序

所長　脇田隆字

国立感染症研究所の目的は感染症を征圧するために、予防医学の立場から広く感染症に係わる研究を総合的に行い、国の保健医療行政の科学的根拠を明らかにすることにある。本年度も感染症研究、レファレンス、サーベイランス、国家検定および検査、国際協力、研修、アウトリーチ活動など広範囲の業務を実施した。感染研の機能は多岐にわたるが、その機能を支えているのは職員の基盤的な研究能力であり、本年度も研究部から多くの研究業績が出された。各部の報告で確認されたい。

本年度は所長、副所長および部長センター長等の人事面において、以下の異動があった。4 月 1 日、脇田隆字が所長に就任した。大西真が副所長に就任し、細菌第一部長を併任することとなり、中野敏昭が総務部長、大澤英司が企画調整主幹、石井孝司が品質保証・管理部長に就任した。また、宮﨑義継がハンセン病研究センター長に就任し、真菌部長を併任することとなった。平成 31 年 3 月 31 日、熊谷優子が厚生労働省へ転出し、澤邉京子昆虫医科学部長、森川茂獣医科学部長、大石和徳感染症疫学センター長、小田切孝人インフルエンザウイルス研究センター長が定年退職となった。退官されたみなさんのこれまでの感染研業務への貢献に感謝したい。

感染研疫学センターでは感染症サーベイランスシステム（NESID）により、感染症法に定められた対象疾患を中心にサーベイランス活動をおこなっている。感染症週報（IDWR）や病原微生物検出情報（IASR）として得られた情報を公開している。令和元年は G20 大阪サミット、ラグビーワールドカップの開催を控えているため、リスク評価を実施し、サーベイランス体制の強化を図った。さらに令和 2 年には東京オリンピック・パラリンピックの開催が予定されているため、引き続き準備が必要である。また、ポリオ根絶計画の進行に伴い、わが国では 5 月から急性弛緩性麻痺(AFP) サーベイランスが開始された。厚生労働科学研究の多屋班においてサーベイランスの手引きが作成され、検査体制の整備も進めた。

村山庁舎の高度封じ込め施設は昭和 56 年に竣工し、平成 27 年に特定一種病原体取扱施設として厚生労働大臣から指定され、BSL4 施設として稼働した。本年度も村山庁舎施設運営連絡協議会を 3 回開催して情報公開に努めるとともに、委員からの意見を伺った。協議会において、感染研は東京オリンピック・パラリンピックに向け感染症サーベイランスの強化と検査体制の充実・強化のための取り組みを引き続きおこなうことを表明した。感染研村山庁舎では安全対策、災害・事故対策及び避難対応の強化にさらに取り組んだ。その上で協議会において、一類感染症対策の強化のため南米出血熱ウイルス等の病原体の分与を受ける必要性について説明をした。病原体の分与に関する

説明会および施設見学会を平成 30 年 12 月以降 9 回実施し、今後も継続する予定である。

平成 29 年に新設された薬剤耐性研究センターでは平成30年1月に菅井センター長が着任し、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に関する業務を実施している。今年度には第一室、第二室に加え、第三室、第五室に職員が配置された。また、ハンセン病研究センターの旧標本室を改修し、700L フリーザー20 台が稼動できる電源、エアコンを整備し、薬剤耐性菌バンク棟として利用する準備を整えた。厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業(JANIS 事業)に参加している機関に呼びかけて薬剤耐性病原体の収集 Japan Antimicrobial Resistant Bacterial Surveillance (JARBS)を開始した。薬剤耐性菌バンクにより病原体サーベイランスなどで収集した病原体を整理保管し研究活動などに利活用することが可能となる。

感染症対策には国際連携が重要である。海外の国立研究機関との連携・共同研究においては、台湾 CDC との第 15 回日台感染症シンポジウム (9 月 3-4 日、台北) が開催された。ワンヘルス、国際協力を含む輸入感染症の診断と管理、バイオセーフティ等、共同プロジェクトが報告された。また、中国 CDC 及び韓国 CDC との第 1 回ワンヘルスシンポジウムと第 12 回日中韓感染症フォーラム (12 月 4-5 日) を東京で開催した。ワンヘルスシンポジウムでは、「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) 研究成果と予防・診断・治療」について、また感染症フォーラムでは、輸入感染症への備え、深刻な新興感染症とまれな寄生虫病への備え、鳥インフルエンザ (H7N9) と AMR のワンヘルスアプローチなど、感染症対策に関する各機関の取り組み状況が報告された。

さらに感染研は 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。

村山庁舎 BSL4 施設の項でも述べたように、感染研は情報公開に努めている。5 月 21 日に第 28 回感染研シンポジウムを明治 150 周年記念事業の一環として、“感染症対策の歩みと現代の課題”のテーマで開催した。外部からは 75 名が参加した。村山庁舎一般公開を 7 月 28 日に開催し、来場者は 287 名であった。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。戸山庁舎では一般公開を 9 月 29 日に開催し、396 名が来場した。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が、本年度をもって一旦終了することとした。

１．ウイルス第一部

部長　　西條　政幸

概　要

2018 年度には以下の人事異動があった。加藤博史氏が 2018 年 4 月 1 日付けで研究員（第三室）として採用された。加藤文博氏が 2018 年 9 月 30 日付けでウイルス第三部に主任研究官（招聘型）として配置換えとなった。また、主任研究官中山絵里氏は 2017 年 4 月 1 日からオーストラリア QIMR Berghofer Medical Research Institute（Andreas Suhrbier 教授）への研究留学を継続した。

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、他）、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なされた。オルソ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そうワクチン LC16m8 に外来遺伝子を挿入することによる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 LC16m8 を土台に 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。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や治験において、治療がなされた患者におけるウイルス学的特徴を評価解析した。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を継続した。

第二室においては、デングウイルスに関する研究、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およびデング熱等のウイルス学的な検査が実施された。

第三室においては、狂犬病ウイルスと進行性多巣性白質脳症（PML）を引き起こす JC ウイルス、昆虫媒介性の脳炎ウイルスに関する研究が継続された。神経ウイルス感染症の検査能力強化のため、アメリカ大陸や欧州で流行している蚊媒介性オルソブニヤウイルスによる脳炎（サンドフライ熱ウイルスやカリフォルニア脳炎血清グループ等）の診断システムを開発する研究が行われた。また SFTS に関する診断・治療に関する研究も分担した。

第四室においては、単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1）、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を進めるとともに、国内の医療機関から難治性の HSV-1 感染症、帯状疱疹ウイルス（VZV）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受け入れた。

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、他）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。リケッチアの基礎的研究では、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。

以上の研究活動に対して、厚生労働省、日本医療研究開発機構（AMED）、文部科学省から研究費の助成を受けた。

2018 年度は日本脳炎ワクチン、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。また、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に関する研究

1) 重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染症に対する治療用ヒト抗体に関する研究

重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thromobocytopenia syndrome, SFTS）は症状が重篤で致命率も 30%前後と高い。病原体である SFTS ウイルス（SFTSV）は 3 分節の一本鎖（-）RNA をゲノムとするブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類されるウイルスである。抗ウイルス薬による有効な治療法は存在しない。しかし、これまでの研究で抗 SFTSV 抗血清より得た精製抗体の投与が SFTS 治療において有効であることを示す結果が得られている。そこで SFTS 回復患者の末梢血単核球より膜蛋白質（GP）に対するヒト単クローン抗体を作製し、その治療効果を SFTS マウスモデルで検証したが、十分な治療効果を示すものでは得られなかった。そのため、より多様な単クローン抗体について治療効果を検証するため、新たにマウス単クローン抗体を複数作製した。抗体のサブクラスや認識部位の決定等、抗体の性状解析を開始した。［下島昌幸、杉元聡子、黒須剛、吉河智城、西條政幸］

2) SFTSV の遺伝子操作系と性状解析

SFTSV の基本性状や病原性発現機序を理解し SFTS の予防や治療に役立てるため、SFTSV の遺伝子操作系を導入した（Brennan et al, J Virol, 2015）。HeLa 細胞で継代を繰り返すことにより *in vitro* および *in vivo* での性状が継代前のものより変化した SFTSV 株について、遺伝子操作系により性状変化の責任変異を同定した。［下島昌幸、杉元聡子、黒須剛、吉河智城、西條政幸］

3) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした SFTS 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、SFTSV 感染症への効果的なワクチン開発研究を行っている。本年度は SFTSV の核タンパク質（N）、膜タンパク質（GPC）を共に発現する組換え LC16m8（m8-N+GPC）の防御免疫誘導能を、カニクイザルを用いた SFTSV 感染モデルを用いて検討した。対照として EGFP を発現する m8-EGFP を使用した。事前に m8-EGFP、または、m8-N+GPC を接種しておいたカニクイザルに、1×10^9 感染価の SFTSV を接種した。SFTSV 感染 1 日後から実験に供した全てのサルで血小板減少が確認されたが、血中の感染性 SFTSV 量について m8-N+GPC 接種群は観察期間中全日で検出限界以下であった。一方 m8-EGFP 接種群では SFTSV 感染 1 日後から感染性 SFTSV が確認され、その後 3 日目から更にウイルス量は増加した。定量 PCR 法を用いて測定した血中ウイルスゲノム量についても m8-N+GPC 接種群は m8-EGFP 接種群と比べて有意に低く、SFTSV 感染 3 日後はその差は 1×10^4 倍に開いた。このことより SFTSV 感染サルモデルにおいて m8-N+GPC がワクチン効果を誘導したと評価された。［吉河智城、黒須剛、杉元聡子、福士秀悦、下島昌幸、西條政幸；岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹（感染病理部）；網康至（動物管理室）；原田俊彦（バイオセーフティ管理室）；森川茂（岡山理科大学）］

4) SFTS 患者から分離された SFTSV の favipiravir 感受性の解析

ヒトは SFTSV に主に SFTSV を有するマダニに咬ま

れて感染する。SFTS の致命率もとても高い。SFTS は中国、日本や韓国でも流行している。SFTS に対する特異的な治療薬やワクチンはない。近年になり抗インフルエンザ薬として開発されたウイルス RNA 依存性 RNA 阻害剤である favipiravir (6-furuoro-3-hydroxypyrazine-2-carboxamide)が SFTSV の複製を阻害することが報告され、SFTS 治療薬として期待されている。本研究では SFTS 患者から分離された SFTSV 株の favipiravir に対する感受性を調べた。遺伝子型の違いによる favipiravir への感受性の違いは認められなかった。［佐藤正明、加藤博史、伊藤(高山)睦代、福士秀悦、下島昌幸、西條政幸］

5) SFTSV の薬剤耐性に関する研究

2013 年 1 月に国内で初めて SFTS 患者が確認されて以来、毎年40～90名の患者が報告されている。約30%の致命率を示すことから治療薬の開発が望まれている。富山化学工業株式会社(現富士フイルム富山化学株式会社)で開発された favipiravir が治療薬となりうるかについて、医師主導型臨床研究と臨床治験が実施された。臨床で本薬剤を用いる際にはウイルスの薬剤に対する耐性化が問題となることから、favipiravir に対する耐性 SFTSV の出現について検討した。高濃度 favipiravir 存在下で5代まで継代して得られたウイルスと対照ウイルス間では favipiravir に対する感受性に差がないことが確認された。［伊藤(高山)睦代、佐藤正明、加藤博史、木下一美、西條政幸］

6) SFTSV の不活化に関する研究

SFTSV は、ヒトにおいて致死率 25%を超える重篤な疾患を引き起こす。SFTS 患者や SFTSV を感染させた動物の血中には 1×10^8 コピー/mL 以上の SFTSV が含まれることがある。そのため臨床検体を取り扱う検査担当者の安全が適切に確保されなければならない。一方、血清学的診断のためには、血清中 SFTSV を不活化しつつ、抗体検出感度に支障をきたさない条件を決定することが必要である。本研究では、血清中 SFTSV を不活化するための最適な熱処理、紫外線照射条件を検討した。健常人プール血清に SFTSV を混合し、56℃あるいは 60℃で保温処理し、あるいはトランスイルミネータ上で紫外線(UV)照射後、ウイルスの感染価を測定し、不活化条件を決定した。この条件が臨床検体に応用できるか検討するため、SFTS 患者血清を熱処理および UV 処理後、Vero 細胞に接種し、ウイルス分離を試みることで感染性 SFTSV の有無を調べた。SFTSV 抗体陽性血清を同様に処理し、不活化処理が抗体検出感度に影響を及ぼすか否かを検討した。健常人プール血清に混合させた SFTSV の不活化には 56℃、60 分の熱処理では十分ではなく、60℃、30 分熱処理が必要であった。また、UV 照射 10 分処理で 100 倍程度の感染価の低下が見られ、完全な不活化には UV の 30 分照射が必要であった。SFTS 患者血清を用いた検討では、60℃、30 分熱処理に加え UV の 10 分照射処理をすると、ウイルスは完全に不活化された。この不活化条件で SFTS 回復患者血清を処理しても血清中 IgG 抗体価の顕著な低下は見られなかった。SFTSV を含む血清を安全に取り扱うための不活化条件を推奨するための成績が得られた。［福士秀悦、黒須剛、吉河智城、下島昌幸、西條政幸;原田俊彦(バイオセーフティ管理室)］

7) LAMP 法を用いた SFTSV 検出系の構築

SFTSV の検査を実施するためには地方衛生研究所等の設備の整った検査所まで検体を送る必要があるが、そこで PCR と電気泳動を用いる検査方法が実施されている。本研究では、病院の検査室等でも実施可能な、血清検体の簡易前処理法と Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)法を合わせた SFTSV 検出系を開発した。血清検体の前処理方法は、簡易・迅速で抽出効率の良い方法の確立を目標とし、血清と抽出試薬の混合比、加熱処理条件について検討した。また、LAMP 法のプライマーの設計は、12 株の SFTSV ゲノム情報を基にターゲット領域を設定し、設計されたプライマーの SFTSV ゲノムに対する感度、反応性を評価した。最も抽出効率の良い前処理条件は、血清と抽出試薬の混合比 1:4、加熱条件 90℃、1 分であった。12 株の SFTSV ゲノム情報を基に選定した比較的変異の少ない領域である L segment に設計された LAMP プライマーは、中国株と日本(J1、J2)株用のプライマーと J3 株用プライマー

の 2 セットを使用することにより、検討した全ての株において感度 1×10^2 copies/test で検出時間は 15 分以内であった。本検出系を臨床現場において用いることにより、検体の前処理を含めたより迅速で簡便な SFTSV 検査の実現が期待できる。［福士秀悦、山田壮一、原田志津子、黒須剛、吉河智城、下島昌幸、西條政幸］

8) カフェ酸の SFTSV に対する増殖抑制効果に関する研究

カフェ酸は、 SFTSV の日本由来 YG1 株および Spl010 株にも、中国由来 HB29 株と同程度に増殖抑制効果を示すことが示された。また、カフェ酸類似の化合物8種の増殖抑制効果（Spl010 株に対する）の検討では、芳香族環の 2 つのヒドロキシル基の配座がカフェ酸と同じもののみ（3,4-dihydroxyl）も活性を示した。今回の結果を元に、構造の類似性から、新規候補を選定し、より増殖抑制効果が高く、毒性の低い化合物を探索した。［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. ハートランドウイルスに関する研究

1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台としたハートランドウイルスに対するワクチン開発

ハートランドウイルス（Heartland virus、HRTV）は、2009 年にアメリカで原因不明の高熱、血小板減少、白血球減少、肝機能障害等を呈した患者から分離されたブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される新規ウイルスである。現在、HRTV 感染症に対する有効なワクチンはない。高度弱毒化痘そうワクチン LC16m8 株は、ワクチンとしての免疫原性を保持しつつ、安全性が高いワクチン株である。そこで、本研究では、HRTV が発現する表面糖タンパク質（GPC）、核タンパク質（NP）、非構造タンパク質（NS）を単独、あるいは GPC と NP の両方を発現する組換え LC16m8 を作製することを目的に、それぞれのタンパク質を単独、あるいは GPC と NP の両方を発現する発現プラスミドを構築した。［前木孝洋、谷口怜、吉河智城、加藤文博、柴崎謙一、池田真紀子、田島茂、林昌宏、西條政幸］

3. フィロウイルスに関する研究

1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台としたエボラウイルスに対するワクチン開発

エボラウイルス、マールブルグウイルスの膜糖タンパク質（GP）を発現する組換えワクシニアウイルス LC16m8 株（m8）のワクチンとしての有効性を、フィロウイルス GP を発現する組換え水疱口炎ウイルス（vesicular stomatitis virus, VSV）を用いて評価した。まず、エボラウイルス（ザイールウイルス、スーダンエボラウイルス、ブンディブギョエボラウイルス、タイフォレストエボラウイルス）とマールブルグウイルスの GP をそれぞれ発現する組換え m8 をマウスに接種し、血清を得た。血清中の特異抗体価は免疫蛍光抗体法により確認した。接種した組換え m8 が発現するエボラウイルス株の GP に対する特異的な抗体が誘導されていることとともに、エボラウイルス間では交差反応性があることも判明した。次にザイール株 GP を発現する組換え VSV（rVSV-Zaire_GP）を用いてこの血清中に含まれるザイール GP に対する中和抗体を検討した。ザイール株 GP を発現する m8 で免疫したマウスから得られた血清を用いて、プラーク減少法を用いて中和抗体価を測定したところ、対照群と比較して明確なプラーク減少、つまり中和抗体価の誘導は確認されなかった。同様に、スーダン株、ブンディブギョ株、タイフォレスト株の GP を発現する m8 で免疫したマウス血清を用いた場合においても rVSV-Zaire_GP を中和する抗体の誘導は確認されなかった。*In vitro* で中和活性を持たないエボラウイルス GP 特異的なモノクローナル抗体を複数用いることで *in vivo* でエボラウイルス感染による重症化阻止に有効に作用する（Cell Rep 19(2):413-424、 2017）という報告があること、また組換え m8 は細胞性免疫の惹起も期待できることから、引き続き組換え VSV をサロゲートウイルスとして用いるハムスターの致死的感染モデルを用いて本組換え法 m8 の有効性を評価する予定である。［吉河智城、黒須剛、杉元聡子、下島昌幸、西條政幸］

4. 出血熱ウイルス感染モデルを用いた病原機序の解析

1) 出血熱ウイルス感染モデルにおける病原機序の解析

重篤な疾患である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、治療法検定系の開発を目指し、感染動物モデル系を用いて次の解析を行った。デングウイルス3型 DV3P12/08 株は、インターフェロン系ノックアウトマウス(IFN-KO マウス)に血漿漏出を伴う致死的感染を引き起こす。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を用いて行ったマイクロアレイ解析や阻害実験結果から、ある特定の宿主因子が重症化因子であることが明らかになった。これまでこの宿主因子が産生される機序と関与する宿主細胞が同定された。[黒須剛、下島昌幸、福士秀悦、吉河智城;奥崎大介(大阪大学)]

2) ウイルス感染性血小板減少症機序の解明

これまでに血小板減少症、骨髄抑制(巨核球と赤芽球島の消失)を観察できる組換えフラビウイルス感染によるマウスモデルの開発に成功している。感染による血小板減少症機序には以下の2つの可能性が考えられた。1)活性化されたマクロファージによる血小板もしくは巨核球前駆細胞の貪食、2)巨核球前駆細胞へのウイルス感染による細胞死、RNAseq、フローサイトメトリー、組織染色などによる解析結果から、感染後に CD14 陽性細胞での貪食能が亢進していることを確認した。一方で、巨核球・赤芽球前駆細胞へ感染してアポトーシスを起こしていることが判明した。[黒須剛、下島昌幸、吉河智城;奥崎大介(大阪大学微生物病研究所)]

5. 新規ブニヤウイルスに関する研究

1) Soft tick bunyavirus の性状解析に関する研究

近年国内で分離され soft tick bunyavirus(STB ウイルス)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(ISK ウイルス)と系統樹解析から近縁であると考えられている。STB ウイルス感染症患者発生は知られていない。これまでの研究で、STB ウイルスが type I IFN receptor 欠損マウスを死亡させるのに必要な期間は ISK ウイルスのそれと比べ明らかに長く、また STB ウイルスはあるダニ由来細胞で増殖しないのに対し ISK ウイルスは増殖するという性状の差異が認められている。この性状の差異の原因となるウイルス因子を解析したところ、それぞれウイルスゲノムの L 分節、S 分節が関与していることが示唆された。より詳細な解析を行ない、ISK ウイルスの病原性の理解に役立てる予定である。[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 株を土台とした組換えウイルス作製システムの改良

細胞培養痘そうワクチン株 LC16m8(m8)は高度に弱毒化されている。一方で免疫原性が維持されているという特徴を有する。そのため外来遺伝子を導入した組換えワクチンとしての利用が期待されている。私たちは m8 の全ゲノムを組込んだ人工細菌染色体(bacterial artificial chromosome ; BAC)、pLC16m8.8S-BAC を作製し、ここから感染性を持つ m8 をリカバリーさせるシステム(m8-BAC システム)を確立した。本研究ではm8-BAC システムで用いられている既存の組換え法を改良し、任意の領域に外来遺伝子を迅速かつ簡便に導入するシステムを確立するために蛍光遺伝子、薬剤耐性遺伝子、そして制限酵素 I-SceI サイトを持つプラスミドを作製した。このプラスミドを鋳型として PCR により作製した遺伝子断片を BAC プラスミドに導入する際、導入の成否は蛍光確認、薬剤耐性により確認できる。今回は予備検討としてこれらのプラスミドを用いて大腸菌を形質転換させた。単独の蛍光遺伝子を保持するプラスミドで形質転換した大腸菌では明確な蛍光色の違いが確認できた。今後は本プラスミドを用いて m8-BAC システムを用いた組換えウイルス作製の改良を行う予定である。[吉河智城、黒須剛、杉元聡子、下島昌幸、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) 国内デング熱患者検体中のデングウイルスゲノム解析

昨年度までに確立された、デング熱患者検体からの

次世代シーケンサーを用いたデングウイルス（dengue virus, 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；稲嶺由羽、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

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（Japanese encephalitis, JE）は、JE ウイルス（JEV）による中枢神経感染症である。JEV の血清型は 1 つであり、遺伝子型は I 型から V 型の 5 つがある。JEV-Ⅴ型株とⅠ型あるいはⅢ型株とのアミノ酸配列の相同性は 90 %前後であり、JEV-I 型株とⅢ型株の間の相同性（97%前後）より低い。これまで日本での分布が報告されている原因ウイルスは JEV-I 型とⅢ型であるが、近年、中国・韓国において、JEV-Ⅴ型が検出されている。2016 年には、日本で 11 例の JE 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 JE 患者に、JEV-Ⅴ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 JE 患者 10 人より採取された血清・髄液を用いた。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た。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、血清を用いて JEV Ⅰ型およびⅤ型（野生分離株）に対する中和試験を実施し、JEV-V 型に対する中和抗体価と JEV-I 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-V 型に対する中和抗体価は、I 型あるいはⅢ型に対する中和抗体価以下であった。以上より、今回の解析では、2016 年に報告された JE 患者に、JEV-V 型による症例が含まれていた可能性を示す証拠は得られなかった。JEV-V 型の日本へ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-V 型と I 型・III 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、林昌宏、西條政幸；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

2) JE 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、ジカウイルス（zika virus、ZIKV）、DENV、ウエストナイルウイルス（WNV）、ダニ媒介脳炎ウイルス（TBEV）などと同様に、フラビウイルス科フラビウイルス属に分類される。2015 年に南米を中心に ZIKV 感染症（ZIKV 病、ZVD）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、ZVD 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、JE 患者血清を用いて、JE 患者血清の、他のフラビウイルス（ZIKV、DENV、WNV、TBEV）に対する交差反応性を検討した。解析には 2016 年に報告された 11 例の JE 患者のうち、10 例より採取された患者血清を用いた。これらの血清を用いた JEV IgM ELISA および中和試験により JE 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、JEV に対して 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① DENV、ZIKV、WNV、TBEV に対する IgM ELISA② DENV、TBEV に対する IgG ELISA③ DENV、ZIKV、WNV、TBEV に対する中和試験を行った。今回解析を行なった 16 血清のうち DENV、WNV、TBEV に対する IgM ELISA において、それぞれ 7 血清、8 血清、1 血清が陽性を示した。全ての血清が ZIKV IgM ELISA では陰性を呈した。IgG ELISA では、DENV および TBEV に対して、それぞれ 12 血清と 8 血清が陽性を示した。一方、中和試験では、いずれの血清も DENV、ZIKV、TBEV に対する中和活性を示さなかった。12 血清が WNV に対する中和活性を示したものの、その中和抗体価は全ての血清で JEV に対する中和抗体価の 1/8 以下であ

った。本解析により、JE の血清学的診断には中和試験が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) JEV NS1 抗原検出による JE 診断法の確立

JE は、JEV による中枢神経感染症である。脳炎発症時には、患者から採取された血清および髄液から JEV が検出されることは極めて稀である。そのため JE の診断は、主に抗 JEV 抗体を検出することによってなされる。JEVなどのフラビウイルスに対する抗体は、他のフラビウイルスに交差反応を示すことが報告されているため、正確に JE を診断するためには、特異性の高い中和試験を実施する必要がある。しかし、中和試験は手技が煩雑であり、判定までに比較的長い日数を要する。そこで本研究では簡便でより特異性の高いJEの診断法の開発を目的として、JEVのNS1抗原検出系の構築を試みた。本年度は、JEVのNS1抗原発現プラスミドの構築した。［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］

4) JEV 遺伝子型 V 型（GV）株のマウスにおける高病原性に関わる領域の同定

私たちは、これまでに JEV-GV である Muar 株が、同ウイルス I 型の Mie/41 株に比べマウスでの病原性が有意に高いことを示した。今年度は、その高病原性にかかわる GV 株の領域を同定した。構築された Mie/41 株由来の完全長 cDNA クローンを用いて、4 種類の Muar-Mie/41 間キメラウイルス（rJEV-5NCME^{Muar}-M41、rJEV-NS1-3^{Muar}-M41、rJEV-NS4A-5^{Muar}-M41、rJEV-NS5-3N^{Muar}-M41）を作製した。これらをマウス（ddY 系統）に接種し、病原性（致死性）を調べた。rJEV-5NCME^{Muar}-M41 株が Muar 株と同等の病原性を示した。またこの領域を別の GV 株である XZ0934 株に置換しても、同様に高い病原性を示した。以上より、5’NCR-構造タンパク質（C、prM、E）コード領域に GV 株の高病原性に関わる部位が存在することが明らかとなった。［田島茂、柴崎健一、林昌宏、西條政幸］

3. ジカウイルスに関する研究

1) ジカウイルス（zika virus、ZIKV）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を、過去の研究により明らかにしている。2016 年度及び 2017 年度に、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。2018 年度もこれらの研究を継続した。健常マーモセット 3 匹、2 型 DENV 既感染 7 匹それぞれに遺伝子型がアジア型の ZIKV PRVABC59 株を皮下接種し、感染 3 日目に健常マーモセット 1 匹、DENV 既感染マーモセット 3 匹を剖検し、感染7日目に健常マーモセット 2 匹、DENV 既感染マーモセット4匹を剖検し、各種臓器を採材した。その後主要臓器から感染性 ZIKV 分離を試みた。感染 3 日目の健常マーモセット及び DENV 既感染マーモセットの鼠径リンパ節、脾臓、腎臓、DENV 既感染マーモセットの腋窩リンパ節、肝臓、卵巣から感染性 ZIKV が分離された。また、感染 7 日目の健常マーモセット及び DENV 既感染マーモセットの鼠径リンパ節、腋窩リンパ節、肝臓、DENV 既感染マーモセットの脾臓、腎臓から感染性 ZIKV が分離された。しかしながら感染 7 日目の血清中から感染性 ZIKV は分離されなかった。これらのことから、これらの臓器は ZIKV 増殖の場の一つであることが示唆された。

また、2016 年度に実施したマーモセット ZIKV 感染実験において得られた血清を用いて、ZIKV 及び DENV に対する中和抗体の誘導動態を解析した。DENV 既感染群では健常マーモセット群に比較して早期に ZIKV 中和抗体が誘導されること、中には DENV に対する抗体が強く誘導されるマーモセットが存在することも明らかとなった。このことは DENV、ZIKV 流行地域における患者検体におけるフラビウイルス感染症の血清学的診断の困難さを動物実験で再現する結果となった。［谷口怜、加藤文博、前木孝洋、中山絵里、田島茂、林昌宏、西條政幸；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）；Muhammad Azami Nor Azila（筑波大学）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

2) ZIKV 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先天性疾患を引き起こす。本感染症は妊娠母体が ZIKV に感染した場合に発症する可能性がある。2017 年度私たちは妊娠マーモセットに ZIKV PRVABC59 株を皮下接種し、それにより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 日目に安楽殺後に、病理解剖した。子宮内膜、胎児、羊水において ZIKV ゲノムが検出された。また、子宮内膜間質、脱落膜に ZIKV 抗原が検出された。今年度、より詳細に各種臓器における ZIKV ゲノム量を定量した。その結果、高コピー数のゲノムが母体子宮、胎盤、子宮内膜から検出された。これらの臓器におけるゲノムコピー数は、非妊娠マーモセットを用いた ZIKV 感染実験時に高コピー数のゲノムが検出されたリンパ節、脾臓等におけるゲノムコピー数をはるかに超える量であった。ZIKV はこれらの臓器を増殖の場としている可能性が示唆された。［谷口怜、林昌宏、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）；Muhammad Azami Nor Azila（筑波大学）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

3) ZIKV のマウスにおける神経病原性解析

ZIKV は遺伝子学的にアフリカ型またはアジア型に分類される。アフリカ型の MR766 株とアジア型の PRVABC59 株の type I IFN 受容体欠損（IFNAR$^{-/-}$）マウスにおける病原性を比較解析したところ、MR766 株感染マウスは致死的であったのに対し、PRVABC59 株感染マウスは無症状で生残した。ウイルスの脳への侵入効率を比較するため、MR766 株または PRVABC59 株を IFNAR$^{-/-}$マウスに末梢感染させた後、各組織でのウイルス力価を比較した。血中および末梢組織のウイルス力価は各群で差が認められなかったが、脳組織のウイルス力価は MR766 株感染マウスで高かった。次に脳組織そのものでのウイルス増殖性を比較するため、MR766 株または PRVABC59 株を IFNAR$^{-/-}$マウスに脳内接種した後、感染マウスの生存率および脳組織のウイルス力価を比較した。MR766 株感染マウスは感染後 1 週間以内にすべてのマウスが死亡したのに対し、PRVABC59 株感染マウスは 50%のマウスが生残した。また、感染 4 日目の脳組織でのウイルス力価は MR766 感染マウスで高かった。MR766 株は PRVABC5 株と比較して、マウス脳組織増殖性および脳への侵入効率が高いことが明らかにされた。［中山絵里、谷口怜、加藤文博、田島茂、柴崎謙一、前木孝洋、林昌宏、西條政幸；高橋健太、佐藤由子、鈴木忠樹（感染病理部）；河合康洋（バイオセーフティ管理室）、Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）］

4) ZIKV の母子感染に関する研究

2015 年に ZIKV が小頭症などの先天性疾患を起こすことが明らかとなった。本研究では 1966 年にマレーシアで分離された P6-740 株および 2015 年にブラジルにおいて小頭症胎児より分離された Natal RGN 株を人工合成し、近年流行している ZIKV が特異的に母子感染し、胎児に症状を起こすのかどうかを調べた。妊娠 12.5 日目の IFNAR$^{-/-}$マウスに ZIKV を接種し、感染 5 日後の母および胎仔マウスの組織におけるウイルス力価を ZIKV 株間で比較した。母マウスの血中および組織（脳、脊髄、脾臓、肝臓、腎臓、筋、眼球）、胎仔頭部におけるウイルス力価は株間で差が認められなかった。一方、胎盤および死亡胎仔組織におけるウイルス力価は Natal-RGN 株よりも P6-740 株で高かった。近年の流行株だけでなく、1966 年に分離されたジカウイルスにおいても IFNAR$^{-/-}$マウス感染モデルでも母子感染が起きることが明らかにされた。［中山絵里；Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）］

5) ジカウイルス Asian/American lineage 株感染マウス精巣および精巣上体の病理学的解析

ZIKV は分子系統学的にアフリカ型とアジア・アメリカ型の 2 つの型（lineage）に分類されるが、今世紀の流行はいずれもアジア・アメリカ型によるものである。昨年度アジア・アメリカ型がさらに 3 種類の亜型（東南アジア亜型、太平洋亜型、アメリカ亜型）に分類可能であることを示した。3 種の亜型は同定地域や流行時期とおおよそ一致することから、亜型間でウイル

ス性状に差異がある可能性がある。昨年度までに各亜型に属する分離株の *in vitro* における増殖性とウイルス接種マウスにおけるウイルス動態、精巣に及ぼす影響を調べ、アメリカ亜型が最も増殖性が高く、精巣に与えるダメージも強いことを明らかにした。2018年度は各亜型を感染させたマウスの精巣を、病理学的に解析をした。IFNAR$^{-/-}$マウスに、アメリカ亜型PRVABC59株、太平洋亜型ChibaS36株、東南アジア亜型NIID123株をそれぞれ接種し、2週間後および6週間後に精巣を回収して解析に供した。2週間後ではいずれの精巣も外面的および重量に異常はみられなかった。しかし、PRVABC59株接種個体およびChibaS36株接種個体由来精巣で、生殖細胞の壊死や、好中球などの炎症細胞の精巣間質への浸潤が観察された。またウイルス抗原も精細管や精巣上体液で検出された。6週間後では、PRVABC59株接種個体で最も高頻度かつ顕著な萎縮がみられ、生殖細胞は確認できなかった。またウイルス抗原は、PRVABC59株接種個体の精巣上体でのみ検出された。NIID123株接種個体については、両期間において精巣・精巣上体の異常は観察されず、ウイルス抗原も検出されなかった。これらの結果より、3株における精巣・精巣上体に及ぼす影響は、PRVABC59株接種個体で最も強く、NIID123株接種個体で最も弱いことが明らかとなった。［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）;高橋健太、鈴木忠樹（感染病理部）］

6) アジア型ZIKV感染性分子クローンの構築

ZIKV感染症の大流行前後の原因ウイルス株を比較した場合、旧来の東南アジア亜型株よりも、流行時の太平洋諸国亜型株、アメリカ亜型株のほうが培養細胞での増殖性、マウスに対する病原性が強いことを明らかにした。特に感染マウスの精巣へのダメージについて、その差が顕著であることを明らかにした。東南アジア亜型株とアメリカ亜型株の病原性の違いの機序を解析し、近年のZIKVの大流行の背景を明らかにするため、ZIKVの感染性分子クローンを構築した。東南アジア亜型株およびアメリカ亜型株の塩基配列のクローニングを行った。作製したプラスミドを用いて組換えウイルスの作出を試みている。［前木孝洋、稲垣拓哉、田島茂、加藤文博、西條政幸、林昌宏］

7) 新規に開発されたジカウイルスRNA検出キットの評価

日本医療研究開発機構の新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業において開発され、体外診断用医薬品の製造販売承認を取得したジカウイルスRNA検出キットの診断における有用性を評価した。検出感度はやや劣るものの、検体が陽性である場合、従来のリアルタイムPCRよりも迅速に結果が得られることが確認された。［田島茂、林昌宏、西條政幸］

4. チクングニアウイルスに関する研究

1) 食事中の繊維質および酪酸がチクングニアウイルス感染に与える影響

繊維質や短鎖脂肪酸の摂取は炎症性腸疾患や自己免疫性疾患等を改善することが報告されている。チクングニアウイルス（CHIKV）に感染した場合、一部の患者は慢性の多発性関節炎を発症する。高繊維食がCHIKV感染による関節炎に与える影響を解析するため、C57BL/6マウスに高繊維食、標準食または繊維質を含まない食事を3週間与えた後CHIKVを接種した。関節炎の評価は後肢の腫脹によって行った。標準食および無繊維食群と比較して高繊維食群では後肢腫脹が増大した。一方、ウイルス血症、後肢のウイルス遺伝子量は各群で差が認められなかった。CHIKV感染による関節炎と類似した症状を示す関節リウマチでは、炎症部位において好中球が観察され、浸潤した好中球は浮腫の病態形成に関与する。高繊維食群で認められた腫脹の増大に好中球が関与しているかどうかを明らかにするため、後肢組織中の浸潤好中球数を比較したところ、高繊維食群では多数の好中球浸潤が認められた。後肢腫脹の増悪に関与する遺伝子群を同定するため、RNA-seqによって高繊維食群と無繊維食群の後肢での発現変動遺伝子解析を実施したところ、571個の遺伝子が抽出された。その発現変動遺伝子の上流の経路検索を実施したところ、骨髄前駆細胞か

ら好中球への分化を促進する転写因子 CEBPA が最も上位に予想された。Th17 細胞への分化を制御するレチノイン酸受容体関連オーファン受容体αも発現変動遺伝子として検出され、上流経路検索においては、好中球遊走・活性化および関節リウマチの病態形成に関与する IL-17 が検出された。組織に侵襲が加わると、急性期には浮腫を含めた炎症が侵襲部位で生じ、好中球の浸潤が認められる。続いて浸潤したマクロファージが組織デブリスやアポトーシスに陥った好中球を貪食し、新たな好中球浸潤は抑制されるとともに炎症は収束に向かう。CHIKV 感染後、後肢において炎症収束期マクロファージの特徴が認められるかどうかを解析した。炎症収束期のマクロファージにおいて特徴的に発現が上昇する 146 個の遺伝子を同定した後、この 146 個を遺伝子セットとし、高繊維食群と無繊維食群の間で gene set enrichment analysis を実施した。その結果、高繊維食群では炎症の収束を担うマクロファージの特徴が認められず、炎症部位への好中球の浸潤および活性化が持続することで関節症状の増悪が起きると考えられた。［中山絵里；Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）］

5. その他の研究

1) 愛媛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、重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）等のダニ媒介性アルボウイルスが報告されている。そこで日本における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愛媛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。その結果タカサゴキララマダニよりトゴト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オズウイルス（Oz virus、OZV）とした。全ゲノム解析と系統樹解析の結果、OZV は新規のダニ媒介性トゴトウイルスであることが明らかとなった。また OZV を乳飲みマウス脳に接種したところ、毒性を示した。［林昌宏、伊藤（高山）睦代、ギジェルモ ポサダス エレラ、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、佐藤友美、伊澤晴彦、澤辺京子（昆虫医科学部）；江尻寛子、加來浩器（防衛医大）；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）；菅美樹、服部昌志、木村俊也、四宮博人（愛媛衛研）］

2) ベネズエラ馬脳炎ウイルス、東部馬脳炎ウイルス、西部馬脳炎ウイルスゲノム検出系評価用陽性コントロールの調製

ベネズエラ馬脳炎、東部馬脳炎、西部馬脳炎の遺伝子診断系を評価するための、陽性コントロール RNA を合成し、リアルタイム RT-PCR において鋳型として機能するかを評価した。各ウイルスのゲノムの一部（180 ヌクレオチド）に対応する cDNA を合成し、これを鋳型として *in vitro* で RNA を合成した。合成産物を 10^6 倍に希釈後、各ウイルスに対応するリアルタイム RT-PCR 反応に使用した。3 種類すべての反応系で、ウイルスゲノムの特異的な増幅が認められた。以上より、今回調製した陽性コントロールが機能することが確かめられた。［田島茂、林昌宏、西條政幸］

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性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の評価を行う方法が用いられているが、動物に与える苦痛が大きいことが問題となっている。私たちは 2017 度より国家検定において死亡に替わる安楽死の指標（人道的エンドポイント）を設定してマウスへの苦痛軽減させた。そこで 2018 度から欧州医薬品品質理事会（EDQM）主催の狂犬病ワクチン力価試験における抗原 ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）開発のための国際共同プロジェクトに参加した。［伊藤（高山）睦代、佐藤正明、加藤博文、西條政幸］

2) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いた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 MERS 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 に対するワクチンを開発した。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。今後、DPP4 ノックインマウスを使いチャレンジ実験を行う予定である。［加藤博史、伊藤（高山）睦代、佐藤正明、西條政幸、林昌宏］

2. JC ポリオーマウイルスに関する研究

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

進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal leukoencephalopathy, PML）は免疫不全患者等において発生する致死的な脱髄性疾患であり、JC ウイルス（JCV）によって引き起こされる。その診断では、脳脊髄液（cerebrospinal fluid, CSF）中の JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。私たちは 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いる。2007 年度から 2018 年度までに 1932 件の検査依頼を受け付け、PML 疑い患者 252 名の CSF 検体から JCV ゲノム DNA を検出した。2018 年度においては 44 名の患者の CSF が 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が明らかになった。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 JCV 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、CSF 中の JCV のゲノム DNA を標的としたリアルタイム PCR 検査が有用であり、その検出下限値は CSF 検体 1 mL あたり 200 コピー程度である。過去に本検査を実施した 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。2017 年度より、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、PML の診断支援において活用している。2018 年度においては、CSF 中に検出された微量の JCV ゲノム DNA において、PML に特徴的な変異があるか否かを解析し、持続感染ウイルスの迷入による誤判定を排除するための検査系を確立した。［中道一生、西條政幸］

3. 昆虫媒介性の脳炎ウイルスに対する診断法に関する研究

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、髄膜炎を起こすことが知られている。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、日本ではこのウイルスに対する検査体制は全く整っていなかった。これまでに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を目的とし、蛍光抗体法および RT-PCR 法を確立した。本年度は ELISA 法について検討を行った。サンドフライトスカーナウイルス感染細胞を抗原とした方法で良好な反応が得られた。［伊藤（高山）睦代、佐藤正明、加藤博史、木下一美、西條政幸］

2) 脳炎を引き起こすオルソブニヤウイルスに関する研究

カリフォルニア脳炎ブニヤウイルス感染症はカリフォルニア脳炎オルソブニヤウイルスによって引き起こされる感染症である。この疾病は蚊によって感染が伝播する。日本においては未だこの疾病の報告はない

が、これらのウイルスを媒介する蚊が日本にも生息していることや輸入感染症に対する対策の一環として、診断の系を確立する必要がある。本研究では ATCC より 2 種のウイルス(ラクロスウイルス、ジェームスタウンキャニオンウイルス)を入手し、これらのウイルスの性状を解析した。これらウイルスは細胞に細胞変性効果を形成するため、その感染価を容易に plaque forming unit および 50% tissue culture infectious dose で表すことが確かめられた。[佐藤正明、加藤博史、伊藤(高山)睦代、西條政幸]

3) ジェームスタウンキャニオンウイルスに対する診断系の確立

ジェームスタウンキャニオンウイルス(James Town Canyon virus, JTCV)は節足動物媒介性脳炎を引き起こし、ときに死に至る。日本では未報告であるが、世界で流行しており、報告数は増加傾向にある。日本国内では検査体制が未整備であることから、血清及び遺伝検査系を開発・整備した。間接蛍光抗体法では、感染細胞を抗原としたプレートを作製し、マウス免疫血清で抗原抗体陽性反応を確認した。リアルタイム RT-PCR では、 S 分節をターゲットとしたプライマーを設計し、ウイルス RNA を使用して、One step RT-PCR kit を用いた SYBR Green アッセイを行い、JTCV に対する特異的な増幅を確認した。スタンダード RNA は、標的部位の PCR 産物を鋳型として *in vitro* transcription によって作製し、検出限界は約 10^4 copies/μL であった。[加藤博史、伊藤(高山)睦代、佐藤正明、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) 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

単純ヘルペスウイルス 1 型(herpes simplex virus-1)の ACV 耐性は、ウイルス性チミジンリン酸化酵素(TK)または DNA ポリメラーゼ(DNApol)遺伝子に変異が導入される事により獲得される。前年度、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(varicella-zoster virus、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)の、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 ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK クローンに関して、その薬剤耐性に関わることが示唆される遺伝子変異を同定した。本年度は HSV-1 BAC system により検出されたその変異を導入した組換えウイルスを作製し、薬剤感受性試験を行う事により、その変異が実際に ACV 耐性を誘導するか否かを解析した。親株及び HSV-1 F 株の変異導入組換え体を作製し、Vero 及び HEL 細胞での増殖能、TK 及び変異導入遺伝子のタンパク質発現及び ACV 感受性試験を行った。組換え体の増殖能及びタンパク質発現は、親株と変化はなかった。親株の組換え体は Vero 細胞において ACV 耐性を示した。一方、HSV-1 F 株の組換え体は Vero 細胞でははっきりとした耐性は示さなかったが、HEL 細胞において明らかな耐性を示した。以上のことから検出された変異は単独で ACV 耐性能を誘導することが明らかにされた。[山田壮一、原田志津子、藤井ひかる、福士秀悦、西條政幸]

2. ヒトサイトメガロウイルスに関する研究

1) 過去 30 年の日本人女性におけるヒトサイトメガロウイルスへの中和抗体保有率の変遷

日本国内では約 300 人に 1 人の出生児が胎内でヒトサイトメガロウイルス(human cytomegalovirus、HCMV)に経胎盤感染して出生し、そのうちの約 30%が先天性 HCMV 感染症を発症する。高力価の HCMV 中和抗体により HCMV 経胎盤感染を予防できる可能性が示されている。一方で HCMV-IgG 陽性率(EIA)が 100%に近い国の方が陽性率の低い国よりも先天性 HCMV 感染が多いという矛盾が指摘されている。また、HCMV-IgG 陽性率(EIA)が低い先進国でも先天性 HCMV 感染症の児は半数以上が HCMV 既感染女性から出生している。日本では社会環境の変化等により、成人 HCMV-IgG 陽性率は過去 30 年で約 100%から 70%へ低下しているが、これまで中和抗体保有率に関する報告はされていない。そこで先天性 HCMV 感染予防に重要とされる、高力価中和抗体保有率の変遷を明らかにするため、国立感染症研究所血清銀行の保管血清で、1980 年

～2015 年に採血された 20 歳～49 歳の国内女性、計 630 人分の EIA 法による HCMV-IgG 価および中和抗体価を測定した。IgG 陽性率は既報通り低下していたが、高力価中和抗体(100 倍と定義)の保有率は経年変化を認めなかった(対象全体に対する陽性率:44.0%)。IgG 陽性者中の高力価中和抗体保有率は、IgG 陽性率の低い近年の群で有意に高かった。高力価中和抗体保有率は、20 歳代から 40 歳代にかけて IgG 陽性率とともに上昇傾向であった。幼少期に初感染する割合が多かった古い年代群では、成人期まで中和抗体が高力価で持続する割合が低いことが示唆され、HCMV 感染の矛盾の一因と考えられた。[山田壮一、津田美穂子、藤井ひかる、福井良子、原田志津子、福士秀悦、西條政幸;稲垣拓哉(早稲田大学);柴村美帆(東京大学)]

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(2018 年度)

リケッチア症の強い地域特性を考慮し、本研究では、全国ブロックの横糸となる地方衛生研究所のリケッチア・レファレンスセンターを中心とした全国共通基盤の構築を目指している。本年度は、リケッチア・レファレンスセンターの活動として評価検討を行ってきた Duplex Real time PCR 系について公開し、既存の検査系とともにリケッチア関連実験室診断の体系化を実施した。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。遺伝子診断のスクリーニング系に関しては非特異的な偽陽性などの課題について情報が収集され、次の課題として検討を開始した。[安藤秀二;鈴木理恵(福島県衛生研究所);福田現(青森県環境保健センター);平良雅克(千葉県衛生研究所);新開敬行(東京都健康安全研究センター);赤地重宏(三重県保健環境研究所);名古屋真由美、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);戸梶彰彦(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);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 2018

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引続き実施した。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。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。[安藤秀二;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、前年度までのイノシシ、シカ、野ネズミに加え、伴侶動物であるイヌやネコ、マダニ等の材料を元に、リケッチアに加え、SFTS ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルスの検討を行った。[安藤秀二;桐野有美、岡林環樹、山本正悟(宮崎大学);好井健太朗(北海道大学)]

2. リケッチア症の基礎的研究

1) 日本紅斑熱リケッチア *R. japonica* 由来大腸菌組換えタンパク質の作製とその臨床応用

日本紅斑熱は *R. japonica* によって引き起こされる疾病である。この疾病の迅速な診断が必要である。その一環として、本研究では *R. japonica* 由来大腸菌組換えタンパク質を作製し、臨床応用を検討した。過去の文献から 3 つのタンパク質を候補として大腸

菌組換えタンパク質（groEL、partial-rOmpA、rOmpB）を作製した。これらのタンパク質を保有されている日本紅斑熱患者血清および非感染ボランティア血清を用いて反応させたところ、日本紅斑熱患者血清に有意な反応が見られなかった。本研究は他の *R. japonica* 由来タンパク質を候補として現在進行中である。［佐藤正明、小川基彦、安藤秀二、西條政幸］

2) ツツガムシの共生細菌に関する研究

つつが虫病は、ダニの一種・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。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限られている。日本国内の患者発生地域（3地域）および非発生地域（1地域）の計 4 地域で、ツツガムシ（幼虫）を採取し、16SrRNA 細菌叢解析を行ったところ、宿主のダニや昆虫に影響を与えることが知られている Wolbachia 属菌、つつが虫病リケッチアの複数の亜型、Rickettsia 属菌の遺伝子が検出された。［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）；野田伸司（鹿児島大）］

3) インドネシア・ボゴール市および周辺地域のダニや動物におけるリケッチア症の浸淫状況に関する分子疫学調査

ボゴール市は、農業や畜産業が盛んであり、山間部を中心に手つかずの自然が多く残されている。多くの人々が生活し、野生動物や家畜等も多く棲息しており、それに寄生するダニ等の節足動物も多い地域である。そこで、本研究では、ボゴール周辺地域のダニにおける病原細菌の分子疫学調査を行った。ボゴール地域で採取した、クリイロコイタマダニ（*Rhipicephalus sanguineus*）計 222 匹から DNA を抽出し、細菌 16s を標的としたユニバーサルプライマーを用いた PCR 法を行なった。172 検体が陽性となり、何らかの細菌が検出された。今後、16SrRNA 細菌叢解析により、検出された菌の型別を行う予定である。［小川基彦、西條政幸；Handayu Untary、Elok Puspita Rini、Agus Setiyono（Bogor Agricultural University Bogor、Indonesia）］

VII. コクシエラに関する基礎的研究

1. コクシエラに関する基礎的研究

病原体ゲノム情報のアーカイブ化を目的とし、国内分離株を収集し、それらの次世代シークエンサーを用いたゲノム解析を開始した。Q 熱コクシエラはバイオテロが想定される Select agent であることから、そのゲノム情報を蓄積することはバイオテロ対策にもつながることが期待される。［安藤秀二；安藤匡子（鹿児島大学）；小宮智義（北陸大学）；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

VIII. 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。肺炎クラミジアの動脈硬化病変から、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た。3つのクラミジアを同時に検出可能かつ特異的に型別可能であった。また、10~1 個のクラミジアの検出か可能であり、感度も十分であった。今後、臨床検体を使って、実用性つついても検討することが可能となった。［小川基彦、西條政幸］

レファレンス業務

1. 行政検査

1) 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

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、前木孝洋、谷口怜、池田真紀子、柴崎謙一、林昌宏、西條政幸］

2) SFTSに関する行政検査

4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、緒方もも子、西條政幸］

3) 狂犬病ウイルスの分与

狂犬病ウイルス検査の陽性抗原作製のため、ワクチン株であるHEP-Flury株を要望のあった大学および地方衛生研究所6施設に配布した。[伊藤(高山)睦代、佐藤正明、加藤博文、木下一美、西條政幸]

2. その他のレファレンス業務

1) アルボウイルス検査コントロールRNA配布

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

2) 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、前木孝洋、谷口怜、池田真紀子、柴崎謙一、林昌宏、西條政幸]

3) 感染症流行予測調査事業(日本脳炎)に係る業務

感染症流行予測調査事業(日本脳炎)に用いる標準血清および一次抗体を要望のあった地方衛生研究所に配付した。[林昌宏]

4) ヘルペスウイルス検査コントロールの配布

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。[福士秀悦、山田壮一、津田美穂子、福井良子、西條政幸]

5) リケッチアならびにクラミジアに関する検査業務

リケッチアならびにクラミジアに関する病原体診断と血清診断を、行政検査依頼以外にも、リケッチア症(つつが虫病、日本紅斑熱を含む紅斑熱群リケッチア症、発疹チフス群リケッチア症等輸入症例も含む)、オウム病、Q熱の疑い症例、また、不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を多数検討した。[安藤秀二]

6) 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]

7) 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]

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

2018年度は49ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、49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、柴崎健一、勝田菜穂子、伊藤(高山)睦代、中道一生、林昌宏、西條政幸]

2) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

2018度は、3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、加藤博文、林昌宏、山田壮一、木下一美、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41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、福士秀悦、福井良子、西條政幸]

4. 国際協力関係業務

1) JICA関連

JICAからの要請により、2018年6月12～27日の日程でエボラ出血熱流行があったコンゴ民主共和国・キンシャサに国際援助隊(感染症対策)隊員として派遣された。コンゴ民主共和国の国立生物医学研究所(INRB)にて、エボラ出血熱の検査室の実情把握、モバイルラボの検査結果の検証、鑑別診断の教授を行なった。

JICAからの要請により、2019年1月19日～24日の日程でナイジェリア国アブジャに派遣された。ナイジェリアCDC、British High Commission内Public Health England、JICAナイジェリア国事務所を訪問し、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計画案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。[吉河智城、福士秀悦、黒須剛、前木孝洋、下島昌幸、西條政幸]

2) 韓国 Center for Disease Control and Prevention (KCDC)より研修生の受け入れ

KCDCのHyeokjin Lee博士およびEunJu Lee博士を研修生として受入れ、アルボウイルスの診断技術について研修を実施した。さらにアジア太平洋地域における日本脳炎の流行状況について議論した。[林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、加藤文博、西條政幸]

3) 韓国 National Institute of Food and Drug Safety (NIFDS)より研修生の受け入れ

NIFDSのJiyoung Hong博士を研修生として受入れ、日本脳炎ワクチンの検定法について研修を実施した。さらに韓国と日本における日本脳炎ワクチンを取り巻く状況と検定法について議論した。[林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、加藤文博、西條政幸]

4) 台湾 Center for Disease Control and Prevention (台湾CDC)より研修生の受け入れ

台湾CDCのCheng-Fen Yang博士を研修生として受入れ、デングウイルスの遺伝子配列解析技術について研修を実施した。さらに台湾におけるデング熱の流行状況について議論した。[林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、加藤文博、西條政幸;稲嶺由羽、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)]

5) 第2回西太平洋地域日本脳炎予防促進専門家会議への出席

フィリピン(マニラ)の世界保健機構西太平洋地域本部(WPRO)で開催された第2回西太平洋地域日本脳炎予防促進専門家会議に臨時顧問として出席し西太平洋地域における日本脳炎の流行と日本脳炎ワクチンに係る科学的アドバイスを研究者の立場から提供し、情報交換を行った。本会議では特に(1)西太平洋地域の日本脳炎流行国における日本脳炎ワクチンの導入状況とその問題点および(2)WHO西太平洋地域における日本脳炎予防のタイムライン策定について議論された。また本会議ではさらに(3)「西太平洋地域における日本脳炎の予防促進を達成するための技術指針(案)」の見直しと改訂について議論された。[林昌宏]

6) 東南アジア・ジカウイルス対策技術研修会議への出席

タイ(パタヤ)で開催された東南アジア・ジカウイルス対策技術研修会議に出席し、東南アジア諸国におけるジカウイルス対策に資する技術指針(案)の作成について科学的アドバイスを研究者の立場から提供し、情報交換を行った。本会議では疫学、テーマごとにグループディスカッションが行われ、「東南アジアにおけるジカウイルス感染症対策のための技術指針(案)」がまとめられた。[前木孝洋、林昌宏]

7) 第9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に参加

韓国CDCで開催された第9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に参加した。本会議において日中韓は1)本会議の有用性を確認し、今後も引き続き情報交換と共同研究に活用することとし、2)日本脳炎ウイルス以外の節足動物媒介性ウイルスに起因する感染症についても着目することとした。さらに3)日中韓以外のWPRO各国の参加を歓迎し、4)日本脳炎ウイルス遺伝子型V型(JEV-GV)の再興とその中国および韓国における分布状況等、新たな課題について情報交換を行い、JEV-GVが域内において引き続き重要な検討課題であることを共有した[田島茂、林昌宏]

8) タイからの研究生受入

タイ王国コンケン大学から講師 Supranee Phanthanawiboonを研究協力者として受け入れ、共同してデングウイルスの研究を行なった。研究結果について第66回日本ウイルス学会学術集会において発表した。[黒須剛]

9) 欧州医薬品品質理事会による狂犬病ワクチン力価試験の代替法開発プロジェクト(BSP148)への参加

欧州医薬品品質理事会(EDQM)による狂犬病ワクチン力価試験の代替法開発プロジェクト(BSP148)に参加した。[伊藤(高山)睦代、佐藤正明、加藤博文、西條政幸]

10) 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

2018年9月にWHOで開催された第20回ACVVRにアドバイザーとして参画した。[西條政幸]

11) Global Health Security Action Group-Laboratory

Network（GHSAG-LN）会議への貢献

GHSAG-LN会議（2018年4月東京）を国立感染症研究所で開催した。2018年度の2回目のGHSAG-LN会議（2018年12月）にも参加した。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；森川茂（獣医科学部）］

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) Bui TT, Moi ML, Nabeshima T, Takemura T, Nguyen TT, Nguyen LN, Pham HTT, Nguyen TTT, Manh DH, Dumre SP, Mizukami S, Hirayama K, Tajima S, Le MTQ, Aoyagi K, Hasebe F, Morita K. A single amino acid substitution in the NS4B protein of Dengue virus confers enhanced virus growth and fitness in human cells in vitro through IFN-dependent host response. J Gen Virol 99(8):1044-1057, 2018

3) Demetria C, Smith I, Tan T, Villarico D, Simon EM, Centeno R, Tachedjian M, Taniguchi S, Shimojima M, Miranda NLJ, Miranda ME, Rondina MMR, Capistrano R, Tandoc A 3rd, Marsh G, Eagles D, Cruz R, Fukushi S. Reemergence of Reston ebolavirus in cynomolgus monkeys, the Philippines, 2015. Emerg Infect Dis 24(7):1285-1291, 2018

4) 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 (* These authors contributed equally to this work as first authors.)

5) 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, 2018 (*These authors contributed equally to this work as first authors.)

6) 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 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

7) Fujii H, Harada S, Yoshikawa T, Yamada S, Omura N, Shibamura M, Inagaki T, Kato H, Fukushi S, Saijo M. Differences in the likelihood of acyclovir resistance-associated mutations in the thymidine kinase genes of herpes simplex virus 1 and varicella-zoster virus. Antimicrob Agents Chemother 63(5):pii: e00017-19, 2019 (doi: 10.1128/AAC.00017-19, posted online 11 March 2019)

8) Fujita R, Kato F, Kobayashi D, Murota K, Takasaki T, Tajima S, Lim CK, Saijo M, Isawa H, Sawabe K. Persistent viruses in mosquito cultured cell line suppress multiplication of

flaviviruses. Heliyon 4(8):e00736, 2018

9) Gaowa, Wulantuya, Yin X, Guo S, Ding C, Cao M, Kawabata H, Sato K, Ando S, Fujita H, Kawamori F, Su H, Shimada M, Shimamura Y, Masuda S, Ohashi N. Spotted fever group Rickettsia in Inner Mongolia, China, 2015-2016. Emerg Infect Dis 24(11):2105-2107, 2018

10) 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

11) Hidaka Y, Lim CK, Takayama-Ito M, Park CH, Kimitsuki K, Shiwa N, Inoue KI, Itou T. Segmentation of the rabies virus genome. Virus Res 252:68-75, 2018

12) Hirosaki H, Maeda Y, Shimojima M, Maeda K, Iwata H, Takeyoshi M. Effects of soluble tumor necrosis factor (TNF) on antibody-dependent cellular cytotoxicity of therapeutic anti-TNF-α antibody. Immunol Invest 20:1-10, 2018

13) Hishiki T, Kato F, Nio Y, Watanabe S, Wen Tan NW, Yamane D, Miyazaki Y, Lin CC, Suzuki R, Tajima S, Lim CK, Saijo M, Hijikata M, Vasudevan SG, Takasaki T. Stearoyl-CoA desaturase-1 is required for flavivirus RNA replication. Antiviral Res 165:42-46, 2019

14) Inagaki T, Satoh M, Fujii H, Yamada S, Shibamura M, Yoshikawa T, Harada S, Takeyama H, Saijo M. Acyclovir sensitivity and neurovirulence of herpes simplex virus type 1 with amino acid substitutions in the viral thymidine kinase gene, which were detected in the patients with intractable herpes simplex encephalitis previously reported. Jpn J Infect Dis 71(5):343-349, 2018

15) Ishii J, Shishido-Hara Y, Kawamoto M, Fujiwara S, Imai Y, Nakamichi K, Kohara N. A punctate magnetic resonance imaging pattern in a patient with systemic lupus erythematosus is an early sign of progressive multifocal leukoencephalopathy: A clinicopathological study. Intern Med 57(18):2727-2734, 2018

16) 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 15:84, 2018

17) 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

18) 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

19) Kawamori F, Shimazu Y, Sato H, Monma N, Ikegaya A, Yamamoto S, Fujita H, Morita H, Tamaki Y, Su H, Shimada M, Takamoto N, Shimamura Y, Masuda S, Ando S, Ohashi N. Evaluation of diagnostic assay for Rickettsioses using duplex real-time PCR in multiple laboratories in Japan. Jpn J Infect Dis 71(4):267-273, 2018

20) Kimura T, Fukuma A, Shimojima M, Yamashita Y, Mizota F, Yamashita M, Otsuka Y, Kan M, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Ogata M, Kurosu T, Morikawa S, Saijo M, Shinomiya H. Seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus antibodies in humans and animals in Ehime prefecture, Japan, an endemic region of SFTS. J Infect Chemother 24(10):802-806, 2018

21) Kinoshita H, Nakamichi K, Lim CK, Takayama-Ito M, Wang L, Iizuka I, Kurane I, Saijo M. A loop-mediated isothermal amplification assay for

the detection and quantification of JC polyomavirus in cerebrospinal fluid: a diagnostic and clinical management tool and technique for progressive multifocal leukoencephalopathy. Virol J 15(1):136, 2018

22) Kitagawa Y, Sakai M, Shimojima M, Saijo M, Itoh M, Gotoh B. Nonstructural protein of severe fever with thrombocytopenia syndrome phlebovirus targets STAT2 and not STAT1 to inhibit type I interferon-stimulated JAK-STAT signaling. Microbes Infect 20(6):360-368, 2018

23) Kitani S, Yoshida M, Boonlucksanawong O, Panbangred W, Anuegoonpipat A, Kurosu T, Ikuta K, Igarashi Y, Nihira T. Cystargamide B, a cyclic lipodepsipeptide with protease inhibitory activity from Streptomyces sp. J Antibiot 71:662-666, 2018

24) Kumagai K, Cherilyn EA, Ando S, Engel JE, Hanada K. Both the N- and C- terminal regions of the Chlamydial inclusion protein D (IncD) are required for interaction with the pleckstrin homology domain of the ceramide transport protein CERT. Biochem Biophys Res Commun 505(4):1070-1076, 2018

25) Kyaw AK, Ngwe Tun MM, Nabeshima T, Buerano CC, Ando T, Inoue S, Hayasaka D, Lim CK, Saijo M, Thu HM, Thant KZ, Morita K. Japanese Encephalitis- and dengue-associated acute encephalitis syndrome cases in Myanmar. Am J Trop Med Hyg 100(3):643-646, 2019

26) Maeki T, Tajima S, Kyaw AK, Matsumoto F, Miura K, Yamashita A, Yoshikawa A, Negishi K, Noguchi Y, Tadokoro K, Abe K, Taruya J, Koh J, Ito H, Ikegaya A, Abe F, Wada M, Nishigata T, Ikeda M, Kato F, Taniguchi S, Nakayama E, Takasaki T, Morita K, Lim CK, Saijo M. Comparison of neutralizing antibody titers against Japanese encephalitis virus genotype V strain with those against genotype I and III strains in the sera of Japanese encephalitis patients in Japan in 2016. Jpn J Infect Dis 71(5):360-364, 2018

27) Matsui T, Kinoshita N, Maeki T, Kutsuna S, Nakamura K, Nakamoto T, Ishikane M, Tajima S, Kato F, Taniguchi S, Lim CK, Saijo M, Ohmagari N. Dengue virus type 2 infection in a traveler returning from Saudi Arabia to Japan. Jpn J Infec Dis 72(5):340-342, 2019

28) Matsumoto C, Shinohara N, Furuta RA, Tanishige N, Shimojima M, Matsubayashi K, Nagai T, Tsubaki K, Satake M. Investigation of antibody to severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) in blood samples donated in a SFTS-endemic area in Japan. Vox Sang 113(3):297-299, 2018

29) 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 92; pii: e00683-18, 2018

30) Miura T, Makino R, Yamada K, Matsuura M, Okumura M, Yamada S, Watanabe S, Inoue N. Differences in the effects of mutations in GP131, a guinea pig cytomegalovirus homologue of pentameric complex component UL130, on macrophage and epithelial cell infection. J Gen Virol 99(10):1425-1431, 2018

31) 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 Travel Med 25(1), 2018 (doi: 10. 1093/jtm/tax072)

32) Nguyen TTT, Tajima S, Ikeda M, Nguyen TT, Le THT, Pham TTH, Pham DQ, Le TQM, Maeki T, Taniguchi S, Kato F、Moi ML, Morita K, Lim CK, Saijo M, Hasebe F. Neutralization potency of sera from Vietnamese patients with Japanese encephalitis (JE) against genotypes I and V JE viruses. Jpn J Infec Dis 72(2):115-117, 2019

33) Nukuzuma S, Nukuzuma C, Kameoka M, Sugiura S,

Nakamichi K, Tasaki T, Hidaka K, Takegami T. Establishment of COS-JC cells persistently producing archetype JC polyomavirus. Microbiol Immunol 62(8):524-530, 2018

34) 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 24(8):597-601, 2018

35) Oh H, Shin J, Lee C, Ochiai M, Nojima K, Lim CK, Raut S, Lisovsky I, Williams S, Yoo K, Shin DY, Ato M, Ye Q, Han K, Lee C, Lee N, Hong JY, Jung K, Hung PV, Jeong J. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific. Osong Public Health Res Perspect 9(3) : 133-139, 2018

36) 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(3):229-233, 2018

37) 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

38) 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 495:1221-1226, 2018

39) Prow NA, Liu L, Nakayama E, Cooper TH, Yan K, Eldi P, Hazlewood JE, Tang B, Le TT, Setoh YX, Khromykh AA, Hobson-Peters J, Diener KR, Howley PM, Hayball JD, Suhrbier A. A vaccinia-based single vector construct multi-pathogen vaccine protects against both Zika and chikungunya viruses. Nat Commun 9(1):1230, 2018

40) Saasa N, Kajihara M, Dautu G, Mori-Kajihara A, Fukushi S, Sinkala Y, Morikawa S, Mweene A, Takada A, Yoshimatsu K, Arikawa J. Expression of a recombinant nucleocapsid protein of Rift Valley fever virus in Vero cells as an immunofluorescence antigen and its use for serosurveillance in traditional cattle herds in Zambia. Vector Borne Zoonotic Dis 8(5):273-277, 2018

41) Saijo M. Pathophysiology of severe fever with thrombocytopenia syndrome and development of specific antiviral therapy. J Infect Chemother 24(10):773-781, 2018

42) 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(5):1234-1244, 2018

43) Setoh YX, Peng NY, Nakayama E, Amarilla AA, Prow NA, Suhrbier A, Khromykh AA. Fatal brain infection is not a unique characteristic of Brazilian Zika viruses. Viruses 10(10):E541, 2018

44) 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 108(3):237-238, 2018

45) Shimada M, Takamoto N, Su H, Sasahara H, Shimamura Y, Ando S, Ohashi N. Predomination shift of different P44-expressing *Anaplasma phagocytophilum* in infected HL-60, THP-1, NB4, and RF/6A cell lines. Jpn J Infect Dis 72:73-80, 2019

46) Suda Y, Chamberlain J, Dowall S, Saijo M, Horimoto T, Hewson R, Shimojima M. The development of a novel diagnostic assay that uses a

pseudotyped vesicular stomatitis virus for the detection of neutralizing activity to Crimean-Congo haemorrhagic fever virus . Jpn J Infect Dis 71(3):205-208，2018

47) Suzuki T， Okamoto T、 Katoh H， Sugiyama Y， Kusakabe S， Tokunaga M、 Hirano J， Miyata Y， Fukuhara T， Ikawa M， Satoh T， Yoshio S， Suzuki R， Saijo M， Huang DCS， Kanto T， Akira S， Matsuura Y. Infection with flaviviruses requires BCLXL for cell survival . PLoS Pathog 14(9):e1007299，2018

48) Tadokoro K， Ohta Y， Sato K， Maeki T， Sasaki R， Takahashi Y， Shang J， Takemoto M， Hishikawa N， Yamashita T， Lim CK， Tajima S， Abe K. A Japanese encephalitis patient presenting with Parkinsonism with corresponding laterality of magnetic resonance and dopamine transporter imaging findings. Intern Med 57(15):2243-2246, 2018

49) Taira M， Ando S， Kawabata H， Fujita H， Kadosaka T, Sato H, Monma N, Ohashi N, Saijo M. Isolation and molecular detection of *Ehrlichia* species from ticks in western, central, and eastern Japan. Ticks Tick Borne Dis 10: 344-351，2019

50) Takayama-Ito M， Lim CK， Yamaguchi Y， Posadas-Herrera G， Kato H， Iizuka I， Islam MT， Morimoto K， Saijo M. Replication-incompetent rabies virus vector harboring glycoprotein gene of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) protects mice from LCMV challenge. PLoS Negl Trop Dis 12(4):e0006398，2018

51) Takeda M， Watanabe S， Katano H， Noguchi K， ato Y，Kojima S，Miura T，Majima R，Yamada S， Inoue N . Roles of GP33 , a guinea pig cytomegalovirus-encoded G protein-coupled receptor homolog， in cellular signaling， viral growth and inflammation in vitro and in vivo . PLoS Pathog 14(12):e1007487，2018

52) Tani H， Komeno T， Fukuma A， Fukushi S， Taniguchi S， Shimojima M， Uda A， Morikawa S， Nakajima N， Furuta Y， Saijo M. Therapeutic effects of favipiravir against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in a lethal mouse model: Dose-efficacy studies upon oral administration. PLoS One 13(10):e0206416，2018

53) Tohma D，Tajima S，Kato F，Sato H，Kakisaka M，Hishiki T，Kataoka M，Takeyama H，Lim CK，Aida Y， Saijo M. An estrogen antagonist， cyclofenil， has anti-dengue-virus activity . Arch Virol 164(1):225-234，2019

54) 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

55) Yamada S, Shimojima M， Narita R， Tsukamoto Y， Kato H， Saijo M， Fujita T. RIG-I-Like receptor and toll-Like receptor signaling pathways cause aberrant production of inflammatory cytokines/chemokines in a severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection mouse model. J Virol 92(13): e02246-17，2018

56) Yamagishi T， Kakimoto K， Doi I， Kawakami C， Shimada T， Matsui T， Oishi K， Saijo M. Transmission routes of the virus causing viral hemorrhagic fever: Extreme precautions are prudent but high-quality evidence must be gathered. Infect Control Hosp Epidemiol 40(5):608-609，2019

57) 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(2):e0192725，2018

2. 和文発表

1) 安藤秀二. マダニ媒介性の日本紅斑熱と紅斑熱群リケッチア症. 人と動物の共通感染症研究会ニューズレター 17: 9-12, 018

2) 安藤秀二. つつが虫病とは. 新薬と臨床 67(10): 1246-1250, 2018
3) 伊藤(高山)睦代. 医療(臓器移植・輸血)関連動物由来ウイルス感染症. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp226-231, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月
4) 稲垣拓也, 西條政幸. 報告されているアシクロビル治療抵抗性の HSV-1 脳炎患者で検出された HSV-1 チミジンキナーゼ遺伝子変異がアシクロビル耐性を誘導するかの検証. 臨床とウイルス 46(4):324-329, 2018
5) 林昌宏. 近年のジカウイルス感染症流行域の拡大. ウイルス 68(1):1-12, 2018
6) 林昌宏. 近年のダニ媒介脳炎の流行状況. バムサジャーナル 30(4):149-154, 2018
7) 林昌宏. 狂犬病ワクチン. ワクチン―基礎から臨床まで―, 日本ワクチン学会編, 朝倉書店, 223-231, 2018
8) 林昌宏. 世界における節足動物媒介性ウイルス(フラビウイルス)感染症の流行状況. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp15-20, 日本医事新報社, 東京, 2019 年
9) 江川和孝, 西條政幸. アジアにおけるオルソレオウイルス感染症. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp182-187, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月
10) 加藤博史. 日本国内に流行している節足動物媒介性ウイルス感染症. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp25-30, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月
11) 加納裕也, 井上裕康, 櫻井圭太, 吉田眞理, 三浦義治, 中道一生, 西條政幸, 湯浅浩之. 髄液 JC ウイルス(JCV)-DNA PCR 陰性で脳生検で診断した, 特発性 CD4 陽性リンパ球減少症が関連した進行性多巣性白質脳症の 1 例. 臨床神経学 58(12): 750-755, 2018
12) 木下一美. リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス感染症(胎内感染を含む). グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp189-192, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月
13) 黒須剛. フラビウイルス感染症に対するワクチン開発. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp260-264, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月
14) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の発見がもたらしたもの. バムサジャーナル 30(3):99-101, 2018
15) 西條政幸. 特集 知っておきたい蚊とマダニが媒介する身近な感染症 : (1) 蚊やマダニが媒介する感染症のなぜ目立つようになった？チャイルドヘルス 22(4):246-249, 2018
16) 西條政幸. 日本紅斑熱・ツツガムシ病. Medical Practice 36(臨時増刊): 268-271, 2019
17) 西條政幸. その他のウイルス感染症(6)SFTS. Medical Practice 36(臨時増刊): 333-336, 2019
18) 西條政幸, 安田二朗, 平山謙二. BSL-4 施設の重要性と世界への貢献. 最新医学 74(4):453-463, 2019
19) 西條政幸. SFTS, クリミア・コンゴ出血熱. 最新医学 74(4):483-489, 2019
20) 佐山勇輔, 新倉綾, 松本千惠子, 西條政幸, 松林圭, 永井正, 佐竹正博. シリアンハムスターにおけるヒトバベシア症原因原虫 Babesia microti (Kobe-type および US-type) の感染動態. 日本輸血細胞治療学会誌 64(2):355-355, 2018
21) 西條政幸. ジカウイルスと妊婦, 胎児. 日本産婦人科・新生児血液学会誌 27(2):49-55, 2018
22) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の最新知見. Medical Technology 46(7):622-623, 2018
23) 西條政幸. アルボウイルス感染症(特に重症熱性血小板減少症候群)に対する特異的治療法. 臨床と微生物 45(6):731-737, 2018
24) 西條政幸. ジカウイルス感染症に関する最近の話題. 感染症と消毒 25(1):79-82, 2018
25) 西條政幸, 木村宏, 錫谷達夫, 高梨さやか, 中島典子. 日本ウイルス学会における「適正な研究活動の実施のための行動規範」の制定. ウイルス 68(1):99-100, 2018
26) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)研究の話題. ウイルス 68(1):41-50, 2018
27) 西條政幸, 有川二郎, 倉根一郎. 第 12 回日中(中

日)国際ウイルス学会(2018 年 5 月 17-19 日, 武漢, 中国)開催報告. ウイルス 68(2): 169-172, 2018

28) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群の流行, 病態, および治療・予防法の開発. 臨床とウイルス 46(4):243-250, 2018

29) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群の疫学, 病態および特異的治療・予防法の開発. 臨床血液 59 (10):2255-2259, 2018

30) 西條政幸. 世界における新興・再興ウイルス感染症の流行状況. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp2-7, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

31) 西條政幸. ヒト由来ウイルス感染症と動物由来ウイルス感染症. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp8-14, 日本医事新報社[編:西條政幸], 東京, 2019 年 1 月

32) 西條政幸. 日本における新興・再興ウイルス感染症の検査体制. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp42-46, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

33) 西條政幸. クリミア・コンゴ出血熱. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp133-137, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

34) 西條政幸. ニパウイルス脳炎とヘンドラウイルス脳炎(ヘニパウイルス感染症). グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp193-196, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

35) 佐藤寛子, 村井博宜, 石田晋之介, 藤田博己, 安藤匡子, 安藤秀二. 秋田県のマダニ刺咬 3 症例における紅斑熱群リケッチア感染の検索. 衛生動物 69(2): 49-54, 2018

36) 佐藤(大久保)梢, 高野愛, 高娃, 安藤秀二, 川端寛樹. ダニ媒介性感染症-国内に常在する感染症を主に-. 衛生動物学会 MiniReview 集「シリーズ:ダニ研究の最前線とダニ媒介性感染症の可能性を探る」. 衛生動物 70(1): 3-14, 2019

37) 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

38) 下島昌幸. 世界における節足動物媒介性ウイルス(ブニヤウイルス)感染症の流行状況. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp21-24, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

39) 田島茂, 日本脳炎. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp226-231, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

40) 谷英樹, 西條政幸. 新興ウイルス感染症における抗ウイルス薬:ファビピラビル. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp248-253, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

41) 藤間大貴, 西條政幸. 黄熱. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp95-100, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

42) 中道一生, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症の原因と診断. 神経治療学 35(6): S131-S131, 2018

43) 中山絵里. チクングニアウイルス感染症. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp106-111, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

44) 福士秀悦. 中東呼吸器症候群(MERS). グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp170-176, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

45) 前木孝洋, 西條政幸. 感染性疾患の病理 2. 輸入感染症. 病理と臨床 36(増刊号):331-339, 2018

46) 前木孝洋. アメリカ大陸でのみ流行する蚊媒介性疾患. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp73-83, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

47) 吉河智城. サル痘ウイルス感染症およびその他のオルソポックスウイルス感染症. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp177-181, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

48) 山岸拓也, 加藤博史. 日本における SFTS 流行状況と今後の課題. グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp117-122, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

49) 山田壮一. 医療関連内在性ウイルス感染症(ヘルペスウイルス). グローバル時代のウイルス感染症[編:西條政幸], pp236-240, 日本医事新報社, 東京, 2019 年 1 月

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Yoshikawa T, Taniguchi S, Kato H, Fujii H, Shibamura M, Watanabe S, Egawa K, Inagaki T, Harada S, Kurosu T, Fukushi S, Shimojima M, Yamada S, Morikawa S, Saijo M. Protection of mice from a lethal challenge of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus by immunization with a novel recombinant LC16m8 expressing SFTS virus genes . 2018 XXII International Poxvirus, Asfavirus and Iridovirus Conference, Taipei, Taiwan, May 2018
2) Saijo M, Tani H, Shimojima M, Yoshikawa T, Kurosu T, Fukushi S. Pathophysiology of and treatment for severe fever with thrombocytopenia syndrome . 12th China-Japan International Conference of Virology, Wuhan, PR China, May 2018
3) Shimojima M, Taniguchi S, Ami Y, Nagata N, Fukushi S, Watanabe S, Tani H, Fukuma A, Iwata-Yoshikawa N, Saijo M. A non-human primate model for severe fever with thrombocytopenia syndrome . 12th China-Japan International Conference of Virology, Wuhan, PR China, May 2018
4) Lim CK. Imported cases of Zika virus disease and laboratory diagnosis in Japan. The 2nd Brazil-Japan Collaborative Research Workshop on Zika Virus, Tokyo, Japan, July 2018
5) Takahashi K, Miura Y, Shishido-Hara Y, Nakamichi K, Ae R, Mizusawa H, Yamada M. Three Japanese cases of fingolimod-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. 14th International Congress of Neuroimmunology, Brisbane, Australia, August 2018
6) Saijo M, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Ogata M, Shimojima M. Japan Disaster Relief (JDR) and collaborative activities of the Department of Virology 1, NIID, with the African counterparts such as Institut National de Recherche Biomedicale (INRB) , Kinshasa, the DRC . The 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative Project Reports, Taipei, Taiwan, September 2018
7) Shimojima M. Epidemiological study on severe fever with thrombocytopenia syndrome. The 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative Project Reports, Taipei, Taiwan, September 2018
8) Lim CK, Tajima S, Ikeda M, Inamine Y, Shibasaki K, Maeki T, Taniguchi S, Nakayama E, Azami NAM, Kato H, Kuroda M, Saijo M. Sequence analysis of dengue virus and chikunguna virus from imported cases . The 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative Project Reports, Taipei, Taiwan, September 2018
9) Lim CK. Sequence analysis of mosquito-borne virus from imported cases. The OIE Regional Workshop on Vector Borne Disease in the Asia-Pacific Region, Seoul, Korea, September 2018
10) Lim CK. Current Epidemics of Vector-borne Diseases in Japan. The 2018 National Arbovirus Surveillance Workshop, Dali, China, October 2018
11) Tajima S. The structural proteins region is involved in the high virulence of GV JEV Muar strain in mice. The 9th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Osong, Korea, 6, November 2018
12) Lim CK. Activities of WHO Global Specialized laboratory for JE in Japan . The 9th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Osong, Korea, November 2018
13) Lim CK. Vaccine program of Japanese Encephalitis in Japan. The 9th Informal Consultation on WHO Global Specialized and Regional Reference Japanese Encephalitis Laboratories in Western Pacific Region, Osong, Korea, November 2018

14) Lim CK. The Role of National Institute of Infectious Diseases, Japan. The NIID-NIFDS joint meeting on collaborative research for Japanese encephalitis vaccine, Osong, Korea, November 2018
15) Lim CK. Zika Vaccine Development in Japan. The NIID-NIFDS joint meeting on collaborative research for Japanese encephalitis vaccine, Osong, Korea, November 2018
16) Saijo M. Pathology of and development of antiviral therapy with favipiravir for severe fever with thrombocytopenia syndrome. The 8th International Conference for Emerging Infectious Diseases, Wuhan, PR China, October 2018
17) Saijo M. Japanese encephalitis virus. 10th International Global Virus Network Meeting: Eradication and Control of (Re)-Emerging viruses, Annecy, France, December 2018

2. 国内学会

1) 柴村美帆, 吉河智城, 山田壮一, 稲垣拓也, 藤井ひかる, 原田志津子, 水口雅, 岡明, 西條 政幸. ヒトサイトメガロウイルスワクチンに最適な膜糖蛋白質抗原複合体の検索. 第 121 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2018 年 4 月
2) 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 17 回狂犬病研究会, 東京, 2018 年 4 月
3) 金子政彦, 安川正貴, 東太地, 四宮博人, 下島昌幸, 西條政幸. 愛玩動物診療獣医師に発症した重症熱性血小板減少症候群. 第 93 回日本感染症学会学術講演会, 岡山, 2018 年 4 月
4) 金子政彦, 四宮博人, 下島昌幸, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群に合併した二次性血球貪食リンパ組織球増多症に対して HLH94 プロトコルを施行した症例. 第 93 回日本感染症学会学術講演会, 岡山, 2018 年 4 月
5) 西條政幸, 下島昌幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス感染が証明されたイヌに直接触れることにより SFTS を発症した患者例. 第 93 回日本感染症学会学術講演会, 岡山, 2018 年 4 月
6) 谷口怜, Moi Meng Ling, Muhammad Azami Nor Azila, 網康至, 須崎百合子, 永田典代, 岩田奈織子, 高崎智彦, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸. ジカウイルス感染モデルとしてのコモンマーモセットの有用性の評価. 第 65 回日本実験動物学会総会, 富山, 2018 年 5 月
7) 藤井ひかる, 谷英樹, 江川和孝, 谷口怜, 吉河智城, 林昌宏, 伊藤(高山)睦代, 前木孝洋, 黒須剛, 福士秀悦, 下島昌幸, 宇田晶彦, 森川茂, 西條政幸. ハートランドウイルス感染における感受性動物モデルの検証. 第 65 回日本実験動物学会総会, 富山, 2018 年 5 月
8) 藤田龍介, 江尻寛子, 林昌宏, 山内健生, 渡辺護, 野田伸一, 小林大介, 室田勝功, 伊澤晴彦, 沢辺京子. 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 の性状解析. 第 70 回日本衛生動物学会大会, 帯広, 2018 年 5 月
9) 伊澤晴彦, 江尻寛子, 林昌宏, 藤田龍介, 鍬田龍星, 小林大介, 佐々木年則, 林利彦, 小林睦生, 西條政幸, 前田健, 沢辺京子. 国内で捕集されたマダニから分離され新規フレボウイルスの性状. 第 70 回日本衛生動物学会大会, 帯広, 2018 年 5 月
10) 江下優樹, 和田雄治, 林田京子, 山岸潤也, 杉本千尋, 佐々木道仁, 大場靖子, 澤洋文, 飛弾野真也, 神山長慶, 小林隆志, 高崎智彦, 加藤文博, 田島茂, 倉根一郎, 林昌宏. 日本産ヒトスジシマカのジカウイルス媒介能. 第 70 回日本衛生動物学会大会, 帯広, 2018 年 5 月
11) 渡辺俊平, Glenn A Marsh, 黒須剛, 吉河智城, 福士秀悦, 加来義浩, 下島昌幸, 西條政幸. ニパウイルス流行株における転写・複製活性の比較解析. 第 33 回中国四国ウイルス研究会, 岡山, 2018 年 6 月
12) 前木孝洋, 田島茂, 池田真紀子, 加藤文博, 谷口怜, 中山絵里, 高崎智彦, 林昌宏, 西條政幸. 日本脳炎患者血清を用いた, 日本脳炎ウイルス V 型株に対する中和抗体価と I 型・III 型株に対する中和抗体価の比較. 第 53 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 栃

木, 2018 年 6 月

13) 加藤文博, 谷口伶, 前木孝洋, 田島茂, 西條政幸, 林昌宏. アジア型ジカウイルス感染性分子クローンの構築. 第 53 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 栃木, 2018 年 6 月

14) 前木孝洋, 高崎智彦, 林昌宏, 西條政幸. 日本脳炎患者血清を用いた, 抗日本脳炎ウイルス抗体の他のフラビウイルスへの交差反応の解析. 第 59 回日本臨床ウイルス学会学術集会, 大宮, 2018 年 6 月

15) 稲垣拓哉, 西條政幸. 報告されているアシクロビル治療抵抗性の HSV-1 脳炎患者で検出された HSV-1 チミジンキナーゼ遺伝子変異がアシクロビル耐性を誘導するかの検証. 第 59 回日本臨床ウイルス学会, 大宮, 2018 年 6 月

16) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群の流行, 病態, および治療・予防法の開発. 第 59 回臨床ウイルス学会, 大宮, 2018 年 6 月

17) 渡辺俊平, Glenn A Marsh, 黒須剛, 吉河智城, 福士秀悦, 加来義浩, 下島昌幸, 西條政幸. ミニゲノムを用いたニパウイルス, バングラディシュ株の転写・複製活性の解析. 第 161 回日本獣医学会, つくば, 2018 年 9 月

18) 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 の霊長類致死モデル. SFTS 研究会, 東京, 2018 年 9 月

19) 藤井ひかる, 谷英樹, 谷口怜, 吉河智城, 林昌宏, 伊藤(高山)睦代, 前木孝洋, 黒須剛, 福士秀悦, 下島昌幸, 宇田晶彦, 米納孝, 古田要介, 森川茂, 西條政幸. SFTSV および HRTV 感染におけるリバビリンおよびファビピラビルの抗ウイルス効果の比較(シンポジウム). SFTS 研究会, 東京, 2018 年 9 月

20) 末盛浩一郎, 東太一, 山中篤志, 姫路大輔, 川村昌史, 葉久貴司, 大毛宏喜, 谷口智宏, 今滝修, 高橋徹, 石田正之, 日高道弘, 金子正彦, 池田賢一, 上国料千夏, 垣花泰之, 石丸敏之, 竹中克斗, 下島昌幸, 河野茂, 西條政幸, 安川正貴. 重症熱性血小板減少症候群に対するファビピラビルの有効性と安全性の検討(シンポジウム). SFTS 研究会, 東京, 2018 年 9 月

21) 西條政幸. 日本において危惧される新興, 再興感染症(SFTS, ジカ, デングなど). フォーラム 2018 衛生薬学会, 佐世保, 2018 年 9 月

22) 前木孝洋, 田島茂, 池田真紀子, 加藤文博, 谷口怜, 中山絵里, 高崎智彦, 林昌宏, 西條政幸. 日本脳炎患者血清の, ウエストナイルウイルスおよびダニ媒介脳炎ウイルスへの交差反応の解析. 第 23 回日本神経感染症学会学術集会, 東京, 2018 年 10 月

23) 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, 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23回日本神経感染症学会 総会・学術大会, 東京, 2018 年 10 月

24) 稲垣拓哉, 藤井ひかる, 佐藤正明, 山田壮一, 吉河智城, 柴村美帆, 原田志津子, 竹山春子, 西條政幸. 報告されているアシクロビル治療抵抗性の HSV-1 脳炎患者で検出された HSV-1 チミジンキナーゼ遺伝子変異のアシクロビル耐性誘導能. 第 23 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 東京, 2018 年 10 月

25) 中道一生, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症が疑われた自己免疫疾患患者の脳脊髄液における JC ウイルスゲノム DNA の検出. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京都, 2018 年 10 月

26) 竹腰顕, 吉倉延亮, 小澤憲司, 大槻美佳, 中道一生, 西條政幸, 下畑享良. 経過中にバーリント症候群を呈し, 塩酸メフロキンとミルタザピンの併用療法により改善した進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京都, 2018 年 10 月

27) 松下隆司, 中村裕貴, 齊藤太郎, 津田玲子, 山本大輔, 松村晃寛, 鈴木秀一郎, 津田笑子, 久原真, 川又純, 菅原太郎, 杉田真太朗, 中道一生, 下濱俊. Arterial spin labeling が早期診断に貢献した進行性多巣性白質脳症の一例. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京都, 2018 年 10 月

28) 徳井啓介, 丹羽淳一, 林未久, 比嘉智子, 中道一生, 西條政幸, 道勇学. 成人 T 細胞白血病を背景に当初非典型的な頭部 MRI 所見を呈し, 脳生検にて診

断確定に至った進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京都, 2018 年 10 月

29) 田所功, 太田康之, 佐藤恒太, 前木孝洋, 佐々木諒, 高橋義秋, 商敬偉, 武本麻美, 菱川望, 山下徹, 田島茂, 林昌宏, 阿部康二. MRI・ドパミントランスポーター（DAT）イメージングでパーキンソニズムの左右差に合致した異常所見を認めた日本脳炎の一例. 第 23 回日本神経感染症学会学術集会, 東京, 2018 年 10 月

30) 西條政幸. シンポジウム：高病原性病原体による感染症（バイオテロを含む）の検査体制と備え. 第 67 回感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会同号学会, 東京, 2018 年 10 月

31) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群の疫学, 病態および特異的治療法・予防法の開発. 第 80 回日本血液学会学術集会, 大阪, 2018 年 10 月

32) Azami NAM, Moi ML, Ami Y, Suzaki Y, Lim CK, Taniguchi S, Saijo M, Takasaki T, Kurane I. Analysis of neutralizing antibody responses to DENV type 2 and viremia levels during DENV infection in a common marmoset model. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

33) Fujii H, Tani H, Egawa K, Taniguchi S, Yoshikawa T, Lim CK, Takayama-Ito M, Maeki T, Kurosu T, Fukushi S, Shimojima M, Uda A, Morikawa S, Saijo M. Establishment of an animal model of Heartland virus infection and evaluation of the efficacy of ribavirin and T-705 in vitro and in vivo. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

34) Fukushi S, Taniguchi S, Watanabe S, Kurosu T, Yoshikawa T, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. Re-emergence of Reston Ebola virus in Cynomolgus monkeys in the Philippines, 2015. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

35) Hishiki T, Kato F, Tajima S, Lim CK, Saijo M, Takasaki T. Development of zika virus transient replicon system expressing secretory luciferase. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

36) Kato F, Taniguchi S, Maeki T, Tajima S, Saijo M, Lim CK. Establishment of Asian lineage Zika virus infectious molecular clones. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

37) Kawai Y, Nakayama E, Kato F, Taniguchi S, Takahashi K, Suzuki T, Tajima S, Saijo M, Lim CK. Comparison of properties of different subtypes of Zika virus clinical isolates. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

38) Kawagishi T, Kanai Y, Sakai Y, Nouda R, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Nelson Bay reovirus σC body domain is associated with strain-specific differences in viral replication. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

39) Kimura M, Egawa K, Shimojima M, Fujii H, Yamada H, Tan L, Morikawa S, Saijo M, Tani H. Characterization of pseudotyped vesicular stomatitis virus bearing the Heartland virus envelope protein. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

40) Kurosu T, Okuzaki D, Fukushi S, Shimojima M, Phanathanawiboon S, Saijo M. Inflammation amplifier plays a critical role in severe dengue hemorrhagic fever. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

41) Matsui K, Tajima S, Lim CK, Kato F, Daibata M. Genome analysis of Japanese encephalitis virus isolation from swine at Kochi. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

42) Nouda R, Kawagishi T, Kanai Y, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Fusogenic bat-borne orthoreovirus p17 protein regulates viral replication in a host-specific manner. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

43) Nukuzuma S, Nukuzuma C, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Tasaki T, Hidaka K, Takegami T. Establishment of COS-JC cells persistently producing archetype JC polyomavirus. 第 66 回日本ウイルス学

会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

44) Ogawa M, Shirasago Y, Ando S, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Caffeic acid, a coffee-related organic acid, inhibits infection with severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

45) Park ES, Shimojima M, Yoshikawa T, Nagata N, Iwata N, Fukushi S, Watanabe S, Ami Y, Kurosu T, Maeda K, Imaoka K, Saijo M, Morikawa S. SFTS virus causes lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome in Cats. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

46) Phanthanawiboon S, Kurosu T, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Watanabe S, Suzuki T, Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Saijo M. Hematopathogenesis of chimeric dengue mouse model. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

47) Shimojima M, Onodera T, Takahashi Y, Sugimoto S, Fukushi S, Kurosu T, Yoshikawa T, Saijo M. Therapeutic effects of human monoclonal antibodies to SFTS virus. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

48) Tajima S, Kato F, Taniguchi S, Maeki T, Lim CK, Saijo M. Characterization of the Japanese encephalitis virus genotype V Muar strain. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

49) Tani H, Kimura M, Matsuoka R, Manabe T, Yamada H, Fujii H, Taniguchi S, Morikawa S, Saijo M. Activation of platelet derived growth factor receptor β in the severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

50) Taniguchi S, Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Tani H, Kato F, Maeki T, Tajima S, Lim CK, Morikawa S, Saijo M. Study of the role of untranslated regions of the S segment genome of lymphocytic choriomeningitis virus. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

51) Yamada S, Fujii H, Harada S, Yoshikawa T, Inagaki T, Shibamura M, Saijo M. Analysis of a novel acyclovir-resistance mechanism of a chimeric HSV-1 deleted with its thymidine kinase gene but inserted with VZV-TK gene. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

52) Yoshikawa T, Taniguchi S, Kato H, Fujii H, Shibamura M, Watanabe S, Egawa K, Inagaki T, Sugimoto S, Phanthanawiboon S, Harada S, Kurosu T, Fukushi S, Shimojima M, Yamada S, Morikawa S, Saijo M. Protection of mice from a lethal challenge with SFTS virus by immunization with a novel recombinant LC16m8 expressing SFTS virus genes. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

53) 佐藤正明, 稲垣拓哉, 藤井ひかる, 西條政幸. BAC システムで作製した組換えヒト単純ヘルペスウイルス I 型を用いた既報のアシクロビル耐性チミジンキナーゼ中のアミノ酸変異に対する検証. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

54) 原田志津子, 藤井ひかる, 山田壮一, 大村夏美, 稲垣拓哉, 加藤博史, 西條政幸. 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パターンの比較(Comparison of the mutation patterns in the thymidine kinase genes of acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 and varicella zoster virus). 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都, 2018 年 10 月

55) 西條政幸. 生物テロと天然痘ウイルス. 日本ウイルス学会・ICD 講習会, 京都, 2018 年 10 月

56) 下島昌幸. コンゴ民主共和国の国立生物医学研究所での検査体制とバイオセーフティ:シンポジウム「コンゴ民主共和国でのエボラ出血熱流行について」. 第 18 回日本バイオセーフティ学会学術集会, 東京, 2018 年 11 月

57) 西條政幸. 痘瘡ウイルスが用いられるバイオテロ対策(ワクチン・抗ウイルス薬)に関する国際動向. 日本バイオセーフティ学会, 東京, 2018 年 11 月

58) 伊藤(高山)睦代. 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いた新興再興感染症に対するワクチン開発. 第

18 回日本バイオセーフティ学会, 東京, 2018 年 11 月

59) 原田俊彦, 福士秀悦, 黒須剛, 吉河智城, 下島昌幸, 西條政幸. SFTS ウイルスの不活化方法の検討. 第 18 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 東京, 2018 年 11 月

60) 中道一生, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症の原因と診断. 第 36 回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018 年 11 月

61) 西條政幸. シンポジウム(ヘルペスウイルス感染症の重症化):免疫不全と薬剤耐性単純ヘルペスウイルス感染症. 第 50 回日本小児感染症学会, 福岡, 2019 年 11 月

62) 原田志津子, 藤井ひかる, 山田壮一, 西條政幸. 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アシクロビル耐性責任遺伝子変異の出現パターンの比較. 第41回日本分子生物学会, 横浜, 2018 年 11 月

63) 西條政幸. ダニ媒介性ウイルス感染症の実情. 市民公開講座「ダニ媒介性脳炎を考える」, 旭川, 2018 年 11 月

64) 加藤博史, 小林祐介, 西條政幸, 大石和徳. Epidemiological and Clinical Futures of SFTS in Japan. 第1回日中韓ワンヘルスシンポジウム, 東京, 2018 月 12 月

65) Saijo M. Pathology of and development of antiviral therapy with favipiravir for severe fever with thrombocytopenia syndrome. 第 1 回日中韓ワンヘルスシンポジウム, 東京, 2018 月 12 月

66) Taniguchi S. Evaluation of common marmoset as an animal model for Zika virus infection. The 12th

67) 西條政幸. 日本で重症熱性血小板減少症候群(SFTS)が流行していることが明らかにされてから 6 年:私たちが行ってきた SFTS に対する診断・治療・予防法研究. 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, 感染症研究のフロンティア, 2019 年 3 月, 東京(国立感染症研究所)

68) 西條政幸. 最近の重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の動向. 第 21 回バイオセーフティ技術認定研修会, 東京, 2019 年 3 月

２．ウイルス第二部

部長　　村松　正道

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、そ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、国際協力活動を担当としている。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、ロタワクチンを担当している。

第 1 室の機能のひとつとして、下痢症ウイルスに関連する基礎研究、レファレンス業務、サーベイランス業務等が挙げられる。下痢症ウイルスの代表的存在であるノロウイルスは、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た。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ている。第一室は「ノロウイルスレファレンスセンター」機能を有し、地方衛生研究所の協力を得ながら、ノロウイルスばかりでなく、サポウイルス、ロタウイルス等広範な下痢症ウイルスの検査法開発、検査精度維持などに尽力している。これに関連し、種々のウイルスの検出マニュアル作成・改訂を行う。特に、ロタウイルスの検出法では、従来よりも多種多様なウイルスを検出する系を開発し、貢献した。この系により、より正確にロタウイルスの流行状況を把握することができるようになった。

ワクチンの国家検定業務として、不活化ポリオワクチン、ロタウイルスワクチンを担当している。不活化ポリオワクチンのうち、弱毒型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、KM バイオロジクス株式会社（クアワトロバック皮下注シリンジ）から出検され、ラット免疫原性試験による力価試験を実施する。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）の国家検定試験として不活化試験を実施する。強毒株に由来するソークワクチンは、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）、および、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）があり、いずれも国家検定試験として D 抗原含量試験を実施する。ロタウイルスワクチンについては、GSK 社のロタリックス、MSD 社のロタテックの 2 種類の製剤があり、国家検定試験として、含有するロタウイルスワクチン株の力価試験を実施する。

不活化ポリオワクチンの国家検定業務に関連して、国内の品質管理法変更に向けた検討ばかりでなく、セービン株由来不活化ポリオワクチンの国際標準品制定、WHO ガイドライン改訂、他国における当該ワクチン開発など国際的な活動を行っている。

第２室は WHO 世界ポリオ根絶計画に参画している。WHO の指定をうけて、世界の特殊専門ラボとして、また西太平洋地域の指定ラボとして世界各地で分離されるポリオウイルスの性状解析を続けた。西太平洋地域では 2000 年以来ポリオフリーを維持してきた。西太平洋地域以外でも野生株ポリオ流行国は残り3ケ国となり、いよいよ世界的ポリオ根絶達成およびその後の OPV 接種停止が視野に入ってきている。一方、WHO 西太平洋地域でも、ワクチン接種率の低いハイリスク地域(ラオス、パプアニューギニア等)では、ワクチン由来ポリオウイルスの流行が発生しており、依然留意が必要とされる。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、ポリオウイルス・バイオリスク管理体制の整備を進めて

いる。JICA との共催により実施した第 28 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 9 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のレファレンス活動を継続し、2018 年 5 月から感染症法による全数報告対象疾患となった急性弛緩性麻痺症例の検査体制整備に向けた取り組みを進めた.

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芸能人を招き、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 4 件、 B 型肝炎ワクチン 30 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ている状態が続いている。肝炎ワクチンは動物を用いた力価試験を実施しているが, 試験管内力価試験への切り替えが望まれる。A 型肝炎ウイルスの研究では, 2018 年の A 型肝炎の流行状況の分子疫学的解析を行った。E 型肝炎ウイルスの研究では, 様々な遺伝子型の分子クローンを樹立し、動物モデルを確立するとともに、積極的疫学調査による流行状況の分子疫学的解析を行った。2018 年 12 月には A 型肝炎ウイルスおよび E 型肝炎ウイルスの検出マニュアルを改定し、公開した。

人事面では、昨年度、第二室の吉田和央研究員、Doan Hai Yen 研究員、第四室の鄭シン研究員が任期終了となった。 また、第一室に林豪士博士、第四室に若江亨祥博士、第五室には杉山隆一博士が、任期付研究員(主任研クラス)として着任した。7 月には第四室の鈴木亮介主任研究官が、第五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。

第一室

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

不活化ポリオワクチン製造に関する WHO ガイドライン更新作業

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。

[染谷雄一]

平成 30 年 11 月 20 日、21 日に台湾 CDC の黄楷超(Huang Kai-Chau)を受け入れ、下痢症ウイルスの検出法について研修

[村上耕介、岡智一郎、染谷雄一]

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。
[染谷雄一]

第二室

Dr. Laura Navika Yamani（インドネシア・アイルランガ大学）平成 30 年 10 月 1 日～平成 30 年 10 月 5 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

Dr. Cheng-Fen Yang (台湾 CDC) 平成 30 年 12 月 3 日～12 月 14 日、ポリオウイルスおよびエンテロウイルスの実験室診断研修

Dao Thi Hai Anh (ベトナム NIHE) 2019 年 2 月 17 日～2 月 23 日、エンテロウイルスの次世代シークエンス解析研修

第五室

張文靜. 中国山東省輸血研究所。＜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

Hui Li. 中国広東 CDC.平成 29 年 1 月～平成 31 年 1 月、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

Fangzhu Ouyang. 中国広東 CDC. 平成 29 年 1 月～平成 31 年 1 月、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

サーベイランス業務

第五室:

A 型肝炎	466 検体
E 型肝炎	91 検体

レファレンス業務

第一室:

ノロウイルスレファレンスセンター業務

ノロウイルス検出マニュアルの作成

AMED研究班（代表 木村博一、分担 調恒明）において作成中の「ノロウイルス検出マニュアル」について、意見交換し、援助を行った。
［村上耕介、染谷雄一］

衛生微生物技術協議会第 39 回研究会

ノロウイルスレファレンスセンター会議で、活動概要を説明し、ノロウイルス、サポウイルス、ロタウイルスに関する最近の知見を紹介した。
［村上耕介、藤井克樹、岡智一郎、染谷雄一］

品質管理に関する業務

Ⅰ. 不活化ポリオワクチンの品質管理に関する検討

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、および、参照不活化ポリオワクチン（セービン株）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、37℃および 50℃で加温劣化したワクチンの免疫原性をラットを用いて検討した。その結果、免疫原性は概ね残存する D 抗原量に応じていることが明らかとなった。
[染谷雄一]

業　績

調査・研究

I. 下痢症ウイルスに関する研究

1. ノロウイルスに関する研究

(1)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性状解析

ノロウイルス VLP を抗原に用い、ヒト由来ファージ抗体ライブラリーから、遺伝子型特異的、遺伝子群内交叉反応性、遺伝子群間交叉反応性のヒト型抗ノロウイルスファージ抗体を単離した。各抗体の性状解析を進めており、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するのに対し、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（藤田医科大学）、奥野良信（阪大微研）、黒澤良和（藤田医科大学）]

（2）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

実環境下のノロウイルス検出には、高い検出感度が要求される。外力支援近接場照明バイオセンサ（EFA-NI バイオセンサ）を用いた実環境下のノロウイルス VLP 検出を試みた結果、流行株 GII.4 遺伝子型 VLP の検出に成功した。EFA-NI バイオセンサは、磁性粒子と光信号用マーカーで検出対象をサンドイッチすることで「動く光点」を作り出し検出するバイオセンサであり、既存の手法に比べシグナルとノイズの区別が容易である。
[白土東子、安浦雅人（産総研）、守口匡子（藤田医科大学）、藤巻真（産総研）]

（3）ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ活性の細胞内測定系の構築

ノロウイルスの RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ（RdRp）の RNA 合成活性を哺乳類細胞内で見ることの出来る系を構築するため、RdRp の N 末端に FLAG-tag、或いは Myc-tag を融合させた蛋白質を発現、検出する系を構築した。今後この系を用いて RdRp の RNA 合成写活性を調べる。
［下池貴志、村松正道］

（4）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における胆汁酸の機能を解析したところ、抱合胆汁酸がオルガノイドにおけるエンドソーム酸性化を誘導すること、またエンドソーム酸性化を阻害剤で抑制することで GII.3 の増殖も抑制されることを見出した。このことから、GII.3 は感染の過程で胆汁酸誘導エンドソーム酸性化を利用することが示唆された。
［村上耕介；Tenge VR、Karandikar U、Lin SC、Estes MK（ベイラー医科大学）］

（5）中和抗体によるノロウイルス感染抑制評価系の検討

ノロウイルス感染を阻害する中和抗体を評価するため、オルガノイドを用いた評価系の検討を行った。ポジティブコントロールとして、ハムスターに GII.3 VLP を免疫して作製した抗血清を用いて検討を行ったところ、GII.3 感染が有意に抑制された。引き続き評価系の最適化を行うとともに、中和抗体のスクリーニングを実施する。
[村上耕介、林豪士、村松正道：橋香奈、小野寺大志、高橋宜聖 (免疫部)]

（6）腸管オルガノイド培養系を用いたヒトノロウイルス感染を制御する新規宿主因子の探索

未分化または分化した腸管オルガノイドにおけるヒトノロウイルス増殖および宿主の遺伝子発現を比較した。感染後 24 時間において分化誘導した細胞では、未分化細胞に比べ、有意なウイルス増殖が認められた。興味深いことに抗 RNA ウイルス活性を持つことが知られている IFITM3 などのインターフェロン誘導遺伝子(ISGs)が未分化状態で有意に上昇していた。よって、未分化の腸管オルガノイドにて IFITM3 などの ISGs が非感染時も構成的に発現し、ウイルス増殖の抑制因子として作用している可能性が示唆された。
［林豪士、村上耕介、村松正道］

（7）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 を組換えバキュロウイルスを感染させた昆虫細胞より調製した。高輝度光科学研究センターにおいて得られた三次元結晶の X 線結晶構造解析を行い、構造精密化を進めている。
［染谷雄一：長谷川和也、熊坂崇（高輝度光科学研究センター）］

（8）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 株の VLP を組換えバキュロウイルスを用いて昆虫細胞で調製した。理化学研究所において電子顕微鏡単粒子解析を実施し、精密な三次元立体構造を得た。

[染谷雄一、染谷友美（理化学研究所）]

（9）ノロウイルス VP1 タンパク質 P ドメインの X 線結晶構造解析

ノロウイルス GI 株の VP1 タンパク質に由来する P ドメインタンパク質を無細胞合成系により調製した。精製後、三次元結晶を得、X 線結晶構造解析により高解像度の立体構造を得た。

[染谷雄一、染谷友美（理化学研究所）]

2. サポウイルスに関する研究

（1）改良版サポウイルス核酸定量検出系の構築

2006 年以降に新たに見つかったサポウイルスを検出可能とするために、リアルタイム RT-PCR 系の改良版を構築し、サポウイルス陽性ヒト糞便を用いて、現在報告がある 18 遺伝子型すべてを検出可能であることを示した。

［岡智一郎、入谷展弘、山元誠司（大阪健康安全基盤研究所）、森功次（東京都健康安全研究センター）、小川知子（千葉県衛生研究所）、辰巳智香（島根県保健環境科学研究所）、柴田伸一郎（名古屋市衛生研究所）、原田誠也（熊本県保健環境科学研究所）、吳芳姿（台湾 CDC）］

（2）ヒトサポウイルス感受性細胞の検索

ウイルス不活化条件の検討、ウイルス感受性規定因子の検索への応用を目指し、ヒトサポウイルスの増殖が可能な培養細胞の検索を実施している。

［高木弘隆（バイオセーフティ管理室）、岡智一郎］

（3）サポウイルスリバースジェネティクス系の評価

ヒトサポウイルスゲノム cDNA を組み込んだ plasmid を培養細胞に導入し、細胞内でのウイルス非構造、構造タンパク質、ウイルスゲノム複製時に出現する二本鎖 RNA を検出した。安定的なウイルス遺伝子供給/発現ツールとしての有用性が期待される。

［岡智一郎、下池貴志］

3. 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）2017 年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、2017 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。砂川市立病院（砂川市）、滝川市立病院（滝川市）、留萌市立病院（留萌市）、NTT 東日本病院（札幌市）、札幌北辰病院（札幌市）、苫小牧市立病院（苫小牧市）、浦河赤十字病院（浦河町）、製鉄記念室蘭病院（室蘭市）、八雲総合病院（八雲町）、市立函館病院（函館市）の 10 か所から、それぞれ 25、8、7、7、1、5、1、3、5、1 検体（合計 63 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）］

（2）2017 年北海道のロタウイルス検体の NGS 解析

2017 年の 63 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 Wa-like G1P[8]が 1.6%、G2P[4]が 12.7%、equine- like G3P[8]が 61.9%、G8P[8]が 9.5%、G9P[8]が 7.9%、G12P[8]が 1.6%であり、equine-like G3P[8]が圧倒的優勢であった。3 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。地域別では砂川市立病院で 25 検体中 23 検体、および滝川市立病院では 8 検体全てが equine-like G3P[8]であった。

［藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）］

（3）2018 年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、2018 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。砂川市立病院（砂川市）、留萌市立病院（留萌市）、岩見沢市立総合病院（岩見沢市）、NTT 東

日本病院（札幌市）、札幌北辰病院（札幌市）、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）の8か所から、それぞれ4、9、9、8、5、18、9、2検体（合計64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）］

（4）2018年北海道のロタウイルス検体のNGS解析

2018年の64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G1P[8]-E2が48.4%、G2P[4]が23.4%、Human Typical G3P[8]が3.1%、equine-like G3P[8]が1.6%、G9P[8]-E1が12.5%、G9P[8]-E2が3.1%であった。5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。G1およびG9では、Wa型遺伝子型構成だがNSP4のみE2のリアソータントが検出された。G1P[8]-E2は留萌以外の7病院で検出されており北海道全域に流行していると考えられた。

［藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）］

（5）北海道のロタウイルス遺伝子の系統樹解析

2017年および2018年に検出された北海道のRVA株について、各遺伝子の系統樹解析を行った。その結果、2018年に検出されたNSP4リアソータントであるG1P[8]-E2およびG9P[8]-E2は、そのE2型NSP4遺伝子の由来が異なることが明らかとなった。G1P[8]-E2のVP7（G1）は国内では比較的稀なlineage 2であり、そのNSP4遺伝子の由来は東南アジアのG2P[4]株であった。一方、G9P[8]-E2のVP7（G9）はlineage 6であり、そのNSP4遺伝子の由来は日本国内のG2P[4]株であった。

［藤井克樹、津川毅（札幌医科大学）］

（6）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2017年および2018年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NGSによる全ゲノム解析を行った。2017年に検出された50検体のうちG2P[4]が40%、ヒトG3P[8]が8%、ウマ様G3P[8]が28%、G8P[8]が8%、G9P[8]が8%、混合感染が6%であった。2018年に検出された21検体のうちG2P[4]が9.5%、ウマ様G3P[8]が28.6%、G8P[8]が9.5%、G9P[8]が47.6%、混合感染が4.8%であった。

［藤井克樹：小田真悠子、宗村佳子（東京都健康安全研究センター）］

（7）東京都のロタウイルス遺伝子の系統樹解析

2017年および2018年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。G9P[8]型のウイルスは通常Wa型の遺伝子型構成であるが、2018年に検出されたG9P[8]型10検体のうち、6検体はNSP4遺伝子がE2型であり、inter-genogroup reassortmentを起こしていると考えられた。系統解析の結果から、このE2型NSP4遺伝子の由来は、同時期に国内で流行していたG2P[4]株であると考えられた。

［藤井克樹；小田真悠子、宗村佳子（東京都健康安全研究センター）］

（8）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、国内でも遺伝子型の判定に長く利用されてきたが、近年の流行株、特にウマ様G3株、G8株、G9株は非特異バンドが現れるなどの不具合から、誤判定されるケースがあることが判明している。これらの不都合を解消するため、G1、G2、ヒトG3、ウマ様G3、G4、G8、G9、およびG12型に対するプライマーセットを再設計し、各型のウイルス株を用いて正しく遺伝子型判定可能であることを実証した。

［藤井克樹、片山和彦（北里大学・北里生命科学研究所）］

（9）ロタウイルスのリアルタイムPCR用標準DNAの作製

複数の地方衛生研究所からの依頼を受けて、ロタウイルスのリアルタイム PCR 用の標準 DNA を作製した。多くのリアルタイム PCR 法でターゲットとされている A 群ロタウイルス（Wa 株）の NSP3 遺伝子、および C 群ロタウイルス（HO62 株）の VP7 遺伝子を、それぞれベクター（p-GEM-T Easy Vector System）に挿入し、大腸菌でプラスミドを増幅した。精製したプラスミド DNA を 4×10^10 copies/μL に調製し、リアルタイム PCR で適切に増幅されることを確認した後、分注して凍結保存した。これを地方衛生研究所からの依頼に応じて随時送付する体制を確立した。

［藤井克樹］

（10） 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。

[岩永史朗(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]

（11） Molecular evolution of rotavirus detected in Indonesia and Ghana

In collaboration with Kobe University and Tokyo Medical and Dental University, I have been continued to work on the AGE research in Indonesia and Ghana. In terms of rotavirus in Indonesia, the unusual G3 equine like rotavirus on a DS-1-like genetic backbone was found in Indonesia with 100% of detection rate during 2015-2017. In this year, we continued to analyze the rotavirus positive specimens detected during 2017-2018. We found that the equine-like strains were exclusively detected until May 2017, but in July 2017 they were completely replaced by a typical human genotype (G1 and G3), suggesting that the dynamic changes in RVA genotypes from equine-like G3 to typical human G1/G3 in Indonesia can occur even in the country with low RVA vaccine coverage rate. In Ghana, the G9P[4]-E6 DS-1-like rotavirus strains and G3P[6]-Bovine NSP2 DS-1-like rotavirus strains detected with high prevalence before 2016. However, we found the re-emergence of predominant typical G1P[8]/G1P[6] Wa-like strains from November 2016. The G1P[8] Wa-like strain is fully homotypic to Rotarix G1P[8] vaccine. In Ghana, the rotavirus vaccination coverage is high (estimated at 94% for 2016). And most of G1P[8]/G1P[6] Wa-like rotavirus-positive cases collected form children who received the full dose of Rotarix vaccine. Thus, an understanding of the genetic background of contemporary G1P[8]/G1P[6] Wa-like strains is necessary to determine the evidence of vaccine escape or the natural annual fluctuation in rotavirus strain prevalence.

岩永史朗(東京医科歯科大学)、勝二郁夫(神戸大学)、片山和彦 (北里大学)、清水博之、Yen Hal Doan]

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。2018 年度は、抗血清を 6 地衛研(25 種類)、細胞を 10 地衛研(20 種類)に配布した。
[吉田 弘、有田峰太郎、西村順裕、清水博之]

(2) 地方衛生研究所全国協議会中国四国支部内における信頼性確保に関する取組みについて
地方衛生研究所全国協議会中国・四国支部(H30 年度は鳥取県が担当県)と協力し、病原体検査時のトラブル予防のための技術管理研修について、レファレンスセンター連絡会議を活用して実施した。研修は、参加者間でブレインストーミング形式による要因分析を行い、その対策法を検討する机上演習とした。中国四国ブロックで初めて実施した研修であり、運営上の改善点も明らかになったが、費用対効果の点で、ブロック単位で十分に活用可能であると認められた。
[大友麗(鳥取県衛環研)、吉田弘]

(3) 地方衛生研究所全国協議会九州支部内における塩基配列解析データの信頼性確保に向けた取り組みについて
地方衛生研究所全国協議会九州支部(平成 30 年度は熊本市が担当)と協力し、病原体検査時の塩基配列解析結果の質確保を目的とした塩基配列解析装置の稼働状況ベースライン調査を実施、検査フロー改善のための技術管理研修の実証的研究を行った。検査担当者が参加するブレインストーミングを通じた要因分析を行い、問題点、解決法、検証法を討議することで検査法の標準化、質の管理の意義を学ぶ技術管理研修としてのモデルを示すことができた。
[松岡由美子(熊本市環総セ)、濱崎光宏(福岡県保環研)、吉田弘]

(4) 環境水サーベイランスで 2013-2016 年に検出されたエンテロウイルスの動向
わが国では輸入を想定したポリオウイルス検知のための環境水サーベイランスを 2013 年より開始している。今般 2013-2016 年の結果を解析した結果、①下水から分離されるウイルスは無菌性髄膜炎の原因となるエンテロウイルス B 群が主であること、②数か月にわたり検出される血清型があり、広い年齢層において不顕性感染によるウイルス伝播を示唆すること、③患者サーベイランスでは稀にしか報告されたことがない血清型が下水のみで分離される現象、等が明らかになった。4 年間で 2 回ポリオウイルスワクチン株が分離されており、今後とも監視体制を維持していく。
[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)、北川和寛(福島県衛研)、西澤佳奈子(長野県環保研)、堀田千恵美(千葉県衛研)
大沼正行(山梨県衛環研)、小澤広規(横浜市衛研)、板持雅恵(富山県衛研)、伊藤雅(愛知県衛研)、葛口剛(岐阜県保環研)、中田恵子(大安研)、中野守(奈良県保研セ)、濱島洋介(和歌山県環衛研セ)、三好龍也(堺市衛研)、磯田美穂子(岡山県環保セ)、諸石早苗(佐賀県衛薬セ)、吉冨秀亮(福岡県保環研)、吉田弘]

(5) 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 28 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9回目) を実施した。感染研での研修期間は 2019 年 1 月 21 日～2 月 8 日, 研修参加者は, アフガニスタンから 2 名、パキスタンから 2 名、ナイジェリアから 2 名、マレーシア 2 名、ベトナム 2 名の計 10 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]

2. WHO Global Specialized Polio Laboratory (GSL)としての活動
(1) 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 160 検体およびラオス 285 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 3 型 1 株が検出されたが、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]

（2） 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。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、2016-2018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。

[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)]

（3） パプアニューギニアにおける 1 型ワクチン由来ポリオウイルスの流行

パプアニューギニア（PNG）では、2000 年の WHO 西太平洋地域のポリオ根絶宣言以来、ポリオ流行は発生していなかった。2018 年 4 月 25 日に麻痺が発症した、モロベ州ラエの 6 歳児より、1 型 VDPV が検出された(VP1 領域で 14 塩基置換)。2019 年 1 月 7 日現在、PNG22 州のうち 9 州で 26 例の確定症例が確認され、最後の cVDPV1 症例の発症日は 2018 年 10 月 18 日であった。PNG における VDPV1 流行に対応し、流行地・ハイリスク地域における VDPV1 伝播を検出するため、環境サーベイランスを開始した。フィリピン RITM において、PNG 環境検体からのウイルス分離および型内鑑別試験を実施し、1 型ポリオウイルス分離株については、感染研で VP1 塩基配列解析を実施した。その結果、3 個所の検出サイトに由来する検体から、7 株の VDPV1 が検出された。

[吉田 弘、有田峰太郎、西村順裕、Doan Hai Yen、和田純子、清水博之、Mathias Bauri (Papua New Guinea), Bruce R. Thorley (VIDRL)、Lea Necitas G. Apostol (RITM)、Yoshihiro Takashima (WHO/WPRO)]

（4） 2018 年 6 月 27 日～29 日に、Hotel De Bilt-Utrecht (ユトレヒト、オランダ)で開催された WHO meeting of the Ad Hoc Small Working Group on Improving Polio Laboratory Diagnostics に参加し、世界ポリオ根絶最終段階における、世界ポリオ実験室ネットワークの現状と技術的課題について検討した。糞便検体からのポリオウイルス直接検出法の進捗、ポリオウイルス環境サーベイランスの標準化、等に関する技術的評価検討を行った。

[清水博之]

（5) 2018 年 11 月 6 日～8 日に、パスツール研究所 (パリ)で開催された WHO meeting of the Ad Hoc Small Working Group on Improving Polio Laboratory Diagnostics に参加し、糞便検体からのポリオウイルス直接検出法の進捗に関する技術的評価検討を行った。

[清水博之]

(6) 2018 年 10 月 15 日～16 日に、ロータリー本部 (エバンストン)で開催された The 22th Polio Research Committee Meeting に参加し、感染性ポリオウイルスを使わない抗体価測定法、貼る IPV 開発研究等ポリオ根絶計画に関連した国内研究の進捗報告を行った。

[清水博之]

（7） 2018 年 11 月 26 日～11 月 28 日に、ホーチミン・パスツール研究所において開催された、JICA 手足口病実験室診断技術研修会に参加し、5 カ所の省予防医療センタ

ーからの研修参加者(計 9 名)に対して、ポリオ、手足口病を含むエンテロウイルス感染症、および検査にかかわるバイオセーフティについての講義、およびエンテロウイルス遺伝子検査の実習を含む技術指導を実施した。
[Yen Hai Doan、清水博之]

(8) 2019 年 3 月 20-21 日に、パンパシフィック・ホテル (マニラ、フィリピン) において開催された The 8th meeting on vaccine-preventable diseases laboratory networks in the Western Pacific Region に参加し、WHO 西太平洋地域ポリオ実験室ネットワークの現状と今後の課題に関する発表・情報交換を行った。2018 年にパプアニューギニアで発生したワクチン由来ポリオウイルスによるポリオ流行等の経験を踏まえ、実験室における非常時・緊急時対応に関する検討がなされた。
[清水博之]

(9) 2019 年 3 月 12 日～15 日に、WHO EMRO 事務所(ヨルダン、アンマン)で開催された WHO meeting of the Ad Hoc Small Working Group on Improving Polio Laboratory Diagnostics に参加し、世界ポリオ根絶最終段階における、世界ポリオ実験室ネットワークの技術的課題について検討した。3 月 14 日～15 日に開催された Informal Consultation of the Global Polio Laboratory Network では、世界ポリオ根絶計画の現状と実験室ネットワークの技術的課題と将来計画についての検討が行われた。
[清水博之]

(10) 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 24th 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]

(11) 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]

12) 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]

3. WHO 西太平洋地域の 2018 年のポリオウイルス分離状況

2018 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 445 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、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。

2018-2019 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。

一方、パプアニューギニア（PNG）モロベ州の 6 歳児より、1 型 VDPV が検出され、その後、9 州で 26 例の確定症例が確認された。いまのところ、最後の cVDPV1 症例の発症日は 2018 年 10 月 18 日であった。PNG における VDPV1 伝播を検出するため、環境サーベイランスを開始した。フィリピン RITM において、PNG 環境検体からのウイルス分離および型内鑑別試験を実施し、1 型ポリオウイルス分離株は感染研で VP1 塩基配列解析を実施した。その結果、3 個所の下水採取サイトに由来する検体から、7 株の VDPV1 が検出された。

[清水博之、吉田弘、有田峰太郎、西村順裕、Doan Hai Yen、和田純子、脇田隆字]

4. 世界ポリオ根絶計画に関わる研究

(1) 2 型経口生ポリオウイルスワクチン接種に対する腸管免疫応答に関する解析

2価の経口生ポリオウイルス（1,3型）および新規2型不活化ポリオウイルスワクチンもしくは従来の不活化ポリオウイルスワクチン（1,2,3型）を接種後に、2型経口生ポリオウイルスワクチンを投与した子供の便中の中和抗体価を測定するための材料および方法論を提供した。その結果、新規2型不活化ポリオウイルスワクチンは、従来と比べて優れた腸管免疫を誘導しないことが示された。

[有田峰太郎、Peter F. Wright (Department of Pediatrics, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, USA)]

(2) 2 価の経口生ポリオウイルス（1,3 型）と不活化ワクチンを組み合わせた接種スケジュールの粘膜免疫への影響の解析

2価の経口生ポリオウイルス（1,3型）と不活化ワクチンを組み合わせた接種スケジュールの2型ポリオウイルスに対する粘膜免疫誘導を測定するための材料および方法論を提供した。結果、経口生ワクチンを組み入れた場合にのみ、便中に中和活性が検出された。不活化ワクチンの接種のみでは、2型ポリオウイルスに対する中和活性が便中に誘導されなかった。

[有田峰太郎、Peter F. Wright (Department of Pediatrics、Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, USA)]

(3) PI4KB ノックアウト細胞の作製

CRISPR/Cas9システムを利用して、ヒト由来RD細胞のPI4KB遺伝子をノックアウトした。この細胞では、ポリオウイルスの感染性は1/10,000以下に低下した。PI4KBをするプラスミドをこの細胞に発現させると、ポリオウイルスに対する感染性が回復した。また、抗ピコルナウイルス化合物MDL-860に耐性を示すPI4KB変異体を発現させると、この細胞でのポリオウイルス感染はMDL-860に耐性を示したことから、外来性に供給されたPI4KBがポリオウイルスの複製をレスキューできることが示された。

[有田峰太郎]

(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、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、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を実施した。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)の開発を進めた。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。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。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た。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・有効性評価試験を実施した。ラットおよびカニクイザル試験による有効性(中和抗体誘導能)を改善するため、sIPV-MN 製剤処方の至適化検討を進めた。。

[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]

5. 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。2018 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 93.9%、追加接種は 24 か月で 87.9%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。四種混ワクチン第 1 期初回 1 回目の累積接種率は、2017 年調査、2018 年調査のいずれも満 7 か月までに累積接種率が 98%を超えていた。追加接種については満 2 歳の累積接種率が 2017 年調査で 83.8%、2018 年調査では 86.6%であり、2018 年調査の値が有意に上回っていた。水痘ワクチン 2 回目接種を受ける際、その時点で未接種であった四混追加接種を併せて受けたために接種率が上昇したことが示唆された。

[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。予防接種法に基づく定期接種対象疾病に関するサーベイランス（感染症流行予測調査）により得られたデータを用いて解析を行った結果、5 歳未満児の 1 回以上接種率（接種歴不明者を除いて算出）は 2013 年度以降 98〜100%と高く、2015 年度以降はほとんどの者が不活化ポリオワクチンのみの被接種者であった。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。抗体保有率（中和抗体価 1:8 以上）についてみると、2015 年度以降はポリオウイルス 1〜3 型すべてに対して概ね 95%以上と高く維持されていた。[佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳（感染症疫学センター）、清水博之]

6. 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) SCARB2 遺伝子をノックアウトした RD 細胞の樹立

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。RD 細胞へのエンテ

ロウイルス71感染機構の解明のため、SCARB2遺伝子のノックアウトを CRISPR/Cas9 によって試みた。SCARB2 を標的とする CRISPR/Cas9 を RD 細胞にトランスフェクションし、クローン化した。SCARB2 のノックアウトはウエスタンブロッティングにより確認し、ノックアウト細胞株（RD-SCARB2-KO 細胞）を樹立した。

[西村順裕、清水博之]

(2) RD-SCARB2-KO 細胞へのヒト SCARB2 の安定発現

RD-SCARB2-KO 細胞の樹立の際に、CRISPR-Cas9 のオフターゲット効果によりエンテロウイルス 71 の複製が阻害された可能性を否定するために、ヒト SCARB2 遺伝子の再発現を試みた。EF1a プロモーター下流にヒト SCARB2 遺伝子と FLAG タグを組み込んだ発現プラスミドを RD-SCARB2-KO 細胞にトランスフェクションし、遺伝子導入された細胞を抗生物質で選択した。クローン化し、ヒト SCARB2-FLAG 蛋白質の発現をウエスタンブロッティングで確認し、RD-SCARB2-KO[+SCARB2]細胞を樹立した。

[西村順裕、清水博之]

(3) RD-SCARB2-KO 細胞におけるエンテロウイルス 71 感染性の解析

RD-SCARB2-KO 細胞にエンテロウイルス 71 を感染させ、ウイルス増殖を検討した。SCARB2 をノックアウトしたいずれのクローンにおいても、エンテロウイルス 71 は細胞変性効果を誘導しなかった。したがって SCARB2 のノックアウトが成功していることと、エンテロウイルス 71 の RD 細胞への感染においては SCARB2 が必須であることが確認された。

[西村順裕、清水博之]

(4) RD-SCARB2-KO 細胞へのマウス Scarb2 の安定発現

マウス Scarb2 分子がエンテロウイルス 71 の受容体として機能するかどうかを解析するために、RD-SCARB2-KO 細胞へのマウス Scarb2 の安定発現を試みた。EF1a プロモーター下流にマウス Scarb2 遺伝子と FLAG タグを組み込んだ発現プラスミドを RD-SCARB2-KO 細胞にトランスフェクションし、遺伝子導入された細胞を抗生物質で選択した。クローン化し、マウス Scarb2-FLAG 蛋白質の発現をウエスタンブロッティングで確認し、RD-SCARB2-KO[+mScarb2]細胞を樹立した。

[西村順裕、清水博之]

(5) マウス Scarb2 のエンテロウイルス 71 受容体機能の解析

RD-SCARB2-KO[+mScarb2]細胞細胞にエンテロウイルス 71 を感染させ、ウイルス増殖を検討した。エンテロウイルス 71 は RD-SCARB2-KO 細胞に細胞変性効果を誘導しなかったが、RD-SCARB2-KO[+mScarb2]では細胞変性効果を誘導した。したがってマウス Scarb2 はヒト SCARB2 に代替可能な機能的な受容体であることが明らかとなった。

[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た。EV-A71 分離株について、より詳細な分子疫学的解析を行い、さらに、EV-A71, CV-A16, CV-A6 以外の手足口病関連ウイルス(CV-A2, CV-A4, CV-A16 等)の検出動向を解析した。2017-2018 年の北部ベトナムにおける手足口病症例のうち、約 83%がエンテロウイルス陽性と判定された。2017 年における手足口病の主要な原因ウイルスは、CV-A6 および CV-A16 であり、EV-A71 の検出頻度(5.2%)は比較的低かった。いっぽう、2018 年における手足口病の主要な原因ウイルスは EV-A71(192/362, 約 53%)であった。2018 年に発生した手足口病流行では、5～6 月を中心に患者報告数が増加し、EV-A71 陽性手足口病症例は、他のエンテロウイルスによる手足口病症例と比較して、重症化(臨床症状グレード 2B, 3, 4)の頻度が高い傾向が認められた。VP1 領域に基づく分子疫学的解析によると、2017 年の EV-A71 株の多くの遺伝子型は subgenogroup B5 であったが、2018 年に検出された EV-A71 株の多くは、遺伝子型

subgenogroup C4であった。2014-2017年の北部ベトナムにおける主要なEV-A71遺伝子型はsubgenogroup B5であり、C4の検出頻度は低かったが、2018年に発生した手足口病流行ではsubgenogroup C4の再活性化が認められた。

[Tran Thi Nguyan Hoa、Nguyen Thi Hien Thanh (NIHE)、清水博之]

EV-D68感染マウスモデルの樹立とウイルス感染の解析

(7) エンテロウイルス71抗血清国際標準品樹立のための国際共同研究

手足口病重症例の主要な原因ウイルスは、EV71であることから、アジア諸国では現在、EV71ワクチン開発が積極的に進められている。臨床試験における有効性・安全性の結果を踏まえ、2015年12月、中国で、世界初の不活化エンテロウイルス71ワクチンが承認され、中国市場に導入された。不活化EV71ワクチンの品質管理およびEV71血清疫学解析の国際的標準化のために、EV71中和試験に用いるEV71抗血清国際標準品の樹立が必要とされている。そのため、The WHO collaborative study to establish the 1st International Standard for anti-EV71 serum に参加し、NIBSCから提供される13種類の抗血清(ヒトプール血清等)とEV71 C4 523株を用いたEV71中和抗体価測定を実施した。その結果、EV71抗血清国際標準品候補のうち、14/140が the 1st IS for anti-EV71 serum (Human)に選定された。

[Gill Cooper、Javier Martin (NIBSC)、清水博之]

(8) 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

EV-A71をモデルとして、*in silico*構造解析と実験を組み合わせたカプシドタンパク質構造・機能・変異研究の基盤を整備した。これを用いて、ウイルスの様々な性質を変えるVP1 145残基の変異の効果を構造レベルで解析し、145残基がEV-A71のカプシド構造制御の重要残基であることを見出した。VP1 145変異は、変異周辺の動的性質の変化(ゆらぎの変化)を誘導することがわかった。VP1 145変異は、変異箇所のみならず、カプシドを構成する他のタンパク質のゆらぎにも影響を与えた。近年のタンパク質科学の研究により、タンパク質のゆらぎは、分子間相互作用と機能発現に重要な働きをすることがわかってきている。本研究の結果は、VP1 145変異が、カプシドの種々の相互作用部位に影響しうることを示唆している。

VP1 145変異によりゆらぎの影響が見られた領域には、既知の機能部位(受容体結合部位)と交代エピトープが含まれていた。また、機能未知の領域もあった。いずれもVP1 145とは異なる場所であった。この結果より、VP1 145残基は、カプシド構造・機能のアロステリック制御を行う重要部位であると考えられる。

[小谷 治、佐藤裕徳 (感染症ゲノム解析センター)、清水博之]

(9) 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)、網康至 (動物管理室)、永田典代 (感染病理部)、清水博之]

(10) 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 年秋と 2018 年秋に急増したが、2015 年の 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。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]

(11) 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。AFP 症例に由来する便検体の病原体検査は、WHO を中心として進められている世界ポリオ根絶計画における標準的サーベイランスとして世界的に確立した手法であることから、ポリオウイルス検査体制も含めた世界的ポリオ AFP サーベイランスについて整理し、国内外の AFP サーベイランスに大きな齟齬が無いよう、「手引き」の内容に反映させた。

[多屋馨子、藤本嗣人(感染症疫学センター)、清水博之]

(12) Antiviral and cytotoxic activities of Fluoxetine against enterovirus D68

EV-D68 was first identified in 1962 from children with acute respiratory diseases. Before 2005, EV-D68 has been a rare cause of respiratory diseases. However, within the last decade, EV-D68 outbreaks have become more common worldwide. During these outbreaks, numerous children diagnosed with severe respiratory distress induced by EV-D68 infection also developed an acute flaccid myelitis (AFM)/paralysis similar to that caused by poliovirus, EV-70, and EV-71. There are currently no approved antiviral drugs for the treatment of diseases associated with EV-D68 infections. Our study aims to determine the antiviral and cytotoxic activities of Fluoxetine against EV-D68 in vitro experiment. We found that the Fluoxetine capable of inhibiting EV-D68 replication on RD cells.

[Doan Hai Yen、清水博之]

(13) 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。ヒト胎児横紋筋肉腫（RD-A 細胞）、グリア芽腫（U-87 細胞）、神経芽細胞腫（SH-SY5Y 細胞）

に Fermon 株（標準株）、Shimane, Akita (麻痺由来株、呼吸器感染症由来株)を感染させ増殖効率、細胞障害性について解析した。強い細胞障害性を示した細胞、ウイルスの組み合わせに CRISPR/Cas9 gRNA library を用い、EV-D68 感染後の生存細胞からシアル酸の生合成関連遺伝子等を同定した。SLC35A1 および SLC35A2-KO 細胞では、EV-D68 の増殖が顕著に抑制されたことから、シアル酸がウイルス感染に重要な役割を果たしていることが示された。本手法が EV-D68 の感染・増殖に必要な宿主因子の探索に有効なことが示された。今回作成した細胞株は呼吸器・神経系に病原性を有する他のウイルスの感染・増殖に必要な宿主因子の探索にも有用である。
[相崎英樹、渡士幸一、鈴木亮介、清水博之]

(14) 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)モデルを使用して手足口病の流行規模の大きさとヘルパンギーナの流行開始期を予測した。手足口病では、前年度に作製した 5 つの学習済みデータを用いて 2018 年の流行規模をリアルタイムで予測できた。2018 年は予測結果の通り、流行規模は中規模であった。またヘルパンギーナでも前年度に作製した学習済みデータを使用して、2018 年の流行の立ち上がりをリアルタイムで予測できた。2018 年は予測結果の通り、2015-2017 年よりも立ち上がりが遅かった。[吉田和央、清水博之]

(15) 免疫グロブリン(IVIG)製剤中の抗 EV-D68 中和抗体価抗体価の検討

日本で使用されている代表的 IVIG 製剤 9 種類を購入し、2010年～2015年に日本で分離された EV-D68 分離株 6 株に対する中和抗体価を測定した。CPE 発現を抑制するのに必要な IVIG 製剤希釈倍率により、各製剤の抗 EV-D68 中和活性を評価した。9 種類の IVIG 製剤は、いずれも、日本の EV-D68 分離株 6 株に対する中和抗体を有していた。すべての製剤は、1024 倍より高い希釈倍率で、EV-D68 中和活性を示したことから、高力価の EV-D68 中和抗体を含むことが明らかとなった。EV-D68 遺伝子型と中和活性に顕著な相関は認められなかった。また、海外および国内の血液に由来する IVIG 製剤間で、製剤中の中和抗体価および EV-D68 株間の中和活性の傾向に顕著な違いは認められなかった。
[吉田和央、清水博之]

(16) 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た。
[吉田和央、清水博之]

(17) 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]

7. 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 では、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。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。

[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 1450 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評価

糞便、咽頭拭い等の臨床検体、下水等の環境検体もバイオリスク管理の対象となることから、ポリオ・エンテロウイルス以外の腸管感染症の検査・研究施設、インフルエンザ等呼吸器感染症の検査・研究施設でもリスク評価に基づいた検体等の廃棄・管理が必要となる。そのため、広範な施設

における検体保有の実態とバイオリスク評価手法について検討を行った。環境検体、細菌検出あるいは腸内微生物叢解析のための糞便材料、およびインフルエンザウイルス等の検出を目的とした呼吸器検体等について、ポリオウイルス・バイオリスク評価を開始した。環境水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環境水検体のリスクアセスメントによると、Risk Group Levelは高くてもLevel 2 Low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-PIMガイダンスによる保有施設調査

2018年5月に、WHO-PIMガイダンス(Guidance for non-poliovirus facilities to minimize risk of sample collections potentially infectious for polioviruses)最終版が公開され、PIMガイダンスによる検体のリスクアセスメントに基づいたリスク低減策が求められる。WHO-PIMガイダンスに基づいた国内施設調査・報告が必要とされており、PIMガイダンスの内容を国内で周知することが重要となる。PIMガイダンスおよび関連資料の和訳版を作成し、異なる領域の専門家を対象としたPIM保有施設予備調査を実施した。予備調査で得られたコメントを反映し、PIMガイダンスおよび関連資料和訳版の改定を進めた。

[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]

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型肝炎症例におけるHAV RNA測定に関する検討

2018年は国内都市部において性的接触によるA型肝炎が流行し，その中に遷延例や再上昇をきたす症例もみられた. これらの症例のHAV RNAの変動を検討するためリアルタイム PCR によるウイルス定量系の構築を行った.HAV遺伝子の保存性の高い領域400bpをPCRにて増幅し，得られた PCR 産物をベクターに挿入しクローニングを行った.そのうちコンセンサス配列のクローンを選択し，その配列から分子量を計算し HAV RNA のリアルタイム PCR 用のスタンダード RNA を作成した.さらに臨床検体においてリアルタイムPCRによるHAV RNA測定が可能であることを確認した.

[山田典栄:渡邊綱正(聖マリアンナ医科大学)、加藤孝宣]

(2) 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. 2018 年のA型肝炎報告数は 925 件で、約半数に当たる 449 検体の遺伝子解析を行った。その内訳は遺伝子型IA 97.6%(うちRIVM-HAV16-090株: 89.7%、2017年流行株: 6.4%)、IB型0.9%、IIIA型1.6%、IIIB型0%であった。流行の原因は2015年から台湾、EUのMSM間で流行したRIVM-HAV16-090 株であった。患者の多くが都市圏に集中し、男性の割合が例年の 60%程度から 90%に増加していた。また、同性間性的接触の報告も多いことから、日本でも MSM が A 型肝炎流行のハイリスク群であることが示された。

［清原知子、杉山隆一、鈴木亮介、村松正道］

(3) レポーター遺伝子を持つ HAV の in vitro 増殖評価系

ウイルスゲノム中にルシフェラーゼ遺伝子が挿入されたHAVをヒト肝臓由来細胞に感染させ、細胞内のルシフェラーゼ活性が継時的に上昇し、さらにその活性はHAV特異的な血清で抑制される事を確認した。ウイルスの増殖をレポーター活性を指標にしたハイスループットの解析が可能となる事から、この系はHAVの増殖を標的とした低分子化合物や、中和抗体のスクリーニング等に有用であると考えられた。

［鈴木亮介:結城(平井)明香(動物管理室)、山根大典(東京都医学総合研究所)、村松正道］

2．B型肝炎ウイルス(HBV)に関する研究

(1) B型急性肝炎症例の HBs 抗原陽性持続期間の検討

B 型急性肝炎(AH-B) 163 例の AH-B 発症後の HBs 抗原の持続期間について検討を行った. 全症例での HBs 抗原陽性持続期間は平均 4.0 ヶ月であり, Genotype(GT)別では GTA（84 例）; 5.0 ヶ月, GTB（21 例）; 3.2 ヶ月, GTC（58 例）; 3.2 ヶ月であった. GTA の 84 例と GTB および GTC を Non-GTA とした 79 例で HBs 抗原陽性期間を Kaplan-Meier 法により検討したところ, GTA では Non-GTA と比較し, 有意に HBs 抗原陽性期間が長かった. 発症から 6 ヶ月以上 HBs 抗原が陽性であった症例の割合は GTA では Non-GTA と比較し有意に高く, さらに 12 ヶ月以上 HBs 抗原陽性が持続した症例は GTA で 5 例(6.0%), Non-GTA で 3 例(3.8%)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]

(2) IFN-λ3 が HBV 蛋白合成に与える影響についての検討

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 ゲノムを持つ複製コンストラクトを HepG2 細胞に導入し, IFN-λ3, IFN-α を添加後, 培養上清と細胞内の HBsAg および HBcrAg を測定した. その結果, 投与した IFN-λ3 の濃度依存的に HBsAg, HBcrAg の産生量が低下していた. IFN-λ3; 10ng/mL 投与により観察された HBsAg, HBcrAg の産生抑制は IFN-α; 1000IU/mL 投与による産生抑制と同様であり, ほぼ同程度の抗 HBV 作用を有していると考えられた.

[山田典栄:村田一素(国際医療福祉大学)、加藤孝宣]

(3) IFN-λ3 が HBV 感染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 細胞由来の HBV を感染させ, その後 IFN-λ3 を添加することで HBV 感染に対する IFN-λ3 の抗ウイルス活性を評価した. その結果, IFN-λ3 ; 10ng/mL を投与することにより HBc 抗原陽性細胞数の著明な減少が観察された. また感染後の HBsAg および HBcrAg の産生量も低下していた. さらに IFN-λ3 による HBV 感染阻害作用は NanoLuc 遺伝子をもつレポーターHBV（HBV/NL）を用いた検討においても確認された.

[山田典栄:村田一素(国際医療福祉大学)、加藤孝宣]

(4) IFN-λ3 が HBVcccDNA 合成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, その後 IFN-λ3, IFN-α を添加した. 12 日間培養後, 感染細胞中の cccDNA を Hirt 法で抽出し RTD-PCR で測定した. 合成された cccDNA 量は IFN-λ3 濃度依存的に低下し, IFN-λ3; 10ng/mL 投与では IFN-α; 1000IU/mL 投与とほぼ同程度の cccDNA 合成抑制が観察された.

[山田典栄:村田一素(国際医療福祉大学)、加藤孝宣]

(5) IFN-λ3 が HBV ライフサイクルに与える影響についての検討

IFN-λ3 による抗 HBV 活性の作用機序について検討を行った. HBV 複製コンストラクトを HepG2 細胞に導入後, IFN-λ3 を投与し, 細胞内 pregenome RNA 量を測定した. その結果 pregenome RNA 量の低下が認められ, IFN-λ3 は HBV タンパク質の産生を RNA 転写レベルで阻害していると考えられた.さらに同様の系を用いて細胞内の Core 蛋白質結合 HBV DNA 量を測定したところ, IFN-λ3 濃度依存的な低下を認め, 新規ウイルス粒子の産生も抑制されていると考えられた.

[山田典栄:村田一素(国際医療福祉大学)、加藤孝宣]

(6) 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 細胞に IFN-λ3, IFN-α を投与することにより誘導される ISG の評価を行った.また HBV 複製コンストラクトを導入した HepG2 細胞についても同様の検討を行った. IFN-λ3, IFN-α の投与によりいくつかの ISG の強い誘導が認められたが, これらの IFN で誘導される ISG はほぼ同様であり, 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 複製コンストラ

クトの導入により影響を受けなかった. また, 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ことが確認された. 以上の結果から, IFN-λ3 は IFN-α と同様の作用により抗 HBV 活性を発揮していると考えられた.

[山田典栄:村田一素(国際医療福祉大学)、加藤孝宣]

(7) HBV 遺伝子型 B 株の複製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 遺伝子型 B 株の複製コンストラクト導入により効率的な感染性ウイルス粒子の産生が可能なウイルス株の探索を行った. HBV 遺伝子型 B 株に感染している様々な病態の患者血清を用いて HBV 複製コンストラクトを作製した. HBe 抗原陽性の B 型急性肝炎(AH-B)症例3例(Ba 株;1例, Bj 株;2 例), B 型慢性肝炎症例 1 例(Bj)の患者血清を用いた. AH-B 症例由来の HBV 株ではいずれも特徴的な変異は認めなかったが, CH-B 症例由来の HBV 株では *a* determinant 領域にワクチンエスケープ変異として知られている T126A の変異が検出された. これらの配列をもとに 1.38 倍長の HBV 複製コンストラクトを構築し HepG2 細胞に導入後, 得られた培養上清を HBV 感染感受性 HepG2-NTCP 細胞に感染させ感染細胞数の評価を行った. その結果, AH-B の Ba 株ではわずかな感染が観察できたが, いずれの HBV 株でも既存の遺伝子型 Bj 株や遺伝子型 C 株を上回る感染効率は確認できなかった.

[山田典栄、村山麻子、大崎由喜、加藤孝宣]

(8) HBV Core 領域 I97L 変異が HBV 感染に与える影響についての検討

HBV Core 領域 I97L 変異は HBe 抗原陰性化後の B 型慢性肝炎患者において HBV DNA の低下と HBsAg の陰性化に関与することが報告されている. その機序を明らかにするため HBV 感染系を用いて検討を行った. HBV 遺伝子型 C 株の I97 野生型と I97L 変異型の 1.38 倍長の HBV 複製コンストラクトを構築し HepG2 細胞に導入した. 得られた培養上清を密度勾配超遠心で精製した後, 得られたウイルスの感染力価について検討を行った. その結果, I97L 変異を持つウイルス株では感染性の低下が認められた. そこで, 感染性が確認された複数の密度勾配超遠心の分画から DNA を抽出し, サザンブロット法により解析を行った. その結果, I97L 変異型では I97 野生型と比較し, single-stranded DNA (SS)が relaxed circular DNA (RC)よりもより多く検出され, I97L 変異による感染性の低下は不完全二本鎖 DNA 合成が低下していることによるものと考えられた.

[山田典栄:本多隆(名古屋大学)、加藤孝宣]

(9) 細胞培養における高感染性 HBV の産生

細胞培養での HBV 感染実験には, HepG2.2.15 または HepAD38 といった HBV 恒常発現細胞由来のウイルスが使用されている. 一方で HBV プラスミドの一過性導入によって得られたウイルスは, 細胞培養における感染効率が低い. そこで, 細胞培養における HBV の感染効率を高める特定のゲノム変異を同定し, その変異を導入した変異ウイルス(HBV-mut)を作製した. HBV-mut プラスミド導入細胞から得られた変異ウイルスは, HBV-wt プラスミド導入により得られたウイルスと比較して, HepG2-NTCP 細胞により効率的に感染することができた.

[村山麻子、大崎由喜、加藤孝宣]

(10) 細胞培養における高感染性 HBV の作用点の解析

プラスミドの一過性導入でも高感染性 HBV の産生が可能な HBV 変異株の感染増強機序について検討を行った. その結果, この HBV 変異株では HepG2-NTCP 細胞表面への結合効率が増強されていることが明らかとなった. この高感染性 HBV 変異株の感染は HBIG および preS1 ペプチドの処理によって通常の HBV 株と同様に阻害されることが明らかになり, この HBV 変異株を用いた感染系は抗 HBV 薬のスクリーニング等に使用可能と考えられた.

(村山麻子、大崎由喜、加藤孝宣)

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

各種遺伝子型の HBV 複製モデルに NK 細胞によるアポ

トーシス刺激を加えることでアポトーシスを誘導し， HBV の遺伝子型が免疫細胞により誘導されるアポトーシスに与える影響の評価を行った. HBV 各種遺伝子型の複製プラスミドを導入した HepG2 細胞に NK 細胞を加えたところ, HBV 遺伝子型 A 株が複製している細胞では遺伝子型 B,C 株の細胞と比較してアポトーシス感受性が低下していた. さらに TNF を培養上清中に加えることで誘導されるアポトーシスについても同様の結果が得られた. これらのアポトーシス感受性に与える影響の差は,HBV 株が得られた症例の臨床像と関連していると考えられた.

[椎名正明（新百合ヶ丘総合病院）、山田典栄、加藤孝宣]

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

HBV 遺伝子型 A 株によるアポトーシス感受性の低下に関わる宿主因子の同定のため, アポトーシスの誘導に関わるカスパーゼの活性化について検討を行なった. その結果, TNF の刺激による Caspase 3/7, Caspase 8, Caspase 9 の活性上昇は, 遺伝子型 A 株導入細胞では遺伝子型 B, C 株導入細胞と比較して低値を示し,遺伝子型 A 株導入細胞では Caspase 8 の活性化が抑制されていると考えられた.

[椎名正明（新百合ヶ丘総合病院）、山田典栄、加藤孝宣]

(13) ワクチンエスケープ変異株の評価が可能な HBV 感染系の構築

HBs の *a* determinant 領域は抗原性が高い領域であり, この中のいくつかの変異は HB ワクチンにより誘導された抗体により感染中和が不能なワクチンエスケープ変異として知られている. しかしこれらのワクチンエスケープ変異は HB ポリメラーゼにも影響を与えるため, HepG2-NTCP 細胞への感染が確認できない. そこで HBs 抗原領域と HB ポリメラーゼが別々のプラスミドから供給される HBV レポーターウイルス（HBV/NL）を用いてワクチンエスケープ変異の評価が可能な感染系を構築した. ワクチンエスケープ変異を持つ HBV/NL の感染は HB ワクチンにより誘導された抗体による感染阻害が観察されなかった.

[加藤孝宣、村山麻子、山田典栄、大﨑由喜]

(14) HBV 陽性パネル検体の HBV 配列解析

HBV 陽性検体パネル用に日本赤十字社から供与された 15 本の HBV 陽性検体から HBV DNA を分離し遺伝子型の同定とゲノム配列の確認を行った.HBV 遺伝子型の同定は, preS1 領域を PCR にて増幅し各々の遺伝子型特異的プローブとのハイブリダイゼーション反応で検出する HBV 遺伝子型判定キットにより行い, さらに HBV ゲノムを PCR で増幅し, その配列を解析することにより確認した. HBV 遺伝子型判定キットでは 15 検体中, 遺伝子型 A;2 検体, B;1 検体, C;10 検体, B+C;1 検体, 判定不能;1 検体と判定された.15 検体中 8 例で HBV 全長の配列が確認できた. 遺伝子型判定キットで, B+C と判定された検体は HBV 全長の配列解析では遺伝子型 C であったが, その他の検体では遺伝子型が一致していた.

[山田典栄、大﨑由喜、加藤孝宣]

(15) HBs 抗原測定用体外診断薬の評価のための FLAG 付加 HBs 蛋白質の発現と解析

HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価のために定量可能な HBs 蛋白質の作製を試みた. 精製のために FLAG タグを付加した様々なウイルス株の HBs 蛋白質を培養細胞で発現させ, 細胞培養液に含まれる HBs 蛋白質の HBs 抗原量測定し, 同時に FLAG 付加蛋白質を ELISA で定量した. 定量のために付加した FLAG タグは HBs 蛋白質の分泌を阻害せず, FLAG ELISA によって定量可能であったが, ELISA の定量感度が充分ではなかった.

[村山麻子、加藤孝宣:百瀬暖佳、浜口功（血液・安全性研究部）]

(16) Analyzing the mechanism of HBx-mRNA degradation as a new anti-viral mechanismHepatitis B virus (HBV)

-x protein is a transcriptional regulator required for the HBV life cycle. HBx also induces complications in the host such as hepatocellular carcinoma. We previously

showed that HBx mRNA is degraded by the Ski2/RNA exosome complex. We found that this system is regulated through the control of Ski2 expression. 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. Interestingly, HBx also significantly induced Ski2 expression. 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.
[Hussein H Aly、Takanobu Kato]

(17) Identifying the host factors required for HBV-cccDNA formationHBV-cccDNA remains in the liver and leads to a relapse after HBV replication targeting drugs are discontinued. We aim to analyze the mechanism by which HBV-cccDNA is formed, and try to develop drugs targeting this mechanism. By siRNA screening, we previously identified a host polymerase that affect HBV-DNA titer in HepAD38.7 cells. Further analysis identified its effect on HBV-cccDNA titer. These data were confirmed by analyzing HBV-cccDNA formation after infection in HepG2-NTCP cells. In-vitro cccDNA formation assay also pointed out to the formation of HBV-cccDNA by this polymerase. Mechanistic analysis is going on to identify its function in HBV-cccDNA formation.
[Hussein H Aly、Takanobu Kato]

(18) Analyzing the role of MafF on the regulation of HBV replicationUsing HBV-reporter system that reflects the early stages of HBV infection from entry to translation of pgRNA, and druggable siRNA library targeting 300 human genes, we identified MafF as a negative regulator of HBV infection. Further analysis identified its function affects translation from HBV-core promoter, suppress HBV-pgRNA, suppress HBV-core protein, and the consequent suppression of HBV-replication. Mechanistic analysis is undergoing to identify the mechanism by which MafF affects HBV-core promoter activity, and whether it is inducible and can be regulated to suppress HBV.
[Hussein H Aly、Marwa Khalil、Takanobu Kato]

(19) Screening for host factors affecting early stages of HBV-infection.
Similar to above, we are using HBV-reporter system that reflects the early stages of HBV infection from entry to translation of pgRNA, and a larger druggable siRNA library targeting 9000 human genes. Screening of this library is undergoing to identify host factors that play an essential role in the early stages of HBV infection, and try to develop drugs targeting these factors and its function.
[Hussein H Aly、Sameh Aly Gad、Takanobu Kato]

(20) 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]

(21) B 型肝炎ウイルス cccDNA 形成機構の解明

宿主の DNA 修復系因子の一つ、FEN1 が、HBV

cccDNA の形成に必要であることを実験的に示した。宿主ゲノムに挿入された、テトラサイクリンプロモーター下流のトランスジーンからHBVを発現するHepAD38.7細胞を用いて、FEN1 の発現を siRNA, shRNA レンチウイルスベクター、CRISPR/Cas9 ノックアウトベクターにて低下させると、cccDNA 量が相関して低下し、FEN1 の過剰発現によりレスキューされることが示された。さらに無細胞実験系でrcDNAをリコンビナント精製FEN1, 及びDNAポリメラーゼ、DNAリガーゼと反応させることで、in vitro で cccDNAを形成できることを報告した。

[喜多村晃一(金沢大学)、Que Lusheng、若江亨祥：中村卓（長崎大学）、渡士幸一、脇田隆字、村松正道]

(22) AlphaScreen 法を用いた HBV 侵入阻害剤の同定

HBV エンベロープタンパク質 LHBs と NTCP 間の相互作用を阻害する化合物をAlphaScreen法により選抜し、最も阻害効果の高い化合物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-宿主細胞の結合を阻害し、HBV 感染を防ぐことが示された。

[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、朴三用（横浜市立大）、村松正道、脇田隆字、渡士幸一]

(23) HBV 感染阻害コレステロール誘導体の同定

コレステロール誘導体は HBV の感染阻害効果を持つことが明らかになったため、更なる誘導体展開により HBV 感染阻害活性の強いコレステロール誘導体を同定した。近年コレステロール誘導体は骨粗鬆症の治療薬候補として研究開発されていることから、新規抗HBV薬シーズとなることが期待される。

[大嶋美月、深野顕人、岩本将士、若江亨祥、相崎英樹、村松正道、脇田隆字：倉持幸司（東京理科大）、渡士幸一]

(24) B 型肝炎ウイルス内在化機構の解明

B 型肝炎ウイルス(HBV)は細胞膜上で感染受容体 NTCP と結合した後にどのようにして細胞内への内在化を果たすかはわかっていなかった。本研究では、上皮成長因子受容体（EGFR）が HBV 内在化に必須であることを明らかにした。EGFRはNTCPと相互作用して細胞内へ内在化しており、HBV はこれらタンパク質の相互作用を利用して細胞内へ侵入することが示された。NTCP-EGFR 相互作用が解消された細胞では NTCP に吸着した HBV は細胞表面に留まったまま内在化しなかった。これら結果はEGFR が HBV 内在化を媒介する受容体共役因子であることを示す。

[岩本将士、佐宗若奈、杉山隆一、石井孝司（品質保証・管理部）、大木規央（横浜市立大学）、永森収志（奈良県立医科大学）、鈴木亮介、相崎英樹：梁明秀(横浜市立大学)、Ji-Hye Yunh (Yonsei University)、三用朴(横浜市立大学), 大谷直子（大阪市立大学）、村松正道：岩見真吾（九州大学）、田中靖人（名古屋市立大学）、Camille Sureaum（Institut National de la Transfusion Sanguine）、脇田隆字、渡士幸一]

(25) B 型肝炎ウイルス内在化阻害化合物の同定

HepaRG細胞を用いてFDA承認化合物ライブラリーよりHBV 感染を阻害する化合物 troglitazone を同定した。この化合物は HBV の宿主への吸着に影響することなく、内在化HBVを低下した。また、troglitazoneはNTCPの多量体化を阻害することが明らかとなった。これは NTCP 多量体化が HBV 内在化を引き起こす可能性を示唆するとともに、この過程が新たな創薬標的になり得ることが示された。

[深野顕人、九十田千子、大嶋美月：朴三用（横浜市立大）、村松正道、渡士幸一]

(26) B 型肝炎ウイルスの適応進化メカニズム解析

HBV の感染受容体 NTCP の配列が種の進化の過程でどのように変化し、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。本研究では系統学的手法を用いることで、NTCP 各サイトの進化速度を解析した。NTCP は哺乳類全体で進化的に保存され

ており、NTCP が宿主の生存にとって重要であるとする過去の報告と一致した。一方で、進化速度が速い部位も複数検出され、その中で158番目のアミノ酸がHBVの吸着・感染を規定していることをウイルス学的な実験により明らかにした。これは、HBV およびその関連ウイルス(ヘパドナウイルス)が NTCP 進化の選択圧となっていた可能性を示唆する初めての報告である。

[竹内(柴田)潤子、村松正道、渡士幸一]

(27) B 型肝炎ウイルスの侵入制御メカニズム解析

HBV 許容性細胞/非許容性細胞のトランスクリプトーム解析より、HBV 感染許容能に関与する因子を同定した。その後得られた候補因子に対する siRNA を用いて HBV 感染初期過程に与える影響を解析し、HBV 感染能を制御する宿主因子を同定した。これらの因子の1つは、HBV の吸着過程には影響を与えずに HBV 侵入以降の過程を制御する宿主因子であることが示唆された。この因子のノックダウンはNTCP mRNA およびNTCPの総タンパク質量には影響を与えず細胞膜表面のNTCPレベルを増加させることから、この因子が NTCP の細胞内の局在を制御する事が示唆された。

[九十田千子、鈴木治和(理研 IMS)、村松正道、渡士幸一]

(28) HBV RT の伸長反応を阻害する化合物の同定

in vitro high throughput system を用いて 1,100 種類以上の非核酸系化合物で構成される化合物ライブラリーより、HBV RT の伸長反応を阻害する化合物を1つ同定した。これをリード化合物として、その構造類似体を HepG2.2.15.7 細胞での HBV 複製アッセイおよび HepG2-hNTCP-C4 細胞での HBV 感染実験で評価したところ、HBV DNA レベルを用量依存的に低下させる化合物を同定した。この化合物はエンテカビル／ラミブジン耐性 HBV の複製も野生型 HBV と同様に阻害し、また現在使用されている核酸アナログとの併用により抗 HBV 効果を上昇させることを明らかにした。

[中嶋章悟、渡士孝一、脇田隆字、豊田哲也(福祉村病院長寿医学研究所)]

(29) 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]

(30) 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]

(31) 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。第五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。今年度のB型肝炎流行予測調査実施機関は 3 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。

・HBs 抗原陽性及び／あるいは HBc 抗体陽性検体の確認試験(行政検査として、2 件、33 検体)

・試験結果の解釈
・被験者への結果通知の作成（科学的な部分）
［清原知子、鈴木亮介、村松正道］

(32)マーシャル諸島におけるB型肝炎ワクチンプログラムの VerificationWPRO の依頼により、マーシャル諸島におけるB型肝炎ワクチンプログラムの Verification に参加した。マーシャル諸島のワクチン接種率を含めて実施状況、今後の Sustainability 等を評価した。大きな課題として、以下 3 点を指摘した。
・国土が多数の国からなるため、メインアイランド(2 島)とアウターアイランド(その他の島)の地域差が大きい。
・Hep0 は機能しているが、Hep3 の達成率が低い。
・2013 年をピークに HepB3, DTP ともに接種率が下がる傾向にある。
［清原知子、鈴木亮介、村松正道］

(33) 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。免疫マウスの脾臓から preS1(2-47aa)に特異的な記憶 B 細胞を単離し、培養後の上清に含まれるモノクローナル抗体を評価したところ、97 サンプルで preS1(2-47aa)との結合が認められ、そのうち 8 サンプルでウイルス感染中和効果が認められた。今後は記憶 B 細胞から抗体遺伝子をクローニングし、リコンビナントの抗体を作製し、中和エピトープの解析を行なっていく。[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]

3．C 型肝炎ウイルス（HCV）に関する研究

（1）C 型肝炎ウイルスの不活化に関する研究

Cohn の血漿分画法による C 型肝炎ウイルス (HCV)の不活化の評価

血液製剤に混入する可能性がある患者由来 HCV の不活条件を明らかにするため、患者由来 HCV を培養細胞で増殖させようと試みている。そこで HCV の増殖に重要であると報告された宿主因子 Sec14L2 を発現する培養細胞を作製した。しかし、現在のところこの細胞を用いて患者由来 HCV の増殖は見られていない。
[下池貴志、野島清子（血液・安全性研究部）、脇田隆字、村松正道：岡田義昭（埼玉医科大学）]

(2) 抗 HCV 活性を持つビタミン D 誘導体の探索

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. そこで, この作用機序の解明のために, VDR 結合能や転写活性可能が既知のビタミン D 誘導体ライブラリーを用いて抗 HCV 活性を持つ誘導体の探索を行った. HCV 感染細胞をこのビタミン D 誘導体ライブラリーに含まれる薬剤で処理することにより, HCV の増殖を阻害する誘導体をいくつか同定した. これらの薬剤は細胞内での感染性ウイルス粒子の産生を阻害するが, その活性は VDR 結合能や転写活性可能とは関連していなかった.
［村山麻子、加藤孝宣］

(3) ビタミン D 誘導体によるアポリポ蛋白質の発現抑制と HCV 増殖阻害効果の解析

HCV の増殖を阻害するビタミン 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 HCV の感染性ウイルス粒子産生に与える影響の解析を行った. 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減少が感染性ウイルス粒子の産生阻害に関わっていると考えられた.
［村山麻子、加藤孝宣］

(4) HCV 遺伝子型 2a 株に対する NS5A 阻害剤耐性変異の解析

遺伝子型 2a の HCV 株 J6cc ウイルスにおける NS5A 阻害剤耐性変異の解析を行った. NS5A 阻害剤存在下で J6cc ウイルス感染細胞の長期培養を行い, 得られた耐性変異を解析した. NS5A 阻害剤処理後 33 日目では NS5A 領域に F28S の変異が出現し、F28C と混在していた. NS5A 阻害剤処理後 48 日目では F28S のみとなり耐性変異である可能性が示唆された. 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 に低下させたが, EC50 値は約 100 倍に上昇させた.

[村山麻子、Mingjun Huang (Achillion)、加藤孝宣]

(5) HCV 遺伝子型 2b 株に対する NS5A 阻害剤耐性変異の解析

遺伝子型 2b の HCV 株 J8cc ウイルスにおける NS5A 阻害剤耐性変異の解析を行った. NS5A 阻害剤存在下で遺 J8cc ウイルスの感染細胞の長期培養を行い, 得られた耐性変異を解析した. NS5A 阻害剤処理後 48 日目では 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)、加藤孝宣]

(6) P32 欠損変異株が 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 NS5A 阻害剤に対する強い耐性が知られており, DAA 治療不成功例で検出される. そこで NS5A 領域を 1b 株に置換した JFH-1 キメラウイルス株を用いて, P32 欠損を導入し, この変異が HCV ライフサイクルに与える影響を評価した. その結果, この変異は HCV の肝細胞内での複製能を低下させていると考えられた.

[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)]

(7) P32 欠損変異株に有効な抗ウイルス剤の探索

JHF1/5ACon1 キメラウイルスに P32 欠損を導入した株を用いて, 各種 DAA に対する薬剤感受性の評価を行った. この P32 欠損変異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 値は通常のキメラウイルス株に比較して高値を示した. しかしプロテアーゼ阻害剤に対しては通常のキメラウイルス株とほぼ同様の, ポリメラーゼ阻害剤である SOF に対しては高い感受性を示した. また IFN-α に対してはほぼ同様の, RBV に対して通常の株よりも高い感受性を示し, SOF と RBV が有効であると考えられた.

[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)]

(8) 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を利用して、HCV の感染性粒子構築を制御する宿主因子の一つとして芳香族炭化水素受容体(AhR)を同定した。HCV の感染性粒子構築には肝細胞内への脂肪滴の蓄積が重要である。AhR はその活性依存的な、トリグリセリドの産生制御を介して肝細胞内への脂肪滴蓄積を制御することが示唆された。この経路を制御する責任因子の一つとして AhR の下流遺伝子であるシトクロム P450 1A1 を同定した。

[大橋啓史、渡士幸一、深澤征義(細胞化学部)、脇田隆字]

(9) HCV 感染が引き起こす脂質蓄積を標的とした抗 HCV 剤の同定

フラボン誘導体 176 種のスクリーニングから、感染性 HCV 量を強力に低下させる 12 のヒット化合物を得た。特に高い活性を示した#139, #146 は、肝細胞内の脂肪滴量を減少させることで HCV 粒子構築効率を低下させた。またこれらは芳香族炭化水素受容体を介した脂質産生を抑制していることが示唆された。

[西岡華実、大橋啓史、村松正道、脇田隆字、渡士幸一]

(10) 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]

(11) 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]

(12) 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(真菌部)、相崎英樹、脇田隆字]

(13) 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、花田賢太郎(細胞化学部)、相崎英樹、脇田隆字]

(14) 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(真菌部)、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]

(15) 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(真菌部)、鈴木哲朗(浜松医科大学)、脇田隆字]

(16) 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、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]

(17) 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]

(18) 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]

(19) 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]

(20) 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。

[相崎英樹、田中純子（広島大）、脇田隆字]

(21) 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]

(22) 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]

(23)患者由来 NS5b キメラレプリコン細胞の作製

ウイルスタンパク質に直接作用する治療薬 Direct-Acting Antiviral (DAA)であるハーボニー剤(レジパスビル;NS5A 阻害薬、ソホスビル;NS5b 阻害薬)で治療後に再燃した 1b 型 HCV 患者由来のウイルスの性状を解析するため、NS5B 領域を 1b 型の con1 株に置換したキメラレプリコンプラスミド(治癒例 3 種;con1-92258-2、con1-92258-4 、con1-LDV70-2 、再燃例 1 種;con1-FF2-4-2)を作成した。野生型の con1、及び 4 種類の患者由来 NS5b キメラレプリコンプラスミド DNA を鋳型にして in vitro でレプリコン RNA を合成し、エレクトロポレーション法で Huh 7.5.1 細胞に遺伝子導入した。その後 G418 で選択培養を 3 週間行うことでキメラレプリコン細胞を樹立した。
[Su Su Hmwe、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(24)患者由来 NS5b キメラレプリコンに対する DAA の効果

野生型 con1 レプリコン細胞と 4 種の患者由来 NS5b キメラレプリコン細胞に対する薬剤の効果を検討した。DAA としてシメプレビル(NS3 阻害剤)、レジパスビル(NS5A 阻害剤)、ソホスブビル(NS5b 阻害剤)の 3 種類を用いた。それぞれのレプリコン細胞について DAA 処理 72 時間後の細胞内ウイルス RNA の変化を調べたところ、すべてのレプリコン細胞で DAA の効果に大きな違いがなく NS5b 領域の置換だけではウイルス複製に影響はなかった。SVR 後に再燃したことからアミノ酸変異による DAA 耐性化が考えられたが、細胞培養系では DAA 耐性化を示す結果が得られなかった。おそらく、他のタンパク領域の変異や宿主側の因子などの関与も考えられた。
[Su Su Hmwe、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(25)HCV 感染をモニターするための細胞の樹立

前年度は cre-loxP システムで HCV 感染により赤から緑の蛍光を発する細胞をバルクで樹立し、HCV-cre 感染による蛍光の変化を観察した。ただし、この細胞集団は継代を続けると蛍光細胞は減少し、蛍光を発しない細胞集団がその大部分に変わる。今年度は、この細胞集団から赤色の蛍光を安定的に発する細胞を得るため、限界希釈法を行いシングルクローンの樹立を試みた。その結果、安定的に赤蛍光を発する 11 クローンの細胞を樹立した。これらの細胞は、60 日以上継代しても安定的に赤蛍光を発し、更に HCV-cre ウイルスを感染させることで赤から緑の蛍光に変化した。今後はこれらのクローンの性状を解析する。
[渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(26)感染性 4a 型 HCV の性状解析

長期培養で樹立した 2 種類の感染性 ED43-7M クローンについて、感染中和抗体との反応性、Direct-Acting Antiviral (DAA)の効果を解析した。感染中和抗体は linear epitope を認識する HCV1 と構造を認識する AR3A を、DAA については Simeprevir (NS3 阻害薬)、Ledipasvir (NS5a 阻害薬)、Sofosbuvir (NS5b 阻害薬)を用いた。感染中和抗体の反応性については 2 クローンと JFH1 株で大きな違いはなかった。DAA の効果については Sofosbuvir については JFH1 と違いはなかったが、Simeprevir、Ledipasvir では JFH1 株よりそれぞれ約 50 倍、約 30 倍低い濃度の EC50 値を示した。本実験で樹立した感染性 ED43 クローンを用いることで、新規 DAA の 4 型への効果が解析可能になった。
[渡邉則幸、鈴木貴也、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(27)E2 モノクローナル抗体の性状解析

E2-ferritin 融合タンパク質を抗原として樹立した E2 抗体の性状解析を行った。樹立した 4 種類のハイブリドーマの中で 2 種類については抗体産生量、また抗原との反応性が高いことからこれらの産生する 2 種の抗体に注目して解析を進めた。これらは抗原に用いた 2a 型とは異なる遺伝子型(1-4 型)の E2 タンパク質とも反応し、変性した E2 タンパク質とも結合することから、立体構造ではなくアミノ

酸配列を認識することが明らかになった。更にそのうちの 1 つはウイルス感染を阻害した。今後は欠損変異型 E2、E2 ペプチドを用いることで、これらの抗体の結合領域を特定する。
[吉田南風、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(28)Jc1-GlucΔ9AA の性状解析

我々は分泌型ルシフェラーゼ Gluc を p7-NS2 間に挿入したキメラウイルス Jc1-GlucΔ9AA を樹立し、Gluc の分泌配列内の 9 アミノ酸欠損がウイルス産生を上昇させることを明らかにした。この欠損によるウイルス産生の上昇は p7-Gluc 間の切断効率の上昇が要因であると考え、欠損を含む p7-Gluc 発現プラスミドを構築して切断への影響を解析した。その結果、野生型と比べて 9、16 アミノ酸欠損型で p7-Gluc 間の切断効率の上昇が観察された。Gluc の挿入は機能する p7 の産生を減少させるが、欠損が切断効率を改善させることでウイルス産生が上昇するようである。
[佐藤李香、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(29)C 型肝炎ウイルスの生活環に関わるイオンチャネルの同定

樹立したキメラウイルス Jc1-GlucΔ9AA を用いて、ウイルスの生活環に影響を及ぼす宿主因子のスクリーニングを行った。ウイルスはその増殖過程で細胞膜を含む、膜領域を利用することから、本実験ではイオンチャネルをターゲットとした siRNA ライブラリーを用いた。スクリーニングの結果、338 遺伝子のうち 11 遺伝子において上清中のルシフェラーゼ活性の減少が確認された。更に、11 種類のうちの 6 種類はカリウムチャネルであった。現在、カリウムチャネルを含む上位 4 種のイオンチャネルに注目し解析を進めている。
[佐藤李香、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

4. E 型肝炎ウイルス(HEV)に関する研究

(1) 低分子化合物ライブラリーを用いた HEV 複製阻害物質の探索

HEV レプリコン RNA を導入した細胞に低分子化合物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、ウイルス複製を阻害する低分子化合物のスクリーニングを行った。その結果、ウイルス複製阻害活性を持つ低分子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。この低分子化合物の機能から HEV の複製機構や病原性発現機構の解析を行っている。
[杉山隆一、吉崎佐矢香、石井孝司(品質保証・管理部)、鈴木亮介、脇田隆字、村松正道]

(2)キナーゼ siRNA ライブラリーを用いた HEV 複製に関与するキナーゼの探索

HEV レプリコン RNA を導入した細胞にキナーゼ siRNA ライブラリーを導入し、レプリコンのレポーター遺伝子の発現を指標として、ウイルス複製を抑制、または促進するキナーゼの探索を行っている。その結果、ウイルス複製に関与するキナーゼ候補が複数見つかった。
[杉山隆一、石井孝司(品質保証・管理部)、鈴木亮介、脇田隆字、村松正道]

(3) リバースジェネティクス法を用いた rabbit HEV 感染クローンの作製

本研究では、in vitro で合成したキャップ構造を持つ全長 rabbit HEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションし、ウイルスの作製を試みた。トランスフェクション後、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、ウイルス増殖を確認した。さらに培養上清をウサギに接種し、ウサギの血清及び糞便から rabbit HEV が検出された。以上の結果はリバースジェネティクス法を用いた rabbit HEV の作製が成功したことが示唆された。
[張文静(中国山東省血液センター)、李天成、吉崎佐矢香、Doan Hai Yen:高橋雅春、岡本宏明(自治医科大学)、網康至、須崎百合子(動物管理室)、村松正道]

(4) ウサギにおける HEV の感染性及び病原性の研究

Rabbit HEV ウサギから分離された G3HEV に属する新しいE型肝炎ウイルスである。その病原性はまだはっきりされていない。本研究では rabbit HEV をウサギに接種し、その病原性を検討した。細胞培養から獲得した Rabbit HEVを六羽のウサギに静脈経由で接種し、経時的に採血、採便して、血中の anti-HEV 抗体、血中及び便中の HEV RNA を検査した結果、ウイルスの増殖が確認された。また、接種後、ALT の上昇が見られた。これまでの結果は Rabbit HEV がウサギに肝炎を引き起こす可能性が示唆された。

［張文静（中国山東省血液センター）、李天成、吉崎佐矢香、Doan Hai Yen：高橋雅春、岡本宏明（自治医科大学）、網康至、須崎百合子（動物管理室）、村松正道］

(5) 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 rabbit HEV ORF2 を RT-PCR 法で増幅した。定法どおり作製した組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Tn5 細胞に感染させ、構造蛋白を発現し 、ウイルス様粒子（HEV-LPs）の作製に成功した。Rabbit HEV-LPs を用いて抗体検出 ELISA 法を樹立した。Rabbit HEV の抗原性は従前既知の G1, G3, G4 G5, G6, DcHEV の抗原性と類似している。 現在、Rabbit HEV-LPs をウサギに免疫して誘導された抗体の感染防御効果を評価の上、ワクチンの開発を検討している。

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

(6) 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. 今、サンプルを採取し、HEVRNA の検査を検討している。

[李天成、白慧敏、柯昌文（中国広東 CDC）、村松正道]

(7)台湾の六ヶ月齢の出荷直前の豚における HEV 感染調査

豚由来の HEV 感染リスクの評価の一環として台湾の 8 つの郡の 30 の養豚場で飼育された 6 ヵ月齢のブタから 295 の糞便サンプルを集め HEV RNA を測定した。その結果、25.1% (74/295) の糞便は HEV RNA が陽性だった。さらに 74 の HEV RNA 陽性サンプルを用いて RT-PCR を実施し、増幅された 16 株の塩基配列を解析した。その中、2 株は G3a、14 株は G4b に属する。NGS 解析により二株の G4b 全長配列が得られた。この結果は G3 と G4 HEV が台湾の養豚場で広がっていて、G4b が主な遺伝子型であることが明らかになった。出荷直前の豚から HEV が検出されたことから豚からヒトへの感染リスクが再確認され、豚肉及びその関連食物を十分に加熱する必要である。

［Fengmei Yang、Zhanlong He（中国昆明中国医学科学院）、吉崎佐矢香、武田直和（大阪大学）、脇田隆字、村松正道、李天成］

(8) アカゲザルにおける HEV 感染状況調査

アカゲザルにおける HEV 感染症の現状を調査するために、我々は中国のアカゲザルファームから 548 検体の血清と 48 検体の糞便サンプルを採取し、抗 HEV IgG 抗体と HEV RNA を調べた。388 頭（70.8%）のアカゲザルは抗 HEV IgG 抗体が陽性であった。1 才と 2 才のサルでは抗体の陽性率は 7.4%で、それに対して 3 年以上のサルの感染率は 82.6%だった。二歳のサル血清から G4b、三才サル糞便から G4h に属する HEV RNA が検出された。この結果は 2 つの遺伝子型の異なる HEV 株がこのアカゲザルファームで広がっていたことが示唆された。ただし、これらのサルは明らかな臨床症状を示さなかった。HEV 感染

源の特定及びアカゲザルにおける HEV の病原性を評価するため更なる研究は求められる。

［呉芳姿（台湾 CDC）、白慧敏、吉崎佐矢香、団海燕、武田直和（大阪大学）、村松正道、李天成］

(9) E 型肝炎の発生動向調査

日本における E 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．2018 年の E 型肝炎報告数は 442 件のうち、64 検体の遺伝子解析を行った。その内訳は遺伝子型 1: 3.1%、遺伝子型 3: 92.2%、遺伝子型 4: 4.7%であった。国内での流行は主に遺伝子型 3 であるが、得られた遺伝子配列から各症例は広域的な散発例と考えられた。

［鈴木亮介、杉山隆一、李天成、清原知子、村松正道］

その他のウイルスに関する研究

(1) ヒトポリオーマウイルス New Jersey polyomavirus (NJPyV)のウイルス様粒子の作製及びその応用

NJPyV はヒトポリオーマウイルスの一つである。VP1 は主要な BKV の構造蛋白をコードする。NJPyV VP1 を発現する組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Sf9 と Tn5 に感染し、大きさが異なる二種類の BKV 様粒子（NJPyV -LPs）（直径 20 nm と 50 nm）を得た。NJV-LPs を用いて抗体検出法を樹立し、健常日本人における抗体の保有状況を調査した。その結果、日本人における NJPyV に対する抗体の保有率（1.8%）が低く、NJPyV は日本に常在するウイルスでないことが示唆された。

[周顕鳳、白慧敏、片岡紀代（感染病理部）、村松正道、鈴木哲朗（浜松医大）、李天成］

(2) フラビウイルス感染におけるシアル酸を含む糖鎖の関与

一回感染性フラビウイルスを用いて、ウイルス感染初期過程におけるシアル酸を含む糖鎖の関与を調べた。糖鎖のシアル酸付加に重要な SLC35A1、SLC35A2 遺伝子ノックアウト細胞は、コントロール細胞と比較してデングウイルス、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、黄熱ウイルスの感染が低下した。ノイラミニダーゼ処理した細胞でもフラビウイルスの感染が減弱した事から。シアル酸を含む糖鎖は、フラビウイルスの細胞侵入に関与している可能性が考えられた。

[松田麻未、鈴木亮介]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Athiyyah AF, Utsumi T, Wahyuni RM, Dinana Z, Yamani LN, Soetjipto, Sudarmo SM, Ranuh RG, Darma A, Juniastuti, Raharjo D, Matsui C, Deng L, Abe T, Doan YH, Fujii Y, Shimizu H, Katayama K, Lusida MI, Shoji I. Molecular Epidemiology and Clinical Features of Rotavirus Infection Among Pediatric Patients in East Java, Indonesia During 2015-2018: Dynamic Changes in Rotavirus Genotypes From Equine-Like G3 to Typical Human G1/G3. Front Microbiol 10, 2019

2) Bai H, Shiota T, Yoshizaki S, Saito-Obata M, Malbas FF Jr, Lupisan SP, Oshitani H, Takeda N, Muramatsu M, Wakita T, Ishii K, Li TC. Detection of Subgenotype IA and IIIA Hepatitis A Viruses in Rivers Flowing through Metro Manila, the Philippines. 2018. Jpn J Infect Dis. 72:53-55. (2019)

3) Bauri M, Wilkinson AL, Ropa B, Feldon K, Snider CJ, Anand A, Tallis G, Boualam L, Grabovac V, Avagyan T, Reza MS, Mekonnen D, Zhang Z, Thorley BR, Shimizu H, Apostol LNG Takashima Y. Notes from the Field: Circulating Vaccine-Derived Poliovirus

Type 1 and Outbreak Response - Papua New Guinea, 2018. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 68: 119-120, 2019

4) Brickley EB, Wieland-Alter W, Connor RI, Ackerman ME, Boesch AW, Arita M, Weldon WC, O'Ryan MG, Bandyopadhyay AS, Wright PF. Intestinal Immunity to Poliovirus Following Sequential Trivalent Inactivated Polio Vaccine/Bivalent Oral Polio Vaccine and Trivalent Inactivated Polio Vaccine-only Immunization Schedules: Analysis of an Open-label, Randomized, Controlled Trial in Chilean Infants. Clinical Infectious Diseases, 67: S42-S50, 2018

5) Cooper G, Mao Q, Crawt L, Wang Y, Dougall T, Rigsby P, Liang Z, Xu M, Collaborative Study G, Minor P, Wang J Martin J. Establishment of the 1st WHO International Standard for anti-EV71 serum (Human). [Shimizu H, contributed as one of the Collaborative Study Group members] . Biologicals 53: 39-50, 2018

6) Deng L, Gan X, Ito M, Chen M, Aly HH, Matsui C, Abe T, Watashi K, Wakita T, Suzuki T, Okamoto T, Matsuura Y, Mizokami M, Shoji I, Hotta H. Peroxiredoxin 1, a Novel HBx-Interacting Protein, Interacts with Exosome Component 5 and Negatively Regulates Hepatitis B Virus (HBV) Propagation through Degradation of HBV RNA. J Virol. Mar 5;93(6); e02203-18 (2019).

7) Fujii Y, Doan YH, Suzuki Y, Nakagomi T, Nakagomi O, Katayama K. Study of Complete Genome Sequences of Rotavirus A Epidemics and Evolution in Japan in 2012-2014. Front Microbiol. 10:38, 2019

8) Fujii Y, Doan YH, Wahyuni RM, Lusida MI, Utsumi T, Shoji I, Katayama K. Improvement of Rotavirus Genotyping Method by Using the Semi-Nested Multiplex-PCR With New Primer Set. Front Microbiol. 2019, 10:647.

9) Fujii K, Sudaka Y, Takashino A, Kobayashi K, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Mizuta K, Matsuzaki Y, Koike S. VP1 amino acid residue 145 of enterovirus 71 is a key residue for its receptor attachment and resistance to neutralizing antibody during cynomolgus monkey infection. J Virol May 2018

10) Fukano K[+], Tsukuda S[+], Watashi K, Wakita T. Concept of Viral Inhibitors via NTCP. Semin Liver Dis. 2019. 39(1): 78-85. ([+]equally contributed)

11) Fukano K, Tsukuda S, Oshima M, Suzuki R, Aizaki H, Ohki M, Park SY, Muramatsu M, Wakita T, Sureau C, Ogasawara Y, Watashi K. Troglitazone impedes the oligomerization of sodium taurocholate cotransporting polypeptide and entry of hepatitis B virus into hepatocytes. Front Microbiol. 2019. 8; 9: 3257.

12) Funakoshi Y, Ito K, Morino S, Kinoshita K, Morikawa Y, Kono T, Doan YH, Shimizu H, Hanaoka N, Konagaya M, Fujimoto T, Suzuki A, Chiba T, Akiba T, Tomaru Y, Watanabe K, Shimizu N, Horikoshi Y. Enterovirus D68 respiratory infection in a children's hospital in Japan in 2015. Pediatr Int. 2019.

13) Hu J, Lin YY, Chen PJ, Watashi K, Wakita T. Cell and animal models for studying hepatitis B virus

infection and drug development. Gastroenterology 156(2): 338-354 (2019)

14) Imagawa T, Sugiyama R, Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Wakita T, Ishii K. Evaluation of Heating Conditions for Inactivation of Hepatitis E Virus Genotypes 3 and 4. J Food Prot. 81:947-952 (2018)

15) Iwamoto M, Saso W, Sugiyama R, Ishii K, Ohki M, Nagamori S, Suzuki R, Aizaki H, Ryo A, Yun JH, Park SY, Ohtani N, Muramatsu M, Iwami S, Tanaka Y, Sureau C, Wakita T, Watashi K. Epidermal growth factor receptor is a host entry cofactor triggering hepatitis B virus internalization. Proc Natl Acad Sci USA 116(17): 8487-8492 (2019)

16) Kaneko M, Do LP, Doan YH, Nakagomi T, Gauchan P, Agbemabiese CA, Dang AD, Nakagomi O. Porcine-like G3P[6] and G4P[6] rotavirus A strains detected from children with diarrhoea in Vietnam. Arch Virol 163:2261-2263, 2018

17) Kato T, Hasegawa M, Yamamoto T, Miyazaki T, Suzuki R, Wakita T, Suzuki T, Park EY. Expression of a functional intrabody against hepatitis C virus core protein in Escherichia coli and silkworm pupae. Protein Expr Purif. 150:61-66 (2018)

18) Kitagawa K, Kuniya T, Nakaoka S, Asai Y, Watashi K, Iwami S. Mathematical analysis of a transformed ODE from a PDE multiscale model of hepatitis C virus infection. Bull Math Biol 81(5): 1427-1441 (2019)

19) Kitagawa K, Nakaoka S, Asai Y, Watashi K, Iwami S. A PDE multiscale model of hepatitis C virus infection can be transformed to a system of ODEs. J Theor Biol 448: 80-85 (2018)

20) 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 14(6): e1007124 (2018)

21) Li TC, Bai H, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Takahashi K, Mishiro S, Takeda N, Wakita T. Genotype 5 Hepatitis E Virus Produced by a Reverse Genetics System Has the Potential for Zoonotic Infection. Hepatology Communications. 1: 160–172. (2019)

22) Matsuda M, Yamanaka A, Yato K, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Kato T, Muramatsu M, Wakita T, Suzuki R. High-throughput neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles using dengue virus type 1 reporter replicon. Sci Rep. Nov 9;8(1):16624 (2018).

23) Momose H, Matsuoka S, Murayama A, Yamada N, Okuma K, Ikebe E, Hoshi Y, Muramatsu M, Wakita T, Toyota K, Kato T, Hamaguchi I. Evaluation of in vitro screening and diagnostic kits for hepatitis C virus infection. J Clin Virol. 105: 97-102 (2018).

24) Murayama A, Fujiwara K, Yamada N, Shiina M, Aly HH, Masaki T, Muramatsu M, Wakita T, Kato T. Evaluation of antiviral effects of novel NS5A inhibitors in hepatitis C virus cell culture system with full-genome infectious clones. Antivir Res. 158: 161–170 (2018).

25) Murayama A, Saitoh H, Takeuchi A, Yamada N, Matsumura T, Shiina M, Muramatsu M, Wakita T, Kato T. Vitamin D derivatives inhibit hepatitis C virus production through the suppression of apolipoprotein. Antivir Res. Dec;160:55-63 (2018).

26) Naito Y, Hamada-Tsutsumi S, Yamamoto Y, Yoshioka Y, Watashi K, Ochiya T, Tanaka Y. Screening of microRNAs for a repressor of hepatitis B virus replication. Oncotarget 9(52): 29857-29868 (2018)

27) Nio Y, Akahori Y, Okamura H, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Inhibitory effect of fasiglifam on hepatitis B virus infections through suppression of the sodium taurocholate cotransporting polypeptide. Biochem Biophys Res Commun 501: 820-825 (2018)

28) Ohashi H, Nishioka K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T and Watashi K. The aryl hydrocarbon receptor–cytochrome P450 1A1 pathway controls lipid accumulation and enhances the permissiveness for hepatitis C virus assembly. J Biol Chem. 293(51): 19559-19571. (2018)

29) Oka T, Iritani N, Yamamoto SP, Mori K, Ogawa T, Tatusmi C, Shibata S, Harada S, Wu FT. Broadly reactive real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for the detection of human sapovirus genotypes. J Med Virol. 91(3):370-377, 2019.

30) Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K. Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study I. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. Brain & Development 2019

31) Passioura T, Watashi K, Fukano K, Shimura S, Saso W, Morishita R, Ogasawara Y, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Suga H, Wakita T. De Novo Macrocyclic Peptide Inhibitors of Hepatitis B Virus Cellular Entry. Cell Chem Biol 25(7): 906-915 (2018)

32) Saso W, Tsukuda S, Ohashi H, Fukano K, Morishita R, Matsunaga S, Ohki M, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Sureau C, Wakita T, Matano T, Watashi K. A new strategy to identify hepatitis B virus entry inhibitors by AlphaScreen technology targeting the envelope-receptor interaction. Biochem Biophys Res Commun. 501(2):374-379 (2018)

33) Sato H, Tanaka-Taya K, Shimizu H, Goto A, Tanaka S, Nakano T, Hotta C, Okazaki T, Itamochi M, Ito M, Okamoto-Nakagawa R, Yamashita Y, Arai S, Okuno H, Morino S, Oishi K. Polio vaccination coverage and seroprevalence of poliovirus antibodies after the introduction of inactivated poliovirus vaccines for routine immunization in Japan. Vaccine 37: 1964-1971, Mar 2019

34) Shiromoto F, Aly HH, Kudo H, Watashi K, Murayama A, Watanabe N, Zheng X, Kato T, Chayama K, Muramatsu M, Wakita T. IL-1b/ATF3-mediated induction of Ski2 expression enhances hepatitis B virus x mRNA degradation. Biochem Biophys Res Commun 503(3): 1854-1860 (2018)

35) Suzuki Y, Doan YH, Kimura H, Shinomiya H, Shirabe K, Sakon and Katayama K. Predicting directions of changes in genotype proportions between norovirus seasons in Japan. Front Microbiol. 2019

36) Takahashi S, Metcalf CJE, Arima Y, Fujimoto T, Shimizu H, Rogier van Doorn H, Le Van T, Chan YF, Farrar JJ, Oishi K Grenfell BT. Epidemic dynamics, interactions and predictability of enteroviruses associated with hand, foot and mouth disease in Japan. Journal of the Royal Society, Interface 152018. 2018

37) Takeuchi M, Fukushima W, Nakano T, Inui M, Ohfuji S, Kase T, Ito K, Kondo K, Maeda A, Shimizu H, Hirota Y. Nationwide Survey on Pediatric Inpatients of Hand, Foot and Mouth Disease, Herpangina, and Associated Complications during Epidemic Period in Japan: Estimated Number of Patients and Factors Associated with Severe Cases. J Epidemiol 2018

38) Takeuchi F, Ikeda S, Tsukamoto Y, Iwasawa Y, Qihao C, Otakaki Y, Ryota O, Yao WL, Narita R, Makoto H, Watashi K, Wakita T, Takeuchi K, Chayama K, Kogure A, Kato H, Fujita T. Screening for inhibitor of episomal DNA identified dicumarol as a hepatitis B virus inhibitor. PLoS One 14(2): e0212233 (2019)

39) 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. 63: 17-23, 2018

40) Tsukamoto Y, Ikeda S, Uwai K, Taguchi R, Chayama K, Sakaguchi T, Narita R, Yao WL, Takeuchi F, Otakaki Y, Watashi K, Wakita T, Kato H, Fujita T. Rosmarinic acid is a novel inhibitor for Hepatitis B virus replication targeting viral epsilon RNA-polymerase interaction. PLoS One 13(5): e0197664 (2018)

41) Ueno M, Nogawa M, Siddiqui R, Watashi K, Wakita T, Kato N, Ikeda M, Okimura T, Isaka S, Oda T, Ariumi Y. Acidic polysaccharides isolated from marine algae inhibit the early step of viral infection. Int J Biol Macromol 124: 282-290 (2018)

42) 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.

43) Wakae K, Nishiyama T, Kondo S, Izuka T, Que L, Chen C, Kase K, Kitamura K, Mohiuddin M, Wang Z, Ahasan MM, Nakamura M, Fujiwara H, Yoshizaki T, Hosomochi K, Tajima A, Nakahara T, Kiyono T, Muramatsu M. Keratinocyte differentiation induces APOBEC3A, 3B, and mitochondrial DNA hypermutation Sci Rep. 2018 Jun 27;8(1):9745. doi: 10.1038/s41598-018-27930-z

44) Wang B, Ogata H, Takishima Y, Miyamoto S, Inoue H, Kuroda M, Yamada K, Hijikata Y, Murahashi M, Shimizu H, Okazaki T, Nakanishi Y Tani K. A Novel Combination Therapy for Human Oxaliplatin-resistant Colorectal Cancer Using

Oxaliplatin and Coxsackievirus A11. Anticancer Research 38: 6121-6126, 2018

45) Yasuura M, Shirato H, Higo-Moriguchi K, Fujimaki M. Detection of norovirus-like particles with an external force-assisted near-field illumination biosensor. Japanese Journal of Applied Physics, 58, 071005-1-071005-5, 2019. 25)

46) Yamane D, Feng H, Rivera-Serrano EE, Selitsky SR, Hirai-Yuki A, Das A, McKnight KL, Misumi I, Hensley L, Lovell W, Gonzalez-Lopez O, Suzuki R, Matsuda M, Nakanishi H, Ohto-Nakanishi T, Hishiki T, Wauthier E, Oikawa T, Morita K, Reid LM, Sethupathy P, Kohara M, Whitmire JK, Lemon SM. Basal expression of interferon regulatory factor 1 drives intrinsic hepatocyte resistance to multiple RNA viruses. Nature Microbiology. 7:1096-1104. (2019)

47) Yang F, Duan S, Guo Y, Li Y, Yoshizaki S, Takeda N, Wakita T, Muramatsu M, Zhao Y, He Z, Li TC. Current status of hepatitis E virus infection at a rhesus monkey farm in China. Vet Microbiol. 230:244-248. (2019)

2. 和文発表

1) 芦塚由紀、板持雅恵、伊藤雅、大沼正行、小澤広規、梶原香代子、葛口 剛、熊田裕子、後藤明子、高橋雅輝、筒井理華、中田恵子、中野守、西澤佳奈子、濱島洋介、堀田千恵美、三好龍也、諸石早苗、吉田弘 平成29年度ポリオ環境水サーベイランス(感染症流行予測調査事業および調査研究)にて検出されたエンテロウイルスについて. 病原体検出情報 40: 88-90, 2019

2) 杉山 隆一、脇田 隆字 ウイルス性肝炎の発症機構 最新医学別冊 診断と治療の ABC142 ウイルス性肝炎, 最新医学社, 142: 35-46, 2019

3) 清水博之「エンテロウイルス (ポリオウイルスを含む)」の項を担当、147-156、ウイルス検査法、日本臨床ウイルス学会、2018

4) 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

5) 清水博之 ポリオウイルス基幹施設におけるバイオリスク管理と施設認証. JBSA Newsletter 8, 2019

6) 清水博之 感染症法施行規則の一部改正 急性弛緩性麻痺(AFP;ポリオを除く)が五類感染症に追加. ファルマシア 55, 341, 2019

7) 清水博之 世界ポリオ根絶は本当に達成できるのか？ 現状と課題. 臨床とウイルス 46, 285-295, 2018

8) 清水博之「ポリオ」の項を担当、西條政幸編、グローバル時代のウイルス感染症、204-208、日本医事新報社, 2019

9) 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(日本ウイルス学会) 68(1), 31-40, 2018.

10) 中野貴司、清水博之「ポリオワクチン」の項を担当、ワクチンー 基礎から臨床まで ー 、112-123, 日本ワクチン学会、2018

11) 調恒明、江原勇登、大友麗、貞升健志、高橋雅輝、竹内道子、筒井理華、豊嶋千俊、濱﨑光宏、柗岡由美子, 横井一、吉田弘.「感染症法に基づく病原体等検査に関わる信頼性確保部門担当者向け研修ガ

イドラインの検討」 平成30年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「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」分担研究報告書,2018 (その他ガイドライン)

12) 藤本嗣人、花岡 希、小長谷昌未、高橋健一郎, 多屋馨子、清水博之 エンテロウイルス脳炎と検体採取について. 病原微生物検出情報 40: 107-108, 2019

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

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shimizu H. NIID Polio GSL activity. The 8rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. 20-21 March, 2019, Manila

2) Shimizu H. Contingency planning in polio free region; Experience from NIID. The 8rd Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. 20-21 March, 2019, Manila

3) Shimizu H. PEFs within the GPLN NIID experience. Third meeting of the Ad Hoc Small Working Group of the GPLN (2018). 6-8 November 2018, Paris

4) Shimizu H. NIID Update. The 22th Polio Research Committee Meeting. 15-16 October, 2018, Evanston, IL.

5) Shimizu H, Challenges in detecting VDPV- Examples from Laos and PNG -, Second meeting of the Ad Hoc Small Working Group of the GPLN, 27-29 June 2018, De Biltsche Hoek

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

7) Aly HH, Chayama K, Wakita T. Post-Transcriptional Regulation of Hepatitis B Virus (HBV) x mRNA Degradation and Its Potential As a New Anti-HBV Approach. The Liver Meeting 2018, AASLD's Annual Meeting. Nov. 9-13, 2018, San Francisco, USA.

8) Fukano K, Tsukuda S, Ohki M, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Oligomerization of NTCP induces hepatitis B virus internalization. 2018 International HBV Meeting. 2018/10/3-6. Taormina (Italy).

9) Kotani O, Yokoyama M, Fujii K, Kobayashi K, Nishimura Y, Nagata N, Shimizu H, Koike S, Sato H. Cis-allosteric regulation of the interaction surfaces of enterovirus A71 capsid protein by the VP1 single amino acid residue at position 145. Europic 2018, 3-7 June, 2018, Egmond aan Zee

10) Matsuda M, Yamanaka A, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Muramatsu M, Wakita T, Suzuki R. Neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious reporter particles. 37th American Society for Virology Annual Meeting. Maryland, USA, 2018. 7. 14-18.

11) 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 with enterovirus D68. Europic 2018, 3-7 June,2018, Egmond aan Zee

12) Murakami K, Tenge VR, Karandikar U, Ramani S, Ettayebi K, Crawford SE, Zeng XL, Neill FH, Atmar RL, Estes MK. Evaluation of the bile-driven replication of

GII.3 human norovirus in human intestinal enteroids. American Society for Virology, 2018 July 14-18, College Park, Maryland, USA.

13) Murayama A, Fujiwara K, Yamada N, Shiina M, Muramatsu M, Wakita T, Kato T. Evaluation of Antiviral Effects of Second-generation NS5A Inhibitor in Hepatitis C Virus Cell Culture System with Full-genome Infectious Clones. The Liver Meeting 2018, AASLD's Annual Meeting. Nov. 9-13, 2018, San Francisco, USA.

14) Murayama A, Hikita H, Yamada N, Shiina M, Muramatsu M, Wakita T, Takehara T, Kato T. In Vitro Evaluation of P32 Deletion in Hepatitis C Virus NS5A for Viral Replication and Susceptibility to Antiviral Reagents. The Liver Meeting 2018, AASLD's Annual Meeting. Nov. 9-13, 2018, San Francisco, USA.

15) Murayama A, Yamada N, Murata K, Shiina M, Muramatsu M, Wakita T, Kato T. Evaluation of anti-HBV effects by administration of interferon lambda3. 2018 International Meeting, Molecular Biology of Hepatitis B Virus. Oct. 3-6, 2018, Taormina, Italy.

16) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Doan YH, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice. Europic 2018, The Netherlands 3-7 June, 2018, Egmond aan Zee

17) Nitta S, Kato T, Tuchiya J, Inoue-Shinomiya E, Sato A, Tsunoda T, Miyoshi M, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Azuma S, Nakagawa M, Kakinuma S, Asahina Y. The characteristic and the anti-HCV reagents susceptibility analysis of NS5A Resistance-Associated Substitutions (RAS) detected after DAA treatment failure patients. The Liver Meeting 2018, AASLD's Annual Meeting. Nov. 9-13, 2018, San Francisco, USA.

18) Nitta S, Kato T, Tuchiya J, Inoue-Shinomiya E, Sato A, Tsunoda T, Miyoshi M, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Azuma S, Nakagawa M, Kakinuma S, Asahina Y. The in vitro analysis of NS5A resistance-associated substitutions (RAS) observed in DAA treatment failure patients. 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Oct. 8-11, 2018, Dublin, Ireland.

19) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watashi K. Aryl hydrocarbon receptor-cytochrome p450 1a1 pathway regulates hepatic lipid biosynthesis to maximize hepatitis C virus production. 25th International Symposium on Hepatitis C virus and Related viruses. 2018.10.8-11 Dublin (Ireland). Oral presentation

20) Oka T. Development of an improved RT-qPCR assay for human sapovirus detection. 第15回日台シンポジウム、2018年9月4日、台湾（台北）

21) Saso W, Tsukuda S, Ohashi H, Fukano K, Morishita R, Matsunaga S, Ohki M, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Sureau C, Wakita T, Matano T, Watashi K. AlphaScreen assay targeting the LHBs-NTCP interaction identified rapamycin and its derivatives as novel hepatitis B virus entry inhibitors. 2018 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2018/10/3-6. Taormina (Italy). ポスター発表

22) Sato R, Watanabe N, Aly HH, Koyanagi M, Arimura Y, Aizaki H, Muramatsu M, Wakita T. Construction of chimeric reporter HCV with efficient production capacity. 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2018.10.8-11 Dublin (Ireland). ポスター発表

23) Shiina M, Murayama A, Yamada N, Muramatsu M, Wakita T, Imawari M, Kato T. HBV genotype affects

vulnerability of host cells against NK cell-associated immune attack. 2018 International Meeting, Molecular Biology of Hepatitis B Virus. Oct. 3-6, 2018, Taormina, Italy.

24) 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, 23 April, 2018, Taipei

25) Shimizu H. An Outbreak of Enterovirus D68 in August–December 2015 in Japan as an emerging “neurovirulent” enterovirus infection, Lessons Kato T, Learned since 1998 Enterovirus A71 Epidemic in Taiwan Contributions and Implications, 29 September, 2018, Taipei

26) Suzuki T, Muramatsu M, Wakita T. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. Virology. 529:226-233. (2019)

27) Suzuki T, Okamoto T, Katoh H, Sugiyama Y, Kusakabe S, Tokunaga M, Hirano J, Miyata Y, Fukuhara T, Ikawa M, Satoh T, Yoshio S, Suzuki R, Saijo M, Huang DCS, Kanto T, Akira S, Matsuura Y. Infection with flaviviruses requires BCLXL for cell survival. PLoS Pathog. 14:e1007299 (2018)

28) Uotani T, Murakami K, Uchida T, Tanaka S, Nagashima H, Zeng X L, Akada J, Estes MK, Graham DY, Yamaoka Y. Two Dimensional Human Gastric Organoid Model of Helicobacter Pylori Infection. Digestive Disease Week 2018, June 2-5, 2018, Washington, DC, USA.

29) Watanabe N, Suszuki T, Date T, Su Su Hmwe, Aly HH, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, Mohamed El K, Ashraf T, William IV D, Guofeng C, Muramatsu M, Wakita T. Establishment of infectious genotype 4 HCVcc. 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2018.10.8-11 Dublin (Ireland). ポスター発表

30) Watanabe N, Suszuki T, Date T, Su Su Hmwe, Aly HH, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, Mohamed El K, Ashraf T, William IV D, Guofeng C, Muramatsu M, Wakita T. Establishment of infectious genotype 4 HCVcc. The Liver Meeting 2018. 2018.11.9-13 San Francisco (USA). ポスター発表

31) Yato K, Matsuda M, Watanabe N, Nakajima S, Fujimoto A, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Tamura K, Muramatsu M, Wakita T, Suzuki R. Flavivirus subviral particles-based DNA vaccine induces neutralizing antibodies against HCV. 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Oct. 8-11, 2018, Dublin, Ireland.

2 国内学会

1) 白土東子 感染症と糖鎖、TIA ナノバイオサマースクール、平成 30 年 9 月、東京

2) 白土東子 ノロウイルスと血液型抗原、第 4 回コンソーシアム技術セミナー・技術交流会、平成 30 年 11 月、東京

3) Oka T, Iritani N, Yamamoto SP, Mori K, Ogawa T, Tatsumi C, Shibata S, Harada S, Wu FT. Development of a Broader range human sapovirus real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、平成 30 年 10 月 28-30 日、京都

4) 岡智一郎、下池貴志、高木弘隆 plasmid-basedリバースジェネティクスコンストラクトのヒトサポウイルスへの応用、第 41 回日本分子生物学会、平成 30 年

11 月 29 日、横浜

5) Murakami K, Tenge VR, Karandikar U, Ramani S, Ettayebi K, Zeng XL, Crawford SE, Katayama K, Atmar RL, Estes MK. 胆汁要求性 GII.3 ヒトノロウイルスのヒト小腸エンテロイドにおける複製メカニズムの解析、第 66 回日本ウイルス学会学術集会、平成 30 年 10 月 28-30 日、京都

6) 魚谷貴洋、村上耕介、内田智久、田中信吾、永島裕之、Zeng XL、赤田純子、Estes MK、Graham DY、山岡吉生 2 次元ヒト胃オルガノイドによる Helicobacter pylori 感染実験モデル:病原因子の役割も含めて、第 24 回日本ヘリコバクター学会学術集会、平成 30 年 6 月 29 日-7 月 1 日、大分

7) Fujii Y, Someya Y, Muramatsu M, Katayama K. A rotavirus genotyping method with the multiplex-PCR adapted for recent epidemic strains（新規流行株に対応した multiplex-PCR によるロタウイルスの遺伝子型別法）、第 66 回日本ウイルス学会学術集会、平成 30 年 10 月 28-30 日、京都

8) Akane Y, Tsugawa T, Yoto Y, Kondo K, Fujii Y. The characterization of human rotavirus equine-like G3P[8] strains emerged in Tomakomai, 2016.（2016 年の苫小牧で地域的な流行を認めた Equine-like G3P[8]株の解析）、第 66 回日本ウイルス学会学術集会、平成 30 年 10 月 28-30 日、京都

9) 染谷雄一、清水博之 ポリオワクチンと GAPIII、第 30 回微生物シンポジウム、平成 30 年 7 月 27-28 日、東京

10) 清水博之 急性弛緩性麻痺のポリオウイルス検査. 2018 年度 希少感染症診断技術研修会、東京、2019 年 2 月 19 日

11) 清水博之 世界ポリオ根絶計画の進捗と残された課題. 第 19 回 医薬品等ウイルス安全性シンポジウム セッション 3 ワクチン・血液製剤、東京、2019 年 2 月 9 日

12) 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、2018 年 12 月 4 日

13) 清水博之 世界ポリオ根絶は本当に達成できるのか? 現状と課題. 第 59 回日本臨床ウイルス学会シンポジウム ウイルス感染症根絶の過去、現在、そして未来、大宮、2018 年 6 月 10 日

14) 清水博之 ポリオ根絶に向けた取り組み 第 28 回感染研シンポジウム、東京、2018 年 5 月 21 日

15) 吉田弘 「手足口病に関する外部精度管理調査結果について」」平成 30 年度 地域保健総合推進事業 地全協九州支部レファレンスセンター連絡会議. 平成 30 年 10 月 2-3 日.熊本市.招待講演及び講師

16) 吉田弘 「手足口病に関する外部精度管理調査結果について」平成 30 年度 地域保健総合推進事業 地全協中国四国支部レファレンスセンター連絡会議. 平成 30 年 11 月 15 日.岡山市.招待講演及び講師

17) 有田峰太郎 ポリオウイルスの複製における脂質輸送機構の解析. 第 60 回日本脂質生化学会、東京、2018. 6.1.

18) Yoshida K, Fujimoto T, Muramatsu M, Shimizu H. Prediction of dynamics of an epidemic of enterovirus infections by deep learning (ポスター). 第 29 回日本疫学会学会学術総会, 東京、2019 年 1 月 30 日～2 月 1 日

19) 佐藤 弘、多屋馨子、大石和徳、清水博之 不活化ワクチン導入から現在までのポリオの予防接種状況・抗体保有状況の推移について. 第 22 回日本ワクチン学会学術集

会、神戸、2018 年 12 月 8～9 日

20) Yoshida K, Fujimoto T, Muramatsu M, Shimizu H. Prediction of a number of patients with hand, foot, and mouth disease by deep learning (ポスター). 第 66 回日本ウイルス学会学術集会,京都、2018 年 10 月 28 日～30 日

21）Hung VM, Nguyen HTT, Anh NT, Anh DTH, Kataoka C, Taichiro T, Hasebe F, Thanh NTH, Shimizu H. Emerging Coxsackievirus A10, A4, and A2 Causing Hand, Foot and Mouth Disease in Vietnam, 2016-2017 (ポスター). 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都、2018 年 10 月 28 日～30 日

22）Saito H, Akino W, Sato H, Fujiya Y, Shibata C, Sato R, Shimizu H. Isolation of enterovirus D68 using suckling mice and the background. 乳飲みマウスによるエンテロウイルス D68 型の分離とその背景 (ポスター).第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都、2018 年 10 月 28 日～30 日

23）Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Doan YH, Shimizu H, Hasegawa H. Murine models of persistent infection by coxsackievirus B2 isolates.コクサッキーウイルス B2 分離株を用いた持続感染マウスモデル. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都、2018 年 10 月 28 日～30 日

24）Kotani O, Yokoyama M, Fujii K, Kobayashi K, Nagata N, Shimizu H, Koike S, Sato H. Cis-allosteric regulation of the interaction surfaces of enterovirus A71 capsid protein by the VP1 single amino acid residue at position 145. VP1-145アミノ酸によるエンテロウイルスA71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. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 京都、2018 年 10 月 28 日～30 日

25) 斎藤博之、柴田ちひろ、佐藤寛子、清水博之 エンテロウイルス D68 型の乳飲みマウスでの分離例. 第 59 回日本臨床ウイルス学会、大宮、2018 年 6 月 10 日

26）吉田弘、後藤明子、筒井理華、堀田千恵美、小澤広規、西澤佳奈子、濱島洋介 わが国の環境水サーベイランスにて検出されたエンテロウイルス（2013-16 年）. 第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)

27）後藤明子、吉田弘 北海道における抗ポリオウイルス中和抗体保有状況調査（2011 年～2017 年）. 第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)

28）小澤広規、吉田弘 横浜市における環境サーベイランスで分離されたエンテロウイルスの動向. 第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)

29）西澤佳奈子、吉田弘 長野県における環境水のエンテロウイルスサーベイランス. 第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)

30）堀田千恵美、吉田弘 環境水サーベイランスと感染症発生動向調査事業におけるエンテロウイルス属の検出状況. 第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)

31）松岡由美子、吉田弘 熊本市環境総合センターにおける検査の質確保について. 第 77 回日本公衆衛生学会総会.郡山.平成 30 年 10 月 24-26 日 (ポスター)

32）松岡由美子、岩永貴代、杉谷和加奈、小畑裕子、西澤香織、近藤芳樹、芦塚由紀、濱﨑光宏、丸山浩幸、橘実里、堤陽子、林徹、島﨑裕子、松本一俊、八尋俊輔、酒井崇、深澤未来、松本文昭、松浦裕、濱田結花、御供田睦代、久場由真仁、大友麗、吉田弘 地方衛生研究所

全国協議会九州ブロック内における遺伝子解析装置に関する技術管理研修について 第 32 回公衆衛生情報研究協議会.岡山市.平成 31 年 1 月 24-25 日

33）大友麗、吉田弘 地方衛生研究所全国協議会地方衛生研究所全国協議会中国四国ブロック内における信頼性確保に関する取組について 第 32 回公衆衛生情報研究協議会.岡山市.平成 31 年 1 月 24-25 日

34) 石田幸太郎、後藤史門、天沼美里、石村麻里奈、鈴木亮介、森田英嗣 日本脳炎ウイルスキャプシド蛋白質のアラニン置換変異体群の解析. 第 53 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 壬生町, 2018.6.1-2.

35) 荒川将志、田端桂介、石田幸太郎、新井亜利紗、小林万希子、有本大、鈴木亮介、森田英嗣 フラビウイルスは VCP 複合体を利用し宿主ストレス応答を制御する. 第 53 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 壬生町, 2018.6.1-2.

36) 鈴木亮介 HCV の Claudin-1 非依存的感染機構の解析. 山梨ウイルス感染症研究会, 山梨, 2018.8.3.

37) 鈴木亮介 経口感染する肝炎ウイルス, 知の市場、国立感染症研究所、東京、2018.11. 13.

38) 杉山 隆一 A 型および E 型肝炎ウイルスの核酸検出法. 希少感染症診断技術研修会, 東京. 2019.2.

39) 松田麻未、松浦知和、鈴木亮介 種々のレポーターを有する一回感染性フラビウイルスの作製. 第 4 回デザイン生命工学研究会 , 東京, 2019.3.8.

40) 鶴田爽、高橋萌、町田亮人、藤田創、伊藤隼人、宮本康太郎、三栖涼雅、井澤和也、出口英梨子、Nattanon Tharachai、西田暁史、安田翔也、中澤杜浩、林宣弘、鈴木亮介、山村雅幸、田川陽一 デングウイルスの血清型流行予測モデルの構築および血清型検出系の確立。第 4 回デザイン生命工学研究会、東京、2019.3.8.

41）Aly HH, Watanabe N, Chayama K, Wakita T. IL-1b/ATF3 mediated regulation of HBx mRNA decay. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Kyoto, 2018. Oct. 28-30.

42) Kato T, Yamada N, Murayama A, Murata K, Shiina M, Muramatsu M, Wakita T. Anti-Hepatitis B Virus Effects of IFN-λ3. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Kyoto, 2018. Oct. 28-30.

43) Murayama A, Fujiwara K, Yamada N, Shiina M, Muramsu M, Wakitata T, Kato T. Antiviral Tanaka Effects of Second-generation NS5A Inhibitor evaluated in Hepatitis C Virus Cell Culture System with Full-genome Infectious Clones. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Kyoto, 2018. Oct. 28-30.

44) 加藤孝宣、疋田隼人、竹原徹郎 HCV キメラウイルス培養系を用いた新規 NS5A 阻害剤耐性変異の解析. 第 54 回日本肝臓学会総会. 大阪, 2018. 6. 14-15.

45) 椎名正明、加藤孝宣、井廻道夫 B 型肝炎ウイルス持続感染機序の免疫的探索. 第 54 回日本肝臓学会総会. 大阪, 2018. 6. 14-15.

46) 新田沙由梨、朝比奈靖浩、佐藤綾子、三好正人、角田知之、永田紘子、金子俊, 北畑富貴子、村川美也子、中川美奈、東正新、柿沼晴、加藤孝宣、渡辺守 HCV NS5A キメラ株感染培養系を用いた NS5A 阻害剤に対する耐性変異と薬剤感受性評価システムの構築. 大阪, 2018. 6. 14-15.

47) 村山麻子、山田典栄、藤原圭、村松正道、脇田隆字、

加藤孝宣 HCV 細胞培養系を用いた第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性と薬剤耐性変異の解析. 第 54 回日本肝臓学会総会. 大阪, 2018. 6. 14-15.

48) 山田典栄、加藤孝宣、奥瀬千晃 首都圏における B 型急性肝炎の変遷とウイルス学的検討. 第 54 回日本肝臓学会総会. 大阪, 2018. 6. 14-15.

49) 山田典栄、村田一素、加藤孝宣 核酸アナログ投与で誘導される IFN λ 3 による抗 HBV 効果の検討. 第 54 回日本肝臓学会総会. 大阪, 2018. 6. 14-15.

50) Muramatsu M. Kitamura K. 第54回日本肝臓学会 平成 30 年 6 月 14 日 ワークショップ口頭発表 FEN1 is involved in HBV cccDNA formation.

51) Muramatsu M.平成30年度 北陸腸内細菌研究会 金沢大学医学部記念館、平成30年7月14日（土）

52) Muramatsu M. B 型肝炎ウィルス複製機構の解析 口頭発表

53) Muramatsu M H30 年 9 月 15 日（土）第70回北日本小児科学会 秋田県総合保健センター 大会議室

54) Muramatsu M 『ロタ、ポリオ、B 型肝炎ウイルスワクチンの現状とトピックス』特別講演 （座長：細谷光亮先生）招待講演

55) Muramatsu M 2018 年度日本消化器関連学会週間 (JDDW 2018) 「サテライトシンポジウム 86」11 月 2 日（金）神戸ポートピアホテル 南館 1 階 大輪田 C 「第 7 会場」B 型肝炎の治療の残された課題と今後の展望：基礎研究から座長：横須賀 收 先生 招待講演

56) Saso W, Tsukuda S, Ohashi H, Fukano K, Morishita R, Matsunaga S, Ohki M, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Sureau C, Wakita T, Matano T, Watashi K. AlphaScreen technology targeting the viral envelope-receptor interaction identified a novel HBV entry inhibitor, rapamycin. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Kyoto Terrsa. (2018.10.28-30) 口頭発表

57) Saso W, Iwamoto M, Muramatsu M, Matano T, Watashi K. B 型肝炎ウイルス細胞進入機構の解析. 第 15 回ウイルス学キャンプ in 湯河原. ニューウェルシティ湯河原. (2018/6/6-7) ポスター発表

58) 岩本将士、岩見真吾、渡士幸一 D 型肝炎ウイルス生存戦略の理解と意義について. 第 14 回ウイルス学キャンプ. P19. 湯河原. 6 月. 2018

59) Iwamoto M, Saso W, Sugiyama R, Ishii K, Suzuki R, Aizaki H, Ryo A, Ohtani N, Muramatsu M, Iwami S, Y, Wakita T, Watashi K; Identification of host kinases that regulate hepatitis B virus internalization. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. 京都. 10 月. P2-VE-13. K, 2018

60) 深野顕人、Passioura Toby、志村聡美、佐宗若奈、森下了、小笠原裕樹、田中靖人、溝上雅史、Sureau Camille、菅裕明、脇田隆字、渡士幸一 B 型肝炎ウイルス侵入阻害ペプチドの同定とその機序の解析. 第 15 回ウイルス学キャンプ in 湯河原、P16、湯河原、（2018/6/6-7）ポスター発表

61) Fukano K, Tsukuda S, Ohki M, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Oligomerization of NTCP is required for hepatitis B virus internalization. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、W1-3-01、京都、（2018/10/28-30）口頭発表

62) 深野顕人、Toby Passioura、志村聡美、佐宗若奈、森下了、小笠原裕樹、田中靖人、溝上雅史、Camille Sureau、脇田隆字、菅裕明、渡士幸一 NTCP/SLC10A1

の胆汁酸取り込み機能に影響しない選択的 B 型肝炎ウイルス侵入阻害ペプチドの同定. 日本薬学会第 139 年会、21N-pm17S、千葉、(2019/3/20-23) 口頭発表

63) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watashi K. Hepatitis C virus infection triggers the transactivation of aryl hydrocarbon receptor to rearrange hepatic lipid biosynthesis. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Kyoto Terrsa (2018.10.28-30) 口頭発表

64) 渡邉則幸、鈴木貴也、伊達朋子、スス・ムェー、Hussein H Aly、相崎英樹、村松正道、脇田隆字 感染性を有する 4 型 C 型肝炎ウイルスの樹立. 第 28 回抗ウイルス療法学会学術集会・総会. 札幌. 6 月. 2018 口頭発表

65) 渡邉則幸、鈴木貴也、伊達朋子、スス・ムェー、Hussein H Aly、杉山真也、溝上雅史、相崎英樹、村松正道、 脇田隆字 感染性を有する 4 型 C 型肝炎ウイルスの樹立. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. 京都. 10 月. 2018 ポスター発表

66) 佐藤李香、渡邉則幸、小柳円、有村裕、脇田隆字 ルシフェラーゼ遺伝子を有するキメラウイルスの性状解析. 第 15 回ウイルス学キャンプ in 湯河原、湯河原、(2018/6/6-7)ポスター発表

67) 佐藤李香、渡邉則幸、Hussein H Aly、小柳円、有村裕、相崎英樹、村松正道、脇田隆字 高ウイルス産生能を有するレポーターキメラ C 型肝炎ウイルスの構築. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. 京都. 10 月. 2018 ポスター発表

68) 若江亨祥、近藤悟、Hai Pham、村松正道、吉崎智一 EBV LMP1 alters APOBEC3 expression profile, and hypermutates mitochondrial DNA. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、W1-6-20、京都、(2018/10/28-30) 口頭発表

69) Suzuki R. Genetic modification of flaviviruses for diagnosis and vaccine. The 17th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji 2018.9.4-7. (招待講演)

70) 清原知子、小川知子、長島真美、新開敬行、佐藤弘、多屋馨子、鈴木亮介、村松正道、大石和徳 B型肝炎ワクチン定期接種化と小児HBs抗体陽性率の変化. 第 22 回日本ワクチン学会, 2018. 12. 8-9. 神戸.

71) 福島慎二、清原知子、石井孝司、中野貴史、濱田篤夫 A型肝炎ワクチン接種後のサロゲートマーカーに関する研究. 第 22 回日本ワクチン学会, 神戸, 2018. 12. 8-9.

72) 米満研三、Virhuez Milagros、李天成、黒田 雄大、立本完吾、Supriyono Supriyono、南 昌平、鍬田龍星、高野愛、下田宙、Phichitraslip Thanmaporn、Rerkamnuaychoke Worawut、鈴木和男、前田健 野生動物、伴侶動物、産業動物における E 型肝炎ウイルス感染状況調査。第 161 回日本獣医学会, 筑波, 2018.9.

73) Yato K, Onodera T, Matsuda M, Fujimoto A, Watashi Aizaki H, Kato T, Moriishi K, Tamura K, Takahashi Y, Wakita T, Muramatsu M, Suzuki R. Generation of monoclonal antibodies against hepatitis B virus preS1 region from antigen-specific memory B cells. 日本ウイルス学会第 66 回学術集会, 京都, 2018. 10. 28-30.

74) 張文静、吉崎佐矢香、須崎百合子、網康至、Suljid Jilintai、高橋雅春、村松正道、岡本 宏明、李天成. Characterization of rabbit HEV infection in Japanese white rabbits. 日本ウイルス学会第 66 回学術集会, 京都, 2018. 10. 28-30.

75) 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 細胞におけるフラビウイルス産生の比較解析．日本薬学会，幕張，2019．3．20-23．

III. その他

1.村山庁舎一般公開

1) サイエンスカフェ

「サポウイルスって知ってる?」（平成 30 年 7 月 28 日）

［岡智一郎］

2.著書

1) 村上耕介、藤本陽、片山和彦　実験医学別冊「決定版オルガノイド実験スタンダード」、4 章 関連技術/4 小腸オルガノイドを用いたヒトノロウイルス培養系、平成 31 年 3 月 26 日、羊土社

3.新聞取材

1) 朝日新聞サイエンスコラム「ののちゃんのDO科学」

「なぜワクチンがない感染症があるの？」をテーマにしたコラム作成にあたり、取材依頼を受け、協力した。平成 31 年 2 月 23 日刊の朝刊に掲載された。

[染谷雄一]

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、第一室（麻疹）、第二室（風疹）、第三室（ムンプス）、第四室（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、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 としての責務を果たし、そして、国民や社会の要望に応えることを目的に業務に取り組んでいる。

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、麻疹ウイルスに関する研究においては、ポリオウイルスに感受性を有さず麻疹ウイルスをを効率よく分離できる細胞の確立、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等への応用を目的として光制御が可能な麻疹ウイルスベクターの開発、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。その他麻疹ウイルスに近縁のマウスパラインフルエンザウイルスに関する研究を実施している。風疹に関しては、風疹の病原診断および解析に関する開発研究、流行ウイルス株の変遷に関する研究、風疹抗体価の読み換えに関する研究、弱毒生ワクチンの性質決定の分子基盤を明らかにするための研究を行っている。さらに風疹ウイルス受容体や、風疹ウイルスの増殖を助ける宿主因子の探索などを通じて、風疹ウイルス増殖の詳細な細胞内分子機構の解析研究を実施している。ムンプス（おたふく風邪）に関しては、ムンプスウイルスの遺伝子操作手法の開発や改良に関する研究、神経病原性の分子メカニズムに関する研究、ムンプスウイルスの増殖に関与する宿主因子に関する研究、新規ワクチン開発に関する研究を実施している。また、重要なテーマとして、ムンプスワクチンの効果や安全性を評価するための動物モデルの開発研究や、国内、海外の流行株の解析などを通じた流行実態の解明のための研究を実施している。インターフェロン・サイトカインに関しては、宿主側の新たな制御機構を研究するとともに、ウイルス側による阻害機構を明らかにするための研究を行い、感染症を包括的に理解し、また、新しい生命現象の解明を通じて広く人類に貢献することを目指している。また、免疫機構の解析を通じて、より効果的な新たなワクチンの開発を目指している。急性呼吸器ウイルスに関して、中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルスの診断法の開発、ならびにその標準化や普及のための活動を実施し、実際の実験室診断に役立てている。また、MERS コロナウイルスや、その他のヒトコロナウイルスの抗原性や増殖機構に関する研究を行っている。コロナウイルスの他にも、RS ウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルスの増殖機構や病態解明に関する研究を行い、その知見をもとにした

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

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、中東、アフリカ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。2017 年においては 177 例の麻疹症例が報告され、うち 168 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、2017 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、2017 年においては 1516 症例が、2018 年においては 6255 症例が地衛研において検査されている。また、過去 10 年間(2008-2017)に国内で検出された麻しんウイルス遺伝子 N450 領域の分子疫学的解析を行い、国内検出株の変化について明らかにした。一方、検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査結果、実態を随時、把握した。さらに検査センターに対して、麻疹 IgM 抗体、風疹 IgM 抗体に対する外部精度管理を実施し、検査施設としての適合性を示した。今後も地方衛生研究所や検査センターと協力し、より精度の高い麻疹検査診断体制を維持、改善していく。［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、大槻紀之、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を開発するための基礎研究として、免疫学的研究に汎用されている卵白アルブミン（OVA）遺伝子をコードする AIK-C 株（AIK-C OVA)を 6 種類作製し、その性状を解析した。ウイルス産生量及び OVA 発現量を Vero/SLAM 細胞を用いて比較したところ、6 種類中 5 種類のウイルスは、OVA 挿入サイトに影響されることなく高力価のウイルス増殖を示した。OVA は、6 種類のウイルス感染細胞全で発現し、ウエスタンブロットにて OVA 特異的な分子量 43kD のタンパク発現が確認できた。OVA の発現量は、挿入サイトに影響され、リーダー領域下流、N-P 遺伝子間、M-F 遺伝子間、H-L 遺伝子間に挿入すると高発現することが ELISA、及び Realtime PCR で明らかにできた。今後は、SLAM 発現マウスに免疫し、その免疫誘導能について解析してゆく予定である。［染谷健二、竹田誠］

3. 麻しん検査診断法に関する研究

病原体サーベイランスにおける麻しんウイルス遺伝子検査は、リアルタイム RT-PCR および通常の RT-PCR が実施されており、検査用コントロールもそれぞれ別のものを使用している。本

年度は、現在の RT-PCR 用コントロールを基に両方法に共通して使用可能な配列に改変し、新たな検査用コントロールの作製を行った。作製したコントロールは、麻しん風しんリファレンスセンターにおいても性能が確認できた。来年度に新しい検査用コントロールとして地方衛生研究所へ紹介・配布する予定である。[關文緒、大槻紀之、森嘉生、山田裕加里、竹田誠、麻疹・風疹レファレンスセンター]

4. ポリオウイルスレセプター (CD155) をノックアウトした Vero/SLAM 細胞の開発

世界保険機関 (WHO) は、世界ポリオ根絶計画を推進しており、各研究施設において、ポリオウイルスの取扱いに関する厳格な管理を求めている。ポリオウイルスは、臨床検体や環境検体に含まれている可能性が示唆されてことから、今後、検体からのウイルス分離に用いる細胞に関しても何らかの制約を求められる可能性が考えられる。現在、麻疹ウイルス分離には、Vero/SLAM 細胞が用いられている。しかしながら、Vero/SLAM 細胞は、ポリオウイルスに対しても高感受性を有することから、ポリオウイルス非感受性 Vero/SLAM 細胞を開発することは重要であると考えられる。ポリオウイルスは、ポリオウイルスレセプター (PVR, CD155) を介して細胞に感染することが明らかになっており、PVR をノックアウト (KO) することでポリオウイルスの細胞への感染を阻止できると考えられている。現在、PVR KO Vero/SLAM 細胞の作製を細胞化学部との共同で進めており、得られた 2 種類の KO 候補細胞について、ポリオウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルスに対する感受性を確認している。[染谷健二、竹田誠：中村優子、花田賢太郎（細胞化学部）]

5. 光制御性ウイルスベクターの開発

再生医療、癌治療、そして遺伝子治療などの分野においてウイルスベクターは、不可欠な役割を果たしている。ウイルスベクターの性能の一つとして期待されつつも困難とされてきた技術の一つが、ウイルスベクターの遺伝子発現や増殖を意のままに操ることである。この技術があれば、不要になったウイルスベクターを簡単に取り除くことができる。また必要な場所、必要な時にだけ増殖させることができ、利便性や安全性が飛躍的に向上する。マグネットという光スイッチタンパク質をウイルスのポリメラーゼに組み込み、青色光で照射された時にだけポリメラーゼが働き、増殖するウイルスを作成した。これにより、遺伝子発現や増殖を思いのままにスイッチオン・スイッチオフできる世界初のウイルスベクターの開発に成功した。また動物を用いた実験で、本ベクターを接種して青色光の照射を受けた癌が、著しく縮小することを確認した。[田原舞乃：滝嶌佑人、宮本将平（九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学）、竹田誠：谷憲三朗（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。本年度は鯨類モルビリウイルス（CeMV）について解析を進めた。Vero/dolphinSLAMtag 細胞を樹立し、Vero/hSLAM, Vero/dogSLAMtag と CeMV 感染を比較したところ、宿主 SLAM である dolphinSLAM および dogSLAM 発現細胞では巨細胞の形成とウイルス増殖が認められたが、hSLAM 発現細胞では明らかな CPE が認められず、ウイルス増殖も起きなかった。一方で CeMV エンベロープタンパク質 H,F と多動物種 SLAM の発現プラスミドを用いた利用能の解析では、ウイルス感染結果と十分な一致が認められなかった。今後は、ウイルスの感染傾向と発現プラスミドにおける解析に相関がある MoV をモデルとして解析を進めていく予定である。

[關文緒、竹田誠：松尾直也（立教大学大学院　理学研究科化学専攻理論創薬・分子設計）、中野祥吾、伊藤創平（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）、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)、大石和恵(東京工芸大学)、丸山正(北里大学)]

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹ウイルス流行株の分子疫学的検討

2013年に成人男性を中心として発生した風疹の流行が終息し、2014～2017 年には風疹患者数が減少した。風疹排除の認定を国際的に受けるためには、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。昨年までの研究で2012～2014 年までに継続的な流行を引き起こしたウイルスは、2015～2017 年には日本全国で見つかっておらず、流行が遮断されたことが示唆された。また、2015～2017 年には新たに1年以上継続して流行を引き起こしたウイルスは認められなかった。しかし、2018 年には 7 月ごろより検出された風疹ウイルス株(遺伝子型 1E)が全国で検出され、2019 年 3 月時点でも継続して検出され続けている。本ウイルス株は東南アジア、中国で検出された遺伝子型 1E のウイルスと近縁であり、これまで日本で検出されてこなかったことを考えると、このような国から持ち込まれたものと考えられた。2018～2019 年の全国流行は単一のウイルスによって生じたことが示唆されることから、国内の集団免疫では一旦国内にウイルスが持ち込まれると爆発的に流行を引き起こしうる状況にあることが考えられ、早急な対策が必要と考えられた。[森嘉生、坂田真史、大槻紀之、中津祐一郎、竹田誠、全国地方衛生研究所]

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が、1断片しか検出できず遺伝子型解析ができない例が報告されている。今年度は用いるPCR酵素の検討を行った。その結果、高い GC 含量に対応した PCR 酵素を用いることでRT-PCR法の増幅効率が向上し、非特異反応も大幅に減少することが示された。また、シークエンス反応についてもプライマーの改良ならびに精製方法の検討を行うことで、最も問題となっていたE1-3Rプライマーでの配列解析が改善されることが示された。これらの結果は病原体検出マニュアル「風疹」に掲載予定である。[森嘉生、大槻紀之、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠、麻疹風疹リファレンスセンター地方衛生研究所]

3. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-PCR に用いる参照 RNA の改良に関する研究

「風しんに関する特定感染症予防指針」が改定され、2018年より原則として全風疹症例に対し、地方衛生研究所における風疹ウイルス遺伝子検出検査が求められるようになった。ウイルス第三部では、風疹ウイルス遺伝子検出検査に陽性コントロールとして用いる参照RNAを準備し、求めに応じて地方衛生研究所に配布を行っている。本参照 RNA は遺伝子検出のための NS 領域増幅 RT-PCR と遺伝子型解析のための E1 領域増幅 RT-PCR のどちらとも使用可能であるが、NS 領域には外来配列が挿入してあり、増幅サイズによってクロスコンタミネーションを判断できるが、E1 領域には挿入しておらず、クロスコンタミネーションを判断するにはシークエンス解析を行う必要があった。そのため、本研究ではE1領域に2つの外来配列を挿入し、簡便にクロスコンタミネーションを判断できるようにした。改良型参照 RNA はリアルタイム RT-PCR でも現行の参照 RNA と同様に使用できることを確認した。また、麻疹参照 RNA の保存剤として採用された RNAstable 試薬が使用可能かを検討した結果、長期に安定的であることが確認された。作製した改良型参照 RNA は今後地方衛生研究所に配布予定である。[森嘉生、大槻紀之、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠]

4. 地方衛生研究所における風疹検査の調査研究

風疹の排除認定を受けるためには、国内のサーベイランス体制が国際的な基準を満たしていることが前提となる。国内の感染症サーベイランス情報登録システムである NESID では検査陽性の情報しか登録されず、検査実施数ならびに検査陰性数の情報は得ることができない。そのため、麻疹風疹リファレンスセンターのネットワークを介して 2018 年の全国地方衛生研究所における検査実績を調査した。その結果、2018 年に全国で 6,110 件の検査が実施され、1859 件が陽性であったことが示された。その他、5 日以内に施設に搬入された症例数や検体搬入後、検査が 4 日以内に実施された症例数も調査された。[森嘉生、坂田真史、大槻紀之、中津祐一郎、竹田誠、全国地方衛生研究所]

5. 新規合成された CERT 阻害剤による風疹ウイルスの増殖阻害効果の検討

これまでの研究により細胞内におけるスフィンゴミエリン(SM)合成を阻害する薬剤(CERT 阻害剤など)ことにより風疹ウイルスの細胞への感染を阻害する事を明らかとしている。

本年度においては新規に合成されたCERT 阻害剤と既知のCERT 阻害剤による風疹ウイルスの細胞への感染阻害効果について比較検討した。その結果、新規 CERT 阻害剤においても既知の阻害剤と同程度の感染阻害効果が確認できた。新規 CERT 阻害剤は既知の阻害剤に比べ細胞で毒性が低いためより抗ウイルス薬の候補となりうる可能性が示唆されたと考えられる。[大槻紀之、坂田真史:花田賢太郎(細胞科学部)、竹田誠、森嘉生]

6. トガ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、p150 の機能的成熟を促してゲノム複製に寄与することを明らかにした。本年度は風疹ウイルスが属するトガウイルス科ウイルスにおける Hsp90 の重要性を検討した。トガウイルス科は風疹ウイルスが分類されるルビウイルス属とアルファウイルス属で構成される。アルファウイルス属のシンドビスウイルスを培養細胞へ感染させた後、Hsp90 の特異的阻害剤 17-AAG で処理した。17-AAG 濃度依存的に培養上清中のウイルス力価が有意に減少した。更に、感染細胞を 17-AAG で処理して、ゲノム複製への影響を RT-qPCR により定量したところ、17-AAG 処理によりゲノム量が優位に減少した。以上の結果から、Hsp90 がトガウイルスのゲノム複製へ関与する可能性が示唆された。 [坂田真史、加藤大志、大槻紀之、岡本貴世子:林昌宏(ウイルス第一部)、竹田誠、森嘉生]

7. 第5期風疹ワクチン定期接種の対象となる風疹抗体価に関する研究

2019 年から開始された第5期風疹ワクチン定期接種では、ワクチンの効率的な使用のため、対象年齢の男性についてワクチン接種前に抗体価測定を行い、抗風疹赤血球凝集(HI)抗体価 1:8 以下に相当する抗体価の者だけがワクチン接種対象となる。国内では HI 試験以外に、抗風疹抗体測定用体外診断薬が承認を受けて販売されている。これまでに妊婦管理のために風疹抗体価が十分でない指標として HI 抗体価 1:16 以下に相当する IgG 抗体価を成人ボランティアから収集した血清検体を用いた測定値の相関性解析ならびに ROC 解析で検討し、得られた抗体価を感染研ホームページで公開してきた。第5期定期接種をスムーズに遂行できるようにするため、HI 抗体価 1:8 以下に相当する IgG 抗体価を各抗風疹抗体測定用体外診断薬の抗体価を同様の方法で値付した。得られた抗体価は感染研ホームページにて公開した。

[森嘉生:多屋馨子、佐藤弘(感染症疫学センター)、竹田誠]

III. ムンプスウイルスに関する研究

1. 国産ムンプスワクチンの副反応発生機構の解明とワクチンの改良

国産ムンプスワクチンによる副反応例(無菌性髄膜炎)に由来するワクチンウイルスのゲノム解析の結果、ワクチンに数%～10%含まれる特定のヴァリアントウイルス(AMV)が無菌性髄膜炎の原因となっている可能性が示唆された。そこで、ワクチン液から単離した AMV と、AMV を含まないワクチン(VACimp)、および元のワクチン(VACori)について新生ラットによる中枢神経病原性試験を行った。その結果、AMV の病原性はVACimp および VACori よりも有意に高く、一方、VACimp は、VACori (AMV を約 10%含有)よりも病原性が有意に低下していた。加えて、VACori を接種したラット脳内では AMV が優位に増殖していた。以上から、AMV が国産ワクチンによる無菌性髄膜炎の原因であり、国産ワクチンから AMV を除くことで、安全性の高い改良型ワクチンを作出できる可能性が示された。(2018 年 10 月 1 日、特許出願済み)[木所稔、加藤文博、加藤大志、村野けい子:永田典代(感染病理部)、須崎百合子(動物管理室)、岩田奈織子(感染病理部)、竹田誠、網康至(動物管理室)]

2. 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。2018年度のムンプス国内流行は下火になっているため、各地衛研からの報告数は 17 例と例年に無く少なかった。17 例中野外株は 13 例で、10 例を Gw 系統が占めた。しかし、残り 3 例は新たな系統である Gneo であり、岐阜県内では 2016 年以降 Gneo の流行が定着していることを伺わせた。[木所稔、村野けい子、竹田 誠、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、神奈川県衛生研究所、新潟県保健環境科学研究所、滋賀県衛生科学センター、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、岐阜県保健環境研究所)]

3. 次世代シーケンサ(NGS)導入のために MuV の全ゲノム領域を対象とする RT-PCR の条件検討

臨床検体から直接 NGS 解析を行うため、MuV 全ゲノム領域を標的とする RT-PCR 用プライマーセット 3 セットをデザイン(候補#1～3)した。いずれもゲノム全領域を4分割して増幅するよう設計した。8 検体(7 検体は分離ウイルス、1 検体は患者由来のだ液)についてこれらのプライマーセットで RT-PCR を行った。分離ウイルスではいずれのプライマーセットでもほぼ全領域が増幅されたが、臨床材料については増幅されない領域もあり、プライマーの更なる改良が必要であった。

得られたレプリコンを Ion PGM system (Thermo Fisher sci.)でレプリコンシーケンスした。その結果についてヴァリアント解析を行い、同じ検体について RNA シーケンス法で解析した結果と比較した。いずれの方法でもバリアントの種類や含有率のデータは良く一致し、レプリコンシーケンスによる臨床検体の解析の可能性を確認できた。

[木所稔、村野けい子、村上聡(ライフテクノロジーズジャパン(株))]

4. 上衣細胞特異的 microRNA を利用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 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/miR)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の開発を進めている。これまでに上衣細胞において高発現する microRNA である miR449、miR204 および miR224 の 3 種類それぞれの相補配列を組み込んだウイルス(rOdate/miR449、/miR204、/miR224)を作製した。新生ラットへの脳内接種によって神経病原性を検討した結果、rOdate/miR449 のラット脳内の増殖および病原性は親株に比べて著しくに低下した。また rOdate/miR204 は中程度の低下が認められた。一方、rOdate/miR224 は親株と比較して有意な差は認められなかった。そこで新生ラットにおいて神経病原性の弱毒化が認められた rOdate/miR449 および/miR204 について、霊長類であるマーモセットを用いて脊髄内接種による神経病原解析を行った。その結果、rOdate/miR449 および/miR204 のどちらについても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、マーモセットにおける弱毒化は確認できなかった。組換えウイルスのベースに用いた Odate 株は神経病原性が非常に強い株である。そこで現在、神経病原性の比較的弱い株に miR449 および miR204 の相補配列を組み込むことで、より安全なムンプスワクチンの開発を目指している。[加藤大志:網康至(動物管理室)、永田典代(感染病理部)、須崎百合子(動物管理室)、加藤文博、岩田奈織子(感染病理部)、竹田誠、木所稔]

5. ムンプスウイルスVタンパク質のウイルス増殖における役割

ムンプスウイルスのアクセサリータンパク質である V タンパク質は、自然免疫の抑制やウイルス RNA 合成の調節などの機能を有することが知られている。そこで、Vタンパク質欠損組換えムンプスウイルス(rOdate/V-)を作製し、ウイルス増殖における V タンパク質の役割を解析した。Vero 細胞における増殖を V タンパク質発現対照ウイルス(rOdate/V+)と比較した結果、rOdate/V-の増殖は rOdate/V+に比べ有意に低下した。rOdate/V-の増殖低下は自然免疫関連タンパク質である MAVS または IFNAR1 をノックアウトした細胞においても認められたため、培養細胞の増殖にはVタンパク質の自然免疫抑制機能は寄与していないと考えられた。rOdate/V+と比較して、rOdate/V-の RNA 合成、タンパク質合成および培養上清のウイルスタンパク質量には変化が認められなかったことから、ムンプスウイルスのVタンパク質は感染性ウイルス粒子の形成に

重要な役割を担っていると考えられた。現在、より詳細な分子機構の解明を進めている。[加藤大志、中津祐一郎、加藤文博：山地俊之（細胞科学部）、木所稔、竹田誠]

6. 鳥居株感染性クローンの構築

ムンプスウイルス弱毒化ワクチン株である鳥居株の感染性分子クローンの構築を行った。ウイルスcDNAを4断片に分け増幅し、プラスミド上で全長を再構成した。作製した全長ウイルスcDNA プラスミドと補助プラスミドを T7RNA ポリメラーゼ発現BHK 細胞に導入したところ、感染性組換えウイルスが得られた。得られた組換えウイルスの遺伝子配列はウイルスcDNAプラスミドの配列と完全に一致した。[加藤文博、加藤大志、村野けい子：網康至、須崎百合子（動物管理室）、竹田誠、木所稔]

7. ELISPOTを用いた細胞性免疫の評価系の構築

ムンプスウイルスワクチン接種により誘導される獲得免疫は、液性免疫だけではなく細胞性免疫も高度に誘導される。しかし、ムンプスウイルス感染マーモセットモデルにおいては、細胞性免疫を評価する系の確立が不十分である。そこでELISPOT 法を用いた細胞性免疫の評価系の構築を試みた。その結果、1 検体当たり1×10^5 細胞を用い、感染性ウイルスを m.o.i.=2 で 24 時間抗原刺激することがアッセイ条件として至適であることが明らかになり、ELISPOT による細胞性免疫の評価系が構築された。[加藤文博、加藤大志、村野けい子：網康至、須崎百合子（動物管理室）、竹田誠、木所稔]

IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1. エチオピアにおけるヒトコブラクダの中東呼吸器症候群コロナウイルスの調査

中東呼吸器症候群(MERS)は 2012 年の発生以来、サウジアラビアを中心とする中東地方で現在も流行が続いている。感染源はヒトコブラクダであり、アラビア半島におけるラクダの抗体保有率はほぼ100%である。一方北東アフリカ地域では、アラビア半島の10倍以上の頭数が飼養されており、同様にほぼ100%のラクダがMERS-CoVに対する抗体を保有しているが、ヒトの MERS ケースの報告は 1 件もない。そこでエチオピアにおいてヒトコブラクダにおける MERS-CoV の調査を行った。Afar州において2歳齢以下のヒトコブラクダから258検体の鼻水を採取した。Q-Probe RT-LAMP 法を主に用いて判定したところ、Amibara地域で採取されたもの39で陽性だった。陽性検体のうち、力価が高いと想定される12検体を用い、次世代シークエンサーを用いた遺伝子配列解析を行ったところ、2 つの全長配列解読に成功した。Amibara 株は他のアフリカ株と同様に clade C に属するが、Nigeria、Burkina Faso などの株とは別のサブクラスターを形成した。中東株である EMC 株をベースとした BAC 発現ベクターを用い、S タンパク質を Amibara株と入れ替えたキメラウイルスを作製し、解析を行ったところ、親株の EMC 株と比べ、培養細胞における複製が遅いことが明らかとなった。また Afar 州で採取されたヒトコブラクダ血清、EMC 株で免疫されたマウス血清をもちいて中和を行ったところ、両者とも Amibara 株の S を持ったウイルスのほうで抗体価が高かった。すなわち Amibara 株は中東株(EMC 株)と比較して複製が遅く、より低い抗体価で中和可能であることが示された。[白戸憲也：Simenew Keskes Melaku（アジスアベバ科学技術大学）、 直亨則：岩田奈織子（感染病理部）、神谷亘（大阪大学微生物病研究所）、松山州徳、Tesfaye Sisay Tessema（アジスアベバ大学）、泉對博（日本大学生物資源科学部）]

2. MERSコロナウイルスの細胞侵入経路に関する研究

ヒトに感染するコロナウイルスは6種知られているが、そのうち4種は風邪の病原体（HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1）、他2種は中東呼吸器症候群(MERS)と重症急性呼吸器症候群（SARS）の病原体である。これらのうち、229E、NL63、MERS、SARS コロナウイルスについては、細胞侵入の際にエンドソーム経路を通り、エンドソームのプロテアーゼを利用して活性化してウイルス膜とエンドソーム膜を融合させ、感染を成立させることが報告されている。現在までにMERS コロナウイルスの膜融合に関与する様々な宿主プロテアーゼが報告されているが、その一つとしてゴルジ体に存在するプロテアーゼ Furin により活性化されることが、2015 年に米国のグループにより報告された。しかしながら、我々の実験結果は、FurinはMERSコロナウイルスに利用されないことを示しており、米国グループの結論は、Furin 阻害剤（dec-RVKR-CMK）の非特異的で幅広いプロテアーゼ阻害効果によりもたらされた、間違えた結果に基づくものであると考えられた。

我々は研究分野のミスリードを修正するための論文を作成し、報告した。[松山州徳、川瀬みゆき、白戸憲也：福士秀悦（ウイルス第一部）、神谷亘（大阪大学微生物病研究所）]

3. RS ウイルスグローバルサーベイランスのための基盤研究

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おり、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。検査法としては米国 CDC の方法（リアルタイム RT-PCR による検出 Fry et al. 2010 PLoS one 5(11): e15098）が推奨され、その方法でグローバルな標準化が検討されている。そこで米国 CDC 法を国内導入するためのバリデーションを行った。1step RT-PCR については、Ag-Path-ID を用いる系での運用が可能と考えられた。感度、特異度も他のリアルタイム RT-PCR 法による検出とほぼ変わらないと考えられる。本法は 1 種類のプライマー、プローブキットを用いて 2 つのサブタイプを検出する方法で、スクリーニングには適しているが、RS ウイルスのサブタイピングはできない。サブタイピングには F タンパク質領域の遺伝子配列解析を要求しているが、成功率が悪く、この配列解析法の標準化は困難であった。費用効果も悪いため、サブタイピングにはむしろ A,B それぞれのプライマーセットを用いたリアルタイム RT-PCR を用いたほうが簡便であると考えられる。また、ナショナルラボに相当する機関は遺伝子配列解析を要求される可能性があるが、米国 CDC 法が要求する遺伝子配列解析より、次世代シークエンサーを用いた全長配列解析法をセットアップするほうが有用である思われた。そこで仙台医療センターからの臨床検体を用いて全長遺伝子配列の解読を試み、34 株の解読に成功し、GenBank への登録を行った。得られた遺伝子配列の系統解析により、サブタイプ B のウイルスについて、ウイルスの遺伝子系統と分離のしやすさとの関連が示唆されるデータが得られた。

[白戸憲也、直亨則、松山州徳：西村秀一（仙台医療センターウイルスセンター）、竹田誠]

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 HMPV の感染・増殖に必要な宿主因子を 50 程度同定しており、その中にはヘパラン硫酸の生合成に関与する因子が複数含まれている。HMPV の細胞吸着にヘパラン硫酸が重要であることは既に報告されているが、ヘパラン硫酸の詳細構造と HMPV の細胞吸着については全く不明であった。本研究により、ヘパラン硫酸生合成過程における、6-O-sulfation が HMPV の細胞吸着に重要であることが示唆された。

[直亨則：山地俊之（細胞科学部）、関塚剛史（病原体ゲノム解析研究センター）、白戸憲也、松山州徳、竹田誠]

5. ヒトメタニューモウイルスの G 遺伝子進化

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。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。HMPV においても、その後のサーベイランスの結果、G 遺伝子に 111 塩基挿入を有するウイルスが現在の主要な流行株であることを明らかにした。臨床ウイルスを用いた HMPV の細胞向性解析では、G 遺伝子の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かった。しかし G 遺伝子の重複配列の有無にかかわらず、臨床株ごとの培養細胞への感染性の違いが大きく、詳細な評価は困難であった。そこで、我々は G 遺伝子に重複配列を有する組

換ウイルスを作出した。本組換ウイルスはこれまでに報告されていない、HMPV A2b 亜型の組換ウイルスである。また、作出したウイルスゲノム配列は臨床検体中のウイルスゲノム配列と完全に一致しているため、本組換ウイルスは分離や継代の影響を受けていないウイルスといえる。

[直亨則：七種美和子（横浜市衛生研究所）、山岸潤（北海道大学）、也西村秀一（仙台医医療センター）、竹田誠]

6. 呼吸器ウイルス遺伝子検査のための検査コントロール収集

WHO が進めている RS ウイルスのグローバルサーベイランスの第1の目的はRSウイルス感染症の疾病負荷の算出にある。そのためにインフルエンザ様疾患(ILI)、重症呼吸器感染症(SARI)の各症例定義から発熱を引いたものを用い、集まった症例の中で RS ウイルス感染症の比率がいくらであるのかを明らかにする必要がある。併せて、先進国にはマルチプレックスアッセイ等により、RS ウイルスが陰性であった場合にこれらの疾患が何に起因するものであったかを明らかにすることが求められている。そこで RS ウイルス以外の呼吸器ウイルスに対しても検査法を整備する一方、検査用のコントロールウイルスを収集しておく必要が生じた。リアルタイム RT-PCR 法、RT-LAMP 法の各プライマーセットに対する陽性コントロールについては、合成核酸を用いることで賄えるが、両者に共通するコントロールとしてはウイルス核酸が望ましい。これら検査コントロールは地衛研等への配布の可能性も将来的にありうるが、ATCC 等から入手した標準株は二次配布が禁止されている。また各種ウイルスが陽性と判定されている臨床検体はコントロールとして利用可能であるが、倫理面の観点から検体や検体由来核酸を配布することは望ましくない。そこで権利関係がフリーであるウイルス株を収集することが求められた。アメリカの Discovery Life Science 社から各種ウイルス陽性の臨床検体を購入し、ウイルス分離、配列解析を行った。RS ウイルスについては HEp-2 細胞を用いたサブタイプ A を 3 株、サブタイプ B を 2 株分離することができ、全長遺伝子配列の解読を行い、GenBank への登録を行った(LC474556-60)。さらに Vero/TMPRSS2 細胞を用いてアデノウイルス 1 株、パラインフルエンザウイルス 1 型 2 株、パラインフルエンザウイルス 2 型 2 株、パラインフルエンザウイルス 3 型 1 株の分離に成功し、配列解読を行う予定である。

[白戸憲也、直亨則、松山州徳]

7. マウスパラインフルエンザウイルスの生体内での Tmprss2 利用能と病理学的解析

パラミクソウイルス科の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（センダイウイルス、SeV）の生体内でのウイルス増殖性や病原性発現における、Tmprss2 の関与について、Tmprss2 遺伝子欠損マウスを用いて解析した。これまでの解析では、TMPRSS2 を発現している野生型マウスでは著しい体重減少や致死性が認められたが、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスでは顕著な体重減少や致死性は認められなかった。これら感染条件について、病理学的解析も実施した。マウス感染肺では、ウイルス学的解析結果と異なり、病理学的解析では、炎症性病巣数に顕著な差は認められなかった。これら所見は、病原性発現が Tmprss2 に依存的なインフルエンザ A ウイルスとは異なり、SeV が効率よく宿主免疫応答を抑制し、病原性を発現することに起因するのではないかと考えられた。[酒井宏治：入江崇（広島大）、神田浩明（埼玉県立がんセンター）、網康至（動物管理室）]

8. 非病原性マウスパラインフルエンザウイルスを用いたウイルス性ワクチンアジュバントの検証

これまでに、マウスに致死的な病原性を示すマウスパラインフルエンザウイルス（センダイウイルス）の Cantell 株から、IFNβ 誘導因子である copyback 型 DI ゲノムを恒常的に産生し、マウスに非病原性の cCdi 株をクローニングした。RNA ウイルスの quasispecies は既知のことであるが、この非病原性の極めて稀な cCdi 株の自然界での存在意義は不明である。この copyback 型 DI ゲノムは、優れた RIG-I 作動剤として機能していることが考えられたため、市販の季節性インフルエンザ HA ワクチンを免疫抗原とし、アジュバントに、cCdi 株（試験群）、ウイルス RNA を模倣した合成二本鎖 RNA の Poly I:C（陽性対照群）、生理食塩水（陰性対照群）を設置し、ワクチンアジュバントとしての機能の検証を試みた。

2回の免疫後、致死的なインフルエンザウイルスの感染実験を行った。陰性対照群では、生存率が 0%であったが、Poly I:C の陽性対照群では 83%、cCdi 株のワクチンアジュバント群では 67%のマウスが生存した。季節性インフルエンザ HA ワクチンを免疫抗原なしの cCdi 株単独投与群でも、生存率が 0%で

あったため、cCdi 株のワクチンアジュバント機能が考えられた。今後、免疫後の経鼻 IgA 抗体や血中 IgG 抗体やサイトカイン応答を詳細に解析する。［酒井宏治、入江崇（広島大）、網康至（動物管理室）］

9. 変異型 H3N2 インフルエンザウイルスのマウス生体内での病原性発現機序の解明

インフルエンザ A ウイルス（IAV）が感染性を獲得するには、膜蛋白質 HA が、宿主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、膜融合能を獲得する過程が必須である。これまで、季節性 H1N1 や H3N2 の生体内 HA 開裂プロテアーゼが Tmprss2 であること、HA の 8 位糖鎖を欠損した季節性H3N2 はTmprss2 遺伝子欠損マウス生体内でTmprss2 以外のプロテアーゼ利用能を新たに獲得し、Tmprss2 遺伝子欠損マウスに致死的な病原性を発現することを明らかにした。しかし、季節性 H3N2 に対しては、Tmprss2 は必須の宿主因子でないという報告もあるため、ウイルス株によりTmprss2 利用能に差があると考えられた。また、季節性 H3N2 HA の 8 位糖鎖付加の保存性は高かった。一方、北米豚由来 IAV やそれらが豚から人に感染した事例の変異型 H3N2（H3N2v、季節性 H3N2 とは区別するために変異型と呼ばれる）で HA の 8 位糖鎖欠損が多く認められた。この HA の 8 位糖鎖の有無が、TMPRSS2 依存性を決定しているウイルス側の共通原理であるかを明らかにするために、自然界に存在する 8 位糖鎖欠損株であるの H3N2v の TMPRSS2 利用能について検証した。

H3N2v マウス馴化株では、野生型マウスで著しい体重減少と致死が認められたが、Tmprss2 遺伝子欠損マウスでは体重減少や致死は認められなかった。また、高力価ウイルス感染時においても、Tmprss2 遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと異なり、致死は全く認められなかった。感染肺のウイルス力価では、Tmprss2 遺伝子欠損マウスでは野生型マウスに比べ低かった。野生型マウスでは効率的な HA の開裂が認められたが、Tmprss2 遺伝子欠損マウスでは、低効率ながら HA 開裂が認められた（Tmprss2 以外の他のプロテアーゼで H3N2v の HA が開裂された）。しかし、その HA 開裂は低効率のため、野生型マウスのような致死的な病原性発現まで至らなかった。つまり、H3N2v の Tmprss2 以外の他のプロテアーゼによるHA 開裂能は認められたが、マウスでの病原性発現因子は Tmprss2 であると考えられた。［酒井宏治、網康至（動物管理室）］

10. 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解明の試み

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、申請者らは、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的な増悪作用の関与は報告されているが、その重症化機序の全容解明には至っていない。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、解明を試みている。第一段階として、比較的低い菌量で効率よく肺炎を引き起こす肺炎球菌マウス感染モデルを作出した。第二段階として、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）を明らかにするために、第一段階で作出した近交系マウスに Tmprss2 遺伝子欠損を導入した。今後は、これらマウスと季節性 IAV と肺炎球菌の混合感染モデルを用いて、重症化因子の検索を試みる。［酒井宏治、網康至（動物管理室）］

サーベイランス業務

1. 平成 30 年度感染症流行予測調査における風疹感受性調査のため、標準血清（HI 抗体陽性血清並びに陰性血清）を用意し、感染症疫学センターを通じて配布した。試験誤差の有無を検討するための事前確認検査用検体を整備・配布し、各施設で測定してもらい、その結果を集計した。また市販の抗風疹抗体測定用 HI 試薬キットの本事業に対する有用性評価を行い、本年度より本事業への導入が可能であることを確認した。［大槻紀之、感染症疫学センター、森嘉生］

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 3 ロット、風しんワクチン中間段階 3 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 1 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 2 ロット、乾燥弱毒生風

しんワクチン小分け製品 2 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 48 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 26 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、坂田真史、森嘉生、久保田耐、木所稔、加藤大志、加藤文博、竹田誠]

2. 人免疫グロブリン製剤 184 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、田原舞乃、染谷健二、大槻紀之、竹田誠]
3. 人免疫グロブリン製剤の承認前検査(麻疹抗体価測試験)を 1 件実施した。[關文緒、田原舞乃、染谷健二、大槻紀之、竹田誠]
4. 抗風疹 IgG 抗体陽性パネルならびに陰性パネルについて、各1件の配布を行った。 [森嘉生、永井美智、竹田誠]

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、大槻紀之、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 19 ヶ所の地方衛生研究所・保健所に配布した。また、RT-PCR 用参照 RNA を 16 カ所の地方衛生研究所・保健所に、サイズマーカーを 2 ヶ所の地方衛生研究所に配布した。[關文緒、山田裕加里、大槻紀之、竹田誠]
3. 風疹に関する行政検査 11 件を行った[大槻紀之、坂田真史、永井美智、森嘉生、竹田誠]。
4. 風疹遺伝子検査に用いる参照 RNA を 32 カ所の地方衛生研究所等に配布した[森嘉生、永井美智、竹田誠]。
5. 平成30年度外部精度管理事業の一環として、麻疹ウイルスならびに風疹ウイルス検出検査の外部精度管理を 68 の地方衛生研究所に対して実施した。[中津祐一郎、山田裕加里、永井美智、森 嘉生、酒井宏治、竹田誠、外部精度管理事業事務局]
6. AMED 研究班の研究の一環として、風疹ウイルス遺伝子解析検査の外部精度管理を 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(山口県環境保健センター)、大槻紀之、坂田真史、竹田誠]
7. 第 39 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、情報共有を行った。[森嘉生、關文緒]2018 年 7 月 5 日
8. ムンプスの行政検査を 1 件実施した。[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た。[木所稔、村野けい子]
10. 1 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス検出用に陽性コントロール RNA を送付した。[木所稔、村野けい子]
11. MERS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 2 件 国外 1 件
12. RS ウイルス、メタニューモウイルス遺伝子検査用ウイルス RNA 配布 国内 1 件
13. HMPV 遺伝子検査用ウイルス RNA 配布 国内 1 件
14. HMPV 行政検査 国内 1 件
15. HMPV 依頼検査委 国内 1 件

国際協力業務

1. Technical Consultation of the WHO Global Measles Rubella Laboraotry Network(2019 年 1 月 31 日－2 月 1 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]
2. 16th WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting(2018 年 6 月 25-29 日、ポルトガル、カスカイス市)に参加し、Global Specialized Laboratory としてのウイルス第三部の活動ならびに国内の風疹分子疫学情報について報告した。[竹田誠、森 嘉生、中津祐一郎]一部のセッションの Chair を務めた。[竹田誠]
3. 8th Meeting on Vaccine-Preventable Diseases Laboratory Network in the Western Pacific Region(2019 年 3 月 18 日～22 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、竹田誠]。本会議の議長(Chair)を務めた。[竹

田誠]、遺伝子検査ワークショップの講師として講義を行った[森嘉生]。

4. 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（2018 年 12 月 3 日～12 月 6 日）[田原舞乃]
5. Informal consultation on WHO guidelines on the quality, safety and efficacy of Respiratory Syncytial Virus (RSV) vaccines18-19 September 2018 Domaine de Penthes, Geneva, Switzerland に参加（白戸）

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。[田原舞乃、染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、山田裕加里、大槻紀之] 2019 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 11 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。[坂田真史、中津祐一郎、森嘉生]2019 年 1-2 月
3. 平成 30 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ならびに外部精度管理事業の報告をおこなった[森　嘉生](2019 年 2 月 19 日)
4. 4 ヶ所の地方衛生研究所に風疹ウイルス遺伝子解析法の研修を実施した。[森嘉生、坂田真史、永井美智、木村博一(群馬パース大学)、岡本貴世子(感染症疫学センター)](2019 年 2 月 25 日～2 月 27 日)
5. RS ウイルスワクチン開発の現状とグローバルサーベイランスについて 平成 30 年度 国立保健医療科学院ウイルス研修　2018 年 11 月 19 日に講演（白戸）

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Seki F, Miyoshi M, Ikeda T, Nishijima H, Saikusa M, Itamochi M, Minagawa H, Kurata T, Ootomo R, Kajiwara J, Kato T, Komase K, Tanaka-Taya K, Sunagawa T, Oishi K, Okabe N, Kimura H, Suga S, Kozawa K, Otsuki N, Mori Y, Shirabe K, Takeda M, Measles Surveillance Group in Japan, Technical Support Team for Measles Control in Japan. (2019) Nationwide molecular epidemiology of measles virus in Japan between 2008 and 2017. Front Microbiol 10:1470
2. Tahara M, Takishima Y, Miyamoto S, Nakatsu Y, Someya K, Sato M, Tani K, Takeda M. (2019) Photocontrollable mononegaviruses. Proc Natl Acad Sci USA 116:11587-9.
3. Otsuki N, Sakata M, Mori Y, Okamoto K, Takeda M. (2018) Analysis of effect of SMase treatment on rubella virus infectivity. Bio Protoc 8:e2992.
4. 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.
5. Katoh H, Sekizuka T, Nakatsu Y, Nakagawa R, Nao N, Sakata M, Kato F, Kuroda M, Kidokoro M, Takeda M. The R2TP complex regulates paramyxovirus RNA synthesis. PLoS Pathogen 15:e1007749.
6. Matsuyama S, Shirato K, Kawase M, Terada Y, Kawachi K, Fukushi S, Kamitani W. (2018) Middle East respiratory syndrome coronavirus spike protein is not activated directly by cellular furin during viral entry into target cells. J. Virol. 92(19): e00683-18.
7. Shirato K, Semba S, El-Kafrawy SA, Hassan AM, Tolah AM, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Kamitani W, Matsuyama S, Azhar EI. (2018). 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. 258:41-48.
8. Shirato K, Chang HW, Rottier PJM. (2018). Differential

susceptibility of macrophages to serotype II feline coronaviruses correlates with differences in the viral spike protein. Virus Res. 255:14-23.

9. Shirato K, Kawase M, Matsuyama S. (2018) Wild-type human coronaviruses prefer cell-surface TMPRSS2 to endosomal cathepsins for cell entry. Virology. 517:9-15.
10. Nao N, Sato K, Yamagishi Y, Tahara M, Nakatsu Y, Seki F, Katoh H, Ohnuma A, Shirogane Y, Hayashi M, Suzuki T, Kikuta H, Nishimura H, Takeda M. Consensus and variations in cell line specificity among human metapneumovirus strains. PLoS One 14:e0215822.
11. Alam MS, Takahashi S, Ito M, Komura M, Kabir MH, Shoham D, Sakai K, Suzuki M, Takehara K. (2019) Bactericidal efficacies of food additive grade calcium hydroxide toward Legionella. J Vet Med Sci. doi:10.1292/jvms.19-0098.
12. Brown KE, Rota PA, Goodson JL, Williams D, Abernathy, Takeda M, Mulders MN. (2019) Genetic characterization of measles and rubella viruses detected through global measles and rubella elimination surveillance, 2016-2018. MMWR 68:587-591.
13. Brown KE, Rota PA, Goodson JL, Williams D, Abernathy, Takeda M, Mulders MN. (2019) Genetic characterization of measles and rubella viruses detected through global measles and rubella elimination surveillance, 2016-2018. WER 94:301-307.
14. Fukuhara H, Ito Y, Sako M, Yoshida K, Seki F, Hashiguchi T, Higashibata M, Ose T, Kuroki K, Takeda M, Maenaka K. (2019) Specificity of morbillivirus hemagglutinins to recobnize SLAM of different species. Viruses (in press)
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. (2018) 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.
16. 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.
17. Himura H, Shirabe K, Takeda M, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Okayama K, Ryo A, Nagasawa K, Okabe N, Minagawa H, Kozawa K. (2019) The association between documentation of Koplik spots and laboratory diagnosis of measles and other rash diseases in a national measles surveillance program in Japan. Front Microbiol 10:269.
18. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Hasegawa H, Takeda M, Nagata N. (2019) TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection. J Virol 93:e01815-18.
19. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Kotani O, Sato H, Sekimukai H, Fukushi S, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. (2019) Acute Respiratory Infection in Human Dipeptidyl Peptidase 4-Transgenic Mice Infected with Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. J Virol 93:e01818-18.
20. 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.
21. 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. (2018) The Unique Phylogenetic Position of a Novel Tick-Borne Phlebovirus Ensures an Ixodid Origin of the Genus Phlebovirus., mSphere 3: e00239-183.

22. Ohishi K, Maruyama T, Seki F, Takeda M. (2019) Marine Morbilliviruses: The diersity and interaction with receptors. Viruses 11:606
23. Okabayashi H, Komada K, Kidokoro M, Kitamura T, Miyano S, Ito T, Phounphenghak K, Pathammavong C, Murano K, Nagai M, Mori Y, Komase K, Xeuatvongsa A, Takeda M, Hachiya M. Seroprevalence of mumps before the introduction of mumps-containig vaccine in Lao PDR: Results from a nationwide cross-sectional population-based survey. BMC Res Notes 12:155
24. Saikusa M, Nao N, Kawakami C, Usuku S, Tanaka N, Tahara M, Takeda M, Okubo I. Predominant detection of the subgroup A2b human metapneumovirus strain with 111-nucleotide duplication in Yokohama City, Japan in 2018. Jpn J Infect Dis. Doi:10.7883/yoken.JJID.2019.124.
25. 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.
26. 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
27. Sato M, Maruyama J, Kondoh T, Nao N, Miyamoto H, Takadate Y, Furuyama W, Kajihara M, Ogawa H, Manzoor R, Yoshida R, Igarashi M, Takada A. (2019) Generation of bat-derived influenza viruses and their reassortants, Sci Rep 9(1) 1158.
28. Suzuki T, Okamoto T, Katoh H, Sugiyama Y, Kusakabe S, Tokunaga M, Hirano J, Miyata Y, Fukuhara T, Ikawa M, Satoh T, Yoshio S, Suzuki R, Saijo M, Huang DCS, Kanto T, Akira S, Matsuura Y. Infection with flaviviruses requires $BCLX_L$ for cell survival. PLoS Pathog. 14(9), e1007299. 2018
29. Tadokoro T, Jahan ML, Ito Y, Tahara M, Chen S, Imai A, Sugimura N, Yoshida K, Saito M, Ose T, Hashiguchi T, Takeda M, Fukuhara H, Maenaka K. (2019) Biophysical characterization and single-chain Fv construction of a neutralizing antibody to measles virus. FEBS J doi:10.1111/febs.14991.
30. Torii S, Matsuno K, Qiu Y, Mori-Kajihara A, Kajihara M, Nakao R, Nao N, Okazaki K, Sashika M, Hiono T, Okamatsu M, Sakoda Y, Ebihara H, Takada A, Sawa H. (2019) Infection of newly identified phleboviruses in ticks and wild animals in Hokkaido, Japan indicating tick-borne life cycles., Ticks Tick Borne Dis 10(2) 328-335.
31. Vynnycky E, Miyano S, Komase K, Mori Y, Takeda M, Kitamura T, Xeuatvongsa A, Hachiya M. (2019) Estimating the immunogenicity of measles-rubella vaccination administered during a mass campaign in Lao People's Democratic Republic using multi-valent seroprevalence data. PLOS One (in press)
32. 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.

和文発表

1. 竹田誠(2019) プロテアーゼ依存性ウイルス病原性発現機構とTMPRSS2、ウイルス 69:61-72
2. 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
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. 中津祐一郎、竹田誠(2018) 抗パラミクソウイルス薬 臨床と微生物 45:739-43.

5. 森嘉生 風疹ウイルスに関する最新情報・風しん含有ワクチンの製造方法、臨床とウイルス 46(5):346-352, 2018
6. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠 (2018)風疹の検査法 病原微生物検出情報 39:35-36
7. 大槻紀之(2019) 風疹ウイルスレセプター、 臨床とウイルス、47(1):10-16
8. 坂田真史、森嘉生、竹田誠 海外の風疹の現状、臨床とウイルス 46(5):402-409, 2018
9. 木所 稔 ムンプス髄膜炎の発症機序とその頻度, Vaccine Digest, 17, 8, 2018.
10. 木所 稔 ムンプス髄膜炎と実験室診断, IASR, 39(6), 99-101, 2018.
11. 木所 稔 おたふくかぜワクチンの展望, ウイルス, 62(2), 125-136, 2018.
12. 木所稔『ウイルス検査法』II 各論、1-3)ムンプス、98-104、春恒社(日本臨床ウイルス学会編集), 2018
13. 松山州徳 2018 年の韓国 MERS 患者の事例ついて, 獣医学雑誌, 2018 年 22 巻 2 号 p. 110-111
14. 白戸憲也、竹田誠 RS ウイルスワクチン開発の現状とグローバルサーベイランスについて。病原微生物検出情報(IASR) Vol. 39 2018 年 12 月号 (Infectious Agents Surveillance Report)。No.466: p220-22
15. 直亨則、竹田誠(分担執筆)(2019) ヒトメタニューモウイルス ウイルス検査法 臨床と検査室のための手引き 日本臨床ウイルス学会(編集)、春恒社
16. 庵原俊昭、木所稔『ワクチン - 基礎から臨床まで -』第 III 部ウイルスワクチン、19.おたふくかぜワクチン, 147-157、朝倉書店(日本ワクチン学会編), 2018.
17. 入江崇、酒井宏治、坂口剛正(2019)『ウイルスベクターワクチンの現状と展望』、BIO Clinica 34(2): 223-227
18. 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 年に出生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
19. 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
20. 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
21. 多屋馨子、竹田誠、駒瀬勝啓(分担執筆)(2018) 麻疹ワクチン、MRワクチン ワクチン 基礎から臨床まで、日本ワクチン学会編集、朝倉書店
22. 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

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Kouji Sakai, Takashi Irie, Naoya Nagata, Kazuaki Takehara, Yasushi Ami, The serine protease TMPRSS2 plays a major role for in vivo replication of sendai virus in a natural host. The 17th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, Sep 2018.
2. Kouji Sakai, Naoya Nagata, Kimie Nomura, Takashi Irie, Kazuaki Takehara, Hiroaki Kanda, Yasushi Ami, Role of an oligosaccharide in the hemagglutinin protein on the pathogenesis of H3N2 influenza A virus. The 1st Influenza and other Infections, Tokyo, Japan, Feb 2019
3. 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)
4. Noriyuki Otsuki, Masafumi Sakata, Kyoko Saito, Kentaro Hanada, Makoto Takeda, Yoshio Mori, Current situation of rubella in Japan/ Entry mechanism of rubella virus. The 15th Taiwan-Japan symposium on communicable diseases and prevention, and collaborative project reports, Taipei, Taiwan, Sep 2018
5. 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. American Society for Virology 37th Annual Meeting, College Park, MD, USA, July 14-18, 2018

6. 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)
7. 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
8. Naganori Nao, Ko Sato, Fumio Seki, Junya Yamagishi, Maino Tahara, Yuta Shirogane, Hidekazu Nishimura, Makoto Takeda, Characterization of clinical and laboratory strains of human metapneumovirus, THE 9TH ASIAN CONGRESS OF PEDIATRIC INFECTIOUS DISEASES, Fukuoka, Japan, 2018
9. Asuka Yoshida, Kouji Sakai, Ryoko Kawabata, Takemasa Sakaguchi, Takashi Irie, Characterization of a Sendai virus isolate producing copyback-type defective viral RNA and its potential as a vaccine adjuvant. The 17th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, Sep 2018
10. Asuka Yoshida, Kouji Sakai, Ryoko Kawabata, Takemasa Sakaguchi, Takashi Irie, Characterization of a Sendai virus isolate producing copyback-type defective viral RNA and its potential as an effective vaccine adjuvant. The 1st Influenza and other Infections, Tokyo, Japan, Feb 2019.
11. Hashimoto K, Norito S, Sato M, Maeda H, Maeda R, Sakuma H, Suzuki S, Shirato K, Kagayama T, Takeda M, Hosoya M. (31 October - 4 November 2018, Omni Grove Park Inn, Asheville, NC USA) Detection of RS virus and multiple respiratory viruses in impatients with respiratory tract infection by direct real-time RT-LAMP. 11th International Respiratory Syncytial Virus Symposium.
12. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Takeda M, Hasegawa H, Nagata N. (2018 October 14-18, Pok Fu Lam, Hong Kong) The severity of Middle East respiratory syndrome in human dipeptidyl peptidase 4 (DPP4)-bearing transgenic mice. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology
13. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Takeda M, Hasegawa H. (2018 October 14-18, Pok Fu Lam, Hong Kong) TMPRSS2 plays a role in replication and pathogenesis of SARS-CoV and MERS-CoV in mice. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology
14. 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

国内学会

1. 竹田誠、關文緒、中津祐一郎、駒瀬勝啓 麻疹ウイルスワクチン株特異的 real-time PCR 法の検討 第 22 回日本ワクチン学会、戸、2018 年 12 月 8-9 日
2. 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
3. 酒井宏治 ヒト RS ウイルス感染症及びヒトメタニュウーモウイルス感染症のマウス重症化モデルの作出、第 121 回日本小児科学会学術集会、福岡、2018 年 4 月
4. 酒井宏治、永田直也、須崎百合子、竹原一明、網康至 変異型インフルエンザウイルス H3N2 の HA 開裂における TMPRSS2 利用能と病原性解析、第 161 回日本獣医学会学術集会、茨城、2018 年 9 月
5. 酒井宏治 センダイウイルスの宿主マウスでの病原性発現機序と宿主免疫系への貢献、8th Negative Strand

Virus-Japan Symposium、沖縄、2019 年 1 月

6. Kouji Sakai, Takashi Irie, Naoya Nagata, Yuriko Suzaki, Kazuaki Takehara, Yasushi Ami, The serine protease TMPRSS2 plays a major role for in vivo replication of mouse parainfluenza viruses in a natural host. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
7. Tahara M, Sato M, Takayama-Ito M, Saijo M, Tani K, Takeda M. Optically controllabile rabies virus.(光制御性狂犬病ウイルス) 第 66 回日本ウイルス学会、京都、2018 年 10 月 28-30 日
8. Katoh H, Sekizuka T, Sakata M, Nakatsu Y, Nakagawa R, Kidokoro M, Kuroda M, Takeda M. The R2TP complex modulaties viral RNA synthesis of mumps virus.(R2TP 複合体はムンプスウイルスの RNA 合成を制御する) 第 66 回日本ウイルス学会、京都、2018 年 10 月 28-30 日
9. Shirato S, Melaku SK, Kawachi K, Nao N, Matsuyama S, Kamitani W, Tessema TS, Sentsui H. Characterization of Middle East Respiratory Syndrome coronavirus in dromedary camels in Ethiopia. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月 ポスター
10. Nao N, Sato K, Seki F, Yamagishi J, Shirogane Y, Nishimura H, Takeda M. Characterization of recently isolated clinical and commonly used recombinant laboratory strains of human metapneumoviruses.(ヒトメタニューモウイルス臨床分離ウイルス株及び組換ウイルス株の性状解析) 第 66 回日本ウイルス学会、京都、2018 年 10 月 28-30 日
11. 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
12. 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

III. そ の 他

1. 竹田誠 呼吸器ウイルス活性化酵素 TMPRSS2 平成 30 年度「感染・免疫・ガン・炎症」シンポジウム、札幌、2019 年 3 月 27 日
2. 竹田誠 麻疹 松本市小児科・内科夜間急病センター登録医・スタッフ勉強会、松本、2018 年 8 月 25 日
3. 竹田誠 麻疹ウイルスと人ー日常・地球・進化 第 188 回東京六稜倶楽部、東京、2018 年 8 月 16 日
4. 竹田誠 麻疹(ましん・はしか) 国立感染症研究所 村山庁舎一般公開 感染症基礎知識セミナー、2018 年 7 月 28 日
5. 竹田誠 麻疹ウイルスを科学する:病態理解から新次元の応用へ 京都大学ウイルス・再生医科学研究所 ウイルス研究の潮流シリーズセミナー 京都、2018 年 7 月 18 日
6. 森嘉生 感染研村山庁舎一般公開サイエンスカフェ「もりあげよう！2020 年東京オリンピックと風疹排除」、東京、2018 年 7 月 28 日
7. 森嘉生 平成 30 年「地域保健総合推進事業」に係る関東甲信静ブロック地域レファレンスセンター連絡会議「麻しん・風しん検査標準化の課題」、埼玉、2018 年 10 月 16 日
8. 森嘉生 AMED シンポジウム:「わが国の風しん排除を目指して」、風しんウイルスと分子疫学、東京、2018 年 11 月 25 日
9. 森嘉生 岐阜大学応用生物学部 新興・再興感染症制御学特別講義「風疹の制御:なぜ風疹は流行を繰り返すのか？」、岐阜、2018 年 12 月 14 日
10. 木所稔 おたふくかぜワクチンの定期接種化に向けた課題,公益財団法人日本感染症医薬品協会 メディカル・サイエンスセミナー、東京、2018 年 11 月 8 日
11. 松山州徳 市民講座ー知の市場「中東呼吸器症候群コロナウイルス」、国立感染症研究所、2018 年 7 月 3 日
12. 白戸憲也 日本大学生物資源科学部 平成 30 年度大学院特別講義「コロナウイルスによる新興感染症」で講演、2018 年 7 月 26 日

４．細菌第一部

部長　　大西　　真

概　要

細菌第一部では、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、新規検査法の開発等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2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、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(EHEC)に関しては、地方衛生研究所から送付された菌株の多様性解析を実施した。EHEC O157, O26, O111, O103, O121, O145, O165 および O91 菌株(n=2,768)に関しては、迅速性、多検体処理に秀でているMLVA 法によって解析し、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。広域食中毒事例の解析に活用された。EHEC 感染症に続発する溶血性尿毒症症候群の原因診断につながる血清診断、EHEC 分離同定も行われた。重症例由来EHEC のうち、III 型分泌装置を保有しない O 群（O113, O174, O183, OUT, O74, O86）の株について、完全長ゲノム配列を決定し、保有遺伝子等の解析を行った。

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た。特に、岡山大学インド拠点、長崎大学ベトナム拠点とのプロジェクトを引き続き実施した。

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、検体から直接解析することで、国内で伝播している梅毒トレポネーマのゲノム配列情報の取得に成功した。

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、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。

H30 年 11 月には、国立感染症研究所において第22回腸管出血性大腸菌感染症研究会を開催した（世話人　大西真、事務局　伊豫田淳）。

石原朋子は H29 年度に引き続き、日本医療研究開発機構に派遣された。大西真は H30 年 4 月より副所長に着任した。

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

2018 年に全国から受け付けたヒト由来の EHEC は 2,954 株であった。頻度の高い O 血清群（O 群）の順に O157（56.3%）、O26（20.9%）、O121（5.2%）、O103（4.5%）、O111（3.3%）、O145（1.8%）で、その他は 73 の O 群、104 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 1,050 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 年から 2018 年までにヒトの重症例から分離された O 群型別不能（OUT）の EHEC 株について、大腸菌の血清型を遺伝学的に決定出来る O-/H-genotyping PCR 法による型別を行ったところ、少なくとも 10 種類の新規 O 群および 15 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。このうち、重症例由来として最も分離数の多い新規 O 群は OgN6（n=5）であり、H 型は H2（n=1）、H19（n=3）、H34（n=1）に分類されることが判明した。 [伊豫田淳、井口純（宮崎大・農）、小澤さお美、竹本歩、李謙一、大西真]

ウ．重症例由来 LEE 非保有 EHEC の完全長ゲノム配列解析

重症例由来 EHEC のうち、III 型分泌装置を保有しない O 群（O113, O174, O183, OUT, O74, O86）の株について、完全長

ゲノム配列を決定し、保有遺伝子等の解析を行った。その結果、O86 は凝集性線毛等がコードされたプラスミド（pAA）を、その他の株は STEC autoagglutinating adhesin (Saa)がコードされたプラスミドを有することが明らかとなった。Saa がコードされたプラスミドは、subtilase toxin など他の病原性遺伝子を共通して保有しており、病原性等への関与が示唆された。
[李謙一、伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、大西真]

(2) 分子疫学的解析

ア. MLVA 解析

2018 年に当研究所に送付され解析された腸管出血性大腸菌は 2,972 株であった。このうち血清群 O157、O26、O111、O103、O121、O145、O165、O91 に該当した 2,768 株について MLVA による型別を行った。また 312 株について PFGE による解析を実施した。MLVA については 1,106 の型が同定された。最も多かった型は 18m0126、18m0241、16m4013 でありいずれも 55 株であった。18m0126 は 18m0384（1 株）とともにコンプレックス 18c034 を形成し、これには 8 月に発生した広域食中毒事例関連株が含まれた。［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. 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。上記データベースの活用について検討した。［泉谷秀昌、伊豫田淳：岩渕香織（岩手県環境保健研究センター）、鈴木淳（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）、河合高生（大阪健康安全基盤研究所）、狩屋英明（岡山県環境保健センター）、濱崎光宏（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) 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 7 例のうち 、大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となったのは 5 事例あった。このうち O157 抗体陽性が 2 例、O111 抗体陽性 が 2 例 （うち 1 例は O145 抗体も陽性）、O121 抗体陽性が 1 例であり、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、大西真］

(4) HUS 患者からの EHEC の分離同定

EHEC が分離されない HUS 症例の一部は非典型的 HUS（atypical HUS: aHUS）と診断される可能性があり、EHEC-HUS と aHUS の鑑別は重要である。当初 EHEC が不分離とされた HUS 発症例 4 事例について患者便を再検査したところ、このうちの 1 例（残りの 3 例は依然として EHEC 不分離例であったが,いずれも上記の血清診断陽性例であった） では血清型が OUT/OgUT:H11 となる *stx2* および *eae* 陽性の EHEC が分離され、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、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

2018 年に当研究所に送付された赤痢菌 158 株について multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA)およびパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による分子疫学解析を行った。菌株の内訳は *S. sonnei* 138 株、*S. flexneri* 17 株、*S. boydii* 3 株であった。*Shigella sonnei* では 76 の MLVA 型が検出された。このうち 39 株が同一の MLVA 型であり、さらに 2 株が当該 MLVA 型と類似の型であった。これらは 10 月に発生した食中毒事例関連株を含んでいた。［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。赤痢の病原性発現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、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はこれらを含む赤痢菌群に反応した。血清型を超えて免疫が誘導されるメカニズムとして、ワクチン候補株は共通抗原である T3SS の発現が増加している上に、弱毒化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。

このワクチン候補株の副反応をより弱めた候補株を作成し、インド国立コレラ腸管感染症研究所(NICED)と解析を進めている。[三戸部治郎]

3. サルモネラ属菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア チフス菌、パラチフス A 菌のファージ型別

2018 年に国内で分離され、地方衛生研究所、保健所等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 34 株、パラチフス A 菌 21 株であった。チフス菌では、ファージ型 E1 が 12 株と最多となった。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 10 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

2018 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 61.7%、パラチフス A 菌は 100%であった。第 3 世代セファロスポリンに耐性を示すチフス菌が 1 株検出された。[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

2018 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 97 株であった。血清型は 16 種類からなり、上位 4 位は Enteritidis、Saintpaul、Bareilly、I 4:i:-であった。これらは、*Xba*I 消化による PFGE 解析により 18 パターンに分かれた。血清型 Enteritidis 28 株についてファージ型別を実施し、ファージ型(PT)47 が 18 株、PT21 が 4 株、PT4 が 1 株、その他が 5 株となった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

エ 保菌者サルモネラの血清型別と薬剤耐性

2017 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 100 株、2016-2017 年に分離された保菌者由来サルモネラ O9 群 82 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。O8 群上位は Manhattan、Newport、Litchfield、O9 群上位は Enteritidis、Panama、Javiana であった。63 株が何らかの薬剤に耐性を示し。耐性パターンとしては、SM＋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]

オ 中国広東省で分離された *Salmonella* Typhimurium のゲノム解析

中国広東 CDC より送付された *Salmonella* Typhimurium のゲノム DNA を用いて、次世代シーケンサーによるゲノム解読を行った。得られたドラフトゲノム配列より、薬剤耐性遺伝子の保有状況と薬剤耐性に関与する染色体上の突然変異を確認した。
[森田昌知、泉谷秀昌、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

2018 年に当研究所に送付されたコレラ菌は 4 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 2 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解読している。平成 30 年度は新たに 85 株のドラフトゲノム配列を取得した。これまでの累計は *V. cholerae* 及び他のビブリオ科細菌も含め約 1400 株となった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

ウ 平成 30 年度に同定、血清型別などを依頼された *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

平成 30 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 159 株で、*Vibrio cholerae* O1 が 2 株であり、うち 1 株は海外渡航歴のある患者由来株で小川型であり、もう 1 株は海外渡航歴の無い患者由来株で小川型であった。国内例の *Aeromonas caviae* 2 株(同一患者由来)および *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 149 株であった。*V. cholerae* non-O1/non-O139 のうち 140 株はフランスパスツール研究所からの患者由来株、4 株は海外渡航者由来、5 株は海外の食品由来であった。その他、国内河川から分離されたコレラ毒素陽性 *V. mimicus* が 6 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株の解析

昨年度はコレラ菌臨床分離株のゲノム解読を行い，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。今年度は，この単一染色体株のゲノムおよび表現型を詳細に解析した。その結果，1）rRNA遺伝子間での相同組換えによる大規模な逆位，2）病原性遺伝子クラスターVSP-1の重複，3）スーパーインテグロンにおける複数の遺伝子カセットの欠落，4）プラスミド性エレメントの挿入，といった種々のゲノム再編成が明らかになるとともに，増殖の高温感受性という一般的なコレラ菌には見られない表現型を示すことがわかった。
[山本章治]

(2) 検査法開発に関する研究

ア *V. cholerae* の LPS 合成遺伝子領域の解析および比較

V. cholerae の O 血清群は現在 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、全ての O 血清群の全塩基配列が解読された。これら 207 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及びパラログ解析を行った。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌、大西真、村瀬一典(宮崎大)、浦井誠 (東京農大)]

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。中国のヒト下痢症および環境から分離された *V. fluvialis* の菌株を送付してもらいその O 血清型別を行った。*V. fluvialis* の O 血清型別は、感染研でしか行うことが出来ないため、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かった O 抗原型 O11、O14 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)]

5. カンピロバクターに関する研究

(1) 菌株の多様性および病原機構に関する研究

ア *Campylobacter jejuni* におけるマルチプレックスゲノム編集法の開発

C. jejuni が表現型の多様性を生み出すメカニズムを明らかにするために，ゲノム上に散在する多数の超可変部位に着目し，それらの分子遺伝学的な解析を開始した。まず今年度は，PCR 産物を用いた簡便かつ高効率な *C. jejuni* の形質転換法を確立するとともに，*C. jejuni* ゲノムの複数箇所の任意塩基配列を短時間で改変することを可能にするマルチプレックスゲノム編集法を開発した。この技術を用いて、Penner 血清型を決定する遺伝子クラスター内の超可変部位をすべて不変型に編集することに成功した。[山本章治，伊豫田淳，大西真]

6. エルシニア属菌に関する研究

(1) 検査法開発に関する研究

ア エルシニアの血清型別

2018 年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は 6 株であり、すべて *Y. enterocolitica* であった。血清型は O:3 が 4 株、O:9 が 2 株であった。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

II. 呼吸器感染症ならびに侵襲性感染に関する研究

1. *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 2017 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

2017 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、843 株であり、すべての株に対して T 型別が行った。分離頻度の高かった T 型は、T12 (182/843, 21.6%)、T1 (176/843, 20.9%)、TB3264 (127/843, 15.1%)、T4 (118/843, 15.1)であった。T12 型の分離比率は、2016 年以降、増加傾向である (2015 年, 15.5%、2016 年, 19.2%、2017 年, 21.6%)。T1 型の分離比率は、2015 年以降、増加傾向であったが (2014 年, 11.9%、2015 年, 14.4%、2016 年, 23.5%)、2017 年減少した (2017 年, 20.9%)。TB3264 型の分離比率は、減少傾向にあったが (2014 年, 27.1%、2015 年 15.8%、2016 年, 11.6%)、2017 年増加した (2017 年, 15.1%)。T4 型は、2015 年以降ほとんど同じ分離頻度を示していた (2015 年, 4.0%、2016 年 14.0%、2017 年, 14.0%)。[池辺忠義、大西真、賀澤優（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 2017 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

2017 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 153 症例あった。148 例が *S. pyogenes*、5 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、昨年より分離比率が低かった(2015 年, 38.7%; 2016 年, 49.7%; 2017 年, 35.8%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(20.9%)に比べ、高い分離比率を示していた。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年と比較して増加した(2015 年, 25.5%; 2016 年, 16.1%; 2017 年, 21.6%)。次いで T12, T3 型が多かった(T12, 12.8%; T3, 7.4%)。この 4 つの型で全体の 75%以上を占めていた。

STSS の確定診断例 153 例中、*emm1* 型が 54 例(35.3%)と最も多く、次いで *emm89* 型が 32 例(20.9%)、*emm12* 型が 15 例(9.8%)、*emm3* 型が 12 例(7.8%)と多かった。2016 年と比較し、*emm1* 型は、47.6% (72/151)から 35.3% (54/153)に減少した。*emm89* 型は 16.6% (25/151)から 20.9% (32/153)に減少した。*emm12* 型は、0.7% (1/151)から 9.8% (15/153)に増加した。

emm3 型は、8.6% (13/151)から 7.8% (12/153)に増加した。
[池辺忠義、大西真、賀澤優(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
2017 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153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 11.1% (17/153)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)、2016 年 2.6%(4/151))分離率が減少傾向であったが、2017 年上昇した。[池辺忠義、大西真、賀澤優(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
2017 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 48 例(37.2%)と最も多く、次いで、*stG485* が 24 例(18.6%)、*stG245* が 10 例(7.8%)と多かった。 [池辺忠義、大西真、賀澤優(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
2017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 53 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 17 例(32.1%)であり、次いで III 型が 12 例(22.6%)、Ia 型が 10 例(18.9%)、V 型が 8 例(15.1%)であった。
2017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 1 例あった。菌種は、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であり、*emm* 遺伝子型は、*stC839* であった。
[池辺忠義、大西真、賀澤優(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(富山県衛生研究所)]

(2) 肺炎球菌の病原因子・宿主応答に関する分子基盤構築
ア 細胞内に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用
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・治療法の開発が必要とされている。そこで、細胞内に侵入した肺炎球菌と宿主細胞との相互作用についてオートファジーに焦点を当てて解析を行った。その結果、細胞内に侵入した肺炎球菌は感染 2 時間後には、ポリユビキチン-p62 -LC3 からなるオートファジー受容体に認識され選択的オートファジー(Xenophagy)により捕捉・殺菌されることが明らかとなった。また、その誘導には肺炎球菌のニューモリシン、宿主細胞の Rab41 と、Nedd4-1 を介した K63 型ユビキチン鎖形成が必要であった(Cell Microbiol. e12846, 2018)。
この肺炎球菌を標的とする Xenophagy は宿主因子 FIP200 依存的なカノニカルなオートファジーであったが、近年、FIP200 非依存的なノンカノニカルなオートファジーである LAP

(LC3-associated phagocytosis)が注目されていることから、肺炎球菌が LAP を誘導する可能性を模索した。その結果、肺炎球菌感染 1 時間後に、肺炎球菌を捕捉する LAP 様構造が一過性に出現し、感染 2 時間後には消失することが明らかになった。ここで観察された LAP 様構造は Atg14L、ROS、TLR2 非依存的に誘導されたことから、既報の貪食細胞における LAP の誘導機構とは異なる新規の LC3 陽性の膜構造体であることが明らかになった。さらに、LAP 誘導不全細胞を用いて肺炎球菌を感染させた結果、感染 1 時間後に誘導される LAP のみならず感染 2 時間後に誘導される Xenophagy も抑制された。以上の結果から、肺炎球菌感染細胞で誘導される hierarchical なオートファジー誘導の一端が明らかとなった。[小川道永、大西真、竹山春子(早大院・生命医科)]

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 レジオネラ属菌臨床分離株の収集および *Legionella pneumophila* 臨床分離株の SBT 法による遺伝子解析

平成 30 年度にレジオネラ・レファレンスセンターで収集したレジオネラ属菌臨床分離株は、*Legionella pneumophila* が 76 株(血清群(SG)1 が 70 株、SG2 および SG6 が各 2 株、SG8 および SG9 が各 1 株)と、*Legionella anisa*、*Legionella feeleii* が各 1 株であった。*L. pneumophila* については、SBT 法による遺伝子型別を実施し、その結果は各自治体に還元した。76 株は 47 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち 13 種類が新規遺伝子型であった。47%が感染源不明で、温泉等の入浴関連が感染源と推定されているのが 23%、土壌あるいは塵埃等が感染源であると推定されているのが 21%、9%が冷却塔水など種々の水系と推定されていた。

［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(バイオセーフティ管理室)、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 法を用いて、平成 30 年度は、*L. pneumophila* 血清群 1 の 124 株、血清群 1 以外の *L. pneumophila* 187 株の解析を行った。前年度までの結果も合わせると、SBT 法により 164 種類の ST (sequence type)に分類される 439 株の *L. pneumophila* SG1 は、233 種類の MLVA 型に分類された。分解能(HGDI)は、SBT 法で 0.9599、MLVA 法で 0.9717 となり、ほぼ同等の値を示した。119 種類の ST を含む 187 株の SG1 以外の *L. pneumophila* は、131 種類の MLVA 型に分類された。また、過去の集団事例 6 事例に由来する 65 株について、MLVA 型を決定し、PFGE および SBT 型別との比較を行った。患者株と同一の ST および PFGE パターンを示した浴槽水由来株および拭き取り由来株は MLVA 型も同一であった。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、米澤武志(神戸市環保研)、水本嗣郎(静岡県環衛研)、前川純子]

(2)レジオネラ属菌検査精度管理サーベイと推奨検査法の提示

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 2015 年度から行われている。2018 年度も実施され、全国 148 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 70 機関については、独自に集計・解析を実施した。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、今後も、継続的な外部精度管理サーベイができるよう、引き続き実施主体となる民間会社との連携が必要である。また、昨年度改訂された ISO との調整を図った「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」を「公衆浴場における衛生等管理要領」内の推奨検査法として提示した。[森本洋、小川恵子、三津橋和也(北海道衛研)、磯部順子、金谷潤一(富山衛研)、黒木俊郎(岡山理科大学)、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、中西典子(神戸市環保研)、千田恭子(仙台市衛研)、田栗利紹(長崎県環保研)、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(バイオセーフティ管理室)、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 モノクロラミン消毒のアルカリ性温泉への応用

pH が高い温泉施設では従前より遊離塩素による消毒が困難であったが、これまでの研究成果としてモノクロラミン消毒であれば有効なことが実験的に明らかになってきた。本研究では pH8 から 10 の 3 浴場施設にモノクロラミン消毒を適用し、改めてその効果を確認した。モノクロラミンは高濃度溶液の保存ができないので現場調製を要するが、機械的に行うには初期投資が問題となる。そこで手投入の方法を用意して、うち 2 施設に適用して消毒が可能であることを確認した。モノクロラミン消毒の普及を企図して、一般利用者と営業者向けの解説に、次の Web ページを用意した。

（https://sites.google.com/view/legionella-resgr/monochloramine_index）
［長岡宏美（静岡県環境衛生科究所　微生物部）、柳本恵太、山上隆也、植松香星、久田美子（山梨県衛生環境研究所　微生物部）、森康則、赤地重宏、永井佑樹（三重県保健環境研究所）、西尾正也、山本哲司、八木樹里奈（花王株式会社　ハウスホールド研究所）、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　機能性薬品部）、泉山信司（寄生動物部）、前川純子］

イ　モノクロラミン消毒の薬湯への応用、並びに雑菌への対応
公衆浴場等の入浴施設では、生薬や無機塩などの薬湯が使用されているが、レジオネラ属菌の増殖を招くことがある。ところが次亜塩素酸ナトリウムのいわゆる遊離塩素は激しく消費され、薬湯の種類によっては色が退色し、濃度管理は困難である。モノクロラミン消毒を用いることで、これら問題の解消と、レジオネラ抑制の両立が実現できた。一方、薬湯使用の有無にかかわらず、モノクロラミン消毒の長期継続により従属栄養細菌数の増加が確認されたため、その推移と菌種、並びに制御方法を検討した。モノクロラミン消毒下では、レジオネラが培養不検出であっても、LAMP 法が高率に陽性となったことから、消毒が LAMP 法の結果に及ぼす影響も確認した。
［藤井明、松田宗大（株式会社ヘルスケミカル）、松田尚子（株式会社ヘルスビューティー）、枝川亜希子（大阪健康安全基盤研究所）、吉田光範、星野仁彦（ハンセン病研究センター）、泉山信司（寄生動物部）、前川純子］

ウ　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
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た。そこで、高置貯湯槽に塩素添加装置を設置し、消毒する対策を行った。しかし継続的にレジオネラ属菌が検出され、夜間休日の停止などが問題と考えられた。蛇口のレジオネラ属菌汚染が継続している 1 医療機関において、塩素消毒の濃度を上げる対策を取った。水試料の遊離残留塩素濃度は上昇し、菌数の減少が観察されたが、増加した場所もあった。給水系の初流水で遊離塩素が 0.2mg/L 付近の濃度の試料、給湯系の水温が低い試料においてレジオネラ属菌が検出され、滞留が解消できていなかった。配管のレジオネラ汚染には塩素の添加や水温を上げることが有効であるが、対策の徹底が必要と考えられた。医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染問題に関して、シンポジウムを開催した。参加者アンケートでは、問題を認識したことや、情報を得られた等の感想や要望が寄せられ、有意義であったことを確認した。
［黒木俊郎（岡山理科大学）、大屋日登美、陳内理生、鈴木美雪、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］

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
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
本年度は患者由来株 31 株、健常者由来株 15 株の計 46 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。
患者由来株に関してはそれらの血清型は Y 群 20 株、B 群 7 株、W 群 2 株、C 群 1 株及び non-typable が 1 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 5 株、ST-1655 (ST-23 complex)が 14 株、ST-3015 が 1 株であった。血清群 B の株は ST-2057 が 3 株、ST-687、ST-154、ST-213、ST-3496 (ST-213 complex)、が各 1 株ずつであった。血清群 W の二株及び血清群 C の株は ST-11、non-typable の株は ST-11026 であった。
患者由来株に関してはそれらの髄膜炎菌株の血清型は Y 群 3 株、B 群 4 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-1655 (ST-23 complex)、ST-3015、ST-5953 が 1 株ずつであった。血清群 B の株は全て ST-2057 であった。non-typable の株は ST-11026 が 7 株、ST14239 (ST-179 complex)が一株であった。
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た。しかし、ST-1655 に対して ST-23 の数が半減しており、国内における髄膜炎菌の分布状況も変化している可能性が示唆された。また、健常者由来株としては圧倒的に non-typable/ ST-11026 の検出率が高く、国内の健康保菌者に広く分布している可能性を示唆するものと考えられた。一方で、ST-213、ST-154、ST-3496、ST-3015 といった、過去 20 年間では国内では検出されなかった遺伝子型の髄膜炎菌も検出された。近年この様な傾向が強くなってきた可能性が考えられた。今年 9 月からのラグビーワールドカップ、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、国内で分離される髄膜炎菌株のプロファイルの変化を引き続き注視していく事が重要である。
[高橋英之：土井育子、福住宗久、神谷元、砂川富正、（感染症疫学センター）、大西真]

(2) 病原機構に関する研究
髄膜炎菌の機能未知病原因子の非天然アミノ酸を用いた機能解析
過去に行なった signature tag mutagenesis の変法を用いた髄膜炎菌の病原性因子の網羅的探索によってヒト培養細胞へ

の侵入能のみが著しく欠損した髄膜炎菌変異株を単離した。しかし、その原因遺伝子は hypothetical protein とゲノム上で同定された、機能未知タンパクをコードした遺伝子 NMB1345 であった。これまでのデータベースの情報からも既知遺伝子やタンパクと全く相同性がなく、明確なドメインも見出されなかった。その NMB1345 遺伝子の機能を解明する目的で酵母の two-hybrid システムを用いた遺伝学的手法や、マルトース結合タンパク-NMB1345 融合体を用いた pull-down アッセイによる生化学的な手法による NMB1345 遺伝子の解析を試みたが、明確な結果を得るには至らなかった。

そこで、近年新手法として広い生物種で適用され始めた遺伝暗号拡張による非天然型アミノ酸導入法を新たに髄膜炎菌に適用し、非天然型アミノ酸光クロスリンカーを NMB1345 分子内に特異的に導入して、NMB1345 因子の相互作用因子を生化学的・物理化学手法を用いて髄膜炎菌内で探索することを試みた。プレート約 300 枚以上を用いて培養した髄膜炎菌を UV クロスリンクし、超音波破砕した抽出物を His-sepharose 及び Strep-tactin レジンで精製し、NMB1345 とクロスリンクするタンパクを精製した。そのタンパクのバンドを切り出し、LC-MS/MS 及び MASCOT による同定を行ったところ、複数の候補因子が挙がってきた。現在、その候補因子が真に NMB1345 と相互作用するか解析中であり、それらの因子が髄膜炎菌の宿 virulence factor としてどう機能するかを更に解析する予定である。 [高橋英之、大西真：柳沢達男、横山茂之、堂前直（理研）、Kwang Sik Kim（Johns Hopkins Univ）]

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) ボレリアのゲノム解析に関する研究

ボレリア属細菌は節足動物によって媒介されるスピロヘータで、人獣共通の感染症起因菌となっている。国内には，ライム病群ボレリア(LD)8 種、軟ダニ媒介性回帰熱群ボレリア(STB-RF)1種の他、硬ダニ媒介性回帰熱群ボレリア(HTB-RF)が複数種確認されており、それぞれヒトを含む哺乳類や鳥類、爬虫類への感染が報告されている。これに加え、輸入爬虫類に随伴して国内侵入した爬虫類型ボレリア(REP)が複数種存在することが 2010 年に我々の調査研究によって明らかにされた。本研究では、REP4株について、NGS による draft genome を取得し、既知ボレリアゲノム配列(LD ボレリア 29 株、STB-RF ボレリア 18 株、HTB-RF5 株)との比較検討を行った。使用した REP は、経代数が5以下でかつ clone 化したものを使用した. 各々のゲノム相同性(ANI 値)は LD-REP 間では 71.66-74.74%、RF-REP 間では 75.99-82.67%であり REP は RF により近縁であることが示された。また真性細菌種で保存されている 24 遺伝子由来抗原のアミノ酸配列をもとにした系統解析(MLSA)においても、REP は RF に近縁であることが示された。またボレリア属細菌の重要な形質の一つである媒介節足動物との和合性は、REP 群の確立後に新たな形質を獲得してきたと推定された。特に HTBRF の祖先が獲得した新たなダニ感染性が揚力となって STB-RF が形成された可能性が示唆された。本推論はゲノム解析から得られたものであり、今後はこれら進化イベントに関係した因子、遺伝子の同定が望まれる。

[川端寛樹、佐藤梢、大西真（細菌第一部）、関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノムセンター）、高野愛（山口大学）]

(2)新興回帰熱ボレリアの病原機構に関する研究

Borrelia miyamotoi のゲノム配列から表層抗原をコードすると推定された 90 遺伝子について、ボレリア内で恒常的に遺伝子発現可能なプロモーター配列に連結後、各々について HT59G 株へ導入し、この内、76 遺伝子について形質転換株を得た。これらの形質転換株について、ヒト血清感受性試験を行った結果、T027 ならびに T076 の遺伝子を導入した株でヒト血清に対する低感受性が見られた。このうち、低感受性を強く示した T027 遺伝子導入株の血清耐性機構について、さらなら解析を実施した。これにより補体経路の最終過程である Membrane Attack Complex(MAC)の形成を阻害するクラステリンと T027 抗原が結合し、補体系による殺菌が回避されている可能性を示唆する結果が得られた。T027 ならびに T076 遺伝子は、ボレリア属細菌に広く見いだされる表層抗原の一種 P35 をコードする遺伝子群の一つである。P35 遺伝子群は multi-copy 遺伝子であり、各々の遺伝子は複数の菌種間で lineage を形成する。また、P35 遺伝子群の一つの lineage として、フィブロネクチン等との結合活性や C1 補体複合体活性化の阻害機能が示されている *bbk32* が知れているが、T027 ならびに T076 遺伝子は互いに高い相同性を示す一方で *bbk32* とは異なる lineage に属した。クラステリンを介した MAC 形成阻害によるボレリアの補体抵抗性機構はこれまで報告がない。今後はその機能についてさらに詳細な解析を加えることで、新興回帰熱ボレリアの病原機構を明らかにしていきたい。

[川端寛樹、佐藤梢、大西真：熊谷由美（順天堂大学）、関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、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 FcpB および FlaA2 欠損株解析

レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA 欠損株のべん毛中での局在が減少するタンパク質 FcpB を同定した。*ΔfcpB* 株の細胞末端は *ΔfcpA* 株と同様には直線状になとなったが、軟寒天中

のコロニーの大きさは *ΔfcpA* 株よりも大きかった。一方べん毛鞘タンパク質 FlaA1 および A2 二重欠損株の細胞末端は直線状でまたコロニーサイズは *ΔfcpA* 株と同程度の大きさであった。一方 *ΔflaA1* 株は野生株と同様の表現型であった。したがって、FcpB および FlaA2 は細胞末端を屈曲させるために必要であり、また FlaA2 は軟寒天中での運動に重要であることが示唆された。 [小泉信夫、大西真：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)レプトスピラの病原性に関する研究

ア 維持宿主動物における持続感染に必須なレプトスピラ遺伝子の同定

人獣共通感染症病原体レプトスピラの維持宿主動物の腎臓への持続感染に必須の因子を明らかにするために、トランスポゾン挿入変異体を作製し、ラット感染実験を行った。レプトスピラ変異体 96 株を 1 群として、あるいは 414 株を 1 群としてラットに接種し、接種培養液 DNA と、接種 3 週間後の腎臓培養 DNA のトランスポゾン挿入位置の近傍の配列を次世代シークエンサーにより決定し配列比較を行った。その結果、96 株接種した実験では 2 遺伝子、414 株接種した実験では 7 遺伝子が腎臓から検出されなかった。したがってこれら 9 遺伝子が維持宿主における持続感染に必須な遺伝子であることが示唆された。[小泉信夫、森田昌知、大西真：佐々木祐哉（東京農工大大学院）]

(3) 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が保有する *Leptospira interrogans* の分子疫学

2017 年および 2018 年にベトナム・ハノイの 8 ヶ所で 144 匹のラット（アゼネズミ 1 匹、クマネズミ 8 匹、ドブネズミ 135 匹）を捕獲し、17 匹のドブネズミから *L. interrogans* が分離された（分離率 12.6%）。16 株は血清群 Bataviae と同定され、このうちの 5 株は血清型 Bataviae 標準株（Van Tienen）と同一の MLVA 型であったが、11 株は VNTR31 のリピート数が標準株とは異なっていた。残り 1 株は増殖が非常に悪く血清群を決定することができなかったが、MLVA 型は日本のドブネズミから分離された血清群 Pomona と同一であった。nested PCR および塩基配列決定により、ドブネズミ腎臓 81 検体中 23 検体から 3 種類の *flaB* 配列が検出された（検出率 28.4%）。2 つの塩基配列は血清群 Batavia および Pomona と同一であったが、残り 1 つの配列を持つ分離株は得られなかった。本研究により、ベトナム・ハノイのドブネズミは *L. interrogans* を高率で保有すること、またドブネズミが保有する *L. interrogans* には少なくとも 3 つの遺伝子型があり、遺伝子型により分離率が大きく異なることが明らかとなった.

[小泉信夫、大西真：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, MiSeq およびキャピラリーシーケンサー（サンガー法）により *L. interrogans* 血清群 Bataviae WFA90 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。また WFA90 と同じ MLVA タイプ分離株 20 株、血清群 Javanica 分離株 37 株および Autumnalis 分離株 12 株のゲノム配列を MiSeq により解読した。[小泉信夫、森田昌知、大西真：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

淋菌の簡易的な薬剤感受性試験法として、GW 液体培地を用いた微量液体希釈法の検討を行った。汎用されている薬剤感受性試験法として寒天平板希釈法 (標準法)及び Etest との判定結果との比較検討を行った。薬剤感受性試験にはセフトリアキソン (CRO)、アジスロマイシン (AZM)、セフィキシム (CFM)、シプロフロキサシン (CPFX)、ペニシリン G (PCG)、スペクチノマイシン (SPCM)の 6 剤を用いた。国内分離された淋菌 44 株を対象とした。淋菌に対するブレークポイントは EUCAST に準じ CRO、AZM、CFM、CPFX、PCG、SPCM それぞれ MIC 値が 0.125、0.25、0.125、0.03、0.06、64(mg/L)以下を示す株を感受性株とし、0.125、0.5、0.125、0.06、0.25、64(mg/L)より大きい MIC 値を示す株を耐性株とした。それぞれの測定法から得られた判定結果を比較検討したところ、寒天平板希釈法と、微量液体希釈法における感受性の一致率は、CRO、AZM、CFM において 91.8%、89.0%、87.7%となり、Etest よりも高い一致率を示した。また、CPFX、PCG、SPCM は 3 つの測定法全てにおいて感受性・非感受性の一致率は 100%であった。また、寒天平板希釈法と微量液体希釈法における耐性の一致率は、CRO、AZM、CFM において 57.1%、83.3%、84.6% となり、Etest では CRO、AZM、CFIX はそれぞれ 50.0%、91.7%、100%であった。CPFX、PCG、SPCM においては微量液体希釈法、Etest ともに寒天平板希釈法との耐性率は一致した。寒天平板希釈法と微量液体希釈法より得られた、各種薬剤に対する感受性・非感受性の判定結果には概ね相関が見られた。しかし、微量液体希釈法より得られた MIC 値は、標準法である寒天平板希釈法より得られた結果よ

りも低い値を示す傾向にあり、薬剤によっては耐性率の差が認められた。よって、CLSI、EUCAST のブレークポイントをそのまま採用することはできないが、お互いの測定試験結果の相関を考慮することで、今後、微量液体希釈法を淋菌の薬剤感受性試験代替法として応用することは可能と考えられる。
[志牟田健、大西真]

イ 淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2018 年 4 月から 2019 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 157 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 0.6 %, 60.5 %, 86.6 %, 38.9 %, 72.6 %, 100% が感受性株であった。昨年度と比較して 100% 感受性が続いている spectinomycin 以外の 5 剤ともで感受性率に若干の改善が見られた。特に ciprofloxacin での感受性率が 20%代であった昨年度と比べ今年度 40%代に迫るほどに改善していることは注目に値する。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株について、2015 年1月分離株で ceftriaxone MIC=0.5 のものが1株検出されたこと、H29 年度に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ことを昨年度に報告したが、今年度の我々のサーベーランスではこれに相当する株は検出されなかった。
[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]

ウ セフトリアキソン (CRO)耐性淋菌株の簡易検出系の開発

近年、*penA* (PBP2 をコードしている) 60.001 保持の CRO 耐性淋菌株が世界各地で報告されている。本研究では、CRO 耐性淋菌株 (*penA* 60.001 保持株を含む)の *penA* 遺伝子を標的とするリアルタイム PCR アッセイを開発した。本アッセイでは、淋菌と同属である他のナイセリア属菌のゲノム DNA は反応しなかったが、CRO 耐性淋菌が保持する *penA*-59.001（GU140106）、*penA*-60.001（FC428）、*penA*-64.001（A8806）の遺伝子を保有する株のゲノム DNA の検出を可能とした。
[志牟田健、井川ジーン、中山周一、大西真]

2. 梅毒トレポネーマに関する研究

(1) 菌株の多様性解析

ア 梅毒トレポネーマの分子タイピング

昨年度から連携クリニックをさらに拡充しての、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、および個別相談例、試行例も合わせて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。
2018 年 4 月～2019 年 3 月の総計で、353 例の検体が有ったが、うち 97 例が PCR 陽性であった。97 例中タイピングに成功したものは 54 例で、このうち 41 例は海外でも最頻とされる 14d/f であった。他は 14d/g が 4 例、14b/c、14d/d が 2 例ずつ、他はいずれもそれぞれ単一型となる 6 例であった。
[中山周一、錦慎吾: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 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 51 例について耐性型分布を見ると、45 例(88.2%) と依然高い耐性率が維持され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。
[中山周一、錦慎吾: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]

ウ 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。H30 年度において実際に検体の検査を行ったものはいずれも先天梅毒疑い児由来の検体で計 3 例分であった。このうち、1 例のみで PCR 陽性結果が得られ、病原体の存在を示すことが可能であった。
[中山周一、錦慎吾、大西真]

V 口腔内細菌に関する研究

1. う蝕原因菌に関する研究

(1) バイオフィルム形成機構に関する研究

ア *Streptococcus mutans* の Membrane vesicles による GtfC 依存バイオフィルム形成について

Streptococcus mutans は、スクロースを基質としてグルカンを合成することでバイオフィルム(BF)を形成している。このグルカンを合成する酵素がグルコシルトランスフェラーゼ(Gtf)であり、2 種類の Gtf 酵素:Gtf-I(*gtfB* によりコードされた酵素、非水溶性グルカン合成)および Gtf-SI(*gtfC* によりコードされた酵素、水溶性・非水溶性グルカン合成)が関与している。膜小胞(Membrane vesicles, MVs)は細菌から放出されるナノ構造体であり、核酸や様々な蛋白質を含んでいる。これまでの研究から *S. mutans* の MVs は、その中に Gtfs が含まれていることが明らかとなった。本研究では MVs による BF 形成において Gtf-I、Gtf-SI のどちらが主に関与しているのか検討を行った。UA159 の MVs には Gtf-I よりも Gtf-SI が多く含まれており、MVs の BF 形成には Gtf-SI が主に関与していた。[泉福英信、岩淵佑介、中村知世、中尾龍馬、大西真]

イ *Streptococcus mutans* 由来ナノ粒子によるバイオフィルム形成機構と抗体の誘導

S. mutans の MVs には GtfB-I よりも Gtf-SI が多く含まれており、MVs の BF 形成には Gtf-SI が主に関与していた。そこで、ワクチン開発の一環として、GTF 抗体の誘導を目的として、MVs をマウス鼻粘膜にアジュバントである PolyI-C と共に免疫し、抗体誘導能を検討した。その結果、UA159 と *gtfB* 変異株の MVs はバイオフィルム形成能および抗 GTF 抗体誘導能が高く、*gtfC* 変異株の MVs は低かった。*S. mutans* の MVs は、主に Gtf-SI を利用してバイオフィルムを形成し、粘膜免疫により抗 Gtf-SI 抗体を誘導することが明らかとなった。 [泉福英信、岩淵佑介、中村知世、大西真]

ウ *Streptococcus mutans* の菌体凝集および GTF 産生調節が Membrane vesicles に及ぼす影響

MVs は菌体凝集やバイオフィルム(BF)形成の鍵になると考えられている。細胞壁合成に関わるグリコシルトランスフェラーゼである SMU833 と菌体凝集の調節に関わる SMU940 は、BF 形成に関わる GTFs や GBP-C(グルカン結合菌体表層蛋白質)産生発現にそれぞれ関与している。本研究ではこれらの遺伝子が、MVs 産生に与える影響について検討を行った。MVs を電子顕微鏡(SEM)で観察したところ、SMU833 変異株において野生株と比較してサイズの小さいものが多く観察された。しかし、SMU940 変異株は野生株との大きな差がなかった。SDS-PAGE と Western-blotting で GTF 量の確認を行ったところ、Gtf 量が SMU833 変異株では減少し、SMU940 変異株では増加していた。これらの結果は、GTFs や GBP-C の産生調節が、MVs の産生調節にも関与していることが明らかとなった。[泉福英信、中尾龍馬、岩淵佑介、中村知世、大西真]

エ *Actinomyces* によるバイオフィルム形成に対する有機酸の影響

歯垢(バイオフィルム)内 pH は、糖を含む食物や飲料を摂取することで pH5.0 以下に低下する。pH5.0 以下にする要因は、バイオフィルム内細菌が糖を代謝して産生する有機酸(乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸等)である。これら、有機酸のバイオフィルムへの影響について、あまり検討が行われていない。そこで歯面初期付着および凝集菌であり、*Actinomyces naeslundii* や *Actinomyces oris* の初期付着およびバイオフィルム形成に対する有機酸の影響を検討した。有機酸の中で 6.25 mM の酪酸やプロピオン酸は、培養プレートにおいて *A. naeslundii* およびフローセルにおいて線毛依存的な *A. oris* のバイオフィルム形成を上昇させた。さらに、60mM の酪酸、プロピオン酸、酢酸は、両菌の付着および凝集、フローセルにおいて *A. naeslundii* のバイオフィルム形成を著しく促進させた。食事の際に産生される有機酸は、様々な条件下で *Actinimyces* の初期付着、凝集、バイオフィルム形成を誘導することが明らかとなった。[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粘膜ワクチンへの応用

主要な歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) 及び *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) の外膜ヴェシクル (OMV) をマウスに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。そこで、経鼻免疫において問題に挙げられやすい中枢神経系への影響を検討するため、マウスの脳に Pg-OMV 及び Aa-OMV を接種した。OMV 接種後に一時的な体重減少が見られたが、その後体重は回復した。今後、脳組織の炎症の有無を詳細に調査する。 [平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

(2) グリシン誘導ヴェシクルの特性評価

培地にグリシンを添加して培養することで、大腸菌プロバイオティクス株 Nissle 1917 より、免疫活性を有するヴェシクルの産生を顕著に誘導できる。本グリシン誘導ヴェシクルのアジュバント活性を評価するため、オボアルブミンとともにマウスへ経鼻免疫した。その結果、オボアルブミンに対する抗体産生は、非誘導ヴェシクル併用時と同等であった。このことから、グリシン誘導の有無にかかわらず、どちらのヴェシクルも同等のアジュバント活性を有することが明らかになった。 [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 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すること、及び多くのヴェシクル様の構造物を細胞表面に形成することを示してきた。高速原子間力顕微鏡システム BIXAM を用いて、細胞の透過性と形態変化を同時に観察することを試みた。細胞の透過性を評価できる蛍光試薬 TO-PRO-3 を使用することで、ポリミキシン B の添加によって細胞の蛍光強度が増大するところを撮影すると同時に、細胞表面の形態が変化する様子を原子間力顕微鏡で捉えることに成功した。このことから、細胞の構造とダイナミクスを同時にイメージングすることが可能となった。 [平山悟:酒井信明、八木明(オリンパス)、泉福英信、大西真、中尾龍馬]

(4) 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

グラム陽性病原性細菌であるウェルシュ菌は免疫原性を有する MV を能動的に放出することが明らかとなっている。ウェルシュ菌の MV をマウスに鼻腔免疫すると、ウェルシュ菌特異的 IgG 抗体と分泌型 IgA 抗体の産生が誘導される。本 MV に豊富に含まれる 2 種の推定リポタンパク質をコードする遺伝子の欠損株を作製し、各欠損株が産生する MV をマウス鼻腔に投与した。各破壊株の MV を粘膜免疫に用いた場合では、ウェルシュ菌特異的な抗体産生量が低下する傾向が見られた。ウェルシュ菌 MV による抗体産生誘導には、MV によるリポタンパク質の輸送が関与することが予想された。

[尾花望、中尾龍馬、奥脇響、泉福英信:野村暢彦(筑波大学)]

(5) 有用大腸菌由来メンブレンヴェシクル (MV)の経鼻ワクチンへの応用

肺炎球菌の血清型 14 莢膜多糖を高発現するプロバイオティクス大腸菌由来 MV (CPS14^{+}MV)を遺伝子工学技術により作製し、経鼻ワクチンマウスモデルに供試し、粘膜免疫原性を調べた。経鼻免疫後、血中および粘膜面各部位には CPS14 特異的抗体が強く誘導された。血液および肺洗浄液由来 IgG は、肺炎球菌の菌体表層に結合した。新たな粘膜ワクチンデリバリーシステムとして外来性莢膜多糖を発現する MV の応用可能性が示唆された。

[中尾龍馬、平山悟、松本直子:Jens Karlsson (カロリンスカ研)、大西真]

(6) 歯周病患者歯周ポケット等へのプロポリス投与による効果

歯周病や口腔粘膜炎に対するプロポリスの効用を調べる臨床研究を実施した。その結果、プロポリスによる歯周病の病態(歯周ポケット深さ)の改善、歯周病原細菌の排除、口腔粘膜疼痛の緩和等、その有効性・有用性が示された。バッカリスを植物起源とするブラジル産プロポリスを口腔に適用する新しい歯周病等予防・治療法の可能性が示唆された。

[中尾龍馬、泉福英信、大西真:小方頼昌 (日本大学)、上野尚雄(国立がん研究センター中央病院)]

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 30 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(O111、O121 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(バイオセーフティ管理室)、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 381 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。[川端寛樹]

研修業務

I. 腸管出血性大腸菌に関する研修

1. 平成 30 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「腸管出血性大腸菌の MLVA 解析」、2018 年 10 月、東京 ［泉谷秀昌］

2. 平成 30 年度 北海道・東北・新潟ブロック 腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会、2018 年 11 月、岩手 ［泉谷秀昌］

3. 平成 30 年度 希少感染症診断技術研究会「腸管出血性大腸菌の MLVA 解析」、2019 年 2 月、東京 ［泉谷秀昌］

4. 平成 30 年度 食品衛生監視員研修会「基礎から分かる MLVA について」、2019 年 2 月、東京 ［泉谷秀昌］

II. レジオネラ属菌に関する研修

1. 平成 30 年度短期研修新興・再興研修（国立保健医療科学院主催）：実習「レジオネラ分子疫学実習」、講義「レジオネラ検査法」、実習補助「レジオネラ属菌培養法実習」他 6 実習、2018 年 10 月［前川純子］

2. レジオネラ属菌検査セミナー（日水製薬株式会社主催）「レジオネラ検査法の現状と今後の展望」、2019 年 3 月、東京［前川純子］

3. 第 34 回レジオネラ対策シンポジウム（NPO 法人入浴施設衛生管理推進協議会主催）「培養法と遺伝子検査法の特徴と実際の検査事例」、 2018 年 6 月、東京［前川純子］

4. 抗レジオネラ用空調水処理剤協議会講演会「最近のレジオネラ症の検査方法」2019 年 1 月、東京［前川純子］

III. 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 4 回 節足動物媒介性感染症講習会. 2018 年 6 月. 東京 [川端寛樹]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Sudo N, Soma A, Iyoda S, Oshima T, Ohto Y, Saito K, Sekine Y. Small RNA Esr41 inversely regulates expression of LEE and flagellar genes in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. Microbiology. 2018 May; 164(5): 821-834. doi: 10.1099/mic.0.000652.

2) Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S; Pathogenic E. coli Working Group in Japan. *Escherichia coli* H-genotyping PCR; a complete and practical platform for molecular H-typing. J Clin Microbiol. 2018 pii: JCM.00190-18. doi: 10.1128/JCM.00190-18.

3) Lee K, Nakayama S, Osawa K, Yoshida H, Arakawa S, Furubayashi K, Kameoka H, Shimuta K, Kawahata T, Unemo M, Ohnishi M. Clonal expansion and spread of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain FC428, identified in Japan in 2015, and closely related isolates. 2019. J. Antimicrob. Chemother. 74:1812-1819.

4) Lahra MM, Martin I, Demczuk W, Jennison A. V, Lee K, Nakayama S, Lefebvre B, Longtin J, Ward A, Mulvey M. R, Wi T, Ohnishi M, Whiley D. Cooperative recognition of internationally disseminated ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain. 2018. Emerg. Infect. Dis. 24:735-740.

5) Yahara K, Nakayama S, Shimuta K, Lee K, Morita M, Kawahata T, Kuroki T, Watanabe Y, Ohya H, Yasuda M, Deguchi T, Didelot X, Ohnishi M. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial-resistance determinants and lineages. 2018. Microbial genomics 2018 Aug;4(8). doi: 10.1099/mgen.0.000205.

6) Yamamoto S, Lee K. I, Morita M, Arakawa E, Izumiya H, Ohnishi M. Single circular chromosome identified from the genome sequence of the *Vibrio cholerae* O1 bv. El Tor Ogawa strain V060002. Genome Announc. 2018 Jun 21;6(25). pii: e00564-18.

7) Matsukawa M, Igarashi M, Watanabe H, Qin L, Ohnishi M, Terajima J, Iyoda S, Morita-Ishihara T, Tateda K, Ishii Y, Saga T, Aoki K, Bonomo RA. Epidemiology and genotypic characterisation of dissemination patterns of uropathogenic Escherichia coli in a community. Epidemiol Infect. 2019;147:e148.

8) Arai N, Sekizuka T, Tamamura Y, Tanaka K, Barco L, Izumiya H, Kusumoto M, Hinenoya A, Yamasaki S, Iwata T, Watanabe A, Kuroda M, Uchida I, Akiba M. Phylogenetic Characterization of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Its Monophasic Variant Isolated from Food Animals in Japan Revealed Replacement of Major Epidemic Clones in the Last 4 Decades. J Clin Microbiol. 2018 Apr 25;56(5). pii: e01758-17.

9) Laviad-Shitrit S, Izhaki I, Arakawa E, Halpern M Wild waterfowl as potential vectors of *Vibrio cholerae* and *Aeromonas* species. Trop Med Int Health. 2018 Jul;23(7):758-

764.

10) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chida K, Ohya H, Kanatani JI, Isobe J, Tanaka S, Nakajima H, Hiratsuka T, Yoshino S, Sakata M, Murai M, Ohnishi M; Working Group for Legionella in Japan. *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species isolated from legionellosis patients in Japan between 2008 and 2016. Appl Environ Microbiol. 2018. e00721-18.

11) Chang B, Morita M, Lee K, Ohnishi M. Whole-genome sequence analysis of *Streptococcus pneumoniae* strains that cause hospital-acquired pneumonia infections. Journal of Clinical Microbiology. 2018. 56:e01822-17.

12) 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 nontypeable *Haemophilus influenzae*. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2018. 3:1-8.

13) Yanase T, Morii D, Kamio S, Nishimura A, Fukao E, Inose Y, Honma Y, Kitahara N, Yokozawa T, Chang B, Oda T. The first report of human meningitis and pyogenic ventriculitis caused by *Streptococcus suis*: A case report. Journal of Infection and Chemotherapy. 2018. 24:669-673.

14) Ikuse T, Habuka R, Wakamatsu Y, Nakajima T, Saitoh N, Yoshida H, Chang B, Morita M, Ohnishi M, Oishi K, Saitoh A. Local outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 12F caused high morbidity and mortality among children and adults. Epidemiology and Infection. 2018. 146:1793-1796.

15) Takeda H, Sato C, Chang B, Tuchida F, Watanabe M, Yamamoto Y, Morita M, Oishi K, Suzuki H. Ten-year transition of pneumococcal vaccine coverage rates and bacterial serotype distribution in adult cases of non-invasive pneumococcal pneumonia. Journal of Global Infectious Diseases. 2019. 11:30-35.

16) Shimbashi R, Chang B, Tanabe Y, Takeda H, Watanabe H, Kubota T, Kasahara K, Oshima K, Nishi J, Maruyama T, Kuronuma K, Fujita J, Ikuse T, Kinjo Y, Suzuki M, Kerdsin A, Shimada T, Fukusumi M, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Epidemiological and clinical features of invasive pneumococcal disease caused by serotype 12F in adults, Japan. PLOS One. 2019. 14:e0212418.

17) Chang B, Morita M, Lee K, Ohnishi M. Complete genome sequence of a sequence type 4846 *Streptococcus pneumoniae* serotype 12F strain isolated from a meningitis case in Japan. Microbiology Resource Announcements. 2019.14:e01632-18.

18) Hadano Y, Chang B. Sacroiliitis and osteomyelitis caused by serotype 3 *Streptococcus pneumonia* in a previously healthy adult: a case report. Infection and Drug Resistance. 2018. 11:1043-1046.

19) Goda K, Kenzaka T, Chang B, Akita H. Two cases of pneumococcal spondylitis in the same household: a case report. BMC Infectious Diseases. 2018. 18:666.

20) Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells CA, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. Lipoteichoic acid anchor triggers Mincle to drive protective immunity against invasive group A Streptococcus infection. Proc Natl Acad Sci USA 2018, 115 (45) E10662-E10671.

21) Gaowa, Wulantuya, Yin X, Guo S, Ding C, Cao M, Kawabata H, Sato K, Ando S, Fujita H, Kawamori F, Su H, Shimada Y, Masuda S, Ohashi N. Spotted fever group *Rickettsia* in Inner Mongolia, China. Emerging Infectious Diseases. 2018. 24(11): 2105-2107.

22) Hayashi T, Miura Y, Kawabata H. *Borrelia miyamotoi* disease rash. Internal Medicine. 2018. 57(17): 2601-2602.

23) Sato K, Sakakibara K, Masuzawa T, Ohnishi M, Kawabata H. Case control study: Serological evidence that *Borrelia miyamotoi* disease is distributed nationwide in Japan. Journal of Infection and Chemotherapy. 2018. 24(10): 828-833.

24) Yoshii K, Sato K, Ishizuka M, Kobayashi S, Kariwa H, Kawabata H. Serologic evidence of Tick-borne encephalitis virus infection in a patient with suspected Lyme disease in Japan. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2018. 99(1): 180-181.

25) Seki M, Watanabe Y, Kawabata H. A case of Lyme disease in a Japanese woman. Infection and Drug Resistance. 2018. 11: 625-628.

26) 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 and Tick-borne Diseases. 2018. 9(3): 465-470.

27) Gaowa, Wulantuya W, Yin X, Cao M, Guo S, Ding C, Kawabata H, Ando S, Su H, Shimada M, Takamoto N, Shimamura Y, Masuda S, OhashiN. Human Infection with *Anaplasma phagocytophilum* in Inner Mongolia, China. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2018. 71(2): 155-157.

28) Ito K, Taniguchi H, Ohtake N, Ando S, Kawabata H. A first case of tick bite by *Amblyomma coelebs* in Japan. Journal of

Dermatology. 2018. 45(2): 243-244.

29) Shinozuka J, Takahashi H, Mori M, Awaguni H, Imashuku S. Bacteremia and meningitis caused by a novel clone of *Neisseria meningitisdis* serogroup B. Pediatrics International doi:10.1111/ped.13718, 2018.

30) Takahash H, Watanabe H, Kim KS, Yokoyama S, Yanagisawa T. The meningococcal cysteine transport system plays a crucial role in *Neisseria meningitidis* survival in human brain microvascular endothelial cells. mBio 9:e02332-18, 2018

31) Masuzawa T, Saito M, Nakao R, Nikaido Y, Matsumoto M, Ogawa M, Yokoyama M, Hidaka Y, Tomita J, Sakakibara K, Suzuki K, Yasuda S, Sato H, Yamaguchi M, Yoshida S, Koizumi N, Kawamura Y. Molecular and phenotypic characterization of *Leptospira johnsonii* sp. nov., *Leptospira ellinghausenii* sp. nov., and *Leptospira ryugenii* sp. nov. isolated from soil and water in Japan. Microbiol Immunol. 63(3-4):89-99, 2019.

32) Nisansala GGT, Muthusinghe D, Gunasekara TDCP, Weerasekera MM, Fernando SSN, Ranasinghe KNP, Marasinghe MGCP, Fernando PS, Koizumi N, Gamage CD. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* from two patients with leptospirosis in Western province, Sri Lanka. J Med Microbiol. 67 (9):1249-1252, 2018.

33) Tahara H, Takabe K, Sasaki Y, Kasuga K, Kawamoto A, Koizumi N, Nakamura S. The mechanism of two-phase motility in the spirochete *Leptospira*: Swimming and crawling. Sci Adv. 4: eaar7975, 2018.

34) Toma C, Koizumi N, Kakita T, Yamaguchi T, Hermawan I, Higa N, Yamashiro T. Leptospiral 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase as an early urinary biomarker of leptospirosis. Heliyon 4(4): e00616, 2018.

35) Sasaki Y, Kawamoto A, Tahara H, Kasuga K, Sato R, Ohnishi M, Nakamura S, Koizumi N. Leptospiral flagellar sheath protein FcpA interacts with FlaA2 and FlaB1 in *Leptospira biflexa*. PLoS ONE 13(4): e0194923, 2018.

36) Hijikata S, Hongo I, Nakayama S, Yamaguchi T, Sekikawa Y, Nozato T. Infective endocarditis due to *Treponema pallidum*: A case diagnosed by polymerase chain reaction analysis of aortic valve. Canadian Journal of Cardiology. Accepted. 2019.

37) Shimuta K, Igawa G, Yasuda M, Deguchi T, Nakayama S, Ohnishi M. A Real-Time PCR Assay for the Detection of a *penA* Mutation Associated with Ceftriaxone Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*.2019. J Glob Antimicrob Resist pii: S2213-7165(19)30051-7

38) Golparian D, Rose L, Lynam A, Mohamed A, Bercot B, Ohnishi M, Crowley B, Unemo M. Multidrug-resistant Neisseria gonorrhoeae isolate, belonging to the internationally spreading Japanese FC428 clone, with ceftriaxone resistance and intermediate resistance to azithromycin, Ireland, August 2018. Euro Surveill. 2018 Nov;23(47).

39) Ogura Y, Seto K, Morimoto Y, Nakamura K, Sato MP, Gotoh Y, Itoh T, Toyoda A, Ohnishi M, Hayashi T. Emerg Infect Dis. 2018 Dec;24(12):2219-2227

40) Kanai M, Arima Y, Nishiki S, Shimuta K, Itoda I, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M, Nakayama S. Molecular Typing and Macrolide Resistance Analyses of *Treponema pallidum* in Heterosexuals and Men Who Have Sex with Men in Japan, 2017. J Clin Microbiol. 2019 Jan 2;57(1). pii: e01167-18.

41) Seki M, Kilgore PE, Kim EJ, Ohnishi M, Hayakawa S, Kim DW. Loop-Mediated Isothermal Amplification Methods for Diagnosis of Bacterial Meningitis. Front Pediatr. 2018 Mar 12;6:57.

42) 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.

43) 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.

44) 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.

45) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Role of SCFAs for fimbrillin-dependent biofilm formation of *Actinomyces oris.* Microorganisms, 2018, pii, E114, doi: 10.3390/microorganisms6040114.

46) Nakao R, Myint SL, Wai SN, Uhlin BE. Enhanced biofilm formation and membrane vesicle release by *Escherichia coli* expressing a commonly occurring plasmid gene, *kil* : Front Microbiol. 2018. 9:2605.

2. 和文発表

1) 伊豫田淳 国内における腸管出血性大腸菌感染症の現状. 特集:食中毒の最新動向. 医学と薬学. 75(7) 739-744, 2018.

2) 伊豫田淳 腸管出血性大腸菌感染症 I 腸管出血性大腸菌による感染症とは. 運動指導者のための医学の基本

131、 健康づくり、2018. 480 号 p.11.

3) 伊豫田淳 腸管出血性大腸菌感染症Ⅱ 腸管出血性大腸菌による食中毒. 運動指導者のための医学の基本 132、健康づくり、2018. 481 号 p.11.

4) 伊豫田淳 腸管出血性大腸菌感染症Ⅲ 腸管出血性大腸菌の予防法. 運動指導者のための医学の基本 133、健康づくり、2018. 482 号 p.11.

5) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析について。獣医公衆衛生研究、第 20 巻第 2 号、6-11、2018 年

泉谷秀昌 サルモネラ、医学と薬学、第 75 巻第 7 号、769-774、2018 年

6) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真 2017 年に分離された腸管出血性大腸菌の MLVA 法による解析。IASR、第 39 巻、81-82、2018 年 5 月

増田郷太、今村顕史、関谷紀貴、泉谷秀昌 腸チフス・パラチフスの診断と Widal 反応。感染症学雑誌、第 92 巻第 4 号、561-567、2018 年 7 月。

7) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の分子疫学解析（MLVA 法）について。食品衛生学雑誌、第 60 号第 1 巻、J-7-8、2019 年 2 月。

8) 泉谷秀昌 広域散発事例探知に向けた取り組み。日本食品微生物学会雑誌、第36巻第1号、10-12、2019年

9) 大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹、古川一郎、前川純子、倉文明、泉山信司、黒木俊郎 医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態。感染症学雑誌、2018. 52:678-85.

10) 前川純子 レジオネラ属菌の同定法とSBT (Sequence-Based Typing)。日本防菌防黴学会誌. 2019.

11) 泉福英信 感染性疾患の病理：齲蝕および歯周病に関連する細菌と感染症、文光堂、2018, p139-144.

12) 泉福英信 歯科医療従事者における感染対策の意識改革、日本歯科理工学会誌、日本歯科理工学会、2018, 37: 207-210.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Yahiro K, Nagasawa S, Ichimura K, Takeuchi H, Ogura K, Tsutsuki H, Shimizu T, Iyoda S, Ohnishi M, Iwase H, Noda M. Mechanism of inhibition of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* SubAB cytotoxicity by steroids and diacylglycerol analogues. 52th US-Japan Cholera and Other Bacterial Enteric Infections Joint Panel Meeting, Hanoi, Vietnam, February, 2018.

2) Nakamura K, MuraseK, Toyoda A, Itoh T, Mainil JG, Yoshino S, Kimata K, Isobe J, Seto K, Etoh Y, Narimatsu H, Saito S, Yatsuyanagi J, Iyoda S, Ohnishi M, Ooka T, Gotoh Y, Ogura Y, Hayashi T. Genome diversity of EHEC O145:H28 and genome-wide search of high Stx2 producibility-associated genes. VTEC 2018, Florence, Italy, May 2018.

3) Ogura Y, Gotoh Y, Itoh T, Sato M, Kusumoto M, Akiba M, Tominaga K, Kirino Y, Ooka T, Ishijima N, Lee K, Iyoda S, Mainil J, Hayashi T. The population structure of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11 with recent and repeated stx2 acquisition in multiple lineages. VTEC 2018, Florence, Italy, May 2018.

4) Lee K, Iyoda S, Morita-Ishihara T, Kimata K, Watahiki M, Sekizuka T, Kuroda M, Ohnishi M, EHEC Working Group. Applicability of whole genome sequencing of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 in the national surveillance. The 10th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections. Florence, Italy, 2018.

5) Morita M, Shimmura R, Izumiya H, Ohnishi M. Genomic epidemiological analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhi from domestic cases in Japan. 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Madrid, Spain, April 2018.

6) Kura F and Amemura-Maekawa J. Sources of infection and settings in outbreaks of legionellosis --- Japan, 2000-2017. ESGLI 2018. Lyon, August, 2018.

7) Taguri T, Guoxi C, Ebisu-Ojima H, Kura F, and Amemura-Maekawa J. On-site inspection method for *Legionella pneumophila* in bath water. ESGLI 2018. Lyon, August, 2018.

8) Isobe J, Kanatani J, Kimata K, Uchida K, Watahiki M, Kura F, Amemura-Maekawa J. Evaluation of an immunomagnetic separation method to detect *Legionellla pneumohila* serogroup 1 from environmental specimens. ESGLI 2018. Lyon, August, 2018.

9) Kinjo Y, Miyatake H, Piao Z, Chang B, Kitano N, Abe M, Takatsuka S, Akeda Y, Miyazaki Y, Ikuta K, Oishi K. Bivalent pneumococcal surface protein A (PspA) fusion protein vaccine comprising PspA clade 1-4 provides broad protective properties against diverse clinical isolates. The 11th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Melbourne, Australia, 2018.

10) Oishi K, Shmbashi R, Chang B, Kinjo Y, Fukusumi M, Shimada T, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota

T, Ikuse T, Suzuki M , Sunagawa T, Matsui T, and the Adult IPD Study Group. Re-emergence of invasive pneumococcal disease (IPD) caused by 12F serotype in adults, Japan: the characteristic features of disease. The 11th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases. Melbourne, Australia, 2018.

11) Taira M, Ando S, Kawabata H, Fujita H, Kadosaka T, Sato H, Monma N, Saijo M. Isolation and Molecular Detection of *Ehrlichia* Species, which is related to Ehrlichiosis agent, from Ticks in Central and Western Japan. The 9th Joint Symposium of Veterinary Research in East Asia. Seoul, Korea, 2018.

12) Xu J, Koizumi N, Nakamura S. Analysis of adhesion and crawling behavior of *Leptospira* on the host animal cells. BLAST, USA, January 2019.

13) Mitobe J, Nishiumi F, Yanagihara I, Ohnishi M. Multimer formation of bacterial cytoskeletal protein RodZ. 54th United States-Japan Cooperative Medical Science Program.26 February-1 March, 2019, Hanoi, Vietnam.

14) Ishikawa M, Senpuku H, Murata T, Hanada N, Shibuya K. Antibacterial effects of black cumin seed components on Fusobacterium Biofilm. 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, London, UK, July 25-28, 2018.

15) Senpuku H, Tominaga A, Nakao R. Effects of membrane vesicles from Streptococcus mutans on the biofilm formation and mucosal immunity. 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, London, UK, July 25-28, 2018.

16) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H. Roles of fimbriae for SCFAs-dependent initial attachment of *Actinomyces oris*. 96th General Session & Exhibition of the International Association for Dental Research, London, UK, July 25-28, 2018.

17) Nakao R, Hirayama S, Ohnishi M, Senpuku H. Characterization of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles purified by density gradient centrifugation. 12th Vaccine Congress, Budapest, Sep. 2018.

18) Hirayama S, Nakao R. Glycine strongly enhances immunoactive membrane vesicle production from flagella-deficient *E. coli.*12th Vaccine Congress, Budapest, Sep. 2018.

19) Nakao R, Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Morinaga Y, Furukawa S. Visualization of spatiotemporal dynamics of membrane vesicle formation on bacteria triggered by antibacterial agents. Keystone Symposia, Exosomes/Microvesicles: Heterogeniety, Biogenesis, Function and Therapeutic Development. Breckenridge, Colorado. July 2018

20) Nakao R. Research on bacterial membrane vesicles as vaccine platforms. Joint MTC/CMM/CID seminar at Karolinska Institutet, Stockholm. Sweden. February 2019.

21) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis Outbreak in Women Who Have Sex with Men in Japan: a Case-control Study in Tokyo, 2017-2018. ID Week 2018, San Francisco, USA. October 2018.

22) Ohnishi M. Surveillance for antimicrobial resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Japan - disseminating of a ceftriaxone resistant clone. IUSTI Asia Pacific Sexual Health Congress 2018, Auckland, New Zealand, November 2018.

23) Ohnishi M. The surveillance of bacterial infectious diseases and the study of genomics epidemiology in Japan. 広東省病原微生物年会 2018, Guangzhou, China. December 2018.

2. 国内学会

1) 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、LEE-negative STEC の産生する Subtilase cytotoxin の毒性阻害薬の検索と阻害機構の解明。第 22 回腸管出血性大腸菌研究会、東京、2018 年 11 月

2) 石嶋希、李謙一、大西真、伊豫田淳 HUS 症例由来の *stx2e*、*stx2f* 遺伝子保有株の病原性解析。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018 年 11 月

3) 須藤直樹、伊豫田淳、関根靖彦、大西真 RNA 結合タンパク質 Hfq による LEE 遺伝子発現抑制。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2018/11/9、国内.

4) 大岡唯祐、李謙一、桂啓介、伊豫田淳、藁牟田直子、林哲也、大西真、西順一郎 腸管出血性大腸菌 O111 用 IS-printing system の開発、口頭。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018 年 11 月

5）須藤直樹、伊豫田淳、関根靖彦、大西真 腸管出血性大腸菌における、RNA 結合タンパク質 Hfq による病原性調節因子の発現抑制。第 15 回 21 世紀大腸菌研究会、山形、2018 年 5 月

6) 菊地孝司、李謙一、上野裕之、泊賢太郎、小堀すみえ、嘉悦明彦、松井真理、鈴木里和、関塚剛史、黒田誠、宮崎元伸、大西真 アウトブレイク中に腸管出血性大腸菌が ESBL 遺伝子を獲得した事例。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018

7) 泉谷秀昌、李謙一、石嶋希、伊豫田淳、大西真 腸管出血性大腸菌分離株の分子疫学解析状況について。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018

8) 李謙一、木全恵子、綿引正則、磯部順子、伊豫田淳、 大西真、EHEC Working Group HUS 患者由来 LEE 非保有型 EHEC の完全長ゲノム配列解析。第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、東京、2018

9) 李謙一 牛やその他の動物における腸管出血性大腸菌の保菌状況。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2018

10) 泉谷秀昌 広域散発事例探知に向けた取り組み。第 39 回日本食品微生物学会学術総会、2018 年 9 月、大阪市

11) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の分子疫学。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、2018 年 11 月、東京都

12) 泉谷秀昌 腸管出血性大腸菌の MLVA について。平成 30 年度関東甲信静ブロック地域専門家会議、2018 年 12 月、埼玉県

13) 小林泰一郎、田中勝、福島一彰、関谷紀貴、矢嶋敬史郎、森田昌知、泉谷秀昌、味澤篤、今村顕 都立駒込病院における腸チフス・パラチフス 55 例の後方視的検。第 92 回日本感染症学会学術講演会、岡山、2018 年 5 月

14) 工藤仁隆、的野多加志、森田昌知、泉谷秀昌、吉野麻衣、大西真 多発皮下・筋内膿瘍をきたした非 K1 型過粘稠性 Klebsiella pneumoniae 株の高病原性因子解析。第 92 回日本感染症学会学術講演会、岡山、2018 年 5 月

15) 高田直輝、小川道永、大西真、竹山春子、Analysis of FIP200-independent autophagy induction mechanism in Streptococcus pneumoniae infected cells、5th Core-to-Core International Symposium “3D Lab-Exchange Program”、OIST、平成 31 年 2 月 25 日−27 日

16) 高田直輝、小川道永、竹山春子、大西真 肺炎球菌に対するゼノファジー誘導の分子メカニズム解析。第 41 回日本分子生物学会、パシフィコ横浜、平成 30 年 11 月 30 日

17) 高田直輝、小川道永、山下裕顕、竹山春子、大西真 宿主細胞内における肺炎球菌殺菌機構の解析。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、北里大学大村ホール、平成 30 年 11 月 1 日

18) 雫石早矢佳、小川道永、松永智子、梁明秀、大西真 宿主オートファジーを誘導する肺炎球菌病原因子の探索とその誘導機構解析。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、北里大学大村ホール、平成 30 年 11 月 1 日

19) 中井友博、小川道永、岡田信彦、大西真 肺炎球菌感染により惹起される炎症応答を制御する病原因子の探索。第 101 回日本細菌学会関東支部総会、北里大学大村ホール、平成 30 年 11 月 1 日

20) 小川道永、高田直輝、雫石早矢佳、大西真 Nedd4-1 を介した K63 型ユビキチン化による宿主細胞内肺炎球菌認識機構。第 50 回 レンサ球菌研究会、神戸市産業振興センター、平成 30 年 6 月 16 日

21) Michinaga Ogawa, Naoki Takada, Sayaka Shizukuishi, Isei Tanida, Mitsunori Fukuda, Makoto Ohnishi 、Molecular mechanisms of Streptococcus pneumoniae-targeted selective autophagy via Golgi-resident Rab41 and Nedd4-1 mediated K63-linked ubiquitination、第 70 回日本細胞生物学会、第 51 回日本発生生物学会合同大会、タワーホール船堀、平成 30 年 6 月 7 日

22) 前川純子 レジオネラ。第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 シンポジウム「不思議なミクロの世界―目からウロコの微生物学講座―」、東京、2019 年

23) 磯部順子、金谷潤一、木全恵子、内田薫、綿引正則、小澤賢介、権平文夫、倉文明、前川純子 浴用水から *Legionella pneumophila* 血清群 1 を検出するための免疫磁気ビーズによる濃縮分離法の検討。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018

24) 田栗利紹、蔡国喜、下田貴宗、倉文明、前川純子 遊離塩素消毒下の入浴施設におけるレジオネラニューモフィラの生死スクリーニングを伴ったオンサイト半定量解析。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018

25) 大河内由美子、前川純子、泉山信司 貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018

26) 森中りえか、前川純子、加藤尚之、大野章、原口浩幸、高崎一人、布藤聡、倉文明 比色系パルサー法によるレジオネラ属菌検出の特異性について。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018

27) 金谷潤一、綿引正則、木全恵子、加藤智子、内田薫、倉文明、前川純子、磯部順子 大気エアロゾル中のレジオネラ属菌検出状況。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会、東京、2018

28) 新橋玲子、常彬、福住宗久、島田智恵、田邊嘉也、大島謙吾、丸山貴也、渡邊浩、黒沼幸治、笠原敬、武田博明、西順一郎、藤田次郎、窪田哲也、砂川富正、松井珠乃、大石和徳 小児結合型肺炎球菌ワクチンの定期接種導入後の成人侵襲性肺炎球菌感染症の疫学的特徴。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018 年

29) 戸田誠也、合田建、見坂恒明、常彬 胆汁から肺炎球菌が培養された侵襲性肺炎球菌感染症を伴う急性胆嚢炎の 1 例。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018 年

30) 合田建、見坂恒明、常彬 夫婦間で発症した侵襲性肺炎球菌感染症/肺炎球菌性脊椎炎の 2 例。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術

集会合同学会、岡山、2018 年

31) 津畑千佳子、田邊嘉也、茂呂寛、坂上亜希子、佐藤瑞穂、張仁美、青木信将、小泉健、菊地利明、常彬、大石和徳 新潟県の成人の血清型 12F による侵襲性肺炎球菌感染症の臨床的特徴。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018 年

32) 宮崎治子、渋谷理恵、常彬、大西真、松本哲哉 ワクチン定期接種開始後における高齢者分離肺炎球菌の疫学的検討。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、岡山、2018 年

33) 川崎聡、山本絢子、阿部徹哉、青木信樹、常彬 救護施設で発生した血清型 19A による肺炎球菌性肺炎のアウトブレイク～入所者に対する咽頭保菌調査と予防的除菌療法の経験～。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2018 年

34) 藁牟田直子、児玉祐一、川村英樹、常彬、西順一郎 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 88 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 61 回日本感染症学会中日本地方会学術集会第 66 回日本化学療法学会西日本支部総会合同学会、鹿児島、2018 年

35) 常彬、西順一郎、丸山貴也、渡邊浩、福住宗久、新橋玲子、大石和徳 成人の侵襲性肺炎球菌感染症（IPD）原因菌の血清型分布の動向と細菌学的解析。
第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018 年

36) 成相昭吉、常彬 PCV 導入後の定着肺炎球菌血清型の疫学変化と PCG・MEPM 耐性状況。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018 年

37) 池辺忠義 連鎖球菌感染症の疫学（シンポジウム：食品媒介連鎖球菌感染症の疫学・食品微生物学・病原機構）。第 39 回日本食品微生物学会学術総会、大阪、2018 年 9 月

38) 池辺忠義 劇症型溶血性レンサ球菌について。2018 年東海北陸ブロック地域レファレンスセンター連絡会議、愛知、2018 年 11 月

39) 渡辺美絵、池辺忠義、岡村暢大 劇的な経過を辿った G 群溶血性連鎖球菌感染症の一例。第 88 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、鹿児島、2018 年 11 月

40) 佐藤梢、熊谷由美、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹 ボレリア属細菌の新規病原性評価ツールの開発とその応用。第 161 回日本獣医学会学術集会、筑波、2018 年

41) 川端寛樹 マダニ媒介性感染症（教育講演）。森林総研セミナー、函館、2018 年

42) 佐藤梢、熊谷由美、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹。ボレリア属細菌の新規病原性評価ツールの開発とその応用。第 26 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー、函館、2018 年

43) 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、川端寛樹 新興回帰熱 (BMD: *Borrelia miyamotoi* disease)の新規抗体検査用抗原の性能評価に関する研究。第 26 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー、函館、2018 年

44) 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ダイナミックな進化。第 70 回日本衛生動物学会大会、帯広、2018 年

45) 佐藤梢、熊谷由美、林哲也、高野愛、大西真、川端寛樹 ボレリア属細菌の新規病原性評価ツールの開発とその応用。第 70 回日本衛生動物学会大会、帯広、2018 年

46) 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、2018 年

47) 川端寛樹 日常診療で出会う可能性があるボレリア感染症（教育講演）。第 29 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、岐阜、2018 年

48) 高橋 英之 侵襲性髄膜炎菌感染症「持ち込まれる危険と適性検査」。第 30 回臨床微生物学会総会、東京、2019 年

49) 真井優、小泉信夫、Ung Thi Hong Trang、Nguyen Le Kanh Hang、竹村太地郎、長谷部太、平山和宏、三浦こずえ ベトナムにおける野鼠を対象としたレプトスピラ症の疫学調査。第 59 回日本熱帯医学会大会、長崎、2018 年 11 月

50) Xu J, Koizumi N, Ozuru R, Morimoto YV, Masuzawa T, Nakamura S. Photoreactive behavior in the spirochete *Leptospira*. 2018 年度べん毛研究交流会、愛知県、2019 年 3 月

51) 許駿、小泉信夫、中村修一 レプトスピラ症病原体の宿主選好性における運動と接着の関わり。2018 年度べん毛研究交流会、愛知県、2019 年 3 月

52) 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, and 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.

53) 中山周一 梅毒の迅速診断の方向性―検査手技時間の短縮化と感染成立後陽性判定可能までのタイムラグの短縮化を目指す。日本性感染症学会第 31 回学術大会シンポジウム 1、2018 年 11 月、東京

54) 安田満、志牟田健、中山周一、小林寅喆、大澤佳代、陳内理生、三宅啓文、濱砂良一、荒川創一、大西真 2015～

2017 年にわが国で分離された淋菌の薬剤感受性報告。日本性感染症学会第 31 回学術大会、2018 年 11 月、東京

55) 三戸部治郎、西海史子、柳原格、大西真　赤痢菌の細胞骨格 RodZ の多量体形成機構と局在の解析。第 92 回日本細菌学会総会、札幌、2019 年

56) 三戸部治郎　病原性の発現メカニズムに基づいた汎赤痢菌群に対するワクチンの開発。第 26 回大阪府立母子医療センターシンポジウム2、2019 年 3 月 22 日

57) 金坂伊須萌、山根夏枝、伊與田貴子、天野綾子、小山英明、松本哲、勝瀬明子、志牟田健、大西真、小林寅喆 CTRX 耐性 *N.gonorrhoeae* および CTRX 低感受性 *N.subflava* に対する *penA* 遺伝子解析。日本性感染症学会第 31 回学術大会、東京、2018 年

58) 石川正夫、村田貴俊、泉福英信、花田信弘、渋田耕司 ブラッククミンおよび殺菌剤の *Fusobacterium nucleatum* のメチルメルカプタン産生に及ぼす影響。第 67 回日本口腔衛生学会、札幌、2018 年 5 月

59) 泉福英信　ヴェジクルを利用したさまざまな口腔細菌によるバイオフィルム形成戦略。第 67 回日本口腔衛生学会、札幌、2018 年 5 月

60) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦　Functional analysis of putative lipoproteins accumulated in *C. perfringens* membrane vesicle inducing host ummunity. 第 32 回日本微生物生態学会、沖縄、2018 年 7 月

61) 奥脇響、尾花望、永山恭子、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ヴェシクルに濃縮されたタンパク質機能の解析。グラム陽性菌ゲノム機能会議、2018 年 8 月

62) 泉福英信、中尾龍馬　膜小胞-細胞外 DNA 複合体の病原性と粘膜免疫による IgA 抗体の誘導、ポスター。第 60 回歯科基礎医学会、福岡、2018 年 9 月

63) Hidenobu Senpuku, Tomoyo Nakamura, Yusuke Iwabuchi, Ryoma Nakao, Development of an oral biofilm-associated disease vaccine using membrane vesicles from *Streptococcus mutans.* 第 47 回日本免疫学会・総会、福岡、2018 年 12 月

64) 泉福英信　バイオフィルムが創りだす不思議な世界。第 30 回日本臨床微生物学会 教育講演、東京、2019 年 2 月

65) 齋藤訓平、相内章、平山悟、鈴木忠樹、中尾龍馬、長谷川秀樹　The efficacy of outer membrane vesicle derived from *E. coli* Nissle 1917 as a mucosal adjuvant in intranasal inactivated influenza vaccine. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月

66) 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。日本顕微鏡学会第 61 回シンポジウム、富山市、2018 年 11 月

67) 平山悟、泉福英信、大西真、中尾龍馬　歯周病原細菌 *P. gingivalis* 及び *A. actinomyctemcomitans* 外膜ヴェシクルの併用による経鼻免疫の粘膜ワクチン効果。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸市、2018 年 12 月

68) 泉福英信、中尾龍馬　*Streptococcus mutans* から遊離した膜小胞・細胞外 DNA 複合体のバイオフィルム活性。第 50 回レンサ球菌学会、神戸、2018 年 6 月

69) 奥脇響、尾花望、永山恭子、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦　宿主免疫を誘導するウェルシュ菌メンブレンヴェシクルの推定リポタンパク質解析。環境バイオテクノロジー学会 2018、つくば、2018 年 6 月

70) 奥脇響、尾花望、永山恭子、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ヴェシクルに集積されたタンパク質の機能解析。第 32 回日本微生物生態学会、沖縄、2018 年 7 月

71) 泉福英信、中尾龍馬　膜小胞-細胞外 DNA 複合体による病原性と粘膜免疫応答の誘導。第 60 回歯科基礎医学会、福岡、2018 年 9 月

72) 室井康平、生田智樹、奥村暢章、立藤智基、中尾龍馬　アルテピリン C による細胞膜上への膜小胞形成作用。第九回岐阜薬科大学機能性健康食品研究講演会、「岐阜市 2018 年 11 月

73) 奥脇響、尾花 望、永山恭子、中尾 龍馬、泉福 英信、野村 暢彦　腸内細菌が放出する membrane vesicle による宿主免疫誘導の解析。第 52 回ビブリオシンポジウム、2018 年 10 月

74) 泉福英信、中尾龍馬　Development of an oral biobilm-associated disease vaccine using membrane vesicles from Streptococcus mutans.日本免疫学会、福岡 、2018 年 12 月

75) 大西真　梅毒および薬剤耐性淋菌感染症の動向。第 71 回日本細菌学会　中国・四国支部総会、松山、2018 年 8 月

76) 大西真　淋菌感染症の迅速診断　いま必要とされていること。日本性感染症学会第 31 回学術大会、東京、2018 年 11 月

77) 大西真　梅毒の国内の現状。第 32 回エイズ学会学術集会、大阪、2018 年 12 月

78) 大西真　梅毒の全国の現状及び検査等について。第 32 回公衆衛生情報研究協議会研究会、岡山、2019 年1月

79) 大西真　淋菌感染症の疫学・病原性と検査法。第 30 回日本臨床微生物学会、東京 2019 年 2 月

80) 大西真　国内の患者由来腸管出血性大腸菌の特性。72 回日本細菌学会東北支部総会、仙台、2018 年 8 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。

細菌第二部は研究業務の他、特にワクチン等生物学的製剤の品質管理業務ならびに所掌する感染症に関するレファレンス等行政的な業務が非常に多い。平成 30 年度においては、担当する生物学的製剤の SLP 審査で製造販売業者が実施した自家試験結果に疑義が認められた製剤があったため、業務管理課ならびに厚生労働省とともに文書による照会や面談を行い、長時間をかけて内容について協議を行った。また別の製剤では、厚生労働省等からの依頼により品質を再確認するために通常の国家検定では実施していない試験も含めて収去試験や依頼試験を実施した。このように検定基準で定められた通常業務の他に、生物学的製剤の品質確保のために多くの付加業務を行った。細菌第二部は所掌する感染症の病原体サーベイランスや行政検査、ワクチンに関連する流行予測事業を担当しているが、流行予測事業について 2018 年は、百日咳、ジフテリア、破傷風の感受性調査、侵襲性インフルエンザ菌感染症の感染源調査が行われた。感受性調査では自治体が血清の収集と抗体価測定を実施するが、ジフテリアについては参加自治体に対し培養細胞法の講習会を行なった。破傷風については共同研究で新しく開発中の破傷風抗体価測定キットの評価を行い、従来キット在庫品との比較ができるように流行予測事業事務局、自治体、キットのメーカーと試薬配布などを行った。このように当該事業が全国で円滑に実施できるように必要な講習や調整を行なった。その他、百日咳の感染症発生動向調査の精度向上を目的に、感染症法に基づく医師届出ガイドラインを感染症疫学センターと協力して作成した。これらの詳細は以下の業績に述べられているが、このように細菌第二部では例年研究業務に加えて、行政的に重要な業務も多く担っている。

業　績

調査・研究

I. 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、10 道県から報告された症例の特徴を解析し、分離された起因菌の同定、莢膜型別、抗菌薬感受性試験、遺伝子型別を実施。症例年齢の中央値は 77 歳、基礎疾患ありが 82.2%、菌血症を伴う肺炎が 60%、原発巣不明菌血症が 36%であった。殆どの分離株が無莢膜型の NTHi（95.6%）で、その他血清型 b（0.8%）、e（1.2%）、f（2.4%）が数株存在していた。186 株の MLST 解析では、89 種類の ST に分類され、特定のSTによる発症の偏りは認められなかった。アンピシリン非感受性は年々増加傾向を示す中今年度は急激な増加は見られなかった。PBP3 の変異の増加とともに1株中の変異箇所数の増加や遺伝子の挿入による変異が認められた。[久保田眞由美、見理剛、柴山恵吾：村上光一、大石和徳（感染症疫学センター）]

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

小児の侵襲性インフルエンザ菌感染症の起因菌の莢膜型と主要抗菌薬に対する感受性調査を 1 道 9 県の 15 歳未満児を対象に実施している。特に 5 歳未満児における年平均患者数は *Haemophilus influenzae* type b (Hib)ワクチン普及前の 2008-2012 年と Hib ワクチン定期接種開始後の 2013-2017 年を比較すると 93%(罹患率比: 0.07, 95%信頼区間 0.05-0.10, $p < 0.001$) 減少した。2018 年の入院患者からは莢膜 f 型株 (*Haemophilus influenzae* type f: Hif)ならびに Non-typable *H. influenzae* (NTHi) に加え、Hib ワクチン

未接種者ならびに接種歴不明者から Hib が分離された。Hib は依然、市中に保菌者がおり Hib ワクチン未接種者は Hib 感染リスクがあることがイギリスで報告されている。我が国においても Hib ワクチン未接種者の Hib 感染リスクが示唆された。
[佐々木裕子、久保田眞由美、見理 剛、柴山恵吾]

II. *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

前方視多施設疫学研究については、学会発表をすると同時に研究内容が複数の論文としてまとめられ、そのうち1編は受理され発表された[妹尾充敏、加藤はる]

2. 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

アウトブレイク事例、劇症腸炎症例などの国内事例に対応することにより、誰がどのような情報を必要としているのか調査を進めた。ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE)との共同研究では、Vu Thi Thu Huong が NIHE を辞めたため、新しく Nguyen Thuy Tram が共同研究者となった。 [妹尾充敏、加藤はる、Vu Thi Thu Huong, Nguyen Thuy Tram (NIHE, Vietnam)]

3. *Clostridioides difficile* 感染症（CDI）に対する DNA ワクチンの開発

Toxin B に対する DNA ワクチンを接種したマウスに致死量の Toxin B を投与したところ、生存が確認された。また、本ワクチンを接種したマウスに致死量の Toxin A を投与してもマウスは生存していた。この結果から、本ワクチンの接種により、Toxin B と Toxin A の両方に対する防御能を獲得することができることが示された。[妹尾充敏、加藤はる]

4. *Clostridioides difficile* 感染症（CDI）の糞便移植療法（FMT）に関する研究

FMT 前後の患者糞便およびドナーの糞便のメタボローム解析を行い、得られたデータについて多変量解析を行ったところ、FMT 前と FMT 後およびドナーとの間に明確な代謝プロファイルの違いが認められた。[妹尾充敏、加藤はる]

III. マイコプラズマに関する研究

1. 肺炎マイコプラズマ株の収集と遺伝子解析

2018 年も *M. pneumoniae* の分離菌の収集と遺伝子型別、薬剤耐性率の調査を行った。2016 年の大きな流行以降、マイコプラズマ肺炎の発生件数は減少し、菌株の収集数も少なくなっている。埼玉県と大阪府で収集された 26 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 1 株、2 型が 17 株、2c 型が 8 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* 遺伝子が 1 型の 1 株のみで、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。マクロライド感受性の 2 型系統の菌が増加し、国内の *M. pneumoniae* 分離菌のマクロライド耐性率が低下している。
[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]

IV. ジフテリアおよび類似疾患に関する研究

1. *Corynebacterium ulcerans* 菌株の解析

ジフテリア類似の人獣共通感染症である *Corynebacterium ulcerans* 感染症の発生動向を把握するため、ヒト症例および動物からの分離株の収集と解析を行っている。2018 年度はヒト、ネコ由来の18菌株を収集した。[岩城正昭、山本明彦（バイオセーフティ管理室）]

V . 結核等抗酸菌に関する研究

1. 結核菌におけるイソニアジド耐性機構の解析

イソニアジド (INH) は KatG タンパク質によって活性化 (INH-NAD) され、InhA タンパク質の活性を阻害することによって抗菌活性を示す。これまでに INH 耐性結核菌より、KatG タンパク質の新規アミノ酸変異を見出し、これらの変異が INH の活性化に関与していることを明らかにした。本年度は INH-NAD の標的である InhA タンパク質の発現系について *E.coli* を用いて作製した。今後、INH-NAD による InhA タンパク質の阻害活性について詳細な機構を明らかにする予定である。[金玄、森茂太郎]

2. らい菌由来 DNA ジャイレースに対する新規キノロン系抗菌薬候補化合物の阻害活性測定

キノロン系抗菌薬であるレボフロキサシンの新規構造類縁体について、DNA ジャイレースに対する阻害活性の測定を行った。その結果、本化合物は結核菌並びにらい菌由来 DNA シャイレースに対してレボフロキサシンよりも高い阻害活性を示した。今後は、レボフロキサシンよりも高い阻害活性を示す構造的要因について明らかにする予定である。[金玄、森茂太郎]

3. NAD 合成やヌクレオチド分解を標的とした新規治療薬の開発

FDA 承認薬ライブラリーを用いたスクリーニングを行い、NAD の合成やヌクレオチドの分解に関わる酵素の活性を阻害するとともに結核菌に対して抗菌活性を示す化合物（ヒット

化合物)を 42 種類同定した。そのうち 20 種類の化合物については、抗結核菌活性を初めて明らかにした。今後、ヒット化合物の検証や最適化研究を行うことによって、新規抗結核薬の開発につながることが期待される。[森茂太郎]

4. 結核菌由来ホスホリボシル二リン酸合成酵素(MtPrsA)を標的としたドラッグデザイン

立体構造情報に基づいて、MtPrsA の活性を特異的に阻害する化合物を同定した。今後、構造最適化を行うことによって、MtPrsA の活性をより強く阻害するとともに抗結核菌活性を示す化合物(ヒット化合物)が得られることが期待される。[森茂太郎、Rizzi Menico (東ピエモンテ大学・イタリア)]

VI. 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 EspC(大腸菌の serine protease autotransporters)類似タンパク質(*Helicobacter cinaedi* autotransporter protein A: HcaA)の局在を調べた結果、EspC とは異なり、HcaA は菌体外に排出されたのち、分泌されずに菌体表面にとどまっていることが示唆された。さらに HcaA ノックアウト株を用いた *in vitro* 感染実験により、本タンパク質は細胞接着に寄与していることが示唆された。[林原絵美子]

2. *H. cinaedi* の比較ゲノム解析

H. cinaedi の比較ゲノム解析により、clonal complex 9 に属する菌株群に特異的な遺伝子の中に DNA の phosphorothioate modification を行う *dnd* 遺伝子群が存在することを見出した。現在、*dnd* 遺伝子群のノックアウトにより発現変動する遺伝子の解析を行っている。[林原絵美子、鈴木仁人(薬剤耐性研究センター)]

3. *Helicobacter suis* に関する研究

H. suis は主に豚の胃に生息し、人にも感染する病原性細菌である。難培養菌であり、ヒト由来 *H. suis* 株の培養成功例はまだない。そこで、培養法の確立に取り組み、マウスで継代されていたヒト由来 *H. suis* SNTW101 株の人工培地での培養に成功した。また、得られた菌株から完全ゲノムを決定した。[林原絵美子、鈴木仁人(薬剤耐性研究センター):松井英則、中村正彦(北里大)]

VII.百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

1. 国内健常人における抗百日咳菌 IgA, IgM 保有調査

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)の基礎的評価を目的に, 国内健常人血清 460 検体(2015~2016 年、1~60 歳)の抗百日咳菌 IgA および IgM 抗体保有調査を実施した。その結果、健常人の抗百日咳菌 IgA は中高年層で高く、抗 IgM 抗体は小児と若年層で高い傾向にあった。これらの年齢群では、健常人であるにも関わらず現行の判定値で診断すると高い割合で百日咳陽性または判定保留となることが判明し、キットの診断精度には注意が必要であると判断された。[文元礼、大塚菜緒、蒲地一成、柴山恵吾]

2. 国内健常人における抗百日咳抗体の質的評価

国内健常人における抗百日咳毒素(PT)IgG および抗繊維状赤血球凝集素(FHA)IgG 抗体価、ならびにこれら抗体の抗原結合力(Avidity)を調査した。測定には 2015~2016 年に国内健常人から採血された 460 検体を供試した(1~60 歳)。年齢群別解析により、3~6 歳群で抗 PT IgG が量・質ともに低下していることが判明し、この年齢群に対する精製百日せきワクチン追加接種の必要性が指摘された。[文元礼、大塚菜緒、蒲地一成]

3. パラ百日咳菌の遺伝子型別法の開発

昨年度に引き続きパラ百日咳菌の新規遺伝子型別法(MLVA 法)の評価を行なった。今年度は新たに国内臨床株 1 株と国外株 15 株を収集し、実験室株 3 株と臨床分離株 50 株を合わせた計 53 株を MLVA 法に供試した。解析株 53 株は 25 種類の遺伝子型に分類され, その多様度指数は 0.91(95% CI、0.86〜0.97)という高値を示した。本法はパラ百日咳菌に対し高い解析能力を有することから、病原体サーベイランスやアウトブレイク解析において有用な解析手段となることが期待できる。[蒲地一成、大塚菜緒、文元礼、柴山恵吾]

4. アジア地域における百日咳流行株の解析

SNaPshot 法を用いて百日咳菌の SNP 型別を実施した。国内臨床分離株(n=341)は 10 種類の SNP 型(SG1−10)に分類され、SG1 が全体の 52%、SG7 が 18%、その他の SNP 型はすべて 10%以下を占めた。近年増加傾向にある MT27 株(n=237)は 2010 年代以降に SNP 型の多様化が認められ、1999~2004 年の分離株はすべて SG1 であったのに対し 2005~2009 年は 3 種類、2010~2014 年は 9 種類、2015~2018 年は 6 種類の SNP 型を示した。本法は MT27 株の遺伝子型別法として有用である。[蒲地一成、大塚菜緒、柴山恵吾]

VIII. 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された患者のうち、シラミ保有者からの血液および患者から分離された *Bartonella quintana* の IgG 抗体価、IgM 抗体価、*B. quintana* 遺伝子の有無につい

て評価した。 [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)]

IX. 流行予測事業に関する業務・研究

1. 破傷風流行予測事業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開発してきた代替え品において、2018 年度の流行予測事業で、従来品と比較検討ができ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:細野嘉史(デンカ生研)]

2. 2018 年 6 月 22 日に 2018 年度ジフテリア流行予測事業実施のために、培養細胞法によるジフテリア抗毒素価測定と判定について説明と実習を行った。高知県、北海道、東京都、福井県、愛知県、愛媛県、富山県が参加した。[小宮貴子、加藤はる、与那嶺澄代]

3. 2018 年度ジフテリア流行予測事業、破傷風流行予測事業に用いる試薬の調達と発送に関する調整を行った。[妹尾充敏、岩城正昭、加藤はる、与那嶺澄代]

X. 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、集計して WHO に提出した。[柴山恵吾、他薬剤耐性研究センター職員]

2. JANIS のアジア展開

タイ、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]

3. 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. 百日咳検査キットとレファレンスの供与

百日咳実験室診断の強化・拡充を目的に、地方衛生研究所 4 施設に 4Plex リアルタイム PCR キット(4 キット)ならびに医療機関 1 施設に百日咳菌陽性コントロール DNA を供与した。[蒲地一成、柴田美幸、大塚菜緒]

2. *Burkholderia mallei* 検出のための陽性コントロール DNA の提供

科学警察研究所 1 施設に *B. mallei* 検出法開発に使用するための 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. 医療機関(8 施設)からの依頼を受けて、百日咳様患者の病原体診断を 39 件ならびに百日咳類縁菌の菌同定検査を 1 件実施した。 [柴田美幸、蒲地一成、大塚菜緒]

品質管理に関する業務

Ⅰ. 生物学的製剤の品質管理に関する研究

1. 破傷風トキソイドワクチン力価試験の in vitro 化に関する研究

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毒素攻撃法(in vivo で中和抗体価を見積もる)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。結合抗体価を測定する ELISA 法は代替法として考慮されてこなかったが、攻撃法と整合する結果が得られれば代替法として機能する可能性があるので、本年度から実験的検討(マウスを免疫し血清を採取する)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30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) マウス白血球数減少試験用参照インフルエンザワクチンのロット更新作業を行ない、次期参照品として Lot. 6 を制定した。[持田恵子、大塚菜緒、柴田美幸、蒲地一成]

(2) 標準 A 型ボツリヌス抗毒素の標準化作業を進めた。[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) 精製ツベルクリン標準品のロット更新を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎、持田恵子]

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. 24 ロットの書類審査を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎]

イ. 依頼試験として3ロットの力価試験を行った。[堀野敦子、林原絵美子、金玄、森茂太郎、持田恵子]

(2) 無菌試験:
依頼試験として乾燥 BCG ワクチン（経皮用）8 件およびイムノブラダー膀注用1件の無菌試験を行った。
[佐々木裕子、増田まり子、久保田真由美、見理 剛]

4.収去検査
（1）乾燥 BCG ワクチン（経皮用）について 1 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、本郷有美子]

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から、ジフテリアトキソイド力価試験結果に関して問題提議があったため、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法に関する検討を行った。調べうる限りでは、参加した製造販売業社での試験技術は問題ないと判断された。[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 14 日) [柴山恵吾]

2. 薬剤耐性にかかる実験室診断研修講義(ベトナム NIHE、Quang Ninh 省 CDC、Ha Giang 省 CDC、英語、2019 年 2 月 12-14 日) [柴山恵吾]

Ⅱ. WHO 関係

1. WHO Meeting to Discuss and Finalise Manual for Laboratory Diagnosis of Diphtheria (September 27-28, ロンドン、連合王国)に参加し、WHO のジフテリア実験室診断マニュアルの策定作業を行った。[岩城正昭]

2. WHO Training workshop on establishment, calibration and management of National Reference Standards (Secondary Reference Standard) in Vietnam (September 17-22, ハノイ、ベトナム)にワークショップ講師として参加し、ワクチンの品質管理について講義を行った。[岩城正昭]

III. その他

1. PRP and CSC Meeting of the JPIAMR Surveillance Network Call 2018 (September 18 – 19, 2018, ローマ、イタリア厚生省主催)に参加し、ヨーロッパでの薬剤耐性研究に関する研究課題の審査を行った。[柴山恵吾]

2. NICVB-NIID Collaborative meeting (June 11, 2018、感染研)にて、日本における細菌ワクチンの品質管理についての説明を行った。[岩城正昭]

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 30 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. 第 7 回ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会を 2018 年 11 月 7 日から 9 日まで行った。千葉県、沖縄県、福岡市から計 3 名の参加があった。[岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

III.その他

1. 平成 30 年度院内感染対策研修(国立病院機構 近畿グループ）講義 *Clostridioides difficile* 感染症(CDI)の院内感染対策 (豊中市 2019 年 3 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 2018(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、他薬剤耐性研究センター職員]

2. 日本薬局方、生物試験法委員会が開催され（4 回）、第十八改正以降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) Muthuirulandi Sethuvel DP, Anandan S, Devanga Ragupathi NK, Gajendiran R, Kuroda M, Shibayama K, Veeraraghavan B. IncFII plasmid carrying antimicrobial resistance genes in *Shigella flexneri*: Vehicle for dissemination. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Mar;16:215-219.

2) Chiba N, Tanimoto K, Hisatsune J, Sugai M, Shibayama K, Watanabe H, Tomita H. Detection of mcr-1-mediated colistin resistance in *E. coli* isolate from imported chicken meat from Brazil. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Mar;16:249-250.

3) Oinuma KI, Suzuki M, Nakaie K, Sato K, Saeki K, Sakiyama A, Takizawa E, Niki M, Niki M, Yamada K, Shibayama K, Kakeya H, Kaneko Y. Genome-based epidemiological analysis of 13 *Acinetobacter* strains isolated from blood cultures of hospitalized patients from a university hospital in Japan. Jpn J Infect Dis. 2019 Feb 28

4) Segawa T, Sekizuka T, Suzuki S, Shibayama K, Matsui M, Kuroda M. The plasmid-encoded transcription factor ArdK contributes to the repression of the IMP-6 metallo-β-lactamase gene blaIMP-6, leading to a carbapenem-susceptible phenotype in the *bla*$_{IMP-6}$-positive *Escherichia coli* strain A56-1S. PLoS One. 2018;13(12):e0208976.

5) Uematsu H, Yamashita K, Mizuno S, Kunisawa S, Shibayama K, Imanaka Y. Effect of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. Am J Infect Control. 2018 Oct;46(10):1142-1147.

6) 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.

7) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium marinum* ATCC 927T, Obtained Using Nanopore and Illumina Sequencing Technologies. Genome Announc. 2018 May 17;6(20).

8) 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;13(3):e0194212.

9) Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, Poolman J, Geurtsen J. *Bordetella pertussis* population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. Microb Genom. 2018 May;4(5).

10) Suga S, IshiwadaN, Sasaki Y, Akeda H, Nishi J, Okada K, Fujieda M, Oda M, Asada K, Nakano T, Saitoh A, Hosoya M, Togashi T, Matsuoka M, Kimura K and Shibayama K. A nationwide population-based surveillance of invasive *Haemophilus influenzae* diseases in children after the introduction of the *Haemophilus influenzae* type b vaccine in Japan. Vaccine 36: 5678-5684, 2018.

11) Naito S, Takeuchi N, Ohkusu M, Takahashi-Nakaguchi A, Takahashi H, Imuta N, Nishi J, Shibayama K, Matsuoka M, Sasaki Y, Ishiwada N. Clinical and Bacteriologic Analysis of Nontypeable *Haemophilus influenzae* Strains Isolated from Children with Invasive Diseases, Japan, 2008-2015. Journal of Clinical Microbiology 56: e00141-18, doi: 10.1128/JCM.00141-18, 2018.

12) Kenri T, Kawakita Y, Kudo H, Matsumoto U, Mori S, Furukawa Y, Tahara YO, Shibayama K, Hayashi Y, Arai M, Miyata M. Production and characterization of recombinant P1 adhesin essential for adhesion, gliding, and antigenic variation in the human pathogenic bacterium, *Mycoplasma pneumoniae*. Biochem Biophys Res Commun. 2019, 508(4): 1050-1055.

13) Katsukawa C, Kenri T, Shibayama K, Takahashi K. Genetic characterization of *Mycoplasma pneumoniae* isolated in Osaka between 2011 and 2017: Decreased detection rate of macrolide-resistance and increase of *p1* gene type 2 lineage strains. PLoS One. 2019, 14(1): e0209938.

14) Akane Y, Tsugawa T, Hori T, Togashi A, Yoto Y, Inazawa N, Ito N, Kyan R, Senoh M, Kato H, Tsutsumi H. Tetanus in a partially immunized child. J Infect Chemother 2018; 24:980-982.

15) Oguri N, Sakuraba A, Morikubo H, Kikuchi O, Sato T, Tokunaga S, Minowa S, Ikezaki O, Mitsui T, Miura M, Saito D, Hayashida M, Mori H, Osaki T, Kamiya S, Senoh M, Kato H, Hisamatsu T. Community-acquired fulminant colitis caused by binary toxin- producing *Clostridium difficile* in Japan. Clin J Gastroenterol 2019 Feb 14

16) Kato H, Senoh M, Honda H, Fukuda T, Tagashira Y, Horiuchi H, Chiba H, Suzuki D, Hosokawa N, Kitazono, H, Norisue Y, Kume H, Mori N, Morikawa H, Kashiwagura, S, Higuchi, A, Kato H, Nakamura M, Ishiguro S, Morita S, Ishikawa H, Watanabe T, Kojima K, Yokomaku I, Bando T, Toimoto K, Moriya K, Kasahara K, Kitada S, Ogawa J, Saito H, Tominaga H, Shimizu Y, Masumoto F, Tadera K, Yoshida J, Kikuchi T, Yoshikawa I, Watanabe T, Honda M, Yokote K, Toyokawa T, Miyazato H, Nakama M, Mahe C, Reske K, Olsen MA, Dubberke ER. *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* infection burden in Japan: A multicenter prospective study. Anaerobe. 2019 Mar 12

17) Senoh M, Iwaki M, Yamamoto A, Kato H, Fukuda T, Shibayama K. Development of vaccine for *Clostridium difficile* infection using membrane fraction of nontoxigenic *Clostridium difficile*. Microb Pathog. 2018; 123:42-46.

2. 和文発表

1) 見理剛 *Mycoplasama pneumoniae* の遺伝子型別法の比較。日本マイコプラズマ学会雑誌、2018、45、9-17.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan, 第15回全国抗感染薬物臨床薬理学術会議、第3回全国細菌薬剤耐性監測大会、第2回北京大学医学感染症フォーラム.（英語、口頭）2018年6月北京.

2) Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan, Tokyo AMR One-Health Conference（英語、口頭）2019年2月20日, 東京.

3) Otsuka N, Kamachi K. Molecular epidemiology of *Bordetella parapertussis* in Japan and Taiwan. The 15th Japan-Taiwan Symposium on Infectious Diseases, Sep. 2018, Taiwan.

4) Kenri T, Fujii H, Hashimoto T, Yamazaki T, Ohya H, Kuroki T, Katsukawa C, Takahashi K, Shibayama K. Genetic characterization of *Mycoplasma pneumoniae* in Japan. Joint Congress of 7th meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology (AOM) and the 45th meeting of the Japanese Society of Mycoplasmology (JSM), 2018/5/18-20, Tokyo, Japan.

5) Murata K, Nakane D, Kenri T, Shibayama K, Nishizaka T. Length of cytoskeletal core acts as a speedometer in the gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*. Joint Congress of 7th meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology (AOM) and the 45th meeting of the Japanese Society of Mycoplasmology (JSM), 2018/5/18-20, Tokyo, Japan.

6) Nakane D, Murata K, Kenri T, Shibayama K, Nishizaka T. Molecular speedometer for gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*. Joint Congress of 7th meeting of the Asian Organization for Mycoplasmology (AOM) and the 45th meeting of the Japanese Society of Mycoplasmology (JSM), 2018/5/18-20, Tokyo, Japan.

7) Kenri T, Murata K, Nakane D, Shibayama K, Nishizaka T. Nano-scale length control of cytoskeletal core in *Mycoplasma pneumoniae*. IOM 2018 (22nd Congress of the International Organization for Mycoplasmology),

2018/7/9-12, Portsmouth, NH, USA

8) Murata K, Nakane D, Kenri T, Shibayama K, Nishizaka T. Length of cytoskeletal core acts as a speedometer in the gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*. IOM 2018 (22nd Congress of the International Organization for Mycoplasmology), 2018/7/9-12, Portsmouth, NH, USA

9) Nakane D, Murata K, Kenri T, Shibayama K, Nishizaka T. Molecular speedometer for gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*. IOM 2018 (22nd Congress of the International Organization for Mycoplasmology), 2018/7/9-12, Portsmouth, NH, USA

10) Kubota M. Trends in invasive *Haemophilus influenzae* infection after the introduction of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine, and clinical characteristics of *Haemophilus influenzae* isolates, in Japan. US-Japan Cooperative Medical Science Program (USJCMSP): 21st ARI Panel Meeting, 2019/2/28-3/1, Hanoi, Vietnam.

11) Kenri T. Evaluation of genotyping methods of *Mycoplasma pneumoniae*. US-Japan Cooperative Medical Science Program (USJCMSP): 21st ARI Panel Meeting, 2019/2/28-3/1, Hanoi, Vietnam.

12) Kato H, Senoh M, Honda H, Tagashira Y, Dubberke ER, Reske K, Olsen MA, and The *Clostridium difficile* infection Japan Study Group. The burden of *Clostridioides difficile* infection in Japan: a prospective multi-center study. 6th International *C. difficile* Symposium. Bled, Slovenia 2018 Sept.

13) Niwa H, Sekizuka T, Kuroda M, Uchida E, Kinoshita Y, Katayama Y, Senoh M, Fukuda T, Kato H. Whole genome analysis of *Clostridioides difficile* strains isolated from horses in Japan. 6th International *C. difficile* Symposium. Bled, Slovenia 2018 Sept.

14) Murabata M, Kato H, Senoh M, Uchida K, Inoue M, Koike Y, Matushita K, Nagano Y, Yano H. Intestinal colonization of *Clostridioides difficile* in pediatric inflammatory bowel disease patients in Japan. 6th International *C. difficile* Symposium. Bled, Slovenia 2018 Sept.

15) Iwaki M, Stickings P. Challenges with replacement of international standard equine antitoxins. Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting 2018. Chicago, USA 2018 Oct.

16) Mori S. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance of *Mycobacterium tuberculosis*, The 15th Taiwan-Japan Symposium. (英語, 口頭) 2018 年 9 月 台北.

17) Mori S. Crystal structure of the enzymes involved in nucleotide metabolism in *Mycobacterium tuberculosis* and the development of novel structure-based drugs, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. (英語, 口頭) 2019 年 2 月 ハノイ.

18) Kim H, Rimbara E, Shibayama K, and Mori S. Functional analysis of quinolinic acid phosphoribosyltransferase activity from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. 24th IUBMB congress & 15th FAOBMB congress. (ポスター) 2018 年 6 月 ソウル.

2. 国内学会

1) 藤本修平、本間操、八束眞一、大石貴幸、岩崎澄央、太田浩敏、八木哲也、村上啓雄、柴山恵吾、富田 治芳、谷本 弘一 JANIS データを活用して AMR 対策地域連携を進めよう 地域連携を支援するネットワークツール「地域連携支援ツール群」の開発と公開. 第34回日本環境感染学会総会、神戸、2019 年 2 月

2) 川上千晶、山岸拓也、松井珠乃、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、大石和徳 全国規模のバンコマイシン耐性腸球菌サーベイランスの公衆衛生対策への活用法の検討。第34回日本環境感染学会総会、神戸、2019 年 2 月

3) 藤本修平、本間操、八束眞一、大石貴幸、岩崎澄央、静野健一、荻野 毅史、太田浩敏、八木哲也、村上啓雄、柴山恵吾、荒川宜親 「耐性菌条件/警告・案内定義メッセージ」の標準化と編集ツールの公開。第30

回日本臨床微生物学会総会、東京、2019 年 2 月

4) 藤本修平、本間操、八束眞一、大石貴幸、岩崎澄央、静野健一、荻野毅史、太田浩敏、八木哲也、村上啓雄、柴山恵吾、荒川宜親 JANIS データを利用して薬剤耐性菌の地域拡散を調べよう 複数施設解析版 2DCM-web と関連ツールの開発と公開。第30回日本臨床微生物学会総会、東京、2019 年 2 月

5) 島川宏一、川上小夜子、安斎栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 検査部門における検査材料別薬剤感受性集計の検討。第30回日本臨床微生物学会総会、東京、2019 年 2 月

6) 川上小夜子、島川宏一、安斎栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 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 2017 年都道府県別薬剤耐性菌の分布状況。第30回日本臨床微生物学会総会、東京、2019 年 2 月

7) 川上小夜子、島川宏一、安斎栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 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 2008～2017 年年報公開情報を中心に。第30回日本臨床微生物学会総会、東京、2019 年 2 月

8) 鹿山鎭男、Le Nguyen Tra Mi、鈴木仁人、矢原耕史、横田和久、柴山恵吾、大毛宏喜、菅井基行 広島県内の医療施設において分離された中国由来 string test 陽性 blaKPC-2 保有 *K.pneumoniae* の解析。第30回日本臨床微生物学会総会、東京、2019 年 2 月

9) 柴山恵吾 本邦の医療関連感染サーベイランスについて知ろう JANIS サーベイランスの概要。日本外科感染症学会総会、大阪、2018 年 11 月

10) 文元礼、大塚菜緒、神谷元、蒲地一成 健常人における抗百日咳菌 IgA 抗体と抗 IgM 抗体の保有調査。第 50 回日本小児感染症学会総会、福岡、2018 年 11 月

11) 砂川富正、神谷元、高橋琢理、有馬雄三、上月愛留、松井珠乃、蒲地一成、大塚菜緒、文元礼、大石和徳 百日咳新時代~新しいサーベイランスの導入と疫学の現状~。第 50 回日本小児感染症学会総会、福岡、2018 年 11 月

12) 上月愛留、神谷元、高橋琢理、有馬雄三、松井珠乃、蒲地一成、大塚菜緒、文元礼、大石和徳、砂川富正 全数把握疾患への変更により明らかになった日本の乳児百日咳の疫学。第 50 回日本小児感染症学会総会、福岡、2018 年 11 月

13) 加藤はる シンポジウム 4 食中毒の予防・原因究明対応に関する現在と未来展望:ボツリヌス症の発生に係る現況と課題。日本防菌防黴学会第 45 回年次大会 東京、2018 年 11 月

14) 加藤はる ランチョンセミナー15 *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* 感染症 (CDI):一筋縄ではいかない細菌学的検査の話。第 15 回日本消化管学会総会学術集会、佐賀市、2019 年 2 月

15) 加藤はる ランチョンセミナー1 *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* (CDI)感染症(CDI)の細菌学的検査。第 34 回日本環境感染学会総会・学術集会、神戸市、2019 年 2 月

16) 妹尾充敏、加藤はる、柴山恵吾 *Clostridium difficile* 感染症に対する DNA ワクチンの開発。第 92 回日本感染症学会学術講演会第 66 回日本化学療法学会総会合同学会、 岡山、2018 年 6 月

17) 森茂太郎、金玄、田村敏生、前田百美、林原絵美子、Rizzi Menico、柴山恵吾 キノロン系抗菌薬の新規構造類縁体である BFF122 の抗結核菌活性と DNA gyrase に対する阻害活性。日本農芸化学会 2019 年度大会、東京、2019 年 3 月

3. その他(紀要・ホームページ等)

紀要

1) 森茂太郎 Crystal structure of the N-terminal deletion mutant of diadenosine polyphosphate phosphorylase from *Mycobacterium avium*. Photon Factory Activity Report 2017 Users' Report, 2018 年 7 月, (http://pfwww.kek.jp/acr/2017pdf/u_reports.html)

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。

研究費としては日本医療研究開発機構補助金、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、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、Olia Alex 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・実習生として鎌田陽菜、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、高津正子、Yulia Anita、山内祐人、多久（北園）和泉、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、伊藤薫平、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、荒井絢子、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) 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―環境試料での交差染色について―

顕微鏡観察によるクリプトスポリジウム判別の精度向上と作業の簡易化を目指し、抗原認識部位(エピトープ)の異なる二種類の抗クリプトスポリジウム抗体を別々の蛍光色で標識し、二重染色による判別方法を用意した。この二重染色法の実用化へ向けて、下水、河川水などの環境試料に適用した場合の、夾雑物との交差反応性について検討した。クリプトスポリジウムとは異なる、非特異反応によって染色された蛍光粒子が一定数検出されたものの、検査を妨害するほどではなかった。

[橋本温(県立広島大学)、泉山信司]

(2) 水質データベースにおける浄水場出口濁度の年度推移、並びに西谷浄水場における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の活用例

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。現在の濁度管理の状況について、水質データベースの浄水場出口濁度を追跡したところ、年々超過した浄水場の数は減少し、濁度管理に成功していることが判明した。濁度管理には、濁度計に加えて高感度な粒子計が利用可能であり、今年度は西谷浄水場の粒子計の活用例を紹介する。粒子数が増加傾向になった際に、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)と後 PAC 注入(いわゆる高速ろ過前の二段凝集)を行い、ろ過水の粒子数を低減することができた。

[浅野峰子(横浜市水道局小雀浄水場)、泉山信司]

(3) 抗赤痢アメーバ抗体の開発

国内での赤痢アメーバ検査利用を目的に、抗原検出による免疫学的診断法開発を進めている。これまでに開発したポリクロナル抗体を酵素標識しサンドイッチ ELISA 法でその性能を評価した結果、赤痢アメーバ PCR 陽性の糞便が抗原陽性を示したが、感度は低かった。モノクロナル抗体 3 クローンはハイブリドーマの抗体産生能が弱く培養上清中の抗体の評価となったが、赤痢アメーバライセ―トおよび糞便検体に対する反応性はクローン間で大差なく、ポリクロ抗体よりも感度は良いと考えられた。なお詳細は不明だが、これらの抗体の特性から赤痢アメーバ細胞上にグロブリン様分子が存在する可能性があるという興味深い結果が得られた。

[八木田健司]

(4) 下痢症検体における赤痢アメーバ遺伝子検査

原虫性の下痢症が疑われた糞便検体に対する赤痢アメーバの遺伝子検査を行った。便検体総計 233 検体につき、QIAgen Stool Fast Kit による DNA 抽出精製を行い、抽出 DNA を用いて 18S ribosomal RNA 遺伝子を標的とした赤痢アメーバ特異的 PCR を行った。調べた 233 検体中、赤痢アメーバ陽性と判断されたのは 5 検体で、赤痢アメーバ陽性率は 2.1%と算出された。抗原検査法および顕微鏡検査ではアメーバ陰性であった検体でも PCR 陽性反応が見られた。専ら栄養体検出に有用な抗原検査では検出の難しいシスト陽性例を、遺伝子検査では検出しており、その有用性が示された。

[八木田健司、下河原理江子]

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開発

本年度は希少感染症の一つである肝蛭症の迅速診断検査キットの開発を行った。その結果、試作品の評価では健常人血清と非特異的反応が認められたため、二次抗体の種類(モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、Protein A)とその

濃度について検討を行ったが、改善される迄には至らなかった。

[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、ミトコンドリア DNA の cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1)や 12S ribosomal RNA、リボソーム DNA の ITS-1 や ITS-2 などで、塩基配列に関する基礎的な情報を蓄積した。研究材料は国内外から検査依頼目的で送付された臨床検体(虫体や病理組織標本)を用いた。さらに、ホルマリン固定病理組織標本中に検出される寄生虫の鑑別法についても、寄生虫の種類ごとにプライマーの設定を含めた PCR 条件を詳細に検討した。解析した寄生虫の詳細はレファレンスの項に記載した。

[森嶋康之、杉山広、山﨑浩]

(3) わが国に分布する旋毛虫 *Trichinella* T9 の殺滅に有効な加熱条件の予備的検討

わが国で発生したクマ肉喫食による旋毛虫食中毒の病因 *Trichinella* T9 を用いて、本虫の高温耐性を予備的に検討した。食中毒の発生防止のために、厚労省が野生鳥獣肉の加熱に求める条件(75℃で 1 分以上)と同等とされる 65℃・15 分で旋毛虫幼虫を処理したところ、マウスへの感染性が完全に消失した。

[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－微生物に関する研究－

貯水槽水道の給水栓を対象として、塩素の残留状況が異なる給水栓から初流水を採取し、レジオネラ属による汚染状況と残留塩素濃度を調査した。レジオネラ属は遊離残留塩素が 0.1 mg/L を越えて残留している給水栓からはすべて不検出であった。以前の対象施設は汚染に苦慮していたが、自己水源の井戸水への切り替えに伴って追加の遊離塩素消毒が徹底され、汚染は大きく改善した。ウイルス指標として期待されるトウガラシ微斑ウイルスは、実際の浄水処理における挙動に関心が寄せられている。国内浄水場 A において、PCR 法にて通年で評価した凝集沈澱–砂ろ過処理によるトウガラシ微斑ウイルスの除去率は、1.3～2.0-Log であり、除去率の季節的な変動は小さかった。この結果は室内実験と同程度で再現性があり、各種水系感染症ウイルスも同程度除去されると推察された。浄水場におけるウイルス対策は後段の塩素処理に大きく依存していることが改めて確認された。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、水道を介した散発的な感染が懸念される。1 個のクリプトスポリジウムで感染する確率は、かつて 1 個で 0.4%程度と計算されたが、感染しやすい種と株が存在し、今では 10%程度ないし 20%と桁違いに感染確率が大きいことが想定されている。10^{-6}DALYs(障害調整生存年数)の目標維持には 3-Log 以上、微生物許容感染リスク 10^{-4}/年の目標には 4-Log 以上の除去が必要と計算された。

[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)、片山浩之(東京大学大学院工学研究科))

(2)散発的なクリプトスポリジウム感染を防止するための対策

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、水道を介した散発的な感染が懸念される。1 個のクリプトスポリジウムで感染する確率は、かつて 165 個で 50%(1 個で 0.4%程度)と計算されていた。ところが感染しやすい種と株が存在し、今では USEPA で 1 個が 10%程度の感染確率、WHO が 20%と計算の前提が更新され、桁違いに感染確率が大きいことが想定されている。すなわち、10^{-6} DALYs(障害調整生存年数)の目標維持には、従来の 2-Log 除去ではなく、3-Log 以上の徹底が必要であった。微生物許容感染リスク 10^{-4}/年の目標には、4-Log 以上が必要であった。対策としては、2 ないし 3-Log の除去率が期待される凝集沈殿ろ過の急

速ろ過によるシングルバリアだけでなく、マルチプルバリアとして紫外線処理や膜処理に、当面の対策として二段凝集の導入、集水域の管理にモニタリングや排水処理の徹底など、水質の維持向上が将来の方向と考えられた。
［泉山信司］

(3)赤痢アメーバ抗体検査とアメーバ赤痢発生動向

赤痢アメーバ抗体の保険適用検査ができなくなった 2018 年は、IDWR の集計でアメーバ赤痢(腸管と腸管外)総届出数は 838、アメーバ性肝膿瘍が主体と考えられる腸管外アメーバ症は届出数 39 であった。これはこの数年で最も届出が多かった 2016 年の数値と比較すると、総届出数は 27.3%の減少、また腸管外アメーバ症は 61.4%の大幅な減少であることが分かった。アメーバ性肝膿瘍では確定診断が抗体検査に限られるケースがあり、適切な治療が困難となる可能性がある。アメーバ赤痢は発生動向調査に基づく対策を行う感染症法 5 類に分類され、その発生動向が公衆衛生上の問題の発生を示している現状から、早急に適切な対策が施される必要がある。
[八木田健司]

(4)Balamuthia 感染による国内アメーバ性脳炎発生動向

近年、世界的に増加する傾向にある自由生活性アメーバ Balamuthia mandrillis によるアメーバ性脳炎 GAE (Granuromatous Amoebic Encephalitis)症例は、把握に努める米国では 2000 年以後の増加が著しく、Naegleria fowleri に代わる重要疾患となっている。国内では感染研での確定例数として 2000 年以前の総数 4 例に対し、2000-2004(0)、2005-2009(1)、2010-2014(4)、2015-2018(7)と 2010 年以後の増加が認められる。感染は稀だが診断が難しく、多くの場合致死的であることから、医療現場における情報の共有と早期診断の開発が重要である。
[八木田健司]

(5)日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 北海道リスザル由来クローンの解析

北海道で飼育されていたリスザルの死亡例について病性鑑定を行ったところ、トキソプラズマ感染による肺水腫であることが判明した。この死亡個体の各種臓器からトキソプラズマの遺伝子検出を行ったところ、肺、肝臓、心臓、脾臓、腎臓、脳において原虫遺伝子が検出された。このリスザル由来のトキソプラズマの分離に成功し、PCR-RFLP 法による遺伝子タイピングを行ったところ、非病原性のタイプ II に分類された。分離株のマウスに対する病原性を検証するため、タイプ II 標準株の PLK を比較対象として感染実験を行ったところ、本分離株はタイプ II 標準株よりも病原性が低下していることが明らかとなった。さらに我々は分離株の詳細なゲノム解析を行った。シークエンスデータをトキソプラズマタイプ II 標準株(ME49)のゲノム配列へマッピングした。既報の情報を参考に病原性関連遺伝子に着目し、タイプ II 型標準株の DNA 配列と比較して *GRA24* 遺伝子のフレームシフト、*GRA7* 遺伝子の SNP の存在、多コピーを有する *ROP5* 遺伝子の中で新たな遺伝子の存在が確認された。これら遺伝子はトキソプラズマの病原性に関与していることが報告されており、リスザルでの感染感受性への関与が示唆された。
［西川義文(帯広畜産大学)、松崎素道、永宗喜三郎］

イ. 日本由来トキソプラズマのゲノムワイド SNPs 解析

トキソプラズマはクローン性が非常に高い生物であることが知られており、世界各地から 6 系統 16 ハプログループ(HG)のみが認識されている。ヨーロッパや北米大陸ではこのうち HG1、HG2、HG3 の 3 つが優占しているが、これらは農耕の開始により生じたヒト文明圏に適応した株が急速に分布を拡大したものと考えられており、特に染色体 Ia が文明圏への適応と関係していると考えられている。しかしこうした研究は欧米由来の株を中心に進められており、アジアにおけるトキソプラズマの集団構造は中国を除くとほとんど分かっていない。これまで我々は分子疫学的観点から日本で分離されたトキソプラズマの病原性と遺伝子型の解析を進めてきたが、近隣の中国大陸で優占する HG13 は検出されておらず、その一方で日本独自の集団が複数存在していることが分かっている。そこで本年度は前年度までの解析分と合わせて日本分離株 8 株を含む 11 株の全ゲノム情報を取得し、ゲノムワイド SNP 解析による集団構造解析と分子時計による分岐年代推定を組み合わせて集団移動史の復元を試みた。その結果、日本分離株 8 株のうち 1 株は大航海時代以降に欧米から移入された株、3 株は農耕とともに渡来した集団、そして残り 4 株は非常に起源の古い在来集団と渡来集団の交雑によって生じたものだと考えられた。また渡来集団の染色体 Ia は中国大陸の HG13 のものと同一起源であった。以上の結果は、ゲノ

ムワイド SNP 解析からトキソプラズマの移動史のみならず、ヒト文明圏の伝播についても推定できる可能性を示すものと考えられる。
［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. 福島県におけるカツオの生食を原因とするアニサキス食中毒:発生状況調査と原因種の同定
食中毒統計に収載された 2006 年のアニサキス食中毒の事件数はわずか 6 件であったが、2016 年には 123 件となり、その後は年間にほぼ倍増して、 2017 年は 230 件、 2018 年は 467 件に至った。その結果、アニサキス食中毒は、ノロウイルスやカンピロバクターによるものを抜いて、全食中毒の中で事件数が第1位となった。原因となる魚介類としては、患者の食歴からサバ(マサバとゴマサバ)が最も重要とされてきた。一方、2018 年にはカツオ生食による事件数が、サバを原因とするものを抜いた。特に福島県では、いわゆる初カツオの時期(4～6 月)を中心に、本食中毒事例が全県で多発した。本県で発生の食中毒事例から検出された虫体は、*Anisakis simplex* sensu stricto および *Anisakis pegreffii* と同定され、前種はカツオの腹側筋肉からも検出されたことから(後述)、本食中毒の重要な原因虫種になると考えられた。
[杉山広、森嶋康之、門馬直太(福島県)、菅野奈美、塚田敬子(福島衛研)]

イ. カツオからのアニサキス虫体の検出と種同定
カツオの生喫食を原因とするアニサキス症が多発したことから、カツオを東京の市場で購入し、アニサキス幼虫の寄生状況を調べた。検査対象は 16 尾で、2018 年 5 月に千葉県勝浦港に水揚げされた 6 尾と、10 月に宮城県気仙沼港に水揚げされた 10 尾を調べた。検査部位は内臓、腹側筋肉および背側筋肉とした(圧平法)。その結果、16 尾はすべてアニサキス幼虫陽性であった。また筋肉からは、3 尾の腹側筋肉から 5 隻が検出された(5 月は 2 尾から各 2 隻、10 月は 1 尾から 1 隻)。これらの虫体はわが国での主要人体寄生種である *Anisakis simplex* sensu strict(As)であった。背側筋肉は虫体陰性であった。なお内臓からは 107 隻が検出され、77 隻が *As*、2 隻が *Anisakis typica*(この 2 種を形態学的に *Anisakis* type I と呼ぶ)、さらに 28 隻が *Anisakis physeteris*(形態学的に *Anisakis* type II と呼び、深海魚から主に検出される虫種)であった。筋肉から検出されたアニサキス幼虫の数は多くないが、As と同定されたことから、腹側筋肉の生での喫食には注意が必要となる。
[杉山広、森嶋康之、山中祐二(日本食品検査)]

ウ. 魚介類販売店における生食用カツオの販売に先立つ処理方法の調査
東京、名古屋、大阪にあるデパートの海産魚販売店(合計 16 店舗)で生食用カツオの販売状況を調査した(2018 年 10～11 月)。6 店舗では生食用カツオの取扱いを中止し、8 店舗では冷凍後のカツオを生食用に販売するなど、アニサキス食中毒の発生予防対策が採用されていた。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。ただし、前述のように、アニサキス幼虫が検出されたのは、カツオの腹側筋肉だけであった。生食用とする腹側筋肉は冷凍後に販売し、背側筋肉は従来通りにそのまま生食用すれば、アニサキス食中毒となる消費者のリスクは、サバなどと比較しても、極めて小さいと考えられた。
［杉山広、森嶋康之、賀川千里］

エ. アニサキス形態同定に関する手順書の作成
アニサキス食中毒の患者を診断した医師は、食品衛生法に則して保健所に届出する義務があり、保健所長が食中毒と断定した場合、事例は最終的に厚労省で取りまとめられて、食中毒統計に収載される。またアニサキス幼虫に汚染された食品の販売は、食品衛生法で禁止されており、違反した場合で特に食中毒が発生した場合は、営業停止などの行政処分の対象となる。したがって患者から摘出された虫体が、本当にアニサキスであるかとの同定は重要である。しかしながら、アニサキスであると同定するための具体的な検査法は、公定法の中に見当たらない。また画像を示しながら、形態同定の要点を簡便に記述した資料も乏しい。そこで、アニサキス食中毒と推定された患者や魚介類・食品残品から検出された虫体が、アニサキス幼虫であるとの同定に関して、行政の現場で使用できる簡便な「アニサキス形態同定に関する手順書」を作成した。
[杉山広、森嶋康之、門馬直太(福島県)、菅野奈美、塚田敬子(福島衛研)]

オ. シロザケの切身におけるアニサキス幼虫の寄生状況調査

日本近海のサケ類にアニサキス幼虫が寄生する事実は既にしられ、我々もシロザケおよびサクラマス（いずれも *Oncorhynchus* 属）を対象に、アニサキス幼虫の寄生状況を内臓と筋肉に分けて調べ、その成績を報告した。すなわち、いずれの魚種も *Anisakis simplex* sensu stricto（人体寄生の主要病因種）の寄生率は高いが、虫体の主要検出部位は魚種により異なり、シロザケでは筋肉（検出虫体の 89%）、サクラマスでは内臓（同 99%）であった。そこでシロザケに注目し、食用として流通する北海道産のシロザケ切身（計 24 枚）を対象に、各部位の筋肉におけるアニサキス幼虫の寄生状況を調べた。切身は脊椎骨の位置および肛門の位置を基準として，背側前半部，背側後半部，腹側前半部，腹側後半部の 4 部位に分別し（各 12 検体）、圧平法で検査した。その結果、各部位筋肉から検出された虫体数の合計は、順に 5 隻、0 隻、91 隻、4 隻となった。特に魚体前半・腹側から極めて多数の虫体が検出されたので、シロザケは決して生食用としない様な啓発が必要である（1 検体の平均重量 40.1g から平均 7.6 隻）。

［杉山広、森嶋康之、賀川千里］

(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。2018 年度は 4 市町から陽性例が検出され、知多半島における拡散が示唆された。

［森嶋康之、杉山広、山﨑浩、八木欣平（北海道立衛生研究所）］

(3) 肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* に関する検討

ア. エクアドルに分布する肝吸虫 *Amphimerus* sp.のハムスターへの感染試験

後睾吸虫科 Opisthorchiidae の *Amphimerus* 属肝吸虫は、アメリカ大陸にも分布し、エクアドルでは、地域住民に感染を認める。そこで本虫のメタセルカリアを淡水魚から検出し、ゴールデンハムスターに経口投与（130 個/頭）して、投与後 17～293 日に安楽殺・剖検した。今回の検討では全頭に感染を認め、1 頭当たり平均 42 隻（投与メタセルカリアの 35.5%）の虫体が回収された。感染後 17 日と最も早くに剖検した個体からは、子宮内に虫卵を認めない未成熟虫も検出されたが、虫体後半部にも卵黄腺は分布し、本属の特徴は感染初期より発現した。病理組織標本の観察では、肝実質に虫道性病変を認めず、幼虫は胆道系を逆行して胆管・胆嚢に定着すると考えられた。さらに胆管上皮細胞の過形成と胆管周囲結合織の増殖と好酸球の浸潤等の所見が、剖検時期を問わずに認められた。しかし長期感染例でも、肝実質への線維化の波及は限定的で、典型的な肝硬変像の乏しさが本虫感染の特徴と考えられた。

[杉山広、森嶋康之、高木秀和（愛知医大）、板垣匡（岩手大）、マヌエル・カルボピーナ（アメリカ大・エクアドル）]

イ. 米国に分布する肝臓寄生の吸虫 *Amphimerus elongatus* の動物感染試験

アメリカ大陸における *Amphimerus* 属吸虫の比較生物学・分類学的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* のメタセルカリアを検出して、鳥類・ほ乳類への実験感染を実施した。その結果、ニワトリだけでなく、ハムスターおよびスナネズミからも、成虫が回収された。なお既報では、マウス、ラットおよびネコを使用した感染試験の報告があるが、いずれも感染は成立しなかったと報告されていた。

[杉山広、森嶋康之、窪田理恵、常盤俊大（日獣大）、高木秀和（愛知医大）、板垣匡（岩手大）、ティモシー・P・ヨシノ（ウィスコンシン大・米国）]

(4) 関東地方へのアジア条虫再侵入について

2016 年以降に関東地方在住者に感染が発見されたアジア条虫の再侵入について検討を行った。ミトコンドリア DNA の cox1 配列に基づきアジア条虫と同定された 4 例のうち、渡航歴および食歴により 3 例が土着感染と考えられた。次いで核 DNA における対立遺伝子を解析したところ、*ef1* ではホモ接合とヘテロ接合がそれぞれ 1 種、*elp* ではホモ接合が 2 種となり、それらを組み合わせた結果、上記 3 例の移入起源はいずれも異なり、関東地方への侵入は少なくとも 3 回発生していることが示唆された。

[森嶋康之、杉山広、山﨑浩]

III. 分類・同定・臨床

1. AIDS 合併下痢症例からの微胞子虫 Pleistophora 属の検出

AIDS に合併した下痢症の患者の病原体検索を行ったところ、微胞子虫 Microsporidia に分類される Pleistophora 属が遺伝子レベルで検出された。病原体検索では主要な下痢関連の微胞子虫と反応する PMP1/2 プライマーを用いた PCR を行うが、本症例では通常サイズとは異なる産物を得られたことからそのシークエンスを解析した。微胞子虫胞子を検出するのに有用なカルコフロー染色を行ったが、胞子は検出されず感染量は微量と推定された。Pleistophora 属についてはヒト感染は稀であり、骨格筋の感染例が知られる。検出された微胞子虫が今回の下痢の起因となったかは不明である。

[八木田健司、渡辺恒二(国立国際医療研究センターACC)]

2. 微胞子虫 Nozema 属の角膜感染例

角膜移植後の infectious crystalline keratopathy(ICK)と考えられた角膜感染症例において、真菌感染が疑われたが確定に至らず、さらなる病因究明が行われた。角膜切片標本の蛍光染色と微分干渉顕微鏡所見からの形態的特徴、さらに電顕 TEM による内部構造解析で胞子内極管断面数が 10 前後という特長が判明し、Nozema の 1 種と同定されたが、全ゲノム増幅でも微胞子虫 DNA の増幅に成功せず種同定には至らなかった。本例は国内初例と考えられるが、真菌感染として誤診断される症例もあるものと推測される。

[八木田健司、江口洋(近畿大学眼科)]

3. 国内単離原虫株の薬剤感受性試験

(1) 赤痢アメーバの国内臨床単離株の動物モデルを用いた病原性評価

赤痢アメーバ症は感染者の 10%でしか発症せず、90%が腸アメーバ症や無症候性感染、10%が肝膿瘍を主とする腸管外アメーバ症となる。病態を規定する因子については、赤痢アメーバの病原性や感染宿主の免疫応答など、複雑な相互作用が影響しており、不明な点が多い。我々は国立国際医療研究センターとの共同研究から新たな無症候性・腸アメーバ症・肝膿瘍由来の国内臨床分離株の樹立に成功した。H30年度に立ち上げた赤痢アメーバの無菌培養株3株(腸アメーバ症1株、無症候性2株)を用いてシリアンハムスターへの肝膿瘍感染実験を行った。その結果、無症候性株で巨大な肝膿瘍形成を認め、ヒトと動物に対する病原性の違いを示唆する結果となった。

[柳川泰昭、渡辺恒二(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]

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ている。PacBio で取得したゲノム配列に Chromatin conformation capture sequencing (Hi-C)の方法を適用し、約 40 染色体相当にまで配列をつなぐことができている。PBJelly を用いて配列のギャップを埋め、Hi-C の再接続を行い、Companion を用いてアノテーションを付与し、高品質の基準配列を得ることができた。ただし、自動的に解消されないギャップ部分は手作業での接続を行い、マニュアル操作が入ることに難があった。赤痢アメーバゲノムはリピート配列や、繰り返しの多く、未解決で残る部分も生じた。完成したゲノムの検証と信頼性を維持する方法としては、別の株から別の方法で用意したゲノムアセンブリと、同じ染色体構造であることを確認する方法が考えられた。そこで Hi-C とは少し異なる Chicago の方法を用いて、国内臨床分離株のゲノムのアセンブリを試みた。Hi-C が 1Mb の比較的長距離な接続に向いているのに対して、今回着目した Chicago の方法は 100kb と短距離な関係性を証拠に接続するので、染色体 1 本が 1Mb に満たないことが多い赤痢アメーバにはより適すると期待できた。現時点で 307 コンティグが 204 まで繋がり、Hi-C での結果には及ばないまでも、アセンブリを向上できるだけの情報が Chicago の方法により得られた。コンティグの多くは既に数百 kb と大きく、小さな未接続のコンティグが残され、接続と追加の計算でアセンブリを向上させ、Hi-C のアセンブリと比較できる見通しを得た。

[泉山信司: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)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. 実験室培養系に適応したトキソプラズマの原因遺伝子の

同定

我々が研究室で継代維持していたトキソプラズマ 2F 株において、増殖速度が親株よりも速くなっているクローンが存在していることを偶然見出した。そこでそのクローン（2Fevo1）について親株との遺伝的背景の違いを調べるため比較ゲノム解析を行った。その結果、2Fevo1 において遺伝子 x にミスセンス変異の存在が見出された。x にコードされているタンパク質の機能はわかっていないため、まずはこの遺伝子をノックアウトまたは過剰発現させ表現型に違いが現れるかを検討した。x をノックアウトまたは過剰発現させた株では宿主細胞への侵入率に変化があったほか、通常とは異なる異常な滑走運動が観察された。このことから x はトキソプラズマの運動を調節している Ca^{2+}シグナル系に関連する遺伝子である可能性が示唆された。

［高木綾湖、松崎素道、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

細胞内寄生原虫トキソプラズマにおいて、宿主のミトコンドリアや小胞体を寄生胞に引き寄せる現象 (リクルート) が知られている。しかし、その作用機序や生物学的意味は不明である。近年、ミトコンドリアに対する誘導因子 MAF1 が同定された (Pernas, L. et al., 2014)。しかしながら MAF1 ノックアウト (KO) 株においても若干のミトコンドリアのリクルートが観察されることから、我々は MAF1 以外にも別の誘導因子が存在すると考え、その因子の同定を試みる事とした。ロプトリータンパク質群 (ROPs) は原虫が宿主細胞に侵入する際に宿主細胞に分泌されるタンパク質群である。ミトコンドリアのリクルートが侵入の早い段階で起こる事、また ROPs の注入が過剰に起こる事でミトコンドリアのリクルートが亢進することから (Tahara, M. et al., 2016)、誘導因子候補として ROPs に注目した。比較定量可能な質量分析法により、トキソプラズマ感染細胞のミトコンドリアで存在量が増加した ROP を探索したところ、ROP39 が同定された。実際に ROP39 が宿主ミトコンドリア上に存在しているかを確かめるため、共焦点顕微鏡を用いて ROP39 の局在を観察した。結果、ROP39 は宿主ミトコンドリアと寄生胞膜上で共局在している事が確認できた。次に、ROP39 の KO 株を CRISPR/Cas9 系で作出し、KO 株における宿主ミトコンドリアのリクルート能の測定を行った。測定結果より、KO 株は親株と比べ、宿主ミトコンドリアのリクルート能が有意に低下している事が明らかになった。この事は、ROP39 は宿主ミトコンドリアの誘引因子の一つである事を示唆している。さらに ROP39 の KO 原虫の増殖能力やマウスに対する病原性などにどのような影響が現れるか現在検討中である。

［福本隼平（筑波大学）、永宗喜三郎］

(3) 赤痢アメーバの病原機構・生物学・代謝学にかかる研究

ア. トロゴサイトーシス誘導分子の同定

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）。以前我々はこれらの過程が AGC キナーゼにより制御される事を報告した。そこでトロゴサイトーシスを誘導する分子の同定を試みた。若い赤血球と古い赤血球を分離し、赤痢アメーバと共培養したところ、若い赤血球の貪食胞は小さく、古い赤血球の貪食胞は大きく、トロゴサイトーシスとファゴサイトーシスに対応する形態と考えられた。赤血球表面糖鎖を消化すると若い赤血球が大きな貪食胞を形成したことから、赤血球表面糖鎖が貪食様式を制御する重要なシグナルを送ることが示唆された。

[鈴木源晟（筑波大学）、野崎智義（東京大学）、津久井久美子]

イ. 赤痢アメーバにおけるフォスファチジルイノシトール 3-リン酸(PI3P)エフェクターの解析

赤痢アメーバにおいて貪食胞の成熟過程に phosphatidyoinosito 3-phosphate (PI3P)の関与が示されている。我々は赤痢アメーバの PI3P エフェクターとして sorting nexin (SNX) 2 分子を同定した。SNX はモデル生物でレトロマー複合体の構成分子として知られるが、赤痢アメーバのレトロマー複合体と SNX1 が結合することが示された。さらに遺伝子発現抑制株の解析から、SNX2 が貪食を負に制御することが示された。SNX1, 2 と結合する分子を免疫沈降法と質量分析により同定したところ、レトロマーは検出されなかったが、それぞれ異なる結合分子の存在が示唆された。よって、赤痢アメーバの SNX は PI3P との結合能を持つが、独自の結合タンパク質と結合し、異なる機能を持つことが示唆された。

[渡辺菜月（筑波大学）、野崎智義（東京大学）、津久井久美子]

ウ. 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が、amylase の遺伝子発現抑制はマトリゲル侵入活性に変化がなく、酵素輸送受容体としての機能とは別に侵入活性を制御することが考えられた。CPBF2 遺伝子発現抑制株の解析から、有意な運動能力の低下が観察された。よって CPBF2 に細胞運動制御分子としての機能があることが示唆された。

[丸茂このみ(筑波大学)、高島英造、坪井敬文(愛媛大学)、志波智生、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]

エ. 赤痢アメーバオートファジーの解析

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、この複合体に Entamoeba ユニークな分子の存在を明らかにした。この分子の機能を知るため、遺伝子発現抑制株、結合分子の同定を行った。遺伝子発現抑制により Atg8 の脂質修飾が抑制され、conjugation 機能に重要な構成分子であることが示された。また、カルシウム結合分子との結合が検出され、未知のカルシウムシグナルによる機能制御を担う分子であることが示唆された。

[津久井久美子]

オ. 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解析

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。我々は比較ゲノム解析から、シグナル伝達に関与する GTPase とされる AIG1 ファミリータンパク質の一つが欠損するとアメーバ症の発症が抑えられることを見いだした。今回、地域や患者層が異なるバングラデシュの子どもの便検体でこの AIG 遺伝子の有無を検討したところ、無症候者の便では AIG 遺伝子検出頻度は低い傾向が示された。よって AIG 遺伝子の病原性への関与は多くの原虫株に広く保存された表現型であると考えられた。

[津久井久美子:Chelsea Marie、William A. Petri, Jr.(バージニア大学)、Dar-der Ji(陽明大学)、川野哲郎、野崎智義(東京大学)]

カ. 赤痢アメーバの膜輸送:小胞体からの輸送における EhRab8A GTPase の解析

赤痢アメーバの表面タンパク質の輸送において、EhRab8A 依存的に輸送される表面タンパク質のうち、EhCdc50 を結合タンパク質として単離した。EhCdc50 は、細胞表面に提示される中央部分に、3カ所の糖鎖修飾を受けることが、糖転移酵素の阻害剤を用いて分かった。他種生物では Cdc50 はゲノムに 3 個から 5 個ホモログが存在しており、個々のホモログの局在は、トランスゴルジネットワーク、エンドソーム、細胞膜と局在が分かれている。赤痢アメーバの Cdc50 はゲノムに1つしか存在しないため、Cdc50 の細胞表面ドメインを認識する抗体を作製し、定常状態での EhCdc50 の局在を観察したところ EhCdc50 は細胞膜に局在することを示した。赤痢アメーバのゲノムには Cdc50 と結合すると考えられる P4-type ATPase が 11 個存在するため、細胞質に局在する ATPase は EhCdc50 依存的に、またエンドソーム/TGN に局在する ATPase は EhCdc50 非依存的に輸送されると考えられる。

[花舘有希 (筑波大学)、津久井久美子:野崎智義 (東京大学)、中野由美子]

キ. 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 δ の校正機能を欠損させた変異型 DNA 複製酵素 δ 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。赤痢アメーバのゲノムは n=4 に倍数化している可能性を考慮し、リード数の 25%以上が同一の塩基置換を SNPs として定義し全ゲノムを解析したところ、変異型酵素 δ の誘導期間に比例して SNPs の増加を確認した。よって赤痢アメーバミューテーターゲノムに変異が蓄積することを検証した。さらにミルテフォシン薬剤耐性株は野生型よりも短期間で出現し、その単離に成功した。メタボローム解析により耐性機構を検討した結果、リーシュマニアで報告されている機構とは異なり、酸化ス

トレス応答が強く関与していることを明らかにした。本研究は世界で初めて腸管嫌気性原虫にミューテーター技術が確立できたことにより、同一薬剤に対する耐性機構による各原虫種の寄生特性の解明や、耐性の出現しにくい新薬開発などへの応用が可能となったことを示す。

[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）]

ク. 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。ovalicinの赤痢アメーバ内での標的を明らかにするために、前述の赤痢アメーバミューテーターかたovalicin耐性株の薬剤選択を行った。

[森美穂子（北里大）、中野由美子：柘植聡志、大村智、塩見和朗（北里大）、野崎智義（東京大学）]

ケ. 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。一方で、肝膿瘍モデルであるハムスターの肝膿瘍治療実験には、ウルソール酸は中程度の治療効果しか示さなかった。流行地では *Nyctanthes arbortrstis* が経口薬として使用されていることを考慮し、マウスの腸管モデルに経口投与を行う条件設定をおこなった。

[中野由美子：Sanjib Kumar Sarder、Sandipan Ganguly（インド NICED）、梅木優子：川野哲郎、野崎智義 (東京大学)、下川周子（群馬大学）、久枝一]

コ. 天然物由来成分による抗原虫薬の開発・2

新規の抗原虫薬の同定を試みるために、海洋性シアノバクテリアが産生するリポペプチドライブラリーのスクリーニング 80 化合物を行った。赤痢アメーバ、熱帯熱マラリア、ジアルジア原虫に対してスクリーニングを行ったところ、熱帯熱マラリアにのみ殺滅作用を示すペプチドを得た。

[岩崎有紘 (慶応大学)、中野由美子、梅木優子、中曽根英子：野崎智義(東京大学)、末永聖武(慶応大学)]

(4)マラリア原虫の分子細胞生物学・生化学・病態解明に係わる分子基盤研究

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

ヒト体内においてマラリア原虫が最初に寄生する肝細胞は、様々な細胞内の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。肝内型マラリア原虫は感染成立後、宿主との間に寄生胞膜（PVM）を形成することで寄生を成立させることから、この原虫-宿主のインターフェイスである PVM に着目し原虫-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示唆された。また肝内型原虫への宿主リソソームのリクルートは、この LC3 の蓄積には依存しないことも明らかとなった。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、荒井絢子：川上泰（麻布大学）、久枝一]

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、生存するために特異的な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に必須な機能が発揮される新規機能分子 NG2 を見出し、これまでの我々の解析から、NG2 はトランスポーターである可能性が強く示された。NG2 の機能解析を行うため、培養細胞を用いて各種の NG2 強制発現細胞の作製を行った。その結果、培養細胞により遺伝子導入効率が異なり、トランジェントな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、梅木優子、長谷川早悠里、荒井絢子：今井賢一郎、富井健太郎（産総研）、久枝一]

ウ.マラリア原虫の核増殖分子メカニズムの解明

マラリア原虫が増殖をする際は、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ことが知られている。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。一般の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制御はその中心的な役割を担うことが知られている。しかしマラリア原虫においては、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、詳細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、新規推定ヒストンメチル化酵素遺伝子を見いい出した。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、マラリア原虫において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。また、核増殖動態を明確にするためにマーカー分子の選定を行い、蛍光タンパク質との融合タンパク質として発現させることでライブモニターできる株の作製の準備を開始した。今後、新たなライブモニター株の作製や、各種変異株の解析を展開し、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核増殖の詳細な分子メカニズム解明を試みる。

[案浦健、荒木球沙、梅木優子、髙津正子、荒井絢子：角田宗一郎（順天堂大）、久枝一]

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

マラリアは、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撲滅の大きな障害となっている。休眠期を生じる三日熱マラリア原虫(*P. vivax*)は、感染できる宿主動物が極めて限定的であるため感染モデル生物が限られており、新たな休眠期対策・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、肝内型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の *in vivo* と *in vitro* モデル作出を、獨医大と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スポロゾイトを大量に産生できる系の確立に成功し、肝内型休眠期に関する *in vivo* と *in vitro* の系を確立することができた。またこれらの材料を用いて、電子顕微鏡を用いた詳細な解析を実施し、原虫の核などのオルガネラの 3 次元構築にも成功した。今後、電子顕微鏡を用いた更なる解析を実施することで、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、荒井絢子：川合覚（独協医大）、保富康宏（霊長類医科学研究センター）、角田宗一郎（順天堂大）、久枝一]

オ．マラリア原虫を標的とした新規薬剤開発、新規ターゲット分子の探索、重症化回避機構の解明

新規の抗マラリア薬剤開発のため、原虫を標的とした新規薬剤スクリーニング、新規ターゲット分子の探索、新規の重症化回避機構の探索を実施した。新規の抗原虫薬の開発を目指して、理化学研究所、筑波大学などと共同開発を進めるとともに、原虫の薬剤耐性メカニズムの解明を展開した。新たな化合物を用いた抗マラリア原虫活性を測定したところ、既存の抗マラリア薬と同等の低濃度で殺原虫を示す化合物を

新しく 4 種得ることができた。また異なる特定の化合物を用いた実験から、マラリア重症化を軽減できる可能性が示され、病態分子メカニズムの解明につながる知見が得られる可能性が示唆された。今後、詳細な解析を行うことで、新規薬剤としての発展の可能性を検討する。

[案浦健、中野由美子、梅木優子、荒木球沙、多久(北園)和泉、Yulia Anita、長谷川早悠里、荒井絢子:菊地正樹、梅原崇史(理研)、長崎幸夫(筑波大)、久枝一]

カ. 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クサ門原虫には、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 を同定した。中でも、Arf1, Rab1b は Rab5b と共局在することが観察された。ERD2 と Bip 抗体を用いた間接蛍光抗体観察と超解像顕微鏡を用いた解析により、Arf1 は Bip 寄りに、Rab1b は ERD2 寄りに局在することを明らかにした。また $Arf1^{Q71L}$ 変異体の発現により、Rab5b の積み荷と報告されている AK2 の寄生胞膜への輸送が阻害された。よって Rab5b と Arf1 が共に小胞体から寄生胞膜への COPII を介さない unconventional secretion に関わっていることを示した。

[多久(北園)和泉、平井智浩 (筑波大学)、新澤直樹、岩永史朗 (医科歯科大学)、牧内貴志 (東海大学)、永宗喜三郎:野崎智義(筑波大学)、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

わが国で最も感染事例が多い Dibothriocephalus 属の代表種である日本海裂頭条虫 (Dibothriocephalus nihonkaiensis) について全ゲノム解析を行った。Illumina HiSeq で読み取りを行い、246M のペアエンドリード、37Gb 他を取得した。いくつかのアセンブラを比較した結果、Spades を用い、k-mer=127 の条件で計算したアセンブリが最も信頼性があると考えられた。コンティグ数は 67,743、最長コンティグは 155.7Kb、ゲノムサイズは 641Mb に達した。日本海裂頭条虫のゲノムサイズは近縁の広節裂頭条虫 (Dibothriocephalus latus, 531Mb) やイルカ裂頭条虫 (Diphyllobothrium stemmacephalum, 562Mb)と同程度であり妥当と考えられた。

[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. 赤痢アメーバの抗酸化作用における腸内細菌の影響の検討

赤痢アメーバは大腸内で増殖し、病原性を発揮する。大腸内の酸化ストレスはアメーバの発育を誘導するために必要である一方で、過剰の酸化ストレスはアメーバ自体にダメージを与えるため、アメーバにおける酸化ストレス応答は寄生適応だけでなく、赤痢アメーバ感染における宿主宿主寄生体相互作用においても非常に重要である。アメーバも多くの抗酸化システムを有しているが、寄生部位である大腸に豊富に存在する腸内細菌の酸化ストレス応答に与える影響はよく分かっていない。トルコの共同研究者、Ankri 博士らはこれまでに、赤痢アメーバと腸管病原性大腸菌 O55 を共培養すると、アメーバが過酸化水素に対してより抵抗性になること、言い換えるとアメーバの抗酸化作用が増強することを見出していた。今回、O55 の責任分子がリンゴ酸脱水素酵素であることを突き止め、その産物であるオキサロ酢酸がアメーバにおける抗酸化作用を高めることを明らかにした。これらの知見が生体内でも見られるかを、培養した赤痢アメーバを CBA/J マウスの虫垂内に接種するマウスアメーバ症モデルで確認した。オキサロ酢酸存在下で培養したアメーバは、通常の培養条件で得られたアメーバよりも、マウスでの生着率、生存数が有意に高いことが明らかとなった。これらの事実は、腸内細菌が赤痢アメーバの病原性に影響を与えること、特に、赤痢アメーバ流行地で問題となっている、腸管病原性大腸菌による食中毒がアメーバ性赤痢の増悪因子となりうることを示唆するものである。

[Serge Ankri(テクニオン、トルコ)、下川周子(群馬大学)、中野由美子、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39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。[永宗喜三郎、八木田健司、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、Dwi Peni Kartika、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 8 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 30 年度には計 61 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 40 件が寄生虫症と確定診断された。

(1)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)、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、旋毛虫症については、それぞれウェスタンブロット法による市販キットを用いた。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、旋毛虫症で4検体、有鉤嚢虫症で3検体、エキノコックス症で 2 検体、トキソカラ症で 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 34 件あり、遺伝子の塩基配列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30例が寄生虫で、条虫:*Dibothriocephalus nihonkaiensis*(14)、*Taenia saginata*(6)、*Echinococcus multilocularis*(1)、*Hymenolepis nana*(1)、*Spirometra decipiens*(1)、*Taenia serialis*(1)、線虫:*Anisakis simplex* sensu stricto(2)、*Ascaris lumbricoides*(2)、*Trichinella* T9(1)、吸虫:*Paragonimus miyazakii*(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 30 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(5 月)。

[八木田健司、泉山信司]

「平成 30 年度食肉衛生検査研修」、講義内容「寄生虫を原因とする疾病の検査」、国立保健医療科学院、平成 30 年 6 月 [杉山広]

「平成 30 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30年10月 [杉山広]

「平成30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 30 年 4 月 [中野由美子]

「平成 30 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 30 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)

Shaulov Y, Shimokawa C, Trebicz-Geffen M, Nagaraja S, Methling K, Lalk M, Weiss-Cerem L, Lamm AT, Hisaeda H, Ankri S. *Escherichia coli* mediated resistance of *Entamoeba histolytica* to oxidative stress is triggered by oxaloacetate. PLoS Pathog, 14: e1007295, 2018.

Yamazaki A, Izumiyama S, Yagita K, Kishida N, Kubosaki A, Hara-Kudo Y, Kamata Y, Terajima J. The Molecular Detection of Cryptosporidium and Giardia in Sika Deer (Cervus Nippon Centralis) in Japan. Food Safety. 6 (2): 88-95, 2018

Mori M, Tsuge S, Fukasawa W, Jeelani G, Nakada-Tsukui K, Nonaka K, Matsumoto A, Ōmura S, Nozaki T, Shiomi K. Discovery of Antiamebic Compounds That Inhibit Cysteine Synthase From the Enteric Parasitic Protist Entamoeba histolytica by Screening of Microbial Secondary Metabolites. Front Cell Infect Microbiol. 8:409. (2018)

Hanadate Y, Saito-Nakano Y, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Identification and Characterization of the Entamoeba histolytica Rab8a Binding Protein: A Cdc50 Homolog. Int J Mol Sci. 19(12). pii: E3831. (2018)

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 65(5), 669-678

Taniguchi, Y., Appiah-Kwarteng, C., Murakami, M, Fukumoto, J., Nagamune, K., Matsuo, T., Masatani, T., Kanuka, H., Hoshina, T., Kitoh, K., Takashima, Y. "Atypical virulence in a type III Toxoplasma gondii strain isolated in Japan." Parasitol. Int. 2018 67 (5), 587-592

Nishimura M., Goyama T., Tomikawa S., Fereig R.M., El-Alfy E.N., Nagamune K., Kobayashi Y., Nishikawa Y. "Outbreak of toxoplasmosis in four squirrel monkeys (Saimiri sciureus) in Japan."Parasitol Int. 2019 68 (1), 79-86

Murakami M., Mori T., Takashima Y., Nagamune K., Fukumoto J., Kitoh K., Sakai H., Maruo K. "A case of pulmonary toxoplasmosis resembling multiple lung metastases of nasal lymphoma in a cat receiving chemotherapy." J. Vet. Med. Sci. 2018 80 (12), 1881-1886

＝＝＝

Tada K, Suzuki H, Sato Y, Morishima Y, Nagano I, Ishioka H & Gomi H. Outbreak of *Trichinella* T9 infections associated with consumption of bear meat, Japan. Emerg Infect Dis 24, 1532-1535, 2018.

Hara Y, Uruma T, Morishima Y, Hirai Y. Tingling throat syndrome' as asymptomatic anisakiasis following conveyor belt sushi consumption in Tokyo. Int J Infect Dis 82, 102-103, 2019.

Taniyama D, Inoue I, Kawano M, Arakawa C, Adachi T, Morishima Y, Yamasaki H, Sugiyama H. Possible reintroduction of Taenia asiatica in the Kanto region of Japan. Jpn J Infect Dis 72, 62-63, 2019.

Ma J, Hea JJ, Zhoua CY, Suna MM. Cevallius W, Sugiyama

H, Zhu XQ, Calvopina M. Characterization of the mitochondrial genome sequences of the liver fluke *Amphimerus* sp. (Trematoda: Opisthorchiidae) from Ecuador and phylogenetic implications. Acta Tropica 90-96, 2019.

Arai T, Yamada H, Edagawa T, Sugiyama H, Nakachi K. Easy detection and fast removal of gastric *Anisakis* during narrow-band imaging endoscopy with l-menthol administration. Case Rep. Gastroenterol. 13, 305–309, 2019.

Chen J. , Liu Q, Liu G, Zheng W, Hong S, Sugiyama H, Zhu XQ, Hany ME. Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact. Infect. Dis. Poverty, 7, 1-13, 2019.

Murata Y, Ando K, Usui M, Sugiyama H, Hayashi A, Tanemura A, Kato H, Kuriyama N, Kishiwada M, Mizuno S, Sakurai H, Isaji S. A case of hepatic anisakiasis caused by *Pseudoterranova decipiens* mimicking metastatic liver cancer. BMC Infect. Dis. 18, 619, 2018.

Calvopina M., Romero D, Diaz F, Cevallos W, Sugiyama H, A comparison of Kato-Katz technique to three other methods for diagnosis of *Amphimerus* spp. liver fluke infection and the prevalence of infection in Chachi Amerindians of Ecuador. PLOS ONE, 13 (10), e0203811, 2018.

Calvopina M, Mabel G, Greta M, Cevallos W, Maritza C, Richar R, Sugiyama H. A symptomatic *Fasciola hepatica* infection presenting with hypereosinophilia. Archiv. Clin. Microbiol. 9, 1–4, 2018.

Calvopina M, Romero D, Rendon M, Takagi H, Sugiyama H. *Hypolobocera guayaquilensis* (Decapoda: Pseudothelphusidae): a new crab intermediate host of *Paragonimus mexicanus* in Manabí Province, Ecuador. Kor. J. Parasitol. 56,189–194, 2018.

Takeda M, Sugiyama H. Some freshwater, semi-terrestrial and land crabs (Crustacea, Decapoda, Brachyura) from Ghana, West Africa. Bull. Natl. Mus. Nat. Sci, ser. A 44, 41–50, 2018.

Chinh VD, Masuda G, Hung VV, Takagi H, Kawai S, Annoura T, Maeno Y.Prevalence of human and non-human primate Plasmodium parasites in anopheline mosquitoes: a cross-sectional epidemiological study in Southern Vietnam. ***Trop Med Health.*** 23;47:9. (2019) doi: 10.1186/s41182-019-0139-8. eCollection 2019.

Armistead JS, Jennison C, O'Neill MT, Lopaticki S, Liehl P, Hanson KK, Annoura T, Rajasekaran P, Erickson SM, Tonkin CJ, Khan SM, Mota MM, Boddey JA. Plasmodium falciparum subtilisin-like ookinete protein SOPT plays an important and conserved role during ookinete infection of the Anopheles stephensi midgut. ***Mol Microbiol.*** 109(4):458-473 (2018). doi: 10.1111/mmi.13993.

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. DOI: 10.3347/kjp.2018.56.1.1

Iwasaki A, Tadenuma T, Sumimoto S, Shiota I, Matsubara T, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Sato T, Suenaga K. Hoshinoamides A and B, Acyclic Lipopeptides from the Marine Cyanobacterium *Caldora penicillata*. Journal of Natural Products. (2018) 81:2545-2552. doi: 10.1021/acs.jnatprod.8b00643.

Hanadate Y*, Saito-Nakano Y*, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Identification and characterization of the *Entamoeba histolytica* Rab8a binding protein: a Cdc50 homolog. International Journal of Molecular Sciences, special issue Small GTPases. (2018) Nov 30;19(12). pii: E3831. doi: 10.3390/ijms19123831. *contributed equally to the study.

2. 原著論文、総説（和文）

関谷綾子、福島一彰、田中勝、矢嶋敬史郎、八木田健司、味澤篤、今村顕史　インド渡航後にサイクロスポーラによる腸炎。胆管症を認めたHIV感染者の1例、 感染症誌　92: 371～375, 2018

大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、中嶋直樹、古川一郎、前川純子、倉文明、泉山信司、黒木俊郎　医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態。感染症誌 92: 678～685, 2018

山﨑浩、中村健、Pewpan M. Intapan、Wanchai Maleewong, 森嶋康之、杉山広、小林薫、高山勝好、小林行治　イムノクロマト法を用いた幼虫移行症複合型検査キットの適用例。Clin Parasitol 29, 92-94, 2018.

石川敬、生野博、山﨑浩、小林宏尚　当施設で経験した日本海裂頭条虫の複数感染の 1 例。Clin Parasitol 29, 63-65.

森嶋康之、杉山広、山﨑浩　関東地方へのアジア条虫再侵入について。Clin Parasitol 29, 56-58, 2018.

森嶋康之　エキノコックス症。日獣会誌 71, 333-337, 2018.

森嶋康之、杉山広、山崎浩、近真理奈、長谷川晶子、土井陸雄　家畜を介した非流行地へのエキノコックスの拡散。病原微生物検出情報 40, 40-42, 2019.

加山英、柴田勝優、立野祐子、山田茂夫、杉山広　腹腔内に犬糸状虫の異所寄生が認められた犬の 1 例。動物臨床医学 27, 1-4, 2018.

坂西梓里、佐々木健、杉山広、川上泰　千葉県勝浦市小羽戸地区のサワガニにおけるウェステルマン肺吸虫メタセルカリアの感染状況。Med. Entomol. Zool. 69,1–5, 2018.

杉山広　ジビエの危険性。日医師会誌　147,　1215-1219, 2018.

壁谷英則、黒田恵美、佐藤真伍、杉山広、朝倉宏　わが国の野生鳥獣処理施設で処理された鹿肉の衛生評価。日獣会誌 71, 587-592, 2018.

3. 書籍（英文）

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.

Yamasaki H. Chapter 61. *Diohyllobothrium*, *Adenocephalus*, and *Diplogonoporus*. Handbook of Foodborne Diseases (ed., D. Liu), CRC Press, 2018.

4. 書籍（和文）

永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲　編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018

永宗喜三郎、矢吹彬憲　“アメーバとは何か”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲　編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018：1-24

永宗喜三郎　“食物に潜み「ヒトに害をなす」原生生物”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲　編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018：26-34

永宗喜三郎　“女性必読！　トキソプラズマ感染と妊娠へのリスク”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲　編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018：44-45

永宗喜三郎　“原生生物「見どころ」ガイド”永宗喜三郎、島野智之、矢吹彬憲　編「アメーバのはなし」朝倉書店、2018：133-134

5. 行政

「食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会（第78回）」、講義内容「アニサキス食中毒」、食品安全委員会中会議室、平成 31 年 3 月 [杉山広]

II. 学会発表

1．国際学会

Hajime Hisaeda. Helminth-induced suppression of autoimmunity through activation of regulatory T cells. 14th

International Congress of Parasitology, Daegu, Korea Aug. 2018

Hajime Hisaeda. Host-parasite relationship in malaria – Parasites' evasion and hosts' protection. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea Aug. 2018

Kumiko Nakada-Tsukui, Shinji Izumiyama, Chelsea Marie, William A. Petri, Yasuaki Yanagawa, Koji Watanabe, Seiki Kobayashi, and Tomoyoshi Nozaki. Genomic and bioinformatic analyses of virulence-associated genome modifications in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim, Hanoi, Vietnam, Feb.-Mar. 2019

Kumiko Nakada-Tsukui, Kumiko Shibata, Eri Miyamoto, Tetsuo Hashimoto, Tomoyoshi Nozaki. Identification and characterization of Atg5-12/16 complex in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. ASCB|EMBO 2018 meeting, San Diego, CA, USA, Dec. 2018,

Kumiko Nakada-Tsukui, Shinji Izumiyama, Kentaro Tomii, Tomoyoshi Nozaki. Genome analysis of the AIG1 family protein genes in *Entamoeba histolytica.* The 15th Taiwan -Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, Taipei, Taiwan, Sep. 2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumiko Nakada-Tsukui. Functional analysis of phosphatidylinositol 3-phosphate effector, sorting nexins in *E. histolytica*.14th International Congress of Parasitology ICOPA, Daegu, Korea Aug. 2018

Kumiko Nakada-Tsukui, Natsuki Watanabe, Kumiko Shibata, Ratna Whayuni, Yumiko Saito-Nakano, Tetsuo Hashimoto, and Tomoyoshi Nozaki. Uniqueness and conservation of the Atg8 conjugation system in *Entamoeba histolytica.* 14th International Congress of Parasitology ICOPA, Daegu, Korea Aug. 2018

Natsuki Watanabe, Tomoyoshi Nozaki, Kumko Nakada-tsukui. Functional analysis of PI3P effector candidate SNX in *Entamoeba histolytica*. XIX International Seminar on Amebiasis, Puebla, Mexco, Apr. 2018

Matsuzaki, M., Fukumoto, J., Kyan, H., Masatani, T., Matsuo, T., Murakami, M., Takashima, Y., Nishikawa, Y., Nagamune, K. "The seventh "clade" of *Toxoplasma gondii* excavated by genome-wide SNP analysis of Japanese isolates" 14th International Congress of Parasitology, Daegu, South Korea, August 2018

Fukumoto, J., Sakura, T., Matsubara, R., Tahara, M., Matsuzaki, M., Nagamune, K. "Identification and characterization of a novel mitochondrial recruitment factor of *Toxoplasma gondii*" EMBO workshop "Molecular advances and parasite strategies in host infection"Les Embiez Island, France, September 2018

Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Okamoto M. Taenia asiatica infection in Japan: Current status and the origin of the etiologic agent. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea, Aug., 2018.

Yamasaki H. Diphyllobothriasis: Systematics, molecular diagnosis, and epidemiology. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea, Aug, 2018. Keynote Speaker.

Sugiyama H, Morishima Y, Yamasaki H. Recent trends in the incidence of foodborne helminthiases in Japan. 14th International Congress of Parasitology, Daegu, Korea, Aug., 2018.

Takeshi Annoura, Tamasa Araki, Satoru Kawai, Hirotaka Kobayashi, Michiyo Kataoka, Soichiro Kakuta, Shahid M. Khan , Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda. Insights into the molecular machinery involved in regulating Plasmodium liver-stage proliferation. ICOPA 2018 14th International congress of parasitology, Aug 19-24, 2018, DAEGU, KOREA.

Invited oral presentation

Tamasa Araki, Satoru Kawai, Masaki Kikuchi, Takashi Umehara, Kisaburo Nagamune, Shahid M. Khan, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda, Takeshi Annoura**.** Elucidation of the biological function of SET-TA in Plasmodium liver-stage development. ICOPA 2018 14th International congress of parasitology, Aug 19-24, 2018, DAEGU, KOREA. Poster presentation

Takeshi Annoura, Tamasa Araki, Satoru Kawai, Hirotaka Kobayashi, Michiyo Kataoka, Soichiro Kakuta, Shahid M. Khan , Yasuhiro Yasutomi, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda. Insights into the molecular machinery involved in regulating liver-stage and mosquito-stage proliferation in Plasmodium. NPRCT-CU official opening ceremony and symposium, Nov 4-6, 2018, Saraburi, Bangkok, Thailand, invited Plenary lecture

Takeshi Annoura, Tamasa Araki, Satoru Kawai, Hirotaka Kobayashi, Michiyo Kataoka, Soichiro Kakuta, Shahid M. Khan , Yasuhiro Yasutomi, Tomoyoshi Nozaki, Hajime Hisaeda. Insights into the molecular machinery for regulating proliferation in Plasmodium. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference On Emerging Infectious Diseases In The Pacific Rim, Feb 28- Mar 1, 2019,Hanoi, Vietnam, oral presentation

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.

Saito-Nakano Y. Drug resistant mechanisms in enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. The 12th Japan-China-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Dec 5th, 2018. Tokyo, Sunshine City.

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

久枝一 寄生虫による病気、寄生虫がいなくなったことによる病気。免疫ふしぎ未来 2018、2018 年 8 月 5 日、東京

Hajime Hisaeda. Prevention of autoimmunity by regulatory T cells induced through interplay between helminth and microbiota. 第47回日本免疫学会、2018 年 12 月 10-12 日、福岡、シンポジウム

Chikako Shimokawa, Tamotsu Kato, Tadashi Takeuchi, Hiroshi Ohno, Hajime Hisaeda. Suppression of type 1 diabetes in mice infected with an intestinal nematode. 第 47 回日本免疫学会、2018 年 12 月 10-12 日、福岡

今井孝、石田英和、鈴江一友、谷口委代、岡田紘子、下川周子、久枝一 CD8T 細胞は細胞傷害性分子によりマクロファージと協調して赤内期マラリア感染防御に働く. 第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

谷口委代、鈴江一友、今井孝、下川周子、Olia Alex、Ngo Thanhha、久枝一 ネズミマラリア原虫感染における病態形成への腸内細菌の影響。第 88 回日本寄生虫学会大会. 2019 年 3 月 15-16 日、長崎

Chikako Shimokawa, Seiji Obi, Mioko Shibata, Alex Olia, Takashi Imai, Kazutomo Suzue, Hajime Hisaeda. Suppression of obesity by norepinephrine produced in parasitic infection. 第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

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

上野晃弘、八木田健司 感冒症状と SIADH で発症し頭部 MRI で両側の視床下部病変と髄液中に不明細胞を認めた 37 歳女性例。第 23 回日本神経感染症学会総会・学術大会、2018 年 10 月、東京

泉山信司　汚染される理由と事例。講演会・シンポジウム「医療機関の給湯・給水系に潜むレジオネラ感染リスクー実態と予防策ー」、2018 年 10 月、東京都

渡邉貴明、松田宗大、小倉徹、植園健一、松田尚子、枝川亜希子、泉山信司、藤井明　循環式浴槽においてモノクロラミン消毒下で増殖する従属栄養細菌の同定ならびにその制御法について。日本防菌防黴学会、2018 年 11 月、東京都

栁本恵太、堀内雅人、杉山寛治、田中慶郎、市村祐二、山上隆也、植松香星、久田美子、泉山信司　pH10 のアルカリ性温泉におけるモノクロラミンの消毒効果。日本防菌防黴学会、2018 年 11 月、東京都

大河内由美子、泉山信司、前川純子　貯水槽水道で滞留した水道水からのレジオネラ属菌および関連微生物の検出状況。日本防菌防黴学会、2018 年 11 月、東京都

浅野峰子、泉山信司　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、日本水道協会水道研究発表会、2018 年 10 月、福岡県

古川紗耶香、山本貢平、赤坂遼平、泉山信司　河川水からのジアルジア（Giardia micruti）の検出。日本水道協会水道研究発表会、2018 年 10 月、福岡県

泉山信司　水道における病原性微生物への対策。市民公開講座「安全な水道水をめざしてー水質基準に関する研究の最前線」、2018 年 5 月、東京都

泉山信司　クリプトスポリジウム検査と水道の病原生物対策の歴史的経緯。千葉県平成 30 年度水質検査精度管理研修会、2018 年 5 月、千葉県

渡辺菜月、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ホスファチジルイノシトール3ーリン酸エフェクター、sorting nexin は貪食制御に関与する。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月、長崎市

津久井久美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける Atg5-12/16 複合体の機能解析。第 11 回オートファジー研究会、2018 年 11 月、掛川市

津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義　赤痢アメーバ原虫のホスファチジルイノシトールシグナルと貪食胞成熟の分子機構。第 91 回日本生化学会大会、2018 年 9 月、京都市

津久井久美子、渡辺菜月、前濱朝彦、野崎智義　赤痢アメーバ原虫のホスファチジルイノシトールシグナルと貪食の分子機構。第 26 回分子寄生虫学ワークショップ／第 16 回分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018 年 9 月、松山市

山﨑浩、中村健, Pewpan M. Intapan、Wanchai Maleewong, 森嶋康之、杉山広、小林薫、高山勝好、小林行治　イムノクロマト法を用いた幼虫移行症複合型検査キットの適用例。第 29 回日本臨床寄生虫学会大会、那覇市、2018 年 7 月

石川敬、生野博、山﨑浩、小林宏尚　当施設で経験した日本海裂頭条虫の複数感染の 1 例。第 29 回日本臨床寄生虫学会、那覇市、2018 年 7 月.

山﨑浩、中村健、マリーウオン・ワンチャイ、インタパン-マリーウオン・ピューパン、森嶋康之、杉山広、小林薫、高山勝好、小林行治　Point-care-of-testing を目的とした幼虫移行症イムノクロマト検査キットの有用性。第 88 回日本寄生虫学会大会、長崎市、2019 年 3 月

森嶋康之、杉山広、山﨑浩　関東地方へのアジア条虫再侵入について。第 29 回日本臨床寄生虫学会大会、那覇市、2018 年 7 月

森嶋康之　エキノコックス症。愛知県平成 30 年度感染症予防指導者セミナー、名古屋市、2018 年 8 月

八木欣平、山田恭司、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之　エキノコックス症対策におけるイヌ対策の重要性について—農村地域における調査—。第 64 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、2018

年 10 月

森嶋康之　愛知県における犬のエキノコックスについて。平成 30 年度動物由来感染症対策技術研修会、東京都、2018 年 10 月

森嶋康之、八木欣平　愛知県におけるエキノコックスについて。第 12 回蠕虫研究会、熱海市、2018 年 11 月

森嶋康之　最近の犬・猫の寄生虫病に関する話題:エキノコックス症。第 6 回九州・沖縄地区寄生虫診断講習会、宮崎市、2018 年 12 月

森嶋康之　動物由来寄生虫症に関する最近の話題～エキノコックス症を中心に～。三重県平成 30 年度狂犬病及び動物愛護管理研修会、津市、2019 年 3 月

森嶋康之、八木欣平、杉山広、山﨑浩　2019.愛知県における多包条虫定着の可能性。第 88 回日本寄生虫学会大会、長崎市、2019 年 3 月

八木欣平、山田恭嗣、入江隆夫、孝口裕一、浦口宏二、森嶋康之　2019.北海道の農村地域におけるイヌの多包条虫流行状況。第 88 回日本寄生虫学会大会、長崎市、2019 年 3 月

杉山広、森嶋康之、川上泰、窪田理恵、常盤俊大、高木秀和、板垣匡、M カルボピーニャ　エクアドルで検出された肝吸虫 *Amphimerus* sp.のハムスターへの感染試験。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば市、2018 年 9 月

内海優子、藤本翼，佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、奈良崎和孝、鶴田忠、横山栄二、朝倉宏、杉山広、高井伸二、壁谷英則　わが国の鹿および猪における志賀毒素産生大腸菌の保菌状況と O157 分離株の全ゲノム解析。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば市、2018 年 9 月

田中温奈、池田碧、佐藤真伍、丸山総一、朝倉宏、杉山広、高井伸二、壁谷英則　わが国の野生鳥獣肉処理施設で処理された枝肉の衛生評価。第 161 回 日本獣医学会学術集会、つくば市、2018 年 9 月

杉山広、森嶋康之、窪田理恵、常盤俊大、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* の動物感染試験。第 78 回日本寄生虫学会東日本支部大会、下野市、2018 年 10 月

森田聡志、内海優子、佐藤真伍、丸山総一、奈良崎孝一郎、藤本翼、奈良崎和孝、鶴田忠、横山栄二、朝倉宏、杉山広、高井伸二、壁谷英則　わが国の鹿・猪における志賀毒素産生大腸菌 O157 の保菌状況と分離株の全ゲノム解析。平成 30 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、横浜市、2019 年 2 月

案浦健　マラリアとワクチン開発;最新情報と今後の展望。一般財団法人日本生物科学研究所第二研究会、2018 年 4 月 26 日、東京、(日本生物科学研究所にて招待を受け講演)

案浦健、荒木球沙、川合覚、小林宏尚、片岡紀代、角田宗一郎、Heussler T. Volker、野崎智義、久枝一　核制御を中心としたマラリア原虫の増殖分子メカニズムの解明。第 26 回 分子寄生虫学ワークショップ／第 16 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018 年 9 月 19-22 日、愛媛

荒木球沙、川合覚、小林宏尚、永宗喜三郎、野崎智義、久枝一、案浦健　SET-TA による肝内型マラリア原虫の増殖制御メカニズムの解明。第 26 回 分子寄生虫学ワークショップ／第 16 回 分子寄生虫・マラリア研究フォーラム合同大会、2018 年 9 月 19-22 日、愛媛

梅木優子、荒木球沙、川合覚、菊地正樹、梅原崇史、中野由美子、久枝一、案浦健　ヒストン制御機構に着目した新規マラリア薬開発と分子メカニズムの解明。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

荒木球沙、川合覚、菊地正樹、梅原崇史、永宗喜三郎、野崎智義、久枝一、案浦健　SET-TA による肝内型マラリア原虫の増殖制御メカニズムの解明。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

Izumi Kitazono, Tomohiro Hirai, Kisaburo Nagamune, Tomoyoshi Nozaki, Yumiko Saito-Nakano. Analysis of N-myristoylated Rab5b mediated trafficking pathway in *Plasmodium falciparum.* 第 70 回日本細胞生物学会第 51 回日本発生生物学会合同大会. The Joint Annual Meeting of

70th JSCB and 51st JSDB co-sponsored by Asia-Pacific Developmental Biology Network. 2018 年 6 月 5-8 日、東京

岩崎有紘、小島大輔、小川英俊、保科静香、鄭丞宰、岩月正人、中野由美子、石山亜紀、穂苅玲、乙黒一彦、大村智、野崎智義、末永聖武　抗寄生虫活性を示す海洋天然物の作用機序解明を志向した合成研究。日本ケミカルバイオロジー学会第 13 回年会、2018 年 6 月 11-13 日、東京

多久（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 N-ミリストイル化 Rab5b とその結合タンパク質の局在解析。第 26 回分子寄生虫学ワークショップ／第16回分子寄生虫学・マラリア研究フォーラム合同大会、2018 年 9 月 19 日- 22 日、愛媛

岩崎有紘、岡本慎一朗、藤村遥、工藤隆文、保科静香、澄本慎平、中野由美子、野崎智義、照屋俊明、末永聖武　海洋性鎖状リポペプチド、jahanyne　類の構造と合成、生物活性。第 60 回天然物有機化合物討論会、2018 年 9 月 26-28 日、久留米

中野由美子、泉山信司、Ghulam Jeelani、平井誠、川野哲郎、中曽根英子、梅木優子、Sandipan Ganguly、野崎智義　赤痢アメーバミューテーターを用いたミルテフォシン薬剤耐性株の迅速単離と耐性メカニズムの解析。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

花舘有希、津久井久美子、野崎智義、中野由美子　腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおける EhRab8A GTPase 結合タンパク質 EhCdc50 の同定。第 88 回日本寄生虫学会大会、2019 年 3 月 15-16 日、長崎

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 15 名で、内訳は部長 1 名、室長 4 名、主任研究官 8 名、任期付研究員 2 名である。戸山庁舎に 13 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．ウイルス感染症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. オルソポックスウイルスに関する研究
5. ピコルナウイルスに関する研究
6. HIV に関する研究
7. 狂犬病に関する研究
8. SFTS ウイルスに関する研究

Ⅲ．ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
2. フラビウイルスワクチンの開発
3. HTLV-1 ワクチンの開発
4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究
5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

Ⅳ．プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ウシ等由来原料の基準に関する研究
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。2018 年度人体由来検体数は 124 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 8 例、JC ウイルス 5 例、SFTS ウイルス 3 例、他にマイコプラズマ、トレポネーマ、クラミジア、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 ウイルスゲノムならびに IL-6mRNA 等の検出を行ってきた。 (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

2018/2019 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 12 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。7 例が H3N2 亜型感染例で、5 例が A/H1N1pdm09 感染例であった。2009 年から A/H1N1pdm09 例が 44 例、H3N2 例が 22 例、B 型が 5 例の計 71 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 15 例(37%)、H3N2 例 2 例(13%)、B 型 0 例であり、A/H1N1pdm09 感染において ARDS の併発が多いことが推測された。 (中島典子、佐藤由子、林紀乃、濱松明彦[東京都監察医務院])

(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 quasispecies を形成して存在するが、この中で、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-D222G は、肺胞上皮細胞に表出する鳥型レセプターである α2,3-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。H1N1pdm-D222G ウイルス肺炎の剖検肺組織におけるウイルス粒子の形態、単球・マクロファージ、好中球の形態を、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])

(3) インフルエンザウイルス感染に関与する宿主因子の病理学的解析

インフルエンザウイルスの感染には、多くの宿主細胞のタンパク質(宿主因子)が関与している。そのような宿主因子はウイルス感染を制御する要となっている可能性があり、その実態を明らかにすることは、ウイルス感染症の新たな予防、治療法の開発に不可欠である。そのような宿主因子のインフルエンザウイルス感染への関与を検討するためには、培養細胞だけでなく、動物モデルを用いた解析が必要不可欠である。A 型インフルエンザウイルスの宿主細胞への侵入はウイルスの表層にある HA タンパク質と宿主細胞の表面にあるシアル酸との結合からはじまる。しかしながら、その鍵となるシアル酸により修飾された受容体タンパク質はいまだ同定されていなかった。本研究では、シアル酸により修飾された電位依存性 Ca2+チャネル Cav1.2 がインフルエンザウイルスの宿主細胞への侵入において鍵となる受容体タンパク質である可能性をマウス動物モデルを用いて in vivo で検証した。その結果、インフルエンザウイルスが感染する細胞である鼻腔、気管、気管支の上皮細胞と肺胞上皮細胞、肺胞マクロファージに Ca2+チャネルの発現が認められた。このことより、Cav1.2 は in vivo においても A 型インフルエンザウイルスの受容体として機能していることが考えられた。 (鈴木忠樹、佐藤由子、長谷川秀樹、藤岡容一朗[北海道大学大学院医学研究院]、大場雄介[北海道大学大学院医学研究院])

4. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

(1) ベトナム、バクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体検索

Direct RT-LAMP 法をベトナムのバクマイ病院に導入し、集中治療室(ICU)、呼吸器科、感染症科に入院したおよそ 300 人の急性呼吸器感染症患者を対象として、入院時の鼻咽頭ぬぐい液、喀痰、気管支吸引液中の季節性ならびに鳥インフルエンザウイルスを含む呼吸器感染ウイルスのゲノムの検出を試みた。同時に同じ検体から核酸を抽出・精製し、市販のマルチプレックス Real-time PCR 法を用いて 33 種類の呼吸器感染病原体を検出し、Direct RT-LAMP 法の結果と比較検討した。インフルエンザウイルスの型・亜型の検出においては、陽性一致率は 80-96%であることが確認され、簡便性も併せて海外医療現場のスタッフから高い評価を得た。バクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体が明らかになり、現地の疫学情報が得られた。患者臨床情報と合わせた統計学的解析により、H1N1pdm09 亜型インフルエンザウイルス(以下 H1N1pdm09)感染例は、H3N2 亜型、B 型、またインフルエンザウイルス以外のウイルス感染例と比較して、ICU 入室を必要とする重症例が多く、生命予後と有意に関連することが分かった。 (中島典子、相内章、鈴木忠樹、影山努、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]、Vu VTT[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の死因である急性呼吸速迫症候群(ARDS)の病態の解析

ベトナム国立小児病院小児集中治療室(PICU)に入院した呼吸器ウイルス感染が確認された肺炎を伴う小児重症 ARDS 患者において、ARDS 診断時に、気管吸引液中の病原体検索と血液中の 21 種類のバイオマーカー値を測定した。現時点で IFN-γ, IP-10(IFN-γ induced protein), インターロイキン(IL)-10 値が非生存者で生存者に比べ有意に高いことがわかった。さらに IP-10 と酸素化の指標である PaO2/FIO2 比を組み合わせることによって、ARDS 発症早期に、患者転帰を予測できる可能性が示唆されている。 (中島典子、相内章、鈴木 樹、中川聡[成育医療センター]、高山郁代[インフルエンザウイルス研究センター]、Thung 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

重症熱性血小板減少症候群(severe fever with thrombocytopenia syndrome：SFTS)はフレボウイルス属に分類される SFTS ウイルスによるダニ媒介性感染症である。これまでのヒト SFTS 症例の剖検解析により、異型リンパ球の増殖浸潤が目立つ壊死性リンパ節炎・脾炎と著しい血球貪食像が SFTS の病理学的特徴であり、ウイルスは主にリンパ組織に存在する異型リンパ球で増殖していることが明らかになってきている。本研究では SFTSV の感染標的となる

異型リンパ球に焦点を当て、患者検体の病理学的解析と遺伝子発現解析により、ヒト体内における SFTS ウイルス感染感受性細胞の特徴を明らかにすることを目的とした。SFTS の病理検査の目的で国立感染症研究所感染病理部に提供された剖検組織の残余検体を用いた。SFTS 致死症例においては、抗原陽性細胞はリンパ節、脾臓などのリンパ系臓器だけでなく非リンパ系臓器の肝臓、腎臓など全身の多くの臓器に分布していたが、非リンパ系臓器においても抗原陽性細胞は異型リンパ球であった。この異型リンパ球は、病理組織の蛍光二重染色により CD79a(+)、CD20(+)、CD38(+)、MUM1(+)であり、SFTS ウイルス標的細胞は B 細胞系の中でも形質芽細胞に類似した特徴を有している細胞と考えられた。今後、SFTS ウイルスに感受性を持つ B 細胞の特徴を詳細に解析することにより、SFTS 発症機構の理解が進むことが期待される。 (鈴木忠樹、佐藤由子、佐野芳、片野晴隆、中島典子、永田典代、和田雄治、森川茂[獣医科学部]、西條政幸[ウイルス第一部]、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 30 年 12 月末までに 68 例の PML を検査した。平成 30 年は 13 例の検索依頼があり、7 例で PML とされた。平成 30 年の 7 例の PML 確定時の年齢は平均 62.3 歳で、基礎疾患として血液系悪性腫瘍が 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。一方、胎盤組織を使った病理組織解析においては、分娩時に母親の血液などを使った病原体検査で陽性所見を得られない場合においても、組織中に残存する病原体遺伝子が検出されることは稀ではなく、正確な病原体診断に寄与することが報告されている。2016 年以降、アメリカ大陸での大流行は終息しつつあるが、2015 年からの流行を改めて振り返るとブラジル東北部における先天性ジカ症候群の報告が他の地域に比べ突出して多いことが明らかになってきている。しかしながら、この発生率の高さがジカウイルス感染のアウトブレイクの規模の大きさのみに依存しているのか、他の未知の要因があるのかは未だに明らかになっていない。そこで、我々は先天性ジカ症候群流行地において、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疫学調査を開始した。これまでに妊娠中に感染症の既往があるなど先天性感染症の可能性が疑われる妊婦を対象として、100 名以上の患者をエンロールし、分娩時に得られる胎盤組織を収集した。現地では、検体の保管や輸送などのリソースが限られていることから、研究に使用した試料は常温で長期間保管可能なホルマリン固定組織検体のみとした。収集したホルマリン固定組織をパラフィンブロックに包埋し、切片から核酸を抽出し、網羅的な病原体検査を実施した。その結果、検索した症例の約1割から何らかの病原体が検出された。今後、組織形態学的な検索を実施し、これらの病原体と胎盤組織変化との関係性について明らかにする予定である。 (飛梅実、鈴木忠樹、佐藤由子、中島典子、片野晴隆、長谷川秀樹)

Ⅱ．ウイルス感染症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 感染細胞におけるエクソソームの研究

Epstein-Barr virus (EBV)は、成人するまでに95%の人が感染する身近なヘルペスウイルスであるが、リンパ腫などの

悪性腫瘍の原因となることが知られる。われわれは EBV 感染細胞が放出するエクソソームに含まれるマイクロ RNA を次世代シークエンサーで解析した。その結果、特定のヒト、およびウイルス由来のマイクロ RNA がエクソソームに高度に濃縮されること、エクソソームへの濃縮にマイクロ RNA 内の特定の配列モチーフが関与していることを明らかにした。(南保明日香[北大]、片野晴隆、片岡紀代、保科しほ、関塚 剛史、黒田誠[病原体ゲノム解析研究センター]、大場雄介[北海道大学])

(2) KSHV の cell-to-cell 感染と cell-free ウイルス感染の比較研究

KSHV 潜伏感染 B 細胞と接着細胞の共培養による cell-to-cell 感染と KSHV cell-free ウイルスによる接着細胞への感染についていくつかの物質による感染阻害効果の比較を行なった。cell-free ウイルスが標的細胞表面への接着に重要なヘパラン硫酸との結合を阻害するヘパリンについて、cell-to-cell 感染は影響を受けにくい。またウイルス粒子のレセプターである EphA2 の抗体に対しても、cell-free ウイルス感染とは異なる感染阻害効果が見られた。これらの結果は、cell-free ウイルス感染のメカニズムとは異なる cell-to-cell 感染様式が存在することを示唆している。 (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

Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus の large T 抗原の機能の解明

Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus TSPyV は免疫不全者の毛包異形成(Trichodysplasia spinulosa)に関連するが、その病原性については不明な点が多い。本研究において、TSPyV がコードする Large T 抗原(LT)が核内に発現することをあきらかにし、核移行シグナルを同定した。免疫沈降法により、TSPyV の LT は Rb1 と結合するが、P53 とはほとんど結合しなかった。哺乳類細胞で形質転換能が認められ、発癌に関与する可能性が示唆された。 (奈古利恵、福本瞳、長谷川秀樹、佐伯秀久[日本医大皮膚科]、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

中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)感染マウスモデルを用いた MERS-CoV スパイクタンパク質に対するマウスモノクローナル抗体の感染防御効果に関する研究

MERS-CoV 感染マウスモデル(hDPP4 Tg マウス)を用いて、MERS-CoV のスパイクタンパク質に対するマウスモノクローナル抗体の感染防御効果について調べた。hDPP4 Tg マウスに MERS-CoV 感染後、6 時間または 1 日後に MERS-CoV S タンパク質マウスモノクローナル抗体(45E11)を 1 匹あたり 300μg、1 回腹腔内投与し、7 日間臨床症状を観察した。その結果、45E11 を接種したマウスでは、感染 6 時間後または 1 日後に接種した群両方で、体重減少がアイソタイプコントロール接種群よりも軽度だった。今後、その防御効果についてさらに解析を進める。 (岩田奈織子、岡村匡史、福士秀悦[ウイルス第一部]、長谷川秀樹、永田典代)

4. オルソポックスウイルスに関する研究

痘瘡ワクチンの副反応に関する病理学的研究の一環として、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検討している。サル痘ウイルスのマウス感染モデルを利用し、抗 Ly6G 抗体投与による好中球枯渇マウスの感染後の単球の活性化について病理学的に明らかにした。その結果、血中の単球系ケモカイン・サイトカインの上昇と肝のクッパ-細胞の活性化を示す組織所見は一致した。これらのマーカーは、ポックスウイルス感染後の宿主応答を調べる上で新たな指標となりえる。 (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、吉河智城、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

サフォードウイルス VP1 ポリクローナル抗体を作製し、これまでに準備した in house の抗ピコルナウイルス抗体と併せて特異性、交差反応性について整理した。その結果、作出した抗体は、臨床分離株の抗原を検出し、また、高い特異性を示した。一方、上気道炎患者由来株が新生仔マウ

スの脊髄に脱髄様病変を形成することに着眼し、ddY 系統と BALB/c 系統マウスでの病変形成を比較したところ、BALB/c マウスでは病変形成に乏しいことが明らかとなった。よって、脱髄病変形成における宿主側因子の関与が示唆された。 (萩原圭、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

2008-09 年および 2013 年流行株でウイルス表面のアミノ酸配列に相違点があり、マウスモデルでの毒力発揮に差があることを明らかにした。さらに、レセプターとコレセプターに関連するアミノ酸置換と表現型の変化の関連性を in vitro 解析により評価したが、コレセプターの関与は判然としなかった。一方、2013 年流行株のウイルス血症モデルを利用し、コクサッキーウイルス臨床分離株の成マウスに対する膵・心筋親和性を評価した。ヒトに心筋炎を引き起こしたコクサッキーウイルス B 群 2 型分離株は、免疫不全状態の NOD/SCID に対して膵炎と心筋炎を引き起こし、持続感染することが判明した。 (永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、清 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

EV-D68 の国内分離株を細胞に継代し、新生仔マウスに神経病原性を発揮する株を選択した。選択した株を利用し、細胞およびマウスの中枢神経系で増殖したウイルスの遺伝子配列を解析しアミノ酸置換を伴う変異部分を次世代シークエンス法で明らかにした。さらに、成マウスを用いて感染実験を行い、これらの株の神経病原性を比較した。 (宮崎誠、齋藤博之、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、Doan YH、清水博之[ウイルス第二部])

6. HIV に関する研究

(1) CRISPR を介した内在性 BST-2/tetherin 発現の活性化による野生型 HIV-1 の産生抑制

今回、我々は CRISPR テクノロジーを用いて、幅広い抗ウイルススペクトラムを有する宿主因子 BST-2/tetherin(以下 BST-2)のピンポイント活性化を試みた。BST-2 のプロモーター境域を標的とするシングルガイド RNA とヌクレアーゼ活性欠損型 Cas9、さらに転写因子複合体を細胞内に導入したところ、内在性 BST-2 の発現が mRNA とタンパク質の両レベルで上昇することを確認できた。その細胞に野生型(BST-2 に対するウイルスアンタゴニスト Vpu を有する)HIV-1 を感染させた結果、コントロールに比べてウイルス産生/複製効率が有意に低下した。実際、電顕により野生型ウイルス粒子が細胞表面に繋留されている像が観察された。本研究結果は、宿主とウイルスの戦いの勝敗が、抗ウイルス宿主因子とウイルスアンタゴニストとの間の生理学的ストイキオメトリーによって決まる事を強く示唆するものである。 (張 延昭、大園誠也、飛梅実、岸上哲士[山梨大学]、藤田英明[長崎国際大学]、徳永研三)

(2) 宿主因子 ZAP の CRISPR システムを用いた内在性発現増強による HIV-1 産生抑制

様々な RNA ウイルスの複製を抑制することが報告されている Zinc-finger antiviral protein(ZAP)が、上記の CRISPR システムを用いた内在性発現の増強によって、野生型 HIV-1 産生に影響するか否かを検討した。プロモーターアッセイによって有効なシングルガイド RNA を同定した後、それを用いて内在性 ZAP を高発現させた HeLa 細胞においてウイルス産生が 60%程度低下した。さらに内在性 ZAP を高発現させた CD4 陽性 T 細胞 H9 において野生型 HIV-1 の複製レベルが約 3 分の 1 まで低下することが明らかとなった。以上の結果から CRISPR システムにより活性化された内在性 ZAP の発現は野生型 HIV-1 産生を抑制することが明らかになった。本研究結果より様々な RNA ウイルス感染の治療戦略に資する知見が得られると考えられる。 (大園誠也、藤田英明[長崎国際大学]、岸上哲士[山梨大学]、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。我々は本邦で報告されたヒト輸入狂犬病

症例から分離した街上毒(kyoto 株)と固定毒である CVS, hep-Frely, ERA 株を用いた比較検討を行っている。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は、固定毒である CVS, hep-Frely, ERA 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。狂犬病の特徴は宿主体内へウイルスが侵入し発症するまでの潜伏期間中に狂犬病ウイルスに対する宿主免疫が誘導されないことにあり、街上毒と固定毒のウイルス抗原に分布の相違が影響を与えている可能性がある。 (飛梅実、佐藤由子、片岡紀代)

8. SFTS ウイルスに関する研究

これまでの病理学的解析によりヒト致死症例における SFTSV の主要標的細胞は形質芽細胞様の特徴を有する B 細胞をであることが明らかになってきた。しかしながら、培養細胞株において SFTSV に感受性のある細胞は Vero 細胞や Huh7 などの接着細胞と報告されており、B 細胞系の培養細胞株における SFTSV 感受性細胞については報告がない。そこで、様々な分化段階の 9 種類のヒト B 細胞系培養細胞株を用いて SFTSV 感染感受性を評価した。その結果、形質芽球性リンパ腫由来の細胞株である PBL-1 細胞が最も SFTSV 感受性が高いことが明らかになった。PBL-1 細胞を用いた SFTSV 感染実験系はヒト体内でのウイルス感染動態を模倣する良いモデルとなることが考えられた。今後、PBL-1 細胞における SFTSV 感染機構を詳細に解析することにより SFTS 発症機構が明らかになることが期待される。 (鈴木忠樹、佐野芳、和田雄治、長谷川秀樹)

Ⅲ. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発

(1) 経鼻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。F11 クローンの HA 上のエピトープの推定を、F11 クローンのエスケープミュータントの遺伝子解析および分子動力学(MD)計算により行った。その結果、F11 クローンはインフルエンザ広域中和抗体の標的部位であるインフルエンザウイルスの抗原性タンパク質であるヘマグルチニンのステム領域に結合するすることが明らかになった。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ヘマグルチニンへの結合活性、HI 活性、NI 活性等の抗ウイルス活性が増強することが明らかになった。また、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、齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、小谷治[病原体ゲノム解析研究センター]、鈴木忠樹、横山勝、佐藤裕徳[病原体ゲノム解析研究センター]、上野智規、多賀祐喜[株式会社ニッピ]、van Riet E、相内章、大原有樹、田畑耕史郎、藤井信、高橋宜聖[免疫部]、後藤希代子[株式会社ニッピ]、長谷川秀樹)

(2) 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 Nissle1917 株由来 OMV(EcN 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。プロバイオティクスとして利用される EcN 株を用いる利点を検討するため、EcN OMV と遺伝子組換え実験等で汎用されている大腸菌実験室株である BW25113

由来の OMV(BW OMV)の炎症性サイトカインの誘導能に関して、マウス骨髄細胞から誘導した樹状細胞を用いて比較・検討した。この結果、EcN OMV 刺激は BW OMV 刺激と比較して、TNF-αならびに IL-1βの産生が有意に低いことが明らかになった。このことから、他の OMV と比較した場合、EcN OMV は炎症応答を抑えた粘膜アジュバントになりうる可能性が示唆された。 (齋藤訓平、相内章、平山悟、中尾龍馬[細菌一部]、鈴木忠樹、長谷川秀樹)

(3) 経鼻インフルエンザワクチンにおける二重鎖 RNA 型粘膜アジュバント uPIC100 とワクチン抗原の組合せの検証

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。本研究では安全性の高い非均等構造型二重鎖 RNA、uPIC100 の経鼻不活化インフルエンザワクチン粘膜アジュバントとしての有用性を様々なワクチン抗原を用いて検討した。その結果、uPIC100 は現行のスプリット HA ワクチンを抗原として用いた経鼻不活化ワクチンの粘膜アジュバントとして有効であることをマウス動物実験により明らかにした。更に、昆虫細胞で作製した組換え HA 抗原などの異なるワクチン抗原との組み合わせにおいても uPIC100 はアジュバント活性を有していた。以上の結果より、高い安全性が期待できる二重鎖 RNA 型粘膜アジュバントの uPIC100 は様々な経鼻不活化インフルエンザワクチンの粘膜アジュバントとして有用であると考えられた。 (田畑耕史郎、佐野芳、相内章、鈴木忠樹、長谷川秀樹)

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 接種により誘導された抗体の感染防御能を検証するために、精製 DENV1 VLP をマウスに 2 週間おきに 2 回皮下接種し、その 2 週間後に抗インターフェロン αR1 抗体をマウス腹腔に接種、翌日 DENV1 を腹腔内に接種し感染させ感染 3 日後に血中ウイルス量を評価した。その結果、DENV1 VLP 非接種群の血漿中からは DENV1 RNA が検出された一方、DENV1 VLP 接種群では DENV1 RNA は検出限界値以下であった。以上より、CHO 細胞を用いて製造された DENV1 VLP 接種により誘導された抗体は DENV1 に対するウイルス中和能および感染防御能を示すことが明らかとなった。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および感染防御能を誘導できる 4 価ワクチンの開発を目指す。 (藤井信、鈴木忠樹、佐高明子、小島朝人、佐野芳、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。誘導された抗体はかつ体外診断薬において陽性反応をしめし、またHTLV-1感染細胞株MT-2 上に発現するウイルス由来 Env タンパク質に反応性を示したことから、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。さらに、組換え Env タンパク質の免疫よる感染防御効果を検討すべく、マウスを用いた感染モデル系の最適化を開始した。 (齋藤訓平、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。今年度は、マーモセット感染モデルにおけるムンプス難聴関連病変の探索を行った。強毒株を脊髄内接種あるいは経鼻接種したマーモセットの内耳組織を病理学的に検索したところ、いくつかの個体に軽度な炎症所見を認めたが、明らかなウイルス感染像を確認できず、ウイルス感染との関連性は不明であった。 (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。免疫原の SARS-CoV のスパイク(S)タンパク質を1, 0.5, 0.1, 0.05μg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0.05μgでも体重減少は見られたが、SARS 発症は一部のマウスで防御でき、少ない抗原量でも防御効果があることが分かった。しかし、感染 10 日目の肺病理を観察すると免疫抗原の濃度が低くなるにつれて、血管周囲の好酸球浸潤が顕著となることが分かった。この現象は防御不完全な抗体により引き起こされていると推測された。この副反応について、今後解析を行う。 (岩田奈織子、関向華子、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、プリオン病を発症し、その病理像はヒトの sCJD と同様の組織像を示した。この特徴はサルでの 3 代継代後においても保存されていた。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。これにより現在使用が原則禁止とされているが代替不可能な医薬品のプリオン安全性を評価するため、in vitro プリオン検出方法の改良、高感度化を目指し、Bank Vole 由来正常プリオンたんぱく質を用いた系を構築した。 (飛梅実、佐藤由子、萩原健一、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、ヒトや羊など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。国内に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が生息しており、狩猟、ジビエ対象となっている。キョンを対象とした調査を行った結果、CWD の発症個体ならびに中枢神経組織中

にプリオンを有する個体は確認できなかった。 (飛梅実、佐藤由子)

Ⅴ. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用

平成 30 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は270検体で、その内訳は感染研内部206検体(戸山庁舎:169 検体、村山庁舎:15 検体、ハンセン研:22 検体)、共同研究 64 検体であった。また、8 月には SU6600 のリース期間満了に伴い、電界放出形走査電子顕微鏡:Regulus8220 へのリプレースを行い、順調に運用している。(小林宏尚)

2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

本年度中の依頼数は 66 件で、樹脂包埋検体数 39 検体、ネガティブ染色数 166 検体であった。 (片岡紀代)

3. 見学者対応

平成 30 年度の電顕室見学者の対応は 15 回、202 名であった。公務員が 17 名、学生 132 名、一般 29 名、外国人 24 名であった。 (片岡紀代、小林宏尚)

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 28 件(ネガティブ染色数 83)、走査電子顕微鏡は 2 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、ウイルス第一部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、動物管理室であった。 (片岡紀代、小林宏尚、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。また、精度管理について監視安全課に報告した。 (飛梅実、佐藤由子、長谷川秀樹、萩原健一、中村優子、花田賢太郎[細胞化学部])

国際協力関係業務

1. 永田典代

JICA 国際研修「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」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 31 年 1 月 24 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)、スエズ大学(スエズ)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) Ueno K, Urai M, Izawa K, Otani Y, Yanagihara N, Kataoka M, Takatsuka S, Abe M, Hasegawa H, Shimizu K, Kitamura T, Kitaura J, Miyazaki Y, Kinjo Y. Mouse LIMR3/CD300f is a negative regulator of the antimicrobial activity of neutrophils. Sci Rep. 8(1):17406. 2018.

2) Tazaki T, Tabata K, Ainai A, Ohara Y, Kobayashi S, Ninomiya T, Orba Y, Mitomo H, Nakano T, Hasegawa H, Ijiro K, Sawa H, Suzuki T, Niikura K. Shape-dependent adjuvanticity of

nanoparticle-conjugated RNA adjuvants for intranasal inactivated influenza vaccines. RSC Adv. 8:16527-16536. 2018.

3) Sano K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H. Intranasal inactivated influenza vaccines for the prevention of seasonal influenza epidemics. Expert Rev Vaccines. 17(8):687-696. 2018.
4) Terauchi Y, Sano K, Ainai A, Saito S, Taga Y, Ogawa-Goto K, Tamura SI, 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(6):1351-1361. 2018.
5) Hasegawa H, Sano K, Ainai A, Suzuki T. Application of HTLV-1 tax transgenic mice for therapeutic intervention. Adv Biol Regul. 68:10-12. 2018.
6) Catton M, Gray G, Griffin D, Hasegawa H, Kent SJ, Mackenzie J, McSweegan E, Mercer N, Wang L. 2017 international meeting of the Global Virus Network. Antiviral Res. 153:60-69. 2018.
7) Kaneko M, Shikata H, 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.
8) Watanabe T, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Nakajima N, Takahashi K, Jose da Silva Lopes T, Ito M, Fukuyama S, Hasegawa H, Kawaoka Y. Experimental infection of Cynomolgus Macaques with highly pathogenic H5N1 influenza virus through the aerosol route. Sci Rep. 8(1):4801. 2018.
9) Kiso M, Lopes TJS, Yamayoshi S, Ito M, Yamashita M, Nakajima N, Hasegawa H, Neumann G, Kawaoka Y. Combination Therapy With Neuraminidase and Polymerase Inhibitors in Nude Mice Infected With Influenza Virus. J Infect Dis. 217(6):887-896. 2018.
10) Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Ichiko Y, Sakai-Tagawa Y, Noda T, Hasegawa H, Kawaoka Y. Syrian Hamster as an Animal Model for the Study of Human Influenza Virus Infection. J Virol. 92(4). pii: e01693-17. 2018.
11) Yamazaki T, Nagashima M, Ninomiya D, Ainai A, Fujimoto A, Ichimonji I, Takagi H, Morita N, Murotani K, Hasegawa H, Chiba J, Akashi-Takamura S. Neutralizing Antibodies Induced by Gene-Based Hydrodynamic Injection Have a Therapeutic Effect in Lethal Influenza Infection. Front Immunol. 9:47. 2018.
12) Hatta M, Zhong G, Gao Y, Nakajima N, Fan S, Chiba S, Deering KM, Ito M, Imai M, Kiso M, Nakatsu S, Lopes TJ, Thompson AJ, McBride R, Suarez DL, Macken CA, Sugita S, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Toohey-Kurth KL, Kawaoka Y. Characterization of a Feline Influenza A(H7N2) Virus. Emerg Infect Dis. 24(1):75-86. 2018.
13) Dan K, Takanashi K, Akiyoshi H, Munakata K, Hasegawa H, Ogawa K, Watanabe K. Mechanism of Action of the Anti-Influenza Virus Active Kampo (Traditional Japanese Herbal) Medicine, Hochuekkito. Pharmacology. 101(3-4):148-155. 2018.
14) Fujioka Y, Nishide S, Ose T, Suzuki T, Kato I, Fukuhara H, Fujioka M, Horiuchi K, Satoh AO, Nepal P, Kashiwagi S, Wang J, Horiguchi M, Sato Y, Paudel S, Nanbo A, Miyazaki T, Hasegawa H, Maenaka K, Ohba Y. A Sialylated Voltage-Dependent Ca2+ Channel Binds Hemagglutinin and Mediates Influenza A Virus Entry into Mammalian Cells. Cell Host Microbe. 23(6):809-818.e5. 2018.
15) Takaki H, Kure S, Oshiumi H, Sakoda Y, Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H, Matsumoto M, Seya T. Toll-like receptor 3 in nasal CD103+ dendritic cells is involved in immunoglobulin A production. Mucosal Immunol. 11(1):82-96. 2018.

16) Takeda M, Watanabe S, Katano H, Noguchi K, Sato Y, Kojima S, Miura T, Majima R, Yamada S, Inoue N. Roles of GP33, a guinea pig cytomegalovirus-encoded G protein-coupled receptor homolog, in cellular signaling, viral growth and inflammation in vitro and in vivo. PLoS Pathog. 14:e1007487. 2018.

17) Nanbo A, Katano H, Kataoka M, Hoshina S, Sekizuka T, Kuroda M, Ohba Y. Infection of Epstein(-)Barr Virus in Type III Latency Modulates Biogenesis of Exosomes and the Expression Profile of Exosomal miRNAs in the Burkitt Lymphoma Mutu Cell Lines. Cancers (Basel). 10:E237. 2018.

18) Murase Y, Maeda N, Katano H, Tsuzuki T. Fulminant adenovirus hepatitis with adenovirus-associated esophagitis complicating malignant lymphoma. Pathol Int. 68:259-261. 2018.

19) Katano H. Pathological Features of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection. Adv Exp Med Biol. 1045:357-376. 2018.

20) Katano H. Expression and Function of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Non-coding RNAs. Curr Clin Microbiol Rep. 5:211–218. 2018.

21) Fujii K, Sudaka Y, Takashino A, Kobayashi K, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Mizuta K, Matsuzaki Y, Koike S. VP1 amino acid residue 145 of enterovirus 71 is a key residue for its receptor attachment and resistance to neutralizing antibody during cynomolgus monkey infection. J. Virol. 92:e00682-18. 2018.

22) 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.

23) Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Kiso M, Takahashi K, Ito M, Inoue T, Horiuchi M, Okahara N, Sasaki E, Hasegawa H, Kawaoka Y. The Marmoset as an Animal Model of Influenza: Infection With A(H1N1)pdm09 and Highly Pathogenic A(H5N1) Viruses via the Conventional or Tracheal Spray Route. Front Microbiol. 9:844. 2018.

24) Ngo DT, Phan PH, Kawachi S, Nakajima N, Hirata N, Ainai A, Phung TTB, Tran DM, Le HT. Tuberculous pneumonia-induced severe ARDS complicated with DIC in a female child: a case of successful treatment. BMC Infect Dis. 18:294. 2018.

2. 和文発表

1) 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. 2018.

2) 長谷川秀樹. 不活化経鼻インフルエンザワクチンと粘膜に誘導される IgA 抗体. 外来小児科. 21(3):409-413. 2018.

3) 長谷川秀樹. 新しいインフルエンザワクチン開発. 医学のあゆみ. 264(5):438-443. 2018.

4) 鈴木忠樹、飛梅実、長谷川秀樹. 新興・再興ウイルス感染症の流行状況と対策 先天性ジカ症候群の病理解析. 臨床とウイルス. 46(4):251-257. 2018.

5) 鈴木忠樹、長谷川秀樹.【感染性疾患の病理】新興・再興感染症 先天性ジカウイルス感染症. 病理と臨床. 36(臨増):296-300. 2018.

6) 鈴木忠樹、長谷川秀樹.【感染性疾患の病理】新興・再興感染症 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の病理. 病理と臨床. 36(臨増):291-295. 2018.

7) 高橋健太、鈴木忠樹、片野晴隆、長谷川秀樹.【感染性疾患の病理】中枢神経領域 進行性多巣性白質脳症. 病理と臨床. 36(臨増):116-119. 2018.

8) 片野晴隆・【感染性疾患の病理】皮膚科領域 HHV-8 が関与する皮膚の腫瘍および腫瘍様病態. 病理と臨床. 36:185-188. 2018.

9) 大西真、片野晴隆.【感染性疾患の病理】新興・再興感染症 性感染症 梅毒を疑うべき事例および病理学的診断法. 病理と臨床. 36:301-305. 2018.

10) 五十嵐由美、荻田あづさ、井坂有里、松田秀則、伊澤有香、百瀬葉子、安齋眞一、福本瞳、佐伯秀久、片野晴隆.【ウイルス感染症】ヒト乳頭腫ウイルス 73 型が陽性であった爪部色素性 Bowen 病の 1 例. 皮膚科の臨床. 60:471-474. 2018.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Doan YH, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice. EUROPIC 2018, 20th International conference on picornaviruses. (Netherlands) 2018.6.
2) 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 with Enterovirus D68. EUROPIC 2018, 20th International conference on picornaviruses. (Netherlands) 2018.6.
3) Kotani O, Yokoyama M, Fujii K, Kobayashi K, Nagata N, Shimizu H, Koike S, Sato H. Cis-allosteric regulation of the interaction surfaces of Enterovirus A71 capsid protein by the VP1 single amino acid residue at position 145. EUROPIC 2018, 20th International conference on picornaviruses. (Netherlands) 2018.6.
4) Tran XD, Ta TA, Phan PH, Nguyen TD, Tran DM, Le HT, Suzuki T, Nakajima N, Nakagawa S. High leukocyte counts and younger age are not the predictors of mortality in children with pertussis who required mechanical ventila. The 9TH World Congress on Pediatric Intensive and Critical Care. (Singapore) 2018.6.
5) Bui T, Phan PH, Ainai A, Takayama I, Suzuki T, Phung TTB, Do HT, Ta TA, Le HT, Nakajima N, Nakagawa S. Biomarkwes may predict the clinical courses in pediatric patients with acute respiratory distress syndrome. 9th Congress of World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. (Singapore) 2018.6.
6) Asanuma H, Ainai A, Ujike M, Fujisaki S, Shirakura M, Watanabe S, Nagata N, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M. Increased pathogenicity in mice of a mouse-adapted influenza H7N9 virus was associated with delayed host innate immune responses. 6th International Influenza Meeting. (Germany) 2018.9.
7) Suzuki T, Arashiro T, Sano K, Sato Y, Wada Y, Katano H, Nakajima N, Morikawa S, Hasegawa H. Atypical lymphocytes in lymphoid and non-lymphoid organs were the major targets of SFTSV infection in humans. Keystone symposia-S2 Framing the Response to Emerging Virus Infections. (Hong Kong) 2018.10.
8) Fujii M, Suzuki T, Sataka A, Yamaguchi Y, Sano K, Kojima A, Ainai A, Sato T, Hasegawa H. A CHO cell derived Dengue virus-like particle vaccine induces protective immunity to DENV infection in mice. Keystone symposia-S2 Framing the Response to Emerging Virus Infections. (Hong Kong) 2018.10.
9) Tabata K, Ohara Y, Ainai A, Harada Y, Nakano T, Suzuki T, Hasegawa H. Protective Immune Responses were Elicited by Intranasal Inactivated Influenza Vaccines Combined with a Mucosal Adjuvant Candidate, Unevenly Structured Poly(I:C). Keystone symposia-S2 Framing the Response to Emerging Virus Infections. (Hong Kong) 2018.10.
10) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Takeda M, Hasegawa H, Nagata N. The severity of Middle East respiratory syndrome in human dipeptidyl peptidase 4 (DPP4)-bearing transgenic mice. Keystone symposia n molecular and cellular Biology, Framing the response to emerging virus infections (S2). (Hong Kong) 2018. 10.
11) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Matsuyama S, Takeda M, Hasegawa H, Nagata N. TMPRSS2 plays a role in replication and pathogenesis of SARS-CoV and MERS-CoV in mice. Keystone symposia n molecular and cellular Biology, Framing the response to emerging

virus infections (S2). (Hong Kong) 2018. 10.

12) Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani O, van Riet E, Ainai A, Tabata K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Ogawa-Goto K, Hasegawa H. Extending an Anti-Viral Function of an Intranasal Vaccine-Derived Anti-Influenza Virus Hemagglutinin Stalk Antibody by IgA Polymerization. 10th International Meeting GVN. (France) 2018.11.

13) Shimizu K, Tho B, Phan PH, Ainai A, Takayama I, Suzuki T, Phung TTB, Do HT, Ta TA, Le HT, Nakajima N, Nakagawa S. Combination of early PaO2/FIO2 ratio and interferon-γ induced protein 10 (IP-10) level may predict the clinical outcome in pediatric acute respiratory distress syndrome. Critical Care Canada Forum. (Canada) 2018.11.

14) Sano K, Saito S, Ainai A, Tabata K, Suzuki T, Hasegawa H. Enhancement and Extension in Anti-viral Functions of Influenza Virus Broadly Neutralizing Antibodies by IgA Multimerization. Keystone Symposia: Molecular approaches to Vaccines and Immune Monitoring. (USA) 2019.2.

2. 国内学会

1) Suzuki T, Tobiume M, Hasegawa H. Pathologist Effort in Zika Response. 第 59 回日本神経学会学術大会. (札幌) 2018.5.

2) 長谷川秀樹、片野晴隆、高橋健太、佐藤由子、中島典子、鈴木忠樹. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の病理学的解析. 第 107 回日本病理学会総会. (札幌) 2018.6.

3) 鈴木忠樹. 先天性ジカ症候群の病理とアウトブレイクレスポンス. 第 107 回日本病理学会総会. (札幌) 2018.6.

4) 鈴木忠樹. 先天性ジカ症候群の病理解析. 第 59 回日本臨床ウイルス学会. (大宮) 2018.6.

5) 鈴木忠樹、新城雄士、佐野芳、和田雄治、佐藤由子、片野晴隆、中島典子、森川茂、長谷川秀樹. ヒト剖検症例の病理解析による SFTS ウイルス感染感受性細胞の同定. 第 1 回日本 SFTS 研究会学術集会. (東京) 2018.9.

6) 朴ウンシル、吉河智城、下島昌幸、永田典代、岩田奈織子、福士秀悦、黒須剛、渡辺俊平、網康至、木村昌伸、前田健、今岡浩一、西條政幸、森川茂. ネコにおける SFTS 病態解析. 第 161 回日本獣医学会. (筑波) 2018.9.

7) Suzuki T, Tobiume M, Hasegawa H. Pathological and epidemiological investigation for congenital Zika virus infection. Tsukuba Global Science Week Combating Global Infectious Diseases. (筑波) 2018.9.

8) 鈴木忠樹. 新興ウイルス感染症対策における病理の役割. 第 47 回多摩細胞診研究会. (東京) 2018.9.

9) 長谷川秀樹. ウイルス性中枢神経感染症の病理. 第 23 回日本神経感染症学会総会・学術大会. (東京) 2018.10.

10) Sano K, Saito S, Kotani O, Ainai A, van Riet E, Tabata K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Suzuki T, Hasegawa H. Analysis of escape mutant viruses of an intranasal influenza vaccine-derived broadly neutralizing antibody clone. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

11) 鈴木忠樹、新城雄士、佐野芳、佐藤由子、片野晴隆、中島典子、和田雄治、森川茂、長谷川秀樹. ヒト体内における SFTS ウイルス感染感受性細胞の性状解析. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

12) Saito K, Ainai A, Hirayama S, Suzuki T, Nakao R, Hasegawa H. The efficacy of outer membrane vesicle derived from E.coli Nissle 1917 as a mucosal adjuvant in intranasal inactivated influenza vaccine. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

13) 奈古利恵、福本瞳、長谷川秀樹、佐伯秀久、片野晴隆. Trichodysplasia-spinulosa associated polyomavirus の large T 抗原の機能の解明. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

14) Noguchi K, Takeda M, Katano H, Sato Y, Kojima S, Watanabe S, Inoue N. Roles of GP33, a guinea pig CMV homolog of GPCRs, in viral growth and inflammation in pregnant animals. 第 66 回日本ウイル

ス学会学術集会. (京都) 2018.10.

15) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Doan YH, Shimizu H, Hasegawa H. Murine models of persistent infection by coxsackievirus B2 isolates. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

16) Ainai A, Saito K, Suzuki T, Hasegawa H. Immunogenicity of recombinant HTLV-1 Env protein purified from a baculoviral expression system as a vaccine antigen in mice. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

17) Tobiume M, Suzuki T, Sato Y, Hasegawa H. Epidemiological investigation of congenital infectious diseases in placenta in Northeast Brazil. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

18) Park E, Shimojima M, Yoshikawa T, Fukushi S, Watanabe S, Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Ami Y, Kurosu T, Imaoka K, Maeda K, Saijo M, Morikawa S. SFTS virus causes lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome in cats. 第 66 回日本ウイルス学会. (京都) 2018. 10.

19) 有富由紀、Menezes JC、宇都 拓洋、正山征洋、藤井佑樹、本川智紀、徳永研三、藤田英明. Cell-based ELISA 法によるチロシナーゼ発現制御化合物のスクリーニング. 第 28 回日本色素細胞学会. (神戸) 2018.10.

20) 鈴木忠樹. インフルエンザの感染病理. 第 16 回日本糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム―糖鎖研究の新たなレシピ. (東京) 2018.11.

21) 永田典代. 高病原性ウイルス感染症対策のための動物モデル開発. 第 18 回バイオセーフティ学会 総会・学術集会. (東京) 2018.11.

22) 佐野芳、齊藤慎二、小谷治、相内章、van Riet E、田畑耕史郎、高橋宜聖、横山勝、佐藤裕徳、鈴木忠樹、長谷川秀樹. 経鼻ワクチンにより誘導された抗インフルエンザ HA ステム抗体のウイルス感染防御機構. 第 22 回日本ワクチン学会学術集会. (神戸) 2018.12.

23) 田畑耕史郎、相内章、大原有樹、鈴木忠樹、原田陽介、中野哲郎、長谷川秀樹. 二重鎖 RNA 型粘膜アジュバント uPIC100 の経鼻不活化インフルエンザワクチン粘膜アジュバントとしての有用性の検討. 第 22 回日本ワクチン学会学術集会. (神戸) 2018.12.

24) 藤井信、鈴木忠樹、佐明子、山口喜之、佐野芳、小島朝人、相内章、佐藤嗣道、長谷川秀樹. CHO 細胞由来ウイルス様粒子を用いたデングウイルスワクチンの有効性評価. 第 22 回日本ワクチン学会学術集会. (神戸) 2018.12.

25) Zhang Y, Ozono S, Yao W, Tobiume T, Yamaoka S, Kishigami S, Fujita H, Tokunaga K. Endogenous activation of BST-2 by CRISPR reduces HIV-1 replication. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

26) Ozono S, Kishigami S, Fujita H, Tokunaga K. CRISPR-mediated activation of endogenous ZAP expression decreases HIV-1 production. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会. (京都) 2018.10.

27) 徳永研三. マクロファージにおけるインターフェロンの効果と抗ウイルス宿主因子の発現. 第 32 回日本エイズ学会 シンポジウム2. (大阪) 2018.12.

28) Suzuki T. Pathology and Pathogenesis of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS). Japan-UK Workshop on Infectious Disease Research. (東京) 2019.1.

29) Hasegawa H. Enhancement of anti-viral effects of an intranasal inactivated Influenza vaccine-induced broadly neutralizing antibody by IgA multimerization. Symposium on Influenza and Other Infections. (東京) 2019.2.

30) Sano K, Suzuki T, Saito S, Ainai A, Tabata K, Hasegawa H. Improvement in Functionality of Anti-Influenza Virus Antibodies Conferred by IgA Tetramerization. Symposium on Influenza and Other Infections. (東京) 2019.2.

31) 鈴木忠樹. SFTS の病理とウイルス標的臓器・細胞の解明. 新興・再興感染症制御プロジェクト 3 事業(J-PRIDE・J-GRID・新興再興事業)合同シンポジウム「感染症研究連携のフロンティア」. (東京) 2019.3.

８．免疫部

部長　　高橋　宜聖

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.　RS ウイルスに関する免疫研究
5.　その他ウイルスに関する免疫研究
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
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.　セアカゴケグモ抗毒素の力価試験の開発

品質管理に関する業務
I.　国家検定
II. 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

平成 30 年 6 月 15 日付で、橋香奈が第四室任期付研究員として着任した。平成 31 年 1 月 1 日付で、森山彩野が任期付主任研究官として着任した。平成 31 年 2 月 16 日付で、岡部真裕子第二室研究員が退職した。

業　績

調査・研究

Ⅰ. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス（HIV）に関する免疫研究

（1）iPS 化 HIV 特異的 CTL による in vivo での HIV 制御効果の検証

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（TiPS-CTL）の in vivo における HIV 制御効果を検証すべく、免疫不全マウスに TiPS-CTL（エフェクター）ならびに HIV-1 感染細胞（ターゲット）を移入してターゲットの細胞傷害効果を解析した。

[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-1 潜伏化に関する研究

CD4 陽性 T 細胞は HIV-1 の主要な感染標的細胞であり、活性化状態ではウイルスが顕著に増幅される。一方で、静止期状態では潜伏感染リザーバーとして寄与することが知られている。しかしながら、静止期 CD4 陽性 T 細胞は多様な亜集団から構成されているが、実際にどのような亜集団が潜伏感染リザーバーと成り得るかは定かではない。そこでまず、静止期 CD4 陽性 T 細胞の HIV-1 感染性について評価したところ、ウイルスの細胞への結合量・侵入量は活性化 CD4 陽性 T 細胞におけるそれらとほぼ同レベルであることが確認された。そこで今後は、静止期 CD4 陽性 T 細胞を「ナイーブ」、「CCR5-メモリー」、「CCR5+メモリー」の 3 亜集団に分画し、これら亜集団の HIV-1 感染性ならびに潜伏化形成について解析する予定である。

[寺原和孝、岩渕龍太郎（研究生）、竹山春子（早稲田大学）、横田恭子(客員研究員)]

（3）新規エイズワクチンの評価

センダイウイルス（SeV）ベクターを用いた新規標的断片連結抗原発現ワクチンの効果について SIV 感染サルモデルで解析した結果、腸管粘膜における選択的ウイルス特異的 CD8 陽性 T 細胞誘導能を確認し、さらに腸管感染防御効果を有する可能性が示された。

［寺原和孝、石井洋（エイズ研究センター）、俣野哲朗（エイズ研究センター）］

2. インフルエンザウイルスに関する免疫研究

（1）インフルエンザ交差防御性 B 細胞の新規評価モデル

マウスの開発

インフルエンザウイルスへの交差防御能を示す抗体は、認識する抗原領域部位の違いによって抗体の産生過程や産生細胞の挙動に影響が出ることが予測される。これを詳細に解析するために交差防御性 B 細胞受容体遺伝子をノックインした遺伝子変異マウスを作ることとした。交差防御性抗体の軽鎖遺伝子配列と重鎖 V 領域遺伝子配列をレシピエントの IgM 遺伝子の定常領域前に挿入するプラスミドベクターをデザイン・作製し、ガイド RNA・Cas9 タンパク質とともにレシピエントとなる C57BL/6 受精卵にインジェクションした。この遺伝子変異マウスから得られた B 細胞を移植・免疫し免疫反応を解析することで交差防御性メモリーB 細胞の誘導・維持・再活性化に有効なワクチン抗原の評価が可能になることが期待される。

［森山彩野、中野堅太（国立国際医療研究センター）、岡村匡史（国立国際医療研究センター）、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組織において、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出している。そこで、シングル B 細胞培養系を用いて、肺組織における交差性 B 細胞レパトアの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構造は、接種したマウスに、従来型ワクチンと比較して高濃度の交差抗体の誘導が確認された。さらに、同定した交差抗体レパトアの記憶 B 細胞は、多くのヒトに存在することを明らかとした。これらの結果から、同定したワクチン剤型は、ヒトに交差抗体を惹起可能な新たなワクチン剤型となる可能性が期待された。

[安達悠、登内奎介（実習生）、竹山春子（早稲田大学）、阿戸学 （感染制御部）、Garnett Kelsoe（Duke 大学、米国）、高橋宜聖]

（3）カニクイザルを用いた新規インフルエンザワクチン剤形の免疫原性評価

マウスを用いた研究から、改変型インフルエンザヘマグルチニンタンパク質を用いて免疫することで、より効率的に交差防御能を持つ抗体が誘導されることをこれまでに見出している。ヒトへの応用を目指してカニクイザルに改変型インフルエンザヘマグルチニンタンパク質抗原を免疫したところ、複数種類のインフルエンザヘマグルチニンタンパク質に対する交差反応性抗体価の上昇が確認された。

［森山彩野、安達悠、山本拓也（医薬基盤・健康・栄養研究所）、高橋宜聖］

（4）複数のインフルエンザ亜型ウイルスを防御する新規抗体の特定

改変型インフルエンザヘマグルチニンタンパク質を免疫することで、交差抗体を効率的に誘導可能であることをこれまでに見出している。そこでシングル B 細胞培養系を用いて、種々の亜型ウイルスに対する交差抗体レパトアの結合特性を評価した結果、広域かつ特異的な結合特性を示し、感染防御能を持つ抗体レパトアを見出した。この抗体レパトアの抗原領域は、既知の交差抗体の抗原領域とは異なる可能性が示唆されたことから、新規交差抗体であることが期待される。

[登内奎介（実習生）、安達悠、森山彩野、竹山春子（早稲田大学）、高橋宜聖]

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免疫原性を評価した。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。また、マウスノロウイルス感染モデルを使用することで、VLP ワクチンによって誘導される IgA 型抗体が優れた防御能を有することを確認した。

[小野寺大志、橋香奈、片山和彦（北里大学）、三好龍也（堺市衛生研究所）、小林和夫（大阪健康安全基盤研究所・客員研究員）、阿戸学（感染制御部）、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 の遺伝子グループから成り、それらは更に数十に上る遺伝子型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遺伝子型をカバーする次世代ノロウイルスワクチンの開発が望まれている。本研究では昨年度に引き続きノロウイルスに対する交差防御免疫を解析し、ノロウイルス交差防御エピトープを同定すること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。結果、マウスノロウイルスを感染させた B6 マウスにおいてヒトノロウイルス 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。更にヒト腸由来オルガノイドを用いた中和試験の結果、これらの交差反応性抗体は感染防御効果を有する事を明らかにした。

[小野寺大志、橋香奈、谷内和歌子(研究生)、村上耕介（ウイルス第二部）、高橋宜聖]

4．RS ウイルスに関する免疫研究

（1）Growth arrest specific 6 (Gas6) をバイオマーカーとした RSV ワクチン剤形の評価系の構築と評価

ホルマリン固定不活化 RSV (FI-RSV) 接種後に樹状細胞から産生される 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これまでに見出している。すなわち従来の RSV ワクチン接種後の RSV 自然感染に伴うアレルギー性気道炎症の誘導機構のひとつを説明した。このモデルでは、アレルギー性気道炎症の程度に相関し、肺における Th2 サイトカインレベルが Gas6 同様上昇した。一方、血中では Th2 サイトカインは検出できなかったが、Gas6 レベルはアレルギーの程度に相関し上昇した。つまり、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得ることが示唆された。なお、プレ型の RSV fusion タンパクやさらにそれを安定化させた DS-Cav1 を抗原とすると、血中 Gas6 レベルの上昇を含むアレルギー性気道炎症の誘導はみられなかった。また、これら抗原の接種は、非接種群と比較して RSV 感染後のウイルス量を有意に抑制し、マウスレベルでの安全性と有効性を示した。
［柴田岳彦、高橋宜聖、阿戸学（感染制御部）］

（2）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（感染制御部）］

（3）RSV 感染に伴う喘息の増悪機構の解明
RSV 感染に伴い喘息の症状が悪化することがある。しかし、この免疫学的機構は明らかになっていない。そこで、イエダニ抗原誘導アレルギーモデルに RSV を感染させたマウス喘息増悪モデルを作製し、その機構の解明を試みた。この増悪グループでは、好中球と単球の増加、matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) の発現上昇がみられた。そこで、喘息マウスにリコンビナント MMP-12 を投与すると、喘息の病態が増悪した。すなわち、MMP-12 は増悪因子である可能性が示唆された。今後、MMP-12 産生機構や MMP-12 と気道抵抗の亢進における浸潤細胞の役割を明らかにすることにより、RSV 感染に伴う喘息の増悪に対する予防・治療法の開発につながることが期待される。
［牧野愛璃 (実習生)、柴田岳彦、高橋宜聖］

5. その他ウイルスに関する免疫研究
（1）ジカワクチン開発における有効性評価指標の研究
ジカウイルス、デングウイルス、日本脳炎ウイルスは、東南アジア地域で共に流行している。そのため、ジカワクチンの開発に向けて、とくに他のフラビウイルスとの液性免疫の交差性に起因した抗体依存性感染増強のリスクを軽減したワクチンの開発研究が必要とされている。本研究では、ジカウイルスと他のフラビウイルスに交差するヒト抗体を網羅的に解析し、交差結合抗体パネルを作成した。そして、中和活性等の有無により複数のグループ分けを行い、今後のワクチン戦略を考える上で参考となる液性免疫に関する情報を収集した。
［Arnone Nithichanon（Khon Kaen 大学、タイ王国）、林昌宏（ウイルス一部）、鈴木亮介（ウイルス二部）、Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen 大学、タイ王国）、高橋宜聖］

（2）抗体遺伝子レパトア解析による SFTS 発症機構の探索
マダニ媒介性全身性感染症である重症熱性血小板減少症候群（SFTS）においては、大型リンパ球が SFTSV の第一標的細胞であると考えられる。この細胞は形質芽細胞で B リンパ球系列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、SFTS 患者に出現する SFTSV 陽性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。次世代シークエンサ（NGS）による網羅的抗体レパトア解析プロトコールを用いて、患者病理組織における抗体レパトアを解析した。その結果、以下のことが明らかになった。1）比較的感染初期で、ウイルス感染細胞が全身に播種しておらず限局した組織に認められる症例において、ウイルス陽性組織に特徴的な抗体レパトアを同定した。このレパトアの抗体重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子を予測し、抗体遺伝子合成候補として選抜した。2）感染後時間を経て、ウイルス感染細胞が全身に播種している症例において、全身の各組織・器官におけるウイルスゲノム数と抗体レパトア（CDR3 クロノタイプ）出現頻度の相関関係を求める手法を開発し、有意な相関係数を持つレパトアを同定した。このレパトアの抗体重鎖遺伝子と軽鎖遺伝子を予測し、抗体遺伝子合成候補として選抜した。3）これらの抗体レパトアのクロノタイプ（特に CDR3 配列）について主成分分析などを用いて解析し、共通なレパトア特性の抽出を試みた。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している。
[大西和夫、鈴木忠樹（感染病理部）、大場靖子（北海道大学）、佐野芳（感染病理部）、相内章（感染病理部）、薛漢兵（研究生）]

II. 細菌感染症
1. 抗酸菌感染症に関する研究
（1）非結核性抗酸菌感染患者におけるインターフェロン γ 自己抗体に関する研究
インターフェロン γ（IFN-γ）に対する自己抗体を保有し、IFN-γ シグナルを阻害することによって、難治性の播種性非結核性抗酸菌感染症等を発症することが近年問題となっている。特にタイ北東部に於いては患者が多数発生し、播種性 *Mycobacterium abcessus* 感染症の遷延化、

再燃が問題となっている。2016年にLinらにより抗IFN-γ自己抗体の結合するエピトープがIFN-γ分子のC末端であり、そのペプチド配列がアスペルギルスNoc2タンパクと交差することが報告されたが、当該文献からもエピトープは複数あることが示唆されており、その詳細については不明である。現在我々は、タイ王国における患者検体・情報を解析して、新規エピトープの同定、交差抗原の同定、患者居住区域における原因抗原との接触状況調査による抗IFN-γ自己抗体産生過程の解明を試みている。また、患者血漿とリコンビナントIFN-γタンパク質を反応させた後に、IFN-γのELISAを行うといった阻害ELISA法により、高感度かつ高特異度的に非結核性抗酸菌感染症の診断が行え、さらに非結核性抗酸菌感染症が活動性あるいは非活動性なのか判別可能なことを見出した。

[Arnone Nithichanon（Khon Kaen大学、タイ王国）、松村隆之、阿戸 学（感染制御部）、Ganjana Lertmemongkolchai（Khon Kaen大学、タイ王国）、高橋宜聖]

（2）菌体表層および菌体外構造物に関する研究

電子顕微鏡を用いて抗酸菌 Mycolicibacterium smegmatis の観察を行ったところ、菌体表面に線維状の構造物が観察された。この構造物は形態からpiliと推察された。glycopeptidelipids (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、pili様構造物はGPLと同様にslidingや宿主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）、小林和夫（大阪健康安全基盤研究所・客員研究員）、高橋宜聖、大原直也（岡山大学・客員研究員）、阿戸学（感染制御部）]

2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する免疫研究

（1）劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対する防御免疫に関する研究

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。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。今回、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者血清中のサイトカイン・ケモカイン量を測定した結果、血中インターロイキン(IL)-6、IL-8、単球走化性タンパク質(MCP)-1レベルは、患者の死亡例より生存例において高いことが示された。IL-8やMCP-1はそれぞれ好中球や単球の遊走に関わるため宿主防御に重要であることが予想された。また、抗リウマチ治療薬であるIL-6受容体阻害剤の投与が劇症型感染症発症の危険因子である可能性を示す文献が複数報告されていたため、IL-6に着目した基礎研究を行った。その結果、感染後期の血中IL-6レベルは非劇症型A群レンサ球菌感染マウスモデルより劇症型感染マウスモデルにおいて高くなること、感染後期のIL-6を抗体により中和すると感染が増悪化すること、感染後期の主要なIL-6産生細胞は宿主防御に寄与するインターフェロン(IFN)-γ産生未熟骨髄系細胞(γIMCs)であることが示された。また、γIMCsにおいてToll様受容体(TLR)2によるA群レンサ球菌の感知によりIL-6が誘導され、オートクラインおよびパラクラインによって、IL-6がγIMCs上のC型レクチン受容体の一つであるMincleを発現増強させることが示された。さらに、MincleはA群レンサ球菌のリポタイコ酸アンカーを認識する受容体であることや、γIMCsにおけるMincle発現はマクロファージ等の活性化因子であるIFN-γの産生に必須であることが示された。すなわち、γIMCsにおけるTLR2とMincleによるA群レンサ球菌のシークエンシャル・センシングによって宿主防御免疫が誘導されることが見出された。本研究により、劇症型A群レンサ球菌感染マウスモデルにおける防御免疫機構の一部が解明された。[松村隆之、池辺忠義（細菌第一部）、大西真（細菌第一部）、吉澤定子（東邦大学）、山崎晶（大阪大学）、竹山春子（早稲田大学）、高橋宜聖、阿戸学（感染制御部）]

（2）劇症型溶血性レンサ球菌感染症に対する抗体療法に関する研究

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の大部分はA群レンサ球菌感染が原因となる。また、劇症型感染を起こしたA群レンサ球菌の約6割には主要な毒素ストレプトリジンO等の産生抑制を解除する遺伝子変異が認められている。今回、ガス壊疽菌群の一種、ウェルシュ菌のパーフリンゴリシンOに結合してその溶血活性を中和するモノクローナル抗体(HS1, HS2, HS3)の中で、HS1がストレプトリジンOを中和し、劇症型A群レンサ球菌感染動物モデルやヒト好中球への感染モデルにおいて治療効果を発揮することが明らかとなった。[松村隆之、池辺忠義（細菌第一部）、大西真（細菌第一部）、千葉丈（感染病理部）、高橋宜聖、阿戸学（感染制御部）]

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

感染症やワクチン免疫によって誘導される抗体応答を網羅的に解析する新規手法の構築を進めている。次世代シークエンサーを用いてインフルエンザワクチンを投与した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解析する新規システムを構築した。これにより、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、などの研究を行った。また、抗体遺伝子合成・抗体分子発現システムに用いて種々の抗体重鎖と結合することができる「汎用抗体軽鎖」分子のプロトタイプを設計・作製した。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、薛漢兵（研究生）、野口保（東京薬科大学）、藤本浩文（品質保証管理部）、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。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。また、T 細胞の性状について解析したところ、GM-CSF 単独誘導下では Foxp3hi 制御性 T 細胞が有意に誘導されたのに対し、Flt3-L ・GM-CSF 同時誘導下では Foxp3lo Th17 様 T 細胞が有意に誘導された。Flt3-L および GM-CSF は T 細胞に直接作用するとは考えにくく、サイトカインによる樹状細胞の性状変化が T 細胞の分化指向に影響することが示唆された。
[岩渕龍太郎（研究生）、寺原和孝、小林(石原)美栄（協力研究員）、横田恭子(客員研究員)、阿戸学（感染制御部）、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. セアカゴケクモ抗毒素の力価試験、品質管理試験

セアカゴケグモ咬傷は，咬傷部の疼痛が主な症状であるが、その後の疼痛増強や全身に多彩な症状が認められることがある。治療は、対症療法とウマ抗毒素の投与であるが、我が国では抗毒素が薬事承認されていないため、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。今年度は例年通り、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。[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（感染制御部）]

品質管理に関する業務

I. 国家検定

乾燥はぶウマ抗毒素：1 ロット
[松村隆之、高橋宜聖]
エンドトキシン試験：256 ロット
[寺原和孝、小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛（非常勤職員）、高橋宜聖]

II. 抜き取り検査

エンドトキシン試験：10 ロット
[寺原和孝、小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛（非常勤職員）、高橋宜聖]

III. 承認前試験

エンドトキシン試験：3 ロット
[小野寺大志、柴田岳彦、道坂瑛（非常勤職員）、高橋宜聖]

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）
[松村隆之、高橋宜聖]

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。
[寺原和孝、高橋宜聖]

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。一方 IgM 型 HAV 検体については、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検体の譲渡を依頼し、平成 30 年度終了時点で合計 20 検体を収集するに至っている。

[寺原和孝、是永匡紹（国立国際医療研究センター）、八橋弘（国立病院機構長崎医療センター）、高橋宜聖]

国際協力関係業務

I. Khon Kaen 大学（タイ王国）とウイルス・細菌感染症の免疫応答について共同研究を推進し、Khon Kaen 大学の博士号研究員を受け入れ、実験手技と研究の指導にあたった。 [松村隆之、阿戸学（感染制御部）、高橋宜聖]

II. 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、抗致死価測定と抗出血価測定を実施し、試験結果を報告した。[松村隆之、阿戸学（感染制御部）、高橋宜聖]

研修業務

I. 大学など教育機関における講義や研修

早稲田大学先進理工学部（10 月 22 日、10 月 29 日、11 月 5 日、11 月 12 月日）で免疫学講義を行った。 [高橋宜聖]

琉球大学医学部の医科学研究（12-2 月）を担当した。[寺原和孝]

東京バイオテクノロジー専門学校生の卒業研究実習（1 年間）を担当した。[松村隆之]

東邦大学大学院理学研究科(10 月 22 日、29 日)で講義を行った。[柴田岳彦]

筑波大学生命環境学群（9 月 10-11 日ほか）で講義を行った。

筑波大学大学院生命科学研究科（11 月 29 日ほか）で講義を行った。

慶應義塾大学法学部（4月 13 日、20 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 30 年度の使用実績は、938 回、2256 時間であった。

[泉山枝里子（非常勤職員）、小野寺大志、高橋宜聖]

広報委員会

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). Sun L, Kono N, Toh H, Xue H, Sano K, Suzuki T, Ainai A, Orba Y, Yamagishi J, Hasegawa H, Takahashi Y, Itamura S, Ohnishi K. Identification of Mouse and Human Antibody Repertoires by Next-Generation Sequencing. **J. Vis. Exp**. 145. 2019

2). Yamamoto T, Masuta Y, Momota M, Kanekiyo M, Kanuma T, Takahama S, Moriishi E, Yasutomi Y, Saito T, Graham BS, Takahashi Y, Ishii K.J. A unique nanoparticulate TLR9 agonist enables a HA split vaccine to confer FcγR-mediated protection against heterologous lethal influenza virus infection. **Int. Immunol.**, 31:81-90, 2019

3). Sato K, Takahashi Y, Adachi Y, Asanuma H, Ato M, Tashiro M, Itamura S. Efficient protection of mice from influenza A/H1N1pdm09 virus challenge infection via high avidity serum antibodies induced by booster immunizations with inactivated whole virus vaccine. **Heliyon**. 3;5(1):e01113. 2019

4). Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells CA, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. Lipoteichoic acid anchor triggers Mincle to drive protective immunity against invasive group A Streptococcus infection. **Proc Natl Acad Sci USA**. 115(45):E10662-E10671. 2018

5). Chu C, Moriyama S, Li Z, Zhou L, Flamar AL, Klose CSN, Moeller JB, Putzel GG, Withers DR, Sonnenberg GF, Artis D. Anti-microbial functions of group 3 innate lymphoid cells in gut-associated lymphoid tissues are regulated by G-protein-coupled receptor 183. **Cell Rep.** 23(13):3750-3758. 2018

6). Hashi K, Imai C, Yahara K, Tahmina K, Hayashi T, Azuma T, Miyabe-Nishiwaki T, Sato H, Matsuoka M, Niimi S, Okamoto M, Hatakeyama M. Evaluating the origin and virulence of a Helicobacter pylori cagA-positive strain isolated from a non-human primate. **Sci Rep.** 8(1):15981. 2018.

7). Iwabuchi R, Ikeno S, Kobayashi-Ishihara M, Takeyama H, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y, Terahara K. Introduction of human Flt3-L and GM-CSF into humanized mice enhances the reconstitution and maturation of myeloid dendritic cells and the development of Foxp3+CD4+ T cells. **Front Immunol**.9:1042. 2018

8). Kobayashi-Ishihara M, Terahara K, Martinez JP, Yamagishi M, Iwabuchi R, Brander C, Ato M, Watanabe T, Meyerhans A, Tsunetsugu-Yokota Y. HIV LTR-driven antisense RNA by itself has regulatory function and may curtail virus reactivation from latency. **Front Microbiol** 9:1066, 2018

9). Yamamoto A, Harano S, Shinya N, Nagano A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Takahashi M, Taki H, Hifumi T. Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: a local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a repeated-dose toxicity study in rats. **J Toxicol Pathol**. 31(2):105-112. 2018

2. 和文発表

1). 柴田岳彦、高橋宜聖 次世代ワクチン開発の現状と展望-RS ウイルスワクチンを例に **BIO Clinica** 34 (2) 2019

2). 森山彩野 β2 アドレナリン受容体による2型自然リンパ球の応答の抑制 臨床免疫・アレルギー科(科学評論社) 2019

3). 安達悠、小野寺大志、登内奎介、高橋宜聖 ウイルスの免疫回避術に対応した B 細胞免疫の誘導戦略 臨床免疫・アレルギー科（科学評論社） 2018

4). 松村隆之、阿戸学 A 群レンサ球菌感染制御における骨髄系細胞の役割 臨床免疫・アレルギー科（科学評論社） 2018

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会.

1). Takahashi Y. 2019 Humoral immunity against mutating viruses. Infection and Immunity（タイ 2 月）

2). Adachi Y, Nithichanon A, Kuraoka M, Watanabe A, Shinnakasu R, Asanuma H, Ainai A, Yamamoto T, Ishii K J, Hasegawa H, Lertmemongkolchai G, Kurosaki T, Ato M, Kelsoe G, Takahashi Y. 2019 Local germinal center B cells target conserved epitopes that are occluded in native viral antigen. Keystone Symposia (B cell-T cell interactions).（米国 2 月）

3). Bajic G, Maron MJ, Adachi Y, Onodera T, McCarthy KR, McGee CE, Sempowski GD, Takahashi Y, Kelsoe G, Kuraoka M, Schmidt AG. 2019 Immune focusing to a broadly protective subdominant viral

epitope by antigen engineering. Keystone Symposia (B cell-T cell interactions). （米国 2 月）

4). Watanabe A, McCarthy KR, Kuraoka M, Schmidt AG, Adachi Y, Onodera T, Caradonna TM, Bajic G, McGee CE, Sempowski GD, Kepler TB, Takahashi Y, Harrison SC, Kelsoe G. 2019 Broadly Protective Antibodies to an Occluded Influenza Hemagglutinin Head Epitope. Keystone Symposia (B cell-T cell interactions).（米国 2 月）"

5). Nomura T, Ishii H, Terahara K, Yamamoto H, Miura T, Tokusumi T, Hironaka T, Shu T, Matano T. 2018 Induction of Gag-specific CD8+ T cell responses in rhesus macaque rectum mucosa by intranasal Sendai virus vector immunization. 36th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS.（米国 10 月）

6). Ishii H, Terahara K, Nomura T, Tokusumi T, Hironaka T, Shu T, Matano T. 2018 A novel immunogen selectively eliciting CD8+ T cells but not CD4+ T cells targeting viral antigens. HIV Research for Prevention.（スペイン 10 月）

7). Takahashi Y. 2018 Germinal center and B-cell memory: understanding the functions for viral immunity. departmental seminar at Duke University, Department of Immunology Durham, NC（米国 9 月）

2. 国内学会

1). 高橋宜聖 2019 ウイルスの弱点を標的とした次世代ワクチンの開発 日本薬学会第 139 年会シンポジウム（千葉 3 月）

2). Adachi Y, Nithichanon A, Kuraoka M, Watanabe A, Shinnakasu R, Yamamoto T, Ishii K.J, Lertmemongkolchai G, Kurosaki T, Ato M, Kelsoe G, Takahashi Y. 2018 Influenza hemagglutinin cryptic epitopes that select broadly reactive germinal center Bcells in local site. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

3). Matsumura T, Yamasaki S, Ato M, Takahashi Y. 2018. The IL-6/Mincle axis in immature myeloid cells is critical to protect against severe invasive group A Streptococcus infection. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

4). Onodera T, Ato M, Takahashi Y. 2018 Virus-like particle structure enhances protective IgA antibody responses against noro iruses. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

5). Shibata T, Ito T, Takahashi Y, Ato M. 2018. RSV induces suppressive Gas6/Axl signaling in macrophages increasing susceptibility to secondary S. pneumoniae infection. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

6). Sugimoto-Ishige A, Tanaka M, Harada M, Adachi Y, Takahashi Y, Takemori T, Hikida M. 2018 Bim regulates selection of germinal center B cells During the transition into memory cell percursors, but not during the interzonal cycles of division in the dark zone. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

7). Yamamoto T, Masuta Y, Momota M, Takahashi Y, Ishii J.K. 2018 Adjuvant effect of a nanoparticulate TLR9 agonist for prolection against heterologous influenza challenge through FcR γ -mediated effactor functions. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

8). Xue H, Ohnishi K. 2018 Universal Light Chain : A light chain that can match with a wide range of heavy chains maintaining the antigen affinity of the heavy chain. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

9). Moriyama S, Artis D. 2018 β 2 adrenergic receptor-mediated negative regulation of group 2 innate lymphoid cell responses. 第 47 回日本免疫学会総会・学術集会（福岡 12 月）

10). Imai T. Matsumura T, Miyamoto T, Ato M, Yamasaki S, Ohga S. 2018. Critical role of Mincle in protection against invasive infection by group A Streptococcus. 第 50 回日本小児感染症学会総会・学術集会/第 9 回アジア小児感染症学会学術集会（福岡 11 月）

11). 松村隆之. 2018 A 群レンサ球菌感染制御における未熟骨髄系細胞の役割. 第 17 回微生物研究会「微生物分子生物学のフロンティア」（東京 11 月）

12). Miki S, Kawai Y, Kaneko S, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y, Matano T, Kawana-Tachikawa A. 2018 Functional analysis of HIV-1 specific CTL rejuvenated by iPS cell technology. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会（京都 10 月）

13). Nomura T, Terahara K, Ishii H, Yamamoto H, Miura T, Matano T. 2018 Crossreactivity of vaccine-induced CD8+ T cells targeting a Gag epitope. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会（京都 10 月）

14). Terahara K, Iwabuchi R, Hosokawa M, Takeyama H, Tsunetsugu-Yokota Y. 2018. Preferential entry of CCR5-tropic HIV-1 over CXCR4-tropic HIV-1 into resting CCR5+CXCR4+ memory CD4+ T cells. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会（京都 10 月）

15). Hashi K, Imai C, Yahara K, Azuma T, Hayashi T, Miyabe-Nishiwaki T, Tahmina K, Sato H, Matsuoka M, Niimi S, Okamoto M, Hatakeyama, M. 2018 Evaluation of a *Helicobacter pylori cagA*-positive strain isolated from a non-human primate. The 37th Sapporo International Cancer Symposium.（札幌 7 月）

知的財産権の出願・登録状況

1). 松村隆之、佐藤博子、千葉丈、阿戸学、高橋宜聖 抗体並びに劇症型溶血性レンサ球菌感染症を予防及び／又は治療するための薬剤. 特願 2019-010958

９．真菌部

部長　　宮﨑　義継

概 要

真菌部は真菌感染症の調査研究を主な任務としている。真菌症の病原真菌の病原因子や宿主免疫機構の解明、疫学研究、ならびに、実用化をめざした診断薬・治療薬・ワクチンの基盤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が、最近では新興真菌症として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が公衆衛生学的に重要となっており、これらの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30年度は各種真菌に関する病原因子解明と宿主反応に関する基盤研究、糸状菌感染症における治療法、病原体診断に関する研究を行った。宿主因子に関しては、病原体の認識分子や自然免疫機構の役割、ワクチン基盤に関する研究を実施した。感染症制御薬に関しては、新規薬剤シーズの抗真菌活性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。

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。

第一室は、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侵襲性真菌症であるカンジダ症を対象とし*C. glabrata*のマイトファジー、カンジダ眼内炎の病態、薬剤耐性機構、病原因子の解明に関する研究を実施した。

第二室は、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、アゾール系薬耐性機構、*A. fumigatus*の増殖機構、宿主因子に関する研究を行った。また、病原微生物の細胞内シグナル伝達分子の解析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四室と共同で実施した。

第三室は、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。

第四室は、真菌や放線菌の二次代謝産物等の探索と代謝経路の解明、バイオインフォマティクス研究等を実施した。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調査研究や検査技術研修を実施した。

人事面では、平成31年3月31日付で第二室長　深澤秀輔が定年退官した。

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) 自然免疫回避機構における*Cryptococcus gattii*の莢膜多糖の生理作用

樹状細胞(DC)は、本菌の野生株を貪食できないが莢膜欠損株 (CAPΔ)は効率よく貪食する。DCによるCAPΔの認識機構や莢膜多糖が認識回避に及ぼす分子機構は不明であった。これまでに、我々は莢膜多糖が菌体の抗原を被覆しDCによる貪食を回避するモデルを提唱している。平成30年度は、DCがCAPΔを認識する際、DC内で活性化する各種リン酸化タンパク質を、ウェスタンブロットにより評価した。CAPΔで樹状細胞を刺激するとリン酸化P1, P2, P3の増加を認めたが、CAPΔを莢膜多糖で事前処理した場合は、それらの増加を認めなかった。またP1及びP2のリン酸化阻害剤は、DCによるCAPΔの貪食を阻害した。これらの結果は、DCによるCAPΔの初期認識及び貪食にP1-P2経路が必要であることを示しており、莢膜多糖による抗原の被覆は、P1-P2経路の活性化を阻害することを示している。

［上野圭吾、大谷淑子・柳原尚・清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、金城雄樹、宮﨑義継］

(2) マクロライド系薬による高病原性クリプトコックス症の病原性制御に関する研究

*C. gattii*に対するClarithromycin (CAM)の病原性抑制効果について*C. gattii* R265株以外の臨床分離株で検討した。*C. gattii*では、CAM用量依存的に莢膜多糖が減少し、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が低下した。その機構解析のため*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投与群でリン酸化の抑制を認めた。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処理により低下し、CAMによる莢膜菲薄化と関連する可能性が示唆された。以上をマクロライド系薬の効果の1つとして、海外学術雑誌上で公表した.

［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

深在性真菌感染症は致死率が高く早期に適切な治療が必要とされることから、正確な早期診断が求められている。現在、真菌感染症の血清学的検査では血清中の真菌由来の細胞壁の構成成分、および抗マンナン抗体を検出する診断法が用いられているが、検出感度・特異度の面でも十分な検出系とは言えず、より抗原への特異性が高い抗体を用いた新たな検出系の開発が求められている。このような背景から私たちは新規診断系の開発を目指した研究を行っており、Signal Sequence Trap (SST) 法を用いて選定された分泌型のアスペルギルスの抗原候補に対して抗体を作製する研究を行っている。真菌由来のタンパク質抗原は原核生物である大腸菌で作製するよりも真核生物の発現系を使用した方が翻訳後修飾や立体構造の点でより native な構造に近い抗原として宿主に認識させることができる。よって私たちは生体内で発現させた標的抗原を宿主に暴露することができる DNA 免疫法を用いた。この方法は *in vivo* エレクトロポレーション法により、抗原候補のタンパク質を発現する発現ベクターをマウスの大腿四頭筋細胞に導入し、筋細胞が作った標的抗原を宿主が認識し抗体産生応答を惹起させることができる。この方法により抗原候補の B11c を抗原として免疫したマウスからは大腸菌由来組換え体、および *A. fumigatus* Af293 の培養上清に反応性が高く、*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ハイブリドーマクローンを選択し 12 種類のモノクローナル抗体を産生するクローンを選択することができた。また 293T 細胞に発現させた B11c タンパク質を含む培養上清を抗原としてサンドイッチ ELISA の系を構築し、論文として報告した。現在 B11c に引き続き、B11b や Y69 などその他の抗原候補分子に対する抗体作製を行っている。

［高塚翔吾、犬飼達也、山越智、伊達琴恵、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タンパク質を解析するために、超遠心法での分泌小胞の回収率と純度を上げる検討をした。完全合成培地では、電子顕微鏡観察で分泌小胞と共にほぼ同じ大きさの結晶と考えられる棒状物質が大量に共沈殿すること、さらに糖と考えられる大量の共雑物もゲル状に共沈殿し、分泌小胞の回収率に影響を与えた。培養条件等の様々な検討した結果、培地中のタンパク質の混入が問題であるが糸状菌の一般的な半合成培地を用いることとした。また、ゲルろ過法による解析で超遠心法により調製した分泌小胞が不安定であることが明らかとなった。これは、動物細胞に使われるエクソソーム安定化剤により改善した。現在、昨年同定された分泌小胞中の RNA をターゲットとする RT-PCR 系の構築を行っている。

［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、犬飼達也、高塚翔吾、中村茂樹、宮﨑義継］

(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 29 年度までに、*A. fumigatus* の分泌蛋白質をコードする B11b 遺伝子の破壊株が、病態モデルマウスを用いた感染実験で低病原性であることを見出しており、さらに B11b 遺伝子破壊株は、血清存在下で菌糸伸長阻害が起こることを発見している。平成 30 年度は、B11b 遺伝子破壊株の増殖を阻害する血清中の成分を特定することを目的とした。血清をクロロホルム/メタノール混液で分画・精製を行い、各画分を適宜添加した DMEM 培地で B11b 遺伝子破壊株を培養した。B11b 遺伝子破壊株に対する菌糸伸長阻害は、血清を有機溶媒で分画した水層画分に確認された。これまでの結果から、本菌の血清存在下での増殖機構には、本菌の B11b 依存的に血清中の特定の水溶性物質と相互作用することが示唆された。

［犬飼達也、梅山隆、星野泰隆、山越智、中村茂樹、宮﨑義継］

(4) 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 歳男性の喀痰からアゾール耐性 *A. fumigatus* が分離された。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、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。逆に、感受性株 AfS35 において、138 番目の Gly を Ser に置換したところ、アゾール感受性が低下した。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）］

(5) non-*Cyp51A* 型アゾール耐性 *HMG1* 変異の *Aspergillus fumigatus* における CRISPR/Cas9 ゲノム編集による直接検証

臨床、環境を含めて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になっている。アゾール耐性の主な原因は、アゾールの標的酵素である *Cyp51A* の遺伝子変異やプロモータ領域のタンデムリピート化に

よる過剰発現に起因していると推測されている。一方、*Cyp51A* に変異が確認できない non-*Cyp51A* 型のアゾール耐性株が数多く分離されているが、それらの株の耐性機序は不明である場合がほとんどである。慢性肺アスペルギルス症の患者から分離されたアゾール耐性株において non-*Cyp51A* 型の変異(*HMG1* S269F 変異)が報告された(Emerg. Infect. Dis. 2018, 24(10), p1889)。この *HMG1* 変異がアゾール耐性に関与するかどうかを、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を導入して検討した。*HMG1* は hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) 還元酵素をコードしており、エルゴステロール生合成経路の律速酵素である。変異が確認された 269 番目のセリン残基は、ステロール感知ドメインに位置し、このアミノ酸残基の変異がアゾール耐性に影響を与えている可能性が示唆されていた。感受性株である AfS35 株の HMG1 の 269 番目のセリン(S)をフェニルアラニン(F)に置換したところ、複数のアゾール薬に対して低感受性化が観察された。以上より、同一の患者から経時的に分離されたアゾール耐性臨床分離株のゲノム解析により発見された、*Cyp51A* 以外の新しいアゾール耐性変異が、アゾール感受性に寄与することを検証出来た。新しいアゾール耐性機構を提唱できると期待される。

［梅山隆、犬飼達也、新居鉄平・渡辺哲・亀井克彦（千葉大学真菌医学研究センター）、宮﨑義継］

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 30 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、転写因子結合部位予測プログラム(YEASTRACT)を用い、*ATG32* ORF 上流領域における転写因子結合部位予測を行った。予測プログラムから 13 種類の転写因子の結合が予想されたため、それぞれの転写因子について遺伝子破壊株、致死遺伝子に関してはテトラサイクリン応答型プロモーター (Tet-p) を用いた発現抑制株を作製し、鉄欠乏条件における *ATG32* 発現解析を行った。各遺伝子破壊株と発現抑制株を鉄の有無で培養し *ATG32* の発現量を野生株と比較したところ、2 つの転写因子破壊株において、鉄欠乏時の発現増加が減弱することが明らかになった。

［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

これまでの研究から、*C. albicans* の定常増殖期に培養上清中に分泌される DNA 成分が、腸上皮細胞のバリア機能を低下させることが明らかとなっている。定常増殖期の菌体を電子顕微鏡で確認すると、無数の菌体外小胞を分泌していることが分かった。菌体外小胞を SYTO-61 で反応させたところ核酸染色陽性であり、DNase 処理により陰性化したことから、菌体外小胞内に DNA 成分が含まれていることが分かった。さらに超遠心で抽出した菌体外小胞で処理した腸上皮細胞のバリア機能が低下することも確認した。今後は腸上皮細胞内に取り込まれた菌体外小胞がバリア機能低下をきたすに至る細胞内シグナル伝達経路および小胞内に含まれる DNA 成分の役割について明らかにする。

［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（好中球・炎症性単球）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。また、病理学的解析では、*C. albicans* 感染マウスでは網膜・硝子体への真菌浸潤像・炎症細胞集簇像を認めるのに対して、non-*albicans Candida* 感染マウスではこれらの炎症所見を認めなかった。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)ワクチンが、肺常在性記憶型 Th17 細胞 (Lung TRM17)を誘導すること、Lung TRM17 が好中球や多核巨細胞の活性化を介して高病原性クリプトコックス症の病態を改善することを示した。平成 30 年度は、Lung TRM17 の肺内局在を免疫組織化学的手法で解析した。その結果、細気管支と血管が隣接する間質に Lung TRM17 が局在することが分かった。また Lung TRM17 は、抗原非存在下でも IL-17A と IL-17RA を恒常的に発現することが明らかになり、IL-17A 欠損マウスでは、DC ワクチンで誘導される Lung TRM17 が減少し、Lung TRM17 を長期間維持できなかった。このことは、Lung TRM17 の分化や維持に IL-17A が必要であることを示唆している。

［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 ワクチンは、好中球の活性化を介して、本菌の増殖を抑制する。これまでに、新鮮血清存在下で、好中球が *C. gattii* R265 を貪食し殺菌することを示した。平成 30 年度は、殺菌機構を調べる目的で各種阻害剤を供し、殺菌活性に与える影響を調べた。その結果、セリンプロテアーゼ阻害剤で処理した好中球は *C. gattii* や *C. neoformans* に対する殺菌活性が低下した。一方、NADPH オキシダーゼ阻害剤で処理した場合は、*C. neoformans* に対する殺菌活性のみ低下した。両菌の酸化・窒素化ストレス感受性を評価したところ、*C. neoformans* に比べて *C. gattii* は、酸化ストレスや窒素化ストレスに対して耐性であった。これらの結果は、好中球が、セリンプロテアーゼを利用して *C. gattii* を殺菌するモデルを示唆している。

［上野圭吾、柳原尚・大谷淑子・清水公徳 (東京理科大 基礎工学部)、金城雄樹、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った。これまでに LMIR3 欠損好中球において一次顆粒成分が増加すること、それに伴って病原性真菌や細菌に対する殺菌活性が亢進することを示した。一次顆粒は、好中球の前駆細胞で生産されることから、平成 30 年度は、LMIR3 の好中球前駆細胞での発現レベルをフローサイトメトリー及びウェスタンブロットで解析した。その結果は、LMIR3 は骨髄球以降、成熟に伴って発現が増加し、細胞表面に露出することが明らかになった。ヒト前骨髄球細胞 HL-60 も定常状態では LMIR3 の発現を認めなかったが、DMSO による分化誘導後には細胞表面に LMIR3 が発現した。一方、好中球を病原体で刺激すると細胞表面の LMIR3

の発現は、更に増加するが、ウェスタンブロットで解析した場合、発現総量は刺激前後で同等であった。これらの結果は、細胞内に蓄積されているLMIR3が、好中球の成熟や活性化に伴って細胞表面に露出するモデルを示唆している。

［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

肺炎は日本人の主な死因の一つであり、肺炎球菌はその起炎菌として最も多くの割合を占める。本研究では肺炎球菌に対する新規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 抗体価の上昇及び長期にわたる抗体価の持続が認められ、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、NKT 細胞において特異的に *Bcl6* 遺伝子を欠損したマウスを用いて、コントロールマウスでは検出される濾胞性ヘルパー NKT 細胞が、NKT 細胞特異的 *Bcl6* 遺伝子欠損マウスでは誘導されないことを明らかにした。またこの欠損マウスではワクチン接種後に胚中心も形成されないことから、*Bcl6* 遺伝子が濾胞性ヘルパー NKT 細胞の分化誘導における責任遺伝子であること、さらにこの濾胞性ヘルパー NKT 細胞が胚中心の形成に直接関わることが示唆された。以上のより、新規肺炎球菌ワクチンによって誘導される濾胞性ヘルパー NKT 細胞が肺炎球菌感染防御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、林崎浩史、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（富山県衛生研究所）、宮崎義継］

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。これまでに理化学研究所から提供を受けたキレーターライブラリーの中で数種類について、抗アスペルギルスおよびムーコル活性を有していることが分かった。今後は感染動物実験を立ち上げ、その in vivo における有効性を評価していく。

［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)、宮崎義継］

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（アゾール系・ポリエン系）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)、宮崎義継］

III. 微生物の有用遺伝子探索による感染症薬開発と薬剤耐性機構に関する研究

1. 感染症治療薬開発に関する研究

(1) *Streptomyces rochei* の詳細ゲノム解析

ポリケチド系抗生物質であるランカサイジンおよびランカマイシンを生産する *S. rochei* ゲノムの詳細解析を行った。完全ゲノム配列の解析により、35 種の二次代謝産物生合成遺伝子群候補を見出し、それらのいくつかを人為的に発現させることにより、アゾキシアルケ

ン化合物、ペンタマイシンおよびシトレオジオールの生産を証明した。この結果は、放線菌のゲノムマイニングが、新たな治療薬候補の発見に有用であることを示した。

［石川淳、関塚剛史・黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、荒川賢治（広島大）］

(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 51,678 回の利用があり、前年度より 52%増加した。

［石川淳］

2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) *Aspergillus fumigatus* におけるアゾール耐性メカニズムの解析

A. fumigatus におけるアゾール系抗真菌薬の耐性は、主にその標的タンパクである CYP51 の変異によって付与されているが、この変異がないアゾール耐性株が臨床から分離され問題となってきている。この CYP51 変異以外の耐性に関与するメカニズムを明らかにするために、CYP51 に耐性の変異がないアゾール耐性の臨床分離株を用いて解析を行った結果、耐性に関与すると予想されるゲノム上の領域を得た。感受性株を親株として、この領域を導入した株では、アゾールに対する感受性が親株と比較して上昇したことから、得られた領域は、アゾールに対する耐性化に関与していることが明らかになった。

［星野泰隆、石川淳］

(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、両株の塩基配列比較を行い、ステロールを取り込みに関わる因子の探索を行った。エルゴステロール合成酵素に複数の変異が見つかっており、そこからステロール取り込み因子の特定を試みている。

［名木稔、田辺公一（龍谷大・農学部）、山越智、梅山隆、中村茂樹、石川淳、宮崎義継］

IV. 新しい薬物活性評価系の研究、ならびに、細胞内シグナル伝達制御の解明に基づく感染症制御に関する研究

1. 細菌型チロシンキナーゼに関する研究

黄色ブドウ球菌チロシンキナーゼの触媒サブユニットと調節サブユニットに蛍光タンパクタグを付加し、ヒト培養細胞に発現させて、局在やチロシンキナーゼ活性を調べた。単独で発現させると、触媒サブユニットは細胞質に、調節サブユニットは細胞膜に局在した。共発現させると両者の相互作用が観察され、チロシンキナーゼ活性が上昇した。種々変異体を作製し、キナーゼ活性や相互作用に必要な領域をいくつか特定した。

［深澤秀輔、福山まり、宮崎義継］

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に関する相談業務などを行った。平成 30 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 63 件(菌株数:35 件、臨床検体数:48 件、パラフィン検体数:17 件、抗真菌薬感受性試験依頼数:17 件、行政検査 5 件)の対応にあたった。これらの検査の結果、感染症法 4 類疾患の対象となるコクシジオイデス症の病原体 *Coccidioides immitis* は 0 件、感染症法 5 類全数把握疾患の対象となる播種性クリプトコックス症の病原体 *Cryptococcus neoformans* を検出したのは 4 件、*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 30 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 64 ロット(アジスロマイシン水和物カプセル 4 ロット、アジスロマイシン水和物散 7 ロット、アジスロマイシン水和物錠 21 ロット、クリンダマイシンリン酸エステル注射液 14 ロット、注射用セフトリアキソンナトリウム 18 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。その結果、アジスロマイシン水和物錠2製品が規格を満たさず、「不適合」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]

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、平成30年度第2回 継続者向け検定・検査教育講習会を企画、同講習会の講師を務め、外部精度管理事業について説明した。

[宮﨑義継、梅山隆、深澤秀輔]

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共同研究を実施した。今年度は、NIHE を介して臨床サンプル(喀痰、VATS、BALF 等)を収集し、クリプトコックス属菌およびカンジダ属菌の分離、収集を行った。それらの分離菌を用い、菌種同定および MLST 解析を行った。また、カンジダ属菌に関しては菌種同定を行った後、抗真菌薬感受性試験を行い、ベトナム国内におけるカンジダ属菌の菌種傾向および耐性発生状況の解明を試みた。また、NIHE の研究員および VMMU の研究者を 1 名ずつ招へいし、真菌同定および抗真菌薬感受性試験に関する研修会を行った。[名木稔、宮﨑義継]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kimura M, Araoka H, Yamamoto H, Nakamura S, Nagi M, Yamagoe S, Miyazaki Y, Ogura S, Mitsuki T, Yuasa M, Kaji D, Kageyama K, Nishida A, Taya Y, Shimazu H, Ishiwata K, Takagi S, Yamamoto G, Asano-Mori Y, Uchida N, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A. Micafungin breakthrough fungemia in patients with hematological disorders. Antimicrob Agents Chemother. 62(5). pii:e02183-17, 2018.

2) Ikeda-Dantsuji Y, Nakamura S, Ohno H, Inukai T, Nagi M, Ueno K, Umeyama T, Kinjo Y, Yamagoe S, Shibuya K, Miyazaki Y. Intraspecies variation in the efficacy of adjunctive recombinant interferon-γ therapy against crypto-

coccal meningoencephalitis in mice. Med Mycol. 56(3):382-386, 2018.

3) Kinjo Y, Takatsuka S, Kitano N, Kawakubo S, Abe M, Ueno K, and Miyazaki Y. Functions of CD1d-Restricted Invariant Natural Killer T Cells in Antimicrobial Immunity and Potential Applications for Infection Control. Front Immunol. 6;9:1266, 2018.

4) Sunagawa K, Yagoshi M, Suzuki A, Seki T, Nakamura S, Miyazaki Y, Nakayama T, Hashimoto S, Sugitani M. Cytological and molecular detection of *Scedosporium apiospermum* in a patient treated for a *Mycobacterium avium* complex infection. Diagn Cytopathol. 46(7):642-644, 2018.

5) Takatsuka S, Yamada H, Haniuda K, Saruwatari H, Ichihashi M, Renauld JC, and Kitamura D. IL-9 receptor signaling in memory B cells regulates humoral recall responses. Nat Immunol. 19(9):1025-1034, 2018.

6) Alshahni MM, Yamada T, Yo A, Murayama SY, Kuroda M, Hoshino Y, Ishikawa J, Watanabe S, Makimura K. Insight into the draft whole-genome sequence of the dermatophyte *Arthroderma vanbreuseghemii*. Sci Rep. 11;8(1):15127, 2018.

7) Abe M, Kinjo Y, Ueno K, Takatsuka S, Nakamura S, Ogura S, Kimura M, Araoka H, Sadamoto S, Shinozaki M, Shibuya K, Yoneyama A, Kaku M, Miyazaki Y. Differences in ocular complications between *Candida albicans* and non-*albicans Candida* Infection analyzed by epidemiology and a mouse ocular candidiasis model. Front Microbiol. 9:1266, 2018.

8) Ueno K, Urai M, Sadamoto S, Shinozaki M, Takatsuka S, Abe M, Otani Y, Yanagihara N, Shimizu K, Iwakura Y, Shibuya K, Miyazaki Y, Kinjo Y. A dendritic cell-based systemic vaccine induces long-lived lung-resident memory Th17 cells and ameliorates pulmonary mycosis. Mucosal Immunol. 12(1):265-276, 2018.

9) Ueno K, Urai M, Izawa K, Otani Y, Yanagihara N, Kataoka M, Takatsuka S, Abe M, Hasegawa H, Shimizu K, Kitamura T, Kitaura J, Miyazaki Y, Kinjo Y. Mouse LIMR3/CD300f is a negative regulator of the antimicrobial activity of neutrophils. Sci Rep. 8(1):17406, 2018.

10) Tanabe K, Bonus M, Tomiyama S, Miyoshi K, Nagi M, Niimi K, Chindamporn A, Gohlke H, Schmitt L, Cannon RD, Niimi M, Lamping E. FK506 resistance of *Saccharomyces cerevisiae* Pdr5 and *Candida albicans* Cdr1 involves mutations in the transmembrane domains and extracellular loops. Antimicrob Agents Chemother. 63(1). pii:e01146-18, 2018.

11) Shirasago Y, Fukazawa H, Aizaki H, Suzuki T, Suzuki T, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Abe R, Fukasawa M. Thermostable hepatitis C virus JFH1-derived variant isolated by adaptation to Huh7.5.1 cells. J Gen Virol. 99(10):1407-1417, 2018.

12) Koike H, Ashizawa K, Hayashi H, Sakamoto I, Nakamura S, Nishino A, Hayashi T, Uetani M. Takayasu Arteritis Presenting as Unexplained Pulmonary Consolidation: A Case Report. Vasc Endovascular Surg. 52(7):579-582, 2018.

13) Mitsuki T, Kimura M, Araoka H, Kageyama K, Takagi S, Yamamoto G, Nakamura S, Miyazaki Y, Uchida N, Yoneyama A, Taniguchi S. Cryptococcal meningitis following umbilical cord blood transplantation, association between the occurrence of cryptococcal infection and tacrolimus discontinuation among allogeneic hematopoietic stem cell recipients. J Infect Chemother. 25(4):289-292, 2018.

14) Yamairi K, Ido K, Nakamura S, Niki M, Imoto W, Shibata W, Namikawa H, Fujimoto H, Yamada K, Nakamae H, Hino M, Kaneko Y, Miyazaki Y, Kakeya H. Successful treatment of invasive pulmonary aspergillosis caused by *Aspergillus felis*, a cryptic species within the *Aspergillus* section *Fumigati*: A case report. J Infect Chemother. 25(4):307-310, 2018.

15) Ueno K, Yanagihara N, Otani Y, Shimizu K, Kinjo Y, Miyazaki Y. Neutrophil-mediated antifungal activity against highly virulent *Cryptococcus gattii* strain R265. Med Mycol. doi: 10.1093/mmy/myy153, 2019.

16) Tsuboi M, Nishijima T, Nagi M, Miyazaki Y, Teruya K, Kikuchi Y, Gatanaga H, Oka S. Case Report: Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Caused by Disseminated Histoplasmosis in a Venezuelan Patient with HIV and Epstein-Barr Virus Reactivation Who Traveled to Japan. Am J Trop Med Hyg. 100(2):365-367, 2019.

17) Takatsuka S, Yamada H, Haniuda K, Ichihashi M, Chiba J, Kitamura D. DNA Immunization Using in vivo Electroporation for Generating Monoclonal Antibodies Against Mouse IL-9R. Bio-protocols. 9(4), 2019.

18) Nakamura S, Iwanaga N, Hara S, Shimada S, Kashima Y, Hayasaka D, Abe K, Izumikawa K, Yanagihara K, Miyazaki Y, Morita K, Kohno S, Mukae H. Viral load and inflammatory cytokine dynamics associated with the prognosis of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection: An autopsy case. J Infect Chemother. 25(6):480-484, 2019.

19) Fukazawa H, Fukuyama M, Miyazaki Y. Expression of Active *Staphylococcus aureus* Tyrosine Kinases in a Human Cell Line. Bio Pharm Bull. 2(3):411-416, 2019.

2. 和文発表

1) 宮﨑義継　侵襲性真菌症治療の新しい試み。Neuroinfection. 23(1):21-22, 2018.

2) 中村茂樹、宮﨑義継　抗菌化学療法入門。感染性疾患の病理. 36:59-75, 2018.

3) 梅山隆、宮﨑義継　関係法令と策定の手続き. 感染性疾患の病理。36:19-22, 2018.

4) 下坂寿希、林悠太、梅山隆、泉敦、木下均、中村茂樹、中山靖子、壇辻百合香、宮﨑義継、小川賢二　当院の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*の分子疫学解析。日本臨床微生物学雑誌. 28(3):183-191, 2018.

5) 中村茂樹　肺炎研究の新しい展開。臨床と微生物. 45(4):345-351, 2018.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Otani Y. Synthetic dextrose medium induces *Cryptococcus species* to expose dectin-1 ligands. The 7th Global Network Forum on Infection and Immunity. Chiba, Japan, 2018

2) Ueno K. A dendritic cell based systemic vaccine induces long lived lung resident memory Th17 cells and ameliorates pulmonary cryptococcosis. The 7th Global Network Forum on Infection and Immunity. Chiba, Japan, 2018

3) Takatsuka S, Hayashizaki K, Ueno K, Kubo M, Kinjo Y. The critical role of IL-21+ NKT cells in the formation of germinal center B cells by a protein-based pneumococcal vaccine.The 47th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology. Fukuoka, Japan, 2018

2. 国内学会等

1) 須原宏造、伊藤達哉、狭川玲、鎌倉栄作、高崎寛司、大場岳彦、原悠、河本涼介、笠原一郎、伊藤栄作、中村茂樹、宮﨑義継、磯貝進　器質

化肺炎を合併した肺ムーコル症の一例。第229回日本呼吸器学会関東地方会、2018年5月26日、東京

2) 青田宏人、高橋秀徳、小田智三、清水誠一郎、中村茂樹、宮﨑義継、岩崎吉伸　*Microascus expansus* によるアレルギー性気管支肺真菌症の一例。第 229 回日本呼吸器学会関東地方会、2018年5月26日、東京

3) 阿部雅広、金城雄樹、上野圭吾、髙塚翔吾、賀来満夫、宮﨑義継　マウスモデルを用いた *Candida* 眼内炎 (ocular candidiasis) における菌種毎の差異に関する解析。第 24 回真菌症フォーラム、2018年5月12日、東京

4) 森田　薫、木村俊一、齋藤桐子、早川仁、赤星佑、亀田和明、山本千裕、藤原慎一郎、越智真一、鈴木貫之、山田茂樹、田中亨、大城久、宮﨑義継、澁谷和俊、神田善伸　急性白血病に対する同種造血幹細胞移植前後に肺ムーコル症を合併した 4 症例。第 24 回真菌症フォーラム、2018年5月12日、東京

5) 川久保俊、酒井純、異島優、阿部雅広、高塚翔吾、上野圭吾、名木稔、中村茂樹、槙村浩一、竹山春子、丸山徹、前崎繁文、金城雄樹、宮﨑義継　カンジダ属真菌に対する S-ニトロソ化蛋抗真菌活性の解析。第 24 回真菌症フォーラム、2018年5月12日、東京

6) 梅山隆、林悠太、下坂寿希、犬飼達也、山越智、名木稔、中村茂樹、小川賢二、宮﨑義継　臨床分離されるアゾール耐性アスペルギルス属に対する新しい分子機構検証技術の導入。第24回真菌症フォーラム、2018年5月12日、東京

7) 犬飼達也、梅山隆、山越智、名木稔、中村茂樹、壇辻百合香、宮﨑義継　*Aspergillus fumigatus* CrkA が分生子形成に及ぼす影響。第 24 回真菌症フォーラム、2018年5月12日、東京

8) 中村茂樹　MRSA 感染症について一循環器領域を中心に一。C 型肝炎/感染症インターネット講演会、2018年5月18日

9) 阿部雅広、中村茂樹、満山順一、金城雄樹、賀来満夫、宮﨑義継　マウスモデルを用いた *Candida albicans* 播種性感染・眼内炎合併症に対する新規抗真菌薬 T-2307 の有効性評価。第92回日本感染症学会総会 第66回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018年5月31日-6月2日、岡山

10) 井口成一、水島遼、鎌田啓佑、板倉泰明、吉田敦、鵜沢豊、槇村浩一、宮﨑義継、菊池賢　本邦における臨床検体からの *Candida auris* 分離状況。第92回日本感染症学会総会 第66回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018年5月31日-6月2日、岡山

11) 上野圭吾、金城雄樹、宮﨑義継　病原性真菌 *Cryptococcus gattii* の自然免疫回避機構: 莢膜多糖による抗原被覆作用について。第 92 回日本感染症学会総会・第 66 回日本化学療法学会総会合同学会、2018年5月31日-6月2日、岡山

12) 梅山隆、犬飼達也、山越智、名木稔、中村茂樹、小川賢二、宮﨑義継　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。第 92 回日本感染症学会総会 第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018年5月31日-6月2日、岡山

13) 木村宗芳、荒岡秀樹、小倉翔、宮﨑義継、米山彰子　*Scedosporium aurantiacum* による副鼻腔真菌症の1例。第 92 回日本感染症学会総会 第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018年5月31日-6月2日、岡山

14) 金城雄樹、阿部雅広、上野圭吾、朴貞玉、明田幸宏、賀来満夫、大石和徳、宮﨑義継　蛋白ワクチンによる肺炎球菌感染防御効果及び抗体産生誘導機構の解析。第 92 回日本感染症学会総会 第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018年5月31日-6月2日、岡山

15) 名木稔、田辺公一、上野圭吾、犬飼達也、梅山隆、山越智、中村茂樹、宮﨑義継　病原真菌 *Candida glabrata* は細胞外からステロールを取り

込むことで抗真菌薬耐性となる. 第 92 回日本感染症学会総会 第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018 年 5 月 31 日-6 月 2 日、岡山

16) 宮﨑義継 多職種による診療が必要な侵襲性真菌症。第 92 回日本感染症学会総会 第 66 回日本化学療法学会学術集会合同学会、2018 年 5 月 31 日-6 月 2 日、岡山

17) 上野圭吾、浦井誠、定本聡太、篠崎稔、大谷淑子、柳原尚、髙塚翔吾、阿部雅広、林崎浩史、清水公徳、澁谷和俊、宮﨑義継、金城雄樹 高病原性クリプトコックス症に対する樹状細胞ワクチン (肺常在性記憶型 Th17 細胞による感染制御機構について)。第 29 回日本生体防御学会総会、2018 年 6 月 27-29 日、京都

18) 髙塚翔吾、川久保俊、仲原真貴子、浦井誠、上野圭吾、林崎浩史、竹山春子、大石和徳、宮﨑義継、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 と免疫応答メカニズムの解析。第 29 回日本生体防御学会総会、2018 年 6 月 27-29 日、京都

19) 阿部雅広、金城雄樹、上野圭吾、髙塚翔吾、定本聡太、篠崎稔、澁谷和俊、賀来満夫、宮﨑義継 マウスモデルを用いた *Candida* 眼内炎における菌種毎の発症頻度の差異に関する解析。第 39 回関東医真菌懇話会、2018 年 6 月 16 日、東京

20) 中村茂樹、中山靖子、壇辻百合香、犬飼達也、名木稔、梅山隆、山越智、宮﨑義継 アスペルギルス症の検査・診断。第 39 回関東医真菌懇話会、2018 年 6 月 16 日、東京

21) 中村茂樹 MRSA 感染症の治療―肺炎と菌血症を中心に―。Infection control forum in Shizuoka、2018 年 6 月 26 日、静岡

22) 髙塚翔吾、山田紘之、羽生田圭、猿渡博、市橋満里奈、金城雄樹、宮﨑義継、北村大介 IL-9 は記憶 B 細胞に発現する IL-9R を介して抗体産生を促進する。第 83 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2018 年 7 月 26-27 日

23) 中村茂樹 院内感染の最近の話題～CDI・MRSA・カンジダの話題を含めて～。広島赤十字・原爆病院平成 30 年度第 1 回感染管理研修会、2018 年 8 月 24 日、広島

24) 阿部雅広、中村茂樹、満山順一、金城雄樹、賀来満夫、宮﨑義継 カンジダ眼内炎マウスモデルでの *Candida albicans* 播種性感染・眼内炎に対する抗真菌薬 T-2307 の有効性の検討。第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

25) 上野圭吾、大谷淑子、柳原尚、清水公徳、定本聡太、篠崎稔、澁谷和俊、金城雄樹、宮﨑義継 *Cryptococcus gattii* によるクリプトコックス症～基礎研究における最新の話題～。第 62 回日本医真菌学会総会. 2018 年 9 月 8-9 日、東京

26) 上野圭吾、定本聡太、篠崎稔、大谷淑子、柳原尚、阿部雅広、清水公徳、澁谷和俊、宮﨑義継、金城雄樹 高病原性クリプトコックス症に対するワクチンとその感染制御作用、第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

27) 大谷淑子、上野圭吾、柳原尚、清水公徳、宮﨑義継、金城雄樹 病原性真菌 *Cryptococcus gattii* の莢膜多糖による抗原被覆作用。第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

28) 名木稔、田辺公一、上野圭吾、犬飼達也、山越智、梅山隆、中村茂樹、宮﨑義継 病原真菌 *Candida glabrata* は細胞外のステロールを取り込むことで抗真菌薬耐性となる。第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

29) 星野泰隆、宮﨑義継 アスペルギルス・フミガタスのアゾール系抗真菌薬耐性株の解析。第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

30) 柳原尚、上野圭吾、大谷淑子、清水公徳、宮﨑義継、金城雄樹 好中球による高病原性真菌 *Cryptococcus gattii* に対する殺菌機構. 第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

31) 森田薫、木村俊一、齋藤桐子、早川仁、赤星佑、亀田和明、山本千裕、藤原慎一郎、越智真一、鈴木貴之、山田茂樹、田中亨、大城久、宮﨑義

継、澁谷和俊、神田善伸　急性白血病に対する同種造血幹細胞移植前後に肺ムーコル症を合併した4症例。第 62 回日本医真菌学会総会. 2018 年 9 月 8-9 日、東京

32) 犬飼達也、梅山隆、宇田晶彦、青山俊弘、中山浩伸、栃木直文、篠崎稔、渋谷和俊、星野泰隆、髙塚翔吾、阿部雅広、山越智、名木稔、中村茂樹、宮﨑義継　*Aspergillus fumigatus* の血清存在下の生育に関与する因子の探索と病原性への影響。第 62 回日本医真菌学会総会、2018 年 9 月 8-9 日、東京

33) Yosi Nindita、稲田晋宣、Amirudin Akhmad Fauzi、手島愛子、見崎裕也、Rukman Muslimin、石川淳、木梨陽康、荒川賢治　*Streptomyces rochei* 7434AN4 株の線状ゲノムの全塩基配列決定。第 33 回日本放線菌学会大会、2018 年 9 月 11-12 日、東京

34) 犬飼達也、梅山隆、山越智、宇田晶彦、星野泰隆、髙塚翔吾、阿部雅広、栃木直文、篠崎稔、渋谷和俊、名木稔、壇辻百合香、中村茂樹、宮﨑義継　*Aspergillus fumigatus* の血清存在下の生育に必須な因子の同定と病原性解析。第 12 回アスペルギルス研究会、2018 年 9 月 22 日、東京

35) 中村茂樹　侵襲性カンジダ症診断の現状と今後の展望。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2018 年 10 月 24-26 日、東京

36) 宮﨑義継　侵襲性真菌症の基礎知識。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2018 年 10 月 24 日-26 日、東京

37) 壇辻百合香、中村茂樹、東祥嗣、阿部雅広、上野圭吾、梅山隆、山越智、宮﨑義継　パラフィン包埋試料を用いた真菌 DNA 検出状況に関する検討。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2018 年 10 月 24 日-26 日、東京

38) 平野龍一、三橋達郎、中村茂樹、宮﨑義継、大西基喜、北澤淳一　関節リウマチを基礎疾患に有し、COPD の増悪下に発症した *Rhodotorula mucilaginosa* による真菌血症の一例。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2018 年 10 月 24 日-26 日、東京

39) 酒井純、山本彗、西田裕介、中村茂樹、植松和嗣、宮﨑義継、大野秀明　多発空洞を呈し、L-AMB で軽快した肺ムーコル症の一例。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2018 年 10 月 24 日-26 日、東京

40) 阿部雅広、金城雄樹、上野圭吾、髙塚翔吾、定本聡太、篠崎稔、澁谷和俊、賀来満夫、宮﨑義継　*Candida albicans* 眼内炎マウスモデルの構築及び同モデルを用いた眼内炎発症機序に関する解析。第 67 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 65 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2018 年 10 月 24 日-26 日、東京

41) 壇辻百合香、中村茂樹、中山靖子、橋本ゆき、東祥嗣、犬飼達也、阿部雅広、名木稔、髙塚翔吾、上野圭吾、星野泰隆、梅山隆、山越智、宮﨑義継　真菌検査における最近 3 年間の糸状菌の菌種同定状況。第 30 回日本臨床微生物学会総会、2019 年 2 月 1-3 日、東京

42) 中村茂樹　咽頭炎の原因菌。第 30 回日本臨床微生物学会総会、2019 年 2 月 1-3 日、東京

43) 深澤秀輔　ヒト培養細胞株を用いた黄色ブドウ菌チロシンキナーゼの解析。日本薬学会第 139 年会、2019 年 3 月 20-23 日、千葉

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の上にゲノム編集技術やリピドミクスといった新しい手法も取り入れ、そして、所内外の共同研究を活用しつつ、感染宿主細胞側の研究を推進している。感染症対策に資する細胞の改良・開発研究も進展しつつある。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。L 型 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、さらにヒトからヒトへの水平感染を想定して、カニクイザルで2継代させた。初代伝播後ならびに2継代後のプリオンの病原性をマウスによるバイオアッセイで調べた結果、このヒト・モデルにおいては初代および2継代後も L 型から C 型は派生しないことがわかった。

当部で樹立した複数のラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体により、C 型肝炎ウイルス（HCV）感染が阻止できることを昨年度までに明らかにしている。今回、一部の抗体由来の、Fab フラグメントおよび single chain Fv（scFv）抗体により、HCV 感染を有意に阻害できることがわかった。一方で、Occludinを標的とした抗 HCV侵入阻害剤スクリーニング系を構築した。

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。昨年度までに LAPTM4A や TM95F2 の欠失変異は志賀毒素耐性を生じ、また、亜鉛トランスポーターファミリーSLC39A9 の欠失により SubAB 耐性が生じることを明らかにしていた。今回、LAPTM4A や TM95F2 は Gb3 合成酵素の局在や活性の制御に関与していることを明らかにした。さらに、SLC39A9 の欠失により C1GalT1 が低下し、O 型糖鎖の変化をもたらすことも明らかにした。

偏性細胞内寄生細菌 *Chlamydia trachomatis* がヒト細胞内で増殖する際、封入体膜タンパク質 IncD が宿主細胞のセラミド輸送蛋白質 CERT と結合して、CERT を封入体膜にリクルートする。IncD は中央部にヘアピン型膜貫通領域を持ち、N 末領域および C 末領域を宿主細胞の細胞質に露出させている。我々は、IncD は CERT との結合に N 末領域と C 末領域の両方を必要とすること、ヘアピン型膜貫通領域が自己会合能を有することを明らかにした。

HuH-7 細胞は日本人男性の摘出肝癌組織から樹立された不死化細胞株である。HuH-7 細胞に由来して、複数の細胞亜株が分離されており、これら細胞株は HCV などヒト感染性ウイルスの宿主細胞として感染症研究に汎用されている。HuH-7 細胞および Huh7.5.1-8 細胞の全ゲノム配列を決定した。この情報は、HuH-7 系統細胞の品質管理やゲノム編集による細胞改変を行う上で重要な基盤情報となる。また、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も行った。黄熱ウイルス（YFV）サブゲノミックレプリコンを持続的に維持する細胞の分離に成功した。

我々が開発した新規 CERT 阻害剤は、従来の CERT 阻害剤と同等の活性を示し、さらに、細胞培養条件下での安定性において従来型よりも優れていることを見出した。

昨年度立ち上げた網羅的脂質解析システムは本年度も順調に活用された。部内で作製した各種脂質代謝関連遺伝子欠失変異細胞も所内外で貢献した。

業　績

調査・研究

I. プリオン病に関する研究

1．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の動物種へ伝播すると、プリオンの特性が変化することがある。非定型 L 型 BSE プリオンがヒトへ伝播した例はこれまで知られていないが、もし L 型 BSE プリオンがヒトへ伝播したら、L 型 から従来型（C 型）BSE プリオンが派生・増殖するだろうか？ この疑問に答えるべく、L 型 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、さらにヒトからヒトへの二次感染を想定して、カニクイザル

で2継代させた。初代伝播後ならびに2継代後のプリオンの病原性をマウスによるバイオアッセイで調べた結果、このヒト・モデルにおいては初代および2継代後も L 型から C 型は派生しないことがわかった。[萩原健一、中村優子;佐藤由子、飛梅実(感染病理部);小野文子(岡山理科大);柴田宏昭(自治医大)]

2. プリオンの化学的性状と病原体特性についての研究

プリオンを構成する異常型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})のアミロイド様の多量体(凝集体)構造については、これまで幾つかのモデルが提唱されているが、実体は依然として不明である。凝集体構造解析の手がかりとなる生化学的知見を得ることを目的として、光ラジカル反応に基づくプリオン凝集体の架橋実験に着手した。[萩原健一]

3. L-BSE プリオンのヒトへの経口感染のリスク評価等を目的とした研究

ヒト・モデルとしてのカニクイザルへ非定型L-BSEプリオンを脳内接種すると、効率良く感染・伝播する。そこで、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、観察期間満了後の脳・神経組織の解析を行った。脳内接種実験の約 300 倍量の L-BSE プリオンを経口投与したが、経口投与ザルは観察期間中に明らかな神経症状を呈することなく、安楽死後の脳・脊髄の PrP^{Sc} の蓄積はウエスタンブロット分析の検出限界以下だった。[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(岡山理科大)]

4. ヒト培養細胞を用いたプリオン病モデルの確立

プリオン病は感染性かつ致死性の神経変性疾患であるが、プリオン病の発症機構については明らかではなく、また、予防法や治療法は未だ確立されていない。治療法の開発を困難にしている要因の一つにヒトプリオン病に特化した解析系が確立していないことがあげられ、プリオン病患者由来の組織をもとに病原体プリオンについての解析がより効率的に行える解析系を新たに開発する研究に着手した(ヒトを対象とする医学研究倫理審査申請承認済み)。本研究によりプリオンの性質をより正しく理解し、プリオン病に対する薬剤等の有効な治療法の開発に貢献することを目指す。[中村優子、萩原健一、花田賢太郎]

II. 肝炎ウイルスに関する研究

1. 一価および一本鎖抗 Occludin 抗体による C 型肝炎ウイルス(HCV)の感染阻害

これまでに、複数の樹立したラット抗 Occludin モノクローナル抗体およびヒトーラットキメラ型抗 Occludin モノクローナル抗体により、HCV 感染を阻止できる事を示してきている。Druggability の向上を目指して本年度は、、抗体の小型化を試みた。一部の抗体由来の、Fab フラグメントおよび single chain Fv(scFv)抗体により、HCV 感染を有意に阻害できることがわかった。一価の抗体でも感染を阻害できたことから、さらなる低分子でも阻害できる可能性が示唆された。

[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. Occludin を標的とした抗 HCV 侵入阻害剤スクリーニング系の構築

樹立したラット抗ヒト Occludin モノクローナル抗体により、HCV 感染を強力に阻止できる事が示され、さらに一価抗体によっても感染を阻害できることからより低分子での感染阻害が可能であることが示唆されてきた。そこで、Occludin を標的とした抗 HCV 侵入阻害剤をスクリーニングできる系の構築を試みた。HRP 標識した抗 Occludin 抗体を作製し、Occludin 発現細胞を用いることで、細胞表面 Occludin と抗 Occludin 抗体の結合を特異的に検出する Cell ELISA 系を構築した。本アッセイ系を用いることで、効率的に Occludin 結合分子(Occludin－Occludin 抗体結合を競合阻害する化合物)をスクリーニング可能であり、新規抗 HCV 侵入阻害剤候補が得られるかも知れない。

[深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、花田賢太郎;近藤昌夫、八木清仁(阪大薬)]

3. 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、引き続き、各種阻害剤の検討を進めている。微生物由来コレステロール代謝阻害剤のいくつかに、HBV 産生阻害傾向が見られることがわかった。一部の薬剤について検討した結果、ウイルスの複製が起こる以前の、侵入過程を阻害していることが明らかとなってきている。本来知られている脂質代謝阻害活性とは異なるメカニズムで作用していることが示唆され興味深い。

[深澤征義、鈴木咲帆、花田賢太郎;小林哲幸(お茶大理);渡士幸一、脇田隆字(ウイルス第二部);田中靖人(名市大)]

III. 感染症に関わる宿主細胞因子の遺伝学的研究

1. CRISPR ライブラリを用いた志賀毒素関連因子探索のためのゲノムワイドスクリーニング

以前レンチウイルス CRISPR ライブラリを用いたスクリーニングにより、遺伝子破壊で志賀毒素に耐性を示す遺伝子として、受容体 Gb3 の生合成に影響を及ぼす LAPTM4A および TM9SF2 を同定している。本年度は LAPTM4A が Gb3 合成酵素と相互作用することを明らかにした。また TM9SF2 欠損が Gb3 生合成酵素の細胞内分布に影響を及ぼすこと、C 末端の3アミノ酸が Gb3 生合成に影響することを明らかにした。

［山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

2．CRISPR ライブラリを用いた Subtilase cytotoxin 関連因子探索のためのゲノムワイドスクリーニング

以前腸管出血性大腸菌により産生される毒素、Subtilase cytotoxin（SubAB）に対して、上記の CRISPR 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。本年度はそのうち亜鉛トランスポーターファミリーの SLC39A9 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。昨年度受容体となる糖タンパク質糖鎖の変化を確認しているが、そのうち O 型糖鎖の変化はキー酵素である C1GalT1 を低下させることにより引き起こされることを明らかにした。また SLC39A9 のうち糖鎖生合成に影響を及ぼすアミノ酸を同定した。［山地俊之、花田賢太郎；関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）；八尋錦之助（千葉大・医）；花松久寿、古川潤一（北海道大・医）］

3．Gb3 様糖鎖エピトープを有した糖タンパク質の志賀毒素受容体としての機能解析

ハト由来の Gal 転移酵素である pA4GalT2 は Gb3 合成酵素 A4GalT のホモログであるが、基質特異性として糖タンパク質上に Gb3 類似構造を生合成する事が明らかとなっている。本研究ではゲノム編集法を用いて、糖脂質を欠失させた HeLa 細胞を作製し、この細胞に pA4GalT2 を発現させることで糖タンパク質のみ Gb3 様構造を有する細胞を樹立した。この細胞を用いた解析により、Gb3 様糖鎖含有糖タンパク質は志賀毒素の受容体となることを明らかにした。［森本貫太、花田賢太郎、山地俊之；鈴木詔子（新潟大自然）；鈴木佑典（日大理工）］

4．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

以前遺伝子のノックアウト及び過剰発現により JEV に耐性を示す宿主因子を同定するために、2種類の CRISPR ライブラリを用いたゲノムワイドスクリーニングを行った。本年度はスクリーニングで同定された遺伝子3種類に関して、遺伝子ノックアウト細胞株及び過剰発現細胞株を作製し、これら細胞が JEV の感染及び細胞死に対して耐性を示すことを確認した。［佐久間智理、齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎、山地俊之；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）］

5．黄熱ウイルス（YFV）サブゲノミックレプリコンを持続的に維持する細胞の分離

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、昨年度までに YFV ワクチン株（17D-204）のサブゲノミックレプリコンを作製した。今年度は当該レプリコンが持続的に維持されている Vero 細胞（レプリコン細胞）を分離した。今後は、レプリコン細胞を基に CRISPR/Cas9 による宿主因子のスクリーニング系を構築する予定である。［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）］

6．コーヒー含有成分カフェ酸による重症血小板減少症候群ウイルス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、コーヒー含有成分のカフェ酸に HCV 感染を阻害する活性があることを見出している。そこで、他のウイルスの効果についても検討した結果、重症血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）感染も阻害することを見出した。カフェ酸が SFTSV 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、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でウイルス感染を阻害していることがわかった。［深澤征義、白砂圭崇；小川基彦、下島昌幸、西條政幸（ウイルス第一部）］

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 は自身の FFAT モチーフを介して小胞体膜蛋白質 VAP と相互作用することによりセラミド輸送の効率を上げている。CERT の FFAT モチーフ近傍に位置する 315 番目のセリン残基（S315）がリン酸化されると、VAP との相互作用が増強され、セラミド輸送活性は更に上昇する。しかし、そのリン酸化シグナルの実体については分かっていない。我々はある種のストレスによって S315 のリン酸化が亢進することを見出していたが、そのストレスは細胞にアポトーシスを誘導することも知られていた。本年度の研究結果から、アポトーシスそのものが S315 のリン酸化要因ではないことを明らかにした。［島﨑健太朗、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 の N 末にはホスファチジルイノシトール 4-リン酸（PI4P）結合能を有するプレクストリン相同（PH）ドメインがあり、そのすぐ下流に制御性領域であるセリンリピートモチーフ（serine-repeated motif; SRM）が存在する。SRM が多重リン酸化されると、CERT の 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 SRM からなる領域（PH-SRM）を抜き出して NMR 解析を行い、PH-SRM に擬似的リン酸化を導入した PH-SRM（10E）では、PH ドメインと SRM（10E）領域との間に相互作用が起きることを見出した。PH-SRM（10E）の PI4P 結合活性は低下し、細胞内局在も変化した。我々はリン酸化された 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、これらの知

見を論文にまとめた。[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との結合に必要なIncD側の要件に関する研究

偏性細胞内寄生細菌である*Chlamydia trachomatis*は細胞内で増殖する際に、宿主細胞由来のセラミド分子、および、宿主細胞の CERT を必要とする。CERT はクラミジアの封入体膜に局在化することで、クラミジアへのセラミド供給を促進している。CERT の封入体膜への局在化メカニズムの一つは、封入体膜上のクラミジア由来タンパク質IncDがCERTと結合し、CERT を封入体膜にリクルートすることである。IncD は中央部にヘアピン型膜貫通領域を持ち、N 末領域および C 末領域を宿主細胞の細胞質に露出させている。我々は、IncDはCERTとの結合にN末領域とC末領域の両方を必要とすること、ヘアピン型膜貫通領域が自己会合能を有す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:高活性物質への展開

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み、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てシード化合物SC1を昨年度までに得た。そして、CERTのセラミド結合ドメイン START と候補化合物との共結晶解析からさらに親和性の高い化合物をデザインし、それを実際に化学合成した。その化合物のCERT STARTに対する親和性を定量的に調べ、よりよい化合物の場合は共結晶解析をするという一連の作業を繰り返し、 CERT STARTドメインとの解離定数が 1μM 以下の新規化合物E16に至った。ラセミ体であるE16を光学分割すると、片方の光学異性体 E16A により高い親和性があった。[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)]

5. 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 1μM 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 1μM 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。さらに質量分析を用いて、新規阻害剤の培地中および細胞内における安定性を調べた。新規阻害剤と既存の CERT 阻害剤 HPA-12 は、それぞれ培地のみおよび細胞培養上清において72時間まで同様の変動を示した。一方、それぞれの阻害剤の細胞内に存在する量は、HPA-12 に比べて新規阻害剤が約 2 倍多かった。さらに、HPA-12 は細胞内で経時的に減少したのに対して、新規阻害剤は72時間後まで高値を保っていた。以上の結果から、新たに開発した阻害剤は既存の HPA-12 よりも安定性や阻害効果の持続性の高い CERT 阻害剤であることが明らかとなり、これらの研究成果については論文にまとめた。[酒井祥太、江川大地、熊谷圭悟、花田賢太郎]

6. CERT 機能関連因子を見出すためのゲノムワイドスクリーニング

ライセニンは細胞膜上のスフィンゴミエリンに特異的に結合し、膜孔を形成する毒素であり、ライセニン耐性となったCHO細胞を相補するcDNAとしてCERTは発見された。CERTを適切に働かせるために必要な因子群を網羅的に同定することを目的とし、欠失によりライセニン耐性を示す遺伝子のゲノムワイドスクリーニングを HeLa 細胞において行った。その結果、スフィンゴ脂質合成、膜輸送、転写制御、翻訳制御、シグナリングに関わる因子などが同定された。それらの中から、CERTが小胞体ーゴルジ体間の膜近接領域 (メンブレンコンタクトサイト)で機能することへの関与が期待される複数の遺伝子を選択し、それらの欠失細胞株を作製した。これら欠失変異細胞株はライセニン耐性を示し、スフィンゴミエリン合成が低下していることを確認した。[水池彩、酒井祥太、山地俊之、花田賢太郎]

V. 感染症対策に資する培養細胞の研究

1. HuH-7 細胞及び Huh7.5.1-8 細胞 の全ゲノム配列決定

HuH-7 細胞は日本人男性の摘出肝癌組織から樹立された不死化細胞株である。HuH-7 細胞に由来して、Huh7.5, Huh7.5.1, Huh7.5.1-8 の細胞亜株が分離されており、これら細胞株はHCVなどヒト感染性ウイルスの宿主細胞として感染症研究に汎用されている。HuH-7 系統細胞の全ゲノム配列は、この細胞株の品質管理やゲノム編集による細胞改変を行う上で重要な基盤情報となる。そこで、HuH-7 細胞および Huh7.5.1-8 細胞の全ゲノム配列を決定すべく、これら細胞ゲノム DNA から構築したエンドペアーライブラリーに由来するショートリードをイルミナ HiSeq X でシーケシングし、得られたそれぞれ約18億個のショートリード配列をヒトゲノム参照配列GRCh38 に BWA MEM アルゴリズムを用いてマップした。[山地俊之、深澤征義、花田賢太郎;川本真輝、長田直樹(北海道大)]

2. 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。細胞内と培養上清のウイルス RNA 量を経時的に比較した結果、Huh7.5.1-8 細胞は Vero 細胞よりも複製速度が速いことがわかった。また感染初期では、Huh7.5.1-8 細胞のウイルス放出

効率が Vero 細胞よりも高いこともわかった。このような性質が、Huh7.5.1-8 細胞の JEV 高産生の原因と考えられた。［齊藤恭子、深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；鈴木亮介、脇田隆宇（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。ウイルス感染にはポリオ疑似ウイルス（PV1pv）を用い、宿主細胞として RD 細胞と HeLa 細胞を用いた系により、PV1pv 感染 7 時間後に宿主細胞の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、特に PI の増加量は他の脂質に比べて顕著であることを見出している。さらに、安定同位体標識したイノシトールを用いたリピドミクス解析によって、PV1pv 感染による PI 量の増加は *de novo* 合成経路を介したものであることを明らかにした。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

TSE 行政検査・確認検査（ウエスタンブロット法）の担当、等

TSE 行政検査・確認検査体制（ウエスタンブロット法）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い、試験成績を厚生労働省 医薬・生活衛生局 生活衛生・食品監視安全課へ報告した（平成30年10月、平成31年3月実施）。［萩原健一、中村優子］

また、国内の TSE 検査にかかる、同課からの技術的質問について回答した。［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）］

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、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。［酒井祥太、花田賢太郎］

5．アウトリーチ

(1) 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サイエンスカフェ「細胞」、「プリオン」を行った（2018.9.29）。［佐久間智理、水池彩、江川大地、鈴木咲帆、酒井祥太、熊谷圭悟、中村優子、齊藤恭子、山地俊之、深澤征義、萩原健一、花田賢太郎；飛梅実（感染病理部）］

(2)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（2018.10.3）。［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）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1) 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., 92, e02258-17, 2018 (selected by the editors of the Journal of Virology for inclusion in "Spotlight")

2) Sugiki T, Egawa D, Kumagai K, Kojima C, Fujiwara T, Takeuchi K, Shimada I, Hanada K, Takahashi H: Phosphoinositide binding by the PH domain in ceramide transfer protein (CERT) is inhibited by hyperphosphorylation of an adjacent serine-repeat motif. J. Biol. Chem., 293(28), 11206-11217, 2018 (T.S. and D.E. are co-first authors. K.H. and H.T. are co-correspondence)

3) Ikeda M, Satomura K, Sekizuka T, Hanada K, Endo T, Osada N: Comprehensive phylogenomic analysis reveals a novel cluster of simian endogenous retroviral sequences in Colobinae monkeys. Am. J. Primatol., 80(7), e22882, 2018

4) 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., 20(8),

e12846, 2018

5) 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., 24(8), 597-601, 2018
6) Hanamatsu H, Mitsutake S, Sakai S, Okazaki T, Watanabe K, Igarashi Y, Yuyama K: Multiple roles of Sms2 in white and brown adipose tissues from diet-induced obese mice. J. Metabolic Syndrome, 7(2), 2018
7) Esaki S, Nagasawa T, Tanaka H, Tominaga A, Mikami D, Usuki S, Hamajima H, Hanamatsu H, Sakai S, Hama Y, Igarashi Y, Kitagaki H, Mitsutake S: The fungal 9-methylsphingadienine is a novel ligand for both PPARg and GPR120. J. Food Biochem., 42(5), e12624, 2018
8) Murakami Y, Sugiyama K, Ebinuma H, Nakamoto N, Ojiro K, Chu P s, Tanik N, Saito Y, Teratani T, Koda Y, Suzuki T, Saito K, Fukasawa M, Ikeda M, Kato N, Kanai T, Saito H: Dual effects of the Nrf2 inhibitor for inhibition of hepatitis C virus and hepatic cancer cells. BMC Cancer, 18:680, 2018
9) Hanada K: Lipid-transfer proteins rectify inter-organelle flux and accurately deliver lipids at membrane contact sites (Invited review). J. Lipid Res., 59, 1341-1366, 2018
10) Saito K, Otsuki N, Takeda M, Hanada K: Liposome flotation assay for studying interactions between Rubella virus particles and lipid membranes. Bio-Protocol, 8(16), e2983, 2018
11) Shirasago Y, Fukazawa H, Aizaki H, Suzuki S, Suzuki T, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Abe R, Fukasawa M: Thermostable hepatitis C virus JFH1-derived variant isolated by adaptation to Huh7.5.1 cells. J. Gen. Virol., 99(10), 1407-1417, 2018
12) Ohashi H, Nishioka K, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watashi K: The aryl hydrocarbon receptor-cytochrome P450 1A1 pathway controls lipid accumulation and enhances the permissiveness for hepatitis C virus assembly. J. Biol. Chem., 293(51), 19559-19571, 2018
13) Kumagai K, Elwell C A, Andoh S, Engel J E, Hanada K: Both the N- and C- terminal regions of the Chlamydial inclusion protein D (IncD) are required for interaction with the pleckstrin homology domain of the ceramide transport protein CERT. Biochem. Biophys. Res. Commun., 505(4), 1070-1076, 2018 (K.K. and K.H. are co-correspondence)
14) Yamaji T, Sekizuka T, Tachida Y, Sakuma C, Morimoto K, Kuroda M, Hanada K: A CRISPR screen identifies LAPTM4A and TM9SF proteins as Glycolipid-Regulating Factors. iScience, 11, 409-424, 2019
15) Nakao N, Ueno M, Sakai S, Egawa D, Hanzawa H, Kawasaki S, Kumagai K, Suzuki M, Kobayashi S, Hanada K: Natural ligand-nonmimetic inhibitors to the lipid transfer protein CERT. Comms. Chem., 2, Article no 20, 2019 **(**N.N., M.U., and S.S. are co-first authors. S.K. and K.H. are co-correspondence**)**
16) Yumine N, Matsumoto Y, Ohta K, Fukasawa M, Nishio M: Claudin-1 inhibits human parainfluenza virus type 2 dissemination. Virology, in press
17) Shirasago Y, Inamori Y, Suzuki T, Tanida I, Suzuki T, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Fukasawa M: Inhibition Mechanisms of Hepatitis C Virus Infection by Caffeic Acid and Tannic Acid. Biol. Pharm. Bull., in press (a Highlighted paper selected by Editor-in-Chief)

２．和文発表

1) 水池彩、花田賢太郎：小胞体連携ゾーンを介した脂質輸送機構、生体の科学、69,541-545、2018
2) 花田賢太郎、平林義雄：セラミド研究史概略、「セラミド研究の新展開」、セラミド研究会編集、食品化学新聞社（東京都）、印刷中
3) 山地俊之：哺乳動物のセラミド関連脂質生合成、「セラミド研究の新展開」、セラミド研究会編集、食品化学新聞社（東京都）、印刷中
4) 熊谷圭悟：セラミド輸送タンパク質 CERT の機能制御、「セラミド研究の新展開」、セラミド研究会編集、食品化学新聞社（東京都）、印刷中
5) 酒井祥太、大野祐介：スフィンゴ脂質のリピドミクス概略、「セラミド研究の新展開」、セラミド研究会編集、食品化学新聞社（東京都）、印刷中
6) 中村優子：ウシ海面状脳症（BSE）問題とその後、日本医師会雑誌、147(6), 1220、2018
7) 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、薬学雑誌、139(1), 89-95、2019

8) 花田賢太郎：スフィンゴリン脂質、実験医学別冊「正しく基礎を固める脂質解析」、印刷中
9) 中村浩之，花田賢太郎：蛍光脂質、実験医学別冊「正しく基礎を固める脂質解析」、印刷中
10) 花田賢太郎（分担）：グッドマン・ギルマン薬理書（第13版）第56章：スルホンアミド類、トリメトプリム-スルファメトキサゾール、キノロン類および尿路感染症治療薬、廣川書店、印刷中

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Chauhan R, Shimizu Y, Watashi K, Wakita T, Fukasawa M, Michalak TI.: Retrotransposon elements are among initial sites of hepatitis B virus integration into human genome, 16th ISVHLD Global Hepatitis Summit, June 14-17, 2018, Toronto, Canada.
2) Kawamoto M, Endo T, Fukasawa M, Hanada K, Osada N: Search for the factors related to HCV replication in the HuH-7 cell line lineages, SMBE2018, July 11, 2018, Yokohama, Japan (Poster).
3) Otsuki N, Sakata M, Saito K, Hanada K, Takeda M, Mori Y: Current situation of rubella in Japan / Entry mechanism of rubella virus, The 15th Taiwan-Japan symposium on communucable diseases and prevention, and collaborative project reports, September 3-4, 2018, Taipei, Taiwan.
4) Hanada K: Establishment of natural ligand-mimetic and nonmimetic inhibitors to the ceramide transport protein CERT, 2nd Japan-Korea Lipid Joint Symposium, September 12-14, 2018, Sapporo, Japan (Invited speaker).
5) Puig-Basagoiti F, Fukasawa M, Aoyagi H, Zheng X, Suzuki R, Watashi K, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H: Antiviral activity of phospholipase A2 group V (PLA2G5) against HCV, The 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, October 8-11, 2018, Dublin, Ireland.
6) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Kuramochi K, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watashi K: Aryl hydrocarbon receptor-cytochrome p450 1a1 pathway regulates hepatic lipid biosynthesis to maximize hepatitis C virus production, The 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, October 8-11, 2018, Dublin, Ireland.
7) Lavie M, Linna L, Fukasawa M, Jean Dubuisson J: Role of the cytosolic domain of occludin in trafficking and HCV infection, The 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, October 8-11, 2018, Dublin, Ireland.
8) Ito M, Fukasawa M, Kohara M, Suzuki T: PLA2G4C induced by HCV infection leads to stabilization and accumulation of lipid droplets, The 25th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, October 8-11, 2018, Dublin, Ireland.
9) Hanada K: Nonvesicular comings and goings of lipids in the Golgi, FEBS 2018 Advanced Course “The 2018 Golgi meeting: Membrane trafficking in cell organization and homeostasis”, October 15-19, 2018, Sorrento, Italy (Invited speaker).
10) Kumagai K, Tachida Y, Sakai S, Yamaji T, Hanada K: Chlamydia trachomatis requires host ceramide-transport protein CERT but not sphingomyelin synthases for the infection and proliferation in HeLa cells, 9th CBRS, March 18-21, 2019, Seattle, USA.

2. 国内学会

1) 江川大地、杉木俊彦、熊谷圭悟、児嶋長次郎、藤原敏道、竹内恒、嶋田一夫、高橋栄夫、花田賢太郎：リン酸化によるセラミド輸送蛋白質 CERT の PH ドメイン機能抑制機序、第 60 回日本脂質生化学会、2018.5.31-6.1、八王子
2) 立田由里子、熊谷圭悟、酒井祥太、山地俊之、花田賢太郎：*Chlamydia trachomatis* は細胞内寄生に宿主のスフィンゴミエリン生合成を必要としない、第 60 回日本脂質生化学会、2018.5.31-6.1、八王子
3) 相崎英樹、ホッサムゲワイド、青柳東代、Zheng Xin, Francesc Puig-Basagoiti、渡士幸一、鈴木亮介、熊谷圭悟、山地俊之、深澤征義、酒巻有里子、花田賢太郎、村松正道、脇田隆字：スフィンゴ脂質の C 型肝炎ウイルス複製における役割の解析、第 28 回抗ウイルス療法学会学術集会、2018.6.7-9、札幌
4) 新家粧子、熊谷圭悟、杉木俊彦、小林直宏、藤原敏道、花田賢太郎、児嶋長次郎：セラミド輸送蛋白質 CERT の PH ドメインとクラミジア菌寄生胞 IncD 蛋白質の会合機序の構造生物学的解明、第 18 回日本蛋白質科学会年会、2018.6.26-28、新潟
5) Kawamoto M, Endo T, Fukasawa M, Hanada K, Osada N: Search for the factors related to HCV replication in the HuH-7 cell line lineages, SMBE2018, 2018.7.11, Yokohama
6) 小川基彦、白砂圭崇、安藤秀二、下島昌幸、西條政

幸、深澤征義:コーヒー由来天然化合物・カフェ酸の重症血小板減少症候群ウイルスに対する感染阻止効果、第 1 回 SFTS 研究会、2018.9.8-9、東京

7) 深澤征義:HCV 侵入機構とその感染予防・治療薬への応用、第 62 回日本薬学会関東支部大会、2018.9.16、東京
8) 池田昌輝、里村和浩、関塚剛史、花田賢太郎、遠藤俊徳、長田直樹:旧世界ザルゲノムに存在する内在性サルレトロウィルス(SERV)配列の探索と分子系統解析、日本遺伝学会第 90 回大会、2018.9.19-21(9/21)、奈良
9) 熊谷圭悟、立田由里子、酒井祥太、山地俊之、花田賢太郎:宿主細胞のスフィンゴミエリン合成酵素は *Chlamydia trachomatis* の細胞内寄生に必須ではない、第 36 回日本クラミジア研究会学術集会、2018.9.22、札幌
10) 酒井祥太、中尾直樹、上野雅晴、江川大地、半沢宏之、川崎祥平、熊谷圭悟、鈴木誠、小林修、花田賢太郎:天然リガンドと構造類似性のない脂質輸送タンパク質 CERT の新規阻害剤、第 91 回日本生化学会大会、2018.9.24-26、京都
11) 白砂圭崇、稲森陽子、谷田以誠、脇田隆宇、鈴木哲朗、鈴木建、花田賢太郎、深澤征義:カフェ酸による C 型肝炎ウイルス感染阻害メカニズムの解析、第 91 回日本生化学会大会、2018.9.24-26、京都
12) 立田由里子、熊谷圭悟、酒井祥太、山地俊之、花田賢太郎:*Chlamydia trachomatis* は細胞内寄生に宿主のスフィンゴミエリン生合成を必要としない、第 11 回セラミド研究会、2018.10.26-27、東京
13) 小川基彦、白砂圭崇、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸、深澤征義:コーヒー由来天然化合物・カフェ酸の重症血小板減少症候群ウイルスに対する感染阻止効果、第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018.10.28-30、京都
14) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Muramatsu M, Wakita T, Watashi K:C 型肝炎ウイルス感染による芳香族炭化水素受容体依存的な脂質蓄積の分子機構解析、第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018.10.28-30、京都
15) 山地俊之:遺伝子編集法を用いた宿主細胞因子の探索及び糖鎖生合成研究への応用、第 16 回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム、2018.11.26、東京
16) 山地俊之:ゲノム編集法を用いた糖鎖・脂質代謝関連因子の探索、第 2 回オルガネラゾーン研究会、2018.12.18、東京
17) 齊藤恭子、深澤征義、白砂圭崇、鈴木亮介、脇田隆宇、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 細胞におけるフラビウイルス産生の比較解析、日本薬学会第 139 年会、2019.3.20-23、千葉
18) 小川基彦、白砂圭崇、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸、深澤征義:重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対するカフェ酸の感染阻害効果、日本薬学会第 139 年会、2019.3.20-23、千葉
19) 鈴木建、清水芳実、白砂圭崇、米田宏平、多田稔、石井明子、八木清仁、近藤昌夫、深澤征義:C 型肝炎ウイルス感染阻害活性を有する occludin 抗体の druggability 向上に向けた検討、日本薬学会第 139 年会、2019.3.20-23、千葉

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 30 年度は、2020 東京オリンピック・パラリンピックを控え、節足動物媒介感染症対策の強化が望まれる一方で、国民の関心が低下しつつあることを憂慮した。昆虫医科学部は、これら感染症の国内流行阻止を目標に、アジア諸国との連携を深め、媒介節足動物に関する情報を収集、病原体解析法ならびに殺虫剤による効果的な防除法を検討し、その情報発信に努めた。レファレンス業務として 7 件の衛生害虫類の同定依頼に応じた。研究及び業務の概要は以下の通りである。

国内での分布北限を監視しているヒトスジシマカは、平成 28 年に青森市での定着が確認された。その後ヒトスジシマカ定着の要因である年平均気温 11℃以上である北海道道南地域（小樽、札幌、函館）で調査を行ったが、本種の生息は確認できなかった。北陸 3 県の渡り鳥飛来地において媒介動物（蚊、マダニ）およびウイルスの越境の可能性を検討した。日本脳炎媒介蚊コガタアカイエカにおいては、遺伝子型で鑑別可能な日本型と大陸型の形態を比較したが、両型間に形態的差異はほとんど認められなかったことから、種の独立性の検討に必要な交雑実験のために室内維持系統の確立を試みた。また、SFTS 発生地におけるマダニ相および周辺の環境データを用いて、景観スケールによるマダニ生息環境を解析し、さらに野生動物の分布情報を加え、マダニ分布マップを試作した。不快害虫であるフンコバエ類を含む無弁翅ハエ類の分類学的、生態学的情報の蓄積に務めた。

日本脳炎ウイルス（JEV）保有調査を継続している長崎県の定点調査地において、捕集されたコガタアカイエカの 3 プールから 1 型 JEV が分離され、それらは 2017 年に中国で分離された株と近縁であることが明らかになった。本邦産タカサゴキララマダニから分離した新規トゴトウイルス属ウイルス（Oz virus と命名）の性状解析および分子系統解析を行い、米国でヒト死亡例を報告した Bourbon virus に近縁であることが示唆された。次世代シーケンサーによる病原体の網羅的解析法を構築し、国内外の蚊、マダニ、サシチョウバエ等の衛生害虫類から新規を含む多様なウイルスを検出した。また、国内外のヒトスジシマカおよびガーナ産ネッタイシマカのデングウイルス感受性を評価し、サシチョウバエについても同様のウイルス感受性評価のための室内維持系統の確立を試みた。

バングラデシュにおいてサシチョウバエの防除は困難であるが、その理由として、ナトリウムチャネル（Vssc）遺伝子中にピレスロイド剤抵抗性に関わるアミノ酸変異が複数存在することが考えられた。新たに設計したキャプチャープローブで二ホンサシチョウバエの Vssc 全エクソン配列を得ることができ、国内サシチョウバエの殺虫剤抵抗性研究の基盤を作った。蚊においては、抵抗性レベルが非常に高いネッタイシマカが世界中に散在し、アジアのヒトスジシマカにも抵抗性の発達が危惧される現状を把握した。この Vssc 遺伝子型から、近年、中部国際空港で発見されたネッタイシマカは、ベトナムおよびその周辺から移入したと推察された。CRISPR/Cas9 によるゲノムノックアウトから、ネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性に関わるシトクロム P450 を特定し、本技術がイエバエにも応用できることを確認した。ネッタイトコジラミの多くはアセチルコリンエステラーゼ遺伝子に有機リン剤抵抗性をもたらす一因である点突然変異 F348Y を有するため、駆除に際して感受性であるトコジラミとの鑑別が重要であることを提言した。昨年に続き、野外での効果的な殺虫剤の散布法を検討し、殺虫剤の最適濃度、各散布法の長所・短所を明らかにした。

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、林 利彦、薬剤耐性研究（AMR）センター第六室（併任）非常勤職員として糸川健太郎（11 月 1 日より病原体ゲノム解析研究センター主任研究官として採用）、AMED リサーチレジデントとして小林大介、研究生として Michael Amoa-bosompem（東京医科歯科大院）、Astri Nur Faizah（東京大院）、実習生として駒田茜里（明治大）、黒木章弘（東京大）、臨時職員として古城一美、高岡安希、廣中和江、ほか客員研究員および協力研究員の協力により業務・研究を遂行した。

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

2018 年 8 月に米子水鳥公園および安来市飯梨川周辺の休耕田でドライアイストラップによって蚊の採集を行った。米子水鳥公園ではイナトミシオカが採集された。安来市の休耕田では、コガタアカイエカ、アカイエカ群、カラツイエカ、イナトミシオカ、ヒトスジシマカが採集された。また、安来市の休耕田で採集された幼虫からは、コガタアカイエカとアカツノフサカが羽化した。安来市でのイナトミシオカの採集は島根県における本種の初記録であり、本種は中海の沿岸部に広く分布している可能性がある。採集されたコガタアカイエカは、継代飼育を行って実験系統の確立を試みた。[津田良夫;金京純(鳥取大)]

2. 八王子滝山里山保全地域における疾病媒介蚊調査

里山の蚊相および鳥マラリアの流行状況を調べることを目的として、八王子滝山里山保全地域で 2018 年 5 月－9 月に CO_2 トラップおよびスウィーピングによる定期調査を実施した。CO_2 トラップは月に 1 または 2 回、朝－昼に 10 基設置し、約 24 時間後に回収した。捕集時に生存していた雌蚊成虫は解剖して中腸を観察し、原虫オーシストの有無を調べた。解剖個体および捕集時に死亡していた個体はすべて頭胸部と腹部に分け 1－複数個体をプールして PCR による鳥マラリア原虫遺伝子の検出を行った。アカイエカ群とヒトスジシマカを優占種とする 5 属 10 種 1、035 個体の成虫が捕集された。鳥マラリア原虫遺伝子が確認されたサンプルはすべてアカイエカ群で(最小感染率:1.3%、 9/670)、6 月から 9 月を通して陽性個体が認められた。このうち 6 検体では頭胸部と腹部の両サンプルから原虫 DNA が検出され、2 検体では中腸にオーシストが観察された。検出された鳥マラリア原虫は 4 genetic lineages に分類され、いずれも国内の他地域で報告がある系統であった。[津田良夫;佐々木晴子、加藤卓也(日本獣医生命科学大)]

3. 雨水枡の殺虫剤処理がヒトスジシマカ成虫のトラップ捕集数に与える影響

感染研構内のヒトスジシマカの発生源である雨水桝を幼虫発育阻害剤で処理して成虫の発生を抑制し、トラップ捕集数がどの程度減少するかを調べた。2018 年 6 月から 9 月初めまで、2 週間間隔で幼虫調査を行い、ヒトスジシマカが発生している雨水マスには IGR 処理を行った。IGR 処理を行った雨水マスでは溜まっていた水とともに発生していた蛹・幼虫を 2 週間後に採集し、羽化阻害率を調べた。ドライアイストラップによる成虫調査は、毎週 1 回実施した。IGR 処理 2 週間後の羽化阻害率は、91.7、83.3、100%とかなり高い効果が得られた。トラップ調査の結果、2018 年のヒトスジシマカの発生消長は 2017 年と非常によく似た傾向を示したが、年間の総捕集数は 2、602 個体とこれまでの最多捕集数であった。これらの結果から、感染研構内のトラップで捕集されているヒトスジシマカはほとんどが構内ではなく別の場所で発生していると考えられた。[津田良夫]

4. 与那国島の蚊相調査

2017 年 11 月に行った調査で未記録種 1 個体を採集したことから、さらにサンプルを集める目的で 2018 年 10 月 13 日から 15 日まで全島を対象とした蚊相調査を行った。成虫は、CDC 型ライトトラップ 7 台とドライイーストトラップ 3 台、捕虫網を用いた 8 分間人囮法を用いて採集した。ライトトラップは夕方 16 時から翌朝 8 時まで、ドライアイストラップは午前 10 時から翌朝 8 時まで設置した。幼虫は、様々な発生源で柄杓やピペットなどを用いて行った。その結果、成虫採集では 6 属 12 種 88 個体、幼虫採集では 5 属 9 種 243 個体を採取した。住宅地と港で行った人囮採集では、代々木公園周辺で発生したデング熱流行時のヒトスジシマカの平均密度 7.13 雌/人/8 分より高かった。これまで、与那国島からは 11 属 31 種が報告されており、今回採集された蚊種は普通種で、昨年採集した未記録種は含まれていなかった。調査で得られたサンプルのうち、数個体を乾燥ピン標本にし、DNA バーコード用の試料とした。 [前川芳秀]

5. ヒトスジシマカの国内分布と密度に関する研究

2018 年 8 月 28 日－31 日、北海道函館市と小樽市、札幌市内の緑地や墓地、公園など 14 カ所で、捕虫網を用いた 8 分間人囮法ならびに幼虫発生源の探索を行った。成虫採集では 3 属 7 種 158 個体を捕集し、ヤマトヤブカが最も多かった。幼虫採集では 2 属 3 種 143 個体が得られ、羽化成虫を種同定した結果、ヤマトヤブカ、次いでアカイエカ群が多かった。小樽市と函館市で、ヒトスジシマカの近縁種であるヤマダシマカが少ないながらも成虫・幼虫共に採集できたが、ヒトスジシマカは採集されず生息を確認で

きなかった。一方で、ヤマトヤブカおよびアカイエカ群はウエストナイルウイルスの潜在的媒介蚊と考えられており、ヤマダシマカはデングウイルス感受性である。今後もヒトスジシマカの分布北限の監視を続け、これら病原体媒介蚊の生息分布および密度データを蓄積する必要がある。[前川芳秀、比嘉由紀子、澤邉京子;山内繁(小樽検疫所)]

6. 能登半島における感染症媒介蚊の発生状況、2013 年～2018 年

能登半島は、渡り鳥や渡り蝶(アサギマダラ)の飛来地・通過地として知られている。長距離移動が考えられるコガタアカイエカも飛来している可能性があると思われることから、能登半島における蚊の発生状況を把握する目的で調査を行った。2013 年および 2014 年は日本海に面した輪島市下山町の斜面水田地域、2015 年および 2016 年は珠洲市笹波町の海岸近くの水田、内陸部の珠洲市石神町の隔離された水田、富山湾側の珠洲市三崎町の水田地域に CO_2トラップを設置した。2017 年および 2018 年は引き続き珠洲市三崎町の水田地域、珠洲市唐笠町の牛舎脇、能都町の丘陵部肥育牛舎の脇、輪島市門前町の水田地域にトラップを設置し、毎年 5 月から 10 月まで、原則月に 1 回調査を行った。これまでの調査で 17 種の蚊が確認され、コガタアカイエカが最も多く捕集された(42.38 個体/トラップ 1 台/日)であった。次いでアカイエカ 4.34 個体、シロカタヤブカ 0.62 個体であり、これら 3 種は全 7 調査地で捕集された。コガタアカイエカは比較的海岸に近い広い水田地域で多く捕集され、斜面水田や牛舎周辺では少ない傾向があった。[渡辺護、澤邉京子;渡辺はるな(富山市)]

7. 日本型および大陸型コガタアカイエカの形態の違い

日本脳炎媒介蚊であるコガタアカイエカには種レベルで異なる日本鹿児島県本土以北特有の遺伝子型をもつ日本型とそれ以外の国と琉球列島に分布する大陸型の 2 集団が国内に分布することが明らかになっている。異なる遺伝型で外部形態レベルの差があるかを調べる目的で、両集団の幼虫、蛹、成虫の形態比較を行った。予備観察で調べた 56 形質のうち、2 型で最も異なる可能性が大きい幼虫呼吸管比(長さ/幅)、蛹呼吸角比(長さ/幅)の 2 形質について、長崎産・佐賀産・島根産・愛知産・埼玉産(日本型)およびベトナム産・タイ産(大陸型)の標本を調べた。幼虫呼吸管比、蛹呼吸角比ともに日本型と大陸型の差よりも地域差が大きかった。両型間に明らかな外部形態の違いはほとんどないと考えられた。[比嘉由紀子、澤邉京子]

8. 日本型コガタアカイエカの実験室系統確立の試み

島根県安来市で 2018 年 8 月に採集されたコガタアカイエカ雌 58 個体を用いて実験室系統の確立を試みた。野外採集雌は日本脳炎ウイルスに感染している可能性が否定できないため、人工吸血装置を用いて吸血をさせた後、卵を得た。人工吸血に用いたメンブレンの日本脳炎ウイルスの有無についてPCRを行い、未感染であることを確認した。また、ミトコンドリア DNA バーコーディング領域の配列により、日本型であることを確認した。本種は広所交尾性であるため F_1、F_2 世代は 50×50×100cm の巨大ケージで飼育を行い、世代を経るに伴い、ケージサイズを小型化した。F_{10} 現在は、40×30×40cm ケージでの飼育が可能となっている。卵塊の孵化率は F_2 の 6.9%から次第に上昇し、F_{10} では 100%となった。今後は大陸型コガタアカイエカの飼育系統の確立を試み、日本型および大陸型の交雑実験によって前者の種の独立性を検討する予定である。[比嘉由紀子、津田良夫]

9. 長崎県における蚊の鳥マラリア原虫保有状況調査

2018 年 4 月－10 月に長崎市内で CDC 型ライトトラップを用いて蚊の採集を行った。採集蚊は種同定後、アカイエカ群については解剖を行った。解剖前に死亡した個体は分子生物学的に鳥マラリア原虫の有無を調べた。全期間で 4 属 9 種 911 個体の成虫が採集され、そのうち 78%がヒトスジシマカであり、続いてオオクロヤブカ(5%)、アカイエカ群(5%)であった。全 911 個体のうち、844 個体が雌であり、そのうち 284 個体(33.6%)を生きた状態で回収し解剖したところ、マラリア原虫のオーシストは認められなかった。現在、解剖できなかった 560 個体について、Nested PCR による鳥マラリア原虫由来DNA の検出を行なっている。全 251 プール中、185 プールについて PCR を行なったが、鳥マラリア原虫は検出されていない。今後、さらに実験を続ける予定である。[比嘉由紀子、津田良夫;金京純(鳥取大);二見恭子(長崎大熱研)]

10. 渡り鳥飛来地における蚊・マダニ相の調査

渡り鳥による病原体を媒介する節足動物やウイルスの越境の可能性を検証する目的で、2018 年 4 月－11 月に石川県および富山県の渡り鳥飛来地 6 か所でフランネル法により植生マダニを採取し、5 月－11 月に石川県加賀市の片野鴨池周辺でCO_2トラップにより蚊の採集を月 1 回行った。植生マダニは 3 属 8 種が採集され、優占種はキチマダニであり、フタトゲチマダニが続いた。いずれも鳥類寄生の報告が多い種である。得られたサンプルを用いて、吸血源動物の特定および

ウイルス分離実験を行う予定である。一方、蚊は 4 属 11 種が採集され、数が最も多かったのはコガタアカイエカであり、次いでハマダライエカ、カラツイエカであった。いずれも水田から発生する種であった。これまでにこの 3 種からは日本脳炎ウイルスが分離されており、近年、中国および韓国において日本脳炎ウイルス V 型が分離されていることからも今後注視すべきである。[比嘉由紀子、渡辺護、林利彦、澤邉京子]

11. 景観スケールにおけるマダニ生息環境の評価

マダニ出現リスクマップを作成するために、野外調査によって得られたマダニ相と周辺の環境要因に関して解析を行った。環境要因としては、年平均気温、夏季降水量、冬季降水量、海からの距離、積雪日数、TWI、さらに土地利用要因を使用した。これらを Detrended Correspondence Analysis を用いて分析した結果、調査地点別にみると気温の影響が一番大きく、次いで森林・草地率、農地率の順に影響度が高かった。マダニ属毎の結果では夏季の降水量の影響が一番大きく、次いで景観要素の多様性と TWI の影響が大きかった。これらの結果はマダニ生息密度のリスクマップの作成に有用である。[駒形修、澤邉京子；中尾勝洋（森林総合研究所）]

12. SFTS 症例報告数の地理分布

届出数による SFTS 症例報告数の地理的分布について検討した。SFTS 届出数における空間自己相関を検討した結果、届出数に正の空間自己相関があったことから、分布を規定する要因の存在を示唆した。そこで、自己回帰モデルにより、2018 年の都道府県別症例報告数を、シカ個体数、森林面積、人工林面積、農地、平均気温、年降水量から説明できないか解析を行った結果、有効なモデルが構築され、このモデルでは森林面積とシカ個体数(県別推定値)の寄与度が高かった。今後、SFTS のリスクマップを作成する上で有用だと思われる。[駒形修、澤邉京子；中尾勝洋（森林総合研究所）]

13. 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

日本産コガタフンコバエ属（Genus *Minilimosina*）について以前調べた際に 3 種を認めたが、今回更に北海道と沖縄県から 1 種ずつ未記載種を発見した。本結果から、コガタフンコバエ属は日本に 5 種生息することが示唆された。[林利彦]

Ⅱ. 衛生昆虫類の病原体の分離と検出、および媒介生理に関する基礎的研究

1. 2018 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、2018 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 *Culex tritaeniorhynchus*（1,686 頭、68 プール検体）からのウイルス分離を試みた。その結果、3 プール検体から JEV が分離され、遺伝子解析の結果、3 株ともに遺伝子型 I 型と同定された。さらに分子系統解析の結果、3 分離株は 2017 年に中国で分離されたウイルス株と近縁であることが明らかとなった。[小林大介、Astri Nur Faizah、Michael Amoa-bosompem、伊澤晴彦、佐々木年則、津田良夫、比嘉由紀子、澤邉京子；二見恭子、森本康愛、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. 本邦マダニ類のマダニ媒介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マダニ媒介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、主に愛媛県、石川県および富山県でマダニ類を採集し、ウイルス分離を試みた。これまでのところ、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。[小林大介、Astri Nur Faizah、Michael Amoa-bosompem、渡辺護、前川芳秀、比嘉由紀子、林利彦、澤邉京子、伊澤晴彦；鍬田龍星、下田宙、前田健（山口大）；木村俊也（八幡浜保健所）；菅美樹、服部昌志、 四宮博人（愛媛県立衛生環境研究所）；山内健生（兵庫県大）]

3. 愛媛県で採集されたマダニから分離した新規トゴトウイルスの性状解析

2013 年 7 月に捕集されたタカサゴキララマダニ検体の 1 プールから、オルソミクソウイルス科トゴトウイルス属に属すると考えられる新規ウイルスの分離に成功し、Oz virus（OZV）と命名した。ウイルス感染細胞の電子顕微鏡観察では、エンベロープを有する多形性のウイルス粒子産生が認められた。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 6 種類のウイルス蛋白質（PB2、PB1、PA、GP、NP、M）の配列を基に分子系統解析を行った結果、OZV は代表的なマダニ媒介性トゴトウイルスの一種である Dhori virus が含まれるグループに属し、なかでも近年米国で発見された新興ウイルスでヒトの死亡例も報告されている Bourbon virus に近縁な新規トゴトウイルスであることが判明した。OZV はいくつかの哺乳動

物細胞で効率よく増殖し、乳のみマウスの脳内接種において強い病原性を示した。以上の結果から、これまで知られていないトゴトウイルスが日本国内に分布していることが明らかとなり、今後さらに詳細な分布実態の解明と疫学的調査、ならびに病原性解析が必要であると考えられた.[伊澤晴彦、江尻寛子、藤田龍介、室田勝功、小林大介、澤邉京子;林昌宏、西條政幸(ウイルス第一部)、鍬田龍星、下田宙、前田健(山口大);木村俊也(八幡浜保健所);菅美樹、四宮博人(愛媛県立衛生環境研究所)]

4. 次世代シークエンサーを用いたマダニ保有ウイルスの解析法の検討

本研究では、次世代シークエンサー(NGS)Miniseq を用いて、マダニ保有ウイルスのサーベイランスに対する有効性を検討した。2017 年から 2018 年にかけて石川県および富山県で採集された 721 頭のマダニを 121 検体に集約し、マダニ破砕液から RNA 抽出を行い、NGS のライブラリーを合成後、Miniseq による解析を行った。また、前述の破砕液を BHK-21 細胞へ接種してウイルス分離を試み、盲継代後の培養上清を用いて同様の手順により NGS 解析を行った。de novo アセンブリにより得られた contig を blast 検索することによりウイルス配列を同定した結果、マダニ破砕液由来のサンプルからは Kabuto mountain virus(KAMV)や Okutama tick virus、その他、新規のイフラウイルスなど様々なウイルスの部分配列が検出された。また、ウイルス分離培養上清からは、Tarumizu tick virus(TarTV)や KAMV の配列が得られた。TarTV は、マダニ破砕液から得られた配列データのみからではウイルス種の同定には至らず、ウイルス分離培養上清を用いることで、ウイルス種を特定することが可能であった。以上の結果から、 Miniseq のような低出力 NGS の場合は、マダニ破砕液からのウイルス検出とウイルス分離を並行して行うことが、マダニ媒介ウイルスのサーベイランスとして有効であると思われた。[小林大介、室田勝功、糸川健太郎、Astri Nur Faizah、Michael Amoa-bosompem、渡辺護、前川芳秀、比嘉由紀子、林利彦、澤邉京子、伊澤晴彦]

5. コガタアカイエカの RNA ウイルス叢解析

日本脳炎ウイルス(JEV)の媒介蚊として重要なコガタアカイエカが保有する RNA ウイルス叢を解析するため、2017 年に国内の 3 地点(長崎県、石川県、鳥取県)で捕集されたコガタアカイエカを用いて、次世代シーケンサーによる RNA ウイルス叢解析を行った。その結果、石川県のサンプルからは JEV が検出され、その他 3 地点のサンプルで共通して、新規ウイルスを含む多様なウイルスが検出された。今後はこれらウイルスについて、詳細な遺伝子解析などを進める予定である。[Astri Nur Faizah、小林大介、Michael Amoa-bosompem、伊澤晴彦、渡辺護、澤邉京子;金京純(鳥取大);三浦こずえ、平山和宏(東京大)]

6. 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。捕集蚊のウイルス分離を行ったところ、昆虫フラビウイルスである Aedes flavivirus や Cell fusing agent virus に加えて、未知のレオウイルス様ウイルスが分離された。この新規レオウイルスは 3 か所の調査地すべてで分離されており、ベトナム国内に広く分布していると考えられた。また、イエカ属やヌマカ属蚊についてもウイルス分離を行ったところ、新規ウイルスがさらに 4 株分離され、日本国内とは異なるウイルス叢が形成されていることが示唆された。[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、澤邉京子;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)]

7. 本邦産ヒトスジシマカのデングウイルス感受性

日本は、2019 年にラグビーワールドカップ、2020 年にはオリンピック、パラリンピックを控える中で、海外のデングウイルス(DENV)感染者が入国後蚊に刺され、日本国内でデング熱の感染拡大が起きることが危惧される。国内に生息するヒトスジシマカ(*Aedes albopictus*)の DENV 感受性を把握することは、デング熱の感染を予測し、感染拡大を阻止するために重要な情報となる。そこで、国内各地の *Ae. albopictus* の DENV 感受性を比較した。少なくとも我々が調査した国内の 3 か所に生息する *Ae. albopictus* に DENV 感受性が確認され、国内においてもデング熱感染拡大を防ぐ対策が必要であることが示唆された。[佐々木年則、斎藤一三、小林大介、伊澤晴彦、澤邉京子;小滝徹、田島茂、林昌宏(ウイルス第一部);モイ・メンリン(長崎大熱研);高崎智彦(神奈川県衛生研究所)]

8. ガーナ産およびベトナム産ネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性の比較解析

デングウイルス感染に起因するデング熱は、熱帯地域を中心として公衆衛生上大きな問題となっている。特に東南アジアでは、毎年のように大規模な流行が発生している。その一方で、アフリカにおいては、ウイルスのベクターであるネッタイシマカが分布しているものの、東南アジアのようなデング熱の大きな流行はほとんど確認されていない。本研究では、上述のデングウイルス流行の規模を規定する要因として、媒介蚊のウイルス感受性に着目し、両地域で採集したネッタイシマカを用いたウイルス感染実験を行った。その結果、ベトナム産ネッタイシマカは、デングウイルス I 型に対してガーナ産よりも有意に高い感受性を示した。現在、その他のデングウイルスの血清型に対しての感染実験を実施しており、詳細なウイルス感受性の比較解析を行う予定である。[Michael Amoa-bosompem、小林大介、糸川健太郎、Astri Nur Faizah、澤邉京子、伊澤晴彦;太田伸生、岩永史朗(東京医科歯科大)]

9. データベース化を目指したネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性関連遺伝子の解析

データベース化を念頭に、ネッタイシマカにおけるデングウイルス感受性に関わる遺伝子解析を行った。ネッタイシマカにおいて、ウイルス感受性と相関のある遺伝子変異は Ago2 や RNAi 経路の Ago2 以外の抗ウイルス因子についても認められた。さらにアミノ酸置換が見つかったが、そのアミノ酸置換がウイルス感受性に重要であるか確認する予定である。[佐々木年則、武部淳子、高岡安希、伊澤晴彦、澤邉京子:高崎智彦(神奈川県衛生研究所);Arlene G. Bertuso (フィリピン大マニラ校);皆川昇(長崎大熱研)]

10. 蚊細胞に持続感染したウイルスによるフラビウイルス増殖抑制効果

ヒトスジシマカ由来 C6/36 細胞の次世代シーケンス解析の過程で、一部の細胞株 (JCRB 株) には無病徴で持続感染しているウイルスが存在していることを見出した。詳細な解析の結果、2 種の持続感染ウイルスを同定し、ひとつはラブドウイルス科に属する Menghai rhabdovirus であり、もうひとつはパームトテトラウイルス科に類縁の新規ウイルスである Shinobi tetravirus であった。これらの持続感染を有する JCRB 株と、持続感染ウイルスを有さない ECACC 株におけるアルボウイルス増殖能を検討したところ、JCRB 株ではフラビウイルスの増殖が著しく抑えられることを見出した。一方で、アルファウイルスには影響を与えなかった。さらに、持続感染ウイルス 2 種を分離し、ECACC 株へ感染させたところ持続感染が再び成立し、これらの細胞ではジカウイルスの増殖が抑制されることが示された。本研究は、ラブドウイルス科あるいはパームトテトラウイルス科ウイルスの持続感染により蚊細胞におけるフラビウイルス増殖抑制を報告した最初の例である。[藤田龍介、小林大介、室田勝功、伊澤晴彦、澤邉京子;加藤文博、髙崎智彦、田島茂、林昌宏、西條政幸(ウイルス第一部)]

11. サシチョウバエ保有ウイルスの網羅的探索と室内維持系統の作成

2018 年に新潟県佐渡市で二ホンサシチョウバエ *Sergentomyia squamirostris* を採集し、ウイルスの網羅的探索およびウイルス感染実験のための維持系統の作製を試みた。ライトトラップおよび吸虫管で採集されたサシチョウバエ雌成虫 125 頭をウイルス分離と次世代シークエンサー(NGS)による網羅的解析に供した結果、フレボウイルス様の配列が検出され、得られた分離株の分子系統解析から、新規性の高い新種のフレボウイルスであることが判明した。一方で、一部の吸血雌を個別に管ビンに入れて毎日産卵を確認した。得られた卵は飼育容器に移し羽化まで室内で維持し、終齢幼虫を得ることができた。羽化成虫は確認できなかったが、卵期間(約 7 日)、孵化率(44.6%)、1-2 齢期間(平均 10.6 日)、2 齢から 3 齢への脱皮成功率(41.3%)、4 齢(終齢)幼虫の生存日数(5 か月以上)等の生物学的特徴を把握した。今後は、蛹化を促す検討を重点的に行う予定である。[小林大介、伊澤晴彦、澤邉京子;皆川恵子(日本環境衛生センター);三條場千寿(東京大)]

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. イエバエのナトリウムチャネル変異のピレスロイド剤感受性に及ぼす影響の電気生理学的解析

ナトリウムチャネルの M918T は L1014F との共変異によって非常に強いピレスロイド剤抵抗性をもたらすことが知られている。M918T は選択的スプライシングによりもう一種類のエクソンが発現するが、夢の島系イエバエ系統では、このもう一方のエクソンにも異なる変異が生じている(M918V)。2 種のナトリウムチャネル遺伝子全長をアフリカツメガエルの卵で発現させ、電気生理学的に解析したところ、M918V+L1014F は M918T+L1014F と同程度以上にフェンプロパトリン感受性低

下に関与しており、この選択的スプライシングサイトに生じた2 重変異が夢の島系統のフェンプロパトリン特異的抵抗性をもたらしている可能性が示唆された。［葛西真治、駒形修、糸川健太郎、冨田隆史；Jeffrey G. Scott（コーネル大）］

2. CRISPR/Cas9 によるイエバエゲノムノックアウト

昨年度は CRISPR/Cas9 の技術をイエバエに応用するため、複眼の色をつかさどる *white* 遺伝子部分配列を 3 つのイエバエ系統より明らかにし、ターゲットにしたガイド RNA をデザインした。今年度はこのガイド RNA を Cas9 タンパクとともに卵にインジェクションし、*white* 遺伝子のノックアウトを試みた。その結果、6 塩基欠失、1 塩基挿入、3 塩基欠失の 3 つのノックアウト集団を作出することに成功した。野生型との掛け合わせを行った後に自己交配を行ったところ、白色の複眼を有する個体が得られた。これにより、CRISPR/Cas9 によるゲノムのノックアウトがイエバエにおいても適用可能であることが明らかになった。［糸川健太郎、駒形修、冨田隆史、葛西真治］

3. ブラジル産ネッタイシマカから見つかった新たな *kdr* 遺伝子

2016 年にブラジル・リオデジャネイロ市内で採集されたネッタイシマカについて、ペルメトリン殺虫試験の後、ナトリウムチャネル（Vssc）の遺伝子型解析を行ったところ、V410L+V1016I+F1534C の 3 重変異を有する個体よりも F1534C のみを有する個体の方が、生存率が高いことが明らかになった。F1534C 単独変異の個体は、解析対象領域以外に、抵抗性に関与する未知のアミノ酸変異を有することが予想されたため、ターゲットキャプチャー法を用いて Vssc の全長を解析した。その結果、F15634C 以外に 2 つのアミノ酸変異を Vssc 中に有していることが明らかになった。うち一つの変異は、ピレスロイド剤との相互作用が強く疑われる領域に位置していたことから、このアミノ酸変異の抵抗性への関与が強く示唆された。［葛西真治、糸川健太郎、駒形修、冨田隆史、前川芳秀、澤邉京子；林昌宏（ウイルス第一部）］

4. *CYP6BB2* のピレスロイド剤抵抗性関与の検証

これまでの研究により、ネッタイシマカのシトクロム P450、*CYP6BB2* はピレスロイド剤抵抗性系統で mRNA が過剰発現し、かつペルメトリンを代謝することが明らかになっている。また、CRISPR/Cas9 で作出した *CYP6BB2* ノックアウト集団はペルメトリン排泄速度が低下していることも明らかになっている。そこで、*CYP6BB2* ノックアウト系統を用いて、ペルメトリン抵抗性への関与を評価することにした。ノックアウト:非ノックアウト *CYP6BB2* がおおよそ 1:1 で混在する集団（第 6 世代）に対し LD_{50} 付近のペルメトリンを処理し、生存/死亡個体について遺伝子ジェノタイピングを行った。20 個体/繰り返しを 7 回行った結果、すべての繰り返しについて、ノックアウト遺伝子の頻度が死亡個体で高かった。これにより、*CYP6BB2* がピレスロイド剤抵抗性に関与していることが直接的に証明された。［葛西真治、糸川健太郎、高岡安希、駒形修、冨田隆史］

5. バングラデシュ産サシチョウバエのピレスロイド剤抵抗性遺伝子頻度に関する研究

バングラデシュのリーシュマニア浸淫地で採集されたサシチョウバエについて、ピレスロイド剤感受性を調査するとともに、ナトリウムチャネル（Vssc）遺伝子を解析し、抵抗性に関わる変異の頻度を算出した。その結果、*Phlebotomus argentipes* および *Sergentomyia babu babu* のいずれの種においても L1014F もしくは L1014S の頻度が非常に高く、現地のサシチョウバエがピレスロイド系殺虫剤により強く選抜されていること、また、ピレスロイド剤による防除が困難になっている実情が明らかになった。［黒木章弘、三條場千寿（東京大）；糸川健太郎、駒形修、冨田隆史、葛西真治］

6. サシチョウバエゲノム DNA からのナトリウムチャネル全長迅速解析法の確立

サシチョウバエの殺虫剤抵抗性機構解明を目的として、ピレスロイド剤作用点ナトリウムチャネル（Vssc）のエクソン全長をターゲットとするキャプチャープローブをデザインした。ゲノムプロジェクトで Vssc 全長が明らかにされている *Phlebotomus papatasi* をモデルに設計した。ニホンサシチョウバエ *Phlebotomus squamirostris* より抽出したゲノム DNA を断片化したのち、キャプチャープローブで濃縮し、次世代シーケンサーMiniSeq で解析を行った結果、別種であるサシチョウバエについても全エクソン配列を網羅する配列が得られることが判明した。［糸川健太郎、葛西真治、駒形修、冨田隆史；黒木章弘、三條場千寿（東京大）］

7.異なる防疫用殺虫剤剤型の野外ヒトスジシマカに対する効力試験

防疫用殺虫剤にはさまざまな剤型があり、それぞれについて散布法が異なる。2020 年の東京オリンピック・パラリンピックを見据え、2014 年同様に再び国内でデング熱など蚊媒介感染症が発生した場合を想定し、各散布法の効力試験を行っ

た。さいたま市霊園および行田市内の総合運動公園において、2 種油剤の煙霧と水性乳剤の ULV（濃厚少量噴霧）による散布を行い、散布前後の蚊の密度を測定することで効果判定を行った。その結果、いずれの散布法においてもヒトスジシマカを効率よく駆除できることが明らかになった。また、蚊の効率的な防除に必要な殺虫剤の最適濃度や、各散布法の利点、欠点などが明らかにされた。［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、比嘉由紀子、前川芳秀、糸川健太郎、駒形修、冨田隆史、澤邉京子、Michael Amoa-Bosompem］

8. 成田空港で捕獲されたネッタイシマカの殺虫剤感受性試験と抵抗性遺伝子解析

成田空港で 2013 年、2014 年、2015 年に採集されたネッタイシマカ集団についてペルメトリンによる殺虫試験を行った。いずれの集団も強い抵抗性を示し、特に 2013 年と 2015 年に採集された集団はヒトスジシマカの感受性系統（HKM）の LD_{99}×10 の薬用に対しても死亡率は 50%未満であった。各集団 8 個体について個体別に作用点ナトリウムチャネルの全長解析を行ったところ、2013 年と 2015 年の集団は S989P+V1016G を 100%の頻度で有していた。2014 年の集団は G61V+S989P+V1016G のハプロタイプと T1520I+F1534C のハプロタイプをほぼ 1:1 の割合で有していた。国際空港を通じて強い抵抗性集団が国内に侵入している実態が初めて明らかになった。［葛西真治、高岡安希、糸川健太郎、駒形修、津田良夫、冨田隆史］

9. 中部国際空港で発見されたネッタイシマカの移入元推定

近年、国際空港での侵入例が相次ぎ発生しているが、中部国際空港では、2016 年 8 月および翌 2017 年 5 月の 2 年連続してネッタイシマカが発見されたことから、建物内で越冬・繁殖した可能性が示唆された。そこで、ミトコンドリア DNA バーコーディング領域による系統解析、マイクロサテライトによる集団遺伝解析、ナトリウムチャネルの変異解析を行い、本種の由来を推測した。その結果、2016 年 8 月 9 日に捕集された雌成虫、8 日－14 日後に捕集された幼虫、15 日後に捕集された成虫は、同一の COI ハプロタイプを持っていたため、同一系統の繁殖であると推察された。一方、2017 年 5 月 18 日と 20 日に捕集された雌雄各 1 個体ならびに 2016 年発見の成虫のハプロタイプはいずれも異なり、別系統の繁殖であったと推察された。マイクロサテライト解析では、いずれも東南アジア集団と比較的高い親和性を示した。ナトリウムチャネルの遺伝子変異を調査した結果、L982W と F1534C の変異が見つかったが、L982W 変異は現時点でベトナムからのみ報告されていることから、ベトナムおよびその周辺地域から移入した可能性が高いと推察された。[胡錦萍、二見恭子、皆川昇（長崎大熱研）；糸川健太郎、津田良夫、比嘉由紀子、澤邉京子]

10. インドネシアのデング熱媒介蚊のピレスロイド剤感受性調査と *kdr* 遺伝子の検出

2018 年 4 月にインドネシアで採集されたネッタイシマカ 4 集団およびヒトスジシマカ 3 集団についてピレスロイド剤感受性試験を行った。ヒトスジシマカはペルメトリンに対して感受性が高く、ヒトスジシマカの感受性系統（HKM）の LD_{99}×10 で生存する個体は皆無であった。一方、ネッタイシマカは抵抗性レベルが高く、4 集団全てが感受性系統の LD_{99}×10 の薬量で死亡率が 50%未満であった。いずれのネッタイシマカ集団も高頻度でナトリウムチャネルの変異 S989P+V1016G をホモ接合体として有しており、これが抵抗性の主要因であると推定された。また、ペルメトリン感受性が比較的高かったヒトスジシマカにおいても、Petemon Kali 2 で採集された 1 集団から抵抗性変異 F1534C が低頻度（21%）で見つかった。今後、この遺伝子が淘汰され、抵抗性を発達させていく可能性が示唆された。［葛西真治、前川芳秀、高岡安希、駒形修、冨田隆史、今西望、澤邉京子］

11. 島根県で採集されたイエバエの *super-kdr* 遺伝子

島根県松江市美保関町でピレスロイド系殺虫剤が効きにくいハエが発生しているという情報を得た。そこで、2016 年 4 月に同町内で採集されたイエバエ 11 個体について、ナトリウムチャネル（Vssc）の部分配列を解析した。その結果、6 個体は *super-kdr*（M918T+L1014F）をホモ接合体として有しており、集団内の *super-kdr* 遺伝子頻度は 59.1%に達していた。また、11 個体中にはこのほかに *kdr*-His（L1014H）が 4.5%含まれていたが、*kdr* 遺伝子単独（L1014F）は含まれなかった。変異を含まない野生型の *Vssc* は 36.4%であった。*Super-kdr* 遺伝子の頻度は、イエバエが多数発生して問題になった第三夢の島の末期に採集されたイエバエにおける頻度よりも圧倒的に高かったことから、高い殺虫剤選択圧の下で抵抗性が発達したことを伺わせるものであった。［葛西真治、高岡安希、駒形修、冨田隆史；金京純（鳥取大）］

12. コガタアカイエカのゲノム解析

コガタアカイエカは日本脳炎の媒介者として非常に重要な

疾病媒介蚊であるが、この蚊に関するゲノム・遺伝子情報はこれまで全く蓄積されていない。そこで、コガタアカイエカ由来の培養細胞であるNIID-CTRについて、全ゲノム解読を行った。ナノポアシーケンサー、およびショートリードシーケンサーによるハイブリッド解析で、アセンブリサイズ約 500 Mb、コンティグ N50>200 Kb、スキャホールド N50>1.9 Mb、Complete BUSCOs（Insecta）99.0%という高品質なゲノムアセンブリが得られた。野外から採集したコガタアカイエカ個体から得たRestriction-site Associated DNA sequence（RAD-Seq）の NGS リードは、高効率でこのゲノムにマップされ、培養細胞のゲノムではあるが実際の蚊個体の参照配列として十分に機能すると考えられた。今回得られた新規ゲノムアセンブリは、コガタアカイエカにおいて遺伝子発現解析や多型解析といった基礎的な研究手段に用いることが可能で、本種において、集団遺伝学・系統地理学、あるいはウイルス―宿主間相互作用・殺虫剤抵抗性といった研究を促進する有用な情報資源となることが期待される。[糸川健太郎、伊澤晴彦、小林大介、比嘉由紀子、葛西真治、駒形修、冨田隆史、澤邉京子]

13. バキュロウイルス発現系を用いたトコジラミ変異型アセチルコリンエステラーゼの殺虫剤活性体に対する感受性低下の検証

国内から有機リン殺虫剤抵抗性のトコジラミの存在が報告されており、作用点であるアセチルコリンエステラーゼ（AChE）の遺伝子を解析した。その結果、点突然変異 F348Y が発見されたため、この変異が有機リン剤に対する抵抗性に関与しているかどうかを検証するために、典型的な有機リン剤フェニトロチオンの活性体であるフェニトロオクソンに対する感受性への影響を*in vitro*で検証した。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粗精製した後、常法である Ellman 法によって AChE に対する分解活性を測定し、更に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 では、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、F348Y は有機リン剤抵抗性をもたらす一因であることが示唆された。[駒形修、糸川健太郎、冨田隆史、葛西真治]

14. ネッタイトコジラミから発見されたアセチルコリンエステラーゼ（AChE）阻害剤抵抗性に関連する作用点変異

2016年の国内採集に由来する2つのネッタイトコジラミの飼育コロニーは、それぞれ、トコジラミの AChE 阻害剤抵抗性系統の AChE に存在する F348Y と同一変異を 20%余りのアレル頻度で保有することを見出した。殺虫剤感受性系統のトコジラミが 100%死亡するフェニトロチオン(0.1 μg)の 100 倍薬量(10 μg)で局所施用した供試虫の生死と F348Y 保有（変異のヘテロ接合体またはホモ接合体）の有無の独立性を検定した結果、同変異が AChE 阻害剤抵抗性と密接に関連することが示された。［冨田隆史、駒形修、葛西真治；皆川恵子（日本環境衛生センター）］

15. ネッタイトコジラミにおける AChE の殺虫剤低感受性変異の保有率

日本で 2015～2017 年に採集された 7 つのネッタイトコジラミのコロニー（沖縄県 5、大阪府 1、東京都 1）について、AChE 阻害剤低感受性の変異である F348Y をジェノタイピングした結果、全コロニーが同変異を保有していた。日本で 2000 年代より再興したトコジラミの防除には AChE 阻害剤が現在ほとんどのケースで有効とされていることから、これらトコジラミ属二種の駆除に事前の種同定が重要であることが示された。［冨田隆史、駒形修、糸川健太郎、葛西真治；皆川恵子（日本環境衛生センター）；小松謙之（シー・アイ・シー）；足立雅也（鵬図商事）；成隆光（大阪防疫協会）；吉田政弘（いきもの研究社）］

16. 台湾のヒトスジシマカにおけるピレスロイド低感受性作用点変異の初検出

デング熱媒介蚊の化学的防除が行われている台湾南部で 2016 年に主に幼虫の掬い取りにより採集したヒトスジシマカ 193 頭（台南市 42 頭、高雄市 65 頭、屏東市 82 頭）について、電位依存性ナトリウムチャネル(VGSC)のピレスロイド低感受性変異（V1016G と F1534C/S）の保有を Universal QProbe 法に基づき調べた。その結果、台湾における本種蚊としては初めて、高雄市の 2 頭からそれぞれ G1016 ホモ接合体と F1534/S1534 ヘテロ接合体が同定された。[冨田隆史、駒形修、糸川健太郎、葛西真治；鍾瀚璿、鄧華真（台湾 CDC）]

レファレンス業務

Ⅰ．衛生動物同定検査報告

平成 30 年 4 月から平成 31 年 3 月までの間、7 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、マダニ咬傷 2 件、口腔内ハエ症 1 件であった。
[林利彦、比嘉由紀子、前川芳秀]

研修業務

1. 第 7 回蚊類調査に係る技術研修（H30 年度）、2018 年 6 月 4－5 日、東京　[澤邉京子、比嘉由紀子、前川芳秀、伊澤晴彦、葛西真治、津田良夫]
2. フィールドワーク蚊の生態・防除対策蚊の捕集。第 4 回節足動物媒介感染症研修会、2018 年 6 月 6 日、東京[澤邉京子、比嘉由紀子、前川芳秀、葛西真治、津田良夫]
3. 採集蚊の仕分けおよび蚊の分類・同定実習。第 32 回ペストロジー実習講座、2018 年 6 月 13 日、川崎市[津田良夫]
4. 第 9 回蚊分類学を志す若手研究者のための現地研修、2018 年 6 月 17－25 日、沖縄県西表島[比嘉由紀子、津田良夫、糸川健太郎、葛西真治]
5. 蚊からの病原体検出法について。新渡戸短大研修、2018 年 6 月 28 日、東京[澤邉京子]
6. 蚊媒介感染症及び蚊の防除対策について。第一回岡山県環境保健センター・岡山県立図書館連携講座「蚊やダニによる感染症を防ぐには-私たちにできること-」、2018 年 6 月 30 日、岡山市 [澤邉京子]
7. 生物学から防除対策まで夏季の国際的なスポーツ大会に備えて。大下財団シンポジウム「デング熱媒介蚊」、2018 年 7 月 13 日、東京[比嘉由紀子、駒形修]
8. デング熱媒介蚊対策におけるリスクアナリシスの重要性。公衆衛生獣医師インターンシップ、2018 年 8 月 27 日、東京[澤邉京子]
9. 緊急時における疾病媒介蚊対策としての野外における殺虫剤散布実地演習。2018 年 9 月 28 日、所沢市[葛西真治、澤邉京子]
10. 第 8 回蚊類調査に係る技術研修（H30 年度）、2018 年 10 月 2－3 日、川崎市[澤邉京子、比嘉由紀子、前川芳秀、津田良夫;皆川恵子（日本環境衛生センター）]
11. 感染症を媒介するダニについて。平成 30 年動物由来感染症対策技術研修会、2018 年 10 月 30 日、東京[澤邉京子]
12. 昆虫・ダニ類媒介の感染症について。日本ペストコントロール協会　平成 30 年度感染症対策講習会、2018 年 11 月 7 日、東京[冨田隆史]
13. 媒介蚊対策の考え方と薬剤散布の実態。日本防疫殺虫剤協会総会講演会、2018 年 11 月 13 日、東京[澤邉京子]
14. 節足動物媒介感染症について。平成 30 年度医師卒後臨床研修プログラム、2018 年 11 月 13 日、東京[佐々木年則]
15. 媒介蚊対策の考え方と薬剤散布の実態。日本防疫殺虫剤協会講演会、2018 年 11 月 13 日、東京[澤邉京子]
16. 昆虫・ダニ類媒介の感染症について。日本ペストコントロール協会　平成 30 年度感染症対策講習会、2018 年 11 月 15 日、札幌市[澤邉京子]
17. 第 10 回蚊分類学を志す若手研究者のための現地研修、2018 年 11 月 19－26 日、沖縄県西表島市［比嘉由紀子、津田良夫、伊澤晴彦、小林大介;宮城一郎（琉球大）;二見恭子（長崎大熱研）］
18. 温暖化による蚊やマダニなどの生息域拡大と人と動物の共通感染症の最近の傾向について。モダンメディア「新春放談」人を取り巻く環境と人と動物の共通感染症の変化について、2018 年 12 月 10 日、東京[澤邉京子]
19. 衛生害虫に関する最近の話題。第 54 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会、2018 年 12 月 12 日、川崎市[澤邉京子]
20. 第 2 回蚊分類学種同定研修、2019 年 1 月 25－27 日、東京［比嘉由紀子、津田良夫］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Ejiri, H., Lim, C.K., 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. and Sawabe, K. Characterization of a novel thogotovirus isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks in Ehime, Japan: A significant phylogenetic relationship to Bourbon virus. Virus Research, 249: 57-65, 2018.
2) Kobayashi, D., Murota, K., Fujita, R., Itokawa, K., Kotaki, A., Moi, M.L., Ejiri, H., Maekawa, Y., Ogawa, K., Tsuda, Y., Sasaki, T., Kobayashi, M., Takasaki, T., Isawa, H. and Sawabe, K. Dengue virus infection in *Aedes albopictus* during the 2014 Autochthonous dengue outbreak in Tokyo Metropolis, Japan. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 98: 1460-1468, 2018.

3) Fujita, R., Kato, F., Kobayashi, D., Murota, K., Takasaki, T., Tajima, S., Lim, C.K., Saijo, M., Isawa, H. and Sawabe, K. Persistent viruses in mosquito cultured cell line suppress multiplication of flaviviruses. Heliyon, 4: e00736, 2018.
4) Smith, L.B., Kasai, S. and 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.
5) Smith, L.B., Tyagi, R., Kasai, S. and Scott, J.G. CYP-mediated permethrin resistance in *Aedes aegypti* and evidence for trans-regulation. PLoS Neglected Tropical Diseases, 12: e0006933, 2018.
6) Kasai, S., Caputo, B. Tsunoda, T., Cuong, T.C., Maekawa, Y., Lam-Phua, S.G., Pichler, V., Itokawa, K., Murota, K., Komagata, O., Yoshida, C., Chung, H.H., Bellini, R., Tsuda, Y., Teng, H.J., de Lima Filho, J.L., Alves, L.C., Ng, L.C., Minakawa, N., Yen, N.T., Phong, T.V., Sawabe, K. and Tomita, T. First detection of a *Vssc* mutation V1016G conferring a high level of insecticide resistance in *Aedes albopictus* collected from Europe (Italy) and Asia (Vietnam), 2016: a new emerging threat to controlling arboviral diseases. Eurosurveillance, 24: 1700847, 2019.
7) Pichler, V., Malandruccolo, C., Serini, P., Bellini, R., Severini, F., Toma, L., Luca, M.D., Montarsi, F., Ballardini, M. Manica, M., Petrarca, V., Vontas, J., Kasai, S., della Torre, A. and Caputo, B. Phenotypic and genotypic pyrethroid resistance of *Aedes albopictus*, with focus on Italian sites experiencing a chikungunya outbreak in 2017. Pest Management Science, (accepted)
8) Hayashi, T. Taxonomy and distribution of the genus *Philocoprella* Richards (Diptera: Sphaeroceridae) from the Oriental and Australasian regions. Japanese Journal of Systematic Entomology, 24: 230-233, 2018.
9) Kim, K.S. and Tsuda, Y. Gynandromorph of *Culex inatomii* (Diptera: Culicidae) collected at Yonago Waterbirds Sanctuary, Tottori, Japan. Medical Entomology and Zoology. 69. 35-38, 2018.
10) Imanishi, N., Higa, Y., Hwa-Jen Teng, Sunahara, T. and Minakawa, N. Identification of three distinct groups of *Anopheles lindesayi* in Japan by morphological and genetic analyses. Japanese Journal of Infectious Diseases. 71: 427-435, 2018.
11) 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. and Ato, M. Venom and antivenom of the redback spider (*Latrodectus hasseltii*) in Japan. Part I. Venom extraction, preparation, and laboratory testing. Japanese Journal of Infectious Diseases, 71: 116-121, 2018.
12) Yamamoto, A., Harano, S., Shinya, N., Nagano, A., Miyatsu, Y., Sawabe, K., Matsumura, T., Ato, M., Takahashi, M., Taki, H. and Hifumi, T. Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: a local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a repeated-dose toxicity study in rats. Journal of Toxicol Pathology, 31: 105-112, 2018.

2. 和文発表

1) 葛西真治　医療従事者が押さえておきたい衛生害虫防除のポイント①ハエ。薬局、69: 56-61、2018.
2) 澤邉京子　節足動物媒介感染症とそのベクターを研究するためのバイオセーフティ基準と注意。バムサジャーナル、30: 3-8、2018.
3) 沢辺京子　人を取り巻く環境と人と動物の共通感染症の変化について。モダンメディア、65: 1-17、2019.
4) 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。衛生動物、70: 25-32、2019.

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

1) Maekawa, Y., Tsudam, Y., Brayner, F., Carlos, L., Gazzoni, G., Kasai, S. and Sawabe, K. A survey of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* in Recife, Brazil. The 2nd Brazil-Japan Collaborative Research Workshop on Zika Virus, 2018 年 7 月 25 日－26 日、東京.
2) Kasai, S., Caputo, B., Pichler, V., Tsunoda, T., Maekawa, Y., Itokawa, K., Murota, K., Komagata, O., Tsuda, Y., Bellini, R., Cuong, T.C., Yen, N.T., Phong, T.V., Minakawa, N., Sawabe, K. and Tomita, T. First identification of a *kdr* allele V1016G in *Aedes albopictus*. Pyrethrum Workshop 2018, 2018 年 9 月 3 日、イギリス.
3) Komagata, O. Evaluation of insecticide efficacies to hematophagous pests in living environment between Taiwan and Japan: The 15th Taiwan-Japan Symposium on Communicable Diseases and Prevention, and Collaborative Project Reports、2018 年 9 月 4 日、台湾.
4) Kasai, S., Caputo, B., Tsunoda, T., Cuong, T.C., Maekawa, Y., Lam-Phua, S.G., Pichler, V., Itokawa, K., Murota, K.,

Komagata, O., Yoshida, C., Chung, H.H., Bellini, R., Tsuda, Y., Teng, H.J., de Lima Filho, J.L., Alves, L.C., Ng, L.C., Minakawa, N., Yen, N.T., Phong, T.V., Sawabe, K. and Tomita, T. First detection of a *Vssc* allele V1016G in *Aedes albopictus* collected from Asia and Europe: A new emerging threat to controlling arboviral diseases. 2nd WIN International Conference on "Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in arbovirus vectors", 2018 年 10 月 1 日、シンガポール.

5) Itokawa, K., Komagata, O., Tomita, T., Sekizuka, T., Yatsu, K., Kuroda, M., Sawabe, K. and Kasai, S. Targeted capture and sequencing of voltage-gated sodium channel gene in *Aedes* mosquitoes for detecting pyrethroid resistance mutations 2nd WIN International Conference on "Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in arbovirus vectors", 2018 年 10 月 1 日、シンガポール
6) Dusfour, I., Vontas, J., David, J.P., Weetman, D., Fonseca, D.M., Corbel, V., Raghavendra, K., Coulibaly, Martins, A.J., Kasai, S. and Chandre, F. Management of insecticide resistance in the major *Aedes* vector of arboviruses: Advances and challenges. 2nd WIN International Conference on "Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in arbovirus vectors", 2018 年 10 月 1 日、シンガポール.
7) Smith, L.B., Tyagi, R., Kasai, S. and Scott, J.G. Evidence that CYP-mediated resistance in *Aedes aegypti* is due to a *trans* regulatory factor. 2018 ESA, ESC and ESBC Joint Annual Meeting, 2018 年 11 月 11 日－14 日、カナダ.

2. 国内学会

1) 佐々木年則 動物における生体防御:哺乳類から節足動物へ。第 70 回日本衛生動物学会大会 病害動物の生理分子生物談話会(第 26 回)、2018 年 5 月 11 日、帯広市
2) 小林大介、伊澤晴彦、室田勝功、糸川健太郎、藤田龍介、Michael Amoa-Bosompem、木村晶平、大橋光子、Kofi Bonney、Samuel Dadzie、沢辺京子、太田伸生、岩永史朗 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。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
3) 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、金京純、渡辺護、岩永史朗、沢辺京子 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。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
4) 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 2016 年および 2017 年のベトナムにおける蚊のウイルス叢調査。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
5) Michael Amoa-Bosompem, Daisuke Kobayashi, Katsunori Murota, Astri Nur Faizan, Mitsuko Ohashi, Toshinori Sasaki, Haruhiko Isawa, Kyoko Sawabe, Shiroh Iwanaga. Analyses of the virome and vector competence in the transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* collected in Ghana. 第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
6) 伊澤晴彦、江尻寛子、林昌宏、藤田龍介、鍬田龍星、小林大介、佐々木年則、林利彦、小林睦生、西條政幸、前田健、沢辺京子 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。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
7) 藤田龍介、江尻寛子、林昌宏、山内健生、渡辺護、野田伸一、小林大介、室田勝功、伊澤晴彦、沢辺京子 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 の性状解析。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
8) 前川芳秀、津田良夫、笠井あすか、竹内真人、沢辺京子 2017 年小笠原諸島(父島・母島)での蚊相調査。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
9) 前川芳秀、津田良夫、沢辺京子 先島諸島での蚊相調査および *Aedes riversi* と *Culex mimeticus* の初記録。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
10) 津田良夫、林利彦 ドライアイストラップによる疾病媒介蚊のサーベイランス結果:2003 年から 2017 年の長期的変化について。第 70 回日本衛生動物学会大会、 2018 年 5 月 11－13 日、帯広市
11) 沢辺京子、前川芳秀、小林睦生、山内繁、長島渡、奥山弘幸 2017 年青森県および北海道南部で実施したヒトスジシマカ生息調査。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

12) 小林睦生、駒形修、林利彦、津田良夫、沢辺京子　夏季のヒトスジシマカの生息密度に影響を与える気象条件。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

13) 米島万有子、渡辺護、渡辺はるな、長舘昌宏、村松佑典、東田和典、白石伸一、沢辺京子　熊本地震被災地における被災 2 年目の蚊の発生状況。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

14) 駒形修、沢辺京子　深層学習を用いた全天球写真からのヒトスジシマカ成虫密度の予測。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

15) 葛西真治、角田隆、前川芳秀、糸川健太郎、室田勝功、駒形修、吉田千草、津田良夫、皆川昇、Beniamino Caputo、Verena Pichler、Tran Chi Cuong、Nguyen Thi Yen、Tran Vu Phong、沢辺京子、冨田隆史　強いピレスロイド剤抵抗性をもたらすナトリウムチャネルのアミノ酸変異 V1016G がヒトスジシマカから初めて検出された。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

16) 冨田隆史、駒形修、糸川健太郎、葛西真治　日本のヒトスジシマカ集団におけるナトリウムチャネル遺伝子のピレスロイド低感受性変異の分布調査。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

17) 糸川健太郎、駒形修、冨田隆史、葛西真治　一分子ロングリードシーケンス技術を用いたネッタイイエカゲノムの再解析。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

18) 皆川恵子、武藤敦彦、橋本知幸、数間亨、堀口智博、前川芳彦. 葛西真治、冨田隆史、津田良夫、沢辺京子　防疫用殺虫剤の新用量によるヒトスジシマカに対する実地試験効力－2017 年実施の結果－。第 70 回日本衛生動物学会大会、2018 年 5 月 11－13 日、帯広市

19) 葛西真治、角田隆、前川芳秀、糸川健太郎、室田勝功、駒形修、津田良夫、皆川昇、沢辺京子、冨田隆史　ヒトスジシマカで初めて見出された強いピレスロイド剤抵抗性集団と作用点変異。日本農薬学会第 43 回大会、2018 年 5 月 26 日、秋田市

20) 比嘉由紀子、吉川亮、二見恭子、井上真吾、鍋島武、嶋田聡、松本文昭、山下綾香、三浦佳奈、竹野大志、西畑伸二、小田さゆり、村木信幸、砂原俊彦、佐野直美、沢辺京子、森田公一　2017 年長崎県における大陸型コガタアカイエカの生息調査。第 53 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、6 月 1－2 日、栃木県下都賀郡

21) 前川芳秀、沢辺京子、小林睦生、山内繁、長島渉、奥山弘幸　青森市および函館市で実施したヒトスジシマカ生息調査（2017 年 8 月）。第 53 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、6 月 1－2 日、栃木県下都賀郡

22) 佐々木年則、Arlene G. Bertuso、伊澤晴彦、高崎智彦、皆川昇、澤邉京子　ネッタイシマカにおける抗ウイルス因子の遺伝子解析。日本比較免疫学会第 30 回学術集会、2018 年 8 月 20－22 日、藤沢市

23) 沢辺京子　SFTS 媒介マダニに関する考察。日本 SFTS 研究会第一回学術集会、9 月 8－9 日、東京

24) 鳥井駿、鍬田龍星、Supriyono Supriyono、Tran Ngo、下田宙、野口慧多、米満研三、南昌平、黒田雄大、立本完吾、冨田隆史、糸川健太郎、沢辺京子、前田健　蚊ゲノムに内在化したウイルス様配列。第 161 回日本獣医学会学術集会、2018 年 9 月 11－13 日、つくば市

25) 葛西真治、比嘉由紀子、糸川健太郎、宮城一郎、津田良夫　シリアゲアリにアプローチするオキナワカギカ成虫の我が国における初観察。第 70 回日本衛生動物学会東日本支部大会、2018 年 10 月 13 日、つくば市

26) 渡辺護　富山市郊外の 1 民家における蚊の捕集状況、2012～2018 年の成績。第 70 回日本衛生動物学会東日本支部大会、2018 年 10 月 13 日、つくば市

27) 倉橋弘、Chong Chin Heo　マレーシア、マレー半島産のイエバエ属の新種？の発見。第 70 回日本衛生動物学会東日本支部大会、2018 年 10 月 13 日、つくば市

28) 葛西真治　蚊を中心とした感染症媒介節足動物の動向。生活と環境全国大会リレー講演「生活環境の招かれざる虫たち」、2018 年 10 月 19 日、福島市

29) 小林大介　ガーナ共和国で流行する節足動物媒介ウイルス感染症の実態解明に向けた基盤的研究。第 63 回日本応用動物昆虫学会大会　第 25 回 ICIPE 研究報告会―アフリカ昆虫学の夕べ、2019 年 3 月 25－27 日、つくば市

30) 沢辺京子　我が国の公衆衛生に関わる衛生害虫－その歴史と未来－。平成 30 年度第 2 回全国公衆衛生関連学協会連絡協議会学術集会　市民公開シンポジウム「わが国の公衆衛生の重要課題を考える」、2019 年 3 月 29 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、第一室、第二室、第三室の 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。第一室はブルセラ症、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、第二室は狂犬病、リッサウイルス感染症、ニパウイルス感染症、炭疽を、第三室は野兎病及び近縁菌等に関するリファレンス業務、研究業務を行っている。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。第一室では、前年度に報告した *Brucella suis* biover 5 近縁のブルセラ属菌による新たな患者が、1例目と同じく長野県内で見つかった。*B. suis* biover 5 感染者は、推定感染経路を猫とする症例が旧ロシアであるのみである。元来の自然宿主がげっ歯目である事から、国内でも媒介動物としての猫の調査も必要と思われる。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依頼検査および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、開発した動物の SFTS 実験室診断法を用いて、ネコおよびイヌの SFTS 検査を行った。さらに、ネコにおけるSFTSV のワクチン開発を試みた。痘瘡ワクチンの安全性に関する評価方法の改良を行った。第二室では、地方自治体と共に国内の狂犬病対策及び危機管理対応に関わる調査と診断系の開発研究、台湾・ベトナム・フィリピン・タイ等の感染症研究機関と連携した共同研究を継続して行った。さらに狂犬病ウイルスの細胞内での増殖を阻止する抗 P 蛋白細胞内発現抗体のエピトープを同定した。炭疽については炭疽菌と近縁なセレウス菌の分子遺伝学的解析、市販食品添加物に炭疽菌並びにセレウス菌の芽胞発育阻止活性を見出した。更には、炭疽菌を用いたバイオテロ対策に係る講習等を行った。また、ヘニパウイルスについては簡易抗体検査系の開発と診断法の研修を行った。第三室は、野兎病の弱毒生ワクチン株を作成し、サルでの効果を確認した。更に、各種 *Francicella* 菌の抗原性の比較をおこない、*F. hispaniensis* の 27kDa 蛋白が特異的抗原であることが判明した。野兎病菌の弱毒化の指標となる可能性の高い単クローナル抗体を見出した。*Francisella* 属菌6種2亜種の MALDI biotyper の解析データを作成し、菌種の鑑別をな可能にした。ウエストナイルウイルスなどの侵入を監視するために死亡野鳥のモニタリングシステムを改良し運用を始めた。ノウサギにおけるダニ媒介脳炎ウイルスの疫学調査を実施した。

当該年度は、協力研究員 2 名：松田麻里（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、佐瀬友紀奈（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、研究生 2 名：北條実由紀（麻布大学　生命・環境科学部)、阿崎美佳（日本大学大学院　総合基礎科学研究科）、実習生 1 名：佐藤来美（東京農業大学農学部　動物科学科）が入所した。また、客員研究員 2 名：本道栄一（名古屋大学　農学部資源生物化学科　教授）、畠山薫（東京都健康安全研究センター）、協力研究員 3 名：田口由紀（東京大学大学院　総合文化研究科）、松田麻里（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、佐瀬友紀奈（東京都動物愛護相談センター城南島出張所）、研究生 2 名：阿崎美佳（日本大学大学院　総合基礎科学研究科）、君付和範（北里大学　獣医学部獣医病理学部）、実習生 1 名：佐藤来美（東京農業大学　農学部動物科学科）が年度をもって退所した。

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）として学生指導を行っている。

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30年度には、患者3例（*B. melitensis* 感染1例、*B. canis* 感染 2 例）が届け出られ、1999 年度からの累計では、44例（*B. melitensis* または *B. abortus* 感染 15 例、*B. canis* 感染 29 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]

2．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

昨年度報告した事例に続き、同じく長野県内で、2018 年に入って新規ブルセラ属菌によるブルセラ症患者を見いだした。本事例も昨年度の事例と同じく不明熱患者の血液培養から菌が分離され、ブルセラ属菌特異的 PCR では *B. suis* と判定された。また、*B. abortus* に対する抗体陽性を示した。さらに、今回の事例では当該患者の家族（3 名）も抗体陽性であり、うち 2 名は当該患者より 1 ヶ月早く発症し、インフルエンザ様症状で医療機関を受診、有症期間約1ヶ月で自然治癒していた。もう 1 名は当該患者と同時期に発症していた。すなわち、当該患者が入院し血液培養から菌が分離されなければ、別の患者 3 名は単に不明熱とされていたことになる。この事実は、不明熱として感染に気がついていない症例が、他にも存在している可能性を否定できないことを示している。分離菌の解析では、まず詳細な遺伝子解析により、当該菌株も昨年度報告の菌株と共に Classic Brucella 系統に属する *B. suis* biovar 5 に近縁であることが明らかとなった。また、MALDI Biotyper によるデンドログラム解析では 2 株とも *B. suis* と同一クラスターとなった。 [今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、朴ウンシル、森川茂；小野寺翔、山本智清、内坂直樹、寺川偉

温、清水郁枝、鎌倉明美、栗田敬子(相澤病院)]

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
イヌ・ネコが保菌する Capnocytophaga 属菌(*C. canimorsus*、*C. cynodegmi* および *C. canis*)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 104 例(うち死亡 21 例)を把握した。(1) 99 例が *C. canimorsus* 感染例でありその大半を占めている、(2) 患者は中高年齢者の男性が中心である、(3) 基礎疾患の有無によらない、(4) 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* 国内臨床分離株の莢膜型を調べた結果、莢膜型 A～C が約 93%を占めていた。文献的報告によればイヌ・ネコ口腔内分離株のうち莢膜型 A～C は約 8%にすぎないことから、ヒトに重篤な症状を示す菌株が一部の特定の莢膜型を有する菌株に偏っていることが示唆された。[鈴木道雄、森川茂、今岡浩一]

III. 愛玩動物由来感染症に関する研究

1. 愛玩動物由来感染症の調査研究
厚生労働行政推進調査事業補助金・愛玩動物由来感染症研究班の研究成果を踏まえたアウトプットとして、厚労省が毎年、作成・配布している「動物由来感染症ハンドブック」について、研究班の目的とする、「国内で感染する、より身近な動物由来感染症」に重点を置いた「動物由来感染症ハンドブック 2019」の作成・改訂を行った。[今岡浩一、鈴木道雄;森嶋康之(寄生動物部)、宇根有美、小野文子(岡山理科大学)、福士秀人、大屋賢司(岐阜大学)]

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、BASV 感染における clathrin などを含む細胞内侵入経路を調べた。その結果、Huh7 細胞においては chlorpromazine や dynasore 等の clathrin 介在性経路阻害剤及び genisteine や nystatin 等の caveolae 介在性経路阻害剤の処理に BASV の感染が影響を受けないことが分かった。一方、tunicamycin を用いて Huh7 細胞に処理すると、BASVpv の感染が 40%程度抑制されることから、BASVpv の感染に糖鎖が係る可能性が示唆された。また、HeLa 細胞を clathrin 介在性経路阻害剤である dynasore で処理すると、BASV の感染が抑制された。この結果から、細胞により BASV の細胞内侵入経路が異な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]

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 97%程が患者血清中のウイルス遺伝子から決定されているが、ウイルスは分離されていないため自然宿主、病原性、感染経路など全く不明である。流行時には医療スタッフへの二次感染もあったことから、BASV 感染によるウイルス性出血熱患者が発生した際に、医療スタッフ、疫学調査対応者や実験室診断検査対応者等への感染リスクを考慮すると、有効なワクチン候補を事前に用意しておくことは重要である。昨年度まで BASV-G タンパク質発現ベクターDNA 及び G タンパク質発現ワクシニアウイルスが効率よく中和抗体を誘導できることが分かった。今年度はそれに加えて、抗原性を維持できる不活化ワクチンの開発を試みた。BASV の G タンパク質を外套するシュードタイプウイルスを過酸化水素により不活化し、PBS に置換後、超遠心処理を行った。108 TU/mL 及び 109 TU/mL の二つの濃度を用意し、ウサギに免疫したところ、109 TU/mL 群は 2 回目で、108 TU/mL 群は 3 回接種から 51,200 倍まで中和抗体が誘導でき、プラトーに達した。最も高い場合は、204,800 倍まで達した。この結果から、BASV の G タンパク質発現ワクシニアウイルスの結果と同等、あるいは、それ以上高く中和抗体が誘導できることが示唆された。[朴ウンシル、野口章、今岡浩一、木村昌伸、森川茂]

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。昨年までは痘そうワクチンの MSP 検出に mutation specific primer による qPCR と次世代シークエンス解析により MSP 検出および定量化に有用であることが考えられた。それに加えて、今年度は痘そうワクチンの複数のロットを Vero E6 細胞で継代培養することによって出現する MSP の解析をバイオアッセイ法、qPCR および次世代シークエンス解析により行った。その結果、3 回継代で MSP 出現率が 100%に達した。出現する MSP の頻度を qPCR および次世代シークエンスで調べた結果、昨年度同様 L1 (267A)型、L4 (271T)型及び L5 (274ATAC)型が検出されたが、L6(268T)型が最もメジャーで頻度が高かった(6 個のロット中 5 個)。一つのロットにおいては L5 (274ATAC)型が最も高く検出された。また、qPCR と次世代シークエンスの MSP 頻度は類似し、相同性が確認された。これらの結果から、細胞培養痘そうワクチンを Vero E6 細胞で継代すると L6(268T)型が増えやすいこと、細胞培養痘そうワクチン品質管理のための指標として L1, L4, L5 および L6 型が適することと、qPCR と次世代シークエンス解析により、MSP が検出できることが分かった。[森川茂、朴ウンシル、奥谷晶子;吉河智城、下島昌幸、西條政幸(・ウイルス第一部)、倉根一郎(元所長)、金原知美、丸野真一、新村靖彦(KM バイオロジクス)]

VI. SFTSV 不活化ワクチンの有効性実験

1. ネコにおける SFTSV ワクチンの開発
昨年度までにネコは SFTSV 感染によりヒト同様重症化することが証明された。また、これまでに流行地で 100 頭以上の SFTS がネコにおいて診断され、ヒトへの感染も報告されていることからネコの SFTSV ワクチンの開発は公衆衛生学上も重要であると考え、不活化ワクチン開発を試みた。ワクチン候補としては UV 不活化 SFTSV および組換えワクシニアウイルス由来の SFTSV VLP を用いた。Imject Alum アジュバント混合ワクチンを 4 回接種後に SFTSV をチャレンジした。その結果、二種類のワクチン接種群も体重減少、発熱、白血球および血小板減少などの症状は現れたが、SFTSV チャレンジ 4〜9 日目から回復し、ワクチン無接種群と比べて、生存率が有意に上昇した。また、中和抗体力価も 4 回ワクチン接種後 40 倍まで上昇し、SFTSV チャレンジ 9 日目では 80 倍まで検出された。しかし、ワクチン無接種群で中和抗体は検出されなかった。この結果から、ワクチン接種群において生存率が有意に高く、ワクチンによる中和抗体誘導が回復に寄与したと考えられるが、力価は高いとは言えず、発症は防げなかったため、更なる検討が必要であることが分かった。[朴ウンシル、野口章、今岡浩一、森川茂; 下島昌幸、渡辺俊平、黒須剛、吉河智城、西條政幸（ウイルス第一部）、永田典代、岩田（吉河）奈緒子、和田雄治、鈴木忠樹、長谷川秀樹（感染病理部）、網康至、花木賢一（動物管理室）]

VII. 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
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）等とラボラトリーネットワークを構築して，狂犬病対策の強化を目的とした検査法の開発（RT-LAMP 法，realtime RT-PCR 法，免疫組織化学法， ELISA 法，安全な解剖法の確立と普及），レファレンス強化，疫学調査等を自治体の狂犬病担当および大学等の関係専門家と協働して継続した．[井上智、野口章、堀田明豊、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）、水越文徳（栃木県）、浦口宏二（北海道）、喜屋武尚子、柿田徹也（沖縄県）、大迫英夫（熊本県）、柴田伸一郎（名古屋市）、田原研司，藤澤直輝（島根県）; 矢野さやか（徳島県）、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
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に係る体制整備の現状分析，検査技術や器具等の改良、発生時を想定した対応強化について，国・自治体・獣医系大学の協力を得て行った。特に、動物の狂犬病調査と鑑別診断、これに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について研修等を利用して強化方法の検討を行った。 [野口章、堀田明豊、井上智; 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（ウイルス第一部）、長井彰吾，安田千登勢（東京都）、水越文徳、鈴木尚子（栃木県）、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）、田原研司、藤澤直輝（島根県）、矢野さやか（徳島県）、Daria Manalo（フィリピン熱帯学研究所）、楊志元（台湾 CDC）、費昌勇（台湾大学獣医大学院）]

3. 狂犬病ウイルスの迅速遺伝子診断（DLAMP）法に関する研究
ベトナム国立疫学衛生研究所(NIHE)との共同研究で構築している Direct リアルタイム RT-LAMP 法による狂犬病ウイルス検出法について発生年と分離地域の異なるベトナム分離株を利用した反応条件等の追加検討を行った．[井上智、野口章; 影山努、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. 野生動物等の狂犬病に関わる検査およびサーベイランス手法に関する研究
台湾で発生した野生動物の狂犬病を受けて、野生動物を含めた診断法とサーベイランスの強化についてアジアの感染症研究機関と構築している狂犬病ネットワークを活用した検討を行っている．台湾で開催された狂犬病に係る OIE 連携プロジェクト 2018 年会議に参加して，アジア各国の狂犬病専門家と各国の現状について情報共有等を行った．また，台湾で行われている野生動物検査とサーベイランスを現地視察して現状の把握と課題等の共有を行い，帰国後に自治体の担当専門家と国内で簡易検査法等を利用した狂犬病サーベイランスの強化について検討を行った．[井上智、堀田明豊，野口章; 藤澤直輝（島根県）、矢野さやか（徳島県）、Daria Manalo（フィリピン熱帯学研究所）、Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang,（ベトナム NIHE）]

5. 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決定
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。昨年度までに、エピトープの一部または全体が、RABV-P の N 末端から 19〜52 残基の間に含まれることを明らかにしていた。今年度は、同領域内の配列を段階的に欠失した RABV-P 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、エピトープの一部または全体を含む部位は、同領域内の 6 アミノ酸残基の幅に絞り込むことができた。同部位につい

ては、過去に L 蛋白質との相互作用に関与する可能性を示唆する報告がなされているが、現時点では scFv-P19 による P-L 蛋白質間の結合阻害作用を示す結果は得られていない。今後、他のウイルス蛋白質または細胞蛋白質との結合に関与していないか、解析を進める。
[加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VIII. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

1. 国内に分布する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
国内土壌、野生動物糞便、食中毒および院内感染由来セレウス菌の全ゲノムから、病原性遺伝子および core genome SNP による分子系統解析および病原性遺伝子の有無による主成分分析と無次元解析を行ったところ、動物由来の菌株は土壌由来株と一部は近縁であることと、食中毒由来セレウス菌は独自の遺伝型に分類されることが明らかとなった。セレウリド毒素遺伝子オペロン、*hbl* 溶血性遺伝子オペロンを構成する遺伝子の有無が菌株のクラスター構成に有意に関与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. 炭疽菌およびセレウス菌芽胞および栄養型細胞に対する抗菌活性の検証
市販食品で芽胞菌増殖抑制に用いられている甘草抽出物、グリシンを用いて炭疽菌芽胞に対する抗芽胞活性を確認したところ、芽胞発芽阻止活性が確認された。またこれらの物質は炭疽菌芽胞発芽後の栄養型細胞の増殖阻止活性も認められた。これらの化合物によるセレウス菌芽胞に対しても同等の芽胞発芽阻止および栄養型細胞の増殖抑制活性が確認された。
[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

IX. ヘニパウイルス及びその他のラブドウイルスに関する研究

1. シュードタイプ VSV によるニパ患者血清中の中和抗体の性状解析
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。昨年度までの研究で NiV-F/G および HeV-F/G 蛋白質を外套したシュードタイプ VSV(VSVp)を用いて、ヘニパウイルスの鑑別診断が可能な中和抗体測定法(SNT)を構築した。本年度は、NiV 患者において惹起される中和抗体の性状解析に資するため、HeV-F と NiV-G 蛋白質を外套した VSVp を作製した。NiV-F/G 外套、HeV-F/G 外套、HeV-F/NiV-G キメラ外套の各 VSVp を用いて、2014 年のフィリピンにおけるニパ患者血清8検体に対し、比較中和試験を実施した。その結果、全８検体において、NiV-F/G 外套および HeV-F/NiV-G キメラ外套 VSVp で得られた中和抗体価はほぼ同等であった。これに対し、HeV-F/G 外套 VSVp により得られた中和抗体価は、6検体で検出限界以下、残り2検体も NiV-F/G 外套および HeV-F/NiV-G キメラ外套 VSVp で得られた中和抗体価を大幅に下回っていた。このことから、ニパ患者で惹起される中和抗体の標的蛋白質は、主に NiV-G であることが示唆された。一方、DNA 免疫により作製した NiV-F, -G および HeV-F, -G ウサギ抗血清に対して、同様に比較中和試験を実施したところ、両ウイルスの F, G 蛋白質抗血清に十分な中和抗体価があることが確認された。これらの結果は、自然感染と DNA 免疫により惹起される中和抗体の性状が異なることを示しており、今後ヘニパウイルスのワクチン開発に向けて重要な基礎知見となる。 [加来義浩、朴ウンシル、野口章、井上智、森川茂]

2. ニパウイルス N 蛋白質を抗原とした ELISA の構築および地衛研への技術移転
地衛研で実施可能なヘニパウイルスの血清診断法として、組換え NiV-N 蛋白質を抗原とした ELISA の構築を行った。NiV-N 発現バキュロウイルスを Tn5 細胞に接種し、48-60 時間後に回収した細胞 lysate を 2M urea および 0.1% NP40 添加 PBS で処理することにより、NiV-N 抗原を調製した。ポリヘドリンプロモーター欠損(delta-P)バキュロウイルスを接種した Tn5 細胞からも、同様の処理により陰性対照抗原(delta-P 抗原)を調製した。これらを適宜段階希釈したうえで、イムノプレートに固相化し、NiV-N 免疫サル血清を用いて反応性を確認した。
同法を地衛研に技術移転するためには、NiV-N/delta-P 抗原を安定した状態で輸送、保存する必要があることから、凍結乾燥による力価への影響を検証した。また感染研・獣医科学部における抗原調製法では、2M urea および 0.1% NP40 添加 PBS で処理後に超音波処理を行っているが、地衛研では困難であるため、超音波処理の有無が抗原力価へ影響するかどうかも合わせて検証した。その結果、凍結乾燥した抗原を、2M urea および 0.1% NP40 添加 PBS で懸濁後、超音波処理を行わない場合でも、抗原力価に大きな影響はないことがわかった。これにより、地衛研への技術移転に向け、NiV-N/delta-P 抗原を安定的に分与する技術的基盤が整備された。
[加来義浩、朴ウンシル、野口章、井上智、森川茂]

X. 野兎病菌の予防法に関する研究

1. 野兎病に関する研究
カニクイザルを用いた野兎病菌 ΔpdpC のワクチン効果に関する検討
野兎病菌 pdpC 遺伝子破壊株(ΔpdpC)のワクチン効果について、カニクイザルを用いて検討した。生食を皮下投与した 3 週間後に、強毒性野兎病菌 SCHU P9 株を気管内投与した 2 頭のカニクイザルは、7 および 11 日目に重篤な症状を示したことから安楽殺した。病理学的解析の結果、SCHU P9 株が肺胞マクロファージおよび II 型上皮細胞で増殖し、壊死を伴う重度の肺炎を引き起こしていた可能性が示唆された。一方で、ΔpdpC を皮下免疫した 2 頭のカニクイザルは、SCHU P9 株の致死的感染を回避した。2 頭のカニクイザルのうちの 1 頭は、軽度の野兎病を発症したが、野兎病菌の増殖は肺の一部に限定されていた。以上の結果から、ΔpdpC が弱毒生ワクチンとして有効である示唆された。
[田徳雨、宇田晶彦、堀田明豊、朴ウンシル、阿崎美佳、古山祐樹、森川茂;網康至(動物管理室)、永田典代、岩田奈織子(感染病理部)、山田章雄、平山和宏、三浦こずえ(東京大学)]

2. *Francisella* 属菌の抗原性状解析
Francisella 属菌感染症の血清診断法の開発を目的に *Francisella novicida*, および *Francisella hispaniensis* 感染血清を作製した。得られた感染ラット血清はそれぞれの菌体抗原と凝集せず、野兎病の血清診断法である凝集反応法はこれらの菌の感染の血清診断には適当でないと考えられた。またこれら菌のマウス感染血清と、*Francisella tularensis* 、*Francisella philomiragia* 、*Francisella noatunensis* および *Francisella halioticida* を供試し、抗原

性解析を実施したところ、マウスおよびラット由来の *F. hispaniensis* 抗血清が *F. hispaniensis* 抗原の 27-kDa に現れるバンドに特異的に反応した。これより *F. hispaniensis* の 27-kDa 抗原が本菌特異的である可能性が示唆された。
［堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、森川茂］

3. 野兎病菌継代株の抗原性状変化に関する研究
野兎病菌 KU-1 継代株の抗原性相異がモノクローナル抗体（MAb）の反応から検出された。MAb L12D7 の反応はウエスタンブロットにおいて、KU-1 original 株抗原に対し 17-kDa の単一バンドに、KU-1 Eugon 寒天培地 80 代継代（EP80）株抗原に対し 10 および 17-kDa の 2 本のバンドとして検出された。抗原転写後のメンブランを 0.2N NaOH または 50mM $NaIO_4$ で処理したところ、MAb の反応は KU-1 original および EP80 株抗原にて同一の 10-kDa の単一バンドとして認められた。これより KU-1 EP80 株は original 株と LPS の抗原性が異なり、original 株では MAb L12D7 のエピトープがエステル結合された糖鎖分子などにより覆われていると推測された。この抗原性相異は病原性が弱まった KU-1 の Eugon 寒天培地 20 代継代株でも認められたため病原性評価の指標のひとつとなる可能性がる。
［堀田明豊、宇田晶彦、藤田修、森川茂］

4. *Francisella* 属菌の菌種同定に関する研究
野兎病菌 (*Francisella tularensis*) の菌種同定には、通常特異的遺伝子領域の PCR 法あるいはリアルタイム PCR 法が用いられている。臨床検査現場では近年、MADLI biotyper など質量分析法を用いた菌種同定は広く用いられているが、*Francisella* 属菌では *F. philomiragia* 菌しかデータベースに登録されておらず、他の *Francisella* 属菌の菌種同定はこの手法では不能である。感染研・獣医科学部にて所持する野兎病菌を含む他の *Francisella* 属菌6種2亜種の MALDI biotyper の解析データを菌種の鑑別同定用として作成した。
［藤田修、堀田明豊、鈴木道雄、宇田晶彦、森川茂：鈴木仁人（薬剤耐性研究センター）］

XI. ウエストナイル熱に関する研究

1. 死亡動物調査システムの構築と運用
ウエストナイル熱の早期流行を予測することを目的として、2005 年からカラスとその他鳥類の死亡個体数動向を調査している。本年度は、調査に用いている Web システムの老朽化に伴い、システム再構築およびウエストナイル熱以外の感染症対策への適用するためのシステム拡張を試みている。この調査において、2005 年から 2017 年に報告されたカラス死亡個体数の四半期平均+2SD は 42.1（24.6+17.5）だった。一方で、2018 年第 3 四半期（2018/7/1～2018/9/30）のカラス死亡個体数は、140 羽に上った。このカラスの死亡個体数の急増は、特定の 1 地点で観察され、9 月をピークに 11 月には例年と変わらない水準まで低下した。このことから、カラスの死亡個体数の急増は、一過性の増加であった可能性が示唆された。
[宇田晶彦、森川茂]

XII. ダニ媒介脳炎ウイルスの疫学調査

1. 国内生息ノウサギにおけるダニ媒介性脳炎ウイルスの血清疫学調査
昨年度、全国的な野生動物におけるダニ媒介性脳炎（TBE)の疫学調査は実施したところ、ツキノワグマ 401 検体中 37 検体、猟犬 383 検体中 33 検体が ELISA 法にて抗ダニ媒介性脳炎ウイルス(TBEV)抗体陽性であり、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。本年度はノウサギ血液由来検体について同様の試験を試みた。秋田、岩手、福島、新潟、高知、宮崎および鹿児島県由来の全 224 検体は陰性であった。ツキノワグマや猟犬の陽性率との相異は、ノウサギが比較的に短命であり、活動範囲が狭いことや、ノウサギと TBEV の親和性などが関与するかもしれない。
［堀田明豊、朴ウンシル、木村昌伸、宇田晶彦、藤田修、森川茂］

レファレンス業務

Ⅰ. 行政検査・依頼検査等

今年度は以下の行政検査・依頼検査等を実施した。
1）ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査：3 件(行) 、1 件(依) [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依頼検査：5 件(依) [鈴木道雄]
3）鼠咬症疑い患者検体の行政検査：3 件(行)、2 件(依) [今岡浩一]
4）SFTS 疑い犬・猫検体の依頼検査：61 件(依) [朴ウンシル、木村昌伸、藤田修、森川茂]
5）野兎病疑い患者検体の行政検査：2 件[堀田明豊]
6）炭疽に関する行政検査：1 件［奥谷晶子］

品質管理に関する業務

Ⅰ. 奥谷晶子 地方衛生研究所等（38 機関）を対象に、炭疽菌の遺伝子検査に関する External Quality Assuarance(EQA)を行った。

国際協力関係業務

Ⅰ. 加来義浩 コンゴ民主共和国（DRC）の国立生物医学研究所（Institut National de Recherche Biomédicale: INRB)において、JICA 国際緊急援助隊 感染症対策チームとして、エボラ出血熱の実験室診断の支援業務を行った。2018 年 6 月

研修業務

1) 獣医科学部員一同 家畜衛生・公衆衛生獣医師インターンシップ（文部科学省獣医学アドバンスト教育プログラム構築推進委託事業）、2018.8.27～31
2) 今岡浩一 ブルセラ症の最近の話題。平成 30 年度希少感染症診断技術研修会、東京、2019 年 2 月
3) 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 30 年度中央畜産技術研修会、白河、2018 年 6 月
4) 奥谷晶子 動物由来感染症。FETP18 期生対象初期研修、2018 年 4 月、国立感染症研究所
5) 宇田晶彦 野生動物の死亡状況の把握方法について。平成 30 年度狂犬病予防業務担当者会議プログラム、2019 年 2 月、厚生労働省講堂（東京都）
6) 堀田明豊 「動物由来感染症と One Health の概念」。平成 30 年度食肉衛生検査研修、2018 年 6 月 14 日、国立保健医療科学院（埼玉県和光市）
7) 堀田明豊 「生物剤に関する基礎知識 炭疽菌を中心に」。NBC テロ対策専科、平成 30 年 11 月 27 日、警察大学校（東京府中市）
8) 堀田明豊 「検体の移送・解剖・除染・廃棄における

バイオセーフティについて」。第 6 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会、2018 年 12 月 3-4 日、宮崎大学獣医棟（宮崎県宮崎市）

9) 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、2018 年 4 月 19 日、獣医学部本館 4F428 号室（札幌市）

10) 井上智 平成 30 年度 第 1 回動物由来感染症対策検討会、徳島県危機管理部県民くらし安全局安全衛生課、2018 年 10 月 31 日、徳島県庁 7 階 707 会議室（徳島市）

11) 井上智、堀田明豊、野口章、伊藤睦代、兼子千穂 第 6 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 30 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、2018 年 12 月 3-5 日、宮崎大学（宮崎県）

12) 井上智 平成 30 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、2019 年 2 月 22 日、中央合同庁舎第 5 号館 講堂（千代田区）

13) 井上智 平成 30 年度 2 回動物由来感染症対策検討会、徳島県危機管理部県民くらし安全局安全衛生課、2019 年 3 月 27 日、徳島県庁 7 階 707 会議室（徳島市）

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

欧文発表

1） Tsutsumi,R., Yoshida,Y., Suzuki,M., Imaoka,K., Yamamoto,O. Image Gallery: Annular erythema related to *Capnocytophaga canimorsus* bacteraemia after a dog bite. British Journal of Dermatology, 179(5):e196, 2018

2） Suzuki,M., Imaoka,K., Haga,Y., Mohri,M., Nogami,A., Shimojima,Y., Irie,Y., Sugiura,S., Morikawa,S. Characterization of three strains of *Capnocytophaga canis* isolated from patients with sepsis. Microbiology and Immunology, 62(9):567-573, 2018

3） Fukushima.K., Yanagisawa.N., Imaoka.K., Kimura.M., Imamura.A. Rat-bite fever due to *Streptobacillus notomytis* isolated from a human specimen. The Journal of Infection and Chemotherapy, 24(4):302-304, 2018

4） 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

5） 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

6） Okutani A, Inoue S, Morikawa S. Comparative genomics and phylogenetic analysis of *Bacillus anthracis* strains isolated from domestic animals in Japan. Infection, Genetics and Evolution. 2019. 71:128-139.

7） Shih, T.H., Chiang, J.T., Wu, H.Y., Tu, W.J., Inoue, S., Tsai, C.T., Kuo, S.C., Yang, C.Y. and Fei, C.Y. (2018) An Analysis of Spillover Infection and Risk Factors for Human Exposure to Taiwan Ferret-badger Rabies in Taiwan. J. Prob. Health 6:1 doi:10.4172/2329-8901.1000196

8） Shiwa N, Kimitsuki K, Manalo DL, Inoue S, Park C-H. A pathological study of the tongues of rabid dogs in the Philippines. (2018) Arch Virol. doi:10.1007/s00705-018-3785-y.

9） Shih T-H, Chiang J-T, Wu H-Y, Inoue S, Tsai C-T, Kuo S-C, Yang C-Y, Fei C-Y. (2018) Human exposure to ferret badger rabies in Taiwan. Int. J. Environ. Res. Public Health. 15 1347; doi:10.3390/ijerph15071347.

10） Nguyen T.T., Nguyen V.D., Ngo C.G., Inoue S., Nguyen T.T.H., Pham N.T., Nguyen D.T., Nguyen H.D., and Nguyen T.K.A. (2018) Genetic characteristics of rabies virus cause endemic in Quang Nam and Quang Ngai, 2016-2017. Vietnam J. Prevent. Med. 28:102 – 110.

11） Shiwa N., Nakajima C., Kimitsuki K., Manalo D.L., Noguchi A., Inoue S. and Park C-H. (2018) Follicle sinus complexes (FSCs) in muzzle skin as postmortem diagnostic material of rabid dogs. J. Vet. Med. Sci. 80:1818-1821.

12） Inoue S., Park C-H. Hatta H. (2018) Production of monospecific polyclonal rabies virus antibodies in birds. Laboratory techniques in rabies. Fifth edition. Eds: Rupprecht CE., Fooks AR. and Abela-Ridder B. World Health Organization 2018.

13） Tian D, Uda A, Ami Y, Hotta A, Park ES, Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Yamada A, Hirayama K, Miura K, Koyama Y, Azaki M, Morikawa S. Protective effects of the Francisella tularensis ΔpdpC mutant against its virulent parental strain SCHU P9 in Cynomolgus macaques. Scientific reports, 2019, 9(1), 9193

14） Shimizu T, Otonari S, Suzuki J, Uda A, Watanabe K, Watarai M. Expression of Francisella pathogenicity island protein intracellular growth locus E (IglE) in mammalian cells is involved in intracellular trafficking, possibly through microtubule organizing center. MicrobiologyOpen, 2018, 8(4), e00684

15） Saha SS, Uda A, Watanabe K, Shimizu T, Watarai M. RtxA like protein contributes to infection of Francisella novicida in silkworm and human macrophage THP-1. Microbial pathogenesis, 2018, 123, 74-81.

16） Matsuno K, Nonoue N, Noda A, Kasajima N, Noguchi K, Takano A, Shimoda H, Orba Y, Muramatsu M, Sakoda Y, Takada A, Minami S, Une Y, Morikawa S, and Maeda K. Fatal Tickborne Phlebovirus Infection in Captive Cheetahs, Japan. Emerg. Infect. Dis. 2018, 24(9): 1726-1729.

17） Kimura T, Fukuma A, Shimojima M, Yamashita Y, Mizota F, Yamashita M, Otsuka Y, Kan M, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Ogata M, Kurosu T, Morikawa S, Saijo M, Shinomiya H. Seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus antibodies in humans and animals in Ehime prefecture, Japan, an endemic region of SFTS. J Infect Chemother. 2018, (10):802-806.

18） Saasa N, Kajihara M, Dautu G, Mori-Kajihara A, Fukushi S, Sinkala Y, Morikawa S, Mweene A, Takada A, Yoshimatsu K, Arikawa J. Expression of a Recombinant Nucleocapsid Protein of Rift Valley Fever Virus in Vero Cells as an Immunofluorescence Antigen and Its Use for Serosurveillance in Traditional Cattle Herds in Zambia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2018, 18(5):273-277.

19) 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.
20) 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.
21) Tani H, Komeno T, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Shimojima M, Uda A, Morikawa S, Nakajima N, Furuta Y, Saijo M. Therapeutic effects of favipiravir against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in a lethal mouse model: Dose-efficacy studies upon oral administration. PLoS One. 2018, 13(10):e0206416.

2. 和文発表

1) 鈴木道雄 カプノサイトファーガ感染症について。In 獣医公衆衛生研究、21(2):11-15、2019.
2) 今岡浩一 ブルセラ症－人と動物の共通感染症の最新情報(VI)。日本獣医師会誌、日本獣医師会、72(1): 6-12、2019
3) 田中智奈美, 鈴木道雄, 今岡浩一 東京都内で収容された猫の *Capnocytophaga canimorsus* 保有状況。獣医畜産新報、71(7):499-503、2018 (Abstract in English)
4) 小野寺翔、山本智清、内坂直樹、寺川偉温、清水郁枝、鎌倉明美、栗田敬子、今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄 家族内に複数人の感染者を見た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。病原微生物検出情報、国立感染症研究所 厚生労働省健康局、39(7): 123-124、2018
5) 今岡浩一 フランシセラ属。獣医微生物学 第 4 版(関崎勉、遠矢幸伸 他編)、文永堂出版、pp133-135、2018
6) 仲野惟、池添正哉、岡田邦彦、嶋崎剛志、井出京子、加藤亮介、上野雅江、小林広記、小林良清、今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄 新規ブルセラ属菌によるブルセラ症と診断された日本人男性の一例。病原微生物検出情報、国立感染症研究所 厚生労働省健康局、39(5): 84-86、2018
7) 水越文徳、井上智、野口章、畠山薫、船渡川圭次、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。日本獣医師会雑誌、71:318-319、2018
8) 重本達郎、小野田淳一、鈴木航、花田知史、江平俊治、上田泰史、糸井正人、野口章、奥谷晶子、井上智、安藤正郎、政田敏裕、笠松美惠 国際航空貨物を介したコウモリ迷入事案への対応事例。日本検疫医学会誌(J. J. Quarantine Med Assoc.)、21:7-12、2019
9) 井上智、常盤俊大、森嶋康弘 動物由来感染症(知って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”)。平成 29 年度 感染症及び結核後援会、愛知医報、第 2061 号、p17-21、2018
10) 井上智 II 各論編／4. 四類感染症／(38)リッサウイルス感染症。東京都 感染症マニュアル 2018、監修・東京都新たな感染症対策委員会 東京都福祉保健局、228-229、2018
11) 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 特集 人と動物の共通感染症最前線 15. 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。獣医畜産新報(JVM)、71:266-268、2018
12) 井上智、兼子千穂、好井健太朗、堀田明豊、費昌勇 狂犬病をめぐる最近の状況。第 51 回 獣医疫学会学術集会 シンポジウム:獣医疫学会 20 年の歩み －畜産・公衆衛生領域の重要疾病対応に見る疫学の役割(Current issues of rabies prevention in Japan)、獣医疫学雑誌(J.Vet.Epidemiol.)、22:8-14、2018
13) 井上智、堀田明豊 特集:人獣共通感染症―獣医衛生領域から見た対策／狂犬病とその対策(日本の狂犬病対策に必要な「One Health」の実践と継続)。公衆衛生、第 83 巻(第 1 号)28-33、2019(2019 年 1 月 15 日発行)
14) 朴天鎬、志和希、君付和範、井上智 レポートコーナー／動物の顔面洞毛組織を用いた狂犬病の新規診断法の開発。MP アグロジャーナル、2019 年 1 月号、No.36、41-44(2019 年 1 月 1 日発行)
15) 奥谷晶子 人と動物の共通感染症の最新情報(VIII) 炭疽。2019 年 3 月、日本獣医師会雑誌 72(3) 130-134.
16) 井上智、堀田明豊 狂犬病とその対策 日本の狂犬病対策に必要な「One Health」の実践と継続。公衆衛生、2019 年 1 月、Vol.83 No.1 医学書院
17) 堀田明豊 人と動物の共通感染症の最新情報(VII) 野兎病。日本獣医師会雑誌、2019 72(2):71-74
18) 井上智、兼子千穂、好井健太朗、堀田明豊、費昌勇 狂犬病をめぐる最近の状況。J. Vet. Epidemiol. 2018 22(1)8-14

Ⅱ. 学 会 発 表

国際学会

1) Takahiko Fukuchi, Nobue Yanagihara, Kazuhiko Nose, Koichi Imaoka. Brucellosis: An anecdotal experience in a nonendemic country. 17th Asia-Pacific Congress of Clinical Microbiology and Infection & 8th International Infection Control Conference, Hong Kong, China, Aug 30-Sep 2, 2018
2) Zamoto-Niikura, A., Imaoka, K., Morikawa, S., Hagiwara, K., Ishihara, C., Holman, J.P., Hanaki, K. Molecular analysis of Bd37 of Babesia divergens in Japan. The 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Madrid, Spain, April 21-24, 2018
3) Zamoto-Niikura, A., Imaoka, K., Morikawa, S., Hagiwara, K., Ishihara, Hanaki, K. Genetic polymorphism and amino acid sequence variation of Babesia divergens Bd37 in Ixodes persulcatus and Cervus nippon in Japan. The first Human Babesiosis Meeting, Connecticut, USA, April 12-13, 2018
4) Kubo N., Inoue S., Noguchi A., Hatta H. Development of specific IgY to rabies N protein by plasmid immunization. 16-17 Oct, 2018. The international egg symposium in Kyoto 2018. Mielparque Kyoto 6F, Kyoto, Japan. Kyoto women's University.
5) Nguyen T.T., Nguyen D.V., Ngo G.C., Demetria C., Bazartseren B., Noguchi A., Inoue S. Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for rabies virus isolated in Vietnam. Rabies in the America 2018 (RITA 2018). 28 October to 1 November, 2018. Hotel Emperador Buenos Aires, Buenos Aires City, Argentina.

6） Petsophonsakul W., Aronthippaitoon Y., Atuntee T., Thongkorn K., Pongsopawijit P., Jaisuda S., Yodgomleo A., Srijun M., Phornwisedsirikun S., Noguchi A., Kawai A., Sato M. and Inoue S. Monitoring anti-rabies antibody in sera of stray dogs living at borders between the forest and city. iCOMOS 2019 (4th international conference on one medicine one science). University of Minnesota & Chiang Mai University. 11-14 February, 2019. Chiang Mai, Thailand. .

7） Aronthippaitoon Y., Samer W., Thananchai H., Thongkorn K., Inoue S., Noguchi A., Park U-S., Kawai A., Petsophonsakul W. Serological response in veterinary students after annual rabies vaccination program. iCOMOS 2019 (4th international conference on one medicine one science). University of Minnesota & Chiang Mai University. 11-14 February, 2019. Chiang Mai, Thailand.

8） Hojo M., Noguchi A., Inoue S., Konish Y. Induction of autophagy in mouse neuroblastoma cells by rabies lyssavirus infection. SOT 58th annual meeting and ToxExpo. 10-14 March, 2019. Baltimore Convention Center, Baltimore, USA.

9） Inoue S., Hotta A., Park C-H, Shiwa N., Kimitsuki K., Manalo D.L. The enhancing of rabies prevention in Japan by strengthening of the intra- and inter-national network. Updates on Rabies Research, Diagnosis and Guidelines. 18 March, 2019. Research Institute for Tropical Medicine – Department of Health. RITM Training Center. Muntinlupa, Philippines.

10） Park C-H, Shiwa N., Kimitsuki K., Inoue S., Manalo D.L. Follicle Sinus Complexes (FSCs) in Facial (muzzle) Skin as diagnostic material of rabid dogs. Updates on Rabies Research, Diagnosis and Guidelines. 18 March, 2019. Research Institute for Tropical Medicine – Department of Health. RITM Training Center. Muntinlupa, Philippines.

2. 国内学会

1） 鈴木道雄 カプノサイトファーガ感染症の現状と課題~動物由来感染症としてのカプノサイトファーガ感染症。平成 30 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会、神奈川、2019 年 2 月

2） 加藤亮介、井出京子、上原雅江、仲野惟、池添正哉、岡田邦彦、嶋崎剛志、鈴木道雄、今岡浩一 渡航歴のない日本人男性の血液培養から新規 *Brucella* 属菌を検出した一症例。第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

3） 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 canimorsus* 国内臨床分離株の莢膜型遺伝子タイピング。第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

4） Park,E-S., Shimojima,M., Yoshikawa,T., Nagata,N., Iwata,N.,Fukushi,S.,Watanabe,S.,Ami,Y., Kurosu,Y., Maeda,K., Imaoka,K., Saijo,M., Morikawa,S. SFTS virus causes lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome in cats. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology (第 66 回日本ウイルス学会学術集会), 京都, 2018 年 10 月

5） Kaku,Y.,Park,E-S.,Noguchi,A., Imaoka,K., Inoue,S., Morikawa,S.Generation of VSV pseudotypes bearing Nipah virus G and Hendra virus F proteins. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology (第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

6） Morikawa,S., Park,E-S., Yoshikawa,T., Kaku,Y., Imaoka,K. Development and evaluation of Bas-Congo virus vaccines which elicit neutralizing antibody. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology (第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

7） Hikaru Fujii, Hideki Tani, Kazutaka Egawa, Satoshi Taniguchi, Tomoki Yoshikawa, Chang-Kweng Lim, Mutsuyo Takayama-Ito, Takahiro Maeki, Takeshi Kurosu, Shuetsu Fukushi, Masayuki Shimojima, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo Establishment of an animal model of Heartland virus infection and evaluation of the efficacy of ribavirin and T-705 in vitro and in vivo (第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

8） Tadaki Suzuki, Takeshi Arashiro, Kaori Sano, Yuko Sato, Harutaka Katano, Noriko Nakajima, Yuji Wada, Shigeru Morikawa, Hideki Hasegawa Characterization of SFTS virus susceptible cells in humans(第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

9） Keita Noguchi, Kango Tatemoto, Shohei Minami, Kenzo Yonemitsu, Supriyono Supriyono, Tran Thuy Bao Ngo, Junko Mizuno, Ryusei Kuwata, Ai Takano, Hiroshi Shimoda, Takehisa Soma, Shigeru Morikawa, Ken Maeda Occurrence situations of SFTS among cats and dogs in Japan (2017) (第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

10） Kango Tatemoto, Keita Noguchi, Shohei Minami, Kenzo Yonemitsu, Supriyono Supriyono, Tran Thuy Bao Ngo, Junko Mizuno, Ryusei Kuwata, Ai Takano, Hiroshi Shimoda, Masami Suenaga, Kazuo Suzuki, Shigeru Morikawa, Ken Maeda Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV) infection among wild animals in Japan (2018) (第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

11） Tomoki Yoshikawa, Satoshi Taniguchi, Hirofumi Kato, Hikaru Fujii, Miho Shibamura, Shumpei Watanabe, Kazutaka Egawa, Takuya Inagaki, Satoko Sugimoto, Supranee Phanthanawiboon, Shizuko Harada, Takeshi Kurosu, Shuetsu Fukushi, Masayuki Shimojima, Souichi Yamada, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo Protection of mice from a lethal challenge with SFTS virus by immunization with a novel recombinant LC16m8 expressing SFTS virus genes (第 66 回日本ウイルス学会学術集会)、京都、2018 年 10 月

12） 朴ウンシル、下島昌幸、吉河智城、永田典代、岩田奈織子、福士秀悦、黒須剛、渡辺俊平、網康至、木村昌伸、前田健、今岡浩一、西條政幸、森川茂 SFTSV はネコに致死的感染を起こす。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9 月

13） 藤田修、今岡浩一、朴ウンシル、鈴木道雄、宇田晶彦、森川茂 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。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9 月

14） 今岡浩一、谷川力、鈴木仁人、木村昌伸、朴ウンシル、鈴木道雄、森川茂 鼠咬症原因菌 (*Streptobacillus* 属菌)の特異的検出法の開発。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9

月

15) 鈴木道雄、今岡浩一、木村昌伸、森川茂 *Capnocytophaga canis* のイヌにおける保有状況。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9 月

16) 堤玲子、吉田雄一、山元修、鈴木道雄、今岡浩一 犬咬傷後に生じた *Capnocytophaga canimorsus* 菌血症の1例。第 117 回日本皮膚科学会総会、広島、2018 年 6 月

17) 谷直樹、中村啓二、隅田幸祐、吉村大輔、井上久子、鈴木道雄、今岡浩一 イヌ咬傷後の *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症を契機に血栓性微小血管障害症(TMA)を発症した一例。第 92 回日本感染症学会総会、岡山、2018 年 6 月

18) 川上直樹、齊藤和人、今岡浩一 19 年間におよぶ罹患期間であった慢性ブルセラ症の一例。第 92 回日本感染症学会総会、岡山、2018 年 6 月

19) 福地貴彦、柳原伸江、野瀬和彦、今岡浩一 ブルセラ症輸入症例からの教訓。第 92 回日本感染症学会総会、岡山、2018 年 6 月

20) 木村洋平、野村哲彦、鈴木道雄、今岡浩一 対照的な経過を示した *Capnocytophaga canimorsus* による敗血症の2症例。第 92 回日本感染症学会総会、岡山、2018 年 5 月

21) 志和希、君付和範、Daria Llenaresas Manalo、井上智、朴天鎬 狂犬病発病犬の鼻口部洞毛組織の死後診断への応用。第 17 回狂犬病研究会、2018 年 4 月 6 日、国立感染症研究所（新宿区）

22) 佐瀬友紀奈、蓮池陽子、佐藤克、井上智 猫を用いた新たな脳適法の開発と保定方法等の検討。平成 30 年度全国動物管理関係事業所協議会・関東甲信越静ブロック会、調査研究発表会・研修会、総会・会議。2018 年 7 月 12-13 日、ホテルブリランテ武蔵野（柏市・さいたま市）

23) 佐倉由美、志和希、君付和範、Daria Llenaresas Manalo、井上智、朴天鎬 狂犬病発症犬の脳におけるネグリ小体に関する病理学的研究。第 161 回日本獣医学会学術集会、日本生物科学研究所、2018 年 9 月 11-13 日、つくば国際会議場（つくば市）

24) 志和希、君付和範、Daria Llenaresas Manalo、井上智、朴天鎬 イヌ以外の狂犬病発症動物における鼻口部洞毛組織の死後診断材料としての有用性。第 161 回日本獣医学会学術集会、日本生物科学研究所、2018 年 9 月 11-13 日、つくば国際会議場（つくば市）

25) 久保庭清華、志和希、君付和範、Daria Llenaresas Manalo、井上智、朴天鎬 狂犬病発症犬の鼻前庭腺、鼻粘膜および鼻鏡部皮膚に関する病理学的研究。第 161 回日本獣医学会学術集会、日本生物科学研究所、2018 年 9 月 11 日-13 日、つくば国際会議場（つくば市）

26) 佐瀬友紀奈、蓮池陽子、佐藤克、井上智 猫を用いた新たな脳摘法の開発と保定方法の検討。平成 30 年度狂犬病予防等及び動物愛護管理調査研究発表会、平成 30 年度（第 28 回）全国動物関係事業所協議会全国会議（10 月 30-31 日）、2018 年 10 月 31 日、ホテル アウィーナ（大阪市）

27) 久保七彩、八田一、井上智、野口章 プラスミド DNA 免疫法を用いた安価でかつ簡易な抗-Rabies virus N protein IgY 抗体作製法の開発。第 161 回日本獣医学会学術集会、日本生物科学研究所、2018 年 9 月 11-13 日、つくば国際会議場（つくば市）

28) 重本達郎、小野田淳一、鈴木 航、花田知史、江平俊治、上田泰史、糸井正人、野口章、奥谷晶子、井上智、安藤正郎、政田敏裕、笠松美惠 国際航空貨物を介したコウモリ迷入事案への対応事例。日本検疫医学会第 21 回学術大会、2018 年 11 月 16 日、丸善インテックアリーナ大会議室（大阪市）

29) 長井彰吾、安田千登勢、佐藤克、井上智 ニッパーを用いた小型動物の開頭方法の検討。第 43 回動物愛護相談センター調査研究発表会、東京都動物愛護相談センター、2019 年 3 月 1 日、東京 23 区清掃一部事務組合千歳清掃工場見学者説明室（世田谷区）

30) 加来義浩、朴ウンシル、野口章、今岡浩一、井上智、森川茂 ニパウイルス G 蛋白質とヘンドラウイルス F 蛋白質を外套したシュードタイプ VSV の作製 Generation of VSV pseudotypes bearing Nipah virus G and Hendra virus F proteins.第 66 回日本ウイルス学会、2018 年 10 月

31) 宇田晶彦 野兎病菌の安定性と不活化に関する包括的な検討。第 18 回日本バイオセーフティ学会 総会・学術集会、東京、2018 年 11 月

32) 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 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。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9 月

33) 阿崎美佳、宇田晶彦、田徳雨、堀田明豊、森川茂. 野兎病菌の不活化条件に関する調査。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9 月

34) 稲垣文弥、渡邉健太、宇田晶彦、清水隆、度会雅久 カイコモデルを用いた野兎病菌の病原遺伝子の探索。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば、2018 年 9 月

35) 宇田晶彦、阿崎美佳、田徳雨、中里勝芳、堀田明豊、森川茂 野兎病菌の不活化条件に関する調査。第 161 回日本獣医学会学術集会、つくば市、2018 年 9 月 11-13 日

36) 宇田晶彦、阿崎美佳、田徳雨、中里勝芳、堀田明豊、森川茂 野兎病菌の安定性と不活化に関する包括的な検討。第 18 回日本バイオセーフティ学会総会、新宿区、2018 年 11 月 14−15 日

3.セミナー・講演等

1) 鈴木道雄 カプノサイトファーガ感染症等の犬・猫咬掻傷感染症について。平成 30 年度人獣共通感染症講演会、秋田、2019 年 3 月

2) 今岡浩一 ブルセラ症の現状と対応。感染症 TODAY・ラジオ NIKKEI/インターネットライブ、「 http://medical.radionikkei.jp/kansenshotoday_pdf/kansenshotoday-190109.pdf」、2019 年 1 月 9 日

3) 今岡浩一 動物由来感染症－愛玩動物、ネズミ由来感染症－。平成 30 年度感染症対策講習会(ペストコントロール協会)、札幌、2018 年 11 月 15 日

4) 今岡浩一 動物由来感染症－愛玩動物、ネズミ由来感染症－。平成 30 年度感染症対策講習会(ペストコントロール協会)、東京、2018 年 11 月 7 日

5) Inoue S. and Hotta A. Preparedness of rabies in Japan by strengthening of surveillance and laboratory network in Asia. 2018 Launching meeting of OIE twinning project for rabies between ANSES-NANCY and AHRI. 17th Oct., 2018. Animal Health Institute, Council of Agriculture, Executive, New Taipei City,

Taiwan.

6） Inoue S. The role of laboratory in Surveillance for the outbreak prediction. The second conference on preventive medicine – Hanoi, 2018. 3rd Nov., 2018. Hanoi CDC, La Thanh Hotel, Hanoi, Vietnam.

7） Inoue S., Hotta A., Park C-H, Shiwa N., Kimitsuki K., Manalo D.L. The enhancing of rabies prevention in Japan by strengthening of the intra- and inter-national network. Updates on Rabies Research, Diagnosis and Guidelines. 18 March, 2019. Research Institute for Tropical Medicine – Department of Health. RITM Training Center. Muntinlupa, Philippines.

8） Park C-H, Shiwa N., Kimitsuki K., Inoue S., Manalo D.L. Follicle Sinus Complexes (FSCs) in Facial (muzzle) Skin as diagnostic material of rabid dogs. Updates on Rabies Research, Diagnosis and Guidelines. 18 March, 2019. Research Institute for Tropical Medicine – Department of Health. RITM Training Center. Muntinlupa, Philippines.

9） 井上智 狂犬病の現状と課題：Rabies in Japan, Go or no-go as a rabies free country? 第 14 回日仏獣医学セミナー、2018 年 10 月 13 日、共立製薬株式会社・本社会議室（千代田区）

10） 井上智 最近の狂犬病事情について。平成 30 年度山形県獣医師会狂犬病予防業務研修会、山形県獣医師会、2018 年 12 月 14 日、山形ビッグウイング（山形県）

11） 井上智 狂犬病を通して見た獣医師の意義と価値（One Health 実践に欠かせないその役割）。北里大学獣医学科-特別講義（学部 3 年次）、2018 年 12 月 20 日、北里大学十和田キャンパス（青森県）

12） 井上智 海外渡航で注意したい動物由来感染症（感染の予防と阻止したい侵入と侵淫）。阪神地区感染症談話会（大阪検疫所・神戸検疫所・関西空港検疫所）、2019 年 1 月 7 日、大阪府病院年金会館コンベンションルーム（大阪市）

13） 井上智 狂犬病：清浄地域の課題（台湾に侵淫していた野生動物の狂犬病）。第 2 回人獣共通感染症公開セミナー、主催：北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター特定共同研究・宮崎大学人獣共通感染症教育・研究プロジェクト／共催：宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター・宮崎 One Health 研究会、2019 年 1 月 15 日. 宮崎大学農学部獣医学科獣医研究棟 1 階獣医師聴覚室（宮崎県）

１３．血液･安全性研究部

部長　　濵口　功

概 要

血液･安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定･検査および標準品の整備･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30 年度は静注用ヒト免疫グロブリン製剤「ピリヴィジェン10%静注」の承認前試験を試験担当部として実施するとともに、品質の均一性を確認するためのロットリリースの体制を整えた。また、試験の見直しについては、生物学的製剤基準の異常毒性否定試験に関する記載に関して、一度省略となった本試験を再開した後の取り扱いについての規定をまとめた。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(サマリープロトコール)審査を、血液製剤においても導入の検討を進めている。製剤の製造工程のレビューに関し審査の様式案の検討を重ねており、早期の試行の開始を目指す。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を進めている。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が重要である。不十分な点については、今後一層の改善を目指す。

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、国際標準品制定に携わった。関連する活動として、第 6 次 HCV NAT 国際標準品制定のための国際共同測定に参加した。また、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。さらに、WPRO が後援している第３回 Meeting of National Control Laboratories for Biologicals in the Western Pacific/Global Bio Conference に参加し、 免疫グロブリン製剤の抗補体性否定試験および重合物否定試験に関する共同研究についての話し合いを進めた。今後も品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備にも積極的に取り組み、試験の精度および信頼性の向上に努める。

研究業務においては、「感染症」「血液製剤･体外診断薬」「ワクチン」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、血液製剤の安全性確保の観点から、新興･再興感染症に対する高感度核酸検査法の開発、HTLV-1 診断のための検査法の開発に関する研究を行っている。この他にも、HTLV-1 感染の疫学、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「血液製剤･体外診断薬」については、SLP 審査制度の導入に関する研究、体外診断薬の性能調査と関連するパネルの整備、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などの研究を行っている。さらに「ワクチン」に関して、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、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 30 年 6 月に非常勤職員の萩野尚美さんが退職された。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。平成 30 年 5 月に大島千夏さん、平成 30 年 6 月に兼武春美さん、平成 30 年 8 月に今井恵子さんが非常勤職員としてそれぞれ採用された。

業 績

調査・研究

I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1. 病原体検出法に関する研究

1) 血液製剤安全性確保のための新興・再興感染症に対する高感度核酸検査法の開発

血液製剤の安全性確保のため、様々な既知の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、近年アフリカや南アメリカなど世界的に流行が発生している黄熱ウイルスと、既に国内感染が認められる重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する高感度核酸検査法の構築を進めた。

[大隈和、倉光球、手塚健太、野島清子、田島茂、林昌宏、下島昌幸(ウイルス第一部)、濵口功]

2) 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 30 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、ジカウイルスおよび黄熱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、今井恵子、濵口功]

3) 輸血血液における HTLV-2 の検出法開発に関する研究

HTLV-1 近縁株の HTLV-2 の国内感染の報告はこれまでほとんどないが、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 を検出できるようになった。抗体陽性のうち HTLV-1 および HTLV-2 の判別困難例のための評価系が必要であることから、本研究では HTLV-1 および HTLV-2 を 1 チューブで検出できる高感度 HTLV-1, -2 multiplex 核酸検査法を確立した。

[大隈和、倉光球、相良康子(日本赤十字社)、濵口功、倉根一郎(前所長)]

4) HTLV-1 プロウイルス陽性ーウエスタンブロット判定保留例のラインブロット解析

HTLV-1 抗体検査の確認検査で実施されるウエスタンブロット法(WB)において、しばしば判定保留例が発生することが問題となっている。近年 WB に代わる次世代の検査法としてラインブロット法(LIA)が保険適用され、判定保留例の減少が期待されている。そこで、HTLV-1 WB 判定保留例のうち、HTLV-1 プロウイルスの核酸陽性例について LIA を検討したところ、WB 判定保留例の 95%が LIA で HTLV 陽性と判定できた。このことから、確認検査法を WB から LIA へ更新することで判定保留例の大幅な減少が期待できることが分かった。

[倉光球、大隈和、相良康子(日本赤十字社)、濵口功]

5) HTLV-1 検査法の標準化

施設毎のヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(HTLV-1)核酸定量検査の測定結果の乖離を縮小するため、ATL 由来 HTLV-1 感染細胞株の TL-Om1 細胞を用いた HTLV-1 核酸定量検査用の参照物質を作製し、デジタル PCR にて参照物質の値を 2.71 コピー/100cells と決定し、関連施設への配布準備を整えた。また HTLV-1 の推奨検査手順フローに、確認検査としてのラインブロット法(LIA)と、判定保留の場合の核酸検査法を組込んだ「HTLV-1 感染の診断指針」を作成し、さらに改訂した。

[倉光球、大隈和、濵口功]

6) 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、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験を対象に実施した。対象 5 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、池辺詠美、濵口功]

2. 国際・国内標準品整備に関する研究

1) 第6次HCV NAT国際標準品制定のための国際共同測定

現行の第5次HCV NAT国際標準品が在庫僅少となったため、NIBSCにて標準品の更新作業が行われ、第6次HCV NAT国際標準品の候補品が整備された。NIBSCからの依頼により力価評価のための国際共同測定に参加した。感染研を含めて12か国19施設からのデータをもとに、NIBSCで候補品の力価の解析が行われた。HCV NAT国際標準品は2019年10月のWHO ECBSにて第6次への更新が承認される見込みである。

[百瀬暖佳、濵口功]

2) 核酸増幅検査(NAT)用 HCV-RNA 国内参照パネルの作製と評価

HCV NAT の感度・精度・特異性の評価のための HCV-RNA 国際参照パネルは現在 WHO にて未だ制定されていないため、国内献血を用いて HCV-RNA 国内参照パネル候補品を作成した。多施設共同研究にて候補品の力価を策定する方針である。

[松岡佐保子、池辺詠美、加藤孝宣(ウイルス第二部)、山口照英(金沢工業大)、濵口功]

3)国内検体を用いた HCV 陽性感染症検体パネルの整備

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。HCV 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、HCV 陽性 15 検体の整備を行った。

[百瀬暖佳、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

2017 年度に整備を終えた 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行った。2018 年度に解析した検体は 41 であり、一部に欠損変異のある検体も見られたが、S 領域、C 領域には特筆すべき変異等は認められなかった。2018 年度までに計 62 検体の解析が終了し、これらは 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)ウイルスに関する体外診断薬の国際標準品等に関する動向調査

2018 年度の WHO ECBS において、抗 Zika 抗体国際標準品、HAdV DNA 国際標準品、HIV-1 p24 国際参照パネルの整備、および、HIV-2 RNA 国際標準品の更新が審議された。HSV1/2 DNA 国際標準品は HSV DNA 用として 1 種の標準品が予定されていたが、SoGAT workshop において HSV-1 国際標準品と HSV-2 国際標準品を別に整備し直すことが議論され、ECBS での審議は 2019 年度以降となった。

[百瀬暖佳、濵口功]

3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1) 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 年度からは関東で 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を送付している。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を改良した。

[松岡佐保子、内丸薫(東京大)、佐竹正博、相良康子(日本赤十字社)、濵口功]

2) ヒト化マウスモデルを用いたHTLV-1感染細胞の生体内動態の解析

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、ヒト血球系をマウス個体内で再現したヒト化マウスの開発を継続している。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。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用いた組織内 HTLV-1 発現細胞の検出法を確立した。本手法は HTLV-1 のプラス鎖あるいはマイナス鎖 mRNA 発現細胞を高感度に検出・識別することが可能であり、HTLV-1 の生体内での挙動や潜伏組織の解析に有用であると考えられた。

[手塚健太、水上拓郎、佐々木永太、大隈和、松岡佐保子、濵口功]

3) キャリア妊婦における HTLV-1経胎盤感染の実態解明の試み

HTLV-1 の主要な感染経路は母乳を介した垂直(母子)感染、あるいは性交渉を介した水平感染であることが知ら

れている。母子感染については母乳栄養ではなく人工栄養を選択することで母子感染率が著減することが明らかになっているが、人工栄養でも2~3%の割合で母子感染が成立することから、母乳以外の母子感染経路の可能性が示唆されている。キャリア妊婦の母体血、胎盤組織、臍帯血を対象に検討したところ、現在までに 254 例中約 55%にあたる 140 例の胎盤絨毛組織から HTLV-1 プロウイルスを検出した。この 140 例のうち、臍帯血中にも HTLV-1 プロウイルスを検出したのは約 4%にあたる 6 例であった。母乳以外の母子感染経路として子宮内や産道感染が考えられているが、本研究においては胎盤組織を介した経胎盤感染の可能性について検討を進めている。

[手塚健太、淵直樹 (長崎大)、三浦清徳 (長崎大)、大隈和、倉光球、水上拓郎、佐々木永太、松岡佐保子、濵口功]

4) 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。近年、HLA 分子を導入することでヒト化マウス個体内にヒト型免疫応答を誘導可能であることが実証され、感染症研究においてもその応用が期待されている。本研究課題では、HLA 分子を導入した次世代ヒト化マウスを用いて、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、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ることを確認した。

[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、伊藤守(実験動物中央研究所)、濵口功]

5) 組換えVSVを用いたHTLV-1感染制御法の開発

HTLV-1 感染の制御を目的として、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。これまでに、VSV 粒子表面上に HTLV-1 のレセプター分子(GLUT1, NRP1)を発現させ、エンベロープタンパク質を発現する HTLV-1 感染細胞を標的化する組換え VSV を作製した。これらの組換え VSV は、VSV の特異的な感染作用により HTLV-1 感染細胞を選択的に死滅させ、感染を制御することを *in vitro* および *in vivo* で確認した。そこで、本研究をさらに進めるために、サル白血病ウイルス 1 型が自然感染したニホンザルを霊長類の薬剤評価系として応用し当該ウイルス療法の有効性を評価できないか検討している。

[大隈和、手塚健太、倉光球、水上拓郎、明里宏文(京都大)、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に HIV インテグラーゼ阻害剤 MK-2048 の抗 HTLV-1 効果を検討している。MK-2048 は、HTLV-1 感染細胞特異的に Unfolded Protein Response(UPR)を活性化し、小胞体ストレス依存性細胞死を誘導することを見出した。HTLV-1 感染細胞は、UPR 活性化を抑制する GRP78 の発現低下が認められ、小胞体ストレスに対して脆弱である事が示唆された。

[池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、大隈和、親泊政一(徳島大)、山岸誠、内丸薫(東京大)、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の解析を目的とし、HTLV-1 アクセサリータンパク質のブレビバチルスによる大量発現検討を行った結果、N 末端欠失 Rex 変異体の大量発現に成功したため、この変異体の[3-^{13}C]Ala安定同位体標識を行い、分子科学研究所 西村勝之准教授に依頼して ^{13}C NMR 解析を行った。その結果、Rex 変異体は特定の高次構造を保持していないことが示唆された。

[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)の分子間相互作用において、HTLV-1 Env 蛋白質のレセプター結合領域(残基 90-94)以外にも C 末端領域(残基 308-312)が Nrp1 b1ドメインの結合に関与していることを見出した。また、HTLV-1 Env 蛋白質の残基 90-94 を含むペプチドにおいて、93 番目のアスパラギンをプロリン、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸に置換すると Nrp1 b1 との結合が強くなることが GST プルダウン結果から示唆された。今後、結合親和性を調べる予定である。

[楠英樹、濵口功]

9)HTLV-1 感染伝播における細胞膜ナノチューブの機能解明

近年、細胞膜ナノチューブは遠隔の細胞同士を物理的につなぐ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、培養細胞及びヒト化マウスを用いた解析

によって、細胞膜ナノチューブはHTLV-1の感染伝播に関与することを示してきた。今回、HTLV-1 キャリアより分離したT細胞について解析したところ、HTLV-1感染T細胞では、本来 T 細胞には発現しない細胞膜ナノチューブ形成因子 M-Sec が異所性発現することがわかった。さらに、HTLV-1キャリア由来感染T細胞を用いた感染実験において、独自に同定した細胞膜ナノチューブ形成阻害剤M-Sec-i は HTLV-1 感染伝播を抑制することが明らかになった。これらのことから、細胞膜ナノチューブは生体内における HTLV-1 感染伝播の様式のひとつであると考えられる。また、我々が独自に同定した M-Sec-i は、これまでにない作用機序の抗 HTLV-1 剤の候補として期待される。

[日吉真照、野依修(熊本大)、相良康子(日本赤十字社)、鈴木忠樹(感染病理部)、大野博司(理化学研究所)、佐藤賢文(熊本大)、宇都宮與(今村総合病院)、鈴伸也(熊本大)]

10) 臨床応用を目指した抗 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HTLV-1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て明らかにしてきた。そこで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。更に，京都大学の霊長類研究所と共同で，ニホンザル STLV-1 をモデルとして感染防御能を検証するための疫学調査，投与実験に薬理試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 (京都大)、大隈和。内丸薫 (東京大)、濵口功、水上拓郎]

11) ヒト化マウスを用いた HTLV-1 母子感染モデルの構築

妊娠ヒト化マウスにHTLV-1感染細胞であるMT-2 (MMC処理済) を移植することで，HTLV-1 母子感染モデルの開発に成功した。出生前の胎仔および胎盤のウイルスのPCR および感染細胞の局在解析から，HTLV-1 感染細胞が胎盤および胎仔の肝臓に分布していることが明らかとなった。また出生前の胎仔における HTLV-1 の感染率から，出生前および出生後の母乳感染のリスクを推定できることが明らかとなった。今後は，HTLV-IG 投与による影響を検討する。

[野島清子；明里宏文 (京都大)、大隈和、内丸薫 (東京大)、濵口功、水上拓郎]

12) B 型肝炎ウイルス X 蛋白質(HBx)と Bcl-x_L の NMR による分子間相互作用解析

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)と直接相互作用することが知られている。HBx の BH3 様モチーフに着目し、Bcl-x_Lとの相互作用をNMR で解析した。その結果、HBx BH3 様モチーフはBcl-x_Lと 89 μ M の親和性で結合することが示唆された。また、HBx BH3 様モチーフにある 120 番目のトリプトファンをアラニン、ロイシン、フェニルアラニンに置換した各変異体は、294 μ M、84 μ M、89 μ M の結合親和性で Bcl-x_Lと結合することが示唆された。 HBx BH3 様モチーフ中のかさ高い疎水性アミノ酸は Bcl-x_Lとの結合に重要であると考えられる。

[楠英樹、濵口功]

4. ヘモビジランス

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、2018 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基盤を構築した。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すすめており、 本年度は、7 医療施設と日本赤十字社が参加したパイロットスタディを実施した。

[松岡佐保子、池辺詠美、濵口功]

2) 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、血漿成分に起因すると考えられているアレルギー性副作用予防に有効であり、日本赤十字社は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 27 施設の医療機関より、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を収集し解析した。全国で使用された血小板製剤の約8%の情報を収集し、販売開始による洗浄血小板使用率の増加と、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著明に低下し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．生物学的製剤の品質管理に関する業務、研究

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

安全性や有効性に関する国家検定を実施するこれまでの血液製剤のロットリリースの制度に加え、製剤が承認書通りに製造され、定められた試験を適切に行っているかについても書類で確認する SLP 審査制度の導入を目指して準備をしている。平成 30 年度は、各社(各工場)でロット数の多い製剤を選択して優先 7 品目とし、優先 7 品目の SLP 様式案を作成し、感染研ワーキンググループで確認してメーカー間での記載内容および体裁を整え、試行開始に向けた準備を行った。

[野島清子、大隈和、松岡佐保子、楠英樹、水上拓郎、石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎（品質保証・管理部）、倉光球、手塚健太、濵口功]

2） 血液製剤へのサマリーロットプロトコール(SLP)電子審査システムの開発に向けた検討

血液製剤への SLP 審査制度導入が検討されている。血液製剤はその製造の特性上，複雑な製造工程に加え，原料血漿から多くの製品が製造されることからもワクチンに比べ SLP の審査項目が増加することが予想されている。また原材料が複数の製品で用いられることからも，原料や中間段階のトレーサビリティを確保することも必要である。これらの課題に対処するためには，SLP の電子審査を導入することが必要であると考え，優先 7 品目を元につくられた SLP 様式案を元に，電子審査する方法・内容等について検討し，構築システム概要等について検討した。

[水上拓郎、野島清子、濵口功]

3） 血液製剤のエンドトキシンマスキングに関する検討

製剤中に界面活性剤やキレート剤が含まれる場合、添加したエンドトキシンが回収できなくなる現象として、エンドトキシンマスキング(Low Endotoxin Recovery; LER現象) が報告されたことを受け、血液製剤で検討した結果、一部の製剤でLERが起こることを確認した。血液製剤メーカー各社と会合を開いて感染研での検討し、各社の当該現象の認識、対応状況、最終小分製品や工程管理試験におけるLER現象、当該現象に係る副作用の有無等の確認、添加回収実験によるエンドトキシンマスキングの有無について確認するとともに、今後の方針について協議をした。

[大隈和、野島清子、倉光球、手塚健太、松岡佐保子、水上拓郎、前山順一、持田恵子、蒲地一成（細菌第二部）、落合雅樹（品質保証・管理部）、寺原和孝、高橋宜聖（免疫部）、濵口功]

4） ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤の新規ヒスタミン含量試験法の確立に関する研究

メーカーとの共同研究により確立した、ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤を対象とした、新しいヒスタミン定量法（液体クロマトグラフ法）について、論文を投稿した。今後、内標準品の選定、および本試験法で元も煩雑なヒスタミン抽出法の改良を検討する。

[谷生道一、楠英樹、濵口功]

5） 血液凝固因子（第Ⅷ因子、第Ⅸ因子、アンチトロンビンⅢ）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を制定し、当所で管理している。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。本年度も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]

6） ピリヴィジェン 10%静注の承認前試験

(1) 免疫グロブリンG含量試験(アガロースゲル電気泳動法)、免疫グロブリンG重合物否定試験、抗補体性否定試験

当該製剤について上記試験を実施した。提出された全3ロットで基準を満たしていた。

[大隈和、野島清子、手塚健太、石井美枝子、浜口功]

(2) 同種凝集素（抗 A 抗 B）試験及び抗 D 抗体試験

当該製剤について同種凝集素（抗 A 抗 B）試験および抗 D 抗体試験を欧州薬局方の試験法に従って実施した。試験成績においては、提出された全 3 ロットで基準を満たしていた。

[池辺詠美、松岡佐保子、佐藤結子、濵口功]

(3) たん白窒素（たん白質）含量試験の実施

当該製剤についてたん白窒素（たん白質）含量試験を実施した。提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。

[日吉真照、楠英樹、濵口功]

(4) 異常毒性否定試験

当該製剤について異常毒性否定試験を実施した。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。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、今井恵子、佐藤結子、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指して検討を進め、我々が *in vivo* 試験で同定したマーカー遺伝子の発現変動が再現できる細胞株を見出した。試験的にアジュバント化合物を添加した HA ワクチンに対する反応性を検討したところ、製造所によって反応性の異なる化合物が見出され、*in vitro* 評価系の有用性が示唆された。

[百瀬暖佳、佐々木永太、水上拓郎、濵口功]

2)カニクイザルでの結核ブースターワクチンの評価

結核菌が休眠期も含め常時発現する蛋白質「MDP1」とCpGオリゴDNA「G9.1」をアジュバントに用いた新規ブースターワクチンのカニクイザルに対する抗結核効果を検討した。無処置群、BCG 単独接種群および BCG+ブースターワクチン接種群について、人型結核菌を経気道感染させ、三ヶ月後残存菌数を比較した。また末梢血単核球および血清を定期的に採取した。血清 CRP は、感染一ヶ月後にどの群も最高値を示した。またブースターワクチン皮内接種群は対照群に対し、顕著な菌数低下が認められた。

[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、岡林佐知(ハンセン病研究センター)、網康至(動物管理室)]

3)モルモットでの結核ブースターワクチンの評価

抗酸菌由来組換え MDP1 をブースター抗原、G9.1 をアジュバントとする新規ブースターワクチンを調製し、その有効性をモルモットによる結核菌噴霧感染系で確認した。肺内残存菌を定量したところ、BCG-I(強反応性)接種群とBCG-II(弱反応性)接種+ ブースターワクチン皮内接種群はコントロール群に対し有意な菌数低下が認められた。本ブースターワクチンは結核菌感染に対し有効な防御手段であることが示唆された。

[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)]

4)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

CpG-ODN G9.1の有効性と安全性を評価するために、その作用機構を検討している。マウス骨髄細胞に *in vitro* で G9.1 を加えたとき、抗形質細胞様樹状細胞(pDC)抗体や抗インターフェロン(IFN)-γ受容体抗体の添加したとき、IFN-γ産生が抑制された。さらに、IFN-γ受容体ノックアウトマウスを用いた時も同様であった。これは、pDC からのIFN-γの産生が G9.1 の免疫賦活作用に関与していることを示唆する。

[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)、伊保澄子(福井大)]

5) 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およびスクリーニングが可能か検討し，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， BMs の発現上昇を誘導する化合物を発見した。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。

[水上拓郎、百瀬暖佳、佐々木永太、楠英樹、浅沼秀樹(インフルエンザウイルス研究センター)、濵口功]

6)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、全粒子不活化ワクチンとインフルエンザ HA 蛋白質をそれぞれマウス腹腔に接種したマウス尿の NMR メタボロミクス解析を実施した。その結果、全粒子不活化ワクチン接種のマウス尿にいくつか興味深い代謝物が存在した。現在、得られた代謝物が、ワクチンの有効性・安全性評価のための良いバイオマーカーとなり得るかを検討している。また、全粒子不活化ワクチンを摂取したマウス血清の NMR 解析のための条件検討を実施している。

[楠英樹、佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、濵口功]

7) 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。インフルエンザ抗原と各種アジュバントで免疫したマウスを用いて、抗原特異的 IgA および IgG 抗体産生、抗原特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の活性化を解析した。それらの結果と、遺伝子発現解析の結果を比較し、アジュバントの有効性に関与する遺伝子セットの抽出を行った。その結果、IgG 抗体産生、IgA 抗体産生または CTL 活性化に関与する遺伝子セットがそれぞれ同定された。これらの結果から、

抽出した遺伝子セットの発現変動を解析することで、アジュバントの抗体産生誘導ならびに CTL 活性を予測可能であることが示唆された
[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]

8) ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) 培養系を用いたアジュバントの有効性・安全性評価の検討

市販の PBMC を 4 ドナー用い、アジュバント添加時のバイオマーカー遺伝子の発現解析を実施した。その結果、17 個の遺伝子のうち、6 つの遺伝子が R848 や Poly I:C などの 1 型 interferon (IFN) 誘導アジュバントで顕著に上昇した。さらに、toll-like receptor (TLR)1/2 アゴニストや TLR4 アゴニストでは、ある 2 つの遺伝子が顕著に上昇した。PBMC におけるこれらの遺伝子の発現変動は、アジュバントの活性指標となることが期待された。
[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、濵口功]

9) 経鼻インフルエンザワクチンにおける IL-33 の機能解析

Interleukin (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。IL-33 ノックアウトマウスを用い、全粒子不活化インフルエンザワクチン、Poly I:C、CpG K3 添加スプリットインフルエンザワクチンを経鼻接種させたところ、IgA 産生量の低下傾向が認められた。このことから、IL-33 が経鼻ワクチンによる IgA 産生に重要であることが示唆された。
[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、審良静男(大阪大)、濵口功]

10) 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 interferon (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、肺、血液および脾臓から採取した pDC を in vitro で刺激し、抗原提示関連の表面抗原を解析したところ、TLR7/8 および TLR3 アゴニストによってそれらが増加することを見出した。さらにそれぞれの pDC は IFNα 産生能を持つことを明らかにした。さらに肺 pDC をアジュバントで活性化させ、*in vitro* で抗原を pulse し、ナイーブのマウスにその pDC を移植したところ、マウスの血清中から抗原特異的 IgG の産生が認められた。また、アジュバントの腹腔内あるいは筋肉内投与によって肺に pDC を集簇させた状態で、経鼻で抗原感作をすることで、IgA 産生の効率的な誘導が可能となることを見出した。
[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]

Ⅳ. 血液に関する研究

1) 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・生化学的に解析することで微小環境中のサイトカイン動態を明らかにした。これらのデータを元に, ATL 癌幹細胞の自己複製を維持する必須サイトカインを同定し, 人工 ATL 癌細胞培養系を構築した。今後, 培養系を用い, 治療標的の探索等を行う。
[水上拓郎、栗林和華子（東京大）、松岡雅雄 (熊本大)、濵口功]

2）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

HTLV-1 感染は成人 T 細胞白血病・リンパ腫（ATL）発症をさせる原因であるが、全ての感染者が ATL を発症しない。そこで、ATL 発症原因の解明を目的に感染者と ATL 患者におけるウイルス変異とウイルス挿入部位の比較検討を行っている。また株式会社ファスマックと共同研究により、ウイルス挿入部位を迅速かつ簡便に同定可能な方法を開発し、現在、特許出願を行っている。
[斎藤益満、日吉真照、谷生道一、百瀬暖佳、伊波英克、緒方正男（大分大）、今泉芳孝、長谷川寛雄（長崎大）、株式会社ファスマック]

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：121 試験
(血液凝固第Ⅷ因子力価試験：33、アンチトロンビンⅢ力価試験：16、活性化血液凝固第 VII 因子力価試験：2、血液凝固第 X 因子力価試験(APTT 法)：2、血液凝固第 II 因子力価試験：12、血液凝固第 VII 因子力価試験：12、血液凝固第 IX 因子力価試験：12、血液凝固第 X 因子力価

試験(PT 法):12、プロテイン C 力価試験:12、抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験:2、乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験:2、ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン力価試験:1、乾燥抗 D 人免疫グロブリン力価試験:3)
免疫グロブリン G 重合物否定試験:134 ロット
抗補体性否定試験: 48 ロット
含湿度試験:141 ロット
ホルムアルデヒド含量試験:31 ロット
たん白質含量試験(ローリー法):41 ロット
たん白窒素含量試験:7 ロット
凝固性たん白質含量及び純度試験:6 ロット
アルミニウム含量試験(ICP):9 ロット
フェノール含量試験:13 ロット
ヘモグロビン含量試験:2 ロット
クエン酸ナトリウム含量試験:6 ロット
MPL 含量試験:1 ロット
MPL 含量試験(HPLC 法):1 ロット
QS-21 含量試験(HPLC 法):1 ロット
異常毒性否定試験:236 ロット
発熱試験:22 ロット
人ハプトグロビン力価試験:5 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: 4 ロット
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体): 2 ロット

3. 抜き取り検査

血液凝固第 IX 因子力価試験:5 ロット
活性化凝固因子否定試験:5 ロット
たん白窒素含量試験:5 ロット
含湿度試験:2 ロット
pH 試験:2 ロット
ヒスタミン含量試験:2 ロット

4. 依頼検査

たん白質含量試験(ローリー法):2 ロット
人血清アルブミン (“TBSF-JB” Albumin 25% I.V. 12.5 g/50ml) :1 ロット

5. 承認前検査

同種凝集素(抗 A 抗 B)試験:3 ロット
抗 D 抗体試験:3 ロット
たん白窒素含量試験:3 サンプル
異常毒性否定試験: 3 ロット

7. 総合判定

(国家検定項目)

乾燥人フィブリノゲン:6 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子:33 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ:16 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子:2 ロット
乾燥濃縮人プロトロンビン複合体:12 ロット
筋注用人免疫グロブリン:2 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン:3 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン:31 ロット
pH4処理酸性人免疫グロブリン:25 ロット
乾燥 pH4処理人免疫グロブリン:2 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン:32 ロット
乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン:58 ロット
乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン:0 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:2 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン:1 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン:2 ロット
抗 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット
乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット
ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン:1 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン: 3 ロット
人血清アルブミン:182ロット
加熱人血漿たん白:6ロット
人ハプトグロビン:6 ロット

(抜き取り検査項目)

血液凝固第 IX 因子製剤(複合体を含む):5 ロット
ヒスタミン加人免疫グロブリン:2 ロット

(収去試験項目)

抗 A 血液型判定用抗体: 3 ロット
抗 B 血液型判定用抗体: 3 ロット
抗 D 血液型判定用抗体: 4 ロット
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体): 2 ロット

国際協力関係業務・研修業務

1）2018年5月29,30日に韓国MFDSの血液製剤担当者に抗補体性否定試験、および免疫グロブリンG重合物否定試験に関する講義を行った。

[野島清子、大隈和、濵口功]

2）2018年6月12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）2018 年 6 月 14 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]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1）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(4), 541-548.

2）Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Mizukami T, Hamaguchi I. Development a preclinical model to evaluate influenza vaccine acute toxicity using humanized mouse model. ***Oncotarget***. 2018, 9(40): 25751-25763.

3）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.*** 2018; 21;6(25).

4）Momose H, Matsuoka S, Murayama A, Yamada N, Okuma K, Ikebe E, Hoshi Y, Muramatsu M, Wakita T, Toyota K, Kato T, Hamaguchi I. Evaluation of in vitro screening and diagnostic kits for hepatitis C virus infection. ***J Clin Virol***. 2018 Aug;105:97-102.

5）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.*** 2018. 103(3):440-447.

6）Hiradate Y, Sasaki E, Momose H, Asanuma H, Furuhata K, Takai M, Aoshi T, Yamada H, Ishii KJ, Tanemura K, Mizukami T, Hamaguchi I. Development of screening method for intranasal influenza vaccine and adjuvant safety in preclinical study. ***Biologicals.*** 2018; 55: 43-52.

7）Kuramitsu M, Okuma K, Nakashima M, Sato T, Sasaki D, Hasegawa H, Umeki K, Kubota R, Sasada K, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Tezuka K, Matsuoka S, Utsunomiya A, Koh KR, Ogata M, Ishitsuka K, Taki M, Nosaka K, Uchimaru K, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Okayama A, Miura K, Satake M, Saito S, Watanabe T, Hamaguchi I. Development of reference material with assigned value for human T-cell leukemia virus type 1 quantitative PCR in Japan. ***Microbiol Immunol.*** 2018 Oct;62(10):673-676.

8）Momose H, Sasaki E, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Mizukami T, Gene expression profiling toward the next generation safety control of influenza vaccines and adjuvants in Japan. ***Vaccine***, 2018. 36:6449-6455.

9）Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Mizukami T, Hamaguchi I. Establishment of a novel safety assessment method for vaccine adjuvant development. ***Vaccine.*** 2018, 36(46): 7112-7118.

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, Mizukami T, Hamaguchi I.「Influenza Therapeutics and Challenges」2018, p113-p130 Genomic Approaches Enable Evaluation of the Safety and Quality of Influenza Vaccines and Adjuvants. InTech ISBN: 978-1-78923-715-3.

12）Kamoi K, Okayama A, Izumo S, Hamaguchi I, Uchimaru K, Tojo A,Ohno-Matsui K, Adult T-cell leukemia/lymphoma-related ocular manifestations: analysis of the first large-scale nationwide survey, 2019, ***Front Microbiol***, 8;9:3240.

13）Ikebe E, Matsuoka S, Tanaka A, Yonemura Y, Fujii Y, Ohsaka A, Okazaki H, Kitazawa J, Ohtani S, Nakayama T, Momose SY, Miwa I, Taira R, Toyota K, Kino S, Kato

H, Hamaguchi I. Reduction in adverse transfusion reactions with increased use of washed platelet concentrates in Japan-A retrospective multicenter study. ***Transfus Apher Sci.*** *In press.*

14）Murayama A, Momose H, Yamada N, Hoshi Y, Muramatsu M, Wakita T, Ken Ishimaru K,Hamaguchi I, Kato T, Evaluation of In Vitro Screening and Diagnostic Kits for Hepatitis B Virus Infection, 2019, ***J Clinc Virol***, *In press.*

15）Noyori O, Komohara Y, Nasser H, Hiyoshi M, Ma C, Pan C, Carreras J, Nakamura N, Sato A, Ando K, Okuno Y, Nosaka K, Matsuoka M, Suzu S. Expression of IL-34 correlates with macrophage infiltration and prognosis of diffuse large B cell lymphoma. ***Clin Transl Immunology****, In press*.

16）Tateishi K, Fujihashi K, Yamamoto N, Hasegawa H, Ainai A, Sato K, Iho S, Yamamoto S, Maeyama J, Odagiri T, Asanuma H. CpG ODN G9.1 as a novel nasal ODN adjuvant elicits complete protection from influenza virus infection without causing inflammatory immune responses, ***Vaccine***. *In press*.

17）Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Kimura H, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I, NMR characterization of the interaction between Bcl-x_L and the BH3-like motif of hepatitis B virus X protein, ***Biochem Biophys Res Comm***, *In press*.

18）Kuramitsu M, Okuma K, Tezuka K, Nakamura H, Sagara Y, Kurane I, Hamaguchi I, Development and evaluation of human T-cell leukemia virus-1 and -2 multiplex quantitative PCR, ***Microbiol. Immunol.*** *In press*.

2. 和文発表

1）濵口功　輸血関連ウイルス感染症とその対策-「グローバル時代のウイルス感染症」。日本医事新報社、2019, p241-245.

2) 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、2019、Vol 64, No 3: 502-509.

3) 岡崎仁、池田敏之、大石晃嗣、加藤栄史、濵口功、藤井康彦、松本雅則、松下正　科学的根拠に基づいた輸血有害事象対応ガイドライン。日本輸血細胞治療学会誌、2019、Vol 65,No 1:1-9.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1）Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Asanuma H, Kusunoki H, Hamaguchi I. Identification of biomarkers that evaluate and screen new adjuvant candidates for safe and efficient influenza vaccines. UNIVERSAL INFLUENZA VACCINES 2018. スイス, ローザンヌ, 2018 年 4 月

2）Mizukami T, Nojima K, Sasaki E, Hiradate Y, Furuhata K, Sato Y, Matsuoka S, Okuma K, Akari H, Uchimaru K, Hamaguchi I. Development of Humanized Mouse Models to Evaluate and Prevent Mother-to-Child HTLV-1 Transmissions. 23rd EHA, スウェーデン、ストックホルム、2018 年 6 月

3）Nojima K. Collaborative study on ACA testing and aggregated immunoglobulin testing. The 3rd Meeting of National Control Laboratories for Biologicals in the Western Pacific/Global Bio Conference, 韓国、ソウル、2018 年 6 月

4) Tezuka K, Okuma K, Hamaguchi I. Development of a novel high-sensitive nucleic acid testing method for quantifying VSV vector *in vivo*. 37th Annual Meeting, American Society for Virology, 米国、メリーランド、2018 年 7 月

5）Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Matsuoka S, Tanaka R, Tanaka Y, Hamaguchi I. Recombinant vesicular stomatitis viruses encoding HTLV-1 primary receptor control HTLV-1 infection by targeting and eliminating envelope protein-positive cells. 37th Annual Meeting, American Society for Virology, 米国、メリーランド、2018 年 7 月

6）Mizukami T. Systems vaccinology for evaluating the safety of vaccines and adjuvants in preclinical and lot release. SOT- JSOT Exchange Promotion Program, 45th JST, 大阪、2018 年 7 月

7）Momose H, Sasaki E, Hiradate Y, Kusunoki H, Mizukami T, Hamaguchi I. An approach to establish an in vitro assay system for the safety assessment of influenza vaccines and adjuvants in pre-clinical and lot-to-lot consistency tests. 12th Vaccine Congress, ハンガリー、ブダペスト、2018 年 9 月

8) Maeyama J, Suzuki F, Ozeki Y, Sohkichi M, Iho S, Yamamoto S. A novel phosphodiester backbone oligodeoxynucleotide promotes vaccine ability to tuberculosis and Flu. 12th Vaccine congress, ハンガリー、ブダペスト、2018 年 9 月

9) Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Asanuma H, Kusunoki H, Hamaguchi I. Application of systems vaccinology for evaluating and screening new adjuvant candidates for safe and efficient influenza vaccines in the preclinical and lot release test. 12th Vaccine Congress, ハンガリー、ブダペスト、2018 年 9 月

10) Okuma K, Tezuka K, Hamaguchi I. Development of retrovirus-targeting VSV vectors for HTLV-1 treatment in humanized mouse model. The 30th International Workshop on Retroviral Pathogenesis, 兵庫、2018 年 10 月

2. 国内学会

1) 大隈和、倉光球、手塚健太、倉根一郎、濵口功 血液製剤の安全性強化に向けた HTLV-1/2 高感度マルチプレックス核酸検査法の開発。第 66 回日本輸血・細胞治療学会総会、宇都宮、2018 年 5 月

2) 野島清子、水上拓郎、松本千惠子、蕎麦田理英子、手塚健太、倉光球、佐藤結子、松岡佐保子、大隈和、佐竹正博、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。第 66 回日本輸血・細胞治療学会総会、宇都宮、2018 年 5 月

3) 池辺詠美、松岡佐保子、大谷慎一、北澤淳一、大坂顯通、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、平力造、豊田久朗、紀野修一、加藤栄志、濵口功 洗浄血小板製剤の使用および副作用低減効果に関する検討。第 66 回日本輸血・細胞治療学会、宇都宮、2018 年 5 月

4) 松岡佐保子、池辺詠美、中山享之、大谷慎一、北澤淳一、大坂顯通、藤井康彦、米村雄士、田中朝志、岡崎仁、百瀬俊也、三輪泉、平力造、豊田九朗、加藤栄史、紀野修一、濵口功 輸血医療におけるトレーサビリティ確保に関するパイロットスタディ。第 66 回日本輸血・細胞治療学会、宇都宮、2018 年 5 月

5) 百瀬暖佳、松岡佐保子、落合雅樹、池辺詠美、中村徹、小西久郎、大村貞幸、奥山しおり、加藤孝宣、濵口功 抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品(第 2 次)制定のための多施設共同測定による力価評価。第 66 回日本輸血・細胞治療学会総会、宇都宮、2018 年 5 月

6) 濵口功 トレーサビリティの進化を模索する。第 66 回日本輸血・細胞治療学会総会、宇都宮、2018 年 5 月

7) 大隈和、手塚健太、倉光球、松岡佐保子、濵口功 免疫系ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染モデルの構築と薬剤評価系への応用。第 65 回日本実験動物学会総会、富山、2018 年 5 月

8) 楠英樹、田中俊之、河野俊之、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ドメインの物理化学的相互作用解析。第18回日本蛋白質科学会年会、新潟、2018年6月

9) 大隈和 HTLV-1 検査・診断に関する最近の話題。第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2018 年 8 月

10) 大隈和、倉光球、手塚健太、中村仁美、相良康子、濵口功 HTLV-1/2 マルチプレックス核酸検査法の開発と臨床検体を用いた評価。第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2018 年 8 月

11) 倉光球、 大隈和、内丸薫、山野嘉久、長谷川寛雄、野坂生郷、岡山昭彦、久保田龍二、佐竹正博、金子紀章、渡邉俊樹、濵口功 HTLV-1 定量 PCR の標準化のための参照品の作製。第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2018 年 8 月

12) 相良康子、中村仁美、倉光球、相良康弘、松永克希、平山秀明、島村益弘、岩永正子、大隈和、濵口功、入田和男 献血者から見出された抗体陰性 HTLV-1 キャリア。第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2018 年 8 月

13) 福元拓郎、池辺詠美、緒方正男、幸野和洋、倉光球、池田正徳、草野秀一、岡山昭彦、堀光雄、泥谷直樹、塚本義之、守山正胤、カムルディンアハメド、長谷川寛雄、斎藤益満、伊波英克 Complete Sequences of the HTLV-1 Proviral Genomes from Newly Established ATL cell-lines in Oita. 第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2018 年 8 月

14) 伊波英克、池辺詠美、下崎俊介、ファジャドリンゼイ、ファイフニコール、堀光雄、長谷川寛雄、泥谷直樹、塚本義之、守山正胤、草野秀一、斎藤益満、森下和宏 Selective growth inhibitory effects of lenalidomide against ATL cell and its mechanism of action. 第 5 回日本 HTLV-1 学会学術集会、東京、2018 年 8 月

15) 水上拓郎 臨床応用を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発。学術シンポジウム「HTLV-1 感染症の治療と予防～免疫から見た新展開～」、第 5 回日本 HTLV-1 学会、東京、2018 年 8 月

16) 村田めぐみ、鷲崎彩夏、関洋平、安永純一朗、松岡雅雄、水上拓郎、明里宏文 ニホンザルにおける高頻度な STLV-1 自然感染に関する疫学調査。第 5 回日本 HTLV-1 学会、東京、2018 年 8 月

17) 斎藤益満、山内俊輔、佐々木大介、長谷川寛雄　次世代 HTLV-1 クロナリティ解析法の開発とその応用に向けて。第 5 回日本 HTLV-1 学会、東京、2018 年 8 月

18) 佐々木永太、百瀬暖佳、浅沼秀樹、古畑啓子、水上拓郎、濵口功　ヒト PBMC と末梢血ヒト化マウスを用いたワクチンの安全性評価とアジュバント開発への応用。第 25 回日本免疫毒性学会学術年会、茨城、2018 年 9 月

19) 水上拓郎、野島清子、古畑啓子、佐藤結子、蕎麦田理英子、松岡佐保子、松本千恵子、大隈和、明里宏文、佐竹正博、森内浩幸、斎藤滋、内丸薫、濵口功　ヒト化マウスを用いた HTLV-1 母子感染モデルの構築と機序解明。第 161 回日本獣医学会、つくば、2018 年 9 月

20) Tezuka K, Mizukami T, Sasaki E, Kuramitsu M, Matsuoka S, Okuma K, Hamaguchi I. Highly sensitive detection of plus- and minus-strand HTLV-1 mRNAs by RNA *in situ* hybridization in a humanized mouse model. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月

21) Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Matsuoka S, Hamaguchi I. Anti-HTLV-1 effects of a recombinant vesicular stomatitis virus encoding HTLV-1 receptor in a mouse model and application to a simian model. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月

22) Ikebe E, Matsuoka S, Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Hamaguchi I. Inhibitory effect of HIV integrase inhibitor MK-2048 on HTLV-I infected cell proliferation. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月

23) 松岡佐保子　洗浄血小板製剤の使用および副反応低減効果に関する検討。第 42 回日本血液事業学会総会、幕張、2018 年 10 月

24) 濵口功　輸血製剤、細胞治療のウイルス核酸検査(NAT)と標準化。第 25 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム、青森、2018 年 10 月

25) 濵口功　HTLV-1 感染対策の現状。第 25 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム、青森、2018 年 10 月

26) 濵口功　我が国の HTLV-1 感染の実態と診断法開発。「世界 HTLV-1 デー」制定記念講演会、東京、2018 年 11 月

27) 百瀬暖佳、佐々木永太、平舘祐希、楠英樹、濵口功、水上拓郎　インフルエンザワクチンの in vitro 安全性評価系構築へ向けた試み。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018 年 12 月

28) Tateishi K, Sato K, Sasaki E, Mizukami T, Maeyama J, Iho S, Iho S, Yamamoto S, Yamamoto N, Fujihashi K, Asanuma H. Assessment of G9.1-induced innate immune responses for the development of safe nasal influenza vaccines. 第 47 回日本免疫学会学術集会、福岡、2018 年 12 月

29) Tateishi K, Sato K, Sasaki E, Mizukami T, Maeyama J, Iho S, Yamamoto S, Yamamoto N, Hujihashi K, Asanuma H. Evaluation of effectiveness and safety of CpG-ODN G9.1 as mucosal adjuvant for nasal influenza vaccines, 第 12 回次世代アジュバント研究会、大阪、2019 年 1 月

30) 松岡佐保子　洗浄血小板製剤の使用および副反応低減効果に関する検討。第 33 回 Transfusion Medicine Conference、葉山、2019 年 1 月

31) 水上拓郎、平舘裕希、佐々木永太、百瀬暖佳、古畑啓子、楠英樹、浅沼秀樹、濵口功　トキシコゲノミクスによるインフルエンザワクチンおよびアジュバントの次世代安全性評価法の開発。第 35 回日本毒性病理学会、東京、2019 年 1 月

32) 佐々木永太　ワクチン・アジュバントの次世代安全性評価法 (Systems Vaccinology)。第 19 回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム、東京、2019 年 2 月

33) 濵口功　HTLV-1 感染の現状と対策。新興再興 PJ 合同シンポジウム、東京、2019 年 3 月

１４．品質保証･管理部

部長　　石井　孝司

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)が組織再編されて発足した部である。それぞれの室の機能は大きく異なっているが、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)、非常勤職員1名(土田耕三)の4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及び訓練を行い、一方で生物学的な研究も実施した。放射線取扱主任者は、戸山庁舎では石井孝司と藤本浩文が、村山庁舎では柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター･第一室長)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。一方で実験スペースの不足から、多くの部で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ていた。このような状況を考慮した結果、RI実験は地下3階の管理区域に集約することとし、平成28年度から平成29年度にかけ、4階から地下2階部分のRI管理区域の非管理区域化を行った。また、国立健康･栄養研究所の同意を得て、地下1階の同研究所のRI管理区域の非管理区域化も同時に行った。その結果、平成30年度の新規者向け放射線業務従事者講習会の受講者、戸山庁舎の個人被曝線量計貸与者(＝RI管理区域入域者)の数は大きく減少し、管理区域の面積の減少とともに、戸山庁舎のRI管理業務の簡素化を行うことができた。また、ポリオウイルスのバイオリスク管理基準の厳格化に基づく村山庁舎の施設整備に対応するため、来年度は村山庁舎の放射能管理区域の縮小作業を行う予定である。さらに、平成29年4月に改正された放射線障害防止法が令和元年9月に施行されることに伴い、特に危険度の高い特定放射性同位元素に対する防護措置の強化が求められることになるが、戸山庁舎、村山庁舎のガンマ線照射装置の線源はこれに該当する。法令改正対応のための防護設備の工事を行い、また、防護措置に関して新たに必要な所の規程や緊急対応手順書の案を作成した。なお、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)、非常勤職員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30年8月24日に所長による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30年11月28日及び12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31年2月20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又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Collaborating Centre（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。平成30年度は再認定作業を行い、8月27日に再認定が正式に承認され、4年間のCC活動の継続が認められた。

平成25年4月1日に改正予防接種法が施行され、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、放射能管理室長（検定検査品質保証室長兼任）から新設の品質保証・管理部長に就任され、新たに発足した部の発展に尽くされた加藤篤部長が退官された。機能が大きく異なる2つの室を統合して1つの部にまとめ上げる苦労は大変なものであり、いずれにも深い知識を有する加藤先生でなければ不可能であったと思われる。加藤先生のこれまでのご貢献に、この場を借りて心より御礼申し上げたい。

I. 放射性同位元素使用状況

1. 戸山（国立研究法人国立健康･栄養研究所も含む）

（単位 MBq）

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	1,004.126	18.5	4.648
^{14}C	132.719	0	0.052
^{32}P	365.701	157.25	166.826
^{35}S	248.575	18.5	68.845
^{51}Cr	0	0	0

保管量下限数量比合計 3,577.5

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	2.22	18.5	9.99
^{32}P	0	0	0
^{33}P	0	0	0
^{35}S	71	74	138.5

保管量下限数量比合計 1.1

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　60名（国立研究開発法人 国立健康･栄養研究所も含む）

2. 村山　19名

3. ハンセン　19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30年 4月 12日	8	新規
5月 11日	50	継続 (村山)
5月 18日	12	継続(ハンセン)
5月 23日	88	継続
5月 30日	66	継続
6月 18日	15	新規･継続
6月 22日	1	継続
6月 27日	1	継続
6月 28日	2	継続
10月 19日	5	新規･継続
平成31年 2月 4日	3	新規
合 計	251	

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
	0	
合 計	0	

3. 特別講習会

平成30年 6月 1日	5	ハンセン TBS、警備室
平成30年 6月 5日	27	村山 TBS、警備室 排水設備担当業者
平成30年 6月 8日	24	戸山 TBS、防災センター
平成30年 7月 26日	2	施設点検担当業者
合 計	58	

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。損傷塩基のモデルとして酸化損傷チミン Thymine glycol (TG)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。TG には2種類の光学異性体、TG (5R, 6S), TG (5S, 6R)が存在する事が報告されている。そこで、両異性体の分子モデルを設計し、既報の Ku-DNA 複合体モデル中の Thymine と置換した分子モデルを作成した。非損傷 DNA と Ku との複合体モデルも加え、3

種類の分子モデルに対して分子動力学計算を行い、得られた座標データからKu-DNA間の結合力を推定した。その結果、非損傷DNA-Ku＞TG(5S, 6R)を含むDNA-Ku＞TG(5R, 6S)を含むDNA-Kuの順で両分子間の結合力がわずかに減少する傾向がみられたが、計算結果の妥当性を検証するために、計算に用いたTGを含むDNA配列と同じ構造を持つDNA分子を合成し、Kuを作用させてゲルシフト･アッセイを行ったところ、Ku-DNA間の結合力には大きな差異は観察されなかった。このことから、Kuはこれまで考えられているより多くの複雑な末端を認識して結合できる能力を有している可能性がある。[藤本浩文、石井孝司;小池学、赤松憲、鹿園直哉、渡辺(横谷)立子(量研機構);樋口真理子、甲斐健師、ミロスラフ ピナック(原子力機構)]

II. 抗活性酸素物質の細胞内動態に関する研究

電離放射線が生体に与える影響は直接効果と間接効果に大別される。間接効果においては放射線が水に作用することで発生する活性酸素がDNAに損傷を与えると考えられている。また、活性酸素は病原体と宿主との相互作用においても数々の役割が報告されている。

抗活性酸素物質カロテノイドの細胞内動態をつかさどる機構を明らかにするため、まだ明らかにされていないカロテノイドの細胞外搬出機構について、モデル生物の突然変異体を用いて解明を目指している。突然変異を生み出している候補遺伝子の構造を、公的データベースに登録されている150系統程度の次世代シークエンサーのゲノムデータを用いて解析した。候補遺伝子には膜貫通型と非膜貫通型のスプライシングアイソフォームが存在するが、膜貫通部位を含まない領域について遺伝子重複が起きていることがSNPとカバレッジの解析から示唆された。また、遺伝子重複は家畜化の過程で発生したことが野生種との比較から示唆された。[作道隆]

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)を増殖に必要とするSM要求性ワクチン株*Mycobacterium bovis* BCGのSM依存性機構を解明するため、リボソームを精製し、*in vitro*翻訳を行った。SMを添加しても翻訳が低下しないが、SMを入れなくても翻訳が行われたことから、リボソームに結合したSMが除去できていないことが示唆された。またSM耐性へ変異した株の変異部位を同定し、既知のSM耐性変異と一致することを確認した。[本田尚子、石井孝司;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、藤田賢太郎、内藤誠之郎、石井孝司;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. ワクチン等の品質確保を目的とした新たな国家検定システムの構築のための研究

1)国家検定制度及びワクチンのリスク評価に関する研究

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の検討を行っている。今年度は、各評価項目の重要度による重み付けが総合的リスクスコアにより反映されるよう、各重要度に応じた係数を変更し再解析したところ、昨年度と同様ワクチン製品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。また、総合的にワクチンの品質等に係るリスクを評価するためには、「GMP調査の状況」や「市販後の安全性状況」等を評価に組み入れることが妥当と考えられた。引き続き、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。[石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、内田孝子]

2)血液製剤の国家検定の見直しについて

血液製剤へのSLP審査導入に向けて、血液製剤用のSLP様式作成指針(案)及びSLP基本様式(案)の作成、血漿分画製剤メーカー

から提出されたSLP様式(案)の確認に協力した。[石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎;血液･安全性研究部]

3. 動物試験代替法の検討

生物学的製剤の安全性と有効性を評価する非臨床的試験としての動物試験は、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、破傷風トキソイドの力価試験について、動物試験代替法の研究を進めた。また、人道的エンドポイントや、安楽死法の改善についても検討した。[石井孝司、落合雅樹;伊藤睦代、林昌宏、西條政幸(ウイルス第一部)、清原知子、染谷雄一、村松正道(ウイルス第二部)、森茂太郎、岩城正昭、加藤はる、柴山恵吾(細菌第二部)、花木賢一(動物管理室)、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。最大0.5mLの皮内投与を可能とする中空MNを開発した。ラットに対する免疫実験の結果、0.5mLの皮内投与においても、皮下注射に比べて優位な抗体産生を誘導することが示された。蛍光標識抗原を投与してin vivoイメージング装置で投与部位の抗原の動態を観察した。その結果、皮内投与と皮下注射で概ね類似の挙動を示し、抗原の動態の違いが皮内投与の優位性に関連している所見は認められなかった。[内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎;兒玉賢洋、高瀬一郎(凸版印刷株式会社)]

放射線管理業務

I. 講習会

新規放射線取扱業務従事者、継続者、新規外国人放射線取扱業務従事者、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)。[本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田耕三、石井孝司;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)、大舘幸江、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)]

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。
[本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田耕三、石井孝司;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)、大舘幸江、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)]

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30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 10件、修正 4件、改訂 67件、廃止 8件、有効

SOP数 570通。検査SOP：新規作成1件、修正 0件、改訂 3件、廃止 0件、有効SOP数 54通。［内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子；富樫祐子（総務部）、石井孝司］

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、石井孝司］

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、石井孝司］

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30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29通であった。［落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、石井孝司；西塔哲（総務部）］

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、石井孝司；西塔哲（総務部）］

3．マネジメントレビューの実施に関する業務

「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。当部は、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30年8月24日）補佐、所長の評価結果・改善指示事項等のまとめ、関係部署への検定検査業務評価書の配布を行った。［石井孝司、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

GMP調査要領の別添2（公的認定試験検査機関の要件）に従い、感染研は平成30年11月28日及び12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31年2月20日付でOMCLとして（継続）認定を受けた。［石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎；西塔哲、横川靖雄（総務部）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（総務部）、石井孝司］

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（総務部）、落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、内田孝子、石井孝司］

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、石井孝司］

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（総務部）、石井孝司］

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）第二階層文書の整備

検定検査品質保証委員会が「検定・検査に係る教育訓練に関する手順書」第2版案、「検定・検査に係る変更管理に関する手順書」第2版案、「検定・検査業務に係る苦情等の処理に関する手順書」第2版案、「検定・検査の実施に関わる標準作業手順書(検定等SOP)の取扱要領」第4版案及び「部長等および室長が交代する際の検定等SOPの取扱いについて」第3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、石井孝司]

10. WHOのECBS勉強会の開催と報告

WHOのECBS(平成30年10月29日～11月2日)で審議予定のガイドライン等に関する勉強会(10月23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、石井孝司;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(総務部)、石井孝司]

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

予防接種法、医薬品医療機器法に基づき、医療機関あるいは企業から厚労省(PMDA)に報告された予防接種後副反応疑い報告書等について、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、石井孝司;多屋馨子、新井智、佐藤弘、森野紗衣子、新橋玲子、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(総務部)、内田孝子、内藤誠之郎、石井孝司]

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(総務部)、内田孝子、内藤誠之郎、石井孝司]

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(総務部);落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、内田孝子、石井孝司]

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(総務部)、落合雅樹、藤田賢太郎、内田孝子、内藤誠之郎、石井孝司;西塔哲、田中豊(総務部)]

信頼性保証に係る国際協力関係業務

I. 研修等

1. 研修

1)韓国NIFDS(Dr. Ji Young Hong):日本と韓国の国家検定制度等に係る意見交換(平成30年6月)[石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎]

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30年5月30日、埼玉県和光市)[内藤誠之郎]

2)蘭州生物製品研究所で開催された中日生物技術交流シンポジウムにおいて、「日本における生物製剤の品質管理及び標準品制定」及び「日本における精製(無細胞)百日せきワクチン ～力価試験、毒性試験及び統計解析法～」について講演した。(平成30年10月、中国、甘粛省蘭州市)[落合雅樹]

3)国立保健医療科学院における専門課程III地域保健臨床研修専攻科の研修生に対する医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「生物学的製剤の国家検定」について講義した。(平成30年11月14日)[落合雅樹]

II. 国際会議参加

1. Global Bio Conference 2018 (3rd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific)(平成30年6月、韓国、ソウル)[石井孝司、落合雅樹;野島清子(血液･安全性研究部)]

2. International Symposium of Progress on Development and Quality Control of Vaccines 及び4th Meeting of WHO Network of Collaborating Centres on Vaccine Standardization(WHO CCs;平成30年9月、中国、北京)[石井孝司、落合雅樹;脇田隆字(所長)]

3. 2nd general meeting of WHO-National Control Laboratory Network for Biologicals(WHO-NNB;平成30年9月、イタリア、ローマ)[石井孝司、内藤誠之郎]

4. WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議(WHO ECBS;平成30年10-11月、スイス、ジュネーブWHO本部)[石井孝司、落合雅樹;浜口功(血液･安全性研究部)]

5. 第3回 WHO 西太平洋地域協力センター地域フォーラム(Third Regional Forum of WHO Collaborating Centres in the Western Pacific)(平成30年11月、ベトナム、ホーチミン)[石井孝司]

その他

I. 放射線管理に係る事項

1. ポリオウイルスのバイオリスク管理基準の厳格化(WHO GAPIII)に基づく村山庁舎の施設整備に対応するため、村山庁舎の放射能管理区域縮小に向けた準備を行った。平成31年1月29日に管理区域縮小のための変更承認申請書を放射線障害防止法第10条の2に基づき原子力規制委員会に提出し、平成31年3月4日に承認証が交付された。[本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田耕三、石井孝司;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)、梶原志津子(総務部)]

2. 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30年6月)を受講した。[石井孝司;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)]

3. 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30年6月)を開催し、各施設が抱える問題点、今後の計画を共有した。[本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田耕三;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)、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)]

4. 戸山庁舎の安全連絡協議会(第54回平成30年9月、第55回平成31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。[石井孝司、藤本浩文、作道隆、本田尚子、梶原志津子(総務部)]

5. ハンセン病研究センターの安全連絡協議会 (第11回平成31年2月) に出席し、委員に放射線管理の状況を説明した。[石井孝司;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)]

6. 村山庁舎施設運営連絡協議会 (第17回平成30年11月、第18回平成31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。[土田耕三、石井孝司;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)]

7. 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。[本田尚子、作道隆、藤本浩文、石井孝司;大西真(副所長)]

8. 平成31年の法改正により特定放射性同位元素に対する防護措置が必要となるため、それに向けて防護設備の工事を行った。また、防護措置に関して新たに必要な所の規程や緊急対応手順書の案を作成した。[本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田耕三、石井孝司;柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)、小林亮太郎、岡田文彦、清水友紀、内藤万佐子、梶原志津子(総務部)]

9. 平成 31 年の法改正により、特定放射性同位元素が存在する事業所では特定放射性同位元素防護管理者を置くことが義務づけられる。特定放射性同位元素防護管理者等育成プログラム（平成 30 年 12 月）を 5 名が受講し、防護管理者として任命されるための資格を得た。［本田尚子、作道隆、藤本浩文、石井孝司；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）］

10. 平成31年の法改正に合わせ、放射線障害予防規程、放射性同位元素等取扱規則の改訂案を作成した。［本田尚子、作道隆、藤本浩文、土田耕三、石井孝司；柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）、大舘幸江、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）］

11. 放射線障害予防法に基づく原子力規制委員会の立入検査がハンセン病研究センターに対して行われた（平成31年2月）。設備及び帳簿について検査が行われ、合格した。［塚本裕美子、福冨康夫、大舘幸江（ハンセン病研究センター）、石井孝司、藤本浩文；梶原志津子（総務部）］

12. 平成30年10月に仙台で開催された平成30年度日本アイソトープ協会主任者部会年次大会に参加し、RI管理に関する情報収集を行った。［石井孝司］

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（Bioassay Assist）を配付した。今年度の配付実績は、11 機関（国外:7 機関、国内:4 機関）であった。［落合雅樹、藤田賢太郎；富樫祐子（総務部）、内藤誠之郎、内田孝子、堀内善信；脇田隆字（所長）］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Oh H, Shin J, Lee CK, Ochiai M, Nojima K, Lim CK, Raut S, Lisovsky I, Williams S, Yoo KY, Shin DY, Ato M, Ye Q, Han K, Lee C, Lee N, Hong JY, Jung K, Hung PV, Jeong J. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific. Osong Public Health Res Perspect. 9(3): 133-139 (2018)

2) Ueda Y., Gu W., Dansako H., Kim H.S., Yoshizaki S., Okumura N., Ishikawa T., Nishitsuji H., Kato F., Hishiki T., Satoh S., Ishii K., Masuda M., Shimotohno K., Ikeda M. and Kato N. Multiple antiviral activities of the antimalarial and anti-hepatitis C drug candidates N-89 and N-251. Biochemistry and Biophysics Reports. 15: 1-6 (2018)

3) Imagawa T., Sugiyama R., Shiota T., Li T.C., Yoshizaki S. Wakita T. and Ishii K. Evaluation of heating conditions for inactivation of hepatitis E virus genotype 3 and 4. Journal of Food Protection 10: 947-952 (2018)

4) Utsumi T., Wahyuni R.M., Doan Y.H., Dinana Z., Soegijanto S., Fujii Y., Juniastuti, Yamani L.N., Matsui C., Deng L., Abe T., Soetjipto., Lusida M.I., Ishii K., Shimizu H., Katayama K. and Shoji I. Equine-like G3 rotavirus strains as predominant strains among children in Indonesia in 2015-2016. Infection, Genetics and Evolution 61: 224-228 (2018)

2. 和文発表

1. 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、浜口功 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、64(3): 502-509 (2018)

2. 堂免和文、田中博文、小野原伸也、石井孝司、高橋和明、下田慎治 ステロイドパルス療法を施行した遺伝子型 IIIA の A 型急性肝炎の 1 例。肝臓、59: 481-487 (2018)

3. 神田達郎、松本直樹、中村仁美、山名陽一郎、水谷卓、高橋央、金子朋弘、有間修平、金澤芯依、上村慎也、樋口晃久、楡井和重、山上裕晃、松岡俊一、石井孝司、森山光彦 A 型肝炎の最新の動向。消化器・肝臓内科、4: 135-140 (2018)

II. 学 会 発 表

1. 国際学会等

1) Kodama Y, Takase I, Naito S. Novel hollow microneedle can deliver large volume for intradermal vaccination. Controlled Release Society Annual Meeting & Exposition, New York, July, 2018
2) Iwamoto M., Saso W., Sugiyama R., Ishii K., Suzuki R., Aizaki H., Ryo A., Ohtani N., Muramatsu M., Iwami S., Tanaka Y., Wakita T. and Watashi K. Identification of host kinases that regulate hepatitis B virus internalization. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Kyoto, Japan, October 28-30, 2018

2. 国内学会等

1) 百瀬暖佳、松岡佐保子、落合雅樹、池辺詠美、中村徹、小西久郎、大村貞幸、奥山しおり、加藤孝宣、浜口功 抗HBs 人免疫グロブリン国内標準品(第 2 次)制定のための多施設共同測定による力価評価。第 66 回日本輸血･細胞治療学会総会、栃木、2018 年 5 月
2) 上田優輝、谷煒琳、圍迫浩方、金惠淑、吉崎佐矢香、奥村暢章、石川知弘、西辻裕紀、加藤文博、日紫喜隆行、佐藤伸哉、石井孝司、増田道明、下遠野邦忠、池田正徳、加藤宣之 抗マラリア及び抗 HCV 薬候補 N-89 と N-251 が有する幅広い抗ウイルス活性。第 28 回抗ウイルス療法学会学術集会、札幌、2018 年 6 月
3) 兒玉賢洋、高瀬一郎、内藤誠之郎 皮内への大容量投与を実現する新規マイクロニードルの開発。第 34 回日本 DDS 学会学術集会、長崎、2018 年 6 月
4) 本谷匠、梅澤昌弘、後藤慶子、土井育子、永田紀子、石井孝司 豚における E 型肝炎ウイルスの感染実態について。平成 30 年度関東･東京合同地区獣医師大会･三学会、つくば、2018 年 9 月
5) 福島慎二、清原知子、石井孝司、中野貴司、濱田篤郎 A 型肝炎ワクチン接種後のサロゲートマーカーに関する検討。第 22 回日本ワクチン学会、東京、20118 年 12 月
6) 山地賢三郎、安井文彦、伊藤靖、鈴木紗織、本田智子、山本直樹、真田崇弘、石垣宏仁、石井孝司、小笠原一誠、小原道法 カニクイザルでの H7N9 鳥インフルエンザ HA タンパク質発現組換えワクシニアワクチンの発症防御効果の検討。第 22 回日本ワクチン学会、東京、2018 年 12 月

１５．国際協力室

室長　　熊谷　優子

概　要

今日、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に侵入する可能性がある。MERS、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るためには、 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)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、国際機関である世界保健機関(WHO)・同西太平洋地域事務局(WPRO)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 30 年 4 月から平成 31年 3 月までに、37 カ国・地域から207名を受け入れた(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 30 年 4 月から平成 31 年 3 月までに、48 カ国・地域 424 名を派遣した(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

なし

イ シンポジウム開催

(ア) 平成 30 年 9 月 3-4 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 15 回日本―台湾感染症シンポジウムを開催（台湾 CDC にて、ワンヘルス、国際協力を含む輸入感染症の診断と管理、バイオセーフティ等、共同プロジェクト報告を題材に、両機関における取り組みなどについて意見交換を行い、情報を共有した。）。

(イ) 平成 30 年 12 月 4-5 日　日本・中国・韓国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 1 回ワンヘルスシンポジウム及び、第 12 回日中韓感染症フォーラムを開催（東京にて、これら三機関から感染症対策、研究等に携わる専門家が参加し、ワンヘルスシンポジウムでは、「重症熱性血小板減少症候群（SFTS）研究成果と予防・診断・治療」について、また感染症フォーラムでは、輸入感染症への備え、深刻な新興感染症とまれな寄生虫病への備え、鳥インフルエンザ（H7N9）と AMR のワンヘルスアプローチなど、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。）。

ウ 外国機関へのワクチン株供与

平成 30 年 9 月大韓民国・国立食品医薬品安全性評価研究所（NIFDS）に、韓国おける百日咳ワクチンの値付けを行うため「参照百日咳ワクチン（毒性試験用）及び、標準百日咳ワクチン（力価試験用）」を供与。

エ 共同研究報告会ほか

なし

2．国際協力・研修業務

(1) JICA の研修への協力

ア 集団研修

(ア) 平成 30 年 6 月 5 日-7 月 13 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・8 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)。

(イ) 平成 31 年 1 月 21 日-2 月 8 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」(5 カ国・10 名・ウイルス第二部、ウイルス第三部、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)

イ 集団研修フォローアップ

なし

ウ その他研修

(ア) 平成 30 年 9 月 7 日 「感染症対策行政」(4 か国・6 名・感染症疫学センター)

(イ) 平成 30 年 9 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」(7 カ国・9 名・感染症疫学センター)

(ウ) 平成 31 年 2 月 3-4 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)」(5カ国・8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、薬剤耐性研究センター)

(2) JICA 技術プロジェクト等への協力

ア ベトナム国における「感染症の予防・対応能力向上のための実験室の機能及び連携強化プロジェクト」

(ア) 派遣

① 平成 30 年 7 月 15-20 日 感染症疫学センター職員 1 名

② 平成 30 年 10 月 21-27 日 細菌第一部 職員 1 名

③ 平成 30 年 11 月 4-10 日 ウイルス第一部 職員 1 名

④ 平成 30 年 11 月 25-29 日 ウイルス第二部 職員 1 名

⑤ 平成 31 年 1 月 14-19 日 細菌第一部 職員 1 名

⑥ 平成 31 年 1 月 24－26 日 バイオセーフティ管理室 職員 2 名

⑦ 平成 31 年 2 月 11-15 日 細菌第二部 職員 1 名

(イ) 研修

平成 30 年 5 月 27 日-6 月 23 日 バイオセーフティ及び外部精度管理 4 名・バイオセーフティ管理室、真菌部、ウイルス第一部、細菌第一部、動物管理室、インフルエンザウイルス研究センター

イ ザンビア国におけるコレラ対策調査

(ア) 派遣

平成 30 年 6 月 10-23 日 感染症疫学センター職員 1 名

ウ ガーナ共和国における「野口記念医学研究所 安全・室管理向上プロジェクト」詳細計画策定調査

(ア) 派遣

平成 30 年 11 月 17-24 日 エイズ研究センター 職員 1 名

エ ナイジェリア連邦共和国における「ナイジェリア疾病予防センターネットワーク検査室機能強化計画協力準備調査」「公衆衛生上の脅威の検出及び対応強化プロジェクト詳細計画策定調査」

(ア) 派遣

平成 31 年 1 月 19-24 日 ウイルス第一部 職員 2 名

オ コンゴ民主共和国における「感染症疫学サーベイランスシステム強化プロジェクト」詳細計画策定調査

(ア) 派遣

平成 31 年 2 月 18-28 日 ウイルス第一部 職員 2 名

(3) 国際緊急援助隊への協力

ア コンゴ民主共和国におけるエボラ出血熱に関する国際緊急援助隊への協力

(ア) 派遣

① 平成 30 年 5 月 29 日-6 月 9 日 調査チームとして ウイルス第一部 職員 2 名、感染症疫学センター 職員 1 名

② 平成 30 年 6 月 11-30 日感染症対策チームとして ウイルス第一部職員 3 名、獣医科学部職員 1 名、感染症疫学センター2 名

イ 研修

なし

(4) その他研修協力

ア 名古屋大学大学院

(ア) 平成 30 年 6 月 20 日 「医学系研究科修士課程医科学専攻医療行政コース・ヤング・リーダーズプログラム」(6 カ国・10 名薬剤耐性菌研究センター)

イ 国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)

(ア) 日本・アジア青少年サイエンス交流事業

①平成30年6月5日-7月13日 疫学調査手法(4カ国・8 名・企画調整主幹、感染症疫学センター)

②平成30年7月9-13日 中国疾病対策予防研究所(中国CDC)等の若手研究者との交流事業(中国・10 名・ウイルス第二部、ウイルス第三部、免疫部、感染症疫学センター、エイズ研究センター、病原体ｹﾞﾉﾑ解析研究センター)

③平成30年10月11日 中国科学院研修 (中国・12名・感染病理部、エイズ研究センター)

(イ) SATREPS 地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム

①平成30年8月28日 薬剤耐性真菌検出のための新規検査法の開発とブラジルにおける疫学調査等への応用(ブラジル・3 名・感染症疫学センター、薬剤耐性研究センター)

②平成30年8月30日フィリピンの狂犬病撲滅に資する医・獣医学からの新たな人と動物の狂犬病診断システム構築に向けた取り組み(フィリピン・4 名・ウイルス第一部、獣医科学部、動物管理室)

③平成30年12月10-13日薬剤耐性真菌検出のための新規検査法の開発と、ブラジルにおける疫学調査等への応用(ブラジル・3 名・感染症疫学センター)

ウ 日本獣医学生協会

平成30年8月30日 研修プログラム(2カ国・9名・ウイルス第一部、獣医科学部、動物管理室)

ェ 神奈川県庁 国際課

(ア) 平成31年2月5日 神奈川県政策研修員研修(ウズベキスタン・1 名・インフルエンザウイルス研究センター)

(イ) 平成31年3月19日 神奈川県政策研修員研修(中国・1名・ウイルス第二部、免疫部)

3. 国際機関及び外国政府機関等との協力の調整

(1) WHO・WPRO 関連調整

ア 会議等開催

平成30年11月14-15日第1回 WHO 西太平洋地域 FETP フェローシッププログラム卒業生のためのワークショップ(12カ国、WPRO・27名・感染症疫学センター)

イ 会議等派遣

(ア) 平成30年4月21-26日参加 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及びガイドライン改訂に関する会議(スイス・1名)

(イ) 平成30年5月2-5日 第21回ポリオ研究委員会会議(スイス・1名)

(ウ) 平成30年5月8-9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)

(エ) 平成30年5月21-25日 第2回西太平洋地域日本脳炎予防促進専門家会議(フィリピン・2名)

(オ) 平成30年6月17-23日 WHO 西太平洋地域事務局が主催する APSEDIII(Asia Pacific Strategyfor 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会議)(インド・2名)

(カ) 平成30年6月18-23日 WHO WPRO 第27回 TAG/EPI (ワクチン予防可能疾患専門家助言会議)(フィリピン・3名)

(キ) 平成30年6月25日-7月1日 第16回麻疹風疹実験室ネットワーク会議及び麻疹風疹遺伝子サーベイランス運営委員会(ポルトガル・3名)

(ク) 平成30年6月26日-7月1日 ポリオ実験室診断小委員会会議(オランダ・1名)

(ケ) 平成30年7月8-14日 WHO 西太平洋・東アジア地域主催の「第12回西太平洋・東アジア地域国立インフルエンザセンター会議(ネパール・3名)

(コ) 平成30年8月20-24日 インフルエンザウイルスの分子診断と亜型同定及び世界インフルエンザ監視・対応システムにおける次世代シークエンサーの利用に関する WG 会議(ロシア・1名)

(サ) 平成30年8月22-26日 第7回世界インフルエンザ監視・対応システム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(ロシア・1名)

(シ) 平成30年9月11-15日 第4回ワクチン標準化に関する WHO コラボレーティングセンター会議並びにワクチン開発及び品質管理に関する国際シンポジウム(中国・3名)

(ス) 平成30年9月16-21日 第6回B型肝炎専門家パネル会議(フィリピン・2名)

(セ) 平成30年9月16-22日 国内標準品の確立、校正と管理に関する研修会(ベトナム・2名)

(ソ) 平成30年9月16-21日 RS ウイルスワクチンの品質、安全性及び有効性に関する WHO ガイドラインのための非公式協議(スイス・1名)

(タ) 平成 30 年 9 月 19-22 日 Global Benchmarking Tool (GBT) review（スイス・1 名）
(チ) 平成 30 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及び 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（米国・3 名）
(ツ) 平成 30 年 9 月 24-29 日 第 2 回 WHO 生物学的製剤の国立試験検査機関ネットワーク会議（イタリア・2 名）
(テ) 平成 30 年 9 月 25-29 日 第 20 回WHO痘瘡ウイルス研究アドバイザリーコミティー（スイス・1 名）
(ト) 平成 30 年 9 月 26-29 日 ジフテリア実験室診断マニュアルに関するワーキンググループミーティング（英国・1 名）
(ナ) 平成 30 年 10 月 28 日-11 月 3 日 WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議(ECBS)（スイス・3 名）
(ニ) 平成 30 年 11 月 5-10 日 ポリオ実験室診断小委員会会議（フランス・1 名）
(ヌ) 平成 30 年 11 月 5-8 日 第 9 回 WHO 西太平洋地域日本脳炎世界特別研究室及び地域レファレンス研究室非公式会議並びに韓国 NIFDS で開催される国立感染症研究所-韓国 NIFDS 日本脳炎研究会議（韓国・2 名）
(ネ) 平成 30 年 11 月 17-24 日 ベトナム規制当局のWHOベンチマーキング（ベトナム・1 名）
(ノ) 平成 30 年 11 月 20-24 日 第 3 回 WHO 西太平洋地域コラボレーティングセンター・フォーラム及び日本の国際保健機関・協力センターの国際保健機関アジア太平洋事務局(WPRO)への貢献に関するワークショップ（ベトナム・4 名）
(ハ) 平成 30 年 11 月 23-30 日 WHO AGISAR 会議（オランダ・1 名）
(ヒ) 平成 30 年 11 月 23-30 日 Antimicrobial Resistance-Genomes, Big Data and Emerging Technologies 会議（英国・1 名）
(フ) 平成 30 年 11 月 27 日-12 月 1 日 インフルエンザデータを使用したシビアリティ評価に関するWHO会議（スイス・1 名）
(ヘ) 平成 30 年 12 月 1-7 日 集団発生の情報システムの必要性について関係者が協議するための会議（スイス・1 名）
(ホ) 平成 30 年 12 月 10-13 日 ロタウイルスワクチンに関する専門家会議（フィリピン・1 名）
(マ) 平成 31 年 1 月 15-19 日 第 27 回 WHO ERL, CCs, インフルエンザワクチン製造所 NIBSC 関係者会議（英国・2 名）
(ミ) 平成 31 年 1 月 30 日-2 月 3 日 WHO 麻疹風疹実験室コーディネーター会議及び戦略ワーキンググループ会議（米国・1 名）
(ム) 平成 31 年 2 月 16-24 日 北半球インフルエンザワクチン株選定会議」、「インフルエンザ世界的監視、対応システム (GISRS) の WHOCC および ERL 会議」ならびに「インフルエンザ緊急事態の迅速リスク評価に関する会議（中国・3 名）
(メ) 平成 31 年 3 月 10-16 日 ポリオ実験室診断小委員会会議および、第 25 回ポリオ実験室ネットワーク非公式会議（ヨルダン・1 名）
(モ) 平成 31 年 3 月 10-12 日 EIOS (Epidemic Intelligence from Open Sources)の我が国での運用を検討するため WPRO 訪問（フィリピン・1 名）
(ヤ) 平成 31 年 3 月 11-15 日 WHO 西大西洋事務局の結核 HIV 合同会議 (Joint TB and HIV Program Managers Meeting)（フィリピン・1 名）
(ユ) 平成 31 年 3 月 17-23 日 第 8 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・1 名）
(ヨ) 平成 31 年 3 月 24-28 日 ブルーリ潰瘍と皮膚の NTD に関する WHO 会議（スイス・2 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
なし

オ WHO 総会及び執行理事会に関する対処方針案への厚生労働省からのコメント依頼への対応

4. その他協力、調整

(1) 国際会議支援(所内開催)

ア 平成 30 年 4 月 17-19 日 第 31 回 世界安全保障イニシアティブ (Global Health Security Initiative: GHSI) 会議（5 か国・WHO・6 名・ウイルス第一部）

イ 平成 30 年 7 月 26 日 第二回ジカウイルス感染症対策研究に関するワークショップ（ブラジル・4 名・ウイルス第一部、感染病理部、昆虫医科学部、免疫部）

ウ 平成 30 年 9 月 25-27 日 第 9 回 ASEAN +3 実地疫学研修ネットワーク運営委員会会議（11 カ国、WHO・25 名・感染症疫学センター）

(2) 国内会議支援(所内開催)

なし

(3) 海外の要人来訪

ア 平成 30 年 5 月 22 日 タイ マヒドン大学 教授・他 1 名表敬訪問。意見交換。

イ 平成 30 年 5 月 29-30 日 韓国食品医薬品安全性評価研究所(NIFDS) 研究官 4 名訪問。共同研究打ち合わせ。

ウ 平成 30 年 6 月 4 日 台北駐日経済文化代表処 表敬訪問。意見交換。

エ 平成 30 年 6 月 11 日 ベトナム 国立ワクチン及び生物製剤研究所 所長他 5 名表敬訪問。意見交換。

オ 平成 30 年 6 月 28 日 米国国際開発庁ｸﾞﾛｰﾊﾞﾙ保健局新興感染症室長(USAID: United States Agency for International Development)表敬訪問。意見交換。

カ 平成 30 年 7 月 4-5 日 インド 国立コレラ・腸管感染症研究所 所長他 5 名表敬訪問。共同研究に関する会議

キ 平成 30 年 11 月 15 日 WHO 西太平洋事務局次長・事業統括部長表敬訪問。意見交換。

ク 平成 31 年 2 月 18 日 ブータン NCAH (National Centre for Animal Health)所長他 2 名訪問。意見交換。

ケ 平成 31 年 3 月 19 日 米国 CDC ・NCEZID 課長訪問 Division of Preparedness and Emerging Infections National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases Division Director 他 1 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 (講習や BSL2 実験室安全キャビネット等の機器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かかわる研究および教育・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 ヶ月毎のバイオリスク管理講習会と臨時の講習会を実施した。講義に加えて手袋・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一・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 SFTS ウイルス、ノロウイルス等、レジオネラ菌、コリネバクテリウム、結核菌ワクチン等の研究を行った。

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行うとともに、視察や見学者への説明や案内を行った。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、それぞれの業務実施状況が記録として残る様式とすることとした。また、作成されたBSL-4施設の管理者向けSOPをもとにBSL-3施設における管理者向けSOPの改訂を実施している。さらに改訂されたBSL-3施設のSOPから管理、運用に必要な要素を公開することで国内各所に存在するBSL-3施設におけるSOP作成に資すると考えられる。

［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いる。さらに、ポリオウイルスの伝播するリスクを最小限にするために感染性ポリオウイルスが含まれる可能性のある検体（Potentially infectious materials, PIM）についても適正な管理が求められる。公開されたWHOのPIMガイダンスでは、ポリオウイルス以外の検査などのために収集された糞便や呼吸器検体、濃縮下水検体も含まれており採取時期や場所・保存状況により対象となることから、保有状況の調査に当たり質問票による小規模での協力依頼を行ったところ、対象となる検体や記入方法が、提

供する情報がわかりにくいとの意見があり、さらに説明や調査票の改良を検討する必要がある。
［棚林清、伊木繁雄、河合康洋、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性能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規格やJIS規格の改訂や制定に反映している。高病原性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や使用上の改良点など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や実使用に関する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. 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。
これまで患者血清の抗体価の測定を念頭に重症熱性血小板減少症 (SFTS) 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。そこで実際にウイルスが検出された急性期のSFTS患者血清を用い、熱とUVを単独または組み合わせたいくつかの条件で処理を行ったところ、60度30分及びUV照射10分の組み合わせで感染性ウイルスは検出されないことを確認できた。加えて抗体陽性の回復期のSFTS患者血清を同条件で処理し、ELISA法で抗体価を測定したところ、未処理の吸光度を100%とした時、60度30分及びUV照射10分のものは80%以上を維持しており、検査にはほとんど影響を与えない処理方法であることが確認された。したがってSFTS患者血清の不活化処理は60度30分及びUV照射10分の組み合わせが推奨された。
［原田俊彦、福士秀悦 (ウイルス第一部)］

6. 高圧蒸気滅菌装置による実験動物の滅菌条件に関する検討

カニクイザル3頭の体内外に各種インジケーター及び温度ロガーを設置し、バイオハザード用両面型高圧蒸気滅菌装置にて60～120分の滅菌処理を行い検証した。その結果、120分処理であっても重なり具合など被滅菌物の状態によってはインジケーター（芽胞）中の耐熱因子の一部が活性を維持していることが推測された。これは動物体内への熱伝導の難しさとわずかな環境変化により滅菌が不十分となる可能性を示唆している。滅菌対象物は動物であることから、毎回同じ状態をつくり出すことも温度斑を防ぐことも困難である。したがって、状態に左右されにくい滅菌条件のさらなる模索が必要と考えられた。
［伊木繁雄、原田俊彦、山本明彦］

7. 高病原性病原体取扱いおけるバイオリスク管理システムの向上に関する研究

(1) 封じ込め施設における施設・設備の封じ込めに係る評価・検証方法の開発

封じ込め施設・設備の必須要件とされる『室圧制御 (気流制御)』や『気密性能』及びこれらの評価・検証方法に関して、我が国において規格化されたものが無い。本研究ではこれらの性能の評価・検証方法を検討し、また室圧・気流安定化の具体的な手法の検討を行うことを目的とした。まず、情報収集として各国のガイドライン等を収集し整理を行った。特に実験室の気密性試験方法についての特徴をまとめることができた。また、気流制御の評価方法の検討として、PIV（Particle Image Velocimetry ：粒子画像流速測定法）にて気流の可視化を試み、気流の流れを測定することができた。今後は本方法を用いて漏洩防止対策手法の評価やトレーサー粒子を用いて実際に扉開閉時に持ち出されるエアロゾルの量を評価する予定である。
［原田俊彦、河合康洋、篠原克明、福士秀悦 (ウイルス第一部)］

(2) 封じ込め施設における施設・設備の除染に係る評価・検証方法の開発

現在、実験室内の除染のほとんどがホルムアルデヒドガス燻蒸で行われているが、ホルムアルデヒドには発がん性があり、また近年、他の薬剤を用いた新たな除染方法が提案されていることから、ホルムアルデヒドガス燻蒸に代わる方法を検討した。各種薬剤の拡散性、浸透性等の性質を比較・検討した結果、二酸化塩素ガス燻蒸が第一候補と考えられた。そこで実際のBSL3実験室にて試験的に燻蒸を実施した。しかし燻蒸中、実験室内に白煙が発生したため、燻蒸を中止した。後日、実験室内を調査したところ室内設備のメッキ部分に錆が発生しており、ガスによる腐食によるものと考えられた。二酸化塩素ガス燻蒸システム業者への聞き取り調査の結果、二酸化塩素は光と反応して腐食性のある物質となることが分かった。今後は白煙を発生させない燻蒸方法及び煙感知器への対応方法を検討し、再度試験燻蒸を行う予定である。
［原田俊彦、河合康洋、篠原克明、福士秀悦 (ウイルス第一部)］

(3) 実験動物サル感染実験を行う施設・設備に係る要件と検証手法の検討

1. 実験動物サル感染実験におけるリスク（サル特異的要

件、人獣共通感染症、作業に伴う曝露など）の調査と評価並びにリスク評価に基づいた安全操作手順の策定
実験動物サル感染実験におけるリスクを調査するため、実際にサル感染実験を行っている研究機関に調査と評価を行い、大まかなリスクの把握を行った。また、得られた情報を元により詳細なリスクを調査し、評価するためのアンケート案を作成した。今後、アンケートを用いてサル感染実験を実施している研究機関へ詳細なリスクの調査と評価を実施し、リスク評価に基づいた安全操作手順の策定を行う予定である。

2.サル感染実験に必要な機材や封じ込め装置の要件と有用性並びに性能評価方法などの策定
サル感染実験に必要な機材や封じ込め装置の要件を調査するため、現行でサル等の解剖に用いられている両面開き解剖台、および再生医療用途向けのプッシュプル式作業ブースの性能を確認した。その結果、両面開き解剖台については使用条件を限定すれば安全キャビネット同等の性能(全面開口部風速を基準とした際)を有していることが明らかとなった。一方、プッシュプル式作業ブースについては、現時点では安全キャビネット同等の性能は有していなかったが、個人防護着とあわせた運用方法にて利用可能である事が明らかとなった。今後、実際の解剖作業を模擬的に再現し、解剖時の前述の機器の封じ込め装置の有用性、性能評価方法を検討する予定である。

［河合康洋、原田俊彦、篠原克明、福士秀悦 (ウイルス第一部)］

II. その他の研究

1. 食品媒介および介在性ウイルスの不活性化効果評価法ガイドライン策定にかかる研究

評価系の整備に当たり、必要なウイルスおよび細胞株について再検証をしたところ、市販のRD細胞ではCA6 (Gdula株)に対し非常に感度が低く評価に適さないことが判明した。また3年のCA6国内分離株について性状比較を行った。RD細胞に関しては、現在CA6を用いた高感受性クローンの樹立を試みている。

［高木弘隆、上間匡(国立医薬食研)、斎藤博之(秋田県保健環境センター)］

2. ヒトパレコウイルス(hPeV)の新たな細胞培養法に関する研究

下痢症便検体の培養スクリーニング時に、目的とは異なる顕著なCPEが確認され、解析の結果hPeV-3と判明した。当該ウイルスは、国内分離報告は多いが、分離培養系に恵まれていなかったものであり、今回の手法をあらためて検証したところ、ウイルス増殖性および検出感度において、郡を抜くものであった。また本手法によりhPeV-3の性状解析を試みたところ、pH11.5で3時間以上感染価がほとんど減衰しないことが示された

［高木弘隆、岡智一郎(ウ2)、斎藤博之(秋田県保健環境センター)］

3. ヒトサポウイルス(hSaV)・ヒトノロウイルス(hNoV)の培養手法に関する研究

hSaVについては、汎用細胞株から高感受性細胞の選定、およびサプリメントの選定により、2つの遺伝子型にてウイルスRNAを約10^8copies/0.1mlまで増殖させ、精製培養上清よりvirionを捕捉した。しかしながら遺伝子型によりサプリメント要求性や前処理の必要性が示唆されており、今後も検討が必要である。hNoVについてはGI型についてはサブタイプにより増殖性が異なり、またGII型についてはその一部で前処理により、ウイルスRNAシグナルの増加が認められるものが確認された。

［高木弘隆、岡智一郎(ウ2)、野田衛(国立医薬食研)、他自治体衛生研究所・センター］

4. 生活排水からの下痢症関連ウイルス検出と培養細胞による分離に関する研究

生活排水中のウイルス検出・調査はこれまでも多く取りあげてこられたが、従来盛んに実施されている遺伝子検査に加え、細胞培養法を組み入れ、増殖能を有したウイルスの分離を試みている。またヒトサポウイルスについては4つの遺伝子群(GI、GII、GIV、GV)別の検出系を用いることにより、同時期に多様な遺伝子群が推移していることが明らかになった。そして遺伝子検査で不検出となったヒトパレコウイルスが、高感度な新規培養法により検出された。

［高木弘隆、岡智一郎(ウ2)、宮城県保健環境センター) ］

5. 海水中からのウイルス回収に関する研究

海水(貝類養殖海域などを想定)におけるウイルス回収には従来の陰荷電膜法では芳しくなく、また専用の装置が必要なことからも汎用性にかけるものであった。そこでより簡便・低コストな手法として樹脂(レジン)による海水中のウイルス吸着および回収を検討した。5-6種類の樹脂を用いて、滅菌人工海水中のFeline calicivirusの吸着率をみたところ、うち1つで70%以上の吸着を示すものが認められた。

［高木弘隆、野田衛(国立医薬食研)］

6. レジオネラ属菌検査精度管理サーベイと推奨検査法の提示

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2015年度から行われている。2018年度も実施され、全国148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70機関については、独自に集計・解析を実施した。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、今後も、継続的な外部精度管理サーベイができるよう、引き続き実施主体となる民間会社との連携が必要である。また、昨年度改訂されたISOとの調整を図った「浴槽水に関するレジオネラ属菌検出のための検査方法」を「公衆浴場における衛生等管理要領」内の推奨検査法として提示した。

［森本洋、小川恵子、三津橋和也（北海道衛研）；磯部順子、金谷潤一（富山衛研）；黒木俊郎（岡山理科大学）；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、中西典子（神戸市環保研）、千田恭子（仙台市衛研）、田栗利紹（長崎県環保研）、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］

7. 2008年から2016年に患者から分離されたレジオネラ属菌

レジオネラ・レファレンスセンターでは、7集団感染事例を含む427株のレジオネラ属菌を型別した。その内419株がLegionella pneumophilaで、372株がL. pneumophila血清群1であった。L. pneumophilaをsequence-based typingすると187の遺伝子型（ST）となり多様で、内126のSTは単一株であった。Minimum spanning tree解析で18のグループに分かれた。主要なSTは、ST23、ST 120、ST138であった。ST138は日本固有で小規模の集団感染を起こし、81％は浴槽水により感染していたと確定あるいは推定された。一方、ST23は31％、ST 120は25％と、浴槽水により感染していたと確定あるいは推定された％は低くかった。これらの結果は、あるSTがしばしば感染を引き起こし、また異なる生息環境に見いだされることを示唆した。

［前川純子（細菌第一部）、倉文明、千田恭子（仙台市衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）；金谷潤一、磯部順子（富山衛研）：田中忍（神戸市環保研）、中嶋洋（岡山県環境保健セ）、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）；坂田美穂、村井美代（埼玉県立大・健康開発）；大西　真（細菌第一部）、レジオネラ・ワーキンググループ］

8. カニクイザルでの結核ブースターワクチンの評価

結核菌が休眠期も含め常時発現する蛋白質「MDP1」とCpGオリゴDNA「G9.1」をアジュバントに用いた新規ブースターワクチンのカニクイザルに対する抗結核効果を検討した。無処置群、BCG単独接種群およびBCG+ブースターワクチン接種群について、人型結核菌を経気道感染させ、3ヶ月後残存菌数を比較した。また末梢血単核球および血清を定期的に採取した。血清CRPは、感染一ヶ月後にどの群も最高値を示した。またブースターワクチン皮内接種群は対照群に対し、顕著な菌数低下が認められた。

［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、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）］

9. モルモットでの結核ブースターワクチンの評価

抗酸菌由来組換えMDP1をブースター抗原、G9.1をアジュバントとする新規ブースターワクチンを調製し、その有効性をモルモットによる結核菌噴霧感染系で確認した。肺内残存菌を定量したところ、BCG-I(強反応性)接種群とBCG-II(弱反応性)接種+ブースターワクチン皮内接種群は、コントロール群に対し有意な菌数低下が認められた。本ブースターワクチンは結核菌感染に対し有効な防御手段であることが示唆された。

［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）］

10. 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。その結果、亜型間で増殖能に差があり、これらの差と精巣における損傷がパラレルであることから、精巣の異常は各ウイルス間での増殖能の差によるものと考えられ、ジカウイルスは、その生息域を拡大する過程で、増殖能が改善された可能性が示唆された。

［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)］

11. 国産セアカゴケグモ抗毒素のGLP準拠の非臨床試験

抗毒素の品質管理及び抗毒素を使用した治療法に関する研究班で2015年度に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一昨年度開始したGLP準拠の非臨床試験の内、未実施の静脈内反復投与試験(2)を実施し、安全性を確認した。この試験の結果をもって非臨床試験は終了した。

［山本明彦、高橋元秀、堺淳、一二三亨］

12. コリネバクテリウム・ウルセラン（Corynebacetrium ulcerans）のリスク評価に関する研究（2）

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くなった2001年以降、35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。2018年度の患者発生数は7症例で、呼吸器症状が5例、2例が大腿部の膿瘍であった。患者家族に感染は認められなかったことから、ジフテリアに比較して感染力は強いものではなかった。患者は猫を複数匹飼育している場合が多く、検査が可能であった飼育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］

13. SFTS不活化ワクチン開発のためのウイルス大量培養及び精製方法の検討

SFTSは致死率の高い感染症であるが、ワクチンはまだ開発されていない。そこで本研究では不活化ウイルスを用いたワクチンの開発を目標とし、そのためにまず抗原となるウイルスの大量培養及びその精製方法について検討を行った。精製のための超遠心の条件検討をまずSFTSウイルスのウイルス様粒子 (VLP) を用いて行った。ショ糖またはOptiPrepを用いたクッション法でVLPを分離し、ELISAで各分画の蛋白質量の比較、及び電子顕微鏡によるVLP形状の比較を行った。今後はこれらの結果を元に実際にSFTSウイルスを用いて条件検討を行う予定である。

［原田俊彦、吉河智城 (ウイルス第一部)］

国際協力関係業務

1. ベトナム国・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

JICA の国際技術協力の一環として、ベトナム社会主義国の感染症の予防・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に短期専門家として参加し、ホーチミンパスツール研究所 (PIHCMC) を訪れた。PIHCMC での新規 BSL3 実験室建設に関して現地調査を行い、また PIHCMC に対して実験室レイアウトや廃水処理設備に関する意見を述べた。

また同プロジェクトの一環として、PIHCMC の新規 BSL3 実験室のバイオセーフティ管理者候補が本邦研修のため来日した。約 1 か月間にわたり候補者に対してバイオセーフティの考え方、実験室設備等の講義、実験室の見学、協力専門業者の訪問等を行った。

［河合康洋、原田俊彦、篠原克明］

研修業務

1. バイオリスク管理講習会

バイオリスク管理講習会は、新規の病原体等取扱者を対象として 2 ヶ月毎に開催し、バイオリスク管理委員長（森川茂 獣医科学部長）より、バイオリスク管理の考え方についての講義、管理室長は安全管理規程等の規則について、また、管理室員がバイオセーフティの実践についての講義および個人防護具（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（表 1）。今年度は、臨時の講習を含めて 143 名の受講者があった(表2)。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、12 回開催し 20 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とした講習は 2 年毎に実施しており、次年度開催予定である。

表 1 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 2 平成 30 年度新規取扱者対象講習会受講者数

実施月日	新規受講者数*
4 月 9 日	46
6 月 15 日	28
7 月 25 日	2
8 月 7 日	25
10 月 15 日	14
12 月 10 日	8
2 月 5 日	18
計	141

表 3 平成 30 年度 外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
4 月 6 日	1
4 月 18 日	2
5 月 29 日	5
8 月 17 日	2
10 月 2 日	1

10 月 12 日	1
10 月 18 日	1
10 月 25 日	1
12 月 3 日	1
1 月 15 日	1
2 月 8 日	2
3 月 4 日	2
計	20

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体の特徴、運搬方法および立入検査の内容等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併せて実施した。

［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各庁舎で施設の保守管理や警備の担当者を対象にして、バイオセーフティ・バイオセキュリティや緊急時の対応等についての講習・実習を実施した。

［棚林清］

4. 各種所内での研修での講義・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や実習を行った。

(1) 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・中米からの研修生（8 名）に対し、バイオセーフティ・バイオセキュリティについての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］

(2) 第 40 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。［棚林清］

(3)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（JICA Training Course）
アジア・アフリカからの研修生（10 名）に対し、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)］

(4) 感染症診断技術研修、その他の研修

都道府県地方衛生研究所職員などが参加する研修において、バイオセーフティ・バイオセキュリティについての講義と安全キャビネットの使い方及び病原体輸送に関する実技指導を行った。その他、感染研で実施される短期の研修においてバイオリスク管理についての講習を行った。［伊木繁雄、棚林清］

5.その他の研修

(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) 希少感染症診断技術研修会、地方厚生局職員研修、感染症検査技術研修会でのバイオリスク管理、輸送方法等に関する講義や施設説明を行った。 [原田俊彦・棚林清]

(4) 横浜検疫 BSL3 施設における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。［棚林清］

(5) 東京理科大学病原性微生物等安全管理のための講習会、平成 30 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］

(6) 国立保健医療科学院平成 30 年度短期研修 新興再興感染症技術研修「レジオネラ感染症概論」、受講生 21 人、2018 年 10 月、東村山［倉文明］

(7) 日本環境衛生センター第1回保健所環境衛生監視員講座「宿泊施設のレジオネラ対策」、受講生 30 人、2018 年 11 月、東京都［倉文明］

(8) 国立保健医療科学院平成 30 年度短期研修環境衛生監視指導研修「レジオネラ属菌の検査と対策、-温泉入浴施設・迅速検査・取組状況-」、受講生 39 人、2018 年 11 月、和光市［倉文明］

(9)陸上自衛隊特殊武器衛生隊研修

検査業務に従事する隊員の検査室及び検査に使用するモバイルラボにおける模擬検査を見学し、バイオリスク管理上問題となる操作方法や器材整備状況につて改善策につ

いて助言を行った。また安全キャビネットの適切な使用方法に関する講義を別途実施した。
［伊木繁雄・高木弘隆］

安全管理、教育および情報提供等に関する業務

I. BSL3、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に講義を行った。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、自治体、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、手洗い体験を行った。
［高木弘隆、篠原克明、山崎利雄、倉文明、伊木繁雄、原田俊彦、河合康洋、棚林清］

III. 研究所一般公開

研の一般公開 (戸山庁舎: 平成 30 年 9 月 29 日、村山庁舎: 平成 30 年 7 月 28 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や安全キャビネット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。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。また専用のキットを用いた N95 マスクのフィットテスト体験も行った。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。

村山庁舎でも戸山と同様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、高木弘隆、河合康洋、山本明彦、山﨑利雄、棚林清、倉文明、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 として麻しん・風しんウイルス(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適切に梱包されているかを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) Amemura-Maekawa J, Kura F, Chida K, Ohya H, Kanatani J, Isobe J, Tanaka S, Nakajima H, Hiratsuka T,

Yoshino S, Sakata M, Murai M, Ohnishi M. the Working Group for Legionella in Japan. Legionella pneumophila and other Legionella species from legionellosis patients in Japan between 2008 and 2016. Appl Environmental Microbiol. 84(18). pii: e00721-18, 2018

2) 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

3) Shimasaki N., Okaue A., Kikuno R., Shinohara K. Comparison of the Filter Efficiency of Medical Nonwoven Fabrics against Three Different Microbes Aerosols. Biocontrol Science 23: 61-69, 2018

4) Ujihara T., Uchiyama J., Nasukawa T., Ando H., Murakami H., Ohara N., Ogawa M., Yamazaki T., Daibata M., Sakaguchi M. and Matsuzaki S. Recovery of mycobacteriophages from archival stocks stored for approximately 50 years in Japan. Archives of Virology 163: 1915-1919, 2018

5) Hifumi T, Nakano D, Chiba J, Takahashi M, Yamamoto A, Fujisawa Y, Kawakita K, Kuroda Y, Nishiyama A. Combined Therapy with Gas Gangrene Antitoxin and Recombinant Human Soluble Thrombmodulin for Clostridium Perfringens Sepsis in a Rat Model. Toxicon 141: 112-117, 2018

6) 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 infection. EID 24:588-591, 2018

7) 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 71: 116-121, 2018

8) Senoh M, Iwaki M, Yamamoto A, Kato H, Fukuda T, Shibayama K. Development of vaccine for Clostridium difficile infection using membrane fraction of nontoxigenic Clostridium difficile. Microbiol pathogenesis. 123: 42-46, 2018

9) Yamamoto A, Harano S, Shinya N, Nagano A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Takahashi M, Taki H, Hifumi T: Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: A local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a two-week intravenous toxicity study in rats. JTP 31: 105-112, 2018

2. 和文発表

1) 倉文明:トラブル解決編、水に関するトラブル. Infection Control、27(8):763-768, 2018.

2)倉文明:講座 環境水からのレジオネラ・宿主アメーバ検出とその制御 3. レジオネラ症の国内外の動向. 防菌防黴誌 46: 365-76, 2018.

3)大屋日登美、鈴木美雪、政岡智佳、古川一郎、前川純子、倉文明、泉山信司、黒木俊郎:医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態. 感染症学雑誌 92: 678-85, 2018.

4)倉文明:いま公衆衛生を考える レジオネラ対策、環監未来塾. 生活と環境 755:42-8, 2018.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Isobe J, Kanatani J, Kimata K, Uchida K, Watahiki M, Kura F, Ozawa K, Gondaira F, Amemura-Maekawa J: Evaluation of an immunomagnetic separation method to detect Legionella pneumophila serogroup 1 from environmental specimens. ESGLI Conference 2018, Lyon, August 2018.

2）Taguri T, Cai G, Ebisu-Ojima H, Kura F, and Amemura-Maekawa J: : On-site inspection method for Legionella pneumophila in bath water. ESGLI Conference 2018, Lyon. August 2018.

3)Kura F, Amemura-Maekawa J: Sources of infection and settings in outbreaks of legionellosis --- Japan, 2000-2017. ESGLI Conference 2018, August 2018.

4) Uchiyama J, Mizukami K, Yahara K, Kato S, Murakami H, Nasukawa T, Ohara N, Ogawa M, Yamazaki T, Matsuzaki S and Saka,uchi M, Recovery of mycobacteriophages from archival stocks stored for approximately 50 years in Japan, EMBO Workshop “Viruses of Microbes 2018”,July9-13, 2018, Wroclaw, Poland

5) Ogawa S, Yamamoto R, Horita Y, Itoh S, Ohara N, Yagi T, Ogawa K, Maeda S, Nishimori K, Fujiwara N, Goto Y, Yamazaki T, Hida S, Onozaki K. and Takii T., Analysis of the adaptation mechanism of *Mycobacterium avium* under the acid environment, U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference On Emerging Infectious

Diseases In The Pacific Rim, February 28-March 1, 2019, Hanoi, Vietnam

2. 国内学会

1) 倉文明:いま公衆衛生を考える レジオネラ対策、環監未来塾、2018 年 7 月、東京都

2) 田栗利紹、蔡国喜、下田貴宗、倉文明、前川純子:遊離塩素消毒下の入浴施設におけるレジオネラニューモフィラの生死スクリーニングを伴ったオンサイト半定量解析、防菌防黴学会第 45 回年次大会、2018 年 11 月、東京

3) 森中りえか、前川純子、加藤尚之、大野章、原口浩幸、高崎一人、布藤聡、倉文明:比色系パルサー法によるレジオネラ属菌検出の特異性について、防菌防黴学会第45回年次大会、2018 年 11 月、東京都.

4) 金谷潤一、綿引正則、木全恵子、加藤智子、内田薫、倉文明、前川純子、磯部順子:大気エアロゾル中のレジオネラ属菌検出状況、防菌防黴学会第 45 回年次大会、2018 年 11 月、東京

5) 磯部順子、金谷潤一、木全恵子、内田薫、綿引正則、小澤賢介、権平文夫、倉文明、前川純子:浴用水から Legionellla pneumohila 血清群 1 を検出するための免疫磁気ビーズによる濃縮分離法の検討、防菌防黴学会第 45 回年次大会、2018 年 11 月、東京都

6) 倉文明:レジオネラ院内感染の国内外の動向、ランチタイム講演、講演会・シンポジウム「医療機関の給湯・給水系に潜むレジオネラ感染リスク～実態と予防策～」、2018 年 10 月、東京

7) 倉文明、前川純子:最近のレジオネラ症の発生動向と検査方法、抗レジオネラ用空調水処理剤協議会、2019 年 1 月、東京

8) 倉文明:レシオネラ症に関する最近の話題、特別講演、平成 30 年度(第 40 回)全国環境衛生職員団体協議会関東ブロック会研究発表会、2019 年 2 月、高崎.

9) 倉文明:わかりやすいレジオネラの話:医療機関に潜む感染リスク、教育講演(モーニングセミナー)、第 34 回日本環境感染学会総会、2019 年 2 月、神戸

10) 篠原克明:バイオハザード対策専用防護服の防護性能評価と適切な使用。第 45 回日本防菌防黴学会 シンポジウム9 院内感染防止関係、2018 年 11 月 14 日、東京

11) 篠原克明、嶋崎典子:局所押圧による防護服素材の防護性能劣化に関する検討。第 45 回日本防菌防黴学会、2018 年 11 月 13-14 日、東京

12) 嶋崎典子、篠原克明、陳凱倫、小倉光貴、森川英明:局所押圧による防護服素材の防護性能劣化に関する検討。第 45 回日本防菌防黴学会、2018 年 11 月 13-14 日、東京

13) 篠原克明、河合康弘、原田俊彦、中嶋建介、苅和宏明、福士秀悦:病原体個人防護に関する現状。第 18 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2018 年 11 月 14-15 日、東京

14) 原田俊彦、有川二郎、天野健太郎、齊藤智、谷英明、早坂大輔、河合康洋、小野文子、網康至、七戸新太郎、棚林清:封じ込め施設における室間気流制御の問題点とその評価手法の検討、第 18 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2018 年 11 月、東京

15) 伊木繁雄、原田俊彦、山本明彦、棚林清:高圧蒸気滅菌によるカニクイザルの滅菌条件の検討 第 18 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会、2018 年 11 月、東京

16) Yasuhiro Kawai, Eri Nakayama, Fumihiro Kato, Satoshi Taniguchi , Kenta Takahashi , Tadaki Suzuki , Shigeru Tajima, Masayuki Saijo, Chang-Kweng Lim. Comparison of properties of different subtypes of Zika virus clinical isolates、第 66 回日本ウイルス学会学術集会 2018 年 10 月、京都

17) 高木弘隆、永田文宏、野田衛、上間匡:食品媒介性およ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(2) ー代替ウイルス選定および試験系に関する検討ー 第 39 回 日本食品微生物学会学術総会、2018 年 9 月、大阪

18) 高木弘隆:今だからこそのウイルス細胞培養;株価培養細胞活用術について ウイルス性下痢症研究会 第 30 回学術集会、2018 年 10 月、京都

19) 高木弘隆:パネルディスカッションー消毒・殺菌を考える消毒・殺菌(不活性化)とはいかなる理解・認識をされているのか? 日本機能水学会 第 17 回学術大会、2018 年 11 月、富山

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（Specific Pathogen Free; 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、動物由来感染症に関する研究としてヒトバ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の実地調査の対応を行っている。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により適正であるという評価を受けている。その他、庁舎毎に設置されている安全連絡協議会（村山庁舎では施設運営連絡協議会）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動物実験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 30 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」に参加する学生と東京大学農学部獣医学専修 3 年生の施設見学、日本獣医学生協会訪問団への施設概要説明、国立保健医療科学院「医師卒後臨床研修」、JICA「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実験施設の利用状況

動物管理室は動物実験委員会が主催する動物実験講習会の運営を担当している。講習会では受講者に対して動物実験に関する法規制、機関内規程、動物実験の 3Rs を実践するための基本的な事項、実験動物の飼養保管、動物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 30 年度新規受講者は 68 名、新規動物実験計画書の承認は 378 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 31 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 246 人、村山庁舎 285 人、ハンセン病研究センター38 人である。また、3 庁舎で飼養保管している動物種（飼養数合計）は、マウス（6,455 匹）、ラット（167 匹）、モルモット（40 匹）、ウサギ（73 羽）、スナネズミ（5 匹）、ハムスター（10 匹）、フェレット（55 匹）、ネコ（13 匹）、霊長類（121 頭）、ニワトリ（8 羽）である。

施設利用及び動物実験講習会　受講実績

		受講者数(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9日	*村山*				*1*
4月11日	戸山	12			20
4月17日	*戸山*	*3*			*3*
4月20日	ハンセン			1	
6月5日	村山		1		
6月22日	戸山	9			18
7月3日	戸山	6			
7月12日	ハンセン			3	
7月23日	村山		1		
8月3日	村山		1		
8月6日	戸山	8			11
8月17日	*村山*				*1*
9月3日	ハンセン			1	
9月5日	*戸山*	*2*			*2*
9月18日	村山		1		
10月22日	戸山	4			3
10月2日	村山		1		
11月16日	村山		2		
2月1日	戸山	5			9
2月27日	村山		4		
合計		49	11	5	68

(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(戸山庁舎とハンセン病研究センターでは黄色ブドウ球菌のみ許容)。そして、ハンセン病研究センターで緑膿菌陽性が確認された際は、該当飼育室内の全ケージについて個別に緑膿菌の検査を実施し、汚染が確認されたケージのマウスは殺処分、その他のマウスは1ヶ月間飲水を次亜塩素酸添加水に変更して飼育した。その後、通常の飲水に戻してケージごとの検査を1ヶ月おきに2回実施し、全て緑膿菌陰性であることを確認した。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

所内の動物実験施設で繁殖され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30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.)に対するネオマイシンの有効性について

Pneumocystis sp.に対するネオマイシンの有効性を確認するため、ハンセン病研究センターで *Pneumocystis* sp.に汚染され、ネオマイシン添加水が与えられていた免疫不全マウス[C57BL/6 Rag1 knockout(KO)と C57BL/6 Rag1/Mincle double knockout(DKO)]を戸山庁舎へ移動し、引き続きネオマイシン添加水を与えて飼育した。また、ネオマイシン添加を中止した場合の再発の有無を確認するため、飼育1ヶ月後から一部のマウスで飲水へのネオマイシン添加を中止した。ネオマイシン添加中止から2ヶ月後、Rag1 KO マウスでは添加群(N=2)と非添加群(N=2)には差が無く全例で背弯姿勢が観察され、*Pneumocystis* sp.陽性で重度の肺炎を認めた。一方、Rag1/Mincle DKO マウスでは、非添加群(N=3)は全例が *Pneumocystis* sp.陽性で肺炎を認めたのに対し、添加群(N=3)では1匹が *Pneumocystis* sp.陰性であり、2匹の *Pneumocystis* sp.陽性マウスのうち1匹は肺炎を認めなかった。ネオマイシンの有効性はマウスの系統によって著しく異なるために再確認が必要であるが、少なくとも飲水添加を中止することで再発することが明らかになった。[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 の研究で最も汎用される培養細胞はマウスマクロファージ由来の RAW264.7 細胞であるが、同じくマウスマクロファージ由来の J774.1 細胞では MNV は増殖しなかった。この両者の MNV 感受性差は、RAW264.7 細胞のみレトロウイルスを

持続産生していることに起因することが疑われた。そして、RAW264.7 細胞の内在性レトロウイルスをゲノム編集技術によりノックダウンすることで、RAW264.7 細胞の MNV に対する感受性の低下ないし喪失、MNV 持続感染を阻止できるのではないかと考えた。そこで、内在性レトロウイルスのゲノム配列の確認を目的として、Moloney murine leukemia virus（Mo-MuLV）のゲノム情報を基に複数のプライマーを設計し、RAW264.7 細胞から抽出したゲノム DNA を鋳型として PCR を行った。得られた PCR 産物をクローニングしてシーケンス解析を行い、RAW264.7 細胞由来 MuLV の *gag* 及び *pol* 遺伝子の塩基配列を決定した。その結果、*gag* 遺伝子では 5 塩基、*pol* 遺伝子では 14 塩基が Mo-MuLV と異なることが確認された。［花木賢一、滝本一広、田原口元子；森一泰（エイズ研究センター）］

2. Tyzzer 菌（*Clostridium piliforme*）の組換え鞭毛蛋白の発現と ELISA への応用

Tn5 細胞で発現させた Tyzzer 菌（RT 株）の組換え鞭毛蛋白を 1% NP40/PBS で可溶化後、0.2M 尿素/PBS で精製し、これを抗原として ELISA を行った。同時に、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感染させて発現させた組換え蛋白を陰性抗原として使用した。Tyzzer 菌感染マウス血清は組換え鞭毛蛋白に対し特異的かつ非常に強い反応を示した。一方、非感染マウス血清はいずれの抗原にも反応を示さなかった。市販の ELISA キットで非特異反応を示した非感染マウス 11 匹の血清も組換え鞭毛蛋白に対しては反応を示さなかった。これらの結果より、組換え鞭毛蛋白は特異性の高い抗原として有用であることが示唆された。（滝本一広）

3. NOJ マウスから検出された *Pasteurella pneumotropica* の病原性について

戸山庁舎で繁殖中の免疫不全マウス NOD/SCID/Jak3 KO（NOJ）マウスから検出された *P. pneumotropica*（NOJ 株とする）の NOJ マウスにおける病原性について調べるため、NOJ 株または *P. pneumotropica* 感染研標準株（MaM 株）をそれぞれ NOJ マウスへ経鼻感染させた。MaM 株感染マウスでは感染 7 日目から体重が回復したのに対し、NOJ 株感染マウスでは 2 週目から体重が減少し始め、4 週目には感染時の体重の 80%程度まで減少した。また、NOJ 株感染マウスでは感染後から立毛が見られ、4 週目には背弯姿勢が観察された。肺病変について比較したところ、MaM 株感染マウスでは、感染 2 週目に肺の一部に小さな膿瘍が確認されたが、4 週目でも肺病変の顕著な進行は認められなかった。一方、NOJ 株感染マウスでは感染 2 週目に多くの肺葉で膿瘍が認められ、4 週目では複数の肺葉が膿瘍化して肋骨への癒着が顕著であった。これらの結果から NOJ 株は MaM 株に比べて病原性が強く、その進行が早いことも確認された。免疫機能が正常なマウスにおける病原性を確認するため、ICR マウスで同様の感染実験を実施したが、何れの株も病原性は認められなかった。［田原口元子、滝本一広、花木賢一；寺原和孝、岩渕龍太郎（免疫部）］

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株の神経病原性の評価法を検討する目的で、10^2 PFU の Jeryl Lenn 株または国産の鳥居株をそれぞれ3頭のコモンマーモセット脊髄内に接種し、感染初期の2週間において末梢血リンパ球の変動と発熱の観察を行った。Jeryl Lenn 株接種群では3頭中1頭で接種1週後にリンパ球が減少、10日後に増加する変動が観察されたが、他の2頭では観察されなかった。また、変動が観察された個体では、接種後10日以降に発熱が認められた。鳥居株接種群では3頭全頭で同様のリンパ球数の変動が観察されたが、発熱個体は観察されなかった。これまでのコモンマーモセットを用いた感染実験の結果から、ウイルス接種後約1週から10日前後にリンパ球数の減少、10日以降に増加する特徴的変動が、接種経路における標的細胞での病原性の指標となることが示唆されている。このことから、本結果は鳥居株の神経病原性が Jeryl Lenn 株と比較して強いことを示唆している。また、鳥居株ワクチン接種後の副反応の発症率は Jeryl Lenn 株のそれと比較して高いことが知られていることから、コモンマーモセットを用いた背髄内接種法は、ムンプスウイルスワクチン株の神経病原性評価に有用であることが期待された。［網康至、須崎百合子；加藤文博、加藤大志、木所稔（ウイルス第三部）］

2. A 型肝炎ウイルス（HAV）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の腸管からの侵入制御にインターフェロン（IFN）応答が関与するかを明らかにすることを目的として、I 型・III 型 IFN 受容体二重欠損マウスを用いた経口感染モデルの作出を試みている。本マウス系統の凍結胚を輸入して個体復元を行ったが、繁殖能力のある雌雄ペアが得られなかった。そこで、別ロットの凍結胚を用いて2度目の個体復元を行い、繁殖能力のある雌雄ペアを得てコロニーを確立した。今後は本マウス系統を用いて、HAV の経口接種による感染成立の有無や腸管での HAV 複製を調べる。［結城（平井）明香、田原口元子、花木賢一；塩田智之、吉崎佐矢香、鈴木亮介（ウイルス第二部）］

IV. 動物由来感染症に関する研究

1. 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ている。*B. divergens* 主要膜抗原 Bd37 の解析では、多様性に富む遺伝子であるがアミノ酸配列の保存／非保存領域により 3 種類（JP-A, B, C）に分類出来ること、JP-A は全ての原虫が保有し、診断抗原として有用であることを明らかにした。［新倉綾、花木賢一；森川茂、今岡浩一（獣医科学部）、萩原克郎、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) Zamoto-Niikura A, Tsuji M, Qiang W, Morikawa S, Hanaki KI, Holman PJ, Ishihara C. The *Babesia divergens* Asia Lineage Is Maintained through Enzootic Cycles between *Ixodes persulcatus* and Sika Deer in Hokkaido, Japan. Appl Environ. Microbiol. 84(7). pii: e02491-17, 2018
2) 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. 9:465–470, 2018
3) Fujii K, Sudaka Y, Takashino A, Kobayashi K, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Mizuta K, Matsuzaki Y, Koike S. VP1 Amino Acid Residue 145 of Enterovirus 71 Is a Key Residue for Its Receptor Attachment and Resistance to Neutralizing Antibody during Cynomolgus Monkey Infection. J Virol. 92: e00682-18, 2018
4) Li TC, Bai H, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Takahashi K, Mishiro S, Takeda N, Wakita T. Genotype 5 Hepatitis E Virus Produced by a Reverse Genetics System Has the Potential for Zoonotic Infection. Hepatol Commun. 3: 160–172, 2018
5) Hirai-Yuki A, Whitmire JK, Joyce M, Tyrrell DL, Lemon SM. Murine models of hepatitis A virus infection. Cold Spring Harb Perspect Med. 9:a031674, 2019

2. 邦文発表

なし

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Aya Zamoto-Niikura, Koichi Imaoka, Shigeru Morikawa, Katsuro Hagiwara, Chiaki Ishihara and Ken-Ichi Hanaki. Genetic polymorphism and amino acid sequence variation of *Babesia divergens* Bd37 in *Ixodes persulcatus* and *Cervus nippon* in Japan. Human Babesiosis Meeting-I, 2019, New Haven.
2) Aya Zamoto-Niikura, Koichi Imaoka, Shigeru Morikawa, Katsuro Hagiwara, Chiaki Ishihara and Ken-Ichi Hanaki. Molecular analysis of Bd37 of *Babesia divergens* in Japan. 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2019, Madrid.

2. 国内学会

1) Daisuke Yamane, Asuka Hirai-Yuki, Michinori Kohara, Stanley M Lemon. MAVS-independent activity of interferon regulatory factor 1 restricts replication of hepatotropic RNA viruses. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月、京都.

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30年度には20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：岡本貴世子室長）

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、新規ウイルスゲノム検出法の開発および実用化に関する研究を行っている。

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 30 年度厚生労働科学研究「マスギャザリング時や新興・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に関する研究」(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データの利用の促進、マスギャザリング時や新興・再興感染症発生への備えについて検討を行った。

平成 30 年度には、当研究班での検討結果に基づき、感染症部会での議論を経て、疑似症サーベイランスの改変が実施され、原因不明重症感染症の把握を感染症法のもとで行うことが可能となった。これは、マスギャザリング時や新興感染症発生への備えとなることが期待される。また、東京オリンピック・パラリンピック競技大会において求められる感染症サーベイランス体制の検討を行い、これは、平成 30 年度の感染症部会における検討資料となった。

2019 年 G20 大阪サミットに向けてのリスク評価を実施し、強化サーベイランス体制の構築に関して当該自治体に対して技術的協力を行った。

[松井珠乃、砂川富正、齊藤剛仁、高橋琢理、土橋酉紀、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 30 年度厚生労働科学研究「マスギャザリング時や新興・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に関する研究」(研究代表者 松井珠乃)の協力研究として、定点報告疾患の、警報・注意報の設定、罹患数の推計、インフルエンザの型別罹患数の推計、補助変量を用いた罹患数推計等について検討した。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 NESID のシステム上で稼働している。

[松井珠乃、砂川富正、高橋琢理、土橋酉紀、有馬雄三;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(藤田保健衛生大学)]

3. 「今冬のインフルエンザ」のまとめ

2017－18 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、土橋酉紀、加納和彦、多屋馨子、佐藤弘、松井珠乃、大日康史、菅原民枝、山岸拓也、大石和徳;小田切孝人、渡邉真治(インフルエンザウイルス研究センター)、宮川昭二、磯貝達裕、木村優一(厚生労働省)]

4. 中央感染症情報センターの視点からの感染症サーベイランスの評価と改善に関する調査に基づくシステム更改の提案

感染症サーベイランスシステム(NESID: National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases)の改善につなげることを目的に、全国の地方衛生研究所や保健所からの、NESID に関する改善要望等に関する情報収集や過去のアンケート調査の結果を総合する作業を行い厚生労働省等との協議を継続した。平成 28 年 4 月の改正感染症法施行に基づく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。それらの暫定結果については平成 30 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。平成 30 年 12 月 13 日に厚生労働省第 1 回中央感染症発生動向調査委員会が開催され、感染症発生動向調査の課題等が討議された。感染症疫学センターは本委員会庶務を担当した。

[砂川富正、高橋琢理、齊藤剛仁、土橋酉紀、加納和彦、有馬雄三、赤塚昌江、高原理、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、土橋酉紀、島田智恵、高橋琢理］

6. サーベイランスのシステム評価

平成 30 年度厚生労働科学研究「マスギャザリング時や新興・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に関する研究」（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更新した（Guidance for Surveillance Evaluation）。このガイダンスに基づき、FETP20 期が、第二室の担当者の助言も得ながら、オウム病、VRE、風疹、侵襲性インフルエンザ菌感染症について、感染症発生動向調査のシステム評価を実施した。

［Matthew Griffith（協力研究員）、渡邊愛可（協力研究員）、砂川富正、高橋琢理、土橋酉紀、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 30 年度厚生労働科学研究「マスギャザリング時や新興・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に関する研究」（研究代表者　松井珠乃）の枠組みの中で、GIS を用いて新潟市において学校等欠席者・感染症情報システムから得られた各学校のインフルエンザによる欠席者とインフルエンザ定点から得られたインフルエンザ患者数の比較を行った。データの可視化に関する技術的検討を行った。

「平成 30 年度学校等欠席者・感染症情報システム研修会」を公益財団法人日本学校保健会と共催し、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、所外分担研究者］

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、平成 30 年度厚生労働科学研究「マスギャザリング時や新興・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に関する研究」（研究代表者　松井珠乃）において、今年度も行い、報告数と感染症週報（IDWR）との比較検討を継続して行っている。

［砂川富正、松井珠乃、有馬雄三；西藤なるを（西藤こどもクリニック）］

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、黄熱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。

平成 30 年度厚生労働科学研究「マスギャザリング時や新興・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に関する研究」（研究代表者　松井珠乃）において、在外医務官・領事向けに、急性の感染症事例に対応するためのリスク評価と在留邦人・邦人渡航者への対応表を作成した。

［FETP 一同、島田智恵、八幡裕一郎、神谷元、松井珠乃、有馬雄三、砂川富正、大石和徳］

10. 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を評価し、サーベイランスに報告される基準などを統一し、より質の高いサーベイランスの実施を行うために「感染症法に基づく医師届出ガイドライン（初版）－百日咳－」を提示した。また、届け出られたデータに基づき情報を整理し国内の百日咳に関する問題点を整理するとともに、最も重症化のリスクがある 6 か月未満の症例に対しては全例問い合わせを実施し正確なリスクの把握を行った。なおこれらのまとめは第 8 回厚生科学審議会(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)にて報告している。
［砂川富正、多屋馨子、高橋琢理、有馬雄三、神谷元、大石和徳；上月愛留、竹田飛鳥（FETP）；蒲地一成、大塚菜緒（細菌第二部）］

11. 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を目的として、沖縄県宮古島市において医療機関、保健所、並びに沖縄衛研と共同で島全体の情報収集を実施した。現在引き続き情報取集を継続中である。
［砂川富正、松井佑亮、土橋酉紀、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。
［有馬雄三、新城雄士、高橋琢理、土橋酉紀、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

「蚊媒介感染症の診療ガイドライン」を最新の知見を反映させ第 5 版を作成した。ジカウイルス感染症が疑われる妊婦に関しては、同ガイドラインの「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が、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ところであるが、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。
［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 30 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疫学調査での国と自治体の連携を強化する方策として、実地疫学専門家養成コース（FETP）の評価を実施した。また、FETP 生の研修終了後の業務実態調査を行い、自治体からの FETP 派遣促進のための新たなコース設定と研修修了後のキャリアパス支援策を提示した。さらに、派遣促進のための資料として、研修内容や派遣依頼を案内したリーフレットを作成し、公開した。
［松井珠乃、神谷元］

4. 2018 平昌オリンピック・パラリンピックにおけるイベントベースサーベイランスとリスク評価

2018 年 2-3 月開催の平昌オリンピック・パラリンピックに関し、日本人選手や渡航者、日本国民の健康に影響を与えうる国

内外の事例をスクリーニングし、リスク評価を行った。このプロセスを紹介する記事を WPSAR で報告した。

［小林祐介、錦信吾、松井佑亮（FETP）、福住宗久、山岸拓也、松井珠乃、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、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 30 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、高原理、有馬雄三；大西真（細菌第一部）］

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、2018 年 4 月号：麻疹、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：無菌性髄膜炎、7 月号：肺炎球菌感染症、8 月号：水痘・帯状疱疹、9 月号：HIV/AIDS、10 月号：マラリア、11 月号：インフルエンザ、12 月号：RS ウイルス感染症、2019 年 1 月号：百日咳、2 月号：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症、3 月号：エキノコックス症である。

［土橋酉紀、赤塚昌江、高原理、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、岡本貴世子、大石和徳；伊豫田淳（細菌第一部）、柴山恵吾、加藤はる（細菌第二部）、西條政幸、安藤秀二、林昌宏（ウイルス第一部）、清水博之（ウイルス第二部）、竹田誠、森嘉生（ウイルス第三部）、小田切孝人、渡邉真治、影山努、（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（寄生動物部）、今岡浩一、森川茂（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（エイズ研究センター）、阿戸学（感染制御部）、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）、大澤英司（企画調整主幹）、脇田隆字（所長）、大西真（副所長）、吉倉廣（前所長）、山下和予（元感染症情報センター）、内村和広、御手洗聡（結核研究所）、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 30 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　三鴨廣繁）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（定点把握）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、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、当所ホームページ、学会等で広く情報発信を行い、厚生労働省や関連学会と連携し、情報提供・啓発を行った。また、「梅毒感染リスクと報告数の増加の原因分析と効果的な介入手法に関する研究」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」の症例対照研究を 2017 年に実施し、梅毒罹患のリスクに関する具体的な情報が得られたため、米国 ID week で発表した。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。

［藤倉裕之（FETP）、高橋琢理、加納和彦、有馬雄三、山岸拓也、砂川富正、大石和徳（当センター）、大西真、錦信吾（細菌第一部）、金井瑞恵（大阪市保健所）］

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。これらの感染クラスタデータを、個々のウイルス遺伝子配列とともにデータベース化し、このデータベースを、任意の配列を入力することで検索、問い合わせ配列の所属する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 に薬剤耐性ネットワークを通じで採取された国内新規感染者由来のウイルス遺伝子配列を入力したところ、大きなクラスタの大半で 2013 年以降に新規感染者が減少していることがわかった。一方で、2012 年までは単独例であった症例から、新たにクラスタが作られていること、そのうちのいくつかは 10 名以上の感染者が発見されるなど、急速に成長していることがわかった。これらの事実は、我が国の HIV 感染が、感染者の早期治療で主要なリスク集団においては抑制されつつあると同時に、従来の対策では検出しにくい隠れた集団での伝播が抑制できていないことを示している。

［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 30 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、日本大学での全国調査とあわせて集計・解析を行い、論文化を行った。

［多屋馨子、大石和徳（当センター）、奥野英雄（大阪大学）、亀井聡、森田昭彦（日本大学医学部神経内科）、森島恒雄（愛知医科大学）］

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 30 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が、3 年後の予後調査を実施した。また、2018 年 5 月から始まった急性弛緩性麻痺（AFP）サーベイランスについて集計解析をするとともに、WHO への報告を行った。2018 年発症 AFP について全国調査を実施し、詳細な二次調査を実施して解析中である。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、新橋玲子、佐藤弘、新井智、森野紗衣子、田中佳織、北本理恵、田中祐汰、佐藤廉、砂川富正、大石和徳、

藤本嗣人、花岡希;田島茂、前木孝洋(ウイルス第一部)、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(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 30 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、伴侶動物との接触が感染源として疑われる症例がいたことが分かった。

山口県環境保健センターで 2013 年 3 月から 2017 年 12 月までに SFTS 疑いで検査され陽性であった症例と陰性であった症例との比較を行い、陽性例でダニ咬傷(含既往)や全身倦怠感を呈することが多く、末梢白血球数が少ないということが分かり、IASR で発表した。また、韓国から論文報告された空気感染疑いの SFTS 症例に対し、空気感染の証拠が乏しいということをレターで発表した。

[川上千晶、土井育子(FETP)、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳;西條政幸(ウイルス第一部)、小林祐介(埼玉県南部保健所)]

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、竹田飛鳥、川上千晶、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 30 年度には、Pandemic Infuluenza Severity Assesment (PISA)の議論を元に、感染症発生動向調査データにおける罹患数推計の推計方法変更に伴う影響について検討した。

[高橋琢理、松井珠乃、砂川富正、大石和徳(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 30 年度厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「開発優先度の高いワクチンの有効性・疾病負荷及び安全性・副反応の評価に資する医療ビッグデータ等を用いたデータベース構築に関する探索的研究」(研究代表者 中島一敏)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ている。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。

[砂川富正、神谷元、高橋琢理、小林祐介、高原理、土橋酉紀、Matt Griffith;喜屋武尚子、久場由真仁(沖縄県衛生環境研究所)、谷口清州、中村晴奈(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 大西真 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 30 年度は、現地において実行可能な症例定義に基づき、症例情報と菌株を継続的に収集しデータを蓄積した。

[藤倉裕之(FETP)、福住宗久、大石和徳;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、公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、平成 30 年には、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、遺伝的背景を探る菌株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の経験をもとに、「中小病院における薬剤耐性菌アウトブレイク対応ガイダンス」を国立国際医療研究センター病院 AMR 臨床レファレンスセンターと作成し、同センターが事務局をしている感染症コンソーシアムの名のもと、公開された。

また、静岡市多剤耐性アシネトバクター属（MDRA）集積事例、北九州市 MDRA 事例、茨城県セレウス菌事例、大津市バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）集積事例、青森県 VRE 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。

［加賀優子、上月愛瑠、川上千晶、藤倉裕之、土井育子、竹田飛鳥、柿本健作、松本かおる（FETP）、福住宗久、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

（２）薬剤耐性菌の疫学状況と感染制御に関する研究

平成 30 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）」（研究代表者　柳原克紀、研究分担者　大石和徳）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～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、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ことが分かり、環境感染学会で発表した。VRE に関しては、JANIS 検査部門の血液・髄液からの分離菌で、血流感染症と髄膜炎の疾病負荷が見積もれると考えられたため、2017 年 JANIS 検査部門データを用い、臨床的・公衆衛生的に有用な疾病負荷の還元方法を検討し、菌種ごとに耐性菌検出頻度が異なるため属でまとめるのではなく種でまとめること、重複処理で耐性割合が変化（Enterococcus faecium 耐性割合 0.20%が重複処理で 0.24%、など）することが分かった。

VRE と同様の手法で 2015 年と 2017 年の MDRA 感染症で両サーベイランスの利点と課題を整理したところ、ほぼ同様の所見が得られ、特に報告数が少ない MDRA では両サーベイランスとも EBS 的な要素が強いことが分かった。

NESIDと病原体サーベイランスの結果について、週 1 回当センターと薬剤耐性研究センターとの間でリスク評価を行う会議を開始し、その状況を IASR に報告した。

薬剤耐性菌のアウトブレイク対応におけるプロセス指標とアウトカム指標について、環境感染学会でシンポジウムの中で発表した。

［川上千晶、柿本健作（FETP）、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃、大石和徳；筒井敦子、矢原耕司（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 2018」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 2018 向けにまとめた。

［松井珠乃、山岸拓也、高橋琢理、砂川富正］

（４）一般住民・医師の抗菌薬の適正使用に影響する要因に関する研究

文部科学省研究「一般住民・医師の抗菌薬の適正使用に影響する要因の検討：知識・態度・行動に着眼して」（研究代表者：土橋酉紀）において、一般住民及び医師を対象とした質問紙票調査を広島県で実施した。［土橋酉紀、砂川富正；

具芳明（国立国際医療センター）、谷原真一（久留米大学）］

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。本年度は患者情報及び分子タイピング情報を基にした可視化システムを構築した。
［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、土橋酉紀、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

ウイルス第二部と共同して手足口病患者数の予測を試みた。日本では、HFMD の比較的大規模な流行が 2011 年から 2 年ごとに発生している。本研究では、このモデルにおける統計データの「記憶」を保持でき、一種の RNN である長期短期記憶アプローチ（LSTM）を用いて、HFMD の流行の規模およびヘルパンギーナの流行の開始期間を予測した。
［吉田和央、村松正道、藤本嗣人、清水裕之］

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 30 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。水痘に関しては、水痘ワクチン定期接種導入後の国内水痘発生動向の変化を論文発表した。
［多屋馨子、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、砂川富正、高橋琢理、加納和彦、土橋酉紀、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；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（2017 年度最終評価）
- 全数把握制度における麻疹患者発生の評価、解析と定期的な還元

〈集団発生対応〉

- 集団発生に対する技術的助言の実施（沖縄県、三重県、愛知県、千葉県）

［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、森野紗衣子、高橋琢理、加納和彦、有馬雄三、土橋酉紀、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 30 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。

［砂川富正、神谷元、高橋琢理、小林祐介；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 30 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、研究分担社　多屋馨子）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、平成 30 年 11 月 24 日には、風疹予防啓発のための市民公開講座「風しんから妊婦を守るために」（演者 6 名）を、11 月 25 日にはシンポジウム「わが国の風しん排除を目指して」（演者 6 名）を AP 浜松町で開催した。

また、平成 31 年 2 月 4 日の風疹予防の日には、大手町タワープラザで厚生労働省、風疹ゼロプロジェクトとの共催で予防啓発活動を行った（風疹についてのミニレクチャー、啓発資材の作成配布、企業表彰等）。

［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）、森嘉生、竹田誠（ウイルス第三部）、三崎貴子（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、新橋玲子、島田智恵、山岸拓也、駒瀬勝啓、神谷元、八幡裕一郎、高橋琢理、砂川富正、大石和徳；可児佳代（風しんをなくそうの会 hand in hand）、河合裕直（株式会社キャタラー）、堀愛（東京ガス株式会社産業医）、西浦博（北海道大学医学部）、川名敬（日本大学医学部）、高島義裕（WHO 西太平洋事務局）、繁本憲文（厚生労働省）］

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。2018 年夏からの全国流行に伴い、第 32 週から毎週、風しん急増に関する緊急情報を作成し、HP に公表した。

［多屋馨子、佐藤弘、新井智、加納和彦、砂川富正、熊田萌、田中佳織、大石和徳］

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クイズ「これであなたも風しん博士」と、啓発活動を行った。

［熊田萌、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、駒瀬勝啓、加納和彦、椎野禎一郎、多屋馨子、大石和徳］

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た。現在、直接・間接の医療費などを算出し、風疹、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。

［砂川富正、神谷元；奥野英雄（大阪大学）、金井瑞恵（大阪市保健所）］

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（予防接種後副反応疑い報告データ分析ツール）を活用して、品質保証・管理部と共同で週帳票にまとめ、継続的に報告状況の注視、解析を行った。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、佐藤弘、新井智、田中佳織、新橋玲子、大石和徳；落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、加藤篤（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、症例収集を完了し、集計解析中である。

［多屋馨子、田中祐汰、佐藤廉、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；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（現大阪大学）、佐藤弘、大石和徳］

（４）予防接種後副反応疑い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疑い報告について、感染研で作成した副反応アプリ（予防接種後副反応疑い報告データ解析ツール）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、新井智、佐藤弘、森野紗衣子、新橋玲子、田中佳織、大石和徳；落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、加藤篤（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 30 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いただいている。解析結果などは第 9 回厚生科学審議会(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)にて報告した。

［砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、多屋馨子、大日康史、菅原民枝、大石和徳；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

H30 年度厚労科研費「開発優先度の高いワクチンの有効性・疾病負荷及び安全性・副反応の評価に資する医療ビッグデータ等を用いたデータベース構築に関する探索的研究（中島班）」において、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するとともに、日本外来小児科学会と連携し、予防接種後の副反応に関する VSD 構築に関する準備を行った。

［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］

（7）国内の小児予防接種の累積接種率調査

平成 30 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 30 年度の小児の累積予防接種率調査を実施した。

［大石和徳、多屋馨子、熊田萌；清水博之（ウイルス第二部）、崎山弘（崎山内科）、城青衣（都立駒込病院小児科、梅本哲（医療産業研究所）］

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 30 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；常琳（細菌第一部）］

11. 高齢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 30 年度 AMED「ワクチンで予防可能な疾病のサーベイランスとワクチン効果の評価に関する研究」（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。

［東桃代（徳島大学病院）、明田幸宏（大阪大学）、北上悦子、森野紗衣子、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 30 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。

［加賀優子、上月愛瑠、川上千晶、土井育子、藤倉裕之、松本かおる（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、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 30 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、乳幼児期に接種された百日咳含有ワクチン（DPT）接種の有効性（Vaccine Effectiveness）を測定し、ブースター目的のワクチン接種の必要性について検討した。集団発生事例の中で有効性の測定を行い、ワクチン効果の減衰傾向及び、就学時前の追加接種が望ましいことを示した。

［砂川富正、齊藤剛仁、神谷元、八幡裕一郎、土橋酉紀；安藤由香（岡山ろうさい病院）、大平文人（大阪府健康医療部））、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 30 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。

2018 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 98～100%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が明らかな者では 5 歳未満のすべて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 95%以上を示した。

［佐藤弘、多屋馨子；清水博之（ウイルス第二部）］

15. 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。今年度は医師に加え、看護師、事務員など予防接種実施に関わる全ての人を対象としたツールの作成を目指し、問題作成、並びにシステム構築を行った。

［神谷元、森野紗衣子、砂川富正、多屋馨子、八幡裕一郎；中村春奈、谷口清州、森本真理、堀浩樹（国立病院機構三重病院）、中野貴司（川崎医科大学小児科）］

16. 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 30 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、以前実施したムンプスの集団発生に関する徳之島での疫学調査をもとに、要した医療費の計算、並びにその後の重症な合併症の有無について追加調査を行った。

［砂川富正、神谷元；松井佑亮（FETP）、亀之園明（徳之島保健所）］

17.　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した（平成 30 年 5 月 14 日）。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；常彬、前川純子、小川道永、大西真（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）］

18.　国内抗 PspA 抗体血清疫学調査

平成 30 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 Pneumococcal surface protein A（PspA）に対する抗体の抗体保有状況調査を行った。平成 30 年度は年齢群別の抗 PspA 抗体保有状況を検討するべく、血清銀行から分与を受けた全年齢層にわたる血清 1,000 検体について、5 つの clade の PspA に対する血清中抗 PspA 抗体濃度の測定を行った。

［森野紗衣子、北上悦子、地曳さやか、新井智、大石和徳；朴貞玉（阪大微生物病研究会）］

19.　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 30 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「ワクチンで予防可能な疾病のサーベイランスとワクチン効果の評価に関する研究」（研究代表者　大石和徳、研究分担者　新井智）により、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、感染症流行予測調査事業の結果と同様で感染リスクの上昇は確認されなかった。

［新井智、菊池風花、神谷元、松井佑亮、新橋玲子；野口雄司(対馬病院)、西畑伸二、村木伸幸(対馬保健所)、井田清惠、川本実奈(対馬市)、立花一憲(上対馬病院)、多屋馨子、大石和徳］

20.　百日咳の就学前児童に対する三種混合ワクチン追加接種に関する研究

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、百日咳全数サーベイランスより学童の患者が非常に多いことから、就学前児童に対する三種混合ワクチン（DPT）の追加接種の効果、安全性に関する研究を開始した。今年度は 4 回 DPT を接種した小学校入学 1 年前の 5～6 歳時を対象として DPT を接種し、その前後での抗体価の変化、並びに接種後 1 カ月間の健康観察を実施した。

［神谷元、砂川富正、多屋馨子；大塚菜緒、蒲地一成（細菌第二部）、全国 15 の協力医療機関］

21.　侵襲性髄膜炎菌感染症に関する研究

2018 年度感染症実用化研究事業新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「マスギャザリングにおける髄膜炎菌感染症の検査体制強化に資する開発研究」（研究代表者　齋藤良一（東京医科歯科大学）、研究分担者　福住宗久）において、いくつかの自治体及び Public Health England で情報を収集し、過去の髄膜炎菌アウトブレイク対応に関する論文、他国のガイドライン等を参考に「侵襲性髄膜炎菌感染症発生時対応ガイドライン〔第一版〕」（案）を作成した。また、患者調査票、接触者調査票についても雛形案を作成した。

［福住宗久、神谷元；加賀優子、土井育子（FETP）、齊藤剛仁、砂川富正；高橋英之、大西真（細菌第一部）］

22.　ロタウイルス感染症に関する研究

ロタウイルス（RV）ワクチンの効果を評価する目的で、RV 胃腸炎による入院および外来患者のサーベイランス調査を国内 3 地域（千葉県、三重県、岡山県）において実施継続して

いる。エビデンスとして疾病負荷（入院、外来例）、ワクチン普及にともなうRV遺伝子流行型のモニタリング、その他ロタウイルスワクチン定期接種化に必要なエビデンスの構築を目標に研究を継続中である。

［神谷元；中野貴司、田中孝明（川崎医科大学）、中村晴奈、谷口清州（国立三重病院）、伊東宏明（亀田総合病院）、谷口孝喜、河本聡志（藤田衛生大学医学部）］

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；森川茂（獣医科学部）、Nguyen Truong Son 、Vuong Tan Tu （ベトナム、Institute of Ecology and Biological Resources）、Saw Bawm、Kyaw San Lin(ミャンマー国立獣医大学)、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）の続きとして、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；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 30 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；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

平成 30 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について呼吸器由来検体からEVD68 ゲノムを検出し、英文誌等で論文報告し、論文執筆の一部および検査・病原体解析部分担当した。

［藤本嗣人，花岡希，小長谷昌美，大石和徳、多屋馨子；清水博之（ウイルス第二部）、森嶌（東京大学大学院）、八代将登（岡山大学）、畑山和貴、井上勝（岡山赤十字病院）］

5. アデノウイルスレファレンスのための研究

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、鳥取大学等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；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. 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。

［村上光一、大石和徳；木村博一、（群馬パース大学）、石井晴之、倉井大輔、皿谷健、滝澤始（杏林大学）］

7. 地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究

平成 29 年度厚生労働科学研究「病原微生物検査体制の維持・強化に必要な地方衛生研究所における人材育成及び地域における精度管理に関する協力体制構築に向けた研究（研究代表者　皆川洋子）の一環として、平成 28 年度厚生労働省外部精度管理事業（EQA）を受けた地方衛生研究所から1施設をパイロットケースとして選び、実地調査および講義を行った（詳細は研究班報告書を参照）。

［岡本貴世子、大石和徳；渡邉真治、影山努（インフルエンザウイルス研究センター）皆川洋子（愛知県衛生研究所）］

8.　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、論文を作成した。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未；水田克巳（山形県衛生研究所）］

9.　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2年に1度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、流行株の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；荻美貴、近平雅嗣（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

2018 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］

2018 年度評議員、ワクチン委員会委員として活動を行った。

［砂川富正、神谷元、藤本嗣人、多屋馨子］

2018 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

2018 年度の学会活動を行った。

［多屋馨子（監事）、神谷元（理事）、砂川富正（理事）、大石和徳（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

2018 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、神谷元］

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］

公衆衛生モニタリング・レポート委員会メンバーとして健康危機管理モニタリング活動を実施し、顕在的・潜在的健康課題に関する情報の収集分析の成果を年次報告書として作成した。

［重松美加］

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 日本獣医学会

評議員として学会活動を行った。

［新井智］

10. 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］

11. 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］

12. 日本環境感染学会

リスクコミュニケーション委員会委員として、活動を行った。

［砂川富正、多屋馨子］

ワクチン委員会副委員長として、医療関係者のワクチン接種ガイドライン第 3 版の改訂作業を行った。

［多屋馨子］

ISO/TC304 国内審議委員会の委員として活動を行った。

［山岸拓也］

13. ISO TC212 国内検討委員会

ISO TC212 国内検討委員会委員、ワーキンググループ代表及び、ワーキンググループ国代表として、臨床検査施設等の検査診断及び研究施設におけるバイオリスク管理に関する国際規格の草案の作成、遂行、討議に参加し、ISO 35001 の完成に寄与した。

［重松美加］

14. 日本下痢症研究会

幹事として、会の運営に参画した。

［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、土橋酉紀、駒瀬勝啓、中里篤、大竹由里子、新井伸一、加藤信子、高原理、佐藤弘、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、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 2017 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、土橋酉紀、駒瀬勝啓、有馬雄三、大竹由里子、新井伸一、高原理、佐藤弘、赤塚昌江、徳永真里子、FETP 一同、八幡裕一郎、多屋馨子、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。

[土橋酉紀、赤塚昌江、徳永真里子、齊藤剛仁、駒瀬勝啓、加納和彦、高橋琢理、高原理、有馬雄三、砂川富正、大石和徳;吉倉廣(元所長)]

4. 感染症発生動向調査週報・月報速報データの作成・公開

感染症発生動向調査により集計された報告数を、感染症週報での公開(通常金曜日)より早く公開するため、2008 年第 47 週から、速報データとしての公開を(通常火曜日)実施している。また、インフルエンザについては、新型インフルエンザ発生を受け、2009 年第 42 週からはより早い公開(週報の一週間前の金曜日)を実施している。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、土橋酉紀、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、土橋酉紀、大竹由里子、赤塚昌江、新井伸一、高原理、FETP一同、松井珠乃、福住宗久、山岸拓也、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、多屋馨子、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(2019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、土橋酉紀、加納和彦、齊藤剛仁、加藤信子、佐藤弘、新井智、神谷元、多屋馨子、松井珠乃、大石和徳;竹田誠、森嘉生(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;蒲地一成、大塚菜緒(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、土橋酉紀、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。

[土橋酉紀、齊藤剛仁、赤塚昌江、高原理、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

感染症流行予測調査システムは、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、長年の懸案事項であった感染源調査もシステム化した。これにより感染症流行予測調査事業のデータは2018年度からすべてセントラルデータベースで一元管理されることとなった。

[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。

[土橋酉紀、赤塚昌江、徳永真里子、新井伸一、齊藤剛仁、高原理、砂川富正、大石和徳]

2. 海外感染症情報の収集と評価

WER（WHO）、MMWR（米国 CDC）、Eurosurveillance Weekly（EU）、Health Protection Report（英国）、その他種々のウエブページ上での感染症情報を収集・評価した。
［FETP 一同、齊藤剛仁、高橋琢理、加納和彦、土橋酉紀、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、花岡希、松井珠乃、砂川富正、多屋馨子、藤本嗣人、大石和徳；金井瑞恵（大阪市保健所）、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、土橋酉紀、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、森野紗衣子、新橋玲子、田中佑太、佐藤廉、大石和徳］

2. 感染症流行予測調査結果の発信

2018 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 2018 年 12 月、ブタの日本脳炎抗体保有状況については 2018 年 7 月から 12 月まで計 7 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、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、2018 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 2018 年度感受性調査データ及び感染源調査データの登録をサポート、また、トラブルに対する調査、対応を行った。

登録が確定した 2017 年度の感受性調査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。
［多屋馨子、佐藤弘、北本理恵、新井智、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 30 年度では 20 件の協議・評価を行い 2 件の報告を行った。
［松井珠乃、松本喜美子、大石和徳；宮崎義継（真菌部・ハンセン病研究センター）］

2. 新興感染症のリスクアセスメント

平成 30 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。2018 年度（2017 年採血血清）の受け入れ血清は 19 県、4,415 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、血清分与を行った（2018 年度申請 1 件、血清分与 630 本）。

［新井智、田中佳織、北本理恵、多屋馨子、佐藤弘、田中佑太、大石和徳］

2. 職員血清の保管業務

2018 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］

3. 事務局業務

2018 年度の血清利用申請に対し、審査の準備、連絡、委員会の開催など、運営に係わる業務を事務局として行った。

［多屋馨子、新井智、北本理恵、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、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 EIOS 情報プラットフォームの改良について協力した。またプロジェクトプラットフォームを用いた情報分析の日本の年間担当分を実施した。

［重松美加、松井珠乃］

（2）JICA、国際緊急援助隊（JDR）感染症対策チームへの貢献

2018 年赤道州エボラウイルス病の対応に調査チーム・本体として 2 名が参加し、疫学・サーベイランス支援（検疫所でのサーベイランス強化、国内検疫官指導者教育、検疫関連データマネージメント強化支援）に貢献した。また、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、研修担当として支援を行っている。

2018 年の DRC エボラ派遣活動に関し、筑波大学主催の国際学会 TGSW で発表を行った。

［山岸拓也、神谷元、島田智恵、松井珠乃、大石和徳］

2. WPRO への協力

2018 年 11 月に The First Workshop for WPR Field Epidemiology Fellowship Programme Alumni を WPRO と共催し、WHO 西太平洋地域事務局域内国における急性事例のリスク評価の体制構築に貢献した。また 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。2018 年 11 月 15～16 日に WPRO 主催による FETP Alumni

会議を開催した。

［山岸拓也、松井珠乃、大石和徳］

3. 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

2018 年 9 月に第 9 回 FETN 運営委員会を、「plus 3」国として初めて、主催国・議長国（カンボジアが共同議長）として開催した。同委員会、およびで FETN 事務局が開催する、加盟国間でのビデオカンファレンスにおいて。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、研修方法について意見交換した。

［松井珠乃、島田智恵、大石和徳］

4. 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、熊田萌、森野紗衣子、島田智恵、福住宗久、神谷元、山岸拓也、FETP 一同］

5. 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］

6. 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 と一緒に生物統計を受講した。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。今年度はタイ、モンゴル、ミャンマー、台湾から合計 8 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。

［大澤英司（企画調整主幹）、熊谷優子（国際協力室）、大石和徳、松井珠乃、神谷元、島田智恵、八幡裕一郎、福住宗久、山岸拓也、青柳順子］

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 20 年目となり、平成 31 年 3 月に 19 期生 3 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 30 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。

- 麻疹アウトブレイク事例（那覇市）

- 麻疹アウトブレイク事例（沖縄県）
- 多剤耐性アシネトバクター属菌院内集積事例（静岡市）
- 多剤耐性アシネトバクター属菌院内集積事例（北九州市）
- 医療機関内セレウス菌感染症アウトブレイク事例（茨城県）
- 細菌性赤痢アウトブレイク事例（葛飾区）
- 麻疹アウトブレイク事例（三重県）
- バンコマイシン耐性腸球菌院内感染事例（大津市）
- 麻疹アウトブレイク事例（大阪府）
- バンコマイシン耐性腸球菌院内感染事例（青森県八戸市）

［前述研修指導者］

5. 研修活動（講義・セミナー受講）

サーベイランス評価セミナー（Matthew Griffith; 5 月）に加え、生物統計セミナー（Jose Binongo; 7 月）、アウトブレイク調査・食中毒・チームビルディング・リスクコミニュケーションに関するセミナー（John Kobayashi; 10 月）、分子疫学セミナー（Lee Riley;12 月）、サイエンティフィックライティングセミナー（James Fielding; 2 月）を開催した。

6. 教育研修（講義実施）

・FETP および FETP 担当職員は、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、岐阜県、熊本県、川崎市、新潟市、名古屋市、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。

・厚生労働省東京検疫所が開催した東京港保健衛生管理運営協議会感染症担当者会議で MERS のリスク評価について講義を行った。

・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。

・福島市、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。

・福島市で麻疹、蚊媒介感染症に関する講義を行った。

・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。

・当所獣医科学部主催の獣医学部学生向け短期セミナーで感染症危機管理についての講義を行った。

・第 77 回日本公衆衛生学会総会感染症事例リスク評価研修会で、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌事例のリスク評価のトレーニングを行った。

・国際医療研究センターと共催で、第 6 回医療疫学講習会を実施し、講義とケーススタディを行った。

・日本病院会が開催する平成 30 年度感染症対策担当者のためのセミナーにおいて院内感染のアウトブレイクの実地疫学調査について講義を行った。

7. 感染症疫学研究

平成 30 年度に研修終了した 19 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。

・加賀優子 「風しんに関する特定感染症予防指針」改正前後における風疹症例の検査実施の動向

・上月愛瑠 感染症発生動向調査の届出におけるオウム病の疫学変化と性差、2007–2016 年

・川上千晶 感染性発生動向調査および病原体検出情報システムから見た国内のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症 2017 年 4 月–2018 年 3 月

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）・急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く）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、新橋玲子、多屋馨子、高橋琢理、有馬雄三、土橋酉紀、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。

[多屋馨子、神谷元、砂川富正、福住宗久、森野紗衣子、島田智恵、大石和徳]

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 30 年 10 月 17 日、18 日に開催した。2018 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 4 演題、最近のトピックス 4 演題、院内感染、AMR4 演題、新しいサーベイランス 3 演題、輸入感染症に関する話題 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(主担当は第三室)、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 30 年 11 月 5 日から 22 日まで 14 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修ウイルス研修(国立保健医療科学院・当所共同実施)を行った。本研修は、全国地方衛生研究所において、ウイルス検査業務に従事する専門職員を対象とし、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、国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部、全国衛生研究所(東京都、埼玉県、千葉県、神奈川県、山口県、川崎市、栃木県)、大阪健康安全基盤研究所、群馬パース大学等の協力を得て遂行された。

[岡本貴世子、村上光一、大石和徳、多屋馨子、砂川富正、加納和彦、小林純子、門澤和恵]

(2)国立保健医療科学院による短期研修新興再興技術研修の実施

平成 30 年 10 月 15 日から 19 日まで 5 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、短期研修新興再興技術研修(国立保健医療科学院・当所共同実施)を行った。本研修は、全国地方衛生研究所において、細菌検査業務に従事する専門職員を対象とし、レジオネラ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 19 名であった(20 名のところ 1 名辞退)。なお、本研修は、細菌第一部、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(富山県、大分県、北海道)、群馬パース大学等の協力を得て遂行された。

[村上光一、岡本貴世子、大石和徳、土井朋美、山田珠美]

(3)国立保健医療科学院による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による健康危機管理(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。

[島田知恵、山岸拓也、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. 台湾 CDC 研究員の研修

台湾 CDC の研究員を 1 週間受け入れ、エンテロウイルス分離など基本的な研修を行なうとともに、情報交換した。

[藤本嗣人、花岡希ほか第四室メンバー]

16. 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 31 年 2 月 19～20 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(主担当は第四室)、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;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。

[当センター第二室、第三室]

(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。

[当センター第二室、第三室]

(7)東京女子医科大学東医療センターとの共同研究と協力研究員の受け入れ

東京女子医科大学東医療センターの医師1名を受け入れ、共同研究を実施した。

[藤本嗣人、高橋健一郎、花岡希ほか第四室メンバー]

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、薬剤耐性菌、性感染症等、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、神谷元、八幡雄一郎、山岸拓也、福住宗久、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、土橋酉紀、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、土橋酉紀、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］委員［多屋馨子］
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、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	第一室
谷口 清州	客員研究員	第一室
中島 一敏	客員研究員	第一室
多田 有希	客員研究員	第二室
安井 良則	客員研究員	第二室
山下 和予	客員研究員	第二室
西尾 治	客員研究員	第四室
木村 博一	客員研究員	第六室
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	第一室
新城 雄士	協力研究員	第一室
安藤 美恵	協力研究員	第一室
五十嵐 正巳	協力研究員	第一室
石金 正裕	協力研究員	第一室
伊東 宏明	協力研究員	第一室
牛澤 洋人	協力研究員	第一室
大平 文人	協力研究員	第一室
加賀 優子	協力研究員	第一室
加藤 博史	協力研究員	第一室
金山 敦宏	協力研究員	第一室
金井 瑞恵	協力研究員	第一室
河端 邦夫	協力研究員	第一室
具 芳明	協力研究員	第一室
栗田 順子	協力研究員	第一室
小林 彩香	協力研究員	第一室
小林 美和子	協力研究員	第一室
古宮 伸洋	協力研究員	第一室
杉下 由行	協力研究員	第一室
鈴木 智之	協力研究員	第一室
鈴木 葉子	協力研究員	第一室
関谷 紀貴	協力研究員	第一室
高橋 亮太	協力研究員	第一室
田﨑 陽典	協力研究員	第一室
田中 好太郎	協力研究員	第一室
田渕 文子	協力研究員	第一室
徳田 浩一	協力研究員	第一室

豊川　貴生	協力研究員	第一室
中瀬　克己	協力研究員	第一室
中村　奈緒美	協力研究員	第一室
蜂巣　友嗣	協力研究員	第一室
藤谷　好弘	協力研究員	第一室
堀　成美	協力研究員	第一室
牧野　友彦	協力研究員	第一室
三﨑　貴子	協力研究員	第一室
柳楽　真佐実	協力研究員	第一室
山口　亮	協力研究員	第一室
山田　文也	協力研究員	第一室
吉田　眞紀子	協力研究員	第一室
涌井　拓	協力研究員	第一室
渡邊　愛可	協力研究員	第一室
奥村　徹	協力研究員	第二室
奥野英雄	協力研究員	第三室
荻(榎本)　美貴	協力研究員	第四室
川村　朋子	協力研究員	第四室
小長谷　昌未	協力研究員	第四室
高橋　健一郎	協力研究員	第四室
中村　晴菜	協力研究員	第一室
藤巻　明日香	協力研究員	第四室
赤坂　天平	協力研究員	第六室
岡崎　薫	協力研究員	第六室
尾﨑　恵太	協力研究員	第六室
小田　與志郎	協力研究員	第六室
小渕　正次	協力研究員	第六室
高木　雅之	協力研究員	第六室
前田　泰一	協力研究員	第六室
宮地　由美子	協力研究員	第六室
福島　慎二	協力研究員	センター長室
辻　菜々	実習生	第二室
吉富　勇太	実習生	第二室
繁田　大輔	実習生	第五室
酒井　祐希	実習生	第五室
山信　美佐子	実習生	第五室

発表業績一覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Acevedo R, Bai X, Borrow R, Caugant DA, Carlos J, Ceyhan M, Christensen H, Climent Y, De Wals P, Dinleyici EC, Echaniz-Aviles G, Hakawi A, Kamiya H, Karachaliou A, Lucidarme J, Meiring S, Mironov K, Sáfadi MAP, Shao Z, Smith V, Steffen R, Stenmark B, Taha MK, Trotter C, Vázquez JA, Zhu B. The Global Meningococcal Initiative meeting on prevention of meningococcal disease worldwide: epidemiology, surveillance, hypervirulent strains, antibiotic resistance and high-risk populations. Expert Rev Vaccines. 2018 Dec 10

2) Kamiya H, Tacharoenmuang R, Ide T, Negoro M, Tanaka T, Asada K, Nakamura H, Sugiura K, Umemoto M, Kuroki H, Ito H, Tanaka S, Ito M, Fukuda S, Hatazawa R, Hara Y, Guntapong R, Murata T, Taniguchi K, Suga S, Nakano T, Taniguchi K, Komoto S. Characterization of an unusual DS-1-like G8P[8] rotavirus strain from Japan in 2017: Evolution of emerging DS-1-like G8P[8] strains through reassortment. Jpn J Infect Dis. 2019 Feb 28

3) GBD 2016 Healthcare Access and Quality Collaborators. Measuring performance on the Healthcare Access and Quality Index for 195 countries and territories and selected subnational locations: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet. 2018; 391: 2236–2271.

4) GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Infect Dis 2018; 18: 1191–1210.

5) GBD 2016 Diarrhoeal Disease Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoea in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Infect Dis 2018; 18: 1211–1228.

6) GBD 2017 Mortality Collaborators. Global, regional, and national under-five mortality, adult mortality, age-specific mortality, and life expectancy, 1950-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 2018; 392: 1684–1735.

7) GBD 2017 Cause of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 282 causes of death, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 2018; 392: 1736-1788.

8) GBD 2017 Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 2018; 392: 1923-1994.

9) GBD 2017 SDG Collaborator. Measuring progress from 1990 to 2017 and projecting attainment to 2030 of the health-related Sustainable Development Goals for 195 countries and territories: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 2018; 392: 2091-2138.

10) GBD 2016 Meningitis Collaborators. Global, regional, and national burden of meningitis in 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Neurol 2018; 17: 1061–1082.

11) GBD 2017 Influenza Collaborators. Mortality, morbidity, and hospitalisations due to influenza lower respiratory tract infections, 2017: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Respir Med 2019; 7: 69–89.

12) GBD 2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet Neurol 2019; 18(1): 88–106.

13) Griffith MM, Fukusumi M, Kobayashi Y, Matsui Y, Nishiki S, Shimbashi R, Morino S, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Oishi K. Epidemiology of vaccine-preventable diseases in Japan: considerations for pre-travel advice for the 2019 Rugby World Cup and 2020 Summer Olympic and Paralympic Games. Western Pac Surveill Response J. 9(2):26-33. 2018.

14) Griffith MM, Yahata Y, Irie F, Kamiya H, Watanabe A, Kobayashi Y, Matsui T, Okabe N, Taniguchi K, Sunagawa T, Oishi K. Evaluation of an ad hoc paper-based syndromic surveillance system in Ibaraki evacuation centres following the 2011 Great East Japan

Earthquake and Tsunami. Western Pac Surveill Response J. 2018 Dec 20;9(4):21-27

15) Griffith MM, Ochirpurev A, Yamagishi T, Nishiki S, Jantsansengee B, Matsui T, Oishi K. An approach to building Field Epidemiology Training Programme (FETP) trainees' capacities as educators. Western Pac Surveill Response J. 2018 Sep 30;9(3):1-3.

16) Moro PL, Perez-Vilar S, Lewis P, Bryant-Genevier M, Kamiya H, Cano M. Safety Surveillance of Diphtheria and Tetanus Toxoids and Acellular Pertussis (DTaP) Vaccines. Pediatrics. 2018 Jul;142(1)

17) Komoto S, Ide T, Negoro M, Tanaka T, Asada K, Umemoto M, Kuroki H, Ito H, Tanaka S, Ito M, Fukuda S, Suga S, Kamiya H, Nakano T, Taniguchi K. Characterization of unusual DS-1-like G3P[8] rotavirus strains in children with diarrhea in Japan. Journal of Medical Virology. May 2018, Volume90, Issue5 Pages 890-898

18) Jindai K, Yamagishi T, Fukusumi M, Nishiki S, Kobayashi Y, Matsui Y, Matsui T, Oishi K. Preparation for mass gathering events from the perspective of a non-host country: the experience of Japan during the 2018 PyeongChang Olympics and Paralympic Winter Games. Western Pac Surveill Response J. 2019 Feb 8;10(1):39-42

19) Kanai M, Arima Y, Shimada T, Hori N, Yamagishi T, Sunagawa T, Tada Y, Takahashi T, Ohnishi M, Matsui T, Oishi K. Sociodemographic characteristics and clinical description of congenital syphilis patients and their mothers in Japan: a qualitative study, 2016. Sex Health. 2018 Nov;15(5):460-467.

20) 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.

21) 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.

22) Nakamura Y, Sugawara T, Ohkusa Y, Taniguchi K, Miyazaki C, Momoi M, Okabe N.、Severe Abnormal Behavior Incidence after Administration of Neuraminidase、Inhibitors using the National Database of Medical Claims. J Infect Chemother. 2018;24(1):177-181.

23) Okabayashi H, Komada K, Kidokoro M, Kitamura T, Miyano S, Ito T, Phunphenghak K, Pathammvong C, Murano K, Nagai M, Mori Y, Komase K, Xeuatvongsa A, Takeda M, Hachiya M. Seroprevalence of mumps before the introduction of mumps-containing vaccine in Lao PDR: results from a nationwide cross-sectional population-based survey. BMC Research Notes 2019 2: 155

24) Watanabe A, Shimada T, Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Saitoh T, Kanou K, Matsui T, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Oishi K. Correlates of laboratory-confirmed measles in Japan, 2011-2015. Vaccine. 2019 Mar 22;37(13):1756-1762

25) Shimbashi R, Chang B, Tanabe Y, Takeda H, Watanabe H, Kubota T, Kasahara K, Oshima K, Nishi J, Maruyama T, Kuronuma K, Fujita J, Ikuse T, Kinjo Y, Suzuki M, Kerdsin A, ShimadaT, Fukusumi M, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Ohnishi M, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Epidemiological and clinical features of invasive pneumococcal disease caused by serotype 12F in adults, Japan. PLoS ONE 14(2): e0212418, 2019.

26) Kato H, Kanou K, Arima Y, Ando F, Matsuoka S, Yoshimura K, Matano T, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K. The importance of accounting for testing and positivity in surveillance by time and place: an illustration from HIV surveillance in Japan. Epidemiol Infect. 2018 Dec;146(16):2072-2078.doi:10.1017/S0950268818002558. Epub 2018 Sep 12.

27) Morino S, Tanaka-Taya K, Satoh H, Arai S, Takahashi T, Sunagawa T, Oishi K. Descriptive epidemiology of varicella based on national surveillance data before and after the introduction of routine varicella vaccination with two doses in Japan, 2000-2017. Vaccine. 2018 Sep 25;36(40):5977-5982. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.08.048. Epub 2018 Aug 27.

28) Arai S, Kikuchi F, Bawm S, Son NT, Lin KS, Tú VT, Aoki K, Tsuchiya K,Tanaka-Taya K, Morikawa S, Oishi K, Yanagihara R. Molecular Phylogeny of Mobatviruses

(*Hantaviridae*) in Myanmar and Vietnam. Viruses. 37(14):1964-1971, 2019.

29) Morita A, Ishihara M, Kamei S, Okuno H, Tanaka-Taya K, Oishi K, Morishima T. Nationwide survey of influenza-associated acute encephalopathy in Japanese adults. J Neurol Sci. 399:101-107, 2019.

30) Ohdachi, S. D., Yoshizawa, K., Takada, Y., Motokawa, M., Iwasa, M. A., Arai, S., Moribe, J., Uematsu, Y., Sakai, E., Tateishi, T., Oh, H.-S. and Kinoshita, G. Phylogeography of the Japanese white-toothed shrew (Eulipotyphla: Soricidae): a clear division of haplogroups between eastern and western Japan and their recent introduction to some regions. Mammal Study. 43(4): 245–259. 2018.

31) Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. Brain Dev. 41(5):443-451, 2019.

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. 66(12):1831-1837, 2018.

33) Satoh H, Tanaka-Taya K, Shimizu H, Goto A, Tanaka S, Nakano T, Hotta C, Okazaki T, Itamochi M, Ito M, Okamoto-Nakagawa R, Yamashita Y, Arai S, Okuno H, Morino S, Oishi K. Polio vaccination coverage and seroprevalence of poliovirus antibodies after the introduction of inactivated poliovirus vaccines for routine immunization in Japan. Vaccine. 37(14):1964-1971. 2019

34) 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. 71(2): 172-173, 2018.

35) Fujimoto T, Hanaoka N, Konagaya M, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatano H, Tsukahara-Kawamura T, Uchio E, Kaneko H. Evaluation of a silver-amplified immunochromatography kit for adenoviral conjunctivitis. J Med Virol. 2019 doi: 10.1002/jmv.25404. Epub 2019 Jan 28.

36) Hanaoka N, Ito S, Konagaya M, Nojiri N, Yasuda M, Fujimoto T, Deguchi T. Infectious human adenoviruses are shed in urine even after disappearance of urethral symptoms. PLoS One. 2019 Mar 6; 14(3): e0212434.

37) 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.

38) Migita H, Ueno T, Tsukahara-Kawamura T, Saeki Y, Hanaoka N, Fujimoto T, Uchio E. Evaluation of adenovirus amplified detection of immunochromatographic test using tears including conjunctival exudate in patients with adenoviral keratoconjunctivitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2019 Apr; 257(4):815-820.

39) Matsuura K, Terasaka Y, Uchio E, Saeki Y, Fujimoto T, Hanaoka N, Miyazaki D, Inoue Y. Human adenoviral type 54 keratoconjunctivitis accompanied by stellate keratitis and keratic precipitates: two cases. BMC Ophthalmol. 2019 Jan 7; 19(1):7.

40) 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.

41) Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K. Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. Brain Dev. 2019 May;41(5):443-451.

42) Takahashi S, Metcalf CJE, Arima Y, Fujimoto T, Shimizu H, Rogier van Doorn H, Le Van T, Chan YF, Farrar JJ, Oishi K, Grenfell BT. Epidemic dynamics, interactions and predictability of enteroviruses associated with hand, foot and mouth disease in Japan. J R Soc Interface. 2018 Sep 12; 15(146).

43) 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 Sep; 63:17-23. Tsukahara-Kawamura T, Fujimoto T, Gonzalez G, Hanaoka N, Konagaya M, Arashiro T, Saeki Y, Uchio E. Epidemic Keratoconjunctivitis Cases Resulting from Adenovirus Types 8 and 54 Detected at Fukuoka University Hospital between 2014 and 2015. Jpn J Infect Dis. 2018 Jul 24; 71(4):322-324.

44) Tatsumi C, Iizuka S, Mita T, Wada M, Hanaoka N, Fujimoto T. First Identification of Human Adenovirus 57 (HAdV-57) in Japan. Jpn J Infect Dis. 2018 Jul 24; 71(4):259-263.

45) 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.

46) Murakami K, Maeda-Mitani E, Kimura H, Hondad M, Ikeda T, Sugitani W, Konno T, Kawano K, Etoh Y, Sera N, Mizukoshi F, Saitoh T, Kawamura Y, Ishioka T, Ohnishi M, Oishi K, Fujimoto S. Non-biogroup 1 or 2 strains of the emerging zoonotic pathogen *Escherichia albertii,* their proposed assignment to biogroup 3, and their commonly detected characteristics Frontiers in Microbiology 05 2019 https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01543

47) Ikuse T, Habuka R, Wakamatsu Y, Nakajima T, Saitoh N, Yoshida H, Chang B, Morita M, Ohnishi M, Oishi K, Saitoh A. Local outbreak of *Streptococcus pneumoniae* serotype 12F caused by high morbidity and mortality among children and adults. Epidemiol Infect 146:1793-6,2018

48) Hata A, Ishioka T, Oishi K, Katayama T, Ohkubo T. Altered immunogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly patients with diabetes who revealed lower responses to concomitant administration of BIKEN varicella zoster vaccine: results of post hoc analysis of a randomized double-blind trial. J Diabtes Comlications 33: 243-8, 2019

49) Takeda H, Sato C, Chang B, Nishidzuka M, Watanabe M, Yamamoto T, Suzuki H, Oishi K, Tsuchida F. Changes in the pneumococcal vaccine serotypes in adult noninvasive pneumonia after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine for children. J Global Infect Dis 11: 30-5, 2019

2. 和文発表

1) 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.

2) 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.

3) 島田智恵 事例紹介:カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の院内感染。感染制御と予防衛生、2018.2(2)

4) 福住宗久、松井珠乃、大石和徳 日本における Field Epidemiology Training Program Japan (FETPj) の活動。公衆衛生、2018. 82 巻 12 号: 912-918

5) 福住宗久、松井珠乃 2020 年東京オリンピック・パラリンピック競技大会に関する感染症のリスク評価～基本情報の整理について～。日本エイズ学会誌、2019. 21: 12-16.

6) 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確定診断の現状と注意点。日本小児腎臓病学会雑誌、31(suppl): 101-101, 2018.

7) 砂川富正 疫学とモニタリング。病理と臨床、36(臨時増刊): 23-31, 2018.

8) 砂川富正 ロタウイルスワクチンの有用性と注意点。小児内科、50(8): 1242-1245, 2018.

9) 加藤博史、神谷元、小林祐介、木下一美、高橋琢理、島田智恵、松井珠乃、大石和徳、駒瀬勝啓、多屋馨子、砂川富正 輸出国から排除国へ : 感染症発生動向調査からみた麻疹排除期における麻疹ウイルス遺伝子型の変遷。日本渡航医学会誌、12(2): 57-62, 2018.

10) 砂川富正 最近の梅毒の状況 ~成人の梅毒~。バムサジャーナル、30(1): 9-13, 2018.

11) 砂川富正 最近の梅毒の状況 ~先天梅毒~。バムサジャーナル、30(3): 95-98, 2018.

12) 砂川富正 髄膜炎菌感染症。小児科診療、81(4): 493-498, 2018.

13) 大石和徳、有馬雄三、高橋琢理、砂川富正 インフルエンザサーベイランスの現状と課題。臨牀と研究、95(11): 1181-1185, 2018.

14) 佐藤弘、多屋馨子 風しん含有ワクチンの接種制度と抗体保有状況。臨床とウイルス、46 巻 5 号 Page410-414, 2018.

15) 佐藤弘、多屋馨子 麻疹。染症、48 巻 3 号 Page112-115,108-111, 2018.

16) 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、ロタウイルスワクチン　互換性、接種不適当者、同時接種、その他の注意事項。小児保健研究、77 巻 4 号 Page397-398, 2018.

17) 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、「医療・福祉・保育・教育に関わる実習学生のための予防接種の考え方」について。小児保健研究、77 巻 6 号 Page676-678, 2018.

18) 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、成人男性を対象とした風疹の定期予防接種が決まりました 2020 年度の排除を目指して。小児保健研究、78 巻 1 号 Page75-77, 2019.

19) 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、生涯にわたる健康対策　予防接種を楽しみながら受けるために。小児保健研究、78 巻 2 号 Page175-176, 2019.

20) 多屋馨子　医療従事者に対する予防接種。臨牀と研究、96 巻 2 号 Page145-151, 2019.

21) 多屋馨子　輸入感染症としての麻疹、そして国内排除をめざす風疹。Modern Media、65 巻 2 号 Page29-37, 2019.

22) 多屋馨子 【温故知新の医療技術「ワクチン」】ワクチン接種と副反応。アンチ・エイジング医学、15 巻 1 号 Page047-054, 2019.

23) 多屋馨子 【感染症とワクチン】ワクチンで予防可能な感染症。BIO Clinica、34 巻 2 号 Page122-126, 2019.

24) 多屋馨子　エンテロウイルス D68 の疫学　急性弛緩性麻痺を中心に。ウイルス、68 巻 2 号. Page161-164, 2018.

25) 多屋馨子　AFP サーベイランスとは何でしょうか。Up-to-date 子どもの感染症、6 巻 1 号 Page16-18, 2018.

26) 多屋馨子 【おとなのワクチン】年齢でみる不足している可能性があるワクチン　麻疹、風疹、水痘・帯状疱疹、おたふくかぜ。治療、00 巻 8 号 Page881-886, 2018.

27) 多屋馨子 【予防接種アップグレード】おたふくかぜワクチン。小児内科、50 巻 8 号 Page1265-1270, 2018

28) 多屋馨子 【呼吸器疾患と喫煙への対策(2)】ワクチンで予防する呼吸器疾患。健康管理、769 号 Page26-36, 2018.

29) 多屋馨子　麻疹ワクチンの接種回数は 2 回でよいか　1 歳以上で 2 回の「接種記録」が必要。日本医事新報、4914 号 Page60-61, 2018.

30) 多屋馨子 【ワクチン・予防接種:わが国における現状と課題】予防接種・ワクチンのリスクとベネフィット。Pharma Medica、36 巻 5 号 Page9-13, 2018.

31) 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の実施-2015 年。NEUROINFECTION、23 巻 1 号 Page67-74, 2018.

32) 永瀬静香、親里嘉展、多屋馨子、高橋幸利、新井智、奥野英雄、黒田誠、高崎智彦、荻美貴、近平雅嗣、押部智宏、中谷尚子、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。NEUROINFECTION、23 巻 1 号 Page127-133, 2018.

33) 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。NEUROINFECTION、23(1): 121-126, 2018.

34) 森野紗衣子、多屋馨子　事例 PICK UP　帯状疱疹の検査診断　早期診断、早期治療のために。SRL 宝函、39 巻 1 号 Page40-43, 2018.

35) 花岡希、伊藤晋、小長谷昌未、藤本嗣人　アデノウイルス尿道炎の診断におけるイムノクロマト法を用いた迅速診断キットの有用性の検討。日本性感染症学雑誌、2018, 29(1): 77-82.

36) 藤本嗣人　アデノウイルス。日本臨床ウイルス学会編　ウイルス検査法　臨床と検査室のための手引き、2018, 206～211.

37) 金子久俊、藤本嗣人　眼科領域感染症　アデノウイルス、ヘルペスウイルス。日本臨床ウイルス学会編　ウイルス検査法　臨床と検査室のための手引き、2018, 291～297.

38) 藤本嗣人　ヒトアデノウイルス。食品衛生協会　食品衛生検査指針、2018, 711～719.

39) 藤本嗣人、花岡希 【腎と透析ベッドサイド検査事典】(第 10 章)感染マーカー。感染症検査　アデノウイルス　腎と透析、2018, 84 増刊 287～289.

40) 大石和徳、有馬雄三、高橋琢理、砂川富正　インフルエンザサーベイランスの現状と課題。臨床と研究、95(11): 1181-5,2018.

41) 多屋馨子、竹田誠、駒瀬勝啓　麻しんワクチン、MR ワクチン。ワクチン　基礎から臨床まで、日本ワクチン学会編

集、朝倉書店、P124-135、2018 年 10 月

42) 砂川富正　第Ⅰ部総論：感染症法とサーベイランス。ワクチン 基礎から臨床まで、日本ワクチン学会編集、朝倉書店、P31-36、2018 年 10 月

43) 駒瀬勝啓　麻疹 ウイルス検査法 臨床と検査室のための手引き。日本臨床ウイルス学会編集、(株)春恒社、P84-90、2018 年 9 月発行

44) 駒瀬勝啓　麻疹 グローバル時代のウイルス感染症　西條政幸編。日本医事新報社、P209-214、2019 年 1 月発行

45) 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 麻疹ウイルスの遺伝子解析による 2016 年における麻疹排除状態の解析。病原微生物検出情報、39(4), 60-61, 2018.

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

1) Shigematsu M, Ando S, Fujimoto S. The story told by the volatile reporting of incidents from three different types of laboratory networks. 61st Annual Biological Safety Conference. October 12-17, 2018. Charleston, USA.

2) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis Outbreak in Women Who Have Sex with Men in Japan: a Case-control Study in Tokyo, 2017-2018. ID Week 2018. 2018. San Francisco, United States.

3) Yamagishi T, Matsui M, Sekizuka T, Ito H, Fukusumi M, Uehira T, Tsubokura M, Miyamoto A, Nakamori S, Tawa A, Yoshida H, Kuroda M, Suzuki S, Shibayama K, Matsui T, Oishi K. A prolonged multispecies outbreak of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae due to transmissible plasmid with carbapenemase gene. ID Week 2018. 2018. San Francisco, United States.

4) Yuichiro Yahata. Inviting talk: Enterohemorrhagic Eschericha coli outbreaks in Japan: Lessons learnt and challenges with multi-prefectural outbreaks. 10th VTEC (International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections). May 6-9, 2018. Flowlence, Italy.

5) Arai S, Son NT, Tu VT, Kadjo B, Lim BK, Masangkay JS, Bawm S, Tanaka-Taya K, Morikawa S, Yanagihara R. Evolutionary insights from newfound bat-borne hantaviruses. The Vietnam Annual National Scientific Conference on Infectious Diseases, HIV/AIDS & 8th ASEAN Congress of Tropical Medicine and Parasitology (8th ACTMP), Vietnam from 26-29 July 2018.

6) Shimbashi R, Chang B, Fukusumi M, Shimada T, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Clinical characteristics, antimicrobial susceptibility and serotype distribution of invasive pneumococcal diseases among adults in Japan: a nationwide surveillance. 11TH International Symposium on Pneumococci&Pneumococcal Diseases. 2018.4. Melbourne, Australia

7) Oishi K, Shimbashi R, Chang B, Kinjo Y, Fukusumi M, Shimada T, Tanabe Y, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Oshima K, Maruyama T, Watanabe H, Kuronuma K, Kasahara K, Takeda H, Nishi J, Fujita J, Kubota T, Sunagawa T, Shimada T, Matsui T, Ikuse T, Suzuki M, and the Adult IPD Study Group. Re-emergence of invasive pneumococcal disease caused by 12F serotype in adults, Japan: the characteristic features of disease. 11TH International Symposium on Pneumococci&Pneumococcal Diseases. 2018.4. Melbourne, Australia

8) Oishi K. Epidemiological situation of bacterial diseases in Japan: One Health Perspective. United States-Japan Cooperative Medical Sciences Program's 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases. Hanoi, Vietnam. Feb 25-March 1, 2019.

9) Oishi K. What we learned from five years enhanced surveillance of invasive pneumococcal disease. 21st Acute Respiratory Infection （ARI） Panel Meeting-Bacterial Diseases. 28-1 March 2019. Hanoi, Vietnam.

2. 国内学会

1) 福住宗久　東京オリンピック・パラリンピック競技大会に向けての感染症のリスク評価～国立感染症研究所感染症疫学センター/FETPの取り組み～。衛生微生物技術協議会第 39 回研究会、2018 年 7 月、滋賀県

2) 山岸拓也　梅毒の現状と今後の課題2018。第31回日本性感染症学会、2018年11月、東京都

3) 山岸拓也、有馬雄三、高橋琢理、加納和彦、上月愛瑠、藤倉裕之、松井珠乃、砂川富正、大石和徳　若年者で増加してきている性器クラミジア感染症。第31回日本性

感染症学会、2018年11月、東京都

4) 山岸拓也 感染対策のプロセス、アウトカム指標 疫学的視点から。第34回日本環境感染学会総会・学術総会 シンポジウム「感染対策のプロセス、アウトカム指標」、2019年2月、兵庫県神戸市

5) 竹田誠、關文緒、中津祐一郎、駒瀬勝啓 麻疹ウイルスワクチン株特異的real-time PCR法の検討。第22回日本ワクチン学会学術集会. 2018年12月、神戸市

6) 砂川富正 感染症発生動向調査における性感染症の概要と届出改善へ向けた取り組み(HIVを中心に)。日本性感染症学会と日本エイズ学会の合同シンポジウム、第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月、大阪市

7) 土橋酉紀、頼藤貴志、烏帽子田彰、高橋琢理、八幡裕一郎、神谷元、砂川富正 職業・産業の視点からみたレジオネラ症の標準化罹患比。第 91 回日本産業衛生学会、2018 年 5 月、熊本県熊本市

8) 新井智、菊池風花、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 日本脳炎の集積が確認された対馬市における血清疫学調査。第22回日本ワクチン学会学術集会、2018年12月8-9日、神戸市

9) 菊池風花、新井 智、大舘智志、土屋公幸、多屋馨子、本川雅治、城ヶ原 貴通、Nguyen Truong Son、Saw Bawm, Kyaw San Lin, Chandika D. Gamage、Hasmahzaiti Omar、Thida Lay Thwe、森川 茂、Richard Yanagihara、大石和徳 ミャンマー及びパキスタンで捕獲されたジャコウネズミから検出されたトッタンパラヤンウイルスの遺伝的多様性。第161回日本獣医学会学術総会、2018年9月11-13日、茨城県つくば市

10) 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

11) 佐藤弘、多屋馨子、清水博之、後藤明子、青木洋子、中野剛志、堀田千恵美、長谷川道弥、板持雅恵、伊藤 雅、岡本玲子、豊嶋千俊、大石和徳 不活化ワクチン導入から現在までのポリオの予防接種状況・抗体保有状況の推移について(感染症流行予測調査より)。第22回日本ワクチン学会、2018年12月、兵庫県神戸市

12) 新橋玲子、鈴木基、松井珠乃、砂川富正、多屋馨子、大石和徳 成人の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。第22回日本ワクチン学会、2018年12月、兵庫県神戸市

13) 多屋馨子 感染症だより～麻疹～。第 645 回日本小児科学会東京都地方会講話会、2018 年 5 月、東京都新宿区

14) 多屋馨子 教育講演2 「学内の感染症対策」 学校感染症対策。第 56 回全国大学保健管理協会関東甲信越地方部会研究集会、平成 30 年 8 月、東京都港区

15) 多屋馨子 感染症だより～首都圏で風疹急増中～。第648回日本小児科学会東京都地方会講話会、2018年9月、東京都新宿区

16) 多屋馨子 『麻疹対策:感染伝播の基本とワクチン効果』麻疹のアウトブレイクと対応、今急増中の風疹。平成 30 年度 ICD 特別講習会、2018 年 9 月、東京都港区

17) 多屋馨子 シンポジウム 2 急性弛緩性麻痺の新たな動向.急性弛緩性麻痺(AFP)サーベイランス。第 23 回日本神経感染症学会 総会・学術大会、東京都江戸川区

18) 多屋馨子 小児期に接種するワクチンの定期接種化による新たな問題点。第 291 回ICD講習会、2018 年 11 月、福岡県福岡市

19) 多屋馨子 新たに全数報告対象となった疾患(百日咳・急性弛緩性麻痺)のサーベイランスと予防ワクチン。第 50 回日本小児感染症学会総会・学術集会・第 9 回アジア小児感染症学会学術集会、2018 年 11 月、福岡県福岡市

20) 多屋馨子 風疹とEV68についての緊急提言。第50回日本小児感染症学会総会・学術集会・第9回アジア小児感染症学会学術集会、2018年11月、福岡県福岡市

21) 多屋馨子 予防接種で予防可能な疾患に関する最近の話題。第 18 回北摂感染制御研究会、2018 年 11 月、大阪府箕面市

22) 多屋馨子 テーマ:「感染対策と育児支援」保育所における感染症対策～2018 年改訂ガイドラインより～。東京都小児保健協会第 91 回学術講演会、2018 年 11 月、東京都文京区

23) 多屋馨子 シンポジウム4 脳炎・脳症・脊髄炎の動向「手引き」に基づくエンテロウイルスD68の関与が疑われる急性弛緩性脊髄炎の診断・検査・治療について。第36回日本神経治療学会学術集会・日本神経感染症学会合同シンポジウム、2018年11月、東京都江東区

24) 多屋馨子 感染症だより～麻疹、風疹、インフルエンザ、りんご病～。第651回日本小児科学会東京都地方会講話会、2019年1月、東京都新宿区

25) 多屋馨子 シンポジウム 4 “スペインかぜ”から 101 年:インフルエンザの歴史・疫学・病態ウイルス学的特徴と予防接種。第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、

2019 年 2 月、東京都江東区

26) 多屋馨子　麻しん・風しん対策の現状および今後の課題。第 175 回日本小児科学会埼玉地方会、2019 年 2 月、埼玉県さいたま市

27) 多屋馨子　医療関係者のためのワクチンガイドライン改訂版作成コンセンサスミーティング麻疹、風疹、ムンプス、水痘・帯状疱疹。第34回日本環境感染学会総会・学術集会、2019年2月、兵庫県神戸市

28) 多屋馨子　2020 年度の風疹排除達成に向けて～今すべきこと、今できること～。第 18 回東京ワクチンミーティング、2019 年 3 月、東京都千代田区

29) 多屋馨子　風疹流行について。第 15 回日本小児医療政策研究会、2019 年 3 月、東京都港区

30) 森野紗衣子、多屋馨子、佐藤弘、新井智、高橋琢理、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。第 22 回日本ワクチン学会、2018 年 12 月、兵庫県神戸市

31) 森蘭子、新橋玲子、奥野英雄、多屋馨子、渡邊愛可、神谷元、島田智恵、松井珠乃、平松征洋、大石和徳　2016 年に東京都文京区で発生した百日咳の地域流行について。第121回日本小児科学会学術集会、2018年4月、福岡県福岡市

32) 藤本嗣人、高橋健一郎、花岡希、田村まり子、鈴木葉子、杉原茂孝、渡邉日出海　Simultaneous diagnosis of group A Streptococcus and Adenovirus of pharyngitis patients were useful for judicious antibiotic use. 第66回日本ウイルス学会学術集会、2018年10月、京都市

33) Thongprachuma A, Nomura A, Takanashi S, Fujimoto T, Okitsu S, Hayakawa S, Ushijima H. Further study of detection of enteric viruses in raw sewage in Japan. 第66回日本ウイルス学会学術集会、2018年10月、京都市

34) 藤本嗣人　アデノウイルスの型と疾患・流行。第 59 回日本臨床ウイルス学会、2018 年 6 月、大宮市

35) Yoshida K, Fujimoto T, Muramatsu M, Shimizu H. 深層学習を用いた手足口病症例報告数の予測。2018 年 10 月、京都市

36) 川村朋子、花岡希、藤本嗣人、小長谷昌未、内尾英一　新型アデノウイルス(53,54,56型)に対する米国イムノクロマトキットの評価。角膜カンファレンス2019、2019年2月、京都市

37) 大石和徳　ランチョンセミナー：肺炎球菌感染症をめぐる最近の動向と話題。第 92 回日本感染症学会、2018 年 5 月、岡山市

38) 加納和彦、加藤博史、有馬雄三、安藤美恵、松岡沙織、吉村和久、俣野哲朗、松井珠乃、砂川富正、大石和徳　検査数とPositivityを考慮した感染症サーベイランスデータの解釈：日本の HIV 感染症の動向評価。第 29 回日本疫学会学術総会、2019 年 1 月、東京都

39) Arima Y, Matsui T, Takahashi T, Yamagishi T, Sunagawa T, Oishi K, Ohnishi M. Increase in syphilis notifications in Japan: true increase in incidence or surveillance artifact. 第 29 回日本疫学会学術総会、2019 年 1 月、東京都

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1,300―1,500件（2018年：1,317件）で、感染者数増大が続いている。特にエイズ発症で感染が判明する件数が多く（2018年：377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発癌や骨粗鬆症・心血管障害等の種々の加齢関連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収集・発信」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、有望な結果が得られてきている。

HIV感染者治療に関しては、国内の抗HIV薬治療感染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。近年、国内HIV感染者臨床ゲノムデータベースを構築し、ウイルスゲノム・宿主ゲノム情報等の解析研究を推進している。さらに、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。

施策基盤情報収集・発信に向けては、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おり、今後も精度の高い診断体制の確立・整備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および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

(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を示し、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の絞り込みを行った。本年度は、CTL エピトープとして *90-010-Ie* で Tat_{37-44}、*90-010-Id* において $Vif_{191-201}$ の同定に至った。当該 CTL 群におけるリン酸化 AMPK 低発現 CTL 集団のマーカー解析を行った結果、転写因子 Eomesodermin の発現が当該集団において高い可能性を見出している。次年度以降はこの関連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、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、Env 可変領域 1、2、4、5 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 に対する中和能は累加的に低下する可能性を見出している。本年度は、上記 4 領域の点変異 SIV が中和エスケープ変異であることを見出すと共に、SIV_{mac239} 中和は複数の標的領域（V1+V2+V4+V5 領域）に対する組合せで達されることを示した。また上記と対応し Env 領域における宿主選択圧の解析を行った結果、NAb 誘導群において Env 領域の選択圧が亢進していることを見出した。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、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。

本年度は、急性期および持続感染期の自己 Env キメラ感染性クローンを構築し、自己 Env に対する血漿中中和抗体活性解析を進めた。結果、持続感染期も含めて、全ての感染個体で自己ウイルスに対する中和活性が確認され、局所ウイルス増殖に対応するため中和抗体が持続的に誘導されている可能性が見出された。本実験系は、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；明里宏文（京都大学）、吉村和久]

(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

慢性感染を経て AIDS 発症に至る HIV 感染症において、感染初期の宿主応答の詳細を明らかにすることは、治療法・ワクチン開発において重要である。エイズウイルス感染初期の宿主応答は、感染予後・病態に重大な影響を与えることから、感染初期の免疫応答を、各種免疫細胞の性質・機能から明らかにすることを目的とする。これまでの糖鎖変異生ワクチンΔ5G と野生株 SIVmac239 の初期感染の解析に基づき、血中ウイルス量のピークから 3-5 日前の感染 7 日に採取した4群（SIV 発症型感染、SIV 感染制御、Δ5G 生ワクチン感染、非感染）の末梢血単核球を用い sorting により CD4+T、CD8+T、B 細胞, 単球、DC+NK 細胞を分離し、RNA-seq により網羅的な遺伝子発現解析を行った。細胞ごとの群間比較では、DC、CD4+T 細胞において有意な遺伝子発現レベルの違いが多くの遺伝子で見られた。発現変動遺伝子をカテゴライズしたところ、遺伝子発現調節と免疫応答関連の遺伝子が多く検出された。CD4+T、CD8+T、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。RNA-Seq による解析は、マイクロアレイによる全末梢血単核球解析から得られた発現変動遺伝子について各免疫細胞の寄与を明らかにした。今年度は群間の遺伝子発現の違いが個体差ではないことを確認するために、追加解析を行った。

[藤野真之、森一泰；金城その子、池尾一穂（国立遺伝学研究所）]

(5) SIV/HIV 感染制御における IL-15 応答エフェクター細胞の重要性

高い多様性を示す病原体（HIV・インフルエンザウイルス等）に有効なワクチン開発は公衆衛生における最重要課題であるが、防御免疫の詳細は不明のままである。我々は、糖鎖変異 SIV ワクチンがワクチン株とはサブタイプ（亜種）が異なる SIVsmE543-3（HIV-1 の亜種間の違いに相当）に有効な防御免疫を誘導すること報告した。しかし感染制御はワクチン群の 2/3 で確認されたが、1/3 ではチャレンジウイルスとワクチンの組み換えウイルスが出現、AIDS を発症した。当該ワクチンは同種ウイルス感染に対してはすべてのワクチン接種個体で感染は制御されたことから、異亜種ウイルス感染の 2/3 の感染制御群では、ワクチンと接種ウイルスの違いから、獲得免疫では抑制できないウイルス感染を抑制する免疫が誘導されたと推測される。そこで感染制御群と非感染制御群の免疫を比較することにより異亜種ウイルスに有効な防御免疫の同定を試みた。まず、CD8 抗体投与により感染制御個体から CD8+細胞を一時的に減少させると感染制御が一時的に失われることから、CD8+細胞が感染防御に働くことを明らかにした。次に感染制御群と非感染制御群の免疫比較解析から、SIV 特異的 CD8+T 細胞レベルには違いは見られなかったが、IL-15 応答性の CD8+T 細胞と NK 細胞レベルに有意の違いが検出された。次に IL-15 応答性のエフェクター機能は単球等に依存することが明らかになった。これらの結果から、単球等による自然免疫が異なる亜種ウイルス感染制御に重要な役割をすることが推測された。

[森一泰、藤野真之]

2. 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 感染拡大抑制効果が期待される。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（第 1 相）により安全性と免疫原性が確認されており、現在 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。これまでの研究で有効な CTL の標的抗原として有望であると考えられる Gag・Vif を抗原とし、HIV 感染の優先的な標的となり得るウイルス特異的 CD4 陽性 T 細胞を誘導しないワクチン抗原を開発した。具体的には、Gag・Vif 抗原を断片化し連結した抗原を設計し、アカゲザルを用いて DNA プライム・SeV ベクターブースト法によるワクチン接種実験を行った。ワクチン接種後の T 細胞応答を解析した結果、効果的な Gag・Vif 特異的 CTL 応答が観察された一方で、Gag・Vif 特異的 CD4 陽性細胞の誘導は限定的であった。ワクチン接種サルに対してサル免疫不全ウイルス（SIV）を経静脈接種した結果、ワクチン接種による SeV ベクター特異的 CD4 陽性 T 細胞応答の高い個体において効果的な SIV 複製制御が観察された。これはベクター特異的免疫応答が効果的なワクチン免疫の誘導に寄与することを示唆しており、ワクチンによる免疫応答誘導機序の解明に向けた重要な知見であると考えられる。また先行研究において、ワクチン接種・SIV 複製非制御サルにおいては急性期ウイルス量の増加が認められた一方で、新規ワクチン接種サルにおいてはそのような急性期ウイルス量の増加は認められなかった。このウイルス特異的 CTL を選択的誘導するワクチン抗原設計は、ウイルス感染標的を増やすことなくウイルス複製制御に効果的な免疫応答を誘導することを可能とし、効果的な HIV ワクチン開発に向けた新規性の高い抗原設計戦略である。

[石井洋、中村碧、関紗由里、山本浩之、武田明子；徳炭剛、弘中孝史、原裕人、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 ワクチン開発における重要戦略である。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。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）および EnvF を効率よく取り込む非感染性 SeV 粒子（NVP-EnvF）を開発した。この新規改変 EnvF 抗原の機能構造解析を推進し、EnvF 抗原を発現させた細胞を用いて解析した結果、EnvF は抗 HIV モノクローナル中和抗体によって認識されることを明らかにした。中でも、Env 三量体を特異的に認識する中和抗体によって EnvF 抗原が認識されたことから、EnvF 抗原は Env と同様の三量体構造を有していることが示唆された。また、EnvF 抗原が低効率ながらも Env と同様に CD4 および CCR5 を介した膜融合能を保持することを明らかにし、EnvF 抗原が免疫抗原として三量体 Env 抗原と高い類似性をもつことが示唆された。

[石井洋、中村碧、野村柚仁；徳炭剛、弘中孝史、原裕人、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複製制御状態が劣ると考えられる群と、変異蓄積が認められず複製制御状態が優れると考えられる群があることを見出した。一方で複製制御状態に差異が生ずる機構については未だ不明瞭でありさらなる解析が必要であることから、Gag241-249 特異的 CD8 陽性 T 細胞に着目し検討を行った。野生型または変異型エピトープ -Mamu-A1*065:01 tetramer を用い、PBMC 中の Gag241-249 特異的 CD8 陽性 T 細胞の野生型および変異型エピトープに対する交差反応性を解析したところ、複製制御状態が優れる群では変異型エピトープに交差性のある Gag241-249 特異的 CD8 陽性 T 細胞が早期に誘導される傾向があったが、複製制御状態が劣る群ではみられない傾向にあった。SIV 複製制御に関わる宿主免疫動態の一端を明らかとする重要な知見である。

[野村拓志、山本浩之、石井洋、Ntim Afia Asante、椎野禎一郎；明里宏文（京都大学）、成瀬妙子、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・腎障害等の加齢関連疾患発症や発癌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。特に HLA 領域については NGS による高精度な HLA タイピングに加え、領域内一塩基多型についても情報を収集し、病態との関連について解析を進めた。

[立川愛、吉村和久、椎野禎一郎、西澤雅子、菊地正、石井洋、中村碧；四柳宏、古賀道子、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、岡慎一（国立国際医療研究センター）、細道一善（金沢大学）、大橋順（東京大学）、俣野哲朗]

2. 新規治療法開発に関する研究

(1) HIV エンベロープの治療標的構造研究を基盤とする新規治療薬に関する研究

我々は、これまでに標的細胞受容体 CD4 の類似低分子化合物（CD4mc：新規 Env 標的薬）が、HIV エンベロープ蛋白（Env） gp120 の立体構造変化を誘起し、エピトープを露出させることで抗 HIV-1 抗体の中和活性を増強させることを見出している。そこで、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。

本年度は、大規模スクリーニングにより、CD4mc、In Silico Guided Hits、第二世代 Triterpenes から有用候補化合物を見出すことができた。さらに、得られた第二世代 Triterpenes のキャラクタリゼーションを進め、広域かつ高い抗 HIV 活性、広域な中和抗体活性増強作用、および標的部位、などの各データも得られた。加えて、 第二世代 Triterpenes は血中動態が良く忍容性も高いことが判明した。本成果は、ART 下で、広域中和抗体の交差性を増強させて潜伏感染を制御する新規治療法開発への基礎知見として有用となりうる。

[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 サブタイプ 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、これまでの KP-5 ウイルスパネルに加えて、サブタイプ C および CRF08_BC の各臨床分離株を用いて in vitro 耐性誘導を開始し、各種解析を進めた。本ウイルスパネル系は、MVC および中和抗体の組み合わせによる新規治療法への基礎知見として有用となりうる。

[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 Pluripotent 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。昨年度までに、HIV 感染者 CTL クローンより樹立した iPS 細胞由来 HIV 特異的再分化 T 細胞(T-iPSC-CTL)の機能評価を行い、高品質な T-iPSC-CTL の作製が達成された。HIV 特異的 CTL は、その標的とするエピトープ、個々の T 細胞受容体(TCR)により抗 HIV 効果が異なるため、T 細胞受容体(TCR)に着目し、本治療戦略に有用な CTL の探索を進めている。

一方で、安全性評価・効果検証のため、SIV 感染サルエイズモデルを用いた研究も進めている。アカゲザル由来 iPS 細胞より再分化 T 細胞を作製し、昨年度までにアカゲザルへの移植実験を実施、安全性の確認を行った。効果検証実験に向けて、SIV 特異的 T 細胞の作製を進めている。

[立川愛、俣野哲朗、石井洋；三木祥治、横田恭子、寺原和孝、岩渕龍太郎（免疫部）、金子新、三浦智行（京都大学）、山下和男（KOTAI バイオテクノロジー）]

(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た。また、各ウイルス特異的 T 細胞の HLA 拘束性を決定するため、日本人に特化した HLA 単独発現株パネルを作製した。HLA-A, B, C については、9 割以上の日本人で 6 座位中 5 座位以上の HLA をカバーしており、T 細胞応答の HLA 拘束性決定について実装が完了した。感染症のみならず、癌等を対象とした本邦での免疫細胞療法の臨床応用に向けて、有用なツールを提供できる。

[立川愛；高橋聡（東京大学医科学研究所）、森尾友宏（東京医科歯科大学）、川名敬（日本大学）]

(5) HIV-1 Gag タンパク質を標的とした中分子および低分子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

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てきた。さらに、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。H30 年度は、候補化合物の存在下で産生させた HIV-1 の形態にはほとんど変化が認められないこと、CA を SIV に置換した組換えウイルスにも候補化合物が有効であることからこの化合物の主標的は HIV-1 CA ではない可能性が高いことを明らかにした。

・Gag 蛋白質部分ペプチドを用いた抗 HIV 中分子の創出

HIV-1 CA のヘリックス 9 の部分ペプチドは、誘導体等の解析から、標的アミノ酸のリン酸化に対してデコイとして作用している可能性が示唆された。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。H30 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、およびヘリックス 8 に係る誘導体も高い抗 HIV-1 活性を示すことが明らかになった。

[藤野真之；野村渉、小早川拓也、玉村啓和（東京医科歯科大学）、村上努]

(6) HIV-1 膜融合阻害剤の二量体化戦略によるウイルス感染制御に関する研究

我々はこれまで、HIV-1 gp41 の C 末端側ヘリックス領域（CHR）由来の C34 ペプチドを PEG リンカーで二量体化することによって、抗 HIV-1 活性が単量体に比べ約 100 倍向上することを報告した。そこで本研究では、C34 ペプチド二量体の構造情報解析を実施し、二量体化によって抗 HIV-1 活性が顕著に向上した機構の解明を試みた。さらに、この二量体化による活性向上化の概念を低分子膜融合阻害剤へも応用可能か否かの検証を行った。CD スペクトル解析は、C34 ペプチド誘導体（CC34REG）単量体および C 末端側および N 末端側を架橋した二量体について N 末端側ヘリックス領域(NHR)ペプチド、N36RE の存在または非存在下で測定した。さらに、種々の比率の CC34REG 二量体と N36RE の混合 CD スペクトル解析も行った。CC34REG 単量体または二量体と N36RE の混合物について熱変性試験を行った。Boger らによって報告された低分子 HIV-1 膜融合阻害剤について、種々の長さの PEG リンカーで連結した二量体を合成し、それらの抗 HIV-1 活性と細胞毒性を TZM-bl 細胞を標的細胞に用いて評価した。

CD スペクトル解析の結果から、CC34REG 二量体は N36RE と2本のペプチド鎖で相互作用していることが示唆された。また、熱変性試験において、二量体は単量体に比べて約 10℃変性温度が向上しており、二量体化によって NHR との相互作用がより強固となることが示された。二量体化した Boger らの低分子 HIV-1 膜融合阻害剤は、PEG を9個連結した場合に著しくその抗 HIV-1 活性が向上することが明らかになった。以上の結果は、gp41CHR の部分ペプチドやそれをミミックした低分子において、二量体化が高い抗 HIV-1 活性を有する膜融合阻害剤の創製に有効であることを示している。
[藤野真之；海老原健人、小早川拓也、野村渉、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。さらに、HLA 遺伝子型と病態との関連解析を行ったところ、欧米・アフリカ諸国のコホート研究で見られる特定の HLA 遺伝子型の病態との関連が、本研究では確認されなかった。各流行地域でのコホート研究の重要性が示唆された。本研究の推進においては、感染研研究者が定期的に NIHE を訪問、また NIHE 若手研究者を感染研に招聘し、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いる。
[立川愛、高橋尚史、石川晃一、松岡佐織、椎野禎一郎；Nguyen Thi Lan Anh、Tran Thi Minh Tam（NIHE）、成瀬妙子、木村彰方（東京医科歯科大学）、大橋順（東京大学）、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 600 検体以上の HIV 感染者血液を採取し、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。さらに、健常者および感染者の糞便を採取し、腸内マイクロバイオーム解析を開始している。
[石川晃一、Nicholas Nii-Trebi、Mildred Amoa-Bosompem、Parbie Prince Kofi、関紗由里、王雋安、松岡佐織、立川愛、椎野禎一郎；石坂彩、水谷壮利（東京大学）、William Ampofo（野口記念医学研究所）、成瀬妙子、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

15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 510 例（H30 年 1 月~12 月）が収集された。同時点の補

足率は 39.5%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 4.9%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 2.8%、プロテアーゼ阻害剤 1.4%、非核酸系逆転写酵素阻害剤 0.8%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 2.4%、PI 耐性変異の M46I/L は 1.2%、そして NNRTI 耐性変異の K103N は 0.6%であった。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。

pol 領域配列で同一の Transmission cluster に属する患者検体の env gp120 のシークエンス解析において、V1～V4 領域は検体採取時期が下るにつれて indel が入り、その indel が入った HIV が感染伝播する傾向が見られた。

(イ)情報分析研究:国内伝播クラスタの迅速判定プログラム SPHNCS による判定の精度を検証するため、沖縄地域から採取された 2013～2016 年の新規患者由来の 87 検体を用いて、従来の方法とSPHNCS の双方で行ったクラスタ同定結果を比較した結果、システムの特異度と感度(検出力)はそれぞれ、0.952 と 0.591 であった。先行研究で定められたリンク閾値 1.5%は、特異度と感度のバランスのもっとも良い数値であった。

(ウ)薬剤血中濃度モニタリング研究:平成 30 年 4 月から 7 月までの 4 か月に、研究班で測定した検体の測定件数は 145 件、16 施設からの利用があった。測定薬剤は DTG(33 件)が最も多く、TFV, RAL, EVG, COBI 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。

[菊地正、吉村和久、西澤雅子、椎野禎一郎;松田昌和、蜂谷敦子(名古屋医療センター)]

(2) 国内HIV伝播に関する研究

開発を進めてきた国内伝播クラスタの検索プログラム(SPHNCS)を用い、同じ伝播クラスタ(TC)に属すると推定される患者検体間で、特に採血年月日に開きがある検体についてHIV env領域の変化の推移について、TC間の比較検討を試みた。1998年~2008年に採取された患者検体約660症例中500症例がTCに属し、また患者検体採取時期が7年以上の期間に渡っているTCを18個同定した。この中から最も多くの症例を含むTC1及び各配列同士の距離が近いTC9を解析対象とし、env領域(gp120全長)の多様性と感染伝播による経年変化を解析した。その結果、TC1、TC9ともに感染伝播に寄与したと推定される配列が同定された。また各年代のgp120遺伝子にV領域に挿入・欠失変異が見られ、2つのTCで挿入・欠失の入る領域はV1、V2、V4で共通だった。しかし挿入・欠失が生じる部位と挿入変異、欠失変異のパターンはTC1とTC9では異なっており、今後TC間の比較検討を進めている。

[西澤雅子、椎野禎一郎、吉村和久、菊地正]

(3) 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 日本国内の 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 動向把握を目的とし、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。初めに 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2006-2015 年の国内の推定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及び HIV 感染から診断に至るまでの平均期間は地域により有意に異なり、診断率は地域差があることが示唆された。より精度の高い日本国内 HIV 発生動向の把握に向けて、地域別調査の重要性を示した。

[松岡佐織;貞升健志(東京都健康安全研究センター)、森治代(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)、中村麻子(福岡県保健環境研究所)、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。反応性の優劣が HIV-1 サブタイプ/CRF/グループ特異的なものかウイルス株特異的なものかを判別するため、新ロットのパネルに使用する新たなウイルスの培養を行なった。増殖が見られなかった検体については、さらにレトロウイルス濃縮用磁気ビ

ーズを用いた分離法を用いて検討を行った。28 検体で細胞変性および培養上清中に p24 抗原を確認できた。
[草川茂]

(2) HIV 確認検査についての検討

HIV 確認検査法の補助として使用を検討した核酸増幅検査法の精度管理に資する目的で、標準物質の樹立を試みた。HIV-1LAI株を60℃1時間熱処理をした後、MAGIC5細胞に吸着、10 日間培養後に感染の有無を確認し、ウイルスが不活化されていることを確認した。この不活化ウイルス液を HIV 陰性血漿に添加し標準物質とした。HIV-1 RNA 国内標準品（JIV-(B) No.JP-1、国立感染症研究所 血液・安全性研究部より譲渡）と本標準物質の段階希釈列を既承認 HIV-1 RNA 定量診断薬および in house HIV-1 RNA 定量法を用いて 3 回測定、平行線定量法を用いて、本標準物質の力価を 6.71 Log10IU/mL (3.81E+06 copies/mL)と決定した。
[草川茂]

(3) 地方衛生研究所の HIV 検査体制の整備に関する研究

2006 年以降、日本国内の年間 HIV 新規報告約 1500 件のうち、初回診断時に AIDS 関連疾患を伴わない「HIV 感染者」が約 70%、AIDS 発症により診断される「AIDS 患者」が約 30%である。このうち約 500 件が保健所等の公的 HIV 検査で診断されている。多くの地方衛生研究所が保健所における公的 HIV 検査のスクリーニング及び確定検査に関与していることから、日本国内の HIV 感染症診断における地方衛生研究所の役割は極めて大きい。本研究では地方衛生研究所における HIV 検査体制の維持及び検査技術の向上に向けて、HIV 診断法のマニュアルを作成し、このマニュアルに則して地方衛生研究所 HIV 検査担当者を対象に東京都健康安全研究センターにて技術講習会を実施した。さらに HIV 遺伝検査については技術支援を行うと共に、すでに測定系が立ち上がっている所を対象に精度管理調査を実施した。
[草川茂；貞升健志（東京都健康安全研究センター）、川畑拓也（独立行政法人大阪健康安全基盤研究所）、近藤真規子（神奈川県衛生研究所）、松岡佐織]

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。さらに、サルにて HTLV-1 感染系を構築した。また、HTLV-1 感染者の免疫反応解析のため、検体収集し、抗 HTLV-1 抗体反応および Tax 特異的 T 細胞反応解析を開始した。
[中村碧、野村拓志、石井洋、菅野芳明；網康至、須崎百合子（動物管理室）、徳炭剛、弘中孝史、原裕人、朱亜峰（ID ファーマ）、内丸薫、渡邉俊樹（東京大学）、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7年間の累積検査頭数は 189 頭。うち FV 陽性は 88 頭（47%）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 63 株のウイルス分離に成功した。更に昨年報告した複数の分子クローンのシーケンス解析の結果、ダイレクトシーケンスでは検出できなかったウイルスゲノム全領域に分散する塩基変異の存在が明らかになった。これが human immunodeficiency virus などに見られる" quasispecies"に相当するのか、あるいは分子クローニングの過程で生じたものなのかを、ウイルスの生物学的クローニング法等を用いて精査している。
[阪井弘治；網康至、須崎百合子（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。2018年度現在、HIV-1陽性検体パネルは80検体、HIV-1陰性検体パネルは 70 検体からなるパネルを提供している。本年度は 2 社からパネル譲渡の申請があり、4 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 陽性検体パネル 2 セット、陰性検体パネル 1 セットを使用した。

[草川茂、立川愛]

2. 日赤献血由来検体を用いた新たなパネル検体の整備

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、HIV陰性検体が115検体となった。これらの検体の評価のため、一般社団法人日本臨床検査薬協会技術部会を通じ診断薬メーカーとの既承認HIV診断薬19品目の性能評価を兼ねた共同研究を実施した。検出感度は全ての診断薬で100%、検出特異性は3品目で99%、それ以外の診断薬では100%であった。核酸増幅定量試薬3品目中1品目でわずかな加算誤差を示す傾向が見られたが、良好な相関性を示した。検体に問題が見られなかったことから、スクリーニング試薬測定時のCOI分布、HIV-1 RNAコピー数の分布、HIV-1サブタイプの分布を考慮して選択した、HIV-1陽性80検体からなる新ロットのHIV-1陽性検体パネルを登録した。またHIV陰性80検体からなる新ロットのHIV-1陰性検体パネルを登録するとともに、2016年ロットのHIV-1陰性検体パネルに10検体を追加し、80検体からなるパネルとして変更登録を行った。

[草川茂、立川愛;加藤孝宣(ウイルス二部)、浜口功、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)、石丸健(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 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 が含まれていた。HIV-1 で構成されるパネルは 90/636 との相対値で国際単位を定めたパネルとして、HIV-2 抗原を測定する診断薬が存在せず検体の評価が難しいことから、HIV-2 抗原国際標準品は国際単位を定めずにECBS に議題提出され、承認された。

[草川茂、立川愛、俣野哲朗]

2. 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。HIV-2 陽性検体は確認検査において HIV-1 抗原と高い交差反応示すため、抗体検査のみでは鑑別が難しいケースがあること、血液行政において HIV-2 核酸増幅検査が行われていることから、HIV-2 核酸増幅検査法精度管理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 5.46Log10IU/mL を国際単位として定め ECBS に議題提出、承認された。

[草川茂、立川愛、俣野哲朗]

国際協力関係業務

I. 平成 30 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 30 年 6 月 5 日-7 月 13 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1993年以降毎年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。昨年度からは、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が研修項目に加わった。今年度は、ガーナ、ホンジュラス、マラウイ、ミャンマー、フィリピン、スーダン、東チモールの7カ国8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2−3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。今回も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、施設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ップを国際開発機構（FASID）から講師を招いて3回に分けて実施した。

[村上努、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、菊地正、藤野真之、石井洋、野村拓志、阪井弘治、森一泰、関紗由里、中村碧、Mark de Souza、俣野哲朗；棚林清、伊木繁雄（バイオセーフティ管理室）、神谷元、椎野禎一郎、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）、石川尚子（WPRO）、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）、佐藤佳（東京大学医科学研究所）、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30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30年11月26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30年11月14日）[山本浩之]

2. 平成30年度エイズ対策研修講義　国立保健医療科学院（平成30年9月11日）[松岡佐織]

3. SATREPSプログラム・ガーナ野口医学研究所長研修支援（平成30年6月3～12日）[石川晃一]

4. 平成30年度地方衛生研究所HIV検査技術講習会　東京都健康安全研究センター　（平成30年10月11日）[草川茂、松岡佐織]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Ono T, Fujita Y, Matano T, Takahashi S, Morio T, Kawana-Tachikawa A: Characterization of in vitro expanded virus-specific T cells toward adoptive immunotherapy against virus infection. Jpn J Infect Dis 71:122-128, 2018.
2) Saso W, Tsukuda S, Ohashi H, Fukano K, Morishita R, Matsunaga S, Ohki M, Ryo A, Park S-Y, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Sureau C, Wakita T, Matano T, Watashi K: A new strategy to identify hepatitis B virus entry inhibitors by AlphaScreen technology targeting the envelope-receptor interaction. Biochem Biophys Res Commun 501:374-379, 2018.
3) Kato H, Kanou K, Arima Y, Ando F, Matsuoka S, Yoshimura K, Matano T, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K: The importance of accounting for testing and positivity in surveillance by time and place: an illustration from HIV surveillance in Japan. Epidemiol Infect 146:2072-2078, 2018.
4) Naruse TK, Akari H, Matano T, Kimura A: Diversity of ULBP5 in the Old World monkey (Cercopithecidae) and divergence of ULBP gene family in primates. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 94:441-453, 2018.
5) Kobayakawa T, Ohashi N, Hirota Y, Takahashi K, Yamada Y, Narumi T, Yoshimura K, Matsushita S, Harada S, Tamamura H: Flexibility of small molecular CD4 mimics as HIV entry inhibitors. Bioorg Med Chem 26:5664-5671, 2018.

6) Kaweewan I, Hemmi H, Komaki H, Harada S, Kodani S: Isolation and structure determination of a new lasso peptide specialicin based on genome mining. Bioorg Med Chem 26:6050-6055. 2018.

7) Higaki K, Hirao M, Kawana-Tachikawa A, Iriguchi S, Kumagai A, Ueda N, Bo W, Kamibayashi S, Watanabe A, Nakauchi H, Suzuki K, Kaneko S: Generation of HIV-Resistant Macrophages from IPSCs by Using Transcriptional Gene Silencing and Promoter-Targeted RNA. Mol Ther Nucleic Acids 12:793-804, 2018.

8) Nishiyama-Fujita Y, Kawana-Tachikawa A, Ono T, Tanaka Y, Kato T, Heslop HE, Morio T, Takahashi S: Generation of multivirus-specific T cells by a single stimulation of peripheral blood mononuclear cells with a peptide mixture using serum-free medium. Cytotherapy 20:1182-1190, 2018.

9) Siarot L, Chutiwitoonchai N, Sato H, Chang H, Sato M, Fujino M, Murakami T, Aono T, Kodama E, Kuroda K, Takei M, Aida Y: Identification of human immunodeficiency virus type-1 Gag-TSG101 interaction inhibitors by high-throughput screening. Biochem Biophys Res Commun 503(4): 2970-2976, 2018.

10) Zhou W, Wang Y, Fujino M, Shi L, Jin L, Li XK, Wang J: Significant genes reveal acute rejection in murine allograft models: a standardized fold change method for microarray differential expression analysis. FEBS Open Bio 8(3):481-490, 2018.

11) Joyce D, Fujino M, Morita M, Araki R, Fung J, Qian S, Lu L, Li XK: Induced pluripotent stem cells-derived myeloid-derived suppressor cells regulate the CD8+ T cell response: Stem Cell Res 29:32-41, 2018.

12) Zhao M, Yang M, Que W, Zhong L, Fujino M, Li XK: Myeloid heme oxygenase-1: a new therapeutic target in anti-inflammation. Front Biosci (Landmark Ed) 23:2001-2015, 2018.

13) Li S, Fujino M, Ichimaru N, Kurokawa R, Hirano S, Mou L, Takahara S, Takahara T, Li XK: Molecular hydrogen protects against ischemia-reperfusion injury in a mouse fatty liver model via regulating HO-1 and Sirt1 expression. Sci Rep 8(1):14019, 2018.

14) Liu C, Yang X, Zhu P, Fujino M, Ito H, Takahashi K, Nakajima M, Tanaka T, Wang J, Zhuang J, Zou H, Li XK: Combination of 5-aminolevulinic acid and iron prevents skin fibrosis in murine sclerodermatous graft-versus-host disease. Exp Dermatol 27(10):1104-1111, 2018.

15) Takahashi N, Matsuoka S, Minh TTT, Ba HP, Naruse TK, Kimura A, Shiino T, Kawana-Tachikawa A, Ishikawa K, Matano T, Thi LAN: Human leukocyte antigen-associated gag and nef polymorphisms in HIV-1 subtype A/E-infected individuals in Vietnam. Microbes Infect 21:113-118, 2019.

16) Tsukamoto T, Yamamoto H, Matano T: $CD8^+$ cytotoxic T lymphocyte breadth could facilitate early immune detection of immunodeficiency virus-derived epitopes with limited expression levels. mSphere 4:e00381-18, 2019.

17) Hau TTT, Nakamura-Hoshi M, Kanno Y, Nomura T, Nishizawa M, Seki S, Ishii H, Kawana-Tachikawa A, Hall WW, Nguyen LAT, Matano T, Yamamoto H: $CD8^+$ T cell-based strong selective pressure on multiple simian immunodeficiency virus targets in macaques possessing a protective MHC class I haplotype. Biochem Biophys Res Commun 512:213-217, 2019.

18) Kobayakawa T, Konno K, Ohashi N, Takahashi K, Masuda A, Yoshimura K, Harada S, Tamamura H: Soluble-type small-molecule CD4 mimics as HIV entry inhibitors. Bioorg Med Chem Lett 29:719-723, 2019.

19) Nakata H, Maeda K, Das D, Chang SB, Matsuda K, Rao KV, Harada S, Yoshimura K, Ghosh Ak, Mitsuya H: Activity and structural analysis of GRL-117C: a novel small molecule CCR5 inhibitor active against R5-tropic HIV-1s. Sci Rep 18:4828, 2019.

20) Hikichi Y, Takeda E, Fujino M, Nakayama E, Matano, T, Murakami T: HIV-1 matrix mutations that alter Gag membrane binding modulate mature core formation and post-entry events. Virology 532:97-107, 2019.

21) Abana CZ, Sagoe KWC, Bonney EY, Maina EK, Aziati ID, Agbosu E, Mawuli G, Styer LM, Ishikawa K, Brandful JAM, Ampofo WK. Drug resistance mutations and viral load in human immunodeficiency virus type 2 and dual HIV-1/HIV-2 infected patients in Ghana. Medicine (Baltimore) 98(6):e14313, 2019.

22) Sakyiamah MM, Kobayakawa T, Fujino M, Konno M, Narumi T, Tanaka T, Nomura W, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: Design, synthesis and biological evaluation of low molecular weight CXCR4 ligands. Bioorg Med Chem 27: 1130-1138, 2019.

23) Kobayakawa T, Ebihara K, Honda Y, Fujino M, Nomura W, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H: Dimeric C34 derivatives linked through disulfide bridges as new

HIV-1 fusion inhibitors. ChemBioChem 20:2101-2108, 2019.

24) Adusei-Poku MA, Matsuoka S, Bonney EY, Abana CZ, Duker EO, Nii-Trebi NI, Ofori SB, Mizutani T, Ishizaka A, Shiino T, Kawana-Tachikawa A, Ishikawa K, Ampofo WK, Matano T: Human leukocyte antigen-associated HIV-1 CRF02_AG gag and vif polymorphisms in Ghana. Jpn J Infect Dis, in press.

2. 和文発表

1) 石井洋、俣野哲朗 エイズワクチンの開発戦略と開発の現況。HIV 感染症と AIDS の治療、9(2): 58-61、2018.
2) 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、浜口功 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、64(3):502-509、2018.
3) 草川茂 HIV 検出ウエスタンブロット診断薬の評価とわが国における HIV 検査における使用法の検討。感染症学雑誌、93(1):12-17、2019.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Matano T: Efficacy of $CD8^+$ T cells targeting HIV antigens. XIII Advanced Course on HIV Pathogenesis, School of Medicine, University of Sao Paulo, Apr 11,2018, Sao Paulo, Brazil.
2) Matano T: HIV vaccines: Immunogen design for induction of anti-HIV immune responses. Plenary, 4th National HIV and AIDS Research Conference (NHARCON 2018), May 10, 2018, Accra, Ghana.
3) Hikichi Y, Harada S, Narumi T, Matano T, Yoshimura K: Resistance of HIV-1 to small-molecule fusion inhibitors requires mutations in the ectodomain of gp41. 43rd Annual Meeting on Retroviruses, Cold Spring Harbor Laboratory, May 21-26, 2018, New York, USA.
4) Murakami T, Fujino M, Yokoyama M, Kobayakawa T, Takeuchi H, Masuda T, Kotani O, Tamamura H, Sato H: Biological and molecular characterization of a novel anti-HIV-1 compound created by *in silico* design and *de novo* organic synthesis. 43rd Annual Meeting on Retroviruses, Cold Spring Harbor Laboratory, May 21-26, 2018, New York, USA.
5) Matano T: Virus, Host and Microbiome Interaction in HIV Infection. Noguchi Hideyo Memorial Museum Symposium on Infectious Disease and Immunity, Jun 9, 2018, Inawashiro, Japan.
6) Matano T: Current Research Progress toward Global HIV Control. 5th Anniversary Symposium for Asian International Institute of Infectious Disease Control (ADC), Teikyo University, Jun 22, 2018, Tokyo, Japan.
7) Li S, Takahara T, Fujino M, Li XK, Takahara S: Astaxanthin Prevents Ischemia-Reperfusion Injury of the Steatotic Liver in Mice. 27th International Congress of The Transplantation Society Jun 30 - Jul 5, 2018, Madrid, Spain.
8) Matano T: Virus-host T and B cell interaction in a macaque AIDS model. Seminar, University Duisburg-Essen, Jul 20, 2018, Essen, Germany.
9) Ishii H, Nakamura-Hoshi M, Inoue M, Hironaka H, Shu T, Matano T: A novel vaccine platform using Env-incorporated particles for induction of broader anti-HIV antibody responses. 22th International AIDS Conference (AIDS 2018), Jul 23-27, 2018, Amsterdam, Netherlands.
10) Harada S, Yokoyama M, Hikichi Y, Sato H, Matano T, Yoshimura K: Efficacy of a novel entry inhibitor in combination with neutralizing antibodies against HIV-1 infection. 22th International AIDS Conference (AIDS 2018), Jul 23-27, 2018, Amsterdam, Netherlands.
11) Sato H, Ota Y, Matsubara Y, Kikuchi T, Koga M, Koibuchi T, Tsusumi T, Matano T, Kawana-Tachikawa A, Yotsuyanagi H, Adachi E: Gut homing CD4+ T cell count is associated with chronic gastritis activity. 22th International AIDS Conference (AIDS 2018), Jul 23-27, 2018, Amsterdam, Netherlands.
12) Nomura T, Ishii H, Terahara K, Yamamoto H, Miura T, Tokusumi T, Hironaka H, Shu T, Matano T: Induction of Gag-specific $CD8^+$ T cell responses in rhesus macaque rectum mucosa by intranasal Sendai virus vector immunization. 36th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS (NHP 2018), Oct 2-5, 2018, Seattle, USA.
13) Harada S, Hikichi Y, Seki Y, Iwatani Y, Yasutomi Y, Miura T, Matano T, Akari H, Yoshimura K: Molecular characterization of the *env* gene during transmission of macaque-tropic human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1mt). 36th Annual Symposium on Nonhuman

Primate Models for AIDS (NHP 2018), Oct 2-5, 2018, Seattle, USA.

14) Seki Y, Saito A, Harada S, Washizaki A, Murata M, Hikichi Y, Yoshimura K, Ishii H, Satou Y, Saiful IM, Ode H, Iwatani Y, Yoshida T, Yasutomi Y, Matano T, Miura M, Akari H. Cooperative cellular and humoral immunity may contribute to the efficient control of HIV-1 replication in macaques. 36th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS (NHP 2018), Oct 2-5, 2018, Seattle, USA.
15) Mori K, Watanabe S, Fujino M, Okamura T, Sugimoto C: Protective immune responses elicited by a live-attenuated SIV vaccine required for containment of heterologous SIV infection. 30th International Workshop on Retroviral Pathogenesis, Oct 8-12, 2018, Awaji, Japan.
16) Ishii H, Terahara K, Nomura T, Tokusumi T, Hironaka T, Shu T, Matano T: A novel immunogen selectively eliciting CD8+ T cells but not CD4+ T cells targeting viral antigen. HIV Research for Prevention 2018 (R4P 2018), Oct 21-25, 2018, Madrid, Spain.
17) Ishii H, Nakamura-Hoshi M, Tokusumi T, Hironaka T, Shu T, Matano T: Sendai virus particles carrying an HIV Env-Sendai virus F chimeric protein for induction of anti-HIV antibodie. HIV Research for Prevention 2018 (R4P 2018), Oct 21-25, 2018, Madrid, Spain.
18) Hau TTT, Nomura T, Seki S, Kanno Y, Nakamura-Hoshi M, Ishii H, Matano T, Yamamoto H: Candidate $CD8^+$ T-cell epitopes in SIV-infected rhesus macaques sharing protective versus non-protective MHC class I haplotypes. 19th Kumamoto AIDS Seminar, Nov 6-7, 2018, Kumamoto, Japan.
19) Parbie PK, Seki S, Matano T: Effect of immunoglobulin Fc domains spiked into virions on their uptake by antigen presenting cells. 19th Kumamoto AIDS Seminar, Nov 6-7, 2018, Kumamoto, Japan.
20) Amoa-Bosompem M, Matsuoka S, Nii-Trebi N, Bonney E, Kawana-Tachikawa A, Ishikawa K, Ofori S, Ampofo W, Matano T: Analysis of human leukocyte antigen class I genotypes and viral sequences in HIV-1-infected Ghanaians. 19th Kumamoto AIDS Seminar, Nov 6-7, 2018, Kumamoto, Japan.
21) Nomura T, Ishii H, Terahara K, Yamamoto H, Matano T: Gag epitope-specific $CD8^+$ T cell responses in SIV controllers. 19th Kumamoto AIDS Seminar, Nov 6-7, 2018, Kumamoto, Japan.
22) Harada S, Narumi T, Hikichi Y, Matano T, Yoshimura K: Efficacy of a novel triterpene derivative in combination with neutralizing antibodies against HIV-1 infection. 19th Kumamoto AIDS Seminar, Nov 6-7, 2018, Kumamoto, Japan.
23) Kobayakawa T, Takahashi K, Masuda A, Harada S, Miura T, Matsushita S, Yoshimura K, Tamamura H: Structure-activity relationship studies of CD4 mimic molecules for targeting an envelope protein gp120 on HIV-1. 19th Kumamoto AIDS Seminar, Nov 6-7, 2018, Kumamoto, Japan.
24) Hau TTT, Nomura T, Seki S, Nakamura-Hoshi M, Ishii H, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Yamamoto H: MHC-I haplotype-associated $CD8^+$ T-cell responses in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. 2nd Japan-Taiwan Joint Symposium on HIV/AID, Nov 11, 2018, Taipei, Taiwan.
25) Nakamura-Hoshi M, Matano T: Anti-HTLV-1 antibody induction using noninfectious virus particle. 2nd Japan-Taiwan Joint Symposium on HIV/AIDS, Nov 11, 2018, Taipei, Taiwan.
26) Ide R, Takeuchi R, Harada S, Narumi T: Structure-Activity Relationship Study of Oleanolic Acid Derivatives for Novel HIV-1 Entry Inhibitor. 7th International conferrence on Biotechnology for the wellness industry, Nov 27-28, 2018, Kuala Lumpur, Malaysia.
27) Toyoda M, Kamori D, Carlson J, Kawana-Tachikawa A, Gatanaga H, Oka S, Ueno T: Impaired Nef's ability to counteract SERINC5 by immune-driven mutations. 26th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2019). Mar 4-7, 2019, Seattle, USA.
28) Harada S, Hikichi Y, Narumi T, Yoshimura K: Mutations in the gp41 ectodomain can contribute to HIV-1 resistance to smFIs, 26th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2019), Mar 4-7, 2019, Seattle, USA
29) Koibuchi T, Koga M, Kikuchi T, Lim L, Sato H, Adachi E, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H: A decision-tree analysis for hepatitis A immunity among HIV-infected MSM in Tokyo. 26th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2019). Mar 4-7, 2019, Seattle, USA.

2. 国内学会

1) 古賀道子、津田春香、菊地正、佐藤秀憲、安達英輔、堤

武也、鯉渕智彦、四柳宏 HIV 感染者の治療導入率及び診療継続率の時代変遷、及び 20 年間通院者の罹患疾患の検討。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、2018 年 5 月 31 日-6 月 2 日、岡山

2) 草川茂 ラブブロット 1/2 の市販後調査と HIV-1/2 鑑別診断における問題点。第 92 回日本感染症学会総会・学術講演会、2018 年 5 月 31 日-6 月 2 日、岡山
3) 原田恵嘉、横山勝、鳴海哲夫、玉村啓和、吉村和久 網羅的新規 bifunctional 抗 HIV 侵入阻害剤の探索。第 28 回 抗ウイルス療法学会総会、2018 年 6 月 7-9 日、札幌
4) 松田幸樹、小早川拓也、服部真一朗、土屋亮人、潟永博之、遠藤泰之、原田恵嘉、吉村和久、岡慎一、玉村啓和、満屋裕明、前田賢次 Benzolactam 骨格を有する 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 28 回 抗ウイルス療法学会総会、2018 年 6 月 7-9 日、札幌
5) 石井洋 抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の選択的誘導を目的とした新規抗原設計。第 21 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC 2018)、2018 年 7 月 11-13 日、東京
6) 中村碧 HTLV-1 Env 搭載非感染性ウイルス粒子を用いた抗 HTLV-1 Env 抗体誘導。第 21 回 SUMMER RETROVIRUS CONFERENCE (SRC 2018)、2018 年 7 月 11-13 日、東京
7) 俣野哲朗 Vif 抗原特異的細胞傷害性 T 細胞反応の有効性。第 20 回白馬シンポジウム、2018 年 9 月 4-6 日、屋久島
8) 原田恵嘉、引地優太、俣野哲朗、吉村和久 新規トリテルペン誘導体と抗 HIV 中和抗体の組み合わせによる抗 HIV 相乗効果能の検討。第 20 回白馬シンポジウム、2018 年 9 月 4-6 日、屋久島
9) 引地優太、原田恵嘉、俣野哲朗、吉村和久 新規トリテルペン誘導体に対する in vitro 耐性ウイルス誘導。第 20 回白馬シンポジウム、2018 年 9 月 4-6 日、屋久島
10) 小野敏明、立川(川名)愛、藤田由利子、高橋聡、森尾友宏 網羅的に刺激培養したウイルス特異的 T 細胞のエピトープマッピング。第 10 回血液疾患免疫療法研究会、2018 年 9 月 22 日、東京
11) 立川(川名)愛、小野敏明、藤田由利子、俣野哲朗、高橋聡、森尾友宏 網羅的に増幅されたウイルス特異的 T 細胞のエピトープマッピングと HLA 拘束性決定法の確立。第 27 回日本組織適合性学会大会、2018 年 9 月 22 日、松本
12) Harada S, Narumi T, Hikichi Y, Matano T, Yoshimura K: Triterpene derivative NAT-078 as a novel bifunctional HIV-1 entry inhibitor. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
13) Hikichi Y, Harada S, Narumi T, Matano T, Yoshimura K. Mutations in the gp41 ectodomain can contribute to HIV-1 resistance to small-molecule fusion inhibitors. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
14) Saso W, Tsukuda S, Ohashi H, Fukano K, Morishita R, Matsunaga S, Ohki M, Ryo A, Park SY, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Wakita T, Matano T, Watashi K: AlphaScreen technology targeting the envelope-receptor interaction identified a novel HBV entry inhibitor, rapamycin. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
15) Kanno Y, Nomura T, Hau TTT, Matano T, Yamamoto H. Characterization of neutralizing antibody responses induced in highly neutralization-resistant SIV_{mac239} infection. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
16) Hau TTT, Nomura T, Seki S, Nakamura-Hoshi M, Ishii H, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Yamamoto H: Protective and non-protective MHC-I haplotype-associated $CD8^+$ T-cell responses in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaque. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
17) Nomura T, Terahara K, Ishii H, Yamamoto H, Miura T, Matano T: Crossreactivity of vaccine-induced $CD8^+$ T cells targeting a Gag epitope. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
18) 三木祥治、河合洋平、金子新、俣野哲朗、寺原和孝、横田(恒次)恭子、立川(川名)愛 Functional analysis of HIV-1 specific CTL rejuvenated by iPS cell technology. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
19) Murakami T, Ebihara K, Fujino M, Honda Y, Kobayakawa T, Nomura W, Tamamura H: Development of new membrane fusion inhibitors against HIV-1 by dimerization strategy. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都.
20) Kimura Y, Niimi Y, Katakura H, Suzuki T, Murakami T, Kodama E, Abe H: Development of 2'-β Seleno nucleoside analogs as irreversible inhibitors for viral polymerases. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都

21) Niimi Y, Katakura H, Suzuki T, Takeda A, Murakami T, Kodama E: Development of 2'-β modified nucleosides for irreversible viral polymerases inhibitor. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、2018 年 10 月 28-30 日、京都
22) 俣野哲朗 Progress in ARC. CAIDS/ACC/ARC Joint Symposium 2018 - Retrospectives & Perspectives for the Next 10 Years toward Global HIV Control, Nov 10, 2018, 東京
23) 中村麻子、吉冨秀亮、小林孝行、芦塚由紀、梶原淳睦、松岡佐織 福岡県の HIV/AIDS 発動向および保健所 HIV 検査陽性検体の解析。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
24) 桑田岳夫、佐野雅人、松岡佐織、俣野哲朗、関洋平、明里宏文、三浦智行、松下修三:SIV 中和抗体誘導における抗体遺伝子多型の影響. 第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
25) 貞升健志、長島真美、北村有里恵、熊谷遼太、根岸あかね、松岡佐織、川畑拓也、近藤真規子、草川茂、新開敬行、今村顕史 全国の地方衛生研究所を対象とした HIV 検査精度管理の実施。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
26) 立川(川名)愛、細谷(中山)香、関真秀、堀内映実、佐藤秀憲、古賀道子、鯉渕智彦、四柳宏、吉村幸浩、立川夏夫、鈴木穣、俣野哲朗 HIV 感染におけるメモリーCD4+T 細胞のメチローム解析。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
27) 石坂彩、古賀道子、佐藤秀憲、菊地正、鯉渕智彦、立川(川名)愛、水谷壮利、四柳宏 Short transcript を指標とした残存感染細胞の性状解析。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
28) 原田恵嘉、野村渉、鳴海哲夫、横山勝、前田賢次、竹内怜音、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-3。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
29) 岡﨑玲子、蜂谷敦子、佐藤かおり、豊嶋崇徳、佐々木悟、伊藤俊広、林田庸総、岡慎一、潟永博之、古賀道子、長島真美、貞升健志、近藤真規子、椎野禎一郎、須藤弘一、加藤真吾、谷口俊文、猪狩英俊、寒川整、加藤英明、石ケ坪良明、中島秀明、吉野友祐、太田康男、茂呂寛、渡邉珠代、松田昌和、重見麗、岩谷靖雅、横幕能行、渡邊大、小島洋子、森治代、藤井輝久、高田清式、南留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎、杉浦亙、吉村和久、菊地正 国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性 HIV-1 の動向。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
30) 菊地正、佐藤秀憲、安達英輔、古賀道子、堤武也、鯉渕智彦、四柳宏 HIV/HCV 共感染の経過と治療―MSM 症例を中心に―。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
31) 津田春香、古賀道子、千光寺智恵、久保田めぐみ、菊地正、佐藤秀憲、安達英輔、堤武也、鯉渕智彦、四柳宏 当院の約 30 年間にわたる HIV 感染者の診療転帰と死亡率の時代変遷に関する検討。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
32) 林阿英、古賀道子、菊地正、佐藤秀憲、安達英輔、堤武也、鯉渕智彦、四柳宏 HIV 感染者における A 型肝炎の臨床的特徴－2 シーズンの比較－。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
33) 村上努、木村康明、新美結士、藤野真之、片倉秀雄、鈴木哲朗、児玉栄一、阿部洋 ウイルスポリメラーゼの不可逆的阻害を目指した新規 2'-&βセレノ核酸アナログの創製。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2 -4 日、大阪
34) Siarot L、Chutiwitoonchai N、佐藤洋隆、Chang H、小谷治、横山勝、佐藤裕徳、藤野真之、村上努、近藤恭光、本田香織、長田裕之、上田一樹、伊藤嘉浩、青野俊裕、児玉栄一、黒田和道、武井正美、間陽子 Characterization of novel HIV-1 inhibitors targeting Gag-TSG101 interaction. 第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
35) 村上努、海老原健人、藤野真之、本田柚子奈、小早川拓也、野村渉、玉村啓和 二量体化に基づいた新規抗 HIV-1 膜融合阻害薬の創出。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
36) 石井洋 HIV 複製抑制に効果的な T 細胞応答の選択的誘導を目的とした新規ワクチン抗原設計戦略(シンポジウム:HIV ワクチン開発の過去、現在、未来)。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
37) 俣野哲朗 HIV ワクチン、シンポジウム「治療の手引き」。第 32 回日本エイズ学会学術集会・総会、2018 年 12 月 2-4 日、大阪
38) 俣野哲朗 Global HIV control に向けたワクチン開発の進展、シンポジウム「新規ワクチン」。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、2018 年 12 月 8 日、神戸
39) 吉田繁、蜂谷敦子、松田昌和、齊藤浩一、岡田清美、椎野禎一郎、加藤真吾、佐藤かおり、藤澤真一、豊嶋崇徳、杉浦亙、吉村和久、菊地正 HIV 薬剤耐性検査の標準化に向けた取り組みの評価。第 36 回日本染色体遺伝子検査学会総会・学術集会、2018 年 12 月 15-16 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・再興感染症の病原となる易変異性RNA ウイルスの基礎・応用研究を推進している。計算科学環境の整備・強化を進め、ウイルス学、病原体サーベイランス組織、有機合成化学等の専門家と学際研究を展開することにより、病原体研究の質と速度の向上を図っている。特に変異が生体高分子の構造と機能に及ぼす影響を再現するコンピュータシミュレーション技術を重点的に強化し、様々な感染現象の構造原理の解明、創薬シーズ探索、変異病原体のリスク評価などに役立てている。平成30年度は、分子モデリングと分子動力学シミュレーションを用いて、ウイルスの感染、複製、中和、適応進化の構造生物学研究を進め、成果を関連部署・研究グループに提供した。また、創薬シーズ探索と季節性インフルエンザ流行予測の基盤開発を進めた。

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、大規模細菌ゲノム比較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、および、ゲノムデータベース作成を中心に業務を展開した。薬剤耐性細菌のワンヘルスアプローチの一環として、下水処理排水のメタゲノム解析、カルバペネム耐性細菌の分離およびゲノム解析も進めている。更に、病原体のベクターとなる昆虫のゲノム解析にも着手し、より広範囲な感染症対策に向けた業務の展開を開始した。

業　績

調査・研究

I. HPV に関する研究

1. HPV の感染増殖機構の研究

(1) 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 偽ウイルス（18PsV-TK）を作成した。この偽ウイルスを CRISPR-Cas9 による遺伝子ノックアウト HeLa 細胞ライブラリーに感染させ、ガンシクロビル存在下で生き残る細胞を回収した。今後この細胞から、HPV18 の感染成立に必要な細胞タンパク質を同定する。（石井克幸；山地俊之［細胞化学部］）

(2) HPV 持続感染機構の解明

NIKS 細胞は分化能を維持しているヒト不死化角化細胞であり、子宮頸外部細胞（Ect 細胞）や子宮頸内部細胞（End 細胞）に比べ高い HPV ゲノム保持能を有する。この原因を解明するため、各種の細胞で定量的 PCR による HPV 遺伝子の発現解析を行った。NIKS 細胞における HPV 初期遺伝子の発現は、Ect 細胞や End 細胞に比べて有意に高く、HPV 初期プロモーターの活性化と相関していた。NIKS 細胞では未分化の状態で、HPV 複製に必要な初期遺伝子の発現を担う初期プロモーターが活性化されていると考えられた。（石井克幸）

(3) HPV の遺伝子発現機構に関する研究

細胞の転写因子 TEAD は DNA に結合するが転写活性はなく、転写共役因子と複合体を形成して転写を調節する。TEAD が HPV の遺伝子発現に関わることが報告されている

が、4 つの TEAD（TEAD1/2/3/4）のうちのどれが必要か調べられておらず、共役因子も不明である。HPV16 陽性の表皮角化細胞または子宮頸癌細胞で TEAD1 をノックダウンすると、HPV の遺伝子発現が低下した。TEAD2/3/4 をノックダウンしても発現の低下は認められなかった。in vitro で、TEAD1 は HPV16 の遺伝子発現調節領域（LCR）の複数の部位に結合した。既知の TEAD 共役因子のうち、VGLL1 をノックダウンすると HPV の遺伝子発現および初期プロモーター活性が低下し、細胞の増殖が抑制された。VGLL1 は、TEAD への結合能に依存して HPV16 の LCR に結合した。VGLL1 には DNA 結合能がないことから、LCR 上の TEAD1 に VGLL1 が結合することにより転写を活性化すると考えられる。(森清一郎、柊元巌)

(4) TEAD4 の発現誘導機構に関する研究

TEAD4 は細胞の増殖・移動能を制御する細胞遺伝子群の発現制御に関わる転写因子であり、これまでに HPV 癌タンパク質 E6 が TEAD4 の発現レベルを上昇させ、細胞の変異原タンパク質 APOBEC3B の発現を誘導することを明らかにしている。HPV による TEAD4 発現誘導機構をさらに検討するために、ヒト TEAD4 遺伝子のプロモーター領域（700 bp）を、ヒト培養細胞 DNA から PCR 増幅し、リポータープラスミドにクローニングした。HeLa 細胞及び 293 細胞でのリポーターアッセイにより、TEAD4 遺伝子断片は有意なプロモーター活性を示した。このプロモーター領域を上流から削って、293 細胞でのリポーターアッセイによりプロモーター活性に必要な領域を検討した。その結果、700～500 bp の領域にプロモーター活性を上昇させる配列が存在することが分かった。(中摩佑子、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。2012-2018 年の結果を解析したところ、子宮頸癌（257 検体）では HPV16（55.6%）、HPV18（17.9%）、HPV52（7.0%）、HPV58（5.4%）、HPV31（3.9%）が検出された。子宮頸癌の組織型ごとの HPV 型分布を検討したところ、扁平上皮癌では HPV16（62.8%）、HPV18（11.1%）、HPV52（6.7%）、腺癌では HPV16（39.0%）、HPV18（33.8%）、HPV52（7.8%）が検出された。腺癌では扁平上皮癌と比べて HPV18 の割合が高いことが示された。（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部（正常、CIN、子宮頸癌）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ところ、日本人に特徴的な新たな HPV16 バリアント（A5）を見出した。A5 バリアントは正常子宮頸部での検出割合が高く、頸癌への進展に伴ってその割合が減少した。A5 バリアントは特徴的なアミノ酸置換を持つ E7 タンパク質（L28F）をコードしており、ヒト子宮頸部細胞にレトロウイルスベクターで L28F を発現させると、他のバリアント（A1, A4）の E7 と比較して pRb 分解活性が低下していた。（廣瀬佑輔、中摩佑子、天神林友梨、中村浩美、柊元巌、森清一郎；岩田卓[慶應大学]、佐藤豊実[筑波大学]、小貫麻美子、松本光司[昭和大学]）

3. HPV 感染による発癌機構の研究

(1) HPV ゲノムの患者内多様性の解析

HPV ゲノム配列の患者内多様性の生物学的意義を検討するために、健常女性および子宮頸癌患者から子宮頸部擦過細胞を収集し、HPV タイピングの後、HPV16 陽性の検体(計 53 検体)から、PCR にて全長 HPV16 ゲノムを増幅した。得られた HPV16 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、10%以上の高頻度な患者内多様性を示す変異部位が合計 11 カ所見出された。その内の 10 カ所は子宮頸癌患者の HPV16 ゲノムに検出された。それら 10 カ所の内、HPV 複製に必要な E1/E2 遺伝子に 6 カ所の変異部位が認められた。子宮頸癌では positive selection により、これらの変異が選択されている可能性が示唆された。（廣瀬佑輔、中摩佑子、天神林友梨、中村浩美、柊元巌；岩田卓[慶應大学]、小貫麻美子、松本光司[昭和大学]）

(2) 子宮頸癌罹患リスクに関連するヒト感受性遺伝子の探索

日本人及び中国人の子宮頸癌患者・対照健常者においてゲノムワイド関連解析を行い、子宮頸癌への罹患と強く関連する SNP を網羅的に探索した。その結果、ゲノムワイドに有意な2ヶ所の新規 SNP を、rs59661306 in 5q14 ($P = 2.4 \times 10^{-11}$)と rs7457728 in 7p11 ($P = 1.2 \times 10^{-8}$)に見出した。さらに Hi-C 解析により、5q14 の領域が ARRDC3 (arrestin domain-containing 3) 遺伝子のプロモーター領域と三次元的に相互作用していることを見出した。HPV 感染への ARRDC3 の関与を検討したところ、ARRDC3 ノックダウンにより HeLa 細胞に対する HPV 感染効率が著しく抑制された。HPV 感染の成立過程に ARRDC3 が働くことが明らかになり、子宮頸癌の罹患リスクに関連する新たな細胞遺伝子として示唆された。(竹内史比古[国立国際医療センター研究所]、柊

元巌、森清一郎、黒田誠)

(3) 子宮頸癌で発現量が変動するサイトカインの同定

子宮頸部粘液中のサイトカインを網羅的に定量することで、子宮頸部病変の進展に伴って量が変動するサイトカインの探索を行った。臨床検体にて 18 種類のサイトカインを同時に測定した結果、4 種類のサイトカイン（IFN-γ, GM-CSF, RANTES, eotaxin）のレベルが、病変進展に伴って有意に上昇することが示された。一方、HPV 陽性検体では、G-CSF の分泌量が有意に低かった。また幾つかのサイトカインの組み合わせが、HPV 陽性検体で有意に上昇していることが分かった。(柊元巌、中村浩美;藤井多久磨[藤田医科大学])

4. 次世代 HPV ワクチンの開発

少なくとも 8 つの型の発癌性 HPV を中和できるモノクローナル抗体（24B）を、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生体内で長期間、安定に発現させて HPV 感染を防ぐ受動免疫ワクチンの開発を試みた。昨年度までに、24B を発現する AAV ベクターをマウスに接種し、その後 1 年以上にわたって血中に 24B が分泌され、HPV16、HPV18、HPV58 の感染が阻害されることを確認した。一方、ヒト細胞株で発現させた 24B(hu24B)の in vitro の中和活性は、マウス体内で発現させた 24B(mo24B)や、ハイブリドーマ由来のモノクローナル抗体(hy24B)よりも約 10 倍高かった。今年度はその詳細を調べた。精製した hu24B または hy24B をマウスに接種し、その後、レポーターを発現する HPV16 を経膣感染させた。in vivo でも hu24B は hy24B より高い感染防御効果を示した。hy24B から糖鎖を除去すると in vitro の中和活性が約 10 倍上昇した。レクチンの結合性の違いから、hy24B は hu24B より多くの N-アセチルガラクトサミンをもつことがわかった。これらの結果から、発現する細胞によって抗体の糖鎖構造が異なり、中和活性に影響することが示唆された。（森清一郎）

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。ヒト iPS 細胞から分化誘導した腸管オルガノイドにおいて各種分化マーカーの発現を qRT-PCR (CDX2, LGR5, Villin1)及び免疫組織染色(CDX2, CDH1)により確認した。

一方でゲノム編集による FUT2 遺伝子のノロウイルス感受性アレルへの変換を試みた。FUT2 遺伝子には近傍（23kb 上流）に SEC1P 偽遺伝子が存在する。変換対象となる SNP (rs601338)を含む領域は両者で保存されており、SEC1P 遺伝子では FUT2 遺伝子の感受性アレルと同一の配列であった。そのため FUT2 遺伝子の非感受性アレルを標的とする gRNA と SEC1P 遺伝子にはミスマッチが存在する。しかし Cas9-gRNA 複合体と修復鋳型オリゴヌクレオチドを導入後の細胞クローンを調べると SEC1P と FUT2 の融合遺伝子が検出され SEC1P 遺伝子も切断されている可能性が示唆された。この場合機能的な FUT2 タンパク質の発現は望めない。FUT2 遺伝子の変換にはマーカー遺伝子の挿入と削除を伴う二段階の方法が必要だと考えられた。（竹内隆正）

III. 臨床応用されたウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報の収集

我が国での遺伝子治療臨床試験計画を審査する作業部会に適切な意見を提供するため、Human Gene Therapy、Gene Therapy、Molecular Therapy、Journal of Gene Medicine、及び Nature Medicine 等の遺伝子治療専門誌の論文、日本遺伝子治療学会での講演等からウイルスベクターの安全性・有効性に関する情報を収集・検討する作業を継続して行った。（竹内隆正、森清一郎、石井克幸、柊元巌）

IV. *in silico* 解析を用いた構造生物学研究

IV-1.カプシドタンパク質の構造生物学研究

（1）HIV-1 Gagカプシドタンパク質の不定形領域によるウイルス粒子形成制御

近年、タンパク質内で定まった構造を取らない"disorder 領域"がタンパク質の機能発現や機能調節に重要な役割を果たすことがわかってきた。HIV-1 Gag タンパク質カプシド（CA）に存在する interdomain linker（IL）は、CA の N 末端ドメインと C 末端ドメインを連結する5アミノ酸残基から成る disorder 領域である。しかし、その機能はほとんど分かっていない。本研究では、*in silico* と実験を併用して IL の構造・機能解析を実施した。その結果、IL は、(i) NTD と CTD に存在する CA-CA 分子間相互作用界面の構造を制御する機能を持つこと（物理化学的機能）、(ii)細胞内における Gag 重合化の効率を制御する機能を持つこと（生化学的機能）、(iii)ウイルスの粒子形成効率を制御する機能を持つこと（生物学的機能）を見出した。未だ謎の多い disorder 領域の機能の解明、並びに HIV カプシドの構造機能制御とウイルス粒子形成制御の理解に貢献するとともに、新たなクラスの創薬標的同定につながる知見を得た。（小谷治;駒貴明[徳島大学]、宮川敬、梁明秀[横浜市立大学]、横山勝;土肥直哉[徳島大学]、足立昭夫[関西医科大学]、野間口雅子[徳島大学]、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

清水(感染研ウイルス二部)、小池(東京都医学総合研究所)らの先行研究により、EV-A71カプシド構成因子VP1の145番目のアミノ酸置換は、EV-A71の抗体感受性、増殖能、病原性など多彩な性質を同時に変化させることが知られている。しかし、これら一連の変化の分子機序は全く謎のまま残されている。我々は、分子モデリングと分子動力学解析により、145変異がカプシド構造に与える影響を調べた。その結果、145アミノ酸置換は、置換箇所とは異なる遠隔領域に存在する中和エピトープや受容体結合部位の構造揺らぎの変化を誘導することを見出した。台湾Chan Gung Memorial Hospitalから、エピトープが判明している抗EV-A71カプシド単抗体を入手した。145変異により単抗体中和感受性が変化した株では、例外なくエピトープ部位の構造揺らぎの変化が認められた。この結果は、145アミノ酸残基は、離れた場所にあるカプシド相互作用部位の構造特性を調節するアロステリック制御部位であることを示唆する。(小谷治、中村浩美;Kuan-Ying Arthur Huang[Chan Gung Memorial Hospital]、横山勝;小林郷介[東京都医学総合研究所]、清水博之[ウイルス第二部]、小池智[東京都医学総合研究所]、佐藤裕徳)

(3)HIV-1 Gag 前駆体分子の折畳み様式に基づくウイルス複製制御

HIV-1 Gag前駆体タンパク質(Pr55^{Gag})は、ウイルス粒子形成機構に中心的役割を果たす構造タンパク質である。翻訳後、Pr55^{Gag}は特異的に細胞膜に結合し、Pr55^{Gag}を起点にしてウイルス分子の集合と未成熟粒子の形成が進む。このため、Pr55^{Gag}には、様々な相互作用部位が存在する。しかし、多彩な分子間相互作用がどのように制御されて粒子形成が順序立って進むのかは、ほとんどわかっていない。本研究では、分子動力学法を用いて溶液下のPr55^{Gag}全構造モデルを構築し、その構造特性を調べた。その結果、Pr55^{Gag}は、粒子形成初期に必要な分子内相互作用表面を露出し、後期に必要な相互作用表面は遮蔽するように折畳まれることを見出した。Gag前駆体の折畳み様式が粒子形成時の一連の相互作用に秩序と方向性を与えている可能性が示唆された。(小谷治、横山勝;小野陽[ミシガン大学]、佐藤裕徳)

(4)ノロウイルスカプシドと血液型抗原の結合様式

本研究では、ノロウイルスのカプシドを標的とする抗ウイルス薬を探索するための基盤情報として、カプシドと血液型抗原との相互作用の詳細を分子動力学計算により調べた。初めに、平衡構造を得るために初期構造からの構造変化を調べた。いずれの血液型抗原も 50 ns 以上で安定な二量体構造を形成し、ほぼ平衡構造に達していた。次に、血液型抗原の結合様式を調べた。100 ns におけるスナップショットを見ると、いずれの血液型抗原もフコースがほぼ同じ位置に結合していた。フコース以外の糖は血液型抗原によって異なる位置にあった。次に、血液型抗原とカプシドの間に形成される水素結合の頻度を調べた。いずれの血液型抗原もフコースが高い頻度でカプシドの Thr344, Arg345,Asp374 と水素結合を形成していた。最後に、血液型抗原の結合エネルギーを調べた。Lewis Y 抗原の結合エネルギーが最も大きく、B 抗原と Lewis A 抗原の結合エネルギーが小さいことが明らかになった。(横山勝、小谷治、中村浩美、佐藤裕徳)

IV-2.エンベロープタンパク質の構造生物学研究

(1)HIV-1 エンベロープの適応進化

HIV-1 のサル細胞への適応の理解は、霊長類モデル開発の基盤となる。本研究では、HIV-1 NL4-3 が HIV-1 の複製を制限する性質を持つマカクザル細胞に、どのようにして Env を適応させるかを調べた。1つまたは2つ変異を持つウイルスがマカクザル細胞系、およびヒト CD4 またはマカクザル CD4 を発現するヒト細胞系において、著しく増強された複製能を示した。さらに、3つの適応変異を有するウイルスが常に最も良く増殖した。親株と変異ウイルスの増殖キネティクスは類似していたが、変異体は親ウイルスよりも可溶性 CD4 により著しく阻害された。CD4 と Env の複合体の分子動力学計算は、3つの変異が溶液中の CD4 に対する Env の結合親和性を高めることを示唆した。したがって、変異体 Env の CD4 に対する親和性は、親株 Env と比較して増強されている可能性が高い。CD4 結合部位抗体に対する変異体の中和感受性は、親ウイルスと有意差はなかったが、変異体は CD4 誘導エピトープ抗体および Env V1/V2 抗体による中和に対して高い耐性を示した。これらの結果は、3 つの適応変異が CD4 親和性の増加を介して協調的にウイルス増殖を促進することを示唆している。(横山勝;土肥直哉、駒貴明[徳島大]、小谷治;野間口雅子[徳島大]、足立昭夫[関西医大]、佐藤裕徳)

(2)HIV-1 エンベロープの中和感受性制御

HIV-1 は、血中の抗体を逃れて持続感染を維持する。しかし、抗体感受性制御の構造原理は十分解明されていない。本研究では、HIV-1 エンベロープ三量体の分子動力学計算を行い、中和感受性株と中和抵抗性株の構造と動的性質の比較を行った。エンベロープ三量体構造を、NL4-3 と JR-FL で比較すると、V3 が三量体の中心に向かって配置され、NL4-3 と JR-FL で同一の傾向であった。しかし、NL4-3 の V3 tip は V1/V2 stem の外側に配置されていたが、JR-FL の V3

tip は V1/V2 stem の内側に配置されていた。次に、構造ゆらぎを知るために RMSF（根平均二乗ゆらぎ）を指標にして調べた。NL4-3 の RMSF は JR-FL の RMSF に比べ大きく、NL4-3 の V3 は JR-FL の V3 よりも大きくゆらいでいることが分かった。NL4-3 の V3 tip は V1/V2 stem の外側に配置され RMSF が大きい。一方、JR-FL の V3 tip は V1/V2 stem の内側に配置され RMSF が小さい。これは、NL4-3 では V3 tip が V1/V2 stem による構造ゆらぎの制限を受けていないが、JR-FL では構造ゆらぎの制限を受けていることを意味している。したがって、V3 tip の配置と構造ゆらぎは中和感受性を制御する因子であると考えられる。（横山勝、佐藤裕徳）

（3）HIV Env 阻害剤のスクリーニング

新しい作用機作を持つ抗 HIV 剤の開発は依然として重要度が高い。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 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。この研究成果を発展させて、脆弱な状況の Env を誘導する新規 Env 標的阻害剤（二機能性 Env 阻害剤）の研究開発を進めている。合成展開および評価で得られている二機能性 Env 阻害剤ライブラリー化合物の中でも、特に顕著な活性を示したトリテルペン誘導体群に対して、Env 結合機序解析を目的に分子動力学計算を実行した。分子動力学計算に用いる初期構造はホモロジーモデリング法により構築した。分子動力学計算は Amber16 の pmemd.cuda.MPI により実行した。力場はタンパク質には Amber ff14SB を、トリテルペン誘導体には GAFF2 を用いた。計算条件は、圧力を 1 bar、温度を 310K、塩濃度を 150 mM NaCl、時間を 100 ns とした。結果、これらの結合領域が gp120-gp41 境界領域であることが新たに示された。（横山勝；原田恵嘉[エイズ研究センター]、鳴海哲夫[静岡大学]、吉村和久[エイズ研究センター]、佐藤裕徳）

（4）季節性インフルエンザ流行予測の基盤開発

季節性インフルエンザの流行は、それまでに流行していた株から分岐した変異株集団により維持される。そこでまず、近年の流行株の HA タンパク質の構造特性を調べ、変異の効果を *in silico* で解析する基盤を作った。分子動力学法を用いて、A(H3N2)の糖鎖付加型 HA 三量体分子モデルを構築した。直近の季節性 H3N2 亜型流行株（Clade 3C.2a）が共有する特徴的な HA 変異セットが HA の基質親和性に与える影響を調べ、実験結果との整合性を検証した。その結果、HA タンパク質の頭頂部（受容体結合）付近の構造変化により抗体防御能が高まる一方、立体障害により特定の形状を持つ基質でなければ結合できなくなっていること示した。さらにこの予測が実際の実験データと整合性を持つことを確認した。新たに出現した HA 抗原変異株がヒト集団で流行するには、HA タンパク質が「ヒト型受容体結合能」を維持する必要がある。この要件を *in silico* 定量的に判定する基盤ができた。（横山勝；渡邉真治[インフルエンザウイルス研究センター]、佐藤裕徳）

V. バイオテロ・新興再興感染症・薬剤耐性菌・媒介有害昆虫対策

V-1. ゲノム解読・解析システムの構築

バイオテロ・新興再興感染症による非常事態に対応するため、“迅速・網羅的・正確”を兼ね備えた次世代シークエンサーによる超高速ゲノム解読システムを既に構築してきた。これまで構築してきた超高速ゲノム解読システムは、ショートリードを取得する次世代シークエンサーを使用しており、細菌の完全長ゲノム配列を取得するには時間を要する。完全長ゲノム配列を取得することは、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、昨年度に構築したロングリードを取得する次世代シークエンサー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改良し、本年度までに、合計、216 株の病原細菌の完全長ゲノム配列を取得した。一部配列は、既に公開データベース上にて公開済みである。
（関塚剛史、谷津弘仁；橋野正紀[AMED リサーチレジデント]、稲嶺由羽、黒田誠；松井真理、鈴木里和[薬剤耐性菌センター]）

V-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、次世代シークエンサー(NGS)の解読リードを用いた *de novo* assemble、解析対象サンプルの生物種推定、血清型推定、コンタミネーションの確認、MLST によるタイピング、薬剤耐性遺伝子・病原遺伝子検索、プラスミド検索、遺伝子抽出および遺伝子のアノテーションを全て自動で行うためのパイプライン Automatic Microbial Genome Annotation (AMiGA)を構築している。本年度は、各種データベース管理の自動化プログラムを改変し、同一種内で近縁なゲノム配列を保有するデータを kmer search により回収するプログラムの構築を開始した。また、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 gGENEPID の開発を行った。現在、公衆衛生上重要となる病原細菌 34 種、合計

約 56 万サンプルのゲノム解析データを格納している。
(関塚剛史、谷津弘仁、黒田誠)

V-3. 結核菌全ゲノム薬剤耐性マーカー検出と感受性予測の構築

未だ先進国内において罹患率が高く、世界的にも多剤耐性が問題になっている結核菌のためのゲノム分子疫学解析パイプライン TGS-TB (Total Genotyping Solution for *Mycobacterium tuberculosis* (TB))を構築し、運用している。薬剤耐性予測データベースの改良と特異度・感度の高い薬剤感受性予測ツールも開発し、運用している。本年度は、ピラジナミドに対する抵抗性関連遺伝子の変異箇所データベースの改良を行い、より効率よく薬剤耐性予測が可能となった。
(関塚剛史、黒田誠;村瀬良朗、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、加藤誠也[公益財団法人結核予防会結核研究所])

V-4. 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、今年度までに合計、約 2,800 株、約 6,700 プラスミド配列を決定し、データベースを作成した。家禽より分離された薬剤耐性大腸菌の解析を行い、大規模ゲノム解析を実施した。その結果、多様な系統の CMY-2 産生 ESBL 大腸菌が、広範囲の地域の家禽腸管内に存在していることが明らかとなった。その一方で、これら分離株の一部では、高い保存性を有する *bla*$_{CMY-2}$ 陽性プラスミドを保有しており、プラスミドの水平伝達が、家禽の大腸菌内で生じていることが強く示唆された。
(関塚剛史、谷津弘仁、稲嶺由羽、黒田誠;松井真理、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])

V-5. 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

ブラウザ経由で次世代シークエンスデータを用いた網羅的なプラスミド解析ツールを開発している。本システム(Global Plasmidome Analyzing Tool: GPAT)は、次世代シークエンスデータからの配列アセンブリ、薬剤耐性遺伝子の検索、薬剤耐性遺伝子保有プラスミドをトレースする際に重要な手掛かりとなる不和合性タイピングを円滑に行うことが可能である。また、GPAT 解析結果から得られたプラスミド間の関係性をネットワークとして表示するシステム(inter Plasmid Analyzing Tool: iPAT)を構築し、毎年改良を加えてきた。本年度は、プラスミド間の類似性の3次元プロットによる図示化、および、階層的クラスタリング解析を実装させ、プラスミド間の関連性をより明確化するための開発を行った。
(関塚剛史、糸川健太郎、黒田誠)

V-6. 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2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。ゲノム分子系統解析の結果、1事例では、数塩基の差異しか認められず、同一クローンによる院内感染であることが強く示唆された。もう一方の事例では、時系列に沿ってゲノム上に塩基置換が段階的に数カ所ずつ生じ、カルバペネマーゼ遺伝子保有プラスミドにも、composite transposon を介して新たに ESBL 遺伝子が獲得されていた事例も確認された。また、院内で分離された、従来の細菌同定法では同定不能であった、カルバペネム耐性新規腸内細菌科細菌のゲノム解析も行い、菌種特定を行った。
(関塚剛史、山下明史、稲嶺由羽、黒田誠;松井真理、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])

V-7. 環境中に存在する薬剤耐性腸内細菌科細菌に関する研究

薬剤耐性菌の研究では、ヒト、動物、食材から分離されたものを扱うことが多い。国外では、環境中の薬剤耐性菌汚染が深刻化しており、国内での実態を把握することが急務となっている。本年度は、国内の下水処理水を採取し、メタゲノム解析を行った。また、ESBL およびカルバペネム耐性腸内細菌科細菌を分離後、完全長ゲノム配列を決定し、比較ゲノム解析を行った。その結果、国内の下水処理水より、*bla*$_{KPC-2}$ 保有の肺炎桿菌が検出された。本分離株は、中国で分離された *bla*$_{KPC-2}$ 保有肺炎桿菌に近縁であることが明らかとなった。国内での臨床分離株の報告が少ないにもかかわらず、

自然環境中の下水処理水より簡便に CPE を分離できたことから、下水処理水のモニタリングが、ワンヘルスアプローチに基づく薬剤耐性細菌の早期検知に貢献すると思われる。
(関塚剛史、谷津弘仁、黒田誠)

V-8. カルバペネム感性 *bla*$_{IMP-6}$ 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たところ、カルバペネム耐性株(A56-1R)が得られた。この2株のカルバペネマーゼ産生およびゲノムの比較解析を行った結果、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。昨年度までの研究により、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。本転写因子が、その他遺伝子の転写調節も行なっていることが示唆されるため、RNAseq によるトランスクリプトーム解析を行った。その結果、大腸菌の染色体上の遺伝子の発現調節も行っていることが強く示唆され、表現形質との相関も確認できた。
(瀬川孝耶、関塚剛史;鈴木里和[薬剤耐性菌センター]、山下明史;松井真理[薬剤耐性菌センター]、黒田誠)

V-9. 病原真菌の比較ゲノム解析に関する研究

近年、多剤抗真菌剤耐性 *Candida auris* が世界的に問題となっている。本真菌による感染患者の致死率も高く、国外では、アウトブレイクの報告も認められる。本真菌は、国内でも分離されているものの、主に外耳道感染由来であり、大部分の分離株では、薬剤耐性は認められていない。国内で分離された *C. auris* の全ゲノム解読を行い、国外株との比較ゲノム解析を行った。その結果、国内株は、国外株と比較してゲノムサイズが小さく、複数の環境ストレス応答関連遺伝子および細胞壁タンパク遺伝子が欠損していることが明らかとなった。
(関塚剛史、黒田誠;梅山隆、宮崎義継[真菌部]、槇村浩一[帝京大学大学院医学研究科 医真菌学]、井口成一、菊池賢[東京女子医科大学 医学部])

V-10. 疾病媒介蚊の殺虫剤抵抗性遺伝子解析ツールの開発

疾病媒介蚊の防除に最も用いられている殺虫剤であるピレスロイド類は、神経軸索で働く電位依存性ナトリウムイオンチャネル(VGSC)の機能を阻害するが、ピレスロイドの効力を著しく低下させる VGSC 上の変異が数多く知られている。我々はこれまでに標的シーケンシング技術により効率的に VGSC 遺伝子の配列解析を行う方法を開発しているが、この NGS リードデータから遺伝子型判定までを自動化したバイオインフォマティクスツール MoNaS(Mosquito Na+ channel mutation Search)を開発した。MoNaS は現在、ヒトスジシマカ、ネッタイシマカ、アカイエカ類のゲノムに対応しており、これ以外の衛生害虫についても順次対応を増やす予定である。MoNaS はオープンソースプログラムとして、そのソースコードを GitHub 上で無償公開している(https://github.com/ItokawaK/MoNaS)。また、インターネットを経由して広く研究者に利用できるよう、MoNaS をサーバーに実装し WEB サービスとして提供を開始した(https://gph.niid.go.jp/monas)。
(糸川健太郎、谷津弘仁、関塚剛史、黒田誠;葛西真治[昆虫医科学部])

VI. 病原性及び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、次世代シークエンサー(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。昨年度、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ており、本年度は、web アプリケーション用に改良した。ユーザーフレンドリー且つシームレスな機能ゲノム解析を実施するための基盤を構築した。
(関塚剛史、黒田誠:山地俊之、花田賢太郎[細胞化学部]、加藤大志、直亨則、竹田誠[ウイルス第三部])

VII. 脳膿瘍患者由来 *Streptococcus intermedius* における7型分泌装置依存的細胞傷害性の解析

小児脳膿瘍患者の膿瘍サンプルより原因菌として *Streptococcus intermedius* TYG1620 株が分離された。これまでに本分離菌株の病原性解明を目的に、全ゲノム解読・in vivo 実験・in vitro 実験を実施した結果、7型分泌装置(T7SS)が重要な役割を担っていることが確認された。特に in vitro 実験では、上皮細胞株に対して T7SS 依存的な細胞傷害性を保有することが明らかとなった。つまり、TYG1620 株の上皮細胞株に対する細胞傷害性には T7SS 依存的分泌毒

素が責任因子として機能していることが示唆された。本年度は、細胞傷害性因子の同定を目的にTYG1620株とT7SS変異株の培養上清を用いた Secretome 解析を実施した。Secretome 解析の結果、T7SS 変異株培養上清中での Early Secreted Antigenic Target of 6 kDa (ESAT-6) like protein の顕著な分泌量の減少が確認された。一方で、既知の病原因子である Intermedilysin、Sialidase A、Hyaluronate lyase 等の分泌量に顕著な変動は確認されなかった。ESAT-6 like proteinは、結核菌およびグラム陽性病原細菌においてT7SS依存的な分泌毒素として報告されており、TYG1620 株においても上皮細胞に対する T7SS 依存的な細胞傷害因子として機能していることが強く示唆された。

(橋野正紀[AMED リサーチレジデント]、関塚剛史、稲嶺由羽、黒田誠)

VIII. 赤痢アメーバの比較ゲノム解析に関する研究

国内の腸アメーバ症患者および無症候性感染者由来の赤痢アメーバ分離株、KU50 および KU27 の全ゲノム解読を行い、詳細な比較ゲノム解析を行った。その結果、無症候性株(KU27)で欠失している遺伝子、EHI_176590 を同定した。本遺伝子は、AIG1 ファミリータンパク質の一つであることが機能推定で予測されたが、実際の機能は不明であった。寄生動物部での詳細な解析の結果、EHI_176590 を強制発現させた際、細胞接着性が亢進することが明らかとなった。また、無症候性感染者由来の臨床検体に比べ、臨床症状を示す患者由来の検体では、EHI_176590 を保有する比率が有意に高かった。比較ゲノム解析を手掛かりとして、赤痢アメーバの遺伝的多様性、および、病態を決定に関連する病原因子の1つが明らかとなった。

(関塚剛史、黒田誠;津久井久美子[寄生動物部]、野崎智義[東京大学大学院医学系研究科])

IX. 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

次世代シークエンサー(NGS)を活用した感染症疑いの原因不明症例の病原体探索の依頼に対応した。

(1)福岡県の高齢者施設の集団呼吸器感染症

10 名の患者咽頭拭い液のうち 1 名から NGS メタゲノム解析法にてヒトライノウイルス C を検出し、さらに感度の高い Nested-PCR 法にて 10 名中 8 名が同一のヒトライノウイルス C を検出した。ヒトライノウイルス C はピコルナウイルス科ライノウイルス属に分類され、遺伝子変異が激しく既存の検査法のみでは検出が困難になるケースが見られる。小児を中心に幅広い年代層が罹患する上気道炎の主な原因である一方で、高齢者においては集団感染事例の原因となる可能性が有り、重症化することも考慮する必要がある。

(2)溺水患者の重症肺炎および敗血症から分離された *Chromobacterium haemolyticum*

東北地方・都市圏の河川で溺水し、重症肺炎と敗血症を発症した患者の喀痰および血液から *Chromobacterium* 属の細菌が分離された。迅速同定法では正確な菌種が特定できなかったため、全ゲノム解読を実施し、*Chromobacterium haemolyticum* に該当することを突き止めた。

(3) 医療従事者の肝生検を介して感染した *Mycoplasama* による溶血性肝障害

肝障害を示す原因不明患者の治療中に医療従事者も当該患者と同様の症状を呈したため感染症が疑われた。病院の既存検査法で病原体が特定できなかったため、NGS メタゲノム解析の依頼があり実施した。血液検体の全 RNA の~30%を新規の *Mycoplasma* sp. が占めており、明らかに *Mycoplasma* 菌血症であることが判明した。レボフロキサシン投薬により一時的に寛解へ近づいたものの再燃したため、改めて血液検体の NGS メタゲノム解析を実施し GyrA のアミノ酸置換を認めたため、モキシフロキサシン・ミノサイクリンの併用投薬にて再燃を抑えることに成功した。

(橋野正紀[AMED リサーチレジデント]、関塚剛史、稲嶺由羽、黒田誠)

品質管理に関する業務

HPV ワクチンの国家検定

HPV ワクチン(2 価ワクチンおよび 4 価ワクチン)の検定を製剤担当室として担当した。検定試験項目の内、VLP 力価試験を試験担当室として実施した。また HPV ワクチンの製造・試験記録等要約書(summary lot protocol)の審査を実施した。(石井克幸、竹内隆正、柊元巌、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。(中村浩美、柊元巌)

発 表 業 績 一 覧

I. I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kawai S, Fujii T, Kukimoto I, Yamada H, Yamamoto N, Kuroda M, Otani S, Ichikawa R, Nishio E, Torii Y, Iwata A. Identification of miRNAs in cervical mucus as a novel diagnostic marker for cervical neoplasia. ***Sci Rep***,

2018 May 4;8(1):7070.

2) Takeuchi F, Kukimoto I, Li Z, Li S, Li N, Hu Z, Takahashi A, Inoue S, Yokoi S, Chen J, Hang D, Kuroda M, Matsuda F, Mizuno M, Mori S, Wu P, Tanaka N, Matsuo K, Kamatani Y, Kubo M, Ma D, Shi Y. Genome-wide association study of cervical cancer suggests a role for ARRDC3 gene in human papillomavirus infection. ***Hum Mol Genet***, 2019 Jan 15;28(2):341-348.

3) Masuda Y, Kanao R, Kawai H, Kukimoto I, Masutani C. Preferential digestion of PCNA-ubiquitin and p53-ubiquitin linkages by USP7 to remove polyubiquitin chains from substrates. ***J Biol Chem***, 2019, 294(11):4177-4187.

4) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Kotani O, Sato H, 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. ***J Virol***. 93: e01818-18, 2018.

5) Doi N, Yokoyama M, Koma T, Kotani O, Sato H, Adachi A, Nomaguchi M. Concomitant Enhancement of HIV-1 Replication Potential and Neutralization-Resistance in Concert with Three Adaptive Mutations in Env V1/C2/C4 Domains. ***Front Microbiol***. 2018.

6) Fujii K, Sudaka Y, Takashino A, Kobayashi K, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Mizuta K, Matsuzaki Y, Koike S. VP1 amino acid residue 145 of enterovirus 71 is a key residue for its receptor attachment and resistance to neutralizing antibody during cynomolgus monkey infection. ***J Virol***. 92: e00682-18, 2018.

7) Siarot L, Chutiwitoonchai N, Sato H, Chang H, Sato H, Fujino M, Murakami T, Aono T, Kodama E, Kuroda K, Takei M, Aida Y. Identification of human immunodeficiency virus type-1 Gag-TSG101 interaction inhibitors by high-throughput screening. ***Biochem Biophys Res Commun.*** 503:2970-2976, 2018.

8) Kawata T, Tada K, Kobayashi M, Sakamoto T, Takiuchi Y, Iwai F, Sakurada M, Hishizawa M, Shirakawa K, Shindo K, Sato H, Takaori-Kondo A. Dual inhibition of the mTORC1 and mTORC2 signaling pathways is a promising therapeutic target for adult T-cell leukemia. ***Cancer Sci.*** J109:103-111, 2018.

9) Iwamoto T, Murase Y, Yoshida S, Aono A, Kuroda M, Sekizuka T, Yamashita A, Kato K, Takii T, Arikawa K, Kato S, Mitarai S. Overcoming the pitfalls of automatic interpretation of whole genome sequencing data by online tools for the prediction of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS One. 2019 Feb 28;14(2):e0212798.

10) Yamaji T, Sekizuka T, Tachida Y, Sakuma C, Morimoto K, Kuroda M, Hanada K. A CRISPR Screen Identifies LAPTM4A and TM9SF Proteins as Glycolipid-Regulating Factors. iScience. 2019 Jan 25;11:409-424.

11) Sekizuka T, Matsui M, Takahashi T, Hayashi M, Suzuki S, Tokaji A, Kuroda M. Complete Genome Sequence of bla (IMP-6)-Positive *Metakosakonia* sp. MRY16-398 Isolate From the Ascites of a Diverticulitis Patient. Front Microbiol. 2018 Nov 22;9:2853.

12) Segawa T, Sekizuka T, Suzuki S, Shibayama K, Matsui M, Kuroda M. The plasmid-encoded transcription factor ArdK contributes to the repression of the IMP-6 metallo-β-lactamase gene $bla_{\text{IMP-6}}$, leading to a carbapenem-susceptible phenotype in the $bla_{\text{IMP-6}}$-positive *Escherichia coli* strain A56-1S. PLoS One. 2018 Dec 11;13(12):e0208976.

13) Kuroda M, Sekizuka T, Matsui H, Suzuki K, Seki H, Saito M, Hanaki H. Complete Genome Sequence and Characterization of Linezolid-Resistant *Enterococcus faecalis* Clinical Isolate KUB3006 Carrying a *cfr(B)*-Transposon on Its Chromosome and optrA-Plasmid. Front Microbiol. 2018 Oct 25;9:2576.

14) Sekizuka T, Yatsu K, Inamine Y, Segawa T, Nishio M, Kishi N, Kuroda M. Complete Genome Sequence of a $bla_{\text{KPC-2}}$-Positive *Klebsiella pneumoniae* Strain Isolated from the Effluent of an Urban Sewage Treatment Plant in Japan. mSphere. 2018 Sep 19;3(5). pii: e00314-18.

15) Ito T, Sekizuka T, Kishi N, Yamashita A, Kuroda M. Conventional culture methods with commercially available media unveil the presence of novel culturable bacteria. Gut Microbes. 2019;10(1):77-91.

16) Hayashi T, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Ishikawa D, Imai M, Fujita M, Kuroda M, Saruki N. Next-generation DNA sequencing analysis of two *Streptococcus suis* ST28 isolates associated with human infective endocarditis and meningitis in Gunma, Japan: a case report. Infect Dis (Lond). 2019 Jan;51(1):62-66.

17) Kubota H, Uwamino Y, Matsui M, Sekizuka T, Suzuki Y, Okuno R, Uchitani Y, Ariyoshi T, Aoki W, Suzuki S, Kuroda M, Shinkai T, Yokoyama K, Sadamasu K, Funakoshi T, Murata M, Hasegawa N, Iwata S. FRI-4 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* complex isolated in Tokyo, Japan. J Antimicrob Chemother. 2018 Nov 1;73(11):2969-2972.

18) Nanbo A, Katano H, Kataoka M, Hoshina S, Sekizuka T, Kuroda M, Ohba Y. Infection of Epstein–Barr Virus in Type III Latency Modulates Biogenesis of Exosomes and the Expression Profile of Exosomal miRNAs in the Burkitt Lymphoma Mutu Cell Lines. Cancers (Basel). 2018 Jul 19;10(7). pii: E237.

19) Morimoto K, Aono A, Murase Y, Sekizuka T, Kurashima A, Takaki A, Sasaki Y, Igarashi Y, Chikamatsu K, Goto H, Yamada H, Kuroda M, Mitarai S. Prevention of aerosol isolation of nontuberculous mycobacterium from the patient's bathroom. ERJ Open Res. 2018 Jul 3;4(3). pii: 00150-2017.

20) 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. 2018 Mar 19;14(3):e1006882.

21) Shigemura H, Matsui M, Sekizuka T, Onozuka D, Noda T, Yamashita A, Kuroda M, Suzuki S, Kimura H, Fujimoto S, Oishi K, Sera N, Inoshima 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 Jun 2;274:45-51.

22) Ozaki K, Matsushima Y, Nagasawa K, Motoya T, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular Evolutionary Analyses of the RNA-Dependent RNA Polymerase Region in Norovirus Genogroup II. Front Microbiol. 2018 Dec 18;9:3070.

23) Ashizuka Y, Nakamura A, Yoshitomi H, Kobayashi T, Kajiwara J, Katsuki S, Kuroda M. Study on the Outbreak of Human Rhinovirus Species C Infection in a Welfare Facility in Fukuoka Prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis. 2018 Nov 22;71(6):479-481.

24) Muthuirulandi Sethuvel DP, Anandan S, Devanga Ragupathi NK, Gajendiran R, Kuroda M, Shibayama K, Veeraraghavan B. IncFII plasmid carrying antimicrobial resistance genes in Shigella flexneri: Vehicle for dissemination. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Mar;16:215-219.

25) Lin YC, Kuroda M, Suzuki S, Mu JJ. Emergence of an Escherichia coli strain co-harbouring mcr-1 and bla(NDM-9) from a urinary tract infection in Taiwan. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Mar;16:286-290.

26) Alshahni MM, Yamada T, Yo A, Murayama SY, Kuroda M, Hoshino Y, Ishikawa J, Watanabe S, Makimura K. Insight into the draft whole-genome sequence of the dermatophyte Arthroderma vanbreuseghemii. Sci Rep. 2018 Oct 11;8(1):15127.

27) Larsson DGJ, Andremont A, Bengtsson-Palme J, Brandt KK, de Roda Husman AM, Fagerstedt P, Fick J, Flach CF, Gaze WH, Kuroda M, Kvint K, Laxminarayan R, Manaia CM, Nielsen KM, Plant L, Ploy MC, Segovia C, Simonet P, Smalla K, Snape J, Topp E, van Hengel AJ, Verner-Jeffreys DW, Virta MPJ, Wellington EM, Wernersson AS. Critical knowledge gaps and research needs related to the environmental dimensions of antibiotic resistance. Environ Int. 2018 Aug;117:132-138.

28) Takahashi M, Nagasawa K, Saito K, Maisawa SI, 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 Apr;59:155-162.

2. 和文発表

1) 柊元 巖 APOBEC 変異導入を介したヒトパピローマウイルス発がん機構。薬学雑誌、2019;139(1):75-79.

2) 佐藤裕徳 *In silico* 分子間相互作用解析基盤の開発とウイルス研究への活用。"in silico 創薬におけるスクリーニングの高速化・高精度化技術" 第 1 章 10 節、pp107-115.技術情報協会、2018.1.31 発刊

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hirose Y, Tenjimbayashi Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K, Kukimoto I. APOBEC signature mutagenesis in HPV16/52/58 genomes and its relevance to cervical carcinogenesis, 32nd International Papillomavirus Conference（2018 年 10 月、シドニー）

2) Mori S, Takeuchi T, Ishii Y, Kukimoto I.

Transcriptional cofactor VGLL1 is required for TEAD-mediated transcription of HPV early genes, 32nd International Papillomavirus Conference（2018 年 10 月、シドニー）

3) Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K, Kukimoto I. Whole-genome analysis of HPV52/58 isolated from Japanese women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer, 32nd International Papillomavirus Conference（2018 年 10 月、シドニー）

4) Baba S, Taguchi A, Kawata A, Hara K, Eguchi S, Adachi K, Mori S, Iwata T, Mitsuhashi A, Maeda D, Komatsu A, Nagamatsu T, Oda K, Osuga Y, Fujii T, Kukimoto I, Kawana K. HPV16, 18, 52, and 58 differentially express virus-derived transcripts dependent on CIN grade, 32nd International Papillomavirus Conference（2018 年 10 月、シドニー）

5) Kawata A, Taguchi A, Baba S, Eguchi S, Adachi K, Mori S, Iwata T, Mitsuhashi A, Maeda D, Nagamatsu T, Oda K, Osuga Y, Fujii T, Kukimoto I, Kawana K. Infiltration of plasma cells into stroma is possibly associated with higher grade of CIN, 32nd International Papillomavirus Conference（2018 年 10 月、シドニー）

6) Sato H. A challenge for bridging virology and computational science (2018 年 5 月、アメリカ合衆国、NIAID, NIH）

7) Sato H. A challenge for bridging virology and computational science (2018 年 5 月、アメリカ合衆国、HIV Dynamics and Replication Program, NCI, NIH）

8) Kotani O, Yokoyama M, Ono A, Sato H. A proposal of molecular dynamics based structural models of the full-length, ligand-free pr55Gag precursor of HIV-1. Cold spring harbor 43rd annual meeting on Retroviruses. (2018 年 5 月、アメリカ合衆国、Cold spring harbor)

9) Sumner C, Kotani O, Olson E, Musier-Forsyth K, Sato H, Ono A. The role of tRNA post-transciptional modifications in inhibition of HIV-1 Gag membrane binding. Cold spring harbor 43rd annual meeting on Retroviruses. (2018 年 5 月、アメリカ合衆国、Cold spring harbor)

10) Murakami T, Masayuki Fujino M, Yokoyama M, Kobayakawa T, Takeuchi H, Masuda T, Kotani O, Tamamura H, Sato H. Biological and molecular characterization of a novel anti-HIV-1 compound created by in silico design and de novo organic synthesis. Cold spring harbor 43rd annual meeting on Retroviruses. (2018 年 5 月、アメリカ合衆国、Cold spring harbor)

11) Sakuragi S, Kotani O, Yokoyama M, Shioda T, Sato H, Sakuragi J. The analysis of HIV-1 genome packaging by comparison of subtype sequences. Cold spring harbor 43rd annual meeting on Retroviruses. (2018 年 5 月、アメリカ合衆国、Cold spring harbor)

12) Kotani O, Yokoyama M, Fujii K, Kobayashi K, Nagata N, Shimizu H, Koike S, Sato H. Cis-allosteric regulation of the interaction surfaces of enterovirus A71 capsid protein by the VP1 single amino acid residue at position 145. The 20th International Picornavirus Meeting; EUROPIC2018. (2018 年 6 月、オランダ王国、Egmond aan Zee)

13) Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Nakamura K, Kuwahara T, Kishida N, Sato H, Watanabe S, Odagiri T. In vitro characterization of multidrug-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses carrying a dual amino acid substitution associated with reduced susceptibility to neuraminidase inhibitors. Negative Strand Virus 2018 (2018 年 6 月、イタリア Verona）

14) Ken-ichi Lee, Sunao Iyoda, Tomoko Morita-Ishihara, Keiko Kimata, Msanori Watahiki, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Makoto Ohnishi, EHEC Working Group Applicability of whole genome sequencing of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 in the national surveillance. VTEC2018 10th International Symposium (2018 年 5 月 イタリア・フィレンツェ)

15) Michiko Hayashi, Satowa Suzuki, Mari Matsui, Tsuyoshi Sekizuka, and Makoto Kuroda. The maintenance of antimicrobial resistance genes by multireplicon IncF plasmid F1:A2:B20 in epidemic clone *Escherichia coli* ST131. Plasmid Biology 2018 (2018 年 8 月 アメリカ・シアトル)

16) Tsuyoshi Sekizuka, Koji Yatsu, Takaya Segawa, Yuba Inamine, and Makoto Kuroda. Complete genome sequence of a *bla*$_{KPC-2}$-positive *Klebsiella pneumoniae* strain isolated from the effluent of an urban sewage treatment plant in Japan. ESCMID/ASM Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance (2018 年 9 月 ポルトガル・リ

スボン)

17) Tsuyoshi Sekizuka, Masanori Hashino, Yuba Inamine, and Makoto Kuroda. Growth Inhibition of *Streptococcaceae* in Healthy Gut Flora by Interocin of *Streptococcus intermedius* TYG1620 Isolated from a Human Brain Abscess. ESCMID/ASM Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance (2018 年 9 月 ポルトガル・リスボン)

18) Hidekazu Niwa, Tsuyoshi Sekizuka, Makoto Kuroda, Eri Uchida, Yuta Kinoshita, Yoshinari Katayama, Mitsutoshi Senoh, Haru Kato. Whole genome analysis of *clostridioides difficile* strains isolated from horses in Japan. 6th International Clostridium difficile Symposium (2018 年 9 月 スロベニア・ブレッド)

19) Takuya Yamagishi, Mari Matsui, Tsuyoshi Sekizuka, Hiroaki Ito, Munehisa Fukusumi, Tomoko Uehira, Miyuki Tsubokura, Atsushi Miyamoto, Akihiro Tawa, Shoji Nakamori, Hideki Yoshida, Makoto Kuroda, Satowa Suzuki, Keigo Shibayama, Tamano Matsui and Kazunori Oishi. A prolonged multispecies outbreak of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* due to transmissible plasmid with carbapenemase gene. ID week 2018 (2018 年 10 月 アメリカ・サンフランシスコ)

2. 国内学会

1) 田中恒成、森定徹、岩田卓、佐伯直彦、飯島朋子、仲村勝、田中京子、青木大輔、柊元巌 子宮頸部細胞診 ASC-US における HPV 型と病理結果に関する検討。第 59 回日本臨床細胞学会(2018 年 6 月、札幌)

2) 森定徹、佐伯直彦、飯島朋子、仲村勝、岩田卓、田中京子、青木大輔、柊元巌 当院における子宮頸部細胞診 ASC-US における HPV 型と病理結果に関する検討。第 59 回日本臨床細胞学会(2018 年 6 月、札幌)

3) Hirose Y, Tenjimbayashi Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K, Kukimoto I. APOBEC signature mutagenesis in the genome of human papillomavirus and its relevance to cervical carcinogenesis、第 77 回日本癌学会学術総会(2018 年 9 月、大阪)

4) 天神林友梨、廣瀬佑輔、小貫麻美子、松本光司、柊元巌 HPV58 バリアント間での E7 タンパク質の機能解析。第 77 回日本癌学会学術総会(2018 年 9 月、大阪)

5) Kukimoto I, Hirose Y, Tenjimbayashi Y, Onuki M, Iwata T, Matsumoto K. APOBEC signature mutagenesis in HPV genomes and its relevance to cervical carcinogenesis、第 66 回日本ウイルス学会学術集会(2018 年 10 月、京都)

6) Mori S, Takeuchi T, Ishii Y, Kukimoto I. 転写共役因子 VGLL1 による転写因子 TEAD を介したヒトパピローマウイルス初期遺伝子の転写。第 66 回日本ウイルス学会学術集会(2018 年 10 月、京都)

7) Ishii Y, Taguchi A, Kukimoto I. HPV 持続感染細胞の探索。第 66 回日本ウイルス学会学術集会(2018 年 10 月、京都)

8) 村田和義、ソン・チホン、戸高玲子、芳賀慧、藤本陽、横山勝、宮崎直幸、岩崎憲治、片山和彦 マウスノロウイルスキャプシドのクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析。日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会(2018 年 6 月、福岡)

9) Song C, Todaka R, Haga K, Fujimoto A, Yokoyama M, Miyazaki N, Iwasaki K, Katayama K, Murata K. Capsid Structure of Murine Norovirus S7 revealed by cryo-electron microscopy. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会(2018 年 6 月、福岡)

10) ソンチホン、戸高玲子、三木元博、芳賀慧、藤本陽、横山勝、宮崎直幸、岩崎憲治、片山和彦、村田和義 マウスノロウイルス MNV-S7 のクライオ電顕単粒子構造解析。第 56 回日本生物物理学会年会(2018 年 9 月、岡山)

11) 倉上真樹、小早川拓也、横山勝、村上努、金子萌美、小谷治、佐藤裕徳、玉村啓和 HIV-1 CA タンパク質の構造を基にした低分子型抗 HIV-1 剤の構造活性相関研究。第 62 回日本薬学会 関東支部大会(2018 年 9 月、東京)

12) 佐藤裕徳 計算科学と下痢症ウイルス研究の橋渡し。第 30 回ウイルス性下痢症研究会 特別講演(2018 年 10 月、京都)

13) 小谷治、横山勝、小林郷介、永田典代、清水博之、小池智、佐藤裕徳 VP1-145 アミノ酸によるエンテロウイルス A71 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。第 66 回日本ウイルス学会学術集会(2018 年 10 月、京都)

14) 横山勝、小谷治、中村浩美、佐藤裕徳 ノロウイルスカプシド - 血液型抗原複合体の分子動力学計算。第 66 回日本ウイルス学会学術集会(2018 年 10 月、京都)

15) 駒貴明、小谷治、土肥直哉、宮川敬、梁明秀、横山勝、佐藤裕徳、足立昭夫、野間口雅子 HIV-1 複製後期過程における Gag-CA リンカードメインの役割。第 66 回日本ウイルス学会学術集会(2018 年 10 月、京都)

16) 佐野芳、齊藤慎二、小谷治、Elly van Riet、相内章、田畑耕史郎、高橋宜聖、横山勝、佐藤裕徳、鈴木忠樹、

長谷川秀樹　経鼻インフルエンザワクチン接種者由来広域中和抗体のエスケープ変異体ウイルスの解析。第66回日本ウイルス学会学術集会（2018年10月、京都）

17) Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Nakamura K, Kuwahara T, Kishida N, Sato H, Watanabe S, Odagiri T. In vitro characterization of multidrug-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses carrying a dual amino acid substitution associated with reduced susceptibility to neuraminidase inhibitors. 第66回日本ウイルス学会学術集会（2018年10月、京都）

18) 佐藤裕徳　感染症研究と計算科学の橋渡し：病原体の理解と制御に向けて。第45回防菌防黴学会年次大会シンポジウム招待講演（2018年11月、東京）

19) 佐野芳、齊藤慎二、小谷治、相内章、Elly van Riet、田畑耕史郎、高橋宜聖、横山勝、佐藤裕徳、鈴木忠樹、長谷川秀樹　経鼻ワクチンにより誘導された抗インフルエンザHAステム抗体のウイルス感染防御機構. 第22回日本ワクチン学会学術集会（2018年12月、神戸）

20) Kotani O, Yokoyama M, Ono A, Sato H. A proposal of molecular dynamics based structural models of the Pr55Gag precursor of HIV-1. 第32回日本エイズ学会学術集会・総会（2018年12月、大阪）

21) 横山勝、佐藤裕徳　HIV-1エンベロープ三量体における中和感受性に関連する構造とゆらぎ。第32回日本エイズ学会学術集会・総会2018年12月、大阪）

22) Lowela S、Nopporn C、佐藤洋隆、Hao C、小谷治、横山勝、佐藤裕徳、藤野真之、村上努、近藤恭光、本田香、長田裕之、上田一樹、伊藤嘉浩、青野俊裕、児玉栄一、黒田和道、武井正美、間陽子　Characterization of novel HIV-1 inhibitors targeting Gag-TSG101 interaction. 第32回日本エイズ学会学術集会・総会（2018年12月、大阪）

23) 原田恵嘉、野村渉、鳴海哲夫、横山勝、前田賢次、竹内怜音、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-3。第32回日本エイズ学会学術集会・総会（2018年12月、大阪）

24) 小早川拓也、倉上真樹、横山勝、村上努、金子萌美、小谷治、佐藤裕徳、玉村啓和　HIV-1カプシドタンパク質の構造を基盤とした低分子型抗HIV-1剤の構造活性相関研究。日本薬学会第139年会（2019年3月、千葉）

25) 関塚剛史、加藤公敏、黒田誠、大草敏史　潰瘍性大腸炎患者由来 *Fusobacterium varium* Fv113-g1株のゲノム・トランスクリプトーム解析。第22回腸内細菌学会(2018年5月、江戸川区)

26) 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、渡部綾子、黒田誠、秋庭正人　*Salmonella* genomic island 3 は integrative and conjugative element である。第161回日本獣医学会学術集会 (2018年9月、つくば市)

27) 池田昌輝、里村和浩、関塚剛史、花田賢太郎、遠藤俊徳、長田直樹　旧世界ザルゲノムに存在する内在性サルレトロウィルス（SERV）配列の探索と分子系統解析。日本遺伝学会第90回大会 (2018年9月、生駒市)

28) Hiroshi Katoh, Tsuyoshi Sekizuka, Masafumi Sakata, Yuichiro Nakatsu, Reiko Nakagawa, Minoru Kidokoro, Makoto Kuroda, Makoto Takeda. The R2TP complex modulates viral RNA synthesis of mumps virus. 第66回日本ウイルス学会 (2018年10月、京都市)

29) 橋野正紀、関塚剛史、稲嶺由羽、黒田誠　小児脳膿瘍患者より分離された *Streptococcus intermedius* TYG1620株における Type Seven Secretion System の機能解析。第101回日本細菌学会関東支部総会 (2018年11月、港区)

30) 瀬川孝耶、関塚剛史、鈴木里和、柴山恵吾、松井真理、黒田誠　プラスミド性転写調節因子 ArdK によるカルバペネマーゼ遺伝子 bla_{IMP-6} 転写抑制機序の解析。第101回日本細菌学会関東支部総会 (2018年11月、港区)

31) 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、渡部綾子、黒田誠、秋庭正人　*Salmonella* genomic island 3 は integrative and conjugative element であり、宿主の重金属抵抗性を増強させる。日本細菌学会関東支部総会 (2018年11月、港区)

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、アジア地域と連携したサーベイランス網の活性化と技術支援および世界インフルエンザ監視対応体制（GISRS）の運営に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（第一室(ウイルスサーベイランス)、第二室(診断検査、国内外研修)、第三室(ワクチン製剤品質管理、GMP 管理)、第四室(季節性・新型ワクチン製造株の開発)、第五室(細胞培養ワクチン開発)、第六室(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 31 年 3 月 31 日付で小田切孝人がセンター長を、板村繁之が第 3 室長を定年退官した。

研究開発業務としては、季節性ワクチン製造株開発のため、国内の医療機関から提供された臨床検体から、鶏卵を用いてウイルス（親株）を分離し、WHO のワクチン製造株開発機関に送付した。提供した親株から開発された高増殖リアソータントウイルスについて、ワクチン製造株候補としての妥当性を評価した。また、パンデミックインフルエンザ対策の一環として、リアルタイム RT-PCR 法を用いた鳥インフルエンザ H9N2 ウイルス検出系を構築、リアルタイム RT-LAMP 法による全自動ポイントオブケア迅速検査法を利用したインフルエンザ、RS およびメタニューモウイルス検出系の構築と臨床的検証に携わり、イムノクロマトキットよりも高い検出感度、従来のリアルタイム RT-PCR 法とほぼ同等の検出感度を有している事を確認した。

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、交差反応性ないモノクローナル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実用化に向けて、細胞培養ワクチン製造株の開発、細胞培養ワクチン中の HA 抗原量測定法の開発を進めた。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、解析結果を地衛研および周辺諸国へ還元した。また感染症疫学センターHP を通じて情報還元した。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 30 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、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、全国の検疫所に対してインフルエンザウイルス核酸検出検査に関する技術研修と外部精度評価を実施した。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。国内に持ち込まれた携帯品非加熱家禽肉から分離された鳥インフルエンザウイルス（H5 亜型、 H7 亜型）およびインドネシア国においてヒトから分離された高病原性鳥インフルエンザウイルス（H5N1 亜型）の遺伝子解析及び抗原性解析を行い、WHO インフルエンザワクチン株選定会議資料として提出した。

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 診断技術改良ワーキング会議、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、遺伝子解析技術研修を実施した。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を行った。また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と遺伝子検査に関するミニ実験コーナーによる一般者参加型の催しなどを行った。

インフルエンザウイルス研究センターが発足してから9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. 新規抗インフルエンザ薬バロキサビル耐性変異ウイルスの検出

新規抗インフルエンザ薬バロキサビルは、日本国内において 2018 年 2 月に承認され、3 月より使用可能となった。国立感染症研究所と全国地方衛生研究所は共同で、2017/18 シーズンからバロキサビルに対する耐性株サーベイランスを実施している。2018 年 12 月には横浜市でバロキサビル投与後の小児から、PA I38T 耐性変異をもち、バロキサビルに対する感受性が約 80～120 倍低下したバロキサビル耐性変異 A(H3N2)ウイルスが 2 株検出された。さらに、全国から収集した A(H3N2)ウイルスの解析により、バロキサビル未投与の小児 4 名からバロキサビル耐性変異ウイルス 4 株を検出した。PA I38T 耐性変異はバロキサビル投与に起因すると考えられており、バロキサビル未投与患者から検出された耐性変異ウイルスは、バロキサビル投与患者から感染伝播したと考えられる。日本国内で検出されたバロキサビル耐性変異ウイルスは、ほとんどが 12 歳未満の小児から分離されている。バロキサビル耐性変異ウイルスの発生動向の把握は、公衆衛生上、国内のみならず世界的にも極めて重要であり、引き続きバロキサビル耐性株のサーベイランスを実施し、速やかに情報提供を行っていく必要がある。［高下恵美、森田博子、小川理恵、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、桑原朋子、岸田典子、三浦秀佳、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所］

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。

我々が分離した A/Saitama/103/2014 (H3N2)株（埼玉株）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、流行株と類似の抗原性を保持していた。このウイルスの限界希釈を行い、単一のクローンの分離を試みたところ、NA に 2 ヶ所の変異を持つウイルス（C3E8-m2）と 7 ヶ所に変異を持つウイルス（C3E8-m7）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が、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。そこで我々は、鶏卵馴化埼玉株の NA に誘導された変異の意義を明らかにするため、C3E8-m2 と C3E8-m7 の NA の性状解析を試みた。まず、C3E8-m2 と C3E8-m7 の NA をそれぞれ Cos-7 細胞に発現させ、赤血球吸着反応によりシアル酸レセプターに結合するかどうかを調べた。その結果、C3E8-m2 と C3E8-m7 の NA を発現している細胞は赤血球を効率良く吸着した。そのため、鶏卵馴化埼玉株は NA を介してレセプターに結合に関与することが示唆された。また、C3E8-m2 NA の変異を野生型に 1 つずつ戻し赤血球の吸着を調べたところ、NA の赤血球結合能にはそのうちの 1 つの変異が不可欠であることを発見した。さらに、レセプター結合能を弱めた HA と C3E8-m2 NA または C3E8-m7 NA を持つウイルスを作出し、鶏卵における増殖を調べたところ、両ウイルスとも鶏卵で増殖した。したがって、埼玉株は NA によるレセプター結合により鶏卵で増殖できることが明らかになった。

［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、佐藤佳代子、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. rhPCR 法を用いた PA 蛋白質 I38T バロキサビルマルボキシル耐性株の検出系の構築

A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B 型インフルエンザウイルスは、PA 蛋白質の 38 番目のアミノ酸がイノシン（I）からトレオニン（T）に変異（113 番目の塩基が T から C に置換）するとバロキサビルマルボキシル（商品名ゾフルーザ）に対して耐性を示す。この変異をもつウイルスを迅速に検出するために、ウイルス RNA を逆転写した cDNA を鋳型とし、RNase H2 assay 技術を用いた rhPCR 法による検出法を構築した。［中内美名、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、齊藤慎二、高山郁代、小川理恵、森田博子、三浦秀佳、永田志保、小田切孝人、影山努］

4. インフルエンザ、RS およびメタニューモウイルスを全自動で検出可能なポイントオブケア検査法の有用性の検討

近年、核酸検査法の医療現場への導入が進んでいるが高価な設備や熟練した技術が必要なため、普及は難しい。今回、検体の処理から real-time RT-LAMP 法による検出までを全自動で実施し、4 種類の呼吸器感染症ウイルス（A 型及び B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス）を 30 分以内に検出可能なポイントオブケア(POC)迅速検査法を開発し、2018/19 シーズンの臨床検体を用いて、感度や特異性を real-time PCR 法やイムノクロマトキットと比較検討した。

結果、インフルエンザおよび RS ウイルスでは本 POC 検査法は PCR 法の結果と高い一致率を示し、イムノクロマトキットよりも検出感度は明らかに優れていた。本 POC 検査法は、検体由来の非特異反応も見られず、迅速かつ簡便な核酸検査法であることが示された。

［齊藤 慎二；仙波晶平、横野航太（栄研化学株式会社）、高山郁代、中内美名；久保英幸、改田厚（大阪健康安全基盤研究所）、塩見正司（愛染橋病院）、村上貴孝（中野こども病院）、木屋啓一（西東京中央総合病院）、大場邦弘（公立昭和病院）、浅井定三郎（あさいこどもクリニック）、影山努］

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、2018/19 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 B/Meryland/15/16（ビクトリア系統）または B/Phuket/3073/13（山形系統）株のいずれかに対する抗体価が 40HI 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 B 型山形系統流行株に対して若干低い反応性を示した。B 型ビクトリア系統については、ワクチン株と同じ遺伝子グループの 1A.1 に属する野外流行株とよく反応したが、前シーズンの 1A に属する株とは低い反応性を示した。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、B ビクトリア系統の1A.1 に属する流行株に対してはワクチンの効果が期待されるが、それ以外の A(H1N1)pdm09 流行株、B ビクトリア系統の 1A に属する流行株及び B 山形系統流行株に対してはワクチン効果の減弱が懸念された。また、米国と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ところ、米国のワクチン接種者血清の抗体 GMT は、ワクチン接種後に高い上昇倍率を示したのに対して、日本のワクチン接種者血清のその上昇倍率は極めて低かった。これは今回の試験結果に限られたことではなく毎年見られる結果であり、ワクチン効果増強のためには日本のワクチンの低い免疫原性を改善することが必須であると言える。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。［岸田典子、中村一哉、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、高下恵美、桑原朋子、小川理恵、森田博子；菖蒲川由郷、齋藤玲子（新潟大学国際感染医学講座）、渡邉

真治、小田切孝人］

2. IgA 四量体作製法の開発と四量体化させた抗インフルエンザ広域中和抗体の特性解析

ヒト呼吸器粘膜上には、抗ウイルス活性を持つ分泌型 IgA 抗体(SIgA)が誘導されており、SIgA は二量体や四量体などいくつかの四次構造を取ることが知られているが、その病原体不活化機構への影響は不明であった。モノクローナル四量体分泌型 IgA 抗体(tSIgA)を作製する技術を開発し、同一の抗原認識部位を有する IgG 抗体及び単量体、二量体と四量体の IgA 抗体の抗インフルエンザウイルス広域中和抗体を作製し、抗ウイルス活性を比較した。

IgA 抗体の四量体化により抗ウイルス活性の最大活性は変化せず、標的域が拡大することを明らかにした。IgA 抗体の四量体化が、抗ウイルス活性の標的域を広げ交叉反応性を高めることに寄与していることを直接的に証明したものであり、経鼻インフルエンザワクチンに特有のワクチン作用機序の一端を明らかにするものである。［齊藤慎二;佐野 芳、鈴木忠樹、相内章（感染病理部）、多賀祐喜、上野智規（株式会社ニッピ）、田畑耕史郎、齋藤訓平、和田雄治、大原有樹（感染病理部）、小田切孝人、影山努、後藤希代子（株式会社ニッピ）、長谷川秀樹（感染病理部）］

3. ワクチン力価新規試験法の開発

昨年度までに、新規検出法の指標探索として、マウスの中和抗体誘導に関する免疫原性が異なった AH3N2 の 2 株のスプリットワクチンを対象に、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC-HPLC)法によってワクチンの粒径分布を解析したところ、定量的に精度よく検出でき、株間の粒径分布差即ちスプリット化の程度が異なることが判った。一方で、ワクチン力価は、これまで一元放射免疫拡散（SRD）試験法によって測定されてきたが、平成 27 年度から国内導入された4価ワクチンで生じた、B 型ウイルス2株間の SRD 試験上交差反応の影響で正確な力価測定が困難或いは測定不能になった問題を解決するため、交差反応が生じないB型系統特異的モノクローナル抗体を使用したB型抗原定量ELISA法による力価測定法を開発したものの、ELISA 標品に SRD 試薬を用いた場合、株によってはSRD試験法での力価と乖離が生じるという新たな課題が見つかっていた。そこで、この SEC-HPLC 技術を応用して、ELISA 法と SRD 法との間で、ワクチン力価に最も測定乖離が出た株に関して、SRD 試験での SRD 標準抗原とスプリットワクチンの可溶化分散状態を再現し、性状解析を行った結果、標準抗原では凝集体が見られたため、可溶化状態がワクチンに近い高純度精製ヘマグルチニン蛋白を ELISA 標品としたところ、測定乖離が改善出来た。このように、新規試験法として開発した ELISA 法に、従来の力価試験法である SRD 法との一致性を維持するには、適切な標品の制定および規格化が必要であり、品質管理試験上の重要性が認識出来た。［嶋崎典子、板村繁之］

4. 弱毒生インフルエンザワクチンの力価測定法の開発

弱毒生ワクチンのウイルス感染力価測定には、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、細胞数計測の測定者間差異を克服するため、画像解析による計数の自動化を試みている。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手法が一部の検体で有効であることが明らかとなった。ウイルス株の差異や、繰り返し試験での手法の安定性について引き続き検討中である。[原田勇一、板村繁之]

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が、これらの評価は二回免疫後の抗血清を評価したものであった。そこで抗体誘導のメカニズムを詳細に解明するために初回免疫に焦点を当てた検討を行った。全粒子ワクチンで初回免疫、HA ワクチンで追加免疫を行うと HA ワクチンを二回免疫した場合に比べて avidity の高い抗体が産生誘導され、ADCC 抗体の産生も誘導された。一方、追加免疫でのみ全粒子ワクチンを用いた場合には avidity の増強は認められるものの ADCC 抗体は産生誘導されなかった。したがって、インフルエンザワクチンは初回免疫と追加免疫で異なる機構により抗体産生を誘導している可能性が示された。[佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之]

6. 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ことが可能であるのかを検討するために、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 2017/18 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候補株に対して、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候補株に関して抗原解析試験を行い、ワクチン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ワクチン株をもとに一元放射免疫拡散(SRD)試験試薬を作製し、SRD 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(KM バイオロジクス、北里第一三共、武田薬品工業、阪大微研会)]

7. 細胞培養ワクチン株の開発

NIID-MDCK 細胞を用いて各インフルエンザシーズン(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/H3N2 亜型と B/ビクトリア系統のワクチン候補株の作製を行った。これら候補株の多くが、WHO 推奨抗原的基準株と同等の抗原性を示し、細胞培養ワクチン株として資するものであることを確認した。また、作製したワクチン株の抗原性を市中流行株と比較した結果、H3N2 以外では抗原性の一致が確認されたが、H3N2 は中和試験方法の違いで結果が触れる傾向が見られたため、妥当な試験法の確立を試みている。[信澤枝里、高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、ワクチン製造所(北里第一三共、阪大微研会)]

8. 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。2014/15 シーズンの臨床検体に由来するワクチン株から作製された単価および 4 価ワクチンの SRD 試験を行った結果、両ワクチン中の各 HA 抗原量はほぼ等しい値を示した。また、SRD 試薬のうちヒツジ抗血清の共有化の可能性を検討するため、2社の異なるワクチン株 HA に対する各抗血清を用いて、1 社のワクチンの HA 抗原量の測定を行った結果、HA 抗原量は現行の検定基準の許容範囲の値を示し、SRD 試薬の共有化が可能であることが示唆された。[高橋仁、浜本いつき、小田切孝人、信澤枝里、ワクチン製造所(武田薬品工業、阪大微研会)]

9. インフルエンザウイルス存在下におけるパラインフルエンザウイルス 3 型に対する NIID-MDCK 細胞の感受性評価

昨年度は、NIID-MDCK 細胞において A 型と 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あることを示した。本年度は、B 型インフルエンザウイルスと HPIV3 のゲノム量比及び両者の感染時間差による HPIV3 に対する NIID-MDCK 細胞の感受性評価を行った。その結果、共感染させる B 型インフルエンザウイルスのゲノム量や感染時期が HPIV3 に対する感受性に影響することが示された。[浜本いつき、高橋仁;水田克巳(山形県衛生研究所)、小田切孝人、信澤枝里]

10. 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、

さらには他の粘膜アジュバントよりも炎症性サイトカインの誘導が低いことが明らかとなった。引き続き、G9.1 併用経鼻ワクチンによる交叉防御能を検討するため、野外株からチャレンジウイルスに適した株を確立することを目指した。特に近年のA/H3N2 株はマウスに対する感染性が著しく減弱しており、マウスに野外株を感染させても気道での増殖がほとんど認められない。そこで、2012-13 シーズンに分離された A/H3N2 亜型の野外株 12 株をマウスに感染させ、3 日後に鼻腔洗浄液を回収してウイルス価を測定した。その結果、2 株でウイルスの検出が認められた。続いてこの鼻腔洗浄液を用いてウイルス単離を行い回収されたウイルスクローンのマウスでの感染性を検討した結果、上気道では増殖するが、下気道では増殖しない株が回収できた。現在、本株の性状解析を進めており、引き続き感染株としての有用性を検討する。［浅沼秀樹、小田切孝人；氏家誠（日本獣医生命科学大学）、藤橋浩太郎（東大・医科研）］

11. 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はワルトン管の分泌部位から採取すると高濃度、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。一方、鼻腔洗浄液中に分泌される SIgA については、防御効果との相関性を示すことが困難であったため、インフルエンザに感染したヒトの鼻腔洗浄液で中和能を検討するためのモデル実験として、感染マウスの鼻腔洗浄液を用いた plaque reduction 法を検討した。その結果、マウスにインフルエンザウイルスを感染させ、高い抗体応答が認められた鼻腔洗浄液であれば、鼻腔洗浄液を濃縮せずにプラークの減少能が認められることが明らかとなった。既に感染から回復したヒトの鼻腔洗浄液を数検体有しているため、引き続きこれらの検体の抗体価と plaque reduction 法の検討を進めていく。［浅沼秀樹；黒野祐一、大堀純一郎（鹿児島大学・医）、藤橋浩太郎（東大・医科研）、小田切孝人］

レファレンス業務

1. サーベイランスキット作製と国内への配布

A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B ビクトリア系統、B 山形系統のレファランスウイルスから不活化抗原とウサギ免疫血清を作製して、型／亜型／系統を同定するためのインフルエンザウイルスサーベイランスキットとして、70 カ所余の地方衛生研究所に配布した。本キットにより同定されたウイルスの分離情報は地衛研で病原体検出情報システムに登録され、その情報は地衛研から当室へのウイルス提供に際して有効に活用された。提供されたウイルスについて詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行いインフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料とした。［中村一哉、岸田典子、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、森田博子、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（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）に配布した。本キットを用いて各国で初期解析されたウイルスの提供を受け、さらに詳細な抗原性解析、遺伝子解析を行い、WHO および国内向けワクチン株選定会議へ情報提供した。［岸田典子、中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、桑原朋子、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、森田博子、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 43 カ所の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、森田博子、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人、全国地方衛生研究所］

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37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 山形系統、B ビクトリア系統、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、岸田典子、桑原朋子、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、小川理恵、森田博子、渡邉真治、小田切孝人、全国地方衛生研究所］

5. インフルエンザ診断マニュアルの改訂

平成26年にインフルエンザ診断マニュアルの改訂を全国の地方衛生研究所と感染研の共同作業行により行ったが、その後の検査技術の進歩を踏まえ、また、近年の流行株の性状にあわせて一部内容を更新した。今回の改訂では、地衛研への次世代シークエンス技術の浸透を鑑み、次世代シークエンス手法について記載、およびプライマーリストを更新した。また抗インフルエンザ薬としてバロキサビルマルボキシルが承認され、その使用頻度の高さから、標的遺伝子であるPA 遺伝子のシークエンス解析による耐性株検出法を記載した。診断法については、リアルタイム RT-PCR 法を用いた B 型インフルエンザウイルス遺伝子検出系のプローブ配列を変更した。改訂したインフルエンザ診断マニュアル(第4版)は、平成30年12月に感染研の HP 上に公開された。
[中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、岸田典子、桑原朋子、渡邉真治、中内美名、高山郁代、齊藤慎二、影山努、小田切孝人;長野秀樹（北海道立衛生研究所）、高橋雅輝（岩手県環境保健研究センター）、新開敬行（東京都健康安全研究センター）、川上千春（横浜衛生研究所）、米田哲也（富山県衛生研究所）、森川佐依子、岡山文香（大阪健康安全基盤研究所）、豊嶋千俊（愛媛県立衛生環境研究所）、芦塚由紀（福岡県保健環境研究所）、久場由真仁（沖縄県衛生環境研究所）、安井善宏、皆川洋子（愛知県衛生研究所）]

6. インフルエザワクチンの力価測定用標準抗原国際キャリブレーション

WHO ERL として、ワクチンの力価測定用標準抗原に関する国際キャリブレーションを実施した。具体的には、A/North Carolina/04/2016 (H3N2)-cell derived [CBER]、B/Iowa/06/2017-cell derived [CBER]、B/Maryland/15/2016 [NIBSC]、B/Maryland/15/2016 [TGA]、B/Singapore/INFTT-16-0610/2016-cell derived [CBER]、B/Maryland/15/2016 (BX-69A) [CBER]、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016（ IVR-186 ）(H3N2) [CBER]、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016（ IVR-186 ）(H3N2) [NIBSC]、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016（ IVR-186 ）(H3N2) [TGA]、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (NIB-104)（ H3N2 ）[CBER]、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (NIB-104)（H3N2） [NIBSC]、A/Guangdong/17SF003/2016 (NIBRG-375) (H7N9) [CBER]、IDCDC-RG56N (A(H7N9)) [CBER]、B/Colorado/06/2017 [TGA]、A/Switzerland/8060/2017 (NIB-112) (H3N2) [NIBSC]、A/Brisbane/1/2018 (NYMC X-311) (H3N2) [NIBSC]、A/Brisbane/1/2018 (NYMC X-311) (H3N2) [TGA]について、新規ロットの標準インフルエンザ HA 抗原に含有される HA 抗原の含有量の設定を、英国、豪州、米国の生物製剤に関する国立試験研究機関である NIBSC、TGA、CBER と共同で実施した。［原田勇一、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之、嶋崎典子、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 30 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/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186)(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Maryland/15/2016(BX-69A)の 4 株について、国家検定の力価試験に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原（一元放射免疫拡散試験用）を作製し、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。また、B 型ウイルスの 2 株については、昨年度に引き続いて、SRD 試験方法の評価研究結果に基づき、SRD 試験の実施区分を制定した。［嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、仲山紀子、佐藤佳代子、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 30 年度のワクチン製造株である A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)(H1N1pdm09)、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186)(H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Maryland/15/2016(BX-69A)の 4 株のワクチンを含有するものを作製した。参照ワクチンの作製に使用する原液について HA 価測定及び分画試験を実施して原液の品質規格を確認した。また、SRD 試験によって原液の HA 含量を測定して、ウイルス株ごとに 15μg/ドーズの HA 抗原を含有する参照インフルエンザ HA ワクチンを調製した。得られた参照ワクチンについて、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（血液・安全性研究部）、持田恵子、蒲地一成、柴山恵吾（細菌第二部）、小田切孝人]

9. 標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)の作製

標準インフルエンザワクチン(CCA 価用)は毎年新規ロットを作製しているが、保存原液の力価が規格を逸脱したため年度内に新規ロット作製が困難となった。そのため、平成 27 年 11 月 6 日及び平成 28 年 12 月 13 日製造の標準ワクチンをワクチン製造所4所社と共同で再測定し、標準ワクチンの CCA 価が測定誤差の範囲内と判断し、安定性を確認したので、平成 29 年 10 月 26 日に製造した標準ワクチンを臨時的措置として使用期限を 35 ヶ月に延長した。[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. 2018/19 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

全国の医療機関、保健所および地衛研の協力をもとに A(H1N1)pdm09：372 株、A(H3N2)：375 株、B ビクトリア系統：152 株、B 山形系統：24 株について抗原性解析を行った。2018/19 シーズンの前半は、A(H1N1)pdm09 ウイルスが主流であったが、後半は、A(H3N2)ウイルスが大きく増加して A(H1N1)pdm09 ウイルスを上回った。B 型の流行は極めて小さかった。B ビクトリア系統と B 山形系統の比率は約 9:1 であった。抗原性解析では、解析した A(H1N1)pdm09 分離株の 9 割以上が、WHO ワクチン推奨株 A/Michigan/45/2015 の細胞分離株と類似していた。A(H3N2)は解析株の 9 割以上が今シーズンのワクチン株 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 の細胞分離株（サブクレード 3C.2a1）と類似していた。B ビクトリア系統のクレード 1A.1（2 アミノ酸欠損）に属するウイルスは、2018/19 シーズンのビクトリア系統 WHO ワクチン推奨株 B/Colorado/06/2017 に対する血清とよく反応したが、欠損を持たない流行株および 3 アミノ酸欠損流行株はこの血清に対する反応性が低い傾向にあった。B 山形系統の流行株は、そのほとんどが 2018/19 シーズンの山形系統ワクチン株 B/Phuket/3073/2013 の細胞分離株に抗原性が類似していた。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、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、小川理恵、三浦秀佳、森田博子、渡邉真治、小田切孝人、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所］

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 ナショナルインフルエンザセンターから 356 株（ラオス 150 株、ミャンマー116 株、ネパール 49 株、台湾 18 株、韓国 13 株、モンゴル 10 株）の分離株を入手し、抗原性解析を行なった。A(H1N1)pdm09 流行株は、WHO ワクチ推奨株 A/Michigan/45/2015 の類似株が主流を占めた。A(H3N2) 解析株はワクチン株 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 の細胞分離株（サブクレード 3C.2a1）の類似株が主流を占めた。B ビクトリア系統のクレード 1A.1（2 アミノ酸欠損）に属するウイルスは、2018/19 シーズンの B ビクトリア系統 WHO ワクチン推奨株 B/Colorado/06/2017 に対する血清とよく反応したが、欠損を持たない流行株および 3 アミノ酸欠損流行株はこの血清に対する反応性は低い傾向にあった。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、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、三浦秀佳、高下恵美、小川理恵、森田博子、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。中和試験を基本原理として派生した感染細胞巣減数試験（Focus reduction assay, FRA）について、オセルタミビルを用いて変異 NA によるウイルス感染性増強効果を抑えることで、 HA の抗原性評価の精度改善を見込める改良手法を樹立した。本改良手法によって 2018/19 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. 2018/19 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。全国の医療機関、保健所および地衛研の協力をもとに、本シーズンは A(H1N1)pdm09 亜型 371 株、A(H3N2) 亜型 375 株、B 型ビクトリア系統 149 株、B 型山形系統 23 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）内の 6B.1A（S74R, I295V, S164T）に属した。さらに、ほとんどの解析株は成熟 HA のアミノ酸の 183 番目に変異をもち、さらに複数の群（183P-1～183P-7）に分岐した。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 内で複数の群を形成した。多くは、それらの群の中で 3C.2a1（N121K, N171K, I406V, G484E）または 3C.2a2（T131K, R142K, R261Q）に属した。3C.2a1 は 3C.2a1a（T135K, G479E）と 3C.2a1b（K92R, H311Q）に分岐し、3C.2a1b ではさらに 3C.2a1b+135N 群、3C.2a1b+135K 群、3C.2a1b+131K 群が派生した。欧米で報告数が急増した 3C.3a に属するウイルスは、国内では検出されていない。B 型ビクトリア系統は全てクレード 1A（N75K, N165K, S172P）に属した。このクレードは 3 つの群に分岐した。すなわち、HA に欠損を持たない群（これまでのクレード 1A）、HA に 2 アミノ酸欠損を持つ群（成熟型 HA の 162 および 163 番目のアミノ酸欠損；クレード 1A.1）、または 3 アミノ酸欠損を持つ群（162～164 番目のアミノ酸欠損）に分岐した。山形系統は全てクレード 3（S150I, N165Y, N202S, S229D）内の L172Q, M251V に属した。データベース充実化のために、上述した株のうち 23%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、三浦秀佳、岸田典子、中村一哉、高下恵美、桑原朋子、森田博子、佐藤彩、小川理恵、秋元未来、渡邉真治、小田切孝人、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所］

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。2018/19 シ

ーズンには、オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビル、アマンタジンならびに新規薬剤バロキサビルの 6 薬剤を対象として、国内外の A(H1N1)pdm09、A(H3N2)および B 型分離株の薬剤感受性を解析した。その結果、日本国内では、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 A(H1N1)pdm09 で 0.8%（17/2,073 株）検出された。また PA 蛋白質に I38 耐性変異をもつバロキサビル耐性変異株が A(H1N1)pdm09 で 1.5%（5/325 株）、A(H3N2)で 9.4%（32/341 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。M2 蛋白質に S31N 耐性変異をもつアマンタジン耐性株の検出率は A(H1N1)pdm09 と A(H3N2)で共に 100%（188/188 株、155/155 株）であった。海外株では、耐性株は検出されなかった。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、森田博子、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、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所］

6. 2017/18 シーズンに国内において家きんおよび野鳥から分離された H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析

2017/18 シーズンは、国内では島根県、東京都、香川県及び兵庫県において H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの検出報告があった。島根県ではコブハクチョウ、東京都ではオオタカ、香川県では家禽、兵庫県ではカラスからウイルスが分離され、これらの分離株を受入れ、遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。遺伝子解析については、次世代シークエンサーを用いた全ゲノム解析を行った。遺伝子解析の結果、HA 遺伝子は、H5 HA クレード 2.3.4.4（subgroup b）に属した。香川県の株は、他の分離株と比較して、HA 遺伝子系統樹上、少し離れたグループに属し、2017/18 シーズンに韓国において分離された株と近縁であった。抗原性解析の結果から、当センターで所有している同クレードに属するワクチン製造候補株である NIID-001 株に対するフェレット抗血清にこれらの株は良く反応した。また、島根県コブハクチョウ分離株に対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を実施した。その結果、上記の分離株には良く反応したが、他の subgroup に属する株には反応しなかった。これらの解析結果は、WHO インフルエンザワクチン株選定会議において資料として活用された。

［有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、浅沼秀樹、岸田典子；内田裕子、西藤岳彦（動物衛生研究所）、伊藤壽啓（鳥取大学）、渡邉真治、小田切孝人］

7. 携帯品非加熱家きん肉から分離された H5, H7 型鳥インフルエンザウイルスの性状解析

農林水産省動物検疫所では、2015 年度より海外から携帯品として持ち込まれた未加熱家きん肉等の鳥インフルエンザウイルス汚染状況調査を実施している。そこで、当センターでは、これらの分離された鳥インフルエンザウイルス株の提供を受け、解析を実施した。今年度は、H5N1 亜型：2 株、H7N9 亜型：3 株、H7N3 亜型：1 株の分離株について遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。

1）H5N1 亜型（AQ-HE79 株、AQ-HE29-79 株）：AQ-HE79 株は中国で搭載された鶏肉から、AQ-HE29-79 株は台湾で搭載されたアヒル肉から分離された。AQ-HE79 株はクレード 2.3.2.1d、AQ-HE29-79 株はクレード 2.3.2.1c に属した。近縁のクレードに属するワクチン製造候補株である NIBRG-301 株に対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を実施した。その結果、AQ-HE79 株に対しては多少反応したが、AQ-HE29-79 株に対しては、あまり反応しなかった。さらに、AQ-HE29-79 株に対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を実施した結果、AQ-HE79 株には良く反応したが、NIBRG-301 株及びクレード 2.3.2.1 の他の group に属するレファレンス抗原にはあまり反応しなかった。

2）H7N9 亜型（AQ-HE28-3 株、AQ-HE29-22 株、AQ-HE29-52 株）及び H7N3 亜型（AQ-HE30-1 株）：すべての株は、中国で搭載されたアヒル肉から分離された。遺伝子解析の結果、AQ-HE28-3 株は、低病原性であり Yangtze River delta（YRD）系統、AQ-HE29-22 株及び AQ-HE29-52 株については、YRD 系統の高病原性株であった。また、H7N3 ウイルスの AQ-HE30-1 株についても YRD 系統の高病原性株であった。さらに AQ-HE30-1 株については、中国において分離報告されている HxN3 株の NA 遺伝子を有し、複数の株の遺伝子再集合（リアソータント）によって生じたウイル

スであることが分かった。H7N9 リファレンス株である A/Guangdong/17SF003/2016 株に対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を実施した。ワクチン製造候補株である IDCDC-RG56N 株及び A/Guangdong/17SF003/2016 株に対する抗血清は、AQ-HE28-3 株、AQ-HE29-22 株及び AQ-HE29-52 株については、良く反応したが、AQ-HE30-1 株については抗原性が多少異なった。そこで、AQ-HE30-1 株に対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を実施した結果、本抗血清は、低病原性株（AQ-HE28-3 株）また高病原性株（AQ-HE29-22 株、AQ-HE29-52 株）に対しても良く反応した。

これらの解析を実施することは、中国及び近隣諸国における発生株の性状を把握する上で非常に有益であると考えられる。これらの解析結果は、WHO インフルエンザワクチン株選定会議における資料として活用された。

［有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、浅沼秀樹、岸田典子；柴田明弘、尾坂優之（動物検疫所海外病検査課）、影山努、渡邉真治、小田切孝人］

8. インドネシア国においてヒトから分離された H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析

インドネシア国において 2017 年 9 月にヒトから分離された H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスがインドネシア NIHRD から分与された。本株は、インドネシア・バリ州・ペニダ島において 4 歳男子から採取された検体から分離された株である。遺伝子解析の結果、クレード 2.3.2.1e に属した。現時点において、クレード 2.3.2.1e に属するワクチン製造候補株は作製されていないため、クレード 2.3.2.1a または 2.3.2.1b に属するワクチン製造候補株（SJ007 株、SJ003 株）、2.3.2.1c に属するワクチン製造候補株である NIBRG-301 株、及びクレード 2.3.2.1c のレファレンス抗血清である A/duck/Japan/AQ-HE29-79/2017 株に対するフェレット抗血清を用いて HI 試験を実施した。その結果、これらのクレード 2.3.2.1 の株に対する抗血清に対して本ウイルス株は反応が悪く、抗原性が異なることが分かった。さらに、本株に対するフェレット抗血清を作製し、HI 試験を実施した結果、他のクレード 2.3.2.1 に属するレファレンス抗原に対して反応しなかった。これらの解析データは、ウイルス株提供国であるインドネシア国へ還元された。

［有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、浅沼秀樹、岸田典子；Vivi Setiawaty（NIHRD, Indonesia）、渡邉真治、小田切孝人］

9. 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］

10. 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 8 カ所の地方衛生研究所に依頼し、ブタの鼻腔あるいは気管から採取した拭い液を MDCK 細胞に接種して、ブタからのインフルエンザウイルス分離調査を行った。本年度は、2 ヵ所の地方衛生研究所から各 1 株のウイルスが分離され、それぞれ A(H1N1)pdm09、A(H1N2)亜型と同定された。また、全長ウイルス遺伝子配列を決定し、A(H1N2)ウイルスはヒトおよびブタインフルエンザウイルス間で遺伝子交雑が起こっていた事が確認された。［齊藤慎二、高山郁代、中内美名、小田切孝人、影山努］

11. 季節性インフルエンザウイルスの鶏卵分離

現行の季節性インフルエンザワクチン製造株は、臨床検体から発育鶏卵を用いて分離されたウイルスから開発されている。しかし、最近の季節性インフルエンザウイルス（特に A/H3N2）は鶏卵での分離効率が低下している。そこで、鶏卵で分離され、かつ、抗原性は市中流行株に近いウイルスの分離を試み、季節性ワクチン製造株の開発に資することを

目的とした。そのため、国内の医療機関から提供された臨床検体を発育鶏卵に接種し、ウイルス分離を試みた。その結果、計 79 株［A(H1N1)pdm09：30 株、A(H3N2)：21 株、B 型ビクトリア系統：4 株、B 型山形系統：24 株］のウイルスの分離に成功した。このうち、遺伝子解析および抗原性解析の結果を踏まえて、妥当と評価された4株をWHOのワクチン製造株開発機関に、ワクチン製造株の親株として提供した。各機関では提供した親株からワクチン製造株候補として高増殖リアソータントが開発された。

［鈴木康司、浜本いつき、有田知子、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、小田切孝人］

12. 季節性インフルエンザワクチン製造株候補の解析

11.の WHO 関連機関で開発された高増殖リアソータント 5 株に対し、遺伝子解析および抗原性解析（two-way test）を行い、ワクチン製造株候補としての妥当性を評価した。妥当性の基準は、親株および当該シーズンの WHO 推奨抗原的基準株（WHO 基準株）との抗原的同等性とした。対象とした高増殖リアソータントは、
(1)A/Tokyo/EH1608/2017(CBER-13)(H1N1)pdm09、
(2)A/KANAGAWA/ZC/1617(CBER-14A)(H3N2)、
(3)A/KANAGAWA/ZC/1617(CBER-14B)(H3N2)、
(4)A/Kanagawa/IC1618/2017(CBER-21)(H3N2)および
(5)A/Kanagawa/AC1709/2017(NYMCX-323)(H3N2)である。
(1)A/Tokyo/EH1608/2017(CBER-13)(H1N1)pdm09 は親株および 2018/19 シーズン北半球向け WHO 基準株(A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09)と抗原的に同等と評価された。(2)(3)同じ親株 A/Kanagawa/ZC1617/2017 (H3N2)(3C.2a1b)から開発された CBER-14A, CBER-14B に関しては、CBER14A は親株とは抗原的に同等と評価されたが、2018/19 シーズン北半球向け WHO 基準株(A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2))(3C.2a1)とは、抗原的に同等とは評価されなかった。CBER-14B は、親株及び基準株のいずれとも抗原的に同等と評価された。(4)A/Kanagawa/IC1618/2017(CBER-21)(H3N2)(3C.2a2) および A/Kanagawa/AC1709/2017 (NYMCX-323)(H3N2)(3C.2a2)は、それぞれの元株と2019シーズン南半球向けワクチン推奨株である A/Switzerland/8060/2017(H3N2) (3C.2a2)とは、抗原的に同等であったが、2018/19 シーズン北半球向け WHO 基準株(A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(H3N2)(3C.2a1))とは、抗原的には同等とは評価されなかった。2018/19 シーズンは、地域や時期により流行の主流となる A/H3N2 ウイルスのクレードが異なったため、抗原性解析も、当該シーズンの基準株と親株と同じクレードの基準株の双方を用いて行った［有田知子、浜本いつき、高橋仁、鈴木康司、渡辺佳世、信澤枝里、小田切孝人、］

ワクチンの安定供給に関する業務

1. 2019/20 シーズン用鶏卵培養季節性インフルエンザワクチン製造株候補の準備

2019/20 シーズン用ワクチン製造株の選定にあたり、下記製造株候補の輸入および SPF 卵を用いての増殖を行なった。
A(H1N1)pdm09：A/Tokyo/EH1608/2017(CBER-13)、
A/Brisbane/02/2018(IVR-190)
A(H3N2)：A/Kanagawa/ZC1617/2017(CBER-14A)、
A/Kanagawa/ZC1617/2017(CBER-14B)、A/Abu Dhabi/240/2018(CBER-25A)、A/Abu Dhabi/240/2018(CBER-25C)、A/Switzerland/3330/2017(NIB-110)、A/Switzerland/8086/2017(NIB-112)、A/Singapore/GP0454/2018(NIB-114)、A/Sydney/22/2018(NIB-115)、A/Brisbane/1/2018(X-311)、A/Brisbane/1/2018 (X-311A)、A/Wisconsin/4/2018 (X-319)、A/Wisconsin/4/2018(X-319A)、A/Kansas/14/ 2017(X-327)、A/Brisbane/192/2017(IVR-187)、
A/RhodeIsland/01/2018(IVR-188)

ワクチン製造所で増殖性、蛋白収量等の検討を行うため、A(H1N1)pdm09 を 1 株と A(H3N2)を 6 株を試験交付、A(H1N1)pdm09を2株とA(H3N2)を7株分与（仮交付）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、2019/20 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。［鈴木康司、渡辺佳世、有田知子、高橋仁、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/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (IVR-186)(H3N2) 、B/Phuket/3073/2013、B/Maryland/15/2016(BX-69A)）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。［嶋崎典子、原田勇一、仲山紀子、佐藤佳代子、板村繁之；楠英樹（血液・安全性研究部）、持田恵子（細菌第二部）、小田切孝人］

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

2018-19 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 2 株、A(H3N2)亜型 6 株の試験交付株、A(H1N1)pdm09 亜型 2 株、A(H3N2)亜型 7 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、仲山紀子、中村一哉、佐藤彩、信澤枝里、板村繁之、小田切孝人]

3. 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 の手法を基にした形で運用している。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、実験室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（バイオセーフティ管理室）、網康至、須崎百合子（動物管理室）、板村繁之、小田切孝人］

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、8 月にサンクトペテルブルクで開催された 7th 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 2016 年第 21 週から 2017 年第 20 週に検出された世界各国の 13,672 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 0.2%で、調査を開始した 2012/13 シーズン以降で最も低かった。［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クにおける流行株の 2 次元的抗原性分析への参加と協力

WHO 世界インフルエンザ監視対応システムメンバーである Cambridge 大学グループが開発した 2 次元的ウイルス抗原性分析法（Cartography 法）を用いて流行株の解析をするため、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型ウイルスの抗原解析データおよび遺伝子解析データを Cambridge 大学へ提供した。これらの成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定に貢献した。［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、国内

および日本周辺諸国から収集したウイルスの性状、薬剤耐性株の検出状況、ワクチン接種後の抗体保有状況、交差反応性などの情報提供をし、次年度のワクチン株選定を海外の WHO インフルエンザ協力センターと共に行った。

7月に「第12回西太平洋－東南アジア地域 国立インフルエンザセンター会議」に出席し、WHO 協力センターと国立インフルエンザセンターの関係の再確認、および WHO 協力センターの役割の再認識と今後の方向性について議論した。［渡邉真治、藤崎誠一郎、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. 台湾 CDC 研究者に対する遺伝子解析の技術研修

次世代シークエンサーMinION を用いた遺伝子解析技術の習得を目的として、2018 年 11 月 19 日と 22 日の 2 日間研修を行った。MinION 機器およびサンプル調製の説明と、得られたデータの解析手法について講義を行なった。［藤崎誠一郎；鈴木仁人（薬剤耐性研究センター）］

7. 国際協力機構(JICA)研修への参画

JICA 主催の「ベトナム国 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」研修に講師として参画し、インフルエンザの診断および検査外部精度評価について講義を行った。[影山努]

8. 国立保健医療科学院研修への参画

国立保健医療科学院主催の「平成 30 年度短期研修 ウイルス研修」に講師として参画し、鳥インフルエンザウイルスの流行状況および検査外部精度評価について講義を行った。[影山努]

9. 国際協力機構(JICA)研修への参画

JICA 主催の「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）」研修に講師として参画し、鳥インフルエンザウイルスの流行状況および検査診断について講義を行った。[影山努]

10. 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 30 年 8 月にサンクトペテルブルクで開催された 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 に出席し、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］

11. 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継続して実施した。［中内美名］

12. 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］

13. インフルエンザワクチンの品質管理に関する WHO 関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

WHO ERL の一員として 6 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]

研修業務

1. 平成 30 年度国立保健医療科学院ウイルス研修における講義および赤血球凝集抑制試験の技術研修

平成 30 年 11 月 19 日に当該研修参加の地衛研職員を対象にインフルエンザウイルスの講義を行った。また同 20 日に赤血球凝集抑制試験の技術研修を行った。[岸田典子、中村一哉、佐藤彩、白倉雅之、渡邉真治、小田切孝人]

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 14 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 法を用いたインフルエンザ遺伝子検査実習を行った。特に研修では、喀痰検体の処理方法、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。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、各所でトラブルシューティングを実施してもらい、結果に対する助言を行った。また、EQA の事後研修を実施し、各所とトラブルシューティングの結果を共有して、検疫所におけるインフルエンザウイルスの遺伝子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.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]

5. 日中医学協会主催「JICA 2018 年度国別「感染症予防及び対策」コース本邦研修」への参画

平成 30 年 12 月にインフルエンザ動物モデル、ワクチン、診断と治療に関する講習や所内見学を行った。[浅沼秀樹、影山努、鈴木康司]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1. Uda K, Shoji K, Koyama-Wakai C, Furuichi M, Iwase N, Fujisaki S, Watanabe S, Miyairi I. Clinical characteristics of influenza virus-induced lower respiratory infection during the 2015 to 2016 season. J Infect Chemother. 24:407-413, 2018.
2. Yoshihara K, Le MN, Toizumi M, Nguyen HA, Vo HM, Odagiri T, Fujisaki S, Ariyoshi K, Moriuchi H, Hashizume M, Dang DA, Yoshida LM. Influenza B associated paediatric acute respiratory infection hospitalization in central vietnam. Influenza Other Respir Viruses. 13:248-261, 2019.
3. Kawakami C, Yamayoshi S, Akimoto M, Nakamura K, Miura H, Fujisaki S, Pattinson DJ, Shimizu K, Ozawa H, Momoki T, Saikusa M, Yasuhara A, Usuku S, Okubo I, Toyozawa T, Sugita S, Smith DJ, Watanabe S, Kawaoka Y. Genetic and antigenic characterisation of influenza A(H3N2) viruses isolated in Yokohama during the 2016/17 and 2017/18 influenza seasons. Euro Surveill. 24, 2019.
4. Kuwahara T, Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Takahashi H, Suzuki N, Kawaoka Y, Watanabe S, Odagiri T. Isolation of an Egg-Adapted Influenza A(H3N2) Virus without Amino Acid Substitutions at the Antigenic Sites of Its Hemagglutinin. Jpn J Infect Dis. 71:234-238, 2018.
5. Lackenby A, Besselaar TG, Daniels RS, Fry A, Gregory V, Gubareva LV, Huang W, Hurt AC, Leang SK, Lee RTC, Lo J, Lollis L, Maurer-Stroh S, Odagiri

T, Pereyaslov D, Takashita E, Wang D, Zhang W, Meijer A. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and status of novel antivirals, 2016-2017. Antiviral Res. 157:38-46, 2018.

6. Takashita E, Morita H, Ogawa R, Nakamura K, Fujisaki S, Shirakura M, Kuwahara T, Kishida N, Watanabe S, Odagiri T. Susceptibility of Influenza Viruses to the Novel Cap-Dependent Endonuclease Inhibitor Baloxavir Marboxil. Front Microbiol. 9:3026, 2018.
7. Takashita E, Kawakami C, Morita H, Ogawa R, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of influenza A(H3N2) viruses exhibiting reduced susceptibility to the novel cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir in Japan, December 2018. Euro Surveill. 24:1800698, 2019.
8. Takashita E, Kawakami C, Ogawa R, Morita H, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Ota A, Togashi H, Saito A, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Odagiri T. Influenza A(H3N2) virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a polymerase acidic subunit I38T substitution detected from a hospitalised child without prior baloxavir treatment, Japan, January 2019. Euro Surveill. 24:1900170, 2019.
9. Tanikawa T, Uchida Y, Takemae N, Tsunekuni R, Mine J, Liu MT, Yang JR, Shirakura M, Watanabe S, Odagiri T, Saito T. Pathogenicity of two novel human-origin H7N9 highly pathogenic avian influenza viruses in chickens and ducks. Arch Virol. 164: 535-545, 2018.
10. Shibata A, Harada R, Okamatsu M, Matsuno K, Arita T, Suzuki Y, Shirakura M, Odagiri T, Takemae N, Uchida Y, Saito T, Sakoda Y, Osaka H. Characterization of a novel reassortant H7N3 highly pathogenic avian influenza virus isolated from a poultry meat product taken on a passenger flight to Japan. J Vet Med Sci. 81: 444-448, 2019.
11. Ackerman EE, Kawakami E, Katoh M, Watanabe T, Watanabe S, Tomita Y, Lopes TJ, Matsuoka Y, Kitano H, Shoemaker JE, Kawaoka Y. Network-Guided Discovery of Influenza Virus Replication Host Factors. MBio. 9: e02002-18, 2018.
12. Saito S, Nakauchi M, Takayama I, Nagata S, Odagiri T, Kageyama T. Development and evaluation of new real-time RT-PCR assays for identifying the influenza A virus Cluster IV H3N2 variant. Jpn J Infect Dis. 25;72(2):127-129, 2019.
13. Saito S, Takayama I, Nakauchi M, Nagata S, Oba K, Odagiri T, Kageyama T. Development and evaluation of a new real-time RT-PCR assay for detecting the latest H9N2 influenza viruses capable of causing human infection. Microbiol Immunol. 63(1): 21-31, 2019.
14. Saito S, Sano K, Suzuki T, Ainai A, Taga Y, Ueno T, Tabata K, Saito K, Wada Y, Ohara Y, Takeyama H, Odagiri T, Kageyama T, Ogawa-Goto K, Multihartina P, Setiawaty V, Pangesti KNA, Hasegawa H. IgA tetramerization improves target breadth but not peak potency of functionality of anti-influenza virus broadly neutralizing antibody. PLoS Pathog. 3;15(1):e1007427, 2019.
15. Nakauchi M, Nagata N, Takayama I, Saito S, Kubo H, Kaida A, Oba K, Odagiri T, Kageyama T. Propagation of Rhinovirus C in Differentiated Immortalized Human Airway HBEC3-KT Epithelial Cells. Viruses. 11(3), E216, 2019.
16. Nakauchi M, Takayama I, Takahashi H, Semba S, Saito S, Kubo H, Kaida A, Oba K, Nagata S, Odagiri T, Kageyama T. Development of real-time fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for rhinovirus detection. J Med Virol. 91:1232-1238, 2019.
17. Takayama I, Nakauchi M, Takahashi H, Oba K, Semba S, Kaida A, Kubo H, Saito S, Nagata S, Odagiri T, Kageyama T. Development of real-time fluorescent

reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay with quenching primer for influenza virus and respiratory syncytial virus. J Virol Methods. 267:53-58, 2019.

18. Shirato K, Semba S, El-Kafrawy S, Hassen A, Tolah A, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Kamitani W, Matsuyama S, Azhar E. 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. 258:41-48, 2018.
19. Shimasaki N, Okaue A, Kikuno R, Shinohara K. Comparison of the Filter Efficiency of Medical Nonwoven Fabrics against Three Different Microbe Aerosols. Biocontrol Sci., 23, p61-69, 2018.
20. Sato K, Takahashi Y, Adachi Y, Asanuma H, Ato M, Tashiro M, Itamura S. Efficient protection of mice from influenza A/H1N1pdm09 virus challenge infection via high avidity serum antibodies induced by booster immunizations with inactivated whole virus vaccine. Heliyon 5 (2019) e01113, 2018.
21. Hitoshi Takahashi, Shiho Nagata, Takato Odagiri, Tsutomu Kageyama. Establishment of the cross-clade antigen detection system for H5 subtype influenza viruses using peptide monoclonal antibodies specific for influenza virus H5 hemagglutinin. *Biochemical and biophysical research communications*, 498(4):758-763, 2018.
22. Sun, L., Kono, N., Toh, H., Xue, H., Sano, K., Suzuki, T., Ainai, A., Orba, Y., Yamagishi, J., Hasegawa, H., Takahashi, Y., Itamura, S., Ohnishi, K. Identification of Mouse and Human Antibody Repertoires by Next-Generation Sequencing. J. Vis. Exp. (145), e58804, 2019.
23. Hiradate Y, Sasaki E, Momose H, Asanuma H, Furuhata K, Takai M, Aoshi T, Yamada H, Ishii KJ, Tanemura K, Mizukami T, Hamaguchi I. Development of screening method for intranasal influenza vaccine and adjuvant safety in preclinical study. Biologicals, Sep;55:43-52, 2018.

2. 和文発表

1. 高下恵美 ザナミビル, ラニナミビルの耐性は出るのでしょうか？インフルエンザ診療、ガイド 2018-19. 181-183, 2018.
2. 菅谷憲夫、高下恵美、河岡義裕 バロキサビル、マルボキシルについて。インフルエンザ、20:7-12, 2019.
3. 高下恵美 RNA ポリメラーゼ阻害薬について:基礎的な観点から。インフルエンザ、20:17-21, 2019.
4. 高下恵美、森田博子、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、秋元未来、佐藤彩、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人、川上千春、清水耕平、小澤広規、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、三田村敬子、安倍隆、市川正孝、山崎雅彦、全国地方衛生研究所 新規抗インフルエンザ薬バロキサビル、マルボキシル耐性変異ウイルスの検出。病原微生物検出情報、40:30-31, 2019.
5. 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、森田博子、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 2017/18 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、39:184-189, 2018.
6. 渡邉真治 近年のインフルエンザの動向と抗インフルエンザ薬の耐性状況。医薬ジャーナル、54:2197-2202, 2018.
7. 渡邉真治 インフルエンザワクチン ～ウイルス株の選ばれ方～。外来小児科、21:391-396, 2018.
8. 渡邉真治 季節性インフルエンザの特徴。臨牀と研究、95:1186-1190, 2018.
9. 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、39(11) 200-202, 2018.
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.
11. 佐藤佳代子、田代眞人、板村繁之 TLR9 アゴニストはインフルエンザワクチンのブースター免疫において

ウイルス特異的抗体の親和性と ADCC 活性を増強する。臨床免疫・アレルギー科、70(4):325-30, 2018.

12. 浅沼秀樹、伊保澄子、藤橋浩太郎 CpG-ODN 併用経鼻インフルエンザワクチンの有効性と分泌型 IgA 抗体の重要な役割。臨床免疫・アレルギー科、70(4): 345-50, 2018.
13. 浅沼秀樹、立石恒一朗、伊保澄子 新規経鼻アジュバント CpG ODN G9.1 のインフルエンザワクチンとしての有効性と安全性。炎症と免疫、2019 年 3 月号 (Vol.27 No.2).

Ⅱ. 学 会 発 表

1．国際学会

1. Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Nakamura K, Kuwahara T, Kishida N, Sato H, Watanabe S, Odagiri T. In vitro characterization of multidrug-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses carrying a dual amino acid substitution associated with reduced susceptibility to neuraminidase inhibitors. 17th Negative Strand Virus Meeting, Verona, Italy, June 2018.
2. Kuwahara T, Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Takahashi H, Suzuki N, Kawaoka Y, Watanabe S, Odagiri T. Isolation of egg-adapted influenza A(H3N2) virus without amino acid substitutions in the antigenic sites of its hemagglutinin. 17th Negative Strand Virus Meeting, Verona, Italy, June 2018.
3. Takahashi T, 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. 17th Negative Strand Virus Meeting 2018, Verona, Italy, June 2018.
4. 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. 17th Negative Strand Virus Meeting, Verona, June 2018.
5. Shirato K, Semba S, Sherif A. El-Kafrawy, Ahmed M. Hassan, Ahmed M. Tolah, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Kamitani W, Matsuyama S, Esam Ibraheem Azhar. Development of Fluorescent Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) using Quenching Probes for the Detection of the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. American Society for Virology 2018 Annual Meeting, Maryland. 14-18 July 2018.
6. Hashimoto K, Norito S, Sakuma H, Suzuk S, Shirato K, Kageyama T, Takeda M, Hosoya M. Detection of RS virus and multiple respiratory viruses in inpatients with respiratory tract infection by direct real-time RT-LAMP. 11th International Respiratory Syncytial Virus Symposium. Asheville 31 October - 4 Novmber 2018.
7. Takashita E, Morita H, Ogawa R, Nakamura K, Fujisaki S, Shirakura M, Kuwahara T, Kishida N, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Odagiri T. Susceptibility of influenza viruses to the novel cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir marboxil. 6th isirv Antiviral Group Conference. Washington DC, USA. November 2018.
8. Kayoko Sato, Hideki Asanuma, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Shigeyuki Itamura : Establishment of in vitro assays for the potency of the influenza vaccines based on the macrophage activations. 6th International Influenza Meeting, Munster, Germany, September 2018.
9. Hideki Asanuma, Akira Ainai, Makoto Ujike, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Shinji Watanabe, Noriyo Nagata, Hideki Hasegawa, Takato Odagiri, Masato Tashiro. Increased pathogenicity in mice of a mouse-adapted influenza H7N9 virus was associated with delayed host innate immune responses. 6th International Influenza Meeting, Munster, Germany, September 2018.
10. Jun-ichi Maeyama, Hideki Asanuma, Daisuke Hayashi, Fumiko Suzuki, Yuriko Ozeki, Matsumoto Sohkichi, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto. A novel phosphodiester backbone oligodeoxynucleotide promotes vaccine ability to tuberculosis and Flu. 12th Vaccine Congress,

Budapest, Hungaryn, September 2018.

2. 国内学会

1. 渡邉真治、桑原朋子、高下恵美、白倉雅之、藤崎誠一郎、三浦秀佳、秋元未来、中村一哉、岸田典子、佐藤彩、小川理恵、菅原裕美、小田切孝人　鶏卵分離埼玉株 NA で認められたアミノ酸変異の生物学的意義。第 32 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、香川、2018 年 6 月
2. 信澤枝里　細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化への取り組み。第 32 回インフルエンザ研究者交流の会、香川、2018 年 6 月
3. 高下恵美　インフルエンザウイルスのグローバルサーベイランス。第 19 回インフルエンザ研究会、新宿、2018 年 9 月
4. 信澤枝里　細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化への取り組み。名市大細菌学セミナー、名古屋、2018 年 10 月
5. Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Nakamura K, Kuwahara T, Kishida N, Sato H, Watanabe S, Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. In vitro characterization of multidrug-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses carrying a dual amino acid substitution. 第 66 回日本ウイルス学会、京都、2018 年 10 月
6. Watanabe S, Nakamura K, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Kishida N, Sato A, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sugawara H, Watanabe K, Morita H, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Odagiri T, The Influenza Surveillance Group of Japan. Characterizations of circulating influenza viruses in the 2017/18 season and selection of vaccine viruses for the 2018/19 season. 第 66 回日本ウイルス学会、京都、2018 年 10 月
7. Kisu T, Ito H, Hagiwara A, Watanabe O, Kadji FMN, Sato K, Omiya S, Takashita E, Nobusawa E, Nishimura H. Induction of neuraminidase inhibitory antibody in recipients of an influenza split vaccine. 第 66 回日本ウイルス学会、京都、2018 年 10 月
8. 齊藤慎二、Vu Thi Tuong Van、Nguyen Gia Binh、Phuong Truong Thai、古屋博行、高山郁代、Pham Thi Phuong Thuy、Thanh Do Van、Dao Xuan Co、Phuong Phan Thu、Do Duy Cuong、Le Thi Ngan、Bui Minh Vuong、Le Trung Dung、新城雄士、小田切孝人、中島典子、影山努. Respiratory pathogen detection and prognosis in hospitalized adult patient with acute respiratory infection in Bach Mai Hospital in Vietnam. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
9. Nakauchi M, Takayama T, Saito S, Nagata N, Kaida A, Kubo H, Oba K, Kageyama K, Odagiri T. Propagation of human rhinovirus C in differentiated immortalized human airway epithelial cells. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
10. Takayama I, Nguyen GB, Vu TTV, Truong TP, Thanh DV, Pham TPT, Fujisaki S, Odagiri T, Kageyama T, Nakajima N. Analysis of genetic dynamics of influenza A(H1N1)pdm09 viruses in upper and lower respiratory tracts using next-generation sequencing. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
11. 佐野芳、齊藤慎二、小谷 治、Elly van Riet、相内章、田畑耕史郎、高橋宜聖、横山勝、佐藤裕徳、鈴木忠樹、長谷川秀樹　Analysis of escape mutant viruses of an intranasal influenza vaccine-derived broadly neutralizing antibody clone. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
12. Takahashi H, Nagata S, Odagiri T, Kageyama T. Preparation of monoclonal antibodies to detect multiple clades of influenza A/H5 viruses. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
13. Noriko Shimasaki, Takato Odagiri, Shigeyuki Itamura: Development of antigen-capture ELISA to measure the HA content of two influenza B vaccine viruses included in quadrivalent influenza vaccine. 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月
14. Hamamoto I, Takahashi H, Mizuta K, , Odagiri T, Nobusawa E.Susceptibility of NIID-MDCK cells to human parainfluenza virus type 3 (HPIV3) in the presence of influenza virus. . 第 66 回日本ウイルス学会学術集会、京都、2018 年 10 月

15. 田畑耕史郎、鈴木忠樹、佐野芳、齊藤慎二、藤井信、齋藤訓平、原田陽介、相内章、長谷川秀樹 Secretory component による四量体分泌型 IgA 抗体形成促進の分子機構解析。第 41 回日本分子生物学会年会、横浜、2018 年 11 月
16. 佐野芳、齊藤慎二、小谷治、相内章、Elly van Riet、田畑耕史郎、高橋宜聖、横山勝、佐藤裕徳、鈴木忠樹、長谷川秀樹 経鼻ワクチンにより誘導された抗インフルエンザ HA ステム抗体のウイルス感染防御機構。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018 年 12 月
17. 佐藤佳代子、浅沼秀樹、板村繁之 ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能を指標とした新たなインフルエンザウイルスのワクチン力価定量法の構築。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018 年 12 月
18. 信澤枝里 細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化への取り組み。第 22 回日本ワクチン学会学術集会、神戸、2018 年 12 月
19. Kayoko Sato, Hideki Asanuma : Priming immunization with whole-virion influenza vaccines is essential for induction of ADCC activities of virus-specific antibodies. 第 47 回日本免疫学会学術集会、福岡、2018 年 12 月
20. Koichiro Tateishi, Kayoko Sato, Eita Sasaki, Takuo Mizukami, Junichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Norio Yamamoto, Kohtaro Fujihashi, Hideki Asanuma. 第 47 回日本免疫学会学術集会、福岡、2018 年 12 月
21. 高下恵美、森田博子、小川理恵、中村一哉、藤崎誠一郎、白倉雅之、桑原朋子、岸田典子、三浦秀佳、秋元未来、佐藤彩、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人 新規抗インフルエンザ薬バロキサビルマルボキシルに対する耐性株サーベイランス。8th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄、2019 年 1 月
22. 信澤枝里 細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化への取り組み。8th Negative Strand Virus-Japan. 沖縄、2019 年 1 月
23. 佐藤佳代子、浅沼秀樹 インフルエンザワクチン特異的 ADCC 抗体の産生誘導には全粒子ワクチン初回免疫が必要である。第 12 回次世代アジュバント研究会、大阪、2019 年 1 月
24. 立石恒一朗、佐藤佳代子、佐々木永太、水上拓郎、前山順一、伊保澄子、山本三郎、山本典生、藤橋浩太郎、浅沼秀樹 CpG-ODN G9.1 の経鼻インフルエンザワクチンにおける有効と安全性の評価。第 12 回次世代アジュバント研究会、大阪、2019 年 1 月
25. 影山努 鳥・ブタ由来インフルエンザウイルスの国内外の流行状況。平成 30 年度 希少感染症診断技術研修会、東京、2019 年 2 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。センターは従来、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)、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)から構成されていたが、4 月 1 日に第八室が真菌研究室として増設された。今年度には第一室、第二室に加え、第三室、第五室に職員を配置することができた。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。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。第三室では医療、食品、環境など幅広い分野でワンヘルス(One Health)アプローチを通して薬剤耐性病原体の総合的な調査研究を行う。第五室ではメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)，バンコマイシン耐性腸球菌、ハンセン病等抗酸菌感染症、その他急性呼吸器感染症などの市中感染症に由来する薬剤耐性に関する調査研究を行う。

平成 30 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。第一室では秋から感染症疫学センターと協働で感染症発生動向調査の報告対象とされる薬剤耐性菌感染症(特にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症)について病原体サーベイランスデータと患者情報データを突合させ集積疑い事例について検討するリスクアセスメントを開始した。また二室・三室・五室が中心となり JANIS 参加機関に呼びかけて病原体(第3世代セファロスポリン耐性大腸菌、第3世代セファロスポリン耐性肺炎桿菌、カルバペネム低感受性腸内細菌科細菌、カルバペネム低感受性アシネトバクター属菌、黄色ブドウ球菌)の収集 Japan Antimicrobial Resistant Bacterial Surveillance (JARBS)を開始した。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。設備としてはハンセン病研究センター旧標本室(約 110 平米)を改修し、700L フリーザー20 台が稼動できる電源、エアコンを整備し、薬剤耐性菌バンク棟として利用する準備を整えた。

人事では平成 30 年 6 月 15 日に于連升が、11 月 1 日に平林亜希が研究員として、12 月 2 日に久恒順三、鹿山鎭男が主任研究官として着任した。また平成 30 年 9 月 30 日に筒井敦子研究員が退職した。

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 76 株(菌種内訳:*Acinetobacter baumannii* 29 株、*Acinetobacter* sp. 1 株、*Citrobacter* sp. 1 株、*Klebsiella aerogenes* 1 株、*Enterobacter asburiae* 1 株、*Enterobacter cloacae* 6 株, *Enterococcus faecium* 24 株、*Enterococcus raffinosus* 1 株、*Escherichia coli* 5 株、*Klebsiella pneumoniae* 2 株、*Serratia marcescens* 5 株)とDNA プラグ等の菌体DNA 168 株(菌種内訳:*C. freundii* 8 株、*Citrobacter* sp. 1 株、*K. aerogenes* 9 株、*E. cloacae* 46 株、*Enterobacter* sp. 2 株、*E. coli* 38 株、*K. oxytoca* 4 株、*K. pneumoniae* 47 株、*Pantoea* spp. 2 株、*Providencia rettgeri* 1 株、*Salmonella* sp. 1 株、*S. marcescens* 9 株)について、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、久恒順三、甲斐久美子、鹿住裕子、菅井基行,(以下 病原体ゲノム解析研究センター)関塚剛史、黒田誠]

2. 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、418 株に由来するプラスミドゲノム DNA(775 サンプル)及び全ゲノム DNA(418 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、黒田誠]

3. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌サーベイランス集計・評価方法に関する研究

2017 年 3 月の通知に基づき開始されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）病原体サーベイランスデータを CRE 感染症患者報告データと統合解析し、CRE サーベイランス集計・評価方法の検討を行った。CRE に占めるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）の割合や CPE の菌種には地域差があることが明らかとなった。ただし、CRE 病原体サーベイランスの実施状況には地域差があった。CPE の流行状況の把握には継続的かつ全国的サーベイランスが必要と考えられ、今後も情報還元や検査精度向上の取り組みをすすめることとした。[川上千晶（感染症疫学センターFETP）、松井真理、鈴木里和、菅井基行]

4. 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

E. cloacae complex におけるカルバペネマーゼは日本分離株では IMP-1 が、台湾分離株では IMP-8 が主流である。それぞれの 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 の主要な菌種および ST は異なっていた。また、bla_{IMP} を保有する IncHI2 プラスミドが共通していたため、、bla_{IMP} の周辺構造とともに比較したところ、異なるインテグロン構造に担われており、またプラスミドの相同性も比較的低いことからそれぞれ独自に進化してきたものと推測された。[鈴木里和、松井真理,（以下、病原体ゲノム解析研究センター）関塚剛史、黒田誠]

5. アシネトバクター属菌のカルバペネム耐性機構に関する研究

アシネトバクター属におけるカルバペネマーゼ遺伝子の伝播様式を検討するため、獲得型カルバペネマーゼ遺伝子（OXA-23 型、OXA-58 型、IMP 型）保有カルバペネム耐性アシネトバクター属菌（菌種内訳：*Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis*, *Acinetobacter ursingii*）計 42 株を対象に、S1-PFGE にて染色体 DNA とプラスミド DNA を分離したのち、全塩基配列解読を実施した。IMP 型カルバペネマーゼ遺伝子は、全ての解析対象株においてプラスミド上に存在することが示唆されたが、OXA-23 型カルバペネマーゼ遺伝子は一部の株を除き解読したプラスミド DNA 上に検出されず、染色体上に存在することが示唆された。詳細な比較解析を引き続き実施することとした。[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、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、長崎大学・J-GRID ベトナム拠点、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)、中国・華南農業大学、中国・広東省疾病預防控制中心 (広東省 CDC) などと連携し、アジア諸国のヒト・動物・環境から分離されたカルバペネム耐性もしくはコリスチン耐性のグラム陰性細菌株のゲノム疫学解析と新規検査法の開発を行った。[鈴木仁人、平林亜希、于連升、柴山恵吾、菅井基行]

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

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開発を行なった。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と新規抗菌素材への応用を行なった。フロムシード株式会社および東北大学多元物質科学研究所との共同研究で、抗生物質ペンテノマイシンの機能解析と新規誘導体の開発を行なった。[鈴木仁人、成瀬秀則 (協力研究員)、平林亜希、柴山恵吾]

8. 日本の下水における薬剤耐性菌サーベイランス調査

日本の下水処理場から採取した下水を用いたサーベイランス調査を行う。第一歩として、広島にある下水処理場から下水を収集し、薬剤耐性菌選択分離培地により基質特異性拡張型βラクタマーゼ（Extended spectrum β-lactamases : ESBLs）産生大腸菌、カルバペネム耐性菌、バンコマイシン耐性菌の分離を実施した。ESBL 産生大腸菌のゲノム解析を行った。[鹿山鎭男、于連升、川上小夜子、島川宏一、菅井基行]

9. 市中薬剤耐性菌の研究

薬剤耐性菌ナショナル・サーベイランス（JANIS, Japan Antimicrobial Resistant Bacterial Surveillance)において、「血液由来黄色ブドウ球菌の病原性解析と臨床応用に関する研究」の医療機関からの収集の準備および公式ガイドブックの作成を遂行した。

国内の医療機関より解析依頼されたブドウ球菌および腸球菌の遺伝子解析を実施して報告した。

AMED-CREST 慶應大 天谷班との共同研究において、アトピー性皮膚炎由来の黄色ブドウ球菌のゲノム解析を継続し

て実施した。また、慶應大とJSR株式会社と共同で特許申請の手続きを行った。

[久恒順三、鹿山鎮男、于連升、川上小夜子、島川宏一、菅井基行]

Ⅱ. 院内感染に関する研究

1. 国内の臨床検体より分離される *Bacillus* spp.の分子疫学解析

過去の国内の院内感染事例より分離された *B. cereus* の解析により、重篤な院内感染事例と ST1420 との関連が示唆された。2017 年から 2018 年度末にかけ、研究協力医療機関 3 施設の臨床検体から分離されるすべての *Bacillus* 属の解析を実施したところ *Bacillus* 属における *B. cereus* は、2017 年は 2 施設の 182 株中 31 株(17%)であったが、2018 年は 3 施設の 204 株中 14 株（7%）と減少した。これらの医療機関では院内感染を疑わせる症例の集積はなく、*B. cereus* については全ゲノム解析を実施したが、ST1420 に該当する株はなかった。[鈴木里和]

Ⅲ. 抗生物質の品質管理に関する研究

日本薬局方抗生物質標準品の安定的供給体制を確立するため、異なる製造機関においても同等の品質の標準品を製造できるよう、品質評価法の標準化手法の検討を行った。抗生物質の力価制定に重要な影響がある水分含量については、その品目別の特性を体系的に計測し解析する一方で、長期保存時における品質の安定性については、NMR を用いた評価法の開発を実施した。微生物学的力価測定法を用いる品目についてはより高精度の機器を導入した阻止円径測定手法の日本薬局方収載に向けた基礎データを整備し、新規導入予定の機器では従来の機器に比べ 1-2%程度低く力価が算定される傾向が明らかとなった。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、近田俊文]

Ⅳ. サーベイランスデータを用いた研究

1. WHO サーベイランス（GLASS）に準拠した検体別集計プログラム開発

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 データベースから各菌種の薬剤感受性に関するデータを GLASS に準拠し集計するプログラムの開発を、昨年度に引き続き行った。特に、GLASS の求める、薬剤感受性未測定回数を各菌種・薬剤の組み合わせごとに算出する機能を開発した。このプログラムで集計したデータを初めて GLASS に提出し、受理させることが出来た。このプログラムをさらに改良し、同一患者から同一菌種が複数分離された場合の重複処理を、GLASS に準拠し、検体ごとに該当菌種の最初の株を選択して実施する機能も開発した。また、このプログラムで 2011 年以降の年次集計を行い、その結果を国立国際医療研究センターAMR 臨床リファレンスセンターに提供することで、同センターの web サイト（ワンヘルスプラットフォーム）にて耐性菌の分離状況のグラフを掲載、公開できるよう環境整備を行った。[矢原耕史、柴山恵吾]

2. 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。民間会社 2 社からサンプルデータの提供を受け、拡張 JANIS フォーマットへのデータ変換プログラムを開発した。また黄色ブドウ球菌他 5 菌種を対象に全国・地域別のアンチバイオグラムを作成する準備を進めた。[筒井敦子、矢原耕史、島川宏一、柴山恵吾]

3. 社会における薬剤耐性菌の伝搬様式の解明

イミペネムに感性、メロペネムに耐性を示すことの多いカルバペネマーゼ IMP-6 型耐性遺伝子をもつ腸内細菌科細菌の広がりが問題となっている。JANIS に収集されたデータから大腸菌と肺炎桿菌について、イミペネムに感性かつメロペネムに耐性の株の割合を 2015-2017 年の各年で算出し、その分離頻度を都道府県レベルで明らかにした。今後は都道府県毎の JANIS 参加率や抗菌薬使用量等との関連を回帰モデルで探る予定である。［平林亜希、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行］

4. J-SIPHE と JANIS の連携ツール開発

厚生労働省委託事業 AMR 臨床リファレンスセンターが主体となり、医療機関での AMR 対策に活用できるシステム J-SIPHE (Japan Surveillance for Infection Prevention and Healthcare Epidemiology) が稼働、運用された。本システムは全国の医療機関から医療関連感染の発生状況や主要な細菌や薬剤耐性菌の発生状況などの情報を集約させ、活用することを目的としている。参加医療機関は、JANIS の還元情報を毎月 J-SIPHE に登録するが、利便性の向上のため J-SIPHE 側のシンプルな操作で JANIS から対象 CSV を J-SIPHE に登録できるプログラムを開発することを予定している。平成 30 年度はそのための技術上の課題を整理した。［矢原耕史、柴山恵吾］

5. 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、淋菌のゲノム解読に基づくサーベイランスデータの解析に、

昨年度に引き続き取り組み、成果の論文および学会発表を行った。さらに、日本から世界に拡散したと考えられているセファロスポリン低感受性系統に注目し、日本で最初に分離された耐性株 3 株と、それと系統的に近い感受性株1株のゲノムを解読し、そのゲノム・耐性遺伝子の起源と進化・拡散に関する研究を進めた。[矢原耕史、平林亜希]

6. 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））。[矢原耕史、柴山恵吾]

レファレンス業務

Ⅰ. 薬剤耐性菌関係

1. 薬剤耐性菌解析のための陽性コントロール DNA 及び標準作業手順書の提供

地方衛生研究所等における薬剤耐性菌検査体制構築支援のため、各種 β-ラクタマーゼ遺伝子、バンコマイシン耐性遺伝子の PCR 解析のための陽性コントロール DNA、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. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌病原体サーベイランス

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、報告データを集計し、結果を病原微生物検出情報（IASR）で公開した。また、患者情報システムを取り扱う感染症疫学センターと毎週電話会議を行い、両サーベイランスデータのリスク評価及び活用方法の検討を行った。2018 年 10 月 30 日～2019 年 3 月 31 日の 19 回の会議で、95 事例のリスク評価を行い、うち 55 例（58%）はリスク評価後に自治体に対応を確認した。[松井真理、鈴木里和、菅井基行、（以下　感染症疫学センター）山岸拓也、島田智恵、（以下　感染症疫学センターFETP）川上千晶、柿本健作]

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 31 年 1 月時点で参加医療機関数は 2261 施設となった。検査部門の主要菌の抗菌薬感受性について従来は入院検体のみであったが 2017 年度分から外来検体の集計、公開を開始した。また、JANIS 運営会議の審議結果に従い、呼吸器検体および尿検体での分離数割合の追加、*S. aureus* 全体のアンチバイオグラムの追加を行い、集計株数が 30 以下のアンチバイオグラムは公開情報で非表示に、「主要菌」から *S. marcescens* を削除し、*Enterobacteriaceae* を追加、MRSA の判定基準に CFX を追加、キノロン耐性判定基準から GFLX を削除、第三世代セファロスポリン耐性大腸菌及び肺炎桿菌の判定基準に CTRX を追加するよう改修を行った。検査部門公開情報については、2017 年年報の小冊子に都道府県別のページを増やし刷新した。一方で、年間 1700 件を超える医療機関からの問い合わせに対応した。また、JANIS のデータ提出・活用のための説明会を東京と大阪で計 2 回開催し、併せて外部講師により講演会を行った。また、ST 合剤について、医療機関からの報告パターンを精査した上で、トリメトプリムの MIC 値のみ、スルファメトキサゾールの MIC 値のみの報告でも、JANIS サーバー内で合算値に変換してデータベースに取り込むよう改修を行った。また、「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン 2016-2020 の成果指標と JANIS データのみかた」に関するニュースレターを作成した。薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2018 では、JANIS 検査部門 2017 年年報のデータを提供した。[筒井敦子、平林亜希、矢原耕史、川上小夜子、大木留美、藤村詠美、安齋栄子、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 30 年度は、タイの 74 病院、モンゴルの国立第一病院、国立小児病院、ベトナムの Military hospital の WHONET 出力データを基に入院、外来検体の還元情報の四半期報、六か月報、年報を作成した。還元情報の作成にあたり、各国の担当者からのフィードバックに基づき WHONET 及び JANIS 変換機能の改修や機能追加を WHONET 開発者と連携し行った。また参加医療機関サイト、管理者サイトのマニュアルを作成した。7 月にはベトナムの Military hospital を訪問し MOU を締結した。また国立衛生疫学研究所、USCDC ハノイ事務所を訪問し JANIS システムについての説明を行った。10 月にはモンゴルの厚生労働省、国立医科大学、国立第一病院、国立

小児病院を訪問し JANIS 導入について協議を行った。 さらに、AMR Control 誌へ寄稿”Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) from a national antimicrobial resistance (AMR) surveillance system to an international collaboration” を行った。[筒井敦子、平林亜希、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行]

Ⅳ. 薬剤耐性研究センター耐性菌ナショナル・サーベイランス（JARBS）

薬剤耐性研究センターにおいて、日本全国を対象とした薬剤耐性菌ナショナル・サーベイランス（Japan Antimicrobial Resistant Bacterial Surveillance: JARBS）を開始する準備を進めた。このサーベイランスは「グラム陰性桿菌の薬剤耐性と病原性に関する研究（JARBS-GNR）」および「血液由来ブドウ球菌の病原性解析と臨床応用に関する研究（JARBS-SA）」で構成される。まず、薬剤耐性研究センター内で具体的な流れや必要物品を確認した。次に、医療機関に研究協力を依頼するために、研究内容を説明した依頼書を作成した。[鹿山鎭男、久恒順三、鈴木仁人、于連升、平林亜希、梶原俊毅、川上小夜子、島川宏一、笹田万友美、鹿住祐子、若井智世、菅井基行]

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、以下のロット更新を行った。

ロット更新（4 品目）：ホスホマイシンフェネチルアンモニウム標準品、セフテラムピボキシルメシチレンスルホン酸塩標準品、セフィキシム標準品、セフメノキシム塩酸塩標準品 [鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、近田俊文]

2. 後発医薬品品質確保対策事業関連

平成 30 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：アジスロマイシン水和物錠 21 ロット、アジスロマイシン水和物細粒 7 ロット、アジスロマイシン水和物カプセル 4 ロット、注射用セフトリアキソンナトリウム 18 ロット、クリンダマイシンリン酸エステル注射液 14 ロット [鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、近田俊文]

3. 日本薬局方抗生物質標準品業務移管

日本薬局方抗生物質標準品のうち、アンピシリン標準品、アジスロマイシン標準品、メロペネム標準品、セファゾリン標準品、セフメタゾール標準品、フラジオマイシン硫酸塩標準品の 6 品目について、一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団が頒布をする事となったため、品質管理試験法等の技術移転を行い保有在庫の売払手続きを完了させた。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、近田俊文]

国際協力関係業務

Ⅰ. 抗生物質国際標準品制定のための共同研究

エリスロマイシン第 3 次国際標準品制定のための国際共同研究に参加し、Bioassay 法で力価定量試験を実施した。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、近田俊文]

Ⅱ. 技術研修

日本臨床衛生検査技師会からの依頼を受け、2019 年 1 月 29 日、カンボジアの臨床検査技師 Thay kosal 氏, Srey viso 氏, Chung panha 氏, Ket vanseng 氏, Ket vansith 氏を受け入れて PCR 法、薬剤耐性菌の表現型の確認方法などに関する研修を実施した。 [鹿山鎭男、于連升、川上小夜子、島川宏一、菅井基行]

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 11 日～13 日の基本コースには 31 名、9 月 13 日～14 日の実践コースには 21 名、9 月 19 日～20 日のタイピングコース I（講師として感染症疫学センター参加）には 15 名、9 月 20 日～21 日のタイピングコース II（講師として病原体ゲノム解析研究センター参加）には 11 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、菅井基行、（以下 感染症疫学センター）島田智恵、（以下 感染症疫学センター FETP）加賀優子、川上千晶、上月愛瑠、竹田飛鳥、（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) Meier-Kolthoff JP, Uchiyama J, Yahara H, Paez-Espino D,

Yahara K. Investigation of recombination-intense viral groups and their genes in the Earth's virome. Sci Rep. 2018 Jul 31;8(1):11496.

2) Yahara K, Nakayama SI, Shimuta K, Lee KI, Morita M, Kawahata T, Kuroki T, Watanabe Y, Ohya H, Yasuda M, Deguchi T, Didelot X, Ohnishi M. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial-resistance determinants and lineages. Microb Genom. 2018 Aug;4(8).

3) Berthenet E, Yahara K, Thorell K, Pascoe B, Meric G, Mikhail JM, Engstrand L, Enroth H, Burette A, Megraud F, Varon C, Atherton JC, Smith S, Wilkinson TS, Hitchings MD, Falush D, Sheppard SK. A GWAS on *Helicobacter pylori* strains points to genetic variants associated with gastric cancer risk. BMC Biol. 2018 Aug 2;16(1):84.

4) Smet A*, Yahara K*, Rossi M, Tay A, Backert S, Armin E, Fox JG, Flahou B, Ducatelle R, Haesebrouck F, Corander J. Macroevolution of gastric *Helicobacter* species unveils interspecies admixture and time of divergence. ISME J. 2018 Oct;12(10):2518-2531.

5) Tsutsui A, Suzuki S. Japan nosocomial infections surveillance (JANIS): a model of sustainable national antimicrobial resistance surveillance based on hospital diagnostic microbiology laboratories. BMC Health Serv Res. 2018 Oct 20;18(1):799.

6) Hashi K, Imai C, Yahara K, Tahmina K, Hayashi T, Azuma T, Miyabe-Nishiwaki T, Sato H, Matsuoka M, Niimi S, Okamoto M, Hatakeyama M. Evaluating the origin and virulence of a *Helicobacter pylori cag*A-positive strain isolated from a non-human primate. Sci Rep. 2018 Oct 29;8(1):15981

7) Kubota H, Uwamino Y, Matsui M, Sekizuka T, Suzuki Y, Okuno R, Uchitani Y, Ariyoshi T, Aoki W, Suzuki S, Kuroda M, Shinkai T, Yokokawa K, Sadamasu K, Funakoshi T, Murata M, Hasegawa N, Iwata S. FRI-4 carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* complex isolated in Tokyo, Japan. J Antimicrob Chemother 2018 Nov 1;73(1):2969-2972

8) Sekizuka T, Matsui M, Takahashi T, Hayashi M, Suzuki S, Tokaji A, Kuroda M. Complete genome sequence of *bla*$_{IMP-6}$-positive *Metakosakonia* sp. MRY16-398 isolate from the ascites of a diverticulitis patient. Front. Microbiol. 2018 Nov 22;9: 2853.

9) Méric G, Mageiros L, Pensar J, Laabei M, Yahara K, Pascoe B, Kittiwan N, Tadee P, Post V, Lamble S, Bowden R, Bray JE, Morgenstern M, Jolley KA, Maiden MCJ, Feil EJ, Didelot X, Miragaia M, de Lencastre H, Moriarty TF, Rohde H, Massey R, Mack D, Corander J, Sheppard SK. Disease-associated genotypes of the commensal skin bacterium *Staphylococcus epidermidis*. Nat Commun. 2018 Nov 28;9(1):5034.

10) Segawa T, Sekizuka T, Suzuki S, Shibayama K, Matsui M, Kuroda M. The plasmid-encoded transcription factor ArdK contributes to the repression of the IMP-6 metallo-β-lactamase gene *bla*$_{IMP-6}$, leading to a carbapenem-susceptible phenotype in the *bla*$_{IMP-6}$-positive *Escherichia coli* strain A56-1S. PLoS One 2018;13(12):e0208976.

11) Kaur J, Sharma A, Dhama AS, Buttolia H, Ohri VC, Walia K, Sharma AK, Yahara K, Ahmad R, Singh H. Developing a hybrid antimicrobial resistance surveillance system in India: Needs & challenges. Indian J Med Res. 2019 Feb;149(2):299-302.

12) Oinuma KI, Suzuki M, Nakaie K, Sato K, Saeki K, Sakiyama A, Takizawa E, Niki M, Niki M, Yamada K, Shibayama K, Kakeya H, Kaneko Y. Genome-based epidemiological analysis of 13 Acinetobacter strains isolated from blood cultures of hospitalized patients from a university hospital in Japan. Jpn J Infect Dis. 2019 Feb;72(4):274-280.

13) Lin YC, Kuroda M, Suzuki S, Mu JJ. Emergence of an Escherichia coli strain co-harbouring *mcr-1* and *bla*$_{NDM-9}$ from a urinary tract infection in Taiwan. J Glob Antimicrob Resist. 2019 Mar;16:286-290.

14) Moriwaki M, Iwamoto K, Niitsu Y, Matsushima A, Yanase Y, Hisatsune J, Sugai M, Hide M. *Staphylococcus aureus* from atopic dermatitis skin accumulates in the lysosomes of keratinocytes with induction of IL-1α secretion via TLR9. Allergy. 2019 Mar;74(3):560-571.

15) Akamatsu R, Suzuki M, Okinaka K, Sasahara T, Yamane K, Suzuki S, Fujikura D, Furuta Y, Ohnishi N, Iwata S, Ezaki M, Shibayama K, Higashi H. Novel Sequence Type in *Bacillus*

cereus Strains Associated with Nosocomial Infections and Bacteremia, Japan. Emerg Infect Dis. 2019 May;25(5):883-890.

16) Kamishima T, Suzuki M, Aoyagi S, Watanabe T, Koseki Y, Kasai H. A facile synthesis of (+)/(−)-pentenomycin I and analogs, and their antimicrobial evaluation. Tetrahedron Lett. 2019 May 16;60(20):1375-1378.

2. 和文発表

1) 鈴木里和 【近年注目されている感染症】多剤耐性菌. 感染制御と予防衛生 2019 3(1):23-28

2) 鈴木里和 わが国における薬剤耐性菌の現状と今後の展望(総説). 日本食品微生物学会雑誌 2018 35(2):69-80

3) 山形一行、鈴木仁人 「英語の壁の乗り越え方ー第 41 回日本分子生物学会年会にて」 実験医学.2019 37(4):551-552.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan. The 15th National Conference of Clinical Pharmacology on Anti-infective Agents, NCCPAA, The Third National Conference on Antimicrobial Resistance Surveillance, The Second Peking University anti infection Forum, Beijing, China, June, 2018.

2) Suzuki M. MinION sequencing analysis on antimicrobial resistant bacteria. 3rd Technology Seminar on the MinION sequencing, Manado, Indonesia, July, 2018.

3) Koji Yahara*, Kaisa Thorell*, Elvire Berthenet, Daniel J. Lawson, Jane Mikhail, Ikuko Kato, Alfonso Mendez, Cosmeri Rizzato, María Mercedes Bravo, Rumiko Suzuki, Yoshio Yamaoka, Javier Torres, Samuel K. Sheppard, Daniel Falush. Rapid evolution of distinct *Helicobacter pylori* subpopulations in the Americas, SMBE 2018, Yokohama, Japan, July, 2018.

4) Jan P. Meier-Kolthoff, Jumpei Uchiyama, Hiroko Yahara, David Paez-Espino, and Koji Yahara. Investigation of Recombination-intense Viral Groups and Genes in Oral Microbiome, The 96th General Session of the IADR, London, UK, July, 2018.

5) Hayashi M, Suzuki S, Matsui M, Sekizuka T, Kuroda M. The maintenance of antimicrobial resistance genes by multireplicon IncF plasmid F1:A2:B20 in epidemic clone *Escherichia coli* ST131. International Society for Plasmid Biology, Seattle, USA, Aug., 2018.

6) Yamagishi T, Matsui M, Sekizuka T, Ito H, Fukusumi M, Uehira T, Tsubokura M, Miyamoto A, Yoshida H, Kuroda M, Suzuki S, Shibayama K, Matsui T, Oishi K. A prolonged multispecies outbreak of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae due to transmissible plasmid with carbapenemase gene. ID Week 2018, San Francisco, USA, Oct., 2018.

7) Koji Yahara, Shu-ichi Nakayama, Ken Shimuta, Ken-ichi Lee, Masatomo Morita, Takuya Kawahata, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Hitomi Ohya, Mitsuru Yasuda, Takashi Deguchi, Xavier Didelot, Makoto Ohnishi (on behalf of Antibiotic-Resistant Gonorrhea Study Group), Keigo Sibayama, Motoyuki Sugai. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* and comprehensive surveillance of bacterial cultures and drug susceptibilities in Japan. Antimicrobial Resistance – Genomes, Big Data and Emerging Technologies, Hinxton, UK, Nov., 2018

8) Koji Yahara and John Stelling. Automated detection of outbreaks of antimicrobial-resistant bacteria in Japan. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Hanoi, Vietnam, Feb., 2019.

9) LE Nguyen Tra Mi, Kayama S, Yoshikawa M, Hara T, Kashiyama S, Hisatsune J, Onodera M, Ohge H, Sugai M. Oral Colonization of AMR Bacteria in Long-Term Care Facility Residents in Japan. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Hanoi, Vietnam, Feb., 2019.

10) Suzuki M. Plasmidome analysis of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated in Vietnam. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Hanoi, Vietnam, Feb., 2019.

2. 国内学会

1) 松井英則、高橋哲史、村山琮明、林原絵美子、鈴木仁人、柴山恵吾、松本竹久、太田浩良、寺尾秀一、田邉聡、岩本淳一、下山克、間部克裕、中村正彦　ヘリコバクター・スイス感染の迅速検査法の開発. 第 24 回日本ヘリコバクター学会学術集会、大分、2018 年 6 月

2) 畦地拓哉、片山由紀、宮崎元康、矢原耕史、鈴木仁人、松井秀仁、岡村 圭祐、仲村佳彦、小宮ゆきえ、浦田秀則、笹野央、朝倉弘太、山口哲央、柴山恵吾、花木秀明、高田徹　ダプトマイシン治療後に再燃した slow-VISA 感染症の解析. MRSA2018 フォーラム、東京、2018 年 7 月

3) 片山由紀、畦地拓哉、宮崎元康、矢原耕史、鈴木仁人、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　血液培養液由来 MRSA 株における slow-growth vancomycin non-susceptible *S. aureus* のバンコマイシン耐性化機構について. MRSA2018 フォーラム、東京、2018 年 7 月

4) 矢原耕史　種内・近縁種間での遺伝情報の水平移動 -ウイルスと薬剤耐性菌を例に-. 遺伝研・研究会「自然界の生物種間における遺伝情報の多様性をもたらす”DNA 水平伝播”の解析と活用法」、静岡、2018 年 8 月

5) Koji Yahara*, Kaisa Thorell*, Elvire Berthenet, Daniel J. Lawson, Jane Mikhail, Ikuko Kato, Alfonso Mendez, Cosmeri Rizzato, María Mercedes Bravo, Rumiko Suzuki, Yoshio Yamaoka, Javier Torres, Samuel K. Sheppard, Daniel Falush. Rapid evolution of distinct *Helicobacter pylori* subpopulations in the Americas. 日本進化学会第 20 回大会、東京、2018 年 8 月

6) Koji Yahara、Jan P. Meier-Kolthoff, Jumpei Uchiyama, Hiroko Yahara. ウイルスの系統とゲノム組換え- Earth's virome データの解析から-. 日本進化学会第 20 回大会、東京、2018 年 8 月

7) 久恒順三、川崎洋、于連升、増田加奈子、沓野祥子、荒井千夏、小幡祥子、福島彩乃、持丸奈央、関口文世、海老原全、天谷雅行、菅井基行. アトピー性皮膚炎患者と健常人の皮膚由来黄色ブドウ球菌株の解析. 第 63 回日本ブドウ球菌研究会、鹿児島、2018 年 8 月

8) Fatkhanuddin Aziz, Junzo Hisatsune, Yu Liansheng, Kanako Masuda, Yusuke Sato'o, Hisaya K. Ono, Junko Kajimura, Yoichiro Kusunoki, and Motoyuki Sugai. A unique staphylococcal enterotoxin SEY : prevalence and it's characterization. The 63th Annual Meeting of the Japanese Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections. Kagoshima, Aug., 2018.

9) 今岡浩一、谷川力、鈴木仁人、木村昌伸、朴ウンシル、鈴木道雄、森川茂　鼠咬症原因菌(*Streptobacillus* 属菌)の特異的検出法の開発. 第 161 回日本獣医学会学術集会、茨城、2018 年 9 月

10) Fatkhanuddin Aziz, Junzo Hisatsune, Yu Liansheng, Kanako Masuda, Yusuke Sato'o, Hisaya K. Ono, Junko Kajimura, Yoichiro Kusunoki, and Motoyuki Sugai. A unique staphylococcal enterotoxin SEY : prevalence and it's characterization. The 71st Annual Meeting of the Japanese Bacteriological Society of Chugoku area・Shikoku Branch General Meeting, Ehime, Oct., 2018.

11) Jan P. Meier-Kolthoff, Jumpei Uchiyama, Hiroko Yahara, David Paez-Espino and Koji Yahara. Investigation of Recombination-intense Viral Groups and Genes in Oral Microbiome、口腔感染症学会、広島、2018 年 10 月

12) 鈴木仁人　ポリミキシン耐性菌感染症の現状とその治療法の開発. 第 101 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2018 年 11 月

13) 松井英則、林原絵美子、村山琮明、柴山恵吾、鈴木仁人　ヘリコバクター・ハイルマニイ感染症研究の現状. 第 101 回日本細菌学会関東支部総会、東京、2018 年 11 月

14) 松井真理、川上千晶、鈴木里和、松井珠乃、大石和徳、菅井基行　カルバペネム耐性腸内細菌科細菌病原体サーベイランス、2017 年. 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

15) 成瀬秀則、一久和弘、井本裕顕、平林亜希、柴山恵吾、鈴木仁人　多剤耐性グラム陰性菌に有効な抗菌ポリマーの開発. 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

16) 鹿山鎭男、森三郎、池田光泰、鈴木仁人、矢原耕史、柴山恵吾、大毛宏喜、菅井基行　広島県にて海外渡航者より分離された bla_{NDM-7} 保有株および bla_{KPC-2} 保有株の解析. 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

17) 柴山恵吾 JANISから見たわが国の薬剤耐性菌の現状. 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

18) Koji Yahara, Shu-ichi Nakayama, Ken Shimuta, Ken-ichi Lee, Masatomo Morita, Takuya Kawahata, Toshiro Kuroki, Yuko Watanabe, Hitomi Ohya, Mitsuru Yasuda, Takashi Deguchi, Xavier Didelot, Makoto Ohnishi, on behalf of Antibiotic-Resistant Gonorrhea Study Group. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial resistance determinants and lineages. 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

19) 川上小夜子、島川宏一、安斎栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 公開情報における薬剤耐性菌の動向と地域別分布状況(2017 年). 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

20) 島川宏一、川上小夜子、安齋栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 検査部門における検査材料別薬剤感受性集計の検討. 第 47 回薬剤耐性菌研究会、長野、2018 年 11 月

21) 柴山恵吾 JANIS サーベイランスの概要. 第 31 回日本外科感染症学会総会、大阪、2018 年 11 月

22) 安澤洋子、佐々木国玄、窪村亜希子、阿部光一朗、小嶋由香、本間幸子、岡部信彦、長田加絵、松井真理、鈴木里和、菅井基行、関塚剛史、黒田誠 海外渡航歴のない患者から分離された NDM 型メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌の解析. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

23) 有吉司、久保田寛顕、内谷友美、奥野ルミ、松井真理、鈴木里和、菅井基行、関塚剛史、黒田誠、千葉隆司、横山敬子、貞升 健志 NDM-5 メタロ-β-ラクタマーゼ産生腸内細菌科細菌の菌型およびプラスミドの解析. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

24) 木村恵梨子、塩本高之、児玉洋江、谷村睦美、松井真理、鈴木里和、菅井基行、関塚剛史、黒田誠 NDM-5 メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Enterobacter aerogenes* が分離された 1 例について. 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

25) 鹿山鎭男、鈴木仁人、矢原耕史、横田和久、柴山恵吾、大毛宏喜、菅井基行 広島県内の医療施設において分離された中国由来 string test 陽性 *bla*KPC-2 保有 *K. pneumoniae* の解析. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

26) 川上小夜子 JANIS データの賢い使い方. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

27) 川上小夜子、島川宏一、安斎栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 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 2008～2017 年公開情報を中心に. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

28) 川上小夜子、島川宏一、安斎栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 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 2 2017 年都道府県別薬剤耐性菌の分布状況. 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

29) 島川宏一、川上小夜子、安齋栄子、平林亜希、筒井敦子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 検査部門における検査材料別薬剤感受性集計の検討. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

30) 原稔典、鹿山鎭男、木場由美子、田寺加代子、北野弘之、梶原俊毅、小野寺一、横崎典哉、大毛宏喜、菅井基行 AmpC β-lactamase (ABL) 産生菌のスクリーニング MIC 値の検討. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

31) 鹿山鎭男、Le Mi Nguyen Tra、鈴木仁人、矢原耕史、横田和久、柴山恵吾、大毛宏喜、菅井基行 広島県内の医療施設において分離された中国由来 string test 陽性 *bla*KPC-2 保有 *K. pneumoniae* の解析. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

32) 池田光泰、桑原隆一、鹿山鎭男、大毛宏喜、菅井基行 広島県における ESBL 産生菌と CPE の検出状況(第 9 期調査). 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

33) 池田光泰、鹿山鎭男、田寺加代子、黒尾優太、樫山誠也、大毛宏喜、菅井基行 外部委託検査により CRE が検出された小規模長期療養型医療施設の耐性菌サーベイランス～NGS を用いた分子疫学解析～. 第30回日本臨床微生物

学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

34) 辻隆弘、池田光泰、鹿山鎭男、菅井基行、大毛宏喜 血液培養から *Desulfovibrio desulfuricans* が分離された一例. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

35) 田寺加代子、鹿山鎭男、原稔典、池田光泰、黒尾優太、宮本重彦、直原啓明、大毛宏喜、菅井基行 核酸クロマト法を用いた, 5 種類のカルバペネマーゼ遺伝子検出キットの検討. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

36) 田寺加代子、鹿山鎭男、池田光泰、黒尾優太、樫山誠也、 大毛宏喜、菅井基行 外部委託検査によりCREが検出された小規模長期療養型医療施設の耐性菌サーベイランス～耐性菌株の検出～. 第 30 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

37) 増田加奈子、久恒順三、高橋伸、奥原俊彦、大毛宏喜、菅井基行 西日本における皮膚感染症由来 ST8 CA-MRSA/J の分子疫学調査. 第30回日本臨床微生物学会総会・学術集会、東京、2019 年 2 月

38) 柴山恵吾 National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan. Tokyo AMR One-Health Conference、東京、2019 年 2 月

39) 川上小夜子、島川宏一、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 検査部門報告 1:JANIS データから見る薬剤耐性菌の動向. 第 34 回日本環境感染学会総会・学術集会、兵庫、2019 年 2 月

40) 島川宏一、川上小夜子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 検査部門報告 2:病床数別耐性菌の分離状況. 第 34 回日本環境感染学会総会・学術集会、兵庫、2019 年 2 月

41) 島川宏一、川上小夜子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 検査部門報告 3:2017 年都道府県別薬剤耐性菌の分布状況. 第 34 回日本環境感染学会総会・学術集会、兵庫、2019 年 2 月

42) 川上小夜子、島川宏一、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行 JANIS 全入院患者部門報告:新規感染症患者数と罹患率. 第34回日本環境感染学会総会・学術集会、兵庫、2019 年 2 月

43) Jan P. Meier-Kolthoff, Jumpei Uchiyama, Hiroko Yahara, David Paez-Espino and Koji Yahara. Investigation of recombination-intense viral groups and their genes in the Earth's virome. 第 13 回日本ゲノム微生物学会年会、東京、2019 年 3 月

44) 矢原耕史 Population genomic studies of microbial recombination, phylogeny, and population structure（研究奨励賞受賞講演）. 第 13 回日本ゲノム微生物学会年会、東京、2019 年 3 月

45) 鈴木仁人 国内外の緑膿菌分離株の薬剤耐性と病原性機構. 第 53 回緑膿菌感染症研究会、秋田、2019 年 3 月

46) 老沼研一、鈴木仁人、佐伯康匠、坪内泰志、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 *Acinetobacter baumannii* 株のカルバペネマーゼ遺伝子の周辺構造と接合伝達性. 第 53 回緑膿菌感染症研究会、秋田、2019 年 3 月

２３．ハンセン病研究センター

センター長　　宮﨑　義継

概　要

本邦のハンセン病新規患者数は平成 30 年 3 名(ネパール人男 1 名、女 2 名)、再発患者数は 1 名であった。国内の新規患者はこのように激減しているが、世界的には現在でも約 21 万人（2017 年）の新たな患者の発生がみられ、当センターではハンセン病の克服に向けた研究や診療支援、研修・啓発活動、国際協力等を実施している。

感染制御部では、らい菌に加え結核菌・非結核性抗酸菌などについて病原体の特徴、ヒトの免疫反応、薬の活性・耐性等の研究や、全国各地から依頼される検査、社会的な啓発活動、社会疫学に関する研究業務などを行い、着実な業績を上げている。またアジアやアフリカ等のハンセン病患者の多い国々に頻回に赴き、医療・研究の協力を行っている。

国内では平成 13 年 5 月 25 日に、ハンセン病国家賠償訴訟の判決をうけ、小泉総理大臣（当時）が、「ハンセン病患者に対する施設入所施策や一般社会において極めて厳しい偏見、差別が存在してきた事実を深刻に受け止め、ハンセン病問題の解決に向けて全力を尽くす決意」を談話の中で表明した。平成 21 年 4 月1日には、ハンセン病の患者であった方等の福祉の増進、名誉の回復等のための措置を講ずるため、「ハンセン病問題の解決の促進に関する法律」が施行された。

このようにわが国では、ハンセン病問題は医療上だけでなく、社会的な問題も含んでおり、それらを解決していくためには政府のみならず国民一人一人が、ハンセン病に関する理解や認識を深めていくことが重要と考えられる。不本意な経験された患者さんたちが受けたこれまでの経緯、苦痛を勘案すると、日本のハンセン病研究センターの責任は重いが、研究を進める力を持っている日本こそがハンセン病の対応で世界に貢献することを目標に、国際協力も視野に入れた役に立つ研究、診断と治療に応用できる研究・実学をめざし、センター全体が情報共有を徹底して効率化を図り、協力して研究を推進する努力を続けている。ハンセン病の本質に迫るために成し遂げるべき世界的課題として残る、らい菌の人工的大量培養にも不断の努力を続けていきたい。

当センターのより安全な運用を行うために「安全連絡協議会」を定期的に開催し、地域の各行政機関や市民、有識者などの委員からの意見や要望を受け、地域に安心していただける運用を心掛けている。今年度は第 11 回協議会を平成 31 年 2 月 27 日に開催した。

地域住民の方々との良好な関係を築き、ハンセン病・感染症に対する知識の普及・啓発のため、隣接の国立多磨全生園と共催し「市民公開講座」を年 2 回開催している。4 月 21 日に行った「第 21 回市民公開講座」では、感染制御部 阿戸部長の「感染症からからだをまもる免疫のしくみ」、薬剤耐性研究センター　菅井センター長の「薬が効かない細菌（耐性菌）の話」、多磨全生園看護部　関看護師の「日常の感染防止対策のポイント～手洗い・マスク装着の正しい方法～」と題した講演が行われた。さらに 9 月 24 日の「第 22 回市民公開講座」では、国立療養所多磨全生園　石井則久園長の「ハンセン病について」、細菌第二部　柴山恵吾部長の「胃の中で生き続けるユニークなピロリ菌」、参議院議員・長崎大学客員教授　秋野公造氏の「ピロリ感染胃炎に対する保険適用への道のりと検診の推進について」と「ピロリ菌除菌の保険適用がリードした、我が国の重症化予防策について」、北海道医療大学学長　浅香正博氏の「胃がんとピロリ菌についての正しい知識と胃がん撲滅計画について」と「国際がん研究機関における審議の経緯と世界の胃がん対策について」と題した講演が行われた。

ハンセン病の正しい知識の普及・啓発、基礎医学や診断・治療・予防等の臨床医学の充実のため、医学、歯学、薬学、看護学及び医療福祉、医療技術を学ぶ学生や医療関係者を対象に、「ハンセン病医学夏期大学講座」を国立療養所多磨全生園と協力し、昭和 52 年から毎年度開催している。平成

30 年度迄に 1,623 人の者が受講している。平成 30 年度の第 40 回夏期大学は 8 月 6 日～10 日までの 5 日間実施され、50 人が受講した。

人事面では、石井則久センター長の退任に伴い、4 月に新センター長として真菌部長の宮﨑義継が着任した。

国際協力事業

1. 研修生受け入れ事業

台湾（台湾 CDC、2 名、5 月 28 日～6 月 3 日）、タイ王国（コンケーン大学、1 名、10 月 1 日～31 日）、スリランカ（スリランカ保健省、3 名、10 月 29 日～11 月 2 日）、インドネシア（Institute of Research and Development Biomedicine, Papua、2 名、2019 年 1 月 8 日～12 日）、中国（Institute of Dermatology, Nanjing、1 名、10 月 1 日～継続中）から研修生を受け入れた。

2. 国際共同研究と職員の海外派遣状況

ミャンマー連邦共和国: 職員1名が Yangon 市の同国保健省 Department of Medical Research を訪問し、副所長および担当官らとハンセン病起因菌 *M. lepromatosis* の感染状況把握に関する研究打ち合わせ、技術移転および情報収集を行った。

スリランカ: 職員1名が、コロンボ市のスリランカ保健・栄養・伝統医学省ハンセン病対策部門を訪問し、ハンセン病の薬剤耐性、血清診断、核酸検出診断法に関する共同研究の打ち合わせをおこなった。また、市内の病院、WHO オフィス、スリランカ南部におけるハンセン病検診の視察・情報収集を行った。

ジュネーブ: 職員2名が、ジュネーブ市で開催された皮膚の顧みられない熱帯病（ブルーリ潰瘍を含む）に関する WHO 会議に出席し、発表・討議をおこなうとともに専門家と研究打合せならびに情報収集を行った。

行政検査実績

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 30 年度（平成 30 年 4 月～平成 31 年 3 月）の検査件数は表 1 のごとく 27 症例、59 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。

27 症例の最終診断は、3例は「新規にハンセン病」と診断、1 例は「ハンセン病の再発」と診断、23 例は「ハンセン病でない」と診断した。

PCR 検査では 4 例が陽性であり、内 3 例を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、DDS、キノロンに耐性なし（一例のみ DDS 検査不能）であった。1 例は再発で DDS 耐性、リファンピシン、キノロンに耐性なしであった。

皮膚スメア検査のサポートも行い、平成 30 年度は 23 件のスメア標本の染色、検鏡を行った。3 件については陽性であった。

表 1. 平成 30 年度（2018 年度）行政検査実績

受付検体数（番号）	43
総検査件数	59
病理学的検査件数	23
血清抗体価検査件数	10
PCR 検査件数	22
薬剤耐性遺伝子検査件数	4
実症例数	27

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 30 年 3 名(ネパール人男 1 名、女 2 名)であった。再発患者数は 1 名であった。

ハンセン病の発生動向と検査件数を対比すると、近年は鑑別診断のために行政検査を利用する傾向がみられる。

表 2. 行政検査実績の推移

年度	受付数（番号）	総検査数	処理件数	血清件数	菌検査（PCR）件数	薬剤耐性	菌陽性例数
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
H30 年度	43	59	23	10	22	4	27

今後の課題として、明瞭な行政検査 SOP（Standard Operating Procedures）の作成と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、治療効果判定への検査利用、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。

［森修一、町田聡子、阿戸学、宮﨑義継］

らい菌の供給

平成 30 年 4 月より同 31 年 3 月までの 1 年間において、のべ 14 回、29 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、または精製菌の供給を行った。

［前田百美、宮本友司、天内肇、阿戸学］

ハンセン病研究センター

２４．ハンセン病研究センター

感染制御部

部長　　阿戸　学

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、あるいは菌同定試験不能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いない。ヌードマウス足蹠で増殖するらい菌の電子顕微鏡による形態解析、共焦点顕微鏡を用いた透過性イメージング解析を進めている。らい菌の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。らい菌の DNA ジャイレースは温度感受性を示すが、らい菌 DNA ジャイレースのサブユニット A が温度感受性の性質を持つことが明らかとなった。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 PGE2 の役割と細胞内シグナリング、らい菌感染シュワン細胞における F アクチンの菌取込み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、開発した *M.leprae* 特異的 LAMP 法を用いて、ザンビアのハンセン病流行状況が不明な地域で調査を行なった。さらに、新規らい菌特異抗原を検索し、途上国において利用可能なラテラルフローテストを用いた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では、市販の検査で分類が不能な *M. abscessus* complex の亜種同定を可能にする PCR 法、マクロライド誘導耐性の有無を簡便に示唆する PCR 法を開発し、早期診断への応用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感染症である。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。WHO の *M. ulcerans* 感染症対策には感染制御部が連携している。日本においては 2018 年は 3 件の登録があり、累計 70 例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*M. ulcerans* については比較ゲノム解析が行われ、ブルーリ潰瘍の多発地域であるガーナとコートジボアールとの共同研究を開始した。

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、国立感染症研究所内に「国立感染症研究所ハンセン病資料デジタルアーカイブズ」の作成を行うと共に、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、国際ハンセン病会議資料、国際ハンセン病学術誌（LEPRA 誌）、ハンセン病撲滅対策関連資料のデジタル化（笹川記念保健協力財団関連 16 ㎜ビデオなど）、国立長島愛生園および国立療養所松丘保養園関連のハンセン病資料のデジタル化による保存作業を行うと共に、約 6 千点の資料のデータベース化を行った。

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 ワクチンに関して、より有効性の高い親株の選択、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、2018 年 6 月 1 日付けで山本健太郎が第三室研究員（若手育成型）として採用された。また、2018 年 10 月 1 日付けで吉田光範が主任研究員（招聘型）として

採用された。2019 年 3 月 31 日付で主任研究官遠藤真澄が
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の解析がまず重要な課題である。数ある抗酸菌の中でらい菌のみが末梢神経に感染する機序としては、らい菌特異的分子 PGL-1 とシュワン細胞の laminin-2 の結合が initiation-factor であると考えられており、その後のシュワン細胞内への侵入にはアクチン繊維と微小管で構成される葉状仮足が重要な役割を果たしている事が示唆されている。そこで今回は、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共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。まず蛍光 Phalloidin 染色によりシュワン細胞における F-actin の発現を確認した。次に、アクチン重合阻害剤 cytochalasin、並びに仮足形成における Rho/Rac pathway の阻害剤である Fasudil により前処理したシュワン細胞におけるらい菌の取り込みを観察した結果、仮足形成に抑制を掛けたシュワン細胞のらい菌の取り込み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、らい菌の感染が末梢神経修復に与える影響についての研究も継続した。

[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は T 細胞を活性化することが判明した。そこで、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 Agilent human miRNA array を用いて行った。いくつかの miRNA 発現が有意に患者で高く見られた。現在マクロファージ-T 細胞系を用いて miRNA の機能解析を行っている。

[前田百美、田村敏生、向井徹、Gao Wei (Institute of Dermatology, CAMS)]

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てきた。そこで、この誘導性濾胞 Treg 細胞が濾胞ヘルパーT 細胞の機能を制御し得るかを *in vitro* 培養系に検討したところ、PPD 特異的誘導性濾胞 Treg 細胞は PPD 特異的濾胞ヘルパーT 細胞による IL-21 産生を減弱できることが示された。

[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、ホストとなる BCG のワクチン効果について解析を行い、よりワクチン効果の高い BCG 株を選抜した。

[塚本裕美子、前田百美、田村敏生、宮本友司、向井徹]

4. BCG ゲノム DNA 上に存在するメチル化アデニンについての解析

BCG のゲノム DNA には、メチル化修飾を受けたアデニン塩基が存在する。細菌由来 DNA は免疫系の応答を活性化することが知られているが、BCG ゲノム DNA 上のメチル化アデニンがその活性化に影響するかどうかについては報告が得られていない。そこで BCG のゲノム DNA 配列上に存在するメチル化アデニンの免疫応答への影響について解析を行った。

[塚本裕美子、田村敏生、前田百美]

5. 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、潜在性結核患者では、活動性結核患者やその治療後と比較すると、多くの結核特異抗原に対する抗体(IgG, IgA)が有意に低値であることや、炎症マーカーである CRP と、コレステロールや TG などの栄養因子とは負の相関があることを見出した。結核特異抗体産生が治療とともに経

時的に変化することを見出した我々の過去の報告と合わせると、栄養因子が結核治療に影響することを示唆する所見と考えられ、ワクチン開発の基礎研究として有用であると考えられる。

[仁木満美子(大阪市立大)、松本壮吉(新潟大学)、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]

6. ヒトマクロファージの抗らい菌活性発現機構

ヒトとマウスのマクロファージでは殺菌機構が違うといわれ、マウスではこれまで報告されているように、NO 合成阻害剤により殺菌作用が抑制されたことから NO による殺菌機構は明らかであった。しかし、ヒトでは同阻害剤を加えても抑制されないことから違った殺菌機構が考えられた。共焦点レーザー顕微鏡で、IFNγ刺激したヒト単球由来 M-CSF 型マクロファージにおける phox タンパク複合体の挙動を調べたところ、菌の周囲に複合体タンパクが集積した像が多く得られた。一方、殺菌活性が弱い GM 型マクロファージでは集積がみられなかった。らい菌は SOD を持っていることが以前から報告されている。らい菌を殺傷する能力が低い GM マクロファージに比べて、IFNγ刺激したMマクロファージでは、らい菌を含むファゴゾームにおいて、スーパーオキサイドなど酸素ラジカル産生が亢進していて、らい菌に対する殺菌力が高まっている可能性が示唆された。

［福冨康夫、前田百美、天内肇、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。そこで昨年から、途上国でも使用できる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)の開発を始めた。MMP-II 抗体を検出できる LFT を大量に生産し、ザンビアの患者のスクリーニングに応用できるか検討中である。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。

[前田百美、向井徹、宮本友司、遠藤真澄、塚本裕美子、田村敏生、阿戸学、鈴木定彦(北海道大学)]

2. ザンビア共和国におけるハンセン病検診

ハンセン病疫学が不確かなザンビア共和国南部州シナゾンゲ郡の 2 か所の Health Clinic において、当地保健担当部署とハンセン病検診を行った。約 400 人の被験者より3名の新規ハンセン病患者を見出した。また、採取された血清を用い抗体検簡易テストを、鼻腔拭い液を用い PCR 法と Dry-LAMP 法によりらい菌遺伝子の検出を行い、らい菌への暴露および感染状況を検討した。その結果約 10%の被験者が、陽性反応を示した。これまで、当地域では、ハンセン病に関する調査等は行われていなかったが、かなり高い頻度の感染、発症が存在することが明らかにされた。

［向井徹、宮本友司、前田百美、鈴木定彦(北海道大学)、C. Habeenzu (ZATULET)］

3. 病原性抗酸菌 *M. abscessus* と *M. massiliense* および *M. bolletii* (*M. abscessus* complex, MABC)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 MABC の亜種分類を鑑別する簡便なマルチプレックス PCR 法や MABC のマクロライド誘導耐性の有無を簡便に示唆する 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、朝倉崇徳、宮本友司、金城武士(琉球大学)、長野宏昭 (沖縄中部病院)、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(国立台湾大学)、長谷川直樹(慶應義塾大学)、阿戸学、星野仁彦］

4. 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)］

5. 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）］

6．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、朝倉崇徳、阿戸学、星野仁彦］

7． 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（大阪大学）］

Ⅳ.らい菌生存度の判定に関する研究

1．らい菌と培養抗酸菌の電顕による形態比較

BCG や *M. fortuitum* を培養して走査型電顕により観察すると、菌体表面が菌の発育状態によって変化することが明らかとなった。対数増殖期の菌をみると、伸長する longitudinal な方向に、大小の鎖状構造が並び、特徴的なトラフを形成していた。菌体中央付近から隔壁が形成されて、二分された菌体も多くあった。分裂後と思われる菌体のそれぞれの断面は網目構造をしていて凹凸があり、その分裂断面構造と側面傍の鎖型構造とは連続性を持っていた。この鎖のような微細構造は、抗生剤などによって菌が発育阻害を受けると消失して、菌体全体が平坦な構造になり、細長く伸長した菌体や、菌体側面から別の菌体が直角に枝分かれしているような形態もみられた。ヌードマウスフットパッドに接種して増殖したらい菌を観察したところ、BCG や *M. fortuitum* を培養した時と同様の形態がみられ、様々な状態の菌がフットパッドに存在する可能性が示唆された。

［福冨康夫、山本健太郎、前田百美、天内肇、小林宏尚（感染病理部）、阿戸学］

2．らい菌の増殖様式

人工培養ができないので、増殖様式は不明である。世代時間が 10 日以上と非常に長いと思われているが、それを *in vitro* で証明されてはいない。透過型電顕による観察から判断したところ、ヌードマウスから回収した菌のうち 2～3 割しか生きていないとの報告もあるが、その証明もされていない。個々の菌に対する生死判定法として、共焦点レーザー顕微鏡を利用したイメージング解析が応用できないかその可能性を探った。グラム陽性菌に対する抗生剤として知られているバンコマイシンは、らい菌にも取り込まれることが分かった。蛍光標識したバンコマイシンを液体培地に添加して 33℃にて培養した後、同顕微鏡で観察した。菌体全体が光っているものもあったが、分裂面と思われる箇所や菌体の片側に局在しているものもあったが、全く光っていない菌体も半数以上あった。この結果の解釈については、さらなる検討が必要である。

［福冨康夫、山本健太郎、前田百美、天内肇、阿戸学］

Ⅴ．抗酸菌の病原性と薬剤耐性に関する研究

1．抗酸菌のクロファジミン耐性に関わる遺伝子変異

M. avium の転写制御因子 *tetR* 遺伝子の不活化によって発現が亢進した MmpL の作用により菌はクロファジミン耐性となるが、変異株の分離・解析、及び発現実験の結果、*mmpL* 遺伝子の異なる 3 カ所、計 4 種類の変異がクロファジミン耐性を増強することが明らかとなった。

[中田登、岩尾泰久、星野仁彦、阿戸学]

2．結核菌の多剤排出ポンプ MmpSL5 と転写制御因子による薬剤耐性

結核菌の mmpSL5 の機能を解析するため、*M. bovis* BCG を用い、転写制御因子-mmpSL5（Rv0678-Rv0676 ）破壊株、及び転写制御因子（Rv0678）破壊株を作製し、クロファジミン、ベダキリンに対する感受性を調べた結果、前者は上昇し、後者は低下したことから、mmpSL5 の発現制御と薬剤耐性への寄与が示唆された。

[中田登、岩尾泰久、山本健太郎、阿戸学]

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 DNA を含む試料を鋳型に Nested Multiplex PCR と次世代シ

ーケンサーでゲノムの約 100 カ所を一度に解析する手法を開発し、10 臨床試料を解析した結果、全ての試料で薬剤耐性と型別に関する情報が得られた。

[中田登、岩尾泰久、森修一、阿戸学]

4．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DNAジャイレースは温度感受性を示し、らい菌のDNAジャイレース遺伝子で置換した*M. smegmatis* は37℃で増殖しない。らい菌と近縁の菌種の DNA ジャイレースとモザイク産物を作製して調べた結果、らい菌 DNA ジャイレースのサブユニット A が温度感受性の性質を持つことが明らかとなった。

[中田登、岩尾泰久、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ーを用いて行っている。

[深野華子、吉田光範、朝倉崇徳、長谷川直樹（慶應義塾大学）、阿戸学、星野仁彦]

6．休眠状態における結核菌の菌体成分解析

結核菌の休眠機構はその病原性に強い影響を及ぼしていると考えられているが、詳細なメカニズムは不明である。国内の臨床分離株の多くを占める北京型株と他系統株で休眠機構にどのような違いがあるかを解明するため、両者を休眠状態と関連のある低酸素状態で培養し、菌体成分の比較解析を行った。その結果、北京型株は、他系統株に比べ、一部の主要菌体成分が著しく減少することが判明した。これらの結果は、北京型株が休眠状態に適応するために菌体成分の構成を変化させる傾向が強いこと、さらに結核菌の系統株間で異なる休眠機構が存在する可能性を示している。

[宮本友司、田村敏生、阿戸学]

7．結核菌異物排出トランスポーターの一分子動態解析

結核菌RND型異物排出トランスポーターの1つであるMmpL5はベダキリンやクロファジミンなどの結核治療薬を菌体内から排出することで結核菌の潜在的な薬剤耐性能を獲得している。また、薬剤排出活性には膜融合タンパク質MmpS5が必須であるものの、その詳細な機能は不明である。そこで、MmpL5を蛍光標識、細胞膜上における動態を解析した。その結果、MmpS5によりMmpL5は細胞膜上にアンカー、固定されることが示唆された。

[山本健太郎]

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）71 症例（2019 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。今年度より世界的にブルーリ潰瘍の多発地域である西アフリカ諸国（ガーナとコートジボアール）と共同研究を開始して、*M. ulcerans* の伝播経路探索を行うこととなった。

［吉田光範、深野華子、宮本友司、藤原永年（帝塚山大学）、小椋義俊（九州大学）、林哲也（九州大学）、四津里英（長崎大学）、鈴木幸一（帝京大学）、Abraham Anang （Noguchi Memorial Institute for medical research, Ghana）、Bamba VAGAMON (IRFCI, Côte d’Ivoire)、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、阿戸学］

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 1897 年の「第一回国際らい会議」以降の国際ハンセン病学術誌（LEPRA 誌など）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、阿戸学、廣野義幸（東京大学）]

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。本年度は国立感染症研究所内に「国立感染症研究所ハンセン病資料デジタルアーカイブズ」（内部データベース）の作成を行うと共に、国際ハンセン病会議資料、国際ハンセン病学術誌（LEPRA 誌）、ハンセン病撲滅対策関連資料のデジタル化（笹川記念保健協力財団関連 16 ㎜ビデオなど）、国立長島愛生園および国立療養所松丘保養園関連のハンセン病資料のデジタル化も始まり、現在まで約1万2000点の資料の収集とデジタル化が進み、約 6 千点の資料のデータベース化が行われた。

[森修一、阿戸学、廣野義幸（東京大学）、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、阿戸学、瀬川将広(国立療養所東北新生園)、廣野義幸（東京大学）]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Matsuzaki G, Yamasaki M, Tamura T, Umemura M. 2019. Dispensable role of chemokine receptors in migration of mycobacterial antigen-specific $CD4^+$ T cells into *Mycobacterium*-infected lung. *Immunobiology*. 224(3): 440-448. doi: 10.1016/j.imbio.2019.01.006.

2) Asakura T, Suzuki S, Fukano H, Okamori S, Kusumoto T, Uwamino Y, Ogawa T, So M, Uno S, Namkoong H, Yoshida M, Kamata H, Ishii M, Nishimura T, Hoshino Y, Hasegawa N. 2019. Sitafloxacin-Containing Regimen for the Treatment of Refractory *Mycobacterium avium* Complex Lung Disease. *Open Forum Infect Dis.* 6(4): ofz108. doi: 10.1093/ofid/ofz108.

3) Izumi K, Morimoto K, Hasegawa N, Uchimura K, Kawatsu L, Ato M, Mitarai S. 2019. Epidemiology of Adults and Children Treated for Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease in Japan. *Ann Am Thorac Soc.* 16(3): 341-347. doi: 10.1513/AnnalsATS.201806-366OC.

4) Kitaoka N, Fukano H, Yoshida M, Miyamoto Y, Mori S, Ishii N, Ato M, Ohara N, Hoshino Y. 2019. Discrimination of *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium haemophilum* in clinical isolates/specimens by multiple PCR assay and prediction of drug susceptibility. *J Clin Microbiol*. 57(2): e01760-18. doi: 10.1128/JCM.01760-18.

5) Sato K, Takahashi Y, Adachi Y, Asanuma H, Ato M, Tashiro M, Itamura S. 2019. Efficient Protection of Mice from Influenza A/H1N1pdm09 Virus Challenge Infection via High Avidity Serum Antibodies Induced by Booster Immunizations with Inactivated Whole Virus Vaccine. *Heliyon*. 5(1): e01113. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01113.

6) Yoshida M, Nakata N, Miyamoto Y, Fukano H, Ato M, Hoshino Y. 2018. A rapid and non-pathogenic assay for association of *Mycobacterium tuberculosis gyrBA* mutations and fluoroquinolone resistance using recombinant *Mycobacterium smegmatis*. *FEMS Microbiol Lett*. 365(23). doi: 10.1093/femsle/fny266.

7) Scherr N, Bieri R, Thomas SS, Chauffour A, Kalia NP, Schneide P, Ruf MT, Lamelas A, Manimekalai MSS, Grüber G, Ishii N, Suzuki K, Tanner M, Moraski GC, Miller MJ, Witschel M, Jarlier V, Pluschke G, Pethe K. 2018. Targeting the *Mycobacterium ulcerans* cytochrome bc_1:aa_3 for the treatment of Buruli ulcer. *Nat Commun.* 9(1): 5370. doi: 10.1038/s41467-018-07804-8.

8) 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(12): 1305-1310. doi: 10.1016/j.cmi.2018.02.022.

9) Fukano H, Yoshida M, Kazumi Y, Fujiwara N, Katayama K, Ogura Y, Hayashi T, Miyamoto Y, Fujimoto N, Hongsheng W, Mizumoto C, Koizumi Y, Maeda H, Hiranuma O, Mitarai S, Ishii N, Hoshino Y. 2018. *Mycobacterium shigaense* sp. nov., a slow-growing, scotochromogenic species, is a member of the *Mycobacterium simiae* complex. *Int J Syst Evol Microbiol*. 68(8): 2437-2442. doi: 10.1099/ijsem.0.002845

10) Yoshida M, Fukano H, Ogura Y, Kazumi Y, Mitarai S, Hayashi T, Hoshino Y. 2018. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium shigaense*. *Genome Announc*. 6(25): e00552-18. doi: 10.1128/genomeA.00552-18.

11) Nakanaga K, Ogura Y, Toyoda A, Yoshida M, Fukano H, Fujiwara N, Miyamoto Y, Nakata N, Kazumi Y, Maeda S, Ooka T, Goto M, Tanigawa K, Mitarai S, Suzuki K, Ishii N, Ato M, Hayashi T, Hoshino Y. 2018. Naturally occurring a loss of a giant plasmid from *Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense* makes it non-pathogenic. *Sci Rep*. 8(1): 8218. doi: 10.1038/s41598-018-26425-1.

12) Fukano H, Yoshida M, Shimizu A, Iwao H, Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T, Kurata O, Wada S, Hoshino Y. 2018. Draft genome sequence of *Mycobacterium montefiorense* isolated from Japanese black salamander (*Hynobius nigrescens*). *Genome Announc*. 6(21):

e00448-18. doi: 10.1128/genomeA.00448-18.

13) Yoshida M, Fukano H, Miyamoto Y, Shibayama K, Suzuki M, Hoshino Y. 2018. Complete genome sequence of *Mycobacterium marinum* ATCC 927^T, obtained using Nanopore and Illumina sequencing technologies. *Genome Announc*. 6(20): e00397-18. doi: 10.1128/genomeA.00397-18.

14) Imai T, Matsumura T, Mayer-Lambertz S, Wells C, Ishikawa E, Butcher SK, Barnett TC, Walker MJ, Imamura A, Ishida H, Ikebe T, Miyamoto T, Ato M, Ohga S, Lepenies B, van Sorge NM, Yamasaki S. 2018. Lipoteichoic acid anchor triggers Mincle to drive protective immunity against invasive group A Streptococcus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 115(45): E10662-E10671. doi: 10.1073/pnas.1809100115.

15) Han K, Jung K, Oh H, Song H, Park S, Kim JH, Min G, Lee BH, Nam HS, Kim YJ, Ato M, Jeong J, Ahn C. 2018. A collaborative study to establish the second Korean national reference standard for snake venom. *Toxicol Res.* 34(3): 191-197.

16) Yotsu RR, Kouadio K, Vagamon B, N'guessan K, Akpa AJ, Yao A, Aké J, Abbet Abbet R, Tchamba Agbor Agbor B, Bedimo R, Ishii N, Fuller LC, Hay R, Mitjà O, Drechsler H, Asiedu K. 2018. Skin disease prevalence study in schoolchildren in rural Côte d'Ivoire: Implications for integration of neglected skin diseases (skin NTDs). *PLoS Negl Trop Dis.* 12(5): e0006489. doi: 10.1371/journal.pntd.0006489.

17) Niki M, Yoshiyama T, Miyamoto Y, Okumura M, Niki M, Oinuma KI, Kaneko Y, Matsumoto S, Sasaki Y, Ogata H, Goto H, Kudoh S, Hoshino Y. 2018. Longitudinal evaluation of humoral immunity and bacterial and clinical parameters reveals that antigen-specific antibodies suppress inflammatory responses in active tuberculosis patients. *J Immunol Res*. Article ID: 4928757. doi: 10.1155/2018/4928757.

18) Morimoto K, Nakagawa T, Asami T, Morino E, Fujiwara H, Hase I, Tsujimoto Y, Izumi K, Hayashi Y, Matsuda S, Murase Y, Yano R, Takasaki J, Betsuyaku T, Aono A, Goto H, Nishimura T, Sasaki Y, Hoshino Y, Kurashima A, Ato M, Ogawa K, Hasegawa N, Mitarai S. 2018. Clinico-microbiological analysis of 121 patients with pulmonary *Mycobacteroides abscessus* complex disease in Japan - An NTM-JRC study with RIT. *Respir Med*. 145: 14-20. doi: 10.1016/j.rmed.2018.10.012.

19) Reche P, Flower DR, Fridkis-Hareli M, Hoshino Y. 2018. Peptide-Based Immunotherapeutics and Vaccines 2017. *J Immunol Res*. 2018: 4568239. doi: 10.1155/2018/4568239. eCollection 2018.

20) Le W, Haiqin J, Danfeng H, Ying S, Wenyue Z, Jun Y, Li X, Tiejun S, Limei S, Jie L, De W, Yong N, Yangying L, Hao W, Yanfei K, Bin L, Maeda Y, Duthie M, Meiwen Y, Hongsheng W, Liangbin Y, Guocheng Z, Baoxi W, Heng G. 2018. Monitoring and detection of leprosy patients in Southwest China: A retrospective study, 2010-2014. *Scientific Reports*. 8(1): 11407. doi: 10.1038/s41598-018-29753-4.

21) Iwabuchi R, Ikeno S, Kobayashi-Ishihara M, Takeyama H, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y, Terahara K. 2018. Introduction of Human Flt3-L and GM-CSF into Humanized Mice Enhances the Reconstitution and Maturation of Myeloid Dendritic Cells and the Development of Foxp3$^+$CD4$^+$ T Cells. *Front Immunol.* 9: 1042. doi: 10.3389/fimmu.2018.01042.

22) Kobayashi-Ishihara M, Terahara K, Martinez JP, Yamagishi M, Iwabuchi R, Brander C, Ato M, Watanabe T, Meyerhans A, Tsunetsugu-Yokota Y. 2018. HIV LTR-Driven Antisense RNA by Itself Has Regulatory Function and May Curtail Virus Reactivation From Latency. *Front Microbiol.* 9: 1066. doi: 10.3389/fmicb.2018.01066.

23) Oh H, Shin J, Lee CK, Ochiai M, Nojima K, Ye O, Yoo KY, Lim CK, Raut S, Lisowski I, Han K, Lee C, Lee N, Hong J, Jung K, Van Hung PV, Ato M, Williams S, Jeong J. 2018. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific. *Osong Public Health Res Perspect*. 9(3): 133-139. DOI: https://doi.org/10.24171/j.phrp.2018.9.3.10

24) Yamamoto A, Harano S, Sinya N, Nagano A, Miyatsu Y, Sawabe K, Matsumura T, Ato M, Takahashi M, Taki H, Hifumi T. 2018. Freeze-dried equine-derived redback spider antivenom: A local irritation study by intramuscular injection in rabbits and a repeated-dose toxicity study in rats. *J Toxicol Pathol.* 31(2): 105-112. doi: 10.1293/tox.2017-0053.

25) Htet L, Kai M, Miyamoto Y. 2018. New etiology of leprosy in Myanmar: another two patients. *Lepr Rev*.

89: 316–318.

2. 和文発表

1) 赤芝知己、瀬底里美、深野華子、石井則久、関根万里 BCG 肉芽腫の 1 例。臨床皮膚科、72: 1095-1099, 2018.

2) 森修一 ハンセン病対策の歴史と現状 －日本と世界－。日本ハンセン病学会雑誌、87: 73-90, 2018.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Hoshino Y. Cell-based Comprehensive and Systematic Binding Analysis Between HLA -DR or -DQ Regions and T Cell Epitopes of TB Antigens ,Keystone Symposia. 15-20 April, 2018. Whistler, Canada

2) Hoshino Y. Cell-based Comprehensive and Systematic Binding Analysis Between HLA -DR or -DQ Regions and T Cell Epitopes of TB Antigens , ATS 2018, 18-23 May, 2018. CA, The USA.

3) Mukai T, Habeenzu C, Y. Suzuki Y. Leprosy Survey in 2018 at Sinazongwe District. Leprosy Surveillance Meeting at Zambia Government. 31 July, 2018. Lusaka, Zambia.

4) Tsukamoto Y, Maeda Y, Tamura T, Mukai T, Mitarai S, Yamamoto S, Makino M. Improving the vaccine efficacy of recombinant BCG utilizing the major membrane protein-II (MMPII) antigen against tuberculosis. 5th European Congress of Immunology 2018, 2-5 September, 2018. Amsterdam, The Netherlands.

5) Ato M. Diagnostic tools for non-tuberculous Mycobacterium diseases. 1st International Scientific Meeting on Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ISM-CMID), 10th National Congress of Indonesian Association for Clinical Microbiology (KONAS PAMKI) and 12th National Symposium of Indonesian Antimicrobial Resistance Watch (NS-IARW) 13-14 October, 2018. Surabaya, Indonesia.

6) Suzuki Y, Sugimoto C, Higashi H, Isoda N, Yamagishi J, Nakajima C, Hayashida K, Inoue N, Suganuma K, Mukai T, Maeda Y, Miyamoto Y, Chiluba C, Simukoko H, Kapata N, Mblo G, Solo E, Bwalya P, Hachaambwa L, Simuuza 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. The 3rd International Joint Symposium, Promotion of Infectious Disease Research Cooperation between Africa and Japan toward Science, Technology and Innovation. Accra, 15-16 November, 2018. Accra, Ghana.

7) Miyamoto Y, Kai M, Maeda Y, Mukai T, Matsuoka M, Makino M, Ato M. Profiling of intracellular metabolites in *Mycobacterium leprae*. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. 26-27 February, 2019. Hanoi, Vietnam.

8) Mukai T, Isoda N, Yamaguchi T, Miyamoto Y, Maeda Y, Habeenzu C, Suzuki Y. Detection of *Mycobacterium lepra* DNA in nasal swabs by dried loop-mediated isothermal amplification. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. 28 February-1st March, 2019. Hanoi, Vietnam.

9) Maeda Y, Mukai T, Miyamoto Y, Tamura T, Suzuki Y, Ato M. Leprosy diagnostic methods: detection of paucibacillary patients. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, 28 February-1st March, 2019. Hanoi, Vietnam.

10) Ato M, Kitada S, Jou R, Samer W, Morimoto K, Lertmemongkolchai L, Kobayashi K. Evaluation of anti-glycopeptidelipid core antigen ELISA for non-tuberculous mycobacterium diseases in Asian countries. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. 28 February-1st March, 2019. Hanoi, Vietnam.

11) Murase C, Yotsu RR, Mikami M, Suzuki K, Ato M, Hoshino Y, Akiyama M, Ishii N. Buruli ulcer in Japan: update 2017-2018. WHO meeting on Buruli ulcer and other Skin NTDs. 25-27 March, 2019. Geneva, Switzerland.

2. 国内学会

1) 星野仁彦、宮寺浩子、徳永勝士、永井英明、吉山崇 結核菌抗原 T cell epitope 領域の HLA class II 結合解析。第 58 回日本呼吸器学会学術講演会、2018 年 4 月、大阪

2) 星野仁彦、中田登、阿戸学、小椋義俊、林哲也　ハンセン病治療薬clofazimine薬剤耐性機序の分子生物学的解明。第91回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018年6月、宮城
3) 向井徹、前田百美、宮本友司、鈴木定彦　らい菌遺伝子検出Dry-LAMP法の開発。第91回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018年6月、宮城
4) 宮本友司、前田百美、向井徹、甲斐雅規　らい菌の生存度を反映するRNA分子の解析。第91回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018年6月、宮城
5) 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91回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018年6月、宮城
6) 森修一　ハンセン病対策の歴史と現状。第91回日本ハンセン病学会総会・学術大会、2018年6月、宮城
7) 後藤啓元、欠田成人、波部幸司、山中恵一、宮本友司、石井則久　ブルーリ潰瘍の1例。第284回日本皮膚科学会東海地方会例会、2018年6月、三重
8) 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　地域特性を疑う新規同定抗酸菌*Mycobacterium shigaense*の特徴とその感染源についての調査研究。第93回日本結核病学会総会、2018年6月、大阪
9) 中川拓、朝倉崇徳、森本耕三、南宮湖、鈴木翔二、八木光昭、福井保太、林悠太、垂水修、山田憲隆、星野仁彦、倉島篤行、長谷川直樹、小川賢二　肺*Mycobacterium avium* complex症に対する間欠的治療の検討　後ろ向き多施設共同研究。第93回日本結核病学会総会、2018年6月、大阪
10) 星野仁彦、永井英明、吉山崇、宮寺浩子、徳永勝士結核菌抗原T cell epitope領域のHLA class II結合解析。第93回日本結核病学会総会、2018年6月、大阪
11) 吉田光範、星野仁彦、宮本友司、小椋義俊、林哲也、石井則久　ブルーリ潰瘍の原因菌*Mycobacterium ulcerans* subsp. *shinshuense*の比較ゲノム解析。第93回日本結核病学会総会、2018年6月、大阪
12) 村上遥子、佐々木優、岸晶子、林伸和、宮本友司、石井則久　後頭部に生じた*Mycobacterium mageritense*による皮膚非結核性抗酸菌症の1例。第880回日本皮膚科学会東京地方会例会、2018年7月、東京
13) 星野仁彦　非結核性抗酸菌研究の最近の潮流。第101回日本細菌学会関東支部総会、2018年11月、東京
14) 星野仁彦　非結核性抗酸菌症と結核～疫学と微生物学から～。第60回日本小児血液がん学会総会、2018年11月、京都

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 30 年度収集件数:794 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 30 年度の資料受入状況及び文献相互貸借状況は、以下の通りである。

資料受入状況			洋	和	合計
雑誌			147	191	338
	購入		85	3	88
		電子版	84	0	84
	交　換		14	5	19
	寄　贈		48	183	231
単行本			178	135	313
	購　入		22	14	36
		電子版	0	0	0
	寄　贈		156	121	277

文献相互貸借状況			供与	依頼	合計
総数			97	1,067	1,164
	三庁舎間		39	39	78
	外部機関総数		58	1,028	1,086
		協力機関	25	138	163
		国公立大学/機関	21	523	544
		私立大学/機関	12	367	379

[編集翻訳係]

編集翻訳係では、平成 30 年度は JJID 第 71 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、3 月末に倉根一郎、加藤篤が退官により、石井則久が異動により委員を辞し、4 月に石井孝司（品質保証・管理部長）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 2.6 倍に増えた。海外からの投稿が 81%を占め、42 ヵ国に及んだ. 第 28 回感染研シンポジウムの演者及び平成 30 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/89 頁（18 編）、2 号/85（19）、3 号/81（16）、4 号/66（16）、5 号/71（16）、6 号/85（16）。

表. 平成 30 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	107 編	63 編	内、感染研からの投稿論文数 7 編
海外	450 編	29 編	42 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、平成 30 年度においても掲載受理から実際に掲載されるまでの期間は概ね 3～5 ヶ月であった。

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通信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所内 LAN システムが導入された。NIH-NET は、所員の e-mail の利用・Web サイト閲覧・研究用 Web 基盤の提供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「感染研公式 Web サイト」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、公式 Web サイトはページ更新・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 間の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。平成 28 年度からは、「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った。

Ⅱ.体制

国立感染症研究所の情報システムは、研究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、研究情報セキュリティ委員会を親委員会として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、LAN への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

ネットワーク障害の発生時に、発生警告の受け取り、障害箇所と原因の調査、障害対応のエスカレーション、保守業者への連絡、修理の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 14 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 30 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) 薬剤耐性研究センターのハンセン病研究センター庁

舎への設置と、耐性菌ゲノム解析用のサーバの通信環境の確保のために、ハンセン病研究センターの通信回線の改良を行った。

(2)戸山庁舎 RI 管理区域の一部を一般実験区域に変更する工事に伴い、新たに実験施設用回線を敷設した。

(3)村山庁舎に研究情報運営委員会事務局員を配置した。

(4)標的型メール攻撃訓練を実施した。

Ⅴ. 平成 30 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. 18/07/25 **一時的ネットワーク不通について**

病原体ゲノム解析センターの設置する NGS 解析用サーバの発する通信量と通信プロトコルの問題で、ファイル転送の遅延とデータ破損が発生した。

2. 19/01/25 **感染研 Web サイトへのアクセスが極端に遅延**

アクセス集中によるもの

3. 19/03/04 **インターネット回線接続部のルータの障害による外部通信の途絶**

VPN 接続で外側から大量のデータ(正規のユーザから認証された内部サーバに向けて)が送入されたため。

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1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・中学生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28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、血液・安全性研究部斎藤益満実行委員長の元、佐賀県の協力とともに、一般公開の企画運営を行った。113 名の感染研職員等がスタッフとして参加し、パネル展示(感染研の歴史、日本近代医学史、感染研業務(国家検定)、抗HIV 薬、抗インフルエンザ薬、病原体の種類、BSL4 実験室)、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、バイアル瓶巻締体験、病原体＆感染細胞観察、研究者体験(Green Scientist Club 企画)、血液当てクイズ、スタンプラリーを実施した。また、特別企画として、感染症基礎知識セミナーを実施し3名の専門家が講演をおこなった。台風接近の中、16:50 で終了とした。来場者は 287 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 29 日(土)10:00-17:00 の開催とした。品質保証・管理部作道隆実行委員長の元、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。170 名の感染研職員等が参加し、パネル展示(動物由来感染症、薬剤耐性菌、病原体の種類、感染研業務(国家検定・国際協力)、ハンセン病)、講演、感染症クイズ、サイエンスカフェ、手洗い実習、病原体写真展、ゲーム、模型工作、病原体・昆虫標本展示、バイオセーフティラボ体験、実験体験コーナー(Green Scientist Club 企画)、ラボ見学、感染症映画、生き物展示、スタンプラリーを実施した。来場者は 396 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、Softbank 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田辺靖雄氏が来場し、肝炎検査の啓発および肝炎クイズを行った。また NHK 首都圏ニュースで感染研一般公開の模様が放送された。

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)、および感染症総合管理 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 27 人、感染症総合管理 1d が 22 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 9 人、1d で 16 人に修了証を授与した。部長会で市民セミナーのあり方を検討した結果、「知の市場」との共催市民セミナーは本年度限りで一旦終了することとなった。

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 30 年 11 月 6 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渡邉真治室長が、「インフルエンザ」について」講義、鶏卵観察の実習を行った。講師の他に、6 名の研究職員・2 名の事務職員が観察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 21 日（土）武蔵村山市大南公園において、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 3 名、業務管理課から 4 名が参加し、7 月 28 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 10-11 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 2018」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。