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するとともに地域の皆様への情報発信等に努めてきた。本年度も村山庁舎施設運営連絡協議会を 3 回開催し情報の公開を行うとともに、委員からの意見集約に努めた。また、村山庁舎一般公開を 7 月 29 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 9 月 30 日に開催した。5 月 22 日には感染研シンポジウム“薬剤耐性菌の現状と対策”を行った。また、アウトリーチ活動の一環として、知の市場を前後期にわたり開催した。

海外の国立研究機関との連携・共同研究においては、中国 NIFDC 及び韓国 NIFDS との第 3 回ワクチン品質管理及び研究に関するシンポジウム（5 月 8-9 日、中国北京）、中国 CDC 及び韓国 CDC との第 11 回日中韓感染症フォーラム（11 月 7 日、韓国ソウル）、台湾 CDC との第 14 回日台感染症シンポジウム（9 月 5-6 日、感染研）が開催された。また、ベトナム NIHE との共同研究ワークショップ（8 月 22-23 日、感染研）が開催された。

新たな国際協力体制の構築のため、5 月 8 日中国食品医薬品検定研究院（NIFDC）とワクチン及び生物製剤の品質管理研究分野の研究協力等に関する覚書を、さらに、10 月 11 日 タイ国立生物製剤品質管理研究所（IBP）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。海外諸国との技術協力として、48 カ国から 227 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、48 カ国 420 名の派遣を行った。

国立感染症研究所は WHO インフルエンザ協力センターとして世界のインフルエンザ対策において大きな役割を果たした。また、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並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役割を果たした。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、感染症情報の収集・解析を行うとともに、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19期生を迎えた。さらに、ワクチン副反応報告について集計・解析を行い、結果を厚生労働省、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年に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」に基づき、平成29年4月1日薬剤耐性研究センターがハンセン病研究センター庁舎に設置された。国内外の実態調査や、耐性メカニズム研究、抗生物質の品質管理、薬剤耐性対策に資する新技術開発、病院の感染症対策支援等の業務を行った。

生物製剤の品質管理においては、10月25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。11月17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30年2月14日に開催された。本年度は10研究部(ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、細菌第一部、細菌第二部、寄生動物部、感染病理部、免疫部、真菌部、細胞化学部)について、評価が実施された。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において以下の人事異動があった。4月1日、中崎宏司が総務部長に就任した。5月1日、阿戸学が感染制御部長に就任し、免疫部長を併任することとなった。7月31日、野崎智義寄生動物部長が退職した。10月1日、村松正道がウイルス第二部長に、久枝一が寄生動物部長に就任した。平成30年1月1日、菅井基行が薬剤耐性研究センター長に、高橋宜聖が免疫部長に就任した。平成30年2月1日、石井則久が全生園に転出し、ハンセン病研究センター長を併任することとなった。平成30年3月31日、倉根一郎所長が定年退職、中崎宏司総務部長が退職、加藤篤品質保証・管理部長が定年退職した。また、石井則久のハンセン病研究センター長併任が解除された。

1．ウイルス第一部

部　長　　西條　政幸

概　要

2017 年度には以下の人事異動があった．2017 年 4 月 1 日付けで，加藤文博氏とギジェルモ・ポサダス・エレラ氏がともに研究員（若手育成型）として，それぞれ第三室と第二室に着任した．また，主任研究官中山絵里氏は同年 4 月 1 日付けでオーストラリア QIMR Berghofer Medical Research Institute（Andreas Suhrbier 教授）に研究留学のために休職に入った．

ウイルス第一部では出血熱ウイルス，新興ウイルス感染症，ポックスウイルス，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等），リケッチア（つつが虫病，日本紅斑熱等），クラミジア（性器クラミジア，オウム病クラミジア等），Q 熱の基礎研究，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．

第一室においては,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，高度弱毒化細胞培養痘瘡ワクチンに外来遺伝子を挿入するシステムを用いて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．具体的には SFTS ウイルスやエボラウイルスに対するワクチン開発研究が推進された．その他，デングウイルス感染症の重症化機序を解明する研究も進められた．高度封じ込め施設において，霊長類を用いて抗体製剤の SFTS に対する治療効果を調べる研究が実施された．さらに，抗ウイルス薬ファビピラビルの SFTS 患者における治療の有用性を調べる医師主導型臨床研究に，ウイルス学的診断やウイルスゲノム量測定などにおいて貢献した．

SFTS ウイルスと同様にブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類され，米国で重症感染症を引き起こすハートランドウイルス感染症に関する研究と新興ウイルス感染症に関する研究として，近年日本で発見された Soft tick bunyavirus（Issyk-kul fever を起こす Issyk-kul virus と近縁）と Issyk-kul virus について，病原性の解析や治療・予防法を開発する研究が開始された．

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），日本脳炎ウイルスおよび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，チクングニア熱，およびデング熱等のウイルス学的な検査が実施された．

特にジカウイルス感染症研究においては，I 型インターフェロン（IFN-α/β）受容体欠損マウスおよび霊長類を用いた感染モデルの開発，ワクチン開発，アフリカ型ジカウイルスとアジア型ジカウイルスの病原性の違いを規定する因子に関する研究が進められた．これらは，日本医療研究開発機構（AMED）からの研究支援で実施されているジカウイルス感染症対策研究において中心的なものとなっている．

日本脳炎ウイルスに関する研究では，遺伝子型Ⅴ型の日本脳炎ウイルスに関する研究が精力的に実施された．近年，中国や韓国では遺伝子型Ⅴ型日本脳炎ウイルスが分離，検出されていることから，その流行動向や病原性については，国際的にも注目されている．

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，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.

神経ウイルス感染症の診断能力強化のため，アメリカ大陸や欧州で流行している節足動物媒介性ブニヤウイルスによる脳炎（LaCrosse ウイルス等）の診断システムを開発して整備する研究が開始された.

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．アシクロビル（ACV）等に耐性を示す HSV-1 による感染症に関する基礎的研究の他，国内の医療機関から難治性の HSV-1 感染症および HCMV 感染症患者における原因ウイルスの薬剤感受性検査を多数引き受けた．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，つつが虫病等）対策に関する総合的研究，リケッチア症検査に開発と評価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，リケッチア分離株のリソース構築を行うとともに，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とリスク評価に関する研究も継続された．リケッチアに関する基礎的研究では，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に関する分子生物学的解析等が実施された．エーリキア症に関する研究も実施された.

以上の研究活動に対して，厚生労働省，AMED，文部科学省，等から研究費の助成を受けた.

2017 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，水痘ワクチンおよび水痘抗原の国家検定と黄熱ワクチンの依頼検査，クラミジア・トラコマティスの体外診断薬の承認前試験の検討を担当した．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および患者検体に関する行政検査，依頼検査を担当した．各病原体に関するレファレンス活動，各種国際協力活動を行った．AMED の助成により 1 名の流動研究員を受け入れた．また，各室において協力研究員と，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 ウイルスの治療用ヒト抗体に関する研究

SFTS は症状が重篤で致命率が約 20%と高い．効果の認められている特異的な治療法はない．カニクイザルを用いたこれまでの研究で SFTS ウイルス（SFTSV）に対する抗血清より精製された抗体投与が治療効果を示すという結果が得られている．そこで，より高い効果と大量調整を可能とするために，治療効果を有するヒト単クローン抗体作製が可能かどうか検討した．SFTS 回復期患者から提供された末梢血単核球を SFTSV 抗原で刺激し，活性化された B 細胞から抗体遺伝子をクローニングした．再構築させたヒト抗体を，SFTSV を感染させた 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，生存期間の延長，体重減少の遅延，もしくは救命効果を示すヒト単クローン抗体が得られた．しかし，その効果は十分とは言えず，親和性の向上や抗体の修飾等により，より治療効果が高い抗体に改変する必要があると考えられた．［下島昌幸，杉元聡子，黒須剛，福士秀悦，吉河智城，西條政幸；高橋宜聖（免疫部）］

2）SFTS ウイルスの系統学的解析

私たちは以前に中国，韓国，そして日本に分布している SFTSV の分子疫学的，系統学的解析を行いその結果を報告した（J Infect Dis. 2015. PMID: 25762790）．その後，特に韓国で同定された多数の SFTSV の全ゲノム配列が Genbank に登録され

たことから，新たに登録された配列を含めて再度系統樹解析を実施した．また，他の研究グループよりなされた研究をもとに，中国，韓国，日本における系統学的解析結果と地理的な分布との関連について詳細に検討した．系統樹は以前の研究結果と類似した樹形となり，ウイルス株の地理的分布と良く相関し，中国株と日本株の二つのクラスターに分類された．新たな知見として，中国の舟山島，韓国の済州島そして日本の宮崎県には日本株の遺伝子型である J3 が多く存在していることが明らかになった．SFTSV を保持するダニは海を越えて運ばれていること，そして運び役を担うトランスポーターの存在が示唆された．［吉河智城，下島昌幸，渡部俊平，杉元聡子，Supranee Phanthanawiboo，黒須剛，福士秀悦，緒方もも子，西條政幸］

3）SFTS の疫学調査に関する研究

2016年度までに，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，鹿児島県内の SFTS 流行地域において，ダニに噛まれるリスクが高い狩猟関係者とそのリスクの低い一般住民における SFTSV 抗体保有率を調査した．その結果646検体中，2検体のみ抗体陽性で，狩猟関係者，一般住民の間で抗体陽性率に差は認められなかった．2017年度は，鹿児島県内で提供された献血血液の1,000検体について抗体スクリーニングを行った．すべて SFTSV 抗体陰性であることが明らかにされた．これらの結果から，SFTS 流行地域でも，健常者の抗体陽性率は低い（0.1%，2 /1,646）ことが明らかとなった（鹿児島県環境保健センターと共同研究）．［福士秀悦，渡辺俊平，黒須剛，吉河智城，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；谷英樹（富山大学）；御供田睦代（鹿児島県環境保健センター）］

4）カフェ酸の重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する増殖抑制効果に関する研究

SFTSV に対する，コーヒー関連有機酸であるカフェ酸（CA）の増殖抑制効果を評価した．CA は用量依存的にヒト肝癌由来 Huh7.5.1-8 細胞における SFTSV 感染を阻害した．一方，別のコーヒー関連有機酸であるキナ酸は，SFTSV 感染を阻害しなかった．CA は，SFTSV の Huh7.5.1-8 細胞への結合を減少させた．CA は SFTSV 粒子に直接作用し，主に宿主細胞へのウイルス結合を阻害することによって，ウイルス感染および増殖を阻害していることが示唆された．抗 SFTSV 薬としての CA の有用性が示された．［小川基彦，安藤秀二，下島昌幸，西條政幸；白砂圭崇，深澤征義（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-coronavirus，MERS-CoV）による感染症である．MERS-CoVのスパイク（S）蛋白質に対するモノクローナル抗体を新規に樹立し，これを酵素標識して用いることで競合ELISAによる，他のコロナウイルスと交叉性がない抗体測定技術を確立した．MERS-CoVを用いた中和試験において，MERS-CoV中和活性があることが確認されている血清（MERS-CoVを感染させたマウスおよびラット血清，MERS-CoV-S蛋白質を免疫したウサギ血清および，エチオピアのヒトコブラクダから採取された血清）を用いて競合ELISAのMERS-CoVに対する特異的な抗体検出における有用性を評価した．ほぼすべての血清が競合ELISAで陽性を示した．また，MERS-CoVに対する中和活性のない陰性対照血清はすべて陰性を呈した．これらの結果から，本研究で開発された競合 ELISA は MERS の血清診断および MERS-CoV抗体スクリーニングに有用であることが示唆された．［福士秀悦，谷英樹，渡辺俊平，黒須剛，吉河智城，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 の診断法の迅速化に関する研究

CCHF を含む一類感染症の実験室診断の迅速化

は事例発生により引き起こされると予想される国民の健康被害や混乱，経済への影響をより低減させると考えられる．様々な方法により迅速化を図ることが求められる．現在，一類感染症の実験室診断は国立感染症研究所のみで行なわれており，地方衛生研究所でも実施できれば検体の輸送に要する時間を短縮できるため，迅速化が期待できる．前年度までに導入したCCHFウイルス（CCHFV）のゲノムを定量的に検出するためのリアルタイムRT-PCR法は高い感度を有し，かつ，迅速に病原体であるCCHFVを検出できる．これが地方衛生研究所でも実施できるか否かを試行した．希望した５か所の地方衛生研究所に検査法のマニュアル，必要となる試薬（プライマー，プローブ），陽性RNA コントロールを送付し，複数回検討してもらった．いずれの衛生研究所においても感度よくかつ再現性をもって本リアルタイムRT-PCRが試行された．実際の実施を考えた場合にいくつか懸念事項があげられており，それらの解決が他の研究所への展開に必要と考えられた．［下島昌幸，福士秀悦，黒須剛，渡辺俊平，西條政幸；豊嶋千俊（愛媛県立衛生環境研究所）；池田辰也（山形県衛生研究所）；新開敬行（東京都健康安全研究センター）；三好龍也（堺市衛生研究所）；木田浩司（岡山県環境保健センター）］

2) CCHFV中和抗体価測定法に関する研究

中和抗体価は病原体に対する抗体の有無を高い特異性で示す指標となる．ELISA等，比較的安価で実施しやすい抗体検出法でCCHFVと交差反応性を示すウイルスがCCHFVの浸潤地域に存在することが知られており，CCHFV に対する中和抗体の測定法がより正確なCCHFの実験室診断に必要である．しかしCCHFVは現在日本国内にはなく，またその取扱いもBSL4実験室を必要とするため，BSL3 以下で比較的容易に中和抗体価が測定できないかどうかを検討した．私たちは既にCCHFV のエンベロープ蛋白質を外套した非増殖型VSV（BSL2で取扱い可能）がCCHFV自身と類似する細胞への感染機序を示すことを報告した．この非増殖型VSVを中和抗体価測定に応用した．CCHFV に<20 から>2,560 までの中和抗体価を示す計8個の血清を用いて検討したところ，非増殖型 VSV を用いた抗体測定法で得られた中和抗体価が，感染性CCHFVを用いて得られた抗体価とほぼ同等であった．中和抗体価の有無が逆転するような血清はなかった．非増殖型 VSV に対する中和抗体価を用いてCCHFVに対する中和抗体価を間接的に示すことが明らかになった．本法は特異性の高いCCHFの血清診断のひとつとなる．検証は必要ではあるものの，本法は動物におけるCCHFV 抗体の陽性率を調べる調査にも応用可能であり，動物血清の解析によるCCHFVの浸潤状況の調査等に活用できると考えられる．［下島昌幸，西條政幸，須田遊人；堀本泰介（東京大学大学院）］

4. ハートランドウイルス（HRTV）に関する研究

1) 各種マウスのハートランドウイルス感染に対する感受性の検証

ハートランドウイルス（HRTV）はSFTSVに遺伝子学的に近縁であり，ヒトが同ウイルスに感染すると SFTS の臨床症状類似する症状を呈する．HRTV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．そこで，HRTVをマウスに感染させたときの病態を調べることで，HRTV感染マウスモデル開発を目指した．種類や週齢が異なるマウスの HRTV感染に対する感受性を評価した．1 日齢および6週齢のBALB/cマウス，C57BL/6マウスにHRTVを接種（皮下接種又は脳内接種）し2週間観察した．その結果，C57BL/6マウスはいずれの週齢および接種方法においても，HRTV感染に特異的な症状は呈さなかった．一方BALB/cマウスは，いずれの週齢についても脳内接種した際にはHRTV感染に特異的な症状は観察されなかったものの，皮下接種により非感染群と比較して，有意な体重減少（最大平均5%程度）が観察された．C57BL/6マウスをバックグラウンドとするI型インターフェロン受容体欠損（IFNARKO）マウスにSFTSVを感染させると，致死的であることが報告されて

いるため，IFNARKO マウスの HRTV 感受性を評価した. HRTV を IFNARKO マウスに皮下接種し，2 週間観察した結果，非感染群と比較して有意な体重減少（最大平均 10%程度）が観察された．また，感染 2 日目および 4 日目において，全ての HRTV 感染 IFNARKO マウスの血液中に HRTV RNA が検出された．以上の結果より，i) HRTV 感染に対する感受性は，IFNARKO マウス＞BALB/c マウス＞C57BL/6 マウスであること，ii) IFNARKO マウスを HRTV 病態モデルとして使用できることが示唆された．また，iii) SFTSV 感染防御には I 型インターフェロン（IFN）シグナル経路が重要であるのに対し，HRTV 感染防御には I 型 IFN シグナル経路は部分的に寄与している程度のようであり，他に重要なシグナル経路があることが示唆された．先行研究において，129 マウスをバックグラウンドとする I 型 II 型 IFN 受容体欠損マウスは HRTV 感染により致死的であることから，HRTV 感染防御における II 型 IFN シグナル経路の重要性が考察された．［福士秀悦，藤井ひかる，谷口怜，吉河智城，林昌宏，伊藤睦代，前木孝洋，黒須剛，下島昌幸，西條政幸；谷英樹（富山大学）；江川和孝（岐阜大学院連獣）；宇田晶彦，森川茂（獣医科学部）］

2) 各種薬剤のハートランドウイルス増殖阻害効果の評価

SFTSV に対し，*in vitro* および *in vivo* においてリバビリンおよび T-705 の有効性が示されている．そこで HRTV の性状は SFTSV のそれに類似していることから，これらの薬剤及びその誘導体の HRTV に対する in vitro における増殖抑制効果を評価した．Vero 細胞において，各種濃度のリバビリン，T-705 および T-705 の誘導体である T-1105，T-1106 存在下で HRTV を培養し，50%阻害濃度（IC_{50}）を算出した．リバビリン，T-705，T-1105，T-1106 の IC_{50} はそれぞれ 47，30，103，1000μM であった. 今後，リバビリンおよび T-705 の *in vivo* における HRTV 感染症に対する治療効果を調べることが必要である．［福士秀悦，藤井ひかる，谷口怜，吉河智城，林昌宏，伊藤睦代，前木孝洋，黒須剛，下島昌幸，江川和孝，西條政幸；谷英樹（富山大学）；宇田晶彦，森川茂（獣医科学部）］

5. 感染モデルを用いた出血熱ウイルス病原機序の解析

ウイルス性出血熱は重篤な疾患を起こす．重症ウイルス性出血熱の病態機序の解明，効果的な治療法の開発，治療法評価システム開発を目指し，樹立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用いて病原機序を解析した．デングウイルス感染症（デング熱）は比較的致死率の低い感染症であるが，デング出血熱になると高い死亡率を示す．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．この系では，抗 TNF-α 中和抗体を投与することにより生存期間を延長させることができる．顕著な血漿漏出が観察された感染マウスの肝臓および腸管から得られた RNA についてマイクロアレイを用いて遺伝子発現を解析した．重症化に関与すると考えられる候補因子を選択し，経時的に集められた各臓器からの宿主 RNA を用いて，候補因子および候補因子関連因子について定量的に解析した．また阻害剤を用いて各因子の重症化への関与を検討し，免疫関連因子の関与を強く示唆する結果を得た．［黒須剛，下島昌幸，福士秀悦，吉河智城，西條政幸；奥崎大介（大阪大学微生物病研究所）］

6. 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た 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）と系統樹解析から非常に近縁である．国内で STBV 感染症患者の報告はないが，STBV のウイルス学的な性質が ISKV のそれと類似しているか否かを検討した．いずれのウイルスも type I IFN receptor 欠損マウスに感染させると致死的感染を引き起こすが，少ない量の STBV を接種した場合には死亡までに必要な期間（日数）が ISKV

を感染させた場合に比べて長かった．またマダニ由来の細胞株2種における増殖性を調べたところ，STBVは一方の細胞株では増殖しなかった．STBVはISKVとは明らかに異なる性状を示すことが判明した．［下島昌幸，杉元聡子，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) 痘そうワクチンLC16m8株を土台としたSFTSウイルスに対するワクチン開発

細胞培養痘そうワクチンの製造承認株であるワクチニアウイルスLC16m8株は，ワクチンとしての免疫原性を維持しつつ安全性の高いワクチン株である．私たちはワクシニアウイルスの遺伝子組換え系を既に確立している．現在この株の長所を生かして，SFTSに対する効果的なワクチンを開発している．本年度はSFTSVの核タンパク質(N)，膜タンパク質（GPC）をそれぞれ単独または同時に発現する組換えLC16m8（それぞれm8-N，m8-GPC，m8-N+GPC）を作製し，その防御免疫誘導能の強さを評価した．対照としてEGFPを発現するm8-EGFPを使用した．あらかじめm8-EGFP，m8-N，m8-GPC，m8-N+GPCをそれぞれ接種しておいたI型インターフェロン受容体ノックアウトマウスに，1.0×10^3または1.0×10^5のSFTSVを感染させた．いずれのSFTSV接種量においても，m8-EGFPを接種した群は全頭が死亡した一方で，m8-N，m8-GPC，m8-N+GPC接種群では全頭が生存した．本結果はLC16m8ベースのSFTSワクチンの有効性を示唆するものである．［吉河智城，谷口怜，加藤博史，山田壮一，藤井ひかる，原田志津子，津田美穂子，福井良子，柴村美帆，杉元聡子，Supranee Phanthanawiboo，渡部俊平，黒須剛，福士秀悦，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；森川茂（獣医科学部）］

2) 高度弱毒化痘瘡ワクチンLC16m8を土台としたBウイルス（MaHV-1）に対するワクチン開発に関する研究

Macacine herpesvirus 1（MaHV1，通称Bウイルス，BV）は，アジア産マカク属のサルからヒトへと致死的感染を起こすことから，サルを扱う実験従事者における安全性の確保はとても重要である．現在では，適切な実験時の安全管理，供給コロニーでのBウイルス陽性サルの排除等によりその発生は抑えられているが，野生サルを含め高い割合で抗体陽性サルの存在があり，潜在的な脅威は残ったままである．本研究では，根本的なBV感染症に対する予防としてワクシニアウイルスLC16m8にBV蛋白質を組込んだワクチンの開発を目指した．前年度はBVの膜糖蛋白質gD（BV-gD）遺伝子を相同組換えによりLC16m8に組込み，BV-gDを発現する組換えLC16m8（LC16m8-gD）を構築した．本年度は動物（BALB/cマウス）にLC16m8-gDを接種し，4週後に採血し，BV-gDに対する抗体誘導を評価した．BV-gD発現プラスミドをトランスフェクションさせ，組換えBV-gDを発現させた細胞を用いたIFAでは，明確な抗体誘導は認められなかった．また，前年度構築したBVの膜糖蛋白質gD，gB，gE，gI，gL蛋白質発現プラスミドをそれぞれ細胞にトランスフェクションし，抗BV抗体陽性サル血清を用いてIFAによりその反応性を解析した．36の陽性サル血清のうち，4血清でBV gB及びgD蛋白質発現細胞でそれぞれ陽性反応が認められた．BVgE蛋白質発現細胞では，より多くの陽性サル血清で蛍光が認められたが，陰性サル血清においては非特異的な蛍光も認められた．BV-gI及びBV-gLでは蛍光は認められなかった．一方でBV-gB，BV-gD及びBV-gE全てに抗HSV-1またはHSV-2血清との交差が認められた．［山田壮一，吉河智城，西條政幸］

III. フラビウイルスに関する研究

1. デングウイルスに関する研究

1) レポーターレプリコン恒常発現細胞の評価

デングウイルス（DENV）ゲノム複製を高効率・高感度・簡便・安全に評価できるレポーターレプリコン恒常発現細胞の高効率薬剤スクリーニング系としての有用性を評価した．既知の抗ウイルス化合物を用いスクリーニング系において最も重要

な指標となるZ factorを算出したところ，高効率スクリーニング系として応用可能であるという結果が示された.〔加藤文博, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸; 日紫喜隆行（東京都医学総合研究所）; 高崎智彦（神奈川県衛生研究所）〕

2) 抗デングウイルス化合物の探索と性状解析

レポーターレプリコン恒常発現細胞を用いて，化合物ライブラリーから抗 DENV 活性を有する化合物のスクリーニングを行った．14 化合物と 2 抽出物が選抜された．これら化合物はいずれも細胞毒性をあまり示さなかった．そのうち 11 化合物は，半数阻害効果を示す濃度と半数細胞毒性を示す濃度比が 10 倍以上であった．［加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸; 日紫喜隆行（東京都医学総合研究所）; 高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

3) 脂質合成経路阻害剤における抗デングウイルス活性機序の解明

脂質合成経路の SCD1 を阻害する MK-8245 の，すべての血清型のDENVおよびジカウイルス（Zika virus, ZIKV）に対する抗ウイルス活性を調べた．MK-8245は低い細胞毒性とともに非常に強い抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった．その阻害機序として DENV 複製に重要な役割をはたしていると考えられている脂肪酸合成経路において，オレイン酸，パルミトレイン酸を合成する SCD1 を阻害することによるものであることが示唆された.［加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸；日紫喜隆行（東京都医学総合研究所）］

4) 生薬由来化合物hirustineの抗デングウイルス活性解析

生薬由来化合物 hirustine を抗 DENV 活性のある薬剤として，フォーカスアッセイ法を用いたスクリーニングにより同定した．同化合物はすべての血清型の DENV に対する増殖抑制効果があることが明らかとなった．また time-of-addition 法により DENV 複製過程のうち，後期過程を阻害する化合物であることが明らかとなった.［加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸；日紫喜隆行（東京都医学総合研究所）］

5) 国内デング熱患者検体中のデングウイルスゲノム解析

昨年度までに確立した，デング熱患者検体からの次世代シーケンサーを用いた DENV ゲノム解析法を用いて，当部で保有する検体中の DENV ゲノム全長配列を決定した．塩基配列データを，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．［田島茂，池田真紀子，柴崎謙一，林昌宏；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）］

6) サイクロフェニルのデングウイルス増殖抑制機序の解析

これまでに，臨床使用されている薬剤サイクロフェニル（CF）が DENV に対し増殖抑制効果を有することを示してきた. 今年度は, CF が DENV ゲノム RNA 合成阻害活性を有さないこと，ウイルス粒子放出阻害活性を有さないことを示した．さらに電子顕微鏡やスクロース密度勾配遠心による解析では，CF 添加・非添加の DENV 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の構造や感染ウイルス粒子の量に差異が認められることを明らかにした．［田島茂，藤間大貴，加藤文博，林昌宏，西條政幸］

7) デングウイルス2型の動物遺伝子型間における中和抗体誘導能の比較検討

デングワクチンの開発においては同一の血清型に対する抗原を接種しても異なる遺伝子型のウイルスを中和しない現象が報告されている．そこでデングワクチンに使用するデングワクチン候補株によって誘導される中和抗体応答と野生株によって誘導される中和抗体応答を比較検討するために，デングウイルス 2 型（DENV2）のうち，異なる遺伝子型のウイルス株をマーモセットに接種したときの中和抗体の誘導について詳細に検討した．本研究ではヒトの免疫学的反応に対する動物モデルとしてマーモセットを用いた．DENV2 を接種させたマーモセットにおいてはウイルス血症が観察され，ヒトと同様に抗 DENV2 抗体が誘導された．第 1 回感染個体（n = 29），第 2 回感染個体（n = 25）および第 3 回感染個体（n = 5）の計 34

頭のマーモセットから合計 59 の血漿サンプルを得た．第 1 回および第 2 回接種後の血清において異なる遺伝子型の DENV2 に対する異なるレベルの中和抗体誘導が観察され，第 1 回感染および第 2 回感染における遺伝子型が第 2 回感染後に誘導される中和抗体のレベルおよび交差性に影響することが示唆された．この結果は特定の遺伝子型がデングワクチン候補株となり得ることを示唆した．［谷口怜，Muhammad Azami Nor Azila，林昌宏，西條政幸，倉根一郎；網康至，須崎百合子（動物管理室），Moi ML（長崎大）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

1) 2016 年に報告された日本脳炎患者の日本脳炎ウイルス遺伝子型同定の試み

日本脳炎は日本脳炎ウイルス（Japanese encephalitis virus，JEV）による中枢神経感染症である．JEV の血清型は 1 つであり，遺伝子型は I 型（JEV GI）から（JEV GV）型の 5 つに分類される．JEV GV 型株と JEV GI 型あるいは JEV GⅢ型株とのアミノ酸配列の相同性は 90 %前後であり，JEV GI 型株と JEVGⅢ型株の間の相同性（97 %前後） より低い．これまで日本で分布していることが報告されているのは，JEV GI 型と JEV GⅢ型だけである．しかし近年中国や韓国において，JEV GⅤ型が検出されたことが報告された．2016 年には，日本で 11 例の日本脳炎患者が報告され，そのうち 4 例が長崎県対馬からであった．そこで，私たちは 2016 年に報告された日本脳炎患者に，JEV GV 型による症例が含まれているか否かについて，患者から採取された検体を用いて解析した．試料には，2016 年に報告された日本脳炎患者 10 人より採取された血清・髄液が用いられた．まず，急性期検体（血清・髄液）からの JEV 遺伝子検出を試みたが，いずれの検体からも JEV 遺伝子は検出されなかった．次に，血清・髄液を用いて JEV に対する IgM-capture ELISA を実施した結果，全ての検体が陽性を示し，さらに JEV（Ⅲ型の北京株）に対する中和試験では，全ての回復期血清が，50 %プラーク減少法で 640 以上の中和抗体価を示した．さらに，それらの血清を用いて JEV GI 型および GⅤ型（野生分離株）に対する中和試験を実施し，JEV GV 型に対する中和抗体価と JEV GI 型およびⅢ型に対する中和抗体価を比較した．その結果，いずれの血清も JEV GV 型に対する中和抗体価は，GI 型あるいはGⅢ型に対する中和抗体価と同等かそれ以下であった．以上より，今回の解析では 2016 年に報告された日本脳炎患者に，JEV GV 型による症例が含まれていたと考えられる根拠は得られなかった．JEV GV 型の侵入を検知する取り組みの一環として，患者血清を用いた JEV GV 型と GI 型・GⅢ型間の中和抗体価の比較を継続する必要がある． [前木孝洋，田島茂，加藤文博，柴崎謙一，池田真紀子，谷口怜，高崎智彦，林昌宏，西條政幸]

2) 日本脳炎患者血清を用いた，フラビウイルス間の抗体交差反応の解析

JEV は ZIKV，DENV，ウエストナイルウイルス（WNV）等と同様に，フラビウイルス科フラビウイルス属に分類される．近年，南米を中心に ZIKV が流行した際に，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ことが注目された．一方，抗 JEV 抗体が，他のフラビウイルスに対して示す交差反応については不明な点が多い．そこで，私たちは日本脳炎の患者血清を用いて，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 例の日本脳炎患者のうち，10 例より採取された血清を用いた．これらの血清を用いた JEV IgM ELISA および中和試験により日本脳炎の診断を確認した．即ち，全ての血清が JEV IgM ELISA で陽性を呈し，全ての回復期血清が 50 %プラーク減少法で 640 以上の中和抗体価を示した．他のフラビウイルスに対する交差反応を検討するため，これらの血清を用いて DENV に対する IgM, IgG ELISA および ZIKV, DENV, WNV に対する中和試験を行った．DENV に対する IgM

ELISA では 16 検体中 8 検体で，IgG ELISA では 16 検体中 12 検体で陽性の結果を示した．中和試験では，DENV，ZIKV に対する中和能は検出されなかった．一方，WNV に対する中和活性は検出されたが，その中和抗体価は，JEV に対する中和抗体価の 8 分の 1 以下であった．本解析により，日本脳炎とその他のフラビウイルス感染症の診断には中和試験も合わせて実施することがより正確な血清学的診断において重要であることが示された．［前木孝洋，田島茂，加藤文博，柴崎謙一，池田真紀子，谷口怜，林昌宏，西條政幸；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

3) リバースジェネティクス法による JEV V 型の増殖性状に関わる部位の同定

これまでに，JEV 遺伝子型 V 型（JEV V）に分類される Muar 株の蚊由来培養細胞における高い増殖性に NS1 から NS3 の領域が部分的に関与することを示してきた．一方で Muar 株は，マウス株化細胞 N18 細胞での増殖性が，他の遺伝子型の株のそれに比べて著しく低いことも示してきた．今年度は，N18 細胞における Muar 株の低増殖性に関わるゲノム上の領域を明らかにすることを試みた．昨年度リバースジェネティクス法により作製した 4 種類の組換え JEV を用いて，N18 細胞での増殖能を調べたところ，Muar 株の NS 1 -3 領域，および NS4A-5 領域が Muar 株の低増殖性に関わることが明らかとなった．次にこれらの領域中でも特に増殖能が低下した NS1-3 領域について，さらに責任領域を絞り込むため新たに 3 種類の組換えウイルスを作製し解析した．その結果，NS2A 部位が低増殖性に関わることが明らかとなった．［田島茂］

4) 血清銀行の血清を用いた，フラビウイルス間の交差反応の解析

日本においては，感染症流行予測調査の一環として，JEV に対する抗体の保有状況が調査されている．そして，ワクチン接種対象年齢以降の 4 歳から 20 歳代までの年齢層が，JEV に対して高い抗体価を保有していることが報告されている．しかし，それらの JEV に対する抗体が，他のフラビウイルスに交差反応を示すか否かについては明らかにされていない．そこで血清銀行の血清を用いて，抗 JEV 抗体が他のフラビウイルスに対して示す交差反応の有無について解析した．本解析には，血清銀行より提供された 960 血清を用いた．まず，JEV に対して高い（50 %プラーク減少法で 160 以上）中和抗体価を有する血清を選別するために，JEV（北京株）に対する中和試験を実施し，得られた結果を，感染症流行予測調査により報告されている抗体保有状況（2016 年）と比較した．960 血清のうちの 300 血清で，JEV に対する中和抗体価を測定し，その結果が 2016 年に報告されている抗体保有状況に合致することを確認した．今後は，残りの血清を用いて JEV に対する中和試験を実施し，JEV に対して高い中和抗体価を保有する血清を選別し，選別された血清の他のフラビウイルスへの交差反応を解析する予定である．［前木孝洋，田島茂，加藤文博，柴崎謙一，池田真紀子，谷口怜，高崎智彦，林昌宏，西條政幸］

5) ベトナム人日本脳炎患者血清の日本脳炎ウイルス遺伝子型Ⅰ型およびⅤ型に対する中和能解析

ベトナムの日本脳炎（Japanese ecephalitis，JE）患者血清を用いて，JEV 遺伝子型Ⅰ（JEV GI）および JEV 遺伝子型Ⅴ（JEV GV）に対する中和能を比較した．2014 年の 5 月から 8 月の間にベトナム北部で JE と診断された患者（2 歳から 40 歳の男女 22 名）由来血清 22 検体を使用した．IgM 抗体価は ELISA 法により測定した．中和能は Vero 細胞を用いた 50%プラーク減少法により評価した．血清は 2 倍階段希釈で，10 倍から 10,240 倍までの間で評価した．攻撃ウイルスには，Mie/41/2002 株（GI）と JEV GV Muar 株を使用した．JEV I に対する中和抗体価は最低 40 倍から最高 10,240 倍の範囲であった．一方 JEV V に対しては最低 20 倍から最高 5,120 倍の範囲であった．JEV GI / JEV GV 比が 1（同力価），2，4，8，16，32 のものがそれぞれ 2 検体（9.1%），6 検体（27.2%），4 検体（18.2%），8 検体 36.4%，1 検体（各 4.5%），1 検体（各 4.5%）であった．中央値は 4 であった．今回調べた JE 患者由来検体のうちの 6 割以上で，

JEV GI-JEV GV 間で 4 倍以上の差がみられた. 同力価が 2 検体あったが，JEV GV の方が高いものはなかった．これまでベトナム北部で JEV GV が同定されたとする報告はない．患者は JEV GI あるいは JEV GⅢに感染したと考えられる．今回の結果から，中和試験により多くの場合で JE 患者が GI（あるいは GIII）と GV のどちらに感染したかを判断できる可能性が示唆された.［田島茂，池田真紀子 ; Thi Thu Thuy Nguyen，長谷部太（長崎大学熱帯医学研究所ベトナム拠点）］

3. ジカウイルスに関する研究

1) プラークサイズを決定するジカウイルスゲノム責任領域の同定

ジカウイルス（ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016 株）には異なるプラークサイズを形成するウイルスが混在していた．このプラークサイズの大小と相関して, ZIKV の M 遺伝子における 230 番目のアミノ酸に差異があることが明らかとなった．プラークサイズが大きいアフリカ型 ZIKV MR-766 株の感染性分子クローンに，このアミノ酸変異を挿入し解析したところ，プラークサイズはより小さくなった．このことから，この部位がプラークサイズの大小を規定する責任領域であることが明らかとなった.［加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸; 平良雅克（千葉県衛生研究所）］

2) ジカウイルス Chiba 株の性状解析

2016 年度，フィジーから帰国したデングウイルス感染症疑い患者の血清からジカウイルス Chiba 株（ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016 株）が分離された．この株を Vero 細胞に接種すると，大きさの異なる 2 種類のプラークが形成された．このプラークサイズの差異を引き起こす原因が, M 遺伝子における 230 番目のアミノ酸の差異にあるこの部位の変異は，Vero 細胞における増殖能や，インターフェロンアルファレセプター欠損マウスへの病原性にも影響することも明らかにされた.［田島茂，加藤文博，中山絵里，谷口怜，林昌宏，西條政幸 ; 河合康洋（バイオセーフティー管理室）］

3) アフリカ型ジカウイルスとアジア型ジカウイルスの病原性解析

アフリカ型ジカウイルス MR-766 株とアジア型ジカウイルス PRVABC59 株はマウスに対する病原性に大きな差異があることが明らかとなった. アフリカ型ジカウイルス MR-766 株感染性分子クローンに PRVABC59 株の構造蛋白質をそれぞれ組換えたキメラウイルスを用い，マウス病原性を解析したところ prM 領域がマウス病原性に関与する領域であることが明らかとなった．さらに prM の 31 番目のアミノ酸変異がマウス病原性を左右する部位の一つである可能性が示唆された．［加藤文博，中山絵里，谷口怜田島茂，林昌宏，西條政幸; 河合康洋 （バイオセーフティー管理室）］

4) ジカウイルス Asian/American lineage 株間での性状比較

ZIKV は分子系統学的に 2 つの lineage に分類されるが，今世紀の流行はいずれも Asia/American lineage によるものである．2016 年度この lineage がさらに 3 種類の sublineage （東南アジア亜型，太平洋諸国亜型，アメリカ亜型）に分類可能であることを示した．3 種の sublineage は同定地域や流行時期とおおよそ一致することから, sublineage 間でウイルス性状に差異がある可能性がある. 私たちが保有する各 sublineage の性状を *in vitro* および *in vivo* で比較した. 東南アジア亜型 NIID123 株の Vero 細胞における増殖性は，他株のそれらに比べより低かった．NIID123 株と太平洋亜型 Chiba 株の蚊由来培養細胞での増殖性は，アメリカ亜型 PRVABC59 株のそれに比べやや低かった. インターフェロンアルファレセプター欠損マウスに感染させた場合，PRVABC59 株で最もウイルス血症レベルが高く，次いで Chiba 株が高く，NIID123 株で最も低かった. また臓器（脳, 脊髄，肝臓，腎臓，脾臓）中のウイルスレベルもほぼ同様の順番であった．しかし脾臓では Chiba 株が最も高かった．精巣への影響も観察したが，PRVABC59 株接種個体で最も高頻度かつ顕著な萎縮がみられた．以上より，最も大きな流行が起こった地域・時期の PRVABC59 株の増殖性および生体への影響が，３つの sublineage の中で最も

高い可能性が示唆された．［田島茂，中山絵里，加藤文博，谷口怜，林昌宏，西條政幸；河合康洋（バイオセーフティー管理室）］

5) アジア型ジカウイルス感染性分子クローンの構築

アジア型ZIKVは系統学的に中南米亜型，東南アジア亜型そして太平洋諸島亜型に細分類される．PRVABC59 株， ZIKV/Hu/NIID123/2016 株，ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016 株は，それぞれ中南米亜型，東南アジア亜型そして太平洋諸島亜型に細分類される．ZIKV に関するウイルス学的解析において強力なツールである感染性分子クローンを構築した．［加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸］

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

マーモセットは DENV 感染症のモデル動物になり得ることが，過去の研究により明らかとなっている．

2016 年度，マーモセットが 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，抗 DENV 抗体をもつマーモセットが ZIKV に感染した場合の病態を解析した．2017 年度は，これらの研究を継続した．対照マーモセット個体 3 体，DENV-2 型既感染個体 7 個体に対し，ZIKV アジア株の 1 種である PRVABC59 株を皮下接種し，感染 3 日目に対照マーモセット 1 個体，DENV-2 既感染個体 3 個体を剖検，感染 7 日目に対照マーモセット 2 個体，DENV-2 既感染個体 4 個体を剖検して各種臓器を採材した．採取された臓器中のウイルスゲノム量を定量した．また，感染 0，3，7 日目に得られた血清，尿，咽頭スワブ中のウイルスゲノム量を定量した．採材臓器の多くがウイルスゲノム陽性であった．中でも腋窩リンパ節，鼠径リンパ節，浅頸リンパ節，脾臓を中心にウイルスゲノム量がより高い値を示した．一方で大脳，小脳ではウイルスゲノムは検出されないか，検出されたとしても非常に低いゲノム量であった．感染 3，7 日目に得られた血清，尿，咽頭スワブ中にはいずれもウイルスゲノムが検出された．DENV-2既感染群と非感染群のウイルスゲノム量間には有意な差は認められなかった．今後採各臓器の病理学的解析，既感染群の個体から得られた腹水及び胸水について解析し，抗 DENV 抗体の ZIKV 感染時の影響の有無について解析する予定である．［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）；永田典代，岩田奈織子（感染病理部）；Moi Meng Ling（長崎大学）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

7) タイ国から帰国した患者から分離された ZIKV/Hu/Kng/2017/17-D501 株の遺伝子配列決定

タイ国から帰国した患者から分離された ZIKV（ZIKV/Hu/Kng/2017/17-D501 株）の遺伝子配列を決定した．また，同株はアジア型東南アジア亜型に分類された．［加藤文博，田島茂，林昌宏，西條政幸; 高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

8) ジカウイルス妊娠感染モデルとしてのマーモセットの評価

先天性 ZIKV 感染症は胎児で小頭症をはじめとした種々の症状を呈する先天性疾患を引き起こす．妊娠女性が ZIKV に感染した場合に胎児・新生児が先天性 ZIKV 感染症を発症することがある．本研究では妊娠マーモセットに ZIKV PRVABC59 株を皮下接種し，胎内感染について解析した．流産がみられた個体についてはその流産物を回収し，また流産しなかった個体については感染 8 日目に安楽殺して，ウイルス学的に解析した．妊娠 50-60 日のマーモセット 3 頭に PRVABC59 株を接種した場合，感染 2 日目に 1 頭が流産，感染 8 日目に 1 頭が流産した．残りの 1 頭は感染 8 日目に胎児の心拍を確認した．感染 8 日目に流産した個体と妊娠維持していた個体について剖検し，子宮内容物に関してウイルス学的解析，病理学的解析を行なった．子宮内膜，胎児，羊水において ZIKV が検出された．また，子宮内膜間質，脱落膜に ZIKV 抗原が検出された．感染 2 日目に流産した個体に関しては流産物から ZIKV ゲノムは検出されなかった．これらの結果から感染 8 日目には ZIKV が子宮内に浸潤していることが明らかとなった．［谷口怜，林昌宏，Muhammad Azami Nor Azila，加藤

文博，前木孝洋，中山絵里，田島茂，西條政幸；網康至，須崎百合子（動物管理室）；鈴木忠樹，永田典代，岩田奈織子（感染病理部）；Moi Meng Ling（長崎大学）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

9) I 型インターフェロンレセプターノックアウトマウスを用いたジカウイルス妊娠マウスモデルの解析

2016 年度 C57BL/6 から作出された I 型インターフェロン受容体欠損マウス（IFNAR-KO）の成マウスにZIKV PRVABC59を感染させても致死的でないことを明らかにした. しかし, 妊娠IFNAR-KOマウスに対して妊娠後 9.5 日目以前に ZIKV PRVABC59 を感染させた場合，胎仔は母胎内で死産，吸収され，妊娠後 10.5 日目以降に ZIKV PRVABC59 を感染させた場合，胎仔は異常なく出産することが明らかとなった．妊娠 9.5 日目に ZIKV PRVABC59 を感染させた場合，死産，あるいは虚弱仔の出産が確認された．2017 年度は，既 ZIKV 感染 IFNAR-KO マウスに対して妊娠 9.5 日目に ZIKV を再感染させた場合，胎仔に対する感染が防御されるか否かを検討した. 妊娠中の既 ZIKV 感染 IFNAR-KO マウスに ZIKV を感染させた場合でも母体 9 匹で 67%~100%の胎児生存率が認められたのに対し，ZIKV 感染歴のない妊娠 IFNAR-KOマウスにZIKVを感染させた場合には，母体 11 匹中 1 匹のみで胎児生存が認められた．このことからZIKVに対する抗体を保有する場合，妊娠中のウイルス感染に対して胎仔へのZIKV感染が防御されることが明らかとなった.［谷口怜，中山絵里, 加藤文博, 前木孝洋, 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）］

4. 黄熱ウイルスに関する研究

1) 全 lineage に対応可能な黄熱ウイルスゲノム検出系の構築

黄熱ウイルス（Yellow fever virus，YFV）は 7 つの lineage に分類される．これらのウイルスゲノム配列を比較したところ, 私たちが保有する YFV ゲノムの検出法（TaqMan リアルタイム PCR 法）では, 2 つの lineage の検出が困難であることが予想された．そこで，すべての lineage に対し反応可能となるよう，既存のプライマー・プローブセットを改変した．この改変により，これまで反応性の悪かった lineage に対しても反応性が改善した．新たなプライマー・プローブセットは広範な YFV に対応可能と考えられる．［田島茂，前木孝洋，谷口怜，加藤文博，林昌宏］

5. その他の研究

1) フレボウイルスの核蛋白質（N）の機能解析

重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）及びハートランドウイルス（HRTV）はそれぞれアジア及び米国で報告された新規フレボウイルスである．2016 年度，私たちは SFTSV 及び HRTV の全てのゲノム分節のミニゲノムシステムを確立した．そこで 2017 年度では本系を用いて SFTSV 及び HRTV の N および RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（L）の各セグメントにおける転写複製能を比較検討した. また, 得られた結果及び SFTSV と HRTV の N のアミノ酸配列を比較した結果から，SFTSV と HRTV のキメラ N 発現プラスミドを作製，SFTSV の N の転写複製に必須なアミノ酸領域を同定した. その結果, SFTSV の N は HRTV の N に対して機能的互換性を持つが, HRTV の N は SFTSV の N に対して機能的互換性を持たないことが明らかとなった．また，S，M，L いずれの分節のミニゲノムプラスミドを用いた場合でも同様であった．このことはウイルス種に関係することなく各分節の UTR は機能性を持つことを意味する．さらにその理由が N のアミノ酸配列のうち 2-28 番目のアミノ酸及び 77-102 番目のアミノ酸領域が HRTV であるキメラ N は，ウイルスゲノムの転写複製を阻害することによることが明らかとなった．SFTSV の N の α1-2 ヘリックス領域（2-28AA）は N の多量体形成に重要な領域であり，この多量体形成の有無がウイルスゲノムの転写複製効率へ影響を与える可能性が示唆された. また，N の 77-102AA はリボ核酸形成時，L の転写複製能へ影響を与える可能性が考えられた.［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) 鹿児島県で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，SFTSV 等のダニ媒介性アルボウイルスによる感染症が報告されている．そこで日本における詳細なダニ媒介性アルボウイルスの分布状況を明らかにするため鹿児島県で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コルチウイルス属に分類されるウイルスが細胞培養を用いたウイルス分離法によって分離され，このウイルスをダニの採集された地名からタルミズダニウイルス（Tarumizu tick virus：TarTV）とした．全ゲノム解析と系統樹解析の結果，TarTV は新規のダニ媒介性コルチウイルスであることが明らかとなった．また TarTV を乳飲みマウス脳に接種したところ，毒性を示さなかった．［林　昌宏，伊藤（高山）睦代，Posadas-Herrera Guillermo，山口幸恵，堀谷まどか，西條政幸；藤田龍介，小林大介，室田勝功，渡辺護，伊澤晴彦，澤辺京子（昆虫医科学部）；江尻寛子（防衛医大）；山内健生（兵庫県立大）；片山幸枝，水谷哲也（農工大）；鍬田龍星，南昌平，下田宙，前田健，（山口大）；野田伸一（鹿児島大）］

IV. 神経系ウイルスに関する研究

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

1) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における 3Rs の導入

狂犬病ワクチンの有効性を確認する力価試験においては，マウスを試験ワクチンにより免疫した後に致死量の狂犬病ウイルスを接種し，その生死を指標としてワクチンの防御能を評価している．本方法は動物に与える苦痛が大きいことが問題となるため，私たちは「死亡」に替わる安楽死の指標（人道的エンドポイント）の設定について検討した．2017 年度より国家検定において，麻痺の症状を指標とする人道的エンドポイントを導入した．その結果，死亡したマウス 250 匹中 235 匹（94%）に安楽殺を実施することが出来，苦痛を与える日数を約 3〜4 日短縮させた．さらに作業時間も短縮され，作業負担の軽減につながった．［伊藤（高山）睦代，佐藤正明，Posadas-Herrera Guillermo，加藤博史，木下一美，西條政幸］

2) 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が，現在のところ使用可能なワクチンはない．そこで，非増殖性 P 遺伝子欠損狂犬病ウイルス（RV）ベクターを用いて，MERS-CoV に対するワクチン開発を試みた．本 RV ベクターは細胞では増殖でき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．本ベクターワクチンをマウスに接種し，その安全性と有効性を確認した．［加藤博史，伊藤（高山）睦代，林昌宏，佐藤正明，Posadas-Herrera Guillermo，西條政幸］

2. JC ポリオーマウイルスに関する研究

1) 脳脊髄液中 JC ウイルス検査による進行性多巣性白質脳症の診断支援および発生動向に関する臨床・疫学的解析

進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal encephalopathy，PML）は免疫不全患者等において発生する致死的な脱髄性疾患であり，JC ウイルス（JCV）によって引き起こされる．その診断では，脳脊髄液中の JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である．当研究室では 2007 年度より医療機関への診断支援および PML 実験室サーベイランスを目的として本検査を継続して実施している．2007 年度から 2017 年度までに 1,874 件の検査依頼を受け付け，PML 疑い患者 208 名の脳脊髄液検体から JCV ゲノム DNA を検出した．2017

年度においては28名の患者が脳脊髄液JCV陽性を呈し，PML と診断された．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において PML が増加傾向にあることを明らかとなった．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およ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 ウイルスの超高感度 PCR 検査系の確立および臨床検査における実用化

PML の診断や治療においては，脳脊髄液（CSF）中の JCV ゲノム DNA を標的としたリアルタイム PCR 検査が有用であり，国内において実施されている本検査の検出下限値は CSF 検体 1 mL あたり 200 コピー程度であった．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していた．2016 年度において，CSF 中に放出された微量の JCV を確実に検出するための超高感度 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．2017 年度には，本検査系を実際の臨床における診断技術として正式に導入し，微量の CSF 中 JCV を検出することで PML の早期診断および治療等に貢献した．［中道一生，西條政幸］

3. 節足動物媒介性ウイルスに関する研究

1) サンドフライウイルスの診断系確立

サンドフライウイルスは，サシチョウバエにより媒介され，ヒトに急性の熱性疾患や脳炎，髄膜炎を起こす．主に地中海沿岸や中東で発生し，旅行者の輸入感染例も報告されている．しかし，このウイルスに対する検査体制は全く整っていない．そこで，サンドフライウイルスに対する血清学的および遺伝学的検査体制の確立した．蛍光抗体法に用いるための感染細胞の抗原スライドを作製したところ，血清学的診断に使用出来ることが示された．さらに，既報のプライマーセットによる RT-PCR 法の確立を試みたところ，各プライマーがそれぞれのウイルスを特異的に検出出来ることが確認された．［伊藤（高山）睦代，Posadas-Herrera Guillermo，佐藤正明，加藤博史，木下一美，西條政幸］

V. 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) 組換え単純ヘルペスウイルス I 型（HSV-1）を用いた既報のアシクロビル（ACV）耐性チミジンキナーゼ（vTK）中のアミノ酸変異に対する検証

HSV-1 の ACV 耐性誘導メカニズムの一つに vTK のアミノ酸変異がある．本研究では HSV-1 の BAC（Bacterial Artificial Chromosome）システムを用いて，ACV 治療に抵抗性を示した HSV-1 よる脳炎患者報告に基づいて，vTK 配列中の 41 番目，93 番目，125 番目，156 番目，257 番目の 5 つのアミノ酸変異に着目し，これらの部分にそれぞれの変異を導入させた組換え HSV-1 を作製した．作製されたウイルスの ACV 感受性を Vero 細胞におけるプラーク減少法により ACV 感受を調べた．93 番目（Ala→Val）と 125 番目（Gln→His）の変異は ACV 耐性を誘導し，41 番目（Arg→His），156 番目（Ala→Val），および 257 番目（Glu→Lys）の変異は ACV 耐性を誘導しなかった．［佐藤正明，稲垣拓哉，藤井ひかる，伊藤（高山）睦代，西條政幸］

2) 単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）のアシクロビル耐性機序に関する研究

HSV-1 の ACV 耐性はチミジンキナーゼ（TK）または DNA polymerase（DNApol）遺伝子に変異が導入される事により獲得される．2016 年度に HSV-1 の TK 遺伝子を欠損させ，HSV-1 UL50-51 領域に水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の TK 遺伝子を挿入させたキメラウイルス HSV-1-VZV-TK（親株）を作製し，それを用いて ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK クローンを作出した．作出された

ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK クローンのうち VZV-TK 及び DNApol 両遺伝子のいずれにも変異が認められなかったクローン（2-1 株）が分離された．そのウイルスの ACV 耐性機序の解明を試みた．2-1 株感染 Vero 細胞より DNA を抽出し，サンガー法及び次世代シーケンサーを用いて全ゲノム配列を決定した．TK 及び DNApol 遺伝子配列は親株のそれらと完全に一致していた．全ゲノム配列を決定し，親株と比較したところ ACV 耐性を誘導する可能性のあるいくつかのアミノ酸変異が認められる遺伝子を同定した.［山田壮一，藤井ひかる，原田志津子，西條政幸］

3) 単純ヘルペスウイルス 1 型および水痘・帯状疱疹ウイルスのチミジンキナーゼ遺伝子上におけるアシクロビル耐性責任変異の出現頻度の比較

2016 年度，HSV-1 において，TK 遺伝子を欠損させ，代わりに UL50-UL51 領域に VZV の TK 遺伝子を搭載したキメラウイルス（HSV-1-VZV-TK）を作出し，それをアシクロビル（ACV）存在下で培養することで，HSV-1 DNA ポリメラーゼ遺伝子特異的に ACV 耐性変異を導入させる系を開発した. 本年度はその機序を明らかにすることを目的として, HSV-1-VZV-TK ウイルスの VZV の TK 遺伝子が搭載された部位へ HSV-1 TK 遺伝子を搭載させた組換えウイルス（HSV-1-HSV1TK）を作出し, 本ウイルスを ACV 存在下で培養した際に，TK 遺伝子および DNA ポリメラーゼ遺伝子にどのような変異が誘導されるか検証した.

47 クローンの ACV 耐性 HSV-1-HSV1TK についてその TK 遺伝子配列を解析した結果，いずれも HSV-1 TK 遺伝子上に ACV 耐性を誘導する変異が生じていた. この中で 38 クローンについては，ホモポリマー領域における 1 塩基欠損または挿入が，4 クローンについては 1 塩基置換によるアミノ酸が生じていた. 興味深いことに残り 5 クローンについては，一部 HSV-1 TK 遺伝子およびその周辺領域約 600～3200bp に渡る広範囲の欠損による HSV-1 TK 欠損が生じていた．本結果および昨年度の結果より，ACV 耐性誘導変異は HSV-1 の場合と比較して VZV TK 遺伝子上には生じにくいことが明らかとなった．これは ACV 耐性 HSV-1 に関する臨床報告が ACV 耐性 VZV のそれと比較してはるかに多い現状の理由と考えられた．［原田志津子，藤井ひかる，山田壮一，吉河智城，西條政幸；大村夏美，稲垣拓哉；柴村美帆（東京大学）；加藤博史（東北大学）］

4) アシクロビル（ACV）耐性ヘルペス脳炎（HSE）を疑われた患者から同定されたヒト単純ヘルペスウイルス I 型由来チミジンキナーゼ（HSV-1-vTK）アミノ酸変異のウイルス学的薬剤耐性および病原性の評価

HSE は HSV-1 によって引き起こされる疾病の一つであり, その治療には ACV が用いられている．近年，この治療において ACV 耐性が疑われた症例が報告され，それらの耐性は vTK アミノ酸配列の変異によるものと提唱されている．これまでに免疫不全者 2 例, 新生児ヘルペスウイルス感染症患者 1 例，免疫健常成人 2 例において ACV 耐性 HSV-1 脳炎が報告されている．免疫不全者 2 例ではそれぞれにチミジンリン酸化酵素遺伝子のフレームシフト変異が, 新生児例ではチミジンリン酸化酵素に Q125H の，免疫健常成人 2 例ではそれぞれ R41H，A156V のアミノ酸変異が認められている．今回我々はこれらの提唱による ACV 耐性誘導を検証するため Bacterial Artificial Chromosome システムを用いて，vTK アミノ酸配列の 41 番目，125 番目，156 番目にそれぞれ Arg→His（R41H）, Gln→His（Q125H）, Ala→Val（A156V）の変異を導入した組換え HSV-1 ウイルスを作製し ACV 耐性を評価した．その結果 Q125H の変異を持った HSV-1 は ACV 耐性を示したが, R41H および A156V は耐性を示さなかった. この Q125H 変異ウイルスはガンシクロビルおよびペンシクロビルにも耐性を示した．さらに，この変異ウイルスをマウス脳内に接種した感染実験では，この変異ウイルスは ACV 感受性の親株と比べ低い病原性を示したが，vTK 欠損ウイルス (HSV-1-delTK)と比べると高く，神経毒性を有していることが示された．免疫健常成人における ACV 耐性 HSV-1 脳炎症例において，ACV 耐性ウ

イルスが出現したとする根拠はない. これまでにACV 耐性 HSV-1 脳炎が確認されているのは新生児 1 例と免疫不全者 2 例のみである. 免疫健常成人において，ACV 耐性 HSV-1 による脳炎が起こるリスクは非常に低いことが考えられる. ［佐藤正明，稲垣拓哉，藤井ひかる，西條政幸］

2. 水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)に関する研究

1）VSV 抗体測定系の開発

弱毒生水痘ワクチン株である vOka 株は，Oka 株（pOka 株）をヒト及びモルモット由来細胞にて継代することにより弱毒化されたワクチンであり，有効性及び安全性が高いワクチン株として世界中で使用されている．日本において水痘ワクチンが定期接種化されその有効性の評価（流行予測事業）が開始された. その結果, 抗体誘導能が比較的低いことが明らかとなった. そこでサーベイランスにおける抗体価測定系の強化のため，通常の ELISA とは異なる抗体価測定系の構築を行っている．2016 年度は，細胞腫，固定方法等の比較検討により，MeWo 細胞を用いるのが間接蛍光抗体法（IFA）に適していることが示された．更に，VZV 膜糖蛋白質 gB を発現させた MeWo 細胞でも試みたところ，より明確に判定が可能であった．2017 年度は VZV 膜糖蛋白質恒常発現細胞を構築した．pLJM1 プラスミドに VZV の各膜蛋白質遺伝子をクローニングし，packaging 及び envelope 蛋白質を発現するプラスミドを 293T 細胞へトランスフェクションすることにより，VZV 膜糖蛋白質発現レンチウイルスを構築した．MeWo 細胞，293T 細胞，ARPE19 細胞に，作製された VZV 膜糖蛋白質発現レンチウイルスを接種し，薬剤による選択の下で，継代を行うことにより，VZVgL（MeWo 細胞），VZVgB 及び gE（293T 細胞）を恒常的に発現する細胞の構築が確認された. IFA に用いたところ, VZVgL 発現 MeWo 細胞においてはっきりとした蛍光シグナルが確認された．［山田壮一, 西條政幸］

3. ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)に関する研究

1）HCMV ワクチン開発に関する研究

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おり，これらが主要なウイルス中和抗体の標的と推測されている. 本研究では小児，およ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目標とし，HCMV 感染既往者の血清中の中和抗体価と各膜蛋白質に対する抗体価の相関を調べ， 感染防御に最適な標的膜蛋白質を同定した. 2016 年度は，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．各膜蛋白質に対する抗体価と中和抗体価の相関性では gH に対する抗体価および gB に対するそれとが高い相関性を示した. 一方で，gH と gB 間に相関が認められなかった．ワクチン抗原としては gB 及び gH の両方が必要なことが示唆された. 2017 年度は, 所内全体より血液提供ボランティアを募って約 80 名分の血清を分離して研究対象者の数を増やし，HCMV 株には Merilin 株と上皮細胞への感染性を持つ臨床分離株（2017 年 1 月分離）を使用した．繊維芽細胞には MRC-5 細胞，上皮細胞としては RPE-1 細胞を使用した．各 gp を様々な Tag 付で発現するプラスミドを設計し，それらを 293FT 細胞に co-transfection することで各膜蛋白質複合体を発現させた. その細胞をスライド上に固定し免疫蛍光抗体法によって血清中特異的抗体価を測定した．また *in vitro* バイオアッセイにて各血清の中和抗体価を繊維芽細胞，上皮細胞の 2 つの系で測定し，各 gc に対する特異的抗体価と中和抗体価の相関を求めた．MRC-5 および RPE-1 いずれにおいても，HCMV 中和抗体価は gB および gM/gN 特異的抗体価との相関性はなく，gH/L 複合体に対する特異的抗体価は高い相関性を示した．これまで，HCMV ワクチン開

発では gB が主要な標的であったが，近年 gH 複合体の重要性が明らかとなっており，今回の成績はその知見を支持するものであった．［吉河智城，柴村美帆，山田壮一，藤井ひかる，西條政幸］

4. その他ヘルペスウイルスの関する研究

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，ヒトに対して病原性を示すものもあるため，コウモリ保有ウイルスを調べることは公衆衛生上意義あることである．これまで5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，2 株のガンマヘルペスウイルスがコウモリから分離されている．9 株のうち一部はその詳細な性状解析がなされているが，依然としてコウモリヘルペスウイルスのウイルス学的性状には不明な点が多い．本研究ではベトナムに生息するオオコウモリ（*Pteropus lylei*）から分離されたヘルペスウイルス，*Pteropus lylei*-associated alphaherpesvirus（PLAHV）の性状を解析した．2017 年度は次世代シーケンサーを用いて PLAHV の全ゲノム解析を行った．全長 144,008 塩基対であり，そのうちに 72 個の遺伝子が予測された．ヘルペスウイルスの DNA ポリメラーゼのアミノ酸配列を用いた系統解析の結果，PLAHV はヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科単純ウイルス属に分類される新規ウイルスであった．PLAHV を各種培養細胞に接種して，その増殖能を解析した．サル，ヒト，コウモリの培養細胞において増殖したが，特にコウモリの細胞およびヒトの子宮頸部上皮細胞において，優れた増殖能を示した．PLAHV，PLAHV と系統的に近縁なコウモリ単純ウイルスである Fruit bat alphaherpesvirus 1（FBAHV1），ヒトの単純ウイルスである herpes simplex virus 1 および2（HSV-1, HSV-2）をそれぞれ感染させ免疫を誘導させたマウスの血清を用いて，各ウイルスに対する中和試験を行った．PLAHV と FBAHV1 の間で血清学的交差性が確認された．一方で，コウモリとヒトの単純ウイルス間では血清学的交差性は認められなかった．以上の結果より PLAHV は単純ウイルス属に分類される新種のウイルスであることが明らかにされた．［山田壮一，稲垣拓哉，藤井ひかる，吉河智城，西條政幸］

VI. リケッチアに関する研究

1. リケッチア症対策の総合的研究

1) リケッチア・レファレンスセンター活動に関する研究

リケッチア症の強い地域特性を考慮し，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．2017 年度は，紅斑熱群リケッチアとつつが虫病オリエンチアの duplex realtime PCR について臨床検体用いた多施設間評価のデータを蓄積した．このリアルタイム PCR 系は既報の nested PCR 系と同等の感度を示した．しかしながら，人工的に遺伝子を増幅する診断法には検出限界を考慮する必要があり，また，遺伝子検出系に適用できる検体採取が困難な症例もあることから，ペア血清を用いた抗体価上昇の検出を合わせて検討することの重要性も確認された．さらに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・技術の普及と情報共有をおこなった．［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）；平良雅克（千葉県衛生研究所），；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）；山本真美，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）；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 2017

引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．また，全国

の野生動物，マダニ等から，国内の実態が未解明の病原性リケッチア等の分離，原因不明となったダニ関連疾患の臨床検体からの病原体検出・分離を継続した．採取マダニ等は野外疫学研究の分担者と共有し，複数の地域からダニ相とダニ保有病原体の情報を集積してきた．また，既調査地の補完と未調査地域の積極的な調査も併行し，秋田県をはじめ，原因不明のダニ関連疾患解明のため，新興感染症も含め対象症例の検討，検体確保を継続，分担者等と連携して学術論文，学会発表，アウトリーチ活動も積極的に展開し，国内分布種についてさらなる情報収集と公表を行った．さらに，バイオリソースとなる各種リケッチア分離株を収集した．［安藤秀二；佐藤寛子（秋田県健康環境センター）；藤田博己，藤田信子（馬原アカリ医学研究所）］

3) 宮崎県におけるダニ媒介性人獣共通感染症の感染環とリスク評価

宮崎県では複数種のダニ媒介感染症の発生が知られている．それらの防疫対策の立案に不可欠な科学的知見を得ることを目的に，イノシシ，シカ等の野生動物を歩哨動物とし，またマダニ等も対象材料とし，各種病原体遺伝子，抗体保有状況を検討するとともに，病原体分離を試みた．イノシシの材料では，確率モデル解析により，SFTSV とつつが虫病，つつが虫病と日本紅斑熱の組み合わせにおいて，感染歴の発生確率に有意な関連性が認められた．今後，対象疾患と材料をさらに増やし，詳細な検討を継続する予定である．［安藤秀二；桐野有美，岡林環樹，山本正悟（宮崎大学）］

2. リケッチア症の基礎的研究

1) プラークアッセイを用いた *Rickettsia japonica* 感染価測定の系の確立とその応用

細胞内寄生細菌である*Rickettsia japonica*の感染価測定法として，プラークアッセイ系を確立し，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 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，計数することが可能であった．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どうか評価を試みた．*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．またこれらの抗菌薬の最小発育阻害濃度（MIC）は既報の欧米の紅斑熱リケッチアのそれらと，ほぼ同等の値を示した．これらの結果から，本法により薬剤感受性試験が可能であることが示された．［佐藤正明，小川基彦，安藤秀二］

2) リコンビナントつつが虫病リケッチア型特異的抗原（TSA）を抗原とした血清診断法の開発

つつが虫病リケッチアの型特異抗原（TSA）を発現する組換えバキュロウイルスを作成した．組換えバキュロウイルス感染 sf-9 昆虫細胞を抗原として，間接蛍光抗体（IF）法によるつつが虫病の血清診断法を評価した．つつが虫病リケッチア感染細胞を抗原とした従来の IF 法により陽性であると診断された 15 人すべてが，組換え TSA を用いた IFA で陽性と診断された．一方，紅斑熱リケッチア症および発疹熱患者 10 人および非患者 10 人はすべて陰性であった．組換え TSA は，血清診断法の抗原として有用であった．BSL2 実験室で調整可能であり，今後の応用が期待される．［小川基彦，西條政幸，安藤秀二］

3) つつが虫病リケッチアの病原性に関する研究

一酸化窒素によるマクロファージにおけるつつが虫病リケッチアの増殖促進作用のメカニズムの解明のため，マイクロアレイ解析により絞り込んだ増殖関連因子（遺伝子）の候補について，CRISPR/CAS9 法によるノックアウト（KO）細胞の作出を行った．これまでに，候補遺伝子の PPARG 遺伝子が KO されたマウス繊維芽細胞 L-929 の作出に成功した．今後，他の候補遺伝子についても KO 細胞の作出を行い，KO 細胞におけるつつが虫病リケッチアの増殖を検討する予定である．［小川基彦，佐藤正明，西條政幸］

4) ツツガムシの共生細菌に関する研究

つつが虫病は，ツツガムシにより媒介される．昆虫や節足動物の共生細菌は，宿主に影響を与えたり，

共生細菌同士で干渉したりすることが知られているが，ツツガムシにおいてつつが虫病リケッチア以外の共生細菌についての知見は極めて限られている．そこで，ツツガムシの共生細菌叢を解明することを計画した．これまでに，日本国内，患者発生地域3および非発生地域1の計4地域で，ツツガムシ（幼虫）を採取し，細菌の 16SrRNA に対する PCR 法により遺伝子検出を行ったところ，全てが陽性となった．今後，次世代シーケンサーを用いた16SrRNA 細菌叢解析を行い，ツツガムシの共生細菌の詳細を明らかにする予定である．［小川基彦，西條政幸；高橋守（埼玉医大）；松谷峰之介（山口大）；高田伸弘（福井大）；野田伸一（鹿児島大）］

5) エーリキア属の探索と国内未解明なダニ媒介感染症の分離，マウス分離株の細胞馴化，診断法開発

米国からヒト・エーリキア症標準株（*Ehrlichia chaffeensis*）を導入し，血清診断法開発のための抗原作製を進めた．また国内のマウス分離エーリキア属株も各種株化細胞への適用を拡大して馴化を試みた．従来よりエーリキア等に用いる株化細胞では盲継代でも感染成立しないか，初代で感受性の可能性が得られた一部細胞も継代により感染力価が減少した．マウスでは増殖することから，同じ科のアナプラズマ属とあわせ宿主細胞側の因子がブレークポイントとなる可能性が高い．［安藤秀二；平良雅克（千葉県衛生研究所）］

VII. クラミジアに関する研究

1．クラミジアの遺伝子診断法の開発

1) 全てのヒトのクラミジア症の起因菌（性病クラミジア，肺炎クラミジアおよびオウム病クラミジア）を同時に検出可能な系の開発

ヒトのクラミジア症の原因となる病原体は，本来の病態以外の疾患との関連が数多く報告されている．肺炎クラミジアが動脈硬化病変から，オウム病クラミジアが妊婦の胎盤から検出されることなどが例としてあげられる．そこで，全てのヒトのクラミジア症の起因菌（性病クラミジア，肺炎クラミジアおよびオウム病クラミジア）を同時に検出可能な系の開発を行っている．これまでに，標的とする遺伝子を2つに絞り込み，TaqMan 法によるリアルタイム PCR 法のプライマーおよびプローブの設計を行った．今後，感度および特異性について検討する予定である．［小川基彦，西條政幸（感染研・ウイルス第一部）］

レファレンス業務

1．行政検査

1) SFTSに関する行政検査

12件のSFTSに関する行政検査を実施した．［下島昌幸，吉河智城，黒須剛，福士秀悦，緒方もも子，西條政幸］

2) アルボウイルスに関する行政検査

日本脳炎ウイルス，デングウイルス，ジカウイルスおよびチクングニアウイルス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］

3) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成29年度は，2ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定(不活化試験および力価試験)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，加藤博史，西條政幸］

2．その他のレファレンス業務

1) 遺伝子検査用ヘルペスウイルス陽性対照DNAの配布

HSV-1，HSV-2，VZV，HHV-6A，HHV-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］

2) 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られるコントロールRNAを要望のあった地方衛生研究所および保健所に配付した．［田島茂，谷口怜，前木孝洋，加藤文博，林昌宏］

3) 急性脳炎および出血熱に関する検査業務

日本脳炎，デング熱，ジカ熱およびチクングニア熱に関する行政検査以外の実験室診断を実施した．

［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］

4) ヘルペスウイルス感染症関連検査の受け入れ

行政検査以外にHSV-1, HSV-2, VZVおよびHCMVの検査をそれぞれ3検体，1検体，2検体及び8検体行った．［山田壮一，津田美穂子，福井良子，西條政幸］

5) リケッチア臨床分離株の収集および標準抗原の分与

リケッチア関連の臨床分離株の収集を行うとともに，レファレンスセンター等に血清診断用標準抗原，標準株の配布・分与を行った．また，抗原やコントロールの供給に関しては，各ブロックのリケッチアセンターと必要とする地方衛研との調整を行い，各地域内の連携強化を試みた．［安藤秀二］

6) 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多数検討した.［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

平成29年度は57ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し，57ロットすべてを合格と判定した．［田島茂，前木孝洋，谷口怜，加藤文博，池田真紀子，伊藤睦代，中道一生，林昌宏，西條政幸］

2) 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

小分け製品3ロットの痘そうワクチンの国家検定を実施し合格と判定した．［福士秀悦，黒須剛，吉河智城，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸］

3) 水痘ワクチンの検定

乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定27ロットおよび水痘抗原国家検定1ロットが実施され，全ロットとも合格と判定された．［原田志津子，山田壮一，吉河智城，藤井ひかる，福井良子，西條政幸］

4) クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験

クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験において，現行のシステムでは評価が難しいRNAを標的とした申請品１件について対応を協議し，申請書並びに提出資料の妥当性を元に評価を実施した．［安藤秀二］

4. 国際協力関係業務

1) JICA関連

JICAからの要請により，平成29年10月7日～10月22日の日程でコンゴ・キンシャサに出張した．コンゴ民主共和国公共保健省，国立生物医学研究所（INRB），JICAコンゴ民主共和国事務所を訪問し，コンゴ民主共和国における新興・再興感染症実験室診断・疫学強化のための無償資金協力の具体的計画案の作成及び今後の技術協力支援の方向性を決めるための意見交換を行った.

2) デング熱・ジカ熱・チクングニア熱の実験室診断に係る国際ワークショップへの講師派遣および参加

台湾CDCで開催されたデング熱・ジカ熱・チクングニア熱の実験室診断に係る国際ワークショップに講師として参加し，蚊媒介性ウイルスの診断法について講義および実習指導を行うとともに情報交換を行った．本ワークショップにはオーストラリア，バングラディッシュ，カンボジア，ハイチ，インド，インドネシア等18ヶ国から35名が参加し，デングウイルス，ジカウイルス，チクングニアウイルスに対するMultiplex real-time RT-PCRとデングウイルスのNS1タンパク質を検出する迅速検査に係る実習を行った．感染研ウイルス第1部からも谷口研究員および加藤研究員が実習に参加した．［林昌宏，谷口怜，加藤文博］

3) アルゼンチンのパスツール動物源感染症研究所より研修生の受け入れ

アルゼンチンのパスツール動物源感染症研究所に所属するオリビア・ワタナベ氏を受入れ，アルボウイルスの診断技術について研修を実施した．さらにアルゼンチンにおけるデング熱について議論

した．［林昌宏，田島茂，前木孝洋，谷口怜，加藤文博，西條政幸］

4) 分子学的および血清学的診断と日本脳炎，ジカ熱およびその他のアルボウイルスとの鑑別診断に係るSEAR/WPR合同実験室診断および能力育成ワークショップへの参加

フィリピンマニラで開催された分子学的および血清学的診断と日本脳炎，ジカ熱およびその他のアルボウイルスとの鑑別診断に係るSEAR/WPR合同実験室診断および能力育成ワークショップに参加し，日本脳炎，ジカ熱およびその他のアルボウイルスとの鑑別診断について発表した．また，SEAR/WPR両地域各国の当該研究所担当者および米国CDCの担当者と日本脳炎，ジカ熱，デング熱の流行状況および診断法について情報交換をした．その後実施されたELISA法による節足動物媒介性ウイルス検出法に係るWHO 西太平洋地域における国際熟達度試験において正答率100%の成績を得た．［林昌宏］

5) 第8回WHO日本脳炎世界特別研究室および西太平洋地域レファレンス研究室非公式会議の開催

中国CDCから2名，韓国CDCから3名の研究者を迎え，第8回WHO日本脳炎世界特別研究室および西太平洋地域レファレンス研究室非公式会議を開催した．これまでの西太平洋地域における日本脳炎予防に対する取り組みを評価し，一定の成果が得られていることを確認した．また日本脳炎ウイルス遺伝子型V型ウイルスの再興とその分布状況等，新たな課題について情報交換を行った．［林昌宏，田島茂，前木孝洋，谷口怜，加藤文博，池田真紀子，西條政幸；鈴木亮介（ウイルス第二部）；新井智（感染症疫学センター）；室田勝功（昆虫医科学部）；脇田隆字，倉根一郎］

6) JICA国際技術研修会への参画

平成30年1月17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」において感染研村山庁舎を訪れたフィリピンおよびベトナムのワクチン研修者6名に対して,日本の狂犬病ワクチンの現状および品質管理についてのレクチャーを行った．さらに，不活化試験に用いられる直接蛍光抗体法の実習指導を狂犬病ウイルス感染マウス脳の圧片標本を用いて行った．［伊藤（高山）睦代，佐藤正明，Posadas Herrera Guillermo，加藤博史，木下一美］

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

2017年11月にWHOで開催された第19回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（2017年5月ウイニペグ，2017年11月メキシコシティ）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．［西條政幸］

9) 世界保健機関（WHO）によるJoint External Evaluation（JEE）活動への貢献

WHOによる各国の感染症対策を主とした保健行政のあり方を評価するJEEの活動の一環としてなされた，ナイジェリアへのJEEにおける専門家委員を担当した．［西條政幸］

5. その他

1) 動物医薬品検査所より日本脳炎ワクチンの国家検定に係る研修生の受け入れ

動物医薬品検査所より研修生を3名受入れ，日本脳炎不活化ワクチンの力価測定法および不活化試験法について実習を実施した．さらに動物ワクチンとの国家検定法の差異について情報交換を行った．［田島茂，前木孝洋，谷口怜，加藤文博，池田真紀子，伊藤睦代，中道一生，林昌宏，西條政幸］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Azami NAM, Moi ML, Ami Y, Suzaki Y, Lim CK, Taniguchi S, Saijo M, Takasaki T, Kurane I.

Genotype-specific and cross-reactive neutralizing antibodies induced by dengue virus infection: detection of antibodies with different levels of neutralizing activities against homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 2 in common marmosets (*Callithrix jacchus*). Virol J 15(1):51, 2018

2) Baba M, Toyama M, Sakakibara N, Okamoto M, Arima N, Saijo M. Establishment of an antiviral assay system and identification of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus inhibitors. Antivir Chem Chemother 25(3):83-89, 2017
3) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Watanabe S, Fukushi S, Saijo M. Virulence, pathology, and pathogenesis of Pteropine orthoreovirus (PRV) in BALB/c mice: Development of an animal infection model for PRV. PLoS Negl Trop Dis 11(12):e0006076, 2017
4) Ejiri H, Lim CK, 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, Morikawa S, Maeda K, Mizutani T, Kaku K, Saijo M, Sawabe K. Isolation and characterization of Kabuto Mountain virus, a new tick-borne phlebovirus from Haemaphysalis flava ticks in Japan. Virus Res 244:252-261, 2017
5) Ejiri H, Lim CK, Isawa H, Fujita R, Murota K, Sato T, Kobayashi D, Kan M, Hattori M, Kimura T, Yamaguchi Y, Takayama-Ito M, Horiya M, Posadas-Herrera G, Minami S, Kuwata R, Shimoda H, Maeda K, Katayama Y, Mizutani T, Saijo M, Kaku K, Shinomiya H, Sawabe K. Characterization of a novel thogotovirus isolated from Amblyomma testudinarium ticks in Ehime, Japan: A significant phylogenetic relationship to Bourbon virus. Virus Res 249:57-65, 2018
6) Fujita R, Ejiri H, Lim CK, Noda S, Yamauchi T, Watanabe M, Kobayashi D, Takayama-Ito M, Murota K, Posadas-Herrera G, Minami S, Kuwata R, Yamaguchi Y, Horiya M, Katayama Y, Shimoda H, Saijo M, Maeda K, Mizutani T, Isawa H, Sawabe K. Isolation and characterization of Tarumizu tick virus: A new coltivirus from Haemaphysalis flava ticks in Japan. Virus Res 242:131-140, 2017
7) Fujii H, Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Yoshikawa T, Yamada S, Omura N, Inagaki T, Shibamura M, Harada S, Taniguchi S, Saijo M. Application of next-generation sequencing to detect acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 variants at low frequency in thymidine kinase gene of the isolates recovered from patients with hematopoietic stem cell transplantation. J Virol Methods 251:123-128, 2018
8) 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
9) Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. J Virol Methods 251:22-29, 2017
10) Gaowa, Wulantuya, Yin X, Cao M, Guo S, Ding C, Kawabata H, Ando S, Su H, Shimada M, Takamoto N, Shimamura Y, Masuda S, Ohashi N. First case of human Anaplasma phagocytophilum infection in Inner Mongolia. China. Jpn J Infect Dis 71:155-157, 2018
11) Gokuden M, Fukushi S, Saijo M, Nakadouzono F, Iwamoto Y, Yamamoto M, Hozumi N, Nakayama K, Ishitani K, Nishi N, Ootsubo M. Low seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus antibodies in individuals living in an endemic area in Japan. Jpn J Infect Dis 71(3):225-228, 2018

12) Hashimoto T, Kutsuna S, Maeki T, Tajima S, Takaya S, Katanami Y, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Kanagawa S, Ohmagari N. A case of dengue fever imported from Burkina Faso to Japan in October 2016. Jpn J Infect Dis 70:675-677, 2017

13) Hashimoto T, Kutsuna S, Tajima S, Nakayama E, Maeki T, Taniguchi S, Lim CK, Katanami Y, Takeshita N, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N. Importation of Zika virus from Vietnam to Japan, November 2016. Emerg Infect Dis 23(7):1223-1225, 2017

14) Hishiki T, Kato F, Tajima S, Toume K, Umezaki M, Takasaki T, Miura T. Hirsutine, an indole alkaliid of Uncaria rhynchophylla, inhibits late step in dengue virus lifecycle. Front Microbiol 8:1674, 2017

15) 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(4):408-415, 2017

16) Ikeda J, Matsushima A, Ishii W, Goto T, Takahashi K, Nakamichi K, Saijo M, Sekijima Y, Ikeda SI. Brain biopsy is more reliable than the DNA test for JC virus in derebrospinal fluid for the diagnosis of progressive multifocal leukoencephalopathy. Intern Med 56(10):1231-1234, 2017

17) Ishibashi K, Miura Y, Matsumura K, Kanemasa Y, Nakamichi K, Saijo M, Toyohara J, Ishii K. PET Imaging of ^{18}F-FDG, ^{11}C-methionine, ^{11}C-flumazenil, and ^{11}C-4DST in progressive multifocal leukoencephalopathy. Intern Med 56(10):1231-1234, 2017

18) Jain J, Okabayashi T, Kaur N, Nakayama E, Shioda T, Gaind R, Kurosu T, Sunil S. Evaluation of an immunochromatography rapid diagnosis kit for detection of chikungunya virus antigen in India, a dengue-endemic country. Virol J 15(1):84, 2018

19) 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

20) Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Wang L, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Lim CK, Taniguchi S, Oka A, Mizuguchi M, Saijo M. Human parainfluenza virus type 3 infections in hematopoietic stem cell transplantation patients: The mode of nosocomial infections and the prognosis. Jpn J Infect Dis 71(2):109-115, 2018

21) Kamiyama N, Soma R, Hidano S, Watanabe K, Umekita H, Fukuda C, Noguchi K, Gendo Y, Ozaki T, Sonoda A, Sachi N, Runtuwene LR, Miura Y, Matsubara E, Tajima S, Takasaki T, Eshita Y, Kobayashi T. Ribavirin inhibits ZIka virus (ZIKV) replication in vitro and suppresses Viremia in ZIKV-infected STAT1-deficient mice. Antiviral Res 146:1-11, 2017

22) Kaneko M, Shikata, Matsukage S, Maruta M, Shinomiya H, Suzuki T, Hasegawa H, Shimojima M, Saijo M. A patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome and hemophagocytic lymphohistiocytosis-associated involvement of the central nervous system. J Infect Chemother 24(4):292-297, 2018

23) 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

24) Katanami Y, Kutsuna S, Taniguchi S, Tajima S, Takaya S, Yamamoto K, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Detection of Zika virus in a traveller from Vietnam to Japan. J Travel Med 24(5), 2017

25) Kato F, Ishida Y Kawakami A, Takasaki T, Saijo M, Miura T, Hishiki T. Evaluation of Macaca radiata as a

non-human primate model of Dengue virus infection. Sci Rep 8(1):3421, 2018

26) Kato F, Tajima S, Nakayama E, Kawai Y, Taniguchi S, Shibasaki K, Taira M, Maeki T, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Characterization of large and small-plaque variants in the Zika virus clinical isolate ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016. Sci Rep 7(1):16160, 2017

27) 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

28) Moi ML, Ami Y, Muhammad Azami NA, Shirai K, Yoksan S, Suzaki Y, Kitaura K, Lim CK, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Marmosets (Callithrix jacchus) as a non-human primate model for evaluation of candidate dengue vaccines: induction and maintenance of specific protective immunity against challenges with clinical isolates. J Gen Virol 98(12):2955-2967, 2017

29) Murakami S, Takenaka-Uema A, Kobayashi T, Kato K, Shimojima M, Palmarini M, Horimoto T. Heparan sulfate proteoglycan is an important attachment factor for cell entry of Akabane and Schmallenberg viruses. J Virol 91(15). pii: e00503-17, 2017

30) Nakayama E, Tajima S, Kotaki A, Shibasaki KI, Itokawa K, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Tomita T, Saijo M, Takasaki T. A summary of the imported cases of Chikungunya fever in Japan from 2006 to June 2016. J Trop Med 25(1), 2018

31) Nishiyama S, Misu T, Shishido-Hara Y, Nakamichi K, Saijo M, Takai Y, Takei K, Yamamoto N, Kuroda H, Saito R, Watanabe M, Tominaga T, Nakashima I, Fujihara K, Aoki M. Fingolimod-associated PML with mild IRIS in MS: A clinicopathologic study. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 5(1):e415, 2017

32) Ogawa M, Satoh M, Kataoka M, Ando S, Saijo M. Nitric oxide enhanced the growth of an obligated intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi* in murine macrophages. Microbial Pathog 107:335-340, 2017

33) 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

34) Omura N, Yoshikawa T, Fujii H, Shibamura M, Inagaki T, Kato H, Egawa K, Harada S, Yamada S, Takeyama H, Saijo M. A novel system for constructing a recombinant highly-attenuated vaccinia virus strain (LC16m8) expressing foreign genes and its application for the generation of LC16m8-based vaccines against herpes simplex virus 2. Jpn J Infect Dis 71:229-233, 2018

35) Ozawa H, Tajima S, Nakayama E, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Usuku S. Isolation and complete genome sequencing of Zika virus imported from the Dominican Republic to Japan. Jpn J Infect Dis 71(1):72-74, 2018

36) Phanthanawiboon S, Pambudi S, Omokoko MD, Hanabara K, A-Nuegoonpipat A, Kamitani W, Ikuta K, Kurosu T. Construction of a high-yield dengue virus by replacing nonstructural proteins 3-4B without increasing virulence. Biochem Biophys Res Commun 495(1):1221-1226, 2018

37) Sayama Y, Zamoto-Niikura A, Matsumoto C, Saijo M, Ishihara C, Matsubayashi K, Nagai T, Satake M. Analysis of antigen-antibody cross-reactivity among lineages and sublineages of Babesia microti parasites using human babesiosis specimens. Transfusion 58:1234-1244, 2018

38) Shigemura T, Nakazawa Y, Yoshikawa T, Fujii H, Yamada S, Saijo M, Okuyama R. Severe acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 infection following cord blood transplantation. Int J Hematol. 2018

39) Suzuki T, Kutsuna S, Taniguchi S, Tajima S, Maeki T, Kato F, Lim CK, Saijo M, Tsuboi M, Yamamoto K,

Morioka S, Ishikane M, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N. Dengue virus exported from Cote dIvoire to Japan, June 2017. Emerg Infect Dis 23(10):1758-1760, 2017

40) 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

41) Tajima S, Nakayama E, Kotaki A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Saito Y, Shibasaki KI, 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(1):45-49, 2018

42) 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

43) 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(1):156-158, 2017

44) 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

45) Taniguchi S, Fukuma A, Tani H, Fukushi S, Saijo M, Shimojima M. A neutralization assay with a severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strain that makes plaques in inoculated cells. J Virol Methods 244:4-10, 2017

46) Taniguchi S, Maeda K, Horimoto T, Masangkay JS, Puentespina R Jr, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Nagata N, Egawa K, Singh H, Fukuma A, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Tsuchiaka S, Omatsu T, Mizutani T, Une Y, Yoshikawa Y, Shimojima M, Saijo M, Kyuwa S. First isolation and characterization of pteropine orthoreoviruses in fruit bats in the Philippines. Arch Virol 162(6):1529-1539, 2017

47) Tsuboi M, Kutsuna S, Maeki T, Taniguchi S, Tajima S, Kato F, Lim CK, Saijo M, Takaya S, Katanami Y, Kato Y, Ohmagari N. Dengue virus type 2 in travelers returning to Japan from Sri Lanka, 2017. Emerg infect Dis 23(11):1931-1933, 2017

48) Ueno T, Sato N, Kon T, Haga R, Nunomura JI, Nakamichi K, Saijo M, Tomiyama M. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with thymoma with immunodeficiency: a case report and literature review. BMC Neurol 18(1):37, 2018

49) Yoshikawa T, Fujii H, Okutani A, Shibamura M, Omura N, Egawa K, Kato H, Inagaki T, Harada S, Yamada S, Morikawa S, Saijo M. Construction and characterization of bacterial artificial chromosomes harboring the full-length genome of a highly attenuated vaccinia virus LC16m8. PLoS One 13:e0192725, 2018

2. 和文発表

1) 新井智，佐藤弘，奥野英雄，森野紗衣子，多屋馨子，大石和徳，林昌宏，田島茂，西條政幸．1988，1992，2004，2008，2012，2014，2016 年度感染症流行予測調査事業日本脳炎感受性調査担当各都府県衛生研究所．2007～2016 年度の人の日本脳炎中和抗体保有状況ならびに日本脳炎ワクチン接種状況．病原体微生物検出情報 38(8): 159-161, 2017

2) 安藤秀二．リケッチア，中込治監修，神谷茂・錫谷達夫編集 標準微生物学　第 13 版．262-270, 2018

3) 安藤秀二．発疹チフス epidemic typhus．特集「グローバル化・温暖化と感染症対策」．小児科臨床増刊号 70: 2261-2266, 2017

4) 安藤秀二，木下一美．感染症発生動向調査における「つつが虫病」と「日本紅斑熱」届出報告死亡例の検討．病原体微生物検出情報，38: 124-126, 2017

5) 石川真理子，駒根綾子，松島勇紀，清水智美，清水英明, 松尾千秋, 三﨑貴子, 岡部信彦, 原田　怜，江口麻樹，西村正道，田巻いづみ，雨宮文明，黒澤仁美，小泉祐子，林　露子，田崎　薫，細田智弘，坂本光男，安藤秀二．当初蚊媒介感染症が疑われた発疹熱輸入事例―川崎市．病原体微生物検出情報　38: 121-123, 2017
6) 林昌宏. 序－蚊媒介性ウイルス感染症の流行地域の拡大－．化学療法の領域　33(8): 34-37, 2017
7) 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
8) 林昌宏，加藤文博，田島茂，谷口怜，前木孝洋，中山絵理，西條政幸．海外における日本脳炎の流行状況とその対策．病原体微生物検出情報 38(8): 166-168, 2017
9) 井上智，伊藤睦代，野口 章.【One Health の視点からみた感染症の現状と対策】 狂犬病の現状と課題．最新医学 72(4): 554-562, 2017
10) 井上智，伊藤睦代，堀田明豊，野口章．狂犬病の臨床と課題　臨床とウイルス 45(5): 336-347, 2017
11) 江川和孝，西條政幸．ヒトサル痘．化学療法の領域 33(9): 1817-1824, 2017
12) 加倉井真樹，島田瑞穂，安藤秀二，出光俊郎．多数のフタトゲチマダニ若虫による刺咬症の１例，皮膚科の臨床　59(10): 1599-1603, 2017
13) 加藤博史．重症熱性血小板減少症候群．ファルマシア 54(3): 237-238, 2018
14) 佐藤弘，新井智，森野紗衣子，奥野英雄，多屋馨子，大石和徳，林昌宏，田島茂，西條政幸．2016 年度感染症流行予測調査事業日本脳炎感染源調査担当各都道県衛生研究所．わが国のブタにおける日本脳炎に対する HI 抗体保有状況（2016 年感染症流行予測調査より）．病原体微生物検出情報 38(8): 161-162, 2017
15) 柴村美帆，権藤久司，西條政幸．造血幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性ヘルペスウイルス．血液内科　76(5): 675-681, 2018
16) 西條政幸．ウイルス出血熱に対する特異的治療法開発研究 –新しいエビデンス-．最新医学 72(8): 1187-1192, 2017
17) 西條政幸．クリミア・コンゴ出血熱．小児科臨床 70（増刊号）: 2239-2242, 2017
18) 西條政幸．ジカウイルスと妊婦，胎児．日本産婦人科・新生児血液学会雑誌 27(2): 49-55, 2017
19) 西條政幸. 節足動物感染症　重症熱性血小板減少症候群（SFTS）．小児科臨床　70（増刊号）: 2235-2238, 2017
20) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）. 日本防菌防黴学会雑誌 47(7): 303-307, 2017
21) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群の流行状況と課題．日本内科学会雑誌　106: 439-433, 2017
22) 西條政幸．新興ウイルス感染症の現状と対策．空気清浄 54(5): 44-48, 2017
23) 西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）. BIO Clinica 6(2):75-79, 2017
24) 西條政幸. 新興ウイルス感染症に対するワクチン開発の現状．公衆衛生 81(17): 566-573, 2017
25) 田島茂．日本脳炎．化学療法の領域　33(8): 1635-1643, 2017
26) 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
27) 田島茂, 谷口怜, 前木孝洋, 中山絵理, 加藤文博, 西條政幸，林昌宏．日本脳炎ワクチンの歴史と，マウス脳由来ワクチンから組織培養ワクチンへの変更について．病原体微生物検出情報 38(8): 164-165, 2017
28) 谷口怜. カリフォルニア脳炎オルソブニヤウイルス感染症．化学療法の領域 33(8): 113-121, 2017
29) 谷口怜. 西アフリカおよ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
30) 中道一生，西條政幸．PML の DNA 診断の超高感度化とその可能性. 神経内科 87(4): 372-376, 2017
31) 中道一生，西條政幸．　PML の DNA 診断の超高感度化とその可能性．神経内科 87(4): 372-376, 2017
32) 前木孝洋．ジカウイルス感染症.化学療法の領域 33(8): 1587-1601, 2017

33) 前木孝洋．日本脳炎．小児科臨床 70(S): 2165-76, 2017

34) 前木孝洋，西條政幸．ジカウイルス感染症．感染と消毒 24 (1): 25-32, 2017

35) 前木孝洋, 西條政幸. 輸入感染症. 病理と臨床 36（臨時増刊号）: 331-339, 2017

36) 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

37) 前木孝洋，谷口怜，田島茂，加藤文博，中山絵理，西條政幸，林昌宏，高崎智彦．2007～2016 年に報告された日本脳炎患者検体の解析結果病原体微生物検出情報 38(8): 158-159, 2017

38) 三上真充，梅田雄嗣，松田浩一，才田聡，平松英文，藤野寿典，山田壮一，柴村美帆，西條政幸，平家俊男，足立壮一．HLA 半合致血縁者間骨髄移植後にアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス 1 型感染症を発症した一例．日本小児血液・がん学会雑誌 54(5): 408-411, 2017

39) 森村歩，白野倫徳，小西啓司，笠松 悠，後藤哲志，阿部仁一郎，安藤秀二．輸入 Queensland tick typhus（クイーンズランドマダニチフス）の一例．病原体微生物検出情報 38: 123-124, 2017

Ⅱ．学 会 発 表

1. 国際学会

1) Lim CK. Laboratory diagnosis of arbovirus infections in Japan NIID. International Training Workshop on Laboratory Diagnosis for Dengue/Zika/Chikungunya, Taipei, Taiwan, April 2017

2) Kumagai K, Elwell CA, Ando S, Engel JN, Hanada K. Both the N- and C-terminal regions of IncD are required for the interaction with the PH domain of the host ceramide transport protein CERT. Chlamydia Basic Research Society: CBRS 2017 Meeting in Charlotte, Charlotte, North Carolina, USA, April 2017

3) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Takeda Ma, Arai Ka, Hasegawa H, Nagata N. Expression and characterization of spike proteins of human coronavirus associated with severe pneumonia. XIVth International Nidovirus Symposium, Fannsas City, Kansas, USA, June 2017

4) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Sekimukai H, Fukushi S, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Acute respiratory infection in human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice infected with Middle East respiratory syndrome coronavirus. XIVth International Nidovirus Symposium, Fannsas City, Kansas, USA, June 2017

5) Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Kurosu T, Taniguchi S, Egawa K, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. VSV pseudotype and monoclonal antibody-based assays for determining MERS-coronavirus neutralizing antibody responses. XIVth International Nidovirus Symposium, Fannsas City, Kansas, USA, June 2017

6) Ohashi N, Gaowa, Wuritu, Wu D, Kawamori F, Su H, Shimada M, Takamoto N, Tai H Ando S. *Anaplasma phagocytophilum* in Japan. ESCCAR-ASR Joint Meeting 2017, International Congress on Rickettsia and other Intracellular Bacteria, Marseille, France, 19-21 June 2017

7) Ando S. Diversity and uniformity of Rickettsia and Rickettsia-related pathogens in Japan. ESCCAR-ASR Joint Meeting 2017, International Congress on Rickettsia and other Intracellular Bacteria, Marseille, France, June 2017

8) Saijo M. Research progress on severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan: Treatment with T-705 (Favipiravir) and Immunoglobulin. U.S. – Japan Annual Medical Biodefense Research Symposium on “Research on Infectious Diseases with High public Health Consequences”, Rockville, Maryland, USA, June 2017

9) Fujii H, Kakiuchi S, Yoshikawa T, Yamada S, Omura N, Shibamura M, Harada S, Saijo M. Application of next-generation sequencing to detect acyclovir

resistant herpes simplex virus 1 variants at low frequency in thymidine kinase gene from viral isolates, emergence in patients with stem cell transplantation. 17th International Congress of Virology, Singapore, Singapore, July 2017

10) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Fukushi S, Saijo M. Establishment of lethal Pteropine orthoreovirus infection BALB/c mouse model. 17th International Congress of Virology, Singapore, Singapore, July 2017
11) Morikawa S, Kimura M, Yoshikawa T, Kaku Y, Park E-S, Imaoka K, Saijo M, Maeda K. Correlation between SFTS virus antibody positive rate in wild deer and number of SFTS patients. 17th International Congress of Virology, Singapore, Singapore, July 2017
12) Taniguchi S, Maeda K, Horimoto T, Mansangkay JS, Puentespina R Jr, Egawa K, Fukushi S, Yoshikawa Y, Shimojima M, Saijo M, Kyuwa S. First isolation and characterization of Pteropine orthoreoviruses in fruit bats in the Philippines. 17th International Congress of Virology International Union of Microbiological Societies 2017, Singapore, Singapore, July 2017
13) Lim CK. Role of NIID as the Global Specialized Laboratory for JE. SEAR/WPR Biregional Laboratory Training and Capacity Building Workshop for Molecular and Serological Diagnosis and Differential Diagnosis of Japanese Encephalitis, Zika and Other Arboviruses, Manila, Philippines, July 2017
14) Ogawa M, Saijo M, Ando S. Evaluation of recombinant *Orientia tsutsugamushi* specific antigens-based indirect immunofluorescent assay in diagnosis of scrub typhus. 9th Tick and Tick-borne Pathogen Conference & 1st Asia Pacific Rickettsia Conference, Cairns, Australia, 27 August-1 September 2017
15) Ogawa M, Shirasago Y, Ando S, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Inhibitory effects of caffeic acid, a coffee related organic acid, on the infection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. 9th Tick and Tick-borne Pathogen Conference & 1st Asia Pacific Rickettsia Conference, Cairns, Australia, August-September 2017
16) Ishii J, Kawamoto M, Fujiwara S, Imai Y, Nakamichi K, Takahashi K, Shishido-Hara Y, Kohara N. Punctate lesions demonstrated as an early sign of progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with systemic lupus erythematosus: a clinico-pathological study. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, Japan, September 2017
17) Tajima S. Isolation and characterization of a Zika virus strain ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016, which is the first isolate from a Japanese patient returning from Fiji in 2016. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative project reports, Tokyo, Japan, September 2017
18) Lim CK. Quality control test methods for Japanese encephalitis vaccines. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific, Seoul, Korea, September 2017
19) Lim CK. Zika and other mosquito-borne infectious diseases in Japan. The China-Asia Conference for Emerging Infectious Diseases, Beijing, China, September 2017
20) Saijo M, Azuma T, Tani H, Yamanaka A, Himeji D, Kawamura M, Suemori K, Haku T, Ohge H, Taniguchi T, Imataki O, Kadowaki N, Shimojima M, Yoshikawa T, Kurosu T, Fukushi S, Kohno S, Furuta Y, Yasukawa M. Efficacy of favipiravir in the treatment of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) in animal model and the clinical study on the favipiravir treatment for patients with SFTS. 2nd International Conference on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Thessaloniki, Greece, September 2017
21) Saijo M. Clinical, epidemiological, and virological aspects of SFTS in Japan: what we have learned and

what we should do? ISAAR & ICIC 2017, Busan, South Korea, September 2017

22) Nakahara J, Kufukihara K, Tanikawa M, Nakamichi K, Saijo M, Miura Y, Fujiwara H, Jinzaki M, Yoshizaki T, Suzuki S, Takahashi S, Suzuki N. Third Japanese case of fingolimod-associated PML in natalizumab naïve MS: Coincidence or alarm bell? 7th Joint ECTRIMS ACTRIMS Meeting 2017, Paris, France, October 2017

23) Tajima S. Research activities on JEV in NIID, Japan. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017

24) Maeki T, Tajima S, Ikeda M, Kato F, Taniguchi S, Nakayama E, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Analysis of the cross-reactivity of flaviviruses with Japanese encephalitis patients' sera showed the importance of the neutralization test. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017

25) Kato F. Analysis of neurovirulence in Zika virus using reverse genetics. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017

26) Taniguchi S. A neutralization assay with a SFTS virus strain that makes plaques in inoculated cells. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017

27) Lim CK. Activities of Global Specialized Laboratory for JE in Japan. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Tokyo, Japan, November 2017

28) Tajima S. Recent dengue cases in Japan and isolation and characterization of Zika virus from imported Zika cases. The 11th Korea-Japan-China Forum for Communicable Disease Control and Prevention, Seoul, Korea, November 2017

29) Saijo M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infections. GHSAG Laboratory Network Members' Scientific Presentations, Mexico City, Mexico, November 2017

30) Kurosu T. The dynamics of disease progression in severe dengue, Joint International Tropical Medicine Meeting, Bangkok, Thailand, December 2017

31) Lim CK, Taniguchi S, Moi ML, Azami NAM, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Kato H, Tajima S, Hasegawa H, Kurane I, Morita K, Takasaki T, Saijo M. Animal Model of Zika fever. 50th Joint Working Conference on Viral Diseases: US-Japan Cooperative Medical Science Program, Shenzhen, China, January 2018

32) 西條政幸. ジカウイルス感染症って何？感染予防はどうするの？第 10 回長崎大学ハノイ公開講座, Hanoi, Vietnam, February 2018

2. 国内学会

1) 藤井ひかる，垣内五月，大村夏美，柴村美帆，吉河智城，山田壮一，原田志津子，西條政幸．造血幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス 1 型の遺伝子変異の経時的な解析．第 120 回日本小児科学会学術集会，東京，2017 年 4 月

2) 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 JCV quasispecies in PML patients. 第 106 回日本病理学会総会，東京， 2017 年 4 月

3) 原田志津子，藤井ひかる，吉河智城，大村夏美，稲垣拓也，柴村美帆，加藤博史，山田壮一，西條政幸．DNA ポリメラーゼ変異によるアシクロビル耐性 HSV-1 を特異的に誘導するためのシステム開発．第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会，熊本，2017 年 5 月

4) 藤井ひかる，垣内五月，大村夏美，柴村美帆，吉河智城，山田壮一，原田志津子，西條政幸．造血

幹細胞移植患者におけるアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルス1型の遺伝子変異の経時的な解析. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会，熊本，2017 年 5 月

5) 安藤秀二．自然界との共存は可能か～Zoonosis としてのリケッチア症から．宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター特別セミナー，宮崎，2017 年 5 月

6) 西條政幸．新興・再興感染症について…最近の状況．第 63 回名古屋市公衆衛生研究発表会，名古屋，2017 年 5 月

7) 加藤文博，中山絵里，河合康洋，田島茂，林昌宏，高崎智彦，西條政幸．ジカウイルス MR-766 株と PRVABC59 株の IFN 受容体欠損マウスに対する病原性の解析．第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，沖縄，2017 年 5 月

8) 前木孝洋，田島茂，池田真紀子，加藤文博，谷口怜，中山絵里，林昌宏，高崎智彦，西條政幸.日本脳炎患者血清を用いたフラビウイルス間の交差反応の解析．第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，沖縄，2017 年 5 月

9) 平良雅克，小川知子，西嶋陽奈，山本浩仁郎，田島茂，堀田千恵美，秋田真美子．西條政幸．国内で初めて発熱性疾患患者から分離されたジカウイルス．第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，沖縄，2017 年 5 月

10) 松井清彦，田島茂，林昌宏，大畑雅典，竹上勉，高崎智彦．遺伝子置換後の日本脳炎ウイルスについて．第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，沖縄，2017 年 5 月

11) 藤間大貴，加藤文博，日紫喜隆行，竹山春子，高崎智彦，田島茂，西條政幸．サイクロフェニルによるデングウイルス増殖抑制の作用点同定の試み. 第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，沖縄，2017 年 5 月

12) 日紫喜隆行，加藤文博，田島茂，高崎智彦．分泌型ルシフェラーゼ発現レプリコン細胞を用いた抗デングウイルス化合物の探索．第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会，沖縄，2017 年 5 月

13) 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，東京，2017 年 6 月

14) 西條政幸．Zika virus と妊婦・胎児．第 27 回日本産婦人科新生児血液学会学術集会，福島，2017 年 6 月

15) 安藤秀二．リケッチア感染症．国際医療研究センター第３回節足動物媒介感染症研修会，東京，2017 年 6 月

16) 門馬直太，鈴木理恵，壁谷昌彦，藤田信子，藤田博己，安藤秀二，仲村究．マダニの身体測定～形態同定への活用を目指して～．第 25 回 SADI，伊勢志摩，三重，2017 年 6 月

17) 佐山勇輔，新倉綾，松本千惠子，西條政幸，松林圭二，永井正，佐竹正博．ヒトバベシア症原因原虫 Babesia microti 遺伝子型間における抗体反応性の解析．第 65 回日本輸血・細胞治療学会総会，千葉，2017 年 6 月

18) 西條政幸．ジカウイルス感染症：日本で流行するの？　免疫のふしぎ 2017，東京，2017 年 8 月

19) 日高侑也，林昌宏，伊藤(高山)睦代，朴天鎬，君付和範，井上謙一，小林由紀，伊藤琢也．　狂犬病ウイルスゲノムの分節化. 第 160 回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

20) 渡辺俊平，須田遊人，福士秀悦，黒須剛，西條政幸，下島昌幸．　ヘビのアレナウイルスの糖蛋白質（GP）は機能的にフィロウイルスの GP に類似する．第 160 回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

21) 佐藤（大久保）梢，熊谷由美，福士秀悦，下島昌幸，西條政孝，山野公明，大西真　新興回帰熱の新規抗体検査用抗原の性能評価に関する研究　第 160 回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

22) 平良雅克，安藤秀二，川端寛樹，藤田博己，角坂照貴，門馬直太，佐藤寛子，西條政幸．マダニにおけるエーリキア属菌の遺伝子検出および分離状況. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017 年 9 月

23) 安藤匡子，村松隆之，阿戸学，安藤秀二．つつが虫病の理解にむけて．第 160 回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

24) 桐野有美，山本正悟，Ngan Mai Thi，野町太朗，安藤秀二，岡林環樹．宮崎県における歩哨動物を用いたダニ媒介性病原体の感染リスク調査．第 160 回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

25) 下島昌幸, 谷口怜, 網康至, 永田典代, 福士秀悦, 黒須剛，渡辺俊平，谷英樹，福間藍子，岩田奈織子，西條政幸．重症熱性血小板減少症候群 SFTS の霊長類モデル. 第160回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

26) Kurosu T, Okuzaki D, Limkittikul K, Shimojima M, Fukushi S, Watanabe S, Saijo M. The dynamics of disease progression in severe dengue. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

27) Tani H, Fujii H, Taniguchi S, Fukushi S, Kurosu T, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. The protein kinase inhibitors inhibit entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

28) Taniguchi S, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Tani H, Yoshikawa T, Morikawa S, Kato F, Maeki T, Tajima S, Lim CK, Saijo M. Comparative analysis of viral replication and transcription function of severe fever with thrombocytopenia virus and Heartland virus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪，2017 年 10 月

29) Watanabe S, Marsh G, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Saijo M. The expression of Hendra virus F gene is downregulated by its untranslated region. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

30) Shimojima M, Taniguchi S, Ami Y, Nagata N, Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Tani H, Fukuma A, Iwata N, Saijo M. A non-human primate model for severe fever with thrombocytopenia syndrome. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

31) Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. Development of competitive ELISA for detecting serologic responses to MERS-CoV using novel monoclonal antibodies against spike protein. 第65回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

32) Kawagishi T, Kanai Y, Nouda R, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Nelson Bay orthoreovirus cell attachment protein σC determines strain-specific differences in viral infectivity and pathogenesis. 第65回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

33) Watanabe M, Arii J, Shimojima M, Kato A, Kawaguchi Y. A host cell membrane protein interacts with HSV-1 gE and promotes viral cell-to-cell spread. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

34) Onishi M, Kanai Y, Kawagishi T, Nouda R, Pannacha P, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Analysis of genome packaging mechanism of Nelson Bay orthoreovirus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

35) Nouda R, Kawagishi T, Kanai Y, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Functional analysis of Nelson bay orthoreovirus p17 protein. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

36) Tajima S, Kato F, Nakayama E, Kawai Y, Shibasaki K, Taira M, Taniguchi S, Maeki T, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. The Characterization of large and small plaque variants in Zika virus Chiba isolate ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016. 第65回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

37) Ikeda M, Tajima S, Thu Thuy NT，Linh Ly PH，Hien Thu LT, Hoang NV, Quynh LT Mai, Moi ML, Morita K, Lim CK, Saijo M, Hasebe F. Neutralization potency of the sera from Japanese encephalitis (JE) patients in Vietnam against genotype I and V JE viruses. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

38) Maeki T, Tajima S, Ikeda M, Kato F, Taniguchi S, Nakayama E, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Analysis of the cross reactivity of flavivirus with Japanese encephalitis patients' sera showed the importance of neutralization test. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

39) Kato F, Nakayama E, Kawai Y, Lim CK, Saijo M, Tajima S. Difference in the pathogenicity of ZIKV MR-766 and PRVABC59 strains in IFNAR1-knockout mice and mechanism of the difference. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

40) Hishiki T, Kato F, Nio Y, Miyazaki Y, Tajima S, Hijikata M, Takasaki T. Novel antiviral activity of Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) inhibitor against dengue virus replication. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

41) Tohma D, Kato F, Hishiki T, Takeyama H, Lim CK, Tajima S, Saijo M. Site of action of Cyclofenil to inhibit dengue virus replication. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

42) 加藤博史, 伊藤（高山）睦代, 塩田（飯塚）愛恵, 福士秀悦, ポサダス・エレラ・ギジェルモ, 堀谷まどか, 佐藤正明, 森本金次郎, 西條政幸, 林昌宏. 非増殖性組換え狂犬病ウイルスベクターを用いた中東呼吸器症候群と狂犬病に対する2価ワクチンの開発. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

43) Nukuzuma S, Nukuzuma C, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Tasaki T, Takegami T. CPT11 prevents virus replication in JCI cells persistently infected with JC polyomavirus. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

44) Takeda M, Watanabe S, Katano H, Sato Y, Noguchi K, Miura T, Okumura A, Sakamoto M, Yamada S, Inoue N. Rolesof GP33, a guinea pig CMV homolog of G-protein coupled receptor, in cellular signaling and viral growth in vitro and in vivo. 第 65 回日本ウイルス学会, 大阪, 2017 年 10 月

45) Matsuura M, Miura T, Makino R, Yamada S, Inoue N. Guinea pig CMV infection was enhanced in epithelial cells expressing GP131 and GP133, components of the non-fibroblast tropism determinant. 第 65 回日本ウイルス学会, 大阪, 2017 年 10 月

46) Inagaki T, Yamada S, Hasebe F, Le MTQ, Mori K, Fujii H, Yoshikawa T, Harada S, Takeyama H, Saijo M. Characterization of alphaherpesvirus isolated from fruit bats in Vietnam. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

47) Fujii H, Harada S, Yoshikawa T, Omura N, Inagaki T, Shibamura M, Kato H, Yamada S, Saijo M. The development of the system that specifically induce herpes simplex vkirus type 1 DNA polymerase mutation derived form acyclovir resistance. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

48) 西條政幸. 最近の新興・再興ウイルス感染症について：EVD, SFTS, Zika. 平成 29 年度中国四国グループ内感染対策研修会, 岡山, 2017 年 10 月

49) 西條政幸. 新興ウイルス感染症とワクチン開発：研究の最前線. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月

50) 佐藤翔紀, 白井慎一, 高橋育子, 加納崇裕, 矢部一郎, 遠藤知之, 豊嶋崇徳, 東海林菊太郎, 宝金清博, 松野吉宏, 太田雅之, 三浦義治, 中道一生, 西條政幸, 佐々木秀直. 脳生検により診断した進行性多巣性白質脳症の長期生存例. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月

51) 宍戸-原由紀子, 松林純, 中道一生, 西條政幸, 相澤仁志, 秋元治朗, 長尾俊孝. 画像・病理・遺伝子解析で悪性リンパ腫が疑われた, 高度リンパ球浸潤を伴った進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月

52) 前木孝洋, 田島茂, 池田真紀子, 加藤文博, 谷口怜, 中山絵里, 林昌宏, 高崎智彦, 西條政幸. 2016 年の日本脳炎患者血清を用いた, 日本脳炎ウイルスに対する中和抗体検査では遺伝子型を同定することはできなかった. 第 22 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 北九州, 2017 年 10 月

53) 田島茂. 国内外での蚊媒介性ウイルス感染症の状

況とウイルス学．第 22 回日本神経感染症学会学術集会，北九州，2017 年 10 月

54) 中道一生，西條政幸．脳脊髄液中 JC ウイルスの超高感度リアルタイム PCR 検査における CLIA 認定プライマーおよびプローブの有用性．第 22 回日本神経感染症学会学術大会，北九州，2017 年 10 月

55) 三浦義治，中道一生，西條政幸，高橋健太，鈴木忠樹，阿江竜介，濱口毅，原由紀子，三條伸夫，雪竹基弘，岸田修二，澤洋文，奴久妻聡一，水澤英洋，山田正仁．本邦における進行性多巣性白質脳症（PML）サーベイランスの現状－PML サーベイランス委員会報告－．第 22 回日本神経感染症学会学術大会，北九州，2017 年 10 月

56) 佐野正浩，神白麻衣子，高橋健介，山下嘉郎，高木理博，田中健之，森本浩之輔，安藤秀二，有吉紅也．南アフリカ共和国から帰国後に発熱と皮疹を認めAfrican Tick Bite Feverの診断となった 1 例．第 87 回日本感染症学会西日本地方会学術集会，長崎，2017 年 10 月

57) Kurosu T, Okuzaki D, Limkittikul K, Shimojima M, Fukushi S, Watanabe S, Saijo M. The dynamics of disease progression in severe dengue. 第 58 回日本熱帯医学会大会，東京，2017 年 11 月

58) 西條政幸．マダニ媒介性ウイルス感染症 : SFTS．第 58 回日本熱帯医学会大会，東京，2017 年 11 月

59) 大阿久聡恵，小林真麻，田部井弘一，安藤秀二，青笹尚彦．ツツガムシ病の 1 例．日本皮膚科学会第 81 回東京支部学術大会，東京，2017 年 11 月

60) 福士秀悦．レストンエボラウイルス感染症．第 17 回日本バイオセーフティ学会総会･学術集会，川崎，2017 年 12 月

61) 下島昌幸．国際緊急援助隊・感染症対策チームによるコンゴ民主共和国における黄熱対策支援．第 17 回日本バイオセーフティ学会総会･学術集会，川崎，2017 年 12 月

62) 西條政幸．新規アルボウイルス感染症としての SFTS とジカウイルス感染症研究における最新の知見 : 治療および予防法のあり方を考える．平成 29 年度宮崎県感染症危機管理研修会，宮崎，2017 年 12 月

63) 熊谷圭悟, Cherilyn A Elwell, 安藤秀二, Joanne N Engel, 花田賢太郎．クラミジアのエフェクタータンパク質 IncD と宿主細胞由来のセラミド輸送タンパク質 CERT の PH ドメインとの結合には IncD の N 末領域と C 末領域が必要である．第 90 回日本生化学会，第 40 回日本分子生物学会合同大会，神戸，2017 年 12 月

64) 加藤文博，日紫喜隆行，田島茂，林昌宏，西條政幸．デングウイルスレポーターレプリコン細胞を用いた抗ウイルス化合物スクリーニング．2017 年度生命科学系学会合同年次大会，神戸，2017 年 12 月

65) 安藤匡子，松村隆之，阿戸学，安藤秀二．*Orientia tsutsugamushi* 7 血清型のマウスに対する病原性比較．第 24 回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

66) 小川基彦，西條政幸，安藤秀二．リコンビナントつつが虫病リケッチア型特異的抗原(TSA)を抗原とした間接蛍光抗体法の血清診断法としての評価．第 24 回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

67) 小川基彦，白砂圭崇，安藤秀二，下島昌幸，西條政幸，深澤征義．コーヒー抽出物であるカフェ酸の重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）に対する増殖抑制効果．第 24 回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

68) 佐藤寛子，藤田博己，安藤秀二．秋田県のツキノワグマと刺咬マダニのリケッチア検索．第 24 回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

69) 木下一美，安藤秀二，砂川富正，大石和徳．感染症発生動向調査における「つつが虫病」と「日本紅斑熱」届出報告の検討．第 24 回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

70) 桐野有美，山本正悟，佐藤優貴子，野町太朗，安藤秀二，岡林環樹．宮崎県の野生動物におけるダニ媒介性病原体調査．第24回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

71) 笠間健太郎，後藤恭宏，小椋義俊，高野愛，山本正悟，藤田博己，安藤秀二，林哲也．非病原性リ

ケッチア *Rickettsia* sp. LON のゲノム解析．第 24 回リケッチア研究会，東京，2017 年 12 月

72) 西條政幸. 新興感染症に対する日中韓産官学の取り組み ～重症熱性血小板減少症候群 （severe fever with thrombocytopenia syndrome : SFTS）の事例から～．第 5 回日経アジア感染症会議，沖縄，2018 年 2 月

73) 西條政幸．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学的，臨床的，病理学的知見．平成 29 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会，別府，2018 年 2 月

74) 西條政幸．ウイルス性出血熱，重症熱性血小板減少症候群の流行状況，病態，治療・予防法：集中治療における感染予防．第 45 回日本集中治療医学会学術集会，幕張，2018 年 2 月

75) 西條政幸．SFTS．第 33 回トラベラーズワクチンフォーム研修会～ダニに媒介される感染症とその予防～，東京，2018 年 3 月

76) 林昌宏．ダニ媒介性脳炎とその予防．第 33 回トラベラーズワクチンフォーム研修会～ダニに媒介される感染症とその予防～，東京，2018 年 3 月

77) 林昌宏．ジカウイルス感染症の動物モデル開発．感染症研究連携のフロンティア，東京，2018 年 3 月

78) 佐藤正明，小川基彦，安藤秀二，西條政幸．Plaque assay を用いた R. japonica に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度（MIC）の測定．第 91 回日本細菌学会総会，福岡，2018 年 3 月

79) 笠間健太郎，後藤恭宏，小椋義俊，高野愛，山本正悟，藤田博己，安藤秀二，林哲也．非病原性リケッチア *Rickettsia sp.* LON のゲノム解析．第 91 回日本細菌学会，福岡，2018 年 3 月

2. ウイルス第二部

部長　脇田隆字（H29. 9月まで）
部長　村松正道（H29. 10月から）

概　要

ウイルス第二部は、主として消化器系疾患の原因ウイルスを所掌とし、これらのウイルス及びその感染症の研究、検査、リファレンス業務、サーベイランス、研修を担当としている。生物製剤検定では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担当し、また肝炎の様々なリファレンス業務を担当している。

第1室は下痢症ウイルスを担当するとともに、不活化ポリオワクチン、ロタワクチンの国家検定を担当している。不活化ポリオワクチンのうち、セービン株由来不活化ポリオワクチンを含む4種混合ワクチン（DPT-sIPV：沈降精製百日せき破傷風不活化ポリオ（セービン株）混合ワクチンは、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）、および、一般財団法人化学及血清療法研究所（クアワトロバック皮下注シリンジ）から、合計 11 件の出検があり、ラット免疫原性試験による力価試験を実施した。また、4種混合ワクチンに用いる中間段階試験品（不活化ポリオ 3 価混合原液）は 2 件の出検があり、不活化試験を実施した. また、ソークワクチンについては、単独不活化ポリオワクチン（サノフィ：イモバックスポリオ皮下注）が 2 件、サノフィ社の不活化ポリオワクチンを含む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（北里第一三共：スクエアキッズ皮下注シリンジ）が7件出検され、いずれも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3件、MSD：ロタテックが8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、ライセンス供与を受けた企業でワクチン生産が進行しつつある。ノロウイルスの流行予測プログラムとして開発されたNoroCastは、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果たすとともに、ノロウイルスを含むカリシウイルスに関する基礎研究が進展している。これまで一般的な培養細胞で増殖させることができなかったヒトノロウイルスについて、慶応大学医学部との共同研究ならびに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安定的な培養増殖系が確立されつつある。オルガノイド系はノロウイルス複製機構、病原性発現機構解明の基盤となるばかりでなく、ノロウイルス不活化剤、治療薬、予防薬、ワクチン等の評価系として活用できると期待される。

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。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、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)を公開した。我が国でも本指針に対応しバイオリスク管理体制の整備を進めている。また、JICAとの共催により実施した第27回

ポリオ実験室診断技術研修会(ポリオ及び風疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術としては第 8 回目)ではポリオ・麻疹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 による PI4KB 阻害機構の解析を進めた。

第3室および第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、新規感染阻害剤を複数同定する成果を挙げた。さらに、ウイルス複製増殖に関わる宿主因子とその機序を明らかにした。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室はA型およびB型肝炎ワクチンの検定、検査を担当している。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、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, 2017 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 2013 年から 2017 年にかけて採血された検体を用いて抗体測定を行った。

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が、平成 29 年 10 月に、副所長と部長の兼任であった脇田部長が副所長専任となり、金沢大学より新部長の村松が着任した。ウイルス第二部での脇田隆宇先生のこれまでのご尽力に感謝する。平成 29 年 12 月より、吉田和央研究員が任期付研究員として第二室に配属された。平成 30 年 1 月より、第 1 室の染谷雄一主任研究官が第 1 室の室長に選任された。

以下のような国際的技術協力をおこなった。

第1室

Ya-Ling Tzeng(曾雅鈴)(台湾 CDC)平成 30 年 3 月 26 日～平成 30 年 3 月 30 日、下痢症ウイルス検出の研修

第 2 室

Dr. Zayyin Dinana(インドネシア・アイルランガ大学)平成 29 年 7 月 3 日～平成 29 年 7 月 14 日、下痢症ウイルスの次世代シークエンス、分子疫学解析の研修

松井千絵子(神戸大学)平成 29 年 7 月 3 日～平成 29 年 7 月 7 日、下痢症ウイルスの検出、分子疫学解析の研修

Dr. Francis Ekow Dennis (野口記念医学研究所)平成 29 年 12 月 11 日～22 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 型肝炎ウイルスの分子生物学に関する研究

Xiao Gong. 中国広東 CDC. 平成 29 年 11 月 26 日～平成 29 年 12 月 9 日。E 型肝炎ウイルスと A 型肝炎ウイルスの検査法に関する研修

Li Wei. 中国広東 CDC. 平成 29 年 11 月 26 日～平成 29 年 12 月 9 日。E 型肝炎ウイルスと A 型肝炎ウイルスの検査法に関する研修

張文靜（中国山東省輸血研究所）＜中国留学基金派遣＞ 平成 29 年 12 月～平成 31 年 12 月、E 型肝炎ウイルスの分子生物学に関する研究

第3室

体外診断薬承認前試験；ルミパルスプレスト オーソ HCV 抗原（富士レビオ株式会社）

第5室：

A 型肝炎　4 件 6 検体

B 型肝炎　1 件 17 検体

E 型肝炎　5 件 8 検体

＜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） 6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） 2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） 2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） 7件

・経口弱毒生ヒトロタウイルスワクチン（ロタリックス） 3件

・5価経口弱毒生ロタウイルスワクチン（ロタテック） 8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） 4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） 26件

・次期参照沈降A型肝炎ワクチンの値付け 2回（3回繰り返しのうちの2回）

行政検査

第 2 室

エンテロウイルス検出試験

合計 1 件(6 検体)

業　績

調査・研究

I. 下痢症ウイルスに関する研究

(1) ヒト腸管オルガノイド培養のコスト削減の試み

ヒト腸管オルガノイド培養に用いる培地（CMGF+/WENRAS）は成長因子を多数含む. このうちWnt3a, R-spondin1 及び Noggin の精製タンパク質が高価なため, 培養コストを押し上げている. そこで 3 つの成長因子を培養細胞株産生リコンビナントタンパク質に置き換え, 引き続き安定的に培養できることを確認した. この結果, CMGF+/WENRAS の価格を約 1/7 に削減できた. また GII.4 ノロウイルスに対する感受性を維持していることも確認した.

[村上耕介, 藤本陽, 片山和彦（北里大学）, 染谷雄一, Estes MK (ベイラー医科大学)]

(2) 胆汁要求性ノロウイルス GII.3 のオルガノイドへの感染メカニズムの解析

GII.3 ノロウイルスのオルガノイドへの感染への胆汁酸がどのように関与するのかを解析するため, 13 種の胆汁酸を用いて GII.3 の感染実験を行った. その結果, 抱合胆汁酸の多くが GII.3 の感染を誘導することを明らかにした. また胆汁酸の疎水度と GII.3 の複製効率との間に正の相関性を見出した.

[村上耕介, Tinge VR, Ettayebi K, Crawford SE, Neill FH, Ramani S, Zeng X, Atmar RL, Estes MK (ベイラー医科大学)]

(3)ノロウイルス VLP の X 線結晶構造解析

ノロウイルスチバ株（GI.4）の直径 38 nm の VLP を昆虫細胞で調製し、高輝度光科学研究センターにおいてその三次元結晶を得た。現在、X 線結晶構造解析を進めている。

[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）]

(4)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。また、P ドメインタンパク質を大腸菌で発現させ、三次元結晶化を進めている。

[染谷雄一、染谷友美（理化学研究所）]

(5) 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. 今年度までに, 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ている.

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

(6)外力支援近接場照明バイオセンサを用いた実環境サンプル中のノロウイルスの検出

磁性粒子と光信号用マーカーて検出対象をサンドイッチすることて「動く光点」を作り出し検出する外力支援近接場照明バイオセンサ（EFA-NIbiosensor）を用いて,実環境サンプルに添加した NoVVLP の検出を行う.EFA-NI バイオセンサは,原理上既存の手法に比へシグナルとノイズの区別か容易てある. 今年度は,EFA-NI バイオセンサの実環境サンプルへの適合性評価を行った.その結果、洗浄や前処理を行わすに,トイレより回収したサンプルに添加された NoVVLP の検出に成功し,実環境サンプルへの適合性か証明された.

[白土東子,安浦雅人（産総研）,守口匡（藤田保健衛生大学）, 藤巻真（産総研）]

(7) ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼの遺伝子型による RNA 合成速度の測定

これまでに構築したノロウイルスの RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ（RdRp）の in vitro RNA 転写活性測定系を用いて、遺伝子型 GI.I, GII.3, 及び GII.4 の RdRp の RNA 合成速度を測定した。その結果、GII.4 は、GI.I, GII.3 に比べて約 2 倍 RNA 合成速度が大きいことを示唆する結果を得た。この結果は GII.4 型が長年にわたり流行している理由を考える上で興味深いと考えられる。

[下池貴志、脇田隆宇、村松正道]

(8) インドネシアにおける無症候ノロウイルス感染者の分子疫学解析

インドネシア、スラバヤ市の健康なボランティアから継続的に糞便検体を収集し、便中に存在するノロウイルスゲノムの疫学解析を進めた。2015～2016年に18人の健康なボランティア（無症候者）から512検体を収集した。糞便検体からRT-PCR法にてノロウイルスゲノムを増幅し、シークエンス解析を行った結果、512検体中14検体（2.7%）がノロウイルス陽性であり、すべてが遺伝子型GIIであった。陽性14検体について分子系統樹解析により、10検体（71.4%）がGII.2、2検体（14.3%）がGII.17、1検体（7.1%）がGII4 Sydney2012、1検体（7.1%）がGII.1の遺伝子型と同定された。さらに詳細に解析したところ、GII.Pg/GII.1とGII.Pe/GII.4 Sydney2012という異なる遺伝子型同士の組換えノロウイルスが検出された。7人の無症候者のうち、2人において、同じ遺伝子型あるいは異なる遺伝子型株による反復感染が認められた。以上の結果から、無症候者に高率にノロウイルスが感染していることが明らかになり、インドネシアにおけるノロウイルス伝播および下痢症流行に無症候者が感染源として重要であることが示唆された。

[内海孝子、勝二郁夫 (神戸大学)、Maria Inge Lusida (アイルランガ大学)、片山和彦 (北里大学)、Yen Hal Doan]

(9) インドネシアで検出された急性胃腸炎ウイルスの次世代シークエンスによる網羅的遺伝子解析

インドネシアにおける2015-2016年の急性胃腸炎症例由来糞便検体は、それぞれ、31%および17.5%がロタウイルスあるいはノロウイルス陽性であった。本研究期間では、GII.4が下痢症入院患者における主要なノロウイルス遺伝子型であったが、遺伝子型GII.13株が2番目に高頻度に検出された(17%)。日本を含むアジア地域での検出が相次いでいる新たな遺伝子型GII.17-GII.17株は、インドネシアでは3番目のノロウイルス遺伝子型であった。インドネシアでは、2014年に非典型G1P[8] DS-1 like RVAが検出されたが、2015-2016年には、ウマVP7近縁遺伝子およびDS-1-like遺伝子構成を有するG3P[8]/P[6] 株が広範に伝播し主要なロタウイルス遺伝子型であった。インドネシアのロタウイルス遺伝子型解析を継続したところ、2016-2017年にかけても、引き続き同遺伝子型が高頻度に検出された。

[内海孝子、勝二郁夫(神戸大学)、Rury MegaWahyuni (アイルランガ大学)、片山和彦 (北里大学)、清水博之、Yen Hal Doan]

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および現在より精度の高いサポウイルス核酸検出系の改良構築を目的として、ヒト由来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、新たに GI.3, GI.4, GI.6, GI.7, GII.7 の遺伝子型についてそのフルゲノム配列を決定した。残る GII.8 株もほぼフルゲノムの配列の報告がなされたため、全ての遺伝子型のフルゲノム配列の情報を得ることができた。

[岡智一郎, Yen Hai Doan,入谷展弘 (大阪健康安全基盤研究所)、岡田峰幸 (東総食肉衛生検査所)、小川知子 (千葉県衛生研究所)、飯塚節子、辰巳智香 (島根県保健環境科学研究所)、原田誠也 (熊本県保健環境科学研究所)]

(2) 改良版サポウイルス核酸定量検出系構築の試み

新たに蓄積したサポウイルスゲノム配列、データベースに報

告済みの配列に基づき、リアルタイム RT-PCR 系改良のためのプライマー、プローブのデザインを行い、ターゲット領域を含むプラスミド DNA を使った評価を行い、適切なプライマー、プローブ候補の組み合わせを選定した。
[岡智一郎]

(3) ブタサポウイルス感受性細胞の検索

ブタサポウイルスの感受性細胞としてはブタ腎臓由来細胞(LLC-PK1 細胞)のみが知られている。今回、異なるブタ組織由来の感受性細胞を新たに見出した。ブタサポウイルス感受性細胞はいずれもウイルス増殖に胆汁酸由来成分が必要であった。ヒト由来サポウイルスの培養細胞での増殖はまだ達成されていないため、ウイルス感受性規定因子の検索への有用性が期待される。
[高木弘隆{バイオセーフティ管理室}、岡　智一郎]

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作用メカニズムの解析

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)をすべて阻害する化合物、テアフラビンについては、主にネコカリシウイルスを用いた検討により、ウイルスそのものに作用し、感染能を失わせていることが示された。
[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）]

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）北海道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、2016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）、滝川市立病院（滝川市）、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）、留萌市立病院（留萌市）の9か所から、それぞれ9、33、3、15、30、3、5、7、18検体（合計123検体）のRVA陽性検体を収集することができた。
[藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）]

イ）北海道のロタウイルス検体の NGS 解析

採取した RVA 陽性の 123 検体について、次世代シーケンサー（NGS）を行いて全ゲノム配列を解析した。RVA の遺伝子型分布は DS-1-like G1P[8]が 2%、G2P[4]が 5%、AU-1-like G3P[9]が 1%、equine-like G3P[8]が 21%、G8P[8]が 2%、G9P[8]が 77%であり、G9P[8]が圧倒的優勢であった。4 検体は genotyping や PAGE でも検出できず、遺伝子型を特定できなかった。苫小牧では新規流行株である equine-like G3P[8]が優勢（30 株中 18 株）となったが、他の多くの地域（札幌、岩見沢、室蘭、浦河、留萌）では G9P[8]が優勢であった。
[藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）]

ウ）北海道のロタウイルス遺伝子の系統樹解析

2016 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。検出された G9P[8]株（73 株）はすべて前年までと同様の lineage 6 に属する株であった。G3 株（26 株）のうち 25 株は近年世界中で流行が見られている equine-like G3P[8]（DS-1 型）であり、この株の日本国内への侵入が確認された。残りの 1 株は非常に稀な AU-l 型 G3P[9]株であり、ネコロタウイルスに近縁の配列を有していた。2016 年の北海道のロタウイルス流行株の遺伝子型分布は、2015 年の分布とは大きく異なっていた。
[藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）]

（2）東京都におけるロタウイルス分子疫学研究

ア）東京都のロタウイルス検体のNGS解析

東京都健康安全研究センターとの共同研究で、東京都におけるA群ロタウイルス（RVA）流行株を調査するため、同センターが2016年度に依頼を受けて検査したロタウイルス陽性検体について、感染研でより詳細な次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を行った。32検体のうちG2P[4]が13

検体（41%）、human G3P[8]が1検体（3%）、equine-like G3P[8]が8検体（25%）、G8P[8]が3検体（9%）、G9P[8]が5検体（16%）であり、2検体はG2P[4]とG9P[8]の重複感染であった。

[藤井克樹、小田真悠子（東京都健康安全研究センター）、宗村佳子（東京都健康安全研究センター）]

イ）東京都のロタウイルス遺伝子の系統樹解析

2016 年度に東京都で検出された RVA 株について、各遺伝子の系統樹解析を行った。検出された G9P[8]株（重複感染を含め 7 株）のうち、1 株は lineage 3 であり、残りの 6 株は lineage 6 であった。また、G3P[8]株（8 株）のうち 1 株は従来から流行している典型的なヒト G3P[8]株（Wa 型）であり、残りの 7 株は equine-like G3P[8]株（DS-1 型）であった。各遺伝子の系統樹を見ると、東京都で検出された equine-like G3P[8]株は北海道で検出された株とは異なる枝に分岐している事から、この株が流行し始めてから既に数年が経過していると考えられた。

[藤井克樹、小田真悠子（東京都健康安全研究センター）、宗村佳子（東京都健康安全研究センター）]

ウ）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

大阪健康安全基盤研究所、名古屋市衛生研究所、山口県環境保健センターの3カ所の地方衛生研究所に協力を仰ぎ、核酸自動電気泳動装置MultiNA（島津製作所）を用いたRVAのタイピング法の性能について検討した。それぞれ。計51検体のロタウイルス陽性検体を用いて検証したところ、ロタウイルスの検出率は66.7%（34/51）で、そのうち遺伝子型の正答率は58.8%（20/34）であった。G1、G2、G9型については良好な正答率を示していたが、新規流行株であるウマ様G3型およびG8型の出現により正確な判定が困難になっている状況が判明した。現状でもWa型かDS-1型かの判定は可能であると考えられる。

[藤井克樹、左近直美（大阪健康安全基盤研究所）、高橋剣一（名古屋市衛生研究所）、岡本玲子（山口県環境保健センター）、片山和彦（北里大学・北里生命科学研究所）]

エ）Multiplex-PCRによるロタウイルスのgenotyping法の改良

Geouveaらが1990年に報告したmultiplex-PCRによるロタウイルスVP7のgenotyping法は、これまで世界中で長く利用されてきたが、近年の流行株では誤判定となる例が散見されるようになった。検証の結果、ウマ様G3株はG1型として、G8株はG3型として誤判定され、G9 lineage3株は検出困難、G9 lineage6株はG8付近に非特異バンドが見られた。これらの不都合を解消するため、プライマーの再設計を行い、G1、G2、ヒトG3、ウマ様G3、G4、G8、G9型を正しく判定できるプライマーセットを開発し、各型のウイルス株を用いて実証した。

[藤井克樹、左近直美（大阪健康安全基盤研究所）、高橋剣一（名古屋市衛生研究所）、岡本玲子（山口県環境保健センター）、片山和彦（北里大学・北里生命科学研究所）]

オ） ガーナで検出されたロタウイルスの遺伝子解析

下痢症が公衆衛生上きわめて重要な疾患であるガーナでは、下痢検体の45%がAGEウイルス陽性であった。伝播しているロタウイルス遺伝子株解析によると、複雑なリアソータントの存在が明らかとなり、動物からヒトへの直接的伝播あるいはヒトと動物のRVA株間のリアソータント株の可能性が示唆され、次世代シークエンス解析により高頻度の共感染が検出された。ガーナでは、現行ロタワクチンであるRotaTeqあるいはRotarixとは異なる型の非典型G9P[4] DS-1 like株の検出頻度の上昇が認められた。これらG9P[4] DS-1 like株は、現在伝播しているRVA株間の段階的なリアソータントにより生じた可能性が高い。また、比較的多くのG9P[4] DS-1 like株が、ブタに由来するNSP2遺伝子を有していた。また、2016年後半以降、ワクチン株との相同性が高い、G1P[8]/G1P[6] Wa-like株の再流行が認められた。ガーナでは現在、高いロタワクチン接種率が報告されており、エスケープ株伝播の可能性も含め、遺伝子型およびアミノ酸変異についての継続的な解析が必要とされる。

[太田伸生(東京医科歯科大学)、Francis E. Dennis (Noguchi Memorial Institute for Medical Research)、片山和彦 (北里大学)、清水博之、Yen Hal Doan]

4. その他（品質管理に関する業務）

(1)ポリオワクチンの D 抗原含量と免疫原性力価との相関に関する検討

日本で用いられているセービン株由来不活化ポリオワクチンを含む 4 種混合ワクチン製剤について、D 抗原含量の低下が免疫原性力価と対応しているかを明らかにするため、まず、製剤の加温による劣化の程度を明らかにした。通常の保存条件（5±3℃）では D 抗原
含量の顕著な変化は見られないのに対し、37℃で 1 週間静置するとおよそ 10～20%にまで低下した。50℃で 1 週間静置で D 抗原含量はほぼ消失した。今後、劣化ワクチンを用いて、ラットに対する免疫原性の比較を行う。

[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. 2017 年度は、抗血清を 6 地衛研(49 種類)、細胞を 5 地衛研(8 種類)に配布した。

[吉田 弘, 有田峰太郎，西村順裕、清水博之]

イ) 手足口病検査を例とした外部精度評価（EQA）の導入研究

手足口病検査の施設間変動を明らかにする目的で外部精度管理調査を地方衛生研究所 12 施設の協力を得て試行的に実施した。その結果、CODEHOP-snPCR 法によるウイルス RNA 検出感度に施設間変動が認められ、使用する酵素等の反応諸条件の違いが影響しているものと判断された。これら反応条件と感度に関する施設間比較の結果を共有することにより、自施設の検査の質の改善に寄与すると考えられる。また試行の結果、市販の非感染性試料を用いることで他の疾患に対しても EQA をパッケージ化可能であることを示した。

[伊藤雅、皆川洋子（愛知県衛研）、板持雅恵（富山衛研）、小澤広規（横浜衛研）、木田浩司（岡山県環保セ）、北川和寛（福島県衛研）、佐野貴子、近藤眞規子（神奈川県衛研）、高橋雅輝（岩手県環保研セ）、長谷川道弥、新開敬行（東京都健安研セ）、豊嶋千俊、山下育孝（愛媛県衛環研）、中田恵子（大安研）、西澤香織（熊本市環総セ）、峯岸俊貴（埼玉県衛研）、吉冨秀亮、濱崎光宏（福岡県保環研）、吉田弘（感染研）]

ウ) 施設内における病原体等検査の質の管理手法導入の試みについて

感染症法改正により、地方衛生研究所において検査の質の確保が求められることとなり、標準作業書（SOP）など各種技術文書の整備が行われている。検査の質を確保するためには、効果的な監査システムの導入により施設内で PDCA サイクルを動かす必要がある。

一方、具体的な手法は各自治体で各施設での状況に委ねられており、方法論の開発が必要である。今般 QC ツールの一つである、特性分析手法の導入を試み、検査の質の動機付け教育・研修及び管理手法を検討した。

[柗岡由美子（熊本市環総セ）、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(5年目)によるポリオウイルスの監視

平成 29 年度は感染症流行予測調査事業として 16 か所、調査研究として 2 か所の計 18 か所の協力を得て流入下水中のポリオウイルスの有無を確認する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 660 万人である。本年度は調査期間中にポリオウイルスは検出されなかった。なおエコ-ウイルス 3 型、6 型が各々 14.13 か所で検出されており、全国レベルで不顕性感染者の存在が示唆された。国外では依然としてポリオ流行国が存在し、かつ生ワクチンを使用している国も多いため、引き続きポリオウイルスの監視を続けていく必要がある。

[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)、磯田美穂子(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(大安研)、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 27 回ポリオ実験室診断技術研修会 (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としては第 8 回目) を実施した。 感染研での研修期間は 2018 年 1 月 15 日～2 月 9 日, 研修参加者は,アフガニスタンから 2 名、ナイジェリアから 2 名、フィリピン 2 名、スワジランド 1 名の計 7 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・風疹排除の現状と技術的課題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, 吉田和央、和田純子, 村松正道]

(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 107 検体およびラオス 486 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。ラオスの糞便検体からポリオウイルス 1 型 2 株、3 型 3 株が検出されたが、いずれも、ワクチン株(Sabin 株)と同定された。

[吉田 弘, 有田峰太郎、西村順裕、Doan Hai Yen, 和田純子、清水博之]

イ) ラオスにおける 1 型ワクチン由来ポリオウイルスの流行

2015年9月7日に発症したAFP症例由来の糞便検体から1型ポリオウイルスが分離され、型内鑑別試験およびVP1領域の塩基配列解析により、分離株はSabin 1型との比較で3.3%の変異を有する1型VDPVと同定された。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、2017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。また、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、Doan Hai Yen 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/HQ および感染研国際協力室と協力し、2017 年 10 月 30 日－11 月 1 日に感染研戸山庁舎において開催された The 20th Polio Research Committee Meeting の開催準備および会議運営を担当した。 日本における sIPV 開発・導入等に関する発表を行った。

[有田峰太郎清水博之、熊谷優子 (国際協力室)]

エ) 2017 年 9 月 25-28 日に、WHO/WPRO(マニラ)で開催された「第 7 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、等に関する情報提供を行った。
[清水博之]

オ) 2017 年 10 月 9 日～10 日に、NIBSC (Hertfordshire、イギリス) 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、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]

カ) 2018 年 3 月 11 日－3 月 15 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 24th 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]

キ) 2018 年 4 月 23～24 日に、台北で開催されたエンテロウイルス実験室診断実験室国際ワークショップに参加し、招聘講師として日本のエンテロウイルス感染症サーベイランスに関する講義を担当した。
[藤本嗣人(感染症疫学センター)、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 23th 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]

ク) 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 抗原含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。平成 28 年 5 月 2 日に行われた会議（One-day Workshop on Sabin IPV D Antigen Content and Potency Assays Harmonization）で総括された第 1 回国際共同研究成果に基づき、平成 30 年 2 月から 3 月にかけて第 2 回目の国際共同研究として、国際標準品候補品の D 抗原含量試験を実施した。その結果得られたデータを NIBSC に提出した。
[染谷雄一]

ケ) 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。平成 28 年 9 月 22 日、23 日の第 1 回会議に続き、第 2 回の会合が平成 29 年年 9 月 19 日、20 日にジュネーブで開催され、ワーキンググループメンバーとして参加した。
[染谷雄一]

2. WHO 西太平洋地域の 2017 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

2017 年度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 593 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。その後、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。2017-2018 年にかけて、AFP 症例および接触者から 1 型 VDPV は検出されず、ラオスにおける 1 型 VDPV 伝播は終息したもの考えられる。
[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]

3. 世界ポリオ根絶計画に関わる研究

(1) 抗ピコルナウイルス化合物 MDL-860 の遺伝子発現に対する影響の解析

MDL-860 を細胞と 24 時間反応させることで、抗ポリオウイルス活性が顕著に上昇することを見出した。細胞の遺伝子発現への影響を解析したところ、MDL-860 は Nrf2-Keap1 抗酸化応答経路を活性化することが判明した。しかし、この経路の代表的な活性化剤として知られる sulforaphane は抗ポリオウイルス活性を全く示さなかった。これらの結果から、MDL-860 は親電子化合物であること、Nrf2-Keap1 経路の活性化は抗ポリオウイルス活性には必須ではないことが示唆された。
[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)]

(2) 抗ピコルナウイルス化合物 MDL-860 の *in vivo* における PI4KB 阻害機構の解析

MDL-860 の *in vivo* における PI4KB の影響を解析するために、細胞から PI4KB を精製して、その活性を測定した。その結果、MDL-860 処理細胞から精製した PI4KB は、未処理細胞からの PI4KB と比較して、活性が顕著に低下していることを発見した。精製 PI4KB の分子量を測定したところ、146 Da の分子修飾が生じていることが判明した。
[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)]

(3) 抗ピコルナウイルス化合物MDL-860のPI4KB修飾部位の同定

MDL-860はNrf2-Keap1経路を活性化することから、システイン残基との反応性を介してPI4KB活性を低下させている可能性が考えられた。PI4KBの持つ13個のシステイン残基との反応性を測定した結果、646番目のシステイン残基がMDL-860と特異的に反応してPI4KBの活性を阻害することが判明した。646番目のシステイン残基をセリンに置換したPI4KBを発現した細胞では、MDL-860が抗ポリオウイルス活性を示さないことを見出した。これらの結果から、MDL-860はPI4KBの646番目のシステインを特異的に修飾することで、不可逆的に細胞内のPI4KBを阻害し、抗ポリオウイルス効果を細胞に与え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) 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および標準化

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とされることから、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、実際の臨床検体・環境検体を用いた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、様々な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を実施し、解析方法と解析結果についてNIBSCで評価を進めている。
[Doan Hai Yen, 清水博之、WHO Global Polio Laboratory Network]

(5)セービン IPV を抗原とした貼るワクチンの開発研究

世界に先駆けて日本で独自開発され、2012 年に定期接種に導入された弱毒化 Sabin 株由来不活化ポリオワクチン(sIPV) および国内で基盤技術開発が進められているマイクロニードル(MN)を用いた貼るワクチン(sIPV-NM)の開発を開始した。国内 sIPV をベースとした sIPV-MN ワクチンは、既存の注射ワクチンと比較して大きな利便性を有する新たなワクチン製剤として、途上国を含めた世界的ニーズが期待できる。製剤処方検討用に三価混合 sIPV 原液を濃縮し、Sabin 1〜3 型の D 抗原量が目標値を達成していることを、D 抗原 ELISA により確認した。また、sIPV-NM 試作品において、現行注射製剤と同等の sIPV 抗原量を内包する事、十分な穿刺強度を持つ事、十分な皮内溶解性を有する事を確認した。MN の形状も検討し、ヒト投与に最適な形状の MN が作製可能出る事を確認した。sIPV-MN 製剤の有効性を確認するため、ラットを用いた有効性評価試験により、sIPV-MN 製剤至適化検討を進めている。また、よりヒトに近い動物モデルとして、カニクイザルモデルによる安全性・有効性評価試験の準備を進めた(感染研で実施予定)。非臨床試験（安全性薬理試験、同等性試験、毒性試験）を開始するため、ラット免疫原性試験およびカニクイザルにおける有効性試験で有効性・安全性を確認し、sIPV-MN 製剤処方を決定する予定である。

[小山田孝嘉(富士フイルム)、落合晋(阪大微研会)、岡田直貴(阪大)、永田典代(感染病理部)、染谷雄一、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(四種混合ワクチン)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と経年変化を調査した。2017 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 93.7%、追加接種は 23 か月で 83.8%であった。IPV 含有四種混合ワクチンの接種状況はこの 3 年間で大きな変化はなく良好であるが、水痘、日本脳炎等、他の定期接種ワクチンも含めて勘案すると、ワクチン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 6 年目の 2017 年度の調査結果により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、経年的な推移について検討を行った。2011〜2017 年度調査の 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含有ワクチンの 1 回以上接種率をみると、2011〜2012 年度は 86〜87%であったが、2013〜2017 年度は 98〜100%と高かった。接種ワクチンの種類・回数が明らかな者でみると、IPV のみ被接種者は 2011〜2012 年度ほとんどみられなかったが、2013 年度 48%、2014 年度 73%、2015 年度 91%と増加し、2016〜2017 年度は、97〜99%が IPV のみ被接種者であった。一方、5 歳未満児の抗体保有率（中和抗体価 1:8 以上、以下同じ）についてみると、1 型・2 型に対しては 2011〜2012 年度で 85〜86%であったが、2013〜2017 年度は 95〜100%であり、1 回以上接種率の上昇にともない抗体保有率も上昇していた。3 型に対して 2011〜2012 年度は 59〜60%であったが、2013 年度 75%、2014 年度 88%、2015 年度 94%、2016 年度 96%、2017 年度 96%と抗体保有率の上昇がみられた。

[佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳（感染症疫学センター）、清水博之]

(3)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)]

(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

以前、我々は IPV を個人輸入し、日本人成人に IPV を筋肉注射することにより、ポリオウイルスに対する中和抗体価が上昇することを確認した。2012 年 9 月に、日本でも皮下注 IPV が導入され、この製剤で日本人成人に追加接種を行う機会が多くなった。そのため、日本人成人に対して IPV を皮下注した場合の免疫原性の評価を実施した。健常成人を対象に、IPV を 4 週間間隔で 2 回皮下注した。ポリオウイルスに対する血清中和抗体価を計 3 回(ワクチン接種前、1 回目接種の 4 週間後、2 回目接種の 4 週間後)測定した。中和抗体価は、OPV 株、強毒型標準株、さらに 2 型 VDPV 4 株について測定した。健常成人 12 名のうち、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 接種前に中和抗体価 8 倍以上を保有する者は、OPV 株の Sabin1 型で 11 名(91.7%)、Sabin2 型で 12 名(100%)、Sabin3 型で 5 名(41.7%)であった。また強毒型標準株の Mahoney で 9 名(75.0%), MEF-1 で 12 名(100%), Saukett で 1 名(8.3%)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 倍以上となり、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た。

[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) ヒト PSGL-1 を発現するマウス細胞におけるマウス Scarb2 遺伝子のノックアウト

ヒト P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) およびヒト Scavenger receptor class B member 2 (SCARB2)はエンテロウイルス 71 の受容体である。ヒト PSGL-1 を発現させたマウス L929 細胞（L-PSGL-1 細胞）では、エンテロウイルス 71 が PSGL-1 依存的に増殖するようになる。この感染過程にマウス Scarb2 分子が関与するかどうかを検討するために、CRISPR/Cas9 システムを用いてマウス Scarb2 遺伝子のノックアウトし、L-PSGL-1[mScarb2-KO]細胞を樹立した。

[西村順裕、清水博之]

(2) マウス Scarb2 をノックアウトしたヒト PSGL-1 発現マウス細胞における EV71 複製の解析

L-PSGL-1[mScarb2-KO]細胞におけるエンテロウイルス 71 の感染性を検討した。エンテロウイルス 71 がマウス細胞で増殖するためにはキャプシド蛋白質 VP2 の 149 番目のリジンがイソロイシンに変異することが必要であるため、この変異ウイルス（EV71-VP2-K149I）を用いて感染性を検討した。EV71-VP2-K149I は L-PSGL-1 細胞に強い細胞死を誘導した。しかし、L-PSGL-1[mScarb2-KO]細胞には顕著な細胞死を起こさなさなかった。したがって、L-PSGL-1 へのエンテロウイルス 71 感染過程において、マウス Scarb2 分子が関与していると考えられた。[西村順裕、清水博之]

(3) Fc タグを付加した可溶性 PSGL-1 蛋白質の作製

PSGL-1 は膜貫通型の蛋白質であり、細胞外領域がエンテロウイルス 71 と相互作用する。この結合を詳細に解析するために、抗体定常領域（Fc）を付加した組換えキメラ

蛋白質の作製を試みた。PSGL-1 細胞外領域 cDNA をクローニングした Fc 配列付加発現プラスミドを、293T 細胞にトランスフェクションした。3 日目の細胞培養上清を回収し、組換え PSGL-1-Fc 蛋白質が分泌されていることをウエスタンブロッティングで確認した。 [西村順裕、清水博之]

(4) 3xFLAG タグおよび His タグを付加した組換え SCARB2 分子の発現

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、3xFLAG および His タグを付加した組換え SCARB2 分子の発現を試みた。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 3xFLAGタグおよびHisタグを融合させた組換え蛋白質（SCARB2-3xFLAG-His）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-3xFLAG-His の EF1a プロモーター下流にクローニングした。こ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。24 時間後に細胞を回収し、組換え SCARB2-3xFLAG-His 蛋白質の発現をウエスタンブロッティングで確認した。 [西村順裕、清水博之]

(5) SCARB2 ペプチド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、ペプチドを免疫原としたポリクローナル抗体の作製を試みた。ウサギを SCARB2 ペプチドで免疫した（ペプチド 2 種類、1 種類につき2羽を免疫）。抗体価の上昇を確認するために、免疫に使用したペプチドを固相化した ELISA を行った。4 羽のうち 3 羽のウサギは高い抗体価の上昇を示し、全血を採取した。こ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]

(6)北部ベトナムにおける手足口病の疫学とウイルス遺伝子解析

ベトナムでは、近年、死亡例・重症例を含む手足口病あるいはエンテロウイルス 71(EV71)感染症の流行が報告されている。2011-2012 年には、ベトナム全土で、死亡例を含む多くの重症例を伴う大規模な手足口病流行が発生し、公衆衛生上の大きな問題となっている。本研究では、ベトナム北部における手足口病症例由来検体からの病原体サーベイランスを実施し、EV71 分離株について、より詳細な分子疫学的解析を実施した。2017 年の北部ベトナムにおける手足口病症例 212 例のうち、191 例(約 90%)がエンテロウイルス陽性と判定された。手足口病の主要な原因ウイルスは CV-A6(42%)および CV-A16(31%)であり、EV71 の検出頻度(4.7%)は比較的低かった。VP1 領域に基づく分子疫学的解析によると、2014-2017 年の北部ベトナムにおける主要な EV71 遺伝子型は subgenogroup B5 であった。2017 年に検出された EV71 株は、subgenogroup B5 の中で、3 種類の genetic lineage に分けられることが明らかとなった。ウイルス学的性状および病原性に直接影響する特徴的アミノ酸変異は認められなかったが、ウイルス学的性状を規定する重要なアミノ酸近傍に変異が認められた(VP1-95, VP1-96, VP1-146)。

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

(7) 2016-2017 年に北部ベトナムで検出された手足口病関連エンテロウイルスの解析

北部ベトナムにおける手足口病病原体サーベイランスを継続し、原因ウイルスの検出頻度と経年変化を解析した。2016-2017 年にかけて、従来、手足口病症例から高頻度に検出されていた EV71、コクサッキーウイルス A16 型(CV-A16)、および A6 型(CV-A6)ではなく、コクサッキーウイルス A10 型(CV-A10)および A4 型(CV-A4)が高頻度に検出された。CV-A10 および CV-A4 は、EV71 と比べると比較的低年齢の手足口病患者から検出される傾向が認められた。CV-A10 による手足口病は、広い範囲で認められたが、CV-A4 症例は、限局した地域で検出された。2017 年も含め、近年、ベトナム北部で重症エンテロウイルス感染症の報告が、ほとんど無い原因のひとつは、北部ベトナムにおいてコクサッキーA 群ウイルスが手足口病の主要な原因ウイルスとして定着したためと考えられる。今後、CV-A10 および CV-A4 による手足口病と、従来の原

因ウイルスによる手足口病口との疫学的な比較を継続する必要がある。

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

(8) 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]

(9) VP1-145 アミノ酸によるエンテロウイルス 71 カプシド蛋白質相互作用表面のシス-アロステリック制御機構

エンテロウイルス71カプシドタンパク質の*in silico*構造・多様性解析プラットフォームを構築し、カプシド安定性に寄与する高度保存アミノ酸残基を包括的に同定した。また、VP1-145等、EV71感染マウスとサルの神経病原性発現に関わるカプシド変異の効果について*in silico*変異導入解析系を構築して解析し、VP1-145変異が変異箇所とは離れた位置にある領域が受容体結合表面やエピトープの構造を変えるアロステリック効果を発揮することを見出した。この変異により、ウイルスの細胞指向性、宿主受容体特異性、抗体感受性等が同時に変化し、病原性の発現につながる可能性が示唆された。

[小谷 治、佐藤裕徳 (感染症ゲノム解析センター)、清水博之]

(10) カニクイザル EV71 感染モデルにおける VP1-145 アミノ酸変異の病原性への影響

EV71は、手足口病の主要な原因ウイルスであるとともに重篤な中枢神経疾患の流行に関与するが、重篤化を規定するウイルス・宿主因子および重篤化機構は明らかにされていない。EV71 カプシドアミノ酸 VP1-145 は、EV71 分離株間で多様性を有し、PSGL-1 受容体特異性、マウス感染モデルにおける病原性、中和抗原性エピトープ、ヒト EV71 感染重篤化への関与の可能性等、さまざまなウイルス表現型に関与することが知られている。異なる感染性 EV71 クローンをベースに作製した VP1-145E および VP1-145G ウイルス株を、それぞれ、カニクイザルに静注し、神経病原性、ウイルス増殖および in vivo カプシドアミノ酸変異等について比較解析した。VP1-145E 株は、VP1-145G 株より高い神経病原性を示し、VP1-145G 株接種群では、高頻度に VP1-145E への変異が認められた。また、VP1-145E株は、VP1-145G株と比較すると感染により誘導される血中中和抗体により中和されにくい傾向が認められた。

[藤井健、小池智 (東京都医学研)、片岡周子(北大)、網康至 (動物管理室)、永田典代 (感染病理部)、清水博之]

(11) 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、ライノウイルス同様、温度感受性および酸耐性等のウイルス学的性状を有し、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 検出数の顕著な増加が認められ、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検出事例は、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/AFM 症例の報告が相次ぎ、一部症例から EV-D68 が検出された。積極的疫学調査の結果、55 人の小児および 4 人の成人（年齢の中央値、4.4 歳）を含む 59 例の AFM 症例が報告された。2015 年の AFM 流行曲線は、NESID の EV-D68 検出数の推移と強い相関を示したが、他の病原体検出パターンとの相関は認められなかった。EV-D68 は、鼻咽頭由来検体 5 例、糞便 2 例、CSF1 例、気管吸引、鼻咽頭および血清検体が 1 例から検出された。AFM 症例は多様な四肢麻痺を呈し、多くの症例で残存麻痺が認められた。症例報告、サーベイランス、検体採取や EV-D68 実験室診断の精度・感度等についても考慮する必要があるが、AFP/AFM を含む中枢神経疾患と EV-D68 感染の関連が強く示唆された。

[多屋馨子、花岡希、藤本嗣人(感染症疫学センター)、清水博之]

(12) 急性弛緩性麻痺サーベイランスと検査体制の整備

2018 年 5 月より、15 歳以下の急性弛緩性麻痺症例が、感染症法による 5 類感染症全数報告対象疾患となることから、急性弛緩性麻痺の病原体サーベイランスに関する国内外の現状を踏まえ、検査体制の整備を進めた。具体的には、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」(厚労科研、多屋班)の作成に協力し、急性弛緩性麻痺 (AFP) サーベイランスとウイルス学的診断の項目の分担執筆を担当した。世界的 AFP サーベイランスの一環としてのポリオウイルス検査の位置付けと重要性、および EV-D68 を含む非ポリオエンテロウイルス等の検査の概要について整理した。

[多屋馨子、藤本嗣人(感染症疫学センター)、清水博之]

(13) 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 EV-D68 感染症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。EV-D68 感染症の流行規模は、年により大きく異なることが明らかとなった。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おり、顕著な季節性が認められた。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、急性弛緩性麻痺、末梢神経麻痺などの症例からの検出も報告されていた。EV-D68 を検出した検体の大多数は咽頭拭い液(約 80%)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]

(14) 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]

(15) EV-D68 感染マウスモデルの樹立とウイルス感染の解析

2015 年に国内で分離された EV-D68 株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 株を使用した。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おいて神経病原性を維持していた。継代株を脳内接種した新生仔マウスの病理学的検査により、弛緩性麻痺を呈したマウスでは、脊髄における EV-D68 感染に関連した神経細胞傷害を有することが明らかになった。EV-D68 神経病原性発現に関連するウイルス側因子を探索するために必要な感染マウスモデルを樹立し、現在、ウイルス側の病原性規定因子の探索を進めている。
[宮崎誠、永田典代 (感染病理部)、斎藤博之、(秋田県健康環境センター)、Doan Hai Yen、清水博之]

(16) 次世代シークエンスによる EV-D68 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、新生仔マウス感染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 EV-D68 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 株との相同性が高かった。培養細胞(H1-HeLa 細胞等)および感染マウスモデルにおける EV-D68 カプシドアミノ酸変異の同定、in vitro および in vivo 継代過程でのアミノ酸変異の解析のため、次世代シークエンスは有用であった。
[Doan Hai Yen、清水博之、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)、宮崎誠、永田典代 (感染病理部)]

(17) ICAM-5 持続発現細胞の作製

再興エンテロウイルス感染症の原因ウイルスとして近年注目を集めている EV-D68 は、上気道上皮細胞に多く発現する糖蛋白質のα2,6-結合シアル酸末端へ結合することにより、経気道感染すると考えられている。最近、シアル酸以外の新たな EV-D68 宿主受容体として、神経細胞に特異的に発現する ICAM-5/ Telencephalin が同定されたが、神経細胞への EV-D68 感染および神経病原性発現における ICAM-5 の関与と機能は明らかにされていない。ICAM-5 受容体を介した EV-D68 感染機構を培養細胞レベルで解析するため、ICAM-5 を発現していない Vero 細胞にヒト ICAM-5 遺伝子を導入し、ICAM-5 を安定的に持続発現する Vero 細胞クローンの選択を進めている。
[Doan Hai Yen、西村順裕、清水博之]

(18) エンテロウイルス D68 感染増殖に関与する宿主因子の探索

宿主細胞内でのエンテロウイルス D68 の生活環については不明な点が多い。まず、D68 の Fermon 株、島根株、秋田株のヒト横紋筋肉腫由来細胞株 RD-A、神経細胞(ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y、神経グリオーマ細胞腫 U87-MG)への感染性を解析した。Fermon 株は全ての細胞に感染し強い細胞障害(CP)を示したが、島根株、秋田株は RD-A、U87-MG で CP を示したが、SH-SY5Y では CP が観察されなかった。そこで D68 感受性細胞に CRISPR-Cas9 knockout ライブラリーを導入した。D68 を感染させ、生存する細胞の遺伝子を、次世代シークエンサーを用いて解析し、D68 増殖に重要な遺伝子を同定し、解析を進めている。
[相崎英樹、渡士幸一、鈴木亮介、清水博之]

(19) 深層学習を用いた手足口病およびヘルパンギーナ症例の新規報告者数の予測

深層学習の一種である LSTM(Long Short Term Memory)モデルを用いて手足口病の流行規模の大きさとヘルパンギーナ流行発生時期を予測した。感染症発生動

向調査週報(IDWR)で公表されている統計データを学習させた結果、2014-2017 年の手足口病の流行規模を予測できるLSTMモデルを作成できた。またヘルパンギーナでは2015-2017年の流行の開始期を予測できるLSTMモデルを作成できた。作成したLSTMモデルにより1ヶ月先の報告者数を予測することができた。

[吉田和央、清水博之]

(20) エンテロウイルスD68に対する1本鎖化抗体可変領域(scFv)の作製

ヒトPBMC(末梢血単核細胞)からscFv (single chain Fv)ライブラリーを作製して、エンテロウイルスD68を抗原とするscFvのスクリーニングを試みている。現在はscFvライブラリーを作製している段階にある。

[吉田和央、清水博之]

(21) コクサッキーウイルスB2型感染マウスモデルの解析

コクサッキーB群ウイルスは、多様なヒト疾患の発症に関与する。我々は、2013 年にコクサッキーウイルス B2 型(CV-B2)母子経胎盤感染事例を経験し、本症例から分離されたCV-B2株(長崎県環境保健研究センターより分与)と近年の CVB2 流行株を新生仔マウスに接種したところ、CV-B2 プロトタイプ株に(Ohio-1 株)比べて、心筋、膵、神経組織に強い親和性を示し、強い急性壊死性病変を引き起こすことを明らかにした。さらに、CV-B2 臨床分離株 4 株を、7 週齢の BALB/c マウスに、経鼻あるいは経口感染し、臨床症状および in vivo におけるウイルス増殖と病理学的変化を解析したところ、主として経鼻感染マウス群において、体重減少や興奮等の臨床症状が認められ、嗅覚系でのウイルス増殖を示唆する結果が得られた。

[永田典代、岩田奈緒子 (感染病理部)、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

2017 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、PEF 施設認証の準備を進めた。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。不活化ポリオワクチン製造および品質管理を実施している国内施設では、PEF候補施設として、GAPIIIに対応したポリオウイルス・バイオリスク管理体制整備を進めている。そのため、国内PEF候補施設におけるバイオリスク管理標準について、技術的評価・検討を進めた。また、不活化ポリオワクチン品質管理において、出来る限り感染性ポリオウイルスを用いない手法を開発するため、sIPV抗原量測定のためのD抗原ELISA試験について、不活化抗原を用いる方法の技術的検討を進めた。IPV製造に関するWHOガイドライン(Guidelines for the safe production and quality control of poliomyelitis vaccine; Annex 2 of WHO Technical Report Series, No. 926)ドラフトについて、国内関連施設のコメントを集約し、WHO担当部署に提出した。

[落合 晋(阪大微研会)、佐藤達記(武田薬品)、中島和幸(化血研(当時)) 伊木繁雄、原田俊彦、篠原克明、棚林 清(バイオセーフティ管理室)、染谷雄一、清水博之、脇田隆字、村松正道]

(3) 感染症流行予測事業・感受性調査(2型ポリオウイルス中和抗体価測定)への対応

現在、PEF 候補施設として感染性 2 型ポリオウイルスを取扱うことが出来るのは、ワクチン製造施設を除くと、国内では感染研村山庁舎のみである。これまで、感染症流行予測調査事業におけるポリオウイルス中和抗体価測定は地衛研で実施されてきたが、すべての地衛研で、2 型ポリオウイルスを廃棄したことから、2017 年度調査から、2 型ポリオウイルス中和抗体価測定試験は、感染研ウイルス第二部で実施することとなった。地衛研で、従来通り、1 型および 3 型ポリオウイルスに対する中和抗体価測定を実施し、残りの血清検体を感染研ウイルス第二部に送付し、2 型中和抗体価測定を行った。今年度は、PEF における 2 型中和抗体価測定 SOP を整備し、6 地域からの約 1400 血清検体について、中和抗体価測定を実施し、結果を各地衛研に送付した。

[有田峰太郎、西村順裕、染谷雄一、清水博之]

(4)ポリオウイルスを含む可能性のある臨床検体・環境検体のバイオリスク管理

糞便、咽頭拭い等の臨床検体および環境検体もポリオウイルス・バイオリスク管理の対象となることから、WHO-PIMガイダンス(Guidance for non-poliovirus facilities to minimize risk of sample collections potentially infectious for polioviruses)ドラフトを基にしたバイオリスク評価・管理手法の検討を行った。日本国内で下水中病原ウイルスモニタリングを行なっている研究所／研究室で保管しているPIMのRisk Group Levelは高くてもLevel 2 Lowであり、ガイダンスで求められるリスク低減策は、1）環境検体を用いる実験のRisk assessmentに関する規則、2）実験従事者ワクチン接種履歴の確認の2点であった。

[小池 智(東京都医学研)、佐野大輔(東北大)、飯田哲也(阪大)、西村秀一(仙台医療センター)、棚林 清(バイオセーフティ管理室)、清水博之]

(5) 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。病原体送付方法に関する講義および実習を実施した。 [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) A型肝炎の発生動向調査

日本における A 型肝炎の流行状況について，各地方衛生

研究所，保健所と共同で分子疫学的解析を行っている．6月に長野県で発生した調理従事者を介した食中毒事例について，原因となった株は遺伝子型IAであり，調理従事者が喫食した中国産冷凍殻付きアサリが当該株に汚染されていた可能性が示唆された．さらに，急性A型肝炎の集団食中毒事例が2018年1月に宮崎県で発生したが，分子疫学的解析の結果，原因となった株が長野県と同一であることが明らかとなった．その後の調査で，原因食材が同じ産地の殻付き冷凍アサリであることが判明した．

［石井孝司，塚田竜介（長野県環境保全研究所），有馬琹莉*，井上志穂*，松浦裕*，三浦美穂*（*宮崎県衛生環境研究所），清原知子，吉崎佐矢香，佐藤知子，村松正道］

(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実施した．日本赤十字社の献血者血清(7000検体，2017年採血)と国立感染症研究所血清銀行保存血清(867検体，2013-2015年採血)，合計7867検体の抗HAV抗体を測定した．陽性は221検体，人口で補正した抗体陽性率は約 20%であった．年齢分布を見ると，60歳未満の抗体陽性率は0.4%であった．以上の結果から，国民の80%，中でも60歳未満のほぼ100%はHAV感受性者と考えられる．

［清原知子，石井孝司，村松正道］

(3) 参照A型肝炎ワクチンの更新

参照A型肝炎ワクチンのロット更新のため，次期参照ワクチン候補品の値付けを実施した．当室と製造所の2施設で力価試験（*in vivo, in vitro*）をそれぞれ3回繰り返し，各試験 6 回分のデータを統計解析して値を決定した．現行参照ワクチン Lot. P2 に対する候補品の *in vivo*，*in vitro* 相対力価はそれぞれ2.3参照単位/vial，1.149参照単位/vial であった．この候補品を次期参照A型肝炎ワクチン Lot. P3として業務委員会と検定協議会に報告，承認された（平成29年12月7日）．

［清原知子，佐藤知子，李天成，吉崎佐矢香，石井孝司，落合雅樹（品質保証・管理部），村松正道］

(4) フィリピンの河川水からHAV遺伝子の検出

フィリピンは A 型肝炎ウイルス（HAV）の流行国であるが、疫学に関する情報が少ない。フィリピンにおける環境水の HAV 汚染状況を把握するために、我々は、川水からサンプルを採集し HAV RNA の検査を試みた。2012～2013 年にかけてマニラ市内を流れた川の 6 つの採集ポイントからそれぞれ乾季と雨期に合計 12 個のサンプルは採取した。乾期に採取した6つのサンプルと雨期の1つのサンプルからHAV RNAが検出された。遺伝子型はIAとIIIAである。以上の結果からフィリピンの河川水にHAVの汚染があり、少なくとも2つの遺伝子型がこの地域に存在していることが明らかになった。

［白慧敏、塩田智之、吉崎佐矢香、*斉藤麻理子、*押谷仁、武田直和、脇田隆字、石井孝司、村松正道、李天成　（*東北大学、**大阪大学微生物病研究所

2. B型肝炎ウイルス（HBV）に関する研究

(1) B型肝炎流行予測調査

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．当室では調査実施機関(2自治体)の技術支援を担当している．今年度は行政検査1件17検体について対応した．

流行予測調査の結果，0-4歳児においてHBs抗体陽性率の増加が認められた．2015年，2016年，2017年の順に15.8%，58.0%，78.8%で，2017年は，定期接種対象年齢である0，1歳においてそれぞれ100%，90%と高い陽性率を示し，定期接種による防御抗体賦与効果が明らかとなった．

［清原知子，石井孝司，村松正道］

(2) B型肝炎ウイルスLタンパク質の免疫原性確認(マウス)

B型肝炎ウイルス表面抗原（HBsAg），PreS1, PreS2, Sタンパク質を含むLタンパク質粒子（ビークル社）をアルミニウムアジュバントと混和してマウスに免疫し，Lタンパク質抗血清を得た．この抗血清は免疫源であるLタンパク質にはよく反応するが，Lタンパク質の一部であるPreS1ペプ

チド, 組換えSタンパク質との反応は比較的弱く, PreS2ペプチドには反応しなかった. 市販のB型肝炎ワクチン（HBsAg-Sタンパク質のみ含有）抗血清と比較すると, Sタンパク質との反応は弱く, 今回使用したLタンパク質粒子のHBs抗体誘導能は低いと考えられた.
［清原知子, 石井孝司, 加藤孝宣, 村松正道］

(3) AID依存性HBVウイルスRNA低下現象の分子機構の解析　これまで TGF beta がヒト肝細胞に作用した時、activation induced cytidine deaminase (AID)が発現誘導され、HBV のウイルス RNA 量が低下する現象を報告してきた。今回、HBV ウイルス RNA 量をルシフェラーゼで定量できる実験系を用いて、AID がどのように HBV RNA 量を低下させるか検討した。その結果、AID の C 末端、ウイルス産物である P タンパクの C 末端、ウイルス RNA のイプシロン構造が、AID 依存性 HBV ウイルス RNA 低下現象に必要であることがわかった。
[Que Lusheng, 喜多村晃一(金沢大学), 若江亨祥, 村松正道]

(4) 首都圏におけるB型急性肝炎の疫学調査
1994 年から 2017 年の首都圏における B 型急性肝炎(AH-B)の発生動向について検討を行った. 24 年間の観察期間において AH-B の患者総数は 246 例であった. 観察開始以降, AH-B 症例数は増加傾向となり 2004 年に年間 19 例に達し 2010 年までほぼ横ばいで経過した. 以降は減少に転じ 2014 年以降は年間 5 例前後で経過した. Genotype(GT)の分布は 2002 年から GTA の増加を認め, 2006-2009 年は GTA が 70%以上を占めた. その後一時, GTA が減少, GTC が増加し本邦ではまれな GTE, GTH もみられた. 2014 年以降は再び GTA が 70%以上となった. 従って 2006 年以降は常に GTA が優位であった.
[山田典栄, 安田清美(清川病院), 奥瀬千晃(川崎市立多摩病院), 渡邊綱正(聖マリアンナ医科大学), 加藤孝宣]

(5) B型急性肝炎患者背景の調査
B 型急性肝炎(AH-B) 246 例の患者背景, 臨床検査値について調査を行った. 全症例の平均年齢は 31.8 ± 9.3 歳, 男性 83.7%（206/246）, 感染経路は性感染が 79.3%（195/246）であった. 性感染のうち男性間性交渉者（MSM: Men who have Sex with Men）が 26.7%（52/195）, 異性間が 73.3%（143/195）であった. 検査し得た 106 例中 6 例(5.7%)で HIV 抗体陽性であった. genotype(GT)別の比較では年齢に有意な差はなく, 男性は GTA では 96.4%と大多数を占め MSM は 41.5%であり GTB, C と比較し有意に多かった. 臨床検査値では GTA は GTC と比較し ALT のピーク値が低く, HBV DNA のピーク値が高値であった. HBs 抗原陽性期間は GTA が GTB, C と比較し有意に長かった.
[山田典栄, 安田清美(清川病院), 奥瀬千晃(川崎市立多摩病院), 渡邊綱正(聖マリアンナ医科大学), 加藤孝宣]

(6) B型急性肝炎からの慢性化例の検討
B 型急性肝炎から慢性化した 5 症例（GTA；3 例, GTC；1 例, GTH；1 例）の検討を行った. 5 症例の平均年齢は 33.2 ± 9.2 歳, 男性 4 例, 女性 1 例であった. 感染経路は 4 例が性感染であったが, その様式は MSM, 特定の異性間, 不特定の異性間とさまざまであった. HIV 抗体は全例陰性であった. 臨床検査値では初診時の HBe 抗原は全例陽性であり, HBV DNA のピーク値は高値であるが ALT, T-Bil のピーク値が低い傾向がみられた. HBV 全長の塩基配列の解析では, いずれの症例も PreCore 領域, Core Promoter 領域, kozak 配列に変異は認めず, 慢性化に関与すると考えられる 5 症例に共通したアミノ酸変異はみられなかった.
[山田典栄, 安田清美(清川病院), 奥瀬千晃(川崎市立多摩病院), 渡邊綱正(聖マリアンナ医科大学), 加藤孝宣]

(7) B型急性肝炎症例の *a* determinant 領域のアミノ酸変異の検討
B 型急性肝炎 106 例（GTA；72 例, GTB；15 例, GTC；19 例）から HBV DNA を抽出し HBs 抗原領域の塩基配列を決定した. 得られたアミノ酸配列をそれぞれの GT のコンセンサス配列と比較した. *a* determinant 領域（aa 124 - 147）に変異を有する症例は 7 例であり, 内訳は GTA；3 例（F134Y, P135H, G145A）, GTB；2 例（T126S, M133L）,

GTC;2 例(T131A, T131P)であった. ワクチンエスケープ変異として知られる変異は G145A(GTA), T126S(GTB)の 2 例で検出された. 最も強力なワクチンエスケープ変異として知られている G145R 変異は検出されなかった. *a* determinant 領域にアミノ酸変異を有する症例とそれ以外の症例で各種臨床検査値に有意な差は見られなかった.
[山田典栄, 安田清美(清川病院), 奥瀬千晃(川崎市立多摩病院), 渡邊綱正(聖マリアンナ医科大学), 加藤孝宣]

(8) IFN-λ3 の HB ウイルス関連蛋白合成阻害に関する検討

培養細胞での HBV 複製モデルを用いて, IFN-λ3 による抗ウイルス作用の評価を行った. 1.38 倍長の HBV コンストラクトを培養細胞に導入し IFN-λ3, IFN-α を添加し, 培養上清と細胞中の HBsAg および HBcrAg を測定することで IFN-λ3 による HB ウイルス関連蛋白に与える影響を検討した. 培養上清, 細胞内ともに IFN-λ3 濃度依存的に HBsAg, HBcrAg が低下した. 同様の系を用いて培養し細胞内の Core 蛋白結合 HBV DNA を測定した. Core 蛋白結合 HBV DNA 量は IFN-λ3 濃度依存的に低下し, 新規ウイルス粒子の産生が抑制されていると考えられた. さらに IFN-λ3 処理後の細胞内 HBV RNA 量は IFN-λ3 の濃度依存的に低下した. これにより IFN-λ3 による抗 HBV 作用は転写抑制によるものと考えられた.
[山田典栄, 村田一素(国際医療福祉大学), 加藤孝宣]

(9) IFN-λ3 による HBV 感染および cccDNA に与える影響についての検討

HBV 感染感受性 HepG2-NTCP 細胞に HepG2.2.15 細胞由来 HBV を感染させ, IFN-λ3, IFN-α を添加した後に HBc 抗体で染色し感染細胞数の評価を行った. その結果, IFN-α 添加において明らかな感染細胞数の低下を認めた. IFN-λ3 の添加では濃度依存的に感染細胞数の低下を認め, 高濃度では IFN-α と同程度の感染阻害が確認された. 同様の系を用いて cccDNA 合成についても評価を行い, cccDNA 量が IFN-λ3 濃度依存的に低下することを確認した.
[山田典栄, 村田一素(国際医療福祉大学), 加藤孝宣]

(10) IFN-λ3 によるインターフェロン刺激遺伝子発現誘導の検討

HepG2 細胞を IFN-λ3, IFN-α で処理し発現誘導される ISG の mRNA を測定した, また HBV 複製モデルコンストラクトを導入後に同様の検討を行った. IFN λ3 投与において IFN α の誘導は見られず, IFN λ3 の作用は IFN α を介したものではないと考えられた. IFN-λ3, IFN-α の投与において複数の ISG の誘導が認められた. 特に Viperin, IFI6, IFITM3 において顕著な誘導が見られた. これらの誘導は IFN-λ3 と IFN-α の両者で認められ IFN-λ3 のみで誘導される特徴的な ISG は認めなかった. さらにこれらの ISG 誘導は HBV 複製モデルコンストラクトの導入により影響を受けなかった. 誘導された ISG の中にはウイルス排除に関わると報告されている ISG があり, IFN-λ3 においてもこれら複数の ISG が抗 HBV 作用に関与している可能性が示唆された.
[山田典栄, 村田一素(国際医療福祉大学), 加藤孝宣]

(11) HBV 複製モデルコンストラクト導入による感染性ウイルス粒子産生の検討

HBV のレセプターである NTCP の発見により, この因子を発現させた培養細胞への HBV の感染が観察できるようになった. しかし現状では培養細胞への感染が観察できるのは HepG2.2.15 細胞等で作製された遺伝子型 D 株のみである. そこで HBV 複製モデルコンストラクトを培養細胞に導入することで感染性粒子の作製を試みた. 遺伝子型 C 株の HBV 複製モデルコンストラクトを HepG2 細胞に導入し, 得られた培養上清を密度勾配超遠心で精製し, NTCP 発現 HepG2 細胞に感染させることによりその感染が確認できた.
[加藤孝宣, 村山麻子, 山田典栄, 大﨑由喜]

(12)HBV 粒子精製方法の検討

培養細胞で作製した HBV 粒子の精製方法について検討を行った. HBV 遺伝子型 C 株の複製モデルコンストラクトを HepG2 細胞に導入し, HBV 粒子を含む培養上清を得た. 得られた培養上清に感染性粒子が含まれているこ

とを, NTCP を発現する HepG2 細胞に感染させて確認した. この粒子を含む培養上清をヘパリンカラムで精製し, 夾雑タンパク質を除去した. さらに精製した培養上清を密度勾配超遠心で2回精製し, さらなる夾雑タンパク質の除去と濃縮を行った.

[加藤孝宣, 村山麻子, 山田典栄, 大﨑由喜]

(13) HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価のための FLAG 付加 HBs 蛋白質の精製

HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価のための精製 HBs タンパク質の作製を試みた. 精製のために FLAG タグを付加した様々なウイルス株の HBsタンパク質を培養細胞で発現させ, 細胞破砕液に含まれる HBs タンパク質をアフィニティーカラムにより精製した. しかしながら溶出に使用した FLAG ペプチドを完全に除去することができず, 精製度の高い FLAG 付加 HBs タンパク質は得られなかった.

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

(14) 微小管依存的な HBV キャプシド形成機構の解明

微小管合成阻害剤ノコダゾールを HBV 複製細胞へ処理することで、HBV 複製の特にキャプシド形成過程が阻害された。HBV 複製細胞ではキャプシド形成の原料となるコアタンパク質と微小管構成因子チューブリンとの相互作用が観察された一方で、ノコダゾール処理によりこれら相互作用が低下した。コアタンパク質とチューブリンの相互作用が強い細胞は効率的なキャプシド形成および HBV 複製能を有する事を明らかにした。

[岩本将士, Haitao Guo(インディアナ大), 脇田隆字, 渡士幸一]

(15) HBV 粒子を標的とする HBV 侵入阻害剤の解析

これまでにプロアントシアニジンが HBV の preS1 領域との相互作用を介して HBV 粒子を直接標的とするため、NTCP 依存的胆汁酸の取り込み機能を阻害することなく HBV 感染を低下させることを見出した。そこで100化合物以上のプロアントシアニジンの類縁体および天然由来ポリフェーノール類の抗 HBV 効果を解析し、より強い活性を有する化合物を得た。また構造活性相関解析により、HBV 粒子との結合に関与する構造を同定した。

[九十田千子, 渡士幸一, 田中義正(長崎大学), 朴三用(横浜市立大), 齊藤亜貴子(大阪電通大), 脇田隆字]

(16) NTCP を標的とした HBV 侵入阻害化合物の同定

化合物アレイにより NTCP に結合する低分子化合物をスクリーニングし、74 のヒット化合物を得た。これらのうち NPD8716 は HepG2-hNTCP-C4 細胞およびヒト初代肝細胞への HBV 感染を低濃度で阻害した。構造活性相関解析によって、NPD8716 およびその誘導体の抗 HBV 活性は NTCP への親和性と NTCP 依存的胆汁酸輸送活性に相関することが示された。

[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), 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]

(17) RaPID システムを用いた HBV 感染阻害環状ペプチドの同定

NTCP と相互作用する特殊環状ペプチドを RaPID スクリーニングシステムにより 10 種同定し、そのすべてが HBV 感染阻害活性を示した。中でも活性の高い3種のペプチドは NTCP の胆汁酸取込み機能を低下させなかったため、NTCP が有するトランスポーター機能と HBV のレセプター機能は分離可能であることが示唆された。

[深野顕人, 渡士幸一, Toby Passioura(東京大), 志村聡美, 梁明秀(横浜市立大), 菅裕明(東京大), 脇田隆字]

(18) B 型肝炎ウイルスの適応進化メカニズム解析

sodium taurocholate cotransporting polypeptide(NTCP)は肝臓での胆汁酸取り込み輸送体であるとともに、ヒトに感染する B 型肝炎ウイルス(HBV)の感染受容体としても機能する。この NTCP の配列が種の進化の過程でどのように変化し、ウイルス受容体としての機能が保存あるいは変化してきたかに関しては全く解析されていない。本研究で

は NTCP を系統学的に解析することで、種の進化上での NTCP 配列保存性と宿主種間での HBV 感染感受性の違いを決定している NTCP 部位を同定した。以上の結果は、ヘパドナウイルス感染の NTCP 依存性とその宿主域決定における役割を理解するために重要な知見である。
[竹内（柴田）潤子, 村松正道, 渡士幸一]

(19) 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]

(20) 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］

(21) 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］

(22) 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。全国の県別の発生報告では東京都のみ増加傾向にあった。
[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]

(23) B 型肝炎ウイルス（HBV）preS1 領域に対する抗体の誘導
HBV の NTCP への結合に重要な preS1(2-47aa)の抗原性および中和エピトープの解析を行う目的で、preS1(2-47aa)領域に対するマウスモノクローナル抗体の作製を試みた。preS1（2-47aa）領域を様々な形態で発現する計 5 種類のプラスミドを BALB/c マウスに DNA 免疫し、

その血清を評価したところ、抗 preS1 抗体の誘導が認められた。そのうち大腸菌のシャペロン由来分子アジュバントである GroEL と融合した preS1 および HBV Large S を免疫したマウス血清においてより強い HBV 感染中和活性が認められた。今後はそれらマウスからモノクローナル抗体を得ることで HBV 中和抗体のエピトープ解析を行う。
[矢藤慶悟, 小野寺大志（免疫部）, 松田麻未, 藤本陽（北里大）, 森石恆司（山梨大）, 高橋宜聖（免疫部）, 田村浩二(東京理科大), 加藤孝宣, 村松正道, 鈴木亮介]

(24) IL-1β/ATF3-mediated induction of Ski2 expression enhances Hepatitis B Virus x mRNA degradation
We previously showed that HBx mRNA is degraded by the Ski2/RNA exosome complex. We analyzed the regulation of this system through the control of Ski2 expression. We identified IL-1β as an inducer of expression from the Ski2 promoter. IL-1β induced the expression of ATF3 transcription factor, which in turn binds to cyclic AMP-responsive element sequence in the Ski2 promoter and is responsible for Ski2 promoter induction by IL-1β. Finally, we showed that HBx mRNA is degraded in response to IL-1β treatment. We are working now to design anti-HBV drugs by
screening for ATF3 agonists that can suppress HBV replication.
[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(25) HBV regulation of Ski2 expression
We also analyzed a possible effect of HBV on Ski2 expression and activity. Interestingly, HBx also significantly induced Ski2 expression. To our knowledge, this is the first report to show activation of the Ski2/RNA exosome complex by both the host and HBV. Understanding the regulation of the Ski2/RNA exosome system is expected to facilitate prevention of HBx-mediated complications through targeting the posttranscriptional degradation of HBx mRNA; and will also help shedding a light on the role of RNA decay systems in inflammation.
[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(26) Polymerase Gamma regulation of HBV life cycle
We found that polymerase gamma PolG1 is required for HBV replication in HepG2 and Huh-7 cells. siRNA suppression of PolG1 also inhibited HBV infection in HepG2-NTCP. We are performing mechanistic analysis to identify the mechanisms by which PolG1 affect HBV life cycle.
[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(27) Screening for host factors affecting HBV life cycle
Using a druggable siRNA library targeting around 9000 human genes, we are aiming to identify and analyze the mechanisms by which host factors interact with HBV life cycle. Based on these data we are planning to design anti-HBV therapeutics.
[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(28) RaPID システムを用いた HBV 感染阻害環状ペプチドの同定
NTCP と相互作用する特殊環状ペプチドを RaPID スクリーニングシステムにより 10 種同定し、そのすべてが HBV 感染阻害活性を示した。中でも活性の高い3種のペプチドは NTCP の胆汁酸取込み機能を低下させなかったため、NTCP が有するトランスポーター機能と HBV のレセプター機能は分離可能であることが示唆された。
[深野顕人, 渡士幸一, Toby Passioura（東京大）, 志村聡美, 梁明秀（横浜市立大）, 菅裕明（東京大）, 脇田隆字]

(29) AlphaScreen 法を用いた B 型肝炎ウイルス侵入阻害剤の同定
AlphaScreen 法を用いた 1,500 化合物のスクリーニングより、

LHBs-NTCP 相互作用の阻害効果が最も高いものの一つとしてラパマイシンを同定した。ラパマイシンはNTCPに直接結合することでHBV感染を阻害することが示された。さらにラパマイシンより高い阻害効果を持つ誘導体を同定した。

［佐宗若奈, 九十田千子, 森下了（株式会社セルフリーサイエンス）, 梁明秀（横浜市立大）, 朴三用（横浜市立大）, 村松正道, 脇田隆字, 渡士幸一］

(30) 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]

(31) 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]

(32) 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]

３．C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

(1) ビタミン D 誘導体の抗 HCV 活性

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から抗 HCV 活性を持つ誘導体を同定した. さらにこれらの薬剤は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を明らかにした.

［村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣］

(2) アポリポ蛋白質の発現抑制が HCV 増殖に及ぼす影響の解析

抗 HCV 活性を示すビタミン D 誘導体はアポリポ蛋白質の発現を抑制していた。そこで, アポリポ蛋白質の発現抑制がウイルス増殖に与える影響を調べた. その結果, アポ A1, アポ C3 の発現を siRNA により抑制すると、細胞内, 培地中の HCV コア抗原量および感染性ウイルス粒子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蛋白質が減少することにより HCV 増殖が阻害されると考えられた.

［村山麻子, 脇田隆字, 加藤孝宣］

(3) 第二世代 NS5A 阻害剤の遺伝子型 2a の HCV に対す

る薬剤耐性変異の検討

第二世代のNS5A阻害剤の存在下で遺伝子型2aのJ6ccウイルスの感染細胞の長期培養を行い，得られた耐性ウイルスを解析した．耐性ウイルスの変異は day33 ではF28CとF28Sが混在しており，day48 ではF28Sのみとなった．これらの変異を J6cc 株に導入すると，F28C 変異はウイルスの複製には影響がなく、EC50値を約10倍に上昇させ，一方 F28S 変異はウイルスの複製を約 1/4 に低下させるものの，EC50 値を約 100 倍に上昇させた．

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

(4) 第二世代NS5A阻害剤の遺伝子型2bのHCVに対する薬剤耐性変異の検討

第二世代のNS5A阻害剤の存在下で遺伝子型2bのJ8ccウイルスの感染細胞の長期培養を行い，得られた耐性ウイルスを解析した．耐性ウイルスの変異はday48ではC92RとY93Hが混在していた．これらの変異を J8cc 株に導入すると，ウイルスの複製には影響はなかったが，EC50 値を 100 倍以上に上昇させた．

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

(5) 新規 NS5A 阻害剤耐性変異が HCV ライフサイクルに与える影響の解析

NS5A 阻害剤に対する耐性変異である P32 欠損は DCV に対する強い耐性が知られており，DAA 治療不成功例での検出が報告されている．そこで NS5A 領域を 1b 株に置換した JFH-1 株を用いて，P32 欠損を導入したキメラウイルスを作製し HCV ライフサイクルに与える影響の評価を行った．その結果，P32 欠損の導入により培養上清および細胞内のコア抗原量は低下し，この変異は HCV の複製能を低下させると考えられた．

[加藤孝宣，村山麻子，大﨑由喜，疋田隼人（大阪大学消化器内科），竹原徹郎（大阪大学消化器内科）]

(6) 新規 NS5A 阻害剤耐性変異による薬剤感受性の解析

P32 欠損を導入したキメラウイルスを用いて各種 DAA に対する薬剤感受性の評価を行った．この変異を持つ株は第二世代を含む全てのNS5A阻害剤に対して強い耐性を示し，EC50 値は高値を示した．プロテアーゼ阻害剤は，P32 欠損株に対して通常の株とほぼ同様の抗ウイルス活性を示した．ポリメラーゼ阻害剤である SOF は P32 欠損株に強い抗ウイルス活性を示した．また IFN-α は通常の株とほぼ同様の，RBV は P32 欠損株に対して通常の株よりも強い抗ウイルス活性を示した．

[加藤孝宣，村山麻子，大﨑由喜，疋田隼人（大阪大学消化器内科），竹原徹郎（大阪大学消化器内科）]

(7) 感染性 HCV 粒子産生機構の解析

感染性 HCV 粒子産生効率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。このトリグリセリド産生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。またこの効果には芳香族炭化水素受容体阻害効果が重要であることが示唆された。

[大橋啓史，渡士幸一，深澤征義（細胞化学部），脇田隆字]

(8) 抗 HCV 治療の最適化の解析

既存あるいは開発段階にあるウイルスタンパク質を標的とした抗 HCV 剤(DAA)及び宿主側を標的とした化合物の計 10 化合物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 26 通りの2剤もしくは3剤併用での薬効を定量し相加相乗効果を評価した。この解析により2剤併用と比較して3剤併用がより強い抗ウイルス活性を示しすことが示唆された。また宿主を標的とした化合物とDAAを組み合わせた3剤併用の薬効がDAAのみの3剤併用と同等の抗ウイルス活性を示した。この結果から宿主を標的とした化合物の抗 HCV 剤としての有用性が示唆された。

[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)，脇田隆字]

(9) HCV 中和エピトープを有する日本脳炎ウイルス（JEV）

様粒子発現プラスミドよる抗 HCV 抗体の誘導

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 HCV および JEV に対する中和抗体を誘導する事を示した。これまでに比べてさらに多くの HCV 中和エピトープを挿入した JEV 様粒子と、HCV 中和エピトープ中の糖鎖修飾部位に変異を導入した JEV 様粒子を発現するプラスミドを BALB/c マウスに免疫した。より多くの中和エピトープを挿入したプラスミドを免疫したマウス血清は複数の遺伝子型の HCV に対して中和活性が認められた。一方で糖鎖修飾部位に変異を導入したプラスミドを免疫したマウス血清は HCV に対する中和活性が減弱した事から、HCV 中和エピトープ中の糖鎖の重要性が示唆された。

[矢藤慶悟, 松田麻未, 渡邊則幸, 田村浩二(東京理科大), 鈴木亮介]

(10) 遺伝子型 6 および 7 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 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、ワクチン接種により誘導される中和抗体の評価に有用である。我々はこれまでに遺伝子型1～5 由来の HCVtcp の作製に成功している。新たに遺伝子型 6 および 7 由来の HCVtcp を作製するために、それぞれの遺伝子型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 6 および 7 由来の HCVtcp を作製し、Huh7.5.1 細胞へ感染させたところ、十分な感染価の HCVtcp の産生が認められた。これにより、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]

(11) 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1回感染性 HCV(HCVtcp)を用い、感染に必要なレセプターを解析したところ、CD81 は試したすべての株で必須であったが、一部の株において Claudin 1 非依存性の感染を示した。さらに Claudin 1 非依存的に感染する株は Claudin 6 を代替として利用していた。現在 Claudin 6 を利用して感染するウイルス側の要因を解析している。

[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]

(12) HCV が PKR を活性化するメカニズムの解明

HCV が感染して慢性感染を成立させるために、宿主の自然免疫応答を制御する事が知られているが、そのメカニズムの1つとして、二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ(PKR)を活性化し、抗ウイルス作用を持つ宿主タンパク質の翻訳を抑制する事が知られている。しかしながら、HCV 感染による PKR の活性化メカニズムは未だ明らかではない。そこで HCV の PKR 活性化のメカニズムを調べるために、各ウイルス蛋白を発現させたところ、NS5B の単独発現により、PKR および eIF2α のリン酸化が認められた。また免疫沈降法により NS5B と PKR の相互作用も認められた事から、NS5B タンパク質による新たな PKR 活性化機構の存在が明らかになった。

[鈴木亮介, 下池貴志, 松田麻未, 村山麻子, 加藤孝宣, 脇田隆字]

(13) 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。SVR 後

も肝臓組織にウイルスゲノムの残存が確認された。

[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]

(14) 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]

(15) 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]

(16) 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]

(17) 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]

(18) 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]

(19) 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]

(20) 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]

(21) 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]

(22) 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]

(23) 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]

(24) 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]

(25) 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]

（26）複製効率の良い 1b 型のサブゲノミックレプリコン (NC1 株)の構築

複製効率の良い 1b 型の C 型肝炎ウイルス株は未だに存在しないことから、1b 型レプリコンの樹立を試みた。ネオマイシン選択が可能な 1b 型レプリコンの合成 RNA を肝癌由来 Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションし、選択培養後に残ったクローンの遺伝子解列から NS4B と NS5A 領域にアミノ酸変異を確認した。これらの変異の効果を調べるため、変異を導入した 8 個のレプリコンを作製し、コロニー形成

能を比較した。その結果、アミノ変異を持つレプリコン細胞ではコロニー形成能が野生型より高いことが明らかになった。

[Su Su Hmwe, 相﨑英樹、村松正道、脇田隆字]

(27) 1b 型 C 型肝炎ウイルス(NC1 株)の作製

サブゲノミックレプリコンによるコロニー形成実験から得られた遺伝子変異を全長ウイルスに導入し 8 個の変異型ウイルスを作製した。それら 8 個の変異型 1b 型全長ウイルスの合成 RNA を Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションし、継代培養を行い、上清中の HCV コア蛋白質量を経時的に測定した。長期間培養した結果、5 個の変異型において産生される HCV コアタンパク質量は低いものの、その産生は約 1 か月継続した。

[Su Su Hmwe, 相﨑英樹、村松正道、脇田隆字]

(28) HCV 感染をモニターするための細胞株の樹立

HCV 感染を蛍光タンパク質でモニターできる細胞の樹立を試みた。具体的には、ATG-loxP-RFP-loxP-GFP をコードする発現プラスミドを構築して、Huh7.5.1 細胞に遺伝子導入後に薬剤選択を行った。その後、RFP タンパク質を発現する細胞群を Flow cytometer で分取して RG 細胞を樹立した。この細胞に Cre recombinase 遺伝子を組み込んだキメラ HCV を感染させると、HCV 感染細胞では RFP から GFP への蛍光タンパク質への遺伝子発現変化が起こる。はじめに、Cre タンパク質の発現プラスミドを遺伝子導入し、緑色の RG 細胞の出現を確認した。その後、HCV-cre キメラウイルスを RG 細胞に感染させ感染による色の変化も確認した。

[渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(29) HCV E2 モノクローナル抗体の樹立

E2 タンパク質単体よりも既知の中和抗体との反応性が高い E2-ferritin 融合タンパク質を抗原として免疫を行い、E2 モノクローナル抗体の樹立を行った。この抗原は粒子構造を形成し、粒子表面上に融合した E2 タンパク質が規則的に存在する。既知の中和抗体との反応性が高いことからも、中和に重要な領域が効率よく表面に提示されているようである。免疫したマウスの脾臓からハイブリドーマを樹立し、ELISA 解析で現在までに4個の陽性クローンを得ている。これら 4 クローンの性状について解析を行っている。

[渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(30) 4a 型 C 型肝炎ウイルス感染系の構築

主にアフリカ大陸に分布する 4a 型 HCV 感染系の構築を試みた。14 種の変異型全長 ED43 遺伝子を細胞に導入後に継代培養を行った。上清中の HCV コア量が上昇した 2 クローンについて再感染を繰り返し、全長の遺伝子配列を決定した。それぞれ 7 個のアミノ酸変異が得られ、そのうち1つのアミノ酸変異は 2 クローンに共通だった。得られた 7アミノ酸変異をすべて導入した 7M 変異型を構築し遺伝子導入後、継代培養を行った。その結果どちらのクローンについても安定的にウイルス産生が継続された。一方のクローンでは培養 100 日を超えた時点でも追加のアミノ酸変異は無かった。

[渡邉則幸、鈴木貴也、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(31) 分泌配列を欠損した Jc1-Gluc ウイルス測定系の解析

我々は Jc1 に分泌型ルシフェラーゼ・Gluc を挿入したキメラウイルス Jc1-Gluc を作製し、Gluc の分泌配列内の 9 アミノ酸欠損(Δ9AA)がウイルス産生を上昇させることを明らかにした。そこで分泌配列自体のウイルス産生への影響を確認するために、分泌配列の 16 アミノ酸を欠損させた Jc1-GlucΔ16AA を作製し、その性状を解析した。遺伝子導入後に継時的にウイルス量を測定したところ、Jc1-GlucΔ9AA 及びΔ16AA は野生型と比較してルシフェラーゼ活性及びコアタンパク質量が100倍以上高かった。今後は分泌配列欠損の影響を調べていきたい。

[佐藤李香、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(32) Jc1-GlucΔ9AA の粒子構造の解析

外来遺伝子挿入によるウイルスの粒子構造への影響を調べるため、ショ糖密度勾配遠心法で Jc1-GlucΔ9AA の粒子構造をオリジナルの Jc1 株と比較した。10-60%の不連続なショ糖密度勾配溶液にΔ9AA 及び野生型 Jc1-Gluc

のウイルス上清を重層し超遠心を行った。分画した後、各フラクション中の感染性ウイルス量、コアタンパク質量を測定した。Jc1-Gluc Δ9AA は感染性ウイルス量及びコアタンパク質量について野生型と同様のピークを示したことから、Jc1-Gluc Δ9AA は粒子構造に影響なく効率的なウイルス産生を行っていると示唆された。

[佐藤李香、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

（33）Sec14L2 を発現する培養細胞の作製

これまで培養細胞で増殖出来る JFH-1 株を用いて C 型肝炎ウイルス（HCV）の不活化の評価を行ってきた。最近宿主因子 Sec14L2 は他の HCV 株の培養細胞での増殖に要であると報告された。JFH-1 以外の、感染者由来 HCV の不活化を評価するために、Sec14L2 を発現する数種の培養細胞を構築し、その細胞で Sec14L2 が発現していることを確認した。今後、この培養細胞を用いて、感染者由来の HCV を様々の条件で不活化し、その後この細胞を用いて感染性を指標に不活化の評価を行う。

[下池貴志, 野島清子*, 脇田隆字, 村松正道、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]

(2) 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]

(3) リバースジェネティクス法を用いた G5 HEV 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 G5 HEV RNA を合成し、G5 HEV 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 G5 HEV 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。細胞にウイルスを接種後培養上清から G5 HEV 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 G5 HEV が検出された。以上の結果により G5HEV 全長 RNA が感染性を有することが明らかになり、G5 HEV 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、Doan Hai Yen、*高橋利明、*三代俊治、*網　康至、*須崎百合子、脇田隆字、村松正道 (*動物管理室。**東芝病院)]

(4) 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、脇田隆宇、村松正道 (*動物管理室)］

(5) 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、リバビ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。しかし、リバビリン投与によるウイルス変異が認めなかった。

［李 天成、吉崎 佐矢香、*網 康至、*須崎百合子、脇田隆宇、村松正道 (*動物管理室)］

(6) Genotype 6 HEV の感染性クローンの作製

本研究では、in vitro で全長 G6 HEV RNA を合成し、G6 HEV 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が、ウイルスの増殖が認められなかった。現在、シークエンスエラーの有無の確認作業をしている。

［李天成、吉崎 佐矢香、*網 康至、*須崎百合子、脇田 隆宇、（*動物管理室）］

(7)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

(8) 牛、羊における HEV 感染の調査

最近、牛や羊などの家畜から HEV が感染され、そのミルクからも HEV が検出された報告があった。牛や羊などにおける HEV の感染状況を把握するのは重要である。日本と中国から牛と羊の血清を採取し、抗体及び HEVRNA を検査し、HEV の感染実態を明らかにする。これまでの結果では牛から HEV 陽性例がまだ見つからなかったが、羊から抗体陽性検体が存在するが、HEVRNA の検査が必要である。

[李天成、白慧敏、*柯昌文、白慧敏,吉崎佐矢香、村松正道 [(*中国広東 CDC)]

(9)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、脇田隆宇（*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）

(10) 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)]

(11) 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) PLC/PRF/5 用いたブタ由来 Porcine Sapelovirus (PSV)の分離

HEV を分離するため、HEVRNA 陽性のブタ糞便サンプルを PLC/PRF/5 細胞に接種した。3日後に細胞に明らかな CPE が観察され、さらに培養上清を新しい細胞に接種して同じようなCPEが観察された。培養上清を超遠心で濃縮し、塩化セシウム勾配密度遠心法でウイルスの精製を行い、電子顕微鏡で直径約 35nm の球形ウイルス粒子が観察された。その全長塩基配列解析によって分離されたウイルスは Porcine Sapelovirus (PSV)であることがわかった。さらに PSV の安定性を検討した。
[白慧敏、吉崎佐矢香、*片岡紀代、**武田直和、脇田隆字、李天成（*感染病理部、**大阪大学微生物病研究所）]

(2) デングワクチンの免疫学的解析の為の抗原調製および中和アッセイ系の構築

CAG プロモーター下流にデング 1 型、2 型、3 型、4 型の prME 遺伝子をそれぞれ挿入し、その発現と上清への分泌を、免疫染色、ウエスタンブロッティング、銀染色で確認した。1 型以外は、細胞内での発現と上清への分泌が認められたが、解析に必要な抗原量を得るためにはさらなる改良が必要であると思われた。発現が確認できたデング 2 型、3 型、4 型の prME 発現プラスミドは、さらにデングウイルスレプリコンを用いて一回感染性のウイルスの作製に用いた。それぞれの一回感染性ウイルスを Vero 細胞へ感染させ、ワクチン接種動物血清の中和試験に必要な感染価を確認した。
[松田麻未, 小原道法（東京都医学総合研究所）,鈴木亮介]

(3) 高力価の一回感染性フラビウイルス(SRIPs)産生のための細胞の最適化

我々はこれまでにサブゲノムレプリコンプラスミド（デング 1 型）、capsid 発現プラスミド（デング 1 型）、prME 発現プラスミド（任意のフラビウイルス）を 293T 細胞へ導入することで任意のフラビウイルスSRIPsを作製した。様々なフラビウイルスSRIPsを作製する中で、デングウイルス(2-4 型)は高い感染価の SRIP の作製が困難であった。そこで、これまで用いてきた 293T 細胞のシングルセルクローニングを行

い、高感染価の SRIPs を産生する細胞を選択した。高感染価のデングウイルス SRIPs が作製できる細胞は、これまでに使用していた 293T に比べて細胞の増殖が遅かった事から、細胞密度がフラビウイルス粒子産生の効率に関与している可能性が示唆された。
[松田麻未, 鈴木亮介]

(4) 高感染価の SRIPs 作製のための極小発光レポータータンパク質を導入したデングウイルスレプリコンプラスミドの構築

フラビウイルスレプリコンプラスミドへのレポーター遺伝子の挿入は、感染／複製をレポーター遺伝子の発現によりモニターできる利点があるものの、遺伝子挿入により感染価が低下する問題があった。そこでこれまで使用していた nanoLuc(171aa)から、わずか 11aa の極小レポータータンパク質(Hibit)に変えたレプリコンを構築した。スペーサータンパク質の長さや Hibit の挿入箇所の違う 4 種のレプリコンプラスミドを構築し、デングウイルスの prME およびキャプシド発現プラスミドと共に 293T 細胞へ導入し、上清から SRIPs を回収、Vero 細胞へ感染させ、感染を免疫染色とルシフェラーゼ活性の測定で評価した。スペーサー等挿入する塩基を最小限に設計したプラスミドを用い、NanoLuc 挿入レプリコンより高い感染価の SRIPs が作製可能となったが、検出されるルシフェラーゼ活性が低く、検出感度の改良が必要であると思われた。
[松田麻未, 福原崇介（阪大微研）,鈴木亮介]

(5) 高感染価 YFV-SRIPs 産生のためのレプリコンおよび prME の株の検討

デングウイルス SRIPs に加え、黄熱ウイルス(YFV)SRIPs も高感染価の SRIP の作製が困難であった。そこで NanoLuc 遺伝子を導入した YFV 由来レプリコンプラスミドを構築し、これをデング 1 型レプリコンの代わりに用いて SRIP を作製した。YFV 由来レプリコンプラスミドは、これまでに作製したデングウイルス1型および日本脳炎ウイルス由来のレプリコンプラスミドと比較し、約 10~100 倍高い感染価の SRIPs の産生が認められた。さらに YFV 由来の prME プラスミドについて、これまで用いていた 17D 株から Uganda2010 株に変える事でより高い感染価の YFV-SRIP が得られた。
[松田麻未, 齊藤恭子（細胞化学部）, 深澤征義（細胞化学部）, 鈴木亮介）

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1） 欧文発表

1）、Aghamohammadi A, Abolhassani H, Kutukculer N, Wassilak SG, Pallansch MA, Kluglein S, Quinn J, Sutter RW, Wang X, Sanal O, Latysheva T, Ikinciogullari A, Bernatowska E, Tuzankina IA, Costa-Carvalho BT, Franco JL, Somech R, Karakoc-Aydiner E, Singh S, Bezrodnik L, Espinosa-Rosales FJ, Shcherbina A, Lau YL, Nonoyama S, Modell F, Modell V, the JMF Centers Network Investigators and Study Collaborators, Barbouche MR, McKinlay MA. Patients with Primary Immunodeficiencies Are a Reservoir of Poliovirus and a Risk to Polio Eradication. Frontiers in immunology 8: 685, 2017 [Shimizu H, contributed as one of the JMF Centers Network Investigators and Study Collaborators]

2）、Akagami M, Ito M, Niira K, Kuroda M, Masuda T, Haga K, Tsuchiaka S, Naoi T, Kishimoto M, Sano K, Omatsu T, Aoki H, Katayama Y, Oba M, Oka T, Ichimaru T, Yamasato H, Ouchi Y, Shirai J, Katayama K, Mizutani T, Nagai M. Complete genome analysis of porcine kobuviruses from the feces of pigs in Japan Virus Genes, 2017 Aug; 53: 593-602,

3）、Bartenschlager R, Baumert TF, Bukh J, Houghton M, Lemon SM, Lindenbach BD,Lohmann V, Moradpour D, Pietschmann T, Rice CM, Thimme R, Wakita T. Critical challenges and emerging opportunities in hepatitis C virus research in an era of potent antiviral therapy:

Considerations for scientists and funding agencies.Virus Res. 2018 Mar 15;248:53-62.

4)、Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study I. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated With an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 66: 653-664, 2018

5)、Doan YH, Suzuki Y, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Someya Y, Nayak MK, Mukherjee A, Imamura D, Shinoda S, Chawla-Sarkar M, Katayama K: Complex reassortment events of unusual G9P[4] rotavirus strains in India between 2011 and 2013. Infect Genet Evol. 2017, 54: 417-428

6)、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. e1006475. (2017).

7)、Fukushima S., Kiyohara T., Ishii K., Nakano T. and Hamada A. Immunogenicity of aluminum-adsorbed hepatitis A vaccine (Havrix®) administered as a third dose after primary doses of Japanese aluminum-free hepatitis A vaccine (Aimmugen®) for Japanese travelers to endemic countries. Vaccine 35: 6412-6415 (2017)

8）、Hansen MD, Johnsen IB, Stiberg KA, Sherstova T, Wakita T, Richard GM, Kandasamy RK, Meurs EF, Anthonsen MW. Hepatitis C virus triggers Golgi fragmentation and autophagy through the immunity-related GTPase M. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Apr 25;114(17):E3462-E3471.

9)、Hasegawa K, Yuichi Someya, Hideki Shigematsu, Tomomi Kimura-Someya, Takashi Kumasaka Crystallization and preliminary X-ray analysis of 23-nm virus-like particles from norovirus Chiba strain. Acta Crystallography, F73, 568-573, 2017.

10)、Huimin Bai, Ling Fang, Michiyo Kataoka, Naokazu Takeda, Takaji Wakita and Tian-Cheng Li* Characterization of Porcine Sapelovirus Isolated from Japanese Swine with PLC/PR。F/5 Cells. Transbound Emerg Dis. 2017 Dec 28. doi: 10.1111/tbed.12796

11）、Ito M, Suns, Fukuhara T, Suzuki R, Tamai M, Yamauchi T, Nakashima K, Tagawa Y, Okazaki S, Matsuura Y, Wakita T, Suzuki T. Development of hepatoma-derived, bidirectional oval-like cells as a model to study host interactions with hepatitis C virus during differentiation. Oncotarget. 33:53899-53915. (2017).

12)、Iwamoto M, Cai D, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Ryo A, Ohtani N, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, Guo H, Watashi K. Functional association of cellular microtubules with viral capsid assembly supports efficient hepatitis B virus replication. Sci Rep 7: 10620 (2017)

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. 7: 41660. doi: 10.1038/srep41660, 2017.

14）、Kaneko M, Futamura Y, Tsukuda S, Kondoh Y, Sekine T, Hirano H, Fukano K, Ohashi H, Saso W, Morishita R, Matsunaga S, Kawai F, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Ohtani N, Sureau C, Wakita T, Osada

H, Watashi K. Chemical array system, a platform to identify novel hepatitis B virus entry inhibitors targeting sodium taurocholate cotransporting polypeptide. Sci Rep. 8(1):2769. (2018)

15）、Kato M, Hamada-Tsutsumi S, Okuse C, Sakai A, Matsumoto N, Sato M, Sato T, Arito M, Omoteyama K, Suematsu N, Okamoto K, Kato T, Itoh F, Sumazaki R, Tanaka Y, Yotsuyanagi H, Kato T, Kurokawa-Suzuki M. Effects of vaccine-acquired polyclonal anti-HBs antibodies on the prevention of HBV infection of non-vaccine genotypes. J Gastroenterol. doi: 10.1007/s00535-017-1316-3, 2017.

16）、Hasegawa K, Yuichi Someya, Hideki Shigematsu, Tomomi Kimura-Someya, Takashi Kumasaka Crystallization and preliminary X-ray analysis of 23-nm virus-like particles from norovirus Chiba strain. Acta Crystallography, F73, 568-573, 2017.

17）、Kitamura K, Que L, Shimadu M, Koura M, Ishihara Y, Wakae K, Nakamura T, Watashi K, Wakita T, Muramatsu M. Flap endonuclease 1 is involved in cccDNA formation in the hepatitis B virus. PLoS Pathog. 2018 Jun 21;14(6):e1007124.

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 USA 114: 1922-1927 (2017)

19）、Kondo K, Tsugawa T, Ono M, Ohara T, Fujibayashi S, Tahara Y, Kubo N, Nakata S, Higashidate Y, Fujii Y, Katayama K, Yoto Y, Tsutsumi H: Clinical and Molecular Characterization of the 2014 G8P[8] Rotavirus Outbreak in Japan. Emerg Infect Dis. 2017, 23(6):968-972

20）、Kuroda M, Masuda T, Ito M, Naoi Y, Doan YH, Haga K, Tsuchiaka S, Kishimoto M, Sano K,Omatsu T, Katayama Y, Oba M, Aoki H, Ichimaru T, Sunaga F, MukonoI, Yamasato H, Shirai J, Katayama K, Mizutani T, Oka T, Nagai M. Genetic diversity and intergenogroup recombination events of sapoviruses detected from feces of pigs in Japan Infection, Genetics and Evolution, 2017 Nov; 55: 209-217,

21）、Kuroda M, Masuda T, Ito M, Naoi Y, Doan YH, Haga K, Tsuchiaka S, Kishimoto M,Sano K, Omatsu T, Katayama Y, Oba M, Aoki H, Ichimaru T, Sunaga F, Mukono I, Yamasato H, Shirai J, Katayama K, Mizutani T, Oka T, Nagai M. Genetic diversity and intergenogroup recombination events of sapoviruses detected from feces of pigs in Japan. Infect Genet Evol 55: 209-217, 2017

22）、Li TC, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Johne R, Wakita T. No evidence of rat hepatitis E virus excretion into urine of rats. Jpn J Infect Dis. 70: 305-307 (2017)

23）、Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Haga K, Ishii K, Takeda N, Wakita T. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. Infect Genet Evol 51:153-159, 2017

24）、Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Doan YH, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Determination of Ferret Enteric Coronavirus Genome in Laboratory Ferrets. Emerg Infect Dis 23: 1568-1570, 2017

25）、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. 246: 34-37 (2017)

26）、Li TC., Yoshizaki S., Kataoka M., Ami Y., Suzaki Y., Doan Y.H., Haga K., Ishii K., Takeda N. and Wakita T. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. Infection, Genetics and Evolution 25; 153-159 (2017)

27）、Loo TM, Kamachi F, Watanabe Y, Yoshimoto S, Kanda H, Arai Y, Nakajima-Takagi Y, Iwama A, Koga T, Sugimoto Y, Ozawa T, Nakamura M, Kumagai M, Watashi K, Taketo MM, Aoki T, Narumiya S, Oshima M, Arita M, Hara E, Ohtani N. Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE2-mediated suppression of antitumor immunity. Cancer Discov 7: 522-538 (2017)

28）、Mizukoshi F, Nagasawa K, Doan YH, Haga K, Yoshizumi S, Ueki Y, Shinohara Ishikawa M, Sakon N, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Ochi A, Murakami K, Ryo A, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the RNA-Dependent RNA Polymerase and Capsid Genes of Human Norovirus Genotype GII.2 in Japan during 2004-2015. Front Microbiol. 8:705, 2017

29）、Murayama A, Sugiyama N, Suzuki R, Moriyama M. Nakamura M, 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. 91. doi:10.1128/JVI.02124-16, 2017.

30）、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. Japan. Jpn J Infect Dis. 2017, 70(2):167-170.

31）、Ogura N, Ogawa K, Watashi K, Ito T, Wakita T. Novel stable HBV producing cell line systems for expression and screening antiviral inhibitor of hepatitis B virus in human hepatoma cell line. Biochem Biophys Res Commun. 498(1):64-71 (2018)

32）、Ohashi H, Koizumi Y, Fukano K, Wakita T, Perelson AS, Iwami S, Watashi K. Reply to Padmanabhan and Dixit: Hepatitis C virus entry inhibitors for optimally boosting direct-acting antiviral-based treatments. Proc Natl Acad Sci USA 114: E4527-E4529 (2017)

2） 33 ）、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. The Journal of Antibiotics (2017) 70, 443–447.

3） 34 ）、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; 70: 223-224.

35）. Oka T, Doan YH, Shimoike T, Haga K, Takizawa K.First complete genome sequences of genogroup V、genotype 3 porcine sapoviruses: common 5'-terminal genomic feature of sapoviruses Virus Genes, 2017 Dec; 53: 848-855,

36）、Oka T, Iritani N, Okada M, Ogawa T, Iizuka S, Tatsumi C, Harada S, Haga K, Doan YH.First Complete Genome Sequences of Human Sapovirus Strains Classified as GI.3, GI.4, GI.6,GI.7, and GII.7.Genome Announc. 2018 Mar 22;6(12). pii: e00168-18.

37）、Oka T, Stoltzfus GT, Zhu C, Jung K, Wang Q, Saif LJ. Attempts to grow human noroviruses, a sapovirus, and a bovine norovirus in vitro. PLoS One, 2018 Feb;13(2):e0178157.

38）、 Ono C, Fukuhara T, Motooka D, Nakamura S, Okuzaki D, Yamamoto S, Tamura T, Mori H, Sato A, Uemura K, Fauzyah Y, Kurihara T, Suda T, Nishio A, Hmwe SS, Okamoto T, Tatsumi T, Takehara T, Chayama K, Wakita T, Koike K, Matsuura Y. Characterization of miR-122-independent propagation of HCV. PLoS Pathog. 2017 May 11;13(5):e1006374.

39）、Pham NTK, Thongprachum A, Baba T, Okitsu S, Trinh QD, Komine-Aizawa S, Shimizu H, Hayakawa S,

Ushijima H. A 3-month-old child of acute gastroenteritis with enterovirus D68 detected from stool specimen. Clin. Lab 63: 1269-1272, 2017

40）、Pham NTK, Thongprachum A, Trinh QD, Okitsu S, Komine-Aizawa S, Shimizu H, Hayakawa S Ushijima H. Detection and genetic characterization of enterovirus strains circulating among children with acute gastroenteritis in Japan during 2014-2016. Infect Genet Evol 61: 16-19, 2018

41）、Que L, Liu G, Kitamura K, Wakae K, Li Y, Nishitsuji H, Ujino S, Shimotohno K, Muramatsu M. Molecular characterization of AID-mediated reduction of hepatitis B virus transcripts. Virology. 2017;510:281-288.

42）、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)

43）、.Sakurai F, Kunito T, Takayama K, Hashimoto R, Tachibana M, Sakamoto N, Wakita T, Mizuguchi H. Hepatitis C virus-induced innate immune responses in human iPS cell-derived hepatocyte-like cells. Virus Res. 2017 Sep 9;242:7-15.

44）、.Sakurai F, Mitani S, Yamamoto T, Takayama K, Tachibana M, Watashi K, Wakita T, Iijima S, Tanaka Y, Mizuguchi H. Human induced-pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like cells as an in vitro model of human hepatitis B virus infection. Sci Rep 7: 45698 (2017)

45）、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 13;8:410.

46）、Scott T, Moyo B, Nicholson S, Maepa MB, Watashi K, Ely A, Weinberg MS, Arbuthnot P. ssAAVs containing cassettes encoding SaCas9 and guides targeting hepatitis B virus inactivate replication of the virus in cultured cells. Sci Rep 7: 7401 (2017)

47）、Seishima N, Kondo S, Wakae K, Wakisaka N, Kobayashi E, Kano M, Moriyama-Kita M, Nakanishi Y, Endo K, Imoto T, Ishikawa K, Sugimoto H, Hatano M, Ueno T, Koura M, Kitamura K, Muramatsu M, Yoshizaki T.Expression and subcellular localisation of AID and APOBEC3 in adenoid and palatine tonsils. Sci Rep. 2018 Jan 17;8(1):918.

48）、Shimura S, Watashi K, Fukano K, Peel M, Sluder A, Kawai F, Iwamoto M, Tsukuda S, Takeuchi JS, Miyake T, Sugiyama M, Ogasawara Y, Park SY, Tanaka Y, Kusuhara H, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. Cyclosporin derivatives inhibit hepatitis B virus entry without interfering the NTCP transporter. J Hepatol 66: 685-692 (2017)

49）、Sugiyama R, Murayama A, Nitta S, Yamada N, Tasaka-Fujita M, Masaki T, Aly HH, Shiina M, Ryo A, Ishii K, Wakita T, Kato T. Interferon sensitivity-determining region of hepatitis C virus influences virus production and interferon signaling. Oncotarget. 2017 21;9(5):5627-5640.

50）、Sun S, Nakashima K, Ito M, Li Y, Chida T, Takahashi H, Watashi K, Sawasaki T, Wakita T, Suzuki T. Involvement of PUF60 in Transcriptional and Post-transcriptional Regulation of Hepatitis B Virus Penomic RNA Expression. Sci Rep 7: 12874 (2017)

51）、Iizuka T, Kousho Wakae, Mitsuhiro Nakamura, Koichi Kitamura, Masanori Ono, Hiroshi Fujiwara, and Masamichi Muramatsu APOBEC3G is increasingly expressed on the human uterine cervical intraepithelial neoplasia along with disease progression Am J Reprod

Immunol. 2017 Oct;78(4).

52）、Thongprachum A, Khamrin P, Thi Kim Pham N, Takanashi S, Okitsu S, Shimizu H, Maneekarn N, Hayakawa S Ushijima H. Multiplex RT-PCR for rapid detection of viruses commonly causing diarrhea in pediatric patients. J Med Virol 89: 818-824, 2017

53）、Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Iwamoto M, Omagari K, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins. Hepatology 65: 1104-1116 (2017)

54）、Utsumi T, Lusida MI, Dinana Z, Wahyuni RM, Yamani LN, Juniastuti, Soetjipto, Matsui C, Deng L, Abe T, Doan YH, Fujii Y, Kimura H, Katayama K, Shoji I: Occurrence of norovirus infection in an asymptomatic population in Indonesia. Infect Genet Evol. 2017, 55:1-7.

55）、Utsumi T, Wahyuni RM, Doan YH, Dinana Z, Soegijanto S, Fujii Y, Juniastuti, Yamani LN, Matsui C, Deng L, Abe T, Soetjipto, Lusida MI, Ishii K, Shimizu H, Katayama K Shoji I. Equine-like G3 rotavirus strains as predominant strains among children in Indonesia in 2015-2016. Infect Genet Evol 61: 224-228, 2018

56）、Wang W, Wang Y, Qu C, Wang S, Zhou J, Cao W, Xu L, Ma B, Hakim MS, Yin Y, Li TC, Peppelenbosch MP, Zhao J, Pan Q. The RNA genome of hepatitis E virus robustly triggers an antiviral interferon response. Hepatology. 2018 67(6): 2096-2112. doi: 10.1002/hep.29702.

57）、Watanabe R, Mizoguchi H, Oikawa H, Ohashi H, Watashi K, Oguri H. Stereo-controlled synthesis of functionalized tetrahydropyridines based on the cyanomethylation of 1,6-dihydropyridines and generation of anti-hepatitis C virus agents. Bioorg Med Chem 25: 2851-2855 (2017)

58）、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.

59）、Yamanaka A, Moi ML, Takasaki T, Kurane I, Matsuda M, Suzuki R, Konishi E. Utility of Japanese encephalitis virus subgenomic replicon-based single-round infectious particles as antigens in neutralization tests for Zika virus and three other flaviviruses. J Virol Methods. 243:164-171. (2017).

60）、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 29: 109-120 (2017)

61）、Yasumoto J, Kasai1 H, Yoshimura K, Otoguro T, Watashi K, Wakita T, Yamashita A, Tanaka T, Takeda S, Moriishi K. Hepatitis B virus prevents excessive viral production via reduction of cell-death inducing DFF45-like effectors. J Gen Virol 98: 1762-1773 (2017)

62）、Yokoyama M, Oka T, Takagi H, Kojima H, Okabe T, Nagano T, Tohya Y, Sato H. A Proposal for a Structural Model of the Feline Calicivirus Protease Bound to the Substrate Peptide under Physiological Conditions Frontiers in Microbiology, 2017 Jul; 8: 1383

63）、Someya Y, Yasushi Ami, Reiko Takai-Todaka, Akira Fujimoto, Kei Haga, Kosuke Murakami, Yoshiki Fujii, Haruko Shirato, Tomoichiro Oka, Takashi Shimoike, Kazuhiko Katayama, and Takaji Wakita. Evaluation of the use of various rat strains for immunogenic potency tests of

Sabin-derived inactivated polio vaccines. Biologicals, 52, 12-17, 2018.

64)、Arita M., Dobrikov G., Pürstinger G., Galabov AS. Allosteric regulation of phosphatidylinositol 4-kinase III beta by an anti-picornavirus compound MDL-860. ACS Infectious Diseases, 3: 585-594, 2017

2. 和文発表

1)李天成、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、団海燕、芳賀慧、高橋利明、三代俊治、武田直和、 脇田隆宇。A Potential Zoonotic Infection of G5 Hepatitis E Virus Produced by Reverse Genetics System。第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2017 年 10 月大阪. 口頭発表

2)李天成、白慧敏、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、団海燕、芳賀慧、高橋利明、三代俊治、武田直和、 脇田隆宇。ラット E 型肝炎ウイルス持続感染ヌードラットをモデルにした抗ウイルス薬の評価。第 160 回日本獣医学会学術集会、2017 年9月鹿児島. 口頭発表

3)岡智一郎、 ノロウイルスの予防と治療
臨床と微生物, 近代出版、44: 69-72 2017.11.25

4)岡智一郎、 食品衛生検査指針 微生物
編 2018
「サポウイルス」
公益社団法人 日本食品衛生協会, PP.683-691, 2018.3.25

5)久留主達也，渡士幸一，岩見真吾:B 型肝炎ウイルスの細胞内侵入に関する数理モデリング（第 13 回生物数学の理論とその応用 : 連続および離散モデルのモデリングと解析）数理解析研究所講究録 、2017; 2043; 95-1015)

6)吉田弘. ポリオ根絶計画の最終段階と環境水サーベイランスの意義.日本小児科医会会報 55: 124-127, 2018

7)吉田弘. 環境水サーベイランスの意義並びに実態から見えてくる予防医学に関わる知見 東京小児科医会報 36: 26-30,2017

8)吉田弘,高橋雅輝,濱崎光宏,山下育孝,四宮博人,山下照夫,皆川洋子,岸本剛,調恒明 エンテロウイルス検査の信頼性確保について 病原体検出情報 38: 199-200, 2017 年 10 月号

9)吉田弘. 海外における無菌性髄膜炎等を対象とした病原体サーベイランスの動向 病原体検出情報 39: 101-102, 2018 年 6 月号

10)崎山 弘、城 青衣、梅本 哲、清水博之、大石和徳. 全国調査による我が国の定期接種ワクチンの累積接種率. 外来小児科 20: 272-282, 2017

11)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、清水博之. 乳飲みマウスによるエンテロウイルス D68 型の分離-秋田県. 病原微生物検出情報 38: 10-11, 2017

12)染谷雄一、清水博之. ポリオワクチンとポリオウイルスのバイオリスク管理. ウイルス 68, 31-40,2018

13)藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希、清水博之. エンテロウイルス実験室診断の現状と課題. 病原微生物検出情報 39: 98-99, 2018

14)清水博之: エンテロウイスD68のウイルス学的性状. 神経感染症学雑誌 23,62-66, 2018

15）清水博之. 世界ポリオ根絶に向けた動きとわが国の対応. 小児科ワクチンUp-To-Date 4: 2017

16)清水博之. エンテロウイスD68感染症の大規模流行、その後. 臨床とウイルス 45: 256-263, 2017

17)清水博之. アジア諸国における手足口病(エンテロウイルスA71)ワクチン開発と導入. 病原微生物検出情報 38: 13-14, 2017

18)藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、清水博之. 2000～2017年における2000～2017年におけるエンテロウイルスA71(EV-A71)の全国および世界における検出状況. 病原微生物検出情報 38: 11-12, 2017

19)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

20)清水博之. 世界ポリオ根絶に向けた最終段階計画. 公衆衛生 81, 584-590, 2017

21）清水博之. エンテロウイルス感染症. 医師会雑誌 146, 259-263, 2017

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

23)清水博之. ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関するWHO行動計画(GAP III)と今後の課題. JBSA Newsletter, 6 2017

24)藤井克樹:ロタウイルスの遺伝子型別法に関する注意病原微生物検出情報（IASR） 2017, 38(8) 172-4.

II. 学会発表

1. 国際学会

1. Aly HH, Saito T. A Balancing Act: Hepatic Antiviral Innate Immune Defense and Viral Evasion. 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific. Jan. 8-11, 2018. Shenzhen, China

2. Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Targeting HBV-X by regulating Non-Stop mediated RNA decay. Japan-Taiwan-Korea HBV Research Symposium. April 8-9, 2017, Tokyo, Japan.

3. Aly HH. HBx mRNA degradation by RNA exosome which results X protein regulation in HBV infected cells. 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific. Jan. 8-11, 2018. Shenzhen, China.

4. Ettayebi K, Cortes-Penfield NW, Tenge VR, Ayyar BV, L SC, Haga K, Murakami K, Crawford SE, Neill FH, Ramani S, Karandikar U, Zeng XL, Yu X, Atmar RL, Estes MK. Human Norovirus Cultivation in Stem Cell-Derived Human Enteroids: Successes and Challenges. NoroCORE Final Showcase Meeting, March 2018, Atlanta, USA.

5. Fukano F, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Identification of HBV entry inhibitors without interfering with the NTCP transporter activity. 5th JAPAN-TAIWAN-KOREA HBV Research Symposium 2017. 2017/4/8-9. Tokyo (Japan)

6. Fukano K, ShimuraS, Peel M, Sluder A, Kawai F, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Identification of HBV entry inhibitors without interfering with the NTCP transporter activity. 5th JAPAN-TAIWAN-KOREA HBV Research (Japan). Symposium 2017. 2017/4/8-9. Tokyo

7. Hotta H, Chen M, Aoki-Utsubo C, Deng L, Watashi K, Wakita T. Supporting evidence that HBV virions

bud mainly through the ER/ERGIC membranes. 2017 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2017/9/3-7 Washington DC (USA).

8. Iwamoto M, Cai D, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Ryo A, Ohtani N, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, Guo H, Watashi K. The integrity of cellular microtubule structure is important for an efficient HBV capsid formation. 2017 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2017/9/3-7 Washington DC (USA).

9. 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. 5th JAPAN-TAIWAN-KOREA HBV Research Symposium 2017. 2017/4/8-9. Tokyo (Japan).

10. Li TC, Yoshizaki S, Suzaki Y, Ami Y, Doan YH, Haga H, Takahashi K, Mishiro S, Takeda N, Wakita T. Potential Zoonotic Infection of G5 Hepatitis E Virus Produced by Reverse Genetics System. Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Osaka, Japan.2017 October 24-26. Poster presentation

11. Masamichi Muramatsu HBV cccDNA formation by a host repair factor, FEN1 36th US-Japan Hepatitis Panel Meeting Shenzhen, China January 11. 2018 invited oral

12. Miyazaki M, Saito H, Shibata C, Yen DH, Arao Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Development of a flaccid paralysis mouse model after infection of enterovirus D68. Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Osaka, Japan.2017 October 24-26. (Poster presentation)

13. Murakami K, Tenge VR, Ettayebi K, Crawford SE, Neill FH, Ramani S, Zeng X, Atmar RL, Estes MK. Characterization of the mechanism of bile requirement for GII.3 human norovirus replication in human intestinal enteroids. American Society for Virology 2017. June 2017, Madison, USA.

14. Murayama A, Yamada N, Momose H, Matsuoka S, Hamaguchi I, Toyota K, Wakita T, Kato T. Establishment of HBV reference panel for evaluation of diagnostic kits for detection and quantification of HBV DNA and HBsAg. 2017 International Meeting, Molecular Biology of Hepatitis B Virus. Oct. 3-6, 2017, Washington DC, USA.

15. Murayama A, Yamada N, Momose H, Matsuoka S, Hamaguchi I, Toyota K, Wakita T, Kato T. Evaluation of in vitro diagnostic kits for detection and quantification of HBV DNA and HBsAg using HBV reference panel. The Liver Meeting 2017, AASLD's Annual Meeting, Oct. 20-24, 2017, Washington DC, USA.

16. Murayama A, Yamada N, Suzuki R, Wakita T, Kato T. Establishment of novel hepatitis C virus cell culture system using a genotype 2a strain with minimum modifications. The Liver Meeting 2017, AASLD's Annual Meeting, Oct. 20-24, 2017, Washington DC, USA.

17. Nitta S, Murakawa M, Asahina Y, Kato T. The analysis of NS5A Resistance-Associated Substitutions (RAS): In vitro study of NS5A recombinant hepatitis C in infectious cell culture system for various RAS detected after treatment failure in chronic hepatitis C patients. The Liver Meeting 2017, AASLD's Annual Meeting, Oct. 20-24, 2017, Washington DC, USA.

18. Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Novel Crosstalk of Xenobiotic Response with Lipid Metabolism Regulates the Host Permissivenessto Hepatitis C Virus Production. 24th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2017.9.25-28. Cape Cod (USA).

19. Okamura H, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Fatty acids with certain carbon chain length can support hepatitis B virus production. 2017 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2017 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2017/8/3-7. Washington DC (USA).

20. Okamura H, Sasai M, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Modulation of HBV life cycle by sulforaphane. 2017 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2017/8/3-7. Washington DC (USA).

21. Okumura A, Ito K, Watashi K, Takeuchi J, Inoue R, Suzuki S, Sakamoto K, Okutsu S, Umezawa K, Wakita T, Yoneda M. Antiviral effect of bile acid derivatives on hepatitis B virus infection. 2017 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2017/8/3-7. Washington DC (USA).

22. Shimizu H. A cluster of cases with acute flaccid myelitis coincident with an enterovirus D68 outbreak in Japan, 2015. A respiratory “neurovirulent”? enterovirus. International Workshop on Laboratory Diagnosis for Enterovirus, Taipei, Taiwan, 23 April, 2018

23. Shimizu H. Enterovirus D68 outbreak in Japan during autumn 2015, The 3rd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines. Beijing, China, 8 May, 2017

24. Shimizu H. Nationwide survey of acute flaccid paralysis in August–December 2015 during an enterovirus D68 outbreak in Japan. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program Viral Diseases Panel Meeting, Shenzhen, China, 8 January, 2018

25. Shimizu H. sIPV introduction in Japan; Lessons learned. The 20th Polio Research Committee Meeting, Tokyo, Japan, 31 October-1 November, 2017

26. Shimizu H. Surveillance and Laboratory Diagnosis of Enterovirus Infections in Vietnam and Japan. A Joint Meeting on Collaborative Research between NIID and NIHE,Tokyo, 22 August,2017

27. Shimizu H. Understanding of the pathogenesis of enterovirus 71 infection based on the identification of the receptors. The 20nd International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, Shenzhen, China, 8 January, 2018

28. Shiromoto F, Aly HH, Watashi K, Hoshino SI, Kato T, Chayama K, Wakita T. HBV-X and the balance between degradation or inflammation. 2017 International Meeting, Molecular Biology of Hepatitis B Virus. Oct. 3-6, 2017, Washington DC, USA.

29. Suzuki R, Yato K, Tosaka T, Su Su Hmwe, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Fukasawa M, Matsuura Y, Wakita T. Structural proteins of hepatitis C virus Genotype 3a S310 strain permit claudin-1-independent entry. 24th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Cape Cod, USA. 2017. 9. 25-28.

30. Tenge VR, Murakami K, Karandikar U, Ramani S, Ettayebi K, Ayyar BV, Zeng X, Yu X, Neill FH, Atmar RL and Estes MK. Bile-driven replication of GII.3 human norovirus in human intestinal enteroids. NoroCORE Final Showcase Meeting, March 2018, Atlanta, USA.

31. Tsukuda S, Watashi K, Kojima S, Wakita T. Identification of a new class of HBV and HDV entry inhibitor, proanthocyanidin. AASLD The Liver Meeting 2017. 2017/10/20-24. Washington DC, USA.

32. Utsumi Y, Lusida MI, Dinana Z, Wahyuni RM, Yamani LN, Juniastuti, Soetjipto, Matsui C Deng L, Abe T, Doan YH, Fujii Y, Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Osaka, Japan.2017 October 24-26. Poster presentation

33. 32.Wahyuni RM, Utsumi T, Doan YH, Dinana Z, Fujii Y, Soegijanto S, Juniastuti, Yamani LN, Matsui C, Deng L, Abe T, Soetjipto, Lusida MI, Katayama K, Shoji I. Novel equine-like G3 rotavirus strains among children in Surabaya,Indonesia, 2015-2016. Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Osaka, Japan.2017 October 24-26. Poster presentation.

34. Yasumoto J, Kasai H, Yoshimura K, Otoguro T, Watashi K, Wakita T, Yamashita A, Tanaka T, Takeda S, Moriishi K. Involvement of cell-death inducing DFF45-like effectors in HBV replication. 5th JAPAN-TAIWAN-KOREA HBV Research Symposium 2017. 2017/4/8-9. Tokyo (Japan).

2. 国内学会

1)李天成、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、団海燕、芳賀慧、高橋利明、三代俊治、武田直和、 脇田隆宇。A Potential Zoonotic Infection of G5 Hepatitis E Virus Produced by Reverse Genetics System。第 64 回日本ウイルス学会学術集会、2017 年 10 月大阪. 口頭発表

2)李天成、白慧敏、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、団海燕、芳賀慧、高橋利明、三代俊治、武田直和、 脇田隆宇。ラット E 型肝炎ウイルス持続感染ヌードラットをモデルにした抗ウイルス薬の評価。第 160 回日本獣医学会学術集会、2017 年9月鹿児島. 口頭発表

3)清水博之、第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月 24 日～26 日 (ポスター)

4)YEN HAI DOAN、第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月 24 日～26 日 (ポスター)

5)村松正道 HBV cccDNA formation by a host repair factor, FEN1 北大遺伝子病制御研究所「感染、免疫、がん、炎症」北大鈴木章ホール 2018.3.26.招待講演

6)村松正道 B 型肝炎ウイルス感染を制御する宿主因子の探索と解析 平成29 年度 AMEDB型肝炎創薬実用化等研究事業キックオフミーティング 平成29年5月31日 口頭発表

7)前田有美恵, 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
ノロウイルス感染制御を指向したテアフラビン類と複素環カルボキサミド誘導体の活性評価
第 50 回東海薬剤師学術大会, 愛知, 2017

8) Oka T, Stoltzfus GT, Zhu C, Jung K, Wang Q, Saif LJ Attempts to grow human noroviruses and a sapovirus in vitro

第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017

9）下池貴志 、第 65 回日本ウイルス学会学術集会 大阪国際会議場（2017. 10. 24-26）

10）加藤孝宣, 脇田隆字. 培養細胞由来の不活化ウイルス粒子を用いた HCV ワクチンの開発. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島, 2016. 6. 8-9.

11）加藤孝宣, 山田典栄, 村山麻子, 脇田隆字. 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 53 回日本肝臓学会総会. 広島, 2016. 6. 8-9.

12)村山麻子, 山田典栄, 脇田隆字, 加藤孝宣. ビタミン D とその誘導体による C 型肝炎ウイルス増殖阻害活性の解析. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島, 2016. 6. 8-9.

13)政木隆博, 加藤孝宣, 松浦知和, 脇田隆字. C 型肝炎ウイルスは microRNA-induced silencing complex を標的として宿主 microRNA 機能を抑制する. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島, 2016. 6. 8-9.

14)新田沙由梨, 村川美也子, 永田紘子, 佐藤綾子, 三好正人, 角田知之, 浅野侑, 金子俊, 大谷賢志, 北畑富貴子, 東正新, 柿沼晴, 中川美奈, 加藤孝宣, 朝比奈靖浩, 渡辺守. HCV-NS5A 阻害剤使用に関連する薬剤耐性変異ウイルスとその特徴. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島, 2016. 6. 8-9.

15）山田典栄, 四柳 宏, 加藤孝宣. エンテカビル耐性症例における新規耐性変異の同定と薬剤感受性の評価. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島, 2016. 6. 8-9.

16)Aly HH, Shiromoto F, Kato T, Watashi K, Chayama K, Wakita T. In response to inflammatory response HBV-X regulates its own mRNA stability by inducing Ski2 expression and RNA exosome activity. 第 13 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム, 広島, 2017. 7. 1.

17)Shiromoto F, Aly HH, Watashi K, Hoshino SI, Kato T, Chayama K, Wakita T. HBV exploit Ski2/RNA complex to degrade cytokines and suppress inflammation. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017. 10. 24-26.

18)アリ フセイン, 渡士幸一, 渡邉則幸, 茶山一彰, 加藤孝宣, 脇田隆字. HBV-X regulates its own mRNA half life to evade apoptosis. 第 42 回日本肝臓学会西部会, 福岡, 2017. 11. 30 – 12. 1.

19)村山麻子, 鈴木亮介, 脇田隆字, 加藤孝宣. HCV の遺伝子型 2a のウイルス株を用いた新規 HCV 感染増殖系の樹立. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 神戸, 2017. 12. 6-9.

20)鈴木亮介、芳賀慧、松田麻未、高崎智彦. CRISPR スクリーニングを用いたフラビウイルス感染に必須な宿主因子の同定. 第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、沖縄、2017 年 5 月 19-20 日.

21)Imagawa T, Ito M, Takabayashi S, Tanaka K, Matsuda M, Suzuki R, Takasaki T, Suzuki T. Development of a Zika virus infection model in common marmosets. 日本ウイルス学会第 65 回学術集会, 大阪, 2017 年 10 月 24-26 日

22)Suzuki R, Matsuda M, Shimoike T, Watashi k, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Wakita T. Phosphorylation of protein kinase R and translational suppression by NS5B protein of hepatitis C virus. 日本ウイルス学会第 65 回学術集会, 大阪, 2017 年 10 月 24-26 日.

23)Yato K, Matsuda M, Watanabe N, Nakajima S, Fujimoto A, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Tamura K, Wakita T, Suzuki R. Generation of hepatitis C virus

vaccine antigen based on Japanese encephalitis virus subviral particles. 日本ウイルス学会第 65 回学術集会, 大阪, 2017 年 10 月 24-26 日.

24)鈴木哲朗、鈴木亮介. C 型肝炎ウイルスのゲノムパッケージング機構. 第 3 回デザイン生命工学研究会、沖縄、2018 年 3 月 9-10 日.

25)矢藤慶悟、松田麻未、鈴木亮介.日本脳炎ウイルスを利用した抗 C 型肝炎ウイルス 2 価ワクチン抗原の作製.第 3 回デザイン生命工学研究会、沖縄、2018 年 3 月 9-10 日.

26)松田麻未、矢藤慶悟、鈴木哲朗、鈴木亮介. リバースジェネティクスによる一回感染性ウイルスの作製と利用. 第 3 回デザイン生命工学研究会、沖縄、2018 年 3 月 9 日.

27)外山政明, 濱崎隆之, 岡本実佳, 渡士幸一, 脇田隆字, Ashoke Sharon, 馬場昌範. 抗 HBV 効果を有する Neplanocin A 誘導体の作用機序解析. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会. くまもと県民交流館パレア. (2017/5/18-20) 口頭発表

28)渡士幸一, 小泉吉輝, 大橋啓史, 中嶋翔, 田中靖人, 脇田隆字, Alan S. Perelson, 岩見真吾. 抗肝炎ウイルス薬の薬効・変異頻度定量評価系の開発と多剤併用の意義. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会. くまもと県民交流館パレア. (2017/5/18-20) 口頭発表

29)の薬効・変異頻度定量評価系の開発と多剤併用の意義. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会.

30)脇田隆字, Alan S. Perelson, 岩見真吾. 抗肝炎ウイルス薬の薬効・変異頻度定量評価系の開発と多剤併用の意義. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会.

31)渡士幸一, 小泉吉輝, 大橋啓史, 中嶋翔, 田中靖人, 脇田隆字, Alan S. Perelson, 岩見真吾. 抗肝炎ウイルス薬の薬効・変異頻度定量評価系の開発と多剤併用の意義. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会. くまもと県民交流館パレア. (2017/5/18-20) 口頭発表

32)青柳東代, 飯島尋子, Francesc Puig-Basagoiti, Zheng Xin, Yu Ting Kao, Gewaid E. Hossam, 在津拓馬, 松田麻未, 渡士幸一, 鈴木亮介, 政木隆博, 島田紀明, 加藤慶三, 坪田昭人, 三又絢子, 酒巻有里子, 市野瀬志津子, 和氣健二郎, 脇田隆字, 相崎英樹. C 型慢性肝炎のウイルス学的著効（SVR）後の肝実質細胞のオルガネラ異常の解析. 第 27 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会. くまもと県民交流館パレア. (2017/5/18-20) 口頭発表

33)渡士幸一、九十田千子、脇田隆字. B 型肝炎ウイルス培養系を用いた創薬研究. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島国際会議場 リーガロイヤルホテル広島. (2017/6/8-9) 口頭発表

34)伊藤清顕、渡士幸一、米田政志. 胆汁酸代謝調節機構を標的とした B 型肝炎ウイルス制御の試み. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島国際会議場 リーガロイヤルホテル広島. (2017/6/8-9) 口頭発表

35)相崎英樹、渡士幸一、鈴木哲朗、政木隆博、横山寛、脇田隆字. HCV の肝星細胞への感染および肝星細胞活性化のメカニズム解析. 第 53 回日本肝臓学会総会. 広島国際会議場 リーガロイヤルホテル広島. (2017/6/8-9) 口頭発表

36)深野 顕人, 九十田 千子, 鈴木 亮介, 相崎 英樹, 村松 正道, 脇田 隆字, 小笠原 裕樹, 渡士 幸一. SLC10A1/NTCP のトラフィッキング制御を標的とした新規 B 型肝炎ウイルス感染阻害戦略. 日本薬学会第 138 年会. TKP 金沢カンファレンスセンター. (2018/3/25-28) 口頭発表

37)Aly HH, Shiromoto F, Watashi K, Kato T, Chayama K, Wakita T. HBV exploit Ski2/RNA complex to degrade cytokines and suppress inflammation. The 65th Annual

Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) 口頭発表

38)Kao YT, Goto K, Aoyagi H, Hossam GE, Zheng X, Puig-Basagoiti F, Watashi K, Suzuki R, Yamagoe S, Dohmae N, Suzuki T, Okushin K, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K, Suzuki T, Wakita T, Aizaki H. Membrane protein, embryonic lethal, abnormal vision, drosophila-like 1, interacts with NS5A and involves in hepatitis C virus replication. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) 口頭発表

39)Kasai H, Yasumoto J, Yamashita A, Tanaka T, Watashi K, Wakita T, Otoguro T, Moriishi K. The bidirectional interplay of hepatitis B virus and cell-death inducing DFF45-like effectors. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) 口頭発表

40)Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Fukasawa M, Suzuki R, Aizaki H, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Novel crosstalk of Xenobiotic Response with Lipid Biosynthesis Pathway regulates the Host Permissiveness to the Hepatitis C Virus Production. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) 口頭発表 Fukano K, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Identification of a hepatitis B virus internalization inhibitor with anovel mode of action. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) 口頭発表

41)Iwamoto M, Cai D, Sugiyama M, Suzuki R, Aizaki H, Ryo A, Ohtani N, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T, Watashi K. Interaction of hepatitis B virus core protein with microtubles is important for the efficient capsid formation. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) 口頭発表

42)Ueno M, Nogawa M, Siddiqui R, Watashi K, Wakita T, Kato T, Oda T, Ariumi Y. Broad antiviral activities of acidic polysaccharides isolated from marine algae. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

43)Rahayu R, Ohsaki E, Honda T, Okamoto T, Watashi K, Ueda K. Analysis of HBV life cycle in the HepG2 expressing human NTCP cell line. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

44)Okamura H, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Fatty acids synthesized from cellular fatty acid synthesis pathway play roles in hepatitis B virus production. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

45)Zheng X, Zaitsu T, Aoyagi H, Matsuda M, Watanabe N, Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Fukuhara T, Matsuura Y, Ichinose S, Wake K, Suzuki T, Iijima H, Yokoyama H, Masaki 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. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

46)Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng X, Kao

YT, Hossam GE, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Aizawa N, Shimada N, Kato K, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Abnormal hepatocellular organelles remain to be observed in sustained virological response patients. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

47)Imai H, Dansako H, Ueda Y, Satoh S, Watashi K, Wakita T, Kato N. Screening of FDA-approved drugs activating cyclic GMP-AMP synthase promoter. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

48)Matsuda M, Yamanaka A, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Wakita T, Suzuki R. Establishment of a neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles. The 65th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Osaka International Convention Center. (2017.10.24-26) ポスター発表

49)渡士幸一 B型肝炎ウイルス基礎研究・創薬研究の最近の知見. 衛生微生物技術協議会第 38 回研究会. 東京. (2017.6.28)

50)渡士幸一 トランスポーターと肝炎ウイルス. 日本薬物動態学会第 32 回年会東京. 東京. (2017.11.30)

51)渡士幸一 B 型肝炎ウイルス培養系の構築から創薬研究へ. 日本薬学会第 138 年会. 金沢. (2018.3.28)

III. その他

1) 村松正道 AID・APOBEC ファミリーの腫瘍ウイルス感染病態における役割 肝疾患研究部セミナー国立国際医療研究センター1月 17. 2018
招待講演

2)、村松正道 AID/APOBEC と腫瘍ウイルス 川口研セミナー 東京大学 医科学研究所 2017.11.17.

3) Suzuki R. Development of a neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles. The 8th Informal Consultation on WHO GS and RR JE Laboratories in WPRO, Tokyo, Japan. 2017. 11. 21-22.

4) 加藤孝宣. 培養細胞を用いた肝炎ウイルス増殖系の構築とその応用. 第 34 回神奈川ウイルス肝炎セミナー, 横浜、2017. 9.13.

5) Suzuki R. A neutralization assay for multiple flaviviruses using single-round infectious particles. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim. Shenzhen, China. 2018. 1. 8-9.

6) 岡智一郎
国立保健医療科学院 平成 29 年度
短期研修 新興再興感染症技術研修講義
下痢症ウイルス総論 II (サポウイルス)
2017 年 10 月 17 日 東京(村山庁舎)

7) 岡智一郎
JICA 研修「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」研修講義 「Rotavirus Vaccines」
2018 年 1 月 18 日 東京(村山庁舎)

8）下池貴志、野島清子、脇田隆字、浜口功、岡田義昭. Chon エタノール方における 17%エタノール処理による HCV の変化の解析

9）帖佐徹、吉田弘、滝澤剛則:環境水サーベイランス手法の中国への導入について 第 76 回日本公衆衛生学会平成 29 年 10 月 31-11 月 2 日 鹿児島市 ポスター発表

10)吉田弘、筒井理華、堀田千恵美、小澤広規、滝澤剛則、中田恵子、世良暢之、濱崎光宏:環境水サーベイランスによるポリオウイルス検出時の課題 第 76 回日本公衆衛生学会 平成 29 年 10 月 31-11 月 2 日 鹿児島市 ポスター発表

11)濱崎光宏、世良暢之、吉田弘:環境水中の腸管系ウイルス量と感染症発生動向調査事業の患者数との関連について 第 76 回日本公衆衛生学会 平成 29 年 10 月 31-11 月 2 日 鹿児島市 ポスター発表

12)帖佐徹、吉田弘、板持雅恵、滝澤剛則、Zhang Yong, Xiaohui Hou、Zheng Huanying、、Wang Haiyang、Tao Zexin :Collaboration study of environmental surveillance for polio since 2005 between Japan and China グローバルヘルス合同大会 2017 平成 29 年 11 月 24-26 日 東京 口頭発表

13)柏岡由美子、岩永貴代、杉谷和加奈、矢坂貴子、阿蘇品早苗、西澤香織、吉田弘 熊本市環境総合センターにおける病原体検査の質管理の取り組み 2018 第 31 公衆衛生情報研究協議会 1 月 25-26 日和光市 ポスター発表

14)有田峰太郎. 宿主因子を標的とする抗エンテロウイルス化合物の探索およびウイルス複製/宿主細胞への影響の解析. 日本薬学会第 137 回年会、シンポジウム「抗ウイルス感染症研究のフロンティア」～ウイルスと宿主の攻防～、仙台、2017. 3.26

15)萩原圭、小谷治、岩田奈織子、長谷川秀樹、清水博之、永田典代. Clarification of a mechanism of SAFV-Induced demyelination in a mouse model. 感染マウスモデルを用いたサフォードウイルスの脱髄病変形成メカニズムの解明.

16)宮崎誠、斎藤博之、柴田ちひろ、YEN HAI DOAN、荒尾雄二郎、岩田奈織子、長谷川秀樹、清水博之、永田典代. エンテロウイルス D68 型感染後の弛緩性麻痺発現マウスモデルの構築.

17）清水博之. エンテロウイルス D68 のウイルス学的性状, シンポジウム 2 急性弛緩性脊髄炎. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会、北九州、2017 年 10 月 14 日.招待講演

18)清水博之. 世界ポリオ根絶の現状と今後の課題. 衛生微生物技術協議会第 38 回研究会、東京、2017 年 6 月 27 日

19)福島慎二、中野貴司、清水博之、濱田篤郎. 日本人成人に対する不活化ポリオワクチン追加接種直後と 3 年後の中和抗体価.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 2017 年 4 月 6 日～8 日、東京

20)渡士幸一 B型肝炎ウイルス基礎研究・創薬研究の最近の知見. 衛生微生物技術協議会第 38 回研究会. 東京. (2017.6.28)

21)渡士幸一 トランスポーターと肝炎ウイルス. 日本薬物動態学会第 32 回年会東京. 東京. (2017.11.30)

22)渡士幸一 B 型肝炎ウイルス培養系の構築から創薬研究へ. 日本薬学会第 138 年会. 金沢. (2018.3.28)

23）安浦雅人, 白土東子, 守口匡子, 藤巻真：EFA-NI バイオセンサを用いた実環境サンプル中のノロウイルス様粒子検出, ケミカルセンサ研究会, 2017 年 6 月,

兵庫県

24)清原知子, 石井孝司, 脇田隆字, 佐竹正博．A型肝炎の血清疫学．第 21 回日本ワクチン学会, 福岡．(2017 年 12 月 2, 3 日)

25)吉田弘「改正感染症法における検査標準作業書と精度管理のあり方について」平成 29 年度　地域保健総合推進事業 地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部レファレンスセンター連絡会議　平成 29 年 10 月 11 日千葉市　招待講演及び講師

26)Murakami K, Tenge VR, Ettayebi K, Crawford SE, Ramani S, Zeng X, Atmar RL, Estes MK. Characterization of the active component in bile required for the replication of human norovirus GII.3 in human intestinal enteroids. 第 40 回日本分子生物学会年会, 平成 29 年 12 月，神戸ポートアイランド.

27)村上耕介. ノロウイルスの培養系-その現状. ウイルス性下痢症研究会第 29 回学術集会. 平成 29 年 10 月，大阪健康安全基盤研究所 森ノ宮センター.

28)村上耕介. ノロウイルスと培養. 名古屋大学大学院医学研究科　大学院基盤医学特論. 平成 30 年 1 月，名古屋大学大学院医学研究科.

29) 西村順裕 エンテロウイルス 71 型の受容体に関する最新の知見. 第 14 回ウイルス学キャンプ, 湯河原市, 2017.6.5

30)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、2017 年 12 月 4 日

31) Shimizu H. NIID Update.The 21th Polio Research Committee Meeting. Geneva, Switzerland, 4 May,2018

32) Shimizu H. NIID Polio GSL activity, 2017. The 7rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 26-27 September, 2017

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。

サーベイランス活動では、麻疹・風疹に関しては、全国の地方衛生研究所と協力しながら全国的、ならびに世界保健機関(WHO)と連携して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ている。その活動を通じて、より正確で実用的な実験室診断技術の開発研究を推進し、日本で流行する麻疹ウイルスの詳細な調査、解析を行っている。感染症疫学センターや厚労省と協力して、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示すために貢献している。また、研究においては、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などを進めている。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各種モルビリウイルスの進化や宿主域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)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。2016 年においては 165 例の麻疹症例が報告され、うち 139 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、2016 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、2016 年においては 1865 症例が、2017 年においては 1516 症例が地衛研において検査されている。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。[關文緒、染谷健二、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

麻疹ワクチンをベースとした組換えワクチンは、感染症予防ワクチンのみならず、癌治療にも応用されている。本研究では、麻疹ワクチンとして長期の使用実績をもつ AIK-C 株をベースとした組換えワクチンの作製とその免疫原性の解析を進めている。これまでに作製した GFP 発現 AIK-C は、麻疹ウイルスレセプター発現マウスの樹状細胞 (immature DC)、末梢リンパ球、脾臓細胞へ感染に感染し、GFP 特異的細胞性免疫応答を誘導することが確認できた。 今後は、外来性抗原挿入部位の違いによる抗原発現量の差と免疫応答の強弱についてオボアルブミン (OVA) 発現 AIK-C を用いて解析を進め、結核、HIV などの難治性感染症ワクチン開発の基礎データを収集する予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、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うため snail 遺伝子を導入したが、明らかな変化は認められなかった。CPE の不明瞭さ等から本細胞を Vero/SLAM 細胞の代替細胞に使用する利点は少ないと考えられた。[關文緒、中津祐一郎、坂田真史、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]

6. モルビリウイルスと哺乳動物共進化に関する研究

地球上に現存することが分かっている 8 種のモルビリウイルス（MoV）の宿主特異性は、受容体 SLAM の利用能に大きな影響を受けている。SLAM 遺伝子の変異により特定の MoV 感染から免れるように進化した個体は、次第に集団の中で優勢になったと予想され、すでに SLAM 進化と MoV 進化との関連（共進化）が示唆されている *(Ohishi et al. 2010 Comp Immunol Microbiol Infect Dis)*。本研究では、MoV と SLAM に関して、これまでの遺伝子解析、ウイルス学研究のみでは十分には解明できなかったタンパク質の機能的側面や計算確率的側面、地球環境生態学的側面を補完し、ウイルスと哺乳動物共進化の明確な一例を示すことで、ネオウイルス学の創出に貢献することを目的に研究を進めている。H29 年度は MoV4種（MV,CDV, PPRV, RPV）のエンベロープタンパク質 H,F と動物 22 種の SLAM の発現ベクターを用いて、各ウイルスにおける SLAM 利用能を解析した。その結果、MVHF ではヒト SLAM 等に限定して高い利用能を認めたが、CDVHF, PPRVHF, RPVHF においては宿主動物以外の広い動物種 SLAM においても高い利用

能を示した。したがって、CDV, PPRV, RPV は既知の動物種より広い動物種に感染できる可能性が示唆された。[關文緒、竹田誠、松尾直也*、中野祥吾＊＊、伊藤創平＊＊、常盤広明＊、＊立教大学大学院　理学研究科　化学専攻理論創薬・分子設計、＊＊静岡県立大学・食品栄養科学部食品生命科学科食品蛋白質工学研究室]

7. ヒトSLAMとサルSLAM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解析

犬ジステンパーウイルス（CDV）の受容体SLAMは宿主決定因子の一つである。イヌSLAMとヒトSLAMのアミノ酸相同性は低く、ヒトSLAMとサルSLAMのアミノ酸相同性は高いことから、これまで、CDVはイヌSLAMを効率よく利用できるが、ヒトSLAMは利用できないため、サルSLAMも効率よく利用できないと考えられていた。一方、我々は、CDVによるカニクイザルの致死的感染症を報告し、CDVはイヌSLAMと同様にサルSLAMも効率よく利用できること、ヒトSLAMは利用できないことを明らかにした。これまで、ヒトSLAMとサルSLAMのCDV利用能の差を明らかにするためにサルSLAM、それぞれのV領域とC2領域をヒトSLAMと入れ替えたキメラ変異体、ヒトSLAMのV領域にサルSLAM配列を変異導入した点変異体を作製し、受容体としての機能について、プラスミドを用いたfusion assayにより解析した。V領域がヒトSLAM由来ではCDV H蛋白質の受容体として機能しなかったが、V領域がサルSLAM由来では受容体として機能し、このことは、SLAMのV領域がH蛋白質との結合を担うというこれまでの知見と一致した。ヒトSLAMとサルSLAMのV領域の配列比較では、28番目と49番目の2つのアミノ酸置換があり、この違いがCDV H蛋白質に対するヒトSLAMとサルSLAMの機能的な違いの原因と考えられた。ヒトSLAMへの変異導入解析により、両方の変異を同時に導入した変異体でのみCDV H蛋白質の受容体として機能した。更に、GFP発現組換えCDV（Prof. Dr. Veronika von Messlingより分与頂いた）を用いた機能解析では、バックグランドがやや高いが、プラスミドの実験とほぼ同様の結果が得られた。以上より、この2つのアミノ酸の違いが、ヒトとサルのCDVへの感受性の違いを決めていると考えられた。[酒井宏治、古村みゆき*、竹原一明*、網康至**:*東京農工大、**動物管理室]

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、土着性の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。これまでに 2012-2013 年の流行において、少なくとも 3 タイプのウイルス株が 12 ヶ月以上継続して検出されたことから、これらが新たに日本の流行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 2017 年まで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、2012-2013 年の流行株が継続的に伝播しているかを検討した。2017年に検出された8株について遺伝子配列を解析したところ、3株が遺伝子型 2B であり、5 株が遺伝子型 1E であった。しかし、いずれも 2012-2013 年の流行株とは明確に異なることから、2012-2013 年の流行株はすでに認められなくなったことが示唆される。一方で2015年から検出される遺伝子型2Bウイルスの一系統は2017年までに断続的に検出されており、継続した伝播が起きているのか検討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、問題となっている。そのため、新規プライマーセットならびに試薬変更により、本法の改良を試みた。検討の結果、従来法より感度が良く、非特異反応が軽減される、2断片増幅を同一温度で反応できる、2断片の遺伝子配列のオーバーラップ部分の解析が容易になるなど、改善が認められた。今後、実際の検体を用いて改良法の評価を行う予定である。[森嘉生、岡本貴世子、

大槻紀之、坂田真史、竹田誠]

3. 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し、細胞への感染時にはその初期にSMが役割を果たすこと、風疹ウイルスはSMとコレステロール(Chol)とが形成する脂質ラフト様構造に接着することを明らかとしてきた。本年度はさらにSM/Chol 膜への接着が細胞で生じる現象であるかを検討した。この結果 SM/Chol 膜へのウイルス粒子の結合は多くの細胞で確認され、この結合はカルシウムイオン依存的に生じることを明らかとした。一方で細胞の種類によっては SM/Chol 膜以外の因子を介してもウイルスが結合することが示され、この因子が未だ同定されていない風疹ウイルスの感染受容体である事が示唆された。[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]

4. 各種化合物による風疹ウイルスの増殖阻害効果の検討

細胞内での脂質合成系を阻害する化合物を中心にして数種の化合物による風疹ウイルスの感染・増殖抑制効果を検討した。この結果スフィンゴミエリン合成系を阻害する化合物ではウイルスの感染を強く抑制していた。その他数種の化合物では、風疹ウイルスの細胞での増殖をある程度抑制することを明らかとした。今後、これらの化合物の効果を詳細に検討する予定としている。[大槻紀之、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. 風疹ウイルス感染における Heat shock protein 90 の役割

これまでにシャペロンタンパク質である Heat shock protein 90(Hsp90)が風疹ウイルスの非構造タンパク質(p150 領域)と相互作用してゲノム複製に関与する可能性を見出した。本年度は Hsp90 が p150 領域に作用する分子メカニズムについて Hsp90 の特異的阻害剤である 17-AAG を用いて解析を行った。風疹ウイルスの 2 つの非構造タンパク質(p150 と p90)は前駆体ポリプロテイン p200 が p150 領域に位置するプロテアーゼにより切断されて生成する。不活型 プロテアーゼをコードする p200(p200^{C1152G})、p150、 p90 をそれぞれ発現させた細胞を 17-AAG で処理すると、p150 の発現量だけが 17-AAG の濃度依存的に低下した。p200 発現細胞を 17-AAG で処理すると、p200 の発現量は濃度依存的に増加し、反対に p150 と p90 の発現量は低下した。更に p200 の切断効率並びに p150 の安定性をパルスチェイス実験により検討したところ、17-AAG の処理により p200 の切断効率と p150 の安定性が低下した。以上の結果から Hsp90 が p150 領域と相互作用して、p200 が p150 と p90 へ効率的に切断されるために機能すること、更に切断後の p150 の安定性に寄与することが明らかとなった。[坂田真史、加藤広志、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生]

6. 風疹ウイルス感染マウスモデルに関する研究

昨年度の検討で風疹ウイルスの鼻腔内接種により IgG の上昇を示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)の風疹ウイルスに対する感受性をさらに検討した。ウイルス接種後28日まで主に肺でウイルス RNA が検出されたが、ウイルス抗原は検出できず viremia は確認できなかった。一方で脾臓、胸腺から検出限界レベルのウイルス RNA が検出された。IFN-KO マウスにおける風疹ウイルスの感染増殖は非常に低レベルであり、感染部位である肺にほぼ限局している可能性が示唆された。[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]

7. 先天性風疹症候群マウスモデルに関する研究

先天性風疹症候群の発症機構を解析するため、動物モデルの開発を試みた。胎盤形成前(E2.5)、形成直前(E6.5)、形成後(E10.5)と考えられる妊娠 IFN-KO マウスに高ウイルス価の風疹ウイルスを尾静脈接種し、出産直前(E12.5)の胎盤および胎仔のウイルス感染の有無を検討した。E2.5 および E6.5 に感染させたマウスのうち一部の個体の胎盤から微量のウイルス RNA が検出されたが、胎仔からは検出されなかった。E10.5 に感染させたマウスでは胎盤および胎仔ともにウイルス RNA は検出されなかった。[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、副反応として重要な無菌性髄膜炎を軽減する新規ワクチンとしての有用性を検討してきた。これまでの霊長類(マーモセットおよびカニクイザル)を用いた実験で、rOdate/miR449 は親株と同等な抗体誘導を示し、相補配列の組み込みによる免疫原性への影響は少ないと考えられた。一方安全性については、ラットの脳内接種実験ではrOdate/miR449 の神経病原性の減弱を示すことができたが、マーモセットの脊髄内接種実験では親株と同様の髄膜炎症状および脳内でのウイルス増殖が認められた。miRNA の相補配列をゲノムに組み込む手法については一定の成果を挙げることができたが、Odate 株と miR449 との組み合わせでは課題も残された。現在、上衣細胞において高発現する別のmiRNAであるmiR204について検討すると共に、株の選定も合わせて進めている。[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. ムンプスウイルス感染におけるR2TP complexの役割

ムンプスウイルスのLタンパク質はウイルスRNAの合成およびその修飾を担う多機能タンパク質である。これまでにムンプスウイルスの L タンパク質と相互作用する宿主因子として、Hsp90 のコシャペロンとして知られている R2TP complex を見出してきた。ムンプスウイルス感染における R2TP の役割を明らかにするために、R2TP complex を構成する RPAP3 をノックダウンすると、感染後期のウイルス産生が抑制されることがわかった。感染細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、RPAP3 ノックダウン細胞において自然免疫関連遺伝子の発現亢進が認められ、この自然免疫の活性化がウイルス増殖抑制につながったと考えられた。さらに、ウイルス RNA についても検討を行ったところ、RPAP3 ノックダウン細胞ではウイルスmRNA の発現増加および転写プロファイルの変化が観察された。以上の結果より、R2TP complex によるウイルス RNA 合成の調節が、過剰な宿主免疫応答を抑制し、効率のよいウイルス増殖に重要であると考えられた。[加藤大志、関塚剛史*、坂田真史、中津祐一郎、木所稔、竹田誠:*病原体ゲノム解析研究センター]

3. マーモセットによるVZV感染モデルの確立に関する研究

3頭のマーモセットにVZV臨床分離株RM株の浮遊液を経鼻、および点眼接種によって、10^3.8PFU/頭の用量で接種した。その内2頭では接種後5日目から皮膚の赤変や、扁桃の肥大と変色を認め、接種後 2 週前後での発熱も観察した。ウイルス血症と咽頭スワブへのウイルスの排出は全頭で認め、抗gB 抗体も全頭で上昇し、VZV の感染が成立したことが確認された。霊長類において、細胞フリーのウイルス浮遊液のみによる経鼻接種で VZV 感染が成立したのはこれが最初の報告となる。[木所稔、加藤大志、村野けい子、網康至＊、須崎百合子＊、永田典代**、岩田奈織子**:＊動物管理室、＊＊感染病理部]

4. 新規 LAMP 法の確立

ムンプスの確定診断にはウイルス遺伝子検出が重要である。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。そこで昨年度は、異なる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と、蛍光プローブによる検出法を用いた新規の RT-LAMP 法(Q-probe 法)を確立した。今年度は、4 種類の遺伝子型(A, B, F, G)由来cDNAから合成したRNAを鋳型として、従来のインターカレーター法とプローブ法とで遺伝子型の違いによる検出感度への影響について検討を行った。その結果、プローブ法では遺伝子型Bの検出感度が最も高く(50コピー)、次いで遺伝子型Fおよび G で(500 コピー)、遺伝子型 A が最も感度が低かった(5,000コピー)。国内で検出された遺伝子型については、申し分の無い感度が得られた。インターカレーター法では遺伝子型Bではプローブ法と同等であったが、他の遺伝子型では10倍ほど感度が低かった。[木所稔、村野けい子、加藤大志、仙波 晶平＊:＊栄研化学株式会社]

5. マーモセットモデルによる次世代ムンプスワクチンの評価

組換えAIK-C(rAIKC)をベースに、麻疹ウイルスのHおよびF 蛋白質の細胞外ドメイン(ED)を MuV の HN および F 蛋白質の ED で置換した新たな組換え体(rAIKC/MuHNFed)を、3

頭のマーモセットに 10^5.0 $TCID_{50}$/頭で、8 週間隔で 2 回皮下接種した。2 回目の接種から 9 週後、MuV 強毒株（大館株）で攻撃感染することで有効性評価を行った。その結果、2 回の皮下接種後、攻撃接種時まで抗麻疹 PA 抗体、および抗ムンプス中和抗体はいずれも検出されず、攻撃接種に対しても全頭で感染が成立し、感染防御は成立しなかった。抗麻疹 PA 抗体が検出されなかったことから、rAIKC/MuHNFed はマーモセットで感染が成立しなかったと考えられる。［木所稔、加藤大志、村野けい子、須崎百合子＊、網康至＊、永田典代**、岩田奈織子**、中山哲夫***:＊動物管理室、＊＊感染病理部、＊＊＊北里大学生命科学研究所］

6. 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継続している。

平成 29 年度はムンプスの流行が下火になったため前年度より大幅に報告数が減少した。しかし、12 施設から、75 例ものムンプスウイルス検体情報が寄せられた。その内、72 例（96.0%）は従来型の遺伝子型 Gw と Ge(それぞれ、69 例、および 3 例)が占めた。その一方で、昨年に引き続き遺伝子型 H が 1 例奈良県から報告され、昨年三重県で検出された新たな G 亜型（Gneo）が 2 例、茨城県から検出された。この 2 例はインドネシアからの輸入例と考えられた。［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**、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、静岡市環境保健研究所、新潟県保健環境科学研究所、石川県保健環境センター、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、熊本県保健環境科学研究所、***アワセ第一医院、****順天堂大学浦安病院、******国立病院機構三重病院、］

7. ムンプスのラボ診断用新規アッセイ系の評価

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、MuV 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 One-Step RT Real-time PCR 法を確立した。プライマー、プローブは、遺伝子型間の変異が少ない P 遺伝子領域を標的に新たにデザインし直した。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、定量性、再現性について 9 箇所の地方衛生研究所に依頼して評価を行った。その結果、いずれの施設においても、検出感度、定量性、再現性において、使用に耐えうる結果が得られた。［木所稔、村野けい子、各地方衛生研究所の研究協力者*、*秋田県健康環境センター、茨城県衛生研究所、神奈川県衛生研究所、石川県保健環境センター、愛知県衛生研究所、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、広島市衛生研究所、沖縄衛生環境研究所］

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 法の評価

2012 年に発生した中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)による重症肺炎は現在も中東を中心として流行が続いている。2018 年 6 月 4 日現在、27 か国において 2,207 名の確定患者と 787 名の死者が報告されている。我々は過去に RT-LAMP 法による MERS-CoV の検出法(Virol J. 2014. 11:139)を開発しているが、N タンパク質領域を対象とする 1 種のプライマーセットのみであり、本法のみで確定検査を行うためにはもう 1 種類のプライマーセットが必要であった。またこれまでの検査法は濁度を指標に増幅を検出していたが、このシステムでは非特異反応の可能性がゼロにできないこと、非特異反応が起きた時にシグナルの由来を明らかにできないとい問題があった。そこでこれらの問題を解消するために、N タンパク質領域および ORF1a 領域を対象とした 2 種のプライマー

セットを設計し、蛍光消光プローブを用いた QProbe RT-LAMP 法による検出系を開発してきた。検出感度、特異性、プライマーミスマッチへの対応等の検証を行い、実用に耐えうる性能を担保できたため、実際の臨床検体を用いて評価を行うべく、大阪大学微生物病研究所の神谷亘特任准教授、キングアブドラアズィーズ大学キングファハドメディカルセンターの Esam Azhar 博士らと共同研究を行い、サウジアラビアジェッダで発生した患者検体を用いた評価を現地にて行った。リアルタイム RT-PCR で陽性となった 7 件の検体 RNA を用いて QProbe RT-LAMP を行ったところ、N、ORF1a セットともに検出することができた。したがって、本法は実際の臨床検体でも実施可能であることが示された。[白戸憲也、松山州徳、神谷亘＊、Sherif A.El-Kafrawy**, Esam Ibraheem Azhar**、*大阪大学微生物病研究所、**キングアブドラアズィーズ大学キングファハドメディカルセンター]

2. ベータヒトコロナウイルス(OC43、HKU1)の臨床分離株はエンドゾーム内カテプシンよりも細胞表面の TMPRSS2 を用いて細胞侵入する

ヒトコロナウイルス(HCoV)は細胞侵入に 2 つの異なる経路を用いることが分かっている。1 つはエンドソーム経由でカテプシン群の酵素を用いて S タンパク質を活性化させて細胞侵入する経路で、もう 1 つは膜型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 を用いて細胞表面あるいは初期エンドゾームから細胞侵入する経路である。これまでの HCoV-229E を用いた研究で、長い間培養細胞で継代されてきた実験室株はカテプシン L を用いてエンドソーム経由で細胞侵入する一方、臨床分離株は主に TMPRSS2 を用いた経路によって細胞侵入することが分かっている。今回、ヒトプライマリ呼吸器細胞を Air-liquid interface 培養によって分化させたものを用い、4株の HCoV-OC43、2 株の HCoV-HKU-1 を分離した。これらを用いて細胞侵入経路の解析を行った。結果として、細胞順化株である OC43 の ATCC 株はカテプシン群を用いたエンドゾームからの細胞侵入経路を用い、OC43、HKU1 ともに臨床分離株は TMPRSS2 を用いた細胞表面からの細胞侵入経路を好んで用いていることが示され、アルファヒトコロナウイルスである 229E で見られた現象は、ベータヒトコロナウイルスにも通用することが明らかとなった。[白戸憲也、松山州徳]

3. RS ウイルスのグローバルサーベイランスに備えた遺伝子診断法の評価

世界保健機関（WHO）は、すでにある Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS)の枠組みを利用して、RS ウイルス（RSV）のグローバルサーベイランス活動を積極的に推進しようとしている。背景には現在第Ⅲ相試験である Novavax 社の nanoparticle ワクチンが近年中に FDA に承認される見通しであることがある。国際協力、国際協調の観点から、日本もその活動に対応していく必要がある。現在 WHO では、代表 13 か国によるテストサーベイランスを行っているが、検査法としてはリアルタイム RT-PCR 法による核酸検出を用いることが決まっており、日本でよく用いられているイムノクロマトキットは採用されていない。リアルタイム RT-PCR 法としては米国 CDC 法あるいは同等と評価される方法を用いるとされ、ほとんどの国では米国 CDC 法が選択されている。したがって、我が国の RS ウイルスのグローバルサーベイランスへの参加を踏まえ、国内でも米国 CDC 法が運用可能か否かを検討する必要がある。今回はまず担当部署である感染研ウイルス 3 部内で CDC 法を行うためのセットアップを行った。米国 CDC 法はサブタイプ AB 共通プローブを用いた検出を行ったのち、F タンパク質領域のシークエンス解析によりサブタイピングを行うとされる。RT-PCR の部分については、試薬の組み合わせによっては非特異反応が見られるが、Thermo 社の Ag-Path-ID を用い、アニーリング温度を 58 度とすることで非特異反応の改善が見られた。仙台医療センターで保管されていた過去のヒト臨床検体を用いて評価を行ったところ、他の既報のリアルタイム RT-PCR プローブセット(サブタイプ A,B でそれぞれ別セット)と比べて同等の検出率を示し、実際の臨床検体でも適用可能と考えられた。一方、シークエンス解析によるサブタイピングの成功率は低く、さらなるシークエンス解析用プライマーの最適化が必要と考えられた。地衛研等での実施については地衛研代表者による評価が行なわれている。[白戸憲也、直亨則、松山州徳、西村秀一＊、竹田誠]＊仙台医療センターウイルスセンター

4. 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。現在 RS ウイルスに関してスクリーニングを繰り返し、250 程度の候補宿主因子を見出しており、さらに MAGeCK プログラムでデータ比較及び検定を行うことで、RS ウイルスの感染・増殖に必要な候補宿主因子を 67 に絞り込んでいる。この 67 個の候補宿主因子について Gene ontology 解析を行うと、RS ウイルスの細胞侵入に寄与するヘパラン硫酸の生合成に関与する遺伝子が含まれており、重要な宿主因子が検出されていることが示されている。今後は 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*、関塚剛史**、白戸憲也、松山州徳、竹田誠: *細胞化学部、**病原体ゲノム解析研究センター]

5. 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。そこで、これらの分離ウイルスを用いて、ウイルスの全ゲノム配列の決定、及び複数の培養細胞株への感染性の比較を行った。その結果、G 遺伝子の 180 塩基の重複配列はウイルス分離及び継代を経てもウイルスゲノム中に維持されていること、及び重複配列はウイルスの培養細胞への感染性に大きな違いを生じないということが判明した。現在分離ウイルス株を元にリバースジェネティクス法で組み換えウイルスを作出している。今後は組み換えウイルスを用いてより詳細に、G 遺伝子の重複塩基配列の発生メカニズムや機能的意義を解明する予定である。[直亨則、七種美和子*、山岸潤**、也西村秀一***、竹田誠: *横浜市衛生研究所、**北海道大学、***仙台医医療センター]

6. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、マウスパラインフルエンザウイルスの病原性決定因子のひとつである

パラミクソウイルス科のウイルス増殖や病原性の発現への TMPRSS2 の関与の有無を、マウスを宿主とするマウスパラインフルエンザウイルス(以下、センダイウイルス(SeV))、TMPRSS2 遺伝子欠損マウス、TMPRSS2 遺伝子を発現している通常の野生型マウスを用いて解析した。実施した感染条件では、野生型マウスへの攻撃後、一過性の体重減少、致死が認められたが、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスでは致死や顕著な体重減少は認められなかった。野生型マウスと異なり、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスの感染肺のウイルス力価において、継続的な効率的ウイルス増殖は認められなかった。以上より、インフルエンザ A ウイルスと同様に、TMPRSS2 は用いた全ての複数の SeV 株のマウス体内での病原性発現に大きく関与していることが示された。[酒井宏治、網康至*:*動物管理室]

7. 不顕性感染するマウスパラインフルエンザウイルスの性状解析

マウスパラインフルエンザウイルス(以下、センダイウイルス(SeV))は、生体内への侵入後、強い免疫抑制より、病原性を発揮することが知られている。ATCC により購入した Cantell 株

ストックウイルスにおいて、限界希釈法より、IFNβ誘導因子である copyback 型 DI ゲノムを産生しない Cantell cC 株とこれを恒常的に産生する cCdi 株を選抜した。ウイルスゲノムの全長比較から、既報の C や V 蛋白質でなく、N 蛋白質に IFNβ誘導を決定する変異を同定した。培養細胞においても、cC 株と cCdi株にIFNβ誘導能に有意な差が認められたため、cC株と cCdi 株のマウスでの病原性検証を試みた。cC 株では致死的（MLD50= 10^3 pfu/head）であったが、cCdi 株では体重変動や症状、致死性は全く認められなかった（MLD50= $<10^5$ pfu/head）。培養細胞と同様に、マウス生体内でも IFNβ誘導能が cC 株と cCdi 株で有意に異なり、それが病原性発現に関与していた。Cantell 株中での cCdi 株の存在意義は不明であるが、ウイルスの遺伝的多様性として大変興味深く、N 蛋白質に起因する不顕性感染機序は、初めての報告である。［酒井宏治、入江崇*、網康至**:*広島大、**動物管理室］

8. A 型インフルエンザウイルスと肺炎球菌による二次性感染型肺炎感染モデルの作成と重症化機序の検索

A 型インフルエンザウイルス（IAV）感染後の肺炎には、ウイルスそのものによる原発性ウイルス性肺炎と細菌感染が関与する二次性感染型肺炎に分けられる。これまで、我々は、季節性 IAV による原発性ウイルス性肺炎には、ウイルスを活性化（HA タンパク質の開裂を促進）させる宿主セリンプロテアーゼ TMPRSS2 が必須の酵素であることを証明した。一方、死亡例の大部分を占める二次性感染型肺炎は、ウイルスと細菌の相乗作用の関与が示唆され、その重症化機序の全容解明は行われていない。我々は原発性ウイルス性肺炎の延長として、（細菌性）プロテアーゼによるウイルス活性化（HA の開裂促進）という視点で、解明を試みた。IAV は、野生型マウスで致死的であるが、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスでは非病原性のマウス馴化株を用いた。肺炎球菌はマウスで馴化したものを用いた。野生型マウスを用いた場合、①IAV 単独感染群及び②肺炎球菌単独感染群では、有意な体重変動あるいは致死的な体重減少を示さないが、③混合感染群でのみ、致死的な経過を示した。興味深いことに、ある条件の肺炎球菌感染マウス肺洗浄液を菌液として用いた場合、肺炎球菌感染肺洗浄液をフィルター濾過したろ液（菌体なし）、そのろ液にプロテアーゼインヒビターを添加したもの、どちらにおいても、③混合感染群と同様な致死的な経過を示した。また、この感染条件において、Tmprss2 遺伝子欠損マウスを用いて、同様に感染実験を実施したが、野生型マウスのように、③混合感染群でのみ、重症化や感染肺でのウイルス複製効率の増加、HA 開裂の促進は認められなかった。以上より、本研究で用いた IAV と肺炎球菌の混合感染による重症化は、細菌性プロテアーゼに起因しないことが考えられた。今後は、重症化の起因となった、ろ液成分の解析を試みる。［酒井宏治］

9. 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。これまで、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 の自然宿主の野生水禽生体内で HA を開裂する宿主プロテアーゼは不明であり、野生マガモ TMPRSS2 の AIV の HA 蛋白質の開裂能について検証を試みた。野生マガモ 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野生マガモ TMPRSS2 の蛋白質機能解析では、AIV の HA 開裂が認められた。今後、野生マガモの TMPRSS2 の生体内発現分布の解析を試みる。［酒井宏治］

サーベイランス業務

1. 平成 29 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。［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 5 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４ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品5ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 38 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、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 170 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、染谷健二、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。次期パネル候補血清陽性 17 検体、陰性 2 検体を取得した。[岡本貴世子、永井美智、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。[關文緒、山田裕加里、竹田誠]
2. 麻疹遺伝子検査に用いるリアルタイム PCR 用参照 RNA を 8 ヶ所の地方衛生研究所に配布した。また、RT-PCR 用参照 RNA を 8 カ所の地方衛生研究所に、サイズマーカーを 3 ヶ所の地方衛生研究所に配布した。[關文緒、山田裕加里、竹田誠]
3. 風疹ウイルス検出ならびに遺伝子型解析の外部精度管理を 47 の地方衛生研究所に対して実施した。[森嘉生、村田祥子＊、調恒明＊、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、＊山口県環境保健センター]
4. 病原体検出マニュアル風疹を一部改定した（第 3.2 版）[森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠]。
5. 第 38 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。[森嘉生、關文緒]2017 年 6 月 27-28 日
6. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 17 カ所の地方衛生研究所等に配布した。[森嘉生、永井美智]
7. ムンプスの行政検査を 1 件実施した。[木所稔]
8. 9 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス用新規 One-step RT Real-time PCR 用のプライマーセット、プローブ、陽性コントロールウイルス RNA 及びプロトコールを送付し、評価を行った。[木所稔、村野けい子]
9. 1 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス検出用にプライマーセットを送付した。[木所稔、村野けい子]
10. MERS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 11 件
11. SARS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件
12. RS 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
13. hMPV 遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件

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. 7th Meeting on Vaccine-Preventable Diseases Laboratory Network in the Western Pacific Region（2017 年 9 月 28 日～29 日、フィリピン、マニラ市）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[森嘉生、中津祐一郎、竹田誠]。本会議の議長（Chair）を務めた。[竹田誠]
4. Technical Consultation of the WHO Global Measles Rubella Laboraotry Network（2018 年 1 月 22-26 日、米

国、アトランタ市）に参加してグローバル麻疹風疹実験室ネットワークの活動について話し合った。［竹田誠］

5. 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（2017 年 7 月 18 日～7 月 21 日）［田原舞乃］
6. WHO meeting of Mid-term Review of the RSV Surveillance Pilot based on the Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS), 18-20 December 2017 PAHO, Washington DC, USA に参加［白戸憲也］

研修業務

1. JICA 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」において、アジア、アフリカ、中東等の研修生 7 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］ 2018 年 1 -2 月
2. JICA 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」において、アジア、中東、アフリカ諸国の研修生 7 名に、風疹の実験室検査に関する講義を行うとともに、風疹ウイルスリアルタイムRT-PCR、コンベンショナルRT-PCRの実習を行った。［大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生］2018 年 1-2 月
3. 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、麻疹風疹混合ワクチンの国家検定に関する講義を行った（2018 年 1 月 19 日）［森嘉生］
4. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会において、風疹検査に関する講義を行なった、［森 嘉生］(2018 年 2 月 27 日)
5. 11 ヶ所の地方衛生研究所に風疹ウイルス遺伝子検出法の研修を実施した。［岡本貴世子、坂田真史、大槻規之、永井美智、森嘉生、木村博一(感染症疫学センター、群馬パース大学)］(2018 年 2 月 13 日～2 月 15 日)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. 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 time of the 2012-2013 epidemic in Japan. *Front Microbiol* 8:1513.
2. Otsuki N, Sakata M, Mori Y, Okamoto K, Takeda M. (2018) Analysis of the effect of Sphingomyelinase on rubella virus infectivity in two cell lines. *Bio Protoc* (in press)
3. Otsuki N, Sakata M, Saito K, Okamoto K, Mori Y, Hanada K, Takeda M. (2018) Both sphingomyelin and cholesterol in the host cell membrane are essential for rubella virus entry. *J Virol* 92:e01130-17
4. Sakata M, Tani H, Anraku M, Kataoka M, Nagata N, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y. (2017) Analysis of VSV pseudotype virus infection mediated by rubella virus envelope proteins. *Sci Rep* 7:11607.
5. Katoh H, Kubota T, Nakatsu Y, Tahara M, Kidokoro M, Takeda M. (2017) Heat shock protein 90 ensures efficient mumps virus replication by assisting with viral polymerase complex formation. *J Virol* 91:e02220-16
6. Matsuyama S, Shirato K, Kawase M, Terada Y, Kawachi K, Fukushi S, Kamitani W. Middle East respiratory syndrome coronavirus spike protein is not activated directly by cellular furin during viral entry into target cells. J Virol. 2018 Jul 18. pii: JVI.00683-18.
7. 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.*

8. Shirato K, Kawase M, Matsuyama S. Wild-type human coronaviruses prefer cell-surface TMPRSS2 to endosomal cathepsins for cell entry. Virology. 2018 Apr;517:9-15.
9. Shirato K, Semba S, El-Kafrawy SA, Hassan AM, Tolah AM, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Kamitani W, Matsuyama S, Azhar EI. Development of fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) using quenching probes for the detection of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. J Virol Methods. 2018 Aug;258:41-48.
10. Hachiya M, Miyano S, Mori Y, Vynnycky E, Keungsaneth P, Vongphrachanh P, Xeuatvongsa A, Sisouk T, Som-Oulay V, Khamphaphongphane B, Sengkeopaseuth B, Pathammavong C, Phounphenghak K, Kitamura T, Takeda M, Komase K. (2018) Evaluation of nationwide supplementary immunization in Lao People's Democratic Republic: population-based seroprevalence survey of anti-measles and anti-rubella IgG in children and adults, mathematical modelling and a stability testing of the vaccine. *PLoS One* 13:e0194931
11. 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.
12. 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.
13. Saikusa M, Nao N, Kawakami C, Usuku S, Sasao T, Toyozawa T, Takeda M, Okubo I. (2017) A novel 111-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus. *Microbiol Immunol* 61:507-12.
14. Saikusa M, Kawakami C, Nao N, Takeda M, Usuku S, Sasao T, Nishimoto K, Toyozawa T. (2017) 180-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus A2b subgroup strains circulating in Yokohama city, Japan, since 2014. Front Microbiol. 8:402.
15. Saito K, Otsuki N, Takeda M, Hanada K. (2018) Liposome floatation assay for studying interaction between rubella virus particles and lipid membranes. *Bio Protoc* 8:e2983
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 K, Tanaka-Taya K, Takeda M, Komase K, Oishi K. (2017) Exposure of travellers and a ground crew member to H1 genotype measles virus at a large international airport in Japan on 31 July. *Western Pac Surveill Response J* 8:37-9.
17. Yoshida A, Kawabata R, Honda T, Sakai K, Ami Y, Sakaguchi T, Irie T. (2018) A single amino acid substitution within the Paramyxovirus Sendai virus nucleoprotein is a critical determinant for production of IFN-beta-inducing copyback-type defective interfering genomes. J Virol. 92(5). pii: e02094-17.
18. Sangsriratanakul N, Toyofuku C, Suzuki M, Komura M, Yamada M, Alam MS, Ruenphet S, Shoham D, Sakai K, Takehara T. (2018) Virucidal Efficacy of Food Additive Grade Calcium Hydroxide against Surrogate of Human Norovirus. J Virol. Methods. 251:83-87.
19. Kitamura T, Bouakhasith V, Phounphenghack K, Pathammavong C, Xeuatvongsa A, Norizuki M, Okabayashi H, Mori Y, Machida M, Hachiya M. (2018) Assessment of temperatures in the vaccine cold chain in two provines in Lao People's Democratic Republic: a crosse-sectional pilot study. BMC Res Notes 11:261.
20. 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. 2017,70(3), 329-32.

21. Niizuma T, Obinata K, Kinoshita K, Kidokoro M, Shimizu T. Detection of mumps virus vaccine strain in breast milk after postpartum vaccination. Juntendo Medical Journal. 2017, 63, 370-2.
22. 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.
23. Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. J Virol Methods. 2018 Jan;251:22-29.
24. Nakao R, Matsuno K, Qiu Y, Maruyama J, Eguchi N, Nao N, Kajihara M, Yoshii K, Sawa H, Takada A, Sugimoto C. Putative RNA viral sequences detected in an Ixodes scapularis-derived cell line. Ticks Tick Borne Dis. 2017 Jan;8(1):103-111
25. Kondoh T, Manzoor R, Nao N, Maruyama J, Furuyama W, Miyamoto H, Shigeno A, Kuroda M, Matsuno K, Fujikura D, Kajihara M, Yoshida R, Igarashi M, Takada A. Putative endogenous filovirus VP35-like protein potentially functions as an IFN antagonist but not a polymerase cofactor. PLoS One. 2017 Oct 17;12(10):
26. Ogawa H, Kajihara M, Nao N, Shigeno A, Fujikura D, Hang'ombe BM, Mweene AS, Mutemwa A, Squarre D, Yamada M, Higashi H, Sawa H, Takada A. Characterization of a Novel Bat Adenovirus Isolated from Straw-Colored Fruit Bat (Eidolon helvum). Viruses. 2017 Dec 4;9(12).
27. Matsuno K, Kajihara M, Nakao R, Nao N, Mori-Kajihara A, Muramatsu M, Qiu Y, Torii S, Igarashi M, Kasajima N, Mizuma K, Yoshii K, Sawa H, Sugimoto C, Takada A, Ebihara H. The Unique Phylogenetic Position of a Novel Tick-Borne Phlebovirus Ensures an Ixodid Origin of the Genus Phlebovirus. mSphere. 2018 Jun 13;3(3).

和文発表

1. 染谷健二、竹田誠、(2018)海外の麻疹の状況、病原微生物検出情報 39:62-64
2. 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.
3. 酒井宏治 (2018)『宿主プロテアーゼTMPRSS2とインフルエンザウイルス』、獣医畜産新報 71(6)414-424
4. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、風疹の検査法、病原微生物検出情報 39:35-36, 2018
5. 木所稔、(2017)慢性炎症と疾患、感染症・ワクチンと慢性炎症、ムンプス、別冊Bio Clinica、6(2):41-46
6. 木所稔、(2017)ワクチンのメリットとデメリット、II各論、2.ウイルスワクチン、おたふくかぜワクチン、化学療法の領域、33(S-1):125-133
7. 木所稔、感染症の流行を追う、我が国の流行性耳下腺炎(おたふくかぜ)の流行状況について、Vaccine Digest, 2017, 13, 3-4.
8. 木所稔、(2017)ムンプス髄膜炎、臨床とウイルス、45(5):318-325
9. 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)
10. 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)
11. 松山州徳, 中東呼吸器症候群 (MERS), 小児科臨床 70(増刊号): 2303-2307, (2017)
12. 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.
13. 駒瀬勝啓、小林祐介、砂川富正、大石和徳、關文緒、染谷健二、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、竹田誠、(2018)麻疹ウイルスの遺伝子解析による 2016 年における日本の麻疹排除状態の解析、病原微生物検出情報 39:60-61
14. 多屋馨子、佐藤弘、大石和徳、竹田誠、(2018)麻疹の抗体保有状況ー平成 29(2017)年度感染症流行予測調

査(暫定結果)、病原微生物検出情報 39:61-62

15. 金井瑞恵、砂川富正、神谷元、奥野英雄、多屋馨子、大石和徳、森嘉生、竹田誠、倉田貴子、上林大起、加瀬哲男、駒野淳、北島博之、2012-2014 年に出征した先天性風疹症候群 45 例のフォローアップ調査結果報告、病原微生物検出情報 39:33-34, 2018
16. 佐藤弘、多屋馨子、大石和徳、森嘉生、竹田誠、2017年度風疹予防接種状況および抗体保有状況―2017年度感染症流行予測調査(暫定結果)、2017年度風疹感受性調査実施都道県、病原微生物検出情報 39:40-41, 2018

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Tahara M, Sato M, Nakatsu Y, Tani K, Takeda M. (2018 June 17-22. Verona, Italy) A new optically controllable measles virus vector. The 17th Negative Strand Virus Meeting (NSV2018)
2. 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 Measles Virus Minisymposium.
3. 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 International Union of Microbiological Societies (IUMS) International Congress of Virology.
4. Shirato K, Kanou K, Kawase M, Matsuyama S. Wild type human coronaviruses prefer cell surface TMPRSS2 to endosomal cathepsins for cell entry. (2017). The XIVth Nidovirus International Symposium. Kansas City, MO, USA. June 4-9. Oral
5. Nao N, Sato K, Seki F, Yamagishi J, Nishimura H, Takeda M. (2018 June 17-22. Verona, Italy) The characteristics of recent clinical isolates of human metapneumovirus in Japan. The 17th Negative Strand Virus Meeting (NSV2018)
6. Nao N, Sato K, Saikusa M, Nishimura H, Takeda M. (2018 Jan 8-11. Shenzhen, China) The evolution of human metapneumovirus. 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim.
7. Liao J, Kohara H, Hiramoto T, Tahara M, Sugawara A, Miura Y, Hirose L, Takashima Y, Miyamoto S, Takeda M, Tani K. (2018 May 16-19. Chicago, Illinois, USA) Evaluation of non-integrating RNA measles virus vectors for reprogramming of human hematopoietic subsets. The 21st American Society of Gene & Cell Therapy (ASGCT) Annual Meeting
8. 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 International Union of Microbiological Societies (IUMS) International Congress of Virology.
9. Matsuo N, Nakano S, Ito S, Seki F, Takeda M, Tokiwa H. (2017 September 5-8. Awaji Island, Hyogo, Japan) Elucidating coevolution mechanism of morbillivirus with mammals using the fourth revolutionary method based on a novel protein multiple sequence method. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity (AIFII).
10. Yusuke Matsui, Hajime Kamiya, Akira Kamenosono, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Minoru Kidokoro, Tomimasa Sunagawa, (2017, Oct 4-8. San Diego, CA) First mumps outbreak in decade: measuring impact of mumps among naïve population – Tokunoshima Island, Japan. IDWeek.

国内学会

ウイルス第三部

1. 竹田誠、關文緒、ヒト SLAM 遺伝子のモルビリウイルスからの感染回避進化と麻疹ウイルスH 遺伝子のヒト SLAM への特化進化、7th Negative strand virus-Japan symposium、沖縄、糸満市、2018 年 1 月 15-17 日
2. 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
3. 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
4. 竹田誠、大槻紀之、坂田真史、齊藤恭子、岡本貴世子、森嘉生、花田賢太郎、風疹ウイルスの感染メカニズムと細胞膜脂質の役割、第 49 回日本小児感染症学会、金沢、2017 年 10 月 21-22 日
5. 竹田誠、關文緒、直亨則、ヒトメタニューモウイルス株の感染性に関する解析、第 121 回日本小児科学会、福岡、2018 年 4 月 20-22 日
6. 田原舞乃、佐藤守俊、谷憲三朗、竹田誠、光制御性麻疹ウイルスと狂犬病ウイルスの作製、7th Negative strand virus-Japan symposium、沖縄、糸満市、2018 年 1 月 15-17 日
7. 田原舞乃、佐藤守俊、宮本将平、中津祐一郎、谷憲三朗、竹田誠、光制御麻疹ウイルスベクターの開発、第 17 回日本再生医療学会、横浜、2018 年 3 月 21-23 日
8. Tahara M, Sato M, Nakatsu Y, Tani K, Takeda M. Development of optically controllable measles virus vector.（光制御性麻疹ウイルスベクターの開発、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
9. Sakai K, Takayama I, Ami Y, Suzaki Y, Komase K, Takehara K, Takeda M, Odagiri T. Pathogenicity of A/H3N2v in mice.（変異型インフルエンザウイルス A/H3N2v のマウスでの病原性）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
10. 酒井宏治、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 とインフルエンザウイルス、第 160 回日本獣医学会学術集会　微生物分科会シンポジウム「最先端微生物学研究に基づいた疾病対策の試み」、鹿児島、2017 年 9 月
11. 酒井宏治、センダイウイルスのマウスでの病原性、7th Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2018 年 1 月
12. Mori Y, Otsuki N, Sakata M, Okamoto K, Takeda M. Rubella virus attaches to cells in at least two different ways.（風疹ウイルスは異なる 2 種類の方法で細胞へ吸着する）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
13. 大槻紀之、坂田真史、齊藤恭子、森嘉生、岡本貴世子、花田賢太郎、竹田誠、細胞膜上のスフィンゴミエリンは風疹ウイルスの感染に不可欠である、第 59 回日本脂質生化学会学術集会、京都、2017 年 6 月 15-16 日
14. Sakata M, Katho H, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y. Heat shock protein 90 is required for efficient replication of rubella virus.（熱ショック性蛋白 90 は、風疹ウイルスの効率的な増殖に必要である）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
15. Anraku M, Matsunaga S, Sakata M, Matsushima Y, Miyakawa K, Takeda M, Mori Y, Ryo A. Screening for small molecules targeting Rubella virus E1 protein.（風疹ウイルス E1 タンパク質を標的とした低分子化合物の探索と同定）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
16. 木所稔，浜端宏英,ムンプス検体の遠隔地輸送における FTA カードの有用性,第 58 回日本臨床ウイルス学会学術集会, 2017 年 5 月 27 日-28 日，長崎市.
17. 木所稔，成相絵里，菅秀，竹田誠，庵原俊昭，次世代シーケンサを用いたムンプスウイルスの網羅的全ゲノム配列決定に基づく分子系統学的解析，第 58 回日本臨床ウイルス学会学術集会，2017 年 5 月 27 日-28 日，長崎市.
18. Kidokoro M, Murano K, Nao N, Negoro M, Takeda M, Suga S. Molecular phylogenetic analyses of mumps virus on the basis of full-genome sequences by using next-generation sequencer.（次世代シークエンス解析による全ゲノム配列をもとにしたムンプスウイルスの分子系統解析）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
19. Katoh H, Sakata M, Nakatsu Y, Nakagawa R, Kidokoro

M, Takeda M. Involvement of the R2TP complex in biogenesis of mumps virus L protein.（ムンプスウイルスの L タンパク質合成における R2TP complex の関与）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日

20. 加藤大志、ムンプスウイルス感染における R2TP complex の役割、7th Negative Strand Virus-Japan、沖縄、2018 年 1 月 15-17 日
21. 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
22. 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
23. 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
24. 白戸憲也, Development of Fluorescent Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) using Quenching probes for the detection of the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Shirato K, Semba S, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, and Matsuyama S. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 2017 年 10 月(大阪) ポスター
25. Nao N, Sato K, Saikusa M, Takeda M, Nishimura H. Human metapneumovirus with 180 nucleotide-duplication in the G gene detected in Sendai city, Japan.（仙台市で検出された G 遺伝子に 180 塩基の重複挿入がみられたヒトメタニューモウイルス）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
26. 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
27. 松尾直也、中野祥吾、伊藤創平、關文緒、竹田誠、常盤広明、第四次革新的手法に基づく宿主動物およびウイルスの共進化メカニズムの解明、第 61 回日本薬学会関東支部大会、東京、2017 年 9 月 16 日
28. 松尾直也、中野祥吾、伊藤創平、關文緒、竹田誠、常盤広明、第四次革新的手法を用いたウイルスおよび宿主動物の共進化メカニズムの解明、第 40 回日本分子生物学会、神戸、2017 年 12 月 6-9 日
29. Matsuo N, Higuchi R, Nakano S, Ito S, Seki F, Takeda M, Tokiwa H. Rational designs of artificial viral proteins using a novel multiple sequence analysis.（第四次革新的手法を用いた人工ウイルスタンパク質の創成）、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
30. 樋口玲爾、關文緒、中野祥吾、伊藤創平、丸山正、大石和恵、竹田誠、常盤広明、第四次革新的手法を用いたモルビリウイルスと感染哺乳動物との共進化に関する理論的研究、第 62 回日本薬学会関東支部大会、2018 年 9 月 15 日
31. 七種美和子、川上千春、宇宿秀三、笹尾忠由、豊澤隆弘、直亨則、竹田誠、横浜市において検出された human metapneumovirus の遺伝子解析：G 遺伝子に 111 塩基の重複配列をもつ株の流行について、第 49 回日本小児感染症学会、金沢、2017 年 10 月 21-22 日
32. 佐藤弘、多屋馨子、森嘉生、竹田誠、大石和徳、成人男性における風疹に対する感受性者の現況（感染症流行予測調査より）、第 21 回日本ワクチン学会、福岡、2017 年 12 月 2-3 日
33. 廖紀元、小原洋志、平本貴史、田原舞乃、小川由恵、唐澤伸明、坂本千香、滝嶌佑人、宮本将平、竹田誠、谷憲三朗、Reprogramming efficiency of human hematopoietic subsets by measles virus vectors、第 17 回日本再生医療学会、横浜、2018 年 3 月 21-23 日
34. 中田恵子,西村公志,弓指孝博,久米田裕子,木所稔. 2015 年から 2017 年にかけて大阪府で患者数が増加した流行性耳下腺炎患者の疫学的特徴と検出されたウイルスの分子系統樹解析,第 49 回日本小児感染症学会総会・学術集会, 金沢、2017 年 10 月 21-22 日

III. そ の 他

1. 竹田誠、小児科医から麻疹ウイルス研究者になったわけ、第 60 回東京六稜総会、2017 年 6 月 17 日、東京

2. 竹田誠、麻しん風しんＱアンドＡ、国立感染症研究所 村山庁舎一般公開、サイエンスカフェ、2017 年 7 月 29 日
3. 竹田誠、市民公開講座「ウイルスと生きる」麻しん・風しん、2017 年 10 月 22 日、大阪
4. 竹田誠、麻しん・風しんの流行や検査についての最近の話題、リブラ会総会講演会、2017 年 9 月 24 日、東京
5. 竹田誠、麻疹ウイルスのウイルス学、麻疹ウイルス感染制御の up to date、第 266 回 ICD 講習会、2017 年 10 月 26 日、大阪
6. 竹田誠、麻疹ウイルスの病原性発現ならびに流行に関する分子基盤の解析、川野小児医学奨学財団、小児医学川野賞受賞講演、2018 年 3 月 10 日
7. 酒井宏治、インフルエンザウイルスと宿主プロテアーゼ TMPRSS2、第 8 回 SENRI の会、大阪、2018 年 1 月
8. 森嘉生、風疹排除に向けて -検査の役割- 、感染症意見交換会、国立感染症研究所、東京、2018 年 3 月 26 日
9. 白戸憲也、竹田誠 衛生微生物技術協議会第38回研究会シンポジウムⅢ「RS ウイルスのグローバルサーベイランス」にて講演 2017 年 6 月 28 日(船堀)
10. 白戸憲也、RS ウイルスのグローバルサーベイランスの検査手法，平成 29 年度希少感染症診断技術研修会 2017 年 2 月 27 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。今年度は、地方衛生研究所から送付される EHEC O157, O26, O111 菌株に加え、EHEC O103, O121, O145, O165 および O91 に関しても、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。特に、岡山大学インド拠点、大阪大学タイ拠点、長崎大学ベトナム拠点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が進められ、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に関して、国内伝播株のゲノム解析手法を用いた解析が開始され、検体から直接解析可能となった。

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。

平成29年度4月より、石原朋子が日本医療研究開発機構に2年間の予定で派遣された。また、7 月より須藤直樹が任期付き研究員として着任した。

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) EHEC の多様性解析

ア. EHEC の血清型別と重症例由来株

2017 年に全国から受け付けたヒト由来の EHEC は 3,338 株であった。頻度の高い O 血清群（O 群）の順に O157（55.3%）、O26（24.9%）、O103（4.9%）、O111（4.3%）、O121（2.3%）、O145（1.6%）で、その他は 59 の O 群、95 の血清型（O:H 型）に分類された。ヒトの重症例（血便、溶血性尿毒症症候群[HUS]、脳症、死亡例など）由来株はこのうち 1,138 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、中島雪絵、李 謙一、泉谷秀昌、大西 真]。

イ. 重症例由来 EHEC の新規血清型の同定

2007-2017 年にヒトの重症例から分離された O 群型別不能の EHEC 株について、これまでの研究で開発した大腸菌の血清型を遺伝学的に決定出来る O-/H-genotyping PCR 法による解析を行ったところ、少なくとも 10 種類の新規 O 群および 13 種類の新規 O:H 型の重症例由来 EHEC 株が存在することが判明した [伊豫田 淳、井口 純（宮崎大・農）、小澤 さお美、吉田 愛、竹本 歩、李 謙一、大西 真]。

ウ. HUS 患者由来の LEE 非保有型 EHEC の同定

アに記載の主要 7 血清群は志賀毒素（Stx）遺伝子に加えて locus of enterocyte effacement (LEE) を病原性遺伝子群として保有する。一方、LEE を保有しない EHEC による HUS 症例がいくつか報告されており、9 種類の異なる血清型に分離

されることが判明した。このうちの6種類(7株)はLEE保有型EHECには存在しない接着因子をコードする*saa*、Stx以外の細胞毒素をコードする*sub*を保有することから、これらはいずれもLEE非保有型EHECの重要な病原性遺伝子であると考えられる [伊豫田 淳、小澤 さお美、竹本 歩、李 謙一、大西 真]。

(2) 分子疫学的解析

ア. MLVA解析

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3,362 株であった。このうち血清群 O157、O26、O111、O103、O121、O145、O165、O91 として送付された 3,182 株について MLVA による型別を行った。また 411 株についてPFGE による解析を実施した。MLVA については890 の型が同定された。最も多かった型は17m0121 で257 株であり、次いで16m0223(74 株)、15m0278(56 株)であった。17m0121は2017 年8 月に発生した広域食中毒事例関連株を含んでいた。[泉谷秀昌、伊豫田淳、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真]

イ. WGS および MLVA を用いたサーベイランスの高精度化

2017年度に広域の食中毒事例に関与した株を含む計369株の O157 の全ゲノム配列を解読後、core genome (cg) SNP および cgMLST 解析を行い、従来法である MLVA法との比較を行った。その結果、解析能としてはcgSNPが最も高いことが明らかとなった。一方で、cgMLST は簡易的なゲノム解析、MLVA 法は迅速性および他検体処理において他の方法より優れており、目的に応じて使い分けることで効率的なサーベイランスが可能になると考えられた [李 謙一、伊豫田 淳、泉谷秀昌、小澤 さお美、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た。[泉谷秀昌、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)、松本昌門(愛知県衛生研究所)、勢戸和子(大阪府立公衆衛生研究所)、河合央博(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)、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真]

(3) HUS患者由来のLEE非保有型EHECの完全長ゲノム配列の決定

O113など6種のO群のLEE非保有型EHECの完全長ゲノム配列をPacBioおよびIllumina シークエンサーを用いて決定した。その結果、O86は*aggR*、その他の5株は*saa*、*sub*、*ehxA*および*espP*を保有し、これらが細胞への接着性や病原性に重要な役割を果たしていると示唆された。また、得られた完全長ゲノム配列を参照配列として用いることで、高感度にSNPおよび組換え領域を検出することが可能となり、より高精度な系統解析によるサーベイランスが可能になると考えられた [李 謙一、伊豫田 淳、小澤 さお美、大西 真]。

(4) 血清診断によるEHEC-HUSの確定診断

EHEC が不分離の HUS 発症例(全体の約 30%を占める)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-HUS の確定診断となる。血清診断依頼があった HUS 症例 11 例のうち 、大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となったのは 9 事例あった。このうち O157 抗体陽性が 4 例、O165 抗体陽性 が2例、O145抗体陽性が1例であった。その他のO群に対する抗体陽性が2例あり、これらの事例ではいずれも以下(5)で述べるEHECの分離と併せて 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]。

(5) HUS患者からのEHECの分離同定

当初EHEC が不分離とされたHUS発症例2事例について患者便を再検査したところ、1例はO165とO51(*stx*遺伝子として*stx2e*を持つ)のEHECが同時に分離され、もう1事例はO109とO70(いずれも*stx2f*を持つ)のEHECが同時に分離された。これらの計 4 株はそれぞれの患者血清中に凝集抗体が確認されたことから、いずれもHUS発症の原因と推定された。昨年HUS患者から分離した*stx2f*陽性の*E. albertii*と共に、希な*stx2*サブタイプを持つ HUS 由来株として注目される [伊豫田 淳、小澤 さお美、竹本 歩、李 謙一、石嶋希、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

2017 年に当研究所に送付された赤痢菌 98 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* 70 株、*S. flexneri* 25 株、*S. boydii* 2 株、*S. dysenteriae* 1 株であった。*Shigella sonnei* では2017年に48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、変異による生存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

チフス菌、パラチフスA菌のファージ型別

2017 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 31 株、パラチフス A 菌 13 株であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が 11 株と最多となった。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 5 株検出され最多となり、それに次いでファージ型 2 が 4 株検出された。［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

2017 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 83.9%,、パラチフス A 菌で 76.9%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

2017 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 190 株であった。血清型は 18 種類からなり、上位 6 位は Enteritidis、Montevideo、Infantis、Thompson、Saintpaul、Typhimurium であった。これらは、*Xba*I 消化による PFGE 解析により 39 パターンに分かれた。血清型 Enteritidis 109 株についてファージ型別を実施し、ファージ型(PT)47が84株、PT21が13株、PT14cが5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

2013 年に分離された保菌者由来サルモネラ O4 群 208 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:-、Typhimurium、Saintpaul、Agona であった。122 株が何らかの薬剤に耐性を示し。耐性パターンとしては、ABPC＋SM＋TC3 剤耐性、SM＋TC＋KM3 剤耐性、SM+TC2 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 5 株であり、いずれも O1 であった。2 株は遺伝子型が一致したが、それ以外の 3 株はいずれも異なる遺伝子型を示した。［泉谷秀昌、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 1300 株のドラフト配列を取得した。全ゲノム配列を基盤とした系統解析により、インド・コルカタとバングラデッシュ・ダッカでは、両地域ともベンガル湾に面しているも

のの、流行株の遺伝系統とその消長に地域差があることが明らかとなった。[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 29 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 10 株で、*Vibrio cholerae* O1 が 7 株であり、うち 5 株は海外渡航歴のある患者由来株で小川型であったが、2 株は海外渡航歴の無い患者由来株で稲葉型であった。国内発生の患者はいずれも高齢者で、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。その他、国内例の *Vibrio vulnificus* 2 株(同一患者由来)および *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 1 株であった。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

エ 単一染色体を保有するコレラ毒素産生性Ｏ１株の同定

コレラ菌やビブリオ属細菌の染色体数は通常２本である。コレラ菌臨床分離株のゲノム解析を行い，１本の染色体を持つコレラ毒素産生性Ｏ１株を世界で初めて同定した。この株では，２本の染色体の間で相同組換えが起こり，単一の染色体が形成されていた。[山本章治，李謙一，森田昌知，荒川英二，泉谷秀昌，大西真]

オ エルシニアの血清型別

2017年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は13株であり、*Y. enterocolitica*が12株、*Y. pseudotuberculosis*が1株であった。後者の血清型はO:1であった。Y. enterocoliticaの血清型はO:3が9株、O:8が2株、O:9が1株であった。[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。さらに複数の contig に分かれたものについても、gap を walking により繋げ、さらに47種類について全塩基配列が解読された。これら 156 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. fluvialis/V. furnissii* の O 抗原領域の遺伝子解析

中国のヒト下痢症および環境から分離された *V. cholerae* と *V. fluvialis* において、疫学解析に利用される O 血清型別を行うにあたっては抗 O 血清が必要とされる。これを O 抗原遺伝子群を調べることで簡易に推定することを目的として、まず *V. fluvialis* の中国での分離頻度の高い O 抗原型について、ゲノム解析データからO抗原遺伝子領域の抽出を行い、そこからそのO抗原型特異的PCRの開発について検討を開始した。[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 2016 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

2016 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、837 株であり、すべての株に対して T 型別を行った。分離頻度の高かった T 型は、T1 (197/837, 23.5%)、T12 (161/837, 19.2%)、T4 (117/837, 14.0%)、TB3264 (97/837, 11.6)、T3 (88/837, 10.5%)であった。T1 型の分離比率は、2014 年以降、増加傾向である (2014 年, 11.9%、2015 年, 14.4%、2016 年, 23.5%)。T12、T4 型は、毎年、高い分離比率を示している。TB3264 型の分離比率は、減少傾向にある (2014 年, 27.1%、2015 年 15.8%、2016 年, 11.6%)。T3 型は増加傾向にある (2014 年, 1.6%、2015 年 9.8%、2016 年, 10.5%)。[池辺忠義、大西真、熊田裕子（福島衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、奥野ルミ（東京健安研セ）、内田薫（富山衛研）、山口貴弘（大阪公衛研）、大塚仁（山口環保セ）、神田由子（大分衛環研）、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

イ 日本において 2016 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

2016 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 151 症例あった。143 例が *S. pyogenes*、8 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、昨年より高い分離比率であった(2014 年, 39.2%; 2015 年, 38.7%; 2016 年, 49.7%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(23.5%)に比べ、高い分離比率を示している。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して減少した(2015 年, 25.5%; 2016 年, 16.1%)。次いで T3 型が多く、昨年と比較して分離比率が増加した(2015 年, 6.6%; 2016 年, 8.4%)。この 3

つの型で全体の 70%以上を占めていた。
STSS の確定診断例 151 例中、*emm1* 型が 72 例(47.6%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 25 例(16.6%)、*emm3* 型が 13 例(8.6%)と多かった。2015 年と比較し、*emm1* 型は、37.6% (41/109)から 47.6% (72/151)に増加した。*emm89* 型は 23.4% (26/109)から 16.6% (25/151)に減少した。*emm3* 型は、6.4% (7/109)から 8.6% (13/151)に増加した。[池辺忠義、大西真、熊田裕子（福島衛研)、大屋日登美（神奈川衛研)、奥野ルミ（東京健安研セ)、内田薫（富山衛研)、山口貴弘（大阪公衛研)、大塚仁（山口環保セ)、神田由子（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
2016 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 151 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 2.6% (4/151)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。2014 年以降（2014 年, 16.2% (12/74)、2015 年 8.3% (9/151)）分離率が減少傾向である。[池辺忠義、大西真、熊田裕子（福島衛研)、大屋日登美（神奈川衛研)、奥野ルミ（東京健安研セ)、内田薫（富山衛研)、山口貴弘（大阪公衛研)、大塚仁（山口環保セ)、神田由子（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
2016 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 76 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 31 例(40.8%)と最も多く、次いで、*stG485* が 10 例(13.1%)と多かった。[池辺忠義、大西真、熊田裕子（福島衛研)、大屋日登美（神奈川衛研)、奥野ルミ（東京健安研セ)、内田薫（富山衛研)、山口貴弘（大阪公衛研)、大塚仁（山口環保セ)、神田由子（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
2016 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 32 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 10 例(31.3%)であり、次いで V 型が 8 例(25.0%)、III 型が 6 例(18.8%)であった。
2016 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 2 例あった。菌種は 1 例が *S. constellatus* subsp. *pharyngis* であった。もう 1 例は、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であり、*emm* 遺伝子型は、それぞれ *stC1400* であった。[池辺忠義、大西真、熊田裕子（福島衛研)、大屋日登美（神奈川衛研)、奥野ルミ（東京健安研セ)、内田薫（富山衛研)、山口貴弘（大阪公衛研)、大塚仁（山口環保セ)、神田由子（大分衛環研)、The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan]

カ　小児侵襲性感染症由来原因菌の疫学調査
日本医療研究開発機構研究費 （新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業　ワクチン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）の研究分担者として、日本国内 10 道県の小児の侵襲性感染症より分離された肺炎球菌および GBS の血清型別、薬剤感受性試験、シークエンスタイピングを行った。[常　彬、菅　秀(国立病院機構三重病院)]

キ 成人侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）由来原因菌の疫学調査。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　成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの構築に関する研究）の研究分担者として、日本国内 10 道県の成人 IPD 由来肺炎球菌の血清型別、薬剤感受性試験、シークエンスタイピングを行った。[常　彬、大石和徳(感染症疫学センター)]

(2) 肺炎球菌の病原因子・宿主応答に関する分子基盤構築
肺炎球菌はヒトの上気道部に常在する日和見感染菌であり、小児や高齢者では重篤な侵襲性肺炎球菌感染症を引き起こす。近年、血清型交代現象によりワクチンが効かない血清型の肺炎球菌が増加している。また、臨床分離される肺炎球菌の 50%以上がペニシリン耐性であり、多剤耐性肺炎球菌の出現も報告されている。このことから、本研究では血清型に依存しない新規予防法・治療法の開発に必要な、肺炎球菌の病原因子と宿主因子との相互作用について知見を蓄積することを目的として解析を行った。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に到達する。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に焦点を当てて解析を行った。その結果、ユビキチン-p62-LC3 カーゴレセプターにより誘導された選択的オートファジーによって肺炎球菌が殺菌され、その誘導には肺炎球菌の保有するニューモリシンが必要であることが明らかになった。さらに、詳細な解析の結果、その誘導には細胞内膜輸送に関与する Rab ファミリーでありゴルジ体に局在する Rab41 と、ユビキチン化における E3 リガーゼである Nedd4-1 を介した K63 型ユビキチン鎖形成が必要であることが明らかになった。これらの結果は、細胞内に侵入した肺炎球菌と宿主との間に新たな攻防の局面が存在することを示唆している。 [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 29 年度に収集した *Legionella pneumophila* 臨床分離株 88 株（血清群（SG）1 が 77 株、SG3 および SG5 が各 3 株、SG2 および SG9 が各 2 株、SG4 が 1 株）について、SBT 法による遺伝子型別を実施した。これには、平成 29 年 3 月に入浴施設で発生し、確定患者数としては本邦最大となったレジオネラ集団感染事例（患者数 58 名）に由来する 24 株が含まれる。24 株の内訳は、ST2398 が 14 株、ST2399 が 9 株、ST2506 が 1 株で、いずれも新規遺伝子型であった。残りの 64 株は、54 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち 14 種類が新規遺伝子型であった。入浴施設が感染源と推定されているのが 3 分の 1、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。4 割が感染源不明で、残りの 1 割が水槽など種々の水系と推定されている。

平成 29 年度末現在で、合計 603 株の *L. pneumophila* 臨床分離株が収集され、ST1 から ST2593 まで 235 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（神戸市環保研）；平塚貴大（広島県総技研保健環境セ）；吉野修司（宮崎県衛環研）；倉 文明（バイオ）、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 法をを用いて、117 種類の ST（sequence type）を含む *L. pneumophila* 血清群 1 の菌株コレクション 315 株（臨床分離株 133 株、浴槽水由来 55 株、冷却塔水由来 48 株、修景水・噴水由来 18 株、シャワー水由来 25 株、土壌由来 36 株）の解析を行ったところ、168 種類の MLVA タイプに分類された。MLVA の分解能は、SBT 法と比較して同等の値を示した。また、過去の集団事例において、臨床分離株 45 株、浴槽水由来 21 株、浴槽ふきとり由来 22 株の MLVA を行い、PFGE および SBT のタイピング結果と比較したところ、MLVA 型は、PFGE および SBT のタイピングと概ね相関した。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タイピング方法として期待できると考えられた。［中西典子、田中　忍、野本竜平（神戸市環保研）；平塚貴大（広島県総技研保健環境セ）、前川純子］。

（2）レジオネラ属菌の検査法

ア　比色系パルサー法によるレジオネラ属菌検出の特異性

レジオネラ属菌の 16S rRNA をターゲットとして遺伝子増幅せずに生菌のみを迅速に検出できる比色系パルサー（PALSAR：Probe Alternation Link Self-Assembly Reaction）法について、レジオネラ 53 菌種 79 菌株および、非レジオネラ属菌 15 菌種 18 菌株の培養菌を用いた検討を行った。レジオネラ属菌 79 菌株は全て検出され、検出限界は 1.0x 10^0 CFU～3.6x 10^4 CFU であった。1x10^6 CFU/mL に調整した非レジオネラ属菌 15 菌種 18 菌株はすべて陰性であった。比色系パルサー法によるレジオネラ属菌生菌迅速検出キットは、特異性が高いことが示された。［森中りえか、原口浩幸（株式会社ファスマック）、倉 文明（バイオ）、伊豫田淳、小川道永、高橋英之、中尾龍馬、常 彬、三戸部治郎、山本章治、前川純子］

イ　レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

厚労科研レジオネラ研究班のサポートのもと、日水製薬株式会社を実施母体としたレジオネラ属菌検査精度管理サーベイが 2017 年度に行われ、全国 173 の検査機関が参加した。レジオネラ研究班への協力機関として参加した地方衛生研究所等 71 機関については、独自に集計・解析を実施し、2015、16 年度の結果と比較した。3 年連続参加した機関は 58 機関あり、そのうち今年度目標良好範囲外の結果を報告した 16 機関中 4 機関は 3 年連続で同様の結果を報告し、7 機関は 3 回の外部精度管理中 2 回目標良好範囲外を報告していた。特定のいくつかの機関に

ついては、検査手技の再確認が必要と思われた。以上のことから、本外部精度管理サーベイは、検査手技の安定性を確認し、不安定な機関へ検査手技の検証を促すことができる方法であり、今後さらにシステムの検討を重ね、継続的かつ安定したサーベイの実施が望まれる。［森本　洋、小川恵子、渡邉涼太（北海道衛研）；磯部順子、金谷潤一（富山衛研）；黒木俊郎、大屋日登美（神奈川衛研）；佐々木麻里（大分県衛環研）、緒方喜久代（大分県薬剤師会検査セ）、田中　忍（神戸市環保研）、千田恭子（仙台市衛研）、平塚貴大（広島県総技研保健環境セ）、武藤千恵子（東京都健安研）、山口友美（宮城県保環セ）、吉野修司（宮崎県衛環研）、倉　文明（バイオ）、前川純子］

（3）浴槽水のレジオネラ消毒法の開発に関する研究

ア　空気洗浄と高濃度塩素消毒を併用した砂ろ過器のろ材の洗浄方法（エアレーション・リフレッシュ法）の提案

温浴施設に一般的に導入されているろ過器の 1 つに砂ろ過がある。砂ろ過器の内部には微生物の餌となる汚れ（有機物）が蓄積する。その汚れを排出するために週に 1 回以上の逆洗浄を行っているが、逆洗効果が不十分であれば汚れが残留し、砂ろ過器がレジオネラ属菌の温床、供給装置に成りかねない。砂ろ過器の逆洗浄の効果を高めるために、既存施設の砂ろ過器において、手動操作で行う空気洗浄と高濃度塩素消毒を併用した砂ろ過器洗浄方法（エアレーション・リフレッシュ法）を適用し、効果を検証した。本エアレーション・リフレッシュ法は、逆洗後の排出液と砂ろ過器内部の濁度等に大きな改善が認められ、砂ろ過器内の汚れの排出効果が大きいことを確認した。これを短い周期で行い、砂ろ過器内の衛生状態を良好に保つことを提案したい。［中臣昌広（文京区文京保健所）、斎藤利明、木村哲也、田中悠樹、小森正人（株式会社ヤマト）、泉山信司（寄生動物部）、前川純子］

イ　入浴施設及び医療機関におけるレジオネラ汚染実態調査

入浴施設及び医療機関の給水系及び給湯系におけるレジオネラ汚染の実態調査を行い、汚染予防対策を確立することを目的として調査を行った。神奈川県内の 1 入浴施設においては、カラン・シャワーにレジオネラ属菌による継続的な汚染が検出され、対策を実施して、効果を検証した。高置貯湯槽とカラン・シャワー及びその間の配管への高濃度塩素消毒を施したところ、施術後はレジオネラ属菌は培養にて検出されなくなったが、その後の経過を追ったところ、レジオネラ属菌が検出されるようになった。そこで、高置貯湯槽の前に塩素添加装置を設置し、貯湯槽と配管中の温水の消毒を行うこととした。消毒開始後の調査では、培養によりレジオネラ属菌が検出された。医療機関については、これまでの調査によりレジオネラ属菌汚染が明らかとなっている医療機関の給水系・給湯系の汚染状況を詳細に調査した。その結果、給水系と給湯系のいずれもがレジオネラ属菌により汚染されていた。初流水に比して 3L 流水後及び 3 分間（9L）流水後に採取した試料のレジオネラ属菌数及び従属栄養細菌数が減少していたことから、レジオネラ属菌及び従属栄養細菌が蛇口とその近辺の配管中で増殖していることが推測された。［黒木俊郎、大屋日登美、陳内理生、政岡智佳、中嶋直樹（神奈川県衛生研究所）、泉山信司（寄生動物部）、前川純子］

ウ　モノクロラミン消毒効導入スキームの構築と消毒効果の検証

厚生労働省のレジオネラ防止対策マニュアルが改正され、浴槽水に対するモノクロラミン消毒が記載された。本研究ではその普及を目的に、営業施設におけるモノクロラミン消毒の導入スキームを構築した。モノクロラミンであっても泉質によっては効果が減じることから、対象泉質に対するモノクロラミンの濃度変化の検証が必須の最重要項目であった。これまで遊離塩素での消毒効果が期待できず、モノクロラミンの消毒効果も難しいと思われたヨウ化物イオン、臭化物イオンを含むフミン質有機物泉においても注入方法を工夫することで一定の消毒効果が得られた。実運用に際して、施設ごとにモノクロラミンの注入方法を検討する必要性もスキームに加えられた。［長岡宏美、森主博貴、水本嗣郎、村田学博（静岡県環境衛生科学研究所）、杉山寛治（株式会社マルマ）、市村祐二、青木信和（ケイ・アイ化成株式会社）、泉山信司（寄生動物部）、前川純子］

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 44 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 28 株、B 群 7 株、W 群 1 株　及び non-typable が 8 株であった。MLST 法による分子疫学的解析の結果は血清群 Y の株は ST-23 が 13 株、ST-1655 (ST-23 complex)が 14 株、ST-13126 (ST-167 complex)が 1 株、ST-13126 (ST-167 complex)であった。血清群 B

の株は ST-2057 が 4 株、ST-687、ST-467 (ST-267 complex)、ST-437 (ST-41/44 complex)、ST-3496 (ST-231 complex)、ST-13468 (ST-41/44 complex)、ST-13100 (ST-2057 complex)、が各 1 株ずつであった。血清群 W の株は ST-11、non-typable の血清群は ST-11026 が 4 株、ST-198 が 2 株、ST-13109 (ST-254 complex)、ST-13129 (ST-198 complex) が各 1 株であった。

今年度の分離株の中では、例年通り 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、本年度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。本年度は髄液からの分離例も一例認められ、、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。

また、ST-13126 (ST-167 complex)、ST-467 (ST-267 complex)、ST-3496 (ST-231 complex)、といった、新規遺伝子型の株であると共その派生由来株と推測される株（カッコ内の遺伝子型）の株さえも過去の国内分離株では検出されなかった遺伝子型であり、例年に比べてこういった傾向が今年度は強くなってきた可能性が考えられた。来年度のラグビーワールドカップ、再来年度のオリンピック・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、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、加賀優子、福住宗久、神谷元、砂川富正、(感染症疫学センター)、大西真]

イ 神戸で発生した侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌ニューキノロン耐性髄膜炎菌株の解析

神戸で発生した、4 歳女児の侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌を解析した結果、シプロフロキサシンに対する MIC が 0.25 諍g/ml を示し、シプロフロキサシンに対して耐性を示すことが明らかとなった。そこで、さらに血清学的及び分子疫学的解析を行なった結果、血清群 C、ST-4821 であることが明らかとなった。日本国内では臨床分離株が血清群 B と Y が非常に多い状況を考慮しても血清群 C は珍しく、ST-4821 に分類される国内分離株は本件が初めてであった。さらに、ST-4821 はシプロフロキサシン耐性髄膜炎菌として中国での分離例が非常に多いことが報告されており、本件は港町である神戸における輸入感染の可能性が考えられた。上述のように、来年度のラグビーワールドカップ、再来年度のオリンピック・パラリンピックの日本での開催が予定されており、本件はそのモデルケースとして考えられる症例と解析結果であると考えられた。[高橋英之、森田昌知、大西真、川崎悠、松原康策(西神戸医療センター)]

ウ 東京で発生した侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌の解析

東京都で発生した、27 歳女性の侵襲性髄膜炎菌感染症の起炎菌の血清学的及び分子疫学的解析を行なった。その結果、血清群 W、ST-11 であることが明らかとなった。日本国内では臨床分離株が血清群 B と Y が非常に多い状況を考慮しても血清群 W は珍しく、ST-11 に分類される国内分離株も非常に稀有である。さらに、ST-11 はヨーロッパを中心とした地域で C 群 conjugate ワクチンが導入されて以降、ワクチンの選択圧によって C 群が W 群に capsule switching で莢膜多糖体合成遺伝子が変化した株であり、そういう観点から世界的に近年発生した株が輸入感染により国内に入って来た可能性が考えられた。 [高橋英之、森伸晃、(東京医療センター)]

(2) 病原機構に関する研究

ア 髄膜炎菌システイントランスポーターの病原性因子としての機能解析

昨年度、髄膜炎菌の臨床分離株の中でヒト脳血管内皮細胞(HBMEC)への *in vitro* における感染能の高い株 9 株と低い株 9 株の外膜タンパクを抽出し、TMT ラベリング法を用いた網羅的なタンパク発現量の比較を行ない、システイン輸送に関与するシステイン(Cys)結合蛋白 Cbp が髄膜炎菌の病原性に関与する可能性を見出した。そこで、さらなる解析を行い以下のような結果を得た。その結果、(1)*cbp* 欠損株において髄膜炎菌の細胞侵入能が野生株と比して約 1/100 まで減少する事が確認された。(2)*cbp* 遺伝子を含むオペロン因子群(*cts* 遺伝子群)の相補で抑圧された、(3)HBMEC への侵入能の低下と回復は Cys 取り込み活性と相関性が認められた、(4)cbp 変異株においても野生株同様 ezrin の集積は認められた、(5)*cts* 変異株はグルタチオン(GSH)合成酵素破壊株と同等の HBMEC 内での生存率が低下していた、(6)GSH の合成量は GSH 合成酵素破壊株と同じレベルまでは低下しておらず、野生株の約半分しか低下していなかった、(7)GSH は ROS 抵抗性を示す抗酸化作用を持つことが知られているが、in vitro においては *cbp* 変異株は ROS 抵抗性を優位に示した、(8)完全培地では *cbp* 変異株は野生株と変わらない生育を示したが、Cys を欠如させた合成培地では野生株は 50 μM の Cys の添加で十分な生育が相補されたが、cbp 変

異株は300μM以上のCysの添加が完全な生育欠損の抑圧に必要であった。以上の結果から、髄膜炎菌の髄膜炎菌のCTSを介したCysの取り込みはCys量が極めて少ないHBMEC内で、GSHの産生に利用する一方で、髄膜炎菌の宿主細胞内での維持・生育に必須であり、nutrient virulence factorとして機能することが示された。[高橋英之、柳沢達男、横山茂之(理研)、Kwang Sik Kim(Johns Hopkins Univ)]

イ　糖転移酵素EarP•翻訳因子EF-P複合体の構造から明らかになったEF-P(Arg32)ラムノシル化の反応メカニズム

遺伝暗号情報に従いタンパク質が合成される翻訳段階においてはリボソーム、翻訳因子、アミノアシルtRNA合成酵素(aaRS)など様々な成分が精密にその役割を果たしている。翻訳因子EF-PはtRNAのL字構造を擬態するタンパク質で、プロリンが連続する配列（プロリンストレッチ)において起こるリボソームの停滞を解消し、翻訳を正常に戻す役割を担う。大腸菌やサルモネラ菌ではL字先端にあるLys34のβリジル化修飾がEF-Pの活性には重要であるが、一方でEF-Pのβリジル化に関わる酵素は、大腸菌、サルモネラ菌、赤痢菌など細菌全体の3割弱のみに存在し、残り7割以上の細菌には存在しない。近年になり緑膿菌や髄膜炎菌などの一部の細菌において、糖転移酵素EarPがEF-PのArg32(大腸菌EF-PのLys34に相当する）をラムノシル化修飾すること、EF-Pのラムノシル化はEF-Pの活性、菌の生育、感染性、抗生物質耐性に重要であることが明らかになった。

今回、我々は髄膜炎菌由来のEarP単体、補因子dTDPラムノース結合型、EF-P複合体の結晶構造を解明すると共に、生化学的解析、構造モデリングの結果から、EF-PのArg32へラムノースの転移が起こる際、ラムノースの形が「いす型」から「ねじれ舟」型に反転することで反応が促進されるという新たな反応メカニズムを解明した（Sengoku *et al., Nat.Chem.Biol.* **14**, 368-374, 2018)。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、本研究で得られた立体構造と反応メカニズムの知見は、これらのEarPを持つ病原性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

アフリカ南部の回帰熱未調査国で、患者より新規回帰熱ボレリアの分離に成功した．ボレリア分離株DNAを材料にMiSeq等を用い、常法に従いシーケンスを行った。得られた配列はCLC Genomics Workbench Genome Finishing moduleを用いてハイブリッドアセンブルし、コンプリートゲノム配列を取得した。ゲノム配列は、遺伝研スーパーコンピューターに構築されたMiGAPパイプラインを用いてアノテーションを行った。得られたゲノム配列をもとにボレリア属細菌のMLST型別と系統解析を行い、本研究で分離された患者由来株は米国で回帰熱病原体となっている*Borrelia johnsonii*ならびに*B. turicatae*等の新世界型ボレリアと近縁であることが明らかとなった。ついで、その感染経路を探索する目的で、患者がヒメダニ刺咬を受けた地域での野生動物の捕獲ならびにボレリア検出を試みた。患者がダニ刺咬を受けた場所に生息した*Ornithodoros feinii*ならびにコウモリから病原体が分離検出された.この地域ではコウモリを保菌宿主とし、ヒメダニが伝播する新型回帰熱が潜在していることが強く示唆された。[川端寛樹、佐藤梢（細菌第一部)，邱永普、中尾亮、杉本千尋他（北海道大学）]

(2)新興回帰熱ボレリアの病原機構に関する研究

新興回帰熱ボレリア*Borrelia miyamotoi*の病原性解析のためのツール開発を目的として、ライム病ボレリア血清感受性*B. garinii*株を用いた遺伝子導入系の確立を行った．試験に用いた8株中1株のみ形質転換が可能であった． pBSV2を用いた場合の本株の形質転換効率は19 transformants / ug DNAであり、海外で報告された*B. garinii*G1株の380倍の形質転換効率を示した．次いで*B. miyamotoi* draft genome配列より，表層抗原をコードすると推定された90 orf中、74 orfについて*B. garinii*へ、各々導入し、血清感受性などを評価するためのアーカイブを構築した．これら74 orf中、ボレリア属のP35 superfamilyの一部と考えられる2遺伝子(T-027, T-076)が親株へ血清耐性の表現系を付与した。これら遺伝子群はボレリア属で既知の血清耐性に関与する遺伝子群とは相同性が低く、新規の血清耐性遺伝子であることが考えられた．[川端寛樹、佐藤梢、大西真（細菌第一部)、熊谷由美（順天堂大学)、関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノムセンター)、高野愛（山口大学)、林哲也（九州大学）]

2. レストスピラ症に関する研究

（1） 運動制御機構に関する研究

ア　レプトスピラべん毛鞘タンパク質FcpAの解析

レプトスピラべん毛鞘タンパク質FcpAと他のべん毛タンパク質との相互作用を解析した．*ΔfcpA*株はべん毛タ

ンパク質 FlaA1, FlaA2, FlaB1 および FlaB2 を発現しているが，精製べん毛からは FlaB2 以外の Fla タンパク質は検出されなかった．抗 FcpA 抗血清を用いた共免疫沈降により，FcpA は FlaA2 および FlaB1 と結合していることが明らかとなった．また FcpA と FlaA2 の結合はプルダウンアッセイによっても確認された．さらに Bacterial two-hybrid 法により，FcpA は FlaA2 の 155 番目から 238 番目のアミノ酸領域に，また FlaB1 の 1 番目から 195 番目のアミノ酸領域に結合することが明らかとなった．[小泉信夫，大西真（細菌第一部），佐々木祐哉（東京農工大大学院），中村修一（東北大学大学院），川本晃大（大阪大学）]

（2）小型哺乳動物由来レプトスピラの解析

ア　ベトナム・ハノイのドブネズミ由来レプトスピラの解析

2017 年 10 月および 2018 年 3 月にハノイ地域 6 ヶ所で 111 匹のドブネズミを捕獲し，腎臓からレプトスピラの分離を行った．その結果，3 ヶ所 11 匹のドブネズミからレプトスピラが分離された．分離 11 株中 10 株が *Leptospira interrogans* 血清群 Bataviae, 1 株が *Leptospira interrogans* 血清群 Pomona と同定された．MLVA の結果，捕獲 A 地点と B 地点の Bataviae 分離株で 1 ヵ所の VNTR のリピート数が異なっていた．[小泉信夫，大西真（細菌第一部），三浦こずえ（東京大学大学院），竹村太地郎（長崎大学ベトナム拠点）]

イ　アジアの小型哺乳動物由来レプトスピラのゲノム解析

1 分子シーケンサーPacBio およびキャピラリーシーケンサー（サンガー法）により *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica WFA41 および WFA81，*L. interrogans* 血清群 Autumnalis WFA69 のゲノム配列を解読した結果，それぞれ大ゲノムおよび小ゲノムに相当するコンティグの環状化を行うことができた．[小泉信夫，森田昌知，大西真（細菌第一部），和田崇之（長崎大学熱帯医学研究所），鈴木定彦，中島千絵（北海道大学 CZC）]

IV 泌尿生殖器感染症に関する研究

1. 淋菌に関する研究

(1) 菌株の多様性と薬剤耐性に関する解析

ア 淋菌の液体培養の検討

淋菌（*Neisseria gonorrhoeae*)の多剤耐性化が世界中で問題となっている。分離株の薬剤感受性の傾向を知ることは、適切な抗菌薬使用を行う上で重要である。薬剤感受性試験において、微量液体希釈法は一般細菌の簡易的な検査法として汎用されているが、淋菌は液体培養法が確立されていないため、CLSI（Clinical and Laboratory Standards Institute）のプロトコルでも微量液体希釈法は認められておらず、平板寒天希釈法が標準法である。そこで淋菌の薬剤感受性試験において、簡易な微量液体希釈法による測定を可能とするために、淋菌の微量液体希釈法で利用出来る液体培地について検討を行った。GW 培地、gonococcus（GC)培地、brain heart infusion (BHI)培地、Luria-Bertani (LB)培地を用いた淋菌の培養実験を行った。5%炭酸ガス環境下、37℃、24 時間の静置培養（5ml)を実施し、生菌数を調べることで各液体培地の評価を行った。その結果、GW 液体培地を用いることで、調べた淋菌 3 株において 1×10^8cfu/ml 程度（24 時間培養)の菌培養液を得ることができた。また、BHI 培地、LB 培地使用時には、十分な生菌数を得ることが出来なかった。菌培養液における分光吸光度測定による濁度（OD_{600})と生菌数の相関を調べたところ、OD_{600} = 0.4 は 1.0×10^8cfu/ml であった。分光吸光度測定による濁度と液体培養菌液の生菌数との相関を得ることが出来たことより、今後、この微量液体希釈法を用いた淋菌株の薬剤感受性試験への利用が可能であると考えられる。［志牟田　健、大西　真］

イ 昨年度に引き続き 2017 年 4 月から 2018 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 198 株について penicillin G、cefixime、ceftriaxone、ciprofloxacin、azithromycin、spectinomycin に対する MIC 測定を実施した。その結果、それぞれ上記の薬剤に対して 0 %, 62.6 %, 87,3%, 28.8 %, 83.8%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、4 剤, cefixime、ceftriaxone、ciprofloxacin、azithromycin の感受性率に若干改善が見られた反面、penicillin G で悪化が見られ感受性率 0 %となった。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一昨年度報告した。H29 年度はこのサーベーランスでもこの株由来と推定される同程度耐性度株1株が 5 月に検出された他、同様の型の耐性遺伝子を持つ株の分離報告が国内外で相次いだ。その拡散状況の注視と拡散のメカニズムの解明の必要が有る。［中山周一、吉田　愛、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

連携クリニックをさらに拡充し、昨年度に引き続き、今年度から4つのSTIクリニック(東京都3、大阪府1)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。

2017年4月～2018年3月の総計で、100例のPCR陽性例中タイピングに成功したものは69例で、このうち49例は海外でも最頻とされる14d/fであった。他は14d/gと14j/fが3例ずつ、10b/a、14l/f、14p/fが2例ずつ、他はいずれもそれぞれ単一型となる8例であった。[中山周一、松本喜美子、金井瑞恵、井戸田一朗 (しらかば診療所)、澤村正之 (新宿さくらクリニック)、濱田 貴 (新宿レディースクリニック)、亀岡 博 (亀岡クリニック)、大西真]

イ 梅毒ゲノム多様性解析の予備検討

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選択濃縮し、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。予備検討で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ったことを昨年度の報告済みである。今年度はこれを踏まえて、検体からの抽出DNAを出発材料に、前増幅後の選択濃縮、ゲノム解析を試行した。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、松本喜美子、大西真]

ウ マクロライド耐性型梅毒トレポネーマの2016年度からの急激な増加のフォローアップ

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年までのトータルで23S rRNA A2058G変異解析が可能であったもので11.1%が耐性型であったが2016年～2017年3月の期間では、同じく解析ができたもので58.3%と、2016年からの急激な耐性型の増加を昨年度報告している。今年度もサーベーランスを続行し、23S rRNA解析に成功した76例について耐性型分布を見ると、68例(89.5%)とさらに耐性率上昇が進行していることが判明した。現状では梅毒治療にazithromycinが無効と判断すべき状態が依然継続している。なお、8例の感受性例中、7例(87.5%)が男性同性愛患者由来であること(すなわち、男性異性愛および女性患者由来60例中感受性は1例のみ)、は特徴的であり、今後2016年以降の急激な耐性率上昇の原因解明にあたって考慮すべき因子となりえる。[中山周一、松本喜美子、金井瑞恵、井戸田一朗 (しらかば診療所)、澤村正之 (新宿さくらクリニック)、濱田 貴 (新宿レディースクリニック)、亀岡 博 (亀岡クリニック)、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、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。H29年度においては心血管梅毒疑い患者の心臓血管内膜疣贅で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。[中山周一、本郷偉元(武蔵野赤十字病院)、土方禎裕 (武蔵野赤十字病院)、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 NaClによる*Staphylococcus aureus*を含む複合菌バイオフィルム形成の誘導

歯表面では、様々な環境下で*Streptococcus*を中心に多くの微生物による複合菌バイオフィルムを形成している。そこで、*Staphylococcus aureus*と口腔streptococciのモデル菌として*Streptococcus mutans*を用いて複合菌バイオフィルム形成の誘導と塩分濃度(NaCl)の効果について検討を行った。*S. mutans* UA159と*S. aureus* Cowan Iをヒト唾液コート96穴培養プレートにおいて5%CO_2含好気培養を行った。バイオフィフィルムをSyto 9/PIにより染色し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。その結果、0.09M～0.21MのNaCl濃度は、濃度依存的に*S. aureus*単独のバイオフィルム形成量を上昇させた。さらに、*S. mutans*と*S. aureus*との混合菌バイオフィルム形成量は、*S. aureus*単独よりも上昇した。この混合菌バイオフィルム形

成量の上昇と伴い、死菌が多く誘導されていた。その結果、ある一定の NaCl 濃度は死菌を誘導することで混合菌バイオフィルム形成量を上昇させることが考えられた。［泉福英信、大西真］

イ メンブレンヴェジクルによる *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成

Streptococcus mutans のメンブレンヴェジクル(MVs)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。培養上清を超遠心し、MVs を採取した。MVs を本来バイオフィルム形成が出来ない *S. mutans* UA159 *gtf BC* 変異株（砂糖を基質として、グルカンを合成するグルコシルトランスフェラーゼ(GTF)を欠落している。）に加えると、0.25% 砂糖存在下で有意なバイオフィルムを形成した。この MVs には GTF が存在していることがウエスタンブロッテイングにより明らかとなった。さらに、この MVs に DNA か RNA が結合していることも明らかとなった。この MVs は、*S. mutans* 以外に *Streptococcus mitis, Streptococcus sanguinis, Streptococcus gordonii, Actinomyces naeslundii* などの歯表面初期付着菌のバイオフィルム形成も誘導した。よって、MV2 は重要な病原因子であることが考えられた。[泉福英信、中尾龍馬、大西　真]

ウ *Streptococcus mutans* のメンブレンヴェジクルを用いた粘膜免疫応答

Streptococcus mutans のメンブレンヴェジクル(MVs)が、様々な口腔細菌のバイオフィルム形成を誘導することが明らかとなった。そこで、MVs に対する抗体を誘導するため、MVs のワクチン抗原としての有用性の検討を行った。口腔に抗体を誘導するためには粘膜免疫応答を誘導する必要がある。MVs を鼻腔粘膜に免疫する検討を行った。MVs をアジュバントである poly I-C と共に鼻粘膜へ 2 週間置きに計 3 回接種すると、唾液、鼻腔洗浄液に抗 MVs IgA 抗体、血清に抗 MVs IgG 抗体が誘導された。これらの抗体は、MVs に結合したバイオフィルム誘導因子である GTF に強く反応することが明らかとなった。さらにこの抗体が、MVs に依存したバイオフィルム形成を一部抑制することが明らかとなった。よって、MVs はワクチン抗原として有用であることが示唆された。［泉福英信、中尾龍馬、大西　真］

エ *Actinomyces oris* の初期付着およびバイオフィルム形成に対する短鎖脂肪酸の効果

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（短鎖脂肪酸）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対する短鎖脂肪酸の効果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（酪酸、乳酸、ギ酸、プロピオン酸、吉草酸）が与える影響ついて検討を行った。60 mM SCFAs は *A. oris* MG1 の初期付着菌量を増加させた。中でも酪酸とプロピオン酸は、FimQ 依存的に初期付着菌量を増加させた。他の SCFAs は、菌量の増加効果は認められなかった。酪酸は、FimA 依存的にバイオフィルム形成の促進効果が認められた。［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)　歯周病原細菌外膜ヴェシクルの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。主要な歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 及び *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa)の OMV を用い、マウスマクロファージ様細胞やマウスに対する免疫活性を評価した。マウスマクロファージ様細胞にこれらの OMV を添加すると、添加量依存的に Il6 及び Il12 の mRNA 発現が誘導された。誘導活性は Aa-OMV よりも Pg-OMV では小さかった。また、マウスに対し両者の OMV を併用して経鼻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た。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、Aa-OMV の有する高いアジュバント活性が有効にはたらいていることが示唆された。さらに、両 OMV を併用した免疫により、マウス口腔内に接種した Pg 細菌の排除能が有意に増大した。以上より、これら歯周病原細菌 OMV を併用した経鼻免疫の有効性が示された。[平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

(2) グリシンによる細菌ヴェシクル産生の増大

グリシンは細菌のペプチドグリカンを脆弱化させるため、静菌活性を有する。培地にグリシンを添加して培養することにより、大腸菌プロバイオティクス株 Nissle 1917 のヴェシクル産生が顕著に増大することを見出し、最大でタンパク質量として約 70 倍にまで増大した。グリシンによって誘導されたヴェシクルは粒径が顕著に大きくなるとともに、タンパク質構成が変化し、内膜や細胞質タンパク質の割合が増大していることが示唆された。SEM による細胞の観察等から、大きなサイズのヴェシクルはグリシンにより促進された定常期の溶菌に伴

って形成されること、また細胞膜の budding によるヴェシクル形成もグリシンによって促進されることが考えられた。通常のヴェシクル及びグリシン誘導ヴェシクルのどちらを用いても、マウスマクロファージ様細胞からの Il6 及び Il12 の mRNA 発現を添加量依存的に誘導することができ、免疫活性を有することが示された。これらのことから、グリシンは免疫活性がアクティブなヴェシクルを顕著に誘導することができ、細菌ヴェシクル増産法として応用可能と考えられた。[平山悟、中尾龍馬]

(3) 抗菌薬が細菌細胞に及ぼす影響の解析及びリアルタイムイメージング

ポリミキシン B 及びコリスチンはポリペプチドの抗菌薬であり、グラム陰性細菌の細胞膜に作用する。これらの膜作用性抗菌薬が細菌の細胞膜に及ぼす影響をフローサイトメトリーにて調べた。ポリミキシン B やコリスチンを大腸菌に作用させると、濃度依存的に細胞の透過性が増大した。さらに、膜の脱分極を引き起こした。また、高速原子間力顕微鏡 (AFM) BIXAM (オリンパス) を用いた細胞のリアルタイムイメージングを行った。大腸菌にポリミキシン B を添加すると、細胞の表面に著しい変化が急速に生じ、10 分以内に多くのヴェシクル様の構造物が細胞の表面に形成された。BIXAM では AFM と光学顕微鏡による蛍光観察を同時に行うことが可能なため、膜の透過性を蛍光によりに検出すると、ポリミキシン B の添加により膜の透過性が増大していることが視覚的にも捉えることができた。このような変化は、大腸菌を完全に死滅させるよりも低い濃度においても生じることが考えられ、膜作用性抗菌薬により細胞が死ぬ際や死ぬ前にダイナミックな変化が生じていることが示唆された。[平山悟、吉益由莉、酒井信明(オリンパス)、八木明(オリンパス)、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

(4) 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

ウェルシュ菌メンブレンヴェシクル（MV）による細菌-宿主間相互作用に関する研究

免疫原性を示すウェルシュ菌の MV に含まれるタンパク質を同定したところ、2 種の推定リポタンパク質が高度に MV に濃縮されていた。これらの推定リポタンパク質の蛍光タンパク質融合レポーターを作成し解析したところ、両タンパク質は細胞表層と MV に局在することが明らかとなった。これらのタンパク質の遺伝子欠損株は MV 生産量や粒度分布には影響を与えず、MV の生産には影響を与えないと考えられた。MV を免疫したマウスより得た血清 IgG を用いたウエスタン解析の結果、MV 中の immunodominant タンパク質は上述の推定リポタンパク質であることが明らかとなった。つまり、本菌の MV は immunodominant リポタンパク質を輸送し、宿主の免疫を調節する機能を有すると考えられた。[尾花望、中尾龍馬、永山恭子、泉福英信、野村暢彦（筑波大学）]

レファレンス業務

Ⅰ．大腸菌に関するレファレンス業務

平成 29 年度厚生労働省外部制度管理事業として、腸管出血性大腸菌（O157、O26 および O165 各 1 株の計 3 株）の志賀毒素または志賀毒素遺伝子の検出と O 群の同定について、全国 80 カ所の地衛研または保健所を対象に精度管理を実施した [伊豫田 淳、石嶋 希、李 謙一、小澤さお美、竹本 歩、梅山 隆（真菌部）、河合康洋（バイオ）、須藤直樹、山本章治、三戸部 治朗、大西 真]。

II. 劇症型/重症レンサ球菌感染症に関するレファレンス業務

地方衛生研究所および病院から送られた 336 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]

III. 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］

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、アナプラズマ症、リケッチア症に関する共同研究を 2014 年より継続して実施している。ボレリア感染症の検査法、ボレリア細菌の分離技術指導とあわせ、疫学情報解析のためのツールの導入を行った。内モンゴル自治区でのリケッチア、アナプラズマ感染事例が発生していることを見出した。

研修業務

Ⅰ．平成 29 年度細菌研修（国立保健医療科学院主催）：講義「EHEC 総論」、2017 年 11 月［伊豫田 淳］,「赤痢総論」、2017 年 11 月［泉谷秀昌］。

実習補助、2017 年 11 月［李 謙一、山本章治、三戸部治朗、伊豫田 淳］。

II. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会：講義「腸管出血性大腸菌」、2018 年 2 月［伊豫田 淳］

III. 平成 29 年度　地域保健総合推進事業 腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会 2017 年 10 月［泉谷秀昌］

IV. 厚生労働省　腸管出血性大腸菌遺伝子型試験法研修会 2018 年 3 月［泉谷秀昌］。

V. 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 3 回 節足動物媒介性感染症講習会．2017 年 6 月．東京（川端寛樹）

VI. レジオネラ属菌に関する研修

1. 2017 年度レジオネラ属菌検査セミナー「レジオネラ検査法の現状」、2018 年 3 月、東京［前川純子］

2. 平成 29 年度レジオネラ属菌検査研修会（静岡県環境衛生科学研究所）「レジオネラ症とレジオネラ属菌を知る」、2017 年 11 月、静岡市［前川純子］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1）Lee K, Morita-Ishihara T, Iyoda S, Ogura Y, Hayashi T, Sekizuka T, Kuroda M, and Ohnishi M. A geographically widespread outbreak investigation and development of a rapid screening method using whole genome sequences of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O121. 2017. Front. Microbiol. 8:701.

2）Lee K, Kusumoto M, Iwata T, Iyoda S, and Akiba M. Nationwide investigation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* among cattle in Japan revealed the risk factors and potentially virulent subgroups. 2017. Epidemiol. Infect. 145:1557-1566.

3）Ogura Y, Gotoh Y, Itoh T, Sato MP, Seto K, Yoshino S, Isobe J, Etoh Y, Kurogi M, Kimata K, Maeda E, Piérard D, Kusumoto M, Akiba M, Tominaga K, Kirino Y, Kato Y, Shirahige K, Ooka T, Ishijima N, Lee KI, Iyoda S, Mainil JG, Hayashi T. Population structure of *Escherichia coli* O26:H11 with recent and repeated *stx2* acquisition in multiple lineages. Microb Genom. 2017 Nov; 3(11).

4) Yahiro K, Nagasawa S, Ichimura K, Takeuchi H, Ogura K, Tsutsuki H, Shimizu T, Iyoda S, Ohnishi M, Iwase H, Moss J, Noda M. Mechanism of inhibition of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* SubAB cytotoxicity by steroids and diacylglycerol analogues. Cell Death Discov. 2018 Feb 14; 4:22.

5) Sudo N, Soma A, Iyoda S, Ohshima T, Ohto Y, Saito K, Sekine Y. Small RNA Esr41 inversely regulates expression of LEE and flagellar genes in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. 2018. Microbiology. 164:821-834.

6) Furukawa I, Ishihara T, Teranishi H, Saito S, Yatsuyanagi J, Wada E, Kumagai Y, Takahashi S, Konno T, Kashio H, Kobayashi A, Kato N, Hayashi KI, Fukushima K, Ishikawa K, Horikawa K, Oishi A, Izumiya H, Ohnishi T, Konishi Y, Kuroki T. Prevalence and Characteristics of *Salmonella* and *Campylobacter* in Retail Poultry Meat in Japan. Jpn J Infect Dis. 2017 May 24;70(3):239-247.

7) Izumiya H, Furukawa M, Ogata K, Isobe J, Watanabe S, Sasaki M, Ichinose K, Arakawa E, Morita M, Kurane I, Ohnishi M. A double-quadratic model for predicting *Vibrio* species in water environments of Japan. Arch Microbiol. 2017 Nov;199(9):1293-1302.

8) Alfouzan W, Bulach D, Izumiya H, AlBassam K, Sheikh S, Alrubai'aan N, Albert MJ. Carbuncle due to *Salmonella* Enteritidis: a novel presentation. Gut Pathog. 2017 Sep 11;9:51.

9) Sugimoto R, Suzuki H, Nei T, Tashiro A, Washio Y, Sonobe K, Nakamura Y, Wakayama N, Inai S, Izumiya H. Neck abscess due to *Salmonella* Choleraesuis: case study and literature review. JMM Case Rep. 2017 Sep 1;4(8):e005109.

10) Yamamoto S, Ohnishi M. Glucose-specific enzyme IIA of the phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase system modulates chitin signaling pathways in *Vibrio cholerae*. J Bacteriol. 2017 199(18).

11) 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)

12) Ogawa M, Matsuda R, Takada N, Tomokiyo

M, Yamamoto S, Shizukusihi S, Yamaji T, Yoshikawa Y, Yoshida M, Tanida I, Koike M, Murai M, Morita H, Takeyama H, Ryo A, Guan JL, Yamamoto M, Inoue JI, Yanagawa T, Fukuda M, Kawabe H, Ohnishi M. Molecular mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*-targeted autophagy via pneumolysin, Golgi-resident Rab41, and Nedd4-1 mediated K63-linked ubiquitination. Cell Microbiol. e12846 doi: 10.1111/cmi.12846. (2018)

13) Hubber A, Kubori T, Coban C, Matsuzawa T, Ogawa M, Kawabata T, Yoshimori T, Nagai H. Bacterial secretion system skews the fate of Legionella-containing vacuoles towards LC3-associated phagocytosis. Sci Rep. 7:44795. doi: 10.1038/srep44795.(2017)

14) Minami S, Nakanishi T, Kishita M, Chang B, Eguchi Y, Tanaka T, Fujimoto N. Necrotizing fasciitis caused by *Streptococcus pneumoniae*. European Journal of Dermatology. 2017. 27:326-328.

15) Miyazaki H, Shibuya R, Midorikawa N, Chang B, Ohnishi M, Matsumoto T. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Japan after introduction of the routine immunization program. Journal of Infection and Chemotherapy. 2017. 23:234-240.

16) Akata K, Chang B, Yatera K, Kawanami T, Naito K, Noguchi S, Kido T, Mukae H. The distribution and annual changes in the *Streptococcus pneumoniae* serotypes in adult Japanese patients with pneumococcal pneumonia from 2011 to 2015. Journal of Infection and Chemotherapy. 2017. 23:301-306.

17) Yamazaki Y, Goto N, Iwanami N, Hama M, Fujiwara N, Takahashi Y, Sekiguchi M, Chang B, Yamazaki M. Outbreaks of influenza B infection and pneumococcal pneumonia at a mental health facility in Japan. Journal of Infection and Chemotherapy. 2017. 23:837-840.

18) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, Suga S, Ohnishi M, Ichiyama S. Spread of meropenem-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 15A-ST63 clone in Japan, 2012-2014. Emerging Infectious Diseases. 2018. 24:275-283.

19) Ikebe T, Okuno R, Sasaki M, Kanda Y, Otsuka H, Kawahara R, Ohya H, Suzuki M, Uchida K, Nihonmatsu H, Ohnishi M, The Working Group for Beta-Hemolytic Streptococci in Japan. Molecular characterization and antibiotic resistance of *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis* isolated from patients with streptococcal toxic shock syndrome. J Infect Chemother. 2018; 24: 117-122.

20) Yamamura Y, Mihara Y, Nakatani K, Nishiguchi T, Ikebe T. Unexpected Ventriculitis Complication of Neonatal Meningitis Caused by Streptococcus gallolyticus Subsp. pasteurianus: a Case Report. Jpn J Infect Dis. 2018;

21) Kanatani JI, Isobe J, Norimoto S, Kimata K, Mitsui C, Amemura-Maekawa J, Kura F, Sata T, Watahiki M. Prevalence of *Legionella* species isolated from shower water in public bath facilities in Toyama Prefecture, Japan. J Infect Chemother. 2017. 23:265-270.

22) T. Kuroki, Y. Watanabe, H. Teranishi, S. Izumiyama, J. Amemura-Maekawa, and F. Kura. *Legionella* prevalence and risk of legionellosis in Japanese households. Epidmiol Infect. 2017. 145:1398-1408.

23) A. Ito, T. Ishida, H. Tachibana, Y. Ito, T. Takaiwa, H. Fujii, T. Hashimoto, H. Nakajima, J. Amemura-Maekawa. A case of community-acquired pneumonia due to *Legionella pneumophila* serogroup 9 wherein initial treatment with single-dose oral azithromycin appeared useful. Jpn J Infect Dis. 70:660-2, 2017.

24) Iwabu-Itoh Y, Bazartseren B, Naranbaatar O, Yondonjamts E, Furuno K, Lee K, Sato K, Kawabata H, Takada N, Andoh M, Kajita H, Oikawa Y, nakao M, Ohnishi M, Watarai M, Shimoda H, Maeda K, Takano A. Tick surveillance of *Borrelia miyamotoi* and phylogenetic analysis of isolates in Mongolia and Japan. Ticks and Tick-borne Diseases. 2017. 8(6): 850-857.

25) Yamano K, Ito T, Kiyanagi K, Yamazaki H, Sugawara M, Saito T, Ohashi N, Zamoto-Niikura A, Sato K, Kawabata H. Clinical features of a case of suspected *Borrelia miyamotoi* disease in Hokkaido, Japan. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2017. 97(1): 84-87.

26) Oda R, Kutsuna S, Sekikawa Y, Hongo I, Sato K, Ohnishi M, Kawabata H. First Case of Imported *Borrelia miyamotoi* Disease Concurrent with Lyme disease. Journal of Infection Chemotherapy. 2017. 23(5): 333-335.

27) Lee N, Kitashoji E, Koizumi N, Lacuesta TLV, Ribo MR, Dimaano EM, Saito N, Suzuki M, Ariyoshi K, Parry CM. Building prognostic models for adverse outcomes in a prospective cohort of hospitalised patients with acute leptospirosis infection in the Philippines. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2017. 111(12):531–539.

28) Mutoh Y, Koizumi N, Morino E, Hayakawa K, Kato Y, Ohmagari N. Leptospirosis cases in the Tokyo Metropolitan area, Japan. Jpn J Infect Dis. 2017. 70:669–671, 2017.

29) Tomizawa R, Sugiyama H, Sato R, Ohnishi M, Koizumi N. Male-specific pulmonary hemorrhage and cytokine gene expression in golden hamster in early-phase *Leptospira interrogans* serovar Hebdomadis infection. Microb Pathog. 2017. 111: 33–40.

30) Kanai M, Kamiya H, Smith-Palmer A, Takahashi H, Hachisu Y, Fukusumi M, et al. Meningococcal disease outbreak related to the World Scout Jamboree in Japan, 2015. Western Pac Surveill Response J. *Western pacific Surveillance and Response*.2016.7.3.007, 2017.

31) Ma K, Unemo M, Jeverica S, Kirkcaldy B, Takahash H, Ohnishi M, Grad Y. Genomic characterization of urethritis-associated *Neisseria meningitidis* shows that a wide range of *N. meningitidis* strains can cause urethritis. *Journal of Clinical Microbiology* 55(12):3374-3383, 2017.

32) Sengoku T, Suzuki T, Dohmae N, Watanabe C, Honma T, Hikida Y, Yamaguchi Y, Takahashi H, Yokoyama S, Yanagisawa T. Structural mechanism of protein arginine rhamnosylation by glycosyltransferase EarP. *Nature Chemical Biology* 14:368-374, 2018.

33) Kawasaki Y, Matsubara K, Takahashi H, Morita M, Ohnishi M, Hori M, Isome K, Iwata A, Nigami H, Yamamoto G, Ohkusu K. Invasive meningococcal disease due to ciprofloxacin-resistant *Neisseria meningitidis* sequence type 4821: the first case in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* 24:305-308, 2018.

34) Mori N, Hayashi T, Nakamura H, Takahashi H. Meningococcal meningitis with neurological complications and meningococcemia due to serogroup W sequence type 11 complex. *Journal of Infection and Chemotherapy* 24:398-400, 2018.

35) Itoh, N., Katano, H., Nakayama S, Kurai, H. Gastric syphilis. Internal Medicine. 56:1753. 2017.

36) Kizumi Y, Watabe T, Ota Y, Nakayama S, Asai N, Hagihara M, Yamagishi Y, Suematsu H, Tsuzuki T, Takayasu M, Ohnishi M, MikamoH. Cerebral Syphilitic Gumma can arise within months of reinfection: a case of histologically proven *Treponema pallidum* Strain Type 14b/f infection with Human Immunodeficiency Virus positivity. Sex Transm. Dis. 45:e1-e4. 2018.

37) Igawa G, Yamagishi Y, Dorin M, Shimuta K, Suematsu H, Nakayama S, Mikamo H, Unemo M, Ohnishi M. *Neisseria cinerea* with high ceftriaxone MIC is a source of ceftriaxone and cefixime resistance-mediating *penA* sequences in *Neisseria gonorrhoeae*. Antimicrob. Agents Chemother. 62: e02069-17. 2018.

38) Ito S, Hatazaki K, Shimuta K, Mizutani K, Yasuda M, Tsuchiya T, Yokoi S, Nakano M, Ohnishi M, Deguchi T. *Haemophilus influenzae* isolated from men with acute urethritis: its pathogenic roles, responses to antimicrobial chemotherapies, and antimicrobial susceptibilities. Sexually Transmitted Diseases. 2017; 44: 205-210.

39) Iwata A, Shimuta K, Ohnishi M. Conjunctivitis caused by a strain of *Neisseria gonorrhoeae* that was less susceptible to ceftriaxone. Intern Med. 2017;56: 1443-1445.

40) Deguchi T, Ito S, Hatazaki K, Horie K, Yasuda M, Nakane K, Mizutani K, Tsuchiya T, Yokoi S, Hanaoka N, Shimuta K, Ohnishi M, Muratani T, Nakano M. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains isolated from the urethra of men with acute urethritis and/or epididymitis. J Infect Chemother. 2017; 23:804-807.

42) Okada K, Wongboot W, Chantaroj S, Natakuathung W, Roobthaisong A, Kamjumphol W, Maruyama F, Takemura T, Nakagawa I, Ohnishi M, Hamada S. *Vibrio cholerae* embraces two major evolutionary traits as revealed by targeted gene sequencing. Sci Rep. Sci Rep. 2018 Jan 26;8(1):1631

43) Jönsson A, Foerster S, Golparian D, Hamasuna R, Jacobsson S, Lindberg M, Jensen JS, Ohnishi M, Unemo M. In vitro activity and time-kill curve analysis of sitafloxacin against a global panel of antimicrobial-resistant and multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates. APMIS. 2018 Jan;126(1):29-37.

44) Hamasuna R, **Ohnishi M**, Matsumoto M, Okumura R, Unemo M, Matsumoto T. In vitro activity of Sitafloxacin and additional newer generation fluoroquinolones against ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates. Microb Drug Resist. 2017 Jun 5. doi: 10.1089/mdr.2017.0054

45) 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. 9;4:287, 2017.

46) Kechker P, Senderovich Y, Ken-Dror S, Laviad-Shitrit S, Arakawa E, Halpern M. Otitis Media Caused by *V. cholerae* O100: A Case Report and Review of the Literature. Front Microbiol. 2017 Aug 28;8:1619.

47) 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. doi: 10.1128/AEM.00869-17.

48) Suzuki Y, Nagasawa R, Senpuku H. Inhibiting effects of fructanase on competence-stimulating peptide-dependent quorum sensing system in *Streptococcus mutans.* Journal of Infection and Chemotherapy, 2017. 23(9):634-641.

49) Senpuku H, Yonezawa H, Yoneda S, Suzuki I, Nagasawa R, Narisawa N. *SMU.940* regulates dextran-dependent aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans.* Molecular Oral Microbiology, 2018, 33: 47-58.

50) Iwamoto A, Nakamura T, Narisawa N, Kawasaki Y, Abe S, Torii Y, Senpuku H, Takenaga F. The Japanese fermented food natto inhibits sucrose-dependent biofilm formation by cariogenic streptococci. Food Science and Technology Research, 2018. 24: 129-137.

51) Obana N, Nakao R, Nagayama K, Nakamura K, Senpuku H, Nomura N. : Immunoactive clostridial membrane vesicle production is regulated by a sporulation factor. : Infection and Immunity. 2017. 21;85(5). pii: e00096-17

52) Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Morinaga Y, Furukawa S, Nakao R. : Rapid bactericidal action of propolis against *Porphyomonas gingivalis* : Journal of Dental Research. 2018. 97(8). 928-936.

2. 和文発表

1) 李 謙一, 石原朋子, 泉谷秀昌, 伊豫田 淳, 大西 真. 全ゲノム配列解析を用いた腸管出血性大腸菌の分子疫学的解析. 2017. 化学療法の領域 7:1467-1471.

2) 泉谷秀昌、石原朋子、李謙一、伊豫田淳、大西真 : 2016年に分離された腸管出血性大腸菌O157、O26およびO111株のMLVA法による解析。IASR、第38巻、100-101、2017年5月

3) 泉谷秀昌、森田昌知、李謙一、大西真：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。日本食品微生物学会雑誌、第34巻第2号、90-95、2017年

4) 杉山寛治、長岡宏美、佐原啓二、神田 隆、久保田 明、縣 邦雄、小坂浩司、前川純子、遠藤卓郎、倉 文明、八木田健司、泉山信司：モノクロラミン消毒による掛け流し式温泉のレジオネラ対策. 防菌防黴誌. 2017. 45:295-300.

5) 赤井仁志、井上浩章、枝川亜希子、倉 文明、小瀬博之、関 雅文、高貝健治、高橋佳代子、舘田一博、長岡宏美、比嘉 太、古畑勝則、前川純子、松村佳明、宮下修行、柳 宇：レジオネラ症防止指針第4版、公益財団法人 日本建築衛生管理教育センター、p166, 2017.

6) 高橋英之、大西真：2013～2017年までの髄膜炎菌性髄膜炎の起炎菌の血清学的および分子疫学的解析. IASR: Vol. 39 p. 3-5: 2018年

7) 泉福英信、共同編集：歯科発アクティブプロモーション21;健康増進からフレイル予防まで、監修花田信弘、デンタルダイヤモンド社、2017年。

8) 泉福英信、他210名：食と微生物の事典、監修北本勝ひこ、春田伸、丸山潤一、後藤慶一、尾花望、斎藤勝晴、朝倉書店、7月30日、2017年、東京

9) 泉福英信、口腔バイオフィルムの特殊性と制御法の現状、監修松村吉信、バイオフィルム制御に向けた構造と形成過程、－特徴・問題点・事例・有効利用から読み解くアプローチー、シーエムシー出版、１１月３０日、2017年、東京。

10) 泉福英信、単独編集：デンタルスタッフの口腔衛生学・歯科衛生統計、医歯薬出版、2018年2月

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Naito S, Takeuchi N, Ishiwada N, Abe K, Hishiki H, Hoshino T, Chang B, Shimojo N. Impact of the introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccines on community-acquired pneumonia and pneumococcal pneumonia in children <5 years in Japan. Pediatric Academic Societies Meeting. San Francisco, 2017.

2) 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 affords cross protection against Shigella strains of broad serotype.2018 Feb20-24 52nd Joint Panel Conference on Cholera and other Bacterial Enteric Infection. Hat Yai, Thailand

3) Amemura-Maekawa J., Kuroki T., Ohya H., Furukawa I., Suzuki M., Masaoka T., Aikawa K., Hibi K., Morita M., Lee K. Ohnishi M., Kura F. Molecular and epidemiological analysis of *Legionella pneumophila* strains in an outbreak at bath facilities in Japan. 9th International Conference on *Legionella*, Rome, Sept. 2017.

4) Kanatani J., Isobe J., Norimoto S., Kimata K., Uchida U., Kura F., Amemura-Maekawa J., Watahiki M. Detection and identification of *Legionella* species in aerosols from the area nearby asphalt roads and bath water in public bath facilities in Toyama Prefecture, Japan. 9th International Conference on

Legionella, Rome, Sept. 2017.

5) Isobe J., Jun-ichi K., Keiko K., Amemura-Maekawa J., Fumiaki K., Masanori W. Distribution of *Legionella* species in windshield washer fluid of motor vehicles in Toyama, Japan. 9th International Conference on *Legionella*, Rome, Sept. 2017.

6) Morinaka R., Amemura-Maekawa J., Kanatani J., Sasaki M., Isobe J., Haraguchi H., Futo S., Kura F. Detection of *Legionella* spp. by a New Colorimetric

Probe Alternation Link Self-Assembly Reaction (PALSAR) Method. 9th International Conference on *Legionella*, Rome, Sept. 2017.

7) Taguri, T A, Cai, G A, Ebisu-Ojima, H, Amemura-Maekawa, J, And Kura F. Breakpoint Chlorination as Control of *Legionella* in Bath Water using flow cytometry. 9th International Conference on *Legionella*, Rome, Sept. 2017.

8) Kura F., Amemura-Maekawa J. *Legionella* detections in environments and their impacts on the occurrence of legionellosis in Japan. 9th International Conference on *Legionella*, Rome, Sept. 2017.

9) Kawabata H. *Borrelia miyamotoi* disease. 11th Japan-China-South Korea Infectious diseases forum. Seoul, Korea. November 2017.

10) Kawabata H, Sato K, Kumagai Y, Yamano K, Takano A, Ohnishi M. A case control study: Serological investigation for *Borrelia miyamotoi* disease in Japan. 9th Tick and Tick-borne Pathogen Conference and 1st Asia Pacific Rickettsia Conference. Cairns, Australia. August 2017.

11) Sasaki Y, Kawamoto A, Sato R, Ohnishi M, Nakamura S, Koizumi N. Interaction of flagellar sheath protein FcpA with other flagellar proteins in *Leptospira biflexa*. Biology of Spirochetes Gordon Research Conference, USA, January 2018.

12) Tahara H, Takabe K, Kawamoto A, Sasaki Y, Koizumi N, Nakamura S. Movement of the outer membrane in *Leptospira*: Implication for their diverse motilities. Biology of Spirochetes Gordon Research Conference, USA, January 2018.

13) Toma C, Koizumi N, Kakita T, Kyan H, Hermawan I, Higa N, Yamashiro T. Evaluation of a leptospiral enzyme for diagnosis of acute leptospirosis. 10th Meeting of the International Leptospirosis Society, New Zealand, November, 2017.

14) Muthusinghel DS, Shiokawa K, Gunathilake Y, Kumaraa WNAT, Yoshimatsu K, Arikawa J, Koizumi N, Gamage CD. Isolation and phylogenetic identification of pathogenic leptospires from rats and shrews infested in municipal market, Kandy, Sri Lanka. Fifth International Conference on Sri Lanka-Japan Collaborative Research-2017, Sri Lanka, September 2017.

15) Matono T, Morita M, Izumiya H, Kaku M, Ohnishi M. Microbiological evolutionary process of acquired genetic mutations in *Salmonella enterica* serovar Typhi against fluoroquinolones. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2017). 2017 年 4 月

16) Matono T, Sherchan J, Morita M, Izumiya H, Ohnishi M, Sherchand J, Tandukar S, Laghu U, Nagamatsu M, Ohmagari N, Hayakawa K. Molecular and clinical epidemiology of *Salmonella* Paratyphi A isolated from bacteraemic patients in Nepal. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2017). 2017 年 4 月

17) Morita M, Izumiya H, Matono T, Ohnishi M. Genomic epidemiology of *Salmonella* Paratyphi A isolates from imported cases in Japan. International Union of Microbiological Societies 2017 Congress (IUMS2017). 2017 年 7 月

18) Ohnishi M. A new ceftriaxone resistant N. gonorrhoeae in Japan. 2017 International Forum on Gonococcal Infections and Resistance. Shenzhen, China, September 2017.

19) 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.

20) 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.

21) 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.

22) 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.

23) 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.

24) Nakao R, Yoshimasu Y, Ikeda T, Yagi A, Morinaga Y, Furukawa S. Propolis immediately triggers bactericidal action through the aberrant bleb formation and membrane perturbation at the bacterial surface: Symposium to celebrate the Knut and Alice Walenberg foundation's 100-year anniversary: Infection Research to meet current and future challenge. Umeå, Sweden. Jun. 2017.

25) Nakao R, Yoshimasu Y, Wai SN, Uhlin BE. A membrane-targetting small lipoprotein "Kil" increased membrane permeabilization and biofilm formation in Escherichia coli : FEMS 7th Congress of European Microbiologists Valencia, Spain. Jul. 2017

26) Yoshimasua Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Morinaga Y, Furukawa S, Nakao R. Identification of antibacterial compounds in propolis and mechanistic insight into its bactericidal action: FEMS 7th Congress of European Microbiologists Valencia, Spain. Jul. 2017.

27) Hirayama S, Senpuku H, Ohnishi M, Nakao R. Humoral immune responses in mice elicited by intranasal immunization with combination vaccine containing outer membrane vesicles of two major periodontopathic bacteria : International Union of Microbiological Societies 2017 Congress, Singapore. Jul. 2017.

28) Senpuku H, Nagasawa R, Suzuki I, Nakao R. Biofilm formation of oral bacteria by membrane vesicles from S. mutans : Eurobiofilms 2017. Amsterdam, Netherlands. Sep. 2017.

2. 国内学会

1) 李 謙一, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 大西 真, EHEC Working Group. 腸管出血性大腸菌 O157 における反復配列多型解析と全ゲノム配列解析の比較. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 鹿児島、2017 年.

2) 李 謙一, 伊豫田 淳, 泉谷秀昌, 大西 真, EHEC Working Group,. 腸管出血性大腸菌 O157 サーベイランスにおける反復配列多型解析と全ゲノム配列解析の分子型別能の比較. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

3) 伊豫田 淳, 李 謙一, 石嶋 希, 勢戸和子, 齊藤剛仁, 大西 真. HUS 発症例における血清診断と EHEC の分離同定について. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

4) 小原敦美, 松本一俊, 近藤ひとみ, 原田誠也, 大迫英夫, 李 謙一, 伊豫田 淳, 大西 真. HUS 患者から分離された EHEC O76:H7 （*stx2* 陽性）について. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

5) 木全恵子, 磯部順子, 綿引正則, 勢戸和子, 尾畑浩魅, 小西典子, 李 謙一, 伊豫田 淳, 大西 真. LEE を保有しない腸管出血性大腸菌のゲノム解析. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

6) 李 謙一, 伊豫田 淳, 小椋義俊, 林 哲也, 大西 真, EHEC Working Group. 腸管出血性大腸菌 O115 における国内分離株の系統解析および病原性評価. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

7) 石嶋 希, 李 謙一, 勢戸和子, 大西 真, 伊豫田 淳. 混合感染が確認された HUS 症例 2 例から分離された腸管出血性大腸菌の性状解析. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

8) 伊豫田 淳, 大西 真. HUS 症例における腸管出血性大腸菌感染症の確定診断. 第 91 回日本細菌学会総会・シンポジウム「注目すべき細菌感染症の事例検討」、福岡、2018 年.

9) 松尾 眞奈, 中村 佳司, 西田 留梨子, 伊豫田 淳, 大西 真, 大岡唯祐, 小椋義俊, 林 哲也. 腸管出血性大腸菌 O121 用 IS printing の開発に向けた O121 に分布する IS の網羅的検索. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

10) 西田 留梨子, 中村佳司, 佐藤光彦, 村瀬一典, 後藤恭宏, 大岡唯祐, 伊豫田 淳, 大西 真, 小椋義俊, 林 哲也. 腸管出血性大腸菌 O121:H19 のゲノム多様性と Stx2 産生量の菌株間バリエーション. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

11) 中村佳司, 村瀬一典, 伊豫田 淳, 大西 真, 大岡唯祐, 後藤恭宏, 小椋義俊, 林 哲也. EHEC O145:H28 におけるゲノム多様性解析と Stx2 高産生性に関与する遺伝子のゲノムワイドな探索. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

12) 須藤直樹, 伊豫田 淳, 満仲翔一, 関根靖彦, 大西 真. 腸管出血性大腸菌における Hfq による LEE 遺伝子群の発現制御. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

13) 八尋 錦之助, 永澤明佳, 小倉康平, 清水 健, 津々木 博康, 伊豫田 淳, 大西 真, 野田公俊. LEE-negative STEC の産生する Subtilase cytotoxin（SubAB）の毒性阻害薬の検索と阻害機序の解明. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

14) 津々木 博康, Tianli Zhang, 八尋 錦之助, 小野勝彦, 伊豫田 淳, 勢戸和子, 大西 真, 野田公俊, 赤池孝章, 澤 智裕. マウス感染モデルを用いた腸管出血性大腸菌毒素 Subtilase cytotoxin の機能解析. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年.

15) 番上将也, 伊豫田 淳, 勢戸和子, 井口 純. *E. coli* H-genotyping PCR：大腸菌の全 H 型を判定できるマルチプレックス PCR 法. 第 38 回日本食品微生物学会学術総会、徳島、2018 年.

16) 勢戸和子,原田哲也,若林友騎,伊豫田 淳. EHEC O165 選択分離培地の検討. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

17）小原敦美, 松本一俊, 近藤 ひとみ, 原田誠也, 大迫英夫,李 謙一, 伊豫田 淳, 大西 真. HUS 患者から分離された EHEC O76:H7（*stx2* 陽性）について. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

18）須藤直樹, 相馬 亜希子, 伊豫田 淳, 関根靖彦, 大西 真. 腸管出血性大腸菌が保持する低分子 RNA Esr41 による LEE 遺伝子群の発現抑制. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

19) 中村佳司, 村瀬一典, 豊田 敦, 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. EHEC O145:H28 の遺伝的多様性と Stx2 高産生性に関与する遺伝子の探索. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

20) 番上将也, 伊豫田 淳, 勢戸和子, 井口 純. *E. coli* H-genotyping PCR 法の開発と実用性評価. 第 21 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 鹿児島、2017 年.

21) 中村佳司, 村瀬 典, 豊田 敦, 伊藤武彦, 伊豫田 淳, 大西 真, 後藤恭宏, 小椋義俊, 林 哲也. 志賀毒素 2 型遺伝子を 2 コピー保有する腸管出血性大腸菌の遺伝的特性. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 鹿児島、2017 年.

22) 番上将也, 伊豫田 淳, 勢戸和子, 井口 純. *E. coli* H-genotyping PCR：大腸菌の全 H 型を判定できるマルチプレックス PCR 法. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 鹿児島、2017 年.

23) 井口 純, 伊豫田 淳. 腸管出血性大腸菌などから見出した新規 O 血清群遺伝子型とその PCR 判定法. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 鹿児島、2017 年.

24) 三戸部治郎 西海史子 柳原格 大西真. 赤痢菌の 3 型分泌装置発現に関わるバクテリア細胞骨格 RodZ の RNA 結合活性と多量体形成機構の解析第 91 回日本細菌学会総会

25) 泉谷秀昌、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真 : 2016 年における腸管出血性大腸菌 O157・O26・O111 の分子疫学解析。第 38 回日本食品微生物学会学術総会、2017 年 10 月、徳島県徳島市。

26) 小川道永、松田竜太、友清帝、村井美代、大西真. 肺炎球菌に対する選択的オートファジーの分子機構、第 91 回日本細菌学会総会、福岡国際会議場、平成 30 年 3 月 28 日

27) 高田直輝、小川道永、大西真、竹山春子. 宿主細胞内における肺炎球菌殺菌機構の解析、第 100 回日本細菌学会関東支部会、帝京大学医学部、平成 29 年 9 月 28

28) 松田竜太、小川道永、村井美代、大西真. 肺炎球菌に対する選択的オートファジーの分子メカニズム解析、第 100 回日本細菌学会関東支部会、帝京大学医学部、平成 29 年 9 月 28 日

29) 小川道永. 宿主細胞内における肺炎球菌認識機構、第 49 回 レンサ球菌研究会、新潟大学歯学部、2017 年 6 月 17 日

30) 津畑千佳子、田邊嘉也、佐藤瑞穂、坂上亜希子、張仁美、青木信将、茂呂寛、菊地利明、齋藤昭彦、常彬、大石和徳。新潟県における小児肺炎球菌結合型ワクチン導入後の成人の侵襲性肺炎球菌感染症についての調査。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、東京都、2017 年。

31) 安部朋子、古野憲司、常彬、大隈英子、渡邉真理、青木知信。小児の気道由来肺炎球菌の血清型置換と薬剤耐性。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、東京都、2017 年。

32) 宮崎治子、渋谷理恵、常彬、金城雄樹、大西真、松本哲哉。ワクチン非含有血清型の肺炎球菌臨床分離株における病原性についての検討。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、東京都、2017 年。

33) 星野直、石和田稔彦、大楠美佐子、廣瀬翔子、竹下健一、竹内典子、深沢千絵、常彬、大石和徳。 *Haemophilus influenzae* type e における *fucK* 欠損株に関する検討。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、東京都、2017 年。

34) 赤田憲太朗、常彬、川波敏則、内藤圭祐、野口真吾、迎寛、矢寺和博。当院の成人肺炎球菌性肺炎死亡例 11 例の検討(2011 年～2015 年)。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、東京都、2017 年。

35) 赤田憲太朗、常彬、川波敏則、内藤圭祐、野口真吾、

迎寛、矢寺和博。肺炎球菌性肺炎における Vaccine serotype と Non-vaccine serotype での臨床背景と予後の差異の検討。第 87 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、長崎、2017 年。

36) 成相昭吉、常彬。肺炎球菌結合型ワクチンが導入された 2010 年以後 2016 年までの下気道感染症乳幼児上咽頭から検出された肺炎球菌の血清型疫学の変化。第 21 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2017 年。

37) 西順一郎、藺牟田直子、児玉祐一、川村英樹、大岡唯祐、常彬。鹿児島県における小児と成人の侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）サーベイランス。第 91 回日本細菌学会学術集会、福岡、2018 年。

38) 木村　浩、岡田和弘、中野晃子、屋敷尚司、近澤博夫、池辺忠義．Lancefield 群別で A 群に凝集した *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の 1 例．第 91 回日本感染症学会学術講演会、東京、2017 年.

39) 中植竜大、村井美代、前川純子. *Legionella pneumophila* の血清群別を目的とした塩基配列の解析. 第 12 回日本臨床検査学教育学会学術大会. 2017 年 8 月、越谷.

40) 村井美代、田野ルミ、前川純子. 追跡調査による咽頭と鼻腔の黄色ブドウ球菌保菌状況の比較. 第 91 回日本細菌学会総会. 2018 年 3 月, 福岡.

41) 川端寛樹．ダニが媒介する感染症（教育講演）．畜水産品残留安全協議会研修会．2017 年 11 月．東京.

42) 佐藤梢，熊谷由美，山野公明，大西真，川端寛樹．*Borrelia miyamotoi* disease の新規診断抗原の探索．第 63 回日本衛生動物学会北日本支部大会・日本寄生虫学会北日本支部合同大会．2017 年 10 月．札幌.

43) 川端寛樹，関塚剛史，高野愛，黒田誠，佐藤梢，大西真．ゲノム情報から推定されたボレリア属細菌の進化イベント. 第 63 回日本衛生動物学会北日本支部大会・日本寄生虫学会北日本支部合同大会. 2017 年 10 月. 札幌.

44) 佐藤 (大久保) 梢，熊谷由美，福士秀悦，下島昌幸，西條政孝，山野公明，大西真，川端寛樹．新興回帰熱の新規抗体検査用抗原の性能評価に関する研究．第 160 回日本獣医学会学術集会．2017 年 9 月．鹿児島

45) 川端寛樹，熊谷由美，佐藤梢，新倉綾，今岡浩一，森川茂，大西真．国内シカが保菌する回帰熱群ボレリアの全国調査．第 160 回日本獣医学会学術集会．2017 年 9 月．鹿児島.

46) 平良雅克，安藤秀二，川端寛樹，藤田博己，角坂照貴，門馬直太，佐藤寛子，西條政幸．マダニにおけるエーリキア属菌の遺伝子検出および分離状況．第 160 回日本獣医学会学術集会．2017 年 9 月．鹿児島.

47) 大屋賢司，高島康弘，小川寛人，大松勉，片山幸枝，水谷哲也，佐藤梢，川端寛樹，松本　干城，中尾亮，福士秀人，Chris Adenyo，Boniface Kayang，村山美穂．西アフリカの大型齧歯類グラスカッターの保有する微生物について．第 160 回日本獣医学会学術集会．2017 年 9 月．鹿児島.

48) 大屋賢司，高島康弘，小川寛人，大松勉，水谷哲也，川端寛樹，Chris Adenyo，Boniface Kayang，村山美穂．ガーナにおけるグラスカッター飼育プロジェクト-グラスカッターの微生物学的解剖-．日本アフリカ学会第 54 回学術大会．2017 年 5 月．長野.

49) 川端寛樹，佐藤梢，熊谷由美，福士秀悦，下島昌幸，西條政孝，山野公明，大西真．新興回帰熱：SFTS の鑑別診断としての重要性について. 第 69 回日本衛生動物学会大会．2017 年 4 月．長崎.

50) 佐藤梢，熊谷由美，山野公明，大西真，川端寛樹．新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD)の新規抗体検査用抗原の探索．第 69 回日本衛生動物学会大会．2017 年 4 月．長崎.

51) 佐藤(大久保)梢，大西真，川端寛樹．新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD)の新規抗体検査系の確立．第 91 回日本感染症学会総会．2017 年 4 月．東京.

52) 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 回日本細菌学会総会. 2017 年 3 月. 仙台.

52) 高野愛，伊藤幸枝，DeMar Taylor，川端寛樹，前田健．マダニ体内での効率的な感染に関与すると推察されるボレリア属細菌遺伝子群の検索. 第 90 回日本細菌学会総会．2017 年 3 月．仙台.

53) 川端寛樹．新興ボレリア感染症．第 90 回日本細菌学会総会．2017 年 3 月．仙台.

54) 佐藤(大久保)梢，熊谷由美，山野公明，大西真，川端寛樹．新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD)の新規抗体検査系の確立．第 9 回リケッチア臨床研究会．2017 年 1 月．滋賀.

55) 川端寛樹，佐藤(大久保)梢，熊谷由美，福士秀悦，下島昌幸，西條政孝，大西真．実験室診断で SFTSV 感染が否定された SFTS 疑い例における新興回帰熱 (*Borrelia miyamotoi* disease: BMD)感染例．第 9 回リケッチア臨床研究会．2017 年 1 月．滋賀.

56) 佐々木祐哉，川本晃大，中村修一，佐藤令一，大西真，小泉信夫．Interaction of flagellar sheath protein FcpA with other flagellar proteins in *Leptospira biflexa.* 第 91 回日本細菌学会総会，福岡，2018 年 3 月.

57) 村田亮，美名口順，荒川祐衣，松田一哉，小泉信夫，浅川満彦，内田郁夫，菊池直哉．北海道のアライグマからのレプトスピラの分離．第 91 回日本細菌学会総会，福岡，2018 年 3 月．

58) 佐々木祐哉, 川本晃大, 中村修一, 佐藤令一, 大西 真, 小泉信夫．レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA は FlaA2 および FlaB1 と相互作用する．第 55 回レプトスピラシンポジウム，福岡，2018 年 3 月．

59) 村田亮，美名口順，荒川祐衣，松田一哉，小泉信夫，浅川満彦，内田郁夫，菊池直哉．北海道のアライグマにおけるレプトスピラ浸潤状況の変遷．第 55 回レプトスピラシンポジウム，福岡，2018 年 3 月．

60) 高橋 英之、柳沢 達男、横山 茂之、臨床分離株の宿主細胞への侵襲能と細胞外因子の発現量の相互比較による髄膜炎菌の病原性因子の探索及び解析、 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年

61) 中山周一、金井瑞江、井戸田一朗、本郷偉元、亀岡博、澤村正之、濱田 貴、錦 信吾、大西 真。国内における 2016 年からのマクロライド耐性型 *Treponema pallidum* の急激な増加。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。

62) 金井瑞江、中山周一、李 謙一、志牟田 健、大西真。近年本邦で流行する梅毒トレポネーマのゲノム解析法の検討。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。

63) 志牟田 健、井川ジーン、中山周一,大 西 真: セフトリアキソン耐性淋菌特異的リアルタイム PCR 系の構築。日本性感染症学会 第30回学術大会， 札幌、2017年12月

64) 川畑拓也、古林敬一、亀岡 博、安本亮二、中山周一、志牟田健、大西 真: 大阪府内において分離された淋菌株の薬剤感受性率の推移と多剤耐性の傾向。日本性感染症学会 第 30 回学術大会， 札幌、2017 年 12 月

65)志牟田 健:種を超えた遺伝子伝播－耐性遺伝子プールの存在(シンポジム)。第 66 回日本感染症学会東日本地方学術集会、第 64 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、東京、2017 年 11 月

66) 梅毒患者の受診行動と診断経緯に関する検討。澤村正之、中山周一、錦 信吾、有馬雄三、大西 真。日本性感染症学会第 30 回学術大会 2017 年 12 月 札幌。

67) Hijikata S, Hongo I, Nakayama S, Sekikawa Y, Iwai T, Yamaguchi J, Sagawa Y, Watanabe K, Masuda R, Miyazaki R, Miwa N, Hara N, Yamaguchi T, Nagata Y, Nozato T, Hirano K. Infective endocarditis due to *Treponema pallidum*: A case diagnosed by polymerase chain reaction analysis of aortic valve. The 82nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. March 2018, Osaka.

68) 的野多加志、森田昌知、泉谷秀昌、大西真 渡航国別腸チフス・パラチフス登録率（感染者数/渡航者 10 万人）および渡航国別シプロフロキサシン感受性率 第 91 回日本感染症学会学術講演会、2017 年 4 月

69) 早川佳代子、永松麻希、森田昌知、泉谷秀昌、大西真、大曲貴夫 ネパールにて検出されたチフス菌・パラチフス A 菌の薬剤感受性について 第 91 回日本感染症学会学術講演会、2017 年 4 月

70) 森田大地、大西真、森田昌知、水野環、今村大輔、三好伸一、篠田純男、Mukhopadhyay AK、高橋栄造、岡本敬の介 *Vibrio cholerae* の保有する可動性伝達因子 SXT element の解析 第 51 回ビブリオシンポジウム、2017 年 10 月

71) 竹村太地郎、丸山史人、太田篤、村瀬一典、Nguyen DT、Tuan CN、Nguyen BM、森田昌知、滝沢木綿、大西真、山城哲 2007-2010 年コレラ流行時におけるベトナム分離コレラ菌の全ゲノム解析 第 51 回ビブリオシンポジウム、2017 年 10 月

72) 泉福英信、平野浩彦、枝広あや子、白部麻樹、角田衣理加、花田信弘、富永燦、武内博朗、西山佳秀高齢者の口腔常在菌に対するヨーグルト摂取習慣の効果、第 66 回日本口腔衛生学会、山形、2017 年 5 月 30 日。

73) 泉福英信、永沢亮、細胞外 DNA による *Streptococcus mutans* バイオフィルム
形成メカニズムの解明、第 31 回日本バイオフィルム学会、つくば、2017 年 7 月 7 日。

74) 中尾龍馬、平山 悟、泉福英信、プロポリスのジンジバリス菌に対する殺菌機構、第５９回歯科基礎医学会、塩尻、2017 年 9 月 16 日～18 日。

75) 泉福英信、NaCl による *Staphylococcus aureus* を含む複合菌バイオフィルム形成の誘導、、第５９回歯科基礎医学会、塩尻、2017 年 9 月 16 日～18 日。

76) 平山 悟、泉福英信、中尾龍馬、マウスにおける *P. gimgivalis* 及び *A. actinomycetemcomitans* 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、第５９回歯科基礎医学会、塩尻、2017 年 9 月 16 日～18 日。

77) 泉福英信、有家巧、丸岡豊、富永 燦、宇佐美雄司、吉村和久、HIV 感染者における唾液 M-CSF と口腔微生物量の意義、第３１回日本エイズ学会学術総会、東京、2017 年 11 月。

78) 泉福英信、中尾龍馬、大西真、*Streptococcus mutans* からのメンブレンヴェジクルによる口腔細菌バイオフィルムの確立、*Streptococcus mutans* の黄色色素産生に関する検討、第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

27 日～29 日。

79) 奥脇響、尾花望、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦、宿主の免疫を誘導するウエルッシュ菌メンブレンヴェジクルの解析、第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月 27 日～29 日。

80) 永沢亮、泉福英信、*Strreptococcus mutans* のバシトラシン耐性とバイオフィルム形成の関連、第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月 27 日～29 日。

81) 中尾龍馬、池田剛、吉益由莉、酒井信明、八木明、平山悟、大西真、泉福英信、プロポリス由来抗菌化合物 X の構造-活性相関、第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月 27 日～29 日。

82) 井上紗智、稲葉知大、尾花望、八幡穣、泉福英信、野村暢彦、う蝕病原性細菌のスクロースに応答した細胞外 DNA 放出機構の解析、WS8 細菌学若手コロッセウム in つくば優秀発表、第９１回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月 27 日～29 日。

83) 平山悟、吉益由莉、酒井信明、八木明、泉福英信、大西真、中尾龍馬、膜作用性抗生物質が細菌細胞に及ぼす影響の解析およびリアルタイムイメージング、WS9 選抜ワークショップ（生態-2, 生理、構造）、第９１回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月 27 日～29 日。

84) 奥脇響、尾花 望、中尾 龍馬、泉福 英信、野村 暢彦: 宿主の免疫を誘導するウェルシュ菌メンブレンベシクルの解析:グラム陽性菌学会。つくば、2017 年 8 月

85) 中尾龍馬、平山悟、泉福英信: プロポリスのジンジバリス菌に対する殺菌効果:第 59 回歯科基礎医学会。松本、2017 年 9 月

86) 平山悟、泉福英信, 中尾 龍馬: Mucosal vaccine effect in mice by intranasal coadministration with outer membrane vesicles of *P. gingivalis* and A. actinomyctemcomitans:第 59 回歯科基礎医学会。松本、2017 年 9 月

87) 平山悟、中尾龍馬:グリシンによる大腸菌メンブレンベシクル産生の増大とその特性解析。日本農芸化学学会 2018。名古屋、2018 年 3 月

5. 細菌第二部

部長　柴山 恵吾

概 要

細菌第二部は、ジフテリア、百日咳、結核、インフルエンザ菌感染症、マイコプラズマ感染症などの細菌性呼吸器感染症、破傷風、ボツリヌス症、クロストリディオイデス・ディフィシル感染症などの偏性嫌気性細菌感染症、ヘリコバクター属菌等による日和見感染症や慢性感染症、鼻疽、類鼻疽などの希少感染症、猫ひっかき病など一部の人獣共通感染症について予防・診断・治療およびそれらに関するレファレンス業務にかかわることを所管する。これらの感染症の原因となる細菌について病原性、薬剤耐性の分子機構の解明や分子疫学解析、新規の薬剤やワクチン、診断法開発を行う。また、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、百日せきワクチン、BCG ワクチン、Hib ワクチン、精製ツベルクリン、抗毒素などの生物学的製剤の品質管理試験およびそれらの品質管理に必要な標準品に関すること、無菌性保証に関すること、並びにそれらのレファレンス業務を行う。これらの感染症の研究やワクチン等生物学的製剤の品質管理に関して国際協力も行う。

細菌第二部は研究に加えて行政に関する業務や品質管理業務も多く担っているが、平成29年度は通常の定型的な業務の他、感染症法の百日咳の新しい届出基準と届出ガイドラインを作成したり、ワクチンの製造販売業者における様々な課題の解決のため検討会を開催したり収去試験を実施するなど、多くの行政関連の業務があった。さらに、乳児ボツリヌス症例に関連し急増したメディア取材にも対応するなど、研究以外の多様な業務に対応した。

平成29年4月に薬剤耐性研究センターが新設されたことにともない、それまで細菌第二部において薬剤耐性研究を担っていた第1室、第6室が薬剤耐性研究センターに移設され、これらの室の業務も全て移管された。同時に、それまでの細菌第二部第5室は第1室に室名が変更され、細菌第二部は4室体制となり、上記の業務を引き続き所掌することとなった。4月から12月までは柴山は薬剤耐性研究センター長を併任し、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)の運営や薬剤耐性研究にも携わった。人事では，8 月 10 日に第1室（旧第5室）の福田靖主任研究官が退職した。

業 績

調査・研究

I. 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

新たに同定された *B. pseudomallei* の薬剤感受性をこれまでに保有している株と比較したところ、*B. pseudomallei* の治療でよく使用される ST 合剤に対し保有株はいずれも感性を示していたが、今回の株は耐性であった。ST 合剤に対する耐性率は上がっているという報告があり、今回の結果はその傾向を示していると考えられる。[堀野敦子]

II. 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、解析を行った。殆どの分離株が NTHi (95%)で、その他血清型 b、e、f が数株存在していた。157 株の MLST 解析では、79種類の ST に分類され、そのうち2株は新しいSTであり、特定のSTによる発症の偏りは認められなかった。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、村上光一、大石和徳]

2. 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

1 道 9 県の 15 歳未満の小児を対象に、侵襲性インフルエンザ菌感染症患者の髄液あるいは血液から分離された菌株の莢膜型別と主要抗菌薬に対する感受性試験を 2007 年以降実施している。2017 年入院患者からは莢膜型 f 株 (*Haemophilus influenzae* type f: Hif) 1 株ならびに Non-typable *H. influenzae* (NTHi) 11 株が分離された。Hib ワクチン定期接種導入後の時期においてアンピシリン感受性株の割合がやや減少している傾向が見られた。
[佐々木裕子、久保田眞由美、見理 剛、柴山恵吾]

III. *Clostridium difficile* 感染症に関する研究

1. 日本の *Clostridioides difficile* 感染症(CDI)疫学研究

データのとりまとめをおこない、学会発表を行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

2. *Clostridioides difficile* 遺伝子検出試薬開発に関する研究

必要な追加実験を行い、論文作成の準備を行った。[妹尾充敏、福田靖、加藤はる]

3. アジアの医療機関における *Clostridioides difficile* 感染症に関する教育啓蒙ツールの開発

日本国内医療機関モデルケースにおける *Clostridioides difficile* 感染症(CDI)の検査診断・感染予防に関する実態調査を行い、個々の医療機関で、どのような情報提供が有用か、データ集積を開始した。ベトナム(National Institute of Hygiene and Epidemiology, NIHE)での実験環境整備に関し支援した[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

Toxin B に対する DNA ワクチンをマウスに接種したところ、Toxin B に対する抗体が産生されており、この抗体が Toxin B の細胞障害活性の中和能を有することを確認した。[妹尾充敏、加藤はる、岩城正昭、福田靖]

IV. マイコプラズマに関する研究

1. 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

慢性呼吸器感染症の病態理解を目的に *Mycoplasma amphoriforme* ゲノム配列解析を継続している。解析手法として Nanopore sequencer MinION MkIB (Oxford Nanopore Technologies 社)による long read 配列と MiniSeq (Illumina 社)による short read 配列を用いて assemble を行い得られた contig 中の CDS について機能予測を行った。近縁種の *M. pneumoniae, M. genitalium, M. gallisepticumu, M. penetrans* との Ortholog はいずれも 400 CDS 程度であり、一方、*M. amphoriform* 固有 CDS は 250 個程度、*M. pneumoniae* 固有 CDS は 300 個程度、ゲノムサイズが 1.3M と大きい *M. penetrans* 固有 CDS は 600 個程度であった。*M. pneumoniae* 主要付着タンパク質 P1 の ortholog は *M. amphoriforme* には存在せず独自の接着機構の存在が示唆された。
[佐々木裕子、鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、見理 剛、柴山恵吾、勝川千尋、水谷香代子(大阪健康安全基盤研究所)、高橋和郎(国際医療福祉大学病院)]

2. 肺炎マイコプラズマ株の収集と遺伝子解析

2017 年はマイコプラズマ肺炎の大きな流行は見られなかったため、*M. pneumoniae* の分離菌の収集数も少なかったが、岡山県と埼玉県で収集された 33 株について、*p1* 遺伝子型別とマクロライド耐性の分析を行った。その結果、*p1* 遺伝子型が 1 型のものが 13 株、2 型が 3 株、2c 型が 17 株だった。このうち 23S rRNA 遺伝子にマクロライド耐性変異を有していたのは *p1* 遺伝子 1 型の 13 株で、2 型および 2c 型の菌は、マクロライド耐性変異を有していなかった。
[藤井寛之、橋本 徹 (倉敷中央病院)、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]

3. *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* の保存菌株を用いた MLST 解析を継続して行なった。[堀野敦子、石黒信久(北海道大学)]

V. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

1. *Corynebacterium ulcerans* 臨床分離株のタイピング

C. ulcerans のタイピングには、ゲノム DNA を制限酵素で切断し、リボソーム RNA 遺伝子領域に相同なプローブを用いたサザンブロッティングを行って得られるパターンを比較するリボタイプ法が用いられる。今回我々は、特定の菌のパターンが、ゲノム配列から予想されるものと異なることを見出し、そのメカニズムについて解析を行っている。[岩城正昭、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、関塚剛、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)]

VI. 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及び結晶化

平成 28 年度の成果より、今年度は同定した新規アミノ酸とイソニアジドの結合様式を明らかにするため、野性型及び変異型 KatG(A479E、R463L+A479E 変異)とイソニアジドとの共結晶化を試みたところ、X 線測定が可能な結晶が得られなかった。今後も引き続き結晶化条件の検討を行う予定である。[金玄、森茂太郎]

2. 北京型結核菌由来 DNA ジャイレース(GyrA)の結晶化

キノロン耐性北京型結核菌株において、*gyrA* 遺伝子上のキノロン耐性決定領域外に新たな変異(A74S)が見出されている。さらに、この変異を持つ株は D94G の変異も併せ持つことが示されている。これらの変異とキノロン耐性との関連を明らかにするため、変異型 DNA GyrA の結晶化を試みた。その結果、X 線測定が可能な結晶が得られた。[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

前年度に得られた *M. avium* 由来新規ヌクレオチド(N 末部位削除)の結晶を用いて X 線結晶構造解析を行い、本酵素

の立体構造を決定した。[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たスクリーニングを行い、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とともに、結核菌の生育を阻害する化合物を同定した。今後、これらの化合物について薬剤化を進める予定である。[森茂太郎]

VII. ヘリコバクター属菌に関する研究

1. *Helicobacter cinaedi* の病原性に関する研究

H. cinaedi の病原性因子の候補となる遺伝子のノックアウト株を作製し、培養細胞への感染実験により、病原性への寄与を検討した。その結果、既知の病原因子である cytolethal distending toxin (CDT)以外に大腸菌のセリンプロテアーゼである EspC 類似のタンパク質のノックアウト株において、細胞障害活性が低下した。現在、本タンパク質がどのように *H. cinaedi* の病原性へ寄与しているかを検討中である。[林原絵美子]

2. *H. cinaedi* の比較ゲノム解析

H. cinaedi の日本の臨床分離株について、ドラフトゲノムを解読し、比較ゲノム解析を行った。その結果、院内感染由来クローンに特有の因子を複数見出した。現在、これらの因子のノックアウト株を作製し、RNA-Seq 等の解析によりこれらの因子の役割を解析している。[林原絵美子、鈴木仁人（薬剤耐性研究センター）]

VIII.百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

1. 遺伝子組換えによる百日せきワクチン株の改良

平成 28 年度までに，精製百日せきワクチンの改良を目的に線毛 3 を発現する組換えワクチン株（東浜株）を作出した。当該年度は組換え東浜株から線毛 2/3 の精製を行い，マウス鼻腔感染モデルを用いて線毛 2/3 含有 DPT-sIPV ワクチンの有用性を評価した。その結果，線毛 2/3 含有 DPT-sIPV 接種群では感染 1 日後の肺内生菌数がコントロール群（PBS 接種群，DPT-sIPV 接種群）に比較して有意に減少することが判明し，線毛 2/3 抗原の有用性が確認された。 [大塚菜緒，蒲地一成]

2. 百日咳菌自己凝集能の解析

百日咳菌は線毛 Fim3 を高産生すると自己凝集を引き起こす。線毛 Fim3 の産生量と百日咳菌の病原性の関係をマウス in vivo 接着実験により評価した。本実験ではマウスに百日咳菌を経鼻感染させたのち，肺胞洗浄を行って洗浄液中に回収された菌量および肺組織に残存する菌量を比較解析した。その結果，Fim3 高産生株は Fim3 低産生株，Fim3 非産生株に比べて肺胞洗浄液中に遊離する菌量が有意に少なく，肺組織への接着率が高いことが判明した。以上の結果から，百日咳菌 Fim3 の高産生が菌体の *in vivo* 肺内接着に有利に働くことが示唆された。 [大塚菜緒，文元礼，蒲地一成]

3. 新規血清診断法 Novagnost/IgA, IgM キットの評価

2016 年に百日咳血清診断法として新たに健康保険が適用された百日咳抗体測定キット（ノバグノスト百日咳/IgA，ノバグノスト百日咳/IgM）の性能評価を実施した。遺伝子検査により確定診断された患者血清（n=26）と健常人血清（n=18）を供試し，本測定キットの感度と特異度を検討した。その結果，ノバグノスト IgA キットの感度は 11.5%，特異度は 88.9%，ノバグノスト IgM キットの感度は 7.7%，特異度は 100%と評価され，両測定キットともに低い感度と高い特異度が示された。患者ペア血清を用いた評価から，本測定キットは現行の判定基準では十分な感度を得ることは困難と判断された。 [文元礼，大塚菜緒，蒲地一成]

4. パラ百日咳菌の遺伝子型別法の開発

百日咳類縁菌であるパラ百日咳菌について，MLVA 法を用いた遺伝子型別法の開発を行った。パラ百日咳菌のゲノム情報をもとに 17 箇所の VNTR 候補を抽出し，臨床分離株において多様性を示す 4 箇所の VNTR を選択した。安定性試験において，これらの VNTR は培養 10 継代後も繰返し数に変化を認めず，in vitro で高い安定性を示した。また，4 箇所の VNTR を用いた MLVA 解析により，臨床分離株 34 株は 18 種類の遺伝子型に分類され，分離年と分離地域において疫学的な関連性を認めた。以上の結果から，本法はパラ百日咳菌の遺伝子型別法として有用と判断された。[蒲地一成，大塚菜緒，文元礼]

IX. バルトネラ菌に関する研究

1. 路上生活者のバルトネラ菌に関する疫学調査

東京都において救急搬送患者でシラミ保有者からの *Bartonella quintana* に対し、これまでの IgG 抗体価測定に加え、本年は IgM 抗体価を測定しの解析を行った。 [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）]

X. 流行予測事業に関する業務・研究

1.破傷風流行予測で使用してきた破傷風抗体価測定キット

の製造中止に伴い、その代替品の開発を行った。さらに、平成 30 年度の流行予測事業で、従来品と本試作品の両者を使用するよう調整を行った。[岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、小澤賢介（デンカ生研）]

XI. その他薬剤耐性に関する研究

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厚生労働省院内感染対策サーベイランス JANIS のデータベースから抽出し、集計した。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

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、他薬剤耐性研究センター職員]

3. JANIS のアジア展開

モンゴルにおいて JANIS を導入し、データの試験送信を行なった。その他ベトナム、ハノイ USCDC、WHO の SEARO 等と協議を進めた。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

4. カンボジア、ベトナムで収集したカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の耐性遺伝子のグローバルな動体解明に関する研究を進めた。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

レファレンス業務

I. 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 9 施設に 4Plex リアルタイム PCR キット（10 キット）を供与した。［蒲地一成，柴田美幸，大塚菜緒］

2. *B. pseudomallei* 検出のための陽性コントロール DNA の提供

地方衛生研究所 1 施設に *B. pseudomallei* 検出 PCRのための陽性コントロール DNA を分与した。［堀野敦子］

サーベイランス業務

I. 百日咳関係

1. 地方自治体（保健福祉事務所）からの依頼を受けて，百日咳様患者に対する *Bordetella* 属細菌の病原体検索を 14 件実施した。［蒲地一成，柴田美幸，大塚菜緒］

2. 平成30年1月から百日咳の届出基準が改正され，感染症法における百日咳発生動向調査はこれまでの臨床診断から検査診断に基づく全数報告に変更となった。担当室では届出基準ならびに感染症法に基づく医師届出ガイドラインの策定に携わった。［大塚菜緒，蒲地一成］

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する研究

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

現行の破傷風トキソイドワクチンの力価試験には、マウスに多大な苦痛を強いる lethal challenge 法が用いられており、3Rs の観点から代替法の開発は急務である。これまでに、破傷風毒素の活性を指標とした in vitro 代替法の開発を試みてきたが、優れた方法の開発には至っていない。そこで、代替法に用い得るような毒素活性以外の指標について、情報収集を行ない、開発可能性の検討を開始した。[岩城正昭]

Ⅱ．国家検定、国家検査、収去検査、承認前検査、依頼試験について

細菌第二部では細菌製剤、抗毒素製剤などの非常に多くの製剤について国家検定、検査を担当している。平成29年度は総務部作成の II 国家検定・検査に示されている所掌の試験を実施した。ここでは、II 国家検定・検査に記載されていない承認前検査、標準品の制定、依頼検査や、厚生労働省の依頼により特別に実施した試験などについて記載する。

1. 承認前検査の実績

無菌試験の書類審査（1 件）

2. 標準品、参照品の制定

(1) 参照破傷風抗毒素（フロキュラシオン用）の標準化作業を行い、平成 29 年 9 月 7 日の検定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]

(2) 標準A型ボツリヌス抗毒素の標準化作業について、製造販売会社との協議を開始し準備を進めた。[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.依頼検査

(1) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用）関連

ア. 22 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]

4.収去検査
（1） メーカーにおいて発生した問題を受け厚労省の依頼により、沈降精製ジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン 2検体のジフテリアトキソイド力価試験を行った。[小宮貴子、加藤はる、岩城正昭、妹尾充敏、与那嶺澄代]

（2） メーカーにおいて発生した問題を受け厚労省の依頼により、収去試験として乾燥BCGワクチンの力価試験を1ロット行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎、持田恵子]

III. 品質管理に関わる試験法の検討

1.複数の製造販売業者において、ジフテリアトキソイド力価試験結果に関して問題が見受けられたため、ジフテリアトキソイドを含む製剤を製造する製造販売業社と国立感染症研究所で、「ジフテリアトキソイド力価試験検討会」をたちあげ、試験法に関する検討を開始した。[小宮貴子、加藤はる、岩城正昭、妹尾充敏]

国際協力関係業務

Ⅰ. JICA 関係

1. 医療関連感染管理指導者養成研修講義(国立国際医療研究センター、英語、2018 年 8 月 24 日、11 月 2 日) [柴山恵吾]

2. 重症感染症などのアウトブレイク対応強化のための実地疫学（管理者向け）研修講義(国立国際医療研究センター、英語、2018 年 9 月 22 日) [柴山恵吾]

3.「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関する講義を行った。（2018 年 1 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。（2018 年 1 月）[堀野敦子、森茂太郎]

Ⅱ. WHO 関係

1. Expert Consultation for Surveillance Standards for Diphtheria (November 2017 Lisbon, Portugal) (WHO EPI, IVB 主催) に招聘され、標記 Standards の最終案策定のための討議を行った。[岩城正昭]

2. Consultation for supporting antimicrobial resistance surveillance in the Southeast Asia Region through electronic data centralization. (WHO SEARO, New Delhi, 20-21st February, 2018)に参加し、途上国における薬剤耐性サーベイランス耐性構築支援について討議した。[柴山恵吾、筒井敦子]

III. その他

1. National Institute for Control of Vaccines and Biologicals, MOH, Vietnam (NICVB)に標準沈降ジフテリアトキソイド分与の問い合わせがあり、分与にあたり準備を行った。[小宮貴子、加藤はる]

2. First Meeting of the Public Health and the Veterinary Public Health-Institutes of the G20 (September 13 – 14, 2017, Berlin、ドイツ厚生省、農水省主催)に参加し、薬剤耐性対策に関するグローバルな取り組みについて討議した。[柴山恵吾]

3. Surveillance of Antimicrobial Resistance for Local and Global Action (27-28 April, 2017, Stockholm、The Public Health Agency of Sweden 主催)に参加し、WHO が推進する薬剤耐性サーベイランス GLASS の今後の方向性について討議を行なった。[柴山恵吾]

研修業務

I. 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 29 年 5 月）[佐々木裕子]

.

II. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

1.平成 29 年 11 月 15 日から 17 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。富山県、広島市、神戸市、埼玉県から4地研が参加した。 [岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

III.その他

1. 名古屋大学大学院医学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・プログラム研修講義（戸山庁舎、英語、2017 年 6 月 21 日）[柴山恵吾]

2. 神奈川県衛生研究所の所内勉強会（第1回病原細菌遺伝学的解析法研修）の講師、「肺炎マイコプラズマの遺伝子

型別とゲノム解析」(神奈川県衛生研究所 2017 年 7 月 20 日) [見理 剛]

3. 平成29年度感染症危機管理研修会講義 「最近のボツリヌス症事例」(戸山庁 2017 年 10 月 11 日)[加藤はる]

4.. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会講義 「地域で必要とされる *Clostridium difficile* 感染症への対応」 (戸山庁 2018 年 2 月 28 日)[加藤はる]

5. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会講義 「ボツリヌス症疑い事例発症時の対応について」 (戸山庁 2018 年 2 月 28 日)[加藤はる]

6. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会(2018 年 2 月)「ジフテリアとコリネバクテリウム・ウルセランス感染症」 [岩城正昭]

7. 平成 29 年度動物由来感染症対策技術研修会(2017 年 10 月)「コリネバクテリウム・ウルセランス感染症」 [岩城正昭]

8. 院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)新規参加医療機関募集に伴う JANIS のデータ提出・活用のための説明会「*Clostridium difficile* 感染症と院感染対策について」(厚生労働省 2017 年 9 月) [加藤はる]

その他

Ⅰ. 行政科学等に対する対応

1. 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2017(厚生労働省薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会)作成協力[柴山恵吾]

2. 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. *Clostridioides difficile* 感染症やアウトブレイク疑事例についての問い合わせに対応し、依頼があった医療機関や地域の研究会・勉強会においては講義や講演を行った。 [妹尾充敏、加藤はる]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Osaka S, Okuzumi K, Koide S, Tamai K, Sato T, Tanimoto K, Tomita H, Suzuki M, Nagano Y, Shibayama K, Arakawa Y, Nagano N. Genetic shifts in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic clones and toxin gene profiles in Japan: comparative analysis among pre-epidemic, epidemic and post-epidemic phases. J Med Microbiol. 2018 Mar;67(3):392-399.

2) Matsui M, Suzuki M, Suzuki M, Yatsuyanagi J, Watahiki M, Hiraki Y, Kawano F, Tsutsui A, Shibayama K, Suzuki S. Distribution and Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* International Clone II Lineage in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Jan 25;62(2). pii: e02190-17.

3) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. Complete Genome Sequence of a Type Strain of *Mycobacterium abscessus* subsp. bolletii, a Member of the *Mycobacterium abscessus* Complex. Genome Announc. 2018 Feb 1;6(5). pii: e01530-17.

4) Asakura K, Azechi T, Sasano H, Matsui H, Hanaki H, Miyazaki M, Takata T, Sekine M, Takaku T, Ochiai T, Komatsu N, Shibayama K, Katayama Y, Yahara K. Rapid and easy detection of low-level resistance to vancomycin in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. PLoS One. 2018 Mar 9;13(3):e0194212.

5) Yoshida M, Izumiyama S, Fukano H, Sugiyama K, Suzuki M, Shibayama K, Hoshino Y. Draft Genome Sequence of *Mycobacterium* sp. Strain shizuoka-1, a Novel *Mycobacterium* Isolated from Groundwater of a Bathing Facility in Shizuoka, Japan. Genome Announc. 2017 Nov 22;5(47). pii: e01309-17.

6) Miyamoto N, Yahara K, Horita R, Yano T, Tashiro N, Morii D, Tsutsui A, Yaita K, Shibayama K, Watanabe H. Integration of DPC and clinical microbiological data in Japan reveals importance of confirming a negative follow-up blood culture in patients with MRSA bacteremia. J Infect Chemother. 2017 Oct;23(10):687-691.

7) Bagus Wasito E, Shigemura K, Osawa K, Fardah A, Kanaida A, Raharjo D, Kuntaman K, Hadi U, Harijono S, Marto Sudarmo S, Nakamura T, Shibayama K, Fujisawa M, Shirakawa T. Antibiotic Susceptibilities and Genetic Characteristics of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from Stools of Pediatric Diarrhea Patients in Surabaya, Indonesia. Jpn J Infect Dis. 2017 Jul 24;70(4):378-382.

8) Tomida J, Morita Y, Shibayama K, Kikuchi K, Sawa T, Akaike T, Kawamura Y. Diversity and microevolution of CRISPR loci in *Helicobacter cinaedi*. PLoS One. 2017 Oct 13;12(10):e0186241.

9) Banno H, Kimura K, Tanaka Y, Sekizuka T, Kuroda M, Jin W, Wachino JI, Yamada K, Shibayama K, Arakawa Y. Analysis of multidrug resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility forming small, less hemolytic colonies. PLoS One. 2017 Aug 17;12(8):e0183453.

10) Moriuchi T, Otsuka N, Hiramatsu Y, Shibayama K, Kamachi K. A high seroprevalence of antibodies to pertussis toxin among Japanese adults: Qualitative and quantitative analyses. PLoS One 2017;12:e0181181.

11) Moriuchi T, Vichit O, Vutthikol Y, Hossain MS, Samnang C, Toda T, Grabovac V, Hiramatsu Y, Otsuka N, Shibayama K, Kamachi K. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis* in Cambodia determined by direct genotyping of clinical specimens. Int J Infect Dis 2017;62:56-58.

12) Otsuka N, Guiso N, Bouchez V. The length of poly(C) stretch in the *Bordetella pertussis* Pfim3 promoter determines the *vag* or *vrg* function of the *fim3* gene. Microbiology 2017;163:1364-1368.

13) Hiramatsu Y, Miyaji Y, Otsuka N, Arakawa Y, Shibayama K, Kamachi K. Significant decrease in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates, Japan. Emerg Infect Dis 2017;23(4):699-701.

14) Kenri T, Suzuki M, Horino A, Sekizuka T, Kuroda M, Fujii H, Hashimoto T, Nakajima H, Ohya H, Shibayama K. Complete Genome Sequences of the *p1* Gene Type 2b and 2c Strains *Mycoplasma pneumoniae* KCH-402 and KCH-405. Genome Announc. 2017 Jun 15;5(24). pii: e00513-17. doi: 10.1128/genomeA.00513-17.

15) Ohyama N, Torio M, Nakashima K, Koga Y, Kanno S, Nishio H, Sasazuki M, Kato H, Asakura H, Akamine S, Ishizaki Y, Sanefuji M, Sakai Y, Ohga S. A childhood-onset intestinal toxemia botulism during chemotherapy for relapsed acute leukemia. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2017; 16:61.

16) Nanki K, Mizuno S, Matsuoka K, Ono K, Sugimoto S, Kiyohara H, Arai M, Nakashima M, Takeshita K, Saigusa K, Senoh M, Fukuda T, Naganuma, M, Kato H, Suda W, Hattori M, Kanai T. Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection in a patient with ulcerative colitis. 2018; Intest Res 16(1):142-146.

17) Masuda H, Masai T, Takatani M, Kato H. A life-threatening infection due to *Corynebacterium striatum*: a lesson learned. Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery 2018; 26:709-710.

18) Otsuji K, Fukuda K, Endo T, Shimizu S, Harayama N, Ogawa M, Yamamoto A, Umeda K, Umata T, Seki H, Iwaki M, Kamochi M, Saito M, The first fatal case of *Corynebacterium ulcerans* infection in Japan. JMM Case Reports 2017; 4 (8) e005106.

19) Yasuda I, Matsuyama H, Ishifuji T, Yamashita Y, Takaki M, Morimoto K, Sekino M, Yanagihara K, Fujii T, Iwaki M, Yamamoto A, Ariyoshi K, Tanaka T. Severe pneumonia caused by toxigenic *Corynebacterium ulcerans* infection, Japan. Emerging Infectious Diseases 2018; 24 (3) 588-591.

20) Rimbara E, Mori S, Kim H, Suzuki M, Shibayama K. Mutations in Genes Encoding Penicillin-Binding Proteins and Efflux Pumps Play a Role in β-Lactam Resistance in *Helicobacter cinaedi*. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Jan 25;62(2). pii: e02036-17.

21) Donini S, Garavaglia S, Ferraris DM, Miggiano R, Mori

S, Shibayama K, Rizzi M. Biochemical and structural investigations on phosphoribosylpyrophosphate synthetase from *Mycobacterium smegmatis*. PLoS One. 2017 Apr 18;12(4):e0175815.

2. 和文発表

1) 鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、柴山恵吾、どこでも誰でも より長く ナノポアシークエンサーが研究の常識を変える! ナノポアシークエンサーによる薬剤耐性菌ゲノムの解析 実験医学 36(1):21-26, 2018 年 1 月

2) 柴山恵吾、薬剤耐性(AMR)対策 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)からみた AMR 対策の課題と展望、公衆衛生 81(10):798-803, 2017 年 10 月

3) 佐々木裕子、マイコプラズマ否定試験、*Mycoplasma pneumoniae* の取り扱いについて、実践 微生物試験法 Q&A、佐々木次雄、棚元憲一、菊池 裕編、じほう、東京、p52-55、2017 年 4 月

4) 石村さおり、折田環、小林敦子、加藤はる. Binary toxin 産生性 *Clostridioides difficil*e (*Clostridium difficile*) による市中型偽膜性大腸炎の 1 例. 日本臨床微生物学会誌 2917; 27(4):93-99.

5) 加藤はる、朝倉宏、百瀬愛佳. ボツリヌス症って、どんな病気？Information PLAZA 健康教室（東山書房）2017; 68 (12):76-79.

6) 加藤はる 監修. 乳児ボツリヌス症の本当のことが知りたい！！ひよこクラブ7月号 株式会社ベネッセコーペレーション 平成 29 年 6 月 15 日発行 p22-23.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shibayama K, Experience of Japan in working on surveillance of antimicrobial resistance. Workshop on Sharing Experience in Intersectoral Coordination. Oct. 2017, Hanoi Vietnam.

2) Shibayama K, National Surveillance system for Antimicrobial Resistance and Adaptation of GLASS in Japan. 20th General Meeting of the Korean Society for Clinical Microbiology, July 2017.

3) 柴山恵吾、抗微生物薬適正使用のためのワンヘルス・サーベイランス(英語)、Tokyo AMR One-Health Conference, Nov. 2017.

4) Kamachi K, Otsuka N. Molecular epidemiology and pathogenesis of *Bordetella* spp.: Significant decrease in pertactin-deficient *B. pertussis* isolates, Japan. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases, Sep. 2017, Tokyo.

5) Iwaki M. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* causing diphtheria-like illness to humans. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases. September 2017, Tokyo.

6) Rimbara E, Mori S, Suzuki M, Hyun K, Shibayama K, Mechanism of resistance to ceftriaxone in *Helicobacter cinaedi*. The 19th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms, Sep. 2017, Nantes France.

7) Mori S, Honda N, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. The development of novel structure based inhibitors of diadenosine phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*. IUMS2017, July 2017, Singapore.

8) Mori S. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases, Sep. 2017, Tokyo.

9) Mori S, Honda N, Kim H, Rimbara E, and Shibayama K. The catalytic activities of diadenosine polyphosphate phosphorylases from mycobacteria. The 52nd US-Japan Mycobacteria Panel Meeting, March 2018, Niigata.

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) 矢原 耕史, Meric Guillaume, Bentley Stephen,

Parkhill Julian, Didelot Xavier, Kelly David, Sheppard Samuel, 鈴木 仁人, 柴山 恵吾. 細菌の遺伝多型と表現型のゲノムワイド関連解析 最近の 2 つの研究から. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

3) 柴山恵吾、環境・動物・食品に分布する耐性菌がヒトの感染症に与える影響を考える 薬剤耐性調査に関する国内外の動向. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

4) 吉田 真歩, 矢原 耕史, 柴山 恵吾、細菌分泌系と病原性(Type VI secretion systems in bacterial pathogens causing nosocomial infections)、鈴木 仁人, 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

5) 片山 由紀, 松井 秀仁, 高田 徹, 花木 秀明, 柴山恵吾, 矢原 耕史, 高久 智生, 落合 友則, 小松 則夫, 畦地 拓哉, 笹野 央, 宮崎 元康、MAIDI-TOF MS データを用いたバンコマイシン低感受性 MRSA 株の自動判別、朝倉 弘太, 第29回日本臨床微生物学会総会、岐阜、2018 年 2 月

6) 小出 将太, 大崎 裕介, 谷口 唯, 林 航, 長野 則之, 奥住 捷子, 佐藤 智明, 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、国内における MRSA 流行クローンの変遷に関する調査研究、小坂 駿介 第29回日本臨床微生物学会総会、岐阜、2018 年 2 月

7) Nao Otsuka, Yukihiro Hiramatsu, Keigo Shibayama, Kazunari Kamachi. Construction of a novel vaccine strain *Bordetella pertussis* Tohama co-producing Fim2 and Fim3. 第 91 回日本細菌学会総会, 福岡, 2018 年 3 月

8) 神谷元, 蒲地一成. 2016 年の百日咳流行とその細菌学的解析. 第91回日本細菌学会総会, 福岡, 2018 年 3 月

9) 村田幸樹, 見理 剛, 中根大介, 柴山恵吾, 西坂崇之. マイコプラズマの滑走速度を示す分子速度計. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

10) 福田 靖、妹尾充敏、本田 仁、田頭保彰、加藤はる、柴山恵吾. 日本の *Clostridium difficile* 感染症疫学研究報告:細菌学的検査法における比較検討. 第 91 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017 年 4 月

11) 田頭保彰、妹尾充敏、福田 靖、加藤はる、本田 仁. 日本の *Clostridium difficile* 感染症疫学研究報告:発生率とリスクファクター. 第 91 回 日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017 年 4 月.

12) 妹尾充敏、福田 靖、本田仁、田頭保彰、加藤はる、柴山恵吾. 日本の *Clostridium difficile* 感染症疫学研究報告:タイピング解析. 第 91 回 日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017 年 4 月.

13) 山本俊信、谷川直人、加藤千博、藤田浩平、本田千晴、横山多佳子、加藤宗博士、宇佐見郁治、青山由紀子、三宅真由美、加藤はる、妹尾充敏、福田靖. 当院における *Clostridium difficile* の検出状況と感染対策. 第 91 回 日本感染症学会総会・学術講演会、東京 2017 年 4 月.

14) 加藤はる. シンポジウム 5 *Clostridium difficile* 感染症の最新知見: *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* 感染症の local epidemiology. 第 66 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2017 年 11 月.

15) 加藤はる. 教育セミナー8 : *Clostridium difficile* 感染症への対応は適切な細菌学的検査から始まる. 第 66 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2017 年 11 月.

16) 加藤はる.ランチョンセミナー:プラクティカルな *Clostridium difficile* 感染症の細菌学的検査. 第 29 回日本臨床微生物学会総会学術総会. 岐阜市、2018 年 2 月.

17) 古川 奈々、太田久美子、加藤 はる. PCR-ribotype 002 *Clostridium difficile* による重症 2 例を含む集団発生事例. 日本臨床微生物学会総会学術総会. 岐阜市、2018 年 2 月

18) 土谷 愛、 松野 夏純、小菅 葉子北尾 泉、小泉充正、松本 裕子、太田 嘉、加藤 はる. 中毒性巨大結腸を来した *Clostridium difficile* 劇症腸炎の死亡例. 日本臨床微生物学会総会学術総会. 岐阜市、2018 年 2 月.

19) 加藤はる. 教育講演:ボツリヌス疑い発生時の対応について ー重要な事と重要でないことー. 第30回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会. 岐阜市、2018年2月.

20) 加藤はる. シンポジウム 12: 日本における *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* の流行状況と感染対策:日本の医療施設における *Clostridium difficile* 感染症:多施設前方視研究から. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会. 東京、2018年2月.

21) 村端真由美、加藤はる、妹尾充敏、矢野久子. 健康小児の *Clostridium difficile* における消化管保有の現状. 第33回日本環境感染学会総会・学術集会. 東京、2018年2月.

22) 加藤はる. 特別講演:日本の医療機関における *Clostridium difficil*e 分子疫学:多施設前方視研究から. 第48回日本嫌気性菌感染症学会総会・学術集会 広島市、2018年3月.

23) 妹尾充敏、加藤はる、岩城正昭、柴山恵吾. Development of DNA vaccine for *Clostridium difficile* infection. 第91回日本細菌学会総会. 福岡、2018年3月

24) 岩城正昭. コリネバクテリウム・ウルセランス感染症-ジフテリア類似の人獣共通感染症-. ワンヘルスに関する連携シンポジウムーヒトと動物の共通感染症ー(厚生労働省主催、日本医師会、日本獣医師会共催) 別府, 2018年2月

25) 金玄, Ruwen Jon, 森茂太郎, 林原絵美子, 柴山恵吾、イソニアジド耐性に係る結核菌由来 KatG 変異の機能解析. 第 91 回日本細菌学会総会, 福岡, 2018 年 3 月

26) 林原絵美子, 柴山恵吾、*Helicobacter cinaedi* における薬剤排出ポンプと薬剤耐性との関連 第 23 回日本ヘリコバクター学会, 函館, 2017 年 6 月

27) 林原絵美子, 鈴木仁人, 矢原耕史, 森茂太郎, 金玄, 柴山恵吾, *Helicobacter cinaedi* のアウトブレイク由来株を含むゲノム解析, 福岡, 2018 年 3 月

28) 楠英樹, 田中俊之, 河野俊之, 松橋一彦, 森茂太郎, 細田和男, 若松馨, 浜口功, HTLV-1 Env 由来ペプチドとニューロピリン 1 b1 ドメインの相互作用解析, 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 大阪, 2017 年 8 月

3. その他(紀要・ホームページ等)

紀要

1. 国立感染症研究所 HP 感染症の話 「ボツリヌス症とは」 https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/7275-botulinum-intro.html

2. 院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)のデータ提出・活用のための説明会資料インターネット公開 https://janis.mhlw.go.jp/participation/material/2017_lecture_4_kato.pdf

3. Mori S. *Mycobacterium avium* 由来ヌクレオチド加リン酸分解酵素の N 末端削除変異体の結晶化と結晶学的諸性質. Photon Factory Activity Report 2016 #34 Part B, No.174, 2017

6. 寄生動物部

部 長　久枝 一

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ク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、国内外の症例に係わる感染源の解析・調査を進めた。野生鳥獣肉（ジビエ）を汚染する病原体（寄生虫・細菌）の検査法の構築とその方法による汚染実態の調査に取り組んだ。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、マラリアに関しては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、文部科学省科学研究費補助金、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、野崎智義部長の退職に伴い10月に新部長として久枝 一が着任した。再任用職員として山﨑 浩、杉山 広、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、協力研究員として下川周子、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、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、福本準平、川野哲郎、鈴木桜織、Ratna Wahyuni、Rahel Wacker、高津正子、Yulia Anita、Sanjib Kumar Sardar 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、梅木優子、臨時研究補助員として松崎素道、今田美穂子、中曽根英子、荒木球沙、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. 原虫症診断法・検出法・不活性化法の開発

(1)抗赤痢アメーバポリクロナル抗体の開発

赤痢アメーバ細胞表面抗原を認識するポリクロナル抗体を作製しその性能を評価した。免疫染色ではアメーバ栄養体の細胞周囲の良染が認められ、糞便試料中での検出が容易であった。さらにブロッティングまたELISA法などの免疫学的検出法にも利用可能であった。一方シストは無反応であった。タンパク質濃度として500アメーバ細胞相当/mlの検出感度が得られ、ジアルジア、クリプトスポリジウム抗原との交差は極めて低く、イムノクロマトへの応用も可能であることが示唆された。有用なポリクロナル抗体ではあるが、糖タンパク質を含む多様な抗原を認識するため実検体(糞便や肝膿瘍液)においては感度、特異性を確保するのは難しいことが予想され、抗体のモノクロ化が重要と考えられた。

[八木田健司、柳川泰昭(国立国際医療研究センターACC)]

2. 蠕虫症診断法・検出法の開発

(1)実用化に向けた幼虫移行症複合検査キットの評価

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疾患を同時に鑑別診断するため、抗体検査を目的としてイムノクロマト法を用いた複合型診断キットを作成しその評価を行った。キットに用いた抗原は、トキソカラ症と顎口虫症にはrecombinant抗原を、孤虫症には生化学的に精製したnative抗原をそれぞれ用いた。また、抗体検出系は酵素系から金コロイド系に改良し、両者を比較した。その結果、いずれの幼虫移行症とも感度、ならびに特異性は酵素系のものと同等の結果が得られた。さらに、国内では希少感染症である肝蛭症の血清検査のために、肝蛭のrecombinant抗原を用いた診断キットの試作も行った。

[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)]

(2)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。今年度標的遺伝子として選択したのは、cytochrome c oxidase subunit 1 遺伝子 (cox1) 、cytochrome b(cob)、NADH dehydrogenase subunit 2(nad2)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]

(3)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(続報)

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。懐中電灯のような小型照射装置も低価格で販売されており、これを用いても、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。ただ、筋肉内の虫体は蛍光を発せず、虫体は検出されなかった。そこで筋肉を包丁で細切し(3〜5mm程度)、各細切片をガラスで挟んで蛍光を照射すると、アニサキス虫体が発光することを観察した。カツオのような筋肉が褐色の魚種でも発光を認めた。検査材料の調整に工夫を加える事で、紫外線ブラックライトによるアニサキスの検査が実施できる可能性が示された。

[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－

従属栄養細菌数の応用として、旧簡易水道配水池の従属栄養細菌数を測定した。配水池内部の水面上と下の内壁面より従属栄養細菌数を測定した結果、水面下の水道水が触れている部分は少なく、水面より上の触れていない部分の方が多数であった。残留塩素は有効と改めて認識した。消毒効果を低下させないように、適切な清掃と、塩素濃度の管理を徹底しなければならないと考えられた。トウガラシ微斑ウイルスの凝集沈殿-砂ろ過による除去率は各種水系感染症ウイルスと同程度であり、水道におけるウイルス指標としての活用が期待されている。大容量の試料水に対応可能な、ナノセラム陽電荷膜とタンジェンタルフローUF 膜を併用したウイルス濃縮法を構築した。浄水場Ａにおいて、トウガラシ微斑ウイルスは、凝集沈殿-砂ろ過処理により 1.6-Log 減少し、塩素消毒により 0.2-Log(PCR 法評価)減少した。この結果は、水系感染症ウイルスの 1.6-Log の減少と、4.7-Log 以上の不活化に相当し、合計で 6.3-Log 以上の処理性があったと推察された。クリプトスポリジウム対策を目的とした、濁度 0.1 度以下の管理に否定的な意見が聞かれることがあり、現状を確認した。水道水質データベースによれば、浄水場出口の最高値濁度で 0.1 度の超過がわずかに認められた(3.9%、24 系統/611)。9 割以上は目標を達成できており、問題のある系統を丁寧に対応すべきと考えられた。高感度粒子計を用いたリアルタイムな処理工程の把握と、後 PAC を用いたいわゆる二段凝集の実施例について検討した。実際に小雀浄水場ではきめ細やかな制御を行い、清明な浄水の供給を達成していた。二段凝集と高感度粒子計の活用は、他の浄水場にも提案できる方法と考えられた。

[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)、春日　郁朗(東京大学大学院工学研究科)]

(2)旧簡易水道配水池内の従属栄養細菌数の調査

水道事業体の管理する配水池は、一万トンを超える大規模なものから数十トンに留まるものまであり、中山間地域は小容量が多数の傾向にある。それら配水池の維持管理は指針等により示されているが、実際の運用は自治体ごとの判断によるのが現状である。本研究では、相当年数経過した配水池内部の従属栄養細菌数を検討した。残留塩素による細菌に対する抑止は有効であり、維持管理の徹底が必要と改めて認識した。外見上では茶色の膜が付着し汚れているように見えても、水道水が触れている壁面からの検出はとても少なく、触れていない部分の方が多かった。残留塩素による滅菌効果を考慮した水位の設定と、利用量に見合うダウンサイジングや、単に水を入れ替える清掃ではなく、沈殿物や内壁面の膜の除去が望ましいと考えられた。

[中嶋健二(浜松市上下水道部)、泉山信司]

(3)配管内に付着した従属栄養細菌数の測定

水道の配水管は、地点によっては残留塩素が低い状態であることも考えられる。相当年数経過した配水管内部がどのような状態なのか、新築の引き込み工事にて採取される穿孔片から、従属栄養細菌数を指標として調査を行なってきた。配水管内は経年の如何に関わらず、適度な水流が確保され、遊離残留塩素の有効な水道水が存在していれば、従属栄養細菌の検出は少ないと判明した。経年劣化に伴い配水管に多少の形状の変化や、茶色の鉄錆のようなものの付着物が認められていたとしても、細菌の増殖する可能性はかなり低いと考えられた。

[中嶋健二(浜松市上下水道部)、泉山信司]

(4)アルミニウムとアルツハイマー病の関係、濁度 0.1 度管理の実態、クリプトスポリジウム対策を目的とした二段凝集と高感度粒子計活用の提案

クリプトスポリジウムは塩素消毒に抵抗性があることから、水道を介して大規模な集団感染を引き起こすことが問題となる。汚染の恐れが高い施設では、ろ過池またはろ過膜の出口の濁度を 0.1 度以下に維持することが可能なろ過設備(急速ろ過、緩速ろ過、膜ろ過等)を整備し、濁度を常に 0.1 度以下に維持することが求められている。しかし藻類や凝集不良といった、クリプトスポリジウム以外の原因で 0.1 度が達成できないことがあり、濁度の対策に対して否定的な意見が出されることがある。かつて凝集剤由来のアルミニウム摂取が原因でアルツハイマー病を発症するとの仮説もあったが、現在は否定的で、水道以外からの摂取が多いと考えられた。紫外線処理もあるが、配水系の汚れを防ぐ意味で、濁質の除去は重要と考えられた。濁度管理には、濁度計に加えて、より高感度な粒子計が利用可能である。処理の悪化を早期に見つける方法として、小雀浄水場の粒子計の活用例を検討した。

粒子数が増加傾向になると、ろ過濁度上昇時の対応と同様に、処理としては前 PAC 増量(通常の凝集沈殿処理におけるポリ塩化アルミニウムの増量)、後 PAC 注入(いわゆる急速ろ過前の二段凝集)、pH 調整、前塩素処理の強化等々を行い、濁度 0.00 度の良好な処理が維持されていた。
[泉山信司、浅野峰子(横浜市水道局小雀浄水場)]

(5)二種の抗クリプトスポリジウムモノクローナル抗体によるオーシスト二重染色
顕微鏡観察によるクリプトスポリジウムの判別の精度向上と判別作業の簡易化を目指し、抗原認識部位の異なる二種類の抗クリプトスポリジウム抗体を用いて、クリプトスポリジウムオーシストの二重染色を試みた。本年度は、二重染色に用いる抗体の選定と二重染色時の染色性の確認を行った。評価した 3 種の抗体のうち、二種(B2 および D8)が染色性に優れていた。両者を用いて二重染色を行ったところ、D8 の蛍光強度が低かったものの、オーシストが両抗体に染色され、蛍光像が観察された。今後、染色条件のより詳細な検討、特異性の確認、実試料への適用と従来試験法との比較を行い、微分干渉像観察によらない、簡易な判別法としての確立を目指す。
[橋本温(県立広島大学)、泉山信司]

(6)pH10 の温泉におけるモノクロラミン消毒
pH が高い温泉では遊離塩素消毒に困難をきたしており、代替方法として、結合塩素(モノクロラミン)による消毒に期待が寄せられている。これまで、pH8 ないし 9 の浴場施設では消毒効果が確認されているが、さらに高 pH における効果は未確認である。本研究では、pH10 程度の温泉施設において、モノクロラミン消毒の実証試験を行った。試験期間は6週間とした。試験前に1回、期間中は1週間に1回、営業終了後に浴槽水の採水および配管のふきとりを行い、レジオネラ属菌は検出されなかった。レジオネラ属菌増殖の温床となる自由生活性アメーバ、衛生指標菌である大腸菌群も不検出であった。一般細菌数と従属栄養細菌数は、モノクロラミン導入後に、いずれも減少した。モノクロラミン消毒は、pH10 程度の高 pH であっても効果があり、良好な衛生状態を維持することができた。
[栁本恵太、堀内雅人、山上隆也、植松香星、久田美子(山梨県衛生環境研究所)、森康則(三重県保健環境研究所)、長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、杉山寛治、田中慶郎(株式会社マルマ)、市村祐二(ケイ・アイ化成株式会社)、泉山信司]

(7)赤痢アメーバ抗体検査試薬生産中止による派生動向への影響
2017 年 11 月、間接蛍光抗体法「アメーバスポット IF」(シメックス・ビオメリュー、仏)製造中止により、国内で保険適用可能な赤痢アメーバ抗体検査が不可能となっている。IDWR によれば、第 1 週から第 13 週まで(およそ 3 月末まで)の赤痢アメーバ症(腸管と腸管外)届出数を年次で比較すると、2018 年度の累積届出数は 190、これは 2015-2017 までの同時期における累積届出数より 25-40%少ない。特に腸管外アメーバ症に限ってみると 2018 年度届出数は 7 で、2015-2017 の同時期より 65-78%少ない。赤痢アメーバ症(腸管と腸管外)届出数は 2017 年度まで増加傾向にあり、2018 年度の状況は赤痢アメーバ抗体検査数が大幅に減少した結果、抗体検査が確定診断に結びつく肝膿瘍などの腸管外アメーバ症が診断されず、それに伴い届出数も減少したものと考えられる。赤痢アメーバが原因でありながら診断されず原因不明となる症例の増加、また赤痢アメーバ症全体の neglect 化が懸念される。
[八木田健司]

(8)シカ肉サルコ汚染の定量
ジビエとして利用の進むシカ肉が関与するサルコシスティスによる有症事例が近年報告されている。これまでの2つの有症事例のシカ肉について、少なくとも 2 種類の Sarcocystis が検出されている。そこで今回定量 PCR 系を開発し、それらの汚染量を定量的に評価した。その結果、筋肉内では多量に認められる小型シストを形成するタイプ(S.pilosa) は有症事例において 10^5 ブラディゾイト/筋肉gであり、これに近い汚染は野生シカにも認められた。一方、大型シスト形成タイプは小型タイプのおよそ 1/100 の存在量が示された。野生シカの Sarcocystis 汚染の評価に定量 PCR 系は有用と考えられ、ヒトの健康被害が特定の種、あるいはブラディゾイトの総量に関係するのか、今後の課題と思われた。
[八木田健司、青木佳代(滋賀県衛生科学センター食品細菌)]

(9)日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 沖縄由来高病原性クローンの解析

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I-III)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、まず手始めとして非常に興味深い表現型を持つ沖縄分離株について先行して解析を行った。この株は、従来のタイピングによると弱病原性であるはずのタイプ II に近縁な日本独自ハプログループ(HG)であるにもかかわらず、マウスへの病原性は高病原性 HG であるタイプ I と同等であるという興味深いフェノタイプを持っていた。この株の既知の病原因子である ROP5, 16, 18 について解析した結果、いずれの遺伝子も高病原型と一致しており、この株の高病原性の原因の一つである可能性が示唆された。またこの株はマウス同様ブタに非常に強い病原性を示した。通常、成長したブタはトキソプラズマに感染しても無症状の場合が多いが、本株を性成熟したブタに接種したところ重度の間質性肺炎を呈してへい死した。ブタにおけるトキソプラズマ症は本州では近年ほとんど報告されておらず、その発生はほぼ沖縄に限られる。この株だけでなく、本州では見られない食肉家畜に強い病原性を示す株が、他にも沖縄には分布している可能性がある。

[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)、永宗喜三郎]

イ. 本州由来高病原性クローンの解析

さらに我々は本州のネコから分離されたある株にも着目した。この株は、その遺伝子型が非病原性とされる TypeIII 株に極めて近かった。にもかかわらずシストをマウスに経口感染させたところ非常に強い病原性を示し、若齢のニワトリに感染させた場合も一部がへい死した。一方、1か月齢以上のニワトリやブタに感染させた場合は病原性を示さなかった。しかしいずれも長期間にわたって抗トキソプラズマ抗体の産生がみられた。特にブタでは感染後 6 週間以上たってから抗体価の上昇が見られており、不顕性感染が成立していることがほぼ確実である。人への病原性は現時点ではっきりしないが、本株のように潜在的に強い病原性を持つ株が、ニワトリやブタといった食肉家畜に無症状のまま長期間持続感染しうるという事実は、食の安全上非常に大きな問題である。なおこの株は既知の病原性に関与する遺伝子がいずれも非病原型であった。このため、未知の病原性既定遺伝子を有しているものと思われる。現在、病原性規定遺伝子を探索中である。

[福本隼平、高島康弘(岐阜大学)、松崎素道、永宗喜三郎]

ウ. 日本由来トキソプラズマのゲノムワイド SNPs 解析

今回新たに上述の 2 株を含む、北海道から沖縄まで日本各地から分離された6株のトキソプラズマについてゲノム情報を取得し、すでに報告されている世界各地の 61 株のゲノム情報と合わせて全ゲノム SNP 解析を行った。1,847,338 箇所の SNP を用いた集団構造解析により、1 株は系統 C に属する HG 3 の原虫株とほぼ同一であり、3 株は系統 D に属する HG2 の中で日本特異的な集団を形成していることが示された。残り2株はそれぞれ系統Aと系統Dとの類縁性が示されたが、既知 HG とは一致せず、複数の系統間の交雑により成立した株だと推定された。そこで染色体を既知 HG への近縁性で塗り分ける Chromosome Painting を行ったところ、この沖縄由来の 2 株は既知 HG 間の交雑のみでは説明できず、7番目の未知系統との交雑により成立した株だと推定された。HG3 近縁株は上述の通り既知の HG3 株とほぼ同一の遺伝型であり、わずか1,806箇所の一塩基変異のみが認められた。しかしこの株はHG3株とは異なりマウスに対しシスト特異的な病原性を示すことから、未知の病原性因子の関与が疑われる。そこで一塩基変異に限らず、アミノ酸配列が変化する遺伝子を列挙したところおよそ100遺伝子に絞り込むことができた。今後、発現変動解析によって候補をさらに絞り込んだ後に機能解析を行うことで、食肉由来トキソプラズマ症に関わるであろう病原性因子の同定につながるものと期待される。沖縄県は人獣ともにトキソプラズマ症の発症数が多いが、その一因としてそもそも沖縄に分布するトキソプラズマの病原性が高いという可能性が考えられる。今回沖縄に未知系統との交雑に由来する原虫が分布していることが明らかになったが、この未知系統原虫そのものの素性は全く明らかでない。今後

はこの未知系統原虫およびそれに由来する交雑原虫をさらに探索し、それらの病原性の検討を行っていきたい。
［福本隼平、松崎素道、永宗喜三郎］

2. 蠕虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査
（1）我が国のアニサキス症に関連する疫学調査
ア. ニシンにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査
2017年2および3月に都内の魚介類販売店3箇所で購入したニシン11尾を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。その結果、検査した11尾総てから合計166隻のアニサキス幼虫が検出された。1尾あたりの寄生数は2～50隻（平均15.1隻）で、このうちの4隻（4尾に由来）は筋肉から検出された。また刺身として販売されていたニシンも検査したが（約120切）、これらは総てアニサキス幼虫が陰性であった。筋肉からアニサキス幼虫が検出された個体もあることから、ニシンの生食にあたっては、事前に冷凍するなどの注意が必要と考えられた。
［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. 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・続報
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・収集を継続した。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」が適用されていた。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採用されていた。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、切り取って捨てることも行われていた。さらに刺身・寿司には切り目を入れて、アニサキス幼虫を切断して提供するとの工夫を凝らす店舗も見掛けた。消費者に対しては、「アニサキス症にならないために十分な加熱と－20□で48時間以上の冷凍が必要」との掲示を行う店舗があった。このような表示に反応して、冷凍品を選択して購入する消費者も見られた。
［杉山 広，森嶋康之］

（2）愛知県におけるエキノコックス流行調査
2014 年 3 月、愛知県阿久比町において捕獲されたイヌ 1 頭からエキノコックス（多包条虫）虫卵が検出され、北海道以外の都府県からは第二例目となる「犬のエキノコックス症」として届出がなされた。当該犬は知多半島において野生化したイヌの 1 頭であり、これらの個体群におけるエキノコックスの浸淫状況を知る目的で 2015 年度より流行調査を実施している。2017 年度は 3 市町由来の 4 検体から陽性例が検出され、知多半島の一定の範囲においてエキノコックスがすでに定着したものと考えられた。
［森嶋康之，杉山 広，山﨑 浩，八木欣平（北海道立衛生研究所）］

（3）米国に分布する肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* に関する検討
アメリカ大陸にも後睾吸虫科 Opisthorchiidae に属する肝臓寄生の吸虫は分布する。本属の模式種は *A. ovalis* Barker, 1911 で、米国のミシシッピ川に生息するスベスッポンに由来

する。また米国には獣医学上の重要種として、ネコなどの哺乳動物から *A. pseudofelineus* (Ward, 1901)が検出され、さらに鳥類には *A. elongatus* Gower, 1939 が寄生することも知られている。そこでアメリカ大陸における *Amphimerus* 属吸虫の比較分類学的な検討を進めることを目的に、米国ウィスコンシン州のオークレア地区でブルーギルを採集し、*A. elongatus* のメタセルカリア検出に取り組んだ。得られたメタセルカリアを用いて各種動物への感染試験を行ったところ、本虫はニワトリだけでなく、ハムスターなどの哺乳類にも感染し、成虫にまで発育することを初めて確認した(既報ではマウス、ラットおよびネコが使用され感染は不成立)。現在、後睾吸虫科における本虫の分子系統関係の解析を進めている。

[杉山 広, 森嶋康之, 高木秀和(愛知医大), 板垣 匡(岩手大)]

(4)2016 年に発生した旋毛虫集団食中毒事例において原因食品の保存・加熱等が発症率へ与えた影響の評価

一昨年末に茨城県で発生した旋毛虫症食中毒は、我が国で第 4 例目となる集団発生事例である。これまで国内で発生した本症集団事例はいずれもクマ肉を原因とするが、肉が生あるいは冷凍保管品の非加熱状態で提供された過去の 3 事例と異なり、本事例は原因肉に 1 回または 2 回の加熱処理が行われていたことが茨城県の調査で明らかになった。すなわち、2016 年 11 月 24～26 日提供品は患者調理品、同 11 月 29 以降提供品は患者調理品を小分け冷凍保管し、提供の都度、解凍再加熱を行ったものである。そこでこれらの影響を評価するため、処理前後の発症率を検証した。

[森嶋康之, 杉山広, 山﨑浩, 海野友梨(茨城県衛生研究所)]

III. 分類・同定・臨床

1. 皮膚病変を伴う Balamuthia 感染事例

アメーバ性脳炎の疑い症例(80 歳男性)につき、遺伝子検査ならびに免疫組織学的検査を行い、Balamuthia 感染を確認した。本症例では皮膚組織の病変が確認されており、症例の医療機関では生検例を含めて 5 回病理検査を行ったが原因特定に至らなかった。感染研での検査では生検皮膚組織中に Balamuthia を確認しており、Balamuthia 感染では重要な外部所見とされる皮膚病変を伴う Balamuthia 感染として、本症例は貴重なケースとなった。本症例では肺のアメーバ感染も確認され、中枢を含め播種性のアメーバ感染であったことが明らかとなった。また患者血清の Anti-Balamuthia IgG を ELISA で測定し、陽性であることも確認された。

[八木田健司]

2. 国内単離原虫株の薬剤感受性試験

(1) 赤痢アメーバのメトロニダゾール感受性試験

国立国際医療研究センターを受診した赤痢アメーバ患者のうち、肝膿瘍患者、大腸炎患者、無症候性患者の膿瘍あるいは糞便から赤痢アメーバの無菌培養株を立ち上げた。臨床単離株の *in vitro* メトロニダゾール感受性試験を行ったところ、これまで実験室株の HM1:IMSS cl6 より耐性を示す株は得られていない。

[柳川 泰昭(国立国際医療研究センター)、津久井 久美子、八木田 健司、小林 正規(慶応大学)、野崎 智義(東京大学)、中野 由美子]

(2) ジアルジアのメトロニダゾール感受性試験

国立国際医療研究センターを受診したジアルジア症患者の糞便からシストを回収し、無菌培養の作製に成功した。臨床単離株の *in vitro* メトロニダゾール感受性試験を行ったところ、実験室株の WB 株と同レベルの IC50 値を示した。

[柳川 泰昭(国立国際医療研究センター)、泉山 信司、中野 由美子]

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

赤痢アメーバゲノムは 1,500 弱のコンティグに分割された状態で比較しづらいことから、その整備を優先して行った。PacBio で取得したゲノム配列の数百コンティグに対して、Chromatin conformation capture sequencing (Hi-C)の方法を適用した所、35 染色体相当(推定)にまで配列をつなぐことができた。すなわちアセンブリは劇的な向上を果たした。Companion を用いて遺伝情報のアノテーション(注釈)を進めた所、複数の遺伝子を含む領域単位が別の場所にも重複して存在する Segmental duplication が複数認められた。この領域単位の重複が、これまで配列のアセンブリが困難だった理由と考えられた。PBJelly を用いて配列のギャプ数十程度を埋めたが、まだ 100 程度は解消されず、今後の課題として

残った。多コピーの遺伝子の問題等の理解が可能となり、現時点で最も信頼性のある基準配列を得ることができた。赤痢アメーバの純培養（axenic）は困難であり、国内分離株の収集の律速段階となっていたが、細菌との混合培養（monoxenic）からの配列取得であっても有用であることが判明し、臨床分離株の配列取得も進めた。

［泉山信司、山崎浩（寄生動物部）、川野哲郎、Dwi Peni Kartikasari、野崎智義（東京大学大学院医学系研究科）］

（2）ハウスダストより検出された AAMs（アメーバ共生微生物）の遺伝子解析

日常的に暴露しているハウスダストの中には自由生活性アメーバが生残し、かつその中に共生体 AAMs をもつものが検出される。今回、その AAMsに関して 16SrRNA 遺伝子解析による同定を試みた。検出した AAMs は細菌あるいはリケッチャに属し、クラミジアは見られなかった。ハウスダスト AAMs には既知の AAMs および他の共生微生物との近縁関係が認められた。既知の病原微生物との近縁関係は見られなかったが、Stenotrophomonas maltophilia（ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌、院内感染、菌血症、薬剤耐性）と高い相同性（99%）を示すものもみられ、ハウスダスト AAMs にはヒトの健康に関連する可能性のある微生物との近似性が見られた

[八木田健司]

（3）レジオネラ属菌のアメーバ内生残性促進物質

難培養性のレジオネラ属菌を用いて、菌のアメーバ内生残および分裂増殖におけるファゴソーム形成およびライソゾーム融合の阻害剤効果を調べた。ファゴソーム内活性酸素産生を阻害するアポシニン、およびリソゾームの内部pH を中性化しその加水分解酵素作用を阻害する塩基性アミンのクロロキンならびに塩化アンモニウムは、いずれもアメーバ感染率を増加させる効果が認められた。アポシニンと塩化アンモニウムによる同時暴露実験では、アメーバ感染率増加に明確な相乗効果は認められなかった。一方ヘパリンにこれらの物質との相乗効果の可能性が示された。難培養性レジオネラ属菌のアメーバ内増殖促進までは至らなかったが、その生残性を高めることが可能であることが示された。

[八木田健司、泉山信司]

（4）トキソプラズマの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. トキソプラズマ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生化学的な解析から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。我々は 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。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。現在細胞質内カルシウム濃度をモニタリングすることによってこの遺伝子の機能と細胞内カルシウム恒常性との関係を解析中である。

［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た。このようにして同定したリクルート因子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。現在既報のリクルート因子である MAF1 のノックアウト株も作成し、それぞれの異同について検討中である。

［福本隼平（筑波大学）、佐倉孝哉、永宗喜三郎］

（5）赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア．マイトソーム分裂を制御するダイナミン関連タンパク質の同定

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形成・維持機構を知るためオルガネラ分裂に関与すると考えられたダイナミン関連タンパク質（dynamin-related protein; DRP）の解析を行った。赤痢アメーバゲノムにコードされる 4 種類の DRP の局在を検討したところ、2 種類が細胞質、2 種類が核に局在した。細胞質に局在したDRP(DrpA, DrpB)についてマイトソーム分裂との関連を解析した結果、DrpA, B 共にマイトソーム分裂に関与すること、ヘテロダイマーを形成して機能することが示された。赤痢アメーバマイトソームの形成機構の一端を明らかにした。

[牧内貴志（東海大学）, Herbert Santos, 橘裕司（東海大学）野崎智義（東京大学）]

イ．トロゴサイトーシス特異的 AGC キナーゼの同定

赤痢アメーバは生きた細胞をちぎり切りながら取り込み(トロゴサイトーシス)、死んだ細胞は丸呑みする（ファゴサイトーシス）。これらの過程を分ける分子機構はこれまで明らかでなかった。我々はフォスファチジルイノシトール 3－リン酸（PIP3）分子の探索により見いだしたAGCキナーゼの一つがトロゴサイトーシス特異的に機能することを見いだした。トロゴサイトーシスは免疫細胞でも報告されている。真核生物に根源的に重要な分子過程の制御に新しい知見を与えた。

[Somlata（Jawaharlal Nehru 大学・Jamia Millia Islamia 大学）, 津久井久美子、野崎智義（東京大学）]

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。我々は赤痢アメーバ内因性の PI3P エフェクターとして sorting nexin (SNX)2 分子を同定した。これらは PX ドメインのみで構成され、PI3P に特異的に結合した。GFP 融合タンパク質として発現させ、ライブイメージングを行ったところ、生きた CHO 細胞貪食時、SNX1, SNX2 の順で貪食胞へ動員されるようであった。今後定量的な解析が必要である。さらに SNX1, 2 の遺伝子発現抑制株の樹立に成功した。これを用いて SNX が制御する細胞機能を明らかにしたい。

[渡辺菜月（筑波大学）、野崎智義（東京大学）、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各遺伝子発現抑制株のマトリゲル侵入効率を評価した。ここから CPBF2 遺伝子発現抑制株で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た。しかし CPBF2 遺伝子発現抑制株での総アミラーゼ活性はコントロール株に比べて変化しなかった。赤痢アメーバの代表的な α-amylase 3 遺伝子について遺伝子発現抑制株を作成し、マトリゲルへの侵入能力を評価したが、変化が見られなった。以上よりマトリゲル侵入能力はアミラーゼ活性と独立した現象と考えられた。そこで CPBF2 遺伝子発現抑制株のトランスクリプトーム解析を行い、侵入能力変化の原因を明らかにしていく。また、CPBF のリガンド特異性を制御する分子機構を明らかにするため、小麦胚芽無細系を用いてレセプター、リガンドの同時発現による結合特異性を検討している。

[丸茂このみ（筑波大学）、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（東京大学）、津久井久美子]

オ．赤痢アメーバレトロマー複合体構成分子 Vps29 の金属配位による機能変化

レトロマー複合体の構成分子である Vps29 はメタロフォスファターゼ構造を取ることが知られている。そこで赤痢アメーバ Vps29 の構造解析から配位金属とアミノ酸を同定した。X 線構造解析と等温滴定型カロリメトリー（ITC）により、赤痢アメーバ Vps29 は亜鉛結合タンパク質であることが示された。また、金属結合ポケットの構造は他種生物のそれと異なることが示された。さらに亜鉛に配位するアミノ酸をアラニン置換した変

異体では金属配位の阻害が見られた。しかし亜鉛配位変異体でも他のレトロマー複合体構成分子、Vps26, Vps35 との結合やシステインプロテアーゼ（CP）の分泌量に変化はなかった。一方で Vps29, Vps29muntant の発現は細胞内 CP 量を低下させた。以上から、Vps29 は他種生物同様金属タンパク質であるが、その配位はレトロマー複合体形成や CP 輸送に関与しない。しかし Vps29 の発現は CP 活性に影響を与えることから、レトロマーのシステインプロテアーゼ輸送に於ける役割が再度示された。

[Sunando Datta (インド科学教育研究所 IISERB)、渡辺菜月（筑波大学）、野崎智義（東京大学）、津久井久美子]

カ. 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 合成系の解析を行った。CoA 合成に必要な pantothenate kinase (PanK), bifunctional phosphopantothenate-cysteine ligase/decarboxylase (PPCS-PPCDC), phosphopantetheine adenylyltransferase (PPAT), dephospho-CoA kinase (DPCK) を同定した。さらに PanK について解析を行い、生化学的特徴を明らかにし、系統解析を行った。また、PanK 遺伝子発現抑制株は増殖が著しく阻害されたことから、この酵素に対する阻害剤は抗赤痢アメーバ薬として有効であると考えられた。北里大学の天然物ライブラリー由来の 244 の構造既知化合物から PnaK 阻害剤をスクリーニングしたところ一つの化合物が PnaK への阻害活性を持ちながらヒト正常細胞（MRC-5）へは、低い毒性を示し、有効なリード化合物を得ることができた。

[Arif Nurkanto(東京大学), Ghulam Jeelani（東京大学）, 野崎智義（東京大学）]

キ. 赤痢アメーバ含硫アミノ酸代謝の解析

L-システインの新規合成経路は増殖、酸化ストレス防御等に重要な分子過程である。この経路に重要な不達の酵素、serine acetyltransferase (SAT)と cysteine synthase (CS)は哺乳動物に存在しない酵素である事から、重要な薬剤標的と考えられていた。赤痢アメーバにおける CS, SAT のアイソフォームの機能を明らかにすることを目的に実験を行った。CS1, 2, 3、SAT1, 2, 3 について遺伝子発現抑制株を作成したところ、CS は全ての遺伝子が同時に発現抑制され、SAT は特異的抑制株が作成された。CS、SAT3 発現抑制株はシステイン除去培地で増殖抑制が観察されたが SAT1, 2 発現抑制株では増殖に変化は無かった。トランスクリプトーム解析、メタボローム解析より、CS と SAT3 は S-methylcysteine/cysteine 合成に関与する事が示された。さらに CS と SAT3 の発現抑制は鉄硫黄クラスタータンパク質の発現上昇につながっていた。以上より、CS、SAT3 が有用な薬剤標的となることが示された。

[Ghulam Jeelani(東京大学), 佐藤暖（京都工芸繊維大学）, 曽我朋義（慶応大学）, 野崎智義（東京大学）]

ク. 赤痢アメーバオートファジーの解析

Atg5-12/16 複合体の赤痢アメーバにユニークな特徴

オートファジーは真核生物に広く保存する細胞内大規模分解機構の一つである。我々は赤痢アメーバの嚢子と栄養体のステージ変化においてオートファジーの関与を想定し、分子機構の解明を行っている。オートファジーのマーカー分子である Atg8 の脂質修飾に関与する Atg5/12-16 複合体を同定した。各分子は低いながら他種生物の Atg5, 12, 16 と相同性を示したが、このほかに Entamoeba ユニークな分子の存在が明らかとなった。さらに Atg5-12/16 複合体の構成分子の高発現や遺伝子発現抑制により一般に検出されない Atg5-8 conjugate の存在が示された。この複合体は Atg16 との結合したが Entamoeba ユニークな分子とは結合できなかった。よって Entamoeba ユニークな分子は Atg12 を介して複合体に結合していることが示唆された。

[宮本絵梨（筑波大学）、野崎智義（東京大学）、橋本哲男（筑波大学）、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

真核生物の生存に必須な生体膜の成分である脂質は小胞体で合成され、各オルガネラに脂質輸送タンパク質により輸送されることが知られている。赤痢アメーバゲノムから同定された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たところ、NLS を持つ一つのタンパク質は主に核局在を示した。この核局在はグルコース枯渇、低浸透圧条件下で 12 時間培養すると核から細胞質へ変化した。さらに組換え体を作成し、脂質への結合特異性を検討したところ、PI(4,5)P、PI4P, PI(3,4,5)P3, さらに phosphatidic acid, phosphatidyl serine への結合が観察された。以上より赤痢アメーバの核内

に脂質代謝が重要な役割を持つこと、飢餓ストレスへの応答が脂質結合性のタンパク質により制御される可能性を示唆した。

[Koushik Das、Ghulam Jeelani、野崎智義]

コ. 赤痢アメーバ病原性に関与する AIG1 ファミリータンパク質の同定

赤痢アメーバ症の症状は多様であり、感染者の90％は無症候、9％が腸アメーバ症、1％がアメーバ性肝膿瘍を主とする腸管外アメーバ症を呈する。しかしどのようなメカニズムで発症、臓器特異性が規定されるかは明らかでない。そこで日本で分離された無症候性、腸アメーバ症の臨床分離株の比較ゲノム解析を行い、無症候性株で欠損してる ORF を同定した。これを高発現させると細胞接着性が増強し、細胞表面に突起形成が促された。よって細胞骨格に関わる過程を制御していると考えられた。日本、台湾から収集した臨床検体のDNA から PCR 検査を行ったところ、無症候性キャリア由来の検体で有意にこの遺伝子の欠損が多く検出された。この遺伝子がコードする AIG1 ファミリータンパク質は GTPase であり、哺乳動物では GTPase of the immunity-associated protein (GIMAP)として知られ、免疫細胞の生死に関わるシグナル伝達に関与する。よって、赤痢アメーバにおいてもシグナル伝達に関与して病原性制御に関与すると考えられた。

[津久井久美子、関塚剛（ゲノムセンター）、海老根映美、Aleyla Escueta De Cadzi（フィリピン大学）、Dar-der Ji（陽明大学）、富井健太郎（産総研）、橘裕司（東海大学）、小林正規（慶応大学）、黒田誠（ゲノムセンター）、野崎智義（東京大学）]

サ. 赤痢アメーバの膜輸送：小胞体からの輸送における EhRab8A の解析と EhRab8A 結合タンパク質 Cdc50 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。小胞体に局在する EhRab8A の機能を解析するために、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。定常状態では Cdc50 は赤痢アメーバの細胞表面に局在し、Cdc50 を大量発現させると Cdc50 は小胞体に局在した。さらに Cdc50 大量発現株は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ことから、EhRab8A は Cdc50 と小胞体で結合することで積み荷タンパク質 P4-ATPase の選別に関わっていることが示唆された

[花舘有希(筑波大学)、津久井久美子、野崎智義、中野由美子]

シ. 薬剤耐性赤痢アメーバの迅速単離法の開発

既存の薬剤耐性株に効果を示す新規薬剤開発の基盤的研究の一環として、DNA 複製酵素□の校正機能を欠損させた変異型 DNA 複製酵素□を発現させる形質転換赤痢アメーバを作製し、赤痢アメーバのミューテーター化を行った。このミューテーター赤痢アメーバからミルテフォシンに対する耐性原虫を薬剤選択したところ、短期間で高い IC50 を示すミルテフォシン耐性アメーバを単離することに成功した。ミルテフォシン耐性メカニズムはリーシュマニア原虫で詳細に解析が進められているが、赤痢アメーバの耐性メカニズムはリーシュマニア原虫とは異なり、酸化ストレス応答の獲得であることが分かった。

[中野 由美子、平井 誠（順天堂大）、Ghulam Jeelani（東京大学）、泉山 信司、川野 哲郎（東京大学）、花館 有希、Sandipan Ganguly (インド NICED)、野崎 智義（東京大学）]

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一剤に依存しているため、薬剤耐性を持つ赤痢アメーバが出現する可能性がある。将来的な新薬の開発のために約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きた。メチオニンアミノペプチダーゼがovalicinのターゲットである可能性を形質転換赤痢アメーバの感受性によって示した。

[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. 天然物由来成分による抗原虫薬の開発

世界各地の寄生虫の流行地では、その地域社会で伝統的に使用されている薬草がある。赤痢アメーバとジアルジア原

虫の流行地に位置するインド国立下痢症研究所との共同研究により、下痢症に有効な薬草 *Nyctanthes arbortrstis* から赤痢アメーバとジアルジア原虫の殺滅活性を示すウルソール酸を単離した。*in vitro* の感受性試験では、ウルソール酸はメトロニダゾールと同等の薬効を示した。ジアルジア原虫を感染させた動物モデルでは、一時的な治療効果が認められたものの、完治には至らなかった。現在、ウルソール酸の組織での効果を高めるために高分子ミセルへの胞埋を検討している。

[中野由美子、泉山 信司、Sandipan Ganguly（インド, NICED）、案浦 健、梅木 優子、川野哲郎、花館有希、野崎智義、赤池 敏広（再生医工学バイオマテリアル研）、後藤光昭（再生医工学バイオマテリアル研）]]

（6）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

ハマダラカの吸血と共に注入されるマラリア原虫が最初に感染する肝細胞は、様々な排除応答が可能であるため原虫には巧妙な回避機構などが必要であると考えられるが、その詳細は未だほとんど明らかとなっていない。そこで原虫と宿主を隔てるインターフェイスである寄生胞膜（PVM）に着目し、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、宿主オートファジーのマーカー分子 LC3 が肝内型マラリア原虫の感染初期に特異的に蓄積するが、原虫は分解されず生存することを見出した。そこで各種培養細胞を用いて、宿主細胞のオートファジー経路の活性化に必要な遺伝子欠損株の作製を行い、マラリア原虫を感染させ宿主 LC3 の蓄積を観察した。その結果、肝内型マラリア原虫への宿主 LC3 の蓄積は、宿主 Atg5 には依存的であるが、宿主 FIP200 には非依存的であることが明らかとなり、LC3 単体で原虫 PVM に蓄積する可能性が明らかとなった。今後、PVM に局在する原虫側分子の同定などを試みることで、詳細な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生存に重要な原虫特異的分子メカニズムの解明

宿主肝細胞内で増殖する肝内型マラリア原虫は、生存するために様々な特異的分子が必要であると考えられるが、その詳細はほとんど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。また 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 の機能解析を行うため、培養細胞を用いてテトラサイクリン依存的に発現を誘導することができる NG2 過剰発現株の作製を試みた。NG2 発現ベクターの構築を行い、複数の培養細胞を用いて遺伝子導入を試みた。その結果、培養細胞により遺伝子導入効率ならびにテトラサイクリンによる発現誘導効率に大きな差があることが認められた。今後、これらの条件の最適化を行い、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

マラリア原虫の増殖は、一細胞内に多数の核を有する「多核体形成」を行った後に、細胞分裂を行うユニークな増殖様式を行う。特に肝内型マラリア原虫は、短時間で最大数万もの原虫に増殖することから、その制御機構は極めて興味深いが分子メカニズムは未だほとんど明らかとなっていない。一般的な真核生物の増殖には様々な制御機構が報告されているが、ヒストンのエピジェネティックなコントロールによる制御が多くの真核生物で認められており、細胞の分化・多様性などの局面で重要な役割を担うことが知られている。マラリア原虫におけるヒストンのエピジェネティックな制御に関しては、メチル化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が、分子メカニズムに関してはほとんど明らかとなっていない。これまでに我々が詳細な in silico 解析を実施したところ、ヒストンメチル化を担う可能性のある新たな酵素遺伝子が検出された。そこで、この新規推定ヒストンメチル酵素遺伝子の機能を明らかにするため、遺伝子破壊株の作製と、発育ステージ特異的に強制発現を行う株の作製を試みた。その結果、全ての遺伝子改変株はいずれも野生型とは増殖速度などが明確に異なり、本新規酵素遺伝子は、マラリア原虫にとって重要な機能を持つことが

示唆された。今後、本酵素遺伝子の細胞内局在性の確認や、発育ステージ間での差を明確にすることでマラリア原虫におけるヒストンメチル化修飾が果たす役割を明らかにする。
[案浦健、荒木球沙]

エ. 休眠期マラリア原虫の解析にむけた新たな感染実験系の作出
ヒトのマラリアでは、原虫種により肝臓内に休眠体を形成することが知られており、根治しない限り再発を繰り返すため問題となっている。休眠期を生じる三日熱マラリア原虫(*P. vivax*)は、感染できる宿主が極めて限定的であるため感染モデルが限られており、新たな研究開発を行う上で大きな障害となっている。そこで本研究では、*P. vivax* と様々な点で類似するサルマラリア原虫 *P. cynomolgi*(ゲノムの相同性が 90%以上と系統的に最も近縁の原虫種で、肝内休眠体の形成や赤内期増殖サイクルなど生物学的性状も極めて類似)を用いて、霊長類を用いた新たなマラリア感染 *in vivo* と *in vitro* モデル作出(特にハマダラカからの感染モデルの作出)を、霊長類医科学研究センターと連携することで実施した。その結果、*P. cynomolgi* がハマダラカ体内で高効率に増殖できる実験系の作出に成功し、肝内期・休眠期の解析に必須である大量のスポロゾイトの産生系に成功した。現在、これらのスポロゾイトを用いて、実験用ニホンザルを用いた感染実験と各種肝細胞を用いた感染実験を行っている。今後、これらから得られる材料を用いて、電子顕微鏡などを用いた研究へと発展させることで詳細な解析を行い、新薬開発・ワクチン開発の発展に付与する分子基盤を明らかにする。
[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。中でも、Arf1, Rab1 GTPase は Rab5b と細胞内局在が一致し、マラリア原虫の小胞体―ゴルジ体間輸送に関わる因子が、Rab5b 依存的経路にも関与していることが示された。
[北園和泉(筑波大学)、平井智浩(筑波大学)、永宗喜三郎、野崎智義、中野由美子]

2. 蠕虫症の病原機構・生物学にかかる研究
(1)蠕虫ゲノム情報の整備に関する研究
Dibothriocephalus 属条虫類はヒトに寄生する重要な種を含むグループであり、その代表種である日本海裂頭条虫(*Dibothriocephalus nihonkaiensis*, syn.*Diphyllobothrium nihonkaiense*)は日本で発見された種であるにもかかわらず、本種に関するゲノム情報は乏しい。そこで、患者から得られた日本海裂頭条虫を材料にゲノム解析を行った。ゲノム DNA から 450 bp と 650 bp の 2 種のライブラリーを調製し、Illunima HiSeq X を用いてシークエンスを行った。アセンブルの結果、ゲノムサイズは 640 Mb(68,000 コンティグ)に達し、近縁種である広節裂頭条虫(*Dibothriocephalus latus,* syn: *Diphyllobothrium latum*)のゲノムサイズ 531Mb よりわずかに大きかった。
[山﨑 浩、泉山信司、野崎智義(東京大学大学院医学系研究科)]

V. 免疫学的検討

1. 病原アメーバ排除に関わる腸管免疫の解析
腸アメーバ症は下痢症の主要原因であるが、適切な動物モデルがないことから宿主とアメーバ間の相互作用の研究は進んでいない。我々が樹立した腸アメーバ症のマウスモデルを使って、赤痢アメーバだけでなく近縁のモシュコフスキーアメーバの病原性を発揮することを明らかにした。病原性の異なる両者のアメーバを用いて、防御応答の解明を試みた。CBA/J マウスに赤痢アメーバを感染させると、症状は示すことなく慢性感染を生じる。一方でモシュコフスキーアメーバは体重減少や下痢を伴うが、感染後10日目には排除される。組織学的に腸管上皮細胞のアポトーシスが顕著な組織傷害も見られる。これらのマウスでは、NKG2D を発現する腸管上皮間 T リンパ球が、またパイエル板には IFN-γを産生する $CD4^+$

T 細胞が増加していた。IFN-γ欠損マウスでは、モシュコフスキーアメーバが感染しても、激しい症状は見られなかった。また、腸管組織の傷害やアメーバの排除も起こらなかった。以上の結果から、IFN-γがモシュコフスキーアメーバによる症状の発現とアメーバの排除に必須であることが明らかとなった。さらに、IFN-γ欠損では NKG2D の増加も見られなかったこと、通常のマウスで NKG2D を阻害することで腸組織傷害もアメーバの排除も見られなくなることから、IFN-γの作用は NKG2D の発現を介することも分かった。このように、IFN-γによる新たなアメーバ排除のメカニズムを明らかにできた。
[下川周子（群馬大学）、久枝 一]

2. 腸管寄生性線虫に対する新規防御メカニズムの解明
肥満細胞は腸管寄生虫の排除に重要な役割を果たすことが知られているが、その防御メカニズムの詳細はよく分かってなかった。我々は、遺伝的に肥満細胞が増えているマウスでは腸管寄生虫線虫 *Heligmosomoides polygyrus* (Hp) に対して強い抵抗性を持つこと、感染時に２型自然免疫リンパ球(ILC2)が増加していること見出した。ILC2 は感染早期の寄生虫感染に対する防御を担う自然免疫系の細胞として同定され、その活性化にはインターロイキン３３（IL-33）が必須である。この抵抗性のマウスでは、肥満細胞が IL-33 を産生することで ILC2 を活性化することが明らかになった。肥満細胞は Hp の感染直後に生じる腸管上皮細胞の損傷に伴い放出された ATP に反応し IL-33 を産生する。これらの結果から、これまで知られていなかった肥満細胞の新たな機能として、「腸管寄生虫に対する自然免疫の発動」が明らかになった。
[下川周子（群馬大学）、久枝 一]

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 38 回衛生微生物技術協議会研究会において寄生虫に関するレファレンスセンター関連会議を行った。[津久井久美子、永宗喜三郎、森嶋康之、杉山広]

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、川野哲朗(筑波大学)、野崎智義（東京大学）、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3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 29 年度には計 60 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 37 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 8 種（ドロレス顎口虫、犬回虫、犬鉤虫、アニサキス、豚回虫、犬糸状虫、広東住血線虫、旋尾線虫 Type X）、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 27 検体のうち、エキノコックス症と旋尾線虫幼虫移行症で各 3 検体、有鉤嚢虫症とトキソカラ症で各 1 検体に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 33 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 29 例が寄生虫で，遺伝子解析では，条虫症：日本海裂頭条虫（12）、無鉤条虫

(7)、アジア条虫(2)、多包条虫(2)、有鉤条虫(2)、連節条虫(1)、線虫症:*Pseudoterranova decipiens* sensu lato(2)、形態学的観察では線虫症:豚腎虫(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 29 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(7 月)。[八木田健司、泉山信司]

「平成 29 年度食品衛生危機管理研修」、講義内容「寄生虫による食中毒」、国立保健医療科学院、平成 29 年 10 月 [杉山 広]

「平成29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 29 年 4 月 [中野由美子]

「平成 29 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]

国際協力関係業務

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説(欧文)

Shimokawa C, Senba M, Kobayashi S, Kikuchi M, Obi S, Olia A, Hamano S, and Hisaeda H. Intestinal inflammation-mediated clearance of amebic parasites is dependent on IFN-γ. J. Immunol. 200 (3): 1101-1109, 2018. doi: 10.1049/jiimunol.1700806.

Nagayasu E, Aung MPPTHH, Horitiwakul T. Hino A, Tanaka T, Higashiarakawa M, Olia A, Taniguchi T, Win SMT, Ohashi I, Odongo-Aginya EI, Aye KM, Mon M, Win KK, Ota K, Torisu Y, Panthuwog S, Kimura E, Palacpac NMQ, Kikuchi T, Hirata T, Torisu S, Hisaeda H, Horii T, Fujita J, Htike WW, and Maruyama H.A possible origin population of pathogenic intestinal nematodes, Strongyloides stercoralis, unveiled by molecular phylogeny. Sci. Rep. 7(1):4844. doi: 10.1038/s41598-017-05049-x.

Shimokawa C, Kanaya T, Hachisuka M, Ishiwata K, Hisaeda H, Kurashima Y, Kiyono H, Yoshimoto T, Kaisho T, and Ohno H. Mast cells are crucial for indcution of group 2 innate lymphoid cells and clearanc of helminhtic infections. Immunity 46(5): 863-874.e4. doi: 10.1016/j.immuni. 2017.04.017.

Matsui T, Maeda T, Kusakabe S, Arita H, Yagita K, Morii E, Kanakura Y. A case report of granulomatous amoebic encephalitis by Group 1 Acanthamoeba genotype T18 diagnosed by the combination of morphological examination and genetic analysis. Diagn Pathol.;13(1):27. 2018

Takei K, Toyoshima M, Nakamura M, Sato M, Shimizu H, Inoue C, Shimizu Y, Yagita K. An Acute Case of Granulomatous Amoebic Encephalitis-Balamuthia mandrillaris Infection. Intern Med.;57(9):1313-1316, 2018

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, 67 (1), 47-58

Shuralev, E.A., Shamaev, N.D., Mukminov, M.N., Nagamune, K., Taniguchi, Y., Saito, T., Kitoh, K., Arleevskaya, M., Fedotova, A.Y., Abdulmanova, D.R., Aleksandrova, N.M., Efimova, M.A., Yarullin, A.I., Valeeva, A.R., Khaertynov, K.S., Takashima, Y. "*Toxoplasma gondii* seroprevalence in goats, cats and humans in Russia." Parasitol. Int. 2018, 67 (2), 112-114

Takemae, H., Kobayashi, K., Sugi, T., Han, Y., Gong, H., Ishiwa, A., Recuenco, F. C., Murakoshi, F., Takano, R., Murata, Y., Nagamune, K., Horimoto, T., Akashi, H., Kato, K.

"*Toxoplasma gondii* RON4 binds to heparan sulfate on the host cell surface." Parasitol. Int. 2018, 67 (2), 123-130

Kamikawa, R., Yazaki, E., Tahara, M., Sakura, T., Matsuo, E., Nagamune, K., Hashimoto, T., Inagaki, Y. "Fates of Evolutionarily Distinct, Plastid- type Glyceraldehyde 3-phosphate Dehydrogenase Genes in Kareniacean Dinoflagellates."J. Eukaryot. Microbiol. 2018 *in press*

Nakada-Tsukui K, Sekizuka T, Sato-Ebine E, Escueta-de Cadiz A, Ji DD, Tomii K, Kuroda M, Nozaki T. AIG1 affects in vitro and in vivo virulence in clinical isolates of *Entamoeba histolytica*. PLoS Pathog. 14:e1006882.(2018)

Srivastava VK, Yadav R, Watanabe N, Tomar P, Mukherjee M, Gourinath S, Nakada-Tsukui K, Nozaki T, Datta S. Structural and thermodynamic characterization of metal binding in Vps29 from *Entamoeba histolytica*: implication in retromer function. Mol Microbiol.106:562-581.(2017)

Somlata, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. AGC family kinase 1 participates in trogocytosis but not in phagocytosis in *Entamoeba histolytica*. Nat Commun. 8;101. (2017)

Makiuchi T, Santos HJ, Tachibana H, Nozaki T. Hetero-oligomer of dynamin-related proteins participates in the fission of highly divergent mitochondria from *Entamoeba histolytica*. Sci Rep. 7:13439. (2017)

Kawano T, Imada M, Chamavit P, Kobayashi S, Hashimoto T, Nozaki T. Genetic diversity of *Entamoeba*: Novel ribosomal lineages from cockroaches. PLoS One. 12:e0185233. (2017)

Jeelani G, Sato D, Soga T, Nozaki T. Genetic, metabolomic and transcriptomic analyses of the de novo L-cysteine biosynthetic pathway in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Sci Rep. 7:15649. (2017)

Kudo T, Fujioka A, Korenaga M, Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Nakajima H & Sano S. Molecular identification of intramuscular and subcutaneous *Spirometra erinaceieuropaei* sparganosis in a Japanese patient. J Dermatol 44, e138-e139, 2017.

Fukumoto SI, Yamada S, Fushikida M, Toyada S, Nishikawa T, Higuchi H, Ueno H, Ueda H, Sugiyama H & Morishima Y. Natural larval *Echinococcus multilocularis* infection in a Norway rat, *Rattus norvegicus*, captured indoors in Hokkaido, Japan. J Vet Med Sci 79, 1857-1860, 2017.

Ikuno H, Akao S, Yamasaki H. Epidemiology of *Diphyllobothrium nihonkaiense* Diphyllobothriasis, Japan, 2001-2016. Emerg Infect Dis 24, 1428–1434, 2018.

Tsuboi M, Hayakawa K, Yamasaki H, Katanami Y, Yamamoto K, Kutsuna S, Takeshita N, Kanagawa S, Ohmagari N, Kato Y. Clinical characteristics and epidemiology of intestinal tapeworm infections over the last decade in Tokyo, Japan: A retrospective review. PLoS Negl Trop Dis. 12; e0006297, 2018.

Yamasaki H, Izumiyama S, Nozaki T. Complete sequence and characterization of the mitochondrial genome of *Diphyllobothrium stemmacephalum*, the type species of genus *Diphyllobothrium* (Cestoda: Diphyllobothriidae), using next generation sequencing. Parasitol Int. 66; 573-578, 2017

Cai YC, Chen SH, Yamasaki H, Chen JX, Lu Y, Zhang YN, Li H, Ai L, Chen HN. Four human Cases of *Diphyllobothrium nihonkaiense* (Eucestoda: Diphyllobothriidae) in China with a brief review of Chinese cases. Korean J Parasitol, 55; 319-325, 2017.

Tokiwa T, Kobayashi Y, Ike K, Morishima M, **Sugiyama H**. Detection of anisakid larvae in marinated mackerel sushi in Tokyo, Japan. Jpn J Infect Dis 71, 88-89, 2018.

Singh TS, Zaman FA, **Sugiyama H**. Epidemiology and laboratory diagnosis of paragonimiasis. Inter J Current Med Applied Sci 16, 17-27, 2017

Cevallos W, Fernandez-Soto P, Calvopina M, Fontecha-Cuenca C, **Sugiyama H**, Sato M, Lopez Aban J, Vicente B, Muro A. LAMPhimerus: A novel LAMP assay for detecting *Amphimerus* sp. DNA in human stool samples. PLoS Negl Trop Dis, 19; 11(6):e0005672, 2017

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 96, 97-99, 2017

Sun MM, Liu GH, Ando K, Woo HC, Ma J, Sohn WM, **Sugiyama H**, Zhu XQ., Complete mitochondrial genomes of *Gnathostoma nipponicum* and *Gnathostoma* sp., and their comparison with other Gnathostoma species. Infect Genet Evol 48, 109-115, 2017

Tomizawa R, **Sugiyama H**, Sato R, Ohnishi M, Koizumi N, Male-specific pulmonary hemorrhage and cytokine gene expression in golden hamster in early-phase Leptospira interrogans serovar Hebdomadis infection, Microb Pathog 111, 33-40, 2017

Asakura H, Kawase J, Ikeda T, Honda M, Sasaki Y, Uema M, Kabeya H, **Sugiyama H**, Igimi S, Takai S, Microbiological Quality Assessment of Game Meats at Retail in Japan, J Food Prot, 80, 2119-2126, 2017

Asakura H, Ikeda T, Yamamoto S, Kabeya H, **Sugiyama H**, Takai S. Draft genome sequence of five Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from wild deer in Japan. Genome Announc. 5(9). pii: e01455-16, 2017

Wacker R, Eickel N, Schmuckli-Maurer J, **Annoura T**, Niklaus L, Khan SM, Guan JL, Heussler VT. LC3-association with the parasitophorous vacuole membrane of Plasmodium berghei liver stages follows a noncanonical autophagy pathway. ***Cell Microbiol.*** 19(10). e12754. 2017

Dibyendu Raj, Punam Chowdhury, Rituparna Sarkar, Yumiko Saito-Nakano, Keinosuke Okamoto, Shanta Dutta, Tomoyoshi Nozaki, Sandipan Ganguly. Pyruvate Protects Giardia Trophozoites from Cysteine-Ascorbate Deprived Medium Induced Cytotoxicity. Korean J Parasitol. (2018) 56(1):1-9.

2. 原著論文、総説(和文)

橋本温、土岡宏彰、泉山信司、中野勲、遠藤卓郎、最確数法を用いた簡便なクリプトスポリジウム計数法の開発、環境技術、46 巻 (2017) 11 号 p. 601−608

永宗喜三郎 「トキソプラズマ感染症診断法」小児内科 2017, 49:564−567

福本隼平、永宗喜三郎 「トキソプラズマが宿主細胞のオルガネラを引き寄せるメカニズム」医学と薬学 2017, 74: 1217−1220

津久井久美子、野崎智義 寄生性原虫におけるオートファジーの多様性 実験医学 35 (15), 2609−2618, 2017 10 月号増刊

山﨑 浩, 森嶋康之. 日常検査で役立つ寄生虫・原虫検査法 5. 虫体鑑別. メディカル・テクノロジー45, 496-501, 2017.

山本徳栄, 近真里菜, 伊佐拓也, 根岸努, 森芳紀, 前野直弘, 小山雅也, 森嶋康之. 埼玉県内のイヌとネコにおける腸管寄生虫類の保有調査:2008-2016 年. 医学検査 66, 493-499, 2017.

杉山 広, 森嶋康之, 山﨑 浩. シロサケおよびサクラマスにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査. Clin Parasitol 28, 32-35, 2017.

森嶋康之, 杉山 広, 山﨑 浩, 八木田健司, 深谷節子, 海野友梨, 綿引一裕, 佐藤要介, 武藤和弘, 板本陽. 茨城県において 2016 年末に発生した旋毛虫による集団食中毒事例. Clin Parasitol 28, 45-47, 2017.

馳 亮太, 鈴木啓之, 矢野勇大, 山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広.国内感染によるアジア条虫症の 1 例. Clin Parasitol

28, 96-98, 2017.

山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広, 是永正敬, 巌 基善. わが国における孤虫症の原因種について. Clin Parasitol 28, 99-102, 2017.

山﨑 浩, 森嶋康之, 杉山 広. わが国における条虫症の発生状況. 病原微生物検出情報 38, 74-76, 2017.

杉山 広, 柴田勝優, 森嶋康之, 山﨑 浩. わが国における肺吸虫症の発生現況 病原微生物検出情報 38, 76-77, 2017.

森嶋康之, 山﨑 浩, 杉山 広. わが国における旋毛虫症 病原微生物検出情報 38, 77-78, 2017.

森嶋康之. エキノコックス症--わが国における現状と課題. 感染症 48, 8-10/14-18, 2018.

井上 智, 常盤俊大, 森嶋康之. 動物由来感染症(知っておきたい感染源動物等への侵淫と健康危害防止に必要な "One Health"). 愛知医報 2061, 17-21, 2018.

福田桂子, **杉山 広**, 熊澤秀雄, 多々良成紀, 金崎依津子. 動物園飼育マンドリルにおける宮崎肺吸虫寄生の 1 例. 野生動物医誌 22, 21-24, 2017

杉山 広, アニサキスによる食中毒, 食と健康 61(12), 53-58, 2017

杉山 広, アニサキス食中毒とその報道, バムサジャーナル 29(3), 51-52, 2017

高井伸二, 前田 健, 安藤匡子, 壁谷英則, 岡林佐知, **杉山 広**, 朝倉 浩, y 野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究 (2015-2017), 日本鹿研究 8, 27-32, 2017

朝倉 宏, 田口眞澄, **杉山 広**, 廣井豊子, 窪田邦弘, 春日文子, 非動物性の加工食品等における病原微生物の汚染実態に関する研究, 食品衛生研究, 67(3), 7-23, 2017

3. 書籍(英文)

Shigehiro Enkai, Kimitoshi Sakamoto, Miho Kaneko, Hirokazu Kouguchi, Takao Irie, Kinpei Yagi, Yuka Ishida, Jun Matsumoto, Yuzaburo Oku, Ken Katakura, Osamu Fujita, Tomoyoshi Nozaki and Kiyoshi Kita. Medical Treatment of Echinococcus multilocularis and New Horizons for Drug Discovery: Characterization of Mitochondrial Complex II as a Potential Drug Target."Echinococcosis", edited by Tonay Inceboz, ISBN 978-953-51-3592-0, Print ISBN 978-953-51-3591-3, Published: November 15, 2017 under CC BY 3.0 license

Baird, F.J., Morishima, Y., Sugiyama H., *Anisakis*, Allergy and the Globalization of Food, *In*: Food Allergy: Molecular and Clinical Practice, Lopata, A. L. (ed)., 155-175, 2017, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

4. 書籍(和文)

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ー現場対応への実践的な取り組みー. pp.26ー29 および pp.90ー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

Nagamune, K., Fukumoto, J., Yamano, A., Tahara, M., Matsubara, R. **"**The molecular genotyping and dissection of Japanese *Toxoplasma gondii* reveals an unidentified strategy for successful survival of the parasite."14th The *Toxoplasma gondii* research community biennial meeting, Tomar, Portugal, May 2017

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui Functional analysis of PI3P effector candidate SNX in Entamoeba histolytica ASCB|EMBP 2017 meeting, Philadelphia USA, Dec 2-6, 2017 poster presentation

Somlata, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki AGC family kinase 1 participates in trogocytosis but not in phagocytosis in Entamoeba histolytica. 4th Tiwan-Japan Symposium on Infectious diseases, Sep 5-6, 2017, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan, oral presentation

Kumiko Nakada-Tsukui, Tsuyoshi Sekizuka, Emi Sato-Ebine, Aleyla Escueta-de Cadiz, Dar-der Ji, Makoto Kuroda, Tomoyoshi Nozaki, Identification of an AIG1 gene as a novel virulence-associated gene by comparative genomics of *Entamoeba histolytica* clinical isolates. Anaerobic protists: Integrating parasitology with mucosal microbiota and immunology 31 August – 03 September 2017 | Newcastle upon Tyne, United Kingdom (EMBO conference ICAP VI) ポスター発表、ベストポスター賞一位受賞

Kumiko Nakada-Tsukui, Eri Miyamoto, Natsuki Watanabe, Ratna Wahyuni, Yumiko Saito-Nakano, Kumiko Shibata, Tetsuo Hashimoto, and Tomoyoshi Nozaki Functional analysis of an autophagy-related protein Atg8 in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*, The 8th international symposium on autophagy, 2017.5.29-6.1 Nara, Japan ポスター発表

Mihoko Mori, Yumiko Saito-Nakano, Satoshi Tsuge, Satoshi Omura, Kazuro Shiomi, Tomoyoshi Nozaki. Ovalicin, a fungal metabolite, is effective against a hamster amebic liver abscess model. Ameeba meeting International Seminar on Amebiasis. April 24 - 28. 2018. Puebla de los Angeles, Mexico.

Yuki Hanadate, Kumiko Nakada-Tsukui, Tomoyoshi Nozaki, Yumiko Saito-Nakano. The ER-resident Rab8A GTPase is involved in the trafficking of surface proteins necessary for phagocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. US-Japan meeting 2018. Feb 16. Nagasaki.

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

Chikako Shimokawa, Hiroshi Ohno, Hajime Hisaeda. Suppression of type 1 diabetes in mice infected with an intestinal nematode. 第46回日本免疫学会. 2017 年 12 月 12-14 日. 仙台.

下川周子、千馬正敬、小林正規、小尾誠司、Alex Olia、菊池三穂子、濱野真二郎、久枝 一. Intestinal inflammataion-mediated clearance of amebic parasites is dependent on IFN-γ. 第87回日本寄生虫学会大会. 2017 年 3 月 17、18 日、東京

谷口委代、鈴江一友、今井 孝、下川周子、Olia Alex、久枝一. ネズミマラリア原虫感染における免疫応答への腸内細菌の影響. 第87回日本寄生虫学会大会. 2017 年 3 月 17、18 日、東京

泉山信司、浅野峰子、クリプトスポリジウム対策を目的とした浄水場濁度管理への粒子計の活用、平成 30 年 3 月、東京

泉山信司、従属栄養細菌数の活用・途中配管や末端蛇口の汚染実態、東京大学水環境制御研究センター（RECWET）ワークショップ「水道給配水系における細菌管理の課題と最新の動向」、平成 29 年 11 月、東京

泉山信司、山崎浩、野崎智義、イルカ裂頭条虫のミトコンドリアゲノムの配列決定、日本寄生虫学会、2017 年 5 月、札幌市

八木田健司、杉山 広、青木 佳代 、有症事例を含めたシカ肉におけるサルコシスティス感染、第 87 回日本寄生虫学会大会、2018 年 3 月、東京

八木田健司、寄生虫による食中毒-その新たな局面、平成 29 年度富山県臨床衛生検査研修会、2018 年 3 月、富山

八木田健司、岡村登喜子、ハウスダスト中のアカントアメーバとその細胞内共生体、第50回原生生物学会大会、 2017 年 11月、茨城

福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、永宗喜三郎 “トキソプラズマにおける宿主ミトコンドリアリクルート機構の解

明” 第50回日本原生生物学会、第1回日本共生生物学会合同大会 2017年11月、つくば市

福本隼平、山野安規徳、松原立真、竹内史比古、喜屋武向子、正谷達謄、松尾智英、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86 回日本寄生虫学会大会、2017年5月、札幌

福本隼平、佐倉孝哉、松原立真、田原美智留、松崎素道、永宗喜三郎 “トキソプラズマにおける宿主ミトコンドリアリクルート機構の解明” 第87 回日本寄生虫学会大会、2018年3月、東京

松崎素道、福本隼平、喜屋武向子、正谷達謄、松尾智英、村上麻美、高島康弘、西川義文、永宗喜三郎 “トキソプラズマ日本分離株のゲノムワイドSNP解析” 第87 回日本寄生虫学会大会、2018年3月、東京

荒木球沙、川合覚、小林宏尚、片岡紀代、角田宗一郎、永宗喜三郎、野崎智義、久枝一、案浦健 “肝内型マラリア原虫における核増殖メカニズムの解明”第87 回日本寄生虫学会大会、2018年3月、東京

永宗喜三郎、森嶋康之 “レセプト情報解析から見えてきた日本におけるトキソプラズマ症の実態”第 87 回日本寄生虫学会大会、2018年3月、東京

Somlata、津久井久美子、野崎智義 腸管寄生性原虫赤痢アメーバの AGC ファミリーキナーゼ1はトロゴサイトーシスに特異的に関与する第87回日本寄生虫学会大会 2018 年 3 月 17 日(土)～18 日(日)新宿区 口頭発表

宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバオートファジー関連タンパク質 Atg8 による解糖系酵素制御 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会 2017 年 12 月 6 日(水)から 9 日(土) 神戸市 ポスター発表

津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるオートファジー遺伝子 Atg8 の機能解明 第 5 回新学術領域研究「オートファジー」班会議 2017年11月17日(金)～18日(土) 文京区 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 のエフェクター候補タンパク質の同定 第69回日本細胞生物学会大会 2017年6月 13 日(火)から 15 日(木) 仙台市 ポスター発表

宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるオートファジー関連タンパク質 Atg8 による解糖系酵素の制御(An autophagy related protein Atg8 is involved in the regulation of glycolytic enzymes in enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*) 第 69 回日本細胞生物学会大会 2017年6月 13 日(火)から 15 日(木) 仙台市 口頭発表、ポスター発表

丸茂このみ、野崎智義、津久井久美子 赤痢アメーバにおける α-amylase 輸送タンパク質の解析 第 86 回日本寄生虫学会大会 2017 年 5 月 28 日(日)から 29 日(月)札幌市 ポスター発表

宮本絵梨、野崎智義、津久井久美子 赤痢アメーバにおけるオートファジー関連タンパク質 Atg8 による解糖系酵素の制御 第 86 回日本寄生虫学会大会 2017 年 5 月 28 日(日)から 29 日(月)札幌市 口頭発表

山﨑浩, 森嶋康之, 杉山広, 是永正敬, Keeseon Eom. Molecular evidence of two *Spirometra* species causing sparganosis in human: *Spirometra erinaceieuropaei* and *Spirometra decipiens*. 第 86 回日本寄生虫学会大会, 札幌. 2017 年 5 月.

杉山広, 柴田勝優, 川上泰, 森嶋康之, 山﨑浩, 熊澤秀雄, 高木秀和, 板垣匡, カルボピーニャ・マヌエル. 南米エクアドルで住民から検出された肝吸虫 *Amphimerus* sp.に関する検討. 第 86 回日本寄生虫学会大会, 札幌. 2017 年 5 月

森嶋康之, 杉山広, 山﨑浩, 八木田健司, 佐藤要介, 綿引一裕, 土井幹雄, 板本陽, 武藤和弘, 本多めぐみ, 海野友梨, 深谷節子, 小林雅枝. 2016年に発生した旋毛虫に

よる集団食中毒事例について. 第 86 回日本寄生虫学会大会, 札幌. 2017 年 5 月

杉山広, 森嶋康之, 山﨑浩. シロザケおよびサクラマスにおけるアニサキス幼虫の寄生状況調査. 第 28 回日本臨床寄生虫学会大会, 東京. 2017 年 6 月.

森嶋康之, 杉山広, 山﨑浩, 八木田健司, 深谷節子, 海野友梨, 綿引一裕, 佐藤要介, 武藤和弘, 板本陽. 茨城県において 2016 年末に発生した旋毛虫による集団食中毒事例. 第 28 回日本臨床寄生虫学会大会, 東京. 2017 年 6 月

馳亮太, 矢野勇大, 鈴木啓之, 山﨑浩, 森嶋康之, 杉山広. 国内感染によるアジア条虫症の一例. 第 28 回日本臨床寄生虫学会大会, 東京. 2017 年 6 月.

山﨑浩, 森嶋康之, 杉山広, 是永正敬, 巌基善. わが国におけるヒト孤虫症の原因種について. 第 28 回日本臨床寄生虫学会大会, 東京. 2017 年 6 月.

井上智, 常盤俊大, 森嶋康之. 知っておきたいヒトにもうつる動物の感染症. 平成 29 年度感染症及び結核講演会, 名古屋市. 2017 年 10 月.

森嶋康之, 杉山広, 山﨑浩. レセプトデータに基づくわが国における蟯虫症の発生動向. 第 77 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 相模原. 2017 年 11 月.

杉山広, 森嶋康之, 高木秀和, 板垣匡, ティモシー・P・ヨシノ. 米国に分布する肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* に関する検討. 第 77 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 相模原. 2017 年 11 月.

山﨑 浩. 条虫症の現状と今後の課題. 第 77 回日本寄生虫学会東日本支部大会, 教育講演. 相模原. 2017 年 11 月.

森嶋康之, 永宗喜三郎, 杉山広, 山﨑浩. ナショナルデータベース(NDB Japan)を用いた日本国内の寄生虫症発生動向の解析. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 東京. 2018 年 3 月.

永宗喜三郎, 森嶋康之. レセプト情報解析から見えてきた日本におけるトキソプラズマ症の実態. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 東京. 2018 年 3 月.

杉山広, 森嶋康之, 山﨑浩. レセプトデータを用いた肺吸虫症の発生実態解析. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 東京. 2018 年 3 月.

山﨑浩, 森嶋康之, 杉山広. レセプトデータに基づくわが国における裂頭条虫症の発生動向. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 東京. 2018 年 3 月.

小林 由弥, 常盤 俊大, **杉山 広**, 池 和憲. マアジおよびサバ加工品におけるアニサキスの寄生状況と分子同定 . 第 86 回日本寄生虫学会大会, 札幌, 2017 年 5 月.

加山 英、柴田勝優、立野祐子、山田茂夫、杉山 広, 腹腔内から成虫が検出された犬の犬糸状虫感染例, 平成 29 年度日本獣医臨床寄生虫学研究会, 東京, 2017 年 12 月.

杉山 広, 寄生虫性食品由来感染症, 日本大学・私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(グローバル化社会における動物由来感染症制御のための国際共同研究と若手研究者育成)シンポジウム「食の安全を守る- 食品由来感染症のリスクと制御 -わが国の人獣共通感染 症研究の連携と推進」, 藤沢, 2017 年 12 月.

杉山 広, 最近話題の人獣共通寄生虫病:肺吸虫症、トリヒナ症、アニサキス症を例にして. 平成 29 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 別府, 2018 年 2 月.

壁谷英則, 佐藤真伍, 黒田恵美, **杉山 広**, 朝倉 宏, 丸山総一. 我が国の野生鳥獣食肉処理施設で処理された鹿肉と猪肉の衛生評価. 平成 29 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 別府, 2018 年 2 月.

笠原慎平, 尾針由真, マヌエル・カルボピーニャ, 高木秀和, **杉山 広**, 板垣 匡. エクアドル産 Fasciola 属の分子学的解析. 第 87 回日本寄生虫学会大会, 東京, 2018 年 3 月

案浦 健、 荒木 球沙、川合 覚、小林 宏尚、片岡 紀代、Wacker R、Janse CJ、 Khan SM、 Heussler VT、野崎 智義. 第25回 分子寄生虫学ワークショップ／第15回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2017 年 8 月 27 日-8 月 30 日　帯広畜産大学・原虫病研究センター PK ホール　「肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明」

荒木 球沙、川合 覚、野崎　智義、案浦　健.
第 25 回 分子寄生虫学ワークショップ／第 15 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2017 年 8 月 27 日-8 月 30 日　帯広畜産大学・原虫病研究センター　PK ホール　「肝内型マラリア原虫における核増殖メカニズムの解明」

川合　覚、案浦　健、塩釜　ゆみ子、相馬　祥吾、荒木 球沙、金子　修、保富　康宏. 第 25 回 分子寄生虫学ワークショップ／第 15 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会 2017 年 8 月 27 日-8 月 30 日　帯広畜産大学・原虫病研究センター　PK ホール　「サルマラリア原虫を用いた肝臓休眠体に関する新規実験系の開発」

案浦 健、 荒木 球沙、川合 覚、小林 宏尚、片岡 紀代、Wacker R、Janse CJ、 Khan SM、 Heussler VT、野崎 智義. 第50回日本原生生物学会大会と第1回日本共生生物学会大会の合同大会にてシンポジストとして成果発表 2017 年 11 月 17 日-19 日　：筑波大学・筑波キャンパス中地区第 2 エリア 2B 棟ほか　「肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明」

荒木 球沙、川合 覚、小林 宏尚、片岡 紀代、永宗　喜三郎、野崎 智義、案浦　健. 第 50 回日本原生生物学会大会と第 1 回日本共生生物学会大会の合同大会 2017 年 11 月 17 日-19 日　：筑波大学・筑波キャンパス中地区第 2 エリア 2B 棟ほか 「肝内型マラリア原虫における核増殖メカニズムの解明」

案浦 健、荒木 球沙、川合 覚、Wacker R、Janse CJ、Khan SM、 Heussler VT、野崎 智義. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会　ConBio2017　にてシンポジウム指定演題として発表　2017 年 12 月 6 日-9 日　神戸ポートアイランド　「肝内型マラリア原虫の休眠・増殖分子メカニズムの解明；　Molecular dissection of the hyperproliferation and dormancy machinery in Plasmodium liver-stage parasites」

荒木 球沙、川合 覚、野崎　智義、案浦　健. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会　ConBio2017　発表　2017 年 12 月 6 日-9 日　神戸ポートアイランド　「マラリア原虫における核増殖メカニズムの解明：発育ステージ間によるヒストンメチル化の役割」

案浦 健、 荒木 球沙、川合 覚、小林 宏尚、片岡 紀代、角田　宗一郎、Wacker R、Janse CJ、 Khan SM、 Heussler VT、野崎 智義、久枝　一. 87 回　日本寄生虫学会大会 2018 年 3 月 17 日-18 日:国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所　「肝内型マラリア原虫の休眠分子メカニズムの解明」

荒木 球沙、川合 覚、小林 宏尚、片岡 紀代、角田 宗一郎、永宗 喜三郎、野崎 智義、久枝 一、案浦 健. 第 87 回　日本寄生虫学会大会　2018 年 3 月 17 日-18 日:国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所　「肝内型マラリア原虫における核増殖メカニズムの解明」

川合　覚、案浦　健、塩釜　ゆみ子、相馬　祥吾、荒木 球沙、金子　修、保富　康宏. 第 87 回　日本寄生虫学会大会　2018 年 3 月 17 日-18 日:国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所　「肝臓内休眠体を標的としたサルマラリア疾患モデルの開発」

木下 彩希, 相澤 悠太, 新井 真衣, 幡谷 浩史, 案浦 健, 中野 由美子, 堀越裕歩. 熱帯熱マラリア・卵型マラリアの混合感染を来したギニア人女児の１例. 日本小児科学会東京都地方会講話会. 2017 年 12 月 9 日. 東京.

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86回日本寄生虫学会大会. 2017年5月28-29日. 札幌.

北園 和泉, 平井 智浩, 永宗 喜三郎, 野崎 智義, 中野 由美子. 熱帯熱マラリア原虫の赤内期における新しい輸送経路の解析. 第25回分子寄生虫学ワークショップ/第15回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会. 2017年8月27日-30日. 帯広.

中野 由美子, 平井 誠, Ghulam Jeelani, 泉山 信司, 川野 哲郎, 花館 有希, Sandipan Ganguly, 野崎 智義. 赤痢アメーバミューテーター：薬剤耐性赤痢アメーバの迅速単離法の開発. 第87回日本寄生虫学会大会. 2018年3月17-18日. 東京.

7. 感 染 病 理 部

部長　長谷川 秀樹

概 要

1. 人事等

感染病理部の職員数は現在 13 名で、内訳は部長 1 名、室長 4 名、主任研究官 8 名である。戸山庁舎に 11 名の職員と村山庁舎に 2 名の職員が在籍している。インフルエンザウイルス研究センター第六室、室長の浅沼 秀樹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片岡 紀代と小林 宏尚が、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. ポリオーマウイルスに関する研究
3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究
4. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究
5. ピコルナウイルスに関する研究
6. HIV に関する研究
7. 狂犬病に関する研究

Ⅲ. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
2. フラビウイルスワクチンの開発
3. HTLV-1 ワクチンの開発
4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究
5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ウシ等由来原料の基準に関する研究
3. CWD 調査

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
3. 見学者対応

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。2017 年度人体由来検体数は 107 症例であった。検索の結果インフルエンザウイルス A 感染 6 例、インフルエンザウイルス B 感染 3 例、JC ウイルス感染 5 例、帯状疱疹ウイルス 4 例、他にトレポネーマや、アスペルギルス、アメーバ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、鈴木 忠樹、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。我々は RNA のみでなく DNA ウイルスゲノムの検出が可能な ISH-AT 法を確立し、アデノウイルスゲノムを検出した。現在は B 型肝炎ウイルスの cccDNA を検出することを試みている。 (田中 道子、中島 典子、佐藤 由子、長谷川 秀樹)

3. インフルエンザ感染症に関する研究

(1)インフルエンザの行政解剖例の病理学的・分子生物学的解析

2016/2017 シーズンのインフルエンザ関連死亡例で、東京都監察医務院で、行政解剖を施行した 10 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た。8 例が H3N2 亜型感染例で、2 例が A/H1N1pdm09 感染例であった。2009 年から A/H1N1pdm09 例が 38 例、H3N2 例が 15 例集積されたが、びまん性肺胞傷害(DAD)像を呈したのは A/H1N1pdm09 例で 14 例(37%)、H3N2 例 2 例(13%)であり、A/H1N1pdm09 感染のほうが有意に多かった。 (中島 典子、佐藤 由子、林 紀乃、濱松 明彦[東京都監察医務院])

(2)A/H1N1pdm09 亜型インフルエンザウイルス感染剖検肺の三次元超微細構造解析

H1N1pdm 亜型インフルエンザウイルス(以下 H1N1pdm)は、ヒト型レセプターである α2,6-Gal シアル酸が表出していない肺胞上皮細胞には感染しないため、原則として鳥インフルエンザのような原発性ウイルス肺炎は起こさないが、レセプター親和性に関与するヘマグルチニン(HA)蛋白のアミノ酸変異(D222G)を有する H1N1pdm は、肺胞上皮細胞に表出する鳥型レセプターである α 2,3-Gal シアル酸に結合し、原発性ウイルス肺炎を起こすことが知られている。HA に D222G 変異を有する H1N1pdm(D222G)ウイルス肺炎の剖検肺組織におけるウイルス粒子、感染細胞の形態、炎症細胞の動き、毛細血管内皮細胞の形態変化を、透過型電子顕微鏡(TEM)と走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて解析した。また、新しい電子顕微鏡技術である連続切片 SEM 法を用いた 3D 構造解析をおこない、光学顕微鏡による解析では見いだせなかった重症インフルエンザウイルス肺炎

の病態の解明につながる新しい知見を得た。 (片岡紀代、中島 典子、佐藤 由子、石田 欣二[岩手医科大学])

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病原体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 2017 年 5 月までと集中治療室(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およそ 300 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。Direct RT-LAMP 法はインフルエンザの型・亜型診断においておよそ 90%の陽性一致率であることがわかり、臨床現場での有効性が確認された。 (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、齊藤 慎二[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)ベトナム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 例を解析した結果、肺炎の病因病原体の種類や数ではなく、PICU 入院時の血清インターフェロンγ濃度が生命予後の予測因子の候補となることが示された。今年度から対象をすべての小児 ARDS 症例とし、PICU 入室時の酸素化指数、P/F 値と 21 種類のバイオマーカー を解析している。 (中島 典子、鈴木 忠樹、Phung TTB、 Phan PH[ベトナム国立小児病院])

5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

(1)重症熱性血小板減少症候群剖検症例(SFTS)の病理学的解析

新興感染症である SFTS の発症機構解明にはヒト症例の病理学的解析が重要であり、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。SFTS の病理解剖は日本からのみ報告されているが、我々はこれまでに 20 例の解剖例の解析に携わっている。その結果、異型リンパ球様細胞の浸潤が目立つ壊死性リンパ節炎と著しい血球貪食がヒト SFTS の病理学的特徴であり、ウイルスは主にリンパ節の異型リンパ球様細胞を標的としていることが明らかになってきた。2017 年にネコに噛まれた後に発症し死亡した SFTS 患者が報告され、その病理解析を実施したところ、これまで報告のあるダニ刺傷後の SFTS と同様にネコ咬傷後の SFTS においても壊死性リンパ節炎と血球貪食像が見られ、感染経路が変わってもヒト SFTS 発症病理は変化しない事が考えられた。一方、ネコも SFTSV 感染により血小板減少や消化管出血などヒト SFTS と類似した症状を発症している事から、今後、ネコにおける SFTS の病理解析により、ヒト SFTS とネコ SFTS の相同点、相違点を明らかにし、SFTSV による致死性感染の発症機構解明が期待できる。 (鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、中島 典子、永田 典代、森川 茂[獣医科学部]、西條 政幸[ウイルス 1 部]、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 29 年 12 月末までに 61 例の PML を検査した。平成 29 年は 15 例の検索依頼があり、7 例で PML とされた。平成 29 年の 7 例の PML 確定時の年齢は平均 60.9 歳で、基礎疾患として自己免疫性疾患

3例、血液系悪性腫瘍が2例、後天性免疫不全症候群が1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

先天性ジカウイルス感染症のような感染症による先天性異常は妊娠中に起こった急性感染から数ヶ月後に顕在化してくるという性質上、感染と疾病との因果関係や発病機構を明らかにすることは容易ではない。病理組織解析は、このような複雑な病態を呈する新しい感染症に対して、その原因病原体を特定し発症機構の理解と感染症対策に有用な情報を提供することができる強力なツールである。そこで、我々は流行地である南米において、病理組織解析手法を用いてジカウイルスを含む先天性感染症の発生状況を調べる調査を行った。これまでの調査によりブラジル東北部パライバ州のような流行地においてジカウイルス病の実験室診断を行うことは困難で、多くの症例は臨床症状のみにより診断されており、デング熱やチクングニア感染症との鑑別も不十分である事が明らかになった。このように南米における先天性ジカ症候群の実態は未だ全容が明らかになっておらず、今後も継続的な調査研究が必要である。 (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)Epstein-Barr virus(EBV) 陽性新規 plasmablastic lymphoma(PBL)細胞株の樹立

PBLは形質細胞への分化傾向を示すEBV陽性B細胞性リンパ腫である。われわれは 50 歳代男性エイズ患者に発症した PBL から細胞株の樹立に成功した。得られた細胞株は IL-6 依存性の増殖を示し、EBV ゲノムは BART を含む領域が欠損していた。 (峰 宗太郎、比島 恒和[駒込病院]、菅沼 明彦[駒込病院]、福本 瞳、佐藤 由子、片岡 紀代、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]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、深山 正久[東京大学]、片野 晴隆)

(2)EBV 関連 B 細胞性リンパ腫におけるウイルスマイクロRNA の塩基配列

EBV はそのゲノム中に 25 のマイクロ RNA をコードしており、EBV 関連疾患の病態に関連するとされる。われわれは 6 種の組織型を含む EBV 関連 B 細胞性リンパ腫 16 例から DNA を抽出し、EBV マイクロ RNA がコードする DNA 領域の塩基配列を解析した。その結果、欠損は認められず、変異は極めて稀であった。このことから、これらの配列が B 細胞性リンパ腫中では高度に保存されていることを示した。 (砂川 恵伸、比島 恒和[駒込病院]、福本 瞳、長谷川 秀樹、片野 晴隆)

(3)次世代シークエンサーによる EBV 関連 B 細胞性リンパ腫におけるマイクロ RNA の発現プロファイルの解析

5 つの組織型の EBV 関連 B 細胞性リンパ腫の臨床検体から、小 RNA を抽出し、次世代シークエンサーに全塩基配列を解析した。BHRF1 が EBV の latency III に関連すること、マイクロ RNA の全プロファイルにより、組織型ごとの発現差異があることが主成分分析等で示された。 (坂本 康太、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、上原 妙子、比島 恒和[駒込病院]、峰 宗太郎、福本 瞳、佐藤 由子、長谷川 秀樹、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

(4)KSHV の細胞間接触による再活性化メカニズムの研究

KSHV が潜伏感染した B 細胞と接着細胞を共培養すると細胞間接触によりウイルス再活性化が起こることを見出し、メカニズム解明を進めている。実験系の最適化を進め、使用する細胞の種類、細胞数、細胞間接触時間について詳細な検討を行った。KSHV 潜伏感染 B 細胞としては、原発性体腔液性リンパ腫(Primary effusion lymphoma:PEL)細胞株であるBCBL-1とBCBL-1由来のEGFP 組換えウイルスを保持しているBCBL-1/rKSHV.152を用いた。また共培養する接着細胞

の検討を行う過程で再活性化誘導能の異なる 2 種類の細胞を見出した。(菅野 隆行、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

2. ポリオーマウイルスに関する研究

次世代シークエンサーによる JC ウイルスのゲノム変異と進行性多巣性白質脳症の病態の解析

進行性多巣性白質脳症(PML)は JC ウイルス(JCV)により発症する脱髄性の致死的疾患である。感染病理部に解析依頼があり、病理組織学的に PML と確定診断された 6 症例の脳組織より DNA を抽出し、次世代シークエンサーにて JCV ゲノムの変異を解析したところ、いずれの症例においても、早期タンパク質の T 抗原に共通した変異(V392G)を有する株が quasispecies として 3-19%に認められた。続いて変異株のウイルスゲノムを作成し、in vitro の実験系において野生株と比較したところ、変異株はウイルスタンパク質発現及びウイルス増殖能が著しく低下した。また野生株と変異株を種々の割合で混合した場合、ウイルスタンパク質発現およびウイルス増殖能は保たれた。なお免疫組織化学では、変異株が検出されたいずれの症例の PML 病変部においても T 抗原の発現が認められた。JCV は PML 病変部において、ウイルス増殖に抑制的な作用を有する変異株と共存した状態で増殖していることが明らかとなった。(高橋 健太、 関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、 福本 瞳[協力研究員], 中道 一生[ウイルス第一部], 鈴木 忠樹、 佐藤 由子、 長谷川 秀樹、 黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

(1)TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた SARS-CoV および MERS-CoV の病原性に関する研究

膜型セリンプロテアーゼ TMPRSS はヒトの呼吸上皮に発現しており、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)および中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)を含むいくつかのヒトコロナウイルスの細胞内侵入に関与することが *in vitro* で確認されている。そこで、TMPRSS2 のコロナウイルス感染に対する役割について、SARS-CoV および MERS-CoV の感染動物モデルを用いて評価した。その結果、TMPRSS2 を欠いているとSARS-CoV および MERS-CoV の増殖や肺病変を軽減させることが明らかとなった。(岩田 奈織子、岡村 匡史[協力研究員]、関向 華子[研究生]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、永田 典代)

4. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

オルソポックスウイルス感染症の重症化の宿主側要因を明らかにすることを目的として、サル痘ウイルスのマウス感染モデルを作出した。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。その結果、好中球枯渇群では、感染後の好中球増多と炎症性サイトカイン・ケモカインの高発現を引き起こした。今後、ウイルス感染動態と病像の変化について詳細に解析を進める。(永田 典代、佐藤 由子、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、福士 秀悦[ウイルス第一部]、西條 政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[獣医科学部])

5. ピコルナウイルスに関する研究

(1)Saffold ウイルスの病原性に関する動物モデルを用いた研究

Saffold virus 上気道炎患者由来株脳内接種後の ddY マウスにおける脱髄病変に着眼し、その病変形成機序を解析している。BALB/c マウスにおいても同様の病変が形成されることを利用し病理学的検索を行った。その結果、ウイルス脳内接種後には脳内アストログリアでウイルスが増殖し、その後、頚髄から腰髄白質に感染伝播し、ミクログリアの活性化が引き起こされると示唆された。(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。2013 年および 2008-2009 年の臨床分離株のウイルス遺伝子配列とマウスにおける感染性と

病原性の関連について詳細に検討した。その結果、2013年分離株はマウスに対し比較的強い病原性を発揮することが示唆された。また、患者由来株経鼻接種後成マウスでは一定の割合で、膵に病変が認められた(5%程度)が、心筋親和性を示唆する所見は認められなかった。 (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])

(3)エンテロウイルス D68 の神経病原性に関する動物モデルを用いた研究

まず、エンテロウイルス D68 抗原検出のためのポリクローナル抗体と参照標本を作出した。さらに、EV-D68 感染患者から分離された株を用いて実験動物における感受性を検討した。この際、秋田県において収集された検体のうち、新生仔マウスで分離された株を使用したが、これらは初代分離時に新生仔マウスに弛緩性麻痺を引き起こした(秋田県健康環境センター、IASR 2017 年 10 月号)。これらの臨床分離株を 37□培養条件下で H1HeLa 細胞にて継代したところ、33□と 37□において効率よく増殖するウイルスを 4 株得たが、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[実習生]、齋藤 博之[秋田県健康環境センター]、柴田 ちひろ[秋田県健康環境センター]、荒尾 雄二郎[岡山大学]、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、永田 典代、Yen Hai Doan[ウイルス第二部]、清水 博之[ウイルス第二部])

6. HIV に関する研究

(1)MARCH8 のウイルス感染抑制における二つの異なる分子作用機序の解析

我々が先頃報告した抗ウイルス宿主因子 MARCH8(Nat. Med. 2015)は水胞性口炎ウイルス G(VSV-G)および HIV-1 エンベロープ(Env)のウイルス粒子への取込みを阻害するが、細胞質領域リジン変異型 VSV-G は MARCH8 耐性となるのに対し、HIV-1 Env はリジン変異体でも感受性であった。更に野生型 VSV-G は MARCH8 によりユビキチン化されるがリジン変異体ではされず、HIV-1 Env は野生型でもユビキチン化を受けなかった。これは我々が以前、MARCH8 が VSV-G をリソソーム分解へと導くのに対し、HIV-1 Env を細胞内に滞留させるという結果に矛盾しない。以上より、MARCH8 は二つの異なる分子作用機序による抗ウイルス機能を有することが明らかになった。 (徳永 研三、張 延昭[研究生]、藤田 英明[長崎国際大])

(2)宿主膜タンパク質 MARCH ファミリーメンバーの抗ウイルス活性の解析

上記 MARCH8 以外の MARCH ファミリーメンバーの抗ウイルス活性を検討した結果、MARCH1 および MARCH2 が HIV-1 の感染性を低下させ、その機能には RING-CH 領域が重要であることが分かった。ウイルス産生細胞における両タンパク質の発現によって細胞表面における Env の発現が減少しウイルス粒子中への Env の取込みが抑制された。これら MARCH タンパク質の内在性発現は、1 型インターフェロン(IFN)で処理したマクロファージにおいて顕著に上昇した。今回、MARCH8 に続く抗ウイルス MARCH ファミリーメンバーとして、新たに IFN 誘導型宿主因子 MARCH1 と MARCH2 が加わった。 (張 延昭[研究生]、Yao Weitong[研究生・東京医科歯科大]、田中 道子、山岡 昇司[東京医科歯科大]、藤田 英明[長崎国際大]、徳永 研三)

7. 狂犬病に関する研究

狂犬病研究の多くは固定毒と呼ばれる実験室継代株を用いて行われる。臨床分離株である kyoto 株と固定毒である CVS・hep-Frely,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ている。培養細胞を用いた感染実験における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。イヌの野外感染例の唾液腺では導管側のみに G 抗原は局在しており、街上毒 G 抗原特異的に結合する宿主因子の存在が示唆される。現在、街上毒ウイルス抗原の局在に関与する宿主因子の同定を進めている。 (飛梅 実、佐藤 由子、片岡 紀代[期間業務職員])

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)不活化インフルエンザワクチン経鼻接種により誘導される野外株ウイルスに対する抗体応答

2012/13 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)において、ワクチン接種に誘導された抗体応答を評価した。本研究では、3 価全粒子不活化ワクチン(ウイルス株毎に接種あたり 15 μg HA)をカルボキシビニルポリマー存在下で、3 週間隔で 2 回の経鼻接種を行った。近年の A(H3)ワクチン製造株では、開発・継代・製造過程における鶏卵馴化に伴い、その抗原性が野外株から乖離することが問題となっている。そこで、採取・保存された血清と鼻腔洗浄液について、鶏卵未馴化の A/Victoria/361/2011(H3N2)野外株に対する抗体応答を検討した。現行ワクチン皮下接種群と不活化全粒子ワクチン経鼻接種群のいずれにおいても、野外株に対する血清中和抗体価の幾何平均値は同ワクチン製造株に対する幾何平均値より低かった。しかしながら両者に対する血清中和抗体価の上昇倍率は、ほぼ同等である事が明らかになった。これに対して、野外株に対する鼻腔粘膜上の中和抗体は、不活化全粒子ワクチン経鼻接種群でのみ誘導された。以上から、経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンは、鶏卵馴化を経たワクチン製造株のみならず、野外株に対しても、感染の場となる上気道粘膜上において中和抗体を誘導できるワクチンであると考えられた。(相内 章、鈴木 忠樹、川口 晶、池田 千将、泉地 恭輔、岸田 典子*、浅沼 秀樹*、渡邉 真治*、田村 慎一、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)経鼻インフルエンザワクチンで誘導された広域中和抗体の多量体化による活性増強

経鼻インフルエンザワクチン接種によりヒト体内で誘導される抗体をモノクローナル抗体レベルで解析するために経鼻インフルエンザワクチン接種者の末梢血から形質芽細胞を単離した。単離した形質芽細胞の抗体遺伝子を解析したところ、インフルエンザウイルスに対する広域中和抗体でよく見られる遺伝子座由来の抗体が含まれていることを見出した。そこで、既報の広域中和抗体と同じ遺伝子座由来の抗体遺伝子をクローニングし、IgG もしくは IgA の骨格を有するリコンビナント抗体を作製した。その結果、F11 クローンというインフルエンザウイルスに対する中和活性を有する抗体クローンを得ることに成功した。IgG 型の F11 クローンは中和活性はあるものの HI 活性は無かったが、IgA 型の F11クローンは中和活性と HI 活性を有していることが明らかになった。さらに IgA 型 F11 クローンを多量体化させると抗ウイルス活性が増強することが明らかになった。以上の結果から、経鼻インフルエンザワクチンでヒト体内に誘導される抗体の一部は、IgA 型となることで IgG 型では無かった新たな抗ウイルス活性機構を獲得しており、さらに多量体化することにより抗体機能を増強させ、経鼻インフルエンザワクチンの有効性発現機序の一端を担っている可能性が考えられた。 (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[研究生]、藤井 信[研究生]、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 OMV の、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活性の可能性を既に見出している。自然免疫を活性化する作用機序の異なる物質をアジュバントとして組み合わせることで、誘導される抗体応答が相乗的に増強する可能性があることから、今回は OMV と合成二本鎖 RNA Poly(I:C)を粘膜アジュバントとして併用した際の抗体応答を評価した。BALB/c マウスにインフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 由来のスプリットワクチンを OMV 並びに Poly(I:C)と共に 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(H1N1)pdm09 である Narita 株の経鼻感染を行い、感染 3 日後に採材を行い、防御効果を評価した。粘膜アジュバントとして OMV と Poly(I:C)を併用した際には、誘導される抗体応答は相加的な上昇のみに止まった。また、各々単独では感染ウイルスの増殖抑制効

果が不十分な条件においては、併用することで完全にウイルスの増殖を抑えることができた。 (齋藤　訓平[実習生]、相内　章、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)経鼻粘膜投与型ワクチンにおけるインフルエンザウイルスに対する抗原形状依存的抗体応答

粘膜ワクチンである経鼻不活化インフルエンザワクチンは現行の皮下接種ワクチンに比べ高い感染予防効果を有することが期待されている次世代のインフルエンザワクチンである。しかしながら、抗原タンパク質のみの接種では十分な免疫応答を誘導することが出来ず、免疫原性を上昇させるような抗原の改良や粘膜アジュバントの添加が粘膜ワクチン抗原には必要とされている。最近、抗原分子の粒径や粒子形状に依存して免疫応答が変化することが報告されているが、粘膜投与型ワクチンにおいては抗原分子の形状依存的な免疫応答について全く研究が進んでいない。そこで本研究では、生体内で不活性である金ナノ粒子を 3 種類の形状(球状、三角形、ロッド状)と2種類の異なる表面積を組み合わせた、合計 6 種類の金ナノ粒子に組み換えヘマグルチニンタンパク質(以下、rHA)を結合させることで粒子化させ、粘膜組織における抗原の形状依存性免疫応答について解析した。rHA 単独接種群では陰性対照群と比較し抗体価およびウイルス力価に有意な変化は認められなかった。一方、金ナノ粒子を用いて粒子化させた rHA 接種群では IgA または IgG 抗体価が有意に高く、ウイルス力価を有意に低かった。特に、球状の金ナノ粒子を用いたワクチン接種群では IgA・IgG 抗体価共に有意に高く、ウイルス力価は有意に低かったことから、粘膜投与型ワクチンにおける最適な抗原形状は球状であると考えられた。 (田畑　耕史郎[研究生]、南原　克行*、佐野　芳[研究生]、相内　章、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

VLP(Virus like particle)を用いた次世代デングウイルスワクチンの開発

近年、デングウイルス(DENV)ワクチンとして 4 価遺伝子組み換え弱毒生ワクチンが南米で実用化されたが、安全性への懸念から接種可能年齢は 9 歳～45 歳に限定されている。一方、デング出血熱やデングショック症候群などの重症 DENV 感染症は、高齢者や妊婦、乳幼児でそのリスクが高いと指摘されており、高齢者や妊婦、乳幼児も接種可能な安全な不活化ワクチンの開発が望まれている。そこで、我々はウイルスの膜タンパク質のみで構成された VLP (Virus Like Particle)を抗原とする DENV ワクチンの開発を目指している。VLP の産生はウイルス増殖に依存せず、増殖能が低いウイルスにおいても大量の抗原製造が可能である。本研究では、タンパク質発現量が高くバイオ医薬品の製造系として実績の多い哺乳類細胞による VLP の発現・精製系を確立し、得られた VLP の免疫原性を評価することを目的とした。CHO 細胞を用いて製造した DENV1VLP の免疫原性を 7 週齢マウスと妊娠マウスを用いて評価し、DENV1VLP は DENV1 に対する中和抗体を誘導できることを明らかにした。今後は、DENV1 型だけでなく、他の型に対する VLP の作成・精製法を確立し、4 つの型全てに対して十分な血清中和抗体を獲得できる 4 価ワクチンの開発を目指す。 (藤井　信[研究生]、鈴木　忠樹、佐高　明子[臨時研究補助員]、小島　朝人[客員研究員]、佐野　芳[研究生]、相内　章、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により作製された組換え Env タンパク質を抗原として HTLV-1 ワクチンの開発

HTLV-1 感染症のコントロールのために、HTLV-1 感染予防ワクチンの開発が求められている。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ることで、既に組換え Env タンパク質の作製に成功している。この組換え Env タンパク質の免疫原性に関して、マウスを用いて検討した。BALB/c マウスの皮下に組換え Env タンパク質を 3 週間隔で 2 回接種し、最終免疫から 2 週後に採血を行い、血清中の IgG 抗体応答を評価した。組換え Env タンパク質の接種量依存的に抗体応答は増強し、アジュバントとして水酸化アルミニウムを添加することでさらに強

い応答を得ることができた。また、誘導された抗体はHTLV-1 に関する体外診断薬においても検出されたことから、組換え Env タンパク質は有効なワクチン抗原になる可能性が示唆された。 (齋藤 訓平[実習生]、相内 章、鈴木 忠樹、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生株の経鼻接種後 2、3 および 5 週目の組織におけるウイルス抗原局在と組織像を検討した。感染 2、3 週目の 3 頭中 1 頭で膵外分泌部、精巣あるいは精巣上体、そして脳室周囲にウイルス感染細胞あるいは感染に伴う炎症が認められた。また、感染 2 週目に唾液腺の腺上皮、腎臓の尿細管の一部で抗原が検出された。よって、感染 5 週目に確認されていた髄膜炎、精巣炎と慢性膵炎像は、ムンプスウイルスの感染によって引き起こされたものであると結論づけられた。なお、3 週目の精巣上体管と 5 週目の精巣の曲精細管内に脱落したウイルス抗原陽性細胞が認められ、持続したウイルスの排出が示唆された。 (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)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。免疫原として SARS-CoV のスパイクタンパク質を作製し、SARS-CoV 感染の防御可能な抗原濃度の確認と自然免疫を刺激する金ナノ粒子を混合して免疫した場合、免疫原性が高まるか検討するため、マウスにスパイクタンパク質のみを免疫した群とスパイクタンパク質と金ナノ粒子を混合して免疫した群を準備した。抗原濃度は 1, 0.5, 0.1, 0.05 μg とし、それぞれ 2 週間隔で 2 回免疫し、最終免疫から 2 週間後に攻撃実験を行なった。その結果、抗原濃度 0.05 μg でも SARS 発症を防御することが分かった。しかし、攻撃実験時に 14 週齢以下だったマウスでは金ナノ粒子を混合して免疫した群の生存率は高かったが、15 週齢以上となると、タンパク質を免疫した群より生存率が低くなった。この結果はマウスの SARS-CoV に対する免疫応答が週齢によって異なっているためと推測できた。 (岩田 奈織子、関向 華子[研究生]、福士 秀悦[ウイルス第一部]、鈴木 忠樹、新倉 謙一[北海道大学]、長谷川 秀樹、永田 典代)

Ⅳ. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究

定型 BSE 罹患牛の発生頻度は世界的に収束傾向にある。しかしながら、その生化学的特徴が定型 BSE とは異なる非定型 BSE が報告されている。本邦においても 2 頭の L-type に分類される非定型 BSE 罹患牛が摘発されている。定型および L-type 非定型 BSE をカニクイサルに接種し、中枢神経系の感染病理学的な解析を行った。その結果、L-typeBSE 由来プリオン接種サルでは、プリオン病を H30 発症し、その病理増像はヒトの 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。このことから、L-BSE 由来プリオンはヒトへの感染性を有していることが示唆され、その病理像は孤発性 CJD との鑑別が難しいことが示唆された。また、非定型 BSE に分類される H-type についてサルへの接種実験を行っている。 (飛梅 実、佐藤 由子)

2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

生物由来原料を用いる医薬品等については、最終製品の安全性を確保するため、薬事法に基づき、当該生物由来原料に対して細菌やウイルス安全性に係る基準(平成 15 年 5 月 20 日厚生労働省告示第 210 号 生物由来原料基準)を定めている。これにより規制されてきたウシ由来脾臓ならびに胎盤に関するリスク調査を実施し、OIE 基準により「無視できるリスク国」由来のウシで生体検査で異常が認められなかったウシ由来脾臓ならびに胎盤は、プリオンの濃縮が疑われる過程を有さない場合に原料として用いることが可能であるとの結論に至った。この結果は平成 30 年 2 月発布の薬生発 0228 第 1 号、薬生審発 0228 第 1 号、薬生機審発 0228 第 1 号に反映された。 (飛梅 実、佐藤 由子、萩原 健一[細胞科学部]、中村 優子[細胞科学部])

3. CWD 調査

プリオン病の自然発生が知られている動物種として、ヒトや羊に加えシカが知られている。シカにおけるプリオン病は慢性消耗性疾患(Chronic wasting disease：CWD)として知られており、水平ならびに垂直感染を誘導することが示唆されている。本邦での報告は無いが、北米ならびに韓国での摘発例が知られている。国内ではエゾジカや日本シカ等の固有種ならびに外来種であるキョンの定着が知られている。昨今では野生個体数の増加に伴い積極的な狩猟並びに食への利用が進められており、国内の CWD 清浄確認は急務であり、キョンを対象とした調査を行っている。 (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 29 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 186 検体で、その内訳は感染研内部 136 検体、共同研究 50 検体であった。 (小林　宏尚[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 75 件で、樹脂包埋検体数 55 検体、ネガティブ染色数 228 検体であった。 (片岡　紀代[期間業務職員])

3. 見学者対応

平成 29 年度の電顕室見学者の対応は 23 回、165 名であった。公務員が 95 名、学生 32 名、一般 35 名、外国人 3 名であった。 (片岡　紀代[期間業務職員]、小林　宏尚[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 9 件(樹脂包埋検体 8、ネガティブ染色数 166)、走査電子顕微鏡は 1 件(検体数 5)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、細菌第二部、ゲノムセンター、エイズセンターであった。 (片岡　紀代[期間業務職員]、岩田　奈織子、永田　典代、長谷川　秀樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

なし

2. 行政検査

伝達性海綿状脳症(TSE)スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーピー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。 (飛梅 実、佐藤　由子、長谷川　秀樹、萩原　健一[細胞科学部]、中村　優子[細胞科学部]、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、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 30 年 1 月 18 日。於：村山庁舎)

2. 中島　典子

ベトナム国立小児病院、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。

エジプトのスエズ運河大学(イスマイリア)、保健省管轄下の中央公衆衛生研究所(Central Public Health Laboratory)において、インフルエンザウイルス型・亜型迅速診断に関する連携研究・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) Willems L, Hasegawa H, Accolla R, Bangham C, Bazarbachi A, Bertazzoni U, Carneiro-Proietti AB, Cheng H, Chieco-Bianchi L, Ciminale V, Coelho-Dos-Reis J, Esparza J, Gallo RC, Gessain A, Gotuzzo E, Hall W, Harford J, Hermine O, Jacobson S, Macchi B, Macpherson C, Mahieux R, Matsuoka M, Murphy E, Peloponese JM, Simon V, Tagaya Y, Taylor GP, Watanabe T, Yamano Y. Reducing the global burden of HTLV-1 infection: An agenda for research and action. Antiviral Res. 137:41-48. 2017.

2) Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Shibata M, Takahashi K, Sato Y, Kiso M, Yamayoshi S, Ito M, Enya S, Otake M, Kangawa A, da Silva Lopes TJ, Ito H, Hasegawa H, Kawaoka Y. The Microminipig as an Animal Model for Influenza A Virus Infection. J Virol. 91(2). pii: e01716-16. 2017.

3) 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.

4) Kawaguchi A, Suzuki T*, Ohara Y, Takahashi K, Sato Y, Ainai A, Nagata N, Tashiro M, Hasegawa H. Impacts of allergic airway inflammation on lung pathology in a mouse model of influenza A virus infection. PLoS One. 12(2):e0173008. 2017. *Corresponding author

5) Hayashi K, Yoshida H, Sato Y, Tobiume M, Suzuki Y, Ariyoshi K, Hasegawa H, Nakajima N. Histopathological Findings of Lung with A/H1N1pdm09 Infection-Associated Acute Respiratory Distress Syndrome in the Post-Pandemic Season. Jpn J Infect Dis. 70(2):197-200. 2017.

6) Akkina R, Ellerbrok H, Hall W, Hasegawa H, Kawaguchi Y, Kleanthous H, McSweegan E, Mercer N, Romanowski V, Sawa H, Vahlne A. 2016 International meeting of the Global Virus Network. Antiviral Res. 142:21-29. 2017.

7) Ainai A, Suzuki T, Tamura SI, Hasegawa H. Intranasal Administration of Whole Inactivated Influenza Virus Vaccine as a Promising Influenza Vaccine Candidate. Viral Immunol. 30(6):451-462. 2017.

8) Fujimoto Y, Hasegawa S, Matsushige T, Wakiguchi H, Nakamura T, Hasegawa H, Nakajima N, Ainai A, Oga A, Itoh H, Shirabe K, Toda S, Atsuta R, Morishima T, Ohga S. Pulmonary inflammation and cytokine dynamics of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during A(H1N1)pdm09 influenza infection. Sci Rep. 7(1):9128. 2017.

9) Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Yamayoshi S, Uraki R, Ito M, Nakajima N, Yamada S, Imai M, Kawakami E, Tomita Y, Fukuyama S, Itoh Y, Ogasawara K, Lopes TJS, Watanabe T, Moncla LH, Hasegawa H, Friedrich TC, Neumann G, Kawaoka Y. Emergence of Oseltamivir-Resistant H7N9 Influenza Viruses in Immunosuppressed Cynomolgus Macaques. J Infect Dis. 216(5):582-593. 2017

10) Suzuki T*, Ainai A, Hasegawa H. Functional and structural characteristics of secretory IgA antibodies elicited by mucosal vaccines against influenza virus. Vaccine. 35(39):5297-5302. 2017. *Corresponding author

11) Sano K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H. The road to a more effective influenza vaccine: Up to date studies and future prospects. Vaccine. 35(40):5388-5395. 2017.

12) Okumura A, Saito T, Tobiume M, Hashimoto Y, Sato Y, Umeyama T, Nagi M, Tanabe K, Unoki-Kubota H, Kaburagi Y, Hasegawa H, Miyazaki Y, Yamagoe S. Alleviation of lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced liver injury in leukocyte cell-derived chemotaxin 2 deficient mice. Biochem Biophys Rep. 12:166-171. 2017.

13) Imai M, Watanabe T, Kiso M, Nakajima N, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Yamada S, Ito M,

Sakai-Tagawa Y, Shirakura M, Takashita E, Fujisaki S, McBride R, Thompson AJ, Takahashi K, Maemura T, Mitake H, Chiba S, Zhong G, Fan S, Oishi K, Yasuhara A, Takada K, Nakao T, Fukuyama S, Yamashita M, Lopes TJS, Neumann G, Odagiri T, Watanabe S, Shu Y, Paulson JC, Hasegawa H, Kawaoka Y. A Highly Pathogenic Avian H7N9 Influenza Virus Isolated from A Human Is Lethal in Some Ferrets Infected via Respiratory Droplets. Cell Host Microbe. 22(5):615-626.e8. 2017.

14) Moriyama M, Takeyama H, Hasegawa H, Ichinohe T. Induction of lung CD8(+) T cell responses by consecutive inoculations of a poly(I:C) influenza vaccine.Vaccine. 35(48 Pt B):6620-6626. 2017.

15) Takaki H, Takashima K, Oshiumi H, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H, Matsumoto M, Seya T. cGAMP Promotes Germinal Center Formation and Production of IgA in Nasal-Associated Lymphoid Tissue. Med Sci (Basel). 5(4). pii: E35. 2017.

16) Terasaki F, Fukumoto H, Kawata R, Hirose Y, Fujita SI, Katano H, Ishizaka N. A comprehensive search for microbial DNA and RNA in sarcoidosis tissue samples by quantitative polymerase chain reaction. Infect Dis (Lond). 49: 625-627. 2017.

17) 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: e01335-16. 2017.

18) Sunagawa K, Hishima T, Fukumoto H, Hasegawa H, Katano H. Conserved sequences of BART and BHRF regions encoding viral microRNAs in Epstein-Barr virus-associated lymphoma. BMC Res Notes. 10: 279. 2017.

19) 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. 6: 605-618. 2017.

20) Mine S, Hishima T, Suganuma A, Fukumoto H, Sato Y, Kataoka M, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki T, Hasegawa H, Fukayama M, Katano H. Interleukin-6-dependent growth in a newly established plasmablastic lymphoma cell line and its therapeutic targets. Sci Rep. 7(1):10188. 2017.

21) Koyama K, Horiuchi N, Hasegawa H, Katano H, Oohashi E, Watanabe K, Kobayashi Y. Cytomegalic Inclusion Disease caused by Cytomegalovirus Infection in the Salivary Glands of an African Hedgehog (Atelerix arbiventris). J Compar Pathol. 157: 299-302, 2017.

22) Itoh N, Katano H, Nakayama SI, Kurai H. Gastric Syphilis. Intern Med. 56: 1753. 2017.

23) Goto H, Kariya R, Kudo E, Okuno Y, Ueda K, Katano H, Okada S. Restoring PU.1 induces apoptosis and modulates viral transactivation via interferon-stimulated genes in primary effusion lymphoma. Oncogene. 36: 5252-5262, 2017

24) Awazawa R, Utsumi D, Katano H, Awazawa T, Miyagi T, Hayashi K, Matori S, Uezato H, Takahashi K. High Prevalence of Distinct Human Herpesvirus 8 Contributes to the High Incidence of Non-acquired Immune Deficiency Syndrome-Associated Kaposi's Sarcoma in Isolated Japanese Islands. J Infect Dis. 216: 850-858. 2017.

25) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Watanabe S, Fukushi S, Saijo M. Virulence, pathology, and pathogenesis of Pteropine orthoreovirus (PRV) in BALB/c mice: Development of an animal infection model for PRV. PLoS Negl Trop Dis. 11(12):e0006076. 2017.

26) Sakata M, Tani H, Anraku M, Kataoka M, Nagata N, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y. Analysis of VSV pseudotype virus infection

mediated by rubella virus envelope proteins. Sci Rep. 7(1):11607. 2017.

27) Taniguchi S, Maeda K, Horimoto T, Masangkay JS, Puentespina R Jr, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Nagata N, Egawa K, Singh H, Fukuma A, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Tsuchiaka S, Omatsu T, Mizutani T, Une Y, Yoshikawa Y, Shimojima M, Saijo M, Kyuwa S. First isolation and characterization of pteropine orthoreoviruses in fruit bats in the Philippines. Arch Virol. 162(6):1529-1539. 2017.

28) 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(4):408-415. 2017.

29) Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Kawachi S, Furuya H, Do HT, Kageyama T, Ta TA, Dao NH, Nunoi H, Tran DM, Le HT, Nakajima N. Pathogen screening and prognostic factors in children with severe ARDS of pulmonary origin. Pediatr Pulmonol. 52(11):1469-1477. 2017.

30) Phan PH, Ngo DT, Ta TA, Kawachi S, Nakajima N, Hirata N, Ainai A, Phung TBT, Tran DM, Le HT. Successful treatment of pneumonia-induced severe ARDS complicated with DIC in two infants using recombinant human thrombomodulin. Integr Mol Med. 4(3):1-5. 2017.

31) Bhatnagar J, Rabeneck DB, Martines RB, Reagan-Steiner S, Ermias Y, Estetter LB, Suzuki T, Ritter J, Keating MK, Hale G, Gary J, Muehlenbachs A, Lambert A, Lanciotti R, Oduyebo T, Meaney-Delman D, Bolaños F, Saad EA, Shieh WJ, Zaki SR. Zika Virus RNA Replication and Persistence in Brain and Placental Tissue. Emerg Infect Dis. 23(3):405-414. 2017.

32) Takahata T, Takeda E, Tobiume M, Tokunaga K, Yokoyama M, Huang Y-L, Hasegawa A, Shioda T, Sato H, Kannagi M, Masuda T. Critical Contribution of Tyr15 in the HIV-1 Integrase (IN) in Facilitating IN Assembly and Nonenzymatic Function through the IN Precursor Form with Reverse Transcriptase. J Virol. 91: e02003-16. 2017.

33) Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. J Virol Methods. 251:22-29. 2017.

34) Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Haga K, Ishii K, Takeda N, Wakita T. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. Infect Genet Evol. 51:153-159. 2017.

35) Ogawa M, Satoh M, Kataoka M, Ando S, Saijo M. Nitric oxide enhanced the growth of an obligated intracellular bacterium Orientia tsutsugamushi in murine macrophages. Microb Pathog. 107:335-340. 2017.

36) Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Doan YH, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Determination of Ferret Enteric Coronavirus Genome in Laboratory Ferrets. Emerg Infect Dis. 23:1568-1570. 2017

37) Ikeda J, Matsushima A, Ishii W, Goto T, Takahashi K, Nakamichi K, Saijo M, Sekijima Y, Ikeda S. Brain biopsy is more reliable than the DNA test for JC virus in cerebrospinal fluid for the diagnosis of progressive multifocal leukoencephalopathy. Internal Medicine. 56(10):1231-1234. 2017.

2. 和文発表

1) 伊崎 祥子, 田中 覚, 田島 孝士, 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+リンパ球減少症と関連しメフロキンが有効で、変

異型ウイルスを証明した小脳・脳幹型進行性多巣性白質脳症の 1 剖検例. NEUROINFECTION. 22(1): 162-168. 2017.

2) 長谷川 俊史, 松重 武志, 脇口 宏之, 大賀 正一, 長谷川 秀樹, 相内 章, 調 恒明, 戸田 昌一, 熱田 了. MS13-4 A (H1N1) pdm09 感染による重症喘息発作に対するプランルカスト水和物の予防効果の検討. アレルギー. 66(4/5): 585-585. 2017.

3) 金城 雄樹, 高塚 翔吾, 仲原 真貴子, 阿部 雅広, 上野 圭吾, 宮武 浩, 朴 貞玉, 明田 幸宏, 常 彬, 相内 章, 鈴木 忠樹, 大島 謙吾, 武田 博明, 川上 和義, 長谷川 秀樹, 大西 真, 生田 和良, 大石 和徳, 宮崎 義継. 肺炎球菌感染症を予防する新規ワクチン ~ 防御免疫誘導機構及び今後の展望 ~. Host Defense. 28: 31-31. 2017.

4) 長谷川 秀樹. IgA 抗体誘導型経鼻インフルエンザワクチンによる感染症の制御. 実験医学. 35(7): 1214-1220. 2017.

5) 長谷川 秀樹. 粘膜免疫を使った「経鼻ワクチン」. 別冊 Bio Clinica: 慢性炎症と疾患. 6(2):80-85. 2017.

6) 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹. 先天性ジカウイルス感染症の病理. 化学療法の領域. 33(8)1602-1608. 2017.

7) 長谷川 秀樹. インフルエンザワクチン研究のパラダイムシフト. インフルエンザ. 18(2): 73-74. 2017.

8) 長谷川 秀樹. インフルエンザの予防. 臨床と微生物. 44(6):699-703. 2017.

9) 長谷川 秀樹. 経鼻不活化および生ワクチンの有効性評価. インフルエンザ. 19(1):51-55. 2017.

10) 藤井 麻美, 徳住 正隆, 守屋 智枝, 周 円, 加納 宏行, 宮崎 龍彦, 福本 瞳, 片野 晴隆, 清島 真理子. 有棘細胞癌の切除断端に発症した Merkel 細胞癌の 1 例. 臨床皮膚科. 71: 766-771. 2017.

11) 諸岡 雄也, 福本 瞳, 山本 剛, 喜多 修久, 西村 良美, 奥野 英雄, 新井 智, 畠山 邦也, 平田 雅昭, 片野 晴隆, 多屋 馨子. Multivirus real-time PCR によって診断できたヒトパルボウイルス B19 脳炎の 1 例. NEUROINFECTION. 22: 144-149. 2017.

12) 高橋 健太, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹. 神経感染症の病理. 神経内科 Clinical questions and pearls 神経感染症. 49-59. 2017.

13) 高橋 健太, 鈴木 忠樹, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹. PML の脳生検の診断的価値. 神経内科. 87(4):377-383. 2017.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Sekimukai H, Fukushi S, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Acute respiratory infection in human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice infected with Middle East respiratory syndrome coronavirus. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.

2) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Sekimukai H, Takeda M, Hasegawa H. Identification of the immune response properties of human coronaviruses in mouse models. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.

3) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Takeda M, Arai K, Hasegawa H, Nagata N. Expression and characterization of spike proteins of human coronavirus associated with severe pneumonia. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.

4) Fukushi A, Fukuma A, Tani H, Kurosu T, Taniguchi S, Egawa K, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Sentsui H, Saijo M. VSV pseudotype and monoclonal antibody-based assays for determining MERS coronavirus neutralizing antibody responses. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.

5) Tokunaga K(invited speaker). Virus restriction factor BST-2 and its gene activation by CRISPR technology. The Russian-Chinese Congress on Medical Microbiology, Epidemiology and Clinical Mycology.

(Russia) 2017. 6.

6) Yao W, Tada T, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K(speaker). Membrane-associated RING-CH (MARCH) 1 and 2 are other members of MARCH proteins that inhibit HIV-1 infection. 9th IAS Conference on HIV Science. (France) 2017.7.
7) Fujita H, Hashimoto R, Takahashi S, Hama M, Fujii Y, Menezes JCJMDS, Takahashi H, Takahashi H, Sawasaki T, Motokawa T, Tokunaga K. Tyrosinase is ubiquitinated by RNF152, a membrane associated ubiquitin ligase. XXIII International Pigment Cell Conference. (USA) 2017.8.
8) Hasegawa H. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) viruses in Japan. The 7th Asia-Pacific Workshop on Multisectoral Collaboration on the Prevention and Control of Zoonoses. (Philippines) 2017.9.
9) Tobiume M. Experimental transmission of classical and atypical Bovine Spongiform Encephalopathy to Cynomolgus Macaques. LIKA symposium 2017 UPF/LIKA. (Brazil) 2017.9.
10) Hasegawa H, Suzuki T, Tobiume M. Study of placental pathology in pregnant women with suspected congenital infection. (Oral presentation) Symposium of the Pediatric Cardiology Network. (Brazil) 2017.10.
11) Hayashi K, Nakajima N, Iwatate S, Asakura K, Hamamatsu A. Severe lung injury associated with A/H1N1pdm09 infection in the post-pandemic season. National Association of Medical Examiners 2017 Annual Meeting. (USA) 2017.10.
12) Hasegawa H. Identification of proteins differentially expressed in cancer stem cells (CSCs) of mouse adult T-cell leukemia (ATL) model as a therapy target. The 3rd Special International Symposium on "Current Trends in Cancer and Signaling." (Korea) 2017.11.
13) Hasegawa H. Intranasal inactivated influenza vaccine and secretory IgA antibody for influenza control. The 14th US-JAPAN Symposium on Drug Delivery Systems. (USA) 2017.12.
14) Hasegawa H. Mucosal vaccine and impact of secretory IgA antibody for influenza virus infection. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim and Viral Panel Meetings. (China) 2018.1.
15) Nakajima N, Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Furuya H, Kawachi S, Le HT. Pathogen Screening and Prognostic Factors in Children with Severe Acute Respiratory Distress Syndrome of Pulmonary Origin. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. (China) 2018.1.
16) Hasegawa H. Enhancement of Anti-Viral Effects of Intranasal Inactivated Influenza Vaccine-Derived Broadly Neutralizing Antibody by IgA Polymerization. Keystone Symposia on Molecular and Celluiar Biology, Antibodies as Drugs: Translating Molecules into Treatments. (Canada) 2018.2.

2. 国内学会

1) 長谷川 秀樹. ウイルス性心筋炎の病理とウイルス同定. 第 3 回日本心筋症研究会. (岐阜) 2017.4.
2) 鈴木 忠樹. ウイルス学・病理学的視点:ジカウイルス感染症. 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 合同大会. (東京) 2017.4.
3) 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 JCV quasispecies in PML patients. 第 106 回日本病理学会総会. (東京) 2017.4.
4) 林 紀乃, 濱松 晶彦, 中島 典子, 長谷川 秀樹, 菊地 洋介, 朝倉 久美子, 早川 輝, 呂 彩子, 高田 綾, 齊藤 一之. 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. 第 106 回日本病理学会総会. (東京) 2017.4.

5) 相内 章, 鈴木 忠樹, 川口 晶, 池田 千将, 泉地 恭輔, 岸田 典子, 浅沼 秀樹, 渡邉 真治, 田村 愼一, 小田切 孝人, 田代 眞人, 長谷川 秀樹. 皮下ワクチンおよび経鼻ワクチンにより誘導された抗体応答の比較. 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) 2017.6.
6) 佐野 芳, 齊藤 慎二, 鈴木 忠樹, 上野 智規, 多賀 祐喜, van Riet E, 相内 章, 田畑 耕史郎, 藤井 信, 高橋 宜聖, 後藤 希代子, 長谷川 秀樹. インフルエザウスに対する組換え分泌型多量体 IgA 抗体の作製と性状解析. 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) 2017.6.
7) 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. (東京) 2017.6.
8) 相内 章, 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹. 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. HTLV-1 Env タンパク質の作製. 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会. (大阪) 2017.8.
9) 中島 典子. 季節性および鳥インフルエンザウイルス感染症の病理. 第 160 回日本獣医学会学術集会. (鹿児島) 2017. 9.
10) 岩附 研子, 中島 典子, 木曽 真紀, 高橋 健太, 伊藤 睦美, 井上 貴史, 堀内 真千子, 岡原 則夫, 佐々木 えりか, 長谷川 秀樹, 河岡 義裕. マーモセットのインフルエンザ感染霊長類モデル動物としての検証. 第 160 回日本獣医学会学術集会. (鹿児島) 2017. 9.
11) 長谷川 秀樹. 経鼻不活化インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 44 回日本小児臨床薬理学会学術集会. (静岡) 2017.10.
12) Negishi H, Miki S, Nishio J, Yasui M, Miyanaga K, Tanji Y, Sekizuka T, Kuroda M, Ainai A, Hasegawa H, Nakajima Y, Taniguchi T. The role of commensal bacteriophage on the activation of innate immune response. 第 65 回ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
13) Fujii M, Suzuki T, Sataka A, Yamaguchi Y, Sano K, Kojima A, Ainai A, Sato T, Hasegawa H. Development of next generation DENV VLP vaccine. 第 65 回ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
14) Sano K, Saito S, Suzuki T, Ainai A, Kotani O, van Riet E, Tabata K, Fujii M, Takahashi Y, Ogawa-Goto K, Hasegawa H. Enhancement of anti-viral potencies of an intranasal Influenza vaccine derived broadly neutralizing antibody by IgA polymerization. 第 65 回ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
15) Miyazaki M, Saito H, Shibata C, Doan YH, Arao Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Development of a flaccid paralysis mouse model after infection of enterovirus D68. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
16) Hagiwara K, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Clarification of a mechanism of SAFV-induced demyelination in a mouse model. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
17) Shimojima M, Taniguchi S, Ami Y, Nagata N, Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Tani H, Fukuma A, Iwata-Yoshikwa N, Saijo M. A non-human primate model for severe fever with thrombocytopenia syndrome SFTS. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
18) Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. Development of competitive ELISA for detecting serologic responses to MERS-CoV using novel monoclonal antibodies against spike protein. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
19) Fukuyama S, Iwatsuki-Horimoto K, Shoemaker JE, Nakajima N, Kiso M, Tomita Y, Katsura H, Maemura T, Watanabe T, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Kawaoka Y. Impact of aging on the pathogenesis of avian infuluenza A(H7N9) virus infection in non-human

primates. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.

20) Yao W, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K. CRISPR-mediated activation of endogenous BST-2 expression blocks wild-type HIV-1 production. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.

21) Tokunaga K, Yao W, Tada T, Zhang Y, Yamaoka S, Fujita H. Two different mechanisms by which MARCH8 inhibits viral infection. 第65回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.

22) Tobiume M, Nakamura Y, Tokunaga K, Sato Y. Phenotypic characterization of species-specific PrPc using Vole PrPc. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.

23) Kataoka M, Ishida K, Ogasawara K, Nozaki T, Sato Y, Hasegawa H, Nakajima N. Three-dimensional ultrastructural analysis of autopsy lung with A/H1N1pdm09 infection. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.

24) 鈴木 忠樹, 法月 正太郎, 飛梅 実, 長谷川 秀樹. ブラジル東北部における先天性ジカウイルス感染症の疫学と医療事情. グローバルヘルス合同大会 2017. 第 58 回日本熱帯医学会大会・第 32 回日本国際保健医療学会学術大会・第 21 回日本渡航医学会学術集会合同大会. (東京) 2017.11.

25) Yao W, 多田 卓哉, 張 延昭, 田中 道子, 山岡 昇司, 藤田 英明, 徳永 研三. 宿主膜タンパク質 MARCH ファミリーメンバーの抗ウイルス活性の解析. 第 31 回日本エイズ学会. (東京) 2017.11.

26) 増田 貴夫, 高畑 辰郎, 黄 渝倫, 王寶 れい, 長谷川 温彦, 徳永 研三, 飛梅 実, 塩田 達雄, 武田 英里, 俣野 哲朗, 横山 勝, 河合 剛太, 佐藤 裕徳, 神奈木 真理. HIV-1 インテグラーゼ非酵素的機能の分子基盤. 第 31 回日本エイズ学会. (東京) 2017.11.

27) 佐野 芳, 齊藤 慎二, 鈴木 忠樹, 上野 智規, 多賀 祐喜, van Riet E, 相内 章, 田畑 耕史郎, 藤井 信, 高橋 宣聖, 後藤 希代子, 長谷川 秀樹. モノクローナル多量体型 IgA 抗体作製法を用いた分泌型 IgA 抗体の抗インフルエンザウイルス活性の解析. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. (福岡) 2017.12.

28) 相内 章, 鈴木 忠樹, 川口 晶, 池田 千将, 泉地 恭輔, 岸田 典子, 浅沼 秀樹, 渡邉 真治, 田村 愼一, 小田切 孝人, 田代 眞人, 長谷川 秀樹. 不活化インフルエンザワクチン経鼻接種により誘導される野外株ウイルスに対する抗体応答. 第21回日本ワクチン学会学術集会. (福岡) 2017.12.

29) 鈴木 忠樹, 寺内 芳彦, 相内 章, 齊藤 慎二, 多賀 祐喜, 大原 有樹, 山口 喜之, 小田切 孝人, 田代 眞人, 後藤 希代子, 長谷川 秀樹. 経鼻不活化インフルエンザワクチン接種により誘導される粘膜抗体の性状解析. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. (福岡) 2017.12.

30) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Kataoka M, Arai K, Niikura K, Hasegawa H, Nagata N. Development of a vaccine against human coronavirus using gold nanoparticles. 第 40 回日本分子生物学会年会. (大阪) 2017.12.

8. 免 疫 部

部長 阿戸 学(12月まで)
高橋 宜聖(1月より)

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、生物毒素および抗毒素治療に関する研究、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)に関する免疫研究
2. インフルエンザウイルスに関する免疫研究
3. ノロウイルスに関する免疫研究
4. Respiratory syncytial virus(RSV)に関する免疫研究
5. 他のウイルスに関する研究

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免疫研究
3. 類鼻疽の宿主防御に関する免疫研究

III. 免疫機能に関する研究
1. 新規網羅的配列解析手法を用いた抗体レパトア総体の明示と逆遺伝学的抗体分子発現
2. ヒト化マウスの解析

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究
1. セアカゴケク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. 抜き取り検査
III. 承認前試験
IV. 標準品交付
V. 体外診断薬委員会業務

国際協力関係業務

研修業務

共同利用機器管理

人事異動として、平成29年5月1日から12月31日の間、阿戸学が免疫部長と感染制御部長の併任となり、平成30年1月1日付で免疫部長の併任が解除された。平成30年1月1日付で、高橋宜聖が免疫部第四室長から免疫部長に昇任した。安達悠研究員が平成29年5月31日付で退職し、平成29年6月1日付で主任研究官に採用された。

業 績

調査・研究

Ⅰ. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス(HIV)に関する免疫研究

(1) iPS化HIV特異的CTLによるHIV制御効果のヒト化マウスモデルを用いた検証

我々の開発したDsRed発現HIV感染ヒト化マウスモデルを用い、立川室長が京都大学iPS細胞研究所の金子新教授との共同研究で作製したiPS化HIV特異的CTLのin vivoにおけるHIV制御効果の検証を試みた。マウスに移入したiPS化CTLは移入後1週間以内で消失し、そのHIV制御効果を血中ウイルス量やCD4陽性T細胞数の減少を指標に実証することはできなかった。しかしながら、ヒト化マウス体内に存在するHIV感染CD4陽性T細胞は一過性に減少することが示唆され、HIV感染とiPS化CTL移入のタイミングが重要であると考えられた。

[横田恭子(客員研究員)、寺原和孝、岩渕龍太郎(研究生)、三木祥治(流動研究員)、立川愛(エイズ研究センター)]

(2) 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。これまでに我々は、異なる蛍光タンパク質をセンス鎖・アンチセンス鎖に搭載したモデルHIVを利用し、一部の潜伏感染細胞群がasRNAを発現していること、さらに本細胞群が再活性化刺激に対してほとんど応答しないことを明らかにした。本年度は野生株HIVに潜伏感染した細胞でも実際にasRNAが発現していることを明らかにした。また、asRNAがsRNAの発現を抑制することをノックダウン実験により明らかにした。これらのことから、asRNAが潜伏感染維持に貢献していることが分かった。

[小林(石原)美栄、寺原和孝、阿戸 学、横田恭子(客員研究員)]

2. インフルエンザウイルスに関する免疫研究

(1) 免疫原性を改善したH7N9ワクチンの開発

鳥インフルエンザA(H7N9)ウイルス(以下、H7N9ウイルス)感染症は、2013年3月にヒト感染例が初めて報告されて以来、累積報告症例数は1500例以上に及び、そのうち

39%が死亡例である(2017 年 9 月 27 日時点)。中でも、2016/2017 年シーズンの第 5 波は過去の流行期よりもピークが大きく、また家禽に対して高病原性を示す H7N9 ウイルスが初めてヒトから分離された点に注目が集まった。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差防御抗体を誘導する新しい抗原剤形に関する研究

インフルエンザウイルス経鼻感染後の肺において、交差防御能に優れた 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ている。ハイスループットなシングルセル培養系を用いて、肺の交差性 B 細胞が認識する抗原領域を特定した。この領域を露出することで、交差性 B 細胞を誘導しやすくなることが予想されるヘマグルチニンタンパク質に着目し、これを接種したマウスでは、より高濃度の交差抗体の誘導が確認された。さらに、惹起された交差抗体は変異型ウイルス感染に対する交差防御効果を示したことから、新しいワクチン剤型になる可能性が期待された。
[安達悠、阿戸 学、高橋宜聖]

(3)インフルエンザワクチン免疫に応答する抗体レパートリーの網羅的解析

ワクチン免疫に誘導される抗体レパトア動態変化を解析する上で、抗体の主要な抗原結合部位である CDR3 のアミノ酸配列の特性を抽出することは、ワクチンの免疫原性を評価する上で不可欠である。この点について詳細に検討し、主成分分析法により CDR3 アミノ酸配列特性を抽出する独自の手法を確立して論文発表した。この手法により、剤形の異なるワクチン、例えば全粒子ワクチンとスプリットワクチンに誘導される抗体アビディティーの差異を評価することが可能になると期待される。この点について、CDR3 アミノ酸配列特性の数値化条件などについて詳細な検討を進めている。本研究開発によって、ワクチンの有効性について新規検証方法を確立できれば、有効性の高いワクチン開発の指標を明示することができ、より効果の高いワクチン開発を促すことが期待される。
[大西和夫、孫琳(筑波大学生命環境科学研究科)、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)]

3. ノロウイルスに関する免疫研究

(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調べるため、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(北里大学)、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ジェノ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ジェノタイプをカバーする交差防御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戦略の妥当性が確認された。
[小野寺大志、三木元博(ウイルス第二部)、片山和彦(北里大学)、阿戸 学、高橋宜聖]

4. Respiratory syncytial virus(RSV)に関する免疫研究

(1)RSV ワクチン(ホルマリン固定不活化 RSV)接種後の RSV 自然感染に伴うアレルギー性気道炎症の発症機構の解明

現時点で有効な RSV ワクチンは存在しない。なぜなら、ホルマリン固定不活化 RSV (FI-RSV) 接種後に RSV に自然感染すると、RSV 中和抗体が誘導されないばかりか、喘息様のアレルギー性気道炎症が誘導される (FI-RSV VED モデル) からである。そこで、FI-RSV VED 誘導機構の解明を試みた。結果、FI-RSV 接種後に樹状細胞から産生される growth arrest specific 6 (Gas6) がそのレセプターAxl に結合すると、Th2 免疫応答であるアレルギー性気道炎症を誘導することを見出した。同時に、Gas6/Axl シグナルは、RSV に対する親和性の高い抗体の誘導を阻害することを明らかにした。特に Gas6/Axl シグナルを介した Th2 免疫応答は、RSV の glycoprotein(G protein)により誘導されることが示唆された。つまり、これまでに RSV ワクチンが開発できなかった理由のひとつを Gas6/Axl シグナルが説明することとなった。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］

(2)Gas6 をバイオマーカーとした RS ウイルスワクチン剤形の評価系の構築
FI-RSV VED モデルにおけるマウスアレルギー気道炎症の程度に相関し、Gas6 は Th2 サイトカイン同様肺中で産生量が増加した。一方、血中では Th2 サイトカインは検出できなかったが、Gas6 は肺中 Th2 サイトカイン濃度やアレルギーの程度に相関し産生された。すなわち、Gas6 は新規ワクチン剤形の安全性評価においてより鋭敏なバイオマーカーになりうることが示唆された。中和抗体産生について合わせて検討することにより、ワクチン候補剤形の安全かつ有効性を評価できる。
［柴田岳彦、高橋宜聖、阿戸 学］

(3)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、M2 マクロファージを誘導することにより肺炎球菌感染に伴う 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、高橋宜聖、阿戸 学］

5. 他のウイルスに関する免疫研究
(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
CD4 陽性ヘルパーT 細胞は抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の誘導・維持に必須であるものの、HIV 抗原特異的 CD4 陽性ヘルパーT 細胞は HIV の優先的な感染標的でもある。このことから、ワクチンによる CD4 陽性 T 細胞誘導が HIV 標的増幅のリスクとなることを踏まえ、CD8 陽性 T 細胞を選択的に誘導する断片連結抗原発現ワクチンを設計した。本ワクチンをアカゲサルに接種して末梢血、リンパ節、腸管における免疫誘導能を解析した結果、いずれにおいても SIV 抗原特異的 CD4 陽性ヘルパーT 細胞誘導は低レベルであり、SIV 抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞が選択的に誘導されていることが確認された。
［寺原和孝、石井 洋（エイズ研究センター）、俣野哲朗（エイズ研究センター）］

(2)抗体遺伝子レパトア解析による SFTS 発症機構の探索
重症熱性血小板減少症候群（SFTS）において、原因ウイルスはリンパ組織の大型リンパ球で増殖することを明らかにしている。この細胞は形質芽細胞であることから細胞表面抗体がウイルス粒子レセプターとして機能している可能性が考えられた。そこで、この仮説を検証するために、SFTS で誘導される形質芽細胞様大型リンパ球群の抗体遺伝子レパトア全体像の解析を試みている。ウイルス標的細胞表面の抗体レパトア像に共通する特性を同定できれば、SFTSV 感染機構を解明する上で重要な知見になる。この目的のために、次世代シークエンサ（NGS）を用いた網羅的抗体レパトア解析プロトコールの作製を行った。ヒト抗体 H 鎖遺伝子領域の V,D,J 遺伝子断片データベースを充実させ、IgBLAST 法を用いたアノテーションを行い、V(56)、D(27)、J(6)各遺伝子断片の再構成を立体格子上にプロットしてレパトア全体像を把握する可視化パイプラインを確立した。今後、各ステップの条件を最適化し、データ規模を大きくして実際の抗体レパトア解析を実行する。ウイルス標的細胞表面の抗体レパトア共通因子を同定することにより、SFTS 病態形成における形質芽細胞の存在意義を明らかにするとともに、SFTSV 感染機構の解明を目指す。
[大西和夫、鈴木忠樹（感染病理部）、大場靖子（北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター）、佐野芳（感染病理部）、孫緋（筑波大学生命環境科学研究科）、薛漢兵（筑波大学生命環境科学研究科）]

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。この結果から GPL は感染の際に細胞へのアプローチに貢献していることが推察される。
[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）、高橋宜聖、阿戸 学、小林和夫（堺市衛生研究所、客員研究員）]

(2)菌体表層および菌体外構造物の観察
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。この構造物は形態から pili と推察される。GPL 欠損株では菌体表面の GPL 層および pili 様構造物が失われており、構造物が GPL と同様に sliding

や細胞との相互作用に関与する可能性が示唆された。
[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）、高橋宜聖、阿戸　学]

2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する免疫研究
（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インターフェロンγ産生未熟骨髄系細胞（Interferon-γ-producing immature myeloid cells: γIMCs）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γIMCsを同定した。野生型γIMCsを養子細胞移植したマウスや、IL-6欠損γIMCsの養子細胞移植と同時にIL-6を投与したマウスにおいては、劇症型感染に抵抗性を示した。一方、IL-6欠損γIMCsを養子細胞移植したマウスでは劇症型感染に抵抗性を示さなかった。また、野生型γIMCsと比べ、IL-6欠損γIMCsはGAS応答性のサイトカン産生が減少し、それはIL-6前処理により改善された。以上のことから、IL-6欠損γIMCsではIL-6依存的なGAS応答に関わる分子が欠如しており、宿主防御能が低下していることが示唆された。またそのことがIL-6欠損マウスにおいてGAS感受性が上昇している1つの原因であると考えられた。[松村隆之、池辺忠義（細菌第一部）、大西真（細菌第一部）、高橋宜聖、阿戸　学]

3. 類鼻疽感染症に関する免疫研究

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. 新規網羅的配列解析手法を用いた抗体レパトア総体の明示と逆遺伝学的抗体分子発現

次世代シークエンサーを用いて個体内で発現する抗体分子群の RNA 配列を網羅的に取得し、抗体の V(D)J 再構成により形成される抗原認識多様性の空間、すなわち抗体レパトア空間の全体像を可視化してその動態を記述する新規解析システムを構築した。マウス個体内で形成される抗体レパトアの発生過程、抗原刺激による抗体レパトア動態力学の全視野的解析、新規抗体分子配列の遺伝子合成による逆遺伝学的発現とウェット実験による抗原結合性確認、レパトア形成におけるプレB細胞受容体の役割、などの研究を通して多くの重要な新知見を得た。新興感染症に対する抗体医薬開発や新規ワクチン開発などに応用できる。
[大西和夫、孫琳（筑波大学生命環境科学研究科）、薛漢兵（筑波大学生命環境科学研究科）、野口保（東京薬科大学）、藤本浩文（品質管理保証室）、藤博幸（関西学院大学）

2. ヒト化マウスの解析

ヒト免疫細胞の分化を伴う、いわゆる“ヒト化マウス”はヒト造血系やヒト指向性病原体感染の *in vivo* モデルとして広く用いられている。しかしながら、骨髄系細胞の分化誘導に寄与するサイトカインの種特異性は高いため、ヒト化マウスでは樹状細胞を含む骨髄系細胞の分化・機能は未熟であるとされている。本研究では、ヒト化マウスにヒトサイトカインである Flt3-L および GM-CSF を誘導させることで、樹状細胞の分化レベルを向上させることを目指した。これらサイトカインをコードするプラスミドをヒト化マウスに導入したところ、タンパクレベルでの発現を確認した。サイトカイン誘導後の脾臓および骨髄を解析した結果、Flt3-L は骨髄系樹状細胞群の数的向上に寄与すること、GM-CSF は骨髄系樹状細胞群の成熟化に寄与することが明らかとなった。今後は T 細胞の性状について解析する予定である。
[岩渕龍太郎（研究生）、寺原和孝、小林(石原)美栄、横田恭子(客員研究員)、阿戸学、竹山春子（早稲田大学）]

Ⅳ. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケグモ抗毒素の力価試験、品質管理試験

セアカゴケグモ咬傷は，咬傷部の疼痛が主な症状であるが、その後の疼痛増強や全身に多彩な症状が認められることがある。治療は、対症療法とウマ抗毒素の投与であるが、我が国では抗毒素が薬事承認されていないため、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、2015 年度に国内初のセアカゴケグモ抗毒素が製造された。今年度は昨年度に引き続き、その保存安定性試験を行い、2015 年度に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安定的な保存法について検討した。セアカゴケグモ毒素の凍結乾燥品の性状試験と LD50 試験を行ったところ、−80℃保管品と比較して毒素の主成分であるα-ラトロトキシンの量と毒素活性が 2 割程度低下することが判明した。そのため、セアカゴケグモ毒素は引き続き−80℃で凍結保存することとなった。[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）、高橋宜聖、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

[松村隆之、高橋宜聖、阿戸　学]

エンドトキシン試験：245ロット

[寺原和孝、小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛、高橋宜聖、阿戸　学]

II.抜き取り検査

エンドトキシン試験：3ロット

[寺原和孝、小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛、高橋宜聖、阿戸　学]

III.承認前試験

エンドトキシン試験：6ロット

[小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛、高橋宜聖、阿戸　学]

IV.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）

[岡部真裕子、松村隆之、高橋宜聖、阿戸　学]

V.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、これまで IgG 型 HAV 検体パネルの整備を完了した。平成 29 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構築し、整備を進めている。

[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

韓国 National Institute of Food and Drug Safety Evaluation より、韓国まむし抗毒素標準品候補品を評価するための試験を依頼され、その受入準備を行った。[松村隆之、高橋宜聖、阿戸　学]

研修業務

I. 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 19 日）、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(5 月 24 日)、大阪市立大学医学部（5 月 31 日）、知の市場：感染症総合管理 1d、9 月 12 日）、東京大学大学院農学研究科（12 月 15 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 10 日、5 月 17 日、6 月 21 日）で免疫学講義を行った。 [高橋宜聖]

早稲田大学先進理工学部（5 月 24 日、5 月 31 日、7 月 5 日）で講義を行った。新潟大学医学部の医学研究実習（9-11 月）を担当した。[寺原和孝]

東邦大学大学院理学研究科(10 月 16 日、23 日)で講義を行った。[柴田岳彦]

岡山大学歯学部の自由研究演習（8−11 月）を担当した。[松村隆之]

慶應義塾大学法学部（4 月 4 日、14 日ほか）、筑波大学生命環境学群（9 月 10-11 日）で講義を行った。筑波大学大学院生命科学研究科（11 月 30 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 29 年度の使用実績は、950 回、2509 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) Wada Y, Nithichanon A, Nobusawa E, Mouise L, Martin WD, Terahara T, Hagiwara H, Takeyama H, De Groot AS, Ato M, Takahashi Y. A humanized mouse model identifies key amino acids in H7 hemagglutinin that lower the immunogenicity of H7N9 influenza vaccines. **Sci Rep**. 7:1283. 2017

2) 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, 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.** pii: JVI.00439-17.2017

3) Hifumi T, Yamamoto A, Ato M, Sawabe K, Morokuma K, Morine N, Kondo Y, Noda E, Sakai A, Takahashi J, Umezawa K. Clinical Serum Therapy–benefits, cautions, and potential applications. **Keio J Med.** 10.2302/kjm.2016-0017-IR. 2017

4) 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.** 66:89-99. 2017

5) Takahashi Y, and Kelsoe G. Role of germinal centers for the induction of broadly-reactive memory B cells. **Curr Opn Immunol.** 45:119-125. 2017

6) Nithichanon A, Gourlay L, Bancroft G, 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

7) Kono N, Sun L, Toh H, Shimizu T, Xue H, Numata O, Ato M, Ohnishi K, Itamura S. Deciphering antigen-responding antibody repertoires by using next-generation sequencing and confirming them through antibody-gene synthesis. **Biochem Biophys Res Commun.** 487:300-306. 2017

8) Takahashi, Y., Onodera, T., Adachi, Y., Ato, M. Adaptive B cell responses to influenza virus infection in the lung. **Viral Immunology.** 30:431-437. 2017

9) Enany S, Yoshida Y, Tateishi Y, Ozeki Y, Nishiyama A, Savitskaya A, Yamaguchi T, Ohara Y, Yamamoto T, Ato M, Matsumoto S. Mycobacterial DNA-binding protein 1 is critical for long term survival of Mycobacterium smegmatis and simultaneously coordinates cellular functions. **Sci Rep.** 7:6810. 2017

10) Takeuchi H, Saito H, Noda T, Miyamoto T, Yoshinaga T, Terahara K, Ishii H, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S. Phosphorylation of the HIV-1 capsid by MELK triggers uncoating to promote viral cDNA synthesis. **PLoS Pathogens**. 13(7):e1006441.2017

11) Yano H, Iwamoto T, Nishiuchi Y, Nakajima C, Starkov DA, Mokrousov I, Narvskaya O, Yoshida S, Arikawa K, Nakanishi N, Osaki K, Nakagawa I, Ato M, Suzuki Y, Maruyama F. Population structure and local adaptation of MAC lung disease agent Mycobacterium avium subsp. hominissuis. **Gen Biol Evol.** 9(9):2403-2417.2017

12) Shibata T, Ato M. A critical role of Gas6/Axl signal in allergic airway responses during RSV vaccine-enhanced disease. **Immunol Cell Biol**. 95(10):906-915.2017

13) Komori Y, Hifumi T, Yamamoto A, Sakai A, Ato M, Sawabe K, Nikai T. Comparative study of biological activities of venom from colubrid snakes *Rhabdophis tigrinus* (Yamakagashi) and *Rhabdophis lateralis*. **Toxins (Basel).** 9(11). pii: E373. 2017

14) Mori S, Horita A, Ginnaga A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Yamamoto A, Shibayama K, Arai S, Yamagishi T, Takahashi M, Taki H, Hifumi T. Venom and antivenom of the redback spider (Latrodectus hasseltii) in Japan. Part II. Experimental production of equine antivenom against the redback spider. **Jpn J Infect Dis**. 70(6):635-641. 2017

15) Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. **J Virol Methods.** 251:22-29. 2018

16) Sun L, Kono N, Shimizu T, Toh H, Xue H, Numata O, Ato M, Itamura S, Ohnishi K. Distorted antibody repertoire developed in the absence of pre-B cell receptor formation. **Biochem Biophys Res Commun**. 495(1):1411-1417. 2018

17) Matsumura T, Mashiko R, Sato T, Itokawa K, Maekawa Y, Ogawa K, Isawa H, Yamamoto A, Mori S, Horita A, Ginnaga A, Miyatsu Y, Takahashi M, Taki H, Hifumi T, Sawabe K, Ato M. Venom and antivenom of the redback spider (Latrodectus hasseltii) in Japan. Part I. Venom extraction, preparation, and laboratory testing. **Jpn J Infect Dis**. 71(2):116-121. 2018

18) Sato K, Kodama A, Hirakawa S, Ato M. Development of a simple permeability assay method for snake venom-induced vascular damage. **Anal Sci.** 34(3):323-327. 2018

2. 和文発表

1) 小野寺大志、安達悠、高橋宜聖 臨床免疫・アレルギ

一科 インフルエンザウイルスに対するヒト交差防御抗体による感染防御機構 68(2):146-153. 2017

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会.

1) Nomura T, Ishi H, Seki S, Yamamoto H, Terahara K, Miura T, Matano T. Induction of mutant epitope-specific CD8+ T cells is an indicator of the beginning of viral control failure in SIV controllers. 35th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. (米国、8 月)
2) Adachi Y, Nithichannon A, Kuraoka M, Kelsoe, G, Ato M, Takahashi Y. Influenza hemagglutinin epitopes emerging at viral replication sites promote the clonal selection and plasma cell development of broadly protective B cells. Keystone Symposia, Emerging Technologies in Vaccine Discovery and Development. （カナダ、1 月）
3) Nakayama M, Shirasaki K, Tachibana M, Yamamoto S, Takii T, Okabe M, Ato M, Ohara N, Inhibitory mechanism of JTY3476 expression by JTY3475 in BCG Tokyo US-Japan Cooperative Medical Science Program, 52nd Mycobacteria Panel Meeting.（新潟、3 月）

2. 国内学会

1) Takahashi, Y. 2017. Induction of broadly-protective B cell responses to mutating viruses. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会 （仙台、12 月）
2) Iwabuchi R, Terahara K, Ishihara-Kobayashi M, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y. 2017. Human GM-CSF and Flt3-L induce reconstitution and maturation of human myeloid dendritic cells in humanized mice. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会（仙台、12 月）
3) 松村隆之, 阿戸学. 2017. Balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in immature myeloid cells involved in outcome of severe invasive group A Streptococcus infections. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会（仙台、12 月）
4) 今井崇史, 松村隆之, 阿戸学, 山崎晶. 2017. Glycolipids in group A Streptococcus are recognized by Mincle to trigger host immune responses. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会（仙台、12 月）
5) Shibata T. and Ato M. 2017.The role of RSV-induced Gas6/Axl signaling in secondary bacterial infection. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会（仙台、12 月）
6) Xue X, Ohnishi K. 2017. Examination of “Universal Light Chain” models that can be paired with a wide spectrum of immunoglobulin heavy chains maintaining their antigen-binding specificities. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会（仙台、12 月）
7) 佐藤佳代子、阿戸学、浅沼秀樹. 2017. TLR agonists enhance avidity and ADCC activities of virus-specific antibodies upon a booster immunization of influenza vaccines. 第 46 回日本免疫学会総会・学術集会（仙台、12 月）
8) 沢辺京子、益子玲於奈、前川芳秀、小川浩平、糸川健太郎、佐藤智美、伊澤晴彦、津田良夫、小林睦生、松村隆之、阿戸学、山本明彦、一二三亨. 2017. 国産セアカゴケグモ抗毒素の試験製造. 第 69 回日本衛生動物学会大会 (長崎、4 月)
9) 南宮湖、倉島篤行、森本耕三、星野仁彦、長谷川直樹、阿戸学、御手洗聡. 2017. 本邦の肺非結核性抗酸菌症患者における菌種の地域分布について 環境微生物系学会合同大会（仙台、8 月）
10) Takahashi Y, Adachi Y, Onodera T, Ato M. 2017. Regulation of antibody breadth to mutating viruses through distinct germinal center selection. 第 16 回あわじしま感染症・免疫フォーラム（淡路島、9 月）
11) 安藤匡子、松村隆之、阿戸学、安藤秀二. 2017. つつが虫病の理解にむけて. 第 160 回日本獣医学会学術集会 (鹿児島、9 月)
12) 小崎弘貴, 中山真彰, 橘理人, 西内由紀子, 阿戸学, 大原直也. 2017.非結核性抗酸菌（non non-tuberculous mycobacteria, NTM）の 薬剤排出能に関する検討、第 70 回 日本細菌学会中国・四国支部総会 (岡山、10 月)
13) Nomura T, Ishii H, Seki S, Yamamoto H, Terahara K, Miura T, Matano T. 2017.Analysis of wild-type and mutant epitope-specific CD8+ T cell responses in SIV controllers. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 (大阪、10 月)
14) Sano K, Saito S, Suzuki T, Ainai A, Kotani O, Van Riet, E, Tabata K, Fujii M, Takahashi Y, Ogawa-Goto K, Hasegawa H. 2017. Enhancement of anti-viral potencies of an intranasal influenza vaccine-derived broadly neutralizing antibody by IgA polymerization. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 (大阪、10 月)
15) Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. 2017.Characterization of novel monoclonal antibodies against MERS coronavirus spike protein and their application in competitive ELISA for detecting serologic responses to MERS coronavirus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会 (大阪、10 月)
16) Shibata T, Ogata R, Taniguchi A, Nakamura S, Matsumoto S, Ito T, Ato.M, 2017 RSV-induced Gas6/Axl signal ultimately leads to severer bacterial pneumonia. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society (金沢、10 月)
17) 野村拓志、石井洋、関紗由里、山本浩之、寺原和孝、三浦智行、俣野哲朗. 2017. SIV 複製制御個体における SIV 野生型/変異型エピトープ特異的 CTL 誘導動態の解析、第 31 回日本エイズ学会学

術集会・総会 (東京、11 月)

18) 泉清彦、森本耕三、長谷川直樹、内村和弘、阿戸学、御手洗聡. 2017. ナショナルデータベースを用いた非結核性抗酸菌症の疫学研究、第 66 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 64 回日本化学療法学会東日本支部総会(東京、11 月)
19) 佐野芳、斉藤慎二、鈴木忠樹、上野智規、多賀裕喜、Elly van Riet、相内章、田畑耕史郎、藤井信、高橋宜聖、後藤希代子、長谷川秀樹　2017. モノクローナル多量体型 IgA 抗体作製法を用いた分泌型 IgA 抗体の抗インフルエンザウイルス活性の解析　第 21 回日本ワクチン学会学術集会(福岡、12 月)
20) 佐藤佳代子、浅沼秀樹、阿戸学、田代眞人、小田切孝人、板村繁之. 2017. TLR アゴニストは抗体の avidity の増強または ADCC 抗体の産生誘導によりインフルエンザスプリットワクチンの防御効果を増強する、第 21 回日本ワクチン学会学術集会(福岡、12 月)
21) 松村隆之、池辺忠義、大西真、阿戸学. 2017. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における未熟骨髄系細胞の機能解析. 第 100 回日本細菌学会関東支部総会 (東京、9 月)
22) 白崎かおり, 中山真彰, 橘理人, 山本三郎, 瀧井猛将, 岡部真裕子, 阿戸学, 上岡寛, 大原直也 2018. BCG Rv3405c による Rv3406 の遺伝子発現抑制機構の解析 第 91回日本細菌学会総会 (福岡、3 月)
23) 竜門亜矢子、中山真彰、和田崇之、橘理人、阿戸学、中島千絵、鈴木定彦、小崎弘貴、大原直也. 2018. Investigation of genes involved in promoting the growth rate of BCG、第 91回日本細菌学会総会 (福岡、3 月)

知的財産権の出願・登録状況

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年度に播種性クリプトコックス症が五類全数把握疾患に規定され、患者背景や予後等の疾病の一端が明らかになり高齢者では致命率が高いことなどが明らかになりつつある。また、世界規模でアウトブレイクをおこしている*Candida auris*はじめ薬剤耐性真菌の増加など真菌感染症が公衆衛生学的に益々重要となるなか、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29年度は各種真菌に関する病原因子解明に関する基盤研究、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。侵襲性真菌症では国内最多の年間一万例以上発生する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生理学的意義に関する研究

本菌の有する莢膜多糖は、病原性因子として考えられているが、その生理学的意義は十分に理解されていない。昨年度は、培養上清から精製した莢膜多糖が莢膜欠損株に対して特異的に結合することを示し、その結合作用が貪食回避に寄与することを示した。平成29度は、4種類の莢膜欠損株 CAP10Δ, CAP59Δ, CAP60Δ, CAP64Δについて酸化ストレス感受性を評価し、感性株と耐性株を見出した。このことは、莢膜合成に関わる一部の代謝が酸化ストレス応答と連動することを示している。

［上野圭吾、金城雄樹、大谷淑子・柳原 尚・清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、宮﨑義継］

(2) マクロライド系薬による高病原性クリプトコックス症の病原性制御に関する研究

Clarithromycin (CAM)の*C. gattii*に対する病原性抑制効果について検討した。CAMと共培養した高病原性*C. gattii*では、H_2O_2やβ-defensinに対する感受性が亢進し、好中球殺菌に対する抵抗性も低下した。

CAM処理により*C. gattii*のMAPKシグナル伝達経路の一つであるHog1のリン酸化をwestern blotで確認したところ、CAM投与群で1/2酸化の抑制が認められた。一方、莢膜形成関連遺伝子の一つである*CAP59*やメラニン産生および細胞膜のintegrityに関与する*LAC1*/*LAC2*遺伝子の発現はCAM処理により減少傾向であり、CAMによる莢膜菲薄化と関連している可能性が示唆された。

［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］

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のサンドイッチ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。作成した抗体が良くないことが原因と考えられたので、これまでの免疫方法とはまったく異なる DNA 免疫法により抗体作製を試みた。エレクトロポレーション法により、何種類かの分泌タンパク質を発現する動物細胞発現ベクターをそれぞれ自己免疫誘導性マウス（BXSB/MpJJms Slc-Yaa）の足筋肉細胞に導入し、抗体産生を惹起した。脾臓細胞を調製後、ハイブリドーマ細胞を得た。一次スクリーニングは、大腸菌由来組換え体あるいは *A. fumigatus* の臨床分離株 Af293 の培養上清を用いた ELISA 法により行った。最もスクリーニングが進んだ B11c タンパク質の抗体作成は以下の状況である。約 1200 種類のハイブリドーマクローンから一次スクリーニング行い有望な 12 種類のクローンを選択した。さらに *Candida albicans* および B11c 遺伝子破壊株の培養上清に対して低反応性を示すクローンを検討した。その結果、大腸菌由来組換え体、Af293 の培養上清に反応性が高く、*C. albicans* の培養上清、B11c 遺伝子破壊株の培養上清に対して反応性が低い抗体を産生すると考えられる複数種類のハイブリドーマクローンを得ることができた。

［高塚翔吾、山越 智、犬飼達也、橋本ゆき、梅山隆、名木 稔、中村茂樹、宮﨑義継］

(2) *A. fumigatus* の分泌小胞に関する研究

A. fumigatus の分泌小胞に含まれる RNA の次世代シークエンスによる網羅的解析をした。分泌小胞から RNA を抽出し、短鎖画分と長鎖画分に分け、それぞれを RNA シークエンスにて解析した。短鎖 RNA では、約1千万塩基のリード数で、登録されている snoRNA を初めとする各種 RNA を検出した。さらに、同定されていない RNA も多数検出した。長鎖 RNA では、約 70 億塩基のリード数で、mRNA も検出されたが、rRNA が非常に多いのが特徴的であった。

[山越 智、梅山 隆、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、名木 稔、中村茂樹、宮崎義継]

(3) *Aspergillus fumigatus* の血清応答機構の解析

臨床上問題となる *Aspergillus fumigatus* は、他の *Aspergillus* 属とは異なり、血清存在下での増殖能が優れていることから宿主での増殖に有利な機構であると考えられる。そこで、本菌の血清存在下での生育メカニズムの解明を目的に、平成 28 年度までに血清存在下での菌糸生育が低下する B11b 遺伝子破壊株を用いたマイクロアレイ解析により、血清添加による遺伝子発現を B11b 遺伝子破壊株ー親株間で比較し、血清存在下での生育に関与する 111 種類の候補遺伝子を選抜した。平成 29 年度は、親株において候補遺伝子の定量 RT-PCR を行い、血清添加による発現誘導が確認できた 23 種類それぞれの遺伝子破壊株を作製した。作製した遺伝子破壊株を用いて、血清存在下での生育能を評価し、3 種類の遺伝子破壊株が血清存在下での生育能に低下を示した。さらに、特定した 3 種類の遺伝子破壊株を用いて、マウス感染実験により病原性を評価したところ、すべての破壊株感染マウス群において、親株感染マウス群と比べて顕著な生存率の上昇が確認され、低病原性である結果を得た。以上より、特定した 3 つの遺伝子が血清存在下での菌糸生育を可能にし、感染宿主における増殖機構に関与することが示唆された。

[犬飼達也、梅山 隆、宇田晶彦(獣医科学部)、山越 智、中村茂樹、名木 稔、宮崎義継]

(4) Cas9/CRISPR ゲノム編集 CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術による *Aspergillus fumigatus* ボリコナゾール耐性変異の検証

肺アスペルギルス症におけるアゾール薬耐性が近年問題となっている。アゾール耐性の原因は、主に標的酵素である Cyp51A の遺伝子変異や過剰発現に起因している。慢性進行性肺アスペルギルス症と診断され、ボリコナゾールを長期投与されている 74 歳男性の喀痰から *A. fumigatus* が分離された。分離株は、ITCZ の MIC ＞8 μg/mL、VRCZ の MIC 8 μg/mL と非常に高い MIC 値を示した。耐性株および感受性株における Cyp51A 塩基配列の比較より、Gly138Ser および Asn248Lys の変異がアゾール耐性に関与する可能性が示された。どちらの変異が耐性に関与するかを確認するために、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を用いて耐性株のそれぞれの変異を感受性株の配列に置換した。その結果、138 番目の Ser を Gly に置換した株でボリコナゾールの感受性が上昇した。以上の結果から、本症例のアゾール耐性分離株のボリコナゾール耐性化の一つの原因として、Cyp51A の 138 番目の Ser 残基が関与する可能性が高いことが明らかになった。

[梅山 隆、犬飼達也、山越 智、名木 稔、中村茂樹、宮崎義継;林悠太、下坂寿希、小川賢二(国立病院機構東名古屋病院)]

(5) 呼吸器検体から検出された糸状菌の菌種同定および *Aspergillus fumigatus* の MLST 法を用いたジェノタイピング

環境に生息するアスペルギルス属は、遺伝子型に地域性が存在する可能性がある。また、病院においては侵襲性疾患が多発する際に、院内感染の可能性を検証する目的で原因真菌の遺伝子型を解析する場合がある。本研究では、アスペルギルス属の分子疫学が地域性の検討や感染源の特定に有益か否かを検証する目的で、単一施設で一定期間に分離された糸状菌の遺伝子学的解析を実施した。2015 年 5 月から 11 月の間に、42 名の患者の気道由来検体から分離された 52

株のアスペルギルス属真菌を使用した。菌種の内訳は、*A. fumigatus* 33 株、*A. flavus* 2 株、*A. niger* 10 株、*A. tubingensis* 5 株、その他 2 株であった。*A. fumigatus* 33 株について MLST 解析を行ったところ、14 の ST(sequence type)が検出された。同一患者由来でも異なる ST の *A. fumigatus* が検出された例と、同一患者由来で同一の ST であった例があり、多様な ST の真菌が分離されていることが判った。今後、経時的地域的な変化についても解析し、アスペルギルス属の MLST 分子疫学が感染源の推定に活用可能か否かを検証したい。

［梅山　隆、中村茂樹、中山靖子、壇辻百合香、宮﨑義継；林悠太、下坂寿希、小川賢二（国立病院機構東名古屋病院）］

3.　カンジダ症に関する研究

(1) *C. glabrata* におけるマイトファジー必須遺伝子 *ATG32* の転写調節機構の解明

これまでの研究から、*C. 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）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 29 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、*ATG32* ORF 上流領域に転写抑制因子が結合すると考えられる配列を同定した。その配列を含む DIG ラベルプローブを作成し、ゲルシフトアッセイを行うと、鉄欠乏条件で消失するバンドが確認され、この配列に鉄依存的な転写抑制因子が結合していることが示唆された

［名木　稔、田辺公一（龍谷大・農学部）、山越　智、梅山　隆、中村茂樹、宮﨑義継］

(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、Caco-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。*C. albicans* 培養上清を DNase 処理したところ、Caco-2 細胞を通過する *S.aureus* 菌数は有意に低下し、一方 Caco-2 細胞を *C. albicans* より抽出した DNA で前処理することで *S.aureus* 菌数は有意に増加したことから、培養上清中に含まれる DNA 成分が Tight junction タンパクの発現に影響を及ぼしているものと考えられた。現在、さらに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。眼内炎の起炎真菌は、non-*albicans Candida* に比べて、*Candida albicans* の眼内炎が多いがその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*（*C. glabrata*、*C. parapsilosis*）を感染させ、眼内の真菌数、炎症性細胞の集積、及び炎症性サイトカイン産生を

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た。また、*C. albicans* 感染マウスでは眼内の炎症性サイトカイン及びケモカインの産生を認めるのに対し、non-*albicans Candida* 感染マウスではこれらの産生を認めなかった。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、定本聡太・篠崎　稔・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とその感染防御効果

これまでの解析で、本菌に対する樹状細胞 (DC) ワクチンを開発し、このワクチンが誘導する新規メモリーT 細胞が感染制御に有効であることを示した。平成 29 年度は、DC ワクチンによる感染制御作用を調べる目的で、感染 7 日目の肺内白血球プロファイルをフローサイトメトリーにて解析し、感染 14 日目の肺については組織学的に解析した。その結果、ワクチン非投与群では、感染後の白血球の浸潤が乏しく感染 14 日目には肺胞腔内に多量の菌体増殖を認めた。一方、ワクチン投与群では、感染 7 日目に好中球・リンパ球・マクロファージを認め、感染 14 日目にはマクロファージが融合した多核巨細胞を認めた。IL-17A 欠損マウスでは DC ワクチンを投与しているにも関わらず、感染後の好中球数が少なく、DC ワクチンによる肺内菌数抑制効果が消失した。このことは、DC ワクチン投与群で観察される感染後の好中球活性化が、本菌に対する感染制御作用に寄与することを示している。
［上野圭吾、金城雄樹、大谷淑子・柳原　尚・清水公徳（東京理科大　基礎工学部）、定本聡太・篠崎　稔・澁谷和俊（東邦大　医学部）、宮﨑義継］

2.　*C. gattii* に対する好中球の殺菌活性

上述のように、DC ワクチンによる感染制御作用に好中球が関与する可能性が示されたため、骨髄由来好中球を材料に、*C. gattii* R265 株 (北米流行型高病原性株) に対する殺菌作用を *in vitro* で解析した。好中球は、新鮮血清存在下でのみ本菌を貪食し、共培養 3 時間で生菌数をおよそ半減させることが明らかになった。この殺菌活性は、アクチン重合阻害剤サイトカラシン D で完全に消失したことから、殺菌反応には貪食反応が必須であることが推察された。新鮮血清存在下では、本菌表面に補体 C3 や免疫グロブリン IgM が結合することから、好中球による本菌の殺菌には菌体のオプソニン化が必要であることが推察された。
［上野圭吾、金城雄樹、柳原　尚・大谷淑子・清水公徳 (東京理科大　基礎工学部)、宮﨑義継］

3. 好中球に発現する LMIR3 の機能解析

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 28 年度までに、LMIR3 欠損好中球において、殺菌活性が亢進することや一次顆粒関連蛋白質の発現が一部増加することを示した。平成 29 年度は、一次顆粒の生理学的性状を解析した。活性酸素種 (ROS)の定量を行ったところ、LMIR3 欠損好中球では一部の ROS が有意に増加することが明らかになった。また ROS 産生阻害剤及びプロテアーゼ阻害剤が共存する条件では、LMIR3 欠損好中球の殺菌活性が減弱し、野生型とほぼ同等の殺菌活性を示した。一方で、好中球の一次顆粒を透過型電子顕微鏡で観察しその数を計測したところ、LMIR3 欠損好中球では一次顆粒の顕著な増加は認めなかった。これらの結果は、LMIR3 が一次顆粒関連蛋白質の発現量を部分的に制御すること、LMIR3 が ROS 産生に関わる酵素や抗菌蛋白質の活性を制御することを示唆している。
［上野圭吾、金城雄樹、北浦次郎・伊沢久未 (順天堂大　医学部)、柳原　尚・大谷淑子・清水公徳 (東京理科大　基礎工学部)、片岡紀代 (感染病理部)、宮

崎義継］

4. 肺炎を予防する新規ワクチンの開発研究

本研究では肺炎及び髄膜炎の主な起炎菌である肺炎球菌に対する新規の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、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を明らかにした。今年度は、濾胞性ヘルパーNKT 細胞が高親和性 IgG 抗体産生細胞への分化をもたらす胚中心 B 細胞の誘導に重要な IL-4 及び IL-21 を産生することを明らかにした。また、本ワクチンでは、他のアジュバントを用いた場合と比較して、長期生存型形質細胞の誘導が優れていることを示唆する結果を得た。濾胞性ヘルパー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、川久保俊、阿部雅広、上野圭吾、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. 金属キレーターによる抗微生物活性の評価と新規薬剤の創薬に関する研究

環境または生体内に含まれる Fe や Zn などの微量金属元素は病原微生物の生存に必須であるが、詳細は明らかにされていない。我々は多剤耐性緑膿菌や難治性真菌株 (アスペルギルス属やムーコルなど)に対する金属キレーターの抗菌・抗真菌活性の評価とその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、和田　章 (理化学研究所)、宮﨑義継］

6. 新規抗真菌薬 T-2307 によるカンジダ眼内炎への有効性の検討

カンジダ眼内炎は治療を誤れば失明することもあるカンジダ血症の重篤な合併症の一つであるが、有効な治療薬は限られている。酵母様真菌に対する優れた抗真菌活性が報告されている新規抗真菌薬 T-2307 のカンジダ眼内炎に対する有効性についてマウスモデルを用いて検討した。その結果、既存薬の殺真菌的に作用するポリエン系薬と同等の有効性を確認することができた。

［阿部雅広、中村茂樹、壇辻百合香、金　蓮今、名木　稔、梅山　隆、山越　智、満山順一(富山化学工業)、宮﨑義継］

III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

1. 感染症治療薬開発に関する研究

(1) *Trichophyton mentagrophytes* の詳細ゲノム解析

白癬の主要な原因菌のひとつである *T. mentagrophytes* ゲノムの詳細解析を行った。ドラフトゲノム配列のオーソログ解析、コア遺伝子解析（BUSCO）、全ゲノム類似度解析（ANI）などから、*T. mentagrophytes* は *T. tonsurans* ならびに *T. equinum* と最も近縁であり、多数の分泌型プロテアーゼが組織への侵襲に寄与しているであろうことが明らかとなった。

［石川　淳、星野泰隆、関塚剛史・黒田　誠（病原体ゲノム解析研究センター）、Mohamed Mahdi Alshahni・槇村浩一（帝京大）］

(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 33,955 回の利用があり、前年度より 66%増加した。

［石川 淳］

(3) ノカルジア属放線菌の蛍光タンパクの利用

宿主細胞や微生物同士の相互作用の解析に利用するために、Nocardia で利用可能な蛍光タンパクの発現系の構築を試みた。7 種類の蛍光タンパクを発現するベクターを構築し、Nocardia に導入した結果、いくつかの蛍光タンパクの発現および顕微鏡下での観察は可能となったが、相互作用の解析に利用するには、蛍光強度、各クローンにおける発現量のばらつきなどの改善点が明らかになり、更なる改良の必要性が示唆された。

［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。そこで、CYP51 変異以外のアゾール耐性化メカニズムを明らかにするために、CYP51 に耐性変異がない耐性分離株におけるアゾールの不活性化を、LC/MS を用いて解析した。その結果、添加したアゾールの濃度および代謝物のプロファイルに変化が観察されなかったことから、薬剤の不活化は関与していないことが判明した。

［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。

また、様々な構造のステロールを取り込ませた条件でアムホテリシン B 感受性試験を行ったところ、73246 株では添加するステロールの構造によって感受性が大きく変化することがわかった。

［名木　稔、田辺公一（龍谷大・農学部）、中山浩伸(鈴鹿医療科学大・薬学部)、山越　智、梅山　隆、中村茂樹、宮﨑義継］

(3) *Candida auris* の薬剤耐性メカニズムに関連する研究

Candida auris は、多剤耐性化しやすく院内伝播をするこれまでのカンジダ属真菌とは異なる特徴を有し、世界的にその蔓延が懸念されている。本邦で分離された世界で初めて分離された *C. auris* 株は抗真菌薬に対し感受性であるが、低濃度の AMPH-B やキャンディン系薬に暴露することで耐性株を誘導することができた。今後、すでに報告されている薬剤耐性遺伝子の発の確認と、WGS を行い抗真菌耐性に関連する新規遺伝子群の有無について評価する予定である。

［中村茂樹、壇辻百合香、金　蓮今、名木　稔、梅山　隆、山越　智、槇村浩一(帝京大学)、宮﨑義継］

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に関する相談業務などを行った。平成 29 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 54 件(菌株数:28 件、臨床検体数:45 件、パラフィン検体数:10 件、抗真菌薬感受性試験依頼数:12 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 1 件、感染症法 5 類全数把握疾患の対象となる播種性クリプトコックス症の病原体 *Cryptococcus neoformans* を検出したのは 3 件、*Cryptococcus gattii* を検出したのは 0 件であった。

[中村茂樹、中山靖子、名木 稔、星野泰隆、山越智、橋本ゆき、壇辻百合香、梅山 隆、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 29 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 34 ロット(タゾバクタム・ピペラシリンナトリウム静注用 2.25g 瓶 11 ロット、4.5g 瓶 11 ロット、2.25g キット 4 ロット、4.5g キット 5 ロット、及びセフィキシム水和物細粒 3 ロット)について力価試験を担当し、日本薬局方及び日本薬局方外医薬品規格の各条収載の液体クロマトグラフィー法に準拠した定量法により力価を測定した。いずれの収去品も含有量は規格範囲内にあり、すべて「適合」と判定された。

[深澤秀輔、石川淳、星野泰隆、福山まり、宮﨑義継]

国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)ならびに Vietnam military medical university (VMMU)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。また、VMMU においても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) 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. 24;61(4).: e01791-16. 2017

2) Kakeya, H., Yamada, K., Kaneko, Y., Yanagihara, K., Tateda, K., Maesaki, S., Takesue, Y, Tomono, K., Kadota, J.,Kaku, M., Miyazaki, Y. ,Kamei, K.,Shibuya, K.,Niki, Y.,Yoshida, M.,Sei, Y.. National trends in the distribution of candida species causing candidemia in Japan from 2003 to 2014: A report by the epidemiological investigation committee for human mycoses in Japan. Med Mycol J 59(1):19-22 2018

3) Nishikawa H, Fukuda Y, Mitsuyama J, Tashiro M, Tanaka A, Takazono T, Saijo T, Yamamoto K,Nakamura S, Imamura Y, Miyazaki T, Kakeya H, Yamamoto Y,Yanagihara K, Mukae H,

Kohno S, Izumikawa K. In vitro and in vivo antifungal activities of T-2307, a novel arylamidine, against *Cryptococcus gattii*: an emerging fungal pathogen. J Antimicrob Chemother. 72(6):1709-1713, 2017.

4) Toyoki M, Hase M, Hirasawa Y, Umeyama T, Miyazaki Y, Kano R, Sugita T, Hiruma M, Kodama Y, Ikeda S. A Giant Dermatophyte Abscess Caused by *Trichophyton rubrum* in an Immunocompromised Patient. Med Mycol J. 58(2):E63-E66, 2017.

5) Kasuga K, Sasaki A, Matsuo T, Yamamoto C, Minato Y, Kuwahara N, Fujii C, Kobayashi M, Agematu H, Tamura T, Komatsu M, Ishikawa J, Ikeda H, Kojima I. Heterologous production of kasugamycin, an aminoglycoside antibiotic from *Streptomyces kasugaensis*, in *Streptomyces lividans* and *Rhodococcus erythropolis* L-88 by constitutive expression of the biosynthetic gene cluster. Appl Microbiol Biotechnol. 101(10):4259-4268, 2017.

6) Tanabe K, Nagi M. Monitoring of Iron Depletion-Induced Mitophagy in Pathogenic Yeast. Methods Mol Biol. 1759:161-172, 2018.

7) Izawa K, Maehara A, Isobe M, Yasuda Y, Urai M, Hoshino Y, Ueno K, Matsukawa T, Takahashi M, Kaitani A, Shiba E, Takamori A, Uchida S, Uchida K, Maeda K, Nakano N, Yamanishi Y, Oki T, Voehringer D, Roers A, Nakae S, Ishikawa J, Kinjo Y, Shimizu T, Ogawa H, Okumura K, Kitamura T, Kitaura J. Disrupting ceramide-CD300f interaction prevents septic peritonitis by stimulating neutrophil recruitment. Sci Rep. 7(1):4298, 2017.

8) Ueno K, Urai M, Takatsuka S, Abe M, Miyazaki Y, Kinjo Y. Immunization with Antigen-Pulsed Dendritic Cells Against Highly Virulent Cryptococcus gattii Infection: Analysis of Cytokine-Producing T Cells. Methods Mol Biol. 1625:327-339, 2017.

9) Nagayoshi Y, Miyazaki T, Shimamura S, Nakayama H, Minematsu A, Yamauchi S, Takazono T, Nakamura S, Yanagihara K, Kohno S, Mukae H, Izumikawa K. Unexpected effects of azole transporter inhibitors on antifungal susceptibility in Candida glabrata and other pathogenic Candida species. PLoS One. 12(7):e0180990, 2017.

10) Nakamura S, Miyazaki T, Izumikawa K, Kakeya H, Saisho Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Kohno S. Efficacy and Safety of Intravenous Peramivir Compared With Oseltamivir in High-Risk Patients Infected With Influenza A and B Viruses: A Multicenter Randomized Controlled Study. Open Forum Infect Dis. 2017 Jun 19;4(3):ofx129.

11) Ota H, Yamamoto H, Kimura M, Araoka H, Fujii T, Umeyama T, Ohno H, Miyazaki Y, Kaji D, Taya Y, Nishida A, Ishiwata K, Tsuji M, Takagi S, Asano-Mori Y, Yamamoto G, Uchida N, Izutsu K, Masuoka K, Wake A, Yoneyama A, Makino S, Taniguchi S. Successful Treatment of Pulmonary Mucormycosis Caused by Cunninghamella bertholletiae with High-Dose Liposomal Amphotericin B (10 with High-Dosllowed by a Lobectomy in Cord Blood Transplant Recipients. Mycopathologia.iacopatholients.omy 2017.

12) Higashi Y,Nakamura S, Niimi H, Ueno T, Matsumoto K, Kawago K, Sakamaki I, Kitajima I, Yamamoto Y. Spondylodiscitis due to Parvimonas micra diagnosed by the melting temperature mapping method: a case report. BMC Infect Dis. 17(1):584, 2017.

13) Sato K, Oinuma KI, Niki M, Yamagoe S, Miyazaki Y, Asai K, Yamada K, Hirata K,

Kaneko Y, Kakeya H. Identification of a Novel Rhizopus-specific Antigen by Screening with a Signal Sequence Trap and Evaluation as a Possible Diagnostic Marker of Mucormycosis. Med Mycol. 55(7):713-719, 2017.

14) Okumura A, Saito T, Tobiume M, Hashimoto Y, Sato Y, Umeyama T, Nagi M, Tanabe K, Unoki-Kubota H, Kaburagi Y, Hasegawa H, Miyazaki Y, Yamagoe S. Alleviation of lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced liver injury in leukocyte cell-derived chemotaxin 2 deficient mice. Biochem Biophys Rep. 12:166-171, 2017.

15) Sunagawa K, Sakagami M, Sakagami H, Furuichi M, Kusumi Y, Nakamura S, Miyazaki Y, Sugitani M. A pneumonectomized case of *Cunninghamella bertholletiae* infection detected by the polymerase chain reaction. Int J Clin Exp Pathol. 10(2):2219-2223, 2017.

16) Sunagawa K, Uchino Y, Ishimoto S, Nakamura S, Honma T, Nakanishi Y, Hatta Y, Miyazaki Y, Sakurai H, Hao H, Sugitani M. Mycotic pseudoaneurysm of a pulmonary artery branch caused by *Cladosporium*. Pathol Int. 68(1):47-52, 2018.

17) Higashi Y, Nakamura S, Tsuji Y, Ogami C, Matsumoto K, Kawago K, Tokui K, Hayashi R, Sakamaki I, Yamamoto Y. Daptomycin-induced Eosinophilic Pneumonia and a Review of the Published Literature. Intern Med. 57(2):253-258, 2018.

18) Higashi Y,Nakamura S, Kidani K, Matumoto K, Kawago K, Isobe J, Kanatani J, Kawagishi Y, Sakamaki I, Yamamoto Y. Mycobacterium bovis-induced Aneurysm after Intravesical Bacillus Calmette-Guurysm after Intravesical Bacimed/29093394" agishi Intern Med. 57(3):429-435, 2018.

19) Hirayama T, Takazono T, Iwata K, Senju H, Shimazaki T, Tashiro M, Saijo T, Tanaka T, Nakamura S, Imamura Y, Kojiro M, Miyazaki T, Tsukamoto M, Furumoto A, Morimoto K, Muraosa Y, Matsubara Y, Yanagihara K, Mukae H, Kamei K, Kohno S, Izumikawa K. A case series of histoplasmosis patients with elevated serum soluble interleukin-2 receptor levels. J Infect Chemother. 23(9):642-647, 2017.

2. 和文発表

1) 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, 2017.

2) 中村茂樹. 二次性肺炎球菌性肺炎− 重症化予防におけるマクロライド系薬の有効性. 感染と抗菌薬. 20(4):288-294, 2017.

3) 宮﨑義継、中村茂樹、金城雄樹. クリプトコックス症の診断と治療. 日本医師会雑誌. 146(3):495-498, 2017.

4) 宮﨑義継、中村茂樹、梅山　隆、上野圭吾、金城雄樹. 肺クリプトコックス症. 呼吸器感染症 診断と治療の ABC, pp176-182, 2017.

5) 中村茂樹、宮﨑義継. クリプトコックス症の診断と治療.化学療法の領域. 34:172-179, 2018.

6) 金城雄樹、上野圭吾、宮﨑義継. 真菌感染に対する防御免疫機構:Th1 細胞及び Th17 細胞の役割. 化学療法の領域. 34:30-36, 2018.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Ogura R, Miyatake H, Nakayama H, Inoue Y, Kano S, Kanzawa N, Piao Z, Koizumi Y, Tanaka Y, Ono D, Ueda N, Akeda Y, Kinjo Y, Oishi K,

Ikuta K. Development of recombinant pneumococcal surface protein A (PspA)-based vaccine against *Streptococcus pneumoniae*. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, 2017.

2) Umeyama T, Hayashi Y, Shimosaka H, Inukai T, Yamagoe S, Nagi M, Nakamura S, Ogawa K, Miyazaki Y. Mutations in the cyp51A gene of an azole resistant clinical isolate of *Aspergillus fumigatus*: direct proof using Cas9/CRISPR genome editing. 8th Advanecs Against Aspergillosis, Lisbon, Portugal, 2018.

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. Glyco-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、進展著しいゲノム編集技術やリピドミクスを取り入れて、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。

ウシ海綿状脳症（BSE）プリオンがウシから他種動物へ伝播すると、プリオンの病原性が変化するという報告がある。非定型 L-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きるか否かという点は、ヒト・プリオン病にかかわる重要なポイントである。これまでに 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、初代伝播では病原性は変化しないことを示した。今回、ヒトからヒトへの2次感染を想定し、カニクイザルで2代継代したL-BSEプリオンの病原性を調べるための研究に着手した。一方で、プロテアーゼ K 消化によって異常型プリオン蛋白質の N 末端部を除去しても、従来型 C-および非定型 L-BSE プリオンのマウスに対する固有の病原性が保たれることを見出した。この結果、C-／L-BSE プリオンの物質的性状と病原体特性の関係を探査する上で、物質的解析の妨害となる夾雑物を予め除去した実験・解析系が構築可能となった。

アフリカミドリサル（AGM）腎臓から樹立された Vero 細胞は、I 型インターフェロン遺伝子クラスターを欠失しているため多種類のウイルスに対して感受性が高く、ウイルス学の研究だけでなく、新興・再興感染症における病原体の分離やワクチン生産においても汎用されている。三つの Vero 細胞亜株のゲノム配列および AGM ゲノムドラフト配列間の比較解析から、Vero 細胞ゲノムに 84 箇所のサル内在レトロウイルス（SERV）挿入位置を見つけ、そのうちの 83 箇所は三細胞亜株間で一致していることを昨年度までに明らかにしており、本年度はそれら SERV 配列の中でユニークな PCR プライマーが設計可能であった 12 か所の SERV をそれぞれ増幅して配列を決定した。2 か所の SERV 配列はレトロウイルスとして見かけ上無傷で全長の配列を有していた。ワクチン生産の細胞基材として使用される Vero 細胞の品質管理に関して、SERV の解析結果をもとにした考察を行った。

当部で樹立したラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体により、ヒト肝キメラマウスの C 型肝炎ウイルス（HCV）感染が完全に阻止できることを昨年度報告した。今回さらに、HCV 持続感染ヒト肝キメラマウスに対する影響を検討したところ、抗 Occludin 抗体により、血中 HCV 量が低下することがわかった。このことから、HCV の持続感染状態の維持には、Occludin を介した HCV の侵入過程が重要であることが示唆された。これまでに、培養細胞感染系を用い、コーヒー抽出物および含有成分に HCV 感染を阻害する活性があることを見出している。本年度は、カフェ酸に加えタンニン酸も強く HCV 感染を阻害することが明らかとなった。

志賀毒素はスフィンゴ糖脂質 Gb3 を受容体として細胞内に侵入し、最終的に細胞死を引き起こす。一方、Subtilase cytotoxin（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。レンチウイルス CRISPR single-guide RNA（sgRNA）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もしくは SubAB に耐性を示す遺伝子群を同定し、これら遺伝子群のいくつかをさらに詳細に解析した。

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 蛋白質が宿主セラミド輸送蛋白質 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。本年度は、IncD が CERT と結合するためには、IncD の様々な領域が協調的に作用することが必要であることを明らかにした。哺乳動物ゲノムは 2 種類のスフィンゴミエリン合成酵素（SMS1/SMS2）をコードしている。予想に反して、SMS1/SMS2 遺伝子二重破壊 HeLa 細胞は親株と同程度の *Chlamydia* 感染能を示した。さらなる解析の結果、宿主由来のセラミドは *Chlamydia* の遺伝子産物によりスフィンゴミエリンに変換され得ることが示唆された。

VAP-A 及び B はオルガネラ膜間における脂質輸送において重要な機能を果たしており、またいくつかの病原体の宿主細胞内増殖に必要であることも示唆されている。VAP-A/B 遺伝子の二重破壊は増殖に影響を及ぼすことが予想されるので、それでも解析が出来るよう、CRISPR ノックアウト技術と Tet off 発現システムを組み合わせた誘導型ノックアウト細胞を樹立した。

ヒト肝癌由来 Huh7.5.1-8 細胞は、Vero 細胞と比べて、日本脳炎ウイルスの感染初期から培養上清の感染力価が高く、細胞死がより早期に起こることを昨年度までに見出している。本年度は、Huh7.5.1-8 細胞培養上清の高感染力価は、Vero 細胞よりも多くの感染性ウイルス粒子が放出されているためであることや、Huh7.5.1-8 細胞は黄熱ウイルスワクチン株に対しても高いウイルス産生能を持つことを見出した。

我々は以前、CERT の天然リガンドであるセラミドに構造が類似した低分子化合物 HPA-12 を CERT 阻害剤として開発していたが、この度、セラミドとの構造類似性のない新規 CERT 阻害剤を産官学連携により開発した。

質量分析器を活用した網羅的脂質解析システムを立ち上げ、部内で作製した各種脂質代謝関連遺伝子欠失変異細胞の解析だけでなく、所内横断的な貢献も開始した。

人事面では、酒井祥太博士が北海道大学大学院先端生命科学研究院から当部の招聘型主任研究官として平成 29 年 4 月 1 日付けで着任した。

業 績

調査・研究

I. プリオン病に関する研究

1. ヒト培養細胞を用いたプリオン病モデルの確立

これまでに、プリオン遺伝子（*PRNP*）欠損細胞株をもとに多型や変異を有するプリオン蛋白質（PrP）を産生する系を確立した。本系を用いて産生させた多型や変異を有する PrP は、ウェスタンブロティング解析においてそれぞれ特有の泳動像を示すことから、個々の PrP の性状の違いを反映していることが示唆された。これらの性状の違いが何に起因するのか詳細は不明であるが、内在性 PrP の干渉を受けずに多型や変異による PrP の性状の差異を見いだす解析に本系が有用であると考えられる。［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ウシ海綿状脳症（BSE）プリオンに関する研究

BSE プリオンがウシから他種動物へ伝播すると、プリオンの病原性が変化するという報告がある。非定型 L-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きるか否かという点は、ヒト・プリオン病にかかわる重要なポイントである。これまでに 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、初代伝播では病原性は変化しないことを示した。今回、ヒトからヒトへの2次感染を想定し、カニクイザルで2代継代した L-BSE プリオンの病原性を調べるための研究（マウスのバイオアッセイ）に着手し、進行中である。［萩原健一；佐藤由子、飛梅実（感染病理部）；小野文子（千葉科学大）；柴田宏昭（自治医大）］

3. プリオンの化学的性状と病原体特性についての研究

プロテアーゼ K 消化によって異常型プリオン蛋白質の N 末端部を除去しても、従来型 C-および非定型 L-BSE プリオンのマウスに対する固有の病原性が保たれることがわかった。この結果、C-／L-BSE プリオンの物質的性状と病原体特性の関係を探査する上で、解析の妨害となる夾雑物をプロテアーゼ K 消化によって予め除去した実験系が構築可能となった。このような実験系による研究を始めた。［萩原健一；小野文子（千葉科学大）；柴田宏昭（自治医大）］

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

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効率で感染・伝播する。脳内接種による高い感染効率を鑑み、ヒトが L-BSE プリオンを経口摂取した場合のリスク評価・病態解析を目的として、カニクイザルへ L-BSE プリオンを経口投与し、経過観察を続けてきた。本年度に実験を終え、現在、実験で得た試料の解析を進めている。［萩原健一；柴田宏昭（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. ヒトキメラ型抗 Occludin モノクローナル抗体による C 型肝炎ウイルス（HCV）の感染阻止

これまでに、樹立したラット抗 Occludin モノクローナル抗体が、HCV 感染を阻止できる知見を得ている。そこで、druggability のさらなる向上を目指して、ラット抗 Occludin モノクローナル抗体のヒトキメラ化を行った。ヒトキメラ型抗 Occludin モノクローナル抗体は、ラット抗体と同様に HCV 感染を強く阻害した。［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）］

2. 抗ヒト Occludin モノクローナル抗体による *in vivo* HCV 感染への影響

樹立したラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体により、ヒト肝キメラマウスの HCV 感染が完全に阻止できることを昨年度報告した。今回さらに、HCV 持続感染ヒト肝キメラマウスに対する影響を検討したところ、抗 Occludin 抗体により、血中 HCV 量が低下することがわかった。このことから、HCV の持続感染状態の維持には、Occludin を介した HCV の侵入過

程が重要であること示唆された。以上の結果から、Occludin を標的とした抗 HCV 戦略の有効性がさらに示された。［深澤征義、清水芳実、花田賢太郎；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬）］

3．コーヒー含有成分による HCV 感染阻害とそのメカニズムの解析

これまでに、培養細胞感染系を用い、コーヒー抽出物および含有成分に HCV 感染を阻害する活性があることを見出している。さらに広範な検討の結果、カフェ酸に加えタンニン酸も強くHCV感染を阻害することが明らかとなった。これら化合物がHCV感染のどのステップを阻害しているのかを検討した結果、両化合物ともウイルス粒子自体に作用し、その感染性を失活させることがわかった。さらに、タンニン酸はウイルスゲノム複製およびウイルス粒子分泌過程も阻害することが明らかとなった。コーヒーの摂取と肝がんの発症率は逆相関することが知られている。肝がんの主要な原因である HCV 感染自体に対しても、コーヒー含有成分が阻害効果を示すことから、その関連が注目される。［深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；谷田以誠（順天堂大）；脇田隆字（ウイルス第二部）；鈴木哲朗（浜松医大）］

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さらに検討を進めている。新たに、ミリスチン酸による HBV 産生亢進、γ-リノレン酸による HBV 産生抑制が見出された。GPR40 アゴニストである Medica16 により HBV 産生抑制が見られたことから、高度不飽和脂肪酸による HBV 産生阻害は、GPR40 を介する可能性も考えられた。また、微生物由来 ACAT2 特異的阻害剤により、HBV 産生阻害傾向が見られることもわかった。［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 single-guide RNA （sgRNA）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。以前レンチウイルス CRISPR sgRNA 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。本年度はこれらのうち2種類の遺伝子に関して、以前作製したノックアウト細胞を用いて、さらなる解析を行った。*in vitro* で Gb3 生合成活性を親株と比較したところ、片方のノックアウト細胞では酵素活性の低下が見られたが、もう一方では見られず、両遺伝子産物の作用点は異なることが示唆された。またこれらの遺伝子のホモログに関しても、その一部で Gb3 生合成への影響が見られたことより、ファミリーの間で保存された機能であることが示唆された。［山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

2．CRISPR sgRNA 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。以前この細胞死に対し上記の CRISPR sgRNA ライブラリを用いて、遺伝子破壊で同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 3 種類の遺伝子に関して、作製したノックアウト細胞を用いてさらなる解析を行った。その結果1つのノックアウト細胞株において、糖蛋白質の糖鎖構造が顕著に変化していることを明らかにした。このことから、この遺伝子産物は糖鎖の生合成に関与していることが示唆された。［山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）；八尋錦之助（千葉大・医）；花松久寿、古川潤一（北海道大・医）］

3．スフィンゴミエリン合成酵素 SMS1/2 遺伝子の二重破壊細胞株の樹立とクラミジア菌感染への影響

セラミド輸送蛋白質 CERT は哺乳動物細胞においてスフィンゴミエリン合成に必要なセラミドを供給する。一方、偏性細胞内寄生細菌である *Chlamydia trachomatis* は宿主細胞内での増殖の際、CERT によるセラミド供給を必要とする。このことから *Chlamydia* の増殖にスフィンゴミエリンの生合成も必要であることが推測された。そこで哺乳動物において 2 種類存在するスフィンゴミエリン合成酵素（SMS）１及び２の二重破壊株を HeLa 細胞にて作製し、*Chlamydia* 感染に対する影響を調べた。ところが予想に反して SMS 二重破壊株は親株と同程度の *Chlamydia* 感染を示した。また *Chlamydia* 自身がスフィンゴミエリンを生合成していることが示唆された。［立田由里子、山地俊之、熊谷圭悟、酒井祥太、花田賢太郎］

4．VAP-A 及び B 遺伝子の誘導型二重破壊株の作製

VAP-A 及び B はオルガネラ膜間における脂質輸送において重要な機能を果たしており、また HCV において複製に必要であることがこれまで示唆されている。VAP-A/B の様々な病原体感染に対する影響を検討するため、ノックアウト細胞の樹立を試みた。VAP-A/B 遺伝子の二重破壊は増殖に影響を及ぼすことが予想されるので、それでも解析が出来るよう、CRISPR ノックアウト技術と Tet off 発現システムを組み合わせた誘導型ノックアウト細胞を樹立した。今後病原体感染研究へと応用する予定である。［立田由里子、山地俊之、花田賢太郎］

5. 日本脳炎ウイルス(JEV)感染に関わる宿主因子のゲノムワイドスクリーニング

遺伝子のノックアウトまたは過剰発現によりJEVに耐性を示す宿主因子を同定するために、CRISPR/Cas9システムによる遺伝子ノックアウト系およびCRISPR/Cas9システムの変法である遺伝子発現活性化系を用いて、ウイルス感染による細胞死を指標としたゲノムワイドスクリーニングを行った。その結果、2つの実験系においてそれぞれ複数の候補遺伝子を同定することができた。今後、これらのJEVに耐性を示す候補遺伝子群についてノックアウト細胞および過剰発現細胞を作製し、JEVへの耐性を評価する予定である。[佐久間智理、山地俊之、齊藤恭子、深澤征義、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);鈴木亮介(ウイルス第二部)]

6. 黄熱ウイルス(YFV)サブゲノミックレプリコンの作製

YFVのゲノム複製に関わる宿主因子のスクリーニングに用いるため、YFVワクチン株(17D-204)のサブゲノミックレプリコンプラスミドを構築した。当該プラスミドを鋳型として合成したサブゲノミックRNAを培養細胞に導入し、レプリコンRNAの複製が起こることを確認した。[齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎;鈴木亮介(ウイルス第二部);高崎智彦(神奈川県衛生研究所)]

IV. スフィンゴ脂質に関する研究

1. リン酸化によるCERTとVAPの相互作用制御

セラミド輸送蛋白質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蛋白質である。CERTの315番目のセリン残基(CERT S315)がリン酸化されると、CERTと小胞体膜蛋白質VAPとの相互作用が増強され、セラミド輸送活性が上昇する。しかし、そのリン酸化シグナルの実体については全く分かっていない。他の脂質輸送蛋白質のリン酸化に関する文献情報から、スフィンゴ脂質の代謝調節に関係するmTORがCERT S315のリン酸化を担っている可能性が高いと判断された。しかし、mTORの阻害剤を用いて検討したところ、CERT S315のリン酸化が抑制されなかったことから、mTORの関与は否定された。[熊谷圭悟、花田賢太郎]

2. NMR解析と細胞生物学的手法を用いたCERTの制御機構の解明

CERTにはセリンリピートモチーフ(serine-repeated motif; SRM)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のプレクストリン相同(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。我々は、PHドメインと擬似的リン酸化SRM(PH-SRM(10E))から成る欠損変異体を用いてNMR解析を行い、SRM(10E)とPHドメインが相互作用することを明らかにした。また、このPH-SRM(10E)変異体ではPI4P結合活性が低下し、細胞内における局在が変化することを明らかにした。リン酸化されたSRMが直接PHドメインと相互作用して当該ドメインの活性を抑制し、ゴルジ体から解離するというモデルを提唱した。[江川大地、熊谷圭悟、花田賢太郎;杉木俊彦、藤原敏道(阪大);児嶋長次郎(横浜国大);竹内恒(産総研);嶋田一夫(東大);高橋栄夫(横浜市大)]

3. 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*封入体膜上のIncD蛋白質がCERTと結合し、CERTが封入体膜にリクルートされることで成立する。我々は、IncDがCERTと結合するためには、IncDの様々な領域が協調的に作用することが必要であることを明らかにした。[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)]

4. 新規CERT阻害剤開発:シード化合物の発見

我々はCERT阻害剤として低分子化合物HPA-12をすでに開発している。HPA-12は、CERT分子中のセラミド結合ドメインであるSTARTドメインに結合することでCERT機能を阻害する。しかし、HPA-12はセラミドに構造が類似しているため、セラミドをリガンドとするCERT以外の因子にも影響する可能性が危惧された。そこで、セラミドとの構造類似性がないCERT阻害剤の開発に産官学連携で取り組んだ。すでに知られているCERT STARTドメインとセラミドとの共結晶構造を参考にして、約300万種類の既存化合物をコンピュータ上でドッキング・シュミレーション探索した結果、セラミドと同様な水素結合ネットワークをSTARTドメインと形成すると予測されながらも、セラミドとの構造類似性のないシード化合物SC1を得た。SC1とCERT STARTドメインとの解離定数Kdを表面プラズモン共鳴法(SPR)により測定し、Kd~10 μMと低い親和性ではあるが、結合性を確認できた。[花田賢太郎;小林修(東大);中尾直樹、鈴木誠、川崎祥平、半沢宏之(第一三共RDノバーレ)]

5. 新規CERT阻害剤開発:シード化合物からの展開

SC1とCERT STARTドメインとの共結晶を得て、そのX線回折像の解析をしたところ、水素結合ネットワーク形成はドッキング・シュミレーション予測の通りであったがCERT STARTドメインの疎水性ポケットには空間が

残されていることがわかった。SC1 から様々な誘導体をデザインするにあたり、SC1 内の比較的複雑な構造のパートを単純化するために、いくつかの SC1 類似体を化学合成して検討し、目的に沿う誘導体シリーズを導いた。これら誘導体シリーズから、CERT START ドメインとの解離定数が 1 μM 以下の新規化合物を複数得ることに成功した。［花田賢太郎；上野雅晴、小林修（東大）；鈴木誠、中尾直樹、川崎祥平、半沢宏之（第一三共 RD ノバーレ）］

6．新規 CERT 阻害剤開発：細胞レベルでの効果

CERT START ドメインとの解離定数が 1 μM 以下の新規化合物に関して、細胞レベルでの CERT 阻害活性を評価する目的で放射性セリンを用いたスフィンゴミエリン代謝標識解析を行った。その結果、これら化合物を培地に 1 μM 添加すれば HeLa 細胞中の CERT 活性が有意に阻害されることが明らかとなった。［江川大地、酒井祥太、熊谷圭悟、花田賢太郎］

V. 感染症対策に資する培養細胞の研究

1．Vero 細胞ゲノムにおけるサル内在レトロウイルス（SERV）の配列決定

三つの Vero 細胞亜株（JCRB0111, ATCC CCL-81, Vero 76）のゲノム配列およびアフリカミドリザル（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 挿入位置を見つけ、そのうちの 83 箇所は三細胞亜株間で一致していることを昨年度までに明らかにしており、本年度はそれら SERV 配列の中でユニークな PCR プライマーが設計可能であった 12 か所の SERV をそれぞれ増幅して配列を決定した。2 か所の SERV 配列はレトロウイルスとして見かけ上無傷で全長の配列を有していた。［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）；笠井文生（医薬健栄研）］

2．Vero 細胞ゲノムに見出されたレトロウイルス様配列の分子系統樹解析

Vero 細胞ゲノム中に見出された無傷で全長のレトロウイルス様配列と他の非ヒト霊長類の SERV の配列および感染性サルレトロウイルスの配列との間で分子系統樹解析を行ったところ、Vero 細胞ゲノムに見出された配列は、旧世界サルの SERV に近い位置にあり、感染性サルレトロウイルスとは別の Clade にマップされた。この結果から、Vero 細胞ゲノム中に見出されたレトロウイルス様配列は、当該細胞樹立の以前にすでにゲノム中に内在していた SERV に由来すると結論された。［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）］

3．Vero 細胞の品質管理上の考察

ワクチン生産の細胞基材として使用される Vero 細胞の品質管理に関し、上述した SERV の解析結果をもとにいくつかの考察を行った。先ず、Vero 細胞の SERV は通常の培養や継代をする限りにおいてレトロトランスポジションを起こさないことが強く示唆され、このことは細胞の品質安定性の見地から望ましい性状と考察された。一方、SERV から感染性粒子を得た実験例はまだないものの、Vero 細胞ゲノムの SERV の一部はレトロウイルスとして見かけ上無傷で全長の配列を有することから、ワクチン製剤中に SERV 由来の感染性因子のないことを今後も製造過程で確認する必要性を考察した。［佐久間智理、齊藤恭子、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）；笠井文生（医薬健栄研）］

4．Huh7.5.1-8 細胞と Vero 細胞におけるフラビウイルス産生の比較解析

HCV 高感受性を指標に分離されたヒト肝癌由来 Huh7.5.1-8 細胞は、Vero 細胞（JCRB9013 株）と比べて、JEV（Nakayama 株）の感染初期から培養上清の感染力価が高く、細胞死がより早期に起こることを見出している。感染細胞培養上清中のゲノム RNA を定量し、ゲノム 1 コピー当たりの感染力価を求めたところ、両細胞間で大きな差はなかった。したがって、Huh7.5.1-8 細胞培養上清の高力価は、Vero 細胞よりも多くの感染性ウイルス粒子が放出されているためと考えられた。また JEV のみならず、YFV ワクチン株（17D-204）の感染時にも、Huh7.5.1-8 細胞は Vero 細胞よりも高いウイルス産生能と早期の細胞死を示した。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と考えられる。［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）；小西英二（前阪大微研）］

VI. 病原体感染時におけるリピドーム変化に関する研究

1．ポリオウイルス感染におけるリピドーム変化の解析

ポリオウイルス感染における宿主細胞の脂質分子種の量的質的変化をリピドミクス解析により調べた。宿主細胞には、ヒト胎児横紋筋肉腫（RD）細胞および HeLa 細胞を、ウイルス感染にはポリオ疑似ウイルス（PV1pv）を用いた。RD 細胞、HeLa 細胞どちらにおいても、PV1pv 感染 7 時間後に、ホスファチジルコリン、ホスファチジルイノシトール（PI）、コレステロール量が有意に増加することを見出した。特に、PI の増加量は他の脂質に比べて顕著であった。ポリオウイルスの複製に PI-4-モノリン酸（PI4P）が重要であることがこれまでに数多く報告されているが、PI4P の前駆体である PI の関与について

は全く知見がなかったため、今後ポリオウイルス感染におけるPIの役割について評価する予定である。[酒井祥太、花田賢太郎;有田峰太郎(ウイルス第二部)]

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行っ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てきた。平成28年度実施分の試験結果に基づいて、一部の検査機関に対しての再試験等の指示が監視安全課からあり、監視安全課ならびに検査機関と調整しつつ、平成29年度に再試験を行った。試験結果等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、これ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

TSE 行政検査・確認検査体制を通年維持した。また、試薬等の品質と検査手技の管理を目的として、過去の BSE 陽性ウシおよび陰性ウシを模擬検体とする内部精度管理試験を行った(平成29年9月、平成30年2月実施)。ならびに、検査感度の標準品であるスクレイピープリオン感染マウス脳(北大検査担当と共通の標準品)を更新し、異常型プリオン蛋白質の含量が従前の標準品と合致することを確認した(平成29年8月)。以上の試験データ一式を厚生労働省 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。[萩原健一、中村優子]

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。3200QTRAP を用いたリピドミクス解析を行う基盤を構築した。本リピドミクス手法を用いて、ウイルス第二部第二室、細菌第一部第三室、同第六室、寄生動物部第一室等と部横断的な共同研究を開始した。[萩原健一、酒井祥太、花田賢太郎]

5. アウトリーチ

(1)新学術領域研究「細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読」キックオフシンポジウム(2017.10.5、東京)にて小胞体膜連携ゾーンを介した脂質輸送に関して講演した。[花田賢太郎;下嶋美恵(東工大);加藤薫(産総研)]

(2)大学生及び大学院生を主な対象に「哺乳動物細胞における膜脂質のオルガネラ間選別輸送」の講演をした(東京工業大学・生命理工学フロンティア第四・オープンセミナー、2017.12.22)。[花田賢太郎]

(3)薬学部一年生を対象にした早期体験実習として座学研修「感染予防医薬:ワクチン」と施設見学を行った(2017.11.22)。[花田賢太郎;阿戸学(感染制御部);多屋馨子(感染症疫学センター);棚林清(バイオセーフティー管理室)]

(4)国立感染症研究所戸山庁舎一般公開において、一般入場客を対象とした遺伝子ツアー等を行った(2017.9.30)。[佐久間智理、江川大地、立田由里子鈴木咲帆、酒井祥太、齊藤恭子]

発表業績一覧

Ⅰ.誌上発表

1. 欧文発表

1) 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, Springer, 997, 69-81, 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, Springer, 125, 81-98, 2017

3) Hashimoto Y, Fukasawa M, Kuniyasu H, Yagi K, Kondoh M: Claudin-targeted drug development using anti-claudin monoclonal antibodies to treat hepatitis and cancer. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1397, 5-16, 2017

4) 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, 11, 113-127, 2017
5) 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., 114, E3285-E3294, 2017
6) Tóth E A, Oszvald Á, Péter M, Balogh G, Osteikoetxea-Molnár A, Bozó T, Szabó-Meleg E, Nyitrai M, Derényi I, Yamaji T, Hanada K, László Vígh, Matkó J: Nanotubes connecting B lymphocytes: High impact of differentiation-dependent lipid composition on their growth and mechanics. Biochim Biophys Acta, 1862, 991-1000, 2017
7) Takigawa M, Iida M, Nagase S, Suzuki H, Watari A, Tada M, Okada Y, Doi T, Fukasawa M, Yagi K, Kunisawa J, Kondoh M: Creation of a Claudin-2 Binder and Its Tight Junction-Modulating Activity in a Human Intestinal Model. J. Pharmacol. Exp. Ther., 363, 444-451, 2017
8) Makino A, Abe M, Ishitsuka R, Murate M, Kishimoto T, Sakai S, Hullin-Matsuda F, Shimada Y, Inaba T, Miyatake H, Tanaka H, Kurahashi A, Pack CG, Kasai RS, Kubo S, Schieber NL, Dohmae N, Tochio N, Hagiwara K, Sasaki Y, Aida Y, Fujimori F, Kigawa T, Nishibori K, Parton RG, Kusumi A, Sako Y, Anderluh G, Yamashita M, Kobayashi T, Greimel P, Kobayashi T: A novel sphingomyelin /cholesterol domain-specific probe reveals the dynamics of the membrane domains during virus release and in Niemann-Pick type C. FASEB J., 31(4), 1301-1322, 2017
9) Sanaki T, Kasai-Yamamoto E, Yoshioka T, Sakai S, Yuyama K, Fujiwara T, Numata Y, Igarashi Y: Direct Involvement of Arachidonic Acid in the Development of Ear Edema via TRPV3. J. Oleo. Sci., 66(6), 591-599, 2017
10) Otsuki N, Sakata M, Saito K, Okamoto K, Mori Y, Hanada K, Takeda M: Both sphingomyelin and cholesterol in the host cell membrane are essential for *Rubella virus* entry. J. Virol., 92, e01130-17, 2018 (K.H. and M.T. are co-correspondence. This article was selected as Spotlight of the issue).
11) Shimasaki K, Watanabe-Takahash M, Umeda M, Funamoto S, Saito Y, Noguchi N, Kumagai K, Hanada K, Tsukahara F, Maru Y, Shibata N, Naito M, Nishikawa K: Pleckstrin homology domain of p210 BCR-ABL interacts with cardiolipin to regulate its mitochondrial translocation and subsequent mitophagy. Genes Cells, 23, 22-34, 2018
12) Sakuma C, Sekizuka T, Kuroda M, Kasai F, Saito K, Ikeda M, Yamaji T, Osada N, Hanada K: Novel endogenous simian retroviral integrations in Vero cells: implications for quality control of a human vaccine cell substrate. Sci. Rep., 8, 644, 2018 (C.S. and T.S. are co-first authors. N.O. and K.H. are co-correspondence)
13) Ogawa M, Matsuda R, Takada N, Tomokiyo M, Yamamoto S, Shizukusihi S, Yamaji T, Yoshikawa Y, Yoshida M, Tanida I, Koike M, Murai M, Morita H, Takeyama H, Ryo A, Guan JL, Yamamoto M, Inoue JI, Yanagawa T, Fukuda M, Kawabe H, Ohnishi M : Molecular mechanisms of Streptococcus pneumoniae-targeted autophagy via pneumolysin, Golgi-resident Rab41, and Nedd4-1 mediated K63-linked ubiquitination. Cell. Microbiol., e12846, 2018
14) Shimizu Y, Shirasago Y, Kondoh M, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Fukasawa M: Monoclonal antibodies against occludin completely prevented hepatitis C virus infection in a mouse model, J. Virol., in press
15) Ogawa M, Shirasago Y, Ando S, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M: Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits infection by severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in vitro. J. Infect. Chemother., in press

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kumagai K, Elwell C A, Ando S, Engel J N, Hanada K: Both the N- and C-terminal regions of IncD are required for the interaction with the PH domain of the host ceramide transport protein CERT, 8th Biennial Meeting of the Chlamydia Basic Research Society, April 7-10, 2017, Charlotte, USA
2) Sakai S, Makino A, Nishi A, Ichikawa T, Yamashita T, Tokudome Y, Crumrine D, Uchida Y, Elias P, Tsuchida T,

Hamanaka S: Ichthyotic-like skin abnormality occurs in neonatal SMS2- deficient mice, 76th Society for Investigative Dermatology annual meeting, April 26-29, 2017, Portland, USA

3) Gewaid H E, Aoyagi H, Arita M, 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 participates in the formation of hepatitis C virus membrane replication vesicles, American Society for Virology Meeting 2017, June 24-28, 2017, Wisconsin, USA
4) Otsuki N, Sakata M, Saito K, Mori Y, Okamoto K, Hanada K, Takeda M: Cellular sphingomyelin plays an essential role in infection of rubella virus, IUMS 2017, The International Union of Microbiological Societies, July 17-21, 2017, Singapore
5) Gewaid H E, Aoyagi H, Kao Y T, Zheng X, Puig-Basagoiti F, Watashi K, Arita M, Suzuki R, Aly H, Kumagai K, Yamaji T, Fukasawa M, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Wakita T, Aizaki H: Sphingomyelin participates in the formation of Hepatitis C virus membrane replication vesicles, The 24th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, September 25-28, 2017, Massachusetts, USA
6) Suzuki R, Yato K, Tosaka T, Hmwe S-S, Matsuda M, Watashi K, Aizaki H, Fukasawa M, Matsuura Y, Wakita T: Structural proteins of hepatitis C virus Genotype 3a S310 strain permit claudin-1-independent entry, The 24th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, September 25-28, 2017, Massachusetts, USA
7) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K: Hepatic aryl hydrocarbon receptor-mediated lipid droplets production regulates the assembly efficacy of hepatitis C virus, The 24th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, September 25-28, 2017, Massachusetts, USA
8) Fukasawa M, Shimizu Y, Yoneda K, Shirasago Y, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M: Characterization and modification of anti-occludin monoclonal antibodies that can prevent HCV infection, The 24th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, September 25-28, 2017, Massachusetts, USA
9) Yamaji T: Genome-wide CRISPR screening for identifying genes involved in glycolipid metabolism, Gordon Research Conference on Glycolipid and Sphingolipid Biology, February 11-16, 2018, Galveston, USA
10) Mikami D, Sakai S, Nishimukai M, Yuyama K, Igarashi Y: Sphingoid long chain bases: Their structural diversity, absorption, and functions for skin improvement, 7th International Singapore Lipid Symposium (ISLS7), March 7-9, 2018, Singapore
11) Sakuma C, Sekizuka T, Kuroda M, Kasai F, Saito K, Ikeda M, Yamaji T, Osada N, Hanada K: Endogenous simian retrovirus variations in Vero cells: implications for quality control of a human vaccine cell substrate, 4th International Symposium of Medicinal Sciences, March 25-28, 2018, Kanazawa, Japan (Invited Poster Presenters)

2. 国内学会

1) 白砂圭崇、清水芳実、近藤昌夫、八木清仁、鈴木哲朗、脇田隆宇、花田賢太郎、深澤征義:インタクトな Occludin の細胞外領域を認識するモノクローナル抗体の樹立と性状解析、第69回日本細胞生物学大会、2017.6.13-15、仙台
2) 大槻紀之、坂田真史、齊藤恭子、森嘉生、岡本貴世子、花田賢太郎、竹田誠:細胞膜上のスフィンゴミエリンは風疹ウイルスの感染に不可欠である、第 59 回日本脂質生化学会、2017.6.15-16、京都
3) 白砂圭崇、谷田以誠、鈴木咲帆、稲森陽子、小林哲幸、花田賢太郎、深澤征義:コーヒー含有成分の肝炎ウイルス感染への影響の解析、第 59 回日本脂質生化学会、2017.6.15-16、京都
4) 山地俊之、立田由里子、佐久間智理、関塚剛史、黒田誠、花田賢太郎:CRISPRライブラリーを用いた志賀毒素の細胞障害作用に対するゲノムワイドスクリーニング、第 59 回日本脂質生化学会、2017.6.15-16、京都
5) 花田賢太郎:CERT 研究における今までの総括と今後の展望、第 12 回スフィンゴテラピー研究会、2017.7.14-16、石川県羽咋郡
6) 竹田誠、大槻紀之、坂田真史、齊藤恭子、岡本貴世子、森嘉生、花田賢太郎:風疹ウイルスの感染メカニズムと細胞膜脂質の役割、第 49 回日本小児感染症学会、2017.10.21-22、金沢

7) 白砂圭崇、稲森陽子、脇田隆字、鈴木哲朗、花田賢太郎、深澤征義:HCV 感染に対するコーヒー抽出成分の阻害効果、第 65 回日本ウイルス学会、2017.10.24-26、大阪
8) 大橋啓史、中嶋翔、金ソルイ、深澤征義、鈴木亮介、相崎英樹、菅原二三男、大谷直子、脇田隆字、渡士幸一:Novel Crosstalk of Xenobiotic Response with Lipid Biosynthesis Pathway regulates the Host Permissiveness to the Hepatitis C Virus Production. 第 65 回日本ウイルス学会、2017.10.24-26、大阪
9) 杉木俊彦、江川大地、熊谷圭悟、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 のリン酸化による機能制御の構造生物学的解析: CERT－Golgi 体の結合が CERT のリン酸化によって抑制されるメカニズムの溶液 NMR 法による解明、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
10) 江川大地、冨重斉生、山地俊之、熊谷圭悟、花田賢太郎:セラミド輸送タンパク質 CERT におけるリン酸化を介した機能抑制制御に必要な正電荷リピートを持つ coiled-coil モチーフ、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
11) 熊谷圭悟、Elwell C A 、安藤秀二、Engel J N、花田賢太郎:クラミジアのエフェクタータンパク質 IncD と宿主細胞由来のセラミド輸送タンパク質 CERT の PH ドメインとの結合には IncD の N 末領域と C 末領域が必要である、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017, 2017.12.6-9、神戸
12) 齊藤恭子、深澤征義、白砂圭崇、鈴木亮介、脇田隆字、小西英二、花田賢太郎:ヒト肝癌由来 Huh7.5.1-8 細胞とアフリカミドリザル腎由来 Vero 細胞における日本脳炎ウイルス産生の比較解析、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
13) 山地俊之、関塚剛史、佐久間智理、立田由里子、黒田誠、花田賢太郎: CRISPR ライブラリーを用いた糖脂質生合成に影響を及ぼす因子の探索、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
14) 野田和彦、鈴木佑典、香取正人、宮本佳菜子、佐藤あかり、山地俊之、櫛泰典:脂質組成変化に伴うグロビン発現制御機構の解明、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
15) 島崎健太朗、高橋美帆、梅田真郷、舟聡、斎藤芳郎、野口範子、熊谷圭悟、花田賢太郎、丸義朗、柴田識人、内藤幹彦、西川喜代孝:P210 型 BCR-ABL PH ドメインのリガンド特性およびその病理的意義の解明、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
16) 深澤征義, 清水芳実, 米田宏平, 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: 抗 C 型肝炎ウイルス活性を有する抗 Occludin モノクローナル抗体の性状解析と改変、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
17) 酒井祥太、牧野麻美、西明仁、市川毅、山下匡、徳留嘉寛、Debra Crumrine、内田良一、Peter Elias、土田哲也、濱中すみ子:スフィンゴミエリン合成酵素 2 (SMS2)ノックアウトマウスにおける魚鱗癬様の皮膚症状の解析、生命科学系学会合同年次大会 Conbio2017、2017.12.6-9、神戸
18) 花田賢太郎:小胞体-ゴルジ体間セラミド輸送を司る CERT の解析とその阻害剤開発、日本薬学会第 138 年会、2018.3.25-28、金沢
19) 深澤征義:HCV 侵入過程の基礎研究から感染防御・予防・治療の応用研究へ、日本薬学会第 138 年会、2018.3.25-28、金沢
20) 白砂圭崇、稲森陽子、谷田以誠、鈴木哲朗、花田賢太郎、深澤征義:カフェ酸とタンニン酸の C 型肝炎ウイルス感染阻害メカニズムの解析、日本薬学会第 138 年会、2018.3.25-28、金沢

11. 昆虫医科学部

部長 澤邉 京子

概 要

昆虫医科学部は，人に害を与える節足動物を対象とする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，研修等による社会への貢献に努めている．

平成 29 年度は，地方自治体および関連機関に向けて媒介節足動物の基礎知識ならびに防除に関する技術指導・講習を継続して行った．東京オリンピック・パラリンピックを控え，また，ヒアリの国内侵入も初めて確認されるなど，研修・講習の依頼が非常に多い年であった．新たにインドネシア・アイルランガ大学 ITD との間で新たにデング熱および日本脳炎媒介蚊に関する共同研究を開始した．また，動物公園で飼育されているチーターが SFTS に感染した事例に際し，殺虫剤によるマダニ駆除の依頼があり，これまで野外実地試験により殺虫剤の効力評価を実施した経験が生かされることとなった．レファレンス業務としては合計で 9 種の節足動物の同定依頼に対応した．研究・業務の概要は以下のとおりである．

2015 年に青森市内への侵入が初めて確認されたヒトスジシマカは，翌 2016 年も同じ場所で成虫，幼虫ともに採集され，青森市内への本種の侵入と定着が確認された．2017 年は，ヒトスジシマカ定着の要因とされる年平均気温 11℃以上であった北海道道南地域を加えて同様に調査を行った．道南地域ではヒトスジシマカは確認されなかったが，青森市内では定点の公園と神社だけでなく，新たな公園でも多数の幼虫が採集され，青森市内のヒトスジシマカの生息域は拡大していると推察された．さらに国内のヒトスジシマカの生息密度は，海外のデング熱流行地と比べて非常に高いことも判明した．ヒトスジシマカの局所的な分布を深層学習により判定する方法の開発を試みたが，上述した国内外の調査地の生息密度と 360 度全球写真を用いて検証を続けている．

長崎県の定点調査地および北陸 2 県（石川・富山）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行い，石川県で捕集されたコガタアカイエカの 1 プールから 1 型日本脳炎ウイルスを分離し，遺伝子解析を行った．一方，国内のマダニにおいては，これまでに国内のキチマダニから 2 種類の新規ウイルス（コルチウイルス属 Tarumizu tick virus；TarTV，フレボウイルス属 Kabuto Mountain virus；KAMV）を分離し，その性状および機能解析を行った．特に KAMV は，いくつかの哺乳動物細胞に感染し増殖することが確認され，また，日本国内には SFTS ウイルス以外のフレボウイルス種が分布していることも初めて明らかになった．次世代シークエンサー（NGS）を用いて国内の主要な媒介蚊およびガーナのマダニの RNA ウイルス叢をそれぞれ解析した．後者からは新規のフレボウイルス様ウイルスの配列が検出され，ガーナのマダニが多様なウイルスを保有していることが明らかになった．

2017 年にヒトスジシマカでは初めてピレスロイド系殺虫剤の電位依存性ナトリウムチャネル（*VGSC*）遺伝子の V1016G 変異個体がベトナムで見つかったが，すでに知られる F1534C や F1534S の変異よりも数倍高い抵抗性をもたらすことが判明した．Universal QProbe 法によるジェノタイピングの結果，ベトナム以外にイタリアからも V1016G 変異個体が見つかったが，日本とそれ以外の地域では確認されていない．本邦ヒトスジシマカは，ピレスロイドに対して感受性であり，既存の殺虫剤が有効であることが示唆された．新たに設計したキャプチャープローブにより，*VGSC* 遺伝子（100 kb 以上）のコーディング領域全体を網羅的かつ効率的に解析する NGS 解析が可能になった．同様の観点から，その他の蚊種，イエバエ，トコジラミ等における殺虫剤抵抗性発現の現状把握に努めている．野外で蚊成虫駆除に用いる殺虫剤の剤型や散布法を検討するために，ピレスロイド剤の ULV，ハンドスプレイヤーによる噴霧，炭酸ガス製剤，有機リン剤とピレスロイド剤の混合剤を用いた煙霧について，埼玉県，さいたま市，防疫殺虫剤協会，ペストコントロール協会等の協力を得て野外実地試験を行った．その結果，いずれの剤型，処理方法にも長所・短所があるが，散布対象地の状況に合わせて，適切に選別することが重要であると結論した．

人事面では，当該部の定員 7 名に加え，再任用職員として津田良夫，冨田隆史，AMED リサーチレジデントとして糸川健太郎（10 月 1 日より薬剤耐性研究（AMR）センター第六室非常勤職員（併任）として採用），室田勝功，研究生として小林大介，Michael Amoa-bosompem（東京医科歯科大院），Astri Nur Faizah（東京大院），臨時職員として石川久仁子，古城一美，契約職員として高岡安希，吉田千草，客員研究員および協力研究員により研究・業務を推進した．

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. 米子の渡り鳥飛来地における媒介蚊調査

米子水鳥公園でドライアイストラップによって蚊の定期採集を行ったところ，イナトミシオカ，コガタアカイエカ，アカイエカ群，カラツイエカ，シロハシイエカ，ヒトスジシマカが採集された．これらの中でイナトミシオカは最も多く採集され，7 月の捕獲個体数はトラップ 1 台 1 日当たり平均 415.6 頭を示し，本種が高密度で生息していることが分かった．採集されたイナトミシオカの中にGynandromorphの個体が1個体含まれていた．この個体の頭部，外部生殖器，前脚及び中脚のツメの形態を調べたところ，頭部は雌，腹部は雄，左前脚と左中脚は雄，右中脚は雌と判定された．イナトミシオカのGynandromorphの報告は初記録である．

[津田良夫；金 京純（鳥取大）]

2. 小笠原諸島（父島と母島）の蚊相調査

調査は2017年10月5日から11日まで父島，10月12日から14日まで母島で行った．成虫はドライアイストラップ法を用いて，市街地から山間部まで広範囲に調査した．幼虫は様々な発生源で柄杓やピペットなどで採取した．その結果，成虫は *Aedes albopictus*，*Culex boninensis*，*Cx. quinquefasciatus* の2属3種1,792個体が捕集され，幼虫は *Ae. albopictus*，*Ae. wadai*，*Cx. boninensis*，*Cx. quinquefasciatus*，*Lutzia shinonagai*，*Lt. vorax* の3属6種299個体を羽化成虫で確認した．幼虫採集を両島合わせて47カ所の結果，*Ae. albopictus* は21カ所，*Cx. quinquefasciatus* は9カ所，*Cx. boninensis* は7カ所で得られ，*Ae. albopictus* が両島に広く分布していることが判明した．また，固有種である *Ae. wadai* が樹洞から採集された．これらのDNAバーコードの整備を進めている．

[前川芳秀，津田良夫；笠井あすか，竹内真人（東京検疫所）]

3. 南西諸島の蚊相調査

2017年11月14日から24日まで宮古島，石垣島，与那国島で蚊相調査を行った．成虫はドライアイストラップと捕虫網（8分間採集）で捕集し，幼虫は柄杓とスポイトなどで採集した．ドライアイストラップは2晩稼働し，石垣島から7属16種1,225個体，宮古島から4属7種142個体を得た．港周辺などで行った8分間採集により，与那国島14個体（8分/人），宮古島11.3個体（8分/人），石垣島9個体（8分/人）であった．幼虫は成虫まで飼育し種同定を行った．その結果，与那国島5属14種337個体，石垣島7属17種276個体，宮古島4属6種111個体が得られた．また，宮古島から採集した *Ae. riversi* および与那国島で採集した *Cx. mimeticus* group はこれまで採集報告がなく，本調査が初記録である．[前川芳秀]

4. ヒトスジシマカの国内分布と密度に関する研究

国内でデング熱の媒介蚊となるヒトスジシマカは，2015 年に青森市内への侵入が初めて確認された．翌 2016 年は青森港に加え市内の公園や神社からも幼虫と多数の成虫が捕集されたことから，ヒトスジシマカの青森市内への侵入と定着が確認された．そこで 2017 年は青森市内および北海道函館市で同様の調査を行った．その結果，函館市内ではヤマトヤブカが多数捕集されたが，ヒトスジシマカは確認できなかった．一方，青森市内では，定点の市内の公園と神社ではヒトスジシマカが確認されたが，さらに新たな公園でも多数の幼虫が採集され，青森市内での生息域は拡大している可能性が示唆された．また，ヒトスジシマカの最高捕集数 20 雌（8 分/人）は，同年のベトナムおよびブラジルのデング熱流行地の 5 雌（8 分/人），7 雌（8 分/人）と比べて著しく高く，デング熱の国内流行のリスクが比較的低いと思われる東北地方にあっても蚊の密度を下げる対策は必要であることが示唆された．

[前川芳秀，小林睦生，沢辺京子；山内 繁（小樽検疫所）；長島 渡，奥山弘幸（仙台検疫所）]

5. 熊本地震被災地における蚊の発生状況調査

熊本地震被災地における2年目の蚊の発生状況を調査した．①木山地域，②東無田地域の被災住宅地，③櫛島地域，④グランメッセの4箇所で，成虫は CO_2 トラップと8分間の捕虫網で捕集し，幼虫は CO_2 トラップ設置点周囲の溜水で柄杓等で掬い採集した．ヒトスジシマカ，アカイエカ，オオクロヤブカの捕集数は2016年の被災当年に比べて少なかったが，コガタアカイエカとシナハマダラカは僅かながら増加した．一方，幼虫は溜水環境によってばらつきがあったが，オオクロヤブカは減少，アカイエカは増加，ヒトスジシマカは昨年同様であった．特に，ブルーシートの水溜りの有蚊溜水は 38%を占め，ヒトスジシマカの主要な発生源となっていることから，今後も注意と監視が必要である．

［渡辺 護，沢辺京子；米島万有子（熊本大）；渡辺はるな

（富山市）；長舘昌宏，村松佑典，東田和典，白石伸一（熊本県ペストコントロール協会）］

6. イナトミシオカの生殖休眠を誘導する要因の感受期について

ふ化したイナトミシオカの幼虫を 20℃，11L:13D の条件下で飼育し，羽化 1 週間後の雌成虫を解剖したところ， 97.7%が生殖休眠に入っていた．生殖休眠が誘導される条件を感受するのがどの発育ステージであるかを調べるために，2，3，4 齢，蛹化まで通常の飼育条件（26.5℃，12L:12D）で飼育した個体を，休眠が誘起される条件（20℃，11L:13D）に移して成虫まで飼育した．羽化 1 週間後に雌成虫を解剖して無吸血産卵性の有無を調べた結果，休眠誘導要因に対する感受性は 1 齢から 3 齢で高く，4 齢にはやや低くなり，蛹期には感受性がないことが示唆された．［津田良夫］

7. 鳥マラリアと媒介蚊に関する最近の研究

分子生物学的手法によって蚊体内の鳥マラリア原虫の遺伝的系統を検出できるようになったことから，2000 年以降，野鳥のマラリアの媒介蚊に関する研究が盛んに行なわれている．野鳥由来の蚊媒介性病原体の生態学的研究例として，鳥マラリアの媒介蚊に関する最近の知見について学術的データベース（MalAvi）を利用してまとめた．アカイエカ群と鳥マラリア原虫の遺伝的系統 5 種類は全世界的な分布を示した．報告されている 42 種の媒介蚊の 43%は 1 種類の原虫系統を保持しており，媒介蚊 1 種から検出された鳥マラリア原虫の遺伝的系統は平均 4.3 系統であった．また，報告された原虫系統 119 種類の 75%は 1 種類の媒介蚊から検出されていた．［津田良夫］

8. 徳島県の養鶏場における疾病媒介蚊調査

鶏マラリアの媒介蚊調査のために，2017 年 7 月に徳島県の 2 ヶ所の養鶏場でドライアイストラップによる媒介蚊の採集を行った．その結果，N 養鶏場ではコガタアカイエカ，シロハシイエカ，アカイエカ群，カラツイエカの 1 属 4 種 2,695 頭の蚊とニワトリヌカカを主とする 1,533 頭のヌカカが採集された．Y 養鶏場では，N 養鶏場で採集された 4 種に加えオオクロヤブカ，シナハマダラカなど 4 属 11 種類 8,916 頭の蚊とニワトリヌカカを主とする 622 頭のヌカカが採集された．どちらの養鶏場でも，コガタアカイエカとシロハシイエカが優占種で，捕獲総数の 99%を占めていた．

［津田良夫；佐藤雪太（日本大）］

9. 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

東洋区およびオーストラリア区におけるヨツトゲフンコバエ属（Genus *Philocoprella*）について調べた．本属のハエ類は家畜の糞から発生し，広い分布を持つ種が多いが，東洋区やオーストラリア区ではほとんど調べられていない．東洋区からは *Philocoprella ryukyuensis* 1 種が沖縄から記載されているのみであるが，今回パキスタン，タイ，インドネシア，パプアニューギニアから分布を確認した．その他に 2 種の未記載種が発見され，1 種はタイから，もう 1 種はインド，ネパール，タイ，ベトナムに分布しているのが確認された．［林 利彦］

10. 深層学習による景観解析による媒介蚊分布予測

ヒトスジシマカ成虫の吸血行動は待ち伏せ型であるため，成虫が潜みやすい場所を特定することができれば防除に活用できる．しかし，地図や航空写真から，そのような場所を特定することは容易ではない．そこで，現場の 360 度全球写真からヒトスジシマカの潜み場所を深層学習により判定する方法の開発を試みた．深層学習には学習用に大量の写真が必要となるが，それだけの写真を実際に撮影することは現実的ではない．そこで，水増し（Data augmentation）を行い，データ不足を補った．また，認識する事物を植物，土等いくつか選定することにより計算量の減少を図った．その結果，性能は大きく向上した一方で，より多くの状況に対応するためには更なる改良が必要であると考察された．

［駒形 修，沢辺京子］

11. 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調査した．その年初めて成虫が人囮法により捕獲されるまでの経過日数は，4 月の平均気温と相関が高く，一次式により推定可能であった．この推定方法を，ヒトスジシマカの孵化から羽化に必要な有効積算温度の文献値および調査値の気温のデータにより検証したところ，矛盾はなかった．ヒトスジシマカの分布域が年平均気温 11℃以上の地域であることを以前に示したが，今回さらに発生時期が推定できるようになり，より正確なヒトスジシマカのリスク評価が可能になった．

［駒形 修，比嘉由紀子，二瓶直子，小林睦生，沢辺京子；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）］

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. 2017 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, 2017 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およびシロハシイエカ(1835 頭, 73 プール検体), および石川県輪島市で捕集されたコガタアカイエカ(250 頭, 10 プール検体)からのウイルス分離を試みた. その結果, 石川県輪島市の 1 プール検体から JEV I 型が分離され, 本分離株の遺伝子解析を行った.

[室田勝功, 小林大介, Astri Nur Faizah, 渡辺 護, 前川芳秀, 佐々木年則, 伊澤晴彦, 津田良夫, 沢辺京子; 比嘉由紀子, 二見恭子, 砂原俊彦, 皆川 昇(長崎大熱研); 松本文昭, 三浦佳奈, 山下綾香, 吉川 亮(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, 次世代シーケンサー(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. 分離株のコード領域および RT-PCR で検出されたエンベロープの配列情報は, DDBJ 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, 沢辺京子]

3. 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, 沢辺京子; 片山幸枝, 水谷哲也(東京農工大); 下田 宙, 前田 健(山口大); 木村俊也, 菅 美樹, 服部昌志, 四宮博人(愛媛県立衛生環境研究所); 野田伸一(鹿児島大); 山内健生(兵庫県大)]

4. 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(NIHE)の協力のもと, 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. ハノイで合計 991 頭の蚊を捕集した. これまでにベトナムで捕集した蚊のうち, ヒトスジシマカをはじめとするヤブカ属蚊(48 頭, 3 プール), イエカ属蚊(900 頭, 36 プール), およびムラサキヌマカ(65 頭, 3 プール)からのウイルス分離を試みた. 次世代シーケンサー解析の結果, 新規ウイルスが 5 株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, 糸川健太郎, 前川芳秀, 葛西真治, 伊澤晴彦, 沢辺京子; 角田 隆, 皆川 昇(長崎大熱研); Tran Chi Cuong, Tran Vu Phong, Nguyen Thi Yen, Vu Sinh Nam(ベトナム国立衛生疫学研究所)]

5. キチマダニより分離された新規レオウイルス科ウイルスである Tarumizu tick virus の機能解析

国内における潜在的マダニ媒介性ウイルス病について知見を得る目的で, 国内各地でマダニ類の捕集調査ならびにウイルス分離と性状解析を行い, その中でレオウイルス科に属する 12 分節 2 本鎖 RNA ウイルスである新規ウイルス, Tarumizu tick virus (TarTV) 3 株 (T117, T269, T276) をキチマダニより分離・同定した. TarTV は分子系統樹から Colorado tick fever virus などを含むコルチウイルス属に属する3番目のウイルスであることが示され,また, 他のコルチウイルスでは保存されていない独自の 2 分節を有していることが明らかになった. TarTV は BHK, Vero, DH82 といった哺乳動物由来培養細胞で増殖性を示し, 細胞傷害を引き起こすことも示唆された.

[藤田龍介, 江尻寛子, 小林大介, 室田勝功, 鍬田龍星, 渡辺 護, 伊澤晴彦, 沢辺京子; 林 昌宏, 伊藤睦代, Guillermo Posadas-Herrera, 山口幸恵, 堀谷まどか, 西條政幸(ウイルス第一部); 野田伸一(鹿児島大); 山内健生(兵庫県大); 片山幸枝, 水谷哲也(東京農工大); 南 昌平, 下田宙, 前田 健(山口大)]

6. 国内で捕集されたマダニから分離された新規フレボウイルスの性状

兵庫県下で捕集されたマダニ類を材料として，培養細胞を用いたウイルス分離を試みた．その結果，キチマダニ検体の2プールから，フェヌイウイルス科フレボウイルス属に属すると考えられる新規ウイルスが分離され，Kabuto Mountain virus（KAMV）と命名した．本ウイルスの全ゲノム配列を決定し，ゲノムにコードされるウイルス蛋白質の配列を基に分子系統解析を行った結果，KAMVはマダニ媒介性フレボウイルスであるUukuniemi virusやKaisodi virusのグループに近縁であることが示された．KAMVはいくつかの哺乳動物細胞に感染し増殖が可能であった．本研究により，日本国内にはSFTSウイルス以外にもこれまで知られていないフレボウイルス種が分布していることが初めて明らかとなった．

[江尻寛子，伊澤晴彦，藤田龍介，鍬田龍星，小林大介，佐々木年則，林 利彦，小林睦生，沢辺京子；林 昌宏，山口幸恵，伊藤睦代，堀谷まどか，Guillermo Posadas- Herrera，塩田愛恵，垣内五月，西條政幸（ウイルス第一部）；森川 茂（獣医科学部）；片山幸枝，水谷哲也（東京農工大）；前田健（山口大）；加來浩器（防衛医大）]

7. 重要疾病媒介蚊のRNAウイルス叢およびその季節的・地理的変化に関する研究

本研究では，これまでウイルス叢（virome）の調査が行われていない本邦における重要な疾病媒介蚊であるヒトスジシマカ*Aedes albopictus*およびアカイエカ種群蚊*Culex pipiens* gr.を対象にして，これらのRNA viromeを解析するとともに，その季節・地理的な変動を検証した．ヒトスジシマカは東京都，群馬県，長崎県で捕集された個体，アカイエカ種群蚊は同年に東京都，石川県，鳥取県で捕集された個体を用いて，それぞれのRNA virome解析を行った．その結果，ヒトスジシマカとアカイエカ種群蚊のRNA viromeは，同一地点で捕集された個体においても大きく異なることが判明し，さらに一部のウイルスでは，感染率の季節による変動が観察され，またRNA viromeはそれぞれの蚊の捕集地ごとに異なることが明らかとなった．

[小林大介，伊澤晴彦，室田勝功，糸川健太郎，Astri Nur Faizan，Michael Amoa-bosompem，津田良夫，林 利彦，渡辺 護，沢辺京子；金 京純（鳥取大）]

8. ガーナ産マダニからのマダニ媒介ウイルス遺伝子の検出

本研究では，ガーナにおけるマダニ媒介ウイルスの流行実態を調査する目的で，ガーナ各地で採集されたマダニからマダニ媒介ウイルスの遺伝子検出を行った．2016年にガーナ国内で採集されたコイタマダニ属*Rhipicephalus* spp.，キララマダニ属*Amblyomma* spp.，イボダニ属*Hyalomma* spp.のマダニから抽出したtotal RNAを用いて，RT-PCRにより主要マダニ媒介ウイルスの遺伝子検出を行った．その結果，首都アクラのイヌから採集したコイタマダニ属のマダニからOdaw virus（フレボウイルス属）が検出され，さらにガーナ北部の都市Jirapaでウシから採集したキララマダニ属と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検出された．さらに，次世代シークエンサーによるマダニ破砕乳剤のウイルス叢解析の結果，Jirapaのウシから採集したイボダニ属のマダニからフラビウイルス様ウイルスの配列が新たに検出された．このことから，ガーナに分布するマダニは多様なウイルスを保有していることが明らかとなり，これらウイルスのヒトや動物への感染性や病原性，ならびに流行実態を精査する必要があると考えられた．

[小林大介，伊澤晴彦，室田勝功，糸川健太郎，藤田龍介，沢辺京子；木村晶平，大橋光子，岩永史朗，太田伸生（東京医歯大）；Samuel Dadzie，Kofi Bonney（ガーナ大野口研）]

9. ネッタイシマカや代々木公園などで採取されたヒトスジシマカにおけるデングウイルス感受性評価

2014年に国内でのデング熱のアウトブレイクが報告され対応に追われた．アウトブレイクのメカニズムとして，代々木公園を中心にヒトスジシマカによるデングウイルスの媒介と判断された．そこで，アウトブレイクの状況を再評価することを目的とし，海外産のネッタイシマカおよび代々木公園を含めた国内の数か所で採取されたヒトスジシマカにおけるデングウイルスに対する感受性を評価した．デングウイルス株は，2014年に国内でアウトブレイクしたウイルス株の中から2株を選んだ．また，以前に輸入症例として患者血清から分離された海外産のデングウイルス株も評価に用いた．しかしながら，いずれの蚊においてもデングウイルス感受性が低く，評価することが困難であり再試が必要である．

[佐々木年則，伊澤晴彦，沢辺京子；高崎智彦（神奈川衛研）；皆川 昇（長崎大熱研）；Arlene G. Bertuso（フィリピン大マニラ校）]

10. ネッタイシマカ，ヒトスジシマカ，ネッタイイエカ，アカイエカ，チカイエカ，オオクロヤブカにおけるジカウイルス感受性評価

2015年に南米において，ジカ熱のアウトブレイクが報告された．日本にも輸入症例が報告され，日本におけるアウトブレイクが懸念された．そこで，日本におけるジカウイルスのアウトブ

レイクの可能性を考えるために，海外産のネッタイシマカ，国内外で捕集されたヒトスジシマカおよびその他の蚊におけるジカウイルスに対する感受性を評価した．ジカウイルスは，南米のアウトブレイクで問題となったアジア系統およびアフリカ系統を用いた．その結果，いずれの蚊種もウイルス感受性が低く，評価することができず，再試が必要である．

［佐々木年則，伊澤晴彦，沢辺京子；高崎智彦（神奈川衛研）；皆川 昇（長崎大熱研）；Arlene G. Bertuso（フィリピン大マニラ校）］

11. 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（特に哺乳類）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場合のあることが判明し，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された．現在，吸血源として利用される可能性のある他の動物種（鳥類・爬虫類等）の同定を試みている．

［佐藤智美，林 利彦，伊澤晴彦，沢辺京子；糸山 享（明治大）］

III. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性のモニタリング，遺伝学的・分子生物学的解析

1. ピレスロイド低感受性神経の電気生理学的評価

ネッタイシマカで既知のピレスロイド低感受性 *VGSC* 変異が殺虫剤感受性低下をもたらす効果を電気生理学的試験により試みた．ガラスキャピラリーを加工し内部に電解質を充填した銀塩化銀電極を作成し，ネッタイシマカ胸部の胸部神経節の細胞間隙に電極を配置し，不関電極は腹部に配置した後，神経生理用オシロスコープを用いて局所フィールド電位を記録した．当初は自発放電を用いて測定を行う予定であったが，蚊の場合は自発的な神経の電位が微弱である．定量的に測定を行うためには，電気的に刺激を与えた反応を測定することが必要であり，測定法の改良を要することが示唆された．

［駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史］

2. IGR 効力持続性の評価

日本国内で蚊幼虫対策に多く用いられている殺虫剤ピリプロキシフェンの残効性について検討を行った．ピリプロキシフェンの試験濃度は，水溶解度以下で実用濃度に近い 0.10ppm を上限として濃度段階を設定した．25℃の暗所で一定時間保管した後，HPLC-UV で測定した．ガラス容器における 1 日後の回収率はほぼ 100%であり，4 週間で水中濃度は約 23%低下した．腐植のモデル物質として用いたフミン酸ナトリウムを添加した場合は吸着が起きたが，その影響は最大でも 10%程度であった．実用濃度は殺虫に必要な薬剤濃度と比較してかなり高めに設定されていることから，有機物への吸着による効力の低下は限定的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］

3. トコジラミの変異型アセチルコリンエステラーゼの培養細胞における発現とフェニトロオクソン感受性に関する研究

有機リン剤抵抗性が報告された日本のトコジラミ集団から，作用点であるアセチルコリンエステラーゼ(AChE)上に点突然変異 F348Y が発見された．そこで，この変異が AchE のフェニトロオクソン感受性に影響を及ぼすか調べた．野生型（F348）および変異型（Y348）の AChE を，バキュロウイルス発現系を用いて発現させ，常法である Ellman 法によって活性を測定し，またフェニトロオクソンを複数濃度添加して IC_{50} を求めた．その結果，変異型 AChE の IC_{50} 値は約 230 倍高く，フェニトロオクソンに対して大きく感受性が低下していた．このことからトコジラミに有機リン剤抵抗性をもたらす一因は AChE 上の点突然変異であることが示唆された．

［駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，冨田隆史］

4. ネッタイイエカのゲノム解析

蚊個体からの超高分子 DNA の抽出法および一分子ロングリードシーケンシング技術（ナノポアシーケンサー）による蚊のゲノム解析手法を検討し確立した．この技術によりネッタイイエカ JHB-NIID-A 系統のゲノムを de novo アセンブル解析した．得られたゲノムアセンブリは，2010 年度に国際プロジェクトにより発表されたものよりも N50 等の指標が大幅に公表され，これまでアノーテーションが正確になされていなかった殺虫剤抵抗性関連遺伝子のアノーテーションが可能となった．

［糸川健太郎，駒形 修，葛西真治，冨田隆史］

5. キャプチャープローブによる *VGSC* 遺伝子の高効率遺伝子型解析法の確立

ピレスロイド系殺虫剤の電位依存性ナトリウムチャネル（*VGSC*）は 30 以上のエクソンからなり，ゲノム中で 100 kb を超える領域を占める巨大な遺伝子である．この遺伝子のコーディング領域全体の配列を網羅的かつ効率的に解析するた

めに，ヒトスジシマカ *VGSC* 遺伝子全 CDS 配列からキャプチャープローブをデザインした．このキャプチャープローブによりゲノム DNA から *VGSC* 遺伝子配列を 3 万倍以上に濃縮することができ，次世代シーケンサーによる多検体（> 96 個体）の同時解析が可能となった．
［糸川健太郎，駒形 修，葛西真治，冨田隆史］

6. 日本のヒトスジシマカにおけるナトリウムチャネル(VGSC)遺伝子のピレスロイド低感受性変異の検定

2015 年に国内の 13 地点［東京都(8)，横浜市(2)，岡山市(2)，石垣市(1)］で捕獲したヒトスジシマカに由来する G0～G3 コロニーの 670 頭について，Universal QProbe 法により *VGSC* 遺伝子の 2 座位のジェノタイピングを行った結果，ピレスロイド低感受性の原因変異としてアジア，欧州，北米で同定されている V1016G または F1534C/S のアミノ酸置換変異は検出されなかった．国内集団では当該変異が存在していたとしても，その頻度は非常に低いものと考えられる．
［冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，葛西真治］

7. ネッタイトコジラミ国内コロニーからのナトリウムチャネル(VGSC)遺伝子のピレスロイド抵抗性関連変異の同定

2015～2017 年に国内の 7 地点［沖縄県(5)，大阪府(1)，東京都(1)］で捕獲されたネッタイトコジラミ，またはそれに由来するコロニーの計 18 頭について，本種 *VGSC* で既知の「ピレスロイド低感受性原因変異 L1014F」と「ピレスロイド抵抗性関連変異 M918I」の保有を調べた結果，L1014F については全頭が変異型のホモ接合体であり，M918I についてはその頻度は 35/36 であった．大多数の本種コロニーの防除に際しては，ピレスロイド系殺虫剤が有効でない可能性が示された．
［冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，林 利彦；成隆 光（大阪防疫協会）；皆川恵子，數間 亨（日本環境衛生センター）］

8. ネッタイトコジラミのアセチルコリンエステラーゼ(*AChE*)遺伝子配列の決定

熱帯地域における主要トコジラミ種のネッタイトコジラミでは，AChE 作用性の有機リン・カーバメイト系殺虫剤への抵抗性発達が問題化していると共に，2015 年以降，同剤抵抗性コロニーの国内侵入事例が相次いでいる．そこで，本種の *AChE* 遺伝子(*p-Ace*)の完全長コード領域配列を初めて決定した．本種 *p-Ace* は，トコジラミと同じく 596 アミノ酸残基の前駆体をコードし，1 つのアミノ酸座位のみに両種間で相異する固定がある．
［冨田隆史，駒形 修，糸川健太郎，葛西真治，林 利彦；皆川恵子（日本環境衛生センター）］

9. 4 か国で採集されたヒトスジシマカのペルメトリン感受性試験

シンガポール，ベトナム，ブラジル，日本で採集したヒトスジシマカ集団について，ピレスロイド剤に対する感受性試験を行った．感受性系統として用いた HKM 系統の LD_{99} および LD_{99}×10 のペルメトリン薬量で局所施用法により死亡率を測定した．供試した集団はいずれも高い感受性を有していた．とくに日本の小笠原諸島で採集した母島系と父島系の感受性レベルが高く，ペルメトリンに対する LD_{50} 値は父島系で 0.84 ng，母島系で 0.62 ng であった．母島系の LD_{50} は HKM 系の約 1/2 に相当し，特に感受性が高かったことから，標準感受性系統としての利用価値が見出された．
［葛西真治，吉田千草，前川芳秀，津田良夫，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史］

10. 電気生理学的解析のためのイエバエ *Vssc* 遺伝子全長のクローニング

かつて夢の島では生ごみが廃棄され，イエバエが多数発生したことから，大量の殺虫剤が使用された．ここで発生するイエバエは様々な殺虫剤に抵抗性を発達させた．特に，YPER 系と呼ばれる夢の島産イエバエは，作用点 Vssc に 2 か所のアミノ酸変異を有し，ピレスロイド剤の多くに強い抵抗性を示した．また，2 か所のうち 1 か所は選択的スプライシングによって 2 種類のエクソンが利用される領域に位置しており，いずれのエクソンにも異なるアミノ酸置換が見つかっている．これらのアミノ酸置換の抵抗性への関与を調べる目的で，イエバエから *Vssc*（約 6 kbp）の cDNA 全長を増幅し，pTA2 ベクターにクローニングした．Vssc は膜タンパクで大腸菌に毒性を有するため，ポジティブなコロニーを得ることが容易ではなかったが，低コピー数に抑制するコンピテントセルを用いることで可能となった．
［葛西真治，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史］

11. イエバエの *white* 遺伝子の系統間多型に関する研究

CRISPR/Cas9 を用いたイエバエのゲノム編集を行う目的で，イエバエの *white* 遺伝子の解析を行った．ゲノムプロジェクトから明らかになった *white* 遺伝子配列からプライマーをデザインし，イエバエのゲノム DNA を鋳型として PCR を行った．

ゲノム DNA は SRS 系，高槻系，中防系，YPER 系から調製した．いずれも約 900 bp からなる遺伝子断片の増幅に成功し，配列の解析を行うことができた．中防系が最も遺伝的に均一で多型が認められなかったのに対し，他の 3 系統では何らかの多型が認められた．全体では，解読した 846 塩基中 58 塩基（6.9%）で多型が認められた．この結果から，系統間で保存された領域をもとにガイド RNA のデザインを行った．
[葛西真治，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史]

12. ヨーロッパで採集されたヒトスジシマカの作用点遺伝子のジェノタイピング

イタリア，アルバニア，ギリシャで 2016 年に採集されたヒトスジシマカについて，ピレスロイド剤に抵抗性をもたらす作用点の突然変異の有無を調べた．ベトナムで見つかり，ピレスロイド剤に強い抵抗性をもたらす V1016G がイタリアの Emilia Romagna, Lazio, Puglia, Veneto といった複数の地域から採集されたヒトスジシマカからも確認された．イタリアと近隣のアルバニアやギリシャのヒトスジシマカからは確認されなかった．また，ギリシャのヒトスジシマカからは F1534C をもたらす遺伝子突然変異が見つかった．イタリアのヒトスジシマカからはすでに報告されている I1532T をもたらす遺伝子変異が認められたが，ピレスロイド剤感受性との相関は認められなかった．
[葛西真治，吉田千草，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史；Verena Pichler，Beniamino Caputo（イタリア・ローマ大）]

13. ヒトスジシマカにおけるノックダウン抵抗性遺伝子型とピレスロイド剤感受性の相関

2017 年にベトナム・ハノイ市内で採集されたヒトスジシマカから世界で初めてナトリウムチャネルの V1016G 変異を有する個体が採集された．すでにシンガポールや中国，アメリカ合衆国などで見つかっている F1534C や F1534S とピレスロイド剤感受性の違いを明らかにするため，それぞれの変異をホモ接合体として有する系統を作出し， 3 種ピレスロイド剤（ペルメトリン，デルタメトリン，エトフェンプロックス）に対する LD_{50} を算出した．その結果，V1016G は F1534C や F1534S よりも 4.4 倍～13.3 倍高い抵抗性をもたらすことが明らかになり，本蚊種を防除する上でこの突然変異の存在は脅威になりうると考えられた．特にアルボウイルス感染症流行地域においては V1016G の頻度について監視していく必要性があると考察された．
[葛西真治，吉田千草，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史]

14. 異なる *kdr* 遺伝子型を有するネッタイシマカの抵抗性系統確立

ピレスロイド剤抵抗性ネッタイイエカで見出された 4 種 *kdr* 遺伝子型をそれぞれホモ接合体として有する個体を脚由来の DNA をもとに判別し，抵抗性系統として確立した．ベトナムハノイ市由来の PK69aeg-WC と PK69aeg-W，同トゥイホア市由来の VetHKaeg-C と VetHKaeg-W そしてシンガポール由来の SP16aeg-PG と SP16aeg-C という，6 系統が L982W，L982W+F1534C，F1534C，S989P+V1016G のいずれかのアミノ酸変異を有する抵抗性系統として作出された．それぞれの kdr はピレスロイド剤の化学構造の違いによって異なる感受性を示すと考えられる．今後，感受性スペクトルの解析と，抵抗性に打ち勝つ新規化合物のデザインに向けて有用な情報をもたらすものと期待される．
[葛西真治，吉田千草，糸川健太郎，駒形 修，冨田隆史]

15. デング熱感染蚊防除に利用可能な殺虫剤の剤型と散布法に関する研究

国内でデング熱が流行した事態を想定し，患者宅周辺などでウイルス感染蚊を効率よく防除する目的で，成虫対策用の殺虫剤の剤型や散布法に関するシミュレーションと考察を行った．ヒトスジシマカの高密度な生息が確認された埼玉県内の市営公園の森林と霊園において，ピレスロイド剤の ULV，ハンドスプレイヤーによる噴霧，炭酸ガス製剤，有機リン剤とピレスロイド剤の混合剤を用いた煙霧について検討を行った．処理前後でヒト囮法によって蚊の密度を測定するとともに，飼育蚊を用いた準実地試験を行うことで殺虫剤の有効性を確かめた．いずれの剤型，処理方法にもメリットとデメリットが挙げられ，殺虫剤散布対象地域の状況に合わせて，適切に選別することが重要であることが示された．
[皆川恵子，橋本知幸，堀口智博，數間 亨（日本環境衛生センター）；葛西真治，糸川健太郎，前川芳秀，津田良夫，冨田隆史，沢辺京子]

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 29 年 4 月から平成 30 年 3 月までの間，9 件の昆虫およびダニ類の同定依頼に対応した．ヒトに被害を与えた例としては，お好み焼き粉で大量発生したコナヒョウヒダニが 1 件，入院患者に吸血被害を与えたツバメトコジラミの検体があった．また，輸入症例としては，ガイアナで寄生されたヒトヒ

フバエ, オーストラリアで咬着されたマダニの 1 種 *Ixodes holocyclus* の検体の同定依頼があった.
[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. 岐阜県感染症媒介蚊対策に関する研修会, 2017 年 4 月 24 日, 岐阜市. [津田良夫]
2. 媒介蚊と蚊媒介感染症対策の基礎的な知識について. 埼玉県平成 29 年度媒介蚊対策研修会, 2017 年 5 月 8 日, さいたま市. [澤邉京子]
3. 媒介蚊の特徴、発生源対策について. 茨城県蚊媒介感染症対策研修会, 2017 年 5 月 15 日, 水戸市. [冨田隆史]
4. 蚊からのウイルス分離および検出手法に関する技術研修, 2017 年 5 月 15 日, 東京. [伊澤晴彦]
5. 第 6 回蚊類調査に係る技術研修(H29 年度), 2017 年 5 月 29 日－30 日, 東京. [澤邉京子, 前川芳秀, 伊澤晴彦, 津田良夫]
6. フィールドワーク蚊の生態・防除対策蚊の捕集. 節足動物媒介感染症研修会, 2017 年 5 月 31 日, 東京. [澤邉京子, 前川芳秀, 津田良夫]
7. 採集蚊の仕分けおよび蚊の分類・同定実習. 第 31 回ペストロジー実習講座, 2017 年 6 月 14 日, 川崎市. [津田良夫]
8. 蚊の生息調査の説明・講義・実地研修. 岐阜県媒介蚊生息状況調査に関する技術研修会, 2017 年 7 月 21 日, 岐阜市. [津田良夫]
9. SFTS 等ダニ媒介性感染症調査の一環としてのネズミ調査について. ねずみ駆除協議会平成 29 年度・第 52 回総会, 2017 年 7 月 25 日, 東京. [澤邉京子]
10. 第 7 回蚊分類学を志す若手研究者のための現地研修, 2017 年 8 月 7 日－14 日, 沖縄県西表島. [津田良夫]
11. 小笠原諸島における蚊族同定にかかる技術講習, 2017 年 8 月 18 日, 東京都小笠原村. [前川芳秀, 津田良夫]
12. 衛生害虫の問題と対策の現状. 日産化学工業(株)研修会, 2017 年 10 月 13 日, 白岡市. [澤邉京子]
13. 感染症媒介昆虫対策について. 厚生労働省平成 29 年度動物由来感染症対策技術研修会, 2017 年 10 月 27 日, 東京. [澤邉京子]
14. 蚊が媒介する感染症について. 平成 29 年度ペストコントロール技術研修会, 2017 年 10 月 27 日, 福岡市. [津田良夫]
15. 昆虫媒介感染症について. 平成 29 年度医師卒後臨床研修プログラム, 2017 年 11 月 9 日, 東京. [佐々木年則]
16. 昆虫・ダニ類媒介の感染症について－蚊媒介感染症を中心に－. 日本ペストコントロール協会平成 29 年度感染症対策講習会, 2017 年 11 月 14 日, 広島市. [冨田隆史]
17. 昆虫・ダニ類媒介の感染症について－蚊媒介感染症を中心に－. 日本ペストコントロール協会平成 29 年度感染症対策講習会, 2017 年 11 月 30 日, 東京. [澤邉京子]
18. 第 8 回蚊分類学を志す若手研究者のための現地研修, 2017 年 11 月 29 日－12 月 6 日, 沖縄県西表島. [津田良夫]
19. 衛生害虫に関する最近の話題. 日本環境衛生センター第 53 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会, 2017 年 12 月 13 日, 横浜市. [澤邉京子]
20. 蚊が媒介する感染症について. 徳島県ペストコントロール協会感染症媒介蚊対策研修会, 2017 年 12 月 14 日, 徳島市. [津田良夫]
21. 感染症媒介蚊対策について. 愛媛県ペストコントロール協会感染症媒介蚊対策研修会, 2017 年 12 月 19 日, 松山市. [津田良夫]
22. SFTS 発生地で実施したネズミ調査と殺虫剤によるマダニ駆除について. 新潟県ペストコントロール協会ねずみ・衛生害虫防除作業従事者研修会, 2017 年 12 月 20 日, 新潟市. [澤邉京子]
23. 節足動物媒介感染症～蚊・マダニ対策の実際と課題～. 平成 29 年度埼玉県狂犬病予防協会研修会, 2018 年 1 月 13 日, 桶川市. [澤邉京子]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Tuno, N., Tsuda, Y. and Takagi, M. How Zoophilic Japanese Encephalitis Vectors Mosquitoes Feed on Humans. Journal of Medical Entomology, 54: 8-13, 2017.
2) Phanitchakun,T., Wilai1, P., Saingamsook1,J., Namgay, R., Drukpa, T., Tsuda, Y., Harbach, R.E. and Somboon, P. *Culex* (*Culiciomyia*) *sasai* (Diptera: Culicidae), senior synonym of *Cx. spiculothorax* and a new country record for Bhutan. Acta Tropica, 171: 194-198, 2017.

3) Hayashi, T. A new species and a new record of the genus *Minilimosina* (*Allolimosina*) Roháček (Diptera, Sphaeroceridae) from the Oriental region. Journal of Medical Entomology and Zoology, 68: 109-111, 2017.

4) Hayashi, T. New species and records of the genus *Terrilimosina* Roháček (Diptera: Sphaeroceridae) from the Oriental region. Japanese Journal of Systematic Entomology, 23: 267-271, 2017.

5) 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.

6) 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.

7) Kobayashi, D., Ohashi, M., Oseic, J.H.N., Agbosu, E., Opokuc, M., Agbekudzi, A., Joannides, J., Fujita, R., Sasaki, T., Bonney, J.H.K., Dadzie, S., Isawa, H., Sawabe, K., Ohta, N. Detection of a novel putative phlebovirus and first isolation of Dugbe virus from ticks in Accra, Ghana. Ticks and Tick-Borne Diseases. 8: 640-645, 2017.

8) Kobayashi, D., Isawa, H., Fujita, R., Murota, K., Itokawa, K., Higa, Y., Katayama, Y., Sasaki, T., Mizutani, T., Iwanaga, S., Ohta, N., Garcia-Bertuso, A., Sawabe, K. Isolation and characterization of a new iflavirus from *Armigeres* spp. mosquitoes in the Philippines. Journal of General Virology, 98: 2876-2881, 2017.

9) Fujita, R., Ejiri, H., Lim, C.K., Noda, S., Yamauchi, T., Watanabe, M., Kobayashi, D., Takayama-Ito, M., Murota, K., Posadas-Herrera, G., Minami, S., Kuwata, R., Yamaguchi, Y., Horiya, M., Katayama, Y., Shimoda, H., Saijo, M., Maeda, K., Mizutani, T., Isawa, H., Sawabe, K. Isolation and characterization of Tarumizu tick virus: a new coltivirus from *Haemaphysalis flava* ticks in Japan, Virus Research, 242: 131-140, 2017.

10) Ejiri, H., Lim, C.K., 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., Morikawa, S., Maeda, K., Mizutani, T., Kaku, K., Saijo, M., Sawabe, K. Isolation and characterization of Kabuto Mountain virus, a new tick-borne phlebovirus from *Haemaphysalis flava* ticks in Japan. Virus Research, 244: 252-261, 2018

11) Komagata, O., Higa, Y., Muto, A., Hirabayashi, K., Yoshida, M., Sato, T., Nihei, N., Sawabe, K., Kobayashi, M. Predicting the start of the *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) female adult biting season using the spring temperature in Japan. Journal of Medical Entomology, 54: 1519-1524, 2017.

12) Smith, L.B., Kasai, S., Scott, J.G. Voltage-sensitive sodium channel mutations S989P+V1016G in *Aedes aegypti* confer variable resistance to pyrethroids, DDT and oxadiazines. Pest Management Science, 74: 737-745, 2018.

13) Sun, H. Kasai, S., Scott, J.G. Two novel house fly *Vssc* mutations, D600N and T929I, give rise to new insecticide resistance alleles. Pesticide Biochemistry and Physiology, 143: 116-121, 2017.

14) Corbel, V., Fonseca, D.M., Weetman, D., Pinto, J., Achee, N.L., Chadre, F., Coulibaly, M.B., Dusfour, I., Grieco, J., Juntarajumnong, W., Lenhart, A., Martins, A.J., Moyes, C., Ng, L.C., Raghavendra, K., Vatandoost, H., Vontas, J., Muller, P., Kasai, S., Fouque, F., Velayudhan, R., Durot, C., David, J. International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. Parasites and Vectors, 10: 278, 2017.

15) Mori, S., Horita, A., Ginnaga, A., Miyatsu, Y., Sawabe, K., Matsumura, T., Ato, M., Yamamoto, A., Shibayama, K., Arai, A., Yamagishi, T., Takahashi, M., Taki, H., Hifumi, T. Venom and antivenom of redback spider (*Latrodectus hasseltii*) in Japan. II. Experimental production of equine antivenom of redback spider. Jpn. J. Infect. Dis., 70: 635-641, 2017.

2. 和文発表

1) 津田良夫. 鳥マラリアと媒介蚊に関する最近の研究. 衛生動物, 68: 1-10, 2017.

2) 室田勝功, 小林大介, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 沢辺京子. 蚊における日本脳炎ウイルス(JEV)保有状況. 病原微生物検出情報(IASR), 38: 162-164, 2017.

3) 橋本知幸, 皆川恵子, 數間 亨, 武藤敦彦, 葛西真治, 駒形 修, 前川芳秀, 冨田隆史, 渡辺 護, 澤邉京子, 白石 都, 大石英明, 山内健生, 五十嵐真人, 池田文明. 人の活動域に生息するマダニに対する衛生害虫用殺虫剤の防除効果. 衛生動物, 68: 101-108, 2017.

4) 糸川健太郎, 葛西真治. 感染症媒介蚊の殺虫剤抵抗性とシトクロム P450. 蚕糸・昆虫バイオテック, 86: 151- 162, 2017.

5) 葛西真治. 衛生昆虫の殺虫剤抵抗性について. 学友会報, 58: 42-50, 2017.

6) 葛西真治, 冨田隆史. 我が国のヒトスジシマカの殺虫剤感受性:現状と今後の見通し. Pest Control Tokyo, 73: 36-41, 2017.
7) 葛西真治. 病原体媒介マダニとの攻防. イミダス時事オピニオン, 5 月, 2017.

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

1) Fujita, R., Kato, F., Tajima, S., Saijo, M., Isawa, H., Sawabe, K. Shinobi tetravirus and Kunoichi rhabdovirus, latent viruses in mosquito cultured cell line suppress multiplication of arboviruses. International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 50th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology (Golden Jubilee). 2017 年 8 月 13 日－17 日, フランス.
2) Murota. K. Surveillance for mosquito-borne viruses in Japan. The 14th Japan-Taiwan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative project reports, 2017 年 9 月 5 日－6 日, 東京.
3) Murota. K. Surveillance of arbovirus vectors in Japan. The 8th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference. Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region. 2017 年 11 月 21 日－22 日, 東京.

2. 国内学会

1) 津田良夫, 前川芳秀, 葛西真治, 皆川恵子, 数間 亨, 堀口智博, 山内健生, 沢辺京子. 岡山市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(2015 年, 2016 年). 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
2) 比嘉由紀子, 鶴川千秋, 今西 望, 津田良夫, 沢辺京子. 長崎市の冬季屋外環境におけるネッタイシマカ卵の越冬について. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
3) 皆川恵子, 武藤敦彦, 橋本知幸, 数間 亨, 堀口智博, 津田良夫, 前川芳秀, 沢辺京子. 防疫用殺虫剤の新用法容量によるヒトスジシマカ成虫への野外効力実地試験. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
4) 津田良夫. 日本におけるデング熱、ジカウイルス媒介蚊の監視と効果的な対策への備え. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
5) 前川芳秀, 津田良夫, 山内健生, 五十嵐真人, 數間亨, 佐藤裕蔵, 金山隆一, 沢辺京子. 山裾の墓地から発生するヒトスジシマカの移動に関する実験. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
6) 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, 角田 隆, 皆川 昇, Tran Chi Cuong, Tran Vu Phong, Nguyen Thi Yen, Vu Sinh Nam, 伊澤晴彦, 沢辺京子. ベトナムのヤブカより分離されたウイルスに関する解析. 第69回日本衛生動物学会大会, 2017年4月14日－16日, 長崎市.
7) 小林大介, 木村晶平, 伊澤晴彦, 糸川健太郎, 室田勝功, 藤田龍介, Nana Antwi, Deborah Pratt, Esinam Agbosu, 大橋光子, Kofi Bonney, Samuel Dadzie, 沢辺京子, 太田伸生. 2016年ガーナ共和国における疾病媒介節足動物の分布調査ならびに保有ウイルスの解析. 第69回日本衛生動物学会大会, 2017年4月14日－16日, 長崎市.
8) 佐々木年則, 久保田眞由美, 伊藤航人, 山岸拓也, 川﨑麻紀, 十菱大介, 平尾磨樹, 伊澤晴彦, 足立智英, 大石和徳, 柴山恵吾, 澤邉京子. 路上生活者におけるコロモジラミ由来アシネトバクター属細菌について. 第69回日本衛生動物学会大会, 2017年4月14日－16日, 長崎市.
9) 冨田隆史, 葛西真治, 駒形 修, 糸川健太郎, 前川芳秀, 津田良夫, 矢口 昇, 緒方一喜. 2015年に日本で採集したヒトスジシマカの殺虫剤感受性の状況. 第69回日本衛生動物学会大会, 2017年4月14日－16日, 長崎市.
10) 葛西真治, 角田 隆, 前川芳秀, 糸川健太郎, 室田勝功, 駒形 修, Tran Chi Cuong, Tran Vu Phong, Nguyen Thi Yen, Vu Sinh Nam, 皆川 昇, 澤邉京子, 冨田隆史. ベトナムで採集されたヤブカ成虫のピレスロイド剤感受性とナトリウムチャネルの変異. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
11) 駒形 修, 糸川健太郎, 葛西真治, 冨田隆史. 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. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.
12) 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遺伝学的研究.

第69回日本衛生動物学会大会, 2017年4月14日－16日, 長崎市.

13) 橋本知幸, 皆川恵子, 數間 亨, 武藤敦彦, 葛西真治, 前川芳秀, 渡辺 護, 冨田隆史, 駒形 修, 沢辺京子, 山内健生, 白石 都, 大石英明. 4 種殺虫剤の野外生息マダニに対する駆除効果. 第69回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

14) 小林睦生, 前川芳秀, 駒形 修, 石田恵一, 藤井重輝, 奥山弘幸, 塩野儀人, 沢辺京子. 青森県に侵入が確認されたヒトスジシマカ. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

15) 沢辺京子. 日本の vector-borne disease 対応に関する一連の研究. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

16) 沢辺京子, 益子玲於奈, 前川芳秀, 小川浩平, 糸川健太郎, 佐藤智美, 伊澤晴彦, 津田良夫, 小林睦生, 松村隆之, 阿戸 学, 山本明彦, 一二三 亨. 日本の vector-borne disease 対応に関する一連の研究. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

17) 胡 錦萍, 糸川健太郎, 二見恭子, 比嘉由紀子, 沢辺京子, 皆川 昇. 成田および羽田空港内で発見したネッタイシマカの遺伝構造の解析. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

18) 渡辺 護, 渡辺はるな, 米島万有子, 沢辺京子. 熊本地震と東日本大震災の被災地における蚊の発生状況の相違. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

19) 米島万有子, 渡辺 護, 渡辺はるな, 村松佑典, 東田和典, 小林睦生, 沢辺京子. 熊本地震被災地にお ける蚊の発生状況調査. 第 69 回日本衛生動物学会大会, 2017 年 4 月 14 日－16 日, 長崎市.

20) 小林大介, 木村晶平, 伊澤晴彦, 室田勝功, 糸川健太郎, 藤田龍介, Nana Antwi, Deborah Pratt, Esinam Agbosu, 大橋光子, Kofi Bonney, Samuel Dadzie, 沢辺京子, 太田伸生. 2016 年ガーナ共和国で採集された蚊およびマダニが保有するウイルスの解析. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2017 年 5 月 19 日－20 日, 沖縄県北中城村.

21) 室田勝功, 小林大介, 藤田龍介, 江尻寛子, 前川芳秀, 佐々木年則, 伊澤晴彦, 津田良夫, 比嘉由紀子, 砂原俊彦, 吉川 亮, 松本文昭, 三浦佳奈, 山下綾香, 皆川 昇, 沢辺京子. 2014年から2016年に長崎県で捕集されたコガタアカイエカ*Culex tritaeniorhynchus*の日本脳炎ウイルス保有状況調査. 第52回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2017年5月19－20日, 沖縄県北中城村.

22) 沢辺京子, 前川芳秀, 駒形 修, 室田勝功, 糸川健太郎, 葛西真治, 角田 隆, 皆川 昇, Tran Chi Cuong, Tran Vu Phong, Nguyen Thi Yen, Vu Sinh Nam, 津田良夫, 小林睦生. ヒトスジシマカの国内分布と密度に関する最近の知見. 第 52 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 2017 年 5 月 19 日－20 日, 沖縄県北中城村.

23) 葛西真治. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性機構. 第 27 回感染研シンポジウム, 2017 年 5 月 22 日, 東京.

24) 青木 栞, 南 昌平, 仲村 昇, 茂田良光, 尾崎清明, 木村俊也, 藤田龍介, 江尻寛子, 伊澤晴彦, 沢辺京子, 鍬田龍星, 下田 宙, 高野 愛, 前田 健. 地域固有のマダニおよび渡り鳥に付着したマダニからのウイルス分離の試み. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 9 月 13 日－15 日, 鹿児島市.

25) 南 昌平, 鍬田龍星, 下田 宙, 吉澤未来, 井上春奈, 齋藤 瞬, 渡部 孝, 藤田龍介, 江尻寛子, 伊澤晴彦, 沢辺京子, 森川 茂, 前田 健. 死亡タヌキの脳より分離された新規コロラドダニ熱ウイルス. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 9 月 13 日－15 日, 鹿児島市.

26) 津田良夫. イナトミシオカの生殖休眠を誘導する要因の感受期について. 第69回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2017年11月3日, 相模原市.

27) 沢辺京子, 葛西真治, 五十嵐真人, 長谷川嘉希, 野々上範之, 野田亜矢子, 南 心司. チーターのSFTSウイルス感染が確認された動物園で実施したマダニ対策. 第69回日本衛生動物学会東日本支部大会, 2017年11月3日, 相模原市.

28) 比嘉由紀子, 二見恭子, Nguyen Thi Yen, 沢辺京子. 日本型及び大陸型コガタアカイエカの形態変異に関する予備的観察. 第 70 回日本衛生動物学会南日本支部大会, 2017 年 11 月 4 日－5 日, 奄美市.

29) 糸川健太郎, 葛西真治, 駒形 修, 冨田隆史. “次世代”の殺虫剤抵抗性研究. シンポジウム「ベクターコントロール法開発の最前線」, グローバルヘルス合同大会, 2017 年 11 月 25 日, 東京.

30) 沢辺京子. 衛生害虫における最近の話題－あなたの近く

にもいる病気をうつす虫の話－. 特別講演, 獨協医学会, 2017 年 12 月 5 日, 栃木県下都賀郡.

31) 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, 2018 年 3 月 23 日, 東京.

12. 獣医科学部

部 長 森川 茂

概　要

獣医科学部は、戸山庁舎に配置され、第1室、第2室、第3室の3室で構成される。動物由来ウイルス感染症、動物由来細菌感染症のリファレンス・研究業務を行っている。第1室はブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、鼠咬症、新興ウイルス感染症を、第2室は狂犬病、リッサウイルス感染症、ニパウイルス感染症、炭疽を、第3室は野兎病及び近縁菌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)ウイルスの研究業務を遂行した。第1室では、ブルセラ症疑い患者から分離された菌を解析した結果、*B. suis* biover 5と非常に近縁であることがわかった。本菌による患者が長野県で発生していることからげっ歯類などの保菌動物調査が必要と考えられる。カプノサイトファーガ感染症、鼠咬症に関しては継続して調査研究を実施している。出血熱患者から検出されたBas-Congoウイルスに関しては、ウイルス学的解析を行い、ワクチン候補の開発を行った。また、動物のSFTSの実験室診断法を開発した。ネコがSFTSに高感受性を示すことを科学的に証明した。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。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。また、狂犬病のintrabodyに関する研究を行った。炭疽菌・セレウス菌・チュリンゲンシ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。ヘニパウイルス感染症の鑑別診断が可能な中和抗体測定法を開発した。第3室は、野兎病菌の細胞内増殖制御に関わる宿主因子の解析を行った。また、野兎病菌に近縁な*Francisella*属菌が敗血症患者から同定された。また、検査や研究に資する野兎病菌の不活化条件を検討した。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、研究生3名　久保七彩　(京都女子大学家政学研究科)、志保希(北里大学獣医学部　病理学部研究室)、君付和範(北里大学獣医学部　病理学部研究室)が入所した。　また、研究協力員3名　蓮池陽子(東京都動物愛護相談センター城南島出張所)、岡島淳悟(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)、研究生2名田徳雨(東京大学大学院農学生命学研究科)、古山裕樹(岐阜大学大学院連合獣医学研究科)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。うち、田徳雨(東京大学大学院農学生命学研究科)が博士を取得した。

業　績

調査・研究

I. ブルセラ症に関する研究

1. ブルセラ症の疫学的調査研究

ブルセラ症(Brucellosis)は、ブルセラ属菌(*Brucella* spp.)による人獣共通感染症で、1999年4月1日施行の感染症法に基づく感染症発生動向調査では4類感染症として、診断した医師に全数届出が義務付けられている。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29年度には、患者2例(*B. abortus* 感染1例、*B. canis* 感染1例)が届け出られ、1999年度からの累計では、41例(*B. melitensis* または *B. abortus* 感染14例、*B. canis* 感染27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。 [今岡浩一、鈴木道雄、朴ウンシル、木村昌伸、森川茂(感染研・獣医科学部)]

2. ブルセラ症検査のEQA

ブルセラ症(4類感染症)の検査について、感染研使用の試薬・マニュアルなどを提供し、参加希望地方衛生研究所(地衛研)でブラインド検体を用いた検査(抗体検査：TAT、遺伝子検出：PCR)について、外部精度管理(検査法・手技等の検証)を実施した。抗体検出、遺伝子検出ともに、概ね良好な結果が得られたが、遺伝子検出感度は各地衛研によ

り差が見られた。これは、遺伝子検出に使用するサーマルサイクラー機種や電気泳動用アガロース、染色液等が各地衛研間でまちまちで、これらが感度の違いをもたらしているのではないかと推測された。行政検査対象項目に関しては、使用機器、酵素、アガロース等について統一を図る事が望ましいと考えられた。ただ、全体的にみて今回参加した 21 地衛研においては、ほぼ問題なくブルセラ症検査が実施できると考えられた。 [今岡浩一、鈴木道雄、朴ウンシル、森川茂(感染研・獣医科学部)、各参加地方衛生研究所]

3. 既存のブルセラ属菌とは異なるブルセラ属菌による感染事例の検討

長野県内の医療機関で、ブルセラ症類似症状を示す不明熱患者の血液培養より菌が分離された。ブルセラ症が疑われたことから、当該菌株に対して菌種同定 PCR を実施したところ *B. suis* と判定された。また、血清診断では家畜ブルセラ菌に対する抗体が陽性であった。しかし、患者に渡航歴や感染原因と考えられる輸入食品の喫食歴がないこと、国内家畜では現在 *B. suis* 感染は清浄化していることから、16S rRNA 遺伝子や 9 座連結配列(MLSA)による系統樹解析を行った結果、当該菌株は Classic Brucella の系統に属し、*B. suis* biover 5 と近縁だが、既存のブルセラ属菌とは異なるブルセラ属菌であることが明らかとなった。一方で、感染経路等を検討するため、患者への聞き取りと自宅周辺よりサンプルを採取し培養を行ったが、ブルセラ属菌およびその遺伝子は検出されず、感染経路の特定には至らなかった。今後、さらなる検討が必要である。[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)、仲野惟、池添正哉、岡田邦彦、嶋崎剛志、井出京子、加藤亮介、上原雅江(佐久医療センター)、小林広記、小林良清(長野県佐久保健福祉事務所)]

4. MALDI-TOF MS を用いたブルセラ属菌の菌種同定

近年、臨床検査現場では MALDI Biotyper など MALDI-TOF MS を用いた菌種同定が広く行われるようになってきているが、感染研にて所持する *Brucella* 属菌について MALDI Biotyper を用いて鑑別同定用のベースデータを作成した。[今岡浩一、鈴木道雄(感染研・獣医科学部)、鈴木仁人(感染研・細菌第二部)]

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 88 例(うち死亡 18 例)を把握し、(1) 患者は中高年齢者の男性が中心である、(2) 基礎疾患の有無によらない、(3)ネコ咬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、*C. canimorsus* 臨床分離株の薬剤感受性を検討し、オーグメンチンとイミペネムの MIC 値は分布範囲が狭く、MIC80 も低かった。*C. canis* の多遺伝子座配列解析(MLSA)によるタイピングの結果、敗血症患者から分離された 3 株の *C. canis* は、海外でイヌ口腔内から分離された低病原性とされる 3 菌株とは別のグループに分かれた。[鈴木道雄、森川茂、今岡浩一(感染研・獣医科学部)、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

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、クマネズミの保菌している *Strteptobacillus* 属菌は *S. notomytis* であることを明らかにし、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。本 PCR 法を実際に患者診断に用いたところ、良好な結果が得られた。また、近年、臨床検査現場では MALDI Biotyper など MALDI-TOF MS を用いた菌種同定が広く行われるようになってきているが、*S. moniliformis* 以外はデータベースに未登録で同定不能であることから、鑑別同定用のベースデータを作成した。[今岡浩一、鈴木道雄(感染研・獣医科学部)、鈴木仁人(感染研・細菌第二部)、谷川力(イカリ消毒)]

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。昨年度まで BASV のウイルス学的性状解析から、VSV 同様に広い宿主域を持つこと、他のラブドウイルス同様受容体結合後にエンドゾーン内の低 pH 環境下で膜融合を起こし、細胞質内へ侵入することが分かった。さらに、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、その至適 pH は pH5 であることが分かった。

この結果を踏まえて、細胞内侵入に係る因子を調べた。

種々の出血熱ウイルスは脂質輸送蛋白質、cholesterol transporter protein, (Niemann-Pick C1; NPC1)によって細胞質内に侵入することが報告されている。そこで、NPC1 の阻害剤（imipramine, U18666A）及び NPC1 knock-out 細胞を用いて、BASV の細胞質内侵入における関連を調べた。しかし、BASV は阻害剤に影響されず、NPC1 knock-out 細胞においても対照群と同様に細胞質内に侵入することが確認された。そのため、BASV は NPC1 とは違う経路により細胞質内に侵入することが示唆された。[朴ウンシル、今岡浩一、木村昌伸、森川茂（感染研・獣医科学部）]

2. 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 98%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-G 蛋白質発現ベクターDNA、精製組換え G 蛋白質及び G 蛋白質発現組換えワクシニアウイルスの 3 種類の抗原による免疫付与能をウサギやマウスを用いて比較した。その結果、G タンパク質発現ベクターDNA(6 回接種)および G タンパク質発現ワクシニアウイルス(2 回接種)を抗原として得られたウサギ由来の抗体は BASV-G タンパク質を外套した VSV シュードタイプ（BASVpv）の 50%中和能が 25,600~51,200 倍だった。また、G タンパク質発現ワクシニアウイルスに対するマウスの抗体は 6,400~12,800 倍希釈まで BASVpv を 50%中和できた。しかし、バキュロウイルス系で作製した精製組換え G タンパク質を抗原としたウサギ由来抗体は 400~800 倍希釈までしか BASVpv を 50%まで中和できなかった。つまり、G タンパク質発現ワクシニアウイルスが中和抗体をより効率よく誘導することが分かった。 [朴ウンシル、野口章、今岡浩一、木村昌伸、森川茂（感染研・獣医科学部）]

V. 痘そうワクチンに関する研究

1. 細胞培養弱毒性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（medium size plaque; MSP）のウイルスが出現する。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。さらに、MSP 特異的プライマーを用いた qPCR により、ワクチン中、出現頻度の高い 3 種類を含有率 0.01~1%まで検出でき、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。この結果を踏まえて、細胞培養痘そうワクチン株の Lot 中の MSP 測定を試みた。まず、LC16m8 株および MSP 株の共通の primer を用いて、検体に含まれているウイルスの copies を測定した。また、それぞれ mutation specific primer による real-time PCR から MSP の copies を算出し、MSP の含有率を計算した。その結果、Lot 1~5 は MSP 含有率が 0.1%以上であることが確認された。Lot 6~14 は 0.1%以下、または、検出できなかった。MSP 中 1 種類はこれまでバイオアッセイと次世代シークエンサー解析から含有率が既知のロット 3 で 1/10 程となり、他のロットでも比率が低く算出された。2 種類の MSP 検出 qPCR では同程度の含有率となった。この理由として、qPCR において増幅効率の差によるものであると考えられる。そこで、その差を補正すると、ロット 3 では 3 種の MSP 比率が過去にバイオアッセイ、次世代シークエンサーで算出した値に近似することがわかった。Mutation specific primer による qPCR は痘そうワクチンの MSP 検出および定量化に有用であることが考えられた。 [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. アジア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等に関する研究

自治体及び大学等の専門家と協働して開発している狂犬病の遺伝子検出法（RT-LAMP 法、realtime RT-PCR 法）、抗原検出法（免疫組織化学法）、抗体検査法（ELISA 法）法について、アジアの狂犬病ラボラトリーネットワークを利用して、ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）、フィリピン熱帯医学研究所（RITM）、台湾動物衛生研究所（AHRI）、チェンマイ大学（CMU）等で検査系の検証と普及を行った。[井上智、野口章、奥谷晶子、加来義浩、森川茂；朴天鎬（北里大学）；八田一（京都女子大学）；河合明彦（生産開発科学研究所）；小西良子（麻布大学）；兼子千穂（宮崎大学）；好井健太郎（北海道大学）；加藤卓也（日本獣医生命科学大学）；佐藤克（狂犬病臨床研究会）；畠山薫（東京都健康安全研究センター）；水越文徳（栃木県保健環境センター）；浦口宏二（北海道衛生環境研究所）；喜屋武尚子、柿田徹也（沖縄県衛生環境研究所）；大迫英夫（熊本

県保健環境科学研究所）；柴田伸一郎（名古屋市衛生研究所）；田原研司（島根県保健環境科学研究所）；矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）；Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu,、Ngo Chau Giang,、Hoan Thi Thu Ha（ベトナム NIHE）；Daria Manalo（フィリピン熱帯学研究所）；胡書佳、（台湾 AHRI）；楊志元、黄頌恩（台湾 CDC）；費昌勇（台湾大学獣医大学院）；Wilaiwan Petsophonsakul（タイ CMU）；Boldbaatar Bazartseren（モンゴル獣医学研究所）]

2. 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動物の狂犬病調査とこれに係る体制整備の強化について現状分析・検査技術の改良、発生時を想定した対応強化に関する調査研究を OneHealth 視点で行った。特に、動物の狂犬病調査強化、鑑別診断、付随する外部寄生体及び寄生虫疾患調査を利用した施設衛生管理の研修等を試行した。また、近隣アジアの感染症研究機関（フィリピン熱帯医学研究所、台湾動物衛生研究所等）との狂犬病サーベイランスに関わる調査研究についても継続を行った。[野口章、堀田明豊、井上智、森川茂；兼子千穂、三澤尚明、桐野由美、目堅博久（宮崎大学）；好井健太郎（北海道大学）；常盤俊大、加藤卓也（日本獣医生命科学大学）；朴天鎬（北里大学）；山田健太朗（大分大学）；佐藤克（狂犬病臨床研究会）；森嶋康之（寄生動物部）；伊藤睦代（ウイルスⅠ部）；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、柿田徹也（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、高橋剣一、小平彩里（名古屋市衛生研究所）；本谷匠、後藤慶子（茨城県衛生研究所）；田原研司（島根県保健環境科学研究所）；平良雅克（千葉県衛生研究所）；矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）；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、名古屋市、島根県、兵庫県、香川県、新潟県、福島県、福岡県、熊本県、秋田県、宮城県、宮崎県、福岡県、長崎県、熊本県、沖縄県、熊本市、名古屋市、愛知県、三重県、岐阜県、長野県、静岡県、豊橋市、豊田市、岡崎市、四日市市、岐阜市、長野市、静岡市、浜松市、栃木県、群馬県、茨城県、埼玉県、山梨県、千葉県、宇都宮市、前橋市、さいたま市、川越市、越谷市、千葉市、船橋市、柏市）]

3. 狂犬病ウイルスの迅速遺伝子診断（DLAMP）法の新規構築と評価に関する研究

ベトナムの国立疫学衛生研究所(NIHE)との共同研究によって狂犬病ウイルルスについてベッドサイドで鑑別診断可能な Direct リアルタイム RT-LAMP 法を構築した。DLAMP プラマーはベトナムの狂犬病ウイルス株と既存の公開データベースを利用して In silico で行い、標準株とベトナム分離株を利用して反応条件等を検討した。ベトナムで流行しているウイルス株の遺伝子型 3 種類についてプライマーを設計して DLAMP 法で遺伝子検出が可能な事を明らかにした。[井上智、野口章；影山勉、高山郁代（インフルエンザウイルス研究センター）；Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu,、Ngo Chau Giang,、Hoan Thi Thu Ha（ベトナム NIHE）；（栄研化学）]

4. 狂犬病ウイルスの増殖を阻害する抗 P 蛋白質 intrabody が認識するエピトープの解析

狂犬病ウイルス（Rabies virus: RABV）は、主に感染動物の咬傷により伝播し、潜伏期を経て神経上行性に中枢神経に侵入後、狂犬病を発症する。感染しても、速やかに予防的なワクチンを接種することで発症を阻止できるが、ひとたび発症すると確実な治療法はなく、致死率はほぼ 100%である。我々はこれまでに RABV の P 蛋白質（RABV-P）に対する抗体の single chain variable fragment (scFv)を、マウス神経芽腫由来 MNA 細胞に細胞内発現抗体（intrabody）として発現させ、RABV の感染細胞内での増殖阻害効果を確認した。本研究では、抗 RABV-P scFv の増殖阻害効果の機構を詳細に解析するために scFv の認識するエピトープを解析した。まず RABV-P の翻訳開始コドンの異なる 5 種の isoform（P1, P2 [NΔ19], P3 [NΔ52], P4 [NΔ68], P5 [NΔ82]）と、C 末端を段階的に欠失した P1 を pCAG ベクターにより HEK293T 細胞で transient に発現させた。これらを抗原とした間接蛍光抗体法により抗 RABV-P scFv の認識するエピトープを解析した。その結果、Intrabody として発現すると RABV の増殖阻害効果のある抗 RABV-P scFv（クローン No. 19）は、P3 [NΔ52], P4 [NΔ68], P5 [NΔ82]を除くすべての isoform および C 末端欠失 P1 に反応したことから、認識するエピトープは RABV-P の N 末端から 19～52 残基の間に存在すると考えられた。この領域は、RABV-N 蛋白質との結合部位、L 蛋白質との結合の安定に寄与する部位、核外搬出シグナルなど、複数の機能ドメインを含むとされている。現在、さらにエピトープの範囲を絞るとともに、他の抗 RABV-P scFv クローンについても同様の解析を進めている。[加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VII. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

1. 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。

野生動物糞便から分離された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、動物由来の菌株は土壌由来株と近縁であることと、同一地域のアライグマから分離されたセレウス菌は異なる遺伝型に分離されることが明らかとなった。BLAST 検索より土壌由来セレウス菌と同様に、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]

2. フラボノイド類化合物の炭疽菌抗菌効果の検証

各種天然成分から抽出されるフラボノイド類より、緑茶カテキン、ホップ抽出物、甘草抽出物由来の、エピガロカテキンガレート、キサントフモール、グラブリジンの炭疽菌芽胞に対する抗菌活性を確認したところ、グラブリジンによる芽胞の発芽阻止活性が確認された。上記 3 種のフラボノイド類による芽胞発芽後の栄養型細胞の増殖阻止活性が確認された。これらの化合物を組み合わせて使用することで炭疽菌芽胞発芽阻止、増殖抑制効果が期待される。
[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VIII. ヘニパウイルスに関する研究

1. ヘニパウイルスの鑑別診断が可能な中和抗体測定法（SNT）の構築

ニパウイルス（NiV）、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、国際的に BSL4 病原体に分類されている。昨年度の研究で HeV-F/G 蛋白質の細胞質内領域の各種欠損変異体発現ベクターを用いて、高度感染性を有するシュードタイプ VSV を作製した。本年度は、得られたシュードタイプの反応性を評価するとともに、ニパウイルス（NiV）/HeV 抗体の識別法の開発を行った。抗 NiV-F, G ウサギ血清および、今年度 DNA 免疫により作製した抗 HeV-F, G ウサギ血清に対して、NiV, HeV シュードタイプを用いて交差中和試験を実施したところ、ホモの組み合わせで、より高い抗体価が得られた。続いて NiV 患者血清に対して交差中和試験を実施したところ、NiV シュードタイプに対して、より高い抗体価が得られた。これらの結果から両シュードタイプを用いた中和試験の特性が評価でき、ヘニパ疑い患者血清に対する NiV/HeV 抗体の識別が可能となった。[加来義浩、朴ウンシル、野口章、井上智、森川茂]

IX. 野兎病菌及び近縁菌に関する研究

1. 野兎病菌強毒株および弱毒株感染マクロファージの免疫応答に関する検討

野兎病菌（*Francisella tularensis*）は、高い感染性と致死性を有する細胞内寄生性グラム陰性菌である。野兎病菌強毒株は、感染宿主の免疫応答を抑制して増殖することが知られている。一方で、病原性遺伝子を欠損した野兎病菌弱毒株は、宿主の免疫機構に補足され、その菌増殖は制限されることも報告されている。しかし、野兎病菌強毒株の免疫抑制機序は、未だ詳細に解析されていなかった。そこで本研究では、野兎病菌強毒株(SCHU P9)および pdpC 遺伝子欠損弱毒株（ΔpdpC）をマクロファージに接種し、免疫関連遺伝子やタンパク質発現量の差異について解析を行った。ウエスタンブロットによる解析結果から、強毒株および弱毒株感染 J774.1 細胞における IL-1β 産生は、両者共に感染 8 時間後に最大となったが、量的差異は観察されなかった。同様に、NFκB や MAPK 等の発現量にも大きな差異は認められなかった。一方で、感染 8 時間後のマクロファージにおけるマイクロアレイと qRT-PCR の結果から、lipocalin 2 (Lcn2) や Guanylate-binding Protein (Gbp)遺伝子群が、強毒株感染時に発現低下することが明らかとなった。これらの結果から、マクロファージにおける野兎病菌の増殖制御には、Lcn2 や Gbp 遺伝子群が必要とされる可能性が示唆された。[阿崎美佳、宇田晶彦、中里勝芳、田徳雨、堀田明豊、藤田修、森川茂）

2. 野兎病菌の不活化条件に関する調査

野兎病菌は極めて高い感染力があり、重篤な症状を呈することから感染症法で二種病原体に分類され、生菌の取り扱いは biosafety level (BSL) 3 に限定される。検査や研究のため野兎病菌を BSL3 実験室から持ち出すときには、病原体の完全な不活化が必要となる。しかし、野兎病菌の不活化条件を包括的かつ詳細に検証した報告はなかった。そこで本研究は様々な不活化条件を野兎病菌に適用し、処理後の残存した生菌数を調査した。

野兎病菌は、加熱（94℃で 3 分、56℃で 30 分）、0.22 μm フィルターを用いたろ過、70% 以上のエタノール溶液、100% メタノール、100% アセトン、10% 中性緩衝ホルマリン溶液、4% パラホルムアルデヒト溶液を用いた処理で、容易に不活化された。一方、50% エタノール処理

では、野兎病菌の不活化に 1 分以上の時間を要した。また、0.45μm フィルターを用いたろ過、界面活性剤、紫外線照射処理では、生菌数は有意に低下したが、完全な不活化は困難だった。これらの結果から、界面活性剤などの完全な不活化が困難な方法でも、有意に生菌数が低下することから、複数の処理方法を併用すれば、野兎病菌を不活化できる可能性が示唆された。これらの成績から野兎病菌を BSL3 実験室から持ち出すときの不活化の SOP を作成する予定である。[阿崎美佳、宇田晶彦、田徳雨、堀田明豊、藤田修、森川茂）

3. 熊本県内の敗血症患者の血液より分離された *Francisella* 属菌の同定について

熊本県内の病院で敗血症患者から分離されたグラム陰性小桿菌の全ゲノム解析を実施し、菌種を同定した。その結果、本分離菌のゲノムは、2.0 Mb からなる染色体と 47.3 kb からなるプラスミドから構成されていて、ゲノム中に見出された遺伝子数は 1,959（染色体：1,888、プラスミド：71）だった。次に、本分離菌と類似菌の全ゲノム配列の相同性を調べるため、ANI（Average Nucleotide Identity）と GGDC (Genome-to-Genome Distance Calculator) を用いて *in silico* DNA-DNA 分子交雑法を実施した。その結果、ANI 値では *F. hispaniensis* FSC454 株と 97.7%, *Francisella* cf. *novicida* 3523 株とは 97.5%、さらに GGDC 相同値では *F. hispaniensis* FSC454 株と 79.1%, *Francisella* cf. *novicida* 3523 株と 78.0%だった。以上の結果より、本分離菌を *F. hispaniensis* と同定した。*F. hispaniensis* の感染症例は、スペインで１症例、オーストラリアで２症例しか報告がなく、本症例は世界で４症例目の *F. hispaniensis* 感染症例となった。
[藤田修、堀田明豊、森川茂、宇田晶彦]

4. 国内で分離された *Francisella hispaniensis* の性状解析

国内分離の *F. hispaniensis* の病原性等を解析した。本菌はミュラーヒントンや血液寒天培地において培養 1 日でコロニーを形成した。Biolog plate における炭素源代謝パターンは既報の *F. hispaniensis* 株に相似した。また野兎病菌特異的抗体とは交差反応しかった。本菌 10^6cfu を 6 週齢雄の BALB/c マウスに経鼻接種したところ、マウスは一過性の体重減少を示したのみで 3 週間生残した。生残マウスの血清は *Francisella tularensis* および *Francisella novicida* に交差反応したが、これらのプロテナーゼ K 処理抗原には反応しなかった。*F. hispaniensis* は血清学的および細菌学的に野兎病菌と判別が容易であること、また病原性が極めて低いことが明らかとなった。
[堀田明豊、藤田修、森川茂、宇田晶彦]

X. SFTS ウイルスに関する研究

1. SFTS ウイルスのネコにおける病原性

SFTS を発症したネコが確認され、発症動物から人への直接感染が報告されたことから、ネコの SFTS ウイルス感受性を検討した。その結果、患者から分離されたウイルスを実験感染したネコの 67%が致死的感染を起こした。ヒトと異なりネコでは年齢にかかわらず高感受性を示すこと、特に消化器症状が強く、胃から直腸にかけて潰瘍と大規模な出血を呈する個体があった。病理組織学的には消化器系の粘膜固有層のパイエル板に由来すると思われる幼若リンパ球の異常な増殖が認められ、SFTS ウイルスの主要な標的細胞となっていた。各種検査所見はヒトの SFTS 症例と類似した。非常に高いウイルス血症を呈し、眼瞼拭い、唾液、尿、便中にもウイルスが排泄されることが明らかとなり、発症動物の咬傷、体液や血液との直接接触は、人への感染リスクとなると考えられた。[朴ウンシル、下島昌幸 [1]、永田典代 [2]、網康至 [3]、吉河智城 [1]、岩田（吉河）奈織子 [2]、福士秀悦 [1]、渡辺俊平 [1]、黒須剛 [1]、片岡紀代 [2]、奥谷晶子、木村昌伸、今岡浩一、花木賢一 [3]、鈴木忠樹 [2]、長谷川秀樹 [2]、西條政幸 [1]、前田健 [4]、森川茂；1.ウイルス第 1 部、2.感染病理部、3.動物管理室、4.山口大学共同獣医学部）

2. 動物の SFTS 診断用 RT-PCR 及び IgM 検出 ELISA の開発

SFTSV は中国、日本、韓国で分離されており複数の遺伝子型が存在し、ダニ、野生動物、ヒトから検出されている。本年、ネコ、チーター等のネコ科動物が致死的な SFTS を発症することが分かった。しかし、ヒトの SFTS 診断用に開発された RT-PCR でウイルス遺伝子を検出できないネコの症例があった。そこで、より高感度で簡便かつ特異的に検出できる RT-PCR による SFTSV 遺伝子検出法を開発した。現在、4 種類の RT-PCR を用いて動物の SFTS の実験室診断を行っている。また、発症早期に IgM 抗体が検出されることから、IgM-ELISA を開発した。[朴ウンシル、木村昌伸、前田健 [1]、松鵜彩 [2]、桐野有美 [3]、藤田修、宇根有美 [4]、松野啓太 [5]、下島昌幸 [6]、西條政幸 [6]、今岡浩一、森川茂（1 山口大 獣医微生物学、2 鹿児島大 附属越境性動物疾病制御研究センター、3 宮崎大 獣医外科学、4 岡山理大獣医学部、5 北海道大微生物学、6 ウイルス第 1 部）]

XI. その他の動物由来感染症に関する研究

1. 国内野生動物におけるダニ媒介性脳炎ウイルスの血清疫学調査

国内のダニ媒介性脳炎（TBE)症例は北海道に限定されているが、原因ウイルスである TBE ウイルス(TBEV)の分布について全国的には調査されていない。このため全国各地で採取された野生動物および猟犬の血清より抗 TBEV 抗体の検出を試みた。ツキノワグマ由来 401 検体、猟犬由来 383 検体について ELISA 法にて抗 TBEV 抗体を陽性検体をスクリーニングしたところ、ツキノワグマ由来 37 検体および猟犬由来 33 検体が陽性反応を呈した。これらの陽性検体の由来地域は北海道、岩手、秋田、山形、福島、長野、静岡、岐阜、愛知、三重、滋賀、京都、兵庫、鳥取、香川、高知、広島、宮崎と広範囲であった。スクリーニングにて陽性であった京都および滋賀由来のツキノワグマ 6 検体のうち 5 検体はウイルス中和能が確認された。これらより TBEV もしくは TBEV に極めて近縁なウイルスが本州に広く分布していると考えられた。
[堀田明豊、朴ウンシル、木村昌伸、宇田晶彦、藤田修、森川茂、好井健太郎（北海道大学）]

2. 日本各地で採取したシカシラミバエ(*Lipoptena* spp.)が保有する細菌叢について

日本各地で捕獲されたニホンジカの体表より採取したシカシラミバエ3種 (*Lipoptena fortisetosa, L. japonica, L. sikae*)を材料に、メタゲノム解析法による保有病原体種の検索を実施した。その結果、ヒトに対して病原性を有すると考えられる細菌種(*Bartonella, Pseudomonas, Bacillus, Haemophilus, Legionella* 属菌等)が検出された。特に、*Bartonella* 属菌と *Pseudomonas* 属菌がほぼ全てのシカシラミバエ材料よりが検出された事は特徴的だった。しかし、今回解析したシカシラミバエの保有細菌種における宿主種間、あるいは採取地域での差異は全く認められなかった。
[藤田修、今岡浩一、朴ウンシル、鈴木道雄、宇田晶彦、堀田明豊、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、今岡浩一、鈴木道雄，奥谷晶子、森川茂）

平成 29 年度は、ブルセラ症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 21 地衛研と抗体検査法及び遺伝子検出法について EQA を実施した。また，陸上自衛隊におけるバイオテロ対応に係る炭疽研修と検査法に係る EQA も行った。

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：9 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：13 件(依) [鈴木道雄]
3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：2 件(行) [今岡浩一]
4) SFTS 疑い犬･猫検体の依頼検査：18 件(依) [朴ウンシル、木村昌伸、藤田修、森川茂]
5) ヒト吸血マダニのリアルタイム RT-PCR 法による SFTSV の遺伝子検出試験　行政検査 1 件（長崎市）[宇田晶彦]
6) 野兎病疑い患者検体の行政検査 3 件（長野県、東京都、北海道各 1 件）［藤田修、堀田明豊］

研修業務

1) 奥谷晶子. 動物由来感染症. FETP17 期生対象初期研. 2017 年 4 月，国立感染症研究所.
2) 好井健太郎，小林進太郎，井上智. ワールドカフェ形式による演習：狂犬病の発生時を想定した獣医系専門家の役割について. 獣医公衆衛生学演習. 北海道大学獣医学部公衆衛生学教室. 2017 年 5 月 25 日. 獣医学部本館 4F428 号室，札幌市，北海道.
3) 井上智. 平成 29 年度 狂犬病臨床研究会総会：特別研修. 2017 年 5 月 28 日，狂犬病臨床研究会. 東京都立産業貿易センター台東館，台東区，東京都.
4) 井上智，常盤俊大. 動物由来感染症対策の基盤強化（犬･猫の寄生虫病に関する話題と寄生虫検査法の基礎的知識）. 2017 年 6 月 26 日，寄生虫検査法技術講習会：動物由来感染症のリスク分析に関する研究班. 新潟県動物愛護センター，長岡市，新潟県.
5) 井上智，堀田明豊，野口章，伊藤睦代，兼子千穂. 第 5 回九州･沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 29 年度狂犬病予防業務地方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. 2017 年 12 月 4-6 日，宮崎大学，宮崎県.
6) 井上智，堀田明豊，野口章，兼子千穂，伊藤睦代. 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 29 年度狂犬病予防業務中部ブロック技術研修会，厚生労働省健康局結核感染症課. 2018 年 1 月 23-24 日，名古屋市動物愛護センター･名古屋市衛生研究所，名古屋市，愛知県
7) 井上智，堀田明豊，野口章，兼子千穂. 平成 29 年度狂犬病予防業務ブロック技術研修会，厚生労働省健康局

結核感染症課. 2018 年 1 月 30-31 日, 栃木県動物愛護指導センター・栃木県保健環境センター, 宇都宮市, 栃木県

8) 井上智. 平成 29 年度狂犬病予防業務担当者会議. 厚生労働省健康局結核感染症課. 2018 年 2 月 27 日, 三田共用会議所(講堂), 港区, 東京都
9) 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研修. 2017 年 12 月, 東京都府中市警察大学校.
10) 堀田明豊.「動物由来感染症と One Health の概念」平成 29 年度食肉衛生検査研修、2017 年 6 月 30 日 国立保健医療科学院(埼玉県和光市)
11) 堀田明豊.「個人用保護具(PPE)装着の注意点について」第 5 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会、2017 年 12 月 4 日 宮崎大学獣医棟(宮崎県宮崎市)
12) 堀田明豊.「One Health(獣医学の関わり方)」平成 29 年度沖縄県公衆衛生獣医師協議会研修会、2017 年 12 月 13 日 沖縄県畜産振興公社会議室(沖縄県那覇市)
13) 堀田明豊.「野兎病 日本と海外の発生状況の違い」新興再興感染症制御学シンポジウム、2017 年 12 月 22 日 鳥取大学農学部 (鳥取県鳥取市)
14) 堀田明豊.「個人用保護具(PPE)装着の注意点について」平成 29 年度狂犬病予防業務ブロック研修会、2018 年 1 月 25 日 名古屋市動物愛護センター(愛知県名古屋市)
15) 堀田明豊.「個人用保護具(PPE)装着の注意点について」平成 29 年度狂犬病予防業務ブロック狂犬病研修会、2018 年 1 月 30 日 栃木県動物愛護指導センター(栃木県宇都宮市)
16) 鈴木道雄. カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会, 東京, 2018 年 2 月
17) 鈴木道雄. カプノサイトファーガ・カニモルサス感染症について. 平成 29 年度動物由来感染症対策技術研修会, 東京, 2017 年 10 月

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 (VPcamp)」を、平成 29 年 8 月 28 日～9 月 1 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-III.

平成 29 年年 11 月 28 日～12 月 1 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を対象とした研修と講義を担当した。[獣医科学部、ウイルス第 1 部]

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) 「新型インフルエンザ等、新興ウイルス性呼吸器感染症等の診断機能向上のための研究」(新興実用化一般)(研究代表者:影山 努)研究分担:井上智
5) 「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
6) 「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
7) 「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) 「サーベイランスの機能強化に資する病原体の適切な管理と検査体制に関する研究」(H29-新興行政-一般-005)(研究代表者:森川茂)
2) 「我が国で開発され,備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの有効性,安全性,生産性向上および国内外のバイオテロ対策のあり方に関する研究(H29-新興行政-指定-002)」(研究究代表者:西條政幸)研究分担:森川茂
3) 「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

III 文部科学省(学術研究助成基金助成事業)

1) 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
2) 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)
3) 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)
4) 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)
5) 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
6) 基盤研究(B)(海外学術調査)「ワンヘルス/エコヘルスアプローチによるブータンにおける人獣共通感染症のリスク解析」(研究代表者:森川茂)研究分担:加来義浩、奥谷晶子
7) 若手研究(B)「Bas-Congo virus のウイルス学的および人獣共通感染症の可能性検索」研究代表者:朴ウンシル

IV. 一般財団法人助成金

1) 大下財団研究助成金「シカシラミバエが保有する病原体の解析、分離および同定」(2017 年 4 月～2018 年 3 月)(助成対象者: 藤田修)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Yumi Kumagai, Kozue Sato, Kyle R. Taylor, Aya Zamoto-Niikura, Koichi Imaoka, Shigeru Morikawa, Makoto Ohnishi, Hiroki Kawabata. A Relapsing fever group *Borrelia* sp. similar to *Borrelia theileri* is widely distributed among wild deer in Japan. Ticks and Tick-Borne Diseases, 9(3):465-470, 2018
2) Kei Yamamoto, Yasuyuki Kato, Yoshikazu Mutoh, Satoshi Kutsuna, Koichi Imaoka, Norio Ohmagari. Photo Quiz: A Traveler from Africa with Fever and Aggravated Chronic Back Pain. Clinical Infectious Diseases, 66(5):805-807, 2018
3) Minami Taki, Yoshio Shimojima, Ayako Nogami, Takuhiro Yoshida, Michio Suzuki, Koichi Imaoka, Hiroki Momoi and Norinao Hanyu. Sepsis caused by newly identified *Capnocytophaga canis* following cat bites: *C. canis* is the third candidate along with *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* causing zoonotic infection. Internal Medicine, 57(2):273-277, 2018
4) Shinobu Tamura, Asumi Koyama, Yusuke Yamashita, Chieko Shiotani, Hiromichi Nakamoto, Chiaki Nakamoto, Michio Suzuki, Yoshio Nakano, Koichi Imaoka, Takashi Sonoki, Tokuzo Fujimoto. *Capnocytophaga canimorsus* sepsis in a methotrexate-treated patient with rheumatoid arthritis. IDCases, 10:18-21, 2017
5) Kimura,M., Une,Y., Suzuki,M., Park,E-S., Imaoka,K. and Morikawa,S. Isolation of *Brucella inopinata*-like bacteria from White's and Denny's tree frogs. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 17(5):297-302, 2017
6) Arikawa K, Wachi A, Imura Y, Sutummaporn K, Kai C, Park ES, Morikawa S, Uematsu Y, Yamaguchi T, Furuya T. Development of an ELISA for serological detection of feline morbillivirus infection. Arch Virol. 2017, 162(8):2421-2425
7) Ejiri H, Lim CK, 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, Morikawa S, Maeda K, Mizutani T, Kaku K, Saijo M, Sawabe K. Isolation and characterization of Kabuto Mountain virus, a new tick-borne phlebovirus from Haemaphysalis flava ticks in Japan. Virus Res. 2017, 244:252-261.
8) Kumagai Y, Sato K, Taylor KR, Zamoto-Niikura A, Imaoka K, Morikawa S, Ohnishi M, Kawabata H. A relapsing fever group Borrelia sp. is widely distributed among wild deer in Japan. Ticks Tick Borne Dis. 2017, pii: S1877-959X(17)30354-0.
9) Sunohara M, SATO I, and Morikawa S. Promoter motifs required for c-mpl gene expression induced by thrombopoietin in CMK cells. Celluler and Molecular Biology (CMB), 2017, 63(11):119-123.
10) Yoshikawa T, Fujii H, Okutani A, Shibamura M, Omura N, Egawa K, Kato H, Inagaki T, Harada S, Yamada S, Morikawa S, Saijo M. Construction and characterization of bacterial artificial chromosomes harboring the full-length genome of a highly attenuated vaccinia virus LC16m8. PLoS One. 2018, 13(2): e0192725.
11) Zamoto-Niikura A, Tsuji M, Qiang W, Morikawa S, Hanaki KI, Holman PJ, Ishihara C. Babesia divergens

Asia lineage is maintained between Ixodes persulcatus and sika deer in Hokkaido, Japan. Appl Environ Microbiol. 2018, pii: AEM.02491-17.

12) Yoshimatsu K, Arai S, Shimizu K, Tsuda Y, Boldgiv B, Boldbaatar B, Sergelen E, Ariunzaya D, Enkhmanda O, Tuvshintugs S, Morikawa S, Arikawa J. Antibody detection from Middendorf's vole (Microtus middendorffii) against Tula virus captured in Mongolia. Jpn J Vet Res. 2017, 65(1):39-44.
13) 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. 2017, 70(4):408-415.
14) 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.
15) Shih TH, Wallace R, Tu WJ, Wu HY, Inoue S, Liu JN, Weng CJ and Fei CY. The Progression of Taiwan Ferret Badger Rabies from July 2013 to December 2016. J Zoonotic Dis Public Health. 1:2, 2017.
16) Kimitsuki, K., Yamada, K., Shiwa N., Inoue, S., Nishizono , A., and Park, C.-H.. Pathological lesions in the central nervous system and peripheral tissues of ddY mice with street rabies virus (1088 strain). J. Vet. Med. Sci. 79:970-978, 2017.
17) Tian D, Uda A, Park ES, Hotta A, Fujita O, Yamada A, Hirayama K, Hotta K, Koyama Y, Azaki M, and Morikawa S. Evaluation of *Francisella tularensis* ΔpdpC as a candidate live attenuated vaccine against respiratory challenge by a virulent SCHU P9 strain of *Francisella tularensis* in a C57BL/6J mouse model. Microbiology and Immunology, 62:24-33, 2018.
18) Saha SS, Suzuki J, Uda A, Watanabe K, Shimizu T, and Watarai M. Silkworm Model for *Francisella Novicida* Infection. Microbial Pathogenesis, 113:94-101, 2017.
19) 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, 91(13): e00439-17, 2017.
20) Enkai S, Sakamoto K, Kaneko M, Kouguchi H, Irie T, Yagi K, Ishida Y, Matsumoto J, Oku Y, Katakura K, Fujita O, Nozaki T, and Kita K. Medical Treatment of Echinococcus multilocularis and New Horizons for Drug Discovery: Characterization of Mitochondrial Complex II as a Potential Drug Target. Echinococcosis (Inceboz T ed.), ISBN 978-953-51-3592-0, Print ISBN 978-953-51-3591-3, 78 pages, Publisher: InTech, Chapters published November 15, 2017 doi: 10.5772/65181

2. 和文発表

1) 野上綾子, 實原正明, 三村尚美, 下島吉雄, 塚平晃弘, 鈴木道雄, 今岡浩一. ネコ咬傷による *Capnocytophaga canis* 敗血症の 1 例. 医学検査, 66(6):703-708, 2017 (Abstract in English)
2) 渡辺美絵, 能勢資子, 鈴木道雄, 今岡浩一, 岡村一博. 多発関節痛と全身性発疹を呈した *Capnocytophaga canimorsus* 敗血症の１例. 感染症学雑誌, 91:773-777, 2017 (Abstract in English)
3) 滝口恭男, 駿河洋介, 秋葉容子, 内藤亮, 鈴木道雄, 今岡浩一. *Capnocytophaga* 感染症 10 例の検討. 感染症学雑誌, 91:387-391, 2017 (Abstract in English)
4) 今岡浩一. 犬からうつる感染症への対策として心がけておきたいこと－身近なペットからうつる子どもの感染症～ズーノーシスを予防するために～. in：チャイルドヘルス, 診断と治療社, 20(11): 816-819, 2017
5) 今岡浩一. 飼うことはリスクを背負うこと：誌上ディベートーペットを飼う？飼わない？. in：アンチ・エイジング医学（日本抗加齢医学会雑誌）, メディカルレビュー, 13(4): 80-85, 2017
6) 今岡浩一. ブルセラ症. in：JBSA ニュースレター, 日本バイオセーフティ学会, 7(1): 7-13, 2017
7) 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
8) 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.

9) 井上智, 伊藤睦代, 堀田明豊, 野口章. 狂犬病の臨床と課題. 特集:中枢神経とウイルス感染症. 臨床とウイルス(Clinical Virology). Vol.45 No.5:336-347, 2017 12
10) 藤田修. 野兎病 特集 グローバル化・温暖化と感染症対策 小児科臨床 p2209-2214, 2017
11) 森川 茂. DNA 型ウイルス:ポックスウイルス科 標準微生物学(第 13 版、医学書院、IBSN978-4-260-03456-2、中込治監修、)pp377-379、2018
12) 森川 茂. サル痘 東京都感染症マニュアル 2018(東京都福祉保健局)、pp178-179、2018
13) 森川 茂. 「一類感染症の特徴と注意点」④南米出血熱、感染症 Vol. 47, No2, 2017 (アステラス製薬)

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Park, E-S., Tani, H., Kaku, Y., Suzuki, M., Kimura, M., Imaoka, K., Morikawa, S. Analysys of entry mechanisms of Bas-Congo virus using a pseudotype VSV. International Union of Microbiological Societies Congress 2017. Singapore, July 17-21, 2017
2) Morikawa, S., Kimura, M., Yoshikawa, T., Kaku, Y., Park, E-S., Imaoka, K., Saijyo, M., Maeda, K. Correlation between SFTS virus antibody positive rate in wild deer and number of SFTS patients. International Union of Microbiological Societies Congress 2017. Singapore, July 17-21, 2017
3) Deyu T, Uda A, Park ES, Hotta A, Fujita O, Yamada A, Hirayama K, Hotta K, Koyama Y, and Morikawa S. Evaluation of a Novel Francisella Tularensis Live Attenuated Vaccine Candidate in C57bl/6j Mouse Model. XVth International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Singapore, July 17-21, 2017
4) Uda A. Update on epidemiology and diagnostic approaches of Francisella tularensis. Workshop The development of the rapid molecular test kits for detecting pathogens of importance for human and animal health, May 2017
5) Okutani A., Inoue S., Morikawa S. Genetic analysis of Bacillus cereus group bacteria isolated from soils, patients, and animals in Japan based on the whole genome sequences. Bacillus ACT 2017. The international conference on *Bacillus anthracis, B. cereus*, and *B. thuringeiensis*. 1-5 October, 2017. Victoria conference center, Victoria, British Columbia, Canada.
6) Hoang T.T.H., Okutani A., Nguyen T.T., Inoue S., Pham T.H., Luong M.H., Dong D.A. Genetic analysis of *Bacillus anthracis* isolated from clinical and soil specimens in Anthrax-endemic area in Northern Vietnam. Bacillus ACT 2017. The international conference on *Bacillus anthracis, B. cereus*, and *B. thuringeiensis*. 1-5 October, 2017. Victoria conference centere, Victoria, British Columbia, Canada.
7) Shigeru Morikawa. Surveillance for SFTS viruses in mammals in Japan. Japan-Taiwan symposium on Communicable Diseases and Prevention. Tokyo, Japan, 2017. 9. 5-6.
8) Shigeru Morikawa. SFTS in animals; a risk of direct infection from animals to human in Japan. The 11th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Seoul, Korea、2017.11.7.

2. 国内学会

1) 森川茂, 木村昌伸, 宇根有美, 鈴木道雄, 今岡浩一. カエル類に由来するブルセラ属菌の分離と遺伝子解析. 平成 29 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 大分, 2018 年 2 月
2) 鈴木道雄, 芳賀由美, 廣永道隆, 野上綾子, 入江由美, 今岡浩一. *Capnocytophaga canis* : イヌ・ネコ咬掻傷による敗血症の原因となり得る新菌種. 第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会, 岐阜, 2018 年 2 月
3) 佐瀬友紀奈, 蓮池陽子, 大塚享, 今岡浩一, 森川茂. 都内の犬・猫における抗 SFTS ウイルス抗体保有状況. 第 13 回東京都福祉保健医療学会, 東京, 2017 年 12 月
4) Park, E-S., Tani, H., Kaku, Y., Suzuki, M., Kimura, M., Imaoka, K., Morikawa, S. Analysis of Bas-Congo virus cell entry using a pseudotype vesicular stomatitis virus. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月
5) 轟貴史, 東桃代, 鈴木道雄. *Capnocytophatga sputigena* による感染性心内膜炎の 1 症例. 第 65 回日本化学療法学会西日本支部総会, 長崎, 2017 年 10 月
6) 川端寛樹, 熊谷由美, 佐藤梢, 新倉綾, 今岡浩一, 森川茂, 大西真. 国内シカが保菌する回帰熱群ボレリアの全国調査. 第 160 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017 年 9 月
7) 小野寺啓, 上北洋徳, 渡邉達也, 平カヤノ, 渡部千

沙, 斎藤博子, 瀬戸順次, 鈴木裕, 今岡浩一. 咬傷歴のない鼠咬症の 1 例. 日本内科学会第 211 回東北地方会, 仙台, 2017 年 6 月

8) 君付和範, 中島千景, 志和 希, Daria Llenaresas Manalo, 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と洞毛組織における病理学的所見. 第 16 回狂犬病研究会. 2017 年 4 月 5 日, 国立感染症研究所, 新宿区, 東京都.

9) 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16回狂犬病研究会. 2017年4月5日, 国立感染症研究所, 新宿区, 東京都.

10) 井上 智, 堀田明豊, 坂野英知. 国と自治体で進めている国内サーベイランス等に係る進捗状況. 第 16 回狂犬病研究会. 2017年4月5日, 国立感染症研究所, 新宿区, 東京都.

11) 水越文徳、井上 智、野口 章、畠山 薫、舩渡川圭次、桐谷礼子. 狂犬病ウイルスのリアルタイム PCR の精度向上に関する検討. 平成 29 年度関東・東京合同地区獣医師大会・学会(東京). 2017年9月10日, 都市センターホテル, 千代田区, 東京都.

12) 中田浩美, 志和 希, 清水大智, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo、井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発病犬の外側鼻腺に関する病理学的研究. 第160回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

13) 志和 希, 須見康代, 清水大智, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo, 井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発病犬の下顎腺および耳下腺に関する病理学的研究. 第160回日本獣医学会学術集会. 2017年9月13日-15日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

14) Kripitch Sutummaporn、町田登、鈴木和彦、Eun-sil Park、森川茂、古谷哲也. Correlation between feline morbillivirus infection and pathological features in formalin-fixed kidney sections of cats, and cytokine responses in virus-infected tissues. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017年9月13日-15日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

15) 橋詰由衣子、Eun-Sil Park、森川茂、古谷哲也. ネコ尿検体から新規分離したネコモルビリウイルス株の生物学的性状について. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

16) 長田奈緒、水野純子、米満研三、南昌平、鍬田龍星、下田宙、高野愛、鈴木和男、加藤玲、沖見朝代、森川茂、前田健. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス感染環に関する新たな発見. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017年9月13日-15日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

17) 下田宙、米満研三、南昌平、長田奈緒、鍬田龍星、高野愛、森川茂、前田健. シカより分離されたマダニ媒介性トーゴトウイルスの野生動物の疫学的調査. 第160回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

18) 南昌平、鍬田龍星、下田宙、吉澤未来、井上春奈、齋藤瞬、渡部孝、藤田龍介、江尻寛子、伊澤晴彦、沢辺京子、森川茂、前田健. 死亡タヌキの脳より分離された新規コロラドダニ熱ウイルス. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

19) 新井智、菊池風花、土屋公幸、多屋馨子、森川茂、Richard Yanagihara、大石和徳. ヒメヒミズに確認された新規ハンタウイルス. 第160回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

20) 新倉(座本)綾、森川茂、石原智明、花木賢. *Babesia divergens* 表面抗原 Bd37 の遺伝子解析. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

21) 川端寛樹、熊谷由美、佐藤(大久保)梢、新倉綾、今岡浩一、森川茂、大西真. 国内シカが保菌する回帰熱群ボレリアの全国調査. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017年9月13日-15日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県

22) 山下緩子, 志和 希, 清水大智, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo、井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発病犬の下顎腺および耳下腺に関する病理学的研究. 第160回日本獣医学会学術集会. 2017年9月13日-15日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

23) 君付和範, 志和 希, 井上 智, 山田健太郎, 西園晃, 朴天鎬. 街上毒狂犬病ウイルス (1088N0) を後肢筋肉内に接種した BALB/c およびヌードマウスの中枢神経系に関する比較病理. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

24) 小林由紀, 伊藤直人, 鈴木善幸, 山田健太郎, 井上智, 伊藤琢也. 狂犬病ウイルス N 遺伝子に同定された高度保存領域の機能解析. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017年9月13日-15日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

25) 奥谷晶子, 井上 智, 森川 茂. 国内の動物糞便から

分離された Bacillus cereus group 全ゲノム配列解析. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

26) 加来義浩, 井上 智, 野口 章, 森川 茂. 狂犬病ウイルスの増殖を阻害する抗 P 蛋白質 intrabody が認識するエピトープの解析. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 2017 年 9 月 13 日-15 日, 鹿児島大学, 鹿児島市, 鹿児島県.

27) 加来義浩, 井上謙一, 井上 智, 野口 章, 森川 茂. 抗 P 蛋白質 single chain variable fragment のエピトープ解析. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. 2017 年 10 月 24 日-26 日, 大阪国際会議場, 大阪市, 大阪府.

28) 宗村徹也, 井上 智. 獣医師の咬傷犬診断に係る現状調査とその課題について. 第 17 回人と動物の共通感染症研究会学術集会. 2017 年 10 月 28 日, 国立感染症研究所, 新宿区, 東京都.

29) 猪又明日香, 村越稔泰, 齊藤 健, 上杉 晶, 大関桂子, 阿部久司, 町田章生, 村中幹宏, 常盤俊大, 井上 智. 新潟県における動物由来感染症サーベイランス体制の整備に向けた取り組み(実践的なシステムの構築と進捗状況について). 第 17 回人と動物の共通感染症研究会学術集会. 2017 年 10 月 28 日, 国立感染症研究所, 新宿区, 東京都.

30) 猪又明日香, 村越稔泰, 齊藤 健, 上杉 晶, 大関桂子, 阿部久司, 町田章生, 村中幹宏, 常盤俊大, 井上 智. 寄生虫検査を嚆矢とした自治体における動物由来感染症対策の基盤強化について. 平成 29 年度 獣医臨床寄生虫研究会研究例会. 2017 年 12 月 16 日, 東京大学(フードサイエンス棟), 文京区, 東京都.

31) 猪又明日香, 村越稔泰, 齊藤 健, 上杉 晶, 大関桂子, 阿部久司, 町田章生, 村中幹宏, 常盤俊大, 井上 智. 動物愛護(動物保護管理)センターと地方衛生研究所による動物由来感染症サーベイランスの試験的取り組み. 第 31 回公衆衛生情報研究協議会研究会. 2018 年 1 月 2 日, 国立保健医療科学院(交流対応大会議室), 和光市, 埼玉県.

32) 水越文徳, 井上 智, 野口 章, 畠山 薫, 舩渡川圭次, 桐谷礼子. 狂犬病ウイルスのリアルタイム PCR の精度向上に関する検討. 平成 29 年度日本獣医師会獣医学術年次大会. 2018 年 2 月 8 日-10 日, 別府国際コンベンションセンター(ビーコンプラザ), 別府市, 大分県

33) 堀田明豊, 朴ウンシル, 藤田修, 田徳雨, 宇田晶彦, 森川茂. 野兎病菌の表皮上からの感染性の検証. 160 回日本獣医学会学術集会, 2017 年 9 月.

34) 清水隆, 渡邉健太, 宇田晶彦, 度会雅久. 膜輸送を阻害する野兎病菌エフェクターの解析. 160 回日本獣医学会学術集会, 2017 年 9 月.

35) 阿崎美佳, 宇田晶彦, 中里勝芳, 田徳雨, 堀田明豊, 藤田修, 森川茂. 野兎病菌強毒株および弱毒株感染マクロファージの免疫応答に関する検討. 160 回日本獣医学会学術集会, 2017 年 9 月.

36) 吉永浩子、山本景一、大隈雅紀、松井啓隆、宮川寿一、草場耕二、原田誠也、堀田明豊、藤田修、森川茂、非常に稀な Francisella 属菌による敗血症の 1 症例、第 29 回日本臨床微生物学会、2018 年 2 月 11 日、岐阜都ホテル（岐阜県岐阜市）

37) 吉永浩子、山本景一、大隈雅紀、松井啓隆、宮川寿一、草場耕二、原田誠也、堀田明豊、藤田修、森川茂、非常に稀な Francisella 属菌による敗血症の 1 症例、第 63 回日本臨床検査医学会九州地方会、2018 年 3 月 3 日、九州大学馬出キャンパス（福岡県福岡市）

3. セミナー・講演等

1) 今岡浩一. ラット由来細菌感染症. 平成 29 年度ねずみ駆除協議会研究会, 東京, 2018 年 3 月

2) 今岡浩一. 教育講演 9：ブルセラ症とバイオセーフティ. 第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会, 岐阜, 2018 年 2 月

3) 今岡浩一. 鼠咬症について. 第 21 回 症例から学ぶ感染症セミナー (第 87 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 60 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 65 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会), 長崎, 2017 年 10 月

4) 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 29 年度中央畜産技術研修会(畜産物安全行政), 白河, 2017 年 6 月

5) 今岡浩一. 人獣共通感染症－ペット・食品由来感染症、新興感染症－. 平成 29 年度北里大学北里生命科学研究所・大学院感染制御科学府国際保健学講義, 東京, 2017 年 5 月

6) Morikawa, S. Severe fever with thrombocytopenia syndrome in animals. Public Health England, UK., Sept. 2017

7) 森川茂. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスについて・動物の SFTS 発症リスクとヒトへの感染リスクについて. 人と動物の共通感染症研修会（福井県獣医師会）、2017.11.18.

8) Inoue S. and T.T. Nguyen. The rabies network in Asia

based on the laboratory network between NIHE and NIID. Session III Researches on collaborative study. A joint meeting on collaborative research between NIID and NIHE in 2017. 22nd Aug., 2017. Conference room I, NIID. Tokyo, Japan.

9) Nguyen T.T., Nguyen T.K., Nguyen T.H.H., Nguyen V.D., Ngo C.G, Inoue S., Noguchi, A., Kaku Y., Hatakeyama K. and Mizukoshi F. Improvemnet of rabies diagnosis and research in rabies laboratory, NIHE. A joint meeting on collaborative research between NIID and NIHE in 2017. 22nd Aug., 2017. Conference room I, NIID. Tokyo, Japan.

10) Okutani A., Inoue S., Morikawa S. Phylogenetic analysis of Bacillus anthracis ad Bacillus cereus isolated in Northern Vietnam. A joint meeting on collaborative research between NIID and NIHE in 2017. 22nd Aug., 2017. Conference room I, NIID. Tokyo, Japan.

11) 井上 智. 猫の狂犬病への取り組み:ワールドカフェスタイルによる討議. 平成 29 年度 狂犬病臨床研究会総会:特別研修. 2017 年 5 月 28 日, 狂犬病臨床研究会. 東京都立産業貿易センター台東館, 台東区, 東京都.

12) 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). 獣疫衛生事業推進会議. 2017年7月4日, 宮城県獣医師会. 宮城県庁, 仙台市, 宮城県.

13) 井上 智. 知っておきたい動物等に侵淫する身近なヒトの感染症. 平成 29 年度感染症及び結核講演会. 2017 年 10 月 14 日, 愛知県医師会. 愛知県医師会館, 名古屋市, 愛知県.

14) 井上 智. 野生動物調査のための簡易な解剖と検査の方法(狂犬病の体制整備に関する課題-調査研究より). 第 5 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 29 年度狂犬病予防業務地方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. 2017 年 12 月 4-6 日, 宮崎大学, 宮崎県.

15) 井上 智. 疑い事例への対応(10 日間の観察[DVD] In 講義:狂犬病とは). 第 5 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 29 年度狂犬病予防業務地方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. 2017 年 12 月 4-6 日, 宮崎大学, 宮崎県

16) 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 29 年度狂犬病予防業務中部ブロック技術研修会, 厚生労働省健康局結核感染症課. 2018 年 1 月 23-24 日, 名古屋市動物愛護センター・名古屋市衛生研究所, 名古屋市, 愛知県

17) 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 29 年度狂犬病予防業務ブロック技術研修会, 厚生労働省健康局結核感染症課. 2018 年 1 月 30-31 日, 栃木県動物愛護指導センター・栃木県保健環境センター, 宇都宮市, 栃木県

18) 井上 智. 狂犬病に関する最新の知見について. 平成 29 年度狂犬病予防業務担当者会議. 厚生労働省健康局結核感染症課. 2018 年 2 月 27 日, 三田共用会議所(講堂), 港区, 東京都

19) 井上 智. 狂犬病等動物由来感染症等の Direct RT-LAMP 法等迅速遺伝子検出系の構築と評価. 平成 29 年度 研究班 班会議(日本医療研究開発機構 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業 新型インフルエンザ等、新興ウイルス性呼吸器感染症等の診断機能向上のための研究), 2018 年 1 月 20 日, 大阪健康安全基盤研究所(天王子センター)大会議室, 大阪市, 大阪府

20) 井上 智. 狂犬病をめぐる最近の状況. 第 51 回獣医疫学会学術集会. 獣医疫学会. 2018 年 3 月 17 日, 東京大学農学部1号館 8 番教室, 文京区, 東京都

21) 井上 智. 狂犬病等の動物由来感染症における医療・獣医療の連携について(フィリピンにおける感染症の現状を知って考える). 狂犬病に関するセミナー. 狂犬病臨床研究会. 2018 年 3 月 25 日, 国立感染症研究所・戸山庁舎・共用第一会議室, 新宿区, 東京都

22) 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)の講義. 2017 年 12 月, 東京都府中市警察大学校.

23) 鈴木道雄. ネコ咬傷による感染症について. 平成 29 年度品川区救急業務連絡協議会救急講演会, 東京, 2017 年 12 月

13.血液･安全性研究部

部長 濵口 功

概　要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定･検査および標準品の整備・交付、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、試験法の改良・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２９年度は帯状疱疹ワクチンの承認前検査を試験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の新規ヒスタミン含量試験法について、液体クロマトグラフ法により定量する新たな試験法をメーカーと協力して確立した。試験の見直しについては、乾燥インフルエンザｂ型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)の国家検定からの異常毒性否定試験の省略の検討を完了した。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、一定ロット数の試験実施後の省略は可能との判断に至った。さらに今後の国家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べく、血漿分画製剤メーカーと審査の様式案の検討を重ねており、適切な仕組みの構築を目指す。一方、部内においては品質管理業務への業務分担の均てん化について議論している。品質管理試験や SLP 審査をより精度高く着実に実施できるよう、各自の業務負担を見直し、偏りのない適切な業務分担で品質管理業務が遂行できる体制の構築を目指す。

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、生物学的製剤の品質の標準化に関する WHO の専門家会議に出席し、WHO 国際標準品制定に携わった。関連する活動としては、日本から WHO に HEV 国際参照パネル作製のための感染者由来 HEV 抗体陽性血漿検体を提供した。作製された国際参照パネル候補品は多施設国際共同研究にて評価の予定である。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。輸血血液を含む血液製剤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アルボ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 感染の疫学、診断、感染予防や関連疾患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性評価法の開発、ワクチンの品質向上を目指した品質管理試験法の開発･改良等を行っている。また、アジュバント含有ワクチンの有効性、安全性に関するメカニズム解析を合わせて行っている。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により行われている。

人事の面では、平成２９年１０月に任期付き研究員の平舘裕希先生が東北大農学部の助教として転出された。新天地での活躍を期待している。平成３０年３月に任期付き研究員の手塚健太先生が研究員（任期無し）として採用された。一方、平成３０年３月に非常勤職員の高井麻海子さんが退職された。品質管理及び研究業務において、血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。

業　績

調査・研究

I.血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1. 病原体検出法に関する研究

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 29 年夏季以降の献血検体のうち､肝機能検査等で検査落ちとなった血漿の 20 人プール血漿 100 検体（合計 2,000 人分）について、デングウイルス、チクングニアウイルスおよびジカウイルスの核酸検査を実施した。血漿検体において、全てのウイルス核酸が陰性であることを確認した。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、石井美枝子、濵口功]

２）血液製剤安全性確保のためのチクングニアウイルス・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、当該事業でこれまでに新規に同定した各ウイルス特異的なオリゴセットを組み合わせ、チクングニアウイルス･ジカウイルスの高感度同時検出系を構築した。本研究で開発した検出系は、各ウイルス個別の検出系と比較して同等以上の感度・特異性を有しており、より利便性の高い手法として期待された。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、田島茂（ウイルス第１部）、林昌宏（ウイルス第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（定量 PCR）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 核酸検査の参照品を作製して配布し、それを用いて施設間差の縮小を可能にした。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」も作成した。また Line immunoassay (LIA 法) を確認検査として追加した「HTLV-1 感染の診断指針」も作成した。

[倉光球、大隈和、濵口功]

４）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 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-1/2 multiplex 核酸検査法を確立した。また海外から HTLV-2 陽性検体を入手し、臨床検体においても検出系が機能することを確かめた。

[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）]

５）血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)のコントロールサーベイ事業

2013-14 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。本年度は新しい試験法における HIV-1 NAT の特異性の実態把握を目的として､HIV-1 サブタイプ WHO 国際参照パネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイを、輸血用血液スクリーニング施設を対象に実施した。対象 8 施設において HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、 G、AG-GH、N、O 検体を正しく検出できることを確認した。

[松岡佐保子、百瀬暖佳、池辺詠美、濵口功]

６）国内で使用されている HBs 抗原検査キットに関する性能調査の実施

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。今回 HBV genotype 既知の献血由来検体等を用いた新たな検体を準備した

ため､HBs 抗原検査キットに関する性能調査を実施した。複数の HBs 抗原検査キットを用いて、HBs 抗原陽性検体の希釈系列を測定したところ､陽性率は各キットの感度に応じた結果となった。異なる遺伝子型によるキット間の感度差は明確には認められなかった。
[大隈和、百瀬暖佳、松岡佐保子、出口松夫（大阪大学医学部附属病院)、濵口功、溝上雅史（国立国際医療研究センター）]

２．国際・国内標準品整備に関する研究

1）第 2 次抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品制定のための多施設共同測定による力価評価

現行の第 1 次抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品(320 IU/vial)の更新のため、国内 4 カ所の製造所(JB 京都工場、JB 千歳工場、日本製薬、化血研)、および国立感染症研究所の 5 施設による共同測定を行った。WHO 国際標準品に対する相対力価の幾何平均値より、第 2 次抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品の力価を 314 IU/vial と定めた。当該標準品は 2017 年 9 月より国内向けに交付を開始している。
[百瀬暖佳､松岡佐保子､落合雅樹(品質保証･管理部)、濵口功]

2）HEV 抗体国際参照パネル、HEV抗体国内参照品の作製と評価

WHOが2016年10月ECBS国際会議にて提案したHEV抗体国際参照パネルの候補品の材料として、日本からHEV Genotype 3b感染者由来HEV IgG抗体陽性血漿1検体､HEV Genotype 4c感染者由来HEV IgG抗体陽性血漿2検体、対照抗体陰性献血血漿１検体を提供した。作製されたHEV抗体国際参照パネル候補品は多施設国際共同研究にて評価の予定である。また、提供したGenotype3、4のHEV抗体陽性血漿を用いて国内参照品候補品も同時に作製し評価される予定である。
[松岡佐保子、松林圭二(日本赤十字社)、山口照英（日本薬科大学)、濵口功]

3）国内検体を用いた HBV 陽性血漿パネルの整備

国立感染症研究所では公衆衛生上特に重要な感染症の検体を集めた血清･血漿パネル（感染症検体パネル）を希望するメーカーに譲渡している。これらの感染症検体パネルは、体外診断薬の製造販売承認申請の際、既存の体外診断薬との相関性に関する資料の作成に利用できる。HBV 検出/測定用感染症検体パネルの新規ロットへの更新のため、日本赤十字社より新たに国内献血血液の譲渡を受け、遺伝子型 A, B, C, D より成る HBV 陽性 30 検体の整備を行った。
[百瀬暖佳、松岡佐保子、池辺詠美、加藤孝宣(ウイルス第二部)、濵口功]

4）HBV陽性感染症検体パネルの評価

新たに整備したHBV検出/測定用の感染症検体パネルの評価のため､陽性検体中のHBVゲノム配列の解析を進めている。解析が終了した検体のうち､preS1領域に欠損のある変異株を2検体、preS2領域に欠損のある変異株を1検体で見出したが､その他のS領域､C領域に特徴的な変異等は認められず、HBs抗原、およびHBV DNA用の体外診断薬の評価用検体として適していると考えられた。
[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、濵口功]

5）体外診断薬の精度管理に係る諸外国の動向調査

欧州においては体外診断薬指令 Directive 98/79/EC において体外診断薬が満たすべき基本的安全性要件等が定められていたが、科学技術の発展に伴い、現状に合った指令への改正の議論が進められてきた。2017 年、新たに欧州体外診断用医療機器規則(IVDR) 2017/746 が承認され､5 年間の移行期間を付与して 5 月 26 日から施行されている。
[百瀬暖佳、濵口功]

6）ウイルスに関する体外診断薬の国際標準品等の動向

2017年度のWHO ECBSにおいて、第1次CHIKV RNA国際標準品、第3次HAV RNA国際標準品、第4次HIV-1 RNA国際標準品、第1次HHV-6B DNA国際標準品、第1次抗HCMV国際標準品等が制定された。来年度以降には､MERS CoV抗体、MERS Co RNA、HSV DNA、HAdV DNA、およびZika抗体の国際標準品､HIV p24抗原国際参照パネルの新規整備、HCV RNA、およびHIV-2 RNA国際標準品の更新、DENV抗体パネルの整備等が計画されている。
[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体制の確立に関する研究

輸血製剤による副作用のサーベイランスシステムに、今年度までに約 50 の医療機関が参加し､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、医療機関及び日本赤十字社の双方から輸血用血液製剤の使用及び製造の情報を収集し、紐付けするトレーサビリティシステムへの拡充を検討している。本年度は､貯血式自己血輸血の副作用について 10 医療施設参加の調査を実施し、同種血赤血球輸血の副作用より

発生率が少なく、重篤な副作用も認められないことを確認した。
[松岡佐保子、池辺詠美、濵口功]

2) HTLV-1 水平感染の疫学的検討

献血時検査で陽転化した HTLV-1 水平感染者の病態の進行等のリスク評価のために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 29 年度からは東京都で HTLV-1 水平感染献血者を対象に、日本赤十字社よりシステム登録に関する案内の送付を開始している。現在、医療機関の HTLV-1 キャリア外来においても登録がすすめられるようにシステムの改良を進めている。また、九州地区において、献血血液を用いた水平感染の実態調査も進めている。
[松岡佐保子、内丸薫(東京大学)、佐竹正博（日本赤十字社)、岩永正子（長崎大学)、相良康子（日本赤十字社)、大隈和、濵口功]

3) 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。さらに、本研究で開発した手法を応用し、その他の輸血関連感染症の制御法開発も検討している。
[手塚健太、大隈和、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、濵口功]

4) ヒト化マウスモデルを用いたHTLV-1感染細胞生体内動態の解析

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。本年度は組織中における感染細胞の発現様式の解明を目的とし、高感度 *in situ* ハイブリダイゼーション法を新規に導入し、基礎的検討に着手した。
[手塚健太、水上拓郎、大隈和、松岡佐保子、濵口功]

5) 次世代HTLV-1感染ヒト化マウスモデルの開発

生体内での HTLV-1 感染細胞の制御には HTLV-1 特異的 CTL が重要な役割を演じているものの、従来型のヒト化マウスモデルでは個体内での CTL を含むウイルス特異的免疫応答は限定的であり、感染細胞の増殖制御は極めて困難であった。ヒト化マウス個体内でヒト型免疫応答を誘導するためには、移植するヒト造血幹細胞とレシピエントとなる免疫不全マウスの MHC 分子を一致させる必要がある。本研究では、HLA class I 遺伝子を導入した重度免疫不全マウスに対し一致する HLA A アリルを持つヒト造血幹細胞を移植することで、ヒト型免疫応答能を再現する革新的な HTLV-1 感染ヒト化マウスモデルの確立を目的とする。本年度までに HLA A2 遺伝子導入重度免疫不全マウスを導入し、コロニーを形成した。また、造血幹細胞移植後、HTLV-1 を感染させた一部の個体では HLA 拘束性の抗 HTLV-1 ヒト型免疫が誘導されていた。
[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、伊藤守（実中研）、濵口功]

6) HIV インテグラーゼ阻害剤による HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発

HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発を目的として HIV インテグラーゼ阻害剤 MK-2048 の抗 HTLV-1 効果を検討した。MK-2048 は、投与により HTLV-1 関連細胞株の増殖を抑制し、小胞体ストレス依存性細胞死のマーカーである CHOP および CHAC1 の発現を上昇させ、カスパーゼの活性化を引き起こすことから、HTLV-1 関連細胞に小胞体ストレス性アポトーシスを誘導することが示唆された。現在 MK-2048 の HTLV-1 キャリア末梢血単核細胞検体に対する効果について検討を進めている。
[池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、大隈和、内丸薫(東京大学)、濵口功]

7) 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ブレビバチルス大量発現系構

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たN末端欠失Rex変異体において、可逆的凝集が起こることが示唆されたが、再現性を得ることが出来なかった。今後、同変異体の安定同位体標識を行い、構造情報の取得を試みる。
[谷生道一、濵口功]

8) 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一つであるニューロピリン 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、ITC、GST プルダウン実験で解析した。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。本研究から、HTLV-1 Env の C 末端領域が Nrp1 b1 ドメインの結合に関与していることが新たに示唆された。
［楠英樹、濵口功］

9) HTLV-1 および HIV-1 の感染伝播における細胞膜ナノチューブの機能解明

近年、ナノチューブという遠隔の細胞同士を物理的につなぐ細胞膜由来の突起が同定され、新たな細胞間情報伝達の様式として注目されている。これまでに HTLV-1 および HIV-1 の感染伝播において、cell-to-cell 感染が重要であることが示されてきた。ナノチューブは、細胞同士を直接つなぐ細胞膜由来の突起であるため、これらのウイルスの感染伝播に関与する可能性がある。そこで、培養細胞およびマウスを用いて解析したところ、ナノチューブの形成阻害によってHTLV-1およびHIV-1の感染伝播が抑制されることがわかった。このことから、ナノチューブはこれらのウイルスの新たな感染伝播様式と考えられる。現在、詳細な解析を行なっている。さらに、独自に同定しているナノチューブ阻害剤について、HTLV-1 および HIV-1 の治療薬としての可能性についても解析を進めている。ナノチューブを標的とした薬剤は他に例がなく新たな作用機序であるため、既存の薬剤と併用などが期待される。
[日吉真照、野依修（熊本大）、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）、福田孝一（熊本大）、鈴伸也（熊本大）]

10) 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。これまで、HBx の BH3 様モチーフに着目し、Bcl-x_Lとの相互作用を NMR で解析し、他の BH3 ペプチドと同様に Bcl-x_Lの疎水性領域に結合することを明らかにしてきた。また、HBx BH3 様モチーフにある 120 番目のトリプトファン残基をアラニン、ロイシン、フェニルアラニンに置換した変異体を用いた NMR 解析から、このトリプトファン残基が Bcl-x_Lの結合に重要である可能性を見出した。
[楠英樹、濵口功]

11) 洗浄血小板製剤の使用および副作用発生低減効果に関する検討

血漿を除去し洗浄置換液に再浮遊して調整される洗浄血小板は、副作用予防に有効とされており、日本赤十字社が2016年9月より洗浄血小板製剤の製造販売を開始した。そこで、販売開始前後1年間の血小板製剤の使用数および副作用発生件数について、27施設の医療機関の協力を得て調査した。全国の約８％のバック数に当たる情報を収集・解析し、販売開始による洗浄血小板使用率の増加と、それに伴う副作用発生率の減少が明らかとなった。また、未洗浄に比べ洗浄血小板では副作用発生率が抑えられ、洗浄血小板の副作用予防効果が再確認された。
[池辺詠美、松岡佐保子、濵口功]

Ⅱ．品質管理に関する業務、研究

１．血液製剤

1）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、安全性や有効性に関する国家検定に加え、製剤が承認書通りに製造されているかについても確認するシステムが構築され、国民に貢献出来ることが期待される。各社(各工場)1 製剤を選択してグロブリン製剤優先７品目を決定し、厚生労働省監麻課から発出された血液製剤への SLP 導入の検討開始に係る事務連絡に基づき、優先７品目とその関連製剤の承認販売申請書の写しが感染研に提出され、感染研ワーキンググループにおいて、承認書の内容を確認し、記載内容に基づいた SLP 様式作成を開始した。
[野島清子、大隈和、松岡佐保子、楠英樹、水上拓郎、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、倉光球、手塚健太、濵口功]

2）血液製剤のための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]

3）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を、メーカーとの共同研究により確立し､分析法バリデーション報告書を作成した。また確立した方法について論文を投稿した。今後、内標準品の選定、および本試験法で最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]

4）人ハプトグロビン製剤のヘモグロビン含量試験におけるノンシアン法の検討

人ハプトグロビン製剤のヘモグロビン含量試験は、毒物であるシアン化カリウムを用いたシアンメトヘモグロビン法で実施されている。本研究では、毒物を使用しないノンシアン法の一つであるラウリル硫酸ナトリウム法（SLS 法）による、当該製剤のヘモグロビン含量試験を検討した。その結果、SLS 法は当該製剤のヘモグロビン含量試験として有用であることが示唆された。
［楠英樹、濵口功］

２．ワクチン製剤

1）帯状疱疹ワクチン（ジャパンワクチン株式会社）

（１）たん白質含量試験、MPL 含量試験(HPLC)、QS-21 含量試験、含湿度試験の実施

当該製剤について、たん白質含量試験、MPL 含量試験(HPLC)、QS-21 含量試験、含湿度試験を実施した。
［楠英樹、谷生道一、日吉真照、濵口功］

（２）異常毒性否定試験の実施

承認前試験としての当該製剤の異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。提出された全 3 ロットを用いて母集団を作成し、判定評価用として試験に用いた。その結果、試験成績においては、提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。
[佐々木永太、水上拓郎、古畑啓子、高井麻海子、濵口功]

2)乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）における異常毒性否定試験の省略に関する検討

本試験に関しては，既に「組換え沈降 B 型肝炎ワクチン」において 20 回の連続した合格の後は省略できる「省略規定」を設定し，生物学的製剤基準を改正してきた。本年度は，乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン（破傷風トキソイド結合体）について検討し，50 回の「省略規定」が業務運営委員会，及び検定協議会において承認された。現在，生物学的製剤基準改正にむけて調整中である。
[佐々木永太、水上拓郎、佐々木裕子(細菌第二)，見理剛(細菌第二)、柴山恵吾(細菌第二)，濵口功]

３．体外診断薬用医薬品

1）B 型肝炎ウイルス表面抗原キットの承認前試験

当該体外診断用医薬品 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）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

インフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価系の構築を目的として、これまでに我々が動物実験で同定したマーカー遺伝子を指標に、複数の肺由来細胞株を用いた検討を行った。その結果、不活化全粒子型ワクチン、および Alum アジュバント添加 HA ワクチンに対して濃度依存的なマーカー遺伝子の発現亢進を認める細胞株が見出された。また、マーカー遺伝子の変動に相関したケモカイン産生も認められ、安全性評価の新たな指標とな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）ワクチンの有効性・安全性評価系の開発へ向けた NMR メタボロミクス解析

ワクチンの有効性･安全性評価系の開発を目指し、NMR メタボロミクス解析を検討した。本研究では、全粒子不活化ワクチン、インフルエンザ HA 蛋白質、生理食塩水をそれぞれマウス腹腔に接種し 16 時間後にマウス尿を採取しサンプルとした。その結果、全粒子不活化ワクチン接種のマウス尿に特有代謝物が存在することが確認された。現在、得られた代謝物が、ワクチンの有効性・安全性評価の良いバイオマーカーとなり得るかを検討している。

[楠英樹、佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、濵口功]

3) カニクイザルでの結核ブースターワクチンの評価

無処置群、BCG 接種群および BCG+ブースターワクチン接種群について 2 頭ずつ用い比較した。結核菌感染前に末梢血単核球を採取し、精製ツベルクリンまたは抗原で刺激し、インターフェロンγ産生細胞数を ELISPOT 法により調べた結果、無処置群に比べ、BCG 接種群、さらにブースターワクチン接種群がより多いことが分かった。一方、感染 3 ヶ月後に剖検したが、他の菌の汚染のため正確な残存菌数が得られなかった。
[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、岡林佐知、向井徹（ハンセン病研究センター)、網康至（動物管理室）]

4) 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

DBA/2 マウスにおいて、無処置群と BCG 投与群の間に結核菌感染後の残存菌数に有意差が認められたので、これを指標にこのマウスを用いて免疫条件の検討を行うこととなった。無処置群、BCG 単独投与群および BCG+ブースターワクチン接種群について感染実験を行ったところ、BCG 単独投与群に比べ BCG+ブースターワクチン接種群で残存結核菌数の有意な低下が認められた。
[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（ハンセン病研究センター)、網康至（動物管理室）]

5) 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、特にマウス骨髄細胞を用いた in vitro でのインターフェロンα産生誘導活性から、活性の安定性を引き続き検討した。まずいくつかのアミノ酸、タンパク質存在下での活性について検討した。人血清アルブミンでは、十分ではなかったが、G9.1 単独と比べ 10%仔ウシ血清、数種のアミノ酸およびワクチン抗原を添加した場合、ほぼ活性が保持されていることが分かった。
[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）]

6) 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

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 29 年度は市販されているアジュバント約 15 個について、評価を実施した。その結果、本評価系ではバイオマーカー固有の機能を考慮し、活性評価を行うことで、特に 1 型 IFN 誘導型アジュバントの活性ならびに damage-associated molecular patterns 誘導型アジュバントの特徴的な生物活性を捉えられることが明らかとなった。この結果を応用し、各バイオマーカー遺伝子の機能を評価結果に導入したところ、各アジュバントの作用機序やその特徴を反映した評価結果が得られた。
[佐々木永太、百瀬暖佳、平舘裕希、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター)、水上拓郎、濵口功]

7)末梢血ヒト化マウスならびに PBMC 培養系を用いたワクチン安全性評価の検討

インフルエンザワクチンの安全性指標バイオ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 29 年度ではヒト PBMC を用いたアジュバント評価において形質細胞様樹状細胞が重要であることを明らかにした。さらに、ヒト形質細胞様樹状細胞が肺において一時的に定着する新規ヒト化マウスモデルを作成し、ワクチンによる急性毒性反応を評価する *in vivo* モデルの構築に成功した。そのモデルを用いてバイオマーカーの機能解析を実施したところ、従来の PBMC 移植モデルでは検出できなかったヒトバイオマーカー遺伝子の発現変動やヒトサイトカインの分泌が認められ、ヒトへの外挿性の高いツールとしての応用が期待された。
[佐々木永太、百瀬暖佳、平舘裕希、水上拓郎、濵口功]

8) 経鼻インフルエンザワクチンにおける IL-33 の機能解析

IL-33 は 2 型自然リンパ球(ILC2) の活性化を介して Th2 細胞免疫を誘導し、IgE 等の抗体産生等に寄与することが知られている。インフルエンザワクチン接種後の肺胞洗浄液 (BALF) 中の IL-33 濃度を解析したところ、無処置のマウスやスプリットワクチン接種マウスでは IL-33 は検出されなかったが、WV 接種マウスにおいては高い IL-33 濃度が認められた。この時の肺胞洗浄液中の lactate dehydrogenase (LDH) 濃度は概ね IL-33 濃度と相関を示していた。また、IL-33 分泌に伴う ILC2 の活性化 (IL-5 および IL-13 産生) は認められた。現在、抗体産生に関わる詳細なメカニズムの解明を進めている。

[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、審良静男(大阪大学微生物病研究所 自然免疫学分野)、濵口功]

9) インフルエンザワクチン接種時の肺における形質細胞様樹状細胞の動態とその役割についての解析

これまでに全粒子不活化インフルエンザワクチンや、1型IFN誘導型アジュバントをマウスに腹腔内投与あるいは筋肉内投与することで、肺に形質細胞様樹状細胞（pDC）が集簇することを明らかにしている。本年度は、マウスにおいてpDCを枯渇させる120G8モノクローナル抗体（120G8 Ab）を用いて、pDC枯渇時の肺への影響を解析した。その結果、全粒子不活化ワクチン接種による肺の自然免疫関連遺伝子の発現レベルが120G8 Ab投与によって抑制され、血中IFNα/β濃度の上昇も顕著に低下した。さらに、120G8 Ab投与により、インフルエンザHA抗原特異的IgAおよびIgG抗体産生誘導が顕著に低下した。

[佐々木永太、百瀬暖佳、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター)、水上拓郎、濵口功]

10)既承認薬・添加剤を用いた新規アジュバントスクリーニング法による有効性・安全性の高い細胞性免疫誘導型アジュバントの開発

我々が同定したインフルエンザワクチンの安全性評価に有効なバイオマーカー(BMs)を用い,アジュバント活性の定量化が可能か検討し，種々の細胞株等及びマウスモデルを用いたスクリーニング体制を構築した。既承認薬・添加剤の中より抽出した化合物を用いてBMsの発現を検証した結果，いくつかの化合物はBMsの発現上昇が認められた。これらの化合物にアジュバント活性があるか検証中である。

[佐々木永太、百瀬暖佳、楠英樹，浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター)、水上拓郎、濵口功]

Ⅳ．血液に関する研究

1）抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン製剤の開発に関する研究

日本赤十字社と協力し,抗HTLV-1ヒト免疫グロブリンに感染予防効果があることを，*in vitro*及びヒト化マウスを用いた*in vivo*試験によって明らかにした。また製剤の安全性について評価し，当該製剤の製造過程でウイルスが完全に除去・不活化され，最終製品においても感染性は認められないことが明らかとなった。現在，京都大学の霊長類研究所と共同で，ニホンザルSTLV-1感染における有効性を検証するための疫学調査，投与実験に関する背景データを取得している。

[野島清子，明里宏文(京大ウイルス研・霊長類研)，大隈和，内丸薫(東大新領域)，水上拓郎，濵口功]

2）ニホンザルSTLV-1の生殖器官における感染動態の解明

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ウイルスゲノムやmRNA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。現在，*in situ* Hybridizationプローブを作成し，感染細胞の局在を明らかにすることを検討している。

[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]

3) ATLモデルマウスであるHBZトランスジェニックマウスにおけるATL癌幹細胞微小環境の解析

HTLV-1 HBZ遺伝子組換えマウス（HBZ-Tg)において，*in vitro*で高い増殖活性を持ち、*in vivo*の移植モデルでATL病態を再現できるATL癌幹細胞を同定した。ATL癌幹細胞の微小環境を組織学的・生化学的に解析し，微小環境中のサイトカイン動態を明らかにし，幹細胞性を維持するのに必須のサイトカインを同定することに成功するとともに，幹細胞培養系を構築した。

[水上拓郎、栗林和華子、松岡雅雄（熊本大)、濵口功]

4）成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）及びB細胞性リンパ腫発症リスク評価・判定法の開発

成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）発症の要因はHTLV-1感染であるが、ATL細胞では5'側欠失を伴うHTLV-1（変異型HTLV-1）が高頻度に認められる。この変異型HTLV-1のATL発症への関与について検討を行った結果、過去の報告と同様に、約30%の慢性型と約50%の急性型において5'側欠失を伴う変異HTLV-1の存在が認められた。またATLに認められるこれらの変異型HTLV-1のほとんどの5'側欠失がHBZの3'非翻訳領域までおよぶことが明らかとなった。興味深いことに、変異型HTLV-1では、HBZの発現が亢進することを見出した。

[斎藤益満、日吉真照、谷生道一、百瀬暖佳、倉光球、濵口功、松橋一彦(昭和大学)、伊波英克(大分大学)、

緒方正男（大分大学)、長谷川寛雄（長崎大学)、今泉芳孝（長崎大学)、渡邊俊樹（東京大学)、山岸誠（東京大学)、森下和広（宮崎大学）]

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：151 試験
(血液凝固第Ⅷ因子力価試験:34、アンチトロンビンⅢ力価試験:21、活性化血液凝固第 VII 因子力価試験:1、血液凝固第 X 因子力価試験(APTT 法）:1、血液凝固第 II 因子力価試験:16、血液凝固第 VII 因子力価試験:16、血液凝固第 IX 因子力価試験:16、血液凝固第 X 因子力価試験（PT 法）:16、プロテイン C 力価試験:16、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：3、ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験：2、乾燥抗 D 人免疫グロブリン力価試験：1、ハプトグロビン力価試験：7 ロット)
免疫グロブリン G 重合物否定試験：133 ロット
抗補体性否定試験：47 ロット
含湿度試験：142 ロット
ホルムアルデヒド含量試験：33 ロット
たん白質含量試験（ローリー法)：115 ロット
たん白窒素含量試験：5 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（ICP)：8 ロット
フェノール含量試験：11 ロット
ヘモグロビン含量試験：7 ロット
クエン酸ナトリウム含量試験：5 ロット
MPL 含量試験：1 ロット
異常毒性否定試験：214 ロット
発熱試験：27 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
乾燥抗 D 人免疫グロブリン ： 1 ロット

3．抜き取り検査

血液凝固第 IX 因子力価試験：4 ロット
活性化凝固因子否定試験：4 ロット
たん白窒素含量試験：4 ロット
含湿度試験：2 ロット
pH 試験：2 ロット
ヒスタミン含量試験：2 ロット

4．依頼検査

たん白質含量試験（ローリー法)：4 ロット

5．承認前検査

たん白含量試験：3 サンプル
含湿度試験：3 サンプル
MPL 含量試験(HPLC)：3 サンプル
QS-21 含量試験：3 サンプル
異常毒性否定試験：3 サンプル

6．行政検査

異常毒性否定試験：1 ロット

7．総合判定

（国家検定項目）
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：34 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：21 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子：1 ロット
乾燥濃縮人プロトロンビン複合体：16 ロット
筋注用人免疫グロブリン：5 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：2 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン：47 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン：22 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：34 ロット
乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン：54 ロット
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン：1 ロット
pH４処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射)：11 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：3 ロット
ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン： 1 ロット
人血清アルブミン：170 ロット
加熱人血漿たん白：5 ロット
人ハプトグロビン：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）：4 ロット
ヒスタミン加人免疫グロブリン：2 ロット

（収去試験項目）

抗 A 血液型判定用抗体： 3 ロット
抗 B 血液型判定用抗体： 3 ロット
抗 D 血液型判定用抗体： 5 ロット
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)： 2 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン ： 1 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：2 キット(6 ロット)

国際協力関係業務

1) 2017年5月7日～5月10日：北京で開催された第３回ワクチン研究と品質管理に関するシンポジウム（3rd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines）に参加し、「Safety Research on Vaccine」について発表するとともに情報の交換を行った。
［濵口功］

2) 2017 年 8 月 21 日～8 月 24 日：WHO（ジュネーブ）で開催された Global Benchmarking Tool review に参加し、アセスメント・クライテリアとワクチン行政のために WHO で既に制定されているアセスメント・ツールの連携について議論した。 ［濵口功］

3) 2017 年 10 月 15 日～10 月 21 日：WHO（ジュネーブ）で開催された生物学的製剤の標準化に関する WHO 専門家会議出席し、血液製剤・ワクチン等の標準化および関連したガイドラインの承認などについて議論した。
［濵口功］

研修業務

1) 2017 年 6 月 6 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) 2017年6月13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6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) 2018年1月18日： JICA研修「ワクチン品質・安全性確保のためのNRA機能強化」コースで、物理化学試験の講義を担当した。 ［楠英樹］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1.欧文発表

1) Kuramitsu M, 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 KR, 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. 2017. Proviral Features of Human T Cell Leukemia Virus Type 1 in Carriers with Indeterminate Western Blot Analysis Results. ***J Clin Microbiol,*** 2017. 55:2838-2849.

2） 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 Infect,*** 2017. 19(4-5):277-287.

3） Sasaki E, Momose H, Kuramitsu M, 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 vaccine ***Biologicals***. 2017. 50:100-108.

4)Nakatsu N, Igarashi Y, Aoshi T, Hamaguchi I, Saito M, Mizukami T, Ishii K-J, Yamada H, Isoflurane is a suitable alternative to ether for anesthetizing rats prior to euthanasia for gene expression analysis, ***J. Toxicol. Sci.*** 2017. 42(4):491-497. doi: 10.2131/jts.42.491.

5） 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,***

2017; 214(7): 2005-2021.

6) Ikebe E, Fife-Koshinomi N, Matsumoto T, Yahiro T, Ikebe T, Iha H. Antiobesity and Anti-Inflammatory Effects of Orally Administered Bonito Extracts on Mice Fed a High-Fat Diet. ***Evid Based Complement Alternat Med,*** 2017; 2017:9187167.

7) Mori D, Khanam W, Sheikh RA, Tabib SMSB, Ikebe E, Hossain MM, Iha H, Ahmed K. Increased serum vascular endothelial growth factor is associated with acute viral encephalitis in Bangladeshi children. ***Sci Rep***, 2017; 7(1):16181.

8)Tezuka K, Okuma K, Kuramitsu M, Matsuoka S, Tanaka R, Tanaka Y, Hamaguchi I, Control of HTLV-1 Infection by Eliminating Envelope Protein-Positive Cells with Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Encoding HTLV-1 Primary Receptor. ***J Virol,*** 2018 . 92(4). pii: e01885-17.

9) Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Matsuhashi K, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I. A novel neuropilin-1 -binding sequence in the human T-cell lymphotropic virus type 1 envelope glycoprotein, ***BBA***, 2018, 1866, 541-548.

10) Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. In vitro marker gene expression analyses in human peripheral blood mononuclear cells: A tool to assess safety of influenza vaccines in humans. ***J Immunotoxicol,*** 2018;15(1):53-62.

11)Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Takai M, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Modeling for influenza vaccines and adjuvants profile for safety prediction system using gene expression profiling and statistical tools. ***PLoS One***. 2018;13(2): e0191896.

12) Sasaki E, Yokoi T. Role of cytochrome P450-mediated metabolism and involvement of reactive metabolite formations on antiepileptic drug-induced liver injuries. ***J Toxicol sci***. 2018;43(2):75-87.

13)Momose H, Matsuoka S, Murayama A, Yamada N, Okuma K, Ikebe E, Hoshi Y, Muramatsu M, Wakita T, Toyoda K, Kato T, Hamaguchi I, Evaluation of In Vitro Screening and Diagnostic Kits for Hepatitis C Virus Infection. ***J Clinic Virol.*** *In press*.

14) Hiradate Y, Sasaki E, Momose H, Asanuma H, Furuhata K, Takai M, Aoshi T, Yamada H, Ishii K, Mizukami T, Hamaguchi I, Development of screening method for intranasal influenza vaccine and adjuvant safety in preclinical study. ***Biologicals***. *In press*.

15) Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Mizukami T, Hamaguchi I. Development of a preclinical humanized mouse model to evaluate acute toxicity of an influenza vaccine. ***Oncotarget***, *In press*.

16) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanezaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahasi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. *De novo* mutations activating germline *TP53* in an inherited bone marrow failure syndrome. ***Am J Hum Genet.*** *In press*.

17) Fukumoto T, Ikebe E, Ogata M, Kohno K, Kuramitsu M, Sato Y, Fife N, Matsumoto T, Yahiro T, Ikeda M, Kusano S, Okayama A, Hori M, Hijiya N, Tsukamoto Y, Hirashita Y, Moriyama M, Ahmed K, Hasegawa H, Nishizono A, Saito M, Iha H. Complete Sequences of the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Proviral Genomes from Newly Established Adult T-Cell Leukemia Cell Lines in Oita Prefecture, Japan. ***Genome Announc.*** *In press*.

2. 和文発表

1)倉光球, 大隈和, 落合雅樹, 中村徹, 遠藤章, 阿武啓嗣, 菅原理明, 渡邉嘉治, 小西久郎, 内田早苗, 濵口功. 活動報告 血液凝固第 VIII 因子および血液凝固第 IX 因子国内標準品の力価測定：多施設共同研究. 日本輸血細胞治療学会誌 2018; 64: 79-83.

2) 濵口功、佐々木永太、水上拓郎. ワクチンの安全性試験の理論的構築 -「医学のあゆみ 近未来のワクチン-開発研究の潮流と課題」. 医歯薬出版株式会社, 2018, 264 巻, 5 号, p477-483.

3) 松岡佐保子、水澤左衛子、落合雅樹、草川茂、百瀬暖佳、池辺詠美、宮川恵子、五反田裕子、長谷川隆、富樫謙一、中里見哲也、塚原美由紀、前田豊、福田修久、古田美玲、内田恵理子、川村利江子、岡田義昭、山口照英、濵口功, 血液製剤の安全性確保のためのウイルス核酸増幅検査 (NAT) 国内標準品の再評価、日本

輸血細胞治療学会誌、印刷中

Ⅱ．学　会　発　表

1. 国際学会

1) Mizukami T, Nojima K, Sobata R, Kuribayashi W, Matsumoto C, Sato Y, Sasaki E, Hiradate Y, Matsuoka S, Okuma K, Satake M, Hamaguchi I. Development of HTLV-1 hyperimmune globlins against HTLV-1 infection using humanized mouse model. 22nd EHA congress、スペイン、マドリッド、2017 年 6 月

2) Asanuma H, Tateishi K, Hasegawa H, Yamamoto N, Kayoko Sato, Maeyama J-I, Iho S, Yamamoto S, Odagiri T, Fujihashi K. Enhancement of protective mucosal immunity against influenza virus infection by a combination of Influenza antigen plus G9.1 (CpG ODN) as nasal adjuvant, International Congress on Mucosal Immunology 2017、米国、ワシントン DC、2017 年 7 月

3) Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Kusunoki H, Asanuma H, Yamada H, Ishii KJ, Hamaguchi I. Systems biology approach for evaluating vaccine and adjuvant safety during preclinical and lot release testing. EUROTOX 2017、スロバキア、ブラチスラバ、 2017 年 9 月

4) Nojima K, Standardization of the anti-complementary activity of IVIG in Japan. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific、大韓民国、ソウル、2017 年 9 月

5) Nojima K. Collaborative study on testing for freedom form aggregated immunoglobulinG. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific、大韓民国、ソウル、 2017 年 9 月

6) Matsuoka S, Ishizaka H, Tanaka A, Yonemura Y, Fujii Y, Ohsaka A, Okazaki H, Taira R, Toyoda K, Kitazawa J, Ohtani S, Kato H, Kino S, Hamaguchi I, Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy Task Force on Hospital Information System. A Pilot Study of Japanese Hemovigilance to Trace Entire Transfusion Chain. 2017 AABB Annual Meeting、米国、サンディエゴ、2017年10月

7) Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Kusunoki H, Asanuma H, Yamada H, Ishii KJ, Hamaguchi I. Application of Systems Biology approaches for evaluating the vaccine and adjuvant safety at the preclinical and lot release test. ISV Congress 2017、フランス、パリ、2017 年 10 月

8) Maeyama J-I, Suzuki F, Ozeki Y, Asanuma H, Sohkichi M, Iho S, Yamamoto S, Study of a novel CpG oligodeoxynucleotide to promote vaccine ability against TB or Flu, the 2017 International Society for Vaccines Congress 2017、フランス、パリ、2017 年 10 月

9) Murayama A, Yamada N, Momose H, Matsuoka S, Hamaguchi I, Toyota K, Wakita T, Kato T. Evaluation of in vitro diagnostic kits for detection and quantification of HBV DNA and HBsAg using HBV reference panel. The Liver Meeting 2017, AASLD's Annual Meeting, 米国、ワシントン DC、2017 年 10 月

10) Hayashi D, Maeyama J-I, Yamamoto T, Yamazaki T, Mukai T, Tamura T, Okabayashi S, Suzuki F, Ozeki Y, Yokoyama A, Suzaki Y, Ami Y, Goto Y, Iho S, Matsumoto S, Yamamoto S, The effects of the booster vaccine composed of MDP1 and G9.1 against tuberculosis in cynomolgus monkeys, The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 52nd Mycobacteria Panel Meeting、新潟、2018 年 3 月

11) Maeyama J-I, Hayashi D, Yamamoto T, Yamazaki T, Suzuki F, Ozeki Y, Matsumoto S, Iho S, Yamamoto S, Phosphodiester-linked new oligodeoxynucleotide promotes vaccine ability to tuberculosis, The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 52nd Mycobacteria Panel Meeting、新潟、2018 年 3 月

2. 国内学会

1) 斎藤益満、成人 T 細胞白血病・リンパ腫発症リスク評価・判定法の開発. 東京バイオマーカー・イノベーション技術研究組合　TOBIRA 第 6 回研究交流フォーラム、東京、2017 年 5 月

2) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 松岡佐保子, 大隈和, 池辺詠美, 山田典栄, 村山麻子, 豊田九朗, 脇田隆字, 濵口功. 国内で使用されている C 型肝炎ウイルスの体外診断用医薬品を対象とした性能評価. 第 65 回日本輸血・細胞治療学会総会、千葉、2017 年 6 月

3) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕希, 古畑啓子, 山田宏, 石井健, 水上拓郎, 濵口功. マーカー遺伝子と統計学的手法を用いた新規アジュバント安全性評価系の構築.第 44 回日本毒性学会学術年会、神奈川、2017 年 7 月

4) 水上拓郎, 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕樹, 古

畑啓子，山田弘，石井健，濵口功．ヒト化マウスを用いたワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法の開発．第 44 回日本毒性学会学術集会，横浜，2017 年 7 月

5）手塚健太，大隈和，倉光球，田中勇悦，田中礼子，濵口功．HTLV-1 受容体をコードする組換え水疱性口内炎ウイルスを用いた HTLV-1 感染の制御．第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会，大阪，2017 年 8 月

6）大隈和，倉光球，池辺詠美，丹羽敏博，谷口友邦，真崎夕美子，渡邊恵子，松本千惠子，蕎麦田理英子，相良康子，板橋家頭夫，佐竹正博，三浦清徳，淵直樹，増崎英明，濵口功．国内で使用されている、確認検査用を含む HTLV-1 抗体検査キットに関する性能調査．第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会，大阪，2017 年 8 月

7）楠英樹，田中俊之，河野俊之，松橋一彦，森茂太郎，細田和男，若松馨，濵口功． HTLV-1 Env由来ペプチドとニューロピリン-1 b1ドメインの相互作用解析、第4回HTLV-1学術集会、大阪、2017年8月

8）平舘裕希、水上拓郎、関洋平、村田めぐみ、鷲崎彩夏、手塚健太、鈴木樹理、兼子明久，佐々木永太、野島清子、石上暁代、安永純一朗、蔵田潔、松岡雅雄、明里宏文、濵口功．閉経期雌ニホンザルの生殖器官におけるＳＴＬＶ－１感染動態の解析．第 4 回日本 HTLV-1 学会，大阪，2017 年 8 月

9）水上拓郎，野島清子，松本千恵子，蕎麦田理英子，平舘裕希，村田めぐみ,鷲崎彩夏，関洋平，森本真弓，夏目尊好， 大隈和，内丸薫，佐竹正博，明里宏文，濵口功．臨床応用を目指した抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤の開発とニホンザル STLV-1 母子感染動態の解析．第 4 回日本 HTLV-1 学会，大阪，2017 年 8 月

10）斎藤益満、伊波英克、長谷川寛雄、他 35 名、成人 T 細胞白血病・リンパ腫患者における HTLV-1/EBV 共感染 B 細胞の存在意義．第 4 回日本 HTLV-1 学会、大阪，2017 年 8 月

11）松橋一彦、斎藤益満、他 19 名、成人 T 細胞白血病・リンパ腫における HBZ 活性化- miR-324-3P による HBZ 発現抑制の崩壊 -．第 4 回日本 HTLV-1 学会、大阪,2017 年 8 月

12）佐々木永太、百瀬暖佳、平舘裕希、古畑啓子、水上拓郎、濵口功．ワクチン接種時の初期免疫反応を捉えるヒト化マウスモデルの作出ならびにワクチン安全性評価法への応用とその評価．第 24 回日本免疫毒性学会学術年会、青森、2017 年 9 月

13）平舘裕希、水上拓郎、関洋平、村田めぐみ、鷲崎彩夏、手塚健太、鈴木樹理、兼子明久、石上暁代、安永純一朗、蔵田潔、松岡雅雄、明里宏文、濵口功．閉経期雌ニホンザルの生殖器官における STLV-1 感染動態の解析，第 160 回日本獣医学会学術集会，鹿児島，2017 年 9 月

14）Tezuka K, Okuma K, Hamaguchi I. Development of a novel high-sensitive nucleic acid testing method for quantifying VSV vector in vivo. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

15）Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Tanaka Y, Tanaka R, Hamaguchi I. Oncolytic recombinant vesicular stomatitis viruses encoding HTLV-1 receptor control HTLV-1 infection *in vitro* and *in vivo.* 第 65 回日本ウイルス学会学術集会，大阪，2017 年 10 月

16）Nojima K, Shimoike T, Wakita T, Hamaguchi I, Okada Y. Analysis of HCV in the fractions with Cohn ethanol method in a laboratory scale. 第 65 回ウイルス学会，大阪，2017 年 10 月

17）Ikebe E, Matsuoka S, Muraoka H, Yoshimura C, Iha H, Hamaguchi I. NAE inhibitor TAS4464 induces NF-kB pathway inactivation and apoptosis in HTLV-1 associated cells. 第 79 回日本血液学会学術集会、東京、2017 年 10 月

18）Mizukami T, Kuribayashi W, Nojima K, Hiradate Y, Sasaki E, Kuramitsu M, Momose H, Sugata K, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. Characterization of the ATL stem cell (ATLSC) niche and cytokine environment in an ATL mouse model. 第 79 回 日本血液学会，東京，2017 年 10 月

19）Mizukami T, Nojima K, Sobata R, Murata M, Kuribayashi W, Matsumoto C, Sato Y, Washizaki A, Sasaki E, Seki Y, Furuhata K, Morimoto M, Hiradate Y, Matsuoka S, Natsume T, Okuma K, Uchimaru K, Akari H, Satake M, Hamaguchi I. Development of HTLV-1 hyperimmune globulins against HTLV-1 infection. 第 79 回 日本血液学会，東京，2017 年 10 月

20）濵口功、日本における HTLV-Ⅰ感染の現状と対策の方針、第 41 回日本血液事業学会総会、福岡、2017 年 11 月

21）水上拓郎、佐々木永太、百瀬暖佳、浅沼秀樹、蒲地一成、石井健、濵口功．ヒト PBMCs を用いたインフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価法の開発とヒト化マウスによる *in vivo* モデルの構築．第 21 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2017 年 12 月

22）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 21 回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2017 年 12 月

23) 水上拓郎. Systems Vaccinology によるワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法の開発. 第21回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017年12月
24) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕希, 古畑啓子, 石井健, 水上拓郎, 濵口功. マーカー遺伝子を用いた探索的なin vivoアジュバント生物活性・安全性プロファイリング法の構築.第21回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2017年12月
25) 山本三郎、林大介、山本十糸子、小山明、前山順二、網康至、須崎百合子、向井徹、岡林佐知、田村敏生、山崎利雄、松本壮吉、尾関百合子、伊保澄子、後藤義孝、新規結核菌抗原MDP1とCpG ODN G9.1アジュバントからなる結核ブースターワクチンのカニクイザルに対する有効性の検討、第21回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2017年12月
26) 立石恒一郎、山本典生、佐藤佳代子、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、小田切孝人、藤橋浩太郎、浅沼秀樹、２つの感染モデルを用いた CpG-ODN G9.1添加経鼻インフルエンザワクチンの有効性、第21回日本ワクチン学会学術集会、福岡、2017年12月
27) Asanuma H, Tateishi K, Sato K, Hasegawa H, Maeyama J-I, Iho S, Yamamoto S, Fujihashi K, Yamamoto N, Essential roles for protective SIgA Abs induced by nasal G9.1 combined influenza VLP vaccine, 第46回日本免疫学会学術集会、仙台、2017年12月
28) 佐々木永太.ワクチンアジュバントのハイスループットスクリーニング系構築を目指した培養細胞によるin vitro評価系の構築.第11回　次世代アジュバント研究会、大阪、2018年1月
29) Momose H, Sasaki E, Hiradate Y, Kusunoki H, Mizukami T, Hamaguchi I. An approach to establish an in vitro assay system for the safety control of influenza vaccines and adjuvants. 第11回次世代アジュバント研究会、大阪、2018年1月
30) 米村雄士、岡崎仁、池田敏之、牧野茂義、大坂顯通、古川良尚、安村敏、田中朝志、藤井康彦、北澤淳一、松岡佐保子. 貯血式自己血輸血による副作用の現状　～10施設からの調査報告～. 第31回日本自己血輸血学会学術総会、大阪、2018年3月
31) 前山順一、林大介、山本十糸子、向井徹、岡林佐知、田村敏生、山崎利雄、尾関百合子、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎、カニクイザルを用いたMDP1とG9.1からなる結核ブースターワクチン候補の有効性評価、第91回日本細菌学会総会、福岡、2018年3月
32) 井坂雅徳、立野一郎、前山順一、長谷川忠男、二成分制御センサータンパク質SPY1588は、バイオフィルム産生とmgaプロモーター発現を促進させる. 第91回日本細菌学会総会、福岡、2018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 2 つの省令室（放射能管理室、検定検査品質保証室）が組織再編された結果、誕生した部である。それぞれの室は、放射線管理及び生物学的製剤等の検定・検査に係る信頼性保証という機能の異なる所内横断的な業務を行ってきたが、今後、2 つの室が単に統合したということに留まらず、管理業務においてそれぞれの室の知見や手法を共有し合うことや、研究面でも放射線を用いた生物学的製剤の品質管理技術など、互いの専門性を生かした取り組みが期待されている。

第一室は、室長（藤本浩文）、主任研究官 2 名（作道隆、本田尚子）、再任用職員 1 名（鈴木寿子）、非常勤職員 1 名（土田耕三）の 5 名からなり、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、一方で生物学的な研究も実施した。放射線取扱主任者は、戸山庁舎では加藤篤と藤本浩文が、村山庁舎では石井孝司（ウイルス第二部・第五室長、品質保証・管理部併任）が、ハンセン病研究センターでは塚本裕美子（ハンセン病研究センター感染制御部・主任研究官）が務めた。

感染研戸山庁舎の非密封放射性同位元素（RI）の使用量は、近年の RI を用いない実験手法の発展に伴い減少傾向が続いている。そのため、庁舎設計時に設定されていた RI 管理区域の面積が過剰となり、一方でかなりの数の研究者が、RI を用いない実験を RI 管理区域内で行うことを余儀なくされることとなっていた。そのため、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。平成 28 年度は地上 2 階から 4 階部分にある RI 管理区域の非管理区域化を行ったが、平成 29 年度は引き続き 1 階から地下 2 階部分の非管理区域化を、原子力規制庁の了解のもとに行った。地下 1 階には国立健康・栄養研究所（健栄研）が使用する区画があるため、健栄研のご理解を得て、同区画の非管理区域化も同時に行った。年度内に非管理区域化作業は完了し、平成 30 年 4 月 26 日に作業完了報告書を原子力規制委員会に提出した。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、室長（落合雅樹）、主任研究官 2 名（内藤誠之郎、藤田賢太郎）、技術補助員 3 名（内田孝子、富樫祐子（業務管理課所属）、岡村望）の 6 名からなり、生物学的製剤及び抗菌性物質製剤の国家検定・検査における成績の信頼性保証並びにこれらに必要な調査及び研究を行った。

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（Official Medicines Control Laboratory：OMCL）である感染研も PIC/S が求める ISO17025 に準拠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、検定検査業務の適切性を厚生労働省が評価する実地調査は、第二室が対応する重要な業務である。平成 29 年 8 月 18 日、所長による平成 28 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、前年度に引き続き、感染研は平成 29 年 10 月 25 日に厚生労働省監視指導・麻薬対策課（厚労省監麻課）と独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）による OMCL の認定に係る調査を受け、平成 29 年 11 月 17 日付で継続認定を受けた。

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、当部が所内の製剤担当部との調整的な役割を担う比率が増えている。例えば、生物学的製剤の標準化に係る WHO Collaborating Centre（WHOcc）に関わる課題、WHO の生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（Expert Committee on Biological Standardization：ECBS）の所内取りまとめを行い、その結果を国際会議で必要に応じて主張し、その結果を所内に持

ち帰って報告することなどである。感染研は、1971 年から WHOcc として当時の細菌製剤部が登録され、生物学的製剤の標準化に関する国際的な協力活動を行っていたが、2011 年からはウイルス製剤、血液製剤等の生物学的製剤全般を活動内容とする方針が了承され、複数の部による CC 活動が行われている。品質保証・管理部は、現在の本活動の登録機関となっており、毎年の活動全般の取りまとめと報告、4 年に 1 度の再認定作業は重要な任務である。また、本活動の一環として、日本の協力として打ち出された JICA 国際研修 “Strengthening the National Regulatory Authorities (NRA) for Vaccine’s Quality and Safety” は今年で 5 回目となったが、本年度をもって一旦終了ということになった。本研修は研修生並びに JICA から高い評価を得ていたものであり、今後何らかの形で再開することも検討したい。

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第二室が協力して集計し、定期的に所内報告を行っている。さらに、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等の情報を集計・解析する副反応アプリの改善を進めている。

最後に人事面では、再任用職員として部の業務を支えて下さっていた鈴木寿子氏は、平成 30 年 3 月末で任期を満了した。

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	1140.199	11.1	147.173
^{14}C	138.372	0.37	6.023
^{32}P	370.74	231.25	236.289
^{35}S	215.568	37	3.993
^{51}Cr	0	37	37

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	8.695	0	0
^{14}C	5.55	0	3.33
^{32}P	0	18.5	18.5
^{33}P	0	0	0
^{35}S	0	222	151

保管量下限数量比合計 0.9

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	0	0

保管量下限数量比合計 0.0

II. 従事者数*

１．戸山 １５７名（国立研究開発法人 国立健康・栄養研究所も含む）

２．村山 １６名

３．ハンセン ５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29年 4月 13日	14	新規
5月12日	113	継続
5月16日	7	継続(ハンセン)
5月18日	57	継続(村山)
5月23日	68	継続
6月5日	11	新規・継続
6月7日	6	継続
10月 2日	9	新規
平成30年 2月 19日	8	新規
合 計	293	

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29年 6月 9日	1	新規
合 計	1	

3. 特別講習会

平成29年 7月 5日	28	戸山 TBS、防災センター
平成29年 10月 23日	30	村山 TBS、防災センター
平成29年 10月 24日	8	ハンセン TBS、防災センター
合 計	66	

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。本年度は損傷塩基のモデルとして昨年設計した酸化損傷チミン Thymineglycol を含む DNA 分子に二本鎖切断末端認識酵素である Ku タンパク質を作用させ、損傷の有無が Ku-DNA 間の結合力に与える影響を解析した。また、Ku のサブユニットである Ku70 の核移行シグナル（NLS）ペプチドと核輸送タンパク質である importin-α（Impα）との相互作用を解析し、Ku70 NLS 中のリジン残基がアセチル化されると Impα-Ku70 NLS 間の結合力が低下することを明らかにした。Ku70 の細胞核への移行は NLS 中のリジン残基のアセチル化・脱アセチル化によって制御されている可能性がある。[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. アルミニウムが生体に与える影響に関する研究

アルミニウムは地殻中で3番目に多い元素である。その化合物は、ワクチンの力価を高めるアジュバントとして機能することが古くから知られている。しかしながら、生体のアルミニウム含有量は少なく、また、アルミニウムが生体に与える影響についての分子レベルでの知見はまだ少ない。

アルミニウム化合物の影響が調べられていなかったモデル生物について、経口投与及び静脈注射での影響を調べ、化合物の種類による表現型の違いを検討した。また、アルミニウムを多く蓄積することが知られている植物を捕食する生物種について野外での調査を行った。［作道隆、加藤篤］

III. 抗結核薬開発に関する研究

世界中で超多剤耐性結核菌の感染が問題であり新規薬剤の開発は必須である。ストレプトマイシン(SM)を培地から除去し増殖を停止したSM要求性ワクチン株*Mycobacterium bovis* BCGの薬剤感受性を解析した結果、抗結核薬の効きにくい増殖停止期の結核菌と同様に、細胞壁合成阻害剤に抵抗性、転写・翻訳阻害剤に感受性であった。よってBSL2実験施設で培養可能なこの株は、新規薬剤のスクリーニングに有用であることが示唆された。［本田尚子、加藤篤; 松村隆之（免疫部）;阿戸学（ハンセン病研究センター）；大原直也(岡山大学)］

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、測定器を用いて取得した細胞画に対し毒素量依存的な細胞の形態学的な変化を数値化する画像処理指標値の検討を進めた。［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）；藤本博己（株式会社SCREENホールディングス）］

２．生物学的製剤の標準化等に対する統計解析支援

１）抗HBs人免疫グロブリン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施設が参加した抗HBs人免疫グロブリン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2次）の力価はWHO国際標準品（第2次）に対する相対力価として定められた。［落合雅樹；百瀬暖佳、松岡佐保子、浜口功（血液・安全性研究部）］

２）参照A型肝炎ワクチンロット更新に対する統計解析支援

感染研と標記参照品を使用する製造所の計2施設が参加した参照A型肝炎ワクチン（力価試験用）ロット更新のための共同試験が行われ、結果データの解析を支援した。候補品ロットの力価は現行の国内参照品（Lot. P2）に対する相対力価として試験法毎（動物試験法、試験管内試験法）に算出し、当該候補品は参照A型肝炎ワクチン（Lot. P3）として制定された。［落合雅樹；清原知子、石井孝司（ウイルス第二部）］

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、製品毎に品質、安全性、有効性等に係るリスクを評価するための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。今年度実施したリスク評価では、重要度の調整を行うことなく総合的リスクスコアの比較を行い、ワクチン製品のタイプと総合的リスクスコアの間に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。ワクチンの品質リスクは一様ではないことから、一律に国家検定を行うのでなく、品質リスクに応じて試験実施頻度や試験項目を設定する考え方は妥当であると考えられた。今後、評価者からの意見を踏まえリスク評価手法の更なる改善に向けた検討が必要である。［加藤篤、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、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及び不活化試験、B型肝炎ワクチンの力価試験、不活化ポリオワクチン（セービン株）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。［加藤篤、落合雅樹；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、染谷雄一、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）］

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。蛍光標識抗原を投与してin vivo イメージング装置を用いて観察したところ、皮内、皮下ともに投与後5日目にかけて抗原が拡散、吸収されることが明らかになった。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎；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、作道隆、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、福冨康夫、塚本裕美子（ハンセン病研究センター）、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

II. 日常管理業務

１．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等、日常管理業務を行った。

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、作道隆、藤本浩文、加藤篤、土田耕三、石井孝司；大舘幸江、福冨康夫、塚本裕美子（ハンセン病研究センター）、梶原志津子（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29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 26件、修正 4件、改訂 75件、廃止 11件、有効SOP数 568通。検査SOP：新規作成0件、修正 0件、改訂 2件、廃止 0件、有効SOP数 53通。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、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、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、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29年度中に作成又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14通であった。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤；西塔哲（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、内田孝子、加藤篤；西塔哲（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29年8月18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、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29年10月25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11月17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；西塔哲、横川靖雄（業務管理課）他］

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；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、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改正告示に対応して、生物学的製剤基準のウェブページを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、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、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13版、第14版及び第15版改正案を作成するのに協力し、それぞれ平成29年10月2日、平成29年11月1日及び平成30年3月1日に一部改正された。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤］

２）第二階層文書の整備

検定検査品質保証委員会が「検定検査業務における機密電子書類の取り扱いについて」第2版案、「検定・検査業務に係るマネジメントレビュー実施手順書」第2版案及び「検定・検査の実施に関わる標準作業手順書（検定等SOP）作成要綱 」第7版案を作成するのに協力し、各文書は一部改正された。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤］

１０．WHOのECBS勉強会の開催と報告

WHOのECBS（平成29年10月17日～20日）で審議予定のガイドライン等に関する勉強会（10月6日）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、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等の情報を集計・解析する副反応アプリの改善を進めた。［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、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、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、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；西塔哲、田中豊（業務管理課）］

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） JICA International Program “Strengthening the National Regulatory Authorities (NRA) for Vaccine’s Quality and Safety”（J1722101, J1722147）（研修員10名；平成30年1月14日～平成30年2月10日）［加藤篤、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、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）；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）；原田勇一（インフルエンザウイルス研究センター）；永田典代（感染病理部）；網康至（動物管理室）；棚林清（バイオセーフティ管理室）］

２．講師参加

１）国立保健医療科学院が実施した短期研修薬事衛生管理研修コースにおいて、「生物学的製剤の品質保証」について講義した。（平成29年5月31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29年11月8日）［落合雅樹］

II. 国際会議参加

１．第3回日中韓ワクチン研究と品質管理に関するシンポジウム（平成29年5月、中国、北京）［加藤篤、落合雅樹；倉根一郎（所長）；浜口功（血液・安全性研究部）；清水博之、染谷雄一（ウイルス第二部）；熊谷優子（国際協力室）］

２．日越ワクチン研究、品質管理に係る総括会議（平成29年7月、ベトナム、ハノイ）［加藤篤；倉根一郎（所長）；花木賢一（動物管理室）；板村繁之（インフルエンザウイルス研究センター）；染谷雄一（ウイルス第二部）；熊谷優子（国際協力室）］

３．Regional Alliance Steering Committee Meeting及び6th Workshop for National Regulatory Authorities in the Western Pacific Region（平成29年8月、フィリピン、マニラ）［加藤篤、落合雅樹、藤田賢太郎］

４．2nd Western Pacific National Control Laboratories Network (WP Lab-Net) Workshop（平成29年9月、韓国、ソウル）［落合雅樹；阿戸学（免疫部）；林昌宏（ウイルス第一部）；野島清子（血液・安全性研究部）］

５．WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議（ECBS；平成29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）］

６．1st general meeting of WHO-National Control Laboratory Network for Biologicals（WHO-NNB；平成29年10月-11月、インド、ノイダ）［加藤篤、落合雅樹］

その他

I. 放射線管理に係る事項

１．昨年度実施された戸山庁舎の管理区域縮小作業に伴い戸山庁舎 放射性同位元素等取扱規則の改訂を行った。改訂された規則は平成29年4月に開催された放射能委員会において承認され、5月から6月にかけて開催された放射線業務従事者継続講習会において従事者に周知された。［加藤篤、本田尚子、作道隆、藤本浩文、鈴木寿子、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

２．平成29年4月18日に放射線障害防止法第12条の9および10に基づく定期点検、および定期確認を受け、定期検査合格証（放検発28確第9号）および定期確認証（放確発2017確第9号）が公布された。［加藤篤、本田尚子、作道隆、藤本浩文、鈴木寿子、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

３．昨年度実施された戸山庁舎の管理区域縮小作業に引続き、本年度も地上1階、地下1階（国立健康・栄養研究所区画を含む）、地下2階の放射線管理区域の解除作業を行なった。放射線障害防止法第10条の2に基づき平成29年12月20日に変更承認申請書を原子力規制委員会に提出し、平成30年1月24日に承認証が交付された。［加藤篤、本田尚子、作道隆、藤本浩文、鈴木寿子、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

４．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29年6月）を受講した。［塚本裕美子（ハンセン病研究センター）］

５．戸山、村山、ハンセン研の関係者で構成されるRI 3施設協議会（平成29年7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。［加藤篤、本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田

耕三、石井孝司；大舘幸江、福冨康夫、塚本裕美子（ハンセン病研究センター）、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

６．戸山庁舎の安全連絡協議会（平成29年9月、平成30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、作道隆、本田尚子、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

７．ハンセン病研究センターの安全連絡協議会 （平成30年2月）に出席し、委員に放射線管理の状況を説明した。［加藤篤；福冨康夫、塚本裕美子、大舘幸江（ハンセン病研究センター） 、梶原志津子（総務部・研究支援係）］

８．村山庁舎施設運営連絡協議会 （第13回平成29年7月、第14回平成30年3月）に出席し、必要に応じて委員に放射線管理の状況を説明した。［加藤篤、土田耕三、石井孝司（ウイルス第二部）］

９．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、作道隆、藤本浩文、脇田隆字（副所長）］

１０．平成31年の法改正に伴い、特定放射性同位元素に対する防護措置の法令改正に係る説明会（平成29年9月）に出席した。［本田尚子、作道隆、藤本浩文、加藤篤、石井孝司（ウイルス第二部）；塚本裕美子（ハンセン病研究センター）］

１１．放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律の法令改正説明会（平成30年2月）に出席した。［本田尚子、作道隆、石井孝司（ウイルス第二部）；塚本裕美子（ハンセン病研究センター）］

II. 信頼性保証に係る事項

１．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：2 機関、国内：2 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) Tamura M, Kageyama D, Honda N, Fujimoto H, Kato A. Enzymatic activity necessary to restore the lethality due to *Escherichia coli* RNase E deficiency is distributed among bacteria lacking RNase E homologues. PLoS ONE, 12(5): e0177915, 2017

2) Fujita K, Naito S, Ochiai M, Konda T, Kato A. A comparative study on the lot release systems for vaccines as of 2016. Jpn J Infect Dis, 70(5): 565-570, 2017

２． 和文発表

1) 倉光球、大隈和、落合雅樹、中村徹、遠藤章、阿武啓嗣 、菅原理明、渡邉嘉治、小西久郎、内田早苗、浜口功、血液凝固第 VIII 因子および第 IX 因子国内標準品の力価測定：多施設共同研究、日本輸血細胞治療学会誌、64(1)、79-83、2018

II. 学 会 発 表

１． 国際学会等

1) Mori S, Honda N, Kim H, Rimbara E, Shibayama K. The development of novel structure based inhibitors of a diadenosine phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis*. International Union of Microbiological Societies, Singapore, July, 2017

２． 国内学会等

1) 藤本浩文，生田統悟，小池亜紀，小池学：計算化学的手法を用いた Ku70 のアセチル化の効果の解析、日本放射線影響学会第 60 回大会、千葉、10 月、2017

2) 兒玉賢洋、高瀬一郎、内藤誠之郎：ワクチンイノベーションーマイクロニードルの開発、日本印刷学会第 138 回研究発表会、京都、12 月、2017

3) 奥野英雄、佐藤弘、森野紗衣子、新井智、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤、大石和徳、多屋馨子、

予防接種法に基づき医療機関から報告されたBCGワクチン接種後の副反応疑い報告、第21回日本ワクチン学会学術集会、福岡、12月、2017

4) 森野紗衣子、佐藤弘、奥野英雄、新井智、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤、大石和徳、多屋馨子、医療機関より届け出られた予防接種後副反応疑い報告における血小板減少性紫斑病症例の検討、第21回日本ワクチン学会学術集会、福岡、12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29年４月から平成30年３月までに、47カ国から224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29年４月から平成30年３月までに、48カ国420名の派遣を行った(別表 2)。

また外国政府機関との協力については、関係国との国際シンポジウムの開催を行っており、その概要は以下のとおりである。

１．外国機関との連携協力

(1) 各国との感染症協力体制

ア MOUの締結

(ｱ) 平成29年５月８日　中国食品医薬品検定研究院（NIFDC)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。

(ｲ)平成29年10月11日　タイ・国立生物製剤品質管理研究所（IBP）との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。

イ シンポジウム開催

(ｱ)　平成29年５月8-9日　中国・中国食品医薬品検定研究院（NIFDC)と韓国国立医薬品食品評価研究所（NIFDS）と第３回ワクチン品質管理及び研究に関するシンポジウムを開催（中国・NIFDCにて、中国NIFDC、韓国NIFDS,及び感染研の三機関からワクチンの品質管理に関する専門家が参加し、インフルエンザワクチン、不活化ポリオワクチン、及び手足口病ワクチンなどに関する各機関の取り組み状況について、発表と討議を行った)。

(ｲ)　平成29年９月5-6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 14 回日本―台湾感染症シンポジウムを開催(東京・NIIDにて、有害節足動物病、侵襲性細菌および真菌感染症、ウイルス性肝炎、予防接種後副反応疑い報告および予防接種後健康被害救済制度、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。)。

(ｳ) 平成29年11月７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(CDC)、韓国国立感染症対策センター(CDC)〕の第11回日中韓感染症フォーラムを開催(韓国・ソウルにて、韓国CDC、中国CDC、及び感染研の三機関から感染症対策、研究等に携わる専門家が参加し、デング熱・ジカ熱、SFTS・インフルエンザ、及び感染症対策に関

する各機関の取り組み状況について、発表と討議を行った。)。

ゥ 外国機関へのワクチン株供与

平成 29 年 3 月ベトナム社会主義共和国 保健省国立ワクチン及び生物製剤研究所 (NICVB)、ベトナム国内の標準品の値付けを行うため「標準沈降ジフテリアトキソイド」を供与。

ェ 共同研究報告会ほか

平成 29 年 8 月 22-23 日　ベトナム国立衛生疫学研究所 (NIHE) との共同研究ワークショップを感染研にて開催。

2．国際協力・研修業務

(1) JICA の研修への協力

ァ 集団研修

(ァ) 平成 29 年 6 月 5 日-7 月 14 日　「HIV を含む各種感染症コントロールのための検査技術とサーベイランス強化」(7 カ国・12 名・エイズ研究センター、感染症疫学センター、バイオセーフティ管理室)。

(ィ) 平成 30 年 1 月 15 日-2 月 9 日　「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研修」(4 カ国＋WHO Philippines、WPRO・9 名・ウイルス第二部、ウイルス第三部、細菌第二部、感染病理部、バイオセーフティ管理室、動物管理室、感染症疫学センター、病原体ゲノム解析研究センター、インフルエンザウイルス研究センター)

(ゥ) 平成 30 年 1 月 15 日-2 月 9 日　「ワクチンの品質・安全性確保のための国家検定機関強化」(2 カ国＋WHO・11 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、品質保証・管理部、バイオセーフティ管理室、動物管理室、インフルエンザウイルス研究センター)

ィ 集団研修フォローアップ

平成 29 年 9 月 3-9 日　ミャンマー連邦共和国における「HIV を含む各種感染症コントロールのための検査技術とサーベイランス強化」のフォローアップ調査(エイズ研究センター職員 2 名)

ゥ その他研修

(ァ) 平成 29 年 5 月 25 日　「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」(ザンビア国 6 名･感染症疫学センター)

(ィ) 平成 29 年 8 月 14 日　「地域保健システム強化による感染症対策コース A」(5 カ国・8 名・寄生動物部、感染症疫学センター)

(ゥ) 平成 29 年 9 月 8 日　「感染症対策研修」(6 カ国・8 名・感染症疫学センター)

(ェ) 平成 29 年 9 月 19-22 日　「重症感染症などのアウトブレイク対応強化のための実地疫学 (管理者向け)」(9 カ国・14 名・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、感染症疫学センター、ウイルス第一部、細菌第二部)

(ォ) 平成 29 年 10 月 2 日　「地域保健システム強化による感染症対策コース B コース」(10 カ国・12 名・寄生動物部、感染症疫学センター)

(ヵ) 平成 30 年 1 月 26 日　「包括的なウイルス肝炎対策」(3 カ国・9 名・ウイルス第二部)

(2) JICA 技術プロジェクト等への協力

ァ ベトナム国における「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」

(ァ) 派遣

① 平成 29 年 4 月 18-22 日　バイオセーフティ管理室、ハンセン病研究センター感染制御部　職員 2 名

② 平成 29 年 8 月 23 日-9 月 8 日　バイオセーフティ管理室　職員 1 名

③ 平成 29 年 11 月 5-11 日　バイオセーフティ管理室　職員 1 名

④ 平成 30 年 1 月 17-23 日　バイオセーフティ管理室　職員 1 名

ィ ナイジェリア連邦共和国における「公衆衛生上の脅威の検出及び対応強化プロジェクト」GHSA/IHR 合同外部評価への調査

(ァ) 派遣

平成 29 年 6 月 9-22 日　ウイルス第一部　職員 1 名

ゥ ナイジェリア連邦共和国における「BSL3 検査室整備」事前調査

(ァ) 派遣

平成 29 年 8 月 12-20 日　バイオセーフティ管理室　職員 2 名

ェ ナイジェリア連邦共和国における「NCDC 案件への無償援助協力」準備調査 、技術協力詳細計画策定調査

(ｱ) 派遣

平成 29 年 8 月 12-27 日　ウイルス第一部　職員 2 名

ｫ ガーナ共和国における「SATREPS プロジェクト・感染症サーベイランス体制強化とコレラ菌・HIV 等の腸管粘膜感染防御に関する研究」

(ｱ) 派遣

① 平成 29 年 8 月 22 日-9 月 6 日　研究打合せ及び共同研究実験　エイズ研究センター　職員 1 名

② 平成 29 年 11 月 18-29 日　外部専門家としてサーベイランスの評価・助言を実施　感染症疫学センター　職員 2 名

ｶ コンゴ民主共和国における「新興感染症対策能力強化プロジェクト」の調査団員

(ｱ) 派遣

平成 29 年 10 月 7-22 日　ウイルス第一部　職員 2 名

ｷ インドネシア共和国における「感染症の早期警戒警報対応システム運用強化プロジェクト」 詳細計画策定調査団

(ｱ) 派遣

平成 29 年 12 月 17-21 日　感染症疫学センター　職員 1 名

(3)国際緊急援助隊への協力

ｱ 派遣

なし

ｲ 研修

（１）導入研修　平成 29 年 9 月 16-18 日(感染症疫学研究センター)

（２）リーダーシップ研修　平成 29 年 9 月 19 日（感染症疫学研究センター）

(4)その他研修協力

ｱ 名古屋大学大学院

(ｱ) 平成 29 年 6 月 21 日　「ヤング・リーダーズ・プログラム」(9 カ国・14 名薬剤耐性菌研究センター)

ｲ 厚生労働省健康局結核感染症課

(ｱ) 平成 29 年 7 月 31 日から 8 月 4 日　WHO/GAP Ⅲトレーニングコース（WHO 講師 4 名、バイオセーフティ管理室）

ｳ 科学技術振興機構（JST）

(ｱ) 平成 29 年 9 月 20-29 日　「アジア地域における感染症疫学若手研究者交流事業」(6 カ国・10 名・企画調整主幹、感染症疫学センター)

ｴ 厚生労働省 医政局総務課 医療国際展開推進室

(ｱ) 平成 29 年 11 月 7 日　「ASEAN 諸国に対する人材育成研修・(シンガポール保健省「感染症の予防・調整・対策」に関連する研修)」(シンガポール 4 名・薬剤耐性菌研究センター、感染症疫学センター)

３．国際機関及び外国政府機関等との協力の調整

(1) WHO・WPRO 関連調整

ｱ会議等開催

(ｱ) 平成 29 年 10 月 31 日-11 月 1 日　第 20 回ポリオ研究会議を開催（ウイルス第二部)。

(ｲ) 平成 29 年 11 月 21-22 日　第 8 回 WHO 世界特別および地域レファレンス日本脳炎ラボラトリー西太平洋地域非公式会議開催（ウイルス第一部、ウイルス第二部、昆虫医科学部、感染症疫学センター)

ｲ 会議等派遣

(ｱ) 平成 29 年 4 月 9-12 日参加　第６回 GISRS のための抗ウイルス薬感受性サーベイランスに関する WHO 専門家グループ会議（香港・1 名）

(ｲ) 平成 29 年 4 月 18-22 日　西太平洋地域における麻疹及び風疹排除に関するコンサルテーション会議（フィリピン・1 名）

(ｳ) 平成 29 年 4 月 24-28 日　第 11 回 WHO 西太平洋地域事務局・南東アジア事務局地域のナショナルインフルエンザセンターとインフルエンザサーベイランスに関する会議（マレーシア・3 名）

(ｴ) 平成 29 年 5 月 7-12 日　パンデミックインフルエンザワクチン製造、品質管理のためのバイオセーフティのリスク評価およびガイドライン改訂に関する会議（スイス・1 名）

(ｵ) 平成 29 年 5 月 27-6 月 3 日　西太平洋地域ナショナルインフルエンザセンターのスタッフを対象としたウイルス分離・性状解析に関するトレーニングコースに研修講師として参加（オーストラリア・1 名）

(ｶ) 平成 29 年 6 月 5-10 日　WHO コラボレーションセンター長間における研究打合せ及び、

第3回パンデミック初期におけるインフルエンザワクチン対策会議（スイス・1名）

(ｷ) 平成29年6月11-17日　第26回世界保健機関西太平洋地域事務局（WPRO）のワクチン接種に関する技術委員会及び事前会議（フィリピン・4名）

(ｸ) 平成29年6月25日-7月1日　第15回WHO世界麻疹風疹実験室ネットワーク会議（スイス・1名）

(ｹ) 平成29年7月10-14日　WHO西太平洋地域事務局が主催するAPSED(Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases（アジア太平洋地域における新興感染症への対処方針に関する）参加（フィリピン・2名）

(ｺ) 平成29年7月10-15日　ERL（主要品質管理研究室)関係者会議および第24回WHO ERLs、インフルエンザワクチンメーカーNIBSC 会議（英国・1名）

(ｻ) 平成29年7月11-22日　WHOインフルエンザ流行予測モデル開発会議、第24回WHO ERLs､インフルエンザワクチンメーカーNIBSC会議、世界インフルエンザセンター会議、及びパンデミックインフルエンザ対策会議に出席（英国/スイス・1名）

(ｼ) 平成29年7月16-21日　WHOナショナルインフルエンザセンター会議（スイス・1名）

(ｽ) 平成29年7月16-29日　WPRO FETP フェローシップ・プログラムにおける研修用ビデオ作成に参加（フィリピン・1名）

(ｾ) 平成29年7月30日-8月5日　WHO西太平洋および東南アジア地域共同日本脳炎､ジカ、その他のアルボウイルスの診断に係るワークショップに参加（フィリピン・1名）

(ｿ) 平成29年8月21-24日　WHOで開催されるグローバル・ベンチマーキングツールレビューに参加（スイス・1名）

(ﾀ) 平成29年8月28-9月1日　WPRO域内連携運営会議および第6回ワクチンに関する規制当局ワークショップに参加(フィリピン･3名)

(ﾁ) 平成29年9月13-16日　ベトナムにおけるウイルス性肺炎に関するサーベイランスレビューに参加（ベトナム・1名）

(ﾂ) 平成29年9月18-21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）

(ﾃ) 平成29年9月18-21日　第7回人獣共通感染症に関するワークショップに参加（フィリピン・2名）

(ﾄ) 平成29年9月23-30日　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、サーベイランス対応システム主要研究機関会議（オーストラリア・3名）

(ﾅ) 平成29年9月25-30日　第7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・5名）

(ﾆ) 平成29年9月30日-10月8日　GOARN(地球規模感染症に対する警戒と対応ネットワーク）トレーニングプログラムへ参加（フィリピン・1名）

(ﾇ) 平成29年10月8-12日　ポリオ実験室診断小委員会会議（英国・1名）

(ﾈ) 平成29年10月15-21日　WHO生物学的製剤の標準化に関する専門家委員会 2017 参加（スイス・3名）

(ﾉ) 平成29年10月30日-11月3日　生物学的製剤の国立試験検査機関ネットワーク会議（インド・2名）

(ﾊ) 平成29年10月30日-11月3日　第19回WHO 痘瘡ウイルス研究アドバイザリーコミティーに参加（スイス・1名）

(ﾋ) 平成29年10月31日-11月4日　ジフテリアサーベイランス基準に関する専門家会議（ポルトガル・1名）

(ﾌ) 平成29年11月22日-12月2日　オーストラリアにおける IHR（国際保健規則）の共同外部評価活動に参加(オーストラリア･1名)

(ﾍ) 平成29年12月11-17日　BSL-4ラボラトリーネットワークに関する諮問会議（フランス・1名）

(ﾎ) 平成29年12月17-22日　WHO専門家会議（GISRSを用いたRSウイルスのサーベイランスに　関する会議（米国・1名）

(ﾏ) 平成30年1月23-28日　WHO世界麻疹風疹実験室ネットワーク取りまとめ役技術会議（米国・1名）

(ﾐ) 平成30年2月18-25日　北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、サーベイランス対応システム主要研究機関会議参加(スイス･3名)

(ﾑ) 平成30年2月19-22日　WHO/SEAROが主催

する薬剤耐性菌サーベイランス会議(インド・2名)

(ﾒ) 平成30年2月19-24日　WHOの核酸ワクチンに関する協議会議（スイス・1名）

(ﾓ) 平成30年2月25日-3月1日　第9回薬剤耐性に関する戦略的、技術的諮問グループ会議（スイス・1名）

(ﾔ) 平成30年3月10-17日　ポリオ実験室診断小委員会会議および第 24 回ポリオ実験室ネットワーク非公式会議（スイス・1名）

(ﾕ) 平成30年3月24-30日　WHOブルーリ潰瘍に関する会議に出席し発表及び討論、協議に参加（スイス・1名）

ｳ WHOフェローシップ受入

なし

ｴ WHO/JEE評価団による視察

平成30年2月27日にWHO/JEE（Joint External Evaluation)評価団による視察が行われた(ウイルス第一部、細菌第一部、真菌部、バイオセーフティ管理室、インフルエンザウイルス研究センター、薬剤性生研究センター)

ｵ 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。

(2) OECDによるパブリックヘルスレビュー評価者による視察

平成30年2月22日にOECD(経済協力開発機構)によるパブリックヘルスレビュー評価者による視察が行われた（感染症疫学センター）

4．その他協力、調整

(1) 国際会議支援(所内開催)

なし

(2) 国内会議支援(所内開催)

なし

(3) 海外の要人来訪

ｱ 平成29年5月10日　英公衆衛生庁 CEO Dr.DANCAN他5名表敬訪問。意見交換。

ｲ 平成29年5月31日　タイ国生物製剤に関する国家検定研究機関（Institute of Biological Products:IBP）副所長 Dr. SUMANA他12名訪問。意見交換。

ｳ 平成29年6月23日　米国福祉保健省　HHS Ms. Elvander他3名訪問。意見交換。

ｴ 平成29年9月15日　米国CDC, Dr. Diana Bensyl他3名訪問。意見交換。

ｵ 平成29年12月13日　アフリカCDC Dr.John Nkengasong 表敬訪問。意見交換。

ｶ 平成30年2月22日　OECD Dr. Charles Baubion他1名の訪問。意見交換。

ｷ 平成30年2月27日　合同外部評価（WHO/JEE）Dr. Mark Salter 他5名訪問。意見交換。

ｸ 平成30年3月2日　米国国務省海洋・国際・環境科学局 副次官補 Dr. Johnathan Margolis 他4名訪問。意見交換。

(4) 感染研セミナー等の開催

なし

Ⅱ．その他の国立感染症研究所所掌事務に係る調整等

1．国際交流事業に係る募集・申請等

日本学術振興会等国際交流事業（外国人研究者招へい、国際学会等派遣に係る募集、申請手続、調整等を行っている。

(1) 外国人特別研究員

(2) 二国間共同研究

2．国際協力連絡・調整等

(1) 実地疫学専門家養成コースに係る調整の他、厚生労働省結核感染症課、JICA、国立保健医療科学院、国立国際医療研究センター等との国際協力連絡・調整等を行っている。

(2) 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

(1) 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。

(2) 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

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を実施した。講義に加えてグローブ・マスク等の個人防護具の着脱方法や手洗い方法についてのデモンストレーションと実技を実施した。また、感染症法における特定二種病原体等取扱者および家畜伝染病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。

感染研３庁舎の封じ込め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。

バイオリスク管理に関する研究業務としては、封じ込め施設における管理運営、世界的ポリオ根絶段階におけるウイルス保管施設のバイオリスク管理の標準化推進するための研究、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、ウイルスの不活化方法の研究を行った。また、ジカウイルスや結核菌ワクチン、ノロウイルスの培養手法の研究を行った。

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や実習に継続して協力し、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への資料提供や確認を行った。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。

感染研各庁舎で開催されている連絡協議会での説明をするとともに、視察や見学者への説明案内を行った。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．厚生労働科学研究(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業/サーベイランスの機能強化に資する病原体の適切な管理と検査体制に関する研究)にて、BSL-４施設の管理者向けに既存の SOP を改訂し、施設稼働の管理、定期検査、セキュリティ強化、BSL-4 施設での病原体取扱者の適正確認、作業者の健康管理、緊急時対応(停電、曝露、設備の不具合、盗取・盗難、地震、火災、その他)、BSL-4 施設に設置される機器等の管理に関するSOP とすることを提言した。

[河合康洋、棚林清]

2. ポリオウイルスの病原体バイオリスク管理の標準化等を推進するための研究

世界的ポリオ根絶最終段階では、ポリオウイルスのバイオリスク管理の徹底が求められており、保管・使用する施設は、WHO GAPIII 基づいて国の認証を受ける必要がある。施設認証の過程では、NAC をサポートし施設査察等を実施する専門家チームを組織する必要があることから、国内査察員候補に対する教育訓練講習会が行われた。GAPIII Annex に含まれるバイオリスク管理標準の内容、国内査察員候補として講習会に参加した。PEF 施設認証に向け、NAC を中心とした施設認証を実施するための専門家チーム、および、PEF 施設認証を受ける側、両方の体制整備が必要とされる。

［棚林清、伊木繁雄、原田俊彦、篠原克明］

3. バイオハザード対策専用防護服の防護性能に関する調査・研究

バイオハザード対策専用防護服の病原体浸透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、関連国際会議など）を行い、ISO 規格の改定や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使用に際して被る種々の負荷条件下における性能耐性評価を行っている。高危険度病原体施設などの特殊環境下で使

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］

4. バイオセキュリティに関する一括管理システムの検討

病原体の登録、保管、輸送、廃棄における一括管理システムの性能検証並びに実使用に関するアンケート調査など実施している。また、国内外の関連情報の収集を行い、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。
［篠原克明］

5. 病原体等の不活性化方法等に関する研究

(1) 食品媒介性および介在性ウイルス不活性化効果の評価法ガイドライン策定にかかる研究

ノロウイルスを想定した代替ウイルスによる不活性化効果の評価法について、昨年度に引き続き代替ウイルスの選定を行い、FCV-F9 および FCV 臨床分離株(消毒剤抵抗性株)に加え、コクサッキーウイルス A6 ウイルスが有力となる結果が得られた。同 B3、B5 についてはエタノールに対する感受性が高いことも示された。
[髙木弘隆]

(2) 臨床検体中の病原体不活化条件の検討

感染症の患者から採取され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。そこで特に取扱いを注意すべき BSL3 のウイルス (SFTS ウイルス、モペイアウイルス、SARS コロナウイルス、MERS コロナウイルス) に関して、熱または UV による不活化条件の検討を行い、その条件を決定した。さらに SFTS ウイルスに関しては実際にウイルスが確認された患者血清を用いて、先に決定した条件 (60℃、1 時間) で処理を行ったところ、一部の試料でウイルスの残存が確認された。そこで熱及び UV を組み合わせた方法での患者血清の不活化を検討している。
[原田俊彦、福士秀悦 (ウイルス一部)]

II. その他の研究

1. ヒトサポウイルス(hSaV)・ヒトノロウイルス(hNoV)培養手法に関する研究

hSaV 培養系確立を目指し、候補となる汎用細胞株数種とサプリメントとを組合せ、培養上清(6 日目)から RNA を抽出し、RT-PCR を実施した。その結果一部の組合せより hSaV 特異的シグナルの増強が確認された。また同様の手法を hNoV で実施したところ、異なる組合せで hNoV-GI でのみ、培養上清での RT-PCR シグナルの増強が確認された。
[髙木弘隆]

2. カニクイザルでの結核ブースターワクチンの評価

無処置群、BCG 接種群および BCG+ブースターワクチン接種群について 2 頭ずつ用い比較した。結核菌感染前に末梢血単核球を採取し、精製ツベルクリンまたは抗原で刺激し、インターフェロンγ産生細胞数を ELISPOT 法により調べた結果、無処置群に比べ、BCG 接種群、さらにブースターワクチン接種群がより多いことが分かった。一方、感染 3 ヶ月後に剖検し肺、脾臓の残存菌数の測定を行った。一部雑菌汚染のため正確な残存菌数は得られなかったが、ワクチン接種群では、結核菌数の抑制傾向がみられた。
［山﨑利雄、前山順一（血液・安全性研究部）、林大介、山本十糸子、山本三郎、岡林佐知、向井徹（感染制御部）、網康至（動物管理室）；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の免疫条件の検討

DBA/2 マウスにおいて、無処置群と BCG 投与群の間に結核菌感染後の残存菌数に有意差が認められたので、これを指標にこのマウスを用いて免疫条件の検討を行うこととなった。無処置群、BCG 単独投与群および BCG+ブースターワクチン接種群について感染実験を行ったところ、BCG 単独投与群に比べ BCG+ブースターワクチン接種群で残存結核菌数の有意な低下が認められた。
［山﨑利雄、前山順一（血液・安全性研究部）、林大介、山本十糸子、山本三郎（感染制御部）、網康至（動物管理室）］

4. 生息地域の異なるジカウイルスアジア型臨床分離株における性状比較

ジカウイルス(ZIKV)は分子系統学的にアフリカ系統とアジア系統に大別され、さらにアジア系統は 3 つの亜型（東南アジア亜型、太平洋諸島亜型、アメリカ大陸亜型）に細分される。アジア系統による近年の流行では、性感染や母子感染、それに伴う胎児への先天性障害など、これまでに報告のなかった特徴がみられているが、このことと亜型との関連性については不明である。本年度は、in vitro での各亜型の臨床分離株について増殖性・病原性解析を行い、株間でそれらの性状を比較した。
［河合康洋、中山絵里、加藤文博、谷口怜、前木孝洋、田島茂、西條政幸、林昌宏(ウイルス第一部)］

5. ヤマカガシ及びセアカゴケグモ抗毒素の力価試験、品質管理試験、およびＧＬＰ準拠の非臨床試験

2000 年に厚生労働研究班によって作成されたヤマカガシ抗毒素は製造から 16 年を経過している。市販の抗毒素製剤の場合、本邦では 10 年の試用期間を設定しているが、それに比較しても 7 年さらに経過している。そこで、製造後の品質の担保のために品質管理試験を実施した。ヒト血漿を用いたヤマカガシ毒素の血液凝固活性を抑制する抗毒素の活性測定することで、抗毒素の力価の減衰度を確認し、十分な力価を有することを確認した。

さらに、本研究班で製造した国産セアカゴケグモ抗毒素について、承認薬としての申請に向けて昨年度開始した GLP 準拠の非臨床試験の内、未実施の静脈内反復投与試験(1)の実施し、安全性を確認した。
[山本明彦、高橋元秀、山根一和、堺　淳、一二三亨]

6. コリネバクテリウム・ウルセランスのリスク評価に関する研究

*Corynebacetrium ulcerans*は、ジフテリア類似の症状を呈する人獣共通感染症の原因菌であり、ジフテリアの報告例がない2001年以降、20例を数えている。感染経路としてイヌ，ネコが疑われるが野生動物からも菌が分離されるため、伝播経路の解

明が課題である。2017年度の患者発生数は7症例で、呼吸器症状が5例、2例が大腿部や下顎の膿瘍であった。そのすべてで患者は猫を複数匹飼育しており、その猫からも本菌が分離された。
[岩城正昭(細菌第二部)、山本明彦]

国際協力関係業務

1. ナイジェリア国公衆衛生上の脅威の検出及び対応強化プロジェクト

JICA 国際技術協力の一環として、ナイジェリア国公衆衛生上の脅威の検出及び対応強化プロジェクトに短期専門家として参加した。ナイジェリア国内(NCDC、CPHL、LUTH)の施設、設備、および運営状況を調査した結果、新規 BSL3-検査施設建設の必要があり、その施設建設計画、および運用について検討を行った。
[河合康洋、篠原克明]

研修業務

1. 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

新規病原体等取扱者を対象として 2 ヶ月毎と臨時の講習会を実施し 146 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、また、管理室研究官がバイオセーフティの実践についての講義を行った(表 2)。個人防護具（PPE）の脱着の仕方や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、7 回開催し 8 名の受講者があった(表 3)。継続して病原体等の取り扱いを行う者を対象の講習は 2 年毎に実施しており、29 年度は表１に示すように開催した。

表 1 平成 29 年度新規・継続取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数*	継続者受講者数
4 月 10 日	37	—
5 月 9 日	—	421
5 月 24 日	—	115
5 月 25 日	—	73
6 月 12 日	29	—
7 月 21 日	—	8
7 月 24 日	—	7
8 月 8 日	26	2
9 月 22 日	5	—
10 月 16 日	12	—
12 月 4 日	14	—
12 月 11 日	3	—
2 月 2 日	30	—
計	146	626

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	原田、河合、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 29 年度　外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
5 月 15 日	2
9 月 11 日	1
11 月 2 日	1
12 月 5 日	1
1 月 24 日	1
1 月 26 日	1
3 月 9 日	1
計	8

2. 特定病原体等および家畜伝染病病原体等取扱者講習会

感染症法における特定一種および二種病原体等の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等にについて講習会を実施した。また、家畜伝染病予防法における家畜伝染病病原体取扱者を対象に病原体の所持規制等に関する講習会を実施した。
［棚林清］

3. 特別管理区域講習会

戸山庁舎、村山庁舎およびハンセン病研究センターの保守・警備担当者を対象にして講習会を実施した。
［棚林清］

４．各種所内での研修講義・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) 第 39 回ハンセン病医学夏期大学講座
バイオセーフティとバイオセキュリティについての講義を行った。
［伊木繁雄］
5. 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）。（厚生労働省主催）
［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
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。（厚生労働省主催）
［伊木繁雄、棚林　清］
(3) 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］
(4) 横浜検疫所　緊急時対応訓練を視察すると共に検査業務上のバイオリスク管理に関する運用面の問題点に関する助言を行った。
[河合康洋、棚林清]
(6) 関東管区警察学校危険物取り締まり専科研修
危険物の取締り及び行政事務に従事する警部補、巡査部長等担当官に対し、微生物に関する基礎知識、病原体の安全管理及び病原体の消毒に関する講義ならびに個人防護具着脱と病原体処理についての実習を行った。
［伊木繁雄］
(7) 大学等の機関でのバイオリスクに関する講習
東京理科大学第８回病原性微生物等安全管理のための講習会、日本ウイルス学会北海道支部　第51回夏季シンポジウム、平成 29 年度バイオセーフティ技術講習会 主任管理者コース（バイオメディカルサイエンス研究会主催）、帝京大学、医薬基盤研など依頼によりにおいて病原体取扱時のリスクと対策や病原体等の輸送についての講義を行った。
［伊木繁雄・棚林清］

安全管理、教育および情報提供等に関する業務

I.　BSL3、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 29 年 9 月 30 日、村山庁舎: 平成 29 年 7 月 29 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。昨年度と同様に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もらった。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もらった。

一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。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を体験してもらった。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もらった。
［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。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。

［原田俊彦、河合康洋、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］

Ⅵ. 精度管理事業

厚生労働省外部精度管理事業は、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に基づき感染症の患者の検体又は当確感染症の病原体の検査を行う施設において実施する検査に関して、外部精度管理を行い、調査結果の評価・還元等を通じて制度管理の取り組みを促進し、病原体等検査の信頼性を確保することを目的として行われている。本年度は課題１としてインフルエンザウイルス(核酸)、課題 2 として腸管出血性大腸菌を応募のあった検査施設へ送付した。本事業では、検体の適切な輸送容器を選定するとともに輸送方法に送付されているかチェックシートを用いて確認を行った。

[原田俊彦、河合康洋、棚林清]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Shimasaki, N., Shinohara, K., Morikawa, H. : Performance of Materials Used for Biological Personal Protective Equipment against Blood Splash Penetration. Industrial Health, 2017, 55, 521-528.

2) Kawai Y, Oda A, Kanai Y, Goitsuka R. Germ cell-intrinsic requirement for the homeodomain transcription factor PKnox1/Prep1 in adult spermatogenesis. PLoS One. 2018 Jan 2;13(1):e0190702

3) Kato F, Tajima S, Nakayama E, Kawai Y, Taniguchi S, Shibasaki K, Taira M, Maeki T, Lim CK, Takasaki T, Saijo M. Characterization of large and small-plaque variants in the Zika virus clinical isolate ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016. Sci Rep. 2017 Nov 23;7(1):16160.

4) Hifumi T, Yamamoto A, Ato M, Sawabe K, Morokuka K, Morine N, Kondo Y, Noda E, Sakai A, Takahashi J, Umezawa K: Clinical serum therapy: benafits, cautions, and potential applications., The Keio Journal of Medicine,66(4):57-64,2017.

5) Mori S, Horita A, Ginnaga A, Miyatsu Y, K, Takayuki Matsumura T, Ato M, Yamamoto A, Shibayama K, Arai S, Yamagishi T, Takahashi M, Taki H, Hifumi T: Venom and antivenom of red back spider (*Latrodectus hasseltii)* in Japan. II. Experimentally production of equine antivenom of red back spider JJID vol. 70 (6): 635-641, 2017.

6) Matsumura T, Mashiko R, Sato T, Itokawa K, Maekawa Y, Ogawa K, Isawa H, Yamamoto A, Mori S, Horita A, Ginnaga A, Miyatsu Y, Takahashi M, Taki H, Hifumi T, Sawabe K, Ato M: Venom and antivenom of red back spider (*Latrodectus hasseltii)* in Japan. I. Venom extraction, preparation, and laboratory testing. JJID vol. 71 (2): 116-121, 2018.

7) Otsuji K, Fukuda K, Endo T, Shimizu S, Harayama N, Ogawa M, Yamamoto A, Umeda K, Umata T, Seki H, Iwaki M, Kamochi M and Saito M. The first fatal case of *Corynebacterium ulcerans* infection in Japan. JMM, 4: , 2017. Aug 4(8): 10.1099/jmmcr.0.005106.

8) Torii Y, Sugimoto N, Kohda T, Kozaki S, Morokuma K, Horikawa Y, Ginnaga A, Yamamoto A, Takahashi M: Clinical study of new tetravalent (Type A, B, E, and F) boturinum toxoid vaccine derived from M toxin in Japan. JJID 70: 423-429, 2017.

9) Komori Y, Hifumi T, Yamamoto A, Sakai A, Ato M, Sawabe K, Nikai T: Comparative Study of Biological Activities of Venom from Colubrid snakes *Rhabdophis tigrinus* (Yamakagashi) and *Rhabdophis lateralis*. Toxins, 9(11): 373-382, 2017.

10) Kitamoto T., Takai-Todaka R., Kato A., Kanamori K., Takagi H., Yoshida K., Katayama K., and Nakanishi A. Viral Population Changes during Murine Norovirus Propagation in RAW 264.7 cells. Frontiers in Microbiology vol. 8 June 2017

11) Yokoyama M, Oka T., Takagi H., Kojima H., Okabe T., Nagano T., Tohya Y. and Sato H. A Proposal for a Structural Model of the Feline Calicivirus Protrase Bound to the Substrate Peptide under Physiological Conditions. Frontiers in Microbiology, vol. 8 July 2017

2. 和文発表

1) 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 の抗結核薬感受性、結核 92:441-445、2017

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Maeyama J, Hayashi D, Yamamoto T, Yamazaki T, Suzuki F, Ozeki Y, Sohkichi M, Iho S and Yamamoto S, Phosphodiester-linked new oligodeoxynucleotide promotes vaccine ability to tuberculosis, The U.S.-Japan

Cooperative Medical Sciences Program, 52th Mycobacteria Panel Meeting, March 15-16, 2018, Niigata

2）Hayashi D, Maeyama J, Yamamoto1 T, Yamazaki T, Mukai T, Tamura T, Okabayashi S, Suzuki F, Ozeki Y, Yokoyama A, Suzaki Y, Ami Y, Goto Y, Iho S, Matsumoto S and Yamamoto S, The effects of the booster vaccine composed of MDP1 and G9.1 against tuberculosis in cynomolgus monkeys, The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 52th Mycobacteria Panel Meeting, March 15-16, 2018, Niigata

2. 国内学会

1) 伊木繁雄、棚林清 病原体輸送時のヒヤリハットに関する調査　第17回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2017年12月、川崎

2) 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310回クリーンテクノロジー研究会、2017年4月、東京

3）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 17 回日本バイオセーフティ学会　総会・学術集会、2017年12月、川崎

4）篠原克明、嶋崎典子、森川英明 : マスク素材等の感染性粒子浸透防護性能に関する考察、2017年度　呼吸保護に関する研究発表会、国際呼吸器保護学会・日本呼吸用保護具工業会、2017年12月、東京

5) 篠原克明 バイオセーフティとは、第33回　日本環境感染学会総会・学術集会、シンポジウム９　医療機関・行政におけるバイオセーフティを考える、2018年2月、東京

6) 篠原克明　生物学的危険物質に対する防護服規格に関する現状（ISO/TC94/SC13 WG6 東京会議報告）、　第15回　日本防護服協議会　学術総会、2018年2月、東京

7) 山本三郎、林大介、山本十糸子、小山明、前山順一、網康至、須崎百合子、向井徹、岡林佐知、田村敏生、山崎利雄、松本壮吉、尾関百合子、伊保澄子、後藤義孝、新規結核菌抗原MDP1とCpG ODN G9.1アジュバントからなる結核ブースターワクチンのカニクイザルに対する有効性の検討、第21回日本ワクチン学会学術集会、2017年12月、福岡市

8) 前山順一、林大介、山本十糸子、向井徹、岡林佐知、田村敏生、山崎利雄、尾関百合子、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎、カニクイザルを用いたMDP1とG9.1からなる結核ブースターワクチン候補の有効性評価、第91回日本細菌学会総会、2018年3月、福岡市

9) 沢辺京子, 益子玲於奈, 前川芳秀, 小川浩平, 糸川健太郎, 佐藤智美, 伊澤晴彦, 津田良夫, 小林睦生, 松村隆之, 阿戸 学, 山本明彦, 一二三 亨、国産セアカゴケグモ抗毒素の試験製造、第69回日本衛生動物学会、2017年4月、長崎

10) 一二三亨、山本明彦、諸熊一則、盛根信也、血清療法、第45回日本集中治療医学会、2018年2月、幕張

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(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　静岡

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
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宮城

13) 髙木弘隆、永田文宏、上間匡、野田衛　食品媒介性ウイルス及び介在性ウイルスに関する不活性化評価手法の策定に向けた検討(1)　第38回日本食品微生物学会 学術総会、2017年10月、徳島

14）髙木弘隆　機能水(酸性電解水)の殺菌・不活性化評価にかかる標準化　～その実現にむけて必要なこと・考え方～　機能水学会 第16回学術大会 教育講演4　2017年11月、横浜

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実験の障害になるような特定の病原体が存在しないこと（SPF）を保証するための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、及び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とA型肝炎ウイルス感染マウスモデルの確立、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行っている。

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」の第 41 条において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、環境省の「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。そして、戸山庁舎とハンセン病研究センターの動物実験実施体制は所外の有識者による第三者検証、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による外部認証を受けている。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感染研へ依頼される施設見学と施設管理研修を受け入れている。主なものとして、平成 29 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、国立保健医療科学院「医師卒後臨床研修」、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、感染動物実験におけるバイオセーフティ等を解説している。実技講習は、国内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視聴により行っている。平成 29 年度新規受講者は 78 名、新規動物実験計画書の承認は 404 件（前年度からの継続分を含む）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及び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 30 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 248 人、村山庁舎 274 人、ハンセン病研究センター28 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（7,260 匹）、ラット（197 匹）、モルモット（190 匹）、ウサギ（39 羽）、スナネズミ（8 匹）、ハムスター（8 匹）、フェレット（55 匹）、ネコ（7 匹）、霊長類（149 匹）、ニワトリ（10 羽）である。

施設利用及び動物実験講習会　受講実績

		受講者数(すべて新規)			
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12日	戸山	12			15
5月15日	*戸山*	*2*			*2*
5月25日	ハンセン			1	
5月26日	ハンセン			1	
6月 14日	戸山	11			18
6月 14日	ハンセン			1	
6月 15日	ハンセン			1	
6月 30日	村山		3		
8月4日	戸山	4			0
9月4日	*戸山*	*1*			*1*
9月 30日	村山		1		
10月4日	戸山	9			16
10月27日	村山				1
11月1日	戸山	2			2
11月17日	ハンセン			1	
12月4日	*戸山*	*1*			*1*
12月28日	村山		5		
2月 1日				3	
2月13日	*戸山*	*1*			*1*
2月 20日	戸山	9			20
3月9日	*村山*				*1*
3月31日	村山		1		
合計		52	10	8	78

(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おとり動物を配置し、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で陽性例を認めるが、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る。そのため、免疫不全動物を用いる実験以外では許容される。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、結城明香、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、施設利用者の依頼を受けて受精卵と精子の凍結保存、胚移植による個体復元及び胚移植または自然妊娠マウスの帝王切開によるクリーニング(SPF化)の支援業務を行っている。平成29年度は16系統の依頼があり、受精卵と精子の凍結保存、個体復元、及びクリーニングを実施した。(田原口元子、花木賢一)

3. ニューモシスチス(*Pneumocystis* sp.)清浄化の試み

平成29年11月にハンセン病研究センター動物実験施設で飼育中の免疫不全マウス(C57BL/6 Rag1 KO)で衰弱死が散発し、検査の結果、真菌の一種である*Pneumocystis* sp.に感染していることが判明した。*Pneumocystis* sp.の排除にはネオマイシン投与が有効であるという情報から、ネオマイシン添加水をマウスに与えて定期的に検査を行った。ネオマイシン投与開始後に生まれたマウスでは *Pneumocystis* sp.感染が認められず、ネオマイシンが有効である可能性が示唆された。現在、当該マウスの飼育を戸山庁舎動物実験施設で継続し、ネオマイシンの効果を確認している。[滝本一広、花木賢一;星野仁彦、河喜多智美、田村敏生、阿戸　学(感染制御部)]

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(MNV)持続感染細胞に関する研究

MNV持続感染細胞において、ウイルスが複製していることを証明するために、抗MNVマウス血清とウイルスの複製中間体として形成される二本鎖RNAを認識するJ2モノクローナル抗体を用いて蛍光二重染色を行った。何れの抗体もマウス由来であることから、はじめに抗MNV抗体は蛍光色素標識抗マウスIgG抗体を用いた間接標識、J2抗体は蛍光色素のスクシニミジルエステルによる直接標識を行った。しかし、後者の蛍光シグナルは弱く、顕微鏡観察が困難であった。そこで、J2抗体の蛍光色素標識を Zenon®フラグメントに変えて行うと、顕微鏡観察に十分な蛍光シグナルが得られた。MNV 抗原は全ての細胞で観察されたが、二本鎖 RNA は約 2 割の細胞で観察された。なお、170 継代を過ぎた MNV 持続感染細胞では定量RT-PCRによってMNVが複製していることを確認できたが、顕微鏡観察ではMNV抗原を検出することができなかった。そのため、蛍光二重染色は 90 継代時凍結保存した細胞を起こして実施した。[花木賢一、滝本一広、田原口元子、網 康至;石山絵里、石田欣二(岩手医科大学)]

2. Tyzzer 菌(*Clostridium piliforme*)の組換え鞭毛蛋白の発現とELISA への応用

Tyzzer 菌(RT 株)の鞭毛蛋白を発現する組換えバキュロウイルスを作製し、Sf9 細胞で鞭毛蛋白を発現させた。そして、ウェスタンブロッティングにより発現した鞭毛蛋白が抗 Tyzzer 菌抗体で特異的に検出されることを確認した。次に、Tn5 細胞で鞭毛蛋白の大量発現を行い、精製方法について検討した。その結果、鞭毛蛋白は 1% NP40/PBS で可溶化後、0.2M 尿素/PBS で精製できることを確認した。組換え鞭毛蛋白の ELISA 抗原としての有用性は、空のベクターを用いて作製した組換えバキュロウイルスを Tn5 細胞に感染させて発現させた組換蛋白を陰性抗原として用いて検討する。(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

ムンプスウイルスワクチン候補株の有効性評価のための最適な攻撃ウイルス用量を決定することを目的として、コモンマーセット(計 5 頭)にムンプスウイルス野外株(大館株)10^3 PFU(3 頭)または10^2 PFU(2 頭)を経鼻接種し、その病原性の解析を行った。これまでの知見として、10^4 PFU を経鼻接種して経時的に末梢血中のリンパ球数の変動を観察した場合、個体間で接種後日数は異なるものの、感染 10 日目までに一過性のリンパ球数の減少が認められ、感染 14 日目にリンパ球数の一過性の増加を認め、すべての個体でウイルス血症、抗体の陽転を認めた。これに対して、10^3 PFU、10^2 PFU 接種個体では、末梢血リンパ球数の変動は一様ではなかった。そして、10^3 PFU 接種個体のすべてでウイルス血症を認めたものの、そのうち 2 頭では抗体の陽転を認めなかった。また、10^2 PFU 接種個体では、すべてでウイルス血症および抗体の陽転を認めなかった。これらの結果は、マーモセットにおけるムンプスウイルスの最小感染量が 10^3 PFU であることを示唆する。しかし、有効性を評価する指標が少なくなるため、大館株を用いる攻撃試験では、最小感染量の 10 倍量に当たる 10^4 PFU が必要であることも示唆された。[網 康至、須崎百合子;加藤大志、木所稔(ウイルス第三部)]

2. A 型肝炎ウイルス感染症のマウスモデルに関する研究

経口感染性肝炎ウイルスを制御する免疫応答やウイルスの病原性を明らかにすることを目的として、自然感染経路(経口)で A 型肝炎ウイルス(HAV)に感染するマウスモデルの確立を試みている。本年度は本研究に用いるウイルス株の選定を行った。候補株とした2つの国内分離株(遺伝子型 IA および IB)はマウスへの感染性と病原性が不明であったため、HAV に感受性であることが分かっているⅠ型 IFN 受容体欠損マウスに尾静脈接種した。その結果、ウイルス複製は低レベルで肝酵素の上昇も軽度であった。接種したウイルスは細胞培養系で増殖させたものであったため、細胞へ馴化し生体への感染性や病原性が減弱した可能性があることから、患者あるいは実験的に感染した動物の糞便から精製したウイルスを用いるか、マウスで継代して感染性と病原性の高いウイルスを得る必要があると考えられた。[結城(平井)明香、花木賢一;塩田智之、吉崎佐矢香、石井孝司(ウイルス第二部)]

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

都内などよりアクセスの多い地域(奥多摩および秩父地方)3 か所においてマダニを採集し、マダニ種の同定と網羅的な原虫保有調査を行った。ヒト寄生例のある種類ではヒゲナガチマダニ(*Haemaphysalis kitaokai*、49/86 匹)やヤマトマダニ(*Ixodes ovatus* 13/86 匹)が 3 か所すべてで採集され、ヒゲナガチマダニからは新規の *Babesia* sp. 18S rRNA 塩基配列を検出した。[新倉 綾、花木賢一;佐山勇輔(日赤中央研究所)]

2. ヒトバベシア症の診断系に関する研究

Babesia divergens の抗体保有率等を調査するため、感染血清に強く認識される主要膜表面蛋白質に着目して解析を進めた。本事業ではシュルツマダニの唾液腺より 2 株の *B. divergens*(上述)ゲノムおよび mRNA を得ることができ、遺伝子および mRNA 配列の決定とバリアントの詳細な解析が可能であった。[新倉 綾、花木賢一;森川 茂(獣医科学部);石原智明(酪農学園大学)]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Yamano K, Ito T, Kiyanagi K, Yamazaki H, Sugawara M, Saito T, Ohashi N, Zamoto-Niikura A, Sato K, Kawabata H. Case Report: Clinical Features of a Case of Suspected *Borrelia miyamotoi* Disease in Hokkaido, Japan. Am J Trop Med Hyg. 97:84-87. 2017

2) Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Haga K, Ishii K, Takeda N, Wakita T. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. Infect Genet Evol. 51:153-159. 2017

3) Das A, Hirai-Yuki A, González-López O, Rhein B, Moller-Tank S, Brouillette R, Hensley L, Misumi I, Lovell W, Cullen JM, Whitmire JK, Maury W, Lemon SM. TIM1 (HAVCR1) Is Not Essential for Cellular Entry of Either Quasi-enveloped or Naked Hepatitis A

Virions. MBio. 8:e00969-17. 2017

4) Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Doan YH, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Determination of Ferret Enteric Coronavirus Genome in Laboratory Ferrets. Emerg Infect Dis. 23:1568-1570. 2017

5) Moi ML, Ami Y, Muhammad Azami NA, Shirai K, Yoksan S, Suzaki Y, Kitaura K, Lim CK, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Marmosets（*Callithrix jacchus*）as a non-human primate model for evaluation of candidate dengue vaccines: induction and maintenance of specific protective immunity against challenges with clinical isolates. J Gen Virol. 98:2955-2967. 2017

6) Yoshida A, Kawabata R, Honda T, Sakai K, Ami Y, Sakaguchi T, Irie T. A Single Amino Acid Substitution within the Paramyxovirus Sendai Virus Nucleoprotein Is a Critical Determinant for Production of Interferon-Beta-Inducing Copyback-Type Defective Interfering Genomes. J Virol. 92:e02094-17. 2018

7) Sayama Y, Zamoto-Niikura A, Matsumoto C, Saijo M, Ishihara C, Matsubayashi K, Nagai T, Satake M. Analysis of antigen-antibody cross-reactivity among lineages and sublineages of *Babesia microti* parasites using human babesiosis specimens. Transfusion. doi: 10.1111/trf.14558. 2018

8) Someya Y, Ami Y, Takai-Todaka R, Fujimoto A, Haga K, Murakami K, Fujii Y, Shirato H, Oka T, Shimoike T, Katayama K, Wakita T. Evaluation of the use of various rat strains for immunogenic potency tests of Sabin-derived inactivated polio vaccines. Biologicals. 52:12-17. 2018

9) Azami NAM, Moi ML, Ami Y, Suzaki Y, Lim CK, Taniguchi S, Saijo M, Takasaki T, Kurane I. Genotype-specific and cross-reactive neutralizing antibodies induced by dengue virus infection: detection of antibodies with different levels of neutralizing activities against homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 2 in common marmosets（*Callithrix jacchus*）. Virol J. 15:51. 2018

2. 邦文発表

1) 平井（結城）明香，石井孝司. A 型肝炎のウイルス学. 医学のあゆみ. 262（14）: 1257-1263. 2017

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

なし

2. 国内学会

1) 佐山勇輔、新倉 綾、松本千惠子、西條政幸、松林圭二、永井正、佐竹正博. ヒトバベシア症原因原虫 *Babesia microti* 遺伝子型間における抗体反応性の解析. 第 65 回日本輸血・細胞治療学会総会. 平成 29 年 6 月. 千葉.

2) 山野公明、伊東拓也、佐藤 梢、新倉 綾、川端寛樹、大橋典男、鬼柳かおり、山崎弘貴、菅原 睦、斉藤孝成、稲熊良仁. 北海道におけるライム病・回帰熱の血清診断について. 衛生微生物技術協議会第38回研究会 2017 年 6 月. 東京.

3) 新倉（座本） 綾、森川 茂 、石原智明、花木賢一. *Babesia divergens* 表面抗原 Bd37 の遺伝子解析. 第 160 回日本獣医学会学術集会. 平成 29 年 9 月. 鹿児島.

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29年度には19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 第一室～第六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. 感染症サーベイランスに関する研究

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。平成 29 年度には、東京オリンピック・パラリンピック競技大会に関連したリスク評価、また疑似症サーベイランスの改変についての検討のテーマを加えた。

［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、福住宗久、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。補助変量を用いた罹患数推計は、平成 29 年度に実施されたシステム改変において導入がなされ、2018/19 年のインフルエンザシーズンから正式に稼働する予定である。

［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

2016－17 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、山岸拓也、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、磯貝達裕、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変更として実施されるようになった指定提出機関からのインフルエンザ病原体サーベイランスについて、その実施状況に関する聞き取り及び質問紙による調査を行った。質問紙調査の調査項目を決定するにあたり、4 自治体に対して本病原体サーベイランスに関する実施状況を聞き取りした後、地方衛生研究所の各ブロックの取りまとめ自治体に対してアンケート調査票をメールにて配布し、回答への協力を呼びかけた。回答結果からインフルエンザ病原体サーベイランスの年間の調査実施状況が明らかとなった。その暫定結果については 2017 年度の衛生微生物協議会・検査情報委員会報告として還元した。

［砂川富正、高橋琢理、齊藤剛仁、木下一美、加納和彦、有馬雄三、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（2015 年 3 月版）を改定するための旧版以降の新規疾患の追加、届出票変更などを整理した。改定したガイドラインは次年度以降、印刷のうえ、自治体衛生主管部等に配布、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、NESID システム内マニュアル・FAQ ページへの掲載を行う予定である。

［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. サーベイランスのシステム評価のガイダンス作成

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）において、サーベイランスのシステム評価のガイダンスを作成した（Guidance for Surveillance Evaluation）。

［Matthew Griffith（協力研究員）、渡邊愛可（協力研究員）、他 FETP 関係者一同］

7. 学校等欠席者・感染症情報システムへの技術的支援

国立感染症研究所と公益財団法人日本学校保健会間の共同研究契約の下に、学校等欠席者・感染症情報システム運営委員会の決定事項に基づき、技術的な研究協力を行なった。平成 29 年度においては、学校等欠席者・感染症情報システムの過去データのスリム化に関するアンケート調査の実施にあたり、日本学校保健会へ技術的な協力を行った。また、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）の枠組みの中で、GIS を用いたデータの可視化に関する技術的検討を行った。また、「平成 29 年度学校等欠席者・感染症情報システム研修会」を共催し、資料作成、実技指導等、技術的協力を行った。

［松井珠乃、椎野禎一郎、宮間浩史、大石和徳］

8. 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。2017-18 シーズンには、190 名の有志医師のご協力、平均 136 件（計 25,772 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、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）］

9. 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。鳥インフルエンザ、MERS、エボラウイルス病、黄熱、ジカウイルス感染症等について、リスク評価を実施し、ウエブサイトにおいてその結果を適時に公表している。

厚生労働科学研究「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、平成 28 年度以降は外務省領事局の協力のもと、在外公館医務官・領事むけのリスク評価手順書の作成を行い、在外公館医務官向けの研修も実施している。

［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］

10. 災害時の避難所サーベイランス運用に関する評価

厚生労働省健康局結核感染症課の依頼を受け、2017 年 7 月九州北部豪雨による福岡県内避難所における感染症のサーベイランスの評価を行った。

［渡邊愛可（FETP）、栗田順子、八幡裕一郎、山岸拓也、神谷元、松井珠乃、砂川富正］

11. 全数報告に移行した百日咳サーベイランスに関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「百日咳とインフルエンザの患者情報及び検査診断の連携強化による感染症対策の推進に資する疫学手法の確立のための研究」班（代表：神谷元）において 2018 年 1 月 1 日より小児科定点から検査診断に基づいた全数報告へ移行した百日咳サーベイランスに関する問題点・改善点を評価し、新サーベイランス実施に向けた準備を行った。

［砂川富正、多屋馨子、神谷元、上月愛留（FETP）、蒲地一

成、大塚菜緒(細菌第二部)]

12. インフルエンザの患者情報・病原体情報を一体視したサーベイランスシステムの評価に関する研究

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「百日咳とインフルエンザの患者情報及び検査診断の連携強化による感染症対策の推進に資する疫学手法の確立のための研究」班（代表：神谷元）において検査診断を中心としたインフルエンザ・サーベイランスシステムの定量的な評価の手法の確立と病原体サーベイランスにおけるインフルエンザ様疾患の情報の評価についての検討の準備を行った。

［砂川富正、松井佑亮、神谷元］

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他国においても示唆されている事が分かった。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。ただし、これらの閾値の算出においては、過去のデータに基づく為、今後補助変量を用いた罹患数推計を使用する場合には、閾値設定の再検討が必要となる。

また、米国 CDC の世界インフルエンザバーデン推定研究に参加し、日本のデータを提供し、算出方法、結果の妥当性について議論を交わし作業に協力した（2017 年 12 月に論文発表)。

［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. 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。また、感染研が窓口となり、産科医から、診療中の妊婦におけるジカウイルス感染症の可能性や、検査の適応について、メールによるコンサルトを受付けている。

［FETP 一同、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

3. 新興・再興感染症の体制の脆弱性評価

平成 29 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)において健康危機管理対応のコアキャパシティ構築という観点から自治体のFETPへの派遣の検討時における課題について調査を行った。WHO の IHR に基づく合同外部評価においても FETP の重要性や自治体に所属する FETP 修了生数を増やす努力の必要性が指摘されたが、現時点では自治体の人不足が派遣のバリアになっていることを明らかにした。

［松井珠乃、島田智恵、山岸拓也、八幡裕一郎、福住宗久、青柳順子、宮間浩史、神谷元］

4. 国際保健規則（IHR）に基づく合同外部評価

平成 29 年度厚生労働科学特別研究「国際保健規則(IHR)に基づく合同外部評価に向けた実施体制と評価手法に関する研究」(研究代表者　齋藤智也)において、疫学調査・サー

ベイランス・人材育成に関する部分を担当し、関連の資料をとりまとめるとともに、平成30年2月の合同外部評価の現地ミッションにも対応した。担当部分についての評価ツールについての意見をとりまとめた。

［松井珠乃、砂川富正、有馬雄三、神谷元、島田智恵、大石和徳］

III. 感染症の疫学、統計等に関する研究

1. インフルエンザ関連死亡迅速把握に関する研究

21大都市から提供されるインフルエンザ関連死亡（インフルエンザ及び肺炎死亡）数を用い、「感染研モデル」と同種の超過死亡推定モデルを適用し、都市毎の週単位の超過死亡を推定し、迅速な情報還元を行った。

［大日康史、菅原民枝、大石和徳、厚生労働省健康局結核感染症課、20大都市・特別区衛生主幹部局］

2. インフルエンザ様疾患罹患時の異常行動に関する研究

インフルエンザ様疾患罹患時に見られる異常行動について、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複数の情報源による調査表の集約の研究

平成29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)「食品由来が疑われる有症事案に係る調査（食中毒調査）の迅速化・高度化に関する研究」(研究代表者　大西真）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調査結果を集約するための知見の整理及びシステム化に当たっての事前調査と設計を行った。次年度はこれらの結果をもとに複数調査結果集約システムの実装を行う。

［砂川富正、加納和彦、高橋琢理、齊藤剛仁、有馬雄三、辻朋子］

4. 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、2017年4月号：食品媒介蠕虫症、5月号：腸管出血性大腸菌感染症、6月号：つつが虫病・日本紅斑熱、7 月号：アデノウイルス感染症、8月号：日本脳炎、9月号：HIV/AIDS、10月号：手足口病・ヘルパンギーナ、11月号：インフルエンザ、12月号：結核、2018年1月号：侵襲性髄膜炎菌感染症、2月号：ハンセン病、3 月号：風疹・先天性風疹症候群である。

［木下一美 、赤塚昌江、辻朋子、徳永真里子、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、有馬雄三、駒瀬勝啓、椎野禎一郎、加納和彦、加藤信子、多屋馨子、新井智、佐藤弘、神谷元、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）、石井則久（ハンセン病研究センター）、大西真、伊豫田淳（以上、細菌第一部）、柴山恵吾、加藤はる（以上、細菌第二部）、西條政幸、安藤秀二、林昌宏（以上、ウイルス第一部）、清水博之 （以上、ウイルス第二部）、竹田誠、森嘉生（以上、ウイルス第三部）、小田切孝人、渡邉真治、影山努、（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）、杉山広、森嶋康之、山﨑浩（以上寄生動物部）、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）、山下和予（以上、元感染症情報センター）、内村和広、御手洗聡（結核研究所）、宮川昭二、磯貝達裕（厚生労働省）（IASR委員+特集担当者）］

5. 性感染症に関する疫学研究

平成29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、近年の報告届に基づく発生動向を解析した。20代前半男女のクラミジア感染症の定点当たり報告数の増加を認めた。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。2017 年度から、強化した情報発信と提供を目的に、四半期毎に梅毒届出症例の情報還元を開始し、都道府県別、感染経路別、性別・年齢群別の記述疫学をまとめ論文発表を行った。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」の一環として、「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 2017 年に実施され、梅毒罹患のリスクに関する具体的な情報が得られた。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、その他当事者に広く情報提供を行った。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、2017 年に終了し、IASR、感染研の一般公開、学会等で広く結果の情報発信を行い、論文採択となった。これらの研究結果は、我が国に於ける梅毒の対応と対策に関してエビデンスに基づく有用な情報となっている。

［錦信吾（FETP）、高橋琢理、有馬雄三、山岸拓也、砂川富正、大石和徳（以上、当センター）、大西真、金井瑞恵（以上、細菌第一部）、堀成美（国立国際医療研究センター病院）］

6. 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。日本 HIV 薬剤耐性サーベイランスグループによって採取された検体情報を対象に、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。2002 年～2012 年の初診時に採取された検体（8551 検体）の Protease-RT 領域（HXB2:253-3269）の全塩基が解析可能な配列（全 5018 配列）のうちサブタイプ B と同定された 4398 検体に 312 個の感染クラスタを見出した。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の伝播ネットワーク解析から、グラフ密度・度数集中度・tMRCA の三者の高い相関と、これらと CD4 値中央値との相関が観察された。これらのことから、サブタイプ B の感染クラスタは、一定の成長パターンを持っており、起源の古いものほど病状の悪い患者を含むことが示唆された。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 システム（Search Program for HIV Nationwide Cluster by Sequence “SPHNCS”）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、2012～2016 に沖縄で採取された 87 検体に由来する pol 領域配列（HXB2:2253－3269）を入力し、従来の方法によるクラスタ同定と比較したところ、SPHNCS の特異度は 95%以上の値を示した。一方で、クラスタの検出力は、伝播リンクの判定閾値を最大にしても 75%未満と低く、特異度が高くなる閾値範囲では 65%程度であった。SPHNCS には、入力した配列とその解析結果を既存のデータベースに追加登録する機能があり、現在は上記の沖縄由来の配列に加え、昨年度に最初の検証を行った九州医療センター由来の配列が追加されている。同定できるクラスタの数は、330 をこえており、今後 2012 年以降の検体情報をさらに収集することで、検出力の強化を図る計画である。

［椎野禎一郎］

7. 成人インフルエンザ脳症の疫学に関する全国調査

平成 29 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）を行った結果について集計・解析を行った。

［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）］

8. 急性脳炎・急性弛緩性麻痺の原因究明に関する研究

平成 29 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、全国調査を行い（二次調査)、その結果を国際誌にまとめて公表した。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、前木孝洋（以上、ウイルス第一部)、森島恒雄（愛知医科大学)、八代将登（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)、細矢光亮（福島県立医科大学)］

9. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学研究

平成 29 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、動物との接触歴を追加して後方視的疫学調査を実施した。

［小林祐介（FETP）、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳（以上、当センター）、西條政幸（ウイルス第一部）］

10. デング熱の輸入例情報をリスク評価に利用するための情報提供用のサイトの運用

平成 27 年度よりデング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、月 1 回の更新を継続している。

［福住宗久、川上千晶、錦信吾、松井珠乃、加納和彦、砂川富正、大石和徳］

11. 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

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、平成 29 年度には、インフルエンザの入院サーベイランスのシステム評価を行った。

［松井佑亮、高橋琢理、松井珠乃、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)］

12. ノロウイルスの疾病負荷に関する研究

平成 29 年度日本医療研究開発機構委託開発研究費（AMED 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)「下痢症ウイルス感染症の分子疫学および流行予測に関する研究」（研究開発代表者 木村博一）の分担研究（分担研究者 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 年度から正式運用を行った結果、平成 29 年度は沖縄県における結果として、人口 10 万人当たりの推計年間感染性胃腸炎（全年齢）は 4,906 人と算出され、うちノロウイルス患者受診者数は暫定的に人口 10 万人当たり 996 人（前年度：944 人）となり、ほぼ前年度と同様であった。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)］

13. 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。平成 29 年度は継続的に同じ質の情報を収集できるよう小児、成人ともに、現地において実行可能な症例定義を決定し、よりシステマティックに症例情報と菌株を収集できるシステムを構築した。

［福住宗久、大石和徳（当センター）、常彬（細菌第一部）］

14. 薬剤耐性菌の研究

（１）薬剤耐性菌アウトブレイク対応方法の確立についての研究

平成 29 年「医療機関等における感染症集団発生時の緊急対応方法の確立及び対応手法の普及・啓発に関する研究(疫学的検討)」の一環として、開及び自治体に配布した「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症に関する保健所によるリスク評価と対応の目安について～保健所と医療機関のよりよい連携に向けて～」(以下、「保健所向け文書」と呼称)について、郡山市の病院で発生したカルバペネム耐性腸内細菌科細菌集積事例での調査研究でどのように活用できるかを、関係自治体と当該病院とともに検討した。課題として保健所向け文章の認知度を上げること、遺伝的背景を探る検査の検体搬入の流れの確認が重要なことが確認された。

また、国内外で課題とされている中小病院における感染管理に関して、大阪府泉佐野市の一般病院と療養型病床を持つ中小病院でのバンコマイシン耐性腸球菌の集団発生を例にとり、継続性のある地域ネットワークでの支援の在り方を評価し、当該保健所と当該病院で報告した。また、福島県郡山市の中小病院における KPC 型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌感染症の事例、埼玉県越谷市の三次医療機関でのバンコマイシン耐性腸球菌集団発生事例において、保健所と協力して疫学調査を支援し、院内感染対策を支援した。

［松井佑亮、錦信吾、小林祐介、加賀優子、上月愛瑠、川上千晶(以上 FETP)、福住宗久、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳(以上、当センター)］

（２）薬剤耐性菌の疫学状況と感染制御に関する研究

平成 29 年厚生労働省科学研究「医療機関等における感染症集団発生時の緊急対応方法の確立及び対応手法の普及・啓発に関する研究（疫学的検討）」の一環として、国内の薬剤耐性菌の疫学状況として 2015 年 1 月～年 12 月の感染症発生動向調査（National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: NESID）と厚生労働省院内感染対策サーベイランス（Japan Nosocomial Infections Surveillance: JANIS）に関して、バンコマイシン耐性腸球菌(Vancomycin-resistant *Enterococci*: VRE)感染症を取り上げて両サーベイランスの利点と課題を整理した。疾病負荷に関しては、NESID では臨床診断が定かでない症例がいる可能性があり、JANIS 全入院患者部門は代表性が乏しいため、JANIS 検査部門で無菌検体からの検出を見ていくことが一つの方法である。

［川上千晶（FETP）、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳（以上、当センター）、筒井敦子、矢原耕司（以上、薬剤耐性研究センター）］

（３）「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2017」への作成協力

薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会へ協力し、感染症発生動向調査の AMR 関連の情報を薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2017 向けにまとめた。

［松井珠乃、高橋琢理、砂川富正］

15. 三類感染症の Multistate Outbreak の可視化疫学解析システムの開発

Multistate outbreak は国内外において探知が困難な場合が多い。本研究は散発的に発生する 3 類感染症の Multistate outbreak の迅速な探知のための可視化されたツールがないのが現状である。早期探知のためのデータベース構築と可視化プログラムの作成、仮説の設定のため

の情報収集を目的として実施した。初年度である本年度は協力自治体からデータベースに必要な情報、解析ツールの形式、仮説設定のための調査方法の検討を行った。
［八幡裕一郎］

16. 国内における RS ウイルスの発生動向に関する研究

RS ウイルス感染症サーベイランスが開始して以降、患者報告数は年々増加しているが、検査キットの普及や、検査の保険適用拡大に伴う検査機会の増加が関係している可能性がある為、疫学思考に基づく評価を行った。限定法と層別化、適切な分母情報、複数の情報源と併せた精査の重要性の実例として論文発表した。
［加納和彦、木下一美、有馬雄三、砂川富正、大石和徳］

17. 国内における手足口病の発生動向に関する研究

米国プリンストン大学との共同研究として、我が国に於ける手足口病の年次推移を数理モデルの方法で解析した。手足口病患者の定点サーベイランスと病原体サーベイランスのエンテロウイルスデータをあわせて定量的、定性的に、精査した。日本のデータを提供し、算出方法、結果の妥当性について議論を交わし作業に協力した。
［有馬雄三、木下一美、砂川富正、松井珠乃、藤本嗣人、大石和徳］

IV. 予防接種ならびに予防接種で予防可能疾患における今後の感染症対策に関する研究

1. 麻疹ならびに風疹の予防に関する研究

平成29年度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「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。

また、麻疹については、石川県金沢市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。また、宮城県での輸入例を発端とした散発例への対応について自治体の対応を支援した。
［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、齊藤剛仁、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）、小林祐介（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（2016 年度最終評価・2017 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、駒瀬勝啓、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 29 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29年度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「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た。また、風疹の予防啓発の一環として、2月 4 日の風疹予防の日には、成田空港で予防啓発活動を行った（これであなたも風疹博士、風疹に関する相談窓口、女子学生との対談）。2020 年度の風しん排除に向けたロゴの作成を行った。

［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）、久保隆彦（シロタクリニック代田産婦人科）、森嘉生、竹田誠（以上、ウイルス第三部）、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、新井智、島田智恵、山岸拓也、駒瀬勝啓､大石和徳(以上､当センター)､小林祐介(FETP)］

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、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国内流行に関連して発生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、直接・間接の医療費などを算出し、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でいる。

［奥野英雄、神谷元、砂川富正（以上、当センター)、金井瑞恵（細菌第一部)､］

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

医療機関ならびに企業から報告される予防接種後副反応疑い報告について、感染研で作成した副反応アプリを活用して、品質保証･管理部と共同で週帳票にまとめ、BCG 接種後の副反応疑い報告、予防接種後に発症した血小板減少性紫斑病について、詳しく解析し、学会等で報告した。また、わが国の予防接種後副反応疑いサーベイランスについて、全国学会のシンポジウム等で発表し、ワクチンの安全性に関する研究を行った。

［多屋馨子、森野紗衣子、奥野英雄、佐藤弘、新井智、田中佳織、大石和徳（以上、当センター)、落合雅樹、藤田賢太郎､内藤誠之郎､加藤篤(以上､品質保証･管理部)］

（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、笠井優花、佐藤伶、北本理恵、島田智恵、菊池風花、、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（福岡看護大学）、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 29 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　吉川肇子)」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について検討した。ワクチンに関する説明に関して自発的思考を行うかどうかが説明効果に及ぼす影響を調査した結果、自発的思考とワクチンの種類による影響がみられた。

［吉川肇子（慶應義塾大学)、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、感染研で作成した副反応アプリを用いて、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 29 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。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ている。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、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

公益財団法人予防接種リサーチセンター調査研究費補助金研究課題「医療従事者に対する予防接種教育プログラムの構築」（研究代表者 : 国立感染症研究所　神谷元）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 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て実施した。

［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 29 年度新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「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、研究協力者　崎山弘）の一環として平成 29 年度の小児の累積予防接種率調査を実施し、感染研の HP にも公表した。

［大石和徳、多屋馨子、熊田萌（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 29 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を行った。

［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）、大石和徳］

12. 成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスに関する研究

平成 29 年度厚生労働科学研究「成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの構築に関する研究」（研究代表者　大石和徳）において、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、劇症溶血性レンサ球菌感染症の臨床像と原因菌の血清型等の調査を開始した。侵襲性髄膜炎菌感染症については全都道府県・全年齢を対象とした調査を開始した。

［松井佑亮、加賀優子、上月愛瑠、川上千晶（以上 FETP）福住宗久、島田智恵、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 29 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 に基づく断面研究を産婦人科（２施設）で実施した。妊婦用の百日咳含有ワクチンの導入に関して医師を中心とした情報源を用いて、正確な感染症や予防方法に関する情報を提供することの意義や有効性は高いことを示した。

［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 29 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 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。

2017 年度ポリオ感受性調査（感染症流行予測調査事業により実施）によって得られたデータを解析した結果、ポリオワクチンの 1 回以上接種率（接種歴不明者を除く）は 5 歳未満の各年齢で 94～100%であり、2013 年度以降は各年齢で高く維持されていた。接種を受けたワクチンの種類別では概ね 95%以上が不活化ポリオワクチンのみの被接種者であった。また、中和抗体価 1:8 以上の抗体保有率についてみると、1～3 型すべてに対して概ね 95%以上を示した。

［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状況および、1 回の流行が抗体保有状況に及ぼす変化を 2010～2011 年の流行前後にあたる 2007～2008 年および 2012～2013 年の 2 期間の抗体保有率調査を行い検討した。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することが示された。適切なワクチン接種時期を詳細に検討するために、単年齢出生年別コホートで小児期（0～13 歳）の抗体保有状況の変化を検討した。流行期間中に 3-5 歳であった出生年群で抗体保有率が大きく上昇し、2 歳以下あるいは 6 歳以上では抗体保有率の上昇は緩やかであった。幼児期に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し、医療従事者への予防接種教育は e-learning が有効であることを示した。

［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 29 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徳之島で実施した。医療機関に加え、教育機関でもアンケート調査を実施し、徳之島におけるムンプスアウトブレイクの包括的な記述を行い、ムンプスの疾病負荷の大きさを示した（島民の約 5%がムンプスに合致する症状で受診、10 歳未満に限れば 3 分の 1 以上が受診）。

［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. 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、下記のワクチンに関するファクトシートを作成中。

23 価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン（肺炎球菌ワクチン）ワクチン（成人用）

［新橋玲子、福住宗久、新井智、多屋馨子、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）、池田俊也（国際医療福祉大学）、赤沢学（明治薬科大学）、五十嵐中（東京大学大学院）］

19. 国内抗 PspA 抗体血清疫学調査

平成 29 年度 AMED 産学連携医療イノベーション創出プログラム「ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの創出研究」（研究代表者 金城雄樹、研究分担者 大石和徳）において、ユニバーサル肺炎球菌ワクチンの候補抗原である PspA に対する抗体の抗体保有状況調査を行うため、平成 29 年度は抗 PspA 抗体測定系を確立した。

［森野紗衣子、北上悦子、新井智、大石和徳（以上、当センター）、朴貞玉（阪大微生物病研究会）］

20. 対馬市における日本脳炎ウイルスに対する抗体保有調査

平成 29 年度新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「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　新井智）により、2016 年に対馬市で発生した日本脳炎の集団発生に対する疫学調査の一環として血清疫学調査を実施した。560 名の抗体保有状況を調査したところ、複数県の結果と同様で感染リスクの情報は確認されなかった。

[新井 智、神谷元、松井佑亮、新橋玲子、菊池風花、野口雄司(対馬病院)、西畑伸二(対馬保健所)、村木伸幸(対馬保健所)、井田清惠(対馬市)、川本実奈(対馬市)、立花一憲(上対馬病院)、多屋馨子、大石和徳]

V. 病原体等の研究

1. 新規および既知のハンタウイルスの検出と系統解析

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、菊池風花、多屋馨子、大石和徳（以上、当センター）、森川茂（獣医科学部）、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. 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 29 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、アデノウイルスの尿道炎への関与やアデノウイルス性尿道炎の特徴を報告した。

［花岡希、藤本嗣人（以上、当センター）、伊藤晋（あいクリニック）］

3. 日本および世界で流行しているエンテロウイルイスの検査法およびその活用法に関する検討

平成 29 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。詳細は、AMED 研究で守秘性が高いため記載を省略する。

［藤本嗣人、花岡希（以上、当センター）、清水博之（ウイルス第二部）］

4. 全国的なエンテロウイルスD68流行時のウイルス検査とその後の検査

2017 年においてはEVD68 の流行は見られなかったが、散発的に中国地方、近畿地方の地方衛生研究所で検出されていた。平成29 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、2017 年秋に、中国地方で発症した小児の急性弛緩性脊髄炎症例の画像所見について検討を行い、2015 年秋に多発した症例と所見が一致していた。医療機関に凍結保管されていた 5 点セットから行政検査依頼により検体搬送が行われ、呼吸器由来検体から EVD68 ゲノムを検出した。英文誌等で論文報告し、その検査・病原体解析部分を担当した。

［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）、森墾（東京大学大学院）、八代将登（岡山大学）、畑山和貴、井上勝（以上、岡山赤十字病院）］

5. 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）の一環として新型アデノウイルスである 85 型の発見を熊本県保健環境科学研究所等との共同により論文報告し、アデノウイルス 54 型の臨床的解析を福岡大学との共同研究により論文公表した。さらに 57 型の日本への侵入に関して島根県保健環境科学研究所との共同により論文報告した。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未（以上、当センター）、アデノウイルス地区レファレンスセンター、全国地方衛生研究所］

6. 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 29 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 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、2016/17 シーズンに感染性胃腸炎患者の主な原因となった GII.2 および食中毒の主要原因となった GII.17 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、GII.2 のポリメラーゼの遺伝子型は GII.P.16 であり、2012 年ごろまでに検出された同型のウイルスに遺伝学的に近似していることが明らかになった。また、GII.17 は、Kawasaki308 に遺伝学的に類似していることも明らかになった。った。

［木村博一（当センター）、片山和彦（北里大学）、全国地方衛生研究所］

7. 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。そこで、今年度は、次世代シークエンサーを用い、CAP 患者から微生物の網羅検出を行った。その結果、80%以上（n=77）の患者から病原と思われる微生物が検出された。木村博一、村上光一、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）］

8. 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 29 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、大石和徳（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 29 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実施のため菌株試料の調整、配布準備等を行った（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）］

9. 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）］

10. 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

2017 年度ワクチン委員会委員長として、「65 歳以上の成人に対する肺炎球菌ワクチンの考え方」の改訂について協議した。

［大石和徳］

2017 年度評議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］

2017 年度ワクチン委員会委員として活動を行った。

［多屋馨子］

2. 日本ワクチン学会

2017 年度理事として学会活動を行った。

［多屋馨子、神谷元、砂川富正、大石和徳（2018 年 1

月から理事長）］

Vaccine 誌編集委員として活動を行った。

［多屋馨子、神谷元、大石和徳］

3. 日本小児科学会

2017 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

常任理事(2017 年度～)･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

2017 年学会副理事長､理事として､学会運営を進めた。

［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、「65 歳以上の成人に対する肺炎球菌ワクチンの考え方」の改訂について協議した。

［大石和徳］

12. 日本アデノウイルス研究会

世話人 3 人のうちの 1 人として研究会の開催等、活動を行った。

[藤本嗣人]

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、駒瀬勝啓、中里篤、大竹由里子、新井伸一、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、赤塚昌江、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 2016 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、駒瀬勝啓、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、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。2017 年 1 月-2017 年 12 月の病原体検出報告数(2018 年 8 月 6 日現在)は、病原菌検出報告(3A:地衛研・保健所)は 2,704 件、病原体個票は病原菌(原虫・寄生虫を含む)が地衛研 4,503 件、保健所 169 件、ウイルス(リケッチア, クラミジアを含む)が地衛研 26,883 件(うち最多はインフルエンザ A(H3)で 5,874)、保健所 483 件、検疫所 21 件(ウイルス)、集団発生病原体票は病原菌等が地衛研 166 件、ウイルス等が地衛研 592 件、保健所 2 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地衛研 402 件、ウイルス等が地衛研 31 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 38 巻)および第 38 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、徳永真里子、齊藤剛仁、駒瀬勝啓、辻朋子、加納和彦、高橋琢理、有馬雄三、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。取り扱った平成 29 年度の患者報告件数（感染症発生動向調査）は、全数が 47,506 件、定点が 4,275,695 であった。

［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。2017/2018 年シーズンのインフルエンザは例年のシーズンと異なり、例年より早い立ち上がりで、ピークの高さは感染症法施行開始の 1999 年 4 月以降､最高であった。また、B 型（山形系統）が主で、シーズン初期から流行し、複数のインフルエンザウイルスが流行した。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疫学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、新井伸一、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、駒瀬勝啓］

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、新井伸一、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（2018 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

（2018 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］

10. 風しんの特定感染症予防指針の改正に伴う届出基準等の変更に係る業務

風しんに関する特定感染症予防指針改定に関連し、その風疹に関する疫学データの提供、届出基準・届出票等の改正に関わる厚生労働省健康局結核感染症課の業務に協力した。

［砂川富正、高橋琢理、有馬雄三、木下一美、加納和彦、齊藤剛仁、加藤信子、奥野英雄、佐藤弘、新井智、神谷元、多屋馨子、松井珠乃、大石和徳（以上、当センター）、竹田誠、森嘉生（以上、ウイルス第三部）］

11. 百日咳の全数届出変更に係る業務

5 類定点把握対象疾患であった百日咳の全数届出疾患への変更に伴う厚生労働省健康局結核感染症課の届出基準策定、届出票変更及び関係者へのヒアリング・調整等を行った。

[砂川富正、高橋琢理、神谷元、多屋馨子、大石和徳（以上、当センター）、蒲地一成、大塚菜緒（以上、細菌第二部）]

II. 感染症サーベイランスシステムに関する業務

1. 感染症発生動向調査システム

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］

2. 病原体検出情報システム

2017 年 3 月 29 日発出の CRE 試験検査の実施に関する通知発出に伴い、NESID システムでの CRE 検査結果入力に関するシステム更改の方向性について、厚生労働省健康局結核感染症課および細菌第二部と情報交換を行い、実施方法について検討を行った。

［木下一美、齊藤剛仁、赤塚昌江、徳永真里子、加納和彦、高橋琢理、加藤信子、砂川富正］

3. 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（感受性調査）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。2017 年度は NESID の政府共通プラットフォームへの移行（2018 年 3 月稼働）に伴い、現行システムの改修を行った。また、長年の懸案事項であった感染源調査もプラットフォーム移行に合わせてシステム構築することとなり、システム化のための仕様の検討、テスト、検証を行った。

2018 年度から感染症流行予測調査は NESID 上の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になる。

［佐藤弘、北本理恵、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

（1）患者情報の提供

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］

（2）インターネット等による病原体情報の提供

①感染研ホームページのリニューアルに伴う「病原体検出情報」ホームページの移行とリニューアルを随時行った。

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、辻朋子、齊藤剛仁、高橋琢理、加納和彦、木下一美、有馬雄三、大日康史、菅原民枝、福住宗久、山岸拓也、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、松井珠乃、砂川富正、多屋馨子、藤本嗣人、大石和徳（以上、当センター）、金井瑞恵（細菌第一部）、忽那賢志、片浪雄一（国立国際医療研究センター）、金山敦宏（防衛医科大学校）、小林彩香（陸上自衛隊）、西島健（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、新井智、佐藤弘、多屋馨子、松井珠乃、島田智恵、八幡裕一郎、福住宗久、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い、四半期毎に集計した結果をホームページに公表した。

［田中佳織、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 27 年度（2015 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

2017 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 2017 年 12 月と 2018 年 1 月の計 2 回、ブタの日本脳炎抗体保有状況については 2017 年 8 月から 12 月まで計 12 回、速報結果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、2017 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 2017 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 2016 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 2017 年 6 月 28 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起因すると推察される感染症を、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、として情報収集している。

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、その調査情況を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、して対応の緊急性を協議・評価し、感染症研究所としての科学的見知からコメントし、関係諸機関へ報告した。

情報収集の実績は、平成 29 年度では 52 件の協議・評価を行い 15 件の報告を行った。

［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

2017 年度には、鳥インフルエンザ（H7N9）（1 回）、高病原性鳥インフルエンザ（1 回）、黄熱（3 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、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。2017 年度（2016 年採血血清）の受け入れ血清は 14 県、3,672 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（2017 年度申請 2 件、血清分与 860 本）。また血清銀行規約を改訂した。

［新井智、田中佳織、北本理恵、多屋馨子、佐藤弘、笠井優花、佐藤伶、大石和徳］

2. 職員血清の保管業務

2017 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疑い報告書の電子化（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。

［Matthew Griffith、松井珠乃、重松美加］

（２）JICA、国際緊急援助隊（JDR）感染症対策チームへの貢献

2015 年に発足した同チームであるが、実際の派遣は、2017 年度までに 1 回しかない。そのため、派遣前の研修や派遣に係る仕組みについては、未だ試行錯誤しながら整備中であり、作業部会員として支援を行っている。

［神谷元、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

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。また技術協力の一環として、研究員 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. 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。

［松井珠乃、島田智恵、大石和徳］

5. 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、当所一般公開アウトブレイク探偵、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、神谷元、山岸拓也］

6. 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］

7. 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 と一緒に医療関連感染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、ベトナム、インドネシア、カンボジア、シンガポール、フィリピンから合計 10 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、山岸拓也、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、山岸拓也、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、Matthew Griffith、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 30 年 3 月に 18 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 29 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。

- 幼稚園園児 2 児死亡事例（川崎市）
- 介護老人保健施設病原性大腸菌アウトブレイク事例（ひたちなか保健所）
- バンコマイシン耐性腸球菌院内感染事例（埼玉県）
- カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症院内感染事例（大阪府）
- カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症院内感染事例（福島県）
- *Salmonella* Enteritidis 感染症事例（山形県）
- バンコマイシン耐性腸球菌院内感染事例（大阪府泉佐野市）

［前述研修指導者］

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、生物統計セミナー（Paul Weiss; 4 月）、医療関連感染セミナー（Michael Bell; 9 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）、サーベイランス評価セミナー（Matthew Griffith; 3 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、山形県、山梨県、岡山県、栃木県、神奈川県、千葉県、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。

・川崎市、横須賀市で耐性菌と耐性菌アウトブレイク事例への対応について講義を行った。

・沖縄県、神奈川県、栃木県で食品媒介感染症の調査方法に関する講義・演習を実施した。

・東京都教育庁からの依頼にもとづき、都内で学校感染症に関する講習会を行った。

・東京国際空港航空会社運営協議会において空港における麻疹の対策について講演した。

7. 感染症疫学研究

平成29 年度に研修終了した18 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。

・小林祐介　日本における重症熱性血小板減少症候群の疫学的特徴の変化と予後予測因子 2013 年 3 月～2017 年 10 月

・新橋玲子　成人侵襲性肺炎球菌感染症に対する 23 価莢膜ポリサッカライドワクチンの有効性について

・錦信吾　異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する症例対照研究

・松井佑亮　徳之島における流行性耳下腺炎の地域流行の疫学と疾病負荷に関する研究

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

公益財団法人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。

［砂川富正、多屋馨子、神谷元、福住宗久、奥野英雄、森野紗衣子、島田智恵］

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 29 年 10 月 11 日、12 日に開催した。2017 年度の事務局は、第 2 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、麻しん排除・風しん排除に関する最近の話題５演題、食品に由来する感染症の話題３演題、性感染症・薬剤耐性・学校保健３演題、マスギャザリングで問題となる感染症３演題、昆虫（鳥を含む）、動物が関係する感染症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 2 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 29 年 10 月 16 日から 20 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、ウイルス検査業務に従事する専門職員を対象とし、下痢症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、20 名であった。なお、本研修は、感染症疫学センターをはじめ、当所関連各部・センター・室、全国衛生研究所(東京都、富山県、山口県、川崎市、栃木県)北里大学、千葉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、鈴木美穂子、諏訪麗子]

(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 29 年 11 月 6 日から 24 日まで 14 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修細菌研修(国立保健医療科学院・当所共同実施)を行った。本研修は、全国地方衛生研究所において、細菌検査業務に従事する専門職員を対象とし、主として腸管系病原細菌の基礎的、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(東京都、富山県、栃木県、埼玉県、千葉県、千葉市、神奈川県、川崎市、横浜市、静岡県、山口県、福岡県)、保健所(高崎市保健所)、大学(東京医科大学、群馬パース大学)、国立機関(国立医薬品食品衛生研究所)等の協力を得て遂行された。

[村上光一、木村博一、大石和徳、土井朋美、山田珠美]

(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

平成 30 年 2 月 27～28 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]

(3)福岡大学のアデノウイルス検査研修および共同研究

アデノウイルスの調査研究に関する研修ならびに共同研究を実施した。

[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・人畜共通リサーチセンターとの共同研究

北海道大学工学部ならびに人畜共通リサーチセンターと共同研究を実施した。

[藤本嗣人、花岡希]

（５）岡山大学研修生の受け入れ

岡山大学研修生の受け入れを行い、研修を指導した。[当センター2 室、3 室]

（６）琉球大学研修生の受け入れ

琉球大学研修生の受け入れを行い、研修を指導した。[当センター2 室、3 室]

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、有馬雄三、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、山岸拓也、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、神谷元、藤本嗣人、齊藤剛仁、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、藤本嗣人、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］

厚生労働省麻しん・風しんに関する小委員会　委員長［大石和徳］

公衆衛生情報研究協議会　理事［大石和徳］

日本医師会予防接種・感染症危機管理対策委員会委員［大石和徳］

日本病院会感染症対策委員会委員　［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　部会員［大石和徳、松井珠乃、神谷元、島田智恵］

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］

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］
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］
日本学術会議連携会員［多屋馨子］
AMED プログラムオフィサー［多屋馨子］

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、医療施設等へ本菌あるいは本菌の DNA の配布を行った。

［村上光一、土井朋美、山田珠美］

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. 検定検査業務委員会での副反応疑い報告

ワクチンの検定に従事する担当者が毎月集まる検定検査業務委員会で、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

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
木村 博一	客員研究員	6 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
新城 アシュリー	協力研究員	1 室
新城 雄士	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
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
加賀 優子	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 美和子	協力研究員	1 室
古宮 伸洋	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
中村　奈緒美	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
三﨑　貴子	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
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
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
辻　菜々	実習生	2 室
吉富　勇太	実習生	2 室
栢森　菜摘	実習生	5 室
田中　勇輝	実習生	5 室
田中　亜沙美	実習生	5 室

発表業績一覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Akeda Y, Koizumi Y, Takanami Y, Sumino S, Hattori Y, Sugisaki K, Mitsuya N, Oishi K. Comparison of serum bactericidal and antibody titers induced by two *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines: a phase III randomized double-blind study. Vaccine. 2018; 36:1528-1532.

2) Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated With an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis. 66(5):653-664, 2018.

3) Folaranmi TA, Kretz CB, Kamiya H, MacNeil JR, Whaley MJ, Blain A, Antwi M, Dorsinville M, Pacilli M, Smith S, Civen R, Ngo V, Winter K, Harriman K, Wang X, Bowen VB, Patel M, Martin S, Misegades L, Meyer SA. Increased Risk for Meningococcal Disease among Men who have Sex with Men in the United States, 2012-2015. Clin Infect Dis. 2017 Sep 1; 65 (5): 756-763.

4) Fukuda S, Ito S, Fujiwara M, Abe J, Hanaoka N, Fujimoto T, Katsumori H. Simultaneous development of Kawasaki disease following acute human adenovirus infection in monozygotic twins: A case report. Pediatr Rheumatol Online J. 2017 May 16;15 (1):39.

5) Hachiya M, Miyano S, Mori Y Vynnycky E, Keungsaneth P, Vongphrachanh P, Xeuatvongsa A, Sisouk T, Som Oulay V, Khamphaphongphane B, Sengkeopaseuth B, Pathammavong C, Phounphenghak K, Kitamura T, Takeda M, Komase K. Evaluation of nationwide supplementary immunization in Lao People's Democratic Republic: Population-based seroprevalence survey of anti-measles and anti-rubella IgG in children and adults, mathematical modelling and a stability testing of the vaccine. PloS One. 2018 Mar 29;13(3) e0194931. doi: 10.1371/journal.pone.0194931. eCollection 2018

6) Hashimoto S, Gonzalez G, Harada S, Oosako H, Hanaoka N, Hinokuma R, Fujimoto T. Recombinant type Human mastadenovirus D85 associated with epidemic keratoconjunctivitis since 2015 in Japan. J Med Virol. 2018 May;90(5):881-889.

7) Hattori F, Miura H, Sugata K, Yoshikawa A, Ihira M, Yahata Y, Kamiya H, Tanaka-Taya K, Yoshikawa T; Nagoya VZV study group. Evaluating the effectiveness of the universal immunization program against varicella in Japanese children. Vaccine. 2017 Sep 5; 35(37): 4936-4941

8) Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, Muscatello DJ, Palekar R, Tempia S, Cohen C, Gran JM, Schanzer D, Cowling BJ, Wu P, Kyncl J, Ang LW, Park M, Redlberger-Fritz M, Yu H, Espenhain L, Krishnan A, Emukule G, van Asten L, Pereira da Silva S, Aungkulanon S, Buchholz U, Widdowson MA, Bresee JS; Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. Lancet. 2018 Mar 31;391(10127):1285-1300. doi: 10.1016/S0140-6736(17)33293-2. Epub 2017 Dec 14.

9) Kanai M, Kamiya H, Smith-Palmer A, Takahashi H, Hachisu Y, Fukusumi M, Saitoh T, Ohnishi M, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K. Meningococcal disease outbreak related to the World Scout Jamboree in Japan, 2015. Western Pac Surveill Response J. 2017 May 8; 8(2)

10) Kanou K, Arima Y, Kinoshita H, Ito H, Okuno H, Saito N, Sunagawa T, Kimura H, Matsui T, Oishi K. Respiratory syncytial virus surveillance system in Japan: assessment of recent trends, 2008-2015. Jpn J Infect Dis. 2018 May 24;71(3):250-255.

11) Kanayama A, Arima Y, Matsui T, Kaku K, Kinoshita H, Oishi K. Epidemiology of Imported Malaria Cases in Japan, 2006-2014: A Sentinel Traveler Surveillance Approach. Am J Trop Med Hyg. 2017 Nov; 97(5):1532-1539. doi: 10.4269/ajtmh.17-0171.

12) Kaneko M, Takanashi S, Thongprachum A, Hanaoka N, Fujimoto T, Nagasawa K, Kimura H, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Identification of vaccine-derived rotavirus strains in children with acute gastroenteritis in Japan, 2012-2015. PLoS One. 2017 Sep 13;12 (9): e0184067.

13) Kataoka Y, Murakami K, Torii Y, Kimura H, Maeda-Mitani E, Shigemura H, Fujimoto S, Murakami S. Reduction of the prevalence of AmpC β-lactamase CMY-2 in *Salmonella* from chicken meat following

cessation of the use of ceftiofur in Japan. J Glob Antimicrob Resist. 2017 Sep; 10:10-11.

14) 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. Neurol Clin Pract. 2017 Oct;7(5):390-393.

15) Kimura H, Nagasawa K, Kimura R, Tsukagoshi H, Matsushima Y, Fujita K, Hirano E, Ishiwada N, Misaki T, Oishi K, Kuroda M, Ryo A. Molecular evolution of the fusion protein (*F*) gene in human respiratory syncytial virus subgroup B. Infect Genet Evol. 2017 Aug; 52:1-9.

16) 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. A method for detecting rash and fever illness-associated viruses using multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. Microbiol Immunol. 2017 Aug;61(8):337-344.

17) Miyakawa K, Nishi M, Matsunaga S, Okayama A, Anraku M, Kudoh A, Hirano H, Kimura H, Morikawa Y, Yamamoto N, Ono A, Ryo A. The tumor suppressor APC promotes HIV-1 assembly via interaction with Gag precursor protein. Nat Commun. 2017 Jan 30; 8:14259.

18) Mizukoshi F, Nagasawa K, Doan YH, Haga K, Yoshizumi S, Ueki Y, Shinohara M, Ishikawa M, Sakon N, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Ochi A, Murakami K, Ryo A, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolution of the RNA-Dependent RNA Polymerase and Capsid Genes of Human Norovirus Genotype GII.2 in Japan during 2004–2015. Front Microbiol. 2017 Apr 25;8: 705.

19) Mori S, Horita A, Ginnaga A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Yamamoto A, Shibayama K, Arai S, Yamagishi T, Takahashi M, Taki H, Hifumi T. Venom and Antivenom of the Redback Spider (*Latrodectus hasseltii*) in Japan. Part II. Experimental Production of Equine Antivenom against the Redback Spider. Jpn J Infect Dis. 2017 Nov 22; 70 (6):635-641.

20) 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. Molecular epidemiology of rubella virus strains detected around the time of the 2012-2013 epidemic in Japan. Front Microbiol. 2017. 9;8:1513. doi: 10.3389/fmicb.2017.01513. eCollection 2017.

21) Motoya T, Nagasawa K, Matsushima Y, Nagata N, Ryo A, Sekizuka T, Yamashita A, Kuroda M, Morita Y, Suzuki Y, Sasaki N, Katayama K, Kimura H. Molecular evolution of the VP1 gene in human norovirus GII.4 variants in 1974–2015. Front Microbiol. 2017 Dec 5; 8:2399.

22) Murakami K, Noda T, Onozuka D, Kimura H, Fujimoto S. Pulsed-field profile diversities of *Salmonella* Enteritidis, *S.* Infantis, and *S.* Corvallis in Japan. Ital J Food Saf. 2017 Sep 29;6(3):138-144.

23) Murakami K, Maeda-Mitani E, Onozuka D, Noda T, Sera N, Kimura H, Fujimoto S, Murakami S. Simultaneous oral administration of *Salmonella* Infantis and *S.* Typhimurium in chicks. Ir Vet J. 2017 Aug 31;70: 27.

24) Nagasawa K, Matsushima Y, Motoya T, Mizukoshi F, Ueki Y, Sakon N, Murakami K, Shimizu T, Okabe N, Nagata N, Shirabe K, Shinomiya H, Suzuki W, Kuroda M, Sekizuka T, Ryo A, Fujita K, Oishi K, Katayama K, Kimura H. Genetic analysis of human norovirus strains in Japan in 2016-17. Front Microbiol. 2018 Jan 18; 9:1.

25) Nagasawa K, Matsushima Y, Motoya T, Mizukoshi F, Ueki Y, Sakon N, Murakami K, Shimizu T, Okabe N, Nagata N, Shirabe K, Shinomiya H, Suzuki W, Kuroda M, Sekizuka T, Ryo A, Fujita K, Oishi K, Katayama K, Kimura H. Phylogeny and immunoreactivity of human norovirus GII.P16-GII.2 detected in Japan during 2016-17, winter season. Emerg Infect Dis. 2018 Jan;24(1):144-148.

26) Nakamura H, Fujisawa T, Suga S, Taniguchi K, Nagao M, Ito M, Ochiai H, Konagaya M, Hanaoka N, Fujimoto T. Species differences in circulation and inflammatory responses in children with common respiratory adenovirus infections. J Med Virol. 2018 May;90(5):873-880.

27) Nishina A, Itagaki M, Sato D, Kimura H, Hirai Y, Phay N, Makishima M. The Rosiglitazone-Like Effects of Vitexilactone, a Constituent from Vitex trifolia L. in 3T3-L1 Preadipocytes. Molecules. 2017 Nov 22;22(11). pii: E2030.

28) Nishina A, Itagaki M, Suzuki Y, Koketsu M, Ninomiya M, Sato D, Suzuki T, Hayakawa S, Kuroda M, Kimura H.

Effects of flavonoids and triterpene analogues from leaves of Eleutherococcus sieboldianus (Makino) Koidz. 'Himeukogi' in 3T3-L1 preadipocytes. Molecules. 2017 Apr 22;22(4). pii: E671.

29) Nishina A, Shimizu K, Koketsu M, Ninomiya M, Sato D, Suzuki T, Kimura H, Hayakawa S. 5,7-Dihydroxyflavone analogues may regulate lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by suppressing IκBα-linked Akt and ERK5 phosphorylation in RAW 264.7 macrophages. Evid Based Complement Alternat Med. 2017; 2017:7898973.

30) 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. 2017 Aug; 89(8):1395-1403.

31) Ohdachi SD, Kinoshita G, Nasher AK, Yonezawa T, Arai S, Kikuchi F, Lin KS, Bawm S. Re-evaluation of the Phylogeny based on mitochondrial cytochrome b gene in the house shrew, *Suncus murinus-S. montanus* species complex, with special reference to Yemen and Myanmar populations. J Wildl Biodiversity. 2017;1(2):79-87.

32) Okuno H, Yahata Y, Tanaka-Taya K, Arai S, Satoh H, Morino S, Shimada T, Sunagawa T, Uyeki TM, Oishi K. Characteristics and outcomes of influenza-associated encephalopathy cases among children and adults in Japan, 2010-2015. Clin Infect Dis. 2018 Jun 1; 66 (12):1831-1837.

33) 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 Mar 14; 35(12): 1645-1651.

34) Saitoh A, Saitoh A, Sato I, Shinozaki T, Kamiya H, Nagata S. Improved parental attitudes and beliefs through stepwise perinatal vaccination education. Hum Vaccin Immunother. 2017 Nov 2;13(11):2639-2645.

35) Saraya T, Kimura H, Kurai D, Ishii H, Takizawa T. The molecular epidemiology of respiratory viruses associated with asthma attacks: a single-center observational study in Japan. Medicine. 2017 Oct;96(42): e8204.

36) Saraya T, Kimura H, Kurai D, Tamura M, Ogawa Y, Mikura S, Sada M, Oda M, Watanabe T, Ohkuma K, Inoue M, Honda K, Watanabe M, Yokoyama T, Fujiwara M, Ishii H, Takizawa H. Clinical significance of respiratory virus detection in patients with acute exacerbation of interstitial lung diseases. Respir Med. 2018; 136:88-92.

37) Saraya T, Nunokawa H, Ohkuma K, Watanabe T, Sada M, Inoue M, Honda K, Oda M, Ogawa Y, Tamura M, Yokoyama T, Kurai D, Kimura H, Ishii H, Goto H, Takizawa H. A novel diagnostic scoring system to differentiate between *Legionella pneumophila* pneumonia and *Streptococcus pneumoniae* pneumonia. Inter Med. Intern Med. 2018 Mar 30. doi: 10.2169/internalmedicine.0491-17.

38) Saraya T, Ohkuma K, Watanabe T, Mikura S, Kobayashi F, Aso J, Nunokawa H, Honda K, Ogawa Y, Tamura M, Sada M, Oda M, Inoue M, Yokoyama T, Kurai D, Ishii H, Kimura H, Takizawa H. Diagnostic value of vascular endothelial growth factor, transforming growth factor-β, interleukin-8, and the ratio of lactate dehydrogenase to adenosine deaminase in pleural effusion. Lung. 2018 Jan 20. doi: 10.1007/s00408-018-0090-1.

39) Somura Y, Mizukoshi F, Nagasawa K, Kimoto K, Oda M, Shinkai T, Murakami K, Sadamasu K, Katayama K, Kimura H. A food poisoning outbreak due to food handler-associated contamination with the human norovirus GII.P16-GII.2 variant strain in Italian cuisine in Tokyo during the 2016/17 winter season. Jpn J Infect Dis. 2018 Mar 22;71(2): 172-173.

40) Saraya T, Watanabe T, Tsukahara Y, Ohkuma K, Ishii H, Kimura H, Yan K, Goto H, Takizawa H. Comparisons of Clinical and Radiological Findings between Child and Adult Patients with Mycoplasma pneumoniae Pneumonia: Scoring System Values on Chest X-Ray. Intern Med. 2017 Nov 1;56(21):2845-2849.

41) Suzuki S, Kawamura T, Saeki Y, Okubo M, Konagaya M, Hanaoka N, Arashiro T, Fujimoto T, Uchio E. A Case of Type 54 Human Mastadenovirus Keratoconjunctivitis Causing Severe Broad Epithelial Defect Ten Years after LASIK Surgery. Jpn J Infect Dis. 2017 Sep 25;70 (5):597-598.

42) 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;19(1):15.

43) Kerdsin A, Akeda Y, Takeuchi D, Dejsirlert S, Gottschalk M, Oishi K. Genotypic diversity of *Streptococcus suis* strains isolated from humans in Thailand. Euro J Clin Microbiol. 2018; 37:917-925.

44) Miyahara R, Suzuki M, Morimoto K, Chang B, Yoshida S, Yoshinaga S, Kitamura M, Chikamori M, Oishi K, Kitamura T, Ishida M. Nosocomial outbreak of upper respiratory tract infection with β-lactamase-negative ampicillin-resistant non-typeable *Haemophilus influenzae*. Infect Control and Hosp Epidemiol. 2018;39(6):652-659.

45) Okinaka K, Akeda Y, Kurosawa S, Fuji S, Tajima K, Oishi K, Fukuda T. Pneumococcal polysaccharide vaccination in allogenic hematopoietic stem cell transplantation recipients: a prospective single-center study. Microb Infect. 2017;19(11):553-559.

46) Takada K, Komine-Aizawa S, Hirohata N, Trinh QD, Nishina A, Kimura H, Hayakawa S. Poly I:C induces collective migration of HaCaT keratinocytes via IL-8. BMC Immunol. 2017 Apr 24;18(1):19.

47) Takahashi M, Nagasawa K, Saito K, Maisawa S, Fujita K, Murakami K, Kuroda M, Ryo A, Kimura H. Detailed genetic analyses of the HN gene in human respirovirus 3 detected in children with acute respiratory illness in the Iwate Prefecture, Japan. Infect Genet Evol. 2018; 59:155-162.

48) Takahashi T, Arima Y, Yamagishi T, Nishiki S, Kanai M, Ishikane M, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K. Rapid Increase in Reports of Syphilis Associated With Men Who Have Sex With Women and Women Who Have Sex With Men, Japan, 2012 to 2016. Sex Transm Dis. 2018 Mar;45(3):139-143. doi: 10.1097/OLQ.0000000000000768.

49) 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;96(6):1370-1377.

50) Tatsumi C, Iizuka S, Mita T, Wada M, Hanaoka N, Fujimoto T. The first identification of human adenovirus 57 (HAdV-57) in Japan. Jpn J Infect Dis. 2018 Apr 27. doi: 10.7883/yoken.JJID.2017.476. [Epub ahead of print]

51) Thongprachum A, Fujimoto T, Takanashi S, Saito H, Okitsu S, Shimizu H, Khamrin P, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Detection of nineteen enteric viruses in raw sewage in Japan. Infect Genet Evol. 2018 May 16; 63:17-23

52) Tsukahara-Kawamura T, Fujimoto T, Gonzalez G, Hanaoka N, Konagaya M, Arashiro T, Saeki Y, Uchio E. Epidemic keratoconjunctivitis cases resulting from adenovirus type 8 and 54 detected at Fukuoka University Hospital between 2014 and 2015. Jpn J Infect Dis. 2018 Apr 27. doi: 10.7883/yoken.JJID.2017.349. [Epub ahead of print]

53) 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 Miclobiol. 2017;66(2):160-168.

54) Tu, V. T., Hassanin, A., Gorfol, T., Arai, S., Fukui, D., Thanh, H. T., Son, N. T., Furey, N. M., Csorba, G. Integrative taxonomy of the Rhinolophus macrotis complex (Chiroptera, Rhinolophidae) in Vietnam and nearby regions. J Zool Syst Evol Res. 2017; 55(3):177-198.

55) Uemura T, Migita H, Ueno T, Tsukahara-Kawamura T, Saeki Y, Fujimoto T, Uchio E. Clinical and virological analysis of epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus type 54 in a regional ophthalmic clinic in Kyushu, Japan. Clin Ophthalmol. 2018 Mar 19;12: 511-517.

56) Utsumi T, Lusida MI, Dinana, Wahyuni RM, Yamani LN, Soetjipto J, Matsui C, Deng L, Abe T, Doan YH, Fujii Y, Kimura H, Katayama K, Shoji I. Occurrence of norovirus infection in an asymptomatic population in Indonesia. Infect Genet Evol. 2017 Nov; 55:1-7.

57) Volleth, M., Nguyen Truong Son, Wu, Y., Li, Yu., Yu, W., Lin, L-K., Arai, S., Trifonov, V., Liehr, T., Harada, M. Comparative chromosomal studies in *Rhinolophus formosae* and *R. luctus* from China and Vietnam: elevation of *R. l. lanosus* to species rank. Acta Chiropterologica. 2017;19(1): 41–50.

58) 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, and 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 Feb;8(1)

59) Yahata Y, Ohshima N, Odaira F, Nakamura N, Ichikawa H, Matsuno K, Shuri J, Toyozawa T, Terajima J, Watanabe H, Nakashima K, Sunagawa T, Taniguchi K, Okabe N. Web survey-based selection of controls for epidemiological analyses of a multi-prefectural outbreak of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 in Japan associated with consumption of self-grilled beef hanging tender. Epidemiol Infect. 2018 Mar; 146 (4):450-457.

60) Yoshimatsu K, Arai S, Shimizu K, Tsuda Y, Boldgiv, B, Boldbaatar B, Sergelen E, Ariunzaya D, Enkhmandal O, Tuvshintugs S, Morikawa S, Arikawa J. Antibody detection from Middendorf 's vole (*Microtus middendorffii*) against Tula virus captured in Mongolia. Jpn J Vet Res. 2017;65(1):39-44.

61) Yoshitomi H, Sera N, Gonzalez G, Hanaoka N, Fujimoto T. First isolation of a new type of human adenovirus (genotype 79), species Human mastadenovirus B (B2) from sewage water in Japan. J Med Virol. 2017 Jul;89(7):1192-1200.

2. 和文発表

1) 阿部淳、西田直徳、森野紗衣子. 下痢症患児にウイルス抗原検査(ロタウイルス、ノロウイルス、アデノウイルス)を実施することの是非(Cons). 小児科臨床. 2017; 70(3): 402-5

2) 上野智弘、川村朋子、佐伯有祐、七田祐子、右田 博敬、藤本嗣人、内尾英一. 結膜滲出液を含む涙液を用いたアデノウイルス検出増感キットの評価. 臨床眼科. 2018; 72(4): 481-486.

3) 大石和徳. VPD に対する予防接種の効果と課題. 公衆衛生. 2017; 81:544-9.

4) 岡部信彦, 荒川創一, 岩田敏, 白石正, 多屋馨子, 中野貴司, 藤本卓司, 三鴨廣繁, 安岡彰, 一般社団法人日本環境感染学会ワクチンに関するガイドライン改訂委員会. 一般社団法人日本環境感染学会 麻疹、風疹、水痘、流行性耳下腺炎(ムンプス)に関する Q&A. 日本環境感染学会誌. 2017;32(4): i-ii, S1-S3, np2

5) 岡部信彦, 荒川創一, 岩田敏, 白石正, 多屋馨子, 中野貴司, 藤本卓司, 三鴨廣繁, 安岡彰, 一般社団法人日本環境感染学会ワクチンに関するガイドライン改訂委員会. 一般社団法人日本環境感染学会 医療関係者のためのワクチンガイドライン(第 2 版)追補版 髄膜炎菌ワクチン・破傷風トキソイド. 日本環境感染学会誌. 2017; 32(4): i-ii, S1-S5, np1

6) 奥野英雄、多屋馨子. 日本の予防接種制度と予防接種スケジュール;定期予防接種, 任意予防接種. 小児看護. 2017; 40(5): 522-528

7) 奥野英雄、多屋馨子. 我が国の予防接種後副反応報告制度. Derma. 2017; 260: 78-85

8) 奥野英雄、多屋馨子. 日本国内での急性脳炎・脳症のサーベイランス:2007～2016 年. 臨床とウイルス. 2017; 45(5): 220-229

9) 神谷元. 百日咳患者の全数把握の意義 新しいサーベイランス開始に際して.東京小児科医会報. 2018; 36(3):41-45.

10) 神谷元. 侵襲性髄膜炎菌感染症の疫学. バムサジャーナル. 2018;30(1): 34-37.

11) 駒瀬勝啓. 麻疹ウイルスの分子疫学. 小児科. 2017;58(4): 373-379.

12) 駒瀬勝啓. 麻疹アウトブレイク:その背景と対策. 感染炎症免疫. 2017;47(1): 67-68.

13) 駒瀬勝啓. 麻疹排除認定後の国内の流行状況はどうなっていますか. Up-to-date 子どもの感染症. 2017;5(1): 12-13.

14) 西藤成雄、砂川富正、神谷元. インターネットを利用した感染症情報の収集と周知. 外来小児科. 2017;20(4): 536-537.

15) 佐藤弘. 麻疹の血清疫学. 小児科. 2017; 58: 381-386

16) 佐藤弘, 多屋馨子. 知っておきたいことア・ラ・カルト 麻疹. 2017;34(5):866-868.

17) 重村洋明、村上光一. 食品・環境への薬剤耐性菌分布の拡大. 化学療法の領域. 2017; 33(5):41-49.

18) 島田智恵. マールブルグ病. 小児科臨床. 2017;70(増刊号):2423-2426.

19) 多屋馨子. ワクチン接種と稀ながら発生する副反応. 医学のあゆみ. 2018;264(5):491-499.

20) 多屋馨子, 岡田賢司, 乾幸治, 三田村敬子, 並木由美江, 菅原美絵, 津川毅, 古賀伸子, 三沢あき子, 渡邉

久美，日本小児保健協会予防接種・感染症委員会.平成 30 年度診療報酬改定からみた、わが国の薬剤耐性(AMR)対策の推進．小児保健研究．2018; 77(2): 208-209.

21) 多屋馨子．海外渡航者と麻疹風疹混合ワクチン．バムサジャーナル．2018;30(1):14-20.

22) 多屋馨子，岡田賢司，乾幸治，三田村敬子，並木由美江，菅原美絵，津川毅，古賀伸子，三沢あき子，渡邉久美，日本小児保健協会予防接種・感染症委員会．髄膜炎菌感染症とワクチン．小児保健研究．2017;76(6):650-651.

23) 多屋馨子，岡田賢司，乾幸治，三田村敬子，並木由美江，菅原美絵，津川毅，古賀伸子，三沢あき子，渡邉久美，日本小児保健協会予防接種・感染症委員会．2 月 4 日は風疹ゼロの日 2 月は風疹予防強化月間です 30～50 代の男性も MR ワクチンを受けて 2020 年度までに風疹排除の達成を．小児保健研究．2017;77(1):84-86.

24) 多屋馨子．新興・再興感染症 麻疹.小児科臨床．2017; 70 増刊:2323-2333.

25) 多屋馨子，岡田賢司，乾幸治，三田村敬子，並木由美江，菅原美絵，津川毅，古賀伸子，三沢あき子，渡邉久美，日本小児保健協会予防接種・感染症委員会．看護学生の臨床実習前の感染対策の現況と対策．小児保健研究．2017;76(5):482-483.

26) 多屋馨子．母子感染で問題となるウイルス感染症 風疹．臨床検査．2017; 61(11):1364-1369.

27) 多屋馨子，岡田 賢司，乾 幸治，三田村 敬子，並木由美江，菅原 美絵，津川 毅，古賀 伸子，三沢 あき子，渡邉 久美，日本小児保健協会予防接種・感染症委員会．予防接種から始まる子育て支援 保育所からのメッセージ．2017; 76(4):393-394.

28) 多屋馨子．麻疹ウイルスの感染経路と現状．ウイルス．2017;67(1):17-24.

29) 多屋馨子．麻疹・風疹・水痘・おたふくかぜとワクチンによる予防．臨床検査．2017;61(9):1054-1059.

30) 多屋馨子．予防接種政策の変化に対応したサーベイランス．公衆衛生．2017;81(7):558-565.

31) 多屋馨子．日本における麻疹対策の今後の方向性．日本医師会雑誌．2017;146(2):264.

32) 福住宗久、大石和徳．成人における侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)の疫学と肺炎球菌ワクチン．感染症．2017;47: 33-39.

33) 藤本嗣人．エンテロウイルスによる手足口病と脳炎，髄膜炎．Brain and Nerve．2018;70(2): 121-131.

34) 藤本嗣人．アデノウイルスの迅速診断の現状(2017 年)．臨床とウイルス．2017;45(3): 105-109.

35) 藤本嗣人、小林正明．手足口病と咽頭結膜熱について．心とからだの健康．2017;21(8):68-69.

36) 松井佑亮、大石和徳．ジカウイルスの疫学的考察 ーアウトブレイクの状況などー．感染と消毒，2017．2017;24: 115120.

37) 村上光一．鶏肉とサルモネラ．食品微生物学雑誌．2017;34:181-188.

38) 村上光一、齊藤剛仁．*Escherichia albertii* について．食品衛生学雑誌．2017;58(6):157-159

39) 森野紗衣子、多屋馨子．水痘ワクチンと水痘，帯状疱疹の疫学の変化．目からウロコのヘルペス診療ハンドブック その診断・治療で大丈夫? 2017;168-71

40) 森野紗衣子．麻疹風疹混合ワクチン．臨床と微生物．2018;45(2): 133-9

41) 諸岡雄也，福本瞳，山本剛，喜多修久，西村良美，奥野英雄，新井智，畠山邦也，平田雅昭，片野晴隆，多屋馨子. Multivirus real-time PCR によって診断できたヒトパルボウイルスB19脳炎の１例．NEUROINFECTION. 2017;22(1):144-149.

Ⅱ．学会発表

1．国際学会

1) Ando F, Akamine R, Hosoda C, Yamashita M, Ikema M, Kishimoto A, Nakasone T, Azuma T, Miyamoto Y, Ohono S, Sakiyama H, Hirayasu A, Ohoshiro T, Yonahara Y, Takara T, Nakama E, Kyan H, Kakita T, Kuba Y, KatoT, Kudaka J, Uezato HR, Nidaira M, Yamauchi M, Yamagawa M, Matsui T, Oishi K, Izumiya H, Ohnishi M, Yahata Y, Sunagawa T, Azuma T, Itokazu T. A multi-prefectural outbreak of *E. coli* O157 associated with sugarcane juice in Okinawa Prefecture, Japan, 2016. InFORM 2017, Integrated Foodborne Outbreak Response and Management Conference (Orange County, USA, November 6-9, 2017).

2) Arai S, Boldgiv B, Boldbaatar B, Taylor K, Nakata K, Tanaka-Taya K, Kang H J, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Co-circulation of divergent hantavirus lineages in sorex shrew species in mongolia and japan. International Union of Microbiological Societies Congresses 2017. July

17 – 21, 2017. Singapore.

3) Arima Y, Matsui T, Kanou K, Kinoshita H, Sunagawa T, Oishi K. A more systematic approach to interpreting infectious disease surveillance data. 21st International Epidemiological Association (IEA), World Congress of Epidemiology. August 2017. Saitama, Japan.

4) Fukusumi M, Kanagawa Y, Ohfuji S, Miyazaki K, Matsui T, Mizoguchi K, Yuguchi Y, Fukushima W, Oishi K, Hirota Y. Risk of seasonal influenza by occupation in a railway company in an urban area, Japan, 2012/13, 2013/14 and 2014/15 influenza seasons. World Congress of Epidemiology (WCE2) 2017.8. Omiya, Saitama.

5) Gu S H, Arai S, Kang H J, Cook J A, Kadjo B, Lim B K, Markowski J, Hedjuk J, Minarro M, Feliu C, Hugot J P, Ohdachi S D, Yanagihara, R. Newfound insights into the host range, geographic distribution and genetic diversity of hantaviruses gained from natural history collections of shrews, moles and bats. 12th International Mammalogical Congress. July 9 – 14, 2017. Perth, Western Australia.

6) Hachisu Y, Kanai M, Kamiya H, Takahashi H, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Transmission of *N. meningitidis* serogroup W, ST-11 during an international flight. IDSA. 2017.10. San Diego CA

7) Kanai M, Kamiya H, Okuno H, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Mori Y.
Epidemiological Characteristics of Congenital Rubella Syndrome Cases during Rubella Epidemic in Japan, 2012--2014. IDSA. 2017.10. San Diego CA

8) Kang H J, Arai S, Gu S H, Cook J A, Dizney L, Ruedas L A, Yanagihara R. Phylogeography of Soricine shrew-borne hantaviruses in north America. International Union of Microbiological Societies Congresses 2017. July 17 – 21, 2017. Singapore.

9) Matsui Y, Kamiya H, Kamenosono A, Matsui T, Oishi K, Kidokoro M, Sunagawa T. First mumps outbreak in decade: measuring impact of mumps among naïve population - Tokunoshima Island, Japan. IDSA. 2017.10. San Diego, CA

10) Murakami K, Maeda-Mitani E, Onozuka D, Noda T, Sera N, Kimura H, Fujimoto S, Murakami S. Simultaneous oral administration of *Salmonella* Infantis and *S.* Typhimurium in chicks. International Union of Microbiological Societies. July 16–21, 2017. Sigapore.

11) Oishi K. The current situation of invasive pneumococcal diseases in Japan and the development of novel pneumococcal protein vaccine. 1st Korea-China-Japan Joint Pneumococcal Symposium. November 2017. Seoul, South Korea.

12) Shigemura H, Murakami K, Noda T, Matsui M, Suzuki S, Sekizuka T, Kuroda M, Sera N. Decrease in extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* from chicken meats in Japan. International Union of Microbiological Societies. July 16–21, 2017. Sigapore.

13) Shiino T, Matsuda M, Hachiya A, Sugiura W, Yokomaku Y, Iwatani Y, Yoshimura K, The Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Transmission cluster-specific pattern of adaptive evolution of the HIV-1 envelope gp120 protein sequence in a Japanese MSM population. 9th IAS Conference on HIV Science (IAS 2017). July 23-26, 2017 Palais des Congrès. Paris, France

14) Shimada T. Experience from Japan: “Fortune has only forelock”. Science and Art for epidemiologists to influence policy makers. The 9th TEPHINET Global Scientific Conference. August 2017, Chiang Mai, Thailand

15) Watanabe A, Shimada T, Matsui T, Sunagawa T, Taya K, Oishi K. The Epidemiological Characteristics of Laboratory-Confirmed Measles Patients Japan, 2011 to 2015: A Case-Control Study. The 9th TEPHINET Global Scientific Conference, August 2017, Chiang Mai, Thailand

16) Yahata Y, Ando F, Kawabata K, Nagira M, Sunagawa T, Matsui T, Izumiya H, Ohnishi M, Oishi K.
Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157 outbreak among residents of a high school dormitory and community acquired sporadic case of multi-prefecture in August-September 2013, in Japan. InFORM 2017, Integrated Foodborne Outbreak Response and Management Conference (Orange County, USA, November 6-9, 2017).

2. 国内学会

1) 新井智、神谷元、野口雄司、松井佑亮、新橋玲子、西畑伸二、村木伸幸、井田清惠、川本実奈、立花一憲、多屋馨子、大石和徳. 2016 年に 4 例の日本脳炎症例の発生した対馬市における血清疫学調査. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 2017 年 12 月. 福岡県福岡市.

2) 飯田雅、花岡希、藤本嗣人、伊藤晋、出口隆、安田満、小柳香奈子、渡邉日出海. Human mastadenovirus にお

ける尿道炎に関わるサイトの探索. 第 30 回日本性感染症学会. 2017 年 12 月. 札幌市.

3) 伊豫田淳、李謙一、石嶋希、勢戸和子、齊藤剛仁、大西真. HUS発症例における血清診断とEHECの分離同定について. 第21回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2017年11月. 鹿児島県.

4) 大石和徳. 高齢者における肺炎球菌感染症　疫学と予防(イブニングセミナー) 1. 高齢者の肺炎球菌感染症: 疫学所見とワクチン効果. 第 91 回日本感染症学会、第 65 回化学療法学会. 2017 年 4 月. 東京都.

5) 大石和徳. ポストワクチン時代の侵襲性肺炎球菌感染症:髄膜炎を中心に(教育講演).第 22 回日本神経感染症学会. 2017 年 10 月. 北九州市.

6) 大石和徳. ジカウイルス感染症の疫学と診療体制(シンポジウム:グローバルな視点から考えるジカウイルス感染症の現状と課題). 第 21 回渡航医学会学術集会. 2017 年 11 月. 東京都.

7) 大石和徳. 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創出等に関する研究:これまでの成果と今後の課題(シンポジウム). 第21回日本ワクチン学術集会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

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、ロタウイルス胃腸炎とロタウイルス関連脳症の報告数把握の有用性. 第 49 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 2017 年 10 月. 石川県金沢市.

9) 奥野英雄、佐藤弘、森野紗衣子、新井智、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤、大石和徳、多屋馨子. 予防接種法に基づき医療機関から報告されたBCGワクチン接種後の副反応疑い報告. 第21回日本ワクチン学会学術集会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

10) 奥野英雄、吉川肇子、佐藤弘、大石和徳. ワクチンの説明内容について自発的に考えることによる態度変容に対する効果. 第21回日本ワクチン学会学術集会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

11) 尾上泰彦、花岡希、小長谷昌未、藤本嗣人. 尿道分泌物よりアデノウイルスＤ種 64 型が検出できた尿道炎. 第 30 回日本性感染症学会. 2017 年 12 月. 札幌市.

12) 金山敦宏、有馬雄三、松井珠乃、加來浩器、木下一美、大石和徳. マラリア輸入症例の推定感染地の分布と重症のリスクについて. 第28回日本臨床寄生虫学会大会. 2017年6月. 東京都.

13) 金山敦宏、八幡裕一郎、高橋琢理、砂川富正. わが国における食中毒調査手法についての課題. 第 76 回日本公衆衛生学会総会. 2017 年 10 月. 鹿児島県.

14) 加納和彦、伊東宏明、有馬雄三、木下一美、木村博一、砂川富正、松井珠乃、大石和徳. 日本におけるRSウイルス感染症の疫学―感染症発生動向調査から見たRSV流行時期の地域性―. 第66回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 2017年11月. 東京都.

15) 神谷元. 麻疹排除国認定後の麻疹アウトブレイクの特徴. 第71回国立病院総合医学会. 2017年11月. 香川県高松市.

16) 神谷元. 近年の国内風疹の疫学について. 第38回衛生微生物協議会. 2017年7月. 東京都.

17) 神谷元. 予防接種を安心して受けてもらうために. 第27回外来小児科学会. 2017年9月. 三重県津市.

18) 神谷元. 小児救急とワクチン. 第31回日本小児救急学会. 2017年7月. 東京都.

19) 神谷元. 定期に乗り損ねたワクチンー今何をしなければいけないのかー＜ロタウイルスワクチン＞. 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. 2017年4月. 東京都.

20) 神谷元. シンポジウム「ワクチンの有害事象を考える」.米国のワクチン接種後副反応解析システムのご紹介. 第21回日本ワクチン学会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

21) 神谷元. 百日咳対策　～新しいサーベイランス開始に際して～. 第21回日本ワクチン学会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

22) 亀之園明、神谷元、松井佑亮、砂川富正. 鹿児島県徳之島におけるムンプスの地域流行の疫学に関する研究. 第21回日本ワクチン学会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

23) 吉良龍太郎、チョンピンフィー、森墾、奥村彰久、鳥巣浩幸、安元佐和、清水博之、藤本嗣人、花岡希、楠進、高橋利幸、大石和徳、多屋馨子. エンテロウイルス D68 のアウトブレイクに関連した急性弛緩性脊髄炎. 第 121 回日本小児科学会. 2018 年4月. 福岡県福岡市.

24) 吉良龍太郎、チョン・ピンフィー 、多屋馨子、清水博之、藤本嗣人、花岡希、大石和徳、森懇、奥村彰久、鳥巣浩幸、安元佐和、楠進、高橋利幸. 急性弛緩性脊髄炎 急性弛緩性脊髄炎の臨床像. 第22回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2017年10月. 福岡県小倉市.

25) 黒田萌、田沢広美、神谷元、砂川富正. 2016年8月以降の沖縄県北大東村における百日咳集団発生に対する感染対策の報告と百日咳ワクチン有効性の検討. 第21回日本ワクチン学会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

26) 小林祐介、神谷元、森野紗衣子、多屋馨子、砂川富正、松井珠乃、大石和徳、森嘉生、芦村達哉、岡部敏行、西谷由紀子、椎根真太郎. 外国人職業技能集合講習を発端とした風疹広域感染事例. 第21回日本ワクチン学会.2017年12月. 福岡県福岡市.

27) 駒瀬勝啓. 麻疹排除後の状況と課題. 第17回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会. 2017年12月. 神奈川県.

28) Saitoh T, Hataya H, Hamada R, Oishi K, Sunagawa T. Long-term outcomes in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* associated hemolytic uremic syndrome in Japan. 第52回日本小児腎臓病学会学術集会. 2017年6月. 東京都.

29) 齊藤剛仁、伊豫田淳、砂川富正、大石和徳、大西真. 溶血性尿毒症症候群の患者血清を用いた腸管出血性大腸菌感染症の確定診断. 第49回日本小児感染症学会. 2017年10月. 石川県.

30) 齊藤剛仁、幡谷浩史、濱田陸、大石和徳、砂川富正. EHEC感染症におけるHUS発症例の経過観察状況と長期予後. 第21回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 2017年11月. 鹿児島県.

31) 佐藤弘、多屋馨子、清水博之、大石和徳. 不活化ワクチン導入から5年目のポリオの予防接種状況および抗体保有状況について(感染症流行予測調査より). 第49回日本小児感染症学会. 2017年10月. 石川県金沢市.

32) 佐藤弘、多屋馨子、森嘉生、竹田誠、大石和徳. 成人男性における風疹に対する感受性者の現況(感染症流行予測調査より). 第21回日本ワクチン学会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

33) 椎野禎一郎、健山正男、石原美紀、南留美、蜂谷敦子、横幕能行、吉田繁、近藤真規子、貞升健志、古賀道子、森治代、杉浦亙、吉村和久. 国内伝播クラスタの検索プログラムの開発1:未知の塩基配列の所属する伝播クラスタの解析力の検証. 第31回日本エイズ学会学術集会総会. 2017年11月. 東京都.

34) 島田智恵. 麻疹排除～なぜ目指したか・今、何が問題か～. 平成29年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会. 2017年9月. 和歌山県.

35) 多屋馨子. ワクチンの必要性と疫学の変化. 第34回バイオロジカルズ(タンパク医薬)製造技術研究会. 2017年5月. 東京都中央区.

36) 多屋馨子. 急性弛緩性脊髄炎　臨床的特徴とエンテロウイルスD68との関連性 エンテロウイルスD68の検出状況と急性弛緩性麻痺(AFP)に関する全国疫学調査、2015年. 第59回日本小児神経学会学術集会. 2017年6月. 大阪府大阪市.

37) 多屋馨子. 急性弛緩性脊髄炎 急性弛緩性麻痺の全国疫学調査. 第22回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2017年10月. 福岡県小倉市.

38) 多屋馨子. 「ワクチンの有害事象を考える」国内の副反応報告システム. 第21回日本ワクチン学会学術集会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

39) 多屋馨子. 医療関係者のための予防接種. 第33回日本環境感染学会学術集会. 2018年2月. 東京都品川区.

40) 多屋馨子. 小児消化管感染症とワクチン. 第14回日本小児消化管感染症研究会. 2018年2月. 東京都世田谷区.

41) 土橋酉紀、烏帽子田彰、高橋琢理、八幡裕一郎、神谷元、砂川富正. 日本における気象とレジオネラ症発症との関連. 第76回日本公衆衛生学会総会. 2017年10月31-11月2日. 鹿児島県鹿児島市.

42) 永瀬静香、親里嘉展、多屋馨子、新井智、奥野英雄、黒田誠、高崎智彦、片野晴隆、荻美貴、近平雅嗣、高橋幸利、榊原尚子、中尻智史、米谷昌彦. 詳細な検索によりウイルス感染の関与が示された抗NMDA型GluRに対する抗体陽性脳炎の小児3症例. 第22回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2017年10月. 福岡県小倉市.

43) 錦信吾、有馬雄三、山岸拓也、高橋琢理、内田千秋、佐々木貴子、澤村正之、濱田貴、杉下由行、大西真. 異性間性的接触による梅毒感染リスクに関する研究:パイロット調査からの結果. 第30回日本性感染症学会学術大会. 2017年12月. 札幌市.

44) 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58回臨床ウイルス学会. 2017年5月. 長崎県長崎市.

45) 花岡希、伊藤晋、小長谷昌未、藤本嗣人. 尿道炎に関するアデノウイルス検出法の検討～迅速診断キットの有用性について～. 第 30 回日本性感染症学会. 2017 年 12 月. 札幌市.

46) 平川賢史、矢吹郁美、星野恵美子、櫻井のどか、黒岩由紀、布施茂登、森俊彦、片野晴隆、奥野英雄、新井智、多屋馨子. 冬季に手足口病が家庭内感染し、コクサッキーA6型による急性脳症を発症した一乳児例. 第22回 日本神経感染症学会総会・学術大会. 2017年10月. 福岡県小倉市.

47) 福住宗久. シンポジウム 4 どこが難しい？職場の麻しん

風しん対策「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. 2017 年 4 月. 東京都新宿区.

48) 藤本嗣人、砂川富正、小長谷昌未、木下一美、花岡希、大石和徳. 2013～2016 年日本の流行性角結膜炎患者から検出アデノウイルス種別・型別. 第 54 回日本眼感染症学会. 2017 年 7 月. 大阪市.

49) 丸山絢、八幡裕一郎、三﨑貴子, 岡部信彦. 自治体における腸管出血性大腸菌感染症散発事例の包括的なリスク推定の試行. 第76回日本公衆衛生学会総会. 2017 年 10 月. 鹿児島県.

50) 森野紗衣子、多屋馨子、砂川富正、大石和徳. 感染症法に基づく全数届出疾患である水痘入院例からみた神経合併症に関する検討. 第22回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2017年10月. 福岡県小倉市.

51) 森野紗衣子、多屋馨子、砂川富正、大石和徳. 水痘ワクチン定期接種化後の水痘発生動向の変化と今後の課題. 第49回 日本小児感染症学会総会・学術集会. 2017年10月. 石川県金沢市.

52) 森野紗衣子、佐藤弘、奥野英雄、新井智、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤、大石和徳、多屋馨子. 予防接種後副反応疑い報告(医療機関報告)から見た血小板減少性紫斑病症例の検討. 第21回日本ワクチン学会. 2017年12月. 福岡県福岡市.

53) 森本真理、中村晴奈、森野紗衣子、八幡裕一郎、河野和馬、青柳順子、稲葉秀子、砂川富正、多屋馨子、谷口清州、堀浩樹、中野貴司、神谷元. 医療従事者に対する予防接種教育プログラム構築プロジェクト―経過報告―. 第21回日本ワクチン学. 2017年12月. 福岡県福岡市.

54) 八幡裕一郎. 積極的疫学調査と細菌学の接点 実地疫学調査における分子サブタイピングの利用. 第 90 回日本細菌学会総会. 2017 年 2 月. 宮城県.

55) 八幡裕一郎、神谷元、砂川富正、土橋酉紀、河上祥一. 妊婦における百日咳含有ワクチン接種の知識・態度とワクチン接種行動. 2017年12月. 福岡県福岡市.

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（2017年：1,389件）で、感染者数増大が続いている。特にエイズ発症により感染が判明する件数が多く（2017年：413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進行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。さらに抗原最適化研究を進展させている。

HIV感染者治療に関しては、国内の抗HIV薬治療患者検体の解析により、薬剤耐性株の出現・伝播についての調査を進め、臨床へのフィードバックを含め成果を得てきた。これらの解析を継続・発展させるとともに、新規治療薬開発に向けて、HIV複製・感染病態の分子生物学的解析を進め、治療標的となる機序・因子の同定を推進中である。また、感染者のHIV治癒に向け、HIV複製制御維持・潜伏機序の解明を目指した研究を展開している。

施策基盤情報獲得に向けては、まず国内の診断・検査技術の向上および精度管理に関して中心的役割を果たしてきており、今後も精度の高い診断体制の確立に貢献していく予定である。国内外の疫学的調査研究を推進し、アジア諸地域を中心とした疫学情報を得てきたが、特に近年、ベトナム国立衛生疫学研究所および西アフリカのガーナ野口記念医学研究所との国際共同研究を推進している。また、HIV流行地域であるアフリカ・アジア等を対象とし、その診断検査技術向上ならびにサーベイランス強化を目的として、国際協力機構の協力によるHIV感染診断技術・サーベイランスに関する国際研修を年一回開催している。

以上のように、エイズ研究センターは、研究の推進ならびにその成果の国内外への発信・導入により、わが国におけるHIV 感染拡大防止および HIV 感染者・エイズ患者の QOL の向上、さらには世界の HIV 感染症の克服に貢献することを目標としている。

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。一方、興味深いことに、もともと GagD244E を有する SIV が感染した個体では、GagD244E 特異的 CTL 反応が誘導されるものの、244D への復帰が認められなかった。本研究の結果は、ウイルスと宿主細胞性免疫との相互作用の複雑さを示すものである。

[石井 洋、関紗由里、中村 碧、佐野雅人、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。最初に MHC-I ハプロタイプ A を有するサルに SIVmac239 を接種し、1年後に得られた血漿を 1 代目 SIV とし、これを MHC-I 遺伝子型を共有しないサルに接種し、さらにその 1 年目の血漿を 2 代目 SIV として MHC-I 遺伝子型を共有しないサルに接種するという 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。この in vitro の複製能の低下した3代目の SIV を用いたサルへの感染実験を行ったところ、まず、MHC-I ハプロタイプ A を有さないサルでも野生型 SIV と同様の持続感染を呈した。一方、MHC-I ハプロタイプ A を有するサルでは、野生型 SIV より有意に高いウイルス量を示し、早期にエイズ発症にいたった。この結果は、HIV が集団での伝播を繰り返すうちに、MHC(HLA)に適応し、in vitro 複製能の低下にもかかわらず、CTL に抵抗性となることで、より高病原化していく可能性を示すものである。

[関紗由里、西澤雅子、山本浩之、石井 洋、松岡佐織、椎野禎一郎、武田明子、Mark de Souza、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)、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)、俣野哲朗]

(3) 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

野生株 SIVmac239 は、ウイルス産生を伴う慢性感染と免疫機能不全を起因とする種々の致死性疾患を起こす。一方、SIVmac239 のウイルススパイク(Env)の5箇所の糖鎖修飾を欠損する変異株Δ5G は、野生株と同レベルの初期感染を起こすが、感染は制御される。感染により誘導された免疫は、サブタイプが異なる SIV 感染を抑制することから、HIV ワクチンへの応用が期待される。SIVmac239 とΔ5G は同レベルの初期感染を起こすが、防御免疫は、後者のみで誘導される。この違いは標的感染組織の違いによることをすでに報告している。SIVmac239 は 2 次リンパ組織の CD4+T 細胞:CXCR3+CCR5+細胞に感染する。一方、Δ5G は小腸粘膜固有層の CD4+T 細胞に感染する。本研究では、標的細胞は、感染初期により惹起される宿主応答に依存していると考え、感染後 7 日の末梢単核球を用い網羅的遺伝子発現(マイクロアレイ)による宿主応答の解析を行った。その結果、

CXCR3 のリガンドである CXCL10 発現が、SIVmac239 感染ではΔ5G 感染と比べ顕著に高いことが明らかになった。CXCL10 は、主に単球・2 次リンパ組織の MAC387 陽性マクロファージが産生していた。本研究から、ウイルス糖鎖による病原性感染では、単球・マクロファージによる 炎症性 TH1 型免疫応答が深く関わっていることが示唆された。
[森 一泰、藤野真之]

(4) 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

AIDS 発症に至る HIV/SIV 感染症において、ウイルス感染初期に生体内で起こるイベントの詳細を知ることは、ワクチン開発において非常に重要である。本研究は、ウイルス感染初期における各種免疫細胞のウイルス感染に対する役割を明らかにすることを目的とし、SIVmac239 および糖鎖変異ウイルスΔ5G 感染 9 日において採取した末梢血単核球より、CD4T、CD8T、B, 単球、樹状細胞を分離した後、RNA-seq により網羅的な遺伝子発現解析を行った。NGS により得られた配列情報を、アカゲザルゲノム(rheMac8_MT)へマッピングした結果、98-99%と高いマップ率が得られた。細胞ごとの個体間比較では、樹状細胞、4T において特に有意な発現変動が多く見られた。有意な発現変動のあった注目遺伝子の数をカテゴライズしたところ、調節関連と免疫関連の遺伝子が比較的多く検出された。SIVmac239 感染では全ての細胞で発現パターンが類似している結果が得られた。一方 CD4T、CD8T、B 細胞では SIVmac239 感染とΔ5G 感染において共通のクラスタを形成した。今回の RNA-Seq による解析の結果は、マイクロアレイによる末梢血単核球における遺伝子発現解析結果にて有意な変動が見られた遺伝子変動パターンと極めて類似していた。
[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、中和抗体受動免疫による 100 週単位の SIV 制御、NAb 受動免疫後の CTL エスケープ変異体の *in vitro* 複製抑制能の亢進と *in vivo* での CTL エスケープ変異の蓄積阻止、NAb 誘導群における主要 CTL の pAMPK 低発現の亜集団保有、CD8 陽性細胞集団の SIV 複製抑制能の NAb 受動免疫による選択的亢進などを見出してきた。本年度は、NAb 受動免疫群における早期からの特異的 CTL 応答の誘導パターン(レパトワ)を再度包括的に解析することを目的に追加的にエピトープ同定を進め、MHC クラス I ハプロタイプ *90-010-Ie* 及び *90-010-Id* に関連するエピトープ候補領域(各 2 個、計 4 個)と、選択されるウイルス変異(一部は CTL エスケープ変異として特定)の同定に至った。本結果は、細胞性免疫との相乗効果を念頭に置いた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ための基礎となるものである。次年度以降は、エピトープ特定を行い、それに基づき当該 CTL 群におけるリン酸化 AMPK 低発現 CTL 集団の機能的意義の解析を行うことを予定している。
[山本浩之、Hau Thi Thu Trang、菅野芳明、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

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、これまでに 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を見出した。本年度は、Env の中和標的領域を探索することを目的に、Env 可変領域 1、2、4、5(V1, V2, V4, V5)に単独及び多重の残基置換を有する抗体エスケープ変異 SIV クローン群を作製し、それらをウイルスパネル中和試験に供した。結果、NAb 誘導群において SIV_{mac239} 株の抗体による中和は、複数の標的領域(特に V1+V2+V4 領域)に対する組合せで達される可能性が見出された。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、菅野芳明、Hau Thi Thu Trang、野村拓志(熊本大学)、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、新規サル馴化 HIV-1(HIV-1mt)の個体間伝播および長期感染経過中における液性免疫応答の機

能的解析を展開し、本年度は、接種 100 週目以降の血漿を新たに加えて、第一継代接種サル(C98-051)、第二継代接種サル(C03-108、C94-044)、および第三継代接種サル(C09-094、C10-011)の感染経過における血漿中抗 HIV 抗体価、および、独自に開発した高感度かつ中和抗体カテゴリー指向性を有する HIV クローンパネルおよび autologous クローンウイルスを用いて血漿中中和抗体活性を測定した。

パネルウイルス解析から、C98-051 (P1)、C03-108 (P2a)、および C10-011 (P3b)の感染サルでは V3 中和抗体が主に誘導される可能性が示された。他方、C94-044 (P2b)および C09-094 (P3a)の二頭においては、主に MPER 中和抗体が誘導される可能性が示され、かつ感染経過に伴い誘導される中和抗体カテゴリーも変化することが示された。

以上、HIV-1mt 感染サルの感染経過における血漿中抗 HIV 抗体価を測定すると同時に、独自に開発したパネルウイルスを用いて誘導中和抗体群の詳細解析を進めることが可能となり、潜伏感染における液性免疫応答の機能的意義の解明に繋がることが期待できる。

[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される。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。さらに、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、さらにはサルでの高い免疫原性を確認した。

[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)、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。さらに複数の HIV 株由来の EnvF 抗原を用いることにより、多様な HIV 株への交差性の高い抗体誘導の可能性を示した。

[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。特に Gag241-249 特異的 CTL について、Gag244E 変異を有するエピトープを認識する CTL の誘導は、GagD244E 逃避変異選択の指標となることが示唆された。

[山本浩之、石井 洋、椎野禎一郎、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。データベースを

構築し、ウイルスゲノム、HLA 遺伝子型等のデータ収集・蓄積が進んでいる。

[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）、潟永博之（国立国際医療研究センター）、岡 慎一（国立国際医療研究センター）、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、この研究成果をより発展させて、脆弱な状況の Env を誘導する「新規 Env 標的阻害剤（二機能性 Env 阻害剤）」の研究開発を進めている。

昨年度、Ⓐ抗 HIV 活性（侵入阻害）とⒷEnv 構造再変化能（抗 HIV 抗体活性化）を併せ持つ「二機能性 Env 阻害剤」の「網羅的化合物ライブラー」の構築を、各々独立的なアプローチから展開し、①フェニルオキサミド誘導体、②トリテルペン誘導体、③ヒドロキシフラボン誘導体、および④硫酸化フェニル誘導体などの、化学構造骨格および Env 結合領域等が各々異なる二機能性 Env 阻害剤カテゴリーを複数見出すことに成功した。そこで、本年度は、①フェニルオキサミド誘導体、②トリテルペン誘導体、③ヒドロキシフラボン誘導体、および④硫酸化フェニル誘導体の第1期化合物群から合成展開を試みたところ、in vitro における 50%阻害濃度（IC_{50}）が μM から nM に向上した有用第2期化合物群を各々見出すことに成功した。中でも顕著な活性を示した②トリテルペン誘導体に関しては、より優れたヒット化合物の合成展開および詳細解析に成功し、特許出願に至った。加えて、マウス血中動態試験も展開し、2 つのヒット化合物に対する in vivo 薬物動態データを得られたことで、、本研究が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

CCR5 阻害剤マラビロック（MVC）は初めての宿主因子を標的とする抗 HIV 認可薬であり、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。そこで我々は、これまでに、血友病症例から分離した HIV-1 subtype B (KP-5) を用いて、MVC に対する in vitro 耐性誘導を行い、MVC 耐性獲得によるエンベロープ Env の構造変化と中和抗体に対する感受性の関係を解析している。

本年度は、本研究で構築した MVC 耐性株由来 KP-5 ウイルスパネルを用いて、HIV 感染個体由来血清における、中和抗体活性および中和抗体カテゴリー（エピトープ）の大略解析を試みた結果、高度中和感受性を示し、かつ、各パネルウイルスで各カテゴリー中和抗体指向性が異なる特徴により、感染者個体内で誘導された中和抗体の大略解析に有用であることが示され、今後の研究流用に大いに期待ができる。

[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

HIV 感染症治癒達成のためには潜伏感染細胞除去が必須である。潜伏感染細胞を再活性化し、感染細胞除去を目指す”Kick and Kill” 戦略が提唱されているが、潜伏感染細胞の再活性化、感染細胞除去について、いずれも有効な手段は確立されていない。本来 CTL は感染細胞排除を担う有用な宿主免疫監視機構であるが、慢性期の HIV 感染者は不可逆的な免疫老化状態に陥っており、HIV 特異的 CTL も十分に機能できないことが明らかとなっている。HIV 感染症の治癒を目指した治療戦略として、人工多能性幹細胞 (induced Prulipotent Stem Cell, iPS 細胞)技術を用いて再生した HIV 特異的 CTL を、再活性化感染細胞の排除を担うエフェクターと位置づけ、新たな免疫細胞療法の開発を目指した研究を進めている。HIV 感染者由来 HIV 特異的 CTL クローンより iPS 細胞(T-iPSC)を樹立し、抗原特異性を維持した再分化 T 細胞(T-iPSC-CTL)について、その HIV 感染細胞排除能について検討を行った。T-iPSC-CTL は再活性化した HIV 潜伏感染細胞株を標的として細胞傷害活性を示し、また再活性化 HIV 潜伏感染細胞と共培養を行うことで抗原特異的増殖が確認された。HIV 感染者由来 HIV 特異的 T-iPSC-CTL の再活性化 HIV 潜伏感染細胞排除への有効性が示唆された。また、安全性検証を目的とし、アカゲザル由来 T-iPSC を用いて作製された再分化 T 細胞を用いてアカゲザルへの移植実験を実施し、長期間観察を行った。2頭のサルにおいて急性症状は認められず、移植後最大1年以上経過した時点で、いずれの組織においても病理学的異常所見は見られず、iPS 細胞由来 T 細胞が安全に移植可能であることが示唆された。

[立川　愛、俣野哲朗、石井　洋、横田恭子（免疫部）、寺原和孝（免疫部）、三木祥治（免疫部）、岩渕龍太郎（免疫部）、金子　新（京都大学）、三浦智行（京都大学）]

(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, HPV などの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ている。CMV (pp65, IE1), EBV (EBNA1, LMP2, BZLF1), AdV(Penton)について、日本人で CD4 及び CD8 陽性 T 細胞に高頻度に認識される領域を決定し、その HLA 拘束性についても予測ツールを用いて予測可能であることを明らかにした。

[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

Gag 機能部位を標的とする低分子化合物の創出においては、昨年度までに CA を標的とする候補化合物の抗 HIV-1 活性および細胞毒性の評価を行い、候補化合物が中程度の抗 HIV-1 活性を有することを明らかにした。今年度は、この化合物が、種々の HIV-1 亜株に対してほぼ同程度の抗 HIV-1 活性を有すること、臨床使用されている抗 HIV-1 薬に耐性を示すウイルスに対しても有効性を示すことを明らかにした。また、作用機序に関する研究では、この化合物は HIV-1 感染において標的細胞での逆転写過程を阻害すること、一方ウイルス複製後期過程にはほとんど影響を与えないことも明らかにした。Gag 蛋白質部分ペプチドを用いた抗 HIV 中分子の創出においては、昨年度までに HIV-1 CA のヘリックス 9 を含む部分ペプチドが中程度の抗 HIV-1 活性を示すことを明らかにしている。今年度は、この領域付近の部分ペプチドの設定や長さを色々と変えることによってより高い抗 HIV-1 活性を示す誘導体を検索した。その結果、ヘリックス 9 からヘリックス 10 の一部を含む部分ペプチドが元化合物以上の抗 HIV-1 活性を示すことが明らかになった。その理由としては、誘導体において□-ヘリックス性が向上したことは考えられた。

[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]

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。本研究は、ベトナム国立衛生疫学研究所（National Institute of Hygiene and Epidemiology, NIHE）との共同研究として行われており、ハノイの HIV 感染者検体を用いて HLA タイピングおよび流行 HIV 株の遺伝子解析を行った。系統樹解析の結果、数例を除いてウイルスサブタイプは東南アジアで流行する CRF01_AE であり、他サブタイプではこれまでに報告されていない複数の HLA 関連変異が同定された。定期的に NIHE を訪問し、若手研究者への技術指導や研究討議を精力的に行なっており、本研究はベトナムの若手研究者育成についても貢献するものである。

[立川　愛、高橋尚史、石川晃一、松岡佐織、椎野禎一郎、Nguyen Thi Lan Anh（NIHE）、Tran Thi Minh Tam（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、椎野禎一郎、石坂彩（東京大学）、水谷壮利（東京大学）、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

10年以上継続的に進めている日本における薬剤耐性HIV動向調査をおこなう研究で、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。

(ア)分子疫学調査研究: 新規 HIV/AIDS 診断症例については 531 例（H29 年 1 月~12 月）が収集された。同時点の補足率は 38%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。何らかの伝播性薬剤耐性変異を有するものは 10.6%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 5.1%、プロテアーゼ阻害剤 3.2%、非核酸系逆転写酵素阻害剤 2.3%であった。インテグラーゼ阻害剤に対する耐性変異は見つかっていない。個別の耐性変異を見るとAZT 耐性変異の T215X は 4.2%、PI 耐性変異の M46I/L は 2.1%、そして NNRTI 耐性変異の K103N は 1.3%が H29 年も観察されており、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 5 年 M184V が検出された症例（10 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。HBV 感染者の治療開始の前に、HIV の共感染の有無の検討が望まれる。

(イ)情報分析研究：SPHNCS の Web インターフェースは、第一版が完成した。薬剤耐性班で収集した 2003-2013 年の pol 領域配列による subtype B のクラスターを網羅している。それを用いて、2013-2016 年に収集した沖縄県の検体を当てはめてクラスター解析を行った所、配列追加解析機能が充分機能する事が判明した。この結果から、狭い地域での若い伝搬クラスターの発見及び早期対応のための重要なツールとなりうる事が分った

(ウ)薬剤血中濃度モニタリング研究：平成 29 年 4 月から 10 月までの 7 か月に、研究班で測定した検体の測定件数は 354 件、19 施設からの利用があった。測定薬剤は TFV(91 件)が最も多く、DTG、COBI、EVG、RAL が続いた。HP へのアクセス数や血中濃度測定依頼のためのパスワード取得者も年々増加傾向にあり、抗 HIV 薬の血中濃度測定に関する関心の高さが伺えた。今後はより多くのデータを集積・解析することで、長期の臨床効果について検討する必要があると考えられた。また、新規の合剤における夫々の薬剤の濃度に関しても今後重要となってくると考える。

[吉村和久、西澤雅子、椎野禎一郎、松田昌和（名古屋医療センター）、蜂谷敦子（名古屋医療センター）]

(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、過去10年（2006-2015）の東京都、大阪府、福岡研の 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新規診断者に占める早期診断率を把握するため HIV incidence assay を実施した。各自治体における早期診断率、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。本研究により早期診断率は東京都、大阪府、福岡県で有意に異なり、HIV 感染から診断に至るまでの平均期間が異なることが示唆された。日本全国の発生動向をより正確に把握するために更なる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（独立行政法人大阪健康安全基盤研究所）、財津修一（福岡市保健環境研究所）、Mark de Souza、俣野哲朗]

3. 検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) HIV-1 抗原検出感度試験法の確立

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、作製したパネルが抗原抗体同時検出試薬の評価に有用であることを示してきた。様々な HIV-1 サブタイプ/CRF/グループへの対応だけでなく、国

内で見いだされる HIV-1 株の抗原検出感度を検討するため、血漿検体からのウイルス分離を試みた。血漿は細胞にダメージを与えるため、レトロウイルス濃縮用磁気ビーズにウイルスを吸着させ、培養液でビーズを洗浄した後に、NP2/CD4/CXCR4 細胞、NP2/CD4/CCR5 細胞を等量混合して培養したものに吸着させた。血漿検体 34 のうち 3 検体で細胞変性効果が観察され、ウイルスの分離が確認できた。
[草川　茂、巽　正志]

(2) HIV 確認検査についての検討

国内の HIV 検査フローでは、スクリーニング検査陽性となった検体について必ず確認検査を行ってから感染診断を行うよう推奨されている。確認検査試薬として WB 法を原理とする抗 HIV-1/2 抗体検出試薬が使用されるが、HIV-1/2 鑑別が難しいことに加え、現在使用される HIV スクリーニング検査試薬は一部を除いて HIV-1 抗原も検出できるため、抗原陽性・抗体陰性検体では WB 法を確認検査に適用できない。HIV スクリーニング検査陽性検体に対する核酸増幅定量試薬の使用が保険適用となってはいるが、高価な反応測定装置が必要なため、多くの公的検査・研究機関において導入が難しい。そこで、HIV-1 確認検査への適用を目的とした RT-PCR 法を検討した。市販のスピンカラムと gag 領域の 127bp を増幅するプライマーペアの組み合わせを検討したところ、5.0E+03cp/mL 以上で 11 種の HIV-1 サブタイプ/CRF/グループで増幅が確認された。現在市販されている HIV スクリーニング検査試薬の最小 HIV-1 抗原検出感度は数 pg から 10pg/mL であり、HIV-1 RNA 1.0E+05cp/mL 前後に相当することから、確認検査法として十分な検出感度を有していることが確認された。
[草川　茂]

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。サル実験を進めているところである。また、HTLV-1 感染者の免疫反応解析のため、検体収集を開始した。
[中村　碧、石井　洋、菅野芳明、網　康至（動物管理室）、須﨑百合子（動物管理室）、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）、内丸　薫（東京大学）、渡邉俊樹（聖マリアンナ医科大学）、野村拓志（熊本大学）、俣野哲朗]

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6年間の累積検査頭数は 177 頭。うち FV 陽性は 80 頭（45%）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 61 株のウイルス分離に成功した。全ゲノム塩基配列を公開した SFVmfa/Cy5061 を含め2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。更に、cos-7 等の細胞に導入することにより感染性ウイルスが回収できることを確認した。
[阪井弘治、網　康至（動物管理室）、須﨑百合子（動物管理室）、俣野哲朗]

品質管理に関する業務

I. 行政検査

1. 体外診断薬承認前試験

本年度は、HIV 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。さらに承認前試験用検体として、HIV-1 陽性・陰性検体パネル各 1 セットを使用した。残数は HIV-1 陽性検体パネルが 22 セット、HIV-1 陰性検体パネルが 28 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。これらの塩基配列の解析とサブタイピングを進め、平成19年度に譲渡を受けた現行パネルとの比較を行った。いずれにおいてもサブタイプBが80%以上を占め、次いでCRF01_AEが10%前後見られた。現行パネルではアジア地域で特異的に見られるサブタイプB'やCRF08_BCが1検体ずつ含まれていたが、新しいパネル候補品では見られなかった。一方、2013年及び2014年に譲渡された検体にそれぞれ2検体ずつ、西アフリカの主要な流行株であるCRF02_AGが含まれていた。今後体外診断薬の評価を行う場合、CRF02_AGへの対応を考慮する必要があり、現行パネルの一部検体の変更が必要であることが示唆された。

[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。弊センターを含む参加 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て、2017 年 10 月に開催された ECBS に議題提出、5.10Log$_{10}$IU/mL の新しい国際標準品として承認され、2017 年 12 月より、英国・国立生物学的製剤研究所から購入が可能になった。核酸増幅検査試薬の評価や検査室における検査精度管理への活用が期待される。

[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。弊センターを含む参加 9 カ国の 15 機関から提出された結果が取りまとめられた。パネル候補品には 10 種類の HIV-1 Group M（サブタイプ/CRF）と HIV-1 Group O、HIV-2 が含まれ、使用された 17 種類の診断薬の中には、メーカーがその検出を保証していない HIV-2 だけでなく、HIV-1 Group M の抗原検出にばらつきが見られるものが存在し、本パネルによる体外診断薬評価の重要性が示唆された。HIV-2 検体の評価が難しいこと、試薬毎の COI にばらつきがあり定量化が難しいことから、HIV-1 の検体のみで構成されるパネルとして、国際単位を決定せずに、今年度の ECBS に議題提出されることとなった。

[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、体外診断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、定性法の最小検出感度評価には活用できるものの、定量法の検量線の検討には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。弊センターを含む参加 11 カ国の 15 機関から提出された結果が取りまとめられた。提出された素データには多少の加算誤差・比例誤差が見られたものの、平行線定量法によって得られた 5.46Log$_{10}$IU/mL を国際単位として定め、今年度の ECBS に議題提出されることとなった。

[草川　茂、立川　愛、俣野哲朗]

国際協力関係業務

I. 平成 29 年度 JICA とエイズ研究センター共催による JICA 研修員受入事業「HIV を含む各種感染症コントロールのための検査技術とサーベイランス強化」（平成 29 年 6 月 5 日-7 月 14 日）

いまだに世界的に拡大を続けているHIV感染のグローバルな抑制のためには、確固とした診断技術に基づいたHIV感染診断による世界におけるHIV蔓延状況の正確な把握が欠かせない。近年、HIV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法を始めとした核酸増幅に基づいた診

断法が重視されるようになってきている。さらに、継時的に変化するHIV多様性に対応することも重要で、そのためにはウイルスDNA配列解析のような高度な技術が求められる。しかし、現在感染の中心となっている発展途上国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との共催によりアジア・アフリカ等のHIV流行国等の研修員を対象に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6フェーズ（各フェーズ5年間、3回前のフェーズから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（H26-H28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、「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」を実施した。今年度からは、従来の内容に加えて、HIV関連感染症を含む検査技術およびサーベイランスについても研修を行った。ガーナ、ホンジュラス、レソト、ミャンマー、スリランカ、ナビビア、ジンバブエの7カ国12名の研修員を対象に、6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、大阪健康安全基盤研究所）で実施した。また、研修員の帰国後の活動のためのアクションプランの作成のためのワークショプを国際開発機構（FASID）から講師を招いて3回に分けて実施した。

[村上 努、吉村和久、立川 愛、山本浩之、石川晃一、原田恵嘉、草川 茂、西澤雅子、松岡佐織、藤野真之、石井 洋、阪井弘治、森 一泰、関紗由里、中村 碧、Mark de Souza 、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)、高崎智彦（神奈川衛生研究所）、谷口清州（三重病院）、菊地 正（東京大学医科学研究所）、石川尚子（WPRO）、野村拓志（熊本大学）、武部 豊（横浜市立大学）、Jintana Ngamvithayapong-Yanai(TB/HIV Research Foundation、タイ)、田沼順子(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(国際テクノセンター)、小島牧子（日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター）、小島 卓（SRL）、浜岡真紀（国際開発機構）、山形律子（国際協力機構人間開発部）]

II. その他

1. 平成29年度JICA・結核予防会結核研究所共催「UHC時代の結核検査マネージメント強化コース」講師（平成29年12月1日）[村上 努]

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29年11月8日）[山本浩之]

2. 平成29年度エイズ対策研修講義 国立保健医療科学院（平成29年9月12日）[松岡佐織]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Nyombayire J, Anzala O, Gazzard B, Karita E, Bergin P, Hayes P, Kopycinski J, Omosa-Manyony 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, and 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.
2) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yamamoto H, Ishii H, Matsuoka S, Shiino T, Sato H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Naruse TK, Kimura A, Matano T: *In vivo* virulence of MHC-adapted AIDS virus serially-passaged through MHC-mismatched hosts. PLoS Pathog 13:e1006638, 2017.
3) Nii-Trebi NI, Brandful JAM, Ibe S, Sugiura W, Barnor JS, Bampoe P, Yamaoka S, Matano T, Yoshimura K, Ishikawa K, Ampofo WK: Dynamic HIV-1 genetic recombination and genotypic drug resistance among

treatment-experienced adults in northern Ghana. J Med Microbiol 66:1663-1672, 2017.

4) Takeuchi H, Saito H, Noda T, Miyamoto T, Yoshinaga T, Terahara K, Ishii H, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S: Phosphorylation of the HIV-1 capsid by MELK triggers uncoating to promote viral cDNA synthesis. PLoS Pathog 13: e1006441, 2017.
5) Tanaka M, Ishikawa S, Ushiku T, Morikawa T, Isagawa T, Yamagishi M, Yamamoto H, Katoh H,Takeshita K, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N, Fukayama M: EVI1 modulates oncogenic role of GPC1 in pancreatic carcinogenesis. Oncotarget 8:99552-99566, 2017.
6) Yoshimura K: Current status of HIV/AIDS in the ART era. J Infect Chemother. 23:12-16, 2017.
7) Miyazaki N, Sugiura W, Gatanaga H, Watanabe D, Yamamoto Y, Yokomaku Y, Yoshimura K, Matsushita S; Japanese HIV-MDR Study Group: The Prevalence of High Antiretroviral Coverage and Viral Suppression in Japan: an Excellent Profile for a Downstream Human Immunodeficiency Virus Care Spectrum. Jpn J Infect Dis 70:158-160, 2017.
8) Harada S, Yoshimura K: Driving HIV-1 into a Vulnerable Corner by Taking Advantage of Viral Adaptation and Evolution. Front Microbiol 8:390, 2017.
9) Shi Y, Kawana-Tachikawa A, Gao F, Qi J, Liu C, Gao J, Cheng H, Ueno T, Iwamoto A, Gao GF: Conserved Vδ1 binding geometry in a setting of locus-disparate pHLA recognition by δ/αβTCRs: insight into recognition of HIV peptides by TCR. J Virol 91: e00725-17, 2017.
10) Fujino M, Sato H, Okamura T, Uda A, Takeda S, Amed 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.
11) Sugimoto C, Merino K, Hasegawa A, Wang X, Alvarez X, Wakao H, Mori K, Kim W-K, Veazy R, Didier E, Kuroda M: A critical role for monocytes/macrophages in the rapid progression to AIDS in pediatric SIV-infected rhesus macaques. J Virol 91: e00379-17. 2017.
12) 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.
13) 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.
14) Ono T, Fujita Y, Matano T, Takahashi S, Morio T, Kawana-Tachikawa A: Characterization of In Vitro Expanded Virus-Specific T cells for Adoptive Immunotherapy against Virus Infection. Jpn J Infect Dis 71:122-128, 2018.

2. 和文発表

1) 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.
2) 村上 努:HIV 基礎研究の最近の動向(2017 年レトロウイルスに関する会議(コールドスプリングハーバー)の発表内容を中心に)日本エイズ学会誌 19(3): 117-121, 2017.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Matano T: Virus-Host CD8$^+$ T Cell Interaction in HIV/SIV Infection. XII Advanced Course on HIV Pathogenesis, School of Medicine, University of Sao Paulo, Apr 5, 2017, Sao Paulo, Brazil.
2) Harada S, Yokoyama M, Ogihara K, Hikichi Y, Murakami T, Sato H, Narumi T, Matano T, Yoshimura K: Identification of novel HIV-1 gp120 CD4 binding site inhibitors using structure-based *in silico* screening. 42nd Annual Meeting on Retroviruses, Cold Spring Harbour Laboratory, May 22-27, 2017, New York, USA.
3) Hikichi Y, Harada S, Ogihara K, Narumi T, Matano T, Yoshimura K: Resistant env mutations selected under a fusion inhibitor, IC9564, increase HIV-1 sensitivity to neutralizing antibodies. 42nd Annual Meeting on Retroviruses, Cold Spring Harbour Laboratory, May 22-27, 2017, New York, USA.
4) Ohashi N, Harada S, Irahara Y, Ishida Y, Konno K, Kobayakawa T, Nomura W, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H: CD4 mimics for enhancement of activity of

HIV neutralizing antibodies. 11th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, Jul 23-26, 2017, Melbourne, Australia.

5) Ishii H, Jomori M, Seki S, Matsuoka S, Matano T: Unilateral selection of viral mutations for escape from $CD8^+$ T-cell recognition in SIV infection. 9th IAS Conference on HIV Science (IAS2017), Jul 23-26, 2017, Paris, France.
6) Harada S, Konno K, Hikichi Y, Matsuoka S, Matano T, Tamamura H, Yoshimura K: Synthesis and properties of novel soluble bifunctional CD4-mimetic small molecules containing pyridine moiety. 9th IAS Conference on HIV Science (IAS2017), Jul 23-26, 2017, Paris, France.
7) Hikichi Y, Harada S, Ogihara K, Matsuoka S, Matano T, Narumi T, Yoshimura K: Triterpene-resistant HIV env variants show higher sensitivity to anti-V3 neutralizing antibodies. 9th IAS Conference on HIV Science (IAS2017), Jul 23-26, 2017, Paris, France.
8) Nomura T, Ishii H, Seki S, Yamamoto H, Terahara K, Miura T, Matano T: Induction of mutant epitope-specific $CD8^+$ T cells is an indicator of the beginning of viral control failure in SIV controllers. 35th Annual Symposium on Non-human Primate Models for AIDS, Aug 22-25, 2017, Madison, USA.
9) Harada S, Hikichi Y Seki Y, Saito A, Yoshida T, Ode H, Iwatani Y, Yasutomi Y, Miura T, Matano T, Akari H, Yoshimura K: Bi-functional entry inhibitors sensitize macaque-tropic human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1mt) to antibodies generated in HIV-1mt-infected macaques. 35th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Aug 22-25, 2017, Madison, USA.
10) Matano T: Dynamics of wild-type and mutant epitope-specific $CD8^+$ T-cell responses in SIV infection. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
11) Kanno Y, Nomura T, Hau TTT, Matano T, Yamamoto H: Analysis of polyclonal neutralizing antibody responses in SIVmac239-infected rhesus macaques. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
12) Hau TTT, Nomura T, Seki S, Kanno Y, Nakamura M, Ishii H, Matano T, Yamamoto H: Comparative analysis of viral polymorphisms in SIV-infected rhesus macaques sharing protective and non-protective MHC class I haplotypes. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
13) Amoa-Bosompem M, Matsuoka S, Nii-Trebi NI, Abana C, Bonney EY, Kawana-Tachikawa A, Ishikawa K, Ofori S, Ampofo WK, Matano T: Analysis of HLA genotypes and viral vif sequences in HIV-1-infected Ghanaians. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
14) Nii-Trebi NI, Brandful JAM, Ibe S, Sugiura W, Barnor JS, Bampoe P, Yamaoka S, Matano T, Yoshimura K, Ishikawa K, Ampofo WK: HIV-1 molecular characterization and antiretroviral drug resistance surveillance among treatment-experienced adults in northern Ghana. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
15) Masuda A, Harada S, Takahama S, Takahashi K, Konno K, Kobayakawa T, Himeno A, Miura T, Kuwata T, Matsushita S, Ohashi N, Kotani M, Irahara Y, Yamada Y, Mizuguchi T, Nomura W, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H: Development of CD4 mimics for enhancement of activity of HIV neutralizing antibodies. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
16) Matsuda K, Hattori S, Tsuchiya K, Kobayakawa T, Ohashi N, Nomura W, Harada S, Sato Y, Yoshimura K, Tamamura H, Mitsuya H, Maeda K: Development of novel therapeutics to eliminate latently infected cells by LRAs toward HIV cure. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
17) Harada S, Yokoyama M, Ogihara K, Hikichi Y, Sato H, Narumi T, Matano T, Yoshimura K: Identification of novel HIV-1 Env inhibitors by structure-based in silico screening. 18th Kumamoto AIDS Seminar, Oct 30-Nov 1, 2017, Kumamoto, Japan.
18) Matano T: Development of vaccines using Sendai virus vectors. III International Conference on Vaccines Research and Development (Vaccines R&D-2017), Nov 13-15, Reston, VA, USA.
19) Matano T: HIV and host genome diversity in Ghana. Symposium to Commemorate the 90th Anniversary of Dr. Hideyo Noguchi's Arrival in Ghana, Nov 16, 2017, Accra, Ghana.
20) Matano T: Strategic investiment in global health vaccine R&D, The Role of Global Health Partnerships to Achieve Universal Health Coverage. UHC Forum 2017, Dec 12-15, 2017, Tokyo, Japan.

21) Matano T: Dynamics of wild-type and mutant epitope-specific CD8+ T-cell responses in SIV controllers. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), AIDS & Immunology Joint Panel, Jan 10-11, 2018, Shenzhen, China.
22) Harada S, Matano T, Yoshimura K: Synergistic anti-HIV effect of combination of a novel entry inhibitor and NAbs. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP), 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim and AIDS & Immunology Joint Panel, Jan 8-11, 2018, Shenzhen, China.

2. 国内学会

1) 原田恵嘉, 荻原香澄, 横山 勝, 引地優太, 佐藤裕徳, 俣野哲朗, 鳴海哲夫, 吉村和久：Structure-based virtual screening による新規 bifunctional 抗 HIV 侵入阻害剤の探索. 第 27 回 抗ウイルス療法学会総会, 2017 年 5 月 18-20 日, 熊本.
2) 松田幸樹, 服部真一朗, 土屋亮人, 大橋南美, 野村 涉, 原田恵嘉, 吉村和久, 玉村啓和, 満屋裕明, 前田賢次：新規 PKC activator による HIV 潜伏感染細胞の活性化及び治癒を目指した新規抗 HIV 療法の開発. 第 27 回 抗ウイルス療法学会総会, 2017 年 5 月 18-20 日, 熊本.
3) 紺野奇重, 石田有祐, 原田恵嘉, 大橋南美, 小谷みさと, 苛原 優, 山田裕子, 水口貴章, 野村 涉, 松下修三, 吉村和久, 玉村啓和：HIV-1 gp120 をターゲットとした CD4 mimic の構造活性相関研究. 第 27 回 抗ウイルス療法学会総会, 2017 年 5 月 18-20 日, 熊本.
4) 荻原香澄, 原田恵嘉, 横山 勝, 加藤由奈, 引地優太, 佐藤浩平, 間瀬暢之, 吉村和久, 鳴海哲夫：HIV の細胞侵入を阻害するオレアノール酸誘導体の構造活性相関研究. 第 27 回 抗ウイルス療法学会総会, 2017 年 5 月 18-20 日, 熊本.
5) 俣野哲朗：HIV control に向けた基礎研究の展開. 厚生労働行政推進調査事業費補助金エイズ対策政策研究事業「HIV 感染症及びその合併症の課題を克服する研究」特別講演会, 2017 年 6 月 16 日, 東京.
6) 石井 洋：CTL 逃避変異保有 SIV 感染サルにおける CTL 応答の解析. 第 20 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC2017), 2017年6月29-30日, 熊本.
7) 俣野哲朗：HIV/SIV と宿主 T 細胞との相互作用. 第 19 回白馬シンポジウム, Special Lecture, 2017 年 7 月 14-15 日, 仙台.
8) 前田賢次, 松田幸樹, 服部真一朗, 土屋亮人, 小早川拓也, 大橋南美, 野村 涉, 原田恵嘉, 佐藤賢文, 吉村和久, 玉村啓和, 満屋裕明：HIV 潜伏感染細胞に有効な新規治療法開発を目指すための研究. 第 19 回白馬シンポジウム, 2017 年 7 月 14-15 日, 仙台.
9) 原田恵嘉, 引地優太, 俣野哲朗, 吉村和久：Bifunctional 抗 HIV 侵入阻害剤ライブラリーの構築およびその最新知見. 第 19 回白馬シンポジウム, 2017 年 7 月 14-15 日, 仙台.
10) 引地優太, 原田恵嘉, 荻原香澄, 鳴海哲夫, 俣野哲朗, 吉村和久：トリテルペン系 bifunctional 侵入阻害剤耐性株の Env 機能解析. 第 19 回白馬シンポジウム, 2017 年 7 月 14-15 日, 仙台.
11) 松田幸樹, 服部真一朗, 土屋亮人, 小早川拓也, 大橋南美, 野村 涉, 原田恵嘉, 佐藤賢文, 吉村和久, 玉村啓和, 満屋裕明, 前田賢次：Latency-reversing agent (LRA) による潜伏感染細胞（HIV リザーバー）治療に向けた基礎的研究. 第 19 回白馬シンポジウム, 2017 年 7 月 14-15 日, 仙台.
12) Harada S, Yokoyama M, Ogihara K, Hikichi Y, Sato H, Narumi T, Matano T, Yoshimura K: Discovery of novel bifunctional HIV-1 entry inhibitors using structure-based *in silico* screening. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 2017 年 10 月 24-26 日, 大阪.
13) Ishii H, Inoue M, Hironaka T, Shu T, Matano T：Immunogenicity of a novel Sendai virus-based VLP vaccine carrying HIV Env antigens. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 2017 年 10 月 24-26 日, 大阪.
14) Nomura T, Ishii H, Seki S, Yamamoto H, Terahara K, Miura T, Matano T：Analysis of wild-type and mutant epitope-specific CD8+ T cell responses in SIV controllers. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 2017 年 10 月 24-26 日, 大阪.
15) Yamamoto H, Nomura T, Seki S, Nakamura M, Ishii H, Naruse TK, Kimura A, Matano T：Protective and non-protective MHC class I haplotype-associated viral polymorphisms in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 2017 年 10 月 24-26 日, 大阪.
16) Seki Y, Saito A, Satou Y, Harada S, Yoshimura K, Ode H, Iwatani Y, Ishii H, Yoshida T, Washizaki A, Murata M, Yasutomi Y, Matano T, Miura T, Akari H：Characterization of HIV-1mt Long-term Latent infection in Cynomolgus Macaques. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 2017 年 10 月 24-26 日, 大阪.
17) Sano M, Kuwata T, Matsuoka S, Seki Y, Akari H, Miura T,

Matano T: Neutralizing antibody induction and changes in viral env sequences in the chronic phase of SIVsmH635FC infection. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 2017年10月24-26日, 大阪.

18) Maeda K, Matsuda K, Hattori S, Tsuchiya K, Kobayakawa T, Ohashi N, Nomura W, Harada S, Sato Y, Yoshimura K, Tamamura H, Mitsuya H: Development of a new in vitro assay system to evaluate the elimination of HIV-1 latent infection. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 2017年10月24日-26日, 大阪.

19) Murakami T, Kaneko M, Fujino M, Nomura W, Tamamura H: Dimerization of C34 Derivatives with C-Terminal Disulfide Bridge and Addition of an N-Terminal GCGG Markedly Enhance anti-HIV-1 Activity. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 2017年10月24日-26日, 大阪.

20) 俣野哲朗:For the progress of future virological research. 新学術領域研究「感染コンピテンシ」ワークショップ、Toward challenges for virus-host interactions, 2017年10月27日, 大阪.

21) 立川(川名)愛:NGS法HLA解析のHIV及び関連疾患研究への応用. シンポジウム「NGSによるHLAタイピング法の現状と未来展望」, 第26回日本組織適合性学会大会, 2017年10月27-29日, 広島.

22) 野村拓志, 石井 洋, 関紗由里, 山本浩之, 寺原和孝, 三浦智行, 俣野哲朗:SIV複製制御個体におけるSIV野生型/変異型エピトープ特異的CTL誘導動態の解析. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

23) 菅野芳明, 野村拓志, Hau TTT, 俣野哲朗, 山本浩之: SIV_{mac239} 持続感染アカゲサル群におけるポリクローナルなウイルス特異的中和抗体応答の解析. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

24) 桑田岳夫, 佐野雅人, 松岡佐織, 俣野哲朗, 明里宏文, 三浦智行, 松下修三. SIV感染サルをモデルとした中和抗体誘導メカニズムの解析. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

25) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Ishii H, Miura T, Matano T. Analysis of in vivo replication capacity of MHC-I adapted SIV. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会(Workshop on Basic Science in English), 2017年11月24-26日, 東京.

26) 原田恵嘉, 野村 渉, 鳴海哲夫, 横山 勝, 前田賢次, 林 宏典, 紺野奇重, 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-2. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

27) 松田幸樹, 服部真一朗, 土屋亮人, 小早川拓也, 大橋南美, 野村 渉, 原田恵嘉, 佐藤賢文, 吉村和久, 玉村啓和, 満屋裕明, 前田賢次:HIV潜伏感染細胞を標的とした新規治療薬開発に有効なin vitro評価系の開発. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

28) 関 洋平, 齊藤 暁, 佐藤賢文, 原田恵嘉, 吉村和久, 大出裕高, 岩谷靖雅, 石井 洋, Islam Mohammad Saiful, 芳田 剛, 村田めぐみ, 鷲崎彩夏, 保富康宏, 俣野哲朗, 三浦智行, 明里宏文:カニクイザルにおけるHIV-1mt長期潜伏感染の解析. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

29) 村上 努, 金子萌美, 藤野真之, 野村 渉, 玉村啓和:カプシド蛋白質由来ペプチドを基にした新規抗HIV-1剤の創製. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 2017年11月24-26日, 東京.

30) 立川(川名)愛, 俣野哲朗, 川名 敬:乳酸菌を用いたHPV分子標的癌免疫療法における免疫応答解析系の検討. 第21回日本ワクチン学会学術集会, 2017年12月2-3日, 福岡.

31) Kanno Y, Nomura T, Hau TTT, Matano T, Yamamoto H. Characterization of neutralizing antibody responses against highly neutralization-resistant SIV_{mac239} in macaques. 1st Japan-Taiwan Joint Symposium on HIV/AIDS, 2017年12月7日, 東京.

２０．病 原 体 ゲ ノ ム 解 析 研 究 セ ン タ ー

センター長　　黒田　誠

概　要

病原体ゲノム解析研究センターは、ウイルス感染症の発症に係わる宿主遺伝子の探索・解析を行う第一室、病原性ウイルスのゲノム解析を行う第二室、病原性細菌のゲノム解析を行う第三室から構成されている。

第一室では、主に子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルス（HPV）の増殖とそれを支える細胞因子の研究およびHPVによる発癌メカニズムの解析、ならびにHPV感染実態の疫学調査を行った。HPVは表皮や粘膜の微小な傷から侵入し、上皮基底細胞の核内にエピゾームとして潜伏・持続感染する。感染細胞が分化し表皮形成に至る過程でウイルスの増殖が起こるが、この生活環を支える分子機構は不明である。抗HPV薬の開発基盤とするため、HPV生活環と感染・発癌における宿主応答・防御機構の詳細な解析を継続した。HPV疫学調査については、WHOにて標準化されたHPVジェノタイピング法を用いて、我が国のHPV感染実態の調査を行った。さらに製剤担当室として、HPVワクチンの国家検定を担当した。

第二室では、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２９年度は、特にタンパク質の分子動力学解析基盤の強化を進めながら、(i) 抗体中和回避機構の解明、(ii) 創薬シーズ創出、(iii) 抗ウイルス物質の作用機序解明、(iv) 変異によるウイルスの性質変化の構造基盤解明等を目的とする基礎・開発研究を進めた。

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)を構築し運用を開始している。本システムを用いて、病原細菌、薬剤耐性菌、ウイルスのゲノム解析及びデータベース管理を実施している。また、それらデータベース上のゲノム情報を用いて、ゲノム比較解析、ゲノム分子疫学解析、時系列分子系統解析も遂行した。感染症が疑われる難病及び原因不明症例のメタゲノム解析も進めており、これらデータ解析も、本システムで運用している。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、本年度で８種類の新種を分離した。新種同定を行うことで、メタゲノム解析のための基礎的情報の整備がより整い、迅速な病原体検出が行えることが期待できる。

業　績

調査・研究

I. HPVに関する研究

1. HPVの感染増殖機構の研究

(1) HPV細胞侵入機構の解明

HPV 感染の初期過程に関わる細胞内因子を網羅的に同定するために、HSV-TK遺伝子を一過性に発現するHPV18

型偽ウイルス（18PsV-TK）を作成した。18PsV-TK を接種した HeLa 細胞はガンシクロビル存在下で死滅した。18PsV-TK はHPV 侵入抵抗性を示す細胞のスクリーニングに使用できると判断された。(石井克幸)

(2) HPV 潜伏持続感細胞の探索

HPV が持続感染する細胞を見出すために、HPV16 型および 18 型の環状ゲノム DNA を初代角化細胞、分化能を有する不死化角化細胞(NIKS 細胞)、不死化子宮外頸部細胞、不死化子宮内頸部細胞の４つのヒト細胞に導入し、継代ごとに HPV ゲノムコピー数を qPCR 法で定量した。４つの細胞のうち、NIKS 細胞が極めて高い HPV ゲノム保持能を有することがわかった。HPV は増殖能かつ分化能を有する細胞に潜伏持続感染する可能性が示唆された。(石井克幸)

(3) HPV の遺伝子発現調節機構に関する研究

細胞転写因子 TEAD はHPV の遺伝子発現に関わることが報告されている。TEAD 自体には転写活性がなく、複合体を形成する転写共役因子に依存して転写を調節する。しかし、TEAD による HPV 遺伝子発現調節の分子機構や関与する共役因子は不明である。HPV 陽性癌細胞で、TEAD の共役因子の１つである VGLL1 をノックダウンすると、HPV 初期遺伝子の発現が低下し、細胞増殖が抑制された。VGLL1 は TEAD を介して HPV ゲノムの遺伝子発現調節領域に結合した。VGLL1 と TEAD を同時にノックダウンすると初期遺伝子の発現が回復したことから、VGLL1 は、TEAD による転写抑制作用を緩和することにより、HPV の遺伝子発現を維持していることが示唆された。(森　清一郎、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 HPV ジェノタイピングを継続的に行った。2012-2017 年の結果を集計したところ、子宮頸癌（扁平上皮癌および腺癌）（248 検体）では HPV16（54.8%）、HPV18（17.7%）、HPV52（8.1%）、HPV58（5.2%）、HPV31（2.0%）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])

(2) 日本人から分離された HPV16 ゲノムの配列解析

日本人女性の子宮頸癌及び CIN 病変に検出される HPV16 のウイルス全ゲノム配列を決定し、その配列多様性を解析した。子宮頸部擦過細胞検体から抽出した DNA から PCR にて HPV16(100 検体)の全ゲノム領域を増幅し、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。系統樹解析の結果、全体としてバリアント分布は sublineage A4（アジア型）が大部分を占めており、頸癌への進展に伴ってその割合も上昇した。また、日本人に特徴的な HPV16 バリアントの新規クラスターが見出された。(廣瀬佑輔、天神林友梨、中村浩美、柊元　巌、岩田　卓[慶應大学]、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) 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 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。近年、ヒトの自然免疫に関わる APOBEC3B 遺伝子の欠失多型と発癌との関連が指摘されている。そこで、約 200 症例の CIN 患者の APOBEC3B 遺伝子の欠失多型を調べた。日本人対照群と比較した結果、APOBEC3B 遺伝子の欠失多型をもつ人は CIN2 以上を発症するリスクが高い可能性が示唆された。(森　清一郎、柊元　巌、田口　歩[都立駒込病院]、川名　敬[日本大学])

(4) CIN 患者の膣細菌叢解析

膣細菌叢は局所免疫に大きな影響を与えることから、膣細菌叢と CIN 病変進展の関連について検討した。約 90 症例の CIN 患者について膣洗浄液の 16S-メタゲノム解析を行なった。主に 5 つの細菌属が検出され、Lactobacillus を主体とする健常膣細菌叢から、異形成に伴い偏性嫌気性菌、特に Prevotella, Sneathia, Gardnerella が顕著に増加することがわかった。特に、Gardnerella を中心とした Dysbiosis が生じ、複合的にその他嫌気性菌の増殖を助長している可能性が示唆された。(黒田　誠、関塚剛史、森　清一郎、柊元　巌、田口歩[都立駒込病院]、川名　敬[日本大学])

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

これまでに HPV の癌タンパク質 E6 が細胞転写因子

TEAD4 の発現を誘導し、TEAD4 が APOBEC3B プロモーターに結合することで、APOBEC3B の発現を上昇させることを明らかにしている。そこで HPV のもう一つの癌タンパク質 E7 による APOBEC3B 誘導機構を検討した。テロメラーゼ導入により不死化したヒト子宮頸部角化細胞（HCK1T）に、HPV16 E7 および Rb と結合できない E7 変異体（D21G および L22V/C24S/E26D）を、レトロウイルスベクターを用いて発現させた。細胞抽出液のウェスタンブロット解析を行ったところ、E7 発現により TEAD4 の発現レベルが上昇した。この効果は E7 変異体では認められなかったことから、E7 による Rb 結合が TEAD4 誘導および APOBEC3B 誘導に必要なことが示唆された。(森　清一郎、柊元　巌、清野　透[国立がん研究センター研究所])

(2) 子宮頸癌で発現レベルが上昇する microRNA の同定

子宮頸癌診断の新たなバイオマーカーを確立するために、子宮頸部粘液中の microRNA に着目して、子宮頸癌で発現量が上昇する microRNA をマイクロアレイ解析にて網羅的に探索した。その結果、４種類の microRNA（miR-126-3p, -20b-5p, -451a, -144-3p）の発現レベルが、正常子宮頸部と比較して有意に上昇することが分かった。ROC 曲線解析により、これらの microRNA の発現レベルを用いた検査が、子宮頸癌検出のための十分な感度と特異度を備えていることが示された。(柊元　巌、藤井多久磨[藤田保健衛生大学])

(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

HPV ゲノム配列の患者内多様性を解析することを目的に、CIN および子宮頸癌の患者から、病変部の擦過細胞を収集した。DNA 抽出、HPV タイピングの後、HPV16, 52, 58 陽性の検体(計 151 検体)から、PCR にて全長 HPV ゲノムを増幅した。得られた HPV ゲノムを断片化し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%以上の頻度で患者内多様性を示すゲノム部位が 1052 カ所見出された。その内、C > T および C > A の置換変異が高頻度に検出され、C > T の置換変異は APOBEC タンパク質が作用すると考えられている TpCpN 配列に集中していた。この C > T 変異は軽度 CIN 病変で最も頻繁に検出されたことから、APOBEC タンパク質が DNA 複製時の HPV ゲノムを標的にして、変異を導入することが示唆された。(廣瀬佑輔、天神林友梨、中村浩美、柊元　巌、岩田　卓[慶應大学]、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システムの確立を試みた。子宮頸癌の擦過細胞検体（24 検体）から抽出した DNA を断片ライブラリー化し、29 種類の HPV 遺伝子型のゲノム配列を含むビオチン化 DNA プローブを用いてキャプチャーした後、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、4 検体で HPV DNA と細胞 DNA の融合 DNA を検出することが出来た。組込み部位は HPV ゲノムの E1 および E2 領域に認められた。(天神林友梨、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)ベクターを用いた遺伝子導入により、抗 HPV 広域中和抗体を生体内で安定して発現させて幅広い型の HPV 感染を防ぐ受動免疫ワクチンの開発を行なった。マウス由来の広域中和抗体の可変領域とヒト IgG の定常領域を融合したキメラ抗体を発現する人工遺伝子を作成し、ヒト細胞株に導入した。培養上清から精製したキメラ抗体の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 倍高かった。AAV ベクターによってマウス体内で発現させたキメラ抗体の in vitro での中和活性は、マウス抗体と同レベルだったことから、発現する細胞によって広域中和抗体の中和活性が異なることが考えられた。マウス抗体をグリコシダーゼ処理すると中和活性が約 10 倍上昇したことから、マウス細胞に特異的な抗体の糖鎖修飾が中和活性を阻害することが示唆された。(森　清一郎、小谷　治)

II. ヒトノロウイルス感受性細胞の作出

ヒトノロウイルスが増殖できる細胞の作出を目指して、ヒト iPS 細胞から腸管上皮細胞への分化誘導条件を検討した。胚体内胚葉（definitive endoderm）から後腸（hindgut）を経てオルガノイドを形成する系を用いた。胚体内胚葉あるいは後腸への分化においては、ほぼすべての細胞においてそれぞれの分化マーカーである FOXA2 および SOX17 あるいは CDX2 の発現を蛍光免疫染色にて確認することができた。また後腸への分化時点で球状に隆起した部分をマトリゲル中で三次元培養することによりオルガノイドと思われる内腔を持つ構造体を得ることができた。この際、従来用いられてきた組換え蛋白質を低分子化合物で置換することを行った。またオルガノイドの継代後の培養をマトリゲルではなく合成基質中で行う

ことを試みた。こうして得られた後腸の隆起部分あるいはオルガノイドを酵素で解離した細胞は、二次元培養での幹細胞の維持およびヒトノロウイルス感受性細胞への分化を誘導する条件検討の出発材料となる。(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。本年度は国内臨床研究において遺伝子治療との関係が疑われる重大事態の報告が1件あり、「レトロウイルスベクターの安全性についての遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の見解」作成にあたって意見を提出した。なおレトロウイルスベクターの安全性に関しては従来の考え方の踏襲でよいと考えられた。(竹内隆正、森　清一郎、石井克幸、柊元　巌)

IV.　　in silico構造・機能・変異研究

IV-1. ヒト免疫不全ウイルス (HIV)

(1) HIV-1 中和抵抗性の構造基盤

HIV-1 エンベロープ三量体が中和抵抗性となる分子メカニズムの理解は、タンパク質構造に基づくワクチン抗原デザインや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 エンベロープ三量体の構造セクターの推定により、中和抗体抵抗性の分子メカニズムを検討した。HIV-1 エンベロープ三量体分子モデルの分子動力学計算により得られたトラジェクトリーを用いて、動的相互相関行列を計算した。動的相互相関行列をランダム行列理論とスペクトラルクラスタリングにより解析すると、20以上の構造セクターが推定された。その中には、中和エピトープ遮蔽の原因となる構造セクターが含まれていた。この領域が連動して運動することにより、中和抵抗性構造が維持されると考えられる。(横山勝、佐藤裕徳)

(2) HIV カプシド阻害剤候補の創出

HIV粒子の主要成分であるGagは、HIV生活環全般の進行に不可欠の働きをする。このため、次世代の魅力的な創薬標的とされる。しかし、Gag を標的とする認可薬は未だに無く、Gag 創薬の難易度が極めて高い。本研究では、既存の手法とは異なるアプローチとして、分子間相互作用界面を標的とするカプシド阻害剤候補の in silico設計を行った。カプシドC末端ドメイン - C末端ドメインのインターフェイスに注目した。このインターフェイスはコアの安定性に重要な部位である。立体構造を見てみるとW184およびM185がこのインターフェイスの結合に重要な相互作用を形成していた。そこで、WMペプチドをもとに、カプシド阻害剤候補を計算機により設計した。候補物質の合成に成功し、抗HIV活性を確認した (EC50= 8.0μM) この化合物は、種々のHIV-1亜株や薬剤耐性株の感染を阻害した(EC50=約8μM前後)。AMED先行技術調査により物質の新規性を確認し、特許出願を完了した。(横山　勝、小谷　治、金子萌美 [東京医科歯科大]、小早川拓也 [東京医科歯科大]、村上　努[エイズセンター]、玉村啓和[東京医科歯科大]、佐藤裕徳)

(3) 抗HIV化合物の作用機序

HIV は、宿主の細胞内膜輸送系を利用して出芽する。膜輸送系の利用には、HIVのGag p6蛋白質と膜輸送系分子TSG101の結合が必須である。共同研究者の間らは、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。この二種類の抗 HIV 化合物がp6蛋白質のどの領域に結合するかをp6-化合物複合体の分子動力学解析により評価した。その結果、各化合物は、各化合物はp6のPTAPモチーフ上に結合するが、p6の構造の揺らぎが激しく、安定した結合には至らなかった。p6は感染細胞内でGag前駆体の一部として存在する。今後は、Gag 前駆体モデルを構築して、結合様式を調べる予定でいる。(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)

IV-2.インフルエンザウイルス (IFV)

(1) 近年のIFV流行株の性質変化の構造基盤

近年、IFVA(H3N2)の流行株クレード3C.2aにおいて、赤血球凝集活性が低下している。この変化は、ワクチン株選定の障害となっている。3C.2aは、HAタンパク質に特徴的な変異を持つ (A128T/N144S/S159Y/K160T)。この変異の効果を明らかにするために HA タンパク質の分子動力学計算を実施した。その結果、3C.2a 特異的変異を持つと、HA表面の糖鎖の相対配置が変化し受容体結合領域の開放度が低下することがわかった。この変化が、赤血球受容体との相互作用能低下に結びつくと考えられる。(横山　勝、小谷　治、藤崎誠一郎[インフルセンター]、伊藤公人[北大人獣センター]、渡邉真治[インフルセンタ

ー]、小田切孝人[インフルセンター]、佐藤裕徳）

（２）中和抗体エスケープ変異の作用機序

季節性インフルエンザ、および鳥インフルエンザの流行は社会に大きな損失をもたらす。共同研究者の長谷川らは、有効性の高いインフルエンザワクチンや抗体医薬の開発に向けて、様々なウイルスの感染を阻止できる広域中和抗体の開発に取り組んでいる。これまでに、様々なウイルス株の感染を阻止できる抗HA広域中和抗体F11を単離し、その耐性変異を同定した。しかし、抗体による中和と変異による中和回避の分子機序は全く不明である。そこで本研究では、耐性変異が標的分子（HAタンパク質三量体）の構造特性にどのような影響をもたらすかについてMDSにより調べた。その結果、耐性変異は、HA表面の疎水性に富んだ窪み（hydrophobic groove）の構造特性変化を誘起することがわかった。Hydrophobic grooveはF11のエピトープとなり、エスケープ変異は間接的にその構造特性を変えて抗体親和性を低下させている可能性がある。（小谷治、佐野芳［感染病理部]、齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、相内章[感染病理部]、横山勝、鈴木忠樹[感染病理部]、長谷川秀樹[感染病理部]、佐藤裕徳）

IV-3.その他のRNAウイルス

（１）抗ネコカリシウイルス（FCV）物質の創出

FCVプロテアーゼは、ウイルス前駆体タンパク質を切断することで感染性粒子の形成に必須の働きをする。FCVプロテアーゼが基質とどのように相互作用するかは未だ明らかでない。In silico解析により、基質-FCVプロテアーゼ相互作用の解明と創薬シーズ創出を試みた。まず基質と結合したFCVプロテアーゼの分子モデルを構築し、基質のP3およびP4の物理化学的特徴および配置を明らかにした。次に、ファーマコフォアベースのインシリコスクリーニングを行い、この物理化学的特徴および配置を持ち、FCVプロテアーゼに結合すると予測される化合物を同定した。この化合物はインビトロおよび細胞内でウイルスプロテアーゼ活性を阻害し、FCV感染細胞におけるウイルス複製を抑制する能力を有した。（横山　勝、岡　智一郎[ウイルス２部]、佐藤裕徳）

（２）エンテロウイルスA71(EV-A71)カプシド構造のアロステリック制御

エンテロウイルスA71(EV-A71)の細胞指向性、抗体感受性、神経病原性は、カプシド蛋白質VP1の145番目のアミノ酸がグリシン（G）かグルタミン酸（E）の違いにより変化する。しかしその分子メカニズムは全く不明である。In silico解析により、その解明を試みた。EV-A71カプシドタンパク質（VP1-4）のVP1-145E及び145Gのプロトマーモデルを構築した。これらのモデルを用いて、分子動力学計算を実施した。その結果、145アミノ酸残基の置換は、変異箇所とは別に位置する様々な相互作用表面（受容体結合部位、エピトープなど）の揺らぎの変化を誘導することがわかった。145残基は、カプシド構造のアロステリック制御因子と考えられる（小谷治、横山勝、藤井健［東京都医学総合研究所]、小林 郷介［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）

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

（１）次世代シークエンサー(NGS)を活用した配列解読の高度化

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NGS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ことで、病原細菌の保有する病原因子及び薬剤耐性遺伝子の伝達様式を明確にする際に重要となり、ゲノム分子疫学解析の際の参照配列にもなる。今年度は、ロングリードを取得するNGS PacBioの解読データから完全長ゲノム配列を作成するための自動解析パイプラインを構築した。既に、20株以上の病原細菌の完全長ゲノム配列を取得している。

（関塚剛史、山下明史、加藤健吾、谷津弘仁、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]、稲嶺由羽、黒田誠、松井真理[薬剤耐性菌センター]、鈴木里和[薬剤耐性菌センター]）

（２）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、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

している。本年度は、解析速度を上げるためのプログラムの改変と、各種データベース管理の自動化プログラムを作成した。さらに、細菌ゲノムの NGS データを公開データベースより回収し、本プログラムにて解析を行い、データベース作成を開始した。
（関塚剛史、谷津弘仁、山下明史、黒田誠）

（３）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

ブラウザ経由で NGS 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、NGS 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、ネットワーク解析から予測されるプラスミド間の類縁性を明確に可視化するためのプログラムを構築した。
（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

（４）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

世界的にも多剤耐性が問題になっている結核菌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。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し、公開した。現在、薬剤耐性結核菌のゲノムデータを用いて解析し、薬剤耐性に関与する新たな変異箇所の抽出と、データベースの構築を行なっている。
（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]）

（５）NGS データからウイルス配列を構築するシステムの開発

ブラウザ経由で NGS 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）を構築し公開している。VirusTAP は入力された NGS 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。本年度は、宿主ゲノム配列除去のプログラム及びデータベースを更新し、日本人固有のゲノム配列、及びヒト以外の動物を含む宿主ゲノム配列の除去も可能にした。
（山下明史、関塚剛史、黒田誠）

（６）不明症例に係る網羅的病原体検索の行政・依頼検査への対応

原因病原体不明の感染症患者サンプルに対して、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、H29 年度は 34 患者（133 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 検査にて病原体候補を検出することができた。侵襲性 A 群レンサ球菌による重症呼吸器症例の解析や、地域流行したと思われるヒトパレコウイルス３型を特定した。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思われる。

他、幼児突然死等の原因不明患者の外部依頼検査を４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）

VI. 病原細菌ゲノム解析

VI-1 薬剤耐性菌

（１）多剤耐性菌感染症の疫学と国内における対応策に関する研究

薬剤耐性(AMR)感染症が世界的に拡大しており、2015 年には WHO から AMR グローバルアクションプランが提唱され、サーベイランス・研究を通じた実態把握の強化が急務となっている。これまでに、ゲノムセンターでは所内および所外の研究者との共同研究で、多数の薬剤耐性菌のゲノム解析を行ってきた。それらデータを管理・運用し、且つ、多検体の解析を簡便に行うためのシステム GenEpid-J (Genomics and Epidemiology in Japan)を構築した。GenEpid-J には、臨床・動物・環境由来の多種にわたる細菌のゲノムデータが蓄積されており、今年度

までに約 2,200 株、約 5,300 プラスミド配列を決定し、データベースを作成した。
(関塚剛史、谷津弘仁、山下明史、稲嶺由羽、黒田誠、松井真理[薬剤耐性菌センター]、鈴木里和[薬剤耐性菌センター]、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）院内感染及び食中毒事例に係る原因細菌の比較ゲノム解析

国内で発生した 4 例の院内感染及び集団食中毒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、輸入症例と推定される事例を経験した。
(関塚剛史、山下明史、稲嶺由羽、黒田誠、松井真理[薬剤耐性菌センター]、鈴木里和[薬剤耐性菌センター]、村上光一[感染症疫学センター])

（３）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、東京近郊の下水処理場の放流水を採取し、メタゲノム解析による耐性因子の同定を行った。また、放流水から ESBL およびカルバペネム耐性腸内細菌科細菌を分離し、特徴的な薬剤耐性遺伝子を保有する菌株は、完全長ゲノム配列を決定し、比較ゲノム解析にてその由来について検討した。
(関塚剛史、黒田誠)

（４）カルバペネム感性 IMP-6 保有大腸菌におけるプラスミド性転写調節因子 ArdK によるカルバペネマーゼ産生抑制機序の解析

国内でカルバペネム感性 bla_{IMP-6} 陽性大腸菌(A56-1S)が分離された。この菌株をメロペネム含有培地で継代してカルバペネム耐性株(A56-1R)を得た。この２株のカルバペネマーゼ産生判定および比較ゲノム解析を行った結果、A56-1S は IMP-6 メタロ β-ラクタマーゼ（MBL）を産生していないこと、A56-1R は IMP-6 MBL を産生し、かつプラスミド性転写調節因子 ArdK の遺伝子に挿入変異があることが明らかになった。ArdK が IMP-6 MBL の産生抑制に関与するかを検討するために、ArdK もしくは変異型 ArdK と、bla_{IMP-6} の上流領域をクローニングした共形質転換株を作製し、IMP-6 MBL をレポーターとしたレポーター遺伝子アッセイを行った。その結果、ArdK を発現する共形質転換株において IMP-6 MBL の産生が抑制されたが、変異型 ArdK を発現する共形質転換株では抑制されなかった。ArdK による IMP-6 MBL 産生抑制の機序を解析するために EMSA および Binding assay を行ったところ、bla_{IMP-6} 上流の 107bp の配列と ArdK が結合すること、その Kd 値が 2.93×10^{-8}M であることが確認された。以上の結果から、ArdK は bla_{IMP-6} の上流領域に結合することによって、IMP-6 MBL の発現を抑制することが明らかになった。［瀬川孝耶、関塚剛史、鈴木里和（AMR センター）、山下明史、松井真理（AMR センター）、黒田誠］

VI-2 その他病原細菌の解析

（１） 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（PSM β1）、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。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、PSM β1、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。今年度は、本菌株が有する in vitro での細胞障害性について解析した。その結果、本菌株の分泌する T7SS のエフェクタータンパク質が、細胞障害性に重要であることが明らかとなった。
(橋野正紀[AMED リサーチレジデント]、関塚剛史、黒田誠)

（２）難治性腸疾患患者の腸内フローラ解析及び腸内細菌のゲノム解析

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 株の全ゲノム解析の結

果、Type V secretion system (T5SS) および Fusobacterium adhesion FadA パラログが多数検出された。トランスクリプトーム解析の結果、複数存在する T5SS 及び FadA のうち、数種の遺伝子が、貧栄養条件下で発現量が増加することが明らかとなり、これら遺伝子が生存戦略に関与することが示唆された。
（関塚剛史、黒田　誠）

（３）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。大別される 2 系統群を跨いで、同一なゲノムアイランド Staphylococcal cassette chromosome (SCC)を保有する株が確認され、本菌種間 SCC の水平伝達の可能性が強く示唆された。
（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）

（４） 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、いまだ分離されていない細菌種の存在が示唆されている。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%羊血液寒天培地、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、合計 8 種類の新規腸内細菌が実際に単離でき、それら新種細菌の完全長ゲノム配列を決定した。新種分離株は、国立研究開発法人理化学研究所バイオリソース研究センターに寄託した。
（伊藤環[AMED リサーチレジデント]、関塚剛史、黒田誠）

VII 病原性ウイルスゲノム解析

（１）ノロウイルス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
ノロウイルス(NoV)の世界規模の流行が発生している。特に、遺伝子型 GII.4 は、近縁、多くの急性胃腸炎症例の原因となっている。1974～2015 年に得られた、国内外を含む、合計 500 株の NoV GII.4 の VP1 遺伝子の大規模系統解析、及び、BEAST2 (Bayesian evolutionary analysis by sampling trees 2)を用いた時系列分子系統解析を行った。BEAST2 使用時、計算量が膨大になったため、GPU を用いた方法を新たに採用し、解析を行った。本解析により、NoV GII.4 は、数十年で急速に進化し、多様な変異体が発生し、抗原性を変化してきたことが明らかとなった。また、BEAST2 を用いた時系列系統解析を円滑に行うための仕様書を作成し、共同研究期間に配布した。
(関塚剛史、山下明史、黒田誠、松島勇紀[川崎市健康安全研究センター]、木村博一[感染症疫学センター])

VIII その他ゲノム解析

（１）感染成立に関与する宿主因子の探索に関する研究
細菌が産生する毒素、ウイルスタンパク質と結合及び相互作用する宿主側因子を把握することで、感染症が発症するメカニズムの解明のみならず、治療への応用にも展開することが出来る。CRISPR/Cas9 システムを用いた、培養細胞ノックアウトライブラリーを本研究所細胞化学部が作成している。本ライブラリーを用いて、各種毒素・ウイルスの感染実験を実施し、生存細胞を回収後、NGS による標的マーカーの deep sequencing を行うことで、感染に関与する宿主遺伝子を網羅的に回収することが可能となる。本年度は、NGS 解読データを取得後、標的遺伝子を絞り込むための自動パイプラインを作成した。本プログラムにより、細菌毒素に関与する宿主因子を網羅的に回収し、選別することが可能となった。
(関塚剛史、黒田誠、山地俊之[細胞化学部]、花田賢太郎[細胞化学部]、加藤大志[ウイルス第三部]、直亨則[ウイルス第三部]、竹田誠[ウイルス第三部])

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの国家検定

HPV ワクチン（2 価ワクチンおよび 4 価ワクチン）の検定を製剤担当室として担当した。検定試験項目の内、VLP 力価試験を試験担当室として実施した。また HPV ワクチンの製造・試験記録等要約書(summary lot protocol)の審査を実施した。(石井克幸、竹内隆正、柊元　巌、黒田　誠)

国際協力関係業務

WHO HPV ラボラトリーネットワーク活動

WHO によって結成された HPV ラボラトリーネットワーク（HPV ラボネット）の、西太平洋地域リファレンスラボとしての活動を行った。HPV DNA proficiency panel study に参加し、送られてきた検体の HPV タイピングを行い、その結果を報告して、十分な HPV タイピング能力を持つラボとしての認定を受けた。(中村浩美、柊元　巖)

発 表 業 績 一 覧

I.　I. 誌 上 発 表

1.　欧文発表

1) Tenjimbayashi Y, Onuki M, Hirose Y, Mori S, Ishii Y, Takeuchi T, Tasaka N, Satoh T, Morisada T, Iwata T, Miyamoto S, Matsumoto K, Sekizawa A, Kukimoto I. Whole-genome analysis of human papillomavirus genotypes 52 and 58 isolated from Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer. ***Infect Agent Cancer***, Aug 4;12:44. doi: 10.1186/s13027-017-0155-4 (2017)

2) Hirose Y, Onuki M, Tenjimbayashi Y, Mori S, Ishii Y, Takeuchi T, Tasaka N, Satoh T, Morisada T, Iwata T, Miyamoto S, Matsumoto K, Sekizawa A, Kukimoto I. Within-host variations of human papillomavirus reveal APOBEC signature mutagenesis in the viral genome. ***Journal of Virology***, doi: 10.1128/JVI.00017-18 (2018)

3) Kawai S, Tsukamoto T, Kukimoto I, Saito M, Iwata T, Torii Y, Ohtani S, Kuroda M, Fujii T. A case of primary signet-ring cell carcinoma of the cervix containing full genome of human papillomavirus 16. ***Indian Journal of Pathology and Microbiology***, in press.

4) Yokoyama M, Fujisaki S, Shirakura M, Watanabe S, Odagiri T, Ito K, Sato H. Molecular dynamics simulation of the influenza A(H3N2) hemagglutinin trimer reveals the structural basis for adaptive evolution of the recent epidemic clade 3C.2a. ***Front. Microbiol.,*** 8:584, 2017.

5) Chutiwitoonchai N, Mano T, Kakisaka M, Sato H, Kondoh Y, Osada H, Kotani O, Yokoyama M, Sato H, Aida Y. Inhibition of CRM1-mediated nuclear export of influenza A nucleoprotein and nuclear export protein as a novel target for antiviral drug development. ***Virology***, 507:32-39, 2017.

6) Hou Y, Lin CM, Yokoyama M, Yount BL, Marthaler D, Douglas AL, Ghimire S, Qin Y, Baric RS, Saif LJ, Wang Q. Deletion of a 197 amino acid-region in the N-terminal domain of spike protein attenuates porcine epidemic diarrhea virus in piglets. ***J. Virol.***, 91(14):e00227-17, 2017.

7) Seki S, Nomura T, Nishizawa M, Yamamoto H, Ishii H, Matsuoka S, Shiino T, Sato H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Naruse TK, Kimura A, Matano T. In vivo virulence of MHC-adapted AIDS virus serially-passaged through MHC-mismatched hosts. ***PLoS Pathog.*** 2017, 13(9):e1006638.

8) Yokoyama M, Oka T, Takagi H, Kojima H, Okabe T, Nagano T, Tohya Y, Sato H. A proposal for a structural model of the feline calicivirus protease bound to the substrate peptide under physiological conditions. ***Front. Microbiol.,*** 8:1383, 2017. (The first two authors contributed equally)

9) Nomaguchi M, Doi N, Yoshida T, Koma T, Adachi S, Ode H, Iwatani Y, Yokoyama M, Sato H, Adachi A. Production of HIV-1 vif mRNA is modulated by natural nucleotide variations and SLSA1 RNA structure in SA1D2prox genomic region. ***Front. Microbiol.,*** 8:2542, 2017.

10) Chutiwitoonchai N, Mano T, Kakisaka M, Sato H, Kondoh Y, Osada H, Kotani O, Yokoyama M, Sato H, Aida Y. Inhibition of CRM1-mediated nuclear export of influenza A nucleoprotein and nuclear export protein as a novel target for antiviral drug development. ***Virology***. 2017, 507:32-39.

11) Sato H, Yokoyama M, Nakamura H, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Tanaka T, Motomura K. ***Front Microbiol.*** 2017, 8:410.

12) K. Lee, T. Morita-Ishihara, S. Iyoda, Y. Ogura, T. Hayashi, T. Sekizuka, M. Kuroda, and M. Ohnishi
A Geographically Widespread Outbreak Investigation and Development of a Rapid Screening Method Using Whole Genome Sequences of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O121. ***Front Microbiol,*** vol. 8, p. 701, 2017.

13) T. Sekizuka, Y. Ogasawara, T. Ohkusa, and M. Kuroda
Characterization of *Fusobacterium varium* Fv113-g1 isolated from a patient with ulcerative colitis based on complete genome sequence and transcriptome analysis. ***PLoS ONE***, vol. 12, no. 12, p. e0189319, 2017.

14) H. Banno, K. Kimura, Y. Tanaka, T. Sekizuka, M. Kuroda, W. Jin, J.-I. Wachino, K. Yamada, K. Shibayama,

and Y. Arakawa
Analysis of multidrug resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility forming small, less hemolytic colonies. ***PLoS ONE***, vol. 12, no. 8, p. e0183453, 2017.

15) M. Kujiraoka, M. Kuroda, K. Asai, T. Sekizuka, K. Kato, M. Watanabe, H. Matsukiyo, T. Saito, T. Ishii, N. Katada, Y. Saida, and S. Kusachi
Comprehensive Diagnosis of Bacterial Infection Associated with Acute Cholecystitis Using Metagenomic Approach. ***Front Microbiol***, vol. 8, p. 685, 2017.

16) T. Motoya, K. Nagasawa, Y. Matsushima, N. Nagata, A. Ryo, T. Sekizuka, A. Yamashita, M. Kuroda, Y. Morita, Y. Suzuki, N. Sasaki, K. Katayama, and H. Kimura
Molecular Evolution of the VP1 Gene in Human Norovirus GII.4 Variants in 1974-2015.
Front Microbiol, vol. 8, p. 2399, 2017.

17) K. Takahashi, T. Sekizuka, H. Fukumoto, K. Nakamichi, T. Suzuki, Y. Sato, H. Hasegawa, M. Kuroda, and H. Katano. Deep-Sequence Identification and Role in Virus Replication of a JC Virus Quasispecies in Patients with Progressive Multifocal Leukoencephalopathy.
J. Virol., vol. 91, no. 1, Jan. 2017.

18) M. Kawanishi, H. Abo, M. Ozawa, M. Uchiyama, T. Shirakawa, S. Suzuki, A. Shima, A. Yamashita, T. Sekizuka, K. Kato, M. Kuroda, R. Koike, and M. Kijima
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, vol. 61, no. 1, Jan. 2017.

19) N. Hasegawa, T. Sekizuka, Y. Sugi, N. Kawakami, Y. Ogasawara, K. Kato, A. Yamashita, F. Takeuchi, and M. Kuroda. 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, vol. 85, no. 2, Feb. 2017.

20) D. Imamura, M. Morita, T. Sekizuka, T. Mizuno, T. Takemura, T. Yamashiro, G. Chowdhury, G. P. Pazhani, A. K. Mukhopadhyay, T. Ramamurthy, S.-I. Miyoshi, M. Kuroda, S. Shinoda, and M. Ohnishi
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***, vol. 11, no. 2, p. e0005386, Feb. 2017.

21) K. Sakamoto, T. Sekizuka, T. Uehara, T. Hishima, S. Mine, H. Fukumoto, Y. Sato, H. Hasegawa, M. Kuroda, and H. Katano. Next-generation sequencing of miRNAs in clinical samples of Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas.
Cancer Med, vol. 6, no. 3, pp. 605–618, Mar. 2017.

22) T. Sekizuka, M. Kawanishi, M. Ohnishi, A. Shima, K. Kato, A. Yamashita, M. Matsui, S. Suzuki, and M. Kuroda. Elucidation of quantitative structural diversity of remarkable rearrangement regions, shufflons, in IncI2 plasmids. ***Sci Rep,*** vol. 7, no. 1, p. 928, Apr. 2017.

23) T. Kenri, M. Suzuki, A. Horino, T. Sekizuka, M. Kuroda, H. Fujii, T. Hashimoto, H. Nakajima, H. Ohya, and K. Shibayama. Complete Genome Sequences of the p1 Gene Type 2b and 2c Strains *Mycoplasma pneumoniae* KCH-402 and KCH-405. ***Genome Announc***, vol. 5, no. 24, Jun. 2017. (査読無し)

24) S. Mine, T. Hishima, A. Suganuma, H. Fukumoto, Y. Sato, M. Kataoka, T. Sekizuka, M. Kuroda, T. Suzuki, H. Hasegawa, M. Fukayama, and H. Katano
Interleukin-6-dependent growth in a newly established plasmablastic lymphoma cell line and its therapeutic targets. ***Sci Rep***, vol. 7, no. 1, p. 10188, Aug. 2017.

25) M. Kuramitsu, T. Sekizuka, T. Yamochi, S. Firouzi, T. Sato, K. Umeki, D. Sasaki, H. Hasegawa, R. Kubota, R. Sobata, C. Matsumoto, N. Kaneko, H. Momose, K. Araki, M. Saito, K. Nosaka, A. Utsunomiya, K.-R. Koh, M. Ogata, K. Uchimaru, M. Iwanaga, Y. Sagara, Y. Yamano, A. Okayama, K. Miura, M. Satake, S. Saito, K. Itabashi, K. Yamaguchi, M. Kuroda, T. Watanabe, K. Okuma, and I. Hamaguchi.
Proviral Features of Human T Cell Leukemia Virus Type 1 in Carriers with Indeterminate Western Blot Analysis Results. ***J Clin Microbiol***, vol. 55, no. 9, pp. 2838–2849, Sep. 2017.

26) T. Sekizuka, E. Nai, T. Yoshida, S. Endo, E. Hamajima, S. Akiyama, Y. Ikuta, N. Obana, T. Kawaguchi, K. Hayashi, M. Noda, T. Sumita, M. Kokaji, T. Katori, M. Hashino, K. Oba, and M. Kuroda.
Streptococcal toxic shock syndrome caused by the dissemination of an invasive emm3/ST15 strain of *Streptococcus pyogenes*.
BMC Infect. Dis., vol. 17, no. 1, p. 774, Dec. 2017.

27) K. Nagasawa, Y. Matsushima, T. Motoya, F. Mizukoshi, Y. Ueki, N. Sakon, K. Murakami, T. Shimizu, N. Okabe, N. Nagata, K. Shirabe, H. Shinomiya, W. Suzuki, M. Kuroda, T. Sekizuka, Y. Suzuki, A. Ryo, K. Fujita, K. Oishi, K. Katayama, and H. Kimura
Genetic Analysis of Human Norovirus Strains in Japan in 2016-2017. ***Front Microbiol***, vol. 9, p. 1, 2018.

28) C. Sakuma, T. Sekizuka, M. Kuroda, F. Kasai, K. Saito, M. Ikeda, T. Yamaji, N. Osada, and K. Hanada
Novel endogenous simian retroviral integrations in Vero cells: implications for quality control of a human vaccine cell substrate. ***Sci Rep***, vol. 8, no. 1, p. 644, Jan. 2018.

29) E. Nakayama, S. Tajima, A. Kotaki, K.-I. Shibasaki, K. Itokawa, K. Kato, A. Yamashita, T. Sekizuka, M. Kuroda, T. Tomita, M. Saijo, and T. Takasaki
A summary of the imported cases of Chikungunya fever in Japan from 2006 to June 2016.
J Travel Med, vol. 25, no. 1, Jan. 2018.

30) K. Nagasawa, Y. Matsushima, T. Motoya, F. Mizukoshi, Y. Ueki, N. Sakon, K. Murakami, T. Shimizu, N. Okabe, N. Nagata, K. Shirabe, H. Shinomiya, W. Suzuki, M. Kuroda, T. Sekizuka, A. Ryo, K. Fujita, K. Oishi, K. Katayama, and H. Kimura. Phylogeny and Immunoreactivity of Norovirus GII.P16-GII.2, Japan, Winter 2016-17.
Emerging Infect Dis, vol. 24, no. 1, pp. 144–148, Jan. 2018.

31) H. Ozawa, S. Tajima, E. Nakayama, K. Kato, A. Yamashita, T. Sekizuka, M. Kuroda, and S. Usuku
Isolation and Complete Genome Sequencing of Zika Virus Imported from the Dominican Republic to Japan.
Jpn. J. Infect. Dis., vol. 71, no. 1, pp. 72–74, Jan. 2018.

2. 和文発表

1) 黒田誠　「次世代シークエンサーによる病原体ゲノム網羅解析と感染症の原因究明」感染制御と予防衛生 2(1)：1 -1 2018

2) 黒田誠　「メタゲノム解析による病原体検出」最新医学社「最新医学」73 巻 4 号特集

3) 黒田誠　「次世代シークエンサーを用いたウイルス検査の未来」小児内科 特集:ウイルス感染症 －最近の動向・トピックス III コラム

4) 黒田誠　「次世代シークエンサーによる病原体検索と感染症診断のシンポ」 先端医学社：「分子呼吸器病」vol.22 no.1

5) 黒田誠　「次世代シークエンサー」臨床とウイルス増刊号ウイルス検査法（改訂第二版）

6) 黒田誠　「次世代シークエンサーを用いた感染症診断の最新事情[No.15]」 文光堂「病理と臨床」2018 年臨時増刊号臨号((36 巻) 「感染性疾患の病理」

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Kukimoto I, Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Onuki M, Matsumoto K, Mori S. Upregulation of APOBEC3B cytidine deaminase by HPV E6 and E7 via the TEAD transcription factor. DNA Tumour Virus Meeting（2017 年 7 月、バーミンガム）

2) Kukimoto I, Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K. Whole-genome analysis of human papillomavirus 52/58 isolated from Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer. AOGIN 2017（2017 年 10 月、東京）

3) Yoshikazu Ishii, Kotaro Aoki, Ayaka Kusano, Yukihiro Akeda, Syouta Nakamura, Kazuhori Tomono, Tsuyoshi Sekizuka, Tetsuya Iida, Makoto Kuroda, Kazuhiro Tateda. Spreading of the blaCTX-M-8 carrying plasmid in human was mediated by its possessed *Escherichia coli* contaminated chicken meat; a public health concern. 13th beta-lactamase meeting (2017 年 5 月 イタリア・ラクイラ）

4) Kimitoshi Kato, Tsuyoshi Sekizuka, Toshiro Sugiyama, Makoto Kuroda, Toshifumi Ohkusa. Characterization of gut microbiome associated with improvement of ulcerative colitis after antibiotic combination therapy using fecal full metagenomic analysis. 25th United European Gastroenterology Week (UEGW2017) (2017 年 10 月 スペイン・バルセロナ)

5) Takaya Segawa, Tsuyoshi Sekizuka, Akifumi Yamashita, Satowa Suzuki, Mari Matsui, Makoto Kuroda. Transcriptional factor ArdK on IncN plasmid contributes to the repression of blaIMP-6 in concealed-type carbapenem-susceptible *Escherichia coli*. Keystone Symposia Conference T4: Antimicrobials and Resistance: Opportunities and Challenges (2017 年 10 月 アメリカ・サンタフェ)

6) Akifumi Yamashita, Tomotada Iwamoto, Tsuyoshi Sekizuka, Yoshiro Murase, Kengo Kato, Takemasa Takii, Satoshi Mitarai, Seiya Kato, and Makoto Kuroda.

Antimicrobial Resistance Genetic Marker Prediction for *Mycobacterium tuberculosis*. International Congress of Chemotherapy and Infection 2017 (ICC 2017) (2017年11月 台湾・台北)

2. 国内学会

1) 柊元 巌、森 清一郎、ヒトパピローマウイルス癌タンパク質によるAPOBEC3B発現誘導機構、第16回生命科学研究会（2017年6月、金沢）
2) Hirose Y, Tenjimbayashi Y, Onuki M, Minaguchi T, Iwata T, Matsumoto K, Kukimoto I. Intra-patient variation of human papillomavirus genomes revealed by deep sequencing. 第76回日本癌学会学術総会、(2017年9月、横浜)
3) Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Onuki M, Nakao S, Iwata T, Matsumoto K, Kukimoto I. Whole-genome analysis of human papillomavirus 52 and 58 in Japanese women. 第76回日本癌学会学術総会（2017年9月、横浜）
4) Fujii T, Kukimoto I. MicroRNAs extracted from cervical mucus or exfoliated cells are promising biomarkers for cervical cancer screening. 第76回日本癌学会学術総会（2017年9月、横浜）
5) Kukimoto I, Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K. Whole-genome analysis of HPV52/58 isolated from Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer. 第65回日本ウイルス学会学術集会（2017年10月、大阪）
6) Mori S, Kotani O, Takeuchi T, Ishii Y, Kukimoto I. Persistent expression of a broadly neutralizing monoclonal antibody against HPVs by AAV-mediated gene transfer. 第65回日本ウイルス学会学術集会（2017年10月、大阪）
7) 柊元 巌、APOBEC変異導入を介したヒトパピローマウイルス発癌機構、日本薬学会第138年会（2018年3月、金沢）
8) 横山 勝、佐藤裕徳. Structural sectors that are contributed to neutralization escape in HIV-1 envelope glycoprotein trimer.（HIV-1 エンベロープ三量体における中和抗体逃避に寄与する構造セクター） 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017.
9) 小谷 治、横山 勝、Loela Siarot、佐藤洋隆、Nopporn Chutiwitoonchai、間 陽子、佐藤裕徳. Analysis of mechanism of action of antivirals targeting HIV-1 Gag p6.（HIV-1 Gag p6 蛋白質を標的とする抗ウイルス物質の作用機構解析） 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017.
10) 荻原香澄、引地優太、原田恵嘉、横山 勝、加藤由奈、佐藤浩平、間瀬暢之、吉村和久、鳴海哲夫. HIVの細胞侵入を阻害するオレアノール酸誘導体の構造活性相関研究. 第27回抗ウイルス療法学会学術集会・総会, 熊本, 2017.
11) Shigeyoshi Harada, Masaru Yokoyama, Kasumi Ogihara, Yuta Hikichi, Hironori Sato, Tetsuo Narumi, Tetsuro Matano, Kazuhisa Yoshimura.Discovery of novel bifunctional entry inhibitors of HIV-1 using structure-based in silico screening.（In silico スクリーニング法を用いた新規 bifunctional HIV-1 侵入阻害剤の探索） 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017.
12) Kaori Sano, Shinji Saito, Tadaki Suzuki, Akira Ainai, Osamu Kotani, Elly van Riet, Koshiro Tabata, Makoto Fujii, Yoshimasa Takahashi, Kiyoko Ogawa-Goto , Tsutomu Kageyama, Hideki Hasegawa. Enhancement of anti-viral potencies of an intranasal Influenza vaccine-derived broadly neutralizing antibody by IgA polymerization. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017.
13) Kay Hagiwara, Osamu Kotani, Naoko Iwata-Yoshikawa, Hideki Hasegawa, Hiroyuki Shimizu, Noriyo Nagata. Clarification of a mechanism of SAFV-induced demyelination in a mouse model. 第65回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017.
14) 増田貴夫、高畑辰郎、黄 渝倫、王 寶れい、長谷川温彦、徳永研三、飛梅 実、塩田達夫、武田英里、俣野哲朗、横山 勝、河合剛太、佐藤裕徳、神奈木真理. HIV-1 インテグラーゼ非酵素的機能の分子基盤. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, シンポジウム「コアサイエンス」, 東京, 2017.
15) 横山 勝、佐藤裕徳. HIV-1 エンベロープ三量体における中和抗体逃避機構の解析. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, ワークショップ「分子・細胞・集団」, 東京, 2017.
16) 原田恵嘉、野村 渉、鳴海哲夫、横山 勝、前田賢次、林 宏典、紺野奇重、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-2. 第31回日本エイズ学会学術集会・総会, 東京, 2017.
17) 横山 勝、佐藤裕徳. 分子動力学計算による HIV-1

エンベロープ三量体の構造セクターの解析. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)（第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会）, 神戸, 2017.

18) 小谷　治、横山　勝、Lowela Siarot、佐藤洋隆、Nopporn Chutiwitoonchai、間　陽子、佐藤裕徳. 分子動力学計算を用いた抗HIV ウイルス物質の作用機構解析. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会（ConBio2017）（第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会）, 神戸, 2017.

19) 梁田麻佳, 永田祥平, 冨田勝, 佐藤裕徳, 金井昭夫. 配列類似性ネットワークを通じた HIV-1 におけるアンチセンスタンパク質遺伝子の進化解析. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会（ConBio2017）（第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会）, 神戸, 2017.

20) 黒田誠. 進化し続けるシークエンス技術と公衆衛生・感染症診断への応用 第 65 回日本化学療法学会学術総会（新宿区, 2017 年 4 月）

21) 山下明史、瀧井猛将、御手洗聡、黒田誠. Total Genotyping Solution for *Mycobacterium tuberculosis*（TGS-TB）による結核菌薬剤耐性マーカー検出と感受性予測法の構築. 第 65 回日本化学療法学会学術総会（新宿区, 2017 年 4 月）

22) 仙波敬子、松井真理、甲斐久美子、鈴木里和、柴山恵吾、加藤健吾、山下明史、関塚剛史、黒田 誠、四宮博人. 医療施設で分離されたカルバペネマーゼ GES-24 産生複数菌種株由来プラスミドのゲノム情報解析. 第65回日本化学療法学会学術総会(新宿区, 2017 年 4 月）

23) 鯨岡　学、黒田　誠、浅井浩司、渡邉　学、松清　大、斎藤智明、榎本俊行、桐林孝治、中村陽一、片田夏也、斉田芳久、草地信也. 急性胆嚢炎迅速診断におけるメタゲノム解析の有用性に関する検討. 第 65 回日本化学療法学会学術総会(新宿区, 2017 年 4 月）

24) 鹿山鎮男、矢野雷太、久恒順三、山下明史、黒田誠、柴山恵吾、大毛宏喜、菅井基行. 多剤耐性 Acinetobacter が保有する GES-24 プラスミドの解析. 第 65 回日本化学療法学会学術総会（新宿区, 2017 年 4 月）

25) 清田育男、宇留間友宣、黒田祐子、川畑大輔、黒田誠、松本哲哉. 次世代シークエンサーを用いて 1 型壊死性筋膜炎の複合感染の解析を行った 1 例. 第91回日本感染症学会学術講演会 （新宿区, 2017 年 4 月）

26) 遠藤翔太, 秋山聡香, 大場邦弘, 小鍛治雅之, 松村壮史, 小椋雅夫, 石倉健司, 西村謙一, 伊藤秀一, 黒田誠. パラインフルエンザ 3 型感染症を契機に診断された若年性関節リウマチの 1 例. 第 120 回日本小児科学会学術集会 （港区, 2017 年 4 月）

27) 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）

28) 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 月）

29) 黒田 誠 次世代シークエンス技術と公衆衛生・感染症診断への応用. 第 20 回小児心血管分子医学研究会（浜松市 2017 年 7 月）

30) 鯨岡　学, 黒田　誠, 浅井浩司, 渡邉　学, 松清　大, 斎藤智明, 片田夏也, 斉田芳久, 草地信也. メタゲノム解析を用いた急性胆嚢炎の起因菌同定, 重症度評価, 術中予測に関する検討. 第 72 回消化器外科学会 （金沢市 2017 年 7 月）

31) 白川崇大、小澤真名緒、川西路子、内山万利子、関塚剛史、山下明史、黒田誠、木島まゆみ. 次世代シークエンサー (NGS) を利用した健康ブロイラー由来第 3 世代セファロスポリン耐性大腸菌の分子疫学的解析 第 160 回日本獣医学会学術集会（鹿児島市, 2017 年 9 月）

32) 新井暢夫、関塚剛史、玉村雪乃、田中聖、楠本正博、山崎伸二、日根野谷淳、岩田剛敏、渡部綾子、黒田誠、内田郁夫、秋庭正人. 牛由来 *Salmonella Typhimurium* 及びその非定型株 (4:i:-) の全ゲノム系統解析と新規遺伝子型別法の構築. 第 160 回日本獣医学会学術集会（鹿児島市, 2017 年 9 月）

33) 重村洋明、村上光一、野田多美枝、松井真理、鈴木里和、関塚剛史、黒田誠、世良暢之. 養鶏産業におけるセフチオフルの使用自粛と鶏肉由来広域スペクトルセファロスポリン耐性サルモネラの減少. 第 160 回日本獣医学会学術集会（鹿児島市, 2017 年 9 月）

34) 新井暢夫、関塚剛史、玉村雪乃、田中聖、泉谷秀昌、楠本正博、山崎伸二、日根野谷淳、岩田剛敏、渡部

綾子、黒田誠、内田郁夫、大西真、秋庭正人．牛由来ネズミチフス菌とその非定型株の分子疫学．第100回日本細菌学会関東支部総会（板橋区，2017年9月）

35) 川端寛樹、関塚剛史、高野愛、黒田誠、佐藤梢、大西真．ゲノム情報から推定されたボレリア属細菌の進化イベント． 第63回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会（札幌市，2017 年 10月）

36) 野本竜平、濵夏樹、宅見雄志、北井和志、稲嶺由羽、関塚剛史、黒田誠． 神戸市内で分離されたカンピロバクターの分子疫学解析． 第38回日本食品微生物学会（徳島市 2017年10月）

37) 鯨岡 学,黒田 誠,浅井浩司,渡邉 学,松清 大,斎藤智明，片田夏也，斉田芳久，草地信也． メタゲノム解析を用いた急性胆嚢炎の起因菌同定，重症度評価,術中難易度予測に関する有用性の検討． 日本外科感染症学会 （新宿区 2017年11月）

38) 永瀬静香、親里嘉展、多屋馨子、新井智、奥野英雄、黒田誠、高崎智彦、片野晴隆、荻美貴、近平雅嗣、高橋幸利、榊原尚子、中尻智史、米谷昌彦．詳細な検索によりウイルス感染の関与が示された抗 NMDA型 GluR に対する抗体陽性脳炎の小児3症例．第22回日本神経感染症学会総会・学術大会（北九州市2017年10月）

39) 遠藤翔太、濱嶋恵美、秋山聡香、生田陽二、小花奈都子、川口隆弘、林健太、野田雅裕、吉田知広、大場邦弘、住田朋子、小鍛治雅之、香取竜生、橋野正紀、黒田誠．次世代シークエンサーにより診断に至った稀な合併症である水痘ウイルス性関節炎の女児例．第49回日本小児感染症学会総会（金沢市 2017年10月）

40) 黒尾優太、鹿山鎭男、久恒順三、森三郎、黒田誠、大毛宏喜、菅井基行． 中国地方にて分離されたDelftia acidovorans が保有する IMP-34 プラスミドの解析．第 65 回日本化学療法学会西日本支部総会（長崎市 2017年10月）

41) 山地俊之、関塚剛史、佐久間智理、立田由里子、黒田誠、花田賢太郎．CRISPR ライブラリーを用いた糖脂質生合成に影響を及ぼす因子の探索．2017年生命科学系学会合同年次大会（神戸市，2017年12月）

42) 黒田誠 「進化し続けるシークエンス技術と公衆衛生・感染症診断への利活用と将来展望」教育講演 日本獣医師会獣医学術学会 （別府市 2018年2月）

43) 黒田誠 「次世代シークエンサーを用いた病原体診断」57回臨床検査・東海北陸支部会 （金沢市 2018年3月）

44) 新井暢夫、関塚剛史、玉村雪乃、楠本正博、日根野谷淳、山崎伸二、岩田剛敏、黒田誠、内田郁夫、秋庭正人．欧州に由来する *Salmonella enterica* ser. Typhimurium 非定型株の国内侵入後の小進化．第91回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

45) 川端寛樹、関塚剛史、高野愛、黒田誠、佐藤梢、大西真．比較ゲノム解析から推定されたボレリア属細菌の進化イベント．第 91 回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

46) 瀧井猛将、御手洗聡、森重雄太、加藤健吾、山下明史、関塚剛史、大角晃弘、慶長直人、黒田誠、加藤誠也．2007年に全国から収集した結核菌株の全ゲノム解析．第 91 回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

47) 林美智子、鈴木里和、松井真里、関塚剛史、山下明史、加藤健吾、川村久美子、柴山恵吾、黒田誠．大腸菌 ST131 H30R1 に順応した IncF[F1:A2:B20]プラスミドが blaCTX-M-14 の安定的保持に関与する．第91回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

48) 伊藤環、関塚剛史、岸紀美、山下明史、加藤健吾、稲嶺由羽、黒田誠．既存培地を用いた健常者便由来新種腸内細菌の分離および同定．第 91 回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

49) 関塚剛史、大草敏史、黒田誠．完全長ゲノム配列解析による潰瘍性大腸炎患者より分離された *Fusobacterium varium* Fv113-g1 株の特徴．第91回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

50) 瀬川孝耶、関塚剛史、鈴木里和、山下明史、柴山恵吾、松井真理、黒田誠．カルバペネム感性大腸菌におけるプラスミド性転写調節因子 ArdK の blaIMP-6 発現抑制機序の解析．第 91 回日本細菌学会総会（福岡市，2018年3月）

51) 山下明史、岩本朋忠、関塚剛史、村瀬良朗、加藤健吾、瀧井猛将、御手洗聡、吉田志緒美、加藤誠也、黒田誠．TGS-TB に実装した結核菌薬剤耐性マーカーの in silico 検出ツールの感受性予測精度の検証．第91回日本細菌学会総会（福岡市，2018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維持強化、WHO インフルエンザ協力センターとして海外流行株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コアメンバーとして参画､WHOおよび国内ワクチン株の選定、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、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)）で業務、研究活動を行っている。

人事異動では､平成 29 年 4 月 1 日付けで藤崎誠一郎が主任研究官に昇任、平成 30 年 3 月 31 日付で信澤枝里が第 4 室長を定年退官した。

研究開発業務としては、孵化鶏卵に馴化しても抗原変異の起こりにくい H3N2 ワクチン候補株の開発に成功し、WHO から 2017/18 シーズン北半球向けワクチン推奨株の一つに選定され、また、平成 29 年度の国内 H3N2 ワクチン株候補にも推薦された。また、パンデミックインフルエンザ対策の一環として、ブタ由来の H3N2 ウイルスの迅速検出系の構築、鳥由来の H5 亜型ウイルスを広範に捉えることができるモノクロ抗体の作製に成功した。

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抗体と流行株との反応性を評価した human serology を毎年継続し､WHO ワクチン株選定に貢献した。4 価ワクチンの力価測定のために、交差反応性のないモノクロ抗体を採用した測定法を開発し、その有用性を検証した。また、近々にわが国に導入実用化が予定されている経鼻弱毒生ワクチンの力価測定法の開発、ワクチン株選定会議で審議するためのワクチン株評価法の確立を進めた。さらに、細胞培養季節性インフルエンザワクチンの導入に向けて、高増殖性ワクチン種ウイルス作製用の母体ウイルスの開発、細胞培養ワクチンの品質管理のための迷入ウイルス否定試験系の開発、力価測定系の開発を完了した。次世代ワクチンとして期待されている経鼻粘膜ワクチンの抗体応答の評価法の開発にも取り組んだ。

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 ワクチン推奨株や海外情報も考慮して平成 29 年度のワクチン株の選定を行った。また、各地衛研に対して PCR 検査系の外部精度管理試験を実施し、並行して、ウイルス分離・培養の精度の改善に向けた実態調査と個別指導を行った。前年度に引き続き、インフルエンザワクチン力価測定用の標準試薬（抗原、抗血清）を製造し、国際標準化を行った。それらは、ワクチンの国家検定の参照品として採用された。さらに、国内で分離された高病原性鳥インフルエンザ H5N6 ウイルスから弱毒化ワクチン候補株を作製し、フェレット動物モデルによる安全性試験を実施し、当亜型のワクチン候補株とした。

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い、WHO ワクチン推奨株の選定に貢献した。また、WHO の薬剤耐性サーベイランス強化ワーキング会議、PCR 技術改良会議、ワクチン株を適正に選定するための改良会議等にコアメンバーとして参加し、研究開発情報や国内サーベイランスから得られた情報を提供し､WHO の政策策定にも貢献し、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。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。

研修、教育に関する業務では、台湾 CDC からは研修職員を受け入れ、ワクチン検定関連の研修を実施した。また、FETP 初期研修および医師卒後研修ではインフルエンザ流行状況やワクチン選定についての講義、感染研一般公開においてはインフルエンザに関する話題提供などを行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから８年が経過し、研究開発業務、サーベイランス業務、WHO 協力センターとしての国際貢献、国内新型インフルエンザ対策への貢献、ワクチン品質管理の研究など、広範な研究業務をセンター一丸となって推進し、WHO およびわが国のインフルエンザ行政を支援している。引き続き、センター機能を適切に維持するため、適正な人材の確保と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

2013/14 から 2015/16 シーズンにかけて、日本国内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 3 株検出された。これらのウイルスは免疫抑制状態の患者に抗インフルエンザ薬を長期にわたり投与した後に検出され、NA 蛋白質に、H275Y 耐性変異に加えて I223K、I223R あるいは G147R 耐性変異をもっていた。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。また、H275Y/I223K および H275Y/I223R 変異ウイルスではラニナミビルに対しても感受性の低下が見られた。H275Y/I223R および H275Y/G147R 変異ウイルスは、感受性ウイルスと同等の増殖能をもっており、さらに H275Y/G147R 変異ウイルスは、感受性ウイルスと同様のウイルス適応性をもち、ヒトでの感染伝播能をもつ可能性が示唆された。［高下恵美、小川理恵、藤崎誠一郎、横山　勝、白倉雅之、中村一哉、桑原朋子、岸田典子、佐藤裕徳、土井育子*、佐藤祐二**、高尾信一***、島津幸枝***、下村壮司****、伊藤琢生*****、三浦秀佳、佐藤彩、秋元未来、渡辺佳世、渡邉真治、小田切孝人：*茨城県衛生研究所、**筑波記念病院、***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、*****呉医療センター］

2. 鶏卵馴化 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・継代すると、鶏卵への馴化によって HA のレセプター結合部位 / 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。我々は、鶏卵で継代を重ねても HA のレセプター結合部位 / 抗原部位には変異が入らず（レセプター結合部位 / 抗原部位ではないところに 1 ヶ所の変異）、流行株との抗原性が類似した A/Saitama/103/2014 (H3N2)株（埼玉株）を得た。このウイルスは、細胞分離の埼玉株と比較して、NA に 9 ヶ所の変異を持っていた。我々は、鶏卵馴化埼玉株の NA に誘導された多数の変異の意義を明らかにするため、まず限界希釈により単一のクローンの分離を試みた。その結果、NA に 2 ヶ所の変異を持つウイルス（NA 2m ウイルス）と 7 ヶ所に変異を持つウイルス（NA 7m ウイルス）の 2 種類が分離された。一般的に鶏卵馴化株の HA のレセプター結合部位 / 抗原部位への変異は、HA が鶏卵のレセプターへ結合しやすくするために誘導される。鶏卵馴化埼玉株は、HA ではなく NA に多数の変異が誘導されたことから、NA が鶏卵のレセプターへの結合に関与したと考えられた。そこで NA 2m ウイルスと NA 7m ウイルスの NA のレセプターへの結合能を調べるために、それぞれのウイルスの NA を細胞に発現させ赤血球吸着反応により調べた。その結果、これらの NA は赤血球を効率良く吸着したため、NA がレセプターへの結合に関与することが示唆された。［桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、高橋　仁、秋元未来、小川理恵、佐藤　彩、三浦秀佳、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人］

3. ブタ由来 H3N2 亜型の変異型インフルエンザウイルス (A/H3N2v)検出系の構築

2011 年 7 月以降、米国ではブタ由来 H3N2 亜型の変異型インフルエンザウイルス(A/H3N2v)のヒト感染例が相次いで報告されている。以前にリアルタイム RT-PCR 法を用いた A/H3N2v ウイルス検出系を構築しているが、近年の H3N2 亜型の季節性インフルエンザウイルス(香港型)の流行株に合わせてより高感度・特異的に検出できるよう検出系の改良を行い、新たに A/H3N2v ウイルスおよび A/H3N2 ウイルス(香港型)をそれぞれ同定可能な検出系を構築した。これにより A/H3N2 ウイルス(香港型)と区別して、直接 A/H3N2v ウイルスを高感度・特異的に検出する事が可能となり、国内でこのウイルスが流行した場合でも直ぐに検査できる体制を確立できた。[齊藤慎二、高山郁代、中内美名、永田志保、小田切孝人、影山 努]

4. H5 HA 特異的なモノクローナル抗体の A/H5N6 ウイルスに対する反応性について

H5 HA のアミノ酸配列中で高度に保存され且つ立体構造の表面上に位置し抗原部位と成り得る領域に対する合成ペプチドをマウスに免疫して作製したモノクローナル抗体は、幅広いクレードの A/H5N1 ウイルスに対して特異的な反応性を示す事が明らかになっている。近年、中国では A/H5N6 の高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が報告されている。作製したモノクローナル抗体がこの A/H5N6 ウイルスに対して反応するかどうかを確認して、H5 亜型共通のインフルエンザ迅速診断法の構築などにモノクローナル抗体が利用できるかどうかについて検討を行った。その結果、ペプチド配列と比べると A/H5N6 ウイルスの HA 抗原には数個のアミノ酸置換があるにも関わらず、A/H5N6 ウイルスに対してモノクローナル抗体が特異的に反応する事を確認した。以上の結果から、これまでに得られた抗体クローンは幅広いクレードの H5 HA 抗原に対して反応性を示し、H5 亜型共通のインフルエンザ迅速診断法の構築などにも利用できる可能性がある事が明らかとなった。[高橋仁、永田志保、小田切孝人、影山努]

5. 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。

・馴化株から単離したクローンにおいても高い致死性が認められた。

しかし単離クローンについての致死性以外に関する性状が不明であったため、遺伝子解析ならびに抗原性等についての検討を行った。その結果、クローニングの前のウイルスでは PA 分子の遺伝子変異が致死性と相関することが示唆されたが、高い致死性を示した単離クローンのうち、およそ半数は PA に変異が見られたが、もう半数では HA の 143 番目と 198 番目のアミノ酸の変異が認められた。しかし抗原性の変化は認められなかった。このことから馴化した Anhui-M のマウスでの致死性は、PA と HA のそれぞれの変異が関係することが示唆された。［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、2017/18 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評価した。評価に際し、国内ワクチン接種後血清試料のうち、赤血球凝集抑制（HI）試験により、ワクチン抗原である A/Singapore/GP1908/2015(IVR-180) (H1N1)pdm09 、B/Phuket/3073/13（山形系統）、B/Texas/2/13（ビクトリア

系統）株のいずれかに対する抗体価が 160HI 価以上のものを成人層、老人層からそれぞれ 24 検体抽出し、試験に用いた。ワクチン接種者血清は A(H1N1)pdm 流行株と比較的高い反応性を示したが、B 型山形系統流行株に対して低い反応性が認められた。B 型ビクトリア系統については、野外流行株との比較的高い反応性が確認できた一方、当該シーズンに出現した HA のアミノ酸が欠失した株との低い反応性が認められ、今後このアミノ酸欠失株の流行が拡大した場合のワクチン効果減弱が懸念された。A(H3N2)株に対する抗体価の評価は HI 試験で実施することが困難である近年の状況を踏まえ、中和試験による評価を行った。ワクチン抗原に対する相同抗体価は高値を示し、ワクチン抗原の免疫原性は相応に高いことが推察されたが、A(H3N2)野外流行株との反応性は乏しく、高いワクチン効果は見込めないと考えられた。以上から、A(H1N1)pdm09 に対してはワクチンの効果が期待されるが、それ以外の亜型系統流行株に対しては脆弱なワクチン効果が懸念された。また、米国、英国から入手したワクチン接種後ヒト血清についても同様の評価を行った。米国のワクチン接種者血清の HI 抗体幾何平均値の上昇倍率が大きく、それに比して日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率が極めて低かったことから、日本のワクチンの免疫原性の低さもワクチン効果増強に向けて改善が必要な点として挙げられた。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の議論に際し、有用な資料として活用された。［中村一哉、桑原朋子、佐藤　彩、秋元未来、渡辺佳世、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. ワクチン力価新規試験法の開発

平成 27 年度より導入された４価ワクチンに関して、従来の一元放射免疫拡散（SRD）試験法による力価試験（ワクチンの有効成分である HA 量を測定する試験）では、B 型の山形系統とビクトリア系統のワクチン２株の間で交差反応が起こり、正確な HA 含量測定が困難或いは測定不能になっていることを解決するため、交差反応がないモノクローナル抗体を使用した新規の力価試験法の開発を進めている。これまでに、B 型の系統特異的なモノクローナル抗体を使用して、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 法による力価測定法の開発を行い、SRD 法では交差反応により測定不能だった B 型ワクチン株の組み合わせの４価ワクチンに対しても測定が可能となり、測定再現性が比較的良好（C.V.＜10%）な ELISA 系が開発できた。本年は、SRD 法と開発 ELISA 法との相関性を調べるため、ワクチンを加熱変性させた複数の検体について、両測定法の結果を比較したところ、SRD 測定値の減少と ELISA 測定値の減少は概ね一致していた。これは、開発 ELISA 法が SRD 法と同様に、生物学的活性のあるワクチン蛋白の構造を測定していることを示唆する。なお、SRD 標準品を ELISA 測定のスタンダードに用いた場合、ELISA 法と SRD 法が一致した力価になるワクチン株とそうでない株があったため、ELISA 用の標準品を制定する必要性が認識された。

更に、現行のワクチンは、全粒子ウイルスをエーテル等でウイルス膜成分を可溶化したスプリットワクチンであり、先行研究に拠り、スプリットワクチンのスプリット化の程度は免疫原性の有用な品質管理項目になり得ることから、ワクチンの物理化学的性に基づく力価新規検出法の開発を行った。まず新規検出法の指標探索として、マウスでの中和抗体誘導に関する免疫原性が異なった A(H3N2)の 2 株のスプリットワクチンについて、ワクチンの粒度分布をサイズ排除クロマトグラフィー等いくつかの方法で測定したところ、2 株のスプリットワクチンにおける粒度分布が異なることが判った。スプリットワクチンの各粒度の成分と免疫原性との関係について現在解析を進めている。［嶋崎典子、板村繁之］

3. 弱毒生インフルエンザワクチンの力価測定法の開発

弱毒生ワクチンはウイルス感染価を力価とする。その測定には、感染細胞を蛍光染色し、検鏡下で感染細胞数を直接計数する蛍光フォーカスアッセイ法を用いるが、感染細胞の染色の程度が多岐に渡ることから、細胞数計測の測定者間差異が大きくなることが懸念された。そこで、画像解析による計数の自動化を試みた。感染細胞の特異的抽出と計数は、感染細胞の蛍光量不足やノイズパターンとの識別が困難なものも有り、完全な自動化には

至らなかった。一方で、ノイズの出現頻度はそれほど高くなかったことから、擬似的に蛍光検出の感度を高めるとともに、測定に用いる計数量を増加させることで力価測定の自動化が可能か、検証中である。[原田勇一、板村繁之]

4. 弱毒生インフルエンザワクチンのワクチン株評価法の検証

弱毒生インフルエンザワクチンの製造用ウイルスには、従来国内で流通していた不活化スプリットワクチンの製造株をそのまま利用することが難しく、別途至適な生ワクチン製造用ウイルスを選定する必要がある。生ワクチン製造候補株をフェレットに感染させて得た抗血清を用いて、野外流行株に対する血清中抗体価に基づき、ワクチンとしての有効性、ワクチン製造株としての妥当性を抗原的に評価する方法について､その有用性を検討した。当該生ワクチン製造候補株感染血清の相同力価が低めであり、製造株と野外流行株の抗原性差異を明確には評価できない場合もあり、これら懸案事項の改善が今後の検討課題として挙げられた。[中村一哉、岸田典子、秋元未来、佐藤彩、渡邉真治、小田切孝人]

5. インフルエンザワクチンにより誘導される免疫応答に関する研究

インフルエンザワクチンにはウイルス粒子をホルムアルデヒドで固定した全粒子ワクチンとウイルス粒子をさらにエーテルで処理し脂質膜を除去し部分的に HA 成分を精製した HA ワクチンがある。これまでに全粒子ワクチンと HA ワクチンにより産生誘導される抗体に質的違いがあることを明らかにしてきた。一方、全粒子ワクチンと HA ワクチンの違いとしては全粒子ワクチンには ssRNA が含まれているため TLR を介したシグナルが伝達されるが、HA ワクチンでは起こらないことが知られている。そこで HA ワクチン免疫時に TLR アゴニストを同時投与し、産生誘導される抗体の質に影響があるかを検討し、その抗体がワクチン防御効果に寄与するか評価したところ、TLR アゴニストにより産生誘導される抗体の質的変化が誘導され、ワクチン防御効果が増強することが示された。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之]

6. 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、野生株の中には増殖性が低く、増殖性を高めるために細胞での継代が必要になる場合がある。季節性インフルエンザウイルスの増殖性改善を目的に、HA と NA の遺伝子を野生株由来、その他の遺伝子を細胞培養用の高増殖母体ウイルス（hg-PR8 株）由来としたリアソータントウイルスを作製し、NIID-MDCK 細胞における増殖性の検討を行った。季節性インフルエンザウイルスの H3N2 亜型由来の HA と NA の遺伝子を持つリアソータントウイルス(Wakayama/HG、Mie/HG)を作製したが、どちらのウイルスも NIID-MDCK 細胞での増殖は確認されなかった。そこで、HA と NA に細胞馴化変異を導入したウイルスを作製し、NIID-MDCK 細胞における増殖性の検討を行った。Wakayama/HG は HA の T160K 変異および NA の D151N 変異を持つことで野生株と同等のウイルス力価を示すウイルスとなった。Mie/HG は HA の T160K 変異を持つことで野生株よりも約 100 倍高いウイルス力価を、HA の T160K 変異および NA の D151N 変異を持つことで野生株よりも約 1000 倍高いウイルス力価を示すウイルスとなった。HA と NA に導入した細胞馴化変異による抗原性への影響は、Wakayama/HG と Mie/HG のどちらにおいても見られなかった。これらの結果から、hg-PR8 株を母体ウイルスにしたリアソータントウイルスを作製し、HA と NA に細胞馴化変異を導入することは低増殖株の増殖性改善に有効であることが示唆された。[鈴木康司、小田切孝人、信澤枝里]

7. 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（種株）の開発. (2) 細胞培養ワクチンの品質評価法の開発.] 課題（1）：今年度も感染研所有の NIID-MDCK 細胞を用いて 2016/17 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（詳細は別記)。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試薬を作製し、試験を行った（詳細は別記)。引き続き、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)］

8. 細胞培養ワクチン株（種株）の開発

NIID-MDCK 細胞を用いて各インフルエンザシーズン（2010/2011、2011/2012、2014/2015、2015/2016）に採取された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、A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統、B/山形系統の候補種株の作製を行った。これら候補種株の多くが、当該シーズンを代表するプロトタイプ株と同等の抗原性を示し、細胞培養ワクチン種株として資するものであることを確認した。[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、阪大微研会)］

9. 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。現行の鶏卵ワクチンと同じ剤形となる 4 価ワクチンでの検討を行うために、A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統、B/山形系統の種株を用いた SRD 試薬およびワクチン（単価、4 価）の作製と、HA 抗原量の測定を実施した。その結果、全ての単価ワクチンおよび 4 価ワクチン中の HA 抗原量を求めることができた。［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：*阪大微研会］

10. 迷入ウイルスに対する NIID-MDCK 細胞の感受性評価

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。また、インフルエンザウイルスと HPIV3 を NIID-MDCK 細胞に共感染させて、HPIV3 に対する感受性を調べた。A 型インフルエンザウイルス存在下では、継代後も HPIV3 ゲノムは維持されたが、B 型インフルエンザウイルス存在下では、HPIV3 ゲノムは 2〜3 代目で検出限界以下となった。従って、NIID-MDCK 細胞は、A 型あるいは B 型インフルエンザウイルス存在下では HPIV3 に対する感受性に差異が認められた。［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］

11. 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てきた。今年度は経鼻ワクチンの安全性に関連する因子、特に炎症関連遺伝子群等についての検討を行った。マウスに G9.1、ODN1826 もしくは Poly(I:C)を経鼻投与 1 日後、肺から mRNA を採取し Type I IFN 関連遺伝子群の発現を検討した。その結果、ODN1826 と Poly(I:C)では顕著な誘導が認められたのに対し、G9.1 では部分的な誘導に留まっていた。また肺洗浄液（BAL）中の IFN-α誘導では、ODN1826 で参照品である全粒子ワクチンよりも高い誘導が認められたのに対し、G9.1 は参照ワクチンよりも低い誘導に留まっていた。このことから、G9.1 は他の粘膜アジュバントよりも高い安全性があることが示唆された。[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、*****東大・医科研]

12. 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。前年度までに抗体応答を測定するための唾液の採取方法の確立を行い、ワルトン管からの唾液採取が高濃度、かつ夾雑物が少ない分泌型 IgA 抗体（SIgA）が回収できることを示した。今年度はヒトから採取された血清、唾液ならびに鼻腔洗浄液を用いて、季節性インフルエンザ抗原特異抗体についての解析を行った。48 名から血清、唾液ならびに鼻腔洗浄液（1 つ以上）を回収し、濃縮鼻腔洗浄液と血清のスクリーニングを終えた。その結果、濃縮鼻腔洗浄液では 4 検体に A/H1N1pdm もしくは A/H3N2 に対する高い抗体価が認められ、7 検体に B/Vic、9 検体に B/Yam に対する高い抗体価が認められた。今後、唾液中の抗体価を測定し、鼻腔洗浄液や血清その相関性について解析を進める。[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、**東大・医科研]

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、渡辺佳世、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。[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、渡辺佳世、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、新たに合成した RNA 陽性コントロールについて TaqMan RT-PCR 法により検出を行った。その結果、全ての地衛研で検査精度が維持されていることが確認された。[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、小川理恵、佐藤　彩、秋元未来、三浦秀佳、渡辺佳世、渡邉真治、小田切孝人、安井善宏*、皆川洋子*、駒込理佳**、三好正浩**、山口宏樹**、佐藤直人***、高橋雅輝***、川上千春****、宇宿秀三****、長島真美*****、秋場哲哉*****、米田哲也******、小渕正次******、廣井　聡*******、森川佐衣子*******、岡山文香********、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亜型同定技術実態調査

インフルエンザウイルス株サーベイランスの質的・量的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亜型同定技術の精度維持は肝要である。全国地方衛生研究所における当該技術の状況を把握することを目的に、本年度は東北・北海道および近畿ブロックの地方衛生研究所を主として 26 箇所を対象に、ウイルス分離培養および亜型同定技術の実態調査を実施した。調査参加地方衛生研究所に、ウイルス分離試用試料として A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B Yamagata、B Victoria、および陰性検体を含む 5 サンプルを配布し、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・亜型同定を行ってもらった。分離成否や分離ウイルスの亜型同定試験結果について回答を集めるとともに、アンケートを通じて各地方衛生研究所での具体的手法の確認や作業に関する疑問点の収集に努めた。調査参加地衛研各所で当該技術は概ね良好に維持されており、野外株分離収集業務に十分能うものと考えられた。分離および同定結果に疑義が認められた場合には、適宜担当者との相談を行い、改善策の提示を行うことで、各所での野外株分離技術向上に寄与した。[中村一哉、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、渡辺佳世、佐藤　彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人、全国地方衛生研究所]

5. インフルエンザウイルス核酸診断検査法の地方衛生研究所に対する外部精度評価の実施

平成 29 年度外部精度管理事業として、全国 72 ヶ所の地方衛生研究所に対して、インフルエンザウイルスの核酸検出検査（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。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、小田切孝人]

6. インフルエン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、B/Brisbane/60/2008 [CBER]、B/Phuket/3073/2013 (BVR-1B) [TGA]、A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180)-cell derived [TGA]、A/Singapore/GP1908/2014 (H1N1)pdm09 (IVR-180) [TGA]、

A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) (IVR-186) [TGA] 、 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) (NIB-104) [NIBSC]、B/Phuket/3073/2013 [TGA]、A/Hong Kong/125/2017 (H7N9) (IDCDC-RG56B) [CBER] 、 A/Singapore/GP2050/2015 (H3N2)-cell derived [NIBSC]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、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之、小田切孝人］

7. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための標準抗原・参照抗血清の作製

平成 29 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/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)(H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014（X-263）(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013 の 4 株、および当初ワクチン製造株として選定されたが、その後実製造での製造効率が低いことが判明して変更になった A/Saitama/103/2014 (CEXP002)(H3N2)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、佐藤佳代子、板村繁之、仲山紀子、小田切孝人］

8. インフルエンザ HA ワクチンの国家検定のための参照インフルエンザ HA ワクチンの作製

国家検定の力価試験として一元放射免疫拡散（SRD）試験あるいは卵中和試験を行うこととされているが、通常は SRD 試験が力価試験として実施されている。SRD 試験で HA 含量が規定されたワクチンのマウスにおける免疫原性を確認することを主な目的として、卵中和試験に使用するウイルス株ごとに 15μg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを作製している。本年度の参照ワクチンとして、平成 29 年度のワクチン製造株である A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1)pdm09、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。また、H3N2 ワクチン株を A/Saitama/103/2014 (CEXP002)(H3N2)とした参照ワクチンも作製した。参照ワクチンの作製に使用する原液について HA 価測定及び分画試験を実施して原液の品質規格を確認した。また、SRD 試験によって原液の HA 含量を測定して、ウイルス株ごとに 15μg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを調製した。得られた参照ワクチンについて、たん白質含量試験、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、嶋崎典子、原田勇一、仲山紀子、板村繁之、谷生道一*、楠英樹*、浜口功*、持田恵子**、蒲地一成**、柴山恵吾**、小田切孝人：*血液・安全性研究部、**細菌第 2 部］

9. 標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)の作製

使用期限をむかえる標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)について、新規ロットを作製し、含有される抗原の CCA 価を測定し、本年度国内標準品として制定した。［佐藤佳代子、仲山紀子、鈴木康司、板村繁之、小田切孝人］

サーベイランス業務

1. 2017/18 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)pdm09：186 株、A(H3N2)：182 株、B 山形系統：193 株、B ビクトリア系統：58 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(H1N1)pdm09: 40 株、A(H3N2)：53 株、B 山形系統：42 株、B ビクトリア系統：1 株についても同様に解析した。2017/18 シーズンは序盤に A(H1N1)pdm09 ウイルスが流行したが、その後 B 山形系統の流行が拡大し、A(H1N1)pdm09 ウイルスの減少に伴い、A(H3N2) ウイルスの流行がした。シーズンを通じての各ウイルスの検出割合は約半数が B 山形系統であり、A(H1N1)pdm09 と A(H3N2)は同程度であった。B ビクトリア系統の流行は

比較的小規模であった。A(H1N1)pdm09 分離株のほぼ全ては WHO ワクチン推奨株である A/Michigan/45/2015 ないし国内ワクチン株 A/Singapore/GP1908/2015 と抗原的に類似していた。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。しかし、B ビクトリア系統については、ワクチン株 B/Texas/02/2013 と抗原性が乖離した株が複数認められてきた。B ビクトリア系統のこれらの抗原性の異なる株は、約 2 年前より北米を中心に検出された変異株と抗原的に類似していた。これら流行株の抗原性解析結果をまとめた情報を感染症疫学センターの IASR ウェブサイトにて開示した。[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、高下恵美、渡辺佳世、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

東南アジアおよび近隣諸国 WHO インフルエンザ協力センターから 246 株（台湾 114 株、ミャンマー5 株、ラオス 105 株、モンゴル 4 株、韓国 18 株）の分離株を入手し、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/Michigan/45/2015 の類似株が主流を占めた。A(H3N2)流行株の 5 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 ビクトリア系統分離株はワクチン株 B/Brisbane/60/2008 あるいは B/Texas/02/2013 の抗原性類似株が多かったが、ラオス分離株には抗原性が異なるものが存在していた。B 山形系統分離株はワクチン株 B/Phuket/3073/2013 の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システムにおける当該諸国と感染研の連携強化や WHO インフルエンザワクチン株選定会議での議論に際して活用された。[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、渡辺佳世、小川理恵、渡邉真治、小田切孝人]

3. A(H3N2)分離株の抗原性解析手法の改良

近年の A(H3N2)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。この中和試験による抗原性解析の試験結果の再現性や精度をより高めるために感染細胞巣減数試験（Focus reduction assay, FRA）応用し改良手法として導入した。本改良手法によって 2017/18 シーズンの A(H3N2)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。[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. 2017/18 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 119 株, A(H3N2)亜型 105 株, B 型山形系統 104 株、B 型ビクトリア系統 30 株について HA 及び NA 遺伝子の系統樹解析を行った。A(H1N1)pdm09 亜型は全ての株がサブクレード 6B.1（S84N, S162N, I216T）に属し、さらにほとんどの株は 6B.1 内で S74R, I295V, S164T を持つ集団に属した。A(H3N2)亜型は、全てクレード 3C.2a（L3I, N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H, D489N）に属した。また遺伝子的多様化が進み、3C.2a 内ではサブクレード 3C.2a1（N171K, I406V, G484E）、3C.2a2（T131K, R142K, R261Q）、3C.2a3（N121K, T135K, S144K, R261Q）、3C.2a4（N31S, D53N, R142G, S144R, N171K, I192T, Q197H）が形成された。そして 3C.2a1 には 3C.2a1a（3C.2a1+ N121K, G479E, T135K, N122D）、3C.2a1b（3C.2a1+ N121K, K92R, H311Q）が、さらに 3C.2a1b には 3C.2a1b + 135K（3C.2a1b+ E62G, R142G, T135K）、3C.2a1b + 135N（3C.2a1b + T135N）が形成された。B 型山形系統は全てクレード 3 （S150I, N165Y, N202S, S229D）内の L172Q, M251V に属した。ビ

クトリア系統は全てクレード 1A（N75K, N165K, S172P）に属した。海外で報告されている、HA 蛋白質の 2 アミノ酸（162、163 番アミノ酸）欠損あるいは 3 アミノ酸（162～164 番アミノ酸）欠損の抗原性変異株はクレード 1A 内にそれぞれ群を形成している。2 アミノ酸欠損株は国内では散発的に検出されている。データベース充実化のために、上述した株のうち約 30%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、渡辺佳世、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 29 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 432 株、A(H3N2)分離株 443 株、B 型分離株 648 株の薬剤感受性を解析した。その結果、日本国内では、A(H1N1)pdm09 で NA 蛋白質に H275Y 耐性変異をもつオセルタミビル･ペラミビル耐性株が 12 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。また、台湾では、B 型山形系統で NA 蛋白質に R150K 変異を持ち 4 薬剤すべてに対して耐性を示す多剤耐性株が 1 株検出された。日本国内の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、佐藤　彩、秋元未来、渡辺佳世、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 76 株のウイルス［A(H1N1)pdm09 分離株 37 株、A(H3N2)分離株 21 株、B 型ビクトリア系統 3 株、B 型山形系統 15 株］を分離することに成功した。さらに、鶏卵分離代表株に対するフェレット感染血清を作製し、抗原性解析における参照株として活用した。［高下恵美、渡辺佳世、桑原朋子、小川理恵、秋元未来、中村一哉、岸田典子、藤崎誠一郎、白倉雅之、佐藤　彩、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］

7. 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たが、本年度はウイルスを分離する事はできなかった。［高山郁代、中内美名、齊藤慎二、小田切孝人、影山 努］

8. 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 9 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］

9. 2016 年に日本で分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N6 亜型）を元株にしたワクチン株候補の作製

2016年11月から日本でクレード2.3.4.4に属するH5N6亜型の高病原性鳥インフルエンザが発生し、ウイルスが分離された。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、クレード2.3.4.4に属するH5N6亜型のウイルスA/duck/Hyogo/1/2016(H5N6)を元株にしたワクチン株候補の作製を当センターで行うことが決定された。

HA 遺伝子と NA 遺伝子は A/duck/Hyogo/1/2016(H5N6)由来、その他の遺伝子は PR8 株由来としたウイルス（NIID-001 株）をリバースジェネティクス法で作製した。NIID-001 株の HA 遺伝子については、HA の開裂部位を高病原性の配列から低病原性の配列に改変した。作製した NIID-001 株をニワトリの静脈内に接種し、ニワトリに対する病原性が低病原性であることを確認した。また、NIID-001 株の遺伝子解析、作製したフェレット感染血清を用いた抗原性と免疫原性の確認、鶏卵での連続継代における遺伝子安定性の検討、トリプシン依存性試験、50%発育鶏卵感染価と 50%発育鶏卵致死感染価の測定、フェレットを用いた安全性試験を行なった。

各種試験を終えた NIID-001 株は配布可能ワクチン製造候補株として WHO に報告し、ワクチン製造候補株として承認、登録された。［鈴木康司、有田知子、白倉雅之、渡邉真治、浅沼秀樹、信澤枝里、小田切孝人］

10. NIID-001 株のフェレットを用いた安全性確認試験

フェレットを用いてワクチン株候補である NIID-001 株の安全性試験を実施した。WHO の指針に従い、ABSL3 実験室内で元株と NIID-001 株をそれぞれ 6 頭のフェレットに経鼻接種した。それぞれの接種群で感染 3 日後に 3 頭の解剖を行い、臓器（鼻甲介、肺、気管、脾臓、腸管、脳、嗅球、血液）を採材してウイルス力価を測定した。また、それぞれの接種群の残り 3 頭は感染 14 日後まで臨床症状の観察と体重測定を続けた。元株接種群および NIID-001 接種群で臨床症状は見られなかったが、NIID-001 接種群では元株接種群と比較して体重減少の軽減が認められた。採材した臓器（鼻甲介、肺、気管、脾臓、腸管、脳、嗅球、血液）のウイルス力価を測定した結果、元株接種群および NIID-001 接種群では、呼吸器（鼻甲介、肺、気管）のみからウイルスが検出されたが、ウイルス力価に有意差は見られなかった。以上の結果から、元株のフェレットにおける病原性は元来低く、ワクチン株候補である NIID-001 株の病原性は元株と同程度か低いことが示された。［有田知子、浅沼秀樹、永田典代*、岩田奈織子*、白倉雅之、渡邉真治、鈴木康司、高橋仁、信澤枝里、小田切孝人: *感染病理部］

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、分与

2018/2019 シーズン用ワクチン株を選定するため、候補株を輸入し、SPF 卵を用いてマスターストックを増殖後、保存した。［H3N2 亜型：A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(NIB-104)、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186)、A/Washington/16/2017 (NYMC X-301), A/Washington/16/2017 (NYMC X-301A), B 型：B/Maryland/15/2016、B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69)、B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69A)、B/Colorado/06/2017］

ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、H3N2 亜型 2 株を試験交付、H3N2 亜型 4 株および B 型 4 株を分与した。ワクチン製造所における増殖性や蛋白収量等の情報は、2018/19 シーズンワクチン株検討会議に供され、ワクチン製造株検討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、本年度の参照インフルエンザ HA ワクチン（含有ワクチン株：A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)(H1N1pdm09)、A/Hong Kong/4801/2014（X-263）(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Texas/2/2013）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。なお、本年度は H3N2 株の変更が途中で生じたため、A/Hong Kong/4801/2014（X-263）(H3N2) 株に変更になる前の A/Saitama/103/2014 (CEXP002)(H3N2)株を含有した参照インフルエンザ HA ワクチンも準備されたため、同様に評価した。[嶋崎典子、原田勇一、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之、楠英樹*、持田恵子**、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

2017-18 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(H1N1)pdm09 亜型 7 株の試験交付株、A(H1N1)pdm09 亜型 4 株、A(H3N2)亜型 1 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]

3. 弱毒生ワクチンの承認前検査の実施

製造販売承認申請のあった弱毒生ワクチンについて、承認前検査として当該製剤の試験検査（力価試験、弱毒性試験）を実施した。[原田勇一、板村繁之、佐藤佳代子、嶋崎典子、浅沼秀樹、白倉雅之、渡邉真治、有田知子、小田切孝人]

4. ワクチン株製造施設の運用

パンデミック及びプレパンデミック用のインフルエンザワクチン株の製造施設について、GMP に準拠して運用している。本施設の運用に必要とされている環境モニタリングの実施及び記録の保管、清浄化作業の実施及び記録の保管、昆虫相診断の実施及び対応策の検討などを行った。[佐藤佳代子、仲山紀子、伊木繁雄*、網　康至**、須崎百合子**、板村繁之、小田切孝人：*バイオセーフティ管理室、**動物管理室]

国際協力関係業務

1. 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、4 月に香港で開催された 6th Meeting of the WHO Expert Group for GISRS on Surveillance of Antiviral Susceptibility に出席し、抗インフルエンザ薬耐性株のサーベイランス強化に関する議論を行った。また 2015 年第 21 週から 2016 年第 20 週に検出された世界各国の 14,330 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 0.8%で、前シーズンの検出率 0.5%からわずかに上昇していた。[高下恵美、小田切孝人]

2. WHO 世界インフルエンザ監視対応システムにおける流行株の 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。[桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、佐藤　彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳、渡辺佳世、渡邉真治、小田切孝人]

3. ワクチン株選定のためのウイルス進化・適応予測分析への協力

ウイルス進化・適応予測分析を行うため、2 つの予測モデリング・グループ（Fred Hutchinson Cancer Research Center & University of Basel team および Institute for Advanced Study, University of Glasgow & University of Cologne team）へ 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提供した。得られた成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定の参考資料とされた。[桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、岸田典子、佐藤　彩、小川理恵、秋元未来、三浦秀佳、渡辺佳世、渡邉真治、小田切孝人]

4. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定への参画

9 月と 2 月にメルボルンおよび 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、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。4 月にマレーシアで開催された西太平洋・東南アジアナショナルインフルエンザセンター会議に出席、　6 月に WHO 本部での世界ナショナルインフルエンザセンター会議、7 月にロンドンでの WHO インフルエンザ流行予測モデル開発会議、WHO 本部でのナショナルインフルエンザセンター会議・パンデミックインフルエンザ対策(PIP)会議にそれぞれ参加し、インフルエンザサーベイランス強化対策、ワクチンの安定供給に向けた協議、ワクチン株選定法改良に関する協議を行った。

［渡邉真治、小田切孝人］

5. 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]

6. 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]

7. WHO A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールに関する Working Group Meeting への参加

平成 29 年 4 月 12 日～13 日に香港で開催された WHO A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールに関する Working Group Meeting に参加し、WHO の A 型インフルエンザウイルス亜型検出 PCR プロトコールのアップデートについてと諸外国のナショナルインフルエンザセンターに対して行っているインフルエンザウイルスの PCR 亜型診断の精度管理およびその継続性について、他の WHO インフルエンザ協力センター、WHO H5 リファレンスラボラトリー、ナショナルインフルエンザセンター、OFFLU と協議した。[影山 努]

8. モンゴル National Influenza Center（NIC）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サーベイランスに関する共同研究

モンゴル NIC、オルホン県、ダルハン・オール県、ホフド県、ドルノド県地方研究所の 5 か所において、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方法のサーベイランスへの応用を目的とした共同研究を実施した。[中内美名]

9. 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（NIC）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共同研究

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継続して実施した。[高山郁代、影山 努]

10. 国際協力機構（JICA）研修への参画

JICA の主催する「ワクチン品質・安全性確保のための 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。[原田勇一]

11. インフルエンザワクチンの品質管理に関する WHO 関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

WHO ERL の一員として 7 月及び 1 月に英国で開催されたインフルエンザワクチンの品質管理に関する国際会議に出席し、ワクチンの品質管理における課題等について協議した。また、WHO 主催によるワクチン製造所と ERL を含む関係者の電話会議に参加して情報提供を行った。[板村繁之、原田勇一、小田切孝人]

12. WHO 西太平洋地域事務局主催インフルエンザウイルスの分離ならびに性状解析に関するトレーニングワークショップへの参加

平成 29 年 5 月 27 日から 6 月 3 日にかけてオーストラリア　メルボルンで開催された西太平洋地域ナショナルインフルエンザセンタースタッフを対象にしたインフルエンザウイルスの分離ならびに性状解析に関するトレーニングワークショップに招聘講師として参加し、細胞培養の基本技術に関する講義とウイルス分離、分離株抗原性解析手法の実技指導を担当した。参加各国におけるインフルエンザサーベイランス質的量的拡充に向けて大きく貢献した。[中村一哉]

13. 台湾 CDC 研究者に対するワクチン株候補作製のための技術研修

パンデミックワクチン株作製技術の習得を目的として、2017 年 12 月 6～15 日の期間、台湾 CDC 職員 1 名に対し、技術研修を行った。研修では、HA 遺伝子の改変が必要なワクチン株の作製方法、作製したワクチン株の性質を解析するために必要な試験（鶏卵での連続継代における遺伝子安定性の検討、トリプシン依存性試験、50%発育鶏卵感染価と 50%発育鶏卵致死感染価の測定、ニワトリにおける低病原性化確認試験、フェレットにおける安全性試験）に関して、講義及び実習を行なった。[鈴木康司、浅沼秀樹、信澤枝里、小田切孝人]

研修業務

1. 平成 29 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

4 月に実施された FETP 初期研修、11 月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. 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 17 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 法および 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]

3. 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検疫所に対する外部精度評価の実施

主要検疫所 14 ヶ所に対して、核酸検出検査（リアルタイム RT-PCR 法）によるインフルエンザウイルスの型・亜型診断検査の外部精度評価(EQA)を実施した。各検疫所から送付された結果報告に対して解析を行い、EQA の解析結果を各所に報告した。また、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あると考えられる場合は、トラブルシューティングを実施するように助言し、また、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等にも対応して、検査精度の向上を図った。[影山 努、中内美名、高山郁代、齊藤慎二]

4. 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］

5. モンゴル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指導

モンゴル NIC においてオルホン県、ダルハン・オール県、ホフド県、ドルノド県地方研究所の技術者に対し、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。［中内美名］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1．欧文発表

1. Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N, Burke DF, Smith DJ, Kuwahara T, Takashita E, Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V, Bhushan A, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T, Kageyama T, Watanabe S. Characterization of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from Nepalese and Indian outbreak patients in early 2015. Influenza Other Respir Viruses. 11: 399-403, 2017.
2. Gubareva LV, Besselaar TG, Daniels RS, Fry A, Gregory V, Huang W, Hurt AC, Jorquera PA, Lackenby A, Leang SK, Lo J, Pereyaslov D, Rebelo-de-Andrade H, Siqueira MM, Takashita E, Odagiri T, Wang D, Zhang W, Meijer A. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2015-2016. Antiviral Res. 146:12-20, 2017.
3. Imai M, Watanabe T, Kiso M, Nakajima N, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Yamada S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Shirakura M, Takashita E, Fujisaki S, McBride R, Thompson AJ, Takahashi K, Maemura T, Mitake H, Chiba S, Zhong G, Fan S, Oishi K, Yasuhara A, Takada K, Nakao T, Fukuyama S, Yamashita M, Lopes TJS, Neumann G, Odagiri T, Watanabe S, Shu Y, Paulson JC, Hasegawa H, Kawaoka Y. A highly pathogenic avian H7N9 influenza virus isolated from a human is lethal in some ferrets infected via respiratory droplets. Cell Host Microbe. 22:615-626.e8, 2017
4. Yasuhara A, Yamayoshi S, Soni P, Takenaga T, Kawakami C, Takashita E, Sakai-Tagawa Y, Uraki R, Ito M, Iwatsuki-Horimoto K, Sasaki T, Ikuta K, Yamada S, Kawaoka Y. Diversity of antigenic mutants of influenza A(H1N1)pdm09 virus escaped from human monoclonal antibodies. Sci Rep. 7:17735, 2017.
5. Yokoyama M, Fujisaki S, Shirakura M, Watanabe S, Odagiri T, Ito K, Sato H. Molecular dynamics simulation of the influenza A(H3N2) hemagglutinin trimer reveals the structural basis for adaptive evolution of the recent epidemic clade 3C.2a. Front Microbiol. 8:584, 2017.
6. Terauchi Y, Sano K, Ainai A, Saito S, Taga Y, Ogawa-Goto K, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M, Fujieda M, Suzuki T, Hasegawa H. IgA polymerization contributes to efficient virus neutralization on human upper respiratory mucosa after intranasal inactivated influenza vaccine administration. Hum Vaccin Immunother. 14:1351-1361, 2018
7. Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Kawachi S, Furuya H, Do HT, Kageyama T, Ta TA, Dao NH, Nunoi H, Tran DM, Le HT, Nakajima N. Pathogen screening and prognostic factors in children with severe ARDS of pulmonary origin. Pediatr Pulmonol. 52:1469-1477, 2017
8. Kaida A, Iritani N, Yamamoto SP, Kanbayashi D, Hirai Y, Togawa M, Amo K, Kohdera U, Nishigaki T, Shiomi M, Asai S, Kageyama T, Kubo H. Distinct genetic clades of enterovirus D68 detected in 2010, 2013, and 2015 in Osaka City, Japan. PLoS One. 12:e0184335, 2017
9. Takahashi H, Nagata S, Odagiri T, Kageyama T. Establishment of the cross-clade antigen detection system for H5 subtype influenza viruses using peptide monoclonal antibodies specific for influenza virus H5 hemagglutinin. Biochem Biophys Res Commun. 498:758-763, 2018
10. Shimasaki N, Shinohara K, Morikawa H. Performance of Materials Used for Biological Personal Protective Equipment Against Blood Splash Penetration. Industrial Health. 55:521-528, 2017

11. Kono N, Sun L, Toh H, Shimizu T, Xue H, Numata O, Ato M, Ohnishi K, Itamura S. Deciphering antigen-responding antibody repertoires by using next-generation sequencing and confirming them through antibody-gene synthesis. Biochem Biophys Res Commun. 487:300-306, 2017
12. Shimasaki N, Nojima Y, Sakakibara M, Kikuno R, Iizuka C, Okaue A, Okuda S, Shinohara K. Advanced Analysis to Distinguish between Physical Decrease and Inactivation of Viable Phages in Aerosol by Quantitating Phage-Specific Particles. Biocontrol Sci. 23:7-15, 2018
13. Lin S, Kono N, Shimizu T, Toh H, Xue H, Numata O, Ato M, Itamura S, Ohnishi K. Distorted Antibody Repertoire Developed in the Absence of Pre-B Cell Receptor Formation. Biochem Biophys Res Commun. 495:1411-1417, 2018
14. Fujii T, Jounai K, Horie A, Takahashi H, Suzuki H, Ohshio K, Fujiwara D, Yamamoto N. Effects of heat-killed Lactococcus lactis subsp. lactis JCM 5805 on mucosal and systemic immune parameters, and antiviral reactions to influenza virus in healthy adults; a randomized controlled double-blind study. J Funct Foods. 35:513-521, 2017
15. 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. 50:100-108, 2017
16. Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Takai M, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Modeling for influenza vaccines and adjuvants profile for safety prediction system using gene expression profiling and statistical tools. PLoS One. 13:e0191896, 2018
17. Hampson A, Barr I, Cox N, Donis RO, Siddhivinayak H, Jernigan D, Katz J, McCauley J, Motta F, Odagiri T, Tam JS, Waddell A, Webby R, Ziegler T, Zhang W Improving the selection and development of influenza vaccine viruses - Report of a WHO informal consultation on improving influenza vaccine virus selection, Hong Kong SAR, China, 18-20 November 2015 Vaccine. 35(8):1104-1109, 2017

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 2017-18. 187-190, 2017
2. 高下恵美. 第 5 回国際抗ウイルス薬会議(5th isirv-Antiviral Group Conference)参加報告. インフルエンザ. 61:56-57, 2017
3. 渡邉真治. インフルエンザ ーサーベイランスからワクチン株選定までー. 日本臨床内科医会会誌. 32:789-794, 2018
4. 今井正樹、渡邉真治、河岡義裕. 季節性インフルエンザウイルスの抗原変異株の出現予測. インフルエンザ. 61:31-34, 2017
5. 渡邉真治、今井正樹. 鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染と伝播の可能性. インフルエンザ. 62:37-42, 2018
6. 中村一哉、藤崎誠一郎、高下恵美、白倉雅之、岸田典子、桑原朋子、佐藤　彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、菅原裕美、渡辺佳世、渡邉真治、小田切孝人、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2016/17 シーズンのインフルエンザ分離株の解析. 病原微生物検出情報. 38:212-218, 2017
7. 佐藤　弘、多屋馨子、大石和徳、渡邉真治、小田切孝人、2016 年度インフルエンザ感受性調査・予防接種歴調査実施都道府県. 2015/16 シーズンのインフルエンザ予防接種状況および 2016/17 シーズン前のインフルエンザ抗体保有状況―2016 年度感染症流行予測調査より. 病原微生物検出情報. 38:221-223, 2017
8. 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ウイルスのヒト感染事例の状況について. 病原微生物検出情報. 38:218-220, 2017
9. 小田切孝人. インフルエンザの疫学と我が国のワ

クチン株選定　臨床と微生物 44(6):685-690, 2017

10. 小田切孝人. 今冬（2017/18 シーズン）のインフルエンザワクチンに起こったこと　Bio Clinica 33 (3): 225-231, 2018

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, 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 Japan. 5th ISIRV-AVG Conference. Shanghai, China. June 2017
2. Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Yokoyama M, Sato H, Watanabe S, Odagiri T. Growth capabilities of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir. 6th ESWI Influenza Conference. Riga, Latvia. September 2017
3. Maeyama J, Suzuki F, Ozeki Y, Asanuma H, Matsumoto S, Iho S, Yamamoto S. Study of a novel CpG oligodeoxynucleotide to promote vaccine ability against TB or Flu. International Society for Vaccines Annual Congress, Paris, October 2017
4. Asanuma H, Tateishi K, Hasegawa H, Yamamoto N, Sato K, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Odagiri T, Fujihashi K. Enhancement of protective mucosal immunity against influenza virus infection by a combination of Influenza antigen plus G9.1 (CpG ODN) as nasal adjuvant. International Congress of Mucosal Immunology, Washington, July 2017

2. 国内学会

1. 高下恵美. 日本国内で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 91 回日本感染症学会. 新宿. 2017 年 4 月
2. 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、佐藤　彩、秋元未来、渡辺佳世、渡邉真治、小田切孝人. 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. 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
3. Takashita E, Shirakura M, Fujisaki S, Nakamura K, Kuwahara T, Kishida N, Watanabe S, Odagiri T. Antiviral susceptibility of avian influenza A(H7N9) viruses isolated from humans. 第 65 回日本ウイルス学会. 大阪. 2017 年 10 月.
4. 高下恵美. 発育鶏卵における臨床検体からのインフルエンザウイルス分離. 7th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄. 2018 年 1 月
5. 桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、高橋仁、三浦秀佳、秋元未来、小川理恵、佐藤　彩、菅原裕美、鈴木典子、渡邉真治、小田切孝人. 鶏卵で継代培養した埼玉株の NA に特徴的に認められたアミノ酸置換. 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
6. Kuwahara T, Takashita E, Shirakura M, Fujisaki S, Nakamura K, Kishida N, Takahashi H, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sato A, Sugawahara H, Suzuki N, Watanabe S, Odagiri T. Characterizations of cell-derived and egg-passaged A/Saitama/103/2014 virus. 第 65 回日本ウイルス学会. 大阪. 2017 年 10 月
7. Watanabe S, Nakamura K, Kishida N, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Sato A, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sugawara H, Watanabe K, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamasaki M, Odagiri T, The Influenza Surveillance Group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2016/17 season and vaccine viruses for the 2017/18 season. 第 65 回日本ウイルス学会. 大阪. 2017 年 10 月
8. 渡邉真治. インフルエンザ ～サーベイランスからワクチン株選定まで～. 日本臨床内科医学会. 大阪. 2017 年 10 月
9. 中内美名、大場邦弘、高山郁代、齊藤慎二、影山

努. C 型インフルエンザの簡易ウイルス遺伝子検出法の構築とその臨床現場への応用. 第 120 回日本小児科学会学術集会. 東京. 2017 年 4 月

10. 大場邦弘、高山郁代、仙波晶平、中内美名、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、影山　努. インフルエンザと RS ウイルスを同時検出可能なマイクロ流路チップを用いた direct リアルタイム RT-LAMP 法による POC 検査法の開発. 第 91 回日本感染症学会総会・学術講演会. 東京. 2017 年 4 月
11. 大場邦弘、高山郁代、仙波晶平、高橋 仁、中内美名、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、影山　努. Direct real-time RT-LAMP 法を用いた multiplex POC 検査法の開発と地域感染症リアルタイムサーベイランスへの応用. 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
12. 大場邦弘、木屋啓一、齊藤慎二、高山郁代、高橋仁、中内美名、仙波晶平、米川俊広、瀬川雄司、渡辺英俊、納富継宣、影山　努. Direct real-time RT-LAMP 法を用いた multiplex POC 検査法の検証とリアルタイム病原体サーベイランスへの応用. 第 49 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 金沢. 2017 年 11 月
13. 久保英幸、改田　厚、塩見正司、寺田晃洋、浅井定三郎、圀府寺美、梶　勝史、高山郁代、中内美名、高橋　仁、齊藤慎二、影山　努. マイクロ流路チップを用いた direct リアルタイム RT-LAMP 法（POC 遺伝子検査システム）による呼吸器病原ウイルス遺伝子の検出に関する検討. 第 50 回日本小児呼吸器学会. 東京. 2017 年 11 月
14. Shirato K, Semba S, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Matsuyama S. Development of Fluorescent Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) using Quenching probes for the detection of the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. 第 65 回日本ウイルス学会. 大阪. 2017 年 10 月
15. 齊藤慎二、高橋　仁、永田志保、小田切孝人、影山　努. H7 HA 特異的なモノクローナル抗体を用いた H7N9 インフルエンザウイルス迅速診断系の構築. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017 年 10 月
16. 佐野 芳、齊藤慎二、鈴木忠樹、相内　章、小谷　治、Elly van Rie、田畑耕史郎、藤井 信、高橋宜聖、後藤希代子、長谷川秀樹. Enhancement of anti-viral potencies of an intranasal Influenza vaccine derived broadly neutralizing antibody by IgA polymerization. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017 年 10 月
17. 佐野 芳、齊藤慎二、鈴木忠樹、上野智規、多賀祐、Elly Van Riet、相内 章、田畑耕史郎、藤井 信、高橋宜聖、後藤希代子、長谷川秀樹. モノクローナル多量体型 IgA 交代作製法を用いた分泌型 IgA 抗体の抗インフルエンザウイルス活性の解析. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会.福岡. 2017 年 12 月
18. 鈴木忠樹、寺内芳彦、相内 章、齊藤慎二、多賀祐喜、大原有樹、山口喜之、小田切孝人、田代眞人、後藤希代子、長谷川秀樹. 経鼻不活化インフルエンザウイルス接種により誘導される粘膜抗体の性状解析. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017 年 12 月
19. 影山　努. インフルエンザ検査の精度管理と鳥インフルエンザウイルスの流行状況について. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会. 東京. 2018 年 2 月
20. 佐藤佳代子、浅沼秀樹、阿戸　学、田代眞人、小田切孝人、板村繁之. TLR アゴニストは抗体の avidity の増強または ADCC 抗体の産生誘導によりインフルエンザスプリットワクチンの防御効果を増強する. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017 年 12 月
21. Sato K, Ato M, Asanuma H. TLR agonists enhance avidity and ADCC activities of virus-specific antibodies upon a booster immunization of influenza vaccines. 第 46 回日本免疫学会学術集会. 仙台. 2017 年 12 月
22. 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 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

23. 鈴木康司、高橋　仁、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製造候補株の検討. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017 年 12 月
24. Hamamoto I, Takahashi H, Mizuta K, Nishimura H, Sato K, Odagiri T, Nobusawa E. Evaluation of the virus clearance capacity of NIID-MDCK cells. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017 年 10 月
25. Takahashi H, Fujimoto T, Horikoshi F, Uotani T, Okutani M, Hamamoto I, Odagiri T, Nobusawa E. Development of the cell-culture candidate vaccine viruses and quality evaluation method for production of cell-based influenza vaccines. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017 年 10 月
26. 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. 細胞培養季節性インフルエンザワクチン製造用種ウイルスの元株分離用 NIID-MDCK 細胞の迷入ウイルス排除能の検討. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017 年 12 月
27. 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. 細胞培養インフルエンザワクチンの種株作製および品質評価法の検討. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 福岡. 2017 年 12 月
28. 信澤枝里. 細胞培養インフルエンザワクチン実用化への取り組み. 7th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄 2018 年 1 月
29. Asanuma H, Tateishi K, Sato K, Hasegawa H, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Fujihashi K, Yamamoto N. Essential roles for protective SIgA Abs induced by nasal G9.1 combined influenza VLP vaccine. 第 46 回日本免疫学会学術集会. 仙台. 2017 年 12 月
30. 立石恒一朗、山本典生、佐藤佳代子、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、小田切孝人、藤橋浩太郎、浅沼秀樹. 2 つの感染モデルを用いた CpG-ODN G9.1 添加経鼻インフルエンザワクチンの有効性. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会、博多、2017 年 12 月
31. 相内　章、鈴木忠樹、川口　晶、池田千将、泉地恭輔、岸田典子、浅沼秀樹、渡邉真治、田村慎一、小田切孝人、田代眞人、長谷川秀樹. 不活化インフルエンザワクチン経鼻接種により誘導される野外株ウイルスに対する抗体応答. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 博多. 2017 年 12 月
32. 水上拓郎、佐々木永太、百瀬暖佳、浅沼秀樹、蒲池一成、石井 健、浜口 功. ヒト PBMCs を用いたインフルエンザワクチンの in vitro 安全性評価法の開発とヒト化マウスによる in vivo モデルの構築 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. 博多. 2017 年 12 月
33. 宮崎耀基、高橋公正、氏家　誠、相内　章、長谷川秀樹、永田典代、小田切孝人、田代眞人、浅沼秀樹. マウスに馴化したインフルエンザ A(H7N9)の病原性は自然免疫応答と逆相関する. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. 大阪. 2017 年 10 月

22. 薬剤耐性研究センター

センター長　菅井 基行

概 要

薬剤耐性（Antimicrobial resistance, AMR）は人間の安全保障を脅かす公衆衛生上の重要課題である。2015 年、世界保健機構（WHO）総会において今までの AMR に対する取り組みが不十分であったことの反省を踏まえ、AMR に関するグローバル・アクション・プランが採択された。これにより加盟各国に2年以内の自国のアクション・プランの策定が求められた。わが国ではこれを受けて 2016 年に開催された関係閣僚会議において「国際的に脅威となる感染症対策の強化に関する基本計画」が策定され、その中で「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」が取りまとめられた。「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」には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「薬剤耐性感染症制御研究センター（仮称）」を国立感染症研究所に設立することが謳われ、予算措置がなされた。薬剤耐性菌に起因する感染症は細菌第二部が所掌してきたが、この動きに合わせて細菌第二部の薬剤耐性に係る部分が独立拡大する形で 2017 年4月に薬剤耐性研究センターとして東村山市ハンセン病研究センター庁舎に設置され、細菌第二部部長柴山恵吾がセンター長を併任した。2017 年 9 月には細菌第二部で薬剤耐性に係る業務を行なっていた職員がハンセン病研究センター庁舎に引っ越し、東村山での業務を開始した。

薬剤耐性研究センターでは国内外の実態調査や、耐性メカニズム研究、市場で流通している抗生物質の品質管理、薬剤耐性対策に資する新技術開発、病院の感染症対策支援、薬剤耐性に関してのシンクタンク機能が求められている。薬剤耐性研究センターは七室からなり、第一室（抗生物質・分子疫学研究室）、第二室（院内感染・統計研究室）、第三室（ワンヘルス研究室）、第四室（疫学研究室（寄生虫・媒介動物研究室）、第五室（市中感染症研究室）、第六室（寄生虫・媒介動物研究室）、および第七室（ゲノム疫学研究室）から構成された。移転時は実質的には一室、二室のみで他の室は他部門職員が併任している。第一室では細菌学的な基礎、応用研究、行政検査業務、レファレンス業務、及び関連する抗生物質製剤の品質管理業務、研究を行っている。また第二室では厚生労働省結核感染症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。

平成 29 年度は研究業務に関しては主として薬剤耐性菌の解析、耐性菌検出方法、プラスミドの解析、アウトブレイク検出法、JANIS 検査部門データを用いた研究、市中サーベイランスデータの解析を行った。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。品質管理業務では抗生物質製剤の国家検定、収去試験、日本薬局方抗生物質標準品の製造や交付を行なった。

人事では、4月1日に鈴木里和室長、松井真理主任研究官、鈴木仁人主任研究官が細菌第二部より第一室に移動、矢原耕史主任研究官、筒井敦子研究官が同じく第二室に移動した。1月 1 日には柴山恵吾センター長が併任を解かれ、菅井基行がセンター長に就任した。

業 績

調査・研究

Ⅰ. 薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌に関する菌株・検体等の解析依頼の概要

医療機関や地方衛生研究所等から解析依頼を受けた、菌株 127 株（菌種内訳：*Acinetobacter baumannii* 10 株、*Aeromonas hydrophila* 1 株、*Enterobacter aerogenes* 2 株、*Enterobacter asburiae* 1 株、*Enterobacter cloacae* 7 株, *Enterobacter* sp. 1 株、*Enterococcus faecium* 71 株、*Enterococcus* sp. 2、*Escherichia coli* 13 株、*Klebsiella oxytoca* 2 株、*Klebsiella pneumoniae* 4 株、*Providencia rettegeri* 3株、*Stenotrophomonas maltophilia* 10株）とDNAプラグ等の菌体 DNA 101 株（菌種内訳：*Citrobacter freundii* 3株、*E. aerogenes* 4株、*E. asburiae* 2株、 *E. cloacae* 16株、*Enterobacter* sp. 6 株、*Enterococcus casseliflavus* 1 株、*E. faecium* 4株、 *E. coli* 16株、*K. oxytoca* 3株、*K. pneumoniae* 24株、*Proteus mirabilis* 2株、*Pseudomonas aeruginosa* 6株、*Pseudomonas otitidis* 1 株、*Serratia marcescens* 6 株 *Shigella* spp. 7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。なお、上記は行政検査として依頼を受けたものも含む。[松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、鹿住裕子、柴山恵吾、菅井基行（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. カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌検出方法の評価検討

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）のカルバペネマーゼ遺伝子型は国や地域によって異なる。CPE の検出法として海外で開発された modified carbapenem inactivation method（mCIM）と EDTA-modified carbapenem inactivation method（eCIM）を、国内分離株を用いて評価検討した。mCIM は、国内型カルバペネマーゼとして最も報告の多い IMP 型産生株を感度よく検出したが、eCIM は一部の IMP 型産生株を検出できなかった。eCIM は、海外での評価結果に比べ国内株ではやや感度が低い可能性が示唆されたため、引き続き検討を行うこととした。[松井真理、川上小夜子、鈴木里和、甲斐久美子、鹿住祐子、柴山恵吾]

3. 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、467 株に由来するプラスミドゲノム DNA（761 サンプル）及び全ゲノム DNA（400 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、甲斐久美子、鹿住祐子（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]

4. 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*bla*$_{\text{CTX-M}}$の拡散に関与していると報告されている。2008 年に分離された 50 株の大腸菌 O25 のゲノム解析を行ったところ 27 株がアジアで流行している ST131-*H*30R1 であり、これらは F1:A2:B20 プラスミドと関連していた。このプラスミドは他のプラスミドに比べ耐性遺伝子を多く保有し、接合能は低く、安定的に維持される特性を持っていた。一方、*bla*$_{\text{CTX-M}}$ はより接合能の高いプラスミド上に存在する傾向があり、特性の異なるプラスミドを介して ST131 に適応していった可能性が示唆された。[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]

5. 台湾および日本で分離された IMP 型カルバペネマーゼ産生 *Enterobacter* 属の比較解析

日本ではカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌のうち IMP-1 メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *E. cloacae* complex が最も多く、台湾も KPC 型カルバペネマーゼ産生菌 *K. pneumoniae* が流行する前は IMP-8 メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *E. cloacae* complex が最も多かった。同じ IMP 型カルバペネマーゼ遺伝子を保有する *E. cloacae* complex の日本と台湾由来株の比較を行ったところ、日本と台湾では *E. cloacae* complex の 菌種および ST は異なるものの、*bla*$_{\text{IMP}}$を保有する IncHI2 が共通しており、今後、これらのプラスミドの比較解析および *bla*$_{\text{IMP}}$の周辺構造解析を実施することとした。[鈴木里和（以下、病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、黒田誠]

6. 薬剤耐性菌研究における海外研究拠点と連携

大阪大学・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・J-GRID 中国拠点、中国・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) などと連携し、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、平林亜希、柴山恵吾]

7. 多剤耐性菌に対する新規抗菌手法および抗菌化合物の開発

JSR 株式会社との共同研究で、多剤耐性 ESKAPE 病原細菌株にも有用な新規抗菌ポリマーの開発、新規抗菌素材への応用を進めた。また、公益財団法人微生物化学研究所との共同研究で、アミノグリコシド高度耐性グラム陰性菌株にも有効な新規アミノグリコシド誘導体の合成、*in vitro* の抗菌評価を進めた。[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. 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. 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* 量の評価を検討した。病院ではバシラス属菌の多くが菌種同定されておらず、*B. cereus* に絞った解析が不可能であった。*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ることから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。また、関東と九州の医療機関より臨床より分離された全バシラス属を送付してもらい菌種同定をしたところ、*B. cereus* の割合は夏季に増大する傾向が明らかとなった。[小林彩香（感染症疫学研究センターFETP）、鈴木里和]

2. 薬剤耐性菌アウトブレイクの自動検出法の研究

薬剤耐性菌のアウトブレイクは早期に発見し制御する必要がある。そのためのフレームワークを構築するための研究（日米医学協力計画若手女性平成 29 年度採択研究）を推進し

た。具体的には、厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（JANIS）検査部門の約 1000 病院の 2015～2016 年データに、WHO が開発し無料配布している細菌検査データ管理ソフト WHONET に実装されているアルゴリズム SaTScan を、パラメータチューニングおよびバッチ処理プログラムの開発に基づいて適用した（WHONET の開発者であるハーバード大の John Stelling 博士との共同研究）。そのうち、日本の各地方を代表する 10 病院の結果について、訪問調査による詳細な検証を行った。その結果、このアプローチにより、通常監視対象となっていない薬剤耐性菌の集積をも自動検出することが可能であること、耐性度の低い薬剤耐性菌の集積の検出によって耐性度の高い薬剤耐性菌のアウトブレイクが起こる前に早期に介入できる可能性があること、が明らかになった。[筒井敦子、矢原耕史]

3. JANIS 検査部門データを活用したその他の研究

耐性菌の種内に占める割合の経時的変化（検査部門データのトレンド）に関する共同研究に貢献した（平成 29 年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）薬剤耐性（AMR）アクションプランの実行に関する研究（H29-新興行政-指定-005 :研究代表者　大曲貴夫））。JANIS 検査部門の１次データを JANIS 公開情報の仕様に従って高速に集計し、統計モデルによる解析が可能なデータセットを作成した。また、医療機関が JANIS に提出している個人レベルのデータを活用した臨床研究を細菌検査技師と共同で進め、細菌検査データと DPC データを初めて統合解析し、菌血症における陰性化確認の有無が患者の予後とどれだけ関係するのかを統計学的・定量的に明らかにした。[矢原耕史、筒井敦子、柴山恵吾]

4. 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、昨年度に引き続き行った。[矢原耕史、柴山恵吾]

5. 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、解析するシステムの開発を、昨年度に引き続き行った。 [筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾]

6. 市中耐性菌サーベイランスデータの解析

薬剤耐性研究センター第5室・細菌第一部との連携により、チフス菌約 100 株、および京都・大阪でサーベイランスにより分離された淋菌約200株のゲノムデータと薬剤感受性データを解析した。その結果、チフス菌のキノロン耐性株の遺伝的特徴を明らかにした。淋菌については、セフトリアキソン、セフィキシム、シプロフロキサシン、アジスロマイシンの耐性を司る遺伝因子の分布と、それによって表現型としての薬剤耐性がどれだけの感度・特異度で判別可能かを明らかにした。また、ゲノムの塩基配列レベルでの詳細な集団構造を明らかにし、ST7363 系統の一部でセファロスポリン耐性型の遺伝子が組換えによって失われていることを明らかにした。さらに、他の時期・地域に分離された 67 株のデータを統合解析することで、ST1901 および ST7363 という日本を起源とする二大系統がどのように進化してきたのかを明らかにした。[矢原耕史]

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検査体制構築支援のため、各種□-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、陽性コントロール菌株及び試験手順書の分与を行った。[松井真理、甲斐久美子、鹿住祐子、鈴木里和]

サーベイランス業務

Ⅰ. 感染症発生動向調査病原体サーベイランス

1. 2017 年 3 月の厚生労働省健康局結核感染症課長通知により地方衛生研究所等で実施され、感染症サーベイランスシステム（NESID）の病原体検出情報システムを通じて報告されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の試験検査結果について、報告形式と内容の確認、および集計等を実施した。[松井真理、鈴木里和]

Ⅱ. 院内感染対策関係

厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業は、新規参加医療機関が増加し続けており、平成 30 年 1 月時点で参加医療機関数は 2150 施設となった。平成 29 年 4 月に、政府の指針に基づいて、システム全体の政府共通プラットフォームへの移行を完了したが、ハードディスク上限が決定的に不足していたため、厚生労働省情報化担当参事官室との協議を踏まえ、システム全体のパブリッククラウド環境への再移行を行った（平成30年1月に完了した）。これにより、JANIS システムを安定的に運用し続けるための基盤が整った。また、平成 29 年度は、初めて運用保守業者が交代した

が、ドキュメント整備やプロジェクトマネージメントにより、従来通り、参加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うことが出来た。検査部門公開情報については、2016 年年報英語版を作成・公開すると同時に 2014 年から 2016 年の年報をまとめた小冊子を刊行し、広く配布した。一方で、年間 2100 件を超える医療機関からの問い合わせに対応した。加えて、JANIS ホームページの URL 変更（https://janis.mhlw.go.jp）およびデザインの刷新を行い、システムの機能追加・改修を続けた。また、JANIS のデータ提出・活用のための説明会を東京と大阪で計 2 回開催し、併せて外部講師により講演会を行った。また、JANIS 検査部門への新規参加に関するニュースレター、検査部門の還元情報の見方に関するニュースレター（応用編）を作成した。さらに、医療機関の地域連携に資するべく、複数の医療機関の還元情報 CSV ファイルを集めて1クリックで主要な耐性菌の分離率の分布を確認できる「箱ひげ図作成ツール」を作成・公開した。さらに、年度末には JANIS 運営会議を開催し、外来検体の集計結果の公表することなどが決定された。薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2017 では、JANIS 検査部門 2015 年年報のデータを提供した。[筒井敦子、矢原耕史、川上小夜子、大木留美、藤村詠美、安齋栄子、平山昌邦、瀧世志江、菅井基行、柴山恵吾]。

Ⅲ. 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、厚生労働省の薬剤耐性(AMR)対策アクションプランが柱の一つとして掲げる「国際協力」に関し、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 29 年度は、ミャンマーモンゴル、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。2017 年 4 月モンゴル国立医科大学（MNUMS）と JANIS システムの試験導入に関する覚書を締結し、5 月に MNUMS や国立第一病院を訪問、AMR サーベイランスに関心のある病院関係者を集めワークショップを開催した。また、国立第一病院の WHONET データを基に、還元情報月報・年報を作成し、外来検体、全検体の帳票を追加した。さらに海外展開用 JANIS システムのパブリッククラウド環境へ移行を遂行し、運用マニュアルの整備を行った。[筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾]

品質管理に関する業務

Ⅰ. 抗生物質の品質管理

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（9 品目）：アジスロマイシン標準品、アモキシシリン標準品、イミペネム標準品、セファクロル標準品、セフジトレンピボキシル標準品、ナイスタチン標準品、フラジオマイシン硫酸塩標準品、フロモキセフトリエチルアンモニウム標準品、ポリミキシンB硫酸塩標準品

サブロット更新（4 品目）：イセパマイシン硫酸塩標準品（Lot B2）、エピルビシン塩酸塩標準品（Lot B3, B4）、ゲンタマイシン硫酸塩標準品（Lot B6）、セファゾリン標準品（Lot B3, B4）

2．後発医薬品品質確保対策事業関連

平成 29 年度後発医薬品品質確保対策事業に基づく抗生物質の収去試験製剤担当室業務を実施した。試験は真菌部において実施された。試験品目：セフィキシム細粒 3 ロット、注射用タゾバクタムナトリウム・ピペラシリンナトリウム 31 ロット

3．抗生物質標準物質の評価整備に関する研究

日本薬局方抗生物質標準品の定量試験の精度向上に関する検討を実施し、測定値の安定性改善が得られた。
[鈴木里和、鈴木仁人、松井真理、近田俊文、吉村由美子]

国際協力関係業務

Ⅰ. WHO 関係

WHO 南東アジア事務局（SEARO）は、地域の AMR サーベイランスを構築するうえで、JANIS システムの活用を視野に入れている。2018 年 2 月 JANIS および WHONET への理解を深めるための非公式会議” Consultation for supporting antimicrobial resistance surveillance in the Southeast Asia Region through electronic data centralization” に出席し、関係者と意見交換を行った。SEARO の Collaborating Center であるタイ・マヒドン大学の Dr. Visanu Thamlikitkul より、地域で JANIS システムの導入をすすめることに貢献したいとの意向が示され、協同して各国の AMR サーベイランス構築を進めることで合意した。[筒井敦子、柴山恵吾]

研修業務

Ⅰ. 薬剤耐性菌に関する研修

地方衛生研究等の薬剤耐性菌検査担当者を対象に、薬剤耐性菌の検査に関する座学及び実習を行った。9 月 26 日～28 日の基本コース I には 22 名、9 月 12 日～14 日の基本コース II には 19 名、9 月 14 日～15 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 16 名が参加した。[松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、甲斐久美子、鹿住祐子（以下 病原体ゲノム研究センター）関塚剛史]

その他

Ⅰ. 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 102 件の質問、相談、解析依頼に対応した。[鈴木里和、松井真理、甲斐久美子、鹿住裕子]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Sekizuka T, Kawanishi M, Ohnishi M, Shima A, Kato K, Yamashita A, Matsui M, Suzuki S, Kuroda M. Elucidation of quantitative structural diversity of remarkable rearrangement regions, shufflons, in IncI2 plasmids. Sci Rep. 2017, 7(1):928

2) Kenri T, Suzuki M, Horino A, Sekizuka T, Kuroda M, Fujii H, Hashimoto T, Nakajima H, Ohya H, Shibayama K. Complete genome sequences of p1 gene type 2b and 2c *Mycoplasma pneumoniae* strains KCH-402 and KCH-405. 2017 Genome Announc. 5(24):e00513-17.

3) Kato K, Hashino M, Ito T, Matsui M, Suzuki S, Kai K, Kitazume M, Sekizuka T, Kuroda M. Rapid and affordable size-selected PacBio single-molecule real-time sequencing template library construction using the bead-bearing DNA extraction method. J Biol Methods 2017, 4(3):e79

4) Hiki M, Shimizu Y, Kawanishi M, Ozawa M, Abo H, Kojima A, Koike R, Suzuki S, Asai T, Hamamoto S. Evaluation of the relationship between the minimum inhibitory concentration of ceftiofur and third-generation cephalosporins in *Escherichia coli* isolates from food-producing animals. J Vet Diagn Invest. 2017 Sep;29(5):716-720.

5) Pascoe B, Méric G, Yahara K, Wimalarathna H, Murray S, Hitchings MD, Sproston EL, Carrillo CD, Taboada EN, Cooper KK, Huynh S, Cody AJ, Jolley KA, Maiden MCJ, McCarthy ND, Didelot X, Parker CT, Sheppard SK. Local genes for local bacteria:Evidence of allopatry in the genomes of transatlantic Campylobacter populations. Mol Ecol. 2017 Sep;26(17):4497-4508.

6) Yu L, Hisatsune J, Hirakawa H, Mizumachi E, Toyoda A, Yahara K, Sugai M. Complete Genome Sequence of Super Biofilm-Elaborating Staphylococcus aureus Isolated in Japan. Genome Announc. 2017 Oct 12;5(41).

7) Miyamoto N*, Yahara K*, Horita R, Yano T, Tashiro N, Morii D, Tsutsui A, Yaita K, Shibayama K, Watanabe H. Integration of DPC and clinical microbiological datain Japan reveals importance of confirming a negative follow-up blood culture in patients with MRSA bacteremia. J Infect Chemother. 2017 Oct;23(10):687-691.

8) Katayama Y, Azechi T, Miyazaki M, Takata T, Sekine M, Matsui H, Hanaki H, Yahara K, Sasano H, Asakura K, Takaku T, Ochiai T, Komatsu N, Chambers HF. Prevalence of Slow-Growth Vancomycin Nonsusceptibility in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Oct 24;61(11).

9) Matono T, Morita M, Yahara K, Lee KI, Izumiya H, Kaku M, Ohnishi M. Emergence of Resistance Mutations in Salmonella enterica Serovar Typhi Against Fluoroquinolones. Open Forum Infect Dis. 2017 Nov 2;4(4):

10) Yoshida M, Izumiyama S, Fukano H, Sugiyama K, Suzuki M, Shibayama K, Hoshino Y. Draft genome sequence of *Mycobacterium* sp. shizuoka-1, a novel mycobacterium isolated from ground water of a bathing facility in Shizuoka, Japan. Genome Announc. 2017 5(47): e01309-17.

11) Rimbara E, Mori S, Hyun K, Suzuki M, Shibayama K. Mutations in PBP-encoding genes and efflux pumps play a role in β-lactam resistance of *Helicobacter cinaedi*. Antimicrob Agents Chemother. 2018 62(2): e02036-17.

12) Matsui M, Suzuki M, Suzuki M, Yatsuyanagi J, Watahiki M, Hiraki Y, Kawano F, Tsutsui A, Shibayama K, Suzuki S. Distribution and molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* international clone II lineage in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2018, 62(2):e2190-17

13) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. Complete genome sequence of a type strain of *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*, a member of the *Mycobacterium abscessus* complex. Genome Announc. 2018 6(5): e01530-17.

14) Aoki K, Harada S, Yahara K, Ishii Y, Motooka D, Nakamura S, Akeda Y, Iida T, Tomono K, Iwata S, Moriya K, Tateda K. Molecular Characterization of IMP-1-Producing Enterobacter cloacae Complex Isolates in Tokyo. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Feb23;62(3).

15) Morimoto S, Yahara K. Identification of stress responsive genes by studying specific relationships between mRNA and protein abundance. Heliyon. 2018 Mar 8;4(3):e00558.

16) Asakura K, Azechi T, Sasano H, Matsui H, Hanaki H, Miyazaki M, Takata T, Sekine M, Takaku T, Ochiai T, Komatsu N, Shibayama K, Katayama Y, Yahara K. R apid and easy detection of low-level resistance to vanco mycin in methicillin-resistant Staphylococcus aureus by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. PLoS One. 2018 Mar 9;13(3):e019421 2

17) Yaita K, Yahara K, Hamada N, Sakai Y, Iwahashi J, Masunaga K, Watanabe H. Typhoid Vaccination among Japanese Travelers to South Asia and the Factors Associated with Compliance. Intern Med. 2018 Apr 15;57(8):1071-1074.

18) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. Complete genome sequence of *My cobacterium marinum* ATCC 927^{T} using Nanopore and Il lumina sequencing data. Genome Announc. 2018 6(20): e 00397-18.

19) Shigemura H, Matsui M, Sekizuka T, Onozuka D, Noda T, Yamashita A, Kuroda M, Suzuki S, Kimura H, Fijimoto S, Oishi K, Sera N, Inoshita Y, Murakami K. Decrease in the prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* following cessation of ceftiofur use by the Japanese poultry industry. Int J Food Microbiol. 2018, 274:45-51

20) Tsutsui A, Yahara K, Shibayama K. Trends and patterns of national antimicrobial consumption in Japan from 2004 to 2016. J Infect Chemother. 2018 Jun;24(6):414-421.

2. 和文発表

1）安部朋子、永田由美、松井真理、青木知信、柴山恵吾、関塚剛史、山下明史、堀内寿志、山口佳子、渡邊真理、大隈英子、黒田誠、鈴木里和. プラスミド水平伝達を介し多菌種へ耐性伝播した IMP-1 メタロ-β-ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌による院内感染事例. 日本臨床微生物学雑誌第 27 巻 3 号 p.158-167.

2) 高橋孝, 満田年宏, 永沢善三, 豊川真弘, 石井良和, 小松方, 田中香お里, 長野則之, 春木宏介, 藤本修平, 川上小夜子, 佐藤智明, 静野健一, 鈴木里和, 鈴木匡弘, 中村竜也, 馬場尚志, 三澤成毅, 森永芳智, 山崎勝利, 和知野純一. 耐性菌検査法ガイド.日本臨床微生物学雑誌 27 巻 Suppl.3

3) 鈴木仁人、矢原耕史、平林亜希、柴山恵吾. ナノポアシークエンサーによる薬剤耐性菌ゲノムの解析. 実験医学 2018 36(1): 21-26

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Segawa T, Yahara K, Kayama S, Sugai S, and Shibayama K. Large antimicrobial resistance plasmids disseminated among *Acinetobacter* species. ECCMID 2017 (27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), Vienna, Austria, April 2017

2) Yahara K*, Thorell 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. Applied Bioinformatics & Public Health Microbiology, Hinxton, UK, May 2017

3) Suzuki M. Genomic epidemiology of antimicrobial resistant bacteria. 2nd Technology Seminar on the MinION sequencing. Bangkok, Thailand, July 2017

4) Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Yoshida M, Yahara K, Shibayama K. The evolution of pandemic antimicrobial-resistant lineages of *Acinetobacter baumannii*. IUMS 2017 (15th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Singapore, July 2017

5) Akamatsu R, Suzuki M, Okinaka K, Sasahara T, Yamane K, Suzuki S, Fujikura D, Furuta Y, Ohnishi N, Baba H, Esaki M, Shibayama K, Higashi H. Multilocus sequence typing of *Bacillus cereus* nosocomial isolates. SaSSOH 2017 (The 5th Sapporo Summer Seminar for One Health). Sapporo, Japan,

September 2017

6) Rimbara E, MoriS, Hyun K, Suzuki M, Shibayama K. Mechanism of resistance to ceftriaxone in *Helicobacter cinaedi*. CHRO 2017 (19th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms). Nantes, France, September 2017

7) Segawa T, Sekizuka T, Yamashita A, Suzuki S, Matsui M, Kuroda M.Kuroda M. Transcriptional factor ArdK on IncN plasmid contributes to the repression of *bla*$_{IMP-6}$ in concealed-type carbapenem-susceptible *Escherichia coli*. Keynote Symposia Conference, Antimicrobials and Resistance: Opportunities and Challenges. October29-November1, 2017, New Mexico, USA

2. 国内学会

1) 仙波敬子、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾、黒田誠、四宮博人. 医療施設で分離されたカルバペネマーゼ GES-24 産生複数菌種株由来プラスミドのゲノム情報解析. 第 91 回日本感染症学会・学術集会、東京、2017 年 4 月

2) 小林彩香、鈴木里和, 島田智恵, 松井珠乃, 大石和徳. 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. 第 91 回日本感染症学会・学術集会、東京、2017 年 4 月

3) 筒井敦子、矢原耕史、鈴木里和、柴山恵吾. 国内における抗菌薬販売量の年次推移. 第 91 回日本感染症学会学術講演会、東京、2017 年 4 月

4) 笹野央、内山勝文、片山由紀、畦地拓哉、朝倉弘太、鈴木仁人、矢原耕史、柴山恵吾、松井秀仁、花木秀明. 骨・関節の MRSA 再燃感染症から検出された slow-VISA. 第 91 回日本感染症学会総会、東京、2017 年 4 月

5) 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. ゲノム情報に基づくアシネトバクター属臨床分離株の分子疫学解析. 第 91 回日本感染症学会総会、東京、2017 年 4 月

6) 鈴木仁人、平林亜希、矢原耕史、柴山恵吾. ナノポアシークエンサーを用いた薬剤耐性菌のゲノム研究. 第 5 回 NGS 現場の会、宮城、2017 年 5 月

7) 鈴木仁人、平林亜希、柴山恵吾. コリスチン耐性菌の拡散とその制御. 第 26 回内毒素・LPS 研究会、東京、2017 年 7 月

8) 笹野央、片山由紀、内山勝文、矢原耕史、鈴木仁人、畦地拓哉、朝倉弘太、松井秀仁、柴山恵吾、花木秀明. 骨・関節の MRSA 再燃感染症から検出された slow-VISA. MRSA フォーラム 2017、東京、2017 年 7 月

9) 畦地拓哉、片山由紀、宮崎元康、岡村圭祐、矢原耕史、鈴木仁人、小ゆきえ、笹野央、朝倉弘太、浦田秀則、柴山恵吾、高田徹. MRSA 再燃感染症の血液培養液から分離された slow-VISA の解析. MRSA フォーラム 2017、東京、2017 年 7 月

10) 片山由紀、畦地拓哉、矢原耕史、鈴木仁人、宮崎元康、仲村佳彦、笹野央、朝倉弘太、松井秀仁、高田徹、柴山恵吾、花木秀明. 液培養液由来 MRSA 株における slow-growth vancomycin non-susceptible *S. aureus* の全国疫学調査とバンコマイシン耐性化機構の検討. MRSA フォーラム 2017、東京、2017 年 7 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 VI 型分泌機構の影響. 第 11 回細菌学若手コロッセウム、茨城、2017 年 8 月

12) 鈴木仁人. 微生物のサバイバルゲーム - 殺す:薬剤耐性菌の VI 型分泌機構を介した拡散機構. 環境微生物系学会合同大会 2017、宮城、2017 年 8 月

13) 鈴木仁人. MinION を用いた発展途上国における薬剤耐性菌のゲノム解析. 第 1 回オックスフォード・ナノポア現場の会、東京、2017 年 8 月

14) 川上小夜子. イミペネム非感性アシネトバクター属菌の薬剤耐性機構と分子疫学的解析. 第 100 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2017 年 9 月

15) 金子幸弘、老沼研一、佐藤佳奈子、佐伯康匠、鈴木仁人、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. 血液由来 Acinetobacter baumannii の POT 法と MLST による遺伝子型の比較. 第 87 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、長崎、2017 年 10 月

16) 老沼研一、鈴木仁人、佐藤佳奈子、佐伯康匠、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. NDM 型と TMB 型の 2 種のメタロ-β-ラクタマーゼを有するアシネトバクター属臨床分離株の発見と解析. 第 87 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、長崎、2017 年 10 月

17) 鈴木里和. 感染研と地衛研による耐性菌サーベイランス. 第 76 回日本公衆衛生学会総会、鹿児島、2017 年 10 月

18) 矢原耕史. 菌種内の薬剤耐性の伝播と進化. 第 66 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 64 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2017 年 11 月

19) 朝倉弘太、畦地拓哉、笹野央、松井秀仁、花木秀明、宮崎元康、高田徹、関根美和、高久智生、落合友則、小松則夫、柴山恵吾、片山由紀、矢原耕史. MALDI-TOF MS データを用いたバンコマイシン低感受性 MRSA 株の自動判別. 第 46 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2017 年 11 月

20) 川上小夜子、矢原耕史、筒井敦子、柴山恵吾、JANIS 検査部門薬剤耐性菌分離率の推移と2016年地域別耐性菌分離状況報告. 第 46 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2017 年 11 月

21) 綿引正則、鈴木匡弘、熊谷優子、松本裕子、範本志保、野田万希子、河原隆二、増田加奈子、仙波敬子、福田千恵美、原田誠也、松井真理、鈴木里和、鈴木仁人、柴山恵吾、四宮博人. 地方衛生研究所のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌検査を迅速化するマルチプレックス PCR 法の開発. 第 46 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2017 年 11 月

22) 鹿山鎭男、矢野雷太、久順三、山下 史、黒田 誠、鈴木仁人、矢原耕史、鈴木里和、柴山吾、大毛宏喜、菅井基行. 広島県で分離された多剤耐性 *Acinetobacter* が保有する GES-24 プラスミドの解析. 第 46 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2017 年 11 月

23) 吉田真歩、平林亜希、荒川宜親、柴山恵吾、鈴木仁人. *Acinetobactor baumannii* の接合伝達における VI 型分泌機構の影響. 第 46 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2017 年 11 月

24) 平林亜希、柳沢英二、高橋宏瑞、矢原耕史、柴山恵吾、鈴木仁人. 携帯型実験機器を用いたアジア新興国現地での薬剤耐性菌のゲノム疫学解析. 第 46 回薬剤耐性菌研究会、群馬、2017 年 11 月

25) 筒井敦子. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS)データの活用法:AMR 時代に求められるサーベイランスのあり方. 教育講演. 第 66 回日本感染症学会東日本地方会、東京、2017 年 11 月

26) 鈴木仁人、吉田真歩、矢原耕史、柴山恵吾. アシネトバクター属菌における薬剤耐性と細菌間競合. 第 52 回緑膿菌感染症研究会、宮城、2018 年 2 月

27) 老沼研一、鈴木仁人、佐藤佳奈子、佐伯康匠、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. 当院で分離されたカルバペネム高度耐性アシネトバクター株の耐性因子の特定と解析. 第 52 回緑膿菌感染症研究会、宮城、2018 年 2 月

28) 榮山新、老沼研一、鈴仁人、佐藤 佳奈子、佐伯康三、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. 散発事例での *Acinetobacter baumannii* における POT 法と MLST での遺伝子型の相違. 第 52 回緑膿菌感染症研究会、宮城、2018 年 2 月

29) 山口明日美、松井真理、内山淳平、松井秀仁、花木秀明、林俊治. *Acinetobacter baumannii* の resistance island の遺伝子解析. 第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018 年 2 月

30) 中村寛海、梅田薫、松井真理、鈴木里和、堀越敦子、安田良則. 院内感染事例から分離されたバンコマイシン耐性腸球菌の遺伝子型別. 第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018 年 2 月

31) 松本裕子、小泉充正、太田嘉、北尾泉、小菅葉子、松野夏純、土谷愛、松井真理、鈴木里和、柴山恵吾. 8 カ月にわたって患者から分離された NDM-5 メタロ-□-ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌の解析. 第29回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018 年 2 月

32) 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 2008～2016年公開情報を中心に. 第29回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018 年 2 月

33) 川上小夜子、矢原耕史、筒井敦子、柴山恵吾. JANIS 検査部門報告 2 2016 年都道府県別「特定の耐性菌」と「CRE」. 第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018 年 2 月

34) 梶川優、松井真理. 当院療養介護病棟における薬剤耐性アシネトバクター感染対策. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会、東京、2018 年 2 月

35) 西村恵子、岡田隆文、森敏子、山崎幸代、寺田一也、岩井朝幸、松井真理、鈴木里和. IMP 型と GES 型の二つのカルバペネマーゼ遺伝子を保有する *Klebsiella pneumoniae* の 1 例. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会、東京、2018 年 2 月

36) 松田真哉, 羽井佐実, 矢島尚子, 大村正恵, 監物英男, 田口剛士, 沖本二郎, 鈴木里和. 帰国直前に入院歴のある患者から高度多剤耐性菌(NDM-1・OXA-48)が分離された症例. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会、東京、2018 年 2 月

37) 鈴木里和. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌とカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌、日本と世界の現状. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会、東京、2018 年 2 月

38) 宮本直樹、矢原耕史、堀田吏乃、矢野知美、森井大一、筒井敦子、八板謙一郎、柴山恵吾、渡邊浩. 細菌検査データと DPC データを統合した MRSA 菌血症のリスク分析. 第 33 回日本環境感染学会総会、東京、2018 年 2 月

39) 筒井敦子. JANIS データの利用法について「JANIS 検査部門はデータの宝庫です！」. 教育講演. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会、東京、2018 年 2 月

40) 筒井敦子. JANIS サーベイランスの概要. ICD 講習会. 第 33 回日本環境感染学会総会・学術集会、東京、2018 年 2 月

41) 平林亜希、矢原耕史、柴山恵吾、鈴木仁人. ナノポアシークエンサーを用いた薬剤耐性菌のゲノム疫学解析. Nanopore Day Kyoto、京都、2018 年 3 月

42) 山口明日実、阪口義彦、松井真理、小林秀丈、内山淳平、小山内洋子、松井秀仁、花木秀明、林俊治. 関東の医療施設で分離された *Acinetobacter baumannii* の分子疫学的解析. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

43) 林美智子、鈴木里和、松井真理、関塚剛史、山下明史、加藤健吾、川村久美子、柴山恵吾、黒田誠. 大腸菌 ST131*H*30R1 に順応した IncF[F1:A2:B20]プラスミドが *bla*$_{CTX-M-14}$ の安定的保持に関与する. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

44) Yahara K, Méric G, Bentley S, Parkhill J, Didelot X, Kelly D, Sheppard S, Suzuki M, Shibayama K. Genome-wide association studies in bacteria - from two recent publications. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

45) 山口明日実、阪口義彦、松井真理、内山淳平、松井秀仁、花木秀明、小林秀丈、小山内洋子、林俊治. *Acinetobacter baumannii* の同定方法の比較検討. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

46) 瀬川孝耶、関塚剛史、鈴木里和、山下明史、柴山恵吾、松井真理、黒田誠. カルバペネム感性大腸菌におけるプラスミド性転写調節因子 ArdK の *bla*$_{IMP-6}$ 発現抑制制御の解析. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

47) Yahara K, Méric G, Taylor AJ, de Vries SPW, 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 MCJ, Bentley SD, Parkhill J, Bayliss CD, Grant A, Maskell D, Didelot X, Kelly DJ, Sheppard SK, Suzuki M, Shibayama K. Genome-wide association studied in bacteria - from two recent publications -. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

48) 坂本典子、明田幸宏、菅原庸、山本倫久、竹内壇、鈴木仁人、朝野和典、浜田茂幸. タイ国大学病院で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌のカルバペネマーゼ遺伝子の変遷. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

49) 林原絵美子、鈴木仁人、矢原耕史、森茂太郎、金玄、柴山恵吾. *Helicobacter cinaedi* のアウトブレイク由来株を含むゲノム解析. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

50) 平林亜希、柴山恵吾、鈴木仁人. コリスチン耐性菌に対する新規抗菌治療法の開発. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

51) 鈴木仁人. 国内外における MinION を用いた細菌ゲノムの解析. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

52) Suzuki M, Yoshida M, Yahara K, Shibayama K. Type VI secretion systems in bacterial pathogens causing nosocomial infections. 第 91 回日本細菌学会総会、福岡、2018 年 3 月

23. ハンセン病研究センター

センター長　石井 則久

概　要

ハンセン病は世界で約 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。2018 年 1 月 30 日には日本財団と障害者インターナショナル(DPI)がハンセン病患者と回復者に対する社会的差別の撤廃に向けた「グローバル・アピール 2018」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 10 回協議会を平成 30 年 2 月 21 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。そのため年 2 回、市民公開講座を開催している。昨年度同様、隣接の国立多磨全生園と共催し啓発を行った。4 月 15 日に行った「第 19 回市民公開講座」では、テーマを「学んでみよう　地域のこと子どもの健康のこと」とし、感染研からは感染症疫学センターの砂川富正室長が「親子で学ぼう！『健康と病気のエトセトラ』」と題した講演を行った。さらに 11 月 25 日の「第 20 回市民公開講座」では「ハンセン病と皮膚」をテーマに、森　修一第 7 室長が「ハンセン病と東村山のつながり」、石井センター長が「皮膚の感染症～ハンセン病を中心に～」と題して講演を行った。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 29 年度の第 39 回夏期大学迄に 1,573 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 29 年度は 7 月 31 日～8 月 4 日までの 5 日間実施され、45 人が受講した。

国際協力事業

インドネシア共和国：職員 2 名が Papua 州 Jayapura 市の同国保健省 Biomedical and Health Technology Research Center, Papua 支所にて、担当官等と研究打合せ、抗体検出法の実技指導を行った。また、市内の診療所および郡保健局を訪問し視察、情報収集を行った。

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 29 年度（平成 29 年 4 月～平成 30 年 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 12 症例、21 検査件数であった。1 回（1 症例）の検査で複数の検査項目の依頼もあった。ハンセン病診断には複数の検査が推奨されているが、各医療機関で実施できない検査が当センターに依頼されるために依頼検査項目に差異が生じている。薬剤耐性遺伝子検査は平成 19 年度から開始した。

12 症例の最終診断は、1 例は「新規にハンセン病」と診断、1 例は「ハンセン病の再発の治療中」と診断、1 例は「ブラジルで治療済み」、9 例は「ハンセン病でない」と診断した。

PCR 検査では 1 例が陽性であり、最終的に新規患者とし診断した。新規患者については、リファンピシンに耐性なし（DDS とキノロン検査不能）であった。

皮膚スメア検査のサポートも行い、平成 29 年度は 7 件のスメア標本の染色、検鏡を行った。2 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 29 年は 2 名(日本人女 1 名、フィリピン人男 1 名)であった。再発患者数は 0 名であった。

ハンセン病の発生動向と検査件数を対比すると、近年は鑑別診断のために行政検査を利用する傾向がみられる。

表 1.　平成 29 年度（2017 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	12
総検査件数	21
病理学的検査件数	0
血清抗体価検査件数	9
PCR 検査件数	11
薬剤耐性遺伝子検査件数	1
実症例数	12

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・宮本友司・天内 肇）

平成 29 年 4 月より同 30 年 3 月までの 1 年間において、のべ 15 回、30 匹、 2 施設（国内 2)、4 名の研究者に対し、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
H29 年度	12	21	0	9	11	1	12

24. ハンセン病研究センター
感染制御部

部長　石井則久(4 月 30 日まで)
阿戸　学 (5 月 1 日から)

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 はハンセン病とブルーリ潰瘍を「Neglected Tropical Diseases」(顧みられない熱帯病)に定め、その疫学・診断・治療・予防などに精力的に活動を行っている。ブルーリ潰瘍は、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 年は 6 件の登録があり、累計 66 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。

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ズ」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。また、国立療養所松丘保養園のハンセン病資料デジタルアーカイブスの作成を開始した。

BSL3、ABSL3 施設が稼動している第二研究棟においては、結核菌に関する研究を行っている。結核菌の培養、保存、*in vitro* での結核菌の各種解析を行うとともにマウス、サルを使用した *in vivo* における感染実験を行い、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 4 月 1 日付けで深野華子が第 6 室の任期付き研究員として採用された。2017 年 5 月 1 日付けで、石井則久が感染制御部長の併任を解除され、阿戸学が感染制御部長として赴任した。2018 年 3 月 31 日付で第二室長福富康夫が定年退官した。

業績

調査・研究

I. 抗酸菌の病原性因子と病変発症機構に関する研究

1. シュワン細胞を用いた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、そして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。らい菌は形成された脂肪滴付近に多量の存在を認め、脂肪滴の形成に抑制をかけると、らい菌は減少する傾向にあった。

また、シュワン細胞とらい菌相互作用の研究の一環として、シュワン細胞における F-actin の発現とらい菌の取り込みとの関連性について解析した。

［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培養液中に放出されるエキソソームを精製し、自己 T 細胞と混合培養すると、T 細胞が活性化された。このエキソソームをウエスタンブロットで解析すると、エキソソーム中にらい菌の蛋白抗原も検出された。また、ハンセン病患者血清中に含む、エキソソーム中の miRNA の解析を網羅的に行った。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と考える。

[前田百美、向井 徹、MS Duthie(IDRI,Seattle,USA)、田村敏生]

2. 新規結核ワクチン開発のための基礎研究

(1)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。その結果、①抗酸菌特異的獲得免疫が誘導されないと考えられている感染早期に IL-21 を産生する TFH の分化が誘導されること、②それと同時に PD1 陽性-CXCR5-FoxP3 陽性で IL−21 を産生しない抑制性 CD4 T 細胞(Treg)の分化も顕著に誘導されること、③この細胞集団には抗酸菌抗原特異的に TGF-βを産生する誘導性 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

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。

このメカニズムを利用したワクチンを実用化につなげるために、よりワクチンの安定性を高める手法について DNA 組換え技術の検討を行った。その結果、ある組換え技術では他の技術よりも高い安定性が見られることが明らかになった。

[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。結核による炎症反応や特異的抗体産生と末梢血アルブミン値やコレステロール値など代謝因子の間に相関関係を見出し、immunometabolism という新分野へ進出しようとしている。

[仁木満美子（大阪市大細菌学）、松本壮吉（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. らい菌感染マウスマクロファージの機能および（サイトカイン産生解析

らい菌貪食刺激を受けたマウスマクロファージにおいて誘導型シクロオキシゲナーゼの発現増強があり、それに伴って PGE2 産生が強く起こった。PGE2 産生ブロッカーであるインドメタシンにより PGE2 産生が阻害され、誘導型シクロオキシゲナーゼ特異的な阻害剤により特に強く抑制された。そして、この PGE2 は、IFN-γなど、Th1 型サイトカイン産生を抑制する作用がある IL-10 の産生に必須であることが判明した。

[福富康夫、阿戸　学]

6. らい菌感染マクロファージ内のシグナル伝達系の解析

細胞は一般的に細胞内情報伝達系を持っており、それぞれに関わるタンパク質のリン酸化がおきて最終的な産物（例えば免疫細胞によるサイトカイン産生）につながっている。らい菌貪食マクロファージにおいても各種細胞内シグナル伝達因子（38MAPK, ERK44/42 ）のリン酸化は、未刺激細胞ではほとんどみられないが、らい菌を加えて 10 分後には起こり、30 分後にピークとなった。特に、ERK を介した MAP キナーゼは PGE2 産生に必須なタンパク質であり、すなわち、らい菌感染動物モデルとしてのマウスマクロファージにおける IL-10 産生に必須であることが判明した。

[福富康夫、阿戸　学]

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てきた。今回 MMP-II または MMP-II 対するモノクローナル抗体を用いて、イムノクロマトグラフィーを原理としたラテラルフローテスト（LFT）の開発を進めた。LFT はハンセン病濃厚流行地でもハイリスク患者を発見できる、簡便なキットとなりうる可能性がある。現在、患者血清を用いて、LFT の有効性、特異度、感度を検討中である。

[前田百美、向井　徹、宮本友司、菅沼啓輔（帯広畜産大学）、遠藤真澄、塚本裕美子、田村敏生、阿戸　学]

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、病型により低い検出率であるため、新規らい菌抗原の検索を進めた。これまでに迅速発育抗酸菌である *M. smegmatis* および大腸菌を宿主とし、いくつかの血清と高い反応性を示す新規候補蛋白を同定した。さらに、両菌種では、発現困難な組換え蛋白の調製を、人工培地で生育可能な抗酸菌の中で最もらい菌に近いとされる *M. haemophilum* を宿主として用いた。今後こ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

らい菌特異的恒温遺伝子増幅、LAMP 法の途上国における応用を念頭に、判定の可視化、試料の室温保存など改良を進めている。さらに、反応試薬の cold-chain free 化のため、プライマーセット、判定試薬、酵素等の乾燥化と反応チューブへの固相化の検討を進めた。各種緩衝液の条件、反応温度等の検討を加え、冷凍保存試薬と同等の検出感度を得た。現在のところ、2 ヶ月の室温保存おいても良好な検出感度を示した。今後、ザンビア国における検診にて同法の評価を行う予定である。

［向井　徹、宮本友司、前田百美、鈴木定彦（北海道大学）］

4. 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、沖縄、台湾などとの国内・国際共同研究として展開中である。

［吉田光範、深野華子、宮本友司、金城武士（琉球大学医学部）、森本耕三（複十字病院）、御手洗　聡（結核研究所）、周如文（台湾 CDC）、薛博仁（台湾大学医学部）、阿戸　学、星野仁彦］

5. 肺結核症の新規診断法の開発

結核症はツベルクリン皮内反応などで診断されてきたが、BCG 菌との交差反応などの問題点があった。最近は結核菌特異的抗原を使用するクォンティフェロン(QFT)検査や T-SPOT.TB などのインターフェロンガンマ放出アッセイ(IGRA)が臨床の場に使用されているが、現在の IGRA は新規感染と既感染を区別することはできない。そこで QFT 陽性者の末梢血単核球の中で結核菌特異的タンパクのみを認識するリンパ球を識別する解析法(テトラマーアッセイ)を開発し、新規感染と既感染を鑑別できるかどうか検討中である。

［星野仁彦、工藤翔二（複十字病院）、永井英明（国立病院機構東京病院）］

6. 潜在性肺結核症診断法の開発

結核菌は治療後も患者肺内に潜伏し細胞性免疫の減弱と共に再活性化し活動性結核を再燃することがある。潜在性結核症の活動性を評価する方法として、結核菌が潜伏期に発現するとされるタンパク質を使用し、患者末梢血単核球を用いたアッセイで潜在性結核の活動性を評価できないか検討中である。

［星野仁彦、永井英明（国立病院機構東京病院）、工藤翔二

（複十字病院）、松本壮吉（新潟大学細菌学）］

7. 病原性抗酸菌の分離・同定・薬剤感受性に関する研究

培養や同定が困難な病原性抗酸菌について、1. 培養条件の検討、2. 菌の生化学的性状、3.各種遺伝子の配列解析、による分離・同定および薬剤感受性に関して検討し、これまで報告のない皮膚疾患および肺疾患由来の新種抗酸菌の分離・同定に成功し、症例を収集中である。また、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。

［深野華子、吉田光範、阿戸　学、星野仁彦］

8. C 型レクチン受容体と抗酸菌の相互作用に関する研究

C 型レクチン受容体(CLR)は Toll 様受容体、Nod タンパク質などと共に宿主の自然免疫を司る構造パターン認識受容体の一つである。特に macrophage inducible c type lectin (mincle)や macrophage c type lectin(MCL)のリガンドは結核菌の病原因子の一つとされる trehalose di-mycolate (TDM)であり、dendritic cell-associated C-type lectin-2 (dectin-2)のリガンドは抗酸菌の mannose-capped lipoarabinomannan (Man-LAM)であることが明らかとなった。TDM や Man-LAM は多くの抗酸菌が発現しているので他の抗酸菌免疫にも関連する可能性がある。CLR を欠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）、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. らい菌の細胞内培養

らい菌を宿主細胞であるマクロファージ内で培養する試みを行ってきた。マクロファージを培養する際には、らい菌の至適発育温度に近づけることが肝要である。しかし、PBMC 由来のヒトマクロファージは 35 度以下にすると 1 か月以上にわたる培養が不可能である。ところが、マウスマクロファージは 32 度でも培養可能であった。最適なマクロファージはらい菌が感染して増殖するアルマジロのマクロファージを用いることである。アルマジロマの PBMC から付着性のマクロファージを回収して PHA で刺激し培養すると、33 度が至適であったが、ヒト用の培地中では 1 か月以上の培養は維持できなかった。

[福富康夫、J.Krahenbuhl、阿戸　学]

Ⅴ． 抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

1. らい菌・結核菌 *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. Multiplex PCR によるらい菌薬剤耐性と型別解析

らい菌は人工培養できないため、らい菌 DNA の臨床試料には多量のヒト DNA の混在が避けられない。そこでらい菌ゲノムシークエンスから薬剤耐性に関わる領域を含む約 100 組のプライマーを inner と outer それぞれ設計し、らい菌 DNA を含む試料を鋳型に Nested Multiplex PCR を行った。得られた産物を次世代シーケンサーで解析した結果、全ての領域でリードが得られ、臨床試料から直接 multiple loci 解析が可能であることが示唆された。

[中田　登、岩尾泰久、森　修一、阿戸　学]

４． 抗酸菌のクロファジミン耐性に関わる遺伝子変異

M. avium より分離したクロファジミン耐性変異株2株は、親株に対してそれぞれ 4 倍、16 倍の MIC を示し、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。これらの株では、転写制御因子 tetR 遺伝子の不活化により発現した MmpL の作用により耐性となるが、両株の MIC の相違は *mmpL* 遺伝子の変異の相違によるもので、これらの変異は共に耐性を増強するが程度が異なることが示された。

[中田　登、岩尾泰久、星野仁彦、阿戸　学]

5. 抗酸菌のマクロライド耐性に関わる遺伝子

我々は *M. avium* などの非結核性抗酸菌のキードラッグであるマクロライドに対して分離菌が耐性化すると、多剤耐性結核患者と同等の生存率となることを示したが、マクロライド耐性関連遺伝子は完全には解明されていない。臨床分離株を用いて、マクロライド耐性関連遺伝子の解析を次世代シーケンサを用いて行っている。

[深野華子、吉田光範、星野仁彦]

6. 結核菌の代謝産物解析

結核菌の代謝機構は、その病原性や休眠機構と深く結びついていることが指摘されているが詳細は不明である。そこで、国内で主要な位置を占める北京型株と他系統に属し且つ一般に研究に使用される標準株から菌体内代謝産物を抽出し、メタボロミクスによる網羅的な比較解析を行った。その結果、北京型株は、標準株に比べ、解糖系やTCA cycleなどに関連する一部の代謝成分が著しく減少していることが判明した。このことは、北京型株がエネルギー代謝に関わる代謝系を抑制している、さらには結核菌の系統間において代謝機構の違いが存在することを示唆するものであった。

[宮本友司、田村敏生、阿戸 学]

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)66症例(2018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。

［吉田光範、深野華子、宮本友司、小椋義俊(九州大学)、林 哲也(九州大学)、星野仁彦］

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。本年度は国立療養所松丘保養園のハンセン病資料のデジタル化も始まり、現在まで約1万点の資料の収集とデジタル化が進み、約4千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、阿戸 学、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）]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Duthie MS, Pena MT, Ebenezer GJ, Gillis TP, Sharma R, Cunningham K, Polydefkis M, Maeda Y, Makino M, Truman RW, Reed SG. 2018. LepVax, a defined subunit vaccine that provides effective pre-exposure and post-exposure prophylaxis of *Mycobacterium leprae* infection. *NPJ vaccines* 3: 12. doi: 10.1038/s41541-018-0050-z.

2) Benjak A, Avanzi C, Singh P, Loiseau C, Girma S, Busso P, Fontes ANB, Miyamoto Y, Namisato M, Bobosha K, Salgado CG, da Silva MB, Bouth RC, Frade MAC, Filho FB, Barreto JG, Nery JAC, Bührer-Sékula S, Lupien A, Al-Samie AR, Al-Qubati Y, Alkubati AS, Bretzel G, Vera-Cabrera L, Sakho F, Johnson CR, Kodio M, Fomba A, Sow SO, Gado M, Konaté O, Stefani MMA, Penna GO, Suffys PN, Sarno EN, Moraes MO, Rosa PS, Baptista IMFD, Spencer JS, Aseffa A, Matsuoka M, Kai M, Cole ST. 2018. Phylogenomics and antimicrobial resistance of the leprosy bacillus *Mycobacterium leprae*. *Nat Commun.* 9: 352. doi: 10.1038/s41467-017-02576-z.

3) Cambau E, Saunderson P, Matsuoka M, Cole ST, Kai M, Suffys P, Rosa PS, Williams D, Gupta UD, Lavania M, Cardona-Castro N, Miyamoto Y, Hagge D, Srikantam A, Hongseng W, Indropo A, Vissa V, Johnson RC, Cauchoix B, Pannikar VK, Cooreman EAWD, Pemmaraju VRR, Gillini L; WHO surveillance network of antimicrobial resistance in leprosy. 2018. Antimicrobial resistance in leprosy: results of the first prospective open survey conducted by a WHO surveillance network for the period 2009-15. *Clin Microbiol Infect.* 24:1305-1310. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.022.

4) Oaku S, Nagata M, Miyamoto Y, Ishii N, Aozasa N. 2017. Two cases of *Mycobacterium marinum* infection on the upper limbs. *J Dermatol.* 44: e270-e271. doi: 10.1111/1346-8138.

5) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. 2018. Complete genome sequence of a type strain of *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*, a member of the *Mycobacterium abscessus* complex. *Genome Announc*. 6: e01530-17. doi: 10.1128/genomeA.01530-17.

6) Yoshida M, Miyamoto Y, Ogura Y, Hayashi T, Hoshino Y. 2018. Complete chromosome sequence of a mycolactone-producing *Mycobacterium*, *Mycobacterium pseudoshottsii*. *Genome Announc*. 5: e01363-17. doi: 10.1128/genomeA.01363-17.

7) Yoshida M, Izumiyama S, Fukano H, Sugiyama K, Suzuki M, Shibayama K, Hoshino Y. 2017. Draft genome sequence of *Mycobacterium* sp. strain shizuoka-1, a novel mycobacterium isolated from groundwater of a bathing facility in Shizuoka, Japan. *Genome Announc* 5: e01309-17. doi: 10.1128/genomeA.01309-17.

8) Fukano H, Wada S, Kurata O, Katayama K, Fujiwara N, Hoshino Y. 2017. *Mycobacterium stephanolepidis* sp. nov., a rapidly growing species related to *Mycobacterium chelonae*, isolated from marine teleost fish, *Stephanolepis cirrhifer*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 67: 2811-2817. doi: 10.1099/ijsem.0.002028.

9) Nishimura T, Tamizu E, Uno S, Uwamino Y, Fujiwara H, Nishio K, Nakano Y, Shiono H, Namkoong H, Hoshino Y, Iwata S, Hasegawa N. 2017. hsa-miR-346 is a potential serum biomarker of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease activity. *J Infect Chemother.* 23: 703-708. doi: 10.1016/j.jiac.2017.07.015.

10) Fukano H, Yoshida M, Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T, Kurata O, Wada S, Hoshino Y. 2017. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium stephanolepidis*. *Genome Announc.* 5: e00810-17. doi: 10.1128/genomeA.00810-17.

11) 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.

12) Enany S, Yoshida Y, Tateishi Y, Ozeki Y, Nishiyama A, Savitskaya A, Yamaguchi T, Ohara Y, Yamamoto T, Ato M, Matsumoto S. 2017. Mycobacterial DNA-binding protein 1 is critical for long term survival of *Mycobacterium smegmatis* and simultaneously coordinates cellular functions. *Sci Rep.* 7: 6810. doi:10.1038/s41598-017-06480-w

13) Yano H, Iwamoto T, Nishiuchi Y, Nakajima C, Starkov

DA, Mokrousov I, Narvskaya O, Yoshida S, Arikawa K, Nakanishi N, Osaki K, Nakagawa I, Ato M, Suzuki Y, Maruyama F. 2017. Population structure and local adaptation of MAC lung disease agent *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*. *Genome Biol Evol*. 9: 2403-2417. doi: 10.1093/gbe/evx183.

14) Iwao Y, Nakata N. 2018. Roles of the three *Mycobacterium smegmatis katG* genes for peroxide detoxification and isoniazid susceptibility. *Microbiol Immunol*. 62: 158-167. doi: 10.1111/1348-0421.12574.

2. 和文発表

1) 森 修一、石井 則久: 国立ハンセン病療養所における入退所動向に関する研究－1909 年から 2010 年の入退所者数調査から－. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 69-90, 2017.
2) 宮本友司: らい菌における菌体内代謝産物の動態解析. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 115-118, 2017.
3) 森 修一: ハンセン病アーカイブズに求められるもの－「近現代ハンセン病資料アーカイブズ」の意義と課題－. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 121-127, 2017.
4) 向井 徹、前田百美: ハンセン病の早期診断の試み. 病原微生物検出情報 39: 18-19, 2018.
5) 森 修一: 世界のハンセン病政策に関する研究Ⅰ－ハワイにおける絶対隔離政策の変遷－. 日本ハンセン病学会雑誌 86: 189-211, 2018.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, Makino M. Development of New Recombinant BCG Utilizing Major Membrane Protein-II (MMPII) Antigen and PEST Sequence. International Union of Microbiological Societies (IUMS) 2017, 17-21 July 2017. Singapore, Singapore.
2) Suzuki Y, Sugimoto C, Higashi H, Isoda N, Yamagishi J, Nakajima C, Hashida K, Inoue N, Suganuma K, Mukai T, Maeda Y, Miyamoto Y, Chiruwa B, Simukoko H, Kapata N, Mbulo G, Solo E, Bwalya P, Hachaambwa L, Simuunza M, Habeenzu C, Namangala B. Establishment of the model for controlling neglected tropical diseases based on the development of rapid diagnostic methods and risk analysis. 2nd International Joint Symposium Promotion of Infectious Disease Research Cooperation between Africa and Japan toward Science, Technology and Innovation, 19-20 October. 2017, Lusaka, Zambia.
3) Mukai T, Maeda Y, Miyamoto Y, Suzuki Y. Development of Dried loop-mediated isothermal amplification reagents for rapid detection of *Mycobacterium leprae.* The 52nd U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.
4) Miyamoto Y, Nguyen Phuc NH, Mukai T, Maeda Y, Kai M. Search for the indicators to determine the viability of *Mycobacterium leprae*. The 52nd U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.
5) Maeda Y, Mukai T, Tsukamoto Y, Miyamoto Y, Tamura T. Detection of leprosy patients by serological methods. The 52nd U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.
6) Nakayama M, Shirasaki K, Tachibana M, Yamamoto S, Takii T, Okabe M, Ato M, Ohara N. Inhibitory mechanism of JTY3476 expression by JTY3475 in BCG Tokyo The 52nd U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 15-16 March, 2018, Niigata, Japan.

2. 国内学会

1) 星野仁彦、吉田光範、石井則久. *Mycobacterium abscessus* complex 3 亜種を同時に鑑別できる multiplex PCR 法の開発. 第 57 回日本呼吸器学会総会. 2017 年 4 月 東京
2) 西村知泰、田水映子、宇野俊介、上蓑義典、藤原 宏、西尾和三、中野 泰、岩田 敏、星野仁彦、長谷川直樹.肺 *Mycobacterium avium* complex 症における血清バイオマーカーの探索 第 57 回日本呼吸器学会総会. 2017 年 4 月 東京
3) 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 92 回日本結核病学会総会. 2017 年 5 月 金沢市
4) 矢代 聖、笠井弘子、河原由恵、菅原万理子、宮本友司、石井則久. *Mycobacterium massiliense* 皮膚感染症の 1 例. 第 116 回日本皮膚科学会総会 2017 年 6 月 仙台.
5) 西村真帆、葉山惟大、藤田英樹、宮本友司、石井則久、照井正. *Mycobacterium massiliense* による皮膚非結核性抗酸菌感染症. 第 116 回日本皮膚科学会総会. 2017 年 6 月 仙台市
6) 前田百美、田村敏生、宮本友司、石井則久、阿戸 学、向井 徹. ハンセン病患者の血清診断法の開発. 第 90

回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017 年 6 月 熊本.

7) 向井 徹、宮本友司、前田百美. らい菌特異抗原の調整法開発. 第 90 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017 年 6 月 熊本.
8) 鮫島朝之、後藤正道、前田百美. ハンセン病治癒期の末梢血単核球培養上清に Major Membrane Protein-II 刺激により分泌されるサイトカインの解析. 第 90 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017 年 6 月 熊本.
9) 森 修一、田中丹史、廣野義幸. 宮城県下のハンセン病患者集住地の調査報告 ー私設療養所鈴蘭園事業を中心にー. 第 90 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017 年 6 月 熊本.
10) 森 修一. ハンセン病アーカイブズに求められるものー「近現代ハンセン病資料アーカイブズ」の意義と課題ー. 第 90 回日本ハンセン病学会総会・学術大会 2017 年 6 月 熊本.
11) 江原佳恵、西本周平、石井則久、宮本友司、山川有子、村山功子、畑 康樹. サブロー寒天培地が有用だった *M. abscessus* による臀部皮下腫瘍の 2 例. 第 873 回日本皮膚科学会東京地方会 2017 年 7 月 東京.
12) 南宮湖、倉島篤行、森本耕三、星野仁彦、長谷川直樹、阿戸 学、御手洗 聡. 本邦の肺非結核性抗酸菌症患者における菌種の地域分布について. 環境微生物系学会合同大会 2017 年 8 月 仙台.
13) 遠藤真澄. Regulation of lipid droplets by *Mycobacterium leprae* infection in Schwann cells. 第 60 回日本神経化学会大会 2017 年 9 月 仙台市.
14) 小崎弘貴、中山真彰、橘理人、西内由紀子、阿戸 学、大原直也. 非結核性抗酸菌（non non-tuberculous mycobacteria, NTM）の 薬剤排出能に関する検討、第 70 回 日本細菌学会中国・四国支部総会 2017 年 10 月 岡山.
15) 泉 清彦、森本耕三、長谷川直樹、内村和弘、阿戸 学、御手洗 聡. ナショナルデータベースを用いた非結核性抗酸菌症の疫学研究. 第 66 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 64 回日本化学療法学会東日本支部総会 2017 年 11 月 東京.
16) 三上万理子、石井則久、宮本友司、相原道子. 国内における *Mycobacterium* subsp. *massiliense* 皮膚感染症. 第 81 回日本皮膚科学会東京支部学術大会 2017 年 11 月 東京.
17) 星野仁彦、中永和枝、小椋義俊、豊田 敦、吉田光範、深野華子、鹿住祐子、御手洗 聡、阿戸 学、林 哲也. 巨大プラスミドの欠落は *M.ulcerans* subsp. *shinshuense* の病原性を喪失する. 第 91 回日本細菌学学会総会 2018 年 3 月 福岡.
18) 深野華子、吉田光範、鹿住祐子、有川健太郎、岩本朋忠、星野仁彦. 新規同定病原性抗酸菌 *Mycobacterium shigaense* sp. nov.の特徴とその感染源についての研究. 第 91 回日本細菌学学会総会 2018 年 3 月 福岡.
19) 吉田光範、中永和枝、宮本友司、小椋義俊、林 哲也、石井則久、星野仁彦. ブルーリ潰瘍の原因菌 *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* の比較ゲノム解析. 第 91 回日本細菌学学会総会 2018 年 3 月 福岡.
20) 白崎かおり、中山真彰、橘理人、山本三郎、瀧井猛将、岡部真裕子、阿戸 学、上岡寛、大原直也. BCG Rv3405c による Rv3406 の遺伝子発現抑制機構の解析 第 91回日本細菌学会総会 2018 年 3 月 福岡.
21) 竜門亜矢子、中山真彰、和田崇之、橘理人、阿戸 学、中島千絵、鈴木定彦、小崎弘貴、大原直也. Investigation of genes involved in promoting the growth rate of BCG、第 91回日本細菌学会総会 2018 年 3 月 福岡.

25. 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(平成 29 年度収集件数:847 件).

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 29 年度の資料受入状況及び文献相互貸借状況は, 以下の通りである.

資料受入状況			洋	和	合計
雑誌			116	156	272
	購入		64	4	68
		電子版	63	0	63
	交　換		17	5	22
	寄　贈		35	147	182
単行本			91	114	205
	購入		23	23	46
		電子版	0	0	0
	寄　贈		68	91	159

文献相互貸借状況			供与	依頼	合計
総数			152	1,272	1,424
	三庁舎間		81	81	162
	外部機関総数		71	1,191	1,262
		協力機関	33	147	180
		国公立大学/機関	24	603	627
		私立大学/機関	14	441	455

[編集翻訳係]

編集翻訳係では, 平成 29 年度は JJID 第 70 巻 1 から 6 号を刊行し, JJID ホームページでも全論文の PDF ファイルを公開した(https://www.niid.go.jp/niid/ja/jjid.html).

JJID 編集委員会においては, 7 月に野崎智義が退官により委員を辞し、10 月に村松正道(ウイルス第二部長)と久枝一(寄生動物部長)が、1 月に高橋宜聖(免疫部長)と菅井基行(AMR センター長)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)運営の電子ジャーナル共同利用センター(J-STAGE)が提供する電子投稿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, システム導入前の平成 24 年と比較して投稿数も 2.8 倍に増えた. 海外からの投稿が 80%を占め, 43 ヵ国に及んだ. 第 27 回感染研シンポジウムの演者及び平成 29 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 の発行頁数 (掲載論文数) は以下の通りである.

1 号/125 頁(24 編), 2 号/101(25), 3 号/128(28), 4 号/117(24), 5 号/125(25), 6 号/95(23).

表. 平成 29 年度に受理した投稿論文数と同年度に掲載受理された論文数

国内, 海外の内訳	投稿論文数	掲載受理論文数	特記事項
国内	117 編	62 編	内, 感染研からの投稿論文数 10 編
海外	479 編	42 編	43 ヶ国

平成 28 年度までは論文掲載受理から実際に論文が掲載されるまで, 約 1 年を要していたが, 平成 29 年度には各号に掲載させる論文数を増やしたことにより, その期間は短縮された.

26. 研究情報運営委員会

（情報基盤　研究情報ネットワーク（NIH-NET）の運営状況）

研究情報運営委員長　椎野　禎一郎

概　要

Ⅰ.沿革

国立感染症研究所では、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 日の「政府機関の情報セキュリティのための統一基準」の決定に伴い、研究情報セキュリティ規範は平成 18 年度に「セキュリティ対策実施手順」に改定・平成 18 年 10 月より運用開始することで、統一基準への準拠を行った。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を機に、厚生労働省管轄の各機関に情報セキュリティ体制の更なる整備と強化が求められた。感染研は、対応策として同年末にインシデント対策組織である CSIRT（Computer Security Incidence Response Team）を設立し、情報運営委員会がその実質的な主体となって活動を開始した。また、標的型メール攻撃への対応として、新たにメール検知・エンドポイント検知・クライアント管理の3つの

追加セキュリティ対策システムの導入を計画し、これらは本年度より運用を開始した。情報セキュリティの政府統一基準にある所轄官庁の情報セキュリティポリシーを所のポリシーとするべきであるという平成28年度の厚生労働省の指導により、「国立感染症研究所情報セキュリティポリシー」は「厚生労働省セキュリティポリシー」に統合され、また「セキュリティ対策実施手順」に対して政府統一基準に準拠するいくつか改訂を行い、本年度より運用を始めた。

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、古いコンテンツにある情報の国民への提供に対応している。

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 13 のシステムがある）への回線とインターネットでの名前解決環境の提供を行っている。また、nih.go.jp および niid.go.jp ドメインを管理することで、これらの個別システムに FQDN を提供している。

8. 情報セキュリティ対策

技術的セキュリティ対策を担う firewall やプロキシサーバに、政府機関等から得た不正アクセス情報を適用している。また、端末に対してセキュリティツールの配布を行うとともに、通常インターネット接続業務に利用される端末については、クライアント管理ツールとエンドポイントマルウェア起動検知ツールのインストールを行い、それぞれサーバ連携を行うことで、要保護情報の取り扱いを事務局・当該部局の委員の双方が管理できる体制を作っている。これらの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29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)クライアント管理ツールとエンドポイント対策ツールを要保護情報を取り扱う PC に配布し、サーバの運用を開始、これらの PC の集中管理を実現した。

(2)標的型メール攻撃訓練を実施した。

(3)国立健康栄養研究所にサービスしていた NIH-NET の回線を、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所に移管し、両研究所の情報システム回線網を切り離した。

Ⅴ. 平成 29 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. 18/05/11 **ソースネクスト・ウイルスセキュリティゼロのアップデート機能障害**

Web セキュリティサーバが、アップデートサーバをブロックしたために生じたもの

解除の設定を施した

2. 18/08/14 **村山・ハンセン研用プロキシサーバ障害**

サーバ設定時の障害であり、15 分程度で回復した

3. 18/08/24 **村山庁舎からの大量の通信によるネットワーク遅延**

AMR センターからの大量のゲノムデータアップロードに起因する可能性がある。

27. 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 29 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、ウイルス第三部白戸憲也実行委員長の元、佐賀県の協力とともに、一般公開の企画運営を行った。98 名の感染研職員等がスタッフとして参加し、パネル展示(話題の感染症、世界史と感染症、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、病原体＆発育鶏卵観察、研究者体験(Green Scientist Club 企画)、感染症クイズ(学友会企画)を実施した。来場者は 363 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、9 月 30 日(土)10:00-17:00 の開催とした。エイズ研究センター原田恵嘉実行委員長の元、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。155 名の感染研職員等が参加し、パネル展示(動物由来感染症、ゲノミクスと感染症、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(一部学友会企画)、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(Green Scientist Club 企画)、ラボ見学を実施した。来場者は 431 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、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スピードスケート選手の清水宏保氏が来場し、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「感染症との戦い一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 31 人、感染症総合管理 1d が 30 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レポートの評価に基づき成績をつけ、それぞれ 1c で 23 人、1d で 16 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 12 月 18 日に、6年生を対象とした授業2コマを実施した。講師はインフルエンザセンター高山郁代主任研究官が、「インフルエンザ」について」講義、迅速診断キットによる実習を行った。講師の他に、15 名の研究職員・2 名の事務職員が観察・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 22 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 29 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、11 月 25,26 日）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 2017」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。