルスを作出するためのリバースジェネティックス法の開発，迅速診断法の開発，他），日本脳炎ウイルスやウエストナイルウイルス，その他のフラビウイルスに対する抗体検査における中和抗体測定の重要性を評価する研究，等がなされた．ジカウイルス感染症，デングウイルス感染症等のウイルス学的な検査が実施された.

第三室においては，狂犬病ウイルスと進行性多巣性白質脳症（PML）を引き起こす JC ウイルスに関する研究が継続された．狂犬病ウイルス研究においては，狂犬病ウイルスの P 遺伝子欠損狂犬病ウイルスをベクターとして，リンパ球脈絡髄膜炎ウイルスや MERS コロナウイルス［中東呼吸器症候群（MERS）の原因ウイルス］に対するワクチン開発研究がなされた.

PML に関する研究では，高感度 JC ウイルス検出法を開発し，そのシステムを用いて日本国内からの検査依頼に応え，患者の治療に貢献するとともに，日本における PML に関する患者の臨床的背景，疫学を明らかにした.

第四室においては，単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1），単純ヘルペスウイルス 2 型（HSV-2），水痘・帯状疱疹ウイルス（VZV），ヒトサイトメガロウイルス（HCMV）に関する研究がなされた．特にアシクロビル（ACV）等に耐性 HSV-1 感染症に関する基礎的研究がなされ，また，国内の医療機関から難治性の HSV-1 感染症，HCMV 感染症患者における原因ウイルス薬剤感受性検査を受け入れた．LC16m8 痘瘡ワクチンを基盤とした HSV-2 ワクチン開発研究も実施された.

ベトナムに生息するオオコウモリから分離されたアルファウイルスの性状解析，霊長類のアルファウイルスである B ウイルスに対するワクチン開発等の研究もなされた.

第五室においては, リケッチア感染症(日本紅斑熱，つつが虫病）対策に関する研究，基礎的研究，リケッチア症検査に関する各地方衛生研究所との連携を維持・強化するための活動がなされた．また，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も継続された．さらに，組換え抗原を利用したつつが虫病血清診断法の開発，つつが虫病リケッチアの細胞内増殖の分子生物学的解析，等の基礎研究も実施された．

その他，米国で発見されたブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類されるハートランドウイルス，MERSコロナウイルス，プテロパインオルソレオウイルス（コウモリ由来ウイルスで，東南アジアで散発的に発生している呼吸器感染症の原因ウイルス），リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス，エーリキア症に関する研究も実施された．

国内外の研究機関，研究者との共同研究も実施された．

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．2016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．ウイルス第一部が担当するウイルスやリケッチア等による感染症，及び，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，各種国際協力活動を行った．AMEDの助成により3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と，大学や研究機関等から研究生，実習生を受け入れた．

業　績

調査・研究

Ⅰ．ウイルス性出血熱及び新興・再興感染症に関する研究

1．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する研究

1）SFTSウイルスの中和抗体価測定法の開発に関する研究

SFTSウイルス（SFTSV）は感染細胞に明確な細胞変性効果を示さず，ウイルス分離において感染の有無を判断には1週間程度の細胞培養と抗血清による染色，遺伝子検出が必要となる．そのため血清の中和抗体価の測定には，比較的長い時間を要し，かつ，操作が煩雑で，さらに経費が高くなる．SFTSVをVero細胞で継代を続け，培養3-4日でプラークを形成させるSFTSVが得られた．このプラーク形成能の獲得にはエンベロープ蛋白質の962番目のアミノ酸が関っている．このSFTSVを中和抗体測定に用いることで，より簡便に中和抗体測定が実施可能か否かを検討した．改良法でも，通常の方法とほぼ同程度の中和抗体価が得られることが明らかとなった．プラーク形成能のあるSFTSVを中和抗体測定法に用いることにより，より簡便に，かつ，安価に中和抗体測定ができるようになった．［下島昌幸，谷口怜，福士秀悦，西條政幸］

2）SFTSV動物感染モデル開発と治療法に関する研究

SFTSV感染症の病態解明やワクチン開発，治療法の開発には適切な動物感染モデルが必要となる．これまで齧歯類や特定の遺伝子の欠損動物，非ヒト霊長類（サル）を用いたSFTSVの動物感染実験に関する研究成果が報告されている．しかし，SFTS患者で認められる特徴を反映するモデルではない．

カニクイザルに高い感染力価のSFTSVを静注すると，高い致死性，臨床症状や病理所見も含めたSFTS患者に認められる多くの特徴を示すことを見出した．このモデルを用いてSFTSV感染症に対する抗血清の治療効果を検討した．

血中ウイルスや症状の早期改善が認められた．SFTSVに対する抗血清の投与がSFTSに対する特異的治療法になり得ることが示唆された．［下島昌幸，谷口怜，福士秀悦，谷英樹，黒須剛，渡辺俊平，西條政幸；網康至（動物管理室）；永田典代，岩田奈織子（感染病理部）］

3）SFTSVの血清学的診断法の開発及び疫学調査に関する研究

SFTSはSFTSVによって引き起こされるマダニ媒介性感染症である．SFTSVはヒトに対して致死率の高い全身性疾患（ウイルス性出血熱）であるSFTSを引き起こす．中国では地域によってばらつきがあるものの，患者発生地域の健常者におけるSFTSV抗体保有率は0.2~9.2%と

報告されている．日本における健常者のSFTSV抗体保有率と感染リスクを明らかにするため，SFTS 発生地域である鹿児島県内において，狩猟関係者（ダニに噛まれるリスクが高い）と一般住民(ダニに噛まれるリスクが低い)のSFTSVに対する抗体調査を実施した．

646 人中 2 人が抗体陽性を呈した．狩猟関係者,一般住民の間で抗体陽性率に差はなかった．この結果は SFTS の流行地域であってもダニに噛まれるリスクがあるにかかわらず，健常者の抗体陽性率は極めて低いことが明らかとなった．［福士秀悦，谷英樹，渡辺俊平，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；御供田睦代（鹿児島県環境保健センター)］

4) 痘そうワクチンLC16m8株を土台とした重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対するワクチン開発

細胞培養痘そうワクチン LC16m8 株は，ワクチンとしての免疫原性を維持しつつ，その安全性が高いワクチン株である．LC16m8 株の長所を生かして，LC16m8 を用いて SFTSV 感染症への効果的なワクチンを開発するための研究がなされた．前年度までに作製された SFTSV の膜蛋白質(GPC)または核蛋白質(N)を発現する組換え LC16m8 と GPC と N 両方を発現する組換え LC16m8(これらをrecVAC-SFTSV と総称)の SFTSV 感染症による発症予防効果を，動物モデルを用いて評価した．事前にrecVAC-SFTSVを接種しておいたⅠ型インターフェロン受容体ノックアウトマウスでは，その後の SFTSV 接種による致死的感染症発症が阻止され，100%生存した．本結果はrecVAC-SFTSV がSFTS ワクチンとしての有効性を有することを示している．［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，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)］

5) カフェ酸の重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）に対する効果に関する研究

コーヒーに含まれるポリフェノールの一種であるカフェ酸（CA）は，がん転移の抑制や抗ウイルス効果などの活性があることが報告されている．本研究では，SFTSV に対する CA の抗ウイルス活性を in vitro で評価した．CA と SFTSV を混合して Vero 細胞に接種すると，CA 容量依存的に，SFTSV 増殖が抑制された．CA に抗 SFTSV 活性があることが明らかにされた．［小川基彦，安藤秀二，西條政幸（ウイルス第一部）；深澤征義，白砂圭崇（細胞化学部)］

2. 中東呼吸器症候群（MERS）に関する研究

1) 中東呼吸器症候群(MERS)ウイルス(MERS-CoV)の血清診断法に関する研究

MERSは2012年にサウジアラビアで初めて報告された，新規コロナウイルス（MERS-CoV）による感染症である．本研究では，まず初めにMERS-CoV スパイク（S）蛋白質に対する単クローン抗体を新規に樹立した．可能な限り修飾のないMERS-CoVのS蛋白質に対する単クローン抗体を得るため，超遠心等でMERS-CoVそのものを精製し，紫外線で不活化後，マウスを精製MERS-CoV で免疫した．単クローン抗体のスクリーニングの際，他のコロナウイルスに反応しないものを選択した．さらにS蛋白質に反応し，かつSFTSVに対して中和活性のある抗体を選択した．樹立された単クローン抗体の認識部位は既報の単クローン抗体の認識部位とは異なっていた．酵素標識した単クローン抗体を用い，他のコロナウイルスと交叉性がない抗体測定システム（競合ELISA）を確立した．［福士秀悦，谷英樹，渡辺俊平，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；大西和夫，阿戸学（免疫部）；白戸憲也，松山州徳（ウイルス第三部）；岩田奈織子，永田典代（感染病理部)］

3. クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）に関する研究

1) CCHF の診断法に関する研究

クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）の迅速な診断に有用なリアルタイムRT-PCR法を開発した．そのプライマーセット及び TaqMan プローブはCCHF の S セグメントの配列(122 塩基の配列)

を標的に設計された．ウイルス配列を含むウイルス検出用のプローブに加えて，陽性対照配列検出用プローブ（25 塩基の人工配列を含む）も 2 種類用意した．陽性対照 RNA は，人工合成 DNA を鋳型として in vitro transcription により合成した．陽性対照 RNA を利用して，リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検出を行なったところ，ウイルス検出用のプローブ，または陽性対照配列検出用プローブのいずれのプローブを用いても標的遺伝子が効率良く検出された．さらに陽性対照 RNA を段階希釈して，本リアルタイム RT-PCR 法の検出限界を評価したところ，検出限界のウイルス RNA 濃度が 10 コピー/ml であった．本 RT-PCR 法の CCHFV 検出感度は高く，迅速性に優れいている．［下島昌幸，渡辺俊平，福士秀悦，黒須剛，西條政幸］

4．プテロパインオルソレオウイルスに関する研究

1）PRV の病原性に関する研究

近年，コウモリ由来プテロパインオルソレオウイルス（Pteropine orthoreovirus, PRV）がマレーシアやインドネシアにおいてヒトで呼吸器感染症の原因となっていることが明らかにされている．ヒト由来 PRV 分離株とコウモリ由来 PRV 分離株の BALB/c マウスにおけるウイルス学的及び病理学的な特徴を解析した．いずれの分離株をマウスに経鼻接種すると，PRV は肺で増殖し，急性肺炎を引き起こした．両ウイルス分離株の LD_{50} 値は同程度であった．ヒト由来 PRV とコウモリ由来 PRV のマウスに対する病原性に差は認められなかった．PRV を経鼻接種した後，抗血清を腹腔内投与することにより致死率は低下した．マウスを用いた PRV 感染症に関する動物モデルが開発された．このモデルは治療法や予防法の評価に有用であることが明らかにさた．［下島昌幸，谷口怜，黒須剛，福士秀悦，西條政幸；江川和孝（岐阜大学院連獣）；永田典代（感染病理部）］

5．新規ブニヤウイルスに関する研究

1）Soft tick bunyavirus の性状解析に関する研究

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）と系統樹解析から近縁であることが明らかにされている．STBV による疾患の国内報告はないが，ISKV とウイルス学的に類似した性状を STBV が有するか否かを検討した．5×10^3 PFU の STBV を I 型インターフェロン受容体欠損マウスに投与したところ，いずれのウイルスを感染させたマウスは体重減少と立毛の症状を呈し，数日以内に死亡した．調べられたいずれの臓器でのウイルス増殖が確認された．STBV は ISKV と類似する特性と病原性を有することが示唆された．［下島昌幸，黒須剛，西條政幸］

II. ポックスウイルスに関する研究

1．ワクチニアウイルスに関する研究

1）LC16m8 の BAC システム開発

前年度までに LC16m8（m8）株を BAC プラスミド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 m8 の作製系（m8-BAC システム）が確立された．この BAC プラスミドを HEK293 細胞にトランスフェクションすると同時に，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 m8 を作出できる．これにより m8 を土台として，他の病原体の抗原を発現する組換え m8 を簡便かつ高速に作出できるようになった．BAC プラスミド内に存在し，BAC を構成するための必須遺伝子（BAC カセット）は，プラスミドを大腸菌内で安定的に保持するために必須である．しかし，BAC カセットは作出された感染性組換えウイルスの増殖に必要がないにもかかわらず，ウイルスゲノム内に保持される．

本年度はこのシステムを，作出された m8 のゲノムから BAC カセットが自動的に脱落させるシステムに改良した．改良されたシステムによって作出された組換え m8 の増殖速度やプラーク形成能，ゲノム配列は，本来の m8 のそれらと一致することが確認された．本 m8-BAC システムは m8 をベースとした組換えワクチン作製やワクチニアウイルスの性状解析のため

の研究に有用である.［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デングウイルス増殖抑制効果

昨年度は，薬剤サイクロフェニル（CF）がデングウイルス増殖を抑制することを示した．本年度は主にCFのデングウイルス増殖抑制機序を解明する研究がなされた．

CFが，1）ウイルスゲノムRNA合成阻害活性を有さないこと，2）ウイルス粒子放出阻害活性を有さないことが明らかにされた．CF添加・非添加のデングウイルス感染細胞間で，細胞の小胞体やそこに含まれるウイルス様粒子構造に形態上差は認められなかった．以上の結果，CFは主にデングウイルス粒子形成を阻害すると考えられた．［田島茂，加藤文博，林昌宏，西條政幸；藤間大貴（早稲田大学）］

2) 国内デング熱患者検体中のデングウイルスゲノム解析

デング熱患者検体から次世代シーケンサーを用いて直接デングウイルスゲノムを解析する方法を確立した．この方法を用いて，ウイルス第一部で保有されている検体中のデングウイルスゲノム全長配列を決定した．塩基配列データ63件分を，国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターで開発したデータベース化プラットフォームGenEpid-Jに登録した．［中山絵里，田島茂，柴崎謙一，池田真紀子，林昌宏，西條政幸；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) デングウイルスゲノムデータベースの強化と利用

デングウイルスは血清型1から4型に分類される．デングウイルス2型には，世界的流行しているコスモポリタン型と流行地域を拡大せずに限局した地域で流行する土着型が存在する．コスモポリタン型は大規模流行の原因となることがあるため，流行株がコスモポリタン型か土着型を迅速に決定する必要がある．これまでに私たちがウイルス学的検査に供したデンウイルス2型感染によるデング熱輸入症例検体の遺伝子配列を決定した．ウイルス遺伝子データベース可視化ツール，Dengue Genographic Viewer（https://gph.niid.go.jp/geograph/dengue/content/genomemap）により拡大型と土着型に分類することが可能であった．また，アジア・アメリカ遺伝子型がコスモポリタン型同様に“拡大型”である可能性が高いことが示唆された．デングウイルス1型，3型，4型に関してもコスモポリタン型を分類できるかどうかを解析するため，私たちが実験室診断に供した検体のデングウイルス1型，3型，4型のウイルス遺伝子配列を，過去に遡って決定した. 2013年~2016年の間に私たちが実験室診断した症例のうち，リアルタイムRT-PCR陽性だった232検体中139検体のウイルスゲノム配列が解読された．139検体のウイルス血清型ごとの内訳は，デングウイルス1型，2型，3型，4型がそれぞれ77検体，31検体，24検体，7検体であった．デングウイルス2型31検体中24検体がコスモポリタン型であった．決定された遺伝子配列を，検体情報とともにGenEpid-J（メタデータ及びウイルス遺伝子配列のためのデータベース，https://gph.niid.go.jp/gs_app/）に登録し，データベース化した．［中山絵里，柴崎謙一，田島茂，池田真紀子，西條政幸；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）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

4) デング出血熱感染モデルを用いた病原発現機序の解析

デング出血熱は致死率の高い重篤な疾患であり，比較的病原性の低いデングウイルスによるひとつの病態である．毎年熱帯・亜熱帯地で多くのデング出血熱患者が発生していることから，対策の要する疾患である．しかし，その対策に必要な発症機序の詳細は明らかにされてない．本研究では，デング出血熱の病態発生機序を解明することとそ

の評価系を開発することを目的とした．インターフェロン系ノックアウトマウス（IFN-KOマウス）感染動物モデル系を解析に用いた．デングウイルス3型（DV3P12/08株）は，IFN-KOマウスに血漿漏出を伴う致死的感染を引き起こす．この系に抗TNF-α中和抗体を投与すると，生存期間が対照のそれより延長した．抗TNF-α中和抗体による防御機序を解明するため，顕著な血漿漏出が観察された肝臓を用いて，抗TNF-α中和抗体が投与された感染マウスの肝臓から抽出されたRNAについてマイクロアレイ解析した．対照との比較解析により血漿漏出に関与すると考えられる候補因子が得られた．抗TNF-α中和抗体による血漿漏出阻止効果がより顕著に認められたのは腸管であった．そこで腸管ついて経時的なマイクロアレイ解析を行った．その成績については解析中である重症化に重要な宿主因子の解析が重要な課題である．［黒須剛，下島昌幸，福士秀悦，谷英樹；奥崎大介（大阪大学微生物病研究所）］

2．日本脳炎ウイルスに関する研究

1）遺伝子型Ｖ型（ＧＶ）日本脳炎ウイルスの増殖性に関する研究

昨年度までに，哺乳動物由来株化細胞においてＧＶに属するMuar株が，ＧⅠやGⅢに分類される日本脳炎ウイルス（JEV）株とは異なる増殖性を示すことが明らかにされた．本年度は蚊由来培養細胞での増殖性及び増殖性の差異を規定するウイルス責任遺伝子を調べた．Muar株の蚊由来C6/36細胞での増殖性は，Beijing-1株（GⅢ）やMie41株（ＧⅠ）のそれに比べてより高かった．次にMie41株をベースに構築した感染性分子クローンを用いて5種類のMuar株とのキメラウイルスを作製し，その増殖性を比較した．NS1からNS3領域のみをMuar株に置換させた組換えウイルスの増殖性が，親株であるMie41株の増殖性よりも高くなった．しかし，そのレベルはMuar株のそれには及ばなかった．以上よりNS1からNS3の領域がMuar株の蚊由来細胞における高い増殖性に関与することが明らかとなった．［田島茂，西條政幸］

2）中和試験による日本脳炎ウイルス遺伝子型同定の試み

日本脳炎（Japanese encephalitis，JE）は，JEウイルス（JEV）による中枢神経感染症である．JEVの血清型は1つであるが，Ⅰ型からⅤ型の5つの遺伝子型がある．日本で分布しているJEVの遺伝子型はⅠ型とⅢ型だけであるが，近年，中国・韓国よりⅤ型のJEVが検出されている．私たちは現行のワクチン株（Ⅲ型の北京株）接種により誘導される中和活性能が，Ⅴ型に対しては他の遺伝子型に比べて有意に低いことを報告した．日本で流行しているJEの原因となるJEVの遺伝子型を調べることは，JE対策の上で重要である．一方，JEVのウイルス血症期間が短く，急性期に採取された検体であっても，ウイルス遺伝子を検出することは困難である．そこで，私たちはJE患者から採取された血清を用いて，Ⅰ型，Ⅲ型，Ⅴ型のそれぞれのJEVに対する中和試験を実施し，その抗体価を比較解析した．これにより患者が感染したJEVの遺伝子型を同定することができるか否かを評価した．

解析には，2016年に報告された11人のJE患者のうち，10人の患者から採取された検体を用いた．まず，急性期検体からのJEV遺伝子検出を試みた．いずれの検体からもJEV遺伝子は検出されなかった．さらに JEV IgM ELISA及びJEV（北京株）に対する中和試験を実施した．その結果，全ての検体がJEV IgM ELISA陽性で，かつ，全ての回復期血清の北京株に対する中和抗体価は，1000倍以上の値を示した．次いで，Ⅰ型，Ⅲ型，Ⅴ型に対する中和抗体価を測定し，その中和抗体価を比較した．Ⅰ型とⅢ型に対する中和抗体価には差は認められなかったが，Ⅴ型に対する中和抗体価はⅠ型やⅢ型に対するそれより低い値を示した．［前木孝洋，田島茂，谷口怜，池田真紀子，林昌宏，西條政幸；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

3）日本の日本脳炎患者血清を用いた他のフラビウイルス（ZIKV，DENV，WNV）に対する交差反応性の解析

日本脳炎ウイルス（JEV）は，ジカウイルス

（ZIKV），デングウイルス（DENV），ウエストナイルウイルス（WNV）と同様に，フラビウイルス科フラビウイルス属に分類される．近年，南米でにZIKV感染症が大きな規模で流行した.その際，抗ZIKV抗体と抗DENV抗体との交差反応により，ZIKV感染症の血清学的診断が困難となると指摘された．一方，抗JEV抗体が，他のフラビウイルスに対して示す交差性については不明な点が多い．

私たちは，JE患者血清を用いて，抗JEV抗体の他のフラビウイルス（ZIKV，DENV，WNV）に対する交差反応を検討した．解析には，2016年に報告された11人のJE患者のうち，10人から採取された検体（血清，髄液）を用いた．患者がJEに罹患していたかどうかを血清学的に診断するために，急性期検体からのJEV遺伝子検出を試みたが，いずれの検体からも検出されなかった．次に全ての検体についてJEVに対するIgM ELISA及び中和試験を実施した.全て,JEV IgM ELISA陽性を呈し，全ての回復期血清のJEVに対する中和抗体価は，1000以上であった．これらの検体のDENVに対するIgM，IgG ELISA及びZIKV，DENV，WNVに対する中和試験を実施した．16検体中8検体がDENVに対するIgM ELISA陽性を，12検体がIgG ELISA陽性を呈した.そして,これらの血清はWNVには中和能を示したものの，ZIKV，DENVには中和能を示さなかった．JEの血清学的診断にはIgM ELISAによる検査結果にのみ依存することは難しいと考えられた［前木孝洋，田島茂，谷口怜，加藤文博，池田真紀子，林昌宏，西條政幸；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

3．ジカウイルスに関する研究

1）アフリカ型ジカウイルスMR766株の感染性分子クローンの構築

1947年にウガンダで分離されたアフリカ型ZIKV（MR-766-NIID株）を用いて，感染性分子クローンを構築した．感染細胞から抽出されたRNAからcDNAを合成し，それぞれ重複するように8断片のフラグメントをPCR法により増幅した．増幅させた各フラグメントを，ジョイントPCR法により最終的に1本の完全長ゲノムへと結合させた．完全長のウイルスゲノムの5’端と3’端には,それぞれCMVプロモーターとリボザイム配列が付与されるよう設計されたプラスミドに挿入し，感染性分子クローンを構築した．構築されたプラスミドをVero細胞にトランスフェクションし，感染性ウイルスを得た．得られたウイルスの塩基配列を決定した．また，その細胞におけるプラーク形成能と各培養細胞における増殖能を，MR-766-NIID株のそれらと比較・解析した．組換えウイルスの塩基配列は親株と完全に一致していた．親株と組換えウイルスが形成するプラークはVero細胞では同じ大きさであった．Huh7細胞，Vero細胞，N18細胞，C6/36細胞及びCTR細胞におけるウイルス増殖能も同等であった．ZIKV MR-766-NIID株の組換えウイルスを作出するリバースジェネティックスシステムが開発された．［田島茂，加藤文博，西條政幸］

2）ジカウイルス（ZIKV）に対する高力価抗体陽性マウス血清の作製

ZIKV感染症の抗体検査を行う上で必要な抗体陽性血清を得ることを目的に，ZIKVをマウスに繰り返し感染させることで，高力価ZIKV抗体陽性マウス血清の作製を試みた．マウス（ddY系統）に，感染性ZIKV 2株（アフリカ型MR766及びアジア型PRVABC59株）を2~3週間間隔で4回接種し，最終接種から4日後に全採血し，血清を得た．回収された血清は，間接蛍光抗体法で感染細胞中のZIKV抗原に結合し，陽性を呈することを確認した．得られた血清が中和試験法（50%プラーク減少法）により高いZIKV中和能を有することも確認された．［田島茂，谷口怜，中山絵里，西條政幸］

3）ジカウイルスのIFNAR1欠損マウスにおける病原性解析

ジカウイルス（ZIKV）はアフリカ型とアジア型の2つの遺伝子型に分類される．本研究では，2015年にアメリカ大陸で分離されたアジア型ZIKV（PRVABC59株）と1947年に分離されたアフリカ型ZIKV（MR766-NIID株）のIFNAR欠損マウス（IFNAR-KOマウス）における病原性を比較解析した．

MR766-NIID 株及び PRVACB59 株を IFNAR-KOマウスにそれぞれ皮下接種した．MR766-NIID株被接種マウスは，接種後6-7日目に神経症状を示し，全てが8日目までに死亡した．一方, PRVABC59株感染マウスは全く症状を呈さず，全て生き残った．ZIKV接種後10日間，経時的に尾静脈より採血し，ウイルス血症レベルの推移を解析した．その結果，MR766-NIID株とPRVABC59株感染マウスでは，血中感染性ZIKV量に差はなかった．一方，ウイルス感染5-6日目の脳，脊髄，脾臓，肝臓，腎臓，精巣中のウイルス力価測定及び抗ジカウイルス抗体を用いて免疫組織学的解析をしたところ，PRVABC59 株と比較して MR766-NIID株はIFNAR-KOマウス中枢神経組織においてより高い増殖性を示した．次いで MR766-NIID株とPRVABC59株間でウイルス構造蛋白質（C，prM，E）を組換えたキメラウイルスを作出し，各ウイルスをIFNAR-KOマウスに接種したところ，MR766-NIID 株の prM 蛋白質を PRVABC59株のそれに入れ替えたキメラウイルスをIFNAR-KOマウスに感染させた場合，症状を示さず生き残った．本研究によりウイルス株により IFNAR-KOマウスに対する神経病原性が異なることが明らかになった．また，その病原性の違いに関与するウイルス蛋白質が同定された．［中山絵里，加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸；河合康洋（バイオセーフティ管理室）；高橋健太；鈴木忠樹（感染病理部）］

4) 千葉県で確認されたジカウイルス感染症輸入患者からのジカウイルス分離と遺伝子解析

フィジーから帰国したジカウイルス（ZIKV）感染症(ジカ熱)患者の血清からZIKV分離を試みた．急性期の患者血清を階段希釈後，Vero細胞に接種し約2週間培養した．細胞変性効果が確認された培養上清からRNAを回収し，リアルタイムPCR法によりZIKV遺伝子が培養上清中に存在することを確認するとともに，培養上清を再度Vero細胞に接種しZIKVを増殖させた．回収した上清中のZIKVゲノムを解析したところ，分離されたZIKVの遺伝子型はアジア型であり，トンガや仏領ポリネシアの株と高い相同性を示すことが明らかとなった．［田島茂，西條政幸；平良雅克，小川知子（千葉衛生研究所）］

5) 横浜市でジカウイルス感染症輸入患者から分離されたジカウイルスの遺伝子解析

横浜市でジカウイルス（ZIKV）感染症輸入患者（ドミニカ共和国からの帰国者）から分離されたZIKVの性状（遺伝子塩基配列）を解析した．ウイルス分離はVero細胞とC6/36細胞の2種類を用いてなされた．それぞれの細胞で分離されたZIKVの性状を，次世代シーケンサーMiSeqを使用して解析した．それぞれの細胞で分離されたZIKV分離株間で，塩基配列の違いはなかった．本ZIKVの遺伝子配列は米国フロリダやドミニカ共和国で分離された株のそれらと高い相同性を示した．［中山絵里，田島茂，西條政幸；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）；小澤広規，宇宿秀三（横浜市健康福祉局衛生研究所）］

6) ジカウイルス感染モデルとしてのマーモセットの評価

マーモセットがジカウイルス（ZIKV）感染症のモデル動物になり得るか否かを評価した．また，デングウイルス（DENV）とZIKV感染症の流行地域が重複すること，DENVとZIKVは遺伝的に近縁であることから，抗DENV抗体をもつ個体がZIKVに感染した場合，ZIKVに対して抗体依存性感染増強(ADE)を起こすかを検討した．DENV非感染マーモセット個体，DENV既感染個体に対し，アジア型 ZIKV株（PRV-ABC59株），アフリカ型ZIKV（MR766-NIID株）を皮下接種した．その結果，PRV-ABC59株接種群はMR766-NIID株と比較してより高ウイルス血症を持続し，尿中，唾液中からもZIKV遺伝子がより多く，また，より長期間にわたって検出された．さらにDENV非感染マーモセット個体と比較して，DENV既感染個体ではわずかながら高ウイルス血症を示した．ADEの有無に関しては，より詳細な検討が必要である．［谷口怜，Muhammad Azami Nor Azila，加藤文博，前木孝洋，中山絵里，田島茂，林昌宏，西條政幸；

網康至，須崎百合子（動物管理室）；Moi Meng Ling（長崎大学）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

7) 組換え抗原を用いたジカウイルス感染症の血清診断法の確立

DENV感染症とZIKV感染症の流行地域は重複しており，その血清学的診断においては抗原交差の有無が問題となる．ウイルス蛋白質ひとつであるE蛋白質はZIKV，DENV間で相同性が認められる．一方，ZIKV，DENV間でNS1蛋白質の相同性が低い．本研究ではこの相同性の差に着目し，これらの蛋白質を標的とした組換え抗原を用いた血清学的診断法を確立することを目的とした．組換えバキュロウイルス系を用いてZIKV-E蛋白質及びZIKV-NS1蛋白質を発現・精製した．また，ZIKV-E蛋白質遺伝子またはZIKV-NS1蛋白質遺伝子を哺乳類細胞蛋白質発現プラスミドに挿入し，これらのプラスミドをHeLa細胞にトランスフェクションすることで，これら各々の蛋白質を恒常発現する細胞株を樹立した．今後これらの組換え抗原を用いて，ELISAや間接螢光抗体法を確立し，ZIKV感染症の診断における有用性を検討する．［谷口怜，加藤文博，前木孝洋，中山絵里，田島茂，林昌宏，西條政幸；森川茂，朴ウンシル（獣医科学部）］

4. トガウイルスに関する研究

1) **チクングニアウイルスレプリコンの作製**

チクングニアウイルス（CHIKV）は蚊によって媒介され，発熱や関節炎などを引き起こす．CHIKV感染症には治療薬や予防薬はない．そこで，CHIKVの転写・複製機構の解析及び薬剤スクリーニングに役立てる目的で，CHIKVレプリコン細胞の作製を試みた．レプリコン細胞では，ウイルスの非構造領域のRNAの転写・複製は起こるが，構造遺伝子を持たないため粒子は産生されない．今回作製されたレプリコン細胞は既知の抗ウイルス薬に対して感受性を示し，この系が薬剤スクリーニングに使用可能であることが示唆された．［林昌宏，Posadas-Herrera Guillermo，伊藤（高山）睦代，佐藤正明，西條政幸］

5. その他の研究

1) ハートランドウイルスのミニゲノムシステムの構築

ハートランドウイルス（HRTV）は 2012年に米国で報告された新規フレボウイルスで，重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）と近縁である．HRTVゲノムのORF部にレポーター蛋白質のゲノムを挿入させたミニゲノムシステム，あるいはリバースジェネティクスシステムを構築することは，HRTVに対する抗ウイルス薬の探索や転写複製機構の解析を容易にする．HRTVの遺伝子であるS，M，L分節の非翻訳領域をpolymerase I promoterの下流に配したプラスミドを作製し，そのORF部にレポーター蛋 白質ゲノムを挿入した．これらのプラスミドを転写複製に必須と考えられるL，N蛋白質発現プラスミドとともに哺乳類細胞へ導入した．レポーター蛋 白 質発現が観 察 さ れ た． 本 系 とSFTSVのミニゲノムシステムを用いることでフレボウイルスのN蛋白質の機能を解析することが可能となった．［谷口怜，下島昌幸，福士秀悦，黒須剛，吉河智城，加藤文博，前木孝洋，田島茂，林昌宏，西條政幸；森川茂（獣医科学部）；谷英樹（富山大学）］

2) イノシシの被毛より採取されたダニにおけるウイルス分離の検討

これまでにダニ媒介性脳炎ウイルス，重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）等のダニ媒介性アルボウイルスが報告されている．そこで日本におけるダニ媒介性アルボウイルスの分布状況を明らかにすることを目的として，兵庫県六甲山系で捕獲されたイノシシ及びイノシシの生息域周辺から採取されたダニにおけるウイルス保有状況を調査した．その結果，キチマダニよりフレボウイルス属に分類されるウイルスが細胞培養・乳飲みマウスを用いたウイルス分離法によって分離された．このウイルスはダニが採集された地名にちなんでカブトマウンテンウイルス（Kabuto mountain virus：KAMV）と命名された．全ゲノム解析と系統樹解析の結果，KAMVは新規のダニ媒介性フレボウイルスであることが明らかとなっ

た．また，KAMVを乳飲みマウス脳において継代すると，KAMVは乳飲みマウスに病原性を獲得した．［林昌宏，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，垣内五月，塩田愛恵，堀谷まどか，西條政幸；伊澤晴彦，藤田龍介，小林大介，佐々木敏則，澤辺京子（昆虫医科学部）；森川茂（獣医科学部）；江尻寛子（防衛医大）；水谷哲也（農工大）；前田健，鍬田龍星（山口大）］

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

狂犬病ワクチンの有効性を確認する力価試験においては，マウスを多数使用する．本試験法はマウスの生死を指標としているが，大きな苦痛を与えることが問題となる．私たちはマウスが苦痛を感じる期間を短縮させることを目的として，体重または症状を指標とした人道的エンドポイントの導入するためのワーキンググループを立ち上げ，検討してきた．その結果，死亡の代わりに麻痺症状出現を指標とするのが適当と判断された．この結果を受け，2017年度より国家検定試験において麻痺を示したマウスは死亡を待たずに安楽殺することとした．今後，生物製剤基準を改定し，製造所の自家試験においても人道的エンドポイントが導入されることが期待される．［伊藤（高山）睦代，林昌宏，佐藤正明，Posadas-Herrera Guillermo，加藤博文，西條政幸］

2) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いたアレナウイルスワクチンに関する研究

アレナウイルスに属するリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）は免疫不全患者においては時に致死的感染症を，妊婦では流産を引き起こす．私たちは非増殖性の遺伝子欠損狂犬病ウイルス（RV）ベクターを用いてLCMVに対するワクチンを開発し，その効果を，マウスモデルで解析した．本RVベクターをマウスに接種しても，LCMVに対する中和抗体は上昇しなかったもののLCMVの致死的感染を防御した．また，RVに対する中和抗体を強く誘導することが明らかにされた．さらに，このLCMVに対する防御能は細胞障害性T細胞の働きによるものであることが示唆された．本RVベクターのワクチン開発における有用性が示された．［伊藤（高山）睦代，林昌宏，佐藤正明，Posadas-Herrera Guillermo，加藤博文，西條政幸］

3) 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に対するワクチンの開発

MERSコロナウイルス（MERS-CoV）はヒトに致死的な呼吸器感染症（中東呼吸器症候群，MERS）を引き起こす．中東で流行が続いている．また，2015年には韓国で確定患者186人（死亡者数36人）となる流行が発生した．現在のところ使用可能なワクチンはない．

非増殖性のP遺伝子欠損狂犬病ウイルス（RV）ベクターを用いて，MERS-CoVに対するワクチンの開発を試みた．本RVベクターは細胞では増殖出来ないため安全である．そして，目的蛋白質を発現させることで，その蛋白質に対して免疫を誘導することが出来る．リバースジェネティクス法により，MERS-CoVの主要抗原であるS1蛋白質を感染細胞において発現するRVベクターを作出した．今後，本RVベクターのワクチンとしての有効性及び安全性を評価する．［伊藤（高山）睦代，加藤博文，林昌宏，佐藤正明，Posadas-Herrera Guillermo，西條政幸］

4) 狂犬病ウイルス感染におけるアストロサイトの役割に関する研究

狂犬病ウイルス（RV）の脳での主な感染標的は神経細胞である．中枢神経系には神経細胞以外にも，アストロサイト，ミクログリア，オリゴデンドロサイトなどの細胞がある．特にアストロサイトは炎症性サイトカイン産生に重要である．そこで，強毒性RV（CVS株）及び弱毒性RV（HEP株）を用いて，アストロサイトの株化培養細胞における感染性及び増殖性について比較した．どちらの株もアストロサイトに感染し，蛋白質合成・RV複製・RV増殖が起こるものの，上清中のウイルス力価は10^{4}~10^{5}フォーカス形成単位/mLと神経細胞での力価（10^{7}~10^{9}フォーカス形成単位/mL）と比べ低かった．［伊藤（高山）睦代，Md. Taimur Islam，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及び発生動向に関する臨床・疫学的解析

進行性多巣性白質脳症（PML）は免疫不全患者等において発生する致死的な中枢神経組織(CNS)における脱髄性疾患であり，JCウイルス（JCV）によって引き起こされる．その診断には，脳脊髄液（CSF）中のJCVゲノムDNAのPCR検査が有用である．私たちは2007年度より医療機関への診断支援及びPML実験室サーベイランスを目的として本検査を引き受けている．2007年度から2016年度までに1,724件の検査依頼を受け付けた．180名のPML疑い患者の295検体のCSFがJCVゲノムDNA陽性を呈した．2016年度には，36名の患者のCSFがJCVゲノムDNA陽性を呈した.被検者の情報(基礎疾患，年齢，治療歴等）に基づいてデータベースを構築し，国内のPMLの動向を解析した．近年では自己免疫疾患を有する患者でPMLが増加する傾向が認められた．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症例の研究及びサーベイランスを実施した．［中道一生，西條政幸］

2）脳脊髄液中JCウイルスゲノム超高感度PCR検査系の確立及び臨床検査における実用化

PMLの診断や治療においては，CSF中のJCVのゲノムDNAを標的としたリアルタイムPCR検査が有用である．国内の検査機関において実施されている本検査のゲノム検出下限値は，CSF検体1mLあたり200コピー程度である．過去に当研究室において本検査を実施したCSF-JCV陽性者のデータを後方視的に解析したところ，約10%の患者において初回検査時に微弱な増幅シグナルを認めたものの陽性判定には至らず，追加の検査で陽性が判明することが多かった．CSF中に放出された微量のJCVを確実に検出できるようにすることを目的として，超高感度PCR検査系（検出下限値10コピー/mL CSF検体）を確立した．また，20施設以上の医療機関の協力の下で同検査系のバリデーションを実施し，臨床検査における信頼性を確認した．CSF中JCVの超高感度PCR検査は国内のPMLの診断や治療において実際に使用されており，PML診断における有用性が示された．［中道一生，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に関する研究

1）アシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス1型に関する研究

造血幹細胞移植（HSCT）等による免疫抑制状態患者において，単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1)はしばしば重篤な感染症を引き起こす．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 の出現及び消失過程における解析はほとんどなされていない．本研究では ACV 予防投与がなされている HSCT 患者における ACV 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）遺伝子に基づく ACV 耐性 HSV-1 の出現の変遷を，次世代シークエンスを用いて詳細に解析した. ACV 耐性 HSV-1 が出現した HSCT 患者より経時的に採取された咽頭スワブより分離されたウイルス液から抽出した DNA を用いて，次世代シークエンスによる TK 遺伝子のバリエーションを解析し，さらに，その比率を決定した．PCR や次世代シークエンスの際のエラー率，検出可能な変異の比率を検討した結果，サンプル中に 5%以上の変異が存在する場合，次世代シークエンスによりその比率を反映して検出できることが示された. 更に，サンガー法で検出された変異はもちろん，同法で検出されなかった変異も検出され，経時的にバリエーションの比も測定できた．また，本系を用いると，サンガー法では検出不能な低比率の変異についても検出可能であった．本系を用いると，早期薬剤耐性 HSV-1 の検出が可能となることが示唆された．［吉河智城，藤井ひかる，山田壮一，原田志津子，西條政幸；垣内五月（東京大学小児科）；大村夏美（早稲田大学生命理工学部)］

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

HSV-1 感染症の治療には ACV が第一選択薬として用いられる．しかし，ACV に対する耐性株の出現が免疫不全患者では問題となる．ACV 耐性の多くは HSV-1 が発現するウイルス性チミジンリン酸化酵素（vTK）の変異によって誘導される．そのなかで vTK の 41 番目のアミノ酸変異（R41H）が ACV に耐性を誘導するか否かについては明らかにされていない．この変異は ACV 耐性 HSV-1 によるヘルペス脳炎の原因であると報告されている．そこで私たちは Bacterial Artificial Chromosome（BAC）システムを用いて，vTK に R41H を有する組換え HSV-1 を作出し，ACV に対する感受性を評価した．その結果，そのアミノ酸配列を有するウイルスは ACV に感受性であることが示された．［佐藤正明，藤井ひかる，伊藤（高山）睦代，西條政幸；稲垣拓哉（早稲田大学生命理工学部）］

3) 単純ヘルペスウイルス 2 型のワクチン開発に関する研究

単純ヘルペスウイルス 2 型（herpes simplex virus type 2，HSV-2）感染症は，主に生殖器周辺に病巣を形成する性感染症の 1 つである．性器ヘルペス患者では QOL の低下や，妊娠時の感染による新生児ヘルペス，性器周辺部の粘膜疾患によって HIV など他の性感染症に罹患するリスクが高まるなど，様々な問題が生じる．HSV-2 については未だ認可されたワクチンはない．本研究では，ワクシニアウイルス LC16m8 株を用いて HSV-2 の糖蛋白質を発現する組換え LC16m8 を作出し，HSV-2 ワクチンとしての効果を検討した．まず，相同組換えにより HSV-2 の膜タンパク gB，gD を単価，または 2 価で発現する組換え LC16m8 を作製した．C57BL/6 マウス（6 週齢，雌）に作製された組換え LC15m8 を感染させたところ，それぞれの糖蛋白質に対する抗体価の有意な上昇が認められた．A/J マウス（4 週齢，雄）に組換えワクシニアウイルス（gB, gD, gB+gD）をそれぞれ 2 週間間隔で 2 回接種後，HSV-2 を感染させたところ，LC16m8-EGFP 免疫群（陰性対照）では生存率が 20%で，単価の LC16m8-gB または LC16m8-gD 免疫群のそれはともに 60%であった．さらに，2 価の LC16m8-gBgD 免疫群のマウスはすべて生存し，その生存率は 100%であった．本研究により，LC16m8 をベクターとして作製された HSV-2 に対する組み換えワクチンの有効性が確認された．［吉河智城，大村夏美，藤井ひかる，山田壮一，西條政幸］

4) 単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）の DNA ポリメラーゼ変異によるアシクロビル耐性 HSV-1 の特異的誘導法の開発

HSV-1 がアシクロビル（ACV）耐性を獲得するには HSV-1 のチミジンリン酸化酵素（TK）遺伝子または DNA ポリメラーゼ（DNApol）遺伝子に変異が生じる必要がある．私たちは BAC システムを用いて HSV-1-TK 遺伝子を欠損させ，UL50-UL51 領域に水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の TK（VZV-TK）遺伝子を挿入させたキメラウイルス（HSV-1-VZV-TK）を作製した．

HSV-1-VZV-TK は Vero 細胞において HSV-1 野生株と同程度の増殖性とプラークサイズを示した．HSV-1-VZV-TK を，段階的に ACV 濃度を上げた条件で培養することで ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK を作出した．独立に得られた ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK 32 クローンについて VZV-TK 遺伝子及び HSV-1 DNA pol 遺伝子の塩基配列を決定した．その結果，VZV-TK 遺伝子に変異が認められたクローンはなく，全てのクローンにおいて DNA pol 遺伝子に ACV 耐性を誘導すると考えられる変異が認められた．この中には，先行研究において報告されていない 4 種のアミノ酸変異が認められた．ACV 耐性 HSV-1 分離株の 95%は TK 遺伝子によると報告されているが，本研究では，HSV-1-VZV-TK を ACV 存在下で培養することで，DNApol 関連 ACV 耐性 HSV-1 を特異的に誘導できること，また，VZV-TK 遺伝子には ACV 耐性を誘導する変異が生じにくいことが明らかとなった．（原田志津子，藤井ひかる，山田壮一，西條政幸）

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（vOka 株）は，Oka 株（pOka 株）をヒト及びモルモット由来細胞にて

低温条件で継代培養することにより弱毒化されている．その有効性及び安全性が高く，世界中で使用されている.日本では，水痘ワクチンが定期接種化され，それに合わせて改めてその有効性の評価（流行予測事業）が開始された．その結果，抗体価の上がりが弱いことが分かった.そこで2016年度は有効性の評価（血清学的検査）等のサーベイランス検査を強化することを目的とし,抗VZV抗体体価測定系として感度が高いが煩雑なFAMA 法に変えて，簡便で同等な感度を有するIFA 法の構築を試みた. 細胞種や固定方法等の比較検討により，MeWo 細胞を用いるのが IFA に適していた．更に VZV 糖蛋白 gB を発現させたMeWo 細胞を用いて調べたところ, より明瞭に判定可能であった．［山田壮一，西條政幸］

3. ヒトサイトメガロウイルスに関する研究

1) ヒトサイトメガロウイルス（HCMV）感染既往者における血清中の各膜蛋白質に対する特異的抗体価及び HCMV に対する中和抗体価に関する研究

ヒトサイトメガロウイルス（HCMV）のエンベロープには多種の糖蛋白質が存在し，それぞれ複合体（glycoprotein complex ; gc）を形成している. 中でも, gcI=glycoprotein (g) B の多量体，gcII=gM/gN の複合体，gcIII=gH/gL/gO または gH/gL/UL128-131 の複合体が，細胞への吸着・侵入・融合に主に関与している．これらがウイルス中和抗体の主要な標的と推測されている．

本研究では小児及び移植後の免疫不全患者などで問題となる，HCMV 感染症への有効なワクチン開発を最終目標として，HCMV 感染既往者の血清中の中和抗体価と各膜蛋白質への抗体価の相関を求め, 感染防御に最適な標的膜蛋白質を同定した．2016 年度には，血液提供ボランティアから血清を分離し，HCMV 感染既往者における血清中の各膜蛋白質に対する特異的抗体価及び HCMV に対する中和抗体価を測定しその相関を調べた. HCMV 株は AD169 及び Towne 株 細胞は HEL 細胞を使用した. HCMV の gB, gM, gN, gH，gL 及び gO 各遺伝子を哺乳類細胞発現用プラスミド（pHEK ULTRA Expression Vector, Takara Bio）に導入した．gO 以外の各膜蛋白の発現を確認後，作製したプラスミドを培養細胞（293FT）にトランスフェクションし, gB, gH, gL，gM 及び gN をそれぞれ細胞膜表面上に発現する細胞を樹立した．これを抗原とした IFA により HCMV 感染既往者における血清中の各膜蛋白質に特異的な抗体価を測定した. 中和抗体価は gH 及び gB に対する抗体価と高い相関性を示した．一方で gH と gB に対する抗体価間に相関が認められないため，ワクチン抗原としては gB 及び gH の両方が必要であることが示唆された.［吉河智城，柴村美帆，山田壮一，藤井ひかる，西條政幸］

4. その他のヘルペスウイルスに関する研究

1) コウモリ由来ヘルペスウイルスに関する研究

コウモリが保有するウイルスにはヒトに病原性を示すものがある. そのためコウモリが保有するウイルスに関する研究は，新規知見を蓄積させるとともに，公衆衛生上重要である．これまでコウモリから 6 株のアルファヘルペスウイルス，2 株のベータヘルペスウイルスが分離されている．6 株のアルファヘルペスウイルスのうち詳細に性状解析されているものは，インドネシアのオオコウモリより分離された Fruit bat alphaherpesvirus1（FBAHV1）のみであり，コウモリのヘルペスウイルスに関するウイルス学的な知見は限られている．

本研究では，ベトナムに生息しているオオコウモリから分離された新規ヘルペスウイルスの性状を詳細に明らかにした. 本年度は次世代シーケンサーを用いてフルゲノムシークエンシングを行い，既に報告されている FBAHV1 のゲノムへのマッピングと de novo アセンブリにより遺伝子配列を決定した. ゲノム上に 66 個の遺伝子が決定され，各遺伝子のアミノ酸配列を FBAHV-1 と比較したところ，63.7-99.0%の類似性を示した．DNA 合成酵素（ポリメラーゼ）のアミノ酸配列に基づく系統樹解析の結果，FBAHV1 とともに独立したクラスターを形成し，アルファヘルペスウイルス亜科単純ヘルペスウイルス属に分類された. 本ウイルスは単純ヘルペスウイルス属の新規ウイルス

であり, FBAHV1 と系統学的に類縁であった. 分離ウイルスを Pteropus Lylei Associated Alpha Herpesvirus（PLAHV）とした. アフリカミドリザル腎臓由来 Vero 細胞と COS7 細胞，オオコウモリ腎臓由来 FBKT1 細胞，ヒト由来のヒト胎児肺線維芽細胞（HEL 細胞）における PLAHV の増殖能を調べたところ, すべての細胞において増殖した. しかし，その増殖性に差が認められ，コウモリ由来 FBKT1 では PLAHV の増殖能は，接種後 6 時間の時点で他の細胞におけるそれよりも高く，一方 HEL 細胞での増殖性は他の細胞でのそれよりも低かった. 更に in vivo での病原性を解析するため, BALB/c マウス（4 週齢，メス）に PLAHV を経鼻接種後，13 日間にわたりマウスの生死, 体重及び各種症状を観察した. PLAHV は接種量依存的にマウスに対して致死性と病原性を示した. PLAHV は単純ウイルス属に分類される新規ウイルスであり, その性質がより詳細に明らかにされた.［山田壮一，稲垣拓哉，藤井ひかる，吉河智城，原田志津子，西條政幸］

2) 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のアルファヘルペスウイルスである. ヒトはサルから B ウイルスに感染すると中枢神経感染症を引き起こし，時に致死的な場合がある. サルを扱う実験従事者における安全性の確保において重要な感染症となっている. 現在，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，その発生は抑えられている，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，根本的な 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の開発を目指している. 2016 年度は，前年度に引き続き B ウイルスの各膜糖蛋白質の発現ベクター及び組換え LC16m8 を構築した. gD，gE，gI 及び gL 発現ベクター，BVgD 及び gL 組換え LC16m8 が構築された.［山田壮一，吉河智城，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（2016 年度）

リケッチア症流行地の地域特性を考慮し, 本研究では全国ブロックの横糸となる地方衛生研究所のリケッチア・レファレンスセンターを中心とした全国共通基盤の構築を目指している. 2016 年度は, リケッチア科を網羅するマルチプレックス・リアルタイム PCR について臨床検体用いて評価した. 紅斑熱群とつつが虫病については臨床材料による評価でも良好な結果が得られた. また，レファレンスセンター会議等においてリケッチア症の疫学，診断法の情報のアップデートにより，全国の担当施設を中心に情報・技術の普及をおこなった.［安藤秀二; 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，佐賀由美子（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）; 木田浩司，岸本寿男（岡山県環境保健センター）; 島津幸枝（広島県立総合技術研究所保健環境センター）; 松本道明（高知県衛生研究所）; 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），佐藤寛子（秋田県健康環境センター）; 平良雅克（千葉県衛生研究所）; 川森文彦，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 2016

昨年度に引き続き，国内の未調査地域を中心にダニ採集とダニからの病原体分離による検出を実施した. 西日本の夏季発生四国型つつが虫病の媒介種の探索では, 四国と淡路島の調査において有力種のトサツツガムシは見いだされず, キタサトツツガムシの活動は認められた. 徳島県で新たに分布が確認されたタテツツガムシの生息地では本種媒介性感染症例の発生も初めて確認された. 山

形，栃木，山口及び高知の各県における未調査地点のマダニ類から複数種の紅斑熱群リケッチアが分離された．動物血清サンプルから各種リケッチア抗体が検出され，当該地域におけるダニと感染症との関連が窺われた．［安藤秀二；藤田博己，藤田信子（馬原アカリ医学研究所)］

3) リケッチア属 LAMP 法の適用に関する検討

リケッチア属を網羅する LAMP 法の臨床検体でのデータ蓄積を進め，地方衛生研究所へ導入のための準備を進めた．また，つつが虫病 LAMP 法開発のため，分子系統的に距離のある Shimokoshi 型株の増殖，ゲノム解析のための準備をした．［安藤秀二］

2. リケッチア症の基礎的研究

1) 発現蛋白質を用いたつつが虫病の血清診断法の開発

バキュロウイルスによる組換え蛋白質発現系を用いて，つつが虫病リケッチアの TSA（56k 型特異的外膜蛋白質）を発現させた．この組換え蛋白質は，つつが虫病リケッチア高度免疫ウサギ血清及び患者の回復期血清とよく反応した．今後，患者の血清検体の数を増やして，診断用抗原としての有用性を評価する．［小川基彦，西條政幸，安藤秀二］

2) つつが虫病リケッチアのマクロファージ系細胞における増殖に関する研究

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．マイクロアレイを用いた解析で，増殖促進に関与している可能性がある遺伝子の候補を絞り込むこんだ．これらの遺伝子とリケッチア増殖との関連をさらに検証する．［小川基彦，西條政幸，安藤秀二］

3) つつが虫病リケッチアの増殖促進メカニズムに関する研究

In vitro において，マクロファージに，LPS 及び一酸化窒素（NO）ドナー添加すると，リケッチアの増殖が促進された．この促進メカニズムについて，マウスモデルを用いて検証している．2016 年度は，感染促進の最適な評価方法についての検討を行っており，現在も進行中である．［小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二］

4) プラークアッセイ法を用いた日本紅斑熱リケッチア（*R. japonica*）感染価測定の系の確立とその応用

リケッチア（Rickettsia spp）は細胞内寄生細菌である．今回私たちは当研究室で保管されている *R. japonica* の感染価を測定するためのプラークアッセイ法を確立し，その応用を試みた．*R. japonica* を 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 10%ホルマリンで固定した *R. japonica* 感染細胞をメチレンブルーで染色することで，形成されたプラークを観察，計数することができた．この方法を応用し，重層に用いる培地の中に抗菌薬を混合することで *R. japonica* のプラーク形成が阻害されるか否かを評価した．この方法により *R. japonica* に効果を示すことが知られているテトラサイクリン系，ニューキノロン系，マクロライド系の抗菌薬で濃度依存的なプラーク形成の阻害が観察された．また，*R. japonica* に効果を示さないことが知られているアンピシリンではプラーク形成の阻害は観察されなかった．これらの結果よりプラークアッセイ法が各種抗菌薬に対する *R. japonica* の最小発育阻害濃度（MIC）の算出に有効な系であることが示された．［佐藤正明，小川基彦，西條政幸，安藤秀二］

5) 日本紅斑熱リケッチアの比較ゲノム解析

紅斑熱群リケッチアのゲノム情報基盤の整備に関し，以下の成果を得た．

(1)国内で分離された患者及びダニ由来の 31 株の日本紅斑熱リケッチアの完全又はほぼ完全なゲノム配列を決定し，そのデータと詳細な比較解析データを公表・論文化した．この解析から，国内の日本紅斑熱リケッチアは遺伝的に極めて均一であり，本菌の分子疫学的な解析には高精度な全ゲノム配列解析が必要であることが判明し，国内での本菌の分布域はまさに拡大しつつある可能性も

示唆された.

(2)極東紅斑熱リケッチア（日本分離株）と新規ヒト病原性紅斑熱群リケッチア（タイでの患者由来株）の完全長ゲノム情報を取得し，アノテーションと比較解析を進めた.

(3)ダニ由来リケッチアで日本紅斑熱リケッチアや極東紅斑熱リケッチアと極めて近縁な LON spp.の 22 株においてドラフトゲノム情報を取得し，1 株については完全長配列を決定した.［安藤秀二；林哲也（九州大学）；地方衛生研究所リケッチア担当者］

6) エーリキア属の探索

これまでマダニ 1,237 個体中 29 個体が PCR 陽性を示した. アカコッコマダニにおけるエーリキア属菌 DNA 陽性率が最も高く 10.7%(n=84)であり, 検出されたエーリキア属菌は系統解析からこれまで国内で分離・検出されている株とは異なり *Ehrlichia chaffeensis* Arkansas 株に近縁であった. またヤマトマダニから 4 株のエーリキア属菌が分離された. 分離株を用いた血清疫学調査実施を目的とし, 各種細胞への馴化を試みた. 従来よりエーリキア等の分離等に用いられている Hl60, THP-1 細胞, マダニ由来の ISE6 細胞では盲継代感染では感染が成立しなかったものの, RF 細胞では初代での感受性の可能性が得られた.［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)］

7) バイオセーフティに関する研究 : 国内のヒヤリハット事例の収集と評価, 研究者の意識に関する考察

大学等の微生物取り扱い施設のヒヤリハット事例を用い，データベースの更新を行った. 諸外国における取り組みと比較し, 国内の病原体取扱者の意識について検討した. 大学等，試験研究機関の 27 名から，57 件のヒヤリハット事例，事故事例に関する情報が寄せられた. 複数の施設，協力者から寄せられたヒヤリハットならびに事故事例は, 感染性物質を含む液体のスピル発生が最も多く，動物実験関係のほか，安全キャビネット，オートクレーブ，遠心機，超音波破砕装置など実験室関係機器，PPE の使用法，針刺し事故などが挙げられた. また，二次的影響も発生しうるキャビネット等に付属するバーナーによる火傷も複数あった. 今回集積された事例の当事者は，単に経験年数が浅い者に限らない. 10 年以上の感染性物質の取り扱い経験者が大部分である. ヒヤリハット事例のデータベースの構築は, 病原体等を扱う場面で実際に発生している事故やヒヤリハットや事故事例を的確に把握し, その頻度や発生状況を解析することにより, 重点的に教育ツールを開発する項目を洗い出すことを可能とする. 国内のバイオリスク管理をよりよくするための基盤となりうる.［安藤秀二；重松美加（感染症疫学センター）］

レファレンス業務

1. 行政検査

1) アルボウイルス感染症

日本脳炎ウイルス，デングウイルス，ジカウイルス及びチクングニアウイルス感染症に対する行政検査を実施した.［田島茂，中山絵里，前木孝洋，谷口怜，池田真紀子，谷ヶ崎和美，林昌宏，西條政幸］

2. その他のレファレンス業務

1) アルボウイルス検査コントロールRNA配布

デングウイルス（1-4型），ジカウイルス，日本脳炎ウイルス，チクングニアウイルスの検査に用いるコントロールRNAを要望のあった地方衛生研究所及び保健所に配付した.［田島茂，中山絵里，谷口怜，前木孝洋，林昌宏，西條政幸］

2) 急性脳炎に関する検査業務

日本脳炎，デング熱，ジカ熱及びチクングニア熱に関する行政検査以外の検査を実施した.［田島茂，中山絵里，前木孝洋，谷口怜，池田真紀子，谷ヶ崎和美，林昌宏，西條政幸］

3) ヘルペスウイルス感染症に関する検査業務

行政検査以外にHSV-1, HSV-2, VZV及びHCMVの検査（それぞれ2検体，1検体，1検体及び5検体）を実施した.［山田壮一，津田美穂子，福井良子，西條政幸］

4) ヘルペスウイルス検査コントロールの配布

VZV及びヒトヘルペスウイルス6型（HHV-6A, -6B），HHV-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，津田美穂子，福井良子，西條政幸］

5) リケッチアならびにクラミジアに関する検査業務

リケッチアならびにクラミジアに関する病原体診断と血清診断を，行政検査依頼以外にも，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症例も含む)，オウム病，Q熱の疑い症例，また，不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を検討した．［安藤秀二］

6) リケッチア臨床分離株の収集及び標準抗原の分与

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］

3. 品質管理に関する業務

1) 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

38ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し，すべて合格と判定された．［田島茂，中山絵里，前木孝洋，谷口怜，池田真紀子，谷ヶ崎和美，伊藤睦代，中道一生，林昌宏，西條政幸］

2) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

2ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定（不活化試験及び力価試験）が実施され，合格と判定された．［伊藤（高山）睦代，佐藤正明，Posadas Herrera Guillermo，加藤博文，林昌宏，西條政幸］

3) 水痘ワクチンの検定

27ロットの乾燥弱毒生水痘ワクチンの国家検定が実施され，全ロットとも合格と判定された．［山田壮一，原田志津子，吉河智城，福井良子，西條政幸］

4. 国際協力関係業務

1) 2016年アフリカ（アンゴラ，コンゴ民主共和国）で発生した黄熱対策への，外務省国際援助隊（感染症対策）への貢献

2016年アフリカ（アンゴラ，コンゴ民主共和国）で大規模黄熱流行が発生し，外務省が感染症対策のための緊急援助隊の派遣を決定した．ウイルス第一部からは3名の専門家が緊急援助隊の隊員としてコンゴ民主共和国に派遣された．コンゴ民主共和国保健省，国立医学研究所（INRB）と連携し，検査対応を含めこの黄熱流行対策に貢献した．［福士秀悦，下島昌幸，西條政幸］

2) 台湾FDAへの技術支援

台湾より2名の台湾FDA職員を2016 年6月に，研修生として受け入れ，不活化日本脳炎ワクチンの国家検定法の技術教育した．また同年12月には台湾FDAより1名の職員を迎え，日本脳炎ワクチン，デングワクチンについて議論した．［田島茂，中山絵里，前木孝洋，谷口怜，池田真紀子，林昌宏，西條政幸］

3) 日本-ブラジルジカネルウイルスに関するワークショップの開催

AMED 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補助事業「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」において，ブラジルのオズワルドクルス財団より2名の研究者，ペルナンブコ連邦大学アサミ・ケイゾー熱帯免疫病理学研究所（LIKA研究所）より2名の研究者を招へいし，ブラジル-日本合同ジカウイルス感染症に関するワークショップを開催した．ブラジルにおけるジカウイルス感染症の現状について，また，今後の共同研究について議論した．［田島茂，中山絵里，前木孝洋，谷口怜，加藤文博，池田真紀子，林昌宏，西條政幸］

4) 長崎大学熱帯医学研究所より留学生の受け入れ

長崎大学熱帯医学研究所に所属するミャンマー保健省からの1名の学生を受け入れ，アルボウイルス感染症診断技術について研修し，日本脳炎ウイルスの中和試験に関する長崎大学熱帯医学研究所との共同研究を実施した．さらに日本及びミャンマーにおける日本脳炎及びデング熱について情報交換し，今後の共同研究についても議論した．［林昌宏，田島茂，西條政幸］

5) PCR法による節足動物媒介性ウイルス検出法に係るWHO 国際熟達度試験（PTP）

The Royal College of Pathologists of Australasia Quality Assurance Programs（RCPAQAP）主催のPCR法による節足動物媒介性ウイルス検出法に係るWHO国際熟達度試験（PTP）に参加し，節足動物媒介性ウイルスのうち，デングウイルス，ジカウイルス，黄熱ウイルス，チクングニアウイルスを含む熟達度試験パネルに対する現行のPT-PCR法を評価した. その結果現行のPT-PCR法による検出率/正答率はともに100%であることが確認された. [田島茂, 林昌宏, 西條政幸]

6) JICA国際技術研修会への参画

平成29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国家検定機関強化」においてフィリピン及びベトナムから感染研村山庁舎を訪れた10名の研修者に対して，日本の狂犬病ワクチンの現状及び品質管理について講義した. さらに，狂犬病ウイルス感染マウス脳の圧片標本を用いて不活化試験に用いられる直接蛍光抗体法の実習指導を行った. [伊藤（高山）睦代，佐藤正明，Posadas Herrera Guillermo]

7) 世界保健機関（WHO）における痘瘡ウイルス研究専門家会議（ACVVR）への参画

2016年11月にWHOで開催されたACVVRにアドバイザーとして参画した. [西條政幸]

8) Global Health Security Action Group-Laboratory Network（GHSAG-LN）会議への貢献

GHSAG-LN会議（2016年4月ベルリン，2016年11月ロンドン）に出席し，カナダ，米国，メキシコ，イギリス，フランス，ドイツ，イタリア，日本間の感染症，バイオセーフティ，バイオセキュリティ等の連携強化のための打ち合わせに参画し，これらの国々により連携した対策の基盤整備に貢献した.

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) 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 70:38-44, 2017

2) 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

3) Nakayama E, Kotaki A, Tajima S, Kawada M, Miura K, Gemma A, Adachi T, Sekizuka T, Kata K, Ymashit, A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Shibasaki K, Saijo M, Kuroda M, Takasaki T. Two different dengue virus strains in the Japanese epidemics of 2014. Virus Genes 52:722-726, 2016

4) 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 69(2):151-153, 2016

5) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Tajima S, Takasaki T, Konishi E, Kato T, Kohara M, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicits neutralizing antibodies against JEV and hepatitis C virus. Sci Rep 6:28688, 2016

6) Tsuboi M, Kutsuna S, Kato Y, Nakayama E, Shibasaki K, Tajima S, Takasaki T, Katanami Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N. Autochthonous Chikungunya fever in traveler returning to

Japan from Cuba. Emerg Infect Dis 22:1683-1685, 2016

7) Takaya S, Kutsuna S, Nakayama E, Taniguchi S, Tajima S, Katanami Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Ohmagari N. Chikungunya fever in traveler from Angola to Japan, 2016. Emerg Infect Dis 23:156-158, 2017

8) Taira M, Ogawa T, Nishijima H, Yamamoto K, Hotta C, Akita M, Tajima S, Saijo M. The first isolation of Zika virus from a Japanese patient who returned to Japan from Fiji in 2016. Jpn J Infect Dis 70(5):586-589, 2017

9) Kutsuna S, Kato Y, Nakayama E, Taniguchi S, Takasaki T, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N. A case of consecutive infection with Zika virus and Chikungunya virus in Bora Bora, French Polynesia. J Infect Chemother 23(2):114-116, 2017

10) Satoh M, Akashi S, Ogawa M, Wakeyama T, Ogawa H, Fukuma A, Taniguchi S, Tani H, Kurosu T, Fukushi S, Shimojima M, Ando S, Saijo M. Retrospective survey of severe fever with thrombocytopenia syndrome in patients with suspected rickettsiosis in Japan. J Infect Chemother 23(1):45-50, 2017

11) 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 69(6):525-527, 2016

12) Arai S, Taniguchi S, Aoki K, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Tanaka-Taya K, Masangkay JS, Omatsu T, Puentespina R Jr, Watanabe S, Alviola P, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Quibod MN, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Molecular phylogeny of a genetically divergent hantavirus harbored by the Geoffroy's rousette (Rousettus amplexicaudatus), a frugivorous bat species in the Philippines. Infect Genet Evol 45:26-32, 2016

13) Hatta Y, Omatsu T, Tsuchiaka S, Katayama Y, Taniguchi S, Masangkay JS, Puentespina R Jr, Eres E, Cosico E, Une Y, Yoshikawa Y, Maeda K, Kyuwa S, Mizutani T. Detection of Campylobacter jejuni in rectal swab samples from Rousettus amplexicaudatus in the Philippines. J Vet Med Sci 78(8):1347-1350, 2016

14) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Morikawa S, Saijo M. Characterization of glycoprotein-mediated entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. J Virol 90(11):5292-5301, 2016

15) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Yang M, Sugamata M, Morikawa S, Saijo M. Serologic assays for the detection and strain identification of Pteropine orthoreovirus. Emerg Microbes Infect 5:e44, 2016

16) Murakoshi F, Recuenco FC, Omatsu T, Sano K, Taniguchi S, Masangkay JS, Alviola P, Eres E, Cosico E, Alvarez J, Une Y, Kyuwa S, Sugiura Y, Kato K. Detection and molecular characterization of Cryptosporidium and Eimeria species in Philippine bats. Parasitol Res 115(5):1863-1869, 2016

17) 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

18) Moi ML, Kobayashi D, Isawa H, Sasaki T, Saijo M, Kurane I, Sawabe K, Takasaki T. Dengue virus isolation in mosquito Aedes albopictus captured during an outbreak in Tokyo, 2014, by a method relying on antibody-dependent enhancement mechanism using FcγR-expressing BHK cells. Vector Borne Zoonotic Dis 16(12):810-812, 2016

19) Yamanaka A, Moi ML, Takasaki T, Kurane I, Konishi E. Neutralizing and enhancing antibody responses to five genotypes of dengue virus type 1 (DENV-1) in DENV-1 patients. J Gen Virol 98(2):166-172, 2017

20) 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 reverse transcription-polymerase chain reaction assay for blood screening. Transfusion 56(12):3094-3100, 2016

21) Itoh K, Iwamoto K, Satoh Y, Fujita T, Takahashi K, Katano H, Hasegawa H, Takasaki T, Tando S, Fushiki S. Knowledge obtained from an elderly case of Japanese encephalitis. Intern Med 55(17):2487-2490, 2016

22) Fukusumi M, Arashiro T, Arima Y, Matsui T, Shimada T, Kinoshita H, Arashiro A, Takasaki T, Sunagawa T, Oishi K. Dengue sentinel traveler surveillance: monthly and yearly notification trends among Japanese travelers, 2006-2014. PLoS Negl Trop Dis 19;10(8):e0004924, 2016

23) Nakajima S, Watashi K, Ohashi H, Kamisuki S, Izaguirre-Carbonell J, Kwon AT, Suzuki H, Kataoka M, Tsukuda S, Okada M, Moi ML, Takeuchi T, Arita M, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Hasegawa H, Takasaki T, Sugawara F, Wakita T. Fungus-derived neoechinulin B as a novel antagonist of liver X receptor, identified by chemical genetics using a hepatitis C virus cell culture system. J Virol 90(20):9058-9074, 2016

24) Moi ML, Takasaki T, Kurane I. Human antibody response to dengue virus: implications for dengue vaccine design. Trop Med Health 44:1, 2016

25) Yamashita A, Sakamoto T, Sekizuka T, Kato K, Takasaki T, Kuroda M. DGV: Dengue genographic viewer. Front Microbiol 7:875, 2016

26) Azami NA, Moi ML, Takasaki T. Neutralization assay for chikungunya virus infection: plaque reduction neutralization test. Methods Mol Biol 1426:273-82, 2016

27) Moi ML, Takasaki T. Chikungunya virus growth and fluorescent labeling: detection of chikungunya virus by immunofluorescence assay. Methods Mol Biol 1426:143-152, 2016

28) Lim CK. (2016) Virus isolation and preparation of sucrose-banded Chikungunya virus samples for transmission electron microscopy, pp. 153-162. In J.H. Chu and S.K. Ang (ed), Chikungunya Virus: Methods and Protocols. Springer Science + Business Media, New York, USA

29) 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 traveler returning to Japan from India. Emerg Infect Dis 22(6):1079-1082, 2016

30) Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Yoshikawa T, Wang L, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Lim CK, Fujii H, Yamada S, Harada S, Oka A, Mizuguchi M, Taniguchi S, Saijo M. The association of the emergence of acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 with the prognosis in hematopoietic stem cell transplantation patients. J Infect Dis 215(6):865-873, 2017

31) Takayama-Ito M, Lim CK, Nakamichi K, Kakiuchi S, Horiya M, Posadas-Herrera G, Kurane I, Saijo M. Reduction of animal suffering in rabies vaccine potency testing by introduction of humane endpoints. Biologicals 46:38-45, 2017

32) Saito Y, Moi ML, Takeshita N, Lim CK, Shiba H, Hosono K, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Japanese encephalitis vaccine-facilitated dengue 1 virus infection-enhancement antibody in adults. BMC Infect Dis 16(1):578, 2016

33) Nukuzuma S, Nakamichi K, Kameoka M, Sugiura S, Nukuzuma C, Tasaki T, Takegami T. Suppressive effect of topoisomerase inhibitors on JC polyomavirus propagation in human neuroblastoma cells. Microbiol Immunol 60(4):253-260, 2016

34) Aotsuka Y, Uzawa A, Nishimura K, Kojima K, Yamaguchi M, Makino T, Nakamichi K, Saijo M, Kuwabara S. Progressive multifocal leukoencephalopathy localized in the cerebellum and brainstem associated with idiopathic $CD4^+$ T lymphocytopenia. Intern Med 55(12):1645-1647, 2016

35) Takahashi K, Sekizuka T, Fukumoto H, Nakamichi K, Suzuki T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Deep-sequence identification and role in virus replication of a JC virus quasispecies in patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. J Virol 91(1) pii: e01335-16, 2016

36) Yokokawa K, Hisahara S, Matsuura Y, Ikeda K, Tsuda E, Saitoh M, Nakamichi K, Saijo M, Kamihara Y, Sato T, Kawamata J, Shimohama S. Progressive multifocal leukoencephalopathy after autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with multiple myeloma treated with combination therapy. J Neurol Sci 368:304-306, 2016

37) Yamada S, Katano H, Sato Y, Fukuchi S, Hashimoto K, Inoue N. An Ex vivo culture model for placental cytomegalovirus infection using slices of Guinea pig placental tissue. Placenta 37:85-88, 2016

38) Ito K, Taniguchi H, Ohtaki N, Ando S, Kawabata H. A First Case of Tick Bite by Amblyomma coelebs in Japan. J Dermatol 2017 Mar 22. doi: 10.1111/1346-8138.13789.

39) Aktera A, Ooka T, Gotoh Y, Yamamoto S, Fujita H, Terasoma F, Kida K, Taira M, Nakadouzonoi F, Gokuden M, Hirano M, Miyashiro M, Shimazu Y, Tabara K, Toyoda A, Yoshimura D, Itoh T, Kitano T, Katsura K, Mondel SI, Ogura Y, Ando S, Hayashi T. Extremely low genomic diversity of *Rickettsia japonica* implies its recent clonal expansion and the long generation time of tick-associated rickettsiae in nature. Genome Biol Evol 2017 Jan 4. pii: evw304. doi: 10.1093/gbe/evw304.

40) Ogawa M, Satoh M, Saijo M, Ando S. Evaluation of a broad-ranging and convenient enzyme-linked immunosorbent assay using the lysate of infected cells with five serotypes of *Orientia tsutsugamushi,* a causative agent of scrub typhus. BMC Microbiol 17(1):7, 2017

41) Shimizu K, Hamaguchi S, Ngo CC, Li TC, Ando S, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Koma T, Isozumi R, Tsuda Y, Fujita H, Pham TT, Yoshida LY, Ariyoshi K, Arikawa J. Serological evidence of infection with rodent-borne hepatitis E virus HEV-C1 or antigenically related virus in humans. J Vet Med Sci 78(11):1677-1681, 2016

42) Hanaoka N, Matsutani M, Satoh M, Ogawa M, Shirai M, Ando S: Development of a novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for *Rickettsia* spp. Jpn J Infect Dis 70(1):119-123, 2017

43) 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. Possible case of novel spotted fever group rickettsiosis in a Japanese traveler returning from India. Emerg Infect Dis 22(6):1079-1082, 2016

44) Omura N, Fujii H, Yoshikawa T, Yamada S, Harada S, Inagaki T, Shibamura M, Takeyama H, Saijo M. Association between sensitivity of viral thymidine kinase-associated acyclovir resistant herpes simplex virus type 1 and virulence. Virol J 14:59, 2017

45) Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Asou K, Shinomiya H, Suzuki T, Hasegawa H, Shimojima M, Saijo M. Unusual presentation of a severely ill patient having severe fever with thrombocytopenia syndrome: a case report. J Med Case Rep 11(1):27, 2017

46) Kato H, Yamagishi T, Shimada T, Matsui T, Shimojima M, Saijo M, Oishi K. Epidemiological and clinical features of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan, 2013-2014. PLoS One 11(10):e0165207, 2016

47) Yoo JR, Heo ST, Park D, Kim H, Fukuma A, Fukushi S, Shimojima M, Lee KH. Family Cluster Analysis of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection in Korea. Am J Trop Med Hyg 95(6):1351-1357, 2016

48) Kurihara S, Satoh A, Yu F, Hayasaka D, Shimojima M, Tashiro M, Saijo T, Takazono T, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Yanagihara K, Mukae H, Saijo M, Morita K, Kohno S, Izumikawa K. The world first two cases of severe fever with thrombocytopenia syndrome: an epidemiological study in Nagasaki, Japan. J Infect Chemother 22(7):461-465, 2016

49) Suda Y, Fukushi S, Tani H, Murakami S, Saijo M, Horimoto T, Shimojima M. Analysis of the entry mechanism of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, using a vesicular stomatitis virus pseudotyping system. Arch Virol 161(6):1447-1454, 2016

50) Iizuka I, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Fukushi S, Ogata M, Morikawa S, Hasegawa H, Mizuguchi M, Kurane I, Saijo M. A single vaccination of nonhuman primates with highly attenuated smallpox vaccine, LC16m8, provides long-term protection against monkeypox. Jpn J Infect Dis 70:408-415, 2017

51) Yamaoka Y, Matsuyama S, Fukushi S, Matsunaga S, Matsushima Y, Kuroyama H, Kimura H, Takeda M, Chimuro T, Ryo A. Development of monoclonal antibody and diagnostic test for Middle East respiratory syndrome coronavirus using cell-free synthesized nucleocapsid antigen. Front Microbiol 7:509, 2016

52) Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Shiokawa M, Mori H, Uemura K, Yamamoto S, Kurihara T, Okamoto T, Suzuki R, Yoshii K, Kurosu T, Igarashi M, Aoki H, Sakoda Y, Matsuura Y. Host-derived apolipoproteins play comparable roles with viral secretory proteins Erns and NS1 in the infectious particle formation of Flaviviridae. PLoS Pathog 13(6):e1006475, 2017

53) Takagi Y, Matsui K, Nobori H, Maeda H, Sato A, Kurosu T, Orba Y, Sawa H, Hattori K, Higashino K, Numata Y, Yoshida Y. Discovery of novel cyclic peptide inhibitors of dengue virus NS2B-NS3 protease with antiviral activity. Bioorg Med Chem Lett 27(15):3586-3590, 2017

54) Dhole P, Nakayama EE, Saito A, Limkittikul K, Phanthanawiboon S, Shioda T, Kurosu T. Sequence diversity of dengue virus type 2 in brain and thymus of infected interferon receptor KO mice: implications for dengue virulence. Virol J 13(1):199, 2016

55) Yunoki M, Kurosu T, Kubota-Koketsu R, Takahashi K, Okuno Y, Ikuta K. Neutralizing activities of human immunoglobulin derived

from donors in Japan against mosquito-borne flaviviruses, Japanese encephalitis virus, West Nile virus, and dengue virus. Biol Targets Ther 10:99-102, 2016

56) Kubota M, Takeuchi K, Watanabe S, Ohno S, Matsuoka R, Kohda D, Nakakita SI, Hiramatsu H, Suzuki Y, Nakayama T, Terada T, Shimizu K, Shimizu N, Shiroishi M, Yanagi Y, Hashiguchi T. Trisaccharide containing α2,3-linked sialic acid is a receptor for mumps virus. Proc Natl Acad Sci USA 113(41):11579-11584, 2016

2. 和文発表

1) 田島茂，高崎智彦．デング熱．日本臨牀 74(12): 2042-2046，2016

2) 前木孝洋，田島茂．日本脳炎ワクチン．化学療法の領域増刊（ワクチンのメリットとデメリット）33: 139-151, 2017

3) 田島茂．ジカウイルス感染症．別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患　感染症・ワクチンと慢性炎症．6(2): 58-63, 2017

4) 谷口怜．西アフリカ及びフィリピンのエボラウイルス感染症流行への貢献．臨床とウイルス 45(1):41-46, 2017

5) 中山絵里，高崎智彦．先天性ジカウイルス感染症．成人病と生活習慣病. 46(11):1407-1410，2016

6) 中山絵里，西條政幸．クリミア・コンゴ出血熱．感染症セミナーシリーズ．一類感染症の特徴と注意点．272：page, 2016

7) 中山絵里，高崎智彦．蚊が媒介するウイルス感染のわが国への脅威と今後（デング，チクングンア，ジカ）．感染・炎症・免疫. 46(3): 59-61, 2016

8) 林昌宏．狂犬病．成人病と生活習慣病．46(11):1394-1397, 2016

9) 林昌宏．動物咬傷後の狂犬病ワクチン接種．ドクターサロン 61(4):246-250, 2017

10) 林昌宏，倉根一郎，高崎智彦．チクングニア熱．改訂3版人獣共通感染症，木村哲，喜田宏 編，医薬ジャーナル社，pp172-177, 2016

11) 林昌宏，高崎智彦，西條政幸，倉根一郎．ジカ熱．第3版感染症予防必携（別冊），岡部信彦，岩本愛吉，大西真，西條政幸，谷口清州，野崎智義，宮崎義継 編，日本公衆衛生協会，2016

12) 林昌宏，倉根一郎．チクングニア熱，デング熱，デング出血熱．第3版感染症予防必携，岡部信彦，岩本愛吉，大西真，西條政幸，谷口清州，野崎智義，宮崎義継 編，日本公衆衛生協会，pp401-407, 2016

13) 林昌宏．ダニ媒介脳炎，東部ウマ脳炎，西部ウマ脳炎，ベネズエラウマ脳炎．第3版感染症予防必携，岡部信彦，岩本愛吉，大西真，西條政幸，谷口清州，野崎智義，宮崎義継 編，日本公衆衛生協会，pp238-243，2016

14) 林昌宏．流行地を拡大しているチクングニアウイルス．臨床とウイルス 44(1):29-36, 2016

15) 伊藤大輔，安井敬三，長谷川康博，中道一生，勝野雅央，髙橋昭．両側中小脳脚に主病変をもち，JC virus granule cell neuronopathyの合併が示唆された進行性多巣性白質脳症の1例．診断確定上再三の髄液検査の重要性．臨床神経学 56(7): 481-485, 2016

16) 大貫英一，朝山真哉，朝山知子，中道一生，西條政幸，小坂理．慢性腎不全を基礎に進行性多巣性白質脳症を発症しメフロキン，ミルタザピン併用療法を行い髄液JCウイルス陰性化を認めた1例．臨床神経学 56(10):705-708, 2016

17) 佐藤寛子，柴田ちひろ，秋野和華子，斎藤博之，齊藤志保子，門馬直太，東海林彰，高橋守，藤田博己，角坂照貴，高田伸弘，川端寛樹，安藤秀二．秋田県雄物川流域におけるアカツツガムシ生息調査（2011 年～2014 年），衛生動物学会誌　Med Entomol Zool 67(3):167-175, 2016

18) 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．Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 37:44-45, 2016

19) 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. Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 37:45-47, 2016

20) 下島昌幸，中国・韓国における SFTS 流行状況：更新情報． Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 37:47-48, 2016

21) 谷英樹, 福間藍子, 福士秀悦, 谷口怜, 吉河智城, 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，河合康洋，宇田晶彦，森川茂．抗 SFTS ウイルス薬開発の進捗状況． Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 37:49-50, 2016

22) 福士秀悦，吉河智城，谷英樹，福間藍子，下島昌幸，西條政幸．SFTS 以外の新規ダニ媒介性ウイルス感染症について． Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 37:53-54, 2016

23) 西條政幸．東南アジア帰りの発熱患者を診たときの感染症について．検査と技術 44(5):430-431, 2016

24) 西條政幸．日本における日本脳炎の流行状況とワクチン接種の重要性． 小児科臨床 69(7):1297-1300, 2016

25) 西條政幸. ジカウイルス感染症. Medical Practice 33(9):1484-1486, 2016

26) 西條政幸．クリミア・コンゴ出血熱．日本臨床 74(12):2003-2007, 2016

27) 西條政幸．最近の新興ウイルス感染症の話題. CBRNE2 007:18-21, 2016

28) 西條政幸．日本国内外で流行する節足動物媒介性ウイルス感染症：SFTS，デング熱，ジカウイルス感染症．岐阜県小児科医会報，2016 年

29) 西條政幸．ジカウイルスのウイルス学的特徴. Up-to-date 子どもの感染症 5(1):4-8, 2017

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tajima S. Molecular diagnosis of imported Zika virus disease in Japan. International Training Workshop on Laboratory Diagnosis for Zika. Taipei, Taiwan, 13-15 April 2016

2) Tajima S. Molecular diagnosis of imported Zika cases in Japan in 2016, and establishment of reverse genetics system of Zika virus. Workshop on Cooperation Studies for Zika Virus between Japan AND Brazil, Tokyo, 12-13 July 2016

3) Omura N, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Taniguchi S, Shibamura M, Fujii H, Shizuko H, Kimura M, Yamada S, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. Establishment of the recombinant vaccinia virus that express severe fever with thrombocytopenia syndrome virus genes as a potential SFTS vaccine. XXI International Poxvirus, Asfavirus and Iridovirus Conference. Strasburg, France, July 2016

4) Shibamura M, Yoshikawa T, Fujii H, Omura N, Harada S, Yamada S, Saijo M. Recovery of infectious vaccinia virus from a bacterial artificial chromosome, which retains the full-length viral genomic DNA of a third generation smallpox vaccine strain, LC16m8. XXI International Poxvirus, Asfavirus and Iridovirus Conference. Strasburg, France, July 2016

5) Shimojima M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity 6th -9th Sep 2016

6) Lim CK. JE prevention and control in Japan, 2015-2016. The 7th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region. Xian, China, 15-16 November 2016

7) Saijo M. Phylogenetic analyses on the 2014 dengue fever outbreak in Japan: importance in determination of whole genome nucleotide sequencing. The 13th Taiwan-Japan Symposium on Drug-resistant Infections, Acute

Respiratory Infections, TB, FETP and collaborative Projects, Taipei (Taiwan), September 2016

8) Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. HCV2016, Kyoto, October 2016

2. 国内学会

1) 林昌宏, Wouter van den Braak, 堀谷まどか, 伊藤（高山）睦代, Guillermo Posadas Herrera, 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 蛋白質の発現. 第 15 回狂犬病研究会, 岐阜, 2016 年 4 月

2) 塩田（飯塚）愛恵, 林昌宏, 伊藤（高山）睦代, 福士秀悦, 堀谷まどか, Posadas-Herrera Guillermo, 西條政幸. 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）に対するワクチンの開発. 第 15 回狂犬病研究会, 岐阜, 2016 年 4 月

3) 伊藤（高山）睦代, 林昌宏, 垣内五月, 山口幸恵, 飯塚愛恵, 堀谷まどか, Posadas-Herrera Guillermo, 西條政幸. 狂犬病ワクチン in vitro 不活化試験法に関する研究. 第 15 回狂犬病研究会, 岐阜, 2016 年 4 月

4) 堀谷まどか, 林昌宏, 伊藤（高山）睦代, Guillermo Posadas Herrera, 塩田愛恵, 山口幸恵, 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 P 蛋白質の精製法の確立. 第 15 回狂犬病研究会, 岐阜, 2016 年 4 月

5) 中山絵里, 田島茂, 谷ヶ崎和美, 小滝徹, 富川拓海, モイメンリン, 林昌宏, 西條政幸, 倉根一郎, 高崎智彦. 遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルス株の性状解析. 第 119 回日本小児科学会学術集会, 札幌, 2016 年 4 月

6) 西條政幸. ヒト由来ウイルス感染症と動物由来ウイルス感染症の相違および感染症対策のあり方. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会, 仙台, 2016 年 4 月

7) 加藤博史, 島田智恵, 藤井芳弘, 小林祐介, 山岸拓也, 砂川富正, 松井珠乃, 西條政幸, 大石和徳. 本邦における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の流行状況～感染症発生動向調査より～. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会, 仙台, 2016 年 4 月

8) 安藤匡子, 本田俊郎, 御供田睦代, 藤田博己, 矢野泰弘, 正谷達謄, 田仲哲也, 松尾智英, 遠藤泰之, 安藤秀二, 川端寛樹. 屋久島のヒゲナガチマダニから分離されたリケッチア HKT-1 株の遺伝子解析. 日本衛生動物学会, 宇都宮, 2016 年 4 月

9) 花岡希, 小川基彦, 白井睦訓, 安藤秀二. リケッチア属検出のための LAMP 法の検討, 第 90 回日本感染症学会, 仙台, 2016 年 4 月

10) 山本徳栄, 近真理奈, 大山龍也, 藤田博己, 安藤秀二. 埼玉県の野生化アライグマにおけるリケッチア類の保有状況調査－第 3 報－. 第 90 回日本感染症学会, 仙台, 2016 年 4 月

11) 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 福士秀悦, 黒須剛, 古山裕樹, 宇田晶彦, 森川茂, 米納孝, 古田要介, 下島昌幸, 西條政幸. マウス感染モデルにおけるファビピラビルによる重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染症治療効果. 第 26 回抗ウイルス療法学会, 名古屋, 2016 年 5 月

12) 西條政幸. 単純ヘルペス脳炎の診断におけるアシクロビル耐性株の検出（Susceptibility test of HSV in herpes encephalitis to acyclovir）. 第 57 回日本神経学会, 神戸, 2016 年 5 月

13) 西條政幸. 日本国内外における新興・再興ウイルス感染症の動向と胎内感染. 関東連合産婦人科学会, 東京, 2016 年 6 月

14) 西條政幸. 節足動物媒介性ウイルス感染症：ジカウイルス病, デング熱, SFTS. 日本橋医師会講演会, 東京, 2016 年 6 月

15) 西條政幸. 日本国内外における新興・再興ウイルス感染症：SFTS, デング熱, および, ジカウイルス感染症. 今治市医師会講演会, 今治, 2016 年 6 月

16) 日紫喜隆行，加藤文博，田島茂，三浦智行，五十嵐樹彦，高崎智彦．デングウイルス 1 型レポーターレプリコン細胞の樹立．第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，福島，2016 年 5 月

17) 藤間大貴，加藤文博，日紫喜隆行，竹山春子，西條政幸，高崎智彦，田島茂．サイクロフェニルのデングウイルス増殖抑制効果．第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，福島，2016 年 5 月

18) 加藤文博，高崎智彦，西條政幸，田島茂．ジカウイルス感染性分子クローンの構築．第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，福島，2016 年 5 月

19) 山口幸恵, 林昌宏, 伊藤（高山）睦代, 垣内五月, 堀谷まどか，Guillermo Posadas-Herrera，塩田愛恵，田島茂，高崎智彦，倉根一郎，渡邉治雄，西條政幸．日本脳炎ウイルスの脳への侵入における matrix metalloproteinase-3 の役割．第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，福島，2016 年 5 月

20) 安藤匡子，本田俊郎，御供田睦代，藤田博己，矢野泰弘，正谷達謄，田仲哲也，松尾智英，遠藤泰之，安藤秀二，川端寛樹．鹿児島県屋久島のヒゲナガチマダニから分離されたリケッチア HKT-1 株の遺伝子解析．第 24 回 SADI，指宿，2016 年 5 月

21) 佐藤寛子，門馬直太，藤田博己，藤田信子，髙橋守，髙田伸弘，須藤恒久，安藤秀二．秋田県における夏のつつが虫病について．第 24 回 SADI，指宿，2016 年 5 月

22) 今内覚, 伊東拓也, 川端寛樹, 高野愛, 安藤秀二，村田史郎，大橋和彦．シュルツェマダニ由来 sialostatinL2 様因子の機能解析. 第 24 回 SADI，指宿，2016 年 5 月

23) 安藤秀二．リケッチア感染症，第２回節足動物媒介感染症研修会，DCC．東京，2016 年 6 月 7 日

24) 西條政幸．日本国内外における新興・再興ウイルス感染症の動向と胎内感染. 第 130 回関東連合産婦人科学会，東京，2016 年 6 月

25) 西條政幸．節足動物媒介性ウイルス感染症：ジカウイルス病，デング熱，SFTS．日本橋医師会講演会，東京（日本橋医師会館），2016 年 6 月

26) 三條伸夫, 宍戸-原由起子, 喜納里子, 能勢裕里江, 石橋哲 1 中道一生, 西條政幸, 前原健寿, 福田哲也, 江石義信, 水澤英洋, 横田隆徳．炎症を伴った進行性多巣性白質脳症の病型と病理学的特徴．第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会, 弘前，2016 年 6 月

27) 江尻寛子，林昌宏，伊澤晴彦，鍬田龍星，山口幸恵，片山幸枝，佐々木年則，林利彦，小林睦生，西條政幸, 森川茂, 前田健, 水谷哲也, 沢辺京子．国内で捕集されたキチマダニ由来の新規フレボウイルスについて. 第 159 回日本獣医学会学術集会，藤沢，2016 年 9 月

28) 越智晶絵, 今内覚, 伊東拓也, 川端寛樹, 高野愛，安藤秀二，村田史郎，大橋和彦．シュルツェマダニ（*Ixodes persulcatus*）由来 sialostatinL2 の機能解析．第 159 回日本獣医学会，藤沢，2016 年 9 月

29) 江川和孝, 下島昌幸, 谷口怜, 永田典代, 谷英樹，黒須剛，吉河智城，福士秀悦，西條政幸．BALB/c マウスにおけるヒト由来およびコウモリ由来プテロパインオルソレオウイルスの病原性解析．第 159 回日本獣医学会学術集会，藤沢，2016 年 9 月

30) 渡辺俊平，下島昌幸，Glenn A. Marsh．ニパウイルス，バングラディッシュ株の組換えウイルス作出系の確立．第 159 回日本獣医学会学術集会，藤沢，2016 年 9 月

31) 近真理奈，山本徳栄，大屋賢司，福士秀人，安藤秀二. 埼玉県の野生ドバトにおけるオウム病病原体の長期モニタリング（2008-2012）-陽性検体の遺伝子解析について-. 第 34 回日本クラミジア研究会，東京，2016 年 9 月

32) 中山絵里，高橋健太，佐藤由子，谷口怜，河合康洋, 加藤文博, 柴崎謙一, 西條政幸, 田島茂. IFNR1 欠損マウスにおけるジカウイルスの病原性解析. 第 23 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会，札幌，2016 年 10 月

33) Tohma D, Tajima S, Kato F, Hishiki T, Takeyama H, Sato H, Aida Y, Takasaki T, Saijo M. Mechanism of action of Cyclofenil for the

inhibitory effect on the dengue virus replication in vitro. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

34) Kato F, Takasaki T, Saijo M, Tajima S. Construction of an infectious molecular clone of Zika virus based on African lineage MR-766 strain. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016 年 10 月

35) Hishiki T, Kato F, Tajima S, Miura T, Igarashi T, Takasaki T, Kohara M. Development of dengue virus replicon cells expressing secretory luciferase. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

36) 田島茂．近年のアルボウイルス感染症の状況．地方衛生研究所東海北陸ブロック地域レファレンスセンター連絡会議，名古屋，2016 年 10 月

37) 中山絵里. IFNAR1 欠損マウスにおけるジカウイルスの病原性解析．第 23 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会．札幌，2016 年 10 月

38) Takayama-Ito M, Lim CK, Morimoto K, Horiya M, Yamaguchi Y, Kakiuchi S, Iizuka-Shiota I, Posadas-Herrera G, Saijo M. Efficacy of Recombinant Replication Incompetent RV Vaccine against Arenaviruses. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

39) Lim CK, Ejiri H, Isawa H, Yamaguchi Y, Fujita R, Takayama-Ito M, Kuwata R, Kobayashi D, Horiya M, Posadas-Herrera G, Iizuka-Shiota I, Kakiuchi S, Katayama Y, Hayashi T, Sasaki T, Kobayashi M, Shigeru M, Maeda K, Mizutani T, Saijo M, Sawabe K. Isolation and Characterization of Kabuto Mountain virus, a new tick-borne phlebovirus from Haemaphysalis flava in Japan. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

40) 中道一生，林昌宏，西條政幸．JC ポリオーマウイルスの調節領域における転写因子結合配列の in silico 解析. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌市，2016 年 10 月

41) 奴久妻聡一，中道一生，亀岡正典，杉浦重樹，奴久妻智代子，田崎隆史，竹上勉．ヒト神経芽細胞腫でのトポイソメラーゼ I 阻害剤の JC ポリオーマウイルス増殖抑制効果．第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌市，2016 年 10 月

42) Yoshikawa T, Fujii H, Shibamura M, Omura N, Harada S, Yamada S, Saijo M. Recovery of infectious vaccinia virus from a bacterial artificial chromosome, which retains the full-length viral genome of a strain, LC16m8. 第 64 回日本ウイルス学会，札幌，2016 年 10 月

43) Fujii H, Kakiuchi S, Omura N, Shibamura M, Yoshikawa T, Yamada S, Harada S, Saijo M. Analysis of acyclovir resistant herpes simplex virus 1 variants, emergence in patients with stem cell transplantation. 第64回日本ウイルス学会，札幌, 2016 年 10 月

44) Miura T, Sakamoto M, Yamada S, Watanabe S, Inoue N. Structural requirements of GP131, one of the pentameric complex components of guimea pig cytomegalovirus, for cell tropisms and antigenicity. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

45) Kurosu T, Okuzaki D, Limkittikul K, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Saijo M. Transcriptome analysis using a fatal mouse model for severe dengue. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

46) Kawachi K, Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Kamitani W, Saijo M. Determination of the amino acid residue important for fusion of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus glycoprotein. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

47) Shinomiya H, Kimura T, Fukuma A, Shimojima M, Yamashita Y, Mizota F, Yamashita M, Otsuka Y, Kan M, Saijo M. Seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus antibodies in SFTS endemic areas of Ehime prefecture, Japan. 第 64 回日本ウイルス学会学

術集会，札幌，2016 年 10 月

48) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Fukushi S, Saijo M. Pathogenicity of human-origin Pteropine orthoreovirus (PRV) and bat-origin PRV in BALB/c mice. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

49) Kawagishi T, Kanai Y, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Nelson Bay Orthoreovirus S1 gene segment determines strain-specific differences in viral infectivity and pathogenesis. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

50) Shiota T, Li T, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

51) Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Kurosu T, Taniguchi S, Egawa K, Shimojima M, Shirato K, Mastuyama S, Sentsui H, Saijo M. Vesicular stomatitis virus pseudotype-based assay for detecting MERS-CoV neutralizing antibody responses. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

52) Watanabe S, Edenborough K, Tachedjian M, Todd S, Klein R, Shimojima M, Marsh G. Establishment of an efficient reverse genetics system for Nipah virus Bangladesh strain. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

53) Shimojima M, Suda Y, Dowall S, Horimoto T, Saijo M, Hewson R. Development of a anovel diagnostic assay using VSV for detection of neutralizing activity to CCHFV. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

54) Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Fukushi S, Kurosu T, Koyama Y, Uda A, Morikawa S, Komeno T, Nakajima N, Furuta Y, Shimojima M, Saijo M. Therapeutic effects of favipiravir (T-705) against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in a mouse lethal model. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

55) 山岡悠太郎，松山州徳， 福士秀悦，松永智子，松島勇紀，黒山浩之，木村博一，竹田誠，千室智之，梁明秀．MERS コロナウイルスの virus-like particle 作製条件の検討．第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

56) Saasa N, Kajihara M, Dautu G, Morikawa S, Saijo M, Takada A, Mweene AS, Yoshimatsu K, Arikawa J. Recombinant expressed nucleoprotein protein of Rift Valley fever virus and Sero-surveillance in traditional cattle herds in Zambia. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

57) Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016 年 10 月

58) 中道一生，西條政幸．JC ウイルス感染の実態と検出法．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

59) 三浦義治，岸田修二，中道一生，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，宍戸-原由紀子，雪竹基弘，浜口毅，水澤英洋，山田正仁．PML の診断と治療．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

60) 伊崎祥子，田中覚，田島考士，中道一生，西條政幸，高橋健太，長谷川秀樹，野村恭一．特発性 CD4+リンパ球減少症の関連が示唆され，メフロキンが有効であった小脳・脳幹型進行性多巣性白質脳症の 1 剖検例．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

61) 石井淳子，川本未知，藤原悟，船津尭之，今井幸弘，奴久妻聡一，高橋健太，中道一生，幸原伸夫．全身性エリテマトーデス加療中に頭部 MRI で散在性点状 T2 高信号病変を呈し進行が見られてい

ない進行性多巣性白質脳症の一例．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

62)福田晃史郎，石橋賢士，松村謙，金政祐典，中道一生，西條政幸，三浦義治．血管免疫芽球性Ｔ細胞リンパ腫治療後に両側視力障害にて発症し，PET 検査が有用であった進行性多巣性白質脳症の 63 歳男性例．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

63)古川貴大，松井尚子，山崎博輝，和泉唯信，中道一生，西條政幸，梶龍兒．非 HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 3 例．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

64)三浦義治，中道一生，西條政幸，岸田修二，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，浜口毅，水澤英洋，山田正仁．本邦発症進行性多巣性白質脳症患者に対する塩酸メフロキン治療の多数例における有効性の解析．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

65)中道一生，林昌宏，西條政幸．限外濾過デバイスを用いた脳脊髄液中 JC ウイルスの高感度 PCR 検査系の確立及び臨床検査における有用性の評価．第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会，金沢，2016 年 10 月

66)西條政幸．日本で流行している，または，流行が危惧される東南アジア等における新興感染症：SFTS，デング熱，ジカウイルス感染症．平成 28 年度第 2 回岐阜県小児医会・第 45 回西濃小児医会学術講演会，大垣，2016 年 10 月

67)西條政幸．日本国内外における新興・再興ウイルス感染症：SFTS，デング熱，および，ジカウイルス感染症．日本国内外における新興・再興ウイルス感染症：SFTS，デング熱，および，ジカウイルス感染症．平成 28 年度道北小児感染症セミナー，旭川，2016 年 10 月

68)西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）．第 44 回内科学の展望（内科領域におけるウイルス感染症　～ウイルス感染症に対する最新の知識と治療～）．広島市文化交流会館，2016 年 11 月

69)Kurosu T, Okuzaki D, Limkittikul K, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Saijo M. Transcriptome analysis using a fatal mouse model for severe dengue. 第 57 回日本熱帯医学会大会，東京，2016 年 11 月

70)Saijo M. Ebola virus disease outbreak, SFTS epidemics and Japan. 第 57 回日本医学会学術集会，東京，2016 年 11 月

71)下島昌幸．ワークショップ BSL4 の現状と展望「BSL4 実験室と感染性ウイルスを用いた研究」．第 16 回日本バイオセーフティ学会，大宮，2016 年 11 月

72)森川茂, 棚林清, 西條政幸. ワークショップ BSL4 の現状と展望「国立感染症研究所の BSL-4 施設が大臣指定を受けるまでの道のりと今後の施設内での業務等について」．第 16 回日本バイオセーフティ学会，大宮，2016 年 11 月

73)西條政幸．患者から学ぶウイルス感染症：単純ヘルペスウイルス感染症と重症熱性血小板減少症候群．埼玉小児血液同好会，大宮，2016 年 11 月

74)小川基彦，西條政幸，安藤秀二．Multiplex PCR によるつつが虫病リケッチアの型別法の開発（第一報）．第 23 回リケッチア研究会，東京，2016 年 12 月

75)山本徳栄，近真理奈，大山通夫，大山龍也，藤田博己，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２報）．第 23 回リケッチア研究会，東京，2016 年 12 月

76)安藤秀二, 成田雅. リケッチア研究会情報 update ～リケッチア症の発生状況とトピックスのレビュー．第 23 回リケッチア研究会，東京，2016 年 12 月

77)川森文彦，池ヶ谷朝香，佐原啓二，安藤秀二，大橋典男. つつが虫病及び紅斑熱の迅速診断法の検討，第 23 回リケッチア研究会，東京，2016 年 12 月

78)平良雅克，川端寛樹，藤田博己，角坂照貴，西條政幸，安藤秀二．国内のマダニにおけるエーリキア属菌浸潤状況．第 23 回リケッチア研究会，東

京，2016 年 12 月

79)高娃（コウワ），曹民志，大橋典男，川端寛樹，安藤秀二. 内モンゴル自治区におけるリケッチアとボレリア菌種の多様性に関する実態調査．第 23 回リケッチア研究会，東京，2016 年 12 月

80)田島茂．蚊媒介ウイルス感染症について．平成 28 年度第 3 回都臨技公衆衛生検査研究班研修会，東京，2016 年 12 月

81)下島昌幸．コンゴ民主共和国における黄熱検査の支援の実際．シンポジウム「今後民主共和国における黄熱病アウトブレイクに対する国際緊急援助隊(JDR)感染症対策チームの派遣からの学び」．第 31 回日本国際保健医療学会学術大会 2016，久留米，2016 年 12 月

82)安藤秀二．ダニ媒介感染～リケッチア症，平成 28 年度希少感染症診断技術研修会，東京，2017 年 2 月

83)西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の流行状況と治療法の研究に関する話題．第 32 回日本環境感染学会総会･学術集会，神戸，2017 年 2 月

84)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．マダニ唾液腺由来因子の病原体伝播における役割．第 90 回日本細菌学会シンポジウム，仙台，2017 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 7 件,小分け製品 9 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、10 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 11 件、MSD:ロタテックが 5 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。

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終了し、企業へのライセンス契約に向けて調整が始まった。流行予測プログラム、NoroCast version 1 のが完成した。NoroCast のさらなる精度向上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系の安定した運用にこぎ着けた。また、米国ベイラー医科大学との共同研究により、ヒト腸管オルガノイドを用いたヒトノロウイルスの培養増殖の成果がもたらされた。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によりマウスノロウイルスのレセプター分子を同定することに成功した。ノロウイルス感受性を示す株化培養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は残り 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の実用化を検討している. 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バイオリスク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 26 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 7 回目)ではポリオ流行国など各国からの参加者に対して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.

また、抗ピコルナウイルス化合物 MDL-860 耐性ポリオウイルスの解析およびポリオウイルス阻害機構の解析を進めた.

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、分担研究者、拠点病院と連携して全国の県、市町村にて、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プロレスラーの小橋健太氏を招き、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展した。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 1 件, B型肝炎ワクチン 31 件の検定をおこなった.B型肝炎ワクチンが平成 28 年 10 月より定期接種化されたため、B型肝炎ワクチンは出検数が大幅に増加した.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、2016 年のA型肝炎の流行状況の分子疫学的解析を行った. また、A型肝炎抗体保有状況の全国規模の血清疫学調査を1973 年から約 10 年おきに実施しており、本年度はその準備を行った. E型肝炎ウイルスの研究では、レセプター探索研究と抗ウイルス薬探索研究を継続した. また、調理不十分な豚肉の喫食からのE型肝炎ウイルス感染を防止するため、各加熱条件で処理した HEV 混合豚肉から抽出した HEV の感染性低減効果について評価した. 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. Zayyin Dinana（インドネシア・アイルランガ大学）平成 27 年 7 月 4 日～平成 27 年 7 月 14 日、下痢症ウイルスの検出、分子疫学の研修

Dr. Rury Mega Wahyuni（インドネシア・アイルランガ大学）平成 28 年 10 月 25 日～平成 28 年 11 月 10 日、下痢症ウイルスの検出、分子疫学の研修

Dr. Punita Gauchan、Ms. Chantal Ama Agbemabiese (長崎大学)平成 28 年 11 月 28 日～12 月 2 日、下痢症ウイルス次世代シークエンス解析の研修

Dr. Francis Ekow Dennis (野口記念医学研究所)平成 28 年 12 月 11 日～12 月 30 日、下痢症ウイルス次世代シークエンス解析の研修

第5室

白　慧敏（中国内モンゴル包頭医科大学）＜中国留学基金派遣＞平成 28 年 12 月～平成 29 年 12 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.

不活化ポリオワクチン、ロタワクチンの検定導入に尽力された片山和彦第一室・室長は平成 28 年 8 月末で退職し、北里大学北里生命科学研究所・大学院感染制御科学府ウイルス感染制御学 I 教授として転出した。芳賀慧研究員は、平成28年9月末日に期間満了で退職し、北里大学北里生命科学研究所・大学院感染制御科学府ウイルス感染制御学 I 特任助教として転出した。片山氏、芳賀氏のこれまでの尽力に感謝する。

平成 28 年 6 月に村上耕介研究員が帰国し、第一室に復

帰した。平成 29 年 3 月より、Doan Hai Yen 研究員が第二室
の任期付研究員として採用された。

＜別＞ 検査業務

検定業務

第1室:

・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン(テトラビック) 5件

・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン(クアトロバック) 4件

・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン(ポリオ原液:中間段階) 7件

・不活化ポリオワクチン(ソークワクチン)(イモバックスポリオ) 0件

・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(ソークワクチン)混合ワクチン(スクエアキッズ) 10件

・経口弱毒生ヒトロタウイルスワクチン(ロタリックス) 11件

・5価経口弱毒生ロタウイルスワクチン(ロタテック) 5件

第5室:

・乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン(エイムゲン) 1件

・組換沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)(ビームゲン) 2件

・組換沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)(ヘプタバックスII) 29件

・次期参照沈降A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 1 件

第 2 室

ポリオウイルス

合計 1 件

第3室

体外診断薬承認前試験;コバス 6800/8800 システム HBV

(ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社)

第5室:

A 型肝炎 4 件 12 検体

B 型肝炎 2 件 16 検体

E 型肝炎 7 件 12 検体

業　績

調査・研究

I.　下痢症ウイルスに関する研究

(1) 分泌型・非分泌型ヒト腸管エンテロイドへのヒトノロウイルス感染の解析

ベイラー医科大学で作製された腸管エンテロイドバンクのうち, 分泌型及び非分泌型のエンテロイドへ GII.3 及び GII.4 ヒトノロウイルスを感染させ, 感染の有無をリアルタイム PCR で解析した. その結果, GII.4 は分泌型へ感染するが非分泌型へ感染しなかった. 一方で GII.3 は分泌型のみでなく一部の非分泌型にも感染した. このことは, ヒト個体の疫学調査の結果と一致しており, エンテロイドへの感染様式が in vivo における感染を反映していることを示唆した.

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

(2) ヒトノロウイルス GII.3 のエンテロイドへの感染メカニズムの解析

ヒトノロウイルス GII.3 はエンテロイドへ感染するために胆汁を必要とする. GII.3 の感染メカニズムを明らかにするため, 胆汁のどの成分が感染に関わっているのかを解析した. その結果, 胆汁酸が GII.3 感染に関与していることを明らかにした.

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

(3)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。慶応大学医学部の佐藤俊郎准教授より技術指導を受け導入した腸管オルガノイドを、モノレイヤー化することに成功した。モノレイヤーオルガノイドは、ヒトノロウイルス感受性を示した。

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

(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終了し、解析が進行した。ベイジアン法を用いた時系列分子系統解析により、GI が 2 リネージ、GII が 3 リネージに分別可能なことが明らかになった。さらに、ヒトノロウイルスはリネージごとに異なる性質を有する可能性が示唆された。ヒトノロウイルスの流行予測システム NoroCast version 1 の開発に成功した。本システムは、代表開発者である名古屋市立大学鈴木善幸教授の研究室ホームページに公開されている。

[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）、調恒明（山口県環境保健センター）、鈴木善幸（名古屋市立大学）]

(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 GatVirusWeb に搭載可能なロタウイルスタイピングツールの開発がさらに進み、β テストに移行する準備が進められた。来年度、3 箇所の地研でハードウェア、ソフトウェア両面からのロタウイルスタイピングツールのテストが始まる。

[三瀬敬治（札幌医大）、Doan Hai Yen,　戸高玲子、藤井克樹、芳賀慧、片山和彦]

(6)ノロウイルスの網羅的 VLP および抗体の作製

ヒトノロウイルスの研究,抗原抗体検出システムの開発、ワクチン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,極めて有用なツールである.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. 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行い、一部分をワクチンシーズとして民間企業にライセンスアウトするための準備が進行した。

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

(7)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

ヒトノロウイルス（HuNoV）の腸管粘膜層への接着には組織血液型抗原（HBGA）が関与する可能性があるが、細胞への侵入には別の分子が関与している可能性が高い。細胞への侵入に寄与する分子が HuNoV の真のレセプターと考えられる。我々は、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、もしくは特殊な蛍光をラベルした VLP を用いて、HuNoV 感染感受性細胞をラベルして分取し、非感受性細胞と感受性細胞のトランスクリプトーム解析を実施した。

[藤本陽、,芳賀慧、戸高玲子、村上耕介、染谷雄一, 片山和彦、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）]

(8)ノロウイルス中和抗体認識部位の同定

MNV に対して中和活性のあるモノクローナル抗体のエピトープを明らかにするため、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析を進めている。具体的には、感染性 MNV を大量に精製し、それ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のサンプルに供することで、結合様式を明らかにする。[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]

(9)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。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解析したところ CD300lf, CD300ld 遺伝子がノックあるとされていた。CD300lf, CD300ld をクローニングし、そのいずれかを導入して発現させた細胞は、ヒト、サル、ネコ、ハムスターなどのマウス以外の哺乳類由来の培養細胞であっても MNV 感受性細胞となり、MNV の増殖培養が可能になることを見いだした。CD300lf, CD300ld は、RAW の MNV 感受性を司る因子、つまり、MNV の機能性レセプターであることが明らかになった。

[芳賀慧、藤本陽、戸高玲子,村上耕介,中西章(国立長寿医療研究センター)、村田和義（岡崎生理学研究所）,片山和彦]

(10)マウスノロウイルス増殖阻害化合物の阻害メカニズムの解析

マウスノロウイルスの感染、増殖を阻害した新規化合物がウイルスプロテアーゼに作用する可能性を検証するため、in vitro translation systemを用いて検討したところ、少なくとも検討条件下では、本化合物はマウスノロウイルスプロテアーゼ活性を阻害しないと考えられた。

[岡智一郎,大場舞, 安藤隆幸, 小和田和宏（静岡環衛研）, 小郷尚久, 浅井章良 （静岡県立大薬）]

(11)ノロウイルス VLP の X 線結晶構造解析

高輝度光科学研究センターにおいてノロウイルスチバ株（GI.4）の VLP の三次元結晶の X 線結晶構造解析を実施し、直径 23 nm 粒子の X 線回折データを得た。これを解析し、23nm 粒子の結晶構造を決定した。

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

(12)ノロウイルス VLP の電子顕微鏡単粒子解析

ノロウイルス GI 株（GI.1～GI.9）の VLP を昆虫細胞で調製し、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おいて電子顕微鏡単粒子解析を実施した。いくつかの株について電子顕微鏡単粒子解析を進めている。

[染谷雄一、染谷友美（理化学研究所）]

(13)抗ノロウイルスヒト型モノクローナル抗体発現系の改良

ノロウイルスチバ株（GI.4）の VLP を用いて単離されたヒト型モノクローナル抗体（scFv 抗体）を改変し、大腸菌で高効率に発現する系の改良を試みた。

[染谷雄一]

(14) ファージディスプレイ法によるヒト型抗ノロウイルス抗体の単離と応用

本研究では, ヒト由来ファージ抗体ライブラリーから多数の抗ノロウイルス（NoV）抗体を単離・解析し, 交叉反応性抗 NoV 中和抗体の作製を試みる.これまでに, ウイルス様空粒子（VLP）を抗原に用い, 遺伝子型特異的, 遺伝子群内交叉反応性, そして遺伝子群間交叉反応性のヒト型抗 NoV ファージ抗体を単離してきた. 今年度は, 10 遺伝子型 10 株の VLP を用いた ELISA を行い, 交差反応性の高い抗体は, 他の遺伝子型株の血液型抗原への結合も阻害したのに対し, 交差反応性の低い抗体は, 他の遺伝子型株の血液型抗原への結合は阻害しないことを明らかにした.

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

(15) 量子ドット蛍光色素を用いた V 溝バイオセンサによるノロウイルスの検出

感染力の強い NoV の感染拡大を防ぐため, オンサイトで環境中の NoV が検出できる高感度な検査装置が求められている. NoV のオンサイト検査を実現するため, 量子ドット蛍光色素を用いた V 溝バイオセンサを設計し, 評価を進めている. 今年度は, GII.4 遺伝子型株の VLP の検出を実施した. その結果, 濃度 0.01 ng/mL の VLP の検出を実現した. 濃度 0.01 ng/mL は, 検出領域の V 溝内に存在する VLP 数に換算すると 100 粒子にあたる. 今後は, 他の遺伝子型の VLP を用いた試験を実施し, 交差反応性の検証を進める.

[白土東子, 芦葉裕樹（産総研）, 守口匡子（藤田保健衛生大学）, 藤巻真（産総研）]

(16)ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼの in vitro RNA 合成系の薬剤による阻害

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 転写活性測定系を用いて、薬剤（2'-C-Methyl-Cytidone Triphosphate: 2'CM-CTP）は、濃度依存的に RdRp の RNA 合成反応を阻害することを示すことが出来、RdRp に対する新規薬剤の阻害機構を調べるのに役立てることが出来ることが明らかとなった。

［下池貴志、岡智一郎］

2. サポウイルスに関する研究

(1) サポウイルスのゲノム解析

サポウイルスのゲノム多様性の解明を目的として、ヒト及びブタ由来のサポウイルス株のうち、フルゲノム配列が報告されていない遺伝子型の株を中心に long PCR、次世代シークエンサー、5'-RACE を組み合わせた解析方法の検討を開始し、世界的にも稀な2つの遺伝子型についてそのフルゲノム配列を決定した。今後も同様の解析を継続し、全遺伝子型のフルゲノム配列の決定を目指す。

岡智一郎,YenHai Doan,芳賀慧,小川知子(千葉県衛生研究所）,森功次 （東京都健康安全研究センター）,山崎彰美（柏保健所）、滝澤剛則（富山県衛生研究所)]

⑵サポウイルスゲノム末端に存在する共通構造の解析

サポウイルスゲノムの 5'末端配列は最初の 3 塩基以外共通配列を見いだすことができない。今回 5'末端の約 40 塩基の領域に共通の2次構造が保存されていることを明らかにした。この特徴的な構造はサポウイルスのゲノム複製、翻訳に関与している可能性がある。

[下池貴志,岡智一郎]

⑶サポウイルス構造タンパク質を認識するモノクローナル抗体のエピトープ解析

感染性ウイルスと同様の構造特性を有すると考えられているサポウイルスのウイルス様中空粒子を用いてヒト由来の 4 つの遺伝子群 (genogroup I, II, IV, V)すべてに反応するモノクローナル抗体、遺伝子群特異的に反応するモノクローナル抗体のエピトープ解析を試み、ウェスタンブロッティング等の反応性から、立体構造を認識している可能性が高いことが示唆された。

[岡 智一郎,三木元博,北元憲利 （兵庫県立大学)]

(4)サポウイルス中空粒子の構造解析

サポウイルス粒子構造を明らかにするため,均一かつ分解物の少ないウイルス様中空粒子 (VLPs)の調製ができた株について、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 VLPs の構造解析を行い、8Åを下回る解像度を得た。

[村田和義(岡崎生理研),Song Chihong,岡 智一郎,三木元博,片山和彦]

3. カリシウイルスに関する研究

(1) カリシウイルス増殖阻害化合物の検索

培養細胞での効率的な増殖が可能なカリシウイルス (マウスノロウイルス、ブタサポウイルス、ネコカリシウイルス)をターゲットにこれらのウイルスの感染増殖を阻害する化合物を検索し、それぞれのウイルスを特異的に阻害する化合物、いずれのウイルスも阻害する化合物を見出した。

[大場舞(静岡環衛研),岡智一郎,高木弘隆(バイオセーフティ), Qiuhong Wang, Linda J. Saif (オハイオ州立大),安藤隆幸,荒畑沙織, 池ヶ谷朝香,小和田和宏, 川森文彦(静岡環衛研), 小郷尚久, 浅井章良 (静岡県立大薬)]

(2)培養可能なカリシウイルスの新規 plasmid-based リバースジェネティクス系の構築

カリシウイルスの細胞内発現手段の開発を目的として我々はすでにヒト由来 elongation factor 1α promoter を用いるDNA launch 型リバースジェネティクスの構築に成功しているが、一部の細胞ではこの promoter が発現しなかったため、培養細胞で効率的に増殖可能なネコカリシウイルスをモデルに、そのほかの promoter での感染性ウイルス作出を検討し、ウイルス由来 promoter でもネコカリシウイルスのゲノム遺伝子の発現、感染性ウイルスの作出が可能であることを明らかにした。

岡 智一郎、高木弘隆(バイオセーフティ管理室)、遠矢幸伸(日大獣医)

4. ロタウイルスに関する研究

（１）北海道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

札幌医科大学との共同研究で、北海道におけるA群ロタウイルス（RVA）流行株を調査するため、2015年に北海道各地の病院で採取されたロタウイルス胃腸炎入院症例の便検体を収集した。NTT東日本病院（札幌市）、札幌北辰病院（札幌市）、岩見沢市立総合病院（岩見沢市）、苫小牧市立病院（苫小牧市）、製鉄記念室蘭病院（室蘭市）、市立函館病院（函館市）、浦河赤十字病院（浦河町）の7か所から、それぞれ9、24、13、24、13、6、5検体（合計94検体）のRVA陽性検体を収集することができた。

[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 RVA 陽性の 94 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 15%、DS-1-like G1P[8]が 67%、G2P[4]が 2%、G9P[8]が 12%、G9P[4]が 1%、重複感染が 3%であった。G9P[4]株は DS-1 型の遺伝子型構成を有していた。函館は G9P[8]株が優勢（6 株中 5 株）であったが、それ以外の地域はいずれも DS-1-like G1P[8]が優勢（50.0%～92.3%）であった。これは 2014 年の遺伝子型分布と全く異なっており、RVA の流行がシーズン間で大きく変動している事を示していた。

[藤井克樹、団海燕、片山和彦]

ウ）ロタウイルス遺伝子の系統樹解析

2015 年北海道の RVA 株について、各遺伝子の系統樹解析を行った。、DS-1-like G1P[8]、G2P[4]、G9P[8]に関しては前年とほぼ同じ塩基配列の株が流行していたが、Wa-like G1P[8]に関しては、前年は lineage 1 のみが流行していたのに対し、2015 年は lineage 2 が多くを占めていた。更にこの lineage 2 の NSP4 遺伝子は通常の 1 型ではなく 2 型であり（G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1）、系統樹解析の結果から DS-1-like G1P[8]株との間でリアソートメントを起こしたものであると考えられた。

[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のタイピング法の確立

ア）タイピング解析の条件検討

核酸自動電気泳動装置MultiNA（島津製作所）を用いたRVAの迅速・簡便な検査法の確立のため、必要な標準株を12株選定した（Wa-like G1P[8]、DS-1-like G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]およびRVC）。波形データを長鎖、中鎖、短鎖の3領域に分割し、各標準株との間で、3領域の相関係数を加重平均した値（similarity index）を比較することで、高精度にタイピングできる事を見出した。更に、RVA陰性検体、ノロウイルス陽性検体、アストロウイルス陽性検体を用いても、偽陽性と判定されないことを確認した。

[藤井克樹、片山和彦]

イ）タイピング法の評価

タイピング法の評価のため、感染研で保存しているRVA株をランダムに100株（Wa-like G1P[8]が34株、DS-1-like G1P[8]が28株、G2P[4]が10株、G3P[8]が3株、G9P[8]が25株）選定し、正しくタイピングされるか否かを検討した。その結果、バンドの検出率は73％であり、検出感度はPAGE（78%）とほぼ同等か若干劣る程度であった。また、検出できた検体のうち、遺伝子型構成のレベルで正しくタイピングされたのは93％であり、この解析アルゴリズムで高精度にタイピング可能であることを示していた。

[藤井克樹、片山和彦]

4. その他（品質管理に関する業務）

(1)ポリオワクチンのD抗原含量試験に用いる抗体に関する検討

日本ポリオ研究所（現 阪大微研会ポリオ研究所）が開発した2種の抗体（マウスモノクローナル抗体、および、ウサギポリクローナル抗体）がセービン株由来不活化ポリオワクチンのD抗原含量試験だけでなく、ソークワクチン（野生株由来不活化ポリオワクチン）のD抗原含量試験にも用いることができることを明らかにした。

[染谷雄一]

(2)不活化ポリオワクチンの力価試験（ラット免疫原性試験）に用いるラット系統の検討

昨年度に引き続き実施した。セービンワクチンの力価試験では日本エスエルシー社のWistarラットが使用されているが、国内他機関の検討によりこの系統は真のWistarではなく、F344系統に遺伝的に近縁であることが示された。海外では不活化ポリオワクチンの力価試験には真のWistarラット（日本エスエルシー社のWistarラットが流通している可能性は極めて低い）が使用されており、データの比較ができないなど問題が生じかねない。そこで、日本チャールス・リバー社のWistarラットに参照不活化ポリオワクチン（セービン株）（国内参照品）を接種して中和抗体価測定を行ったところ、免疫応答に差異はあるものの、国内参照品の力価単位は2種のラットで大きな差異はないと結論した。

[染谷雄一、網康至（動物管理室）]

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. 2016年度は、抗血清16種類、細胞7種類を配布した。

[吉田 弘, 有田峰太郎, 西村順裕、清水博之]

イ) 病原体検査における信頼性確保に関する検討

改正感染症法の完全施行（平成28年4月）に伴い都道府県知事による病原体検査には一定の質の確保が求められることとなった。質の確保のための取り組みの一つとして外部精度管理調査は、有効な方法である。一部の疾患を除けば、感染症発生動向調査に対応したウイルス検査の評価法について未開発のままである。このため試行的に 5 類小児科定点把握疾患である手足口病検査につい

て、外部精度管理調査のための、試料の調製法、評価法の在り方等、検討を行っている。

[伊藤雅、皆川洋子(愛知県衛研)、峯岸俊貴(埼玉県衛研、近藤眞規子(神奈川県衛研)、中田恵子(大阪府公衛研)、北川和寛(福島県衛研)、高橋雅輝(岩手県環保研セ)、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(4 年目)によるポリオウイルスの監視

平成 28 年度は感染症流行予測調査事業として 16 か所、調査研究 2 か所の計 18 か所の協力を得て流入下水を用いた環境水サーベイランスを実施した。18 か所の下水利用人口は、延べ約 600 万人である。IPV へ切り替えた平成 24 年 9 月以後、平成 26 年 10 月に 3 型ポリオワクチン株が流入下水から検出されている。平成 28 年度調査期間中、2 例目のポリオウイルスが 7 月に検出された。実施要領に基づく行政検査により、3型ワクチン株であること判明している。検出は当該月のみであったため、一過性の輸入例と考えられた。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)、、大沼正行(山梨県衛研)、小澤広規(横浜市衛研)、木田浩司(岡山県環保セ)、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)、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)、濱島洋介(和歌山県環衛研セ)、堀田千恵美(千葉県衛研)、諸石早苗(佐賀県衛薬セ)三好龍也(堺市衛研)、吉冨秀亮(福岡県保環研)、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 26 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7回目) を実施した。感染研での研修期間は 2017 年 1 月 16 日～2 月 10 日, 研修参加者は, アフガニスタンから 2 名、コンゴ民主共和国から 1 名、インドネシアから 1 名、ケニアから 2 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、ベトナムから 2 名の計 13 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として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、Doan Hai Yen, 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およびカンボジアの National Polio Laboratory として実験室診断を行った。本年度はカンボジア 91 検体およびラオス 785 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 3 型 1 株が検出されたが、ワクチン株と同定された。

[吉田 弘, 有田峰太郎、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、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。その後、2016年度にラオスのAFP症例および接触者から分離されたポリオウイルスは、すべてワクチン株と同定され、1型VDPV伝播は終息したものと考えられる。2016年5月18日にAFP症例から採取した糞便からの検出以降、2型ポリオウイルスは検出されておらず、tOPV接種停止以降、ラオスでは2型VDPV伝播は認められていない。

[吉田 弘, 有田峰太郎,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) WHO/GPEI および感染研国際協力室と協力し、2016 年 6 月 13 日－6 月 15 日に感染研戸山庁舎において開催された AD HOC SMALL WORKING GROUP OF THE GPLN ON DEVELOPMENT AND EVALUATION OF NEW REAGENTS AND APPROACHES FOR POLIO DIAGNOSTICS の開催準備および会議運営を担当した。日本における環境サーベイランス、感染性ウイルスを用いないポリオウイルス中和試験、ラオスにおける 1 型 VDPV 流行状況等に関する発表を行った。
[吉田 弘, 有田峰太郎, 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)]

エ) 2016 年 7 月 6 日－7 月 7 日に、NIBSC で開催された「ワクチン製造、臨床・品質管理試験および研究のための、新たなポリオウイルス株の安全性と封じ込めに関する科学的協議」へ参加し、ポリオウイルス基礎研究者、検査担当者、ワクチン製造メーカー等の専門家とともに、GAPIII に基づくポリオウイルス・バイオリスク管理に関する評価検討を行った。
[清水博之]

オ)2016 年 9 月 13-14 日に、WHO/WPRO で開催された「第 6 回西太平洋地域ワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議」へ参加し、日本におけるポリオ根絶の確認と実験室診断の概要、ラオスにおける 1 型ワクチン由来ポリオウイルス流行、日本における EV-D68 感染症の流行状況、等に関する情報提供を行った。[清水博之]

カ) 2016 年 10 月 25 日～27 日に、パスツール研究所 (パリ、フランス) において開催された Meeting of the Ad Hoc Small Working Group on improving Polio Laboratory diagnostics に参加し、検体からのウイルス直接検出法改良と評価、ポリオウイルス・バイオリスク管理に対応した実験室診断の現状と課題、等に関する技術的評価検討を行った。
[清水博之]

キ) 2017 年 3 月 14 日－3 月 16 日に WHO 本部において開催された Meeting of the Ad Hoc Small Working Group on improving Polio Laboratory diagnostics および The 23th Informal Consultation of the Global Polio Laboratory Network に参加し、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に対応した実験室診断、ポリオ根絶最終段階におけるサーベイランスの現状と課題、等について技術的検討を行った。
[清水博之]

ク) 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 22nd 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]

ケ) 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。5 月 2 日に行われた会議（One-day Workshop on Sabin IPV D Antigen Content and Potency Assays Harmonization）に出席するとともに、第 1 回目の共同研究成果を NIBSC が総括したレポートをレビューした。
[染谷雄一]

コ) ポリオワクチン製造に関する WHO ガイドラインの更新作業

セービンワクチンの実用化とポリオウイルスの封じ込めに伴い、ポリオワクチン製造に関する WHO ガイドライン（WHO TRS 926, Annex 2）の記載内容を更新する作業が進められている。2016 年 9 月 22 日、23 日に渡ってジュネーブで会合が拓かれ、ワーキンググループのメンバーとして参加した。第 2 回の会合が 2017

年 9 月 19 日、20 日にジュネーブで予定されている。
[染谷雄一]

2. WHO 西太平洋地域の 2016 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

2016 年にラオスおよびカンボジアから送付された AFP 症例および接触者由来の糞便検体 876 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。

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。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 が検出された。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 伝播が示唆された。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った。

[清水博之、吉田弘、有田峰太郎、西村順裕和田純子、脇田隆字]

3. 世界ポリオ根絶計画に関わる研究

(1) ポリオウイルス直接同定法の開発

ラオスで発生したワクチン由来ポリオウイルス株の流行で回収されたポリオウイルス陽性便検体を用いて、ポリオウイルスの直接同定を以前確立した ECRA 法を用いて検討した。結果、100 uL の便抽出液から直接 RNA を抽出して検出する方法および 500 uL の便抽出液とポリオウイルスレセプター感作磁気ビーズを用いた方法により、82%の陽性検体からポリオウイルスを同定することに成功した。この結果から、便抽出液からのポリオウイルス直接同定の効率を上げるためには、より大量の便抽出液(> 500 uL)を使う必要があることが示唆された。

[有田峰太郎、清水博之]

(2) 新規抗ポリオウイルス化合物の同定

東京大学の有する化合物ライブラリーの一部(70,338 化合物)を用いてスクリーニングを行い、16 個の抗ポリオウイルス化合物を同定した。このうち 12 化合物は PI4KB 阻害剤であり、2 化合物はウイルスタンパク 2C の阻害剤であり、残り 2 化合物は OSBP 阻害剤であることが判明した。現在、同定された化合物を用いて、作用機序の解析を行っている段階である。

[有田峰太郎、小島 宏建(東京大学 創薬機構)]

(3) 抗ピコルナウイルス化合物 MDL-860 の耐性ポリオウイルスパネルを用いた解析

MDL-860 は、*in vivo* で抗ウイルス活性を示す数少ない抗ピコルナウイルス化合物の一つであるが、その標的および作用機序は不明であったため、その標的および作用機序の解明を試みた。エンビロキシム耐性ポリオウイルスが MDL-860 に対して耐性を示すことを見出した。しかし、MDL-860 は、*in vitro* における宿主タンパク PI4KB の活性および宿主タンパク OSBP の細胞内局在に影響せず、またメンゴウイルスの複製も阻害しないことから、これまでに例のない非典型的 enviroxime 様化合物であることが示唆された。

[有田峰太郎、Dobrikov G (Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry , Bulgaria), Purstinger G (University of Innsbruck, Austria), Galabov AS (The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgaria)]

(4) 抗ピコルナウイルス化合物 MDL-860 の PI4KB 活性に対する影響の解析 MDL-860 の *in vivo* における宿主タンパク PI4KB の活性への影響を解析するために、MDL-860

処理による細胞内の PI4KB の局在およびポリオウイルス感染細胞内のホスファチジルイノシトール-4-一リン酸(PI4P)の定量を行なった。MDL-860 は、PI4KB 阻害剤処理と比べ 2~3 時間遅く PI4KB をゴルジ体へ誘導し、ポリオウイルス感染細胞内の PI4P 量を低下させた。これらの結果から、MDL-860 は *in vitro* における PI4KB の活性には影響しないものの、*in vivo* における活性を阻害することが示唆された。

[有田峰太郎、Dobrikov G (Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry , Bulgaria), Purstinger G (University of Innsbruck, Austria), Galabov AS (The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgaria)]

(5) 次世代シークエンスによるポリオウイルス遺伝子解析の至適化・標準化

世界ポリオ根絶計画最終段階におけるポリオウイルス病原体サーベイランスに由来する検体の遺伝子検査では、ウイルス伝播やゲノム遺伝子組換えについての、より詳細かつ網羅的な遺伝子情報が必要な場合があることから、次世代シークエンス解析の導入が進められている。その一方、次世代シークエンスによるウイルス遺伝子解析の手法は標準化されておらず、遺伝子解析や結果の質的評価法は、かならずしも統一されていない。WHOポリオウイルス実験室ネットワークにおいて、次世代シークエンスによるポリオウイルス遺伝子解析の至適化・標準化を図るため、ポリオウイルスやエンテロウイルスを含む検体をRIVMで調整し、異なる施設で次世代シークエンス解析を実施するPilot study を開始した。[Doan Hai Yen, 清水博之]

4. 日本におけるポリオフリーの維持に関わる研究

(1)不活化ポリオワクチン累積接種率調査

我が国の定期接種の接種状況を把握する目的で、無作為に抽出した全国の満 2 歳児 5000 人と満 6 歳児 5000 人を対象として、Hib ワクチン、小児用肺炎球菌ワクチン、BCG ワクチン、四種混合ワクチン、水痘ワクチン、MR ワクチン(第1期、第2期)、日本脳炎ワクチンの累積接種率を調査した。2016 年調査の結果では、四種混合ワクチン 1 回目の累積接種率は 4 か月で 90.8%、追加接種は 23 か月で 82.8%であった。個々のワクチンの接種状況はこの 3 年間で大きな変化はなく概ね良好であるが、予防接種制度の変遷が予防接種に関する受療行動に与える影響が大きいことが示唆された。

[崎山 弘 (崎山小児科)、城 青衣(都立駒込病院)、梅本 哲(医療産業研究所)、清水博之、大石和徳(感染症疫学センター)]

(2) 不活化ポリオワクチン導入後の予防接種状況および抗体保有状況に関する研究

わが国ではポリオの定期接種に使用されるワクチンが 2012 年に経口生ポリオワクチンから IPV に切り替わり、現在は 3 種類の IPV(cIPV、DPT-sIPV、DPT-cIPV)が使用可能である。IPV 導入から 5 年目の 2016 年度の調査結果を用いてポリオの予防接種状況・抗体保有状況の現況を検討するとともに、継時的な推移について検討を行った。2011～2016 年度調査における 5 歳未満児のうち、接種歴不明者を除く対象者についてポリオワクチンの 1 回以上の接種歴があった者の割合をみると、2011～2012 年度は 90%未満であったが、2013～2016 年度は 95%以上と高かった。IPV のみの被接種者の割合は 2013 年度:45%、2014 年度:70%、2015 年度:86%、2016 年度:93%と増加していた。2016 年度は 0～3 歳における被接種者の 95%以上が IPV のみの被接種者であり、そのうちの多くに 3 回以上の接種歴があった。中和抗体保有状況についてみると、1 型・2 型に対して 2011～2012 年度は 90%未満、2013～2016 年度は 95%以上であった。また、3 型に対しては 2013 年度:75%、2014 年度:88%、2015 年度:95%、2016 年度:96%と、IPV のみ被接種者の割合の増加にともない抗体保有率の上昇がみられた。

[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、これまで調査されていなかった。9

例の被験者に由来する糞便検体合計26検体からRNAを抽出し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。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、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。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)、清水博之]

(4) 日本人成人に対する不活化ポリオワクチン皮下注の免疫原性

かつて日本の定期接種プログラムは OPV2 回接種で、諸外国と比べて回数が少なかった。2012 年 9 月に、日本でも IPV が導入され、日本人成人に追加接種を行う機会が多くなった。IPV を皮下注した場合の免疫原性の評価を実施した。健常成人 12 名の年齢群は、20 歳代 2 例、30 歳代 4 例、40 歳代 6 例であった。OPV 接種歴は、2 回接種している者が 9 例、不明が 3 例であった。IPV 接種前に中和抗体を保有する者は、OPV 株の Sabin1 型で 11 名、Sabin2 型で 12 名、Sabin3 型で 5 名であった。また強毒型標準株の Mahoney で 9 名, MEF-1 で 12 名, Saukett で 1 名であった。追加接種後の中和抗体価は、被験者全例で、全ての株に対し中和抗体価 8 倍以上となった。 IPV 皮下注後、すべてのポリオウイルス株に対する中和抗体価は顕著に上昇した。IPV 皮下注後の中和抗体価は、すべての血清型において、Sabin 株と IPV 抗原の材料である強毒株において大きな差異は認められなかった。また 2 型 VDPV 株に対する中和抗体価も、Sabin 2 株に対する抗体価と同等であり、十分な発症予防効果を示すことが示唆される。

[福島慎二、濱田篤郎(東京医大)、清水博之、中野貴司(川崎医大)]

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) エンテロウイルス 68 擬似ウイルスの作製

エンテロウイルス 68 に対する抗ウイルス化合物の評価を行うために、エンテロウイルス 68 擬似ウイルスの作製を試みた。エンテロウイルス 68 Fermon 株のカプシドタンパクを HEK293 細胞で発現させ、ルシフェラーゼ発現エンテロウイルス 68 レプリコンをトランスフェクションすることで、擬似ウイルスを作製した。調製したエンテロウイルス 68 擬似ウイルスは、感染によりポリオウイルス擬似ウイルスの 1/10,000 程度のシグナルを出した。今後、エンテロウイルス 68 擬似ウイルスを用いて、抗エンテロウイルス化合物の活性を確認する予定である。

［有田峰太郎］

(2) 抗エンテロウイルス活性を示す植物抽出液の同定

抗エンテロウイルス活性を示す植物抽出液の同定を行なった。7,488 の植物抽出液から、抗エンテロウイルス活性を示す 137 の抽出液を同定した。現在、同定された抽出液の中に含まれる未知の抗エンテロウイルス化合物の同定を進めている段階である。

[有田峰太郎、渕野裕之(医薬基盤研)]

(3) 可溶性蛋白質発現プラスミドの作製

Scavenger receptor class B member 2 (SCARB2)はエンテロウイルス 71 の受容体のひとつである。組換え SCARB2 蛋白質を哺乳動物細胞で分泌発現させるために、新規発現プラスミドの作製を試みた。SCARB2 は2回膜貫通型の蛋白質であり、細胞外領域のみを分泌発現させるにはシグナルペプチドが必要である。そこで、「インターロイキン6のシグナルペプチド、クローニング用の制限酵素(CpoI)サイト、His タグ」あるいは「インターロイキン6のシグナルペプチド、クローニング用の制限酵素サイト、抗体定常(Fc)領域、His タグ」をコードする DNA を合成し、pEF6 プラスミドのマルチクローニングサイトに挿入した。作製したプラスミドをそれぞれ pEF6-CpoI-His, pEF6-CpoI-Fc-His と名付けた。

[西村順裕、清水博之]

(4) 可溶性 SCARB2 分子の大量発現

SCARB2 とエンテロウイルス 71 の相互作用を詳細に解

析するために、可溶性 SCARB2 組換え蛋白質の大量発現を行った。SCARB2 は2回膜貫通型の蛋白質であり、その細胞外領域の C 末端に His タグ(SCARB2-His) あるいは抗体 Fc 領域と His タグ(SCARB2-Fc-His)を融合させた組換え蛋白質の発現を試みた。SCARB2 の細胞外領域をコードする cDNA を、哺乳動物細胞分泌発現プラスミド pEF6-CpoI-His, pEF6-CpoI-Fc-His の EF1a プロモーター下流にクローニングした。これらの発現プラスミドを 293T 細胞にトランスフェクションしたところ、細胞培養上清中に大量の組換え SCARB2 蛋白質が分泌された。

[西村順裕、清水博之]

(5) His タグ付加可溶性 SCARB2 分子のニッケルカラムによる精製の試み

可溶性 SCARB2 組換え蛋白質の C 末端に His タグ(SCARB2-His) あるいは抗体 Fc 領域と His タグ(SCARB2-Fc-His)を融合させた組換え蛋白質の精製を試みた。これらの発現プラスミドをトランスフェクションした 293T 細胞培養上清からニッケルカラムによる SCARB2-His および SCARB2-Fc-His の精製を試みた。しかし、精製蛋白質を SDS-PAGE で解析したところ、組換え SCARB2 蛋白質以外に、約 200 kD の目的外蛋白質が多量に検出された。

[西村順裕、清水博之]

(6) 高純度 SCARB2-His 組換え蛋白質の精製

SCARB2-His 組換え蛋白質精製の際の、約 200kDa の目的外蛋白質混入の低減を目的とした。この目的外蛋白質はウシ胎仔血清(FBS)に含まれると考えられたため、FBS を多量のニッケルビーズと反応させるという前処理により吸収除去することを試みた。吸収済 FBS を濾過滅菌し、293T 細胞の培養および SCARB2-His 蛋白質発現に使用した。この吸収済 FBS を使用した 293T 細胞培養液から SCARB2-His 精製を試みたところ、約 200kDa の目的外蛋白質はほとんど検出されず、高純度の SCARB2-His 蛋白質を得ることができた。

[西村順裕、清水博之]

(7) SCARB2 に対するポリクローナル抗体の作製

SCARB2 の細胞内動態を詳細に解析するために、ポリクローナル抗体の作製を試みた。ウサギ２羽を精製 SCARB2-His 蛋白質で免疫した。抗体価の上昇を確認するために、SCARB2-His を固相化した ELISA を行った。２羽のウサギはいずれも高い抗体価の上昇を示し、全血を採取した。その抗血清はフローサイトメトリーにおいても、SCARB2 の発現検出に利用可能であった。

[西村順裕、清水博之]

(8)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、2015-2016 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。2014～2015 年の手足口病症例からの EV71 の検出頻度は比較的低く、CVA6 の検出頻度が増加した。2011-2012 年の大規模手足口病流行以降、北部ベトナムにおいて、死亡例を含む手足口病重症例の多発は認められていない。2013 年以降に検出された、EV71 株のほとんどは遺伝子型 B5 であり、2011～2012 年に多く認められた遺伝子型 C4 の検出頻度は一時的に低下したが、2016 年に遺伝子型 C4 の再出現が認められた。

[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)]

(9) 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

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。

[Gill Cooper, Javier Martin (NIBSC), 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。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。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。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。2016 年は、EV-D68 は、呼吸器感染症症例および麻痺事例から、ほとんど検出検出されず、流行に周期性があることが示唆された。

[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) 我が国の病原体サーベイランスデータからみる EV-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、561 例の EV-D68 陽性例が報告された。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 281 例の報告があった。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。EV-D68 を検出した検体の大多数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。

[木下一美、有馬雄三、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]

(10) 乳飲みマウスによる EV-D68 型の分離

2015 年秋に，我が国で EV-D68 の大きな流行があり，急性弛緩性麻痺との関連が疑われたものの，未だ解明には至っていない。秋田県健康環境センターでは，感染症発生動向調査で収集された検体からのウイルス分離の一環として，乳飲みマウスへの接種を実施している。2015 年 8～10 月にかけて，喘息を主訴とする患者の咽頭拭い液を腹腔内に接種したところ，著明な弛緩性麻痺を呈する例が相次ぎ，最終的に 13 株を分離し、遺伝子解析および中和試験により EV-D68 と同定した。これらの株を飲みマウスに接種したところ，弛緩性麻痺が，前肢にまで及ぶことが観察された。今回分離した EV-D68 は，乳飲みマウスにおいて前肢にまで及ぶ弛緩性麻痺が再現的に観察できるという特徴がある。

EV-D68 の病原性研究にとって、実験動物モデルが得られたことには重要な意義を持つ。

[斎藤博之、秋野和華子、佐藤寛子、藤谷陽子、柴田ちひろ、佐藤了悦(秋田県健康環境センター)、清水博之]

(11) EV-D68 感染マウスモデルの検討

2015 年に国内で分離された EV-D68 を用いてその病原性を明らかにするための感染動物モデルを構築することを目的とした。秋田県において感染症発生動向調査で収集された呼吸器疾患患者の咽頭ぬぐい液のうち、新生仔マウスで分離された EV-D68 を使用した。新生仔マウス分離後にヒト横紋筋肉腫由来 RD-A 細胞で 1 回増殖したものをストックウイルス液とした。臨床分離株を 37℃培養条件下で H1-HeLa 細胞にて継代したところ、効率よく増殖するウイルスを 4 株得ることができたが、そのうち 1 株が新生仔マウスに対する神経病原性を維持していた。

[宮崎誠、永田典代 (感染病理部)、斎藤博之、柴田ちひろ(秋田県健康環境センター)、Doan Hai Yen、清水博之]

(12) 次世代シークエンスによる EV-D68 の遺伝子解析

2015 年に国内で検出された EV-D68 株を用いて、次世代シークエンス解析の条件検討を行った。培養細胞分離 EV-68 株、あるいは、乳のみマウスで分離した EV-D68 株の組織ホモジュネート検体から RNA を抽出し、次世代シークエンス解析を試みたところ、多くの検体において、特異的プライマーによる遺伝子増幅無しに、ランダムプライマーによる次世代シークエンスが可能であった。秋田県で呼吸器疾患患者から検出された EV-D68 株、および島根県で急性弛緩性麻痺を含む症例等から検出された株は、分子系統解析において、すべて 2014 年に米国で流行した遺伝子型 Clade B に属するが、中国、日本で 2015 年に検出された EV-D68 株との相同性が高いことが明らかとなった。

[斎藤博之（秋田県健康環境センター)、藤澤直輝（島根県保健環境科学研究所)、Doan Hai Yen、清水博之]

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

(1) 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; PEF)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、感染研でも不要な 2 型ポリオウイルス感染性材料を廃棄し、GAPIII に準拠したワクチン株(Sabin 2 株)を含む 2 型ポリオウイルス感染性材料のバイオリスク管理体制の整備を進めた。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

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およびContainment Certification Scheme (CCS)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PEF認証について検討した。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進めた。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に準拠したPEFとしてとして、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、清水博之、脇田隆宇、伊木繁雄、棚林 清(バイオセーフティ管理室)]

(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。

[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) 2016 年の A 型肝炎流行状況の分子疫学的解析

2016 年の A 型肝炎は 269 例の報告があり、42 例の配列解析を実施した。40 例(95%)が IA、2 例(5%)が IIIA であった。滋賀県東近江市で集団発生があり、2015 年 12 月末から 2 月初めにかけて 6 名が感染した。いずれも 2014 年に日本で流行した株と極めて近縁であった。また、2015 年から台湾、台北市を中心に同性愛者間の A 型肝炎の流行があり、2016 年には非同性愛者にも拡大し大きな流行となった。HIV との共感染の比率が極めて高い(48%)ことが特徴である。本流行株は IA であるが、日本での 2014 年の流行株とは明らかに異なるクラスターに属する。日本でも大阪市、西宮市の A 型肝炎で本株が検出され、大阪市の患者は同性愛者であり、HIV と共感染していた。

[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、脇田隆宇 (*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) A型肝炎の血清疫学調査

直近のA型肝炎の流行状況を把握するため、全国規模の血清疫学調査を開始した。この調査は 1973 年から約 10 年おきに実施され、年齢別の抗A型肝炎ウイルス(HAV)体保有率、抗体陽性者の抗体価推移などから、年々進む HAV 感受性者の減少及び高齢化を明らかにしてきた。

今回の調査は日本赤十字社の献血者血清と国立感染症研究所血清銀行保存血清を対象とし、抗 HAV 抗体保有率の推移を解析する。

A型肝炎は感染症法によって単独疾患として感染症発生動向調査の 4 類感染症に分類され、無症状病原体保有者を含む全診断症例の届出が義務づけられている。抗体保有状況と患者発生動向を合わせて検討すること

により、予防対策の効率化が期待される。
今年度は調査の立案､計画､検体確保までを実施した。
［清原知子、石井孝司、脇田隆字］

2．B 型肝炎ウイルス(HBV)に関する研究

(1) B 型慢性肝炎症例におけるラミブジン耐性変異がエンテカビル耐性に与える影響の解析

エンテカビル投与中に HBVDNA 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．rtV173L/L180M/M204V の変異を有する株は野生株と比較して EC50 値が約 100 倍に増加ししていた．rtL180M/M204V のラミブジン耐性変異のみでも EC50 値が約 100 倍に増加していたが, rtL180M/M204V 変異に rtV173L 変異を加えても EC50 値に変化を認めなかった．しかしその一方で, rtL180M/M204V に rtV173L が加わることによりウイルスの複製効率が約 8 倍上昇し，これらの変異もエンテカビル耐性に関わっていると考えられた.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(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新規耐性変異の解析

エンテカビル投与中に HBVDNA が再上昇した症例の患者血清中に rtL180Q, rtM204V, N238H, L269I の変異を有する株を確認した．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，EC50 は約 60 倍高かった．rtL180Q/M204V の変異を有する株は野生株と比較し EC50 値は約 4 倍高値であったが，これに rtN238H を加えても EC50 値に変化を認めなかった．しかし rtL180Q/rtM204V に rtL269I を加えた株は野生株と比較し EC50 値が約 85 倍に増加し，さらに N238H の変異が加わることによりウイルス複製効率が約 4 倍上昇し，これらによりエンテカビルに耐性を示すと考えられた.
[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏 (東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(3) 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 rtV173L, rtL180M, rtM204V 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および rtL180Q,rtM204V,N238H, L269I 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．rtV173L, rtL180M, rtM204V の変異を有する株と変異を持たない株, および rtL180Q, rtM204V, N238H, L269I 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]

(4) B 型肝炎 genotype Ae 症例のアミノ酸変異の検討

B 型急性肝炎(AH-B)genotype Ae 症例 7 例(HBeAg 陽性 7 例), B 型慢性肝炎(CH-B)genotype Ae 症例 5 例(HBeAg 陽性 2 例, HBeAg 陰性 3 例)の HBV 株全長の塩基配列を Direct Sequence 法にて決定し，PreCore-Core 領域, S 領域, RT 領域, X 領域のアミノ酸変異を検討した．AH-B および HBeAg 陽性の CH-B はいずれの領域も genotype Ae の Consensus 配列と比較して変異は認めなかった．一方, HBeAg 陰性の CH-B は BCP, PreC-Core, PreS-S に多くのアミノ酸変異を認めた.HBeAg 陰性 CH-B の 3 例はいずれも HBeAg 産生を低下させる PreCore 領域の nt.1896 の変異は認めず, 2 例は BCP 領域の nt.1762/1764 の変異を認めた．1 例はこれらに変異はなく Kozak Sequence の nt.1809/1814 に変異を認めた.
[山田典栄,安田清美(清川病院),四柳宏 (東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(5) 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 の培養細胞での複製モデルを用いて，HBV が複製している HepG2 細胞にアポトーシス刺激を加え，免疫細胞により誘導される宿主のアポトーシスに HBV 複製が与える影響を評価した．HBV 複製プラスミドを導入した HepG2 細胞を TNF-α で刺激したところ，HBV 遺伝子型 A 株が複製している細胞では遺伝子型 A,B,C 株の細胞と比較してアポトーシス感受性が低下していた．さらに HBV 複製プラスミドを導入した HepG2 細胞に NK 細胞を移入することにより誘導されるアポトーシスに対する感受性を評価した．その結果，NK 細胞による誘導でも遺伝子型 A 株が複製している HepG2 細胞において感受性の低下が観察された．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），山田典栄，杉山隆一，脇田隆字，加藤孝宣]

(6) HBV 遺伝子型 A 株によるアポトーシス感受性低下に関わる宿主因子の解析

HBV 遺伝子型 A 株によるアポトーシス感受性の低下に関わる宿主因子の同定のため，遺伝子型 A,B,C 株を導入した HepG2 細胞で遺伝子発現解析を行った．その結果，遺伝子型 B,C 株の導入では TNF-α レセプターの mRNA が強く誘導されたのに対し，遺伝子型 A 株の導入ではその誘導が抑制されていた．以上の結果から，HBV 遺伝子型 A 株の感染では宿主細胞の TNF-α レセプターの発現が抑制され，感染細胞の排除を阻止することで感染の遷延化を引き起こしていると考えられた．

[椎名正明（新百合ヶ丘総合病院），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イムノクロマト法 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イムノクロマト法 HBs 抗原測定系の性能評価を行った．HBV 陰性検体パネル 53 検体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．HBV 陽性検体パネル 80 検体の測定では，これまでに多く用いられている２種類のイムノクロマトキットでの測定では 9 検体で陰性を示した（陽性率；88.8%)）．これら陰性の検体は，HBs 抗原量の低いものが多く，用いたキットの検出感度が不十分なため陰性を示したと考えられた．一方，新規に発売が予定されている高感度のイムノクロマトキットによる測定では全て陽性の結果であった．

[村山麻子，山田典栄，脇田隆字，加藤孝宣，百瀬暖佳，松岡佐保子，浜口功（血液・安全性研究部）]

(8) HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価のためのリコンビナント HBs パネルの検討

HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価に使用できる様々なウイルス株由来のリコンビナント HBs タンパク質の作製を試みた．精製のために各種タグを付加した HBs タンパク質を培養細胞で発現させ，培養上清中，細胞破砕液に含まれる HBs 抗原量を測定した．細胞破砕液にはどのウイルス株由来の HBs タンパク質も多く発現していたが，HBs が培養上清中には分泌されにくいウイルス株があることが判明した．そこで細胞破砕液中の HBs タンパク質をアフィニティーカラムにより精製したが，いずれのタグを用いた場合でも，精製度の高いリコンビナントタンパク質は得られなかった．

[村山麻子，山田典栄，脇田隆字，加藤孝宣，百瀬暖佳，松岡佐保子，浜口功（血液・安全性研究部）]

(9) Regulation of Ski2/RNA exosome system to suppress HBV-X mRNA.

We have shown the mechanism by which the Ski2/RNA exosome system target HBV-X mRNA for degradation. Since HBV-X is required for HBV-infectivity, regulating its degradation, and subsequently, its expression levels can be used to suppress HBV. We focused on the analysis of the transcription regulation of Ski2 as an important component of the Ski2/RNA exosome system. We constructed Ski2

promoter and we are analyzing the transcription factors required for its induction.
[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(10) Cytokine Screening for Ski2 regulation.
Since Ski2 antagonized HBV-replication, we hypothesized it has an anti-viral role, and analyzed its induction during inflammation. We Identified IL-1b inflammatory cytokine to be a major inducer of Ski2 expression in both HepG2, and Primary Hepatocytes, suggesting its induction and the activation of Ski2/RNA exosome system in inflammation. We further demonstrated the degradation of HBV-X mRNA mediated by IL-1b treatment. The signaling mechanism by which IL-1b can induce Ski2 expression is under investigation.
[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(11) The role of exosomes released from HBV infected cells on Kuppffer cells function.
We aimed to purify exosomes released from HBV-infected cells, and analyze HBV-induced changes in its contents, and its possible effect on the function of Kuppffer cells, the major subset of hepatic macrophages, compared to non-infected cells. We successfully purified the exosomes secreted from the supernatants of HBV-infected and control cells, and sent the specimen for spectrometry and RNA seq analysis to identify possible changes in its cargo. We are in the process of validation and confirmation of the results obtained.
[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(12) シクロスポリンおよびその誘導体の HBV 侵入阻害作用の解析

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なく、また NTCP 依存的胆汁酸の阻害を引き起こさないものも存在することが示された。
[志村聡美, 渡士幸一, 深野顕人, Michael Peel (SCYNEXIS), 河合文啓(横浜市立大), 朴三用(横浜市立大), 楠原洋之(東京大), 脇田隆字]

(13) HBV キャプシド形成における微小管の役割の解析
Hep38.7-Tet 細胞を用いたスクリーニングより、ノコダゾールが HBV 複製を阻害することが示された。ビンブラスチンやコルヒチンなど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。また微小管合成阻害により HBV キャプシド形成が低下することを見出した。
[岩本将士, 渡士幸一, Haitao Guo(インディアナ大), 脇田隆字]

(14) HBV 侵入を阻害するプロアントシアニジンの解析
HepG2-hNTCP-C4 細胞を用いたスクリーニングにより、プロアントシアニジンが HBV 感染を低下させることを見出した。この化合物は HBV の preS1 領域との相互作用を介して HBV 粒子に直接結合することが明らかとなった。これは HBV 粒子を標的とするので NTCP 依存的胆汁酸の取り込みには影響しない利点を持つことが示された。
[九十田千子, 渡士幸一, 岩本将士, 河合文啓(横浜市立大), 朴三用(横浜市立大), 齊藤亜貴子(大阪電通大), 脇田隆字]

(15) NTCP を標的とした HBV 侵入阻害化合物の同定
NTCP と相互作用する低分子化合物を化合物アレイによりスクリーニングし、74 のヒット化合物を得た。これらのうちいくつかは HepG2-hNTCP-C4 細胞への HBV 感染を阻害した。得られた化合物は C 型肝炎ウイルス感染には影響を与えなかったが、D 型肝炎ウイルス感染を阻害したこと

より、化合物の効果は NTCP 依存的侵入に特異的であることが示唆された。

[金子学, 渡士幸一, 九十田千子, 二村友史（理研 CSRS）, 近藤恭光（理研 CSRS）, 長田裕之（理研 CSRS）, 河合文啓（横浜市立大）, 朴三用（横浜市立大）, 松永智子（横浜市立大）, 梁明秀（横浜市立大）, 脇田隆字]

(16)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 HBV の宿主への吸着阻害を引き起こすことなく内在化 HBV を低下させることが示唆された。また構造活性相関解析により、HBV 感染阻害に関わる化学構造を特定した。

[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]

(17) 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]

(18) B 型肝炎流行予測調査のサポート業務

B型肝炎ワクチンの定期接種化に伴い、B型肝炎の流行予測調査が開始された。この調査は HBs 抗原、HBc 抗体、HBs 抗体の試験を含み、各検体の試験結果を複合的に判断して、ワクチンの実施状況、効果を評価することを目的とする。

当室では実施機関からの技術的質問および確認検査に対応する。他の VPD 疾患と異なり、調査の過程において被験者のＢ型肝炎感染が判明する可能性も考えられ、デリケートな対応が求められる。現在のＢ型肝炎流行予測調査実施機関は 2 自治体である。これまでに応じたサポート業務は以下の通りである。

・抗 HBs 抗体価の算出方法

・HBs 抗原陽性及び／あるいは HBc 抗体陽性検体の確認試験

・試験結果の解釈

・結果を被験者に知らせる際の説明内容の作製（科学的な部分）

［清原知子、石井孝司、脇田隆字］

(19) Ｂ型肝炎ワクチンin vitro試験（継続）

Ｂ型肝炎ワクチンは各製造所によって、HBs 抗原発現宿主細胞、HBs 抗原のサブタイプ、アジュバントの種類、製造方法などが異なる。*In vitro* 試験はこれらの差に影響されるため、*in vivo* 試験のように全製造所のワクチンを一律に比較することは困難である。しかしながら、*in vivo* 試験の結果を基に、各製造所で固有のリファレンスワクチン（ワーキングリファレンス）を設定すれば、製造ワクチンの抗原性の consistency が確認できる。今年度はB型肝炎ワクチン「ヘプタバックスⅡ」の複数ロットについて *in vitro* 相対力価を測定し、一貫性の確認を行った。同一原液から作製された一連のロットは *in vitro* 相対力価が近似値を示した。今後、原液が異なるロットについても検討を進める。

現行の In vitro ELISA キットに続く次代キットのために、抗 HBs 抗血清（ウサギ）を作製した。現在使用している抗 HBs 抗血清（羊）に比べて抗体価が低かったので、IgG を精製し、固相化 HBs 抗体としての使用を検討する。

［清原知子、石井孝司、脇田隆字］

(20) 本邦における急性 B 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 2015 年間の 16 年間の急性 B 型肝炎の発生動向を調べ報告した。急性 B 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。

[Zheng Xin, 相崎英樹, 高橋琢理, 砂川富正, 大石和徳(感染症疫学センター)、田中純子(広島大), 脇田隆字]

3．C 型肝炎ウイルス(HCV)に関する研究

(1) 抗 HCV 活性を持つビタミン D 誘導体のスクリーニング

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，VDR 結合能と転写活性化能が既知のビタミン D 誘導体ライブラリーを用いて抗 HCV 活性を持つ誘導体のスクリーニングを行った．その結果，9 種類のビタミン D 誘導体に抗 HCV 活性が見られた．抗 HCV 活性を持つビタミン D 誘導体は構造的に類似したものが多かった．

［村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣］

(2) ビタミン D 誘導体の HCV ライフサイクルに与える影響の解析

抗 HCV 活性を示すビタミン D 誘導体について，single cycle virus production assay を用いて，これらの誘導体が HCV のライフサイクルのどのステップを阻害するのかを調べた．その結果，これらの薬剤は共通して細胞内での感染性ウイルス産生を特異的に阻害していることが明らかとなった．

［村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣］

(3) ビタミン D 誘導体の抗 HCV 効果の作用点の解析

抗 HCV 活性を示すビタミン D 誘導体が細胞内での感染性ウイルス産生を阻害することから，これらの薬剤がウイルス形成に重要な宿主因子の発現量に与える影響を調べた．その結果，いずれのビタミン D 誘導体の薬剤投与によっても，アポリポプロテインの発現量が減少したことから，ビタミン D 誘導体によりアポリポプロテインが減少することにより HCV 増殖が阻害されたと考えられた．

［村山麻子，脇田隆字，加藤孝宣］

(4) 第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性の評価

第一世代の NS5A 阻害剤は，JFH-1 株以外の遺伝子型 2 の HCV 株に対しては効果が低い．第二世代の NS5A 阻害剤の抗ウイルス効果を異なる遺伝子型の全長 HCV 株を用いて検討した．第一世代の NS5A 阻害剤の一つである Daclatasvir は H77S 株（遺伝子型 1a），を低濃度で阻害したが，J6cc 株(遺伝子型 2a)，J8cc 株（遺伝子型 2b）に対する阻害効果は弱かった．それに対して，第二世代の NS5A 阻害剤は，遺伝子型に関わらず，いずれの全長 HCV 株の複製も低濃度で阻害した．

[村山麻子，Mingjun Huang (Achillion)，脇田隆字，加藤孝宣]

(5) 第二世代 NS5A 阻害剤の薬剤耐性変異の検討

第二世代の NS5A 阻害剤は，J6cc 株(遺伝子型 2a)，J8cc 株（遺伝子型 2b）に対しても JFH-1 株(遺伝子型 2a)と同じように阻害した．そこで，薬剤存在下でウイルス感染細胞の長期培養を行い，耐性ウイルスの出現を検討した．その結果，JFH-1 株では薬剤耐性ウイルスは得られなかったが，J6cc 株，J8cc 株はで薬剤耐性ウイルスが得られた．これらの薬剤耐性ウイルスは，第一世代の NS5A 阻害剤において報告されている耐性変異のすぐ近傍に変異が導入されていた．これらの変異を J6cc 株，J8cc 株にそれぞれ導入すると，第二世代の NS5A 阻害剤に対する感受性をそれぞれ 100 分の一以下に低下させた．

[村山麻子，Mingjun Huang (Achillion)，脇田隆字，加藤孝宣]

(6) J6CF 株の NS4A 領域の細胞培養適応変異の機能解析

培養細胞での増殖がみられない HCV J6CF 株を増殖可能なウイルスに改変するために必要な点変異の同定を試みた．ウイルス RNA を導入した細胞を長期に培養することにより，NS4A 領域に適応変異が得られた．この変異は，NS4A 自身の細胞内局在には影響がなかったが，NS3 と共発現すると，NS3 の細胞内局在を変化させた．

[村山麻子，鈴木亮介，脇田隆宇，加藤孝宣]

(7) 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 株）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 株をトランスフェクションした細胞でのみ低値であり，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，村山麻子，藤田めぐみ，山田典栄，石井孝司，脇田隆宇，加藤孝宣]

(8) HCV NS5A-ISDR アミノ酸変異が IFN 感受性に与える影響の解析

ISDR のアミノ酸変異が IFN 感受性に与える影響を評価するため，JFH1/5ACon1 株と i-7mut 株の導入細胞で IFN による ISG 誘導能を評価した．その結果，JFH1/5ACon1 株の導入細胞では IFN-α 添加による ISGs 誘導の抑制が観察されたが，i-7mut 株の導入細胞ではこの抑制が減弱していた．その機序について検討を行ったところ，JFH1/5ACon1 株の導入細胞では NS5A 蛋白質が ISG 誘導に関わる STAT1 と直接結合することでそのリン酸化を抑制していたが，i-7mut 株の導入細胞では NS5A 蛋白質と STAT1 の結合能が低下し，STAT1 リン酸化の抑制が低下していた．これらの観察された事象は，ISDR が関わる IFN 耐性発現機序に関与していると考えられた．

[杉山隆一，村山麻子，藤田めぐみ，山田典栄，石井孝司，脇田隆宇，加藤孝宣]

(9) 感染性 HCV 粒子産生機構の解析

感染性 HCV 粒子形成過程を低下させるフルタミドは肝細胞内のトリグリセリド量低下により脂肪滴量を減少させることが示された。またこの効果はトリグリセリド分解促進ではなく生合成抑制によると示唆された。またこの経路に関わる新たな因子の発現がフルタミドによって低下することが明らかとなった。

[大橋啓史，渡士幸一，深澤征義(細胞化学部)，脇田隆宇]

(10) 抗 HCV 治療の最適化の解析

既存あるいは開発段階にある抗 HCV 剤 15 剤の単剤での薬効を定量評価し、薬剤によりヒル係数が固有であることが明らかとなった。次に 52 通りの 2 剤併用での薬効を定量し相加相乗効果を評価した。さらに臨床で用いられる代表的な 8 通りの 3 剤併用での薬効を評価し、臨床濃度でどの薬剤組み合わせが最も高い薬効を発揮するかを比較評価した。またこの解析により 2 剤併用と比較して 3 剤併用が最大約 10,000 倍、変異ウイルス出現頻度が約 11,000 分の 1 となり、その有用性が示された。

[大橋啓史，中嶋翔，渡士幸一，小泉吉輝(金沢大)，岩見真吾(九州大)，田中靖人(名古屋市大)，Alan Perelson (ロスアラモス国立研)，脇田隆宇]

(11) HCV 中和エピトープを有する日本脳炎ウイルス(JEV)様粒子抗原の作製

これまでに HCV 中和エピトープを有する JEV 様粒子が 2価ワクチン抗原として中和抗体を誘導する事を示したが、より強く HCV に対する中和抗体を誘導可能な抗原を作製する為に、新たに JEV E タンパク質中の 12 箇所について外来遺伝子の挿入可能性を検討し、粒子形成、分泌を損なわずに HCV 中和エピトープの挿入を許容する部位を新たに 3 箇所同定した。これまでの研究で同定した 3 箇所と合わせた 6 箇所のうち、5 箇所にエピトープを搭載した粒子を 6 種類作製したところ、一部で粒子形成、分泌を損なわない組み合わせが確認された。

[矢藤慶悟, 松田麻未, 渡邊則幸, 田村浩二(東京理科大), 脇田隆字, 鈴木亮介]

(12) 遺伝子型4および5由来の1回感染性 C 型肝炎ウイルス粒子の作製

1回感染性のHCV粒子(HCVtcp)は、細胞培養由来のC型肝炎ウイルス(HCVcc)と同様の感染様式である事から、ワクチン接種後の中和抗体の評価に適している。これまでに遺伝子型1、2、3由来の HCVtcp の作製が可能であったが、新たに遺伝子型4および5由来のコアタンパク質からNS2までの領域を発現するプラスミドを構築した。これを用いて遺伝子型4および5由来の HCVtcp の産生に成功した事から、より幅広い遺伝子型の HCV に対する中和抗体の評価が可能となった。

[矢藤慶悟, 遠坂崇, 松田麻未, 田村浩二(東京理科大), 脇田隆字, 鈴木亮介]

(13) HCV の株間における感染に必要なレセプター分子の違いの解析

細胞表面に発現している CD81、Claudin 1、SR-BI、occuludin の4つの分子は、HCV の細胞への侵入に必須のレセプター分子として報告されている。しかしながら、これまでの HCV の侵入過程の解析は、限られた株を用いて行われてきているため、多様性に富むHCVすべての株が同様にこれらのレセプターを必要としているかについては明らかではなかった。そこで遺伝子型1−5までの複数株由来の HCVtcp を用い、感染に必要なレセプターを解析したところ、すべての株はその感染にCD81が必須であったが、一部の株においては Claudin 1 非依存性の感染を示す事が明らかとなった。HCVのClaudin 1非依存的な感染のメカニズムとその意義について、今後明らかにしたい。

[鈴木亮介, 矢藤慶悟, 遠坂崇, ススムエー, 松田麻未, 深澤征義(細胞化学部), 松浦善治(大阪大), 脇田隆字]

(14) 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]

(15) 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]

(16) 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]

(17) 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。

[グイード 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]

(18) 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。

[ガオ ユーティン, 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]

(19) 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。

[ガオ ユーティン, 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]

(20) 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。

[フランク プイーバサゴイチ, 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]

(21) 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。

[Zheng Xin, 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]

(22) GL の Autophagy 誘導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]

(23) 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。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、陽性者をフォローアップした。

[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]

(24) 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]

(25) 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]

(26) 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, 2016 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]

(27)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

(28) 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]

(29) 複製効率の良い遺伝子型 1b(NC1 株)のサブジエ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]

(30)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]

(31)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]

(32)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]

(33)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]

（34）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。実験室レベルでのCohnエタノール分画法を確立し、調べた結果、17%エタノール処理により、グロブリン分画（上清）には感染性HCVが分画されないことを明らかにした。本年度はその理由を調べるため、各画分をショ糖密度勾配遠心により密度の違いで分画した。その結果、17%エタノール処理により、感染性HCVは処理前よりも比重が大きい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]

4．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

(1)　HEV レセプター候補と大・小ウイルス様中空粒子（VLP）の結合特性解析。

HEV レセプター候補と感染性ウイルスとの結合確認の前段階として、大・小サイズの VLP との結合能について検討した。大きいサイズの VLP は遺伝子を内包し感染性ウイルスにより構造が近く、小さいサイズの VLP は遺伝子を内包していないことから、両者とレセプター候補の間には結合特性に差異があることが予想された。今回の解析により、大きいサイズの VLP のみがレセプター候補との結合能を有することが確認された。当該候補の形態学的に感染性ウイルスに近い粒子に対する結合能の存在は、感染性粒子との結合能を示唆している。

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

(2) 抗レセプター候補抗体による HEV 感染阻害効果確認を目指した抗体作製。

HEV 感染実験には長期間を要し、大量の抗体が必要な為、レセプター候補組換え抗原を用いたウサギ抗体の作製を行ったが、感染阻害が認められなかった。原因として、ヒトとウサギの当該因子の相同性が高く、生理学的に重要なエピトープの相同性も高いと考えられ、感染を効果的に阻害する抗体の作製が困難であったと考えられた。そこで、相同性の低いニワトリを用いて抗体作製を行った。今後、ニワトリ抗体での感染阻害効果確認を目指す。

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

(3) CRISPR/Cas9 による感受性細胞ゲノム編集による候補因子削除後の検証。

複数のノックアウト細胞クローンにおいて、候補因子全長および空のベクターを導入した所、感受性復帰よりもむしろ更に抑制される現象が確認されている。詳細な機構は不明であるが、ノックアウトによって不完全な候補因子発現形態が残存した場合、ノックインにおける発現が阻害されると同時に、より高次の機能的発現抑制を引き起こしていることが考えられる。残りのクローンにおいても実験を行い、感受性を確認を目指す。

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

(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。数種の化合物ライブラリを用いて本レプリコンの増殖を抑制する化合物のスクリーニングを行ったところ、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 非構造蛋白およびプロテアーゼ領域のコムギ胚芽無細胞系での発現と活性検出

HEV の非構造蛋白は、複製に必須な複数の酵素からなるポリプロテインである。また、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、非構造蛋白の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ス法を用いた DcHEV 感染クローンの作製及び人獣共通感染症の可能性

本研究では、in vitro で全長 DcHEV RNA を合成し、DcHEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションした。経時的に培養上清を採取し、ウイルス抗原と RNA を ELISA および RT-PCR により測定し、ウイルス増殖の有無を確認した。全長 DcHEV RNA の感染性および霊長類への感染性を評価するため、培養上清をカニクイザルに接種した。接種後一ヶ月から培養上清から DcHEV RNA および抗原が検出された。この培養上清を接種したカニクイザルの血清、糞便から DcHEV が検出された。

以上の結果により DcHEV 全長 RNA が感染性を有することが明らかになり、DcHEV の人獣共通感染の可能性も示唆された。

［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)］

(7) Rat HEV ORF4 の機能の解析

Rat HEV の遺伝子構造は他の HEV と類似するが、Ferret HEV と同じ ORF4 というユニークなフレームを持っている。現在、ORF4 の機能はまだ明らかにされていない。本実験では Rat HEV（ドイツ株）rat HEV を用いて ORF4 のスタートコドンを無くした全長 cDNA を作製したうえ、in vitro で RNA を合成した。ORF4 を持たない rat HEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションし、また、ヌードラット（Long Evans-rnu/rnu）肝臓に直接に接種して、ウイルス増殖の変化を観察した。ORF4 を持たない rat HEV の増殖能が最初少し低いが、だんだん正常にもどった。塩基配列解析の結果、ORF4 のスタートコドンが回復した。

［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) Nude rat と Rat HEV をモデルにした抗ウイルス製剤の評価

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

(9) Genotype 6 HEV の感染性の検討

Genotype 6 HEV は日本のイノシシから分離された新型 HEV であり、ヒト由来 HEV と同じ Species に分離されていてヒトへの感染性が疑われている。それを確認するため、G6 HEV RNA 陽性の肝臓乳剤をカニクイザルに静脈接種し､経時的に採血採便し、ウイルス抗原と RNA を ELISA あるいは RT-PCR により測定した。その結果、接種後三ヶ月経過時点ではカニクイザルの血清糞便から G6 HEV が検出されなかった。抗体も陰性でだった。現在感染材料を再調達して再試験準備中である。

［李天成、吉崎 佐矢香、*網 康至、*須崎百合子、**岡本宏明、脇田 隆字、(*動物管理室、**自治医大)］

(10)Rabbit E 型肝炎ウイルス様粒子の作製およびその応用

Rabbit HEV はウサギから検出された新型 HEV であり、G3 に分類されているにもかかわらず､ヒト由来 G3 HEV に異なる宿主を持っている。Rabbit HEV 抗原性解析のため、本研究では Rabbit HEV の構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現し、ウイルス様粒子の作成を試みた。N 末端 13aa あるいは 111aa を欠失した DcHEV ORF2 を RT-PCR 法で増幅した。定法どおり作製した組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Tn5 細胞に感染させ、構造蛋白を発現し 、ウイルス様粒子（HEV-LPs）の作製に成功した。Rabbit HEV-LPs を用いて抗体検出 ELISA 法を樹立した。現在、従前既知の G1, G3, G4 G5, G6, DcHEV の抗原性と比較し、Rabbit HEV の抗原性を同定している。

［白慧敏、李天成、*片岡紀代、**網 康至、**須崎百合子、脇田隆字（*感染病理部、**動物管理室）］

(11)中国広東省における rat HEV 全長ゲノムのクローニング及び配列の解析

ラット及びスンクスの糞便を出発材料として､rat HEV 全長配列を解析した。Rat HEV RNA 陽性便を 10%便乳剤に作成し、RNA を抽出した。RT-PCR 法を用いて Rat HEV 全長配列の増幅を試みた。全長配列及びアミノ酸

の解析により、中国広東省に生息するラットとスンクス由来の rat HEV はと高いホモロジーを持っていることが明らかになっていた。

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

(12)新しいフェレットＥ型肝炎ウイルスの全長配列解析およびの病原性の検討

本研究ではアメリカから離乳前のフェレットを９匹購入し、経時的に採血と採便を行ない、血液中のウイルス抗原、抗体、ウイルス遺伝子、便中のウイルス抗原、抗体、およびウイルス遺伝子を測定した。また、血中の ALT/AST、γGTP を測定することにより、ウイルスの感染の特徴および病原性等を検討した。離乳前のフェレットもすでに ferret HEV に感染され、フェレットにおける ferret HEV の感染は不顕性感染、急性肝炎、持続感染という３つのパターンをとることが示された。また、全長配列を解析した結果、これらのフェレットに感染した Ferret HEV は独自のクラスタを形成し、Ferret HEV の遺伝子の多様性が示唆された。

［李天成、吉崎佐矢香、*片岡紀代、**網康至、**須崎百合子、Yen Hai Doan、芳賀慧、石井孝司、***武田直和、脇田隆字　(*感染病理部、**動物管理室、****大阪大学微生物病研究所、日本・タイ感染症共同研究センター)

(13) 各加熱条件で処理した HEV の感染性低減効果についての評価

HEV G3 又は G4 を各々の温度と時間で加熱後、PLC/PRF/5 細胞に感染させ、

HEV ゲノム RNA 量を定量し、3 週間後に HEV ゲノム RNA が検出できるか否かで HEV の加熱による不活化条件を評価した。その結果、厚生労働省が提唱する 63°C、30 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性が失われていた。更に、65°C、5 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性は失われていたが、65°C、1 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性は保持されていた。一方で、70°C、5 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性が失われていたが、70°C、1 分間の加熱では、G3 では感染性は不活化されたが、G4 では感染性を保持していた。

［杉山 隆一、*今川 稔文、塩田 智之、李 天成、吉崎 佐矢香、石井 孝司、脇田 隆字 (* 浜松医科大学)］

(14) 各加熱条件で処理した HEV 混合豚肉から抽出した HEV の感染性低減効果についての評価

HEV G3 又は G4 を豚挽肉と混ぜ、各々の温度と時間で加熱後、ウイルスを回

収し、PLC/PRF/5 細胞に感染させ、3 週間後に培養上清から HEV ゲノム RNA が検出できるか否かで、豚挽肉に混入する HEV の加熱による不活化条件を評価した。その結果、厚生労働省が提唱する 63°C、30 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性が失われていたが、63°C、5 分間の加熱では、不活化されなかった。更に、70°C、5 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性が失われていたが、70°C、1 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性を保持していた。また、65°C、5 分間の加熱では、G3 では感染性は不活化されたが、G4 では感染性を保持していた。

［杉山 隆一、*今川 稔文、塩田 智之、李 天成、吉崎 佐矢香、石井 孝司、脇田 隆字 (* 浜松医科大学)］

その他のウイルスに関する研究

(1)フェレットからフェレットコロナウイルスの解析および全長配列の解析

アメリカから輸入した 63 頭のフェレットから ferret systemic coronavirus (FRSCVs)と ferret enteric coronaviruses (FRECVs) の二種類の Ferret coronavirus が検出された。FRSCV の陽性率は 34.9% (22/63)、FRECV の陽性率は 84.1% (53/63)だった。さらに初めて 二株の FRSCV の全長配列の解析に成功した。

［李天成、吉崎佐矢香、*片岡紀代、**網康至、**須崎百合子、Yen Hai Doan、***武田直和、脇田隆字　(*感染病理部、**動物管理室、****大阪大学微生物病研究所、日本・タイ感染症共同研究センター)

(2) 一回感染性ウイルスを用いたフラビウイルス属中和ア

ッセイ系の開発

フラビウイルスの血清診断法は、ELISA 法による抗体検査はウイルス間で交差反応を示す事が問題である一方、より交差反応が低い中和アッセイ法は、感染性ウイルスが必要であり、それを取り扱う施設にも制限がある上に煩雑な操作を必要とし、一度に多くの検体を調べる事は難しい。そこで、生のウイルスの代替として中和アッセイに用いる事が可能な1回感染性ウイルス(SRIPs)を利用して、既存の方法に代わる安全かつ簡便な中和アッセイ系を開発した。デングウイルス由来のレポーター遺伝子を導入した非構造領域のプラスミドと、構造領域遺伝子に日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、ジカウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス等を用い、各ウイルスの外皮を持つ SRIPs を作製した。

[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(神奈川県衛生研), 鈴木亮介]

(3) 各種フラビウイルス特異的なマウス血清の作製

日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、ジカウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス等の prME 領域を発現するプラスミドをマウスに免疫し、各ウイルスに特異的な抗体の誘導を行った。これらの血清は一部では交差反応を示すものの、免疫したフラビウイルスに対して最も強い中和活性を示した。また日本脳炎ウイルスとジカウイルスの NS1 についても、同様に免疫を行い、感染細胞の染色に使用可能な血清を得た。さらに一部において、モノクローナル抗体の取得を試みている。

[松田麻未, 矢藤慶悟, 別所知明 (デンカ生研), 桑原三和 (デンカ生研), 山崎誠(デンカ生研), 小西英二(タイ,マヒドン大), 高崎智彦(神奈川県衛生研), 鈴木亮介]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Agbemabiese CA, Nakagomi T, Doan YH, Do LP, Damanka S, Armah GE, Nakagomi O. Genomic constellation and evolution of Ghanaian G2P[4] rotavirus strains from a global perspective. Infect Genet Evol. 2016 45: 122-131, 2016

2) Ahmed SR, Takemeura K, Li TC, Kitamoto N, Tanaka T, Suzuki T, Park EY. Size-controlled preparation of peroxidase-like graphene-gold nanoparticle hybrids for the visible detection of norovirus-like particles. Biosensors and Bioelectronics. 2017 Jan 15;87:558-565.

3) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Hoshino S, Hijikata M, Kato T, Wakita T. RNA Exosome Complex Regulates Stability of the Hepatitis B Virus X-mRNA Transcript in a Non-stop-mediated (NSD) RNA Quality Control Mechanism. J Biol Chem. 2016 Jul 29;291(31):15958-74.

4) Arita M. Poliovirus studies in the endgame of the polio eradication program. Japanese Journal of Infectious Diseases, Jan 24;70: 1-6, 2017

5) Chen CL, Huang JY, Wang CH, Tahara SM, Zhou L, Kondo Y, Schechter J, Su L, Lai MM, Wakita T, Cosset FL, Jung JU, Machida K. Hepatitis C virus has a genetically determined lymphotropism through co-receptor B7.2. Nat Commun. 2017 Jan 9;8:13882.

6) Dahanayaka N., Kiyohara T., Agampodi S., Samaraweera P., Kulasooriya G., Ranasinghe J., Semage S., Yoshizaki S., Wakita T. and Ishii K. Clinical features and transmission pattern of hepatitis A: an experience from a hepatitis A outbreak caused by two co-circulating genotypes in Sri Lanka. Am J Trop Med Hyg. 2016 Oct 5;95(4):908-914.

7) Do LP, Doan YH, Nakagomi T, Kaneko M, Gauchan P, Ngo CT, Nguyen MB, Yamashiro T, Dang AD, Nakagomi O. Molecularcharacterisation of wild-type G1P[8] and G3P[8] rotaviruses isolated in Vietnam 2008 during a vaccine trial. Arch Virol 161:833-50, 2016

8) Doan YH, Haga K, Fujimoto A, Fujii Y, Takai-Todaka R, Oka T, Kimura H, Yoshizumi S, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Shirabe K, Shinomiya H, Sakon N, Katayama K. Genetic analysis of human rotavirus C: The appearance of Indian-Bangladeshi strain in Far East Asian countries. Infect Genet Evol. 2016 Jul;41:160-173.

9) Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Zeng XL, Qu L, Kou B, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Ramani S, Atmar RL, Estes MK. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. Science, 2016 Sep 23;353(6306):1387-1393

10) Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Miki M , Doan YH , Murakami K, Yokoyama M , Murata K, Nakanishi A , Katayama K. Functional receptor molecules CD300lf and CD300ld enable murine norovirus to internalize into host cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2016 Oct 11;113(41):E6248-E6255

11) Inoue T, Hmwe SS, Shimada N, Kato K, Ide T, Torimura T, Kumada T, Toyoda H, Tsubota A, Takaguchi K, Wakita T, Tanaka Y. Clinical Significance of Two Real-Time PCR Assays for Chronic Hepatitis C Patients Receiving Protease Inhibitor-Based Therapy. PLoS One. 2017 Jan 24;12(1):e0170667.

12) Iritani N, Yamamoto SP, Abe N, Kubo H, Oka T, Kaida A. Epidemics of GI.2 sapovirus in gastroenteritis outbreaks during 2012-2013 in Osaka City, Japan. J Med Virol. 2016; 88:1187-93.

13) Kai Y, Hikita H, Morishita N, Murai K, Nakabori T, Iio S, Hagiwara H, Imai Y, Tamura S, Tsutsui S, Naito M, Nishiuchi M, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Yamada R, Oze T, Yakushijin T, Hiramatsu N, Sakamori R, Tatsumi T, Takehara T. Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment. Sci Rep. 2017 Jan 30;7:41660.

14) Kaneko S, Kakinuma S, Asahina Y, Kamiya A, Miyoshi M, Tsunoda T, Nitta S, Asano Y, Nagata H, Otani S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Nakauchi H, Nishitsuji H, Ujino S, Shimotohno K, Iwamoto M, Watashi K, Wakita T, Watanabe M. Human induced pluripotent stem cell-derived hepatic cell lines as a new model for host interaction with hepatitis B virus. Sci Rep. 2016 Jul 8;6:29358.

15) Karandikar UC, Crawford SE, Ajami NJ, Murakami K, Kou B, Ettayebi K, Papanicolaou GA, Jongwutiwes U, Perales MA, Shia J, Mercer D, Finegold MJ, Vinjé J, Atmar RL, Estes MK. Detection of human norovirus in intestinal biopsies from immunocompromised transplant patients. J Gen Virol. 97(9): 2291-2300 (2016)

16) Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, Makino K. Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF. Neurology: Clinical Practice. http://cp.neurology.org/content/early/2016/11/04/CPJ.0000000000000311.short, 2016

17) Kinoshita W, Ogura N, Watashi K, Wakita T. Host factor PRPF31 is involved in cccDNA production in HBV-replicating cells. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Jan 22;482(4):638-644.

18) Koizumi Y, Ohashi H, Nakajima S, Tanaka Y, Wakita T, Perelson AS, Iwami S, Watashi K. Quantifying antiviral activity optimizes drug combinations against hepatitis C virus infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Feb 21;114(8):1922-1927.

19) 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.

20) Leong CR, Funami K, Oshiumi H, Mengao D, Takaki H, Matsumoto M, Aly HH, Watashi K, Chayama K, Seya T. Interferon-stimulated gene of 20 kDa protein (ISG20) degrades RNA of Hepatitis B virus to impede the replication of HBV in vitro and in vivo. Oncotarget. 7(42):68179-68193, 2016.

21) 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, 183: 30-36 (2016)

22) Li TC, Zhou X, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Production of Infectious Dromedary Camel Hepatitis E Virus by a Reverse Genetic System: Potential for Zoonotic Infection. J Hepatol. 2016 Dec;65(6):1104-1111.

23) Matsumura T, Sugiyama N, Murayama A, Yamada N, Shiina M, Asabe S, Wakita T, Imawari M, Kato T. Antimicrobial peptide LL-37 attenuates infection of hepatitis C virus. Hepatol Res. 2016 Aug;46(9):924-32.

24) Miyoshi M., Kakinuma S., Tanabe Y., Ishii K., Li T.C., Wakita T., Tsuura Y., Watanabe H., Asahina Y., Watanabe M. and Ikeda T. A Case of Chronic Hepatitis E Infection in a Persistently Immunosuppressed Patient Unable to be Eliminated after Ribavirin Therapy. Internal Medicine, 55: 2811-2817 (2016)

25) 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, Japanese Journal of Veterinary Medical Science, 77: 1705-1709 (2016)

26) Murayama A, Sugiyama N, Suzuki R, Moriyama M, Nakamura N, Mochizuki H, Wakita T, Kato T. Amino Acid Mutations in the NS4A Region of Hepatitis C Virus Contribute to Viral Replication and Infectious Virus Production. J Virol. 2017 Jan 31;91(4). pii: e02124-16.

27) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Completion of the Entire Hepatitis C Virus Life Cycle in Vero Cells Derived from Monkey Kidney. MBio. 2016 Jun 14;7(3). pii: e00273-16.

28) Nakagomi T, Do LP, Agbemabiese CA, Kaneko M, Gauchan P, Doan YH, Jere KC, Steele AD, Iturriza-Gomara M, Nakagomi O, Cunliffe NA. Whole-genome characterisation of G12P[6] rotavirus strains possessing two distinct genotype constellations co-circulating in Blantyre, Malawi, 2008. Arch Virol 162: 213-226, 2017

29) Nakajima S, Watashi K, Ohashi H, Kamisuki S, Izaguirre-Carbonell J, Kwon AT, Suzuki H, Kataoka M, Tsukuda S, Okada M, Moi ML, Takeuchi T, Arita M, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Hasegawa H, Takasaki T, Sugawara F, Wakita T. Fungus-Derived Neoechinulin B as a Novel Antagonist of Liver X Receptor, Identified by Chemical Genetics Using a Hepatitis C Virus Cell Culture System. J Virol. 90: 9058-74. doi: 10.1128/JVI.00856-16, 2016.

30) Nitta S, Asahina Y, Matsuda M, Yamada N, Sugiyama R, Masaki T, Suzuki R, Kato N, Watanabe M, Wakita T, Kato T. Effects of Resistance-Associated NS5A Mutations in Hepatitis C Virus on Viral Production and Susceptibility to Antiviral Reagents. Sci Rep. 6: 34652. doi: 10.1038/srep34652, 2016.

31) Noguchi A, Ito H, Miura S, Fujii Y, Katayama K, Nakagomi T, Nakagomi O, Takahashi T.: Regional Variations in the Incidence of Rotavirus Hospitalizations between Children Living in Defined regions of Akita and Kyoto Prefectures, Japan. Jpn J Infect Dis. 2017, 70: 167-170.

32) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif LJ, Asai A. Discovery and Synthesis of Heterocyclic Carboxamide Derivatives as Potent Anti-norovirus Agents. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2016 May; 64:465-75.

33) Oka T, Doan YH, Haga K, Mori K, Ogawa T, Yamazaki A. Genetic Characterization of Rare Genotype GII.5 Sapovirus Strain Detected from a Suspected Food-Borne Gastroenteritis Outbreak among Adults in Japan in 2010. Jpn J Infect Dis 70: 223-224, 2017

34) Oka T, Lu Z, Phan T, Delwart EL, Saif LJ, Wang Q. Genetic Characterization and Classification of Human and Animal Sapoviruses. PLoS One. 2016 May. 26;11:e0156373.

35) Oka T, Doan YH, Haga K, Mori K, Ogawa T, Yamazaki A. Genetic characterization of rare genotype GII.5 sapovirus strain detected from food-borne suspected gastroenteritis outbreak among adults in Japan, 2010. Jpn J Infect Dis. 2017 Mar 24;70(2):223-224.

36) Okamura H, Nio Y, Akahori Y, Kim S, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Fatty acid biosynthesis is involved in the production of hepatitis B virus particles. Biochem Biophys Res Commun. 2016 Jun 17;475(1):87-92.

37) Qu L, Murakami K, Broughman JR, Lay MK, Guix S, Tenge VR, Atmar RL, Estes MK. Replication of Human Norovirus RNA in Mammalian Cells Reveals Lack of Interferon Response. J Virol, 90(19): 8906-8923 (2016)

38) Puig-Basagoiti F, Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Yamamoto S, Mori H, Kurihara T, Okamoto T, Aizaki H, Matsuura Y. Human Cathelicidin Compensates for the Role of Apolipoproteins in Hepatitis C Virus Infectious Particle Formation. J Virol. 2016 Sep 12;90(19):8464-77.

39) Ricco G, Bonino F, Lanza M, Scatena F, Alfieri CM, Messa P, Marchisio E, Mascolo G, Romanò L, Galli C, Li TC, Wakita T, Miyamura T, Brunetto MR. 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.

40) Ruchusatsawat K., Wongpiyabovorn J., Kawidam C., Thiemsing L., Sangkitporn S., Yoshizaki S., Tatsumi M., Takeda N. and Ishii K. An Outbreak of Acute Hepatitis Caused by Genotype IB Hepatitis A Viruses Contaminating the Water Supply in Thailand. Intervirology 59: 197-203 (2017)

41) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Tajima S, Takasaki T, Konishi E, Kato T, Kohara M, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicits neutralizing antibodies against JEV and hepatitis C virus. Sci Rep. 2016 Jun 27;6:28688.

42) Sato H, Yokoyama M, Nakamura H, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Tanaka T, Motomura K. Evolutionary Constraints on the Norovirus Pandemic Variant GII.4_2006b over the Five-Year Persistence in Japan. Front Microbiol. 2017 Mar 13;8:410.

43) Shimizu H. Development and introduction of inactivated poliovirus vaccines derived from Sabin strains in Japan. Vaccine 34: 1975-1985, 2016

44) Shimizu K, Hamaguchi S, Ngo CC, Li TC, Ando S, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Koma T, Isozumi R, Tsuda Y, Fujita H, Pham TT, LE MQ, Dang AD, Nguyen TQ, Yoshida LM, Ariyoshi K, Arikawa J. Serological evidence of infection with rodent-borne hepatitis E virus HEV-C1 or antigenically related virus in humans. J Vet Med Sci. 2016; 78: 1677-1681.

45) 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. 2016 May 1;39(5):839-48.

46) Suzuki Y, Doan YH, Kimura H, Shinomiya H, Shirabe K, Katayama K. Predicting genotype compositions in norovirus seasons in Japan. Microbiol Immunol 60:418-26, 2016

47) 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.

48） Takeda M, Ikeda M, Satoh S, Dansako H, Wakita T, Kato N. Rab13 Is Involved in the Entry Step of Hepatitis C Virus Infection. Acta Med Okayama. 2016 Apr;70(2):111-8.

49） Takemura K, Adegoke O, Takahashi N, Kato T, Li TC, Kitamoto N, Tanaka T, Suzuki T, Park EY. Versatility of a localized surface plasmon resonance-based gold nanoparticle-alloyed quantum dot nanobiosensor for immunofluorescence detection of viruses. Biosens Bioelectron. 2017 Mar 15;89(Pt 2):998-1005.

50） Tao Z, Wang Z, Lin Z, Wang S, Wang H, Yoshida H, Xu A, Song Y. One-year Survey of human enteroviruses from sewage and the factors affecting virus adsorption to the suspended solids. Sci Rep 2016 Aug 11;6:31474

51） Tsunematsu S, Suda G, Yamasaki K, Kimura M, Izumi T, Umemura M, Ito J, Sato F, Nakai M, Sho T, Morikawa K, Ogawa K, Tanaka Y, Watashi K, Wakita T, Sakamoto N. Hepatitis B virus X protein impairs α-interferon signaling via up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3 and protein phosphatase 2A. J Med Virol. 2017 Feb;89(2):267-275.

52） Tsutsumi T, Okushin K, Enooku K, Fujinaga H, Moriya K, Yotsuyanagi H, Aizaki H, Suzuki T, Matsuura Y, Koike K. Nonstructural 5A Protein of Hepatitis C Virus Interferes with Toll-Like Receptor Signaling and Suppresses the Interferon Response in Mouse Liver. PLoS One. 2017 Jan 20;12(1):e0170461.

53） Yamada N, Sugiyama R, Nitta S, Murayama A, Kobayashi M, Okuse C, Suzuki M, Yasuda K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K, Wakita T, Kato T. Resistance mutations of hepatitis B virus in entecavir-refractory patients. Hepatol Comm. 1: 110-121, 2017.

54） Yamamoto S, Fukuhara T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Shiokawa M, Mori H, Wada M, Shima R, Okamoto T, Hiraga N, Suzuki R, Chayama K, Wakita T, Matsuura Y. Lipoprotein Receptors Redundantly Participate in Entry of Hepatitis C Virus. PLoS Pathog. 2016 May 6;12(5):e1005610.

55） Yao WL, Ikeda S, Tsukamoto Y, Shindo K, Otakaki Y, Qin M, Iwasawa Y, Takeuchi F, Kaname Y, Chou YC, Chang C, Watashi K, Wakita T, Noda T, Kato H, Fujita T. Establishment of a human hepatocellular cell line capable of maintaining long-term replication of hepatitis B virus. Int Immunol. 2017 Mar 1;29(3):109-120.

56） Yokokawa H, Higashino A, Suzuki S, Moriyama M, Nakamura N, Suzuki T, Suzuki R, Ishii K, Kobiyama K, Ishii KJ, Wakita T, Akari H, Kato T. Induction of humoural and cellular immunity by immunisation with HCV particle vaccine in a non-human primate model. Gut. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312208, 2016.

57） Zhang W, Sano N, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Wakita T, Ikeda H, Li TC. Virus-like particles of porcine bocavirus generated by recombinant baculoviruses can be applied to sero-epidemic studies. Virus Res. 2016 Jun 2;217:85-91.

2．和文発表

1） 相崎英樹、和気健二郎、脇田隆字、ここまでわかったＣ型肝炎ウイルスの感染・複製機構、目覚しく治療効果を発揮するＣ型肝炎治療、Mebio、メジカルビュー社、東京、2017;34(1);4-13.

2） 相崎英樹、脇田隆字、Ｃ型肝炎治療における新時代の幕開け、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、医薬ジャーナル社、大阪 2016;52;67-70

3） 相崎英樹、脇田隆字、肝炎ウイルス検査のすすめ、くらしの豆知識、国民生活センター、2016, 200-201.

4） 石井孝司　Ｅ型肝炎の増加と今後の対策　検査と

技術　44: 1138-1141 (2016)

5) 板持雅恵, 滝澤剛則, 伊東愛梨, 三浦美穂, 伊藤雅, 小澤広規, 北川和寛, 葛口剛, 後藤明子, 島あかり, 下野尚悦, 高橋雅輝 筒井理華, 中田恵子, 中野守, 西澤佳奈子, 濱﨑光宏, 吉富秀亮, 堀田千恵美, 松岡保博, 三好龍也, 吉田弘　平成27年度ポリオ環境水サーベイランス（感染症流行予測調査事業および調査研究）にて検出されたエンテロウイルスについて病原体検出情報 37 (10); 208-209: 2016

6) 加藤孝宣, 明里宏文. C型肝炎ワクチンとアジュバント. 次世代アジュバント開発のためのメカニズム解明と安全性評価（監修：石井健） シーエムシー出版: 316-322, 2017.

7) 加藤孝宣. B型肝炎ウイルス感染の診断. 国立感染症研究所 病原微生物検出情報（IASR）〈特集〉急性B型肝炎 37(8): 8-9, 2016.

8) 九十田千子、渡士幸一. 抗 B 型肝炎ウイルス薬の現状と新規薬剤開発のアプローチ. 化学療法の領域、33(1): 73-78、2017

9) 相崎英樹、Zheng Xin、石井孝司、脇田隆字、砂川富正、大石和徳、吉岡健太郎、特集進化する B 型肝炎治療「B 型肝炎疫学の最新状況」、消化器・肝臓内科、2017 1(4):390-397.

10) 清原知子. 生物製剤, 2.19 沈降Ｂ型肝炎ワクチン, 第 17 改正日本薬局方解説

11) 清水博之　エンテロウイルスD68. 感染炎症免疫 46 : 51-54, 2016

12) 清水博之 エンテロウイルス71ワクチン開発の現状. 小児科 57 : 929-936, 2016

13) 清水博之 エンテロウイルスD68型. 感染と消毒 23 : 133-137, 2016

14) 清水博之 エンテロウイルスと子どもの麻痺. 小児保健研究 76, 208-217 2017

15) 清水博之 ポリオ. 化学療法の領域 33 : 40-48, 2017

16) 染谷雄一、塩田智之、神谷元、「FSA-EFSA 食品媒介ウイルスに関するワークショップ」への参加報告 Attendance Summary Report of the FSA-EFSA Workshop on Foodborne Viruses 2016、食品衛生研究、2016 年 12 月号：7-15（査読無・依頼執筆）

17) 中村朋史、清水博之　エンテロウイスD68のウイルス学的特徴. 臨床とウイルス 44：72-78, 2016

18) 西村順裕 エンテロウイルスと受容体についての最新の理解. 医学のあゆみ 260: 509-512, 2017

19) 濱﨑光宏 吉田弘 エンテロウイルスのウイルス学的検査診断－血清診断・培養から PCR・次世代シークエンサーまで 小児科 Vol. 57 No. 7 :949-956, 2016

20) 藤本嗣人、 花岡 希、 多屋馨子、清水博之　エンテロウイス(D68 を含む)の検査方法. 臨床とウイルス 44 : 84-89, 2016

21) 政木隆博, 加藤孝宣. 肝炎ウイルス研究の進歩：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. 竹原徹郎, 金井隆典, 下瀬川徹, 島田光生 編集 Annual Review 消化器 2016. 中外医学社, p. 68-73, 2016.

22) 渡士幸一、相崎英樹. B 型肝炎ウイルス研究のトピックス. 小児科、57(9): 1107-1111、2016

II. 学 会 発 表

国際学会

1) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. The cell line derived from immortalized human hepatocytes was highly susceptible to blood-borne hepatitis B virus in the three-dimensional culture condition. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

2) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA quality control decay regulates HBV X-mRNA stability. 2016 International Meeting, molecular Biology of Hepatitis B virus, Poster presentation, September

21-24, 2016 Seoul, Korea.

3) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA decay mechanism regulates Hepatitis B virus replication. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

4) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Wakita T. Precore stop codon regulates the stability of HBV X-mRNA. 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus. 2016/4/9-10. Taipei (Taiwan)

5) Aly HH. Shiromoto F, Kato T, Watashi K, Chayama K, Wakita T. Targeting HBV-X by regulating Non-Stop mediated RNA decay. Japan-Taiwan-Korea research symposium on the study of hepatitis B virus. April 18-20, 2016, Taipei, Taiwan.

6) Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng X, Kao YT, Hossam GE, Zaitsu T, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Shimada N, Kato K, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Ultrastructure of hepatocytes in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. The 26th of Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver, ANNUAL MEETING 2017. 2017/2/15-19. Shanghai (China)

7) Aoyagi H, Iijima H, Zheng X, Watashi K, Suzuki S, Masaki T, Shimada N, TsubotaA, Wake K, Wakita T, Aizaki H, Abnormal hepatocellular organelles remain to be observed in sustained virological response patients. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver Single Topic Conference, Nagasaki, Japan, 2017.

8) Arita M, Nakamura T, Shimizu H. Molecular assays for the detection and characterization of poliovirus isolates and antibodies. Scientific consultation on the safety and containment of new poliovirus strains for vaccine production, clinical/regulatory testing and research. NIBSC, Potters Bar, United Kingdom, 7 July, 2016

9) Ariumi Y, Watashi K, Wakita T. DDX3 and INI1/hSNF5 restrict HBV replication through alteration of subcellular localization of HBx. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

10) Date T, Aihara N, Watanabe N, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, William IV Delaney, Guofeng Cheng, Wakita T. Infectious Genotype 4a Hepatitis C Virus in Cell Culture. APASL STC. Kaohsiung, Taiwan, June 10-12, 2016 ポスター

11) Doan YH, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Oka T, Mukherjee A , Suzuki Y, Imamura D, Shinoda S, Chawla-Sarkar M, Katayama K. The difference of rotavirus profile between Japan and India: implications for the effectiveness of rotavirus vaccine (Poster). The 12th International Rotavirus Symposium, Melbourne, Australia, 7-9 September, 2016

12) Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Ramani S, Zeng X, Qu L, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Atmar RL, Estes MK. Strain-Specific Human Norovirus Replication in Biologically Relevant Human Enteroid Cultures. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.

13) Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Ramani S, Zeng X, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Atmar RL, Estes MK. Human Noroviruses Replicate in Stem Cell-Derived Human Intestinal

Enteroids. NoroCORE Full Collaborative & Stakeholders Meeting. Apr 2016, Crystal City, USA.

14) Fujii K, Sudaka Y, Imura A, Takashino A, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike K. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in SCARB2-dependent infection. Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016

15) Fujimoto A, Haga K, Sugimoto S, Sato T, Doan YH, Miki M, Todaka R, Katayama K. Cultivation of Human Norovirus using Human Duodenal Organoids. 6 th International Calicivirus Conference, Georgia, USA, 9-13 October, 2016

16) Fukano K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Establishment of the method for evaluating molecular interaction between hepatitis B virus entry inhibitors and sodium taurocholate cotransporting polypeptide. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

17) Fukasawa M, Shimizu Y, Shirasago Y, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M. Identification of HBV entry inhibitors, based on the cyclosporin structure. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto, Japan, Oct11-15, 2016 ポスター

18) Gewaid HE, Aoyagi H, Watashi K, Suzuki R, Aly HH, Kumajai K, Yamaji T, Fukasawa M, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Wakita T, Aizaki H. Sphingomyelin is a component in the membranous replication factories. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

19) Ashiba H, Sugiyama Y, Wang X, Shirato H, Higo-Moriguchi K, Taniguchi K, Ohki Y, Fujimaki M. Detection of norovirus virus-like particles using a surface plasmon resonance-assisted fluoroimmunosensor optimized for quantum dot fluorescent labels. Biosensors and Bioelectronics, 93, 260-266, 2017

20) Haga K, Fujimoto A, Doan YH, Takai-Todaka R, Miki M, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Identification of the functional receptor for murine norovirus. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.

21) Haga K, Fujimoto A, Doan YH, Takai-Todaka R, Miki M, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Identification of the functional receptor for murine norovirus . 6 th International Calicivirus Conference, Georgia, USA, 9-13 October, 2016

22) Hikita H, Kai Y, Tatsumi T, Morishita N, Yamada R, Yakushijin T, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Sakamori R, Takehara T. Both selection from quasispecies and new mutation during treatment are involved in emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

23) Imagawa T., Li T.C., Shiota T.,Yoshizaki S., Ishii K. and Wakita T. Heat inactivation of Hepatitis E virus. The 64th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Sapporo, Japan, October 23-25, 2016

24) Ishii K. Epidemiological and genetic analyses of recent hepatitis A virus infection in Japan. The 10th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Beijing, China, December 19-20, 2016

25) Ishii K. Epidemiology and molecular genetic analysis of hepatitis A in Japan. 中日合作交流成果汇报会, Guangzhou, China, December 6, 2016

26) Ito K, Yoneda M, Angata K, Watashi K, Wakita T, Tanaka Y, Mizokami M, Narimatsu H. Development of Novel Anti-viral Agents against Hepatitis B Virus by using an siRNA Screening Panel Targeting the Carbohydrate Synthesis System. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

27) Ito K, Yoneda M, Angata K, Watashi K, Wakita T, Tanaka Y, Tong S, Mizokami M, Narimatsu H. Development of Novel Anti-viral Agents against Hepatitis B Virus by using an siRNA Screening Panel Targeting the Carbohydrate Synthesis System. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

28) Iwamoto M, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Tanaka Y, Mizokami M, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Hepatitis B virus capsid formation is regulated by microtubules and their posttranslational modification. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

29) Kai Y, Hikita H, Tatsumi T, Murai K, Sakane S, Shiode Y, Nozaki Y, Makino Y, Nakabori T, Saito Y, Tanaka S, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Sakamori R, Takehara T. Quasispecies of HCV is not necessary for emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment. AASLD The Liver Meeting 2016, November 11-15, Boston, MA, USA, 2016.

30) Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Iwamoto M, Tsukuda S, Ohashi H, Kawai F, Mizokami M, Park SY, Tanaka Y, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Otani N, Wakita T. Vanitaracin A is a novel entry inhibitor of hepatitis B and D viruses through targeting NTCP. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

31) Karandikar UC, Crawford SE, Ajami NJ, Murakami K, Kou B, Ettayebi1 K, Papanicolaou GA, Jongwutiwes U, Perales M-A, Shia J, Mercer D, Finegold MJ, Vinjé J, Atmar RL, Estes MK. Identifying intestinal cell types that can support replication of human norovirus in intestinal biopsies from immunocompromised patients and intestinal stem cell derived cultures. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.

32) Kinoshita H, Arima Y, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Hanaoka N, Fujimoto T, Oishi K, Shimizu H. Detection of Enterovirus D68 Based on the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases System in Japan from 2005 to 2015, Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016

33) Kotani O, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H, Sato H, Nagata N. Saffold virus *in vivo* passages drive the structural evolution of the capsid protein for enhancing replication fitness in neural cells. Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016

34) Lee AR., Shimoike T., Wakayama T., and Kishigami S. Phenotypes of Aging postovulatory Oocytes After Somatic Cell Nuclear Transfer in Mice. Cellular Preprogramming 18, 147-154 (2016).

35) Masaki T, Kato T, Maezaki Y, Nakamura M, Matsuura T, Wakita T. Hepatitis C virus targets the microRNA-induced silencing complex and attenuates host cellular microRNA functions. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

36) Masaki T, Matsumoto Y, Aizaki H, Nagamori S, Watashi K, Park J, Kanai Y, Kojima S, Wakita T, Matsuura T. Induction of NTCP expression in a human HCC cell line by retinoic acid and its possible effect on host susceptibility to HBV infection. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

37) Matsuda M, Yamanaka A, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Wakita T, Suzuki R. Multiple flaviviruses neutralization assay based on single-round infectious particles. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

38) 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. Feb 2016, Houston, USA.

39) Murakami K, Tenge VR, Ettayebi K, Crawford SE, Neill FH, Ramani S, Zeng X, Atmar RL, Estes MK. Characterization of Active Components in Bile that Enhance GII.3 Human Norovirus Replication in Human Intestinal Enteroids. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.

40) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Evaluation of Antiviral Activities of Vitamin D Derivatives in Hepatitis C Virus Lifecycle. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

41) Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Agoh M, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Shimizu H, Hasegawa H. Virulence Of Recent Coxsackievirus B2 Isolates In A Neonatal Mouse Model. Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016

42) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa F, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Role of lipid droplets in the emergence of drug resistant virus against direct acting antivirals. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

43) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Zhu C, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif L J and Asai A. Discovery and synthesis of heterocyclic carboxamide derivatives as potent anti-norovirus agents. The 6th International Calicivirus Conference, Savannah, GA, USA. 2016.10.9-13.

44) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Zhu C, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif L J and Asai A. Discovery of novel anti-calicivirus agents. The 3rd International Conference on Pharma-Food (ICPF 2016) 2016.11.16-18, Shizuoka

45) Oka T, Molecular Epidemiology of Human Sapoviruses The 6th International Calicivirus Conference, Savannah, GA, USA. 2016.10.9-13.)

46) Qu L, Murakami K, Broughman JR, Lay MK, Guix S, Tenge VR, Atmar RL Estes MK. Replication of Human Norovirus RNA in Mammalian Cells Reveals a Lack of Interferon Response. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.

47) Shi G, Matsuda M, Suzuki R, Wakita T, Suzuki T. Critical Role of the Basic Residue Clusters within Domain-I of HCV Core in Interaction with Viral Genome and Particles assembly. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, Japan. 2016. 10. 11-15.

48) Shimizu H, Vongphrachanh P, Khamphaphongphane B, Sengkeopraseuth B, Nakamura T, Nishimura Y, Arita M, Wada J, Yoshida H, Schluter WW, Datta SS.

Outbreak of type 1 vaccine-derived poliovirus in Lao People's Democratic Republic in 2015-2016, Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016

49) Shimizu H. NIID Polio GSL activity. 2016 The 6rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016

50) Shimizu H. NPV surveillance in Japan, 2015-2016,EV-D68 outbreak in Japan, 2015. The 6rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016

51) Shimizu H. Outbreak of type 1 vaccine-derived poliovirus in Lao People's Democratic Republic in 2015-2016.The 6rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016

52) Shimizu H. Poliovirus surveillance after the IPV introduction in Japan 2013-2016. The 6rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016

53) Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto, Japan, Oct11-15, 2016 口頭発表

54) Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Yamada N, Nitta S, Masaki T, Ishii K, Ryo A, Wakita T, Kato T. Amino acid substitutions in IFN sensitivity-determining region of HCV-NS5A affect infectious virus production and ISG production. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

55) Suzuki R, Matsuda M, Shimoike T, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Wakita T. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

56) Suzuki R, Matsuda M, Shimoike T, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Wakita T. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

57) Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Characterization of a hepatitis E virus receptor candidate. HCV2016 - 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto International Conference Center, 2016 October 11

58) Toyama M, Hamasaki T, Okamoto M, Ikeda M, Watashi K, Wakita T, Yamashita A, Moriishi K, Sharon A, Baba M. A novel Neplanocin A derivatives selectively inhibit HBV replication. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

59) 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. Inhibition of HBV entry process through targeting host and viral molecules. 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus. 2016/4/9-10. Taipei (Taiwan)

60) Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M,

Wakita T. Proanthocyanidin and its analogs are new class of HBV and HDV entry inhibitors that target the viral preS1 region. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

61) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Retinoid inhibitors abolish the host permissiveness to hepatitis B virus infection by modulating the expression of NTCP. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

62) Wakita T. HCV Virology. APASL STC. Kaohsiung, Taiwan, June 10-12, 2016 招待講演

63) Watanabe N, Aihara N, Date T, Aly HH, Aizaki H, Wakita T. Identification and analysis of a novel important envelope region required for HCV infection. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto, Japan, Oct11-15, 2016 ポスター

64) Watanabe N, Date T, Aly HH, Aizaki H, Wakita T. Infectious Genotype 4a Hepatitis C Virus in Cell Culture. APASL STC. Kaohsiung, Taiwan, June 10-12, 2016 口頭発表

65) Watashi K, Nakajima S, Ohashi H, Kamisuki S, Kwon AT, Suzuki H, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Sugawara F, Wakita T. The HCV cell culture system identified fungal-derived neoechinulin B as a novel antagonist of liver X receptor. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

66) Watashi K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Iwamoto M, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park SY, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Strategy for hepatitis B and D virus entry inhibition without affecting bile acid transport. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).

67) Watashi K. Mechanism of HBV entry and the role of NTCP. APASL Single Topic Conference (STC) - 6th HBV Conference. 2016/12/16-18. Beijing (China)

68) Yokokawa H, Midori Shinohara M, Nakamura N, Iwamura T, Suzuki T, Wakita T. Identification and characterization of human monoclonal anti-E2 antibodies cloned from chronic hepatitis C patients. APDW2016, Kobe, Japan, Nov2-5, 2016 ポスター

69) Zaitsu T, Aoyagi H, Matsuda M, Watanabe N, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Fukuhara T, Matsuura M, Wake K, Suzuki T, Matsuura T, Tamura K, Wakita T, Aizaki H. Human hepatic stellate cells are permissive for hepatitis C virus infection/replication and play important roles in fibrosis. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)

70) Zheng X, Aoyagi H, Hossam GE, Zaitsu T, Puig-Basagoiti F, Kao YT, Watashi K, Suzuki R, Takahashi T, Sunagawa T, Oishi K, Wakita T, Aizaki H. Acute Hepatitis B in Japan, April 1999 ~ December 2015. The 26th of Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver, ANNUAL MEETING 2017. 2017/2/15-19. Shanghai (China)

2. 国内学会

1) 相崎英樹、吉岡健太郎、青柳東代、渡士幸一、鈴木亮介、是永匡紹、脇田隆字. 自治体における肝炎ウイルス検査陽性者追跡システムの構築 第 41 回日本肝臓学会東部会、ワークショップ 3 京王プラザホテル、(2016. 12. 8-9) 口頭発表

2) 青柳東代、飯島尋子、松田麻未、渡士幸一、鈴木亮介、政木隆博、坂巻有里子、市野瀬志津子、坪田昭人、和氣健二郎、脇田隆字、相崎英樹. HCVに対する抗ウイルス治療後、SVR後の肝細胞の超

微細構造の変化. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋

3) 青柳東代、飯島尋子、松田麻未、渡士幸一、鈴木亮介、政木隆博、坪田昭人、和氣健二郎、脇田隆宇、相崎英樹. HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の肝細胞の超微細構造の変化　第 41 回日本肝臓学会東部会、パネルディスカッション１　京王プラザホテル、(2016. 12.8-9) 口頭発表

4) 赤堀祐一、加藤博己、藤田尚志、森石恆司、渡士幸一、脇田隆宇、土方誠. 立体培養したHBV受容体hNTCP発現不死化ヒト肝細胞による新たなHBV培養系を用いた抗HBV薬評価系の構築. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋

5) 有田峰太郎: 宿主因子を標的とするポリオウイルス複製阻害剤の探索. 第 89 回日本生化学大会、シンポジウム「アカデミア発創薬探索研究」、仙台、2016. 9.25

6) アリ ハッサン フセイン, 鈴木淳也, 渡士幸一, 茶山一彰, 加藤孝宣, 脇田隆宇. Non-Stop decay regulates HBV-X mRNA levels. 広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム, 広島, 2016. 6. 25.

7) アリ ハッサン フセイン, 鈴木淳也, 渡士幸一, 茶山一彰, 加藤孝宣, 脇田隆宇. NSD regulation of HBV replication. 第 15 回あわじしま感染症・免疫フォーラム, 兵庫, 2016. 9. 6-9.

8) 石井孝司：A 型肝炎と E 型肝炎の動向と対策、平成２８年度新潟県臨床検査技師会研修会、平成２８年１２月、新潟

9) 石井孝司：日本におけるＡ型肝炎、Ｅ型肝炎の最近の話題、平成２８年度静岡県獣医師会公衆衛生部会、平成２８年１０月、静岡

10) 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　テアフラビン類の抗カリシウイルス活性　日本薬学会第 137 年会, 2017.3.24-27　仙台

11) 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　ノロウイルス不活化剤の探索とその実用化に関する研究(第２報)　第 53 回全国衛生化学技術協議会年会　2016.11-17-18、青森

12) 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　ノロウイルス不活化剤の探索とその実用化に関する研究(１)～紅茶由来成分　テアフラビン類～　第 53 回静岡県公衆衛生研究会　2017.2.9　静岡

13) 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　代替ウイルスを用いたテアフラビン類の抗ノロウイルス活性の検討について　第 32 回茶学術研究会講演会・第１３回日本カテキン学会年次学術大会合同大会 2017.3.10 静岡

14) 岡　智一郎　第６回国際カリシウイルス学会の報告ウイルス性下痢症研究会　第28回学術集会.

15) 岡　智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸　培養可能なカリシウイルスの新規 plasmid-based リバースジェネティクス系の構築　第 39 回日本分子生物学会、2016.11.30-12.2 横浜

16) 岡村瞳、赤堀祐一、金ソルイ、渡士幸一、脇田隆宇、土方誠. 脂肪酸生合成経路の阻害によるHBV粒子の産生抑制機構の解析. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋

17) 加藤孝宣, 山田典栄, 百瀬暖佳, 村山麻子, 松岡佐保子, 大隈和, 豊田九朗, 浜口功, 脇田隆宇. Evaluation of Detection Assays for Hepatitis B Virus DNA and HBs Antigen by Using Reference Panel of Blood Specimens. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.

18) 小嶋聡一、掛谷秀昭、古谷裕、相崎英樹、松浦知和, 次世代生命基盤技術を用いたＢ型肝炎制圧のための創薬研究. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会、名古屋、2016 年 5 月 13-15 日.

19) 清原知子，石井孝司，砂川富正，加納和彦，木下一美，大石和徳，脇田隆字．A型肝炎と海外渡航．第20回日本渡航医学会，岡山．2016年7月23，24日

20) 木下一美、有馬雄三、砂川富正、多屋馨子、大石和徳、清水博之、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型検出症例 第90回日本感染症学会学術集会 4月15日～16日、仙台、2016、

21) 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳、清水博之 不活化ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況・抗体保有状況について（2011～2015年度感染症流行予測調査より）第20回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016年10月22～23日

22) 清水博之、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．衛生微生物技術協議会第37回研究会．広島、2016．7月22日

23) 清水博之、エンテロウイルスD68感染症の流行とウイルス学的特徴．大阪小児感染症研究会 第23回講演会，大阪、2016年 10月15日

24) 清水博之、世界ポリオ根絶計画と日本の貢献、聖路加国際大学 WHO プライマリヘルスケア看護開発研究センターPeople Centered Careセミナー、疾病の根絶・制圧と日本の貢献、東京、2017年1月7日、

25) 清水博之、世界ポリオ根絶計画の進捗と残された課題第26回 感染研シンポジウム WHO the expanded program on immunization (EPI) と麻疹・ポリオの排除・根絶、東京、2016年5月23日

26) 下池貴志、芳賀慧、脇田隆字: Activity of HuNV RNA dependent RNA polymerase in different genotypes. 第64回日本ウイルス学会学術集会、2016年10月、北海道

27) 杉山真也、田中靖人、溝上雅史、脇田隆字．B型肝炎ウイルス粒子を直接標的とする侵入阻害剤proanthocyanidin．第26回抗ウイルス療法学会総会．2016/5/13-15．名古屋

28) 鈴木哲朗、鈴木亮介．ウイルス複製小胞とミトコンドリアとの細胞内コミュニケーション．第２回デザイン生命工学研究会、神戸、2017 年 3 月 21 日．

29) 鈴木亮介、松田麻未、山中敦史、好井健太朗、渡士幸一、相崎英樹、小西英二、高崎智彦、脇田隆字．デングウイルスレプリコンを用いたフラビウイルス網羅的中和抗体アッセイ系の開発．第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、福島、2016 年 5 月 13-14 日．

30) 鈴木亮介．フラビウイルス粒子を利用したHCVワクチン抗原の開発.第１２回 肝免疫・ウイルス・フロンティア(Liver 2016)、東京、2016年4月9日

31) 染谷雄一、塩田智之、神谷元． International Workshop on Foodborne Viruses (FSA,EFSA ロンドン会議)報告． 食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会(第66回)、食品安全委員会中会議室、2016年6月6日

32) 竹内（柴田）潤子、 岩本将士、渡士幸一．B型肝炎ウイルスの適応進化メカニズム解析．第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原．2016/8/30-31．湯河原

33) 九十田千子、渡士幸一、小嶋聡一、脇田隆字．B型肝炎ウイルスを標的とした新規侵入阻害剤の同定と作用機序の解析．第52回日本肝臓学会総会．2016/5/19-20．幕張

34) 九十田千子、渡士幸一、濱田義知、齊藤安貴子、五十川正記、田中義正、鈴木亮介、相崎英樹、小嶋聡一、杉山真也、田中靖人、溝上雅史、脇田隆字．B型肝炎ウイルス粒子を直接標的とする侵入阻害剤proanthocyanidin．第26回抗ウイルス療法学会総会．2016/5/13-15．名古屋

35) 外山政明、濱崎隆之、岡本実佳、渡士幸一、脇田隆字、馬場昌範．ピリミドトリアジノン誘導体の抗HBV効果について．第26回抗ウイルス療法学会総会．2016/5/13-15．名古屋

36) 西村順裕 エンテロウイルス71と受容体PSGL-1の結合とその制御．東京大学医科学研究所共同

研究拠点事業 平成 28 年度若手研究者シンポジウム「若手研究者が切り拓く次世代ウイルス学」, 東京, 2017.2.17

37) 新田沙由梨, 朝比奈靖浩, 加藤孝宣. HCV NS5A 阻害剤耐性変異株の特徴と薬剤感受性に関する検討. 第102回日本消化器病学会総会. 東京, 2016. 4. 21-23.

38) 新田沙由梨, 朝比奈靖浩, 加藤孝宣. NS5A 阻害剤耐性変異の HCV ライフサイクルへの影響と薬剤感受性の解析. 第 52 回日本肝臓学会総会. 千葉, 2016. 5. 19-20.

39) 橋本里菜、櫻井文教、國戸偉丸、長基康人、岡本涼太、立花雅史、高山和雄、坂本直哉、脇田隆字、水口裕之、ゲノム編集による遺伝子改変ヒト iPS 細胞由来肝細胞を用いた C 型肝炎ウイルスによる自然免疫応答の解析、日本薬学会第137年会、仙台国際センター、(2017. 3.21-22)

40) 深澤征義、白砂圭崇、清水芳実、谷田以誠、近藤昌夫、八木清仁、鈴木哲朗、鈴木亮介、杉山和夫、脇田隆字、花田賢太郎. C 型肝炎ウイルス感染における Occludin 分子の重要性～Occludin ノックアウトヒト肝培養細胞を用いた検討. 第89回日本生化学会大会 仙台、2016 年 9 月 25-27 日.

41) 深野 顕人, 志村 聡美, Michael PEEL, Ann SLUDER, 河合 文啓, 九十田 千子, 鈴木 亮介, 相 崎 英樹, 朴 三用, 脇田 隆字, 小笠原 裕樹, 渡士幸一. B型肝炎ウイルスの侵入受容体の解析とその新規阻害剤の同定. 日本薬学会第137年会. 2017/3/24-27. 仙台

42) 福島慎二, 清原知子, 石井孝司, 中野貴司, 濱田篤郎. A型肝炎ワクチン接種後の抗体価維持期間と追加接種の効果（第一報）. 第 20 回日本ワクチン学会. 2016 年 10 月 22, 23 日

43) 藤井克樹：ロタウイルスの新知見 2016 ウイルス性下痢症研究会第 28 回学術集会（札幌）2016 年 10 月 22 日

44) 法月正太郎, 木多村知美, 溝上雅史, 清原知子, 脇田隆字, 蜂矢正彦. ラオスにおけるB型肝炎ワクチン接種歴と HBs 抗原、HBc 抗体、HBs 抗体の陽性率についての検討. 第 20 回日本ワクチン学会. 2016 年 10 月 22, 23 日.

45) 政木隆博, 加藤孝宣, 脇田隆字. C 型肝炎ウイルスによる宿主 microRNA 機能抑制の分子機構. 第 52 回日本肝臓学会総会. 千葉, 2016. 5. 19-20.

46) 松田麻未、矢藤慶悟、鈴木亮介. リバースジェネティクスを用いた一回感染性フラビウイルス粒子の作製. 第２回デザイン生命工学研究会、神戸、2017年3月21日. 4

47) 溝上雅史、脇田隆字. B型肝炎ウイルス感染を阻害する新規macrocyclesの同定と、NTCP依存性胆汁酸取り込み抑制能を欠失した選択的阻害剤の創出. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋

48) 三谷 成二, 櫻井 文教, 山本 達郎, 高山 和雄, 立花 雅史, 渡士幸一, 脇田 隆字, 飯島 沙幸, 田中 靖人, 水口 裕之. ヒトiPS細胞由来肝細胞のB型肝炎ウイルス in vitro 感染評価系への応用. 日本薬学会第137年会. 2017/3/24-27. 仙台

49) 宗片圭祐、安井文彦、伊藤 靖、石井孝司、喜田 宏、小笠原一誠、小原道法：ワクチニアウイルス DIs 株を母体としたインフルエンザ HA 組換えワクチンのカニクイザルでの発症防御効果の検討、第２０回日本ワクチン学会、平成２８年１０月、東京

50) 村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆字, 加藤孝宣. Vero 細胞を用いた C 型肝炎ウイルス感染複製系の構築. 第 23 回肝細胞研究会. 大阪, 2016. 7. 7-8.

51) 村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣. Evaluation of antiviral activities of vitamin D derivatives. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.

52) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 松岡佐保子, 大隈和, 山田典栄, 村山麻子, 豊田九朗, 脇田隆字, 浜口功. Evaluation of In Vitro Diagnostics for Hepatitis C Virus by Using Domestic Reference Panel. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10.

23-25.

53) 吉田弘「感染症法改正にかかわる病原体サーベイランスと信頼性確保について」平成 28 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、2016 年 10 月 20-21 日

54) 吉田弘「環境水ウイルスサーベイランスとは」第 57 回日本臨床ウイルス学会ランチョンセミナー、郡山市，平成 28 年 6 月 19 日

55) 李天成、周顕鳳，吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、中村朋史、 脇田隆宇。リバスジェネティク法によるDcHEVの作製およびその人獣共通感染の可能性の検討。第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23-25.

56) 脇田隆宇、B 型肝炎ウイルスに対する「創薬」研究と C 型肝炎ウイルスに対する「創薬後」研究、第 26 回抗ウイルス療法学会、名古屋市立大学（2016．5.13-15）招聘講演

57) 脇田隆宇、C型肝炎ウイルス感染細胞における膜小胞形成機構、平成28年度　北海道大学遺伝子制御研究所「感染、免疫、がん、炎症」研究集会、北海道大学など、(2017．3.13-14)

58) 渡邉則幸、伊達朋子、フセイン・アリ、相崎英樹、脇田隆宇．Induction of neutralization E2 antibody by immunization of recombinant E2 proteins. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23-25. ポスター発表

59) 渡士幸一、九十田千子、脇田隆宇．新規作用機序を有するB型肝炎ウイルス創薬．第52回日本肝臓学会総会．2016/5/19-20．幕張

60) 渡士幸一、志村聡美、Michael Peel、Ann Sluder、河合文啓、岩本将士、杉山真也、朴三用、田中靖人、溝上雅史、脇田隆宇、B 型肝炎ウイルス感染を阻害する新規 macrocycles の同定と、NTCP 依存性胆汁酸取り込み抑制を欠失した選択的阻害剤の創出、第 26 回抗ウイルス療法学会、名古屋市立大学（2016．5.13-15）口頭発表

61) 渡士幸一．Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter, sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP). 第29回肝臓フォーラム（東部）．2016/7/9．東京

62) 渡士幸一．肝炎ウイルスの創薬研究．京都大学ウイルス研究所セミナー，ウイルス研究の潮流シリーズ．2016/7/13．京都

63) 渡士幸一．肝炎ウイルス研究の現状と、抗ウイルス創薬研究．Summer Retrovirus Conference (SRC) 2016．2016/7/7-8．京都

64) 渡士幸一、九十田千子、脇田隆宇．B型肝炎ウイルス侵入過程を標的とした創薬研究．第41回日本肝臓学会東部会．2016/12/8-9．東京

65) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Development of novel hepatitis B virus culture system using immortalized human hepatocytes. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23-25. 口頭発表

66) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Hijikata M, Wakita T. Non-Stop mediated RNA decay mechanism targets HBV-X mRNA for degradation at the RNA exosome. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23-25.

67) Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng Xin, Yu Ting Kao, Gewaid E. Hossam, Zaitsu T, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Ultrastructure of liver cells in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. 第 15 回あわじしま感染症・免疫フォーラム、淡路夢舞台国際会議場、(2016．9.6-9) 口頭発表

68) Doan YH, Dennis FD, Chawla-Sarkar M, Ohta N, Armah GE, Katayama K. The difference of rotavirus profile between Japan, India and Ghana: Implications for the effectiveness of rotavirus vaccineJoint. Seminar on Infectious Diseases, Field of Microbiology, TMDU/ J-GRID Project University of Ghana and Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, March 13-14, 2017

69) Doan YH, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Shima Y, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Sakon N, Yoshioka K, Shinohara M, Kozawa K, Suzuki R, Sahara K, Kimura H, Shinomiya H, Katayama K. Genome-wide evolutionary analyses of human rotaviruses A detected in Japan between 2005 and 2015. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

70) Fujii K, Sudaka Y, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike K. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in a cynomolgus monkey model. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

71) Fujii Y, Kumagai H, Todaka R, Katayama K：Development of rapid and simple rotavirus typing method using automated electrophoresis system（自動電気泳動システムを用いた迅速・簡便なロタウイルスタイピング法の開発） 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

72) Fujimoto A, Haga K, Sugimoto S, Sato T, Doan YH, Miki M, Takai-Todaka R, Katayama K. Cultivation of human norovirus using human duodenal organoids. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

73) Fukano K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. B型肝炎ウイルスの侵入受容体阻害剤の同定とその機序の解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原

74) Funami K, Leong CR, Oshiumi H, Okamoto M, Takaki H, Matsumoto M, Chayama K, Watashi K, Seya T. ISG20 inhibits HBV replication by accelerating decay ofHBV genome. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

75) Haga K, Fujimoto A, Doan YH, Shimoike T, Todaka R, Miki M, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Identification of the functional receptor for murine norovirus. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

76) Iwamoto M, Kaneko M, Ohashi H, Kawai F, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Ryo A, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Protein kinase C triggers the internalization of hepatitis B and D viruses into hepatocytes. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

77) Iwamoto M, Kaneko M, Ohashi H, Kawai F, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Ryo A, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Protein kinase C triggers the internalization of hepatitis B and D viruses into hepatocytes. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原

78) Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Matsunaga H, Iwamoto M, Kawai F, Ohashi H, Tsukuda S, Shimura S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Sam-Yong Park, 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 through targeting NTCP. 東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム. 2016/12/10. 野田

79) 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. 細胞培養系を用いた新規抗B型肝炎ウイルス化合物の同定. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原

80) Kotani O, Yokoyama M, Nishimura Y, Nagata N, Shimizu H, Sato H, Prediction of enterovirus A71 functional region for the viral encapsidation. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10 月 23 日〜25 日

81) Matsuda M, Yamanaka A, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Wakita T, Suzuki R. Development of a neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

82) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M,

Simizu H, Hasegawa H: Utility of a neonatal mouse model for studying coxsackievirus B2. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosal route. 第64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

83） Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Aryl hydrocarbon receptor regulates the assembly of hepatitis C virus and affects the emergence of drug resistant virus against DAAs. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

84） Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, WakitaT, Watashi K. Aryl hydrocarbon receptorのC型肝炎ウイルス感染応答における役割・分子メカニズムの解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原

85） Okamura H, Akahori Y, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Fatty acid biosynthesis specifically regulates hepatitis B virus particle production. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

86） Rahayu R, Ohsaki E, Okamoto T, Watashi K, Ueda K. Analysis of the HBV life cycle in a HepG2 expressing human NTCP. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

87） Shimizu H, Nakamura T, Nishimura Y, Arita M, Yoshida H. Outbreak of type 1 vaccine-derived poliovirus in Laos in 2015-2016. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

88） Shimoike T, YoungBin Park, Kei Haga K, and Wakita T. Activity of HuNV RNA dependent RNA polymerase in different genotypes. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25. 口頭発表

89） Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima H, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

90） Shirasago Y, Shimizu T, Tanida I, Suzuki T, Suzuki R, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M, Fukasawa M. Occludin-knockout human hepatic cells are non-permissive to hepatitis C virus infection. RNA2016 京都、2016 年 6 月 28 日-7 月 2 日.

91） Shirasago Y, Shimizu Y, Kondoh M, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Fukasawa M. Prevention of hepatitis C virus infection by anti-occludin monoclonal antibodies in animal model. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25. 口頭発表

92） Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii.K Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate (E 型肝炎ウイルスレセプター候補の分子特性). 第 64 回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

93） Shiota T. Toward the identification of hepatitis E virus receptor (E 型肝炎ウイルスの受容体同定を目指して). AMED リサーチ・レジデント講演会、AMED20 階 201 会議室、2016 年 11 月 28 日

94） Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Characterization of origomeric flavonoids as a novel class of anti-HBV entry inhibitors that directly target viral envelope protein. 第64回日本ウイルス学会学術集会，札幌，2016．10．23−25.

95） Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Wakita T. 低分子化合物を用いたB型肝炎ウイルスの感染感受性決定機構の解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原

96） Wakita T, Kong L, Hossam Gewaid, Zheng, Xin, Aizaki H. Molecular mechanisms of HCV membrane replication complex formation.. 第 15 回あわじしま感染症・免疫フォーラム、淡路夢舞

台国際会議場、(2016. 9.6-9) 招聘講演

97) Watashi K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Iwamoto M, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park SY, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Strategy for hepatitis B and D virus entry inhibition without impairing NTCP-mediated bile acid uptake. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.

98) Yamashita Y, Mizota F, Yamashita M, Ochi A, Doan YH, Haga K, Fujimoto A, Katayama K, Kimura H, Shinomiya H. A novel chimeric GII.P21-GII.1 norovirus strain from epidemics of acute gastroenteritis in Ehime prefecture, Japan. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.

99) Doan YH, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Shima Y, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Sakon N, Yoshioka K, Shinohara M, Kozawa K, Suzuki R, Sahara K, Kimura H, Shinomiya H, Katayama K : Genome-wide evolutionary analyses of human rotaviruses A detected in Japan between 2005 and 2015 (2005 年から 2015 年までに日本において検出された A 群ロタウイルスのゲノムワイドな進化解析) 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.

100) Yokokawa H, Shinohara M, Nakamura N, Iwamura T, Suzuki T, Wakita T、Identification and characterization of human monoclonal anti-E2 antibodies cloned from chronic hepatitis C patient spleen cells.第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、(2016. 11.30-12.2) ポスター発表

III. その他

1) 有田峰太郎 ポリオ根絶最終段階で求められるポリオウイルス研究とその応用. 第26回感染研シンポジウム、2016.5.23

2) 清水博之 エンテロウイルスについて. 第 9 回健康局記者勉強会. 東京、2016 年 8 月 29 日

3) 清水博之 ポリオウイルスのバイオリスク管理. エンテロウイルス D68 感染症. 平成 28 年度感染症危機管理研修会. 東京、2016 年 10 月 13 日

4) 清水博之 ポリオ根絶に向けた検査と病原体管理. 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会、東京、2017 年 2 月 21 日

5) 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・市民連携セミナー. 東京、2016 年 12 月 6 日

6) 渡士幸一. 肝炎ウイルス培養系を利用した新規抗ウイルス剤の探索研究. AMED 肝炎等克服実用化研究事業 公開報告会 -肝炎研究 今、未来-. 2017/3/11. 東京

7) Someya Y. One-day Workshop on Sabin IPV D Antigen Content and Potency Assays Harmonization. 2017 年 5 月 2 日 米国・シアトル

8) Someya Y. Working Group meeting on developing WHO guidelines on safe production of polio vaccines.2017 年 9 月 22 日、23 日 スイス・ジュネーブ

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を進め、より正確で実用的な実験室診断技術の開発研究を行うとともに、日本で流行する麻疹ウイルスの詳細な調査、解析を行い、感染症疫学センター、厚労省と協力して、2015年3月に認定を受けた麻疹排除状況がその後も継続していることを、ウイルス学的、疫学的に示し、WHO 西太平洋地域事務局、地域麻疹排除認証委員会により麻疹排除状態が継続していると確認されている。また、麻疹ウイルス、風疹ウイルスを効率よく分離できる細胞の確立、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、麻疹ウイルスの複製に関与する宿主因子の探索に関する研究等を進めている。また、先端技術の応用として、麻疹ウイルスの再生医療用ベクターとしての応用研究、麻疹ウイルスワクチン株を利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イヌ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。また、風疹ならびに先天性風疹症候群の病原性を解析できるような動物モデルの構築を試みている。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

WHO 等が中心となり進めている麻疹排除計画では、検査診断に基づいた麻疹サーベイランス体制の確立を求めている。これに従い、日本では、「麻しんに関する特定感染症予防指針」を改訂し、原則、すべての麻疹疑い例に対して、ウイルス遺伝子検査と麻疹 IgM 検査の両方を実施することとしている。ウイルス遺伝子検査は、2007 年以降、感染研、レファレンスセンター、地方衛生研究所(地衛研)が共同で整備を進めてきた麻疹検査診断ネットワークの中において、主に全国の地衛研により実施され、IgM 検査は保険を利用して民間検査センター(検査センター)により実施されている。本研究はWHOの評価に資する検査診断ネットワークを構築することを目的としている。2015 年 3 月に日本は、WHO 西太平洋地域地域麻疹排除認証委員会により麻疹排除状態にあると認定された。2015 年においては 35 例の麻疹症例が報告され、うち 24 症例から麻疹ウイルスの遺伝子型決定部位の遺伝子が検出され、塩基配列、遺伝子型が決定された。ウイルスの塩基配列、発症時期、発生場所、渡航履歴等の解析から、2015 年においても、伝播を 1 年間以上、続けた麻疹ウイルスは存在せず、流行株の再興は認められず、麻疹の排除状態は維持されていると考えられた。なお、2015 年においては 1045 症例が、2016 年においては 1865 症例が地衛研において検査されている。精度管理としは、real-time PCR 法の標準化を咨るため、10 カ所の地衛研を対象に、国立感染症研究所において技術研修を行なった。それに合わせて、より円滑に real-time PCR 法を実施できるよう、病原体検出マニュアルを一部、改訂した。また 7 月末から 9 月にかけて発生したアウトブレイク時には、地衛研においてプローブ、プライマー等の不足が懸念されたことから、アンケートを行い、希望する地衛研にはそれらを配布した。一方、検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査結果、実態を随時、把握した。さらに検査センターに対して、麻疹 IgM 抗体、風疹 IgM 抗体に対する外部精度管理を実施し、検査施設としての適合性を示した。今後も地方衛生研究所や検査センターと協力し、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. 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

安全性が高く、免疫原性の強い弱毒生麻疹ワクチンの特性を生かした組換え生ワクチンの研究は、感染症のみならず、癌治療に対しても進められている。本研究は、HIV/AIDS、薬剤耐性結核などの難治性感染に対する効果的なワクチンの開発を目標とし、麻疹ワクチン株、AIK-C をベースとした組換えワクチンの作製とその性状解析を進めている。麻疹ウイルスレセプター発現マウスを用いた *Ex vivo* の実験で、組換え AIK-C は、骨髄由来未熟樹状細胞 (immature DC)、末梢リンパ球、脾臓細胞へ感染に感染することが確認できた。また、免疫マウスには、抗原特異的免疫応答も確認された。 今後は、

免疫応答について、より詳細な解析を進めて行く予定である。［染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓、竹田誠］

3. 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。輸出入における手続きが煩雑で海外への配布が難しい。このため、Vero/SLAM 細胞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。風疹ウイルス感受性の高い細胞としてヒト妊娠性絨毛癌由来細胞株 JEG3 細胞を選択し、麻疹ウイルス受容体である SLAM を発現させた JEG3/SLAM 細胞を作製した。JEG3/SLAM 細胞と Vero/SLAM 細胞における麻疹ウイルスの感染について比較したところ、JEG3/SLAM 細胞では多核巨細胞の広がりが小さく、CPE が不明瞭であった。次に JEG3／SLAM 細胞の細胞形態を変化させることで麻疹ウイルス CPE に違いがでるか検討を行った。JEG3/SLAM 細胞は JEG3 細胞と同様に極性上皮細胞様に細胞間が密着した形態を持つ。上皮間葉転換を生じる Snail 分子を JEG3/SLAM 細胞に発現させ JEG3/SLAM(snail)を作製したところ、線維芽細胞様形態への転換は認められなかったが、極性上皮様形態が少なくなった。本細胞への麻疹ウイルス感染について今後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］

4. 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、タンパク質質量分析法により解析したところ、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。また、siRNA を利用した各宿主因子候補のノックダウン細胞を用いた解析により、いくつかの因子は麻疹ウイルスの効率良い増殖に必要であることが明らかとなった。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おいて、どのような役割を担っているの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］

5. iPS細胞作製用麻疹ウイルスベクターの開発

麻疹ウイルス野生株の RNA ゲノムを分節化し、遺伝子改変することにより、広域な細胞に導入可能な非伝播型多遺伝子搭載可能な新規ウイルスベクターを開発した。 本麻疹ウイルスベクターに 5 遺伝子（GFP、OCT3/4、SOX2、KLF4、L-MYC）を搭載することにより、ヒト線維芽細胞および IL-2 存在下 CD3 刺激 T 細胞、または非刺激 T 細胞より iPS 細胞を誘導した。樹立した iPS 細胞はヒト ES 細胞様の形態を示し、NANOG 等の未分化マーカーの発現が確認できた。また、染色体の変異も認められず、in vitro、および in vivo において三胚葉系組織への分化能が確認できた。 また麻疹ウイルスベクターを用いた場合、センダイウイルスベクターでは再現できない、ヒト細胞から基底状態 iPS 様細胞を樹立することができた。この細胞は 2i（GSK3β と MEK の阻害剤）とヒト LIF 存在下、マウス ES 細胞に似たドーム型コロニーを形成し、NANOG および Tra-1-60 発現が確認できた。また単細胞解離を行い Rock inhibitor を用いずに維持培養することが可能であり、培養条件を変えることでヒト ES 細胞様コロニーへ誘導できた（特許出願済 PCT/JP2015/081145）。商品化に向けてタカラバイオと共同研究を開始した。［田原舞乃、平本貴史*、谷憲三朗*、竹田誠、*九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学］

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹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、2014～2016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。昨年度までに 2013 年の流行株のうち3系統は、12 ヶ月以上継続的な流行を示し、新たに日本の土着株となったと考えられることを明らかにした。そのうち、2 系統は遺伝子型 2B、1系統は遺伝子型 1E で、いずれも東南アジア近辺でよく検出されるウイルスと近縁であった。そこで今年度は2016年に日本の病原体サーベイランスを通じて検出された風疹ウイルスについて系統樹解析を行い、土着株の継続的な流行が認められるのか、また新たに土着株になったと考えられるようなウイルスが存在するのかを検討した。2016 年度に検出され、遺伝子配列が報告された 13 株について検討したところ、10 株が東南アジア検出株に近縁の遺伝子型 2B ウイルスであることが明らかになった。しかしながら、いずれも土着株とは明確に区別でき、直接的な子孫でない可能性が示唆された。2015 年以降、土着株の子孫が日本で検出された例は見つかっていない。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解析用 RT-PCR の改良に関する研究

病原体サーベイランスにおける風疹ウイルス遺伝子解析のためには、WHO が推奨する E1 遺伝子の遺伝子型窓領域 739 塩基の配列を増幅し、配列を決定する必要がある。現行の病原体検出マニュアル掲載法では、領域を2断片に分けて増幅するのだが、全国地方衛生研究所へ実態調査を行ったところ、どちらか一断片しか解析できない例があり、2016 年に解析を試みられた 23 例中、両断片の解析に成功した例は 14 例(61%)しかないことが明らかになった。そのため、本法について問題点を探るため、プライマーセットの解析と感度等の検討を行った。プライマーセットの解析では、いくつかのプライマーにプライマーダイマーの危険性の高さや、近年の株に対する不一致配列の蓄積、3’末端の不一致等問題点が明らかになった。特に E1-(3)断片増幅 RT-PCR の nested プライマーセットは他のプライマーセットと比較して明らかに増幅効率が悪いことが示された。今後、新規プライマーセットをデザインし、効率よく増幅できることを検証する予定である。
[森嘉生、岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、全国地方衛生研究所]

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前年度までにNSP領域中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 つの遺伝子が関与していることが強く疑われているものの、これらの変異のみで温度感受性獲得機序を充分に説明ができていない。このため感染性クローン由来のキメラウイルスに予期せぬ遺伝子変異が生じていないかを確認するために、次世代シークエンスを用いキメラウイルスの遺伝子解析を行った。この結果、各キメラウイルスに数箇所の遺伝子の変異が確認されたものの、温度感受性獲得機序を合理的に説明できる共通した変異は認められなかった。今後さらにデータの解析、キメラウイルスの性状解析を進め温度感受性規定遺伝子を特定する予定である。[大槻紀之、白銀勇太、坂田真史、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生]

4. 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としてきた。また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、またウイルスゲノムの複製には影響を与えないことを明らかとしてきた。本年度に於

いては風疹ウイルスの細胞膜上受容体としてSMにウイルスが結合するかの確認をおこなった。方法としてはリポソームを用いたフローテーションアッセイを行い、リポソームの構成脂質としてSMおよびコレステロール(Chol)を用いた。この結果、風疹ウイルス粒子はSMまたはChol単独で構成されるリポソームには結合せず、SM/Chol より構成されるリポソームに結合する事を明らかとした。このことより 細胞膜上のSMおよび Cholとが形成する脂質ラフト様構造がウイルスの受容体または接着因子として機能することが示された。[大槻紀之、齊藤恭子＊、坂田真史、花田賢太郎＊、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生:＊細胞化学部]

5. 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、RVpv が多くの接着系ヒト細胞株に感染すること、その一方で浮遊系ヒト免疫系細胞株へ殆ど感染しないことを確認している。ヒト免疫細胞を PMA 等の分裂促進因子で刺激すると風疹ウイルスに対する感染感受性が高まることが報告されており、我々も類似する結果を得ている。本研究では感受性の向上が細胞への侵入段階と関連しているかを明らかにするため、THP-1 細胞を PMA で処理して、RVpv の感染性の変化を検討した。PMA 未処理の THP-1 に RVpv を接種した場合は、感染性は殆ど認められなかった。PMA で THP-1 を処理した場合は、処理時間に依存して有意に感染性が増加した。RVpv の細胞内複製は内包する水疱性口内炎ウイルスのゲノムに依存的であるが、PMA 処理は水疱性口内炎ウイルスのゲノム複製に影響しなかった。以上の結果より、分裂促進因子による免疫系細胞の感染感受性の向上は風疹ウイルスの細胞侵入過程と関連していることが示唆された。 [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]

6. 風疹ウイルス感染における Heat shock protein 90 の役割

シャペロンタンパク質である Heat shock protein 90(Hsp90)は多くのウイルスで感染に寄与することが報告されている。風疹ウイルス感染における Hsp90 の関与を特異的阻害剤である 17-AAG と siRNA を用いて検討した。風疹ウイルスを細胞へ接種した後、17-AAG を添加してウイルス産生を検討した。その結果、17-AAG の濃度依存的にウイルス産生が有意に低下した。また、Hsp90 の siRNA で処理した細胞へ感染させた場合もウイルス産生が有意に低下した。更にゲノム複製への影響をサブゲノムレポーターアッセイにより検討した結果、ゲノム複製の有意な低下が認められた。ゲノム複製を担うウイルスタンパク質との相互作用を共免疫沈降法により検討した結果、Hsp90 はウイルスタンパク質 p150 と相互作用した。以上のことから、Hsp90 はp150と相互作用してウイルスゲノム複製に関与することが示唆された。 [坂田真史、加藤大志、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生]

7. 風疹ウイルス感染マウスモテルに関する研究

風疹ウイルスの病原性発現機構を解析するため、感染動物モデルの開発を試みた。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(IFN-α/βレセプターKOマウス)、およびI型とII型インターフェロン受容体欠損を導入したマウス(IFN-α/βレセプター、IFN-γレセプターKO マウス)の鼻腔内に風疹ウイルスを接種し、感受性を検討した。両者とも接種後 3 週目から抗風疹 IgG 抗体が上昇したことから、風疹ウイルスがこれらのマウス体内で感染・増殖することが示唆された。[岡本貴世子、黒須剛*、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生、*ウイルス第一部]

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の開発

新規おたふくかぜ(ムンプス)ワクチンの候補として、上衣細胞において高発現する microRNA (miR449)の相補配列をゲノムに有する組換えムンプスウイルス(rOdate/miR449)を遺伝子操作系によって作出し、ワクチンとしての有用性を検討してきた。これまでの培養細胞およびげっ歯類を用いた実験により、rOdate/miR449 の有用性について、一定の成果を挙げること

ができた。そこで、この結果をさらに発展させるために、霊長類であるマーモセットを用いて、その安全性(神経病原性の減弱)および有効性(免疫原性)を評価した。rOdate/miR449 をマーモセットに対して静脈内または経鼻接種したところ、無菌性髄膜炎に起因する発熱症状も病理学的所見も観察されなかった。しかしながら、親株であるrOdate についても同様に実験を行った結果、発熱症状および病理学的な髄膜炎所見が認められたのは静脈内接種で 5 頭中 1 頭、経鼻接種で 3 頭中 1 頭であり、静脈内または経鼻接種による感染実験では rOdate/miR449 の安全性を十分に評価することはできなかった。そこで、脊髄内接種によって、rOdate/miR449 の神経病原性の減弱の確認を試みた。その結果、rOdate/miR449 接種群では発熱発現時期に若干の遅延が認められたものの、rOdate および rOdate/miR449 のどちらのウイルスを接種した群においても、接種したすべての個体で発熱および病理学的髄膜炎所見が認められ、中枢神経からウイルス RNA が検出された。これまで実施したマーモセット用いた感染実験では rOdate/miR449 の安全性を明確に示すことはできず、今後さらなる検証が必要である。一方、すべての接種経路において、rOdate/miR449 は親株と同等な抗体誘導を示し、十分な免疫原性を有していることは明らかになった。[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 R2TP complex の役割

分子シャペロンの一つである Heat shock protein 90(Hsp90)は一鎖 RNA ウイルスのポリメラーゼタンパク質が機能を果たすのに必須の宿主因子である。Hsp90 の機能を詳細に理解するためには、Hsp90 の機能調節を担うコシャペロンと呼ばれる補助因子を明らかにする必要がある。そこでムンプスウイルスのポリメラーゼタンパク質(L タンパク質)の機能発現に必要な Hsp90 のコシャペロンを探索した。L タンパク質と相互作用する宿主因子を同定し、その中から Hsp90 のコシャペロンとして知られている R2TP complex に着目した。まず免疫沈降法によって、R2TP complex を構成する RuvBL1、RPAP3 および PHI1D1 が L タンパク質と相互作用することを確認した。また、siRNA を用いて、これら因子をノックダウンすると、L タンパク質の発現量の低下が認められた。さらに、RPAP3 をノックダウンした細胞では、Hsp90 阻害剤である 17-AAG 処理による L タンパク質の分解が促進されたことから、R2TP complex は L タンパク質の生合成の過程において、Hsp90 のコシャペロンとして機能することが示唆された。RPAP3 をノックダウンした細胞におけるムンプスウイルスの増殖が抑制されたことから、R2TP complex はムンプスウイルスの増殖に重要な Hsp90 のコシャペロンであることが示された。[加藤大志、坂田真史、中津祐一郎、木所稔、竹田誠]

3. ムンプスウイルス遺伝子検出のための新規 RT-LAMP 法の開発に関する研究

ムンプスの診断にはウイルス遺伝子検出による確定診断が不可欠である。臨床の現場では、簡便、迅速で特異性と感度の高い診断法が求められている。そこで、蛍光プローブを用いた新規の RT-LAMP 法(Q-probe 法)の開発を試みた。遺伝子型間で保存性の高い P 遺伝子領域を標的とするプライマーをデザインし、Y213 株(遺伝子型 B)由来cDNA から合成した RNA を鋳型として、特異性と感度について、検討を行った。その結果、従来のインターカレーターを用いた RT-LAMP 法では反応の後半で非特異反応によるシグナル上昇が観察されたのに対し、Q-probe 法では非特異反応は検出されなかった。また、Q-probe 法では 50 コピーまで安定して検出可能であり、特異性、感度の点で申し分の無い結果が得られた。[木所稔、村野けい子、加藤大志、仙波 晶平*:*栄研化学株式会社]

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追加免疫による免疫誘導をマーモセットモデル系で評価した。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。そこで、最後の接種から 1 年後に、再び同じ

ウイルスによる追加免疫を行った。その結果、rAIK-C/HN 接種群では抗麻疹抗体の上昇が認められたものの、rAIK-C/F 接種群ではブースター効果は認められなかった。 抗ムンプス抗体については、いずれの群においても誘導されなかった。

［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 17 ヶ所の地衛研と 4 ヶ所の病院の協力の下に、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、臨床検体と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 法および最尤法を用いて遺伝子型を決定した。

平成 28 年度は 14 の衛生研究所を含む 19 施設から、228 検体ものムンプスウイルス検体情報を収集し、分子疫学解析を行った。その結果、ほとんど（233 例、97.1%）は従来の遺伝子型 G が占めた。その一方で、国内ではまれな遺伝子型（I が 6 例、H が 2 例、F が 1 例）や、これまで国内での検出例が無い G の 2 つの亜型が検出された。

［木所稔、村野けい子、加藤大志、竹田誠、各地方衛生研究所の研究協力者*、浜端宏英**、美里 周吾***、新妻 隆広****、菅秀*****、:*秋田県健康環境センター、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、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、奈良県保健研究センター、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、***アワセ第一医院、***徳之島徳洲会病院、*****順天堂大学浦安病院、******国立病院機構三重病院、］

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、交差汚染リスクが低く、迅速診断可能なワンステップ Real-time PCR 法を確立した。しかし、プローブに使用した LNA による短鎖プローブにミスマッチを起こす流行株が検出されたため、新たに遺伝子型間の変異が少ないP遺伝子領域を標的としたプライマー、プローブをデザインし直した。併せて、プローブにはバックグラウンドを低減するためにダブルクエンチャープローブを採用した。新たなプライマー、プローブセットを用いたアッセイ法について検出感度、信頼性について検討した。その結果、新規のプライマー、プローブセ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、高い定量性を示した。

［木所稔、加藤大志、村野けい子］

IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1. 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)検出のための RT-LAMP 法の改良

2012 年に発生した中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)による重症肺炎は現在も中東を中心として発生が続いている。我々は過去に RT-LAMP 法による MERS-CoV の検出法(Virol J. 2014. 11:139)を開発している。本法は N 遺伝子領域を標的とし、遺伝子の増幅過程で発生する塩の沈殿による濁度を利用して検出をするものであるが、非特異反応によって生成された沈殿を検出する可能性を完全に否定できていない。そこで独立行政法人産業技術総合研究所と日鉄住金環境株式会社によって開発された Quenching Probe(Q probe)を利用した蛍光消光による検出法に切り替えるための研究を行った。また MERS-CoV は遺伝子検査での陽性に異なる 2 つの遺伝子ターゲットを用いる事が必要であり、

RT-LAMP のみで陽性と確定させるためにはもう 1 つ別のターゲットを検出する必要があった。そこで併せて ORF1a 領域で新たなプライマーセットを設計し、評価を行った。N、ORF1a ともにループプライマーである LB プライマーを Q probe として用いることとした。結果として濁度による検出と同レベルの感度であり、他の呼吸器ウイルスでの非特異反応は見られなかった。他のウイルスが確定している臨床検体でも非特異反応を示すことはなかった。これまでに GenBank に登録されている配列を検索すると、N プライマーセットでは 14 パターン、ORF1a プライマーセットでは 6 パターンのミスマッチ配列が存在していた。これらも人工合成した RNA をテンプレートとして評価を行ったところ、特に感度への影響は見られなかった。今後は 2 つのプライマーセットを利用して、RT-LAMP のみで確定検査が行えると考えられる。[白戸憲也、松山州徳]

2. ヒトプライマリ気管支上皮細胞の Air-Liquid Interface(ALI)培養を用いたヒトコロナウイルス分離法の検証

ヒトコロナウイルスの分離は困難を極めており、現在でもインフルエンザウイルスに対する MDCK のような最適の組み合わせというのは存在していない。ヒトコロナウイルスの HKU1株はこれまで遺伝子配列の検出のみで、分離に成功していなかったが、2010 年に ALI 培養を用いて初めて分離に成功したという報告があった(J Virol 2010. 84:11255)。我々も本法を用い、ヒトコロナウイルスが分離可能であるか否かの検討を行った。まず安定した ALI 培養の培養条件の検討を行ったが、これはクラボウのプライマリ細胞を購入し、継代 2 代目までの細胞を用いること。コーニング社の transwell insert(polyester membrane)を用いる事。Stem Cell 社の培地(PneumaCult-ALI)を用いる事、以上 3 点に特に留意することで可能となった。次に倫理的条件をクリアし、第 4 室で利用可能となっている臨床検体(咽頭拭い液等)のうち、リアルタイム RT-PCR でヒトコロナウイルス陽性となった検体 9 件(HKU1 4 件、OC43 4 件、229E 1 件)を用いて分離を試みたところ、HKU1 2 件、OC43 4 件の計 6 件でウイルス分離に成功した。S 蛋白質領域の遺伝子配列を確認し、株の同定も出来ている。成功したのはリアルタイム RT-PCR の判定サイクルが 30 サイクル未満の検体であり、30 サイクル以上の陽性では分離に成功しなかった。感度に課題があるが、本法を用いれば、これまでほとんど成功していなかったヒトコロナウイルスの分離が容易に可能であるという事がわかった。[白戸憲也、松山州徳]

3. ニューモウイルスの感染・増殖に必要な宿主因子の同定

ヒトメタニューモウイルス(hMPV)及びヒト RS ウイルスは共にニューモウイルス科に分類され、ほぼ全ての小児が幼少期に罹患するウイルスである。これらのウイルス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。また、特に乳児及び高齢者において重篤な下気道感染を引き起こすことが知られている。しかし、これらのウイルス感染症に対する有効なワクチンや抗ウイルス薬は現在存在しない。そこで我々は近年開発されたゲノム編集技術(CRISPR/CAS9システム)により作成されたゲノムワイド遺伝子発現ノックアウト細胞ライブラリーを用いて、ウイルスの感染・増殖に必要な宿主因子の網羅的解析を行っている。初めに Hela 細胞と RS ウイルスを用いて RS ウイルスの感染・増殖に必要な宿主因子の候補遺伝子を 90 種ほど見出した。今後はスクリーニングを繰り返し、候補遺伝子を絞り込むとともに、hMPV についても同様の解析を行い、ニューモウイルスの感染・増殖に共通して必要な宿主因子を見出すことを試みる。[直亨則、山地俊之*、白戸憲也、松山州徳、竹田誠: *細胞化学部]

4. ヒトメタニューモウイルスの G 遺伝子の進化

hMPV の G 蛋白はウイルスの細胞への吸着や、宿主の免疫応答抑制に関与していることが示唆されているが、その機能には不明な点が多い。近年、G 遺伝子に 180 塩基及び 111 塩基の重複配列を有する hMPV 株(A2b 株)が横浜市で複数検出されており、横浜市衛生研究所の七種美和子博士らとともに報告している。また、同様の株はスペインでも報告されている。近縁の RS ウイルスでも近年 G 遺伝子に 72 塩基及び 60 塩基の重複配列を持つ株が検出されており、G 遺伝子の重複配列の機能的意義は不明な点が多いものの、G 遺伝子に重複配列を持つ RS ウイルス株は現在主要な流行株の一つとなっている。そこで、我々は G 遺伝子に重複配列を有する hMPV 株が横浜市以外でもすでに広がっているのではないかと考え、仙台医医療センターの西村秀一博士の協力の下、2014 年以降に仙台市で検出された hMPV 株の塩基配列を解析し、近年仙台市で検出された A2b 株のおよそ半数が G 遺伝

子に 180 塩基の重複配列を有することを明らかにした。これまでに検出されたG遺伝子に重複配列を有するhMPV株はウイルスが分離されておらず、遺伝子情報のみであったが、今回解析した仙台市で検出された hMPV 株は感染性のウイルスが分離されている。今後はこの分離されたウイルスを用いて、hMPV の G 遺伝子の重複配列の機能的な意義を解明する予定である。[直亨則、七種美和子*、西村秀一**、竹田誠: *横浜市衛生研究所, **仙台医医療センター]

5. 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のプロテアーゼ指向性の変化

A型インフルエンザウイルス(IAV)は、宿主プロテアーゼによる HA 蛋白質の開裂により、感染力を獲得する。呼吸器上皮細胞に発現する膜結合型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 の遺伝子発現を欠損したマウス(TMPRSS2 KO マウス)を用いて、TMPRSS2 が HA 開裂部位に mono-basic なアミノ酸配列を持つIAV のマウス肺内でのHA開裂、病原性発現を規定する宿主因子であることが明らかとなった(Hatesuer et al. PLoS Pathog 2013; Tarnow et al. J Virol 2014; Sakai et al. J Virol 2014)。また、TMPRSS2 依存的な IAV を TMPRSS2 KO マウス肺で連続継代を行い、TMPRSS2 非依存的IAVを作出したところ、TMPRSS2 依存的な H3N2、H7N1 感染では TMPRSS2 KO マウスに致死性はなかったが、TMPRSS2 KO マウスで連続継代後、HA stalk 領域に 1 アミノ酸変異をもち、糖鎖を欠失した TMPRSS2 KO マウスに致死的な馴化ウイルスが得られた。更に、H7N1 を用いた同様の研究においても、TMPRSS2 KO マウス馴化株の HA stalk 領域の糖鎖欠失が確認されている。今後、H7N1 のより詳細な解析を実施するとともに、これらTMPRSS2 KO マウス馴化ウイルスがどのようなプロテアーゼを利用できるようになったのかを明らかにしたい。[酒井宏治、網康至*、駒瀬勝啓:*動物管理室]

6. H7N1 鳥インフルエンザウイルスのマウスでの病原性解析

新たな鳥インフルエンザ H7N9 のヒトへの新たな感染事例が報告され、H5 や H7 亜型によるヒト―ヒト感染によるパンデミックが危惧されている。これまで、ほとんどのインフルエンザウイルスマウス馴化株は接種量 20-50uL の経鼻接種(経気管投与に相当)で致死性を示すが、接種量 1-2uL の経鼻接種(経鼻局所接種に相当)では致死性を示さず、また肺実質での効率的なウイルス増殖も認められない。野生水禽由来 H7N1 発育鶏卵分離株(HA 開裂部位は mono-basic なアミノ酸配列で、鶏で非病原性株)とそのマウス馴化株を用いて、マウス体内でのウイルスの増殖性及び病原性について比較解析を実施した。発育鶏卵分離株とマウス馴化株のウイルスゲノム比較では、マウス馴化により、PB1 と M1 の 1 アミノ酸変異、NA の 24 アミノ酸欠損が認められた。マウス経鼻局所感染実験では、発育鶏卵分離株では、全てのマウスで致死性は認められず、感染 2 日後の肺では感染性ウイルスは全て検出限界以下であった。一方、マウス馴化株では全てのマウスで致死性を示し、また肺で高力価の感染性ウイルスを検出した。以上より、マウス馴化は発育鶏卵分離株と異なり、経鼻局所感染であっても、免疫系によりウイルスが生体内から排除される前に、効率よくマウス生体内を伝播し、病原性を発現していると考えられた。現在、水平感染(接触感染もしくは飛沫核感染)の有無、水平感染したマウスからの感染ウイルスの有無を解析中である。[酒井宏治、網康至*、駒瀬勝啓:*動物管理室]

7. 家禽でのトリインフルエンザウイルス増殖に必要な宿主因子の検索

トリインフルエンザウイルス(AIV)が感染性を発揮するには、ウイルス膜蛋白質の HA がプロテアーゼにより蛋白質分解性の修飾(HA の開裂)を受け、膜融合活性を発現する必要がある。AIV は自身でプロテアーゼ遺伝子を持たないため、HA を開裂できるプロテアーゼを宿主から借用する必要があり、AIV 増殖場所はそのプロテアーゼが存在する組織に限定される。申請者らは、季節性インフルエンザの哺乳類(マウス)での病原性発現には、呼吸器に発現しているセリンプロテアーゼ TMPRSS2 のみが必須の宿主因子であることを明らかにした。一方、AIV の自然宿主のトリ生体内で HA を開裂する宿主プロテアーゼは不明であり、ニワトリ TMPRSS2 の AIV の HA 蛋白質の開裂能について検証を試みた。ニワトリ TMPRSS2 の遺伝子クローニングを行い、アミノ酸配列を決定した。プラスミドを用いたニワトリ TMPRSS2 の蛋白質機能解析では、AIV の HA 開裂が認められた。今後、ニワトリの TMPRSS2 の生体内発現分布、AIV の自然宿主である野生水禽類のカモ TMPRSS2 の蛋白質機能解析を試みる。[酒井宏治、網康至*:*動物管理

室]

サーベイランス業務

1. 平成 28 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、感染症疫学センターを通じて配布した。試験誤差の有無を検討するための事前確認検査用検体を整備・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 27 年度に得られた成績をまとめ報告した。[大槻紀之、感染症疫学センター、森嘉生]

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 3 ロット、風しんワクチン中間段階 2 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 1 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 2 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 17 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 171 ロットの検定(麻疹抗体測定試験)を行った。[關文緒、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠]
3. インターフェロン製剤 2 ロット(rec β-1b 1 ロット、天然型 β 1 ロット)の収去検査を行った。[白戸憲也、松山州徳]
4. 感染症検体パネル整備事業に基づき、抗風疹抗体パネルの整備を行った。現行の風疹 IgG 抗体陽性パネルに 7 検体ならびに陰性パネルに 7 検体を追加した。また、81 検体からなる新規風疹 IgG 抗体陽性パネル 2 を整備し、登録した。所内ボランティアをつのり、次期パネル候補血清を採取し、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. 麻疹病原体検出マニュアル-麻疹-を改訂した(3.4 版)[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、竹田誠、長野秀樹*、三好正浩*、池田辰也*、青木洋子*、小川知子*、西嶋(本間)陽奈*、七種美和子*、稲畑良*、児玉洋江*、皆川洋子*、安井善宏*、加瀬哲男*、倉田貴子*、佐倉千尋*、村田祥子*、梶原淳睦*、濱崎光浩*、世良暢之*、加藤峰史*、平勝也*、塚越博之**、秋吉京子***、奴久妻聡一***、*麻疹・風疹レファレンスセンター、** 群馬県衛生環境研究所、*** 神戸市環境保健研究所]
3. 麻疹のアウトブレイクに備えて、24 ケ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、プローブを配布した。また、6 ヶ所の地方衛生研究所にリアルタイム PCR 用参照 RNA を、4 カ所の地方衛生研究所に RT-PCR 用参照 RNA を、2ヶ所の地方衛生研究所にサイズマーカーを配布した。[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]
4. 第 37 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]2016 年 7 月 21-22 日
5. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 5 カ所の地方衛生研究所に配布した。[森嘉生、永井美智]
6. ムンプスの行政検査を 3 件実施した。[木所稔]
7. 2 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]
8. 1 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス分離用に Vero 細胞を送付した。[木所稔、村野けい子]
9. 地方衛生研究所関東甲信静ブロック専門家会議において、「ムンプスウイルス:国内流行状況と実験室診断」という演題で教育講演を行った。[木所稔]
10. 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 3 件 [白戸憲也、松山州徳]

国際協力業務

1. 15th WHO Global Measles and Rubella Laboratory

Network Meeting（2017 年 6 月 27-29 日、スイス、ジュネーブ市）に参加し、Global Specialized Laboratory としてのウイルス第三部の活動について報告するとともに、一部のセッションの Chair を務めた。[竹田誠]

2. 26th Meeting of the Technicl Advisory Group (TAG) on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in the Western Pacific Region（2017 年 6 月 13-16 日、フィリピン、マニラ市）に参加して、麻疹、風疹を含むワクチン予防可能疾患の対策について議論を行った。[竹田誠]
3. Research Prioritization Meeting of the Measles and Rubella Inisitative 会議（2016 年 11 月 29-30 日、米国、ワシントン DC）に参加して、麻疹、風疹の今後の対策にとって重要な課題について検討を行った。[竹田誠]
4. 「Accelerating progress towards measles and rubella control/elimination goals」 meeting（2015 年 6 月 20～6 月 23 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]
5. 6th Meeting on Vaccine-Preventable Diseases Laboratory Network in the Western Pacific Region （フィリピン、マニラ） 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、森嘉生、竹田誠]（2016 年 9 月 14 日～15 日）。本会議の議長（Chair）を務めた。[竹田誠]
6. 25th Meeting of the Technicl Advisory Group (TAG) on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in the Western Pacific Region（2016 年 7 月 26-29 日、フィリピン、マニラ市）に参加して、麻疹、風疹を含むワクチン予防可能疾患の対策について議論を行った。[竹田誠]
7. 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]（2016 年 11 月 28 日～12 月 2 日）
8. 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]

研修業務

1. 平成 28 年度 検定・検査教育講習会 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]2016 年 6 月 1 日
2. JICA 研修事業、「パキスタン:母子保健における定期予防接種」においてパキスタンの研修生 5 名に対して「Measles and measles elimination」の講義をおこなった。[駒瀬勝啓]（2016 年 12 月 20 日）
3. 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)」の研修生に対して「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 31 日）
4. JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生 13 名に麻疹 IgM 抗体測定法、real-time RT-PCR 法、RT-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、山田裕加里、駒瀬勝啓]2017年 1 -2 月
5. 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会において、「麻疹の現状と検査診断法」の講義を行なった、[駒瀬勝啓]（2017 年 2 月 21 日）
6. 10ヶ所の地方衛生研究所に麻疹リアルタイムPCR検査法の研修を実施した。[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、岡本貴世子、坂田真史、大槻規之、永井美智、駒瀬勝啓、森嘉生、木村博一(感染症疫学センター)]（2016年12 月6日～12 月 8 日）
7. JICA 集団研修「ポリオ及び麻疹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 13 名に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]2017 年 1-2 月
8. 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（2017 年 2 月 1 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. (2016) A chicken homologue of nectin-4 functions as a measles virus receptor. Vaccine. 34:7-12.
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. 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
4. Mori Y, Miyoshi M, Kikuchi M, Sekine M, Umezawa M, Saikusa M, Matsushima Y, Itamochi M, Yasui Y, Kanbayashi D, Miyoshi T, Akiyoshi K, Tatsumi C, Zaitsu S, Kadoguchi M, Otsuki N, Okamoto K, Sakata M, Komase K, Takeda M. (2017) Molecular Epidemiology of Rubella Virus Strains Detected Around the Tome of the 2012-2013 Epidemic in Japan. Front. Microbiol. 8, doi: 10.3389/fmicb.2017.01513
5. 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.
6. 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.
7. Sakata M, Tani H, Anraku M, Kataoka M, Nagata N, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, and Mori Y. Analysis of VSV pseudotype virus infection mediated by rubella virus envelope proteins. Sci Rep (in press)
8. Katoh H, Kubota T, Ihara T, Maeda K, Takeda M, Kidokoro M. Cross-neutralization between human and African bat mumps viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 22(4), 703-6. 2016
9. Katoh H, Kubota T, Nakatsu Y, Tahara M, Kidokoro M, Takeda M. Heat shock protein 90 ensures efficient mumps virus replication by assisting with viral polymerase complex formation. *J. Virol.* 91(6), e02220-16. 2017
10. Shirato K, Maejima M, Islam MT, Miyazaki A, Kawase M, Matsuyama S, Taguchi F. Porcine aminopeptidase N is not a cellular receptor of porcine epidemic diarrhea virus, but promotes its infectivity via aminopeptidase activity. *J Gen Virol. 2016 Oct;97(10):2528-2539.*
11. Shirato K, Kanou K, Kawase M, Matsuyama S. Clinical Isolates of Human Coronavirus 229E Bypass the Endosome for Cell Entry. *J Virol. 2017;91(1):e01387-16.*
12. Rota P, Moss WJ, Takeda M, de Swart RL, Thompson KM, Goodson JL. (2016) Measles. Nat Rev Dis Primers 2:16049
13. Matsushima Y, Shimizu T, Doi I, Mizukoshi F, Nagasawa K, Ryo A, Shimizu H, Kobayashi M, Funatogawa K, Nagata N, Ishikawa M, Komane A, Okabe N, Mori Y, Takeda M, Kimura H. (2017) A detection method for the rash and fever illness-associated viruses using multiplex RT-PCR. Microbiol Immunol 61:337-44.
14. Pratakpiriya W, Teh APP, Radtanakatikanon A, Pirarat N, Thi LN, Takeda M, Techangamsuwan S, Yamaguchi R. (2017) Expression of canine distemper virus receptor nectin-4 in the central nervous system of dogs. Sci Rep. 7:349.
15. 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

16. Watanabe A, Kobayashi Y, Shimada T, Yahata Y, Kobayashi A, Kanai M, Hachisu Y, Fukusumi M, Kamiya H, Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Kanou K, Saitoh T, Arai S, Satoh H, Okuno H, Morino S, Matsui T, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Takeda M, Komase K, Oishi K, Exposure to H1 genotype measles virus at an international airport in Japan on 31 July 2016 results in a measles outbreak. Western Pac Surveill Response J. (2017) Feb7;8(1):37-39.
17. Yamaoka Y, Matsuyama S, Fukushi S, Matsunaga S, Matsushima Y, Kuroyama H, Kimura H, Takeda M, Chimuro T, Ryo A. Development of Monoclonal Antibody and Diagnostic Test for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Using Cell-Free Synthesized Nucleocapsid Antigen. *Front Microbiol. 2016 Apr 20;7:509.*
18. Saikusa M, Kawakami C, Nao N, Takeda M, Usuku S, Sasao T, et al. 180-Nucleotide Duplication in the G Gene of Human metapneumovirus A2b Subgroup Strains Circulating in Yokohama City, Japan, since 2014. *Front Microbiol. 2017;8:402.*
19. Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. (2016) No susceptibility of neonatal and adult rats against the Middle East respiratory syndrome coronavirus. Jpn J Infect Dis. 69:510-6.
20. 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. 60:6532-9.
21. Aoki Y, Matoba Y, Tanaka S, Yahagi K, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Takeda M, Mizuta K. (2016) Chronological changes of mumps virus genotypes in Japan between 1999-2013. Infect Dis (Lond). 48:524-9.
22. Do Phuong Loan, Nguyen Minh Hang, Trieu Thi Thanh Van, Thi Mai Duyen, Katsuhiro Komase, Nguyen Tran Hien, Comparison of laboratory methods for measles diagnosis in Northern Vietnam, 2014. (2016) Vietnam Journal of Preventive Medicine. 12 (185) 24-9.
23. Shima R, Li TC, Sendai Y, Kataoka C, Mori Y, Abe T, Takeda N, Okamoto T, Matsuura Y. (2016) Production of hepatitis E virus-like particles presenting multiple foreign epitopes by co-infection of recombinant baculoviruses. Sci Rep. 24(6), 21638
24. Kuba Y, Kyan H, Arakaki E, Takara T, Kato T, Okano S, Oshiro Y, Kudaka J, Kidokoro M. Molecular Epidemiological Study of Mumps Epidemics of 2015 in Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 2016.390. Epub 2016 Dec 22.
25. Hashimoto S, Yamamoto S, Ogasawara N, Sato T, Yamamoto K, Katoh H, Kubota T, Shiraishi T, Kojima T, Himi T, Tsutsumi H, Yokota S. Mumps virus induces protein-kinase-R-dependent stress granules, partly suppressing type III interferon production. *PLoS ONE* 11(8), e0161793. 2016
26. Li TC, Yoshizaki S, Zhou X, Sentsui H, Shirato K, Matsuyama S, Melaku SK, Bazartseren B, Takeda N, Wakita T. Serological evidence of hepatitis E virus infection in dromedary camels in Ethiopia. *J Virol Methods. 2017 Aug;246:34-37.*
27. Ujike M, Huang C, Shirato K, Makino S, and Taguchi F.. The contribution of the cytoplasmic retrieval signal of severe acute respiratory syndrome coronavirus to intracellular accumulation of S proteins and incorporation of S protein into virus-like particles. *J Gen Virol. 2016, 97(8):1853-1864.*

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、白銀勇太、（2016）ヒトメタニューモウイルス感染症、臨床病理　64:1057-64

3. 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.
4. 駒瀬勝啓、染谷健二、中津祐一郎、竹田誠（2017）麻疹の検査診断法（real-time PCR 法を中心に）、病原体検出情報　38:11-12.
5. 駒瀬勝啓 (2017)　麻疹ウイルスの分子疫学、小児科、58(4)：373-379.
6. 駒瀬勝啓(2016) 我が国における麻疹対策の現状と課題、検査と技術，44(11)：1046-48.
7. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠（2017）世界の麻疹ウイルスの流行状況、2016 年、病原体検出情報 38：14-15.
8. 森嘉生、坂田真史、竹田誠、海外での風疹対策の現状、病原微生物検出情報 37:76-77，2016
9. 木所稔、(2016) おたふくかぜ、小児科臨床、69(10)：1741-1747
10. 木所稔、村野けい子、加藤大志、久保田耐、竹田誠、成相絵里　児玉洋江、久場由真仁、中田恵子、後藤慶子、小森はるみ、小倉　惇、吉岡健太、清田直子、戸田昌一、國吉香織、村田達海、坂田和歌子、広川智香、田村務、渡部香、横井一、坂本美砂子、柴原乃奈、浅沼理子、佐野貴子、安藤克幸、山本美和子、杉木佑輔、皆川洋子、伊藤雅、安井善宏、柴田ちひろ、斎藤博之、渡辺ユウ、浜端宏英、名木田章、石橋孝勇、庵原俊昭、（2016）国内で流行するムンプスウイルスの分子疫学的解析、病原微生物検出情報、37(10)：194-195
11. 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）
12. 松山州徳，ヒトコブラクダに蔓延している中東呼吸器症候群コロナウイルス，呼吸器内科，31(1)：1-6（2017）
13. 松山州徳，中東呼吸器症候群（MERS），日本内科学会雑誌，106(3)：409-414（2017）
14. 白戸憲也　ヒトコロナウイルス，LABIO21　NO.64，4月号（2016）
15. 佐藤弘、多屋馨子、駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠、2015 年度麻疹風疹感受性調査実施都道府県、麻疹および風疹の予防接種状況・抗体保有状況-2015 年度感染症流行予測調査、病原微生物検出情報 37:72-74，2016
16. 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流行性耳下腺炎の流行―沖縄県、病原微生物検出情報、37(10)：187-188
17. 成相絵里、中澤柾哉、児玉洋江、倉本早苗、﨑田敏晴、吉田守孝、崎川曜子、木所稔、（2016）石川県における流行性耳下腺炎の流行について、病原微生物検出情報、37(10)：188-189
18. 中田恵子、西村公志、弓指孝博、久米田裕子、木所稔、（2016）2015年から検出が続いているG型ムンプスウイルスの分子系統解析―大阪府、病原微生物検出情報、37(10)：189-191，2016
19. 亀之園明、美里周吾、砂川富正、神谷元、松井佑亮、木所稔、（2016）鹿児島県徳之島におけるムンプスの流行像、病原微生物検出情報、37(10)：191-192、
20. 伊波善之、大城裕子、久場由真仁、喜屋武向子、仲間絵理、髙良武俊、加藤峰史、岡野祥、久高潤、仁平稔、山内美幸、安藤美恵、神谷元、砂川富正、小林祐介、木所稔、（2016）沖縄県内における流行性耳下腺炎の流行と重症例に関する積極的疫学調査（2015年）、病原微生物検出情報、37(10)：192-194

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Anraku M, Ikuyo Takayama, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. (2016 September 6-9, Hyogo, Japan) Proteolytic activation of hemagglutinin proteins of influenza A and influenza B viruses in vivo. The 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
2. 松山州徳，MERS-CoV，50th US-Japan Cooperative Medical Science Program（2016 年 1 月 11～15 日、メリーランド、USA）
3. 松山州徳，日中韓シンポジウム，MERS コロナウイルスの

検査について, 2016 年 12 月 19 日 l 日, 北京

4. Shirato K, Ujike M, Kawase M and Matsuyama S, Identification of host cell factors that influence the multistep replication of respiratory syncytial virus. American Society for Virology 34th Annual Meeting, London, Ontario, Canada. 2015, July 11-15.
5. Otsuki N, Sakata M, Saito K, Okamoto K, Mori Y, Hanada K, Takeda M. (2017 July 17-21. Singapore) Cellular Sphingomyelin plays an essential role in infection of rubella virus. 17th IUMS International Congress of Virology.
6. Saikusa M, Kawakami C, Nao N, Takeda M, Usuku S, Sasao T, Nishimoto K, Toyozawa T. (2017 July 17-21. Singapore) 180-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus A2b subgroup strains circulating in Yokohama city, Japan, since 2014. 17th IUMS International Congress of Virology.
7. Tahara M, Hiramoto T, Miura Y, Kurita R, Hamana H, Inoue K, Kohara H, Liao J, Karasawa N, Okano S, Yamaguchi Y, Oda Y, Ichiyanagi K, Sasaki H, Kishi H, Muraguchi A, Tani K, Takeda M. (2017 June 23-24. Rochester, Minnesota) Establishment of primed and naïve-like human iPS cells using a new measles virus-modified vector. The 5th minisymposium on Measles Virus.

国内学会

1. 竹田誠 緊急セッション 麻疹:国内流行と対策 世界の中の日本とラボの役割、第 64 回日本ウイルス学会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日
2. Takeda M. Host and viral determinants for proteolytic activation of respiratory viruses. The 2nd International Symposium on Melecular Basis of Virus-Host Interactions. 札幌、2016 年 10 月 22-23 日
3. 竹田誠、田原舞乃、前仲勝実、麻疹ウイルス H タンパクの5つの主要な抗原エピトープ、第 48 回日本小児感染症学会、岡山、2016 年 11 月 19-20 日(ポスター賞受賞)
4. 竹田誠、麻疹ウイルス H タンパクの5つの主要な抗原エピトープ、6th Negative Strand Virus-Japan、宜野湾、沖縄、2017 年 1 月 16-18 日
5. 竹田誠、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 とインフルエンザウイルス、第 31 回 インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、静岡、2017 年 6 月 8-10 日
6. 酒井宏治、竹田誠、野生水禽由来 H7N1 のマウスでの病原性、第 30 回 インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、山形、2016 年 5 月
7. 酒井宏治、竹田誠、インフルエンザウイルスの HA ストーク領域糖鎖欠失とプロテアーゼ特異性の変化、第 57 回日本臨床ウイルス学会プログラム、シンポジウム、福島、2016 年 6 月
8. 酒井宏治、中島典子、駒瀬勝啓、竹田誠、呼吸器病ウイルスの病原性発現に関わる宿主プロテアーゼ TMPRSS2 の意義、第 57 回日本臨床ウイルス学会プログラム、福島、2016 年 6 月
9. 大槻紀之、坂田真史、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生、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、第 119 回日本小児科学会学術集会、札幌、2016 年 5 月 13-15 日
10. 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、風疹ウイルスエンベロープタンパク質を持つシュードタイプ VSV はヒトリンパ系細胞株へ侵入出来ない、第 64 回日本ウイルス学会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日
11. 木所 稔、成相 絵里、後藤 慶子、中田恵子、佐野貴子、安藤 克幸、柴田ちひろ、竹田 誠、庵原俊昭、ムンプスの国内サーベイランス網構築の試みと近年国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第57回日本臨床ウイルス学会、福島、2016 年 6 月 18-19 日
12. 木所 稔、村野けい子、加藤大志、須崎百合子、永田典代、岩田奈織子、安楽正輝、竹田 誠、長谷川秀樹、網康至、現行ムンプスワクチンを用い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、第20回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月 22-23 日
13. Katoh H, Kubota T, Nakatsu Y, Kidokoro M, Takeda M. Heat shock protein 90 promotes mumps virus replication

by stabilizing the viral polymerase. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日

14. 加藤大志、久保田耐、中津祐一郎、木所稔、竹田誠、ムンプスウイルスのポリメラーゼ複合体形成における Heat shock protein 90 の役割、第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日(優秀ポスター賞受賞)
15. 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
16. 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
17. 松山州徳, Four years have passed since Middle East respiratory syndrome coronavirus was identified in Saudi Arabia, 日本ウイルス学会シンポジウム, 2016 年 10 月 23 日(北海道)口演
18. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS), 日本内科学会「内科学の展望」にて講演, 2016 年 11 月 27 日(広島) 口演
19. 松山州徳, コロナウイルスの細胞侵入について, 大阪大学セミナー2017 年 2 月 17 日(大阪) 口演
20. 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
21. Shirogane Y, Watanabe O, Kidokoro M, Nishimura H, Takeda M. The full-genome sequence and genetic variations of human metapneumovirus isolated in Japan analyzed by next generation sequencing. 第 64 回日本ウイルス学会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日
22. 水田克巳、松嵜葉子、竹田誠、臨床検体からのウイルス分離株の同定が困難であった経験から、第 57 回日本臨床ウイルス学会、郡山、2016 年 6 月 18-19 日
23. 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
24. 宮本優介、福原秀雄、鈴木佑佳、佐藤亮、中津祐一郎、竹田誠、前仲勝実、TMPRSS2 の阻害クリーニング第 12 回日本ケミカルバイオロジー学会、札幌、2017 年 6 月 7-9 日
25. Saito M, Fukuhara H, Higashibata M, Nakatsu Y, Takeda M, Hashiguchi T, Yanagi Y, Maenaka K. Screening for entry inhibitors targeting the H protein expressing on surface of measles virus. 第 64 回日本ウイルス学会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日
26. Yamaoka Y, Fukushi S, Matsunaga S, Matsushima Y, Kuroyama H, Kimura H, Takeda M, Chimuro T, Ryo A. Generation of virus-like particle for Middle East respiratory syndrome coronavirus. 第 64 回日本ウイルス学会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日
27. 古村みゆき、酒井宏治、Nathanan Sangsriratnakul、網康至、山口良二、駒瀬勝啓、竹原一明、竹田誠、サルとヒトの犬ジステンパーウイルスへの感受性の違いを決める受容体上のアミノ酸置換の同定、第 159 回日本獣医学会学術集会、藤沢、2016 年 9 月
28. Nathanan Sangsriratnakul、酒井宏治、古村みゆき、駒瀬勝啓、竹原一明、竹田誠、インフルエンザウイルスのマウス水平感染モデル作出の試み、第 159 回日本獣医学会学術集会、神奈川、2016 年 9 月
29. Nathanan Sangsriratnakul、Kouji Sakai、Miyuki Komura、Masaki Anraku、Katsuhiro Komase、Kazuaki Takehara、Makoto Takeda, Roles of TMPRSS2 in human metapneumovirus infection、第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 11 月
30. Anraku M, Matsunaga S, Sakata M, Miyazawa K, Kudoh A, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y, Ryo A.Identification of a small-molecule chemical compound inhibitor for hemagglutination and infection of rubella virus、第 64 回日本ウイルス学会、札幌、2016 年 10 月 23-25 日
31. 松本和明、西村聡、星野顕宏、田中真理、山下基、下村真毅、堀越泰雄、渡邉健一郎、森嘉生、加藤環、野々山恵章、小田紘嗣、小原收、満生紀子、柳町昌克、梶原道子、今井耕輔、高木正稔、金兼弘和、森尾友宏、風疹ウ

イルスワクチン株の持続感染を契機に診断した LIG4 欠損症に対し、非血縁者間骨髄移植を施行した一例、第 58 回日本小児血液・がん学会学術集会、東京、2016 年 12 月 15-17 日

III. そ の 他

1. 竹田誠、麻疹（はしか）の排除はどこまで進んだか、第 6 回日本微生物学連盟フォーラム「人類は感染症を克服できるか」、東京、2016 年 4 月 23 日
2. 竹田誠、モルビリウイルスの病原性発現の分子基盤、第 26 回感染研シンポジウム WHO the expanded program on immunization (EPI) と麻疹・ポリオの排除・根絶、東京、2016 年 5 月 23 日
3. 竹田誠、麻疹風疹排除に対する実験室の貢献、WHO プライマリヘルスケア看護開発協力センター People-Centered Care セミナー 疾病の根絶・制圧と日本の貢献、東京、2017 年 1 月 7 日
4. 駒瀬勝啓、麻疹排除と麻疹ワクチン、知の市場、国立感染症研究所、東京、2016 年 11 月 8 日
5. 駒瀬勝啓、麻疹に関する最近の話題 -ウイルス学的観点から- 、感染症意見交換会、国立感染症研究所、東京、2017 年 3 月 27 日
6. 木所稔, 第 119 回日本小児科学会学術集会モーニング教育セミナー2 にて講演, 2016 年 5 月 14 日(札幌)
7. 木所稔,「ムンプスウイルス：国内流行状況と実験室診断」, 地方衛生研究所関東甲信静ブロック専門家会議にて講演, 2016 年 10 月 12 日(千葉)
8. 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)
9. 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)
10. 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)

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、肺炎球菌感染症に対する3種類のワクチン、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臨床現場からの直接の検査依頼、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ている。

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=2679)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。ドラフトゲノムデータとその利用法について検討が進められた。

感染症研究国際ネットワーク推進プログラムの協力のもと、海外の研究拠点との連携を深めてきた。岡山大学インド拠点、大阪大学タイ拠点、長崎大学ベトナム拠点、神戸大学インドネシア拠点との連携プロジェクトを引き続き実施した。今後は疫学解析にゲノムデータを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) 重症例由来株の同定

ア ヒト由来 EHEC の血清型別

2016 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 2,679 株であった。頻度の高い O 血清群の順に O157(57.9%)、O26(24.4%)、O103(4.6%)、O111(2.7%)、O121(1.9%)、O145(1.5%)で、その他は 49 の O 群、82 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 835 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、竹本 歩、李 謙一、石原朋子、泉谷秀昌、大西 真]。

イ HUS 患者便からの Stx2f 産生性 *Escherichia albertii* の分離

大腸菌と近縁の新興下痢症起因菌である *Escherichia albertii* は近年、国内で大規模な集団感染事例が多数報告されているが、その大部分は志賀毒素(Stx)非産生株である。我々は、HUS 患者便から *E. albertii* を初めて分離し、Stx2f 産生性であることを確認した。さらに、分離菌株を用いた血清診断から、患者血清中に分離された *E. albertii* に対する特異的な凝集抗体価が一過的に上昇していることを確認した [伊豫田 淳、石嶋 希、小澤さお美、竹本 歩、李 謙一、大西 真]。

(2) 分子疫学的解析

ア 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析(血清群 O157,O26,O111)

2016 年に当研究所に送付され解析された腸管出血性大

腸菌は 2,679 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 2,276 株について MLVA による型別を行った。MLVA については 890 の型が同定された。最も多かった型は 15m0278 で 52 株であり、次いで 16m0234（49 株）、16m0217（47 株）であった。15m0278 は、2016 年 10 月に発生した広域食中毒事例関連株を含んでいた。MLVA の分解能（Simpson's Diversity Index）は、O157 1,549 株については 0.992 であり、O26 655 株についてはともに 0.987、O111 72 株については 0.971 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、竹本歩、吉田愛、大西真］

イ EHEC の PFGE 解析

2016 年に国内で分離された EHEC O157、O26、O111 の 756 株とその他の O 群 381 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、O121（Type No [TN] TN121m1）、O103（TN103m2、TN103m3、TN103m8）、O145（TN145m1、TN145m2）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）、平井昭彦（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、竹本歩、吉田愛、大西真］

エ 輸入食品由来 EHEC O103 の PFGE 解析

2016 年 7 月に検疫所におけるモニタリング検査の結果、輸入キムチから EHEC O103 が検出され、当該株が当部に搬入された。食品由来株とヒト由来株の比較解析のため、当該株の PFGE 解析を実施し、データベースとの照合を行った。その結果、2017 年 3 月時点においてヒト由来株中に当該株と同一の PFGE プロファイルは検出されなかった[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]

オ EHEC O146 の国内流行株の解析

2013 年以降 EHEC O146 分離株数の増加が認められたことから、国内における流行株の把握, 広域・散発的発生事例を探知するため、分子疫学解析およびゲノム解析により EHEC O146 の発生動向を調べた。その結果、同一 PFGE 型（TN）146k1 株が広域で検出されていることが明らかとなった[石原朋子、吉田 愛、斉藤康憲、中島雪絵、高井信子、小澤さお美、寺嶋淳（国立医薬品食品衛生研究所）伊豫田 淳、泉谷秀昌、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なる。血清診断依頼があった 11 例中 HUS 症例は 10 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、O111 が 1 例、O165 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、竹本 歩、齊藤剛仁（疫学セ）、大西 真］。

(4) 大腸菌の H 型を決定する PCR 法の確立

大腸菌のべん毛抗原型（H 型）として定義されている 53 種類のうち、49 種類を単独の型として、残り 4 種類を 2 つのグループとして型別可能なマルチプレックス PCR 系を確立し、大腸菌 H 型の全標準株を用いて特異性及び整合性を確認した［番上将也（宮崎大・農）、井口 純（宮崎大・農）、伊豫田 淳、小澤さお美、竹本 歩、大西 真］。

2. 赤痢菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア 赤痢菌の分子疫学解析

2016 年に当研究所に送付された赤痢菌 72 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* 55 株、*S. flexneri* 17 株であった。*Shigella sonnei* では 2016 年に 46 の MLVA 型が検出された。［泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真］

イ 病原性の発現メカニズムにもとづいた、広汎な血清型に作用する赤痢ワクチン候補株の開発

これまで、多数の血清型で構成される赤痢菌群に共通に効果を示すワクチンは実用化されていない。細菌第一

部では赤痢の病原性が発現するメカニズムの研究から、赤痢菌群に共通する病原因子である III 型分泌装置(T3SS)の発現が増える一方、ストレス応答の不調で宿主から排除されやすい変異(*hfq*)を同定した。

これが血清型を超えた防御効果を示すワクチンとして利用できないか調べるため、インド国立コレラ・腸管感染症研究所(NICED)と共同研究を進め、この変異を利用したワクチン候補株が、モルモットを用いた複数の実験系で血清型の壁を超えて、現在の流行株であるソンネ菌と、志賀毒素遺伝子をもつ志賀菌に対して、低い副反応で防御効果を示すことを明らかにした。また免疫した個体の産生する抗体がこれらを含む赤痢菌群に反応することを証明した。

効果的に免疫が誘導されるメカニズムとして、ワクチン候補株では T3SS の発現が増加している上に、変異による病原性の減弱によって通常の感染量をはるかに超えた菌の投与が可能であることが考えられた。これまで、赤痢菌の病原性の減弱は困難で、血清型に依存する従来タイプのワクチンも実用化されていない。まだ動物実験の段階ではあるが、血清型が全く異なる菌に対して効果が見られたことは、今後の発展に期待できそうである。[三戸部治郎]

3. サルモネラ属菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア チフス菌、パラチフス A 菌のファージ型別

2016 年に国内で分離され、地方衛生研究所・保健所から送付されたチフス菌、パラチフス A 菌についてファージ型別試験を行った。送付された菌株数はチフス菌 46 株、パラチフス A 菌 20 株であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が 11 株と最多となり、それに次いで A が 10 株検出された。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 11 株検出され最多であった。[森田昌知、泉谷秀昌、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

2016 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、ニューキノロン薬に対して非感受性となるナリジクス酸耐性菌の割合はチフス菌で 63.0%,、パラチフス A 菌で 90.0%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、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

2016年に当研究所に送付されたサルモネラ株は120株であった。血清型は28種類からなり、上位5位はEnteritidis、Saintpaul、I 4:i:-、Goldcoast、Chesterであった。これらは、*Xba*I消化によるPFGE解析により54パターンに分かれた。血清型Enteritidis 13株についてファージ型別を実施し、RDNC(reacted but did not conform)が6株、ファージ型6aが5株、ファージ型47が2株となった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

エ 保菌者サルモネラ O4 群の血清型別と薬剤耐性

2015 年に分離された保菌者由来サルモネラ O4 群 300 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。上位 5 位は Schwarzengrund、I 4:i:-、Saintpaul、Agona、Stanley であった。182 株が何らかの薬剤に耐性を示し。耐性パターンとしては、SM＋TC＋KM3 剤耐性、SM+TC2 剤耐性、ABPC＋SM＋TC3 剤耐性が多く観察された。

[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

4. ビブリオ属細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および遺伝子水平伝播に関する研究

ア コレラ菌の分子疫学解析

2016 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 O1 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約 1100 株のドラフト配列を取得した。それらのうちインド由来 *V. cholerae* O1 について分子系統解析を行ったところ、コレラ流行株の継続的な推移が明らかとなった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

ウ *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* の同定および型別

平成 28 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 73 株で、*Vibrio cholerae* O1 が 4 株、O139 が 1 株であり、いずれも海外渡航歴のある患者由来であった。また、41 株が *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 であり、うち 1 株は国内、20 株は海外からの依頼で、20 株は国内国外不明であった。国内株 1 株は、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。海外からの型別依頼株 40 株は中国の分離株であった。また、21 株が *Vibrio fluvialis* で、1 株が下痢症由来の国内株で、20 株は中国の分離株であった。その他、国内例の下痢症由来の Aeromonas 1 株と、食中毒由来の腸炎ビブリオ O3:K6 5 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二成分制御系センサーキナーゼ ChiS を介した非典型なシグナルネットワークの解析

二成分制御系はセンサーキナーゼとレスポンスレギュレーター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，キチン応答性センサーキナーゼである 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はレスポンスレギュレーター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，最近までの研究により，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の成分である$EIIA^{Glc}$を介して細胞内からも調節されることがわかった。現在，ChiSを介した非典型なシグナルネットワークの形成機構を明らかにするために，ChiSとTfoSおよびChiSと$EIIA^{Glc}$間の相互作用を解析するとともに，ChiSのリン酸基転移活性とそれに依存した遺伝子発現制御についても調べている。[山本章治]

オ エルシニアの血清型別

2016年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は5株であり、いずれも*Y. enterocolitica*であった。血清型は5株とも0:3であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

(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 207 種類あり、その中にはコレラの原因菌である O1、O139 も含まれており、世界的に疫学解析に利用されている。次世代シークエンサーを利用して 207 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。それらのうちコレラ様下痢症から分離される O141 および O75 については、真菌部との共同研究により、O 多糖の構造解析を行い、O 抗原には非常に稀な糖が含まれていることを見出した。全塩基配列が解読された 109 種類の O 血清群の遺伝子領域中の 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 *V. cholerae* と *V. mimicus* を峻別する PCR 法の検討

Vibrio 属細菌は性状がお互いに類似しており、通常の生化学性状でも例外性状を示す菌株も存在することから、誤同定される例が時々見られる。我々は、これまでに選択分離培地 TCBS 寒天培地ではともに黄色集落を形成する *V. cholerae* と *V. fluvialis* について、*toxR* 遺伝子配列の違いを PCR で検出する方法により峻別できる系を確立してきた。白糖の分解性にのみ違いのある *V. cholerae* と *V. mimicus* については *ftsZ* 遺伝子配列の違いに着目して、同様に PCR 検出による峻別法を検討し、参照株、分離株で良好な成績を得た。[荒川英二;Kan Biao(中国 CDC)]

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 2015 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

2015 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、1013 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 (160/1013, 15.8%)、T12 (157/1013, 15.5%)、T1 (146/1013, 14.4%)、T4 (142/1013, 14.0%)であった。TB3264 型の分離比率は、2010 年に急激に上昇し、2014 年 27.1%を占めたが、2015 年減少した（2009 年, 5.3%、2010 年, 12.6%、2011 年, 11.1%、2012 年, 14.5%、2013 年, 19.9%、2014 年, 27.1%、2015 年 15.8%）。T12、T1 型は 1992 年以降、毎年、高い分離頻度を示している。[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 2015 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

2015 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 110 症例あった。106 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、昨年と同じ程度の分離比率であった(2014 年, 39.2%; 2015 年, 38.7%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(14.4%)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増加した(2014 年, 16.2%; 2015 年, 25.5%)。この 2 つの型で全体の 60%以上を占めていた。
STSS の確定診断例 110 例中、*emm1* 型が 41 例(37.3%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 27 例(24.5%)、*emm12* 型が 9 例(8.2%)と多かった。2014 年と比較し、*emm1* 型は、ほぼ横ばいであり、*emm89* 型は 16.0% (12/75)から 24.5% (27/110)に増加した。
[池辺忠義、大西真、二本松久子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、三井千恵子（富山衛研）、河原隆二（大阪公衛研）、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
2015 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 8.3% (9/109)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（2014 年, 16.2% (12/74)）より分離率が低下した。[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
2015 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 59 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 14 例(23.7%)と最も多く、次いで、*stG485* が 9 例(15.3%)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、遺伝子型
2015 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 19 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 7 例(36.8%)であり、次いで III 型が 5 例(26.3%)、V 型が 3 例(15.8%)であった。
2014 年、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。
[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]

(2) 肺炎球菌の病原因子・宿主応答に関する分子基盤構築
肺炎球菌侵襲性感染において肺炎球菌は、咽頭上皮細胞への付着・侵入、上皮細胞内の通過後組織下への移行を経て血流へと到達する。本研究では、一次バリアである粘膜上皮細胞内において感染を成立させるために必要な病原因子、および菌の排除に必要な宿主因子について、特にオートファジー誘導、炎症誘導に注目しながら探索をおこなった。肺炎球菌の膜孔形成毒素であるニューモリシン（Ply）欠失変異株を作成し、野生株と共に MEF 細胞に感染させオートファジー誘導性を解析した結果、Ply 変異株でオートファジーが阻害され、選択的オートファジーに関与するすべての宿主因子のリクルートも消失した。さらに肺炎球菌を標的とするオートファゴソーム特異的にリクルートされる Rab タンパク質を網羅的に探索した結果、肺炎球菌を標的とするオートファゴソーム特異的にリクルートされる 7 種類の Rab タンパク質を見出した。それらの Rab タンパク質のノックダウン実験を行った結果、5 種類の Rab タンパク質で肺炎球菌に対するオートファゴソームの数が顕著に減少し、3 種類の Rab タンパク質でノックダウン時に菌の細胞内生残性が大幅に増加していた。ノックダウン実験で菌の生残性上昇が一番顕著であった Rab タンパク質に関してドミネガ体を作製した結果、ドミネガ体はオートファゴソームとの共局在性を消失していた。さらに、ノックアウト細胞を作成し肺炎球菌を感染させたところ、肺炎球菌に対するオートファゴソームの数が顕著に減少し、菌の細胞内生

残性が大幅に増加していた。[小川道永]

２．レジオネラ属菌に関する研究

（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 28 年度に収集した *Legionella pneumophila* 75 株（血清群（SG）1 が 71 株、SG2、5、9、10 が各 1 株）について、SBT 法による遺伝子型別を実施した。入浴施設の散発事例で施設由来の菌株と PFGE が一致した例が 2 例含まれている。およそ半数は感染源が不明で、入浴施設が感染源と推定されているのが 3 分の 1、残りの 6 分の 1 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。

平成 28 年度末現在で、合計 517 株の *L. pneumophila* 臨床分離株が収集され、ST1 から ST2387 まで 208 種類の遺伝子型に分けられた。遺伝子型と菌が生息する環境に関連性が見られ、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）；平塚貴大（広島県立総合技術研究所保健環境センター）；吉野修司（宮崎県衛生環境研）；倉 文明、大西 真；The Working Group for *Legionella* in Japan］

イ　*Legionella pneumophila* の MLVA 法による遺伝子型別

L. pneumophila において、利便性の高い分子タイピング法である MLVA 法を適用し、従来の遺伝子型別法である SBT（Sequence based Typing）法との比較を行なった。32 種類の ST 型の臨床分離株 47 株を用いて MLVA 法を行ったところ、36 の MLVA タイプに分類され、MLVA 法は SBT 法と同等の識別能力があることが示唆された。また、MLVA 法によるタイピングは、SBT 法と相関した樹形を描くことを見出した。以上の結果から、簡便な MLVA タイピングは、感染源の推定のための遺伝子型別の迅速なスクリーニングに期待できると考えられた。［中西典子、田中 忍、野本竜平（神戸市環境保健研）；前川純子］。

ウ　*lag-1* 遺伝子保有状況の解析

L. pneumophila 血清群 1 の一部の菌株が保有している O 多糖修飾酵素をコードする *lag-1* 遺伝子は病原性マーカー遺伝子として知られている。日本と中国で、環境と患者から分離された *L. pneumophila* 血清群 1 における *lag-1* 遺伝子保有状況を調べたところ、日本の患者由来株（208 株）の 90.4%、環境由来株（225 株）の 19.1%が *lag-1* 遺伝子保有株であったのに対し、中国の患者由来株（14 株）では、42.9%、環境由来株（127 株）は 0.8%が *lag-1* 遺伝子を保有しており、患者由来株、環境由来株ともに、日本と中国で *lag-1* 遺伝子の保有率に違いが見られた。［前川純子、常 彬；秦 天（中国 CDC）］

（2）レジオネラ属菌の調査研究

ア　医療機関の給水系におけるレジオネラ属菌汚染実態調査

神奈川県下の 3 医療機関の水道水試料において、27～67%の頻度でレジオネラ属菌が検出された。国内外の医療機関で院内感染の報告例が実際にある。医療機関では貯水槽が大きく、給水配管が長く枝分かれしているため、給水の末端では残留塩素濃度が不十分になる。当該医療機関の水道水について、pH、TOC、アンモニア態窒素、金属イオン等の理化学検査を実施したが、それらの数値とレジオネラ属菌検出の有無との間に明確な相関は見られなかった。追加塩素消毒装置を設置することで雑菌の繁殖を抑え、使用前に十分な流水を行うことで、レジオネラ感染の危険性を低減することができるが、病院設備設計時にレジオネラ対策を念頭においた給水配管がなされないと、配管からレジオネラを完全に除去することは困難であると思われた。［黒木俊郎、大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、古川一郎、中嶋直樹（神奈川衛研）；泉山信司（寄生動物部）；縣 邦雄（アクアス株式会社）；前川純子、倉 文明］。

イ　レジオネラ症集団感染事例における菌株調査

2015 年に神奈川県の入浴施設で起きた 7 名のレジオネラ症集団感染事例（確定患者数 7 名）について菌株の解析を行なった。患者 4 名から血清群 1（ST2114、新規遺伝子型）の菌株が分離され、そのうちの 1 名からは、血清群 13（ST2113、新規遺伝子型）の菌株も分離された。入浴施設からは、原因菌と考えられる ST2113、ST2114 の他に、ST1447（血清群 1）、ST2115（血清群 10）の菌株も分離された。全ゲノム配列解析を行なったところ、ST2114 と ST2113 間の SNPs は血清群決定領域を含む 110 kb の領域に集中していた。［前川純子、森田昌知、李 謙一、大西 真、倉 文明；黒木俊郎、大屋日登美、古川一郎、鈴木美雪、政岡智佳、相川勝弘、日比和美（神奈川衛研）］

（3）浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア　水泳プールのモノクロラミン消毒

入浴施設を原因としたレジオネラの集団感染が発生し、

水泳プールの管理に倣って浴槽水に遊離塩素消毒が導入された過去の経緯があった。ところが温泉や井戸水で遊離塩素消毒の効果が得られない場合があり、追加の対策として結合塩素消毒（モノクロラミン消毒）を浴槽水に導入し、消毒効果が得られている。モノクロラミン消毒の発展を目的に、水泳プールへの逆の応用として、水泳プールのモノクロラミン消毒を試みた。水温が 30℃程度の 270m^3 の水泳プールにモノクロラミン消毒を適用した結果、利用者のない 1 週間の短期であったが、塩素濃度はほとんど減少せず、追加塩素は必要なかった。消毒管理に問題が生じることなく、レジオネラの発生もなかった。実際に泳いでみたが、いわゆる典型的な塩素臭（プール臭）がほとんどなかった。短期間に完全換水して消毒洗浄を行う、小規模なプールへのモノクロラミン消毒の応用が期待された。［泉山信司(寄生動物部); 長岡宏美（静岡県環境衛生科学研究所）; 青木信和、市村祐二、江口大介（ケイ・アイ化成株式会社）; 杉山寛治（株式会社マルマ）; 前川純子、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 22 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 14 株、B 群 3 株、C 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 3 株、ST-1655 株が 9 株、ST-12416 株が 1 株で、ST-23、ST-1655、ST-12416 は 1 塩基違いであり、血清群 Y の 14 株のうち 13 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-12182 であった。血清群 B の株は ST-41、ST-2057 及びその一塩基違いの新規遺伝子型 ST-12060 の 3 株であった。血清群 C の株は ST-9087、、non-typable の血清群は ST-11026 が 3 株ずつ、ST-1157 が 1 株であった。

今年度の分離株の中では、やはり ST−23 complex に属する分離株が依然として国内で多く分離されるをことが注目される。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、昨年度も議論したが、non-typable の株は基本的には非侵襲性の患者の非侵襲部位（喀痰など）の分離例がほとんどであるが、近年は血液からの分離も認められるようになってきた。髄膜炎菌は莢膜多糖体の合成遺伝子が入れ替わる、いわゆる「capsule switching」と呼ばれる現状がワクチン導入なのどの環境的な選択圧がかかると容易に起こることが明らかとなっており、non-typbale の髄膜炎菌も国内の「髄膜炎菌プール」のサブポピュレーションとして国内の髄膜炎菌感染症の危機を脅かす可能性は否定できない。今後はラグビーワールドカップやオリンピック・パラリンピックの日本での開催が予定されており、海外から日本へのヒトの流入の増加が予想され、Non-typable の髄膜炎菌株を含めた国内で分離される髄膜炎菌株のプロファイルの変化を注視していく必要であろう。[高橋英之、福住宗久、神谷元、砂川富正、(感染症疫学センター)、大西真]

(2) 病原機構に関する研究

ア 患者由来及び健康保菌者由来の髄膜炎菌株のプロテオーム解析による網羅的タンパク発現比較による髄膜炎菌の病原決定因子の同定

これまでの解析から、ゲノムサイズが小さく且つ発現制御因子の数も極端に少ない髄膜炎菌は赤痢菌の様に感染時の病原遺伝子の発現誘導により感染条件を整えられる「Active 型」とは異なり、ヒトの鼻咽頭に定着している際は既知もしくは未同定の膜局在因子や細胞外因子、普遍因子が個々の細菌でランダム且つ恒常的に細菌外で発現しており、偶然にもヒトへの侵襲に十分な病原性因子の発現プロファイルを揃えた細菌個体だけがヒト体内へ増殖を伴って侵襲し、病原性を顕わすという「Passive 型」の病原性機構を備えている可能性を考えるに至った。そこで、臨床分離株ライブラリーから患者由来高病原性 ST 株及び健康保菌者由来低病原性 ST 株を選定してその膜タンパクの発現プロファイルを網羅的に解析・比較することにより、髄膜炎菌の病原決定因子の発現プロファイルを同定することを試みた。臨床分離株ライブラリーから患者由来高病原性 ST 株及び健康保菌者由来低病原性 ST 株を各 30 株ずつ選定し、*in vitro* でのヒト脳血管内皮細胞(HBMEC)への感染能を検証した。その結果、高感染能の高病原性株 9 株、低感染能の低病原性株 9 株を選定することができた。それらの株の細胞膜画分を生化学的に単離して、Tandem Mass Tag ラベリング及び LC-MS/MS 法による膜局在因子の同定と比較定量を行なった。その結果、8 つの因子が高感染能株でその発現量が多く、低感染能の株では低い傾向が認められた。今後はそれらの因子の遺伝学を破壊した変異体の構築及び *in vitro* での HBMEC への感染能を検証し、病原性因子としての同定因子の必要性及び十分性を検討する予定で

ある。[高橋英之、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 とそのラミノース修飾酵素の機能構造解析

タンパク質合成時にリボソームはプロリンを多く含む配列でしばしば停止することが知られている。翻訳因子 EF-P はそのようなポリプロリン配列において停止したリボソームのタンパク質合成を再開させる因子である。大腸菌の EF-P はドメイン I の Lys34 に β-lysine が付加されることにより活性化される。ところが、β-lysine 付加に関与する酵素は細菌の約 3 割にしか存在せず、他の多くの細菌において EF-P が修飾を受けているかどうかは詳しく分かっていなかった。近年になり、髄膜炎菌などの細菌において新規糖転移酵素 EarP が dTDP-ラムノースを補因子として EF-P の Arg32（大腸菌 EF-P の Lys34 に相当する）をラムノシル化し、それにより EF-P を活性化させることが明らかになった。これは、Arg 残基ラムノシル化の最初の報告である。

我々は髄膜炎菌由来 EarP の結晶構造を apo 型・dTDP-ラムノース複合体・EF-P ドメイン I 複合体の 3 つの状態で解析した。EarP は糖転移酵素スーパーファミリーB に特徴的な 2 個のタンデムに並んだ Rossmann fold ドメインを持っており、dTDP-ラムノースはドメイン間の溝に結合していた。N 末端ドメイン上には 2 ヶ所の保存性の高いループ（ループ 1, 2）が見出され、これらが dTDP ラムノースの結合や EF-P の結合に応じて構造変化し、両基質との相互作用に関与していた。EarP が EF-P と dTDP-ラムノースの両方を結合した三重複合体のモデル構造を構築し分子動力学シミュレーションを行ったところ、ラムノース転移反応時にはループ 1 がさらなる構造変化を起こす可能性が示唆された。変異体の生化学的解析から、EarP は EF-P のドメイン I 全体の立体構造と Arg32 周辺の残基配列の両方を認識していることが明らかになった。我々の知る限り、本研究は厳密な基質特異性を示すタンパク質糖転移酵素による基質認識機構を構造生物学的に明らかにした最初の例である。また、EarP は淋菌・緑膿菌・百日咳菌などの臨床的に重要な病原菌にも保存されており、立体構造はこれらの EarP を持つ細菌にのみ有効な抗菌剤の開発にも道を開くと期待される。[高橋英之、柳沢達男、仙石徹、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

Ⅰ．ボレリア感染症に関する研究

(1) ボレリア感染症の疫学研究

ア　野生シカ由来材料を用い，ボレリア属細菌に関する疫学調査を実施した．北海道から南九州に至る全国規模で野生シカが回帰熱群ボレリアに感染していることを明らかにした．ボレリアの陽性率は全国平均で 25.9%であり，またシカは高度の菌血症（平均 8.8 X 103 genome copies/μl）を呈していることが明らかとなった．本ボレリアは 1-lineage からなり，４つのグループにより構成されることが明らかとなった．また，本研究で見出されたボレリアはウシボレリア症病原体 Borrelia theileri と近縁であることから，偶蹄類にボレリア症を引き起こすボレリアと考えられる．今後はウシなどの偶蹄類の感染状況について調査が望まれる．[熊谷由美，佐藤梢，大西真，川端寛樹（細菌第一部），森川茂，今岡浩一（獣医科学部），新倉綾（動物管理室）]

イ　我が国における新興回帰熱（*Borrelia miyamotoi* disease: 以下 BMD）の国内感染状況をより明らかにするために、高感度の抗体検査法の確立とその応用を試みた。平成 28 年度は、BMD 新規診断抗原の探査とその評価を行い、GlpQ 抗原を用いた既存の方法に対して約 4 倍の感度を有し、かつ特異性は 100%である新規抗原を見出した。これら新規診断抗原を用いて、マダニ媒介性関連感染症である重症熱性血小板減少症候群が臨床的に疑われながらも、実験室診断で本疾患が否定された患者群において BMD に関する血清疫学調査を行い、本集団には高頻度で BMD が潜在している可能性を明らかにした。患者は北海道のみならず本州や九州でも見出されている。今後、これらの地域での感染ボレリア種、ならびに媒介マダニ種の同定を進める必要がある。[佐藤梢，大西真，川端寛樹（細菌第一部），福士秀悦，下島昌幸，西條政孝（ウイルス一部）山野公明（北海道立衛生研究所）]

(2) 軟ダニ媒介性感染症病原体のゲノム解析

若狭湾に浮かぶ無人島の沓島（京都府）において *Carios sawaii* を捕獲した。採取した *C. sawaii* は個体ごとにビーズ破砕後、RNA・DNA 抽出を行った。その後、細菌 16S リボソーマル RNA の V3-4 超可変領域を PCR 増幅し Illumina MiSeq によるアンプリコン解析に供した。また、*C. sawaii* の破砕乳剤はマダニ種ごとにプールし、フィルター濾過と遠心分離によりウイルス画分を精製した。RNA 及び DNA を抽出し、全ゲノム増幅を行った後に Illumina MiSeq によるショットガンシーケンス解析に供した。*C. sawaii* のアンプリコン解析からは、*Borrelia* 属細菌の他、*Coxiella* 属共生菌ゲノム等が検出された。最近の研究で、Q 熱の病原体である *Coxiella burnetii* は軟ダニから派生したものとの学説が唱えられており、現在 *C. burnetii* との系統比較解析を行っている。[中

尾亮, 杉本千尋(北海道大学), DeMar Taylor(筑波大学), 川端寛樹（細菌第一部）]

2. レストスピラ症に関する研究

(1) 病原機構解明に関する研究

ア レプトスピラ感受性の性差に関する研究

レプトスピラ感染では男性のほうが女性よりも重症化しやすく，またこれまでのハムスターにおける *L. interrogans* 血清型 Hebdomadis の感染実験により，感染 120 時間後にオスでのみ肺出血がみられることを明らかにしてきた．感染 72 時間および 96 時間後の肺でレプトスピラ DNA が検出されたが，120 時間後には検出されなかったことから，肺出血はレプトスピラの直接的な作用というよりはレプトスピラ感染にともなうハムスターの免疫応答により引き起こされた可能性が示唆された．また肺出血のみられない感染 96 時間後のメスあるいは感染 120 時間後に肺出血のみられなかったオスで一酸化窒素合成酵素遺伝子の発現が有意に上昇していたことから，一酸化窒素が肺出血の抑制に関与している可能性が示唆された．［小泉信夫，大西真（細菌第一部）冨澤莉那（東京農工大学）］

(2) 運動制御機構に関する研究

ア レプトスピラ運動変異体の解析

運動性を欠失した *L. biflexa* 変異体 LBMD4-3 の解析を行った．LBMD4-3 は *fcpA* 遺伝子にトランスポゾンが挿入された変異体であり，その菌体では両端のフックが消失し，また精製したべん毛は直鎖状に変形していた．LBMD4-3 は FcpA を発現しておらず，精製べん毛ではべん毛タンパク質 FlaA1，FlaA2 および FlaB1 が検出されなかった．Bacterial two-hybrid 法により大腸菌内で FcpA と FlaA1, FlaA2 の相互作用が明らかになった．また FcpA の FlaA1 および FlaA2 結合部位を同定した.［小泉信夫，大西真(細菌第一部)，佐々木祐哉（東京農工大），中村修一（東北大学大学院），川本晃大（大阪大学大学院）］

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 セフトリアキソン（CRO)耐性淋菌株の簡易検出系の開発

近年、CRO 耐性淋菌の増加が懸念されている。培養を基本とする従来の薬剤感受性試験法では CRO 耐性淋菌の検出に数日を要する。本研究では、リアルタイム PCR 法による CRO 耐性淋菌の簡易検出系の構築を目指した。PBP2 をコードしている CRO 耐性淋菌の *penA* 遺伝子のトランスグリコシラーゼドメイン、トランスペプチダーゼドメインをコードする領域に各々フォワードプライマー、リバースプライマーを設定した。蛍光標識は、*penA* 遺伝子の 933 番目を中心とした 23bp の DNA 配列を選択し 5`側に FAM、3` 側に TAMRA を付加し、TaqMan プローブとした。CRO 耐性淋菌 FC428 株の精製 gDNA をテンプレートにしたアッセイにおける最小検出濃度は 1pg (400 copy 相当分)であった。更に、近年における国内で分離された淋菌 205 株、淋菌の近縁種である非病原性ナイセリア属菌 92 株の gDNA をテンプレートに、同様のアッセイを行った結果、CRO 耐性淋菌 4 株のみが陽性反応を示した。False positive 反応が危惧された CRO 非感受性非病原性ナイセリア属菌については陽性反応を示さなかった。[志牟田 健、井川 ジーン、中山 周一、大西 真]

イ 京都・大阪における薬剤耐性淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2016 年 4 月から 2017 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 127 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 3.9%、56.7%、84.3%、26.0 %、85.0%、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 剤のうち、ciprofloxacin、azithromycin の2剤の感受性率に若干改善が見られた反面、ceftriaxone で悪化が見られ感受性率 90%を割った。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。今回はこの地域での我々の調査ではこのような株は検出されなかったが、国内の他地域においてこの株のクローンと考えられる分離株の報告が有るため今後も注視する必要が有る。

[中山周一、松本喜美子、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、112 の PCR 陽性例中タイピングに成功したものは 70 例で、このうち 46 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、他はいずれもそれぞれ単一型であった。
[中山周一、井戸田一朗 (しらかば診療所)、本郷偉元 (武蔵野赤十字病院感染症科)、大西真]

イ　菌株の型別解析

梅毒トレポネーマは均質性がかなり高い上に培養不能であるため、その基本的生態に加えゲノム多様性についても検討が大きく立ち遅れている。近年、ヒトゲノムが多量に混在する検体から菌培養を経ずに目的菌ゲノムのみを濃縮し、事後にPCRを行い、次世代シーケンサーで多数菌株間での多様性解析を行う試薬キットが上市された。ただし、この有用性の高いキットにも、出発材料となるDNA総量として比較的多量を要するという難点がある。

そこで我々はこのキットでの作業に入る前段階として、検体中の全DNAをファージ由来のDNA polymeraseとランダムヘキサマープライマーで増幅する試薬を流用し、増幅後のサンプルを上記試薬キットでの処理に使用することを着想した。11検体由来DNA及び前増幅でのエラー誘発検討のためのレファレンス株であるNichols株オリジナルDNAと増幅後DNAのペアを次世代シーケンサーで解析した。その結果、前段階増幅によるエラー誘発は認められないレベルであること、11検体中、8検体で多様性解析に十分なシーケンスリード数が得られた。今後、今回のプロトコルでは十分なリード数が得られない検体からの安定解析のため、上記キットのプロトコルの一部改変などの検討を行い、実際の解析をさらに検体数を増やして行う予定である. [中山周一、李謙一、森田昌知、大西真]

ウ　マクロライド耐性型梅毒トレポネーマの2016年度における急激な増加

国内ガイドラインでazithromycin等マクロライド製剤は梅毒治療には推奨されていないが、海外での耐性型の増加報告や、現実に期待される治療効果評価の観点から耐性型サーベーランスを行ってきた。2012年から2015年に関しては23S rRNA A2058G変異解析が可能であった27検体中3検体(11.1%)が耐性型、うち2検体が耐性型と強いリンクが有るとされる14d/gであった。2016年～2017年3月の期間では、同じく解析ができた12検体中、7検体 (58.3%)が耐性型であった。特に、分子タイピングで最頻である14d/fでの耐性型が2015年以前には検出されなかったものが、2016年以降は逆に14d/fは全て耐性型となっている点が着目される。また、解析成功検体の過半数が耐性であることから、現状では梅毒治療にはazithromycinが無効と判断すべき状態である(なお、2017年4月以降も調査を続行しており、7月末現在暫定で2016年以降の耐性率は73.3%まで上昇している)。
[中山周一、井戸田一朗 (しらかば診療所)、本郷偉元 (武蔵野赤十字病院感染症科)、大西真]

エ　非典型的部位、症状でのPCR、菌体検出による梅毒の確定診断

近年、非典型的な部位や、非典型的臨床症状経過を示す梅毒疑い例の相談が増えており、抗体検査に加えて病原体ベースでの確定診断のサポートを依頼されるケースが多い。2016年度においては感染後数ヶ月という速さで脳内にゴム種ができた疑い例、及び、胃壁における梅毒感染疑い例についての依頼事案でPCR陽性結果が得られ、病原体ベースで特定組織での梅毒トレポネーマDNAの存在を確定できた。後者については感染病理部のご協力のもと組織免疫染色で菌体自体の存在も確定できた. [中山周一、片野晴隆 (感染病理部)、小泉祐介 (愛知医科大学)、伊東直哉 (静岡がんセンター)、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CSP依存クオラムセンシングに対するフルクタナーゼの抑制機構

*Streptococcus mutans*は、歯面上の唾液蛋白質と相互作用し、それをきっかけとして口腔バイオフィルムを形成する細菌であり、う蝕原因菌の一つとして考えられている。*S. mutans*は、菌が増殖しバイオフィルムを形成すると、菌の密集領域でクオラムセンシングが起こり、菌が生き残るための活性が起こる。我々の以前の研究により口腔常在菌である*Streptococcus salivarius*の産生するフルクタナーゼ(FruA)は、Competence Stimulating Peptide (CSP)依存クオラムセンシング活性を阻害し、バクテリオシン活性や遺伝子の取り込みを抑制することを明らかにした。今年度は、その抑制メカニズムを解析した。その結果、FruAはCSPと結合することが明らかとなった。FruAは、CSPと結合することでCSP活性を抑制することが考えられた。
[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

菌とフルクタンと細胞外 DNA(eDNA)との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、*S. mutans* の疎水性に起因していることが明らかとなった。この疎水性は、TSB に含まれた微量のスクロースを利用して、グルコシルトランスフェラーゼを介して誘導されることが考えられた。*S. mutans* の疎水性が高まり、凝集、eDNA の産生が起こり、eDNA とフルクタンが混合し粘稠性が増加、その結果、初期付着量の増加、バイオフィルム形成量の上昇が起こることが考えられた。[泉福英信、永沢亮、大西 真]

ウ 細胞外 DNA(eDNA)による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成

Streptococcus mutans の eDNA によるバイオフィルム形成メカニズムを詳細に明らかにする目的で本研究を行った。まず2種類の DNA を抽出した。一つは精製 DNA。もう一つは粗抽出 DNA。粗抽出 DNA には蛋白質が多く含まれていたが、精製 DNA には蛋白質が含まれていなかった。粗抽出 DNA は、0.05 ng/ml～3.1 ng/ml で *S. mutans* UA159.*gtfB*⁻*C*⁻に加えると、ヒト唾液をコートしたプレートにおいて、有意にバイオフィルムを形成させた。しかし、同じ濃度で加えた精製 DNA はバイオフィルムを形成させなかった。この粗抽出 DNA に蛋白分解酵素を事前に加え処理すると、形成量が半分程度に減少した。DNase で処理しても、有意に形成量が減少した。eDNA によるバイオフィルム形成には、蛋白質の存在が重要であることが明らかとなった。[泉福英信、永沢亮、大西 真]

エ 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* のバイオフィルム形成への効果を検討した。その結果、ヒト唾液のコートプレートにおいて、0.002～0.016%の Polypyrrole は、*S. mutans* UA159.*gtfB*⁻*C*⁻のバイオフィルム形成を著しく誘導した。*S. mutans* UA159.*gtfB*⁻*C*⁻は、非水溶性グルカンを作る酵素を分泌できないため sucrose が含まれた培地でグルカンに依存したバイオフィルムを形成することができない。この *S. mutans* UA159.*gtfB*⁻*C*⁻に対して、ある一定の濃度の Polypyrrole は、グルカンに依存しないバイオフィルム形成を誘導した。陽電荷を表出する Polypyrrole のような長鎖構造体は、非水溶性グルカンに依存しないバイオフィルムを誘導する際の重要な構造であることが示唆された。[泉福英信、大西 真]

オ *Actinomyces oris* のバイオフィルム形成に対する短鎖脂肪酸の影響の検討

Actinomyces oris は *Actinomyces naeslundii* の遺伝種であり、線毛を介して歯面への初期付着やバイオフィルム形成及び他の口腔内細菌と共凝集する。短鎖脂肪酸の一つである酪酸(SCFAs)は、*A. naeslundii* のバイオフィルム形成の促進や初期付着菌量を増加させることが報告されている。*A. oris* のバイオフィルム形成メカニズムを明らかにするために、*A. oris* 及び線毛遺伝子欠損株（Δ*fimA*, Δ*fimB*, Δ*fimP*, Δ*fimQ*）を用いて、初期付着菌及び口腔バイオフィルム形成に対して、SCFAs が与える影響ついて検討を行った。6.25 mM SCFAs は *A. oris* NG4 株と Δ*fimA* のバイオフィルム形成を促進させず、NG4 株では酪酸、ギ酸、吉草酸が、Δ*fimA* ではギ酸、プロピオン酸、吉草酸により阻害された。しかし、初期付着実験では 60 mM SCFAs は NG4 株の初期付着量を増加させる傾向にあることが認められた。しかし、Δ*fimA* では若干の増加を認めたが、Δ*fimQ* では増加を認めなかった。*A. oris* は、*A. naeslundii* と異なり、SCFAs によるバイオフィルム形成の促進効果は認められなかったが、初期付着量を増加させた。その増加には、*fimQ* が関与していた。[泉福英信、鈴木到、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 マウスにおける歯周病細菌外膜ヴェシクルの複合的経鼻免疫による粘膜ワクチン効果

グラム陰性細菌は、外膜ヴェシクル(OMV)と呼ばれるナノサイズの小胞を菌体外へ放出する。OMV は種々の細胞構成要素を含有し、構造安定性も高いため、新規ワクチン抗原として応用が期待されている。本研究では、主要な歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg)及び *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa)の OMV をマウスに経鼻免疫し、抗体産生を評価した。OMV は定常期初期の細菌の培養上清から精製し、マウスに経鼻免疫した。Pg と Aa の両方の OMV を免疫することにより、各細菌特異的な抗体産生を同時に誘導できることが明らかになった。特に、Pg-OMV 単独投与では少なかった Pg 特異的抗体の産生量が、Aa-OMV を併用するとその投与量依存的に増大し、1 μg で最大となった。一方で、Aa-OMV は単独でもその投与量に依存して Aa 特異的な抗体産生を誘導し、高いセルフアジュバント活性を示した。以上より、これら歯周病細菌 OMV の複合的経鼻免疫の優位性、粘膜ワクチンとして応用可能性が示唆された。[平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

イ プロポリス由来化合物による歯周病細菌に対する作

用の検討

健康食品であるプロポリスは*P. gingivalis*に対して抗菌性を示す。本研究では、プロポリスのエタノール粗抽出物から*P. gingivalis*に対する抗菌活性を示す化合物A,B,Cの３種を同定した。そして、これら化合物による細菌表層への作用の詳細を、高速原子間力顕微鏡観察や膜電位アッセイにより調べた。化合物AとBはプロポリスに多く含有される桂皮酸誘導体であり、いずれも*P. gingivalis*に対して静菌的に作用し、細胞表層に次々と小胞を形成した。一方で、化合物Cは殺菌的作用を示し、*P. gingivalis* 菌体を迅速に破裂させた。これら３種の化合物はいずれも、細菌の細胞質膜の透過性亢進と脱分極誘導の作用を有しており、この作用は特に化合物Cにおいて顕著であった。[中尾龍馬、吉益由莉、池田剛（崇城大学）酒井信明・八木明（オリンパス)、古川壮一・森永康(日本大学)]

ウ ウェルシュ菌のメンブランヴェシクル(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 はマウス培養細胞に対して炎症性サイトカインの分泌を促進すること、また、マウスに対する MV 免疫は血中および粘膜面におけるウェルシュ菌特異的なIgGおよびIgA産生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、細胞壁成分を豊富に含むことが明らかとなった。一方で、精製した本菌のペプチドグリカン（PG）はサイトカイン誘導性を示さなかった。MVを免疫したマウスより単離した血清IgGを用いたウエスタン解析の結果、MVに含まれる複数のリポタンパク質に対する結合性が認められた。以上のことより、MVに含まれるリポタンパク質が免疫誘導性に関与すると考えられた。

［尾花望、中尾龍馬、永山恭子、泉福英信、野村暢彦（筑波大学）］

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、癌手術前と後の日和見菌(Staphylococcus, Candida)、嫌気性菌、総菌の口腔内微生物量の測定を培養法にて行った。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 の菌量の変動は、病院によって異なることが明らかとなった。よって、癌手術後必ず菌量が上昇する結果にはならなかった。口腔ケアのやり方などが病院によって異なっていることが影響簸ている可能性がある。今後、個々被験者の口腔内微生物量の変化を検討し、口腔ケアの方法や手術方法などの違いなどを考慮に入れて、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予定である。

[泉福英信、岩節博史(神奈川歯科大学)、大西真]

レファレンス業務

I. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた204症例分の劇症型/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た。[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

地方衛生研究所、保健所、病院等から送られたレジオネラ属菌株の菌種同定、血清群別を行っている。*L. pneumophila* については、遺伝子型別を行っている。個別の結果は分与元に還元するとともに、集計し、経年変化等を確認している。[前川純子、大西　真、The Working Group for *Legionella* in Japan]

III. 大腸菌に関するレファレンス業務

腸管出血性大腸菌（EHEC） 検査・診断マニュアルの改訂2017年2月に改訂を行い、感染研ホームページ上（https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC20170215.pdf)で公開した［改訂版著者: 勢戸和子(大阪府)、井口 純（宮崎大)、磯部順子（富山県)、原田哲也(大阪府)、平井 晋一郎(千葉県)、横山栄二(千葉県)、小西典子(東京都)、甲斐明美、緒方 喜久代、伊豫田 淳］ 。

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[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 [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 [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 [前川純子、小川道永、大西真]

国際協力関係業務

I. 中国内モンゴル自治区CDCならびにHetao大学との共同研究

ライム病。BMD に関する共同研究を開始した。検査法の指導とあわせ、疫学情報収集を実施した。

II. PulseNet Asia Pacific 会議出席

PulseNet Asia Pacific Meeting Jan 4-5th 2017 Hong Kong に出席し、日本国内の食品由来感染症集団発生における分子型別の利活用に関して情報提供を行った。

研修業務

I. 腸管感染症に関する研修

1 泉谷秀昌:改正されたサルモネラ試験法について。食品衛生登録検査機関協会、平成 28 年度微生物研修会、2016 年 11 月、東京都。

2 泉谷秀昌:腸管出血性大腸菌の MLVA 解析。平成 28 年度希少感染症診断技術研修会、2017 年 2 月、東京都。

3. 平成 28 年度関東甲信静ブロックレファレンスセンター連絡会議、「EHEC を中心とした大腸菌レファレンスセンターについて」、2016 年 12 月、千葉市環境保健研究所 [伊豫田淳]

II ダニ媒介性感染症に関する研修

国立国際医療研究センター・厚生労働省共催　第 2 回節足動物媒介性感染症講習会．2016 年 6 月．東京（川端寛樹）

III 梅毒に関する研修

安全な輸血講習会コースにおいて梅毒の講義を行った.（中山周一）

IV.　レジオネラ属菌に関する研修

1.　レジオネラ属菌検査セミナー「レジオネラ属菌検査の現状と今後の方向性」、2016 年 7 月、東京［前川純子］

2.　岡山県レジオネラ属菌対策研修会「レジオネラ症の最近の話題と動向」、2016 年 7 月、岡山市［倉　文明］

3.　国立保健医療科学院平成 28 年度新興再興感染症技術研修「レジオネラ感染症総論」「レジオネラ検査法」、2016 年 10 月、武蔵村山市［倉　文明、前川純子］

4.　国立保健医療科学院平成 28 年度短期研修　環境衛生監視指導研修「レジオネラ属菌の検査と対策」、2016 年 11 月、和光市［倉　文明］

5.　平成 28 年度レジオネラ対策講習会（東京都多摩府中保健所）「レジオネラ症集団感染事例」、2017 年 2 月、府中市［前川純子］

6.　平成 28 年度生活衛生関係技術担当者研修会（厚生労働省健康局生活衛生課）「レジオネラ症の国際動向」、2017 年 2 月、東京都［倉　文明］

7. 2016 年度 レジオネラ属菌検査セミナー（日水製薬株式会社）「レジオネラ属菌に関する ISO の動向、外部精度管理の重要性」、2017 年 3 月、東京都［倉　文明］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Murai M, Moriyama H, Hata E, Takeuchi F, Amemura-Maekawa J. Variation and association of fibronectin-binding protein genes *fnbA* and *fnbB* in *Staphylococcus aureus* Japanese isolates. Microbiol Immunol. 2016. 60:312-25.

2) Kuroki T, Amemura-Maekawa J, Ohya H, Furukawa I, Suzuki M, Masaoka T, Aikawa K, Hibi K, Morita M, Lee K, Ohnishi M, Kura F. Outbreak of Legionnaire's disease caused by *Legionella pneumophila* serogroups 1 and 13. Emerg Infect Dis. 2017. 23:349-351.

3) Ikebe T, Matsumura T, Nihonmatsu H, Ohya H, Okuno R, Mitsui C, Kawahara R, Kameyama M, Sasaki M, Shimada N, Ato M, Ohnishi M. Spontaneous mutations in *Streptococcus pyogenes* isolates from streptococcal toxic shock syndrome patients play roles in virulence. Sci Rep 2016, 6: 28761. doi:10.1038/srep28761

4) Suzuki J, Hashino M, Matsumoto S, Takano A, Kawabata H, Takada N, Andoh M, Oikawa Y, Kajita H, Uda A, Watanabe K, Shimizu S, Watarai M. Detection of *Francisella tularensis* and analysis of bacterial growth in ticks in Japan. Letter in Applied Microbiology. 2016.　63(4): 240-246.

5) Sakakibara Y, Sen E, Sato K, Kawabata H, Ohashi N, Masuzawa T. Detection and characterization of emerging relapsing fever pathogen, *Borrelia miyamotoi*, from Ixodes ricinus tick on rural Trakya (Thrace) region of north western Turkey. Vector-borne and Zoonotic Diseases. 2016.　16(12): 797-799.

6) 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 the Endemic Areas in Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2016.　69(5): 431-434.

7) Oba M, Omatsu T, Takano A, Fujita H, Sato K, Nakamoto A, Takahashi M, Takada N, Kawabata H, Ando S, Mizutani T. A Novel Bunyavirus Isolated from the soft tick, *Argas vespertilionis*, in Japan. Journal of Veterinary Medical Science.　2016. 79(3): 443-445.

8) Khasnatinov MA, Danchinova GA, Takano A, Kawabata H, Masuzawa T. Prevalence of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes*

persulcatus in Irkutsk Region, Russia. Ticks and Tick-borne Diseases. 2016. 7(2): 394-397.
9) 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. 2016. 7(1): 119-125.
10) Kim KS, Inoue K, Kabeya H, Sato S, Takada T, Pangjai D, Qiu SH, Fujita H, Kawabata H, Takada N, Kariwa H, Maruyama S. Prevalence and diversity of *Bartonella* species in wild small mammals in Asia. Journal of Wildlife Diseases. 2016. 52(1): 10-21.
11) Nakayama S, Shimuta K, Furubayashi K, Kawahata T, Unmeo M, Ohnishi M. New ceftriaxone- and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with a novel mosaic *penA* gene isolated in Japan. Antimicrob. Agents Chemother. **60:**4339-4341. 2016.
12) Itoh N, Katano H, Nakayama S, Kurai H. Gastric syphilis. Internal Medicine. In press (Oct 2016 accepted).
13) Akther F, Neogi SB, Chowdhury WB, Sadique A, Islam A, Akhter MZ, Johura FT, Ohnishi M, Watanabe H, Boucher Y, Alam M. Major tdh (+) Vibrio parahaemolyticus serotype changes temporally in the Bay of Bengal estuary of Bangladesh. Infect Genet Evol. 2016 41:153-9.
14) Unemo M, Golparian D, Sánchez-Busó L, Grad Y, Jacobsson S, Ohnishi M, Lahra MM, Limnios A, Sikora AE, Wi T, Harris SR. The novel 2016 WHO Neisseria gonorrhoeae reference strains for global quality assurance of laboratory investigations: phenotypic, genetic and reference genome characterization. J Antimicrob Chemother. 2016 71; 3096-310.
15) Ishikane M, Arima Y, Itoda I, Takahashi T, Yamagishi T, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K, Ohnishi M. Responding to the syphilis outbreak in Japan: piloting a questionnaire to evaluate potential risk factors for incident syphilis infection among men who have sex with men in Tokyo, Japan, 2015. Western Pac Surveill Response J. 2016;7:36-39.
16) Johura FT, Parveen R, Islam A, Sadique A, Rahim MN, Monira S, Khan AR, Ahsan S, Ohnishi M, Watanabe H, Chakraborty S, George CM, Cravioto A, Navarro A, Hasan B, Alam M. Occurrence of Hybrid Escherichia coli Strains Carrying Shiga Toxin and Heat-Stable Toxin in Livestock of Bangladesh. Front Public Health. 2017 4:287.
17) Tsuboi M, Koizumi N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N, Kato Y. Imported *Leptospira licerasiae* infection in traveler returning to Japan from Brazil. Emerg Infect Dis. 2017. 23(3):548–549.
18) Villanueva MA, Mingala CN, Balbin MM, Nakajima C, Isoda N, Suzuki Y, Koizumi N. Molecular epidemiology of pathogenic *Leptospira* spp. among large ruminants in the Philippines. J Vet Med Sci. 2016. 78(11):1649–1655.
19) Iwasaki H, Chagan-Yasutan H, Leano PS, Koizumi N, Nakajima C, Taurustiati D, Hanan F, Lacuesta TL, Ashino Y, Suzuki Y, Gloriani NG; Telan EF, Hattori T. Combined antibody and DNA detection for early diagnosis of leptospirosis after a disaster. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016. 84(4):287–91.
20) Senpuku H, Miyazaki H, Yoshihara A, Yoneda S, Narisawa N, Kawarai T, Nakagawa N, Miyachi M, Tada A, Yoshida G, Shimada M, Ohashi M, Nishimuta M, Kimura Y, Yoshitake Y. $CD56^{dim}CD16^{high}$ and $CD56^{bright}CD16^{-}$ cell percentages associated with maximum knee extensor strength and incidence of death in elderly. SpringerPlus. 2016. 5: 244.
21) Kawarai T, Narisawa N, Yoneda S, Tsutsumi Y, Ishikawa J, Hoshino Y, Senpuku H, Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation using extracts from Assam tea compared to green tea, Archives of Oral Biology, 2016, 68:73-82.
22) Nakao R, Dongying D, Ohnishi M, Hasegawa H, Senpuku H. Assessment of outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* as a mucosal immunogen candidate for development of periodontal disease vaccine. Vaccine. 2016. 34(38):4626-4634.
23) Obana N, Nakao R, Nagayama K, Nakamura K, Senpuku H, Nomura N. Immunoactive clostridial membrane vesicle production is regulated by a sporulation factor. Infect and Immunity. 2017. 21: 85(5)
24) Kosaka M, Senpuku H, Hagiwara A, Nomura Y, Hanada N. Oral infection, periodontal diseases and cytokine production in adults with down syndrome. Medical Research Archives. 2017. 5: 1-16.
25) Ichinosawa T, Ito T, Yonezawa H, Senpuku K, Shimizu T, Molecular interaction of the analogous peptide SspB(390-T400K-402) derived from *Streptococcus gordonii* surface protein peptide with periodontal bacteria. International Journal of Oral Medical Science. 3017. 15: 160-167.
26) Nagasawa R, Sato T, Senpuku H. Raffinose induces biofilm formation by *Streptococcus mutans* in low

concentrations of sucrose by increasing production of extracellular DNA and fructan. Applied Environmental Microbiology. 2017. in press.

27) Nakao R, Hasegawa H, Bai D, Ohnish M, Senpuku H : Assessment of outer membrane vesicles of periodontopathic bacterium *Porphromonas gingivalis* as possible mucosal immunogen : Vaccine. 2016. 34(38):4626-34

28) Kariu T, Nakao R, Ikeda T, Nakashima K, Potempa J, Imamura T : Inhibition of gingipains and *Porphyromonas gingivalis* growth and biofilm formation by prenylated flavonoids : Journal of Periodontal Research. 2017. 52(1):89-96.

29) Mitobe J, Sinha R, Mitra S, Nag D, Saito N, Shimuta K, Koizumi N, Koley H: An attenuated *Shigella* mutant lacking the RNA-binding protein Hfq provides cross protection against *Shigella* strains of broad serotype. PLoS Negl Trop Dis. 2017 Jul 20;11(7):

30) Fukusumi M, Kamiya H, Takahashi H, Kanai M, Hachisu Y, Saitoh T, Ohnishi M, Oishi K, Sunagawa T. National surveillance for meningococcal disease in Japan, 1999-2014.Vaccine 2016 34(34):4068-71

31) Lee DK, Kim EJ, Kilgore P, Takahashi H, Ohnishi M, Tomono J, Miyamoto S, Omagari D, Kim DW, Seki M. A Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Serogroup Identification of *Neisseria meningitidis* in Cerebrospinal Fluid. Frontiers in Microbiology 2016 6:1548.

32) 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 2016 11(2): e0147907.

33) 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. 22(7):501-4.

34) Njamkepo E, Fawal N, Tran-Dien A, Hawkey J, Strockbine N, Jenkins C, Talukder KA, Bercion R, Kuleshov K, Kolínská R, Russell JE, Kaftyreva L, Accou-Demartin M, Karas A, Vandenberg O, Mather AE, Mason CJ, Page AJ, Ramamurthy T, Bizet C, Gamian A, Carle I, Sow AG, Bouchier C, Wester AL, Lejay-Collin M, Fonkoua MC, Hello SL, Blaser MJ, Jernberg C, Ruckly C, Mérens A, Page AL, Aslett M, Roggentin P, Fruth A, Denamur E, Venkatesan M, Bercovier H, Bodhidatta L, Chiou CS, Clermont D, Colonna B, Egorova S, Pazhani GP, Ezernitchi AV, Guigon G, Harris SR, Izumiya H, Korzeniowska-Kowal A, Lutyńska A, Gouali M, Grimont F, Langendorf C, Marejková M, Peterson LA, Perez-Perez G, Ngandjio A, Podkolzin A, Souche E, Makarova M, Shipulin GA, Ye C, Žemličková H, Herpay M, Grimont PA, Parkhill J, Sansonetti P, Holt KE, Brisse S, Thomson NR, Weill FX. Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1. Nat Microbiol. 2016; 1:16027. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.27. PubMed PMID: 27572446.

35) Nguyen DT, Ngo TC, Le TH, Nguyen HT, Morita M, Arakawa E, Ohnishi M, Nguyen BM, Izumiya H. Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* O1 in northern Vietnam (2007-2009), using multilocus variable-number tandem repeat analysis. J Med Microbiol. 2016; 65(9):1007-12.

36) Tamamura Y, Uchida I, Tanaka K, Nakano Y, Izumiya H, Takahashi T, Kikuchi N. A case study on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium at a dairy farm associated with massive sparrow death. Acta Vet Scand. 2016; 58:23.

37) Chiou CS, Izumiya H, Kawamura M, Liao YS, Su YS, Wu HH, Chen WC, Lo YC. The worldwide spread of ciprofloxacin-resistant *Shigella sonnei* among HIV-infected men who have sex with men, Taiwan. Clin Microbiol Infect. 2016; 22(4):383.e11-6.

38) Nguyen VH, Pham HT, Diep TT, Phan CD, Nguyen TQ, Nguyen NT, Ngo TC, Nguyen TV, Do QK, Phan HC, Nguyen BM, Ehara M, Ohnishi M, Yamashiro T, Nguyen LT, Izumiya H. *Vibrio cholerae* O1 El Tor from southern Vietnam in 2010 was molecularly distinct from that present from 1999 to 2004. Epidemiol Infect. 2016; 144(6):1241-7.

39) Nishiumi, F., Ogawa, M., Nakura, Y., Hamada, Y., Nakayama, M., Mitobe, J., Sakai, N., Hiraide, A., Takeuchi, M., Yoshimori, T. and Yanagihara, I. Intracellular fate of *Ureaplasma parvum* entrapped by host cellular autophagy. Microbiology Open. doi: 10.1002/mbo3.441 (2017)

40) Klionsky DJ, Ogawa, M. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). Autophagy. 12:1-222. (2016)

40) Tsutsuki H, Yahiro K, Ogura K, Ichimura K, Iyoda S, Ohnishi M, Nagasawa S, Seto K, Moss J, Noda M. Subtilase cytotoxin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* induces stress granule formation. Cell Microbiol. 2016, 18(7), 1024-40.

41) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Nishii H, Ohnishi M, Mekata H, Ogura Y, Hayashi T. Six Novel O Genotypes from Shiga

Toxin-Producing *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2016, 7: 765.

42) Ishijima N, Lee KI, Kuwahara T, Nakayama-Imaohji H, Yoneda S, Iguchi A, Ogura Y, Hayashi T, Ohnishi M, Iyoda S. Identification of a New Virulent Clade in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H- Sequence Type 29. Sci Rep. 2017, 7: 43136.

43) Kabeya H, Sato S, Oda S, Kawamura M, Nagasaka M, Kuranaga M, Yokoyama E, Hirai S, Iguchi A, Ishihara T, Kuroki T, Morita-Ishihara T, Iyoda S, Terajima J, Ohnishi M, Maruyama S. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from feces of sika deer (Cervus nippon) in Japan using PCR binary typing analysis to evaluate their potential human pathogenicity. J Vet Med Sci. 2017, 79(5): 834-41.

44) Ito S, Hanaoka N, Shimuta K, Seike K,Tsuchiya T, Yasuda M, Yokoi S, Nakano M, Ohnishi M, Deguchi T. Microbiological etiologies, including bacterial, viral, and protozoan species, and demographic and clinical features of male non-gonococcal urethritis. International Journal of Urology. 2016; 23: 325-331.

45) Morita-Ishihara T, Iyoda S, Iguchi A, Ohnishi M. Secondary Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Infection, Japan, 2010-2012. Emerg Infect Dis. 22:2181-2184. 2016.

46) Matono T, Kato Y, Morita M, Izumiya H, Yamamoto K, Kutsuna S, Takeshita N, Hayakawa K, Mezaki K, Kawamura M, Konishi N, Mizuno Y, Kanagawa S, Ohmagari N. Case series of imported enteric fever at a referral center in Tokyo, Japan: antibiotic susceptibility and risk factors for relapse. Am J Trop Med Hyg. 95: 19-25. 2016.

47) Katanami Y, Kutsuna S, Morita M, Izumiya H, Ohnishi M, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Six cases of Paratyphoid fever due to *Salmonella* Paratyphi A in travelers returning from Myanmar between July 2014 and August 2015. Am J Trop Med Hyg. 95: 571-573. 2016.

2. 和文発表

1）倉　文明：特集：食品製造、生活環境における ATP 法と可能性、入浴施設等のレジオネラ対策に ATP 検査法を活用する、クリーン・テクノロジー 2017.27:27-31.

2）今野貴之、髙橋志保、鈴木純恵、樫尾拓子、熊谷優子、木内雄、石井淳、前川純子、大西　真、倉　文明: 2016 年に多発傾向がみられたレジオネラ症の解析－秋田県、病原微生物検出情報 2017.38:22.

2）高橋英之、大西真：髄膜炎菌感染症　感染症　**46**(2)：34-39, 2016.

3）泉谷秀昌:標準法から通知法に採用されたサルモネラ属菌試験法について。食品衛生研究、第66巻第4号、11-15、2016 年 4 月。

4）泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、伊豫田淳、大西真：2015 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 37 巻、93-95、2016 年 5 月

5）荒川英二

体と心　保健総合大百科<中・高校編>2017　年間連載「感染症」 p. 110 7 赤痢、コレラ）　少年写真新聞社

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1）Amemura-Maekawa J, Chida K, Ohya H, Isobe J, Kanatani J-I, Tanaka S, Nakajima H, Yoshino S, Ohnishi M, Kura F. Characterization for clinical *Legionella* species by *Legionella* Reference Center in Japan. ESGLI 2016. Amsterdam, September 2016.

2）Kuroki T, Watanabe Y, Teranishi H, S. Izumiyama S, Amemura-Maekawa J, and Kura F. *Legionella* prevalence and risk of legionellosis in Japanese households. ESGLI 2016. Amsterdam, September 2016.

3）Nakayama S, Shimuta K, Furubayashi K, Kawahata T, Unemo M, Ohnishi M.　New ceftriaxone- and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with a novel mosaic *penA* gene isolated in Japan. 19th IUSTI Asia-Pacific Conference. 2016. Dec. Okayama.

4）Tahara H, Koizumi N, Sasaki Y, Kasuga K, Kawamoto A, Kudo S, Nakamura S. Swimming and gliding motilities of the spirochete *Leptospira*. BLAST XIV, USA, January 2017.

5）Nakao R, Ogata Y, Shimizu T, Senpuku H. Therapeutic implications of propolis and curry leaf against periodontitis. 94th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, Seoul, Republic of Korea, June 22-25, 2016.

6）Saeki Y, Mohri S, Tsugane T, Suzuki Y, Arai T, Ochiai K, Senpuku H. Effects of Potherb mustard extract on *Actinomyces naeslundii* biofilm formation. 95th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

7）Ishikawa M, Senpuku H, Shibuya K, Nakasugi T,

Murata T, Hanada N. Effects of black cumin seed oil on *Streptococcus mutans* biofilm. San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

8) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Effects of SCFAs on attachment and biofilm of *Actinomyces oris.* 95th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

9) Nagasawa R, Sato T, Senpuku H. Raffinose induces extracellular DNA-dependent biofilm formation of *Streptococcus mutans.* 95th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, San Francisco, USA, March 22-25, 2017.

10) Nakao R, Hasegawa H, Ohnishi M, Senpuku H : Assessment of outer membrane vesicle of *Porphyromonas gingivalis* as a mucosal immunogen candidate for development of a periodontal disease vaccine : 10th Vaccine Congress. Amsterdam, Netherland, Sep. 2016.

11) 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) 2016 , Tsukuba Japan, Sep. 2016.

12) Nagayama K, Obana N, Nakao R, Senpuku H, Nakamura K, Nomura N : A feasible intranasal vaccine strategy using bacterial outer membrane vesicles: -the safety and cross-protective immunity- : Keystone Symposia, Translational vaccinology for global health, London, UK. Oct. 2016.

13) Nakao R, Hasegawa H, Yoshimasu Y, Ohnishi M, Senpuku H : Assessment of outer membrane vesicle of *Porphyromonas gingivalis* as a mucosal immunogen candidate for development of a periodontal disease vaccine: ASM Conference on antibacterial development. Washington DC, USA. Dec. 2016.

14) Nakao R, Hasegawa H, Yoshimasu Y, Ohnishi M, Senpuku H Vaccine Efficacy and Safety of Outer Membrane Vesicles Derived from a Major Periodontopathic Bacterium, *Porphyromonas gingivalis* : Joint Meeting of Umeå University and Karolinska Institutet. Umeå, Sweden. Mar. 2017.

15) Tahahashi H, Yanagisawa T, KW Kim, 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. 2016 International Pathogenic Neisseria Conference, Manchester, 2016.

16) Ken Shimuta, Shu-ichi Nakayama, Tomoko Morita-Ishihara, Makoto Ohnishi: Characterization of azithromycin resistant Neisseria gonorrhoeae strains isolated in Kyoto and Osaka, Japan, 2010-2015, 19th IUSTI Asia-Pacific Conference,Okayama,December,2016.

2. 国内学会

1)黒木俊郎, 大屋日登美, 鈴木美雪, 政岡智佳, 古川一郎, 前川純子, 倉　文明. 医療機関の給水系におけるレジオネラ属菌汚染実態調査. 第 90 回日本感染症学会学術講演会. 2016 年 4 月, 仙台.

2) 杉山寛治、長岡宏美、佐原啓二、和田裕久、土屋祐司、市村祐二、青木信和、神野透人、小坂浩司、泉山信司、八木田健司、縣邦雄、田中慶郎、前川純子、倉 文明. モノクロラミン消毒の事前適合性試験の提案.　日本防菌防黴学会第 43 回年次大会. 2016 年 9 月, 東京.

3) 泉山信司、倉　文明、大屋日登美、黒木俊郎：病院の蛇口におけるレジオネラ汚染の検出. 第 16 回環境技術学会年次大会. 2016 年 9 月, 兵庫県.

4) 黒木俊郎、泉山信司、大屋日登美、鈴木美雪、前川純子、倉　文明. 医療機関の給水系におけるレジオネラ属菌汚染調査. 日本水道協会平成 28 年度全国会議（第 89 回総会・水道研究発表会）. 2016 年 11 月, 京都.

5) 村井美代、田野ルミ、前川純子. 黄色ブドウ球菌の咽頭保菌の実態および影響要因. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月, 仙台.

6) 松村隆之、池辺忠義、大西真、阿戸学. IL-6-deficient immature myeloid cells have no protective function against *Streptococcus* infection. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年.

7) 大西　真. 薬剤耐性淋菌の耐性獲得・伝播の分子機構 第 104 回日本泌尿器科学会総会. 2016 年 4 月　仙台

8) 大西　真. 性感染症の発生動向. 第 115 回日本皮膚科学会総会. 2016 年 6 月　京都

9) 大西　真. 薬剤耐性淋菌の現状と将来展望. 第 64 回化学療法学会総会. 2016 年 6 月　神戸

10) 大西　真. 淋菌の薬剤耐性進化-わが国の薬剤耐性菌(AMR)アクションプランの中での位置付け-. 第 7 回東海 STI 研究会. 2016 年 9 月　名古屋

11) 大西　真. 増加する梅毒-忘れてはならない病気-.

日本性科学連合第17回性科学セミナー. 2016年9月　長野

12) 大西　真. 症例から学ぶ感染症セミナー　梅毒. 第65回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第63回日本化学療法学会東日本支部総会. 2016年10月　新潟

13) 大西　真. 梅毒　−国内の現状−. 第30回日本エイズ学会学術集会. 2016年11月　鹿児島

14) 大西　真. 淋菌の薬剤耐性化とそのメカニズム. 日本性感染症学会第29回学術集会. 2016年12月　岡山

15) 大西　真、性感染症の最近の話題〜急増する梅毒を中心に疫学、臨床、病理、予防、治療を学ぶ〜、平成28年度　福島県性感染症対策研修会、2017年3月 富山

18) 大西　真、注目の性感染症　− 梅毒と淋菌感染症 −、平成28年度富山県臨床衛生検査研修会、2017年3月 郡山

19) 川端寛樹. ダニ媒介性感染症. 山形県獣医師会講演. 2016年3月. 山形.

20) 川端寛樹. *Borrelia miyamotoi* disease (BMD). 第８回リケッチア臨床研究会. 2016年1月. 滋賀.

21) 川端寛樹. マダニ媒介性感染症. 国立国際医療研究センター・厚生労働省共催　第２回節足動物媒介性感染症講習会. 2016年6月. 東京.

22) 川端寛樹. ボレリア感染症. 第9回東海血流感染セミナー. 2016年7月. 名古屋.

23) 伊藤幸枝, 古野希和, Bazartseren B, Naranbaatar O, Yondonjamts E, 川端寛樹, 高田伸弘 , 安藤匡子, 藤田博己, 度会雅久, 下田宙 , 前田健 , 高野愛. 国内およびモンゴル国にて採取したマダニにおける新興回帰熱群ボレリアの疫学調査研究. 第159回日本獣医学会学術集会. 2016年9月. 藤沢.

24) 越智晶絵, 今内覚, 伊東拓也, 川端寛樹, 高野愛, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来sialostatinL2の機能解析. 第159回日本獣医学会学術集会. 2016年9月. 藤沢

25) 川端寛樹, 佐藤(大久保)梢, 熊谷由美, 大西真. 新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD)の新規抗体検査系の確立のための基盤的研究. 第159回日本獣医学会学術集会. 2016年9月. 藤沢

26) 佐藤(大久保)梢, 大西真, 川端寛樹. 抗体調査により新たに見出された新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD)の後向き疫学調査.　第159回日本獣医学会学術集会. 2016年9月. 藤沢

27) 平良雅克, 川端寛樹, 藤田博己, 角坂照貴, 西條政幸, 安藤秀二. 国内のマダニにおけるエーリキア属菌浸潤状況. 第23回リケッチア研究会. 2016年12月. 東京

28) 高娃, 曹民治, 大橋典男, 川端寛樹, 安藤秀二. 内モンゴル自治区におけるリケッチアとボレリア菌種の多様性に関する実態調査. 第23回リケッチア研究会. 2016年12月. 東京.

29) 冨澤莉那, 小泉信夫, 杉山広, 佐藤令一, 大西真. Gender difference of histopathology and cytokine gene expression in hamsters in *Leptospira* infection. 第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月.

30) 佐々木祐哉, 川本晃大, 春日紀恵, 中村修一, 佐藤令一, 大西真, 小泉信夫. Morphological and molecular characterization of a motility-defective mutant of *Leptospira biflexa*. 第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月.

31) 田原孟, 小泉信夫, 佐々木祐哉, 春日紀恵, 川本晃大, 中村修一. 細胞表面上でのレプトスピラの滑走運動. 第90回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月.

32) 三戸部治郎, 小泉信夫, 志牟田健, Shiha Ritam, Soma Mitra, Dhrubajyoti Nag, Hemanta Koley. 汎赤痢菌群に作用するユニバーサル弱毒ワクチン株の開発. 第 90 回日本細菌学会総会, 仙台, 2017年3月.

33) 冨澤莉那, 杉山広, 佐藤令一, 大西真, 小泉信夫. レプトスピラ感染ハムスターの組織病理とサイトカイン遺伝子発現の雌雄間比較. 第54回レプトスピラシンポジウム, 仙台, 2017年3月.

34) 佐々木祐哉, 川本晃大, 田原孟, 中村修一 , 春日紀恵 , 佐藤令一, 大西真, 小泉信夫. レプトスピラ運動変異体の形態学的および分子生物学的解析. 第54回レプトスピラシンポジウム, 仙台, 2017年3月.

35) 高部響介, 田原孟, 小泉信夫, 佐々木祐哉, 川本晃大, 西山慶吾, 工藤成史, 中村修一. レプトスピラ感染症における病原体の動的特性の関わり. 第54回レプトスピラシンポジウム, 仙台, 2017年3月.

36) 永沢亮、泉福英信、*Streptococcus mutans* の eDNA 依存的バイオフィルム形成に対するラフィノースの影響、第30回日本バイオフィルム学会、東京、2016年、７月。

37) 鈴木雄祐、荒井俊明、小倉直美、近藤壽郎、泉福英信、*Streptococcus mutans* における Fructanase の CSP 依存的 Quorum sensing への影響、第５８回歯科基礎医学会、札幌、2016年8月。

38) 中尾龍馬、泉福英信、殺菌性を有する食品を利用した歯周病細菌の制御に関する研究、第５８回歯科基礎医学会、札幌、2016年8月。

39) 永山恭子、尾花 望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦、*Clostridium perfringens* はメンブレンベシ

クルを介して宿主免疫応答を誘導する、第 31 回日本微生物生態学会、横須賀、2016 年 10 月。

40) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穣、泉福英信、野村暢彦、*Streptococcus mutans* releases extracellular DNA in response to sucrose. 第 31 回日本微生物生態学会、横須賀、2016 年 10 月。

41) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穣、泉福英信、野村暢彦、スクロースは *Streptococcus mutans* の細胞外 DNA 放出を誘導する. 第 31 回日本微生物生態学会、日本農芸化学会関東支部会　2016、武蔵野、2016 年 10 月。

42) 永山恭子、尾花 望、中尾龍馬、泉福英信、中村幸治、野村暢彦、ウェルシュ菌の膜小胞を介した宿主免疫応答誘導メカニズムの解析、日本農芸化学会　2017、京都、2017 年 3 月。

43) 泉福英信、永沢亮、鈴木雄祐、大西真、*Streptococcus mutans* のグルカン依存およびグルカン非依存バイオフィルム形成へのポリピロールの効果、第９０回日本細菌学会総会、仙台、201７年 3 月. 第９０回日本細菌学会総会、仙台、201７年 3 月.

44) 平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬、*A. actinomycetemcomitans* 外膜ヴェジクルの粘膜アジュバント効果、第９０回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月.

45) 花岡実梨、成澤直規、泉福英信、竹永章生、*Streptococcus mutans* の黄色色素産生に関する検討、第９０回日本細菌学会総会、仙台、201７年 3 月.

46) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穣、泉福英信、野村暢彦、*Streptococcus mutans* releases extracellular DNA in response to sucrose. 第９０回日本細菌学会総会、仙台、201７年 3 月.

47) 中尾龍馬：歯周病細菌由来ヴェシクルの経鼻粘膜ワクチンへの応用:第 30 回日本バイオフィルム学会学術集会、東京、2016 年 7 月

48) 永山 恭子, 尾花 望, 中尾 龍馬, 泉福 英信, 中村幸治, 野村 暢彦：*Clostridium perfringens* のメンブランベシクルを介した宿主免疫誘導：グラム陽性菌ゲノム機能会議、熱海、2016 年 8 月

49) 吉益由莉、中尾龍馬：プロポリスは細菌表層での異常な小胞形成と膜傷害を誘導し迅速に殺菌する。第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月

50) 山本章治. PTS によるコレラ菌 DNA コンピテンスの制御. 第 90 回日本細菌学会総会, 仙台, 2017 年 3 月.

51) 仙石徹、柳沢達男、鈴木健裕、堂前直、渡邉千鶴、本間光貴、疋田泰士、高橋英之、横山茂之、髄膜炎菌由来の翻訳因子 EF-P のラムノース修飾による活性化の構造的基盤、第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年

52) 柳沢達男、高橋英之、鈴木健裕、益田晶子、堂前直、横山茂之、髄膜炎菌由来翻訳因子 EF-P とラムノシル化修飾部位 Arg32 は生存に不可欠である　第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年

53) 高橋英之、羽賀將衛、砂川富正、齋藤剛仁、北原武尊、松本　壮吉、大西真、咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康者保菌調査の実施、第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年

54) 泉谷秀昌、森田昌知、大西真：*Shigella sonnei* における分子疫学解析および薬剤耐性について。第 90 回日本感染症学会総会、2016 年 4 月、宮城県仙台市。

55) 朽名悟、米谷正太、荒木光二、泉谷秀昌：基質特異性拡張型β－ラクタマーゼ産生 *Salmonella* Blockley による腸炎の 3 歳男児例。第90回日本感染症学会総会、2016 年 4 月、宮城県仙台市。

56) 泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真：2015 年における腸管出血性大腸菌 0157・026・0111 の分子疫学解析。第 37 回日本食品微生物学会学術総会、2016 年 9 月、東京都。

57) 泉谷秀昌：分子疫学解析を用いた赤痢菌のサーベイランスについて。第 37 回日本食品微生物学会学術総会、2016 年 9 月、東京都。

58) 炭山大輔、清水彩子、阿部愼太郎、泉谷秀昌、村田浩一：沖縄県における外来種グリーンアノールと生息環境試料からのサルモネラおよび大腸菌検出と薬剤耐性。第 159 回日本獣医学会、2016 年 9 月、神奈川県藤沢市。

59) 末石結衣、小川道永、木立壮洋、大西　真. 肺炎球菌のα溶血責任因子の探索、第 99 回日本細菌学会関東支部総会、東京、 2016 年 10 月 6 日.

60) 番上将也、井口 純、伊豫田 淳、勢戸 和子、腸管出血性大腸菌に関連するべん毛抗原型 (H 型) を判定する PCR 法の開発. 第 37 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2016 年.

61) 番上将也、井口 純、伊豫田 淳、勢戸 和子、大腸菌のべん毛抗原型 (H 型) を判定する PCR 法の開発. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016 年.

62) 綿引正則、木全恵子、磯部順子、李 謙一、伊豫田 淳、大西 真、比較ゲノム解析手法に基づいた集団食中毒事例で検出されたⅡ型制限修飾酵素をもつ Stx2 ファージの特徴. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016 年.

63) 伊豫田 淳、腸管出血性大腸菌感染症の現況と分離菌株の解析.　第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、シ

ンポジウム、富山、2016 年.

64) 伊豫田 淳、漆原康子、石嶋 希、李 謙一、井口 純、齊藤剛仁、石原朋子、櫻井淑男、大西真. *stx2f* 陽性の *Escherichia albertii* 感染が確認された HUS 症例. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016 年.

65) 中村佳司、村瀬一典、西田 留梨子、伊藤武彦、Mainil Jacques、吉野修司、磯部順子、勢戸和子、江藤良樹、富永 潔、緒方喜久代、斉藤志保子、八柳 潤、黒木真理子、木全恵子、前田詠里子、亀山光博、成松浩志、矢端順子、伊豫田 淳、大西 真、大岡唯祐、後藤恭宏、小椋義俊、林 哲也、腸管出血性大腸菌 O145 のゲノム多様性の解析. 第 20 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、富山、2016 年.

66) 八尋 錦之助、津々木 博康、小倉康平、伊豫田 淳、市村公敏、大西真、勢戸和子、野田公俊、LEE-negative 腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin のストレスグラニュー形成メカニズム. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜市、2016 年.

67) 須藤直樹、相馬 亜希子、伊豫田 淳、関根靖彦. small RNA による *ler* 発現抑制. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜市、2016 年.

68) 満仲翔一、須藤直樹、伊豫田 淳、関根靖彦. Stx2 ファージに存在するべん毛遺伝子群発現抑制因子の同定及び機能解析. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜市、2016 年.

69) 満仲翔一、須藤直樹、伊豫田 淳、関根靖彦、腸管出血性大腸菌 O157:H7 Sakai 株に存在する Stx2 ファージに コードされた small RNA SesR の同定及び機能解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

70) 津々木 博康、張 田力、小野勝彦、八尋 錦之助、伊豫田 淳、勢戸和子、大西 真、野田公俊、赤池孝章、澤 智裕、腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin によるインフラ マソーム抑制機構の解明. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

71) 中村佳司、村瀬一典、伊藤武彦、Mainil Jacques、吉野修司、黒木 真理子、木全恵子、磯部順子、勢戸和子、江藤良樹、前田詠里子、緒方喜久代、成松浩志、斉藤志保子、八柳 潤、伊豫田 淳、大西 真、大岡唯祐、後藤恭宏、小椋義俊、林 哲也、比較ゲノムによる腸管出血性大腸菌 O145:H28 の多様性解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

72) 八尋 錦之助、津々木 博康、小倉康平、伊豫田 淳、市村公敏、大西 真、勢戸和子、野田公俊. LEE-negative 腸管出血性大腸菌が産生する Subtilase cytotoxin のストレスグラニュール形成は PKC 依存性である. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

73) 石嶋 希、伊豫田 淳、漆原康子、大岡唯祐、李 謙一、勢戸和子、井口 純、櫻井淑男、大西 真、HUS 患者から分離された *stx2f* 陽性 *Escherichia albertii* の性状解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

74) 小椋義俊、黒木 真理子、吉野修司、木全恵子、磯部順子、勢戸和子、前田 詠里子、江藤良樹、楠本正博、秋庭正人、石嶋 希、李 謙一、伊豫田 淳、大西 真、大岡唯祐、後藤恭宏、林 哲也、国内外で分離された 521 株の腸管出血性大腸菌 O26 の全ゲノム系統解析と病原遺伝子レパートリー解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

75) 須藤直樹、相馬 亜希子、伊豫田 淳、風間大輝、関根靖彦、Regulation of the LEE expression by a small RNA, Esr41, and RNA-binding protein, Hfq, in EHEC. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台市、2017 年.

76) 青木 弘太郎、志牟田 健、大西 真、石井 良和、舘田 一博: モザイク PBP2 保有淋菌におけるセフトリアキソン耐性補助因子の探索 第 89 会日本細菌学会総会、仙台、2017、3 月

77) 伊藤 晋、伊藤貴子、簇崎恭子、安田満、高橋聡、井川ジーン、志牟田健、大西真、出口隆:咽頭淋菌の診断に関する検討ー培養法を評価基準とした COBAS 4800、APTIMA Combo2 併施の意義ー、日本性感染症学会 第 29 回学術大会, 岡山、2016 年 12 月

78) 伊藤 晋、伊藤貴子、簇崎恭子、安田満、井川ジーン、志牟田健、大西真、出口隆:咽頭淋菌の診断に関する検討ーうがい液検体を用いた AccuGene m-CT/NG と COBAS 4800、APTIMA Combo2 の比較ー、 日本性感染症学会 第 29 回学術大会, 岡山、2016 年 12 月

79) 石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、大西真. 2015 年の Non-O157/O26/O111 腸管出血性大腸菌における分子疫学解析. 第 37 回日本食品微生物学会学術総会、東京、2016 年.

80) 石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、李謙一、大西真. 2015-2016 年における EHEC 広域 PFGE 型の発生動向. 第 20 回腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症研究会、富山、2016 年.

81) 森田昌知、泉谷秀昌、大西真. 2014 年、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 90 回日本感染症学会学術講演会、宮城、2016 年.

82) 森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、Alam M、今村大輔、篠田純男、大西真. ダッカ及びコルカタで分離されたコレラ菌流行株のゲノム疫学解析.第 50 回腸炎ビブリオシンポジウム、大阪、2016 年.

83) 今村大輔、Sarkar A、Nag D、Koley H、森田昌知、

大西真、水野環、三好伸一、篠田純男. インド、コルカタにおけるコレラ流行株の特徴と変化.第 50 回腸炎ビブリオシンポジウム、大阪、2016 年.
84) 森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、Alam M、今村大輔、篠田純男、大西真. ベンガル地方で分離されたコレラ菌流行株の比較ゲノム解析. 第 90 回日本細菌学会総会、宮城、2017 年.

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主に対象とし、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、薬剤耐性菌、マイコプラズマ、鼻疽菌・類鼻疽菌、インフルエンザ菌、*Clostridium difficile*、ジフテリア菌、結核菌等抗酸菌、ヘリコバクター、百日咳菌、バルトネラなど所掌する病原体について病原性に関する基礎研究、分子疫学解析、サーベイランス、検査法開発、新薬開発、新規ワクチン開発などを進めた。また、アジア等外国の研究機関との共同研究や途上国研究者向けの研修を行なった。

行政検査業務では、保健所、地方衛生研究所と連携して所掌する病原体の検査を実施し、また地方衛生研究所担当者向けに研修を実施した。細菌第二部で所掌する病原体に特定病原体が含まれているが、平成28年度は特に第二種病原体であるボツリヌス菌による感染疑例の検査依頼が増加した。

品質管理業務では、引き続き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なった。その他、品質管理に関する JICA の途上国担当者向け講義なども担当した。品質管理業務については、検定検査費が不十分な状況が続いていることから機器の更新やメンテナンスが十分にできていないため、所の問題として善処が強く望まれる。

人事では、4月1日に矢原耕史主任研究官が第6室に着任し、12月31日に第5室の平松征洋研究員が退職した。3月31日に近田俊文再任用職員主任研究官が任期満了となった。

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

医療機関や地方衛生研究所等から解析依頼を受けた、菌株 32 株（菌種内訳：*Acinetobacter baumannii* 11 株、*Enterococcus faecium* 1 株、*Escherichia coli* 8 株、*Klebsiella pneumoniae* 12 株）とDNA プラグ等の菌体 DNA 92 株（菌種内訳：*Citrobacter freundii* 2 株、*Enterobacter aerogenes* 7 株、*Enterobacter cloacae* 21 株、*Enterobacter* sp. 6 株、*E. coli* 22 株、*Klebsiella oxytoca* 4 株、*K. pneumoniae* 11 株、*Pantoea agglomerans* 1 株、*Providencia rettgeri* 1 株、*Pseudomonas aeruginosa* 1 株、*Salmonella enterica* serovar Infantis 2 株、*Salmonella enterica* serovar Manhattan 8 株、*Serratia marcescens* 6 株）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。菌株及び DNA プラグは、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。ただし、平成 28 年 1 月以降に受領した DNA プラグは、管理番号（AMR 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、甲斐久美子、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]

2. 我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

国立病院機構 30 施設で分離された CRE 100 株を対象に、薬剤耐性遺伝子検出、プラスミド解析等を実施した。100 株の菌種内訳は、*Enterobacter aerogenes* 29 株、*Enterobacter cloacae* 28 株、*Klebsiella pneumoniae* 16 株、*Escherichia coli* 7 株、その他 20 株であった。そのうち、カルバペネマーゼ産生菌（CPE）は 34 株であり、菌種は *E. cloacae* 13 株、*K. pneumoniae* 8 株、*E. coli* 4 株、その他 9 株で *E. aerogenes* は全て CPE ではなかった。bla_{IMP-1} や bla_{IMP-6} などのカルバペネマーゼ遺伝子型とプラスミド replicon type は多様であり、地域特性を認めた。

[松井真理、林美智子、瀬川孝耶、島綾香、鈴木里和、柴山恵吾、（以下、病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、加藤健吾、山下明史、黒田誠]

3. アシネトバクター属菌の分子疫学解析

多剤耐性アシネトバクター属菌の増加は世界的な問題となっているが、我が国での分離報告は少ない。そこで、国立病院機構 70 施設で分離された *Acinetobacter baumannii* 110 株の Multilocus Sequence Typing を実施し、海外で報告のある遺伝子型（Sequence Type、以下 ST）と比較した。日本固有と考えられる ST を数多く見出した。これらは、海外で報告のある ST に比べて、多くの薬剤に感性であった。[松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾、鈴木里和]

4. 薬剤耐性菌のプラスミド解析とデータベース拡充

病原体ゲノム解析研究センターと共同で構築している薬剤耐性菌ゲノムデータベース（GenEpid-J）の拡充を目的に、1,113 株に由来するプラスミドゲノム DNA（2,828 サンプル）及び全ゲノム DNA（1,187 サンプル）の配列解読及び解析を実施し、GenEpid-J に加えた。

これらの解読株のうち、行政検査や依頼検査として地方衛生研究所等から送付された株に関しては、プラスミド配列比較等を行い、疫学調査や感染対策に必要な解析結果を依頼元に報告した。

[松井真理、鈴木里和、林美智子、瀬川孝耶、島綾香、甲斐久美子、（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. $bla_{\text{IMP-6}}$ 保有 IMP-6 メタロ-β-ラクタマーゼ(MBL)非産生大腸菌における転写制御遺伝子の機能解析

国内で分離された $bla_{\text{IMP-6}}$ 陽性・IMP-6 MBL 非産生性の大腸菌のメロペネム含有培地継代により、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 産生性の株でプラスミド性転写制御遺伝子に変異があり、その補完株では $bla_{\text{IMP-6}}$ の転写が抑制された。さらに、補完株では鞭毛の遺伝子発現が高く、半流動培地による運動性比較試験においても補完株の運動性が増強されていた。カルバペネマーゼ産生を抑制したプラスミド性転写制御遺伝子が菌の運動性の増強にも関与していることが示唆された。[瀬川孝耶、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）]

6. Carba NP test を利用したカルバペネマーゼ遺伝子発現量の推定法の検討

Carba NP test は、イミペネム分解による pH の変化によりカルバペネマーゼ活性の有無を検出する方法である。一方、臨床分離株では、カルバペネマーゼ産生菌においてもカルバペネム系抗菌薬に対する MIC の分布は感性から耐性まで幅広く、その要因としてカルバペネマーゼ産生量の影響が示唆されていた。そこで Carba NP test で陽性と判定されるまでの時間（陽性判定時間）と多様なイミペネム MIC を示す 14 株で $bla_{\text{IMP-1}}$ の発現量を定量 RT-PCR で測定したところ、$bla_{\text{IMP-1}}$ の発現量はイミペネム MIC と相関しなかったが、陽性判定時間と相関していた。本法により、カルバペネム耐性が、カルバペネマーゼの産生量によるのか、もしくは膜透過性の低下などの別の機序によるのかを簡便に推定できると考えられた。[瀬川孝耶、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、柴山恵吾、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）]

7. MALDI-TOF MS によるカルバペネマーゼの検出

近年、臨床検査の現場への細菌同定用の MALDI-TOF MS の導入が進んだことに伴い、本機器のカルバペネマーゼ産生菌の検出などへの応用が報告されている。既報の検出法では高価なイミペネム試薬を使用する必要があったが、今回安価なイミペネムディスクを代用とし、かつ臨床現場に普及している機種で特殊なプログラムを使用せず検出可能な方法を開発した。カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 52 株、非産生菌 65 株を用いて検討したところ、感度は 98%、特異度は 100%であり、今後普及することが期待される。[島綾香、松井真理、瀬川孝耶、筒井敦子、鈴木里和、柴山恵吾]

8. 薬剤耐性菌研究における海外研究拠点と連携

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、広州・中山大学附属病院、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 株の解析を行った。 [鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、柴山 恵吾]

9. 大腸菌 O25 ST131 の保有するプラスミドの特性解析

大腸菌 O25 ST131 は世界的に $bla_{\text{CTX-M}}$ の拡散に関与していると報告されている。そこで我が国で 2008 年~2009 年にかけて分離された 50 株の大腸菌 O25 の染色体およびプラスミドゲノム解析を行った。大腸菌 O25 のうち、ST131-*H*30R1 は F1:A2:B20 プラスミドと関連していた。さらにこのプラスミドは他の Inc type と比べ耐性遺伝子を多く保有しており、接合能は低いものの、複数の plasmid stability genes を保有しており、宿主細胞において安定的に維持されていることから、耐性遺伝子の保管庫的役割をはたしていることが示唆された。[林美智子、松井真理、鈴木里和 （以下、病原体ゲノム解析研究センター）山下明史、関塚剛史、黒田誠]

10. 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 株式会社と微生物化学研究所との共同研究で、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、その機能解析を行った。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、双方の適応進化のメカニズムを *in virto* にて検討した。 [鈴木 仁人、成瀬 秀則 (協力研究員)、一久 和弘 (協力研究員)、柴山 恵吾]

Ⅱ. 鼻疽菌・類鼻疽菌に関する研究

1. *Burkholderia pseudomallei* の薬剤感受性の検討

B. pseudomallei は国内ではあまり分離報告例がなく、薬剤感受性試験の報告例も少ない。そのため保有している菌株について E-test を用いて試験を行った。その結果、これまで国外で報告されている薬剤感受性パターンとの大きな違いは見られなかった。[堀野敦子]

Ⅲ. インフルエンザ菌（*Haemophilus influenzae*）ならびに細菌性髄膜炎起因菌に関する研究

1. 成人由来侵襲性インフルエンザ菌の解析

侵襲性インフルエンザ菌感染症の報告が義務化された 2013 年 4 月以降に分離された成人由来のインフルエンザ菌について、小児 Hib ワクチンの定期接種化が与える影響を含めて解析を行った。その結果、殆どの分離株が NTHi（無莢膜型）であり、その他血清型 b、e、f が数株存在していた。MLST 解析では ST12 が 4 株、ST107、ST156、ST159、ST1218 がそれぞれ 3 株で同一 ST となり、殆どの分離株で異なる ST となった。また解析した 81 株中、18 株が新規 ST であった。2株以上からなる同一 ST では殆どの場合異なった地域、異なった時期による分離株であり、関連性を示す要素は見あたらはなかった。薬剤感受性試験では、アンピシリン耐性が増加傾向を示し、PBP3 の変異の増加とともに1株中の変異箇所数の増加が認められた。[久保田眞由美、見理剛、柴山恵吾、大石和徳、村上光一]

2. 成人由来非侵襲性インフルエンザ菌の解析

高齢者の喀痰由来インフルエンザ菌で、キノロン系薬剤に非感受性を示す菌が昨年に続同一病院から分離されており、薬剤感受性、耐性遺伝子や MLST 解析を行った。ゲノム解析の結果では、キノロン耐性遺伝子で、GyrA（S84V,D88N）、GyrB（S467F）、ParC（E88K,N138S, A156T）、ParE（V392I, S458L）の新たな変異を認めた。β-ラクタム系抗生物質耐性遺伝子では、PBP3 および PBP4 の ORF 内で数箇所の新たな変異を認めた。MLST 解析では *fucK* 遺伝子内で 100bp 欠損が判明し、ST 決定には至らなかった。[久保田眞由美、鈴木仁人、見理剛、柴山恵吾、本間泰夫（新潟市信楽園病院）]

3. 小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症患者由来菌株の解析

小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症の起因菌の変化を *H. influenzae* b 型（Hib）ワクチン導入前から経時的に調べている。平成 28 年度の分離株は、Non-typable *H. influenzae* (NTHi)のみで、a-f 型いずれかの莢膜を有する菌株は検出されなかった。分離菌株の主要な薬剤に対する薬剤感受性についても解析した結果、薬剤感受性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］

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のデータ整理を行い、一部学会発表を行った。 [妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

2. *Clostridium difficile* 遺伝子検出試薬開発に関する研究

Clostridium difficile 分離菌株における毒素遺伝子検出用試薬のキット「シカジーニアス毒素遺伝子 *C. difficile* 用」が製品化され、関東化学より発売が開始された。[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)におけるデータについて情報共有し、追加実験が開始された。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる、柴山恵吾、Vu Thi Thu Huong (NIHE, Vietnam)]

4. *Clostridium difficile* 感染症(CDI)に対する DNA ワクチンの開発

CDI に対するワクチンとして、毒素をターゲットにした DNA ワクチンの開発を始めた。DNA ワクチンのデザインと構築を行い、培養細胞において目的のタンパク質が産生されていることを確認した。[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. 日米医学協力計画を基軸としたアジア地域にまん延している急性呼吸器感染症に関する研究

マイコプラズマ、肺炎球菌等急性呼吸器感染症について病態の解明、ワクチン開発などの研究を推進し、2017 年 2 月に日米ならびにアジア研究者による国際会議を韓国にて開催した。[柴山恵吾、見理剛、大石和徳]

2. Nanopore シークエンサー技術を用いた *Mycoplasma amphoriforme* ゲノム解析法の検討

国内で初めて分離された *Mycoplasma amphoriforme* について慢性呼吸器感染症の病態理解を目的にゲノムを解析した。解析手法として long read が解読可能な Nanopore sequencer MinION MkIB (Oxford Nanopore Technologies 社)による *de novo* 配列決定について検討した。ゲノム DNA 抽出法や assemble の際の short read での補正の必要性などについて検討を行った。

[佐々木裕子、鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、見理 剛、勝川千尋(大阪健康安全基盤研究所)、水谷香代子(同上)、高橋和郎(国際医療福祉大学病院)、柴山恵吾]

3. マイコプラズマ肺炎流行期における菌株の収集と遺伝子解析

2016 年はマイコプラズマ肺炎の患者数が全国的に増加し、流行年となった。流行期の臨床分離株の動向を知るため、*M. pneumoniae* の分離菌を収集し、*p1* 遺伝子型別とマクロライド耐性の分析を行った。2016 年の分離株は、2011-2012 年の流行期と比べると、*p1* 遺伝子が 2c 型の株がやや増えており、マクロライド耐性遺伝子をもつものが減少していた。[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)、山崎 勉(若葉こどもクリニック)、勝川千尋(大阪健康安全基盤研究所)、見理 剛、柴山恵吾]

4. *Mycoplasma pneumoniae* の MLST 解析

これまでに北海道大学と共同研究で解析を行ってきた *M. pneumoniae* の保存菌株について、MLST 解析を開始した。

[堀野敦子、石黒信久(北海道大学)]

Ⅵ.. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

1. *Corynebacterium ulcerans* の変異株取得系の構築

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の変異株取得の手段として、平成 27 年度に構築した形質転換系を用いて部分特異的組換えによる変異株取得系の構築を開始した。[岩城正昭]

2. *Corynebacterium ulcerans* 臨床分離株のタイピング

国内初の死亡例を含む 4 症例および感染源と疑われる犬猫および環境から分離された *Corynebacterium ulcerans* 菌株についてリボタイプの解析を行なった。[岩城正昭]

Ⅶ. 結核等抗酸菌に関する研究

1. イソニアジド耐性機構の解析

これまでにイソニアジド耐性結菌より、イソニアジドの活性化に関わる KatG タンパク質の新規アミノ酸変異を見出している。本年度は KatG 上の新規アミノ酸変異とイソニアジド耐性との関連について調べた。その結果、イソニアジドの活性化、すなわちイソニアジド耐性に直接関与している新規アミノ酸変異を同定した。一方、KatG の酵素活性には影響を与えるが、イソニアジドの活性化には関与しないアミノ酸変異があることを明らかにした。[金玄、森茂太郎]

2. *Mycobacterium avium* K-10 株及び *Mycobacterium intracellulare* ATCC13950 株のゲノムライブラリー作製

新規薬剤耐性遺伝子を同定することを目的とした *M. avium* 及び *M. intracellulare* のゲノムライブラリー構築ため、*M. avium subsp. paratuberculosis* K-10 株及び *M. intracellulare* ATCC 13950 株のゲノムの抽出と精製を行った。[金玄、森茂太郎]

3. *Mycobacterium avium* 由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の結晶化

M. avium 由来新規ヌクレオチドについて、タンパク質全長を用いて結晶化スクリーニングを行ったところ、X 線測定に適した結晶が得られなかった。そこで、2 次構造予測で disorder 領域として予想された N 末部分(20 アミノ酸残基)を削除した変異体を作製して結晶化を試みた。その結果、X 線測定が可能な結晶が得られた。[本田尚子(品質保証・管理部)、森茂太郎]

4. 結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素を標的とした新規抗結核薬の開発

FDA 承認薬ライブラリーを用いて、結核菌由来新規ヌクレオチド加リン酸分解酵素の活性を阻害する化合物を同定した。その中には、結核菌の生育を阻害することが報告されている化合物が含まれていた。[森茂太郎]

Ⅷ. ヘリコバクター属菌に関する研究

1. *Helicobacter cinaedi* の薬剤耐性に関する研究

H. cinaedi の薬剤排出ポンプに着目し、薬剤耐性との関連を解析した。RND 型薬剤排出ポンプのノックアウト株において、β-lactam 薬であるアモキシシリンとセフトリアキソン、キノロン系抗菌薬であるシプロフロキサシン(CPFX)の MIC が大き

く低下したことから、これらの抗菌薬は RND 型薬剤排出ポンプにより排出されていることが明らかになった。さらに CPFX 高度耐性株では低度耐性株に比べて RND 型薬剤排出ポンプの構成遺伝子の発現量が優位に高かったことから、CPFX の高度耐性には RND 型薬剤排出ポンプの高発現が寄与していることが示唆された。[林原絵美子]

2. *H. cinaedi* のゲノム解析

院内感染由来株である MRY08-1234 株の完全ゲノムを解読した。また日本で分離された *H. cinaedi* 株のドラフトゲノムを解読し、得られたゲノム情報から比較ゲノム解析により院内感染由来クローンに特異的な因子の探索を行った。[林原絵美子]

Ⅸ. 百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

1. 百日咳菌 *bvgS* 変異株に関する研究

百日咳菌臨床分離株の中に主要病原因子を産生しない菌株を見出した。病原因子の発現を調節する BvgAS 二成分制御系の遺伝子を解析した結果，この株は BvgS タンパク質の 319 番目のプロリン（Pro319）がスレオニンに置換されていることが判明した。野生型の *bvgAS* 遺伝子の相補により病原因子の産生が復帰したことから，BvgS の Pro319 が BvgAS の活性化および病原因子の産生に必須であることが明らかとなった。［平松征洋，吉野修司（宮崎衛研），山村佳子（宮崎病院），大塚菜緒，柴山恵吾，渡邉峰雄（北里大），蒲地一成］

2. 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作出した線毛 2/3 発現東浜株（2 株）の全ゲノム解析を行った。組換え東浜株は，親株となる東浜株（感染研）及びストレプトマイシン耐性東浜株のゲノム配列と比較して，目的外の遺伝子変異を認めなかった。一方，感染研所有の東浜株は公開されている東浜株のゲノム情報（Genbank#BX470248）と比較して，33 箇所の遺伝子変異を有することが判明した。組換え東浜株は親株東浜株と同等の増殖性・抗原産生性を示し，ワクチン製造株として有用であることが示された。［大塚菜緒，平松征洋，蒲地一成］

3. Loopamp 百日咳菌検出試薬キット D の性能評価

百日咳感染症の新規検査法である Loopamp 百日咳菌検出試薬キット D（栄研化学）の性能評価を実施した。本検査キットの LAMP プライマーは百日咳毒素プロモーター*ptxP1* アレルに対し設計されたものであるが，一塩基多型を持つ *ptxP3* 株（SNP; G>A at −65 position）ならびに *ptxP8* 株（C>T at −60 position）に対しても高い検出感度を持つことを確認した。*ptxP1* 株と *ptxP3* 株が臨床分離株の 99%以上を占めることから，本検査キットは百日咳の遺伝子検査として有用である。［蒲地一成，森内巧，平松征洋，大塚菜緒］

4. アジアにおける百日咳流行株の分子疫学

アジアで流行する百日咳菌の遺伝子型解析として，カンボジアおよびベトナムの流行株を解析した。臨床検体を用いたダイレクトタイピング法により，カンボジアでは MT27 と MT29，ベトナムでは MT27 と MT104 が全体の 7 割以上を占めることが判明した。両国の流行株は他のアジア諸国のものと異なる集団構成を持つことが示された。［森内巧，蒲地一成，平松征洋，大塚菜緒］

Ⅹ. バルトネラ菌に関する研究

1.ネコひっかき病原因菌の解析

ネコひっかき病の原因菌である *Bartonella henselae* の依頼検査を実施。急性期血清では、*Bartonella* IFA 抗体価の IgG,IgM ともに陰性であったが PCR 検査で陽性を示した。回復期血清では、抗体価、PCR 検査とも陰性を示した。これまで、抗体価測定で陰性の場合 PCR 検査でも陰性であったが、今回のように PCR 検査だけが陽性となる場合が初めて見られた。[久保田眞由美、佐々木裕子、高木弘隆、見理剛、柴山恵吾]

2.路上生活者のバルトネラ菌に関する疫学調査

東京都の一地区で実施した救急搬送患者のうちシラミ保有者における *Bartonella quintana* に対する抗体価測定、臨床所見、データー等の解析を行った。その結果、搬送された路上生活者からは塹壕熱（trench fever）の原因菌である *B. quintana* 感染を示唆する結果が得られて、以前に比べて路上生活者数やその健康状態は改善に向かいつつあるものの依然忘れてはならない感染症であると考えられる。[久保田眞由美、佐々木年則（昆虫医科学部）、山岸拓也（感染症疫学センター）、伊藤航人（済生会中央病院）]

Ⅺ. 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. WHO の薬剤耐性サーベイランス(GLASS)への提出データ集計

WHO が進めているサーベイランス Global Antimicrobial Resistance Surveillance System に提出するデータを JANIS のデータベースから抽出し、集計した。[柴山恵吾、矢原耕史、筒井敦子]

2. 中国薬剤耐性サーベイランス CARSS との連携体制

CARSS を運営している北京大学臨床薬理研究所を訪問し、JANIS と情報交換を継続することとした。[柴山恵吾、矢原耕史、筒井敦子]

3. 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の収集状況について、200 床未満の感染管理認定看護師が在籍しない医療機関 5 施設の訪問調査を行った。いずれの医療機関においても適切なサーベイランス体制が構築され、JANIS マニュアルにのっとった情報収集が実施されていた。我が国において、サーベイランスデータの収集はマニュアルの整備、手法の普及により専門職が不在の医療機関においても実施可能である。一方、還元情報の活用は専門職が在籍していてもその手法が確立されていないため不十分であると考えられた。[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）]

4. 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

JANIS データを用いて非無菌検体からの *Bacillus cereus* 分離率より血流感染の要因となる病院環境中の *B. cereus* 量を間接的に評価できないか検討した。バシラス属菌のうち約 70％で菌種が同定されておらず、*B. cereus* に絞った解析が不可能であったため 100 床あたりのバシラス属菌の分離数の施設間比較を行ったところ、血液検体からのバシラス属菌の分離数が多い医療機関と呼吸器・糞便検体からのバシラス属菌の分離数の多い医療機関とに相関はなかった。その要因として、バシラス属を定常的に報告している医療機関が少なく、医療機関によっては非無菌検体からのバシラス属を JANIS に報告していない可能性があげられた。一方、*B. cereus*、バシラス属はいずれも夏季にピークを示す顕著な季節性を北海道、本州、沖縄いずれの医療機関でも認めた。定常的にバシラス属を報告している医療機関では夏期におけるバシラス属の非無菌検体からの検出が *B. cereus* 血流感染の予測因子になると考えられた。

[小林彩香（感染症疫学研究センターFETP）、鈴木里和]

5. 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。平成 28 年度は、モンゴル、ベトナム、インドネシアを候補とし、海外展開の準備を進めた。また、これらの国では薬剤感受性試験の多くがディスク法で行われているため、ディスク法のデータを集計するためのプログラムを開発した。さらに、海外展開用のプログラム一式の英語版 OS での動作検証を行った。[筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾]

6. JANIS 検査部門データの病院特性別集計に関する研究

JANIS 事業では 2014 年から 200 床未満の医療機関も参加可能となり、急性期機能を持つ大規模病院から慢性期機能を持つ小規模病院まで参加するようになった。JANIS に参加する医療機関が多様化する中、全参加医療機関と自施設を比較する還元情報のみならず、同じ診療特性の病院で層別して比較を行う必要性が高まっている。病床区分別病床数や平均在院日数などのデータを基に検討した結果、JANIS で既に行っている 200 床以上/未満の病床数別集計が層別化因子として妥当であるエビデンスが得られた。[筒井敦子、矢原耕史、鈴木里和、柴山恵吾]

7. JANIS 検査部門データの高速集計プログラムの開発

WHO の GLASS（The Global Antimicrobial Resistance Surveillance System）は、入院・外来および患者年齢で層別した主要な耐性菌の分離患者数の報告を各国に求めている。JANIS 検査部門のデータを高速に集計し、GLASS に報告・提出するためのデータファイルを作成するプログラムの開発を行った。また、JANIS 検査部門の公開情報に対応する集計を高速に行うプログラムを開発した[矢原耕史、柴山恵吾]。

8. 市中耐性菌サーベイランスシステムの構築

JANIS 事業では医療機関をサーベイランス対象としているものの、市中の診療所のデータは対象となっていない。そこで、診療所等から細菌検査依頼を受けている衛生検査所のデータを収集、集計、解析するシステムを JANIS システムに準じて構築した。衛生検査所で規定のフォーマットで作成された CSV ファイルを、市中耐性菌サーベイランスシステム提出用ファイルのフォーマットに変換して出力するツールの作成も併せて行った。[筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾]

レファレンス業務

Ⅰ．薬剤耐性菌関係

1. 薬剤耐性菌解析のための陽性コントロール DNA 及び標準作業手順書の提供

地方衛生研究所等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 DNA 及び試験手

順書の分与を行った。「病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌」にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の項目を追加し、ホームページで公開した。
[松井真理、甲斐久美子、鈴木里和]

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 5 施設に *Bordetella holmesii*-LAMP キット（3 キット）ならびに 4Plex リアルタイム PCR キット（6 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、新規参加医療機関が増加し続けており、平成 29 年 1 月時点で参加医療機関数は 1990 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、データの精度管理を経て、公開情報・還元情報の作成を行った。検査部門公開情報の 2015 年年報については英語版の作成も行った。一方で、月平均で 160 件の医療機関からの問い合わせに対応した。また、JANIS のデータ提出・活用のための説明会を 4 回開催した。加えて、検査部門の還元情報の見方に関するニュースレターの作成、システム運用に必要なドキュメントの整備等を行った。また、政府共通プラットフォームへのシステム移行を行った。
[筒井敦子、矢原耕史、川上小夜子、大木留美、藤村詠美、瀧世志江、柴山恵吾]。

Ⅱ．百日咳関係

医療機関（13 施設）からの依頼を受けて，百日咳様患者の病原体診断を 30 件実施した。［蒲地一成，柴田美幸，平松征洋，大塚菜緒］

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する研究

1. 破傷風トキソイドワクチン力価試験の in vitro 化に関する研究

マウスに苦痛を強いる破傷風トキソイドワクチンの力価試験の代替法の開発が求められている。マウスの代りに鶏卵の発育阻害を指標とすることが可能かどうかについて検討した。鶏卵の発育は 10000 マウス LD50 の破傷風毒素によっても阻害されず、鶏卵の発育阻害は力価試験の指標となり得ないことが判明した。[岩城正昭、嶋崎典子（インフルエンザウイルス研究センター）]

2. 破傷風トキソイドワクチンの力価試験への人道的エンドポイントの適用可能性に関する検討

破傷風トキソイド力価試験における人道的エンドポイントの適用可能性に関する検討を行った。過去の国家検定データを解析したところ、検討対象となるマウスは全体のわずか 15%でそれらの転帰は予想できず適用は不適切と考えられた。また大部分のマウス（約 85%）は攻撃翌日までに死亡するか症状が軽いため検討対象にならず、この試験に人道的エンドポイントを適用することは困難であると結論された。[岩城正昭]

3. 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

日本薬局方抗生物質標準品の品質評価手法の改良ならびに安定供給体制の構築を進めた。[柴山恵吾、近田俊文、鈴木里和、鈴木仁人、松井真理、筒井敦子]

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、検査について

細菌第二部では細菌製剤、抗毒素製剤、抗生物質製剤などの多くの製剤について国家検定、検査を担当している。平成28年度は総務部作成の II 国家検定・検査に示されている通り試験を実施した。

2. 承認前検査の実績

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体（ケイセントラ）の無菌試験（書類審査）

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（8 品目）：ミノサイクリン塩酸塩、ドキソルビシン塩酸塩、セファレキシン、スルバクタム、ピラルビシン、バンコマイシン塩酸塩、アンピシリン、セフォチアム塩酸塩
サブロット更新（2 品目）：タゾバクタム、セフィキシム
[松井真理、鈴木仁人、近田俊文、吉村由美子、瀧世志江、鈴木里和]

(2) 標準破傷風トキソイド（モルモット攻撃法、マウス攻撃法）の標準化作業を終了し、平成 28 年 5 月 12 日検定協議会で承認制定された。[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) 参照ジフテリア抗毒素（フロキュラシオン用）の標準化作

業を終了し、平成 29 年 1 月 12 日検定検査協議会で承認され制定された。[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) 参照破傷風抗毒素(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

4 件の行政検査依頼を受け、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等を実施した。疫学調査や院内感染対策に必要な解析結果を提供し、保健所や地方衛生研究所とともに感染対策支援を行った。受け入れ菌株数と菌種は下記のとおり。

菌株受入れ数(3 件 18 株)

Enterococcus faecium 4 株、*Enterobacter cloacae* 6 株、*Enterobacter aerogenes* 3 株、*Escherichia coli* 1 株、*Pseudomonas aeruginosa* 4 株

DNA プラグ受入れ数(1 件 13 株)

Citrobacter koseri 1 株、*E. cloacae* 3 株、*Enterobacter aerogenes* 2 株、*E. coli* 2 株、*Klebsiella pneumoniae* 4 株、*Pantoea* sp. 1 株

[松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、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.依頼検査

(1) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン(皮内用)関連

ア. 21 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2ロットの力価試験を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎、持田恵子]

6.収去検査

(1)無菌試験 1 件

厚生労働省によるメーカーの立ち入り調査にともなう依頼(薬生監麻発 0706 第 13 号、平成 28 年 7 月 6 日)。

[佐々木裕子、増田まり子、久保田眞由美、見理剛]

国際協力関係業務

Ⅰ. JICA 関係

1. 院内感染管理指導者養成研修講義(平成28年7月28日、11月17日)[柴山恵吾]

2. JICA 集団コース「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」において、DPT ワクチンの品質管理について講義を行った。(2017 年 1 月)[岩城正昭]

3. 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、DPT ワクチンの品質管理について講義を行った。(2017 年 2 月)[岩城正昭, 大塚菜緒]

4. 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。(2017 年 2 月)[堀野敦子、森茂太郎]

5. JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」において、無菌試験、マイコプラズマ否定試験に関する講義を行った。(2017 年 2 月)[見理 剛]

Ⅱ. WHO 関係

1. Bi-Regional Technical Consultation on Antimicrobial Resistance in Asia, 14 to 15 April 2016, Tokyo, Japan 講演(平成28年4月15日)

2. WHO 西太平洋地域事務局(WPRO)からの依頼による WHO fellowship としてカンボジアより 1 名、ラオスより 2 名、ベトナムより 2 名の計 5 名の研修生に対し約 1 週間の薬剤耐性菌ラボトレーニングコースを開催した。

[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、甲斐久美子、森井大一、瀬川孝耶、島綾香、鈴木里和]

3. WHO 西太平洋事務局(WPRO)の Collaborating Center 会議に出席し、関係者に厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)と WHONET を連携させた薬剤耐性菌サーベイランス体制について説明を行った。[筒井敦子、柴山恵吾]

4. WHO フェローシッププログラムにおいて, ベトナム NICVB からの研修生に対し「無細胞百日咳ワクチンに関する品質管理試験」に関する講義及び実技研修を行った(2017 年 2 月 6 日~24 日)。[大塚菜緒, 持田恵子, 蒲地一成]

III. その他

1. OIE Regional Short-term Training on Antimicrobial Resistance 講義(平成28年11月15日)[柴山恵吾]

研修業務

Ⅰ. 薬剤耐性菌に関する研修

1. A Short-term Training on Antimicrobial Resistance(平成

28年11月14日—18日)[柴山恵吾他細菌第二部職員、熊谷優子、内藤万佐子]

2. 地方衛生研究等の薬剤耐性菌検査担当者を対象に、薬剤耐性菌及び *Clostridium difficile* 等の院内感染関連病原体の検査に関する座学及び実習を行った。9 月 13 日～15 日の基本コースには 27 名が、9 月 15 日～16 日の応用コース(病原体ゲノム解析研究センターと共同開催)には 30 名が参加した。
[松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、甲斐久美子、吉村由美子、瀬川孝耶、島綾香、林美智子、鈴木里和、福田靖、妹尾充敏、与那嶺澄代、加藤はる、(以下 病原体ゲノム研究センター)関塚剛史、山下明史、黒田誠]

3. 東京大学の感染症研究国際展開戦略プログラム(J-GRID)「中国拠点を連携中心とした新興・再興感染症制御に向けた基盤研究 (分担・柴山 恵吾)」および AMED 研究班「薬剤耐性菌サーベイランスの強化及びゲノム解析の促進に伴う迅速検査法開発に関する研究 (代表・柴山 恵吾)」に関連して、広州・中山大学附属病院の職員 1 名およびベトナム・軍医病院の職員 1 名に対し、次世代シークエンサーを用いた薬剤耐性菌の解析方法に関する実習を実施した。
[鈴木仁人、平林亜希、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 28 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

1. 平成 28 年 11 月 16 日から 18 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。さいたま市、埼玉県、大阪府から 3 地研が参加した。参加者の希望により *Clostridium difficile* 感染症に関する講義も行った。
[岩城正昭、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(4 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 42 件の質問、相談、解析依頼に対応した。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、甲斐久美子、瀧世志江、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) Moriwaki S, Into T, Suzuki K, Miyauchi M, Takata T, Shibayama K, Niida S. γ-Glutamyltranspeptidase is an endogenous activator of Toll-like receptor 4-mediated osteoclastogenesis. Sci Rep. 2016 Oct 24;6:35930

2) Tran DN, Tran HH, Matsui M, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K, Pham TD, Van Phuong TT, DangDA, Trinh HS, Loan CT, Nga LTV, van Doorn HR, Wertheim HFL. Emergence of New Delhi metallo-β-lactamase 1 and other carbapenemase-producing *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex among patients in hospitals in Ha Noi, Viet Nam. Eur J Microbiol Infect Dis. 2017 Feb, 36(2):219-225.

3) Segawa T, Matsui M, Suzuki M, Tsutsui A, Kuroda M, Shibayama K, Suzuki S. Utilizing the Carba NP test as an indicator of expression level of carbapenemase genes in Enterobacteriaceae. J Microbiol Methods. 2017 Feb, 133:35-39.

4) Hayashi M, Kawamura K, Matsui M, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K, Arakawa Y. Reduction in chlorhexidine efficacy against multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* international clone II. J Hosp Infect. 2017 Mar, 95(3):318-323.

5) Ishiwada N, Takaya A, Kimura A, Watanabe M, Hino M, Ochiai H, Matsui M, Shibayama K, Yamamoto T. Linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* associated with long-term, repeated linezolid use in a pediatric patient. J Infect Chemother. 2016, 22:187-190

6) Suzuki M, Shibayama K, Yahara K. A genome-wide association study identifies a horizontally-transferred bacterial surface adhesin gene associated with

antimicrobial resistant strains. Sci Rep. 2016 6:37811.

7) Oinuma KI, Suzuki M, Sato K, Nakaie K, Niki M, Takizawa E, Niki M, Shibayama K, Yamada K, Kakeya H, Kaneko Y. Genome Sequence of an *Acinetobacter baumannii* Strain Carrying Three Acquired Carbapenemase Genes. Genome Announc. 2016 4(6): e01290-16.

8) Matsui H, Takahashi T, Murayama SY, Uchiyama I, Yamaguchi K, Shigenobu S, Suzuki M, Rimbara E, Shibayama K, Øverby A, Nakamura M. Draft Genome Sequence of *Helicobacter suis* Strain SNTW101, Isolated from a Japanese Patient with Nodular Gastritis. Genome Announc. 2016 4(5):e00934-16.

9) Teramoto M, Zhai Z, Komatsu A, Shibayama K, Suzuki M. Genome Sequence of the Psychrophilic Bacterium *Tenacibaculum ovolyticum* Strain da5A-8 Isolated from Deep Seawater. Genome Announc. 2016 4(3):e00644-16.

10) Uchiyama J, Suzuki M, Nishifuji K, Kato S, Miyata R, Nasukawa T, Yamaguchi K, Takemura-Uchiyama I, Ujihara T, Shimakura H, Murakami H, Okamoto N, Sakaguchi Y, Shibayama K, Sakaguchi M, Matsuzaki S. Analyses of Short-Term Antagonistic Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO1 and Phage KPP22 (Myoviridae Family, PB1-Like Virus Genus). Appl Environ Microbiol. 2016 82(15):4482-91.

11) Kawanishi M, Abo H, Ozawa M, Uchiyama M, Shirakawa T, Suzuki S, Shima A, Yamashita A, Sekizuka T, Kato K, Kuroda M, Koike R, Kijima M.Prevalence of colistin-resistance gene *mcr-1* and absence of *mcr-2* in *Escherichia coli* isolated from healthy food producing animals in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2016 61(1) e02057-16

12) Morikane K, Honda H, Suzuki S. Factors associated with surgical site infection following gastric surgery. Infect Control Hosp Epidemiol. 2016 37(10):1167-72

13) Tanihara S, Suzuki S. Estimation of the incidence of MRSA patients:evaluation of a surveillance system using health insurance claim data. Epidemiol. Infect. 2016 144(11):2260-7,

14) Cairns MD, Preston MD, Hall CL, Gerding DN, Hawkey PM, Kato H, Kim H, Kuijper EJ, Lawley TD, Pituch H, Reid S, Kullin B, Riley TV, Solomon K, Tsai PJ, Weese JS, Stabler RA, Wren BW. Comparative genome analysis and global phylogeny of the toxin variant *Clostridium difficile* PCR Ribotype 017 reveals the evolution of two independent sublineages. J Clin Microbiol 2017, 55: 865-876.

15) Katanami Y, Kutsuna S, Horino A, Hashimoto T, Mutoh Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. A fatal case of melioidosis with pancytopenia in a traveler from Indonesia. J. Infect. Chemother. 2017, 23(4):241-244.

16) Matsui H, Takahashi T, Murayama SY, Uchiyama I, Yamaguchi K, Shigenobu S, Suzuki M, Rimbara E, Shibayama K, Øverby A, Nakamura M. Draft Genome Sequence of *Helicobacter suis* Strain SNTW101, Isolated from a Japanese Patient with Nodular Gastritis. Genome Announc. 2016, 4(5).

17) Trespalacios-Rangél AA, Otero W, Arévalo-Galvis A, Poutou-Piñales RA, Rimbara E, Graham DY. Surveillance of Levofloxacin Resistance in *Helicobacter pylori* Isolates in Bogotá-Colombia (2009-2014). PLoS One. 2016, 11(7):e0160007.

18) Changkwanyeun R, Yamaguchi T, Kongsoi S, Changkaew K, Yokoyama K, Kim H, Suthienkul O, Usui M, Tamura Y, Nakajima C, Suzuki Y. Impact of mutations in DNA gyrase genes on quinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. Drug testing and analysis. 2016, 8(10):1071-1076.

19) 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 2016, 36:21.

20) Wachino J, Yamaguchi Y, Mori S, Jin W, Kimura K,

Kurosaki H, Arakawa Y. Structural insights into recognition of hydrolyzed carbapenems and inhibitors by subclass B3 metallo-β-lactamase SMB-1. Antimicrobial agents and chemotherapy 2016, 60(7):4274-4282.

21) Gomes C, Palma N, Pons MJ, Magallón-Tejada A, Sandoval I, Tinco-Valdez C, Gutarra C, Del Valle-Mendoza J, Ruiz J, Matsuoka M. Succinyl-CoA Synthetase: New Antigen Candidate of *Bartonella bacilliformis*. PLoS Negl Trop Dis. 2016 Sep 14;10(9)

22) Zhang J, Song X, Ma MJ, Xiao L, Kenri T, Sun H, Ptacek T, Li S, Waites KB, Atkinson TP, Shibayama K, Dybvig K and Feng Y. Inter- and intra-strain variability of tandem repeats in *Mycoplasma pneumoniae* based on next-generation sequencing data. Future Microbiol. 2016, 12: 119-129

23) Mori N, Takigawa A, Kagawa N, Kenri T, Yoshida S, Shibayama K and Aoki Y. Pelvic abscess due to *Mycoplasma hominis* following cesarean section. JMM Case Rep. 2016, 3(4):e005059

24) Yamazaki T and Kenri T (2016) Epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Japan and Therapeutic Strategies for Macrolide-resistant *M. pneumoniae*. Front Microbiol. 7: 693.

25) Ishiguro N, Koseki N, Kaiho M, Kikuta H, Togashi T, Oba K, Morita K, Nagano N, Nakanishi M, Hazama K, Watanabe T, Sasaki S, Horino A, Kenri T and Ariga T; Hokkaido Pediatric Respiratory Infection Study Group. Regional differences in prevalence of macrolide resistance among pediatric *Mycoplasma pneumoniae* Infections in Hokkaido. Jpn J Infect Dis. 2016, 20: 186-190.

26) Suzuki M, Shibayama K, Yahara K. A genome-wide association study identifies a horizontally transferred bacterial surface adhesin gene associated with antimicrobial resistant strains. Sci Rep. 2016 Nov 28;6:37811

27) Thorell K*, Yahara K*, Berthenet E, Lawson DJ, Mikhail J, Kato I, Mendez A, Rizzato C, Bravo MM, Suzuki R, Yamaoka Y, Torres J, Sheppard SK, Falush D. Rapid evolution of distinct *Helicobacter pylori* subpopulations in the Americas. PLoS Genet. 2017 Feb 23;13(2):e1006546

28) Zhang G, Leclercq SO, Tian J, Wang C, Yahara K, Ai G, Liu S, Feng J. A new subclass of intrinsic aminoglycoside nucleotidyltransferases, ANT(3")-II, is horizontally transferred among *Acinetobacter* spp. by homologous recombination. PLoS Genet. 2017 Feb 2;13(2):e1006602

29) Yahara K, Méric G, Taylor AJ, de Vries SP, Murray S, Pascoe B, Mageiros L, Torralbo A, Vidal A, Ridley A, Komukai S, Wimalarathna H, Cody AJ, Colles FM, McCarthy N, Harris D, Bray JE, Jolley KA, Maiden MC, Bentley SD, Parkhill J, Bayliss CD, Grant A, Maskell D, Didelot X, Kelly DJ, Sheppard SK. Genome-wide association of functional traits linked with *Campylobacter jejuni* survival from farm to fork. Environ Microbiol. 2017 Jan;19(1):361-380

30) Monteil CL, Yahara K, Studholme DJ, Mageiros L, Méric G, Swingle B, Morris CE, Vinatzer BA, Sheppard SK. Population-genomic insights into emergence, crop adaptation and dissemination of *Pseudomonas syringae* pathogens. Microb Genom. 2016 Oct 21;2(10):e000089.

31) Kojima KK, Furuta Y, Yahara K, Fukuyo M, Shiwa Y, Nishiumi S, Yoshida M, Azuma T, Yoshikawa H, Kobayashi I. Population Evolution of *Helicobacter pylori* through Diversification in DNA Methylation and Interstrain Sequence Homogenization. Mol Biol Evol. 2016 Nov;33(11):2848-2859

32) Uchiyama I, Albritton J, Fukuyo M, Kojima KK, Yahara K, Kobayashi I. A Novel Approach to *Helicobacter pylori* Pan-Genome Analysis for Identification of Genomic Islands. PLoS One. 2016 Aug 9;11(8):e0159419.

33) Hiramatsu Y, Yoshino S, Yamamura Y, Otsuka N, Shibayama K, Watanabe M, Kamachi K. The proline

residue at position 319 of BvgS is essential for BvgAS activation in *Bordetella pertussis*. Pathog Dis 2017; 1:75(1).

34) Kamachi K, Moriuchi T, Hiramatsu Y, Otsuka N, Shibayama K. Evaluation of a commercial loop-mediated isothermal amplification assay for diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. J Microbiol Methods. 2017;133:20-2.

35) Saito M, Odanaka K, Otsuka N, Kamachi K, Watanabe M. Development of vaccines against pertussis caused by *Bordetella holmesii* using a mouse intranasal challenge model. Microbiol Immunol 2016;60:599-608.

36) Hiramatsu Y, Saito M, Otsuka N, Suzuki E, Watanabe M, Shibayama K, Kamachi K. BipA is associated with preventing autoagglutination and promoting biofilm formation in *Bordetella holmesii*. PLoS One 2016;11: e0159999.

37) Otsuka N, Gotoh K, Nishimura N, Ozaki T, Nakamura Y, Haga K, Yamazaki M, Gondaira F, Okada K, Miyaji Y, Toyoizumi-Ajisaka H, Shibayama K, Arakawa Y, Kamachi K. A Novel IgM-capture enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant Vag8 fusion protein for the accurate and early diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. Microbiol Immunol 2016;60:326-33.

2. 和文発表

1) 柴山恵吾 感染症法 5 類全数報告疾患としての CRE 感染症患者報告数の現状と課題 感染・炎症・免疫 46 巻 1 号 72-73(2016 年 4 月)

2) 松井真理、調恒明 AMR 対策における国立感染症研究所と地方衛生研究所の役割. 公衆衛生情報. Vol.46 No.12, page 10-12, 2017 年 3 月

3) 板垣沙紀, 田澤庸子, 菊地勇治, 古畑由紀江, 堀内啓, 柴山恵吾, 鈴木里和. 海外渡航歴のない患者から分離された OXA-48 型カルバペネマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae.*日本臨床微生物学雑誌 27 巻 1 号 P.41-47

4) 鈴木里和.多剤耐性菌の制御に向けた研究の新展開・薬剤耐性菌ゲノムデータベースの構築と活用に関する話題.獣医畜産新報 70 巻 3 号 P.167-172, 2017.

5) 鈴木里和. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の疫学. 化学療法の領域 Vol32 No.11 P.77-83, 2016

6) 佐々木裕子、第 8 章 無菌試験、第 III 編:医薬品における微生物試験法、新 GMP 微生物試験法、第 3 版、佐々木次雄、棚元憲一、菊池 裕(編)、じほう、東京、p. 187-200、2016 年 9 月

7) 佐々木裕子、内田恵理子、第 9 章 マイコプラズマ否定試験、第 III 編:医薬品における微生物試験法、新 GMP 微生物試験法、第 3 版、佐々木次雄、棚元憲一、菊池 裕(編)、じほう、東京、p. 201-222、2016 年 9 月

8) 佐々木裕子、無菌試験、第十七改正 日本薬局方 技術情報 JPTI2016、じほう、東京、2016 年 4 月

9) 佐々木裕子、内田真理子、バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験、第十七改正 日本薬局方 技術情報 JPTI2016、じほう、東京、2016 年 4 月

10) 見理 剛、関塚剛史、鈴木仁人、堀野敦子、森茂太郎、藤井寛之、橘本 徹、中嶋 洋、大屋日登美、黒田 誠、柴山恵吾 *P1* 遺伝子 2b、2c 型の *M. pneumoniae* 株で見つかった細胞接着関連遺伝子 *orf6* の変化. 日本マイコプラズマ学会雑誌 2016 年、43: 67-69.

11) 松本 優、川北祥人、見理 剛、森茂太郎、木下実紀、川本晃太、加藤貴之、難波啓一、宮田真人 *Mycoplasma pneumoniae* の滑走のあし、P1 adhesin の詳細な構造. 日本マイコプラズマ学会雑誌 2016 年、43: 42-45.

12) 大屋日登美、古川一郎、相川勝弘、大石智洋、堀野敦子、小田洋一郎、見理 剛、成田光生、黒木俊郎 薬剤耐性マイコプラズマの検出状況と遺伝子型別. 日本マイコプラズマ学会雑誌 2016 年、43: 64-66.

13) 見理 剛 バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験. 第 17 改正 図説 日本薬局方微

生物試験法の手引き 坂上吉一 監修 文教出版 2016 年

14) 見理 剛 マイコプラズマ肺炎についての最近の話題. バムサジャーナル、2016, 28(4), 13-17.

15) 加藤はる. 一筋縄ではいかないクロストリジウム・ディフィシル感染症の細菌学的検査. Ignazzo 2016, 13:3-5.

16) 盛崎瑞葉, 吉藤歩, 伊藤智章, 川口隆久, 篠塚圭祐, 杉田香代子, 中谷英章, 徳山博文, 林晃一, 林松彦, 加藤はる, 脇野修, 伊藤裕. 末期腎不全患者に発症し市中獲得が疑われた劇症型 *Clostridium difficile* 腸炎の 1 例. 日本透析医学会雑誌 2016, 49:539-546

17) 林原絵美子. ゲノムから見た non-pylori Helicobacters. Helicobacter Research 2016, 20(5):497-505.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shibayama K National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan INTERNATIONAL SEMINAR on Global Strategy to Combat Emerging Infectious Diseases in Borderless Era, Aug 9, Indonesia

2) Suzuki S, Hayashi M, Shima A, Matsui M, Kato K,Yamashita A, Sekizuka T, Shibayama K, Kuroda MTracking the epidemic resistant gene in plasmid genome database GenEpid-J. International Conference on Plasmid Biology 2016. September 2016, United Kingdom.

3) Aminaka M, Okamori K, Hosoda K, Konishi N, Shibuya C, Tanimura H, Tsutsui A, Zamma Y, Yamane K, Suzuki S. Interdisciplinary approach to healthcare-associated infections surveillance in Japan. Infection Prevention Society conference 2016. September 2016. United Kingdom

4) Suzuki M. Genomic analysis of epidemic multidrug-resistant isolates of *Acinetobacter baumannii* The 10th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention Chinese Center for Disease Control and Prevention (Beijing, China) 2016 年 12 月

5) Akamatsu R Suzuki M, Ogura Y, Daisuke Fujikura D, Katsura K, Okinaka K, Suzuki S, Ohnishi N, Baba H, Ezaki T, Hayashi T, Shibayama K, Higashi H. Comparative genomic analysis of nosocomial *Bacillus cereus* isolates SaSSOH 2016 (The 4th Sapporo Summer Seminar for One Health)北海道大学獣医学研究科講義棟 (北海道札幌市)2016 年 9 月

6) Kenri T, Sekizuka T, Suzuki M, Horino A, Fujii H,Hashimoto T, Nakajima H, Ohya H, Kuroda M, Shibayama K. Novel sequence variations in the cytadherence-related *orf6* gene of *Mycoplasma pneumoniae*.IOM 2016 (21st Congress of the International Organization for Mycoplasmology)QUT Gardens Point Campus (Brisbane, Australia)2016 年 6 月

7) Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Shibayama K. Diversity And Distribution Of Type VI Secretion Substrates In Epidemic Multidrug-Resistant *Acinetobacte baumannii* Isolates.ASM Microbe 2016 Boston Convention and Exhibition Center (Boston, USA) 2016 年 6 月

8) Suzuki M, Matsui M, Hirayama R, Segawa T, Suzuki S, Shibayama K. Evolution and dissemination ofTMB-type metallo-β-lactamase.ECCMID 2016 (26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases)RAI Amsterdam (Amsterdam, Nederland) 2016 年 4 月

9) Sekizuka T. Suzuki M, Horino A, Fujii H, Toru Hashimoto T, Nakajima H, Ohya H, Mori S, Makoto Kuroda M, Shibayama K, Kenri T. Novel sequence variations in the cytadherence-related *orf6* gene of *Mycoplasma pneumoniae*. 21st Congress of the International Organization for Mycoplasmology (IOM2016). July 3-7, 2016, Brisbane, Australia.

10) Matsumoto U, Kawakita Y, Kenri T, Mori S, Kinoshita M, Kawamoto A, Kato T, Namba K, Miyata M. Structure and function of P1 adhesin, the leg for *Mycoplasma pneumoniae* gliding. 21st Congress of the International Organization for Mycoplasmology (IOM2016). July 3-7, 2016, Brisbane, Australia.

11) Kenri T. Epidemiological pattern of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in Japan and genomic analyses of *M. pneumoniae* clinical isolates. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, Acute Respiratory Infections (ARI) panel meeting. February 9, 2017, Seoul, Korea.

12) Kato H. Predominance of *Clostridium difficile* strains in Japan. 19th General Meeting of the Korean Society of Clinical Microbiology (KSCM) July 2016, Korea

13) Kim H, Rimbara E, Shibayama K, Mori S. Enzymatic activity of *M. tuberculosis* H37Rv QAPRTase and inhibition by pyrazinamide. US-Japan Cooperative Medical Science Program Mycobacterial Panel Meeting, February 2017. Seoul, Republic of Korea.

14) Mori S, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. Molecular characterization of a nicotinate phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. US-Japan Cooperative Medical Science Program Mycobacterial Panel Meeting, February 2017. Seoul, Republic of Korea.

15) Mori S, Kim H, Shibayama K. Identification of novel katG mutations causing isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and the development of a new anti-tuberculosis drug. The 13th Taiwan-Japan Symposium. September 2016. Taipei, Taiwan.

16) Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan. The 32nd World Congress of Biomedical Laboratory Science, September 2016, Kobe, Japan

2. 国内学会

1) 柴山恵吾 薬剤耐性菌の地域社会での拡がり SATREPS 事業から見えてきた課題 日本における薬剤耐性菌サーベイランス JANIS について 第75回日本公衆衛生学会総会、大阪、2016 年 10 月

2) 藤本修平, 土屋麻由美, 丹羽隆, 太田浩敏, 柴山恵吾, 八木哲也, 石黒信久, 飯沼由嗣, 田辺正樹, 村木優一, 八束眞一, 村上啓雄 感染対策の地域連携支援システム(RICSS)の開発 日本環境感染学会総会、神戸、2017 年 2 月

3) 小坂駿介, 大崎裕介, 齋藤さとみ, 前山佳彦, 長野則之, 奥住捷子, 佐藤智明, 長沢光章, 長野由紀子, 玉井清子, 鈴木匡弘, 谷本弘一, 富田治芳, 柴山恵吾, 荒川宜親, 薬剤耐性菌研究会プロジェクト MRSA 臨床分離株の遺伝子型シフトに関する調査研究第28回日本臨床微生物学会総会、長崎、2017 年 1 月

4) 藤本修平, 太田浩敏, 柴山恵吾, 八木哲也, 石黒信久, 飯沼由嗣, 田辺正樹, 大島利夫, 静野健一, 荻野毅史, 八束眞一, 村上啓雄, 村木 , 遠藤 , 土屋 , 丹羽 感染対策の地域連携支援システム(RICSS)について 第28回日本臨床微生物学会総会、長崎、2017 年 1 月

5) 柴山恵吾 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業の現状と今後の展望 第29回日本外科感染症学会総会、東京、2016 年 12 月

6) 藤本修平, 村上啓雄, 柴山恵吾, 八木哲也, 荒川宜親 JANIS 検査部門データ活用の現状と今後 2DCM-webとRICSSでAMRと戦う 第29回日本外科感染症学会総会、東京、2016 年 12 月

7) 柴山恵吾 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌等多剤耐性菌の状況 第90回日本感染症学会総会、仙台、2016 年 4 月

8) 柴山 恵吾、鈴木仁人. アジア地域での薬剤耐性サーベイランス体制構築と薬剤耐性菌研究について. 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).2017 年 3 月

9) 坂本典子、明田幸宏、竹内壇、菅原 庸、山本倫久、鈴木仁人、柴山恵吾、朝野 和典、浜田 茂幸.タイで分離された CRE のゲノム解析と薬剤耐性遺伝子搭載プラスミドの解析. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台国際医療センター展示棟 (宮城県仙台市) 2017 年 3 月

10) 平林亜希、柴山恵吾、鈴木仁人. コリスチン耐性菌に

対するコリスチンと承認薬の併用効果. 第 90 回日本細菌学会総会. 仙台国際医療センター展示棟 (宮城県仙台市). 2017 年 3 月

11) 吉田真歩、平林亜希、荒川宜親、柴山恵吾、鈴木仁人.薬剤耐性プラスミドの接合伝達における細菌間競合の影響.第 90 回日本細菌学会総会.仙台国際医療センター展示棟 (宮城県仙台市). 2017 年 3 月

12) 橋野正紀、加藤健吾、伊藤環、松井真理、鈴木里和、山下明史、関塚剛史、黒田誠 PacBio library 作製における迅速かつ簡便な細菌長鎖 DNA 断片調整法の検討 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月

13) 関塚剛史、川西路子、島綾香、加藤健吾、山下明史、松井真理、鈴木里和、黒田誠 IncI2 プラスミドに存在する高度組換え領域 sufflon の定量的構造多様性の解明 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月

14) 佐々木裕子、鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、見理剛、勝川千尋、高橋和郎、柴山恵吾. Nanopore sequencer を用いた *Mycoplasma amphoriforme* ゲノムの解析. 第 11 回日本ゲノム微生物学会年会. 慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス (神奈川県藤沢市)2017 年 3 月

15) 鈴木里和. 薬剤耐性菌の分子疫学世界流行株とプラスミドの果たす役割. 第 32 回日本環境感染学会総会、神戸、2017 年 2 月

16) 筒井敦子、鈴木里和、矢原耕史、柴山恵吾. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)事業の検査部門・全入院患者部門における病院特性別集計の検討. 第 32 回日本環境感染学会総会、神戸、2017 年 2 月

17) 岡森景子、渋谷智恵、網中眞由美、小西直子、残間由美子, 谷村久美, 細田清美, 山根一和, 筒井敦子, 鈴木里和.JANIS 全入院患者部門のデータ収集状況からみる参加医療機関に起因する精度管理上の問題点. 第 32 回日本環境感染学会総会、神戸、2017 年 2 月

18) 渋谷智恵、岡森景子、細田清美、残間由美子、谷村久美、網中眞由美、小西直子、山根一和, 筒井敦子, 鈴木里和. JANIS SSI サーベイランス参加施設の訪問調査からみえてきた SSI 判定に関わる諸問題.第 29 回日本外科感染症学会、東京、2016 年 11 月

19) 老沼研一、鈴木仁人、佐藤佳奈子、中家清隆、滝沢恵津子、仁木誠、仁木満美子、山田康一、柴山恵吾、掛屋弘、金子幸弘. POT 法および MLST 法によるアシネトバクター属臨床分離株の遺伝子型解析. 第 51 回緑膿菌感染症研究会. レンブラントホテル大分 (大分県大分市). 2017 年 2 月

20) 鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、瀬川孝耶、矢原耕史、鹿山鎭男、菅井基行、柴山恵吾. アシネトバクター属菌に拡散している TMB 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の解析. 第 51 回緑膿菌感染症研究会. レンブラントホテル大分 (大分県大分市). 2017 年 2 月

21) 鈴木里和、松井真理、柴山恵吾. 地方衛生研究所を対象とした薬剤耐性菌研修の実施状況 第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

22) 島綾香、瀬川孝耶、筒井敦子、松井真理、川上小夜子、鈴木里和、柴山恵吾 MALDI-TOF MS とイミペネムディスクを用いた国内分離カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の迅速検査法の検討 第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

23) 外山雅美、諏訪直生、齋藤さとみ、松井真理、鈴木里和、長野由紀子、柴山恵吾、長野則之 海外渡航歴のない患者の血液培養よりNDM-5メタロ-□-ラクタマーゼ産生大腸菌を検出した一例 第28回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

24) 綿引正則、松本裕子、鈴木匡弘、河原隆二、増田加奈子、福田千恵美、四宮博人、調恒明、鈴木里和、松井真理、柴山恵吾. 地方衛生研究所における薬剤耐性菌レファレンスセンタの発足とその役割と現状 第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

25) 仙波敬子、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、四宮博人 医療施設で分離された GES-24 □-ラクタマーゼ産生菌株由来のプラスミドゲノム情報解析 第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

26) 瀬川孝耶、松井真理、筒井敦子、柴山恵吾、鈴木里和 Carba NP test を用いたカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌におけるカルバペネマーゼ遺伝子発現量の推定 第28回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

27) 松井真理、鈴木里和、林美智子、瀬川孝耶、島綾香、川上小夜子、柴山恵吾 国内 78 医療機関より収集したカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の分子疫学解析 第 28 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、長崎、2017 年 1 月

28) 高嶋英樹、阿部公俊、宇藤薫、田所治朗、中尾安秀、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾 当院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（NDM-5）のアウトブレイク 第 86 回日本感染症学会西日本地方会学術集会合同学会、沖縄、2016 年 11 月

29) 老沼 研一、佐藤 佳奈子、鈴木 仁人、柴山 恵吾、滝沢 恵津子、仁木 誠、中家 清隆、仁木 満美子、山田 康一、掛屋 弘、金子 幸弘. アシネトバクター属臨床分離株の薬剤感受性試験と分子疫学解析. 第 86 回日本感染症学会西日本地方会学術集会.沖縄コンベンションセンター (沖縄県沖縄市). 2016 年 11 月

30) 鈴木仁人. 病原細菌流行株の分泌タンパク質の解析. 第 69 回日本細菌学会関西支部総会. 大阪市立大学杉本キャンパス田中記念館 (大阪府大阪市) 2016 年 11 月

31) 島綾香、関塚剛史、山下明史、加藤健吾、黒田誠、川西路子、木島まゆみ、松井真理、林美智子、柴山恵吾、鈴木里和 本邦で分離された *mcr-1* 陽性大腸菌 ST457 の全ゲノム解析に基づく伝播経路の推定 第 45 回薬剤耐性菌研究会、広島、2016 年 10 月

32) 松井真理 アシネトバクター属の分子疫学と薬剤耐性 第 99 回日本細菌学会関東支部総会ワークショップ、東京、2016 年 10 月

33) 鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、瀬川孝耶、矢原耕史、鹿山鎮男、菅井基行、柴山恵吾. アシネトバクター属菌に拡散している巨大な薬剤耐性プラスミドの解析. 第 45 回薬剤耐性菌研究会. 安芸グランドホテル (広島県広島市). 2016 年 10 月

34) 矢原耕史、鈴木仁人、柴山恵吾. *Acinetobacter baumannii* の種内多数ゲノム比較による水平伝達に由来しカルバペネム耐性に関連する細胞表面接着因子の遺伝子の発見. 第 45 回薬剤耐性菌研究会. 安芸グランドホテル (広島県広島市) 2016 年 10 月

35) 那須川忠弥、内山淳平、鈴木仁人、西藤公司、加藤伸一郎、内山伊代、氏原隆子、島倉秀勝、村上裕信、岡本憲明、阪口義彦、柴山恵吾、阪口雅弘、松崎茂展. 新規 PB1 様ファージ KPP22 と緑膿菌 PAO1 株を利用した前適応ファージ KPP22M 作製過程の遺伝的解析.日本微生物生態学会ファージ・環境ウイルス研究合同シンポジウム.JAMSTEC 横浜本部 (神奈川県横須賀市) 2016 年 10 月

36) 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、江崎孝行、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 83 回細菌学会北海道支部学術総会 北海道大学大学院歯学研究科・歯学部講堂 (北海道札幌市). 平成 28 年 9 月

37) 鈴木里和.我が国におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の疫学.第 65 回日本医学検査学会. 神戸 2016 年 9 月

38) 鈴木里和.薬剤耐性菌ゲノムデータベースの構築と活用に関する話題.第 159 回日本獣医学会学術集会. 神奈川. 2016 年 9 月

39) 鈴木里和.我が国におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の現状. 第 64 回日本化学療法学会総会. 神戸, 2016 年 6 月

40) 島綾香、鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾 本邦の *Acinetobacter* 属菌及び肺炎桿菌のコリスチン耐性率及び感受性測定法の比較 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演、仙台、2016 年 4 月

41) 鈴木里和.我が国における薬剤耐性菌の現状.第 90 回日本感染症学会総会. 仙台、2016 年 4 月

42) 鈴木里和、島綾香、柴山恵吾、川西路子、比企基高、小池良治。我が国におけるヒト臨床株と家畜由来株の薬剤耐性率の比較. 第 90 回日本感染症学会総会.

仙台, 2016 年 9 月

43) 佐々木裕子、鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、見理剛、勝川千尋、水谷香代子、高橋和郎、柴山恵吾、Nanopore sequencer を用いた *Mycoplasma amphoriforme* ゲノムの解析、第 10 回日本ゲノム微生物学会、2017 年 3 月 2-4 日、慶應義塾大学、神奈川県

44) 見理 剛、関塚剛史、鈴木仁人、堀野敦子、森茂太郎、藤井寛之、橋本 徹、中嶋 洋、大屋日登美、黒田 誠、柴山恵吾 *P1* 遺伝子 2b、2c 型の *M. pneumoniae* 株で見つかった細胞接着関連遺伝子 *orf6* の変化. 日本マイコプラズマ学会 第 43 回学術集会、2016 年 6 月 24-25 日、長崎市

45) 松本 優、川北祥人、見理 剛、森茂太郎、木下実紀、川本晃太、加藤貴之、難波啓一、宮田真人 *Mycoplasma pneumoniae* の滑走のあし、P1 adhesin の詳細な構造. 日本マイコプラズマ学会 第 43 回学術集会、2016 年 6 月 24-25 日、長崎市

46) 大屋日登美、古川一郎、相川勝弘、大石智洋、堀野敦子、小田洋一郎、見理 剛、成田光生、黒木俊郎 薬剤耐性マイコプラズマの検出状況と遺伝子型別. 日本マイコプラズマ学会 第 43 回学術集会、2016 年 6 月 24-25 日、長崎市

47) 加藤はる. シンポジウム 3 消化器感染症の最前線（肝炎、ノロウィルス、*Clostridium difficile*） 分離菌株からおしはかる日本の *Clostridium difficile* 感染実態. 第 90 回日本感染症学会学術講演会. 2016 年 4 月仙台

48) 加藤はる. ベーシックレクチャー4 ボツリヌス症、破傷風、および *Clostridium difficile* 感染症におけるベーシックス. 第 90 回日本感染症学会学術講演会. 2016 年 4 月仙台

49) 加藤はる. シンポジウム II 国内外の *Clostridium difficile* 優勢株とその推移. 第 90 回日本感染症学会学術講演会. 2016 年 4 月仙台

50) 福田 靖、佐野卓磨、上田安希子、千葉美紀子、豊川真弘、山田幸司、加藤はる.*Clostridium difficile* 毒素遺伝子検出用 PCR キットの開発. 第 65 回 日本医学検査学会. 2016 年 9 月神戸

51) 福田 靖、佐野卓磨、上田安希子、千葉美紀子、豊川真弘、山田幸司、加藤はる、柴山恵吾. PCR 法による *Clostridium difficile* 毒素遺伝子検出キットの開発と評価. 第 28 回 日本臨床微生物学会 学術集会. 2017 年 1 月長崎

52) 加藤はる. 教育講演 クロストリジウム・ディフィシル感染症(CDI)の感染管理をはじめましょう. 第 32 回日本環境感染学会総会. 2017 年 2 月神戸

53) 妹尾充敏. シンポジウム 24 *Clostridium difficile* 感染症(CDI)ワクチンの開発. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月仙台

54) 松本優、川本晃大、加藤貴之、川北祥人、見理剛、森茂太郎、難波啓一、宮田真人 ヒト肺炎原因菌 *Mycoplasma pneumoniae* の”あし” P1 adhesin. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月

55) 金玄、福富康夫、中島千絵、松岡正典、森茂太郎、柴山恵吾、鈴木 定彦 らい菌及び結核菌由来 DNA ジャイレースの性状解析. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月

56) 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抗結核菌活性. 日本農芸化学会 2017 年度大会、京都、2017 年 3 月

57) 采原隆志、鈴木道雄、今岡浩一、林原絵美子、柴山恵吾 動物濃厚接触患者の血液培養より分離された *Helicobacter trogontum* の 1 症例. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月

58) 森茂太郎 立体構造から分かること・できること：結核菌由来 NAD キナーゼとヌクレオチド加リン酸分解酵素の機能構造相関解析. 第 1 回抗酸菌研究会、沖縄、2016 年 9 月

59) 金玄、森茂太郎、林原絵美子、柴山恵吾 Characterization of Quinolinic Acid Phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. 第 1 回抗酸菌研究会、沖縄、

2016 年 9 月

60) 本田尚子, 金玄, 加藤篤, 柴山恵吾, 森茂太郎 抗酸菌においてdiadenosine tetraphosphateの生合成・分解に関わる酵素の解析. 第 1 回抗酸菌研究会、沖縄、2016 年 9 月

61) 大屋日登美、古川一郎、相川勝弘、大石智洋、堀野敦子、小田洋一郎、見理 剛、成田光生、黒木俊郎. 薬剤耐性肺炎マイコプラズマの検出状況と遺伝子型別. 日本マイコプラズマ学会第43回学術集会、長崎、2016 年 6 月

62) 金玄、森茂太郎、林原絵美子、柴山恵吾 *katG* 遺伝子上で新たに見出された変異とイソニアジド耐性化との関連. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、群馬、2016 年 6 月

63) 矢原耕史、鈴木仁人、川上小夜子、柴山恵吾 *Acinetobacter baumannii* の種内多数ゲノム比較による水平伝達に由来しカルバペネム耐性株に広く保存された細胞表面接着因子の遺伝子の発見. 第 45 回薬剤耐性菌研究会、広島、2016 年 10 月

64) 川上小夜子、矢原耕史、筒井敦子、柴山恵吾 厚生労働省 院内感染対策サーベイランス(JANIS)検査部門報告 1 2007 年~2015 年公開情報を中心に. 第 28 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2017 年 1 月

65) 川上小夜子、矢原耕史、筒井敦子、柴山恵吾 厚生労働省 JANIS 検査部門報告 2 2015 年都道府県別「特定の耐性菌」と「CRE」. 第 28 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2017 年 1 月

66) 宮本直樹、堀田吏乃、矢野知美、田代尚崇、矢原耕史 細菌検査データとDPC データを用いた MRSA 菌血症のリスク分析. 第 28 回日本臨床微生物学会総会、長崎、2017 年 1 月

67) 矢原耕史, Xavier Didelot, Keith A Jolley, 小林一三, Martin C. J. Maiden, Samuel K. Sheppard and Daniel Falush. The landscape of realized homologous recombination in pathogenic bacteria. 第 18 回日本新学会大会、東京、2016 年 8 月

68) 矢原耕史. 病原細菌の遺伝情報の水平伝達. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、2016 年 12 月

69) 矢原耕史、鈴木仁人、柴山恵吾. ゲノムワイド関連解析による水平伝達に由来しカルバペネム耐性株に広く保存された細胞表面接着因子の発見. 第 11 回日本ゲノム微生物学会年会、藤沢、2017 年 3 月

70) 筒井敦子、柴山恵吾. シンポジウム 13「AMR 対策アクションプラン 目標2へ向けて～調査と監視の現状と展望～」厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS). 第 32 回日本環境感染学会総会・学術集会、神戸、2017 年 2 月

71) 筒井敦子、鈴木里和、矢原耕史、柴山恵吾. 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・全入院患者部門における病院特性別集計の検討. 第 32 回日本環境感染学会総会・学術集会、神戸、2017 年 2 月

72) 森内巧, 文元礼, 品川文乃, 新谷亮, 宮地悠輔, 中村幸嗣, 勝田友博, 大塚菜緒, 平松征洋, 柴山恵吾, 蒲地一成. わが国の小児と成人における百日咳抗体の量的・質的解析. 第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会, 岡山, 2016 年 11 月

3. その他(紀要・ホームページ等)

紀要

1) Mori S. Crystallographic analysis of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv complexed with ADP. Photon Factory Activity Report 2015 #33 Part B, No.314, 2016

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、顎口虫症、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研究や原虫の増殖と休眠を規定する分子メカニズムの解析などの基礎研究を、赤痢アメーバ原虫・マラリア原虫・クルーズトリパノソーマなど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、二瓶浩一、流動研究員として Ghulam Jeelani, Avik Mukherjee、Koushik Das、研究生・実習生として花館有希、丸茂このみ、渡辺菜月、Arif Nurkanto、小池明人、福本準平、平井智浩、川野哲郎、宮本絵梨、山岸美菜、荒木球沙、鈴木桜織、Ratna Wahyuni 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 Kartikasari 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、是澤千鶴子、岡村登喜子、臨時研究補助員として松崎素道、今田美穂子、中曽根英子、賀川千里、原 将子、長谷川早悠里が在籍し、研究等に従事した。

業 績

調査・研究

I. 検査法・診断法・不活化法の開発

1. 蠕虫症診断法・検出法の開発

(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おらず、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判定例が散見される。そこで本研究では、一般の検査会社でも十分な対応が可能となるよう、国内で入手可能な検査キットの信頼性を比較・評価した。今年度は単包性エキノコックス症の診断を目的としたウェスタンブロット法もしくはイムノクロマト法に基づく市販検査キットを比較するため、陽性対照群 30 検体および陰性対照群 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 86.7%、後者は 43.3%と算定された。[森嶋康之, 山﨑 浩, 杉山 広, 大前比呂思]

(2)実用化に向けた幼虫移行症複合検査キットの作成

幼虫移行症として重要なトキソカラ症、孤虫症、および顎口虫症の 3 疾患について、抗体検査を目的としたイムノクロマト法を用いた血清診断キットを疾患毎に作成してきた。そこで、平成 28 年度には、キットの実用化に向け、これら 3 疾患が同時に鑑別診断できる複合型検査キットの試作を行った。また、抗体検出系を従来の酵素系から金コロイド系に改良するとともに、被検血清と二次抗体を展開するための溶液をキットデバイスに内蔵したことで、操作がより簡単になり、検査時間も 10 分に短縮された。キットの感度、ならびに特異性についても従来の酵素系のものと同等の評価結果であった。[山﨑 浩, Wanchai Maleewong, Pewpan I. 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。さらに虫体が変性、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、同定・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も目的として実施してきた。標的遺伝子として選択したのは、cytochrome *c* oxidase subunit 1 遺伝子 (cox1)や NADH dehydrogenase subunit 1(nad1)、12S rRNA 遺伝子などミトコンドリアゲノムにコードされた領域などで、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国内外に由来する臨床検体(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, 山﨑 浩]

(4)紫外線ブラックライトを発する懐中電灯型装置を用いたアニサキス幼虫簡易検出に関する検討

アニサキスの幼虫に紫外線ブラックライトを照射すると, 虫体の外被が自家蛍光を発するために, その検出が容易になることが知られている。この現象を応用した検査装置も開発・販売されている(i-Spector, 株式会社イシダ)。一方で、紫外線ブラックライトを発する装置は、懐中電灯のような小型の製品が低価格で販売されている(3,000 円程度)。このような懐中電灯型装置を用いても、魚の内臓や筋肉などの表面に付着するアニサキス幼虫が、効率的に検出された。一方、虫体を筋肉内に挿入すると、蛍光は認めず、虫体を検出できなかった。この特徴は、市販の機材でも既に認識されていた。筋

肉内部に寄生してアニサキス食中毒の原因となるべき虫体を確実に検出すには、紫外線ブラックライトに関する検討(波長、照度など)や検査に供する魚の前処理(細切方法)に関する検討が今後さらに必要である。[杉山 広, 森嶋康之]

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)水道水質の評価及び管理に関する総合研究－微生物分科会－

医療機関を対象とした調査において、捨て水をしていない開栓直後の初流水からレジオネラ属菌が培養により検出され、汚染実態を改めて確認した。残留塩素の消失に伴う蛇口における従属栄養細菌数の増加とレジオネラ属菌による汚染が懸念され、捨て水や追加塩素等の対策が必要と考えられた。ウイルスに対する安全性が塩素消毒のみに依存しないように、凝集沈殿ろ過によるウイルスの除去性に関心が寄せられていた。全てのウイルスを個別に水道で検査するのは現実的ではなく、指標となるウイルスがあれば有用と期待される。指標ウイルスを提案するため、全国の水道事業体の協力を得て水道原水を収集し、ウイルス(アデノウイルス、コクサッキーウイルス、A 型肝炎ウイルス、マウスノロウイルス、トウガラシ微斑ウイルス)を添加して人工原水とし、凝集沈殿ろ過による除去率を評価した。トウガラシ微斑ウイルスの除去率は各種ウイルスと同程度であることが再現され、指標として有効と考えられた。クリプトスポリジウムの河川汚染実態や対策の必要性を明らかにする目的で、相模川をモデルにクリプトスポリジウム汚染の実態を調査している。RT-PCR と塩基配列決定により、ブタ由来の遺伝子型のクリプトスポリジウムが多く検出され、汚染の実態を改めて確認した。養豚排水の対策が汚染の低減に必要と考えられ、低減方法を検討した。

[泉山信司、松下拓(北海道大学大学院工学研究院)、秋葉道宏(国立保健医療科学院)]

(2)水道蛇口におけるレジオネラ汚染実態調査と追加塩素対策

水道蛇口におけるレジオネラ汚染の実態を明らかにし、汚染対策の確立を目指している。蛇口のレジオネラ検査を行い、汚染を改めて確認した。汚染が検出された 1 医療機関の協力を得て、追加塩素消毒を導入した。残留塩素がほとんど検出されていなかった給水末端の蛇口において遊離塩素濃度が向上し、改善が期待された。

[泉山信司、黒木俊郎、大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹(神奈川県衛生研究所)]

(3)配管内に付着した従属栄養細菌数の測定

配管の汚染状況を把握するため、従属栄養細菌数の測定を固体表面試料に応用した。平成 25 年度に検討した測定方法により配管実試料を測定し、20 試料から従属栄養細菌が 0～1,083 CFU/cm^2 検出された。末端給水栓水の残留塩素濃度が適切に管理されていても、配管内には細菌が付着し、バイオフィルムが形成されるおそれがあることを確認した。配管の汚染状況の把握には、従属栄養細菌数の測定は有効であった。

[松島有希子(桐生市水道局水質センター)、泉山信司]

(4)飲料水兼用耐震性貯水槽における細菌叢の調査

国内の飲料水兼用耐震性貯水槽を対象として細菌叢を調査し、5 つの貯水槽から 23 の 16S rRNA の塩基配列を得た。水環境からの検出報告の多い、Sphingomonadales 目の細菌が飲料水兼用耐震性貯水槽における主要な細菌であった。いずれも芽胞は形成せず、塩素消毒の効果が期待できた。遊離残留塩素濃度を高めること、滞留時間を短くすること、バイオフィルムを除去するための清掃を行うことが必要と考えられた。

[岸田直裕、秋葉道宏(国立保健医療科学院)、泉山信司、水野聰、小林華奈子、庭山秀一(新潟市水道局)、中嶋健二(浜松市上下水道部)、松島有希子(桐生市水道局)]

(5)浄水中のクリプトスポリジウムの保存性

クリプトスポリジウムを添加した浄水を 25℃で保存すると、14 日間でクリプトスポリジウムが 7 割程、減少した。これは顕微鏡下で計数した結果であるが、遺伝子検査による結果も同様に減少傾向であった。クリプトスポリジウム等対策指針にある試料水の 14 日間保存は冷暗所で行うこととされるが、低温での保存が望ましいと考えられた。

[渡邉洋大、岡利彦(神奈川県企業庁水道水質センター)、泉山信司]

(6)粉体ろ過法のレジオネラ属菌濃縮への適用

クリプトスポリジウム濃縮用の粉体ろ過法を、レジオネラ属菌

に応用した。クーリングタワーの冷却水等を試料として用い、粉体ろ過法と標準のフィルターろ過法でレジオネラ属菌をそれぞれ濃縮し、WYO 培地および GVPC 培地で培養した。粉体ろ過法は、標準のフィルターろ過法と同等以上の検出率であった。

［橋本温（県立広島大学）、泉山信司］

（7）ジアルジア/クリプトスポリジウム抗原同時検出イムノクロマト（IC）の開発

2種類の原虫検出ラインにコントロールラインを加えた同時検出キット完成型を作成した。未凍結新鮮便の中に非特異反応が増強する場合があったことからブロッキングの条件に改良を加えた。感度試験ではジアルジア抗原0.5μgタンパク/0.5ml、またクリプトスポリジウム抗原10μgタンパク/0.5mlが検出限界と考えられ、臨床検体中の抗原量の推定が可能となった。糞便試料によって高速遠心で除去される微粒子が抗原抗体反応を阻害する可能性が示され、その対処法を検討中である。

[八木田健司、泉山信司、宮崎誠生（アーク・リソース株）]

（8）赤痢アメーバ抗原検出系の開発

赤痢アメーバの迅速検査のための抗原検出法開発を進めている。抗体作成のための抗原を選択するにあたり生体環境で認識されるnativeな抗原分子が重要と考え、構造的に抗原の多様性に関与すると考えられている細胞表面の糖鎖に関し、レクチンを用いた臨床分離株、標準株の糖鎖解析を行った。その結果、臨床株が標準株よりも糖鎖の多様性が高く抗原としての有用性が示唆された。またシスト壁成分のキチンの細胞内蓄積が認められる前シスト形成誘導が可能となり、シスト抗原として前シスト細胞が利用可能なことも明らかとなった。

[八木田健司、柳川泰昭（国立国際医療研究センター ACC）]

（9）シカ肉に寄生する*Sarcocystis* の検出とDNA同定

近年ジビエとして知られるシカ肉において、馬肉喫食と同様のサルコシスティスによる有症事例が報告されている（青木ら、2014）。シカにおけるサルコシスティス感染率は高く、今後食中毒リスクの評価を要するものと思われるが、原因種、また汚染量に関するデータは極めて少ない。今回市販および狩猟にて入手したシカ肉よりサルコシスティスを単離し、個別にシークエンス解析を行い、エゾシカより2つ、ホンシュウジカより1つの遺伝子タイプを明らかにした。さらに各タイプに特異的なPCR検出系を構築した。種類としては*S. pilosa* および*S.entzerothi*との関連が示されたが、従来考えられている*S.sybillensis*等シカ感染種との関係は不明であった。

[八木田健司、青木佳代（滋賀県衛生科学センター食品細菌）]

（10）シカ肉喫食による有症事例における*Sarcocystis*遺伝子検査

滋賀県で報告された2例（2014年および2015年）、および茨城県で報告された1例（2016年）のシカ肉有症事例のシカ肉検体につき、サルコシスティス遺伝子検査を行った。DNAサンプルは厚労省通知のサルコシスティス検査法に基づき調整し、現在型別可能な3種類の遺伝子タイプに関するPCRを行った。その結果、3件の有症事例ではエゾシカにおいて検出された2種類の遺伝子型のサルコシスティスの関与が確認された。さらに汚染の定量化のための定量PCR系構築を進めている。

[八木田健司、青木佳代（滋賀県衛生科学センター食品細菌）、中本有美（茨城県衛生研究所細菌部）]

（11）ハウスダスト中のアメーバ類とアメーバ共生体調査

居住環境におけるアメーバ類とその共生体による暴露の可能性を想定し、暴露要因となり得るハウスダストからのこれらの微生物検出を行った。サンプルとして床ダストおよびエアコンフィルターのダストを回収し、Tween80 溶液でダストを洗浄ろ過後、遠心回収した沈殿物を大腸菌塗布寒天培地で培養した。増殖したアメーバコロニーは分離しATCC Medium 1034を用いて無菌培養した。解析の結果、床ダスト中にはほぼ年間通じアメーバを検出しエアコンフィルターは夏季2回の調査でアメーバ陽性であった。分離したAcanthamoebaには高率に共生体保有が認められ、16SrRNAシークエンス解析ではこれまで知られている共生体と一致していた。

[八木田健司]

（12）レジオネラ属菌のアメーバ感染促進物質

レジオネラ属菌の宿主アメーバ感染促進物質の探索を行った。探索物質の条件として、極性、荷電、親水性に影響を及ぼす可能性のあるものとし、低分子量（数百）から高分子量（分子量数万以上）のものを調べた。低分子量の物質には感染性に対する影響が見られなかった一方、高分子糖鎖のコンドロイ

チン硫酸およびデキストラン硫酸にヘパリンと同等の感染促進作用が認められた。ヘパリンを含むこれらはすべて硫酸基を分子構造中に一定の割合で含む硫酸化多糖であった。高分子糖鎖でも非硫酸化多糖のヒアルロン酸は、逆に感染抑制の作用を示した。硫酸化多糖類には環境中の難培養性レジオネラ属菌をアメーバ培養法でサルベージできる効果があることが期待される。

[八木田健司、泉山信司]

(13)HIV感染者におけるサイクロスポラ確定例

コクシジウムの1種であるサイクロスポラ*Cyclospora caetanensis*は旅行者下痢症の原因として国内症例がみられる一方、欧米諸国では、近年主に中南米原産の輸入生鮮食品を原因とするアウトブレイクが問題となっている。今回、エイズ関連胆管炎疑いで、インド帰りの下痢症患者の確定診断を行った。病理組織検査当初、微胞子虫感染が疑われた検体について、鏡検精査によりコクシジウム感染の所見を認め、感染形態よりクリプトスポリジウムを否定、糞便検査試行により自家蛍光を放つサイクロスポラオーシストを検出した。オーシスト抽出DNAを用いた18SrDNAのPCR検査とBLAST検索においてもサイクロスポラであることを確認した。

[八木田健司、関谷綾子(都立駒込病院感染症科)]

(14)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。我々は日本分離株の収集、遺伝子タイピング、全ゲノムの決定を順次進めているが、今回新たにゲノム構造を解析した株の中に基本的には非病原性であるタイプ3と同一であるにもかかわらず、マウスに対する毒性を示す日本由来株を見出した。現在、詳細なSNPs解析を行い、病原因子の探索を進めている。

[福本隼平、高島康弘(岐阜大学)、喜屋武向子(沖縄県衛生環境研究所)、松崎素道、永宗喜三郎]

(15)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. 蠕虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

(1)タイ、およびラオスに分布する無鉤条虫のミトコンドリアDNAによるハプロタイプネットワーク解析

無鉤条虫(*Taenia saginata*)は世界に広く分布し、東南アジア地域でも牛やヒトにおける感染が見られる。そこで、タイ東北部とラオス中部においてヒト患者から駆虫によって得られた無鉤条虫それぞれ21, 30個体についてcox1遺伝子の塩基配列解析を行った。その結果、タイの無鉤条虫21個体では8つ、ラオスの30個体では15のハプロタイプが検出された。さらに、GenBankに登録されている世界中の53ハプロタイプを加えたハプロタイプネットワーク解析を行った。その結果、世界の無鉤条虫は5つの遺伝的集団(A, B, C1, C2, D)に分けられ、タイ東北部とラオスの個体群はAまたはBに属した。一方、タイ西部の個体はC1, C2あるいはDに属し、タイ国内でも東北部と西部には地理的に異なる遺伝的集団が存在するという知見が得られた。

[山﨑 浩, Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (タイ・コンケーン大・医・寄生虫), Sakhone Laymanivong (ラオス厚生省マラリア・寄生虫・昆虫)]

(2)症型アニサキス症の発生状況に関する文献調査

アニサキス症は我が国で年間に約7,000例の発生があるが、このうちの劇症型の発生状況を知るために、1991年以降の25年間に誌上報告された症例を医中誌Webから抽出して解析した。

その結果、報告症例393例中、劇症型は13例に留まることが分かった（呼吸困難10例、意識消失3例）。劇症型は極めて希少であるが、重篤な症状を惹起する虫体側の分子構造解析が、今後の重要な課題になると考えられた。
［森嶋康之，賀川千里，杉山　広］

（3）我が国のアニサキス症に関連する疫学調査

ア．シメサバ製品におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

海産魚介類を感染源とするアニサキス食中毒は、我が国固有の食習慣と関連した重要な食品媒介寄生虫症である。しかし感染源の中でも、流通品中のアニサキス幼虫の汚染実態に関しては、不明な点も多く、そこで市場に流通するシメサバ製品を対象に、アニサキスの寄生状況調査を実施した。その結果、シメサバ製品は90検体中の41検体（46%）にアニサキス幼虫を認めた（種同定できたものはすべて*Anisakis simplex* sensu stricto）。しかし虫体はいずれも死滅しており、アニサキス食中毒の危険性はないと判断された。なおシメサバ製品は、日本，ノルウェーおよびアイルランド産のサバを使用して製造されていた。国別に調べると、アニサキス幼虫の陽性率と検出数は日本産が共に最も高く、次いでノルウェー産で、アイルランド産は最も低かった。
［常盤俊大，池　和憲（日獣大）、杉山　広，森嶋康之］

イ．回転寿司店のシメサバ寿司におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

2016年4～12月に都内の回転寿司店3箇所で購入したシメサバ寿司72検体を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、自家製のシメサバを使用する店舗では、購入して検査した40検体の内、7検体から合計14隻のアニサキス幼虫が検出された。1検体あたりの寄生数は1～3隻（平均2隻）で、このうちの3隻は生存しており、運動性があった（検出虫体はいずれも*A. simplex* sensu stricto）。一方で加工品のシメサバを用いた寿司を販売する店舗では、32検体を購入して検査したが、いずれもアニサキス陰性であった。
［常盤俊大，池　和憲（日獣大）、杉山　広，森嶋康之］

ウ．マアジにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

日本海・東シナ海で漁獲され長崎港に陸揚げされたマアジを2016年1～12月に東京の鮮魚店で各月10尾ずつ購入し，検査の対象とした。その結果、陽性個体は65尾（54.2%）と予想外に多く、しかも陽性魚1尾あたりの寄生数も平均7.0隻（1～94隻）であった。幼虫はほとんどが内臓に寄生していたが、1尾の筋肉から幼虫が1隻検出された。検出虫体はすべて*A. pegreffii*と同定された（筋肉寄生の1隻も*A. pegreffii*）。
［常盤俊大，池　和憲（日獣大）、杉山　広，森嶋康之］

エ．サケ（シロザケ）におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査・続報

前年度（2015年度）に続いて、サケにおけるアニサキス幼虫の寄生状況を調べた。6月～7月に漁獲された個体（トキシラズ）では，9尾中の5尾（56 %）から合計7隻のアニサキス幼虫が検出された（すべて筋肉に寄生）。10月に漁獲された個体（アキザケ）では15尾中の12尾（80%）から合計40隻のアニサキス幼虫が検出された．40隻のうち35隻（88%）が筋肉，残り5隻は内臓から検出された。検出虫体は約9割が*Anisakis simplex* sensu strictoで，残りはhybrid genotypeであった。本邦近海で漁獲されるサケはアニサキス食中毒の重要な感染源であることに注目し，感染予防の啓発に取り組む必要がある。
［杉山　広，森嶋康之，山崎　浩］

オ．サクラマスおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査・続報

前年度（2015年度）に続いて、サクラマスにおけるアニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、17尾中の14尾（82 %）から合計81隻のアニサキス幼虫が検出された．陽性魚1尾あたりの寄生数は平均5.8隻であり，サケよりも高い値を示した。しかし虫体の寄生部位は80隻（99%）が内臓で，筋肉から検出された虫体は1隻（1%）に留まった。検出虫体はほとんどが*A. simplex* sensu strictoで，ごく一部（2隻）がhybrid genotypeであった。サクラマスはサケ科の魚であり，アニサキスの寄生率が高いサケと同じく*Oncorhynchus*属に分類されるが、サクラマスではほとんどの虫体が内臓から検出され、アニサキス食中毒の原因として大きな問題はないと考察された。
［杉山　広，森嶋康之，山崎　浩］

カ．アニサキス感染リスクに対する魚販売者の対応に関する調査

鮮魚や加工品を取り扱う現場では、アニサキス幼虫をどのように検出・摘出し、アニサキス食中毒のリスクを軽減しているのか、自治体の担当者に尋ね（衛生研究所・保健所）、さらにウェブサイトからも情報の検索・収集を行った。

まずアニサキス幼虫を検出するためには、魚のフィレや切り身を肉眼で観察する「直接観察法」がしばしば適用されていた。一方で、紫外線ブラックライト照射するアニサキス検査装置（上述)を導入する店舗もあった。新鮮なうちに魚介類の内臓を摘出し、アニサキスの幼虫が魚の内臓から筋肉に移行することを防ぐという方法もしばしば採用されていた。また内臓に接する部分の筋肉（ハラミ）をアニサキスの好寄生部位としてとらえ、切り取って捨ててしまうことも行われていた。さらにサバの刺身・寿司には切り目を入れて客に提供するとの工夫もなされていた。

消費者への啓発として、鮮魚売り場の店頭に、「アニサキス症にならないための安全な食べ方：十分な加熱と－20℃で48時間以上の冷凍」、あるいは「鮮魚介類をご家庭で調理する際の注意：加熱・冷凍でアニサキス症を防ぐ」等の掲示を指導する自治体もあった。

［杉山 広，森嶋康之］

（4）シロザケやサクラマスにおける日本海裂頭条虫幼虫の寄生状況調査（AMED 委託研究による）

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によるもので、シロザケやサクラマスに寄生する幼虫が感染源となる。そこで、前年度に続いてシロザケやサクラマスにおける日本海裂頭条虫の幼虫の感染実態を調査した。2016 年には北海道厚岸沖で捕獲されたシロザケ（トキシラズ 8 尾、アキザケ 20 尾）、および青森県津軽海峡と新潟県村上市三面川で水揚げされたサクラマス 17 尾の計 45 尾について、筋肉と内臓に分けて調査したが、日本海裂頭条虫幼虫は検出されなかった。

[山﨑 浩，森嶋康之]

（5）条虫の検査・診断法開発(AMED 委託研究）

条虫の DNA 診断法確立のために、国内外の *Spirometra* 属条虫の幼虫（プレロセルコイド、以下、孤虫と略す）を採取した。採集地はカンボジア北部のシムリアップ県にて、*Ptyas* 属、および *Python* 属のヘビより約 100 頭の孤虫を採取し、ミトコンドリアゲノムの cox1 遺伝子の部分塩基配列解析(427 bp) を行った。その結果、解析が終了した 11 個体は全て *S. decipiens* と同定された。従来、アジアや欧州でヒトの孤虫症の原因種は *S. erinaceieuropaei* と考えられてきたが、実は *S. decipiens* によるものと考えられた。

[山﨑 浩, Wanchai Maleewong, Pewpan I. Maleewong (タイ・コンケーン大・医・寄生虫), Un Mesa (カンボジア・シムリアップ・メサ病院)]

（6）愛知県におけるエキノコックス流行調査

2014 年 4 月、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確認され、本州以南第二例目として届け出られた。当該犬は阿久比町の位置する知多半島に生息する野生化したイヌの 1 頭と考えられるため、これらのイヌにおけるエキノコックスの浸淫状況を知る目的で流行調査をおこなっている。2016 年は 6 月および 12 月の 2 回、阿久比町とその周辺市町においてイヌ糞便 135 検体を採集し、PCR 法による多包条虫特異的 DNA の検出をおこなったところ、12 月採取の 1 検体から陽性が検出された。2015 年に続き、さらに一定期間を置いて陽性例が再検出されたことにより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）］

（7）南米エクアドルでにおける *Amphimerus* 属肝吸虫の発生分布調査

同国の北西部・エスメラルダス県の集落で、約 300 人の住民に *Amphimerus* 属肝吸虫の寄生があると 2011 年に発見した後、我々は疫学調査をエクアドルの各地で継続し、同国北～中西部（太平洋側）のサントドミンゴ県とマナビ県にも新たな流行地を見付けた。陽性の集落はいずれも熱帯雨林に覆われた比較的大きな河川に面し、住民は淡水魚を常食していた。そこで捕獲された 20 種類を超える淡水魚を精査した結果、Guabina および Ancha と呼ばれる淡水魚から本虫のメタセルカリアが多数検出され、本虫の第 2 中間宿主（感染源）として重要であることが分かった。魚から得た幼虫メタセルカリアの種同定には、患者由来の成虫を出発材料に我々が登録した遺伝子配列が、マーカーとして役立った（リボソーム DNA・ITS2 領域）。一部の魚からは異形吸虫類 *Haplorchis pumilio* のメタセルカリアも検出され、メタセルカリアの形態が *Amphimerus* 属肝吸虫と酷似することが注目された。異形吸虫 *H. pumilio* は、南米や東南アジアで人の下痢症の原因として問題視されている。したがってこれらの吸虫メタセルカリアを迅速・正確に同定・鑑別する新たな分子診断法を確立し、感染源対策にも取り組む必要がある。

[杉山 広, 森嶋康之, 高木秀和(愛知医大), 板垣 匡(岩手大)]

(8)2016 年に発生した旋毛虫による集団食中毒事例の原因種

Trichinella spp.を原因とする旋毛虫症はほぼ世界各地で発生が認められ、クマ肉は重要な感染源の一つとみなされている。これまでクマ肉を原因とする国内集団感染例として3件が知られるが、1982 年の三重県での発生を最後に途絶えていた。ところが、2016 年末、茨城県内の飲食店において提供された北海道産ヒグマ肉を喫食した 31 名中 21 名が発疹や発熱等の症状を呈して医療機関を受診するという食中毒事件が発生した。特徴的な食歴および症状から旋毛虫症が疑われたため、冷凍保管されていた同一個体の肉を人工消化法により検査したところ、スティコソーム構造をもつ線虫幼虫が回収された。*cox1* 領域および ITS-2 領域について遺伝子解析をおこなった結果、本事例の原因種は *Trichinella* T9 であることが明らかになり、国内発生した旋毛虫症としてリアルタイムに原因種の確定がなされた初めての例となった。

[森嶋康之、杉山 広、山﨑 浩、八木田健司]

III. 分類・同定・臨床

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]

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。またこの遺伝子がコードするタンパク質は濃密顆粒膜上に局在していた。
［松崎素道、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を同定し、これらの候補遺伝子を実際にトキソプラズマにおいて強制発現させ、リクルート能力が亢進した遺伝子として 3 種類を同定することができた。これらの遺伝子のうち、先行して1つの遺伝子についてノックアウトを行ったところ、野生株に比べて明らかにリクルート能力が低下していた。現在その他の候補遺伝子についても同様に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、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）結合タンパク質の解析

真核細胞において運動や貪食は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。以前同定した PIP3 結合タンパク質 7 つについてタグ付き高発現株を作成し、発現株が得られた 6 種類について PIP3 への特異的な結合を再確認した。一つの発現株ではエンドサイトーシスの有意な亢進が観察され、このタンパク質の遺伝子発現抑制はエンドサイトーシス、赤血球の貪食、動物細胞障害活性の有意な低下が起こった。この分子は AGC ファミリーキナーゼの一つで、PIP3 を介したアクチン制御に重要な分子と考えられる。赤痢アメーバの運動、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、解析

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、赤痢アメーバゲノムに存在する 2 種類の PX ドメインタンパク質の機能解析を行った。PX ドメインは既知の PI3P 結合ドメインである。HA タグとの融合タンパク質として発現させたところ両者とも細胞内膜への局在が観察され、PI3P 特異的結合が確認された。既知の PI3P の局在と同様に貪食胞へも局在した。他種生物で PX ドメインを持つタンパク質がレトロマー複合体の膜局在に関与する事が知られている。今後赤痢アメーバレトロマー複合体との関係を明らかにしたい。

[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ムチンゲルを介した侵入効率を評価するトランスウェルアッセイを行った。しかし再現性が悪かったため細胞外マトリックスのモデルであるマトリゲルに変更した。11 ある CPBF の遺伝子発現抑制株について侵入効率を評価し、CPBF2 遺伝子発現抑制株に有意な侵入効率の低下が認められた。CPBF2 は α-amylase の一つを特異的にリガンドとする。よって amylase と赤痢アメーバの組織侵入に関連がある事が予想され、現在検討中である。CPBF1 組換え体の発現について、リガンドとなる cysteine protease 5 (CP5)との同時発現によりリガンドとの結合能力の再現が可能であり、さらに活性のある CP5 合成に効果的と考えられる結果を得た。CPBF の受容体-リガンド結合の分子機構解明に向け、条件の最適化を進める。

[丸茂このみ、高島英造（愛媛大学）、坪井敬文（愛媛大学）、志波智生（京都工芸繊維大学）、原田繁春（京都工芸繊維大学）、富井健太郎（産業技術総合研究所）、野崎智義、津久井久美子]

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。各酵素の組み換えタンパク質に対する阻害活性を 400 種類の天然物ライブラリーに対して検討した。酵素活性が25％以下に低下した化合物を選び、さらに赤痢アメーバへの障害活性を検討し、合計 4 種類の候補化合物を見出した。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 elF5A 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 elF5A 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 (DOHH)がゲノムに存在しない。これは水酸基のない未熟なハイプシン化修飾を受けた elF5A がスペルミジン、ホモスペルミジン合成に関与する可能性を示唆する。抗ハイプシン抗体を用い、赤痢アメーバにおけるハイプシン修飾を検討したところ、タグ融合 elF5A 発現株でタグ融合、内因性双方の elF5A が検出されたことから赤痢アメーバではユニークな酵素が DOHH 活性を持つと考えられた。また、2 種類ある elF5A（elF5A1, 2）のうち

elF5A1 のみウエスタンブロットで複数のバンドが検出され、既知のチロシン硫酸化、リジンアセチル化が否定された一方ハイプシン化が観察された。赤痢アメーバの翻訳過程にユニークな分子メカニズムが予想された。
[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。G3PDH, GK それぞれについてタグ付きタンパク質高発現株の樹立、遺伝子発現抑制株を樹立し酸化ストレス条件下での増殖を検討した。しかし増殖に変化は観察されなかった。今後酸化ストレスに伴う各酵素の細胞内局在変化など、他の表現型を検討する。
[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) 赤痢アメーバ Atg8 の系統解析
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。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, はホモログが存在し、Atg5/12-16 複合体についても我々が同定し、その存在が明らかとなった。しかし様々な観察より、赤痢アメーバの機能は他種生物と異なる点が多い。そこでユニークな機能を持つ赤痢アメーバ Atg8 の由来を明らかにする目的で系統解析を行った。真核生物の代表的な系統群より 35 生物種から 48 種の Atg8 配列を取得し、Mafft (v7.305b) でアライメントした後さらに配列の調整を行った。アライメントされた 100 アミノ酸について最尤法にて系統解析を行った。この結果、Entamoeba 属の Atg8 のみが突出した枝長を示し、進化速度が極端に速いことが示された。今後他の Atg タンパク質について同様の知見が得られるのか検討する。
[宮本絵梨、野崎智義、橋本哲男（筑波大学）、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 のユニークな機能を知るため、Ag8 結合タンパク質を同定したところ、複数の解糖系酵素を見いだした。そこで Atg8 の解糖系制御における機能を解明するため、グルコース除去条件下での増殖速度と解糖系酵素の活性を検討した。Atg8 遺伝子発現抑制株はコントロール株に比べ低グルコース条件下で誘導機の延長が観察された。また、Atg8 との結合が観察された fructose-1,6-bisphosphate aldolase と triosephosphate isomerase(TPI)の活性を検討したところ、Atg8 遺伝子発現抑制株において TPI はグルコース除去培地における活性低下が観察されなかった。よって Atg8 が赤痢アメーバ解糖系の制御に関与することが示唆された。
[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で合成され、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。輸送タンパク質のうち、転写解析で発現のあった 11 のなかから 4 種類について高発現株、遺伝子発現抑制株を作成し解析を行った。遺伝子発現抑制株は全て増殖速度の低下が観察され、生存に重要な働きをする事が示された。高発現により動物細胞への障害活性が亢進し、遺伝子発現抑制により障害活性は低下した。GFP 融合タンパク質を作成し、局在を検討したが細胞質に広く分布したため特定のオルガネラとの関連は結論できなかった。さらなる検討を加え、赤痢アメーバにおける脂質輸送の重要性、特異性を明らかにしたい。
[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。EhRab8A の GTP 結合活性型変異株と EhRab8A 発現抑制株は貪食効率が低下しており、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。EhRab8A が輸

送する表面タンパク質を同定するために、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、リン脂質フリッパーゼの beta subunit である Cdc50 ホモログを同定した。Cdc50 を大量発現させると Cdc50 は小胞体に局在し、フォスフォコリンアナログのミルテフォシンに対する耐性を獲得した。EhRab8A 発現抑制株もミルテフォシンの耐性が得られたことから、EhRab8A は小胞体で Cdc50 の選別輸送を行っていると考えられた。

[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]

シ. 赤痢アメーバの薬剤耐性の研究に関わるミューテーター株の作成

マラリア原虫では、DNA ポリメラーゼの修復機能を欠損させた変異型 DNA ポリメラーゼを発現させ、高頻度突然変異マラリア原虫ライブラリー（ミューテーター）が作際されている。これまで、ミューテーターマラリア原虫から既存のマラリア薬の耐性株を薬剤選択し、臨床単離株よりも早期に耐性変異の解析が可能となっている。赤痢アメーバなどの腸管内下痢症原虫でもミューテーターを用いた薬剤耐性遺伝子を解析する目的で、変異型 DNA ポリメラーゼにタグを付加し、エピソーマルプラスミドで維持する形質転換赤痢アメーバを作出した。その結果、N 末端の核移行シグナルの直後のループにタグを挿入したコンストラクトが核内に移行できることが分かった。

[中野由美子、平井誠（順天堂大）、野崎智義]

ス. 新規糸状菌代謝産物 ovalicin の赤痢アメーバ肝膿瘍に対する治療効果

アメーバ赤痢の治療はメトロニダゾールに長く依存した状況にあるため、この薬に耐性を持つ赤痢アメーバが出現する可能性がある。我々は新薬の必要性を感じ、約 7,000 種の微生物培養液から、ヒト細胞に対する毒性が低く、かつ強力な殺赤痢アメーバ活性を示すものを探した結果、糸状菌の代謝産物 ovalicin を見出した。Ovalicin を赤痢アメーバ症肝膿瘍モデルハムスターに皮下投与するとメトロニダゾールの 1/10 量の投与量で治療効果を示し、毒性もみられず、有効性を確認することがでた。

[森 美穂子（北里大）、中野 由美子、柘植 聡志（北里大）、大村 智（北里大）、塩見 和朗（北里大）、野崎 智義]

セ. インドとの抗原虫薬の共同開発

赤痢アメーバ、ジアルジア、マラリアなどの原虫感染症はアジア地域に流行しており、常に国内への移入の危険性がある。また流行地では薬剤耐性原虫の出現も報告されている。インドの共同研究者のグループと殺アメーバ作用を有する薬剤を探索したところ、植物由来の化合物ウルソン酸と、インドで抗リーシュマニア薬として使用されているミルテフォシンに *in vitro* での殺アメーバ作用があることを見いだした。ウルソン酸はジアルジアにも *in vitro* の抗原虫作用を示した。赤痢アメーバの培養標準株に対するミルテフォシンの LD_{50} 濃度は 34.1uM であり、49uM ミルテフォシンの存在下でも生育可能な耐性株を選択することができた。このミルテフォシン耐性赤痢アメーバ株は、他の抗原虫薬であるメトロニダゾール、クロロキン、フマギリンには耐性を示さず、ミルテフォシンに特異的な耐性株であることが分かった。インドではミルテフォシン耐性リーシュマニア原虫の出現が報告されており、耐性遺伝子の存在も報告されている。リーシュマニア原虫では細胞膜上のトランスポーターに変異が挿入されることで、ミルテフォシン耐性を獲得するが、赤痢アメーバでのホモログ領域をシークエンスしたところ変異の挿入は見いだされなかった。この

結果は、赤痢アメーバとリーシュマニアではミルテフォシンの耐性メカニズムが異なることを示している。
[中野由美子、Sandipan Ganguly（インド, NICED）、Dibyendu Raj （インド, NICED）、川野哲郎、花館有希、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

マラリア原虫が感染する宿主肝細胞は様々な排除応答などが可能であることから、肝内型原虫による巧妙な宿主マニュピレーションが必要になることが予想されるが、その詳細は未だほとんど明らかとなっていない。肝内型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とから、PVM は原虫と宿主のせめぎ合い・双方の分子応答の“場”であるため、この PVM を中心とした原虫-宿主間相互作用の解明を試みた。これまでに我々は、宿主の分解排除応答の一つであるオートファジーのマーカー分子である LC3 が肝内型原虫の感染初期に特異的に蓄積するが肝内型原虫は分解されないことを見出した。今後、この宿主 LC3 が肝内型原虫に蓄積する（分解を逃れる）分子メカニズムの解明を試みる。
[案浦健、荒木球沙、長谷川早悠里、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分子メカニズムの解明

肝内型マラリア原虫は、宿主肝細胞内で分解排除応答を回避しながら生存することから、特異的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、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 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、哺乳類細胞を用いて一過性の遺伝子発現が可能な発現株の作製を行った。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、長谷川早悠里、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の増殖期は、一細胞内に最大数万の多核体を短時間で形成し増殖することから、その制御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。真核生物の細胞増殖には様々な分子制御が報告されているが、そのうちの一つにヒストンのメチル化による制御が知られている。マラリア原虫におけるヒストンメチル化制御は、阻害剤を用いた研究から発育ステージ間により異なる制御を担う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、新たなヒストンメチル化を担う酵素遺伝子の存在が示唆された。そこでこの新規推定ヒストンメチル酵素の遺伝子の破壊原虫株の作製を試みた。今後、発育ステージ特異的強制発現株の作製や、各種酵素アッセイ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]

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、in vitro 培養が困難であり、in vivo 感染モデルの研究開発はさらに困難を極める。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、霊長類を用いた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の感染モデルの作出）の実用化を試みる。これまでに複数回のハマダラカへの感染実験を実施しており、サルマラリア原虫感染ハマダラカの作出に成功している。今後、更なる改良・調整を行うことで、より効果的なモデル系の作出を試みることで創薬開発への発展を検討する。
[案浦健、荒木球沙、長谷川早悠里、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 Sec7, Arf1, Rab1 GTPase の他、寄生胞に局在す膜タンパク質るETRAMP10.2, Pfs16のを同定した。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]

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 37 回衛生微生物技術協議会(7 月 21～22 日, 広島)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。寄生虫の検査法に関するミニシンポジウム形式の会議として情報の共有を図った。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, 情報の交換を活発に行うことを確認した。

[杉山 広, 八木田健司, 泉山信司, 森嶋康之, 案浦 健, 野崎智義、大西貴弘(国立衛研)]

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]

III. 蠕虫類のレファレンス活動

平成 28 年度には、計 53 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 38 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、エキノコックス症と有鉤嚢虫症については、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。免疫学的検査依頼件数 12 検体のうちエキノコックス症と有鉤嚢虫症の各 1 検体で特異抗体が検出された。

[森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩]

(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 41 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 35 例が寄生虫で, 遺伝子解析では, 条虫症:無鉤条虫(11)、日本海裂頭条虫(9)、アジア条虫(3)、豆状条虫(1)、*Bertiella studeri*(1)、線虫症:*Anisakis simplex* sensu stricto(3)、犬糸状虫(1)、日本顎口虫(1)、*Trichinella* T9(1)、東洋毛様線虫(1)、*Pseudoterranova decipiens* sensu lato(1)、吸虫症:*Paragonimus westermani* (3n) (2), 形態学的観察では線虫症:縮小条虫(1)であった。

[森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩]

研修業務・審議会など

平成 28 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]

「平成28年度FETP初期研修」、国立感染症研究所 感染症疫学センター、講義内容「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」場所国立感染症研究所戸山庁

舎、平成 28 年 4 月 [中野由美子]

「平成 28 年度感染症検査技術研修会」、講義内容「マラリア概論と簡易検査キット」国立感染症研究所村山庁舎、平成 28 年 6 月 [案浦健、中野由美子]

「平成 28 年度 第二回 安全な血液確保による感染症予防」研修、熊本医療センター、および独立行政法人国際協力機構(JICA), 講義内容「マラリア」実習、場所国立感染症研究所戸山庁舎、平成 29 年 1 月 [案浦健、中野由美子]

国際協力関業務

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説（欧文）

Hanadate, Y., Saito-Nakano, Y., Nakada-Tsukui, K., and Nozaki, T. Endoplasmic reticulum-resident Rab8A GTPase is involved in phagocytosis in the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Cell Microbiol. 18(10):1358-73, 2016 doi: 10.1111/cmi.12570.

Ishikane, M., Arima, Y., Kanayama, A., Takahashi, T., Yamagishi, T., Yahata, Y., Matsui, T., Sunagawa, T., Nozaki, T., and Oishi, K. Epidemiology of domestically-acquired amebiasis in Japan, 2000-2013. Am. J. Trop. Med. Hyg. 94(5):1008-14, 2016. doi: 10.4269/ajtmh.15-0560

Verma, K., Nozaki, T., and Datta, S. Role of EhRab7A in phagocytosis of type 1 fimbriated *E. coli* by *Entamoeba histolytica*. Mol. Microbiol. 102:1043-1061, 2016. doi: 10.1111/mmi.13533. PMID:27663892

Chiba, Y., Makiuchi, T., Jeelani, G., and Nozaki, T. Heterogeneity of the serine synthetic pathway in *Entamoeba* species. Mol Biochem Parasitol. 207(2):56-60, 2016. doi:10.1016/j.molbiopara.2016.06.002.

Nakada-Tsukui, K. and Nozaki, T. Immune response of amebiasis and immune evasion by *Entamoeba histolytica*. Front Immunol. 7:175, 2016. doi: 10.3389/fimmu.2016.00175. Review.

Kobayashi, T., Watanabe, K., Yano, H., Murata, Y., Igari, T., Nakada-Tsukui, K., Yagita, K., Nozaki, T., Kaku, M., Tsukada, K., Gatanaga, H., Kikuchi, Y., Oka, S. Underestimated amoebic appendicitis among HIV-1-infected individuals in Japan. J Clin Microbiol. 55:313-320, 2016. doi: 10.1128/JCM.01757-16. PMID:27847377.

Kazama, M., Ogiwara, S., Makiuchi, T., Yoshida, K., Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T., Tachibana H. Behavior of DNA-lacking mitochondria in *Entamoeba histolytica* revealed by organelle transplant. Sci Rep. 7:44273, 2017. doi: 10.1038/srep44273. PMID:28287148

Somlata, Nakada-Tsukui, K., Nozaki, T. AGC family kinase1 participates in trogocytosis but not in phagocytosis in *Entamoeba histolytica.* Nat Commun in press.

Ybañez, R.H., 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. 2016, 65 (4), 319-322

Tahara, M., Andrabi, S.B., Matsubara, R., Aonuma, H., Nagamune K. "A host cell membrane microdomain is a critical factor for organelle discharge by *Toxoplasma gondii*." Parasitol. Int. 2016, 65 (5), 378-388

Ihara, F., Nishimura, M., Muroi, Y., Mahmoud, M.E., Yokoyama, N., Nagamune, K., Nishikawa, Y. "*Toxoplasma gondii* Infection in Mice Impairs Long-Term Fear Memory Consolidation Through Dysfunction of the Cortex and Amygdala." Infect Immun. 2016, 84 (10), 2861-2870

Sakamoto, H, Suzuki, S., Nagamune, K., Kita, K., Matsuzaki, M. "Investigation into the Physiological Significance of the Phytohormone Abscisic Acid in *Perkinsus marinus*, an Oyster

Parasite Harboring a Non-Photosynthetic Plastid." J. Eukaryot. Microbiol. 2016, DOI: 10.1111/jeu.12379

Andrab, S.B.A., Tahara,M., Matsubara,R., Toyama,T., Aonuma,H., Sakakibara,H., Suematsu,M., Tanabe,K., Nozaki,T., Nagamune, K. "Plant hormone cytokinins control cell cycle progression and plastid replication in apicomplexan parasites." Parasitol. Int. 2017, *in press*

Kobayashi T.,Watanabe K., Yano H., Murata Y., Igari T.,Nakada-Tsukui K., Yagita K., Nozaki T.,Kaku M., Tsukada K., Gatanaga H., Kikuchi Y. and Oka S. Underestimated Amoebic Appendicitis among HIV-1-Infected Individuals in Japan. Journal of Clinical Microbiology, 55(1), 313-320, 2017

Furukawa M., Minegishi Y., Izumiyama S., Yagita K., Mori H., Uemura T., Etoh Y., Maeda E., Sasaki M., Ichinose K., Harada S., Kamata Y., Otagiri M., Sugita-Konishi Y., Ohnishi T. The Development of a Novel, Validated, Rapid and Simple Method for the Detection of Sarcocystis fayeri in Horse Meat in the Sanitary Control Setting. Biocontrol Science, 21(2),131-4, 2016

Sriastava 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*. *J. Mol. Biol.* (2016) 428(1), p41-51.

Ebine K, Hirai M, Sakaguchi M, Yahata K, Kaneko O, Saito-Nakano Y. Plasmodium Rab5b is Secreted to the Cytoplasmic Face of the Tubovesicular Network in Infected Red Blood Cells Together with N-acylated Adenylate Kinase 2. *Malaria J*. (2016) 15:323. doi:10.1186/s12936-016-1377-4

Janwan P., Intapan P.M., Yamasaki H., Rodpai R., Laummauwai P., Thanchomnang T., Sanpool O., Kobayashi K., Takayama K., Kobayashi Y., Maleewong W. Development and usefullness of an immunochromatographic device to detect antibodies for rapid diagnosis of human gnathostomiasis. Parasites and Vectors, 9: 14, 2016.

Yamasaki H., Sekikawa Y., Oda R., Hongo I., Tsuchida T., Kumazawa H., Saito N., Morishima Y., Sugiyama H. First confirmed human case of *Diphyllobothrium stemmacephalum* infection and molecular verification of the synonymy of *Diphyllobothrium yonagoense* with *D. stemmacephalum* (Cestoda: Diphyllobothriidea). Parasitology International 65: 412-421, 2016.

Fujita T., Waga E, Kitaoka Keisuke, Imagawa T., Yuuya Komatsu Y., Takanashi K., Anbo F., Anbo T., Katuki S., Ichihara S., Fujimori S., Yamasaki H., Morishima Y., Sugiyama H., Katahira H. Human infection by acanthocephalan parasites belonging to the genus *Corynosoma* found from small bowel endoscopy. Parasitology International 65:491-493, 2016.

Thanchomnang T., Tantrawatpan C., Intapan P. M., Sanpool O., Janwan P., Lulitanond V., Tourtip S., Yamasaki H., Maleewong W. Rapid identification of nine species of diphyllobothriidean tapeworms by pyrosequencing. Scientific Reports 6:37228, 2016.

Morishima Y, Tomaru Y, Fukumoto S, Sugiyama H, Yamasaki H, Hashimoto H, Harada K. Canine echinococcosis due to Echinococcus multilocularis: a second notifiable case from mainland Japan. Jpn J Infect Dis 69, 448-449.

Sun MM, Ma J, Sugiyama H, Ando K, Li WW, Xu QM, Liu GH, Zhu XQ. The complete mitochondrial genomes of *Gnathostoma doloresi* from China and Japan. Parasitol Res 115, 4013-20, 2016.

Baird FJ, Su X, Aibinu I, Nolan MJ, Sugiyama H, Otranto D, Lopata AL, Cantacessi C. The *Anisakis* transcriptome provides a resource for fundamental and applied studies on allergy-causing parasites. PLoS Negl Trop Dis 10(7):e0004845, 2016

Nogami Y, Fujii-Nishimura Y, Banno K, Suzuki A, Susumu N, Hibi T, Murakami K, Yamada T, Sugiyama H, Morishima Y, Aoki D. Anisakiasis mimics cancer recurrence: two cases of extragastrointestinal anisakiasis suspected to be recurrence of gynecological cancer on PET-CT and molecular biological investigation. BMC Med Imaging 16:31, 2016

Tokiwa T, Sugiyama H, Taira K, Yoshikawa Y, Une Y. Prevalence of *Baylisascaris* roundworm in captive kinkajous in Japan. J Parasitol, 102, 293-294, 2016

Calvopina M, Romero-Alvarez D, Macias R, Sugiyama H.Severe pleuropulmonary paragonimiasis caused by *Paragonimus mexicanus* treated as tuberculosis in Ecuador. Am J Trop Med Hyg, 94, 97-99, 2016

Hayashi K, Mohanta UK, Ohari Y, Neeraja T, Singh TS, Sugiyama H, Itagaki T.Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Explanatum explanatum* in India based on nucleotide sequences of ribosomal ITS2 and the mitochondrial gene *nad1*.J Vet Med Sci 78, 1745-1748, 2016

Itoh N, Tsukahara M, Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Kurai H. *Paragonimus westermani* infection mimicking recurrent lung cancer: A case report. J Infect Chemother, 22, 815-818, 2016

Tsubokawa D, Sugiyama H, Mikami F, Shibata K, Shibahara T, Fukuda K, Takamiya S, Yamasaki H, Nakamura T, Tsuji N. Collection methods of trematode eggs using experimental animal models. Parasitol Int. 65, 584-587, 2016

Bautista-López NL, Ndao M, Camargo FV, Nara T, Annoura T, Hardie DB, Borchers CH, Jardim A. Characterization and Diagnostic Application of Trypanosoma cruzi Trypomastigote Excreted-Secreted Antigens Shed in Extracellular Vesicles Released from Infected Mammalian Cells. *J Clin Microbiol.* 55(3):744-758 (20017).

Fougère A, Jackson AP, Bechtsi DP, Braks JA, Annoura T, Fonager J, Spaccapelo R, Ramesar J, Chevalley-Maurel S, Klop O, van der Laan AM, Tanke HJ, Kocken CH, Pasini EM, Khan SM, Böhme U, van Ooij C, Otto TD, Janse CJ, Franke-Fayard BM. Variant exported blood-stage proteins encoded by Plasmodium multigene families are expressed in liver stages where they are exported into the parasitophorous vacuole. *PLoS Pathog.* 12(11):e1005917. (2016).

Rijpma SR, van der Velden M, Annoura T, Matz JM, Kenthirapalan S, Kooij TW, Matuschewski K, van Gemert GJ, van de Vegte-Bolmer M, Siebelink-Stoter R, Graumans W, Ramesar J, Klop O, Russel FG, Sauerwein RW, Janse CJ, Franke-Fayard BM, Koenderink JB.. Vital and dispensable roles of Plasmodium multidrug resistance transporters during blood- and mosquito-stage development. *Mol Microbiol.* 101(1):78-91. (2016).

2. 原著論文、総説（和文）

牧内貴志、野崎智義 (2016) 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

野崎智義 (2017) 原虫の特殊代謝経路を標的とした国際共同創薬研究、化学療法の領域 33, 438-445, 2017, 医薬ジャーナル社

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 2016, 32: 117-126

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 2016, 70:99-104

永宗喜三郎 「お肉とネコの寄生虫、トキソプラズマってナニモノ？」衛生の友 2016, 59: 2

永宗喜三郎 「トキソプラズマ感染症診断法」小児内科 2017,

49 印刷中

倉井華子, 森嶋康之, 山﨑 浩, 杉山 広, 石井隆弘. 大腸内視鏡検査で発見された *Hymenolepis* 属条虫について. Clinical Parasitology 27, 23-25, 2016.

石井 明, 山﨑 浩.無鉤条虫症の 2 例. Clinical Parasitology 27, 29-31, 2016.

伊東直哉, 倉井華子, 山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広. 肺がん術後再発と鑑別を要したウエステルマン肺吸虫症の一例. Clinical Parasitology 27, 36-39, 2016.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 御供田睦代, 森嶋 康之, 山﨑 浩. ジビエ(野生鳥獣肉)を介した肺吸虫症の感染リスク. Clinical Parasitology 27, 40-42, 2016.

森嶋康之, 山﨑 浩, 大前比呂思, 杉山 広. わが国における単包虫症:現状ならびに市販血清診断キットの診断精度. Clinical Parasitology 27, 69-71, 2016.

近真理奈, 山本徳栄, 青木敦子, 大山龍也, 大山通夫, 森嶋康之. 埼玉県の野生化アライグマにおける腸管寄生虫類の保有状況. Clinical Parasitology 27, 52-53.

杉山 広. 過去に学ぶ食中毒の誤認. 食衛誌 57, J83-J85, 2016

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. 食微誌 33, 134-137, 2016

杉山 広. 我が国における寄生虫性食中毒の発生状況と原因食品の検査法. クリーンテクノロジー 2016(8), 24-27, 2016

杉山 広. アニサキスによる食中毒. 人と動物の共通感染症研究会ニュースレター 15, 9-14, 2016

山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 馳 亮太, 鈴木啓之, 矢野勇大. 国内感染が再び確認されたアジア条虫症-千葉県. 病原微生物検出情報 37, 206, 2016.

3. 書籍(英文)

4. 書籍(和文)

泉山信司、遠藤卓郎、水道における人への危害が問題となる病原微生物とその対策、水環境学会誌、2016, 39(2), 54-58

杉山 広. 有害微生物の基礎(原虫・寄生虫)および微生物の活性・不活性(原虫・寄生虫). 有害微生物の制御と管理－現場対応への実践的な取り組み－. pp.26－29 および pp.90－91, テクノシステム, 東京. 2016 年 11 月.

5. 行政

厚生労働省事務連絡「 死亡した妊婦の検体からオウム病病原体を同定した事例について (情報提供)」 2017 年 3 月

II. 学会発表

1. 国際学会

Arif Nurkanto, Ghulam Jeelani, and Tomoyoshi Nozaki. Coenzyme A biosynthetic pathway in enteric protozoan parasites *Entamoeba histolytica*: A potential target for drug development. The 7th EMBO meeting 2016, Mannheim, Germany, September 10-13, 2016.

Jeelani G, Mori M, Shiomi K, Nozaki T. Functional analysis of cysteine biosynthetic pathway in enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 7th EMBO meeting 2016, Sept 10-13, 2016, Mannheim, Germany.

Herbert H. Santos, Ken-ichiro Imai, and Tomoyoshi Nozaki. Discovery of lineage-specific mitosomal membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis. Kyoto, Japan, Sept 10-14, 2016

Herbert H. Santos, Ken-ichiro Imai, and Tomoyoshi Nozaki. Discovery of lineage-specific mitosomal membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. 2016 (27th) Annual Molecular Parasitology Meeting. Woods Hole, Massachusetts, USA,

Sept 18-22, 2016

Jeelani G, Nozaki T. Metabolomic analysis of *Entamoeba*. AMOEBAC Review meeting, Nov 1-2, 2016. Indian National Science Academy, New Delhi, India.

Saito-Nakano Y, Nozaki T. Isolation of new drug target on *Entamoeba histolytica*: Ursolic Acid and Miltefosine. NICED-NIID Joint meeting, 12th, Dec, 2016. Kolkata, India.

Herbert H. Santos, Ken-ichiro Imai, and Tomoyoshi Nozaki. Discovery of lineage-specific mitosomal membrane proteins in *Entamoeba histolytica*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. Seoul, South Korea. February 7-10, 2017

Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta-de Cadiz, 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. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. Seoul, South Korea. February 7-10, 2017

Fukumoto, J., Sakura, T., Matsubara, R., Nagamune, K. “Elucidating the mechanism of host mitochondrial recruitment of *Toxoplasma gondii*.” The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, September 2016, Kyoto

Kumiko Nakada-Tsukui, Ratna Wahyuni, Tomoyoshi Nozaki, Development of a new platform for evaluation of drug resistance in *Entamoeba histolytica* by confocal quantitative image cytometer. 13th Tiwan-Japan Symposium on Infectious Diseases, 2016.9.4-5, Taipei, Taiwan 口頭発表

Kumiko Nakada-Tsukui, Functional analysis of autophagy protein Atg8 in *Entamoeba histolytica*, Conference on Amoebiasis, AMOEBAC meeting, 2016.11.1-2, Delhi, India 口頭発表

Kumiko Nakada-Tsukui, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Ratna Wahyuni, Yumiko Saito-Nakano, Tomoyoshi Nozaki Atg8 is involved in endosome/phagosome maturation in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* cell biology 2016 ascb annual meeting, 2016.12.3-7, San Francisco, CA, ポスター発表

Saito-Nakano Y, Nozaki T. Isolation of new drug target on *Entamoeba histolytica*: Ursolic Acid and Miltefosine. NICED-NIID Joint meeting, 12th, Dec, 2016. Kolkata, India.

Yamasaki H., Kumazawa H., Morishima Y., SugiyamaH. Molecular verification of the synonymy of *Diphyllobothrium yonagoense* with *Diphyllobothrium stemmacephalum*. International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Sep. 18-22, 2016. Brisbane, Australia.

Thanchomnang T., Tantrawatpan C., Intapan P.M., Sanpool O., Janwan P., Lulitanond V., Tourtip S., Yamasaki H., Maleewong W. Molecular identification of *Diphyllobothrium* species by pyrosequencing. International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Sep. 18-22, 2016. Brisbane, Australia.

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

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因子システインプロテアーゼの輸送を制御する Rab11 の解析. 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2016 年 8 月 21 日-24 日. 帯広.

津久井久美子, 柴田久美子, 丸茂このみ, 渡辺菜月, 宮本絵梨, Ratna Wahyuni, 中野由美子, 野崎智義. 腸管寄生原虫赤痢アメーバの貪食胞成熟の分子機構. 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2016 年 8 月 21 日-24 日. 帯広.

津久井久美子, 渡辺菜月, 宮本絵梨, Ratna Wahyuni, 柴田久美子, 中野由美子, 富井健太郎, 野崎智義. 赤痢アメーバ原虫における Atg8 を介した貪食胞成熟の分子機構. 第 39 回日本分子生物学会年会. 2016 年 11 月 30-12 月 2 日. 横浜.

森美穂子, 中野由美子, 柘植聡志, 大村智, 塩見和朗, 野崎智義. 糸状菌代謝産物 ovalicin は赤痢アメーバ症肝膿瘍モデルハムスターに対して治療効果を示す. 日本農芸化学会 2017 年大会. 2017 年 3 月 17 日-20 日. 京都.

野崎智義　嫌気環境下でのミトコンドリア進化：硫酸活性化経路のミトコンドリアへの隔離はどうして起こったのか？ 蛋白研セミナー“真核細胞のオルガネラ研究最前線”2017 年 3 月 21 日～3 月 22 日、大阪大学蛋白質研究所, 吹田市, 大阪府

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

菊地正、清水少一、安達英輔、古賀道子、永宗喜三郎、鯉渕智彦 “トキソプラズマ集団感染例” 第 27 回日本臨床寄生虫学会　2016 年 6 月、金沢

佐倉孝哉、田原美智留、別所知明、八木田健司、永宗喜三郎 “食中毒原因原虫 *Sarcocystis fayeri* の滑走運動および細胞内侵入性” 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ・第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2016 年 8 月、帯広

福本隼平、山野安規徳、竹内史比古、松原立真、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、永宗喜三郎 “日本におけるトキソプラズマのタイピングと病原性”第 24 回分子寄生虫学ワークショップ・第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2016 年 8 月、帯広

福本隼平、山野安規徳、佐倉孝哉、松原立真、永宗喜三郎 “日本におけるトキソプラズマの分子系統と病原性” 第 49 回日本原生生物学会大会、2016 年 10 月、岡山

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 Atg8 を介した貪食胞成熟の分子機構の解明　第 68 回日本細胞生物学会大会　2016 年 6 月 15 日（水）から 17 日（金）京都市　口頭発表

渡辺菜月、津久井久美子　腸管寄生性原虫 Entamoeba histolytica において Atg8 が制御する貪食分子機構の探索　第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議　2016 年 11 月 13 日（日）から 15 日（火）南魚沼郡湯沢町　ポスター発表

宮本絵梨、津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバ Atg8 のエネルギー代謝における機能解析　第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議　2016 年 11 月 13 日（日）から 15 日（火）南魚沼郡湯沢町　ポスター発表

津久井久美子　赤痢アメーバ Atg8 の機能解析　第 10 回オートファジー研究会・第 4 回新学術「オートファジー」班会議　2016 年 11 月 13 日（日）から 15 日（火）南魚沼郡湯沢町　口頭発表

渡辺菜月、野崎智義、津久井久美子　腸管寄生性原虫 *Entamoeba histolytica* における PI3P を介した貪食胞成熟機構の解明　第 39 回日本分子生物学会年会　2016 年 11 月 30 日（水）から 12 月 1 日（金）　横浜市　ポスター発表

津久井 久美子、渡辺 菜月、宮本 絵梨、Ratna Wahyuni、柴田 久美子、中野 由美子、富井 健太郎、野崎 智義、赤

痢アメーバ原虫における Atg8 を介した貪食胞成熟の分子機構 第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 11 月 30 日（水）から 12 月 1 日（金） 横浜市 口頭発表

八木田 健司、招待講演：感染症スペシャリストが説きあかす難治性病原体の秘密-アカントアメーバと感染症、角膜カンファランス 2017（第 41 回日本角膜学会総会/第 33 回日本角膜移植学会）、2017 年 2 月、福岡

八木田 健司、泉山 信司、宮崎 誠生, ジアルジアおよびクリプトスポリジウム同時検査用イムノクロマトキットの開発, 第 85 回日本寄生虫学会大会、2016 年 3 月、宮崎

渡邉洋大、泉山信司、岩谷梓、齊藤巧介、成澤千秋、上村郁子、関山真樹、北村壽朗、相模川水系における遺伝子検出法を用いた原虫調査、日本水道協会水道研究発表会、2016 年 11 月、京都市

泉山信司、松下拓、秋葉道宏、片山浩之、水道の微生物学的な安全性向上に向けた取り組み、日本水道協会水道研究発表会、2016 年 11 月、京都市

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因子システインプロテアーゼの輸送を制御する Rab11 の解析. 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ/第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2016 年 8 月 21 日-24 日. 帯広.

森美穂子, 中野由美子, 柘植聡志, 大村智, 塩見和朗, 野崎智義. 糸状菌代謝産物 ovalicin は赤痢アメーバ症肝膿瘍モデルハムスターに対して治療効果を示す. 日本農芸化学会 2017 年大会. 2017 年 3 月 17 日-20 日. 京都.

倉井華子, 森嶋康之, 山﨑 浩, 杉山 広, 石井隆弘. 大腸内視鏡検査で発見された *Hymenolepis* 属条虫に ついて. 第 27 回日本臨床寄生虫学会大会, 金沢市. 2016 年 6 月.

石井 明, 山﨑 浩.無鉤条虫症の 2 例. 第 27 回日本臨床寄生虫学会大会, 金沢市. 2016 年 6 月.

伊東直哉, 倉井華子, 山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広. 肺がん術後再発と鑑別を要したウェステルマン肺吸虫症の一例. 第 27 回日本臨床寄生虫学会大会, 金沢市. 2016 年 6 月.

杉山 広, 柴田勝優, 川上 泰, 御供田睦代, 森嶋康之, 山﨑 浩. ジビエ（野生鳥獣肉）を介した肺吸虫症の 感染リスク. 第 27 回日本臨床寄生虫学会大会, 金沢市. 2016 年 6 月.

森嶋康之, 山﨑浩, 大前比呂思, 杉山広. わが国における単包虫症：現状ならびに市販血清診断キットの診断精度. 第 27 回日本臨床寄生虫学会大会, 金沢, 2016 年 6 月.

杉山 広. ジビエ（野生鳥獣肉）を介した肺吸虫症の感染リスク. 平成 28 年度日本獣医臨床寄生虫学研究会, 東京, 2016 年 9 月

巖城 隆、勝俣悦子、武津かほり、依田貴之、森嶋康之、杉山 広. シロイルカの腎臓に寄生した線虫 *Crassicauda giliakiana*. 第 76 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 2016 年 10 月.

柴田勝優, 川上 泰, 森嶋康之, 山﨑 浩, 杉山 広. 鹿児島県の肺吸虫流行地におけるモクズガニのメタセルカリア寄生状況調査. 第 76 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 2016 年 10 月.

八木欣平, 森嶋康之, 入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、野中成晃, 奥祐三郎, 吉川泰弘. 多包条虫の流行検出のための指標動物としてのイヌの重要性について. 第 62 回日本寄生虫学会北日本支部大会, 青森, 2016 年 10 月.

森嶋康之, 八木欣平, 登丸優子, 山﨑 浩, 杉山 広, 福本真一郎, 吉川泰弘. 愛知県における野犬のエキノコックス陽性例の再検出. 第 76 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 東京, 2016 年 10 月.

森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩, 八木欣平. エキノコックス（多包条虫）流行地拡大におけるイヌの役割. 第 10 回蠕虫

研究会, 熱海, 2016 年 11 月.

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 肝内型マラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明. 第 24 回分子寄生虫学ワークショップ／第 14 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2016年8月 21 日-24 日 帯広畜産大学・原虫病研究センター PK ホール

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. シンポジストとして講演;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 第 57 回日本熱帯医学会大会 2016年 11 月 5 日-6 日 一橋大学 一橋講堂(東京都千代田区一ツ橋)

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. シンポジストとして講演;肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明. 第 12 回 霊長類医科学フォーラム 2016年 11 月 18 日 文部科学省研究交流センター

荒木 球沙, 川合 覚, 野崎 智義, 案浦 健. 肝内型マラリア原虫における核増殖分子メカニズムの解明. 第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日 パシフィコ横浜

案浦 健. シンポジストとして講演;マラリア原虫弱毒生ワクチン開発の現状と展望. バイオロジクスフォーラム 第 14 回 学術集会. 2017年 1 月 12 日 文京シビックホール

案浦 健, 荒木 球沙, Franke-Fayard BM, Janse CJ, 川合 覚, Khan SM, Heussler VT, 野崎 智義. 指定演題(シンポジウム・ワークショップ)の招待演者として講演;肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明. 第 90 回 日本細菌学会総会. 2017年3月 19 日-21日 仙台国際センター展示棟

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

猪原史成、西村麻紀、室井善景、Mahmoud Motamed、横山直明、永宗喜三郎、西川義文 "トキソプラズマ感染によるマウスの恐怖記憶固定の傷害は大脳皮質および扁桃核における機能異常が引きおこす" 第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月、神奈川県藤沢市

永宗喜三郎 "アピコンプレクサと植物ホルモン" 第 159 回日本獣医学会学術集会、2016 年 9 月、神奈川県藤沢市

永宗喜三郎 "微生物の基礎知識(その4)ー原虫・寄生虫と注目される感染症ー日本防菌防黴学会 製造環境における微生物汚染と対策に関する基礎講座、2016 年 12 月、大阪

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。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
7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

Ⅱ. ウイルス感染の発生機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究
2. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究
3. 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
4. ピコルナウイルスに関する研究
5. HIV に関する研究
6. 狂犬病に関する研究
7. インフルエンザ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
6. Vero 細胞の内因性レトロウイルスに関する研究

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

Ⅴ. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用
2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

Ⅵ. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

品質管理に関する業務

1. 検定検査
2. 行政検査

国際協力関係業務

業 績

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。2016 年度人体由来検体数は 102 症例であった。検索の結果インフルエンザウイルス感染 13 例、JC ウイルス感染 6 例、アデノウイルス感染 3 例、ヘルペスウイルス感染 5 例他にトレポネーマや、ヒストプラズマなど細菌や真菌によるウイルス以外の病原体におけ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

病理切片上での in situ 核酸検出法の検討

組織切片上で病原体を検出する方法には病原体の蛋白抗原を検出する免疫組織化学と遺伝子核酸を検出する in situ hybridization(ISH)法がある。免疫組織化学は安定した検出系となるが、あらたに特異的な抗体を作製しなければならない場合は時間を要し緊急対応は難しい。外来病原体遺伝子を次世代シークエンス法等により同定できるようになった近年、塩基配列情報に基づいてISH 法用のオリゴヌクレオチドプローブを作成するのは容易である。これまでに我々は、独自に開発した高感度で特異性の高い in situ hybridization-AT tailing(ISH-AT)法を中心に市販のRNA ISH Kitも利用しながら様々なRNAウイルス拡散の検出を行ってきた。今回我々は RNA のみでなく DNA にも視野を広げ DNA ウイルス拡散の検出が可能な ISH-AT 法の確立を試みた。現在は、アデノウイルスの核酸検出系を立ち上げることに成功しグループ判別のみでなく血清型の特定も可能な系の確立を目指して、臨床的に重要と思われる血清型をターゲットにしプローブの作製等を行っている。(田中 道子、中島 典子、佐藤 由子、長谷川 秀樹、花岡希[感染症疫学センター4 室]、藤本 嗣人[感染症疫学センター4 室])

3. インフルエンザ感染症に関する研究

パンデミックシーズン終息後の A/H1N1pdm09 インフルエンザウイルス感染症の行政解剖例の病理学的・分子生物学的解析

A/H1N1pdm09 ウイルス感染症は、2009 年 3 月にメキシコで報告されたのち 2010 年 8 月にパンデミックが終息するまで世界中で流行した。現在では季節性インフルエンザウイルスとして流行しているが、流行年には重症化例や病院外での死亡例が多くみられる。パンデミック終息後の時期に、A/H1N1pdm09 感染により死亡し、東京都監察医務院で、行政解剖を施行した症例について、病理組織学的及び分子生物学的解析を施行し、重症化の発症機序について考察した。対象となった 34 例(平均 46 歳、男性 23 例、女性 11 例)中、BMI が 30 を超える例が 38%、基礎疾患として精神・神経疾患を有する例が 41%と多く認められた。病理組織像では、ARDS を示唆するびまん性肺胞傷害(DAD)が多く、13 例(38%)で見られ、10 例で肺胞上皮細胞にウイルス抗原が陽性であった。A/H1N1pdm09 の重症化の要因をウイルス因子宿主因子の側面から解析し、また重症化し死亡した宿主の自然免疫応答の特徴についても解明していく必要があると考えられた。 (中島 典子、佐藤 由子、林 紀乃、濱松 明彦[東京都監察医務院])

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)ベトナムバクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体検索

鳥インフルエンザ“早期確定診断”のためにインフルエンザウイルス研究センター第二室影山らが開発した高病原性鳥インフルエンザウイルスを含む呼吸器感染症を引き起こすウイルスを迅速かつ簡便に同定可能なマルチプレックス RT-LAMP 法と市販の呼吸器感染症を引き起こすウイルスおよびバクテリアを同定可能なマルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法(FTD33)をベトナムの国立バクマイ病院に導入し、呼吸器感染症を引き起こす病原体のスクリーニングシステムを構築した。2015 年 6 月より 2016 年 3 月まで集中治療室(ICU)、呼吸器科、感染症科にインフルエンザ様症状で入院した 120 名の患者より採取した検体を用いて、病原体の解析を行った。また、RT-LAMP 法はマルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法と同程度の検出感度を有しており、臨床現場においては迅速で高感度で特異性の高い検査法になり得る事が明らかとなった。 (中島 典子、影山 努[インフルエンザウイルス研究センター第二室]、高山 郁代[インフルエンザウイルス研究センター第二室]、Vu Thi Tuong Van[バクマイ病院、ベトナム])

(2)ハノイ国立小児病院における鳥インフルエンザとその死因である急性呼吸速迫症候群(ARDS)の病態の解析

鳥インフルエンザウイルスヒト感染症の重要な死因の 1 つである重症 ARDS の病態解明のために、ベトナム国立小児病院・小児集中治療室(PICU)に入院した“肺炎に併発した重症 ARDS”患者 57 例の臨床情報、入院時の血液、気管洗浄液中の病原体ゲノムを分子生物学的手法と培養法で検出するとともに、PICU 入院時の血清中のサイトカイン・ケモカイン濃度を測定したところ、PICU 入院時の血清インターフェロンγ濃度が“肺炎に併発した重症 ARDS”の独立した生命予後因子の候補となることが示された。また ARDS の病因病原体の種類による生命予後に有意差はみられなかった。この結果により“肺炎に併発した重症 ARDS”の治療には宿主の炎症反応のコントロールが重要であることが示唆された。 (中島 典子、鈴木 忠樹、Phung TTB、Phan PH[ハノイ国立小児病院])

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

ヒト症例の病理学的解析が必要不可欠であり、我々は全国の医療機関と協力して SFTS の病理像を明らかにすべく解析を進めている。一方、2009 年に米国で SFTSV に近縁の新しいダニ媒介フレボウイルスである Heartland ウイルス(HRTLV)による類似疾患の報告があり、SFTS 病態との類似性について注目されている(N Engl J Med 2012)。CDC の Infectious Diseases Pathology Branch(IDPB)は、感染症の病理学を専門とする研究室であり、稀有な疾患であるダニ媒介性フレボウイルス感染症についても全米から症例が集まっており、HRTLV 感染症の剖検症例のパラフィンブロック検体が保管されている。そこで、CDC の保管する HRTLV の 7 件の剖検症例の 100 ブロック検体を review し、組織学的な変化とウイルス感染の評価を行った。その結果、HRTLV 感染症では、SFTSV 感染症に比べ、血球貪食像が少ないことが明らかになった。以上より血球貪食は宿主のサイトカイン応答により惹起されることから、SFTSV と HRTLV 感染により誘導されるサイトカイン応答の差異を検討する必要があると考えられた。 (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有用である。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検査を行い、平成 3 年から平成 28 年 12 月末までに 54 例の PML を検査した。平成 28 年は 16 例の検索依頼があり、9 例で PML とされた。平成 28 年の 9 例の PML 確定時の年齢は平均 60.3 歳で、基礎疾患として自己免疫性疾患 3 例、後天性免疫不全症候群と血液系悪性腫瘍がそれぞれ 2 例に認められた。なお、脳の組織学的検索にて PML と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)

7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

ジカウイルスは主にヤブ蚊によって媒介されるフラビウイルスであり、デングウイルス、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルスなどと近縁である。2015 年秋のブラジルからの報告までジカウイルスを含め、これら近縁のフラビウイルスによる感染症はヒトにおいて先天性異常を引き起こすことは知られておらず、ジカウイルス感染と小頭症との関連性を指摘する報告は世界中から大きな注目を集める事となった。そこで、新しい感染症である先天性ジカウイルス感染症の病理を明らかにするために病理組織でのジカウイルス感染の診断の為の in situ hybridization のプローブを設計し作製、感染細胞を用いてウイルス核酸の検出を確認した。また、ジカウイルス特異的抗体を用いた免疫組織化学を構築し、実験動物感染モデルにて感染細胞を検出可能であることを確認した。さらに、病理組織中のウイルス量を定量する病原体遺伝子検査系を構築し、米国 CDC との共同研究として妊娠期間中にジカウイルス感染があった妊婦の胎盤組織中や小頭症児の脳組織内にジカウイルスが持続感染することを見出した。 (鈴木 忠樹、飛梅 実、佐藤 由子、中島 典子、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

(1)新規 primary effusion lymphoma 細胞株の樹立と KSHV の全長ゲノムの決定

40 歳代の男性エイズ患者の貯留胸水から新規 primary effusion lymphoma(PEL)細胞株の樹立に成功し、SPEL 細胞と名付けた。SPEL 細胞は CD38, CD138 陽性、CD20 陰性であり、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)陽性、Epstein-Barr ウイルス陰性であった。細胞を免疫不全マウスの皮下に移植すると 1 ヶ月後に腫瘍形成が認められた。HDAC 阻害剤などにより KSHV の溶解感染が誘導された。ウイルス粒子を精製し、抽出した DNA から次世代シークエンサーにより KSHV の全配列を決定し GenBank に登録した。これはアジアでは初めての KSHV の全塩基配列である。 (大澤 麻登里、峰 宗太郎、太田 真一郎[防衛医大]、加藤 健吾[病原体ゲノム解析研究センター]、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片岡 紀代、福本 瞳、佐藤 由子、菅野 隆行、長谷川 秀樹、上田 啓次[大阪大学]、深山 正久[東京大学]、前田 卓哉[防衛医大]、叶 宗一郎[防衛医大]、川名 明彦[防衛医大]、藤倉 雄二[防衛医大]、片野 晴隆)

(2)ガンマヘルペスウイルス感染細胞から産生されるエクソソームにおける miRNA のプロファイルの解明

エクソソームは細胞から分泌される小胞体であり、そこに含まれる miRNA は、細胞間コミュニケーションなどの機能がある。今回、KSHV または Epstein-Barr ウイルスに感染したリンパ腫細胞株の細胞内とエクソソーム中に含まれる miRNA を次世代シークエンサーで解析した。KSHV 感染細胞ではウイルス由来の miRNA がエクソソーム中の全 miRNA の 48%を占めた。KSHV miRNA では miR-K3 が、ヒト miRNA では mir-10b-5p と mir-143-3p がエクソソームに多い miRNA として同定された。また、miRNA をエクソソームに選択的に移行させる特定の配列モチーフが同定された。(保科 しほ、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、片岡 紀代、長谷川 秀樹、濱田 洋通[東京女子医大]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

(3)KSHV の 細胞間感染メカニズムについての研究

GFP 組換え KSHV 感染 B 細胞株を用いた細胞間感染(cell-to-cell infectio あるいは cell-associated virus infection)実験で、培養液中のウシ胎仔血清濃度による影響について検討したところ感染効率にほとんど影響は認められなかった。ウイルス粒子による感染(cell-free virus infection)ではウシ胎仔血清濃度が上昇すると感染効率は低下する。細胞間感染が生体内における抗体分子などの血清成分による感染阻害効果を回避する合目的的な感染様式であることを示唆していると考えられる。 (菅野 隆行、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

2. 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 レセプター導入マウスの MERS-CoV 感受性についての検討

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、昨年度 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、若齢マウスについて MERS-CoV の感受性を検討した。今年度は半年齢動物の MERS-CoV に対する感受性を検討した。その結果、若齢マウスの病態と同じく、気管支上皮細胞や肺胞上皮細胞でウイルスが感染増殖し急性肺炎を起こした。しかし、重症化は見られなかった。 (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)

3. 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モデルを作出した。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。一部の個体では脾の腫大が認められ、副腎にウイルス感染を伴う壊死を示すものもあった。このモデルにおいて好中球の枯渇処理は、ウイルス増殖と病変形成を亢進させた。(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])

4. 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 の神経病原性について引き続き、マウスモデルを用いて病理学的解析を行った。今年度は、上気道炎患者由来株脳内接種後のマウスにおける脱髄病変形成機序について経時間的に解析した。その結果、マウス脳脊髄におけるウイルス感染局在と病変形成の関係が病理組織学的に明らかとなった。(萩原 圭[実習生]、永田 典代、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、小谷 治[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])

(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マウスにおける感染性と病原性を検討し、経粘膜感染モデルの作出を試みた。その結果、経鼻感染後のウイルスはマウスの嗅上皮に感染後、神経向性に嗅球の大型の神経細胞に感染伝播することが判明した。 (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])

5. HIV に関する研究

(1)新規宿主因子 GBP5 の抗ウイルス機能の検証

我々が昨年度に報告した新規抗ウイルス宿主因子(Nat. Med. 21:1502-1507, 2015)とほぼ同様の機能を有する宿主因子 GBP5(Cell Host Microbe. 19:504-14, 2016)が報告されたことを受け、その抗ウイルス機能の検証を試みた。GBP5 は論文に記されている通り interferon により発現誘導されるタンパク質であったが、その過剰発現によって HIV-1 の感染性を低下させることはなく Env のウイルス粒子への取込みにも影響しなかった。しかしながら明らかに Env との相互作用および共局在を示すことから、ウイルスの複製を制御する因子として機能している可能性が示唆された。(Yao Weitong[研究生]、張 延昭[研究生]、藤田 英明[長崎国際大]、山岡 昇司[東京医科歯科大]、徳永 研三)

(2)抗 HIV-1 機能における MARCH8 と他の MARCH ファミリータンパク質との比較検討

前述の新規抗ウイルス宿主因子 MARCH8 は全 11 種類ある MARCH ファミリーメンバーの一つであるが、MARCH8 以外の MARCH タンパク質が抗ウイルス機能を有するか否かについては不明である。これら MARCH ファミリータンパク質の発現プラスミドを作製し、発現が認められた MARCH1、MARCH2、MARCH3、MARCH5、MARCH6、および MARCH7 のうち MARCH2 のみが抗ウイルス活性を有しており、Env のウイルス粒子への取込みを阻害している

ことが明らかになった。現在、MARCH1 の major variant および、発現が確認できなかった MARCH4 と MARCH9 についても検討している。 (Yao Weitong[研究生]、張 延昭[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)

6. 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[期間業務職員])

7. インフルエンザウイルスに関する研究

インフルエンザウイルス性肺炎病理における喘息発作の影響

呼吸器ウイルス感染症は気管支喘息の重大な増悪因子になると考えられており、喘息はインフルエンザの重症化因子である可能性が指摘されている。しかし、インフルエンザウイルス性肺炎病理に与える喘息発作の影響については不明な点が多い。本研究は喘息モデル動物を用いて喘息発作とインフルエンザウイルス性肺炎病理との関係性を明らかにすることを目的とした。その結果、感染後の喘息発作誘導により肺炎病理の増悪が認められた。一方、感染前の喘息発作を誘導することにより、ウイルス感染は抑制され肺炎病理は軽快した。これらの結果から喘息発作とウイルス感染の時間的関係性がインフルエンザウイルス肺炎病理像に重要であることが明らかになった。 (川口 晶、鈴木 忠樹、大原 有樹[研究生]、高橋 健太、相内 章、佐藤 由子、永田 典代、田代 眞人[インフルエンザウイルス研究センター]、長谷川 秀樹)

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接種により誘導される抗体応答の評価

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)における鼻腔洗浄液中の中和抗体応答を評価した。本研究における被験者は、3 価全粒子不活化ワクチン(ウイルス株毎に接種あたり 45 μg HA、現行ワクチンの 3 倍量)をカルボキシビニルポリマー(CVP)存在下で、3 週間隔で 2 回の経鼻接種を受けている。また、ワクチン接種直前の鼻腔洗浄操作が抗体応答の誘導に必須か否かを明らかにするため、鼻腔洗浄液をワクチン接種直前あるいは前日に行った二群に分け、誘導される抗体応答を比較した。接種あたり各 45 μg HA の経鼻接種により、血清 HI ならびに中和抗体応答と同様に、鼻腔洗浄液中和抗体も十分に誘導できる事を明らかにした。また、鼻腔洗浄のタイミングの異なる 2 群間において、誘導される抗体価に優位な差が認められなかった。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。 (相内 章、寺内 芳彦[協力研究員]、鈴木 忠樹、齊藤 慎二[研究生]、田村 愼一、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)インフルエンザウイルスに対する組換え分泌型多量体 IgA 抗体の性状解析

我々は、経鼻インフルエンザワクチンを接種した健常人ボランティアの鼻腔粘膜上に誘導された分泌型多量体 IgA(ps-IgA)抗体の解析から、ps-IgA 抗体には二量体以外にも四量体等のより大きな多量体が存在することを明らかにしている。ps-IgA 抗体は、単量体 IgA 抗体に比べ中和活性が高いことから、多量体化に生物学的な意味が有ることが考えらえる。より詳細な解析を行うため、モノクローナル多量体 IgA 抗体の作製法を検討し、多量体の性状に関してより詳細な解析を行った。同一可変領域を持つ IgA1 あ

るいは IgA2 の H 鎖の発現ベクターを L 鎖、J 鎖、分泌因子(SC)の発現ベクターと共に Expi293F 細胞へ共導入することで、モノクローナル多量体 IgA 抗体を作製可能であることを見出した。また、作製した四量体抗体の分子量は、MALDI-TOF MS による解析より、IgA1 及び IgA2 抗体共に 700 kDa 程度であり、ほぼ同様の構造を持つことが示唆された。インフルエンザウイルスに対する中和活性は、IgA1 ならびに IgA2 共に多量体化により増強された。 (佐野 芳[研究生]、齊藤 慎二[インフルエンザウイルス研究センター] 、鈴木 忠樹、上野 智規*、多賀 祐喜*、Elly van Riet、相内 章、大原 有樹[研究生]、田畑耕史郎[実習生]、藤井 信[実習生]、高橋 宜聖[免疫部]、後藤 希代子*、長谷川 秀樹、*;株式会社ニッピ)

(3)経鼻インフルエンザワクチンにおける細菌由来の外膜小胞(Outer membrane vesicle, OMV)の粘膜アジュバント活性の評価

プロバイオティクスとして海外で使用実績がある E. coli Nissle 1917 株由来の OMV を粘膜アジュバントとしたインフルエンザウイルス A/California/1/09 (H1N1) pdm09 由来のスプリットワクチンを 6-8 週齢の BALB/c マウスに 3 週間隔で 2 回接種した。2 回目のワクチン接種から 2 週間後にワクチンと抗原性が相同であるマウス馴化 A/Narita/1/09 (H1N1)pdm09 の経鼻感染を行い、感染三日後の鼻腔洗浄液中ウイルス価と HA 特異的血清 IgG 抗体応答を評価した。OMV に含まれる同量の精製 LPS を粘膜アジュバントとして添加した際には、HA 特異的血清 IgG 応答は認められないのに対し、OMV を粘膜アジュバントとした際には既に粘膜アジュバント活性が知られている合成二本鎖 RNA と同程度の抗体応答を誘導し、鼻腔洗浄液中のウイルス増殖が抑えられる傾向にあった。OMV は経鼻インフルエンザワクチンにおける粘膜アジュバントになりうる可能性が示唆された。 (相内 章、田畑 耕史郎[実習生]、平山 悟[細菌一部]、中尾 龍馬[細菌一部]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

(4)金ナノ粒子を用いて粒子化した新規経鼻インフルエンザワクチンの開発

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。抗原を粒子化させることで免疫原性が上昇し、高い免疫応答を誘導することができたという報告がある。そこで、本研究では金ナノ粒子を用いて組換え PR8-HA タンパク質を粒子化させたワクチン抗原の免疫原性に関して検討した。大小それぞれ同程度の表面積を有する球状、三角状、ロッド状の形状の金ナノ粒子にインフルエンザウイルスの膜タンパク質である HA を付加させ、ワクチン抗原として用いた。上気道に 3 週間隔で 2 回ワクチン接種し、その 2 週後に PR8 を上気道感染させ、感染 3 日後に鼻腔洗浄液と血清を回収し、鼻腔洗浄液中のウイルス価ならびに鼻腔洗浄液ならびに血清の PR8-HA 特異的抗体応答を評価した。球状の金ナノ粒子(大小共に)に HA を付加したワクチン接種群では陰性対照群と比較してウイ ルス力価が有意に低く、また抗体価は IgA, IgG 共に有意に高かった。また、大きいロッド状の金ナノ粒子を用いた場合、陰性対照群と比較してウイルス力価が有意に低く、また IgG 抗体価は有意に高かった。経鼻インフルエンザワクチンにおいて、金ナノ粒子を用いて粒子化させることで免疫原性が上昇する傾向があると考えられた。 (田畑 耕史郎[実習生]、佐野 芳[研究生]、相内 章、南原 克行*、新倉 謙一*、鈴木 忠樹、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、1-4 型の全ての血清型の DENV の VLP 発現用のプラスミドを構築した。哺乳類培養細胞を用いた一過性発現系にて発現、分泌を調べた結果、DENV の全ての血清型について発現・分泌されるコンストラクトを得た。更に、発現・分泌を向上させるべくコンストラクトの至適化を進めた。次に至適化した VLP を安定的に発現する CHO 細胞株を樹立し、安定発現細胞株で作製した 1 型 VLP を抗原とするワクチンをマウスに接種したところ、血清中に DENV1 型に対す

る中和抗体が誘導されることを確認した。また、安定発現細胞から作製した 3 型 VLP の免疫原性をマウスで評価し、ワクチン抗原に対する血清抗体が誘導されることを確認した。(藤井 信[実習生]、佐高 明子[臨時研究補助員]、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

バキュロウイルス発現系を用いたワクチン抗原としての組換え HTLV-1 Env タンパク質作製の検討

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 タンパク質合成を試みた。既に Env タンパク質全長の発現にについて、不溶画分から 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ている。さらに、この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ている。今年度は、高純度で組換え Env タンパク質を精製するために、数種類のカラム精製を組み合わせて精製条件を検討した。その結果、強陽イオン交換レジンとレクチンカラムの併用により精製が可能であることを見いだした。 (鈴木 忠樹、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。ムンプスウイルス野外株を経鼻接種 14 日目のマーモセットを用いて、パラフィン包埋組織切片を作製した。この脳組織を用いて RNA in situ hybridization 法(RNA Scope, Advanced Cell Diagnostics, Inc)を行ったところ、免疫組織化学法によるウイルス抗原検出部位と一致してゲノムが検出された。 (永田 典代、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、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、新規ワクチンの開発を行っている。昨年度、抗原となる SARS-CoV および MERS-CoV のスパイクタンパク質を作製し、これらのタンパク質をマウスに免疫したが、中和抗体の誘導能が芳しくなかったため、目的タンパク質の精製度に問題があったと考えられた。そこで今年度、精製度の高い目的タンパク質の作製を目指した。現在、新たな SARS-CoV のスパイクタンパク質が作製できたため、今後、このタンパク質をマウスに免疫し、抗体誘導能を調べる予定である。 (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)

6. Vero 細胞の内因性レトロウイルスに関する研究

近年、Vero 細胞から同定されたサル内因性レトロウイルス(SERVagm-Vero)について、ヒトにおける感染を明らかにするために調査を行った。病理臨床検体、および、血液検体 783 検体と 13 種類のヒト細胞株、製造過程でベロ細胞が使用されているワクチン 5 種類を含む 13 種類の市販ワクチンにおいて SERVagm-Vero 遺伝子は検出されなかった。ELISA を用いた血清学的検討では、日本人健常者の 0.8％が SERVagm-Vero 血清抗体陽性であった。今日市販されているワクチンには SERVagm-Vero の遺伝子の混入はなく、日本人においてサル内因性レトロウイルスの感染は稀であることが示された。 (福本 瞳、比島 恒和[駒込病院]、長谷川 秀樹、佐伯 秀久[日本医大]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究

定型 BSE 罹患牛の発生頻度は世界的に収束傾向にある。しかしながら、その生化学的特徴が定型 BSE とは異なる非定型 BSE が報告されている。本邦においても 2 頭の L-type に分類される非定型 BSE 罹患牛が摘発されている。定型および L-type 非定型 BSE をカニクイサルに接種し、

中枢神経系の感染病理学的な解析を行った。その結果、定型 BSE 接種サルの病理像は、ヒトでの vCJD と同様の組織像を示し、サルがヒト vCJD モデルとなることがが示唆された。また、L-typeBSE 由来プリオン接種サルでは、ヒトの sCJD と同様の組織像を示し、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、サルでの継代実験を進めている。また、ウシで増幅された H-Type BSE のヒトへの感染性および病原性を調べるため、サルへの接種を行った。 (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、現在使用不可となっているウシ由来諸臓器のリスクについて再度検討し、規制の妥当性について検討を行っている。また、プリオンの新たな検出法として、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 28 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 228 検体で、その内訳は感染研内部 177 検体、共同研究 39 検体、外部のみ 12 検体であった。

また、見学者の対応は 17 回、114 名であった。公務員が 58 名、学生ら 35 名、一般 12 名、外国人 9 名であった。今年度は一般公開の見学ツアーが無かったため、一般見学者が少なかった。 (齋藤 典子[期間業務職員])

2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

本年度中の依頼数は 52 件で、樹脂包埋検体数 82 検体、ネガティブ染色数 148 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 9、ネガティブ染色数 159)、走査電子顕微鏡は 1 件(検体数2)であった。また、本年度も Robert Koch 研究所主催の電子顕微鏡学的ウイルス診断の外部評価(External Quality Assurance Scheme in EM Virus Diagnosis EQA-EMV)に参加し、これを検査実施者の教育訓練の一環とした。依頼者は感染病理部の他、ウイルス第二部、ウイルス第三部、血液・安全性研究部、インフルエンザウイルス研究センター,細菌第二部であった。 (片岡 紀代[期間業務職員]、岩田 奈織子、永田 典代、長谷川 秀樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

なし

2. 行政検査

伝達性海綿状脳症(TSE)スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーピー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。 (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」 において、それ

ぞれ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 29 年 1 月 26 日、28 日。於:村山庁舎)

2. 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) Gallo RC, Willems L, Hasegawa H. Global Virus Network's Task Force on HTLV-1.Screening transplant donors for HTLV-1 and -2. Blood. 128(26):3029-3031. 2016.
2) Miyauchi K, Sugimoto-Ishige A, Harada Y, Adachi Y, Usami Y, Kaji T, Inoue K, Hasegawa H, Watanabe T, Hijikata A, Fukuyama S, Maemura T, Okada-Hatakeyama M, Ohara O, Kawaoka Y, Takahashi Y, Takemori T, Kubo M. Protective neutralizing influenza antibody response in the absence of T follicular helper cells. Nat Immunol. 17(12):1447-1458. 2016.
3) Nakajima S, Watashi K, Ohashi H, Kamisuki S, Izaguirre-Carbonell J, Kwon AT, Suzuki H, Kataoka M, Tsukuda S, Okada M, Moi ML, Takeuchi T, Arita M, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Hasegawa H, Takasaki T, Sugawara F, Wakita T. Fungus-Derived Neoechinulin B as a Novel Antagonist of Liver X Receptor, Identified by Chemical Genetics Using a Hepatitis C Virus Cell Culture System. J Virol. 90(20):9058-9074. 2016.
4) Nakao R, Hasegawa H, Dongying B, Ohnishi M, Senpuku H. Assessment of outer membrane vesicles of periodontopathic bacterium Porphyromonas gingivalis as possible mucosal immunogen. Vaccine. 34(38):4626-4634. 2016.
5) Tamura S, Ainai A, Suzuki T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal Inactivated Influenza Vaccines: a Reasonable Approach to Improve the Efficacy of Influenza Vaccine? Jpn J Infect Dis. 69(3):165-179. 2016.
6) 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.
7) Moriyama M, Chen IY, Kawaguchi A, Koshiba T, Nagata K, Takeyama H, Hasegawa H, Ichinohe T. The RNA- and TRIM25-Binding Domains of Influenza Virus NS1 Protein Are Essential for Suppression of NLRP3 Inflammasome-Mediated Interleukin-1β Secretion. J Virol. 90(8):4105-4114. 2016.
8) 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(9):1201-1207. 2016.
9) Fukumoto H, Hishima T, Hasegawa H, Saeki H, Kuroda M, Katano H. Evaluation of Vero-cell-derived simian endogenous retrovirus infection in humans by detection of viral genome in clinicopathological samples and commercialized vaccines and by serology of Japanese general population. Vaccine. 34(24): 2700-2706. 2016.
10) Goto H, Kariya R, Matsuda K, Kudo E, Katano H, Okada S. A potential role of the NOD genetic background in mouse peritoneal macrophages for the development of primary effusion lymphoma. Leuk Res. 42: 37-42. 2016.
11) Hamada H, Sekizuka T, Oba K, Katano H, Kinumaki A, Terai M, Mizutani T, Kuroda M. Comprehensive pathogen detection associated with four recurrent

episodes of Kawasaki disease in a patient during a single year using next-generation sequencing. JMM Case Rep. 3: e005019. 2016.

12) Hashida Y, Nakajima K, Nakajima H, Shiga T, Tanaka M, Murakami M, Matsuzaki S, Naganuma S, Kuroda N, Seki Y, Katano H, Sano S, Daibata M. High load of Merkel cell polyomavirus DNA detected in the normal skin of Japanese patients with Merkel cell carcinoma. J Clin Virol. 82: 101-107. 2016.
13) Hoshina S, Sekizuka T, Kataoka M, Hasegawa H, Hamada H, Kuroda M, Katano H. Profile of Exosomal and Intracellular microRNA in Gamma-Herpesvirus-Infected Lymphoma Cell Lines. PLoS One. 11(9): e0162574. 2016.
14) Ikumi K, Ando T, Katano H, Katsuno M, Sakai Y, Yoshida M, Saida T, Kimura H, Sobue G. HSV-2-related hemophagocytic lymphohistiocytosis in a fingolimod-treated patient with MS. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 3: e247. 2016.
15) Itoh K, Iwamoto K, Satoh Y, Fujita T, Takahashi K, Katano H, Hasegawa H, Takasaki T, Tando S, Fushiki S. Knowledge Obtained from an Elderly Case of Japanese Encephalitis. Intern Med. 55(17): 2487-2490. 2016.
16) Koizumi Y, Uehira T, Ota Y, Ogawa Y, Yajima K, Tanuma J, Yotsumoto M, Hagiwara S, Ikegaya S, Watanabe D, Minamiguchi H, Hodohara K, Murotani K, Mikamo H, Wada H, Ajisawa A, Shirasaka T, Nagai H, Kodama Y, Hishima T, Mochizuki M, Katano H, Okada S. Clinical and pathological aspects of human immunodeficiency virus-associated plasmablastic lymphoma: analysis of 24 cases. Int J Hematol. 104: 669-681. 2016.
17) Osawa M, Mine S, Ota S, Kato K, Sekizuka T, Kuroda M, Kataoka M, Fukumoto H, Sato Y, Kanno T, Hasegawa H, Ueda K, Fukayama M, Maeda T, Kanoh S, Kawana A, Fujikura Y, Katano H. Establishing and characterizing a new primary effusion lymphoma cell line harboring Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. Infect Agent Cancer. 11: 37. 2016.
18) Sato M, Kuroda M, Kasai M, Matsui H, Fukuyama T, Katano H, Tanaka-Taya K. Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLB1 infection detected by next generation sequencing. J Clin Virol. 78: 66-70. 2016.
19) Tadokoro T, Keshino E, Makiyama A, Sasaguri T, Ohshima K, Katano H, Mohri M. Acute Lymphocytic Myocarditis With Anti-PD-1 Antibody Nivolumab. Circ Heart Fail. 9: e003514. 2016.
20) Yamada S, Katano H, Sato Y, Fukuchi S, Hashimoto K, Inoue N. An Ex vivo culture model for placental cytomegalovirus infection using slices of Guinea pig placental tissue. Placenta. 37: 85-88. 2016.
21) Furihata S, Matsumura T, Hirata M, Mizutani T, Nagata N, Kataoka M, Katayama Y, Omatsu T, Matsumoto H, Hayakawa Y. Characterization of Venom and Oviduct Components of Parasitoid Wasp Asobara japonica. PLoS One. 11(7):e0160210. 2016.
22) Koike S, Nagata N. A Transgenic Mouse Model of Poliomyelitis. Methods Mol Biol. 1387:129-44. 2016.
23) 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(1). 2016.
24) 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.
25) Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of lymph-node antigens with

lower Gag-specific central-memory and higher Env-specific effector-memory CD8(+) T-cell frequencies in a macaque AIDS model. Sci Rep. 6:30153. 2016.

26) Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Non Susceptibility of Neonatal and Adult Rats against the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Jpn J Infect Dis. 69(6):510-516. 2016.

27) 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. 22(4):687-90. 2016.

28) Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takayama I, Sangsriratanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. TMPRSS2 Independency for Haemagglutinin Cleavage In Vivo Differentiates Influenza B Virus from Influenza A Virus. Sci Rep. 6:29430. 2016.

29) Arafa AS, Yamada S, Imai M, Watanabe T, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Sakai-Tagawa Y, Ito M, Imamura T, Nakajima N, Takahashi K, Zhao D, Oishi K, Yasuhara A, Macken CA, Zhong G, Hanson AP, Fan S, Ping J, Hatta M, Lopes TJ, Suzuki Y, El-Husseiny M, Selim A, Hagag N, Soliman M, Neumann G, Hasegawa H, Kawaoka Y. Risk assessment of recent Egyptian H5N1 influenza viruses. Sci Rep. 6:38388. 2016.

30) Yuan T, Yao W, Tokunaga K, Yang R, Sun B. An HIV-1 capsid binding protein TRIM11 accelerates viral uncoating. Retrovirology. 13:72, 2016.

31) Tsunetsugu-Yokota Y, Kobayashi-Ishihara M, Wada Y, Terahara K, Takeyama H, Kawana-Tachikawa A, Tokunaga K, Yamagishi M, Martinez JP, Meyerhans A. Homeostatically maintained resting naïve CD4+ T cells resist latent HIV reactivation. Front. Microbiol. 7:1944, 2016.

32) 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. 213:283-288. 2016.

33) Zhang W, Sano N, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Wakita T, Ikeda H, Li TC. Virus-like particles of porcine bocavirus generated by recombinant baculoviruses can be applied to sero-epidemic studies. Virus Res. 217:85-9. 2016.

34) Martines RB, Bhatnagar J, de Oliveira Ramos AM, Davi HP, Iglezias SD, Kanamura CT, Keating MK, Hale G, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Ritter J, Gary J, Rollin D, Goldsmith CS, Reagan-Steiner S, Ermias Y, Suzuki T, Luz KG, de Oliveira WK, Lanciotti R, Lambert A, Shieh WJ, Zaki SR. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. Lancet. 388(10047):898-904. 2016.

35) Uehara N, Yano T, Ishihara A, Saijou M, Suzuki T. Fatal Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome: An Autopsy Case Report. Intern Med. 55(7):831-8. 2016.

36) Kobayashi S, Suzuki T, Kawaguchi A, Phongphaew W, Yoshii K, Iwano T, Harada A, Kariwa H, Orba Y, Sawa H. Rab8b Regulates Transport of West Nile Virus Particles from Recycling Endosomes. J Biol Chem. 291(12):6559-68. 2016.

2. 和文発表

1) 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹. 経鼻粘膜インフルエンザワクチンによる粘膜免疫と感染防御実験医学. 34(13): 2151-2156. 2016.

2) 田村 愼一, 長谷川 秀樹. 粘膜ワクチンの研究の歴史. 実験医学 . 34(13):2116-2121. 2016.

3) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチン. 臨床化学. 45(2):184-185. 2016.

4) 長谷川 秀樹. 【感染症ワクチンの現状と将来】経鼻インフルエンザワクチンの開発. 化学療法の領

域. 32(6):1190-1195. 2016.

5) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体 臨床とウイルス. 臨床とウイルス . 44(4): 169-173. 2016.
6) 長谷川 秀樹. インフルエンザワクチン開発の現況と展望. 呼吸器内科. 29(5):384-388. 2016.
7) 遠藤 嵩大, 尾崎 由美, 葉山 惟大, 天貝 純郁, 鈴木 啓之, 照井 正, 片野 晴隆. 粉瘤との鑑別を要した耳垂の Merkel 細胞ポリオーマウイルス陽性 Merkel 細胞癌の 1 例. 臨床皮膚科. 70(6):427-430. 2016.
8) 秋田 貴之, 尾坂 真, 大森 嘉彦, 菅間 博, 大倉 康男, 松本 吉史, 高山 信之, 河合 伸, 片野 晴隆, 望月 眞. Human immunodifficiency virus リンパ節炎と Human immunodifficiency virus 顎下腺炎を伴った顎下腺原発 Diffuse large B-cell lymphoma の 1 例. 診断病理. 33(1):111-115. 2016.
9) 多田 卓哉, 徳永 研三. 新規宿主因子 MARCH8 による HIV-1 エンベロープ糖蛋白質のダウンレギュレーション Downregulation of HIV-1 envelope glycoprotein by a novel host factor MARCH8. 臨床免疫・アレルギー科. 66: 82-87. 2016.
10) 鈴木 忠樹, 相内 章, 長谷川 秀樹. 粘膜感染症に対する注射型ワクチンの限界と粘膜ワクチン開発. バムサジャーナル. 28(4):6-12. 2016.
11) 鈴木 忠樹. 今, そこにある問題を解決するための研究 ―CDC への留学― Centers for Disease Control and Prevention(CDC). 実験医学. 34(9):1481-1483. 2016.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hasegawa H. Development of Inactivated Intranasal Influenza Vaccine. The 18th Shanghai International Forum on Biotechnology & Pharmaceutical Industry. (China) 2016.6.
2) Tada T, Zhang Y, Koyama T, Tobiume M, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga, K (presenter). MARCH8 is a novel antiviral factor that inhibits HIV-1 infection by blocking Env incorporation into virions. The 11th China-Japan International Conference of Virology. (Japan) 2016.7.
3) Vu TT, Nguyen GB, Le TN, Pham TP, Dao XC, Phuong TT, Vuong BM, Dung LT, Cuong DD, Phan TP, Thanh DV, Nguyen DT, Kageyama T, Takasaki J, Takayama I, Saito S, Odagiri T, Nakajima N. Etiology of influenza-like illness admitted to Bach Mai Hospital in Hanoi, Vietnam Options IX for the control of influenza. (USA) 2016.8.
4) Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Agoh M, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Shimizu H, Hasegawa H. Virulence of recent coxsackievirus B2 isolates in a neonatal mouse model. 19th International Picornavirus meeting. (Switzerland) 2016.9.
5) Kotani O, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H, Sato H, Nagata N. Saffold virus in vivo passages drive the structural evolution of the capsid protein for enhancing replication fitness in neural cells. 19th International Picornavirus Meeting. (Switzerland) 2016.9.
6) Fujii K, Sudaka Y, Imura A, Takashino A, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike S. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in SCARB2-dependent infection. 19th International Picornavirus Meeting. (Switzerland) 2016.9.
7) Tokunaga K (invited speaker). The novel restriction factor MARCH8 inhibits HIV-1 infection. The 3rd China–Russia International Conference on Microbiology, Immunology and Infectious Diseases. (China) 2016.9.
8) Tokunaga K (invited speaker). Restriction of HIV-1 infection by host transmembrane proteins. The retrovirus seminar at Wuhan University. (China) 2016.9.
9) Tokunaga K (invited speaker). MARCH8 is a novel restriction factor that inhibits HIV-1 infection. 17th Kumamoto AIDS Seminar. (Japan) 2016.11.

10) Nakajima N, Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Kawachi S, Furuya H, Do HT, Kageyama T, Anh Ta TA, Dao NH, Tran DM, Le HT. Pathogen Screening and the Evaluation of the Inflammatory Responses in Children with Severe Acute Respiratory Distress Syndrome of Pulmonary Origin and Respiratory Virus Infection. The 22nd National Scientific Congress of Pediatrics. (Vietnam) 2016.11.
11) Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H. Preparation of HTLV-1 Env Protein as Vaccine Antigen in Baculoviral Expression System. 18th International Conference on Human Retrovirology. (Japan) 2017.3.

2. 国内学会

1) 鈴木 忠樹, 片野 晴隆, 高橋 健太, 佐藤 由子, 中島 典子, 長谷川 秀樹. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の病理解析. 第 105 回日本病理学会総会. (仙台) 2016.5.
2) 峰 宗太郎, 福本 瞳, 佐藤 由子, 菅野 隆行, 菅沼 明彦, 比島 恒和, 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹, 片野 晴隆. Plasmablastic lymphoma 細胞株の樹立. 第 105 回日本病理学会総会. (仙台) 2016.5.
3) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと多量体分泌型 IgA 抗体の効果. 第 64 回日本化学療法学会総会. (神戸) 2016.6.
4) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 57 回日本臨床ウイルス学会. (郡山) 2016.6.
5) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 30 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. (山形) 2016.6.
6) 丹藤 創, 伊藤 恭子, 岩本 一秀, 高橋 健太, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹, 高崎 智彦, 伏木 信次. 脳生検組織の網羅的ウイルス検索で確定診断に至ったウイルス脳炎の一例. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会. (弘前) 2016.6.
7) 峰 宗太郎, 福本 瞳, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 比島 恒和, 深山 正久, 片野 晴隆. EBV 陽性 plasmablastic lymphoma 細胞株の IL6 依存性の解析. 第 30 回ヘルペスウイルス研究会. (東京) 2016.6.
8) 福本 瞳, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 佐伯 秀久, 片野 晴隆. 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. 第 115 回日本皮膚科学会総会. (京都) 2016.6.
9) 長谷川 秀樹. 小児心筋炎をめぐる基礎と臨床のクロストーク--Cross-talk between basic sciences and clinical researches in pediatric myocarditis-. 第 52 回日本小児循環器学会総会・学術集会. (東京) 2016.7.
10) 長谷川 秀樹. 重症インフルエンザの病理. 第 38 回日本呼吸療法医学会学術集会. (名古屋) 2016.7.
11) 片野 晴隆, 大澤 麻登里, 峰 宗太郎, 太田 真一郎, 加藤 健吾, 関塚 剛史, 黒田 誠, 片岡 紀代, 福本 瞳, 佐藤 由子, 菅野 隆行, 長谷川 秀樹, 上田 啓次, 深山 正久, 前田 卓哉, 叶 宗一郎, 川名 明彦, 藤倉 雄二. 新規 primary effusion lymphoma 細胞株の樹立と KSHV の全長ゲノムの決定. 第 13 回 EB ウイルス研究会. (東京) 2016.7.
12) 峰 宗太郎, 福本 瞳, 佐藤 由子, 菅野 隆行, 菅沼 明彦, 比島 恒和, 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹, 片野 晴隆. EBV 陽性 plasmablastic lymphoma 細胞株の IL6 依存性の解析. 第 13 回 EB ウイルス研究会. (東京) 2016.7.
13) 長谷川 秀樹. 新興・再興感染症診断の国際比較. 第 159 回日本獣医学会学術集会 (藤沢) 2016.9.
14) 岩附 研子, 中島 典子, 長谷川 秀樹, 河岡 義裕. 近年のヒト分離 H3N2 インフルエンザウイルスに対するハムスターの感受性. 第 159 回日本獣医学会学術集会. (藤沢) 2016.9.
15) 鈴木 忠樹. 先天性ジカウイルス感染症の病理. 第 72 回日本病理学会関東支部学術集会. (東京) 2016.9.
16) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2016.10.
17) 鈴木 忠樹. 粘膜ワクチンで誘導される分泌型 IgA 抗体の多量体構造と機能の解析. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2016.10.

18) 福本 瞳, 比島 恒和, 長谷川 秀樹, 佐伯 秀久, 黒田 誠, 片野 晴隆. ベロ細胞由来サル内因性レトロウイルスの血清疫学とヒト臨床病理検体における検討. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2016.10.

19) Hasegawa H. Mucosal vaccine and application of secretory IgA antibody for Influenza virus infection. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

20) Ichimiya T, Okamatsu M, Sakoda Y, Hasegawa H, Kida H, Nishihara S, Takase-Yoden S. Do human H1 infuluenza viruses recognize sulfated glycan motif as a receptor? 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

21) Nakamura M, Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H, Ishii H, Matano T. In vivo kinetics of HTLV tax-transgenic mice-derived ATL cells after inoculated into allogeneic mice. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

22) Moriyama M, Hasegawa H, Ichinohe T. Evasion of host innate antiviral responses by the nonstructural protein of SFTS virus. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

23) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenecity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosal route. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

24) Matsunaga S, Kudoh A, Miyakawa K, Hasegawa H, Ryo A. Development of in vitro enzymatic activity assay for HTLV-1 protease. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

25) Saito S, Sano K, Suzuki T, Van Riet E, Ainai A, Ohara Y, Tabata K, Fujii M, Takahashi Y, Takeyama H, Hasegawa H. Characterization of the recombinant polymeric secretory IgA (ps-IgA) antibody against influenza virus. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 札幌 2016.10.

26) Ainai A, Terauchi Y, Suzuki T, Saito S, Sano K, Tabata K, Fujii M, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M, Hasegawa H. Influence of nasal washing upon the induction of neutralization antibody responses by intranasal vaccination against influenza. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (札幌) 2016.10.

27) Nakajima N, Hamamatsu A, Hayashi K, Sato Y, Kumasaka T, Tobiume M, Hasegawa H. Severe lung injury associated with A/H1N1 pdm09 infection in the post-pandemic season. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

28) Tobiume M, Sato Y, Hagiwara K, Shibata H, Ono F, Hasegawa H. Pathological analysis of C and L BSE derived prion in Macaques. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

29) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosa route. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.

30) 関向 華子, 岩田(吉河) 奈織子, 福間 藍子, 福士 秀悦, 谷 英樹, 長谷川 秀樹, 永田 典代. 重症肺炎を引き起こすヒトコロナウイルスのスパイクタンパク質の作製とその有用性について. 第64回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.

31) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosal route. 経粘膜接種後の成マウスにおける最近のコクサッキーウイルス B2 分離株の病原性について. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.

32) Fujii K, Sudaka Y, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike S. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in cynomolgus monkey. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.

33) Kishida N, Imai M, Ainai A, Saito R, Nakamura K, Kuwahara T, Fujisaki S, Takashita E, Shirakura M, Kashiwagi Y, Tashiro M, Odagiri T, Watanabe S. Evaluation of efficacy of an inactivated whole-virus A/Victoria/361/2011 (IVR-165) (H3N2) influenza

vaccine in ferret. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

34) Kageyama T, Vu Thi Tuong Van, Nguyen Gia Binh, Phuong Truong Thai, Pham Thi Phuong Thuy, Thanh Do Van, Dao Xuan Co, Phuong Phan Thu, Do Duy Cuong, Le Thi Ngan, Bui Minh Vuong, Le Trung Dung, Pham The Thac, Takasaki J, Takayama I, Saito S, Odagiri T, Nakajima N. Etiology of influenza-like illness admitted to Bach Mai Hospital in Hanoi, Vietnam. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.

35) Tada T, Yao W, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K (presenter). MARCH2 is another antiviral MARCH family member that inhibits HIV-1 infectivity. 第 64 回日本ウイルス学会総会. (札幌) 2016.10.

36) Yao W, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K. Guanylate Binding Protein 5 does not mediate inhibition of HIV-1 infectivity. 第 64 回日本ウイルス学会総会. (札幌) 2016.10.

37) 石井 淳子, 川本 未知, 藤原 悟, 船津 尭之, 今井 幸弘, 奴久妻 聡一, 高橋 健太, 中道 一生, 幸原 伸夫. 全身性エリテマトーデス加療中に頭部 MRI で散在性点状 T2 高信号病変を呈し進行が見られていない進行性多巣性白質脳症の一例. 第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会. (金沢) 2016.10.

38) 高橋 礼典, 飛梅 実, 横塚 真由美, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 長尾 俊孝. 正常プリオン蛋白の老人斑への特異的結合. 第 62 回日本病理学会秋期特別総会. (金沢) 2016.11.

39) 片野 晴隆. HIV 感染者の加齢と癌 カポジ肉腫とリンパ腫.第 30 回日本エイズ学会学術集会. (鹿児島) 2016.11.

40) 徳永 研三. 新規抗ウイルス宿主因子 MARCH8. 第 30 回日本エイズ学会シンポジウム. (鹿児島) 2016.11.

41) 高橋 紫蓉, 濱 美月, 藤井 佑樹, Menezes J.C.J.M.D.S., 高橋 宏隆, 竹田 浩之, 澤崎 達也, 本川 智紀, 徳永 研三, 藤田 英明. 膜結合型ユビキチンリガーゼ RNF152 は後期エンドソームにおいてチロシナーゼと相互作用・共局在する. 第 27 回日本色素細胞学会. (岐阜) 2016.11.

42) Yamazaki T, Ainai A, Akashi-Takamura S. Antibody-based immunotherapy with plasmid vector for influenza virus infection. 第 45 回日本免疫学会学術集会. (沖縄) 2016.12.

43) 長谷川 秀樹. 次世代インフルエンザワクチンの開発. 第 32 回日本環境感染学会. (神戸) 2017.2.

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. インフルエンザに関する研究
3. ノロウイルスに関する研究
4. ワクチンに関する基礎的研究
5. 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. 有用抗体を遺伝子合成して発現する技術の開発
2. 免疫寛容破綻機構の解明に向けた基盤技術の開発に関する研究

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

業 績

調査・研究

Ⅰ. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の増殖制御と病態に関する研究

（1）ヒト化マウスを用いた in vivo における HIV 感染機構の解析

HIV 感染に伴う CD4 陽性 T 細胞の細胞死は感染後期で顕著であるものの、感染急性期で誘導される細胞死の特徴については不明な点が多い。近年、ウイルス産生に至らない abortive infection がプログラム細胞死の一つであるパイロトーシスを誘導することが報告され、p24 産生の有無に基づく従来の bystander CD4 陽性 T 細胞死の実態がパイロトーシスである可能性が示唆されるようになった。そこで本研究では、HIV-1 感染急性期に誘導される CD4 陽性 T 細胞死の実態について、ヒト化マウスモデルでの解析を開始した。CCR5 指向性（R5）あるいは CXCR4 指向性（X4）HIV-1 を接種したヒト化マウスの脾臓細胞を解析した結果、R5 HIV-1 接種では接種後 1 週目、X4 HIV-1 接種では接種後 2 週目に productive infection が顕在化したが、両ウイルス接種群ともに接種後 3 日目で既に CD4 陽性 T 細胞の細胞死誘導が認められた。さらに、細胞表面 CD4 分子の発現低下が abortive infection の指標として有用であるか検討したところ、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞集団において、CD4 発現低下細胞頻度と死細胞頻度との間に有意な正の相関が認められた。現在、abortive infection と CD4 発現低下との関連性について解析を進めている。

[寺原和孝、岩渕龍太郎（早稲田大学、研究生）、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

GFP 発現 HIV を感染させた後、恒常性サイトカイン(IL-7 と IL-15)によりナイーブ $CD4^+$ T 細胞を維持培養(HSP 培養)すると、プロウイルスを持ちながら GFP 蛋白発現陰性の静止期ナイーブ T 細胞集団が比較的長期間維持される。この細胞集団は T 細胞受容体（TCR）刺激（TCR 培養）後に一度静止化して GFP 陰性となった記憶 T 細胞と比較して、既存の再活性化刺激に抵抗性であることを明らかにし、論文発表した(Frontiers in Microbiology, 2016)。このようなナイーブ T 細胞と TCR 刺激を受けた記憶 T 細胞の感染制御機構の違いを明らかにする目的で、スペインの共同研究者と共に両細胞の RNAseq 解析を実施した。HSP 培養した $CD4^+$ T 細胞で特に発現が高い遺伝子群を幾つか選択して解析を始めている。また、恒常性サイトカインの刺激伝達系分子 STAT5 の低分子型(truncated form)が HIV-1 感染者に多く発現してウイルスの潜伏化に関与していることを示唆する報告に基づき、HSP 培養細胞の STAT5 シグナル分子の性状解析を行った。

[横田恭子(客員研究員)、小林(石原)美栄、寺原和孝、Javier P. Martinez (Pompeu Fabra 大学、スペイン)，Andreas Meyerhans (Pompeu Fabra 大学、スペイン)]

(3)HIV 由来アンチセンス鎖 RNA の潜伏感染における機能解析

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。②と③間の潜伏感染ステータスにおける違いを比較するため、両者の感染細胞をそれぞれシングルクローン化した。さらにそれらに PMA+Ionomycin 及び SAHA で再活性化刺激を与え、sRNA の発現応答性を調べたところ、②の asRNA を発現している潜伏化細胞は③の asRNA を発現していない潜伏化細胞に比べ再活性化応答性が有意に低いことが示された。このことから、asRNA は HIV の潜伏感染維持に貢献していることが示唆された。

[小林(石原)美栄、寺原和孝、阿戸 学、横田恭子(客員研究員)]

2. 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

2013 年に鳥インフルエンザ A(H7N9)による人感染症例が初めて報告されて以来、1500 例以上の症例数を数え、致死率も高い(29%)ウイルス感染症である。この予防を目的として季節性ワクチンと同じ剤形で H7N9 ワクチンが開発されたものの、臨床試験では抗体惹起能が低く、免疫原性の改善が必要とされている。免疫原性改善のため、バイオインフォマティクス的手法を導入し、抗体誘導に適すると思われる 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。さらに、マウスを用いた解析から、季節性ウイルスに対する既存の免疫が H7N9ワクチンの免疫原性に影響を与える可能性が示唆された。

[和田倭(研究生)、Arnone Nithichanon 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叉防御抗体を誘導する新しいワクチン剤形の開発に関する研究

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。肺の交叉性 B 細胞の大多数は、複数のヘマグルチニンで共通の抗原領域であるステム部分のαヘリックスを認識することを見いだした。ステム部分のα ヘリックスは、通常のヘマグルチニン構造では露出していないため、感染時の肺ではヘマグルチニン構造が変化していると考えられた。そこで α ヘリックスを露出することが知られるヘマグルチニンの膜融合型に着目しワクチンを作製したところ、より高濃度の交叉抗体が惹起された。さらに、惹起された交叉抗体は変異型ウイルス感染に対する交叉防御効果を示したことから、新しいワクチン剤型になることが期待された。

[安達悠、阿戸 学、高橋宜聖]

3. ノロウイルスに関する研究

(1)ノロウイルス VLP ワクチンの免疫原性・有効性に関する研究

ノロウイルス感染症は非細菌性急性感染性胃腸炎の約90%を占め、ワクチンにより予防が望まれる感染症の1つである。本研究では現在開発が進められているヒトノロウイルス VLP ワクチンの有効性をヒト免疫系を移植したヒト化マウスを用いて評価した。その結果、ノロウイルス VLP ワクチンによって IgA 型、IgG 型の両方の液性免疫応答が誘導可能であること、更にこれらの抗体がノロウイルスに対して HBGA 結合阻害活性を有することを明らかにした。これらの事から、ノロウイルス VLP ワクチンにより感染予防に有効な液性免疫を付与することが可能であることが示唆された。

[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]

(2)ノロウイルス次世代ワクチンの開発に向けた交差防御抗体に関する研究

ヒトノロウイルスは GI, GII, GIV の遺伝子型から成り、それらは更に数十に上るサブタイプのウイルスに分類される。次世代型ワクチンとして、これら多岐にわたるウイルスサブタイプに跨った交差防御免疫を誘導可能なワクチンの開発が望まれている。本研究ではノロウイルスに対するヒト交差防御免疫の解析、及びノロウイルス交差防御エピトープの同定を目的としフローサイトメトリーによる交差反応性記憶 B 細胞の検出技術の開発を行った。またこれらの細胞から交差反応性ヒトモノクローナル抗体を作成しその性状解析を行った。その結果、健常人末梢血中において GI.1 型, GII.4 型の両方に交差反応性を有する記憶 B 細胞が IgA 型、IgG 型共に株特異的反応性を有するものと同等に存在することを明らかにした。更にマウスノロウイルスを用いた中和試験、感染防御試験においてこれらの交差反応性抗体が感染防御効果を有する事を明らかにした。これらの事から交差反応性抗体をワクチンにより誘導することの有効性が示唆された。

[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)、阿戸 学、高橋宜聖]

4. 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腸管 T 細胞反応の解析

新規エイズワクチンの実用化に向け、サルエイズワクチンモデルにおける腸管感染防御効果の検証を進めている。腸管感染免疫動態を解析するにあたり、生検サンプルでの解析が必須とされるが、これまでに確立した 6 種類の機能マーカー(IFN-γ, MIP-1β, TNF-α, IL-2, CD107a, IL-17A)の発現能に基づく T 細胞反応解析系が生検サンプルに適用可能か検討した。その結果、生検由来 T 細胞の機能プロファイルは剖検由来 T 細胞のそれと同等であることが確認され、生検サンプルでの解析が可能であることが示唆された。

[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)]

(2)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

これまでの研究で、抗体応答を抗体遺伝子レパートリーの発現パターンとして検出するために次世代遺伝子シークエンサーを用いて網羅的解析手法の開発を行い、鶏卵馴化によって変異したワクチン株で製造されたワクチンに対する抗体応答の違いを抗体レパートリーの使用パターンの違いとして見出すことができている。この技術を用いて全粒子ワクチンとスプリットワクチンの剤型の違いによる抗体応答について抗体遺伝子のレパートリーの使用パターンと、誘導される抗体とウイルスへの結合親和性との関係について調べ、ワクチンの有効性に関連する抗体レパートリーの発現様式を同定し、これまでに無い考え方に基づくワクチンの品質管理試験の開発を行った。本方法を用いて、ワクチンやワクチン製造株の特性に応じた性能を評価する品質管理試験を確立すれば、ワクチンが一定の品質で供給され国民の健康や医療費の抑制などに貢献できる。[大西和夫、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)]

5. 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]

(5)RSV 感染に伴う二次性細菌感染の免疫学的機構の解明

RSV と細菌の重複感染は、乳児や高齢者において肺炎など重症化をしばしばひき起こす。我々は RSV 感染が誘導する免疫応答に注目し、重症化をもたらす免疫

学的機構のひとつを解明した。肺炎球菌感染 1 日後の肺では、RSV との重複感染群の気道への細胞浸潤、炎症性サイトカイン産生、肺炎球菌のクリアランスが肺炎球菌単独感染と比較して抑制された。一方、肺炎球菌感染 6 日後の肺炎球菌単独感染群では炎症応答が終息したのに対して、RSV との重複感染群では強い感染とそれに伴う炎症応答がみられた。重複感染モデルにおいて Gas6 KO マウスや Axl に対する抗体または阻害剤の投与は、肺炎球菌感染後の初期炎症応答の抑制とそれに続く感染の増大、そして体重や生存率の低下を解消した。すなわち、RSV 感染により肺胞マクロファージから産生される Gas6 が Axl を介して二次性細菌感染を容易にし、病態の悪化を招いていることが示唆された。さらにこの Gas6/Axl シグナルは、肺炎球菌感染に伴うマクロファージの IL-18 産生など感染初期の免疫応答を抑制し、結果として NK 細胞の IFN-γ 産生など肺炎球菌のクリアランスに重要な応答を阻害することにより強い感染を誘導することが明らかになった。この結果は、Gas6/Axl を標的とした新たな二次性細菌性肺炎などの予防・治療法の開発につながることが期待される。
[柴田岳彦、阿戸 学]

II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究

(1)非結核性抗酸菌に特異的な糖脂質 GPL の役割

抗酸菌は菌体表面に厚い脂質の層を持ち、増殖に伴って表面を広がる sliding 能を示す。作成した sliding 能欠損変異株では細胞における菌の取り込みが減少し、変異株の一つでは非結核性抗酸菌に特異的な糖脂質の GPL が欠落していた。これまで GPL は環境中での生存に重要であると言われていたが、同様に感染の際は細胞へのアプローチに貢献していると推察される。
[岡部真裕子、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、藤原永年・中 崇(大阪市立大学大学院医学研究科)、阿戸 学、小林和夫(堺市衛生研究所、客員研究員)]

(2)菌体外構造物の電子顕微鏡による観察

電子顕微鏡を用いて抗酸菌 *M. smegmatis* の観察を行なったところ、菌体表面に繊維状の構造物が発現しているのが観察された。これらは栄養過多な培養条件において多数確認され、形態から pili と推察される。結核菌では細胞への接着に関与する pili の報告があるが、pili 様構造物は GPL 欠損株では見られなかったことから、sliding や細胞との相互作用に関与している可能性がある。
[岡部真裕子、川本晃大・難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、小林和夫(堺市衛生研究所、客員研究員)、阿戸 学]

(3)非結核性抗酸菌症罹患率調査

非結核性抗酸菌症の罹患率の増加が懸念されており、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、倉島篤行(複十字病院)、南宮 湖、長谷川直樹(慶應大学呼吸器内科)、星野仁彦(ハンセン病研究センター)、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の未熟骨髄系細胞(Immature myeloid cells: IMCs)を発見した。さらに、野生型マウスと比較してGAS感受性が高いIL-6欠損マウスにおいてもIMCs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、IL-6欠損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さなかった。また、野生型IMCsと比べ、IL-6欠損IMCsはGAS応答性の炎症性サイトカンの産生が減少し、抑制性サイトカンであるIL-10の産生が増加していることが示された。IL-10投与マウスでは劇症型感染に感受性が上昇し、IL-10中和抗体投与マウスでは劇症型感染に抵抗性を示したことから、IL-6欠損IMCsによるIL-10の産生増加が、IL-6欠損マウスにおけるGAS感受性上昇の一つの原因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. 類鼻疽感染症に対するワクチン開発に向けた基盤研究

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。有効なワクチンや治療法が存在しない本感染症に対し、ワクチン開発に有効な防御抗原の特定を試みた。類鼻疽に免疫のあるドナー由来細胞を移植したヒト化マウスを用い、類鼻疽菌由来のタンパク質(FliC, OmpA, N-PilO2)について、抗体誘導能を評価した。その結果、いずれのタンパク質を接種した場合でも IgG 抗体が誘導された。また、誘導された IgG 抗体は、免疫細胞の抗菌活性に必要な貪食活性や活性酸素生成反応系を活性化することが判明した。以上の結果から、これらタンパク質は、類鼻疽菌に対する防御免疫を賦活化するのに適すると考えられ、新しいワクチン抗原候補となることが示された。
[Arnone Nithichanon、高橋宜聖、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. 有用抗体を遺伝子合成して発現する技術の開発

我々が開発した次世代シークエンサーを用いて抗原応答抗体のH鎖(IgH)遺伝子配列を予測する新規手法において、有用抗体をその遺伝子配列から人工合成するシステムを開発している。このために、IgH 鎖の抗原特異性に影響せずに幅広いIgH鎖レパートリーと結合できる、汎用(ユニバーサル)IgL 鎖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 鎖と結合することができる。この性質を利用していわゆる「ユニバーサル IgL 鎖」の分子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)]

2. 免疫寛容破綻機構の解明に向けた基盤技術の開発に関する研究

自己反応性 B 細胞の免疫寛容の破綻が自己免疫疾患発症の起因の1つとして関与していることが明らかになっているが、この破綻機構の詳細に関してはほとんど明らかになっていない。本研究ではこの破綻機構を解明する上で基盤となる自己反応性 B 細胞の検出技術を確立し、SLE モデルマウスにおける自己反応性 B 細胞の動態と疾患発症との相関関係を解析した。その結果、胚中心型の自己反応性B細胞数は野生型、及びSLEモデルマウスでほぼ同等に存在していたのに対し、記憶型(IgG 型)の自己反応性B細胞数はむしろ野生型マウスにおいて優位であった。一方、血清中の自己抗原反応性 IgG 抗体価は野生型マウスでは検出限界以下であったのに対し、SLE モデルマウスにおいて著増している事が明らかとなった。 これらの結果は記憶型(IgG 型)自己反応性 B 細胞の蓄積は疾患発症と相関は無く、むしろ記憶型(IgG 型)自己反応性 B 細胞が免疫寛容を維持できずに抗体産生細胞に分化してしまうことが疾患発症につながる事を示している。これらのことから記憶型自己反応性 B 細胞から抗体産生細胞への分化段階に免疫寛容のチェックポイントが存在し、この破綻がSLE発症に関与している事が示唆された。

[小野寺大志、鍔田武志(東京医科歯科大学)、阿戸 学、高橋宜聖]

Ⅳ. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケク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、昨年度、国内初のセアカゴケグモ抗毒素が製造された。今年度はその保存安定性試験を行い、昨年製造した国産抗毒素の力価がほぼ変化していないことを確認した。また今後も継続的に抗毒素の力価試験を行うために、セアカゴケグモ毒素の新ロットの性状試験とLD_{50}試験を行い、旧ロットと比較して毒素の主成分であるα-ラトロトキシンの量はほぼ変わらず、LD_{50}もほぼ同程度であることを確認した。[松村隆之、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、沢辺京子(昆虫医科学部)、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)、はぶ試験毒素(出血 I)、はぶ試験毒素(出血 II)、はぶ試験毒素(致死)、まむし抗毒素(抗致死、抗出血)、まむし試験毒素(出血)、まむし試験毒素(致死)を配布した。[岡部真裕子、松村隆之、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った。

[高橋宜聖、阿戸 学]

1. 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 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。この HAV 抗体検出キットは数年ごとに感度・特異性の向上したバージョンが開発されるため、新しい HAV 抗体検出キットの継続的な性能評価が必要とされている。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)の整備を進めており、昨年度までに IgG 型 HAV 検体パネルの整備を完了した。平成 28 年度では、IgM 型 HAV 抗体パネルの整備を進めるため、国立病院機構の肝炎研究班に属する医療機関と、国内の肝疾患診療連携拠点病院に協力を依頼し、国内急性 A 型肝炎の発生時に IgM 抗体陽性検体を収集するシステムを整備した。

[高橋宜聖、是永匡紹(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-抗酸菌部との共同研究で、台湾の HIV 陽性患者血清を用いた MAC 感染症の補助診断薬抗 MAC-GPL-IgA ELISA キットの性能評価を行い、HIV 感染による免疫不全患者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]

Ⅲ.まむし毒素国際標準品候補品の評価試験

Dr. Hokyung Oh (Blood Product Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, South Korea)より、まむし毒素国際標準品候補品を評価するための試験を依頼され、候補品の LD_{50} および最小出血毒量と、候補品に対するまむし抗毒素の抗致死価および抗出血価を決定した。[松村隆之、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、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

新潟大学医学部(5 月 18 日)、慶応大学医学部(5 月 21 日)、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(5 月 31 日)、大阪市立大学医学部(6 月 1 日)、知の市場:感染症総合管理 1d、9 月 13 日)、東京大学大学院農学研究科(12 月 9 日)などで招請講義した。[阿戸 学]

早稲田大学先進理工学部(5 月 25 日、6 月 1 日、7 月 6 日)で講義を行った。新潟大学医学部の医学研究実習(1−2 月)を担当した。[寺原和孝]

東邦大学大学院理学研究科(11 月 7 日、14 日)で講義を行った。[柴田岳彦]

早稲田大学理工学術院生命医科学科で免疫学講義を行なった(5 月 11 日、18 日、6 月 15 日)[高橋宜聖]

筑波大学生命環境学群(5 月 10 日、17 日ほか)で講義を行った。筑波大学大学院生命科学研究科(11 月 5 日ほか)で講義を行った。慶應義塾大学法学部(4 月 15 日、22 日ほか)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 28 年度の使用実績は、804 回、2217 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) Yamamoto K, Iwagami M, Seki T, Kano S, Ota N, Ato M. Dual antiplasmodial activity of vitamin D3 and its analog, 22-oxacalcitriol, by direct and indirect mechanisms. Parasitol Int. 2017 Apr;66(2):89-99. doi: 10.1016/j.parint.2016.11.015. Epub 2016 Dec 2.
2) Morimoto K, Hasegawa N, Izumi K, Namkoong H, Uchimura K, Yoshiyama T, Hoshino Y, Kurashima A, Sokunaga J, Shibuya S, Shimojima M, Ato M, Mitarai S. A Laboratory-Based Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in Japan from 2012 to 2013. Ann Am Thorac Soc. 2017 Jan;14(1):49-56. doi: 10.1513/AnnalsATS.201607-573OC
3) Oh H, Shin J, Ato M, Ma X, Williams D, Han K, Kim JY, Kang H, Jung K, Hanada K, Ochiai M, Van Hung PV, Parka S, Ahna C. The First Meeting of the National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific in 2016. Osong Public Health Res Perspect 2017;8(1):91–103. doi.org/10.24171/j.phrp.2017.8.1.13
4) Kewcharoenwong C, Rinchai D, Nithichanon A, Bancroft G, Ato M, Lertmemongkolchai G*. Glibenclamide impairs responses of neutrophils against *Burkholderia pseudomallei* by reduction of intracellular glutathione. Sci Rep. 2016 Oct 7;6:34794. doi: 10.1038/srep34794.
5) Yamagishi T, Arai S, Hifumi T, Sawabe K, Yamamoto A, Shibayama K, Ato M, Ginnaga A, Taki H Goka K, Oishi K. Expanding distributions of red back spiders and bites in Japan from 2011 to 2013. Med Entomol Zool. 2016 ;67(4), 219-221.
6) Ikebe T, Matsumura T, Nihonmatsu H, Ohya H, Okuno R, Mitsui C, Kawahara R, Kameyama M, Sasaki M, Shimada N, Ato M, Ohnishi M. Spontaneous mutations in Streptococcus pyogenes isolates from streptococcal toxic shock syndrome patients play roles in virulence. Sci Rep. 2016 Jun;27 (6), 28761. doi:10.1038/srep28761.
7) Namkoong H, Kurashima A, Morimoto K, Hoshino Y, Hasegawa N, Ato M, Mitarai S. Nationwide survey on the epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in Japan(1). Emerg Infect Dis. 2016 Jun;22(6):1116-7. doi:10.3201/eid2206.151086.
8) Tsunetsugu-Yokota Y., Kobayashi-Ishihara M., Wada

Y., Terahara K., Takeyama H., Kawana-Tachikawa A., Tokunaga K., M. amagishiY, Martinez J.P., Meyerhans A.. Homeostatically maintained resting naïve CD4$^+$ T cells resist latent HIV reactivation. Front Microbiol. 7, 1944, 2016.

9) Onodera, T, Hosono, A, Odagiri, T, Tashiro, M, Kaminogawa, S, Kurosaki, T, Ato, M, Kobayashi, K, Takahashi, Y. Whole-virion influenza vaccine recalls an early burst of high-affinity memory B cell response through Toll-like receptor signalings. J. Immunol. 196:4172-4184, 2016 doi: 10.4049/jimmunol.1600046
10) Shinnakasu, R., Inoue, T., Kometani, K., Moriyama, S., Adachi, Y., Nakayama, M., Takahashi, Y., Fukuyama, H., Okada, T., Kurosaki, T. Regulated selection of germinal center B cells into the memory compartment. Nat. Immunol. 17:861-869, 2016 doi:10.1038/ni.3460
11) Miyauchi, K., Sugimoto-Ishige, A., Harada, Y., Adachi, Y., Usami, Y., Kaji, T., Hasegawa, H., Watanabe, T., Hijikata, A., Fukuyama, S., Maemura, T., Ohara, O., Kawaoka, Y., Takahashi, Y., Takemori, T., Kubo, M. Protective neutralizing influenza antibody response in the absence of T follicular helper cells. Nat. Immunol. 17:1447-1458, 2016 doi: 10.1038/ni.3563
12) Nithichanon, A., Gourlay, L.J., Bancroft, G.J., Ato, M., Takahashi, Y., Lertmemongkolchai, G. Boosting of post-exposure human T and B cell recall responses in vivo by Burkholderia pseudomallei related proteins. Immunology, 151:98-109, 2017 doi: 10.1111/imm.12709

2. 和文発表

1) 阿戸　学　寄生虫感染におけるマクロファージ　「松島綱治　企画　マクロファージのすべて」　医学のあゆみ　259(5) 555-559 2016.
2) 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　44(1) 40-46 2016.
3) 阿戸　学　池辺忠義　A 群溶血性連鎖球菌感染症の細菌学的特徴　Up-to-date 子供の感染症　3(2) 12-16 2016.
4) 高橋宜聖　感染免疫における胚中心依存的な B 細胞記憶応答　臨床免疫・アレルギー科　66, 283-288, 2016.
5) 高橋宜聖　インフルエンザウイルスの免疫回避術と B 細胞免疫の適応戦略　感染炎症免疫　46 巻、2016

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会.

1) Adachi Y, Ato M, Takahashi Y: Distinct germinal center selection at local sites shapes cross-protective memory B cell response to viral escape. 第 16 回国際免疫学会議（オーストラリア/メルボルン、8 月）
2) Ato M,. Lot release testing on antivenom in NIID. The 1st Western Pacific lab-Net Workshop. 2016 (Seoul, 韓国、9 月)
3) Nomura T., Yamamoto H., Terahara K., Seki S., Matano T.. Analysis of proviral genome sequences in multiple cell subsets in SIV-infected rhesus macaques. 34th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. 平成 28 年 10 月、米国
4) Nomura T., Yamamoto H., Terahara K., Seki S., Matano T.. Analysis of proviral genome sequences in lymph nodes in SIV-infected rhesus macaques. 2nd Kumamoto IRCMS International Symposium and 17th Kumamoto AIDS Seminar. 平成 28 年 10-11 月、熊本
5) Ato M. Immunological aspects of bacterial pathogenesis. Learning from each other: Updating the clinical management and prevention of melioidosis and tuberculosis in the UK and Thailand （Hua Hin タイ王国、2 月） 2017.

2. 国内学会

1) 阿戸　学　溶連菌の病原性と劇症型レンサ球菌感染症への関与　第 90 回日本感染症学会総会　平成 28 年 4 月、仙台
2) Shibata T. and Ato M. 2016. Gas6/Axl signal causes the failure of RSV vaccine development in mice. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society (東京、6 月).
3) 沢辺京子、益子玲於奈、前川芳秀、糸川健太郎、佐藤智美、伊澤晴彦、松村隆之、阿戸学、山本明彦、一二三亨. 2016. セアカゴケグモ毒素の採取と粗精製、毒素の性状について. 第 38 回日本中毒学会総会学術集会(新潟、7 月)
4) 寺原和孝、岩渕龍太郎、小林―石原美栄、横田―恒次恭子. 2016. HIV-1 感染初期における CD4 陽性 T 細胞の細胞死誘導と caspase 分子群の関連について:ヒト化マウスモデルでの解析. 第 89 回日本生化学会大会（仙台　9 月）
5) Kobayashi-Ishihara, M., Terahara, K., Ato, M., Tsunetsugu-Yokota Y. Maintenance of HIV latency by HIV-1 encoded antisense RNAs. 2016. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会（札幌　10 月）
6) Nomura T., Yamamoto H., Terahara K., Seki S., Matano T. 2016. Proviral genome sequences in lymph nodes and bone marrows in SIV-infected rhesus macaques. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会（札幌　10 月）
7) Kobayashi-Ishihara, M., Martinez, J., Terahara, K., Meyerhans, A., Tsunetsugu-Yokota Y. Exploring a mechanism of HIV latency in homeostatically maintained CD4+ T cells. 2016. 第 45 回日本免疫学会総会(沖縄　12 月)
8) 松村隆之, 阿戸学. 2016. IL-6-deficient immature myeloid cells do not contribute to an effective host defense during severe invasive group A streptococcal infections. 第 45 回日本免疫学会総会・学術集会

(沖縄、12 月)

9) 松村隆之, 池辺忠義, 大西 真, 阿戸学. 2017. IL-6-deficient immature myeloid cells have no protective function against *Streptococcus* infection. 第 90 回細菌学会総会(仙台、3 月
10) Shibata T. and Ato M. 2016. Gas6/Axl signal plays critical roles in allergic responses and insufficient protection by formalin-inactivated RSV vaccine in mice. 第 45 回日本免疫学会総会 （沖縄、12 月）.
11) ONODERA Taishi, ATO Manabu, TAKAHASHI Yoshimasa: Broadly cross-reactive human memory B cells against norovirus express dual B cell antigen receptors. 第 45 回日本免疫学会総会（沖縄、12 月）
12) Adachi Y, Ato M, Takahashi Y: Different accessibility of strain-specific versus cross-reactive BCRs to virus particles regulates site-specific germinal center selection. 第 45 回日本免疫学会総会（沖縄、12 月）
13) Nakahara M, Takatsuka S, Ueno K, Onodera T, Takahashi Y, Kawakami K, Kubo M, Kinjo Y. Follicular helper NKT cells induce protective effect of a protein-based pneumococcal vaccine through stimulation of IgG production by B cells. 第 45 回日本免疫学会総会（沖縄、12 月）
14) SUN Lin, OHNISHI Kazuo "Next Generation Sequencer Analysis of B cell Repertoires in λ5-deficient mice" 第 45 回日本免疫学会総会（沖縄、12 月）
15) XUE Hanbing, SUN Lin, OHNISHI Kazuo, "Designing of 'Universal Light-Chain' that might be able to associate with a wide spectrum of heavy-chains maintaining their antigen-binding specificity" 第 45 回日本免疫学会総会（沖縄、12 月）
16) Miyaki, R., Toh H., Ohnishi, K. Generation of Amino Acid Indices to Distinguish Two Peptide Groups CBI 学会 2016 年大会　タワーホール船堀（東京都）
17) 藤 博幸, 大西和夫 代替 L 鎖の分子系統解析第 16 回日本蛋白質科学会年会 福岡国際会議場(福岡市)

知的財産権の出願・登録状況

PCT/US2016/027935
平成 28 年 4 月 15 日出願

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は年間百数十例が発生し、患者背景や予後等の疾病の一端が明らかになった。また、薬剤耐性真菌の増加など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28年度は播種性クリプトコックス症の疫学研究、ワクチンに関する研究、各種真菌に関する病原因子解明に関する基盤研究、糸状菌感染症における病原因子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。疾病では、年間一万例以上と侵襲性真菌症では国内最多のカンジダ症を対象とし、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症やムーコル症等の糸状菌感染症に関しては、難治化因子や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改訂、後発医薬品の収去検査を実施した。

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を中心に、カンジ

ダ症、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) *Cryptococcus gattii* における莢膜多糖の抗原被覆作用に関する研究

従来、クリプトコックス属菌の有する莢膜多糖は、免疫を抑制する因子と考えられてきたが、その作用機序は不明である。平成 28 年度の検証は以下の通りである。培養上清から精製した莢膜多糖の細胞への結合性を抗体感作ラテックスビーズ凝集反応にて評価した。その結果、莢膜多糖は、宿主細胞や他の病原性真菌の細胞表面には結合しないものの、*C. gattii* 莢膜欠損株 CAP10Δ, CAP59Δ, CAP60Δ, CAP64Δの菌体表面には結合した。この結合は、熱処理不活化菌体にも結合し、界面活性剤処理・キレート剤処理・有機溶媒処理にも耐性であった。莢膜多糖で処理した莢膜欠損株は、野生株と同様に樹状細胞やマクロファージによる貪食を回避し、樹状細胞から産生されるサイトカイン量も有意に減少した。同様の実験を *C. albicans* や *A. fumigatus* にて実施したが、莢膜多糖の処理では貪食反応やサイトカイン産生は抑制されなかった。このことから、莢膜多糖は、*C. gattii* の抗原を被覆することで、免疫の初期応答を回避することが推察された。

［上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、大谷 淑子・清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、宮﨑義継］

(2)高病原性クリプトコックス属の莢膜多糖と免疫応答に関する検討

致命的感染症を起こす *C. gattii* が報告されているが、高病原性の原因はのひとつとして高病原性株の莢膜多糖は樹状細胞に対する炎症性サイトカイン産生誘導能が低いことを明らかにしてきた。莢膜多糖の化学構造を比較した結果、高病原性株の莢膜多糖は化学修飾基が異なることをみいだした。

［浦井 誠、上野圭吾、金城雄樹、深澤秀輔、宮﨑義継］

(3) 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た。さらにCAM処理により莢膜が菲薄化したことから莢膜生成の過程に作用する可能性が示唆された。

［中村茂樹、壇辻百合香、名木 稔、梅山 隆、山越智、宮﨑義継］

(4) 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. neoformans* では生存率が有意に改善した *C. gattii* では IFN-γ 補充療法の有効性を認めず、菌種により免疫機構の役割が異なることが示唆された。

［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* 菌体外タンパク質に対する新規抗体の作製

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複数サンドイッチ ELISA 系を構築したが、臨床検体に対して感度において問題があった。得られた抗体の質が問題となったため、以下の 2 つの方法で新しく抗体作製を行った。

①これまでより多くの抗体をスクリーニングするために、

ヒト抗体ファージライブラリーに対して、動物細胞で作製した各種リコンビナントタンパク質を用いて、パニングによる濃縮、ELISA によるスクリーニングを行い、最終的に Y1 蛋白質 7 種類の抗体価の高い抗体を得ることができた。

②ネイティブなタンパク質に対する抗体の作製のために、DNA 免疫を行い、野生株および目的タンパク質の遺伝子欠損株菌の培養上清、あるいは大腸菌で作製した組換え体タンパク質を用いてハイブリドーマのスクリーニングを行った。

［高塚翔吾、山越　智、小野　健一郎（医学生物学研究所）、橋本ゆき、犬飼達也、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

昨年度、複数の分泌タンパク質遺伝子の解析から、血清中での生育およびバイオフィルム形成の低下がマウスモデルでの病原性の低下につながる可能性が示唆された。そこで、それら分泌タンパク質の中でもっとも血清の影響を受けた B11b について解析を行った。B11b は、血清を含む液体培養において血清により遺伝子の発現が促進され、タンパク質の量が増えることが判明した。その遺伝子欠損株は、血清存在下で生育できないことから、B11b タンパク質の発現量の増加が、血清中での生育を可能にすることが考えられた。

B11b タンパク質が、分泌タンパク質であることから、遺伝子欠損株の血清存在下での培養において、培地に大腸菌で作製した組換え体タンパク質を μg/ml オーダーで加えたが、生育を回復できなかった。また、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体を複数作製しているのでその中に、B11b の機能を中和し、野生株の血清存在下での生育を阻害するものがないか検討したが、そのような抗体は見つからなかった。

［犬飼達也、山越　智、橋本ゆき、梅山　隆、名木　稔、中村茂樹、宮﨑義継］

(3) *A. fumigatus* の分泌小胞に関する研究

A. fumigatus の分泌小胞を同定する目的で、いくつかの臨床株を用い、培地、精製方法を検討して、電子顕微鏡で菌体から分泌されたと考えられる小胞を見つけた。さらにその画分からタンパク質、RNA の調整を行った。

山越　智、片野　晴隆（感染病理部）、黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター）、橋本ゆき、梅山　隆、名木　稔、中村茂樹、宮﨑義継］

(4) *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、血清存在下で菌糸生育が低下する分泌蛋白 B11b 遺伝子破壊株を用いて、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。血清存在下で、親株で 2 倍以上発現量が上昇する 543 遺伝子のうち、破壊株で変化がない、もしくは減少する遺伝子は 111 種類あった。現在、これらの候補遺伝子の破壊株を作製し、血清応答との関連性を検討している。

［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］

(5) *A. fumigatus* への Cas9/CRISPR ゲノム編集の応用

A. fumigatus などの糸状菌において、病原性解明のための遺伝子欠損株の作製を容易にするために、ゲノム編集技術として近年注目されている Cas9/CRISPR を本菌に応用した。アスペルギルス-大腸菌シャトルベクターpPTRII を基本骨格として、*gpdA* プロモーター制御下で Cas9 タンパク質を発現し、*SNR52* プロモーター制御下で guide RNA を転写するプラスミドを構築した。分生子の色素生産に関わる *pksP* を標的として、新しく構築したベクターを適用したところ、10-20％のコロニーが白色となり、*pksP*

遺伝子の標的配列周辺に欠失や挿入変異が確認されたことから、本ベクターがゲノム編集ツールとして使用可能であることが示された。

［梅山　隆、犬飼達也、山越　智、名木　稔、中村茂樹、宮﨑義継］

3.　カンジダ症に関する研究

(1) *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。これまでの研究から、*C. glabrata* のマイトファジーは鉄欠乏条件で強く誘導されること、ミトコンドリア外膜に局在する Atg32 が必須であること、*ATG32* の遺伝子破壊株ではミトコンドリア機能の低下、鉄欠乏環境下での短命化、病原性の低下がおこることを明らかにした。*C. glabrata* と遺伝的に近縁な出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の場合、マイトファジー活性は *ATG32* の発現量によって調節されていると考えられている。平成 28 年度は、*C. glabrata* の鉄欠乏条件におけるマイトファジー活性調節機構の解明を目的に、*ATG32* 発現調節機構について解析を行った。PCR により *ATG32* ORF の上流領域を様々な長さで作製し、ルシフェラーゼ遺伝子の 5'末端に付加したプラスミドを作製した。それらのプラスミドを *C. glabrata* に導入し、レポーターアッセイを行った結果、以下のことが明らかになった。① *ATG32* ORF 上流 440-500bp の領域は鉄欠乏に応答して転写を活性化する。② *ATG32* ORF 上流 500-540bp の領域は鉄欠乏の有無に関わらず、転写を活性化する。③*ATG32* ORF 上流 234bp に位置する ATATT を欠失した場合、鉄欠乏の有無に関わらず転写が活性化する。この領域には転写抑制因子が結合している可能性が示唆された。

［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］

(2) *Candida* 属の粘膜定着が *Staphylococcus aureus* による菌血症発症機構に及ぼす影響に関する研究

カンジダ属はマイコバイオームを形成する主要な真菌である. 一方、*S. aureus* は血流感染症の原因菌として 2 番目に多く、侵入門戸不明な症例も少なからず存在する。いずれの病原体も粘膜面に常在するが感染症発症においてどのような相互関係を有しているかは不明である。*C. albicans* 培養上清で前処理した Caco-2 細胞に *S. aureus* を接種した結果、Coco-2 細胞を通過する *S.aureus* 菌数は有意に増加した。さらに、Tight junction 構成タンパクである Occludin, Claudin, Zo-1 の発現量を免疫蛍光染色および定量 RT-PCR で解析した結果、カンジダ培養上清処理群で有意な低下が認められた。この結果より、カンジダ属の粘膜定着が *S.aureus* の菌血症を促進している可能性が示唆され、現在、詳細なメカニズムの解析を進めている。

［中村茂樹、壇辻百合香、金蓮今、名木　稔、梅山　隆、山越　智、宮﨑義継］

(3)カンジダ眼内炎の病態解析

カンジダ眼内炎はカンジダ血症の重大な合併症で、カンジダ血症の 10-15％に合併する。Non-*albicans Candida* に比べて、*Candida albicans* の眼内炎が多いがその理由や病態は明らかになっていない。マウスに *C. albicans* または non-*albicans Candida* を感染させ、眼内の真菌数及び炎症性細胞の集積を解析した。Non-*albicans Candida* に比べて、*C. albicans* 感染マウスでは眼内の真菌数及び炎症性細胞の集積が多く検出される傾向を認めた。構築したカンジダ眼内炎マウスモデルは病態の解析に有用と考えられる。

［阿部雅広、金城雄樹、高塚翔吾、上野圭吾、澁谷和俊（東邦大学医学部）、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が誘導する新規メモリーT 細胞とその感染防御効果

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）。しかしながら、DC ワクチンが誘導する記憶免疫やその感染制御作用については不明であった。平成 27 年度の解析では、DC ワクチンによる感染制御効果に持続性があることを示し、DC ワクチン投与群では肺常在性記憶型 CD4+ T 細胞 (lung CD4 TRM)の増加を認めた。平成 28 年度は、lung CD4 TRM の性状解析を行った。その結果、lung CD4 TRM は、特殊なマーカープロファイルを示し、既存の集団とは異なる新規のメモリーTh17 細胞 (lung TRM17)であることが明らかになった。またこの集団は、免疫抑制剤の FTY720 では枯渇せず血管内染色陰性の集団であることから、循環性 T 細胞でないことも裏付けられた。DC ワクチンの感染制御効果が lung TRM17 に依存するかを検証するために、感染実験を実施したところ、IL-17 欠損マウスでは感染制御効果が有意に減弱したものの、FTY720 投与群では、DC ワクチンによる感染制御効果は消失しなかった。このことから、lung TRM17 が DC ワクチンの感染制御効果に関与することが示唆された。

［上野圭吾、金城雄樹、浦井 誠、高塚翔吾、大谷淑子・清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、宮﨑義継］

2. 好中球に発現する LMIR3 の機能解析

LMIR3 (leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor 3)は好中球の細胞表面に発現するが、その機能は不明である。平成 27 年度までに、LMIR3 欠損好中球において、*P. aeruginosa* や *C. albicans* に対する殺菌活性が有意に亢進することを示し、一次顆粒などの顆粒成分が増加する可能性を明らかにした。平成 28 年は、LMIR3 が一次顆粒特異的タンパク質の発現に与える影響を検証した。その結果、LMIR3 欠損好中球では、一次顆粒特異的膜タンパク質の発現が有意に増加し、一次顆粒に含まれる抗菌タンパク質の細胞外放出量も有意に増加した。一方で、二次顆粒や三次顆粒で発現する膜タンパク質については、LMIR3 欠損の影響を受けなかった。これらの結果から、LMIR3 が一次顆粒の制御因子であることが推察された。

［上野圭吾、金城雄樹、北浦次郎・伊沢久未 (順天堂大学大学院医学研究科)、宮﨑義継］

3. 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。S-ニトロソ化蛋白の処理により *Candida albicans* は細胞内の活性酸素の発現が増加し、ミトコンドリア膜電位の低下を認めた。そのことから、S-ニトロソ化蛋白は真菌に置いて活性酸素産生を増加することにより、抗真菌作用をもたらしていることが示唆された。

［金城雄樹、酒井 純、阿部雅広、仲原真貴子、上野圭吾、異島 優・丸山 徹（熊本大学薬学部）、宮﨑義継］

4. 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。

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、現行ワクチンに含まれない非ワクチン血清型の菌株に対しても感染防御効果を認めることを明らかにした。今年度は、本ワクチン接種により、リンパ節にてCXCR5 分子を発現する濾胞性ヘルパーNKT 細胞という特殊な細胞集団が誘導されること、NKT 欠損マウスでは高親和性 IgG 抗体を産生する胚中心 B 細胞の誘導を認めないことから、NKT 細胞が肺炎球菌感染防御に重要な抗体の産生誘導に重要な役割を担う可能性が示唆された。

［高塚翔吾、金城雄樹、仲原真貴子、阿部雅広、酒井　純、上野圭吾、浦井　誠、小野寺大志・高橋宜聖（免疫部）、朴　貞玉 (阪大微生物研究会)、明田幸宏 (大阪大学微生物病研究所)、大石和徳 (感染症疫学センター)、宮﨑義継］

5.　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、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。成人侵襲性肺炎球菌感染症例から分離した 715 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］

6.　*Aspergillus fumigatus* が誘導するアレルギー応答メカニズムに関する解析

アレルギー性気管支肺アスペルギルス症（ABPA）は主に喘息患者の気道に *Aspergillus fumigatus*（*A.fumigatus*）がコロニー化することで発症する。その詳細なメカニズムは未だ不明な点が多く残されているが、宿主内でアスペルギルス抗原に対する IgE 抗体が産生されることでアレルギー応答が誘発されると考えられている。これまでの生理条件下での実験結果として *A. fumigatus* 可溶化抗原を接種した後、*A. fumigatus* を感染させ 4 週間後に FCM 解析によってマウスの肺胞洗浄液中に含まれる免疫系細胞を確認したところ、IgE 産生に関与すると考えられる胚中心 B 細胞（GC-B）や濾胞ヘルパーT 細胞（Tfh）が誘導されており、気管支関連リンパ組織（induced bronchus-associated lymphoid tissue：iBALT）に胚中心反応が誘導され、長期に維持されていることが示唆される結果が得られた。

［高塚翔吾、金城雄樹、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

昨年度までに、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判明し、サイトカインの産生を調べることで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。そこで本年度は、マウスから肺胞マクロファージを初めとする様々なマクロファージを調整し、in vitroでのLECT2の作用を検討した。

［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］

8.　二次性肺炎球菌性肺炎の重症化に重要な菌側因子の解明

インフルエンザ後の二次性肺炎球菌性肺炎は致死率が高く重要な合併症であるが、その発症機構、特に菌側因子はほとんど解明されていない。肺炎球菌の病原因子欠損株を用いた感染実験において、ピルビン酸代謝酵素の重要性を明らかにした。現在、詳細なメカニズムについて解析を進めている。

［中村茂樹、壇辻百合香、金蓮今、名木　稔、梅山隆、山越　智、宮崎義継］

9.　緑膿菌性肺炎の病態における腸内細菌叢の役割に関する研究

近年、Microbiome 研究は飛躍的進歩をとげ、腸内細菌叢と全身免疫に対する重要性についても明らかになりつつある。緑膿菌は院内感染症の主要病原体であるが、多剤耐性化のリスクが高く、治療開始時より数種類の抗菌薬併用が実施されることも少なくない。その結果、腸内細菌叢の破綻が生じ、緑膿菌感染症の予後を悪化させる臨床研究も認められている。その科学的解明を行うため、腸内細菌叢欠損マウスに対し緑膿菌性肺炎を発症させたところ、有意に生存率が低下しており、肺胞マクロファージの機能不全を来していることが分かった。プロバイオティクスの重要性も含め、現在詳細なメカニズムについて解析を進めている。

［中村茂樹、壇辻百合香、金蓮今、名木　稔、梅山隆、山越　智、宮崎義継］

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た。RNA 処理法の改良により、rRNA を殆ど含まない約 450 万リードを得ることができ、bowtie2 によるマッピングの結果、約 3,000 か所の転写開始点を見出した。

［石川 淳］

(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た。年度内に国内外から 22,902 回の利用があり、前年度より 22%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ために、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い、キャンディン系抗真菌化合物の構造に含まれる 3-hydroxy-4-methylproline および 4-hydroxyproline のピロリジン骨格の 3 位、4 位に関しては、2-oxoglutarate-dependent oxygenase によって水酸化されることを破壊株等の解析によって明らかにした。また、生産培地の基材中には、4-hydroxyproline が含まれており、培地からも生合成経路に供給されていることが判明した。

［星野泰隆、石川 淳］

(4) ノカルジア属放線菌のシデロフォア

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いて、培養細胞へ感染時のシデロフォアの生産性の確認を行った。結果、いくつかの種において、マウスマクロファージ様株化細胞 J774.1 に感染後にシデロフォアの生産が確認された。したがって、ノカルジアのシデロフォアは、ノカルジアの宿主感染に関与している可能性が示された。

［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 属の主なアゾール耐性の原因は CYP51 の変異であるが、この変異がないアゾール耐性株が臨床から分離されている。したがって、CYP51 の変異以外の分子の関与を明らかにするために、CYP51 に耐性の変異がない分離株を用いて、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。また、この分離株におけるステロール分析を行った結果、アゾール添加によってエルゴステロールの蓄積量の低下が認められた。アゾール感受性株と同様に CYP51 の関与するエルゴステロールの生合成が阻害されていることが判明した。

［星野泰隆］

(2) カンジダ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

Candida glabrata の細胞外ステロール取り込みは、嫌気条件や鉄欠乏条件などステロール生合成が阻害される条件において活性化するが、通常の好気条件では強く抑制されることが報告されている。ところが一部の臨床分離株では、好気条件においてもステロール取り込みが恒常的に活性化していることが明らかとなった。好気条件ではステロールを取り込まない臨床分離株（L999 株）と同一患者から経時的に分離された好気条件でもステロールを取り込む臨床分離株（73246 株）を用い、薬剤耐性におけるステロール取り込みの役割を調べた。コレステロール添加培地におけるフルコナゾールおよびアムホテリシン B の感受性を比較したところ、L999 株では両薬剤共にコレステロール添加の影響はなかったが、73246 株では両薬剤ともコレステロール添加によって感受性が顕著に低下し、ステロール取り込みが抗真菌薬耐性化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）、中山浩伸(鈴鹿医療科学大・薬学部)、山越　智、梅山　隆、中村茂樹、宮崎義継］

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）を用い化合物評価を行った。

［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 28 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 60 件（菌株数：45 件、臨床検体数：60 件、環境検体数：2 件、核酸検体数：6 件、パラフィン検体数：13 件、抗真菌薬感受性試験依頼数：27 件）、ならびに行政検査 9 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* は検出されず、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 5 件、*Cryptococcus gattii* を検出したのは 1 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、髙塚翔吾、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

平成 28 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 48 ロット（クラリスロマイシン錠 50mg 17 ロット、クラリスロマイシン錠 200mg 19 ロット、シロップ用クラリスロマイシン 12 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力価を測定した。その結果、シロップ用クラリスロマイシン2製品が規格を満たさず、「不適合」と判定された。

［深澤秀輔、福山まり、浦井　誠、石川淳、星野泰隆、宮﨑義継］

国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）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。NIHE の研究員および Vietnam Military medical university の研究者を 1 名ずつ招へいし、真菌同定および抗真菌薬感受性試験に関する研修会を行った。

［名木　稔、宮﨑義継］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Nagi M, Tanabe K, Nakayama H, Ueno K, Yamagoe S, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y. Iron-depletion promotes mitophagy to maintain mitochondrial integrity in pathogenic yeast Candida glabrata. Autophagy. 2;12(8):1259-71. 2016

2) Nakamura S, Iwanaga N, Seki M, Fukudome K, Oshima K, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Kohno S. Toll-like receptor 4 agonistic antibody promotes host defense against chronic *Pseudonas aeruginosa* lung infection in mice. Infect Immun. 84(7):1986-93, 2016.

3) Ashizawa N, Nakamura S, Ide S, Tashiro M, Takazono T, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Successful Treatment of aspergillus empyema using open window thoracostomy salvage treatment and the local administration of an antifungal agent. Intern Mid. 55(15):2093-9, 2016.

4) 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;120-7:2016.

5) Nishikawa H, Miyazaki T, Nakayama H, Minematsu A, Yamauchi S, Yamashita K, Takazono T, Shimamura S, Nakamura S, Izumikawa K, Yanagihara K, Kohno S, Mukae H. Roles of vacuolear H+-ATPase in the oxidative stress response of *Candida glabrata*. FEMS Yeast Res. 16(5):2016.

6) Hashimoto J, Shin-ya K, Komatsu M, Ikeda H, Kuroda M, Sekizuka T, Ishikawa J, Hamano Y. tRNA-dependent aminoacylation of an amino-sugar intermediate in the biosynthesis of a streptothricin-related antibiotic. Appl. Environ. Microbiol. 82:3640-3648, 2016.

7) Kawarai T, Narisawa N, Yoneda S, Tsutsumi Y, Ishikawa J, Hoshino Y, Senpuku H. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation using extracts from Assam tea compared to green tea. Arch. Oral. Biol. 68:73-82, 2016.

8) Yo A, Yamamoto M, Nakayama T, Ishikawa, J, Makimura K. Detection and identification of *Trichophyton tonsurans* from clinical isolates and hairbrush samples by loop-mediated isothermal amplification system. J. Dermatol. 43:1037-1043, 2016.

9) Zheng H, Miyakawa T, Sawano Y, Asano A, Okumura A, Yamagoe S, Tanokura M. Crystal Structure of Human Leukocyte Cell-derived Chemotaxin 2 (LECT2) Reveals a Mechanistic Basis of Functional Evolution in a Mammalian Protein with an M23 Metalloendopeptidase Fold. J Biol Chem. 291(33):17133-42, 2016

10) Okumura A, Unoki-Kubota H, Yoshida-Hata N, Yamamoto-Honda R, Yamashita S, Iwata M, Tobe K, Kajio H, Noda M, Katai N, Yamagoe S, Kaburagi Y. Reduced serum level of leukocyte cell-derived chemotaxin 2 is associated with the presence of diabetic retinopathy. Clin Chim Acta. 463:145-149, 2016

11) Yoshida M, Takazono T, Tashiro M, Saijo T, Morinaga Y, Yamamoto K, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Sawai T, Nishino T, Izumikawa K, Yanagihara K, Mukae H, Kohno S. Rcurrent Streptococcus agalactiae Toxic Shock Syndrome triggerd by a tumor necrosis factor-α inhibitor. Intern Med. 55(21);3211-3214, 2016

12) Hirayama T, Takazono T, Horai Y, Tashiro M, Saijo T, Kosai K, Morinaga Y, Kurihara S, Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Tsukamoto M, Izumikawa K, Yanagihara K, Kawakami A, Kohno S. Pulmonary Nocardiosis Caused by Nocardia concava with a Literature Review. Intern Med. 55(9):1213-7,.2016.

13) Oshima K, Nakamura S, Iwanaga N, Takemoto K, Miyazaki T, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Kohno S, Izumikawa K. Efficacy of High-Dose Meropenem (6 g/day) in the Treatment of Experimental Murine Pneumonia Induced by Meropenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother.61(1) : e02056-16. 2017.

14) Kajihara T, Nakamura S, Iwanaga N, Oshima K, Hirano K, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Miyazaki Y, Hattori N, Kohno N, Kohno S, Mukae H. Comparative efficacies of daptomycin, vancomycin, and linezolid in experimental enterococcal peritonitis. J Infect Chemother. S1341-321X(16)30262-8.2016.

15) Kimura M, Araoka H, Yamamoto H, Asano-Mori Y, Nakamura S, Yamagoe S, Ohno H, Miyazaki Y, Abe M, Yuasa M, Kaji D, Kageyama K, Nishida A, Ishiwata K, Takagi S, Yamamoto G, Uchida N, Izutsu K, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A. Clinical and microbiological characteristics of breakthrough candidemia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients in a Japanese hospital. Antimicrob Agents Chemother. 61(4). pii: e01791-16. 2016.

16) Higashi Y, Nakamura S, Ashizawa N, Oshima K, Tanaka A, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Mukae H, Kohno S. Pulmonary Actinomycosis Mimicking Pulmonary Aspergilloma and a Brief Review of the Literature. Intern Med. 56(4):449-453.2017.

2. 和文発表

1) 中村茂樹、泉川公一、柳原克紀、宮﨑義継、迎　寛、河野　茂. 宿主免疫を考慮した呼

吸器感染症の新治療戦略 -マクロライド系薬と Toll 様受容体アゴニストの抗感染症作用に着目して-. The Japanese Journal of Antibiotics. 69(2):91-100, 2016 年.

2) 中村茂樹、宮﨑義継. 真菌の種類・性質 そもそも真菌（カビ）とはどのような病原体か. 感染対策 ICT ジャーナル. 11(2):97-101, 2016.

3) 中村茂樹、上野圭吾、宮﨑義継. クリプトコックス症の菌種による病態の違いと治療戦略. 化学療法の領域. 32(7):90-97, 2016.

4) 中村茂樹. 感染症；現状の問題点と未来への展望 インフルエンザと肺炎球菌の重複感染. 臨床と微生物. 43(5):80-84, 2016 年.

5) 中村茂樹、宮﨑義継. 難治性呼吸器感染症の病態解明と抗菌薬のみに依存しない新規治療戦略の開発.化学療法の領域. 32(9):126-134, 2016 年.

6) 宮﨑義継、中村茂樹、壇辻百合香、福田惠子、梅山 隆、浦井 誠、上野圭吾、金城雄樹. クリプトコックス症の診断と治療. 呼吸器内科. 30(3):204-206, 2016 年.

7) 中村茂樹. インフルエンザ後の二次性細菌性肺炎の重症化メカニズム.感染症. 47(1):22-31, 2016 年.

8) 中村茂樹、壇辻百合香、宮﨑義継. カンジダ症、アスペルギルス症、接合菌症. 臨床と微生物. 44(1):45-50, 2016 年.

9) 中村茂樹、宮﨑義継. 肺クリプトコックス症. 呼吸器疾患:CRP アプローチ., pp77-80, 2016 年.

10) 中村茂樹. 自然免疫賦活による難治性呼吸器感染症の制御. 最新医学. 71(10):104-111, 2016 年.

11) 中村茂樹. 肺炎球菌感染症の病態と新規予防法の開発ーマクロライドと Toll 様受容体作動薬の可能性ー. Progress in medicine. 36(11):101-109, 2016.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Oishi K, Kinjo Y, Akeda Y, Chang B, Piao Z, Miyatake H, Ikuta K. The fusion pneumococcal surface protein A (PspA) proteins comprising PspA families 1 and 2 with broad range of cross-reactivity with clinical isolates. 10th international symposium on pneumococci & pneumococcal diseases. June 26-30. Glasgow, United Kingdom, 2016.

2) Nagi M, Tanabe K, Nakayama H, Ueno K, Yamagoe S, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y. Iron-depletion promotes mitophagy in pathogenic yeast *Candida glabrata*. 14th International Congress of Yeasts. September 11-15, 2016, Hyogo, Japan.

3) Miyazaki Y, Nakamura S, Ikeda-Dantsuji Y, Inukai T, Nagi M, Umeyama T, Yamagoe S. Macrolide inhibits the capsule formation of highly virulent *Cryptococcus gattii* and enhances the sensitivity for host innate immunity and antifungal agents. 10th International Conference on Cryptococcus and Cryptococcosis. FOZ DO IGUAÇU, Brazil, 2017.

2. 国内学会等

1) 名木 稔、田辺公一、中村茂樹、梅山 隆、山越 智、大野秀明、宮﨑義継. 鉄欠乏条件において誘導される *Candida glabrata* のミトコンドリア選択的オートファジー（マイトファジー）が病原性に及ぼす影響. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会、4 月 15-16 日、2016 年、仙台.

2) 金城雄樹、酒井 純、浦井 誠、上野圭吾、金子幸弘、朴 貞玉、明田幸宏、前崎繁文、

二木芳人、川上和義、大石和徳、宮﨑義継. 肺炎球菌蛋白・糖脂質経鼻ワクチンによる感染防御効果の免疫学的解析. 第 90 回日本感染症学会総会･学術講演会､4 月 15-16 日、2016 年、仙台.

3) 上野圭吾、金城雄樹、浦井　誠、金子幸弘、亀井克彦、大野秀明、二木芳人、澁谷和俊、宮﨑義継. 肺クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチン: 感染制御効果の持続性に関する検討–. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会、4 月 15-16 日、2016 年、仙台.

4) 中村茂樹. 感染免疫から考える呼吸器感染症の発症・重症化のメカニズムとその制御ー肺炎球菌感染症を中心にー. 第 90 回日本感染症学会総会･学術講演会､4 月 15-16 日、2016 年、仙台.

5) 中村茂樹. マクロライド療法の今後の展開. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会、4 月 15-16 日、2016 年、仙台.

6) 中村茂樹、名木　稔、梅山　隆、山越　智、砂川富正、大野秀明、大石和徳、宮﨑義継. 播種性クリプトコックス症の発生動向調査. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会、4 月 15-16 日、2016 年、仙台.

7) 中村茂樹. 深在性真菌症診断の実際と菌種同定の重要性. 第 22 回真菌症フォーラム､5 月 21 日、2016 年、東京.

8) 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 64 回日本化学療法学会総会､6 月 9-11 日､2016 年、神戸.

9) 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* のバイオフィルム形成と抗真菌薬感受性に関与する真菌側因子の制御に向けた検討. 第 64 回日本化学療法学会総会、6 月 9-11 日、2016 年、神戸.

10) 金子幸弘、梅山　隆、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継. シクロオキシゲナーゼ阻害剤との併用による *Candida albicans* のアゾール感受性低下メカニズムに関する検討. 第 64 回日本化学療法学会総会､6 月 9-11 日､2016 年、神戸.

11) 梅山　隆、石川　淳、壇辻百合香、犬飼達也、中村茂樹、山越　智、名木　稔、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継. 次世代シーケンサーを用いた *Aspergilus fumigatus* 近縁種の網羅的ゲノム解析による抗真菌薬耐性の原因解明. 第 64 回日本化学療法学会総会、6 月 9-11 日、2016 年、神戸.

12) 中村茂樹、宮崎泰可、泉川公一、柳原克紀、宮﨑義継、迎　寛、河野　茂. インフルエンザウイルス感染症ハイリスク群におけるペラミビルおよびオセルタミビルの臨床効果～多施設共同無作為化比較試験～. 第 64 回日本化学療法学会総会、6 月 9-11 日、2016 年、神戸.

13) 中村茂樹. MRSA 感染症の現状と課題. 第 64 回日本化学療法学会総会､6 月 9-11 日､2016 年、神戸.

14) 浦井　誠、金子幸弘、上野圭吾、大久保陽一郎、相澤朋子、深澤秀輔、杉田　隆、大野秀明、澁谷和俊、金城雄樹、宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* は莢膜多糖構造を変化させ宿主免疫応答を回避する. 第 37 回関東医真菌懇話会、6 月 18 日、2016 年、東京.

15) 上野圭吾、浦井　誠、栃木直文、篠崎　稔、高塚翔吾、澁谷和俊、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–ワクチンが誘導する肺常在性 CD4+記憶型 T 細胞は感染制御に寄与するか？–. 第 27 回 日本生体防御学会総会､7

月 7-9 日、2016 年、福岡.

16) 仲原真貴子、大河内香代、高塚翔吾、水口裕紀、酒井　純、浦井　誠、井澤由衣奈、上野圭吾、相内　章、鈴木忠樹、川上和義、竹山春子、長谷川秀樹、宮﨑義継、大石和徳、金城雄樹. 肺炎球菌蛋白・糖脂質経鼻ワクチンによる感染防御効果の解析～インフルエンザ続発性肺炎球菌感染に対する防御効果も含めて～. 第 27 回 日本生体防御学会総会、7 月 7-9 日、2016 年、福岡.

17) 中村茂樹、壇辻百合香、名木　稔、梅山　隆、山越　智、宮﨑義継. クラリスロマイシンによる高病原性 *Cryptococcus gattii* の莢膜形成抑制作用. 第 23 回マクロライド新作用研究会、7 月 29 日、2016 年、東京.

18) 金子幸弘、浦井　誠、上野圭吾、金城雄樹、大久保陽一郎、澁谷和俊、杉田　隆、大野秀明、宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* の免疫からの回避に関する分子機構. 第 3 回日本医真菌学会関西支部深在性真菌症研究会、9 月 10 日、2016 年、大阪.

19) 梅山　隆、林　悠太、中村茂樹、中山靖子、壇辻百合香、下坂寿希、犬飼達也、名木　稔、山越　智、小川賢二、宮﨑義継. 1 施設から短期間に分離されたアスペルギルス属 52 株の分子疫学的解析、9 月 3 日、2016 年、東京.

20) 中村茂樹. 深在性真菌症の最近の話題. 第 28 回水戸呼吸器真菌症懇談会、9 月 29 日、2016 年、水戸.

21) 梅山　隆、犬飼達也、山越　智、名木　稔、中村茂樹、宮﨑義継. 今話題のアスペルギルス基礎研究は? 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

22) 犬飼達也、梅山　隆、山越　智、青山俊弘、中山浩伸、名木　稔、田辺公一、中村茂樹、宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* の血清存在下における菌糸生育に関連する因子の同定. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

23) 浦井　誠、上野圭吾、金子幸弘、大久保陽一郎、杉田　隆、大野秀明、澁谷和俊、金城雄樹、宮﨑義継. 高病原性 *Cryptococcus gattii* は免疫誘導性の低い莢膜多糖をもつ. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

24) 名木　稔、田辺公一、中山浩伸、上野圭吾、中村茂樹、梅山　隆、山越　智、大野秀明、宮﨑義継. *Candida glabrata* のミトコンドリア選択的オートファジー（マイトファジー）が病原性に及ぼす影響. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

25) 名木　稔、田辺公一、中山浩伸、上野圭吾、中村茂樹、梅山　隆、山越　智、大野秀明、宮﨑義継. *Candida glabrata* のミトコンドリア選択的オートファジーと病原性. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

26) 上野圭吾、金城雄樹、浦井　誠、栃木直文、篠崎　稔、清水公徳、亀井克彦、大野秀明、二木 芳人、澁谷和俊、宮﨑義継. 肺常在性記憶型 T 細胞は高病原性クリプトコックス症の感染制御に寄与するか？. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

27) 壇辻百合香、中村茂樹、大野秀明、犬飼達也、梅山　隆、上野圭吾、名木　稔、山越智、金城雄樹、澁谷和俊、宮﨑義継. *Cryptococcus neoformans* および *Cryptococcus gattii* 脳髄膜炎に対する IFN-γの有効性解析. 第 60 回日本医真菌学会総会・学術集会、10 月 1-2 日、2016 年、東京.

28) 中村茂樹. 真菌検査の実際と課題. 第 240 回 ICD 講習会、10 月 2 日、2016 年、東京.

29) 宮田順之、宮島真希子、坂本洋平、天野雄

一郎、吉村幸浩、立川夏夫、宮﨑義継、梅山　隆. 長期 CV ポート留置下で *Fusarium fujikuroi* species complex による菌血症をきたした一例. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

30) 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* の血清存在下でのバイオフィルム形成に関与する真菌側因子の制御に向けた検討. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

31) 梅山　隆、壇辻百合香、犬飼達也、中村茂樹、山越　智、名木　稔、田辺公一、大野秀明、宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* 隠蔽種の NGS 解析による抗真菌薬耐性の原因解明. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

32) 上野圭吾、金城雄樹、二木芳人、宮﨑義継. 高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチンは、長寿命の肺常在性記憶型 T 細胞を誘導する. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

33) 中村茂樹、壇辻百合香、犬飼達也、名木　稔、梅山　隆、山越　智、宮﨑義継. マクロライド系薬による真菌感染症制御の可能性～高病原性 *Cryptococcus gattii* の莢膜形成抑制作用に関する検討～. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

34) 中村茂樹. 肺炎球菌感染症の病態から考える新規治療戦略. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

35) 中村茂樹. 新規の抗真菌薬. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会、10 月 26-28 日、2016 年、新潟.

36) 中山大輝、宮武　浩、朴　貞玉、西川隆顕、井上雄嗣、小倉隆太郎、明田幸宏、金城雄樹、 大石和徳、生田和良. PspA を標的としたユニバーサル肺炎球菌ワクチンの開発. 第 69 回日本細菌学会中国・四国支部総会、10 月 15-16 日、2016 年、香川.

37) 浦井　誠、上野圭吾、相澤朋子、金城雄樹、宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* の宿主免疫回避機構の解析. 第 15 回微生物研究会、１１月 5 日、2016 年、藤沢.

38) 金子幸弘、浦井　誠、上野圭吾、金城雄樹、大久保陽一郎、澁谷和俊、杉田　隆、大野秀明、宮﨑義継. *Cryptococcus gattii* の莢膜多糖の構造と免疫原性に関する検討. 第 59 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、11 月 24-26 日、2016 年、沖縄.

39) 金城雄樹、酒井　純、阿部雅広、上野圭吾、浦井　誠、朴　貞玉、明田幸宏、二木芳人、川上和義、賀来満夫、前崎繁文、大石和徳、宮﨑義継. PspA を標的としたユニバーサル肺炎球菌ワクチンの開発. 第 86 回 日本感染症学会西日本地方会学術集会、11 月 24-26 日、2016 年、沖縄.

40) Nakahara M, Takatsuka S, Ueno K, Onodera T, Takahashi Y, Kawakami K, Kubo M, Kinjo Y. Follicular helper NKT cells induce protective effect of a protein-based pneumococcal vaccine through stimulation of IgG production by B cells. 第 45 回 日本免疫学会総会、12 月 5-7 日、2016 年、沖縄.

41) Ueno K, Takatsuka S, Kinjo Y. Dendritic cell-based systemic vaccination induces lung resident memory Th17 that contributes to long-term protection against pulmonary fungal infection. 第 45 回 日本免疫学会総会、12 月 5-7 日、2016 年、沖縄.

42) 壇辻百合香、星野泰隆、梅山　隆、中村茂樹、名木　稔、山越　智、浦井　誠、阿部雅弘、高塚翔吾、上野圭吾、金城雄樹、片野晴隆、宮﨑義継. パラフィン包埋組織からの DNA 抽出と遺伝子検査による病原真菌の同定. 第 28 回日本臨床微生物学会総会、1 月 20-22 日、2017 年、長崎.

43) 金城雄樹. 糖脂質による NKT 細胞活性化を介した抗体産生誘導と感染防御. Gly-co-Immunology 2017、1 月 25-26 日、2017 年、東京.

44) 中村茂樹、大島一浩、宮﨑泰可、西尾壽乗、泉川公一、柳原克紀、宮﨑義継、河野　茂、迎　寛. メロペネム耐性緑膿菌に対する高用量メロペネム(6g/日)投与の有効性. 第 51 回 緑膿菌感染症研究会、2 月 10-11 日、2017 年、大分.

45) 中村茂樹、岩永直樹、宮﨑泰可、西尾壽乗、泉川公一、柳原克紀、宮﨑義継、河野　茂、迎　寛. 緑膿菌感染防御における腸内細菌叢の恒常性維持の重要性. 第 51 回 緑膿菌感染症研究会、2 月 10-11 日、2017 年、大分.

46) 名木　稔、田辺公一、中山浩伸、上野圭吾、中村茂樹、梅山　隆、山越　智、大野秀明、宮﨑義継. *Candida glabrata* のミトコンドリア選択的オートファジーと病原性. 第 90 回日本細菌学会総会、3 月 19-21 日、2017 年、仙台.

47) 小倉隆太郎、宮武　浩、朴　貞玉、西川隆顕、 井上雄嗣、中山大輝、明田幸宏、金城雄樹、 大石和徳、生田和良. PspA を標的とした肺炎球菌のユニバーサルワクチンの開発. 第 90 回 日本細菌学会総会、3 月 19-21 日、2017 年、仙台.

48) 金城雄樹、仲原真貴子、高塚翔吾、阿部雅弘、上野圭吾、Chang B、Piao Z、明田幸宏、川上和義、大石和徳. NKTFH cells induce the protective effect of protein and glycolipid vaccine against pneumococcal infection. 第 90 回 日本細菌学会総会、3 月 19-21 日、2017 年、仙台.

49) 大谷淑子、上野圭吾、浦井　誠、清水公徳、片岡紀代、齋藤典子、宮﨑義継、金城雄樹. 高病原性真菌 *Cryptococcus gattii* の環境適応と免疫回避における莢膜合成の生理的意義. 第 90 回 日本細菌学会総会、3 月 19-21 日、2017 年、仙台.

50) 上野圭吾、浦井　誠、髙塚翔吾、阿部雅広、大谷淑子、清水公徳、宮﨑義継、金城雄樹. 樹状細胞ワクチンによる肺常在性記憶型 Th17 細胞の誘導: 高病原性クリプトコックス症をモデルとして. 第 90 回 日本細菌学会総会、3 月 19-21 日、2017 年、仙台.

51) 上野圭吾、浦井　誠、大谷淑子、阿部雅広、髙塚翔吾、清水公徳、片岡紀代、齋藤典子、宮﨑義継、金城雄樹. 病原性真菌クリプトコックスの病原性の解析とその応用: ワクチン開発から新規記憶型 T 細胞の同定まで. 第 90 回 日本細菌学会総会、3 月 19-21 日、2017 年、仙台.

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。最近手掛け始めた感染症対策に資する細胞の改良・開発研究も着実に進展しつつある。本年度の研究・業務の概略を以下に記載する。

プリオン病研究においては、昨年度までに作製したプリオン遺伝子（*PRNP*）欠失ヒト神経芽腫培養細胞株を用い、多型や変異を有するプリオン蛋白質（PrP）を一過性に産生させる系および安定的に産生させる系の双方を確立した。本系を用いることにより、内在性 PrP の干渉を受けずに多型や変異の影響を解析することが可能となった。一方で、C-および L-BSE プリオンをウシからカニクイザル（ヒト・モデル）へ伝播させ、サルへの伝播前後のプリオンの病原性を検討するというような長期に渡る研究も継続実施した。また、行政支援的活動として、本邦の BSE スクリーニング検査キットが、非定型 BSE 罹患ウシに対しても有効であることを明らかにした。さらに、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。

ヒト肝臓癌由来 Huh7.5.1-8 細胞の Occludin 欠失変異細胞株を用いた解析から、C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に Occludin が必須であることを昨年度までに示していた。本年度は、Occludin が HCV の Cell-to-cell 感染にも必須であることを明らかにし、さらに、昨年度までに樹立したラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体の Cell-to-cell 感染阻害効果を検討して、第 1 細胞外ドメインを認識する抗体、第 2 細胞外ドメインを認識する抗体の双方が当該感染を阻止できることを見出した。樹立したラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体の中で、性状の異なる 2 つの抗体を用い、ヒト肝キメラマウスの HCV 感染系を用いて、抗体の影響を検討した。その結果、両抗体によって、完全に HCV の感染を阻止できることが明らかとなった。抗体処理によりマウスは毒性を示さず、ヒト肝臓細胞への悪影響もないことを示唆した。

偏性細胞内寄生性であるクラミジア菌の封入体膜タンパク質 IncD は、宿主細胞の発現するセラミド輸送蛋白質 CERT と結合して宿主細胞の合成するセラミドを封入体膜へと運ばせている。IncD のアミノ酸配列において各種クラミジア菌間で保存されている残基をアラニンに置換した変異体 IncD と CERT との結合解析から、CERT との結合に重要な残基を複数同定した。一方で、前年度に行ったヒト・パピロマウイルス（HPV）16-P670 プロモータの制御に関わる宿主因子探索の一次スクリーニングで陽性となった 68 クローンに関して、PCR を用いて遺伝子の同定を行った。

ゲノム編集技術を含む新しい遺伝学的手法を当部では積極的に取り入れている。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。破壊されると志賀毒素に耐性を示す遺伝子群をヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞においてヒト遺伝子網羅型レンチウイルス CRISPR single-guide RNA（sgRNA）ライブラリを用いて探索し、複数の候補遺伝子を昨年度までに同定していた。本年度はそのうちいくつかの遺伝子に関して、個々にノックアウト細胞を樹立し、志賀毒素耐性となることを確認した。アフリカミドリサル（AGM）腎臓由来の Vero 細胞は多くの種類のウイルスに感受性が高く、感染症研究に汎用されている。そこで、サル由来の Vero C1008 細胞に対しても上記ヒト CRISPR sgRNA ライブラリを用いて志賀毒素感受性に関わる遺伝子探索を行ったところ、HeLa 細胞と比較すると効率は落ちるものの、Gb3 生合成に必須な既知遺伝子群がほぼ網羅的に検出された。よって、使用したヒト CRISPR sgRNA ライブラリは Vero 細胞のゲノムワイド探索にも適用可能であると考えられた。

感染症対策に資する培養細胞の改良・開発研究も順調に進展しつつある。現存する中で最も継代数の少ないと思われる Vero 細胞シード（JCRB0111）のゲノム配列を決定し、I 型インターフェロン遺伝子クラスターが完全欠失していること、当該細胞ゲノムにはサル D 型レトロウイルス（SRV）と相同性のある配列が数多く存在することを我々はすでに報告している。

本年度は、Vero JCRB0111 細胞を DNA メチルトランスフェラーゼの阻害剤である 5-Azacytidine によって処理すると SRV 様配列の転写発現が顕著に亢進することを RNA-seq 解析から見出した。さらに、JCRB0111 亜株とは継代歴が異なる ATCC CCL-81 および Vero 76 亜株の全ゲノム配列をも決定し、三つの Vero 細胞亜株(JCRB0111, ATCC CCL-81, Vero 76)のゲノム配列および AGM ゲノムドラフト配列との間の比較解析から、Vero 細胞ゲノムに 84 箇所の内在性 SRV 挿入位置を発見した。そして、84 箇所中の 83 箇所は三細胞亜株間で一致していること、26 箇所は参照 AGM ゲノム配列中にも存在することを見出した。これらの情報は、ワクチン細胞基材としての Vero 細胞に内在する SRV の特性や挙動を調べるうえで重要な基盤情報となる。

Vero 細胞及び Huh7.5.1-8 細胞は自然免疫に関する遺伝子の欠損や変異によりウイルス感受性がもともと高い。これらの細胞に対し、(i)ウイルス感受性やウイルス産生能のさらなる増加、(ii)ウイルス応答シグナルにおけるインターフェロン非依存経路の解明、(iii)ゲノムワイドスクリーニングの親株としての使用、を目指して、I 型インターフェロン受容体をはじめとする代表的な自然免疫系遺伝子をゲノム編集法によって欠失させた変異細胞株を複数樹立した。

人事面では、前濱朝彦第四室長が、平成 28 年 9 月 30 日付けで辞職し、神戸大学大学院医学研究科に転出した。前濱博士が異動先でも御活躍することを部員一同祈念している。

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プリオン病モデルの確立

ヒト・プリオン病には遺伝性、獲得性、孤発性などの複数の原因による発症タイプが存在するが、いずれにおいてもその発症メカニズムは不明であり、有効な治療法は未だ確立されていない。これらの課題を克服する手段の一つとして、プリオン遺伝子(*PRNP*)欠損細胞株を用い、多型や変異を有するプリオン蛋白質(PrP)を一過性に産生させる系および安定的に産生させる系の双方を確立した。本系を用いることにより、内在性 PrP の干渉を受けずに多型や変異の影響を解析することが可能となり、遺伝性プリオン病の発症メカニズムの解明促進、薬剤スクリーニング系の改良などが期待される。現在、これらの細胞を用いた変異や多型を有する PrP の性状解析を継続中である。[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

ウシ海綿状脳症(BSE)プリオンがウシからヒツジなどの異種動物へ伝播すると、BSE プリオンの病原性が変化するという報告がある。BSE プリオンがヒトへ伝播・感染する際にも同様の現象が起こるかという点は、ヒト・プリオン病の疫学考察などにおける重要なポイントと考えられた。そこで、C-および L-BSE プリオンをウシからカニクイザル(ヒト・モデル)へ伝播させ、サルへの伝播前後のプリオンの病原性を近交系マウスを用いるバイオアッセイにより調べた。このアッセイに依れば、ヒト・モデルへの伝播による病原性の変化は認められなかった。[萩原健一;佐藤由子、飛梅実(感染病理部);小野文子(千葉科学大);柴田宏昭(医薬健栄研、自治医大)]

(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で用いられている検査キットが、C-BSE 罹患ウシのみならず非定型 L-BSE 罹患ウシおよび非定型 H-BSE 罹患ウシ(H-BSE の国内農場での発生例は無い)に対しても有効であることを、(独)動物衛生研究所との共同研究により示した。研究成果を専門誌に投稿した(in press)。[萩原健一;飛梅実(感染病理部);岩丸祥史、多辺田奈保子、横山隆(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

これまでの共同研究により、非定型 L-BSE プリオンは、ヒト・モデルとしてのカニクイザルへ脳内接種すると高い効率で感染・伝播することがわかっている。脳内接種による高い伝播効率を踏まえ、ヒトがもしも L-BSE プリオンを経口摂取した場合の感染リスクを評価する目的で、カニクイザルへの L-BSE プリオンの経口投与実験を進めている。経過を追跡中である。[萩原健一;柴田宏昭(医薬健栄研、自治医大);大藤圭子、岡林佐知(予防衛生協会);小野文子(千葉科学大)]

II. 肝炎ウイルスに関する研究

(1)C 型肝炎ウイルス(HCV)感染における Occludin 分子の役割の解析

我々は、HCV 感染における Cell-free 感染および Cell-to-cell 感染を検出する実験系を確立している。またこれまでに、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 ノックアウト細胞も樹立している。これらの細胞を用いて解析した結果、Occludin 分子が、Cell-free 感染だけでなく、Cell-to-cell 感染にも必須であることが明らかとなった。このことから、抗 HCV 創薬標的としてより魅力的な標的であることが強く示唆された。

[深澤征義、白砂圭崇、清水芳実、花田賢太郎;脇田隆字(ウイルス第二部);鈴木哲朗(浜松医大);近藤昌夫、八木清仁(阪大薬)]

(2)樹立した抗 Occludin モノクローナル抗体は HCV の Cell-to-cell 感染も阻止できる

これまでに、樹立した抗 Occludin モノクローナル抗体が、

HCV の Cell-free 感染を阻止できる知見を得ている。そこで、もう一つの感染モードである Cell-to-cell 感染について、レポーター分子を導入した変異細胞株を用いることで、高感度に検出できる実験系をまず確立した。この系を用いて、我々が樹立した複数のラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体の効果を検討した結果、第 1 細胞外ドメインを認識する抗体、第 2 細胞外ドメインを認識する抗体の双方が、Cell-to-cell 感染も阻止できることがわかった。

［深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、花田賢太郎；脇田隆字（ウイルス第二部）；鈴木哲朗（浜松医大）；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬）］

（3）抗ヒト Occludin モノクローナル抗体による in vivo HCV 感染阻止

樹立したラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体の中で、性状の異なる 2 つの抗体を用い、ヒト肝キメラマウスの HCV 感染系を用いて、抗体の影響を検討した。その結果、両抗体によって、完全に HCV の感染を阻止できることが明らかとなった。抗体処理によりマウスは毒性を示さず、血中 ALT・AST 値、血中ヒトアルブミン値にも有意な変化が見られなかったことから、ヒト肝臓への悪影響もないと考えられた。これらの結果から、Occludin を標的とした抗 HCV 戦略の有効性が示された。

［深澤征義、清水芳実、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（HBV）感染培養細胞系を用いた解析

HBV 感染細胞系を用いて、特に脂質関連代謝系に注目して検討を進めている。これまでに、高度不飽和脂肪酸により HBV 産生が抑制される傾向があることを見出してきた。そこで、各種脂質関連化合物の中で、脂肪酸に着目してさらに HBV 感染への影響を検討した。その結果、一価不飽和脂肪酸ではほとんど影響が見られず、飽和脂肪酸では逆に HBV 産生が亢進する傾向が見られた。

［深澤征義、鈴木咲帆、花田賢太郎；小林哲幸（お茶大理）；渡士幸一、脇田隆字（ウイルス第二部）；田中靖人（名市大）］

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。昨年度レンチウイルス CRISPR ライブラリを用いたスクリーニングにより、遺伝子破壊で志賀毒素に耐性を示す遺伝子群を同定している。本年度はそのうちいくつかの遺伝子に関して、個々にノックアウト細胞を樹立し、志賀毒素に対して耐性となることを確認した。またこれらの糖脂質組成を解析したところ、受容体 Gb3 の発現低下が認められ、それらの表現系は cDNA を発現させることで回復した。［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。昨年度この細胞死に対し上記の CRISPR ライブラリを用いて、遺伝子破壊で志賀毒素に耐性を示す遺伝子群を同定している。本年度はそのうち糖鎖生合成酵素を含む複数の遺伝子に関してノックアウト細胞及び cDNA による回復株を樹立した。いずれのノックアウト細胞においても、毒素に対する耐性及び回復株による感受性回復が見られた。［山地俊之、立田由里子、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）；八尋錦之助（千葉大・医）］

（3）アフリカミドリザル由来 Vero 細胞に対する CRISPR ライブラリの適用

Vero 細胞は、アフリカミドリサル（AGM）腎臓由来の連続継代培養細胞株であり、多くの種類のウイルスや細菌性毒素への感受性が高い。そのため、感染症研究に汎用されている。サル由来の Vero 細胞に対して、上記のヒト CRISPR ライブラリを適用出来るか調べるため、志賀毒素感受性 Vero C1008 細胞を親株に上記（1）と同様のゲノムワイドスクリーニングを行った。その結果、HeLa 細胞と比較すると濃縮率は落ちるものの、予想された受容体 Gb3 の生合成に必須な遺伝子群が検出出来た。このことは病原体の受容体同定等を目的として、Vero 細胞を用いたゲノムワイドスクリーニングによる探索が可能であることを示唆している。

［佐久間智理、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）］

（4）様々な脂質輸送タンパク遺伝子のノックアウト細胞の樹立

生体膜の脂質組成は、病原体の細胞への感染に大きく影響する。細胞内における脂質分布の heterogeneity は、生合成酵素の分布だけでなく、タンパク質輸送と異なる複雑な脂質輸送に依存している。脂質分布・組成が病原体感染に与える影響について調べるため、これまで知られている脂質転移タンパクを中心に HeLa 細胞において複数のノックアウト細胞株を樹立した。また機能的に redundant な遺伝子に関しては、二重破壊株の樹立を行った。今後病原体に対する感受性が変化するか検討する予定である。

［立田由里子、山地俊之、花田賢太郎］

IV. スフィンゴ脂質に関する研究

(1)CERT と VAP の相互作用の制御に関する研究

セラミド輸送タンパク質 CERT は小胞体膜からゴルジ体膜へセラミドを輸送する脂質輸送タンパク質である。CERT は 315 番目のセリン残基（CERT S315）がリン酸化されることにより小胞体膜との親和性が増大し、結果として CERT によるセラミド輸送が促進される。CERT S315 のリン酸化は CERT の活性制御を理解する上で重要な現象であるが、リン酸化を担うキナーゼはまだ分かっていない。我々はこれまでに、CERT S315 のリン酸化状態がある種のストレス条件下で亢進することを見出していた。平成 28 年度はキナーゼ阻害剤と組み合わせて検討することで、CERT S315 を通常状態でリン酸化するキナーゼと、当該ストレスに応答してリン酸化するキナーゼは異なる性質を持つことを明らかにした。[熊谷圭悟、花田賢太郎]

(2)CERT の PH ドメインと SR モチーフの相互作用に関する研究

CERT にはセリンリピート（SR）モチーフと呼ばれる活性調節領域が存在する。この領域が多重リン酸化されると、CERT の N 末領域に存在するプレクストリンホモロジー（PH）ドメインに由来する PI4P 結合活性と、C 末領域に由来する膜間セラミド輸送活性が同時に抑制されることを我々は報告していた。今回我々は、PH ドメインと擬似的リン酸化 SR モチーフ（SR10E）から成る欠損変異体を用いて NMR 解析を行い、SR10E と PH ドメイン間の相互作用について検討した。また、これら変異体における PI4P 結合活性をリポソーム共沈アッセイによって確認した。[江川大地、熊谷圭悟、山地俊之、花田賢太郎;杉木俊彦(阪大);児嶋長次郎(横浜国立大)]

(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)遺伝子変異株を用いて、脂肪酸の基質特異性が異なる他のセラミド合成酵素(CERS1, 3−6)の転写量を親株と比較したが、特に大きな変化は見られなかった。一方この細胞にグルコシルセラミド(GlcCer)合成酵素(UGCG)を過剰発現させると、GlcCer の量のみならず、脂肪酸組成の割合も変化した。このことは UGCG の量及び細胞内分布が GlcCer の質に影響することを示している。[山地俊之、立田由里子、花田賢太郎]

(4)CERT と IncD の相互作用に関する研究

偏性細胞内寄生細菌である *Chlamydia trachomatis* は増殖する際に宿主細胞由来のセラミドを必要とする。セラミドの取り込みは *C. trachomatis* 由来の IncD タンパク質が CERT と結合し、CERT の膜間セラミド輸送機能をハイジャックすることで成立する。平成 28 年度は、IncD のアミノ酸配列において各種クラミジア間でよく保存されている残基に着目して解析を行った。保存された残基をアラニンに置換した変異体 IncD と CERT との結合解析を行ったところ、CERT との結合に重要な残基が数カ所あることが明らかになった。[熊谷圭悟、花田賢太郎;安藤秀二（ウイルス第一部）; Cherilyn Elwell, Joanne Engel（米国 UCSF)]

V. 感染症対策に資する培養細胞の研究

(1)Vero JCRB0111 細胞における内在性レトロウイルスの転写発現

アフリカミドリサル(AGM)腎臓由来の連続継代培養細胞株である Vero 細胞は、感染症の研究調査において広く利用されているだけでなく、ウイルスワクチン生産細胞としても汎用されている。我々は、現存する中で最も継代数の少ないと思われる Vero 細胞シード(JCRB0111)のゲノム配列を決定し、I 型インターフェロン遺伝子クラスターが完全欠失していること、当該細胞ゲノムにはサル D 型レトロウイルス(SRV)と相同性のある配列が数多く存在することなどをすでに報告している。今回、Vero JCRB0111 細胞を DNA メチルトランスフェラーゼの阻害剤である 5-Azacytidine によって処理すると SRV 様配列の転写発現が顕著に亢進することを RNA-seq 解析から見出した。[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)Vero ATCC CCL-81 および Vero 76 亜株の全ゲノム配列決定

Vero 細胞ゲノムに存在するサル内在レトロウイルス(SERV)の挿入位置や配列などに細胞亜株間で差異があるのかを検討するために、Vero 細胞 JCRB0111 亜株とは継代歴が異なる ATCC CCL-81 および Vero 76 亜株を American Type Culture Collection から取り寄せて、これらの全ゲノム配列を決定した。ゲノムサンプルからペアエンドライブラリを作製して次世代シーケンサで読んだショートリード配列を公開 AGM ゲノムドラフト配列に張り付けてアセンブリを行った。[山地俊之、花田賢太郎;関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター);池田昌輝、長田直樹(北大);小原有弘、平山知子、笠井文生(医薬健栄研)]

(3)Vero 細胞ゲノムにおける SERV 挿入箇所解析

三つの Vero 細胞亜株(JCRB0111, ATCC CCL-81, Vero 76)のゲノム配列および AGM ゲノムドラフト配列との間の比較解析から、Vero 細胞ゲノムに 84 箇所の SERV 挿入位置が見つかり、そのうちの 83 箇所は三細胞亜株間で一致していた。また、これら 84 箇所の SERV 挿入位置のうち、26 箇所は参照 AGM ゲノム配列中にも存在していた。また、84 の SERV 挿入

箇所のなかでSLV27bと名付けた一箇所だけはVero 76と参照 AGM のゲノムには存在するが Vero JCRB0111 と ATCC CCL-81 のゲノムには存在しないというパターンを示した。このパターンは、三つの Vero 細胞亜株の中で Vero 76 が最も遅く樹立された亜株であることと一見矛盾したが、Vero 細胞系列の樹立歴の中で起こった SVL27b を含む染色体のリアレンジメントと細胞のクローナル選択の結果であろうことがゲノムコピー数解析から示唆された。［佐久間智理、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）；池田昌輝、長田直樹（北大）；小原有弘、平山知子、笠井文生（医薬健栄研）］

(4) Vero 細胞亜株間での日本脳炎ウイルス(JEV)産生能の比較

全ゲノム配列の比較解析を行った3種の Vero 細胞亜株(JCRB0111, ATCC CCL-81, Vero 76)について、ウイルス感受性に差異があるかどうかを、フラビウイルスの一つであるJEV(Nakayama 株)を用いて調べた。その結果、JEV の産生とプラーク形成に大きな差はないことを確認した。［齊藤恭子、山地俊之、深澤征義、花田賢太郎；鈴木亮介(ウイルス第二部)；小原有弘(医薬健栄研)］

(5) Huh7.5.1-8 細胞と Vero 細胞における JEV 産生の比較解析

C 型肝炎ウイルス(HCV)高感受性を指標に分離されたヒト肝癌由来 Huh7.5.1-8 細胞の他のフラビウイルスに対する感受性を調べる目的で、同細胞と Vero 細胞(JCRB9013 株)との間で JEV (Nakayama 株)産生能を比較した。Huh7.5.1-8 細胞は Vero 細胞よりも感染初期にウイルス産生が高い傾向が見られたが、それは細胞密度が高い場合に顕著であった。また、Huh7.5.1-8 細胞は、Vero 細胞よりも感染後早期に細胞死が観察された。さらに、Huh.7.5.1-8 細胞では、Vero 細胞よりも早期に大きな JEV のプラークが形成された。このプラーク形成能の差は両細胞におけるウイルス産生能、細胞変性効果の差を反映したものと考えられた。このような Huh7.5.1-8 細胞の特徴は、新たなフラビウイルスの検出・分離や、プラークアッセイの改良に有用である可能性があると考えられた。［齊藤恭子、深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；鈴木亮介、脇田隆字(ウイルス第二部)］

(6) 自然免疫遺伝子のノックアウト細胞株作成

Vero 細胞及び Huh7.5.1-8 細胞は自然免疫に関する遺伝子の欠損や変異によりウイルス感受性がもともと高い。これらの細胞に対し、(i)ウイルス感受性やウイルス産生能のさらなる増加、(ii)ウイルス応答シグナルにおけるインターフェロン非依存経路の解明、(iii)ゲノムワイドスクリーニングの親株としての使用、を目指して、I 型インターフェロン受容体をはじめとする複数の自然免疫系遺伝子ノックアウト株の樹立を行った。［佐久間智理、山地俊之、齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎］

(7) HPV16 ウイルス増殖に関わる宿主因子の探索

前年度に行った HPV16-P670 プロモータの制御に関わる宿主因子探索の一次スクリーニングで陽性となった 68 クローンに関して、PCR を用いて遺伝子の同定を行った。その結果、MT2A、ATP5J2、TCEB2 の 3 遺伝子を同定することに成功した。HPV16-P670-luc を用いた二次スクリーニングによる検証の準備を進めた。また、HPV16 エピソームの維持に関わる宿主因子探索の一次スクリーニングで陽性となった 7 遺伝子に関して、shRNA を用いた二次スクリーニングに向けた準備を行った。［前濱朝彦、花田賢太郎；柊元巖(病原体ゲノム解析研究センター)］

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 による p53 制御の引き金となる PICT1 の分解過程を明らかにするため、細胞内で PICT1 の安定化に寄与している分子の同定を試みた。データマイニング等によって得られた PICT1 結合因子(134 遺伝子)のノックダウンを行い、PICT1 の発現量に変化をもたらす 11 遺伝子を同定した。これらの候補因子と PICT1 との結合、またこれらの候補因子による PICT1 の安定性制御を評価するアッセイ系の構築を行った。［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・生活衛生局 生活衛生・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28年11月～平成29年3月。20 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、本年度を以て事業を完了した。［萩原健一、中村優子、花田賢太郎；飛梅実、片野晴隆、長谷川秀樹(感染病理部)］

(2) TSE 行政検査・確認検査(ウエスタンブロット法)の担当、検査実施要領改正に合わせた検体輸送要領の変更

TSE 行政検査・確認検査体制を通年維持し、また、試薬等の品質と検査手技の管理を目的として、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試験を

行った（平成28年9月、平成29年3月実施）。試験データを厚生労働省 医薬・生活衛生局 生活衛生・食品安全部 監視安全課へ報告した。また、食肉衛生検査所等での伝達性海綿状脳症検査実施要領の平成29年度改正（予定）に合わせ、検体輸送要領について監視安全課と検討して一部変更を行い、生活衛生・食品安全部 監視安全課より自治体等へ通知した。［萩原健一、中村優子；片野晴隆、飛梅実、佐藤由子（感染病理部）］

その他

（1）（独）医薬品医療機器総合機構 GLP 専門協議の専門委員［花田賢太郎］

（2）厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・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。［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) Oh H, Shin J, Ato M, Ma X, Williams D, Han K, Yang Kim J, Kang HG, Jung K, Hanada K, Ochiai M, Hug PV, Park S, Ahn C: Meeting report: The first meeting of the national control laboratories for vaccines and biologicals in the Western pacific in 2016, Osong Public Health Res. Perspect., 8, 91-103, 2017

2) 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. *in* "Lipidomics" (Ed., Paul Wood), Series: Neuromethods, Vol.125, pp81-98, Springer, 2017

3) 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., 39, 839-848, 2016

4) Hashimoto Y, Tada M, Iida M, Nagase S, Hata T, Watari A, Okada Y, Doi T, Fukasawa M, Yagi K, Kondoh M: Generation and characterization of a human-mouse chimeric antibody against the extracellular domain of claudin-1 for cancer therapy using a mouse model. Biochem. Biophys. Res. Commun., 477, 91-95, 2016

5) Hashimoto Y, Kawahigashi Y, Hata T, Li X, Watari A, Tada M, Ishii-Watabe A, Okada Y, Doi T, Fukasawa M, Kuniyasu H, Yagi K, Kondoh M: Efficacy and safety evaluation of claudin-4-targeted antitumor therapy using a human and mouse cross-reactive monoclonal antibody. Pharmacol. Res. Perspect., 4, e00266, 2016

6) Yamaji T, Horie A, Tachida Y, Sakuma C, Suzuki Y, Kushi Y, Hanada K: Role of intracellular lipid logistics in the preferential usage of very long chain-ceramides in glucosylceramide. Int. J. Mol. Sci., 17, E1761, 2016

7) Nakatani K, Maehama T, Nishio M, Goto H, Kato W, Omori H, Miyachi Y, Togashi H, Shimono Y, Suzuki A: Targeting the Hippo signalling pathway for cancer treatment. J. Biochem, 161, 237-244, 2017

8)Hanada K: Ceramide transport from the endoplasmic reticulum to the *trans* Golgi region at organelle membrane contact sites. *in* "Organelle Contact Sites: From Molecular Mechanism to Diseases" (Eds., Mitsuo Tagaya & Thomas Simmen), Series: Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol.997, Springer, in press

9) Hashimoto Y, Fukasawa M, Kuniyasu H, Yagi K, Kondoh M: Proof of concept for claudin-targeted drug development using anti-claudin monoclonal antibodies. Ann. N. Y. Acad. Sci., in press

10) Hagiwara K, Iwamaru Y, Tabeta N, Yokoyama T, Tobiume M: Evaluation of rapid post-mortem test kits for bovine spongiform encephalopathy (BSE) screening in Japan: Their analytical sensitivity to atypical BSE prions. Prion, in press

11) Nagata M, Izumi Y, Ishikawa E, Kiyotake R, Doi R, Iwai S, Omahdi Z, Yamaji T, Miyamoto T, Bamba T, Yamasaki S: Intracellular metabolite β-glucosylceramide is an endogenous Mincle ligand possessing immunostimulatory activity. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., in press

2. 和文発表

1) 後藤裕樹、西尾美希、加藤雅子、前濱朝彦、鈴木聡：機械的刺激による Hippo-YAP/TAZ 経路の活性化、生理作用、腫瘍進展メカニズムと意義、生体の科学、67、127-131、2016

2) 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、88, 411-415, 2016

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hagiwara K, Sato Y, Yamakawa Y, Hara H, Shibata H, Ono F: Interspecies transmission of atypical L-BSE prion to non-human primates (cynomolgus macaques) alleviates PrP^{Sc} glycoform profile of cattle L-BSE trait, but preserves incompetent transmissibility to inbred mice, Prion 2016, 2016.5.10-13, Tokyo, Japan

2) Kabayama K, Miyake S, Manabe Y, Yamaji T, Hanada K, Fukase K: Functional evaluation of membrane glycolipids using synthetic glycans, 1st Korea-Japan Bioactive Lipid Joint Symposium, 2016.5.11-13, Jeju island, South Korea

3) 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 cells are non-permissive to hepatitis C virus infection, RNA2016, 2016.6.28-7.2, Kyoto, Japan

4) Hanada K: Vero cells: Determination of the genome landscape and its application to QC, Workshop of Western Pacific National Control Laboratories for Vaccines and Blood Products, 2016.9.1-2, Seoul, Korea

5) Fukasawa M, Shimizu Y, Shirasago Y, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M: Monoclonal antibodies against the extracellular domains of occludin block hepatitis C virus infection in human liver chimeric mice, The 23th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2016.10.11-15, Kyoto, Japan

6) Gewaid EH, Aoyagi H, Watashi K, Suzuki R, Aly H, Kumagai K, Yamaji T, Fukasawa M, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Wakita T, Aizaki H: Sphingomyelin is a component in the membranous replication factories, The 23th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2016.10.11-15, Kyoto, Japan

7) Ito M, Fukasawa M, Kohara M, Suzuki T: PLA2G4C is involved in HCV induced lipid droplet accumulation, The 23th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2016.10.11-15, Kyoto, Japan

8) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K: Role of lipid droplets in the emergence of drug resistant virus against direct acting antivirals, The 23th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, 2016.10.11-15, Kyoto, Japan

9) Yamaji T, Sekizuka T, Yahiro K, Tachida Y, Sakuma C, Kuroda M, Hanada K: Application of genome editing technologies for studies on sphingolipid and glycan metabolisms, EMBO Workshop “Glycosylation in the Golgi complex”, 2016.10.24-28, Vico Equense, Italy

2. 国内学会

1) 白砂圭崇、谷田以誠、鈴木咲帆、稲森陽子、小林哲幸、深澤征義：カフェ酸による C 型肝炎ウイルス感染阻害、日本薬学会第 137 年会、2016.3.25-27、横浜

2) 飛梅実、萩原健一、小野文子、佐藤由子、柴田宏昭：マカクを用いたBSE由来プリオンの実験的継代、第105回日本病理学会総会、2016.5.12-14、仙台

3) 深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、鈴木哲朗、脇田隆字、花田賢太郎、八木清仁、近藤昌夫：宿主侵入因子を標的とした抗 HCV 戦略～Claudin-1, Occludin 結合プローブの有用性、第 26 回抗ウイルス療法学会総会、2016.5.13-15、名古屋

4) ホッサムゲワイド、青柳東代、渡士幸一、鈴木亮介、熊谷圭悟、山地俊之、深澤征義、坂巻有里子、市野瀬志津子、花田賢太郎、脇田隆字、相崎英樹：スフィンゴ脂質の C 型肝炎ウイルス複製における役割の解析、第 58 回日本脂質生化学会、2016.6. 9-10、秋田

5) 花田賢太郎、熊谷圭悟、山地俊之：小胞体膜接触局域とオルガネラ間脂質輸送：セラミド輸送からの考察、第 68 回日本細胞生物学会大会第 11 回日本ケミカルバイオロジー学会年会合同大会、2016.6.15-17、京都

6) 白砂圭崇、清水芳実、近藤昌夫、八木清仁、花田賢太郎、深澤征義：抗 Claudin-1 抗体を用いた Claudin-1 細胞内動態の解析、第 68 回日本細胞生物学会大会第 11 回日本ケミカルバイオロジー学会年会合同大会、2016.6.15-17、京都

7) 三宅秀斗、樺山一哉、真鍋良幸、陳思宇、山地俊之、花田賢太郎、深瀬浩一：細胞表面における糖鎖機能解明を指向した合成糖鎖の細胞膜提示システムの開発、第 68 回日本細胞生物学会大会第 11 回日本ケミカルバイオロジー学会年会合同大会、2016.6.15-17、京都

8) 熊谷圭悟、山地俊之、花田賢太郎：偏性細胞内寄生クラミジア菌の感染増殖における宿主細胞セラミド輸送タンパク質 CERT の役割、第 58 回脂質生化学会、2016.6.15-17、秋田

9) 樺山一哉、三宅秀斗、真鍋良幸、山地俊之、花田賢太郎、深瀬浩一：合成糖鎖の細胞膜提示システムによる糖脂質

機能の解明、第 58 回脂質生化学会、2016.6.15-17、秋田

10) 鈴木佑典, 田村恭祐, 野田和彦, 須賀理衣, 長谷川拓馬, 山地俊之, 櫛泰典:膜脂質組成による慢性骨髄性白血病細胞株 K562 のγグロビン発現制御、第 58 回脂質生化学会、2016.6.15-17、秋田

11) 杉木俊彦、熊谷圭悟、児嶋長次郎、藤原敏道, 竹内恒, 嶋田一夫、高橋栄夫、花田賢太郎：NMR 解析から見出されたセラミド輸送タンパク質 CERT の PH ドメインが隣接する部位のリン酸化によって機能抑制される機序の一端、第 11 回スフィンゴテラピー研究会、2016.7.14-16、加賀

12) 山地俊之、関塚剛史、八尋錦之助、鈴木佑典、櫛泰典、黒田誠、花田賢太郎:ゲノム編集技術を用いたスフィンゴ脂質・糖鎖の代謝研究、第 35 回日本糖質学会年会、2016.9.1-3、高知

13) 三宅秀斗、初村洋紀、樺山一哉、真鍋良幸、山地俊之、花田賢太郎、深瀬浩一:HaloTag テクノロジーによる生細胞への糖鎖提示とそれを用いた機能解析、第 35 回日本糖質学会年会、2016.9.1-3、高知

14) 花田賢太郎：哺乳動物細胞における小胞体接触局域を介したセラミド輸送の分子機序とその制御、第89回日本生化学会大会、2016.9.25-27, 仙台

15) 深澤征義、白砂圭崇、清水芳実、谷田以誠、近藤昌夫、八木清仁、鈴木哲朗、鈴木亮介、杉山和夫、脇田隆字、花田賢太郎、C 型肝炎ウイルス感染における Occludin 分子の重要性～Occludin ノックアウトヒト肝培養細胞を用いた検討、第 89 回日本生化学会大会、2016.9.25-27、仙台

16) 白砂圭崇、清水芳実、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:動物モデルにおける抗 OCLN 抗体の HCV 感染に対する阻害効果、第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2016.10.23-25、札幌

17) 伊藤昌彦、深澤征義、小原道法、鈴木哲朗:C 型肝炎ウイルス感染による脂肪滴蓄積への PLA2G4C の関与、第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2016.10.23-25、札幌

18) 大橋啓史、中嶋翔、金ソルイ、鈴木亮介、相崎英樹、深澤征義、紙透伸治、菅原二三男、大谷直子、脇田隆字、渡士幸一:肝細胞内 aryl hydrocarbon receptor による C 型肝炎ウイルス粒子構築制御機構の阻害が DAAs 耐性の出現を低下させる、第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2016.10.23-25、札幌

19) 飛梅実、佐藤由子、萩原健一、柴田宏昭、小野文子、長谷川秀樹:C および LBSE 由来プリオンのマカクにおける病理学的解析、第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2016.10.23-25、札幌

20) 山地俊之、花田賢太郎：スフィンゴ糖脂質とスフィンゴミエリンとの間で異なるセラミド分子種嗜好性にはセラミドの細胞内ロジスティックスが関与している、第9回セラミド研究会学術集会、2016.10.27-28、東京

21) 杉木俊彦、熊谷圭悟、江川大地、児嶋長次郎、藤原敏道、竹内 恒、嶋田一夫、花田賢太郎、高橋栄夫：セラミド輸送蛋白質 CERT の PH ドメインーGolgi 体間結合が CERT のリン酸化によって抑制される構造基盤：溶液 NMR 法による解析、第 39 回日本分子生物学会年会、2016.11.30-12.2、横浜

22) 花田賢太郎：カルタヘナ法と関わる組換え生物生ワクチン ワクチン分科会趣旨説明、バイオロジクスフォーラム第 14 回学術集会、2017.1.12、東京

23) 花田賢太郎：小胞体膜接触場を介したオルガネラ間脂質輸送とその制御、理研シンポジウム「小胞体糖修飾の統合的ケミカルバイオロジー」、2017.1.20、埼玉

24) 山地俊之:ゲノム編集技術を用いたスフィンゴ脂質・糖鎖の代謝研究、順天堂大学第53回環境医学研究所・第44回研究推進委員会合同セミナー、2017.1.23、浦安

11. 昆虫医科学部

部長 澤邉 京子

概 要

昆虫医科学部は，蚊およびマダニを始めとする疾病媒介動物を対象とした基礎的調査研究に加え，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 28 年度は，2 年前にデング熱の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防除に関する技術指導・講習を引き続き行った．ジカウイルス感染症に対する国内対応の一環として海外の流行国（ブラジル，ベトナム等），ならびにガーナとの間で媒介蚊を中心とする共同研究を実施した．また，マダニおよびヒトスジシマカを対象に，野外実地試験による殺虫剤の効力評価の実施は国内でも初めての試みとなった．研究・業務の概要は以下のとおりである．

岡山県内の定点調査地において，媒介蚊対策の一環としてヒトスジシマカの密度調査を継続し，マーク虫放逐－再捕獲試験により本種の移動距離を推定した．青森県においては，仙台検疫所の定期調査において，平成27年に続き本年もヒトスジシマカ幼虫が採集されたことを受け，8月および9月に青森市と八戸市で媒介蚊調査を行った．その結果，青森市内のヒトスジシマカ成虫の密度は非常に高く，2 年続けて幼虫が採集されたことから，青森市内でのヒトスジシマカの定着を確認した．これら国内外での調査結果を用いて，局所的なヒトスジシマカの分布を現場写真から判定する方法の開発（深層学習による媒介蚊分布の 3D 見える化）を推進し，また，春季の月平均気温によるヒトスジシマカの吸血行動開始時期の予測など，対策に貢献する解析法の開発に着手した．

長崎県の定点調査地において，蚊集団における日本脳炎ウイルスの保有調査を継続し，1 型の日本脳炎ウイル分離株を複数得た．一方，国内のマダニにおいては，これまでに分離したウイルスの中に脊椎動物細胞に対し細胞変性効果を示すウイルスが複数存在することを明らかにした．さらに，昆虫医科学部において定常的に次世代シークエンサーによる解析が実施可能になったことで遺伝子解析の精度もスピードも格段に高まった．例えば，2014 年の国内でのデング熱流行時に蚊から分離したデングウイルスのゲノム全長（約 10,000 塩基）を解読し，配列情報をゲノムデータベース GenEpid-J に登録した．ベトナムおよびガーナで捕集した蚊およびマダニから，新規のウイルスや哺乳類に感染する可能性のあるウイルスの存在を確認し，2011 年にフィリピンのクロヤブカ属から分離した未同定のウイルスがイフラウイルス科に属する新規ウイルスであることを明らかにすることができた．Reverse Line Blot 法を応用したマダニの吸血源動物の同定，蚊のデングウイルス非感受性に関わる遺伝子の特定，二本鎖 RNA ウイルスのクライオ電子顕微鏡による構造解析，ネッタイシマカへのマイクロサテライト解析の応用など，新たな視点から，新たな技術を用いてそれぞれ解析を進めている．

ネッタイシマカおよびヒトスジシマカの殺虫剤低感受性の原因変異を検出するジェノタイピング法をそれぞれ開発し，リオデジャネイロ市内のネッタイシマカはピレスロイド系殺虫剤の有効性が著しく低下していたが，台南市（台湾）および東京都のヒトスジシマカには抵抗性原因変異は存在しないことを明らかにした．また，ベトナムハノイ市で，非常に高いピレスロイド抵抗性を示すヒトスジシマカ集団を発見し，その中から変異遺伝子をホモ接合体として持つ純粋な抵抗性系統を作出した．新規殺虫剤の開発に貢献することが期待される．一方，国内のヒトスジシマカは，成虫・幼虫のいずれも，既存の蚊防除用殺虫製剤に対して実用上問題ない感受性レベルを示すことが確認された．さらに，電気生理学的解析法によるヒトスジシマカのピレスロイド系殺虫剤に対する低感受性の検証，チカイエカのピリプロキシフェン抵抗性の遺伝学的検証を行い，クローニング／in vitro 転写フリーな CRISPR/Cas9 法による新たなゲノム編集技術をネッタイシマカに応用した．これまでに我が国の国際空港で捕獲されたネッタイシマカは，いずれもアジア・太平洋地域から侵入した可能性が高いことをマイクロサテライト遺伝子解析により推察した．

人事面では，当該部の定員 7 名に加え，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（12 月で離職），室田勝功，研究生として小林大介（東京医科歯科大院），佐藤智美（明治大院），実習生として角田ひかり（明治大），臨時職員として石川久仁子，古城一美，契約職員として武部淳子，吉田千草，客員研究員 9 名，協力研究員 14 名により研究・業務を推進した．また，平成 28 年 5 月をもって前川芳秀研究員が任期終了となったが，今年度増員要求が認められたため，同年 10 月 1 日より主任研究官として新たに採用した．

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. 岡山県の公共施設と住宅地におけるヒトスジシマカの発生状況調査

岡山市内の公共施設 2 ヶ所と住宅地を対象にして，2015 年と 2016 年に現地調査を実施した．成虫密度は 2016 年が低い傾向が見られ，施設構内の成虫の分布には明らかな偏りが認められた．両施設ともに幼虫が採集された雨水マスは，全体の 3 および 7%にすぎなかった．住宅地の幼虫発生源調査で容器の数が多かったのは，水受け皿，植木鉢，雨水マス，バケツの 4 種類で，ヒトスジシマカの幼虫発生容器の 56%を占めていた．

［津田良夫，前川芳秀，葛西真治，澤邉京子；皆川恵子，數間 亨，堀口智博（日本環境衛生センター）；山内健生（兵庫県立大）］

2. 岡山県の墓地で実施したヒトスジシマカの移動に関する実験

2016 年 7 月に岡山市内の墓地の林内 1 ヶ所から，0.5%ローダミン B 水溶液でマークしたヒトスジシマカ成虫 1,628 個体を放逐し，墓地とその周辺の 21 ヶ所で 4 日間再捕獲を行った．再捕確率は 11.8%，再捕獲したマーク虫の 88%は放逐場所から 30 m 以内の地点で採集された．放逐場所から 50－100 m 離れた再捕獲場所 3 地点でマーク虫 10 個体を採集したが，放逐場所から 120 m 離れた公園ではマーク虫は採集できなかった．本実験を行った墓地は二次林で囲まれており，蚊の潜伏に適した環境であると考えられたことから，放逐された蚊が長く留まり，再捕獲期間中に広範囲に拡散しなかったと推測された．

［前川芳秀，津田良夫；山内健生（兵庫県立大）；五十嵐真人（鵬図商事）；數間 亨（日本環境衛生センター）；佐藤裕蔵，金山隆一（住化エンバイロメンタルサイエンス）］

3. 新潟県佐潟湿地における疾病媒介蚊の調査

新潟県佐潟湿地のヨシ原で疾病媒介蚊の発生状況を調べるとともに，採集された成虫を用いて野鳥類由来の病原体を保持する蚊成虫の有無を調査した．2016 年 6 月と 7 月の調査で，2 属 6 種（アカイエカ群，イナトミシオカ，コガタアカイエカ，ハマダライエカ，カラツイエカ，オオクロヤブカ），約 600 個体の成虫が捕獲された．野鳥類由来の病原体として鳥マラリア原虫を対象に，492 個体を解剖して中腸壁の原虫オオシストの有無を調べた結果，イナトミシオカの 4 個体にオオシストが確認された．他の 5 種の成虫からはオオシストを持つ個体は確認されなかった．

［津田良夫；金 京純（鳥取大）］

4. デング熱流行地であるベトナム中・南部でのデング熱媒介蚊調査

2016 年 9 月にデング熱流行地であるベトナム南部のホーチミン市と高地のバンメトート市において，蚊の密度調査を行った．ホーチミン市内の住宅地で行った平均 8 分間人囮採集（/8 分/人）では，ネッタイシマカ（屋内 0.43，屋外 0.03），ヒトスジシマカ（屋内 0.23，屋外 0.77）であった．同様にバンメトート市では，ネッタイシマカ（屋内 2.90，屋外 0），ヒトスジシマカ（屋内 0.07，屋外 0.43）であった．ネッタイシマカは屋内に多く，バンメトート市で密度が高かった．一方，ヒトスジシマカは屋外に多く，ホーチミン市で密度が高いことがわかった．

［前川芳秀，葛西真治，糸川健太郎，室田勝功，澤邉京子；Yen, N.T., Phong, T.V.（ベトナム国立衛生疫学研究所）］

5. ブラジルにおけるジカウイルス感染症媒介蚊に関する情報収集

ジカウイルス感染症は，2015 年以降ブラジルを中心に爆発的に患者数が増加し，特に北東部でのウイルス感染に伴う小頭症の患者増加が著しい．そこで我々は，2016 年 3 月上旬にブラジル北東部のレシフェ市およびジョアンペソア市のジカウイルス感染症流行地，ならびにオリンピック・パラリンピックが開催されるリオデジャネイロ市の建設中の施設や競技場を視察し，一部で媒介蚊調査を行った．ジョアンペソア市ではヒトスジシマカが，リオデジャネイロ市では，ヒトスジシマカ，ネッタイシマカ，ネッタイイエカが採集され，両ヤブカが媒介種であることが伺えた．得られた成虫および幼虫からウイルス検出を試みたが，ジカウイルスは検出されなかった．

［澤邉京子，前川芳秀，小林大介，藤田龍介，室田勝功、伊澤晴彦；林 昌宏（ウイルス第一部）；鈴木忠樹（感染病理部）］

6. 青森県におけるヒトスジシマカの侵入に関する調査

仙台検疫所青森出張所による定期調査で，2015 年 8 月中旬および 2016 年 8 月初旬に青森港付近でヒトスジシマカ幼虫が採集されたことを受け，2016 年 8 月 29－31 日に青森

市内と八戸市内において媒介蚊調査を行った．その結果，青森港ならびに青森市内の神社と公園において幼虫が採取され，多数の成虫も人囮法で捕集された．9 月 20－21 日に行った追加調査においても，前回同様に青森市内の神社で成虫が多数捕集され（4 地点の 8 分間人囮法での捕集数は 9－35 頭；平均 21.5 頭），生息密度が非常に高いことが確認された． 2015 年の年平均気温の分布図から，青森市と弘前平野全体が平均気温 11－12℃を示していることが確認されており，2 年間同じ地点でヒトスジシマカの生息が確認されたことから，青森市内でのヒトスジシマカの定着を確認した．今後の分布域拡大に留意しなければならない．

［小林睦生，前川芳秀，駒形 修，澤邉京子；石田恵一，藤井重輝，奥山弘幸，塩野儀人（仙台検疫所）］

7. 深層学習による媒介蚊分布「3D 見える化」の試み

局所的なヒトスジシマカの分布を現場写真から判定する方法の開発を試みた．あらかじめ蚊の密度調査を行った場所において，周辺の環境を 360 度撮影できるカメラを用いて撮影した．得られた画像を，「蚊が採集された場所」，「されなかった場所」を正解タグとして学習させ，同様の条件で撮影された写真が与えられた場合，蚊の生息する確率を予測するプログラムを作成した．学習に用いなかった写真を用いて検証したところ，局所的に高確率で予測ができる場合と，予測に失敗する場合が見られたため，その原因を解析していく必要があることが示唆された．

［駒形 修，沢辺京子］

8. 春季の月平均気温によるヒトスジシマカの吸血行動開始時期の予測

日本のヒトスジシマカについて，気温が活動開始時期に与える影響を人囮法により調査した．起草日を 4 月 1 日とした時の初見日までの経過日数は，3 月もしくは 4 月の平均気温と相関が高かった．初見日の予測地図を作成した結果，九州地方では 4 月に始まり，東北地方と長野県の一部の地域では 6 月であると予想された．また，ヒトスジシマカが定着できない一因として，卵越冬に失敗している可能性が示唆された．

［駒形 修，二瓶直子，小林睦生，澤邉京子；比嘉由紀子（長崎大熱研）；武藤敦彦（日本環境衛生センター）；平林公男（信州大）；吉田政弘（いきもの研究社）；佐藤 卓（岩手県）］

9. 我が国の国際空港で捕獲されたネッタイシマカの起源

人・物の国際的な輸送に伴い，これまで我が国に生息していなかった疾病媒介昆虫が新たに侵入・定着するリスクが懸念される．2015 年に成田国際空港で採取されたネッタイシマカの個体のマイクロサテライト遺伝子型を調べた．このデータを 2012 年以降成田空港及び羽田空港で捕獲されているネッタイシマカの個体データ，及び，既にデータベースに登録されている世界各地で採集されたネッタイシマカの遺伝子型データに加えベイズクラスター解析を行った．これまでに我が国の国際空港で捕獲された個体はいずれもアジア・太平洋地域のクラスターに帰属された．

［糸川健太郎，津田良夫，澤邉京子］

10. ガーナ産ネッタイシマカのマイクロサテライト解析による亜種鑑別

ネッタイシマカにおいては，感染症疫学上重要と考えられる生態学的特徴が異なる 2 亜種（*Ae. aegypti aegypti* ならびに *Ae. aegypti formosus*）が知られており，その鑑別をマイクロサテライト 12 座位をもとに行った結果，解析に用いたガーナ産の個体は全て亜種 *formosus* と鑑別された．この分布確認は，西アフリカ地域においてはセネガルに次ぐ成果となった．

［小林大介，伊澤晴彦，糸川健太郎，澤邉京子；木村晶平，大橋光子，太田伸生（東京医科歯科大）；Dadzie, S., Bonney, K.（ガーナ大野口研）］

11. ヤマトクシヒゲカの分類学的検討

東南アジアと我が国に分布するクシヒゲカ亜属（Subgenus *Culiciomyia*）の系統関係を明らかにするために，各地でクシヒゲカ類幼虫を採集し，形態および DNA の塩基配列を調べた．その結果，我が国（東京，山梨など）のヤマトクシヒゲカ（*Culex sasai*）と東南アジアに分布する *Culex spiculothorax* の塩基配列が等しいことが分かった．両種間で幼虫の形態的な違いを精査した結果，過去の研究で重要とされた形態的な相違は存在しないことが確認され，*Culex spiculothorax* はヤマトクシヒゲカのシノニムであると結論された．

［津田良夫；Somboon, P.（チェンマイ大）］

12. 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

日本及び東洋区のチビフンコバエ属（Genud *Minilimosina*）について調べた．日本産チビフンコバエ亜属では 3 種を認め，旧北区に広く分布する *M. fungicola*,, 中国で記録されている *M. luteora* および未記載種であった．これらはいずれも日本で初めて記録される種であった．*Allolimosina* 亜属は世界で 7 種が知られる小さなグループであるが，東洋区からは知ら

れていなかった. 東洋区産を調べた結果, 中国から 1 オス個体のみで記載された *M.* (*A.*) *cerciseta* をパキスタンから発見し, また, ネパール, ベトナム, シンガポール, インドネシアに分布する未記載種をみいだし, 新種記載を行った.
［林 利彦］

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. 2015 年および 2016 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, 2015 年および 2016 年の夏季に長崎県内の畜舎で捕集されたコガタアカイエカ（1,511 頭, 57 プール検体）からウイルス分離を試みた結果, 15 プールから JEV I 型が分離され, これら分離株の遺伝子解析を行った.
［室田勝功, 小林大介, 藤田龍介, 前川芳秀, 佐々木年則, 伊澤晴彦, 津田良夫, 澤邉京子; 比嘉由紀子, 砂原俊彦, 皆川 昇（長崎大熱研）; 吉川 亮, 松本文昭, 三浦佳奈, 山下綾香（長崎県環境保健研究センター）］

2. 2014 年の捕集蚊から分離されたデングウイルスのゲノム配列解析

2014 年に東京都で捕集されたヒトスジシマカから分離されたデングウイルスについて, 次世代シークエンサー（NGS）による配列解析を行った. 都内 4 ヵ所で得られたデングウイルス 11 株のコード領域全長の配列を決定し, 国内感染者から検出されたデングウイルスの配列と比較したところ, 塩基置換が認められた株が 5 株, うちアミノ酸置換が生じたものが 2 株得られた. これらの配列情報は, 国内分離株として国立感染症研究所のゲノムデータベース GenEpid-J に登録した.
［室田勝功, 小林大介, 糸川健太郎, 藤田龍介, 伊澤晴彦, 澤邉京子; 加藤健吾, 関塚剛史, 黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

3. ベトナムにおけるデングウイルス媒介蚊の捕集とウイルス分離

東南アジアにおけるデング熱媒介蚊の遺伝情報, およびその保有ウイルスに関する情報を収集するために, 長崎大学が拠点とするベトナム国立衛生疫学研究所の協力の下, ベトナム国内のデング熱の流行地において蚊の捕集を行った. ベトナム国内の 3 地点（ハノイ, バンメトート, ホーチミン）で合計約 6,000 頭の蚊を捕集した. 捕集蚊のうち, ヒトスジシマカをはじめとするヤブカ属蚊（236 頭, 30 プール）からのウイルス分離を試みた. 次世代シークエンサー解析の結果, Aedes flavivirus とレオウイルスに属すると考えられる新規ウイルスが分離されていることが明らかとなった.
［室田勝功, 小林大介, 藤田龍介, 糸川健太郎, 前川芳秀, 葛西真治, 伊澤晴彦, 澤邉京子; 角田 隆, 皆川 昇（長崎大熱研）; Cuong, T.C., Phong, T.V., Yen, N.T., Nam, V.S.（ベトナム国立衛生疫学研究所）］

4. ガーナ共和国における疾病媒介蚊の捕集調査ならびに保有ウイルスの解析

ガーナ国内の調査地で蚊成虫の捕集を行い, 捕集されたヤブカ属蚊に対してデングウイルスとチクングニアウイルスの保有検査を実施した. さらに, 捕集されたヤブカ属蚊を含む全ての蚊から培養細胞を用いたウイルス分離を行い, 次世代シークエンサーを用いて分離されたウイルスの網羅的解析を行った結果, デングウイルスおよびチクングニアウイルスのゲノム配列は検出されなかったが, 新規ウイルスを含む多数のウイルス配列が見出され, ガーナ国内に生息する蚊類の保有する多様なウイルスの存在を初めて明らかにした.
［小林大介, 伊澤晴彦, 室田勝功, 糸川健太郎, 藤田龍介, 澤邉京子; 木村晶平, 大橋光子, 太田伸生（東京医科歯科大）; Dadzie, S., Bonney, K.（ガーナ大野口研）］

5. ガーナ共和国におけるマダニ類の分布調査ならびに保有ウイルスの解析

ガーナ国内広範囲に設定した調査地で家畜や伴侶動物などから採取したマダニからウイルス遺伝子検出とウイルス分離を実施した. その結果, 今回の調査ではウイルスは分離されなかったものの, イヌやウシから採取したコイタマダニ属, キララマダニ属やイボダニ属のマダニから新規のフレボウイルスの遺伝子が複数検出され, ガーナ国内に生息する各種のマダニは, ヒトおよび動物に感染する可能性のあるウイルスを保有していることを示した.
［小林大介, 伊澤晴彦, 室田勝功, 糸川健太郎, 藤田龍介, 澤邉京子; 木村晶平, 大橋光子, 太田伸生（東京医科歯科大）; Dadzie, S., Bonney, K.（ガーナ大野口研）］

6. フィリピン産クロヤブカ属蚊から分離された新規 RNA ウイルスの性状解析

2010 年フィリピンにおいて捕集されたクロヤブカ属から分離された未同定ウイルスについて, 次世代シークエンサーによ

るウイルスゲノム解析，分子系統解析，電子顕微鏡観察などを行った．その結果，本ウイルスはイフラウイルス科に属する新規のウイルスであることが判明し，双翅目昆虫から初めてイフラウイルスの分離に成功した．

［小林大介，伊澤晴彦，藤田龍介，室田勝功，糸川健太郎，澤邉京子；水谷哲也（東京農工大）；比嘉由紀子（長崎大熱研）；Bertuso, A.G.（フィリピン大マニラ校）］

7. 本邦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，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，小林大介，江尻寛子，鍬田龍星，佐々木年則，小林睦生，澤邉京子；水谷哲也（東京農工大）；林　昌宏，山口幸恵，伊藤睦代，西條政幸（ウイルス第一部）］

8. ネッタイシマカやヒトスジシマカにおけるデングウイルス非感受性に関わる遺伝子解析

ネッタイシマカやヒトスジシマカにおけるデングウイルスに対する非感受性機構の一つとしてRNA干渉経路が重要であり，その因子に Argonaute (Ago)2 が知られている．そこで，Ago2 遺伝子についてハプロタイプの存在を調べた結果，ヒトスジシマカの Ago2 に遺伝子変異を認めたが，ネッタイシマカには認められなかった．更に遺伝子情報を更新する予定である．

［佐々木年則，伊澤晴彦，澤邉京子；高崎智彦（神奈川衛研）；皆川　昇（長崎大熱研）；Bertuso, A.G.（フィリピン大マニラ校）］

9. 本邦マダニ種の吸血源動物の解析

本邦マダニ種の吸血生態を解明する目的で，Reverse Line Blot 法を利用した吸血源動物の同定を試みた．その結果，マダニの種，発育ステージ，周辺環境等によって吸血源動物が異なることが判明し，外部寄生（咬着）例では分からない，マダニの吸血歴と生活史を知る有効な解析方法であることが示唆された．

［佐藤智美，林　利彦，伊澤晴彦，澤邉京子；糸山　享（明治大）］

10. 蚊由来新規二本鎖 RNA ウイルスの粒子構造解析

原生生物や酵母由来の dsRNA ウイルスは，頻繁な宿主の細胞分裂に乗じて細胞間を移動するのに対し，節足動物や脊椎動物由来の dsRNA ウイルスは，細胞外に一度放出され，新たに次の標的細胞に感染する必要がある．本研究では，蚊由来の新規トティウイルス Omono River virus（OmRV）のカプシド構造をクライオ電子顕微鏡で解き明かした．OmRV はカプシド表面に突起構造を持たず，特徴的な最表面構造（ブーメラン構造）のみを有していた．ブーメラン構造は，これまで不明な点が多かったトティウイルスの細胞感染機構獲得に重要であることが示唆された．

［小林大介，伊澤晴彦，小林睦生，澤邉京子；岡本健太（ウプサラ大 BMC）］

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. マダニ防除用殺虫剤の実地試験による効力評価

フタトゲチマダニが優占種として生息する兵庫県豊岡市の自然公園内で，2016 年 4～6 月にマダニ防除用殺虫剤の効力評価を実施した．4 種殺虫製剤（液剤 3 種と粉剤 1 種）を草地面に残留処理し，処理区と未処理区において旗ずり法により捕獲したマダニの数を処理時前後で比較し効果を評価した．4 製剤のいずれも処理 6 日後までの期間に 80%以上のマダニ減少率が維持され，高い駆除効果が示された．以降，処理 48 日後までに減少率は漸減する傾向にあったが，48 日後の時点で 80%以上の駆除率を維持した液剤 1 種の例もあった．

［葛西真治，前川芳秀，渡辺　護，冨田隆史，駒形　修，澤邉京子；橋本知幸，皆川恵子，數間　亨，武藤敦彦（日本環境衛生センター）；山内健生（兵庫県立大）；白石　都（兵庫県豊岡健康福祉事務所），大石英明（豊岡市役所）］

2. 防疫用殺虫剤の新用法用量によるヒトスジシマカ成虫への野外実地効力試験

岡山県内の定期調査地点で，屋外での用法・用量通りに殺虫剤を散布した場合のヒトスジシマカへの防除効果を検証した．4 種殺虫剤（炭酸ガス製剤 1 種，乳剤 1 種，水性乳剤 2 種）をそれぞれ駐車場造営地（約 20,000 m^2），墓地（約 2,050 m^2），日本庭園の一部分（約 1,373 m^2），神社（約 2,250 m^2）に散布した．散布機器は，ハンドスプレーヤ，背負式 ULV 機，液化炭酸ガスを用い，それぞれ薬剤に適した機器を使用した．試験場所の 10～24 か所に

網かごに入れたヒトスジシマカ雌成虫を配置し，その致死状況と薬剤処理前後の 8 分間人囮法での捕獲数の比較により効果判定を行った結果，ほとんどの場所で配置した蚊は 100%死亡し，散布後の捕獲数も 0 頭となり，すべての殺虫剤の効力が認められたが，周辺の環境や散布面積により，使用機器や散布方法を検討する必要があることが示唆された．

［皆川恵子，武藤敦彦，橋本知幸，數間 亨，堀口智博（日本環境衛生センター）；日本防疫殺虫剤協会；葛西真治，冨田隆史，津田良夫，前川芳秀，澤邉京子］

3. 国内のヒトスジシマカ集団の殺虫剤感受性(2)

蚊防除用殺虫製剤の 6 種有効成分に関するヒトスジシマカの感受性を 2015 年の採集に由来する 13 コロニーを使い調べた．殺虫剤感受性系統が示す成虫への局所施用試験による LD_{99} 値または幼虫への薬液浸漬試験による LC_{99} 値，さらに，その 10 倍薬量を，それぞれ，「高感受性」と「実用的な高感受性」の識別薬量とした．ピレスロイド系 3 種の LD_{99} では 93%－100%，LD_{99}×10 では 100%の死亡率であった．昆虫成長制御剤 3 種の LC_{99} では 87%－100%，LC_{99}×10 ではピリプロキシフェン処理の 2 コロニー（共に羽化阻害率 98%）を除き 100%の羽化阻害率であった．いずれの薬剤でも実用上問題ない感受性レベルが確認された．

［葛西真治，冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，津田良夫，前川芳秀；緒方一喜（日本環境衛生センター）；矢口 昇（池袋保健所）］

4. ヒトスジ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

ヒトスジシマカの電位依存性ナトリウムチャンネルに生じている殺虫剤低感受性の原因変異，V1016G と F1534C/S を検出する目的で，PCR 産物と蛍光消光 DNA プローブを用いて融解曲線解析を行う Universal QProbe 法に基づくジェノタイピング法を開発した．2016 年台湾台南市 3 地点で採集した 31 個体と 2015 年都内 3 地点で採集した 192 個体のヒトスジシマカに適用した結果，対象とした抵抗性原因変異は存在しないことが明らかになった．

［冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，葛西真治；鍾瀚璿（台湾，鄧華真（台湾 CDC）］

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(3)

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 アミノ酸座位に生じている殺虫剤抵抗性関連の変異を検出する目的で昨年度開発した Universal QProbe 法を適用し，2016 年にリオデジャネイロ市内 3 地点でおもに捕虫網採集した蚊試料（N=22）を試験した．供試虫のすべてがピレスロイド抵抗性原因変異の F1534C をホモ接合体として保有していたことから，本市の蚊集団においてピレスロイド系殺虫剤の有効性が著しく低下していることが示された．

［冨田隆史，葛西真治，駒形 修，糸川健太郎，前川芳秀，津田良夫，澤邉京子］

6. 水中のピリプロキシフェンの食品容器及び腐食モデル物質への吸着

蚊の幼虫対策で殺虫剤が使用される場合に，対象となる雨水桝等にペットボトルや落ち葉等のゴミが溜まっている場合があり，それらへの吸着により効力が低下することが考えられる．そこで，有機物として，A-PET 容器，腐植モデル物質であるフミン酸ナトリウムを使用して，ピリプロキシフェンの有機物への吸着に伴う水中濃度の変化を調べた．その結果，実際の使用では有効成分の放出等が考慮された製剤を用いることを考えると，極端な環境下でない限り有機物への吸着による効力の低下は限られたものであると推定された．

［駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史］

7. 媒介蚊の電気生理学的解析法の開発

ヒトスジシマカ等の疾病媒介蚊のピレスロイド系殺虫剤に対する低感受性を神経生理学的に検証するために，電気生理学的解析法の開発を試みた．ショウジョウバエの手法を応用し，ヒトスジシマカ胸部の dorsal-longitudinal muscles にある神経近傍に生じる微弱な電流による電圧変化を増幅し記録した．神経細胞全体の状態を示す局所フィールド電位は検出されたが，活動電位を示すユニット活動の記録は不十分であったため，記録電極の改良の必要性が認められた．

［駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史］

8. チカイエカにおけるピリプロキシフェン抵抗性の遺伝学的研究

チカイエカのピリプロキシフェン抵抗性のメカニズムを明らかにするため，遺伝学的な検証を試みた．ピリプロキシフェン抵抗性である PPXF 系統の選抜を行いながら感受性系統のチカイエカで 5 世代戻し交配した後，さらに選抜を継続しながら近親交配を 5 世代行った．その後，親系統と選抜系統

(PPXF-IBC5)集団の whole genome bulked resequencing を行い, SNV 解析に供した. 全約 18 万の informative な SNV サイトが検出され, これらをもとに PPXF 系統から遺伝した変異の集団頻度を染色体上にマップしたところ, 各染色体上に少なくとも一つ以上の抵抗性遺伝子座があることが示唆された. また, RNA- seq 解析を行い, PPXF 系統で過剰発現するシトクロム P450 遺伝子を含むいくつかの解毒酵素遺伝子, およびクチクラタンパク遺伝子を特定した.
[糸川健太郎, 駒形 修, 葛西真治, 冨田隆史]

9. クローニング／in vitro 転写フリーな CRISPR/Cas9 法によるネッタイシマカのゲノム編集

CRISPR/Cas9 による蚊のゲノム編集に関して, これまでクローニングと in vitro 転写反応を用いて合成していた sgRNA をオリゴ RNA に置き換えることができるか検討した. オリゴ RNA を用いるメリットとしては RNA 合成に必要な試薬・作業, 純度が保証されているためオフターゲットの懸念が少ないこと, また, ヌクレオチドアナログを用いることでヌクレアーゼ耐性などを付与できることがあげられる. オリゴ RNA と Cas9 タンパクを用いてナトリウムチャネル遺伝子のイントロンを標的にしたところ, 従来法と同様か, それ以上の効率で変異を導入することができた. 本法では, 実験者は全くプラスミド構築などの作業を行う必要がなく, あたかもプライマーのように gRNA を直接発注し, 入手後 Cas9 タンパクと混合してすぐにインジェクションを行うことができることが分かった.
[糸川健太郎, 駒形 修, 葛西真治, 冨田隆史]

10. デング熱流行国で採集された蚊の殺虫剤感受性調査

ベトナム, ブラジル, シンガポール, マレーシア, フィリピン, メキシコ、台湾などのデング熱流行国で採集したヒトスジシマカおよびネッタイシマカのペルメトリン感受性を調査した. 殺虫剤感受性ヒトスジシマカ系統の LD_{99} および LD_{99}×10 の薬量をメス成虫に処理し, 24 時間後の死亡率を観察した. ネッタイシマカ集団の多くが抵抗性個体を含み, LD_{99}×10 の薬量で生残する個体が多数存在した. 一方, ヒトスジシマカにおいては多くの集団が高い殺虫剤感受性を有し, LD_{99}×10 で生存する個体は少なかった. ただし, ベトナムハノイ市で採集された 2 集団についてのみ LD_{99}×10 で生存する個体が確認され, 死亡率は 89%と 75%であった. これまで殺虫剤感受性が高く, 抵抗性の問題は小さいと思われてきたヒトスジシマカであるが, ピレスロイド剤による淘汰が進めば, さらに抵抗性レベルが上昇することが予想されることから, 今後, 感受性を注意深くモニタリングしていく必要があると考えられた.
[葛西真治, 吉田千草, 糸川健太郎, 室田勝功, 前川芳秀, 駒形 修, 津田良夫, 澤邉京子, 冨田隆史; 角田 隆, 皆川昇(長崎大熱研)]

11. デング熱媒介蚊のピレスロイド剤抵抗性に関わる新規遺伝子変異のスクリーニング

業績 10 の室内試験で抵抗性と判定されたベトナム, ブラジル, およびメキシコの個体について, ピレスロイド剤の作用点ナトリウムチャネルの遺伝子解析を行い, 抵抗性に関わるアミノ酸変異の有無を調べた. その結果, ネッタイシマカから抵抗性に関わる変異として報告されている V1016G, F1534C, V1016G+F1534C, L982W, S989P+V1016G のいずれも高頻度に検出された. ヒトスジシマカからはこれまで F1534C と F1534S が報告されているが, ベトナムのハノイ市で採集された抵抗性集団からは F1534S とともに今回初めて V1016G のナトリウムチャネル変異を有する個体が見つかった. 我々のこれまでの研究で V1016G は F1534C よりも強い抵抗性をもたらすことが電気生理学的研究から示唆されている. 今後 V1016G を有するヒトスジシマカがさらに淘汰され世界に拡散することで, デング熱やチクングニア熱の流行地域において媒介蚊対策がさらに困難になることが強く危惧された.
[葛西真治, 吉田千草, 糸川健太郎, 室田勝功, 前川芳秀, 駒形 修, 津田良夫, 澤邉京子, 冨田隆史; 角田 隆, 皆川昇(長崎大熱研)]

12. ノックダウン抵抗性遺伝子をホモ接合体として有するヒトスジシマカ系統の確立

ベトナムやシンガポールの抵抗性集団に含まれることが判明した V1016G, F1534S, F1534C といったナトリウムチャネルの変異遺伝子(ノックダウン抵抗性遺伝子)をホモ接合体として有する個体を分離し, 抵抗性系統として確立することを試みた. 羽化後間もない成虫蚊を隔離し, 脚 1 本より調製したゲノム DNA を鋳型としてジェノタイピングを行い, V1016G, F1534S, F1534C を有する個体を選別した. 1 回もしくは 2 回の選別を経て最終的にそれぞれのアミノ酸変異をホモ接合体として有する純粋な抵抗性系統を作出した. 今後は, これらの系統についてピレスロイド剤感受性試験を行い, アミノ酸変異と抵抗性レベルの相関を解析し, 抵抗性に打ち勝つ殺虫剤のデザインに繋げる.
[葛西真治, 吉田千草, 糸川健太郎, 駒形 修, 澤邉京子, 冨田隆史]

Ⅳ. その他

1. 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

2015 年度に国産セアカゴケグモ抗毒素血清の試験製剤に成功したが, 実際にヒトへの投与を目指し, 薬事審査承認のための GLP(優良試験所基準)適合非臨床試験のために再び素毒の作成を行った. セアカゴケグモの捕獲には, 大阪府ペストコントロール協会から延べ 194 名の会員が出動し, 大阪府内の合計 154 ヵ所から約 5,000 頭を捕獲した. 2014 年に捕獲を行った場所を中心に調査したが, 前回の 2〜3 割程度の数しか得られなかったことから, セアカゴケグモの生息環境は 2 年前の状態には戻ってはおらず, また, 生息地自体も移動していると考えられた. 最終的に 1.65 mg/ml の粗毒を作成することができた.

[澤邉京子;大阪府ペストコントロール協会;皆川恵子, 數間亨, 堀口智博(日本環境衛生センター);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);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 28 年 4 月から平成 29 年 3 月までの間, 昆虫・ダニ類の同定依頼を 9 件受けた. ヒトに寄生したヤマトマダニが 1 件, ハエ症の症例が 2 例があった. 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ヤケヒョウヒダニの例があった.

[林 利彦, 津田良夫, 前川芳秀]

研修業務

1. 蚊媒介感染症対策と防除について. 感染症媒介蚊対策に関する研修会, 2016 年 4 月 19 日, 岐阜市. [津田良夫]
2. 媒介蚊および蚊媒介感染症対策についてーデング熱・ジカウイルス感染症の話題ー. 埼玉県媒介蚊対策研修会, 2016 年 5 月 9 日, さいたま市. [澤邉京子]
3. 蚊の特徴、発生源対策について. 茨城県蚊媒介感染症対策研修会, 2016 年 5 月 23 日, 水戸市. [小林睦生]
4. 媒介昆虫と感染症. 2016 年度前期 知の市場, 2016 年 5 月 17 日, 東京. [澤邉京子]
5. 媒介蚊からのウイルス検出について. 埼玉県疾病対策課研修, 2016 年 5 月 27 日, 東京. [伊澤晴彦, 澤邉京子]
6. 第 5 回蚊類調査に係る技術研修(H28 年度), 2016 年 5 月 30−31 日, 東京. [津田良夫, 前川芳秀, 小林睦生, 澤邉京子]
7. 蚊媒介感染症の現状と対策ージカ熱・デング熱等の対策ー. 第 13 回新潟市ねずみ・昆虫等研究会, 2016 年 6 月 1 日, 新潟市. [澤邉京子]
8. ジカウイルス感染症及びデング熱予防のための媒介蚊対策について. 福島県蚊媒介感染症対策研修会, 2016 年 6 月 14 日, 郡山市. [澤邉京子]
9. 蚊がうつす病気と蚊の退治. 岡山市立伊島小学校授業, 2016 年 6 月 21 日, 岡山市. [澤邉京子, 津田良夫]
10. ジカ熱を含む媒介蚊の問題. 感染症予防衛生隊講習会, 2016 年 6 月 24 日, 新潟市. [小林睦生]
11. 中南米を中心に流行しているジカウイルス感染症とはー夏に向かってジカウイルスに感染しないためにー. 第 8 回ペストコントロールフォーラム東京, 2016 年 6 月 28 日, 武蔵野市. [澤邉京子]
12. 蚊の生態調査の説明・講義・実地研修. 媒介蚊生息状況調査に関する技術研修会, 2016 年 7 月 7 日, 岐阜市. [津田良夫, 葛西真治]
13. 媒介蚊の特徴、発生源対策について. 蚊媒介感染症対策研修会, 2016 年 7 月 14 日, 日立市. [澤邉京子]
14. ジカ熱等、感染症媒介蚊に関する最近の情報. 愛知県ペストコントロール協会感染症研修会, 2016 年 8 月 18 日, 名古屋市. [小林睦生]
15. ウイルス媒介蚊とその対策. 国立感染症研究所戸山庁舎安全連絡協議会, 2016 年 9 月 14 日, 東京. [澤邉京子]
16. リオオリンピックでの蚊媒介感染症と日本の現状. 東北ペストコントロール協会研修会, 2016 年 10 月 28 日, 盛岡市. [小林睦生]
17. 昆虫媒介感染症について. 平成 28 年度医師卒後臨床研修プログラム, 2016 年 10 月 31 日, 東京. [伊澤晴彦]
18. 蚊媒介感染症の現状とその対策. 日本防疫殺虫剤協会, 2016 年 11 月 7 日, 東京. [澤邉京子]
19. 蚊媒介感染症対策と蚊の防除. 平成 28 年度感染症対策講習会, 2016 年 11 月 17 日, 東京. [澤邉京子]
20. 蚊およびマダニからの病原体検出法について. 平成 28 年度地方衛生研究所地域リファレンスセンター連絡会議, 2016 年 11 月 29 日, 佐賀市. [澤邉京子]

21. 衛生害虫に関する最近の話題. 第 52 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会, 2016 年 12 月 7 日, 横浜市.［澤邉京子］
22. 蚊の生態を知ろう～感染症媒介者としての蚊の生態～. かながわ保全医学研究会講演会, 2017 年 1 月 14 日, 横浜市. [津田良夫]
23. 感染症への取り組みや状況等について. 沖縄感染症研究拠点形成促進事業新たな危機と安全な観光島づくりへの提言, 2017 年 1 月 23 日, 那覇市. [津田良夫]
24. 蚊やマダニが媒介する感染症の流行拡大と日本における感染リスク. 2016 年度ユネスコ協会シンポジウム, 国際都市と感染症, 2017 年 1 月 27 日, 東京.［澤邉京子］
25. マダニ媒介性感染症とジカ熱など蚊媒介性感染症の最近の話題. 衛生薬業センター健康危機管理研修会, 2017 年 1 月 27 日, 佐賀市.［小林睦生］
26. マダニ類に対する殺虫剤の実地試験報告～殺虫剤の効果的な活用方法について. マダニ類に対する実地試験調査報告会, 2017 年 3 月 22 日, 豊岡市.［澤邉京子, 橋本知幸］
27. これであなたもカのはかせ！武蔵村山市立雷塚小学校授業, 2017 年 3 月 24 日, 武蔵村山市.［葛西真治］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Tsuda, Y., Maekawa,Y., Ogawa, K., Itokawa, K., Komagata, O., Sasaki, T., Isawa, H., Tomita, T., Sawabe, K. Biting density and distribution of *Aedes albopictus* during the September 2014 outbreak of dengue fever in Yoyogi Park and the vicinity in Tokyo Metropolis, Japan. Japanese Journal of Infected Diseases, 69: 1-5, 2016.
2) Ohba, S., Tsuda, Y. A comparison of predacious aquatic insect fauna and density in ground pools and concrete pools created during the Great East Japan earthquake in 2011. Medical Entomology and Zoology, 67: 45-50. 2016.
3) Kobayashi, D., Isawa, H., Ejiri, H., Sasaki, T., Sunahara, T., Futami, K., Tsuda, Y., Katayama, Y., Mizutani, T., Minakawa, N., Ohta, N., Sawabe, K. Complete genome sequencing and phylogenetic analysis of a Getah virus strain(genus *Alphavirus*, family *Togaviridae*) isolated from *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes in Nagasaki, Japan in 2012. Vector-Borne Zoonotic Diseases, 16: 769-776, 2016.
4) Mori, A., Tsuda, Y., Takagi, M., Higa, Y., Severson, D.W. Multiple QTL determine dorsal abdominal scale patterns in the mosquito *Aedes aegypti*. Journal of Heredity, 107: 438-444, 2016.
5) Hayashi, T. New Record of the Genus *Eximilimosina* Papp (Diptera: Sphaeroceridae) from Japan. Japanese Journal of Systematic Entomology, 22: 245-247, 2016.
6) Sasaki, T., Kuwata, R., Hoshino, K., Isawa, H., Sawabe, K., Kobayashi, M. Argonaute 2 suppresses Japanese encephalitis virus infection in *Aedes aegypti*. Japanese Journal of Infectious Diseases, 70: 38-44, 2017.
7) Moi M.L., Kobayashi, D., Isawa, H., Sasaki, T., Saijo, M., Kurane, I., Sawabe, K., Takasaki, T. Dengue virus isolation in mosquito *Aedes albopictus* captured during an outbreak in Tokyo, 2014, by a method relying on antibody-dependent enhancement mechanism using FcγR-expressing BHK cells. Vector-Borne Zoonotic Diseases, 16: 810-812, 2016.
8) Fujita, R., Kuwata, R., Kobayashi, D., Bertuso, A.G., Isawa, H., Sawabe, K. Bustos virus, a new member of the negevirus group isolated from a *Mansonia* mosquito in the Philippines. Archives of Virology, 162: 79-88, 2017.
9) Okamoto, K., Miyazaki, N., Larsson, D.S., Kobayashi, D., Svenda, M., Mühlig, K., Maia, F.R., Gunn, L.H., Isawa, H., Kobayashi, M., Sawabe, K., Murata, K., Hajdu, J. The infectious particle of insect-borne totivirus-like Omono River virus has raised ridges and lacks fibre complexes. Scientific Reports, 6: 33170, 2016.
10) Kawakami, K., Kurnia, Y.W., Fujita, R., Ito, T., Isawa, H., Asano, S., Binh, N.D., Bando, H. Characterization of a novel negevirus isolated from *Aedes* larvae collected in a subarctic region of Japan. Archives of Virology, 161: 801-809, 2016.
11) Kurnia, Y.W., Fujita, R., Sato, M., Isawa, H., Asano, S., Binh, N.D., Bando, H. Generation of an infectious cDNA clone of Okushiri virus and its derivative capable of expressing an exogenous gene. Journal of Insect Biotechnology and Sericology. 85: 39-47, 2016.
12) Kasai, S., Sun, H., Scott, J.G. Diversity of knockdown resistance alleles in a single house fly population facilitates adaptation to pyrethroid insecticides. Insect Molecular Biology, 26: 13-24, 2016.
13) Smith, L.B., Kasai, S., Scott, J.G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. Pesticide Biochemistry and Physiology, 133: 1-12, 2016.

14) Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Ogawa, K., Tomita, T. Testing the causality between CYP9M10 and pyrethroid resistance using the TALEN and CRISPR/Cas9 technologies. Scientific Reports, 6: 4652, 2016.
15) Sun, H., Tong, K.P., Kasai, S., Scott, J.G. Overcoming *super-kdr* mediated resistance: Multi-halogenated benzyl pyrethroids are more toxic to *super-kdr* than *kdr* house flies. Insect Molecular Biology, 25: 126-137, 2016.
16) Kasai, S., Hirata, K., Komagata, O., Itokawa, K., Tomita, T. Molecular mechanisms of pyrethroid resistance in dengue mosquito vectors collected from Singapore. Acta Horticulturae, 1169: 87-92, 2017.

2. 和文発表

1) 津田良夫. ヒトスジシマカの生態と防除. ペストロジー, 31: 1-3, 2016.
2) 津田良夫. デング熱をはじめとする蚊媒介性感染症の現状. 学術の動向, 21: 62-66, 2016.
3) 沢辺京子. 病気を媒介する衛生動物とその防除―まとめと今後の課題. 特集 2 病気を媒介する衛生動物とその防除. 学術の動向, 21: 77-81, 2016.
4) 津田良夫, 石田恵一, 山内繁, 打田憲一, 新妻 淳, 助廣那由, 沢辺京子. 宮城県南部および福島県南相馬市の東日本大震災津波被災地における蚊の分布と生息密度に見られた年次変化に関する研究. 衛生動物, 67: 51-60, 2016.
5) 平林公男, 山本 優, 津田良夫, 高村健二, 上野隆平. 東日本大震災の津波被災地域から発生するユスリカ類－2013 年における宮城県仙台空港周辺地域, ならびに福島県南相馬地域に焦点をあてて. 衛生動物, 67: 61-65, 2016.
6) 島田智恵, 金山敦宏, 松井球乃, 河端邦夫, 福住宗久, 有馬雄三, 木下一美, 砂川富正, 池田真紀子, 津田良夫, 高崎智彦, 沢辺京子, 大石和徳. 2004 年夏の我が国のデング熱流行と今後の対策. 衛生動物, 67: 39-41, 2016.
7) 前川芳秀, 津田良夫, 沢辺京子. 日本産蚊の国内分布に関する全国調査. 衛生動物, 67: 1-12, 2016.
8) 前川芳秀, 小川浩平, 駒形 修, 津田良夫, 沢辺京子. 日本産蚊の分子生物学的種同定のための DNA バーコードの整備. 衛生動物, 67: 183-198, 2016.
9) 林利 彦, 澤辺京子. 岩手県における東日本大震災被災瓦礫集積場におけるハエ類発生調査(2012 年). 衛生動物, 67: 101-104, 2016.
10) 渡辺 護, 渡辺はるな, 沢辺京子. 岩手県南部および宮城県北部の東日本大震災被災地における蚊類の発生状況:2011 年から 2015 年まで 5 年間の調査記録. 衛生動物, 67: 243-258, 2016.
11) 葛西真治, 冨田隆史. ジカウイルス感染症媒介蚊の殺虫剤抵抗性と忌避剤の有効性. 病原微生物検出情報, 37: 10-11, 2016.
12) 沢辺京子. ジカウイルス感染症の媒介蚊. 病原微生物検出情報, 37: 126-127, 2016.
13) 葛西真治. 被災地における衛生害虫の発生とその対策. 生活と環境, 61; 22-26, 2016.
14) 葛西真治. ジカウイルスの脅威は封じられるか. イミダス時事オピニオン 7 月号, 2016.
15) 葛西真治. ヒトスジシマカの殺虫剤抵抗性. ペストコントロール, 175: 9-13, 2016.
16) 沢辺京子. Ⅳ. 特論 蚊媒介感染症の予防と対策. 特集 新興・再興感染症－グローバル化に伴う注目すべき感染症－. 日本臨牀, 74: 2057-2063, 2016.
17) 沢辺京子. 節足動物媒介感染症. 特集:感染症の Trends & topics 2017. Mebio, 33: 4-10, 2016.
18) 沢辺京子. 蚊媒介感染症対策の現状と課題. 特集 木の雨水の効果とその利用. ビルと環境, 155: 44-46, 2016.
19) 沢辺京子. ジカウイルス感染症(ジカ熱)・デング熱・チクングニア熱とはどんな感染症か？特集 蚊媒介感染症をめぐって. Pest Control Tokyo, 71: 36-44, 2016.
20) 沢辺京子. 蚊 敵を知って効果的に、専門家に聞く 園における蚊対策. エデュカーレ, 74: 30-34, 2016.
21) 沢辺京子. 2) デング熱等蚊媒介感染症と媒介蚊について, 第 44 回内科学の展望 日常診療で注意すべきウイルス感染症. 日本内科学雑誌, 106: 444-450, 2017.
22) 沢辺京子. コガタアカイエカ 驚異の飛翔能力で日本脳炎ウイルスを運ぶ、旅する生き物－地球をめぐる命－. milsil:自然と科学の情報誌, 国立科学博物館, 10: 22-25, 2017.
23) 葛西真治. 13 章. 作用点の変異による衛生害虫の殺虫剤抵抗性. 招かれない虫たちの話.(日本昆虫科学連合編)p. 179-195, 2017, 東海大学出版部, 神奈川県.
24) 沢辺京子. 第 I 部はじめに. 招かれない虫たちの話－虫がもたらす健康被害と害虫管理－.(日本昆虫科学連合編)p. 1-3, 2017, 東海大学出版部, 神奈川県.

25) 沢辺京子. コラム1. 海外から侵入する蚊媒介感染症とそのベクター. 招かれない虫たちの話－虫がもたらす健康被害と害虫管理－. (日本昆虫科学連合編) p. 20-25, 2017, 東海大学出版部, 神奈川県.

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

1) Fujita, R. Analysis of Mosquito-Derived Viruses using Next-Generation-Sequencer. Workshop on Cooperation Studies for Zika Virus between Japan and Brazil. 2016 年 7 月 12 日, 東京.
2) Sawabe, K. Mosquito collection in Brazil, 7-16, March, 2016. Workshop on Cooperation Studies for Zika Virus between Japan and Brazil. 2016 年 7 月 12 日, 東京.
3) Fujita, R., Kuwata, R., Kobayashi, D., Bertuso, A.G., Isawa, H., Sawabe, K. Characterization of Bustos virus, a new member of the Negevirus group isolated from a *Mansonia* mosquito in the Philippines. 49th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology: International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control. 2016 年 7 月 24－28 日, トゥール, フランス.
4) Sato, T., Isawa, H., Fujita, R., Itokawa, K., Hayashi, T., Yamauchi, T., Watanabe, M., Itoyama, K., Sawabe, K. Relationship between ixodid tick fauna and its host animals in Kanagawa Prefecture, Japan, evaluated by reverse line blot assay. XXV International Congress of Entomology 2016. 2016 年 9 月 25－30 日, オーランド, 米国.
5) Kasai, S. Metabolic and target site resistance to pyrethroids. 261 Symposium: Duplications, Deletions, and Other Mutations: Deciphering the Molecular Basis of Insecticide Resistance. XXV International Congress of Entomology 2016. 2016 年 9 月 25－30 日, オーランド, 米国.
6) Scott, J.G., Sun, H., Tong, K.P., Kasai, S. Multiple mechanisms for changing a target site. 261 Symposium: Duplications, Deletions, and Other Mutations: Deciphering the Molecular Basis of Insecticide Resistance. XXV International Congress of Entomology 2016. 2016 年 9 月 25－30 日, オーランド, 米国.
7) Itokawa, K., Komagata, O., Ogawa, K., Kasai, S., Tomita, T. Targeting a detoxification enzyme gene using two genome editing technologies to test causality for insecticide resistance. XXV International Congress of Entomology 2016. 2016 年 9 月 25－30 日, オーランド, 米国.
8) Kasai, S. Genetics of insecticide resistance: target site modifications. International Workshop on Insecticide Resistance and Emerging Arboviruses: Challenge and Prospects. 2016 年 12 月 5 日, リオデジャネイロ, ブラジル.
9) Sawabe, K. The 2014 dengue outbreaks in Japan and vector control after the dengue. Arbovirus Symposium. 2017 年 3 月 8－9 日, レシフェ, ブラジル.

2. 国内学会

1) 助廣那由, 石原 拓, 木田 中, 高橋直樹, 原 徳壽, 津田良夫. 成田国際空港における国際線航空機および空港区域内における蚊の採集結果. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.
2) 金 京純, 津田良夫. 鳥取県東部および岡山県蒜山における蚊相と鳥マラリア原虫の検出. 第68回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.
3) 前川芳秀, 小川浩平, 駒形修, 津田良夫 沢辺京子. 日本産蚊の分子生物学的種同定のための DNA バーコードの整備. 第68回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.
4) 沢辺京子, 前川芳秀, 今西 望, 小林大介, 津田良夫. 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. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.
5) 沢辺京子. ブラジルにおけるジカウイルス感染症の現状および媒介蚊に関する現地視察報告. 緊急講演 Zika virus infection. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.
6) 前川芳秀, 津田良夫, 葛西真治, 皆川恵子, 数間 亨, 山内健生, 沢辺京子. 岡山市におけるデング熱媒介蚊の発生状況と防除に関する研究:幼虫発生源調査(2015年). 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.
7) 津田良夫, 前川芳秀, 葛西真治, 皆川恵子, 数間 亨, 山内健生, 沢辺京子. 岡山市におけるデング熱媒介蚊の発生状況と防除に関する研究:成虫の生息密度調査(2015 年). 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

8) 今西 望, 比嘉由紀子, Rueda, L.M., 皆川 昇, 沢辺京子. 北海道における蚊の分布調査で得られた *Anopheles belenrae* および *Culiseta kanayamensis* に関する知見. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

9) 山内健生, 比嘉由紀子, Bertuso, A.G., 沢辺京子. フィリピンのルソン島とミンドロ島における家畜寄生マダニの調査. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

10) 鍬田龍星, 伊澤晴彦, 糸川健太郎, 佐々木年則, 駒形 修, 葛西真治, 冨田隆史, 津田良夫, 小林睦生, 前田健, 沢辺京子. 蚊のゲノムに内在するウイルス様配列について. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

11) 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抗ウイルス機構. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

12) 藤田龍介, 鍬田龍星, Bertuso, A.G., 比嘉由紀子, 小林大介, 佐々木年則, 伊澤晴彦, 沢辺京子. フィリピン捕集蚊より分離された Negevirus の解析. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

13) 伊澤晴彦, 藤田龍介, 小林大介, 江尻寛子, 糸川健太郎, 山内健生, 加藤大智, 三條場千寿, 小林睦生, 佐々木年則, 沢辺京子. 次世代シークエンサーを用いた吸血性節足動物保有ウイルスの迅速・網羅的な同定. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

14) 佐藤智美, 伊澤晴彦, 渡辺 護, 山内健生, 藤田龍介, 糸川健太郎, 糸山 享, 沢辺京子. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の患者発生地で採集されたフタトゲチマダニの吸血源動物の特定. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

15) 小林大介, 伊澤晴彦, 藤田龍介, 糸川健太郎, Osei, J.H.N., Opoku, M., Agbekudzi, A., Joannides, J., Agbosu, E., Dadzie, S., Bonney, J.H.K. 佐々木年則, 沢辺京子, 大橋光子, 太田伸生. 2015 年ガーナ共和国アクラ市各所における疾病媒介蚊およびマダニの採集と保有ウイルスの調査. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

16) 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. ネッタイシマカのピレスロイド抵抗性関連ナトリウムチャネル変異を対象とするジェノタイピング法の開発. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

17) 葛西真治, 小川浩平, 糸川健太郎, 駒形 修, 冨田隆史. ネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性機構(4)解毒酵素遺伝子のノックアウト. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

18) 糸川健太郎, 駒形 修, 葛西真治, 小川浩平, 冨田隆史. ゲノム編集技術による殺虫剤抵抗性と解毒酵素遺伝子過剰発現の因果関係を検証. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

19) 駒形 修, 比嘉由紀子, 武藤敦彦, 平林公男, 吉田政弘, 佐藤 卓, 二瓶直子, 沢辺京子, 小林睦生. 春季の月平均気温によるヒトスジシマカの吸血行動開始時期の予測. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

20) 駒形 修, 益子玲於奈, 糸川健太郎, 糸山 享, 葛西真治, 冨田隆史. トコジラミアセチルコリンエステラーゼの大腸菌による発現システムの構築. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 2016 年 4 月 16－17 日, 宇都宮市.

21) 小林大介, 伊澤晴彦, 藤田龍介, 糸川健太郎, Osei, J.H.N., Opoku, M., Agbekudzi, A., Joannides, J., Agbosu, E., Dadzie, S., Bonney, J.H.K. 佐々木年則, 沢辺京子, 大橋光子, 太田伸生. 2015 年ガーナ共和国における疾病媒介蚊およびマダニの採集調査ならびに保有ウイルスの解析. 第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2016 年 5 月 13－14 日, 猪苗代町.

22) 沢辺京子, 前川芳秀, 林 昌宏. ブラジルにおけるジカウイルス感染症媒介蚊と対策の現状. 第 51 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2016 年 5 月 13 日, 猪苗代町.

23) 沢辺京子. 媒介蚊について 2. ジカウイルス病. 平成 28 年日本感染症学会, ジカウイルス感染症協力医療機関講習会, 2016 年 6 月 5 日, 東京.

24) 沢辺京子, 益子玲於奈, 前川芳秀, 糸川健太郎, 佐藤智美, 伊澤晴彦, 松村隆之, 阿戸 学, 山本明彦, 一二三 亨. セアカゴケグモ毒素の採取と粗精製、毒素の性状について. 第 38 回日本中毒学会総会・学術集会, 2016 年 7 月 23－24 日, 新潟市.

25) 駒形 修. 感染症を媒介する衛生動物の分布に関する知見. 微生物学分科会（ウイルス）シンポジウム, 地球温暖化と節足動物媒介性感染症を考える. 第 159 回日本獣医学会学術集会, 2016 年 9 月 6 日, 藤沢市.

26) 藤田龍介, 伊澤晴彦, 沢辺京子. 蚊が運ぶウイルス －Zika, Dengue, そしてさらに見つかる新規ウイルスたち－. 第 12 回昆虫病理研究会シンポジウム, 2016 年 9 月 15－17 日, 岩沼市.

27) 津田良夫, 前川芳秀, 糸川健太郎, 木村悟朗, 葛西真治. 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（2016 年）. 第 68 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2016 年 10 月 22 日, 東京.

28) 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. なぜネッタイシマカは, 日本脳炎ウイルスのベクターにならないのか―蚊体内での考察―. 第 68 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2016 年 10 月 22 日, 東京.

29) 佐藤智美, 伊澤晴彦, 藤田龍介, 糸川健太郎, 林 利彦, 糸山 享, 沢辺京子. 神奈川県厚木市で採集されたマダニと吸血源動物との関係解析. 第 68 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2016 年 10 月 22 日, 東京.

30) 渡辺 護, 大石英明, 沢辺京子. 兵庫県豊岡市北部における疾病媒介蚊の発生状況調査. 第 68 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2016 年 10 月 22 日, 東京.

31) 渡辺 護, 沢辺京子. 能登半島珠洲市における疾病媒介蚊の発生状況調査. 第 68 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2016 年 10 月 22 日, 東京.

32) 糸川健太郎. 蚊のゲノム編集の最前線. 招待講演, 第 68 回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2016 年 10 月 22 日, 東京.

33) 沢辺京子. 蚊媒介感染症の現状と対策. 第 75 回日本公衆衛生学会総会公開シンポジウム 39, 建築物衛生のこれからの課題, 2016 年 10 月 28 日, 大阪市.

34) 前川芳秀, 葛西真治, Yen, N.T., Phong, T.V., 沢辺京子. ベトナム・ハノイ市における都市部と農村部での蚊相調査. 第 57 回日本熱帯医学大会, 2016 年 11 月 5－6 日, 東京.

35) 小林大介, 伊澤晴彦, 藤田龍介, Osei, J.H.N., Agbosu, E., Bonney, J.H.K., Dadzie, S., 沢辺京子, 大橋光子, 太田伸生. ガーナ共和国における疾病媒介節足動物の採集調査ならびに保有ウイルスの解析. 第 57 回日本熱帯医学会大会, 2016 年 11 月 5－6 日, 東京.

36) 沢辺京子. デング熱等蚊媒介感染症と媒介蚊について. 内科領域におけるウイルス感染症～ウイルス感染症に対する最新の知識と治療～, 日本内科学会学術集会第 44 回内科学の展望, 2016 年 11 月 27 日, 広島市.

37) Fujita, R., Kuwata, R., Kobayashi, D., Bertuso, A.G., Isawa, H., Sawabe, K. Molecular analysis of Bustos virus, a new isolate from *Mansonia* mosquito. 第 39 回日本分子生物学会, 2016 年 11 月 30 日－12 月 2 日, 横浜市.

38) 津田良夫. ヒトスジシマカの移動・分散調査結果. 第 51 回ペストコントロールフォーラム, 2017 年 2 月 9－10 日, 熊本市.

39) 駒形 修. ヒトスジシマカの生態学. JST 戦略的創造研究推進事業 RISTEX 科学技術イノベーション政策のための科学研究開発プログラム, 第 1 回実装のための感染症数理モデルアドバンスドコース「リスクマップの社会実装」, 2017 年 2 月 22 日, 立川市.

40) 沢辺京子. デング熱・ジカ熱国内流行阻止に向けた媒介蚊対策. 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, 2017 年 3 月 16 日, 東京.

41) 小林大介, 伊澤晴彦, 藤田龍介, Osei, J.H.N., Agbosu, E., Bonney, J.H.K., Dadzie, S., 大橋光子, 沢辺京子, 太田伸生. ガーナ産野外捕集蚊から分離された新規 RNA ウイルスの性状解析. 第 61 回日本応用動物昆虫学会大会, 2017 年 3 月 27－29 日, 小金井市.

42) 沢辺京子. 媒介蚊対策の最前線, デング熱・ジカウイルス感染症対策の現状と将来展望. 第 61 回日本応用動物昆虫学会大会, 公開シンポジウム「人間社会と虫」, 2017 年 3 月 27－29 日, 小金井市.

43) 糸川健太郎, 駒形 修, 葛西真治, 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分子機構, 第 61 回日本応用動物昆虫学会大会, 2017 年 3 月 27－29 日, 小金井市.

１２．獣 医 科 学 部

部 長　森川 茂

概　要

獣医科学部は、戸山庁舎に配置され、第１室、第２室、第３室の３室で構成される。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、リッサウイルス感染症、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、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）、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、協力研究員２名　大塚亨（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、田中智奈美（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、 実習生３名　望月あみ(千葉化学大学　危機管理理学部)、北条実由紀（麻布大学　生命環境科学部）、阿崎美佳（日本大学　文理学部物理生命システム学科）が入所した。 また、研究協力員３名　大塚亨（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、Boldbaartar Bazartseren（モンゴル獣医学研究所）、岡田貴志（東京農工大学　農学部付属国際家畜感染症防疫研究教育センター）、研究生１名　比嘉雅彦（日本獣医生命科学大学　獣医保健看護学科）、実習生２名　望月あみ(千葉科学大学　危機管理理学部)、稲木由衣（麻布大学生命　環境科学部）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 28 年度には、患者 3 例（*Brucella abortus* (*B. abortus*)感染1例、*B.canis* 感染2例）が届け出られ、1999 年度からの累計では、39 例（*B.melitensis* または *B.abortus* 感染 13 例、*B.canis* 感染 26 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、近年 *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多い。そこで、国立感染症研究所の血清銀行の近年の保存血清を用いて、一般人の *B. canis* に対する抗体を測定した。その結果、6/1,000（0.6%）が抗体陽性を示した。抗体陽性率 3.9%と報告があった 1970 年代ほどではないが、現在でも、潜在的な *B. canis* 感染者が存在していることが明らかとなった。[今岡浩一、朴ウンシル、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感染性の検討

無尾類にから分離されたブルセラ属菌（Novel Brucella）3 株（A141, A105 と A9h）の *in vitro* での細胞内動態と増殖能を検討し、*B. abortus* との動態・増殖能を比較した。Novel Brucella の 3 株はいずれもヒト培養細胞に感染し、約 24 時間後をピークとして増殖した。このうち A141 株は、細胞に感染し易く、初期の感染菌量が多くなるため早期にピークに達した。*B. abortus* と *B. suis* も同様の増殖を示すが、*B. canis* は Novel Brucella よりも効率が悪かった。次に、ELISA 法を用いて、各種抗血清と各菌株との反応を調べ、抗原性を検討した。3 種の Novel Brucella で抗原性に明らかな違いが認められた。Real-time PCR 法による遺伝子検出法を検討したが、A141, A105 と A9h には明らかな反応性の違いが認められた。これらのことから、Novel Brucella は 3 種 3 様の性状を示す事が明らかとなった。[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

Capnocytophaga canimorsus (*C. canimorsus*) は、ヒトがイヌやネコに咬傷・掻傷（以下、咬掻傷）を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計 68 例（うち死亡 16 例）を把握し、 (1) 患者は中高年齢者中心であり、(2) 基礎疾患の有無によらず、(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、ことを確認した。また、東京都動物愛護相談センター引取りネコの *C. canimorsus* 保菌率を検討し、1 歳以上 63.7%、1 歳未満 18.6%、歯あり 52.0%、歯なし 13.2%と、年齢や歯の有無で保菌率に差があることを明らかにした。さらに、2016 年に新菌種として認められた *C. canis* についても保菌率を検討したところ、*C. canimorsus* と同様の保菌状況を示した。また、*C. canimorus* 特異的迅速検出法として、SYBR Green を用いた Real-time PCR 法を開発した。また、*C. canimorsus* の国内臨床分離株について、MALDI-Biotyper を用いた質量分析法による解析を行った。その結果 17 株中 16 株が十分高いスコアで *C. canimorsus* と同定され、本法が *C. canimorsus* の菌種同定に有用であることが確認された。[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）、鈴木仁人（感染研・細菌第二部）、蓮池陽子、岡島淳悟、田中智奈美（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* が知られていたが、近年、我々の調査・解析により、クマネズミの保菌している *Strteptobacillus* 属菌は *S. notomytis* であることが明らかとなった。さらに、小笠原諸島で捕獲され繁殖されているクマネズミより分離された菌株の遺伝子を詳細に検討したところ、*S. moniliformis* や *S. notomytis* と遺伝子的に異なっており、新菌種 *S. ratti* として報告した。これらの各菌種を判別・同定する特異的遺伝子検出法を開発した。[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. Bas-Congo ウイルスの調査研究

1．Bas-Congo ウイルスのウイルス学的解析

Bas-Congo ウイルス（BASV）は、コンゴ民主共和国で 3 名のウイルス性出血熱患者から検出された。患者血清中のウイルス遺伝子の次世代シークエンス解析から、BASV はラブドウイルス科のウイルスと同定されたが、既知のラブドウイルスとはゲノム構造が異なっており、属分類は未定である。患者からウイルスは分離されていないため、ウイルス学的性状など基礎データが乏しい。そこで、BASV のウイルス学的性状を解析するため、水疱性口内炎ウイルス（VSV）のシュードタイプ（BASVpv）を作成した。まず、BASV の感染宿主域を BASVpv により解析した結果、ヒト、サル、ネコ、イヌ、ウサギ、ハムスター、マウス、コウモリの細胞が感受性を示した。同じ動物由来でも由来組織等により BASVpv 感受性に差が見られたが、VSV 同様に広い宿主域を持つことが示唆された。

多くのラブドウイルスは受容体結合後にエンドゾーム内の低 pH 環境下で膜融合を起こし、細胞質内へ侵入する。そこで、BASV 感受性細胞に endosomal acidification inhibitor を処理し、BASVpv の感染性を解析した結果、濃度依存的に細胞への侵入および感染が阻害された。さらに、BASV の膜糖蛋白質（G 蛋白質）を一過性に発現させた細胞を低 pH 処理し、細胞融合能を観察した結果、pH5 で顕著に細胞融合が確認された。つまり、BASV の細胞内侵入は BASV の G 蛋白

質が pH 依存性に構造変化を起こし、膜融合能が活性化することによるもので、特に至適 pH は pH5 であることが分かった。[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）]

2. Bas-Congo ウイルスの抗体作製および診断法の開発

BASV は感染性ウイルスが分離されていないため、基礎データが乏しく、BASV に対する抗体や診断法も確立されていない。そこで、BASV の N および G 蛋白質に対する抗体の作製および間接蛍光抗体法（IF）による抗体検出法、BASVpv を用いた中和抗体の測定法の開発を試みた。まず、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質を発現する組換えバキュロウイルスをそれぞれ作製し、家兎に免疫して N 蛋白質および G 蛋白質に対する抗体を作製した。特に BASV の G 蛋白質に対する抗体は BASVpv に対する感染中和能があることが確認された。この結果から、BASVpv を用いて BASV に対する中和抗体測定が可能であり、診断にも有用であることが分かった。さらに、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質を持続的に発現する HeLa 細胞を確立した。これら細胞を用いて、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質に対する抗体を用いて IF を行うと、特異蛍光が確認され診断にも有用であると考えられた。[朴ウンシル、今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、森川茂（感染研・獣医科学部）]

3. Bas-Congo ウイルスの有効なワクチン候補開発

BASV の遺伝子配列は 97%程が患者血清中のウイルス遺伝子から決定されているが、ウイルスは分離されていないため自然宿主、病原性、感染経路など全く不明である。流行時には医療スタッフへの二次感染もあったことから、BASV 感染によるウイルス性出血熱患者が発生した際に、医療スタッフ、疫学調査対応者や実験室診断検査対応者等への感染リスクを考慮すると、有効なワクチン候補を事前に用意しておくことは重要である。そこで、BASV に対する有効なワクチン開発を目的とし、BASV の G 蛋白質を発現する組換えバキュロウイルスを家兎に免疫した結果、BASVpv に対する中和抗体が誘導できた。組換え G 蛋白質は、有効なワクチン候補になり得ると考えられた。次に、BASV の G 蛋白質を外套した VSV シュードタイプ(BASVpv)を過酸化水素で不活化し、家兎に免疫原として免疫する予定であり、大量培養を実施中である。GFP 発現型 BASVpv を 3%過酸化水素で、4℃、6~7 時間処理すると感染性はなくなるが、抗原性は保たれることが確認された。また、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質をそれぞれ発現する組換えワクシニアウイルスを作製している。[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）]

V. 細胞培養痘そうワクチンに関する研究

1. 細胞培養痘そうワクチンの特性解析および品質試験法に関する研究

Lister 株から低温馴化により LC16 株、LC16mO 株を経由して樹立された安全性の高いワクチン株である LC16m8 株は、継代培養するとプラークサイズのやや大きい LC16mO 型のウイルス（medium size plaque; MSP）が出現する。これまでの解析から、MSP は *b5r* 遺伝子の一塩基欠失を相補する変異ウイルスであり、その変異のパターンが複数あることが分かっている。これまでに、バイオアッセイで得られる MSP の出現頻度やパターンの解析が次世代シークエンス（NGS）解析により得られることを示した。 NGS 解析は取得データの処理に比較的時間を要することから、これまでの MSP の変異パターン解析で得られた主要な MSP を定量的に検出可能な real-time PCR 法を開発した。その結果、MSP の遺伝子変異特異的配列を 3’末端とする primer を用いた real-time PCR で、LC16m8 株と特定の MSP を識別できた。本試験法で、主要な MSP と LC16m8 株を種々の割合で混合した物を用いたスパイク試験を実施した結果、MSP 含有率 0.01~1%まで検出できた。ワクチン中の MSP のうち L1, L4, L5 型の 3 種の頻度の高い MSP を検出した結果、本試験法はバイオアッセイよりも遥かに簡便に含有率を算出できたことから品質管理法としても有用と考えられた。[森川茂、朴ウンシル、奥谷晶子（感染研・獣医科学部）、吉河智城、下島昌幸、西條政幸（同・ウイルス第一部）、倉根一郎（同・所長）、横手公幸、金原知美、丸野真一、新村靖彦（化血研）]

VI. 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

国・自治体・獣医系大学の協力を得て、狂犬病対応ガイドラインに基づいて行われている国内の体制整備の現状分析を行って自治体における狂犬病の動物調査モデルの開発とこれに係る検査技術等の伝達と改良、発生時を想定した対応の準備に必要となる連携及び施設運用モデルの検討を行った。研究に参加した自治体で、動物由来感染症の感染源対策に関与する自治体の公衆衛生部局間の連携及び衛生研究所・保健所・動物（愛護）管理センターの協働モデルを試行・検証し、同時に動物の狂犬病調査実施とこれを利用した狂犬病調査に付随して必要となる鑑別診断や施設衛生管理等の疾病対策として外部寄生体や寄生虫疾患調査の研修と試行・検討・普及啓発を行った。また、真正の狂犬病を理解するためにアジアの狂犬病発生国の感染症研究所（フィリピン熱帯医学研究所、台湾動物衛生研究所等）と動物の狂犬病検査に係る技術等の交換と発生対策に係る知見の

共有を自治体担当者と共に行った。[井上智、堀田明豊、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、鈴木尚子(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);本谷匠、後藤慶子(茨城県衛生研究所);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)、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)、山田健太郎(大分大学医学部);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(徳島県、沖縄県、北海道、熊本県、名古屋市;富山県、新潟県、石川県、福井県、富山市、新潟市、金沢市;宮崎県、長崎県、大分県、鹿児島県、沖縄県、宮崎市、福岡市、北九州市、熊本市;石川県、愛知県、福島県、福岡県)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

狂犬病ウイルスのベトナム全国での分子疫学を明らかにするために NIHE、ベトナム南部のホーチミンパスツール研究所、感染源動物のサーベイランスが可能な獣医系の診断研究所を連携させたラボラトリーネットワークによる共同研究を構築し、地方衛生研究所の専門家と開発した診断系 (RT-LAMP 法、realtime RT-PCR 法等) について検証を行い日本の狂犬病診断体制強化を行った。野外株を利用した検査系の検証と分離株の分子疫学的解析によってベトナム近隣国で流行しているウイルス株と同じ遺伝子型を示すサブグループが示され、医系機関と獣医系機関の連携構築によって国境を越えて輸入される食用犬の流通経路とイヌの流行株調査及び臨床診断のみで終わっている患者検体の実験室診断によるベトナム全土での狂犬病流行機序の解明がベトナムの狂犬病制御に必要であると考えられた。[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)、戸田純子(熊本県保健環境科学研究所);Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu,、Ngo Chau Giang,、Hoan Thi Thu Ha(ベトナム NIHE);Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam(ベトナム・ホーチミンパスツール研究所)、Hồ Bang(ベトナム・ザライ省予防医療センタ)、Huong Thi Thu Huynh(ベトナム・ホーチミン市動物衛生獣医診断センター)]

3. 近隣アジア諸国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

近隣国の医系・獣医系機関の狂犬病専門部局と輸入狂病を想定した簡易診断系の構築に係る狂犬病ウイルスの遺伝子検出と抗原検出系の検証等に必要となる検査マテリアルと診断プロトコルの共有、分離株の遺伝子解析を加えた狂犬病流行の最新知見等に関する情報の共有等を行った。[井上 智、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂;畠山薫(東京都健康安全研究センター)、水越文徳(栃木県保健環境センター);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)、戸田純子(熊本県保健環境科学研究所)、平良雅克(千葉県衛生研究所);朴天鎬(北里大学);Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang,、Hoan Thi Thu Ha(ベトナム NIHE)、Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam(ベトナム・ホーチミンパスツール研究所)、Hồ Bang(ベトナム・ザライ省予防医療センタ)、Huong Thi Thu Huynh(ベトナム・ホーチミン市動物衛生獣医診断センター);謝若郁、楊志元(台湾 CDC)、Shu-Chia Hu(台湾動物衛生研究所)、Boldbaatar Bazartseren(モンゴル・獣医学研究所);Daria L. Manalo(フィリピン・熱帯医学研究所)、Wilaiwan Petsophonsakul、Yada Aronthippaitoon(タイ・チエンマイ大学)]

4. 近隣アジア諸国と協働した狂犬病の簡易診断技術開発と分子疫学を利用した発生トレンド解析に係る研究

タイ・チェンマイで行われている狂犬病に対するヒト及びイヌの集団免疫における簡易抗体調査を可能にする cELISA 法の開発をチェンマイ大学(医学部・獣医学部)との協働で行った。モンゴル・台湾・ベトナムで流行している動物の狂犬病ウイルス株について遺伝子配列の特定を行って発生トレンドの推移を解析した。オオカミ由来の狂犬病ウイルス株がモンゴルで流行していることが示された。[野口 章、朴ウンシル、森川 茂、井上 智;Wilaiwan Petsophonsakul、Yada Aronthippaitoon(タイ・チエンマイ大学、Boldbaatar Bazartseren(モンゴル・獣医学研究所);Daria L. Manalo(フィ

リピン・熱帯医学研究所）；河合明彦（生産開発科学研究所）；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）；朴天鎬（北里大学）；Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang,、Hoan Thi Thu Ha（ベトナム NIHE）、Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam（ベトナム・ホーチミンパスツール研究所）、Huong Thi Thu Huynh（ベトナム・ホーチミン市動物衛生獣医診断センター）；謝若郁、楊志元（台湾 CDC）、Shu-Chia Hu（台湾動物衛生研究所））

5. シュードタイプ VSV で算出した狂犬病ウイルス中和抗体価の国際単位への換算

狂犬病ウイルス（RABV）の中和抗体検査（SNT）は、イヌの輸出入検疫、地域における免疫保有率の調査、ヒトのワクチン接種後の抗体検査等で行われている。これまでに、感染性 RABV を使用しないで安全かつ簡便に中和抗体を測定できるよう、分泌型アルカリフォスファターゼ（SEAP）発現シュードタイプ VSV を利用した SNT（シュードタイプ法）を開発した。現在の国際標準法である RFFIT では中和抗体価が国際単位（international unit: IU）に換算して算出され、0.5 IU/ml 以上が感染防御に有効な指標とされている。一方、シュードタイプ法では、これまで中和抗体価の単位として血清の希釈倍数を用いてきたことから、シュードタイプ法で得られた抗体価の IU への換算を試みた。狂犬病ワクチン接種／未接種ヒト血清に対して RFFIT とシュードタイプ法を実施し、RFFIT では定法により中和抗体価を算出した。シュードタイプ法では、無血清対照接種細胞の培養上清の OD_{405} 値から 75%減少した被験血清の血清希釈倍数（D75）を中和抗体価としたうえで、標準血清（IU=2.0）の D75 を IU = 2.0 相当と規定し、（被検血清の D75／標準血清の D75）×2.0 = 被検血清の IU とした。両法で得られた中和抗体価（IU）は相関しており（R^2 = 0.597）、とくに IU＜10 の血清において高い相関（R^2 = 0.852）が認められた。シュードタイプ法により安全、迅速に RABV の中和抗体の IU を求めることができた。[加来義浩、野口章、井上智、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および病原性遺伝子の BLAST 検索を行った。その結果、ベトナム患者由来の炭疽菌は非常に近縁であることおよび土壌由来の炭疽菌類似菌はセレウス菌であることが明らかとなった。[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。

土壌由来 11 株および患者由来 8 株のセレウス菌について次世代シークエンサ（MiSeq）による全ゲノム解読を行った。MLST 解析および SNP による系統解析を行ったところ、土壌由来の株の中には臨床分離株由来と近縁であることが明らかとなった。一方、病原性遺伝子の有無を BLAST 検索では、一部の菌で溶血毒素遺伝子 *hbl* オペロン、細胞毒素 *cytK* 遺伝子が欠失してい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]

3. 緑茶由来カテキンの炭疽菌抗菌効果の検証

緑茶由来カテキン（ガレート型カテキン）は、野生型および抗菌剤耐性炭疽菌(栄養型)に対する高い増殖阻止効果があり、抗菌剤（細胞壁合成阻害剤、DNA ジャイレース機能阻害剤、タンパク質合成阻害剤）との併用効果を測定したところ、すべての抗菌剤において 100μｇ/ｍｌのカテキン添加下において増殖が完全に阻止された。一方抗菌剤との併用の際、最小有効濃度を少し超えた程度の濃度添加下ではカテキンが拮抗的に働き、抗菌効果を阻害することが明らかとなった。このようなカテキンとの併用効果は抗菌剤の作用機序別に異なり、細胞壁合成阻害剤との併用効果が最も高かった。カテキンは炭疽菌芽胞そのものにたいする殺菌効果はなかったが、芽胞が栄養型へ発芽した後の増殖阻止効果が認められた。[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VII. ヘニパウイルスに関する研究

1. ヘニパウイルスの細胞内領域末端を欠損した F, G 蛋白質を用いた効率的なシュードタイプ VSV の作製

ヘンドラウイルス（HeV）は致死率が高いうえ、治療法・ヒト用ワクチンが開発されていないことから、近縁のニパウイルス（NiV）とともに、多くの国で BSL4 病原体に分類されている。これまでに NiV についてはシュードタイプ VSV を用いた中和試験（SNT）を開発し、BSL2 における高感度・高特異性の血清診断が可能となっていたが、HeV については高力価のシュードタイプが作製できず、特異的な血清診断法を構築でき

なかった。そこで、HeV のエンベロープ蛋白質である F および G 蛋白質の細胞質内領域の末端部分をそれぞれ段階的に欠失させた変異蛋白質を発現し、高力価のシュードタイプの作製を試みた。その結果、HeV-FΔ22（末端 22 残基欠失）／GΔ16（同 16 残基）を組み合わせて使用したシュードタイプ VSV では、野生型 F, G 蛋白質を用いた場合より、約 8 倍高い力価が得られた。また NiV シュードタイプについても、同様に検討したところ、NiV-FΔ22（末端 22 残基欠失）／GΔ20（同 20 残基）の組み合わせで、野生型よりも約 5 倍高い力価が得られた。HeV, NiV の両シュードタイプを用いて、2014 年のフィリピンのニパウイルス感染症流行時の患者血清に対して comparative SNT を実施したところ、いずれの血清も NiV シュードタイプに対して、より高い抗体価を示した。本研究により、ヘニパウイルス感染症の疑い症例に対して、comparative SNT によりヘニパウイルスとニパウイルス感染症の血清学的な鑑別診断が可能となった。[加来義浩、朴ウンシル、野口章、今岡浩一、井上智、森川茂]

VII. 野兎病に関する研究

1. 日本分離 *Francisella tularensis* 継代菌のマウス病原性

日本分離 *F. tularensis* 継代菌のマウスに対する病原性を比較した。NVF1 および KU-1 株の Eugon チョコレート培地 10 および 20 代継代菌（EP10 および EP20）ならびに CDM 培地 50 代継代菌(CP50)を C57BL/6J マウスに 10^1cfu 皮内接種した。両株の EP10 接種群の全個体は接種後 5-9 日に斃死した。その接種後日数の中央値(MTD)は 8 であった。一方、NVF1 株 EP20 および CP50 接種群ならびに KU-1 株 EP20 接種群では生残個体が確認され、KU-1 株 CP50 接種群の斃死接種後日数の MTD は 9.5 であり、これら継代菌には病原性低下が認められた。両株の CP50 は各元株同様、細胞内増殖性を有したため、*F. tularensis* の病原性は必ずしも細胞内増殖性と一致しないことが示された。また *F. tularensis* は Eugon チョコレート培地で 10-20 代の継代にて弱毒化することが示された。[堀田明豊、藤田修、田徳雨、宇田晶彦、森川茂]

2. *Francisella tularensis* の経表皮感染に関する研究

F. tularensis の表皮からの感染性を体毛の無い Hos:HR-1 マウスにて検証した。マウス左腹部に、19G 注射針にて皮膚を 4 箇所穿刺した穿刺群、アセトンを 10 分間塗布し皮膚バリアを破壊したアセトン処理群、および無処理群の 3 群に分け、マウス左腹部に 10^7cfu の *F. tularensis* 菌液を塗布した。穿刺群は全 8 匹が接種後 6-8 日で斃死した。アセトン処理群は接種後 8 日に 1 匹、9 日に 2 匹、15 日に 3 匹が左側腸骨下リンパの腫脹を呈し、斃死したが、2 匹が生残した。無処理群は全 6 匹が接種後 21 日まで生残した。生残した 8 匹の血清に抗 *F. tularensis* 抗体は認められず、これらマウスは感染成立しなかったと考えられた。斃死マウスの皮膚切片を観察したところ、毛組織に菌抗原および炎症細胞の集簇が認められた。また穿刺群では皮下組織の広範囲に、アセトン処理群ではリンパ節に限局的に、菌抗原が認められた。*F. tularensis* は無処理の皮膚上からの感染は極めて困難であるが、アセトン処理のようなわずかな脱脂処理により皮膚上から感染可能となることが示唆された。[堀田明豊、田徳雨、朴ウンシル、宇田晶彦、藤田修、森川茂]

3. 野兎病菌の病原性に関わる遺伝子の新規同定

強毒 SCHU P9 株から、FTT0217、FTT0245、FTT0272、FTT0627、FTT0965c、FTT1261c 遺伝子破壊株を作出し、その病原性を評価した。4 種類の遺伝子破壊株（ΔFTT0217、ΔFTT0245、ΔFTT0272、ΔFTT1261c）は、強毒 SCHU P9 株と同等の液体培地およびマクロファージ中での生育能を示し、マウスに対する病原性も強く保たれていた。この事から、これらの 4 種類の遺伝子は病原性と無関係であるとが明らかとなった。一方で、FTT0627 遺伝子破壊株（ΔFTT0627）は、液体培地中での増殖速度が低下し、これに伴いマクロファージ中での生育も悪化、マウスに対する致死性（LD_{50}＝10^6 cfu）も有意に低下していた。また、FTT0965c 遺伝子破壊株（ΔFTT0965c）は、液体倍中での増殖速度は正常であったが、マクロファージ中での増殖能低下、マウスに対する完全なる病原性欠失が確認された。これらの結果から、野兎病菌 FTT0627 および FTT0965c 遺伝子は、野兎病菌の病原性に深く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、朴ウンシル、阿崎美佳、堀田明豊、藤田修、森川茂]

4. 野兎病菌 pdpC 遺伝子破壊株のワクチン効果と安定性に関する検討

野兎病菌 pdpC 遺伝子にイントロンを挿入することで遺伝子破壊した株（ΔpdpC）は、マウスに対する病原性を完全の失っている事をこれまでに明らかにした。本年度は、ΔpdpC 株のワクチン効果とゲノム安定性について検討した。ΔpdpC 株をワクチンとして接種した 3 週間後のマウスにおいて、接種経路（筋肉、皮下、経鼻）に依存せず抗野兎病菌抗体は強く誘導され、マウスの体内からは生菌が検出されず一掃されていた。また、ΔpdpC 株はマウスを用いて 19 代継代しても、pdpC 遺伝子破壊のために挿入したイントロンは安定的に維持されていた。これらの事から、マウス体内においても ΔpdpC 株の弱毒

性は安定的に維持されていると考えられた。また、強毒 SCHU P9 株を致死量の 100 倍量接種した無免疫のマウスは 6 日以内に全ての個体が死亡するのに対し、ΔpdpC 株で免疫したマウスは半数が生存した。これらの結果から、マウスに対する ΔpdpC 株の弱毒性は安定的に維持されるが、ワクチン効果は限定的である可能性が示唆された。[田徳雨、宇田晶彦、古山裕樹、朴ウンシル、阿崎美佳、堀田明豊、藤田修、森川茂]

VIII. SFTS および近縁ウイルスに関する研究

1. SFTS ウイルスの動物における抗体保有率の調査

これまでの調査で SFTS 非流行地だがシカの SFTS ウイルス抗体陽性率が高かった宮城県、SFTS 流行地に隣接する長野県、岐阜県、静岡県、滋賀県、これらに隣接する流行地の三重県、京都府、兵庫県の 8 府県のニホンジカ 200 頭の抗体陽性率を調査した。その結果、過去 3 年間抗体陽性率が 25 から 38%であった宮城県では 0%、長野県（25 頭）、岐阜県（23 頭）、静岡県（18 頭）では全て陰性、滋賀県で 3.6%、京都府 0%、三重県 4.2%、兵庫県 20%であった。昨年度までの調査で長野県は 3～7%、岐阜県は 0～3%、静岡県は 10～26%、滋賀県は 9～12%、京都府は 13～26%、三重県は 9～24%、兵庫県は 33～36%の抗体陽性率であった。これと比較して今年度はシカの抗体陽性率が低かった。抗体陽性率が調査した府県で低下した理由は不明であることから、継続した調査が必要である。今年度は陽性動物数が少なくウイルスは分離できなかった。[木村昌伸、朴ウンシル、今岡浩一、森川茂]

２．Bhanja ウイルスに関する研究

Bhanja 血清型ウイルスの Forecariah および Palma ウイルスを感染させた IFNA-/-マウス臓器の病理像を確認した。脾臓では全接種マウスにて高から中度の白脾髄の壊死や構造喪失、中等度の赤脾髄へのマクロファージ浸潤、ウイルス抗原陽性像が認められた。肝臓では全マウスで炎症細胞の集簇およびクッパー細胞の増殖が認められ、その周辺にウイルス抗原陽性像が認められた。また、肝細胞のシート状壊死が認められた。肺では肺胞壁の肥厚、炎症細胞の浸潤が認められたが、ウイルス抗原陽性は一部のみであった。胸腺では実質の壊死、ウイルス抗原陽性像が認められた。脳、腎臓、心臓においては病変およびウイルス抗原は一部の個体でのみ認められた。Forecariah および Palma ウイルスの主要増殖部位は脾臓および肝臓と考えられた。これらウイルスは神経組織にて増殖するとされる既報の Bhanja ウイルスとは異なる病原性を有す可能性がある。[堀田明豊、朴ウンシル、宇田晶彦、田徳雨、藤田修、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、堀田明豊、藤田修, 木村昌伸、森川茂）

平成 28 年度は、動物の野兎病のレファレンス機能向上を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 24 地衛研とレファレンスネットワークを構築して、パネル血清を利用した微量凝集反応試験および擬似検体を利用した遺伝子検査について EQA を実施した。

2. 行政検査・依頼検査等

1) ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査：４件(行) [今岡浩一]
2) カプノサイトファーガ感染症疑い患者検体または分離菌株の行政・依頼検査：1 件(行)、10 件(依) [鈴木道雄]
3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査： 1 件(行) [今岡浩一]
4) 野兎病疑い患者検体の血清学的検査　行政検査 2 件（広島県、東京都各 1 件）［藤田修、堀田明豊］
5) 野兎病菌疑い菌の細菌学的同定　行政検査 1 件（熊本県）［藤田修、堀田明豊］

研修業務

1) Inoue S., Noguchi A., Nguyen V.D., Huynh T.K.L., Bui C.T., Huynh H.T.T., Hsieh J.Y., Hu S.-C., Bazartseren B., Manalo D.L., Aronthippaitoon Y., 浦口宏二, 喜屋武向子, 畠山 薫, 戸田純子, 小平彩里, 水越文徳, 矢野さやか, 平良雅克. Workshop for molecular diagnosis of rabies and technical training at NIID. 2017 Jan. 9-10, Tokyo, Japan
2) 奥谷晶子. 動物由来感染症. FETP17 期生対象初期研修. 2016 年 4 月, 国立感染症研究所
3) 井上 智, 加藤卓也. 平成 28 年度第 1 回公衆衛生専門技術研修（学術講演会）. 神奈川県衛生研究所企画情報部. 2016 年 6 月 23 日, 神奈川県衛生研究所, 神奈川県
4) 井上 智, 水越文徳. 平成 28 年度石川県獣医師会公衆衛生部会研修会. 石川県獣医師会. 2016 年 6 月 30 日, ホテル金沢, 金沢市, 石川県
5) 井上 智, 堀田明豊. 平成 28 年度狂犬病予防業務北

陸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 12 月 1-2 日, 富山県衛生研究所, 富山県

6) 井上 智, 堀田明豊. 第 4 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 28 年度狂犬病予防業務九州・沖縄ブロック技術研修会, 主催:宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター・厚生労働省健康局結核感染症課. 2016 年 12 月 5-7 日, 宮崎大学, 宮崎県
7) 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, 東京都府中市警察大学校

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「人獣共通感染症・食品由来感染症実習プログラム」を、平成 28 年 9 月 12 日～9 月 16 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 28 年年 12 月 13 日～16 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 5 名を対象とした「VSV シュードタイプによる狂犬病ウイルス中和抗体の検出」研修と講義を担当した。[加来義浩、井上智、森川茂]

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) 「動物由来感染症の制御に資する検査・診断・予防法及びサーベイランスの強化と事前対応に関する研究」(新興実用化一般)(研究代表者:森川茂)研究分担:今岡浩一、宇田晶彦、奥谷晶子
2) 「アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究」(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
3) 「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
4) 「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」(研究代表者:西條政幸)研究分担:森川茂
5) 「一類感染症等の新興・再興感染症の診断・治療・予防法の研究」(研究代表者:下島昌幸)研究分担:森川茂
6) 「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に対する診断・治療・予防法の開発及びヒトへの感染リスクの解明等に関する研究」(研究代表者:西條 政幸)研究分担:森川茂

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) 「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
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(H28-新興行政-一般-006)」(研究究代表者:宮崎義継)研究分担:森川茂
3) 「バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法の確立、及び細胞培養痘そうワクチンの有効性、安全性に関する研究(H26-新興行政-指定-002)」(研究究代表者:西條政幸)研究分担:森川茂

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)「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
5) 基盤研究 (C) 「野兎病菌の感染防御に必要不可欠な宿主遺伝子の同定」(研究代表者 : 宇田晶彦)

IV. 一般財団法人助成金

1) 大下財団研究助成金「野兎病菌の経表皮感染メカニズムに関する研究」(2016 年-2017 年)(助成対象者:堀田明豊)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Tobias Eisenberg, Koichi Imaoka, Masanobu Kimura, Stefanie P. Glaeser, Christa Ewers, Torsten Semmler, Jörg Rau, Werner Nicklas, Tsutomu Tanikawa and Peter Kämpfer. *Streptobacillus ratti* sp. nov. isolated from a black rat (*Rattus rattus*). Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 66(4):1620-1626, 2016

2) Park,E-S., Suzuki,M., Kimura,M., Mizutani,H., Saito,R., Kubota,N., Hasuike,Y., Okajima,J., Kasai,H., Sato,Y., Nakajima,N., Maruyama,K., Imaoka,K. and Morikawa,S. Epidemiological and pathological study of feline morbillivirus infection in domestic cats in Japan. BMC Veterinary Research, 12:228, 2016

3) Boonsriroj H., Manalo L.D., Kimitsuki K., Shimatsu T., Shiwa N., Shinozaki H., Takahashi Y., Tanaka N., Inoue S. and Park C.-H. A pathological study of the salivary glands of rabid dogs in the Philippines. J. Vet. Med. Sci. 78(1):35-42, 2016

4) Chang S.-S., Tsai H.-J., Chang F.-Y., Lee T.-S., Huang K.-C., Fang K.-Y., Wallace R.M., Inoue S., Fei C.-Y. Government response to the discovery of a rabies virus reservoir species on a previously designated rabies-free island, Taiwan 1999 to 2014. Zoonoses Public Health. 63:396-402. doi: 10.1111/zph.12240. [Epub ahead of print], 2016

5) Chiou H.-Y., Jeng C.-R., Wang H.-Y., Inoue S., Chan F.-T., Liao J.-W., Chiou M.-T., and Pang V.F. Pathology and molecular detection of rabies virus in ferret badgers associated with a rabies outbreak in Taiwan. J.Wildlife Dis., 52:57-69, 2016

6) Nguyen T.T., Nguyen T.K.A., Yoshihiro K., Ngo C.C., Nguyen V.D., and Inoue S. Development of neutralization test for determination of antibody against rabies using pseudotyped Vesicular stomatitis virus (pseudotyped vsv). J.Prev.Med., XXVI:151-159, 2016

7) Lee S., Kaku Y., Inoue S., Nagamune T. and Kawahara M. Growth signalo body selects functional intrabodies in the mammalian cytoplasm. Biotechnol.J., 11:565-573, 2016

8) Shimatsu T., Shinozaki H., Kimitsuki K., Shiwa N., Manalo D.L., Perez R.C., Dilig J.E., Yamada K., Boonsriroj H., Inoue S. and Park C.-H. Localization of the rabies virus antigen in Merkel cells in the follicle-sinus complexes of muzzle skins of rabid dogs. J.Virol.Methods., 237:40-46, 2016

9) Nguyen T. D., Takasuka H., Kaku Y., Inoue S., Nagamune T., Kawahara M. Engineering a growth sensor to select intracellular antibodies in the cytosol of mammalian cells. J. Biosci. Bioeng. 124, 125–132. [doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.02.017] , 2017

10) Fujino M, Sato H, Okamura T, Uda A, Takeda S, Ahmed N, Shichino S, Shiino T, Saito Y, Watanabe S, Sugimoto C, Kuroda M, Ato M, Nagai Y, Izumo S, Matsushima K, Miyazawa M, Ansari AA, Villinger F, and Mori K. Simian Immunodeficiency Virus Targeting of Cxcr3+ Cd4+ T Cells in Secondary Lymphoid Organs Is Associated with Robust Cxcl10 Expression in Monocyte/Macrophage Subsets. Journal of Virology, 2017, 91(13), e00439-17.

11) Saha SS, Hashino M, Suzuki J, Uda A, Watanabe K, Shimizu T, and Watarai. Contribution of Methionine Sulfoxide Reductase B (Msrb) to *Francisella Tularensis* Infection in Mice. FEMS Microbiology Letters, 2017, 364(2), fnw260.

12) Suzuki J, Hashino M, Matsumoto S, Takano A, Kawabata H, Takada N, Andoh M, Oikawa Y, Kajita H, Uda A, Watanabe K, Shimizu T, and Watarai M. Detection of *Francisella Tularensis* and Analysis of Bacterial Growth in Ticks in Japan. Lett Appl Microbiol., 2016, 63(4), 240-6.

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 Japan in Areas Where Tularemia Is Endemic. Japanese Journal of Infectious Diseases, 2016, 69(5), 431-4.

14) Suzuki J, Uda A, Watanabe K, Shimizu T, and Watarai M. Symbiosis with *Francisella Tularensis* Provides Resistance to Pathogens in the Silkworm. Scientific Reports, 2016, 10(6), 31476.

15) Uda A, Sharma N, Takimoto K, Deyu T, Koyama Y, Park ES, Fujita O, Hotta A, and Morikawa S. Pullulanase Is Necessary for the Efficient Intracellular Growth of *Francisella Tularensis*. PLoS One, 2016, 11(7), e0159740.

16) 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. 2016;69(2):131-4.

17) 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. 2016, 69(6): 525-527.

18) 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. 2016 Jan 6;1(1).
19) Arai S, Kang HJ, Gu SH, Ohdachi SD, Cook JA, Yashina LN, Tanaka-Taya K, Abramov SA, Morikawa S, Okabe N, Oishi K, Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (Sorex caecutiens). Vector Borne Zoonotic Dis. 2016 Jul;16(7):468-75.
20) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Yang M, Sugamata M, Morikawa S, Saijo M. Serologic assays for the detection and strain identification of Pteropine orthoreovirus. Emerg Microbes Infect. 2016 May 11;5:e44.
21) 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. 2016 Apr 5;10(4):e0004595.
22) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Morikawa S, Saijo M. Characterization of Glycoprotein-Mediated Entry of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus. J Virol. 2016, 12;90(11):5292-301.
23) Zamoto-Niikura A, Morikawa S, Hanaki KI, Holman PJ, Ishihara C. Ixodes persulcatus ticks as a vector for Babesia microti U.S. lineage in Japan. Appl Environ Microbiol. 2016 82(22):6624-6632.
24) Arai S, Taniguchi S, Aoki K, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Tanaka-Taya K, Masangkay JS, Omatsu T, Puentespina R Jr, Watanabe S, Alviola P, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Quibod MN, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Molecular phylogeny of a genetically divergent hantavirus harbored by the Geoffroy's rousette (Rousettus amplexicaudatus), a frugivorous bat species in the Philippines. Infect Genet Evol. 2016, 45:26-32.

2. 和文発表

1) 小野寺啓，上北洋徳，渡邊達也，平カヤノ，渡部千沙，齋藤博子，瀬戸順次，鈴木裕，今岡浩一．ラット咬傷歴が認められない鼠咬症例．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，38(2): 43-44, 2017
2) 井上 智．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 年度研修（特別講演）．全国公衆衛生獣医師協議会．獣医公衆衛生研究（Journal of Japan Association of Public Health Veterinarians）．2016-3，Vol.18-2:38-45，2016
3) 井上 智，松山州徳．狂犬病の話題・中東呼吸器（MERS）の話題（Rabies and the Middle East Respiratory Syndrome (MERS)）．旅行者が知っておくべき世界の状況と最近のトピックス．日本旅行医学会学会誌．第 14 号 2016.3（Journal of The Japanese Society of Travel Medicine）．Vol.12-No.1:36-39，2016
4) 井上 智，伊藤睦代，野口 章．狂犬病の現状と課題（Rabies in the World by the Terms of One Health）．特集：One Health の視点からみた感染症の現状と対策．最新医学．第 72 巻（第 4 号）2017.4.10（The Medical Frontline）．Vol.12-No.4 :78-86 (554-562)，2017
5) 井上 智．狂犬病臨床研究会の成長と 10 年後に期待すること．ニュースレター（創立 10 周年記念号 狂犬病臨床研究会（The Japanese Society of Clinical Study for Rabies））vol.9 :18，2017.3
6) 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
7) 森川 茂． 重症熱性血小板減少症候群 特集 新興・再興感染症 日本臨床 p1985-1991, 74(12), 2016
8) 堀田明豊 日本における野兎病 化学療法の領域 Vol.33 No.3 p67-74

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Doi K., Sugiura N., Kato T., Inoue S. and Hayama S. Chronospatial Analysis of Distribution and Parasitism of Hard Ticks (*Ixodidae*) using CPUE based Relative Population Density of Feral Raccoon (*Procyon lotor*). JPN-KOR joint symposium in veterinary epidemiology. 11 June, 2016. Lecture R-No.8, Agriculture building 1 of Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
2) Inoue S., Hotta A., Hayama, S., Uraguchi K., Kyan H.,

Kurihara Y., Kimura S., Yano S., Noguchi A., Kato T., Park C.-Ho., Sato M. Rabies surveillance according to the guidelines of animal rabies survey in Japan. JPN-KOR joint symposium in veterinary epidemiology. 11 June, 2016. Lecture R-No.8, Agriculture building 1 of Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.

3) Nguyen T.D., Kaku Y., Inoue S., Nagamune T. and Kawahara M. Development of a Growth Sensor Detecting Antigen–Antibody Interactionsin Mammalian Cells. 2016 Synthetic Biology: Engineering, Evolution & Design (SEED). 18-21 July, 2016. Hilton Chicago, Chicago, IL, USA.

4) Shigeru Morikawa. Current situation of SFTS in Japan. The 10th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Beijing, China、2016.12.

2. 国内学会

1) 瀧口恭男, 駿河洋介, 秋葉容子, 内藤亮, 鈴木道雄, 今岡浩一. 当院における *Capnocytophaga* spp.感染症の検討. 第 90 回日本感染症学会総会, 仙台, 2016 年 4 月

2) 今岡浩一, 木村昌伸, 水谷浩志, 宗村佳子, 蓮池陽子, 朴ウンシル, 鈴木道雄, 森川茂. 一般成人における抗 *Brucella canis* 抗体保有状況. 第 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月

3) 木村昌伸, 宇根有美, 奥谷晶子, 鈴木道雄, 朴ウンシル, 森川茂, 今岡浩一. 無尾類に由来するブルセラ属菌. 第159回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016年9月

4) 森川茂, 朴ウンシル, 木村昌伸, 福士秀悦, 今岡浩一. モンゴルにおける動物のクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの血清疫学. 第 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月

5) 黒沢未希, 大柳忠智, 積田奈津希, 高橋儀行, 高木妙子, 鈴木道雄, 今岡浩一, 國島広之,竹村弘. 動物咬傷後に *Capnocytophaga* 属が分離された 2 症例. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月

6) 采原隆志, 鈴木道雄, 今岡浩一, 林原絵美子, 柴山恵吾. 動物濃厚接触患者の血液培養より分離された *Helicobacter trogontum* の 1 症例. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月

7) 梶原裕貴, 秋葉容子, 駿河洋介, 面すみれ, 鈴木道雄, 今岡浩一. 血液から検出された *Capnocytophaga sputigena* に関する検討. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月

8) 城間裕子, 馬渕仁志, 金城譲, 宮里賢, 仲地紀哉, 豊見山良作, 島尻博人, 鈴木道雄, 今岡浩一. 早期診断により救命しえた *Capnocytophaga canimorsus* 敗血症の 1 例. 日本内科学会第 316 回九州地方会, 福岡, 2017 年 1 月

9) 鈴木 道雄, 今岡 浩一. *Capnocytophaga canimorsus* 感染症, 日仏獣医学会第 56 回例会, 東京, 2017 年 3 月

10) 君付和範, 山田健太郎, 小宮拓巳, 井上 智, 西園晃, 朴 天鎬. 狂犬病ウイルス(1088-N4♯14)に感染後耐過した ddY マウスの中枢神経系に関する病理学的研究. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県

11) 志和 希, 島津太一, 君付和範, Daria Llenaresas 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. 狂犬病研究会第15回記念大会. 2016年4月3-4日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県

12) 朴 天鎬, 島津太一, 志和 希, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo, 井上 智. 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. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県

13) 井上 智. 国と自治体で進めている国内サーベイランスについて. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県

14) 小林由紀, 日高侑也, 井上 智, 山田健太郎, 伊藤直人, 林昌宏, 伊藤琢也. 狂犬病ウイルスゲノムにおける高度保存 RNA 配列の同定解析. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県

15) 比嘉雅彦, 土井寛大, 加藤卓也, 井上 智, 羽山伸一. 群馬県高崎市に生息する中型食肉目の抗 Orientia tsutsugamushi 抗体保有状況. 第 24 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー2016 鹿児島大会(24th Seminar on Acari-Diseases Interface 2016 in Kagoshima). 2016年5月27-29日, 休暇村指宿, 指宿市, 鹿児島県

16) 土井寛大, 杉浦奈都子, 加藤卓也, 井上 智, 羽山伸一. 神奈川県三浦半島における外来アライグマの相対生息密度から見たマダニ類の寄生状況と分布. 第 24 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー2016 鹿児島大会(24th Seminar on Acari-Diseases Interface 2016 in Kagoshima). 2016 年 5 月 27-29 日, 休暇村指宿, 指宿市, 鹿児島県

17) 井上 智. 医学と獣医学の協働による狂犬病の制御. 司宰機関企画(One Health シンポジウム). 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
18) 中島千景, Daria L. Manalo, 君付和範, 川本尚未, 須見康代, 山岸光葉, 篠崎春美, 島津太一, 志和 希, 山田健太郎, 井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発症犬の鼻口部洞毛組織の死後診断的有用性の再確認と洞毛組織における病理学的所見. 病理学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
19) 奥谷晶子, 加来義浩, 野口 章, 井上 智, 森川 茂. 国内で分離された Bacillus cereus group の全ゲノム配列解析. 公衆衛生学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
20) 野口 章, 井上 智, 加来義浩, 奥谷晶子, 森川 茂. 狂犬病ウイルスのガンマ線照射による不活化条件. 公衆衛生学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
21) 加来義浩, 井上 智, 野口 章, Nguyen Tuyet Thu, Vinh Dong Nguyen, Thi Kieu Anh Nguyen, 森川 茂. シュードタイプ VSV で算出した狂犬病ウイルス中和抗体価の国際単位への換算. 公衆衛生学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
22) 青木啓太、新井智、谷口怜、吉川泰弘、久和茂、多屋馨子、Joseph S. Masangkay、大松勉、Roberto Puentespina、渡辺俊平、Phillip Alviola、森川 茂、Richard Yanagihara、大石和徳. フィリピンのオオコウモリから検出された新規ハンタウイルスの遺伝子解析. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
23) 土井寛大, 杉浦奈都子, 加藤卓也, 井上 智, 羽山伸一. 外来アライグマ(Procyon lotor)の相対的生息密度が及ぼすマダニ類(Ixodidae)の寄生状況・生息密度への影響. 第 22 回日本野生動物医学会大会. 2016 年 9 月 16 日-18 日, 宮崎市民プラザ, 宮崎市, 宮崎県
24) 志和希, 川本尚未, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo, 井上 智, 朴 天鎬. フィリピンの熱帯医学研究所で狂犬病陽性と診断された発症犬の神経病理学的研究. 第 4 回日本獣医病理学専門家協会学術集会. 2017 年 3 月 30-31 日, タワーホール船堀, 江戸川区, 東京都
25) 奥谷晶子 森川茂 日本国内で分離された Bacillus cereus group の全ゲノム配列を用いた遺伝学的解析。日本獣医師会 獣医学術学会 2017 年 2 月 金沢市
26) 奥谷晶子 日本細菌学会シンポジウム「感染症とバイオテロリズム」シンポジスト講演「炭疽菌と生物テロ」2017 年 3 月 仙台市
27) 清水隆, 鈴木尋, 渡邉健太, 度会雅久, 宇田晶彦. 中心体に作用する野兎病菌エフェクターの解析, 第 90 回日本細菌学会総会, 仙台, 2017 年 3 月.
28) 清水隆, 鈴木尋, 渡邉健太, 宇田晶彦, 度会雅久. VI 型分泌機構をコードする Francisella Pathogenic Island の解析, 第 69 回 日本細菌学会中国・四国支部総会, 2016 年 10 月.
29) 堀田明豊, 宇田晶彦, 藤田修, 田徳雨, 古山祐樹, 森川茂. 長期継代により変化する野兎病菌の性状に関する研究, 第 159 回日本獣医学会, 藤沢, 2016 年 9 月.
30) 岡藤理恵, 鈴木尋, 宇田晶彦, 渡邉健太, 清水隆, 度会雅久. カイコを用いた野兎病菌の節足動物内動態の解析, 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月.
31) 藤田修, 林利彦, 宇田晶彦, 朴ウンシル, 木村昌伸, 藤田博己, 今岡浩一, 森川茂. シカシラミバエは自然界での SFTSV の維持に関与しているのか? 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月.
32) 宇田晶彦, Sharma Neekun, 滝本一広, 田徳雨, 古山裕樹, 朴ウンシル, 藤田修, 堀田明豊, 森川茂. 野兎病菌プルラナーゼ遺伝子の病原性に関する検討. 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月.
33) 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 福士秀悦, 黒須剛, 古山裕樹, 宇田晶彦, 森川茂, 米納孝, 古田要介, 下島昌幸, 西條政幸. マウス感染モデルにおけるファビピラビルによる重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染症治療効果. 第26回抗ウイルス療法学会総会, 名古屋, 2016 年 5 月.
34) 高田伸弘, 夏秋優, 早坂大輔, 宇田晶彦, 矢野泰弘, 高田由美子. 兵庫県北部の SFTS 感染環;野鼠の抗体検査とマダニの病原保有率. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 宇都宮, 2016 年 4 月.
35) 宇田晶彦. 日本における SFTS ウイルスの自然界における存在様式. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会, 仙台, 2016 年 4 月.
36) 森川 茂. 国立感染症研究所の BSL-4 施設が大臣指定を受けるまでの道のりと今後の施設内での業 務 等について. 第 16 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会ワークショップ: BSL4 の現状と展望 大宮、埼玉. 2016 年 11 月

37) Yoshihiro Kaku, Eun-sil Park, Akira Noguchi, Koichi Imaoka, Satoshi Inoue, Shigeru Morikawa. ヘニパウイルスC末端欠損F, G蛋白質を用いた効率的なシュードタイプ VSV の作製(Efficient generation of henipavirus VSV pseudotypes by deleting C-terminus of viral F and G proteins). 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道

38) Shigeru Morikawa, Masanobu Kimura, Tomoki Yoshikawa, Yoshihiro Kaku, Eun-sil Park, Koichi Imaoka, Masayuki Saijo and Ken Maeda. Positive correlation between SFTS virus antibody positive rate in wild deer and number of SFTS patients. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道

39) 藤田修、宇田晶彦、木村昌伸、藤田博己、今岡浩一、森川 茂.ニホンジカ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. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道

40) 谷英樹、福間藍子、谷口怜、福士秀悦、黒須剛、古山裕樹、宇田晶彦、森川 茂、米納孝、中嶋希、古田要介、下島昌幸、西條政幸. マウス感染モデルにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染に対する T-705 の治療効果. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道

3. セミナー・講演等

1) 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28年度中央畜産技術研修会(畜産物安全行政), 白河, 2016 年 6 月

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) 井上 智, 加藤卓也. 動物の狂犬病調査ガイドライン作成の背景と進捗状況等について. 平成 28 年度第 1 回公衆衛生専門技術研修(学術講演会). 神奈川県衛生研究所企画情報部. 2016 年 6 月 23 日, 神奈川県衛生研究所, 神奈川県

7) 井上 智, 水越文徳. 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28年度石川県獣医師会公衆衛生部会研修会. 石川県獣医師会. 2016 年 6 月 30 日, ホテル金沢, 金沢市, 石川県

8) 井上 智, 水越文徳. 狂犬病のトピック:感染源調査とレファレンスネットワークについて. 狂犬病を中心とした動物由来感染症に関するセミナー. 富山衛生研究所. 2016 年 7 月 1 日, 富山県衛生研究所講堂, 射水市, 富山県

9) 井上 智. 狂犬病:ガイドライン等に基づいた狂犬病検査の注意点等について. 平成 28 年度狂犬病予防業務北陸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 12 月 1-2 日, 富山県衛生研究所, 富山県

10) 井上 智. 国内における防疫体制整備と積極的検査について. 第 4 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 28 年度狂犬病予防業務九州・沖縄ブロック技術研修会, 主催:宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター・厚生労働省健康局結核感染症課. 2016 年 12 月 5-7 日, 宮崎大学, 宮崎県

11) 井上 智. 狂犬病の発生状況と国内対策について(飼い犬の登録と予防注射の役割)公衆衛生推進事業講習会. 福島県獣医師会(主催)/福島県医師会(共催). 2017 年 1 月 26 日, 福島県自治会館, 福島市, 福島県

12) 常盤俊大, 井上 智. 動物由来感染症対策の基盤強化のための寄生虫検査法技術講習会. 寄生虫検査技術講習会. 2017 年 1 月 22 日, 兵庫県動物愛護センター三木支所. 三木市, 兵庫県

13) 常盤俊大, 井上 智. 動物由来感染症対策の基盤強化のための寄生虫検査法技術講習会. 平成 28 年度行政担当者向け寄生虫学検査講習会. 2017 年 3 月 3

日, 熊本県保健環境科学研究所. 宇土市, 熊本県

14) 井上　智. 狂犬病を疑う視点の持ち方. 咬傷犬狂犬病検診に関するワークショップ（狂犬病臨床診断の第一歩）. 平成 28 年度日本獣医師会小動物臨床講習会. 2017 年 3 月 5 日, 東京都獣医師会. フォーラムエイト, 渋谷区, 東京都

15) 堀田明豊　解剖・検査における安全確保、バイオセーフティ、廃棄方法等について。平成 28 年度狂犬病予防業務北陸地方ブロック技術研修会。2016 年 12 月 1 日、富山県衛生研究所、射水市、富山県

16) 堀田明豊　解剖・検査における安全確保、バイオセーフティ、廃棄方法等について。平成 28 年度狂犬病診断研修会。2016 年 12 月 5 日、宮崎大学、宮崎市、宮崎県

１３.血液・安全性研究部

部長　濵口　功

概　要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定･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。

検定業務においては、新たな生物学的製剤の需要が高まり、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、試験の実施、試験の改良・開発、試験の見直し、検定のあり方についての検討を積極的に行った。平成２８年度は乾燥濃縮人プロトロンビン複合体の承認前検査を製剤担当部として行うとともに、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、ヒスタミン加人免疫グロブリン製剤の新規ヒスタミン含量試験法として、液体クロマトグラフ法により定量する新たな試験法の確立を進め、試験精度の向上を図っている。試験体制の効率化については、肺炎球菌ワクチンの国家検定からの異常毒性否定試験の省略、インフルエンザ HA ワクチンの国家検定からの異常毒性否定試験の省略、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの国家検定からの異常毒性否定試験の省略の検討を終了した。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、一定ロットの試験実施後の書略は可能との判断に至った。さらに今後の検定のあり方として、ワクチンにおいて既に導入が図られているSLP(サマリーロットプロトコール)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。国際調和の観点からも、早期にロットリリースにおける製剤の製造工程のレビューを行う体制を整えたい。一方当部で実施されている検定において、ウマ抗毒素のたん白窒素含量試験、ヒスタミン確認試験、含湿度試験の判定に関し齟齬の可能性が指摘された。調査の結果、検定に関する疑義は認められなかった。試験に関与する者は疑問点や問題点の解決のための手順を理解するとともに、自らが解決に向けて積極的に行動する意識が必要である。今後、試験の改善、改良について議論する機会をこれまで以上に増やし、部をあげて対策を講ずる。

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C型肝炎ウイルス抗体キット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 の専門家会議に出席し、WHO 国際標準品制定に携わった。関連する WHO 国際共同研究としてはA型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための共同測定に参加した。加えて、国際標準品を基に血液凝固第Ⅷ因子の力価の評価、HCV-RNA の力価の再評価を実施し、国内標準品の整備を行った。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ジカ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、アジュバント含有ワクチンの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、日本医療研究開発機構、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。

人事の面では、平成２８年４月に大分大から池辺詠美先生と東北大から平館裕希先生が研究員として赴任した。平成２９年３月に水澤左衛子主任研究官及び非常勤職員の荒木久美子さんが退官、退職された。ともに長期に亘り血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。同じく協力研究員の松橋一彦先生が臨床(昭和大)に戻られた。また、非常勤職員の青葉利枝さんが退職され､萩野尚美さんが採用された。

業　績

調査・研究

I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

１． 病原体検出法に関する研究

1) 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 28 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 2,000 人分）について、デングウイルス及びチクングニア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) 血液製剤安全性確保のためのジカウイルス高感度核酸検査法の開発

血液製剤の安全性確保のため、様々な病原体に対して高感度なスクリーニング検査が実施されており、本邦における血液製剤のこれらの病原体に対する安全性は極めて高く管理されている。しかしながら、近年、本邦において海外からの新たな病原体の輸入例が増加してきており、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。本年度は、ブラジルやアメリカで流行したジカウイルスに対する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複数同定した。本研究で開発した手法は、既存の検査法と比較して、感度・特異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、田島茂（ウイルス１部）、林昌宏（ウイルス１部）、濵口功]

3) HTLV-1 検査法の標準化

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が、ATL 由来 HTLV-1 感染細胞株の TL-Om1 細胞を用いて HTLV-1 核酸検査の標準品候補を作製し、それを用いて標準化することが可能となった。また HTLV-1 感染診断の確認検査である Western Blot 法には判定保留が多いため、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た。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)」も作成した。

[倉光球、大隈和、濵口功]

4) 国内で使用されている HTLV-1 抗体検査キットに関する性能調査

HTLV-1 感染の診断のための抗体スクリーニング検査において、確認検査における判定保留例が多いことが問題になっている。そこで、HTLV-1 抗体検査キットの性能やウエスタンブロット(WB)法の代替法を検討するために､現在国内で使用されている(又は開発中の)、確認検査用を含む抗体検査キットに関して性能調査を行った。1 次検査用の HTLV-1 抗体検査キットには性能差が認められたため、判定には注意を要し確認検査の必要性が再認識された。またラインイムノアッセイ(LIA)法が確認試験として有用であることが示され､WB 法の代替法として用いることで、これまでの判定保留の軽減に大きく繋がることが示唆された。そこで、本結果を今後｢妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針」（改訂版）に反映させ、関係学会と検討を重ね推奨法として公表を目指す予定である。

[大隈和、倉光球、池辺詠美、協力検査キットメーカー各社、松本千恵子（日本赤十字社）、蕎麦田理英子（日本赤十字社）、相良康子（日本赤十字社）、板橋家頭夫（昭和大）、佐竹正博（日本赤十字社）、三浦清徳（長崎大）、増崎英明（長崎大）、濵口功]

5) 輸血血液における HTLV-2 の検出法開発に関する研究

HTLV-1 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いる。また近年国内で使用される抗体検査キットが HTLV-1 および HTLV-2 の両方を検出できるようになったことから､HTLV-2 陽性時の確定のための評価系が必要である。そこで本研究では、HTLV-2 を検出できる qPCR primer 及び probe セットを新規に大規模スクリーニングし、高感度 HTLV-2 核酸検査法を確立した。

[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）]

6)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

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等を用いた新たな評価検体を整備している。

[大隈和、百瀬暖佳、松岡佐保子、濵口功、溝上雅史（国立国際医療研究センター）]

7) 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 型肝炎ウイルスの NAT の特異性の把握を目的として、B型肝炎ウイルスの遺伝子型パネル(A-G 型)を用いて第8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、輸血用血液スクリーニング施設 8）においてA-G型のB型肝炎ウイルスの遺伝子を正しく検出・同定出来た。

[水澤左衛子、松岡佐保子、濵口功]

8) C型肝炎ウイルス用体外診断薬の評価

平成27年度に実施したC型肝炎ウイルス用体外診断薬の評価では、各キットの測定値に良い相関が見られたが、一部検体でコア抗原が有意に低値となった。要因としてアミノ酸点変異の可能性が報告されているため、評価検体にて配列解析を行ったところ、コア抗原低値乖離例でアミノ酸多型が確認された。また、各検体におけるHCV抗体の性状解析ではNS5抗体にバリエーションが見られたが、第2、第3世代の抗体キット間で判定乖離はなく、NS5抗体の有無はスクリーニング目的での抗体検査薬の結果に影響を与えないことが確認された。

[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、松岡佐保子、池辺詠美、濵口功]

２．国際・国内標準品整備に関する研究

1)血液凝固第Ⅷ因子の第3次国内標準品制定のための力価測定共同研究

現行の第2次血液凝固第Ⅷ因子国内標準品(13.3 IU/ml)の更新のため、NIBSCの血液凝固第Ⅷ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5施設：感染研、JB千歳工場、JB京都工場、化血研、バクスアルタ)。各施設の測定値の幾何平均から、第3次血液凝固第Ⅷ因子国内標準品（M-03）の力価は、16.3 IU/mlと値付けし制定した。

[倉光球、大隈和、落合雅樹（品質保証・管理部)、濵口功]

2)A型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のためのWHO国際共同研究への参加

イギリスのNIBSCが組織する国際共同研究に我々も含めて10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2次国際標準品を基に第3次国際標準品候補品の力価を相対定量した。共同研究の結果は2017年のECBSに報告され、第３次 HAV-NAT国際標準品が制定される予定である。

[水澤左衛子、松岡佐保子、濵口功]

3) HCV-RNA国内標準品の力価の再評価

血液製剤のHCV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8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 HCV「オート」v2.0、アキュジーンm-HCV、In-house TaqMan PCR 法が測定に使用された。第５次WHO 国際標準品に対する国内標準品の相対力価は260,000 IU/mL（95%信頼区間211,000～313,000 IU/mL）と算出され、エンドポイント法で決定した現行の力価の約2.6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。

[松岡佐保子、水澤左衛子、百瀬暖佳、池辺詠美、落合雅樹（品質保証・管理部)、山口照英（日本薬大)、濵口功]

4) ウイルスに関する体外診断薬の国際標準品等の動向

2016年度のWHO ECBSにおいて、第4次HBV-DNA国際標準品、抗EBVO抗体国際標準品が制定された。2017年には抗Zika抗体、EBOV-RNA、HIV p24国際参照パネル等が、2018年にはWNV-RNA等がECBSに提議される予定。第3次B19-DNA国際標準品については、国際共同研究で使用さ

れた市販の検査薬のプライマー/プローブとミスマッチがあり、改良版で測定して再評価した結果、値に大きな変動はなかったため力価は修正なしとなった。抗体検査薬については判定や測定値の乖離に関する議論が引き続き行われた。　　[百瀬暖佳、松岡佐保子、濵口功]

5)体外診断薬の二次標準品整備に関わるWHOガイドライン

WHO国際標準品を基にした二次/三次標準品の整備を促すため、NIBSC、PEI、WHOにより二次標準品整備のためのマニュアル作成が進められた。WHO ECBSに先立つSoGATワーキンググループにおいて、測定法の明確化、解析法(平行線定量)の妥当性、安定性(in-useとrealtimeの区別)、共同研究の必要性の有無等が議論された。また、今回のマニュアルからは抗体を除いて抗原、および核酸の標準品に限ることが提言され、WHO ECBSに諮られた。　　[百瀬暖佳、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) 日本における血液製剤の副作用サーベイランス制の確立に関する研究

2007年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。さらに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、本年度は日本赤十字社と2医療施設にて3ヶ月間にわたるパイロットスタディを実施した。また、海外における輸血監視システムの評価と日本の位置付けに関する研究、洗浄血小板製剤使用による副作用発生軽減効果の検討などのヘモビジランス研究も進めている。

[松岡佐保子、池辺詠美、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、17%エタノール処理後のグロブリン分画には感染性は認められず、感染性は廃棄画分へ移行した。メカニズムを検討するため、17%エタノール分画前後の検体のショ糖密度勾配遠心により分画したところ、グロブリン分画には低密度側、廃棄画分には高密度側にウイルス核酸が分画された。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) 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。本研究では、この分子間相互作用を詳細に解析するため、HBx BH3様モチーフとBcl-x_Lをリンカーで繋いだHBx/Bcl-x_L融合蛋白質発現系を作成し、その特徴を物理化学的手法で解析した。その結果、この融合蛋白質は1:1の複合体として安定であり、ネーティブ状態の複合体構造を保持していることが示唆された。　　[楠英樹、濵口功]

4) HTLV-1抗体検査ウエスタンブロット判定保留例のHTLV-1プロウイルスの解析

HTLV-1抗体検査の確認検査で実施されるウエスタンブロット検査(WB)において、しばしば判定保留例が発生することが問題となっている。HTLV-1 WB判定保留例のHTLV-1プロウイルスの核酸定量を測定したところ、HTLV-1核酸検査陽性例の末梢血のプロウイルス量は、HTLV-1 WB陽性例に比べて約100倍低値であることが明らかになった。またHTLV-1核酸陽性例のHTLV-1プロウイルスの完全長ゲノムを決定したところ、判定保留例のHTLV-1ゲノムにはPol, Env, Tax, p12, p30などにナンセンス変異が存在する場合があることが明らかになった。またHTLV-1判定保留例のHTLV-1ゲノムのSNPsは、GからAへの塩基置換が多く、特にGGからAGへの塩基置換が最も多かったことから、これらはAPOBEC3Gによるものと考えられた。これらのことから、HTLV-1抗体検査WBで判定保留になる原因として、ウイルス量が極めて低値であることと、HTLV-1ゲノムの変異の結果により抗原量が少なく生体の免疫が誘導されにくくなっている可能性が考えられた。　　[倉光球、大隈和、濵口功]

5) 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感染を制御する治療法がないため、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

ンパク質を用いた治療法の開発に取り組んでいる。組換えタンパク質 TARC-PE38 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]

6) 組換えVSVを用いたHTLV-1感染制御法の開発

HTLV-1 関連疾患の発症予防及び感染制御を目的として、組換え水疱性口内炎ウイルス(VSV)を用いた新規ウイルス療法の開発に取り組んでいる。VSV 粒子表面上に HTLV-1 のレセプター分子(GLUT1, NRP1, SDC1)を発現させることで、エンベロープタンパク質を発現する HTLV-1 感染細胞を標的化し、VSV 感染の作用により特異的に排除することを試みている。これまで、各レセプター分子の単独発現、または複数の分子を発現する組換え VSV の作製に成功し、実際に HTLV-1 感染細胞を選択的に殺傷することを確認した。また、HTLV-1 感染ヒト化マウスへ組換え VSV を接種することで、生存率の有意な改善を含む、顕著な抗 HTLV-1 効果を個体レベルで示すことに成功した。これらのウイルス療法は新たな HTLV-1 感染制御法として期待される。
[手塚健太、大隈和、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、濵口功]

7) HIV 治療薬を用いた HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発

HTLV-1 関連疾患である成人 T 細胞白血病(ATL)は、一旦発症すると既存の化学療法には強い抵抗性を示す難治性の白血病・リンパ腫であるが、未だ有効な発症予防法は確立されていない。近年、HIV の逆転写阻害剤であるアバカビルが抗 ATL 効果を示したことを受け、HIV 治療薬の一つであるインテグラーゼ阻害剤の ATL 発症予防薬としての有効性について検討している。いくつかのインテグラーゼ阻害剤は、HTLV-1 感染細胞で増殖抑制効果を示し、増殖抑制作用には、細胞周期の停止及びカスパーゼ活性化の関与が示唆された。現在マイクロアレイを用いてその作用機序の解明に取り組んでいる。さらに HTLV-1 感染細胞移植マウスを用いた in vivo での抗 HTLV-1 効果を検討している。
[池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、大隈和、濵口功]

8) 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。平成 26 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、本年度からは東京都でも同様のシステムを稼働した。
[松岡佐保子、大隈和、内丸薫(東京大医科研)、佐竹正博(日本赤十字社)、岩永正子(長崎大)、相良康子(日本赤十字社)、濵口功]

9) HTLV-1 アクセサリータンパク質の構造生物学的研究

HTLV-1 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。これまでの検討から、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が、質量分析の結果、発現タンパク質の N 末端部位が特定の位置で切断されていることが判明した。切断回避を目指した変異体発現検討を行なったが、適切な変異体を見出すことが出来なかったため、発現タンパク質は N 末端欠失体のまま扱うことにした。一方、Rex 変異体はある条件下で可逆的な凝集をすることが示唆されたため、今後、可逆性の再現性確認と、凝集状態が Rex の多量体形成に関与しているかどうかの検証を行う。 [谷生道一、濵口功]

10) HTLV-1 Env 蛋白質と受容体相互作用の構造生物学的研究

HTLV-1 Env 蛋白質とそのレセプターの１つである Neuropilin-1(Nrp1)の分子間相互作用を解明するため、HTLV-1 Env 由来ペプチドと Nrp1 b1 ドメインの結合様式を NMR 法で解析した。その結果、HTLV-1 Env 由来ペプチドは Nrp1 b1 ドメインの VEGF-A 結合領域に結合していることを明らかにした。また、Nrp1 b1 ドメインの変異体を作成し、HTLV-1 Env 由来ペプチドとの相互作用を調べた。その結果、Nrp1 b1 ドメインの Y297、D320、S346、T349、K351、Y353 は HTLV-1 Env 由来ペ

プチドとの結合に関与していることが示唆された。
[楠英樹、濵口功]

11）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。現在、他の感染症における M-Sec 誘導 Nanotube の関与についても解析を進めている。その一環として、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 細胞において、HTLV-1 感染によって M-Sec が発現することがわかった。さらに、HTLV-1 感染 T 細胞には Nanotube 様の構造が観察され､そこには HTLV-1 エンベロープタンパク質（gp46）および Gag タンパク質(p24)が存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詳細な解析を行っている。
[日吉真照、木村俊介（北海道大）、相良康子（日本赤十字社）、大野博司（理化学研究所）、鈴伸也（熊本大）、濵口功]

12）HTLV-1感染ヒト化マウスモデルの開発

HTLV-1感染細胞の生体内での動態解明及び治療薬候補の検討のため､小動物感染モデルの開発を進めている。これまでに､重度免疫不全マウスに対してヒト造血幹細胞を移植することで､ヒト血球系をマウス個体内で再現したヒト化マウスの確立に成功している｡同ヒト化マウスにHTLV-1を感染させることで､これまで困難であった感染細胞の生体内での挙動を実験的に明らかにすることが可能となった。また、このモデルを用いて抗HTLV-1効果を示すいくつかの治療薬候補も検討している｡さらに、トランスジェニックマウスと掛け合わせることで、ヒト型免疫応答を再現する新たなヒト化マウスの確立に着手している。
[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、高井麻海子、濵口功]

13）ヒト化マウスモデルを用いたエストロジェンの HTLV-1 の感染動態に与える影響について

HTLV1 キャリアのうち 50 代女性での抗体陽転化率が男性と比較して高い傾向があることが報告されている。この年代は閉経年齢に該当することから、性ホルモン分泌の低下との関連を検討することとなった。ヒト化マウスに感染細胞の移植により HTLV1 を感染させたモデルに対し estradiol-17β徐放剤を埋没し､経時的な PVL､および CD3､CD45 などのマーカー陽性細胞数の推移を検証している。感染細胞の増殖に対する estradiol-17β の効果を明らかにする計画である。
[平舘裕希、水上拓郎、手塚健太、佐々木永太、野島清子、濵口功]

14）ニホンザル STLV-1 の生殖器官における感染動態の解明

ニホンザルは HTLV1 と近縁種のレトロウイルスである STLV1-1 への感染率が高いことが知られており、HTLV1 の感染動態を知る上で有用な動物モデルの一つである。そこで京大霊長研で管理飼育されている高齢キャリア雌ニホンザルの解剖を行い、卵巣、膣、子宮をはじめとする生殖器官の PVL を測定し、ウイルス感染細胞の動態を検討した｡それぞれ STLV-1 ウイルスゲノムが検出されたことから、生殖器官においても感染細胞が存在する可能性を明らかにした。
[平舘裕希、水上拓郎、手塚健太、佐々木永太、野島清子、安永純一郎（京都大ウイルス研)、松岡雅雄（熊本大)、蔵田潔（弘前大)、大隈和、明里宏文(京都大霊長研)、濵口功]

15）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

HTLV-1 感染予防薬の開発を目指し、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)を開発している。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。また hu-PBL(短期評価)及び造血幹細胞の新生児肝臓移植モデルヒト化マウス(長期評価)を用い､ウイルス感染性がないことを明らかに

した。
[野島清子・水上拓郎：栗林和華子、倉光球、蕎麦田理英子（日本赤十字社)、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(東京大医科研)、明里宏文(京都大霊長研)、山口一成、濵口功]

16）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

HTLV-1 感染予防薬の開発を目指し、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)を開発している。ヒト化マウスの感染抑制実験より、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、水平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前臨床試験プロトコールの作成を検討している。
[野島清子・明里宏文(京都大霊長研)・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（東京大医科研)、明里宏文(京都大霊長研)、山口一成、濵口功]

Ⅱ．品質管理に関する業務、研究

１．生物学的製剤

1）国内標準品の力価のモニタリング

血液製剤の力価を国際規格で管理するために、血液凝固第Ⅷ因子、第Ⅸ因子、アンチトロンビンⅢについては国内標準品が制定され､感染研で管理されている。これらの標準品の力価について WHO 国際標準品(NIBSC)を指標にし、定期的に力価を測定して確認している。それぞれの国内標準品を独立 3 回測定し、制定時の力価が安定して保たれていることを確認した。
[倉光球、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についての研究

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、製剤中には補体活性化能を示す三量体が含まれることが分かったため、当該試験の試験法標準化を進めている。H28 年度は、血液製剤メーカーとの共同研究により試験法標準化後の静注用および皮下注射用グロブリン製剤における新規格値を決定し、生物基改正案をまとめた。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の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）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 審査制度導入により我が国のロットリリースにおいて、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、血液製剤の安全性や有効性の向上に貢献出来ることが期待される。平成 28 年度は、血漿分画製剤メーカーと所内ワーキンググループとで複数回の会合を持ち、血液製剤への SLP 審査制度導入に向けて準備を開始した。110 品目以上ある血液製剤毎に SLP 様式を作成する前に、血液製剤特有の連産状況を考慮して、共通する様式の雛形を作成した。
[野島清子、大隈和、松岡佐保子、水上拓郎、斉藤益満、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]

4）ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤の新規ヒスタミン含量試験法の確立に関する研究

ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤中のヒスタミン量を液体クロマトグラフ法 (HPLC/UPLC) により定量する新たな試験法の確立を目指し、メーカーが確立した測定条件を元に、感染研所有の装置への最適化を行い、分析法バリデーションを行うための分析能パラメータ（真度、精度、特異性、直線性、範囲）の取得および実試料分析を実施した。その結果、確立した試験法は、設定したヒスタミン濃度範囲において、十分信頼性のある真度および精度の定量結果を示す試験法であることを確認した。今後、分析法バリデーション報告書の作成と共に、検討中に確認された問題点の改善・改良、および本試験法で元も煩雑なヒスタミン抽出法の改良を検討する。
[谷生道一、楠英樹、濵口功]

5)乾燥濃縮人プロトロンビン複合体(CSL ベーリング)に対する承認前検査

(1)力価試験等

当該製剤について、血液凝固第II・VII・IX・X因子力価試験、プロテインC力価試験、アンチトロンビンIII力価試験、活性化凝固因子試験、プロテインS含量試験を実施した。またヘパリン濃度試験、純度試験(SDS-PAGE)を書類審査した。

[大隈和、倉光球、野島清子、石井美枝子、濵口功]

(2) 物理化学試験

当該製剤について、たん白窒素含量試験、含湿度試験、pH 試験を実施した。[日吉真照、楠英樹、濵口功]

(3) 発熱試験・異常毒性否定試験

承認前試験としての当該製剤の発熱試験及び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。

[前山順一、佐々木永太、水上拓郎、古畑啓子、高井麻海子、濵口功]

２．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 3 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、濵口功]

2) C 型肝炎ウイルス抗体キットの承認前試験

当該体外診断用医薬２キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。

[百瀬暖佳、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．ワクチン開発に関する研究

1) カニクイザルでのワクチン接種や結核菌感染実験系の構築

カニクイザルへのワクチン接種、レントゲン撮影、採血等の技術を習得し、ブースターワクチンの効果検証の予備実験を行った。今回は、予備実験としてカニクイザル３匹を用いた。そのうち２匹に BCGII 接種後 6 週間目から 3 週間おきに 3 回ブースター免疫（MDP1+G9.1 各 20μg）を行った後、結核菌の噴霧感染を行った。その３ヶ月後、X 線撮影および剖検を行い、肺と脾臓の肉眼的観察、病理組織学的解析および還元培養による残存菌数の測定を行った。その結果、肺 X 線像、残存菌数等各指標において免疫群での改善が認められた。

[前山順一、山崎利雄（バイオセーフティ管理室)、林大介、山本十糸子、山本三郎；網康至（動物管理室）]

2) マウスを用いた結核ブースターワクチンの免疫条件の検討

マウスでの免疫および感染条件を検討している。C57BL/6 マウスを用い、初回免疫として BCG-II を皮内投与し、6 週後から 3 週間おきに 3 回経鼻または皮内投与でブースターを行い、その 3 週後噴霧感染を行った。しかしながら、DTH での結果と乖離が有り、ブースター効果が認められなかった。また同様な条件で、DBA/2、C3H/HeJ マウスを用いて、免疫・噴霧感染を行ったが、ブースター効果が認められなかった。BCG の投与量によって、C57BL/6 および DBA/2 マウスにおいて、無処置群と BCG 投与群の間に有意差が認められたので、これを指標に今後これらのマウスを用いて免疫条件の検討を行うこととなった。

[前山順一；山崎利雄（バイオセーフティ管理室)、林大介、山本十糸子、山本三郎；網康至（動物管理室）]

3) 粘膜免疫誘導型インフルエンザワクチンに用いる経鼻アジュバント(G9.1)の有効性と安全性に関する研究

新規アジュバント CpG-ODN G9.1 の有効性と安全性を評価するために、まず G9.1 の安定性、抗原タンパク質との相互作用および in vivo での毒性を検討した。G9.1 の活性は、血清タンパク質存在下での安定化および抗原タンパク質存在下での増強の可能性が認められた。タンパク質との相互作用の検討が必要であると考えられる。一方、マウスを用いた腹腔内または静脈投与での致死毒性は、約 25mg/kg まで認められなかった。

[前山順一；浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）]

２．ワクチンの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* 試験の構築をめざし、これまで検討してきたラット肺初代培養細胞に加えて複数の肺由

来細胞株を用い、更なる検討を行った。その結果、*in vivo*系と比較して反応性の高い細胞が見いだされ、*in vitro*評価系に有用である可能性が示唆された。
[百瀬暖佳、佐々木永太、平舘祐希、水上拓郎、濵口功]

2）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。これまでに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っている。平成28年度は我々の同定したマーカー遺伝子を用いたアジュバントの安全性評価システムの構築を行った。水酸化アルミニウム、CpG K3、Poly I:Cをモデルアジュバントとして評価したところ、ヒトで副反応を示すPoly I:Cにおいて顕著なバイオマーカーの発現が認められた。さらに、バイオマーカーによる評価は経鼻投与や筋肉内投与であった。さらに得られたデータを順序ロジスティック回帰分析に適用し、マーカー遺伝子発現量からアジュバントの安全性を評価するためのシステムを構築した。現在、より多くのアジュバントを用い評価系のさらなる精度向上・改良を目指し検討を行っている。
[佐々木永太、百瀬暖佳、平舘裕希、水上拓郎、濵口功]

3）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とそれを予測するマーカー遺伝子の同定

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きた。このプロジェクトで用いられているマーカー遺伝子の一部は1型IFN関連遺伝子が含まれており、さらに1型IFNは白血球減少との関連が報告されている。そこで、マーカー遺伝子によって白血球減少活性を解析することを試みた。種々の濃度の全粒子不活化ワクチンをマウスに接種し、末梢血中の白血球数とマーカー遺伝子の発現量を解析した。ステップワイズ-重回帰分析法により、白血球減少と相関のある遺伝子を抽出した。その結果、抽出された遺伝子セットは、個体ごとの白血球数を高精度で予測することが示された。
[佐々木永太、栗林和華子、水上拓郎、濵口功]

4）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、PBMCやヒト化マウスを用いた検討を実施した。平成28年度では主に*in vitro* PBMC培養細胞を用いた解析を実施した。*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。また、別ドナーのPBMCを用いて、マーカー遺伝子発現解析を同様にして実施し比較したところ、マーカー遺伝子の発現パターンは両者で類似していた。さらに、マーカー遺伝子発現量と相関した培養上清中の炎症性サイトカインやケモカインの分泌が認められた。これらの結果から、PBMCを用いたワクチン安全性評価試験への可能性が示唆された。
[佐々木永太、栗林和華子、水上拓郎、濵口功]

5）バイオマーカーを用いたアジュバントスクリーニングによる安全性評価の試み

アジュバントの安全性評価には動物を用いた試験が適応されるが、体重や体温などのパラメーターではアジュバント作用や活性の違い等を評価することが難しい。そこで我々は、インフルエンザワクチンの安全性評価のために同定してきたバイオマーカーを用い、アジュバント活性が評価可能か検討した。対象として、Alum, Pam_3csk_4, DMXAA, NanoSiO2を用い、インフルエンザHAワクチンに混和してマウスに経鼻接種した。その結果、体重、白血球などの表現系には大きな変化は認められなかったが、バイオマーカーでは違いが明らかになった。特にDMXAA(300ug)では多くのバイオマーカーが有意に発現上昇していた。そこで詳細に調べると、血液毒性が認められ、肺中の各リンパ球サブセットの減少が認められた。また、Pam_3csk_4(60ug)に関しても、詳細に調べると好中球の増加がフローサイトトリーで認められた。以上の結果より、バイオマーカーを用いることでより簡便に高感度にアジュバントの活性・安全性を評価することが可能であると考えられた。
[平舘裕希、佐々木永太、百瀬暖佳、古畑啓子、水上拓郎、濵口功]

Ⅳ. 血液に関する研究

1) ATL モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の解明とニッチを標的とした治療薬の開発

我々は ATL 様病態のモデルマウス（HTLV-1 Tax-Tg）の脾腫中に存在する ATL 癌幹細胞を同定することに成功した。そこで、ATL 癌幹細胞を基軸とした ATL 病態変化を明らかにする目的で、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。その結果、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た。そこで、破骨細胞の阻害剤を用いた場合、ATL 癌幹細胞の定着に変化があるか検討した。その結果、骨髄での定着及びその後の ATL 細胞の増殖が抑制されていることが明らかとなった。一方、脾臓への定着は阻止できなかった。現在、脾臓における標的の探索を進めている。

[水上拓郎、栗林和華子、長谷川秀樹（感染病理部）、William Hall (University College Dublin)、濵口功]

2) ATL モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL 癌幹細胞の同定

我々は ATL 様病態のモデルマウス（HTLV-1 Tax-Tg）の脾腫中に存在する ATL 癌幹細胞を同定することに成功した。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た。これらの細胞(ATLSCs)のみが in vitro で高い増殖活性を持ち、in vivo の移植モデルで ATL 病態を再現できたことから、ATL 癌幹細胞であると考えられた。さらに表面に発現している c-kit のリガンド阻害をすると、ATL の病態進展が阻止できたことから、SCF-c-kit シグナリングがマウスモデルにおいて重要な働きを示していることが明らかとなった。

[栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄（熊本大)、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：90 ロット
(血液凝固第Ⅷ因子力価試験：47、アンチトロンビンⅢ力価試験:21、ハプトグロビン力価試験:5、抗HBs人免疫グロブリン力価試験：1、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：2)
免疫グロブリン G 重合物否定試験：139 ロット
抗補体性否定試験：31 ロット
含湿度試験：117 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：38 ロット
たん白質含量試験（ローリー法)：96 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：5 ロット
アルミニウム含量試験（スチルバゾ)：4 ロット
アルミニウム含量試験（ICP)：14 ロット
フェノール含量試験：6 ロット
ヘモグロビン含量試験：5 ロット
クエン酸ナトリウム含量試験：6 ロット
異常毒性否定試験：198 ロット
発熱試験：26 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：3 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

血液凝固第 II 因子力価試験：6 ロット
血液凝固第 VII 因子力価試験：6 ロット
血液凝固第 IX 因子力価試験：6 ロット
血液凝固第 X 因子力価試験：6 ロット
プロテイン C 力価試験：6 ロット
アンチトロンビン III 力価試験：6 ロット
活性化凝固因子試験：6 ロット

プロテインS含量試験：6ロット
ヘパリン濃度試験（書類審査）：6ロット
純度試験(SDS-PAGE)（書類審査）：6ロット
pH試験：6ロット
たん白窒素含量試験：6ロット
含湿度試験：6ロット
異常毒性否定試験：6ロット
発熱試験：6ロット

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：5ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：47ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：21ロット
人ハプトグロビン：5ロット
筋注用人免疫グロブリン：3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：31ロット
pH4処理酸性人免疫グロブリン：36ロット
乾燥pH4処理人免疫グロブリン：7ロット
PEG処理人免疫グロブリン：30ロット
乾燥PEG処理人免疫グロブリン：54ロット
pH4処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）：7ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット
PEG処理抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット
抗HBs人免疫グロブリン：1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：2ロット
人血清アルブミン：218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：3キット(9ロット)
2) C型肝炎ウイルス抗体キット：2キット(6ロット)

国際協力関係業務・研修業務

1）2016年6月1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）2016年6月21日：知の市場前期講義において、「ヒトT細胞白血病ウイルス１型（HTLV-1)」の講義を行った。
［大隈和］

3）2017年10月3日：継続者向け検定・検査教育講習会「ECBS2017勉強会」において、講義を行った。
［濵口功］

4）2017年1月10日：タイ国立ワクチン研究所代表団に対し「ワクチンの安全性研究」の講義を行った。
［濵口功］

5）2017年1月31日:JICA研修「安全な輸血確保による感染症予防」コースで、「ヘモビジランス」の講義を担当した。［松岡佐保子］

6）2017年1月31日:JICA研修「安全な輸血確保による感染症予防」コースで、「HTLV-1」の講義を担当した。
［濵口功］

7）2017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）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 reverse transcription-polymerase chain reaction assay for blood screening. ***Transfusion***. 2016; 56: 3094-3100.

2）Luis TC, Luc S, Mizukami T, Boukarabila H, Thongjuea S, Woll PS, Azzoni E, Giustacchini A, Lutteropp M, Bouriez-Jones T, Vaidya H, Mead AJ, Atkinson D, Böiers C, Carrelha J, Macaulay IC, Patient R, Geissmann F, Nerlov C, Sandberg R, de Bruijn MFTR, Blackburn CC, Godin I, Jacobsen SEW. Initial seeding of the embryonic thymus by immune-restricted lympho-myeloid progenitors. ***Nat Immunol.*** 2016; 17: 1424-1435.

3） 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,*** 2016; 36: 21.

4）Kuribayashi W, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Momose H, 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,*** 2016; 7: 51027-51043.

5） 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***, 2016; 14: 419-24.

6） 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,*** 2016; 59:31-6.

7）Matsushita N, Suzuki M, Ikebe E, Nagashima S, Inatome R, Asano K, Tanaka M, Matsushita M, Kondo E, Iha H, Yanagi S. Regulation of B cell differentiation by the ubiquitin-binding protein TAX1BP1. ***Sci Rep,*** 2016; 6: 31266.

8） Satake M, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I. Incidence of human T-lymphotropic virus 1 infection in adolescent and adult blood donors in Japan: a nationwide retrospective cohort analysis. ***Lancet Infect Dis***, 2016; 16: 1246-1254.

9）Sasaki E, Kuramitsu M, Momose H, Kobiyama K, Aoshi T, Yamada H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. A novel vaccinological evaluation of intranasal vaccine and adjuvant safety for preclinical tests. ***Vaccine.*** 2017; 35: 821-830.

10） 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: 574-85.

11） Lee S, Hiradate Y, Hoshino Y, Ko YG, Tanemura K, Sato E.Localization and quantitative analysis of Cx43 in porcine oocytes during in vitro maturation. ***Zygote***, 2016; 24: 364-70.

12）Nojima K, Okuma K, Ochiai M, Kuramitsu M, Tezuka K, Ishii M, Ueda S, Miyamoto T, Kamimura K, Kou E, Uchida S, Watanabe Y, Okada Y, Hamaguchi I. Establishment of a reference material for standardization of the anti-complementary activity test in intravenous immunoglobulin products used in Japan: A collaborative study. ***Biologicals,*** 2017; 46: 68-73.

13） Umezu K, Hiradate Y, Oikawa T, Ishiguro H, Numabe T, Hara K, Tanemura K. Exogenous neurotensin modulates sperm function in Japanese Black cattle. ***J Reprod Dev***. 2016; 62: 409-14.

14）Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Kimura H, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I. Expression, purification and characterization of hepatitis B virus X protein BH3-like motif-linker-Bcl-x_L fusion protein for structural studies. ***Biochem Biophys Rep,*** 2017; 9: 159-165.

15） Nishimura, K, Tanio, M, Tuzi, S. Structure and dynamics of membrane-bound proteins In: ***Modern Magnetic Resonance***, 2016: pp1-13.

16）Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Takai M, Kamachi K, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Evaluation of marker gene expression as a potential predictive marker of leukopenic toxicity for inactivated

influenza vaccines, ***Biologicals***, *In press*

17）Nakatsu N, Igarashi Y, Aoshi T, Hamaguchi I, Saito M, Mizukami T, Momose H, Ishii KJ, Yamada H. Isoflurane is a suitable alternative to ether for anesthetizing rats prior to euthanasia for gene expression analysis. ***J Toxicol Sci,*** *In press*

18） Mead AJ, Neo WH, Barkas N, Matsuoka S, Giustacchini A, Facchini R, Thongjuea S, Jamieson L, Booth CAG, Fordham N, Di Genua C, Atkinson D, Chowdhury O, Repapi E, Gray N, Kharazi S, Clark SA, Bouriez T, Woll P, Suda T, Nerlov C, Jacobsen SEW. Niche-mediated depletion of the normal hematopoietic stem cell reservoir by Flt3-ITD-induced myeloproliferation. ***J Exp Med***, *In press*

19）Umezu K, Hiradate Y, Numabe T, Hara K, Tanemura K. Effects on glycocalyx structures of frozen-thawed bovine sperm induced by flow cytometry and artificial capacitation. ***J Reprod Dev,*** *In press*

20） Okuma K, Fukagawa K, Kohma T, Takahama Y, Hamaguchi Y, Ito M, Tanaka Y, Buonocore L, Rose JK, Hamaguchi I, A recombinant vesicular stomatitis virus encoding CCR5-tropic HIV-1 receptors targets HIV-1-infected cells and controls HIV-1 infection. ***Microbes and Infection.*** *In press*

21） Kuramitsu M, Sekizuka T, Yamochi T, Firouzi S, Sato T, Umeki K, Sasaki D, Hasegawa H, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Momose H, Araki K, Saito M, Nosaka K, Utsunomiya A, Koh Ki-R, Ogata M, Uchimaru K, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Okayama A, Miura K, Satake M, Saito S, Itabashi K, Yamaguchi K, Kuroda M, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I, Proviral features of human T cell leukemia virus type 1 in carriers with indeterminate western blot results. ***J. Clin. Microbiol,*** *In press*

２．和文発表

1）濵口功 輸血と感染症、小児科、2016; 57: 146-150.

2）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、2016; 62: 451-458.

3）相良康子、 井上由紀子、 守田麻衣子、 後藤信代、矢持忠徳、 渡邉俊樹、 岩永正子、 濵口功、 迫田 岩根、 入田和男、 清川博之. HTLV-1キャリアにおける末梢血中のプロウイルス量と保有するHLAとの関連. 日本輸血細胞治療学会誌、2016；62：532-532.

4）濵口功. ワクチン開発をめぐるレギュレーションの最新動向について. 薬剤学 2016；76：51-54.

5）水上拓郎，野島清子，濵口功. HTLV-1 感染予防法の開発，血液内科 2017；74：356-362.

6）佐々木永太、水上拓郎、濵口功. 次世代アジュバント開発のためのメカニズム解明と安全性評価. シーエムシー出版, 2017, p349-354.

Ⅱ．学 会 発 表

１．国際学会

1）Mizukami T, Nojima K, Kuribayashi W, Sasaki E, Kuramitsu M, Ohkuma K, Matsuoka S, Furuhata K, Sobata R, Matsumoto C, Satake M, Tadokoro K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Safety and efficacy of HTLV-1 hyperimmune globulin against htlv-1 infection in a humanized mouse model. 23rd EHA congress, デンマーク，コペンハーゲン, 2016 年 6 月

2） Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Kimura H, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I. Interaction of BH3-like motif of hepatitis B virus X protein with anti-apoptotic protein Bcl-x_L. The XXVIIth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, 京都, 2016 年 8 月

3） Sasaki E, Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Ishi KJ, Hamaguchi I. A system vaccinological approach to vaccine and adjuvant safety: establishment of a novel safety evaluating system for adjuvant. 2016 ISV Annual Vaccine Congress, 米国, ボストン, 2016 年 10 月

4） Sasaki E, Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Ishi KJ, Hamaguchi I. A system vaccinological approach to vaccine and adjuvant safety: establishment of a novel safety evaluating system. Keystone symposia Translational vaccinology for global health, 英国, ロンドン, 2016 年 10 月

5） Kuramitsu M, Sekizuka T, Matsumoto C, Sobata R, Sagara Y, Kuroda M, Satake M, Itabashi K, Okuma K, Hamaguchi I. Genomic feature of HTLV-1 in Western blot indeterminate. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017 年 3 月

6) Tezuka K, Okuma K, Kuramitsu M, Tanaka Y, Tanaka R, Hamaguchi I. Targeting and Eliminating HTLV-1–infected Cells with Cytolytic Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Encoding HTLV-1 Primary Receptor. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017 年 3 月

7） Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Biragyn A, Hamaguchi I. Establishment of a Novel HTLV-1-specific CCR4-targeting Therapy Using a CCL17-bound Oligonucleotide Delivery System. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月

8) Ikebe E, Shimosaki S, Ohkubo S, Hasegawa H, Fujisawa J-I, Iha H, Morishita K. A highly selective HSP90α/β inhibitor, TAS-116, demonstrates its potent growth suppressive activity to adult T-cell leukemia in preclinical models. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017 年 3 月

9） Mizukami T, Nojima K, Kuribayashi W, Sasaki E, Hiradate Y, Kuramitsu M, Furuhata K, Matsuoka S, Okuma K, Sobata R, Matsumoto C, Satake M, Tadokoro K, Hamaguchi I. Efficacy and Safety Evaluation of HTLV-1 Hyperimmune Globulins Against HTLV-1 Infection in a Humanized Mouse Model. HTLV and Related Viruses, 東京, 2017 年 3 月

10） Hamaguchi I. Present condition of HTLV-1 infection in Japan and the policy of measures.18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017 年 3 月

２．国内学会

1） 野島清子、水上拓郎、松本千惠子、蕎麦田理英子、佐竹正博、大隈和、手塚健太、倉光球、荒木久美子、山口一成、濵口功. HTLV-1感染防止を目指した血漿由来抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン製剤の開発. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月

2） 濵口功. 血液製剤のトレーサビリティ導入を目的としたパイロットスタディ. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月

3) 濵口功. HTLV-1の現状と感染対策の方針. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月

4) 手塚健太、倉光球、大隈和、野島清子、荒木久美子、篠原直也、松本千惠子、佐竹正博、濵口功. Multiplex RT-qPCRによるデングウイルス4血清型の高感度同時検出法の開発. 第64回日本輸血・細胞治療学会、 京都、2016年4月

5） 水澤左衛子、山口照英、濵口功. HBV-DNA 国内標準品の力価の再評価のための共同研究. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会、京都、2016 年 4 月

6) 平舘裕希. マウスおよびウシ精子に対するニューロテンシンの影響解析. 第 47 回精子研究会、秋田、2016 年 6 月

7） Kuribayashi W, Mizukami T, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Nojima K, Momose H, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. The c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells development and differentiation in ATL model mice. RIKEN IMS Summer Program (RISP)、横浜、2016 年 6 月

8） 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. 末梢血ヒト化マウスを用いたインフルエンザワクチン・アジュバントの安全性評価法開発の試み. 第 43 回 日本毒性学会 学術年会、名古屋、2016 年 6 月

9） 水上拓郎, 佐々木永太, 百瀬暖佳, 倉光球, 高井麻海子, 古畑啓子, 蒲地一成, 山田弘, 石井健, 濵口功. トキシコゲノミクスを応用した次世代経鼻粘膜投与インフルエンザワクチンおよびアジュバントの安全性評価法の開発, 第 43 回日本毒性学会、名古屋、2016 年 6 月

10） Kuribayashi W, Mizukami T, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Nojima K, Momose H, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. The essential role of c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells mediated ATL cell propagation and drug resistance. The 5th JCA-AACR Special Joint Conference、東京、2016 年 7 月

11） 倉光球、大隈和、松本千惠子、蕎麦田理英子、相良康子、板橋家頭夫、佐竹正博、濵口功. HTLV-1 Western blot 判定保留例の HTLV-1 遺伝子変異. 第３回日本 HTLV-１学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月

12） 大隈和、手塚健太、倉光球、濵口功. CCL17 結合オリゴヌクレオチド導入システムを用いた HTLV-1 特異的新規 CCR4 分子標的療法の開発. 第３回日本 HTLV-１、学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月

13） 池辺詠美、下崎俊介、緒方正男、ファイフ＝ニコール、松本昂、堀光雄、長谷川寛雄、森下和広、伊波英克. 免疫調節薬 Lenalidomide の抗 ATL 効果と作用機序の検討. 第３回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016 年 8 月

14） 谷生道一、日吉真照、濵口功、HTLV-1 アクセサ

リータンパク質の立体構造解析を目指した大量発現系構築の試み、第 3 回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016 年 8 月

15）水上拓郎、野島清子、松本千恵子、栗林和華子、 蕎麦田理英子、 佐々木永太、平舘裕希、倉光球、古畑啓子、村田めぐみ、松岡佐保子、大隈和、佐竹正博、明里宏文、内丸薫、濵口功. 臨床応用を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 感染予防法の開発と安全性に関する研究, 第３回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016 年 8 月

16）栗林和華子, 水上拓郎, 滝澤和也, 倉光球, 浅田善久, 岩間厚志, 松岡雄雅, 濵口功. HBZ-Tg マウスモデルにおける ATL 癌幹細胞の発生機序解明を目指した分子基盤の解明とその機能解析. 第３回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016 年 8 月

17）梅木一美、橘倉悠輝、山田明輝、山本成郎、梅北邦彦、濵口功、岡山昭彦. HTLV−１抗体ウエスタンブロット判定保留検体における核酸検査の有用性、第３回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016 年 8 月

18）高起良、片山貴子、岩永正子、相良康子、日野雅之、内丸薫、濵口功、宇都宮與、渡邉俊樹. 関西地区での HTLV-1 水平感染者コホート(JSPFAD)における TLV-1 水平感染キャリアーの解析. 第３回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016 年 8 月

19）水上拓郎, 栗林和華子, 滝澤和也, 倉光球, 佐々木永太, 平舘裕希, 浅田善久, 岩間厚志, 松岡雄雅, 濵口功. 成人 T 細胞白血病 (ATL) モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞の発生維持機構における c-kit-SCF シグナルの重要性の解明. 第 158 回日本獣医学会、藤沢、2016 年 9 月

20） Kazu Okuma, Kenta Tezuka, Madoka Kuramitsu, Isao Hamaguchi. Cytolytic recombinant vesicular stomatitis viruses encoding HTLV-1 primary receptor target and eliminate HTLV-1-infected cells. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月

21）佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、蒲地一成、石井健、濵口功. バイオマーカーとロジスティック回帰分析を統合した次世代アジュバント添加型インフルエンザワクチンの新規安全性評価システム構築. 第 20 回日本ワクチン学会 学術集会、東京、2016 年 10 月

22）Emi Ikebe, Takuro Fukumoto, Masao Ogata, Kazuhiro Kohno, Madoka Kuramitsu, Takashi Matsumoto, Masanori Ikeda, Shuichi Kusano, Akihiko Okayama, Akira Nishizono, Masumichi Saito and Hidekatsu Iha. Complete Sequences of the HTLV-1 Proviral Genomes from Newly Established ATL cell-lines in Oita Prefecture, Japan. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月

23）加藤孝宣、山田典栄、百瀬暖佳、村山麻子、松岡佐保子、大隈和、豊田九朗、濵口功、脇田隆字.HBV 検体パネルを用いた HBV DNA および HBs 抗原検出用体外診断薬の評価. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月

24）Saeko Mizusawa, Masako Ochiai, Shigeru Kusagawa, Eriko Uchida, Birei Furuta, Eriko Kawamura, Yoshiaki Okada, Teruhide Yamaguchi, Isao Hamaguchi. A National Collaborative Study to Re-evaluate the Potency of the 1st National Standard for HIV-RNA. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月

25）Haruka Momose, Takanobu Kato, Sahoko Matsuoka, Kazu Okuma, Norie Yamada, Asako Murayama, Kuro Toyoda, Takaji Wakita, Isao Hamaguchi. Evaluation of In Vitro Diagnostics for Hepatitis C Virus by Using Domestic Reference Panels. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月

26）浅沼秀樹、藤橋浩太郎、立石恒一郎、佐藤佳代子、山本典生、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、小田切孝人、CpG-ODN G9.1 の新規粘膜アジュバントとしての経鼻インフルエンザワクチンへの応用 第 20 回日本ワクチン学会、東京、2016 年 10 月

27）山本典生、立石恒一朗、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎、浅沼秀樹 : CpG-ODN G9.1 併用経鼻インフルエンザ VLP ワクチンの有効性に関する検討. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月

28）鈴木史子、岩崎博道、前山順一、松本壮吉、山本三郎、伊保澄子： 形質細胞様樹状細胞を標的とする TLR 9 リガンドのアジュバントとしての作用メカニズム. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月

29）Mizukami T, Nojima K, Kuribayashi W, Sasaki E, Hiradate Y, Kuramitsu M, Ohkuma K, Sobata R, Matsumoto C, Uchimaru K, Akari H, Satake M, Hamaguchi I. Safety and efficacy of HTLV-1 hyperimmune globulins against HTLV-1 infection in a humanized mouse model. 第 78 回日本血液学会、English Session 44 Viral Infection、横浜, 2016 年 10 月

30）楠英樹, 田中俊之, 河野俊之, 木村博一, 細田和男, 若松馨, 濵口功. B型肝炎X蛋白質（HBx）BH3様モチーフとBcl-x_LのNMR相互作用解析. 第55回NMR討論会、広島、2016年11月

31）Hideki Asanuma, Koichiro Tateishi, Hideki Hasegawa, Norio Yamamoto, Jun-ichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Kohtaro Fujihashi, Effectiveness of A Novel Nasal Influenza Vaccine Consist of HA VLP and CpG-ODN G9.1. 第 45 回日本免疫学会、沖縄、2016 年 12 月

32）浅沼秀樹、立石恒一郎、長谷川秀樹、佐藤佳代子、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎. 経鼻インフルエンザワクチンに用いる新規 CpG アジュバント（G9.1）の有用性. 第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月

33）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 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月

34）濵口功. 日本における HTLV-1 感染の現状と対策の方針. 第 31 回 Transfusion Medicine Conference、葉山、2017 年 1 月

35）前山順一、山崎利雄、林大介、山本十糸子、尾関百合子、鈴木史子、山口雄大、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎. 遅延型過敏反応から検討した MDP1 および G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の免疫条件. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 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、特徴付けする必要がある。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、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 3 つの柱に関わるような体制を取っている。放射能管理室はそれまで自ら生物学的研究を行いつつ、戸山庁舎、村山庁舎の放射線取扱いに関する実務、並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、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。室長を藤本浩文が務めている。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、本人の希望により研究休職期間を 1 年間延長し、平成 29 年 3 月末に帰国した。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、平成 29 年 1 月 1 日より国立医薬品食品衛生研究所に主任研究官として異動した。その後も 3 月 31 日までの三ヶ月間は感染研との併任とし、毎週一回、一室の業務に携わった。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研究した成果が実り主任研究官に昇格し、平成 28 年 12 月より戸山庁舎に戻って結核菌の研究を再開した。再任用職員の鈴木寿子は戸山庁舎の放射線管理業務を補佐し、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、平成 29 年 3 月末で任期を満了した。

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）が務めた。ハンセン病研究センターでは平成 28 年 3 月 31 日に中永和枝（感染制御部・主任研究官）が退職したことにより、ハンセン病研究センター所属の第一種放射線取扱主任者資格保持者がいなくなるため、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、品質保証･管理部及び他の部所属の資格保持者が臨

時でハンセン病研究センター独自の主任者資格保持者を養成することにした。これを受け、平成 28 年 3 月 31 日から 12 月 13 日までの主任者を本田尚子が、12 月 14 日から平成 29 年 3 月 1 日までの主任者を柊元巖（病原体ゲノム解析研究センター・第一室長）がそれぞれ担当した。この間に塚本裕美子（ハンセン病研究センター感染制御部・主任研究官）が第一種放射線取扱主任者試験に合格し、放射線取扱主任者講習を修了したので、平成 29 年 3 月 1 日からハンセン病研究センターの主任者を引き継いだ。

感染研戸山庁舎の非密封放射性同位元素（RI）の使用量は、庁舎設計時に想定していた研究業務とは異なり、RI を用いずに解析可能な研究手法がいくつも確立されたため、減少傾向にある。この一方で、RI を使わない用途の実験室が庁舎内で限られていることから、職員等は RI を使わない実験を行う場合でも RI 使用施設（管理区域）内での作業を余儀なくされている。そこで、所と相談し、財政的に許す範囲で戸山庁舎の管理区域の解除を検討した。その結果、平成 28 年度は地上 2 階から 4 階部分にある RI 実験室の非管理区域化を原子力規制庁の承認を得て実行した。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稼動している。

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。室長を落合雅樹が務めている。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、富樫祐子（業務管理課所属）の 2 名を含めた 6 名で業務に臨んでいる。平成 28 年 12 月からは、技術補助員の岡村望が第二室のメンバーに加わった。近田俊文は平成 29 年 3 月末で任期満了した。

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 28 年 8 月 10 日、所長による平成 27 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 28 年 10 月 31 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、BCG ワクチンの国家検定に関して行われている業務管理課検定係の検定品受付業務、細菌第二部の力価試験、血液・安全性研究部の含湿度試験、及び細菌第二部で実施した BCG ワクチンの無菌性に係る収去検査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 29 年 1 月 13 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。平成 28 年 12 月にフィリピン、マニラの WHO 西太平洋地域事務局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 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 4 回目を迎え、WHO の地域事務局から講師を呼ぶなどして、WHO との連携を強化したプログラムを実行した。当初、試行錯誤で始めた研修も研修生並びに JICA から高い評価を得るに至ったのは喜ばしいことである。多くの横断的な業務が期待されている品質保証・管理部であるが、人材的な強化、育成をどうするかが当面の課題である。

Ⅰ．放射性同位元素使用状況

1. 戸山（国立研究法人国立健康・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	1,161.306	46.250	67.357
^{14}C	130.191	12.950	4.769
^{32}P	373.360	138.750	141.370
^{35}S	238.088	0.000	22.520

保管量下限数量比合計 3,724.4

2. 村山

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	0.000	9.250	0.555
^{14}C	7.400	0.000	1.850
^{32}P	18.500	18.500	37.000
^{33}P	29.600	0.000	29.600
^{35}S	181.000	0.000	181.000

保管量下限数量比合計 0.6

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	0.000	0.000	0.000

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 ２２３名（国立研究法人国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山 ２２名

３．ハンセン ４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28年 4月 13日	21	新規
5月 9日	146	継続
5月13日	62	継続(村山)
5月17日	6	継続(ハンセン)
5月20日	92	継続
6月 3日	18	新規・継続
6月15日	5	継続
6月27日	1	継続
8月 3日	3	新規
10月 4日	8	新規
平成29年 2月 3日	8	新規
2月 8日	2	新規
合 計	372	

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28年 4月15日	1	新規
平成28年 8月 3日	1	新規
合 計	2	

3. 特別講習会

平成28年 6月 16日	29	戸山TBS、防災センター
平成28年 10月 11日	5	ハンセンTBS、防災センター
平成28年 10月 14日	20	村山TBS、防災センター
合 計	54	

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。昨年に引き続き、クラスターDNA損傷のモデルとして数塩基内に複数の損傷をもつDNA分子、およびクラスターDNA損傷に誘発されると考えられる二本鎖切断(DSB)のモデリングを行った。酸化損傷グアニン(8oxoG)、一本鎖切断(SSB)、脱塩基(AP サイト)を組み合わせたDNA分子に加え、本年は新たに酸化損傷チミンの1つであるThymineglycolを含むDNA分子も設計し、水溶液中での分子の挙動を計算化学的手法を用いて解析した。また、これらの損傷を末端

領域に含む DNA 分子のモデリングも行い、DSB 末端認識酵素である Ku タンパク質が作用した場合に期待される両分子間の結合力を計算した。［藤本浩文、加藤篤;小池学、赤松憲、鹿園直哉、渡辺（横谷）立子（量研機構）;樋口真理子、甲斐健師、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

近年患者数が増加しているが有効な治療薬のない *Mycobacterium avium* のジアデノシン四リン酸加リン酸分解酵素 MAV3489 の精製と結晶化および構造解析を行った。

また生存に必須である結核菌 Rv2614c を精製し、スレオニル tRNA 合成酵素でありジアデノシン四リン酸を生成することを示した。［本田尚子、加藤篤;森茂太郎、柴山恵吾（細菌第二部）］

III. 大腸菌RNase Eの機能的進化に関する研究

大腸菌のリボヌクレアーゼE（Eco-RNase E）は生育にとって必須の遺伝子産物であるが、枯草菌を含む幾つかの細菌種にはEco-RNase Eのホモログが存在しない。例えば枯草菌では、代わりにリボヌクレアーゼJ1, J2（Bsu-RNase J1, J2）及びY（Bsu-RNase Y）がRNA decayを行っている。本研究ではEco-RNase E遺伝子の欠損（Δ*rne*）によって致死になる大腸菌の生育が、Bsu-RNase J1, J2及びBsu-RNase Yによって回復することを見出した。また、節足動物の共生細菌であるボルバキア菌には、短いEco-RNase Eホモログ（Wpi-RNase E）とBsu-RNase J1ホモログ（Wpi-RNase J）が存在することがゲノム情報から知られているが、Wpi-RNase Jによっても大腸菌Δ*rne*株の致死性が回復された。大腸菌Δ*rne*株の致死性の回復におけるBsu-RNase J1とWpi-RNase Jとの性質の共通性は、Wpi-RNase JがBsu-RNase J1と類似のリボヌクレアーゼであることを示唆している。ほぼ全ての細菌種がRNase E、RNase J、RNase Yのいずれかを持っていることが知られており、本研究の結果はEco-RNase Eホモログを持たない細菌種においても、RNase JやRNase Yを通じて、RNA decayを司るEco-RNase E様の酵素活性が遍く存在していることを示唆している。［田村克、本田尚子、藤本浩文、加藤篤、陰山大輔（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構）］

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

CHO細胞試験は、精製百日せきワクチンの残存百日咳毒素（PT）活性を測定する試験法の１つであり、欧米では原液等の残存PT活性を測定する試験法として用いられている。本試験法は、精製百日せきワクチン小分製品等の残存PT活性を測定する動物実験代替候補試験法の１つとして検討が進められている。本試験法では、細胞の形態的な変化を指標として検鏡下で目視判定を行うが、陽性・陰性の境界域での判定が非常に難しく、判定が観察者の経験等に依存し、施設間再現性等に課題がある。そこで、現在目視判定を行っているCHO細胞の観察について、測定器を用いた客観的な判定が可能であるか検討を開始した。［落合雅樹、堀内善信（客員研究員）、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤；山本明彦（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）HBV-DNA、HIV-RNA及びHCV-RNA国内標準品の力価の再評価に対する統計解析支援

輸血用血液製剤及び血漿分画製剤の原料となる血漿に対するウイルス核酸増幅検査の精度管理等に用いるための国内標準品（HBV-DNA、HIV-RNA及びHCV-RNA）の力価を再評価する共同研究に対する統計解析支援を行った。定量法により国内標準品の力価をWHO国際標準品に対する相対力価として再評価することで、エンドポイント法で決定した従来の力価と比較し、より精度よく測定された信頼性の高い力価であると評価された。再評価により得られた力価を、国内標準品（HBV-DNA 及びHIV-RNA）の表示力価として値付けしなおすことが平成28年度第1回薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会で承認された。［落合雅樹；水澤左衛子、松岡佐保子、浜口功（血液・安全性研究部）；岡田義昭（元血液・安全性研究部、現埼玉医科大学）］

２）血液凝固第Ⅷ因子国内標準品のロット更新に対する統計解析支援

感染研を含む計5施設が参加した血液凝固第Ⅷ因子国内標準品ロット更新のための共同研究が行われ、結果データの解析を支援した。国内標準品候補品（第３次）の力価をWHO国際標準品（第８次）に対する相対力価として算出した。［落合雅樹；倉光球、大隈和、浜口功（血液・安全性研究部）］

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

SLP審査を開始しているワクチンについて諸外国のリスク評価項目を参考に製品毎に品質、安全性、有効性等に係るリスクを評価し、国家検定で実施する試験頻度を軽減する仕組みを導入するための前段階として、ワクチンに対するリスク評価項目及びリスク評価基準試案を作成し、製品毎のリスク評価を実施した。本研究で実施したリスク評価において、全体的にはワクチン製品の性状等と総合的リスクスコアの間には、品質リスクを反映したと考えられる一定の関連性が認められた。各評価項目のリスクの和により製品の総合的リスクスコアを算出する方法は科学的に妥当な透明性の高い評価方法になり得ると考えられた。［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．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3Rs対応の検討を支援した。今年度は、狂犬病ワクチンの力価試験、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；伊藤睦代、林昌宏、西條政幸（ウイルス第一部）；石井孝司、清原知子、脇田隆字（ウイルス第二部）；小島肇（国立医薬品食品衛生研究所）］

５．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。①現状と課題、②課題の解決法、③今後の候補品準備手順の制定と安定供給手法について「現時点でのまとめ」を行った。候補品準備手順の制定については、感染研では既に定められて実行されていたが、制度上の制約が非常に多く、大幅な改訂は難しいことが明らかとなった。しかし毎年度、在庫切れが長期間にわたる標準品も存在し、候補品提供メーカーに対して「前倒し分の打診と入手の実施、在庫予想年数の調査、製薬団体等に関わってもらうシステム構築」を加えて、今後の手順改訂に生かすことが可能と考えられた。一方、安定供給手法については、感染研のみの対応では限界に達していることから、他の機関（一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団（RS財団））への移管を前向きに進める必要性があると考えられた。［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。樹脂成型MNの加工自由度を活かして、大容量（実績値：0.5mL）の皮内投与を可能とするMNをデザインし、ラットへの投与実験を行った。大容量投与によるラットへの有害事象は観察されず、抗原ドーズを一定にして大容量・低濃度と小容量・高濃度の投与を比較したところ、同等の抗体応答が誘導された。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎；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）；大舘幸江、甲斐雅規（ハンセン病研究センター）、佐々木幸恵（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、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；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）；大舘幸江、甲斐雅規、塚本裕美子（ハンセン病研究センター）、佐々木幸恵（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28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 21件、修正 2件、改訂 58件、廃止 8件、有効SOP数 553通。検査SOP：新規作成0件、修正 0件、改訂 6件、廃止 4件、有効SOP数 53通。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文、内田孝子；富樫祐子（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28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35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28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28年10月31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29年1月13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；富樫祐子（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。［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。［藤田賢太郎、内田孝子、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、岡村望；富樫祐子（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11版及び第12版改正案を作成するのに協力し、それぞれ平成 28 年 11 月 25 日及び平成 29 年 4 月 1 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、「承認書等取扱規程」第4版改正案、「照会、再試験等が生じた場合の事務処理期間について」第1版案、「製造・試験記録等要約書の審査に関する実施要綱」第4版案及び「SLP様式作成及び変更に係る手順書」第3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28年10月17日～21日）で審議予定のガイドライン等に関する勉強会（10月3日）の企画・運営を担当し、帰国後の報告を行った。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、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、岡村望；富樫祐子（業務管理課）；加藤篤］

１２．予防接種後副反応疑い（有害事象）報告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疑い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、感染症疫学センターと協力して開発した予防接種後副反応疑い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運用を開始した。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、岡村望、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；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；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。［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。［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、田中豊（業務管理課）］

５．検定コンピュータシステムの更新

医薬品医療機器法施行規則の一部改正に対応するための機能追加等の向上を図った新システムを導入するため、システム開発業者との定例会を開催し、システム設計、開発の進捗状況等について情報共有及び調整を行った。平成29 年3月末にシステム切り替えを行い、新システムの運用を開始した。［落合雅樹、藤田賢太郎；熊谷正仁、富樫祐子（業務管理課）；検定検査コンピュータ小委員会］

信頼性保証に係る国際協力関係業務

Ⅰ．研修等

１．研修の主催

１） Better understanding of Japanese health administration’s organization, management and policy（台湾FDA１名；平成28年11月28日～平成28年12月5日）［落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、内田孝子；西條政幸、林昌宏、田島茂（ウイルス第一部）；板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）；網康至（動物管理室）；山本明彦（バイオセーフティ管理室）］

２） JICA International Program “Strengthening the National Regulatory Authorities (NRA) for Vaccine’s Quality and Safety”（J1622052, J1622068）（研修員10名；平成29年1月15日～平成29年2月11日）［加藤篤、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文、内田孝子、岡村望；富樫祐子（業務管理課）；林昌宏、伊藤睦代（ウイルス第一部）；石井孝司、染谷雄一、岡智一郎（ウイルス第二部）；駒瀬勝啓、森嘉生（ウイルス第三部）；見理剛、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）；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）；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28年5月19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28年11月2日）［落合雅樹］

Ⅱ．国際会議参加

１．International Symposium on Global Strategies for Cooperation to Tackle Infectious Diseases、及び3rd Meeting of WHO Network of Collaborating Centers on Vaccine Standardization（平成28年6-7月、韓国、ソウル及びオソン）［加藤篤、内藤誠之郎］

２．WHO–RIVM Global Vaccine Quality Control Laboratories Networking Meeting（平成28年8-9月、オランダ、ビルトホーフェン）［加藤篤］

３．1st Western Pacific National Control Laboratories Network (WP Lab-Net) Workshop（平成28年9月、韓国、ソウル）［落合雅樹；花田賢太郎（細胞化学部）；阿戸学（免疫部）］

４．5th Workshop for National Regulatory Authorities for Vaccines in the Western Pacific Region（平成28年9月、フィリピン、マニラ）［藤田賢太郎、加藤篤］

５．WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（ECBS；平成28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）］

その他

I. 放射線管理に係る事項

1．初めて主任者になって1年以内、以降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28年7月）を受講した。［本田尚子］

2．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28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。［本田尚子、田村克、藤本浩文、加藤篤、土田耕三、石井孝司;大舘幸江、甲斐雅規（ハンセン病研究センター）、佐々木幸恵（総務部･研究支援係）］

3．戸山庁舎の安全連絡協議会（平成28年9月、平成29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、佐々木幸恵（総務部･研究支援係）］

4．ハンセン病研究センターの安全連絡協議会（平成28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;甲斐雅規、大舘幸江（ハンセン病研究センター）、佐々木幸恵（総務部･研究支援係）］

5．村山庁舎施設運営連絡協議会（第10回平成28年6月、第11回平成28年11月、第12回平成28年2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］

6．所の節電対応方針に従い、6月～10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）］

II. 信頼性保証に係る事項

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。［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、4 機関（国外：4 機関、国内：0 機関）であった。［落合雅樹、藤田賢太郎；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) 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

2) Nojima K, Okuma K, Ochiai M, Kuramitsu M, Tezuka K, Ishii M, Ueda S, Miyamoto T, Kamimura K, Kou E, Uchida S, Watanabe Y, Okada Y, Hamaguchi I. Establishment of a reference material for standardization of the anti-complementary activity test in intravenous immunoglobulin products used in Japan: A collaborative study. Biologicals. 46: 68-73, 2017

3) Oh H, Shin J, Ato M, Ma X, Williams D, Han K, Kim YJ, Kang H, Jung K, Hanada K, Ochiai M, Hung PV, Park S, Ahn C. The First Meeting of the National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific in 2016. Osong Public Health Res Perspect. 8 (1): 91-103, 2017

２． 和文発表

1) 近田俊文：抗生物質の微生物学的力価試験法、第十七改正日本薬局方技術情報 JPTI 2016、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス編、199-206、じほう、2016
2) 近田俊文、鈴木里和：抗生物質の微生物学的力価試験法、第 17 改正 図説 日本薬局方微生物試験法の手引き、坂上吉一監修、37-46、文教出版、2016
3) 落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、近田俊文：ワクチンの承認に至るまでのプロセスと品質管理、臨床と微生物、43(3): 15-20, 2016
4) 落合雅樹：ワクチンの製造と品質管理、Pharm Stage, 16(7): 1-3, 2016

Ⅱ. 学 会 発 表

１． 国際学会等

1) Kodama Y, Sumida T, Naito S. Development of hollow microneedle device for intradermal vaccination. CRS Annual Meeting & Exposition, Seattle, USA, July, 2016
2) Harada Y, Shimasaki N, Ochiai M, Odagiri T, Itamura S. An evaluation of single radial immuno-diffusion assay to determine the HA content of two influenza B virus components in quadrivalent influenza vaccine. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA, August, 2016

２． 国内学会等

1) 兒玉賢洋、住田知也、内藤誠之郎：ワクチン皮内投与に向けたマイクロニードルの開発、日本印刷学会第 135 回研究発表会、東京、5 月、2016
2) 本田尚子、金玄、加藤篤、柴山恵吾、森茂太郎：抗酸菌において diadenosine tetraphosphate(Ap_4A)の生合成・分解に関わる酵素の解析、第一回抗酸菌研究会：沖縄、9 月、2016
3) 水澤左衛子、落合雅樹、草川茂、内田恵理子、古田美麗、川村利江子、岡田義昭、山口照英、浜口功、HIV-RNA 国内標準品の力価の再評価のための国内共同研究、第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、10 月、2016
4) 田村克、陰山大輔、本田尚子、藤本浩文、加藤篤：大腸菌生育に必須の RNase E 酵素活性は RNase E ホモログを持たない細菌種にも広く存在する、第 39 回日本分子生物学会、横浜、11 月、2016
5) 森茂太郎、本田尚子、金玄、林原恵美子、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抗結核菌活性、日本農芸化学会 2017 年度大会：京都、3 月、2017

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 28 年 4 月から平成 29 年 3 月までに、50 カ国から 220 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 28 年 4 月から平成 29 年 3 月までに、41 カ国 464 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、研究協力に関する覚書の締結及び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 研究協力に関する覚書（MOC）の締結

(ｱ)平成 29 年 2 月 23 日　韓国国立医薬品食品評価研究所 (NFDS)とワクチン及び生物製剤の品質管理分野の研究協力等に関する覚書（MOC: Memorandum of Cooperation）を締結。

ｲ シンポジウム開催

(ｱ) 平成 28 年 9 月 6-7 日　台湾の感染症研究機関である台湾国立疾病予防センター(台湾 CDC)と第 13 回日本―台湾感染症シンポジウムを開催。(台湾・台北にて、急性呼吸器感染症、結核、薬剤耐性(AMR)、FETP (Field Epidemiology Training Program)の活動、および共同プロジェクト報告を題材に、両機関における取り組みなどについて意見交換を行い、情報を共有した。)

(ｲ) 平成 28 年 12 月 19 日　日中韓の国立感染症研究機関〔感染研、中国国立疾病対策予防センター(中国 CDC)、韓国国立感染症対策センター(韓国 CDC)〕の第 10 回日中韓感染症フォーラムを開催。(中国・北京にて、ジカ熱、中東呼吸器症候群(MERS)、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)、インフルエンザを題材に、両機関の取り組みなどについて意見交換を行い、情報を共有した。)

ｳ　外国機関へのワクチン株供与

平成 28 年 5 月 韓国食品医薬品食品評価研究所に参照品の力価試験のため「日本脳炎ワクチン」を供与。

ｴ　共同研究報告会ほか

平成 28 年 12 月　インド・コルカタにて、

インド国立コレラ腸管感染症研究所（NICED）との日印共同研究発表会を開催。

２．国際協力・研修業務

(1) JICAの研修への協力

ア　集団研修

(ｱ) 平成28年6月8日-7月8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29年1月16日-2月10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・13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

なし

ウ　その他研修

(ｱ)平成28年6月17日 ザンビア国「ユニバーサル・ヘルス・カバレッジ達成における日本の経験」（1カ国･6名･感染症疫学センター）

(ｲ) 平成28年8月8日「地域保健システム強化による感染症対策」（12カ国･13名･寄生動物部・感染症疫学センター）

(ｳ) 平成28年9月9日「感染症対策行政研修」・10カ国･12名･感染症疫学センター）

(ｴ)平成28年9月15～16日「コンゴ民　戦略的マネージメント」（1カ国･4名･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･獣医科学部）

(ｵ)平成28年10月21日「包括的なウイルス肝炎対策」（2カ国･6名･副所長・ウイルス第二部）

(ｶ)平成28年12月19～20日「パキスタン母子保健における定期予防接種」（5名･ウイルス第二部・ウイルス第三部・感染症疫学センター）

(ｷ)平成29年1月15日～2月11日「フィリピン・ベトナム「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化」」（2カ国･10名･ウイルス第一部･ウイルス第二部･ウイルス第三部･細菌第二部･感染病理部･血液安全性研究部･品質保証・管理部･バイオセーフティ管理室･動物管理室･病原体ゲノム解析センター･インフルエンザウイルス研究センター）

(ｸ)平成29年1月24,25,27,31日「安全な輸血確保による感染症予防」（3カ国･6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）

(ｹ)平成29年2月22日「中国パンデミックインフルエンザ及び新興・再興感染症プロジェクト」（1カ国･8名･感染症疫学センター）

(ｺ)平成29年2月28日「HIV/エイズ予防および対策～MDG6 達成に向けて～」（6カ国･8 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）

(2) JICA技術プロジェクト等への協力

ア　ベトナム国におけるJICA協力（感染症の予防・対応能力向上のための実験室の機能及び連携強化プロジェクト）

(ｱ) 派遣

① 平成28年12月14-23日　詳細計画策定に係る調査を行うため、バイオセーフティ管理室　職員1名をベトナムNIHEに派遣。

② 平成29年2月13-17日 第2回詳細計画算定調査行うため、ハンセン病研究センター感染制御部職員 1名をベトナムNIHEに派遣。

イ　ナイジェリア連邦共和国におけるJICA協力（NCDC協力に係る調査）

(ｱ) 派遣

平成29年1月4-12日　調査団員としてウイルス第一部職員2名を派遣。

ウ　ベトナム国・フィリピン共和国におけるJICA協力（「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）」課題別研修フォローアップ及び新規国別研修ニーズ調査）

(ｱ)派遣

平成28年5月22-28日　品質保証・管理部職員1名をベトナムNIHEに派遣。

ｴ　コンゴ民主共和国「国立生物医学研究所拡充計画」における JICA 協力

(ｱ)派遣

平成 28 年 6 月 18 日-7 月 3 日 拡充計画準備調査の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。

ｵ　米国アトランタで開催される US CDC の研修参加における JICA 協力

(ｱ) 派遣

平成 29 年 1 月 2-9 日 研修参加として感染症疫学センター職員 1 名を派遣。

ｶ　ブラジル国「東北ブラジル健康なまちづくりプロジェクト」フォローアップ協力における JICA 協力

(ｱ) 派遣

平成 29 年 3 月 6-12 日 調査団員として昆虫医科学部職員 1 名を派遣。

ｷ　ケニア共和国「アフリカ保健課題に係る国際会議出席（AHAIC 2017)」における JICA 協力

(ｱ) 派遣

平成 29 年 3 月 6-11 日調査団員として、ウイルス第一部、国際協力室職員各 1 名を派遣。

(3)国際緊急援助隊への協力

ｱ　コンゴ民主共和国における黄熱病感染拡大に関する国際緊急援助隊への協力

(ｱ)派遣

①平成 28 年 7 月 10-19 日 調査チームの隊員としてウイルス第一部、感染症疫学センター職員各 1 名を派遣。

②平成 28 年 7 月 20-31 日 黄熱緊急援助隊員としてウイルス第一部職員 2 名を派遣。

(4)その他研修協力等

ｱ　平成 28 年 6 月 22 日　名古屋大学大学院医学系研究科修士課程医科学専攻医療行政コース　ヤング・リーダーズ・プログラム（9 カ国・11 名）

３．国際機関及び外国政府機関等との協力

(1) WHO・WPRO 関連調整

ｱ　会議等開催

平成 28 年 6 月 13-15 日に、感染研において、Ad Hoc Small Working Group of the GPLN (Global Polio Laboratory Network) を開催。

ｲ　会議等派遣

(ｱ) 平成 28 年 4 月 3-8 日　優先すべき感染症に関する健康技術の開発及び生産を支援する潜在する基盤の計画に関するワークショップに参加（スイス・1 名）

(ｲ) 平成 28 年 5 月 3-7 日　インフルエンザパンデミックリスク評価の手法確立のための会議（スイス・1 名）

(ｳ) 平成 28 年 5 月 15 日-5 月 21 日　ポリオウイルスの迅速診断のためのリアルタイムＲＴ－ＰＣＲ実技トレーニング参加（フィリピン・1 名）

(ｴ) 平成 28 年 6 月 13 日～16 日 ＷＰＲＯが主催する域内のデング熱サーベイランスにかかる会議（フィリピン・1 名）

(ｵ) 平成 28 年 6 月 20 日～25 日麻疹と風疹の制御ならびに排除に向けての進展の促進会議（スイス・3 名）

(ｶ) 平成 28 年 6 月 27～7 月 1 日　ＷＨＯ技術会合（ＧＩＳＲＳシステムを用いたＲＳウイルスのサーベイランスの試行）（スイス・1 名）

(ｷ) 平成 28 年 6 月 28-7 月 2 日　感染症対策のための協調に係る国際戦略シンポジウムおよびワクチンの品質規格に係る第３回ＷＨＯ共同研究センター会議（韓国・2 名）

(ｸ) 平成 28 年 7 月 25-30 日　第２５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に参加し討議を行う（フィリピン・5 名）

(ｹ) 平成 28 年 7 月 27-30 日　ＷＨＯ／ＵＮＩＣＥＦのポリオウイルスワクチン（ＯＰＶ／ＩＰＶ）の製造業者と国家検定機関の協議に参加（スイス・1 名）

(ｺ) 平成 28 年 8 月 22-30 日　「第８回広範な防御効果および長期間の免疫反応を誘導するインフルエンザワクチン開発に関するＷＨＯ会議」および「第９回インフルエンザ制御に関するオプション会議」(米国・1 名)

(ｻ) 平成 28 年 8 月 22-30 日　ワクチン国立検定機関グローバルネットワーク会議（オランダ・1 名）

(ｼ) 平成 28 年 8 月 29-9 月 2 日　第７回日本脳炎の予防とコントロールに関する多地域間会議（フィリピン・1 名）

(ス)平成28年9月13-16日　第６回ＷＰＲＯワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議（フィリピン・4名)。
(セ) 平成28年9月26-30日　第５回西太平洋地域ワクチン規制当局ワークショップ（フィリピン・2名）
(ソ) 平成28年9月21-9月25日　ポリオワクチンの安全な生産に関するＷＨＯガイドライン作成のためのワーキンググループ会議（スイス・1名)。
(タ)平成28年9月25-10月2日　WHO南半球インフルエンザワクチン株選定会議およびＷＨＯコラボレーションセンターとサーベイランスと対応システム主要研究機関会議（スイス・3名)。
(チ) 平成28年10月16-22日　生物学的製剤の標準化に関する専門家委員会（スイス・3名）
(ツ) 平成28年10月24-29日　ポリオ実験室診断小委員会会議（フランス・1名）
(テ) 平成28年10月25-30日　ハンセン病の薬剤耐性の伝播監視事業に関するＷＨＯワークショップ（ネパール・2名)。
(ト)平成28年10月31日-11月4日　第１８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）
(ナ)平成28年11月14日-18日　第７回ＷＨＯ西太平洋地域日本脳炎ウイルスグローバルおよびリージョナル専門ラボラトリー会議（中国・1名）
(ニ)平成28年11月14日-18日　組換えＨＰＶワクチンに関するＷＨＯワークショップ（中国・1名）
(ヌ)平成28年11月27-30日　薬剤耐性菌フォーラム（フィリピン・3名)。
(ネ)平成28年11月27-30日　第２回西太平洋地域ＷＨＯ協力センター会議（フィリピン・3名）
(ノ)平成28年11月30-12月3日　西太平洋地域ＦＥＴＰワークショップ（カンボジア・１名）
(ハ)平成28年12月5-10日　インフルエンザ調査に関する協議会議（スイス・1名）
(ヒ)平成28年12月12-16日　東南アジア国立試験機関ネットワーク会議（タイ・2名）
(フ)平成29年2月14-18日　第５回Ｂ型肝炎専門家パネル会議（フィリピン・2名）
(ヘ)平成29年2月16-26日　ラオスにおける国際保健規則（ＩＨＲ）の合同外部評価ミッション（ラオス・1名）
(ホ)平成29年2月26-3月5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）
(マ)平成29年3月12日-3月18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）
(ミ)平成29年3月19-24日　ブルーリ潰瘍に関するWHO会議（スイス・2名）
(ム)平成29年3月21-25日　パンデミックインフルエンザに備える為の対策計画会議（スイス・1名）
(メ)平成29年3月23-4月4日　WHO西大西洋地域事務局において実施されるWPROのFETP向け研修プログラムの評価（フィリピン・1名）

ウ　WHOフェローシップ受入
①平成29年1月30日-3月3日　ワクチンの品質管理に関する研修（ベトナム・5名・ウイルス第二部・細菌第二部・インフルエンザウイルス研究センター・バイオセーフティ管理室・動物管理室）
②平成29年3月27日-3月30日　薬剤耐性菌に関する実践的な実験トレーニング（細菌第二部・バイオセーフティ管理室）

ェ　WHOによる査察
平成 28 年 10 月 20-24 日　WHO Laboratory Accreditation Visit（実験室適格性評価のための訪問）

ォ　WHO総会及び執行理事会に関する対象方針案への厚生労働省国際課からのコメント依頼への対応。

４．その他協力、調整

(1) 国際会議支援(所内開催)
ア 平成28年7月12-13日 ジカ熱ワークショップ（ウイルス第一部・昆虫医科学部）
イ 平成29年1月9-10日　狂犬病ワークショッ

プ（獣医科学部）

(2)国内会議支援(所内開催)

なし

(3) 海外の要人来訪

ア 平成28年4月15日 WPRO, SEAROの地域事務局長 2 名(Dr. Shin Young-soo、Dr.Poonam Khetrapal Singh)表敬訪問、意見交換。

イ 平成 28 年 4 月 18 日 米国国務省副長官(Mr.Antony J Blinken)ほか 5 名(米国保健福祉省、米国大使館)表敬訪問。意見交換。

ウ 平成 28 年 6 月 13 日インド ICNR 所長(Dr. Soumya Swaminathan)ほか1名(在日本インド大使館)表敬訪問、意見交換。

エ 平成 28 年7月7日中国 CDC 所長(Dr. Wang Yu)表敬訪問、意見交換。

オ 平成28年9月15日 ブータンNCAH所長(Dr. Dukpa) 表敬訪問、意見交換。

カ 平成29年1月18日 WHO WPRO,Consultant (Dr.SyedShah),WHO SEARO,Medical Officer (Dr.Martin Eisenhawer) 表敬訪問、意見交換。

キ 平成29年1月20日 WPRO technical officer (Dr.Varja GARABOVAC) 表敬訪問、意見交換。

ク 平成 29 年 1 月 24 日ガーナ保健省健康局長(Badu Sarkodie)他1名表敬訪問、意見交換。

ケ 平成 29 年 2 月 16 日サウジアラビア保健省教務・研修総局長(Dr. Mansour Saleh Alyami)ほか2名表敬訪問、意見交換、見学。

コ 平成 29 年 2 月 23 日 韓国 NIFDS 所長(Dr.Yeowon Sohn)ほか3名表敬訪問、意見交換。MOCの締結。

(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

なし

(2)二国間共同研究

平成26年4月1日-平成29年3月31日

ベトナム（VAST）（エイズ研究センター）

「ベトナムにおけるHLA関連HIV変異の解析」

２．国際協力連絡・調整等

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、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。

日本医療開発研究機構補助金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 28 年度より河合康洋主任研究官が、バイオセーフティ管理室に勤務することとなった。バイオセーフティ管理室は、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、および戸山・村山庁舎およびハンセン病研究センターに設置の封じ込め実験室（BSL3）および BSL4 実験室を含む高度封じ込め施設等の管理・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と臨時の講習会も実施した。講義に加えてグローブ・マスク等の個人防護具の着脱方法や手洗い方法についてのデモンストレーションと実技を実施した。また、感染症法における特定二種病原体等取扱者および家畜伝染病予防法に基づく家畜伝染病病原体取扱者を対象とした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、3 号棟、6 号棟、9 号棟およびハンセン病研究センターの BSL3 や 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特定一種病原体等所持施設として指定されている。

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。

厚労省主催の病原体の包装・輸送の研修会や特定病原体等の輸送研修会などにおいて講義、実習を行い継続して協力し、病原体輸送の安全確保のための普及を図っている。また、感染研へ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、日本バイオセーフティ学会との他の学会等に参加し、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やこれの情報を共有データベースの搭載内容検討を行った。また、ポリオウイルス取扱い施設の基準に関わる情報収集検討を行った。

［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. 病原体輸送時のヒヤリハット調査

病原体輸送時には、病原体輸送容器の適正使用及び適切な標示が求められる。特にわが国では、特定病原体等

の輸送に際しては国連規格容器の使用が感染症法により義務付けられている。本調査では、ヒヤリハット事例の発生について確認し、教育訓練等を通じた問題点の改善と事故防止に繋げるため、全国の検疫所及び地方自治体の関係職員を対象とした病原体輸送講習会への参加者を対象に、病原体輸送時のヒヤリハット事例についてアンケートを実施した。

［伊木繁雄、棚林清］

3. 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。

［伊木繁雄、棚林　清、高木弘隆、原田俊彦、河合康洋、山崎利雄、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病原体などの防護性能に関する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 IS0 規格の審査や JIS 規格の制定に反映している。バイオハザード対策専用防護服の高圧力負荷条件下での性能評価を行っている。高危険度病原体などを用いる特殊環境下で使用するための防護服の要求性能について検討を行っている。［篠原克明］

5. 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］

6. 病原体の不活性化方法等に関する研究

(1) 食品媒介/介在性下痢症ウイルスに関する研究

現在「食品分野におけるウイルス不活性化評価ガイドライン(仮称)」の策定に向けて、ヒトノロウイルス代替ウイルスの選定手法及びウイルス選定を実施している。その中でネコカリシウイルス(FCV)を用いた場合の過酸化水素/50%エタノールによる hard surface 簡易処理を検討したところ、標準株である F9 株では 0.5%過酸化水素 5 分処理後のエタノール接触により速やかに感染価が減衰したが、薬剤低感受性株である ym3 株では顕著な効果は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。

［髙木弘隆］

(2) 臨床検体中の病原体不活化条件の検討

感染症患者から採取した臨床検体は検査の前に病原体を不活化する必要があるが、その後の検査に影響を及ぼさないような手段で行わなければならない。現在、ウイルス感染症の血清の不活化には補体の非働化条件である 56°C、30 分間の処理が慣例的に行われているが、実際のところその条件で不活化されているか確認したデータは少ない。そこで特に取扱いを注意すべき BSL3 のウイルスに関して、熱または UV による不活化条件の検討を始めた。

[原田俊彦、福士秀悦 (ウイルス 1)]

II. その他の研究

1. *Bartonella henselae* を原因とする CSD に関する研究

B. henselae 感染発症患者からの特異遺伝子検出系について、プロトコール改訂(新規遺伝子抽出法と血球成分の混入に対する PCR 系への影響回避)とその手法を用いた実際の症例(2016 年 11 月)に対応した。2nd-PCR 発症者血液から直接 *B. henselae* 特異遺伝子を検出し、原因究明の一助となった。また同手法を用いてネコ爪からの *B. henselae* 遺伝子検出月別調査を始めている(細菌第 2 部との共同研究)。

［髙木弘隆,久保田眞由美、佐々木裕子（細菌 2 部）］

2. カニクイザルでのワクチン接種や結核菌感染実験系の構築

カニクイザルへのワクチン接種、レントゲン撮影、採血等の技術を習得し、ブースターワクチンの効果検証の予備実験を行った。今回は、予備実験としてカニクイザル 3 匹を用いた。そのうち 2 匹に BCGII 接種後 6 週間目から 3 週間おきに 3 回ブースター免疫（MDP1+G9.1 各 20 μg）を行った後、結核菌の噴霧感染を行った。結核菌感染３ヶ月後、X 線撮影および剖検を行い、肺と脾臓の肉眼的観察、病理組織学的解析および還元培養による結核菌の菌数測定を行った。その結果、肺 X 線像、結核菌数等各指標において免疫群での改善が認められた。

［山崎利雄、林大介、山本十糸子、山本三郎；前山順一（血液・安全性研究部）、網康至（動物管理室）、向井徹（感染制御部）、小松崎克彦（予防衛生協会）］

3. マウスを用いた結核ブースターワクチン免疫条件の検討

マウスでの免疫および感染条件を検討している。

C57BL/6 マウスを用い、初回免疫として BCG-II を皮内投与し、6 週後から 3 週間おきに 3 回経鼻または皮下投与でブースターを行い、その 3 週後噴霧感染を行った。しかしながら、DTH での結果と乖離が有り、ブースター効果が認められなかった。また同様な条件で、DBA/2、C3H/HeJ マウスを用いて、免疫・噴霧感染を行ったが、ブースター効果が認められなかった。BCG の投与量によって、C57BL/6 および DBA/2 マウスにおいて、無処置群、BCG 投与群の間に有意差が認められたので、今後これらのマウスを用いて免疫条件の検討を行うこととなった。[山崎利雄、林大介、山本十糸子、山本三郎；前山順一（血液・安全性研究部）、網康至（動物管理室）]

国際協力関係業務

1. 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）計画における当該検査室の基本構成案などを継続検討している。

[篠原克明]

2.　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プロジェクトに短期専門家として参加し、コンゴ民国の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継続している。

[篠原克明]

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 ヶ月に一度と臨時の講習会の計 7 回実施し 117 名の受講者があった(表 1)。バイオリスク管理委員長（森川茂獣医科学部長）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、6 回開催し 11 名の受講者があった(表 3)。なお、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、次回は 29 年度の開催を予定している。

表 1 平成 28 年度新規取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数	
4 月 6 日	39	
6 月 7 日	16	
8 月 5 日	10	
9 月 26 日	5	
10 月 25 日	22	
12 月 8 日	6	
2 月 7 日	19	
計	117	

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 28 年度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 27 日	1
6 月 22 日	2
8 月 5 日	1
10 月 11 日	3
12 月 28 日	1
1 月 23 日	3
計	11

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 19 日、6 月 15、

１７日)。［棚林　清］

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎（6 月 12 日)、村山庁舎（10 月 14 日）およびハンセン病研究センター（10 月 11 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 1 月 12 日および 20 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、バイオリスク管理について講義・実習を行った。

1.　ポリオ国際研修（JICA Training Course）

バイオリスク管理についての概論の講義及び実験室バイオリスク管理に関するケーススタディ、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、棚林　清、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）

アジア・アフリカなどからの研修生に対し、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. HIV/エイズ予防および対策 ~MDG6 達成に向けて~ (Prevention and Control of HIV/AIDS for Final Step toward MDG6)

JICA 九州国際センター主催の研修プログラムの一環としての感染研での研修の一部 (Principle of Biosafety) を担当した。6 か国 8 名の研修生に対し、リスク評価や封じ込め施設の説明等の基本的なバイオセーフティの講義を行った。また研修生が行政職ということもあり、封じ込め施設は建設だけでなく維持管理が重要であることを強調した。

[原田俊彦、内藤万佐子 (国際協力)]

4.　感染症診断技術研修、その他の研修

都道府県地方衛生研究所職員などが参加する研修において、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、原田俊彦、河合康洋、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）

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

戸山、村山庁舎、およびハンセン病研究センターに設置されている BSL3、４実験室の管理・運営を、各室員及び非常勤職員で担当した。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、避難訓練等を行った。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。また、所全体の BSL2 実験室設置安全キャビネットの点検の調整確認を行った。

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、大学関係者及び大学生、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、河合康洋、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 28 年 10 月 1 日、村山庁舎: 平成 28 年 7 月 30 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 BSL4 実験室模型の展示などを行った。昨年度の企画内容に加え、エアラインスーツ試着時に送風機でスーツ内に空気を送ることで実際の着用に近い状況を体験していただいた。は手洗い実習では蛍光性汚れモデルを手に塗った後に手洗いを行ってもらい、最後に UV ランプ下で自分の手洗いが十分できているかどうかを確認していただいた。

昨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、その他は戸山と同様の展示、体験企画を行った。夏休み期間ということで、小さな子供には子供向け防災服 (つなぎ) 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、河合康洋、山本明彦、山崎利雄、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

病原体等の所持規制の対象である特定病原体等 (感染症法)及び監視伝染病病原体 (家畜伝染病予防法) 、さらに規制対象外の BSL3 病原体等体等と、それらの取扱者、及び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。今年度はこれらの情報から取扱者ごとの病原体等及び取扱実験室を出力し、これを基に次年度の病原体等取扱申請及び実験室使用願を管理室で作成して取扱者には内容の確認をしてもらうことで、取扱者に自身の登録状況をあらためて把握してもらい、かつ負担が軽減するようなシステムに変更した。ホームページ管理では、情報の拡充を図り、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した。
［中西三季、原田俊彦、河合康洋、倉文明、棚林清］

V. 包装責任者、病原体等輸送品の確認業務

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、河合康洋、山崎利雄、山本明彦、倉文明、棚林　清］

発　表　業　績　一　覧

I. 誌　上　発　表

1. 欧文発表

1) Hotta A, Fujita O, Uda A, Yamamoto Y, Sharma N, Tanabayashi K, Yamada A, Morikawa S. Virulence of representative Japanese Francisella tularensis and immunologic consequences of infection in mice. Microbiol Immunol. 60: 168-176, 2016

2) 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. 69:431-434, 2016

3) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Zhu C, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif LJ, Asai A. Antiviral effect of theaflavins against caliciviruses. J Antibiot . 1-6 , 2016

4) 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-capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the performance evaluation of protective clothing materials. Biocontrol Science, 21: 81-89, 2016.

6) Liao J, Okuyama M, Ishihara K, Yamori Y, Iki S, Tagami T, Mori H, Chiba S, Kimura A. Kinetic properties and substrate inhibition of α-galactosidase from Aspergillus niger. Biosci Biotechnol Biochem. 80:1747-52, 2016

7) M Ohba, T Oka, T Ando, S Arahata, A Ikegaya, H Takagi, N Ogo, C Zhu, K Owada, F Kawamori, Q Wang, L J Saif and A Asai. Antiviral effect of

theaflavins against caliciviruses J antibiotics(2016)1-6

8) Yu Mochizuki, H Saeki, M Iwaki, H Takagi, Keigo S H Amano and A Yamamoto. A novel experimental platform for toxigenic and non-toxigenic Cocynebacterium ulucerans infection in mice, FEMS Pathogens and Diseases, 2016,Vol7,No.2

2. 和文発表

1) 山崎利雄、BSL3 実験室での結核菌の取り扱い-PPE 技術、消毒滅菌-、JABS ニュースレター6:57-61、2016

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)M Ohba, T Oka, T Ando, S Arahata, A Ikegaya, H Takagi, N Ogo, C Zhu, K Owada, F Kawamori, Q Wang, L J Saif, A Asai. Discovery and Synthecis of Heterocyclic Carboxamide Derivatives as potent anti-norovirus agents 6th International calicivirus conference Oct9-13 2016, USA

2. 国内学会

1) 瀧井猛将、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、*Mycobcterium avium* の酸性環境下での適応能に関する研究、第 91 回日本結核病学会総会、2016 年 5 月、金沢市

2) 森重雄大、山崎利雄、小池敦資、天野福美夫、喀痰および環境から分離した *Mycobcterium avium* complex の薬剤感受性の解析と活性染色法の検討、第 1 回抗酸菌研究会、2016 年 9 月、沖縄

3) 前山順一、山崎利雄、林大介、山本十糸子、尾関百合子、鈴木史子、山口雄大、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎、遅延型過敏反応から検討した MDP1 および G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の免疫条件、第 90

回日本細菌学会総会、2017 年 3 月、仙台市

4) 髙木弘隆、過酸化水素(H2O2)とエタノールの 2step 法によるヒトノロウイルス(hNoV)代替 FCV の簡易的不活性化の試み 第 37 回日本食品微生物学会 学術総会、2016 年 9 月 東京

5) 岡 智一郎、髙木弘隆、遠矢幸伸 培養可能なカリシウイルスの新規 plasmid-based リバースジェネティクス系の構築 第 39 回日本分子生物学会 年会、2016 年 11 月 横浜

6) 篠原克明、嶋崎典子、森本美智子、内田幸子、小柴朋子、田辺文憲、加藤伊陽子、荒川創一：擦過による防護服素材の防護性能劣化に関する検討 日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京。

7) 田辺文憲、加藤伊陽子、嶋崎典子、篠原克明、内田幸子、小柴朋子、荒川創一、森本美智子：防護服素材によるウイルスと細菌男キャリーオーバー 日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京。

8) 森本美智子、荒川創一、内田幸子、篠原克明、嶋崎典子、田辺文憲、加藤伊陽子、茅野友宣、小柴朋子：臨床現場における新興感染症に対する感染防護具を含む感染対策教育の現状−救急部医師と ICD へのインタビューをもとに−日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京。

9) 内田幸子、小柴朋子、森本美智子、荒川創一、篠原克明、嶋崎典子、田辺文憲、加藤伊陽子：感染対策用防護服に対する着用実態調査および着用実験による評価 日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京。

10) 嶋崎典子、森本美智子、岡上晃、内田幸子、小柴朋子、角田薫、田辺文憲、加藤伊陽子、荒川創一、篠原克明:防護服素材の防護性能評価のための滴下ウイルス液の浸透性解析 日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京。

11) 篠原克明：日本バイオセーフティ学会 実験室バイオセーフティガイドライン 第 16 回日本バイオセーフティ学会 総会・学術集会、2016 年 11 月、大宮。

17. 動 物 管 理 室

室長　　花木 賢一

概 要

動物管理室は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技術支援、マウスの受精卵または精子の凍結保存と個体復元、帝王切開による清浄化を行っている。科学的調査及び研究では、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と Tyzzer 菌の鞭毛蛋白に関する研究、モデル動物の研究としてムンプスウイルス感染モデル動物の開発、動物由来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「3Rs（Replacement, Reduction, Refinement）」が明記され、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、感染研では動物実験の最終責任者を所長とし、動物実験の適正な実施について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を設置している。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いて年一回公表する動物実験に関する自己点検・評価報告書原案の策定、第三者による外部検証に際して実地調査対応を行っている。戸山庁舎と村山庁舎の動物実験実施体制は、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より厚労省基本指針に適合していることの認定を受けている。その他、庁舎毎に設置されている連絡協議会において、動物実験施設の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。

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 28 年度は学生インターンシップ・プログラム「人獣共通感染症・食品由来感染症実習プログラム」、東京大学農学部獣医学専修 3 年生の施設見学、タイ国立ワクチン研究所（NVI）からの視察、JICA「ワクチン品質管理技術コース」と「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」集団研修、ベトナム国立ワクチン及び生物製剤研究所（NICVB）より研修生 1 名の受け入れに対応した。

講習会開催及び動物管理区の利用状況

動物管理室は動物実験委員会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、実験動物の飼養保管、動物感染実験におけるバイオセーフティ、等を解説している。また、講習会会場では実技研修を実施できないため、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聴講に代えている。平成 28 年度新規受講者は 75 名、新規動物実験計画書の承認は 184 件であった。

動物管理室は動物実験施設毎に利用方法と実験動物の飼養・保管に関する講習会を開催し、受講者を施設利用者として登録している。平成 29 年 3 月 31 日現在の庁舎毎の施設利用登録者数は戸山庁舎 256 人、村山庁舎 268 人、ハンセン病研究センター33 人である。また、3 庁舎で飼養保管している動物の合計は、マウス（7,169 匹）、ラット（309 匹）、モルモット（174 匹）、ウサギ（28 羽）、スナネズミ（11 匹）、ハムスター（35 匹）、フェレット（42 匹）、ネコ（7 匹）、霊長類（91 匹）、ニワトリ（8 羽）である。

施設利用及び動物実験講習会　受講実績

		受講者数			
開催月日	開催場所	施設利用（戸山）	施設利用（村山）	施設利用（ハンセン）	動物実験（全所）
4 月 11 日	戸山	16			19
6 月 6 日	戸山	8			9
7 月 26 日	戸山	1			1
8 月 9 日	*戸山*	*1*			*1*
10 月 4 日	*戸山*	*1*			*1*
10 月 17 日	戸山	17			20
11 月 1 日	戸山	3			1
11 月 30 日	村山		4		
1 月 11 日	戸山	4			4
2 月 6 日	戸山	10			17
2 月 20 日	*戸山*	*1*			*1*
2 月 27 日	ハンセン			2	
3 月 7 日	*戸山*	*1*			*1*
3 月 31 日	村山		3		
合計		63 新規	7 新規	2 新規	75 新規

（斜体文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おり、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28年度は29系統の依頼があり、受精卵と精子の凍結保存及び個体復元を実施した。（田原口元子、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）持続感染細胞を透過型電顕で解析すると、ほとんどの細胞は形態上の異常を認めず、エンドソームにウイルス粒子を貯蔵していた。しかし、一部の細胞は細胞膜が破綻して細胞小器官が細胞外へ漏出するネクローシスの様態を示し、漏出した二重膜小胞の中にウイルス粒子の集塊を認めた。また、一部の細胞は核の凝縮や断片化、細胞の縮小を認めるアポトーシスの様態を示し、細胞質にはウイルス増殖による形態変化である膜状構造とウイルス粒子を認めた。これまでの知見と透過型電顕観察に基づき、持続感染細胞のほとんどは MNV が増殖することなく壊死するが、一部の細胞では MNV が増殖してアポトーシスを引き起こし、新たなウイルスの供給源となるという感染環が推定された。

［花木賢一、滝本一広、田原口元子、網 康至、石山絵里[1]、石田欣二[1]（[1]岩手医科大学）］

2. Tyzzer 菌（*Clostridium piliforme*）の組換え鞭毛蛋白の発現

Tyzzer 菌（RT 株）をラット肝癌由来 H4IIE 細胞で大量培養してゲノム DNA を抽出し、Magnetic Beads により細胞由来の DNA を除去した上で、次世代シーケンサー解析により Tyzzer 菌のゲノム情報を得た。シーケンスデータの De novo アセンブルにより得られた Scaffold 配列に付加されたアノテーション情報と、以前に得た鞭毛蛋白の N 末端アミノ酸配列の情報から目的とする鞭毛蛋白 flagellin 遺伝子の塩基配列（1,545bp）を決定した。この flagellin 遺伝子を組換えバキュロウイルス DNA（Bacmid）へ挿入し、Sf9 細胞へトランスフェクションして組換えバキュロウイルスを作製した。

（滝本一広）

III　モデル動物の開発研究

1. ムンプスウイルス感染モデル動物の開発と病態解析

ムンプスウイルス野外株をカニクイザルあるいはコモンマーモセットに皮下、経鼻あるいは静脈内接種し、末梢血リンパ球数の変動を解析した。いずれの動物においても皮下接種あるいは静脈内接種した場合は、接種1週から 10 日後に末梢血リンパ球数の増加を認めた。また、経鼻接種した場合は、接種後 14 日に末梢血リンパ球数の増加を認めた。これらの結果は、ヒトのムンプス臨床例で観察されるリンパ球増多症に一致する

が、血液中のウイルス遺伝子はコモンマーモセットで検出され、カニクイザルでは検出されなかった。
[網 康至、須崎百合子、木所 稔[1]([1]ウイルス第3部)]

IV. 動物由来感染症に関する研究

1. 新興ヒトバベシア症に関する研究

Babesia divergens は、*B. microti* US 型に次いで感染者数の多いヒトバベシア症の原因原虫であり、日本のシカ(*Cervus nippon*)が近縁原虫を保有している。今年度は *B. divergens* と *B. venatorum* (*B. divergens* 近縁の新興種)を効率的に検出・分類する PCR 法を開発してベクター調査に用いた。シカと同一の原虫遺伝子はシュルツマダニから検出された(11/845)。一方、同所的に採集した他のマダニ種 817 匹はすべて陰性であった。また、過去のマダニサンプルについて上記 PCR 法で調べたところ、*B. venatorum* を日本で初めて検出した。吸血中のマダニ唾液腺からも *B. divergens* の遺伝子分離に成功し、シュルツマダニが上記の *B. microti* US 型だけでなく、*B. divergens* のベクターである可能性を強く示唆する結果を得た。シュルツマダニは東日本におけるマダニ刺咬症の主要種であり、ライム病やダニ媒介性脳炎等のベクターであることから、ヒトバベシア症の発生を注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)]

2. ヒトバベシア症の診断系に関する研究

B.microti (Bm)-like/Kobe (K)型は不顕性感染者の献血血液を介した輸血感染事故が報告されており、日本における輸血関連感染症の病原体として認知されている。輸血感染を未然に防ぐには迅速な診断が必要であるが、日本には K 型の他、Hobetsu (H)型、US 型(US-J 株)が存在し、その遺伝子型間の抗体交差反応性は低いことが報告されている。本研究では各型における間接蛍光抗体法(IFA)を構築し、抗体反応性を解析した。高寄生率時の感染赤血球を抗原とし、抗血清は回復期ハムスターと米国のヒト感染者由来のものを用いた。作製した IFA による各抗 Bm 抗体の反応性は、同型の抗原に対しては高い反応性を示したが、異型の抗原に対しては低反応性もしくは反応を示さなかった。そのため、各型に特異的な抗原を用いる必要があることを確認した。[新倉 綾、佐山勇輔[1]、石原智明[2]、花木賢一 ([1]日赤中央研究所、[2]酪農学園大学)]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Uda A, Sharma N, Takimoto K, Deyu T, Koyama Y, Park ES, Fujita O, Hotta A, Morikawa S. Pullulanase Is Necessary for the Efficient Intracellular Growth of *Francisella tularensis*. PLoS One, 11:e0159740. 2016
2) Zamoto-Niikura A, Morikawa S, Hanaki KI, Holman PJ, Ishihara C. *Ixodes persulcatus* Ticks as Vectors for the *Babesia microti* U.S. Lineage in Japan. Appl Environ Microbiol. 82:6624-32. 2016
3) Iizuka I, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Fukushi S, Ogata M, Morikawa S, Hasegawa H, Mizuguchi M, Kurane I, Saijo M. A Single Vaccination of Nonhuman Primates with Highly Attenuated Smallpox Vaccine, LC16m8, Provides Long-term Protection against Monkeypox. Jpn J Infect Dis. doi: 10.7883/yoken.JJID.2016.417. 2016
4) Sakai K, Ami Y, Suzaki Y, Matano T. First Complete Genome Sequence of a Simian Foamy Virus Isolate from a Cynomolgus Macaque. Genome Announc. 4(6). pii: e01332-16. doi: 10.1128/genomeA.01332-16. 2016
5) Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Johne R, Wakita T. No Evidence of Rat Hepatitis E Virus Excretion in Urine Samples of Rats. Jpn J Infect Dis. doi: 10.7883/yoken.JJID.2016.283. 2016
6) Li TC, Zhou X, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Production of infectious dromedary camel hepatitis E virus by a reverse genetic system: Potential for zoonotic infection. J Hepatol. 65:1104-1111. 2016
7) Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takayama I, Sangsriratanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. TMPRSS2 Independency for Haemagglutinin Cleavage *In Vivo* Differentiates Influenza B Virus from Influenza A Virus. Sci Rep. 6:29430. 2016
8) Zhang W, Sano N, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Wakita T, Ikeda H, Li TC. Virus-like particles of porcine bocavirus generated by recombinant baculoviruses can be applied to sero-epidemic studies. Virus Res. 217:85-91. 2016
9) Okamoto K, Ami Y, Suzaki Y, Otsuki N, Sakata M, Takeda M, Mori Y. 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. 2016

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Aya Zamoto-Niikura, Haruyuki Hirata, Chiaki ishihara, Shigeru Morikawa and Ken-Ichi Hanaki. *Ixodes persulcatus* is the principal vector for U.S. Lineage parasites of *Babesia microti*-group in Japan. ASM microbe 2016. Boston, U.S.A. 2016 年 6 月

2. 国内学会

1) 宇田晶彦、Neekun Sharma、滝本一広、田 徳雨、古山裕樹、朴ウンシル、 藤田 修、堀田明豊、森川 茂:野兎病菌プルラナーゼ遺伝子の病原性に関する検討. 第 159 回日本獣医学会学術集会. 平成 28 年 9 月. 藤沢.

2) 佐山勇輔、新倉綾、松本千惠子、松林圭二、永井正、佐竹正博:ヒトバベシア症における解析方法の構築. 第 40 回日本血液事業学会総会.平成 28 年 10 月. 名古屋.

3) 花木賢一、滝本一広、石山絵里、網 康至、石田欣二:RAW264.7 細胞におけるマウスノロウイルス持続感染の機序. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 平成 28 年 10 月. 札幌.

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専門家養成コース（FETP）を実施しており、平成 28 年度には 18 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、サーベイランスシステム評価およびシステム改善、メディアとのコミュニケーション等も、当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）並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、これらの結果公表と一般への情報提供、予防接種対象疾患が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、所の業務である国内血清銀行の管理運営を行っている。麻疹・風疹排除（Measles & Rubella Elimination）に向けた取り組みは国内外で重要な課題である。2015 年 3 月 27 日に WHO 西太平洋地域事務局（Western Pacific Regional Office：WPRO）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 年度までの排除に向けた調査研究・啓発について、第一・二室と合同で行っている。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第一・二室と合同で行っている。

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、及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。更には、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等を行っている。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及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

平成 28 年度厚生労働科学研究「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・警報システム及び全国罹患数推計に関する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「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。水痘の警報基準値変更、補助変量を用いた罹患数推計を感染症発生動向調査システムへ導入することなどを提案した。

［松井珠乃、砂川富正、高橋琢理、有馬雄三（以上、当センター）、村上義孝（東邦大学）、永井正規（桐生大学）、太田晶子（埼玉医科大学）、橋本修二、川戸美由紀（以上、藤田保健衛生大学）］

3. 「今冬のインフルエンザ」のまとめ

2015－16 シーズンについても前 3 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健康局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、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、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（以上、当センター）、小田切孝人、渡邉真治（以上、インフルエンザウイルス研究センター）、宮川昭二、木村優一（以上、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「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」（研究代表者　調恒明）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、舟越優、赤塚昌江、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、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。2016 年 3 月末で 27 県 6 政令指定都市 2 特別区の全校をはじめ約 27,000 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。2016 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 10,000 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］

（3）学校感染症等情報収集システムの在り方検討委員会

国立感染症研究所と日本学校保健会間の共同研究契約の下に、技術的な研究協力を行なった。具体的には、学校感染症等情報収集システムの在り方検討委員会のなかで、学校欠席者情報収集システムの有用性についてワークショップ開催等により評価を行なった。

［松井珠乃、椎野禎一郎、宮間浩史、大石和徳］

7. 有志医師によるインフルエンザデータベース（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）pdm09 流行以降、夏季期間中においても継続している。2016-17 シーズンには、180 名の有志医師のご協力、平均 117 件（計 21,044 件）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・推移の迅速な把握、および RSV 等他の呼吸器ウイルスの発生動向の把握についても有用であることが示唆されている。

［砂川富正、松井珠乃、有馬雄三（以上、当センター）、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、エボラウイルス病、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「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）に対して質的評価と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 とし、半構造化質問票の結果から量的評価として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。質的および量的評価からサーベイランスの有用性、受容性は概ね高いことが示唆

された。今後の災害に備えた効果的なサーベイランス構築のためにはマニュアル等において役割分担や避難所における指示系統を明確化すること、関係者間の連携を強化することで円滑な情報共有を図るような仕組みをつくることが重要であると考えられた。

［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。また、スペインとの基本合意書（Memorandum of understanding：MOU を結んでいる Moving Epidemic Method（MEM 手法）においても、暫定的な結果を得た。また、WHO 本部の Pandemic Influenza Severity Assessment（PISA）会議に参加し、陽性率の重要性と Composite アプローチの有用性が示唆されている事が分かった。これらの手法に関しては、カンボジアのデータにも活用しており、2017 年 3 月には、解析結果、教訓、提言に関して論文発表を行った。これらの所見は、今後我が国の新型インフルエンザのパンデミック対策には参考になる事が期待される。また、WHO による、個々のインフルエンザウイルスのパンデミックリスクアセスメント手法（TIPRA）の作成にも貢献した。

［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. 伊勢志摩サミットの NBC テロ対策に関する研究

（1） 厚生労働科学研究「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」（研究代表者　行岡哲男）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（以上、当センター)、蜂巣友嗣（FETP)］

（2） 2016 年 5 月 26 日、27 日に三重県志摩市で開催された主要国首脳会議（G8）において、事前のリスク評価、準備、開催期間中の強化サーベイランスの導入と実施、開催後のアンケート調査等による強化サーベイランスの評価を行った。今後のマスギャザリングにおける感染症サーベイランスの実施に寄与するサーベイランスの評価を実施できた。

［松井珠乃、大石和徳、神谷元（以上、当センター)、藤谷好弘、蜂巣友嗣（以上、FETP)］

(3) 平成 28 年度厚生労働科学研究「新興・再興感染症のリスク評価と危機管理機能の確保に関する研究」(研究代表者　齋藤智也）において、「炭疽菌による生物テロへの対応に関する公衆衛生分野の技術的事項のまとめ」が作成され、厚生労働省を通じて伊勢志摩サミットに合わせて全国の自治体に周知された。

［松井珠乃（当センター)、小林彩香（FETP)］

3. 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」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（当センター)、安藤美恵、藤谷好弘（以上、FETP)］

4. 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。サウジアラビアの医療機関における MERS の感染対策について情報を収集した。なお、平成28年度厚生労働科学研究「中東呼吸器症候群(MERS)等の新興再興呼吸器感染症への臨床対応法開発ための研究」(研究代表者　大曲貴夫、分担研究者　松井珠乃）の活動の一環で、サウジアラビアの MERS 指定医療機関を訪問し、感染対策を中心に視察と情報収集を行った。

［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、八幡裕一郎、神谷元、福住宗久、大石和徳］

5.　妊婦に対するジカウイルス感染症の診療体制

ジカウイルス感染症が疑われる妊婦に関しては、「蚊媒介感染症の診療ガイドライン（第 4 版）」の「ジカウイルス感染症の検査の対象となりうる妊婦」の基準を満たす患者に対して行政検査を実施している。しかし、実際には、この基準を満さないが、公衆衛生学的な観点から、検査を実施すべき妊婦が想定される。このような妊婦を対象として、AMED「母子感染に対する母子保健体制構築と医療開発技術のための研究」(研究代表者　藤井知行）において、妊婦のジカウイルス感染症の診療体制を構築した。

［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

6.　新興・再興感染症の体制の脆弱性評価

平成 28 年度厚生労働科学研究「新興・再興感染症のリスク評価と危機管理機能の確保に関する研究」(研究代表者　齋藤智也）において公衆衛生対応における FETP の現状と今後に向けての課題と対応について検討した。必要性はあるものの FETP の研修期間や研修内容に関して自治体が派遣を検討するにあたり支障となる項目について調査を行い、より派遣しやすいコースを発足させた。

［松井珠乃、島田智恵、八幡裕一郎、福住宗久、青柳順子、宮間浩史、神谷元］

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、重度、軽度にわけ前向きの実態把握を行い、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.　広域食中毒事例調査における課題検出の研究

平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進　研究事業)「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。

［高橋琢理、八幡裕一郎、辻朋子、砂川富正（以上、当センター)、杉下由之（東京都健康安全研究センター)］

4.　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。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。その結果、有意に腸管出血性大腸菌感染症発症と関連がある食材が得られ、調査票の有用性が確認された。腸チフスの広域散発的アウトブレイク事例では、仮説の設定に研究班で作成した調査票が有効であった。

［八幡裕一郎、加納和彦、高橋琢理、有馬雄三、齊藤剛仁、辻朋子、砂川富正］

5. 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、2016年4月号：麻疹・風疹/先天性風疹症候群、5月号：腸管出血性大腸菌感染症、6月号：レプトスピラ症、7月号：蚊媒介ウイルス感染症：ジカウイルス感染症・チクングニア熱・デング熱、8月号：急性B型肝炎、9月号：HIV/AIDS、10月号：流行性耳下腺炎、11月号：インフルエンザ、12月号：アメーバ赤痢、2017年1月号：ノロウイルス感染症、2月号：百日咳、3月号：麻疹である。

［木下一美 、赤塚昌江、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、舟越優、多屋馨子、佐藤弘、島田智恵、神谷元、福住宗久、松井珠乃、藤本嗣人、村上光一、木村博一、大石和徳（以上、当センター）、蜂巣友嗣、錦信吾（以上、FETP）、石井則久（ハンセン病研究センター）、大西真、伊豫田淳、石原朋子、泉谷秀昌、小泉信夫（以上、細菌第一部）、柴山恵吾、蒲地一成、大塚菜緒、加藤はる（以上、細菌第二部）、西條政幸、安藤秀二（以上、ウイルス第一部）、相崎英樹、清水博之（以上、ウイルス第二部）、竹田誠、駒瀬勝啓、森嘉生、木所稔（以上、ウイルス第三部）、小田切孝人、渡邉真治（以上、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）、八木田健司、津久井久美子、今岡浩一、森川茂（以上、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（以上、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）、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、山下和予（以上、元感染症情報センター）、宮川昭二、角朋之、木村優一（厚生労働省）（IASR委員+特集担当者）］

6. 性感染症に関する疫学研究

平成28年度厚生労働科学研究「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、性器ヘルペスウイルス感染症、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。従来と大きな変化は認めず、20代前半の女性においては、依然として複数の性感染症において、高リスクな年代であった。また、梅毒に関して近年の異性間性的接触による報告数の増加について、IDWR「注目すべき感染症」、IASR、学会等で広く情報発信を行い、厚生労働省や関連学会と連携し、情報提供・啓発を行った。また、「梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究」が採択され、倫理審査を通し、現在「異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究」の症例対照調査が進行中である。また、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終了し、行いパイロットからの教訓を論文報告し、本調査の結果をNPO、自治体、その他当事者に還元し意見交換会を行った。更に、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においては、2016年に開始しも、IASR、感染研の一般公開等で広く結果の情報発信を行っ倫理審査に承認された。また、性感染症として増加傾向にあるアメーバ赤痢においては、IASR特集として取り上げ、論文発表も行った。。

［石金正裕、金井瑞恵、錦信吾（以上、FETP）、高橋琢理、有馬雄三、砂川富正（以上、当センター）、大西真（細菌第一部）、堀成美（国立国際医療センター）］

7. 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。昨年度にサブタイプ B と同定された 4398 検体に 312 個の感染クラスタを見出し、そのうち 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ところ、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 の陽性者と初回来院時の CD4 値の中央値が有意に高いことを発見した。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た。これらのことから、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。そこで、任意の配列を入力することで国内感染クラスタとそこから計算できるネットワーク指標を迅速に出力する Web インターフェースを、国立感染症研究所に設置した研究班データベースの統合解析サーバ上に構築した。このインターフェースに、クラスタ判定済みの pol 領域配列（HXB2:2253－3269）を 10 検体選び入力したところ、すべて予想通りのクラスタに判定された。そこで、九州地区で新たに報告された患者からの RT 領域（HXB2:2550-3269）の配列で検証を進めたが、主要なクラスタのほかにネットワーク・リンクの閾値とした塩基置換率 1.5%未満の条件を満たす複数のクラスタが見いだされ、最大で 333 患者からなる巨大なクラスタに統合された。この結果を受けて、Web インターフェースに、入力した配列が指標配列より短い際には、クラスタ解析後にクラスタ・データベースを改変し、配列を登録する過程を行わないようプログラムに改変を加えるとともに、出力時に結果が不確定であることを表示するようにした。この改変インターフェースに、九州地区で新規に報告された検体を加えることで、クラスタ ID.4 が、8, 12, 13, 14, 29, 51 と統合するという結果を得た。この配列は protease 領域を完全に欠いているため、統合されたクラスタの信頼性には検討の余地がある。現在、耐性データベースに追加登録された完全長の配列を用いて、さらなる検討を行っている。

［椎野禎一郎］

8. 成人インフルエンザ脳症の疫学に関する全国調査

平成 28 年度厚生労働科学研究「感染症実用化研究事業「新型インフルエンザ等への対応に関する研究」（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、感染研での倫理承認後、感染症発生動向調査に基づいて届け出られた 16 歳以上のインフルエンザ脳症の症例を対象に、全国調査（一次調査、二次調査）を行った。

［奥野英雄、多屋馨子、大石和徳（以上、当センター）、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）］

9. 急性脳炎の原因究明に関する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「エンテロウイルス等感染症を含む急性弛緩性麻痺・急性脳炎・脳症の原因究明に資する臨床疫学研究」（研究代表者 多屋馨子）の一環として、感染症発生動向調査に基づいて届けられた急性脳炎（脳症を含む）のサーベイランスのまとめを行った。また、成人と小児のインフルエンザ脳症の症状・所見について比較検討を行った。

更に、感染研での倫理承認後、病原体不明急性脳炎（脳症を含む）について、適切な臨床検体の採取方法、搬送方法を確立し、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（必要に応じて 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は、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、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、北本理恵、砂川富正、大石和徳（以上、当センター)、片野晴隆（感染病理部)、田島茂（ウイルス第一部)、倉根一郎（所長)、森島恒雄（岡山大学)、亀井聡（日本大学)、吉良龍太郎、チョンピンフィー（以上、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)］

10. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学研究

平成 28 年度 AMED「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に対する診断・治療・予防法の開発及びヒトへの感染リスクの解明等に関する研究」（研究代表者　西條政幸、研究分担者　大石和徳）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。また、ソウル大学の専門家と SFTS 症例の臨床ウイルス学的情報について情報交換した。

［小林祐介、加藤博史（以上、FETP）、山岸拓也、島田智恵、大石和徳（以上、当センター）、西條政幸（ウイルス第一部）］

11. 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 2016 年 2 月に「デング熱・チクングニア等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き地方公共団体向け」と改変して発出した。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「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」（研究代表者　田島茂）の一環として、Dengue Surveillance: Information-sharing among Asian countries for a　better prepared region を開催した後に、デング熱・チクングニア熱の輸入例情報を共有する「日本の輸入デング熱症例の動向について」のサイトを立ち上げ、論文発表を行った。また、韓国の「Climate Change and Newly Introduced Mosquito-borne Diseases in Korea: Preparedness and Management」において日本のデング熱国内感染事例発生に関する発表を行い、韓国においての輸入デング熱症例の年次推移が日本と同様であった事を確認し、発生時対応の強化等に関する情報収集と意見交換を行った。

［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］

12. 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、平成 28 年度厚生労働科学研究「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」（研究代表者　谷口清州）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（以上、当センター）、谷口清州（国立病院機構三重病院）］

13. ノロウイルスの疾病負荷に関する研究

平成 28 年度 AMED「下痢症ウイルスの分子疫学と感染制御に関する研究」（研究代表者　片山和彦　研究分担者　砂川富正）の一環として、沖縄県及び三重県の両全県下におけるインフルエンザ定点（内科定点＋小児科定点）を対象において感染性胃腸炎のサーベイランスを実施し、さらにノロウイルスの検出頻度から、ノロウイルスの疾病負荷について分析を行った。平成 27 年度にパイロットを行い、平成 28 年度は正式運用を行った結果、沖縄県における結果として人口 10 万院当たりの推計年間ノロウイルス患者受診者数は暫定的に 944 人（95%CI 832-1,036）となり、欧米各国の 1‐2 倍程度であった。全国に置き換えると一年間に約 120 万人の患者発生が推定された（暫定値）。検体提出頻度にばらつきが大きく、今後の調査継続が重要である。

［小林祐介、砂川富正、神谷元、高橋琢理、八幡裕一郎（以上、当センター）、久高潤、喜屋武尚子、高良武俊（以上、沖縄県衛生環境研究所）、谷口清州、中村晴奈

（以上、国立病院機構三重病院）、楠原一（三重県保健環境研究所）、橋本修二（藤田保健衛生大学）］

14. 腸管出血性大腸菌感染症で溶血性尿毒症症候群を発症した患者を対象とする追跡研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究」（研究代表者　砂川富正）により、全国で腸管出血性大腸菌（EHEC）感染に伴う溶血性尿毒症症候群（HUS）を発症した（EHEC-HUS）550 例（2008～2014 年に発症、診断時年齢 30 歳未満）を対象として、発症から数年経過した後の中・長期的な予後を明らかにするため、調査票を用いた郵送による追跡調査をおこなった。

［齊藤剛仁、砂川富正（以上、当センター）、幡谷浩史、濱田陸（以上、東京都立小児総合医療センター）］

15. ベトナムイェンバイ県における侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)サーベイランスのパイロット研究

平成 28 年 AMED「アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究」(研究代表者　脇田隆字　研究分担者　大石和徳）の一環として、ベトナム、イェンバイ県において IPD サーベイランスのパイロット研究を開始した。

［福住宗久、大石和徳（当センター）、常彬（細菌第一部）］

IV. 予防接種ならびに予防接種で予防可能疾患における今後の感染症対策に関する研究

1. 麻疹ならびに風疹の予防に関する研究

平成 28 年度 AMED「ワクチンによって予防可能な疾患のサーベイランス強化と新規ワクチンの創出等に関する研究」（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た。

麻疹については、関西国際空港（大阪府）での集団発生、千葉県松戸市での集団発生、兵庫県尼崎市での集団発生時、三重県松阪市での集団発生時、山形県置賜地方・庄内地方での集団発生時には、自治体に赴き、早期終息に向けた積極的疫学調査の実施と対策の支援を行った。

［多屋馨子、奥野英雄、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、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、島田智恵、福住宗久、大石和徳（以上、当センター）、小林彩香、金井瑞恵、藤谷好弘、小林祐介、松井佑亮、新橋玲子（以上、FETP）］

2. 麻疹排除に向けた対策の構築ならびに実施

麻疹排除の維持に向けて、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（2015 年度最終評価・2016 年度上半期調査）
- 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

［多屋馨子、砂川富正、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、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 一同、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 WPRO に提出するため､国の感染症対策専門機関として、他の関係者と共にデータ収集およびその分析に参加した。

［砂川富正、佐藤弘、高橋琢理、多屋馨子、大石和徳、他所外協力者］

4. 亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の発生頻度に関する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究」（研究代表者　山田正仁、研究分担者　砂川富正）の一環として、特定疾患治療研究事業データをベースに麻疹排除後の新規 SSPE 発症をモニタリングするとともに、先行研究（平安ら）の情報も加味して発症頻度の研究を行っている。沖縄県

では 1986－2005 年で麻疹患者 10 万人あたり 22.2 人の SSPE の発症あると推定され、さらに 1990 年の流行に絞ると麻疹約 1800 人に SSPE1 人の発症の可能性が暫定的に示唆された。さらなる精査が重要である。

［小林祐介、砂川富正、神谷元、高橋琢理（以上、当センター）、橋本修二（藤田保健衛生大学）］

5. 風疹に関する予防対策, 今後の風疹ワクチンのあり方に関する研究

平成 28 年度 AMED「ワクチンによって予防可能な疾患のサーベイランス強化と新規ワクチンの創出等に関する研究」（研究代表者　大石和徳、研究分担者　平原史樹）の一貫として、先天性風疹症候群ならびに風疹対策として、国内の風疹患者、抗体保有状況、予防接種状況を検証し、風疹の予防啓発の一環として、2 月 4 日を風疹の日として啓発ポスターを作成し、風疹ゼロプロジェクトを進めた。

［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、森嘉生、竹田誠（以上、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)、岡部信彦（川崎市健康安全研究所)、多屋馨子、熊田萌、森野紗衣子、佐藤弘、大石和徳（以上、当センター)］

6. 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、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、大石和徳（以上、当センター）、FETP 一同、竹田誠（ウイルス第三部）、森嘉生（以上、ウイルス第三部）］

7. 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］

8. 先天性風疹症候群の疫学調査

2012-13 年にかけて起こった風疹の大流行に関連した先天性風疹症候群 45 例について臨床所見、検査所見、合併症などに関する情報を収集し、記述疫学としてまとめるとともに、医療費なども計算し、先天性風疹症候群の疾病負荷を分析し、風疹予防の必要性を議論するためのエビデンスの構築に取り組んだ。

［金井瑞恵（FETP)、奥野英雄、神谷元、砂川富正（以上、当センター)］

9. ワクチンの副反応に関する研究

（1） 予防接種後副反応サーベイランスならびに迅速な対策に繋げるための研究

平成 28 年度 AMED「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、予防接種後副反応疑い報告に基づき、重篤副反応として医療機関から報告された血小板減少性紫斑病症例 118 例の解析を行い、年齢、報告ワクチン、臨床像等を検討した。0-1 歳の発症、接種後 7 日以内の発症、同時接種例､また他要因の関与の可能性の記載例も多かった。今後各ワクチンの報告頻度等をふまえた継続的な情報の集積、検討が必要と考えられた。また、研究班で実施する症例対照研究の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。さらに、血小板減少性紫斑病に限らず、予防接種後副反応疑い報告への届出が求められている重篤な副反応について､膨大な情報からより迅速に集計し、また定型帳票によって経時的な報告状況の監視が可能なようにツール作成を行った。

［多屋馨子、森野紗衣子、砂川富正、神谷元、奥野英雄、佐藤弘、新井智、北本理恵、田中佳織（以上、当センター)、倉根一郎（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）落合雅樹（検定検査品質保証室)、安藤由香（岡山ろうさい病院)］

（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、当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、玉元悠里、北本理恵、島田智恵、青木啓太、新井智、佐藤弘、砂川富正、大石和徳（以上、当センター）、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）］

（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

平成 28 年度 AMED「ワクチンによって予防可能な疾患のサーベイランス強化と新規ワクチンの創出等に関する研究」（研究代表者　大石和徳、研究分担者　奥野英雄)」の一環として、ワクチンの効果、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して自発的に思考することで説明効果に及ぼす影響を調査した。自発的に思考することでワクチンに対する効果の期待や説明医師への信頼感が高まった。

［吉川肇子（慶応義塾大学)、奥野英雄、佐藤弘、大石和徳（以上、当センター)］

（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、大石和徳（以上、当センター）、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤（以上、品質保証・管理部）］

（5） ロタウイルスワクチンと腸重積症に関する研究

平成 28 年度 AMED「ワクチンによって予防可能な疾患のサーベイランス強化と新規ワクチンの創出等に関する研究」（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、大石和徳（以上、当センター)、岡部信彦（川崎市健康安全研究所)］

（6） 国内における vaccine safety database （VSD) 構築に関する研究

平成 28 年度 AMED「ワクチン接種と重症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、諸外国が運用している副反応のシグナル探知後の因果関係を解析するデータセットの構築を検討した。また実際に ML-Flu という小児科医の有志によって運営されているサイトを利用し、パイロット研究を行い有益な結果を得た。今後実用化に向けて参加者を増やして行く予定である。

［西藤なるを（西藤小児科こどもの呼吸器アレルギークリニック）、砂川富正、神谷元（以上、当センター）］

（7）国内の小児予防接種の累積接種率調査

平成 28 年度厚生労働科学研究「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、研究協

力者　崎山弘)の一環として平成 28 年度の小児の累積予防接種率調査を実施した。

［大石和徳（当センター）、崎山弘（崎山内科）、城　青衣（都立駒込病院小児科）］

10. 小児侵襲性肺炎球菌感染症患者の感染血清型に対する血清中特異抗体測定

平成 28 年度 AMED「ワクチンの実地使用下における有効性・安全性及びその投与方法に関する基礎的・臨床的研究」（研究代表者　菅秀、分担研究者　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回復期早期にオプソニン活性の上昇を認め、血清型ごとの IPD 発症後の免疫応答の違いについて引き続き検討課題として挙げられた。

［北上悦子、森野紗衣子、多屋馨子、大石和徳（以上、当センター）、常琳（細菌第一部）］

11. 高齢者及び骨髄移植患者における肺炎球菌ワクチン接種後の血清型特異抗体測定の検討

平成 28 年度 AMED「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（以上、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］

12. 成人の侵襲性肺炎球菌感染症、侵襲性インフルエンザ菌感染症の臨床像と原因菌の血清型分布に関する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「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の原因菌血清型分布に小児結合型肺炎球菌ワクチン導入による間接効果が示唆された。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実施した。また、平成 28 年度から 10 道県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の疫学調査を追加し、侵襲性髄膜炎菌感染症の疫学調査は全県での調査を開始した。

［福住宗久、松井珠乃、砂川富正、神谷元、高橋琢理、村上光一、木村博一、大石和徳］

13. 流行下における百日咳ワクチン有効性に関する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「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（２施設）への説明及び調査方法についての検討を産科で行った。

［砂川富正、齊藤剛仁、神谷元、八幡裕一郎（以上、当センター）、安藤由香（岡山ろうさい病院）、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）、河上 祥一（医療法人社団愛育会　福田病院)、二井栄(白子ウィメンズホスピタル)］

14. 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

平成 28 年度 AMED「不活化ポリオワクチンの有効性・安全性の検証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。

2015 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、2013～2014 年度に引き続きポリオワクチンの 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%以上であった。接種を受けたワクチンの種類別にみると 0～2 歳では 95%以上、3 歳では 70%以上が不活化ポリオワクチンのみの被接種者であった。4 歳では生ポリオワクチンのみの被接種者が約 20%みられた。また、中和抗体価 1:8 以上の抗体保有率についてみると、0～3 歳ではポリオウイルス 1～3 型すべてに対して 95%以上を示した。4 歳では 1 型・2 型に対して 95%以上を示したが、3 型に対しては 70%台の抗体保有率であった。

［佐藤弘、多屋馨子（以上、当センター）、清水博之（ウイルス第二部）］

15. ムンプスウイルス抗体保有調査

平成 27-28 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。両期間とも、抗体保有率は 6-11 か月を最小値として年齢とともに上昇し、10-14 歳群で最も抗体保有率が高く（約 70%）、成人層でも抗体陰性者が各年齢群で 6-20%存在した。多くの人が 10 代前半までに抗体を獲得し、出生年別の比較により、特に幼児期が最も流行の影響を受けることが示唆された。

［森野紗衣子、佐藤弘、奥野英雄、新井智、多屋馨子］

16. 医療従事者向け予防接種啓発ツールの開発

（公益）予防接種リサーチセンター調査研究費補助金（研究代表者　神谷元）において、医療従事者を対象とした予防接種教育ツールの開発、並びにその評価に関する研究を実施している。今年度はツールの問題作成、並びにシステム構築を行った。来年度はツールを用いてパイロット研究を実施予定。

［神谷元、森野紗衣子、砂川富正、多屋磬子、八幡裕一郎（以上、当センター）、中村春奈、谷口清州、森本真理、堀浩樹（以上、国立病院機構三重病院）、中野貴司（川崎医科大学小児科）］

17. 鹿児島県徳之島におけるムンプス流行像に関する研究

平成 28 年度 AMED「研究班安全性・有効性、および利便性を兼ね備えた新規ムンプスワクチンの開発に関する研究」（研究代表者　木所稔）において、ムンプスに関する疫学調査を実施した。徳之島では 2015 年夏季より 1 年以上にわたり、2006 年以来 9 年ぶりのムンプスの流行が発生した。島内医療機関の協力により全島調査を実施した結果、島民の約 5%がムンプスに合致する症状で受診しており、10 歳未満に限れば年齢別人口の 3 分の 1 以上が受診していたことが分かった。感受性者が蓄積した地域での流行像を把握できた。教育機関の調査結果を加えてさらに調査の精度を高めることを予定している。

［砂川富正、神谷元（以上、当センター）、松井佑亮（FETP）、亀之園　明（徳之島保健所）］

18. 沖縄県における流行性耳下腺炎流行に伴う合併症等の調査研究

平成 28 年度 AMED「研究班安全性・有効性、および利便性を兼ね備えた新規ムンプスワクチンの開発に関する研究」（研究代表者　木所稔）において、ムンプスに関する疫学調査を実施した。沖縄県内では、2014 年 10 月頃から流行性耳下腺炎の流行が始まり、2 年近くに渡り県全体へと流行が拡大した。県庁と協力して全県下の小児科入院施設及び耳鼻科を対象に合併症の調査を実施した。暫定的にムンプス難聴が 13 例報告され、日本聴覚医学会難聴対策委員会による難聴基準では重度が半数を占め、全症例が一側性であった。さらに外来受診患者数の推計を進め、他の合併症の情報と共に発生頻度の分析を行う予定である。

［安藤美恵（那覇市保健所、FETP）、砂川富正、神谷元（以上、当センター）、小林祐介（FETP）、伊波善之（沖縄県感染症情報センター）、久高　潤（沖縄県衛生環境研究所）、仁平稔、久高潤（以上、沖縄県健康長寿課）］

19. ワクチンファクトシートの作成

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会基本方針部会ワクチン評価に関する小委員会からの依頼に基づき、ワクチンに関するファクトシートの作成を行った。

1）百日せきワクチン

［多屋馨子、砂川富正、神谷元、奥野英雄、大石和徳（以上、当センター）、柴山恵吾、蒲地一成、大塚菜緒（以上、細菌第二部）、池田俊也（国際医療福祉大学）］

2)帯状疱疹ワクチン

［多屋馨子、佐藤弘、森野紗衣子、大石和徳（以上、当センター）、川上千晶（FETP）、西條政幸、原田志津子、山田壮一、吉河智城（以上、ウイルス第一部）、池田俊也（国際医療福祉大学）］

3)沈降ヘモフィルスb型ワクチン

［佐藤弘、奥野英雄、多屋馨子、大石和徳（以上、当センター）、佐々木裕子、久保田眞由美、見理剛、柴山恵吾（以上、細菌第二部）、池田俊也（国際医療福祉大学）］

4)沈降 10 価肺炎球菌結合型ワクチン

［森野紗衣子、新井智、多屋馨子、大石和徳（以上、当センター）、常彬、池辺忠義、前川純子、小川道永、大西真（以上、細菌第一部）、池田俊也（国際医療福祉大学）］

5)13 価肺炎球菌コンジュゲートワクチン(成人用)

［新井智、大石和徳（以上、当センター）、常彬、前川純子、小川道永、大西真（以上、細菌第一部）、赤沢学（明治薬科大学）］

V. 病原体等の研究

1. 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も精度の高い診断・検出法開発の為、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（以上、当センター)、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)、鈴木仁、大館智志（北海道大学)、RichardYanagihara（ハワイ大学)］

2. 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（以上、当センター)、Son Truong Nguyen、Vuong Tan Tu （ベトナム、Institute of Ecology and Biological Resources)、Saw Bawm, Kyaw San Lin （ミャンマー Univ. Vet. Science ）大館智志、鈴木仁（北海道大学)、Richard Yanagihara（ハワイ大学)］

3. 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

平成 28 年度文部科学省研究「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。

［花岡希、藤本嗣人（以上、当センター)、伊藤晋（あいクリニック)］

4. 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

平成 28 年度 AMED「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」(研究代表者　清水博之、研究分担者 藤本嗣人)の一環として研究した。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 2015-2016 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（以上、当センター)、清

水博之（ウイルス第二部)］

5. 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。2016 年においては D68 の流行は見られなかった。

［藤本嗣人，花岡希，小長谷昌美，大石和徳、多屋馨子（以上、当センター），清水博之（ウイルス第二部)］

6. 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

平成 28 年度厚生労働科学研究「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」(研究代表者　宮崎義継､研究分担者　藤本嗣人）の一環として咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査、診断マニュアル（第 2 版）を改訂して第 3 版を発行してホームページに掲載するほか各地区レファレンスセンター等を通じて全国の地方衛生研究所に周知した。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未(以上､当センター)、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］

7. 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 28 年度 AMED「下痢症ウイルスの分子疫学と感染制御に関する研究」(研究代表者　片山和彦　分担研究者　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（当センター)、片山和彦（ウイルス第 2 部)、全国地方衛生研究所］

8. 発熱発疹性疾患関連ウイルスのマルチプレックス（RT）-PCR 法の開発

発熱発疹性疾患（RFI）に関与する多種類のウイルスに関するマルチプレックス（RT）-PCR 検出法の開発を行った。本法により、高感度かつ同時に 14 種類の RFI に関与するウイルスの検出が可能になった。

［木村博一、長澤耕男（以上、当センター)、森嘉生、竹田誠（以上、ウイルス第 3 部)、松島勇紀、清水智美、石川真理子、駒根綾子、岡部信彦（以上、川崎市健康安全研究所)､土井育子､永田紀子(以上､茨城県衛生研究所)、船渡川圭二､水越文徳(以上､栃木県保健環境センター)、梁明秀（横浜市立大学)］

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（以上、当センター)､石井晴之､倉井大輔､皿谷健､滝澤始（以上、杏林大学)］

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（当センター）、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（以上、群馬県衛生環境研究所）、石井晴之（杏林大学）、梁明秀（横浜市立大学）］

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

（1） ウイルス検査精度管理に資する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「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　皆川洋子　研究分担者　木村博一) の一環として、ウイルス研修の際に行ったノロウイルスリアルタイム PCR 法およびキャプシド遺伝子のシークエンス･系統樹解析に関する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、長澤耕男（以上、当センター)、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)、皆川洋子（愛知県衛生研究所)］

（2） 細菌検査精度管理に資する研究

平成 28 年度厚生労働科学研究「地方衛生研究所における細菌検査精度管理に資する研究」(研究代表者　皆川洋子、分担研究者　村上光一）の一環として、赤痢菌の外部精度管理を実施するための基礎的検討を実施した(詳細は本研究班報告書を参照)。

［村上光一、大石和徳（以上、当センター)、泉谷秀昌、緒方喜久代、大西真（以上、細菌第一部)、滝澤剛則（富山県衛生研究所)、四宮博人（愛媛県立衛生環境研究所)、勢戸和子（大阪府立公衆衛生研究所)、磯部順子（富山県衛生研究所)、望月利洋（兵庫県立健康生活科学研究所)、世良暢之(福岡県保健環境研究所)、平井昭彦、河村真保、小西典子、貞升健志(以上、東京都健康安全研究センター)、青木美耶子、鈴木匡弘、松本昌門（以上、愛知県衛生研究所)、研究代表者皆川洋子（愛知県衛生研究所)］

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(以上、当センター)、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)］

13. パレコウイルスに関する研究

パレコウイルスは小児を中心に呼吸器感染症を引き起こしている。小児では敗血症等の重症感染症を起こすこともある。近年、成人において筋痛症を引き起こすことがあり、平成 28 年度 AMED「新興・再興エンテロウイルス感染症の検査・診断・治療・予防法の開発に向けた研究」(研究代表者　清水博之、研究分担者　藤本嗣人）の一環として、そのウイルス学的な調査研究を実施した。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未（以上、当センター)、水田克巳（山形県衛生研究所)］

14. コクサッキーウイルス A6 型による手足口病に関する研究

2011 年から突然、コクサッキーウイルス A6 型による手足口病の全国的な流行がみられるようになった。そこで、平成 28 年度 AMED「新興・再興エンテロウイルス感染症の検査・診断・治療・予防法の開発に向けた研究」（研究代表者　清水博之、研究分担者　藤本嗣人）の一環として、兵庫県で保存されていた分離株を使用して遺

伝子的にどのような変化があるのかを調査した。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、長澤耕男、木村博一（以上、当センター）、荻美貴、近平雅嗣（以上、兵庫県立健康生活科学研究所）、他］

VI. 学会等の中での研究、貢献

1．日本感染症学会

2016 年度の本部理事、2016 年度ワクチン委員会委員長として市民公開講座で講演を行った。また、危機管理委員会委員長として、ジカウイルス感染症協力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］

2016 年度ワクチン委員会委員、評議員として予防接種に関する検討・啓発を行った。市民公開講座で講演を行った。

［多屋馨子］

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］

2016 年度評議委員として活動を行った

［砂川富正、神谷元、藤本嗣人、多屋馨子］

2. 日本ワクチン学会

2016 年度理事として学会活動を行った。

［多屋馨子、神谷元、大石和徳］

Vaccine 誌編集委員として学会活動を行った。

［多屋馨子、神谷元、大石和徳］

3. 日本小児科学会

2016 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］

評議員として学会活動を行った。

［神谷元、砂川富正、佐藤弘］

感染症情報委員会委員長として活動した。

［多屋馨子（委員長：2013 年 1 月～）］

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

評議員として学会活動を行った。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・感染症委員会委員長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. 日本神経感染症学会

評議員として学会活動を行った。

［多屋馨子］

9. 日本熱帯医学会

学会副理事長、理事として、学会運営を進めた。また、第 59 回日本熱帯医学会総会では会長を務めた

［大石和徳］

10. 日本獣医学会

評議員として学会活動を行った。

［新井智］

11. 日本呼吸器学会

呼吸器ワクチンワーキング委員長として、呼吸器感染症ワクチンの諸問題について貢献した。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、奥野英雄、森野紗衣子、多屋馨子、FETP 一同、八幡裕一郎、宮間浩史、大竹由里子、新井伸一、赤塚昌江、加藤信子、辻朋子、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、当感染症疫学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。「感染症の話」は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」では外部からの問い合わせのあった質問や投稿などを読者に公開する。「感染症関連情報」では病原体情報／「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等のリンクを紹介している。また、「速報」では、国内で問題となったアウトブレイク等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する。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 2015 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、徳永真里子、舟越優、FETP 一同、八幡裕一郎、多屋馨子、辻朋子、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。2016 年 1 月-2016 年 12 月の病原体検出報告数(2017 年7月 19 日現在)は、病原菌検出報告(3A:地衛研･保健所)は 3,617 件、病原体個票は病原菌(原虫･寄生虫を含む)が地衛研 3,864 件･保健所 107 件、ウイルス(リケッチア, クラミジアを含む)が地衛研 26,488 件(うち最多はインフルエンザ A(H1pdm)で 3,599)、保健所 242 件、検疫所 27 件(ウイルス、原虫)、集団発生病原体票は病原菌等が地衛研 218 件、ウイルス等が地衛研 1,041 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地衛研 367 件、ウイルス等が地衛研 24 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、加藤信子、舟越優、砂川富正、大石和徳(以上、当センター)、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。2016/2017 年シーズンのインフルエンザは前シーズンと異なり A/H3 亜型が最も多かった。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高齢者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。

［砂川富正、高橋琢理、木下一美、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 WPRO 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 西太平洋事務局に遅滞なく報告した。

［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、舟越優、FETP 一同、松井珠乃、福住宗久、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（2017 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（2017 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、熊田萌］

II. 感染症発生動向調査のシステムに関する業務

NESID の政府共通プラットフォームへの移行（2018 年 3 月実施予定）に向け、感染症疫学センターは厚生労働省健康局結核感染症課の移行に関する仕様策定に中央感染症情報センターとして協力するとともに、本移行に関わる自治体等、関係諸団体との調整を行った。

［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、加藤信子、赤塚昌江、大石和徳］

（1）病原体検出情報システム

2016 年 4 月の改正感染症法施行に伴い、法に基づく病原体検査に対応すべく NESID システムの更改実施に伴う仕様検討及びテストを担当した。また、新しく発見された病原体や型別追加に対応するため、随時コードの追加・変更を行い、毎年インフルエンザ抗血清を新規にマスタに追加し（20165 年度は“*Escherichia albertii*” を病原体検出情報システムの検出病原体として追加、アデノウイルスの型（5 種）新規追加と名称変更、地方衛生研究所からの要望で、地方衛生研究所で使用されている培養細胞をマスタに 5 つ追加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、齊藤剛仁、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。2016 年度はポリオ 2 型の国内取り扱いに対応するため、今後も見据えた登録機能の改修およびデータ検索時絞り込み項目機能の追加等を行った。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り過去データとの比較等に利用されている。近年は複数のあらたな調査も加わっており、2016 年度は、11 疾病の感受性データが登録されている。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。

［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、高橋琢理、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麻疹ウイルス遺伝子型別内訳 一覧（都道府県・発病日・渡航先などの情報）を IASR ホームページ上に掲載した（2014 年末からは年毎の遺伝子型別情報を PDF・CSV の形で作成し、随時更新)。

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、速報記事掲載のお知らせ、インフルエンザウイルス検出速報・麻疹ウイルス検出速報・風疹ウイルス検出速報・ノロウイルス検出速報の更新のお知らせなどウイルス担当者や細菌検査担当者への情報提供を行った。

［木下一美、赤塚昌江、徳永真里子、新井伸一、齊藤剛仁、辻朋子、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)、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 一同、齊藤剛仁、高橋琢理、加納和彦、木下一美、有馬雄三、舟越優、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、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、砂川富正、多屋馨子、藤本嗣人、大石和徳（以上、当センター)、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、エボラウイルス病、MERS コロナウイルス感染症、腸管出血性大腸菌感染症、麻疹、風疹などを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、舟越優、新井智、佐藤弘、多屋馨子、松井珠乃、島田智恵、八幡裕一郎、菅原民枝、大日康史、FETP 一同、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 26 年度（2014 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

2016 年度感染症流行予測調査のうち、流行シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況については 2016 年 12 月 2 日と 12 月 30 日の計 2 回、ブタの日本脳炎抗体保有状況については 2016 年 7 月 20 日から 11 月 10 日まで計 8 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及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、2016 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 2016 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 2016 年 7 月 22 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、年度内スケジュール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（以上、当センター）、脇田隆字（副所長）］

2. 新興感染症のリスクアセスメント

2016 年度には、エボラウイルス病（1 回）、ジカウイルス感染症（7 回）、鳥インフルエンザ（H7N9）（2 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。

外務省領事局からの要請に基づき、在外医務官むけに、感染症による健康危機事例に対するリスクアセスメントの手順書を作成した。その作成過程においては、医務官らとワークショップを開催した。

［島田智恵、松井珠乃］

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2016年7月に蚊媒介感染症の診療ガイドライン 3 版を公開した。

［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

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。2016 年度（2015 年採血血清）の受け入れ血清は 14 県、3,755 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（2016 年度申請 5 件、血清分与 2,975 本）。また血清銀行規約を改訂した。

［新井智、田中佳織、多屋馨子、佐藤弘、玉元悠里、笠井優花、大石和徳］

2. 職員血清の保管業務

2016 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］

2017 年 2 月にタイ（バンコク）開催された 4-year Workplan Development & Strengthening Workforce Development をテーマとした Global Health Security Agenda 会議に出席した。

［神谷元］

（2）JICA、国際緊急援助隊（JDR）感染症対策チームとしてのコンゴ民主共和国の黄熱の対策支援

2016 年 7 月、同チームの疫学班担当として、日本の支援に関する事前調査に従事した。

［島田智恵］

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. 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。域内のデング熱対策の戦略についての会議（WPRO） 平成 28 年 6 月，域内の FETP 支援に係る会議（WPRO） 平成 28 年 11 月, ラオスの JEE(Joint External Evaluation) 平成 29 年 2 月。また、以下の機会において WPRO に対して人的支援を行った。WPRO FETP Fellowship Training Program のレビュー（WPRO） 平成 29 年 3 月。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、松井珠乃］

4. 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、引き続き支援した。

［神谷元、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

5. 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

2016 年 5 月にインドネシアにおいて開催された第 7 回運営委員会へ参加し、各国の FETP の関係者と健康危機事例への対応、情報共有方法について意見交換した。

［島田智恵］

6.　海外からの研修生への感染症疫学センターの活動及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。他に当所研究発表会若手研究者発表、当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、奥野英雄、熊田萌、森野紗衣子、島田智恵、福住宗久］

7.　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］

8. 科学技術振興機構「さくらサイエンスプラン」によるアジア FETP との連携強化

科学技術振興機構「さくらサイエンスプラン」のファンドサポートにより、アジア諸国から FETP 研修生を招き、日本の FETP と一緒に分子疫学セミナーを受講した。同時に各国の FETP の状況や問題となっている感染症について情報交換、意見交換を行った。今年度は韓国、台湾、タイ、ベトナム、シンガポールから合計 9 名の FETP 生が参加した。これによりアジア諸国の FETP との連携強化が期待される。

［山内和志（企画調整主幹）、熊谷優子、大石和徳、松井珠乃、島田智恵、八幡裕一郎、福住宗久、青柳順子、榎本ひとみ、神谷元］

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 : 福住宗久、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、マットグリフィス、松井珠乃、大石和徳］

2. 全般実施状況

FETP の実施は 19 年目となり、平成 28 年 3 月に 16 期生 4 名が研修を終了した。

3. 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。

（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。

4. 感染症集団発生事例の実地疫学調査協力

平成 28 年度、以下の事例に対して、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。

- 地域における百日咳集団発生事例（長野県）
- 外国人日本語実習施設に端を発した風疹集団発生事例（埼玉県）
- 離島における日本脳炎集団発生事例（長崎県）
- 事業所を端に市中に広がった麻疹集団発生事例（三重県）
- 小学校入学式において発生した麻疹集団発生事例（金沢市）
- 関西国際空港内事業所での麻疹の集団発生事例（大阪府）
- 兵庫県尼崎市での麻疹の集団発生事例（兵庫県尼崎市）
- 東京都文京区での百日咳の集団発生事例（文京区）

- VRE 集積事例（茨城県）
- 大田区における乳児ボツリヌス症事例（大田区）

［前述研修指導者、奥野英雄、森野紗衣子、多屋馨子、松井珠乃］

5. 研修活動（講義・セミナー受講）

初期導入研修（John Kobayashi；4 月）に加え、統計学セミナー（Jose Binongo; 8 月）、Foodboene disease outbreak investigation セミナー（Matt Wise；12 月）、Molecular Epidemiology セミナー（Lee Riely；1 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。

6. 教育研修（講義実施）

・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。
・産業医学研修会で職域における感染症対策について講義を実施した。

7. 感染症疫学研究

平成 28 年度に研修終了した 17 期生が以下の特別論文長期プロジェクトの研究発表を行った。

・蜂巣友嗣　「髄膜炎菌ワクチン（MCV4）による保菌抑止と排除効果」
・安藤美恵　「沖縄県内における流行性耳下腺炎の流行と合併症に関する疫学調査（2015 年)」
・金井瑞恵　「先天梅毒について、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」
・藤谷好弘　「本邦における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発生動向と死亡に関連する因子の検討」
・小林彩香　「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を用いた *Bacillus* 属の血流感染のリスク因子に関する検討」
・渡邊愛可　「感染症発生動向調査の検討からみえてきた、麻疹を鑑別するために問診すべきポイント」

8. 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
- 水痘入院例の発生動向をモニター
- 急性脳炎（脳症を含む）の発生動向をモニター
- 新型インフルエンザの発生動向監視、等

［前述研修指導者、森野紗衣子、奥野英雄、多屋馨子、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、加納和彦、齊藤剛仁、砂川富正］

9. 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。

［当センター一同］

10. 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。

［松井珠乃、砂川富正、多屋馨子、神谷元、福住宗久、奥野英雄、森野紗衣子］

11. 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］

12. 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平成 28 年 10 月 12 日、13 日に開催した。2016 年度の事務局は、第１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、ジカウイルス感染症・梅毒等に関する最近の話題４演題、伊勢志摩サミットにおける感染症サーベイランス等の事例対応５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、複数の自治体が関与した麻疹の積極的疫学調査事例等の事例対応３演題の他、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 140 名が受講した。

［当センター職員（主担当は第１室）、FETP 一同］

13. 国立保健医療科学院による研修

（１）国立保健医療科学院による短期研修ウイルス研修の実施

平成 28 年 11 月 7 日から 25 日まで 14 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修ウイルス研修（国立保健医療科学院・当所共同実施）を行った。本研修は、全国地方衛生研究所において、ウイルス検査業務に従事する専門職員を対象とし、種々のウイルス感染症の基礎的および新しい検査診断技術･知識の習得を目的としている。受講生は、23 名であった。なお、本研修は、感染症疫学センターをはじめ、当所関連各部・センター・室、全国衛生研究所（群馬県、富山県、山口県、川崎市）横浜市立大学、東京家政大学等の協力を得て遂行された。

［木村博一、村上光一、長澤耕男、大石和徳、多屋馨子、高橋真希］

（２）国立保健医療科学院による短期研修細菌研修の実施

平成 28 年 10 月 3 日から 7 日まで 5 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修新興再興技術研修（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、主としてレジオネラ感染症における基礎的、および新規検査診断技術・知識の習得を目的としている。受講生は、24 名であった。なお、本研修は、感染症疫学センターをはじめ、当所関連各部･センター・室、全国衛生研究所（北海道、大分県、富山県等）、高崎市保健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、土井朋美］

（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おけ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・アウトブレイク調査等に関する講義を行った。

［多屋馨子、砂川富正、八幡裕一郎、大石和徳、FETP 一同］

（５）国立保健医療科学院による感染症集団発生対策研修

国立保健医療科学における院短期研修である感染症集団発生対策研修で講義（感染症のアウトブレイク調査ステップ、感染症アウトブレイク事例）およびケーススタディーを行った。

［八幡裕一郎、FETP 一同］

14. 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］

15. 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所全体で､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。

［当センター職員(主担当は四室)､宮﨑義継(真菌部)］

（2）医師卒後研修

所開催の医師卒後研修に講師として参加した。

［福住宗久、多屋馨子、砂川富正、大石和徳］

（3）福岡大学のアデノウイルス検査研修および共同研究

アデノウイルスの検査法に関する研修ならびに共同研究を 2016 年 7 月から実施した。

［藤本嗣人、花岡希、川村朋子（以上、当センター）、内尾英一（福岡大学）］

（4）北海道大学工学部との共同研究

北海道大学工学部の修士課程学生 1 名ならびに博士課程学生 1 名との共同研究を実施した。

［藤本嗣人、花岡希］

（5）生活衛生技術担当者研修会講義にかかるレジオネラに関する研修

厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部生活衛生課からの依頼により、レジオネラに関する研修会講師を隔年で実施しており、当該年度も行った。

［有馬雄三］

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。

［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、多屋馨子、新井智、佐藤弘、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、木下一美、宮間浩史、大石和徳］

（2）来所者への感染症疫学センターの活動および感染症対策に関する情報提供と広報

国内生徒､学生の修学旅行や社会見学などの来所時に、当センターの活動、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、福住宗久、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（先天性風疹症候群を含む)、腸管出血性大腸菌感染症、伝染性紅斑、手足口病、梅毒、エボラ出血熱等の流行に伴い、メディアからの取材対応を行った（ピーク時には連日対応)。

［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。当センター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、他所内職員］

XI. 厚生労働省等　部会等　委員

内閣官房新型インフルエンザ等対策有識者会議　委員

［大石和徳］

厚生労働省厚生科学審議会感染症分科会予防接種・ワクチン分科会　臨時委員［大石和徳］
厚生労働省厚生科学審議会感染症分科会感染症部会　臨時委員［大石和徳］
公衆衛生情報研究協議会　理事［大石和徳］
独立行政法人国際協力機構国際緊急援助隊感染症対策チーム作業部会部会　部会員［大石和徳、松井珠乃、神谷元、島田智恵］
厚生労働省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］
厚生労働省厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会　委員［多屋馨子］
厚生労働省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］
厚生労働省麻疹排除認定会議　委員［砂川富正、多屋馨子］
厚生労働省疾病・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］
厚生労働省日本ポリオ根絶会議　構成員　［多屋馨子］
エイズ予防財団エイズ動向委員会　委員　［砂川富正］
内閣府食品安全委員会専門　委員　［砂川富正］
文部科学省学校給食における衛生管理の改善・充実に関する調査研究協力者会議　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（以下の質問項目）を実施した。その結果、アデノウイルス 54 型による流行性角結膜炎の全国規模の流行が明らかになった。

・細胞の送付
・難同定株の同定
・検査法の標準化
・マニュアル
・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（HP・メディア）

［花岡希、藤本嗣人、全国地方衛生研究所］

２. *Escherichia alberti* のレファレンスセンターとしての活動

平成 28 年 11 月 9 日健感発 1109 第 2 号 *Escherichia albertii* に係る報告について（依頼）に基づき、全国の地方衛生研究所、保健所等へ本菌あるいは本菌の DNA の配布を行った。

［村上光一］

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、大石和徳（以上、当センター）、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤（以上、品質保証・管理部）］

XIV. 研修員一覧

感染症疫学センター

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
多田 有希	客員研究員	2 室
安井 良則	客員研究員	2 室
山下 和予	客員研究員	2 室
西尾 治	客員研究員	4 室
石岡 大成	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
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
ストゥーキー・アシュリー	協力研究員	1 室
安藤 美恵	協力研究員	1 室
五十嵐 正巳	協力研究員	1 室
石金 正裕	協力研究員	1 室
石川 貴敏	協力研究員	1 室
伊東 宏明	協力研究員	1 室
牛澤 洋人	協力研究員	1 室
大平 文人	協力研究員	1 室
加藤 博史	協力研究員	1 室
金山 敦宏	協力研究員	1 室
金井 瑞恵	協力研究員	1 室
河端 邦夫	協力研究員	1 室
具 芳明	協力研究員	1 室
栗田 順子	協力研究員	1 室
小林 彩香	協力研究員	1 室
小林 祐介	協力研究員	1 室
古宮 伸洋	協力研究員	1 室
新橋 玲子	協力研究員	1 室
杉下 由行	協力研究員	1 室
鈴木 智之	協力研究員	1 室
鈴木 葉子	協力研究員	1 室
関谷 紀貴	協力研究員	1 室
高橋 亮太	協力研究員	1 室
田﨑 陽典	協力研究員	1 室
田中 好太郎	協力研究員	1 室
田渕 文子	協力研究員	1 室
徳田 浩一	協力研究員	1 室
豊川 貴生	協力研究員	1 室
中瀬 克己	協力研究員	1 室

感染症疫学センター

中村　奈緒美	協力研究員	1 室
難波江　功二	協力研究員	1 室
錦　信吾	協力研究員	1 室
蜂巣　友嗣	協力研究員	1 室
藤谷　好弘	協力研究員	1 室
堀　成美	協力研究員	1 室
牧野　友彦	協力研究員	1 室
松井　佑亮	協力研究員	1 室
三﨑　貴子	協力研究員	1 室
宮川　雅美	協力研究員	1 室
柳楽　真佐実	協力研究員	1 室
山口　亮	協力研究員	1 室
山田　文也	協力研究員	1 室
吉田　眞紀子	協力研究員	1 室
涌井　拓	協力研究員	1 室
渡邊　愛可	協力研究員	1 室
奥村　徹	協力研究員	2 室
土橋　酉紀	協力研究員	2 室
川上　千晶	協力研究員	3 室
山本　久美	協力研究員	3 室
荻(榎本)　美貴	協力研究員	4 室
川村　朋子	協力研究員	4 室
小長谷　昌未	協力研究員	4 室
高橋　健一郎	協力研究員	4 室
中村　晴菜	協力研究員	4 室
藤巻　明日香	協力研究員	4 室
赤坂　天平	協力研究員	6 室
岡崎　薫	協力研究員	6 室
尾﨑　恵太	協力研究員	6 室
小田　與志郎	協力研究員	6 室
小渕　正次	協力研究員	6 室
志賀　一樹	協力研究員	6 室
篠崎　洋平	協力研究員	6 室
高木　雅之	協力研究員	6 室
前田　泰一	協力研究員	6 室
宮地　由美子	協力研究員	6 室
福島　慎二	協力研究員	センター長室
高原　理	実習生	1 室
斉藤　聡大	実習生	2 室
田代　直樹	実習生	2 室
中山　泉	実習生	2 室
山村　美優	実習生	2 室

発表業績一覧

Ⅰ．誌上発表

1. 欧文発表

1) Asada K, Kamiya H, Suga S, Nagao M, Ichimi R, Fujisawa T, Umemoto M, Tanaka T, Ito H, Tanaka S, Ido M, Taniguchi K, Ihara T, Nakano T. Rotavirus vaccine and health-care utilization for rotavirus gastroenteritis in Tsu City, Japan. Western Pac Surveill Response J. 2016 ;7 (4) :28-36

2) Arai S, Taniguchi S, Aoki K, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Tanaka-Taya K, Masangkay JS, Omatsu T, Puentespina R Jr, Watanabe S, Alviola P, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Quibod MN, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Molecular phylogeny of a genetically divergent hantavirus harbored by the Geoffroy's rousette (*Rousettus amplexicaudatus*), a frugivorous bat species in the Philippines. Infect Genet Evol. 2016;45:26-32

3) Arai S, Kang HJ, Gu SH, Ohdachi SD, Cook JA, Yashina LN, Tanaka-Taya K, Abramov SA, Morikawa S, Okabe N, Oishi K, Yanagihara R.Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (*Sorex caecutiens*).Vector Borne Zoonotic Dis. 2016;16(7):468-75

4) Borrow R, Lee JS, Vázquez JA, Enwere G, Taha MK, Kamiya H, Kim HM, Jo DS; Global Meningococcal Initiative. .Meningococcal disease in the Asia-Pacific region: Findings and recommendations from the Global Meningococcal Initiative. Vaccine. 2016 ;34 (48) :5855-5862

5) Borrow R, Alarcón P, Carlos J, Caugant DA, Christensen H, Debbag R, De Wals P, Echániz-Aviles G, Findlow J, Head C, Holt D, Kamiya H, Saha SK, Sidorenko S, Taha MK, Trotter C, Vázquez Moreno JA, von Gottberg A, Sáfadi MA; Global Meningococcal Initiative. The Global Meningococcal Initiative: global epidemiology, the impact of vaccines on meningococcal disease and the importance of herd protection. Expert Rev Vaccines. 2017 Apr;16 (4) :313-328

6) Fukusumi M, Kamiya H, Takahashi H, Kanai M, Hachisu Y, Saitoh T, Ohnishi M, Oishi K, Sunagawa T. National surveillance for meningococcal disease in Japan, 1999-2014. Vaccine. 2016 Jul 25;34 (34) :4068-71

7) Fukusumi M, Arashiro T, Arima Y, Matsui T, Shimada T, Kinoshita H, Arashiro A, Takasaki T, Sunagawa T, Oishi K. Dengue Sentinel Traveler Surveillance: Monthly and Yearly Notification Trends among Japanese Travelers, 2006–2014. PLoS Negl Trop Dis. 2016 Aug 19;10(8):e0004924. doi: 10.1371/journal.pntd.0004924.

8) Fukusumi M, Chang B, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K; Adult IPD Study Group. Invasive pneumococcal disease among adults in Japan, April 2013 to March 2015: disease characteristics and serotype distribution. BMC Infect Dis. 2017 Jan 3;17(1):2. doi: 10.1186/s12879-016-2113-y

9) Gu SH, Arai S, Yu HT, Lim BK, Kang HJ, Yanagihara R. Genetic variants of Cao Bang hantavirus in the Chinese mole shrew (*Anourosorex squamipes*) and Taiwanese mole shrew (*Anourosorex yamashinai*). Infect Genet Evol. 2016 Jun;40:113-8

10) 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): 687-690

11) Hanaoka N, Matsutani M, Satoh M, Ogawa M, Shirai M, Ando S. Development of a Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for the Detection of Rickettsia spp. Jpn J Infect Dis. 2017 Jan 24;70(1): 119-123

12) Hosaka M, Fujisaki S, Masakane A, Hattori J, Shiino T, Gatanaga H, Shigemi U, Okazaki R, Hachiya A, Matsuda M, Ibe S, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. HIV-1 CRF01_AE and subtype B transmission networks cross over: a new AE/B recombinant identified in Japan. AIDS Res Hum Retroviruses. 2016. 32(5):412-419

13) Ishikane M, Kamiya H, Kawabata K, Higashihara M, Sugihara M, Tabuchi A, Kuwabara M, Yahata Y, Yamagishi T, Odagiri T, Sugiki Y, Ohmagari N, Matsui T, Oishi K. Seasonal influenza vaccine (A/New York/39/2012) effectiveness against influenza A virus of health care workers in a long term care facility attached with the hospital, Japan, 2014/15: A cohort study. J Infect Chemother. 2016 Nov; 22 (11) :777-779

14) Ishikane M, Arima Y, Kanayama A, Takahashi T, Yamagishi T, Yahata Y, Matsui T, Sunagawa T, Nozaki T, Oishi K. Epidemiology of domestically-acquired

amebiasis in Japan, 2000-2013. Am J Trop Med Hyg. 2016 Mar 14. pii: 15-0560.

15) Ishikane M, Arima Y, Itoda I, Takahashi T, Yamagishi T, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K, Ohnishi M. Responding to the syphilis outbreak in Japan: piloting a questionnaire to evaluate potential risk factors for incident syphilis infection among men who have sex with men in Tokyo, Japan, 2015. Western Pacific Surveillance and Response Journal, 2016, Jul 11;7(3):36-39

16) 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. 2016 Apr; 23(4):325-331

17) Izumi Y, Akazawa M, Akeda Y, Tohma S, Hirano F, Ideguchi H, Matsumura R, Miyamura T, Mori S, Fukui T, Iwanaga N, Jiuchi Y, Kozuru H, Tsutani H, Saisyo K, Sugiyama T, Suenaga Y, Okada Y, Katayama M, Ichikawa, Furukawa H, Kawakami K, Oishi K, Migita K. The 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in patients with rheumatoid arthritis: a double-blinded, randomized, placebo-controlled trial. Arthritis Research &Therapy. 2017 Jan; 19(1):15.

18) Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Yoshikawa T, Wang L, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Lim CK, Fujii H, Yamada S, Harada S, Oka A, Mizuguchi M, Taniguchi S, Saijo M. Association of the Emergence of Acyclovir-Resistant Herpes Simplex Virus Type 1 With Prognosis in Hematopoietic Stem Cell Transplantation Patients. J Infect Dis. 2017. 215(6):865-873

19) Kamiya H, Cho BH, Messonnier M, Clark TA, Liang JL. Impact and cost-effectiveness of a second tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis (Tdap) vaccine dose to prevent pertussis in the United States. Vaccine. 2016, 4;34(15) :1832-1838

20) Kato H, Yamagishi T, Shimada T, Matsui T Shimojima M, Saijo M, Oishi K, the SFTS epidemiological research group-Japan. Epidemiological and Clinical Features of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Japan, 2013-2014. PLoS One 2016 Oct 24;11(10):e0165207. doi: 10.1371/journal.pone.0165207.

21) Kerdsin A, Gottschalk M, Hatrongjit R, Hamada S, Akeda Y, Oishi K. A Fatal Child Case of Septic Meningitis Caused by *Streptococcus suis* serotype 24. Emerg Infect Dis. 2016. 22(8):1519-1520

22) Kimura H, Nagasawa K, Tsukagoshi H, Matsushima Y, FujitaK, Yoshida LY, Tanaka R, Ishii H, Shimojo N, Kuroda M, Ryo A. Molecular evolution of the fusion protein gene in human respiratory syncytial virus subgroup A. Infect Genet Evol. 2016. 43:398-406

23) Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, and Makino K. Adult case of acute flaccid paralysis with enterovirus D68 detected in the CSF. Neurology Clinical Practice. Published online before print November 4, 2016.

24) Kobayashi M, Matsushima Y, Motoya T, Sakon N, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Nishimura K, Yamashita Y, Kuroda M, Saruki N, Ryo A, Saraya T, Morita Y, Shirabe K, Ishikawa M, Takahashi T, Shinomiya H, Okabe N, Nagasawa K, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H. Molecular evolution of the capsid gene in human norovirus genogroup II. Sci Rep. 2016 Jul 7;6:29400.

25) Kudoh A, Miyakawa K, Matsunaga S, Matsushima Y, Kosugi I, Kimura H, Hayakawa S, Sawasaki T, Ryo A. H11/HSPB8 restricts HIV-2 Vpx to restore the anti-viral activity of SAMHD1. Front Microbiol.2016. 7: e1002425.

26) Kurai D, Sasaki Y, Saraya T, Ishii H, Tsukagoshi H, Kozawa K, Ryo A, Ishioka T, Kuroda M, Oishi K, Takizawa T, Kimura H. Pathogen profiles and molecular epidemiology of respiratory viruses in Japanese inpatients with community-acquired pneumonia. Respir Invest. 2016. 54: 255-263

27) Ly S, Arashiro T, Ieng V, Tsuyuoka R, Parry A, Horwood P, Heng S, Hamid S, Vandemaele K, Chin S, Sar B, Arima Y. Establishing seasonal and alert influenza thresholds in Cambodia using the WHO method: implications for effective utilization of influenza surveillance in the tropics and subtropics. Western Pac Surveill Response J. 2017 Mar 15;8(1):22-32. doi: 10.5365/WPSAR.2017.8.1.002. eCollection 2017 Jan-Mar.

28) Maeda-Mitani E, Murakami K, Oishi A, Etoh Y, Ser a N, Fujimoto S. Typing method for the QUB11a lo cus of *Mycobacterium tuberculosis*: IS*6110* insertions and tandem repeat analysis. BioMed Research Intern ational, 2016:5216530.

29) Matsushima Y, Shimizu T, Ishikawa M, Komane A, Okabe N, Ryo A, Kimura H, Katayama K, Shimizu H. Complete genome sequence of a recombinant GII.P16-GII.4 norovirus detected in Kawasaki city, Japan, in 2016. Genome Announcements. 4(5):e01099-16, 2016.

30) Nishina A, Ukiya M, Fukatsu M, Koketsu M, Ninomiya M, Sato D, Kimura H. 5,7-Dihydroxyflavone analogues may regulate lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by suppressing IκBα-linked Akt and ERK5 phosphorylation in RAW 264.7 macrophages. Planta Med. 2016. 81(S01):S1-S381

31) Nawa N, Kogaki S, Takahashi K, Ishida H, Baden H, Katsuragi S, Narita J, Tanaka-TayaK, Ozono K. Analysis of public concerns about influenza vaccinations by mining a massive online question dataset in Japan. Vaccine. 2016, 8;34(27):3207-13

32) Ogi M, Yano Y, Chikahira M, Takai D, Oshibe T, Arashiro T, Hanaoka N, Fujimoto T, Hayashi Y. Characterization of genome sequences and clinical features of coxsackievirus A6 strains collected in Hyogo, Japan in 1999-2013. J Med Virol. Epub 2017 Mar 14

33) Ohdachi SD, Kinoshita G, Oda S, Motokawa M, Jogahara T, Arai S, Nguyen ST, Suzuki H, Katakura K, Bawm S, Min MZ, Thwe TL, Gamage CD, Hashim R, Omar H, Maryanto I, Taher G, Ranorosoa, MC, Moribe J, Tsuchiya K. Intraspecific phylogeny of the house shrews, *Suncus murinus-S. montanus* species complex, based on the mitochondrial cytochrome b gene. Mammal Study. 2016, 41(4): 229–238

34) Otsuka H, Tsukagoshi H, Kimura H, Takanashi I, Okubo K. Are respiratory viruses involved in pre-seasonal symptoms or severity in Japanese cedar pollinosis? Allergy Rhinol (Providence). 2016. 7(2):62-68

35) Saitoh A, Saitoh A, Sato I, Shinozaki T, Kamiya H, Nagata S; Effect of stepwise perinatal immunization education: A cluster-randomized controlled trial. Vaccine. 2017, 14;35(12) :1645-1651

36) Sakuma Y, Ranorosoa MC, Kinoshita G, Shimoji H, Tsuchiya K, Ohdachi SD, Arai S, Tanaka C, Ramino H, Suzuki H. Variation in the coat-color-controlling genes, Mc1r and Asip, in the house mouse *Mus musculus* from Madagascar. Mammal study. 2016, 41(3): 131-140

37) Saraya T, Morita Y, Shirabe K, Ishikawa M, Takahashi T, Shinomiya H, Okabe N, Nagasawa K, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H. Molecular evolution of the capsid gene in human norovirus genogroup II. Sci Rep. 2016. 6:29400.

38) Sato M, Kuroda M, Kasai M, Matsui H, Fukuyama T, Katano H, Tanaka-Taya K. Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLB1 infection detected by next generation sequencing. J Clin Virol. 2016 May;78:66-70

39) Sugai K, Kimura H, Miyaji Y, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Sasaki-Sakamoto T, Matsunaga S, Yamada Y, Noda M, Ikeda M, Kozawa K, Ryo A, Yoshihara S, Ogata H, Okayama Y. MIP-1α level in nasopharyngeal aspirates at first wheezing episode predicts recurrent wheezing. J Allergy Clin Immunol. 2016. 137(3):774-781

40) Suzuki Y, Doan YH, Kimura H, Shinomiya H, Shirabe K, Katayama K. Predicting genotype compositions in norovirus seasons in Japan. Microbiol Immunol. 2016. 60(6):418-426

41) 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):501-504

42) Takeuchi D, Kerdsin A, Akeda Y, Chiranairadul P, Loetthong P, Tanburawong N, Areeratana P, Puangmalo P, Khamisara K, Pinyo W, Anukul R, Samechea S, Lekhalua P, Nakayama T, Yamamkoto K, Hirose M, Hamada S, Dejsierilert S, Oishi K. Impact of a food safety campaign on Streptococcus suis infection in humans in Thailand. Am J Trop Med 2017 Jun; 96(6):1370-1377

43) Tanaka T, Kamiya H, Asada K, Suga S, Ido M, Umemoto M, Ouchi K, Ito H, Kuroki H, Nakano T, Taniguchi K; Changes in rotavirus genotypes before and after vaccine introduction: a multicenter, prospective observational study in three areas of Japan. Jpn J Infect Dis. 2017 Jul 24;70(4):448-452

44) Tokuda K, Yahata Y, Sunagawa T. Prevention of secondary household transmission during Shiga toxin-producing Escherichia coli outbreaks. Epidemiol Infect. 2016 Jun 13:1-9

45) Yamagishi T, Arai S, Hifumi T, Sawabe K, Yamamoto A, Shibayama K, Ato M, Taki H, Goka K, Oishi K. Expanding distributions of red back spiders and bites in

Japan from 2011 to 2013. Med. Entomol. Zool. 2016. 67(4): 219–221

46) Yamaoka Y, Matsuyama S, Fukushi S, Matsunaga S, Matsushima Y, Kuroyama H, Kimura H, Takeda M, Chimuro T, Ryo A. Development of monoclonal antibody and diagnostic test for Middle East respiratory syndrome coronavirus using cell-free synthesized nucleocapsid antigen. Front Microbiol. 2016. 7:509

47) Yen Hai Doan, TH, Haga K, Fujimoto A, Fujii Y, Takai-Todaka R, Oka T, Kimura H, Yoshizumi S, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Shirabe K, Shinomiya H, Sakon N, Katayama K. Genetic analysis of human rotavirus C: The appearance of Indian–Bangladeshi strain in Far East Asian countries. Infect Genet Evol. 2016. 41: 160-173

48) Yoshihara K, Le MN, Nagasawa K, Tsukagoshi H, Nguyen HA, Toizumi M, Moriuchi H, Hashizume H, Ariyoshi K, Dang DA, Kimura H, Yoshida LY. Molecular evolution of respiratory syncytial virus subgroup A genotype NA1 and ON1 attachment glycoprotein (G) gene in central Vietnam, Infect Genet Evol. 2016. 45: 437-446

49) Yoshitomi H, Sera N, Gonzalez G, Hanaoka N, Fujimoto T. First isolation of a new type of human virus (genotype 79), species Human mastadenovirus B (B2) from sewage water in Japan. J Med Virol. 2016 Dec 12. doi: 10.1002/jmv.24749.

50) Watanabe A, Kobayashi Y, Shimada T, Yahata Y, Kobayashi A, Kanai M, Hachisu Y, Fukusumi M, Kamiya H, Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Kanou K, Saitoh T, Arai S, Satoh H, Okuno H, Morino S, Matsui T, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Takeda M, Komase K, Oishi K : Exposure to H1 genotype measles virus at an international airport in Japan on 31 July 2016 results in a measles outbreak. Western Pac Surveill Response J. 2017;8(1):37-39

２．和文発表

1) 荒川創一、有馬雄三、高橋琢理、谷畑健生、砂川富正. 性感染症の最近の動向. 臨牀と研究. 2016.93(9).

2) 有馬雄三、山岸拓也、高橋琢理、砂川富正. 感染症発生動向調査に見るヘルペスウイルス感染症. モダンフィジシャン. 2016. 36(12): 1249-1253

3) 大石明, 前田詠里子, 村上光一, 西田雅博, 世良暢之. 結核菌反復多型（VNTR）分析法を用いた福岡県における結核菌の遺伝子型別. 結核. 91 巻 7 号. 569-577

4) 奥野英雄、多屋馨子. 感染症ワクチンの現状と将来感染症の疫学調査とワクチンの効果. 化学療法の領域. 2016. 32(6): 1146-1152

5) 奥野英雄. 2016 年の麻しん 麻しん排除状態認定後の麻しん対策. チャイルドヘルス. 2016. 20(3): 212-214

6) 奥野英雄、多屋馨子. 周産期のウイルス感染症 新生児の対応 インフルエンザ. 周産期医学. 2017. 47(2): 288-290

7) 奥野英雄、多屋馨子. ワクチンのメリットとデメリット 予防接種後の副反応報告制度について. 化学療法の領域. 2016. 33: 720-727

8) 金井瑞恵, 神谷元. 社会小児科学 国内における侵襲性髄膜炎菌感染症の動向と国際的マスギャザリングに関連した髄膜炎菌感染症の集団発生事例. 小児科. 2016. 57 巻 9 号: 1151-1158

9) 金井瑞恵、砂川富正. 古くて新しい脅威である梅毒の子どもへの影響：先天梅毒の増加（特集 進化する感染症）. チャイルドヘルス. 2016. 19(12): 904-908

10) 金山敦宏、神谷元、山岸拓也、神垣太郎. エボラウイルス病流行への疫学的支援―シエラレオネにおける活動経験から―. 感染症学会誌. 2016. 90: 499-506

11) 神谷元、蜂巣友嗣、藤谷好弘、松井珠乃、大石和徳. マスギャザリングにおける感染症強化サーベイランス：伊勢志摩サミットの経験と今後. 保健医療科学. 2016. 65(6): 542-54

12) 神谷元.【百日咳,いま知っておきたいこと】百日咳の疫学 国内外の状況.臨床検査. 2017. 60 巻 7 号: 730-735

13) 神谷元.【予防接種/ワクチンで予防可能疾患（VPD）に関する最近の話題】 VPD の疫学. 臨床と微生物. 2016. 43 巻 3 号. 193-197

14) 神谷元.【国際化で身近になる感染症】 麻しんや風しんの国際的な再興と伝播が示唆するもの.チャイルドヘルス. 2016. 19 巻 4 号: 272-276

15) 神谷元.【これからどうなる!?日本の予防接種】導入済のワクチンに関する話題 ロタウイルスワクチン-ワクチン導入効果と今後の課題-.小児科診療. 2016. 79 巻 4 号: 523-528

16) 齊藤剛仁、大石和徳. 海外由来の腸管感染症の実態と問題点. 日本内科学会雑誌 2016. 105(11): 2126-2132

17) 砂川富正. 人獣共通感染症（動物由来感染症）の情報面における獣医系の役割と期待. 獣医疫学雑誌. 2016. 20(2): 118-123
18) 島田智恵、金山敦宏、松井珠乃、河端邦夫、福住宗久、有馬雄三、木下一美、砂川富正、池田真紀子、津田良夫、高崎智彦、沢辺京子、大石和徳. 2014 年夏の我が国のデング熱流行と今後の対策. Medical Entomology and Zoology. 2016. 67(1): 39-41
19) 多屋馨子. ワクチンのメリットとデメリット ウイルスワクチン　麻疹ワクチン.化学療法の領域. 2016. 33 巻増刊: 795-804
20) 多屋馨子. ジカウイルス・デングウイルスなど蚊媒介性感染症ウイルス 日本脳炎は過去の病気か?ワクチンをどう使う?. 臨床とウイルス. 2017. 44(5): 227-234
21) 多屋馨子, 岡田賢司, 乾幸治, 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. ロタウイルスワクチン　生後 14 週 6 日までの初回接種推奨の解釈. 小児保健研究. 2016. 75 巻 6 号: 833-835
22) 多屋馨子. 母子保健編 予防接種　新生児科. 周産期医学 2016. 46 巻増刊: 1138-1141
23) 多屋馨子. 子どもに対して新たな脅威となった感染症. チャイルドヘルス. 2016. 19(12): 882-884
24) 多屋馨子. 2015 年に多発した急性弛緩性麻痺症例の概要. 臨床とウイルス. 2016. 44(3): 101-106
25) 多屋馨子. 小児と感染症-この 10 年間のアップデート　この 10 年間の変化　予防接種法の動き. 2016. 小児科. 57(6): 629-638
26) 多屋馨子. 小児感染症 Q&A　麻疹の排除について教えてください. Up-to-date 子どもの感染症. 2016. 4(1): 32-35
27) 多屋馨子. これからどうなる!?日本の予防接種　導入済のワクチンに関する話題　麻しん風しん混合ワクチン　麻疹排除認定後の課題. 小児科診療. 2016. 79(4): 479-485
28) 永井友梨, 松原理沙, 多屋馨子. 小児の症候群　神経・精神 先天性風疹症候群. 小児科診療. 2016. 79 巻増刊: 137
29) 永井友梨, 松原理沙, 谷田けい, 佐藤聖子, 継仁, 鈴木道雄, 多屋馨子, 森内浩幸. 麻疹に続け!風疹・elimination への道. 小児感染免疫. 2017. 28(4): 339-348
30) 花岡希、小長谷昌未、藤本嗣人. 日本におけるアデノウイルス病原体サーベイランスの実施状況 - 2014年 - . 感染症学雑誌 2016. 90巻4号: 507-511
31) 花岡希、萬田和志、草刈栄治、伊藤晋、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. 性感染症学雑誌. 2016. 27 巻 1 号: 69-73
32) 藤本嗣人, 花岡希, 多屋馨子, 清水博之：エンテロウイルス（D68 を含む）の検査方法. 臨床とウイルス. 2016. 44(3): 84-89
33) 藤本嗣人、小林正明. 咽頭結膜熱に関する現状. 健康づくり. 2016. 460巻8号: 11
34) 藤本嗣人、小林正明. 咽頭結膜熱の予防法・診断法. 健康づくり. 2016. 461巻9号: 11
35) 藤本嗣人、内尾英一. 流行性角結膜炎とその対策. 健康づくり. 2016. 462巻11号: 11
36) 藤本嗣人. 新型アデノウイルスの流行. 日本の眼科. 2016. 87巻6号: 748-750
37) 森野紗衣子、多屋馨子. 水痘（みずぼうそう）の感染対策と定期接種化後の変化. 保育界. 2016. 40-41
38) 山岸拓也、有馬雄三、高橋琢理、加納和彦、砂川富正、大石和徳, 岡部信彦 : 発生動向調査から見た性感染症の最近の動向. 日本性感染症学会誌. 2016. 27(1). S128-S145
39) 和田耕治、西塚至、竹下望、貞升健志、寺田千草、砂川富正、松井珠乃、岸本剛、前田秀雄：東京 2020 オリンピック・パラリンピック競技大会に関与する自治体における感染症対策のためのリスク評価. 日本医師会雑誌. 2016. 145(7): 1459-1468
40) 渡邊愛可, 島田智恵, 多屋馨子 : A 群溶血性レンサ球菌感染症の全体像と疫学情報. 小児科. 2016. 57(10): 1261-1266
41) 川上 健司, 大石 和徳. 治療の進歩 ワクチンによる肺炎球菌感染症制御 PPSV23 vs PCV13. 2016. Annual Review. 呼吸器 2016 巻. 190-196.

Ⅱ．学会発表

１．国際学会

1) Arai S, Nguyen ST, Tu VT, Thanh HT, Bawm S, Lin KS, Gu SH, Ohdachi SD, Tanaka-Taya K, Yoshikawa Y, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Whole genome analysis of Dakrong virus, a novel hantavirus harbored by the Stoliczka's Asian trident bat （*Aselliscus stoliczkanus*） in Vietnam . May 31 - June 3, 2016. Fort Collins, CO, USA.
2) Arai S, Kang HJ, Gu SH, Ohdachi SD, Cook JA, Yashina

LN, Tanaka-Taya K, Abramov SA, Morikawa S, Okabe N, Oishi K, Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew （*Sorex caecutiens*）. May 31 - June 3, 2016. Fort Collins, CO, USA.

3) Arai S, Taniguchi S, Aoki K, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Tanaka-Taya K, Masangkay JS, Omatsu T, Puentespina Jr R, Watanabe S, Alviola P, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Quibod NRM, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Newfound hantavirus in fruit bat, Republic of the Philippines. International Congress for tropical medicine and malaria 2016. Sep. 18-22, 2016. Brisbane, Australia.
4) Fukusumi M, Chang B, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. Invasive pneumococcal disease among adults in Japan, April 2013 to March 2015: Disease characteristics and serotype distribution. The 10th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases (ISPPD) , 26-30 June, 2016, Glasgow, Scotland.
5) Oishi K, Akeda Y, Kinjo Y, Chang B. The fusion pneumococcal surface protein A (PspA) proteins comprising PspA families 1 and 2 with broad range of cross-reactivity with clinical isolates. The 10th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases (ISPPD), 26-30 June 2016, Glasgow, Scotland.
6) Hachisu Y, Takahashi H, Kamiya H, Sunagawa T, Fukusumi M, Saitoh T, Matsui T, Oishi K and Ohnishi M. Changing the carriage rate of Neisseria meningitides in a closed community due to introduction of meningococcal conjugate vaccine. 8th Southeast Asia and Western Pacific Bi-regional TEPHINET Scientific Conference, November 28-December 2, 2016.Siem Reap, Cambodia.
7) Kamiya H, Tanaka-Taya K, Kono Y, Oishi K, Okabe N, Sunagawa T. Trends in Intussusception Hospitalizations among Japanese Infants Before and After the Introduction of the Rotavirus Vaccine: 2007-2014 12th International Rotavirus Symposium 2016, Australia.
8) Hanaoka N. Adenovirus Infection as STI; adenoviral urethritis. 19th IUSTI Asia-Pacific Conference. Dec 2 2016, Okayama city.
9) Ishikane M, Arima Y, Itoda I, Takahashi T, Yamagishi T, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K. Prospective Case-control Study of Risk Factors for Incident Syphilis Infection among MSM in Tokyo, Japan. ID Week. October 28, 2016. New Orleans, USA.
10) Kanai M, Kamiya H, Hachisu Y, Fukusumi M, Saitoh T, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K. Meningococcal disease outbreak related to the World Scout Jamboree - Japan, 2015. 8th Southeast Asia and Western Pacific Bi-regional TEPHINET Scientific Conference, November 28-December 2, 2016. Siem Reap, Cambodia.
11) Kitaichi N, Hinokuma R, Nishimura K, Toda J, Tsutsumi M, Gonzalez G, Panto L, Koyanagi KO, Watanabe H, Kaneko H, Fujimoto T, Uchio E, Ishida S, Ohno S, Aoki K. Frequencies of adenovirus types and clinical features of epidemic keratoconjunctivitis in Kumamoto, Japan. 12th International Adenovirus Meeting, August- 16, Barsinghausen, Germany.
12) Kinoshita H, Arima Y, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Hanaoka N, Fujimoto T, Oishi K, Shimizu H. Detections of enterovirus D68 based on the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases system in Japan, 2005-2015. Europic 2016, September 2016. Les Diablerets, Switzerland.
13) Okuno H, Sunagawa T , Morino S, Satoh H, Arai S, Oishi K, Tanaka-Taya K. Pathogenic agents detected among acute encephalitis and encephalopathy cases less than 5 years of age, Japan, 2011-2015. The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders. July 2016, Tokyo, Japan.
14) Shiino T, Sadamasu K, Nagashima M, Hattori J, Hachiya A, Sugiura W, Yoshimura, K on behalf of the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Identifying patterns of HIV-1 transmission among MSM communities in Japan for target selection of an active prevention program. 21st International AIDS Conference, July 17-22, 2016. International Convention Center, Durban, South Africa.
15) Takahashi T. Rapid Increase in New Syphilis Cases in Japan. The 19th International Union against Sexually Transmitted Infections. December 2016. Okayama, Japan.

２．国内学会

1) 新井智、松岡裕之、青木啓太、多屋馨子、沢辺京子、森川茂、大石和徳. コガタアカイエカのミトコンドリア配列. 第159回日本獣医学会学術集会. 2016年9月6-8

日．神奈川県藤沢市.

2) 新井智, 谷口智, 青木啓太, 吉川泰弘, 久和茂, 多屋馨子, Joseph S. Masangkay, 大松勉, Roberto Puentespina Jr, 渡辺俊平, Phillip Alviola, James Alvarez, Eduardo Eres, Edison Cosico, Nina Regina M. Quibod, 森川茂, Richard Yanagihara and 大石和徳. フィリピンで捕獲されたフルーツコウモリに検出された新規ハンタウイルス. 第64回日本ウイルス学会学術集会. 2016年10月23-25. 北海道札幌市.

3) 新井智, Saw Bawm, Kyaw San Lin, Vuong Tan Tu, 青木啓太, 福井大, 多屋馨子, 森川茂, Richard Yanagihara, 大石和徳. Genetic Diversity of Laibin virus, a Hantavirus Harbored by the Black-bearded Tomb Bat （*Taphozous melanopogon*） in Myanmar. 第57回日本熱帯病医学会大会. 2016年11月5-6日．東京都千代田区.

4) 有馬雄三、福住宗久、新城雄士、松井珠乃、島田智恵、木下一美、新城 Ashley、高崎智彦、砂川富正、大石和徳. Dengue Sentinel Traveler Surveillance: Monthly and Yearly Notification Trend s Among Japanese Travelers, 2006-2014. 第57回日本熱帯医学会大会. 2016年10月. 東京都.

5) 石金正裕, 有馬雄三, 高橋琢理, 金山敦宏, 山岸拓也, 八幡雄一郎, 松井珠乃, 砂川富正, 野崎智義, 大石和徳. 国内アメーバ赤痢の疫学、2000～2013 年. 第 57 回日本熱帯医学会大会. 2016 年 10 月. 東京都.

6) 伊豫田淳、漆原康子、石嶋希、李謙一、井口純、齊藤剛仁、石原朋子、櫻井淑男、大西真：stx2f陽性のEscherichia albertii感染が確認されたHUS症例. 第20回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2016年11月. 富山県.

7) 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. ロタウイルスワクチン接種開始後のロタウイルス関連急性脳症報告数の推移. 第20回日本ワクチン学会学術集会. 2016年10月. 東京都.

8) 奥野英雄、佐藤弘、森野紗衣子、新井智、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）として報告されるインフルエンザ脳症のシーズンごとの推移. 第48回日本小児感染症学会総会・学術集会. 2016年11月. 岡山県岡山市.

9) 加藤博史、島田智恵、藤谷好弘、小林祐介、山岸拓也、砂川富正、松井珠乃、西條政幸、大石和徳. 本邦における重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の流行状況～感染症発生動向調査より～. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会. 2016 年 4 月. 宮城県仙台市.

10) 金子明依、高梨さやか、Thongprachum Aksara、井上茉南、花岡希、藤本嗣人、沖津祥子、早川智、水口雅、牛島廣治. ロタウイルスワクチン株に起因する急性胃腸炎の実態調査. 第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 2016 年 11 月. 岡山県岡山市.

11) 神谷元. シンポジウム９　アウトブレイク対応の実際「侵襲性髄膜炎菌感染症のアウトブレイク対応について」. 第90回日本感染症学会総会・学術講演会. 2016年4月. 宮城県仙台市.

12) 神谷元、砂川富正、河野有希、多屋馨子、大石和徳、岡部信彦. ロタウイルスワクチン導入前後のわが国の腸重積症の疫学的考察. 第119回日本小児科学会学術集会. 2016年5月. 北海道札幌市.

13) 神谷元. 医学教育における予防接種教育プログラムの構築. 第26回外来小児科学会. 2016年8月. 香川県高松市.

14) 神谷元、河端邦夫、石金正裕. 医療機関におけるインフルエンザのアウトブレイクを如何に予防するか「医療機関でのアウトブレイク対応事例と得られた教訓」. 第243回ICD講習会. 東日本感染症学会. 2016年10月. 新潟県.

15) 神谷元. 髄膜炎菌感染症について. 第19回症例から学ぶ感染症セミナー 西日本感染症学会. 2016年11月. 沖縄県.

16) 河野有希、神谷元、砂川富正、多屋馨子、大石和徳、岡部信彦. 「わが国の5歳未満児における腸重積症の臨床的特徴」. 第119回日本小児科学会学術集会. 2016年5月. 北海道札幌市.

17) 木下一美、有馬雄三、砂川富正、多屋馨子、清水博之、大石和徳. 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 型検出症例. 第 90 回日本感染症学会. 2016 年 4 月. 宮城県仙台市

18) 小林彩香、島田智恵、砂川富正、松井珠乃、大石和徳. 感染症発生動向調査における国内のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の動向および死亡例の特徴. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会. 2016 年 4 月. 宮城県仙台市.

19) 齊藤剛仁、神谷元、福住宗久、蜂巣友嗣、多屋馨子、砂川富正、大石和徳. ４価髄膜炎菌ワクチン接種後の健康状況調査. 第20回日本ワクチン学会. 2016年10月. 東京都.

20) 佐藤弘、多屋馨子、大石和徳. 定期接種前後の水痘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）．第57回日本臨床ウイルス学会．2016年．福島県郡山市.

21) 佐藤弘、多屋馨子、清水博之、大石和徳． 不活化ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況・抗体保有状況について（2011～2015年度感染症流行予測調査より）．第20回日本ワクチン学会．2016年10月． 東京都新宿区.

22) 椎野禎一郎. 塩基配列から見る HIV envelope の進化戦略：赤の女王国の住民のジレンマ. 第 30 回日本エイズ学会学術集会総会. 2016 年 11 月． 鹿児島県.

23) 椎野禎一郎、蜂谷敦子、潟永博之、吉田 繁、近藤真規子、貞升健志、横幕能行、古賀道子、田邊嘉也、渡邉大、森治代、南留美、健山正男、杉浦亙、吉村和久. 日本薬剤耐性 HIV 調査研究グループ. 国内 MSM におけるエイズ患者は伝播ネットワークのどこに多く含まれるか？． 第 30 回日本エイズ学会学術集会総会. 2016 年 11 月. 鹿児島県.

24) 島田智恵．Event-based surveillane（EBS）とは．パネルディスカッション「感染症法に含まれない感染症のサーベイランス：Event-based surveillane（EBS）の意義」第 57 回日本臨床ウイルス学会．2016 年 6 月． 福島県.

25) 高橋健一郎、花岡希、田村まり子、志田洋子、安田菜穂子、渡邉日出海、鈴木葉子、藤本嗣人、杉原茂孝. アデノウイルス咽頭扁桃炎の迅速検査による後方視的検討. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演. 2016 年 4 月． 宮城県仙台市.

26) 高橋英之、羽賀將衛、砂川富正、齊藤剛仁、北原武尊、松本壮吉、大西真． 咽頭うがい液を用いた髄膜炎菌の健康者保菌調査の実施. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月. 宮城県.

27) 高橋琢理、有馬雄三、金井瑞恵、石金正裕、山岸拓也、砂川富正、大西真、大石和徳． 感染症発生動向調査における異性間性的接触による梅毒報告の増加、2016 年 3 月. 第 90 回日本感染症学会学術講演会. 2016 年 4 月. 宮城県仙台市.

28) 高橋琢理, 砂川富正, 大石和徳． 感染症発生動向調査における梅毒報告の増加、2016 年第 21 週. 第 75 回日本公衆衛生学会総会. 2016 年 10 月. 大阪市.

29) 多屋馨子． 医療関係者のワクチン 麻しん、風しん、水痘、おたふくかぜを中心に． 第 92 回日本感染症学会総会・学術集会． 2016 年 4 月． 宮城県仙台市.

30) 多屋馨子． 感染症法に含まれない感染症のサーベイランス Event-based surveillance（EBS）の意義 Acute flaccid paralysis（AFP）サーベイランスの重要性. 第 57回日本臨床ウイルス学会．2016年6月． 福島県郡山市.

31) 多屋馨子． ワクチンに関する最近のトピックス. 第 92回日本感染症学会総会・学術集会． 2016年4月． 宮城県仙台市.

32) 多屋馨子． 予防接種がもたらしたインパクト 水痘. 第119回日本小児科学会． 2016年5月． 北海道札幌市.

33) Thongprachum A, Fujimoto T, Takanashi S, Okitsu S, Hayakawa S, Ushijima H. A variety of virus commonly causing diarrhea detected in untreated sewage. The 64th annual meeting of the Japanese Society of Virology. October 25th, 2016, （Sapporo city）

34) 中村晴奈、落合仁、花岡希、藤本嗣人、長尾みづほ、菅 秀、谷口清州、伊藤正寛．アデノウイルス感染における血清サイトカインの特徴. 第48回日本小児感染症学会総会・学術集会． 2016年11月． 岡山県岡山市.

35) 中村涼子, 原口康平, 松倉幹, チョン・ピンフィー, 吉良龍太郎, 片野晴隆, 多屋馨子：散在性の皮質・皮質下白質病変を呈したエンテロウイルス脳炎の新生児例.第58回日本小児神経学会． 2016年6月． 東京都新宿区.

36) 服部文彦, 三浦浩樹, 河村吉紀, 菅田健, 神谷元, 多屋馨子, 吉川哲史． 水痘ワクチン定期接種化後のワクチン有効性に関する科学的エビデンス構築. 第57回日本臨床ウイルス学会．2016年6月． 福島県郡山市.

37) 花岡希、木下一美、砂川富正、大石和徳、藤本嗣人. 新型アデノウイルス53、54および56型の日本における検出状況および臨床診断（2000～2015年）の疫学解析. 第90回日本感染症学会総会・学術講演．2016年4月. 宮城県仙台市.

38) 福住宗久、大石和徳、溝口かおる、神奈川芳行、大藤さとこ、福島若葉、廣田良夫、松井珠乃、宮崎健二、湯口恭利. 首都圏の鉄道会社における職種別のインフルエンザ罹患に関する疫学研究．第 75 回日本公衆衛生学会総会．2016 年 10 月． 大阪市.

39) 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、常彬、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 4 月-2016 年 3 月）．第 20 回日本ワクチン学会． 2016 年 10 月． 東京都.

40) 福住宗久．麻疹、風疹の疫学情報．第 91 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 65 回日本化学療法学会学術集会合同学会. 日本産業衛生学会合同シンポジウム 4「どこが難しい？職場の麻しん風しん対策」 2016 年 4 月． 東京都新宿区.

41) 藤本嗣人. アデノウイルスレファレンスセンター報告. 衛生微生物技術協議会第37回研究会．2016年7月． 広島県広島市.

42) 藤本嗣人. 日本におけるアデノウイルスレファレンス体制に関するアンケート結果からみえた課題とその解決のための取組.第17回日本アデノウイルス研究会. 2016年7月． 東京都.

43) 藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希．日本におけるアデノウイルスサーベイランスの実施状況（2014年）．第53回日本眼感染症学会．2016年7月． 東京都.

44) 森野紗衣子、砂川富正、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合併症報告の変化.第57回日本臨床ウイルス学会学術集会. 2016年6月． 福島県郡山市.

45) 森野紗衣子、佐藤弘、奥野英雄、新井智、大石和徳、多屋馨子． ムンプス流行前後における国民の抗体保有状況に関する検討..第48回日本小児感染症学会学術集会． 2016年11月.岡山県岡山市.

46) 森野紗衣子、多屋馨子、北上悦子、明田幸広、菅秀、大石和徳． 侵襲性肺炎球菌感染症小児例における急性期肺炎球菌血清型特異的抗体測定 第20回日本ワクチン学会学術集会． 2016年10月． 東京都.

47) 八代将登, 藤井洋輔, 山下信子, 塚原宏一, 多屋馨子, 森島恒雄． 中国四国地区における急性弛緩性麻痺を認める症例の網羅的調査.第57回日本臨床ウイルス学会学術集会． 2016年6月． 福島県郡山市.

48) 渡邊愛可、島田智恵、松井珠乃、砂川富正、多屋馨子、大石和徳. 麻疹における感染症発生動向調査への届出の現状と問題点. 第 75 回日本公衆衛生学会総会. 2016 年 10 月． 大阪市.

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35年以上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、世界のHIV感染者数は3600万人を超え、年間約180万人が新たにHIVに感染し、約100万人がエイズ関連で亡くなっていると推定されている。このように世界のHIV感染拡大は極めて深刻な状況にあるが、日本国内においてもエイズ動向委員会によると、HIV感染者数・エイズ患者数をあわせた新規報告数は毎年約1,500件前後（平成28年：1,448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28年：437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、ルワンダ・ケニア・英国での臨床試験第Ⅰ相にて安全性・免疫原性が確認されたところである。

HIV感染者治療に関しては、国内の抗HIV薬治療患者検体の解析により、薬剤耐性株の出現・伝播についての調査を進め、臨床へのフィードバックを含め成果を得てきた。これらの解析を継続・発展させるとともに、新規治療薬開発に向けて、HIV複製・感染病態の分子生物学的解析を進め、治療標的となる機序・因子の同定を推進中である。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。

業 績

調査・研究

I. HIV 感染免疫動態と予防 HIV ワクチンに関する研究

1. HIV感染免疫動態に関する研究:宿主細胞性免疫反応とHIVとの相互作用に関する研究

(1) サルエイズモデルにおける CTL 逃避変異の蓄積と CTL 反応動態に関する研究

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。CTL 逃避変異の中には、T 細胞受容体(TCR)の認識から逃れることで抗原提示効率には影響を及ぼさないものが存在し、このような逃避変異は逃避エピトープを認識し得る新たな CTL を誘導することが考えられる。MHC-I ハプロタイプ A に拘束される Gag エピトープについて、逃避変異の蓄積および逃避エピトープを認識する CTL 反応動態を解析した結果、GagD244E 変異の蓄積に伴って GagD244E 特異的 CTL 反応の増加が認められた。また逃避変異特異的 CTL 反応が高い個体においては、感染慢性期に抗原提示効率を減少させる逃避変異が蓄積していることから、逃避変異特異的 CTL 反応がウイルス複製に対して持続的に選択圧をかけていることが示唆された。本研究の成果は、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、関紗由里、中村 碧、佐野雅人、松岡佐織、武田明子、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)、野村拓志(熊本大学)、滝口雅文(熊本大学)、俣野哲朗]

(2) サルエイズモデルにおけるリンパ節の T 細胞反応の解析

HIV 複製制御に主要な役割を果たす CTL 反応については、末梢血単核球(PBMC)を用いた解析が進められている一方、ウイルス増殖の主要な場となるリンパ節における解析はあまり進められていない。我々はこれまでに確立してきた SIV 感染サルエイズモデルにおける感染慢性期のリンパ節サンプルを用いて、各ウイルス抗原特異的 CTL 反応の解析を進め血中ウイルス量との相関関係を解析した。その結果、リンパ節中の Gag N 末半分に特異的なセントラルメモリーCD8+ T 細胞の頻度が血中ウイルス量と逆相関したのに対し、Env N 末半分(Env-N)に特異的なエフェクターメモリーCD8+ T 細胞の頻度は血中ウイルス量と正の相関を示した。これらの結果より、Gag 特異的 CTL がウイルス複製抑制に有効にはたらいている一方で、Env-N(Env 細胞外領域の大部分)特異的 CTL が SIV 複製抑制に対して有効でないことが示唆された。また、PBMC 中の Env-N 特異的エフェクターメモリーCD8+ T 細胞頻度は血中ウイルス量との相関を示さなかったことから、リンパ節における T 細胞反応解析の重要性を示す結果となった。

[石井 洋、中村 碧、松岡佐織、椎野禎一郎、佐藤由子(感染病理部)、岩田奈織子(感染病理部)、長谷川秀樹(感染病理部)、野村拓志(熊本大学)、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・健康・栄養研究所)、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]

(3) 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。この変異蓄積過程については、次世代塩基配列解析(NGS)により、さらに詳細な情報を得た。次にこの変異を有する 1・2・3 代目の各ウイルスを回収し、in vitro での複製能を調べたところ、いずれも野生型と比べて低下していることが明らかとなった。

[関紗由里、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)、野村拓志(熊本大学)、俣野哲朗]

(4) エイズウイルス病原性におけるCXCR3陽性CD4+T細胞感染におけるCXCL10の役割

我々は、SIV エイズ発症モデルを用いウイルス糖鎖修飾が

病原性を調節することを明らかにした。野生株 SIVmac239 は、初期感染後、慢性持続感染し免疫機能不全を起こす。ところが、ウイルススパイクの糖鎖修飾の一部を欠損する変異株 Δ5G は、野生株と同レベルの初期感染を起こすが感染は制御され、さらに、異なる clade の SIV 感染を抑制する免疫を誘導する。この病原性の違いは標的感染組織・細胞の違いによる。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する。SIVmac239 は 2 次リンパ組織の CXCR3+CCR5+CD4+T 細胞を選択的に減少させる。この機序について研究を行った。まず、感染後 7 日の末梢単核球の網羅的遺伝子発現解析から、CXCR3 陽性免疫細胞を炎症部位への遊走に働く CXCR3 ケモカイン CXCL10 が SIVmac239 感染で顕著に誘導されることが判明した。次に、CXCL10 は、末梢血単球、2 次リンパ組織では MAC387 陽性マクロファージで高発現していた。この結果は、SIVmac239 感染初期リンパ組織における MAC387 陽性マクロファージの誘導を示す病理解析結果と一致した。SIVmac239 感染は、high endothelial venule を介する免疫細胞のリンパ組織 T 細胞領域への集積を誘導、免疫を活性化し SIV 感染を起こすと考えられる。Δ5G 感染では、感染による MAC387 陽性マクロファージの集積は少なく、その結果、2 次リンパ組織での感染が少ないと推測される。
[森 一泰、藤野真之]

(5) RNA-Seq による SIV 初期感染、免疫細胞における遺伝子発現の網羅的解析

HIV/SIV の初期感染における免疫細胞の役割を知ることは、HIV/SIV 感染制御に取って非常に重要で有る。本研究では、RNA-Seq を用いて、ウイルス初期感染における末梢単核球免疫細胞の遺伝子発現を明らかにすることを目的して研究をおこなった。SIVmac239 と弱毒生ワクチン株である Δ5G 感染サルより採取した末梢単核を flow cytometric sort により単球、樹状細胞、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞、B 細胞、の各種細胞を分取した。RNeasy microkit にて RNA を精製した後、Agilent 2100 Bioanalyzer にて RNA の品質を確認した。RIN>7 以上の RNA を用いてライブラリーを作製し、illumina Hiseq2000 にて配列の解析を行った。シークエンスデータのクオリティチェックの結果、全てのシークエンス結果においてシーケンスのクオリティが高く、シーケンスエラーの可能性が低いデータが得られた事が明らかとなった。TopHat2 を用いて RNA-Seq のデータをゲノム配列にマッピングを行い, CuffLinks を用いてマッピング結果からアセンブリーを行った。さらに CummeRbund および Genome Explore を用いて発現量を推定した結果の可視化を行った。 マイクロアレイによる SIV 感染末梢単核球の遺伝子発現解析の結果と RNA-Seq による遺伝子発現解析の結果を比較したところ、マイクロアレイにて SIVmac239 とΔ5G にて発現の差が見られた CXCL10 等の遺伝子において、RNA-Seq による解析において単球における発現の差が確認された。今後の RNA-Seq により得られた各種免疫細胞における遺伝子発現データの詳細な解析は、HIV/SIV 初期感染におけるそれら細胞群の役割の解明に大きく寄与すると考えられる。
[藤野真之、森 一泰、金城その子（国立遺伝学研究所）、池尾一穂（国立遺伝学研究所）]

2. HIV 感染免疫動態に関する研究：宿主液性免疫反応と HIV との相互作用に関する研究

(1) 抗 SIV 中和抗体の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きた。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を示し、各個体における主要な CTL エピトープの新規同定を行った。また機能解析を進めた結果、NAb 受動免疫により CTL エスケープ変異体の *in vitro* 複製抑制能の亢進と、感染後 2 年時点での CTL エスケープ変異の蓄積阻止を見出した、NAb 誘導群では代表的な CTL が pAMPK 低発現の亜集団を有することを見出した。本年度は、非中和抗体受動免疫群との SIV 複製抑制能の比較を行った結果、ウイルス複製制御に最も重要と考えられる CD8 陽性細胞集団の SIV 複製抑制能は NAb 受動免疫によってのみ選択的に亢進が生じ、nNAb 受動免疫では同様の効果は生じずむしろ対照群よりさらに低下する可能性が見出された。本結果は、感染急性期における抗エイズウイルス抗体応答の質的な達成目標を明らかとする重要な結果である。次年度以降は、見出したリン酸化 AMPK 低発現 CTL 集団の複製制御持続における機能的意義の解析を進めてゆくことを予定している。
[山本浩之、高橋尚史、関紗由里、中村 碧、石井 洋、野村拓志（熊本大学）、俣野哲朗]

(2) 抗 SIV 中和抗体誘導サル群の同定と免疫相関の解析

前年度までに高度の 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、細胞関連遺伝因子及びウイルス学的因子の包括的な相関解析を進めた。今年度は引き続いて、NAb 誘導群における Env 特異的 B 細胞応答のマルチカラー解析手法を確立し、経時解析を行った結果 NAb 誘導群ではウイルス特異的 B 細胞サ

ブセットレベルでの応答亢進が生じていることが示唆された。本実験系は新たなタイプの 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]

(3) 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）を構築し、カニクイザルを用いて感染実験を行っている。

前年度に引き続き、HIV-1mt 感染サルの長期経過中における結合抗体と中和抗体の出現時期と中和活性の関係を、独自に開発した中和感受性の異なるウイルスセットを用いて測定した。Second passage の2頭のサルの中和抗体の推移を CD8 除去後のウイルスリバウンドと中和抗体の活性で比較したところ、親株の 89.6 に対する血中中和抗体価が高く維持されているサルの方は、急激な中和抗体価の上昇が見られ、ウイルスリバウンドが見られなかった。一方、中和抗体価の低いサルは、同様に急激な中和抗体価の上昇が見られるもののウイルスのリバウンドを許してしまった。以上、血中の抗 Env 結合抗体価の低い個体の方が、高い個体より、中和抗体力価が高く CD8 を除去した後もウイルスのリバウンドを許さない結果が得られた。また、感染初期よりこの傾向は持続して観察されており、かなり早い段階で効果的な中和抗体が誘導できた個体は、リザーバの広がりやリバウンドの抑制効果があるのではないかと考えられる。
[原田恵嘉、引地優太、明里宏文（京都大学）、吉村和久]

3. HIV ワクチンに関する研究

(1) CTL 細胞誘導センダイウイルスベクターHIV 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、安全性と免疫原性が確認された。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。この SeV ベクターワクチンについて、マウスへの接種実験で優れた Gag・Vif 特異的 CTL 反応誘導能を確認した。今後の研究進展が期待される。
[石井 洋、中村 碧、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]

(2) 抗体誘導 HIV ワクチンに関する研究

CTL 誘導に加えて、抗体誘導は、HIV ワクチン開発において重要戦略である。有効な抗体誘導には、標的となる Env 抗原の構造を考える必要があり、Env 三量体は有望な抗原の一つである。HIV 粒子上にはわずかの（10-20 分子／粒子）Env 三量体しか取り込まれていないことが知られていることから、本研究ではセンダイウイルス（SeV）粒子に効率よく取り込まれる新規改変 EnvF 抗原を設計し、それを発現する SeV ベクター（SeV-EnvF）を構築した。さらに、EnvF を効率よく取り込む非感染性 SeV 粒子（NVP-EnvF）を開発した。これらについて、マウス実験にて、抗 Env 抗体誘導能を確認した。
[石井 洋、中村 碧、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）、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) 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。これらのモデル系の再現性を確認し、その詳細な感染免疫動態を解析中である。。
[山本浩之、石井 洋、椎野禎一郎、Mark de Souza、野村拓志（熊本大学）、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]

(2) 国内 HIV 感染者の臨床ゲノム情報データベース構築

国内 HIV 感染者の大部分は抗 HIV 薬治療をうけ、エイズ発症には至らない。しかし、抗 HIV 薬治療をほぼ生涯にわたって受ける必要があり、長期療養下で骨粗鬆症・心血管障害・脳認知障害・腎障害等の促進が問題となってきている。これらの各種疾患促進に関連する宿主遺伝子の検索を主目的として、国内 HIV 感染者の臨床ゲノム情報を収集し、データベースを構築するプロジェクトを開始した。

[立川 愛、吉村和久、椎野禎一郎、石井 洋、中村 碧、四柳 宏(東京大学)、古賀道子(東京大学)、松田浩一(東京大学)、岩谷靖雅(名古屋医療センター)、塩田達雄(大阪大学)、俣野哲朗]

2. 新規治療法開発に関する研究

(1) HIV エンベロープの治療標的構造研究を基盤とする新規治療薬に関する研究

我々は、これまでに標的細胞受容体 CD4 の類似低分子化合物(CD4mc:新規 Env 標的薬)が、HIV エンベロープ蛋白(Env) gp120 の立体構造変化を誘起し、エピトープを露出させることで抗 HIV-1 抗体の中和活性を増強させることを見出している。そこで、本年度からは、この研究成果を発展させて、脆弱な状況の Env を誘導する「新規 Env 標的阻害剤(bifunctional 阻害剤)」の研究開発を進めている。

本年度は、238 化合物を設計・合成・評価するに至り、特に gp120-gp41 境界領域が結合部位と示唆されたトリテルペン誘導体は、抗 HIV 活性に加え、ブロードな中和抗体活性増強活性が示された。すなわち、我々がこれまでに研究してきた CD4mc とは、標的および機序が全く異なる、新たな「bifunctional 阻害剤」として強く期待される。他方、CD4 ミミックに関しても毒性を大幅に改善した誘導体の合成に成功するとともに、第三の「bifunctional 阻害剤」硫酸化フェニル誘導体の同定にも成功した。これら 3 つの標的化合物ライブラリーに加え、分子動力学計算および表面プラズモン共鳴解析の各詳細解析系が樹立できたことで、本研究を確実に進むことが期待できる。

[原田恵嘉、引地優太、横山 勝(病原体ゲノム解析研究センター)、前田賢次(国立国際医療研究センター)、野村 渉(東京医科歯科大学)、鳴海哲夫(静岡大学)、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 剤は、ほぼ逆転写酵素阻害剤、非逆転写酵素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、インテグラーゼ阻害剤の4つに分類される。一方 2008 年に認可された 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、昨年度に引き続き、我々の研究室で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、昨年度我々が、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、作製した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を用い、中和エピトープが知られている中和単クローン抗体に対し、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。これら中和抗体感受性の異なる感染性クローンウイルスパネルを用いて、多くの感染症例から得た血清中に含まれる中和抗体に対する感受性を詳細に調べた。その結果、単クローン抗体での結果と同様に、コントールウイルスではほとんどの患者血清抗体に対して、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た。将来的にはワクチン抗原の効果判定にこれらのウイルスパネルを活用していきたいと考えている。

[Samatchaya Boonchawalit、原田恵嘉、吉村和久]

(3) iPS 細胞技術を用いた HIV 特異的 T 細胞による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 細胞へ再分化した細胞は、高い増殖能を有する機能的 T 細胞であった。安全性・有効性の検証として必須である動物モデルでの評価系として、サルエイズモデルでの検討を行っている。これまでに、アカゲザル由来 T 細胞を用いての iPS 細胞作製、T 細胞への再分化に成功し、アカゲザルへの移植実験を実施、安全性の確認試験を実施しているところである。

[立川　愛、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)、俣野哲朗]

(4) HIV感染者や免疫不全患者で問題となるウイルス感染症に対する特異的 T 細胞を用いた免疫細胞療法の開発に関する研究

cART により HIV 感染症の予後は改善されているが、未だに AIDS 患者では日和見合併症の発症が問題であり、サイトメガロウイルス(CMV)感染症などのウイルス感染症もその原因の一部となっている。また、非エイズ指標疾患悪性腫瘍としてパピローマウイルス(HPV)を原因とする肛門癌の増加も懸念されており、新たな治療法の開発が急務である。一方、各種移植医療においても、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るが、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。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。また、個々の T 細胞応答の機能的側面についても解析を行っている。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を提供する。

[立川　愛、高橋　聡(東京大学医科学研究所)、森尾友宏(東京医科歯科大学)、川名　敬(日本大学)]

(5) 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(中分子)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。H28 年度は、これまで抗 HIV-1 活性を見出している CA 部分ペプチド fragment15 については、抗 HIV-1 活性発現に重要なアミノ酸残基の検討を行い、fragment19 については活性の最適化の検討を行った。CA 部分ペプチド fragment15 では fragment そのものが一番高い活性を示すことが判明した。一方、fragment19 ではC末端側にペプチドを数残基延ばすことによりその a-helix 性を増加させることによって細胞毒性を変化させないで抗 HIV-1 活性のみを向上させることに成功した。

[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]

(6) タンパク質導入系 LENA による安全な分化・脱分化誘導法の構築

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。今回、Oct3/4-LENA および Sox2-LENA を同時に細胞に曝露し、導入されたタンパク質の機能をレポーターアッセイにて確認したが、これらについては機能は確認されなかった。それぞれのタンパクに VP16 を付加した LENA を曝露した場合も同様の結果だった。レポータープラスミドが導入された細胞に 2 種類のタンパクが導入されないといけないため、効率が悪いことが予想された。そのため、Oct3/4-LENA 単独を曝露し、導入された Oct3/4 タンパクの機能確認をレポーターアッセイにて行うこととした。その結果、Oct3/4 の機能が確認されたが、VP16 を付加したタンパクでは機能が確認されなかった。これは、VP16を付加することによりLENA粒子の産生量が減少したことが予測された。今後、再現性を確認し、Oct3/4-LENA の曝露による、細胞の direct reprogramming 実験を行う予定である。

[武田　哲、駒野　淳(大阪府立公衆衛生研究所)]

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)との共同研究を推進している。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 300 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、Hau Thi Thu Trang, 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

西アフリカ地域における HIV ゲノムおよび宿主ゲノムの多様性解析を行う目的で、ガーナ共和国の野口記念医学研究所（Noguchi Memorial Institute for Medical Research)との共同研究を推進している。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、臨床情報を収集するとともに、HLA 遺伝子型およびガーナ流行 HIV 株ゲノム塩基配列の解析を推進中である。

[石川晃一、Nicholas Nii-Trebi、Mildred Amoa-Bosompem、Parbie Prince Kofi、松岡佐織、立川 愛、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長期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 507 例（平成 28 年 1 月~12 月）が収集された。同時点の補足率は 35%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 51 例(10.2%)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 32 例（6.4%)、プロテアーゼ阻害剤 16 例（3.2%)、非核酸系逆転写酵素阻害剤 6 例（1.2%）であった。個別の耐性変異を見ると AZT 耐性変異の T215X は 25 例（5.0%)、PI 耐性変異の M46I/L は 9 例（1.8%)、そして NNRTI 耐性変異の K103N は 3 例（0.6%）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。また過去 4 年 M184V が検出された症例（8 例）すべてにおいて、HBV 治療の 3TC やエンテカビルが先行して導入されていた。そのため HBV 治療が HIV の M184V 耐性変異獲得を促した可能性がある。

薬剤耐性検査の外部制度管理に関しては、これまで国内 12 施設が参加して実施されてきた。HIV 薬剤耐性検査の外部精度評価の今後の実施方法と実施施設での内部精度管理の実施状況を把握するために、本検査を実施する国内 12 施設を対象としてアンケート調査を実施した。アンケートの回収率は 67%（8/12）であり、その結果から今後の外部精度評価は 1 年に 1 回、評価サンプル数は 3-4 サンプル（血漿, 合成 RNA）で実施することとなった。また、内部精度管理は定期もしくは不定期に実施している施設が 4 施設、実施していない施設が 3 施設あった。

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。これらの結果をもとに、日本における HIV 感染クラスター解析アルゴリズム（SPHINCS）の開発に着手している。
[吉村和久、杉浦　亙、松岡佐織、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 HIV 感染者数の推定法に関する研究

HIV 感染症の拡大防止の施策に向けて、未診断者を含む HIV 感染者の動向把握は重要である。本研究では日本国内 HIV 動向把握のための先行研究として、東京都および大阪府の HIV 発生動向分析を試みた。2006-2015 年に公的機関で実施する無料匿名検査により HIV 陽性と診断された HIV 感染者血液を用いて BED assay（HIV-1 LAg-Avidity を含む）を実施した。各自治体における BED 陽性率、新規 HIV 報告数、新規報告数にしめる AIDS 患者の割合を基に統計学的手法を用いて解析し、HIV 感染後の期間と診断までの時間（以下、診断速度）に関する確率密度分布を推定した。さらに診断速度分布をエイズ発生動向調査報告数に外挿入し、拡張型逆算法（Extended Back-calculation Method）を用いて推定 HIV 年間発生数、累計 HIV 発生総数を算出した。診断速度の解析結果から早期診断率は地域によって異なることが示唆された。エイズ動向調査における新規報告数に占める AIDS 患者の割合、東京都で約 20%、大阪府で約 25%、東京都と大阪府を除くは 35%を超えることから、今回未調査の地域における早期診断率は大阪府より低くなることが予測される。日本全国の発生動向をより正確に把握するために地域別調査の推進が重要であると考えられる。
[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]

(3) 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-1 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 HIV-1 の感染が感染者の病態を早く進行させる可能性が示唆される。HIV-1 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-1 を遺伝的に特徴づける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、in vitro での実験系でウイルス学的な性質がどのように変化するのかを検討する。昨年度までに新型変異を有する分子クローンを作製し、導入した変異がウイルスの粒子形成、複製能力、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。今年度は Vif の K22N 変異でもある IN 変異が HIV 制御宿主因子の一つである APOBEC3G の分解能に与える影響について検討を行った。その結果、新型変異 HIV 感染者に特徴的な早い病期の進行は IN/Vif 変異による Vif 機能の干渉では説明できないことが明らかになった。
[藤野真之、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の主流である抗原抗体同時検出試薬は、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を用いた感染急性期の検出感度評価を受けているが、一方で「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。そこで、in-house リアルタイム RT-PCR 法を使って定量した 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抗原検出感度評価用パネルの作製法を確立し、診断薬の評価を行った。EIA を検出原理とする診断薬の評価では、HIV-1 株毎に検出感度にばらつきが見られる製品が存在したが、今年度上梓されたバージョンアップ品では対策がなされ、当該製品は年度内に販売が終了する予定であることを確認した。IC 法を原理とする 2 品目の比較では、昨年度販売が始まった製品の検出感度が優れていたが、EIA と比べ 1/10 以下の検出感度であった。さらに IC 法の診断薬の評価において、精製抗原を使った評価法と比べて検出感度が低く評価され、ウイルス溶解反応を行わない診断薬の評価には、本パネルの適用が有効であることがわかった。
[草川　茂、巽　正志]

(2) WB 法を原理とする確認検査用診断薬の性能評価

平成 21 年の HIV-2 感染例の周知に関する通知が出て以降、HIV-2 確認検査用 WB 試薬が使用されるようになり、HIV-1 との交差反応性があらためて問題になっている。そこで WB 法を原理とする確認検査用診断薬の性能評価を行い、検査への適用法、判定法について検討した。国内 HIV-1 陽性臨床検体を HIV-1 WB で測定したところ、3 本の Env のみを判定に使用する WHO 基準では 85/89 検体、加えて Gag p24 も使用する CDC 基準では 88/89 検体が陽性と判定された。同じ検体を HIV-2 WB で測定したところ、89 検体中 86 検体で Gag p26、47 検体で Pol p34 と p68 のいずれか、21 検体で Env gp105 のバンドが認められ、添付文書記載の判定方法で 12 検体が交差反応による HIV-2 陽性判定となり、HIV-1 WB の結果と併せ HIV 陽性鑑別保留となった。WHO が推奨する 3 つの Env のみを使用する方法では HIV-2 陽性と判定された検体はなかった。市販 Anti HIV-1/2 Combo Performance Panel の HIV-1 陽性検体を HIV-1 WB で測定したとき、CDC 基準では 11/13 検体、Env のみを使用する WHO 基準では 6/13 検体が HIV-1 陽性判定であった。しかし、6/13 検体の HIV-2 陽性検体で Env gp160 と Gag p24 の交差反応により CDC 基準で HIV-1 も陽性判定となり、HIV 陽性鑑別保留となった。HIV-1 WB では CDC 基準の方が WHO 基準より HIV 陽性を検出できる確率が高いが鑑別特異性には問題があること、また HIV-2 WB は、HIV-2 感染例を経験する可能性が低い我が国においては、専ら疑い例における HIV-2 鑑別試薬として用い、添付文書記載の Gag、Pol も使用する判定方法ではなく、WHO が推奨する方法で判定することが望ましいと思われた。

[草川 茂、吉村和久]

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 感染予防を目的とした液性免疫誘導に関する研究

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 感染拡大抑制を目的とした抗体誘導ワクチン開発を目指すこととした。HIV ワクチン研究で開発した Env 三量体抗原発現 SeV ベクターおよび Env 三量体抗原搭載 NVP の技術を HTLV-1 ワクチン開発に応用することとし、HTLV-1 Env 三量体抗原発現 SeV ベクターおよび HTLV-1 Env 三量体抗原搭載 NVP を構築した。これらのワクチンについて、マウス実験にて、抗体誘導能を確認した。

[中村 碧、石井 洋、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）、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 による HTLV-1 ゲノム除去方法の構築

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。先行研究の結果より、HTLV-1 ゲノム脱落クローンの作出には ZFN ペアの発現を一度に達成しなくてはならない。そのため、レンチウイルスベクターにより ZFN を同時に細胞へ導入する系と 2 つのレンチ・レトロウイルスベクターにより各 ZFN を別々に、かつ同時に導入する系を試験した。基本的な発現ユニットが期待するプロウイルス切除機能を有することを一過性の細胞への導入系によるレポーターアッセイにて確認した。その後、HTLV-1 陽性 ATL 由来細胞の TL-OmI および ED 細胞に ZFN を導入し、ベクターの持つ薬剤耐性マーカーを用いて細胞を薬剤選択した。ZFN による HTLV-1 陽性細胞への特異的反応を見るために、並行してウイルス陰性細胞の Jurkat を用いた。数回の実験の後、薬剤耐性を示すクローンが複数得られたが、現時点で HTLV-1 プロウイルスが除去された細胞を得ることは出来なかった。今後、導入効率を上げるべくベクターの再構築や導入方法の改善を行う予定である。

[武田 哲、駒野 淳（大阪府立公衆衛生研究所）]

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5年間の累積検査頭数は 140 頭。うち FV 陽性は 59 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。全ゲノム塩基配列を決定した SFVmfa/Cy5061 株に関する論文を発表した。また、同株の分子クローニングを試み、プロウイルスを2分割する形でクローンを得た。感染性の有無は今後の検討課題である。

[阪井弘治、網 康至（動物管理室）、須﨑百合子（動物管理室）、俣野哲朗]

品質管理に関する業務

I. 行政検査

1. 体外診断薬承認前試験

本年度は、HIV 検査試薬 1 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]

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一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。現行の HIV-1 陽性検体パネルは 80 検体、HIV-1 陰性検体パネルは新しく収集した検体と置換えた 70 検体に変更し提供している。本年度は 1 社からパネル譲渡の申請があり、2 セットの HIV-1 陽性検体パネルを譲渡した。さらに別の1社から、申請書作成のためのパネル使用について照会があり、対応している。残数は HIV-1 陽性検体パネルが 25 セット、HIV-1 陰性検体パネルが 29 セットとなった。

[吉村和久、草川　茂]

2. 日赤献血由来検体を用いた新たなパネル検体の整備

日本赤十字社より2013 年度から2015 年度に譲渡を受けた HIV-1 陽性検体が 89 検体となった。これらを新たなロットの HIV-1 陽性検体パネルとして登録するため、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とサブタイピングを行った。HIV-1 陽性検体の S/CO 値は 4.13 から 1013.47 まで、RNA コピー数が 8.6E+02cp/mL から 2.8E+06cp/mL まで広範囲に分布しており、HIV 診断薬の評価に有用であることがわかった。HIV-1 サブタイプの解析は、より詳細な系統関係が明らかにできるよう、*gag* MA から *pol* RT の 2/3 を含む約 2.6kb の領域の解析方法を検討し解析を進めた。これまでに塩基配列が得られた 72 検体の系統解析を行ったところ、各サブタイプの検体数はサブタイプ B:63、CRF01_AE:8、CRF08_BC:1 であった。サブタイプ B には東南アジアで特異的に見られる B'が 1 検体含まれていた。

[吉村和久、草川　茂、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）]

III. HIV 感染診断のための標準品整備

1. WHO 主催第 4 次 NAT 用 HIV-1 国際標準品制定協力への参加

2009 年に制定された第 3 次 NAT 用 HIV-1 国際標準品（10/152）の在庫が僅少になったため、2015 年の WHO Expert Committee on Biological Standardization（ECBS）において第 4 次 NAT 用 HIV-1 国際標準品制定が提案され、その測定に参加した。現行国際標準品、新規国際標準品候補品を含む 6 検体の HIV-1 RNA コピー数を in-house リアルタイム PCR 法にて測定し、結果を報告した。参加 10 カ国・地域の21機関から提出された結果が取りまとめられ、2017年のECBS において国際単位が取り決められることになった。

[草川　茂、立川　愛、俣野哲朗]

2. WHO 主催第 1 次 HIV p24 レファレンスパネル国際標準品制定協力への参加

近年、HIV スクリーニング検査試薬は、抗原・抗体同時検出の第 4 世代試薬が主流となっている。しかしながら、その HIV-1 抗原検出感度を検証するための国際標準品は 1 種類（サブタイプ B、90/636）しかない。そのため 2015 年の ECBS において、様々な HIV-1 サブタイプ/CRF/グループに対する抗原検出感度を保証するための国際標準品制定が提案され、その測定に参加した。現行 HIV-1 p24 抗原国際標準品を含む 28 検体を、EIA を検出原理とする HIV スクリーニング検査試薬「ジェンスクリーン HIV Ag-Ab ULT（バイオラッド）」を用いて測定し、結果を報告した。

[草川　茂、立川　愛、俣野哲朗]

3. WHO 主催第 2 次 NAT 用 HIV-2 国際標準品制定協力への参加

HIV-2 感染は HIV-1 のような国際的な流行となっていないことから、検査試薬として認証を受けた HIV-2 核酸増幅検査試薬は存在しないが、国内を含め流行地域である西アフリカ以外でも散発的に感染例が報告されている。それゆえ治療薬選択のための鑑別診断や血液行政において HIV-2 核酸増幅検査は重要であり、その検査法評価のための国際標準品が必要である。現行 NAT 用 HIV-2 国際標準品（08/150）は2009年のECBSにおいて制定され、在庫も充分であるが、そのコピー数が低すぎるため、定量試薬の評価に重要な検量線の直線性の検討に使えないことが指摘されてきた。そこで 2016 年の ECBS において、高いコピー数の新しい国際標準品との置換が提案され、その測定に参加した。SOP に沿って現行国際標準品、新規国際標準品候補品を含む 5 検体の HIV-2 RNA コピー数を in-house リアルタイム PCR 法にて測定し、結果を報告した。

[草川　茂、立川　愛、俣野哲朗]

国際協力関係業務

I. 平成 28 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 28 年 6 月 6 日-7 月 8 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3回を実施した。ボツワナ、ケニア、リベリア、ミャンマー、スリランカ、スワジランドの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、見学は昨年度と同じく計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、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）、野村拓志（熊本大学）、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 光（日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター）、山形律子（国際協力機構人間開発部）]

II. その他

1. 平成 28 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 29 年 2 月 28 日）[山本浩之]

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28年11月 2 日）[山本浩之]

2. 平成 28 年度 エイズ対策研修講義 国立保健医療科学院 （平成 28 年 7 月 18 日） [松岡佐織]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Yamamoto H, Matano T: Patterns of HIV/SIV prevention and control by passive antibody immunization. Front Microbiol 7: 1739, 2016.
2) Yamamoto H, Iseda S, Nakane T, Nomura T, Takahashi N, Seki S, Nakamura M, Ishii H, Matano T: Augmentation of anti-simian immunodeficiency virus activity in CD8+ cells by neutralizing but not nonneutralizing antibodies in the acute phase. AIDS 30: 2391-2394, 2016.
3) Tsukamoto T, Yamamoto H, Okada S, Matano T: Recursion-based depletion of human immunodeficiency virus-specific naïve CD4(+) T cells may facilitate persistent viral replication and chronic viraemia leading to acquired immunodeficiency syndrome. Med Hypotheses 94: 81-85, 2016.
4) Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T: Association of lymph-node antigens with lower Gag-specific central-memory and higher Env-specific effector-memory CD8+ T-cell frequencies in a macaque AIDS model. Sci Rep 6: 30153, 2016.
5) Iseda S, Takahashi N, Poplimont H, Nomura T, Seki S,

Nakane T, Nakamura M, Shi S, Ishii H, Furukawa S, Harada S, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Yamamoto H: Biphasic CD8+ T-cell defense in simian immunodeficiency virus control by acute-phase passive neutralizing antibody immunization. J Virol 90: 6276-6290, 2016.

6) Seki S, Matano T: Development of a Sendai virus vector-based AIDS vaccine inducing T cell responses. Expert Rev. Vaccines 15: 119-127, 2016.

7) Mitsuki YY, Yamamoto T, Mizukoshi F, Momota M, Terahara K, Yoshimura K, Harada S, Tsunetsugu-Yokota Y: A novel dual luciferase assay for the simultaneous monitoring of HIV infection and cell viability. J Virol Methods 231: 25-33, 2016.

8) Ohashi N, Harada S, Mizuguchi T, Irahara Y, Yamada, Y, Kotani M, Nomura W, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H: Small-molecule CD4 mimics containing mono-cyclohexyl moieties as HIV entry inhibitors. Chem Med Chem 11: 940-946, 2016.

9) Mizuguchi 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, 2016.

10) 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, 2016.

11) Tsunetsugu-Yokota Y, Kobayahi-Ishihara M, Wada Y, Terahara K, Takeyama H, Kawana-Tachikawa A, Tokunaga K, Yamagishi M, Martinez JP, Meyerhans A: Homeostatically Maintained Resting Naive $CD4_+$ T Cells Resist Latent HIV Reactivation. Front Microbiol 7: 1944, 2016.

12) Ishizaka A, Sato H, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Hosoya N, Koibuchi T, Nomoto A, Kawana-Tachikawa A, Mizutani T: Short intracellular HIV-1 transcripts as biomarkers of residual immune activation in patients on antiretroviral therapy. J Virol 90: 5665-5676, 2016.

13) Takeda S, Takizawa M, Miyauchi K, Urano E, Fujino M, Murakami T, 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.

14) Hikichi Y, Yokoyama M, Takemura T, Fujino M, Kumakura S, Maeda Y, Yamamoto N, Sato H, Matano T, Murakami T: Increased HIV-1 sensitivity to neutralizing antibodies by mutations in the Env V3-coding region for resistance to CXCR4 antagonists. J Gen Virol 97(9): 2427-2440, 2016.

15) Sakai K, Ami Y, Suzaki Y, Matano T: First complete genome sequence of a simian foamy virus isolate from a cynomolgus macaque. Genome Announc 4(6): e01332-16, 2016.

16) Nyombayire J, Anzala O, Gazzard B, Karita E, Bergin P, Hayes P, Kopycinski J, Omosa-Manyonyi G, Jackson A, Bizimana J, Farah B, Sayeed E, Parks CL, Inoue M, Hironaka T, Hara H, Shu T, Matano T, Dally L, Barin B, Park H, Gilmour J, Lombardo A, Excler J-L, Fast P, Laufer DS, Cox JH, the S001 Study Team: First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of an intranasally administered replication-competent Sendai virus-vectored HIV type 1 Gag vaccine: induction of potent T-cell or antibody responses in prime-boost regimens. J Infect Dis 215: 95-104, 2017.

17) Yoshimura K: Current status of HIV/AIDS in the ART era. J Infect Chemother 23: 12-16, 2017.

18) Miyazaki N, Sugiura W, Gatanaga H, Watanabe D, Yamamoto Y, Yokomaku Y, Yoshimura K, Matsushita S; Japanese HIV-MDR Study Group: High antiretroviral coverage and viral suppression prevalence in Japan: an excellent profile for downstream HIV care spectrum. Jpn J Infect Dis 70: 158-160, 2017.

19) Harada S, Yoshimura K: Driving HIV-1 into a Vulnerable Corner by Taking Advantage of Viral Adaptation and Evolution. Front Microbiol 8: 390, 2017.

20) Kamori D, Hasan Z, Ohashi J, Kawana-Tachikawa A, Gatanaga H, Oka S, Ueno T: Identification of two unique naturally occurring Vpr sequence polymorphisms associated with clinical parameters in HIV-1 chronic infection. J Med Virol 89: 123-129, 2017.

21) Mizuguchi T, Ohashi N, Matsumoto D, Hashimoto C, Nomura W, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: Development of anti-HIV peptides based on a viral

capsid protein. Biopolymers: Peptide Science 108:e22920, 2017.

22) Fujino M, Sato H, Okamura T, Uda A, Takeda S, Ahmed N, Shichino S, Shiino T, Saito Y, Watanabe S, Sugimoto C, Kuroda MJ, Ato M, Nagai Y, Izumo S, Matsushima K, Miyazawa M, Ansari AA, Villinger F, Mori K: Simian Immunodeficiency Virus Targeting of $CXCR3^+$ $CD4^+$ T Cells in Secondary Lymphoid Organs Is Associated with Robust CXCL10 Expression in Monocyte/Macrophage Subsets. J Virol 91: e00439-17, 2017.

23) Wang J, Zhang Y, Xu Q, Qiu J, Zheng H, Ye X, Xue Y, Yin Y, Zhang Z, Liu Y, Hao Y, Wei Q, Wang W, Mori K, Izumo S, Kubota R, Shao Y, Xing HQ: Menin mediates Tat-induced neuronal apoptosis in brain frontal cortex of SIV-infected macaques and in Tat-treated cells. Oncotarget 8:18082-18094, 2017.

24) Xing HQ, Zhang Y, Izumo K, Arishima S, Kubota R, Xu Q, Mori K, Izumo S: Decrease of aquaporin-4 and excitatory amino acid transporter-2 indicate astrocyte dysfunction for pathogenesis of cortical degeneration in HIV-associated neurocognitive disorders. Neuropathology. 37: 25-34, 2017.

2. 和文発表

1) 中村 碧, 俣野哲朗:エイズワクチン開発の近況. 臨床と研究(大道学館出版部)93(9): 1183-1186, 2016.

2) 野村拓志, 俣野哲朗:HIV 粘膜感染と宿主免疫. 実験医学(羊土社)34: 2162-2166, 2016.

3) 俣野哲朗:注目される最近の話題:抗 HIV 免疫増強による HIV 感染症の予防と治療. 化学療法の領域(医薬ジャーナル社)32(5): 1039-1045, 2016.

4) 松岡佐織:都道府県別 HIV 感染発生動向. 病原微生物検出情報 37: 169, 2016.

5) 吉村和久:中和抗体研究の現状. HIV 感染症と AIDS の治療 7: 71-75, 2016.

6) 藤野真之, 森 一泰:HIV によるマクロファージ感染と治癒を目指す治療研究, マクロファージのすべて. 医学のあゆみ 259: 548-554, 2016.

7) 吉村和久. 中和抗体研究の現状. HIV 感染症と AIDS の治療 7: 71-75, 2016.

8) 原田恵嘉, 吉村和久:HIV エンベロープの治療標的構造研究:新規治療法における侵入阻害剤と中和抗体の関係. 日本エイズ学会誌 19(1): 1-8, 2017.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Matano T: Virus-host immune interaction in a macaque AIDS model. University College Dublin, Jun 9, 2016, Dublin, Ireland.

2) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yokoyama M, Sato H, Matano T: Accumulation of MHC-I-associated viral genome mutations in multiple SIV transmissions. 15th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep 6-9, 2016, Awaji, Japan.

3) Matano T: Virus-host immune interaction in HIV infection. Ghana-Japan SATREPS Kick-off Meeting, Sep 27, 2016, Accra, Ghana.

4) Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T: Analysis of proviral genome sequences in multiple cell subsets in SIV-infected rhesus macaques. 34th Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 11-14, 2016, New Orleans, LA. USA.

5) Seki Y, Saito A, Sato Y, Harada S, Ode H, Ishii H, Yoshida T, Murata M, Kangawa H, Watanabe Y, Iwatani Y, Yoshimura K, Yasutomi Y, Miura T, Matano T, Akari H: Long-term Latency of HIV-1mt Infection in Cynomolgus Macaques is Reserved in Follicular Helper T Lymphocytes. 34th Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 11-14, 2016, New Orleans, LA. USA.

6) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Matano T: Multiple transmissions of SIV adapted to protective MHC alleles in rhesus macaques. 34th Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 11-14, 2016, New Orleans, LA. USA.

7) Yamamoto H, Matano T: Sustained B-cell responses correlate with neutralizing antibody induction in SIVmac239 infection. 34th Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 11-14, 2016, New Orleans, LA. USA.

8) Harada S, Seki Y, Yasutomi Y, Miura T, Matano T, Akari H, Yoshimura K: Comparison of plasma neutralizing antibodies in two macaque-tropic HIV-1 infected macaques that were different response by CD8 depletion. 34th Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Oct 11-14, 2016, New Orleans, LA. USA.

9) Nyombayire J, Anzala O, Gazzard B, Karita E, Bergin P, Hayes P, Kopycinski J, Omosa-Manyoni G, Jackson

A, Bizimana J, Farah B, Sayeed E, Parks C, Inoue M, Matano T, Gilmour J, Lombardo A, Fast P, Laufer D, Cox J, the S001 Study Team: Recombinant Sendai vaccine delivered mucosally induces Gag-specific functional T-cells or antibody responses in prime-boost regimens in humans. HIV Research for Prevention 2016 (HIVR4P 2016), Oct 17-21, 2016, Chicago, IL, USA.

10) Harada S, Irahara Y, Tamamura H, Matano T, Matsushita S, Yoshimura K: Design, synthesis, and sntiviral sctivity of novel bifunctional CD4-mimetic small molecules containing mono-cyclohexyl moieties, YIR-819 and YIR-821. HIV Research for Prevention 2016 (HIVR4P 2016), Oct 17-21, 2016, Chicago, IL, USA.

11) Matano T: Virus-host immune interaction in SIV infection. 17th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 31-Nov 2, 2016, Kumamoto, Japan.

12) Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T: Analysis of proviral genome sequences in lymph nodes in SIV-infected rhesus macaques. 17th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 31-Nov 2, 2016, Kumamoto, Japan.

13) Nii-Trebi N, Ishikawa K, Bonney EY, Matsuoka S, Takeda S, Ofori SB, Yoshimura K, Matano T, Ampofo W: Analysis of HLA genotypes in HIV-1-infected individuals in CRF02_AG subtype-prevailing Ghana. 17th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 31-Nov 2, 2016, Kumamoto, Japan.

14) Kuwata T, Sano M, Matsuoka S, Shimizu M, Miura T, Seki Y, Akari H, Matano T, Matsushita S: Induction of antibodies, which belonged to the same class as broadly neutralizing antibody B404, in macaques infected with SIVsmH635FC. 17th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 31-Nov 2, 2016, Kumamoto, Japan.

15) Harada S, Saito A, Seki Y, Yasutomi Y, Miura T, Matano T, Akari H, Yoshimura K: Detection of potency and breadth of anti-HIV-1 neutralizing antibodies in two macaque-tropic HIV-1 infected cynomolgus monkeys that were different response by CD8 depletion. 17th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 31-Nov 2, 2016, Kumamoto, Japan.

16) Nii-Trebi N, Ampofo WK, Ishikawa K, Bonney EY, Matsuoka S, Takeda S, Ofori SB, Yoshimura K, Matano T: Analysis of HLA genotypes in HIV-1-infected Ghanaians. African Society for Laboratory Medicine 2016 (ASLM 2016), Dec 3-8, 2016, Cape Town, South Africa.

17) Matsuoka S, Nii-Trebi N, Takeda S, Amoa-Bosompem MA, Ofori SB, Yoshimura K, Ampofo W, Ishikawa K Matano T: Molecular epidemiology of HIV-1 in Ghana. Korea-Japan Joint Seminar on HIV/AIDS, Jan 14, 2017, Seoul, South Korea.

18) Matano T: Virus-host interaction in HIV infection. SATREPS Scientific Symposium between Ghanaian and Japanese Researchers in Tokyo, Jan 25, 2017, Tokyo, Japan.

19) Harada S, Ogihara K, Hikichi Y, Matano T, Narumi T, Yoshimura K: Oleanolic acid derivative OKS3-019 as a novel bifunctional HIV-1 entry inhibitor. 24th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2017), Feb 13-16, 2017, Seattle, WA, USA.

2. 国内学会

1) 原田恵嘉, 荻原香澄, 俣野哲朗, 鳴海哲夫, 吉村和久:CD4 mimic と結合領域が異なる新規 bifunctional 抗 HIV 侵入阻害剤の開発. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会, 2016 年 5 月 13-15 日, 名古屋.

2) 石井 洋:SIV 感染アカゲザルモデルにおける逃避変異ウイルスの蓄積と CTL 応答への影響. 第 19 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2016), 2016 年 7 月 7-8 日, 京都.

3) 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 細胞移植後の体内動態. 第 19 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2016), 2016 年 7 月 7-8 日, 京都.

4) 原田恵嘉, 引地優太, 俣野哲朗, 吉村和久:作用部位の異なる Env 標的阻害剤ライブラリーの構築およびその最新知見. 第 18 回白馬シンポジウム, 2016 年 10 月 7-8 日, 北杜.

5) 引地優太, 原田恵嘉, 荻原香澄, 鳴海哲夫, 俣野哲朗, 吉村和久:新規トリテルペン系抗 HIV 侵入阻害剤による in vitro 耐性誘導. 第 18 回白馬シンポジウム, 2016 年 10 月 7-8 日, 北杜.

6) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Matano T: SIV can evolve to be less sensitive to potent $CD8^+$ T cells after multiple transmissions. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

7) Sano M, Kuwata T, Matsuoka S, Sekizuka T, Akari H,

Miura T, Matano T: Time course for induction of neutralizing antibodies (NAbs) cross-reactive to NAb-resistant SIVsmE543 in NAb-sensitive SIVsmH635FC infection. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

8) Nakamura M, Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H, Ishii H, Matano T: In vivo kinetics of HTLV tax-transgenic mice-derived ATL cells after inoculated into allogeneic mice. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

9) Akari H, Seki Y, Saito A, Satou Y, Harada S, Yoshimura K, Ode H, Iwatani Y, Yoshida T, Murata M, Watanabe Y, Yasutomi Y, Matano T, Miura T: R5-tropic HIV-1 infection leads to long-term latency in cynomolgus macaques. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

10) Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T: Proviral genome sequences in lymph nodes and bone marrows in SIV-infected rhesus macaques. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

11) Harada S, Ogihara K, Hikichi Y, Matano T, Narumi T, Yoshimura K: Development of novel bifunctional entry inhibitors that target non-CD4-binding site of HIV-1. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

12) 立川(川名)愛, 河合洋平, 金子 新:iPS 細胞技術を用いて作製した HIV 特異的細胞傷害性 T リンパ球の解析. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

13) Hikichi Y, Takeda E, Fujino M, Freed EO, Nakayama E, Murakami T: Characterization of Matrix Mutants that Show Post-entry Defects in the HIV-1 Replication Cycle. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 2016 年 10 月 23-25 日, 札幌.

14) 俣野哲朗:サルエイズモデルにおけるウイルス複製の長期制御メカニズム. シンポジウム 4 : HIV reservoir と cure. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

15) 石井 洋, 城森 萌, 関紗由里, 松岡佐織, 俣野哲朗:SIV 感染サルエイズモデルにおいて逃避変異に対して交差反応性を示す CTL 応答の解析. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

16) 松岡佐織, 長島真美, 森 治代, 貞升健志:日本国内の HIV 感染者数の推定理論に関する研究. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

17) Yamamoto H: Anti-SIV neutralizing antibodies: T-cell/B-cell synergism in induction and protection. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

18) 吉村和久:中和抗体の逆襲:攻撃は最大の防御となるか. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

19) 原田恵嘉, 野村 渉, 鳴海哲夫, 横山 勝, 前田賢次, 林 宏典, 荻原香澄, 石田有佑, 引地優太, 佐藤裕徳, 玉村啓和, 俣野哲朗, 吉村和久:網羅的 Env 標的阻害剤ライブラリーの構築-1. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

20) 引地優太, 原田恵嘉, 荻原香澄, 俣野哲朗, 鳴海哲夫, 吉村和久:新規トリテルペン系抗 HIV 侵入阻害剤の耐性機序解. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

21) 佐藤秀憲, 大田泰徳, 松原康朗, 菊地 正, 古賀道子, 鯉渕智彦, 俣野哲朗, 立川 愛, 安達英輔:HIV 感染者における胃炎と腸管遊走性 CD4 陽性 T 細胞の検討. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

22) 安達英輔, 佐藤秀憲, 松澤幸正, 菊地 正, 古賀道子, 立川 愛, 鯉渕智彦, 四柳 宏:HIV 感染者の脳脊髄液検査に関する後方視的研究. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

23) 豊田真子, Dorren Kamori, 立川(川名)愛, 潟永博之, 岡 慎一, 上野貴将:アクセサリータンパク質に対する免疫淘汰圧がウイルス複製に与える影響. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

24) 宮川 敬, 松山慎一郎, 村上 努, 梁 明秀:NanoBRET 法を用いた生細胞内 HIV-1 Gag の多量体化解析および結合宿主因子探索. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

25) 引地優太, 武田英里, 藤野真之, Eric O. Freed, 中山英美, 村上 努: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. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

26) 森 治代, 小島洋子, 川畑拓也, 中山英美, 塩田達雄, 藤野真之, 引地優太, 俣野哲朗, 村上 努, 渡邊 大,

松浦基夫, 宇野健司, 古西　満, 駒野　淳：変異 HIV-1 の急速な病期進行と関連する病原体と宿主因子に関する解析. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2016 年 11 月 24-26 日, 鹿児島.

27) 山本浩之：サル免疫不全ウイルス（SIV）中和抗体：*in vivo* 防御機序の解析と誘導の法則性. 東京大学医科学研究所若手シンポジウム, 2017 年 2 月 17 日, 東京.

28) 俣野哲朗：エイズワクチン国際共同臨床試験. 公益財団法人先端医療振興財団（TRI）, 2017 年 3 月 16 日, 神戸.

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、新興・再興感染症の発生に深く関与する易変異性RNAウイルスを研究対象とする。計算・情報・理論の技術を導入し、ウイルスゲノム配列情報から生体分子の立体構造・相互作用能・変化能の情報を抽出し、感染症の理解と制御に活用する新しい研究基盤を開発している。特に、(i) *in silico* 立体構造・分子間相互作用解析の研究基盤、(ii) 計算・情報・理論の技術を用いた分子多様性･進化の方向性の研究基盤、(iii) *in silico* 解析を軸とする分野横断的連携研究基盤の構築と活用に力を入れている。これにより、基盤的研究（ウイルスの感染・増殖、薬剤耐性、免疫逃避、病原性、流行、適応進化などを司る構造・相互作用基盤の解明）を進めながら、成果を感染症対策研究（創薬シーズ創出、抗原・抗体設計、変異ウイルスのリスク評価、リスク変異の予測など）の促進に活用している。平成２８年度は、(i) *in silico* 立体構造･分子間相互作用解析の精度向上、(iii) 連携基盤強化の２点を主目的として、特に分子動力学計算を取り入れた基盤的研究を感染研内外の研究グループと共同で推進した。

第三室は次世代シークエンサーを用いて病原体ゲノム情報の取得と情報解析に係る基盤整備を遂行している。病原体分離株の全ゲノム解析で病原性・薬剤耐性因子を同定するとともに、全ゲノム情報を基盤にしたゲノム分子疫学の基盤データベースの構築に取り組んでいる。また、各種病原体検査法で陰性であった感染症疑いの不明症例についてメタゲノム解析にて病原体検出を行っている。臨床検体に内在する全容を核酸配列として網羅的に検出するため、混合感染など総合的な病原体検査法として有効である。本年度は、大規模細菌ゲノム解析および完全長細菌ゲノム解析を行うための基盤作成および改良、ゲノムデータベース作成を中心に業務を展開した。バイオインフォマティクス解析を検査現場でも有効に執り行うことができるよう、ゲノムデータベース管理および次世代シークエンスデータ解析を同時に行えるシステムGenEpid-J (Genomics and Epidemiology in Japan)を構築し、これまで当センター第三室で作成した解析パイプラインとの連携を行った。これにより、新規薬剤耐性遺伝子の迅速検出が可能となった。また、コレラ菌、薬剤耐性菌、ブドウ球菌属細菌、脳膿瘍形成に関わる連鎖球菌等のゲノム・プラスミド比較解析、ゲノム分子疫学解析、時系列分子系統解析を遂行した。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の臨床検体から病態に関連する微生物因子の探索・解析を行った。また、既存培地による新規腸内細菌の分離、および、それら培地で増殖可能な細菌の網羅的解析も行い、細菌学・培地学・検査学を統合した研究の展開も開始した。

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) 感染時にHPV粒子に近接する細胞表面蛋白質の解析

HPVの細胞侵入機構を解明するため､HPV粒子に近接する細胞表面蛋白質を、HPVキャプシド抗体/POD標識二次

抗体を介してビオチン標識し、アビジンカラムで回収して同定することを試みた。質量分析による回収蛋白質の網羅解析に先行して、ウエスタンブロットによる解析を行った。HPV の細胞内侵入に関わると報告のある蛋白質のうち、EGFR が効果的にビオチン化されることがわかった。HPV は EGFR に近接する細胞表面領域から内部に侵入する可能性が示唆された。(石井克幸)

(2) HPV 感染初期過程における細胞内防御機構の解析

HeLa 細胞は HPV 粒子侵入時にオートファジーを誘導しこれを排除することが知られている。そこで HPV の宿主細胞の一つである HaCaT 細胞で同様の実験を行って、オートファジー誘導を検討した。その結果、HeLa 細胞とは異なり、HPV 粒子と LC3 の細胞内共局在や、ATG7 や PIK3C3 ノックダウンによる感染性の上昇は観測されなかった。(石井克幸)

(3) HPV 複製蛋白質 E1 の細胞内レベル制御機構の解明

これまでに細胞内 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 (TNKS1/2) の阻害剤 XAV939 の処理により、293 細胞で E1 レベルが上昇することを見出している。そこでその作用点を明らかにするために、XAV939 の標的蛋白質である TNKS1/2 もしくは PARP1 を siRNA ノックダウンして、E1 レベルに対する XAV939 の効果を検討した。その結果、TNKS1/2 ノックダウンでは XAV939 の効果に変化は認められなかった。一方、PARP1 のノックダウンにより、E1 レベル上昇効果が部分的に低下することが分かり、XAV939 の作用点として PARP1 が示唆された。PARP1 が細胞内 E1 レベルを負に制御している可能性が考えられる。(柊元　巌)

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。2012-2016 年の結果を集計したところ、CIN2(462 検体)では HPV16(32.0%)、HPV52(31.8%)、HPV58 (20.1%)、CIN3 (380 検体) では HPV16 (49.5%)、HPV52 (23.9%)、HPV58 (13.2%)、子宮頸癌 (扁平上皮癌) (168 検体) では HPV16 (61.3%)、HPV18 (11.9%)、HPV52 (8.9%) 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) HPV52/58 の全ゲノム配列解析

HPV52 と HPV58 は日本を含む東アジア地域で感染者が多い HPV 遺伝子型である。そこで日本人女性の子宮頸癌及び CIN 病変に検出される HPV52/58 の全ゲノム配列を決定し、その配列多様性を解析した。臨床検体から抽出した DNA から PCR にて HPV52 (52 検体) と HPV58 (48 検体) の全ゲノム領域を増幅し、Nextera XT kit (イルミナ) を用いてライブラリー化して、次世代シークエンサーによる配列解読を行った。その結果、HPV52/58 のバリアント分布は、HPV52 で lineage B (50/52 検体)、HPV58 で lineage A (47/48 検体)に著しく偏っていた。また HPV52/58 間で、異なるウイルス遺伝子産物内にアミノ酸残基の多様性が観察された。(天神林友梨、廣瀬佑輔、中村浩美、柊元　巌、岩田　卓[慶應大学病院]、佐藤豊実[筑波大学]、小貫麻美子[昭和大学]、松本光司[昭和大学])

3. HPV 感染による発癌機構の研究

(1) HPV による APOBEC3B 発現活性化に関する研究

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 が細胞転写因子 TEAD の発現を誘導することにより、A3B 遺伝子の発現を活性化することを見出している。今年度はその分子機構の詳細を調べ、TEAD が A3B 遺伝子プロモーターの MCAT motif 及び２ヶ所の MCAT 様配列に結合することにより、転写を活性化することがわかった。また、HPV16 だけでなく HPV18 感染細胞でも TEAD と A3B の発現上昇が認められたことから、E6 による TEAD を介した A3B 遺伝子発現誘導は、発癌性 HPV に共通する現象と考えられた。TEAD の高発現は種々の癌で認められ、癌細胞の浸潤等に関与することが報告されていることから、発癌における E6 の新たな機能として重要である。(森清一郎、柊元　巌)

(2) 子宮頸癌発癌リスクを予測するためのバイオマーカーの探索

子宮頸癌は、前駆病変である子宮頸部上皮内腫瘍(CIN)を経て発症する。CIN は、軽度 (CIN1)、中等度 (CIN2)、高度 (CIN3) 病変に分けられる。発癌性 HPV に感染しても CIN3 に至るのは約 30 人に 1 人であり、多くは宿主の免役応答によって自然退縮する。CIN の段階で発癌リスクを予測できれば、低リスク患者の不要な治療を減らし、高リスク患者の早期治療が可能となる。そこで A3B と

TEAD の発現レベルと病態進行の関連を調べる目的で、約 50 症例の CIN1/2 病変について A3B と TEAD mRNA の発現を定量的 RT-PCR で調べた。A3B と TEAD の発現レベルに相関があり、症例間でこれらの発現レベルに差が認められた。今後さらに症例数を増やし、CIN 病変での A3B/TEAD の発現レベルが発癌のバイオマーカーと成り得るか調べる。(森　清一郎、柊元　巌、田口　歩[都立駒込病院]、川名　敬[日本大学])

(3) 次世代シークエンサーを用いた HPV ゲノムの多様性解析

患者体内での HPV 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 130 検体を収集し、DNA 抽出、HPV ジェノタイピングの後、HPV16/52/58 陽性の検体から long PCR にて全長 HPV ゲノムを増幅した。得られた PCR 産物を Nextera XT kit を用いてライブラリー化し、次世代シークエンサーによる配列解析を行った。その結果、0.5%以上の頻度で多様性を示すゲノム配列部位が多数見出された。その大部分が C to T または G to A 置換変異であったことから、APOBEC3 蛋白質の関与が示唆された。(廣瀬佑輔、天神林友梨、中村浩美、柊元　巌、佐藤豊実[筑波大学]、小貫麻美子[昭和大学]、松本光司[昭和大学])

(4) 次世代シークエンサーを用いた HPV 組込み部位の解析

日本人の子宮頸癌及び CIN 病変での HPV 組込み部位を、次世代シークエンサーを用いて網羅的に同定する解析系の確立を試みた。ハイブリダイゼーションにて HPV と細胞 DNA の融合 DNA をキャプチャーするため、29 種類の遺伝子型の HPV 配列を含むビオチン化 HPV DNA ライブラリーのデザイン・合成を行った。さらに培養細胞及び子宮頸癌の臨床検体を用いて、キャプチャーと配列解読の予備検討を実施した。(天神林友梨、廣瀬佑輔、柊元　巌、佐藤豊実[筑波大学]、小貫麻美子[昭和大学]、松本光司[昭和大学])

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った。マウス由来の抗 HPV 交叉性中和モノクローナル抗体をもとに作製したマウス/ヒトキメラ抗体の８つの発癌性 HPV に対する中和活性は、もとのマウス抗体に比べ 10～60 倍上昇していた。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。接種後 1 年以上にわたって血清中にキメラ抗体が検出され、HPV16/18/58 に対する感染防御が認められた。今後、キメラ抗体で中和活性が上昇した原因を明らかにし、より有効な HPV 中和抗体発現ベクターの開発を目指す。(森　清一郎、小谷　治)

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。本年度は、細胞質 DNA 認識経路上の TMEM173(STING)遺伝子とその下流の TBK1 遺伝子を標的とした。gRNA と Cas9 蛋白質の複合体をエレクトロポレーションにより導入した iPS 細胞をクローニングしたところ、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それぞれ 3 クローン中 1 クローン、7 クローン中 1 クローン得られた。後者は標的配列内に SNP が存在したため効率が落ちたと考えられた。またそれぞれ 1 箇所、3 箇所のオフターゲット候補を調べたが変異は認められなかった。(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* 構造解析の応用研究

1.　ウイルスの複製機構研究：エンテロウイルス蛋白質の分子間相互作用解析

ウイルスカプシド蛋白質の分子間相互作用は、ウイルスの粒子形成・脱殻制御に重要な役割を果たすと考えられる。しかし、その実態は十分に理解されていない。本研究では、*in silico* 技術を用いて、EV-A71 粒子の構造安定化を司る分子間相互作用の種類と位置を包括的に予測した。既報の EV-A71 粒子構造 (A-particle、Empty Capsid、Procapsid、Mature) を初期構造として、ウイルス複製過程の様々な粒子構造の分子モデルを構築した。

これらを比較し、ウイルス感染初期と後期で維持される疎水性相互作用を 9 箇所同定した。*In silico* 変異導入解析により、これらの相互作用はカプシド蛋白質多量体の構造安定性の制御因子であることが示唆された。情報エントロピー解析により、これらの相互作用を司るアミノ酸残基は、株間で高度に保存されていることがわかった。ウイルスの存続のために変化できない疎水性相互作用と考えられる。今後、リバースジェネティクス技術を用いた変異導入解析を行い、個々の相互作用の生化学的、生物学的意義を実験で検証する。成果はウイルスの複製機構の理解と抗ウイルス物質設計に資する。(小谷治、横山勝、西村順裕［ウイルス第二部]、永田典代[感染病理部]、清水博之[ウイルス第二部]、佐藤裕徳)

2. ウイルスの複製・免疫逃避・病原性発現機構研究：エンテロウイルス蛋白質の動的性質解析

EV-A71 カプシド表面蛋白質 VP1 は、ウイルスの性質(感染・増殖能、抗体感受性、神経病原性）を司る分子の 1 つとして知られている。小池ら、および清水らの研究グループは、特に、145 番目の変異（E145G）がウイルスの多彩な性質変化と深くかかわることを独立に見出した。しかし、性質変化の分子メカニズムは不明である。本研究では、*in silico* 技術を用いて、E145G 変異が VP1 の動的構造特性に及ぼす影響を調べた。145 番目のアミノ酸残基は、カプシド分子表面に位置する。しかし、E145G 変異は、カプシド単量体（VP1-VP2-VP3-VP4 複合体）の構造安定性低下を招くことが *in silico* 変異導入解析によりわかった。145 番目のアミノ酸残基は、カプシド蛋白質の溶液中での”breathing”を司る機能を持つ可能性がある。今後は、分子動力学解析を用いて、E145G 変異に伴う VP1 分子の揺らぎの特性変化を調べ、ウイルスの性質変化に責任を持つ構造特性変化を明らかにする。成果はウイルスの複製・免疫逃避・病原性発現・適応進化機構の理解と抗ウイルス物質設計に資する。(小谷治、横山勝、藤井健［東京都医学総合研究所]、小池智［東京都医学総合研究所]、清水博之[ウイルス第二部]、佐藤裕徳)

3. 抗HIV化合物の作用機構研究

HIVは、宿主の細胞内膜輸送系を利用して細胞膜から出芽する。この過程は、Gag p6蛋白質と膜輸送系分子Tsg101の相互作用が起点となる。間らは、p6に結合し、p6とTsg101との相互作用を阻害する抗HIV化合物（HSM-9および-10）を同定した。本研究では、*in silico*技術を用いて、これらの化合物の作用機序を解析した。結合シミュレーションにより、HSM-9および-10は、 p6のPTAPモチーフ（Tsg101結合部位）またはその近傍のポケットのアミノ酸残基側鎖と水素結合を形成することが予測された。競合阻害機構が推察される。今後、分子動力学シミュレーションを行い、結合部位と結合様式を精査する。成果は抗ウイルス物質の改変に資する。(小谷治、横山勝、Loela Siarot[理化学研究所]、佐藤洋隆[理化学研究所]、Nopporn Chutiwitoonchai［理化学研究所]、間陽子[理化学研究所]、佐藤裕徳)

4. ウイルスの抗体中和逃避機構研究：HIV-1 Env 三量体における制限された構造ゆらぎ

HIV-1 Env の中和抵抗性となる分子メカニズムの理解は、抗ウイルス薬による中和感受性の制御を可能にする。本研究では、HIV-1 Env の中和感受性を制御するための基盤情報として、HIV-1 Env 三量体の動的性質を調べた。HIV-1 Env 三量体の構造ゆらぎは、gp120 の V4 が最も大きく、gp120 の V1/V2 および V3 は小さかった。これは gp120 単量体では V1/V2 および V3 の構造ゆらぎが大きいことと異なる。ゆえに、Env 三量体では V1/V2 および V3 の構造ゆらぎが制限されていると考えられる。次に、HIV-1 Env 三量体内の相関運動部位を調べると、Env 三量体において V1/V2 が他の V1/V2 により運動が制限され、同一 gp120 内の V1/V2 により V3 の運動が制限されることが示唆された。この相関運動により、V3 を標的とする中和抗体が存在しても、Env 三量体の中心に向かって配置する V3 が露出することは無いため、HIV-1 Env 三量体は中和抗体から逃避できると考えられる。(横山勝、奥田萌[お茶大]、中村浩美、小谷治、由良敬[お茶大]、佐藤裕徳)

5. 構造ベースの抗原抗体設計研究：ノロウイルスカプシドにおける構造ゆらぎと相関運動

RNA ウイルスは易変異性で、中和抗体から容易に逃避する。効果的なワクチン開発には標的とする蛋白質構造に基づく抗原抗体デザインが必要である。本研究では、構造ベースのワクチン開発のための基盤情報を得ることを目的として、ノロウイルスカプシドの構造ゆらぎおよび相関運動する部位の解析を行った。GI.1 カプシドと GII.3 U201 カプシドのどちらにも Shell ドメインに大きくゆらぐループがあった。それらは隣接する他のカプシドとの境界領域に位置し、P ドメインに隠されず露出している。次に、カプシド 20 量体内の相関運動を調べた。同一 Protomer 内および隣接する 2 量体を形成する Protomer 間では Shell ドメイン間または P ドメイン間の

それぞれで相関運動が見られた。(横山勝、奥田萌[お茶大]、中村浩美、小谷治、由良敬[お茶大]、佐藤裕徳)

6. ウイルスの適応進化機構研究：HIV-1 の異種細胞適応における Env gp120 の特性変化の構造基盤の解明

HIV-1 Env gp120 の V1/V2 ループおよび V3 ループは、感染受容体である CD4 やケモカインレセプターの認識に重要な役割をしている。しかし、その構造基盤は明らかでない。本研究では、異種細胞適応における Env gp120 の特性変化の構造基盤を明らかにするために、CD4 結合前および結合後の全長 gp120 の分子モデルを構築した。分子動力学計算により CD4 結合前の gp120 では、V1/V2 ループが V3 ループの近傍に配置されることが明らかになった。CD4 結合後では、CD4 との結合をサポートするために V1/V2 ループの配置が大きく変わる。異種細胞適応において見出された適応変異は、V1/V2 ループおよび V3 ループに位置する。それらの位置を構造上に示すと、適応変異は CD4 やケモカインレセプターとの結合に影響を与えると考えらえる。(横山勝、野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[徳島大]、佐藤裕徳)

7. 抗 HIV 化合物の作用機構研究:融合阻害剤耐性 HIV-1 変異体における中和抗体感受性の増強

HIV-1 は、抗ウイルス薬に対する耐性を容易に獲得する。抗体と融合阻害剤との組み合わせの有用性を評価するために、融合阻害剤に耐性である HIV-1 変異体における中和抗体の感受性の変化を調べると、Env gp41 の I37K 変異により中和抗体感受性が増強した。そのメカニズムを明らかにするために、HIV-1 JR-FL gp41 三量体の分子動力学計算を行った。I37K 変異を有する gp41 において、構造ゆらぎが顕著に増加した。特に、gp41 の N 末端部分の残基番号 20～65 の構造ゆらぎは、I37K 変異を有する gp41 三量体の全てのプロトマーにおいて増加した。この領域は、Env 三量体の gp41 と gp120 の結合界面である。この結果から、I37K 変異が、Env 三量体中の gp41 と gp120 との間の界面において顕著に構造ゆらぎの増加を誘導し、中和抗体感受性が増強したと考えられる。(横山勝、桑田岳夫[熊本大]、松下修三[熊本大]、佐藤裕徳)

8. リスク評価の基盤研究：蛋白質構造情報を用いたインフルエンザウイルス・ヘマグルチニンの受容体指向性解析

鳥インフルエンザウイルスのヒト型受容体指向性を増強するアミノ酸変異の情報は、インフルエンザウイルスのリスク評価の指標となる。本研究では、インフルエンザウイルスのヘマグルチニンと宿主のシアロ糖鎖の相互作用をコンピュータ解析することで、ヒト型受容体指向性を増強するアミノ酸変異を調べた。H5N1 亜型ではヘマグルチニンの M230 が F、W、または Y に変異すると、また、H7N9 亜型では A138、V186、L226 が揃うとヒト型受容体への親和性が増加することが明らかになった。季節型インフルエンザウイルスである H3N2 亜型においても同様の解析を行うと、A138、F159、N225 が揃うとヒト型受容体への親和性がより増加した。これらの変異を有するウイルスはヒトにより適応していると考えられる。(奥田萌[お茶大]、由良敬[お茶大]、佐藤裕徳、横山勝)

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炭疽菌、ペスト菌、野兎病菌、類鼻疽菌のゲノム情報解析を行ってきた。また、近年薬剤耐性化が問題となっているサルモネラ (Sa)および結核菌(TB)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 および Total Genotyping Solution for TB: TGS-TB を構築してきた。これまで構築してきた超高速ゲノム解読システムは、ショートリードを取得する次世代シークエンサーを使用しており、細菌の完全長ゲノム配列を取得するには時間を要する。完全長ゲノム配列を取得する目的は、腸内細菌科細菌の薬剤耐性遺伝子保有プラスミドの伝達様式を明確にする際に重要となる。本年度は、ロングリードを取得する次世代シークエンサーPacBio での迅速な解読から解析までをシームレスに行うためのシステムを構築した。特に、簡便な長鎖 DNA 抽出方法、高速なライブラリー作成法、および解読後に完全長配列を得るためのパイプラインの基盤を作成した。

(関塚剛史、山下明史、加藤健吾、橋野正紀[AMED リサーチレジデント]、伊藤環[AMED リサーチレジデント]、黒田誠、松井真理[細菌第二部]、鈴木里和[細菌第二部])

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

1. GenEpid-J (Genomics and Epidemiology in Japan)データベースの構築

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 1,800 株、約 4700 プラスミド配列を決定し、データベースを作成した。2015 年に明らかとなったコリスチン耐性に関与する新規因子 MCR-1 遺伝子保有腸内細菌科細菌が国内でも分離されていたため、それら分離株の完全長ゲノム配列を決定し、*mcr-1* 保有プラスミドの比較解析を行った。その結果、国内で広がるそれら遺伝子は、IncI1 プラスミドに存在し、中国で最初に発見された *mcr-1* 保有 IncI1 プラスミドと高い相同性を示した。現在、これらプラスミドに存在する、接合伝達に関与する高度組換え領域 shufflon の定量的構造多様性の解析を行っている。

(関塚剛史、山下明史、谷津弘仁、加藤健吾、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])

2. 結核菌全ゲノム薬剤耐性マーカー検出と感受性予測の構築

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))を昨年度構築した。薬剤耐性予測の公開ツールも組み込んでいるが、既知のデータベースとの照合を行うのみであり、偽陽性および偽陰性と判定される分離菌株が検出された。そのため、薬剤耐性予測データベースの改良と特異度・感度の高い薬剤感受性予測ツールの開発が急務となっている。本年度は、薬剤耐性に関わる遺伝子の変異箇所を効率良く探索するためのプログラムを新たに開発中である。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠、村瀬良朗[公益財団法人結核予防会結核研究所]、瀧井猛将[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]）

3. 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。これまで、AMiGA は GenEpid-J のみに組み込まれていたが、GenEpid-J のユーザー以外にも使用できるよう、ブラウザ経由で次世代シークエンスデータを解析することが可能な公開版 AMiGA を作成した。

(関塚剛史、谷津弘仁、山下明史、黒田誠)

4. 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

前年度から、ブラウザ経由で次世代シークエンスデータを用いた網羅的なプラスミド解析ツールを開発している。本システム（Global Plasmidome Analyzing Tool: GPAT）は、次世代シークエンスデータからの配列アセンブリ、薬剤耐性遺伝子の検索、薬剤耐性遺伝子保有プラスミドをトレースする際に重要な手掛かりとなる不和合性タイピングを円滑に行うことが可能である。また、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。本年度は GPAT を前述の GenEpid-J から使用できるようにするとともに、前年度に GPAT/iPAT システムからスピンアウトした公開版 open iPAT に、公開データベースから近縁のプラスミドを検索し inc type,保有薬剤耐性遺伝子、および NCBI 上のオリジナルデータへのリンクを表示する機能を追加した。また対象とするプラスミドの pan genome 解析、core genome 解析を行う機能を追加した。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

5. 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３例の院内感染事例由来分離株の比較ゲノム解析を行った。これら解析の大部分は、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。特に、これまで国内でほとんど確認がされな

かった薬剤耐性遺伝子保有の同一 Inc 型プラスミドが検出された。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。各症例のゲノム情報を蓄積し、比較を行うことで、時系列とプラスミドに生じる塩基置換数の関係性を見出す基盤が作成できると期待される。

(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])

6. 環境中に存在する薬剤耐性腸内細菌科細菌に関する研究

薬剤耐性菌の研究では、ヒト、動物、食材から分離されたものを扱うことが多い。国外では、環境中の薬剤耐性菌汚染が深刻化しており、国内での実態を把握することが急務となっている。本年度は、国外の河川および下水より分離された ESBL およびカルバペネム耐性大腸菌の大規模プラスミド解析を行った。その結果、異なるプラスミド間での組換えや融合等、多様な変異がプラスミドの進化を促進し、同様の遺伝的背景を有するプラスミドが国外の一部の範囲で広がっていることを示唆していた。本研究で行った解析手法を基盤とし、国内における薬剤耐性菌の汚染実態を把握する必要がある。

(関塚剛史、山下明史、黒田誠、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])

VII. 未知・難培養細菌分離培養のための基礎的研究

腸内細菌叢と健康･疾患との関連が示唆されているが、具体的にどの細菌種がどのようなメカニズムで関与しているかは未解明な部分が多く、また、未分離の未知細菌が多く存在する。そこで、既存培地による新規腸内細菌の分離が可能かを検討した。また、既存培地で増殖する細菌の網羅的解析も行った。28 種類の既存培地に健常人の糞便を塗抹し、嫌気培養を行い、16S rRNA 遺伝子メタゲノム解析を行った。コロンビア CNA5%羊寒天培地、Listeria 寒天培地を含む５種類の培地から数種類の新種腸内細菌が増殖していることが示唆され、３種類の新規腸内細菌が実際に単離できた。また、既知選択培地に於いても、実際に報告されている菌種以外の細菌が嫌気条件下で増殖することがメタゲノム解析の結果明らかとなり､細菌検査学の基礎的情報にもなりうると期待できる。

（伊藤環[AMED リサーチレジデント]、関塚剛史、黒田誠）

VIII. 各種病原細菌のゲノム解析

1. コレラ菌の大規模ゲノム分子系統解析および時系列分子系統解析

インドのコルカタ地方で 2007 年から 2014 年に分離された 80 株のコレラ菌のゲノムデータ、および、次世代シークエンスデータが公開されているものを含めた、合計 243 株のデータを用いて、大規模ゲノム分子系統解析を行った。その結果、本地域で広がるコレラ菌は、２つの系統群に大きく分かれることが明らかとなった。さらに、BEAST2 (Bayesian evolutionary analysis by sampling trees 2)を用いた時系列分子系統解析により、本地域でのコレラ菌の系統群の拡散の状態を年月で推測することが可能となった。本地域で蔓延する系統群が、2010 年を境にシフトし、これら系統群の祖先型は、共に 2006 年には出現していたことが示唆された。時系列および空間的分子系統解析は、感染症拡大の動向を把握する上で重要な基盤となるため、本センターでは時系列系統解析を主体とした解析パイプラインの構築を進める予定である。

(関塚剛史、黒田誠、森田昌知[細菌第一部]、大西真[細菌第一部]、今村大輔[岡山大学 インド感染症共同研究センター]、水野環[岡山大学 インド感染症共同研究センター]、竹村太地郎[長崎大学 熱帯医学研究所]、山城哲[長崎大学 熱帯医学研究所]、三好伸一[岡山大学 医歯薬学総合研究科]、篠田純男[岡山大学 インド感染症共同研究センター])

2. 脳膿瘍から分離された *Streptococcus intermedius* の病原性機構の解明

痙攣で外来受診し、脳膿瘍と診断された小児患者の脳膿ドレナージより、新規に *Streptococcus intermedius* が分離された。全ゲノム解読の結果、本菌の病原性に関与すると示唆される、phenol-soluble modulin β1 (PSMβ1)、７型分泌装置(T7SS)および 19 個の細胞壁結合タンパク質(CWAPs)関連遺伝子が認められた。C57BL/6 マウスを用いた本菌の感染実験では、脳接種による脳膿瘍形成は認められないものの、皮下接種による明瞭な皮下膿瘍が検出された。マウス皮下膿瘍、および、Brain Heart Infusion 培地による *in vitro* 培養の RNAseq 解析により、皮下膿瘍中で明瞭な転写変動が認められた本菌株の遺伝子が確認された。また、トランスポゾン挿入変異株ライブラリーをマウスに皮下接種し、膿瘍形成に貢献する遺伝子群も探索した。これら解析により、PSMβ1、T7SS および CWAPs が膿瘍形成に関与することが強く示唆された。

(長谷川紀子[東邦大学 理学部]、関塚剛史、杉由高、川上展弘[市立豊中病院小児科]、小笠原由美子、加藤健吾、山下明史、竹内史比古、黒田誠)

3. 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、固有の遺伝的背景と腸内細菌叢が密接に関連して発症する事が示唆されている。三種の抗菌剤（アモキシシリン／テトラサイクリン若しくはホスホマイシン／メトロニダゾール）を二週間投薬するだけで、その疾患が１年以上緩解する治療例が報告されている。UC患者より臨床分離された *Fusobacterium varium* Fv113-g1株の全ゲノム塩基配列決定後の詳細な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、特に、Type V secretion system (T5SS)および*Fusobacterium* adhesion FadAパラログが多数検出された。また、本菌株のみに特徴的なFilamentous hemagglutininが検出された。

（関塚剛史、黒田　誠）

4. 単純性尿路感染症の起因菌 *Staphylococcus saprophyticus* の比較ゲノム解析

単純性尿路感染症の起因菌として知られる腐生ブドウ球菌 *Staphylococcus saprophyticus* は、臨床学的に重要なコアグラーゼ陰性ブドウ球菌であるが、大規模なゲノム分子疫学解析および比較ゲノム解析が行われた例はない。2003 年に国内で分離されたヒト臨床検体および動物由来の 117 分離株とデータベースに公開されている 6 株を含む計 123 株の比較ゲノム解析を行った。コアゲノム分子系統解析およびパンゲノム解析の結果、本菌種は 2 系統群に大別され、各系統内で特徴的なアクセサリー遺伝子を保有していた。また、これらアクセサリー遺伝子の多くが、50-kb 程度のゲノムアイランドに含まれていた。本菌の外来性遺伝子群の獲得と種内系統の分岐が強く相関していることが示唆された。

（加藤健吾、関塚剛史、東出正人[株式会社江東微生物研究所]、山下明史、黒田誠）

IX. 各種病原ウイルスのゲノム解析

1. 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

昨年度より、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）を構築している。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。本年度はVirusTAPに関するポスター発表を第5回生命医薬情報連合大会（IIBMP2016）にて行い、ポスター賞を受賞した。また、前述の GenEpid-J から連携して解析を行えるように改良した。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

2. 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

昨年度より、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) を開発してきた。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の推定を行うことが可能である。本年度は、GenEpid-J から連携して解析を行うための基盤作成を行った。

（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

X. 原因不明症例における病原体網羅的検査法の施行

原因病原体不明の感染症患者サンプルに対して、次世代シークエンサー（NGS）を用いた網羅的ゲノム解読により原因病原体の探索および医療現場への還元による原因診断法の確立を実施した。研究開発分担者である公立昭和病院小児科の大場邦弘医師の協力により、H28 年度は 31 患者（90 検体）に対して NGS による原因病原体探索を実施した。何らかの病原微生物の関与が疑われたが通常診療では同定できなかった感染症疑い症例について、NGS 検査にて 36％の症例から病原微生物を検出することができた。NGS 検査は検体中の遺伝子を網羅的に解析するため、重複感染の病原体候補が検出されることがあり、病態への関与を判断することは遺伝子情報のみでは困難である。今後、免疫学的に応答したかを検査できる特異的 IgM 抗体測定を併用することで、より因果関係が明確になるものと考えられた。

現段階の暫定的 NGS 検査法 SOP を公開した（https://gph.niid.go.jp/gs_app/ngs_sop_draft_ver1.pdf ）。

他、壊死性筋膜炎等の原因不明患者の外部依頼検査を６件担当し主治医へ情報提供した（結果については守秘

義務があるため未公開)。
(関塚剛史、橋野正紀、大場邦弘[公立昭和病院]、黒田誠)

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの国家検定

HPV ワクチン(2 価ワクチンおよび 4 価ワクチン)の検定を製剤担当室として担当した。検定試験項目の内、VLP 力価試験を試験担当室として実施した。また HPV ワクチンの製造・試験記録等要約書(summary lot protocol)の審査を実施した。(石井克幸、竹内隆正、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。メーカーから試験品の提供を受けて、試験方法の妥当性について検討を行い、最終報告書を取りまとめて提出した。また新規 9 価 HPV ワクチンの生物学製剤基準の制定に携わった。(石井克幸、柊元 巖、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。2016 年 11 月 15 日から 17 日に中国 Xiamen にて開催された、The Second WHO Workshop on Implementation of Recommendations to Assure the Quality, Safety and Efficacy of Recombinant Human Papilloma Virus-like Particle Vaccines に出席して、アジア各国からのワクチン規制当局の代表者、製造販売業者および WHO から派遣された HPV 専門家と、HPV ワクチンの品質管理とロットリリースについて討議を行った。また JICA ワクチン NRA 研修において、HPV ワクチンの品質管理について講義を担当した。(柊元 巖)

発 表 業 績 一 覧

I. I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Y. Torii, T. Fujii, I. Kukimoto, M. Saito, T. Iwata, H. Takahashi, R. Ichikawa, S. Kawai, S. Otani, and D. Aoki. Comparison of methods using paraffin-embedded tissues and exfoliated cervical cells to evaluate human papillomavirus genotype attribution. ***Cancer Science***, 107:1520-1526 (2016)

2) S. Mori, T. Takeuchi, Y. Ishii, T. Yugawa, T. Kiyono, H. Nishina, and I. Kukimoto. Human Papillomavirus 16 E6 Upregulates APOBEC3B via the TEAD Transcription Factor. ***Journal of Virology***, 91:e02413-16 (2017)

3) Miyatake H, Sanjoh A, Murakami T, Murakami H, Matsuda G, Hagiwara K, Yokoyama M, Sato H, Miyamoto Y, Dohmae N, Aida Y. Molecular mechanism of HIV-1 Vpr for binding to importin-α. ***J. Mol. Biol.***, 428:2744-57, 2016.

4) Hikichi Y, Yokoyama M, Takemura T, Fujino M, Kumakura S, Maeda Y, Yamamoto N, Sato H, Matano T, Murakami T. Increased HIV-1 Sensitivity to Neutralizing Antibodies by Mutations in The Env V3-Coding Region for Resistance to CXCR4 Antagonists. ***J. Gen. Virol.***, 97:2427-40, 2016.

5) Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Miki M, Yen DH, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Functional receptor molecules CD300lf and CD300ld enable murine norovirus to internalize into host cells. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA***., 113:E6248-55, 2016.

6) Kotani O, Suzuki T, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Nakajima N, Sato H, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Intracerebral inoculation of mouse-passaged Saffold virus type 3 affects cerebellar development in neonatal mice. ***J. Virol.***, 90:10007–21, 2016.

7) Alam M, Kuwata T, Shimura K, Yokoyama M, Ramirez Valdez KP, Tanaka K, Maruta Y, Oishi S, Fujii N, Sato H, Matsuoka M, Matsushita S. Enhanced antibody‐mediated neutralization of HIV‐1 variants that are resistant to fusion inhibitors. ***Retrovirology***, 13:70, 2016.

8) Sakuragi S, Yokoyama M, Shioda T, Sato H, Sakuragi J. SL1 revisited: functional analysis of the structure and conformation of HIV‐1 genome RNA. ***Retrovirology***, 13:79, 2016.

9) Takahata T, Takeda E, Tobiume M, Tokunaga K, Yokoyama M, Huang YL, Hasegawa A, Shioda T, Sato H, Kannagi M, Masuda T. Critical Contribution of Tyr15 in the HIV-1 Integrase (IN) to Facilitate the IN Assembly and Non-enzymatic Function Through the IN Precursor Form with Reverse Transcriptase. ***J. Virol.***, 91:e02003-16, 2017.

10) Sato H, Yokoyama M, Nakamura H, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Tanaka T, Motomura K.

Evolutionary constraints on the norovirus pandemic variant GII.4_2006b over the five-year persistence in Japan. ***Front. Microbiol.,*** 8:410, 2017.

11) Tsutsui R, Tsukagoshi H, Nagasawa K, Takahashi M, Matsushima Y, Ryo A, Kuroda M, Takami H, Kimura H. Genetic analyses of the fusion protein genes in human parainfluenza virus types 1 and 3 among patients with acute respiratory infections in Eastern Japan from 2011 to 2015. J Med Microbiol. 2017 Feb;66(2):160-168.
12) Hamada H, Sekizuka T, Oba K, Katano H, Kinumaki A, Terai M, Mizutani T, Kuroda M. Comprehensive pathogen detection associated with four recurrent episodes of Kawasaki disease in a patient during a single year using next-generation sequencing. JMM Case Rep. 2016 Feb 1;3(1):e005019.
13) Imamura D, Morita M, Sekizuka T, Mizuno T, Takemura T, Yamashiro T, Chowdhury G, Pazhani GP, Mukhopadhyay AK, Ramamurthy T, Miyoshi SI, Kuroda M, Shinoda S, Ohnishi M. Comparative genome analysis of VSP-II and SNPs reveals heterogenic variation in contemporary strains of Vibrio cholerae O1 isolated from cholera patients in Kolkata, India. PLoS Negl Trop Dis. 2017 Feb 13;11(2):e0005386.
14) Segawa T, Matsui M, Suzuki M, Tsutsui A, Kuroda M, Shibayama K, Suzuki S. Utilizing the Carba NP test as an indicator of expression level of carbapenemase genes in Enterobacteriaceae. J Microbiol Methods. 2017 Feb;133:35-39.
15) Kurai D, Sasaki Y, Saraya T, Ishii H, Tsukagoshi H, Kozawa K, Ryo A, Ishioka T, Kuroda M, Oishi K, Takizawa H, Kimura H. Pathogen profiles and molecular epidemiology of respiratory viruses in Japanese inpatients with community-acquired pneumonia. Respir Investig. 2016 Jul;54(4):255-63.
16) Sakamoto K, Sekizuka T, Uehara T, Hishima T, Mine S, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Next-generation sequencing of miRNAs in clinical samples of Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas. Cancer Med. 2017 Mar;6(3):605-618.
17) Hasegawa N, Sekizuka T, Sugi Y, Kawakami N, Ogasawara Y, Kato K, Yamashita A, Takeuchi F, Kuroda M. Characterization of the Pathogenicity of Streptococcus intermedius TYG1620 Isolated from a Human Brain Abscess Based on the Complete Genome Sequence with Transcriptome Analysis and Transposon Mutagenesis in a Murine Subcutaneous Abscess Model. Infect Immun. 2017 Jan 26;85(2). pii:e00886-16.
18) Kawanishi M, Abo H, Ozawa M, Uchiyama M, Shirakawa T, Suzuki S, Shima A, Yamashita A, Sekizuka T, Kato K, Kuroda M, Koike R, Kijima M. Prevalence of Colistin Resistance Gene mcr-1 and Absence of mcr-2 in Escherichia coli Isolated from Healthy Food-Producing Animals in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Dec 27;61(1). pii: e02057-16.
19) Takahashi K, Sekizuka T, Fukumoto H, Nakamichi K, Suzuki T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Deep-Sequence Identification and Role in Virus Replication of a JC Virus Quasispecies in Patients with Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. J Virol. 2016 Dec 16;91(1). pii: e01335-16.
20) Hoshina S, Sekizuka T, Kataoka M, Hasegawa H, Hamada H, Kuroda M, Katano H. Profile of Exosomal and Intracellular microRNA in Gamma-Herpesvirus-Infected Lymphoma Cell Lines. PLoS One. 2016 Sep 9;11(9):e0162574.
21) Osawa M, Mine S, Ota S, Kato K, Sekizuka T, Kuroda M, Kataoka M, Fukumoto H, Sato Y, Kanno T, Hasegawa H, Ueda K, Fukayama M, Maeda T, Kanoh S, Kawana A, Fujikura Y, Katano H. Establishing and characterizing a new primary effusion lymphoma cell line harboring Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. Infect Agent Cancer. 2016 Aug 17;11:37.
22) Yamashita A, Sakamoto T, Sekizuka T, Kato K, Takasaki T, Kuroda M. DGV: Dengue Genographic Viewer. Front Microbiol. 2016 Jun 7;7:875.
23) Nakayama E, Kotaki A, Tajima S, Kawada M, Miura K, Gemma A, Adachi T, Sekizuka T, Kato K, Yamashita A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Shibasaki K, Saijo M, Kuroda M, Takasaki T. Two different dengue virus strains in the Japanese epidemics of 2014. Virus Genes. 2016 Oct;52(5):722-6.
24) Kimura H, Nagasawa K, Tsukagoshi H, Matsushima Y, Fujita K, Yoshida LM, Tanaka R, Ishii H, Shimojo N, Kuroda M, Ryo A. Molecular evolution of the fusion protein gene in human respiratory syncytial virus subgroup A. Infect Genet Evol. 2016 Sep;43:398-406.
25) Shimizu H, Arai K, Abe J, Nakabayashi K, Yoshioka T, Hosoi K, Kuroda M. Repeated fecal microbiota transplantation in a child with ulcerative colitis. Pediatr Int. 2016 Aug;58(8):781-5.

26) 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 Traveler Returning to Japan from India. Emerg Infect Dis. 2016 Jun;22(6):1079-82.

27) Kobayashi M, Matsushima Y, Motoya T, Sakon N, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Nishimura K, Yamashita Y, Kuroda M, Saruki N, Ryo A, Saraya T, Morita Y, Shirabe K, Ishikawa M, Takahashi T, Shinomiya H, Okabe N, Nagasawa K, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H. Molecular evolution of the capsid gene in human norovirus genogroup II. Sci Rep. 2016 Jul 7;6:29400.

28) Fukumoto H, Hishima T, Hasegawa H, Saeki H, Kuroda M, Katano H. Evaluation of Vero-cell-derived simian endogenous retrovirus infection in humans by detection of viral genome in clinicopathological samples and commercialized vaccines and by serology of Japanese general population. Vaccine. 2016 May 23;34(24):2700-6.

29) Maruyama C, Niikura H, Izumikawa M, Hashimoto J, Shin-Ya K, Komatsu M, Ikeda H, Kuroda M, Sekizuka T, Ishikawa J, Hamano Y. tRNA-Dependent Aminoacylation of an Amino Sugar Intermediate in the Biosynthesis of a Streptothricin-Related Antibiotic. Appl Environ Microbiol. 2016 May 31;82(12):3640-8.

30) Akiba M, Sekizuka T, Yamashita A, Kuroda M, Fujii Y, Murata M, Lee K, Joshua DI, Balakrishna K, Bairy I, Subramanian K, Krishnan P, Munuswamy N, Sinha RK, Iwata T, Kusumoto M, Guruge KS. Distribution and Relationships of Antimicrobial Resistance Determinants among Extended-Spectrum-Cephalosporin-Resistant or Carbapenem-Resistant Escherichia coli Isolates from Rivers and Sewage Treatment Plants in India. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Apr 22;60(5):2972-80.

31) Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M. VirusTAP: Viral Genome-Targeted Assembly Pipeline. Front Microbiol. 2016 Feb 2;7:32.

32) Kobayashi M, Matsushima Y, Motoya T, Sakon N, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Nishimura K, Yamashita Y, Kuroda M, Saruki N, Ryo A, Saraya T, Morita Y, Shirabe K, Ishikawa M, Takahashi T, Shinomiya H, Okabe N, Nagasawa K, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H. Molecular evolution of the capsid gene in human norovirus genogroup II. Sci Rep. 2016 Jul 7;6:29400.

33) 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.

34) Devault AM, Mortimer TD, Kitchen A, Kiesewetter H, Enk JM, Golding GB, Southon J, Kuch M, Duggan AT, Aylward W, Gardner SN, Allen JE, King AM, Wright G, Kuroda M, Kato K, Briggs DE, Fornaciari G, Holmes EC, Poinar HN, Pepperell CS. A molecular portrait of maternal sepsis from Byzantine Troy Elife. 2017 Jan 10;6: e20983.

2. 和文発表

1) 森　清一郎、 HPV による発癌機構：変異原としてのHPV、医学のあゆみ、2016, 258, 139-143（2016 年 7 月）

2) 佐藤裕徳. 計算・情報科学の利活用による論理的創薬の基盤開発. IASR. HIV/AIDS 特集 2016.37(9):10(176)-11(177).

3) 黒田誠 「公衆衛生および感染症診断に貢献する微生物ゲノム研究の変貌」医学検査のあゆみ **2016 年 7 月号（第 62 巻 7 号）**

4) 黒田誠 「ヒト病原体ゲノム解析、最近の動向」生体の科学　2017 年 04 月号（通常号）（ Vol.68 No.2）

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Y. Masuda, Y. Saeki, S. Yanaka, H. Kawai, I. Kukimoto, K. Kato, K. Tanaka, and C. Masutani. Mechanism of multiple lysine 48-linked ubiquitin chain synthesis by E6AP. FASEB Science Research Conference, UBIQUITIN & CELLULAR REGULATION（2016 年 6 月、 モンタナ）

2) K. Kawana, A. Taguchi, K. Adachi, D. Maeda, S. Mori, I. Kukimoto, T. Iwata, and A. Mitsuhashi. Detection of HPV L1 gene expression in cervical exfoliated cells from CIN patients by RT-PCR using consensus primers. 31st International Papillomavirus Conference（2017 年 2 月、ケープタウン）

3) Kotani O, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H, Sato H, Nagata N. Saffold virus in vivo passages drive the structural evolution of the

capsid protein for enhancing replication fitness in neural cells. The 19th International Picornavirus Meeting; EUROPIC 2016. （2016 年 9 月、スイス・レ・ディアブルレ）

4) Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Agoh M, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Shimizu H, Hasegawa H. Virulence of recent coxsackievirus B2 isolates in a neonatal mouse model. The 19th International Picornavirus Meeting; EUROPIC 2016. （2016 年 9 月、スイス・レ・ディアブルレ）

5) Fujii K, Sudaka Y, Imura A, Takashino A, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike S. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in SCARB2-dependent infection. The 19th International Picornavirus Meeting; EUROPIC 2016. （2016 年 9 月、スイス・レ・ディアブルレ）

6) Yokoyama M, Okuda M, Nakamura H, Kotani O, Yura K, Sato H. Structural Fluctuations and Correlated Motions in Norovirus Capsid Oligomer. The 6th International Calicivirus Conference, （2016 年 10 月、アメリカ・サバンナ）

7) Tsuyoshi Sekizuka, Tsuyoshi Kenri, Akihiko Yamamoto, Masaaki Iwaki, Takako Komiya, Takashi Hatakeyama, Hiroshi Nakajima, Motohide Takahashi, Keigo Shibayama and Makoto Kuroda, Genomic epidemiology of *Clostridium botulinum* isolates from Japanese Botulism Cases. 9th Meeting on Global Microbial Identifier (GMI) (2016 年 5 月 イタリア・ローマ)

8) Kengo Kato, Tsuyoshi Sekizuka, Masato Higashide, Akifumi Yamashita, Yuba Inamine, Makoto Kuroda. Comparative genome analysis of Staphylococcal Cassette Chromosome (SCC) elements among Staphylococcus saprophyticus, causative agent of uncomplicated urinary tract infections. 17th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections (ISSSI) (2016 年 8 月 韓国・ソウル)

9) Akifumi Yamashita, Tetsuya Sakamoto, Tsuyoshi Sekizuka, Kengo Kato, Tomohiko Takasaki and Makoto Kuroda, Visualizing genotype distribution of dengue virus. The 11th China-Japan International Conference of Virology (2016 年 7 月 香川県・観音寺市)

10) Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Akifumi Yamashita, Mari Matsui, Keigo Shibayama and Satowa Suzuki, GenEpid-J: an integrated database of pathogen genomics and epidemiology focused on plasmids involving in the antimicrobial resistance. Plasmid Biology 2016 (2016 年 イギリス・ケンブリッジ)

11) Toshiyuki Yamaji, Tsuyoshi Sekizuka, Kinnosuke Yahiro, Yuriko Tachida, Chisato Sakuma, Makoto Kuroda and Kentaro Hanada, Application of genome editing technologies for studies on sphingolipid and glycan metabolisms. EMBO Workshop “Glycosylation in the Golgi complex” (2016 年 10 月 イタリア・ヴィーコ・エクエンセ)

12) Akifumi Yamashita, Tsuyoshi Sekizuka, Kengo Kato, Tomohiko Takasaki and Makoto Kuroda, DGV: Dengue Genographic Viewer. Joint International Tropical Medicine Meeting 2016 JITMM2016 (2016 年 12 月 タイ・バンコク)

13) Madoka Kuramitsu, Tsuyoshi Sekizuka, Chieko Matsumoto, Rieko Sobata, Yasuko Sagara, Makoto Kuroda, Masahiro Satake, Kazuo Itabashi, Kazu Okuma and Isao Hamaguchi, Genomic feature of HTLV-1 in Western blot indeterminate. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses (2017 年 3 月 東京都・千代田区)

2. 国内学会

1) S. Mori, T. Kiyono, H. Nishina, and I. Kukimoto. Activation of human APOBEC3B promoter by HPV16 E6 through TEAD transcription factors. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会（2016 年 10 月、札幌）

2) S. Mori, H. Nishina, and I. Kukimoto. TEAD-dependent, YAP/TAZ-independent activation of human APOBEC3B promoter by HPV16 E6. 第 75 回日本癌学会学術総会（2016 年 10 月、横浜）

3) T. Fujii, I. Kukimoto, T. Iwata, and D. Aoki. Estimation of HPV genotype attribution using cervical exfoliated cells for monitoring the efficacy of HPV vaccines. 第 75 回日本癌学会学術総会（2016 年 10 月、横浜）

4) 柊元 巖、 HPV 発癌における APOBEC3B の役割、第 25 回昭和大学学士会シンポジウム（2016 年 7 月、東京）

5) Lowela Siarot, 佐藤洋隆, Nopporn Chutiwitoonchai, 小谷治、横山勝、佐藤裕徳、本田香織、近藤恭光、長田裕之、間陽子. ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1) Gag と宿主因子TSG101との相互作用を標的とする新規HIV薬の開発。 第159回日本獣医学会学術集会（2016年9月、神奈川）

6) Chutiwitoonchai N, Kakisaka M, Mano T, Sato H, Kotani O, Yokoyama M, Sato H, Aida Y. Molecular mechanism of inhibition by a new compound DP2392-E10 against influenza virus replication. 第 159 回日本獣医学会学術集会（2016 年 9 月、神奈川）
7) 小谷治、横山勝、西村順裕、永田典代、清水博之、佐藤裕徳. Prediction of enterovirus A 71 functional region for the viral encapsidation. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会（2016 年 10 月、札幌市）
8) Fujii K, Sudaka Y, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike S. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in cynomolgus monkey 第 64 回日本ウイルス学会学術集会（2016 年 10 月、札幌市）
9) 横山勝、奥田萌、中村浩美、小谷治、由良敬、佐藤裕徳. Structural Fluctuations and Correlated Motions in Norovirus Capsid. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会（2016 年 10 月、札幌市）
10) 横山勝. HIV envelope の構造と動的性質. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会, シンポジウム「HIV envelope を標的とした感染防御」（2016 年 11 月、鹿児島市）
11) 原田恵嘉、野村渉、鳴海哲夫、横山勝、前田賢次、林宏典、荻原香澄、石田有佑、引地優太、佐藤裕徳、玉村啓和、俣野哲朗、吉村和久. 網羅的 Env 標的阻害剤ライブラリーの構築-1. 第 30 回日本エイズ学会学術集会・総会（2016 年 11 月、鹿児島市）
12) 横山勝、奥田萌、中村浩美、小谷治、由良敬、佐藤裕徳. HIV-1 Env 三量体における制限された構造ゆらぎ. 第 39 回日本分子生物学会年会(2016 年 12 月、横浜)
13) 奥田萌、横山勝、佐藤裕徳、由良敬. タンパク質構造情報を用いたインフルエンザウイルス・ヘマグルチニンの受容体指向性解析. 第 6 回日本生物物理学会関東支部会（2017 年 3 月、東京）
14) 見理剛、関塚剛史、鈴木仁人、堀野敦子、森茂太郎、藤井寛之、橋本徹、中嶋 洋、大屋日登美、黒田誠、柴山恵吾。P1 遺伝子 2b、2c 型の M. pneumoniae 株で見つかった細胞接着関連遺伝子 orf6 の変化。日本マイコプラズマ学会 第 43 回学術集会 (長崎市, 2016 年 6 月)
15) 山下明史、柴山恵吾、黒田誠、プラスミドネットワーク解析ツール iPAT。第 64 回日本化学療法学会総会（神戸市、2016 年 6 月）
16) 岩田剛敏、関塚剛史、黒田誠、楠本正博、木下優太、丹羽秀和、片山芳也、秋庭正人。馬パラチフス菌の宿主特異性に関する考察。第 159 回日本獣医学会 (藤沢市, 2016 年 9 月)
17) 李 謙一、石原朋子、伊豫田淳、泉谷秀昌、小椋義俊、林哲也、関塚剛史、黒田誠、大西真、EHEC working group。腸管出血性大腸菌サーベイランスにおける全ゲノム配列解析の有用性評価。第 159 回日本獣医学会 (藤沢市, 2016 年 9 月)
18) 山地俊之、関塚剛史、八尋錦之助、鈴木佑典、櫛泰典、黒田誠、花田賢太郎。ゲノム編集技術を用いたスフィンゴ脂質・糖鎖の代謝研究。第 35 回日本糖質学会年会 (高知市, 2016 年 9 月)
19) Akifumi Yamashita, Tsuyoshi Sekizuka, and Makoto Kuroda. Virus genome-targeted assembly pipeline: VirusTAP. 第 5 回生命医薬情報学連合大会(江東区、2016 年 9 月）
20) Kenta Takahashi, Tsuyoshi Sekizuka, Hitomi Fukumoto, Kazuo Nakamichi, Tadaki Suzuki, Yuko Sato, Hideki Hasegawa, Makoto Kuroda, Harutaka Katano. Deep-sequence identification and role in virus replication of a JCV quasispecies in PML patients. 第 106 回日本病理学会総会 (新宿区, 2017 年 4 月)
21) 高橋健太, 関塚剛史, 福本瞳, 中道一生, 鈴木忠樹, 佐藤由子, 長谷川秀樹, 黒田誠, 片野晴隆。次世代シークエンサーが明らかにした JC ウイルスのゲノム変異と PML の病態。第 58 回日本神経病理学会総会学術研究会 (千代田区, 2017 年 6)
22) 黒田誠、長谷川紀子、関塚剛史、杉由高、加藤健吾、山下明史。Characterization of the pathogenicity of *Streptococcus intermedius*. 第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
23) 伊藤環、関塚剛史、山下明史、加藤健吾、黒田誠。既存培地を用いた健常者由来新規腸内細菌の探索および分離。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
24) 瀧井猛将、御手洗聡、岩本朋忠、慶長直人、吉田志緒美、土方美奈子、高木明子、関航平、若林靖貴、近松絹代、青野昭男、五十嵐ゆり子、村瀬良朗、加藤健吾、関塚剛史、山下明史、黒田誠、加藤誠也。アジアの結核菌のゲノムデータベース”GReAT”の構築。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
25) 関塚剛史、川西路子、島綾香、加藤健吾、山下明史、松井真理、鈴木里和、黒田誠。IncI2 プラスミドに存

在する高度組換え領域 shufflon の定量的構造多様性の解明。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)

26) 秋庭正人、岩田強敏、関塚剛史、黒田誠、楠本正博、木下優太、丹羽秀和、片山芳也。馬パラチフス菌の表現型と偽遺伝子の関連。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
27) 橋野正紀、加藤健吾、伊藤環、松井真理、鈴木里和、山下明史、関塚剛史、黒田誠。PacBio library 作製における迅速かつ簡便な細菌長鎖 DNA 断片調整法の検討。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
28) 坂野弘嗣、木村幸司、田中洋輔、関塚剛史、黒田誠、金万春、山田景子、和知野純一、柴山恵吾、荒川宜親。小さいコロニーを形成し低溶血性の PRGBS の解析。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
29) 山下明史、岩本朋忠、関塚剛史、村瀬良朗、瀧井猛将、御手洗聡、加藤誠也、黒田誠。Prediction tool for drug-resistant genetic marker based on whole genome sequence of TB. 第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 年 3 月)
30) 李謙一、木全恵子、綿引正則、関塚剛史、石原朋子、伊豫田淳、黒田誠、大西真、EHEC Working Group。腸管出血性大腸菌 O111 における全ゲノム配列を用いた分子疫学解析。第 89 回日本細菌学会 (仙台市, 2017 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対策への支援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（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)）で発足した。

人事異動では、平成 28 年 4 月 1 日付けで齊藤慎二が任期付研究員に採用された。また、浅沼秀樹室長・白倉雅之・高橋仁主任研究官・有田知子研究員の併任が解除となった。平成 28 年 10 月 1 日付で鈴木康司が研究員として採用された。

研究開発業務としては、ノイラミニダーゼ阻害薬に対する耐性株のサーベイランス体制に加えて、新たに認可されたポリメラーゼ阻害剤に対する耐性株サーベイランスも可能となる体制構築に着手し、本剤の感受性試験系を完成させた。ワクチン製造用に採用できる国内分離株の安定供給をめざして、当センターが確立した細胞培養ワクチン種株分離用細胞（NIID-MDCK 細胞）による分離、その後に発育鶏卵で馴化させたウイルスを恒常的に供給できる体制を構築した。一方、ウイルス感染診断系の改良を行い、RT-LAMP 法を用いた複数の呼吸器感染症ウイルスの同時検出系の構築およびイムノクロマト法による A(H7N9)迅速診断キットの開発を行った。

ワクチンに関する研究としては、ワクチン接種後のヒト血清を流行株の抗原性解析へ応用し、2009 年以来抗原変異していなかった A(H1N1)pdm09 流行株が、最近ではドリフトしていることを捉え、WHO および国内で採用された本亜型ワクチン株の変更に貢献した。

平成 27 年度から導入された 4 価のインフルエンザ HA ワクチンの B 型 2 系統のワクチン力価を正確に測定するため、モノクローナル抗体による測定系の開発を行った。さらに、平成 30 年度に導入が予定されている弱毒生ワクチンの力価測定系の開発にも着手し、承認後の国家検定を支援する準備を進めた。

一方、細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けて、NIID-MDCK 細胞で分離したワクチン種ウイルスの品質試験として迷入ウイルス否定試験系を完成させた。さらに、他の呼吸器感染症ウイルスがワクチン種ウイルスに共存した場合に備えて、NIID-MDCK 細胞の混在ウイルスの浄化能を評価した。また、高増殖性の細胞培養ワクチン種ウイルスを供給できるように、高増殖性母体ウイルスの開発を完了した。一方、次世代のインフルエンザワクチンとして開発を進めている経鼻粘膜ワクチンの評価系となる粘膜抗体測定法の樹立を進めた。

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 28 年度のワクチン株の選定を行った。また、各地衛研におけるサーベイランス検査の精度を再確認し、高い精度を維持するため、本年度から国の事業となった PCR 検査の外部精度管理を全国地衛研に実施し、評価成績に応じて個別に技術改善への助言を行った。これと並行して、全国地衛研におけるウイルス分離・培養の精度の改善に向けた実態調査を実施した。また、将来的に RT-PCR による薬剤耐性株検出検査の精度管理試験を全国規模で実施することを計画している。このため、事前準備として、11 か所のレファレンス地衛

研を対象に精度管理試験を実施した。

最近の A(H3N2)ウイルスの性状変化により、従来の手法（赤血球凝集抑制試験）では抗原性解析が困難になっている。この問題を解決するために、中和試験法を新たに導入し、その精度をさらに改善するため、感染細胞巣減数試験法を構築した。また、この系を機械化し、効率的なサーベイランス業務の運用体制を確立した。

新型インフルエンザ対策の一環として、動物由来（鳥およびブタ）インフルエンザウイルスの監視、分離株の収集を進め、ウイルス系統保存バンクの強化を図った。

国際協力関係では、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を行った。それらの解析情報は南北半球向けの WHO ワクチン株推奨会議で議論され、WHO ワクチン推奨株の選定に貢献した。また、WHO の各種技術系検討会議、ワクチン品質管理関連会議、政策会議にそれぞれ参画し、WHO インフルエンザ協力センターとしての役割を果たした。

諸外国への技術支援活動としては、ネパールのインフルエンザセンターから担当者を当センターに招聘して、サーベイランス技術全般の研修を実施した。また、ベトナム、モンゴルに職員をそれぞれ派遣して、現地における感染診断検査やサーベイランスに関する技術指導を行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから 7 年が経過し、研究業務およびセンター通常業務は円滑に実施されている。現在、パンデミックポテンシャルの高い A(H7N9)ウイルスの流行が中国で続いていることから、国のパンデミック対策の中核機関として緊急危機対応に迅速に対処できるように、基礎研究、ワクチン開発等の研究活動をさらに推進し、また、センター機能を適切に維持するため、引き続き適正な人材の確保、若手研究者の育成に力を入れていきたい。

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. 日本国内で検出されたインフルエンザ A(H1N1)pdm09 二重耐性変異ウイルスの性状解析

2016 年 3 月に広島県で薬剤耐性変異を二重に有し抗インフルエンザ薬に強い耐性を示すインフルエンザ A(H1N1)pdm09 ウイルスが検出された。このウイルスは免疫抑制状態の患者にペラミビルを単独あるいはオセルタミビルとの併用で連日投与した後に検出され、NA 蛋白質に、H275Y 耐性変異に加えて G147R 耐性変異をもっていた。H275Y/G147R 二重耐性変異ウイルスはオセルタミビルとペラミビルに強い耐性を示し、ザナミビルに対する感受性も低下していた。免疫抑制患者では薬剤の選択圧による耐性ウイルス出現のリスクが高いことが知られており、検出された H275Y/G147R 二重耐性変異ウイルスは、薬剤の投与によって患者の体内で選択的に生き残った可能性が考えられる。［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、島津幸枝*、下村壮司**、小川理恵、三浦秀佳、菅原裕美、佐藤　彩、秋元未来、渡邉真治、小田切孝人：*広島県立総合技術研究所保健環境センター、**広島西医療センター］

2. 新規抗インフルエンザ薬ファビピラビル投与前後の患者から検出されたインフルエンザウイルスの薬剤感受性に関する研究

新規抗インフルエンザ薬ファビピラビルについて、耐性ウイルスの検出系を構築した。この系では、インフルエンザウイルスによる細胞変性効果（Cytopathic effects; CPE）をもとにウイルスの増殖能を測定し、50% Effective Concentration (EC50)値を指標として、ファビピラビル耐性ウイルスを検出する。構築した検出系を用いて、ファビピラビル投与前後の患者から検出された 57 組の A(H1N1)pdm09、A(H3N2)および B 型ウイルスについて薬剤感受性を調べた。その結果、4 組のウイルスでファビピラビル投与後に PB1、PB2 あるいは PA 蛋白質にアミノ酸変異が検出されたが、ファビピラビルの感受性の低下は認められなかった。［高下恵美、江島美穂、小川理恵、藤崎誠一郎、Gabriele Neumann*、古田要介**、河岡義裕***、田代眞人、小田切孝人：*University of Wisconsin-Madison、**富山化学工業、***東京大学医科学研究所］

3. ネパールで大流行を起こした A(H1N1)pdm09 ウイルスの遺伝学的特徴

2015 年 4、5 月期にネパールで大流行を起こした A(H1N1) pdm09 ウイルスの遺伝学的性状の詳細について解析を行った。これらネパール株の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が、HA 蛋白質および NA 蛋白質に特徴的な変異が認められた。世界各地の 2009 年以降の各年代の分離株遺伝子データとの時系列比較解析の結果から、2015/16 シーズンに世界的に大規模流行を引き起こした新規の遺伝学的サブクレード一群（サブクレード 6B.1）の祖先ウイルスであると考えられた。また、これらネパール株の遺伝学的特徴は、ネパールでの大流行に先立って発生していたインドでの大流行に由来する株の一部、さらに前年のネパール分離株にも共通して認められていた。以上の結果から、新たな変異株の出現、維持の場としてネパール、インドといった南アジア地域の寄与が推察され、新規変異株の早期捕捉に、この地域の分離株サーベイランスの積極的展開の重要性が示唆された。［中村一哉、白倉雅之、藤崎誠一郎、岸田典子、David F Burke*、Derek J Smith*、桑原朋子、高下恵美、高山郁代、中内美名、Mandeep Chadha**、Varsha Potdar**、Arvind Bhushan**、Bishnu Prasad Upadhyay***、Geeta Shakya***、菅原裕美、佐藤　彩、小川理恵、三浦秀佳、秋元未来、小田切孝人、影山努、渡邉真治 : *ケンブリッジ大学、**インド国立ウイルス学研究所、***ネパール国立公衆衛生研究所］

4. 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。このウイルスを鶏卵で 21 代まで継代したところ、ワクチン株になり得る程度の鶏卵での増殖効率が見られた。その結果、鶏卵で 21 代継代した埼玉株(CEXP-002)は、WHO のワクチン株選定会議においてワクチン候補株として承認された。今後、埼玉株の鶏卵における増殖に必須のアミノ酸変異を特定し、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］

5. 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。昨年度、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確立した。今年度においては、合成シアロ糖鎖ポリマーの改良を行い、検出感度の向上を試みた。［白倉雅之、小田切孝人、渡邉真治］

6. Direct RT-LAMP 法を用いたヒトパラインフルエンザウイルス検出系の改良

ヒトパラインフルエンザウイルス（HPIV）は小児における下気道炎の原因となるウイルスで、RS ウイルスに次いで多く検出される。RT-LAMP 法を用いた HPIV1 の検出系を以前に構築したが、近年の流行株において検出感度の低下が認められた。そのため、RT-LAMP 法のプライマーの再設計を行い、以前の系と同等の検出感度を持つ新しい系を構築した。また、この系を用いて、近年の流行株の検出感度の向上が認められることを示した。

［高山郁代、高橋 仁、影山 努］

7. Real-time RT-PCR 法を用いた A/H9N2 鳥インフルエンザウイルス検出系の構築

A/H9N2 鳥インフルエンザウイルスは、1998 年にヒト感染例が確認されて以降、散発的にヒトへの感染例が報告されており、このウイルスを由来とするパンデミックの発生が危惧されている。A/H9 ウイルスを特異的に検出できる real-time RT-PCR (rRT-PCR)法を開発した。本 rRT-PCR 法は A/H9N2 ウイルスの合成 RNA において 3.1 copies/reaction の検出感度を持ち、1966 年以降の A/H9 の 14 株の RNA を全て検出可能であった。

［齊藤慎二、高山郁代、中内美名、永田志保、影山 努］

8. A/H7N9 鳥インフルエンザウイルス迅速診断法の開発

2013 年 3 月に中国で初めて確認された鳥インフルエンザウイルス A/H7N9 により引き起こされるヒトでの感染症は高い致死性を有し、今後大流行を引き起こす危険性がある。感染拡大を防ぎ適切な治療選択を行う上で、A/H7N9 インフルエンザの迅速診断系は必須である。我々が作製した H7 HA 特異的なモノクローナル抗体を用いて A/H7N9 インフルエンザ検出用のイムノクロマトキットを試作し、その感度と特異性の検討を行った。本キットは A/H7N9 特異的に検出することができたため、本抗体を用いて簡便な迅速診断キットを作製できる可能性を示した。

［齊藤慎二、高橋仁、永田志保、影山 努］

9. 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 C 型を選択し、RT-LAMP 法による検出系の構築を行った。ライノウイルス C 型は分離が難しいため、検出系の検討に用いる分離株を得るのが困難であった。そこで、ヒト気管上皮細胞を用いて条件検討を行い、ライノウイルス C 型の分離培養方法を確立した。今後臨床検体からライノウイルス C 型の分離を行い、検出系の検討に用いることが可能となった。［中内美名、永田志保、改田 厚*、久保英幸*、影山 努：*大阪市立環境科学研究所］

10. 感染対策におけるインフルエンザウイルスのエアロゾル動力学的挙動解析

医療従事者にとって感染対策に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重要である。しかし、マスク等の性能向上を考える上で必要な、病原体エアロゾルの捕集理論解析はあまり研究されていない。そこで、市販マスク等の医療用不織布素材によるインフルエンザウイルスエアロゾルの捕集現象について、エアロゾル動力学的挙動解析を行った。気相中のインフルエンザウイルス粒子の輸送過程はブラウン拡散が支配的と仮定し、繊維 1 本に捕集される動力学的作用に、Interception、Inertial impaction、Gravitational setting、Diffusion の総和を考慮し、計算パラメータとして、ウイルス粒子径 dp、粒子のブラウン拡散係数 D、Cunningham の補正係数 Cc、繊維の充填率 α 等を用いて、ウイルス粒子の繊維層対数透過式から、インフルエンザウイルスのエアロゾル透過率を予測計算した。また、計算結果を検証するため、これまでに開発した M1 蛋白標的 antigen-capture ELISA を用いて、当該不織布素材のインフルエンザウイルス透過率を実測した。比較として、マスク素材の海外規格 ASTM の変法試験に使用される、球形で粒子径の小さい phi-X174 phage の透過率も実測した。その結果、理論計算上でも実測でも、インフルエンザウイルス（TEM と DLS で粒子径約 120nm）の透過率は、phi-X174 phage（粒子径約 28nm）より高いことが判明した。よって、インフルエンザウイルスエアロゾルは、海外規格によるマスク性能評価で得られた結果よりも、実際には透過する懸念が示唆された。［嶋崎典子、岡上晃*、菊野理津子*、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］

11. 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、前年度までに以下の性質を有することを示してきた。

・A/Anhui/1/2013（Anhui 株：H7N9）株はマウスで高い致死性を有しているが、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。

・Anhui 株をマウスに馴化した場合（Anhui-M 株）、原株よりも非常に高い致死性を獲得した。

・Anhui-M 株を上気道に限局した感染させた場合、上気道から急速に肺へ感染が移行する。

・馴化株では感染初期における Type I IFN 関連遺伝子群の発現が原株よりも低い。

・遺伝子解析の結果から、このような増殖性の変化には PA 分子が関与していることが示唆された。

しかし本研究の遺伝子解析には、Anhui 株をマウスで継代した肺洗浄液を発育鶏卵に接種して増殖したウイルスを用いたため、様々な変異を有した株が混合していることが予測されるため、原株と馴化株のウイルス漿尿液からプラーク単離を行い、各クローンの病原性について検討した。

原株と馴化株、それぞれ３サイクルずつプラーク単離を行い、最終的に原株から３クローン、馴化株から６クローン獲得した。各クローンのウイルス価を測定した結果、$10^{8.3}$~$10^{9.6}$ pfu/mL であった。これらのクローンをマウスに感染させ致死性を検討した結果、原株の３クローンと馴化株の１クローンでは致死性が低かったのに対し、馴化株の５クローンは非常に高い致死性を有していることが明らかとなった。現在これらのクローンに遺伝子配列を確認している。［浅沼秀樹、小田切孝人、相内 章*：*感染病理部］

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、2016/17 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それぞれ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（HI）試験にて評価した。各血清検体は、ワクチン接種後血清の A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1)pdm09 、B/Phuket/3073/13（山形系統）および B/Texas/2/13（ビクトリア系統）抗原に対する抗体価が成人層は 80HI 価以上（24 名）、老人層は 40HI 価以上（23 名）のものを選び、試験に用いた。その結果、A(H1N1)pdm09 と B 型のビクトリア系統について、ワクチン接種者血清は流行株と比較的高い反応性を示した。しかしながら、A(H3N2)流行株に対して反応性は極めて低く、B 型山形系統流行株に対しても反応性が低くかった。以上から、A(H1N1)pdm09 と B ビクトリア系統に対してはワクチンの効果が期待されるが、A(H3N2)と B 山形系統流行株に対してはワクチン効果の減弱が懸念された。また、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。その結果、ワクチン株と流行株に対して、海外ワクチン接種者血清の HI 抗体幾何平均値の上昇倍率のほとんどが 2.5 以上であるのに対して、日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率はほとんどが 2.0 未満と低いことがわかった。このことから、日本のワクチンの免疫原性の低さもワクチン効果の減弱に影響する可能性が考えられた。これらの成績を WHO インフルエンザ協力センター間で共有し、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. ワクチン接種者血清を用いた A(H1N1)pdm09 の抗原性の評価に関する研究

最近の A(H1N1)pdm09 は、出現した 2009 年当初の株と比較すると抗原性部位に少しずつアミノ酸置換の集積が認められているが、A(H1N1)pdm09 の抗原性は比較的安定であるとされ、2009 年の流行以来、2016/17 シーズンまでワクチン株の変更は行われなかった。実際、従来のフェレット感染血清を用いた抗原性解析では A(H1N1)pdm09 の抗原性変化を捉えることができなかった。そこで、ワクチン接種者の血清においても同様の結果が得られるかどうかを検証した。2010/11、2012/13 および 2015/16 のそれぞれのシーズン前における日本のワクチン接種者（それぞれ 24 名ずつ）の血清を用いて、ワクチン製造株および 2009 年から 2016 年までの特徴的なアミノ酸置換を持つウイルスとの反応性を HI 試験によ

り比較解析した。その結果、3 シーズンの血清全てにおいて、2009 年の H1pdm 流行当初から野外株との反応性は、ワクチン製造株との反応性と比べると低いことがわかった。これはワクチン製造過程の発育鶏卵培養中に起こった HA の抗原部位のアミノ酸置換（Q223R）の影響が大きいと考えられた。また、2010/11 シーズンの血清は、2010 年に分離され始めたクレード 6 に属するウイルスと比較的よく反応しているのに対して、2012 年に分離され始めたクレード 6B ウイルスとの反応性は低下する傾向がみられた。この反応性の違いには、抗原部位にある 163 番目のアミノ酸置換（K 目の）の影響が大きいと考えられた。さらに、同血清はクレード 6B のウイルスにさらに抗原部位のアミノ酸置換が加わったクレード 6B1（S162N：糖鎖付加）と 6B2（V152T）のウイルスに対して反応性がより大きく低下していた。この反応性のパターンは 3 シーズンとも共通していたが、シーズンを経るごとに野外株との反応性は上がり、HI 価が 20 以下を示した検体数は減少した。以上から、フェレット感染血清と比較し、ワクチン接種者の血清は A(H1N1)pdm09 の抗原性の変化を捉えられることが明らかとなった。

［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、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、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］

3. 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 型ウイルスの山形系統とビクトリア系統の 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。我々はこれまでに、系統間の交差反応が起こらないモノクローナル抗体を複数獲得し、ワクチンの有効成分である HA 三量体を、同一のモノクローナル抗体で capture と detect する sandwich ELISA の開発を進めている。ワクチン抗原の定量には測定再現性が重要視され、新規力価試験法に関するいくつかの既報では C.V.＞12%と報告されているが、本 ELISA 法では C.V.= 9.2%と良好であった。ただし、SRD 試験用の標品を用いて SRD 試験結果との一致性について検討したところ、株によっては一致しないものがあり、本 ELISA 用標品の必要性が示唆された。一方、B 型 2 株間に交差反応が起こる SRD 試験用抗血清の代わりに、モノクローナル抗体を使用できないか検討したところ、SRD 沈降輪を生じさせるモノクローナル抗体がいくつか見つかった。これらのモノクローナル抗体の性状解析をすると、SRD 沈降輪形成能は、ウイルスに対する HI titer やワクチン抗原への Affinity とはあまり相関が認められなかった。現在、相関因子等について研究を進めている。［嶋崎典子、板村繁之］

4. 弱毒生インフルエンザワクチンの力価評価法の開発

弱毒生ワクチンはウイルス感染価を力価とするが、感染価は様々な要因によって大きく変動するため、再現性・安定性の高い力価の測定には変動要因の克服が必要である。力価測定の変動因子を明らかにするため、MDCK 細胞とモデルウイルスを用い、感染細胞を蛍光染色して力価を測定するフォーカス形成法の解析を行った。検鏡下における細胞の染色像は多様であり、感染細胞の識別に人的な差異が生じ得ること、使用するウイルス株によっては彗星様感染細胞塊を形成するため、感染細胞数の計測に困難が生じることが力価の変動因子として示唆された。そこで、画像撮影と解析によるより普遍的な感染細胞の識別法を構築し、その妥当性について評価するとともに、ウイルス株によらず多段増殖を許容しない細胞株を探索中である。［原田勇一、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。昨年度は熱変性したワクチンの免疫原性の評価を行い、マクロファージ活性化がマウスにおける有効性と相関があることを見出した。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出来るかについて、変性レベルの低いワクチンを用いて検討した。全粒子ワクチンを 50℃で１時間、４時間、７時間熱処理したワクチンを調製しマクロファージ活性化のレベルを調べた結果、NF−kB/AP−1 の活性化は 4 時間及び 7 時間で、ISG の活性化は 7 時間の熱処理でそれぞれ有意に低下することがわかった。一方 SRD 試験による HA 含量の測定結果では

80%～90%程度となり、未処理ワクチンと同等と評価された。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はインフルエンザ全粒子ワクチンの免疫原性の評価において、熱変性の検出に関しては SRD 試験よりも有用である可能性が示された。[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の開発

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。これまでに、我々は細胞培養季節性インフルエンザワクチン株の元株を分離するために、NIID-MDCK 細胞を樹立し、昨年度までに、この細胞に馴化させた高増殖母体ウイルス hg-PR8 株を開発した。当該年度は、この hg-PR8 株の高増殖性の要因の探索を行った。そのため、hg-PR8 株のオリジナルである PR8 株に hg-PR8 株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 遺伝子または NS2 遺伝子に変異を持つウイルスの力価が、オリジナル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 または NS2 それぞれの変異を持つウイルスのウイルス力価は hg-PR8 株のそれより低かったことから、両方の変異を持つことが増殖性の増加に重要な可能性が示唆された。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

7. 細胞培養ワクチン株作製用母体ウイルスの有用性の検討

現在、細胞培養季節性インフルエンザワクチン製造株は、臨床検体から分離した季節性インフルエンザウイルスの野生株の使用が予定されている。しかし、増殖性を高めるために細胞で継代を繰り返すことにより細胞馴化変異が生じ、抗原性の変化や抗原性解析に支障が生じる場合がある。そこで、野生株と hg-PR8 との間のリアソータントウイルスを作製し、NIID-MDCK 細胞で継代後の馴化変異の挿入の有無につき調べ、hg-PR8 を用いたリアソータントの有用性を検討した。具体的には、HA、NA 遺伝子は野生株 A/Ibaraki/N12232/2012(H3N2)(TA232) あるいは、A/Ibaraki/N12233/2012(H3N2)(TA233)) 由来、その他の遺伝子は hg-PR8 株由来のリアソータントウイルス（TA232/HG、TA233/HG）をリバースジェネティクス法で作製し、継代後の遺伝的安定性を野生株と比較した。その結果、野生株の TA232 は NIID-MDCK 細胞で 4 継代後に、HA 遺伝子には変異が入らなかったが、NA 遺伝子には HA 活性に影響を与える細胞馴化変異（D151N、D151G、D151A）が確認された。一方、TA232/HG は NIID-MDCK 細胞で 6 代継代を繰り返しても HA 遺伝子に変異は入らず、NA 遺伝子には HA 活性に影響を与える細胞馴化変異（T148K）が 4 継代目で確認され、5 継代目で入れ替わった。この変異は野生株で生じている細胞馴化変異に比べ、HA 活性に与える影響は少なかった。野生株の TA233 は 4 継代後に、レセプター結合領域や抗原部位に該当しない変異（T248K）が確認され、NA 遺伝子には HA 活性に影響を与える細胞馴化変異（T148I、D151G、D151N）が確認された。一方、TA233/HG は 3 継代目で HA 遺伝子にレセプター結合領域や抗原部位に該当しない変異（P221L）が確認され、5 継代目で入れ替わったが、抗原性には影響しなかった。NA 遺伝子には変異が入らなかった。hg-PR8 を母体ウイルスとしたリアソータントウイルス TA232/HG や TA233/HG は、野生株と比較して、NIID-MDCK 細胞での連続継代後の細胞馴化変異が抑制されており、hg−PR8 を母体ウイルスとしたリアソータントの遺伝的安定性が示唆された。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

8. 細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けての取り組み

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た。[(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.] 課題(1)：今年度も感染研所有の NIID-MDCK 細胞を用いて 2015/16 シーズンの臨床検体から分離したウイルス（元株）をワクチン製造所へ分与し、ワクチン株開発に供した。各ワクチン製造所社により、進捗が異なるが、昨年度までに分与した元株に由来するワクチン製造種株候補に対して、当室で抗原解析試験を行い、WHO が推奨する当該シーズンの抗原的基準株（プロトタイプ株）との抗原的同等性につき評価を行

った。その結果、ワクチン製造所のうち 1 社では、A/H1N1pdm09, A/H3N2, B/Yam, B/Vic の各型、亜型で、最低 1 株は抗原解析試験に合格する種株候補が開発されていた。一方、他社の中では、一部の型、亜型ウイルス(A/H3N2, B/Yam)を用いた種株候補開発を行い、抗原解析試験に合格する種株候補を開発した製造所もあった。今後、これまでに分与した元株から開発された全ての種株候補に関して抗原解析試験を行い、種株開発に関わる今後の課題を明らかにする。課題(2):課題(1)で開発された一部の種株候補をもとに SRD 試薬を作製し SRD 試験を行った（詳細は別記)。細胞培養ワクチン株に由来する SRD 試薬の作製では、細胞成分の混入をどの程度避けられるのかが、課題の一つになる。今年度、一ワクチン製造所から提供された H1N1pdm09 種株に由来する primary liquid standard（SRD 試薬の一つ）は、比較的純度が高く、SRD 試験による試作ワクチン中の HA 抗原量の推定は容易に行えた。来年度は、上記製造所の 4 価ワクチンや他社の試作ワクチンに対して SRD 試験を行い、細胞培養季節性ワクチン実用化のための課題を明らかにしていく。［信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、ワクチン製造所（化血研、北里第一三共、武田薬品工業、阪大微研会)］

9. 細胞培養ワクチン株（種株）の開発

ワクチン製造用シードウイルスを作製する方法を確立するために、効率的ウイルス(元株)分離法の確立とシードウイルスの作製を行った。今年度は抗原性が流行の主流と一致するウイルス(元株)が分離できる臨床検体を選定するために、次世代シークエンサーを用いた臨床検体中ウイルスゲノム(HA, NA 遺伝子)の解析手法の確立と解析結果の蓄積を行った。その結果、多くの臨床検体中のウイルスゲノム配列は、混合塩基の存在しない単一なゲノム配列となっていることが確認された。また、2015/2016 シーズンのプロトタイプ株と同等の抗原性を示す種株候補を、ワクチン製造所の協力を得て作製することに成功した。［高橋　仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里］

10. 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発

細胞培養ワクチンの HA 抗原量測定のための一元放射免疫拡散(SRD)試験用試薬の作製と、その試薬を用いた HA 抗原量の測定を行った。細胞分離ウイルスに由来する A/H1N1pdm09 ウイルスを用いて SRD 試薬（標準抗原および参照抗血清）の作製を行い、この試薬が細胞培養ワクチンの HA 抗原量測定に資するものであることを確認した。また、現在の流行に適合した細胞培養ワクチンの HA 抗原量を測定するための SRD 試薬の作製と、効率的で的確に HA 抗原量を測定することのできる参照抗血清の作製を試みた。［高橋　仁、藤本貴男*、堀越史朗*、魚谷多恵*、奥谷三慧*、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里：*阪大微生物病研究会］

11. 迷入ウイルス検出系の確立に関する研究

本年度は、ヒトに感染性や病原性を示す呼吸器系以外の血液・腸管系ウイルス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。［浜本いつき、高橋　仁、小田切孝人、信澤枝里］

12. NIID-MDCK 細胞の迷入ウイルス排除能の検討

細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化のため「細胞培養ワクチン株開発」を日本のワクチン製造所社とともに行っている。その際、当室ではインフルエンザ患者の臨床検体から、NIID-MDCK 細胞を用いてウイルスを分離し、元株として各所社に分与している。しかし、元株分離の過程で、臨床検体に由来するインフルエンザウイルス以外の迷入ウイルスが、元株に混入する可能性がある。そこで、NIID-MDCK 細胞における迷入ウイルスの増殖能を検討し、その元株分離用細胞としての有用性を評価した。インフルエンザと重複感染する可能性の高い呼吸器系ウイルス 8 種類を選択し、各ウイルスの増殖用細胞と NIID-MDCK 細胞に、それぞれ感染させて、継代を繰り返した。各継代後に培養上清からそれ

ぞれのウイルス核酸を抽出し、マルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法を用いてウイルスコピー数を測定した。その結果、今回検討した呼吸器系ウイルスのうちパラインフルエンザウイルス３型以外のウイルスは、増殖用細胞では、増殖するのに対し、NIID-MDCK 細胞で継代を繰り返すことによって、培養上清中のウイルスゲノムは検出限界以下になった。従って、NIID-MDCK 細胞を用いて元株を分離することで、今回検討したウイルスのうち７種のウイルスに関しては、元株に混入する可能性は低いことが示唆された。［浜本いつき、高橋　仁、水田克巳*、佐藤光**、西村秀一**、小田切孝人、信澤枝里：*山形県衛生研究所、**国立病院機構仙台医療センター］

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

既存の H5N1 ワクチン株候補は、通常、HA, NA 遺伝子は野生株に由来し（HA 遺伝子には低病原性化変異を挿入）、その他の遺伝子は母体ウイルスに由来する。このワクチン株の中には、鶏卵培養後のタンパク収量/HA 収量が著しく低い株が存在することをこれ迄に明らかにしてきた。そこで、収量を左右している要因を調べるため、クレード 1 に属する株のうち、高 HA 収量株および低収量株を選出し、HA および NA 遺伝子の塩基配列を比較した。その結果、両株は、HA, NA の翻訳領域、非翻訳領域(NCR) (HA3’NCR および NA5’NCR)いずれにも配列の違いが確認された。そのため、母体ウイルスを同一にした上で、まず、非翻訳領域の配列のみを入れ替えたウイルスを作製して収量の比較を行った。その結果、低収量株の HA3’NCR を高収量株のものに換えると HA 収量が増加し（しょう尿液 1mL 中 3.3±0.4 が 6.1±0.4μg に増加）、高収量株について、HA3’NCR を低収量株のものに換えると HA 収量が減少し（しょう尿液 1mL 中 10.7±0.9 から 5.6±0.2μg に減少）、HA3’NCR が HA 収量に影響を与える事が判明した。また、NA5’NCR の入れ替えでは HA 収量の変化は見られなかった。NCR 配列の収量への影響も考慮し、今後のワクチン株開発を行っていく。

［有田知子、鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里］

14. 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。昨年度までに 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、Cal7 HA-VLP は現行のスプリットワクチン（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を示した。今年度は引き続きマウスに免疫する場合の適切な免疫用法の検討を行った。その結果、高用量の経鼻１回投与よりも、追加投与を行う２回接種の方が効率的に免疫応答を誘導でき、総抗原用量を減少できることが明らかとなった。また本研究で使用している粘膜アジュバントの G9.1 は、D(A)タイプの CpG であるが、他の同タイプの CpG との免疫増強効果の比較を行った結果、G9.1 の方がより高い免疫増強効果を有することも明らかとなった。［浅沼秀樹、小田切孝人、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］

15. ヒト粘膜抗体の測定方法の樹立に関する研究

経鼻インフルエンザワクチン開発の一環として、気道抗体の評価方法の構築を目指した検討を進めている。本研究では気道の抗体を唾液で評価することが可能であるかどうかを検討するため、口腔内から唾液を回収する部位の違いと回収される分泌型 IgA（SIgA）抗体量の違いについて検討した。耳下腺から分泌液が排出される口腔側部にあるステノン菅もしくは顎下腺と舌下腺から分泌液が排出される舌下にあるワルトン菅の排出口に唾液回収用のサリソフトのスポンジを用いて分泌される唾液を吸収させ、遠心後に回収された唾液中に含まれる SIgA 量と総タンパク量を測定した。その結果、ワルトン菅の

排出口から回収した唾液の方が、ステノン菅より回収した唾液よりも高濃度の SIgA が回収できることが示唆された。また本回収方法はこれまでに一般的に用いられていた唾液の回収方法よりも、夾雑物が少なく、また個体差のばらつきが少ない手法であることも示された。[浅沼秀樹、黒野祐一*、大堀純一郎*、藤橋浩太郎**、小田切孝人:*鹿児島大学・医、**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. 地方衛生研究所における抗インフルエンザ薬耐性検査の実態調査

A(H1N1)pdm09 ウイルスを対象に実施している H275Y 耐性マーカーの検出検査は、A(H1N1)pdm09 の流行状況によりシーズン毎の解析数が大きく変動する。そのため、流行の規模が小さいシーズンには、検査を行う機会がまったく無い場合がある。そこで、シーズン毎に検査の実態調査を行い、調査結果を検査精度の維持・向上に資することを目的として、本年度は全国 11 カ所のレファレンス地方衛生研究所を対象に TaqMan RT-PCR 法による RNA 陽性コントロールの検出を行った。その結果、ほとんどの地衛研では検査精度が維持されていることが確認された。一方、問題がみられた地衛研に対しては個別に対応し、最終的に問題点を解決できた。[高下恵美、中内美名、岸田典子、中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、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、皆川洋子*、安井善宏*、駒込理佳**、三好正浩**、山口宏樹**、高橋雅輝***、佐藤直人***、川上千春****、宇宿秀三****、長島真美*****、秋場哲哉*****、小渕正次******、米田哲也******、森川佐衣子*******、廣井　聡*******、三好龍也********、芦塚由紀*********、山下育孝**********、溝田文美********** 、越智晶絵 ********** 、久場由真仁********** 、喜屋武尚子 ********** 、加藤峰史 **********：*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. 地方衛生研究所におけるウイルス分離培養および同定検査技術の実態調査

インフルエンザウイルスサーベイランス技術の維持・向上をはかるうえで、地方衛生研究所におけるインフルエンザウイルスの分離培養および同定検査の体制の現状を把握することを目的とし、本年度は全国 11 カ所のレファレンス地方衛生研究所を対象に、ウイルス分離培養および同定技術の実態調査を実施した。対象の衛生研究所に、ウイルス分離試験用として A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、

B Yamagata、B Victoria、および陰性サンプルを含む 5 サンプルを冷凍で送付し、各衛生研究所で通常使用している培養細胞および手法を用いて、ウイルス分離および型・亜型同定を実施した。分離および同定結果に問題が見られた衛生研究所には対策を提示した。[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、皆川洋子*、安井善宏*、駒込理佳**、三好正浩**、山口宏樹**、高橋雅輝***、佐藤直人***、川上千春****、宇宿秀三****、長島真美*****、秋場哲哉*****、小渕正次******、米田哲也******、森川佐衣子*******、廣井　聡*******、三好龍也********、芦塚由紀*********、山下育孝**********、溝田文美**********、越智晶絵**********、久場由真仁**********、喜屋武尚子**********、加藤峰史**********：*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]

5. 中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスおよび鳥インフルエンザウイルス(H7)を検出できる蛍光 Direct RT-LAMP 法の地方自治体・検疫所・病院への導入

蛍光 Direct RT-LAMP 法を用いた簡便・迅速な MERS コロナウイルス、季節性インフルエンザウイルス(A/H1pdm09，H3)、鳥インフルエンザウイルス(A/H7)を一度に検出可能な遺伝子検査キットを構築し、昨年度に引き続き平成 28 年度も、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 カ所の検疫所および 2 カ所の病院において、MERS コロナウイルスおよび H7 亜型の鳥インフルエンザ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、齊藤慎二、影山 努]

6. 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評価の実施

平成 28 年度外部精度管理事業として、全国 74 ヶ所の地方衛生研究所に対して、インフルエンザウイルスの核酸検出検査（リアルタイム RT-PCR 法）による型・亜型診断検査の外部精度評価(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実施する事とし、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等に対応し、検査精度向上に向けた改善法などについて助言を行った。また、検査精度向上に関する研修を希望する自治体に対しては、現地にて研修・実習を行った。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、小田切孝人]

7.インフルエザワクチンの力価測定用標準抗原国際キャリブレーション

WHO ERL として、ワクチンの力価測定用標準抗原に関する国際キャリブレーションを実施した。具体的には、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-cell derived ［CBER］、A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09-cell derived ［TGA］、B/Brisbane/46/2015 ［TGA］、B/Brisbane/60/2008 ［TGA］、B/Hong Kong/259/2010-cell derived ［CBER］、B/Phuket/3073/2013［NIBSC］、B/Brisbane/60/2008 (BX-35) ［ NIBSC ］、 A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180) ［ TGA ］、 A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180) ［ NIBSC ］、 A/Anhui/1/2013 (H7N9) (NIBRG-268) ［NIBSC］、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) (X-263B) ［TGA］、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) (X-263B) ［ NIBSC ］、 A/Egypt/N03072/2010 (H5N1) (IDCDC-RG29) 、 A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRG-163222)-EB66 cell derived ［NIID］、A/bar headed goose/Qinghai/1A/2005 (H5N1) (SJRG-163222)-Vero cell derived ［NIID］、A/California/7/2009 (H1N1)pdm09 (X-181) ［NIBSC］、A/New Caledonia/71/2014 (H3N2) (X-257A) ［TGA］、A/New Caledonia/71/2014 (H3N2) (X-257A) ［NIBSC］、A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) (X-263) ［ NIID ］、 A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09 (X-275)、B/Phuket/3073/2013 ［TGA］について、新規ロットの標準インフルエンザ HA 抗原に含有される HA 抗原の含有量の設定を、英国、豪州、米国の生物製剤に関

する国立試験研究機関である NIBSC、TGA、CBER と共同で実施した。［原田勇一、河野直子、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標準抗原・参照抗血清の作製

平成 28 年度のインフルエンザ HA ワクチンのワクチン製造株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014 （ X-263 ）（ 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、昨年度に引き続いて、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］

9. 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 15□5 がドーズの 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 28 年度のワクチン製造株である A/California/7/2009 (X-179A) (H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014 (X-263)(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 15□5 をドーズの 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*、谷生道一*、福田靖**、小田切孝人：*血液・安全性研究部、**細菌第 2 部］

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。［佐藤佳世子、嶋崎典子、鈴木康司、板村繁之、小田切孝人］

サーベイランス業務

1. 2016/17 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)pdm09：123 株、A(H3N2)：336 株、B 山形系統：114 株、B ビクトリア系統：126 株について抗原性解析を行った。また、医療機関から臨床検体の提供を受けて分離培養した A(H3N2)：94 株、B 山形系統：5 株、B ビクトリア系統：22 株についても同様に解析した。2016/17 シーズンの解析は A(H3N2) ウイルスが流行株の約半数を占めた。次に B 型ウイルスが 3 割強を占め、A(H1N1)pdm ウイルスがこれに続いた。B 型ウイルスは山形系統株とビクトリア系統がほぼ同じ割合で流行した。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/Hong Kong/4801/2014 と抗原性の異なる株が流行株の半数近くを占めた。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。流行株の抗原性についてのまとめとして、感染症疫学センターの IASR ウェブサイトに情報提供を行った。［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、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦****：*永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所］

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 302 株（台湾 77 株、ミャンマー38 株、ラオス 168 株、モンゴル 9 株、韓国 10 株）のインフルエンザ分離株を入手し、遺伝子解析および抗原性解析を行なった。A(H1N1)pdm09 流行株は、ワクチン株 A/California/07/2009 の類似株が主流を占めた。A(H3N2)ウイルスの半数近くが 2015/16 シーズンワクチン株 A/Switzerland/9715193/2013 の抗原性からの乖離が認められた。また、分離株の３割程度が 2016/17 シーズンワクチン株 A/Hong Kong/4801/2014 と抗原的に乖離していた。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、HI 試験による分離株抗原性解析が行えない状況であるため、中和試験法を代替手法とした分離株抗原性解析が行われている。本手法によって 2015/16 および 2016/17 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、得られた結果を 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。また、中和試験法での試験結果の再現性への懸念を改善することを目的に、感染細胞巣減数試験（Focus reduction assay, FRA）の分離株抗原性解析への応用について検討を行い、次期流行期の本改良手法の導入に備えた。［中村一哉、岸田典子、秋元未来、佐藤　彩、桑原朋子、渡邉真治、小田切孝人］

4. 2016/17 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。全国地衛研および医療機関の協力の元に、本シーズンは A(H1N1)pdm09 亜型 164 株, A(H3N2)亜型 320 株, B 型山形系統 69 株、B 型ビクトリア系統 107 株について HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行った。16/17 シーズンに流行の主流であった A(H3N2)亜型は、全てクレード 3C.2a（N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H）に属し、この内約 63%が 3C.2a1（N171K, I406V, G484E）サブクレードに属した。また遺伝子的多様化が進み、3C.2a および 3C.2a1 内で複数の集団が形成された。A(H1N1)pdm09 亜型はほとんどの株がサブクレード 6B.1 (S84N, S162N, I216T)に属し、この内約 68%は A215G を持つサブクレードに属した。B 型山形系統は全てクレード 3 (S150I, N165Y, N202S, S229D)内の M251V 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、上述した株のうち約 29%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。また、作成した系統樹を感染症疫学センターの IASR ウェブサイトに掲載した。［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、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦**** : *永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所］

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 28 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 346 株、A(H3N2)分離株 501 株、B 型分離株 387 株の薬剤感受性を解析した。その結果、A(H1N1)pdm09 で H275Y 耐性変異をもつオセルタミビ

ル・ペラミビル耐性株が 45 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、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦****：*永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所］

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

現行の季節性インフルエンザワクチンは、発育鶏卵で分離されたウイルスを使用する必要がある。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、国内の医療機関から提供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 20 株のウイルス［B 型ビクトリア系統 17 株、B 型山形系統 3 株］を分離することに成功した。さらに、B 型ビクトリア系統 1 株および B 型山形系統 1 株に対する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結果、いずれも流行株とよく反応することが明らかとなった。［高下恵美、桑原朋子、小川理恵、秋元未来、三田村敬子*、安倍隆**、市川正孝***、山崎雅彦****、渡邉真治、小田切孝人：*永寿総合病院、**あべこどもクリニック、***市川こどもクリニック、****座間小児科診療所］

7. 日本のブタにおける新型インフルエンザウイルスの発生の監視

全国 10 カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行ったが、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。［齊藤慎二、高山郁代、中内美名、小田切孝人、影山 努］

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 H5N8、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ている。本年度は兵庫県において H5N6 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルス A/duck/Hyogo/1/2016 を分離した。本株は WHO より鳥インフルエンザワクチン候補株として推奨された。［押部智宏*、高山郁代、中内美名、齊藤慎二、小田切孝人、影山努：*兵庫県立健康生活科学研究所］

9. 2016 年に日本で発生した高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N6 亜型）の抗原性解析

2016 年 11 月から日本でクレード 2.3.4.4 に属する高病原性鳥インフルエンザ(H5N6 亜型)の発生が確認された。そこで、日本で分離された H5N6 亜型のウイルス、A/duck/Hyogo/1/2016、A/black swan/Akita/1/2016、A/muscovy duck/Aomori/2-2T/2016、A/chicken/Niigata/1-1T/2016、A/chicken/Hokkaido/1-1C2C/2016　の抗原解析を行った。クレード 2.3.4.4 のワクチン株（A/Sichuan/26221/2014 (H5N6) (IDCDC-RG42A)）やワクチン株候補 A/chicken/Viet Nam/NCVD-15A59/2015 に対するフェレット抗血清を用いて、上記日本分離株に対する反応性を調べた。その結果、いずれの株に対しても反応性が低いことが確認された。しかし、A/duck/Hyogo/1/2016 に対して作製したフェレット抗血清は、いずれの日本分離株ともホモ価と同等の反応性を示した。この結果をふまえ、2017 年 2 月 27 日から 3 月 1 に開かれた WHO 北半球用ワクチ

ン株選定会議で、当センターで A/duck/Hyogo/1/2016(H5N6)を元株にしたワクチン株の作製を行うことが決定した。［鈴木康司、有田知子、信澤枝里、小田切孝人］

ワクチンの安定供給に関する業務

1. 季節性インフルエンザワクチン製造株候補の増殖、検討、交付

2017/2018 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、マスターストックを増殖後、保存した［H1N1pdm 亜型：A/Michigan/45/2015(X-275, X-275A), A/Singapore/GP1908/2015(IVR-180), A/Scotland/P2/2015(NIB-97, X-285A), A/Lisboa/32/2015(NIB-98, X-283A), A/Slovenia/2903/2015(X-291), H3N2 亜型：A/Norway/2178/2014(X-273), A/Victoria/503/2015(X-281), A/Saitama/103/2014(CEXP-002)］。ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、H1N1pdm 亜型 7 株を試験交付、H1N1pdm 亜型 1 株と H3N2 亜型 1 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、2017/18 シーズンワクチン株選定会議に供され、ワクチン製造株選定資料として共有された。［有田知子、鈴木康司、信澤枝里、小田切孝人］

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、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

2016-17 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 5 株の試験交付株、A(H3N2)亜型 4 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. ネパール NIC 研究者に対するインフルエンザウイルスの遺伝子解析技術の研修

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 11 月 6～15 日の期間、ネパール NIC から Bishnu Prasad Upadhyay 氏を招聘した。研修期間中は、インフルエンザウイルス RNA を用いて RT-PCR による遺伝子増幅、シークエンス反応、シークエンス解析手法、および遺伝子系統樹解析について研修を実施した。［藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳］

2. インフルエンザウイルス流行株予測プログラム検討会議への参加

7月5日～10日にかけてアメリカ プリンストン大学にて開催された Modeling Influenza Conference に参加した。遺伝子配列を用いた、将来起こりうる抗原性の変化予測プログラムが研究されているが、精度向上のために、抗原性解析の結果を予測プログラムに組み込むべきであるとの結論を得た。予測プログラムのワクチン株選定への

導入を目指し、今後も流行予測の研究について意見交換を行っていく必要がある。［藤崎誠一郎、小田切孝人］

3. 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、2014 年第 21 週から 2015 年第 20 週に検出された世界各国の 13,312 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 0.5%で、前シーズンの検出率 0.6%と同等であった。［高下恵美］

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、桑原朋子、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、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。8 月に「第 8 回広範な防御効果および長期間の免疫反応を誘導するインフルエンザワクチン開発に関する WHO 会議」に出席し、次世代のインフルエンザワクチンの開発状況等を情報共有し、今後のマイルストンについて議論した。また 7 月に「第 10 回西太平洋－東南アジア地域 国立インフルエンザセンター会議」および 11 月に「第 2 回西太平洋領域 WHO 協力センターフォーラム」に出席し、それぞれ WHO 協力センターと国立インフルエンザセンターの関係の再確認、および WHO 協力センターの役割の再認識と今後の方向性について議論した。［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、ベトナム・ホーチミン・パスツール研究所にて、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等の情報収集を行った。［白倉雅之］

7. 国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「ポリオ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 Launching Tool for Influenza Pandemic Risk Assessment に関する会議への参加

平成 28 年 5 月 4 日～5 日にスイス ジュネーブで開催された WHO Launching Tool for Influenza Pandemic Risk Assessment に関する会議に参加し、パンデミックを引き起こす可能性があるインフルエンザウイルスのリスク評価の方法と今後の対応について、他の WHO Influenza Collaborating Center、National Influenza Center などと協議した。［影山 努］

9.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 オルホン県、ダルハン・オール県の地方研究所において、これまで当センターで構築した 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]

10. ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE) およびホーチミン・パスツール研究所の 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

ベトナム 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やウイルス性呼吸器感染症の検出をベトナム地方研究所へ導入することを目的とした共同研究を開始した。[高山郁代、影山 努]

11.国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」研修に講師として参画し、インフルエンザワクチンの品質管理について講義を行った。[板村繁之]

12.インフルエンザワクチンの品質管理に関する WHO 関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

WHO ERL の一員として 7 月及び 2 月に英国で開催されたインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際会議に出席し、ワクチンの品質管理における課題等について協議した。また、WHO 主催によるワクチン製造所と ERL を含む関係者の電話会議に参加して情報提供を行った。[板村繁之、原田勇一]

研修業務

1. 平成 28 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 28 年 4 月 13 日に実施された FETP 初期研修、平成 28 年 11 月 1 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. 平成 28 年度国立保健医療科学院ウイルス研修における講義および赤血球凝集抑制試験の技術研修

平成 28 年 11 月 9 日に当該研修参加の地衛研職員を対象にインフルエンザウイルスの講義を行った。また同 22 日に赤血球凝集抑制試験の技術研修を行った。[岸田典子、中村一哉、佐藤彩、白倉雅之、渡邉真治、小田切孝人]

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 15 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、RT-LAMP 法を用いた MERS・インフルエンザ遺伝子検査実習を行った。特に研修では、リアルタイム RT-PCR 法による検査結果の解釈方法やトラブルシューティングに重点を置いた。また、研修では各検疫所からの検査対応相談にも個別に対応し、研修成果が現場で反映されるように連携の強化が図られた。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二]

4. インフルエンザの実験室診断についての研修

平成 28 年 7 月 11 日から 7 月 14 日まで、静岡市環境保健研究所より職員 1 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、中内美名、高山郁代、齊藤慎二]

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および国立小児病院において、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、齊藤慎二]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1．欧文発表

1. Li C, Hatta M, Burke DF, Ping J, Zhang Y, Ozawa M, Taft AS, Das SC, Hanson AP, Song J, Imai M, Wilker

PR, Watanabe T, Watanabe S, Ito M, Iwatsuki-Horimoto K, Russell CA, James SL, Skepner E, Maher EA, Neumann G, Klimov AI, Kelso A, McCauley J, Wang D, Shu Y, Odagiri T, Tashiro M, Xu X, Wentworth DE, Katz JM, Cox NJ, Smith DJ, Kawaoka Y. Selection of antigenically advanced variants of seasonal influenza viruses. Nat Microbiol. 2016 May 23;1(6):16058.

2. Ando T, Yamayoshi S, Tomita Y, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. The host protein CLUH participates in the subnuclear transport of influenza virus ribonucleoprotein complexes. Nat Microbiol. 2016 May 16;1(8):16062
3. Yamazaki W, Uemura R, Sekiguchi S, Dong JB, Watanabe S, Kirino Y, Mekata H, Nonaka N, Norimine J, Sueyoshi M, Goto Y, Horii Y, Kurogi M, Yoshino S, Misawa N. Campylobacter and Salmonella are prevalent in broiler farms in Kyushu, Japan: Results of a 2-year distribution and circulation dynamics audit. J Appl Microbiol. 2016 Jun;120(6):1711-22.
4. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Shimazu Y, Shimomura T, Watanabe S, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir due to a dual H275Y/G147R substitution, Japan, March 2016. Euro Surveill. 2016 Jun 16;21(24).
5. Suzuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Nobusawa E. Development of an Influenza A Master Virus for Generating High-Growth Reassortants for A/Anhui/1/2013(H7N9) Vaccine Production in Qualified MDCK Cells. PLoS One. 2016 Jul 25;11(7):e0160040
6. Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takayama I, Sangsriratanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. TMPRSS2 Independency for Haemagglutinin Cleavage In Vivo Differentiates Influenza B Virus from Influenza A Virus. Sci Rep. 2016 Jul 8;6:29430.
7. Hurt AC, Besselaar TG, Daniels RS, Ermetal B, Fry A, Gubareva L, Huang W, Lackenby A, Lee RT, Lo J, Maurer-Stroh S, Nguyen HT, Pereyaslov D, Rebelo-de-Andrade H, Siqueira MM, Takashita E, Tashiro M, Tilmanis D, Wang D, Zhang W, Meijer A. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2014-2015. Antiviral Res. 2016 Aug 132:178-85.
8. Takashita E, Ejima M, Ogawa R, 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. Antiviral Res. 2016 Aug 132:170-7.
9. Sarawar S, Hatta Y, Watanabe S, Dias P, Neumann G, Kawaoka Y, Bilsel P. M2SR, a novel live single replication influenza virus vaccine, provides effective heterosubtypic protection in mice. Vaccine. 2016 Sep 34(42):5090-8.
10. 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):141-152.

２．和文発表

1. 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 2016-17. 181-4, 2016.
2. 高下恵美: 第９回インフルエンザ制圧会議. 感染・炎症・免疫. 46:90-2, 2016.
3. 高下恵美:第９回インフルエンザ制圧国際会議(Options for the Control of Influenza IX)参加報告. インフルエンザ. 18:64-5, 2017.
4. 渡邉真治、藤崎誠一郎、中村一哉: 香港型インフルエンザウイルスの最近の変異（性状変化）. インフルエンザ. 17:37-44, 2016.
5. 影山 努. インフルエンザウイルス遺伝子検査の実力. 日本医事新報 4830 42-46. 2016
6. 影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、小田切孝人. 鳥・ブタ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 37(11) 220-221, 2016

Ⅱ．学　会　発　表

１．国際学会

1. Takashita E, Ejima M, Ogawa R, 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. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
2. Kishida N, Imai M, Ainai A, Saito R, Nakamura K, Kuwahara T, Fujisaki S, Takashita E, Shirakura M, Kashiwagi Y, Tashiro M, Odagiri T, Watanabe S. Evaluation of efficacy of an inactivated high growth reassortant whole-virus A(H3N2) influenza vaccine in ferret. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
3. Yasuhara A, Yamayoshi S, Ito M, Uraki R, Nakatsu S, Oishi K, Soni P, Takenaga T, Kawakami C, Takashita E, Sasaki T, Ikuta K, Yamada S, Kawaoka Y. Characterization of the antigenic properties of influenza A(H1N1)pdm09 virus. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
4. Kawakami C, Fujisaki S, Takashita E, Sugawara H, Shimizu K, Ozawa H, Momoki T, Saikusa M, Usuku S, Sasao T, Watanabe S, Odagiri T. Characterization of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from hospitalized cases in the 2015/16 season. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA. August 2016.
5. Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N, Kuwahara T, Takashita E, Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T, Kageyama T, Watanabe S. Characterizations of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from patients including fatal or severe cases in Nepal and India, early 2015. Options for the Control of Influenza IX. Chicago, USA. August 2016.
6. Ando T, Yamayoshi S, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. Involvement of CLUH in the subnuclear transport of influenza progeny ribonucleoprotein complexes. Options for the Control of Influenza IX. Chicago, USA. August 2016.
7. Takayama I, Oba K, Semba S, Nakauchi M, Takahashi H, Yonekawa T, Segawa Y, Watanabe H, Notomi T, Odagiri T, Kageyama T. The development of point-of-care test to identify human influenza and respiratory syncytial virus using novel real-time direct RT-LAMP assay with micro-fluidic chip. Option for the control of Influenza IX. Chicago. 24-28 August 2016
8. Van VTT, Binh NG, Ngan LT, Thuy PTP, Co DX, Phuong TT, Vuong BM, Dung LT, Cuong DD, Phuong PT, Thanh DV, Tuan ND, Takasaki J, Takayama I, Nakajima N, Kageyama T. Rapid detection of influenza and other respiratory viruses using novel real-time direct RT-LAMP assay at Bach Mai Hospital in Hanoi, Vietnam. Option for the control of Influenza IX. Chicago. 24-28 August 2016
9. Naranzul T, Darmaa B, Bayasgalan N, Nyamadawa P, Nakauchi M, Kageyama T. Surveillance of the respiratory viruses among children with Severe Acute Respiratory illnessin Mongolia. Option for the control of Influenza IX. Chicago. 24-28 August 2016
10. Suzuki Y, Odagiri T, Tashiro M, Nobusawa E. Development of a high-growth PR8 master virus for influenza vaccine production in cell culture systems. Options IX for The Control of Influenza, Chicago 24-28 August 2016.
11. Takahashi H, Hamamoto I, Fujimoto T, Horikoshi F, Ochiai S, Gomi Y, Uemura K, Tanabe T, Naruse T, Minari K, Odagiri T, Nobusawa E. Development and characterizations of cell culture candidate vaccine viruses for production of cell culture-based seasonal influenza vaccines: Feasibility studies in Japan. Options IX for the Control of Influenza, Chicago, USA. August 2016.
12. Harada Y, Shimasaki N, Ochiai M, Odagiri T, Itamura S. An evaluation of single radial immune-difusion assay to determine the HA content of two influenza B virus components in quadrivalent influenza vaccine. Options for the Control of Influenza IX, Chicago, August 2016.
13. Sato K, Asanuma H, Ato M, Odagiri T, Tashiro M,

Itamura S Influenza vaccines induce NF-kB activations and enhancement of TLR expressions in macrophages. International Conference on Immunology 2016, Australia, August 2016.

14. Kono N, Ohnishi K, L. Sun, Toh H, Itamura S Comprehensive analysis of the antibody repertoire in response to egg-derived and cell-derived influenza vaccine using next generation sequencer. Options for the Control of Influenza IX, Chicago, August 2016.
15. Kaida A, Iritani N, Yamamoto SP, Kanbayashi D, Hirai Y, Kohdera U, Togawa M, Amo K, Shiomi M, Nishigaki T, Kageyama T, Kubo H. Single genetic clades of EV-D68 strains in 2010, 2013, and 2015 in Osaka City, Japan. 19th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology. Lisbon. 14-17 September, 2016
16. Nakauchi M. Real-time Direct RT-LAMP method for the diagnosis of the respiratory tract viral infection. International Conference, Tackling Infectious Diseases, Mongolia, 21-22 October, 2016
17. Shinohara K, Shimasaki N, Morikawa H An improved evaluation method of protection performance of medical face mask against penetration by liquid splash. 18th International Conference of International Society for Respiratory Protection, Yokohama, November 2016.
18. Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N, Kuwahara T, Takashita E, Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T, Kageyama T, Watanabe S. Earlier detection of an ancestral variant of influenza A(H1N1)pdm09 subclade 6B.1 virus from Nepalese and Indian outbreak patients. 6th China-Japan Bilateral Symposium on All Influenza Viruses. Beijing, China. March 2017.

２．国内学会

1. 大場邦弘, 小田智三, 高山郁代, 中内美名, 影山 努. Multiplex POC 遺伝子検査を利用したインフルエンザおよび RS ウイルス感染症の地域感染症サーベイランス網構築への試み. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会. 仙台. 2016 年 4 月
2. 嶋崎典子、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 抗原量の新規測定法の開発検討. 第 30 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、山形、2016 年 6 月.
3. 板村繁之. インフルエンザワクチンの３価から４価への移行に伴う製剤としての課題. 第 30 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、山形、2016 年 6 月.
4. 浜本いつき、高橋仁、小田切孝人、信澤枝里 細胞培養インフルエンザワクチン製造用ウイルスの分離に用いる「NIID-MDCK 細胞」の迷入ウイルス排除能の検討　第 30 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　山形　2016 年 6 月
5. 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　細胞培養インフルエンザワクチンの HA 抗原量測定法の確立　第 30 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　山形　2016 年 6 月
6. 信澤枝里　日本における細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化への取り組み　第 30 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム　山形　2016 年 6 月
7. 嶋崎典子、森本美智子、岡上晃、内田幸子、小柴朋子、角田薫、田辺文憲、加藤伊陽子、荒川創一、篠原克明. 防護服素材の防護性能評価のための滴下ウイルス液の浸透性解析. 日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、東京、2016 年 9 月.
8. Kishida N, Imai M, Ainai A, Saito R, Nakamura K, Kuwahara T, Fujisaki S, Takashita E, Shirakura M, Kashiwagi Y, Tashiro M, Odagiri T, Watanabe S. Evaluation of efficacy of an inactivated whole-virus A/Victoria/361/2011 (IVR-165) (H3N2) influenza vaccine in ferret. 第 64 回日本ウイルス学会　札幌　2016 年 10 月
9. Kawakami C, Fujisaki S, Takashita E, Saikusa M, Usuku S, Watanabe S. Characterization of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from hospitalized cases in the 2015/16 season. 第 64 回日本ウイルス学会　札幌　2016 年 10 月
10. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Shimazu Y, Shimomura T, Doi

I, Watanabe S, Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir in the 2015/16 season. 第 64 回日本ウイルス学会　札幌　2016 年 10 月

11. Watanabe S, Nakamura K, Kishida N, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Sato A, Ogawa R, Sugawara H, Akimoto M, Miura H, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Odagiri T. The Influenza Surveillance Group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2015/2016 season and vaccine viruses for the 2016/17 season. 第 64 回日本ウイルス学会　札幌　2016 年 10 月
12. Yasuhara A, Yamayoshi S, Ito M, Uraki R, Nakatsu S, Oishi K, Soni P, Takenaga T, Kawakami C, Takashita E, Sasaki T, Ikuta K, Yamada S, Kawaoka Y. Characterization of the antigenic properties of influenza A(H1N1)pdm09 virus. 第 64 回日本ウイルス学会　札幌　2016 年 10 月
13. Ando T, Yamayoshi S, Tomita Y, Watanabe S, Watanabe T, Kawaoka Y. Analysis of the regulatory mechanisms of the subnuclear transport of influenza progeny ribonucleoprotein complexes. 第64回日本ウイルス学会　札幌　2016 年 10 月
14. 高山郁代、大場邦弘、仙波晶平、中内美名、高橋 仁、齊藤慎二、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、小田切孝人、影山 努. インフルエンザおよび RS ウイルスの検出が可能な新規 real-time direct RT-LAMP 法とマイクロ流路チップを組み合わせたポイントオブケア検査の開発. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. 札幌. 2016 年 10 月
15. 中内美名, Naranzul T, Darmaa B, Namuutsetseg B, Nymadawa P, 小田切孝人, 影山 努. モンゴルの小児入院患者における重症急性呼吸器感染症の病原体の探索. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月
16. 影山 努, Van VTT, Binh NG, Phuong TT, Thuy PTP, Than DV, Co DX, Phuong PT, Cuong DD, Ngan LT, Vuong BM, Dung LT, Thac PT, 高崎 仁, 高山郁代, 齊藤慎二, 小田切孝人,中島典子. ベトナムハノイ市にあるバクマイ病院に入院したインフルエンザ様疾患の病因について. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月
17. 齊藤慎二，佐野芳，鈴木忠樹，Elly Van Riet，相内章，大原有樹，田畑耕史郎，藤井信，高橋宜聖，竹山春子，長谷川秀樹. インフルエンザウイルスに対する組換分泌型多量体 IgA 抗体の性状解析. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月
18. Shimasaki N, Odagiri T, Itamura S. New lineage-specific monoclonal antibodies to measure the HA content of two influenza B virus components in quadrivalent influenza vaccine. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016 年 10 月.
19. 浅沼秀樹、立石恒一朗、佐藤佳代子、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎、山本典生、小田切孝人　新規粘膜アジュバントとしての CpG-ODN G9.1 の経鼻インフルエンザワクチンへの応用　第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月
20. 山本典生、立石恒一朗、佐藤佳代子、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎、浅沼秀樹、小田切孝人　CpG-ODN G9.1 併用経鼻インフルエンザ VLP ワクチンの有効性に関する検討　第 20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月
21. 佐藤佳代子、 浅沼秀樹、小田切孝人、田代眞人、板村繁之　ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能に基づくインフルエンザワクチンの免疫原性定量法の構築第　20 回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016 年 10 月
22. 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 : 2015/16 シーズンに検出されたオセルタミビル・ペラミビルに強い耐性を示すインフルエンザウイルス. 第 48 回日本小児感染症学会　岡山　2016 年 11 月
23. 川上千春、高下恵美、七種美和子、豊澤隆弘 : 入院・重症例における AH1pdm09 インフルエンザウイル

スの解析（2015/16 シーズン）. 第 48 回日本小児感染症学会　岡山　2016 年 11 月

24. 大場邦弘, 遠藤翔太, 名井栄実菜, 秋山 聡, 生田陽, 小花奈都子, 川口隆弘, 林 健太, 野田雅裕, 吉田知広, 住田朋子, 香取竜生, 小鍛治雅之, 小田智三, 高山郁代, 齊藤慎二, 中内美名, 高橋 仁, 影山努. 重複して呼吸器ウイルスが検出された小児の急性呼吸器感染症 22 例の検討. 第 48 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 岡山. 2016 年 11 月
25. Tateishi K, Asanuma H, Matsushita M.　Isolation and characterization of ferret microfibril-associated glycoprotein 4　第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 月 12 月
26. Asanuma H, Tateishi K, Hasegawa H, Yamamoto N, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Fujihashi K. Effectiveness of A Novel Nasal Influenza Vaccine Consisting of HA VLP and CpG-ODN G9.1　第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
27. Kawabata M, Ohori J, Tsuruhara A, Sugita G, Asanuma H, Kurono Y, Fujihashi K.　Nasal pFL And CpG ODN Enhances Pre-existing Influenza Virus-Specific Secretory IgA Ab Responses In Aged Mice　第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
28. Sato K, Asanuma H. Influenza vaccines induce NF-kB and ISG activations through different signaling pathways　第 45 回日本免疫学会学術集会、沖縄、2016 年 12 月
29. 桑原朋子. 鶏卵分離埼玉株 NA で特徴的に認められたアミノ酸置換.　6th Negative Strand Virus-Japan.　沖縄　2017 年 1 月
30. 高下恵美. 日本国内で検出された A(H1N1)pdm09 二重耐性変異ウイルスの性状解析. 6th Negative Strand Virus-Japan.　沖縄　2017 年 1 月
31. 佐藤佳代子、 浅沼秀樹、小田切孝人、田代眞人、板村繁之. ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能に基づくインフルエンザワクチンの免疫原性定量法の構築第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月
32. 浅沼秀樹、立石恒一朗、長谷川秀樹、佐藤佳代子、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎、山本典生、小田切孝人. 経鼻インフルエンザワクチンに用いる新規 CpG アジュバント（G9.1）の有用性　第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月
33. 影山 努. インフルエンザ検査の精度管理. 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2017 年 2 月
34. 影山 努. 鳥インフルエンザ H5N6 ウイルスの流行状況と性状について. 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2017 年 2 月
35. 嶋崎典子、篠原克明、加藤伊陽子、田辺文憲、内田幸子、小柴朋子、荒川創一、森本美智子. 防護服素材の局所圧力負荷による防護性能劣化の検討. 第 32 回日本環境感染学会総会・学術集会、神戸、2017 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 21 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。2017 年 1 月 30 日には日本財団と各国の列国議会同盟(IPU)がハンセン病に対する社会的烙印と差別の撤廃を世界に訴える「グローバル・アピール 2017」をインドの首都デリーで発表した。

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 9 回協議会を平成 29 年 3 月 3 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｡このための恒例の市民公開講座を開催しているが､今年度からは隣接の国立療養所多磨全生園と共催することで、ハンセン病、感染症に対する啓発を行うこととした。「第 17 回市民公開講座」は 4 月 23 日(土)に行った。内容は「草津温泉とハンセン病～自由療養地を求める人々の物語」で森　修一室長が講演し、全生園側からは「学ぶと楽な介護技術」の講習と実演を行った。さらに 10 月 22 日には「第 18 回市民公開講座」として甲斐雅規第 3 室長が「世界のハンセン病と薬剤耐性」と題して講演を行い、全生園からは「学ぶと楽な介護技術」の講演と実演を行った。市民と感染研・全生園との意思疎通を密にし、ハンセン病・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 28 年度の第 38 回夏期大学迄に 1,528 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 28 年度は 8 月 1 日～5 日までの 5 日間実施され、42 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 2 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 28 年度（平成 28 年 4 月～平成 29 月 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 16 症例、34 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。

16 症例の最終診断は、3 例は「新規にハンセン病」と診断、1 例は「ハンセン病の再発」と診断し、12 例は「ハンセン病でない」と診断した。

PCR 検査では 5 例が陽性であったが、臨床や他の検査などを総合して 3 例を患者（新患 2 例、再発 1 例）、2 例を「ハンセン病でない」と判定した。新規患者については、耐性なし（但し 1 例はキノロン検査不能、1 例は DDS とキノロン検査不能）、再発患者は DDS のみ耐性であった。

皮膚スメア検査のサポートも行い、平成 28 年度は 23 件のスメア標本の染色、検鏡を行った。3 件については陽性であった。

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 28 年は 3 名(日本人 0 名、ネパール人男 2 名、バングラデシュ人男 1 名、)であった。再発患者数は 1 名（日本人女）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。

表 1.　平成 28 年度（2016 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	22
総検査件数	34
病理学的検査件数	0
血清抗体価検査件数	11
PCR 検査件数	18
薬剤耐性遺伝子検査件数	5
実症例数	16

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。

らい菌の供給（前田百美・甲斐雅規・天内 肇）

平成 28 年 4 月より同 29 年 3 月までの 1 年間において、のべ 11 回、23 匹、 3 施設（国内 2、国外 1）、4 名（国内 3、国外 1）の研究者に対し、らい菌感染ヌードマウス足蹠の供給を行った。

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
H28 年度	22	34	0	11	18	5	16

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)、並びに (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* の置換株を作成し、らい菌 *gyrase BA* の薬剤感受性と温度感受性について解析し、温度感受性に関連する遺伝子変異を同定した。また、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クロファジミン感受性関連遺伝子の解析を進めている。

細胞学的研究として、らい菌感染マクロファージにおける NADPH オキシダーゼの防御的役割、らい菌感染シュワン細胞に特異的に形成される脂肪滴の病態への関与などの研究が行われた。

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。さらに、新規らい菌特異抗原を検索し、血清診断法の開発を行っている。現在、ザンビア、中国、ベトナム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. abscessus* complex の分離･同定・薬剤感受性に関する開発研究が進展した。

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。*M. ulcerans* 感染症は重篤な身体後遺症を残す事が多くハンセン病同様社会的偏見差別を受けやすい。WHO はブルーリ潰瘍を「Neglected Tropical Diseases」（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おり、世界で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おり活発に活動を展開している。日本においては 2017 年 3 月末までに累計 63 例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*M. ulcerans* の subspecies である *M. shinshuense* については全ゲノム解析が行われ *M. marinum* や *M. ulcerans* との比較ゲノム解析を行った。

新規に発見された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* の変異を同定し、薬剤耐性と相関等を解析している。

ハンセン病に関しての社会疫学研究が進展した。ハンセン病対策の進展要因の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の収集・検証を行い、これらの資料のデジタル化による保存作業を行うと共に、資料のデータベース化を行いβ版の公開を始めた。その他、外来診療を中心としたハンセン病の解放医療の試みと、それが日本で進展しなかった要因を、1950 年代から行われた厚生省、療養所、入所者の三位一体の社会復帰推進検討会である「社会復帰研究会」と社会復帰者用営農訓練施設「東北農場」の調査研究と当事者への事例研究などから検証している。

BSL3、ABSL3 施設が稼動している第二研究棟においては、結核菌に関する研究を行っている。結核菌の培養、保存、*in vitro* での結核菌の各種解析を行うとともにマウス、サルを使用した *in vivo* における感染実験を行い、ハンセン病や結核に対する組換え BCG ワクチンの持続性・安全性に関する研究、結核菌による制御性 T 細胞誘導による免疫回避の解析研究で進展が認められた。

最後に人事であるが、2017 年 3 月 31 日付で第三室長甲斐雅規が定年退官した。

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

ハンセン病による末梢神経障害に関する研究課題として、らい菌の末梢神経への感染経路、それに伴う障害機序の解明が重要であるが、らい菌の感染が末梢神経修復に与える影響についても、後遺症の軽減を考える上でも重要な課題である。そこでらい菌感染後の末梢神経ミエリン再生機能に着目し、ほぼ脂質成分で構成されるミエリンの産生細胞であるシュワン細胞の脂質代謝、特に脂肪滴の形成にらい菌感染が及ぼす影響について、主に蛍光抗体法を用いて解析した。らい菌の感染によりシュワン細胞の細胞質内に多量の脂肪滴の形成が認められ、その蓄積量は MOI 並びに感染期間に依存した。また形成された脂肪滴付近に、多量のらい菌の存在を認めた。シュワン細胞における脂肪滴形成は、らい菌感染時にのみ顕著に観察され、他の抗酸菌感染時には認められなかった。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、らい菌リポペプチド 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 の網羅的解析を東レの高性能 DNA チップで行った。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。今回ハンセン病患者血液を用いて、ハンセン病特異的な miRNA の同定を試みたが、内在性コントロールの選定が難しく、現在幾つかの報告されていない発現変動の少ないターゲットを見つけた。これを用いてハンセン病特異的な miRNA が同定できれば、新たな発想に基づくワクチン開発に進める。

[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 細胞とは異なるレジデントメモリー様 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 接種及び結核感染ではこの IL-17F 産生 CD4 T 細胞の分化・活性化が PD1 陽性抑制性 CD4 T 細胞によって制御され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 細胞及び NK 細胞の分化、活性化を制御している。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-FoxP3 陽性で IL−21 を産生しない抑制性 CD4 T 細胞(Treg)の分化が顕著に誘導されること、この細胞集団には内因性 Treg と抗原特異性を有する誘導性 Treg が含まれることを明らかにした。

[下袴田陽子、田村敏生]

3. HSP70-MMP-II 融合蛋白質発現組換え BCG の改良

(1)これまでの組換え BCG の研究から、シャペロン分子 HSP70 およびらい菌由来膜蛋白質 MMP-II の融合抗原を発現させた組換え BCG をワクチンとしてマウスに投与すると結核菌、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。マウスを使用し、組換え BCG 接種後長期間置いた場合の抗結核菌ワクチン効果について解析を行った。

(2) (1)の組換え BCG ワクチン株について、長期間培養・継代を繰り替えした場合の安定性について解析を行った。

(3) (1)の組換え BCG ワクチン株をマウスに接種し、その安全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を映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。また経時

的解析を行ない、活動性結核患者特異的な抗体産生を見出した。

[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]

5. ヒトマクロファージにおけるらい菌殺菌機構

らい菌感染ヒトマクロファージ(Mφ)を 35 度で IFNγ 存在下にて 7 日間培養すると Mφ 内らい菌の代謝活性が著しく低下した。一方、IFNγ 非添加対照培養では、この間代謝活性の大幅な低下はみられなかった。タンパクレベルで各種 phox(ファゴゾームオキシダーゼ)発現を調べたところ、IFN γ 存在下で培養すると p22-phox と p47-phox の発現増強がみられ、一方、SOD の発現には変化が見られなかった。phox は殺菌作用を発揮するスーパーオキサイドを産生する NADPH 構成タンパクであり、SOD はこのラジカルを中和する作用がある。IFNγ により phox 発現が高まり殺菌作用が増強されたことが、らい菌の代謝活性低下（殺菌作用増強）につながったと思われ、病巣で IFNγ が発現している TT 型ハンセン病におけるらい菌増殖抑制機構の一因が示された。

［福富康夫］

6. 共焦点レーザー顕微鏡によるマクロファージの抗らい菌作用発現機構解析

IFNγ 刺激を受けて活性化したらい菌感染マクロファージは phox 構成タンパク量が増加し、ファゴゾーム膜に通常存在するといわれる p22phox は細胞表面膜やファゴゾームに局在し、通常細胞質に存在する p40 や p47phox も細胞質内の量が増加するのみでなくファゴゾームに多く蓄積するようになることから、活性化して抗らい菌活性を発現しているマクロファージでは NADPH 複合体タンパク質のファゴゾームにおける量が増加するため殺菌作用が高まっていると示唆された。また、生菌選択的蛍光発色試薬を用いて細胞内のらい菌の生死を鑑別したところ、IFNγ により活性化したマウスやヒトマクロファージでは生菌（蛍光発光しているらい菌）数が減少しており、有用な抗らい菌活性測定法だと思われた

［福富康夫］

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 PGL−I 抗原に比べて、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。しかしながら、少菌型ハンセン病患者の陽性率は 60%に留まる。さらに高感度で検出できる方法を得るため、現在患者血液を用いて、らい菌特異的な抗原を網羅的に ELISA 法でスクリーニングを行い、幾つかの抗原候補が存在する事が明らかとなった。ハンセン病濃厚流行地でも簡単にハイリスク患者を発見するため、キットの開発も行っている。

[前田百美、遠藤真澄、Hongsheng Wang (Chinese Academy of Medical Sciences)、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を進めた。迅速発育抗酸菌である *M. smegmatis* および大腸菌を宿主とし、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 百数十種を選択し、組換えらい菌蛋白の発現精製を行った。今後それらの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 50 菌体の結果が得られ、感染源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。コストの低減化のため判定の可視化に用いる試薬の検討を行い、既法と同程度の感度を得た。また、cold-chain 不要な試薬の乾燥化を図ったが、さらなる検討が必要であった。これらの結果より、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. クロファジミンによるマクロファージのアポトーシス誘導機構

ハンセン病における抗らい菌薬であるクロファジミン(B663)にはマクロファージに対する細胞死誘導活性が存在したが、他の抗らい菌薬にはそのような活性はなく、抗炎症作用にアポトーシスが関与していることが種々の系で示唆されていることを考慮するとクロファジミンに特徴的にみられる抗炎症作用に関係があると思われた。この細胞死はらい菌を感染させたマクロファージでも起こり、アポトーシスに特徴的な核の形態的変化が明瞭に観察された。また、IFNγ でアポトーシスの感受性が増すことから、らい反応を抑制する抗炎症効果の一因とも考えられた。さらに、クロファジミンによるアポトーシスでは小胞体ストレス関連タンパク質の発現を伴うカスパーゼの活性化が起こっており、小胞体ストレスがアポトーシスの一因であることが示唆された。

［福富康夫］

５．病原性抗酸菌 *M. abscessus* と *M. massiliense* および *M. bolletii* 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, M. bolletii* 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。

［吉田光範、宮本友司、星野仁彦、石井則久］

6. 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）］

7. 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）］

8. 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］

9. 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 前駆体を利用したハンセン病治療効果評価法の検討

らい菌は、人工培地を用いた分離培養が不可能であるため、治療を経たハンセン病患者内のらい菌の生存度を評価することは困難な面が多い。これまでの研究により、らい菌の生存度を鋭敏に反映する分子として16S rRNA 前駆体が見出されている。そこで、本分子が患者検体内のらい菌の生存度を正確に評価し得るかどうかについて検討を行った。多剤併用療法の前後の患者検体において 16S rRNA 前駆体の定量比較を行ったところ、多剤併用療法後の検体では 16S rRNA 前駆体が低下する傾向を示した。 このことは、16S rRNA 前駆体がハンセン病の治療効果を評価する上で、有効な指標分子となり得ると考えられる。

[宮本友司、向井 徹、甲斐雅規、前田百美]

2. マクロファージ内におけるらい菌の生存機構

らい菌感染マウスマクロファージ(Mφ)を IL-10 持続存在下にてらい菌の至適発育温度である 32 度で長期培養すると 2ヶ月間にわたってMφ内らい菌の代謝活性が低下しなかった。一方、IL-10 非添加対照培養では代謝活性が著しく減少した。35 度で培養したヒトMφ中でも IL-10 添加により非添加培養に比べらい菌の代謝活性はより長期間維持された。Western blot 法により各種 phox(ファゴゾームオキシダーゼ構成タンパク)の発現を調べたところ、IL-10 存在下で培養するとp22-phoxとp67-phoxの発現が低下した。IL-10 により phox

発現が抑制され phox による酸素ラジカル産生量が減少し殺菌作用が低下したことが、らい菌の代謝活性維持につながったと思われ、病巣で IL-10 が発現している多菌型ハンセン病におけるらい菌増殖機構の一因が示された。

［福富康夫］

Ⅴ． 抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

１．らい菌 *gyrBA* 遺伝子とキノロン耐性に関する研究

M. smegmatis の DNA ジャイレース遺伝子 *gyrBA* をらい菌、結核菌、*M. avium* のもので置換した株を作製し、オフロキサシン他４種のキノロン系薬剤の MIC を測定したところ、らい菌 *gyrBA* を持つ菌では他のものに比べ 1/4 程度の MIC を示し、らい菌 DNA ジャイレースのキノロン感受性が高いことが示唆された。これら作製した菌は、人工培養不可のらい菌に対して有効なキノロン系薬剤をスクリーニングするために有用と考えられる。

[中田登、吉田光範、星野仁彦]

2. らい菌 DNA ジャイレースの温度感受性に関する研究

らい菌の *gyrBA* で置換した *M. smegmatis* は 33℃で増殖したが、37℃で増殖しなかった。ハンセン病の病態と関係が深いらい菌の温度感受性増殖の少なくとも一因が DNA ジャイレースの温度感受性であることが示された。作製した菌から 37℃で増殖する変異株を分離したところ、*gyrB* と *gyrA* のそれぞれ1か所に変異が見られた。

[中田登、吉田光範、星野仁彦]

３．抗酸菌のクロファジミン耐性に関わる遺伝子

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 MIC を示し、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た。RNA-seq で mRNA の発現を網羅的に比較したところ、どちらの株も tetR-mmpS-mmpL の遺伝子クラスタの発現が特異的に高くなっており、このことは qPCR でも確認され、これが耐性の原因であることが示唆された。

[中田登、吉田光範、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）63 症例（2017 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、宮本友司、小椋義俊（九州大学）、林哲也（九州大学）、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. 近代のハンセン病学術誌の研究

1897 年の「第一回国際らい会議」以降、世界ではハンセン病患者の隔離が進展したが、その学術的な背景、意思決定過程は未だ明らかではない。本研究では第一回国際らい会議以降の国際学術誌を研究し、ハンセン病隔離政策の進展に医学がどのように関与したのかを検証している。

[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）、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）]

3. 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とデジタル化が進み、約 3 千点の資料のデータベース化が行われ、ベータ版の条件付き公開が開始さ

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、尾崎元昭(京都大学、国立療養所長島愛生園)、野上玲子(国立療養所菊地恵楓園]

4. 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の高タイター化を試みている。

[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

これまでメキシコにおいてハンセン病患者のうち症状が激しいルシオ現象を疑われた患者由来バイオプシーサンプルを得たので、*M. lepromatosis* 菌の検出、薬剤耐性関連遺伝子の変異の有無を調べ。19 サンプル中 2 サンプルで本菌を検出した。2 サンプルの薬剤耐性遺伝子では特徴的なサイレント変異と1カ所アミノ酸の置換を伴う変異を発見した。これら変異が *M. lepromatosis* 特有の配列であるのか、また薬剤耐性と相関があるのか等を証明するため、さらに多くのらい菌 DNA について世界各国からこれまで収集したサンプルについて *M. lepromatosis* の検出と特徴的な変異の有無を調査している。これまで数サンプルで一部の *M. lepromatosis* に特徴的な配列を検出した。

［甲斐雅規、宮本友司、向井　徹］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kai M, Fafutis-Morris M, Miyamoto Y, Mukai T, Mayorga-Rodriguez J, Rodriguez-Castellanos MA, Martínez-Guzman MA, Matsuoka M. 2016. Mutations in the drug resistance-determining region of *Mycobacterium lepromatosis* isolated from leprosy patients in Mexico. *J Dermatol*., doi: 10.1111/1346-8138.13483.

2) Namkoong H, Kurashima A, Morimoto K, Hoshino Y, Hasegawa N, Ato M, Mitarai S. 2016 Nationwide survey on the epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in Japan(1). Emerg Infect Dis. 22:1116-7. doi:10.3201/eid2206.151086.

3) Miyamoto Y, Mukai T, Matsuoka M, Kai M, Maeda Y, Makino M. 2016. Profiling of Intracellular Metabolites: An Approach to Understanding the Characteristic Physiology of *Mycobacterium leprae*. *PLoS Negl Trop Dis.* 10: e0004881. doi:10.1371/ journal.pntd.0004881.

4) Nomura H, Funakoshi T, Chaya A, Tanikawa A, Miyamoto Y, Ishii N. 2016. Cutaneous *Mycobacterium massiliense* infection after body piercing. *Eur J Dermatol* 26: 635-637. doi: 10.1684/ejd.2016.2870.

5) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, Makino M. 2016. Enhanced protective efficacy against tuberculosis provided by a recombinant urease deficient BCG expressing heat shock protein 70-major membrane protein-II having PEST sequence. *Vaccine* 34:6301-6308. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.10.069.

6) Yoshida M, Nakanaga K, Ogura Y, Toyoda A, Ooka T, Kazumi Y, Mitarai S, Ishii N, Hayashi T, Hoshino Y. 2016. Complete genome sequence of *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*. *Genome Anouncements* 4: pii: e01050-16. doi: 10.1128/genomeA.01050-16..

7) Mitjà O, Marks M, Bertran L, Kollie K, Argaw D, Fahal AH, Fitzpatrick C, Fuller LC, Garcia Izquierdo B, Hay R, Ishii N, Johnson C, Lazarus JV, Meka A, Murdoch M, Ohene SA, Small P, Steer A, Tabah EN, Tiendrebeogo A, Waller L, Yotsu R, Walker SL, Asiedu K. 2017. Integrated control and management of neglected tropical skin diseases. *PLos Negl Trop Dis* 11: e0005136. doi: 10.1371/journal.pntd.0005136.

8) Morimoto K, Hasegawa N, Izumi K, Namkoong H, Uchimura K, Yoshiyama T, Hoshino Y, Kurashima A, Sokunaga J, Shibuya S, Shimojima M, Ato M, Mitarai S. 2017 A Laboratory-Based Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in Japan from 2012 to 2013. *Ann Am Thorac Soc.* 14: 49-56. doi: 10.1513/AnnalsATS.201607-573OC.

2. 和文発表

1) 石井則久:感染症の最新動向. MB Derma 242(増): 1-6, 2016.

2) 菅原万理子、石井則久:ブルーリ潰瘍のすべて. MB Derma 242(増): 115-122, 2016.

3) 石井則久:皮膚結核. 皮膚科研修ノート(佐藤伸一、藤本　学編集), p440-441, 診断と治療社(東京), 2016年.

4) 石井則久:感染症法. 皮膚科研修ノート(佐藤伸一、藤本　学編集), p603-606, 診断と治療社(東京), 2016年.

5) 野網淑子、堀米玲子、奥山隆平、中永和枝、石井則久:顔面の日光角化症の部位に生じた *Mycobacterium chelonae* 感染症の1例. 皮膚臨床 58: 1188-1191.

6) 森　修一、向井　徹、四津里英、石井則久:ハンセン病医学夏期大学講座の啓発効果に関する研究. 日本ハンセン病学会雑誌 85: 55-64, 2016.

7) 谷口真也、山本敬三、新谷洋一、石井則久、森田明理:LL型Hansen病の2例. 臨皮 70: 801-806, 2016.

8) 石井則久:抗酸菌感染症. JOHNS 32: 1553-1555, 2016.

9) 西口麻奈、渡邊有史、上中智香子、古川福実、小森涼子、安井昌彰、村田顕也、伊東秀文、立石千晴、鶴田大輔、石井則久、金澤伸雄:サルコイドーシスと診断されていた多菌型ハンセン病の日本人新規発症例. 日皮会誌 126: 2433-2439, 2016.

10) 四津里英、石井則久、和泉眞藏、岡野美子、甲斐雅規、熊野公子、野上玲子、前田百美、宮本友司:第19回国際ハンセン病学会参加報告―2016年9月―. 日本ハンセン病学会雑誌 85: 169-172, 2016.

11) 水野雄貴、伊藤　満、周　円、中山麻美、山内雅裕、石井則久、清島真理子:滞日東ティモール人にみられた多菌型ハンセン病の1例. 皮膚臨床 58: 2027-2031, 2016.

12) 石井則久:皮膚結核、非結核性抗酸菌症. 今日の治療指針 2017（福井次矢、高木　誠、小室一成総編

集）, p1214-1215, 医学書院（東京）, 2017 年.

13) 石井則久：非結核性抗酸菌症. 皮膚疾患最新の治療 2017-2018（渡辺晋一、古川福実編集）, p170, 南江堂（東京）, 2017 年.

14) 三井田　博、三輪　仁、池滝勝史、石井則久、中永和枝：両側前腕に病変が多発したブルーリ潰瘍の 1 例. 臨皮 71: 71-76, 2017.

15) 福澤正男、宮本友司、石井則久：結核ともハンセン病とも違う皮膚抗酸菌症：ブルーリ潰瘍. Visual Dermatology 16: 346-348, 2017.

16) 森修一:草津温泉とハンセン病 - 日本人による救済の進展 - 日本ハンセン病学会雑誌 85: 79 -86 2016.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tamura T., Y. Shimohakamada, and M. Umemura. Enhancing effect of Peptide-25 on the induction of functional activation of CD8 cytotoxic T lymphocytes. 16th International Congress of Immunology, 21-26 August 2016. Melbourne, Australia.

2) Shimohakamada Y., T. Tamura, and M. Umemura: The role of IL-21 producing and non-producing follicular helper T cells in mycobacterial infection. 16th International Congress of Immunology, 21-26 August 2016. Melbourne, Australia.

3) Umemura M, M. Fukui, T. Tamura, S. Nakae, Y. Iwakura, and G. Matsuzaki. The involvement of IL-17A and IL-17F in chronic puimonary mycobacterial infection. 16th International Congress of Immunology, 21-26 August 2016. Melbourne, Australia.

4) Miyamoto Y, N. Ha Nguyen Phuc, M. Kai, Y. Maeda, T. Mukai, Thanh Tan Nguyen: Characterization of pre-rRNA as a viability indicator for *Mycobacterium leprae*. 19th International Leprosy Congress, 18-21 September 2016. Beijing, China.

5) Maeda Y., T. Mukai, H. Wang and T. Tamura. Search for biomarkers of *M. leprae* infection. 19th International Leprosy Congress, 18-21 September 2016. Beijing, China.

6) Yotsu RR., N. Ishii, K. N'guessan, A. Akpa, A. Yao, J. Akê, K. Kouadio, RA. Abbet and B. Vagamon: School-based survey for neglected tropical diseases presenting skin symptoms (Skin NTDs) in Côte d'lvoire: project implementation and preliminary results. 19th International Leprosy Congress, 18-21 September 2016. Beijing, China.

7) Tsukamoto Y, Y. Maeda, T. Tamura, T. Mukai, S. Mitarai, S. Yamamoto, and M. Makino.: Development of the Vaccine Efficacy of Recombinant BCG Producing the Major Membrane Protein-II (MMPII) antigen. Keystone Symposia, New Developments in Our Basic Understanding of Tuberculosis, January 14-18, 2017. Vancouver, British Columbia Canada

8) Maeda Y. T Mukai, Y Tsukamoto, and T. Tamura. Efforts to detect paucibacillary leprosy patients by serological methods. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim 9-10 February, 2017. Seoul, Republic of Korea.

9) Mukai T, Y. Maeda, and Y. Miyamoto. Production and screening of *M. leprae* specific antigens for detection of leprosy. 51st US-Japan Cooperative Medical Science Program, 9-10 January 2017. Seoul, Republic of Korea.

10) Mukai T, Development of detection methods for *M. leprae* infection. The 2nd International Conference on the Control Measure of Neglected Tropical Diseases, 20 February 2017. Obihiro.

11) Yotsu RR., C. Murase, M. Sugawara, K. Suzuki, Y. Miyamoto, M. Yoshida, and N. Ishii: Buruli ulcer in Japan: update 2015-2016. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research, 20-22 March. 2017. Geneva, Switzerland.

12) Yotsu RR., A. Akpa, K. N'Guessan, A. Yao, A. N'Guetta, E. Yeboue, N. Ishii, K. Kouadio, RA. Abbet and B. Vagamon: Skin disase prevalence survey among primary schoolchildren in Cote d'Ivoire: focus on Buruli ulcer, leprosy, and yaws (skin NTDs): project implementation and preliminary results. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research, 20-22 March. 2017. Geneva, Switzerland.

13) Yoshida M, K. Nakanaga, Y. Miyamoto, M.Sugawara, RR. Yotsu, N. Ishii, and Y. Hoshino: Whole-genome comparative analysis of *Mycobaterium ulcerans* subsp. *shinshuense* and other mycolactone-producing mycobacteria. WHO Meeting on Buruli ulcer Control and Research, 20-22 March. 2017. Geneva, Switzerland.

2. 国内学会

1) 星野仁彦、吉田光範、中田　登:Clofazimine と

Bedaquiline 両薬剤耐性を示す *Mycobacterium avium* 実験室株の解析. 第 91 回日本結核病学会総会. 2016 年 5 月　金沢市

2) 吉田光範、星野仁彦、中田　登：結核菌 *gyrBA* 遺伝子変異とフルオロキノロン耐性の新たな解析法. 第 91 回日本結核病学会総会. 2016 年 5 月　金沢市

3) 朝倉崇徳、石井　誠、南宮　湖、八木一馬、鈴木翔二、鎌田浩史、鹿住祐子、中田　登、上蓑義典、藤原　宏、西村知泰、田坂定智、星野仁彦、長谷川直樹：節外政鼻型 NK/T 細胞リンパ腫と鑑別を要した播種性 *Mycobacterium marinum* 症の 1 例. 第 91 回日本結核病学会総会. 2016 年 5 月　金沢市

4) 甲斐雅規、向井 徹、宮本友司、松岡正典：メキシコ検体を用いた *M. lepromatosis* 検出とその薬剤耐性関連遺伝子解析.第 89 回日本ハンセン病学会総会. 2016 年 6 月　草津町

5) 前田百美、向井 徹、宮本友司、田村敏生、牧野正彦、Hongsheng Wang: MMP-II を用いた中国西南部地域のハンセン病患者の血清診断. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月　草津町

6) 向井 徹、前田百美、宮本友司、松岡正典、Benjawan Phetsuksiri: LAMP 法によるらい菌簡易迅速検出法の開発とその応用. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月　草津町

7) 前田百美、向井　徹、宮本友司、田村敏生、牧野正彦、Hongsheng Wang:　MMP-II を用いた中国南西部地域のハンセン病患者の血清診断. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会　2016 年 6 月 草津町

8) 向井 徹、前田百美、宮本友司、松岡正典、Benjawan Phetsuksiri. LAMP 法によるらい菌簡易迅速検出法の開発とその応用. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月　草津町

9) 石井則久：新興・再興感染症－結核、ハンセン病、ブルーリ潰瘍など－. 第 115 回日本皮膚科学会総会, 2016 年 6 月 京都市

10) 金澤伸雄、渡辺有史、西口真奈、上中智香子、古川福実、小森涼子、村田顕也、伊東秀文、立石千晴、鶴田大輔、石井則久：多菌型ハンセン病を新規に発症した日本人の 1 例. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会, 2016 年 6 月 草津町

11) 石井則久、四津里英：ハンセン病新規患者の動向. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会, 2016 年 6 月 草津町

12) 森　修一:草津温泉とハンセン病　－日本人による救済の進展－. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月　草津町

13) 森　修一、田中丹史、廣野義幸: 近代のハンセン病学術誌の研究. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月　草津町

14) 森　修一、廣野義幸、川西健登:近現代ハンセン病資料アーカイブス(The archives of materials on Hansen's disease in modern times)事業の進展と展望. 第 89 回日本ハンセン病学会総会・学術大会. 2016 年 6 月　草津町

15) 山岡聖子、中村和子、岡田里佳、井上雄介、河野真純、蒲原　毅、石井則久、中森三千代：在日バングラデシュ人にみられたハンセン病の 1 例. 第 866 回日本皮膚科学会東京地方会神奈川地区, 2016 年 6 月 横浜市

16) 遠藤真澄　：抗酸菌感染後の末梢神経の修復とシュワン細胞における脂肪滴蓄積との関係について. 第 59 回日本神経化学会大会. 2016 年 9 月 福岡市

17) 塚本裕美子、前田百美、向井徹、田村敏生、宮本友司、御手洗聡、山本三郎、牧野正彦: MMP-II 抗原を使用した新規リコンビナント BCG の開発. 抗酸菌研究会. 2016 年 9 月 沖縄県中頭郡

18) 千葉美紀、簗場広一、小原明希、中川秀己、吉田　健、石井則久：*Mycobacterium marinum* による関節炎の 1 例. 第 80 回日本皮膚科学会東部支部学術大会, 2016 年 10 月 浜松市

19) 大場　操、石部純一、白濱茂穂、八木悠樹、榎本泰典、小澤雄一、若林　康、石井則久：*Mycobacterium chelonae* による全身播種状皮疹. 第 80 回日本皮膚科学会東部支部学術大会, 2016 年 10 月 浜松市

20) 長田麻友美、原　真喜子、石井則久、青笹尚彦：右手に生じた *Mycobacterium marinum* による非結核性抗酸菌症. 第 869 回日本皮膚科学会東京地方会, 2016 年 11 月 中央区

21) 前田百美、田村敏生、遠藤真澄、向井　徹、牧野正彦.ハンセン病の抹消神経障害に関わるバイオーマーカーの探索・シュワン細胞由来のエキソソームの役割. 第 39 回日本分子生物病学会年会　2016 年 11 月　横浜市

22) 大方詩子、渡辺絵美子、宮川俊一、石井則久：ネパール人に生じたハンセン病の 1 例. 第 871 回日本皮膚科学会東京地方会, 2017 年 1 月 伊勢原市

23) 竹下雅子、井上多恵、宮田聡子、出光俊郎、石井則久：在日ネパール人に発症したハンセン病の 1 例. 第 80 回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 2017 年 2 月 横浜市

24) 山岡聖子、中村和子、石井則久、千葉由幸：ハンセン病の 1 例. 第 80 回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 2017 年 2 月 横浜市

25) 石井則久：皮膚抗酸菌症の診断と治療. 第 80 回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 2017 年 2 月 横浜市

26) 田村愛子、栗山幸子、鈴木陽子、冨田浩一、宮本友司、石井則久：*Mycobacterium marinum* 感染を疑った皮膚非結核性抗酸菌症の一例. 第 117 回日本皮膚科学会静岡地方会, 2017 年 3 月 浜松市

27) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, and Makino M.: Development of the new recombinant BCG utilizing MMPII antigen and PEST sequence. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月 仙台市

28) Nakata N, Yoshida M, and Hoshino Y. Analysis of fluoroquinorone susceptibility and temperature sensitivity of the *Mycobacterium lerpae* DNA gyrase. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月 仙台市

29) Yoshida M, Hoshino Y, and Nakata N. A novel method for assessing Mycobacterium tuberculosis *gyrBA* mutations and fluoroquinolone resistance. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月 仙台市

24. 総務部総務課図書室

図書室長(総務課長併任)三好　英文

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 28 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			93	183	276
	購入		48	4	52
		電子版	47	0	47
	交　換		18	6	24
	寄　贈		27	173	200
単行本			68	135	203
	購入		18	10	28
		電子版	1	0	1
	寄　贈		50	125	175

文献相互貸借状況		供与	依頼	合計
総数		182	1,422	1,604
	三庁舎間	92	92	184
	外部機関総数	90	1,330	1,420
	協力機関	34	190	224
	国公立大学/機関	30	670	700
	私立大学/機関	26	470	496

[編集翻訳係]

編集翻訳係では,平成 28 年度は JJID vol. 69 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, 5 月に花木賢一が編集委員として加わった. 編集方針に変更はなかった.

科学技術振興機構(JST)が運営する電子ジャーナル共同利用センター(J-STAGE)が提供するシステムを利用して, 投稿受理, 査読, 審査, 掲載等の作業がなされた. その運用も順調になされ, 投稿数も 2.8 倍に増えた. 海外からの投稿が 84%を占め, 47 ヵ国に及んだ.

第 26 回感染研シンポジウムの演者及び 28 年 3 月 31 日をもって退官した方々に総説の執筆を依頼した.

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. 1/86 頁(16 編), 2/78(16), 3/108(20), 4/84(23), 5/100(22), 6/85(18)

投稿論文数　感染研内　8 編
　　国内　94 編
　　海外　493 編　(47 ヶ国)

採択率　17%

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、翌平成 6 年度より研究情報ネットワーク（NIH-NET）整備事業として本格的な情報ネットワークが導入された。NIH-NET は、所員の e-mail の利用・Web サイト閲覧・公式 Web サイトの開設などの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 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。このシステムは、平成 27 年 4 月からシステム構成をほぼ同一にしたままで「政府共通プラットフォーム」上に移行され、サーバ能力が増強された。一方、NIH-NET は、平成 24 年度のシステム更新時に仮想サーバシステムを本格導入するととも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 28 年度のシステム更新では、このコンセプトをさらに推し進め、主要なサーバをすべて仮想マシンとして運用する構成とした。また、研究環境における情報量の増大に対応するため、ネットワーク末端まで 1Gbps で通信できる環境と、3 拠点および SINET 間の通信帯域の増強を行った。

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。これらの文書には、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。平成 19 年より NIH-NET を含めた所内の情報システムのセキュリティに総合的に対応するため、研究情報委員会を情報セキュリティ委員会に組織再編した。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」が施行された。これに従って、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等のインシデント発生時の即応能力を求める体制整備をせまった。研究情報運営委員会は、本省サイバーセキュリティ担当参事官室に相談するとともに、インシデント対策組織である CSIRT（Computer Security Incidence Response Team）の設立を所に促し、同年度末にこれが発足した。平成 28 年度には、

サイバーセキュリティ担当参事官室による情報セキュリティ監査による指摘を受け、この実施手順に最新の厚生労働省セキュリティポリシーで追加されているいくつかの項目を追加する改訂を行った。

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 28 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）NIH-NET ネットワーク・サーバ・運用体制の各システムの更新工事の仕様策定・入札/業者決定・更新作業を行った

（2）追加セキュリティ対策として、クライアント管理ツールとエンドポイント対策ツールの統括サーバの設営を行った

（3）標的型メール攻撃訓練を実施した

（4）厚生労働省の情報セキュリティ監査の報告を受け、最新の情報セキュリティ統一基準に合わせた体制への変更作業を行った

Ｖ．平成 28 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は以下の通りである。

1．16/08/22　**村山庁舎 6 号棟 1 階の床上浸水**

台風９号による浸水被害

６号棟 1 階機器室のスイッチ電源ケーブル等が水没

2．16/08/31　**DDBJ からの返事が来ない**

外部メールセキュリティサービスによるスパムチェックの基準が厳しくなったため。後日、修正された

3．17/01/19　**栄養研 LAN から外部への不審な大量通信の試み**

栄養研クライアントへの Trojan.zbot (zeus)の注入

2017/1/15 午前 11:15 ごろ起動（侵入経路・時間は不明）

1/19 午前中に除去

3．17/03/15　**SINET 回線用ルータの不全による通信の遅延**

WindowsUpdate の通信量増大にともなう回線容量の飽和→なんらかの原因で SINET と接続しているルータの設定が half-duplex に変更→大幅な遅延の発生

WindowsUpdate への方策を色々取ったが、4 月の更新（Windows 10 Creators Update）も非常に大きいためこのあと通信遅延が長期にわたり問題となった

26. 広報委員会

広報委員長　阿戸 学

概 要

広報委員会は、国立感染症研究所の研究活動等を広く社会に公表し、理解を得ることにより開かれた研究所とすることを目的として、広報活動に関する業務を遂行している。また、広報委員会の業務を円滑に遂行するために、各部・センター・省令室から委員一名を選出し、戸山庁舎および村山庁舎でそれぞれ、広報運営委員会を組織している。広報委員会の業務を支援するために、委員の他に、再任用職員２名が委員会業務をおこなっている。委員会の庶務は調整課で処理される。

広報委員会の活動内容は以下の通りである。

(1)研究所概要(パンフレット、広報ビデオ、インターネットホームページを含む)等の作成およびその更新・改定の実務。
(2)研究所一般公開の企画・運営に関わる実務。
(3)市民向けセミナー「知の市場」の企画・運営に関わる実務。
(4)研究所見学・研修ならびに出前授業、および取材対応に関わる業務。
(5)その他広報に関すること。

広報委員会で実施された業務の概要は以下のとおりである。

1. 感染研村山庁舎一般公開
2. 感染研戸山庁舎一般公開
3. 市民向けセミナー「知の市場」
4. 武蔵村山市立雷塚小学校出前授業
5. しののめ自治会夏祭りでの感染研ブース設置
6. サイエンスアゴラ出展(大阪市立大学との共催)

業 績

1. 感染研村山庁舎一般公開

村山庁舎近隣住民、とくに小・中学性およびその保護者を対象とするため、地域学童の自由研究に参考になるものが望ましいと考え、7月 30 日(土)13:00-17:00 の開催とした。村山庁舎広報運営委員会を新設し、ウイルス第二部片山和彦実行委員長の元、佐賀県の協力とともに、一般公開の企画運営を行った。70 名の感染研職員等がスタッフとして参加し、パネル展示(薬剤耐性、インフルエンザ、MERS、感染研業務(国家検定)、病原体の種類、エボラウイルス検査)、サイエンスカフェ、手洗い実習、病原体写真展、ゲーム、模型工作、バイオセーフティラボ体験、敷地内ツアーを実施した。来場者は 213 名に達し、来場者アンケートの結果からは、概ね好評であることが判明した。

2. 戸山庁舎一般公開

戸山庁舎一般公開は、平成 22 年度に企画の見直し等を行って以来、9月末または10月初旬に開催されており、継続性と来場者への浸透を図るため、10 月 1 日(土)10:00-17:00 の開催とした。村山庁舎一般公開が本格的に開催されることになり、委員等の業務過多を防ぐことも課題となった。寄生動物部森島実行委員長の元、戸山庁舎ならびにハンセン病研究センターで戸山庁舎広報運営委員会を再組織し、一般公開の企画運営を行った。137 名の感染研職員等が参加し、パネル展示(TORCH、ハンセン病、遺伝子獲得機構、口腔細菌、病原体の種類、感染研業務(国家検定・国際協力))、講演、感染症クイズ、サイエンスカフェ、手洗い実習、病原体写真展、ゲーム、模型工作、病原体・昆虫標本展示、バイオセーフティラボ体験、実験体験コーナー、ラボ見学を実施した。来場者は 468 名に達し、来場者アンケートの結果からは、概ね好評であることが判明した。特筆すべき事項として、浅沼厚生労働省結核感染症課長がサイエンスカフェの演者として参加した。また、国立国際医療研究センターの忽那医師が講演講師として参加した。また、厚生労働省肝炎総合対策推進国民運動事業「知って、肝炎」プロジェクトと共催、佐賀県の協力の元で、知って肝炎プロジェクトスペシャルサポーターである元プロレスラーの小橋建太氏が来場し、肝炎検査の啓発および肝炎クイズを行った

3. 市民セミナー「知の市場」

「知の市場」と共催で、週1回2時間、15コマの感染症総合管理 1c「感染症との戦いー現在問題となっている感染症」(4 月−7 月)、感染症総合管理 1d「感染症対策〜ワクチンを中心に」(9 月−12 月)を開催した。感染研職員のべ 30 名が講師としてそれぞれ 1 コマを担当した。受講者数は、感染症総合管理 1c が 39 人、感染症総合管理 1d が 25 人であった。講義の出席、小レポートの提出、及び所長による最終セポートの評価に基づき成績をつけ、それぞれ 1c で 14 人、1d で 9 人に修了証を授与した。

4. 武蔵村山市立雷塚小学校出前授業

雷塚小学校からの「病気の予防に関する授業」依頼に基づき、雷塚小学校理科室において、平成 29 年 2 月 10 日に、6年生を対象とした授業2コマを実施した。講師は感染症疫学センター多屋馨子室長が、「「はしか」について」講義、啓発 DVD の紹介を行い、その後顕微鏡を用いて、真菌部作成による微生物標本の観察を行った。また、2 月 24 日に 1 年生を対象とした授業 3 コマを実施した。講師は昆虫医科学部葛西真治主任研究官が、「「蚊」について」講義を行い、その後蚊の模型工作を行った。講師の他に、10 名の研究職員が観察・工作のサポートとして参加した。

終了後、授業に参加した児童全員および感想文を受取り、好評であったことが伺えた。

5. しののめ自治会夏祭りブース出展

7 月 23 日(土)武蔵村山市大南公園において、所長および副所長が来賓として参加することに伴い、感染研と

してブースを出展した。広報委員会から4名、業務管理課から3名が参加し、7月30日に行われる予定の一般公開の宣伝、パズル等による感染研の紹介と感染症に関する啓発活動を行った。

6. サイエンスアゴラ出展

科学技術振興機構（JST）が主催する全国規模の科学コミュニケーションであるサイエンスアゴラ（開催地：東京お台場地域）に、感染症への高まる注目に対して、「微生物リテラシー」の涵養を図るという目的で、大阪市立大学が中心となって出展した「バイキンズワールド 2016」に共催として参加した。感染症の予防法・治療法、身近な感染症、耐性菌などについての解説を掲載したパネル展示、タブレットを使った感染症クイズやゲーム、病原体の写真と映像の展示を行った。感染研の参画として、病原体の電子顕微鏡写真の提供と、職員2名が開催当日スタッフとして参加した。