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。しかし、令和 2 年 1 月から始まった新型コロナウイルス感染症流行により、感染研の重要性が再確認されることになった。新型コロナウイルス感染症対策には年度を通して全所的に対応した。また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る。研究部からは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、花木賢一が新設された安全実験管理部長に配置換えとなった。また、鈴木基が新設された感染症危機管理研究センター長を併任することとなった。6 月 30 日、磯貝達裕が転任し、7 月 1 日、大澤英二が国際協力室長を併任した。8 月 7 日、大澤英二が転任し、同日竹下望が企画調整主幹に就任した。令和３年１月１日、齋藤智也が感染症危機管理研究センター長に就任した。また、松岡隆介が国際協力室長に昇任した。令和 3 年 3 月 31 日、中野敏昭総務部長、花田賢太郎細胞化学部長が定年退職となった。また、西條政幸ウイルス第一部長、柴山恵吾細菌第二部長が退職された。退官された方のこれまでの感染研業務への貢献に感謝したい。

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。前年度に特定一種病原体の輸入に関して厚生労働大臣の指定を受け、特定一種病原体が輸入・所持され、施設内に保管された。東京オリンピックパラリンピック 2020 大会の開催にむけて、特定一種病原体の検査体制の確立のための業務を行った。オリンピックは新型コロナウイルス感染症の流行のため延期が決定したが、本業務を継続している。感染研村山庁舎では引き続き安全対策、災害・事故対策及び避難対応の強化に取り組んでいる。

さて本年度は、新型コロナウイルスの流行という、わが国において近年経験しなかった公衆衛生上の危機への対応をおこなった。新型コロナウイルス感染症の検査対応、疫学対応、病原体解析、ウイルスゲノム解析、ワクチンの承認前検査対応などを全所あげておこなった。その詳細は各部の報告を参照されたい。

令和 2 年 1 月 3 日に中国湖北省武漢市において原因不明の重症肺炎の集積が報告さ

れ、その後、新型のコロナウイルスによることが判明した。わが国においても、武漢市に滞在歴がある症例だけでなく、国内での感染例が診断され流行が始まった。新型コロナウイルス感染症は感染症法において指定感染症に指定された。流行早期から感染研はPCR検査法を確立し、病原体検出マニュアルを整備するとともに、全国の地方衛生研究所や検疫所に検査キットを配布して国内の検査体制構築を支援した。また、自治体、保健所、地衛研、医療機関等からの依頼に応じてPCR検査を実施した。また、感染症疫学センターの業務が多岐にわたるため、危機対応関連部門、病原診断部門、講習部門を分離して感染症危機管理研究センターを本年度から新設し、主として危機管理部門を感染症危機管理研究センターが担うこととなった。本年度は主として検査業務を担当したが、新型コロナウイルスの変異株に対するリスク評価の取りまとめと公表をおこなった。

感染症対策には国際連携が重要である。しかし、新型コロナウイルス感染症の流行のため、海外への渡航と海外からの来日はともに困難となった。このため海外の国立研究機関との連携・共同研究は、オンラインの開催となったが、台湾CDCとの第17回日台感染症シンポジウム（9月10日）が開催された。新型コロナウイルス感染症と実地疫学専門家養成コースを題材に、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。また、中国CDC及び韓国CDCとの共同研究シンポジウムと第14回日中韓感染症フォーラム(10月29-30日)もオンラインで開催された。シンポジウムでは、新型コロナウイルス感染症への対応について、また感染症フォーラムでは、インフルエンザと新型コロナウイルス感染症の現状と診断検査戦略について、各機関の取り組み状況について、発表と討議が行われた。

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、エイズ研修をオンラインで行った。新型コロナウイルス感染症のパンデミック下であるが、研修を通して国際的に大きな貢献を行った。

感染研は情報公開に努めているが、令和２年度は新型コロナウイルス感染症流行のためにアウトリーチ活動の実施が困難となった。例年実施している感染研シンポジウム、戸山庁舎および村山庁舎の一般公開はそれぞれ中止となった。しかし、令和３年2月26日に武蔵村山市雷塚小学校の６年生を対象としたオンラインによる出前授業をおこなった。アウトリーチ活動は流行の状況によって、リモートの開催も含めて開催を検討していく。

1．ウイルス第一部

部長　　西條　政幸

概　要

ウイルス第一部長西條政幸は、2021 年 3 月 31 日を以て国立感染症研究所を退職し、札幌市保健福祉局・保健所に異動した。

ウイルス第一部では、特定一種病原体を含む出血熱ウイルス、ポックスウイルス、節足動物媒介性ウイルス（アルボウイルス）、神経系ウイルス、ヘルペスウイルス、リケッチア、クラミジア、コクシエラ等の病原体を所掌とし、これらの病原体と病原体によって引き起こされる疾患に関する研究、リファレンス、検査業務及び痘そう、日本脳炎、狂犬病、水痘ワクチン等の生物製剤検定業務を遂行している。さらに本年度は、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の国内及び世界的な流行を受けて、COVID-19 の病原体である severe acute respiratory syndrome covonavirus 2（SARS-CoV-2）に関するリファレンス・行政検査業務及び流行対策に迅速に対応した。

第一室においては、主にエボラウイルス等の特定一種病原体及び出血熱ウイルスによって引き起こされる感染症の研究及び業務を行っている。現在、国立感染症研究所は、高度封じ込め施設（BSL-4 施設）において取り扱われるべき特定一種病原体を保持している。これらの感染性病原体を用いて、日本の特定一種病原体対策に資するリファレンス・診断法開発等の業務を遂行している。特に、エボラウイルス等に対する、より精度の高い検査法を確立するために中和抗体測定システムを開発した。またライブセルイメージング技術を活用し、フィロウイルスタンパク質の機能及び細胞内局在に関する研究を行った。重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thromobocytopenia syndrome, SFTS）及び Soft tick bunyavirus 等の国内において流行地域拡大や健康被害の発生が危惧されるウイルスに関する基礎、臨床・疫学、病原性発現基盤、治療法開発等の研究、高度弱毒化痘瘡ワクチンの組換え技術を用いて高病原性ウイルスに対するワクチンを開発した。またデング出血熱発症機序の解明等の研究を継続した。

第二室においては、ヒトに様々な健康被害をもたらし、日本国内及び国外においても公衆衛生的に重要な蚊媒介性フラビウイルスである日本脳炎ウイルス（JEV）、デングウイルス（DENV）、ジカウイルス（ZIKV）に関する研究を行った。DENV 及び JEV に関しては、デング熱患者検体を用いて他のフラビウイルス感染との血清学的交差応答や JEV の非構造タンパク質検出系による新規検査法の開発を行った。ZIKV 感染症関連研究では、組換え ZIKV を作出するためのリバースジェネティックス法と様々な動物モデルを駆使して、ZIKV 感染症の病原性発現機序を分子レベルで明らかにした。また SFTS ウイルス（SFTSV）に近縁のダニ媒介性ウイルスで米国においてヒトに SFTS 様の疾患を引き起こすハートランドウイルス（HRTV）のリバースジェネティックス法、動物感染モデル、高度弱毒化組換え痘瘡ワクチンベクター等の様々アプローチを駆使して、増殖及び病原性発現の分子機序を明らかにし、さらにワクチン開発に資する研究を行った。

第三室においては、狂犬病ウイルス及び JC ウイルス等の予後不良な中枢神経系感染症を引き起こすウイルスに関する研究を行った。狂犬病ワクチンの品質保証試験の代替法開発に関する研究を行った。2006 年以来 14 年ぶりとなった輸入狂犬病に関する行政検査を獣医科学部および感染病理部と共同で担当した。進行性多巣性白質脳症（PML）の診断支援のため、JC ウイルスの遺伝子検査を行った。さらに、JC ウイルスの変異タイピング検査系を確立した。昆虫媒介性の脳炎・発熱性疾患ウイルスの輸入例対策として、アメリカ大陸や欧州で流行している蚊媒介性ブニヤウイルスによる脳炎・熱病（サンドフライ熱ウイルス、カリフォルニア脳炎グループウイルス、オロプーシュウイルス等）の診断システムの確立、血清疫学研究、抗ウイルス薬及びウイルスタンパク質の細胞内局在に関する研究を行った。小児の重篤な中枢神経疾患の原因となるチャンディプラウイルスについて、抗ウイルス薬のスクリーニングおよび動物モデルに関する研究を行った。また、SARS-CoV-2 の武漢株および新規変異株について、国内外の研究機関への分与業務を担当した。

第四室においては、主に単純ヘルペスウイルス 1 型（herpes simplex virus 1, HSV-1）とヒトに致死的な脳炎を惹起するヘルペス B ウイルスに関する研究がなされた。 HSV-

1 のアシクロビル耐性獲得機序を分子レベルで明らかにすると共に国内の医療機関から難治性 HSV-1 感染症、水痘・帯状疱疹ウイルス感染症およびヒトサイトメガロウイルス（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。2019 年 11 月に日本で初めてサル由来 α ヘルペスウイルスであるヘルペス B ウイルスによる中枢神経感染症患者が確認された。獣医科学部と共同で B ウイルス感染症検査を担当するとともに、血清学及び分子生物学的ウイルス検出法を開発し、分子・血清疫学的研究を行った。またヘルペスウイルスと神経細胞との相互作用や EB ウイルスに関する基礎的な研究も継続された。

第五室においては、マダニ媒介細菌感染症の総合的な対策の構築を目的に、国内の研究者と共同し、各種細菌性病原体の性状・病態等の解明、病原体ゲノム情報のアーカイブ化、日本紅斑熱リケッチアの病態マウスモデルの確立、ツツガムシ病リケッチア型特異的組換え抗原を用いた血清学的診断法の開発に関する研究を行った。さらにツツガムシの共生細菌に関する研究や紅斑熱リケッチア群に属するものの弱毒型のリケッチアだと考えられている *Ca.* Rickettsia longicornii の解析等、基礎から応用領域を含む包括的な研究も実施された。一方、リケッチア分離株のリソース構築やリケッチア症検査法の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も継続された。

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

COVID-19 への対応として、ウイルス第一部は、感染症危機管理研究センター、ウイルス第一部、ウイルス第二部、エイズ研究センター、細菌第一部を中心に組織された国立感染症研究所戸山庁舎 COVID-19 検査担当班において、各検疫所、地方自治体、医療機関より依頼された COVID-19 患者検体に対するウイルス遺伝子検査法を用いた迅速検査を担当した。また、感染病理部、獣医科学部、ウイルス第三部、病原体ゲノム解析研究センター、感染症危機管理研究センター、安全実験管理部、総務部調整課と協力して、分与用 SARS-CoV-2 ウイルスストックの作製および、国内外へのウイルス分与を担当した。さらに、ウイルス分離、迅速検査法・血清学的診断法の開発、抗ウイルス薬による治療効果、ワクチン開発研究等、日本の新型コロナウイルス対策に資する研究も実施された。

2020 年度には痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチン、帯状疱疹ワクチンおよび水痘抗原の国家検定と黄熱ワクチンの行政検査を担当した。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. ウイルス性出血熱および新興・再興感染症に関する研究

1. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する研究

1) SFTSV の治療用抗体開発に関する研究

SFTS は症状が重篤で致命率も 30％前後と高い。SFTS に対する特異的な治療法は存在しない。これまでにカニクイザルを用いて作製された抗 SFTSV 抗血清（精製抗体）の投与が SFTS の霊長類モデルおよびマウスモデルにおいて特異的治療薬として有効であることを明らかにした。単クローン抗体による治療薬開発のためにヒトやマウスの単クローン抗体を収集し解析した結果、治療用抗体の標的となり得るエピトープがウイルス GP 上に複数確認された。今後治療用に抗体を選択する際の指標になると考えられた。［下島昌幸、杉元聡子、髙松由基、黒須剛、吉河智城、西條政幸］

2) SFTSV の病原性解析

SFTSV の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の研究として、SFTSV を培養細胞で継代し変異ウイルスを複数得て、継代前のウイルスと病原性を比較した結果、マウスモデルで低病原性を示す変異ウイルスが存在した。遺伝子操作系を応用して解析したところ、その病原性の低下は GP 内の変異によることが判明した。SFTSV の病原因子として non-structural protein（NSs）が知られているが、GP も病原因子となり得ることが判明した。［下島昌幸、杉元聡子、髙松由基、黒須剛、吉河智城、西條政幸］

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

細胞培養痘そうワクチンの製造承認株であるワクチ

ニアウイルス株 LC16m8（m8）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。現在 m8 の長所を生かして、SFTSV 感染症への効果的なワクチンの開発を行っている。既に SFTSV の核タンパク質（N）、膜タンパク質（GPC）をそれぞれ単独、または両方を発現する組換え m8（それぞれ m8-N、m8-GPC、m8-N+GPC）のワクチン効果はマウス、サルを用いた動物実験により確認されている。本年度はこれらの組換え m8 が誘導する SFTSV に対する特異抗体がワクチン効果に寄与するかを検討した。I 型 IFN レセプター欠損マウスに、上記の組換え m8 と対照として蛍光タンパク質 EGFP を発現する m8-EGFP を免疫して血清を回収し、予めナイーブな IFN レセプター欠損マウスに投与後に SFTSV を接種し、その 5 日後に血清と脾臓を回収しウイルス量を測定した。m8-GPC、m8-N+GPC 免疫マウス血清投与群における血清中の SFTSV 量は m8-EGFP 免疫マウス血清投与群と比較して有意に低かった。興味深いことに *in vitro* では SFTSV 中和活性が認められなかった m8-N 免疫マウス血清を投与した群における SFTSV 量は統計学的には有意でないものの m8-EGFP 免疫マウス血清投与群と比較してより低いことが確認された。更に m8-N+GPC 免疫マウス血清投与群の血清中、脾臓中の SFTSV 量は m8-N、m8-GPC 免疫マウス血清投与群のそれらと比較してより低くなっていた。これらの結果より m8-N 免疫によって誘導された N に対する特異抗体は *in vitro* での中和活性は示さないにもかかわらず *in vivo* では SFTSV の増殖を抑制し、更には GP に対する特異抗体と協調的に作用してより強力な SFTSV 増殖抑制効果を示すことが明らかとなった。［吉河智城、加藤博史、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸］

4) SFTSV の薬剤耐性に関する研究

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は SFTSV によるダニ媒介性疾患であり、日本では毎年40～100名の患者が報告されている。抗ウイルス薬 favipiravir は SFTS に対する治療薬候補である。本薬剤の臨床応用に関して、ウイルスの薬剤耐性化の可能性を検討した。培養細胞を用いて、高濃度 favipiravir 存在下で 5 代および10代継代して得られたウイルスと非存在下で継代した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。これらのウイルスのポリメラーゼ遺伝子の配列を比較したところ、存在下での継代ウイルスでは 10 か所以上の変異が見られた一方、対照ウイルスでは 1 か所のみであった。Favipiravir は変異原ではあるが、耐性変異を起こさないことが示唆された。［伊藤（高山）睦代、佐藤正明、加藤博史、河原円香、西條政幸］

5) 天然化合物等の SFTSV に対する増殖抑制効果に関する研究（1）

カフェ酸類似の化合物8種の増殖抑制効果の検討では、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 3,4-dihydroxyhydrocinnamic acid のみが、活性を示した。さらに、芳香族環にヒドロキシル基が2つある構造の Catechol だけでも、活性を示すことを発見し、o-dihydroxybenzene が抗ウイルス活性の基本構造であることが示された。［小川基彦、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸；白砂圭崇、深澤征義（細胞化学部）］

6) 天然化合物等の SFTSV に対する増殖抑制効果に関する研究（2）

緑茶由来カテキン4種およびフラボノール2種の抗 SFTSV 活性を評価した。エピガロカテキンガレート（EGCg）およびエピガロカテキン（EGC）がウイルス増殖を顕著に抑制した。これら化合物はウイルス粒子に直接作用し、感染能を失活させることで抗ウイルス活性を発揮すると考えられた。また、EGCg と EGC の構造の一部であるピロガロール（1, 2, 3-トリヒドロキシベンゼン）にも抗ウイルス活性が認められ、抗ウイルス活性の基本構造が示された。［小川基彦、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸；深澤征義（細胞化学部）］

7) LAMP 法を用いた SFTSV 検出系の構築

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を開発し、これを応用した loop-mediated isothermal amplification（LAMP）法による SFTSV 検出系を構築した。簡易前処理法による RT-LAMP は、$1.0\times10^{3.5}$copies/mL のウイルス RNA を含む臨床検体から検出可能であり、現行 PCR と比較し感度 84.9%であった。従来、液状試薬を LAMP 用反応チューブに分注する作業が必要であったが、乾燥試薬を用いる系を確立し、さらなる簡便化をおこなった。

本検出系は、迅速で簡便な SFTSV 検査を可能とするものであり、臨床現場での実用化が期待される。［福士秀悦、木下一美、原田志津子、山田壮一、黒須剛、吉河智城、下島昌幸、西條政幸］

2. 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を用いた病原機序の解析

ウイルス性出血熱は重篤な疾患を起こす。重症ウイルス性出血熱の病態機序の解明、効果的な治療法の開発、治療法検定系の開発を目指し、感染動物モデル系を用いた解析を行った。これまで3型デングウイルス DV3P12/08 株を、インターフェロン系ノックアウトマウス（IFN-KO マウス）に感染させた。血漿漏出を伴う致死的感染モデルを用いて解析を行い、マウスへの感染によりある特殊な T 細胞集団が増殖・活性化し、過剰なサイトカイン産生、血漿漏出へと誘導していることを明らかにした。T 細胞受容体（TCR）解析により、感染により誘導されるこの T 細胞集団はポリクローナルな増殖であることが明らかになった。このことより T 細胞の活性化には、TCR による抗原提示細胞を介した認識は関与せず、他の要因によると推察された。一方、ミエロイド系細胞だけの I 型インターフェロンレセプターが部分的にノックアウトされている（lysmcre+ifnar1-floxed）マウスとマウス臓器に順化させたデングウイルスを用いて、これまでと同様の現象が観察される致死的モデル系を樹立した。観察をまとめると、ミエロイド系細胞への感染が、なんらかの機序によりある T 細胞集団を活性化させ、血漿漏出や出血症状を伴う重症化を誘導したと考えられた。［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）］

2) フィロウイルスの複製機構に関する研究

フィロウイルスのウイルス転写因子であるウイルスタンパク質 VP30 は、可逆的リン酸化を介して転写・複製機構を制御することが知られている。しかし、①VP30 がフィロウイルスのヌクレオカプシドにどのように取り込まれるのか、②ヌクレオカプシドにおける VP30 のオリエンテーションはどうなっているのか、VP30 のヌクレオカプシド形成における役割については不明な点が多かった。そこで、①については、各種顕微鏡解析と生化学的解析を用いてヌクレオカプシドタンパク質との相互作用を明らかにすることで、その分子機構の一端を解明することに成功した。②については、濃縮・精製したウイルスまたはウイルス様粒子のエンベロープを界面活性剤で溶解し、ヌクレオカプシドを露出させ、VP30 特異抗体を用いた免疫電顕法により VP30 のオリエンテーションを決定することができた。さらに本研究で確認された現象がエボラウイルス（EBOV）とマールブルグウイルス（MARV）のどちらでも観察されたことから、VP30 とヌクレオカプシドの相互作用はフィロウイルス全般で保存された分子機構であり、新たな抗 EBOV 薬の標的になり得ることが示唆された。［髙松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸］

3) ライブイメージング法を用いた高病原性ウイルスの細胞内動態に関する研究

EBOV で構築した非感染性のライブセルイメージングシステムを他の高病原性ウイルスに応用した。具体的にはマールブルグ出血熱を起こす MARV について、EBOV と同様にタンパク質発現系を用いたライブセルイメージングシステムを構築し、ヌクレオカプシドの輸送に必須なウイルスタンパク質を同定した。また、日本を含むアジアで流行している SFTS の病原体である SFTSV について、感染細胞におけるウイルスタンパク質複合体の輸送経路を同定した。同様に喫緊の国際公衆衛生上の最重要課題のひとつである新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）についても、SFTSV と同様に感染細胞におけるタンパク質複合体の輸送経路を同定することに成功した。現在、どのタンパク質のどのドメインが細胞内輸送に関与するのか研究を進めている。［髙松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸］

4) MARV のヌクレオカプシド形成機構に関する研究

フィロウイルス科の MARV の構造解析は EBOV に比べて遅れており、ヌクレオカプシドの基礎構造である NP-RNA 複合体の微細構造も分かっていなかった。今回、京都大学ウイルス・再生医科学研究所微細構造ウイルス学分野との共同研究で、クライオ電子顕微鏡を用いて、MARV の NP-RNA 複合体の微細構造を 3.1Å で決定することに成功した。本研究の成果は、MARV の転写・複製を制御する新しい治療薬開発に大きく貢献する。［髙松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸］

5) 高病原性ウイルスの複製を制御する新規治療法に関する研究

日本及び国際的に重要な高病原性ウイルスに対する新規治療法を構築するために、フラビウイルスを対象に長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野と共同研究を進めた。その結果、site-1 protease 阻害剤（PF-429242）がジカウイルスの複製を抑制することを発見した。また、アレナウイルスを対象に、京都大学ウイルス・再生医科学研究所微細構造ウイルス学分野と共同研究を進めた。京都大学が保有する化合物ライブラリー（2000 以上のアメリカ食品医薬品局 FDA に認可されている化合物）に属する薬剤を順次スクリーニングすることで、アレナウイルス科のウイルス複製を広く制御する化合物を同定することに成功した。［髙松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸］

3. 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、STBV）と名付けられたブニヤウイルスは中央アジアでイシククル熱を引き起こしている Issyk-kul virus（ISKV）と系統樹解析から非常に近縁であると考えられている。STBV によるヒトの感染症の発生は知られていないが、マウスモデルを用いたこれまでの研究で STBV と ISKV とで病原性の発現機序は同じであることが示され、STBV によるヒトの感染症が発生し得る可能性が考えられた。治療法開発に取り組み、抗インフルエンザ薬のアビガンと抗ウイルス単クローン抗体が治療薬剤候補となり得ることを示した。［下島昌幸、杉元聡子、西條政幸］

4. 出血熱ウイルスワクチンの開発

1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台としたエボラウイルス病ワクチンの開発

前年度までに私たちは LC16m8 をベースとして、感染細胞で EBOV（ザイール株、スーダン株、ブンディブギョ株、タイフォレスト株）、MARV のエンベロープ糖タンパク質（GP）を発現する組換え m8（m8-GP）を作製した。本年度は m8-GP のワクチンとしての有効性を、EBOV ザイール株の GP を外套した組換え VSV をサロゲートウイルスとして用いるハムスターモデルにより評価した。ハムスターにザイール EBOV の GP 遺伝子または対照として蛍光タンパク質 EGFP をゲノムに保持する組換え m8（m8-Zaire_GP または m8-EGFP）をハムスターに皮内接種した。組換え m8 の免疫から 1 週間後にザイール EBOV の GP 遺伝子を保持する組換え VSV を腹腔内接種により感染させて、体重変化を経時的に測定した。m8-Zaire_GP を接種されていたハムスター群は感染後 2 日目から体重は増加傾向となり、14 日後まで体重は増殖し続けた。一方で m8-EGFP 接種群について、致死的感染を起こしたハムスターはいなかったが、接種 2 日目で体重の減少が確認され、その後 5 日目程度までは体重増加は横ばいであった。その後 14 日目まで体重は増加傾向となったものの m8-Zaire_GP 接種群と比較して体重の違いは明らかであった。以上より m8-Zaire_GP の EBOV ワクチンとしての効果が強く期待できる結果となった。［吉河智城、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸］

5. ウイルスの配列決定法に関する研究

1) 次世代シークエンシングを用いた RNA ウイルスの両末端配列を含めた全ゲノム配列迅速決定法の開発

高病原性ウイルス感染症の患者検体から分離されたウイルスの全ゲノム配列決定は必要かつ重要である一方で、一定の労力と時間を要する。また高病原性ウイルス感染症の原因ウイルスにはアレナウイルスやブニヤウイルスと言ったマイナス鎖分節ウイルスが多く、その末端配列決定にはしばしば技術的困難が伴う。2019 年度は比較的低価格かつ高性能の次世代シーケンサーである MinION を用いてマイナス鎖分節ウイルス RNA の両末端配列を含めた全ゲノム配列の迅速決定法の確立を行った。今年度はこの方法の更なる拡張を目指し、全ての RNA ウイルスの両末端配列を含めた全ゲノム配列の迅速決定法の確立を行った。サンプルはマイナス鎖分節ウイルス RNA ウイルスである、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV, 2 分節）と重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV, 3 分節）、A 型インフルエンザウイルス（IFV, 8 分節）、非分節マイナス鎖 RNA ウイルスであるイヌジステンパーウイルス（CDV）、プラス鎖 RNA ウイルスである SARS-CoV-2 を感染させた細胞の培養上清を用いた。前年度までに

確立した方法である3'末端へのリンカーライゲーション、ライブラリー調整時に用いる逆転写酵素や、PCR 酵素の更なる最適化により、今回検討した全てのウイルスについて全ゲノム配列決定に成功した。シークエンス結果は、少なくとも LCMV、SFTSV、CDV、そして SARS-CoV-2 についてはサンガー法により決定したゲノム配列、または GenBank に登録されているリファレンス配列と 100%一致していた。IFV については現在サンガー法によるシークエンス決定を行っており正確性を確認中である。[吉河智城、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸]

II. 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) デング熱患者血清の他のフラビウイルスへの交差反応の解析

デングウイルス(DENV) は、ジカウイルス(ZIKV)、日本脳炎ウイルス(JEV)、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ウイルスである。2015 年に南米を中心に ZIKV 感染症が流行した際に、抗 ZIKV 抗体と抗 DENV 抗体との交差反応によりZIKV 感染症の血清学的診断が困難となることが注目された。フラビウイルス間の抗体の交差反応の詳細を解析することは、フラビウイルス感染症の正確な血清学的診断にとって重要である。デング熱患者血清が他のフラビウイルス抗原に交差反応を示すか否かに関しては、デング熱流行国のデング熱患者血清を用いた解析は精力的になされ、論文も多数発表されている。一方、デング熱非流行国からデング熱流行国へ渡航し、デング熱を発症した患者の血清を用いた解析の報告は少ない。そこで、本研究では、日本からデング熱流行国へ渡航し、渡航先で DENV に感染しデング熱を発症した患者から採取されたペア血清を用いて、その血清が他のフラビウイルスに交差反応を示すか否かについて解析した。日本からデング熱流行国へ渡航し、ウイルス遺伝子検出検査(RT-PCR 法)によってデング熱と診断され、急性期血清と回復期血清のペア血清を入手できたデング熱患者を対象とした。前記のデング熱患者 7 人より採取されたペア血清(16 血清)を用いて、① DENV、 ZIKV、 WNV、 TBEV に対する IgM capture ELISA、② DENV, TBEV に対する IgG ELISA, ③ DENV、ZIKV、 WNV、 TBEV、 JEV に対する中和試験を実施した。IgM capture ELISA では DENV IgM capture ELISA で陽性を示した 9 血清のうち、ZIKV、 JEV、 WNV、 TBEV IgM capture ELISA に対して、それぞれ、2、 4、 2、 1 血清が交差反応を示した。IgG ELISA では DENV IgG ELISA で陽性となった 10 血清のうち 9 血清が TBEV IgG ELISA で交差反応を示した。中和試験においては、いずれの血清からも ZIKV および TBEV に対する中和抗体価は検出されなかった。5 血清(いずれも回復期血清)が WNV に対する中和活性を示したが、いずれの血清も、WNV に対する中和抗体価は、それぞれの患者が感染した血清型の DENV に対する中和抗体価の 1/4 以下であった。9 血清(急性期血清 3、回復期血清 6)から JEV に対する中和抗体価が検出された。急性期血清、回復期血清の両方で JEV に対する中和抗体価が検出された血清(急性期血清 3, 回復期血清 3 の計 6 血清)は、抗 DENV 抗体による交差反応以外の要因(過去の JE ワクチン接種、あるいは JEV に対する不顕性感染の既往)によって JEV に対する中和活性を示したものと考えられた(その 3 組のペア血清では、急性期血清から回復期血清にかけての JEV に対する中和抗体価の上昇が確認されなかったため)。残りの 3 血清(いずれも回復期血清)は、抗 DENV 抗体による交差反応によって JEV に対する中和能を示したものと考えられた。いずれの血清においても、JEV に対する中和抗体価は、それぞれの患者が感染した血清型の DENV に対する中和抗体価の 1/4 以下であった。本解析の結果、デング熱の血清学的診断にはペア血清を用いた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、高崎智彦、林昌宏、西條政幸]

2. JEV に関する研究

1) JEV 遺伝子型 V 型に対する組換え生ワクチン開発の試み

近年韓国では、これまでと異なる遺伝子型(V 型)の

JEVが蔓延している。V型株は従来型(I型あるいはⅢ型)とは遺伝学的に遠縁にあたり、血清学的にも異なる性状を示す。さらに V 型株に対し、Ⅲ型株で製造されている現行の日本脳炎ワクチンの効果が低い傾向があるとの報告もある。そこで本研究では、V型株に対して効果的な日本脳炎ワクチンの開発を試みた。以前私たちが作製した V 型株の E タンパク質をコードする組換え I-V キメラ型 JEV を用い、その E タンパク質に病原性減弱に関わる 10 個のアミノ酸置換を導入した新たな組換え JEV を作製した。また同時に、I 型株の E タンパク質に同様のアミノ酸置換を導入した組換え I 型JEVも作製した。アミノ酸置換導入により、ヒトおよびマウス神経芽細胞腫由来細胞株における増殖能の低下がみられた。また、マウスにおける神経浸潤毒性および神経毒性も顕著に低下していた。今後マウスにおける中和抗体誘導能および病態発症抑制能を解析する予定である。[田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、西條政幸、林昌宏]

2) 岡山県で発生した日本脳炎患者および広島検疫所坂出出張所で捕獲されたJEV感染蚊検体で検出されたJEVゲノム解析

岡山県で発生した日本脳炎患者の髄液より、JEV ゲノムの一部(E タンパク質領域)を増幅し、塩基配列を決定した。また、香川県で広島検疫所坂出出張所の調査により採取されたプール蚊検体 RNA より、JEV の全長ゲノム領域を増幅し、全塩基配列を決定した。両ゲノム配列は 99%以上の非常に高い相同性を示し、遺伝子型は 1 型であった。また令和元年度に広島県で発生した日本脳炎患者検体より同定したJEVゲノム配列とも同様に高い相同性を示した。[田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、西條政幸、林昌宏]

3) JEVNS1 抗原検出による日本脳炎診断法の確立

日本脳炎は、JEV が原因で生じる中枢神経感染症である。患者が日本脳炎を発症した場合でも、患者から採取された髄液あるいは血清から JEV 遺伝子が検出されることは極めて稀であるため、日本脳炎の診断は、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、抗 JEV 抗体検出検査を用いて正確に日本脳炎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、判定までに日数を要する。そこで、本研究では、迅速でより特異性の高い日本脳炎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。JEV の NS1 抗原検出系を構築するにあたり、NS1 タンパク質に対するモノクローナル抗体を樹立する必要がある。本年度は、昨年度までに構築した NS1 発現プラスミドから昆虫細胞と組換えバキュロウイルスとを用いて NS1 タンパク質を発現させ、可溶化することに成功した。さらに、モノクローナル抗体を樹立するために必要な量の抗原を精製できることを確認した。[前木孝洋、田島茂、加藤文博、柴崎謙一、池田真紀子、谷口怜、西條政幸、林昌宏]

3. ZIKV に関する研究

1) ZIKV PRVABC59 株および NIID123 株のリバースジェネティクス法を用いた増殖性および病原性の解析

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。アジア・アメリカ型はさらに 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。これまでに私たちは、各亜型に属する分離株の *in vitro* における増殖性、およびウイルス接種マウスにおけるウイルス動態と精巣に及ぼす影響を調べ、アメリカ亜型(PRVABC59 株)が最も増殖性が高く、精巣に与える病変も強いことを明らかにした。亜型間の差異の引き起こすウイルス側の要因を探るため、ZIKV PRVABC59 株および東南アジア亜型 ZIKV NIID123 株のリバースジェネティクスを確立し、その増殖性および病原性を解析した。PRVABC59 株は、NIID123 株に比べると、培養細胞での増殖性やマウスにおける病原性がより強いことを示した。病原性の差は特にマウスの精巣において顕著であり、マウスに PRVABC59 株を接種すると、精巣の萎縮が観察されるが、NIID123 株接種マウスでは見られなかった。さらに両株の増殖性、病原性の差に影響をおよぼすアミノ酸の違いを解析したところ、ウイルスの prM タンパク質の 146 番目のアミノ酸の違いが、

両株の増殖性や病原性の違いに影響を与えていることを示した。［田島茂、稲垣拓哉、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、林昌宏、西條政幸］

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 感染症は妊娠女性が ZIKA に感染して経胎盤感染により胎児が ZIKA に感染して引き起こされる小頭症をはじめとした病態のことである。 2017-2019 年度、私たちは妊娠前期および後期のマーモセットに 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急性期後期に安楽死処置後に、各臓器を採取しウイルス学的解析、病理学的解析を行なった。妊娠前期のマーモセットの妊娠状態は不安定であり、些細なことでも流産が生じる可能性が高い。妊娠前期におけるウイルス接種の物理的行為自体が流産を誘発している可能性を除くため、2020 年度、私たちは妊娠マーモセットへ陰性対照として培地を接種、妊娠継続への影響を検討した。培地接種のみでは流産は誘発されず、過去に行われた妊娠マーモセットにおける流産はいずれも ZIKV 感染によることが示唆された。［谷口怜、林昌宏、前木孝洋、中山絵里、田島茂、西條政幸；網康至、須崎百合子（安全実験管理部）；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 のマウス脳における病原性解析

ZIKV は遺伝子学的にアフリカ型とアジア型に分類される。女性が妊娠中に ZIKV に感染すると、胎児が小頭症などの先天性疾患に罹患する可能性がある。しかし、先天性 ZIKV 感染症はアジア型 ZIKV の感染でのみ確認されている。妊娠 Interferon α/β 受容体ノックアウト（IFNAR-/-）マウスを用いてアフリカ型とアジア型の母体から胎仔脳へのウイルスの移行効率の差を評価した。マウス胎仔で脳血液関門が機能し始める妊娠 15 日目に母マウスにそれぞれの遺伝子型の ZIKV を接種し、感染 3 日目に胎仔脳のウイルス遺伝子量を測定した。アフリカ型 MR766 株およびアジア型 PRVABC59 株で、胎仔脳内の ZIKV 量および胎仔脳のウイルス陽性率に差は認められなかった。母体組織の ZIKV 力価も株間で差が認められなかった。胎盤の ZIKV 力価は PRVABC59 株で高かったが、胎盤の ZIKV 力価と胎仔脳の ZIKV 量に相関は認められなかった。次に、乳飲みマウスおよび成熟マウスに MR766 または PRVABC59 株を脳内接種し、接種後の生存率を比較した。乳飲みマウスの生存期間は、PRVABC59 感染マウスと比較して MR766 感染マウスで短かった。成熟マウスでは PRVABC59 株感染マウスは約 40%が生残したのに対し、MR766 感染マウスは感染 7 日目までに 100%死亡した。脳内接種した成熟マウス脳組織中の ZIKV 力価を感染 4 日目に測定したところ、MR766 感染マウスで ZIKV 力価が高かった。以上より、PRVABC59 株と MR766 株の胎仔脳への移行効率に差はないが、MR766 株は脳での増殖効率が高く、アフリカ型 ZIKV が概して脳での増殖効率が高い場合、胎児に小頭症以上に重篤な症状を引き起こす可能性が考えられた。［中山絵里、柴崎謙一、田島茂、谷口怜、前木孝洋、林昌宏、西條政幸；Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）］

4) ZIKV のマウス血液脳関門透過性に関する研究

ZIKV MR766 株の 3 つの構造タンパク質 C、prM、E のうち、prM タンパク質が MR766 株のマウスにおける神経侵入性に関与していることを昨年度までに明らかにした。MR766 株の prM タンパク質を PRVABC59 株の prM タンパク質に置換したキメラウイルスでは、*in vitro* 脳血液関門モデルにおいて血管内皮細胞のトランスサイトーシス効率が低下した。タンパク質表面の疎水性が高まるとタンパク質が凝集しやすくなること、正電荷を有するナノ粒子やリポソームは負電荷を帯びた細胞表面に結合して細胞内に取り込まれることが知られている。MR766 およびキメラウイルスの構造解析および等電点電気泳動により、prM タンパク質を置換することでウイルスの正電荷、ウイルス表面の疎水性パッチ数およびパッチ面積が減少していることが分かった。以上より、MR766 の高い血液脳関門透過性は prM タンパク質の正電荷や疎水性が関与していることが示唆された。［中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、

田島茂、前木孝洋、谷口令、林昌宏、西條政幸；小川進也（東京大学）；Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）］

5) マウス初代培養細胞における ZIKV の増殖性解析

IFNAR-/-マウスにおいて病原性の異なる MR766 株、PRVABC59 株、MR766 の prM タンパク質を PRVABC59 の prM タンパク質に置換させたキメラウイルスについて、IFNAR-/-マウス由来初代培養細胞におけるウイルス増殖が *in vivo* でのウイルス増殖を反映するかどうかを解析した。マウス胎仔脳由来ニューロン、マウス胎仔線維芽細胞（MEF）、骨髄由来マクロファージを分離・培養し、MR766、PRVABC59、キメラウイルスを接種した後、培養上清中のウイルス力価を経時的に測定した。I 型インターフェロン応答が欠損している Vero 細胞における増殖性は 3 つのウイルスで類似していたが、マウス初代培養細胞における増殖性は、ニューロン、MEF、マクロファージのいずれにおいても MR766、キメラウイルス、PRVABC59 の順で増殖能が高かった。ニューロンにおける MR766 の増殖性は、脳内接種後の脳組織における MR766 の増殖と相関していたのに対し、キメラウイルスおよび PRVABC59 株のニューロンにおける増殖と脳内接種後の脳でのウイルス増殖、MR766、PRVABC59、キメラウイルスの MEF、マクロファージでの増殖とウイルス血症レベル（末梢でのウイルス増殖）はいずれも相関していなかった。今回使用した初代培養細胞は *in vivo* において一定程度ウイルスに感染することは示されているが、*in vivo* でのウイルス増殖を完全に反映しておらず、今回用いた初代培養細胞においては、*in vivo* でのウイルス増殖を予測することは困難であると考えられた。［中山絵里、田島茂、谷口怜、前木孝洋、林昌宏、西條政幸；河合康洋（安全実験管理部）；Andreas Suhrbier (QIMR Berghofer Medical Research Institute)］

4. ダニ媒介脳炎ウイルスに関する研究

1) フラビウイルスに起因する脳炎の調査

原因不明急性脳炎、脳症症例の中に、日本脳炎およびダニ媒介脳炎の症例が含まれているか否かを解析することを目的とした研究を実施した。原因不明の急性脳炎・脳症患者 12 人から採取された脳脊髄液および血清 33 検体を用いて、日本脳炎およびダニ媒介脳炎の実験室診断検査（IgM 捕捉 ELISA）を行った。いずれの症例も日本脳炎およびダニ媒介脳炎は否定的であり、今回解析の対象とした、原因不明の急性脳炎・脳症と診断された患者 12 人には日本脳炎およびダニ媒介脳炎患者は含まれていないと考えられた。日本ではダニ媒介脳炎患者はこれまで北海道以外では確認されておらず、本州以南におけるその分布は明らかとなっていない。今後も不明脳炎患者におけるフラビウイルスの調査は必要であると考えられた。［前木孝洋、林昌宏、田島茂、中山絵里、谷口怜、西條政幸；多屋馨子、新橋玲子（感染症疫学センター）］

2) 抗 TBEV 高度免疫負荷血清の作製

TBEV はフラビウイルス科フラビウイルス属に分類される。TBEV の中でもロシア春夏脳炎ウイルス（RSSEV）は極東亜型に属し、致命率の高い脳炎を引き起こす。2019 年度に私たちは国立感染症研究所戸山庁舎に保存されていた RSSEV（RSSE 1960/9/9 smb Vero sup 4 days）の性状を解析するとともに、不活化条件を検討した。2020 年度には、不活化させた TBEV を ddY マウスに免疫、さらに感染性の TBEV を感染させることで高度免疫負荷血清を作製した。その結果中和抗体価が 640 倍希釈まで陽性のマウス血清を得ることに成功した。今後、TBEV の検査診断および研究における陽性コントロール血清として有用であると考えられる。［谷口怜、田島茂、前木孝洋、柴崎謙一、勝田奈穂子、中山絵里、林昌宏、西條政幸］

5. その他の研究

1) リバースジェネティクス法によるヨコセウイルスの性状解析

2019 年度に確立した、ヨコセウイルスのリバースジェネティクス法を用いて、ヨコセウイルスの性状を解析した。ヨコセウイルスは分子系統学的解析からは蚊媒介性フラビウイルスに属すると推測されるが、他の蚊媒介性フラビウイルスと異なり、蚊由来細胞 C6/36 細胞での増殖能が著しく低い。この理由を探るため、感染に重要な prM タンパク質および E タンパク質を、蚊媒介性

フラビウイルスの JEV のそれに置換させた組換えキメラウイルスを作製した。その組換えキメラウイルスは Vero 細胞では増殖したが、C6/36 細胞での増殖性は確認されなかった。このことから、ヨコセウイルスの prM-E タンパク質領域が蚊由来細胞における低増殖性の主因子である可能性は低いと考えられた。［田島茂、林昌宏、西條政幸］

2) 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（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。細胞培養痘そうワクチン LC16m8 株は、ワクチンとしての免疫原性を保持しつつ、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（N）、非構造タンパク質（NSs）を単独、あるいは GPC と N の両方を発現する組換えワクシニアウイルスを作製し、そのワクチンとしての有効性を検討することを試みた。

2020 年度までに構築した各タンパク質の発現プラスミドを用いて、GPC 単独、 N 単独、 NSs 単独および GPC と N の両方を発現する組み換えワクシニアウイルスの作製に成功した。今後、選択薬剤を用いて、作製した組換えワクシニアウイルスを精製し、それぞれのタンパク質が発現していることを確認した上で、動物実験に用いるためのストックウイルスを作製する。［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) 非構造タンパク質（NSs）を欠損させた HRTV の性状解析

HRTV は、2009 年にアメリカで発熱、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フェニュイウイルス科バンダウイルス属に分類されるウイルスである（2019 年の時点、正式分類名はハートランドバンダウイルス）。HRTV の非構造タンパク質（NSs）を欠損させた組換え体（rHRTV-NSsKO）を遺伝子操作系により作出し、その性状を解析した。rHRTV-NSsKO および野生型の組換え体（rwtHRTV）の Vero 細胞、A549 細胞における増殖性を評価した結果、いずれの細胞においても rHRTV-NSsKO の増殖効率は rwtHRTV と比較して低下した。また A549 細胞において rHRTV-NSsKO 感染下では rwtHRTV 感染下と比較して1型インターフェロン関連遺伝子の有意な上昇が観察された。一過性に NSs を発現させた 293T 細胞では1型インターフェロンの発現が阻害された。これらのことから HRTV の NSs は1型インターフェロンカスケードを中心とした阻害作用があることが見出された。さらに致死的動物モデルである AG129 マウスを用いた病原性の評価においても NSs 欠損による HRTV の弱毒化が確認された。また、rHRTV-NSsKO 接種 AG129 マウスに致死量の AG129 を感染させた結果、感染マウスは全て生残した。HRTV の非構造タンパク質を欠損させた弱毒株がワクチンとなる可能性が見出された。［谷口怜、下島昌幸、前木孝洋、柴崎謙一、勝田奈穂子、中山絵里、田島茂、林昌宏、西條政幸］

4) HiBiT-tag を付与した組換え HRTV の作製

HRTV 感染による細胞障害性効果（CPE）は軽微で、プラークは不明瞭であるため、HRTV の増殖性の有無の評価及び定量には、フォーカス法が用いられている。本研究ではより簡便に HRTV の増殖性の程度を簡便に評価できるようにする目的で、HiBiT ペプチドで修飾した HRTV を作製した。感染性粒子量と HiBiT によるルシフェラーセの照度に相関性が認められた。ルシフェラーセの照度を測定することにより細胞における HRTV の増殖の程度を評価することが可能となった。ハイスループットの抗ウイルス薬スクリーニング等のシステム構築に有用と考えられる。［谷口怜、下島昌幸、前木孝洋、柴崎謙一、勝田奈穂子、中山絵里、田島茂、林昌宏、西條政幸］

III. 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) 不活化狂犬病ワクチン中の残存ウイルスを検出する不活化試験法の代替法開発

不活化狂犬病ワクチンに感染性のある狂犬病ウイル

スが残存していないかを確認するための不活化試験には、哺乳マウスの脳内にワクチンを接種する工程が含まれている。動物愛護の観点より、動物を使用しない代替法の開発および導入が求められている。これまでに私たちは蛍光抗体法および ELISA 法を用いて、動物を使用しない代替法を開発してきた。その感度等を両者で比較したところ、蛍光抗体法を用いた不活化試験が ELISA 法を用いたそれよりも感度がより高かった。しかし、ELISA 法の検出限界は 0.015 ffu/assay と非常に低く、ワクチン1本あたりに感染性ウイルスが1粒子でも混入した場合には検出可能であることから、どちらの試験法も実用可能と考えられた。今後動物を用いることのない不活化試験の導入に向けて、陽性対照の設定、哺乳マウスもしくは欧州薬局方（EP）掲載の *in vitro* アッセイとの直接比較、不活化不足のワクチンを用いた実験、複数ラボでのバリデーションを行う。［伊藤（高山）睦代、河原円香、佐藤正明、加藤文博、北浦慧、西條政幸］

2) 狂犬病ワクチン力価試験法の代替法の検討

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感染性のある狂犬病ウイルスを脳内接種し、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。しかし、動物に与える苦痛が問題となっている。私たちは、動物を使用しない代替法への変更を目的として、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。本年度より EDQM から提供されたサンプルを用いた試験を開始した。［伊藤（高山）睦代、河原円香、西條政幸］

2. JC 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（PML）は免疫不全患者等において発生する予後不良の神経脱髄疾患であり、JC ウイルス（JCV）によって引き起こされる。その診断では、脳脊髄液中の JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。ウイルス第一部では、医療機関への診断支援および PML の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 2020 年度までに合計 2555 件の検査依頼を受け、PML 疑い患者 329 名の脳脊髄液検体から JCV ゲノム DNA を検出した。また、PML の専門家委員会と連携を取りながら症例の登録および情報の分析を進めた。本年度においては 31 名の患者が脳脊髄液 JCV 陽性を呈し、PML と診断された。被検者の情報に基づいてデータベースを構築して国内の動向を解析したところ、悪性リンパ腫ならびに全身性エリテマトーデスを背景とした PML の割合が増加傾向であることが示唆された。また、多発性硬化症に対して疾患修飾薬、あるいは多発性骨髄腫に対して免疫調節薬が投与された患者において PML が散見され、基礎疾患の治療における PML の発生について臨床に周知する必要性が示唆された。［中道一生、西條政幸］

2) 脳脊髄液中 JCV の変異タイピング検査系の確立および臨床検査における実用化

PML の診断や治療においては、脳脊髄液中の JCV のゲノム DNA を標的とした PCR 検査が有用であり、一般的なリアルタイム PCR 検査の検出下限値は検体 1 mL あたり 200 コピー程度である。しかしながら、PML の背景となる基礎疾患の種類、もしくは病態の進行段階によっては 100 コピー/mL を下回る JCV が脳脊髄液中に存在していることがある。そのため、検体中の微量の 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）を確立し、PML の診断支援に活用している。本研究では、検体中の JCV ゲノムを超高感度で検出しつつ、検出されたウイルスがアーキタイプ（健常人においても無症候性に持続感染している JCV）なのか、プロトタイプ（PML 患者において特徴的なゲノムの一部に変異を有する JCV）なのかを識別するためのデュプレックス PCR 検査系を開発した。また、PML の診断支援において提出された CSF 検体を用いて当検査系を評価することで、臨床検査における実用性を示した。［中道一生、西條政幸］

3. 昆虫媒介性の脳炎ウイルスに関する研究

1) 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（JaCV）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 JaCV 感染症患者は報告されていないが、アメリカ大陸で流行しており、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、RT-PCR（SYBR green アッセイ、Taqman アッセイ）、ELISA 法は確立済みである。この ELISA 法を用いて、246 名の日本人血清を調査したところ、全て陰性であった。［加藤博史、伊藤（高山）睦代、福士秀悦、佐藤正明、河原円香、西條政幸］

2) JaCV に対する治療薬の評価

3 つの薬剤（favipiravir、ribavirin、2'-Fluoro-2'-deoxycytidine［2'-FdC］）の JaCV に対する効果について、*in vitro* と *in vivo* で評価した。まず、Vero 細胞を用いて、それぞれの薬剤の JaCV に対する増殖抑制効果を調べたところ、全ての薬剤が用量依存的に JaCV の増殖を濃度依存的に抑制した。次に、JaCV をマウスの脳内に接種し、ウイルス接種前とウイルス接種時から 5 日間それぞれの薬剤を投与したところ、favipiravir はコントロールに比べて、生存日数を延長させ、かつ、脳内のウイルス量も低下させた。他の薬剤はコントロールと変わりがなく、効果は認められなかった。［加藤博史、伊藤（高山）睦代、佐藤正明、河原円香、北浦慧、西條政幸］

3) オロプーシュウイルスウイルス検出系の確立と国内野生動物における感染状況の調査

節足動物媒介性のオルソブニヤウイルスのうち主に南米に分布するオロプーシュウイルス（OROV）はヒトに急性熱性疾患や髄膜炎、脳炎をおこす。日本での OROV の浸潤状況を調べるため、モノクローナル抗体を作製し、様々な動物種に利用可能な競合 ELISA 系を構築した。齧歯類 16 検体、シカ 142 検体、イノシシ 187 検体、ペットのイヌ 37 検体、ネコ 27 検体、鳥類 2 検体、合計 411 検体の国内動物血清を用いて、競合 ELISA を行ったところ、シカ血清 2 検体、イノシシ血清 1 検体で陽性となった。また中和アッセイを行ったところ、シカ血清 3 検体・イノシシ血清 4 検体が中和活性を示した。国内の野生動物が OROV に感染している可能性が示された。［河原円香、伊藤（高山）睦代、加藤博史、吉河智城、北浦慧、佐藤正明、西條政幸］

4) OROV 核タンパク質における新規核局在機構の解析

OROV は細胞質内で RNP 複合体を形成することが既に知られているが、各タンパク質の細胞内での詳細な挙動については、よく分かっていない。私たちは OROV の核タンパク質（N）に対するモノクローナル抗体を用いた観察によって、N タンパク質が感染細胞の核に局在することを明らかにした。N タンパク質および核に局在することがすでに知られている非構造（NS）タンパク質を細胞に単独もしくは共発現させ、挙動について観察した。その結果、N および NS タンパク質はどちらも核に局在したものの共局在はせず、それぞれが独立して核移行していることが示唆された。N タンパク質の核移行についての分子生物学的な解析による核移行の機序の解明が必要である。［河原円香、伊藤（高山）睦代、吉河智城、佐藤正明、北浦慧、西條政幸］

5) カリフォルニア脳炎ブニヤウイルスについての研究

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。日本においてはこの感染症患者は報告されていないが、同ウイルスを媒介する蚊が日本にも生息している。このことから、国内に侵入すると自然界に定着する可能性がある。本研究では、実験用マウスを用いてラクロスウイルス（LACV）の病原性を解析した。10^1～10^3 の LACV を腹腔内接種および鼻腔内接種し 28 日間生死を観察した。腹腔内接種では 10^2 接種群で 1 匹、鼻腔内接種では 10^2 および 10^3 接種群でそれぞれ 1 匹が死亡した。死亡マウスの脳からは RT-PCR にて LACV ゲノムが検出された。今後、動物モデル開発のための適正な接種ウイルス量等を

検討する予定である。[佐藤正明、加藤博史、伊藤（高山）睦代、河原円香、西條政幸]

6) チャンディプラウイルスの薬剤評価マウスモデルの探索

チャンディプラウイルス（Chamdipura Virus、CHPV）はラブドウイルス科に属するウイルスであり、ヒトはサシチョウバエを媒介して感染する。インドでは小児における致死的脳炎の原因のひとつである。有効な治療法はなく、*in vivo* 薬剤評価系も報告はされていない。乳児マウス（10-14 日齢）は感染モデルとして確立されているが、手技が困難で、喰殺などの死亡事象が起こることから薬剤評価には不向きと考えた。本研究では免疫不全マウスで致死モデルの探索を行い、C.B-17 SCID の CHPV 静脈内投与感染が致死モデルになることを明らかにした。感染時の生存曲線、臨床スコア、体重変動、腫瘍臓器のウイルス量変動・病理学的評価を行い、神経指向性も観測された。同モデルはファビピラビルを含む抗ウイルス薬の効果を評価するのに有用と考えられる。[伊藤（高山）睦代、北浦慧、佐藤正明、加藤博史、河原円香、西條政幸]

7) 薬剤ライブラリスクリーニングによるチャンディプラウイルスに対する抗ウイルス薬の探索

FDA 承認を受けている薬剤ライブラリーを用いて薬剤スクリーニングを行い、候補薬剤を抽出した。1次スクリーニングでは細胞の生存率をベースにスクリーニングし、2 次スクリーニングはウイルス増殖抑制効果でスクリーニングした。結果的に 4 つの候補薬が検出された。いずれも用量依存的なウイルス抑制効果を示し、Time of addition assay で post-entry step に作用していることが判明した。候補薬のうち 2 つは IC_{90} が報告されている最大血中濃度（Cmax）の範囲内に収まっており、さらなる解析がなされる必要がある。[伊藤（高山）睦代、北浦 慧、河原円香、佐藤正明、加藤博史、西條政幸]

IV. 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

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

HSV-1 の抗ウイルス薬であるアシクロビル（ACV）への耐性は、thymidine kinase（TK）または DNA polymerase（DNApol）遺伝子に変異が導入される事により獲得される。これまで、HSV-1 の TK 遺伝子を欠損させ、HSV-1 UL50-51 領域に水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の TK 遺伝子を挿入させたキメラウイルス HSV-1-VZV-TK（親株）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、その変異導入組換え体を用いて、様々な細胞及び薬剤への耐性能の比較を行なった。2020 年度は、マウスモデルを用いて *in vivo* での当該変異ウイルスの ACV に対する感受性を解析するため、まず BALB/c マウスを用いて LD_{50} の算出を試みた。4 週齢の BALB/c マウスを用いて元株（HSV-1 F BAC）、変異導入組換えウイルス及びその復帰体ウイルスを 1×10^{1}～1×10^{4}pfu 及び 1×10^{1}～1×10^{3}pfu/マウスで経鼻及び脳内接種したところ、どちらの接種ルートにおいても、ほぼ全てのマウスが生存した。3 週齢の BALB/c マウスを用いて 1×10^{3}～1×10^{5}pfu/マウスで脳内接種したところ、接種後 7 日までに全匹が死亡した。今後、3 週齢 BALB/c マウスを用いて 1×10^{-1}～1×10^{3}pfu/マウスでの脳内接種により LD_{50} を算出すると共に、ACV に対する *in vivo* における感受性を解析する.[山田壮一、原田志津子、福士秀悦、西條政幸]

4) HSV-1 のチミジンキナーゼ（TK）遺伝子終止コドン変異による TK 発現および薬剤耐性、病原性に及ぼす影響

HSV-1 はアシクロビル（ACV）存在下で増殖する過程で、ウイルスチミジンキナーゼ（TK）遺伝子または DNA ポリメラーゼ（DNApo）遺伝子に変異が入ることにより、ACV に耐性となる。これまで、薬剤耐性問題に対して TK や DNApol 遺伝子上の薬剤耐性のマッピングや、薬剤耐性機序の解析、また新規薬剤の開発が行われてきた。TK 遺伝子の最初の開始コドン（1st position）と二つ目の開始コドン（46th position）間の 8th position にアンバー終始コドンが存在する HSV-1 I4-2

株（N 末端の 45 アミノ酸が欠損する TK が発現）が ACV に対して感受性を示すことが報告されている。一方、44th position にアンバー終始コドンが挿入された HSV-1 KG111 株は 39℃で ACV 耐性を示すことが知られている. 本研究では、ともに TK 遺伝子の 8 番目と 44 番目のそれぞれの位置に終止コドンを挿入させた組換え HSV-1［HSV-1-TK(8AUG)および HSV-1-TK(44AUG)］を作製し、それぞれの薬剤感受性、病原性を解析した。Plaque reduction assay による ACV と BVdU に対する感受性を解析したところ、HSV-1-TK(8AUG)は感受性を示し、HSV-1-TK(44AUG)は耐性を示した。マウスに対する病原性を解析したところ、HSV-1-TK(8AUG)は wild type の HSV-1 と同等に高い病原性を示した。一方、HSV-1-TK(44AUG)はこれらよりも病原性が低かった。これらの薬剤感受性、病原性の違いは TK 遺伝子の最初の開始コドンと二つ目の開始コドンの間の終止コドンの位置に依存すると考えられた。［山田壮一、Phu Hoang Anh Nguyen（東京大学）、原田志津子、木下一美、福士秀悦、西條政幸］

5) 感覚神経オルガノイドを用いたヘルペスウイルス感染性の解析

生体内の運動神経組織を形成するために、運動神経細胞の培養系として微小流路を用いる手法が提案されている。この手法では、微小流路が軸索の伸長方向を一方向に制御するガイドとして機能することで、生体内の運動神経組織と似た束状の形態を持つ運動神経オルガノイドの形成が可能となる。運動神経オルガノイドは、束状組織内に細胞体が含まれておらず、軸索と細胞体を個別に RNA-seq 解析をすることができる。本研究では、運動神経と同じ末梢神経系の感覚神経オルガノイドを形成させ、形成させたオルガノイドをヘルペスウイルス感染性の解析に応用することを目的とした。前年度は微小流路（幅・高さは 150 μm、長さ 6 mm）を用いて感覚神経の束状組織を得ることができた。一方で、当該流路を用いた場合、束状組織部分にも細胞体の混入が確認され、軸索だけで束状組織を形成しているオルガノイドを得ることができなかった。この問題を解決するため、微小流路手前に細胞体が束状組織へ混入することを防止するための幅 10 μm、高さ 3 μm のスリット構造のアレイを持つ微小流路を設計・製作した。今後は、この微小流路を用いて、感覚神経オルガノイドの形成を試みる。［福士秀悦、今井勇也（工学院大）、山田壮一、原田志津子、西條政幸］

3. ヘルペス B ウイルスに関する研究

1) ヘルペス B ウイルス陽性サルの神経節を用いた BV 遺伝子型解析

ヘルペス B ウイルス（Macacine alphaherpsvirus 1, BV）は、主に東南アジアに生息するマカクザル（rhesus monkey, cynomolgus monkey, Japanese macaque など）が保有するヘルペスウイルスであるが、ヒトに感染すると致死的な神経症状を引き起こし、回復しても神経学的後遺症が残る。BV 感染は、主にサルを用いた研究の従事者に起こり、咬傷や針刺し事故等により感染する。世界的に、これまで約 50 例近くが確認されている。2019 年には、日本において初めて BV 病患者が報告された。BV は、遺伝子型により、主に rhesus type、cynomolgus type 及び pig tail type に型別され、サル種ごとに遺伝子型特異的な BV を保有するとされている。ヒトでの感染事例の多くは、rhesus monkey との接触が原因と考えられており、rhesus type の BV は他の type の BV より病原性が高いことが示唆されている。しかしながら、rhesus monkey のみが rhesus type の BV を保有するのか、あるいは、他のサル種も保有しているのかどうかは明らかでない。本研究では、BV 抗体陽性と判定された cynomolgus monkey 由来神経節から得た BV DNA を用いて、感染している BV の遺伝子型別解析を試みた。30 頭の BV 陽性 cynomolgus monkey から三叉神経節及び仙骨神経節を検体として、DNA を抽出した。抽出された DNA を用いて、gG 遺伝子を標的とした BV 特異的な real-time PCR による検出を行った。また、gB 遺伝子を標的とした PCR を行い、増幅産物が認められた場合、その塩基配列を決定し、系統樹解析を行った。Real time PCR により、30 頭の cynomolgus monkey の内 3 頭が SG 陽性、10 頭が TG 陽性、1 頭が仙骨神経節（SG）及び三叉神経節（TG）陽性であった。Real time PCR 陽性の 14 頭の内、7 頭（SG 陽性 3 頭、TG 陽性 4 頭）から gB 遺伝子を標的とした PCR で増幅産物が得られ、塩基配列が解

読された。得られた塩基配列をもとに系統樹解析を行ったところ、5 頭が cynomolgus type、2 頭が rhesus type の BV に感染していることが分かった。本結果から、rhesus type の BV は、rhesus monkey 以外のサルにも感染し、潜伏感染することが分かった。ヒトへの感染においては、rhesus type が検出されたとしても、rhesus monkey 以外のサルからの感染ルートも考慮する必要がある。今後、遺伝子型ごとの感染性や病原性について更なる研究が必要である。［山田壮一、福士秀悦、木下一美、西條政幸（ウイルス第一部）；石嶋慧多、前田健（獣医科学部）］

2) BV 感染症の新規診断法に関する研究

マカク属サルの咬傷などにより BV がヒトに感染すると致死的な疾患（BV 病）となる場合がある。サル類は医学・生物学の分野で広く研究に用いられ、また、動物園での飼育や、最近ではペットとして飼われるケースが増えている。日本で飼育されているマカク属サルの 30%以上がすでに BV に感染しているという報告もある。日本における症例では、発症から 1 年以上経って、BV 病との診断に至った経緯から考えると、BV 病に罹患していながら正確に診断されていない患者がいる可能性が高い。BV 感染症は稀な感染症であるが、潜在的脅威は存在しており、十分な事前対策が必要である。サル取扱い従事者の BV 感染リスクを評価するためには、血清中抗体検出法が必須であるが、BV は HSV と近縁なため、特異的抗体検出法が未整備である。本研究では、BV 特異的モノクローナル抗体を作製し、これを利用した BV 特異的抗体検出法の開発を目的として、BV の各種糖タンパク質遺伝子のクローニングと発現を行った。［木下一美、山田壮一、福士秀悦、西條政幸］

4. Epstein-Barr ウイルスに関する研究

1) Epstein-Barr ウイルス核タンパク質 EBNALP が相互作用因子に及ぼす影響に関する研究

Epstein-Barr ウイルス（EBV）はヒトに広く蔓延しているヘルペスウイルスであるが、バーキットリンパ腫や上咽頭癌などの発がんに関与することが知られている。EBV の核タンパク質 EBNALP は感染最初期に発現し、EBV の造腫瘍性機能に不可欠である。私たちは EBNALP が EBNA2 の転写活性化能に対して補因子機能を持つことを見出し、C 末端 10 アミノ酸欠損変異体 EBNALPd10 が、補因子機能を欠くこととドミナントネガティブ活性を持つことを報告した。さらに昨年までに、ドミナントネガティブ変異体の発現制御を施した実験系で EBNALP が LCL など EBV 感染細胞の増殖に重要かつ必須の役割を持っている事を明らかにしてきた。EBNALP と相互作用する細胞性因子の探索を行い、幾つかの遺伝子情報を得たが、HAX-1（hematopoietic-substrate-1 associated protein X-1）を同定した。すでに報告のある因子ではあるが、今回我々はこの相互作用因子が EBNALP との共発現で修飾を受けることと、ドミナントネガティブ変異体との共発現ではその修飾が見られないことを発見した。EBNALP のタンパク修飾機能と細胞増殖との関連を研究している。［原田志津子、西條政幸］

V. 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（2020 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。COVID-19 パンデミック下、多くの感染症の患者が減少傾向を示したのと対極に、国内の代表的なリケッチア症、日本紅斑熱は過去最高の数の届出となった。検査を実施している地方衛生研究所への聞き取りから、前年 2019 年に改訂した検査マニュアルを導入する施設が増えたことも、確実に患者の確定診断に繋がったとも考えられる。COVID-19 流行下でも増加傾向にあるリケッチア症に関し、全国の担当施設を中心に情報・技術の普及と情報共有をおこなった。［安藤秀二；鈴木理恵（福島県衛生研究所）；坂恭平（青森県環境保健センター）；平良雅克（千葉県衛生研究所）；新開敬行（東京都健康安全研究センター）；楠原一、小林章人（三重県保健環境研究所）；佐賀由美子、嶌田嵩久（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（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）；眞鍋佳月、本田俊郎（鹿児島県環境保健センター）

2) ダニ媒介性細菌感染症の総合的な対策に向けた研究

マダニ媒介細菌感染症の総合的な対策の構築を目的に、国内の研究者と共同し、リケッチアをはじめ、ボレリア、アナプラズマ等の各種細菌性病原体の性状・病態等の解明、病原体ゲノム情報のアーカイブ化、診断法の開発・改良、治療法の検討に資する情報の収集を行った。［安藤秀二；今内覚（北海道大学）；大橋典男（静岡県立大学）；岩崎博道（福井大学）；高野愛（山口大学）；林哲也（九州大学）；有吉紅也（長崎大学）；川端寛樹（細菌第一部）］

2. リケッチア症の基礎的研究

1) 日本紅斑熱リケッチア感染マウスモデルの確立

日本紅斑熱は *R. japonica* によって引き起こされる疾病である。本研究では日本紅斑熱のマウスモデルの確立を試みた。1×10^6PFU の *R. japonica* を BALB/c および C3H/HeN マウスに静脈内接種したところ、5 日目をピークとして両系統のマウスで有意な体重減少、立毛等の症状が見られ、その後すべてのマウスが回復した。C3H/HeN マウスの方がより大きな体重減少を示したため、C3H/HeN マウスにおいてより詳細な解析を行った。免疫染色では、接種 5 日目の脳、肺、肝臓、脾臓、消化管、腎臓において *R. japonica* の抗原が観察された。接種 1～8 日目の脳、肺、肝臓、脾臓より qPCR にて *R. japonica* の DNA が検出された。抗 *R. japonica* 抗体は、接種後 7 日目から検出された。以上のことから、C3H/HeN マウスの *R. japonica* 感染マウスモデルとしての可能性が示された。［佐藤正明、伊藤（高山）睦代、小川基彦、安藤秀二、西條政幸］

2) ツツガムシ病リケッチアの病原性に関する研究

ツツガムシ病の重症化メカニズムを解明するため、ツツガムシ病リケッチア強毒株および弱毒株の感染マウスを致死および治癒の病態モデルとして用い、主な標的器官であるマクロファージ、肝臓および脾臓におけるリケッチア数およびサイトカインの変動について解析を行っている。致死あるいは治癒機序に密接に関連する特徴的なサイトカインの変動が明らかになりつつある。［小川基彦、安藤秀二、西條政幸］

3) ツツガムシの共生細菌に関する研究

日本国内の複数の地域で、ツツガムシ病の媒介ダニ・ツツガムシの幼虫を採取し、16SrRNA 細菌叢解析を行った。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* 属の菌が、ダニの種類や地域に関係なく広く国内のツツガムシから検出された。16SrRNA 全長の配列から、*Wolbachia* 属の菌は新種である可能性が高く、国内には非常によく似た2種類の菌が存在することが示された。［小川基彦、西條政幸；高橋守（埼玉医大）；松谷峰之介（東京農大）；高田伸弘（福井大）；野田伸司（鹿児島大）］

4) *Ca.* Rickettsia longicornii の解析

Ca. Rickettsia longicornii は、紅斑熱群リケッチアに含まれる日本紅斑熱リケッチア *R. japonica* や極東紅斑熱リケッチア *R. heilongjiangensis* に近縁であることが知られ、多くのフタトゲチマダニから分離、検出される。しかしながら、紅斑熱様症状を示した患者から分離、検出されたことはない。これらのことから、ヒトへの病原性は極めて低いと考えられることから、病原性解析や診断ツールへの利用も可能と考えられる。微生物学的性状の解析や全ゲノム配列解析を進めるとともに、日本紅斑熱患者血清への反応性を確認した。［安藤秀二；大橋典男、蘇泓如、田井仁（静岡県立大学）；林哲也、笠間健太郎（九州大学）；藤田博己（馬原アカリ医学研究所）］

5) ツツガムシ病リケッチア型特異的組換え抗原（TSA）を抗原とした血清診断法の開発

ツツガムシ病リケッチアの型特異抗原（TSA）を発現する組換えバキュロウイルスを作成した。組換え

バキュロウイルス感染 sf-9 昆虫細胞を抗原とした間接蛍光抗体（IF）法によるツツガムシ病の血清診断法を開発した。［小川基彦、安藤秀二、西條政幸］

VI. 新型コロナウイルスに関する研究

1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした新型コロナウイルス感染症ワクチンの開発

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 を用いて、任意の領域に外来遺伝子を迅速かつ簡便に導入し、ここから感染性を持つ m8 をリカバリーさせる改良型システム（m8-BAC システム）を確立している。喫緊の課題である新型コロナウイルス感染症に対するワクチンを開発すべく、この m8-BAC システムを用いて原因ウイルスである SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質（S）の S1 領域（細胞レセプター結合領域を含む）、S2 領域（膜融合能を持つ領域を含む）、そして S 全領域を発現する組換え m8（それぞれ m8-S1、m8-S2、m8-S_full）を作製し、それらのワクチン効果を SARS-CoV-2 に高感受性であるハムスターを用いて検討した。ハムスターに m8-S1、m8-S2、または m8-S_full を免疫した後に SARS-CoV-2 を経鼻接種し、その 4 日後に肺を回収してウイルス量を測定した。対照である野生型 m8 免疫群と比較して、m8-S1、m8-S2、m8-S_full 免疫群は有意にウイルス量の減少が確認された。特に m8-S_full 免疫ハムスター群は m8-S1 や m8-S2 免疫群よりも肺内ウイルス量の減少効果が大きく、野生型 m8 免疫群と比較して 1×10^4以上のウイルス量の減少が確認された。以上より m8-S_full は新型コロナウイルス感染症ワクチンとして期待できる結果となった。［吉河智城、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸］

2) COVID-19 患者検体に対する迅速診断法の整備

新興感染症として、急速にその流行が広がった COVID-19 に対応するため編成された国立感染症研究所戸山庁舎 COVID-19 検査担当班に参加し、検疫所、地方自治体、医療機関からの検査依頼に対応した。また懸念される変異株（VOC）であるアルファ株およびベータ株の検査にも迅速に対応した。［林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、西條政幸；藤本嗣人、花岡希、岡本貴代子（感染症危機管理研究センター）；加藤孝宣、アリ フセイン（ウイルス第二部）；草川茂、立川愛（エイズ研究センター）；齊藤慎二（インフルエンザウイルス研究センター）、大西真（副所長）］

3) SARS-CoV-2 感染無症状・軽症患者におけるウイルス量低減効果の検討を目的としたファビピラビルの多施設非盲検ランダム化臨床試験

RT-PCR によって SARS-CoV-2 ウイルスの感染が確認された無症状又は軽症患者を対象に、ファビピラビルを 10 日間経口投与し、その有効性及び安全性を検討する特定臨床研究に参加した。抗インフルエンザ薬として認可されているファビピラビルは、ウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ広域阻害剤である。したがってインフルエンザウイルス以外の RNA ウイルスに対してもその有効性が期待される。そこで COVID-19 無症状・軽症患者に対するファビピラビルの有用性を明らかとすることを目的として全国 25 の病院で実施された前向き無作為化非盲検多施設共同試験に参加した。特に本研究によって得られた臨床患者検体に対して RT-PCR 法を用いた COVID-19 ハイスループット実験室迅速診断を行い、患者検体中の SARS-CoV-2 ウイルス RNA のコピー数とウイルスクリアランスを検討した。本研究の主要評価項目は 6 日目までのウイルスクリアランスであった。副次評価項目は 6 日目までのウイルス量の変化であった。探索的評価項目には解熱までの時間と症状の解消が含まれた。89 人の患者が登録され、さらに治験開始 1 日後にファビピラビルを投与される前期治療群と開始 6 日後に投与される後期治療群に無作為にそれぞれ登録された。そのうち 69 人がウイルス学的に評価可能であった。開始 6 日以内のウイルスクリアランスは、前期治療群および後期治療群でそれぞれ 66.7％および 56.1％であった（調整後のハザード比［aHR］、1.42; 95％信頼区間［95％CI］、0.76～2.62）。開始 1 日後に発熱（37.5°C 以上）が認められた 30 人の患者の解熱までの時間は、前期治療群および後期治療群でそれぞれ 2.1 日および 3.2 日であった（aHR, 1.88; 95％CI, 0.81～4.35）。また治療中に、84.1％が一過性の高尿酸血症を発症した。ファビピラビルは 6 日後

までにウイルスクリアランスを有意に改善しなかったが、解熱までの時間は短縮した。 28 日間の実施期間中、いずれの患者においても重篤化および死亡は認められなかった。(臨床研究実施計画・研究概要公開システム jRCTs041190120)［林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、西條政幸; 土井洋平、日比野将也、廣瀬正裕、堀口智也、岩田 充永、松山晃文、坂野寿弥、古閑竹直、寺町真由美、宮田雅美、湯澤由紀夫、近藤征史(藤田医科大学);馳亮太(成田赤十字病院);山本倫子(相模原協同病院);笠松悠(京都府立医科大学附属病院);武藤義和(公立陶生病院);本間義人(愛媛県立中央病院);寺田正樹(済生会新潟病院);小川拓(奈良県立医科大学感染症センター);加志崎史大(伊勢原協同病院);横山俊彦(日本赤十字社愛知医療センター);木場隼人(小松市民病院);笠原英樹(NTT 東日本札幌病院);横田和久(東京都保健医療公社荏原病院);加藤英明(横浜市立大学附属病院);吉田順一(下関市立市民病院);北俊之(国立病院機構金沢医療センター);加藤康幸(国際医療福祉大学成田病院);神尾直(湘南鎌倉総合病院);児玉亘弘(福岡徳洲会病院);内田勇二郎(北九州市立医療センター);池田啓浩(永寿総合病院);篠田雅宏(東京品川病院);中川淳(神戸市立医療センター中央市民病院);中積広貴(石川県立中央病院);今井匠、吉田寿子、加葉田大志朗、新谷歩(大阪市立大学)］

4) SARS-CoV-2 のウイルス分離に関する研究

COVID-19 患者の鼻咽頭拭い液、唾液検体等からの SARS-CoV-2 分離に VeroE6/TMPRSS2 細胞が適している。本研究では SARS-CoV-2 分離する際、検体を接種した VeroE6/TMPRSS2 細胞を継代する必要がなく、接種後 4 日以内でウイルス分離陽性、陰性が判定できることを明らかにした。N2 primer/probe set を用いた SARS-CoV-2 PCR 陽性 203 検体について VeroE6/TMPRSS2 細胞によるウイルス分離を行ったところ、Ct 値 20.2 以下の検体は分離陽性であった。一方、Ct 値 35 以上でも 29 検体中 2 検体(6.9%)が分離陽性であったことから、Ct 値が高い(低いウイルスコピー数を含む)検体でも感染性ウイルスを含むリスクがあると考えられた。［山田壮一、福士秀悦、木下一美、原田志津子、西條政幸］

5) SARS-CoV-2 の血清診断法に関する研究

SARS-CoV-2 の S タンパク質のレセプター結合領域(Receptor-binding domain:RBD)はウイルスが細胞に感染するために必須の領域であるとともに、中和抗体の主なターゲットとなる。本研究では RBD を哺乳動物細胞で発現させ、これを抗原とした ELISA による血中 IgG 抗体検出系を構築した。また、SARS-CoV-S タンパク質を被った水疱性口炎ウイルス(VSV)シュードタイプを作製し、BSL-2 で実施可能な SARS-CoV-2 感染性解析法を構築した。本方法はハイスループット血清中和抗体スクリーニング法として、またウイルス感染を阻止する抗ウイルス剤のスクリーニング法としての活用が期待される。［木下一美、山田壮一、福士秀悦、原田志津子、西條政幸］

レファレンス業務

1. 行政検査

1) 黄熱ワクチンに対する行政検査

2020年度は2ロットの黄熱ワクチンの行政検定を実施し、合格と判定した。［前木孝洋、中山絵里、谷口怜、田島茂、林昌宏、西條政幸］

2) 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4件実施した。［田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、林昌宏、西條政幸］

3) SARS-CoV-2に対する行政検査

COVID-19の患者から採取された臨床検体に対する行政検査を実施した。［林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、小川基彦、勝田奈穂子、柴崎謙一、西條政幸;藤本嗣人(感染症危機管理研究センター)、加藤孝宣(ウイルス第二部)、草川茂(エイズセンター)、大西真(副所長)］

4) SFTSに対する行政検査

2件のSFTSに関する行政検査を実施した。［下島昌幸、髙松由基、吉河智城、黒須剛、西條政幸］

5) フィロウイルス感染症に対する行政検査

1件のフィロウイルス感染症に関する行政検査を実施した。［下島昌幸、髙松由基、吉河智城、黒須剛、西條政幸］

6) 狂犬病に関する行政検査

1件の輸入狂犬病に関する行政検査を実施した。当該症例は14年ぶりの輸入狂犬病であると診断された。［伊藤（高山）睦代、佐藤正明、加藤博史、河原円香、西條政幸］

7) リケッチア感染症の行政検査

34症例のリケッチア症に関する行政検査を実施した。［安藤秀二］

8) クラミジア感染症の行政検査

1症例のオウム病疑いに関する行政検査を実施した。［安藤秀二］

9) Q熱の行政検査

4症例のQ熱疑いに関する行政検査を実施した。［安藤秀二］

2. 病原体および病原体由来RNAの配布

1) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の分与

国立感染症研究所において臨床検体より分離されたSARS-CoV-2およびその変異株に関して、安全実験管理部、ウイルス第三部および総務部と連携して国内外への分与を行った。本年度の実績は以下の通りである。国内研究機関等への分与:武漢株21件、新規変異株33件、ウイルスゲノムRNA 42件。国外研究機関等への分与 : 武漢株1件、新規変異株9件。［伊藤（高山）睦代、下島昌幸、福士秀悦、佐藤正明、河原円香、髙松由基、吉河智城、黒須剛、緒方もも子、西條政幸 ; 河合康洋、伊木繁雄、花木賢一（安全実験管理部）］

3. 病原体を用いた検査法の整備

1) ウイルス性出血熱のウイルス遺伝子検査法の確立

遺伝子検査法の精度、特異度の検討に一種病原体を用いることが可能となった。今年度は一類感染症の診断に用いるウイルス遺伝子検査法のうち、リアルタイム定量PCR法の整備とその特異度の確認を行った。まず一類感染症のウイルス遺伝子を特異的に検出するリアルタイム定量PCRプライマー、プローブ配列を既報から引用、若しくは新規に設計し、またRNAスタンダードを作製した。これらを用いて一種病原体のウイルス液から抽出したウイルスRNAを用いて検討したところ100％の特異度を示した。今後は引き続きその感度などの検討を行う予定である。［吉河智城、黒須剛、高松由基、西條政幸、下島昌幸］

2) ウイルス性出血熱の中和抗体測定法の確立

一種病原体を用いることが可能となり、中和抗体測定法の実施が可能となった。一種病原体をマウスに投与し、抗血清を作製した。この抗血清を用いて中和抗体測定法を確立した。［黒須剛、吉河智城、高松由基、西條政幸、下島昌幸］

4. 品質管理に関する業務

1) 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

2020年度は2ロットの乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定を実施し合格と判定した。［下島昌幸、髙松由基、吉河智城、黒須剛、緒方もも子、西條政幸］

2) 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

2020年度は29ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、29ロットすべてを合格と判定した。［田島茂、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、柴崎謙一、勝田奈穂子、伊藤（高山）睦代、中道一生、林昌宏、西條政幸］

3) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの標準品制定と生物学的製剤基準の改訂

参照不活化狂犬病ワクチン（国内参照品）の在庫が少なくなってきたため、国内メーカーと協同でロット更新のための研究をおこなった。第7次WHO国際標準品と新規参照品ともに力価試験3回を行い、相対力価が2.5 IU/mLとなる溶解液量を算出した。［伊藤（高山）睦代、佐藤正明、加藤文博、河原円香、北浦慧、西條政幸］

4) 水痘ワクチンの検定

乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定28ロットを実施し、全ロットとも合格と判定した。［原田志津子、山田壮一、福士秀悦、福井良子、西條政幸］

5) 乾燥組換え帯状疱疹ワクチンの検定

乾燥組換え帯状疱疹ワクチン１ロットを検定し、合格と判定した。［原田志津子、山田壮一、福士秀悦、福井良子、西條政幸］

5. 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、中山絵里、林昌宏］

2) アルボウイルス遺伝子検査用新規陽性コントロールの作製

これまで地方衛生研究所等におけるデングウイルス、ジカウイルス、チクングニアウイルス遺伝子検査（リアルタイムRT-PCR法）の陽性コントロールとして、感染性ウイルスより抽出・精製した全長ウイルスゲノムを配布してきた。しかしこれらのゲノムコピー数は不明であり、ゲノム定量に適さない。さらに陽性コントロールが誤って臨床検体等へ混入した場合、検出シグナルの真偽を判断することが困難である。そこで我々はこれらの問題を改善するために、in vitro合成ウイルスRNAを作製することを試みた。リアルタイムRT-PCR標的部位を含むデングウイルス1型〜4型、ジカウイルス、およびチクングニアウイルスゲノムcDNA約300-400ヌクレオチドをクローニングプラスミドにクローニングし、得られたプラスミドを鋳型にしてウイルスRNA領域をin vitro合成した。リアルタイムRT-PCR法により、これらが陽性コントロールとして使用可能であることを確認した。今後、クローニングしたプラスミドに陽性コントロール特異的配列を組み込む予定である。［田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、西條政幸、林昌宏］

3) 急性脳炎および出血熱に関する検査業務

日本脳炎、デング熱、ジカ熱、ダニ媒介脳炎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8件実施した。［田島茂、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、勝田奈穂子、柴崎謙一、林昌宏、西條政幸］

4) 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、田島茂；新井智、森野紗衣子、多屋馨子（感染症疫学センター）］

5) HSV-1及びHCMVの薬剤耐性検査

HSV-1及びHCMVの薬剤耐性検査をそれぞれ2検体及び11検体行った。［山田壮一, 福士秀悦、津田美穂子、福井良子、西條政幸］

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、行政検査の他依頼により、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. 国際協力関係業務

1) WHO-痘瘡ウイルス研究専門家会議

2020年11月5-6日にかけて、WHO-痘瘡ウイルス研究専門家会議がWEB開催された。当会議にはアドバイザーとして参加した。痘瘡ウイルスに関連する研究の推進状況やワクチン開発について報告された。［西條政幸］

2) GHSAG-LN会議

今年度はGHSAG-LN会議が複数回WEB開催された。今年度の議題は主にCOVID-19対策に関するものであった。［西條政幸；前田健（獣医科学部）］

3) WHO西太平洋地域日本脳炎研究室ネットワークにおけるレファレンスパネルの評価

WHO西太平洋地域（WPRO）では日本脳炎研究室

ネットワークが維持されており、第2室は世界特別研究室（GSL）に指定されている。日本脳炎研究室ネットワークにおける検査品質の維持向上のためにもう1つのGSLである米国CDCより、フィリピンWPRO本部を介して配布された日本脳炎IgM捕捉ELISA法およびデングウイルスIgM捕捉ELISA法に対する各血清およびCSFパネルの評価をそれぞれ実施した。特に今回は血清およびCSFパネルの凍結乾燥品におけるその安定性を評価した。その結果、①当室の検査品質および②凍結乾燥された各パネルの安定性がそれぞれ確認された。以上の結果、血清パネルおよびCSFパネルの凍結乾燥品においては、コールドチェーンを必要としないことが示唆された。本ネットワークにおける各国日本脳炎研究室の検査品質の維持向上には適切なリファレンスが必須である。よって本調査において常温での適切なレファレンス配布の可能性が示されたことは、レファレンス配布におけるコスト削減、およびWPROにおける各国日本脳炎研究室の検査品質の維持向上に寄与することが期待される。［林昌宏、勝田奈穂子、田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、西條政幸］

4) 狂犬病ワクチンの品質検査に関する国際連携研究への参加

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）に参加している。［伊藤（高山）睦代、河原円香、西條政幸］

5) JICAによる技術協力プロジェクトによりナイジェリアCDCおよびコンゴ民主共和国生物医学研究所から派遣された研修生を受け入れ

アルボウイルス等の実験室診断に関する研修を行った。［林昌宏、田島茂、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、伊藤（高山）睦代、 中道一生、佐藤正明、加藤博史、河原円香、福士秀悦、原田志津子、山田壮一、安藤秀二、小川基彦、下島昌幸、黒須剛、吉河智城、髙松由基、西條政幸］

発 表 業 績 一 覧

1. 欧文発表

1) Kurosu T, Hanabara K, Asai A, Pambudi S, Phanthanawiboon S, Omokoko MD, Ono KI, Saijo M, Ramasoota P, Ikuta K. Chimeric flavivirus enables evaluation of antibodies against dengue virus envelope protein in vitro and in vivo. Scientific Rep 10:21561, 2020

2) Yoshikawa T, Taniguchi S, Kato H, Iwata-Yoshikawa N, Tani H, Kurosu T, Fujii H, Omura N, Shibamura M, Watanabe S, Egawa K, Inagaki T, Sugimoto S, Phanthanawiboon S, Harada S, Yamada S, Fukushi S, Morikawa S, Nagata N, Shimojima M, Saijo M. A highly attenuated vaccinia virus strain LC16m8-based vaccine for severe fever with thrombocytopenia syndrome. PLoS Pathog 17:e1008859, 2021

3) Yoshikawa T. Vaccine development for severe fever with thrombocytopenia syndrome. Viruses 13, 627, 2021

4) Shibamura M, Yoshikawa T, Yamada S, Inagaki T, Nguyen PHA, Fujii H, Harada S, Fukushi S, Oka A, Mizuguchi M, Saijo M. Association of human cytomegalovirus (HCMV) neutralizing antibodies with antibodies to the HCMV glycoprotein complexes. Virol J 17:120, 2020

5) Raini SK, Takamatsu Y, Dumre SP, Urata S, Mizukami S, Moi ML, Hayasaka D, Inoue S, Morita K, Tun MMN. The novel therapeutic target and inhibitory effects of PF-429242 against Zika virus infection. Antiviral Res. 192:105121, 2021

6) Suemori K, Saijo M, Yamanaka A, Himeji D, Kawamura M, Haku T, Hidaka M, Kamikokuryo C, Kakihana Y, Azuma T, Takenaka K, Takahashi T, Furumoto A, Ishimaru T, Ishida M, Kaneko M, Kadowaki N, Ikeda K, Sakabe S, Taniguchi T, Ohge H, Kurosu T, Yoshikawa T, Shimojima M, Yasukawa M. A multicenter non-randomized, uncontrolled single arm trial for evaluation of the efficacy and the safety of the treatment with favipiravir for patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome. PLoS Negl Trop Dis 15(2):e0009103, 2021

7) Tsuru M, Suzuki T, Murakami T, Matsui K, Maeda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Shimada T,

Hasegawa H, Maeda K, Morikawa S, Saijo M. Pathological characteristics of a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) infected with SFTS virus through a sick cat's bite. Viruses 13(2):204, 2021

8) Kimura M, Egawa K, Ozawa T, Kishi H, Shimojima M, Taniguchi S, Fukushi S, Fujii H, Yamada H, Tan L, Sano K, Katano H, Suzuki T, Morikawa S, Saijo M, Tani H. Characterization of pseudotyped vesicular stomatitis virus bearing the heartland virus envelope glycoprotein. Virology 556:124-132, 2021
9) Park ES, Fujita O, Kimura M, Hotta A, Imaoka K, Shimojima M, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Diagnostic system for the detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus RNA from suspected infected animals. PLoS One 16(1):e0238671, 2021
10) Lombe BP, Miyamoto H, Saito T, Yoshida R, Manzoor R, Kajihara M, Shimojima M, Fukushi S, Morikawa S, Yoshikawa T, Kurosu T, Saijo M, Tang Q, Masumu J, Hawman D, Feldmann H, Takada A. Purification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein and its utility for serological diagnosis. Sci Rep 11(1):2324, 2021
11) Khalil J, Yamada S, Tsukamoto Y, Abe H, Shimojima M, Kato H, Fujita T. The Non-structural protein NSs of SFTSV causes cytokine storm through the hyper-activation of NF-κB. Mol Cell Biol MCB.00542-20, 2020.
12) Murakami S, Kitamura T, Suzuki J, Sato R, Aoi T, Fujii M, Matsugo H, Kamiki H, Ishida H, Takenaka-Uema A, Shimojima M, Horimoto T. Detection and characterization of vat Sarbecovirus phylogenetically related to SARS-CoV-2, Japan. Emerg Infect Dis 26(12):3025-3029, 2020
13) Watanabe M, Arii J, Takeshima K, Fukui A, Shimojima M, Kozuka-Hata H, Oyama M, Minamitani T, Yasui T, Kubota Y, Takekawa M, Kosugi I, Maruzuru Y, Koyanagi N, Kato A, Mori Y, Kawaguchi Y. Prohibitin-1 contributes to the cell-to-cell transmission of herpes simplex virus 1. J Virol JVI.01413-20, 2020
14) Ogawa M, Shirasago Y, Tanida I, Kakuta S, Uchiyama Y, Shimojima M, Hanada K, Saijo M, Fukasawa M. Structural basis of antiviral activity of caffeic acid against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. J Infect Chemother 27(2):397-400, 2021
15) Matsuyama S, Kawase M, Nao N, Shirato K, Ujike M, Kamitani W, Shimojima M, Fukushi S. The inhaled steroid ciclesonide blocks SARS-CoV-2 RNA replication by targeting the viral replication-transcription complex in cultured cells. J Virol JVI.01648-20, 2020
16) Watanabe S, Fukushi S, Harada T, Shimojima M, Yoshikawa T, Kurosu T, Kaku Y, Morikawa S, Saijo M. Effective inactivation of Nipah virus in serum samples for safe processing in low-containment laboratories. Virol J 17(1):151, 2020
17) Tani H, Kimura M, Yamada H, Fujii H, Taniguchi S, Shimojima M, Fukushi S, Morikawa S, Saijo M. Activation of platelet-derived growth factor receptor beta in the severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. Antiviral Res 182:104926, 2020
18) Ogawa M, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Several catechins and flavonols from green tea inhibit severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in vitro. J Infect Chemother 27(1):32-39, 2021
19) Taniguchi S, Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Tani H, Fukuma A, Kato F, Nakayama E, Maeki T, Tajima S, Lim CK, Ebihara H, Kyuwa S, Morikawa S, Saijo M. Analysis of the function of the lymphocytic choriomeningitis virus S segment untranslated region on growth capacity in vitro and on virulence in vivo. Viruses 12(8):896, 2020.
20) Umeki K, Yasuda A, Umekita K, Megumi R, Nomura H, Kawaguchi T, Matsuda M, Takajo I, Shimojima M, Okayama A. Detection of anti-SFTSV nuclear protein antibody in the acute phase sera of patients using double-antigen ELISA and immunochromatography. J Virol Methods 285:113942, 2020
21) Peng SH, Yang SL, Tang SE, Wang TC, Hsu TC, Su CL,

Chen MY, Shimojima M, Yoshikawa T, Shu PY. Human case of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection, Taiwan, 2019. Emerg Infect Dis 26(7):1612-1614, 2020

22) Sugimoto S, Suda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Mizutani T, Saijo M, Shimojima M. Terminal genome sequences of the soft tick bunyavirus. Microbiol Resour Announc 9(18):e00126-20, 2020

23) Akagi K, Miyazaki T, Oshima K, Umemura A, Shimada S, Morita K, Senju H, Tashiro M, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Sekino M, Yamamoto K, Imamura Y, Izumikawa K, Yanagihara K, Uda A, Morikawa S, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Saijo M, Mukae H. Detection of viral RNA in diverse body fluids in an SFTS patient with encephalopathy, gastrointestinal bleeding and pneumonia: a case report and literature review. BMC Infect Dis 20(1):281, 2020

24) Shimojima M, Sugimoto S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kurosu T, Saijo M. Efficient functional screening of a cellular cDNA library to identify severe fever with thrombocytopenia syndrome virus entry factors. Sci Rep 10(1):5996, 2020

25) Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, Shimada T, Matsui T, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Morikawa S, Hasegawa H, Saijo M, Oishi K; SFTS Epidemiological Research Group Japan. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, Japan, 2013-2017. Emerg Infect Dis 26(4):692-699, 2020

26) Kawahara M, Takayama-Ito M, Kato H, Kitaura S, Satoh M, Saijo M.Development of an assay for detecting the residual viable virus in inactivated rabies vaccine by enzyme-linked immunosorbent assay. Biologicals. 70:59-63, 2021

27) Nukuzuma S, Nukuzuma C, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Tasaki T, Hidaka K, Takegami T. Characterization of JC polyomavirus derived from COS-IMRb cells. Jpn J Infect Dis 74(1):48-53, 2021

28) Nishimura K, Iwai Y, Yabuki M, Fuse H, Nakamichi K, Takahashi K, Suzuki T, Saijo M, Fukushima T, Kuwabara S. Lenalidomide-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. Clin Exp Neuroimmunol 12(1):63-65, 2021

29) Takayama-Ito M, Saijo M. Antiviral drugs against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. Front Microbiol 11:150, 2020

30) Kato H, Satoh M, Kawahara M, Kitaura S, Yoshikawa T, Fukushi S, Dimitrova K, Wood H, Saijo M,Takayama-Ito M. Seroprevalence of Jamestown Canyon virus in the Japanese general population.BMC Infect Dis 20(1):790, 2020

31) Nakayama K, Nakamura M, Konishi A, Kaneko S, Nakamichi K, Saijo M, Yakushiji Y, Kusaka H. JC virus granule cell neuronopathy associated with Ruxolitinib: A case report and review of the literature. eNeurological Sci 21:100269, 2020

32) Usui Y, Nakano H, Komatsu J, Nakamichi K, Saijo M, Takano S, Kamiya KI, Hamaguchi T, Yamada M. Progressive multifocal leukoencephalopathy during treatment with lenalidomide and elotuzumab for multiple myeloma. Leuk Lymphoma 61(9):2234-2237, 2020

33) Ueno H, Kikumto M, Takebayashi Y, Ishibashi H, Takahashi T, Yasutomi H, Umemoto K, Nakamichi K, Saijo M, Ichinohe T, Maruyama H. Pomalidomide-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in multiple myeloma: cortical susceptibility-weighted imaging hypointense findings prior to clinical deterioration. J Neurovirol 26(3):452-455, 2020

34) Katsuse K, Akiyama K, Ishida T, Kitayama C, Ishibashi Y, Ochi M, Kumasaka T, Takahashi K, Suzuki T, Nakamichi K, Saijo M, Hashida H. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with primary amyloid light-chain amyloidosis. Clin Neurol Neurosurg 192:105709, 2020

35) Inagaki T, Yamada S, Fujii H, Yoshikawa T, Shibamura M, Harada S, Fukushi S, Le QM, Nguyen TC, Nguyen TTT, Nguyen TT, Nguyen TT, Quach TV, Thong DV, Mori K, Sasaki M, Setiyono A, Handharyani E, Takeyama H, Hasebe F, Saijo M Characterization of a novel alphaherpesvirus isolated

from the fruit bat pteropus lylei in vietnam. J Virol 94(18):e00673-20, 2020

36) Nguyen PHA, Yamada S, Shibamura M, Inagaki T, Fujii H, Harada S, Fukushi S, Mizuguchi M, Saijo M. New mechanism of acyclovir resistance in herpes simplex virus 1, which has a UAG stop codon between the first and second AUG initiation codons. Jpn J Infect Dis 73(6):447-451, 2020

37) Noguchi K, Majima R, Takahashi K, Iwase Y, Yamada S, Satoh K, Koshizuka T, Inoue N. Identification and functional analyses of a cell-death inhibitor encoded by guinea pig cytomegalovirus gp38.1 in cell culture and in animals. J Gen Virol 101(12):1270-1279, 2020

38) Oluwayelu D, Afrough B, Adebiyi A, Varghese A, Eun-Sil P, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, Neumann E, Morikawa S, Hewson R, Tomori O. Prevalence of antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ruminants, Nigeria, 2015. Emerg Infect Dis 26(4):744-747, 2020

39) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. Br Med J Open Respir Res 8(1):e000830, 2021

40) Tani H, Kimura M, Tan L, Yoshida Y, Ozawa T, Kishi H, Fukushi S, Saijo M, Sano K, Suzuki T, Kawasuji H, Ueno A, Miyajima Y, Fukui Y, Sakamaki I, Yamamoto Y, Morinaga Y. Evaluation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using a vesicular stomatitis virus possessing SARS-CoV-2 spike protein. Virol J 18(1):16, 2021

41) Shirato K, Tomita Y, Katoh H, Yamada S, Fukushi S, Matsuyama S, Takeda M. Performance evaluation of real-time RT-PCR assays for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 developed by the National Institute of Infectious Diseases, Japan. Jpn J Infect Dis (in press, doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.1079)

42) Gaowa, Wulantuya W, Sato K, Liu D, Cui Y, Yin X, Zhang L, Li H, Wang T, Liu R, Wu L, Lu S, Gao T, Zhang Z, Cao M, Wang G, Li C, Yan D, Ohashi N, Ando S, Kawabata H. Surveillance of Borrelia miyamotoi-carrying ticks and genomic analysis of isolates in Inner Mongolia, China. Parasites and Vectors 14(1):368, 2021

43) Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim KS, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, Mckeating JA, Wakita T. Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and 1 nelfinavir, and their usage for combination treatment. iScience doi: 10.1016/j.isci.2021.102367.

44) Kinoshita H, Arima Y, Shigematsu M, Sunagawa T, Saijo M, Oishi K, Ando S. Descriptive epidemiology of rickettsial infections in Japan: Scrub typhus and Japanese spotted fever, 2007-2016. Int J Infect Dis doi: 10.1016/j.ijid.2021.02.069.

45) Sato Y, Mekata H, Sudaryatma PE, Kirino Y, Yamamoto S, Ando S, Sugimoto T, Okabayashi T. Isolation of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus from various tick species in area with human SFTS cases. Vector Borne Zoonotic Dis 21(5):378-384,2021

46) Su H, Onoda E, Tai H, Fujita H, Sakabe S, Azuma K, Akachi S, Oishi S, Abe F, Ando S, Ohashi N. Diversity unearthed by the estimated molecular phylogeny and ecologically quantitative characteristics of uncultured *Ehrlichia* bacteria in *Haemaphysalis* ticks, Japan. Sci Rep 11:687, 2021

47) Tai H, Su H, Takamoto N, Fujita H, Takano A, Oishi S, Abe F, Ando S, Ohashi N: Growth characteristics of *Rickettsia* species LON strains closely related to *Rickettsia japonica* isolated from *Haemaphysalis longicornis* ticks in mouse-derived L929 and human-derived THP-1 host cell lines. Jpn J Infect Dis 74(2):102-109, 2021

48) Ogawa M, Ando S, Saijo M. Evaluation of recombinant type-specific antigens of *Orientia tsutsugamushi* expressed by a baculovirus-insect cell system as antigens for indirect immunofluorescence assay in the serological diagnosis of scrub typhus. Jpn J Infect Dis 73 (5): 330-335, 2020

49) Tajima S, Taniguchi S, Nakayama E, Maeki T, Inagaki T, Lim CK, Saijo M. Amino acid at position 166 of NS2A in Japanese encephalitis virus (JEV) is associated with in vitro growth characteristics of JEV. Viruses 12:709, 2020

50) Aonuma H, Iizuka-Shiota I, Hoshina T, Tajima S, Kato F, Hori S, Saijo M, Kanuka H. Detection and discrimination of multiple strains of Zika virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. Trop Med Health 48:87, 2020

51) Doi Y, Hibino M, Hase R, Yamamoto M, Kasamatsu Y, Hirose M, Mutoh Y, Homma Y, Terada M, Ogawa T, Kashizaki F, Yokoyama T, Koba H, Kasahara H, Yokota K, Kato H, Yoshida J, Kita T, Kato Y, Kamio T, Kodama N, Uchida Y, Ikeda N, Shinoda M, Nakagawa A, Nakatsumi H, Horiguchi T, Iwata M, Matsuyama A, Banno S, Koseki T, Teramachi M, Miyata M, Tajima S, Maeki T, Nakayama E, Taniguchi S, Lim CK, Saijo M, Imai T, Yoshida H, Kabata D, Shintani A, Yuzawa Y, Kondo M. A prospective, randomized, open-label trial of early versus late favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19. Antimicrob Agents Chemother 64(12):e01897-20, 2020

52) Suzuki T, Kutsuna S, Nakamoto T, Ota M, Ishikane M, Yamamoto K, Maeki T, Tajima S, Nakayama E, Taniguchi S, Lim CK, Saijo M, Ohmagari N. Dengue virus serotype 1 exported to Japan from Côte d'Ivoire, 2019. Jpn J Infect Dis 74(2):148-150, 2020

53) Prow NA, Liu L, McCarthy MK, Walters K, Kalkeri R, Geiger J, Koide F, Cooper TH, Eldi P, Nakayama E, Diener KR, Howley PM, Hayball JD, Morrison TE, Suhrbier A. The vaccinia virus based Sementis Copenhagen Vector vaccine against Zika and chikungunya is immunogenic in non-human primates. NPJ Vaccines 5(1):44. 2020

54) Hazlewood JE, Rawle DJ, Tang B, Yan K, Vet LJ, Nakayama E, Hobson-Peters J, Hall RA, Suhrbier A. A zika vaccine generated using the chimeric insect-apecific Binjari virus platform protects against fetal brain infection in pregnant mice. Vaccines (Basel) 8(3):496. 2020

55) Nguyen W, Nakayama E, Yan K, Tang B, Le TT, Liu L, Cooper TH, Hayball JD, Faddy HM, Warrilow D, Allcock RJN, Hobson-Peters J, Hall RA, Rawle DJ, Lutzky VP, Young P, Oliveira NM, Hartel G, Howley PM, Prow NA, Suhrbier A. Arthritogenic Alphavirus Vaccines: Serogrouping Versus Cross-Protection in Mouse Models. Vaccines (Basel). 8(2):209, 2020

2. 和文発表

1) 林昌宏.【東京オリンピック・パラリンピックで注意すべきインバウンド感染症】注意しなければいけないウイルス感染症 蚊媒介性感染症. 臨床と微生物. 2020. 47(3):262-269.

2) 林昌宏. わが国におけるデング熱ウイルス感染症の最近の動向. 臨床免疫・アレルギー科 73(2):209-214, 2020.

3) 北崎佑樹, 岩﨑博道, 北井隆平, 高橋健太, 中道一生, 濱野忠則. 脳脊髄液中の JCV-DNA 遺伝子検査が 2 回とも陰性であったが, 開頭脳生検で診断確定した HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 1 例. BRAIN and NERVE 72(5):541-546, 2020

4) 加藤博史, 西條政幸, 林昌宏, 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, 森本金次郎, 佐藤正明. P 遺伝子欠損非増殖性組換え狂犬病ウイルスベクターを用いた狂犬病と中東呼吸器症候群に対する 2 価ワクチンの開発. 感染症学雑誌 94(2):285-285 2020 年 3 月

5) 髙橋芳徳, 大澤良介, 安藤秀二, 平良雅克, 細川直登 南アフリカ共和国から帰国後に発症した African tick-bite fever の 1 例. 感染症学雑誌 95(2):133-136, 2021

6) 島田瑞穂, 川端寛樹, 安藤秀二, 彭志中, 小林由美江, 廣瀬芳江, 周藤史憲, 清水和彦, 高橋孝行, 小

松本悟. 栃木県足利赤十字病院における 3 年間（2017～2019 年）のマダニ刺症 72 例の検討－タカサゴキララマダニ刺症 62 例を中心に－. 衛生動物 71(3):219-223, 2020

7) 安藤秀二. リケッチア, 中込治監修, 神谷茂・鍚谷達夫編集 標準微生物学 第 14 版:278-286, 2021

8) 安藤秀二. リケッチア感染症診断マニュアル（令和元年 6 月版）の概要. 病原体微生物検出情報, 41(8):141, 2020

9) 藤田博己, 安藤秀二. 日本紅斑熱リケッチア媒介マダニの国内分布状況. 病原体微生物検出情報, 41(8):138-139, 2020

10) 伊藤（高山）睦代, 西條政幸. 狂犬病. Clinical Neuroscience 38:1275–1277, 2020

11) 山田壮一, 福士秀悦, 西條政幸. 突発性発疹のウイルス学的な検査法 IASR 41:214-215, 2020

12) 新倉（座本）綾, 佐藤雅彦, 川端寛樹, 大久保（佐藤）梢, 安藤秀二, 石原智明, 花木賢一. 利尻島におけるマダニ相と保有病原体の調査. 利尻研究 Rishiri Studies 39: 41-46, 2020

13) 中山絵里, 前木孝洋, 谷口怜, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸. デング熱の流行状況. IASR 41: 93-94, 2020

14) 西村光司, 金澤剛二, 森岡一朗, 林昌宏, 田島茂, 前木孝洋, 中山絵里, 谷口怜, 西條政幸. 5 年ぶりに確認された日本国内で感染したデング熱の 3 例. IASR 41:94-96, 2020

15) 西條政幸. 最近の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の動向. バムサジャーナル 32:11-14, 2020

16) 田島茂, 中山絵里, 前木孝洋, 谷口怜, 林昌宏, 西條政幸. 2014 年に国内感染例として発表されている, 兵庫県西宮市でのデングウイルス 1 型によるデング熱患者について. IASR 41:97-99, 2020

17) 前木孝洋, 中山絵里, 谷口怜, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸. デング熱ワクチンの現状と展望. IASR 41:99-100, 2020

18) 児玉文宏, 枝川峻二, 永坂敦, 松野啓太, 好井健太朗, 澤洋文, 山岸彩沙, 古澤弥, 山口亮, 矢野公一, 山口宏樹, 後藤明子, 駒込理佳, 三好正浩, 伊東拓也, 小山内佑太, 角千春, 堀田明豊, 前田健, 安藤秀二, 西條政幸. 北海道における新規オルソナイロウイルス（エゾウイルス:Yezo virus）によるマダニ媒介性急性発熱性疾患の発見. IASR 41:11-13, 2020

19) 西條政幸. 私たちは数百年に一度の人間社会に大きな影響をおよぼすウイルス感染症流行のなかにいる -動物由来のウイルスとしての特徴とワクチン開発への期待. 科学（岩波書店） 90(6):512-517, 2020

20) 西條政幸. 一人の免疫不全患者から学ぶウイルス感染症学：薬剤耐性単純ヘルペスウイルス 1 型感染症. Neuroinfection 25:1-6, 2020

21) 西條政幸. 最近の重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の動向. バムサジャーナル 32:11-14, 2020

22) 西條政幸. 災害医療 2020 – 大規模イベント, テロ対応を含めて. サーベイランスの強化（感染症対策）日本医師会雑誌 149（増刊号）:244-255, 2020

23) 北崎佑樹, 岩﨑博道, 北井隆平, 高橋健太, 中道一生, 濱野忠則. 脳脊髄液中の JCV-DNA 遺伝子検査が 2 回とも陰性であったが, 開頭脳生検で診断確定した HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 1 例. BRAIN and NERVE 72(5):541-546, 2020

24) 安藤秀二. つつが虫病・日本紅斑熱. 日本獣医師会雑誌 73:6-12, 2020

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Taniguchi S, Lim CK, Maeki T, Tajima S, Nakayama E, Kato F, Azami NAM, Ami Y, Suzuki T, Moi ML, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Takasaki T, Kurane I, Saijo M. Evaluation of vertical infection of pregnant marmosets with Zika virus. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 22nd International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Bangkok, Thailand, February 2020

2) Maeki T. Analysis of cross-reactivity of flaviviruses with sera of Japanese travelers who were diagnosed with dengue, Bangkok, Thailand, Feburuary 2020

3) Ohka S, Nishizawa D, Yamada S, Hasegawa J, Fukui Y, Iseki M, Hiranuma A, Arita H, Hanaoka K, Yajima C, Kato J, Ogawa S, Kasai S, Ebata Y, Nakayama K, Hayashida M, Fukushi S, Saijo M, Ikeda K. A gene

associated with herpes zoster or post-herpetic neuralgia affects varicella-zoster virus infection or replication. American College of Neuropsychopharmacology, Virtual Meeting, December 2020

2. 国内学会

1) 藤田博己, 角坂照貴, 川端寛樹, 安藤秀二. タネガタマダニとアサヌママダニが保有する紅斑熱群リケッチア *Rickettsia monacensis* の国内における概要と感染症例の国内潜在の可能性. 第 72 回日本衛生動物学会, 東京, 2020 年 4 月
2) 西條政幸. 蚊媒介感染症. 第 95 回日本感染症学会学術講演会　第69回日本化学療法学会総会　合同学会. 東京（WEB 開催）, 2020 年 5 月
3) 谷口怜, 林昌宏, Moi Meng Ling, 網康至, 須崎百合子, 鈴木忠樹, 永田典代, 岩田奈織子, 田島茂, 西條政幸. コモンマーモセットのジカウイルス垂直感染モデルとしての評価.　第67回日本実験動物学会総会, 大阪（誌上開催）, 2020 年 5 月
4) 西條政幸. イントロダクション（SFTS の現状）. 第 94 回日本感染症学会学術講演会, 東京, 2020 年 8 月
5) 大岡静衣, 西澤大輔, 山田壮一, 長谷川準子, 福井良子, 井関雅子, 有田英子, 花岡一雄, 加藤実, 小川節郎, 平沼彩子, 笠井慎也, 中山京子, 江畑裕子, 林田眞和, 福士秀悦, 西條政幸, 池田和隆. 帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛に関連する遺伝子 A の発現は､水痘帯状疱疹ウイルス感染細胞の細胞融合能を亢進する. 第 50 回日本神経精神薬理学会, 仙台, 2020 年 8 月
6) 西條政幸. ウイルス性出血熱と日本の対策. 第 163 会日本獣医学会学術集会, 山口, 2020 年 9 月
7) 西條政幸. 日本で流行している重症熱性血小板減少症候群（SFTS）と新型コロナウイルス感染症（COVID-19）. 第 56 回日本放射線学会秋季臨床大会, WEB 開催, 2020 年 10 月
8) 西條政幸. 治療・予防法開発に基づく対策が急がれる動物由来ウイルス感染症：SFTS と COVID-19. 第 3 回静岡中部渡航医学セミナー, 静岡, 2020 年 10 月
9) 西條政幸. 哺乳動物と SFTS のリスクについて：ペットとしてのネコやイヌからの感染リスクと治療・予防法開発. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会第 67 回日本化学療法学会　合同学会, 東京, 2020 年 10 月
10) 西條政幸. 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の特徴を正確に捉える. 第 63 回日本内科学会信越支部主催生涯教育講演会. 内科信越講演会, 松本, 2020 年 10 月
11) 西條政幸. 新型コロナウイルス感染症　最新の知見からみた今後の対応策について. 公益財団法人　日本精神神経科診療所協会主催, 令和 2 年度第 1 回災害支援対策全国会議, 2020 年 10 月
12) 吉河智城. 高度弱毒化痘そうワクチン株 LC16m8 をベースとした SFTS ワクチンの開発.　第 24 回日本ワクチン学会学術集会, WEB 開催, 2020 年 12 月
13) 江頭柊平, 角元利行, 久保田暁, 作石かおり, 岩田淳, 裴成寛, 赤松延久, 中道一生, 西條政幸, 三浦義治, 長谷川潔, 藤尾圭志, 戸田達史. HIV/ナタリズマブ非関連進行性多巣性白質脳症に対するメフロキン, ミルタザピン療法. 第61回日本神経学会学術大会, 岡山県, 2020年10月
14) 根岸奈央, 池口亮太郎, 宗勇人, 小林正樹, 吉澤浩志, 飯嶋睦, 清水優子, 中道一生, 高橋健太, 北川一夫. 臓器移植患者における進行性多巣性白質脳症について:症例報告と文献的レビュー. 第61回日本神経学会学術大会, 岡山県, 2020年10月
15) 小川基彦, 下島昌幸, 西條政幸, 深澤征義. 緑茶由来フラボノイド類の重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する増殖抑制効果. 日本薬学会第 141 年会, 広島, 2021 年 3 月 26 日～29 日
16) 髙橋芳徳, 大澤良介, 平良雅克, 安藤秀二, 細川直登. 南アフリカ共和国から帰国後に発症した African tick-bite fever の 1 例, 第 32 回臨床微生物学会, 2021 年 1 月 29 日～3 月 31. Web 開催
17) 安藤秀二.　日本紅斑熱～日本で最も多いマダニ媒介感染症. 第 20 回 人と動物の共通感染症研究会, 東京(web 開催), 2020 年 10 月
18) 安藤秀二. ダニ媒介感染症における東日本と全国と

の比較～リケッチア症を中心に. 第 69 回日本感染症学会 東日本地方会 シンポジウム「野生生物とダニ媒介性疾患」東京（Web 開催）, 2020 年 10 月

19) 西條政幸. アフリカにおけるエボラウイルス病の流行：今も続いている. 第 20 回人と動物の共通感染症研究会, 東京（Web 開催）, 2020 年 10 月

20) 濱口眞衣, 鈴木圭輔, 藤田裕明, 宇塚岳夫, 松田葉月, 宍戸-原由起子, 新井聡子, 中村利生, 菊地慈, 中道一生, 西條政幸, 平田幸一. 脳生検で診断し, ミルタザピン及びメフロキンにて寛解した非 HIV 性進行性多巣性白質脳症の一例. 第 38 回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2020 年 10 月

21) 西條政幸. エボラウイルス病：動物から人へ, 時々起こる感染症. 日本学術会議シンポジウム,「One health：新興・再興感染症 動物から人へ, 生態系が産み出す感染症」, WEB 開催, 2020 年 11 月

22) 西條政幸. 新型コロナウイルス対策と産業ストレス: SARS-CoV-2 と COVID-19 のウイルス学的, 感染症学的特徴. 第 28 回日本産業ストレス学会, 2020 年 12 月

23) 吉河智城. 高度弱毒化痘そうワクチン株 LC16m8 をベースとした SFTS ワクチンの開発. 第 24 回日本ワクチン学会学術集会, WEB 開催, 2020 年 12 月

24) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に対する治療・予防法開発. 福岡県 One Health 国際フォーラム 2021. 福岡国際会議場, 2021 年 1 月

25) 西條政幸. 疫学・概要（イントロダクション）. 日本神経感染症学会特別シンポジウム, WEB 開催, 2021 年 3 月

26) 西條政幸. SARS-CoV-2 と COVID-19 の基礎的は話（ワクチンに関わる話題を含む）. 日本救急医学会 第 26 回専門医セミナー, WEB 開催, 2021 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、主として消化器系感染症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。

一方、2020 年は感染症の歴史という意味では特異な年となった。1 月頃より中国武漢で新型コロナウイルス感染症（COVID19）のアウトブレークが発生し、瞬く間にパンデミックとなった。本邦においては2月初旬で武漢都市封鎖に伴う帰国者チャーター機5機分全員 PCR 検査や横浜港クルーズ船（乗員 3400 人）の PCR 検査などをはじめとして、全所体制で新型コロナの検査、ワクチン、治療法、診断、疫学に当たる必要が生じた。このうちウイルス第二部は、戸山の三、四室は、戸山 PCR 検査チームの一角を分担し、一・二・五室は村山 PCR 検査チームを支えた。また四室、渡士主任研究官のチームは、治療法開発のうち抗ウイルス剤のスクリーニングを担当し成果をあげた。二室、吉田、喜多村主任研究官は、ポリオウイルス環境サーベイランスの技術をコロナウイルスに適用すべく研究班を立ち上げた。

以下、令和 2 年（2020 年）度の活動を紹介する。

第一室は、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を担当する。代表的な下痢症ウイルスであるノロウイルスは、慶応大学医学部ならびに、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て安定な培養増殖系が確立され、ウイルス複製機構、病原性発現機構解明に向けた研究が進められるとともに、不活化剤、治療薬、予防薬、ワクチン等の評価系としての応用がされている。サポウイルスの培養増殖系も確立した。第一室は「ノロウイルスレファレンスセンターとして、地方衛生研究所の協力を得ながら、ノロウイルス、サポウイルス、ロタウイルス等様々な下痢症ウイルスの検査法開発、検査精度向上などに尽力している。これに関連し、種々の下痢症ウイルスの検出マニュアル作成・改訂を行う。

第一室はまた、不活化ポリオワクチン、ロタウイルスワクチンの国家検定業務を担当している。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、不活化ポリオワクチン成分の力価試験（ラット免疫原性試験）を実施するとともに、これらの 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製剤の他、これ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）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。一方、ロタウイルスワクチンは、単価の経口弱毒生ロタウイルスワクチンと5価経口弱毒生ロタウイルスワクチンの 2 種類の製剤の国家検定試験を実施している。令和 2 年 10 月からロタウイルスワクチンの定期接種が開始されたことに伴い、令和 2 年 4 月からロタウイルス感染症流行予測調査事業が開始された。本事業では、感染源調査として、重症患者便検体中のロタウイルス株の同定を行う。

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を継続し、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への協力など国際的な活動を行っている。

第二室は 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 2 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、フィリピン、マレーシア等)では、ワクチン由来ポリオウイルスの流行が近年発生しており、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。WHO GAPIII に基づくポリオウイルス取扱い施設(PEF)認証の第一段階である認証参加申請を 2019 年 12 月に、厚生労働省に提出した。 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。

第三室および第四室では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。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、2 月には国内の肝炎ウイルス研究者による肝炎ウイルス研修会を開催し、若手研究者の育成に努めた。 B 型肝炎ウイルスの研究では、培養細胞を用いた新たな感染評価系の構築を行った。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。

第五室は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 2 件、B 型肝炎ワクチン 23 件の国家検定をおこなった。肝炎ワクチン国家検定は動物を用いた力価試験を実施しているが，試験管内力価試験追加の準備に必要なデータの収集等の対応を行なっている。A 型肝炎ウイルスの研究では、ウイルス複製機構の解明のための分子ウイルス学的研究を行なっている。また国内の A 型肝炎の流行状況について継続的な積極的疫学調査による分子疫学的解析を担当している。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、低分子化合物や siRNA ライブラリーのスクリーニング、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。

人事面では、第二室に清水博之室長、第一室の下池貴志博士が定年退職となり、清水氏は引き続き再任用職員としてウイルス二部で勤務することとなった。また、第四室の渡士幸一博士が、治療薬開発センターの治療薬開発総括研究官に栄転された。3氏の長きに亘る多大な部への貢献に感謝する。

以下のような国際的技術協力をおこなった。

国際協力に関する業務

第一室

韓国食品医薬品安全庁、国立医薬品食品評価研究所. セービン株由来不活化ポリオワクチンの韓国国内標準品制定にかかる共同研究、令和 2 年 7 月～8 月

[染谷雄一]

研修に関する業務

行政検査

第二室

急性弛緩性麻痺疑い症例のポリオウイルス分離検査

1 例　2 検体

第三室:

体外診断薬承認前試験;

Alinity m システム HBV（アボットジャパン）

Alinity m システム HCV（アボットジャパン）

ミュータスワコー HBV-DNA 定量（富士フィルム和光純薬株式会社）

第五室:

E 型肝炎　2 件　　4 検体

サーベイランス業務

Ⅰ. ロタウイルス感染症流行予測調査事業

(1)ロタウイルスの感染源調査

ア)各地衛研による調査状況

2020 年 10 月からのロタウイルスワクチン定期接種化に伴い、2020 年 4 月からロタウイルスの感染源調査を開始した。初年度にあたる 2020 年度は、大阪府、兵庫県、新潟県の 3 か所で調査を行った。しかし、2020 年は新型コロナウイルスの流行に伴う緊急事態宣言が発令されたこと等が要因となり、ロタウイルスの患者数が例年より著しく少なく、リアルタイム PCR によるスクリーニングでは、大阪府で 1 例検出されたのみにとどまった。

[藤井克樹、染谷雄一]

イ)検出されたロタウイルスの遺伝子解析

大阪府で検出されたロタウイルスの検体について、感染研において次世代シーケンサーによる遺伝子解析をおこなった。その結果、このウイルスの遺伝子型構成は G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 であり、典型的な Wa 型 G9（lineage 6）であった。これはコロナ禍前から全国的に継続して流行していたタイプであり、コロナ禍においても継続して分布しているものと考えられた。

[藤井克樹、染谷雄一]

II. A 型および E 型肝炎の流行調査

第五室:

国内で発生した A 型肝炎および E 型肝炎の分子疫学調査
各地方衛生研究所、保健所と共同で、国内で発生した A 型肝炎および E 型肝炎患者検体からウイルスの遺伝子を決定し、分子疫学的解析を行うことにより、国内の発生動向を確認する積極的疫学調査を行っている。

A 型肝炎　　32 検体
E 型肝炎　　38 検体

[杉山隆一、清原知子、李天成、松田麻未、石井孝司(品質保証・管理部)、村松正道、鈴木亮介]

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

構築した RdRp の in vitro RNA 転写活性測定系を用いて、ノロウイルスのマイナス鎖ゲノム RNA からプラス鎖ゲノム RNA の合成にどの領域が重要かを鋳型 RNA に様々な変異を入れることにより調べた。その結果、マイナス鎖ゲノム RNA の 3'末端 31nt が RdRp による RNA 合成に必要十分であることを明らかにした。更にこの領域が RdRp との相互作用に必要であることをゲルシフトアッセイで明らかにした。

[下池貴志、岡智一郎、林豪士、村松正道]

(2) ヒト型抗ノロウイルスファージ抗体の性状解析

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をスクリーニングし、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抗体を単離した。各抗体の性状解析を、ELISA、Surface Plasmon Resonance によって進めている。

[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)]

(3) ノロウイルスの急激な感染拡大のメカニズムの解明

ノロウイルス流行株の疫学解析と血液型抗原への結合能の in vitro における解析を両立させた研究を進めている。疫学的に劣勢な遺伝子型であっても、血液型抗原結合能の変異により流行株になりうるという証拠の提示は、ノロウイルスに対する公衆衛生戦略を策定する上で大きな意義がある。

[白土東子、佐野大輔(東北大学)、中込とよ子(長崎大学)、中込治(長崎大学)]

(4) ヒトノロウイルス感染細胞の経時的なトランスクリプトーム解析

ヒトノロウイルス感染に伴い変動する免疫応答関連遺伝子群の特定を目的として、前年度(感染 24 時間後)とは異なるタイムポイント(感染 12、48 時間後)におけるウイルス感染・非感染腸管オルガノイドの遺伝子発現変動を RNAseq 法により解析した。その結果、ウイルス認識に関わる RIG-I 様受容体、および下流のシグナル伝達経路(JAK-STAT 経路など)に関わる遺伝子群の発現が、感染後一貫して上昇していることを明らかとした。

[林豪士、村上耕介、山岡曜子、村松正道]

(5) siRNA を用いたヒトノロウイルス感染制御因子の探索

RNAseq 解析にて、感染に伴い発現上昇が認められた遺伝子群について、ヒトノロウイルス感染に抑制的に働いているかを検証するため、siRNA のリバーストランスフェクション法による遺伝子ノックダウン腸管オルガノイドの作製を試みた。その結果、65%程度ノックダウンすることに成功したものの、ウイルスの増殖効率の上昇、あるいはインターフェロン応答の低下といった知見は現時点では得られなかった。今後、siRNA 導入法の最適化を図ると共に、遺伝子ノックアウト腸管オルガノイドの樹立も並行して試みる。

[林豪士、村上耕介、山岡曜子、村松正道]

(6) 化合物スクリーニングによる新規抗ヒトノロウイルス阻害薬の探索

市販の抗ウイルス薬ライブラリーを用いて、ヒトノロウイルス感染を阻害する化合物を探索した。その結果、C 型肝炎ウイルスの治療薬として開発されたダサブビルが、GII.3 型及び GII.4 型ヒトノロウイルスの腸管オルガノイド内での増殖を抑制することを見出した。また、ダサブビルはヒトロタウイルス及び SARS-CoV-2 の感染も阻害することを明らかとした。

[林豪士、村上耕介、平野順紀、藤井克樹、山岡曜子、大橋啓史、渡士幸一(治療薬・ワクチン開発センター)、Estes MK (ベイラー医科大学)、村松正道]

(7) ヒトノロウイルス培養系に供する腸管オルガノイドの培養条件の最適化

腸管オルガノイドを用いたヒトノロウイルス培養系の最適化を引き続き実施した。オルガノイドの維持に必要な成長因子 Wint-3a, R-spondin, Noggin の 3 種類のリコンビナントを一度に発現させる細胞が ATCC より供給開始されたことから、ノロウイルス培養系への適用を検討した。その結果、従来法と比較してコストと手間が削減され、かつ従来通りのノロウイルス

増殖能が示された。
[平石依里、山岡曜子、村上耕介]

（8）感染中和能を有するヒト型モノクローナル抗体の探索
ヒトから検出される主要なノロウイルス GI および GII の両方を認識するヒト型モノクローナル抗体が感染中和能を有するかどうかを GII.3 ヒトノロウイルスを用いて検証した。その結果いくつかの抗体がウイルス増殖を抑制することが示された。今後は GII.3 以外の遺伝子型の感染中和能を解析する。
[村上耕介、山岡曜子、平石依里、橋香奈、高橋宜聖 (免疫部)]

（9）ノロウイルスの非構造タンパク質 VPg の機能解析
ノロウイルスの非構造タンパク質 VPg はゲノム RNA と共有結合しており、宿主細胞の翻訳開始因子と相互作用することでウイルスタンパク質翻訳の開始に関与すると考えられているが、機能には不明な点が多い。我々は VPg に核移行シグナルと推定される複数の配列が存在することを見出したことから、その機能を免疫蛍光顕微鏡観察により検証した。その結果、N 末に存在する核移行シグナルが機能する可能性を示唆した。
[平石依里、山岡曜子、村上耕介]

（10）GIV ノロウイルスのリアルタイム PCR による検出感度改善の検討
ノロウイルス検出マニュアルに収載されているリアルタイム PCR 法では,検出されるノロウイルスの多数を占める GII に加え、稀ではあるが検出例が報告される GIV も検出可能なプライマー・プローブセットを使用している。しかし GII の検出感度の低下が指摘されていたことから、既存プライマー・プローブを用いた検出感度の改善を検討した。その結果、GII および GIV に特異的なプローブを混合することにより改善されることが示唆された。
[山岡曜子、村上耕介]

（11）ノロウイルス VLP の X 線結晶構造解析
昆虫細胞より調製したノロウイルスチバ株（GI.4）の VLP 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）]

（12）ノロウイルス VLP の電子顕微鏡単粒子解析
昆虫細胞より調製したノロウイルス GI 株の VLP の電子顕微鏡単粒子解析を行い、詳細な三次元立体構造を決定した。
[染谷雄一、染谷友美（理化学研究所）]

（13）ノロウイルス VLP と抗体複合体の電子顕微鏡単粒子解析
ノロウイルス GI 株 VLP と特異抗体との複合体の電子顕微鏡単粒子解析を実施し、三次元立体構造情報を得た。抗体の中和能について検討を進めている。
[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）サポウイルス核酸検出系の有用性検証
ヒトサポウイルスの遺伝子型は GI.1-7, GII..1-8, GIV.1, GV.1-2 に分類される。合成核酸で、これら全遺伝子型に反応性を検証できたリアルタイム RT-PCR および RT-PCR 系を用いて、実際に感染性胃腸炎患者臨床検体（糞便）、環境水（流入下水）から多様なサポウイルス遺伝子型を検出できることを示した。
[岡智一郎、高木弘隆(安全実験管理部)、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）、佐藤重紀（千葉県衛生研究所）、柴田伸一郎（名古屋市衛生研究所）、三田哲朗（島根県保健環境科学研究所）、八尋俊輔（熊本県保健環境科学研究所）、高橋知子（岩手県環境保健研究センター）、坂上亜紀恵、植木洋（宮城県保健環境センター）、小林孝行（福岡県保健環境研究所）、吳芳姿（台湾 CDC）]

（2）ヒトサポウイルスのシリアルパッセージと培養スケールアップの達成
ヒト十二指腸由来細胞株(HuTu80)を用いるサポウイルス培養条件の至適化により、GI.1、GI.2、GII.3 株についてウイルス継代および培養スケールアップを達成した。ウイルスストックの調製により、ウイルス陽性糞便に依存しない研究が可能になった。
[岡智一郎、高木弘隆 (安全実験管理部)、下池貴志、片岡紀代（感染病理）、斎藤博之(秋田県保健環境センター)、辰巳智香、三田哲朗（島根県保健環境科学研究所）、小林孝行 (福岡県保健環境研究所)]

（3）ヒト十二指腸細胞株を用いたサポウイルス感受性規定因子の解析
サポウイルスとパレコウイルスは同じヒト十二指腸由来細胞株で増殖する。我々が独自に見出したパレコウイルスの受容体候補因子を CRISPR/Cas9 系でノックアウトしたところ、パレコウイルスの増殖はまったく認められなくなったが、サポウイルスの増殖には影響しなかった。この結果からサポウイルスとパレコウイルスの感染は別の細胞性因子が関与することが示された。
[岡智一郎、高木弘隆 (安全実験管理部)]

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)2019-20 年シーズンの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、2019-20 年に北海道各地の医療機関で採取された RVA 胃腸炎症例の便検体を収集した。NTT 東日本病院(札幌市)、北海道医療センター(札幌市)、岩見沢市立総合病院(岩見沢市)、なかた小児科(札幌市)、とまこまいこどもクリニック(苫小牧市)、の 5 か所から、それぞれ 7、2、1、1、3 検体(合計 14 検体)の RVA 陽性検体を収集することができた。

[藤井克樹、津川毅(札幌医科大学)]

イ) 2019-20 年シーズンの北海道ロタウイルス検体の NGS 解析

2019-20 年の 14 検体について次世代シーケンサーにて全ゲノム解析を行い 12 検体の解析に成功した。RVA の遺伝子型分布は G1P[8] (Rotarix 株)が 1 検体、G2P[4]が 4 検体、ウマ様 G3P[8]が 2 検体、G8P[8]が 1 検体、G9P[8]が 4 検体であった。2020 年は新型コロナ禍の影響で RVA の検体が極端に少なく、岩見沢市立総合病院で採取された 1 検体(rotarix 株)と、なかた小児科で採取された 3 検体(全て G2P[4])のみであった。

[藤井克樹、津川毅(札幌医科大学)]

(2) 秋田県におけるロタウイルス分子疫学研究

秋田大学との共同研究で、秋田県における RVA 流行株を調査するため、2020 年シーズンに秋田県由利本荘市の由利組合総合病院で採取された急性胃腸炎による入院症例の便検体を収集した。当該病院の小児科では、2020 年シーズンの RVA 流行シーズンに 36 例の急性胃腸炎による入院症例があった。リアルタイム PCR 法によりスクリーニング検査を行ったところ、RVA 陽性となった検体は 1 例も無かった。

[藤井克樹、野口篤子(秋田大学)]

(3) 千葉県におけるロタウイルス分子疫学研究

東京女子医大八千代医療センターとの共同研究で、千葉県における RVA 流行株を調査するため、2020 年シーズンに同病院において採取された急性胃腸炎による入院症例の便検体を収集した。当該病院の小児科では、2020 年シーズンの RVA 流行シーズンに 36 例の急性胃腸炎による入院症例があった。リアルタイム PCR 法によりスクリーニング検査を行ったところ、RVA 陽性となった検体は 1 例も無かった。

[藤井克樹、濱田洋通(東京女子医科大学)、廣瀬翔子(東京女子医科大学)、藤森誠(東京女子医科大学)]

(4) ロタウイルスワクチンの有効性に関する調査

北海道、秋田県、千葉県におけるロタウイルスの疫学調査データを用いて、RVA 陽性者、陰性者それぞれの RVA ワクチン接種率を求め、ワクチン有効性(VE)を算出した。その結果、入院症例を対象とした秋田県および千葉県の VE はそれぞれ 84.5%(症例数 57)および 81.0%(同 31)であった。一方、クリニックで外来症例を対象とした北海道の VE は、34%～89%と年によって大きく変動する結果が得られた。VE と流行株との関連性が疑われるものの、流行株の種類が多様かつ変動が激しいため、明確な関連性を示すのは困難であった。また、ワクチン接種により嘔吐の有症頻度が減少する等、軽症化する傾向が見られた。

[藤井克樹]

(5) リアルタイム PCR によるロタウイルス検出方法の検討

これまでの検討から、RVA を検出・定量するためのリアルタイム PCR 用プライマー・プローブセットとしては、Freeman らのグループが報告したもの(J Med Virol. 2008, 80(8):1489-96)が幅広いウイルス株を検出できるため良いと判断された。しかし、多数の便検体を用いた検証から、このプライマー・プローブセットは RVA 陰性であっても、しばしば非特異反応によるシグナルが得られることが判明した。原因を調査した結果、ヒトゲノム、腸内細菌、アストロウイルス等、様々な原因により非特異反応が起こり得ることが明らかとなったため、今後改良の余地があると考えられた。

[藤井克樹]

4. その他の下痢症ウイルスに関する研究

(1) パレコウイルスに対する特異抗血清の作製

ヒト十二指腸由来細胞株 HuTu80 で増殖させた 3 型パレコウイルスの大量調製、ウイルス精製を行い、ウサギ、モルモットでの抗血清作成を行った。効率的な増殖が達成できるウイルスについては、今後、同様の手法で特異抗血清の調製ができると考えられる。

[岡智一郎、高木弘隆、網康至、須崎百合子 (安全実験管理部)、斎藤博之(秋田県保健環境センター)]

II. エンテロウイルスに関する研究

1. 実験室診断およびレファレンス活動

(1) 国内エンテロウイルスレファレンスセンターとしての活動

エンテロウイルスレファレンスセンター会議は延期となった。細胞は 1 箇所へ分与した。今年度は抗血清の分与要請はなかった。

[吉田弘（感染研）]

（2） 地方衛生研究所等における病原体検査の質保証に向けた人材養成に関する研究
地方衛生研究所等における病原体検査の質保証体制を検討すべく、検査部門による検査の質の自主管理の取り組みとして 1 年間のヒヤリハット事例の収集を行った。取り組みは継続して実施することが望まれる。また、地方衛生研究所における人材育成の課題を整理し、OJT 時の新任、現任の検査担当者を対象としたコンピテンシーリスト作成を試みた。本リストは施設の検査体制に対応させるとともに、適宜内容をアップデートすることが必要と考えられる。
[小笠原和彦（青森県環境保健センター）、筒井理華、（青森県健康福祉部保健衛生課）、高橋雅輝、藤森亜紀子、山下裕紀、高橋知子 （岩手県環境保健研究センター）、横井一（千葉市環境保健研究所）、望月靖（岡山県環境保健センター）、松岡隆介、吉田弘]

(3)ポリオ環境水サーベイランスを基盤とした新型コロナウイルス調査体制確立の研究
下水網を活用したポリオ環境水サーベイランスを実施中である。新型コロナウイルスも感染後糞便中に排出されることが知られている。このため既存のシステムを活用して、新型コロナウイルスを検出し、ウイルスゲノム量から地域感染者数を推計する場合の技術的な課題と運用上の課題について研究を行った。技術面では、1)下水中のコロナウイルス量は少ないため、検出法の改良は今後も必要なこと、2)下水固有の特性を考慮した処理区内のウイルス量の推計モデルの開発が望まれ、感染者数と連動したデータを蓄積する必要性があること、運用面では、関係部局間の情報共有内容及び公表内容、検出時の行政対応の在り方、データの公表時のリスクコミュニケーション、民間検査の活用と行政検査機関の役割（精度管理等）について更に検討する必要があること、が明らかになった。
[原本英司（山梨大学）、北島正章（北海道大学）、田隝淳（国土交通省国土技術政策総合研究所）、貞升健志、長島真美（東京都健康安全研究センター）、濱﨑光宏（福岡県保健環境研究所）、小澤広規（横浜市衛生研究所）、坂恭平（青森県環境保健センター）、筒井理華（青森県健康福祉部）、高橋雅輝、藤森亜紀子（岩手県環境保健研究センター）、植木洋（宮城県保健環境センター）、渡部徹（山形大学）、北川和寛（福島県衛生研究所）、小川貴史、藤沼裕希（千葉県衛生研究所）、小川泰卓、宮下広大（埼玉県衛生研究所）、板持雅恵（富山県衛生研究所）、葛口剛（岐阜県保健環境研究所）、伊藤雅（愛知県衛生研究所）、濱島洋介（和歌山県環境衛生研究センター）、望月靖、木田浩司（岡山県環境保健センター）、喜多村晃一、吉田弘]

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ている。2020 年度は 98 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。非ポリオエンテロウイルス 15 株が分離されたが、ポリオウイルスは分離されなかった。
[吉田弘、有田峰太郎、西村順裕、喜多村晃一、牛村英里、清水博之]

（2） フィリピンおよびマレーシアにおける 1 型および 2 型ワクチン由来ポリオウイルスの大規模流行
フィリピンでは、AFP サーベイランスを補完するため、2017 年より環境サーベイランスを開始し、フィリピン RITM でポリオウイルス分離・同定を実施している。RITM における型内鑑別試験の結果、非ワクチン株ポリオウイルス（VDPV）と同定された検体、および、すべての 2 型ポリオウイルス株について、感染研において VP1 塩基配列解析による確認検査を実施している。2020 年度には、計 293 株のポリオウイルスのシーケンスを引き続き行った。これらのサーベイランスの結果を踏まえて、2021 年 6 月 3 日に、フィリピンにおける cVDPV1 および 2 の伝播の終息が宣言された。
[有田峰太郎、西村順裕、吉田弘、喜多村晃一、牛村英里、清水博之、Bruce R. Thorley (VIDRL)、Lea Necitas G. Apostol (RITM)、Varja Grabovac、Yoshihiro Takashima (WHO/WPRO)]

3. 世界ポリオ根絶計画に関わる研究
(1) フィリピンで流行している 2 型ワクチン由来ポリオウイルスの NGS 解析
フィリピンで 2019 年 9 月より流行している 2 型ワクチン由来ポリオウイルス（cVDPV2）について、詳細かつ網羅的な分子疫学情報を得るために次世代シークエンス（NGS）を用いた全長ゲノム配列解析を行っている。2020 年度は流行終息の兆しが見られるが、引き続き採取される AFP 症例由来検体及び環境検体から NGS 解析を行った。解析結果からウイルス伝播状況の地域差、ゲノム組換えの有無、中和抗原部位の変異について検討を進めている。
[喜多村晃一、Doan Hai Yen (東京医科歯科大学)、西村順裕、有田峰太郎、清水博之]

(2) 免疫不全患者から検出された 2 型ワクチン由来ポリオウイルスのゲノム解析
cVDPV2 流行と同時期のフィリピンにおいて、免疫不全患

者から2型ワクチン由来ポリオウイルス（iVDPV2）が同定された。昨年度にサンガー法によるVP1領域配列決定及びNGS解析により、このiVDPV2と流行中のcVDPV2とは分子系統学的には関連性が低いことが示唆されたが、その後も継続してiVDPV2が検出されたことから、引き続きこの症例の全長ゲノム配列解析を行っている。時系列による変異頻度、アミノ酸置換を伴う変異の割合、quasi-speciesの変化についてデータを蓄積し分子疫学的な検討を進めている。
[喜多村晃一、Doan Hai Yen (東京医科歯科大学)、西村順裕、有田峰太郎、清水博之]

(3) 疑似ウイルスを用いた抗ポリオウイルス中和抗体価測定系の開発

これまでにワクチン株（Sabin株）カプシドを持ったポリオウイルス疑似ウイルスを作製し、従来法と高い相関を示す新規抗ポリオウイルス中和抗体価の測定法を開発した。しかし、手動による測定では、年間の感受性調査で測定される検体数（およそ1,200検体）の測定を行うことは到底できないため、測定の自動化を試みた。384-well プレート用の希釈調製装置および分注機、プレート上清除去用遠心機により、ヒト血清の希釈、プレートコピーの作成、上清除去の過程が自動化された。また、データの解析の自動化も行った。従来用いてきた分注機と合わせて、プレートの移動等の過程を除いて、測定の自動化及びハイスループット化に成功した。
[有田峰太郎、板持雅恵（富山県衛生研究所 ウイルス部）]

(4) 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

新規2型ポリオウイルス生ワクチン（nOPV2）の2つの候補株（nOPV2-c1および-c2）の感染により誘導されうる腸管内の中和抗体を測定するための材料および方法論を提供した。血清中に誘導された中和抗体価と比べて、腸管内の中和抗体価は非常に低いことが明らかになった。
[有田峰太郎、Peter F. Wright (Department of Pediatrics, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, USA)]

4. エンテロウイルスおよびその他腸管ウイルスに関する研究

(1) エンテロウイルスA71の感染性cDNAクローンの作製

エンテロウイルスA71 SK-EV006株の感染性cDNAクローンを作製した。T7 プロモーターとウイルス 5'非翻訳領域を含むセンスプライマーと、ウイルス3'非翻訳領域を含むアンチセンスプライマーを用いて、SK-EV006 株のゲノム全長を RT-PCR で増幅した。このゲノム全長を大腸菌プラスミドpBR322Y の制限酵素サイトにクローニングした。このプラスミドを pBREV71-SK-EV006 と名付けた。プラスミドを精製し、T7プロモーターによるin vitro transcriptionによりウイルスゲノムRNAを合成した。ゲノムRNAをRD細胞にトランスフェクションしたところ、感染性をもつウイルスを回収できた。
[西村順裕、清水博之]

(2) EGFPを発現するエンテロウイルスA71感染性cDNAクローンの作製

感染後に EGFP を発現するエンテロウイルス A71 SK-EV006 株を作製した。pBREV71-SK-EV006 プラスミドのもつウイルスゲノムのオープンリーディングフレーム開始コドン直後に、EGFP遺伝子と2Aプロテアーゼ切断配列を挿入した。プラスミドを精製し、T7 プロモーターによる in vitro transcription によりウイルスゲノム RNA を合成した。ゲノム RNA を RD 細胞にトランスフェクションしたところ、感染後にEGFPを発現するウイルスを回収できた。
[西村順裕、清水博之]

(3) ヘパラン硫酸合成酵素に関する研究

ヘパラン硫酸はエンテロウイルスA71の受容体のひとつである。ウイルス感染におけるヘパラン硫酸の役割を詳細に解析するために、ヘパラン硫酸合成にかかわる酵素の発現プラスミドを作製した。さらにこのプラスミドを用いてヘパラン硫酸合成酵素を安定発現する細胞株を樹立した。この細胞ではプロテオグリカンのヘパラン硫酸付加が亢進しており、エンテロウイルスA71との相互作用の解析に有用と考えられた。
[西村順裕、清水博之]

(4) アボカドから分離された新規抗エンテロウイルス化合物の解析

食用果物であるアボカドの中に、活性の高い抗エンテロウイルス68化合物（新規構造の天然化合物、avoeninと命名）が大量に含まれていることを発見した。Avoeninは、エンテロウイルスの中でエンテロウイルス68に特異的な阻害活性を示し、その作用機序としてウイルス粒子を安定化させ、脱殻の過程を阻害することが示唆された。
[有田峰太郎、渕野裕之、河上仁美、川原信夫（国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所）]

(5) エンテロウイルスA71ウイルスタンパク質の病原性に関した分子生物学的解析

エンテロウイルス A71 ウイルスタンパク質の性状解析を行い、小胞体ストレス応答のマーカー遺伝子の発現を顕著に上昇させるエンテロウイルス A71 非構造タンパク質を同定した。このウイルスタンパク質の発現時に、小胞体ストレス応答経路を介したアポトーシス誘導による細胞死が促進されたため、エンテロウイルスA71の病原性との関連について分子生物学的な検討を行った。また、ウイルスタンパク質内の小胞

体ストレス応答を誘導する機能部位の探索を行った。
[平野順紀、西村順裕、岡本徹(大阪大学微生物病研究所)、林豪士、豊嶋孝恵、喜多村晃一、吉田弘、清水博之、有田峰太郎、村松正道]

(6) 小胞体関連分解機構に関与するエンテロウイルス A71 宿主因子の探索

細胞感染時に GFP を発現し、簡便にウイルス増殖を評価することが可能な遺伝子組換えエンテロウイル A71(EV71-GFP)を使用し、siRNA ライブラリによるエンテロウイルス A71 宿主因子の同定を試みた。EV71-GFP を用いて、エンテロウイルス A71 の生活環に関与することが予想される小胞体関連分解機構の遺伝子群を評価し、候補遺伝子の評価を進めている。
[平野順紀、西村順裕、岡本徹(大阪大学微生物病研究所)、林豪士、豊嶋孝恵、喜多村晃一、吉田弘、清水博之、有田峰太郎、村松正道]

(7) 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、AFPが五類感染症全数報告対象疾患となり、国内検査体制の整備が進められている。「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」では、糞便検体からのポリオウイルス検査は必須であり、エンテロウイルスA71やAFP発症への関与が強く疑われているEV-D68を含むNPEVについても、可能な限り検査を実施することが推奨されている。そのため、感染研のAFP検査担当者および地衛研の代表により、AFP由来検体のポリオウイルスおよびNPEV検査に関する現状と問題点を整理し、今後の検査の方向性について検討を行った。WHO標準法によるポリオウイルス検査について、国内唯一のWHO認定ポリオウイルス実験施設である感染研ウイルス第二部で実施する可能性について検討し、検査実施体制の整備を進めている。
[多屋馨子、藤本嗣人(感染症疫学センター)、清水博之、村松正道]

5. 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) 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している。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、感染研ウイルス第二部で 2 型中和抗体価測定を行った。ただし、2020 年度は、千葉県からの 228 血清検体については、1,2,3 型ポリオウイルス中和抗体価測定を感染研ウイルス第二部で実施した。2020 年度は、6 地衛研からの計 948 血清検体(上記の千葉県からの血清検体を含む)について、2 型ポリオウイルス中和抗体価測定を実施し、試験結果を各地衛研に報告送付した。
[有田峰太郎、西村順裕、喜多村晃一、染谷雄一、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) レポーター遺伝子を持つ HAV を用いた抗 HAV 低分子化合物の探索

HAV が肝細胞で感染増殖する為に重要な宿主因子を探索する為に、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 Huh7.5.1 細胞に感染させ、1280 種類の生理活性物質ライブラリーのスクリーニングを実施した。細胞毒性を示さずに HAV の増殖を用量依存的に抑制する化合物を複数得た。そのうちの半数の化合物は subgenomic replicon の複製を抑制した。最も強い抗ウイルス作用を示した化合物は、異なる遺伝子型の HAV においても増殖抑制効果が認められた引き続き化合物の分子標的および作用機序の解析を進めている。
[鈴木亮介、松田麻未、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) A 型肝炎の国内発生動向調査

国内における 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た。例年 A 型肝炎は年間 300～400 件程度の報告があるが 2020 年は 119 件の報告に留まった。報告された 119 件のうち、33 検体の遺伝子情報を集積し、解析を行った。その内訳は遺伝子型 IA: 93.9%、遺伝子型 IB: 0.03%、遺伝子型 IIIA: 0.03%であった。国内での流行は主に遺伝子型 IA で、得られた遺伝子配列から各症例の多くは広域的な散発例と考えられたが、一部で相同性の高いクラスターが認められた。また 2018 年から MSM の間で流行していた株については 2020 年 4 月以降、検出されておらず収束したと考えられる。
[清原知子、杉山隆一、鈴木亮介、村松正道]

2. B 型肝炎ウイルス(HBV)に関する研究

(1) HBV 陽性パネル候補検体の HBV 配列解析

HBV 陽性パネル候補検体 20 例の血清より HBV を分離し HBV 遺伝子型の同定と HBV 遺伝子配列の確認を行った。HBV 遺伝子型の同定はイムニス HBV ゲノタイプ EIA(特殊免疫研究所)を用い、さらに PCR 法で HBV 遺伝子増幅が可能であった検体は塩基配列を決定の上、遺伝子型の確認を行なった。HBV ゲノタイプ EIA では 20 症例中、遺伝子型 B 4 例、C 10 例、D 1 例、判定不能 5 例であった。20 例中、HBV 全長の配列が確認できた症例は 8 例であり、これらは全て HBV ゲノタイプ EIA と遺伝子型が一致した。HBV S 領域の一部の配列のみ確認できた症例は 6 例であり、そのうち EIA で判定不能であった 1 症例が遺伝子型 A であることが明らかとなった。

[山田典栄, 大﨑由喜, 加藤孝宣]

(2) TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者の臨床学的特徴の検討

B 型慢性肝炎の治療に核酸アナログであるテノホビル・アラフェナミド(TAF)が使用されている。TAF の投与から 1 年経過後も HBV DNA が陰性化しない治療抵抗例が存在し、これらの臨床学的特徴を検討した。TAF 投与中の 13 例を対象とし、その内訳は男性 8 例、女性 5 例、投与開始時の平均年齢は 41.8±10.5 歳であった。HBV 遺伝子型は A1 例、C12 例であり、病態は慢性肝炎 11 例、肝硬変 2 例であった。投与開始から 1 年後も HBV DNA が陽性であった反応不良例は 3 例であり、そのうち 1 例は投与開始から 15 カ月で陰性化し、2 例は投与開始から 2 年以上経過した現在も陰性化していない症例であった。反応良好例と不良例で臨床背景および臨床検査値に有意差は認めなかった。

[山田典栄, 安田清美 (清川病院), 加藤孝宣]

(3) TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者における薬剤耐性変異の解析

核酸アナログであるテノホビル・アラフェナミド(TAF)の投与開始から 1 年経過後も HBV DNA が陰性化しない B 型慢性肝炎症例 3 例の薬剤耐性変異の解析を行った。治療開始前、開始後の患者血清より HBV を分離し、HBV の RT 領域を PCR で増幅しダイレクトシーケンス法にてアミノ酸配列を解析した。その結果、3 例とも RT 領域に既報の核酸アナログ耐性変異は検出されなかった。1 例において TAF 投与開始前より rtT118A の変異が検出され、投与開始後に投与開始前には検出されなかった rtL220I の変異が検出された。2 例において投与開始前には検出されなかった rtQ215H の変異が投与開始後に検出された。

[山田典栄, 安田清美 (清川病院), 加藤孝宣]

(4) TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者に共通にみられた変異の解析

TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者 3 例の HBV RT 領域のアミノ酸配列の解析において、2 例に共通にみられた rtQ215H 変異について検討を行った。rtQ215H を持つ 1.4 倍長のコンストラクトを作製し、この変異を持つコンストラクトと変異を持たないコンストラクトを HepG2 細胞に導入し、導入細胞をテノホビル(TDF)で処理した後、RTD-PCR 法で HBV 薬剤感受性と複製能を評価した。その結果、rtQ215H の変異を有する株はこの変異を持たない株と比較し IC50 値は約 3.5 倍高値であった. また複製能には差を認めなかった。

[山田典栄, 安田清美 (清川病院), 加藤孝宣]

(5) 長期 TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者にみられた二重変異の解析

TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者 3 例中 1 例は投与から約 3 年経過後も HBV DNA の陰性化が得られていない症例であった。この症例の HBV RT 領域のアミノ酸配列の解析において確認された rtT118A と rtL220I の二重変異について検討を行った。rtT118A および rtL220I を持つ 1.4 倍長のコンストラクトを作製し、これらの変異を持つコンストラクトとこれらの変異を持たないコンストラクトを HepG2 細胞に導入し、導入細胞を TDF で処理した後、RTD-PCR 法で HBV 薬剤感受性と複製能を評価した。その結果、rtT118A＋rtL220I の変異を有する株はこれらの変異を持たない株と比較し IC50 値は約 3 倍高値であった。また複製能には差を認めなかった。

[山田典栄, 安田清美 (清川病院), 加藤孝宣]

(6) 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培養細胞を用いた 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 細胞への導入により得られたウイルスの感染力価について検討した。その結果、I97L 変異を持つ HBV では感染力の低下が認められた。そこでウイルス粒子に内包されている HBV ゲノムについて解析を行ったところ、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 変異による感染力の低下は不完全二本鎖 DNA ゲノムの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]

(7)Core 領域 I97L 変異が HBV 感染後の cccDNA 合成に与える影響についての検討

次に培養細胞で作製した HBV Core 領域 I97 野生型と I97L 変異型のウイルスの感染後の cccDNA の合成能に与える影響について検討を行った. これらの HBV を HepG2-NTCP 細胞に感染させ 12 日後の cccDNA 量をリアルタイム PCR で測定した。その結果, I97L 変異型では I97 野生型と比較し有意に cccDNA 合成量が低下していた。
[山田典栄, 本多隆 (名古屋大学), 加藤孝宣]

(8)Core 領域 I97L 変異がリサイクル依存性の cccDNA 合成に与える影響についての検討

さらに HBV Core 領域 I97L 変異がリサイクル依存性の cccDNA の合成能に与える影響についても検討を行った。I97 野生型と I97L 変異型の HBV 複製コンストラクトを HepG2 細胞に導入後、7 日後の cccDNA をサザンブロット法で検出した. その結果、I97L 変異型は I97 野生型と比較しリサイクル依存性の cccDNA 合成においてもその効率が低下していることが明らかとなった。
[山田典栄, 本多隆 (名古屋大学), 加藤孝宣]

(9) I97L 変異を持つ Core 蛋白質と L-HBs 抗原の結合能に関する検討

HBc と L-HBs 蛋白質の相互作用に対する I97L 変異の影響について NanoLuc Binary Technology (NanoBiT)を使用して解析を行った。HBc と LgBiT の融合タンパク質を発現するプラスミドと、SmBiT と L-HBs の融合タンパク質を発現するプラスミドを作製し、HBc を発現するプラスミドについては I97L を持つものと持たないものを準備した。これらのプラスミドを培養細胞に導入し、相互作用で得られる NanoLuc シグナルを測定したところ、I97L 変異を持つ HBc-LgBiT 発現プラスミドでは、この変異を持たないプラスミドと比較して、L-HBs 蛋白質と強い相互作用を認めた。
[村山麻子, 山田典栄, 本多隆 (名古屋大学), 加藤孝宣]

(10) 各種 HBs タンパク質の感染性 HBV 粒子産生における必要性の検討

3 種類の HBs タンパク質(HBs-L, HBs-M, HBs-S)の開始コドンに変異を導入し、発現できないようにしたコンストラクトを作製し、ウイルス粒子産生と感染性における各種 HBs タンパク質の必要性について検討した。HBs-L を発現しない場合は培養上清中の HBs タンパク質の総量は減少したが、感染性は上昇した。HBs-M を発現しない場合には、培養上清中の HBs タンパク質の総量は減少したが、感染性には影響がなかった。HBs-S を発現しない場合には、培養上清中には HBs タンパク質が分泌されず、感染性も見られなかった。
[村山麻子, 加藤孝宣]

(11) HBs-L タンパク質の感染性 HBV 粒子産生における必要性の検討

HBs-L タンパク質には 12 番目にもメチオニンがあり、1 から 11 番目のアミノ酸を欠失させると感染効率の高い HBV 粒子が作製できる。このメチオニンに変異を入れると培養上清中の HBs タンパク質の総量が減少し、ウイルスの感染性も低下した。反対に、1 番目のメチオニンに変異を入れて HBs-L が発現しないようにすると、培養上清中の HBs タンパク質の総量が減少するものの、ウイルスの感染性が上昇した。以上の結果から、11 アミノ酸短い HBs-L の存在が示唆され、完全長の HBs-L よりも感染性に寄与していると考えられた。
[村山麻子, 加藤孝宣]

(12) HBs-L タンパク質のミリストイル化の HBV の感染性への影響

HBs-L タンパク質は N 末端がミリストイル化されることが知られている。また、HBs-L タンパク質には 12 番目にもメチオニンがあり、HBs-L の N 末端側の 11 アミノ酸を欠失させると感染性が上昇するが、この N 末端欠失型の HBs-L(HBs-Ld11)にもミリストイル化され得る配列が存在する。そこで、ミリストイル化に重要なアミノ酸に変異を導入し、感染性への影響を検討した。HBs-L に変異を導入すると感染性は低下した。N 末端側 11 アミノ酸欠失型の HBs-Ld11 に変異を導入しても感染性は低下した。以上の結果から、HBs-L のミリストイル化はウイルスの感染性に重要であり、HBs-Ld11 は完全長の HBs-L と同様にミリストイル化されると考えられた。
[村山麻子, 加藤孝宣]

(13) HBs の糖鎖の感染性 HBV 粒子産生における必要性の検討

HBV の HBs タンパク質は糖鎖が付加されることが知られていることから、糖鎖付加部位に変異を導入し、ウイルス産生および感染性への影響を検討した。HBV プラスミドを細胞に導入すると、変異がある場合には、培養上清中に分泌される HBs 抗原、HBV DNA 量ともに減少し、感染性も減少した。密度勾配遠心法により培養上清を分画すると、HBs の分布では Sphere や filament のピークが消失したが、ウイルス粒子が存在するべきフラクションには変化はなかった。しかし、HBV DNA と HBcr 抗原は、ウイルス粒子が存在するべきフラクションに存在する量が減少していたことから、糖鎖付加できない HBs の場合は、感染性のウイルス粒子産生ができないことが示唆された。
[村山麻子, 加藤孝宣]

(14) HBV 粒子に含まれる HBs タンパク質の糖鎖の解析

ウイルス粒子に含まれる HBs タンパク質に付加される糖鎖の種類について解析した。培養細胞で産生させ，密度勾配遠心法により精製したウイルス粒子を、ターゲットの違う 2 種類の脱糖鎖酵素，エンドグリコシダーゼ H とペプチド N グリコシダーゼ F でそれぞれ処理し、糖鎖の切断を観察した。ウイルス粒子に含まれる HBs の糖鎖はエンドグリコシダーゼ H では分解されず、ペプチド N グリコシダーゼ F で分解されたことから，complex 型であることが示唆された。
[村山麻子，加藤孝宣]

（15）糖鎖のない HBV 粒子作製の試み

HBV 粒子の感染性における HBs タンパク質の糖鎖の影響を検討するために、N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ I（GnTI）活性を持たない細胞で糖鎖のついていないウイルスを作製することを試みた。通常の HEK293 細胞、および 293GnTI(−)細胞に HBV プラスミドを導入したが、いずれの細胞でも培養上清中に感染性のウイルスは分泌されなかったことから、HEK293 系の細胞では感染性の HBV の産生はできないと考えられた。
[村山麻子，渡邉則幸，加藤孝宣]

（16）定量可能タグ付加 HBs 蛋白質を用いた HBs 抗原検出用体外診断薬の評価

HiBiT タグを付加した 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 抗原量を HBs 抗原検出用の体外診断薬キットで測定し、HiBiT タグの定量値と比較することにより，絶対評価を行った。各キットにおいて使用している抗体の種類や数により、値が大きく異なっており、また、特定の遺伝子型の測定値が低く見積もられるキットも存在した。ワクチンエスケープ変異である G145R は多くのキットで低く見積もられてしまうことが明らかとなった。
[村山麻子，百瀬暖佳（血液安全性研究部），浜口功（血液安全性研究部），加藤孝宣]

(17) Screening for host factors affecting early stages of HBV infection.

No curative drug for HBV is available. HBV-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. To focus on ccc-DNA formation and maintenance, we used HBV/NL reporter virus which reflects the early stages of HBV infection (from entry to cccDNA formation and transcription). To identify the host factors associated with these stages, we performed loss of function experiments using siRNA libraries. So far we screened 2200 human genes, and the interesting hits are under investigation
[Hussein H Aly，Tawfeek Hussein, Takanobu Kato]

（18）Identifying the mechanism of MafF on the regulation of HBV replication.

In 2019 we identified MafF as a suppressor of transcription from HBV-core promoter, leading to the consequent suppression of HBV-replication. We also showed that CHIP analysis confirmed the direct interaction between MafF and HBV-core promoter. In 2020 we established CRISPR/CAS9 MafF KO cells (MafF-KO-11) which showed a higher infectivity and replication of HBV compared to original cells. We identified an overlapping binding site between MafF and HNF4A at HBV-enhancer 2 region. Higher expression of MafF leaded to competitive suppression of HNF4A binding to this site. This was confirmed by CHIP analysis. The induction of MafF expression by IL-1b leaded to higher interaction between MafF and HBV-core promoter and lower interaction between HBV-core promoter with HNF4A.
[Hussein H Aly，Marwa Khalil，Takanobu Kato]

（19）KIF4A is a new host factor regulating HBV/HDV entry.

In 2019 we found that KIF4a is a pro-HBV host factor that supports HBV infection by inducing NTCP translocation to the surface hepatocytes (HepG2-hNTCP) where it acts as a receptor for HBV virus and induce its internalization. In 2020, we found that knockdown of KIF4A expression blocked both wild type HBV, and HDV infection to HepG2-hNTCP and primary human hepatocytes (PXB). Immunofluorescence analysis (IF) showed the co-localization between KIF4A and NTCP (HBV entry receptor) over the microtubule filaments. Both cellular fractionation and IF showed that transient KIF4A depletion suppressed surface and increased the intracellular NTCP levels. This effect was counteracted by the overexpression of wild type but not ATPase-dead KIF4A. Co-immunoprecipitation of KIF4A showed that KIF4A physically binds to NTCP. Further analysis is undergoing to identify small molecules targeting KIF4A and suppress HBV/HDV infection.
[Hussein H Aly，Sameh Aly Gad，Takanobu Kato]

(20) B型肝炎ウイルス内在化機構の解析

HBV 内在化阻害化合物として同定した troglitazone の作用機序を解析することにより、未だ全貌が明らかでない HBV 内在化メカニズムを解析した。Troglitazone は HBV の感染受容体である NTCP の多量体形成を阻害することが明らかにな

った。また、NTCP の多量体化に重要なアミノ酸を同定するとともに、それをアラニン置換した変異体は多量体を形成せず、HBV 内在化を抑制することを明らかにした。これらの結果よりNTCP 多量体化が HBV 内在化を引き起こす 1 つの要因であることが示された。
[深野顕人、大嶋美月、朴三用 (横浜市立大学)、若江亨祥、渡士幸一、村松正道]

(21) 上皮成長因子受容体によるB型肝炎ウイルス内在化および輸送制御機構の解明
HBV は細胞膜上で感染受容体 NTCP と結合した後に上皮成長因子受容体（EGFR）を介して細胞内へ侵入する。その後、HBV-NTCP-EGFR を含むエンドソームは初期エンドソーム・後期エンドソーム・リソソームへと局在が時間依存的に変化することを明らかにした。後期エンドソームへの輸送活性を失活させた EGFR は HBV 内在化を補助する一方で、HBV の後期エンドソームへの輸送およびウイルス感染を補助しなかった。また EGFR の後期エンドソームへの輸送を促進する宿主因子 STAM をノックダウンした細胞では後期エンドソームへの HBV 輸送および HBV 感染が低下し、制限する宿主因子 LAPTM4B をノックダウンした細胞では後期エンドソームへの HBV 輸送および HBV 感染が上昇した。これら結果は HBV が細胞内侵入した後に感染成立のために後期エンドソームへ少なくとも到達する必要があり、それは EGFR 輸送経路依存的であることを示唆する。
[岩本将士、佐宗若奈、西岡華実、大橋啓史、杉山隆一、梁明秀(横浜市立大学)、朴三用 (横浜市立大学)、村松正道、俣野哲朗 (エイズ研究センター)、岩見真吾（名古屋大学）、脇田隆宇、渡士幸一]

(22) 新規 D 型肝炎ウイルスの同定と性状解析
鳥類および齧歯類より D 型肝炎ウイルス (HDV) 様配列 (tgDeV、mmDeV) を同定した。これら配列を組み込んだ発現プラスミドを作成し、ヒト肝臓由来細胞株 Huh7 細胞およびウッドチャック肝臓由来細胞株 WCH-17 細胞での複製能を評価した。プラスミドをそれぞれ導入した細胞では tgDeV、mmDeV 由来の RNA およびタンパク質が細胞内で産生されたが、培養上清よりウイルス RNA は検出されなかった。またHDV とは異なり、HBV エンベロープ存在下においても、ウイルス RNA が培養上清より検出されなかった。これら結果は、新規に同定された tgDeV、mmDeV は HDV に近縁であるものの、その性質は大きく異なり、HBV をヘルパーウイルスとして利用しない可能性を示唆する。
[岩本将士、村松正道、岩見真吾（名古屋大学）、渡士幸一、堀江真行 (大阪府立大学)]

(23) 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 細胞と初代ヒト肝細胞での 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 PDM2 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、脇田隆宇、豊田哲也（福祉村病院長寿医学研究所）、渡士幸一]

（24）HBV RNase H リコンビナントタンパク質の結晶化
発現し得られた HBV RNase H リコンビナントタンパク質を所属および共同研究室所有の 1252 種類の結晶化スクリーニング溶液キットより結晶化条件を探索した結果、複数の条件でタンパク質の微結晶が確認された。しかしながら構造解析可能な良質な結晶は得ることはできなかった。そのため発現精製系の見直しを行い、引き続き結晶化を試みている。
[中嶋章悟、渡士幸一、朴三用 (横浜市立大学)、豊田哲也（福祉村病院長寿医学研究所）]

(25) 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。興味深いことに、得られたコレステロール誘導体は HBV の侵入を阻害する新規作用機序を持つことが明らかとなった。近年コレステロール誘導体は骨粗鬆症や他のウイルスへ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、倉持幸司（東京理科大学）、渡士幸一]

(26) 上皮増殖因子受容体を標的とした HBV 感染阻害戦略
HBV 感染を制御する上皮増殖因子受容体(EGFR) を標的とし、EGFR と感染受容体 NTCP との相互作用を阻害するペプチド (デコイペプチド)を用いて HBV 感染阻害を試みた。デコイペプチドは、EGFR の代表的な生理機能に影響を与えることなく、EGFR と NTCP の結合を阻害することにより、HBV の細胞内侵入を阻害した。このペプチドは、核酸アナログ耐性株を含む複数の HBV genotype に対して感染阻害効果を示した。これらの結果は、EGFR-NTCP 相互作用が HBV 感

染阻害の新規標的となることを示唆する。
[塩野谷果歩、岩本将士、村松正道、倉持幸司(東京理科大学)、渡士幸一]

(27) HBV 感染阻害効果を示す天然化合物の同定
天然化合物ライブラリーのスクリーニングにより、HBV 感染阻害効果を示す新規化合物を同定した。この化合物は HBV のみならず HDV の感染も阻害した。HDV は HBV と同じエンベロープを有しており、HBV と同様の宿主機構を利用して細胞へ吸着し侵入すると想定されるため、得られた化合物はこれら過程を阻害する可能性が考えられた。以上の結果から、今回得られた新規抗 HBV 天然化合物は新たな HBV 治療薬の候補となる可能性が期待される。
[小林ちさ、岩本将士、大嶋美月、倉持幸司(東京理科大学)、渡士幸一]

(28) Role of th host RNase, MCPIP1, as an anti-HBV effector downstream of an inflammatory cytokine, IL-1β
The mechanism underlying IL-1β-mediated viral RNA reduction remains incompletely understood. In this study, we report that MCPIP1 can reduce HBV RNA in hepatocytes. MCPIP1 expression level was higher in the liver tissue of HBV-infected patients and mice. Overexpression of MCPIP1 decreased HBV RNA, whereas ablating MCPIP1 in vitro enhanced HBV production. The domains responsible for RNase activity or oligomerization, were required for MCPIP1-mediated viral RNA reduction. The epsilon structure of HBV RNA was important for its antiviral activity and cleaved by MCPIP1 in the cell-free system. Lastly, knocking out MCPIP1 attenuated the anti-HBV effect of IL-1β, suggesting that MCPIP1 is required for IL-1β-mediated HBV RNA reduction. Overall, these results suggest that MCPIP1 may be involved in the antiviral effect downstream of IL-1β.
[Li Yingfang、Que lusheng、深野顕人、喜多村晃一、若江亨祥、村松正道]

(29) 新規 HBV 薬の有効性、安全性の評価のための動物モデルの構築
HBV 創薬研究では多くの治療ターゲットとなりうる分子が見出されている。しかしながら、培養細胞レベルでの抗 HBV 効果を示しているものはあるものの、動物レベルで薬効が確認できているものは少ない。これは動物実験が高価で、難しいことによる。我々は安定的に簡便なヒト肝キメラマウス作成系を構築し、HBV 阻害剤の評価を行うことを目指している。
[楊光、青柳東代、園部円、Que lusheng、小山舞子、若江亨祥、村松正道、脇田隆字、相崎英樹]

(30)B型肝炎ワクチン in vitro 力価試験の標準化
B型肝炎ワクチンの in vitro 力価試験法を確立し、性能確認を行った。評価パラメータ(真度、併行精度、特異性、直線性、範囲)についてバリデーションを行い、試薬、手順を標準化した。in vitro 試験が品質管理に有用であることを示した。
[清原知子、鈴木亮介、村松正道]

(31)B型肝炎ワクチン力価試験法の検討:in vitro 試験
昨年に引き続き、加温変性による劣化ワクチンを用いた in vivo と in vitro 試験のバリデーションを行った。劣化ワクチンの力価を現行の国家検定に準じた in vivo 試験と、in-house kit による in vitro 試験で確認した。今回使用した製剤は、4℃保存ワクチンに比べて劣化ワクチンの力価は in vivo、in vitro の順に、-21.0%、-84.3%であった。当検体製剤については、抗原含量の低下に比べて免疫原性の低下が緩やかではあるが、劣化ワクチンの力価低下は in vivo、in vitro いずれでも検知可能であった。
[清原知子、鈴木亮介、李天成、杉山隆一、佐藤知子、松田麻未、村松正道]

(32)国内未承認ワクチンの力価の検討
国内未承認肝炎ワクチン(B型肝炎ワクチンを含む混合ワクチン及び新規アジュバント製剤等)について、マウス力価試験(in vivo 試験)の適用を検討した。他抗原による干渉作用、異なるアジュバントによる免疫賦活性の違いなどが懸念されたが、今回検討した製剤は、既存単味ワクチンと同様の免疫応答を誘導し、in vivo 力価試験が適用可能であることが示唆された。
[清原知子、鈴木亮介、村松正道]

(33)HBV preS1 内 NTCP 結合ドメインの中和エピトープ解析
HBV の NTCP への結合に重要な preS1(2-47aa)の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・解析を試みた。preS1(2-47aa)発現プラスミドを免疫した BALB/c マウスから preS1(2-47aa)特異的な記憶 B 細胞を単離し、抗体遺伝子をクローニングすることにより複数のモノクローナル抗体を作製した。モノクローナル抗体の HBV 感染中和評価及びエピトープ解析の結果 preS1(2-47aa)の N 末端側と C 末端側の 2 つの領域が中和エピトープであることを見出した。また中和抗体の HBV 遺伝子型による影響も明らかにした。
[矢藤慶悟、小野寺大志(免疫部)、森山彩野(免疫部)、松田麻未、藤本陽(富士レビオ)、森石恆司(山梨大学)、高橋

宜聖（免疫部）、田村浩二（東京理科大学）、加藤孝宣、村松正道、鈴木亮介]

(34)HBV preS2 領域に対する抗体の中和活性評価

HBV preS2 領域に対する抗体が感染中和活性を有しているかを明らかにするために、preS2 発現プラスミドを BALB/c マウスに免疫した。それらマウス血清のウイルス感染中和評価を行なったところ中和活性が認められ、preS2 領域の免疫によって中和抗体が誘導されることを見出した。さらにペプチドを用いた中和活性の吸収実験を行ない、preS2 の中和エピトープ領域を明らかにした。

[矢藤慶悟、藤本陽（北里大学）、森石恆司（山梨大学）、田村浩二（東京理科大学）、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) HIV 合併 C 型急性肝炎症例の HCV 遺伝子型および薬剤耐性変異の解析

近年，都内の男性間性交渉者において HIV 合併 C 型急性肝炎が散見される．これらの症例の中に本邦では稀な遺伝子型 2C の HCV 株が検出され，配列解析および直接作用型抗ウイルス薬（DAA)に対する薬剤耐性変異の解析を行った．都内 3 施設より 12 例の HIV 合併，遺伝子型 2C の C 型肝炎症例を収集し解析した．HCV Core 領域の塩基配列を決定し系統解析を行ったところ，これらの株はクラスターを形成した． NS3，NS5A 領域の遺伝子増幅が可能であった症例のアミノ酸配列の解析では既報の DAA 薬剤耐性変異は検出されなかった．

[山田典栄，畠山修司（自治医科大学)，鈴木 智彦（大久保病院)，岡本耕（東京大学)，潟永博之（国立国際医療研究センター)，村松崇（東京医科大学)，加藤孝宣]

(2) 抗 HCV 抗体検出用体外診断薬の評価

HCV 感染のスクリーニングには抗 HCV 抗体の検出キットが用いられる．そこで，HCV 陰性および陽性検体からなる HCV 検体パネルを用いて，市販の 12 種類の抗 HCV 抗体検出キットの性能を評価した．すべてのキットにより，HCV 陰性検体パネルの検体は全て陰性，HCV 陽性検体パネルの検体は全て陽性と診断された．このうち 7 種類のキットでは，抗体価が高，中，低の 3 段階の力価分類が可能であるが，これらのキットによるHCV陽性検体の抗体価の分布はこれらのキット間で一致していなかった．

[村山麻子，百瀬暖佳（血液安全性研究部)，浜口功（血液安全性研究部)，加藤孝宣]

(3) HCV RNA 検出用体外診断薬の評価

HCV 感染の確定診断に用いられる HCV RNA 定量キットは，3 つのメーカーから 5 種類のキットが販売されている．そこで HCV RNA 国際標準品と HCV 陰性および陽性検体パネルを用いて，これらのキットの性能を評価した．HCV RNA 国際標準品はすべてのキットでほぼ正確に定量できた．また，すべてのキットにおいて，HCV 陰性検体パネルの検体は陰性と診断され，HCV 陽性検体パネルの検体は，すべて陽性と診断された．検体の定量値はそれぞれのキット間での高い相関がみられ，R2 値はいずれのキットの組み合わせにおいても 0.95 以上であった．測定値において，遺伝子型による影響は見られなかった．

[村山麻子，百瀬暖佳（血液安全性研究部)，浜口功（血液安全性研究部)，加藤孝宣]

(4) HCV コア抗原検出用体外診断薬の評価

HCV コア抗原の国際標準品と，HCV 陽性および陰性の検体パネルを使用して，CLEIA 法と CLIA 法の 2 種類の HCV コア抗原定量キットの性能評価を行った．国際標準品の測定では，2 つの HCV コア抗原キット間では測定値が一致しておらず，キット間の標準化がなされていなかった．また HCV 検体パネルを用いた検討では，陰性パネルの検体はすべて陰性，陽性パネルの検体はすべて陽性と診断されたが，一部のキットでは HCV 陽性検体の測定値がキットの測定下限を下回るものがあった．HCV 陽性検体パネルの測定値の 2 つのキット間の相関は相関係数が 1.384，R2 値が 0.8754 であった．

[村山麻子，百瀬暖佳（血液安全性研究部)，浜口功（血液安全性研究部)，加藤孝宣]

(5) HCV RNA 検出用およびコア抗原検出用体外診断薬の測定値の相関の評価

HCV RNA 検出用体外診断薬と HCV コア抗原検出用体外診断薬を用いて HCV 陽性検体パネルを測定し，その測定値の相関を評価した．HCV RNA と HCV コア抗原の測定値は，ほとんどの検体で良い相関が得られたが，一部の検体では HCV コア抗原の測定値が RNA の測定値と比較して低値となるものがあった．その多くはコア領域 48 番目または 49 番目のアミノ酸に変異を持つ検体であった．

[村山麻子，百瀬暖佳（血液安全性研究部)，浜口功（血液安全性研究部)，加藤孝宣]

(6)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している。

[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、村松正道]

(7) 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。

[青柳東代、松田麻未、市野瀬志津子（東京医科歯科大学）、和氣健二郎（ミノファーゲン製薬）、相崎英樹、脇田隆字、村松正道]

(8) 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 PSURF4 を見出した。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）、相崎英樹、脇田隆字、村松正道]

(9)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、村松正道]

(10)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。

[楊光、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、村松正道]

(11) 肝星細胞の HCV 感染性の解析

肝星細胞の活性化が肝線維化と密接に関連していることから、HCV が肝星細胞に感染増殖するかを明らかにすることは重要な課題である。HCV 感染細胞と星細胞共培養すると HCV が星細胞に移行した。HCVRNA が複製活性を維持したまま、細胞間をエクソゾームを介して移動することを見いだした。

[在津拓馬、上田竜大、青柳東代、相崎英樹、松浦知和（慈恵医科大学）、鈴木哲朗（浜松医科大学）、脇田隆字、村松正道]

(12) 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。

[菊池みなみ、相崎英樹、吉岡健太郎（藤田医科大学）、田中純子（広島大学）、脇田隆字、村松正道]

(13) 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、脇田隆字、村松正道]

(14) 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 2020 年の急性 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、性的感染が増加傾向を示した。

[相崎英樹、砂川富正（感染症疫学センター）、田中純子（広島大学）、脇田隆字、村松正道]

(15) 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、村松正道]

（16）HCV 感染をモニターするための細胞の樹立

cre-loxP システムで HCV 感染により赤から緑の蛍光を変化する Huh751-RG 細胞を 11 クローン樹立した。これらの細胞に HCV-cre を感染させ、その後 DAA 処理でウイルス排除を行った。6 クローンについて HCV 未感染細胞（赤）、HCV 感染細胞（緑）、HCV 排除細胞（緑）のそれぞれ 3 種類の RG 細胞を樹立した。これら 3 種類の RG 細胞について、細胞内の微細構造を観察した。HCV 感染細胞では二重膜構造や脂肪滴構造の出現、ミトコンドリア構造の異常が観察された。HCV 排除細胞においてはこれらの構造変化は感染前の状態に回復していた。遺伝子発現変化についても解析する。

[渡邉則幸、鈴木貴也、青柳東代、杉山真也（国立国際医療研究センター）、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

（17）1b 型の感染性 HCV 樹立の試み

KT9 株の Subgenomic replicon（SGR）の RNA 複製を上昇させるアミノ酸変異を導入した全長 KT9 プラスミドを構築した。これらを鋳型に RNA を合成し Huh7.5.1 細胞に遺伝子導入を行った。その後、培養上清中の HCV コア量、RNA 量を継時的に測定した。その結果、3 種の全長 KT9 コンストラクト（PL、QRLF、PLEK）について、一過性に培養上清中のコア量が検出されたが、緩やかに減少した。これらのアミノ酸変異だけでは感染性ウイルス産生には十分ではないと言える。今後は、1a 型 HCV 株で報告されている RNA 複製を上昇させるアミノ酸変異を追加することで 1b 型の感染性 HCV 樹立を試みる。

[渡邉則幸、鈴木貴也、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

（18）E2 モノクローナル抗体のエピトープ解析

E2-ferritin 融合タンパク質を抗原として 4 種類のハイブリドーマを樹立した。それらが産生する抗体の内 2 種の抗体（#33、#155）に注目して解析を進めた。E2 の全領域をカバーする連続した 20 アミノ酸のペプチドを用いて 2 つの抗体の結合領域を同定した。#33 は 444-453 番目のアミノ酸領域を、#155 は 524-543 番目のアミノ酸領域を認識した。これら 2 抗体はどちらも結晶解析によって明らかになった neutralizing face に結合するが、#33 のみが感染中和活性を有する。今後はこの違いに注目して解析を進める。

[渡邉則幸、鈴木貴也、青柳東代、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

（19）Rodent Hepacivirus (RHV) RNA が複製する sub-genomic replicon（SGR）細胞の樹立

ヒト肝癌細胞株 Huh7.5.1 細胞、マウス肝細胞株 Hepa1-6 細胞、ラット肝細胞株 MCA-RH7777 細胞、および BRL-3A 細胞に RHV-SGR RNA を遺伝子導入後、薬剤存在下で選択培養を行い SGR 細胞の樹立を試みた。その結果、Hepa1-6 細胞および MCA-RH7777 細胞において、それぞれ 15 クローン、7 クローンの SGR 細胞を樹立した。これらの SGR 細胞では総 RNA 量 1μg あたり 7 乗から 8 乗の範囲で RHV-SGR RNA が検出された。RHV RNA が複製する SGR 細胞が樹立できた。

[池田源輝、園部円、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

（20）RHV の RNA 複製を上昇させるアミノ酸変異の同定

Hepa1-6 細胞を用いて樹立した Hepa1-6 SGR 細胞の 15 クローンについて、その RHV-SGR 遺伝子の遺伝子配列を決定した。その結果、クローンで共通なアミノ酸変異が 2 か所と、アミノ酸欠損が 1 か所同定された。変異の 1 つは NS3 のヘリケース領域に位置し、もう 1 つのアミノ酸変異とアミノ酸欠損は NS5A と NS5B のタンパク質切断部位付近に位置していた。特に 2372 番目のアミノ酸変異(W2372R)と Ser2376 のアミノ酸欠損に注目すると、どちらも NS5A と NS5B の切断部位付近に位置している。今後はこれらのアミノ酸変異を導入した RHV-SGR を作製してアミノ酸変異、欠損の効果を確認する。

[園部円、池田源輝、渡邉則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(21)抗 HCV 活性を示す新規天然化合物の同定

抗 HCV 新規化合物を同定するため、Huh7-mCherry-NLS-IPS レポースクリーニングシステムを用いて、110 種の天然薬物より単離された化合物および 179 種の合成化合物から抗 HCV 化合物を同定した。そのうち、山査子から単離した化合物 threo-2,3-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) -3-butoxypropan-1-ol および medioresinol は HCV 複製を抑制

し、合成化合物である Flavonoid-triazolyl hybrids はウイルス侵入を阻害することが明らかになった。
[鄭シン、若江亨祥、鈴木亮介、村松正道]

(22) HCV産生および肝細胞内脂質代謝メカニズムの解析

HCV感染Huh-7細胞およびHuh7.5.1細胞を用いた低分子化合物スクリーニングにより、新たに抗HCV活性を示す芳香属炭化水素受容体（AhR）阻害剤(flutamide誘導体)を得た。得られたAhR阻害剤は細胞毒性を示すことなく、既存のAhR阻害剤（flutamide）よりも低濃度で強くHCV産生を低下させた。得られたflutamide誘導体をHuh-7細胞に処理したところ、HCV擬似粒子の侵入およびHCVレプリコンRNAの翻訳／複製には影響を与えなかった。一方で、HCV感染に必要なレセプターの一つであるCD81を欠損するHuh7-25細胞にHCVのRNAを導入して感染性HCV粒子構築過程を評価したところ、化合物濃度依存的に感染性子孫粒子産生を抑制した。また、感染性HCV粒子構築の足場として利用される脂肪滴の産生を評価するために、HCV感染Huh-7細胞に同定したAhR阻害剤を処理したところ濃度依存的な脂肪滴の退縮が観察された。
[山崎雅子、大橋啓史、渡士幸一]

(23) 新規 HCV 薬の有効性、安全性の評価のための動物モデルの構築

HCV 創薬研究では、動物レベルで薬効が確認できているものは少ない。これは動物実験が難しいことによる。我々は安定的に簡便なヒト肝キメラマウス作成系を構築し、HCV 阻害剤の評価を行うことを目指している。
[楊光、青柳東代、園部円、Que lusheng、小山舞子、若江亨祥、村松正道、脇田隆宇、相崎英樹]

（24）患者由来C型肝炎ウイルス (HCV)の培養細胞での増殖

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の培養細胞での増殖を試みている。HCV JFH1株以外の株が増殖できるFU97細胞にHCVの増殖に重要である宿主因子Sec14L2を発現する細胞を作製し、Sec14L2を高発現する細胞株をクローニングし、新たに入手した患者由来血漿を感染させた。その結果ゲノムRNAレベルではあるが、今回初めて患者由来HCVの増殖を検出することが出来た。
[下池貴志,、野島清子*、脇田隆宇、村松正道、岡田義昭**
*:血液•安全性研究部、**: 埼玉医科大学]

4．E 型肝炎ウイルス（HEV）に関する研究

(1) リバースジェネティック法を用いた G8 HEV の作製

in vitro で合成したキャップ構造を持つ全長 G8 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-qPCR により測定し、ウイルス増殖を確認した。この結果はリバースジェネティック法を用いた G8 HEV の作製が成功したことが示唆された。さらに培養上清をカニクイザルに接種し、血清及び糞便から G8 HEV RNA が検出された。G8 HEV は人獣共通感染を引き起こす可能性が考えられる。
[張文静、李天成、Doan Hai Yen、網康至（動物管理室）、須崎百合子（動物管理室）、武田直和 (大阪大学)、村松正道]

(2) ウサギにおける HEV の感染性及び病原性の研究

Rabbit HEV はウサギから分離された G3 HEV に属する新しい E 型肝炎ウイルスである。その病原性を明らかにするためウサギにおける rabbit HEV の感染を検討した。リバースジェネティック法を用いて作製した 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。また、rabbit HEV は一定の割合で持続感染を引き起こし、その長期観察を継続している。
[張文静、李天成、Doan Hai Yen、高橋雅春（自治医科大学）、岡本宏明（自治医科大学）、網康至（動物管理室）、須崎百合子（動物管理室）、村松正道]

(3) Rabbit HEV の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 と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製を試みた。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た。Rabbit HEV-LPs をウサギに免疫して高い抗体価の抗 rabbit HEV IgG が得られた。さらに VLP を接種したウサギは rabbit HEV への感染防御を示した。
[白慧敏、片岡紀代（感染病理部）、網康至、須崎百合子（動物管理室）、村松正道、李天成]

(4) 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。HEV の感染実態を明らかにするために、日本と中国から牛と羊の血清を採取し、抗体及び HEVRNA を検査した。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した。現在、サンプルを採取し、HEVRNA の検査を検討している。

[白慧敏、柯昌文（中国広東 CDC）、村松正道、李天成]

(5) Porcine Sapelovirus（PSV）非感受性の細胞を用いた G4 HEV の分離

Crisper/Cas9 を用いて PLC/PRF/5 のある遺伝子を取り除き、Porcine Saplevirus に対する非感受性の細胞 N1380 を樹立した。台湾由来豚の HEV RNA 陽性且つ PSV 陽性の 10%便乳剤を濾過除菌後、N1380 細胞に接種した。接種後細胞培養上清を継続的に採取し、RT-qPCR を用いて HEV RNA を検出し、CPE の有無と HEV の増殖を観察した。その結果、細胞 N1380 に CPE が出ず、G4 HEV の増殖が確認された。N1380 細胞は PSV 汚染された材料から G4 HEV の分離培養に有用である。

[張文静、呉芳姿（台湾 CDC）Yen Hai Doan、武田直和（大阪大学）、村松正道、李天成]

(6) Rat HEV と Rabbit HEV)における交差感染防御の検討

Rat HEV は野生ラットから分離された新型 HEV で Species C に分類されている。Rabbit HEV はウサギ由来の HEV で Species A に属する。Rat HEV と Rabbit HEV は 共に人に感染性を有していることから、これらの HEV に対するワクチンの開発が必要である。そのためには種の異なるこれら二つの HEV の間における交差感染防御の有無を明らかにすることがワクチン開発の上で重要である。本実験では、ウサギに rat HEV-like particles (rat HEV-LPs)を、ラットに rabbit HEV-LPs を接種した。その結果、誘導された rabbit anti-rat HEV IgG と rabbit HEV-LPs の交差反応は rat HEV-LPs との反応より弱く、rat anti-rabbit HEV IgG と rat HEV-LPs の反応は rat HEV-LPs との反応より弱いことが明らかになった。今後抗体が誘導されたラットに rat HEV を、ウサギに rabbit HEV を接種し、ウイルスの増殖の有無により交差感染防御の可能性を評価する。

[張文静、網康至、須崎百合子（動物管理室）、武田直和（大阪大学）、村松正道、李天成]

(7)ウサギにおける新規 HEV（G5, G7, G8）の感受性

ウサギは rabbit HEV の自然宿主でありながら、G3 , G4 HEV にも感受性を有する。新型 HEV (G5, G7, G8)はイノシシあるいはラクダから分離されたウイルスである。これらのウイルスの宿主は大型動物なので動物モデルとして利用するのは困難である。新規 HEV の小動物モデルを見いだすため G5, G7, G8 HEV をウサギに接種し、その感受性を検討した。その結果、ウサギは G8 HEV に対する感受性を有することが明らかになった。

[張文静、網 康至（動物管理室）、須崎百合子（動物管理室）、武田直和（大阪大学）、村松正道、李天成]

(8)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 レプリコンの複製を阻害する低分子化合物のスクリーニングを行い、ウイルス複製阻害活性を持つ低分子化合物 16 種類を同定した。さらにこの化合物について HEV 細胞複製系を用い評価したところ、6 種類の化合物で細胞毒性を示さない濃度において HEV の増殖を抑制した。今後、これら子化合物の作用機序の詳細について検討すると共に HEV の複製機構や病原性発現機構の解析を行う。

[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]

(9)E 型肝炎の国内発生動向調査

国内における 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た。2020 年の E 型肝炎報告数 450 件のうち、46 検体の遺伝子情報を集積し、解析を行った。その内訳は遺伝子型 3 が 100%であった。国内での流行は主に遺伝子型 3 であり同様の傾向であった。得られた遺伝子配列から各症例の多くは広域的な散発例と考えられたが、一部で相同性の高いクラスターが認められた。

[杉山隆一、鈴木亮介、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.新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に関する研究

(1) SARS-CoV-2 増殖を抑制する既存薬の発見

SARS-CoV-2 感染増殖培養系を用いて、約 300 の既存薬から SARS-CoV-2 増殖を抑制する化合物のスクリーニングをおこなったところ、ネルフィナビル、セファランチンを含む 5 つの既承認薬がウイルス増殖による細胞障害を抑制した。ネルフィナビルはウイルスの複製過程を、セファランチンはウイルスと細胞の吸着をそれぞれ阻害することが示唆された。またこれら 2 剤の併用により抗ウイルス活性の相乗効果が示され、

臨床での治療効果を数理解析で予測したところ、ネルフィナビルとセファランチンの併用によりウイルス排除までの期間が約 5.5 日短縮された。
[大橋啓史、渡士幸一、佐宗若奈、塩野谷果歩、岩波翔也（九州大学）、広川貴次（産業技術総合研究所）、白井剛（長浜バイオ大学）、金谷重彦（奈良先端技術科学大学）、伊藤悠介（九州大学）、Kwang Su Kim（九州大学）、西岡華実、安藤秀二（ウイルス第一部）、江島啓介（インディアナ大学）、小泉吉輝（国立国際医療研究センター）、田中智博（東京理科大学）、青木伸（東京理科大学）、倉持幸司（東京理科大学）、鈴木忠樹（感染病理部）、橋口隆生（九州大学）、前仲勝実（北海道大学）、俣野哲朗（エイズ研究センター）、村松正道、西條政幸（ウイルス第一部）、合原一幸（東京大学）、岩見真吾（九州大学）、竹田誠（ウイルス第三部）、Jane A. McKeating（オクスフォード大学）、脇田隆字]

(2)抗マラリア薬メフロキンの強力な抗 SARS-CoV-2 活性
承認済みの抗寄生虫薬・抗原虫薬のスクリーニングを行い、SARS-CoV-2 感染を阻害する化合物として抗マラリア薬のメフロキンを同定した。メフロキンは SARS-CoV-2 が細胞表面の感染受容体に結合した後のウイルス侵入過程を阻害することを明らかにした。SARS-CoV-2 感染患者におけるメフロキンの薬効を数理解析により予測したところ、未治療時に比べ臨床濃度のメフロキン投与により患者体内の累積ウイルス量が 90%以上減少し、ウイルス排除までに要する期間が 6.1 日短縮された。これらの結果は、メフロキンが SARS-CoV-2 感染に対する新規治療薬候補になることを示唆する。
[塩野谷果歩、山﨑雅子、岩波翔也(名古屋大学)、伊藤悠介(九州大学)、福士秀悦(ウイルス第一部)、大橋啓史、佐宗若奈、田中智博(東京理科大学)、青木伸(東京理科大学)、倉持幸司(東京理科大学)、岩見真吾(名古屋大学)、高橋宜聖(治療薬・ワクチン開発研究センター)、鈴木忠樹(感染病理部)、村松正道、竹田誠(ウイルス第三部)、脇田隆字、渡士幸一]

(3) SARS-CoV-2 増殖を抑制する酸化ステロールの同定
SARS-CoV-2 感染増殖培養系を用いて、体内で生合成されている酸化ステロールのなかで抗ウイルス活性を示す化合物が得られた。構造展開により、より低濃度でかつ強力にウイルス酸性を低下させる新規合成酸化ステロール Oxy210 が得られた。Oxy210 はウイルス RNA の複製過程を阻害し、RNA 複製の場である二重膜小胞の形成を抑制することが示唆された。
[大橋啓史、小林ちさ、佐宗若奈、片岡紀代（感染病理部）、山﨑雅子、倉持幸司(東京理科大学)、村松正道、鈴木忠樹（感染病理部）、竹田誠（ウイルス第 3 部）、脇田隆字、渡士幸一]

(4)下水検体からの SARS-CoV-2 RNA 検出方法の検討
SARS-CoV-2 は患者糞便中からも一定の割合で検出されており、下水検体を用いた環境サーベイランスの実用化が期待されているが、その手法は確立されていない。そこで下水検体からの SARS-CoV-2 RNA 回収方法の検討を行った。4 種類のウイルス濃縮方法（陰電荷膜吸着法、PEG 沈殿法、限外ろ過膜法、solid 沈殿法）を比較したところ、solid 沈殿から効率良く SARS-CoV-2 RNA を検出できることが明らかとなった。
[喜多村晃一、貞升健志(東京都健安研)、吉田弘]

(5)下水から mammalian orthoreovirus の分離
東北地方の環境サーベイランスにおいて、VeroE6 細胞の CPE と関連するウイルスが 2 株分離され、電子顕微鏡ではいずれも非エンベロープ型であることが観察された。試行した既存の PCR 検査では全て陰性であったことから、NGS 解析によりウイルスの全長配列を解析したところ、mammalian orthoreovirus の 1 型及び 2 型であることが明らかになった。
[喜多村晃一、岡智一郎、高木弘隆(安全実験管理部)、片岡紀代(感染病理部)、坂上亜希恵、植木洋(宮城県保健環境センター)]

2. Porcine Sapelovirus 被感受性の細胞を用いた本イノシシからの reovirus の分離
Crisper/ Cas9 を用いて PLC/PRF/5 のある遺伝子を取り除き、Porcine Saplevirus に対する被感受性の細胞 N1380 を樹立した。日本由来イノシシの 10%便乳剤を濾過除菌後、N1380 細胞に接種した。接種後細胞に CPE が観察され、さらにその培養上を接種した PLC/PRF/5 細胞に同じ CPE がみられた。培養上清を塩化セシウム密度勾配遠心法で精製し、直径～85nm のウイルス粒子が観察された。NGS 解析によりウイルスの全長配列が得られ、BLAST 解析により CPE を起こしたウイルスは reovirus であることが明らかにした。
[張文静、岡智一郎、片岡紀代（感染病理部）、 Yen Hai Doan、村松正道、李天成]

3. タイにおけるフラビウイルスの血清学的調査
タイ国 4 都市の健常人血清 147 検体（2011-2012 年採取）について、一回感染性フラビウイルスを使用して、6 つのフラビウイル（DENV-1、DENV-2、DENV-3、DENV-4、JEV、および ZIKV）それぞれの中和抗体価の測定を行った。4 つの地域では DENV-1 あるいは DENV-2 に対する中和抗体保有者の割合が多く、特に 30 歳以上の血清では DENV の全ての血清型に対して中和活性を示した。一方で ZIKA に対する

中和抗体保有者の割合が比較的多い地域もあり、ZIKA が 2011 年以前にタイで流行していた可能性が示唆された。
［松田麻未、山中敦史(阪大微研)、齊藤恭子（細胞化学部 ）、深澤征義（細胞化学部）、花田賢太郎（細胞化学部）、松浦知和（慈恵医科大学）、塩田達雄(阪大微研)、村松正道、鈴木亮介]

4. レポーターを持つポリオーマウイルス中和試験系の確立

JC ポリオーマウイルス（JCV）は進行性多巣性白質脳症（PML）の原因因子として知られているが、日本人成人の約 7 割以上が JCV 抗体を持っている事から、多くの人が不顕性感染すると考えられている。ELISA による JCV 抗体価の測定が PML 発症のリスク評価に利用されているが、現状は国外に検体を輸送し測定を行なっている。そこで in-houseELISA とレポーターを持つ1回感染性粒子を利用した JCV 中和試験系を確立し神経疾患患者血清の JCV 抗体を測定し、現行の方法との相違を検証している。
［松田麻未、李天成、中西章（近畿大学）、中道一生（ウイルス第一部）、三浦善治（駒込病院）、村松正道、鈴木哲朗（浜松医科大学）、鈴木亮介]

5. Significance of APOBEC-signature mutations in Merkel cell polyomavirus, during tumorigenesis.

MCV is the causative agent of a highly aggressive skin tumor, the truncated LTAg viral genome is integrated into the tumor genome; While the molecular mechanisms by which the viral genome gains the tumor-specific mutations remain to be elucidated. By using in vitro assay, sequence analysis, and bioinformatics analysis, we find that (1) A3A/B/G introduces A3-specific mutations into episomal MCV genomes in vitro. (2) The viral DNA isolated from tumors contained mutated cytosines. (3) IFN-γ, CTLs markers, was positively correlated with A3A/B/G in MCV(+) MCC. These results suggest that the interferon-γ-A3B axis plays pivotal roles in evolutionally shaping MCV genomic sequences and generating tumor-specific TAg mutations during MCC carcinogenesis.[Que Lusheng, Li yingfang, 若江亨祥, 村松正道]

6. Epstein-Barr ウイルス（EBV）感染による発癌機構の解明

EBV は上咽頭癌などの原因となる発癌ウイルスであるが、そのメカニズムについては不明な点が多い。本研究では、宿主の遺伝子改変酵素群 APOBEC3B が、ウイルス遺伝子 LMP1 により発現誘導され、宿主ミトコンドリアゲノムに変異を導入していることを示した。LMP1 および APOBEC3B の上咽頭癌での発現は頸部リンパ節転移と相関しており、APOBEC による宿主遺伝子変異が、癌進化に寄与する可能性が示唆された。
［若江亨祥、近藤悟(金沢大学)、Que Lusheng, Li Yingfang, 鄭 シン、深野顕人、喜多村晃一、村松正道、吉崎智一（金沢大学）]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

１） Akane Y, Tsugawa T, Fujii Y, Honjo S, Kondo K, Nakata S, Fujibayashi S, Ohara T, Mori T, Higashidate Y, Nagai K, Kikuchi M, Sato T, Kato S, Tahara Y, Kubo N, Katayama K, Kimura H, Tsutsumi H, Kawasaki Y: Molecular and clinical characterization of the equine-like G3 rotavirus that caused the first outbreak in Japan, 2016. J Gen Virol. 2021 Mar;102(3).

２） Aoki Y, Tsujimura A, Kaseda K, Okabe M, Tokuhiro K, Ohta T, O'Bryan MK, Okuda H, Kitamura K, Ogawa Y, Fujiki T, Wada M, Horie S, Nishimune Y, Tanaka H. Haprin-deficient spermatozoa are incapable of in vitro fertilization. Molecular reproduction and development. 87(5) :534-541 (2020)

３） Arita M, Fuchino H, Kawakami H, Ezaki M and Kawahara N. Characterization of a new anti-enterovirus D68 compound purified from avocado. ACS Infectious Diseases, **6:** 2291-2300, doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00404（2020）

４） Bai H, li W, Guan D, Su J, Ke C, Ami Y, Suzaki Y, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Characterization of a novel rat hepatitis E virus isolated from an Asian musk shrew (*Suncus murinus*). Viruses. 2020. 12 (7):715.

５） Balingit JC, Phu Ly MH, Matsuda M, Suzuki R, Hasebe F, Morita K, Moi ML A Simple and High-Throughput ELISA-Based Neutralization Assay for the Determination of Anti-Flavivirus Neutralizing Antibodies. Vaccines (Basel). 2020 8 (2):E297.

６） Brickley EB, Connor RI, Wieland-Alter W, Weiner JA, Ackerman ME, Arita M, Gast C, De Coster I, Van Damme P, Bandyopadhyay AS, Wright PF. Intestinal antibody responses to two novel live attenuated type 2 oral poliovirus vaccines in healthy adults in Belgium.J Infect Dis. 2020 Dec 24:jiaa783. doi: 10.1093/infdis/jiaa783. Online ahead of

７） Ejima K, Kim KS, Ludema C, Bento AI, Iwanami S, Fujita

Y, Ohashi H, Koizumi Y, Watashi K, Aihara K, Nishiura H, Iwami S. Estimation of the incubation period of COVID-19 using viral load data. Epidemics. 2021 Mar 15;35:100454. doi: 10.1016/j.epidem.2021.100454.

８）El-Kafrawy SA, Hassan AM, El-Daly MM, Qadri I, Tolah AM, Al-Subhi TL, Alzahrani AA, Alsaaidi GA, Al-Abdullah N, Kaki RM, Li TC and Azhar EI. Seroprevalence of Dromedary Camel HEV in Domestic and Imported Camelsfrom Saudi Arabia. Viruses 2020, 12 553

９）Fujimi TJ, Mezaki Y, Masaki T, Tajima A, Nakamura M, Yoshikawa A, Murai N, Aizawa M, Kojima S, Matsumoto Y, Aizaki H, Matsuura T. Investigation of the effects of urea cycle amino acids on the expression of ALB and CEBPB in the human hepatocellular carcinoma cell line FLC-4. Hum Cell. 2020 Jul;33(3):590-598. doi: 10.1007/s13577-020-00383-1. Epub 2020 May 30. PMID: 32474770

10）Ganganboina AB, Chowdhury AD, Khoris IM, Doong R, Li TC, Hara T, Abe F, Suzuki T, Park EY. Hollow magnetic-fluorescent nanoparticles for dual-modality virus detection. Biosensors and Bioelectronics. 2020. 170, 112680.

11）Ganganboina AB, Khoris IM, Chowdhury AD, Li TC, Park EY. Ultrasensitive Detection of Hepatitis E Virus by Electrocatalytic Water Oxidation using Pt-Co3O4 Hollow Cages. ACS Appl Mater Interfaces. 2020 (45):50212-50221

12）Gewaid H, Aoyagi H, Arita M, Watashi K, Suzuki R, Sakai S, Kumagai K, Yamaji T, Fukasawa M, Kato F, Hishiki T, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H. Sphingomyelin Is Essential for the Structure and Function of the Double-Membrane Vesicles in the Viral RNA Replication Factories. J Virol. 2020 Sep 16:JVI.01080-20. doi: 10.1128/JVI.01080-20. PMID: 32938759

13） Goto S, Ishida K, Suzuki R, Morita E. Split Nano Luciferase-based Assay to Measure Assembly of Japanese Encephalitis Virus. Bio Protoc 2020 10 (9):e3606.

14）Guo Y, Yang F, Xu X, Feng M, Liao Y, He Z, Takeda N, Muramatsu M, Li Q, Li TC. Immunization of human hepatitis E viruses conferred protection against challenge by a camel hepatitis E virus. Vaccine. 2020 38 (46):7316-7322.

15）Iizuka T, Wakae K, Ono M, Suzuki T, Mizumoto Y, Kitamura K, Horike SI, Muramatsu M, Fujiwara H. Activation-induced cytidine deaminase is a possible regulator of cross-talk between oocytes and granulosa cells through GDF-9 and SCF feedback system. Scientific reports. 11(1) :3833-3833 (2021)

16）Iwamoto M^{+}, Saso W^{+}, Nishioka K, Ohashi H, Sugiyama R, Ryo A, Ohki M, Yun JH, Park SY, Ohshima T, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Matano T, Iwami S, Sureau C, Wakita T, Watashi K : The machinery for endocytosis of epidermal growth factor receptor coordinates the transport of incoming hepatitis B virus to the endosomal network. J Biol Chem, 295(3):800-807 (2020). ($^{+}$equally contribution)

17）Iwanami S, Kitagawa K, Ohashi H, Asai Y, Shionoya K, Saso W, Nishioka K, Inaba H, Nakaoka S, Wakita T, Diekmann O, Iwami S, Watashi K: Should a viral genome stay in the host cell or leave? A quantitative dynamics study of how hepatitis C virus deals with this dilemma, PLOS Biology, 18(7): e3000562 (2020)

18）Kakizaki M, Yamamoto Y, Otsuka M, Kitamura K, Ito M, Kawai HD, Muramatsu M, Kagawa T, Kotani A. Extracellular vesicles secreted by HBV-infected cells modulate HBV persistence in hydrodynamic HBV transfection mouse model. The Journal of biological chemistry. 295(35) :12449-12460 (2020)

19）Kakizoe Y, Koizumi Y, Ikoma Y, Ohashi H, Wakita T, Iwami S, Watashi K. Required concentration index quantifies effective drug combinations against hepatitis C virus infection. Theor Biol Med Model. 2021 Jan 9;18(1):4. doi: 10.1186/s12976-020-00135-6.

20）Khoris IM, Chowdhury AD, Li TC, Suzuki T, Park EY. Advancement of capture immunoassay for real-time monitoring of hepatitis E virus-infected monkey. Anal Chim Acta. 2020 1110:64-71.

21）Kitamura K, Sadamasu K, Muramatsu M, Yoshida H. Efficient detection of SARS-CoV-2 RNA in the solid fraction of wastewater. Sci Total Environ.2021;763:144587. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.144587

22） Kong L, Aoyagi H, Yang Z, Ouyang T, Matsuda M,

Fujimoto A, Watashi K, Suzuki R, Arita M, Yamagoe S, Dohmae N, Suzuki T, Suzuki T, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H. Surfeit 4 contributes to the replication of hepatitis C virus using double membrane vesicles. J Virol. 2020 Jan 6;94(2). pii: e00858-19. doi:10.1128/JVI.00858-19. Print 2020 Jan 6.

23）Li Y, Que L, Fukano K, Koura M, Kitamura K, Zheng X, Kato T, Aly HH, Watashi K, Tsukuda S, Aizaki H, Watanabe N, Sato Y, Suzuki T, Suzuki HI, Hosomichi K, Kurachi M, Wakae K, Muramatsu M. MCPIP1 reduces HBV-RNA by targeting its epsilon structure. Scientific reports. 10(1) :20763-20763 (2020)

24）Liao MH, Wu FT, Bai H, Doan YH, Yang JY, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Hepatitis E virus infection in 6-month-old pigs in Taiwan. Sci Rep. 2020 10 (1):16869.

25）Matsuda M, Yamanaka A, Okabayashi T, Pannamthip Pitaksajjakul P, Ramasoota P, Saito K, Fukasawa M, Hanada K, Matsuura T, Muramatsu M, Shioda T, Suzuki R. Seroprevalence of Flavivirus Neutralizing Antibodies in Thailand by High-Throughput Neutralization Assay: Endemic Circulation of Zika Virus before 2012. 2021 mSphere 6 (4) e00339-21.

26）Murakami K, Fujii Y, Someya Y. Effects of the thermal denaturation of Sabin-derived inactivated polio vaccines on the D-antigenicity and the immunogenicity in rats. Vaccine 38(17) 3295-3299 (2020).

27）Murayama A, Yamada N, Osaki Y, Shiina M, Aly HH, Iwamoto M, Tsukuda S, Watashi K, Matsuda M, Suzuki R, Tanaka T, Moriishi K, Suzuki T, Nishitsuji H, Sugiyama M, Mizokami M, Shimotohno K, Wakita T, Muramatsu M, Liang TJ, Kato T. N-Terminal PreS1 Sequence Regulates Efficient Infection of Cell-Culture-Generated Hepatitis B Virus. Hepatology. 2021 Feb;73(2):520-532. doi: 10.1002/hep.31308.

28）Nagai M, Wang Q, Oka T, Saif LJ. Porcine Sapoviruses: Pathogenesis, Epidemiology, Genetic Diversity, and Diagnosis. Virus Res. 286:198025. 2020.

29）Nagata A, Sekiguchi Y, Oi T, Sunaga F, Madarame H, Imai R, Sano K, Katayama Y, Omatsu T, Oba M, Furuya T, Shirai J, Okabayashi T, Misawa N, Oka T, Mizutani T, Nagai M. Genetic Diversity of Enterovirus G Detected in Faecal Samples of Wild Boars in Japan: Identification of Novel Genotypes Carrying a Papain-Like Cysteine Protease Sequence. J Gen Virol. 101(8):840-852. 2020.

30）Nakajima S, Watashi K, Fukano K, Tsukuda S, Wakae K, Aizaki H, Muramatsu M, Wakita T, Toyoda T. Non-nucleoside hepatitis B virus polymerase inhibitors identified by an in vitro polymerase elongation assay. J Gastroenterol. 2020 Apr;55(4):441-452. doi: 10.1007/s00535-019-01643-0.

31）Ohashi H, Wang F, Stappenbeck F, Tsuchimoto K, Kobayashi C, Saso W, Kataoka M, Yamasaki M, Kuramochi K, Muramatsu M, Suzuki T, Sureau C, Takeda M, Wakita T, Parhami F, Watashi K. Identification of Anti-Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Oxysterol Derivatives In Vitro. Int J Mol Sci. 2021 Mar 19;22(6):3163. doi: 10.3390/ijms22063163.

32）Oka T, Yamamoto SP, Iritani N, Sato S, Tatsumi C, Mita T, Yahiro S, Shibata S, Wu FT, Takagi H. Polymerase chain reaction primer sets for the detection of genetically diverse human sapoviruses. Arch Virol. 165(10):2335-2340. 2020.

33）Saito K, Fukasawa M, Shirasago Y, Suzuki R, Osada N, Yamaji T, Wakita T, Konishi E, Hanada K. Comparative characterization of flavivirus production in two cell lines: Human hepatoma-derived Huh7.5.1-8 and African green monkey kidney-derived Vero. PLoS One. 2020 15(4):e0232274.

34）Sekiguchi Y, Nagata A, Sunaga F, Oi T, Imai R, Madarame H, Katayama Y, Oba M, Okabayashi T, Misawa N, Oka T, Mizutani T, Nagai M. Multiple genotypes of enterovirus G carrying a papain-like cysteine protease (PL-CP) sequence circulating on two pig farms in Japan: first identification of enterovirus G10 carrying a PL-CP sequence. Arch Virol. 165(12):2909-2914. 2020.

35）Song C, Takai-Todaka R, Miki M, Haga K, Fujimoto A, Ishiyama R, Oikawa K, Yokoyama M, Miyazaki N, Iwasaki K, Murakami K, Katayama K, Murata K. Human Dynamic rotation of the protruding domain enhances the infectivity of norovirus. PLoS pathogens 16(7) e1008619 (2020).

36）Takagi H, Oka T, Shimoike T, Saito H, Kobayashi T,

Takahashi T, Tatsumi C, Kataoka M, Wang Q, Saif LJ, Noda M. Human sapovirus propagation in human cell lines supplemented with bile acids. Proc Natl Acad Sci U S A. 117 (50) 32078-32085. 2020.

37）Tsugawa T, Fujii Y, Akane Y, Honjo S, Kondo K, Nihira H, Kimura H, Kawasaki Y: Molecular characterization of the first human G15 rotavirus strain of bovine origin. J Gen Virol. 2021 Apr;102(4).

38）Wakae K, Kondo S, Pham HT, Wakisaka N, Que L, Li Y, Zheng X, Fukano K, Kitamura K, Watashi K, Aizaki H, Ueno T, Moriyama-Kita M, Ishikawa K, Nakanishi Y, Endo K, Muramatsu M, Yoshizaki T. EBV-LMP1 induces APOBEC3s and mitochondrial DNA hypermutation in nasopharyngeal cancer. Cancer medicine. 9(20) :7663-7671 (2020)

39）Wu FT, Oka T, Kuo TY, Doan YH, Liu LTC. Sapoviruses detected from acute gastroenteritis outbreaks and hospitalized children in Taiwan. J Formos Med Assoc. 2020.12. Online ahead of print.

40）Yato K, Onodera T, Matsuda M, Moriyama S, Fujimoto A, Watashi K, Aizaki H, Tanaka T, Moriishi K, Nishitsuji H, Shimotohno K, Tamura K, Takahashi Y, Wakita T, Muramatsu M, Kato T, Suzuki R. Identification of Two Critical Neutralizing Epitopes in the Receptor Binding Domain of Hepatitis B Virus preS1. J Virol. 2021 95 (5):e01680-20

41）Zhang H, Zheng X, Li JC, Liu QB, Huang XX, Ding HWd, Suzuki R, Muramatsu M, Song SJ. Flavonoid-triazolyl hybrids as potential anti-hepatitis C virus agents: Synthesis and biological evaluation. Eur J Med Chem. 2021 Jun 5;218:113395. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113395. Epub 2021 Mar 31.

42）Zhang W, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Jirintai S, Takahashi M, Okamoto H, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Persistent Infection with a Rabbit Hepatitis E Virus Created by a Reverse Genetics System. Transbound Emerg Dis. 2020 68 (2):615-625

43）Zhang W, Kataoka M, Yen Doan H, Wu FT, Haga K, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Isolation and characterization of Mammalian Orthoreoviruses using a cell line resistant to Sapelovirus infection. Transbound Emerg Dis. 2020 67(6):2849-2859.

44）Zheng X, Guo R, Liu QB, Wakae K, Watanabe N, Fukano K, Que LS, Li YF, Aly HH, Watashi K, Suzuki R, Murayama A, Kato T, Aizaki H, Wakita T, Huang XX, Yan Y, Song SS, Muramatsu M. Identification of natural compounds extracted from crude drugs as novel inhibitors of hepatitis C virus. Biochem Biophys Res Commun. 2021 Jun 11;567:1-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.06.022.

45）Zhou X, Nakashima K, Ito M, Zhang X, Sakai S, Feng C, Sun H, Chen H, Li TC and Suzuki T. Prevalence and viral loads of polyomaviruses BKPyV, JCPyV, MCPyV, TSPyV and NJPyV and hepatitis viruses HBV, HCV and HEV in HIV-infected patients in China. Sci Rep. 2020 10 (1):17066.

46) Kim KS, Ejima K, Iwanami S, Fujita Y, Ohashi H, Koizumi Y, Asai Y, Nakaoka S, Watashi K, Aihara K, Thompson RN, Ke R, Perelson AS, Iwami S. A quantitative model used to compare within-host SARS-CoV-2, MERS-CoV, and SARS-CoV dynamics provides insights into the pathogenesis and treatment of SARS-CoV-2. PLoS Biol 19(3): e3001128 (2021)

47) Wu YH, Yang Y, Chen CH, Hsiao CJ, Li TN, Liao KJ, Watashi K, Chen BS, Wang LH. Aerobic glycolysis supports hepatitis B virus protein synthesis through interaction between viral surface antigen and pyruvate kinase isoform M2. PLoS Pathog 17(3): e1008866 (2021)

48) Zhuang X, Forde D, Tsukuda S, D'Arienzo V, Mailly L, Harris JM, Wing PAC, Borrmann H, Schilling M, Magri A, Rubio CO, Maidstone RJ, Iqbal M, Garzon M, Minisini R, Pirisi M, Butterworth S, Balfe P, Ray DW, Watashi K, Baumert TF, McKeating JA. Circadian control of hepatitis B virus replication. Nat Commun 12(1): 1658 (2021)

49) Iwamoto M, Shibata Y, Kawasaki J, Kojima S, Li YT, Iwami S, Muramatsu M, Wu HL, Wada K, Tomonaga K, Watashi K, Horie M. Identification of novel avian and mammalian deltaviruses provides new insights into deltavirus evolution. Virus Evol 7(1): veab003 (2021)

50) Ito K, Okumura A, Takeuchi JS, Watashi K, Inoue R, Yamauchi T, Sakamoto K, Yamashita Y, Iguchi Y, Une M, Wakita T, Umezawa K, Yoneda M. Dual Agonist of Farnesoid X Receptor and G Protein-coupled Receptor TGR5 Inhibits Hepatitis B Virus Infection in Vitro and in Vivo. Hepatology

74(1): 83-98 (2021)

51) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Tanaka Y, Watashi K, Imamura M, Chayama K, Wakita T, Hijikata M. Establishment of a novel hepatitis B virus culture system using immortalized human hepatocytes. Sci Rep 10(1): 21718 (2020)

52) Watashi K. Identification and repurposing antiviral drugs against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with in silico and in vitro approaches. Biochem Biophys Res Commun 538: 137-144 (2021)

53) Yoshikawa S, Yoshio S, Yoshida Y, Tsutsui Y, Kawai H, Yamazoe T, Mori T, Osawa Y, Sugiyama M, Iwamoto M, Watashi K, Kawaguchi T, Akita T, Tanaka J, Kikuchi Y, Mizokami M, Oka S, Kanto T, Gatanaga H. Impact of immune reconstitution-induced hepatic flare on HBsAg loss in HBV/HIV-1-coinfected patients. J Infect Dis 223(12): 2080-2089 (2021)

54) Tsukuda S, Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle. Antiviral Res 182: 104925 (2020)

55) Ito K, Angata K, Kuno A, Okumura A, Sakamoto K, Inoue R, Morita N, Watashi K, Wakita T, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Yoneda M, Narimatsu H. Screening siRNAs against host glycosylation pathways to develop novel antiviral agents against hepatitis B virus. Hepatol Res 50(10): 1128-1140 (2020)

56) Yamai T, Hikita H, Fukuoka M, Fukutomi K, Murai K, Nakabori T, Yamada R, Miyakawa K, Watashi K, Ryo A, Kodama T, Sakamori R, Tatsumi T, Takehara T. SIRT1 enhances hepatitis virus B transcription independent of hepatic autophagy. Biochem Biophys Res Commun 527(1): 64-70 (2020)

2. 和文発表

1) 相崎英樹、脇田隆字、坂本亭宇、C 型肝炎からの発癌機序、肝癌診療マニュアル第４版、日本肝臓学会、医学書院、東京、2020, 7-9.

2)小澤広規、井上嵩之、櫻井光、川上千春、清水耕平、宇宿秀三、田中伸子、大久保一郎、吉田弘.環境水調査による新型コロナウイルスの下水からの検出.IASR Vol. 41 p122-123: 2020 年 7 月号.

3) 加藤孝宣. HCV ワクチンの意義と開発の見通しはあるか. 肝胆膵, 81(1): 69-76, 2020.

4) 薩田洋輔, 奥瀬千晃, 渡邊綱正, 森田 望, 末谷敬吾, 中野弘康, 石郷岡晋也, 松永光太郎, 平石哲也, 山田典栄, 加藤孝宣, 四柳 宏, 鈴木通博, 伊東文生. IgA-HE 抗体が偽陽性を示した急性肝炎の 2 例. 肝臓, 62(2): 64-71, 2021.

5) 深野顕人、渡士幸一. B 型肝炎ウイルスの感染機序と創薬. ファルマシア. 56(12): 1079-1083. 2020

6) 村上 耕介, 小腸オルガノイドへの GII.3 ノロウイルスの侵入と胆汁酸の役割, アグリバイオ 2020 年 5 月号, 研究者の広場, 2020 年 5 月 2 日, 北隆館

7) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 浜口功. 体外診断用医薬品の性能評価 AMED 研究事業を踏まえて. The Medical & Test Journal, 2020 年 8 月 1 日.

8) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 浜口功. 標準物質を用いた抗 HBs 抗体定量用体外診断薬の評価. Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy, 66(4):629-633, 2020.

9)山下信子、鈴木亮介. ウイルス性食中毒 小児科 2020 Vol.61, No. 4, 363-368

10)山田典栄, 加藤孝宣. B 型肝炎 疫学, 世界と日本. 臨床とウイルス, 48(2): 107-113, 2020.

11) 山田典栄, 加藤孝宣. B 型急性肝炎の現状と治療. 消化器・肝臓内科, 8(2): 192-196, 2020.

12) 山田典栄, 加藤孝宣. わが国における急性肝炎の現状. 消化器・肝臓内科, 8(6): 570-576, 2020.

13)吉田弘.ポリオの概要と世界の状況.バムサジャーナル.32(4),13-16,2020.

14) 渡士幸一.C 型肝炎ウイルス研究のこれまでと今後の課題、ウイルス、70(2): 129-134、2020

15)渡士幸一.研究者のコミュニティは必要？、実験医学、

38(8): 1407、2020

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1） Aoyagi H, Iijima H, Kikuchi M, Koyama M, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Saito T Shimada N, Kato K, Enomoto M, Hayashi K, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Muramatsu M, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Abnormal hepatocellular organelles are still present in patients with sustained virological response (SVR). 29th Annual Conference Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) 2020, 2020/3/4-8. Bali, Indonesia.

2）Balingit JC, Matsuda M, Suzuki R, Nguyen TTT, Nguyen CT, Takemura T, Hasebe F, Mai LTQ, Morita K, Moi ML. The impact of denv-1 genotypes on the immune response of natural homotypic infections. 39th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. (Online) 2021. 3. 24-29Conference Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) 2020, 2020/3/4-8. Bali, Indonesia.

3） Fukano K, Tsukuda S, Oshima M, Ohki M, Park SY, Wakae K, Aizaki H, Wakita T, Watashi K, Muramatsu M. Identification of a novel inhibitor for hepatitis B virus internalization targeting viral receptor oligomerization. Virtual PSWC2020. Online. October. 2020.

4） Honda T, Yamada N, Murayama A, Kato A, Ito T, Ishizu Y, Kuzuya T, Ishigami M, Murakami Y, Ishikawa T, Fujishiro M, Kato T. Amino Acid Polymorphism in Hepatitis B Virus Associated with Natural Clearance of HBV DNA and HBsAg. AASLD The Liver Meeting 2020, November 13-17, Boston.

5） Ibrahim MK, Gad SA, Watashi K, Li Y, Sugiyama M, Ito M, Murayama A, Suzuki T, Kato T, Shimotohno K, Muramatsu M, Wakita T, Aly HH. MafF is a novel host restriction factor for HBV which suppresses transcription from HBV-core promoter. ASV Virtual Workshop. Jun. 19, 2020.

6） Koyama M. Yoshida S. Aoyagi H. Wakae K. Watashi K. Muramatsu M. Wakita T. Aizaki H. Development of a hepatocyte-like cell differentiation induction method using adipose-derived stem cells (ASCs). 29th Annual
Conference Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) 2020, 2020/3/4-8. Bali, Indonesia.

7）Lewis MA, Cortes-Penfield NW, Tenge VR, Murakami K, Ettayebi K, Ayyar BV, Neill FH, Ramani S, Estes MK, Atmar RL. Evaluating Antiviral Agents for Human Noroviruses Using a Human Intestinal Enteroid Model. American Society for Virology 39th Annual Meeting (American Society for Virology Abstract Accepted as Oral Presentation. Meeting canceled due to COVID-19 pandemic). 2020.

8）Murakami K, Tenge VR, Karandikar U, Lin SC, Ramani S, Ettayebi K, Crawford SE, Zeng XL, Neill FH, Ayyar BV, Atmar RL and Estes MK. GII.3 human norovirus hijacks bile acid-driven cellular dynamic changes to entry human intestinal enteroids. American Society for Virology 39th Annual Meeting (American Society for Virology Abstract Accepted as Oral Presentation. Meeting canceled due to COVID-19 pandemic). 2020.

9）Murakami K, Tenge VR, Karandikar U, Lin SC, Ramani S, Ettayebi K, Crawford SE, Zeng XL, Neill FH, Ayyar BV, Atmar RL and Estes MK. GII.3 human norovirus hijacks bile acid-driven cellular dynamic changes to entry human intestinal enteroids. Virtual ASV Calicivirus & Astrovirus Workshop Presentation. June 18, 2020. Web 開催.

10） Watashi K. “Analysis of hepatitis B virus life cycle and drug discovery” : Italy-Japan approaches for tackling the Covid-19 pandemic, An update on novel vaccines and therapies: web, Dec 9, 2020

2. 国内学会

1） Ibrahim MK, Gad SA, Watashi K, Li Y, Sugiyama M, Ito M, Murayama A, Suzuki T, Kato T, Shimotohno K, Muramatsu M, Wakita T, Aly HH. The IL-1b/TNF-a-inducible MafF protein is a novel anti-HBV host restriction factor that suppresses transcription from the HBV core promoter. 第 16 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム. Oct. 10, 2020.

2）岩本将士. デルタウイルスのユニークな感染伝播戦略について. ウイルス学若手研究集会 2020, P10, Web, 12 月, 2020 (ポスター発表)

3）大嶋美月. 新規 B 型肝炎ウイルス (HBV) 阻害剤の同定から HBV 侵入戦略を紐解く. ウイルス若手研究集会. 2020.12.19. オンライン.

4)菊池みなみ,吉岡健太郎, 青柳東代, 服部悟, 川部直人, 若江享祥, 渡士幸一, 村松正道, 脇田隆字, 沢辺元司, 相崎英樹; 自治体と医療関係者が連携した B 型・C 型肝炎ウイルス陽性者へのフォローアップシステムの構築とその有用性. 第 56 回日本肝臓学会総会. 大阪. 8 月. 2020.

5)清原知子、村松正道. A型肝炎の抗体保有率と流行状況.第 56 回日本肝臓学会総会.大阪(オンライン).2020.8.28-29.

6)小山舞子,浦野日峰,吉田進也,青柳東代,大崎由喜,渡士幸一,若江亨祥,村松正道,相崎英樹、脂肪由来幹細胞(ASC)を用いた肝細胞様細胞の解析. 第 20 回日本再生医療学会総会.2021/3/11-13 神戸.

7)坂上亜希恵、神尾彩楓、佐々木美江、植木洋、高木弘隆、岡智一郎、上間匡 流入下水における胃腸炎関連ウイルスの新型コロナウイルス感染症流行前後での挙動 第55回日本水環境学会年会、ウェビナー、 2021 年 3 月 10-12 日

8)塩野谷果歩.「SARS-CoV-2 感染阻害化合物メフロキンの同定および作用機序の解析」 ウイルス学若手研究集会 2020, Web, 2020 年 12 月 18 日-19 日 (口頭発表)

9)高橋知子、藤森亜紀子、高橋雅輝、髙木弘隆、岡智一郎、梶田弘子 複数の遺伝子型が検出されたサポウイルスの集団感染事例について 第61回日本臨床ウイルス学会、ウェビナー、 2020 年 10 月 2-3 日

10)西村順裕. ポリオ根絶計画の最終段階. 第 69 回日本感染症学会 東日本地方会学術集会 第 67 回日本化学療法学会 東日本支部総会 合同学会 2020. 東京. 2020 年 10 月 21-23 日.

11)平石依里, 山岡曜子, 村上耕介, 染谷雄一. ノロウイルス非構造タンパク質VPgが持つ推定核移行シグナルの検証. 第 32 回日本薬学会生物系薬学部会主催微生物シンポジウム 2020 年 9 月 20 日 Web 開催.

12)平石依里, 山岡曜子, 村上耕介, 染谷雄一. ノロウイルス非構造タンパク質 VPg に存在する推定核移行シグナルに関する研究. 第93回日本生化学会大会 2020 年 9 月 Web 開催.

13)廣瀬翔子、千野梓、早田衣里、藤森誠、濱田洋通、高梨潤一、藤井克樹:当院入院患者におけるロタウイルス遺伝子型の検討 (2019 年) 第 52 回日本小児感染症学会学術集会、オンライン、2020 年 11 月 7-8 日

14)村山麻子, 山田典栄, 村松正道, 加藤孝宣. 細胞培養における高感染性 B 型肝炎ウイルスの産生. 第 56 回日本肝臓学会総会. 8 月 28-29 日. 大阪.

15)村上耕介, 片山和彦. 胆汁酸により誘発される細胞内ダイナミクス変化を用いて GII.3 ヒトノロウイルスは小腸オルガノイドに侵入する. 第 61 回日本臨床ウイルス学会, 2020 年 10 月, Web 開催.

16)山崎雅子. C 型肝炎ウイルス感染時の肝細胞内脂質代謝動態の解明と新規治療薬の可能性. ウイルス学若手研究集会 2020, P9, Web, 12 月, 2020 (ポスター発表)

17)山田典栄, 安田清美, 奥瀬千晃, 鈴木通博, 加藤孝宣. TAF 抵抗性 B 型慢性肝炎患者における薬剤耐性変異の解析. 第 56 回日本肝臓学会総会. 8 月 28-29 日, 大阪.

18)吉田弘、三好龍也、小澤広規、木田浩司、後藤明子、筒井理華、高橋雅輝、濱島洋介.5 年間の環境水サーベイランスにより検出されたエンテロウイルス伝播の解析.第 79 回日本公衆衛生学会.令和 2 年 10 月 20-22 日、京都(オンライン開催)、ポスター.

19)吉田弘、三好龍也.堺市における環境水サーベイランスにて検出されたエンテロウイルスについて.第 79 回日本公衆衛生学会.令和 2 年 10 月 20-22 日、京都(オンライン開催)、ポスター.

20)吉田弘.「水環境における病原性ウイルスモニタリング技術の動向」.第 66 回日本水環境学会セミナー(オンラインセミナー).2021.01.22、口頭.

21)吉田弘.下水中のポリオウイルスと新型コロナウイルス検査.日本薬学会.第 141 年会環境・衛生部会衛生試験法シンポジウム:微生物検査による食品・環境衛生管理の新展開」(オンラインシンポジウム).2021.03.29、口頭.

22)小澤広規、吉田弘、大久保一郎.環境水サーベイランスにおける新型コロナウイルスの検出.第 79 回日本公衆衛生学会.令和 2 年 10 月 20-22 日、京都(オンライン開催).

23)李瑩芳、村松正道. The role of MCPIP1 in HBV-infected

hepatocytes. 第 57 回日本肝臓学会総会、オンライン、2021.6.17. ワークショップ.

24)李瑩芳、闕 路晟、深野顕人、小浦美樹、喜多村晃一、倉知慎、若江亨祥、村松正道. MCPIP1 はエプシロン構造を介して B 型肝炎ウイルス RNA を分解する. 第 43 回日本分子生物学会年会、オンライン、(2020/12/2-4)

25)若江亨祥、近藤悟、村松正道、吉崎智一. EBV LMP1 は APOBEC3 の発現を誘導し、ミトコンドリア DNA 変異を惹起する. 第 43 回日本分子生物学会年会、オンライン、(2020/12/2-4)

26)渡士幸一 “Drug discovery research against COVID-19 under interdisciplinary collaboration”: 日本薬学会第 141 年会国際シンポジウム: web, March 28, 2021

27)渡士幸一「B 型肝炎ウイルス培養系を用いた阻害薬探索とウイルス学研究」:日本薬学会第 32 回微生物シンポジウム:東京、2020 年 9 月 20 日

28)渡士幸一「多分野共同研究による新型コロナウイルス治療薬探索・開発研究」:創薬薬理フォーラム第 28 回シンポジウム:Web 開催、2020 年 10 月 9 日

29)渡士幸一「新型コロナウイルス感染実験からの増殖阻害薬の同定」:情報計算化学生物学会 2020 年大会:Web 開催、2020 年 10 月 27 日

30)渡士幸一「COVID-19 治療薬探索研究における in vitro/in silico 評価系」:日本動物実験代替法学会第 33 回大会:Web 開催、2020 年 11 月 12 日

31)渡士幸一「新型コロナウイルス培養系を用いた化合物スクリーニングの実際」:第 11 回スクリーニング学研究会:Web 開催、2020 年 11 月 27 日

32)渡士幸一「多分野共同研究による新型コロナウイルス治療薬の探索」:第 29 回バイオメディカル研究会:Web 開催、2020 年 12 月 4 日

33)渡士幸一「アカデミアと企業の共同研究による新型コロナウイルス感染症治療薬開発」:日本ケミカルバイオロジー学会・産学連携委員会「ケミカルバイオロジーの技術革新」:Web 開催、2020 年 12 月 24 日

III. その他

1.研究会

1)伊藤昌彦、松田麻未、鈴木亮介、鈴木哲朗. 連続定量測定系を基盤としたウイルス侵入、複製過程の時間的動態解析. 第 6 回デザイン生命工学研究会 (オンライン)2021. 3. 5

2)大橋啓史.「植物由来天然物と類縁体の RNA ウイルス増殖への作用と効果の解析」:植物バイオ研究会 2020 年度第 2 回勉強会:Web 開催:2020 年 12 月 24 日

3)渡士幸一.「COVID-19 の創薬研究」:2020 年度第1回宮川庚子記念研究財団研修会:東京、2020 年 7 月 19 日

4)渡士幸一.「新型コロナウイルス治療薬を求めて ~ウイルス感染実験スクリーニングの現場より~」: Selleck Web Seminar:Web 開催、2020 年 8 月 27 日

5)渡士幸一.「新型コロナウイルス感染症治療薬探索研究の現場と、今後の課題」:薬学教育協議会第 15 回有機化学系会議:Web 開催、2020 年 11 月 8 日

6)渡士幸一.「新型コロナウイルス感染症即時対応下における治療薬探索研究とその教訓」:岩手医科大学セミナー:Web 開催、2021 年 2 月 9 日

2.新聞取材

1) 渡士幸一. 新型コロナに 2 既存薬の併用が有効か 「ネルフィナビル」と「セファランチン」,2020/4/22,産経新聞

2) 渡士幸一.コロナの疑問 一定効果期待 新薬には時間 2020/7/27 読売新聞

3) 渡士幸一. Nelfinavir and cepharanthine show some potential as COVID-19 treatment in laboratory tests. 2020/4/17 Newsweek

4) 渡士幸一. Oxysterol derivatives show powerful antiviral activity against SARS-CoV-2 in vitro. 2021/2/3 NEWS MEDICAL LIFE SCIENCE

5) 渡士幸一. 新型コロナのウイルス排出量のピークは発症後 2 日程度、九大などが確認. 2021/3/23 マイナビニュース

3. ラジオ番組出演

1) 染谷雄一.「下痢症ウイルスについて」 ラジオ NIKKEI 『みんなで予防！ 感染症ワンポイントアドバイス』 2020 年 10 月 7〜9 日

4. テレビ報道

1) 渡士幸一. 新たな治療薬候補になるか 2 種類の物質発見 新型コロナ 2020/4/22 NHK

2) 渡士幸一. 新型コロナ治療薬「既存薬」新発見も 意外な薬の併用で”効果″ 2020/5/10 フジテレビ Mr.サンデー

3) 渡士幸一. パンデミック第 2 波と闘う武器・世界が注目！日本の”コロナ治療薬″ 2020/5/31 フジテレビ 池上彰緊急スペシャル！

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、レファレンス業務及び国際協力である。

当部は、麻疹、風疹、ムンプス（おたふく風邪）の各ワクチン、γ-グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務等を担当している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定の標準手順書（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（SLP）の審査を実施している。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国家試験機関（NCL）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効率よく分離できる細胞の確立、麻疹ウイルスワクチン株を利用した新たなワクチン開発に関する研究等を行っている。麻疹ウイルスの近縁ウイルスである各種モルビリウイルスの進化や宿主域についての研究を実施している。風疹に関しては、風疹の病原診断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、新規ワクチンおよび治療薬の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。呼吸器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、実験室診断に役立てている。特に新型コロナウイルスの発生以降、ウイルスの診断、抗ウイルス剤の開発、増殖機構に関する研究を行っている。また、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についても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の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研究を実施している。

国際協力では、WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワーク（Global Measles and Rubella Laboratory Network）の Global Specialized Laboratory（GSL）として、麻疹ならびに風疹の診断や流行調査に資するための研究を遂行し、また、ムンプスウイ

ルスなどに関しても周辺諸国の診断技術の向上のための研究協力を実施している。

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。2019 年においては 744 例の麻疹症例が報告され、うち 400 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、2019 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、2019 年においては 7428 症例が、2020 年においては 780 症例が地衛研において検査されている。一方、検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査結果、実態を随時、把握した。さらに検査センターに対して、麻疹 IgM 抗体、風疹 IgM 抗体に対する外部精度管理を実施し、検査施設としての適合性を示した。今後も地方衛生研究所や検査センターと協力し、より精度の高い麻疹検査診断体制を維持、改善していく。[關文緒、染谷健二、田原舞乃、山田裕加里、竹田誠、森嘉生、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開発の基礎データを得るため、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組換え AIK-C 株 (AIK-C OVA)を 6 種類作製してその性状を解析した。AIK-C OVA 6 種類中 5 種類は、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 AIK-C を感染させた細胞全てで発現すること、また、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 OVA 遺伝子を挿入すると高発現することが ELISA、及び Realtime PCR で確認できた。さらに SLAM 発現マウスを用いた免疫応答の確認試験では、AIK-C OVA を接種したマウスに OVA 特異的液性・細胞性免疫応答が誘導されていたことが確認できた。今後は、より詳細なデータを得るため、動物数を増やした試験を行う予定である。[染谷健二、竹田誠]

3. ポリオウイルスレセプター (PVR) をノックアウト(KO)した PVR KO Vero/huSLAM 細胞の開発

世界保健機関 (WHO)は、世界規模でのポリオ根絶に向けて、各研究施設における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 (Global Action Plan III: GAP III)。ポリオウイルスはその性状から、臨床検体、環境検体に含まれている可能性があり、今後は培養細胞を用いた検体からのウイルス分離に関しても何らかの制約を求められることが示唆されている。現在、麻疹ウイルスの分離に用いられている Vero/huSLAM 細胞は、ポリオウイルスに対して感受性があり、そのため GAP III に対応する、ポリオウイルス非感受性 Vero/huSLAM 細胞を開発することは重要と考えられる。本研究では、細胞化学部と共同研究で作製した、ポリオウイルスレセプターノックアウト Vero 細胞 (PVR KO Vero)に SLAM 遺伝子を導入した、PVR KO Vero/huSLAM を作製した。本細胞は、親細胞(PVR KO Vero)同様ポリオウイルスに対する感受性を消失していること、野外株ベースの麻疹ウイルスに感受性を持つことを確認できた。[染谷健二、竹田誠:中村優子、花田賢太郎(細胞化学部)]

4. 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、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。当初の仮説と異なり MoV 各種は宿主域より広い動物種の SLAM 分子を利用可能であることが明らかとなった。SLAM 結合面の変化による SLAM 利用能力の差について解析を進めるため、牛疫ウイルス(RPV)・小反芻獣疫ウイルス(PPRV)・鯨類モルビリウイルス(CeMV)-H タンパク質が利用能力を持ち、犬ジステンパーウイルス(CDV)・麻疹ウイルス(MV)-H タンパク質は利用能力を持たないマウス SLAM について、MoV-H 間キメラを作製し細胞融合を指標に解析した。CDV-H タンパク質は SLAM 結合面の1アミノ酸変異で利用能力を獲得したが、MV-H タンパク質は SLAM 結合面以外の構造を含む複数箇所への変異、または強い融合能を持つ F タンパク質が必要であることが明らかとなった。MV・CDV における SLAM と H 間結合解離様式に差があることは報告されており、CDV-H は MV-H と異なり、1アミノ酸変異で SLAM と十分な結合を獲得しやすい構造を持つ可能性が示唆された。

[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)]

5. 麻疹風疹混合ワクチンの品質管理に関する研究

麻疹風疹混合ワクチンは 1970 年代に樹立されたワクチン株を用いて製造される生ワクチンである。生ワクチンはその開発過程や製造工程の特性上、単一クローンのウイルスで構成されている可能性は低く、ワクチンの中には解析・決定されているワクチン株遺伝子配列とは異なる遺伝子配列を有するバリアントウイルスが一定の割合で含まれることが予想されている。本研究では次世代シークエンス技術(NGS)を用い、国内で販売されている 3 社の麻疹風疹混合ワクチン中に含まれる麻疹ウイルス及び風疹ウイルスのバリアント配列の検出を試みた。この結果麻疹・風疹ウイルスともに一定のバリアントが存在することが確認できた。このうち麻疹ウイルスでは 10%以上の混入率を有すると考えられるバリアント配列は麻疹ウイルス遺伝子全長約 15Kbp に対し 2～10 箇所であった。風疹ウイルスにおいては 10%以上の混入率を有すると考えられるバリアント配列は麻疹ウイルス遺伝子全長約 10Kbp に対し 2～11 箇所であったものの、混入比率が 38%以上ある箇所があり混入比率の高いバリアントが存在することが示唆された。風疹ウイルスではワクチン株の特性として温度感受性を有することが明らかとなっており、今回検討した3製剤のうち2製剤のワクチン株は温度感受性決定領域遺伝子が特定されているが2株とも当該配列にはバリアント配列を有さないことが明らかとなった。今後異なるロットのワクチンとの混入比率の比較、より効率的な NGS 手法の検討を行い、ワクチンの品質管理につながる検討を行っていく予定である。[大槻紀之、山田裕加里:石井孝司(品質保証管理部)]

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

風疹の排除を達成し国際的に認証されるためには、同一ウイルスによる流行が1年以上継続せず、途切れていることを明らかにしなくてはならない。2018 年の夏頃から 2020 年初頭まで風疹の全国流行が発生したが、どのような遺伝子型のウイルスが流行の原因となっているかを検討した。全国地方衛生研究所で遺伝子配列の決定されたウイルス株(2018 年 658 株、2019 年 482 株、2020 年 9 株)について遺伝子解析による分類を行った。その結果、約 95%のウイルスは遺伝子型 1E であり、さらにそのほとんどが遺伝学的に同一のウイルスに由来することが示唆された。疫学的にこのウイルスの由来は不明である。2017 年までこのウイルスは日本で見つかっていない一方、近縁のウイルスは中国、インドネシアなどのアジア諸国で日本の流行前から検出されており、このような国から持ち込まれた可能性がある。本ウイルスは日本で最初に検出されてから1年8ヶ月以上継続して検出されたことから、現在の日本は風疹排除の要件を満たしていないことが明らかとなった。今後、排除

達成のためには、現在のウイルス株による流行が遮断され、その時点から新たなウイルスによる1年間を超える流行が起きないことを継続的に確認していく必要がある。[森嘉生、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠、全国地方衛生研究所]

2. 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 2016 年以降、全国地方衛生研究所における検査実績を調査している。風疹の全国流行があった 2019 年には、全国で 6,839 件の検査が実施され、1,289 件が陽性であったことが示された。一方で 2020 年は、風疹の流行が収束したため、全国で788 件の検査実施、50 件の陽性であった。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、中津祐一郎、竹田誠、全国地方衛生研究所]

3. ラオス、ベトナムにおける麻疹および風疹に対する集団免疫の調査

東南アジア各国において麻疹および風疹に対する予防接種が導入されているにも関わらず、麻疹および風疹の流行がしばしば発生している。2014 年の調査においてラオスではワクチン接種が高い接種率で実施された集団において、麻疹に対する抗体保有率が期待されるレベルに達していないことが明らかとなり、ワクチンの取り扱い等に問題があることが示唆された。周辺国のベトナムにおいても同様の問題が生じていないか明らかにするため、2019 年にベトナム中南部の市民から採取された血液(n=2,093)を用いて、麻疹および風疹に対する抗体測定を行った。年齢条件が不適合例などを除外して 2,079 名で解析したところ、ベトナムでは麻疹抗体保有率は多くの世代で非常に高かった(概ね 98%以上)。一方、風疹に対してはワクチン接種機会のあった世代では概ね100%に近い抗体保有率を示したが、過去に接種を受ける機会のなかった成人の世代において抗体保有率が低い(約 70%)ことが示された。ベトナムにおいては、予防接種が適切に実施されていることが示唆された。[森嘉生、大槻紀之、町田聡子、永井美智、山田祐加里、村野けい子、竹田誠:蜂矢正彦、宮野真輔、駒田謙一(国立国際医療研究センター)]

4. 新規風疹ウイルスリバースジェネティクス法の構築とレポーター発現風疹ウイルスの作製

風疹ウイルスのリバースジェネティクス法(組換え感染性ウイルスの作製)は、風疹ウイルスゲノムの完全長 cDNA からゲノム RNA を大量に合成し、その RNA を細胞へ導入しなければいけない問題点があった。従来法より簡便かつ迅速に組換えウイルスを作製することを目的として、哺乳類細胞発現プラスミドを用いて完全長 cDNA を細胞へ導入するだけで組換えウイルスが作製可能なリバースジェネティクス法の構築を試みた。昨年度作製したサブゲノムレプリコンプラスミド(pcHHR-HS-Rep)を基にして、風疹ウイルスゲノムの完全長 cDNA (pcHHR-HS)を作製した。更に pcHHR-HS のサブゲノムプロモーター直下にレポーターとして mCherry または NLuc 遺伝子を挿入し、自己切断ペプチドの塩基配列で構造遺伝子の ORF と連結した pcHHR-HS-mCherry と pcHHR-HS-NLuc を作製した。それぞれの cDNA を BHK 細胞へ導入し、培養上清のウイルス力価を測定したところ、約 10^8PFU/ml の各ウイルス溶液(HS, HS-mCherry, HS-NLuc)が得られた。Vero 細胞へ HS と HS-mCherry を接種して、培養上清のウイルス力価を測定することで増殖性を比較したが、同程度であった。HS-NLuc 感染細胞におけるルシフェラーゼ活性の動態は、上清力価の動態と強く相関した。以上の結果より、哺乳類細胞発現プラスミドを用いて、迅速簡便に組換え感染性ウイルスの作製が可能となった。また、作製したレポーター発現ウイルスは、サブゲノムプロモーターの制御下でレポーター遺伝子が発現し、その発現が上清力価と強く相関することから、風疹ウイルスの複製や産生の評価に有用であることが示唆された。[坂田真史、中津祐一郎、加藤文博、竹田誠、森嘉生]

5. 風疹ウイルスを認識する病原体認識レセプターの同定

我々はこれまでに、風疹ウイルスに対する感受性の高い培養細胞を作製することを目標とし、CRISPR-Cas9 法によるゲノム編集技術を用いて、宿主インターフェロン(IFN)応答の誘導

に関わるアダプター分子である IPS-1 を欠損させたヒト肺がん由来 A549 細胞を作出し、その細胞において風疹ウイルスの複製効率が飛躍的に向上することを見出している。IPS-1 は宿主の病原体認識レセプターである RIG-I および MDA5 の下流に存在するアダプター分子であり、最終的に IFN 遺伝子の発現を制御する転写因子 IRF3 を活性化することで、宿主の IFN 応答を誘導する。上述の解析より、風疹ウイルスが IPS-1 依存的に IFN 応答を誘導することは明らかであったが、どちらの病原体認識レセプターにより認識されるかは不明なままであった。そこで本研究では CRISPR-Cas9 法により、RIG-I または MDA5 を欠損した A549 細胞、およびその両方を欠損した A549 細胞を作製し、それらの細胞における風疹ウイルス増殖効率、および風疹ウイルスによる IRF3 の活性化の程度を評価した。その結果、風疹ウイルスは、RIG-I および MDA5 の両方により認識され、その両方を欠損した細胞でのみ増殖効率が顕著に向上することが明らかとなった。今後は、宿主による風疹ウイルス認識機序、および風疹ウイルスと宿主自然免疫応答の関わり合いを詳細に解析していく予定である。[中津祐一郎、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

6. 風疹ウイルスの細胞侵入に必須な宿主因子の探索

風疹ウイルスの細胞侵入過程を解明するため、細胞侵入に必要とされる宿主因子の探索を試みた。風疹ウイルスに感受性のあるヒト培養細胞において CRISPR/CAS9 による網羅的ノックアウトスクリーニングを行なった。その結果、ある遺伝子（未公開）をノックアウトした細胞では、風疹ウイルスレプリコンは正常に複製できること、ウイルスの細胞への吸着には影響がないことが示された。一方で、風疹ウイルスのエンベロープタンパク質を被った VSV シュードタイプウイルスの侵入は完全に抑制されることから、この宿主因子は風疹ウイルスの細胞侵入に必須であることが示唆された。また、このノックアウト細胞においてはウイルスエンベロープと細胞膜の脂質混合が生じることから、この宿主因子が、それ以降の過程で細胞侵入に影響していることが示唆された。[森嘉生、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠：岡本徹、松浦善治（大阪大学微生物病研究所）]

III. ムンプスウイルスに関する研究

1. ユニバーサル抗原を用いた新規ムンプスワクチンの開発

ムンプスウイルスの主要な中和標的は膜タンパク質である Hemagglutinin-neuraminidase(HN)タンパク質である。感染またはワクチン接種によって誘導される中和抗体は HN タンパク質の受容体結合領域から離れた領域を認識することが明らかになっており、このことがムンプスワクチンの免疫原性が他のワクチンに比べ低く、また長期免疫効果が弱い原因の 1 つであると考えられている。そこで本研究では、受容体結合領域から離れた中和エピトープに糖鎖を付加することで、別の領域(受容体との相互作用を直接的に阻害できるような領域)に抗体誘導を起こさせ、高い中和活性を有する抗体を得ることを目的とした。*in silico* 解析によって既知の中和エピトープ周辺に糖鎖を付加するため変異(3 ヶ所)を推定し、それら変異 HN タンパク質によって誘導される中和抗体価がどのように変化するか評価した。マウスを用いた免疫実験の結果、野生型と比較して、高い中和抗体が誘導するような変異はなく、一方で変異を導入することで有意に中和能が低下する抗原が認められた。現在、変異を複数組み合わせた HN タンパク質を作製し、マウスにおける免疫原性の評価を行っている。[加藤大志、村野けい子、加藤文博、若田愛加、竹田誠: 加納和彦、木所稔(品質保証管理部)]

2. 鳥居株感染性クローンを用いた、ムンプスワクチンに含まれるバリアントの神経病原性解析

ワクチン株に含まれるどのバリアントが神経毒性に影響を及ぼしているか明らかにするために、ワクチン株である鳥居株の感染性分子クローンにバリアントに含まれるいくつかの変異を挿入した変異体を作製し、プラークサイズや増殖能を解析した。また新生ラットを用いた神経病原性の解析により、性状に影響を及ぼす責任変異の箇所をある程度絞り込むことに成功した。[加藤文博、加藤大志：須崎百合子、網康至(動物管理室)、木所稔(品質保証管理部)、竹田誠]

3. ムンプスワクチン接種非ヒト霊長類における自然免疫系の解析

ムンプスワクチン接種カニクイザルにおいて、自然免疫系の解析系を行った。様々な種のワクチンを接種した計 15 頭のカニクイザルから末梢血単核球細胞（PBMC）を分離し、フローサイトメトリーにてリンパ球サブセットの解析を行った。また、ワ

クチン接種後に野生株にて攻撃接種し、PBMC からウイルスの N および HN 抗原を標的とした抗体を用いフローサイトメトリーにて抗原検出を試みた。その結果、防御に相関し T 細胞サブセットの割合がやや上昇していることが認められた。[加藤文博、加藤大志、村野けい子：須崎百合子、網康至(動物管理室)、木所稔(品質保証管理部)、竹田誠]

4. ムンプスウイルスの封入体におけるウイルス−宿主インタラクトーム解析

ムンプスウイルスの RNA 合成の場である封入体に集積する宿主因子を同定し、ウイルスタンパク質との相関関係の描出およびウイルス増殖における機能解析を実施した。まずウイルスのポリメラーゼタンパク質である L タンパク質に、ビオチンリガーゼである TurboID を挿入し、L タンパク質の近傍に存在する宿主因子を網羅的にビオチン化した。次に、ビオチン化タンパク質をストレプトアビジンで濃縮し、質量分析によって同定した。その結果、L タンパク質の近傍の局在する宿主タンパク質として、766 因子を得た。それら因子について、Gene Ontology 解析およびインタラクトーム解析を実施し、ムンプスウイルスの封入体にリクルートされる宿主因子の機能分類および相互作用ネットワークを明らかにした。また siRNA によるノックダウン実験の結果、同定された宿主因子の中にはウイルス増殖に重要な因子が数多く含まれていた。現在、各因子について、ムンプスウイルスの RNA 合成および増殖における役割について解析を進めている。[加藤大志、劉亜軽、村野けい子、若田愛加、加藤文博、坂田真史、竹田誠：関塚剛史（病原体ゲノム解析研究センター）]

5. 抗ムンプスウイルス薬候補 CD437 の性状解析および抗ウイルスメカニズム解明

ムンプスウイルスに対し、抗ウイルス活性を有する化合物探索のために、GFP 発現組換えムンプスウイルスを用いた高効率スクリーニング系を構築した。1120 種からなる薬理活性既知の化合物ライブラリーからスクリーニングを行った結果、レチノイド受容体アゴニストである CD437 が抗おたふくかぜウイルス活性を有することが明らかになった。またムンプスウイルス以外のパラミクソウイルスとして麻疹ウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス 1 型および 3 型、RS ウイルスについて抗ウイルス活性を測定したところ、いずれのウイルスに対しても効果が確認された。CD437 はレチノイド受容体アゴニストとして報告されているが、他のレチノイド受容体アゴニストにおいて抗ウイルス活性が認められなかったこと、および、関連因子である RIG-I を欠損させた細胞株において抗ウイルス活性を発揮したことから、従来考えられていた機序とは異なる機序で抗ウイルス活性を発揮していることが推測された。また、ウイルス複製過程の後期過程に作用していることが明らかとなった。[加藤文博、中津祐一郎、村野けい子：山地俊之(細胞化学部)、若田愛加、久保田耐、木所稔(品質保証管理部)、加藤大志、竹田誠]

6. ウイルス−宿主インタラクトーム解析結果に基づく新規抗ウイルス化合物探索

インタラクトーム解析によりムンプスウイルス複製に関与すると考えられる宿主因子を標的とした化合物を探索するために、宿主因子に相互作用があると目される化合物の情報を収集し、構造活性相関により候補化合物の絞り込みを行った。得られた候補化合物の抗ムンプスウイルス活性を評価したところ、HSP90 やサイクリン依存性キナーゼに対し薬理活性を示す化合物がヒット化合物として得られた。これら化合物について半数阻害濃度および半数細胞毒性濃度を測定した結果、それらの比(選択域)が 1000 以上のものが複数含まれることが明らかになった。さらに一部を麻疹ウイルスにおいて抗ウイルス活性を評価した結果、ムンプスウイルスと同等の抗ウイルス活性を示すことが明らかになった。[加藤文博、中津祐一郎、関塚剛史(病原体ゲノム解析研究センター)、山地俊之(細胞化学部)、若田愛加、久保田耐、加藤大志、竹田誠]

7. ムンプスウイルス感染における核小体タンパク質の役割

パラミクソウイルス科の Matrix(M)タンパク質は、主に細胞質においてウイルスの粒子形成や出芽時に中心的な役割を担う。また M は核移行・核外輸送シグナルを持つことから、核小体に局在する特徴をもっている。核小体はリボソーム生合成の場であるが、B23 をはじめとする核小体タンパク質が様々なウイルスタンパク質との相互作用を介して、ウイルス感染制御に関与することが明らかになってきた。ムンプスウイルス(MuV)の感染細胞では M が核小体に局在することから、ウイルスが増殖する過程で核小体を利用している可能性が高い。そこで

本研究では、MuV M の詳細な局在を明らかにするとともに、核小体が MuV 感染にどのように関与しているのか、M との関連性を含めて解析を行った。共焦点顕微鏡により MuV の感染細胞における M の局在を確認したところ、核小体が形成する繊維中心(FC)、高密度繊維成分(DFC)および顆粒成分(GC)の3つの領域の中で、M は FC および DFC に局在していることがわかった。次に、これまでにウイルス感染との関与が示唆されている B23、Treacle、NOP2 に加え NOLC1、NOP58、NOL12 の 6 種類の核小体タンパク質を対象に、各々の siRNA を導入した A549 細胞に MuV を接種した。接種後 96 時間の培養上清中のウイルス力価を測定した結果、Treacle ノックダウン細胞でのみ MuV 増殖が 10～100 倍程度低下した。さらに Treacle ノックダウン細胞における MuV の増殖性を詳細に解析するため、ウイルス接種後 24、48、72、96 時間の上清中の力価を測定したところ、コントロール細胞に比べ 24 時間以降ウイルス増殖は低下した。また、麻疹ウイルス(MeV)を Treacle ノックダウン細胞に感染させ、72 時間後のウイルス力価を測定したところ、Treacle の発現抑制は MuV だけでなく MeV の増殖性も低下させることがわかった。さらに、MuV の M と Treacle の相互作用を確認するため、精製タグを付加した M を作製しプルダウンアッセイを行ったところ、Treacle は M と共沈殿した。以上の結果より、Treacle は MuV だけでなく MeV の効率的な増殖に重要であることが明らかとなった。また、MuV の M および Treacle が相互作用することから、MuV の感染制御にはそれらの相互作用が関与することが示唆された。今後は、どのようなメカニズムで Treacle が MuV の増殖に寄与しているのかを解明する予定である。[若田愛加、加藤文博、劉亜軽、加藤大志、竹田誠]

Ⅳ. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1. 新型コロナウイルスのウイルス分離に関する研究

肺胞の細胞膜に発現するプロテアーゼ TMPRSS2 は、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の増殖を促進させることが知られている。このプロテアーゼの発現細胞(VeroE6/TMPRSS2 細胞)は、SARS-CoV-2 のウイルス分離に有用であると考えられ、国内外で広く利用されている。我々は実際にこの細胞を用いて新型コロナウイルス陽性者の検体からウイルス分離をおこなっている。 [松山州徳、冨田有里子、白戸憲也、川瀬みゆき、竹田誠]

2. 新型コロナウイルスの抗ウイルス薬に関する研究

新型コロナウイルス感染症と戦うためには、効果的な抗ウイルス薬が必要である。我々は、コロナウイルスの増殖を抑える薬のスクリーニングを行い、吸入コルチコステロイド「シクレソニド」が、培養細胞において SARS-CoV-2 の RNA 複製を抑えることを発見した。 2020 年にはこの薬の臨床試験が盛んに行われたが、症状を改善する効果は認められないことが報告され、臨床ではほとんど使用されなくなった。[松山州徳、川瀬みゆき、直亨則、白戸憲也：福士秀悦(ウイルス第一部)]

3. コロナウイルスのスパイク蛋白の構造変化に関する研究

エンベロープウイルスはその表面に存在する膜融合蛋白を用いて、ウイルス膜と細胞膜を融合させ、ウイルス遺伝子を細胞内へ送り込む。しかしどうやって膜融合蛋白が膜を融合させているのか、その動作機構は未解明である。コロナウイルスは膜融合蛋白「スパイク」の活性化に宿主細胞のプロテアーゼを必要とする点において特殊であり、その特徴を利用した解析により、この分野における新たな展開が期待できる。我々は、ウエスタンブロット法によりスパイクのプロテアーゼ分解産物を解析し、構造変化の中間体構造を解明すべく研究をおこなっている。本研究は、既存の構造生物学技術では解析不可能な、不安定なタンパク質の動作を検出する新たな試みである。[川瀬みゆき、白戸憲也、松山州徳]

4. モバイルリアルタイム PCR 装置、PCR1100 を用いた SARS-CoV-2 遺伝子検出法の開発

我々の開発したリアルタイム RT-PCR による SARS-CoV-2 検出法は病原体検出マニュアルとしてまとめられ、参照用に公表されているが、あくまで感染研、特に当部での検査環境のおける検査精度を最優先して構築されているため、機器は LightCycler480、試薬はキアゲン社の QuantiTect Probe RT-PCR キットを用いるように最適化されている。この検査条件では N1 セットで 7 コピー前後、N2 セットで 2 コピー前後のウイルス RNA をおおむね検出することが可能であり、非特異反応は見らない。しかし QuantiTect Probe RT-PCR キットは反応時間が長いため、反応時間の短縮が求められた。PCR1100 はモバ

イルタイプのリアルタイム RT-PCR 機器であり、1 回に 1 反応のみで、かつ精製した RNA からスタートする必要はあるものの、RT-PCR 反応自体は 20 分未満に抑えられる。そこで本機を用いた検出法を新たに開発した。プローブセットとしてはこちらで構築した 3 番目の N 遺伝子セット(N3 セット)と 1 番目の S 遺伝子セット(S1 セット)を採用し、LightCycler480 を用いた N2 セットによる検出と比較し、ほぼ同程度の感度、特異性を示すものが構築できた。大量検体処理は Lightcycler、ごく少数の検査は PCR1100 と使い分けが可能と考えられる.［白戸憲也、直亨則、松山州徳、影山務(インフルエンザウイルス研究センター)］

5. PCR1100 を用いた超高速リアルタイム RT-PCR 法による RS ウイルス検出法の開発

RS ウイルス感染症は RS ウイルスによって引き起こされる呼吸器疾患であり、特に生後 6 か月齢未満の乳幼児における初感染では重篤化する。近年では高齢者における命の灯を消す最後の感染症としても重要視されている。RS ウイルス感染症は感染症法における五類感染症であり、小児科定点による定点報告対象疾患である。現在 RS ウイルス感染症の臨床検査は主に迅速抗原検出キットによる抗原検出を用いて行われている。迅速抗原検出キットは非常に簡便であるが感度が低いことが欠点である。近年行われている WHO による RS ウイルスのグローバルサーベイランスでは検査法としては抗原検出ではなくリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子診断法を用いることが決定している。世界ではインフルエンザですらリアルタイム RT-PCR で検出することが普通であり、抗原検査に特化しているのは先進国では日本くらいである。そこで本研究では、本邦での検査を世界基準レベルに向上させるために、迅速抗原検出法に取って代われる遺伝子検出による迅速診断法の開発を行った。モバイルリアルタイム PCR 装置、PCR1100 に注目し、WHO 法として採用されている米国 CDC 法を用いて検査条件の設定を行った。通常のリアルタイム RT-PCR では非常に非特異反応の多い系であるが、PCR1100 を用いることで非特異反応をほどんどなくすことが出来た。検出感度もおおむね数コピーであり、非特異反応と区別するためにカットオフ値を設定せざるを得ない通常のリアルタイム RT-PCR を比べてやや高くなった。PCR1100 は事前の RNA 抽出が必要であることが難点であるが、臨床検体を用いた検証の結果、シリンジだけで数分で簡易に RNA が抽出できる M1 Sample Prep キットと組み合わせることで、全体の工程は 25 分ほどになり、抗原検出キットに近づけることが可能であった。［白戸憲也、直亨則、影山務(インフルエンザウイルス研究センター)］

6. リアルタイム RT-PCR 法による SARS-CoV-2 検出法(感染研法)の改良およびプライマー・プローブ配列におけるミスマッチ検索

2019 年末に SARS-CoV-2 が発生して間もなく、公表された全長配列(Wuhan-Hu-1, MN908947)をもとに遺伝子検出法を早急にセットアップし、2020 年 1 月中には全国地衛研に検査キットの配布を行った。最初にセットアップされた検査法は我々で開発した N2 セットと WHO 法の Corman の N セットの 2 セットが用いられていた。しかし Corman の N セットは感度がやや低いため、早々に WHO 法から削除されていること、およびウイルスゲノムの変異により N2 セットが使えなくなることに備え、N セットに変わる N2 セットと同感度のセットが必要であった。そこで新たにスパイク(S)タンパク質のうち S2 領域を標的とした S2 セットを開発した。感度、特異性、検査済みの臨床検体からの検出率は N2 セットと同等であり、S2 セットを掲載した SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル(Ver1.1)を公開している(https://www.niid.go.jp/niid/ja/lab-manual-m/10032-sars-cov-ref2.html)。 プライマー・プローブ領域のミスマッチ検索は GISAID に登録されている配列を用いて行った。GISAID 上で「complete」「high coverage」「low coverage ecxl」のチェックボックスをチェックし、宿主が「Human」である配列に絞って評価を行った。2020 年 12 月の時点で 19 万程の配列が利用でき、N2 セットはそれらのうちの 2.6%、S2 セットは 1.2%でミスマッチがみられた。プラスミドテンプレートにミスマッチを導入し、変異テンプレートの検出評価を行ったが、見られるミスマッチのほとんどは検出感度に影響がなかった。N2 セットのフォワードプライマーの 3´末端が C から T になるミスマッチでは感度が数十倍低下したが、全く検出できなくなる事は無かった。N2 セットのプローブ領域では 6 番目の G が T になるミスマッチがみられ、これら N2 領域で見られるミスマッチの 6 割を占めていた。このミスマッチにより増幅曲線が直線になる傾向があるもの、QuantiTect Probe RT-PCR キットを用いる限

りでは検出感度に影響はなかった。一方 Takara-bio 社のマスターミックスでは蛍光値がほとんど上がらなくなり、陽性を見逃す可能性が高いこともわかった。従って、ミスマッチの存在率は高くないものの、N2 セットと S2 セットを併用することで、陽性を見逃すおそれはなくなると考えられた。[白戸憲也、加藤大志、山田壮一(ウイルス 1 部)、福士秀悦(ウイルス 1 部)、松山州徳]

7. 抗 SARS-CoV-2 薬剤の探索

脂質代謝に影響を与える約 30 種類の薬剤や化合物の抗 SARS-CoV-2 活性を解析した。その結果、核内受容体 PPARγ を阻害する Ciglitazone が、SARS-CoV-2 に強い増殖阻害効果を発揮することが明らかとなった。また、SARS-CoV-2 と同じベータコロナウイルス(β-CoV)に属するヒトコロナウイルス HCoV-OC43 に対しても増殖阻害効果を示した。次に Ciglitazone 類縁化合物を約10種入手し、β-CoV 増殖阻害効果を解析したところ、同様の効果を示すものは無かった。Ciglitazone の作用は多岐にわたるため、その効果が脂質代謝への影響によるものであるかは、現在のところ不明である。今後、類縁化合物の結果と RNA 複製小胞形成への影響、ウイルス増殖の抑制点などの解析から、ciglitazone による β-CoV 増殖阻害機構を明らかにする予定である。[田原舞乃:花田賢太郎(細胞化学部)、渡士幸一(ウイルス第二部)、竹田誠]

サーベイランス業務

1. 令和2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。令和元年度の調査結果を解析し、報告した[坂田真史、感染症疫学センター、森嘉生]
2. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)関する行政検査7件(個別症例)を行った[直亨則、白戸憲也、松山州徳、竹田誠]

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 4 ロット、風しんワクチン中間段階 4 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 2 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 30 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 23 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、加藤大志、加藤文博、若田愛加、竹田誠]
2. 人免疫グロブリン製剤 182 ロットの検定(麻疹抗体測定試験)を行った。[關文緒、大槻紀之、竹田誠]
3. PHA 用標準抗麻しん血清について 3 件の製品交付を行った。[關文緒、大槻紀之]
4. 風疹抗体測定用体外診断用医薬品の承認前試験を3件実施した。[中津祐一郎、坂田真史、森嘉生、竹田誠]
5. 抗風疹 IgG 抗体パネルの整備のため、健常人ボランティア 236 名から血液を採取し、抗風疹 IgG の抗体価測定を実施した。陰性検体(n=16)について、抗風疹IgG陰性パネルに追加登録した。[森嘉生、永井美智、竹田誠]

レファレンス業務

1. 麻疹遺伝子検査に用いる遺伝子検査用参照 RNA を 3 ヶ所の地方衛生研究所・保健所に配布した。[山田裕加里、大槻紀之]
2. WHO による麻疹・風疹 IgM 検出ならびに麻疹・風疹ウイルス遺伝子検査の外部精度管理を受けた。[大槻紀之、山田裕加里、森嘉生、永井美智、竹田誠]
3. 風疹遺伝子検査に用いる参照 RNA を 3 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]
4. WHO による麻疹・風疹 IgM 検出ならびに麻疹・風疹ウイルス遺伝子検査の外部精度管理を受けた。[大槻紀之、山田裕加里、森嘉生、永井美智、竹田誠]
5. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(コンベンショナル)配布 国内 2 件
6. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(N セット用)配布 国内のべ 2 件
7. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(N2 セット用)配布 国内のべ 19 件

8. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(S2 セット用)配布　国内 44 件
9. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査評価用RNA(N2 セット用変異導入テンプレート)国内配布　48 か所
10. SARS コロナウイルス RNA 配布　国内 1 件
11. SARS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布　国内 1 件
12. RS ウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布　国内 3 件
13. メタニューモウイルス RNA 配布　国内 1 件
14. パラインフルエンザウイルス RNA 配布　国内 1 件

国際協力業務

1. 18th WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting(2020 年 6 月 16-26 日、オンライン開催)に参加し、Global Specialized Laboratory としてのウイルス第三部の活動について報告した。[竹田誠、森嘉生、大槻紀之]一部のセッションの Chair を務めた。[竹田誠]
2. Annual Atlanta Winter Summit of the WHO Global Measlese Rubella Laboratory (2021 年 1 月 25 日～29 日、web 開催)に参加し、WHO 各地域における麻疹風強いの流行状況などについて情報収集を行うとともに意見交換を行った。[竹田誠、大槻紀之]

研修業務

1. 令和2年度希少感染症診断技術研修会において、風疹検査と遺伝子解析に関する講義をおこなった[森嘉生](2021 年 2 月 9 日)

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

欧文発表

1. Aonuma H, Iizuka-Shiota I, Hoshina T, Tajima S, Kato F, Hori S, Saijo M, Kanuka H. (2020) Detection and discrimination of multiple strains of Zika virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. Trop Med Health. 48:87.
2. Arima Y, Kutsuna S, Shimada T, Suzuki M, Suzuki T, Kobayashi Y, Tsuchihashi Y, Nakamura H, Matsumoto K, Takeda A, Kadokura K, Sato T, Yahata Y, Nakajima N, Tobiume M, Takayama I, Kageyama T, Saito S, Nao N, Matsui T, Sunagawa T, Hasegawa H, Hayakawa K, Tsuzuki S, Asai Y, Suzuki T, Ide S, Nakamura K, Moriyama Y, Kinoshita N, Akiyama Y, Miyazato Y, Nomoto H, Nakamoto T, Ota M, Saito S, Ishikane M, Morioka S, Yamamoto K, Ujiie M, Terada M, Sugiyama H, Kokudo N, Ohmagari N, Ohnish M, Wakita T, and the COVID-19 Response Team. (2020) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection among returnees to Japan from Wuhan, China, 2020. Emerg Infect Dis 26:1596-1600.
3. de Swart RL, Takeda M. (2020) Editorial overview: Combating measles during a COVID-19 pandemic. Curr Opin Virol. 41:iii-vii.
4. Gewaid H, Aoyagi H, Arita M, Watashi K, Suzuki R, Sakai S, Kumagai K, Yamaji T, Fukawasa M, Kato F, Hishiki T, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H. (2020) Sphingomyelin is Essential for the Structure and Function of the Double-Membrane Vesicles in Hepatitis C Virus RNA Replication Factories. J Virol. 94(23):e01080-20.
5. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, Kinoshita N, Hattori SI, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Kawaoka Y. (2020) Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. N Engl J Med. 383:592-594.
6. Hiramoto T#, Tahara M# (#contributed equally), Liao J, Soda Y, Miura Y, Kurita R, Hamana H, Inoue K, Kohara H, Miyamoto S, Hijikata Y, Okano S, Yamaguchi Y, Oda Y, Ichiyanagi K, Toh H, Sasaki H, Kishi H, Ryo A, Muraguchi A, Takeda M, Tani K. (2020) Non-transmissible MV vector with segmented RNA genome

establishes different types of iPSCs from hematopoietic cells. Mol Ther. 28:129-141.

7. Ikegame S, Hashiguchi T, Hung CT, Dobrindt K, Brennand KJ, Takeda M, Lee B. (2021) Fitness selection of hyperfusogenic measles virus F proteins associated with neuropathogenic phenotypes. Proc Natl Acad Sci U S A. 118:e2026027118.

8. Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, Watanabe T, Ujie M, Takahashi K, Ito M, Yamada S, Fan S, Chiba S, Kuroda M, Guan L, Takada K, Armbrust T, Balogh A, Furusawa Y, Okuda M, Ueki H, Yasuhara A, Sakai-Tagawa Y, Lopes TJS, Kiso M, Yamayoshi S, Kinoshita N, Ohmagari N, Hattori SI, Takeda M, Mitsuya H, Krammer F, Suzuki T, Kawaoka Y. (2020) Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. Proc Natl Acad Sci U S A. 117:16587-16595.

9. Kato H, Kamiya H, Mori Y, Yahata Y, Morino S, Griffith M, Ikegata A, Sahara K, Furuta T, Okuno H, Fukusumi M., Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Oishi K. (2020) Rubella outbreak among workers in three small- and medium-size business establishments associated with imported genotype 1E rubella virus- Shizuoka, Japan. Vaccine. 38:7278-7283.

10. Kato F, Matsuyama S, Kawase M, Hishiki T, Katoh H, Takeda M. (2020) Antiviral activities of mycpphenolic acid and IMD-0354 against SARS-CoV-2. Microbiol Immunol 64:635-639.

11. Komabayashi K, Matoba Y, Seto J, Ikeda Y, Tanaka W, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki Y, Itagaki T, Shirato K, Mizuta K. (2020) Isolation of human coronaviruses OC43, HKU1, NL63, and 229E in Yamagata, Japan, using primary human airway epithelium cells cultred by employing an air-liquid interface culture. Jpn J Infect Dis. 74:285-292.

12. Matsumoto K, Hoshino A, Nishimura A, Kato T, Mori Y, Shimomura M, Naito C, Watanabe K, Hamazaki M, Mitsuiki N, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Kanegane H, Morio T. (2020) DNA ligase IV deficiency identified by chance following vaccine-derived rubella virus infection. J Clin Immunol. 40:1187-1190.

13. Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, Saito S, Takayama I, Nagata N, Sekizuka T, Katoh H, Kato F, Sakata M, Tahara M, Kutsuna S, Ohmagari N, Kuroda M, Suzuki T, Kageyama T, Takeda M. (2020) Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 117:7001-7003.

14. Matsuyama S, Kawase M, Nao N, Shirato K, Ujike M, Kamitani W, Shimojima M, Fukushi S. (2020) The inhaled steroid ciclesonide blocks SARS-CoV-2 RNA replication by targeting the viral replication-transcription complex in cultured cells. J Virol. 95:e01648-20.

15. Mori Y. (2020) Summary of the special symposium “Towasrds Elimination of Rubella”. Vaccine 38:6344-6345.

16. Nakayama E, Kato F, Tajima S, Ogawa S, Yan K, Takahashi K, Sato Y, Suzuki T, Kawai Y, Inagaki T, Taniguchi S, Le TT, Tang B, Prow NA, Uda A, Maeki T, Lim CK, Khromykh AA, Suhrbier A, Saijo M. (2021) Neuroinvasiveness of the MR766 strain of Zika virus in IFNAR-/- mice maps to prM residues conserved amongst African genotype viruses. PLoS Pathog. 17: e1009788.

17. Nao N, Saikusa M, Sato K, Sekizuka T, Usuku S, Tanaka N, Nishimura H, Takeda M. (2020) Recent molecular evolution of human metapneumovirus (HMPV): Subdivision of HMPV A2b strains. Microorganisms. 8:E1280.

18. Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim KS, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y,

Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, McKeating JA, Wakita T. (2021) Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and nelfinavir, and their usage for combination treatment. iScience. 24:102367.

19. Ohashi H, Wang F, Stappenbeck F, Tsuchimoto K, Kobayashi C, Saso W, Kataoka M, Yamasaki M, Kuramochi K, Muramatsu M, Suzuki T, Sureau C, Takeda M, Wakita T, Parhami F, Watashi K. (2021) Identification of anti-severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) oxysterol derivatives in vitro. Int J Mol Sci. 22:3163.

20. Okamaoto K, Shirato K, Nao N, Saito S, Kageyama T, Hasegawa H, Suzuki T, Matsuyama S, Takeda M. (2020) An assessment of real-time RT-PCR kits for SARS-CoV-2 detection. Jpn J Infect Dis. 73:366-368.

21. Okemoto-Nakamura Y#, Someya K# (#contributed equally), Yamaji T, Saito K, Takeda M, Hanada K. (2021) Poliovirus-nonsusceptible Vero cell line for the World Health Organization global action plan. Sci Rep. 11:6746.

22. Seki F, Yamamoto Y, Fukuhara H, Ohishi K, Maruyama T, Maenaka K, Tokiwa H, Takeda M. (2020) Measles virus hemagglutinin protein establishes a specific interaction with the extreme N-terminal region of human signaling lymphocytic activation molecule to enhance infection. Front Microbiol. 11:1830.

23. Seki F, Ohishi K, Maruyama T, Takeda M. (2020) Phocine distemper virus uses phocine and other animal SLAMs as a receptor but not human SLAM. Microbiol Immunol. 64:578-583.

24. Shionoya K, Yamasaki M, Iwanami S, Ito Y, Fukushi S, Ohashi H, Saso W, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Iwami S, Takahashi Y, Suzuki T, Muramatsu M, Takeda M, Wakita T, Watashi K. (2021) Mefloquine, a potent anti-severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) drug as an entry inhibitor *in vitro*. Front Microbiol. 12:651403.

25. Shirato K, Nao N, Katano H, Takayama I, Saito S, Kato F, Katho H, Sakata M, Nakatsu Y, Mori Y, Kageyama T, Matsuyama S, Takeda M. (2020) Development of genetic diagnositic methods for novel coronavirus 2019 (nCoV-2019) in Japan. Jpn J Infect Dis 73:304-307.

26. Shirato K, Tomita Y, Katoh H, Yamada S, Fukushi S, Matsuyama S, Takeda M. (2021) Performance evaluation of real-time RT-PCR assays for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 developed by the National Institute of Infectious Diseases, Japan. Jpn J Infect Dis. Online ahead of print.

27. Shirato K, Nao N, Matsuyama S, Takeda M, Kageyama T. (2020) An ultra-rapid real-time RT-PCR method using the PCR1100 to detect Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. Jpn J Infect Dis. 74:29-34.

28. Takeda M, Seki F, Yamamoto Y, Nao N, Tokiwa H. (2020) Animal morbilliviruses and their cross-species transmission potential. Curr Opin Virol. 41:38-45.

29. Tomita Y, Matsuyama S, Fukuhara H, Maenaka K, Kataoka H, Hashiguchi T, Takeda M. (2021) The physiological TMPRSS2 inhibitor HAI-2 alleviates SARS-CoV-2 infection. J Virol. 95:e00434-21.

30. Tomita Y, Takeda M, Matsuyama S. (2021) The anti-influenza virus drug favipiravir has little effect on replication of SARS-CoV-2 in cultured cells. Antimicrob Agents Chemother. 65:e00020-21.

31. Uchino K, Miyoshi T, Mori Y, Komase K, Okayama F, Shibata Y, Yoshida H, Numata T, Takeda M, Tanaka T. (2020) Comparison of virological and serological methods for laboratory confirmation of rubella. J Clin Virol. 123:104257.

32. Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K,

Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AE, Barnetson B, Leonard J, Wakita T. (2020) Environmental sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 during a COVID-19 outbreak on the Diamond Princess cruise ship. J Infect Dis. 222:1098-1102.

33. Yamamoto M, Kiso M, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Takeda M, Kinoshita N, Ohmagari N, Gohda J, Semba K, Matsuda Z, Kawaguchi Y, Kawaoka Y, Inoue JI. (2020) The anticoagulant nafamostat potently inhibits SARS-CoV-2 S protein-mediated fusion in a cell fusion assay system and viral infection in vitro in a cell-type-dependent manner. Viruses. 12:E629.

34. Yamamoto Y, Nakano S, Seki F, Shigeta Y, Ito S, Tokiwa H, Takeda M. (2021) Computational analysis reveals a critical point mutation in the N-terminal region of the signaling lymphocytic activation molecule responsible for the cross-species infection with canine distemper virus. Molecules. 26:1262.

和文発表

1. 大槻紀之、竹田誠 (2020) 麻疹・風疹・ムンプスの制圧とワクチン ファルマシア 55:1034-1038

2. 白戸憲也 (2020) SARS-CoV-2 遺伝子検出法について 臨床とウイルス 48:248-257

3. 白戸憲也 (2020) コロナウイルス感染の基礎と SARS-CoV-2 ウイルス 70:155-166

4. 新橋玲子、森野紗衣子、多屋馨子、新井智、高梨さやか、鈴木基、森嘉生、竹田誠 (2020) 2019年度風疹感受性調査実施都道府県、2019年度感染症流行予測調査における風疹の予防接種状況および抗体保有状況(暫定結果). 病原微生物検出情報. 41:162-164

5. 關文緒、竹田誠 (2020) 麻疹 産科と婦人科 87

6. 染谷健二、大槻紀之、竹田誠 (2020) 海外の麻疹－2019年の流行状況について 病原微生物検出情報 41:59-60

7. 竹田誠 (2020) モルビリウイルスの新たな宿主への適応と進化 臨床とウイルス 48:371-377

8. 竹田誠 (2020) SARS-CoV-2 のウイルス学 周産期医学 51:319-323

9. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルスの特徴と検出法について JBSA Newsletter 10:10-14.

10. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)について up-to-date 子供の感染症 8:4-9

11. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)とは Current Therapy 38:1128-1133.

12. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の宿主プロテアーゼによる開裂活性化 JSPP News Letter 臨時号 AUG. 2020 JSPP against COVID-19 16-19

13. 竹田誠 (2020) COVID-19 の実験室検査診断 インフルエンザ［その他の呼吸器感染症］ 21:133-137.

14. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルスSARS-CoV-2のウイルス学的特徴 公衆衛生情報50:6-7

15. 竹田誠 (2020) 急性呼吸器感染症ウイルスの病原性発現ならびに制御に関する研究 モダンメディア 66:4-10

16. 竹田誠 (2020) TMPRSS2 発現細胞と呼吸器ウイルスの分離培養 病原微生物検出情報 41:115-117

17. 田原舞乃、竹田誠 (2020) 光制御性ウイルスベクター ウイルスベクターの遺伝子発現や増殖を自由自在に操れる世界初の技術 感染炎症免疫 50:144-145.

18. 多屋馨子、鈴木基、竹田誠 (2020) 麻疹の抗体保有状況－2019年度感染症流行予測調査(暫定結果) 病原微生物検出情報 41:58-59

19. 中津祐一郎、森嘉生、大槻紀之、竹田誠 (2020) 外部精度管理事業(麻疹・風疹). 病原微生物検出情報 41:161-162

20. 森嘉生、竹田誠 (2020) 地方衛生研究所等における風疹ウイルス遺伝子検査実施状況の調査. 病原微生物検出情報 41:160-161

21. 山川賢太郎、藤本陽、宮本和慶、大島拓真、鈴木忠樹、永田典代、白戸憲也、佐藤英雄、長谷川晃、金子敦、八木慎太郎、青柳克己 (2020) イムノクロマト法を用いた新型コロナウイルスSARS-CoV-2抗原検出試薬の開発 医学と薬学 77:937-944

II. 学 会 発 表

国際学会

1. Ikegame S, Oguntuyo1 K, Hashiguchi T, Takeda M, Lee B (2020 July 13-17. Fort Collins, Colorado, USA) Identify and interrogating the functional constraints that contribute to the lack of antigenic drift in paramyxoviruses. 39th Annual Meeting for American Society for Virology.

2. Matsuyama S, An inhaled corticosteroid ciclesonide is a potent blocker of SARS-CoV-2 replication, IUMS Korea, Nov 18, 2020

国内学会

1. 松山州徳, 新型コロナウイルスの出現で見えてきた様々な問題, 第 18 回日本防護服協会学術総会, 2021 年 2 月 25 日

2. 竹田誠、COVID-19 の流行から 1 年目の経験、次の1年、その後:SARS-CoV-2 のウイルス学 第 32 回日本臨床微生物学会 Web 開催、2021 年 1 月 29 日－2 月 28 日

3. 駒田謙一、市村康典、森嘉生、竹田誠、蜂矢正彦、ベトナム中南部における乾燥ろ紙血液を用いた麻疹・風疹・ムンプス IgG 抗体保有率の推定と予防接種プログラムの評価 第 24 回日本ワクチン学会 愛知(Web 開催)、2020 年 12 月 19 日-20 日

4. 竹田誠、麻疹についての最新の知見:麻疹ウイルスの人への感染(適応)機構 第 52 回日本小児感染症学会 大阪(Web 開催)、2020 年 11 月 7－8 日

5. 松山州徳、 SARS-C-V-2 のウイルス学的特徴, 感染症学会 緊急シンポジウム「COVID-19」, 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会, 2020 年 10 月 21 日

6. 中村(桶本)優子、染谷健二、齊藤恭子、山地俊之、竹田誠、花田賢太郎、感染症対策へのゲノム編集技術の応用－CRISPR/Cas9 システムによる新規の細胞株の創出－ 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、第 67 回日本化学療法学会東日本総会、合同学会、グランドニッコー東京 台場、2020 年 10 月 21 日－23 日

7. 竹田誠、モルビリウイルスの新たな宿主への適応と進化 第 61 回日本臨床ウイルス学会 新潟(Web 開催)、2020 年 10 月 2 日－31 日

8. 松山州徳, ウイルス学的特徴からの考察 第 94 回日本感染症学会学術講演会 特別シンポジウム 2020 年 8 月 20 日

9. 久米庸平、橋本浩一、佐久間弘子、鈴木重雄、佐藤晶諭、竹田誠、細矢光亮、気道感染入院患児における RS ウイルスサブタイプの検討 第 123 回日本小児科学会 神戸、2020 年 4 月 10-12 日

10. 長澤耕男、竹田誠、岡部信彦、皆川洋子、コプリック斑陽性患者から検出されるウイルスについての検討 第 123 回日本小児科学会 神戸、2020 年 4 月 10-12 日

11. 竹田誠、新型コロナウイルス検査の初期対応と今(The initial response of the laboratory diagnosis team to SARS-CoV-2 in Japan and the current sistuation) 第 93 回日本薬理学会 横浜、2020 年 3 月 16～18 日(予定)→誌上開催に変更

12. III. そ の 他

ウイルス第三部

1. 竹田誠、麻疹:動物から人へ、そして人の感染症　日本学術会議・人と動物の共通感染症研究会　公開シンポジウム　One health:新興・再興感染症　2020 年 11 月 14 日

2. 竹田誠、エビデンスから考える新型コロナウイルス　第 185 回六稜トークリレー　大阪、2020 年 10 月 3 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、広域食中毒事例の調査に活用された。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。また EHEC の新規血清群 OX18 の分離状況について網羅的なゲノム解析を行い、OX18：H19 が継続的に国内で分離されていることを明らかにした。

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。

研究面においては、全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。特に、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た研究成果に進捗を見た。

また新型コロナウイルスの蔓延に伴う国立感染症研究所でのウイルス検査業務の増加から、細菌第一部においても SARS-CoV-2 検査業務を実施した。

人事異動は以下の通りである。大西真の細菌第一部　部長の併任が R3 年 3 月末をもって解除された。第 6 室室長の泉福英信が R3 年 3 月末をもって日本大学松戸歯学部　教授として転出した。また三戸部治郎は R2 年 9 月に杏林大学医学部に教授として転出した。石原朋子は R2 年 6 月から 12 月まで厚生労働省新型コロナウイルス対策推進本部を併任した後、R3 年 3 月末をもって研究企画調整センターへ転任し、細菌第一部には併任となった。平山悟が R2 年 4 月に新潟大学大学院医歯学総合研究科に助教として転出した。石嶋希は R3 年 3 月末をもって杏林大学医学部へ転出した。

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

2020 年に全国から受け付けた EHEC は 2,271 株であった。頻度の高い O 血清群（O 群）の順に O157（51.6%）、O26（18.8%）、O103（7.8%）、O111（4.3%）、O121（2．8%）で、その他は 73 の O 群、100 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）由来株はこのうちの 750 株で、上記の 5 血清群で重症例由来株全体の 96%を占めた。 [伊豫田淳、小澤さお美、竹本歩、中島雪絵、李謙一、石嶋希、泉谷秀昌、大西真]

イ. EHEC OX18 の比較ゲノム解析

2017 年に国内で死亡例から分離された EHEC OX18 のゲノム解析を行った。同菌は、既存抗血清および既存 Og 型別では型別不能であったが、全ゲノム配列解析によって 2016 年に報告された新規血清群 OX18 であると同定された。国内 EHEC 菌株の網羅的なスクリーニングによって、2007 年から 2019 年の間に計 26 株の EHEC OX18 が分離されていることが明らかとなった。これらの全ゲノム比較解析を行なったところ、H 型毎に 5 種の系統に分かれ、このうち重症例由来株を含む OX18:H19 は継続的に国内で分離されていることが明らかと

なった。

[李謙一、大西真、伊豫田淳;井口 純(宮崎大)、宇田和宏(国立成育医療研究センター・都立小児医療センター)、松村壮史(国立成育医療研究センター・腎臓・神奈川県立こども医療センター)、宮入烈(国立成育医療研究センター)、石倉健司(国立成育医療研究センター・北里大)、瀬戸順次(山形県衛生研究所)、石川加奈子(茨城県衛生研究所)、古川 一郎(神奈川県衛生研究所)、小西典子(東京都健康安全研究センター)、尾畑浩魅(同左)、長岡宏美(静岡県環境衛生科学研究所)、森主博貴(同左)、濱夏樹(神戸市環境保健研究所)、野本竜平(同左)、中嶋洋(岡山県環境保健センター)、狩屋英明(同左)、濱崎光宏(福岡県保健環境研究所)、宮城県保健環境センター、群馬県衛生環境研究所、香川県環境保健研究センター、福岡市保健環境研究所]

(2) 分子疫学的解析

ア. MLVA 解析

2020 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 2,271 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 2,008 株について MLVA による型別を行った。また 263 株について PFGE による解析を実施した。MLVA については 887 の型が同定された。上位 5 型は 19m0513 、20m2053 、18m0040 、20m0245 、20m0105 であった(21-48 株)。19m0513 は 8 月中旬から 11 月上旬にかけて関東、東海地方を中心に分離された広域株であった。20m2053、18m0040 は集団事例関連株を含んでいた。 [泉谷秀昌、伊豫田淳、李謙一、石嶋希、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真]

イ. 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)

VPN サーバーにデータセンターを設置し、腸管出血性大腸菌の MLVA 結果に関するデータベースを構築した。上記データベースを用いて MLVA 型を付与するシステムを検討した。[泉谷秀昌、伊豫田淳、中島雪絵、齊藤康憲、竹本歩、大西真;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)、山田和弘(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)]

(3) EHEC 感染による HUS 症例(EHEC-HUS)の血清診断

EHEC が不分離の HUS 発症例は全体の約 30%を占め、患者血清中の大腸菌 O 抗原に対する凝集抗体の検出(血清診断)で EHEC-HUS の確定診断となる。血清診断依頼があった HUS 症例 8 例のうち 、大腸菌 O 抗原に対する抗体陽性となったのは 6 事例あった。このうち O157 抗体陽性が 4 例、O111 抗体陽性 が 1 例 、その他の O 群抗体陽性が 1 例あり、これらの事例ではいずれも以下(4)で述べる EHEC の分離・同定と併せて EHEC-HUS 症例と確定した。 [伊豫田淳、李謙一、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 5 事例について患者便を当部にて再検査したところ、このうちの 1 例では *stx2* 陽性の血清群 O154 の大腸菌が分離され、EHEC 感染による HUS 症例と確定した。[伊豫田淳、李謙一、小澤さお美、竹本歩、石嶋希、大西真]

(5) EHEC O146 の国内流行株のゲノム解析

2007 年から 2015 年までに国内で腸管出血性大腸菌感染症(EHEC)の患者および無症候性キャリアから分離された EHEC O146 株(n = 66)について、国内における当該血清群の流行株の把握、広域・散発的発生事例を探知するため、EHEC O146 のゲノム解析を実施した結果、93.9%以上の類似した PFGE パターンを有する分離株(n=26)の間では 9 未満の SNP が認められた。これら遺伝学的に近縁な *stx1* 陽性の O146:H21 分離株については、2016 年から 2018 年までの PFGE 解析では認められず、2013 年から 2015 年に日本で一時的に増加したことが示唆された。また、海外の EHEC O146 株についてゲノム解析した結果、本流行株は認められなかった。[石原朋子、李謙一、滝沢木綿、伊豫田淳、泉谷秀昌、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

2020 年に当研究所に送付された赤痢菌 114 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。菌種の内訳は *S. sonnei* 99 株、*S. flexneri* 14 株、*S. dysenteriae* 1 株であった。*Shigella sonnei* では 39 の MLVA 型が検出された。検出数の多かった SsV18-065、SsV20-033、SsV20-011 はそれぞれ、2019 年 12 月、2020 年 10 月及び 3 月に発生した集団事例に関連する株であった。[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

2020 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 19 株、パラチフス A 菌 6 株であった。チフス菌では、ファージ型 M1 が 4 株で最多であった。パラチフス A 菌ではファージ型 1 が 5 株検出され最多となった。[森田昌知、泉谷秀昌、大西真]

イ. チフス菌、パラチフス A 菌の各種抗菌薬に対する感受性試験

2020 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 57.9%、パラチフス A 菌で 100%であった。アンピシリン、クロラムフェニコール、ST 合剤に耐性を示す多剤耐性チフス菌が 4 株存在した。[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

2020 年に当研究所に送付されたサルモネラ株は 61 株であった。血清型は 8 種類からなり、上位 4 位は Enteritidis、I 4:i:-、Stanley、Typhimurium であった。このうち 40 株について *Xba*I 消化による PFGE 解析を行った結果、6 パターンに分かれた。血清型 Enteritidis 39 株についてファージ型別を実施した結果、27 株がファージ型 14c、12 株がファージ型 47 であった。[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

2013 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 58 株、O9 群 18 株、2015 年に分離された保菌者由来サルモネラ O8 群 112 株、O9 群 12 株について血清型別及び薬剤感受性試験を実施した。O4 群上位は Schwarzengrund、Agona、I 4:i:-、O8 群上位は Manhattan、Corvalis、Newport、O9 群はほとんど Enteritidis であった。感受性試験を行った 200 株中 79 株が何らかの薬剤に耐性を示し。耐性パターンとしては、SM＋TC の 2 剤耐性、NA1 剤耐性が多く観察された。[泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

4. ビブリオ属細菌に関する研究

(1) 菌株の多様性および遺伝子水平伝播に関する研究

ア. ビブリオ属細菌のゲノム解析

国内及びアジア地域で分離されたビブリオ属細菌のゲノム 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、これまでの累計は約 1700 株となった。[森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、大西真]

イ. 令和 2 年度に同定、血清型別などを依頼された *Vibrionaceae* および *Aeromonadaceae* 菌株

令和 2 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 4 株で、国内例の敗血症由来の *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 が 1 例、2 株(便、血液から分離)で、デンマークからの依頼、コレラ毒素遺伝子(*ctx*)陽性の *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 が 2 株であった。国内例の敗血症由来株は、いずれも O34 と同定され、デンマークからの依頼株はいずれも O75 で、すでに CT 陽性株として米国などで分離例のある O 血清型であった。 [荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

ウ. コレラ菌の染色体が単一化する遺伝的要因の探索

昨年度は単一染色体を保有するコレラ菌株のゲノム解析を行い、特徴的な変異やゲノム再編成を明らかにした。本年度はゲノム編集技術を用いて、それらの遺伝的変化を野生型に復帰させるとともに、典型的な2本の染色体を保有する株に導入した。また、染色体2の複製開始因子RctBの必須性を指標にして、染色体数が変動した株のスクリーニングを実施中である。[山本章治]

(2) 検査法開発に関する研究

ア. *V. cholerae* の O 血清群参照株の見直し

現在、未発表も含め *V. cholerae* の独立した血清群として O1～O210 が存在する。これら全ての O 血清群参照株について全ゲノム解析を行い、各血清群の遺伝子配列の解析を行ったところ、O143、O167、O189、O203 については、誤同定であることがわかった。それぞれ *V. fluvialis* O50、*Aeromonas* O33、*Aeromonas* O18、*Aeromonas* O85 であった。また、O 抗原合成遺伝子領域を比較したところ O5-O185、O17-O198、O18-O136、O20-O101、O31-O84、O68-O129、O74-O200、O85-O163、O87-O119 がほとんど同一であり、実際各々の抗 O 血清による凝集反応を行ったところ、両者を区別することができなかった。したがって、これらの O 血清型は同一であり、数字の大きい方を欠番とすることとした。なお、O73 については保存株全てが抗原性を失っており、すでに欠番としている。[荒川英二、森田昌知、泉谷秀昌]

イ. *V. cholerae* の LPS 合成遺伝子領域の解析および比較

O 血清群は現在 205 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。205 種類全ての O 血清群参照株の全ゲノム塩基配列を解読し、そこから O 抗原合成遺伝子領域の抽出をした。これら 205 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。パラログ解析の結果と、Hidden-Markov-Model (HMM) to HMM alignments による ORF の相同性解析により、O 抗原合成遺伝子の *wzm-wzt*、*wzx-wzy*、*pglK* 輸送系の同定を行なった。これら輸送系は、各 O 抗原相互には相同性が低く、O 抗原特異性の高い配列であるとされている。 [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)]

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* NCTC11168 株の Penner 血清型を規定する遺伝子の同定

カンピロバクターの Penner 血清型は莢膜多糖 CPS の多様性に基づいており, ギランバレー症候群の発症リスクを判断するための指標の一つとなっているが、型別不能になる頻度が非常に高い。この要因として、CPS 生合成遺伝子領域に存在する超可変 polyG/C リピート配列群の phase variation が挙げられる。本研究では、*C. jejuni* NCTC11168 株(Penner B 群)の CPS 遺伝子領域に存在する 8 個の polyG/C 含有遺伝子についてそれぞれの遺伝子の phase を ON もしくは OFF にロックした集団の中から、Penner 血清型の抗原性を安定に発現する個体をスクリーニングするとともに、抗原性の発現を規定する遺伝子 *cj1426* を同定した。*cj1426* は CPS 糖鎖ユニットの特異的部位をメチル化する酵素をコードしていることから、その糖鎖修飾が Penner B 群の抗原性決定に寄与しているものと考えられる[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

2020 年に当研究所の送付されたエルシニア属菌は 13 株であり、すべて *Y. enterocolitica* であった。血清型は O:3 が 12 株、O:9 が 1 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 2019 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

2019 年に全国の衛生研究所に収集された A 群レンサ球菌 883 株に対して T 型別が行われた。分離頻度の高かった T 型は、T1 (190/883, 21.5%)、T12 (167/883, 18.9%)、TB3264 (130/883, 14.7%)、T4 (106/883, 12.0%)であった。T1 型の分離比率は、2016 年以降 20%を超えている(2016 年, 23.5%、2017 年, 20.9%、2018 年, 22.1%、2019 年, 21.5%)。T12 型の分離比率は、昨年とほぼ同じ 18%台であった(2018 年, 18.3%、2019 年, 18.9%)。TB3264 型の分離比率は、2018 年と比較して減少した (2018 年, 19.0%、2019 年, 14.7%)。T4 型は、昨年とほぼ同じ 12%台であった (2018 年, 12.3%、2019 年, 12.0%)。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

イ. 日本において 2019 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

2019 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 241 症例あった。236 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、昨年と同程度の比率であった(2018 年, 39.8%; 2019 年, 39.4%)。また、咽頭炎由来株の分離比率(21.5%)に比べ、高い分離比率を示している。次いで、型別不能が多く、昨年と比較して増加した(2018 年, 15.2%; 2019 年, 21.6%)。次いで、TB3264 型が多く、その分離比率は昨年とほぼ同じであった(2018 年, 18.7%; 2019 年, 16.5%)。

STSS の確定診断例 241 例中、*emm1* 型が 94 例(39.0%)と

最も多く、次いで *emm89* 型が 47 例（19.5%）、*emm12* 型が 15 例（6.2%）と多かった。

2018 年と比較し、*emm1* 型は、39.8%（68/175）から 39.0%（94/241）とわずかに減少した。*emm89* 型は 22.9%（40/175）から 16.5%（47/241）に減少した。

[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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患者分離株の薬剤感受性試験

2019 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 241 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 7.5%（18/241）の株が耐性を示した。[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2019 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 137 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（28.6%）と最も多く、次いで、*stG485* が 29 例（17.2%）と多かった。 [池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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

2019 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 56 例あった。菌種はすべて、*S. agalactiae* であった。血清型は、V 型が最も多く、14 例（25.0%）であり、次いで III 型が 13 例（23.2%）であった。2019 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 8 例あった。菌種は、*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* が 7 例、*S.constellatus* ssp. *pharyngis* が 1 例であった。*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* で最も多かった *emm* 遺伝子型は、*stC6979* 型で 6 例（85.7%）であった。2019 年、F 群レンサ球菌による劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告が 2 例あった。菌種は、ともに *S.anginosus* であった。

[池辺忠義、大西真、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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 ワクチンの実地使用下における基礎的・臨床的研究及びワクチンの評価・開発に資する研究）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充実化に資する研究) 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、菌体表層のコリン結合タンパク質 CbpC が、Atg14-CbpC- p62 複合体を形成し、肺炎球菌を排除しようとするオートファジーの誘導に必要な Atg14 を選択的に分解・枯渇させることを見いだした。CbpC による Atg14 分解は、オートファジー抑制、さらには肺炎球菌の細胞内生残性の促進に寄与していた。本研究から、肺炎球菌の病原因子が、オートファジー抑制という高度な細胞内生存戦略を持つことが明らかになった。

[小川道永、雫石早矢佳、大西真；梁明秀（横市・医）]

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

令和 2 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 37 株で、例年のおよそ半数であ

った。すべて *Legionella pneumophila* で、血清群 1 が 35 株、血清群 2 が 2 株であった。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。37 株は 24 種類の遺伝子型に分けられ、そのうち 6 種類が新規遺伝子型で、3 種類は国内では初めての検出であった。65%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 27%で、それ以外は種々の水系と推定されていた。[前川純子、大西真；大森恵梨子（仙台市衛研）、大屋日登美（神奈川衛研）、金谷潤一（富山衛研）、中西典子（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）、The Working Group for *Legionella* in Japan]

(2)レジオネラ属菌検査精度管理サーベイ

厚労科研レジオネラ研究班のサポートのもと、日水製薬株式会社を実施母体としたレジオネラ属菌検査精度管理サーベイが 2015 年度から行われている。2020 年度も実施され、全国 171 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 72 機関については、独自に集計・解析を実施し、過去 5 年間の結果とも比較した。6 年連続参加した機関は 44 機関あった。解析の結果、これまで同様、特定のいくつかの機関に検査手技の再確認が必要と判定される傾向が認められた。回収率については、判定を開始した 2017 年度からの推移を見ると、良好範囲を報告した機関の割合は 2018 年度に大きく上がったものの（74.3%）その他の年では本年度含め 55%前後であった。良好範囲報告機関割合を上げるためには、各機関において検査手技について適切に理解すること、検査担当者間差を無くすこと、検査担当者の異動等に伴う変更に適切に対応することなどが挙げられる。今後も、継続的かつ安定した外部精度管理調査ができるようにしたい。[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）、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）、中西典子（神戸市環保研）、大森恵理子（仙台市衛研）、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、前川純子]

(3)入浴施設及び医療機関のレジオネラ汚染実態調査

2020 年 5 月に新型コロナウイルス感染症の拡大を原因とした緊急事態宣言が発出され、入浴施設においても休業を余儀なくされた。入浴施設において、この休業がレジオネラ汚染に与えた影響を評価することを目的として、調査を行った。具体的には我々が 2015 年からレジオネラ属菌の汚染実態調査と対策を継続してきた入浴施設 1 施設において、営業再開前日及び再開後約 1、3、5 カ月にそれぞれ調査を実施した。前年度では 3 つの採水箇所において、10~200 CFU/100 mL のレジオネラ属菌が検出されていたものが、営業再開前日には 1 カ所から 80 CFU/100 mL が、再開の 1 ヶ月後には同じ採水箇所において 10 CFU/100 mL のレジオネラ属菌が検出されるのみとなった。これは、休業期間中に定期的に配管内の原湯を入れ替え、循環させるとともに遊離残留塩素濃度を 0.8～2.0 mg/L と高濃度に保ったことによるものと考えられた。しかし、完全な排除には至らず、その後の調査においてレジオネラ属菌が増加している傾向が認められた。このため、今後も調査を継続するとともに新たなレジオネラ属菌対策を実施する必要があると考えられた。

医療機関の給水・給湯系におけるレジオネラ汚染は、レジオネラ感染症の院内感染の原因となりうることから、病院内の環境管理の重要な課題となっている。本研究ではレジオネラ属菌と合わせて一般細菌数と従属栄養細菌数を調査し、レジオネラ汚染に対する従属栄養細菌と一般細菌の指標性を検討した。一般細菌は蛇口水の試料から全く検出されないことから、レジオネラ汚染に関して指標にはならないと考えられた。従属栄養細菌数は、レジオネラ属菌陽性試料で検出される傾向があるとしても、1：1 の相関はしなかった。レジオネラ汚染の検討が必要な状況では、指標ではなく、レジオネラそのものを測定することが重要と考えられた。[黒木俊郎（岡山理科大学）、泉山信司（寄生動物部）、大屋日登美、陳内理生、中嶋直樹、鈴木美雪、政岡智佳（神奈川県衛生研究所）、前川純子]

3. 髄膜炎菌に関する研究

(1) 菌株の多様性、薬剤感受性および疫学解析

ア.令和 2 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

令和 2 年度は新型コロナウイルス感染症の猛威のために侵襲性髄膜炎菌感染症 (IMD) の発生数が例年に比べて激減し、IMD の起炎菌株は 4 例のみ回収された。それらの血清学的解析の結果は Y ；1 株、B ；2 株、莢膜多糖体非産生株（Non-Typable: NT）；1 株であった。それらの臨床分離株の血清学的及び分子疫学的解析を実施した結果、分子疫学的解析からは血清群 B 株は 2 株とも ST-2057、血清群 Y 株は ST-1655 (ST-23 complex)、NT 株は新規遺伝子型 ST-15484 (ST-32 complex)であった。一方、保菌者由来株、尿道炎由来株といった非侵襲性由来株は 9 株回収された。それらの血清学的解析の結果は Y ；12 株、B ；2 株、29E ；1 株、N T；6 株であった。分子疫学的解析からは血清群 B 株は 2 株とも ST-2057、血清群 Y 株は ST-687 (ST-41/44 complex)、NT 株は新規遺伝子型 ST-15484 及び ST-11026 (ST 32 complex) であった。新型コロナウイ

ルス感染症 (COVID-19) により IMD 症例が激減している事自体、国内の IMD 発生抑制にはヒト-ヒト間のコンタクトの減少がいかに有効であるかを証明していると言える。一方で、アフターコロナと呼ばれる COVID-19 が鎮静化した時期においては髄膜炎菌に免疫を持たない日本人にとって IMD は COVID-19 に代わる脅威として迫る可能性は十分にあり、引き続き注視していく必要があるであろう。[高橋英之、大西真；三輪晴奈、鵜飼友彦、神谷元（FETP、感染症疫学センター）]

イ. 髄膜炎菌の薬剤感受性の経年変化に関する解析

1998 年から 2020 年までに日本国内で分離された髄膜炎菌株から 3〜5 株/年を抽出し、計 82 株のペニシリン G (PCG)、セフトリアクソン (CTRX)、シプロフロキサシン (CPFX)、リファンピシン (REF)、アジスロマイシン (AZM)、メロペネム (MEPM)の薬剤耐性を測定し、その薬剤感受性の幾何平均を求めることにより、経年変化を計測した。その結果、CTRX、REF、AZM、MEPM に関しては 1998 年から 2020 年に至るまで薬剤感受性は「感受性」のまま変化が認められなかった。一方で、PCG に関しては非感受性株が 2012 年頃から増加する傾向が認められ、中には耐性を示す株も認められた。また、CPFX に関しては 2017 年頃から非感受性株及び耐性株の著しい増加が認められた。PCG は IMD の第一選択薬、CPFX は予防内服薬として最も使用される薬剤として知られており、それぞれの第二選択薬である CTRX 及び REF の効力があるとはいえ、第一次選択薬の IMD に対する効力が低下しつつある傾向は看過できないことが明らかとなった。[高橋英之、森田昌知、志牟田健、大西真；齋藤良一 （東京医科歯科大）]

ウ. 過去 5 年間に国内で分離された髄膜炎菌株のペニシリン G 及びシプロフロキサシンに対する感受性の解析

2016〜2020 年の 5 年間に日本国内で分離された 153 髄膜炎菌株の薬剤感受性に関して、侵襲性髄膜炎菌感染症治療に使用される PCG 及び予防内服の第一選択薬である CPFX の非感受性及び耐性菌の出現の可能性が指摘された為、PCG、CPFX、そして CTRX、予防内服第二選択薬 RFP に関して薬剤感受性試験を行なった。その結果、PCG は 30 %（46 株）が非感受性 (MIC; 0.094 - 0.25 μg/mL)、2%（3 株）が耐性（MIC; ≥0.5 μg/mL）であることが明らかとなった。一方で、侵襲性細菌感染症の治療薬として広く使用されている CTRX は約 98%の株が感受性で、1.8%（3 株）が微弱な非感受性（MIC; 0.016 - 0.032 μg/mL）を示すことが明らかとなった。また、予防内服薬として使用される薬剤においては CPFX は 25.5%（39 株）が非感受性（MIC; 0.004 - 0.064 μg/mL）、20.3%（31 株）が耐性（MIC; 0.094 - 0.19 μg/mL）と全体の 54.2%（83 株）のみが感受性を示すことが明らかとなった。一方で RFP に関しては全てが MIC 0.19 μg/mL 以下であり、CLSI が示す感受性の域値（MIC<0.5 μg/mL）を大きく下回り、全て（100%）感受性を示すことが明らかとなった。 [高橋英之、志牟田健、大西真；齋藤良一（東京医科歯科大）]

エ. 髄膜炎菌日本固有株遺伝子型 2057 (ST-2057) complex の全ゲノム塩基解読 (WGS) による分子疫学的解析

血清群 B である 2002 年に世界で初めて日本で検出された ST-2057 株は 2011 年頃から再検出され始め、2020 年に至るまで 23 株が分離され、今では国内の血清群 B の主要な髄膜炎菌株となってきている。遺伝子型は ST-2057 が 18 株、ST-13100 が 2 株、それ以外の ST-12606、13838、14407 は 1 株ずつ分離された。ST-120606、ST-13838 及び ST-2057 の 1 株は健康保菌者から分離されたが、それ以外は全て IMD 患者から分離された。2020 年時点で日本以外の国々で ST-2057 株の検出報告はなく、ST-2057 株及びその派生株 (ST-2057 complex) は日本固有株であり、細菌学的にもその固有性は非常に貴重であると考えられたため、WGS を適用した解析を行なった。その結果、ST-2057 complex 株は系統学的に非常に近位であるが、さらに詳細に系統分析すると、18 株が構成するクレード 1 とそのクレードに属さず、別系統のクレードをお互いに形成しない独立的な 5 株から構成されることが明らかとなった。これらの結果から、ST-2057 complex 株は日本国内で大きく派生しないままヒト−ヒト感染により潜在している可能性が示唆された。また、ST-2057 complex は血清群 B の国内での主要な髄膜炎菌株であるが、血清群 Y に分類される NIID784 株が存在することが明らかとなった。その株の nanopore による全ゲノム塩基配列解読により完全長を解読し、莢膜多糖体合成遺伝子群を比較した結果、NIID784 株では血清群 B を規定する遺伝子 *csb* が血清群 Y を規定する遺伝子 *csy* に置換されており、遺伝子変換により capsule switching と呼ばれる現象が発生していたことが明らかとなった。capsule switching はワクチンを導入することによりワクチンにカバーされていない莢膜多糖体（血清群）に変化することが肺炎球菌では知られているが、髄膜炎菌ワクチン、それも国内へのワクチンの未導入である血清群 B 髄膜炎菌が血清群 Y に変化したという現象を捉えたことは、遺伝子変換の激しい髄膜炎菌は選択圧が無い環境下でも常に発生しているという可能性が示唆された。[高橋英之、森田昌知、志牟田健、大西真]

(2) 病原機構に関する研究

ア. 非天然アミノ酸を用いた髄膜炎菌外膜タンパク TspA の病原性機能の総合的解析

髄膜炎菌の一回膜貫通外膜タンパク TspA はヒト上皮培養細胞への接着に関与していることが明らかとなっていたが、さらなる解析からヒト内皮細胞への侵襲にも関与することが明らかとなった。そのため、TspA に関する生化学的及び分子生物学的解析を行なった。リコンビナントタンパクから作成した抗 TspA ウサギ血清を用いて、遠心分離法による細菌の細胞成分のフラクショネーション及び髄膜炎菌の免疫染色検証した結果、TspA は N 末側を外側に配向して外膜タンパク質に存在している事が明らかとなった。さらに C 末側の機能解析として MalE(大腸菌ペリプラズムタンパク)、さらに大腸菌のペリプラズムタンパクで二量体形成タンパクドメインを持つ DsbC、DsbG (Disulfate isomerase) または EmrA(Drug transport)を融合させた *tspA* 変異体を作成し、ヒト脳血管内皮細胞への接着及び侵襲能を検証した結果、どの TspA 融合変異体は野生株と同等の感染能を保持しなかった。この結果から、TspA の C 末端はペリプラズム側にありながら、髄膜炎菌の宿主細胞への感染に必要な N 側の構造を維持するのに必要か、C 末に髄膜炎菌タンパクが相互作用することにより、髄膜炎菌の宿主細胞への感染を惹起させる分子機構の存在が示唆された。現在、TspA と相互作用する髄膜炎菌タンパクを非天然アミノ酸型クロスリンカー を用いて検索することにより、それらの分子機序の更なる解明を試みている。 [高橋英之、志牟田健、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

1. ボレリア感染症に関する研究

(1)回帰熱ボレリアに関する研究

アフリカ南部で流行が予測されている回帰熱について、実験室診断法の確立と疫学調査を開始した。令和 2 年度は以下の研究を実施した。

ア. MGB プローブを用いたリアルタイム PCR 法による新世界型・旧世界型回帰熱ボレリアの核酸検出法を開発した。これにより、ザンビアで潜在する感染種不明の回帰熱症例において、感染種を問わず、幅広に病原体の検出が可能となった。具体的には(1)各々のボレリア型の検出感度は 10 ゲノムコピー以下であること、(2)同一反応で各型の鑑別が可能であること、また、(3)ヒト血液へ病原体をスパイクした模擬検体においても、その検出感度で 10 ゲノムコピー／反応であり、かつ閾値サイクル(Cq 値)は、旧来の方法と比較し，旧世界型ボレリアの検出感度で Cq=42.5 から 38.5 へ改善された。以上の結果から、本研究で作成した新規リアルタイム PCR 法は回帰熱流行国での実験室診断へも応用が可能と考えられた。

イ. ザンビアで収集した環境由来サンプル(野生動物，マダニ)を広汎に用い、ボレリア属細菌の分布状況の探査を開始した。研究成果として、(1)ルーセットオオコウモリが新世界型回帰熱ボレリアの保菌宿主であることがあらためて確認された一方で、本コウモリの生息域等についてはさらなる調査が必要と考えられた。(2)ザンビア国内で捕獲されたげっ歯類等からはボレリア DNA は検出されなかった一方、インパラからは新興回帰熱ボレリアの一種、*B. theileri* が検出された。(3)アフリカ産の新世界型回帰熱ボレリアとして、世界で初めてゲノム解読に成功した。(4)マダニの遺伝情報取得と保菌微生物の包括的な遺伝情報の取得・整備を目的として、ザンビア等で採取したマダニを用い遺伝情報取得を行った。また、(5)コウモリを対象とするバイオロギング調査に必要なデータロガーの試作と実装のための必要な装着実験を実施した。

ウ. ダニ約 1,200 検体について、16SrDNA を標的とした PCR アンプリコン解析に供し、それぞれがもつ細菌叢を解析した。これまでに *Borrelia* 属細菌をはじめ多数の病原細菌属に由来する配列が検出されている。今後も高精度ゲノム情報の蓄積を進めるとともに、多地域間での遺伝情報の比較解析についても検討を行う予定である。[川端寛樹，佐藤梢;邱永晋(北海道大学)，中尾亮(北海道大学)，梶原将大(北海道大学)，飛龍志津子(同志社大学)]

2. レストスピラ症に関する研究

(1) 運動制御機構に関する研究

ア. レプトスピラべん毛鞘タンパク質 FcpA 欠損株で発現が低下するタンパク質の同定

ΔfcpA 株のべん毛は野生株のコイル状とは異なり直線状の形態を示す。べん毛の形態を規定するさらなるタンパク質の同定のために、*ΔfcpA* 株と野生株のべん毛のタンパク質プロファイルを比較した結果、*ΔfcpA* 株で発現が低下している 35 kDa タンパク質を見出し、LC-MS/MS 解析により uncharacterized protein WP_012389257 と同定された。このタンパク質の機能を明らかにするためこれをコードする遺伝子の破壊株を作製した。[小泉信夫、大西真]

イ. レプトスピラ光応答遺伝子の同定

Leptospira kobayashii の光応答性の分子メカニズムの解明するために、トランスポゾン挿入変異法により光応答がみられなくなった変異体 1H6 を同定した。トランスポゾンは

LPTSP3_02080 遺伝子に挿入されていたが，LPTSP3_02080 は LPTSP3_2090 とオペロンを形成していると考えられたため、それぞれの遺伝子を単独で 1H6 で発現した結果、LPTSP3_2090 遺伝子の単独発現で光応答性が回復することが明らかとなった。[小泉信夫、大西真；中村修一（東北大学大学院）]

(2) 患者および宿主動物由来レプトスピラの解析

ア．スリランカの患者および野鼠由来レプトスピラの解析

スリランカでは 2008 年以降レプトスピラ症の流行が報告されているが、その原因となるレプトスピラの解析は十分に行われていなかった。スリランカの患者分離株 24 株とクマネズミ分離株 3 株の血清学的解析と MLST による分子タイピングを行った結果、分離株は *L. borgpetersenii*、*L. interrogans*、*L. kirschneri* であり、MLST により新規の 6 ST を含む 15 ST が同定された。また 5 つの血清群、Autumnalis、Grippotyphosa、Hebdomadis、Javanica、Pyrogenes が同定され、これまでに知られていなかった遺伝的、血清学的に多様なレプトスピラがスリランカで流行していることが明らかとなった。[小泉信夫、森田昌知、泉谷秀昌、大西真；Lilani Karunanayake (MRI)、Chandika D. Gamage (University of Peradeniya)]

イ．カンボジアからベトナムへ輸出される野鼠由来レプトスピラの解析

カンボジアからベトナムに輸出される野鼠 72 匹中アゼネズミ 3 匹からレプトスピラが分離された。分離株は *flaB* 遺伝子の塩基配列および標準抗血清を用いた顕微鏡凝集試験により *L. borgpetersenii* 血清群 Javanica と同定された。分離株の全ゲノムシーケンシングにより、カンボジア分離株は他の東アジア分離株と遺伝的に関連しているものの独立したクラスターを形成した。また PCR により 38.9%のネズミ腎臓から *L. interrogans* の DNA が検出され、MLST により新規の遺伝子型（ST）であることが明らかとなった。[小泉信夫、森田昌知、大西真；三浦こずえ（東京大学大学院）]

IV 泌尿生殖器感染症に関する研究

1. 淋菌に関する研究

(1) 菌株の多様性と薬剤耐性に関する解析

ア. 淋菌サーベイランス

昨年度に引き続き 2020 年 4 月から 2021 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 167 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 2.3 %, 54.5 %, 96.4 %, 24.5 %, 90.4 %, 100% が感受性株であった。昨年度と比較して 100% 感受性が続いている spectinomycin 以外の 5 剤では ciprofloxacin での感受性率が一昨年度、昨年度は 40%代に迫るほどに改善したが、その傾向に一旦歯止めがかかり若干の悪化が見られる。azithromycin に関しては逆に感受性率が若干上昇している。近年危惧されている ceftriaxone 耐性株について、2015 年1月分離株で ceftriaxone MIC=0.5 のものが1株検出されたこと、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一昨年度に報告したが、昨年度、今年度の我々のこ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、大西真；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)]

イ. アジスロマイシン高度耐性淋菌株の性状解析

本邦で最初に確認されたアジスロマイシン高度耐性（HL-AziR)を示した淋菌 2 株（FC488、GU20180115-5)の特徴を明らかにした。これら株の薬剤感受性試験を行った結果、azithromycin 、ceftriaxone 、cefixime 、penicillin G 、ciprofloxacin、spectinomycin の MIC は、 FC488 株に対して 512, 0.016, 0.008, 0.5, 8, 16 mg/L、 GU20180115-5 株に対して 1024, 0.016, 0.016, 1, 8, 16 mg/L を示した。いずれの菌株も azithromycin および ciprofloxacin に耐性を示した。また、両菌株ともに、4 つの 23S rDNA 遺伝子の全てのループ V に A2143G 変異（大腸菌: A2059G)が確認された。*mtrR* 遺伝子の解析では、両株とも、*mtrR* プロモーター領域の 13bp の逆反復配列のアデニン欠失と、*mtrR* コード配列の G45D 変異を確認した。

更に既知の HL-AziR 淋菌株との遺伝学的関連性を調べるために、FC488 株と GU20180115-5 株の WGS データ、および BioProject データベースに公開登録されている HL-AziR 淋菌 116 株の WGS データを用いて、コアゲノムの一塩基多型をベイズ解析し Clade の構築を行った結果、5 つの Clade (A～E)が構築され、FC488 株と GU20180115-5 株は共に Clade A（n＝9）に属した。Clade A は、A1 と A2 に細分化が可能で、A1 には 1 株を除き中国と日本（FC488 株、GU20180115-5 株)で分離された菌が含まれた。一方、A2 にはイギリスとオー

ストラリアで分離された ceftriaxone 耐性及び HL-AziR を示す株が含まれた。また分子系統解析の結果、FC488 株と GU20180115-5 株の属する MLST 型、NG-MAST 型、NG-STAR 型は、それぞれ、ST10899/ST12039、ST1866/ ST16497、ST202/ST202 を示し、これら分子型は東アジアで分離された既知の HL-AziR 淋菌株でも見られた。[志牟田健、李謙一、高橋英之、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

昨年度に続いて連携クリニックとして、4つの STI クリニック（東京都 3、大阪府 1)と共同で、皮膚病変が有り、梅毒を疑う場合の病変漿液からの梅毒トレポネーマ DNA 検出、分子タイピングを実施した。

2020 年 4 月～2021 年 3 月の総計で、128 例の検体が有ったが、うち 44 例が PCR 陽性であった。コロナ禍の関係で計画中断期間を設けただけでなく、通常期も検体数減少が顕著であった。44 例中タイピングに成功したものは 26 例で、このうち 21 例は最頻検出率が続いている 14d/f であった。他は 12b/f が 2 例、他はいずれもそれぞれ単一型となる 3 例であった。

[中山周一、大西真；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)]

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これまで報告している。今年度もサーベーランスを続行し、23S rRNA 解析に成功した 33 例について耐性型分布を見ると、30 例（90.9%）と依然高い耐性率が維持されていること、検出される少数の感受性型が全て MSM 患者由来であること、が依然として継続していることが判明した。梅毒治療に azithromycin が無効と判断すべき状態が継続している。

[中山周一、大西真；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)]

ウ. 国内梅毒トレポネーマ株体系的ゲノム解析

2014～2018 年の期間に国内で検出された国内梅毒トレポネーマ株のうち分子型別、23S rRNA 解析ともに成功した 49 株につき、検体からの非培養 DNA 増幅及びキャプチャー RNA を用いた梅毒トレポネーマゲノム画分濃縮処理を行い、全ゲノム解析を試行し、21 株で成功した。これらを現在データバンクでデータ入手可能な海外株と比較したところ、国内株は中国株と最も近縁であること、但しこの2国株群は詳細には国により系統が細分化できること、両国の仮想的共通祖先株は2006年頃に位置すること、が判明し、さらに日本株・中国株を簡便に区分化可能な SNP 候補を提出し、報告した。

[中山周一、錦信吾、李謙一、大西真；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)]

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. 初期 pH に影響した膜小胞による口腔バイオフィルム形成

歯表面では、様々な pH の環境下で *Streptococcus* を中心に多くの複合菌バイオフィルムを形成している。そこで、塩酸、乳酸、酢酸で調整した初期 pH6.0 と NaOH で調整した初期 pH8.0 の培地で *Streptococcus mutans* の培養後得られた膜小胞を用いて、様々な菌のバイオフィルム形成実験を行った。初期 pH6.0 の培地で得られた膜小胞は、グルコシルトランスフェラーゼ（GTF）の量が pH7.0 の培地で得られた膜小胞よりも少ないことが明らかとなった。一方、NaOH で調整した初期 pH8.0 の培地で得られた膜小胞は、GTF の量が多かった。この結果は、スクロースが含まれた培地を用いた膜小胞による *S. mutans* UA150. *gtfBC* mutant, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces naeslundii* のバイオフィルム形成は、この GTF の量に依存していた。外環境の pH の変化は膜小胞の GTF の量に変化を与え、バイオフィルム形成に影響することが明らかになった。

[泉福英信、岩渕祐介、中尾龍馬、大西真]

イ. 膜小胞による *Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成におけるキシリトールおよびフノランの影響

Streptococcus mutans の膜小胞によるバイオフィルム形成にキシリトールおよびフノランがどのように影響するか検討を行った。1％キシリトールでバイオフィルム形成が抑制されるが完全ではなく、そこにフノランを 0.004%加えると完全に抑制される。1%キシリトール存在下でフノランを時間を変えて添加すると、培養開始後 14 時間後の添加においてもバイオフィルム形成を抑制することが明らかとなった。また膜小胞に依存したバイオフィルム形成に対して 1%キシリトール存在下でにフノラン

濃度を変えて添加すると、0.000006%のフノランからバイオフィルム形成を抑制することが明らかとなった。1%キシリトール存在下でフノランは低濃度でより強くバイオフィルム形成を抑制することが明らかとなった。[泉福英信、中村知世、中尾龍馬、大西真]

2. 歯周病、および歯周病原細菌に関する研究

(1) 歯科治療中に発生する飛沫に含まれる口腔細菌の測定

歯科治療中に発生する飛沫がどの方向にどの程度飛び散るか測定するために、歯科治療用の椅子の周囲に BHI 寒天培地と R2A 寒天培地をおいて、培養後コロニー数を計算した。さらに、椅子の周囲をスワブして、ルシフェラーゼ発光法を利用して、ATP 量についても測定した。歯科治療は、歯科衛生士によるスケーリング(歯石除去)を 10 分間行った。その結果、右利きの術者の場合、左側とその後方に飛沫が飛ぶことが明らかとなった。その飛沫を、口内バキュームと口外バキュームを使用することで減少させることができた。右利きの術者の場合、介助者が左に立つことになる。その介護者は感染リスクが高くなるので、口内・口外バキュームの使用は必須であることが明らかとなった。 [泉福英信、大西真]

(2) 放射線治療後の口腔内不快症状に対する抗菌性食品添加口腔保湿ジェルの有効性に関する検討

頭頸部放射線治療後に必発する口腔内不快事項の出現、および口腔細菌に対する異なる 4 種の抗菌性食品添加保湿ジェルの影響を無作為ランダム化パイロット試験により検討した。 唾液中の *Porphyromonas gingivalis* 菌数は、プロポリス含有ジェル群がプラセボジェルを含む他の群に比べ、統計学的有意に減少した。またプロポリスジェル群を使用した５名全ての患者において、自覚的口腔疼痛スコアが低下し、同ジェルの頭頸部放射線治療後の口腔内不快事項に対する有用性が示唆された。[中尾龍馬；上野尚雄（国立がん研究センター中央病院)]

(3) フェンネル抽出物の *P. gingivalis* に対する抗菌作用機序と責任化合物の単離同定

歯周病原細菌 *P. gingivalis* をフェンネル抽出物で 5 分間処理すると、 菌体表層に膜小胞が多数形成され、速やかに殺菌作用を示した。フェンネルで過剰産生された膜小胞には、RagA および RagB を多く含んでいた。また、フェンネル抽出物によりジンジパイン Rgps および Kgp のプロテアーゼ活性が阻害された。フェンネル抽出物中の増殖阻害活性およびプロテアーゼ活性を示す主たる化合物としてペトロセリン酸を単離同定した。 [中尾龍馬；吉野七海（エスビー食品)、池田剛（崇城大学)]

(4) カレーリーフに *P. gingivalis* に対する含まれる抗菌化合物の探索

P. gingivalis の増殖阻害活性を示したカレーリーフ抽出物から、その活性成分の単離を試みた。mahanimbine（MB）を含む 4 つの異なるプレニル化四環系カルバゾールアルカロイド（PTCAs）を単離した。PTCAs の中でも、特に MB が最も強力な *P. gingivalis* の増殖阻害活性を示した。また MB の *P. gingivalis* 菌体表面での特徴的な“クレーター様”構造の形成などが確認され、カレーリーフ抽出物、または MB による歯周病治療薬への応用可能性が示唆された。[中尾龍馬；池田剛（崇城大学)]

(5) 細菌外膜小胞に関する研究

ア. 歯周病原細菌外膜小胞の粘膜ワクチンへの応用

歯周病原細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa)の血清型 b の異なる 4 株について、その外膜小胞中のロイコトキシン含有量を調べたところ、その量は大量に含まれるものから、含まれないものまで、株により全く異なっていた。特に、Y4 株の外膜小胞にはロイコトキシンを検出されなかった。続いて Aa Y4 株と *P. gingivalis* の 2 種類の膜小胞をマウスに経鼻免疫し、血清中の特異的抗体プロファイリングを行ったところ、*A. actinomycetemcomitans* については、OmpA1 及び OmpA2 抗体が、*P. gingivalis* についてはリポ多糖の修飾を受けた CTD タンパクに対する抗体が誘導されていることが明らかとなった。[中尾龍馬、泉福英信、大西真;平山悟 (新潟大学)]

イ. 外来莢膜多糖を発現するプロバイオティクス大腸菌膜小胞の特性解析

肺炎球菌血清型 14 の莢膜多糖抗原（CPS14）を発現するプロバイオティクス大腸菌膜小胞ワクチンを作製し、その特性解析を行った。大腸菌菌体内での CPS14 の局在は、膜画分、特に外膜画分に多かった。膜小胞における CPS14 発現量は、タンパク質 1 μg 当たり 13.2 ± 6.3 ng であり、膜小胞の表層に発現することが確認された。マウスへの皮下免疫実験においては、IgG へのクラススイッチとバランスの取れた Th1/Th2 免疫応答が誘導されたことから、様々な多糖体ワクチン開発において、プロバイオティクス大腸菌膜小胞を担体として活用する手法の利点が示唆された。[中尾龍馬、岩淵佑介、大西真;平山悟 (新潟大学)]

ウ. 腸内細菌が産生する膜小胞（MVs）の粘膜免疫への応用

腸管常在細菌の一種である *Clostridium perfringens* の MVs をマウスに経鼻免疫することにより、全身の粘膜面（鼻腔、口腔、腸管）における細菌特異的な抗体産生を誘導することが可能であった。腸管に誘導された特異的抗体が腸内細菌叢に与える影響を評価するために、盲腸内容物の細菌叢解析を実施した。その結果、MVs を免疫したマウス群では、*Clostridium* 属細菌の相対存在量が有意に減少した。このことより、腸内細菌由来 MVs を利用することで、特定の腸内細菌の腸管定着を阻害できる可能性が示された。[尾花望、中尾龍馬、泉福英信]

エ．腸内細菌叢が腸管内で生産する MVs の精製

個々の細菌が産生する MVs の機能はいくつか報告がある一方、宿主に定着している細菌叢が産生する MVs の機能については未知の部分が大きい。そこで、腸内細菌叢が産生する MVs をマウスの便から精製し、それらの機能を明らかにすることを目指した。密度勾配遠心法と超遠心法を組み合わせることにより、便中より細菌由来の MVs の精製に成功した。MVs の内部に含まれる DNA の細菌叢解析を実施することにより、腸管内で MVs を産生していると予想される細菌群を同定した。[尾花 望、中尾龍馬]

レファレンス業務

Ⅰ. 大腸菌に関するレファレンス業務

1. 腸管出血性大腸菌（EHEC）に関する研究 （1）EHEC の多様性解析、（2）分子疫学的解析 の項に記載の通り。 [伊豫田淳、泉谷秀昌、小澤さお美、竹本歩、中島雪絵、齊藤康憲、石嶋希、李謙一、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 526 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、溶血性レンサ球菌レファレンスセンター]

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]

IV. チフス菌・パラチフス A 菌に関するレファレンス業務

令和 2 年度厚生労働省外部制度管理事業として、チフス菌、パラチフス A 菌の同定について、全国 56 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 [森田昌知、荒川英二、泉谷秀昌、森佳津美、竹本歩、大西真]

V. 動物由来感染症に関する研修

国立国際医療研究センター・国立感染症研究所共催 第6回 動物由来感染症研修会「ペスト」、2021 年 1 月、東京[石原朋子]

品質管理に関する業務

I. 4価髄膜炎菌ワクチンに関する検定検査業務

国家検定[川端寛樹、石原朋子]

II. 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]

III. 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継続的に行った。また中国で分離された BMD 病原体 *Borrelia miyamotoi* のゲノム解読を実施し報告した。[川端寛樹]

研修業務

I. 腸管出血性大腸菌に関する研修

1. 令和 2 年度 国立保健医療科学院・細菌研修・講義「EHEC 総論・その他大腸菌」、2021 年 2 月、東京 [伊豫田淳]

2. 令和 2 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、2021 年 1 月、オンライン [泉谷秀昌]

II. レジオネラ属菌に関する研修

新通知法に基づくレジオネラ属菌検査。令和 2 年度特別区専門研修「検査技術」、2020 年 10 月、東京 [前川純子]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Misaki Y, Yamamoto S, Suzuki T, Iwakuni M, Sasaki H, Takahashi Y, Inada K, Kinashi H, Arakawa K. SrrB, a Pseudo-Receptor Protein, Acts as a Negative Regulator for Lankacidin and Lankamycin Production in *Streptomyces rochei*. Front Microbiol. 2020; 11: 1089. doi: 10.3389/fmicb.2020.01089.

2) Takahashi H, Dohmae N, Kim KS, Shimuta K, Ohnishi M, Yokoyama S, Yanagisawa T. Genetic incorporation of non-canonical amino acids photocrosslinkers in *Neisseria meningitidis*: New method provides insights into the physiological function of the function-unknown NMB1345 protein. PLoS One 2020; 15: e0237883.

3) Klancher CA, Yamamoto S, Dalia TN, Dalia AB. ChiS is a noncanonical DNA-binding hybrid sensor kinase that directly regulates the chitin utilization program in *Vibrio cholerae*. Proc Natl Acad Sci USA. 2020; 117: 20180-20189.

4) Shimuta K, Lee K, Yasuda M, Furubayashi K, Uchida C, Nakayama SI, Takahashi H, Ohnishi M. Characterization of two *Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin resistance isolated in 2015 and 2018 in Japan. Sex Transm Dis. 2021; 48: e85-e87.

5) Shizukuishi, S., Ogawa, M., Matsunaga, S., Tomokiyo, M., Ikebe, T., Fushinobu, S., Ryo, A. Ohnishi M. *Streptococcus pneumoniae* hijacks host autophagy by deploying CbpC as a decoy for Atg14 depletion. EMBO Rep. 2020; 21: e49232. doi: 10.15252/embr.201949232.

6) Shizukuishi S, Ogawa M, Ryo A. Ohnishi M. The multi-step mechanism and biological role of noncanonical autophagy targeting *Streptococcus pneumoniae* during the early stages of infection, Autophagy. 2020; 16: 1152-1153.
doi: 10.1080/15548627.2020.1743937.

7) Shizukuishi, S., Ogawa, M., Ryo, A., Ohnishi, M. *Streptococcus pneumoniae* promotes its own survival via choline-binding protein CbpC-mediated degradation of ATG14. Autophagy. 2020; 16: 1529-1531. doi:10.1080/15548627.2020.1776475.

8) Klionsky DJ, Ogawa M, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). Autophagy, 2021; 17: 1-382.
doi: 10.1080/15548627.2020.1797280.

9) Koizumi N, Izumiya H, Ohnishi M. Genetic relatedness of *Leptospira interrogans* serogroup Autumnalis isolated from humans, dogs, and mice in Japan. BMC Res Notes 2020; 13: 369.

10) Xu J, Koizumi N, Nakamura S. Crawling motility on the host tissue surfaces is associated with the pathogenicity of the zoonotic spirochete *Leptospira*. Front Microbiol. 2020; 11: 1886.

11) Karunanayake L, Gamage CD, Gunasekara CP, De Silva S, Izumiya H, Morita M, Muthusinghe DS, Yoshimatsu K, Niloofa R, Karunanayake P, Uluwattage W, Ohnishi M, Koizumi N. Multilocus sequence typing reveals diverse known and novel genotypes of *Leptospira* spp. circulating in Sri Lanka. PLoS Negl Trop Dis. 2020; 14: e0008573.

12) Koizumi N, Wada T, Morita M, Mu J-J, Ohnishi M. Comparative genomic analysis of *Leptospira borgpetersenii* serogroup Javanica isolated from *Rattus* species in Southern Japan, Philippines, and Taiwan. Infect Gen Evol. 2020; 85:104447.

13) Nagai R, Yamamoto K, Shiojiri D, Kutsuna S, Kato Y, Koizumi N, Ohmagari N. Multiple pulmonary nodules in leptospirosis: a case report. Intern Med. 2020; 59: 2941-2944.

14) Huy HL, Koizumi N, Ung TTU, Le TT, Nguyen HLK, Hoang PVM, Nguyen CN, Khong TM, Hasebe F, Haga T, Le MTQ, Hirayama K, Miura K. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from urban rodents in Hanoi, Vietnam. J Vet Med Sci. 2020; 82: 653-660.

15) Kakita T, Kyan H, Miyahira M, Takara T, Nakama E, Kuba Y, Kato T, Nidaira M, Kudaka J, Koizumi N. Novel genotypes of *Leptospira interrogans* serogroup Sejroe isolated from human patients in Okinawa Prefecture, Japan. J Med Microbiol. 2020; 69: 587-590.

16) Kawabata T, Tenokuchi Y, Yamakuchi H, Sameshima H, Katayama H, Ota T, Tokunaga M, Takezaki T, Tamae S, Nakamura T, Chang B, Kodama Y, Imuta N, Ooka T, Okamoto Y, Suga S, Nishi J. Concurrent bacteremia due to non-vaccine serotype 24F pneumococcus in twins: A rapid increase in serotype 24F-invasive pneumococcal disease and its high invasive potential. Pediatr Infect Dis J. 2020; 39: 85-87. doi: 10.1097/INF.0000000000002508.

17) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Nationwide surveillance of paediatric invasive and non-invasive pneumococcal disease in Japan after the introduction of the 13-valent conjugated vaccine, 2015-2017. Vaccine. 2020; 38: 1818-1824. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.12.022.

18) Chang B, Akeda H, Nakamura Y, Hamabata H, Ameku K, Toma T, Miyagi M, Ohnishi M. Impact of thirteen-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal carriage in healthy children under 24 months in Okinawa, Japan. J Infect

Chemother. 2020; 26: 465-470.
doi: 10.1016/j.jiac.2019.12.009.

19) Shimbashi R, Suzuki M, Chang B, Watanabe H, Tanabe Y, Kuronuma K, Oshima K, Maruyama T, Takeda H, Kasahara K, Fujita J, Nishi J, Kubota T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K, and the Adult IPD Study Group. Effectiveness of 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine against Invasive Pneumococcal Disease in Adults, Japan, 2013–2017. Emerg Infect Dis. 2020; 26: 2378-2386. doi: 10.3201/eid2610.191531.

20) Ujita N, Kawasaki Y, Matsubara K, Kim K, Naito A, Hori M, Isome K, Iwata A, Yamaguchi Y, Chang B. Late onset group B streptococcus disease manifesting as acute suppurative parotitis. IDCases. 2020; 21: e00799. doi: 10.1016/j.idcr.2020.e00799.

21) Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, Chang B, Matsumura Y, Yamamoto M, Suga S, Ohnishi M, Nagao M. Phylodynamics of emergent *S. pneumoniae* serotype 12F-CC4846 causing pediatric invasive pneumococcal disease after the introduction of PCV13 in Japan. Emerg Infect Dis. 2020; 26: 2660-2668. doi: 10.3201/eid2611.200087.

22) Miyazaki H, Shibuya R, Chang B, Inukai T, Miyazaki Y, Ubukata K, Nakamura S, Matsumoto T. Genetic characteristics of piliated *Streptococcus pneumoniae* serotype 35B, increased after introduction of pneumococcal vaccines in Japan. J Infect Chemother. 2020; 26: 1198-1204. doi: 10.1016/j.jiac.2020.06.016.

23) Tanaka Y, Yamamoto K, Fukuda Y, Umemura A, Yoshida M, Ideguchi S, Ashizawa N, Hirayama T, Tashiro M, Takazono T, Imamura Y, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Chang B, Mukae H. An adult case of invasive pneumococcal disease due to serotype 12F-specific polysaccharide antibody failure following a 23-valent polysaccharide vaccination. Emerg Microbes Infect. 2020; 9: 2266-2268. doi: 10.1080/22221751.2020.1830716.

24) Samanta P, Mandal RS, Saha RN, Shaw S, Ghosh P, Dutta S, Ghosh A, Imamura D, Morita M, Ohnishi M, Ramamurthy T, Mukhopadhyay AK. A point mutation in carR is involved in the emergence of polymyxin B-sensitive *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype by influencing gene transcription. Infect Immun. 2020; 88: e00080-20.

25) Morita D, Morita M, Alam M, Mukhopadhyay AK, Johura FT, Sultana M, Monira S, Ahmed N, Chowdhury G, Dutta S, Ramamurthy T, Samanta P, Takahashi E, Okamoto K, Izumiya H, Ohnishi M. Whole-genome analysis of clinical *Vibrio cholerae* O1 in Kolkata, India, and Dhaka, Bangladesh, reveals two lineages of circulating strains, indicating variation in genomic attributes. mBio. 2020;11: e01227-20.

26) Morita M, Okada K, Yamashiro T, Sekizuka T, Roobthaisong A, Wongboot W, Chantaroj S, Tu ND, Xangsayarath P, Sithivong N, Noilath K, Vongdouangchanh A, Kuroda M, Hamada S, Izumiya H, Ohnishi M. Phylogenetic analysis revealed the dissemination of closely related epidemic *Vibrio cholerae* O1 isolates in Laos, Thailand, and Vietnam. Open Forum Infect Dis. 2020 Oct 16;7(11): ofaa492.

27) Izumiya H, Lee K, Ishijima N, Iyoda S, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis scheme for non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: Focus on serogroups O103, O121, O145, O165, and O91. Jpn J Infect Dis. 2020; 73: 481-490.

28) Kato H, Yahata Y, Hori Y, Fujita K, Ooura N, Kido T, Yoshimoto K, Matsui T, Izumiya H, Ohnishi M, Oishi K. A shigellosis outbreak associated with a sports festival at a kindergarten in Kitakyushu City, Japan. J Infect Chemother. 2020; 26: 1146-1151.

29) Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. An anti-perfringolysin O mono clonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects agai nst streptococcal toxic shock syndrome. BMC Res Notes. 202 0; 13: 419. doi: 10.1186/s13104-020-05264-2.

30) Murase K, Nozawa T, Aikawa C, Nagao M, Ikebe T, Yoshi da A, Kikuchi T, Nakagawa I. Complete Genome Sequences o f *Streptococcus pyogenes* Serotype M3, M28, and M89 Strains Isolated from Human Patients in Japan, 1994 to 2009. Microb iol Resour Announc. 2020; 9: e01047-20. doi: 10.1128/MRA.0 1047-20.

31) Shinoda Y, Hori T, Sasai H, Ikebe T, Ohnishi H. Neonat al bacteremia caused by *emm* type 80 group A *Streptococcus*: A case report. Pediatr Int. 2020; 62: 1305-1306. doi: 10.1111/ ped.14349.

32) Hirose Y, Yamaguchi M, Takemoto N, Miyoshi-Akiyama T, Sumitomo T, Nakata M, Ikebe T, Hanada T, Yamaguchi T, Kawahara R, Okuno R, Otsuka H, Matsumoto Y, Terashima Y, Kazawa Y, Nakanishi N, Uchida K, Akiyama Y, Iwabuchi K, Nakagawa C, Yamamoto K, Nizet V, Kawabata S. Genetic characterization of *Streptococcus pyogenes emm*89 strains isolated in Japan from 2011 to 2019. Infect Microbe Dis. 2020; 2: 160-166. doi: 10.1097/IM9.0000000000000038.

33) Nishiki S, Arima Y, Kanai M, Shimuta K, Nakayama S,

Ohnishi M. Epidemiology, Molecular Strain Types, and Macrolide Resistance of *Treponema pallidum* in Japan, 2017-2018. J. Infect. Chemother. 2020; 26: 1042-1047.

34) Shimuta K, Lee K, Yasuda M, Furubayashi K-I, Uchida C, Nakayama S, Takahashi H, Ohnishi M. Characterization of two *Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin-resistance isolated in Japan. Sex. Transm. Dis. 2021; 48: e85-e87.

35) Tarumoto N, Imai K, Nakayama S, Itoda I, Sakai J, Murakami T, Maesaki S, Hayakawa S, Ohnishi M, Maeda T. A novel peptide nucleic acid-and loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of mutations in the 23S rRNA gene of *Treponema pallidum*, J. Med. Microbiol. 2020; 69**:** 1339-1345. doi: 10.1099/jmm.0.001275.

36) Nishiki S, Lee K, Kanai M, Nakayama S, Ohnishi M. Phylogenetic and Genetic Characterization of *Treponema pallidum* Strains from Syphilis Patients in Japan by Whole-genome Sequence Analysis from Global Perspectives. Sci. Rep. 2021; 11**:** 3154. doi: 10.1038/s41598-021-82337-7.

37) Iguchi A, Nishii H, Seto K, Mitobe J, Lee K, Konishi N, Obata H, Kikuchi T, Iyoda S. Additional Og-Typing PCR T echniques Targeting *Escherichia coli*-Novel and *Shigella*-Uniqu e O-Antigen Biosynthesis Gene Clusters. J Clin Microbiol. 20 20; 58: e01493-20.

38) Nguyen TTH, Iguchi A, Ohata R, Kawai H, Ooka T, Na kajima H, Iyoda S. Distribution of Novel Og Types in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Healthy Cattle. J Clin Microbiol. 2021; 59: e02624-20.

39) Yahiro K, Ogura K, Goto Y, Iyoda S, Kobayashi T, Tak euchi H, Ohnishi M, Moss J. Subtilase cytotoxin induces a no vel form of Lipocalin 2, which promotes Shiga-toxigenic *Esch erichia coli* survival. Sci Rep. 2020; 10: 18943.

40) Lee K, Iguchi A, Uda K, Matsumura S, Miyairi I, Ishiku ra K, Ohnishi M, Seto J, Ishikawa K, Konishi N, Obata H, F urukawa I, Nagaoka H, Morinushi H, Hama N, Nomoto R, N akajima H, Kariya H, Hamasaki M, Iyoda S. Whole-genome s equencing of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* OX18 fro m a fatal hemolytic uremic syndrome case. Emerg. Infect. Dis. 2021; 27: 1509-1512.

41) Kimata K, Lee K, Watahiki M, Isobe J, Ohnishi M, Iyod a S. Global distribution of epidemic-related Shiga toxin 2 enc oding phages among enteroaggregative *Escherichia coli*. Sci. Rep. 2020; 10: 11738.

42) Nakamura K, Murase K, Sato M. P, Toyoda A, Itoh T, Mainil J. G, Piérard D, Yoshino S, Kimata K, Isobe J, Seto K, Etoh Y, Narimatsu H, Saito S, Yatsuyanagi J, Lee K, Iyoda S, Ohnishi M, Ooka T, Gotoh Y, Ogura Y, Hayashi T. Differential dynamics and impacts of prophages and plasmids on the pangenome and virulence factor repertoires of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O145:H28. Microbial Genomics. 2020; 6: e000323.

43) Yonekita T, Morishita N, Arakawa E, Matsumoto T. Development of a monoclonal antibody for specific detection of *Vibrio parahaemolyticus* and analysis of its antigen. J Microbiol Methods 2020; 173: 105919.

44) Nakamura I, Amemura-Maekawa J, Kura F, Kobayashi T, Sato A, Watanabe H, Matsumoto T. Persistent *Legionella* contamination of water faucets in a tertiary hospital in Japan. Int J Infect Dis. 2020; 93: 300-304. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.002.

45) Seto J, Amemura-Maekawa J, Sampei M, Araki K, Endo M, Kura F, Ikeda T, Kato T, Ohnishi M, Mizuta K. Investigation of a Legionnaires' disease outbreak using direct sequence-based typing in Yamagata City, Japan, 2019. Jpn J Infect Dis. 2021. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.815.

46) Becker NS, Rollins RS, Nosenko K, Paulus A, Martin S, Krebs S, Takano A, Sato K, Kovalev S, Kawabata H, Fingerle V, Margos G. High conservation combined with high plasticity: genomics and evolution of *Borrelia bavariensis*. BMC Genomics. 2020; 21: 702.

47) Adenyo C, Ohya K, Qiu Y, Takashima Y, Ogawa H, Matsumoto T, Thu MJ, Sato K, Kawabata H, Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T, Fukushi H, Katakura K, Nonaka N, Inoue-Murayama M, Kayang B, Nakao R. Bacterial and protozoan pathogens/symbionts in ticks infecting wild grasscutters *Thryonomys swinderianus* in Ghana. Acta Tropica. 2020; 205: 105388.

48) Y, Konnai S, Ochi A, Okagawa T, Githaka N, Isezaki M, Yamada S, Ito T, Ando S, Kawabata H, Logullo C, da Silva Vaz I Jr, Maekawa N, Murata S, Ohashi K. Immunosuppressive effects of sialostatin L1 and L2 isolated from the taiga tick *Ixodes persulcatus* Schulze. Ticks and Tick-borne Diseases. 2020; 11: 101332.

49) Nakao R, Senpuku H, Ohnishi M, Takai H, Ogata Y, Effect of topical administration of propolis in chronic periodontitis. Odontology, 2020; 108: 704-714. doi: 10.1007/s10266-020-00500-4.

50) Nakamura T, Iwabuchi Y, Hirayama S, Narisawa N, Takenaga F, Nakao R, Senpuku H, Roles of membrane vesicles from *Streptococcus mutans* for the induction of antibodies to glucosyltransferase in mucosal immunity. Microbial

Pathogenesis, 2020; 149: 104260.
doi: 10.1016/j.micpath.2020.10

51) Nagasawa R, Sato T, Nomura N, Nakamura T, Senpuku H, Potential risk to spread resistant genes within the extracellular DNA-dependent biofilm of *Streptococcus mutans* in response to cell envelope stress induced by sub-MIC of bacitracin, Applied Environmental Microbiology, 2020; 86; e00770-20. doi: 10.1128/AEM.00770-20.

52) Nozaki S, Tsutsumi Y, Takasaki Y, Yoshikawa H, Shinya T, Souta R, Nakamoto N, Marukawa K, Usami T, Sunami J, Takashima M, Tanaka K, Nishizawa R, Yanase S, Negoro K, Negishi A, Okumura H, Otsuka Y, Honda Y, Otsuru H, Arika T, Nakashima T, Nagasaka H, Watanabe Y, Kajiya M, Senpuku H, Iwabuchi H. Predictors of early postoperative pneumonia after oncologic surgery with the patients receiving professional oral health care: A prospective, multicentre, cohort study, Journal of Perioperative Practice, 2021; 31:289-295.

53) Suzuki I, Shimizu T, Senpuku H, Short chain fatty acids induced the type 1 and type 2 fimbrillin-dependent and fimbrillin-independent initial attachment and colonization of *Actinomyces oris* monoculture but not coculture with streptococci. BMC Microbiology, 2020; 20: 329.

54) Ishikawa M, Murata T, Okamoto M, Miyanohara M, Yamashita M, Hanada N, Senpuku H, Shibuya K. Inhibitory effect of black cumin (*Nigella sativa*) seed essential oil on *Fusobacterium nucleatum* L-methionine-γ-lyase (L-methioninase) activity. FEMS Microbiology Letters, 2021; 368: fnab041.

55) Tada A, Senpuku H. The impact of oral health on respiratory viral infection. Dentistry Journal, 2021; 9: 43.

56) Hirayama S, Nakao R. Glycine significantly enhances bacterial membrane vesicle production: a powerful approach for isolation of LPS-reduced membrane vesicles of probiotic Escherichia coli. Microbial Biotechnology, 2020; 13: 1162-1178.

57) Nakao R, Ueno T. Effects of oral moisturizing gel containing propolis following head and neck radiotherapy: randomized controlled pilot trial. BDJ Open, 2021; 7: 12.

58) Hirayama S, Nakao R. Intranasal vaccine study using *Porphyromonas gingivalis* membrane vesicles: isolation method and application to a mouse model. Methods in Molecular Biology, 2020; 2210: 157-166.

59) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis in heterosexual women: case characteristics and risk factors for recent syphilis infection in Tokyo, Japan, 2017-2018. Int J STD AIDS. 2020;31: 1272-1281.

60) Yahara K, Ma KC, Mortimer TD, Shimuta K, Nakayama SI, Hirabayashi A, Suzuki M, Jinnai M, Ohya H, Kuroki T, Watanabe Y, Yasuda M, Deguchi T, Eldholm V, Harrison OB, Maiden MCJ, Grad YH, Ohnishi M. Emergence and evolution of antimicrobial resistance genes and mutations in *Neisseria gonorrhoeae*. Genome Med. 2021; 13: 51. doi: 10.1186/s13073-021-00860-8.

2. 和文発表

1) 小林亜由香、中島淳、大塚武、飯草正実、酒井雄一郎、佐多章、大城健哉、菊地孝司、菊池俊、松本裕、宮原聖奈、宮平勝人、神谷元、高橋英之、東田修二、齋藤良一．市販輸送培地における *Neisseria meningitidis* 生菌数の経時的変動．日本臨床微生物学雑誌. 2021; 31: 52-56.

2) 亀山和明，大竹正悟、志牟田健、 高橋英之、 森田昌知、大西真、 清水悠衣、 大上朋子、 笠井正志．適切な培養検査の必要性を示唆した新生児淋菌性結膜炎の一例．日本臨床微生物学会雑誌、2020; 31: 22-26.

3) 泉谷秀昌、李謙一、伊豫田淳、大西真.2019 年に分離された腸管出血性大腸菌の MLVA 法による解析。IASR、2020; 41: 71-72.

4) 伊豫田淳.腸管出血性大腸菌感染症．新興・再興感染症 update -グローバル化時代の感染症- 日本臨床 2020; 79: 200-204.

5) 大河内由美子、 泉山信司、 前川純子.紙上ミニシンポジウムI～水の衛生管理～3.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．日本防菌防黴学会誌, 2020; 48:377-382.

6) 金谷潤一、磯部順子、山口友美、武藤千恵子、淀谷雄亮、飯高順子、佐々木麻里、田栗利紹、蔡 国喜，川野みどり、倉文明、前川純子．環境水を用いた各種レジオネラ属菌迅速検査法の有用性の評価.日本防菌防黴学会誌. 2020; 48:515-522.

7) 大久保（佐藤）梢，川端寛樹．ダニ媒介性感染症．獣医公衆衛生研究．2020; 22: 17-22.

8) 川端寛樹，佐藤（大久保）梢．ボレリア感染症（ライム病を主に）．日本神経感染症学会誌(Neuroinfection)．2020; 25: 118-124.

9) 泉福英信.これからの院内感染対策のスタンダード、DENTAL DIAMOND、2020; 45: 45-60.

10) 泉福英信.COVID-19 と歯科医療、メディカル クオール、2020; 311: 40-43.

11) 泉福英信.口腔常在菌叢の構成−形成過程、加齢に伴う

推移、その他の影響因子など、監修落合邦康、ヒト常在菌叢と生理機能・全身疾患、2020.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Senanayaka SGMSD, Senevirathne P, Fonseka PA, Dayaratne K, Toma C, Sato Y, Koizumi N, Rajapakse S, Gamage CD. Environmental contamination of pathogenic and intermediate pathogenic *Leptospira* spp. in two divisional secretariats of Kandy District. 2nd International Conference of the Center for Environmental Studies, Sri Lanka, July, 2020.

2) Senarathne P, Fonseka A, Kumara A, Muthusinghe D, Koizumi N, Yoshimatsu K, Gamage CD. An escalation of the disease burden of hantavirus infection in a hospital setting among the leptospirosis suspected patients. Research Conference in Health Science 2021, Sri Lanka, March, 2021.

3) Nakao R, Hirayama S, Iwabuchi Y, Ohnishi M. Probiotic *Escherichia coli* Membraned Vesicles Carrying Pneumococcal Capsular Polysaccharides: An In Vivo Study of intranasal Vaccines Using Safe and immunogenic Nanoparticles. 12th International Symposium on Pneumococci & Pneumococcal Diseases. Toronto, On-line. June, 2020.

2. 国内学会

1) 高橋英之. マスギャザリングと感染症,事例から学ぶ:「侵襲性髄膜炎菌感染症」、第 94 回日本感染症学会総会、東京、2020 年 8 月.

2) 中尾浩史、上原安紀子、仲田聡明、高良富頌、中山周二、志牟田健、大西真. 沖縄で分離された淋菌の薬剤耐性状況。第 94 回日本細菌学会総会、岡山、2021 年 3 月.

3) 亀山和明、大竹正悟、志牟田健、高橋英之、清水悠衣、大上朋子、笠井正志. 出生時ニューキノロン系点眼薬使用の再検討と妊婦検診での淋菌検索の必要性が示唆された新生児淋菌性結膜炎の一例。第32回日本臨床微生物学会総会・学術集会、 Web 開催、 2021 年 1 月.

4) 志牟田健. 尿道炎:耐性化とその対策はどのように進んでいくのか(シンポジム)、耐性機序:主に淋菌の薬剤耐性化について、日本性感染症学会第 33 回学術大会、東京、2020 年 12 月.

5) 安田満、志牟田健、中山周一、高橋英之、小林寅喆、大澤佳代、陣内理生、三宅啓文、浜砂良一、荒川創一、大西真. 2019 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 33 回学術大会、東京、2020 年 12 月.

6) 小川道永、大西真. 肺炎球菌に対する宿主オートファジー認識機構と菌によるその制御機構、第 94 回日本細菌学会総会、岡山(オンライン)、2021 年 3 月.

7) 雫石早矢佳、小川道永、梁 明秀、大西真. オートファジーハイジャックによる肺炎球菌の新規生存戦略の分子機構解析、第 94 回日本細菌学会総会、岡山(オンライン)、2021 年 3 月.

8) 小川道永. 感染症分野のためのオートファジー入門～新たにわかってきた肺炎球菌のしなやかな生存戦略～、第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、グランドニッコー東京 台場、2020 年 10 月.

9) 小川道永、大西真. 肺炎球菌感染におけるマルチステップオートファジー、第 93 回日本生化学会大会、パシフィコ横浜、2020 年 9 月

10) 雫石早矢佳、小川道永、梁明秀、大西真. 肺炎球菌は病原因子をおとりにして Atg14 を分解し宿主オートファジーを負に制御する、第 93 回日本生化学会大会、パシフィコ横浜、2020 年 9 月.

11) 小川道永、雫石早矢佳、梁 明秀、大西真. 肺炎球菌感染初期に誘導されるノンカノニカルオートファシジーの意義とその誘導機構、第 72 回日本細胞生物学会大会、京都みやこメッセ、2020 年 6 月.

12) 雫石早矢佳、小川道永、梁明秀、大西真. 肺炎球菌は病原因子をおとりにして Atg14 を分解し宿主オートファジーを負に制御する、第 72 回日本細胞生物学会大会、京都みやこメッセ、2020 年 6 月.

13) 宮﨑治子、常彬、渋谷理恵、生方公子、松本哲哉、中村茂樹. Pilus 遺伝子を保有する肺炎球菌血清型 35B の遺伝子型および薬剤感受性の特徴. 第 93 回日本感染症学会総会・学術講演会. 東京、2020 年 10 月.

14) 田村恒介、常彬、砂川富正、鈴木基、渡邊浩、西順一郎、丸山貴也、金城雄樹、大石和徳. 成人侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) の血清型による臨床像の特徴. 第 24 回に本ワクチン学会学術集会. WEB 開催、2020 年 12 月.

15) 成相昭吉、常彬. A 群レンサ球菌感染後急性糸球体腎炎に血清型 15C 肺炎球菌による菌血症を併発した 3 歳女児および国内 2 地域の下気道感染症乳幼児における血清型 15C 検出状況. 第 24 回に本ワクチン学会学術集会、WEB 開催、2020 年 12 月.

16) 池辺忠義. 劇症型 A 群溶血性レンサ球菌感染症由来株の細菌学的特徴(シンポジウム:劇症型 A 群レンサ球菌感染症の謎に迫る). 第 94 回日本感染症学会学術講演会、東京、2020 年 8 月.

17) 山口雅也、広瀬雄二郎、東孝太郎、竹本訓彦、秋山徹、住友倫子、池辺忠義、川端重忠. *emm*89 型化膿レンサ球菌

による侵襲性感染症の発症因子の遺伝統計学的探索、第 94 回日本細菌学会総会、国内（オンライン）、2021 年 3 月.

18) 大野誠之、山口雅也、広瀬雄二郎、東孝太郎、竹本訓彦、秋山徹、住友倫子、池辺忠義、山口貴弘、河原隆二、奥野ルミ、大塚仁、松本裕子、寺島祐司、賀澤優、中西典子、内田薫、秋山由美、岩渕香織、中川力、山本一成、川端重忠. *emm*89 型化膿レンサ球菌による侵襲性感染症のゲノム配列に基づく発症機構の解明、第 43 回日本分子生物学会、国内（オンライン）、2020 年 12 月.

19) 安田満、志牟田健、中山周一、高橋英之、小林寅喆、大澤佳代、陳内理生、三宅啓文、大西真. 2019 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 33 回学術大会、東京、2020 年 12 月.

20) 中尾浩史、上原安紀子、仲田聡明、高良富頌、中山周一、志牟田健、大西真. 沖縄で分離された淋菌の薬剤耐性状況。第94回日本細菌学会総会、オンライン、2021 年3月.

21) 宮田達弥、小椋義俊、中村佳司、後藤恭宏、吉村大、伊豫田淳、伊藤武彦、大西真、林哲也. EHEC O157 clade 8 のゲノム多様性と Stx2 と Stx2 ファージのバリエーション、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月.

22) 須藤直樹、佐々木万里香、今福拓也、伊豫田淳、岡田信彦. 志賀毒素転換ファージにコードされる低分子 RNA の機能解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月.

23) 八尋錦之助、小倉康平、後藤義幸、伊豫田淳、大西真. SubAB により誘導される新規 Lipocalin-2 の発現制御とその機能解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月.

24) 木全恵子、李謙一, 綿引正則, 磯部順子, 大西真, 伊豫田淳. 大規模集団感染由来 O104:H4 と同一の Stx2a ファージを有する志賀毒素産生性腸管凝集性大腸菌 (Stx-EAEC) O86 の解析、第 163 回日本獣医学会学術集会、オンライン開催、2020 年 9 月.

25) 李謙一. 腸管出血性大腸菌の伝播要因の究明および伝播経路解明手法の高度化、第163回日本獣医学会学術集会. オンライン開催、2020 年 9 月.

26) 李謙一、井口純、宇田和宏、松村壮史、宮入烈、石倉健司、大西 真、伊豫田淳. EHEC Working Group in Japan. 小児重症例から分離された腸管出血性大腸菌新規血清群 OX18 および関連株のゲノム解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月.

27) 前川純子. レジオネラ症の疫学. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会シンポジウム 22. 東京、2020 年 8 月

28) 淀谷雄亮、原俊吉、小嶋由香、本間幸子、前川純子、森田昌知、大西真、岡部信彦. 川崎市におけるレジオネラ症患者からのレジオネラ属菌の分離及び解析状況。第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、web 開催、2021 年 1 月.

29) 藤田博己、角坂照貴、川端寛樹、安藤秀二. タネガタマダニとアサヌママダニが保有する紅斑熱群リケッチア *Rickettsia monacensis* の国内における概要と感染症例の国内潜在の可能性. 第 72 回日本衛生動物学会大会、東京、2020 年 4 月.

30) 泉福英信.口腔連鎖球菌からのナノ粒子の病原性とワクチン:2S09a 細菌が放出するナノ粒子の新たな病原性とワクチンとしての可能性、第 93 回日本生化学会、東京、2020 年 9 月 15 日.

31) 泉福英信.口腔バイオフィルム微生物集団の代謝産物が導く細菌の生存戦略、S5 集団微生物学と細菌バイオフィルム研究の前線、第 94 回日本細菌学会総会、岡山、2021 年 3 月 24 日.

32) 泉福英信.バイオフィルム形成による口腔および全身疾患とその予防, [S06-4am] 特別企画 感染症予防技術の構築を目指 した化学的アプローチ、第 101 回日本化学会春季年会、東京、2021 年 3 月.

33) 鈴木到、清水武彦、泉福英信. *Actinomyces oris* の初期付着・凝集に対する口腔細菌が産生する有機酸の影響、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021 年 3 月.

34) 奥田真由、尾花望、奥脇響、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦. ウェルシュ菌の放出する膜小胞が宿主に与える影響の解析、2020 年度グラム陽性菌ゲノム機能会議、オンライン、2020 年 9 月.

35) 奥田真由、尾花望、奥脇響、中尾龍馬、泉福英信、野村暢彦. ウェルシュ菌が放出するメンブレンベシクルを介した宿主免疫誘導機構の解析、第 94 回日本細菌学会総会、オンライン、2021 年 3 月.

36) 平山悟、中尾龍馬.グリシンによる細菌メンブレンベシクル産生の誘導とその特性、生物工学会 Web シンポジウム、オンライン、2020 年 9 月.

37) 平山悟、中尾龍馬.グリシンにより誘導された細菌メンブレンベシクルの特性解析―歯周病細菌ベシクルワクチンの粘膜アジュバント開発等に向けて― 第 62 回歯科基礎医学会、オンライン、2020 年 9 月.

38) 中尾龍馬.Intranasal delivery of bacterial membrane vesicles carrying exogenous capsular polysaccharides: a proposed next-generation vaccine platform against a wide diversity of pathogens. 第 93 回日本生化学会、オンライン、2020 年 9 月.

39) 高原翠夏人、平山悟、中尾龍馬、二又裕之、田代陽介.

バイオフィルム由来膜小胞による免疫応答促進（学術奨励賞）、2020 年度日本農芸化学会中部支部、オンライン、2020 年 9 月.

40) 中尾龍馬.粘膜免疫を強く誘導する細菌由来メンブレンヴェシクル、NIID/future セミナー ワクチン開発研究の現状と展望、オンライン、2020 年 11 月.

41) 吉野七海、池田剛、中尾龍馬.*P. gingivalis* の膜小胞産生誘導及び迅速な殺菌効果を示すフェンネル抽出物、第 94 回日本細菌学会、オンライン、2020 年 9 月

42) 中尾龍馬.細菌由来メンブレンヴェシクル:その優れた特性を活用したワクチン開発、第 94 回日本細菌学会、オンライン、2020 年 9 月.

43) 山口 雄大, 中尾 龍馬.冨田 修、BCG 由来メンブレンヴェシクルを用いた結核ワクチン開発研究、第 94 回日本細菌学会、オンライン、2020 年 9 月.

44) 大西真. 性感染症領域の今日的問題と今後の展望 “何故今、これからどうなる” 梅毒。第94回日本感染症学会学術講演会、東京、2020 年 8 月.

45) 大西真. 淋菌 耐性進化のメカニズムと方向性。第 94 回日本感染症学会学術講演会、東京、2020 年 8 月.

46) 大西真. 薬剤耐性淋菌 一 遺伝子の水平伝播。第 32 回日本薬学会 微生物シンポジウム. 東京、2020 年 9 月.

47) 大西真. ゲノムレベルで再考する細菌学。第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2020 年 10 月.

48) 大西真. 淋菌感染症および性器クラミジア症ワクチンの未来、日本性感染症学会第33回学術大会、東京、2020 年 12 月.

5. 細菌第二部

部長　柴山 恵吾

概 要

細菌第二部は、百日咳菌、インフルエンザ菌、マイコプラズマ属、バルトネラ属、ジフテリア菌、破傷風菌、ディフィシル菌、ボツリヌス菌、結核菌、ヘリコバクター属、鼻疽・類鼻疽菌などの病原細菌について、感染メカニズムや病原因子の解明など細菌学的な基礎研究を行うとともに、これらが起こす感染症の分子疫学調査、予防・診断・治療技術の開発、レファレンス関連業務を担当している。また、感染症の予防と治療に重要な生物学的製剤である、百日せきワクチン、Hibワクチン、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、BCG、精製ツベルクリン、抗毒素類などの国家検定、検査、およびこれに必要な標準品の管理、無菌性保証に関する業務を所掌している。さらに、細菌第二部の業務に関連する分野で、全国の地方衛生研究所や関連機関との連携、および国際協力を行っている。

2020 年度の基礎研究の代表的な成果は、ゲノム解析により日本で初めて分離されたマクロライド耐性百日咳菌が中国由来株の可能性を示したこと、肺炎マイコプラズマの細胞接着タンパク質の構造を解明したこと、ヒトの胃にも感染し病原性を示すピロリ菌以外のヘリコバクターである *H. suis* の分離培養に世界で初めて成功したこと、などである。生物学的製剤の品質管理にかかわる研究では、動物愛護の観点から、マウスに苦痛を与えない破傷風トキソイドの力価測定法の開発を進めた。また、BCG ワクチンの力価測定を迅速に行う ATP 測定法の検討も行った。行政検査やレファレンス業務関連では、福岡県で起きたボツリヌス症事例、兵庫県で起きたディフィシル菌感染症（CDI）アウトブレイク事例などに対応した。

2020 年度は COVID-19 パンデミックが発生したため、感染研にも多くの PCR 検査依頼があった。細菌第二部員も PCR 検査の実施に協力した。パンデミックによって国内外の学術集会の多くが中止、延期となったため、学会発表は前年度と比べて大きく減少した。

人事では 3 月 31 日付けで部長の柴山恵吾が退官し、名古屋大学に転出した。また、同日付けで加藤はる第三室長と久保田眞由美主任研究官が定年退官した。

業 績

調査・研究

I. 百日咳菌および百日咳類縁菌に関する研究

1. 百日咳菌線毛の遺伝子発現機構に関する研究

線毛 3 遺伝子(*fim3*)のプロモーター領域(Pfim3)にはアクチベーターRisA の結合モチーフ配列が存在する。昨年度までに RisA は Pfim3 に特異的に結合することが明らかとなっていたが、RisA タンパク質の精製条件を検討した結果、可溶化剤不含条件での精製により結合活性が上昇することが分かった。また、他のアクチベーターと同様に RisA の活性化にはリン酸化が必要であることが推測された。そこで、RisA のリン酸化部位を特定する目的で RisA 野生型、アミノ酸変異型について *in vitro* リン酸化反応を行った。これを Phos-tag SDS-PAGE により解析したところ、RisA の 60 番目のアスパラギン酸(D60)がリン酸化を受けることが明らかとなった。

[大塚菜緒]

2. 百日せきワクチン接種が抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価に与える影響の評価

2016 年に百日咳の新規血清診断法として「ノバグノスト百日咳/IgA、IgM キット」が健康保険適用され、現在臨床で広く使用されている。本キットは、抗百日咳菌 IgA, IgM 抗体価を測定するものだが、「測定抗体価が百日せきワクチン接種の影響を受けない」ことを一つの利点としている。本研究では 5～6 歳の健常小児に DPT ワクチンを接種し、その前後での抗体価の変動を調査した。その結果、抗 IgA, IgM ともにワクチン接種の影響を受けにくいことが確認された。ただし、抗 IgM を指標とした場合は、DPT 接種前でも 18.6%の被験者が百日咳陽性値を示したことから、小児百日咳診断への本測定法の適用は見直しが必要であると指摘された。

[大塚菜緒、小出健太郎、蒲地一成；神谷元（感染症疫学センター）]

3. 大阪府で分離されたマクロライド耐性百日咳菌のゲノム解析

治療薬であるマクロライドに対して耐性を示す百日咳菌が 2018 年に大阪で分離された。中国では耐性菌が蔓延しているが、日本ではこれまでに耐性菌の分離報告はなかった。よって、大阪で分離された耐性株の全ゲノム解析を行い、日本

および中国の臨床分離株のゲノム情報と比較した。分子系統解析の結果、大阪で分離された耐性株は日本よりも中国の分離株と遺伝的に近縁であった。また、大阪と中国の耐性株は病原性に関わる遺伝子の多型が一致しており、大阪で分離されたマクロライド耐性百日咳菌は中国由来であることが判明した。[小出健太郎、山口貴弘（大安研）、大塚菜緒、蒲地一成]

4. アジアにおけるマクロライド耐性百日咳菌（MRBP）の流行解析

台湾、ベトナム、カンボジアを対象に MRBP の出現状況を調査した。2010 年以降の臨床分離株または臨床検体について、MLVA 法による遺伝子型別とマクロライド耐性遺伝子（23S rRNA の A2047G 変異）の解析を行った。台湾では 48 株中 2 株に A2047G 変異が確認され、その遺伝子型は MT104 であった。ベトナムでは解析検体の 11%（14/129）に MRBP の A2047G 変異が検出され、主な遺伝子型は MT104 と MT195 であった。中国で蔓延する MRBP 株は MT55、MT104、MT195 の遺伝子型を持つことから、中国の MRBP 株が他のアジア地域に拡散した可能性が指摘された。なお、カンボジアでは MRBP の A2047G 変異は 1 例も検出されなかった（0/70）。 [蒲地一成、小出健太郎、大塚菜緒]

II. インフルエンザ菌（*Haemophilus influenzae*）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 352 症例について、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。無莢膜型（NTHi）が 95%を占め、その他血清型 b（0.6%）、e（1.4%）、f（3.1%）が分離された。MLST 解析では、特定のSTによる発症の偏りは認められなかった。アンピシリンに対しては BLNAR 株が増加傾向にあった。10 道県以外の侵襲性インフルエンザ菌において、日本で初めて莢膜a型菌を分離し、ゲノム解析結果を論文報告した。 [久保田眞由美：平井晋一郎、村上光一（感染症危機管理研究センター）、大石和徳（富山県衛生研究所）]

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について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 2007 年以降実施している。莢膜菌については、b 型インフルエンザ菌(Hib)が近年では、2018 年に 2 症例、2020 年に 1 症例から分離された。非 b 型の莢膜菌としては、f 型菌が 2017-2018 年に各年1症例から、e 型菌が 2019 年に 1 症例から、a 型菌が 2020 年に 1 症例から分離された。また Non-typable *H. influnezae* (NTHi)が 2020 年に 5 症例から分離された。薬剤感受性検査結果については、2020 年の分離株における感性株の割合は、アンピシリン感性株が 62%、メロペネム感性株が 88% 、セフォタキシム、セフトリアクソン感性株がそれぞれ 100%であった。 [佐々木裕子、久保田眞由美、柴山恵吾]

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

2020 年も *M. pneumoniae* を臨床検体から分離し、遺伝子型と薬剤耐性の調査を行った。今年度は COVID-19 パンデミックが発生し、その影響もあってマイコプラズマ肺炎の患者発生数は激減したが、パンデミックが起こる前に埼玉県と大阪府の分離株 38 株が収集された。これらの分析を行ったところ、 *p1* 遺伝子型は 9 株が 1 型、2 株が 2b2 型、17 株が 2c 型、10 株が 2g2 型だった。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 1 型の 5 株と 2b2 型の 2 株および 2c 型の 1 株で、全て A2063G 変異だった。
[山崎勉（若葉こどもクリニック）、浅井定三郎（あさいこどもクリニック）、櫛引千恵子（岸和田徳洲会病院）、勝川千尋（大安研）、見理剛、柴山恵吾]

2. 肺炎マイコプラズマの P1 細胞接着タンパク質複合体の構造解明

M. pneumoniae の細胞接着性に必須な P1 タンパク質複合体（Nap）は P1 と P40/P90 が 2 分子ずつの 4 量体構造である。クライオ電顕法と X 線結晶構造解析で P1 と P40/P90 の分子構造を 1.9Å、2.9Å の解像度で解明した。これまでシアリルオリゴ糖に結合するのは P1 だと考えられていたが、構造解析によって P40/P90 に結合部位があることが明らかになった。P1 の多型部位の位置も立体構造上でわかるようになった。 [David Aparicio、Ignacio Fita（IBMB-CSIC, Spain）、 川本晃太、加藤貴之、難波啓一（大阪大学）、松本優、宮田真人（大阪市立大学）、見理剛、森茂太郎、柴山恵吾]

IV. バルトネラ菌に関する研究

路上生活者のバルトネラ菌に関する疫学調査：東京都内で救急搬送された路上生活者に着目し、服に付着したシラミおよび採血時の血液から、培養、PCR、IFA によりバルトネラ菌感染を評価した。29人の患者の約7割でシラミを保有していて、34%の人で高 IFA（1:256）を示していた。

［久保田眞由美：佐々木年則（昆虫医科学部）山岸拓哉（薬剤耐性研究センター）、足立智英（東京都済生会中央病院）］

V. 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の原因菌である *Corynebacterium ulcerans* の各種動物における分布を解析している。本年度はカニクイザルからの菌分離を行った。（詳細は安全実験管理部年報参照）［岩城正昭、妹尾充敏：結城明香、米満研三、網康至、須崎百合子（安全実験管理部）］

2. *Corynebacterium ulcerans* 臨床分離株のタイピング

C. ulcerans のリボタイピングは DNA 修飾の影響を受けるためゲノム配列の系統を必ずしも反映しないことを見出しているが（令和元年度年報）、他の系統解析法との比較から、MLST および全ゲノム塩基配列解析が、より系統解析に適していると考えられた。［岩城正昭、妹尾充敏：山本明彦（安全実験管理部）、関塚剛史、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）］

VI. *Clostridioides difficile* 感染症に関する研究

1. 日本の *Clostridioides difficile* 感染症分子疫学研究

ファイザー株式会社との共同研究で、*C. difficile* 近年日本臨床分離株(2017 年-2020 年)、および、1990 年代より日本で優勢株・流行株となっている PCR-ribotype 018 関連臨床株、計 200 株について、whole genome sequence 解析などの検討を開始した。［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

国立国際医療研究センター病院 AMR 臨床リファレンスセンターが事務局となり、日本の保健所を対象に、「中小病院アウトブレイク対応ガイダンス、*C. difficile* についての補遺」の作成プロジェクトのメンバーとして活動する予定であったが、COVID-19 流行の影響により、中断された。

ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE)との共同研究では、ハノイの医療機関における集中治療室での *Clostridioides difficile* 感染症(CDI)疑い患者 17 名の内、12 名から菌株が分離された。現在、これらの菌株を解析中である。［妹尾充敏、加藤はる：Nguyen Thuy Tram (NIHE, Vietnam) ］

3. *Clostridioides difficile* 感染症（CDI）の糞便移植療法（FMT）に関する研究

研究成果をまとめ、投稿した。［加藤はる］

4. *Clostridioides difficile* 感染症（CDI）の新規治療法の開発

抗菌薬に頼らない治療法を開発するため、健常人の糞便中に存在する *C. difficile* の増殖を抑制する成分の同定を試みている。本年度、分子サイズや熱感受性などのいくつかの特徴を明らかにした。［妹尾充敏、加藤はる］

VII . 結核等抗酸菌に関する研究

1. 抗酸菌由来 DNA ジャイレースの性状解析

昨年度までに得られた種々の抗酸菌由来組換え DNA ジャイレースについて活性測定を行った。その結果、菌種によって DNA ジャイレースの至適温度が異なっていることを明らかにした。［金玄、森茂太郎］

2. *Mycobacterium ulcerans* 由来 DNA ジャイレースの変異体解析

M.ulcerans 由来 DNA ジャイレースの変異体（A91V、D95G）を作製し、キノロンによる阻害活性を測定した。その結果、変異体はキノロンによる阻害を受けにくくなっていた。さらに MOE を用いたドッキングシミュレーションを行い、詳しい相互作用について検討を行った。［金玄、森茂太郎］

3. 新規抗結核薬の開発に関する研究

これまでに化合物スクリーニングによって得られたヒット化合物について、液体微量希釈法による最小発育阻止濃度の測定を行なった。その結果、実験室株である H37Rv 株に加えて薬剤（イソニアジド、リファンピシン、ピラジナミド）耐性結核菌に対しても強い抗菌活性を示す化合物を見出した。さらに、同定した化合物は結核菌以外の抗酸菌（*Mycobacterium avium* や *M. intracellulare*）にも抗菌活性を示した。

［森茂太郎］

VIII. ヘリコバクター属菌に関する研究

1. *Helicobacter suis* に関する研究

ピロリ菌以外のヒト胃にも感染する病原性細菌である *H. suis* について、これまでに世界で初めてヒト胃生検組織からの分離培養することに成功したことから、マウス感染実験を行いマウス胃での病態発現を確認した。さらに感染マウス胃からの菌の分離にも成功し、コッホの原則に沿い *H. suis* がヒト胃における病原性細菌である事を証明した。

［林原絵美子、柴山恵吾：鈴木仁人（薬剤耐性研究センター）、徳永健吾(杏林大)、松井英則（北里大）］

2. *Helicobacter* 属菌の薬剤耐性サーベイランスに関する研究

ヒト胃に感染するピロリ菌以外の *Helicobacter* 属菌の薬剤感受性測定法を確立した。[柴山恵吾、林原絵美子]

3. *Helicobacter cinaedi* の病原性に関する研究

H. cinaedi の autotransporter protein（ *H. cinaedi* autotransporter protein A: HcaA）について、HcaA の細胞外排出領域について大腸菌での発現系によるタンパク質精製の精製度を上げるための条件検討を行った。また、HcaA に対する抗体を用いた菌体の免疫染色を行いその局在を確認した。 [林原絵美子、青木沙恵]

4. *H. cinaedi* における新規ゲノム修飾に関する研究

H. cinaedi の clonal complex 9 に属する菌株群に特異的に存在する DNA の phosphorothioate modification を行う *dnd* 遺伝子群について、発現調節を行う *dndB* 遺伝子のノックアウト株を作製し、野生株とトランスクリプトームを比較した。
[林原絵美子、青木沙恵]

IX. *Burkholderia mallei* ならびに *Burkholderia pseudomallei* に関する研究

B. pseudomallei の同定においてゴールドスタンダードは培養法とされ、コロニーの特徴的な形態が重要な指標となっている。しかし、実際にはコロニー形態は様々であり、また使用する培地によって同一の菌株でも異なる形態を示すため、判定が難しい。このため現在保有する菌株を、同定に使用する3種の培地上（チョコレート寒天培地、MacConkey 寒天培地、および *B. pseudomallei* の選択培地である Ashdown 寒天培地）に塗抹し、37℃と 42℃で培養して得られたコロニーを記録分類し整理している。 [堀野敦子]

X. 流行予測事業に関する業務・研究

1. 破傷風流行予測事業に関する研究

破傷風抗体価測定キット(KPA)にかわる、デンカ生研（現デンカ株式会社）と共同研究で新しく開発してきたキットの市販化に向かって、検討が進められた。 [岩城正昭、妹尾充敏、加藤はる]

XI. その他薬剤耐性に関する研究

1. JANIS のアジア展開

ベトナムでの JANIS の導入について、ベトナム保健省、NIHE、WPRO などと協議を継続した。[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）、1 施設に *Bordetella holmesii*-LAMP キット（1 キット）を供与した。また、百日咳レファレンスセンター 9 施設にマクロライド耐性菌遺伝子検出キット（9 キット）を供与した。
[蒲地一成、小出健太郎、柴田美幸、大塚菜緒]

サーベイランス業務

I. 百日咳関係

1. 医療機関 1 施設からの依頼を受けて、百日咳臨床分離株（2 株）の遺伝子型解析を行った。また、患者検体 21 件について、マクロライド耐性菌の遺伝子検査を実施した。
[小出健太郎、大塚菜緒、柴田美幸、蒲地一成]

品質管理に関する業務

Ⅰ．生物学的製剤の品質管理に関する研究

1. 破傷風トキソイド力価試験における代替法の開発

破傷風トキソイドワクチン力価試験において、マウスに苦痛を強いる毒素攻撃法を避ける代替法の開発を目指している。ELISA 法は代替法として考慮されてこなかったが、ELISA で得られた吸光度をレンジ分けしスコア化して統計処理することにより、攻撃法と非常によく整合する結果が得られた。今後はさらに検討を進め、代替法としての実用化を目指す。
[岩城正昭、妹尾充敏]

2. BCG 力価試験における ATP 測定法の検討

BCG 力価試験での現行法（コロニーカウント法）に替わる迅速な試験方法として、ATP 測定法の検討を引き続き行った。
[堀野敦子、森茂太郎]

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。令和 2 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. 標準品、参照品の制定

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、妹尾充敏、小宮貴子、加藤はる、与那嶺澄代]

2. 依頼検査

(1) ユニセフ向け乾燥 BCG ワクチン（皮内用）関連

ア. 21 ロットの書類審査を行った。 [森茂太郎、持田恵子]

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]

国際協力関係業務

Ⅰ. WHO 関係

1. WHO laboratory manual for the diagnosis of Diphtheria and other related infections の編集作業を行った。2021 年 7 月をめどに刊行予定である。[岩城正昭]

2. 生物学的製剤の品質管理における動物福祉について検討するための"NC3Rs Review of WHO Biologicals Guidelines Working Group"に参加している。
[岩城正昭、妹尾充敏]

3. BCG 力価試験（ATP 法）に関する WHO の web セミナー (Validation and Establishment of an Alternative ATP Assay for Testing the Potency of BCG Vaccine, 9 & 16 Nov. 2020) に参加し、ATP 法について各国の NRA 担当者と意見交換を行った。 [堀野敦子、森茂太郎]

研修業務

I. ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

2020 年度は、COVID-19 感染流行のため、「ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会」は実施しなかった。
[妹尾充敏、加藤はる、与那嶺澄代]

II.その他

2020 年度認定看護師教育課程 感染管理学科講義 「感染に係る薬剤投与関連」（2020 年 10 月 14 日） [加藤はる]

その他

Ⅰ. 日本薬局方関連

日本薬局方生物試験法委員会に出席し（1 回）、日本薬局方第十八改正以降の原案作成に携わった。 [佐々木裕子]

II. 感染症等についての対応

Clostridioides difficile 感染症における劇症腸炎症例やアウトブレイク事例についての問い合わせに対応した。菌株解析に加え、感染対策に関するアドバイスを行い、アウトブレイク発生がみとめられた医療機関では講演も行なった。
[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) Kamachi K, Duong HT, Dang AD, Hai T, Do D, Koide K, Otsuka, N, Shibayama K, Hoang HTT. Macrolide-Resistant *Bordetella pertussis*, Vietnam, 2016-2017. Emerg Infect Dis. 2020 Oct;26(10):2511-3.

2) Kamachi K, Yao SM, Chiang CS, Koide K, Otsuka N, Shibayama K. Rapid and simple SNP genotyping for *Bordetella pertussis* epidemic strain MT27 based on a multiplexed single-base extension assay. Sci Rep. 2021 Mar 1;11(1):4823.

3) Kubota M, Kenri T, Sasaki Y, Shibayama K, Takayanagi K, Kenzaka T. Complete Genome Sequence of a Japanese Clinical Isolate of Haemophilus influenzae Type a Strain TAMBA230 Microbiol Resour Announc. 2020 Nov 25;9(48):e01069-20.

4) Sasaki T, Adachi T, Itoh K, Kubota M, Yamagishi T, Hirao M, Isawa H, Oishi K, Shibayama K, Sawabe K. Detection of *Bartonella quintana* infection among the Homeless Population in Tokyo, Japan, from 2013-2015. Jpn J Infect Dis. 2021 Jan 29.

5)Kenzaka T, Goda K., Kubota M, Takayanagi K, Kenri T, Shibayama K, Akita H. Invasive *Haemophilus influenzae* type a infection and polyarthritis in a 72-year-old Japanese man.J Infect Chemother. 2021 Jul 27(7):1084-1088.

5) Kenri T, Suzuki M, Sekizuka T, Ohya H, Oda Y, Yamazaki T, Fujii H, Hashimoto T, Nakajima H, Katsukawa C, Kuroda M, Shibayama K. Periodic Genotype Shifts in Clinically Prevalent *Mycoplasma pneumoniae* Strains in Japan. Front Cell Infect Microbiol. 2020 Aug 6;10:385.

6) Vizarraga D, Kawamoto A, Matsumoto U, Illanes R, Pérez-Luque R, Martín J, Mazzolini R, Bierge P, Pich OQ, Espasa M, Sanfeliu I, Esperalba J, Fernández-Huerta M, Scheffer MP, Pinyol J, Frangakis AS, Lluch-Senar M, Mori S, Shibayama K, Kenri T, Kato T, Namba K, Fita I, Miyata M, Aparicio D. Immunodominant proteins P1 and P40/P90 from human pathogen *Mycoplasma pneumoniae*. Nat Commun. 2020 Oct 14;11(1):5188.

7) Nakamura Y, Oishi T, Kaneko K, Kenri T, Tanaka T, Wakabayashi S, Kono M, Ono S, Kato A, Kondo E, Tanaka Y, Teranishi H, Akaike H, Miyata I, Ogita S, Ohno N, Nakano T, Ouchi K. Recent acute reduction in macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infections among Japanese children. J Infect Chemother. 2021 Feb;27(2):271-276.

8) Mindur JE, Yadav SK, Ito N, Senoh M, Kato H, Dhib-Jalbut S, Ito K. Surface Layer Protein A Expressed in *Clostridioides difficile* DJNS06-36 Possesses an Encephalitogenic Mimotope of Myelin Basic Protein. Microorganisms. 2020. 9: 34.

9) Sekizuka T, Katsukawa C, Kuroda M, Shibayama K, Otsuji K, Saito M, Yamamoto A, Iwaki, M. Limitations of Ribotyping as Genotyping Method for *Corynebacterium ulcerans*. Emerg Infect Dis. 2020. 26: 2457-9.

10) Yano H, Alam MZ, Rimbara E, Shibata TF, Fukuyo M, Furuta Y, Nishiyama T, Shigenobu S, Hasebe M, Toyoda A, Suzuki Y, Sugano S, Shibayama K, Kobayashi I. Networking and Specificity-Changing DNA Methyltransferases in *Helicobacter pylori*. Front Microbiol. 2020 Jul 17;11:1628.

11) Rimbara E, Suzuki M, Matsui H, Nakamura M, Morimoto M, Sasakawa C, Masuda H, Nomura S, Osaki T, Nagata N, Shibayama K, Tokunaga K. Isolation and characterization of *Helicobacter suis* from human stomach. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 Mar 30;118(13):e2026337118.

12) Park J-H, Yamaguchi T, Ouchi Y, Koide K, Mori S, Kim H, Mukai T, Nakajima C, Suzuki Y. WQ-3810 inhibits DNA gyrase activity in ofloxacin-resistant *Mycobacterium leprae*. J Infect Chemother. 2020；26(4):335-342.

13) Chang SF, Chen CN, Lin JC, Wang HE, Mori S, Li JJ, Yen CK, Hsu CY, Fung CP, Chong PC, Leng CH, Ding YJ, Chang FY, Siu LK. Truncated pneumolysin from *Streptococcus pneumoniae* as a TLR4-antagonizing new drug for chronic inflammatory conditions. Cells. 2020 May 9;9(5):1183.

14) Kawahara R, Watahiki M, Matsumoto Y, Uchida K, Noda M, Masuda K, Fukuda C, Abe Y, Asano Y, Oishi K, Shibayama K, Shinomiya H. Subtype screening of *bla*$_{IMP}$ genes using bipartite primers for DNA sequencing. Jpn J Infect Dis. 2021 Mar.

15) Hirabayashi A, Ha VTT, Nguyen AV, Nguyen ST, Shibayama K, Suzuki M. Emergence of a plasmid-borne tigecycline resistance in *Klebsiella pneumoniae* in Vietnam. J Med Microbiol. 2021 Mar;70(3)

16) Shin JH, Mizuno S, Okuno T, Itoshima H, Sasaki N, Kunisawa S, Kaku M, Yoshida M, Gu Y, Morii D, Shibayama K, Ohmagari N, Imanaka Y. Nationwide multicenter questionnaire surveys on countermeasures against antimicrobial resistance and infections in hospitals. BMC Infect Dis. 2021 Feb 27;21(1):234.

17) Hirabayashi A, Yahara K, Kajihara T, Sugai M, Shibayama K. Geographical distribution of Enterobacterales with a carbapenemase IMP-6 phenotype and its association with antimicrobial use: An analysis using comprehensive national surveillance data on antimicrobial resistance. PLoS One. 2020 Dec 17;15(12):e0243630.

18) Tsuzuki S, Akiyama T, Matsunaga N, Yahara K, Shibayama K, Sugai M, Ohmagari N. Improved penicillin susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* and increased penicillin consumption in Japan, 2013-18. PLoS One. 2020 Oct 22;15(10):e0240655.

19) Kajihara T, Yahara K, Hirabayashi A, Shibayama K, Sugai M. Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS): Current Status, International Collaboration, and Future Directions for a Comprehensive Antimicrobial Resistance Surveillance System. Jpn J Infect Dis. 2021 Mar 24;74(2):87-96.

20) Kajihara T, Yahara K, Stelling J, Eremin SR, Tornimbene B, Thamlikitkul V, Hirabayashi A, Anzai E, Wakai S, Matsunaga N, Hayakawa K, Ohmagari N, Sugai M, Shibayama K. Comparison of de-duplication methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance. PLoS One. 2020 Jun 26;15(6):e0228234.

21) Yamagishi T, Matsui M, Sekizuka T, Ito H, Fukusumi M, Uehira T, Tsubokura M, Ogawa Y, Miyamoto A, Nakamori S, Tawa A, Yoshimura T, Yoshida H, Hirokawa H, Suzuki S, Matsui T, Shibayama K, Kuroda M, Oishi K. A prolonged multispecies outbreak of IMP-6 carbapenemase-producing Enterobacterales due to horizontal transmission of the IncN plasmid. Sci Rep. 2020 Mar 5;10(1):4139.

22) Tsuzuki S, Matsunaga N, Yahara K, Gu Y, Hayakawa K, Hirabayashi A, Kajihara T, Sugai M, Shibayama K, Ohmagari N. National trend of blood-stream infection attributable deaths caused by Staphylococcus aureus and *Escherichia coli* in Japan. J Infect Chemother. 2020 Apr;26(4):367-371.

2. 和文発表

1) 宇治田凪紗、松原康策、磯目賢一、岩田あや、竹川啓史、佐々木裕子、大楠美佐子、石和田稔彦. β ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性のｆ型インフルエンザ菌による侵襲性感染症:5 歳小児例、日本感染症学雑誌、95（2）：137−140、2020

2) 加藤はる、妹尾充敏. 日本の *Clostridioides difficile* 感染症の分子疫学. 日本臨床微生物学会誌 2021. 31: 10-18.

3) 岩城正昭. コリネバクテリウム・ウルセランス感染症 - ジフテリア類似の人獣共通感染症. ヒトと動物の共通感染症研究

会ニュースレター 2020. 19 (2020.8), 8-10.

4) 柴山恵吾. 輸入感染症 耐性菌を中心に、検査と技術、48(7):684-687(2020 年 7 月)

Ⅱ. 学 会 発 表

2. 国内学会

1) 花輪智子、蒲地一成、桑江朝臣、阿部章夫、米澤英雄、大崎敬子、北条史、神谷茂、三戸部治郎. 百日咳菌の浮遊菌およびバイオフィルム形成菌から分泌されるメンブレンベシクルに含まれる病原因子の解析. 第 94 回日本細菌学会総会（オンライン開催）、2021 年 3 月

2) 高柳光佑、上霜剛、鬼岡萌、久保田眞由美. *Haemophilus influenzae* serotype a による侵襲性重症感染症の一症例. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021.1.29

3) 見理剛. *Mycoplasma pneumoniae* ワクチンの開発は可能か. 日本マイコプラズマ学会第 47 回学術集会、2020 年 5 月（誌上開催に変更）

4) 妹尾充敏. *Clostridioides difficile* 感染症に対する DNA ワクチンの開発. 第 94 回日本感染症学会学術講演会、シンポジウム 25「*Clostridioides difficile* 感染症における新知見」、オンライン. 2020 年 8 月

5) 岩城正昭. コリネバクテリウム・ウルセランス. 第 94 回日本感染症学会学術講演会、シンポジウム 33「症例から学ぶ感染症セミナー」症例 2、オンライン、2020 年 8 月

6) 岩佐和樹、加藤はる、妹尾充敏、的野多加志. *Clostridioides difficile* 菌血症を伴う劇症型偽膜性腸炎を救命し得た要因の検討. 第 94 回日本感染症学会学術講演会、オンライン、2020 年 8 月

7) 岩城正昭. コリネバクテリウム・ウルセランス感染症. 第 6 回国立国際医療センター・感染研共催 人獣共通感染症講習会、2020.12-2021.3、オンライン.

8) 柴山恵吾. JANIS. その到達点と今後の展開、第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2020 年 10 月 22 日、オンライン

9) 柴山恵吾. 多剤耐性菌感染症-世界の動向. 日本の疫学-行政の立場から、第 94 回日本感染症学会学術講演会、2020 年 8 月 21 日、オンライン

10) 柴山恵吾. 地方衛生研究所との連携促進-国立感染症研究所序の責任と関わり. 第 94 回日本感染症学会学術講演会、2020 年 8 月 19 日、オンライン

3. その他（紀要・ホームページ等）

1) 感染症の話「ジフテリアとは」更新 https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/411-diphteria-intro.html

2) 感染症の話「破傷風とは」更新 https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/466-tetanis-info.html

3) 感染症の話「ボツリヌス症とは」更新 https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/7275-botulinum-intro.html

4) 病原体検出マニュアル「ジフテリア」の更新 https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Diphteria20201106.pdf

5) 病原体検出マニュアル「破傷風」の更新 https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/tetanus20201211.pdf

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などの腸管寄生性の原虫、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、アカントアメーバ等自由生活性アメーバを含む単細胞真核生物である原生生物による感染症と、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、トキソプラズマの感染機構や植物様代謝経路の解明を行った。同時に、原虫特異的代謝経路を標的とした創薬研究を行った。また、自由生活性アメーバの起こす角膜炎ならびにこれに媒介される細菌感染症に関する疫学・分子疫学・病因学的な研究を行った。

第二室においては、食品由来寄生蠕虫症（アニサキス症、肺吸虫症）、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調査を進めた。さらに、国内外の医療研究機関から送付された臨床検体については、血清検査ならびに遺伝子検査などを行い、診断のサポートを行った。

第三室ではマラリアやシャーガス病など、海外からの流入が問題とされる寄生虫症の病原・免疫機構に関する基礎的研究や診断・対策に関わる応用研究、寄生原虫の薬剤耐性に関する研究を実施している。特に、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進めた。また、これらの寄生虫症の診断や治療に関する相談にあたるとともに、熱帯地域を中心として問題となっている外来寄生虫症防疫のため、国内連携の強化と、国際連携の強化を積極的に行っている。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。

部長室では、原虫と蠕虫に対する宿主応答の研究を行なっている。特に、マラリアの最大の死因である脳マラリアの病態の解析に関わる免疫系の関与、腸管寄生性蠕虫の免疫回避機構およびそれに派生する宿主免疫応答抑制のメカニズムに関して精力的に解明を進めている。

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、再任用職員として杉山広、客員研究員として山﨑浩、山本徳栄、川中正憲、大前比呂志、荒木潤、小川和夫、加瀬哲男、野地元子、高宮信三郎，熊澤秀雄，記野秀人、川中正憲、野崎智義、荒井俊夫、協力研究員として渡辺恒二、柳川泰昭、川原史也、松崎素道、岡本憲明、荒川京子、別所知明、竹内直志、二瓶浩一、黒滝大翼、Ghulam Jeelani、Herbert Santos、 Koushik Das、 脇本優司、小林正規、吉田奈穂子、川合覚、岡本宗裕、小林航路、石川敬、吉冨徹、林恭子、渡辺菜月、長谷川光子、坂西梓里、流動研究員として花館有希、研究生・実習生として、福本準平、村上正樹、谷口傑、Dwi Peni Kartikasari、窪田理恵、Nguyen Thi Nga、高木綾湖、多久和泉、川瀬航が在籍し、研究等に従事した。任期付き研究員として荒木球沙、Olia Alex、非常勤職員として伊藤薫平、梅木優子、臨時研究補助員として下河原理江子、中曽根英子、賀川千里、山本郁代、荒井絢子、長谷川早悠里、原史絵、立石祐樹が在籍し、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)国内赤痢アメーバ症検査整備の取り組み

2017 年末以降、保険適用可能な赤痢アメーバ症の検査が顕微鏡検査に限定された状況にある中で、赤痢アメーバ症の届出数が顕著に低下している(特に重篤化するアメーバ性肝膿瘍を主とする腸管外アメーバ症)。診断のための検査を行わず適切な治療に支障が生じている恐れもある事態と考えられ、検査法を整備することでこの問題解決に取り組んでいる。これまで新たな抗原検出キットを用いた検査法評価に関し遺伝子検査の面から研究協力を進め、2021 年本抗原検出法が保険収載の予定である。一方、抗体検査の保険再適用を目指すべく、新たに ELISA 系を利用した抗体検査法の評価も進めており、遺伝子検査の面からデータ収集を進めている。

[八木田健司、下河原理江子、柳川 泰昭、渡辺恒二(国立国際医療研究センター)]

(2)バラムチア脳炎の診断法開発

バラムチア脳炎診断法開発に関しては、抗原検出法としてビオチン-アビジン系による ELISA 開発をすすめ、100cell 相当タンパク/ml の検出感度を得ている。臨床的には微少アメーバの検出を要するとの判断から、診断用検体としてはアメーバ濃度が最も高いと想定される髄液の利用を考えているが、実用的使用にはさらなる高感度化を要すると考えられる。また ELISA 系と同様の抗体を用いたイムノクロマトでは、アメーバライセートに対する明瞭なバンド検出をみている。いずれの検査法にしても、臨床検体を用いて実用性を検証する必要がある。

[八木田健司、花館有希]

(3)省力化配管洗浄法の開発と営業施設における実地試験

公衆浴場等における自由生活性アメーバやレジオネラ属菌の汚染を低減するには、消毒だけでなく、定期的な洗浄が必要になる。ろ過器や配管はブラシを使った物理的な洗浄ができず、過酸化水素や過炭酸ナトリウムを使用した化学的な洗浄を行っている。しかし、これらの物質は劇物や危険物であり、多量の薬剤を使っての頻回な洗浄は容易ではなかった。本研究では使用する薬剤量の低減を目的として、過炭酸ナトリウムに助剤を併用する新規の洗浄方法に着目した。バイオフィルム中の金属によるフェントン反応により、従来より少ない薬剤量でも効率よくバイオフィルムの除去が可能になると期待された。最初にステンレス製試験片上に生成したバイオフィルムを効率よく除去できる洗浄条件を検討し、次に営業 4 施設の協力を得て、最適条件による新規の洗浄方法を試行した。薬剤の使用量が重量にして従来の 3 割と低減したにも関わらず、9 割以上の微生物が除去される洗浄効果が得られた。洗浄後のすすぎの回数も多くなく、従来より少ない労力で洗浄することが可能となった。本洗浄方法の活用により、洗浄頻度の向上、浴場施設の衛生の向上が期待される。

[泉山信司、長岡宏美 (静岡県環境衛生科学研究所)、柳本恵太 (山梨県衛生環境研究所)、森康則、永井佑樹 (三重県保健環境研究所)、枝川亜希子 (地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所)、山本哲司、細川賢人、田中孝典 (花王株式会社)、杉山寛治、田中慶郎(株式会社マルマ)、市村祐二、茶山忠久 (ケイ・アイ化成株式会社)、藤井明 (株式会社ヘルスビューティー)、斎藤利明 (株式会社ヤマト)、小坂浩司 (国立保健医療科学院)、前川純子 (細菌第一部)]

(4)弱酸性の人工炭酸泉へのモノクロラミン消毒の適用

公衆浴場等における自由生活性アメーバやレジオネラ属菌の汚染への対策として、浴槽水の消毒に使われるモノクロラミンは、pH の酸性条件下で臭気のあるジクロラミンへ変化する可能性が心配されたことから、これまでのところアルカリ性や中性の泉質に適用され、酸性での適用事例がなかった。一方の遊離塩素消毒は、pH5 程度の弱酸性、例えば人工炭酸泉に用いられており、同じ塩素系の消毒方法であるモノクロラミンは、同程度の弱酸性に適用できるかもしれない。現状、アルカリ性と酸性の浴槽が同一施設内にあるなどして、モノクロラミン消毒と遊離塩素消毒を併用する場合、両消毒方法の混入によりジクロラミンやトリクロラミンによる臭気の発生する恐れがあり、2 つの消毒の併用は避けたい。そこで、弱酸性の浴槽水にもモノクロラミン消毒が適用できないか検討した。まず、pH3～8 に調整した緩衝液中でモノクロラミン濃度 3 mg/L の安定性を比較したところ、pH3～4 では濃度が減少したが、pH5～8 では添加 10 分後も濃度が安定して維持されていた。次に、営業施設の人工炭酸泉、3 施設の計 4 浴槽におい

て、終濃度 3 mg/L 以上に維持したモノクロラミン消毒の効果を検証した。週 1 回の換水・配管洗浄前の細菌検査では、いずれの浴槽水からもレジオネラ属菌は検出されず、モノクロラミン消毒時に増殖の報告がある、従属栄養細菌数の増加もなかった。うち 2 浴槽ではフローサイトメトリーによる全菌数検査も行い、浴槽水が適正に消毒されているとの結果を得た。これまでの営業施設におけるモノクロラミン消毒の実施と同様に、入浴者からの臭気等に関する苦情もなかった。以上の結果から、これまで適用されていなかった pH5 までの弱酸性にも、臭気を発生させることなくモノクロラミン消毒が利用可能であること、レジオネラ属菌だけでなく、従属栄養細菌数の増殖を抑制できることが示唆された。

［泉山信司、長岡宏美（静岡県環境衛生科学研究所）、田栗利紹（長崎県環境保健研究センター）、杉山寛治、田中慶郎（株式会社マルマ）、市村祐二、茶山忠久、青木信和（ケイ・アイ化成株式会社）、前川純子（細菌第一部）］

2. 蠕虫症診断法・検出法の開発

（1） 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検討（続報）

わが国で発生した旋毛虫食中毒の原因物質である *Trichinella* T9 の幼虫に対して、75℃で 1 分間の加熱（厚労省が野生鳥獣の安全な喫食に求める条件）を直接的に加えた上で、好適終宿主のマウスに経口投与したところ、一部の幼虫はマウスに感染するとの結果が得られたことから、この成績を追試験した。その結果、同様の実験系では同じく本虫のマウスへの感染性が完全には消失しないことが追認された。本虫の幼虫に対して直接的に 75℃、1 分間の加熱を加えるのではなく、野生鳥獣肉の調理時と同様の条件で虫体に熱を加え、耐性を検討して、現状の加熱条件で旋毛虫食中毒の発生が予防できるか否かを、さらに確認する必要があると示唆された。［杉山 広、森嶋康之、村上正樹、常盤俊大（日獣大）］

（2）有鉤嚢虫症イムノクロマトキットの開発

大腸菌発現系で作成した遺伝子組換え抗原を検討したが、糖鎖を欠くことが感度低下の原因と考えられので、糖鎖を有する組換え抗原を作成するため、カイコ-バキュロウイルス発現系を試みた。人工的に合成したアジアと中南米の有鉤嚢虫抗原（以下、CL1 と CL2）遺伝子をそれぞれ組込んだ 2 種の Bacmid DNA を作成し、これらをバキュロウイルスに導入して組換えバキュロウイルスを作成した。次に組換えバキュロウイルスを *in vitro* 培養して増殖させ、培養液より回収したバキュロウイルスをカイコ幼虫に接種して遺伝子組換え CL1 と CL2 を発現させた。両抗原とも不溶性蛋白質として発現したため、尿素で可溶化したのち、His-Tag アフィニティ-クロマトグラフィを用いて精製した。得られた抗原は純度検定で両抗原とも分子サイズ 30～35 kDa の範囲に複数成分として精製され、これは付加された糖鎖の違いによるものと考えられた。

［山﨑 浩、森嶋康之］

（3）寄生蠕虫の遺伝子検査

寄生蠕虫症における原因種の正確な鑑別や同定は、確定診断の根拠を与え、適切な治療を行うためにきわめて重要である。しかし、形態学的鑑別は、形態が類似した寄生虫の鑑別に高度な専門知識が要求される。さらに虫体が変性、あるいは石灰化した場合には、寄生虫の形態的特徴が失われ、同定・鑑別は一層困難となる。そこで、遺伝子解析に基づき寄生虫種を同定・鑑別する方法が最も正確であるために、臨床検体を研究材料として、網羅的な遺伝子鑑別法の確立も目的として実施してきた。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。材料は国内外から検査依頼目的で送付された臨床検体とし、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］

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）耐塩素性病原微生物の顕微鏡検査を遺伝子検査で補い、浄水場の対策に反映された例

水道におけるクリプトスポリジウム等の耐塩素性病原微生物の検査は、水道原水 10L 中のわずか 1 つを顕微鏡で検出する、容易ではない検査が行われている。ある河川水原水では、上流に民家や畜産施設がほぼ無く、クリプトスポリジウムやジ

アルジアの検出がないとされてきたが、特異蛍光抗体で染色されるジアルジア大の粒子が観察されていた。その粒子は、従来の鑑別基準での核の配置とは異なっていたので、ジアルジアとは判断されていなかった。遺伝子検査を行うと RT-PCR が陽性となり、げっ歯類で報告のある *Giardia microti* の塩基配列が得られた。その塩基配列はヒトでの感染報告例が見当たらず、直ちに高いリスクが生じるとは言われずに済むようであった。取水地点より上流を調査すると、河川水と野生のネズミの糞便から同じ塩基配列が検出された。河川の過去の冷凍試料にさかのぼって検査すると、時々の試料からクリプトスポリジウムの RT-PCR 陽性と塩基配列が得られた。耐塩素性病原微生物の排出源が想定外に明らかとなったことから、免疫不全等の健康弱者が感染し重篤化する可能性、ヒトで感染する種や株が野生動物の間で流行する可能性を考慮し、浄水処理の徹底、すなわちろ過池の濁度の監視や洗浄の徹底と、紫外線処理の導入といった対策が行われた。以上は遺伝子検査を併用して顕微鏡検査の結果を補い、野生動物由来の糞便汚染とジアルジアの流行を検知し、浄水場の対策に反映することで、水道水質の向上に資することのできた例であった。

［泉山信司、鎌田智子（神奈川県内広域水道企業団）、古川紗耶香（青森市企業局）、藤瀬大輝（川崎市上下水道局）、橋本温（県立広島大学）、黒木俊郎（岡山理科大学）、井上亘（神戸大学）、中嶋直樹（神奈川県衛生研究所）］

(6) 日本におけるトキソプラズマの分子疫学

ア. 日本の先天性トキソプラズマ症患者由来原虫の分離と解析

日本の先天性トキソプラズマ症由来の原虫株の分離に成功した。これは日本での由来の明らかな初の分離報告となる。生後 9 日の患児から採取された髄液を用いて分離を試みた。母体の妊娠中に抗体陽転化が認められ、児は頭蓋内石灰化、脳室拡大、両網脈絡膜炎があり、トキソ IgM 陽性が確認されていた。なお、母親の妊娠 1 年前以降の海外渡航歴はなかった。採取された検体を用いて PCR 検査を行い陽性を確認すると共に、残余検体をバイオアッセイの一環としてあらかじめデキサメサゾン投与されたマウスに接種した。接種 2 週間後、腹腔洗浄液を採取し Human foreskin fibroblast 培養中に添加し共培養した結果、原虫株の確立に成功した。この間、同一原虫はマウスでも維持されていたが、マウスに対する病原性は弱いように思われた。得られた株からゲノム DNA を精製し、Ilumina Hiseq を用いて全ゲノム配列を決定した。得られた配列を、既知の全世界の分離株のゲノムと比較した結果、本分離株は日本で見出された特異な遺伝型ではなく、欧米で広く認められる Type II と同一のものであると思われた。現在、全ゲノム配列とマウスに対する病原性についてより詳細な解析を行っている。

［川原史也、松崎素道、永宗喜三郎、山元佳（国立国際医療研究センター）、兼重昌夫（国立国際医療研究センター）、丸山治彦（宮崎大学）］

イ. 日本由来トキソプラズマのゲノムワイド SNPs 解析

トキソプラズマは非常にクローナルな生物であり、世界中で 16 の遺伝型（ハプロタイプ）の存在が知られており、またハプロタイプと地理的分布や病原性が非常に相関していることも報告されている。我々は最近、日本のトキソプラズマは世界の他の地域とは異なる独自の進化を遂げている可能性を見出した。そこで日本由来トキソプラズマを多数分離して全ゲノム配列を決定、さらに病原性を調べることにより、日本におけるトキソプラズマの特異性の調査を試みている。これまでにゲノム情報を得た日本分離株 12 株のうち大部分は日本特有の新奇な集団に属しており、欧米で知られている遺伝子型は HG2 と HG3 が 1 例ずつに過ぎなかった。このことは、日本におけるヒトおよび家畜のトキソプラズマ症の臨床像を議論する上で、これまで欧米で蓄積された遺伝子型や病原性ついての知見だけでは不足することを意味する。今後はさらなるサンプリングを進めるとともに、日本分離株それぞれの特性を明らかにしていく必要性があると考えられる。

［川原史也、松崎素道、永宗喜三郎］

(7) 日本におけるトリコモナスのメトロニダゾール耐性の疫学調査

嫌気性の原虫トリコモナスによる性感染症は、わが国では感染症法の届出対象外であるため、国内流行状況は把握が困難である。しかしトリコモナス膣炎は典型的な性感染症であり、日本人の婦人科領域の感染症の多くを占める。トリコモナス症の治療には、嫌気性原虫に有効なメトロニダゾールが国内外で使用されているが、世界ではメトロニダゾール抵抗性原虫の出現の報告がある。わが国のメトロニダゾール抵抗性トリコモナスの流行状況を明らかにするために、研究協力者の医

師が所属する医療機関から患者検体を受け入れ、トリコモナスの感染の有無を確認すると共に、純粋培養株の立ち上げを開始した。先ず、産婦人科を受診し細胞診を受ける女性患者を対象に、インフォームドコンセントを得た後、患者検体を採取した。検体からのトリコモナス感染の有無は、トリコモナス培地での培養、培養コロニーの鏡検、原虫 rRNA 遺伝子を標的とする PCR ならびに増幅断片の配列決定で確定診断を行った。メトロニダゾール感受性試験の *in vitro* でのトリコモナス原虫の生死の判定には、これまで論文で報告されている鏡検での原虫の運動性の有無ではなく、生細胞が産生する NADH を定量的に測定可能な WST-1 試薬を利用する条件検討を行なった。

［中野由美子、梅木優子、下川周子、久枝一、小林浩一（東京山手メディカルセンター）］

2. 蠕虫症等の寄生虫症の分子疫学的研究・調査

（1）北東北 3 県のツキノワグマおよびイノシシにおける旋毛虫の寄生状況調査

北東北 3 県で捕獲されたツキノワグマ 22 頭について、旋毛虫の寄生状況を調べたところ、岩手県で 2020 年 12 月に捕獲されたツキノワグマ 1 頭の舌から、旋毛虫 *Trichinella* T9 の幼虫が検出された。その他の検体は旋毛虫陰性であった。秋田県から提供を受けたイノシシの検体・5 頭分も同様に検査したが、旋毛虫陰性であった。

［杉山 広、森嶋康之、村上正樹、常盤俊大（日獣大）］

（2）ウェステルマン肺吸虫の待機宿主であるイノシシやシカの感染源調査

肺吸虫症は現在も症例報告が続くわが国では重要な食品媒介寄生虫症で、九州南部では第二中間宿主の淡水産のカニよりも、待機宿主であるイノシシやシカの肉が、人への感染源として重要である。そこで本虫の陽性イノシシおよび陽性シカが生息する鹿児島県の小河川で、本虫の第二中間宿主であるサワガニとモクズガニを採集し、本虫メタセルカリアの寄生状況を調べた。その結果、本虫メタセルカリアはいずれの種類のカニからも検出され、イノシシやシカの感染源になると考えられた。カニからの肺吸虫の検出は、獣肉からの検出より容易である。そこで淡水産カニの検査が、待機宿主の検査に代替できないか、検体数を増やして検討したいと考えている。

［杉山 広、森嶋康之、坂西梓里、川上 泰（麻布大）］

(3) 富山県で発生したアニサキス食中毒事例に由来する虫体の分子同定

富山県で 2018 年 1 月から 6 月の間に発生したアニサキス食中毒事例の特徴と、事例由来の虫体 29 隻の分子同定結果を解析した。各事例からはアニサキス虫体が 1 隻ずつ胃より検出された。原因食品と推定された魚種は、サバが 10 件と最も多く、次いでカツオとアジが各 2 件、イワシとブリが各 1 件ずつであった（残りは原因魚種不明）。虫種の同定結果は、27 件が *A. simplex* sensu stricto（狭義の *A. simplex*、以下 *As*）、2 件が *A. pegreffii*（以下 *Ap*）で、*Ap* が検出された 2 件の原因食品はアジ（刺身）と推定された。アニサキス食中毒は *As* を原因とする事例が極めて多く、*Ap* による症例は少数に留まる。そこで富山湾で漁獲されたアジの筋肉から、*Ap* がどの程度検出されるのか、アジの危険性を推定する検討を現在進めている。

［綿引正則、内田薫、金谷潤一、加藤智子、木全恵子、磯部順子、大石和徳（富山衛研）、東崎香奈（富山県厚生部）關口健治、堀田 和（富山県新川厚生センター）、森嶋康之、杉山 広］

（4）南米に分布する肝臓寄生の吸虫に関する検討：*Amphimerus* 属肝吸虫の第 1 中間宿主の決定

後睾吸虫科の *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の中に感染者を認める。同国中西部の流行地での調査では、Ancha と呼ばれる小型淡水魚 *Rhoadsia altipinna* に多数の本虫メタセルカリアが高率に検出された。しかも住民はこの淡水魚を非加熱で常食することから、この魚種が本虫の第二中間宿主であると考えた。しかし第一中間宿主は不明であったので、本虫メタセルカリア陽性の淡水魚 Ancha が多数生息する集落の河川で、4 種類（4 属）の貝を採集し、破砕してセルカリア寄生の有無を調べた。その結果、*Aroapyrgus* 属の貝から、眼点を持つ長尾セルカリアが検出された。このセルカリアを出発材料に、リボソーム DNA・ITS2 領域の塩基配列を解読したところ、*Amphimerus* 属成虫やメタセルカリアに由来する ITS2 領域の配列と一致した。*Aroapyrgus* 属の貝が本虫の第一中間宿主であることが分かった。今後は本虫セルカリアの詳細な形態観察と貝にお

ける本虫寄生状況の解析（地域差・季節変動）に取り組む予定である。

［杉山 広、高木秀和（愛知医大）、マヌエル・カルボピーナ（アメリカ大・エクアドル）］

（5）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。2020 年度は本症定着の中心と考えられるコアエリア隣接の地域から新規に陽性 1 例を検出した。

［森嶋康之、八木欣平（北海道立衛生研究所）、塚田英晴（麻布大学）］

III. 分類・同定・臨床

1. バラムチアによるアメーバ性脳炎の感染マウスモデル

バラムチアによるアメーバ脳炎の病態解析を目的に経鼻感染マウスモデルを作成すすめている。経鼻感染で正常マウス（C57BL/6J）が明確な抗バラムチア IgG 増加を示したことから、体内の各臓器について免疫染色を含む顕微鏡観察、定量 PCR 検査によるアメーバ検出を試みたが、アメーバは検出されなかった。発症モデルを目標に、さらに高濃度感染試験を行い、前試験時よりも高い IgG の上昇と体表変化（部分的脱毛）をみたが脳炎発症には至らなかった。現在組織学的なアメーバ解析を進めている。マウスの免疫学的な特性を考慮し、Th1 支配的とされる C57BL/6 マウスと対照的な Th2 支配的マウスの BALB/c 系統での感染実験も進めている。

［花館有希、八木田健司］

2. 自由生活性アメーバ類とその共生体のヒトへの健康影響

ハウスダスト中に存在する自由生活性アメーバ類とその共生体 AAMs のヒトへの健康影響を調査、解析することを目的に、AAMs のヒト単球系細胞 THP-1 に対するサイトカイン産生作用を解析した。その結果、AAMs には THP-1 に対し、IL-1β、IL-6 および TNFα について *Legionella.pneumophila* と同等かそれ以上の産生反応を惹起するものがあり、AAMs 間でその産生反応には差があること、またサイトカイン産生の高い AAMs での THP-1 への細胞内感染性が示された。ハウスダスト中にはヒト免疫細胞に影響を及ぼし得る AAMs が存在し、AAMs が疾病負過のリスク要因として考慮すべき存在であることが示唆された。

［八木田健司］

3. 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。令和2年度に分離した肝膿瘍由来の臨床単離株を用いて、シリアンハムスターへの肝膿瘍感染実験で肝膿瘍形成能を確認した。また、in vitro 継代株と臨床単離株から回収した RNA を用い、RNAseq 解析を行った結果、臨床分離株間で異なる遺伝子発現パターンを示すことを明らかにした。現在、個々の遺伝子機能についての解析を行なっている。

［柳川泰昭、渡辺恒二（国立国際医療研究センター）、吉田菜穂子（順天堂大学）、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)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結果、その責任遺伝子候補として遺伝子 x を同定できた。さらに x にコードされているタンパク質の機能を解析するため、この遺伝子をノックアウトしたところ、ノックアウト原虫の宿主細胞への侵入効率およびマイクロネームタンパク質分

泌が減少し、増殖速度も有意に低下することが判明した。現在より詳細に表現型を解析している。
［高木綾湖、松崎素道、永宗喜三郎］

イ. トキソプラズマの新規ミトコンドリア・リクルート因子の同定

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)が、我々は MAF1 以外の別の誘導因子として ROP39 を同定した。本年度は ROP39 が宿主細胞内にどのように注入されるかを観察した。トキソプラズマをサイトカラシン D で処理し原虫の運動を止めたところ、ROP39 は他のロプトリータンパク質と同様、evacuoles とよばれる小胞に包まれた状態で宿主細胞に注入されていた。このことから ROP39 は他のロプトリータンパク質と同様、原虫の宿主細胞侵入に先立ち、原虫の侵入とは独立して分泌されることが明らかとなった。
［福本隼平（筑波大学）、永宗喜三郎］

(2) 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）。さらに若い赤血球と古い赤血球が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で取り込まれることを見出した。この変化が赤血球表面の糖鎖に依存したことから、この糖鎖結合分子として、Gal/GalNac 特異的レクチン170kDa サブユニット(Hgl)に高い相同性を示す分子を見出した。この分子とHglの遺伝子発現抑制株の樹立を目指したが、Hglは発現抑制ができず、糖鎖結合分子のみ発現抑制株を得た。しかし貪食効率は親株と同レベルであった。遺伝子抑制株樹立の可否からHglと糖鎖結合分子に大きな機能の違いがあることが示されたが、引き続き機能解析を行う。
［津久井久美子、野崎智義（東京大学）］

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 4-リン酸の局在

赤痢アメーバのイノシトールリン脂質について、細胞表面からのシグナル伝達に重要な phoshatidylinositol 4,5-diphosphate (PIP_2)の前駆体として重要であり、マクロファージで貪食との関連も示された phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P)の局在を解析した。抗 PI4P 抗体と特異的結合ドメイン(SidM)を融合した蛍光タンパク質(GFP-SidM)発現株で、PI4P が細胞核に集積することが示された。核内 PI4P は赤血球や CHO 細胞との共培養により消失したが、カルボキシル化ビーズの取り込み時には変化しなかった。また、放射線ラベルと薄層クロマトグラフィー解析から赤血球取り込みに伴い PIP と PIP_2 量の減少が観察されたが、抗 PIP_2 抗体による観察では貪食に伴う PIP_2 の変化は見いだせなかった。本研究は真核細胞で PI4P の核局在を可視化した初めての報告である。貪食標的接触依存的な PI4P の局在変化を起こす分子メカニズムの解明が必要である。
［渡辺菜月（東京大学）、野崎智義（東京大学）、前濱朝彦（神戸大学）、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、CPBF2 遺伝子発現抑制株で有意な侵入効率の低下を認めた。CPBF2 は α-amylase の一つを特異的にリガンドとするが、このマトリゲル侵入活性は酵素輸送受容体としての機能とは独立した現象であった。さらに CPBF2 遺伝子発現抑制株の解析から、有意な運動能力の低下と細胞辺縁における F-actin 形成の低下が観察された。CPFB2 遺伝子発現抑制株の転写解析で細胞骨格制御に関与する遺伝子の発現低下は観察されたが、主要な分子機構は明白ではない。また、CPBF2 が運動に関与する分子の輸送に関与する可能性もあり、さらなる分子機構の解明が必要である。
［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。このマーカー分子である Atg8 は赤痢アメーバにも保存されているが、これまでの解析から貪食胞に動員され、貪食胞の成熟に関与することが示されている。赤痢ア

メーバの 2 種類の貪食過程、即ち死細胞を丸呑みするファゴサイトーシスと生細胞をちぎりながら取り込むトロゴサイトーシスでは、取り込まれた細胞の分解過程が異なることが予想されている。そこでこれまで貪食胞への動員が知られている Atg8, レトロマー複合体の構成分子である Vps26, さらに phosphatidylinositol 3-phosphate (PI3P)のそれぞれの取り込み過程における局在と経時変化を検討した。CHO 細胞貪食後 10, 30, 60 分後の貪食胞への各分子の局在効率を検討したところ、ファゴサイトーシスとトロゴサイトーシスで Atg8, Vps26 の局在効率に変化は見られず、どちらの貪食様式でも Atg8 は 10 分後では 50%の貪食胞に局在するものの 30 分以降 15%以下に減少し、Vps26 は時間とともに 75、70、50%程度と緩やかに局在が減少した。一方 PI3P はトロゴ、ファゴサイトーシスそれぞれ 56, 40, 30%、 70, 60, 50%程度と、トロゴソームからの離脱が有意に早いことが示された。さらに Atg8 と PI3P の初期貪食胞での局在を観察すると、PI3P に先んじて Atg8 の動員が起こっていた。動物細胞で Atg8 は PI3P シグナルの下流でオートファゴソームへ conjugate されるため PI3P の後に Atg8 の局在が観察されるが、赤痢アメーバの貪食過程では異なる制御が示唆された。

［津久井久美子］

オ. 赤痢アメーバ Rab7D の機能解析

赤痢アメーバにおいて Rab7 は最も多様化している Rab 低分子量 GTPase であり、9 種類のアイソタイプがゲノムに存在する。今回未解明であった Rab7D の解析を行った。Rab7D の高発現株ではファゴサイトーシス、トロゴサイトーシス、貪食胞酸性化が阻害された一方、遺伝子発現抑制により逆の表現型を示した。さらに遺伝子抑制株はコラーゲンコートプレートへの接着や運動能力の低下が示された。Rab7D は細胞内で一部のリソソームやプレファゴソーム小胞へ局在したが、貪食胞への局在は観察されなかった。赤痢アメーバ Rab7 アイソタイプのアミノ酸配列を比較すると、エフェクター結合領域に Rab7D ユニークと思われるアミノ酸置換があった。以上より、Rab7D は貪食と貪食胞成熟を阻害し、接着や運動を促進する機能を、エフェクター結合領域へ結合する分子を介して発揮していると考えられた。通常 Rab 低分子量 GTPase は小胞輸送を制御するが、今回の解析から Rab7D は貪食に関与する細胞骨格系を負に、接着や運動に関与する細胞骨格系を正に制御するといった、細胞骨格制御に機能を持つことが示唆された。

［中野由美子、Ratna Wahyuni（東京大学, アイルランガ大学）、津久井久美子、富井健太郎（産総研）、野崎智義（東京大学）］

カ. 薬剤耐性赤痢アメーバの迅速単離法の開発

これまで薬剤耐性研究のためのツールとして、DNA 複製酵素の校正機能（error-prone）に変異を導入することにより、赤痢アメーバのミューテーター化に成功している。この赤痢アメーバのミューテーターの全ゲノム解析を行い置換の種類を計測したところ、プリン塩基・ピリミジン塩基間の置換である transition 変異は殆ど検出されず、プリン塩基→ピリミジン塩基あるいはピリミジン塩基→プリン塩基の変異である transversion 変異が検出され、変異の導入効率に隔たりが見られた。より効率的にミューテーターに変異を蓄積させるために、DNA 複製酵素の正確性 (fidelity) を担うアミノ酸にも変異を導入した三重変異 DNA 複製酵素を赤痢アメーバ内で発現させた。間接蛍光観察と細胞分画を行うことにより、三重変異の DNA 複製酵素も赤痢アメーバの核に局在できることを確認した。また、ウルソール酸に対する薬剤選択も可能であったことから、三重変異 DNA 複製酵素を発現させた新たなミューテーター株も薬剤選択に利用できることを示した。

［中野由美子、平井誠（順天堂大）、泉山信司、中曽根英子、Sandipan Ganguly (インド NICED)、野崎智義（東京大学）］

キ. 新規糸状菌代謝産物 ovalicin の赤痢アメーバにおける標的の探索

将来的なアメーバ赤痢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 のヒトMRC-5細胞への選択毒性は4500倍であり、230倍であったメトロニダゾールの選択毒性よりも20倍選択性に優れていた。ovalicinと似た構造を有するfumagillinは、methionine aminopeptidase (MetAP) が標的であると報告されている。そこで、赤痢アメーバのEhMetAPタンパク質を出芽酵母の発現系から精製した。人工基質を用いた生化学的活性測定系により、ovalicinがEhMetAPに対する阻害定数 K_i= 1.3 nMを求めた。OvalicinのEhMetAPの阻害様式は非可逆阻害であった。低濃度でもEhMetAPを阻害可能なovalicinは赤痢アメーバの創薬票的として有望である。

［森美穂子（北里大）、中野由美子、中曽根英子、柘植聡志、大村智、塩見和朗（北里大）、中野賢太郎（筑波大）、野崎智義（東京大学）］

ク. 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。ウルソール酸の薬効と耐性機序を理解するために、赤痢アメーバミューテーターからウルソール酸耐性株を単離した。限界希釈によりクローン化後、薬剤を除去しても耐性度が低下しないクローンを単離した。ウルソール酸耐性株は、DNA 複製酵素の fidelity を欠損させた新たに作出したミューテーターからも薬剤選択が可能であった。

［中野由美子、梅木優子、中曽根英子、Sanjib Kumar Sarder、Sandipan Ganguly（インド NICED）］

（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. マラリア原虫の核・オルガネラなどの増殖分子基盤の解明

マラリア原虫の増殖は、一細胞内に多数の核を有する「多核体形成」を行った後に、細胞分裂を行うユニークな増殖様式を行う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。また肝内型原虫における休眠と増殖期におけるオルガネラの制御機構の違いは、全く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、肝内型原虫において重要な役割を担う可能性のある新規推定ヒストンメチル化酵素遺伝子を見い出した。そこで、この新規推定ヒストンメチル化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過剰発現株の作製を行い、肝内型発育期において増殖速度などが野生株と明確に異なることが明らかとなった。また電子顕微鏡を用いた詳細な解析を実施し、核、ミトコンドリア、アピコプラストなど、原虫の増殖に重要な役割を担うことが考えられる各種オルガネラの三次元構造解析を実施しており、良好な結果が得られている。

［案浦健、荒木球沙、梅木優子、荒井絢子、原史絵、角田宗一郎（順天堂大）、立石祐樹、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い、トランジェントな NG2 の発現誘導に成功した。このトランジェントに NG2 を発現する細胞株を用いて、細胞に与える影響を検証したところ、培養細胞の増殖速度に影響を与えることが明らかとなり、NG2 を発現させ続けることによる輸送基質の同定などが困難であることが明らかとなった。今後、さらなる条件検討、異なる発現系の確立などを検討することで、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. 休眠期マラリア原虫の解析にむけた分子基盤の解明と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た。これらの実験系を用いて、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、更に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報告した。また更に本研究をさらに発展させるため、休眠期を有する *P. cynomolgi* に遺伝子導入を行うことで、恒常的に蛍光タンパク質を発現する原虫の作製を試みた結果、陽性原虫が得られた。今後、本原虫の詳細な表現型解析などを実施し詳細な解析を行った後に、各種の応用実験などにも用いることで、新薬開発・ワクチン開発の発展に付与する分子基盤の解明に貢献する。

［案浦健、荒木球沙、荒井絢子、原史絵、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］

エ．マラリア原虫のヒストン制御機構と分子基盤の解明

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。一方で、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。これまでに我々は、特にマラリア原虫の肝内型に特化した制御機構を、ヒストン修飾酵素の側から主に解析を実施してきたが、原虫の発育期の違いにより大きく異なることが明らかとなり、基質であるヒストン本体の詳細な解析が必要であることが示唆された。そこで、本研究ではマラリア原虫の全ての発育期が比較的容易に解析で、また遺伝子導入に関しても様々な手法を用いることができるネズミマラリア原虫を用いて、各種解析を展開した。これまでの解析から、マラリア原虫のヒストンは、一般的な真核生物のヒストンとはアミノ酸の保存性や2次構造において異なる箇所が複数存在することが明らかとなった。そこで代表的なヒストン分子に着目し、遺伝子導入によるタグ付加分子として発現させることを検討している。

［案浦健、立石祐樹、荒木球沙、荒井絢子、川合覚（独協医大）、久枝一］

オ．非ヒト霊長類を用いたマラリア病態機構の解明

マラリア原虫の感染に起因する重症マラリアの病態は、増悪化へのプロセスには様々な要因が複雑に関連することが示唆されているが、その詳細は未だ不明な点が多い。特に感染赤血球の接着分子などの原虫側の要因のみならず、サイトカインストームなどに代表される宿主側応答と複雑に関連することから、各種の実験動物を用いた感染 *in vivo* モデルの作製や解析が必要となる。そこで本研究では、ニホンザルやアカゲザルなどのマカク類のみならず、リスザル・ヨザル・マーモセットなどの新世界ザルを用いたマラリア感染実験、その病態機構の解明を試みた。各種の *in vitro* と *in vivo* における感染実験は、非常に良好な結果が得られており、現在、詳細な解析を行っている。今後、これらの新規マラリア感染モデルを用いた病態機構の解明のみならず、*in vivo* における新規化合物の抗マラリア効果の判定や新規ワクチン候補分子の効果を判定することで、より有益な実験系としての発展を試みる。

［案浦健、荒木球沙、立石祐樹、梅木優子、荒井絢子、長谷川早悠里、原史絵、川合覚（独協医大）、岡本宗裕（京大霊長研）、横田伸一（東大医科研）、真下知士（東大医科研）、水上修作（長大熱研）、久枝一］

カ．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

新規の抗マラリア対策のため、原虫を標的とした新規薬剤スクリーニングのみならず、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といったマルチアングルなアプローチにより、新規の候補化合物の検討を実施した。新規の抗原虫薬の開発を目指して理化学研究所と、宿主側の重症化機構の解明と候補化合物の検討を筑波大学とNIMS（国立研究開発法人　物質・材料研究機構）との共同研究として行った。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 5 種得ることができた。また全く新しい化合物を用いた実験から、マラリアの重症化を軽減できる可能性がある化合物が見出され、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。現在、本化合物が原虫の増殖に与える影響の詳細な解析と、マラリア感染時の宿主応答に与える変化の詳細な解析を展開している。

［案浦健、吉冨徹（NIMS）、林恭子、荒木球沙、中野由美子、梅木優子、多久和泉、長谷川早悠里、荒井絢子、菊地正樹（理研）、梅原崇史（理研）、長崎幸夫（筑波大）、久枝一］

キ．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。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 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ところ Arf1 と Rab1 GTPase を得た。Arf1 もしくは Rab1b の不活性型変異を発現させたところ、Arf1 変異でのみ AK2 の輸送が阻害され、AK2 の輸送には Arf1 の機能が必要であることを示した。一方で、Arf1 変異と Rab1b 変異は PEXEL を含む Rifin の感染赤血球への輸送も阻害した。以上の結果から、Rab5b と Arf1 が小胞体近傍から AK2 を特異的に寄生胞膜へと輸送することに加え、小胞体から離れた膜に局在する Rab1b が Rifin の輸送に関与することがわかった。本成果は初めて N-ミリストイル化タンパクの輸送制御を発見した報告となる。

［多久和泉、平井智浩 (筑波大学)、新澤直樹(医科歯科大学)、岩永史朗 (大阪大学)、牧内貴志 (東海大学)、案浦健、永宗喜三郎、野崎智義(東京大学)、中野由美子］

V. 免疫学的検討

1. 脳マラリアの病態形成に関わる宿主因子の探索

マラリアの死亡の原因の大部分は熱帯熱マラリアで見られる合併症の脳マラリアである。脳マラリアは感染のごく初期のマラリア原虫が少ない時期に発症することから、宿主の免疫応答も病態に関与していることが知られている。本研究では、脳マラリアの病態に関連する宿主因子を検討した。ウガンダで得た脳マラリア患者、軽症マラリア患者、健常者の血清サンプル中の 106 種の宿主タンパク質を、HQ-PLEX 法という蛍光ビーズとフローサイトメーターを用いる方法で網羅的に定量した。多くのタンパク質が感染により著しく増減していることがわかり、マラリアの炎症の強力さが見て取れた。その中でも、脳マラリア患者血清中で増加し、軽症患者や健常者で変化しない 28 のタンパク質を同定した。これらのいずれもが、脳マラリア患者の治療後の血清中では元のレベルに戻ることも確認でき、重症化因子あるいは脳マラリアのバイオマーカー候補であることを見出した。

これら分子に含まれるインターロイキン33 (IL-33)、Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)について、ヒトで得られた知見がマウスモデルでも見られるのか、また、脳マラリアの病態形成に関わっているのについて検討を行った。C57BL/6 マウスに *Plasmodium berghei* ANKA(PbA)を感染させると感染後 10 日ほどで中枢神経症状を呈し死に至り、脳マラリアモデルとなる。感染マウスでは血清中に IL-33、TSLP が検出されることはなかった。ついで、IL-33 欠損マウスおよび TSLP 欠損マウスに PbA を感染させたところ、野生型マウスと同様に脳マラリアを起こし、速やかに致死性となることが明らかとなった。以上の結果から、IL-33もTSLPも脳マラリアの発症にはほとんど関与しないことが明らかとなった。

［下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、案浦健、久枝一］

2. 腸管内寄生性蠕虫の宿主免疫変調効果の検討

腸管内寄生性蠕虫は、我々寄生虫学者の絶え間ぬ努力により、我が国を含め先進国で見られることはほとんどなくなった。一方で、衛生環境の向上による蠕虫感染症をはじめとする感染症との暴露の減少がアレルギー疾患などの炎症性疾患の増加の原因とする「衛生仮説」も広く認知されるようになってきた。中でも腸管内寄生性蠕虫は長期間に渡って無症候性感染を起こし、自らの生存のために宿主の排除機構を回避するため免疫を抑制することが知られており、衛生仮説の主役であることが想定されている。そこで、我々は腸管内寄生性蠕虫の炎症性疾患抑制効果をマウスモデルで検証することとした。

(1) 腸管内寄生性線虫 *Heligmosomoides polygyrus* の肥満抑制効果

Heligmosomoides polygyrus (Hp)はマウスの十二指腸に寄生する線虫で、症状を起こすことなく3ヶ月ほど寄生し続ける。近年、増加が著しい肥満は、脂肪組織での微小炎症が増悪因子であることが示され、炎症性疾患の一面を持つ。そこで、腸管寄生性蠕虫の肥満抑制効果およびそのメカニズムを検証するためにマウスに高脂肪食を与えるのと同時に Hp を感染させ、その影響を検討した。

Hp の感染は高脂肪食による体重増加、高脂血症、インスリン抵抗性を抑制したことから、肥満の防止に働くことが明らかとなった。Hp 感染マウスでは、1型マクロファージから2型マクロファージへの変換、2型自然免疫リンパ球の誘導が見られた。さらには、これらの2型免疫応答を誘導する IL-33 の発現が認めら、カロリー消費に必須であるミトコンドリアに存在する脱共役タンパク質 UCP1 の高発現も同様に増強していた。IL-

33 の高肥満作用を調べるために、IL-33 欠損マウスに高脂肪食を与えるとともに Hp を感染させると、2型応答、UCP1 の高発現が見られなくなり、体重増加が認められた。以上の結果から、Hp による肥満制御機構には IL-33 が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

［下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、久枝一］

（2）Hp の自己免疫性糖尿病の抑制効果

Hp の免疫抑制効果の一環として、自己免疫性糖尿病の抑制効果も検討した。前年度までに ストレプトゾトシン投与による自己免疫性糖尿病モデルにおいて、Hp が高血糖、インスリン値低下、膵臓ベータ細胞の破壊を抑えることを見出した。今年度は Hp による自己免疫性糖尿病を抑制するメカニズムを検討した。

Hp 感染マウスでは CD4+T 細胞(CD4Treg)、および CD8+制御性 T 細胞（CD8Treg）が増加していることが明らかになった。そこで糖尿病を誘導したマウスに Hp を感染させる前に CD4Treg、あるいは CD8Treg を除去し、これら細胞の関与を調べた。CD4Treg の除去では糖尿病を抑制する能力に変化はなかったが、CD8Treg を除去すると Hp の糖尿病抑制効果がなくなった。このことから CD8Treg の重要性が明らかとなった。さらに、Hp 感染による CD8Treg 誘導メカニズムを検討するために、腸管環境の主たる構成成分の1つである腸管内の代謝産物を網羅的に解析した。Hp が感染したマウスでは、多くの物質が増加していたが、最も増加していたのがトレハロースであった。トレハロースは、Hp 虫体が発現していることも見出した。トレハロースの重要性は、トレハロースを飲水投与することで、Hp と同様に、CD8Treg を誘導し糖尿病抑制効果を発揮することから明らかとなった。二糖類であるトレハロースが腸内細菌に作用することが知られており、Hp、さらにはトレハロースの糖尿病抑制効果に腸内細菌が関与していることが想定された。そこで、Hp 感染、あるいはトレハロース飲水と同時に抗生物質を投与し腸内細菌を除去することで、腸内細菌の関与を検討した。抗生物質を投与することで、Hp とトレハロースの糖尿病抑制効果は見られなくなったことから、腸内細菌の重要性が明らかとなった。中でもルミノコッカスの関与が大きいことも確認した。

ヒトにおいても同様の傾向があるのかの検討を目指した。本来であれば、寄生虫感染の有無で糖尿病患者の割合を調べるべきであったが、日本国内では寄生虫感染症がなく、困難であった。マウスにおいて Hp 感染で CD8Treg の増加により糖尿病を抑制したことから、糖尿病患者では CD8Treg が少ないのではないかとの想定のもと、患者血中の CD8Treg を解析した。小児糖尿病患者では健常者に比べて、明らかに CD8Treg が減少していた。これらのことから、自己免疫性の糖尿病の発症の一端に CD8Treg の減少があることが示唆された。

［下川周子、Olia Alex、伊藤薫平、久枝一］

（3）腸管内寄生性条虫 *Hymenolepis microstoma* の SLE 抑制効果

Hymenolepis microstoma（Hm）は頭節をマウスの胆管に吸着させ体節を小腸から大腸へと伸ばす条虫で、無症状で長期間に渡って寄生する。この条虫の免疫抑制効果も検討し、昨年度までに自然発症 SLE モデルである NZBWF1 マウスを用いて、Hm が自然発症 SLE を抑制することを見出した。NZBWF1 マウスは8ヶ月齢になると、自己抗体が出現し、タンパク尿などの腎症状を呈するようになり、10ヶ月齢程度になると死に至る。2ヶ月齢時に Hm を感染させるとほとんどの症状がみられず、80％近くのマウスが15ヶ月齢を超えても生存するようになる。

今年度は Hm の SLE の抑制メカニズムを検討した。まずは、SLE の原因となる自己抗体の産生に関わる B 細胞、さらには B 細胞を活性化する CD4+T 細胞のサブセットである Tfh について解析した。発症前の NZBWF1 マウスに比べて、発症したのちの高齢マウスでは活性化 B 細胞、形質細胞が著しく増加していた。また、Tfh も増加しており、活性化状態にあるものの割合も多かった。Hm を感染させた NZBWF1 マウスでは B 細胞、活性化形質細胞、活性化 Tfh の増加が顕著に抑制されていた。以上のことから、Hm は自己抗体産生に関わる一連の B 細胞系の活性化が起こらないことが示された。Hm の免疫抑制に制御性 T 細胞の関与が想定されたので、CD4+Treg と CD8+Treg の解析を行ったところ、Hm を感染させた NZBWF1 マウスでは非感染のマウスに比べて CD4+Treg と CD8+Treg の有意な増加が確認できた。今後、これらの細胞群の SLE 抑制での役割の詳細を検討する。

［Olia Alex、下川周子、伊藤薫平、久枝一］

3. アレルギーとしての胃アニサキス症の免疫学的解析

アニサキス症はアニサキス亜科(Anisakidae)の線虫の幼

虫による食品由来の寄生虫感染症である。アニサキス幼虫が感染しているアジやサバなどの生食により感染する。アニサキスを摂食後、数時間内に激しい心窩部痛、嘔吐、吐き気を呈する、胃アニサキス症が主な病態である。一方で、内視鏡による健診が一般的になったことで、無症候性のアニサキス感染も多く見られるようになった。アニサキス幼虫が胃壁に突き刺さっているにも関わらず、症状を出さないヒトがいるということである。また、胃アニサキス症を発症するヒトは繰り返し発症する。これらの事実は、胃アニサキス症がアレルギーである可能性を示唆するものである。アニサキスアレルギーのメカニズムを明らかにするために、まずはモデル動物の構築に着手した。

太平洋から水揚げされたサバの内臓からアニサキス幼虫を回収し、C57BL/6 マウス、BALB/c マウスの雄雌両方に各 2 隻ずつ感染させ、その後、胃内にアニサキス虫体が存在しているかどうかを確認した。すると、C57BL/6 マウスも BALB/c マウスも同様に感染 3 日後もアニサキス虫体が存在しており、性差も認められなかった。しかしながら、アレルギーモデルの重要な指標となる血中 IgE 濃度は BALB/c でより高値を示したため、今後の実験には全て BALB/c マウスを使用することにした。

次に、アニサキス虫体の分泌抗原(ES)を回収し、BALB/c マウスに週 1 回、合計 4 回免疫した。4 回目の免疫後、翌日にアニサキス虫体でチャレンジすると、免疫していないマウスと比べて、免疫したマウスでは脾臓や胃のサイズが大きくなり、細胞数も増加していた。さらに免疫細胞を詳細に解析すると、IgE 産生に関わる形質細胞が顕著に増加していることが分かった。形質細胞は形質芽細胞から分化する細胞であり、その分化には形質細胞様樹状細胞(pDC)が必須である。また、pDC は腸内細菌によって活性化することがこれまでに知られていたことから我々はアニサキスアレルギーの IgE 産生増加には腸内細菌が関与している可能性を考え、抗生物質を投与して一連の実験を行なった。すると、抗生剤を投与したマウスでは、IgE がさらに上昇することが明らかになった。これは、なんらかの腸内細菌によって IgE 産生が抑えられていることを示唆する結果であり、その腸内細菌を今後同定することで、アニサキスアレルギーの新規治療法、または予防法の開発が期待できる基礎データである。現在、アニサキスアレルギーのモデルマウスの腸内細菌叢を次世代シーケンサーで解析中である。さらに、免疫する物質を分泌抗原(ES)だけでなく粗抗原（CA）も加えて、さらなる解析を行なっている。

［下川周子、杉山 広、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 41 回衛生微生物技術協議会研究会に関連して寄生虫に関するレファレンスセンター会議をメールベースで行った。

［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として、台湾でアメーバ性角膜炎および環境中から分離されたアカントアメーバ株の系統解析とその共生細菌について解析を進めた。角膜炎由来 7 株、環境由来 4 株について遺伝子型を決定したところ、角膜炎はすべて T4、環境からは T3, T4, T5 が同定された。T4 は既知の高病原性の遺伝子型であり、角膜炎株から見出されたことはこれまでの報告と矛盾しない。角膜炎株のうち2株は共生細菌の存在が示唆されており、引き続き解析を進める。

［津久井久美子、Lau Jie Yu（陽明大学）、Dar-der Ji（陽明大学）］

リーシュマニアについては、外部の医療機関からリーシュマニアの検査依頼と診断についての相談を 1 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、後藤康之］

III. 蠕虫類のレファレンス活動

令和 2 年度には計 47 件の寄生虫症依頼検査があり、うち 34 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 16 件のうち、肺吸虫症とアニサキス症で各 3 件、有鉤嚢虫症と単包性エキノコックス症で各１件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 31 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 26 件が寄生虫で、 条虫：*Dibothriocephalus nihonkaiensis*（9）、*Taenia saginata*（8）、*Diphyllobothrium balaenopterae*（1）、*Taenia solium*（1）、線虫：*Anisakis simplex* sensu stricto （３）、 *Anisakis pegreffi* （２）、 *Enterobius vermicularis*（1）吸虫：*Parasgonimus westermani*（1）であった。

［森嶋康之、杉山 広、山﨑 浩］

研修業務・審議会など

「令和 2 年度水道におけるクリプトスポリジウム等検出技術に関するオンライン講座」国立保健医療科学院、令和３年２月

［八木田健司、泉山信司］

「トキソプラズマ症」動物由来感染症講習会、令和３年１月、オンライン

［永宗喜三郎］

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 原著論文、総説（欧文）

1) Shimokawa C, Kato T, Takeuchi T, Ohshima N, Furuki T, Ohtsu Y, Suzue K, Imai T, Obi S, Olia A, Izumi T, Sakurai M, Arakawa H, Ohno H, Hisaeda H. $CD8^+$ regulatory T cells are critical in prevention of autoimmune-mediated diabetes. Nat. Commun., 11 (1): 1922, 2020.

2) Ngo-Thanh H, Sasaki T, Suzue K, Yokoo H, Isoda K, Kamitani W, Shimokawa C, Hisaeda H, Imai T. Blood-cerebrospinal fluid barrier: another site disrupted during experimental cerebral malaria caused by *Plasmodium berghei* ANKA. Int. J. Parasitol., 50: 1167-1175, 2020.

3) Imai T, Suzue K, Ngo-Thanh H, Shimokawa C, Hisaeda H. Potential and limitations of cross-protective vaccine against malaria by blood-stage naturally attenuated parasites. Vaccines 8(3): 375, 2020.

4) Obi S*, Shimokawa C*, Katsuura M, Olia A, Imai T. Suzue K, Hisaeda H. IL-33 is essential to prevent high fat diet-induced obesity in mice infected with an intestinal helminth. Parasite Immunol., 42: e12700, 2020. (*equal contribution)

5) Olia A, Shimokawa C, Imai T, Suzue K, Hisaeda H. Suppression of systemic lupus erythematosus in NZBWF1 mice infected with Hymenolepis microstoma. Parasitol. Int., 76: 102057, 2020.

6) Araki T, Kawai S, Kakuta S, Kobayashi H, Umeki Y. Saito-Nakano Y, Sasaki T, Nagamune K, Yasutomi Y, Nozaki T, Franke-Fayard B, Khan SM, Hisaeda H, Annoura T. Three-dimensional electron microscopy analysis reveals endopolygeny-like nuclear architecture segregation Plasmodium oocyst development. Parasitol. Int., 76: 102034, 2020.

7) Aoki R, Sakakima T, Asuka O, hashi A, Niwa R, Matsuyama M, Etori F, Watanabe N, Yagita K, Tanaka T, A Japanese case of amoebic meningoencephalitis

initially diagnosed by cerebrospinal fluid cytology, Clin. Case Rep., 8(9):1728-1734, 2020.

8) Yanagawa Y, Shimogawara R, Endo T, Fukushima R, Gatanaga H, Hayasaka K, Kikuchi Y, Kobayashi T, Koga M, Koibuchi T, Miyagawa T, Nagata A, Nakata H, Oka S, Otsuka R, Sakai K, Shibuya M, Shingyochi H, Tsuchihashi EE, Watanabe K. and Yagita K, Utility of the Rapid Antigen Detection Test E. histolytica Quik Chek for the Diagnosis of Entamoeba histolytica Infection in Nonendemic Situations. J. Clin. Microbiol., 58(11):e01991-20, 2020.

9) Yanagawa Y, Nagata N, Yagita K, Watanabe K, Okubo H, Kikuchi Y, Gatanaga H, Oka S, Watanabe K. Clinical features and gut microbiome of asymptomatic Entamoeba histolytica infection. Clin. Infect Dis., ciaa820, 2020.

10) Kawano-Sugaya T, Izumiyama S, Yanagawa Y, Saito-Nakano Y, Watanabe K, Kobayashi S, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Near-chromosome level genome assembly reveals ploidy diversity and plasticity in the intestinal protozoan parasite Entamoeba histolytica. BMC Genomics. 21(1): 813, 2020.

11) Mori Y, Yanagimoto K, Yamamoto T, Nagai Y, Yoshimura H, Akachi S, Yamagami T, Uematsu K, Hisada Y, Nishio M, Yagi J, Izumiyama S, Initial Trials of Monochloramine Disinfection of Circulating Bathtub Water at Public Hot Spring Facilities and Determining its Efficacy. J Hot Spring Sci., 70:50-60, 2020.

12) Saito-Nakano* Y, Wahyuni, R*, Nakada-Tsukui, K*, Tomii, K, & Nozaki, T. Rab7D small GTPase is involved in phago-, trogocytosis and cytoskeletal reorganization in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. Cell. Microbiol., 23:e13267, 2021. (*equal contribution)

13) Nakada-Tsukui K*#, Marumo K* & Nozaki T#. A lysosomal hydrolase receptor, CPBF2, is associated with motility and invasion of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. Mol. Biochem. Parasitol., 239: 111299, 2020. (*equal contribution, #correspondence)

14) Watanabe N, Nakada-Tsukui K, Maehama T & Nozaki T. Dynamism of PI4-Phosphate during Interactions with Human Erythrocytes in *Entamoeba histolytica*. Microorganisms, 8; 1050, 2020.

15) Fukumoto J, Yamano A, Matsuzaki M, Kyan H, Masatani T, Matsuo T, Matsui T, Murakami M, Takashima Y, Matsubara R, Tahara M, Sakura T, Takeuchi F, Nagamune K. Molecular and biological analysis revealed genetic diversity and high virulence strain of Toxoplasma gondii in Japan. PLoS One, e0227749, 2020.

16) Taku I, Hirai T, Makiuchi T, Shinzawa N, Iwanaga S, Annoura T, Nagamune K, Nozaki T, Saito-Nakano Y. Identification of Arf1 as an N-myristoylated Rab5b GTPase associated protein: an Arf1-dependent transport of adenylate kinase 2 from the endoplasmic reticulum in *Plasmodium falciparum*, Front. Cell. Infect. Microbiol., 10: 610200, 2020.

17) Azofeifa BC, Segura VZ, Padilla FQ, Wielen EV, Solis FV, Iwaki T, Sugiyama H, Jimenez A, Acuna JAM. First report of the trematode *Platynosomum illiciens* (Trematoda: Digenea) in *Felis catus* in Costa Rica, Central America., J. Vet. Sci. (Rev Ciencias Veterinarias). 39:1-8, 2021.

18) Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Okamoto M. Current situation of human

Taenia asiatica taeniosis in Japan., Parasitol. Int. 83:102340, 2021.

19) Banzai A, Sugiyama H, Hasegawa M, Morishima Y, Kawakami Y. *Paragonimus westermani* metacercariae in two freshwater crab species in Kagoshima Prefecture, Japan, as a possible source of infection in wild boars and sika deer. J. Vet. Med. Sci. 83:412-418, 2021.

20) Kasahara S, Ohari Y, Jin S, Calvopina M, Takagi H, Sugiyama H, Itagaki T. Molecular characterization revealed *Fasciola* specimens in Ecuador are all *Fasciola hepatica*, none at all of *Fasciola gigantica* or parthenogenic *Fasciola* species., Parasitol. Int. 80, 102215, 2021.

21) Watahiki M, Uchida K, Kanatani J, KatoT, Kimata K, Isobe J, Oishi K, Tozaki K, Sekiguchi K, Horita Y, Morishima Y, Sugiyama H. Molecular identification of parasites isolated from the stomach of patients with *Anisakis* food poisoning in Toyama Prefecture, Japan, in 2018. Jpn. J. Infect. Dis., 74:85-86, 2020.

22) Liu GH, Sun MM, Elsheikha HM, Fu YT, Sugiyama H, Ando K, Sohn WM, Zhu XQ, Yao CQ, Human gnathostomiasis: a neglected food-borne zoonosis. Parasites Vectors 13:616, 2020.

23) Sugiyama H, Morishima Y, Kagawa C, Araki J, Iwaki T, Ikuno H, Miguchi Y, Komatsu N, Kawakami Y, Asakura H. Current incidence and contamination sources of ascariasis in Japan. Food. Hyg. Safety. Sci., 61:03-108, 2020.

24) Romero-Alvarez D, Valverde-Muñoz G, Calvopina M, Rojas M, Cevallos W, Kumazawa H, Takagi H, Sugiyama H. Liver fluke infections by *Amphimerus* sp. (Digenea: Opisthorchiidae) in definitive and fish intermediate hosts in Manabí province, Ecuador. PLOS NTD 14(6): e0008286. 2020.

25) Rosa BA, Choi YJ, McNulty SN, Jung H, Martin J, Agatsuma T, Sugiyama H, Le TH, Doanh PN, Maleewong W, Blair D, Brindley PJ, Fischer PU, Mitreva M. Comparative genomics and transcriptomics of 4 *Paragonimus* species provide insights into lung fluke parasitism and pathogenesis. Gigascience 9:1-16, 2020.

26) Takahashi T, Kabeya H, Sato S, Yamazaki A, Kamata Y, Taira K, Asakura H, Sugiyama H, Takai S, Maruyama S. Prevalence of *Yersinia* among wild Shika deer (*Cervus nippon*) and boars (*Sus scrofa*) in Japan. J. Wildlife Dis., 56:270-277, 2020

27) Yamazawa E, Ohno M, Satomi K, Yoshida A, Miyakita Y, Takahashi M, Satomi N, Asanome T, Maeshima A, Shiotsuka M, Iwata S, Yamasaki H, Morishima Y, Sugiyama H, Narita Y. First case of human neurocoenurosis caused by *Taenia serialis*: a case report. Int. J. Infect. Dis. 92:171-174, 2020.

28) Kuroki K, Morishima Y, Neil J, Beerntsen BT, Matsumoto J, Stich RW. Intestinal echinococcocis in a pet dog from Missouri. J. Am. Vet. Med. Assoc. 256:1041-1046, 2020.

29) Kouguchi H, Furuoka H, Irie T, Matsumoto J, Nakao R, Nonaka N, Morishima Y, Okubo K, Yagi K. Adult worm exclusion and histological

data of dogs repeatedly infected with the cestode *Echinococcus multilocularis*. Data Brief 29, 105353, 2020.

30) Nagaraja S, Cai MW, Sun J, Varet H, Sarid L, Trebicz-Geffen M, Shaulov Y, Mazumdar M, Legendre R, Coppée JY, Begley TJ, Dedon PC, Gourinath S, Guillen N, Saito-Nakano Y, Shimokawa C, Hisaeda H, Ankri S. Queuine is a nutritional regulator of *Entamoeba histolytica* response to oxidative stress and a virulence attenuator. *mBio*. 12(2):e03549-20. 2021.

31) Nurkanto A, Jeelani G, Santos HJ, Rahmawati Y, Mori M, Nakamura Y, Goto K, Saikawa Y, Annoura T, Tozawa Y, Sakura T, Inaoka DK, Shiomi K, Nozaki T. Characterization of *Plasmodium falciparum* Pantothenate Kinase and Identification of Its Inhibitors from Natural Products. Front. Cell. Infect. Microbiol. 11:639065, 2021.

2. 原著論文、総説（和文）

1) 久枝一　中枢神経病態を呈する寄生虫感染症. Neuroinfection, 25:55-59, 2020.

2) 泉山信司　最近の感染確率に基づく、水道水からクリプトスポリジウムを除去・不活化する目標の再計算、水道協会雑誌、89(8):2-7, 2020.

3) 橋本温、中本佳奈、鈴木裕之、土岡宏彰、泉山信司　ハイドロキシアパタイト粉体ろ過法の効率と大腸菌試験への適用性, 環境技術, 49(2):31-37, 2020.

4) 森　康、赤地重宏、永井佑樹、吉村英基、泉山信司　温泉付随ガス分離設備におけるレジオネラ属菌の実態調査と対策. 温泉科学, 69:192-201, 2020.

5) 大河内由美子、泉山信司、前川純子　紙上ミニシンポジウム I～水の衛生管理～3.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, 日本防菌防黴学会誌, 48(8): 377-382, 2020.

6) 杉山　広、森嶋康之、児玉文宏　北海道札幌市において2019年に発生した旋毛虫集団食中毒症例 Clin. Parasitol. 31, 49-51, 2020.

7) 森山 充、吉澤誠一郎、藤本博昭、赤羽大悟、勝呂多光子、山田晃子、長盛親、井上理恵、森嶋康之、後藤明彦 悪性リンパ腫の治療中に低栄養を契機に診断された日本海裂頭条虫症、臨床血液 61, 750-752, 2020.

3. 書籍（和文）

1) 津久井久美子　赤痢アメーバ「寄生虫のはなし―このすばらしき、虫だらけの世界―」永宗喜三郎、脇司、常盤俊大、島野智之・編　朝倉書店　2020

2) 永宗喜三郎、脇　司、常盤俊大、島野智之 “寄生虫ってなに？”永宗喜三郎、脇　司、常盤俊大、島野智之　編「寄生虫のはなし―このすばらしき、虫だらけの世界―」朝倉書店、1-28, 2020

3) 永宗喜三郎　“寄生虫学で用いられる用語について”永宗喜三郎、脇　司、常盤俊大、島野智之　編「寄生虫のはなし―このすばらしき、虫だらけの世界―」朝倉書店、29, 2020

4) 永宗喜三郎　“役に立つ（ことになるかもしれない）寄生虫”永宗喜三郎、脇　司、常盤俊大、島野智之　編「寄生虫のはなし―このすばらしき、虫だらけの世界―」朝倉書店、138-142, 2020

5) 永宗喜三郎　“新興再興寄生虫症”永宗喜三郎、脇　司、常盤俊大、島野智之　編「寄生虫のはなし―このすばらしき、虫だらけの世界―」朝倉書店、134-135, 2020

6) 案浦健 “マラリア原虫” 永宗喜三郎、脇　司、常盤俊大、島野智之　編「寄生虫のはなし―このすばらしき、虫だらけの世界―」朝倉書店、110-117, 2020.

II. 学会発表

1．国際学会

1) Inoue M, Izumiyama S, Suzaki T. Semi-permeability assay of Cryptosporidium oocyst wall using saturated sodium chloride solution. Joint online meeting of the Japan Society of Protistology and Korean Society of Protistologists. Nov. 2020, Kobe, Japan（Online meeting）

2) Nakada-Tsukui K, Marumo K, Nozaki T, A lysosomal hydrolase receptor, CPBF2, is associated with motility and invasion of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica*, Cell Bio Virtual 2020 an online ASCB|EMBO Meeting, Dec. 2020, Online.

3) Annoura T. The mechanism learning from zoonotic malaria: molecular dissection of host adaptation, pathogenicity and dormancy. Celebrating 30 years of IPB Primate Research Center: The 1st Online Summer Course: Glossary of Scientific Studies to Support Primates Ecology and Conservation. Oct. 2020 (Invited Lecture Speaker として招待を受け講演)

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

1) Shimokawa C, Kato T, Takeuchi T, Ohno H, Hisaeda H, $CD8^+$ regulatory T cells play a critical role in prevention of autoimmune-mediated diabetes, 第89回日本寄生虫学会学術集会、2020年5月、帯広市

2) 泉山信司、井上亘、橋本温、国内の水道原水におけるクリプトスポリジウムの検出状況、 環境技術学会、2020年6月、京都市、オンライン開催

3) 中野由美子、泉山信司、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利用したミルテフォシン耐性株の迅速単離と全ゲノム解析による耐性遺伝子変異の同定、日本寄生虫学会、2020年5月、帯広市（紙上発表）

4) Nakada-Tsukui K, Somlata, Suzuki M, Nozaki T, Molecular basis of trogocytosis in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica,* ワークショップ「細胞が細胞をかじる！？ートロゴサイトーシス研究最前線 Cells nibble one another!? –Frontiers in “trogocytosis”」シンポジスト、オーガナイザー 第43回日本分子生物学会年会 2020年12月、オンライン開催

5) 津久井久美子 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおけるオートファジータンパク質の機能解明 文部科学省新学術領域「マルチモードオートファジー」第2回班会議、2020年10月 オンライン開催

6) 津久井久美子、渡辺菜月、柴田久美子、野崎智義 腸管寄生性原虫赤痢アメーバにおいてファゴソームとトロゴソームは異なるメカニズムで成熟する Atg8 is differentially recruited to two types of phagosomes in the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytic* 第89回日本寄生虫学会大会 2020年5月、誌上開催

7) 谷口裕二、小倉淳、嶺井隆平、永宗喜三郎、松崎素道、福本隼平、鬼頭克也、高島康弘 “ロングリードシーケンサーを用いた *Toxoplasma gondii* 日本分離株の病原性遺伝子解析” 第89回日本寄生虫学会大会 2020年5月、誌上開催

8) 及川 亮、山出美穂子、記野秀人、森嶋康之、山

崎 浩、中島謙治、大澤 恵、古田隆久、宮嶋裕明、杉本 健　ガストログラフィンにより駆虫し得たクジラ複殖門条虫症の一例、日本内科学会第 242 回東海地方会　2020 年 10 月、オンライン開催

9) 森嶋康之 本州におけるエキノコックス症、第 20 回人と動物の共通感染症研究会学術集会 2020 年 10 月、オンライン開催

10) 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 マラリア原虫のヒストン制御メカニズムの解明と新規薬剤開発の可能性. 第 89 回日本寄生虫学会大会. 2020 年 5 月、帯広市

11) 荒木球沙、川合覚、角田宗一郎、小林宏尚、梅原崇史、中野由美子、久枝一、案浦健 マラリア原虫の増殖機構の解明：電子顕微鏡を用いたオルガネラの 3D 構造解析. 第 43 回日本分子生物学会大会. 2020 年 12 月、横浜市

12) Yudhistira R. M., Mori S, Sumi Y, Mori M, Umeki Y, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Shibata N. Development of Fluorinated Fumagillin Analogs towards Anti-amoebic Active Compounds. 日本農薬学会第 46 回大会. 2021 年 3 月、オンライン開催

13) Yudhistira R. M., Mori S, Sumi Y, Mori M, Umeki Y, Saito-Nakano Y, Nozaki T, Shibata N. Development of Fluorinated Fumagillin Analogs towards Anti-amoebic Active Compounds. 日本化学会第 101 春季年会. 2021 年 3 月、オンライン開催

14) 森 聡一朗、Yudhistira R.M.、森 美穂子、 梅木優子、中野 由美子、住井 裕司、野崎 智義、柴田 哲男　赤痢アメーバ薬の開発を指向した含フッ素フマギリン誘導体の合成と活性. 日本薬学会第 141 年会. 2021 年 3 月、広島市

7．感染病理部

部長　鈴木　忠樹

概 要

1. 人事等

感染病理部の職員数は 14 名で、内訳は部長 1 名、室長 3 名、主任研究官 8 名、任期付研究員 2 名となった。戸山庁舎に 11 名の職員と村山庁舎に 3 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。非常勤研究員の新城雄士と宮本翔、非常勤職員の飯田俊が戸山庁舎で感染病理部の研究業務等に従事した。戸山庁舎の電子顕微鏡室では非常勤職員の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、戸山庁舎では非常勤職員の小林和泉が部内の業務補助を行った。

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. COVID-19 関連死亡例の病理学的解析
4. インフルエンザ感染症に関する研究
5. 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
6. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究
7. 進行性多巣性白質脳症に関する研究
8. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究
9. Mycoplasma 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. ポリオーマウイルスに関する研究
2. 新型コロナウイルスを含む重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究
3. オルソポックスウイルスに関する研究
4. ピコルナウイルスに関する研究
5. 狂犬病に関する研究
6. 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. HTLV-1 ワクチンの開発
3. ムンプスワクチンの安全性に関する研究
4. 新型コロナウイルスに対するワクチン開発

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. ウシ等反芻動物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. Regulus8220 形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。2020 年度人体由来検体数は 338 症例であった。SARS-CoV19 の検索が最も多かったが、SARS-CoV19 は 28 例、JC ウイルス 3 例、他に狂犬病、マイコバクテリウム レプラエ、コクシジオイデス、トレポネーマ等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、飛梅 実、高橋健太、飯田 俊、鈴木忠樹)

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宿主因子等の検出を行ってきた。本技術を応用して、新型コロナウイルスのウイルスゲノム・mRNA を剖検肺組織切片上で検出した。 (中島典子、佐藤由子、鈴木忠樹)

3. COVID-19 関連死亡例の病理学的解析

国内の COVID-19 関連死亡例の剖検、ネクロプシー、生検、手術切除による組織検体についてウイルス検索を行った。2020 年は 32 例(内、ネクロプシー12 例、生検・手術材料 4 例)解析した。肺病理像は進行度の異なるびまん性肺胞傷害像が混在しており、死亡病日が早いものではウイルス抗原やウイルスゲノムは肺胞上皮細胞と単球・マクロファージに検出された。フィブリン血栓が、毛細血管から比較的大きな肺内血管まで見られた例が散見された。ウイルスは肺炎症所見が軽度な部分に多く検出され、ウイルス感染により肺局所の炎症が引き起こされることが示唆された。(中島典子、片野晴隆、佐藤由子、飯田 俊、高橋健太、飛梅 実、片岡紀代、鈴木忠樹)

4. インフルエンザ感染症に関する研究

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

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。H3N2 亜型(以下 H3)感染例と H1N1pdm09 亜型(以下 H1)感染例の肺組織の左右の肺葉において、上葉は中枢側、下葉は末梢側の組織を採取し、ウイルス量をリアルタイム RT-PCR(H1 と H3 の両方を検出する M 蛋白遺伝子を標的としたプライマー・プローブを使用)で測定した。H1 では左右肺の下葉までウイルスゲノムが検出されたが、H3 では下葉末梢部からは検出されない例が多かった。またインフルエンザ NP 抗原の免疫組織化学で、H1 感染例では、肺胞上皮細胞に抗原が検出された例もあった。 (中島典子、佐藤由子;林 紀乃、濱松明彦[東京都監察医務院])

5. 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

ベトナムのバクマイ病院の集中治療室(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 33 種類の呼吸器感染病原体ゲノムの検出を市販のマルチプレックス Real-time PCR 法を用いて行った。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;齊藤慎二、高山郁代[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 26 名を対象とした。月齢は 1~143(中央値 7)。性別は、男性 15、女性 11。11 名に基礎疾患が認められた。ARDS の原因は肺性 24、肺外性 2。転帰は生存 14、死亡 12(生存率 54%)。生存者と死亡者を比較すると、人工呼吸開始翌日の PaO2/FIO2 比が死亡者で低かった(生存者 120±49、死亡者 63±18、P<0.05)。また同日の臓器不全スコアである Pediatric Logistic Organ Dysfunction 2 スコアは、死亡者で高かった(生存者 5~10、中央値 7)、死亡者 6~19、中央値 9)。死亡者において、人工呼吸開始翌日の酸素化指標の悪化と多臓器不全の進行が認められた。(中島典子、相内 章、鈴木忠樹;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])

6. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

重症熱性血小板減少症候群剖検症例(SFTS)の病理学的解析

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は日本を含む東アジアに限局したウイルス性出血熱である。これまでの SFTS 剖検例の解析により、壊死性リンパ節炎・脾炎と血球貪食像が SFTS の病理像の特徴であり、SFTS ウイルス(SFTSV)は主にリンパ器官に見られる異型リンパ球に感染していることが明らかになっている。これまでに我々は、SFTSV のヒト体内における標的細胞は形質芽球に分化傾向を示す B 細胞であり、同細胞が SFTS 発病機構に深く関与している可能性を指摘してきた。そこで、このような細胞が非致死的な患者においても存在するかどうかについて検討を行ったところ患者の末梢血中に一過性にウイルス感染形質芽球が見られることが明らかになりなった。今後、SFTSV の感染標的となる B 細胞の性状解析を進めていくことにより、SFTS 発病機構が解明され、新たな予防・治療法の開発につながることが期待される。 (高橋 徹[山口県立綜合医療センター]、鈴木忠樹、佐藤由子、佐野 芳、片野晴隆、中島典子、和田雄治;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター])

7. 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。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、令和 2 年 12 月末までに 88 例の PML の検索を行ってきた。令和 2 年は 11 例の検索依頼があり、5 例で PML とされた。5 例の PML 確定時の年齢は平均 66.2 歳で、背景疾患として血液系悪性腫瘍、後天性免疫不全症候群、サルコイドーシス、慢性腎不全、ネフローゼ症候群が各 1 例認められた。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)

8. 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検索した結果、約1割から何らかの病原体が検出された。病原体が検出された症例については、さらに臨床情報の調査を行った。今後、海外渡航が可能になった段階で、再度、ブラジルに渡航し、それらの臨床情報を収集し、ブラジル東北部における先天性ジカウイルス感染症を含む先天性感染症の実態把握を目指す。 (飛梅実、鈴木忠樹、佐藤由子、中島典子、片野晴隆;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター])

9. Mycoplasma 感染症に関する研究

血液疾患としての Mycoplasma 感染症はネコなどの動物ではよく見られるものの、ヒトにおける発症はまれである。今回、原因不明の血液貪食症候群の患者血清より次世代シークエンサーにより Mycoplasma haemohominis の遺伝子を同定した。Mycoplasma haemohominis は血清、骨髄から検出され、Levofloxacin 等の投与により菌量の減少が見られた。本例は日本で第一例の症例であり、針刺し事故からの感染が考えられる貴重な症例である。 (片野晴隆;黒田誠、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、脇田隆字[所長];服部憲路、詫間隆博、伊藤敬義、二木芳人、中牧 剛他[昭和大学])

Ⅱ．ウイルス感染症の発生機序に関する研究

1. ポリオーマウイルスに関する研究

(1) 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。 (片野晴隆、奈古利恵、福本 瞳;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、佐伯秀久[日本医科大学])

(2) ポリオーマウイルスが産生するマイクロ RNA に関する研究

主に免疫抑制状態にある患者において、JC ポリオーマウイルス(JCPyV)は進行性多巣性白質脳症(PML)、BK ポリオーマウイルス(BKPyV)は BKPyV 関連腎症の原因となる。マイクロ RNA(miRNA)は生物のゲノムにコードされる 20 塩基ほどの短い RNA で、他の遺伝子の発現を調節する。

本研究では、ウイルス由来 miRNA を標的とした *in situ* hybridization 法により、PML 脳および BKPyV 関連腎症の病理組織標本上で、それぞれ JCPyV、BKPyV 由来の miRNA がウイルス感染細胞の核に明瞭に発現することを示した。PML 脳組織におけるウイルス由来 miRNA の定量では、対照の脳組織と比較して PML 脳組織はウイルス由来 miRNA の発現量が有意に高く、測定が診断に有用となることを明らかにした。次世代シークエンサーによる解析では、実際の病理組織ではこれらウイルス由来

miRNA が未成熟な状態で多く存在することを示した。さらに、miRNA をコードする領域が変異した JCV を用いた培養細胞系による実験を行い、ウイルスタンパク質の発現が増加することを明らかにした。

本研究から、ウイルス由来 miRNA を標的とすることで、ウイルス感染症の新しい病理診断法としての応用が期待される。また、ウイルス自身がコードする miRNA によって、ウイルス増殖の自己制御機構が存在することも明らかとなった。 (高橋健太、佐藤由子、鈴木忠樹、片野晴隆；長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、関塚剛史、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター])

2. 新型コロナウイルスを含む重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

(1) 新型コロナウイルスの D614G スパイク変異による ACE2 結合親和性および細胞内侵入効率の増強

我々が先頃樹立したレンチウイルスベクター系(Ozono et al., J Biol Chem, 2020)を用いて、新型コロナウイルスのスパイク(S)蛋白質(SARS2-S)によるシュードウイルスの感染効率を検討した。その結果、〔1〕2003 年流行の SARS コロナウイルスの S(SARS1-S)に比べて SARS2-S では遥かに感染性が低いこと；〔2〕SARS1-S と異なり SARS2-S のシュードウイルス感染には ACE2 受容体のみならず膜貫通型プロテアーゼ TMPRSS2 の発現を必要とすること；〔3〕世界で流行中の S 変異型のうち圧倒的多数を占める D614G 型が非常に高い感染性(武漢型の 3.5 倍)を示すこと；〔4〕その結果に矛盾せず D614G 型は武漢型に比べて高い ACE2 結合性を示すこと；〔5〕しかし D614G の中和抗体感受性は武漢型のそれと変わらないこと；を明らかにした。 (大園誠也、張 延昭；大出裕高[名古屋医療センター]、佐野 芳；Toong Seng Tan[熊本大学]、今井一男[自衛隊中央病院]、三好和康[自衛隊中央病院]、岸上哲士[山梨大学]、上野貴将[熊本大学]、岩谷靖雅[名古屋医療センター]、鈴木忠樹、徳永研三)

(2) SARS-CoV-2 マウス継代株の作製とそれを用いた SARS-CoV-2 BALB/c マウス致死モデルの確立

SARS-CoV-2 に対する候補ワクチンあるいは治療薬の評価について野生型マウスを用いて行うため、SARS-CoV-2 の欧州株からマウス継代株を作製し、BALB/c マウス致死モデルを確立した。このマウス継代株は感受性に週齢差があり、4 週齢と半年齢の BALB/c マウスで比較すると、マウス継代株の接種により 4 週齢は体重減少などの臨床症状を示したが重症化することなく生存し、半年齢のマウスではウイルス接種から 4 から 6 日目で重症肺炎を起こし致死となった。肺の病理像はびまん生肺胞障害を示しており、COVID-19 患者で報告されている病理像と一致した。また、半年齢マウスではウイルス接種後、炎症生サイトカインが高値を示していた。そしてマウス継代株の感受性はマウスの系統によっても差が見られ、C57BL/6 マウスでは 4 週齢、半年齢共にウイルス接種後、一過性の体重減少は見られたが呼吸器症状は確認できず全て生存した。現在、このマウスモデルを用いて SARS-CoV-2 候補ワクチンの感染防御効果や副反応の評価、治療薬候補の評価が行われている。 (岩田奈織子、志和 希；関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、佐野 芳、相内 章、片岡紀代、逸見拓矢；黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、鈴木忠樹、永田典代)

(3) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の変異ウイルスの病原性に関する検討

SARS-CoV-2 の感染・伝播の長期化に伴い、変異ウイルスの出現が問題となっている。疫学的に当初のウイルス株と比べて感染性・伝播性および病原性の変化が示唆されており、適切な評価系が求められている。一方、シリアンハムスターは SARS-CoV-2 に対して比較的高い感受性を有していることから、in vivo 評価系として有用である。そこで、すでに疫学的に感染・伝播力が異なるとされている武漢由来(Pango lineage A)と欧州由来(Pango lineage B.1)の国内分離株を用いてハムスターモデルの有用性について検証した。その結果、体重減少、肺重量比およびウイルス特異的抗体の上昇の点で二つの分離株のハムスターに対する病原性の相違が示唆された。今後は、ハムスターモデルによる変異ウイルスの病原性評価系を確立し、変異ウイルス

の感染性・伝播性および病原性の変化について検証を行う。 (志和 希、岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹;渡邊真治、白倉雅之、長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター])

(4) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に対する抗体応答測定系の構築

2019 年末に中国武漢で発症した新型コロナウイルス感染症に関して、感染者等の血清中 SARS-CoV-2 と特異的な抗体応答を評価することを目的として、SARS-CoV-2 感染細胞と非感染細胞の不活化破砕液を抗原とした ELISA 系の構築を行った。PCR 陽性者血清ならびに COVID-19 流行前血清を用いて Cut-off 値を決定した。(相内 章、佐野 芳;森川 茂[岡山理科大学]、永田典代、岩田奈織子;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、鈴木忠樹)

3. オルソポックスウイルスに関する研究

新興感染症に対する新規ワクチンとしてワクシニアウイルス株 LC16m8 を利用した組換えワクチンの開発が行われている。そこで、重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に対する組換えワクチンの有効性と安全性について病理学的評価を行った。作出された SFTS ウイルスと LC16m8 の組換えウイルスを皮下免疫後、攻撃接種を行った I 型インターフェロン α レセプター欠損マウスのリンパ系組織を観察したところ、SFTS ウイルスの GP タンパクおよび GP+N タンパクを発現する組換えワクチン免疫群では、その免疫効果が認められた。一方、非免疫群および N 免疫群で認められた組織病変はいずれも SFTS ウイルス抗原の局在と一致しており、ポックスウイルスに関連すると示唆される結節性壊死性病変は観察されなかった。今後はこの組換えウイルスに特有な副反応の可能性についてさらに検討する必要がある。(永田典代、岩田奈織子;吉河智城、西條政幸[ウイルス第一部])

4. ピコルナウイルスに関する研究

(1) 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

コクサッキーウイルス B2 のプロトタイプ株 Ohio-1 は新生仔マウスの大脳皮質に強い感染性をもち、大脳皮質欠損を引き起こす。このモデル動物において、ウイルス抗原とウイルスゲノムは血清中の中和抗体上昇後にも脳の組織病変部位に一致して持続的に存在した。ウイルスの長期的な存在は慢性的な炎症を引き起こす刺激となり、免疫介在性の脳炎の原因となり得ると考えられている。また、患児のウイルス関連脳病変には微小石灰沈着が認められることが報告されており、類似の所見がモデル動物でも観察されたことから、新たな疾患動物モデルとして提示できると考えられた。 (永田典代、岩田奈織子;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、清水博之[ウイルス第二部])

(2) 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

作出したエンテロウイルス D68 ポリクローナル抗体の特異性について感染動物標本を用いて評価した。現在問題となっている新型コロナウイルス感染症 COVID-19 はエンテロウイルス D68 と同様に重症呼吸器感染症を引き起こすため、鑑別診断が必要である。同じ手法で作出した抗 SARS-CoV-2 抗体と抗エンテロウイルス D68 抗体の特異性を感染動物陽性対照組織標本で確認した。 (岩田奈織子、永田典代)

5. 狂犬病に関する研究

輸入狂犬病疑い患者の行政検査により狂犬病ウイルスに罹患していることを確認した。死後の剖検にも参加し、解頭を含む全身解剖を行った。本症例はこれまでに報告された輸入狂犬病症例に比べ、発症後の経過が長い症例であり、各臓器における狂犬病ウイルス遺伝子量はこれまでの症例に比して低く、中枢神経系での炎症性細胞浸潤が高度に認められた。浸潤する炎症性細胞は B および T 細胞であり、特異的な免疫が誘導された結果と考えられた。ウイルスの排除が進むと同時に神経細胞の脱落も顕著に認めており、暴露前および曝露後ワクチン接種の重要性が改めて示された。 (飛梅 実、佐藤由子、鈴木忠樹)

6. SFTS ウイルスに関する研究

SFTS 患者のリンパ組織及び末梢血中には B 細胞系の表現型を有する特徴的な異型リンパ球が出現する。この異型リンパ球は形質芽球に分化しつつある活性化した B 細胞であり、ヒト体内における SFTS ウイルスの感染標的細胞であることが明らかとなっている。SFTS の発病・重症化機構の解明には、この標的細胞がどのように誘導されて増殖するのかを理解する必要がある。本研究ではヒト末梢血単核球へのSFTSウイルス感染を行い、活性化B細胞が誘導されるかどうかを検証し、その誘導に必要な細胞種や分泌因子を探索した。その結果、末梢血 B 細胞への SFTS ウイルスを感染することで活性化B細胞が増殖することから、活性化 B 細胞の誘導には SFTS ウイルスの B 細胞感染が重要であると考えられた。また、B 細胞感染によって分泌されるサイトカイン・ケモカインが活性化 B 細胞の増殖を促すことが示唆された。 (宮本 翔、和田雄治、相内 章、片野晴隆、佐野 芳、鈴木忠樹)

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、インフルエンザウイルスに対する中和活性を有し、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(HA)のステム領域に結合する抗体クローン、F11 を得た。F11 クローンおよび既報の抗 HA ステム抗体の IgA 状態における抗ウイルス活性と IgA 抗体定常領域上の糖鎖構造を詳細に解析したところ、IgA 多量体化による抗 HA ステム抗体の活性変化は、抗体の可変領域と HA ステム上のエピトープとの間の結合だけでなく、IgA 抗体定常領域上に存在する糖鎖も関係していることが明らかになった。 (佐野 芳、鈴木忠樹;齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、小谷 治、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[インフルエンザウイルス研究センター])

(2) 経鼻インフルエンザワクチン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。EcN OMV は実験室株大腸菌由来の OMV と比較して、炎症誘導が低く抑えられる傾向があった。このことから、自然免疫細胞である樹状細胞の活性化に関わる因子の同定のため、TLRs あるいはそのアダプター遺伝子欠損マウスの骨髄細胞から誘導した樹状細胞(BMDC)を用いて各 OMV 刺激による炎症性サイトカインの産生を評価した。TLR4 欠損 BMDC を用いた際に、TNF-α の産生は、実験室株 OMV 刺激では TNF-α の産生は半減するのに対し、EcN OMV 刺激では完全に消失した。以上から、TNF-α の産生は、実験室株 OMV は TLR4 に加えて他のシグナル経路を刺激するのに対して、EcN OMV は TLR4 のみに依存する可能性が示唆された。 (齋藤訓平、逸見拓矢、相内章、鈴木忠樹;平山 悟、中尾龍馬[細菌第一部];根岸英雄、石井 健[東京大学医科学研究所]、長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター])

2. HTLV-1 ワクチンの開発

組換え Env タンパク質を抗原とした母子免疫を利用した 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。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、既に組換え Env タンパク質(rEnv)の作製に成功して

いる。母から仔への移行抗体による HTLV-1 感染防御効果を検討した。rEnv のワクチンを施した母マウスを交配し、出産後、その仔マウスにHTLV-1感染MT-2細胞を腹腔内に投与した。その後、MT-2 細胞投与後約 1 ヶ月後に脾臓ならびに腸間膜リンパ節を回収し、Real-time PCRを用いてプロウイルス量の測定を行った。その結果、ワクチン接種群からの仔マウスでは感染個体数が有意に少なく、移行抗体により感染防御が可能であることが示唆された。 (齋藤訓平、相内 章、鈴木忠樹;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター])

3. 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を確立した。昨年度に引き続き、この評価系を用いて、弱毒ウイルス株等の評価を行い、評価系の有用性について検討を重ねた。 (永田典代、岩田奈織子、鈴木忠樹、高橋健太;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター]、木所 稔[品質保証・管理部])

4. 新型コロナウイルスに対するワクチン開発

(1) 新型コロナワクチン開発に必要な非ヒト霊長類および中・小動物モデルの評価系の構築

COVID-19 に対する新規治療薬およびワクチン開発に必要な非ヒト霊長類および中・小動物モデルの評価系を構築した。まず、カニクイザル、ネコ、フェレット、ハムスター、マウス(ウイルスレセプターヒト ACE2 発現マウスを含む)に対して国内で分離された SARS-CoV-2 を接種し、感染動態・ウイルス排泄・病態および病理像を明らかにした。カニクイザルを用いた SARS-CoV-2 感染モデルでは感染前の末梢血 T 細胞数が感染後の免疫応答に影響し、その重症度に相関することを示した。また、ワクチン評価に必要なウイルスストックの整備と評価系に必要なプロトコールを決定した。 (永田典代、岩田奈織子、志和 希、相内 章、佐野芳、鈴木忠樹;岡村匡史[国立国際医療研究センター]、清水博之[ウイルス第二部];網 康至、須崎百合子[安全実験管理部]、長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター])

(2) 組換え SARS-CoV-2 スパイクタンパク質を抗原としたワクチンで誘導される免疫応答の評価

新型コロナウイルス感染症に対するワクチンで誘導される免疫応答を評価するため、組換え SARS-CoV-2 スパイクタンパク質を抗原とし、Alum もしくは ODN2006 をアジュバントとした皮下ワクチン接種で誘導される T 細胞応答の評価系構築を行った。新型コロナワクチン接種では、Th2 を主とする免疫応答の結果、ワクチン接種関連疾病増悪が引き起こされる懸念がある。BALB/c マウスでは、Th2 応答により IgG1 産生が、Th1 応答により IgG2a 産生が起こるとされる。このため、IgG1/IgG2a 比を算出することでT細胞応答の簡易的な評価が可能になる。それぞれの IgG サブクラスに関して標準抗体を作製し、血清中の IgG1 ならびに IgG2a 応答を評価した。この結果、Alum をアジュバントとした場合にはTh2応答によるIgG1産生が主となるのに対し、ODN2006 をアジュバントした場合には Th1 応答による IgG2a 産生も強く誘導し、Th2 応答が顕著になることを防ぐ効果が認められた。 (逸見拓矢、相内 章、佐野 芳;橋口隆生[京都大学]、鈴木忠樹)

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。一方、経口投与サルではプリオンの伝播は確認できず、L-typeBSE 由来プリオンのヒトへの経口感染の可能性は低いことが示された。また、非定型 BSE に分類される H-type についてサルへの接種実験、安楽殺後の病理学的検討を行った結果、脳内接種、経口投与ともにプリオンの伝播は確認できなかった。 (飛梅 実、佐藤由子)

2. ウシ等反芻動物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。当該基準に関して現状を反映した提言を行い、反芻動物原料基準が一部改正された。また、特定危険部位とされる臓器のリスク評価ならびに、生物由来原料のプリオン安全性評価を行うため、高感度の in vitro プリオン検出方法の改良、高感度化を進めている。 (飛梅 実、佐藤由子;萩原健一、中村優子[細胞化学部])

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。本邦の CWD 清浄確認のため、関東地方に生息するシカの一種であるキョンを対象とし疫学調査を行った。捕獲、殺処分を行った 86 頭のキョン中枢神経にプリオンは検出されなかった。検査範囲を拡大するため、関東周辺に生息するキョンの捕獲、検査体制を確立した。 (飛梅 実、佐藤由子)

Ⅴ. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. Regulus8220 形走査電子顕微鏡の運用

本年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 282 検体で、その内訳は感染研内部 191 検体(戸山庁舎:159 検体、村山庁舎:19 検体、ハンセン研:13 検体)、共同研究 91 検体であった。 (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 52 件で、樹脂包埋検体数 118 検体、ネガティブ染色数 95 検体であった。 (片岡紀代)

3. 見学者対応

本年度の電顕室見学者はコロナ禍の大臣視察等 5 回、53 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 79 件(ネガティブ染色数 317、樹脂包埋検体数 37)であった。検索依頼者は、ウイルス第一部、ウイルス第二部、感染病理部、安全実験管理部であった。

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)に参加した。 (片岡紀代、志和 希、岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

なし

2. 行政検査

(1) 伝達性海綿状脳症(TSE)スクリーニング検査に関する精度管理試験の実施

ウシ TSE の病理学的確認検査のための抗体をはじめとする試薬等の性能評価ならびに手技の精度管理を行った。TSE 陽性牛由来の検体は限りがあるため、ヒト CJD 症例、BSE 由来プリオンの伝播試験を行ったサルの脳組織切片を用い、プリオンの検出試験を行った。結果、これまでと同様の感度で プリオンが検出できることを確認した。 (飛梅 実、佐藤由子;長谷川秀樹[インフルエンザウイルス研究センター];萩原健一、中村優子、花田賢太郎[細胞化学部])

(2) 疑似症症例の解析、及び、新型コロナウイルスの PCR 検査の実施

原因不明感染症例の検体について、原因微生物の同定を目的に行政検査を行った。地方衛生研究所等で検索したにもかかわらず、有意な病原体が検出されなかった症例の血液、髄液、病理組織などについて、リアルタイム PCR を応用したウイルス、細菌、真菌等の網羅的検索を行った。また、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の PCR 検査

も行ない、行政から依頼のあった検体の一部についてPCR検査を行った。2020 年は原因不明感染症例と合わせて 9 例の行政検査を行った。 (片野晴隆、中島典子、菅野隆行、鈴木忠樹)

(3) 輸入狂犬病症例の確定検査

狂犬病が疑われた海外からの入国者の唾液、髄液および後頚部皮膚生検を用いて狂犬病確認検査を行い、輸入狂犬病症例であることを確認した。リアルタイム RT-PCR 法を用いた検索により唾液から狂犬病ウイルス遺伝子が検出され、後頚部皮膚生検において狂犬病ウイルス抗原が毛根周囲神経組織中に確認された。また、検出された狂犬病ウイルスの遺伝子配列からフィリピン流行株であることが確認された。 (飛梅　実、佐藤由子、鈴木忠樹、獣医科学部、ウイルス第一部)

国際協力関係業務

1. 永田典代、鈴木忠樹

WHO R&D Blueprint novel coronavirus COVID-19 Animarl Models WHO Working Goup に召喚され、参加した。当該グループの目的は COVID-19 に対するワクチン、治療法及び薬剤の開発の加速化を図ることである。令和二年 2 月に発足し、毎週木曜日に開催される Web meeting に参加した。

https://www.who.int/publications/m/item/who-working-group-animal-models

2. 中島典子

ベトナム国立小児病院において百日咳の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。

エジプトのスエズ大学(スエズ)において、急性呼吸器感染症患者の鼻腔スワブとペア血清(外来受診時と4週間後)を採取保存することを指導した。

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Nakamura K, Morioka S, Kutsuna S, Iida S, Suzuki T, Kinoshita N, Suzuki T, Sugiki Y, Okuhama A, Kanda K, Wakimoto Y, Ujiie M, Yamamoto K, Ishikane M, Moriyama Y, Ota M, Nakamoto T, Ide S, Nomoto H, Akiyama Y, Miyazato Y, Hayakawa K, Saito S, Ohmagari N. Environmental surface and air contamination in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) patient rooms by disease severity. Infect Prev Pract. 2(4):100098. 2020.

2) Morioka S, Nakamura K, Iida S, Kutsuna S, Kinoshita N, Suzuki T, Suzuki T, Yamamoto K, Hayakawa K, Saito S, Ohmagari N. Possibility of transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in a tertiary care hospital setting: A case study. Infect Prev Pract. 2(3):100079. 2020.

3) Li Y, Que L, Fukano K, Koura M, Kitamura K, Zheng X, Kato T, Aly HH, Watashi K, Tsukuda S, Aizaki H, Watanabe N, Sato Y, Suzuki T, Suzuki HI, Hosomichi K, Kurachi M, Wakae K, Muramatsu M. MCPIP1 reduces HBV-RNA by targeting its epsilon structure. Sci Rep. 10(1):20763. 2020.

4) Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, Ehre C, Kuroda M, Dinnon KH 3rd, Leist SR, Schäfer A, Nakajima N, Takahashi K, Lee RE, Mascenik TM, Graham R, Edwards CE, Tse LV, Okuda K, Markmann AJ, Bartelt L, de Silva A, Margolis DM, Boucher RC, Randell SH, Suzuki T, Gralinski LE, Kawaoka Y, Baric RS. SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. Science. 370(6523):1464-1468. 2020.

5) Kusaba Y, Izumi S, Takasaki J, Suzuki M, Katagiri D, Katsuno T, Matsumoto S, Sakamoto K, Hashimoto M, Ohmagari N, Katano H, Suzuki T, Hojo M, Sugiyama H. Successful Recovery from COVID-19-associated Acute Respiratory Failure with Polymyxin B-immobilized Fiber Column-direct Hemoperfusion. Intern Med. 59(19):2405-2408. 2020.

6) Kutsuna S, Suzuki T, Hayakawa K, Tsuzuki S, Asai Y, Suzuki T, Ide S, Nakamura K, Moriyama Y, Kinoshita

N, Hosokawa N, Osawa R, Yamamuro R, Akiyama Y, Miyazato Y, Nomoto H, Nakamoto T, Ota M, Saito S, Ishikane M, Morioka S, Yamamoto K, Ujiie M, Terada M, Nakamura-Uchiyama F, Sahara T, Sano M, Imamura A, Sekiya N, Fukushima K, Kawana A, Fujikura Y, Sano T, Suematsu R, Sakamoto N, Nagata K, Kato T, Katano H, Wakita T, Sugiyama H, Kokudo N, Ohmagari N. SARS-CoV-2 Screening Test for Japanese Returnees From Wuhan, China, January 2020. Open Forum Infect Dis. 7(7):ofaa243. 2020.

7) Okuhama A, Ishikane M, Katagiri D, Kanda K, Nakamoto T, Kinoshita N, Nunose N, Fukaya T, Kondo I, Katano H, Suzuki T, Ohmagari N, Hinoshita F. Detection of SARS-CoV-2 in Hemodialysis Effluent of Patient with COVID-19 Pneumonia, Japan. Emerg Infect Dis. 26(11):2758-2761. 2020.

8) Okuya K, Eguchi N, Manzoor R, Yoshida R, Saito S, Suzuki T, Sasaki M, Saito T, Kida Y, Mori-Kajihara A, Miyamoto H, Ichii O, Kajihara M, Higashi H, Takada A. Comparative Analyses of the Antiviral Activities of IgG and IgA Antibodies to Influenza A Virus M2 Protein. Viruses. 12(7):780. 2020.

9) Yokogawa N, Minematsu N, Katano H, Suzuki T. Case of acute arthritis following SARS-CoV-2 infection. Ann Rheum Dis. 26:annrheumdis-2020-218281. 2020.

10) Nakano T, Ohara Y, Fujita H, Ainai A, Yamamura ET, Suzuki T, Hasegawa H, Sone T, Asano K. Double-Stranded Structure of the Polyinosinic-Polycytidylic Acid Molecule to Elicit TLR3 Signaling and Adjuvant Activity in Murine Intranasal A(H1N1)pdm09 Influenza Vaccination. DNA Cell Biol. 39(9):1730-1740. 2020.

11) Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, Watanabe T, Ujie M, Takahashi K, Ito M, Yamada S, Fan S, Chiba S, Kuroda M, Guan L, Takada K, Armbrust T, Balogh A, Furusawa Y, Okuda M, Ueki H, Yasuhara A, Sakai-Tagawa Y, Lopes TJS, Kiso M, Yamayoshi S, Kinoshita N, Ohmagari N, Hattori SI, Takeda M, Mitsuya H, Krammer F, Suzuki T, Kawaoka Y. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. Proc Natl Acad Sci U S A. 117(28):16587-16595. 2020.

12) Tonouchi K, Adachi Y, Moriyama S, Sano K, Tabata K, Ide K, Takeyama H, Suzuki T, Takahashi Y. Stereotyped B-cell response that counteracts antigenic variation of influenza viruses. Int Immunol. 32(9):613-621. 2020.

13) Kumata R, Ito J, Takahashi K, Suzuki T, Sato K. A tissue level atlas of the healthy human virome. BMC Biol. 18(1):55. 2020.

14) Ishikane M, Miyazato Y, Kustuna S, Suzuki T, Ide S, Nakamura K, Morioka S, Katano H, Suzuki T, Ohmagari N. A Case of COVID-19 Patient with False-Negative for SARS-CoV-2 of Pharyngeal Swab, from a Chinese Traveller Returning from Wuhan, Hubei Province, China, January 2020. Jpn J Infect Dis. 73(6):462-464. 2020.

15) Adachi T, Chong JM, Nakajima N, Sano M, Yamazaki J, Miyamoto I, Nishioka H, Akita H, Sato Y, Kataoka M, Katano H, Tobiume M, Sekizuka T, Itokawa K, Kuroda M, Suzuki T. Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings from Autopsy of Patient with COVID-19, Japan. Emerg Infect Dis. 26(9):2157–2161. 2020.

16) Okamaoto K, Shirato K, Nao N, Saito S, Kageyama T, Hasegawa H, Suzuki T, Matsuyama S, Takeda M. Assessment of Real-Time RT-PCR Kits for SARS-CoV-2 Detection. Jpn J Infect Dis. 73(5):366-368. 2020.

17) Takahashi K, Sato Y, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki T, Hasegawa H, Katano H. High expression of JC polyomavirus-encoded microRNAs in progressive multifocal leukoencephalopathy tissues and its repressive role in virus replication. PLoS Pathog.

16(4):e1008523. 2020.

18) Arima Y, Shimada T, Suzuki M, Suzuki T, Kobayashi Y, Tsuchihashi Y, Nakamura H, Matsumoto K, Takeda A, Kadokura K, Sato T, Yahata Y, Nakajima N, Tobiume M, Takayama I, Kageyama T, Saito S, Nao N, Matsui T, Sunagawa T, Hasegawa H, Ohnishi M, Wakita T. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection among Returnees to Japan from Wuhan, China, 2020. Emerg Infect Dis. 26(7):1596–1600. 2020.

19) Okuya K, Yoshida R, Manzoor R, Saito S, Suzuki T, Sasaki M, Saito T, Kida Y, Mori-Kajihara A, Kondoh T, Sato M, Kajihara M, Miyamoto H, Ichii O, Higashi H, Takada A. Potential Role of Nonneutralizing IgA Antibodies in Cross-Protective Immunity against Influenza A Viruses of Multiple Hemagglutinin Subtypes. J Virol. 94(12):e00408-20. 2020.

20) Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, Saito S, Takayama I, Nagata N, Sekizuka T, Katoh H, Kato F, Sakata M, Tahara M, Kutsuna S, Ohmagari N, Kuroda M, Suzuki T, Kageyama T, Takeda M. Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 117(13):7001-7003. 2020.

21) Katsuse K, Akiyama K, Ishida T, Kitayama C, Ishibashi Y, Ochi M, Kumasaka T, Takahashi K, Suzuki T, Nakamichi K, Saijo M, Hashida H. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with primary amyloid light-chain amyloidosis. Clin Neurol Neurosurg. 192:105709. 2020.

22) Nakamura-Hoshi M, Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H, Ishii H, Matano T. Inefficient Tax-Specific T-Cell Responses in Mice after Syngeneic Transplantation with tax-Transgenic Mouse-Derived Adult T-Cell Leukemia Cells. Jpn J Infect Dis. 73(3):221-225. 2020.

23) Ainai A, van Riet E, Ito R, Ikeda K, Senchi K, Suzuki T, Tamura SI, Asanuma H, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Multihartina P, Setiawaty V, Pangesti KNA, Hasegawa H. Human immune responses elicited by an intranasal inactivated H5 influenza vaccine. Microbiol Immunol. 64(4):313-325. 2020.

24) Suzuki T, Sato Y, Sano K, Arashiro T, Katano H, Nakajima N, Shimojima M, Kataoka M, Takahashi K, Wada Y, Morikawa S, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, Hasegawa H. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus targets B cells in lethal human infections. J Clin Invest. 130(2):799-812. 2020.

25) Ushioda W, Kotani O, Kawachi K, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H, Takahashi K, Nagata N. Neuropathology in Neonatal Mice After Experimental Coxsackievirus B2 Infection Using a Prototype Strain, Ohio-1. J Neuropathol Exp Neurol. 79(2):209-225. 2020.

26) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Tani H, Kataoka M, Suzuki T, Hasegawa H, Niikura K, Arai K, Nagata N. Gold nanoparticle-adjuvanted S protein induces a strong antigen-specific IgG response against severe acute respiratory syndrome-related coronavirus infection, but fails to induce protective antibodies and limit eosinophilic infiltration in lungs. Microbiol Immunol. 64(1):33-51. 2020.

27) Emi-Sugie M, Shoda T, Futamura K, Takeda T, Ainai A, Hasegawa H, Saito H, Matsumoto K, Matsuda A. Robust production of IL-33 and TSLP by lung endothelial cells in response to low-dose dsRNA stimulation. J Allergy Clin Immunol. 146(6):1449-1452.e2. 2020.

28) Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. An anti-perfringolysin O monoclonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects against streptococcal toxic shock syndrome. BMC Res Notes. 13(1):419. 2020.

29) Shirato K, Nao N, Katano H, Takayama I, Saito S, Kato F, Katoh H, Sakata M, Nakatsu Y, Mori Y, Kageyama T, Matsuyama S, Takeda M. Development of Genetic Diagnostic Methods for Detection for Novel Coronavirus 2019(nCoV-2019) in Japan. Jpn J Infect Dis. 73(4):304-307. 2020.

30) Nako T, Fukumoto H, Hasegawa H, Saeki H, Katano H. Functional Analysis of Trichodysplasia Spinulosa-Associated Polyomavirus-Encoded Large T Antigen. Jpn J Infect Dis. 73(2):132-139. 2020.

31) Nakamura R, Chong PF, Haraguchi K, Katano H, Tanaka-Taya K, Kira R. Disseminated cortical and subcortical lesions in neonatal enterovirus 71 encephalitis. J Neurovirol. 26(5):790-792. 2020.

32) Kakuwa T, Ariga A, Takasaki J, Kato M, Igari T, Shida Y, Okafuji T, Nakamura S, Miyazaki Y, Katano H, Iikura M, Izumi S, Sugiyama H. Mucor pulmonary embolism in a patient with myelodysplastic syndrome. Respir Med Case Rep. 30:101035. 2020.

33) Hattori N, Kuroda M, Katano H, Takuma T, Ito T, Arai N, Yanai R, Sekizuka T, Ishii S, Miura Y, Tokunaga T, Watanabe H, Nomura N, Eguchi J, Hasegawa H, Nakamaki T, Wakita T, Niki Y. Candidatus Mycoplasma haemohominis in Human, Japan. Emerg Infect Dis. 26(1):11-19. 2020.

34) Abe M, Katano H, Nagi M, Higashi Y, Sato Y, Kikuchi K, Hasegawa H, Miyazaki Y. Potency of gastrointestinal colonization and virulence of Candida auris in a murine endogenous candidiasis. PLoS One. 15(12):e0243223. 2020.

35) Ngan LT, Takayama I, Binh NG, Phuong Truong T, Tuong VVT, Vuong BM, Co DX, Dung LT, Phuong PT, Cuong DD, Thach PT, Van TD, Phuong Thuy PPT, Chau NQ, Tuan DQ, Takasaki J, Semba S, Odagiri T, Nakajima N, Kageyama T. A clinic-based direct real-time fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for influenza virus. J Virol Methods. 277:113801. 2020.

36) Nishimura K, Iwai Y, Yabuki M, Fuse H, Nakamichi K, Takahashi K, Suzuki T, Saijo M, Fukushima T, Kuwabara S. Lenalidomide‐associated progressive multifocal leukoencephalopathy. Clin Exp Neuroimmunol. 12(1):63-65. 2020.

37) Imai M, Yamashita M, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Murakami J, Yasuhara A, Takada K, Ito M, Nakajima N, Takahashi K, Lopes TJS, Dutta J, Khan Z, Kriti D, van Bakel H, Tokita A, Hagiwara H, Izumida N, Kuroki H, Nishino T, Wada N, Koga M, Adachi E, Jubishi D, Hasegawa H, Kawaoka Y. Influenza A variants with reduced susceptibility to baloxavir isolated from Japanese patients are fit and transmit through respiratory droplets. Nat Microbiol. 5(1):27-33. 2020.

38) Abbas AT, El-Kafrawy SA, Sohrab SS, Tabll AA, Hassan AM, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Azhar EI. Anti-S1 MERS-COV IgY Specific Antibodies Decreases Lung Inflammation and Viral Antigen Positive Cells in the Human Transgenic Mouse Model. Vaccines (Basel). 8(4):634. 2020.

39) Saito T, Maruyama J, Nagata N, Isono M, Okuya K, Takadate Y, Kida Y, Miyamoto H, Mori-Kajihara A, Hattori T, Furuyama W, Ogawa S, Iida S, Takada A. A Surrogate Animal Model for Screening of Ebola and Marburg Glycoprotein-Targeting Drugs Using Pseudotyped Vesicular Stomatitis Viruses. Viruses. 12(9):923. 2020.

40) Imura A, Sudaka Y, Takashino A, Tamura K, Kobayashi K, Nagata N, Nishimura H, Mizuta K, Koike S. Development of an Enterovirus 71 Vaccine Efficacy Test Using Human Scavenger Receptor B2 Transgenic Mice. J Virol. 94(6):e01921-19. 2020.

41) Zhang Y, Tada T, Ozono S, Kishigami S, Fujita H, Tokunaga K (Corresponding author). MARCH8 inhibits viral infection by two different mechanisms. eLife. 9:e57763. 2020.

42) Ozono S, Zhang Y, Tobiume M, Kishigami S, Tokunaga K (Corresponding author). Super-rapid quantitation of the production of HIV-1 harboring a luminescent peptide tag. J Biol Chem. 295(37):13023-13030. 2020.

2. 和文発表

1) 飯田 俊, 鈴木 忠樹. COVID-19 の病態・免疫. ウイルス. 70(2):167-174. 2020.

2) 高橋 健太, 鈴木 忠樹, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹. 中枢神経感染症の病理. NEUROINFECTION. 25(1):125-132. 2020.

3) 新城 雄士, 鈴木 忠樹. 新型コロナウイルス感染症の診断と治療 新型コロナウイルス感染症の迅速診断キット. 臨牀と研究. 97(12): 1480-1485. 2020.

4) 新城 雄士, 鈴木 忠樹. 新型コロナウイルス感染症の抗体検査. 臨床と微生物. 47(6): 679-685. 2020.

5) 定本 聡太, 三上 哲夫, 鈴木 忠樹, 緒方 公平, 大路 斐子, 片野 晴隆, 与田 仁志, 中田 雅彦, 長谷川 秀樹, 渋谷 和俊. Listeria monocytogenes の垂直感染による新生児全身性リステリア症の 1 剖検例. 診断病理. 37(4): 361-365. 2020.

6) 中島 典子, 鈴木 忠樹, 足立 拓也, 鄭 子文. 第 6 回 COVID-19. 病理と臨床. 38(9): 845-851. 2020.

7) 今泉 恭, 西井 友教, 顧 然, 藤本 陽, 宮本 和慶, 鈴木 忠樹, 佐野 芳, 永田 典代, 佐藤 英雄, 小島 哲, 北村 由之, 金子 敦, 八木 慎太郎, 青柳 克己. 化学発光酵素免疫測定法を用いた高感度新型コロナウイルス SARS-CoV-2 抗原測定試薬の開発. 医学と薬学. 77(8): 1201-1208. 2020.

8) 山川 賢太郎, 藤本 陽, 宮本 和慶, 大島 拓真, 鈴木 忠樹, 永田 典代, 白戸 憲也, 佐藤 英雄, 長谷川 晃, 金子 敦, 八木 慎太郎, 青柳 克己. イムノクロマト法を用いた新型コロナウイルス SARS-CoV-2 抗原検出試薬の開発. 医学と薬学. 77(6): 937-944. 2020.

9) 鈴木 忠樹, 片野 晴隆, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹. 非腫瘍性・全身性疾患への応用 2. 感染症 ウイルス. 病理と臨床. 38(臨時増刊): 298-306. 2020.

10) 中島 典子, 鈴木 忠樹, 足立 拓也, 鄭 子文. COVID-19 剖検例の解析と病理組織像. IASR. 41(7):118-119. 2020.

11) 北崎 佑樹, 岩崎 博道, 北井 隆平, 高橋 健太, 中道 一生, 濱野 忠則. 脳脊髄液中の JCV-DNA 遺伝子検査が 2 回とも陰性であったが, 開頭脳生検で診断確定した HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 1 例. BRAIN and NERVE. 72(5):541-546. 2020.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Aritomi Y, Himeno H, Soejima S, Chiwata H, Menezes JCJMDS, Uto T, Shoyama Y, Fujii Y, Motokawa T, Tokunaga K, Fujita H. Identification of a triterpene that has a promotional effect on the melanogenesis in B16 melanoma cells. IPCC2020. (WEB 開催) 2020.6.

2. 国内学会

1) 飛梅 実, 佐藤 由子, 鈴木 良夫. An autopsy case of sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease 10 days after the hospitalization. 第 109 回日本病理学会総会. (WEB 開催) 2020.7.

2) 飯田 俊, 峰 宗太郎, 長谷川 秀樹, 片野 晴隆. ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬は HHV-8 感染細胞株において細胞死とウイルス再活性化を誘導する. 第 109 回日本病理学会総会. (東京) 2020.7.

3) 砂川 恵伸, 乳井 美樹, 片野 晴隆. 分子・遺伝子学的手法による真菌性副鼻腔症の病理学的検討. 第 109 回日本病理学会総会. (東京) 2020.7.

4) 鈴木 忠樹, 佐藤 由子, 佐野 芳, 片野 晴隆, 中島 典子, 片岡 紀代, 和田 雄治, 高橋 健太, 長谷川 秀樹. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)における SFTS ウイルス感染標的細胞は形質芽球へ分化傾向を

示す B 細胞である. 第 109 回日本病理学会総会. (WEB 開催) 2020.7.

5) 鈴木 忠樹. PML の病理と発病機構. 第 32 回日本神経免疫学会学術集会. (WEB 開催) 2020.10.

6) 永田 典代. 急性弛緩性脊髄炎とエンテロウイルス:動物モデルから得られた知見. 第 32 回神経免疫学会学術集会. (WEB 開催) 2020.10.

7) 鈴木 忠樹. COVID-19 の病理学的解析と剖検時の感染予防. 日本病理学会関東支部会. (大宮) 2020.10.

8) Ozono S, Tokunaga K. Establishment of HiBiT-based HIV-1 proviral DNA/lentiviral vector system and its application for COVID-19 studies. 21th Kumamoto AIDS Seminar. (WEB 開催) 2020.11.

9) Tan TS, Toyoda M, Pizzato M, Tokunaga K, Ueno T. A single amino acid change in SERINC5 abrogates the infectivity restriction function against retroviruses including HIV-1. 21th Kumamoto AIDS Seminar. (WEB 開催) 2020.11.

10) Ozono S, Zhang Y, Kishigami S, Tokunaga K. Luminescent peptide tag-based lentiviral vector system and its application for COVID-19 research. 発光ペプチドタグを有するレンチウイルスベクター系の樹立と COVID-19 研究への応用. 第 43 回日本分子生物学会. (WEB 開催) 2020.12.

11) 鈴木 忠樹. 病理学的アプローチによる新型コロナウイルス感染症ワクチンの開発. 第 3 回 Translational and Regulatory Sciences Symposium. (WEB 開催) 2021.1.

12) 鈴木 忠樹. COVID-19 の抗原検査. 第 32 回日本臨床微生物学会総会. (WEB 開催) 2021.1.

13) 鈴木 忠樹. 病理医として:COVID-19 の病理解析による病態形成機構の理解. 第 40 回日本画像医学会. (東京) 2021.2.

14) 鈴木 忠樹. Pathology and Pathogen Testing for Viral Myocarditis. 日本循環器学会. (横浜/WEB 開催) 2021.3.

８．免疫部

部長　　高橋　宜聖

概　要

免疫部は感染症を宿主応答の視点から捉え、感染症の制圧に資する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術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、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、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.　新型コロナウイルスに関する免疫研究
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.　肝炎ウイルスに関する免疫研究
5.　フラビ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免疫研究
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.　ヒト免疫不全ウイルス（HIV）に関する免疫病態学的研究
2.　ヒト化マウスを用いた免疫研究
IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究
1.　セアカゴケクモ毒素中和モノクローナル抗体の研究

品質管理に関する業務
I.　国家検定
II. 抜き取り検査
III. 標準品交付
IV. 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

令和２年４月１日付で高野智弘研究員が着任した。令和２年 10 月１日付で五十川正記第一室長が着任した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．ウイルス感染症

1．新型コロナウイルスに関する免疫研究

（1）COVID-19 における自然免疫に関する研究

COVID-19 の病態は無症状から致死まで多岐に渡り、一定頻度で酸素吸入等を必要とする重症者が発生するため、これが医療体制逼迫の一因となる。また、欧米の一部の国に比べ、本邦では陽性者数・死亡者数が相対的に低く抑えられており、何らかの遺伝的・免疫学的要因の可能性が示唆されているものの、詳細は不明である。本研究では、COVID-19 患者の重症化や予後に相関する免疫因子の探索研究を行った。自然免疫による過剰な炎症反応（サイトカインストーム）が重症化に関連する可能性を考え、様々な重症度（軽症、中等症、重症）の国内 COVID-19 患者の末梢血に含まれる自然免疫細胞の動態解析を行った。その結果、過剰な炎症反応を抑制する機能のある myeloid-derived suppressor cells (MDSC）の一部が、重症度に相関して細胞頻度が変化することを見出した。また、重症患者の中から回復する方とそうでない方で比較した場合、MDSC の一部の細胞頻度が予後に相関して変動することを見出した。加えて、欧米の COVID-19 患者で行われた解析では、MDSC の動態が本研究結果と異なることも指摘されている。以上の結果から、COVID-19 の重症化や予後、ならびに欧米と日本での COVID-19 に対する免疫応答の違いと相関する免疫細胞として、MDSC を見出すこと

に成功した。
［高野智弘、松村隆之、安達悠、寺原和孝、森山彩野、小野寺大志、立川愛（エイズ研究センター）、俣野哲朗（エイズ研究センター）、鈴木忠樹（感染病理部）、高橋宜聖］

（2）SARS-CoV-2 感染回復者血漿抗体の中和活性評価
SARS-CoV-2 ウイルスを用いて回復者血漿に含まれる中和抗体価を In vitro で測定したところ、感染回復者では中和抗体価が上昇し、また中和抗体価は受容体結合部位結合 IgG 抗体価と相関していた。
［森山彩野、竹下勝（慶應義塾大学）、小山田孝嘉（富士フイルム株式会社）、櫓曜（富士フイルム株式会社）、藤垣英嗣（藤田医科大学）、鈴木忠樹（感染病理部）、高橋宜聖］

（3）SARS-CoV-2 感染回復者血漿パネルの準備
SARS-CoV-2 ウイルスは変異株が多数報告されており、その一部は回復者やワクチン接種者が獲得する中和抗体から逃避することが報告されている。新たに分離される変異株の抗原性を評価するために SARS-CoV-2 感染回復者検体を多数収集し Wuhan 株により値付けを行い、血漿パネルを作製した。
［森山彩野、松村隆之、五十川正記、安達悠、高野智弘、小野寺大志、寺原和孝、高橋宜聖］

（4）新型コロナウイルスに対する治療用抗体の樹立
2019 年末から世界的パンデミックを引きこしている SARS-CoV-2 に対して、現在世界中で様々な治療薬のスクリーニングが行われているが、本研究では抗体治療薬として完全ヒト抗体産生マウスを用い、SARS-CoV-2 だけでなく SARS-CoV 等、Clade1 コロナウイルスに幅広く強い中和活性を示す pan コロナ治療用抗体の樹立を行った。また構造解析により幅広い中和活性を示す構造学的根拠を明らかにした。
［小野寺大志、喜多俊介（北大）、安達悠、森山彩野、孫琳、登内奎介、志和希（感染病理部）、岩田奈緒子（感染病理部）、永田典代（感染病理部）、鈴木忠樹（感染病理部）、関塚剛（病原体ゲノムセンター）、黒田誠（病原体ゲノムセンター）、福士秀悦（ウイルス一部）、押村光雄（鳥取大）、黒崎知博（阪大）、橋口隆生（京大）、前仲勝実（北大）、高橋宜聖］

（5）新型コロナウイルスに対する診断用抗体の樹立
SARS-CoV-2 の迅速診断キットに当研究部で SARS-CoV の N protein に対して作製されたモノクローナル抗体の中から SARS-CoV-2 の N protein に対して交差反応を示すモノクローナル抗体が緊急的に用いられているが、本研究では SARS-CoV-2 に対してより高感度かつ特異的な診断を可能とするため、SARS-CoV-2 の N protein に対するモノクローナル抗体の樹立を行った。
［小野寺大志、安達悠、高橋宜聖］

（6）新型コロナウイルスに対する液性免疫記憶に関する研究
SARS-CoV-2 感染回復者において再感染を防御する上で感染後に形成されるウイルス特異的な記憶 B 細胞は中和抗体の供給の点から多大な貢献が期待される。
そのため、記憶 B 細胞の機能（中和活性）と抗原特異性、また発現遺伝子の相関関係を明らかにし、ウイルス中和に相関する免疫記憶パラメーターを明らかにすることは
回復者やワクチン接種者の予後を見極める上で非常に重要である。本研究では LIBRA-seq(linking B cell receptor to antigen specificity through sequencing)と
多次元フローサイトメトリー、及びシングルセルトランスクリプトーム解析を組み合わせることにより回復者の記憶 B 細胞の中和活性と相関するパラメーターを明らかにした。
［小野寺大志、安達悠、佐藤隆（東京品川病院）、森山彩野、孫琳、登内奎介、黒崎知博（阪大）、新海正晴（東京品川病院）、山下和男（KOTAI バイオ)、高橋宜聖］

（7）新型コロナウイルスに対する細胞性免疫に関する研究
SARS-CoV-2 ウイルスに特異的な T 細胞は、COVID-19 感染からの回復に重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では、COVID-19 回復期のメモリーT 細胞応答について検討した。まず、SARS-CoV-2 由来のスパイクタンパク

(S)およびヌクレオカプシドタンパク(N)に特異的なヘルパーT 細胞の頻度と S の受容体結合ドメイン(抗 RBD)に対する血漿中の抗体応答の相関を経時的に検討した。次に S 特異的 CD4+T 細胞のサブセット分画 (Th1, Th2, Th17, Tfh など)がどのように変化するか解析した。回復期初期(発症後 2.5 ヶ月まで)では、S 特異的 $CD4^+$T 細胞の頻度が N 特異的 $CD4^+$T 細胞よりも高かったが、発症後 10 ヶ月以上経つと大きな違いは認めなかった。S 特異的 CD4 T 細胞の頻度は、回復期初期で抗 RBD 力価と有意に相関していたが、その相関は発症後 5 か月以降では消失した。$CD4^+$T 細胞サブセットの中で、Th17 サブセットの頻度は、Th1、Th2、および Tfh サブセットの頻度よりも高かったが、抗 RBD 力価との相関は他のサブセットに比べて最も弱かった。これらの結果は、SARS-CoV-2 特異的 $CD4^+$T 細胞応答の持久性と多様性を示唆しており、今後のワクチン開発において重要な知見と考えられる。

[寺原和孝、五十川正記、安達悠、登内奎介、佐藤隆(東京品川病院)、森山彩野、高野智弘、西山紋惠、孫琳、小野寺大志、松村隆之、新海正晴(東京品川病院)、高橋宜聖]

2. インフルエンザウイルスに関する免疫研究

(1)A 型インフルエンザウイルスへの交差防御抗体を誘導可能な新しいワクチン剤形に関する研究

ユニバーサルワクチン剤形の開発には、誘導標的となるヒト交差防御抗体の同定が必要である。これまでの研究において A 型インフルエンザウイルスのヘマグルチニン抗原に広域に結合するヒト交差防御抗体レパトアを見出している。そこで、この抗体レパトアをヒト記憶 B 細胞より大規模モノクローナル化し、交差結合性を調べた。その結果、それらの中には全 A 型ヘマグルチニン抗原に結合する抗体クローンが存在することを明らかとした。同定した交差防御抗体クローンは、新規ユニバーサルワクチン剤形の有望な標的抗体となることが期待される。現在、この交差防御抗体クローンを選択的に誘導可能なワクチン剤形の開発を進めている。

[安達悠、登内奎介(研究生)、竹山春子(早稲田大学)、高橋宜聖]

(2)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

交差性 B 細胞の活性化を誘導しやすいヘマグルチニン抗原構造を持つワクチン剤形により、A 型インフルエンザウイルス抗原に広く結合する防御抗体レパトアをこれまでに見出している。この抗体レパトアはウイルス中和能を示さないため、抗体 Fc 領域を介した感染防御を発揮している可能性が示唆された。そこで in vivo 感染防御効果における抗体 Fc 領域の寄与を検証するために Fc 変異型抗体を作製した結果、通常型抗体で見られた感染防御効果の消失を確認した。この抗体レパトアは、既知の交差抗体とは異なる抗原領域に結合する可能性が示唆されたことから、新規の交差防御抗体レパトアであることが期待される。

[登内奎介(研究生)、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)ノロウイルス次世代ワクチンの開発に向けた交差抗体に関する研究

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。本研究では次世代ノロウイルスワクチンのターゲットとなり得る、より広範なノロウイルス反応性を有する交差抗体の機能解析を行った。ノロウイルス感染特異的に誘導される広範なヒトノロウイルス交差反応性抗体の中には感染を増悪させる抗体依存性感染増強活性を有する抗体が含まれることを明らかにした。

[橋香奈、小野寺大志、高橋宜聖]

4. 肝炎ウイルスに関する免疫研究

(1)A 型・E 型肝炎ウイルスに対するモノクローナル抗体の作製

経口感染由来の急性肝炎を起こす病原体として A 型・E 型肝炎ウイルスが知られているが、本研究ではこれらウイルスに特異的なヒト型モノクローナル抗体を作製し、新たな治療法や診断法への応用に繋げることを目的としている。これまで、ワクチン接種者や抗体陽性健常者の末梢血から

分離した B 細胞を元に抗体遺伝子をクローニングし、組換えヒト IgG を作製した。抗原に対する結合性を ELISA で検証し、A 型・E 型肝炎ウイルス（HAV・HEV）それぞれに結合する 10 種類以上の抗体を樹立するに至っている。そして、これら HAV 特異的モノクローナル抗体の中に in vitro で非常に強い中和活性を示す抗体が存在することが判明した。現在、HAV 感染マウスモデルを用いた in vivo の中和活性について解析を進めている。一方、HEV 特異的モノクローナル抗体のウイルス中和活性については現在解析中である。

［寺原和孝、安達悠、小野寺大志、松村隆之、 村松正道（ウイルス第二部）、浜口功（血液・安全性研究部）、高橋宜聖］

（2）B 型肝炎ウイルスに関する免疫研究

B 型肝炎ウイルス感染は肝不全や肝がんにつながる恐れがあり予防・治療法の開発が求められる。現在使用されている HBs 抗原ワクチンでは十分な抗体価が誘導されない場合があり、新たなワクチン抗原の開発が望まれる。本研究では昨年度に引き続き既往感染者末梢血由来の B 型肝炎ウイルス抗原認識メモリーB 細胞の検出技術の開発を行うとともに、産生される抗体の感染中和活性を検討した。B 型肝炎ウイルス感染中和活性を持つ抗体クローンを複数個単離し、それらの抗体遺伝子配列を同定することに成功した。これらの抗体のエピトープ解析を進めることで新たなワクチン抗原の発見につながる可能性が期待される。

［森山彩野、孫琳、小野寺大志、加藤孝宣（ウイルス第二部）、鈴木亮介（ウイルス第二部）、由雄祥代（国立国際医療研究センター）、考藤達哉（国立国際医療研究センター）、高橋宜聖］

（3） B 型肝炎ウイルスに対する T 細胞応答の研究

B 型慢性肝炎に対して現在使用されている治療法は、病態の進展は抑制するが、ウイルス排除はほとんど期待できない。ウイルス排除に最も重要な役割を果たす細胞が HBV 特異的 $CD8^+$T 細胞であるとされているが、これらは B 型慢性肝炎患者においては機能抑制の状態にある。本研究では、これら機能抑制状態にある T 細胞が、どのような遺伝子発現パターンを示しているのかを、B 型持続感染マウスモデルを用いて検討した。その結果、機能抑制状態にある HBV 特異的 $CD8^+$T 細胞では、I 型インターフェロン(IFN-I)シグナルが抑制されていること、また OX40 の発現が上昇していることを明らかにした。肝臓内で IFN-I シグナルを強力に誘導することで、HBV 特異的 $CD8^+$T 細胞の機能性を誘導できた。さらに、HBV 特異的 $CD8^+$T 細胞の OX40 シグナルを刺激することでも、機能性の誘導が認められた。B 慢性肝炎における HBV 特異的 $CD8^+$T 細胞の機能抑制メカニズムをさらに解析することで、治療ワクチンの開発につながると期待される。

［河島圭（名古屋市立大学）、五十川正記、大西雅也（名古屋市立大学）、Ian Baudi （名古屋市立大学）、斉藤 聡（横浜市立大学）、中島淳（横浜市立大学）、藤田尚志（京都大学）、田中靖人（熊本大学）］

5．フラビウイルスに関する免疫研究

（1）ジカウイルスに関する免疫研究

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）、高野智弘、松村隆之、小野寺大志、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］

II. 細菌感染症

1．抗酸菌感染症に関する免疫研究

（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．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新規治療法開発に関する研究

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。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。これまで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、1）HS1 がA群レンサ球菌の主要な毒素ストレプトリジンOを中和すること、2）HS1 がヒト好中球への劇症型A群レンサ球菌感染モデルにおいて細胞死阻害効果を示すこと、3）HS1 が劇症型A群レンサ球菌感染マウスモデルにおいて予防および治療効果を発揮することを明らかにした。これらの結果はHS1投与が劇症型A群レンサ球菌感染症に対する補助的治療法として有用である可能性を示唆している。また、抗体療法と組み合わせる新しい治療法の可能性を探るための基礎研究を行った。これまで劇症型A群レンサ球菌感染マウスモデルにおいて好中球減少を代償すると考えられたインターフェロンγ産生未熟骨髄系細胞（γIMCs）による宿主防御機構の詳細は不明であったが、γIMCsによる宿主防御免疫の誘導にはToll様受容体(TLR)2およびC型レクチン受容体Mincleによる菌体成分のシークエンシャル・センシングが重要であることを見出してきた。現在、本サブセットおよび他の免疫細胞による宿主防御機構における新たなサイトカインの関与について解析を進め、抗体療法とサイトカインの制御とを組み合わせることによる、さらに有効な治療法開発の可能性を模索している。

［高野智弘、松村隆之、西山紋惠（協力研究員）、相内章（感染病理部）、千葉丈（感染病理部）、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）、阿戸学（感染制御部）、高橋宜聖］

III. 免疫機能に関する研究

1．ヒト免疫不全ウイルス（HIV）に関する免疫病態学的研究

HIV 感染症において CD4 陽性 T 細胞の減少は最大の病因であるが、この CD4 陽性 T 細胞の減少は感染後期（エイズ発症期）で顕著であるものの、感染初期においても全身レベルで一過性の減少がみられる。しかしながら、感染初期に誘導される細胞死の特徴については不明な点が多い。そこで本研究では、HIV-1 感染初期に誘導される CD4 陽性 T 細胞の細胞死の実態について、ヒト化マウスモデルで解析を行った。その結果、脾臓では増殖性感染が顕在化する前から細胞死が誘導されることを認めた。この死細胞集団では caspase-3/7 陰性の非アポトーシス細胞が大半を占め、その中には caspase-1 陽性パイロトーシス細胞や pMLKL 陽性ネクロトーシス細胞も含まれていた。一方、アポトーシスの誘導促進は認められなかった。このような細胞死誘導と病態形成との関連について現在解析を進めている。

［寺原和孝、岩渕龍太郎（研究生）、横田恭子（客員研究員）］

2． ヒト化マウスを用いた免疫研究

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。本研究ではヒト化マウスのリンパ組織で分化した多様なヒト樹状細胞亜集団の同定とその性状・機能解析を進めている。これまで、ヒト化マウスのリンパ組織にはヒトと同等の性状を示す古典的樹状細胞(cDC; conventional dendritic cell)が存在することを明らかにしてきたが、近年ヒトで同定された新たな樹状細胞亜集団であるDC3 の存在については定かではない。DC3 は 2 型 cDC(cDC2)のマーカーである CD1c および CLEC10A を発現しているが、CD14 や S100A8 等の炎症関連分子も同時に発現していることが特徴である。そこで、ヒト化マウスの CD14+CD1c+細胞について解析を行った結果、表現型・遺伝子発現様式は cDC2 や単球とは異なり DC3 のそれらと類似した。また、CD14+CD1c+細胞は T 細胞のプライミング能を有する炎症性細胞集団であることも明らかとなり、DC3 と同義的な細胞集団であると考えられた。今後は、この亜集団と生体内の炎症反応の関連を明らかにすることで、この亜集団を標的とした新たな炎症制御の手法の開発に繋がることが期待される。

［岩渕龍太郎（研究生）、寺原和孝、竹山春子（早稲田大学）、横田恭子（客員研究員）、高橋宜聖］

Ⅳ. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1．セアカゴケクモ毒素中和モノクローナル抗体の研究

オーストラリア由来のセアカゴケグモは、1995（平成 7）年 9 月に大阪府で多数発見されて以来、現在では日本国内ほぼ全ての都道府県で観察されており、大きな社会問題となっている。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、ウマ抗毒素の保管・投与が行われているのが実情である。また、ウマ抗毒素の使用はアナフィラキシーの危険が常につきまとうため、別の治療法が望まれている。セアカゴケグモ毒素の主成分はα-ラトロトキシンという神経毒であり、これを中和できれば十分な治療効果が上げられると考えられるため、現在、ウマ抗毒素よりも安全性と有効性の高い治療用のα-ラトロトキシン特異的ヒトモノクローナル抗体の作製を進めている。［高野智弘、松村隆之、西山紋惠（協力研究員）、阿戸学（感染制御部）、高橋宜聖］

品質管理に関する業務

I. 国家検定

エンドトキシン試験：190 ロット

［寺原和孝、小野寺大志、安達悠、森山彩野、道坂瑛（非常勤職員）、高橋宜聖］

乾燥まむしウマ抗毒素：1 ロット

［高野智弘、松村隆之、高橋宜聖］

II. 抜き取り検査

エンドトキシン試験：6 ロット

［寺原和孝、小野寺大志、安達悠、森山彩野、道坂瑛（非常勤職員）、高橋宜聖］

III. 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）、標準まむし抗毒素（抗致死、抗出血）、まむし試験毒素（致死）

［高野智弘、松村隆之、高橋宜聖］

IV. 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おり、令和 2 年度は 1 件の申請品に対応した。この検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を進めている。また、体外診断薬委員会に提出された各種体外診断薬の承認前検査申請について審査を行った。

［寺原和孝、五十川正記、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、令和 2 年度終了時点で合計 36 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．SARS-CoV-2 抗体 WHO 国際標準品制定のため、多国間共同研究に参加し、標準品候補の中和抗体価の値付けに貢献した。

［森山彩野、福士秀悦(ウイルス第一部)、前田健（獣医科学部）、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 5 日、10 月 26 日、12 月 7 日）で免疫学講義を行った。［高橋宜聖］

名古屋市立大学医学部（1 月 12 日、1 月 14 日）でウイルス学講義を行った。［五十川正記］

早稲田大学先進理工学部（11 月 2 日）で免疫学講義を行った。［松村隆之］

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。令和 2 年度の使用実績は、845 回、2186.6 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］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1). Takano T, Matsumura T, Adachi Y, Terahara K, Moriyama S, Onodera T, Nishiyama A, Kawana-Tachikawa A, Miki S, Hosoya-Nakayama K, Nakamura-Hoshi M, Seki S, Tachikawa N, Yoshimura Y, Miyata N, Horiuchi H, Sasaki H, Miyazaki K, Kinoshita N, Sudo T, Akiyama Y, Sato R, Suzuki T, Matano T, Takahashi Y. Myeloid cell dynamics correlating with clinical outcomes of severe COVID-19 in Japan. ***Int. Immunol***. 2021 Mar 31;33(4):241-247. doi: 10.1093/intimm/dxab005.

2). Iwabuchi R, Ide K, Terahara K, Wagatsuma R, Iwaki R, Matsunaga H, Tsunetsugu-Yokota Y, Takeyama H, Takahashi Y. Development of an inflammatory CD14+ dendritic cell subset in humanized mice. ***Front. Immunol***, 2021 Mar 15;12:643040. doi: 10.3389/fimmu.2021.643040..

3). Kawashima K, Isogawa M, Onishi M, Baudi I, Saito S, Nakajima A, Fujita T, Tanaka Y. Restoration of type I interferon signaling in intrahepatically primed CD8+ T cells promotes functional differentiation. ***JCI Insight.*** 2021 Feb 8;6(3):e145761. doi: 10.1172/jci.insight.145761.

4). Zhou Y, Takano T, Wang Y, Li X, Wang R, Wakatsuki Y, Nakajima-Adachi H, Tanokura M, Miyakawa T, Hachimura S. Intestinal regulatory T cell induction by β-elemene alleviates the formation of fat tissue-related inflammation. ***iScience***. 2020 Nov 30;24(1):101883. doi: 10.1016/j.isci.2020.101883. eCollection 2021 Jan 22.

5). Takeshita M, Nishina N, Moriyama S, Takahashi Y, Uwamino Y, Nagata M, Aoki W, Masaki K, Ishii M, Saya H, Kondo Y, Kaneko Y, Suzuki K, Fukunaga K, Takeuchi T Incomplete humoral response including neutralizing antibodies in asymptomatic to mild COVID-19 patients in Japan. ***Virology***. 2021 Mar;555:35-43. doi: 10.1016/j.virol.2020.12.020. Epub 2021 Jan 6.

6). Yato K, Onodera T, Matsuda M, Moriyama S, Fujimoto A, Watashi K, Aizaki H, Tanaka T, Moriishi K, Nishitsuji H, Shimotohno K, Tamura K, Takahashi Y, Wakita T, Muramatsu M, Kato T, Suzuki R.Identification of Two Critical Neutralizing Epitopes in the Receptor Binding Domain of Hepatitis B Virus preS1.***J. Virol***. 2020 Dec 9;95(5):e01680-20. doi: 10.1128/JVI.01680-20.

7). Terahara K, Iwabuchi R, Iwaki R, Takahashi Y, Tsunetsugu-Yokota Y. Substantial Induction of non-apoptotic CD4 T-cell death during the early phase of HIV-1 infection in a humanized mouse model. ***Microbes Infect.*** 2020 Oct 10, 104767, 2021. doi: 10.1016/j.micinf.2020.10.003.

8). Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. An anti-perfringolysin O monoclonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects against streptococcal toxic shock syndrome. ***BMC Res. Notes.*** 2020 Sep 5;13(1):419. doi: 10.1186/s13104-020-05264-2.

9). Matsumura T, Takahashi Y. The role of myeloid cells in prevention and control of group A streptococcal infections. ***Biosafety and Health.*** 2020 Sep; 2(3):130-

134. doi: 10.1016/j.bsheal.2020.05.006.

10). Tonouchi K, Adachi Y, Moriyama S, Sano K, Tabata K, Ide K, Takeyama H, Suzuki T, Takahashi Y. Stereotyped B-cell response that counteracts antigenic variation of influenza viruses. ***Int. Immunol.*** 2020 Sep 8;32(9):613-621. doi: 10.1093/intimm/dxaa038.

11). Sugimoto-Ishige A, Harada M, Tanaka M, Tommy Terooatea, Adachi Y, Takahashi Y, Tanaka T, Peter D Burrows, Hikida M, Takemori T. Bim establishes the B cell repertoire from early to late in the immune response. ***Int. Immunol.*** 2020 September 5. doi: 10.1093/intimm/dxaa060

12). Takano T, Kotaki R, Park J, Yoshida T, Wakatsuki Y, Tanokura M, Miyakawa T, Takahashi K, Nakajima-Adachi H, Hachimura S. Age-dependent decrease in the induction of regulatory T cells is associated with decreased expression of RALDH2 in mesenteric lymph node dendritic cells. ***Front. Immunol.*** 2020 Aug 11;11:1555. doi: 10.3389/fimmu.2020.01555. eCollection 2020.

13). Kabata H, Flamar AL, Mahlakõiv T, Moriyama S, Rodewald HR, Ziegler SF, Artis D. Targeted deletion of the TSLP receptor reveals cellular mechanisms that promote type 2 airway inflammation. ***Mucosal. Immunol.*** 2020 Jul;13(4):626-636. doi: 10.1038/s41385-020-0266-x.

14). Nithichanon A, Chetchotisakd P, Matsumura T, Takahashi Y, Ato M, Sakagami T, Lertmemongkolchai G. Diagnosis of NTM active infection in lymphadenopathy patients with anti-interferon-gamma auto-antibody using inhibitory ELISA vs. indirect ELISA. ***Sci. Rep.*** 2020 Jun 2;10(1):8968. doi: 10.1038/s41598-020-65933-x.

15). Han K, Song H, Choi CW, Park S, Kang YS, Jung K, Lee BH, Takahashi Y, Matsumura T, Yamamoto A, Kim YJ, Jee S, Kim J. Standardization of the first Korean national reference standard for snake (Gloydius brevicaudus) antivenom. ***Toxicol. Res***. 2020 Apr 14; 36(4):407-413. doi: 10.1007/s43188-020-00047-0.

16). Li X, Miyakawa T, Takano T, Nakajima-Adachi H, Tanokura M, Hachimura S. Induction of oral tolerance by pepsin-digested gliadin retaining T cell reactivity in a mouse model of wheat allergy. ***Int. Arch. Allergy Immunol.*** 2020;181(6):446-455. doi: 10.1159/000506945. Epub 2020 Apr 16.

17). Moriyama S, Adachi Y, Tonouchi K, Takahashi Y. Memory B Cells in Local and Systemic Sites. ***Adv. Exp. Med. Biol***. 2020;1254:55-62. doi: 10.1007/978-981-15-3532-1_5.

18). Flamar AL, Klose CSN, Moeller JB, Mahlakõiv T, Bessman NJ, Zhang W, Moriyama S, Stokic-Trtica V, Rankin LC, Putzel GG, Rodewald HR, He Z, Chen L, Lira SA, Karsenty G, Artis D. Interleukin-33 Induces the Enzyme Tryptophan Hydroxylase 1 to Promote Inflammatory Group 2 Innate Lymphoid Cell-Mediated ***Immunity.*** 2020 Apr 14;52(4):606-619.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2020.02.009.

19). Kuraoka M, Adach Y, Takahashi Y. Hide and seek: interplay between influenza viruses and B cells. ***Int. Immunol.*** 2020 April 18. doi: 10.1093/intimm/dxaa028

20). Anzurez A, Naka I, Miki S, Nakayama-Hosoya K, Isshiki M, Watanabe Y, Nakamura-Hoshi M, Seki S, Matsumura T, Takano T, Onodera T, Adachi Y, Moriyama S, Terahara K, Tachikawa N, Yoshimura Y, Sasaki H, Horiuchi H, Miyata N, Miyazaki K, Koga M, Ikeuchi K, Nagai H, Saito M, Adachi E, Yotsuyanagi H, Kutsuna S, Kawashima A, Miyazato Y, Kinoshita N, Kouno C, Tanaka K, Takahashi Y, Suzuki T, Matano T, Ohashi J, Kawana-Tachikawa A. Association of HLA-DRB1*09:01 with severe COVID-19. ***HLA.*** 2021 Mar 18. doi: 10.1111/tan.14256. Online ahead of print. PMID: 33734601

21). Uemura K, Sasaki M, Sanaki T, Toba S, Takahashi Y, Orba Y, Hall WW, Maenaka K, Sawa H, Sato A. MRC5 cells engineered to express ACE2 serve as a model system for the discovery of antivirals targeting SARS-CoV-2. ***Sci Rep.*** 2021 Mar 8;11(1):5376. doi: 10.1038/s41598-021-84882-7. PMID: 33686154

22). Son Y, Cheon I, Wu Y, Li C, Wang Z, Chen Y, Takahashi Y, Dent AL, Kaplan MH, Fu Y, Taylor JJ, Cui W, Sun J. Tissue-resident CD4+ T helper cells assist the development of protective respiratory B and CD8+ T cell memory responses. ***Sci. Immunol.*** 2021 Jan 8;6(55):eabb6852. doi: 10.1126/sciimmunol.abb6852.

23). 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. An influenza HA stalk

reactive polymeric IgA antibody induced by intranasal inactivated influenza vaccine exhibits anti-viral function regulated by binary interaction between HA and the antibody. ***PLoS One.*** 2021 Jan 7;16(1):e0245244. doi: 10.1371/journal.pone.0245244.

24). Ohmi Y, Nishikaze T, Kitaura Y, Ito Y, Yamamoto S, Sugiyama F, Takahashi Y, Takeda A, Kawahara T, Furukawa K, Furukawa K. Majority of alpha2,6-sialylated glycans in adult mouse brain exist in O-glycans: SALSA-MS analysis for knockout mice of alpha2,6-sialyltransferase genes. ***Glycobiology*** 2020 Nov 25; cwaa105. doi: 10.1093/glycob/cwaa105. Online ahead of print.

25). Shibata T, Makino A, Ogata R, Nakamura S, Ito T, Nagata K, Terauchi Y, Oishi T, Fujieda M, Takahashi Y, Ato M. Respiratory syncytial virus infection exacerbates pneumococcal pneumonia via Gas6/Axl-mediated macrophage polarization. ***J. Clin. Invest.*** 2020 Jun 1;130(6):3021-3037. doi: 10.1172/JCI125505. PMID: 32364537

2. 和文発表

1). 五十川正記. HBV に対する宿主免疫応答. ファルマシア. Vol. 56 No. 12. 2020. doi: 10.14894/faruawpsj.56.12_1089, 最前線 （2020 年 12 月発行）

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1). Takahashi Y. SARS-CoV-2 immunity and therapeutics. Virtual Workshop on COVID-19 (U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program and the Philippines Department of Science and Technology.) 2021 年 2 月 25 日（オンライン）

2). Ishii H, Terahara K, Nomura T, Tokusumi T, Shu T, Sakawaki H, Miura T, Matano T. 2021. Anti-Env antibody-independent protection of repeated intrarectal low-dose SIVmac239 challenges in rhesus macaques by vaccination inducing Gag/Vif-specific CD8+ but not CD4+ T cells. 4th HIV Research for Prevention Conference.（オンライン 1 月）

3). Isogawa M. Type 1 IFN signaling suppresses the unfolded protein response and induces ER stress-associated cell death. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) Hepatitis Panel Mini-symposium on Animal Models for Hepatitis Virus Infections（オンライン 11 月）

4). Baudi I, Isogawa M, Kawashima K, Tanaka Y, Suppression of intrahepatic hepatitis B surface antigen (HBsAg) prevents interferon mediated liver injury, Poster, The Liver Meeting Digital Experience, American Association for the Study of Liver Diseases（アメリカ 11 月）

2. 国内学会

1). 高橋宜聖 第 49 回日本免疫学会学術集会（オンライン）Review Talk and Panel Discussion: Current Status and Mystery of COVID-19（オンライン 12 月）

2). 高橋宜聖 免疫研究を基軸にしたワクチン研究 日本食品免疫学会オンラインシンポジウム 2020 年 11 月 18 日

3). Matsumura T, Nishiyama A, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. An anti-PFO monoclonal antibody cross-reactive with SLO protects against STSS. 第 94 回日本細菌学会総会（オンライン 3 月）

4). 五十川 正記, 河島圭吾, 田中靖人. HBV 特異的 CD8+T 細胞の OX40 シグナル刺激による持続的な HBs 抗原抑制, 第 28 回日本消化器関連学会週間（神戸 11 月）

5). 阿戸学、松村隆之. 感染制御における抗体医薬の現状と未来. 第 90 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 63 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 68 回日本化学療法学会西日本支部総会 合同開催（福岡 11 月）

6). 松村隆之、吉澤定子、池辺忠義、山崎晶、阿戸学. 劇症型 A 群レンサ球菌感染制御におけるシークエンシャル・センシング機構の役割. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会（東京 8 月）

7). 吉澤定子、松村隆之、池辺忠義、舘田一博、阿戸学. 宿主サイトカイン応答からの考察. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会（東京 8 月）

8). 阿戸学、松村隆之、池辺忠義. 劇症化病態の解明に向けて. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会（東京 8 月）

知的財産権の出願・登録状況

９．真菌部

部長　　宮﨑　義継

概 要

真菌部は真菌感染症の調査研究を主な任務としており、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。

令和2年度は、わが国の三大侵襲性真菌である、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に加え、COVID-19パンデミックに伴いSARS-CoV-2を含めて調査研究を実施した。真菌症に関する研究では、各種病原真菌の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、腸管からのカンジダ属の播種に関与する因子、腟カンジダ発症に関与する因子、酸素濃度がカンジダ属生育に与える影響、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、ゲノム編集による*A. fumigatus*の抗真菌薬耐性や増殖因子に関する研究を行った。また、アスペルギルス属細胞壁に着目した増殖形態や病原性、検査応用に関する研究を行った。

第三室は、真菌の分泌蛋白質の診断応用、クリプトコックス属やインフルエンザとアスペルギルス重複感染を対象として病原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。

真菌部は行政対応として、真菌に関する各種行政検査、新型コロナウイルス感染症の検査指針作成、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を実施した。

業 績

調査・研究

I. 病原真菌の病原性解明と新しい診断・治療法開発と疫学研究

1. 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

C. glabrata は鉄欠乏下でミトコンドリア選択的オートファジー（マイトファジー）を活性化させるが、その活性調節機構は不明である。鉄欠乏下で発現量が増加し、マイトファジーに必須である *ATG32* に着目し、*ATG32* の発現調節機構を解明することを本研究の目的とした。*ATG32* の上流領域を用いたレポーターアッセイにより、*ATG32* の発現調節に関与する領域を同定し、発現調節領域を含むプローブに鉄依存的に結合するタンパク質を質量分析によって複数同定した。それらの発現調節因子候補タンパク質の遺伝子破壊株を作製し、*ATG32* 発現調節における役割を調べたところ、エキソリボヌクレアーゼ *XRN1* が *ATG32* の鉄依存的リプレッサー様の働きを持つことが示唆された。*XRN1* の遺伝子破壊株では、*ATG32* 以外のオートファジー関連因子の発現も鉄欠乏の有無に関わらず亢進していることが明らかになった。また、ミトコンドリア分解活性に関しても、野生株と比較して *XRN1* 遺伝子破壊株では鉄欠乏の有無に関わらず活性化していることを明らかにした。

［名木稔、東祥嗣、阿部雅広、田辺公一（龍谷大学）、山越智、梅山隆、宮﨑義継］

(2) カンジダ属と腸内細菌叢の相互作用に関する解析

カンジダ属は腸管を初めとする粘膜組織に定着し、特に腸管からは、免疫不全・腸管粘膜障害を契機として全身性に播種することが知られている。腸管内では定着したカンジダ属と腸内細菌叢の相互作用が存在することが示唆されるが、この相互作用についての解析は少ない。本研究では、酢酸コルチゾンによる免疫抑制条件下での、カンジダ属と腸内細菌叢の関連について解析した。これまでの研究では、マウスの腸管内容物・便の次世代シークエンス解析により、*Candida glabrata* 播種が多い個体では、腸球菌や嫌気性菌が有意に多く、また、播種が少ない個体ではグラム陰性桿菌が有意に多いことが示された。その後、嫌気性菌 (*Bacteroides* 属・*Parabacteroides* 属・*Faecalibaculum* 属など) および腸球菌をマウスの腸管内容物より分離した。分離した菌を元に、特に腸球菌に焦点を当て、*C. glabrata* との共感染実験を実施したところ、腸球菌、特に *Enterococcus faecalis* と共感染させた群において、臓器への播種が増加する結果を認めた。今後は 1 対 1 対応での評価を行うべく、無菌マウスを用いた実験を予定している。

［阿部雅広、名木稔、永森晶子、関塚剛史・黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、宮﨑義継］

(3) *Candida auris* の国内分離株・海外分離株の病原性に関する解析

Candida auris は本邦で初めて耳漏より分離され、その後、世界中で報告されるようになった新規の菌種であるが、国内での分離が耳漏からに限られる一方、世界的には血流感染症患者からの分離が多く、その病原性には違いがあることが示唆される。本研究では、国内分離株・海外分離株を用い、マウスモデルを用いてその病原性を解析した。抗菌薬を投与して腸内細菌叢を変化させたマウスに、*C. auris* を胃内接種し、腸管内への定着を生じさせた。また、胃内接種の前日・当日・翌日の 3 日間に酢酸コルチゾンを皮下注射し、免疫抑制を生じさせ、接種 7 日・14 日後の臓器への播種を検証した。結果として、国内分離株・海外分離株ともに腸管内への定着は確認されたが、便中真菌量は海外分離株で有意に多い結果であった。また、臓器への播種も海外分離株で有意に多く、biofilm 形成能も海外分離株で高い結果であった。しかしながら、腸管からの播種実験の系では、*C. auris* の病原性は *C. albicans* よりも低いことが示され、以上の結果を海外雑誌に論文発表し、公表した。

［阿部雅広、名木稔、東祥嗣、菊池賢（東京女子医科大学）、片野晴隆・長谷川秀樹（感染病理部）、宮﨑義継］

(4) *C. glabrata* が行うマイトファジーの宿主貪食細胞内生存における役割

C. glabrata におけるマイトファジーは、鉄欠乏条件によって活性化し、鉄欠乏条件におけるミトコンドリアの機能維持と長期生存に関与している。また、マイトファジーに必須な *ATG32* の破壊株では病原性が顕著に低下することが明らかにされたが、マイトファジーがどのように病原性に関与しているかは不明である。*C.*

glabrata は、マイトファジーによって機能低下ミトコンドリアを分解することで、鉄欠乏環境である貪食細胞内において生存し、病原性を発揮しているという仮説を立て、この仮説を検証することを目的に研究を行った。

ヒト血液から調整した好中球と *C. glabrata* 野生株またはマイトファジー欠損株（*ATG32* 遺伝子破壊株）を混合し、貪食効率および貪食後の生存率の測定を行った。野生株とマイトファジー欠損株における被貪食効率に有意な差はなかったが、貪食後の生存率においては、野生株が欠損株と比べて有意に高い事が明らかとなった。貪食細胞内における鉄欠乏ストレスや酸化ストレスが *ATG32* 破壊株の生存率を低めているとの仮説のもと、貪食前に鉄添加条件または Myeloperoxidase（MPO） inhibitor 添加条件で incubate した好中球を用い、上記実験と同様の実験を行った。鉄処理好中球を用いた場合では、鉄非添加好中球と同様に *ATG32* 破壊株の生存率は野生株と比べて有意に低かったが、MPO inhibitor 処理好中球の場合は *ATG32* 破壊株の生存率が高まり、野生株と同程度であった。野生株と *ATG32* 破壊株の好中球内生存率の差には MPO が関与していることがわかった。

［名木稔、東祥嗣、阿部雅広、田辺公一（龍谷大学）、山越智、梅山隆、宮﨑義継］

(5) 腟カンジダ発症に関与する因子の解析

カンジダ属は特に若年女性において、高エストロゲン状態や妊娠・糖尿病などの条件下で腟への定着し、カンジダ腟炎を発症することが知られている。原因菌として *Candida albicans* が最多であると報告されているが、近年 non-*albicans Candida* によるものも増えていると報告されている。しかしながら、カンジダ腟炎（特に non-*albicans Candida* が原因菌の場合）における免疫学的機序については未解明な点も多い。本研究では、*Candida tropicalis*、*Candida auris* の 2 種類を用い、カンジダ腟炎マウスモデルを用いて研究を行い、カンジダ属に対する免疫応答を評価した。結果として野生型マウスに比して IL-17A 欠損マウスにおいて、*C. tropicalis*、*C. auris* の腟内定着量が多く、腟内の炎症細胞集積が少ない結果を認めた。また、C 型レクチン受容性に属する Dectin-1、Dectin-2 の各々の欠損マウスでも評価を行ったところ、Dectin-2 欠損マウスにおいて野生型マウスに比して *C. tropicalis*、*C. auris* の腟内定着量が多い結果を認めた。病理学的解析では特に IL-17A 欠損マウスに *C. auris* を感染させた個体において、腟上皮の過角化・錯角化が強く、上皮に接着する形で真菌が定着している像が認められた。今後はこの定着に関与する因子および生体側の免疫応答機序について解析を進める。

［阿部雅広、永森晶子、名木稔、定本聡太・澁谷和俊（東邦大学）、宮﨑義継］

(6) カンジダ属の定着と環境中の酸素濃度の関連に関する解析

カンジダ属は腸管や腟、口腔などの粘膜組織に定着するほか、biofilm を形成してカテーテルや環境中でも長期間に渡って生存することが可能である。カンジダ属が定着する環境は様々であり、特に酸素濃度は好気～嫌気環境まで多岐にわたるが、酸素濃度とカンジダ属定着に関する解析はこれまでのところ寡少である。本研究では、嫌気・微好気ワークステーションを用い、酸素濃度を様々に変化させた時のカンジダ属の接着に焦点を当てて解析を行った。*Candida albicans*、*Candida tropicalis*、*Candida parapsilosis*、*Candida auris* を用いて好気、微好気（酸素濃度 5%）、嫌気の 3 条件で biofilm 形成実験を行い、crystal violet 法にて形成量を評価した。結果として *C. albicans*、*C. parapsilosis*、*C. auris* については酸素濃度が低下するにつれて酸素濃度が低下することが明らかになった一方、*C. tropicalis* は微好気条件で最も多い biofilm 形成が認められた。

［阿部雅広、名木稔、越川拓郎（聖マリアンナ医科大学）、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アスペルギルス抗原抗体の作製

侵襲性アスペルギルス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、アスペルギルス症の血清学的検査では血清中のガラクトマンナン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。本研究期間はこれまでに確立した *A. fumigatus* Y1 抗原および B11b 抗原タンパク質のサンドイッチ ELISA 系を用いて、実際の侵襲性アスペルギルス症患者の血清中の抗原の検出を試みた。その結果、健常者血清では検出限界以下のところ、患者血清においては一定のレベルで抗原を検出できた。またこの結果をもとに ROC 曲線を描いて統計学的な解析を行ったところ、抗原の検出感度とその特異性は高値を示し、侵襲性アスペルギルス症が疑われる検体に対し、ある程度の信頼性を持って血清中に存在する抗原を検出することができた。

［高塚翔吾、福島深雪、壇辻百合香、山越智、橋本ゆき、犬飼達也（東京医科大学）、梅山隆、宮﨑義継］

(2) *A. fumigatus* の分泌小胞に関する研究

これまでに液体培養からの分泌小胞調製法を確立していたので、膜タンパク質を検出する系の構築を試みた。すでに 2 報分泌小胞中に含まれるタンパク質の網羅的解析の報告がされたので、その中から分子量と発現量を考慮し両論文で共通する 3 つの膜タンパク質を選択し、ポリクローナル抗体の作成を行った。それぞれのタンパク質のアミノ酸配列から抗原性の高いと思われるペプチド鎖を合成、ウサギに免疫し、血清中の抗体価の上昇を確認後、血清を調製した。さらに抗原ペプチド鎖を用いて特異的抗体をアフィニティ精製した。分泌小胞のタンパク質を SDS-PAGE にて分離後、精製した抗体を用いてウエスタンブロットを行った。その結果、3 つのタンパク質に対する抗体のなかで 1 つの抗体は分泌小胞のタンパク質を検出できた。現在、同タンパク質が分泌小胞膜上に存在するか否か調べている。

［山越智、梅山隆、宮澤拳、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、高塚翔吾、上野圭吾、宮﨑義継］

(3) *A. fumigatus* の濁度法による菌糸生育評価

液体振盪培養において菌糸が凝集塊を形成する性質は、単細胞生物で用いられる生育評価手法を糸状菌に適用できない要因であり、糸状菌の生育を正確に定量する手法が求められていた。*A. fumigatus* の細胞壁多糖 α-1,3-グルカンおよびガラクトサミノガラクタンの生合成遺伝子を破壊した株（Δ*ags1* Δ*gtb3* 株）は、液体振盪培養において菌糸が分散状態になる。当該遺伝子破壊株の菌糸生長は、濁度により定量的に計測可能であることが明らかになった。また、当該遺伝子破壊株に対する抗真菌薬による濃度依存的な生育抑制が濁度により計測された。すなわち、菌糸分散状態を維持することで、単細胞生物と同様の生育測定手法が糸状菌に適用可能であることが示唆された。現在、遺伝子組み換えに依らない菌糸分散培養条件の検討を進めている。

［宮澤拳、梅山隆、星野泰隆、宮﨑義継、阿部敬悦（東北大学）］

3. 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(DCs)は、本菌の野生株を貪食できないが莢膜欠損株は効率よく貪食する。DCsによる莢膜欠損株の認識機構や莢膜多糖の認識回避機構は不明であった。2020年度は、莢膜多糖が菌体の抗原を被覆しDCsによるCD11b依存的な菌体認識を回避するモデルを報告した。CD11bは、YPD培地で培養した莢膜欠損株には結合したが、合成グルコース培地で培養した菌体には結合しなかった。また、YPD培地で培養した菌体を事前にProteinase Kで処理すると、CD11bは結合しなかった。βグルカン分解酵素で処理した場合は、CD11bの結合性に影響しなかった。この結果は、CD11bリガンドがある特定の環境で菌体表面に発現するタンパク質である可能性を示唆している。

［上野圭吾、永森晶子、福島深雪、清水公徳（東京理科大学）、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* に対する新規経鼻ワクチンの開発とその生体防御機構

これまでに、*C. gattii* 感染症に対する樹状細胞ワクチンや経鼻ワクチンを開発し、これらワクチンが肺常在性記憶型 T 細胞を誘導することを示した。2020 年度は、経鼻ワクチン投与群で活性化する感染後の炎症応答について調べた。その結果、経鼻ワクチン投与群では、アジュバントの種類によらずに感染 7 日目に CD4 陽性 T 細胞や顆粒球の増加を認め、感染 14 日目には多核巨細胞を伴う肉芽腫形成を認めた。この感染後の炎症応答は FTY720 投与条件下で観察されることから、経鼻ワクチンで誘導された肺常在性記憶型 T 細胞が、感染に応答して感染防御に必要な炎症応答を惹起していると考えられた。［上野圭吾、永森晶子、福島深雪、清水公徳（東京理科大学）、宮崎義継］

2.インフルエンザ続発性肺アスペルギルス症における宿主応答メカニズムに関する研究

近年インフルエンザ感染後に、重度のアスペルギルス症を発症する二次性の真菌感染症が問題となっている。そうした中で本研究ではマウスにおけるインフルエンザ続発性肺アスペルギルス症モデルを確立し、感染後の肺内菌数と生体内における宿主応答メカニズムの解析を行った。その結果、二次感染後の肺内でアスペルギルスのクリアランスが進まず、生存率も有意に低下していた。また二次感染後の肺内のアスペルギルスのクリアランスが進まないことが炎症応答の亢進に繋がり予後を悪くしてしまうことがわかった。今回の結果はインフルエンザ続発性肺アスペルギルス症の重症化メカニズムの解明に貢献できるものと考えられる。

［高塚翔吾、壇辻百合香、宮澤拳、小川伸子、犬飼達也（東京医科大学）、上野圭吾、阿部雅広、山越智、梅山隆、星野泰隆、澁谷和俊（東邦大学）、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) 放線菌ゲノム解析による二次代謝産物生合成遺伝子の発見

環境から分離した 6 種の *Streptomyces* 属菌株のゲノム中に存在する二次代謝産物生合成遺伝子を見出すために、次世代シークエンサーによるドラフトゲノム配列の決定、遺伝子予測、2ndFind 等によるゲノム解析を行った。

［石川淳、高橋俊二（理化学研究所）］

(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 64,555 回の利用があり、前年度より 35%増加し、これまでで最高の利用回数となった。

［石川淳］

(3) Nocardithiocin の誘導体における抗菌活性

Nocardia pseudobrasiliensis の生産するリボソーム翻訳系翻訳後修飾ペプチドである Nocardithiocin は、主にグラム陽性菌に対して抗菌活性を有している。そこで、抗菌活性の増強および非定型抗酸菌に対する抗菌活性を有する誘導体の創製を目的として、Nocardithiocin の母骨格のアミノ酸をコードする遺伝子の改変を行った。遺伝子変異株を培養して誘導体を生産させ、その粗抽出液を用いて非定型抗酸菌等に対する活性等の検討を行った結果、いくつかの変異体で活性が認められた。これらの活性のあった誘導体に関して、精製を進めた。

［星野泰隆、星野仁彦（ハンセン病研究センター）、酒井香奈江（神戸大学）］

(4) 真菌におけるリボソーム翻訳系翻訳後修飾ペプチド（RIPPS）の探索

真菌ではいくつかの RIPPS の生産の報告があり、またマイコトキシンである Ustiloxin の生合成経路も明らかになってきている。そこで、ゲノム情報が明らかになっている病原真菌を対象として、Ustiloxin の生合成遺伝子を指

標とした探索を行った結果、*Aspergillus fumigatus* のゲノム中にいくつかの生合成に関与すると予想される領域を見出した。これらの領域の遺伝子の発現解析を行った結果、いくつかの培養条件で発現していることが明らかとなり、RIPPS を生産している可能性が示された。

［星野泰隆、梅山隆、山越智、宮﨑義継、石川淳］

2. 薬剤耐性機構に関する研究

(1) CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術による *Aspergillus fumigatus* ア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 の遺伝子変異やプロモータ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。2018 年に新居らにより、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の全ゲノム比較解析から non-Cyp51A 型の変異(*HMG1* 遺伝子の S269F 変異)が報告された。Hmg1 はエルゴステロール生合成経路の１つの酵素であり、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。この変異がアゾール耐性に関与するかを直接確認するために、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を用いて、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できた。特定の遺伝子の部位特異的変異導入は、これまで時間がかかる上に導入効率が極めて低く、本法により簡便・高効率で可能になった。臨床分離株や他の遺伝子についても応用でき、今後、アスペルギルスの薬剤耐性メカニズムを解明するのに有用である。

［梅山隆、宮﨑義継、犬飼達也（東京医科大学）、新居鉄平・渡辺哲・亀井克彦（千葉大学）］

(2) セシウム耐性放線菌のゲノム解析

ある種の放線菌では、原子力発電所事故により環境に放出されたセシウムを蓄積することが知られているが、その機構を明らかにするために、モデル放線菌株のひとつである *Streptomyces lividans* TK24 からセシウム耐性変異株を分離し、そのゲノム解析を行った結果、転写因子、トランスポーターなどを含む約 40 遺伝子に変異を見出した。

［石川淳、安齋洋次郎・福本敦（東邦大学）］

(3) 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。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。構造の異なる様々なステロール類を用いて検討したところ、アムホテリシン B の感受性は、取り込まれるステロール種、特にステロイド骨格の 7 位に二重結合を有するかどうかによって大きく異なることが明らかになった。ステロイド骨格の 7 位に二重結合を有するステロール種（真菌の主要ステロールであるエルゴステロールを含む）添加条件ではアムホテリシン B 感受性は高く、二重結合の無いステロール種（哺乳類の主要ステロールであるコレステロールを含む）添加条件では低感受性を示した。ヒトの主要ステロールはコレステロールであることから、*C. glabrata* が宿主体内においてコレステロールを取り込み、利用した場合、アムホテリシン B の感受性が低下することが予想される。73246 株が好気条件でもステロールを取り込むようになった原因を突き止めるため、L999 株と 73246 株の次世代シーケンス解析を行った。73246 株の複数のエルゴステロール生合成遺伝子 ORF 内に変異が生じており、それら生合成遺伝子の破壊株を作製することで、ステロール取り込みに与える影響を評価する予定である。

［名木稔、田辺公一（龍谷大学）、阿部雅広、山越智、梅山隆、石川淳、宮﨑義継］

レファレンス業務

医療機関や研究機関、自治体、他省庁などからの要請にもとづき、真菌感染症の診断、真菌に関する調査、真菌症に関する相談業務などを行った。令和 2 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：47 件、環境検体数:0 件、核酸検体数:0 件、パラフィン検体数：16 件、抗真菌薬感受性試験依頼数：24 件、行政検査 3 件）の対応にあたった。これらの検査の結果、感染症法 4 類疾患の対象となるコクシジオイデス症の病原体 *Coccidioides immitis* は 1 件、感染症法 5 類全数把握疾患の対象となる播種性クリプトコックス症の病原体 *Cryptococcus neoformans* を検出したのは 0 件、*Cryptococcus gattii* を検出したのは 1 件であった。

［阿部雅広、中山靖子、名木稔、星野泰隆、山越智、橋本ゆき、壇辻百合香、福島深雪、梅山隆、宮澤拳、髙塚翔吾、上野圭吾、石川淳、宮﨑義継］

品質管理に関する業務

令和 2 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 4 ロット（注射用セフェピム塩酸塩）について力価試験を担当し、日本薬局方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、いずれの収去品も含有量は規格範囲内にあり、すべて「適合」と判定された。

［石川淳、星野泰隆、福山まり、小川伸子、宮﨑義継］

国際協力関係業務

ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）ならびに Vietnam Military Medical University（VMMU）とヒストプラスマ症、クリプトコックス症およびカンジダ症の診断法と疫学調査に関する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。

［名木稔、宮﨑義継］

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Masahiro Abe, Harutaka Katano, Minoru Nagi, Yoshitsugu Higashi, Yuko Sato, Ken Kikuchi, Hideki Hasegawa, Yoshitsugu Miyazaki. Potency of gastrointestinal colonization and virulence of *Candida auris* in a murine endogenous candidiasis. PLoS ONE. Dec 2;15(12) e0243223, 2020

2) Sadamoto S, Shinozaki M, Nagi M, Nihonyanagi Y, Ejima K, Mitsuda A, Wakayama M, Tochigi N, Murakami Y, Hishima T, Nemoto T, Nakamura S, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological study on the prevalence of trichosporonosis in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue autopsy sections by in situ hybridization with peptide nucleic acid probe. Med Mycol. 2020 Jun 1;58(4):460-468. doi:10.1093/mmy/myz096. PMID: 31535126; PMCID: PMC7261608.

3) Yamashita C, Takesue Y, Matsumoto K, Ikegame K, Enoki Y, Uchino M, Miyazaki T, Izumikawa K, Takada T, Okinaka K, Ueda T, Miyazaki Y, Mayumi T. Echinocandinsversus non-echinocandins for empirical antifungal therapy in patients with hematological disease with febrile neutropenia: A systematic review and meta-analysis. J Infect Chemother. 2020 Jun;26(6):596-603. doi:10.1016/j.jiac.2020.01.015. Epub 2020 Mar 11. PMID: 32171659.

4) Hamada Y, Ueda T, Miyazaki Y, Nakajima K, Fukunaga K, Miyazaki T, Nakada-Motokawa N, Nagao M, Kawamura H, Shigemi A, Ebihara F, Kimura T, Ikegame K, Uchino M, Ikeuchi H, Takesue Y. Effects of antifungal stewardship using therapeutic drug monitoring in voriconazole therapy on the prevention and control of hepatotoxicity and visual symptoms: A multicentre

study conducted in Japan. Mycoses. 2020 Aug;63(8):779-786. doi: 10.1111/myc.13129. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32510723; PMCID: PMC7496238.

5) Yoshida I, Saito AM, Tanaka S, Choi I, Hidaka M, Miyata Y, Inoue Y, Yamasaki S, Kagoo T, Iida H, Niimi H, Komeno T, Yoshida C, Tajima F, Yamamoto H, Takase K, Ueno H, Shimomura T, Sakai T, Nakashima Y, Yoshida C, Kubonishi S, Sunami K, Yoshida S, Sakurai A, Kaneko Y, Miyazaki Y, Nagai H. Intravenous itraconazole compared with liposomal amphotericin B as empirical antifungal therapy in patients with neutropaenia and persistent fever. Mycoses. 2020 Aug;63(8):794-801. doi: 10.1111/myc.13100. Epub 2020 May 28. PMID: 32391919; PMCID: PMC7497187.

6) Tashiro S, Osa S, Igarashi Y, Watabe Y, Liu X, Enoki Y, Taguchi K, Mayumi T, Miyazaki Y, Takesue Y, Matsumoto K. Echinocandins versus non-echinocandins for the treatment of invasive candidiasis: A meta-analysis of randomized controlled trials. J Infect Chemother. 2020 Nov;26(11):1164-1176. doi: 10.1016/j.jiac.2020.06.008. Epub 2020 Jun 30. PMID: 32620421.

7) Miyazaki H, Shibuya R, Chang B, Inukai T, Miyazaki Y, Ubukata K, Nakamura S, Matsumoto T. Genetic characteristics of piliated *Streptococcus pneumoniae* serotype 35B, increased after introduction of pneumococcal vaccines in Japan. J Infect Chemother. 2020 Nov;26(11):1198-1204. doi:10.1016/j.jiac.2020.06.016.Epub2020 Jul 15. PMID: 32682683.

8) Panthee, S., Kito, N., Hayashi, T., Shimizu, T., Ishikawa, J., Hamamoto, H., Osada, H. and Takahashi, S. β-carboline chemical signals induce reveromycin production through a LuxR family regulator in *Streptomyces* sp. SN-593. Sci Rep. 2020 Jun 23;10(1):10230. doi: 10.1038/s41598-020-66974-y.

9) Tomohiko Tamura, Satomi Saito, Moriyuki Hamada, Yingqian Kang, Yasutaka Hoshino, Tohru Gonoi, Yuzuru Mikami, Takashi Yaguchi. *Gordonia crocea* sp. nov. and *Gordonia spumicola* sp. nov. isolated from sludge of a wastewater treatment plant. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. Jun;70(6):3718-3723, 2020.

10) Shibata W, Niki M, Sato K, Fujimoto H, Yamada K, Watanabe T, Miyazaki Y, Asai K, Obata Y, Tachibana T, Kawaguchi T, Kaneko Y, Kakeya H. Detection of *Rhizopus*-specific antigen in human and murine serum and bronchoalveolar lavage. Med Mycol. 2020 Oct 1;58(7):958-964. doi: 10.1093/mmy/myaa001. PMID: 32060526.

11) Osa S, Tashiro S, Igarashi Y, Watabe Y, Liu X, Enoki Y, Taguchi K, Mayumi T, Miyazaki Y, Takesue Y, Matsumoto K. Azoles versus conventional amphotericin B for the treatment of candidemia: A meta-analysis of randomized controlled trials. J Infect Chemother. 2020 Nov;26(11):1232-1236. doi:10.1016/j.jiac.2020.07.019. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32828679..

12) Yamamoto K, Mawatari M, Fujiya Y, Kutsuna S, Takeshita N, Hayakawa K, Nakamura M, Takanabe Y, Maruoka Y, Inoue M, Hara T, Nagasaka S, Tayama N, Miyazaki Y, Umeyama T, Ohmagari N. Survival case of rhinocerebral and pulmonary mucormycosis due to *Cunninghamella bertholletiae* during chemotherapy for acute myeloid leukemia: a case report. Infection. 2021 Feb;49(1):165-170. doi:10.1007/s15010-020-01491-8. Epub 2020 Jul 27. PMID: 32720129.

13) Izumikawa K, Kakeya H, Sakai F, Shibuya K, Sugita T, Takazono T, Takata T, Tashiro M, Teruya K, Nakamura S, Noguchi H, Hiruma M, Makimura K, Miyazaki T, Miyazaki Y, Yamagishi Y, Yoshida K, Watanabe A. Executive Summary of JSMM Clinical Practice Guidelines for Diagnosis and Treatment of Cryptococcosis 2019. Med Mycol J. 2020;61(4):61-89. doi: 10.3314/mmj.20.001. PMID: 33250505.

14) Ishida T, Seki M, Oishi K, Tateda K, Fujita J, Kadota JI, Kawana A, Izumikawa K, Kikuchi T, Ohmagari N, Yamada M, Maruyama T, Takazono T, Miki M, Miyazaki Y, Yamazaki Y, Kakeya H, Ogawa K, Nagai H, Watanabe A. Clinical manifestations of adult patients requiring influenza-associated hospitalization: A prospective multicenter cohort study in Japan via internet surveillance. J Infect Chemother. 2021 Mar;27(3):480-485. doi: 10.1016/j.jiac.2020.10.021. Epub 2020 Nov 12. PMID: 33189538.

15) Fujii, I., Hashimoto, M., Konishi, K., Unezawa, A., Sakuraba, H., Suzuki, K., Tsushima, H., Iwasaki, M., Yoshida, S., Kudo, A., Fujita, R., Hichiwa, A., Saito, K., Asano, T., Ishikawa, J., Wakana, D., Goda, Y., Watanabe, A., Watanabe, M., Masumoto, Y., Kanazawa, J., Sato, H., and Uchiyama, M. Shimalactone Biosynthesis Involves Spontaneous Double Bicyclo‐Ring Formation with 8π-6π Electrocyclization. Angewandte Chemie International Edition 59:8464-8470, 2020. Angew Chem Int Ed Engl. 2020 May 25;59(22):8464-8470. doi: 10.1002/anie.202001024.

16) Sakai, K., Hara, Y., Ishibashi, M., Sakai, M., Kawahara, S., Imanishi, S., Harada, K., Hoshino, Y., Komaki, H., Mukai, A., and Gonoi, T.: Characterization of nocardithiocin derivatives produced by amino acid substitution of precursor peptide notG. Int. J. Pept. Res. Ther. 26:281-290, 2020.

17) Machida M, Itaru Nakamura I , Sato A, Nakamura S, Miyazaki Y, Watanabe H. Hypertrophic pachymeningitis caused by *Schizophyllum* sp.: a novel case report. Infection. 2020 Nov 6. doi: 10.1007/s15010-020-01544-y

18) Takata N, Ishii KA, Takayama H, Nagashimada M, Kamoshita K, Tanaka T, Kikuchi A, Takeshita Y, Matsumoto Y, Ota T, Yamamoto Y, Yamagoe S, Seki A, Sakai Y, Kaneko S, Takamura T. LECT2 as a hepatokine links liver steatosis to inflammation via activating tissue macrophages in NASH. Sci Rep. 2021 Jan 12;11(1):555.

19) Futatsuya T., Anzawa K., Mochizuki T., Shoji A., Hoshino Y., Abe M.:Disseminated cutaneous cryptococcosis in an immunocompetent elderly long-term pigeon fancier. J Dermatol. 47(5):551-553. 2020

2. 和文発表

1) 名木稔. カンジダに対する抗真菌薬の作用機序と耐性機構. 臨床検査. 64(7) 786-790, 2020 年.

2) 東祥嗣、宮﨑義継. 肺アスペルギルス症. 呼吸器疾患最新の治療 2021-2022. 227-229, 2021 年.

3) 石川淳. 第 5 章　遺伝. 第 7 版 薬科微生物学. 63-82, 2021 年.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

2. 国内学会等

1) 梅山隆、名木稔、阿部雅広、犬飼達也、東祥嗣、壇辻百合香、中山靖子、山越智、上野圭吾、高塚翔吾、橋本ゆき、星野泰隆、福山まり、小川伸子、宮﨑義継. 糸状真菌症診断のピットフォールと新たな展開「培養法における工夫と注意点」. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会, 2020 年 8 月 20 日, 東京.

2) 阿部雅広. 基礎研究・臨床研究の融合による、臨床の疑問に立脚した研究推進・論文執筆. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会, 2020 年 8 月 20 日, 東京.

3) 阿部雅広、名木稔、東祥嗣、宮﨑義継. 腸管からの *Candida auris* 播種と腸内細菌叢の関連に関するステロイド投与下マウスモデルによる解析. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会. 2020 年 8 月 20 日, 東京.

4) 上野圭吾、山越智、宮﨑義継. 肺常在性記憶型 T 細胞による高病原性クリプトコックス症の制御. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会. 2020 年 8 月 20 日, 東京.

5) 林崎浩史、高塚翔吾、川久保俊、竹山春子、川上和義、大石和徳、宮﨑義継、金城雄樹. 新規肺炎球菌ワクチンの免疫学的作用機序の解析. 第 31 回日本生体防御学会学術総会. 2020 年 9 月 10 日, 熊本.

6) 梅山隆、宮澤拳、舘野円花、山越智、高塚翔吾、星野泰隆、犬飼達也、石野敬子、宮﨑義継. *Aspergillus fumigatus* Cyp51A アゾール耐性変異の検証 –CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術の応用 –. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.

7) 新居鉄平、梅山隆、犬飼達也、渡辺哲、宮﨑義継、亀井克彦. *Aspergillus fumigatus* で見つかった Cyp51A と Hmg1 の変異によるマルチアゾール耐性株. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.

8) 高塚翔吾、壇辻百合香、犬飼達也、阿部雅広、上野圭吾、梅山隆、星野泰隆、山越智、宮崎義継. インフルエンザ続発性肺アスペルギルス症モデルの確立と宿主応答メカニズムに関する研究. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 44114, 2020 年, 東京.

9) 梅山隆、宮澤拳、舘野円花、山越智、高塚翔吾、星野泰隆、犬飼達也、石野敬子、宮崎義継. *Aspergillus fumigatus* Cyp51A アゾール耐性変異の検証 -CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術の応用-. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.

10) 名木稔、東祥嗣、鈴木健裕、知花博治、田辺公一、阿部雅広、堂前直、山越智、宮崎義継. *Candida glabrata* におけるマイトファジー遺伝子 ATG32 の転写調節機構の解明. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.

11) 阿部雅広、名木稔、東祥嗣、金城雄樹、宮崎義継. Vulvovaginal candidiasis における NKT 細胞の役割解析. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.

12) 上野圭吾, 宮崎義継. 高病原性クリプトコックス症に対するワクチン開発とその生体防御機構について. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会. 2020 年 10 月 10 日, 東京.

13) 阿部雅広、黒田誠、宮崎義継. マウスモデルを用いた腸管からの *Candida glabrata* 播種に関与する腸内細菌叢の解析. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会. 2020 年 10 月 21 日, 東京.

14) 阿部雅広、大塚喜人、渡智久、小倉翔、木村宗芳、高木伸介、谷口修一、荒岡秀樹. 同種造血幹細胞移植患者におけるコリネバクテリウム菌血症の臨床・微生物学的特徴に関する後方視的解析. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会. 2020 年 10 月 21 日, 東京.

15) 蒲池悠佳、宮澤拳、吉見啓、日高將文、中島佑、阿部敬悦. *Aspergillus nidulans* の α-1,3-グルカン合成酵素による産生多糖の分子量制御機構の解析 . 糸状菌分子生物学研究会若手の会第 8 回ワークショップ. 2020 年 11 月 13 日, Web.

16) 田代裕登、宮澤拳、山形洋平、吉見啓、 阿部敬悦. In vitro α-1,3-グルカン（AG）合成系の確立に向けた GFP 融合 AG 合成酵素発現株の作製 . 糸状菌分子生物学研究会若手の会第 8 回ワークショップ. 2020 年 11 月 13 日, Web.

17) 竹内歩、宮澤拳、吉見啓、阿部敬悦. 麹菌 *Aspergillus oryzae* における細胞内 α-アミラーゼ遺伝子 amyG 及び amyH の機能解析. 糸状菌分子生物学研究会若手の会第 8 回ワークショップ. 2020 年 11 月 13 日, Web.

18) 阿部雅広、名木稔、金城雄樹、宮崎義継. マウスモデルを用いた vulvovaginal candidiasis に対する免疫学的応答の解析. 真菌症フォーラム 2020 学術集会. 2020 年 11 月 29 日, Web

19) 星野泰隆、壇辻百合香、阿部雅広、名木稔、上野圭吾、中山靖子、小川伸子、福山まり、橋本ゆき、福島深雪、越川拓郎、岡本圭祐、宮澤拳、高塚翔吾、梅山隆、山越智、石川淳、宮崎義継. 病原真菌の培養検査における現状. 真菌症フォーラム 2020 学術集会. 2020 年 11 月 29 日, Web.

20) 名木稔. *Candida auris* と抗真菌薬耐性. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 2021 年 1 月 29 日—3 月 31 日, Web.

21) 壇辻百合香、星野泰隆、阿部雅広、名木稔、上野圭吾、中山靖子、福島深雪、越川拓郎、橋本ゆき、宮澤拳、高塚翔吾、梅山隆、山越智、石川淳、宮崎義継. 病原真菌の培養検査における培養条件に関する検討. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 2021 年 1 月 29 日—3 月 31 日, Web.

22) 小泉亜未、尾形慎、矢野成和、宮澤拳、吉見啓、佐野元昭、日髙將文、仁平高則、中井博之、木村聡、岩田忠久、阿部敬悦. 麹菌の細胞壁 α-1,3-グルカン生合成に関与する α-アミラーゼ AgtA の特性解析. 日本農芸化学会 2021 年度大会.2021 年 3 月 18 日–21 日, Web.

23) 市川暉、加藤好一、宮澤拳、田畑風華、古明地敬介、吉見啓、阿部敬悦. 麹菌の菌糸接着因子制御株を用いた酵素生産向上と培養液流動性の改善. 日本農芸化学会 2021 年度大会. 2021 年 3 月 18 日–21 日, Web.

24) 高塚翔吾、壇辻百合香、宮澤拳、犬飼達也、阿部雅広、上野圭吾、山越智、梅山隆、星野泰隆, . インフルエンザ続発性肺アスペルギルス症の宿主応答メカニズムに関する研究. 第 94 回日本細菌学会総会. 2021 年 3 月 23 日–25 日, Web.

III. その他

1) 宮﨑義継. 感染研の COVID-19 に対する検査等の活動. 感染症に強い国づくりに向けた感染症研究プラットフォームの構築に関する提言 107-110. 2020 年.

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、所内外の共同研究を活用しつつ、主に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。

本年度は、2019 年末に中国で発生して瞬く間にパンデミックとなった SARS-CoV-2 による新型肺炎 COVID-19 の対応に世界中が明け暮れた一年であった。この未曾有のパンデミックを収める切り札として特に期待されているのが mRNA 型ワクチンという新機軸のワクチンである。mRNA 自体は生体中で不安定な物質であるが、本ワクチンでは SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質をコードした mRNA を脂質ナノ粒子に抱合させることで安定化させ、かつ、細胞に取り込まれて発現しやすくなるように工夫されている。当研究部は長らく脂質関連の生化学的研究を行っていたこともあり、コロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン（SARS-CoV-2）の国家検定担当に本年度の途中から指定され、このワクチンの承認前検査のとりまとめも行った。

プリオンは、異常型プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）の多量体（凝集体）から成る。非定型 H 型ウシ海綿状脳症プリオン（H-BSE プリオン）に罹患したウシの脳乳剤をヒト・モデルとしてのカニクイザルへ脳内接種あるいは経口投与後約 4 年間の観察期間を経て解析した結果、脳の各部位の異常型プリオン蛋白質は検出限界以下だった。H-BSE プリオンのカニクイザルへの伝播効率は、従来型 BSE（C-BSE）プリオンや非定型 L-BSE プリオンよりも低いと考えられる。また、異常型プリオンの持続感染が可能な培養細胞候補を見出した。一方で、偏性細胞内寄生細菌クラミジア・トラコマティスの封入体膜タンパク質 IncD と宿主セラミド輸送タンパク質 CERT との結合機序についても解析を進めた。また、スフィンゴ脂質生合成の初発酵素であるセリン・パルミトイル転移酵素活性を欠いた HeLa 細胞変異株を無血清培地で培養する実験系を構築し、クラミジアなど病原体の宿主スフィンゴ脂質依存性を解析した。

ゲノム編集技術を活用した宿主細胞ゲノムワイドな遺伝子探索から志賀毒素などの感受性に必要な宿主遺伝子の同定と解析を昨年度までに進め、この方向性の研究は本年度も幅を広げつつ推進した。コレラ菌が生産する新たな病原性因子として注目されている cholix 毒素は真核生物伸長因子 eEF2 を ADP リボシル化してタンパク質翻訳を阻害する。本年度は、cholix 毒素の感受性に必要な宿主遺伝子候補を網羅的に見出した。一方で、CERT が小胞体―ゴルジ体膜接触部位で働くのに必要な遺伝子群の同定などにも成功した。また、特定の標的遺伝子に注目した解析から、種々の病原体の細胞感染における糖鎖、脂質輸送などの重要性も明らかにした。

アフリカミドリザル由来の Vero 細胞はワクチン生産用の細胞基材として汎用されている。我々はこれまでに、完全長で変異のないサル内在性レトロウイルス配列が Vero 細胞ゲノムに存在することを見出しており、本年度はその性状解析を行った。一方で、抗ウイルス化合物探索や宿主細胞の体細胞遺伝学的な解析に活用すべく樹立した、黄熱ウイルスワクチン株（17D-204）由来サブゲノミックレプリコンの複製が持続的に起こる Vero 細胞の性状解析も行った。

抗ヒト Occludin モノクローナル抗体を樹立し、C 型肝炎ウイルス（HCV）感染を強力に阻止できることを培養細胞感染系、動物感染実験系で示してきた。本年度は、持続感染モデルにおける本抗体の効果を検討した。また、重症血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）の細胞感染をコーヒー含有成分カフェ酸が阻害することについて構造活性相関解析を行い、カフェ酸の *o*-dihydroxybenzene 構造が重要であることを明らかにした。また、緑茶由来のいくつかのカテキン類、フラボノール類にも抗 SFTSV 活性があることを見出した。さらに、これらの化合物はウイルス粒子自体に作用して粒子構造を変化させ、その感染性を減弱させることを示唆した。

無染色・非侵襲的条件下での病原体感染細胞高解像度解析システムを構築する目的で、病原体観察に適したパーツ類を組み込んだセミオーダーメイドのアポダイズド位相差顕微鏡を細胞化学部 BSL2 実験室に設置した。さらに、Vero 細胞等の観察を通して顕微鏡本体および解析ソフトウェア等

の至適化を行った。

令和３年３月末をもって、部長の花田賢太郎と第一室長の萩原健一は定年退任となる。しばらくは続くであろう SARS CoV-2 mRNA ワクチンの国家検定業務への対応を最優先としながらも、４月以降も新部長のもとで可能な範囲で部員それぞれの研究活動も継続し、発展させてほしいと願っている。

業 績

調査・研究

I. プリオン、ウイルス等病原体の研究

1. H 型 BSE プリオンに関する研究

非定型 H 型ウシ海綿状脳症プリオン（H-BSE プリオン）がウシからヒトへ伝播する可能性を推測するために、感染病理部および他機関との共同により、H-BSE プリオンに罹患したウシの脳乳剤をヒト・モデルとしてのカニクイザルへ脳内接種あるいは経口投与した。約 4 年間の観察期間を経たカニクイザルの各1個体を安楽殺に処し、プリオンの増殖・蓄積の有無を調べたところ、脳の各部位の異常型プリオン蛋白質は検出限界以下だった（細胞化学部はウエスタンブロット法による分析を担当）。プリオン病を疑う顕著な症状は、観察期間中に認められなかった。H-BSE プリオンのカニクイザルへの伝播効率は、従来型 BSE（C-BSE）プリオンや非定型 L-BSE プリオンよりも明らかに低いと考えられた。［萩原健一；飛梅実、佐藤由子（感染病理部）；大藤圭子、中野望（予防衛生協会）；柴田宏昭、小野文子（岡山理科大）］

2. CERT PH ドメインとクラミジア IncD タンパク質との相互作用に関する研究

クラミジア・トラコマティスは宿主細胞内に封入体と呼ばれる寄生胞を形成し、その内部で増殖する。クラミジア・トラコマティスの増殖には宿主に由来するセラミドが必要であり、そのセラミドは封入体膜に局在化させられた宿主細胞のセラミド輸送タンパク質 CERT によって輸送されている。CERT の局在化は CERT PH ドメインとクラミジアの IncD タンパク質との結合によって誘導される。我々は NMR 解析を用いて、IncD の共存によってケミカルシフト値の摂動が生ずる CERT PH ドメイン上のアミノ酸を突き止めていた。摂動の大きさを元に上位3つのアミノ酸を選び出し、CERT の PH ドメインと類似性の高い OSBP の PH ドメインの相当するアミノ酸に置換した所、IncD との結合が有意に損なわれた。しかしながら、それらのアミノ酸をアラニンに置換した時には結合が損なわれなかった。CERT PH ドメインと IncD との結合を構造学的に説明するのは容易でないと予想され、現在、結合に関与する位置とアミノ酸の種類について、更なる絞り込みを進めている。［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）］

II. 感染症に関わる宿主細胞因子の研究

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と解析

以前 HeLa 細胞及び Vero 細胞亜株（Vero C1008、別名 Vero E6）細胞において、レンチウイルス CRISPR ノックアウト（KO）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を同定している。本年度は、Vero C1008 細胞を用いたスクリーニングで特異的に同定された遺伝子 *SYS1* に関して、Vero C1008 KO 細胞を用いて作用機構の解析を行った。SYS1 の欠損によって、志賀毒素受容体である糖脂質 Gb3 を含め、糖鎖生合成に不全が見られた。ゴルジ体の形状変化が見られたことより、ゴルジ体周辺での輸送不全により糖鎖生合成が影響していると考えられた［山地俊之、森本貫太、花田賢太郎］

2. Cholix 毒素に関与する宿主因子探索のためのゲノムワイドスクリーニング

コレラ菌（*Vibrio cholerae*）のうち血清型 O1 及び O139 はコレラ毒素を産生するが、近年 Non-O1/O139 のコレラ菌が慢性肝疾患を有する患者に重篤な敗血症を引き起こすことが明らかとなった。その新たな病原性因子として真核生物の伸長因子2（eEF2）の ADP リボシル化を触媒する cholix 毒素が同定された。本研究では CRISPR ゲノムワイドスクリーニングにより、遺伝子破壊で cholix 毒素による細胞死に耐性を示す因子の探索を行った。その結果 cholix 毒素に関与する複数の宿主遺伝子候補の同定に成功した。［山地俊之；八尋錦之助（千葉大）］

3. 病原性抗酸菌の表面糖鎖と免疫細胞の貪食・食胞形成機構の関係を解明するための遺伝子改変細胞樹立と解析

結核菌や病原性を有する非結核性抗酸菌は細胞壁の成分として、病原性抗酸菌特有のマンノース付加リポアラビノマンナン（ManLAM）を有する。マクロファージ様細胞株 THP-1 において、貪食受容体の1つ CD11b（Mac1）の遺伝子ノックアウト細胞を樹立し、貪食能への影響を解析した。その結果少なくともマクロファージ様に分化させた THP-1 において、CD11b が ManLAM 依存的な貪食における主要な受容体であることを明らかにした。［山地俊之；岩渕和久、中山仁志（順天堂大）］

4. ノロウイルス感染を目指した培養細胞における血液型糖鎖抗原発現細胞の樹立

ノロウイルスは様々な遺伝子型が存在するが、多くの型は腸管上皮細胞に発現している ABO 式及びルイス式血液型糖鎖抗原に結合することが知られている。また疫学調査及びボランティア感染実験により血液型糖鎖発現

と感染率に相関のあることが報告されている。ただし、これら血液型糖鎖抗原が実際受容体として機能するかについては未だ解明されていない。この疑問を解明するため、汎用の培養細胞に種々の糖転移酵素を過剰発現、あるいは遺伝子破壊することで、様々なタイプの血液型糖鎖抗原発現細胞の作製を開始した。［山地俊之；染谷雄一（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維持する Vero 細胞の性状解析

YFV（17D-204）由来サブゲノミックレプリコンの複製が持続的に起こる Vero 細胞（レプリコン細胞）２種の性状解析を行った。レプリコン細胞における持続的複製は一過的な複製に比べて、インターフェロン等の複製阻害薬物の感受性が低下していた。そこで、当該細胞からレプリコン cDNA を調製し、次世代シークエンス解析を行って変異の有無を調べた。その結果、検出されたバリアントは１種の細胞の１箇所のみで、その他の低頻度のバリアントも含め、２種の細胞に共通する変異はなかった。従って、レプリコンの薬剤感受性の低下は、それ自体の変異によるものではないと示唆された。［齊藤恭子、深澤征義、花田賢太郎；鈴木亮介（ウイルス第二部）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）］

６．サル内在性レトロウイルスの性状解析

アフリカミドリザル由来の Vero 細胞はワクチン基材として汎用される細胞である。我々はこれまでに、完全長で変異のないサル内在性レトロウイルス（SERV）配列が Vero 細胞ゲノムに存在することを見出しており、その性状解析を行った。SERV の一つをクローニングし、HEK293FT 細胞に導入したところ、細胞内外に SERV 転写産物が検出された。この結果から SERV 配列が転写能・粒子産生能を持つ可能性が考えられた。［齊藤恭子、山地俊之、花田賢太郎；佐久間智理（細菌第一部）］

7. *NPC1* KO 細胞の脂質解析

これまでに、CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を用いて、*NPC1* KO 細胞を各種細胞株から樹立することに成功している。NPC1 分子はエボラウイルス、マールブルグウイルスの感染に必須の宿主因子であることが知られているが、生理的機能としては、細胞内のコレステロール輸送に関与し、脂質膜環境の恒常性維持に寄与している。親細胞、ノックアウト細胞、*NPC1* cDNA 戻し細胞を用いて、主要リン脂質、主要スフィンゴ脂質をマススペクトロメトリー法で解析した。その結果、*NPC1* KO 細胞におけるコレステロールやスフィンゴミエリンの蓄積が見られたが、スフィンゴ糖脂質については、細胞によって蓄積のパターンが異なることがわかった。［鈴木建、酒井祥太、白砂圭崇、深澤征義］

8. リン酸化を介した CERT 機能抑制機序の研究

小胞体で新規合成されたセラミドはセラミド輸送タンパク質 CERT によりゴルジ体へと輸送され、スフィンゴミエリンに代謝される。CERT の N 末には phosphatidylinositol 4-monophosphate（PI4P）結合能を有する pleckstrin homology（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-repeat 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 末領域の START ドメインの持つ膜間セラミド輸送活性が同時に抑制される。多重リン酸化 SRM 依存性の抑制制御が CERT 分子内のコイルドコイル様領域（CCR）への変異導入により不全となることを見出し、分子内相互作用により CERT コンフォメーションが大きく変化して PH ドメインと START ドメインがお互いマスクするというモデルが支持された。また、CCR 領域への変異導入が、CERT オリゴマー体を不安定化することを見出した。［後藤麻子、熊谷圭悟、花田賢太郎］

9. CERT 機能の抑制制御に関わるカゼインキナーゼ1γの研究

SRM の多重リン酸化を担うキナーゼであるカゼインキナーゼ1γの細胞内局在制御の仕組みを解析し、本キナーゼの細胞内コンパートメント化が CERT のリン酸化依存的な活性制御に重要であることを示した。［後藤麻子、水池彩、山地俊之、花田賢太郎］

10. CERT 機能場である小胞体―ゴルジ体膜接触ゾーン形成に関する研究

CERT が適切に機能するために必要な因子を網羅的に見出すため、スフィンゴミエリン結合性細胞毒ライセニンへの耐性を HeLa 細胞に与えることを指標にしてゲノムワイドスクリーニングを実施し、複数のカテゴリーに分類される候補遺伝子を昨年度までに得ていた。今年度は、ゴルジ体上での PI4P 生産に関わる3つの因子 PI4KB, ACBD3, C10orf76 に注目し、これら因子をコードする遺伝子 KO 細胞を用いた解析を進めた。PI4KB が生産する PI4P は CERT のゴルジ体結合に必須であることを明らかにした。そして、超解像顕微鏡観察などから、ACBD3, C10orf76 はゴルジ体の中で異なる領域に局在して、それぞれ当該領域に PI4KB をリクルートすることを明らかにした。［水池彩、酒井祥太、山地俊之、花田賢太郎；加藤薫（産業技術総合研究所）］

11. 高浸透圧ストレスにより誘導される CERT のリン酸化

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。その際、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、セラミド輸送機能は更に上昇する。今回、CERT の S315 部位のリン酸化が高浸透圧ストレスにより顕著に亢進すると、VAP との相互作用がリン酸化依

存的に増強することを見出した。さらに、proximity ligation assay により細胞内における CERT-VAP 間相互作用形成領域を解析し、高浸透圧ストレス誘導時には CERT は VAP との結合を介して小胞体全域に係留されていること、を明らかにした。［島﨑健太朗、熊谷圭悟、花田賢太郎］

12．スフィンゴ脂質欠失細胞の樹立と性状解析

以前に当研究部で作成された、スフィンゴ脂質生合成の律速酵素であるセリン・パルミトイル転移酵素（serine palmitoyltransferase; SPT）のサブユニットを欠損させた HeLa 細胞（*SPTSSA* KO 細胞）を用いて、内因性のスフィンゴ脂質を欠失させた細胞を作出した。当部ではこれまでに感染時に宿主細胞のスフィンゴ脂質を利用する病原体を見出しており、その中でクラミジア・トラコマティスの感染実験を本スフィンゴ脂質欠失細胞を用いて行った。血清含有条件では、親株および SPT 欠損細胞どちらにおいても感染増殖した。この結果は、血清由来のスフィンゴ脂質を用いて宿主細胞がスフィンゴ脂質を合成することから、予想通りの結果であった。一方、無血清培地で培養し無血清培地で感染実験を行ったところ、親株と比べて SPT 欠損細胞では明らかにクラミジアの感染増殖が抑制されていた。しかしながら、SPT KO 細胞に感染させたクラミジアは親株由来と同程度の二次感染能を示した。CERT 遺伝子を欠失させると感染増殖不能になることから、CERT はクラミジアの感染増殖に必須であると考えられるが、クラミジアは CERT のセラミド輸送能とは他の機能を利用している可能性が推察された。［酒井祥太、熊谷圭悟、花田賢太郎］

III. 感染症対策に資する培養細胞の研究

1．プリオンの持続感染が可能な培養細胞の探索

マウス神経芽細胞腫に由来する N2a 細胞は、マウスへ馴化したスクレイピー・プリオンが持続感染できる有用な細胞である（Butler ら、J Virol, 62: 1558 (1988)）。しかし、N2a 細胞に持続感染できるプリオン株の種類は限られており、例えば BSE プリオンの持続感染はこれまで成功していない。特に、カニクイザルに馴化した BSE プリオンは霊長類のプリオン株として貴重な研究資源であるが、持続感染できる培養細胞はこれまでに知られていない。今回、各種の細胞株を探索した結果、カニクイザルのプリオン蛋白質遺伝子を導入したヒト神経芽細胞腫由来の細胞においてサル馴化 C-BSE プリオンの持続感染・増殖が可能であることを見出した。［萩原健一］

2．ポリオ根絶グローバル・アクション・プランに資するポリオウイルス非感受性 Vero 細胞株の作製

ポリオ根絶を目指し WHO が策定した行動計画（Global Action Plan, 3rd edition; GAPIII）への対応を念頭に、ポリオウイルス受容体（PVR）を欠損させた Vero 細胞由来の新規細胞株を樹立した。すでにポリオウイルス（PV）非感受性であることを確認していたが、アフリカミドリサル腎臓から樹立された Vero 細胞は広汎なウイルスに対して高感受性を示すことが知られており、PVR 欠損 Vero 細胞についてもウイルス高感受性を維持していることが期待された。そこで、風疹ウイルス、麻疹ウイルスおよび日本脳炎ウイルスに対する感染実験を行い、いずれのウイルスに対しても親株 Vero 細胞と同等の高感受性を示すことを確認した。かつての、あるいは今日の PV 流行地域で採取された検体等を取り扱う際、PVR 欠損 Vero 細胞株を用いることにより PV を意図せず増殖させてしまうリスクを回避し、PV 保管施設関連での PV 拡散リスクを最小限に抑えることが可能である。以上の成果は誌上発表した。［中村優子、齊藤恭子、山地俊之、花田賢太郎；染谷健二、竹田誠（ウイルス第三部）］

IV. 抗病原体作用物質に関する研究

1．C 型肝炎ウイルス持続感染モデルによる抗 Occludin 抗体の効果

抗ヒト Occludin モノクローナル抗体を樹立し、C 型肝炎ウイルス（HCV）感染を強力に阻止できることを培養細胞感染系、動物実験系で示してきた。今回は、持続感染モデルにおける抗 Occludin 抗体の効果を検討した。その結果、培養細胞感染系において、抗 Occludin 抗体の持続的処理により、コントロール抗体に比べ有意に HCV 量が低下することがわかった。さらに、ヒト肝キメラマウスを用いた HCV 持続感染系においても、血中ウイルス量が抗 Occludin 抗体投与により有意に低下することもわかった。これらのことから、HCV 持続感染状態においてもウイルス受容体をブロックすることで、ウイルス量を低下させることができることが示された。すなわち、持続感染の維持には侵入過程を含めたウイルスライフサイクルが回ることが重要であることが強く示唆された。［深澤征義、清水芳実、白砂圭崇、鈴木建；近藤昌夫、八木清仁（阪大薬）］

2．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（SFTSV）感染阻害メカニズムの解析

これまでに、培養細胞感染系を用い、コーヒー抽出物カフェ酸に重症血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）感染を阻害する活性があることを見出し、その阻害メカニズムの解析から、カフェ酸は主に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を示してきた。カフェ酸処理ウイルス粒子の電子顕微鏡観察より、ウイルスのスパイク構造が有意に乱れていることが観察され、このことが感染能を失う一つの原因になっていることが考えられた。カフェ酸による SFTSV 感染阻害の分子基盤をさらに解析するために、各種カフェ酸類縁体の抗 SFTSV 効果を検討した

結果、感染阻害には、少なくとも *o*-dihydroxybenzene 構造が重要であることが明らかとなった。[深澤征義、白砂圭崇、花田賢太郎；小川基彦、下島昌幸、西條政幸（ウイルス第一部）；谷田以誠、角田宗一郎、内山安男（順天堂大医）]

3．緑茶由来フラボノイド類の重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）に対する抗ウイルス活性

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重症血小板減少症候群ウイルス（SFTSV）感染を阻害する活性があることを見出している。そこで、他の天然化合物についても抗 SFTSV 活性を検討した結果、緑茶由来のいくつかのカテキン類、フラボノール類が抗 SFTSV 活性を示すことがわかった。特に、エピガロカテキンガレートとエピガロカテキンが強い感染阻害活性を示した。これらは、少なくともウイルス粒子自体に作用し、その感染性を失活させることでウイルス感染を阻害していることがわかった。SFTSV 感染阻害の分子基盤をさらに解析するために、各種類縁体の抗 SFTSV 効果を検討した結果、感染阻害には、少なくとも 1,2,3-trihydroxybenzene 構造が重要であることが明らかとなった。[深澤征義；小川基彦、下島昌幸、西條政幸（ウイルス第一部）]

4． CERT 阻害剤の立体異性体による未知のメカニズムを介した抗クラミジア活性の発見

我々が開発した CERT に対する各種阻害剤、および、その立体異性体がクラミジア・トラコマティスの増殖に与える影響について調べたところ、これらの化合物の抗クラミジア活性は概ね CERT 阻害活性の強さと相関していたが、興味深いことに、ある化合物の立体異性体は CERT への阻害活性をほとんど示さないにも関わらず、クラミジアの増殖を顕著に抑制することが分かった。検討を行った結果、この化合物がクラミジアの特定の酵素反応を抑制していることが判明した。当該化合物およびその立体異性体による酵素反応の抑制は抗クラミジア活性とよく相関しており、これらの化合物はこの酵素を阻害することによって抗クラミジア活性を発揮していると考えられた。[熊谷圭悟、花田賢太郎；小林修（東京大学）]

V. その他の研究

1．精神発達遅滞の原因と示唆されている *CERT1* 変異の解析

常染色体ドミナント遺伝性の精神発達遅滞の原因変異の一つに CERT をコードする遺伝子 *CERT1* 上のミスセンス変異が日欧米で報告されており、この変異は CERT SRM の多重リン酸化を介した機能抑制制御の不全を導くと推定されている。この度、スペイン国の精神発達遅滞患者の全エキソーム解析により *CERT1* 上の新規変異が見出されたが、この変異は健常な親にも存在することから原因変異でないことが分かった。当該変異や他の既知変異が CERT の性状に及ぼす影響を比較したところ、精神発達遅滞の原因変異の場合は CERT SRM 領域以外での変異でも機能抑制不全という共通する事象を導くことを見出した。[田村律人、酒井祥太、後藤麻子、水池彩、花田賢太郎；Juan Darío Ortigoza-Escobar（スペイン国サンファンデディオ病院）]

2．アポダイズド位相差顕微鏡による無染色生細胞イメージングの至適化

無染色・非侵襲的条件下での病原体感染細胞高解像度解析システムを構築する目的で、病原体観察に適したパーツ類を組み込んだセミオーダーメイドのアポダイズド位相差顕微鏡を細胞化学部 BSL2 実験室に設置した。さらに、Vero 細胞等の観察を通して顕微鏡本体および解析ソフトウェア等の至適化を行った。[中村優子、島﨑健太朗、齊藤恭子、山地俊之、花田賢太郎；加藤薫（産総研）]

3．アポダイズド位相差像におけるオルガネラの同定

アポダイズド位相差顕微鏡システムを用いて HeLa 細胞の無染色生細胞観察を行ったところ、従来の位相差顕微鏡よりも格段に高い解像度で種々の細胞内オルガネラを観察できた。また経時的な観察から、オルガネラの動態を詳細に捉えることもできた。オルガネラ蛍光標識ベクターを利用して主要なオルガネラを同定し、個々のオルガネラ位相差像の特徴付けを行った。[島﨑健太朗、中村優子、齊藤恭子、花田賢太郎；加藤薫（産総研）]

4．感染早期判別系構築のための AI 学習教師画像の取得

産総研の AI 技術を活用し、イメージングにより早期にウイルス検出・定量を可能とする系を構築することを目的に、コロナウイルス OC43 株、黄熱ウイルス 17D 株、日本脳炎ウイルスのプラーク形成過程の画像を取得した。AI 学習の教師画像とするために、これらのデータを産総研に提供した。[齊藤恭子、中村優子、花田賢太郎；加藤薫、光山統泰（産総研）]

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 食品監視安全課へ報告した（令和2年10月、令和3年3月実施）。[萩原健一、中村優子]

サーベイランス業務

Ⅰ．新型コロナウイルスの PCR 行政検査および地方自治体への新型コロナウイルスの PCR 検査技術対応

所内の新型コロナウイルスの PCR 行政検査対応チームの一員として、PCR 行政検査を行うとともに、地方自治体の PCR 検査に対する技術支援等も行った。［齊藤恭子、深澤征義］

品質管理に関する業務

Ⅰ．新型コロナウイルスワクチンに対する承認前検査と検定検査

1．ファイザー社製コロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン（SARS-CoV-2）の承認前検査

新型コロナウイルス感染症に対して米国・ファイザー社とドイツ国・ビオンテク社が共同開発した mRNA 型ワクチンの日本での製造販売承認申請が日本ファイザー株式会社からされたことに伴い、製剤担当部として、他部との連携を図り、承認前検査のとりまとめを行った。［深澤征義、萩原健一、齊藤恭子、中村優子、山地俊之、熊谷圭悟、酒井祥太、花田賢太郎；白戸憲也、松山州徳、竹田誠（ウイルス第三部）；楠英樹、谷生道一、浜口功（ウイルス第三部）；佐々木裕子、見理剛、柴山恵吾（細菌第二部）；寺原和孝、高橋宜聖（免疫部）；石井孝司（品質保証・管理部）］

2．武田薬品工業社製コロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン（SARS-CoV-2）の承認前検査

新型コロナウイルス感染症に対して米国・モデルナ社が開発したmRNA型ワクチンの日本での製造販売承認申請が武田薬品工業株式会社からされたことに伴い、製剤担当部として、他部との連携を図り、承認前検査のとりまとめを行った。［山地俊之、中村優子、酒井祥太、熊谷圭悟、深澤征義、萩原健一、花田賢太郎；白戸憲也、松山州徳、竹田誠（ウイルス第三部）；楠英樹、谷生道一、浜口功（ウイルス第三部）；佐々木裕子、見理剛、柴山恵吾（細菌第二部）；寺原和孝、高橋宜聖（免疫部）；石井孝司（品質保証・管理部）］

3．ファイザー社製コロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン（SARS-CoV-2）の国家検定

令和 3 年 2 月 14 日付けで日本での製造販売承認がされたファイザー社製コロナウイルス修飾ウリジン RNA ワクチン（SARS-CoV-2）の国家検定として製造・試験記録等要約書（Summary Lot Protocol；SLP）審査をした。［深澤征義、萩原健一、齊藤恭子、中村優子、山地俊之、熊谷圭悟、酒井祥太、花田賢太郎］

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 食品監視安全課 牛海綿状脳症の検査に係る専門家会議委員［萩原健一］

3．内閣府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．農林水産省食料・農業・農村政策審議会臨時委員［中村優子］

5．厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員（日本薬局方部会員）［深澤征義］

6．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所横断的な共同研究を開始した。［酒井祥太、花田賢太郎］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ．誌 上 発 表

1．欧文発表

1) Saito K, Fukasawa M, Shirasago Y, Suzuki R, Osada N, Yamaji T, Wakita T, Konishi E, Hanada K. Comparative characterization of flavivirus production in two cell lines: Human hepatoma-derived Huh7.5.1-8 and African green monkey kidney-derived Vero. Plos One, 15, e0232274, 2020.

2) Kawamoto M, Yamaji T, Saito K, Shirasago Y, Satomura K, Endo T, Fukasawa M, Hanada K, Osada N. Identification of characteristic genomic markers in human hepatoma Huh7 and Huh7.5.1-8 cell lines. Front. Genet., 11, Article 546106, 2020. (K.H. and N.O. are co-correspondence)

3) Gewaid H, Aoyagi H, Arita M, Watashi K, Suzuki R, Sakai S, Kumagai K, Yamaji T, Fukasawa M, Kato F, Hishiki T, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H. Sphingomyelin is essential for the structure and function of the viral RNA replication factories, double-membrane vesicles. J. Virol., 94, e01080-20, 2020.

4) Ogawa M, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Several catechins and flavonols from green tea inhibit severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in vitro. J. Infect. Chemother., 27, 32-39, 2021.

5) Shimizu Y, Shinoda T, Shirasago Y, Kondoh M, Shinya N, Hanada K, Yagi K, Suzuki T, Wakita T, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Fukasawa M. Occludin-binding

single-chain variable fragment and antigen-binding fragment antibodies prevent hepatitis C virus infection. FEBS Lett., 595, 220-229, 2021.

6) Ogawa M, Shirasago Y, Tanida I, Kakuta S, Uchiyama Y, Shimojima M, Hanada K, Saijo M, Fukasawa M. Structural basis of antiviral activity of caffeic acid against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. J. Infect. Chemother., 27, 397-400, 2021.
7) Morimoto K, Suzuki N, Tanida I, Kakuta S, Furuta Y, Uchiyama Y, Hanada K, Suzuki Y, Yamaji T. Blood group P1 antigen-bearing glycoproteins are functional but less efficient receptors of Shiga toxin than conventional glycolipid-based receptors. J. Biol. Chem., 295, 9490-9501, 2020.
8) Murakami H, Tamura N, Enomoto Y, Shimasaki K, Kurosawa K, and Hanada K. Intellectual disability-associated gain-of-function mutations in *CERT1* that encodes the ceramide transport protein CERT. PLoS ONE, 15, e0243980, 2020. (H.M. and N.T. are co-first authors. K.K. and K.H. are co-correspondence)
9) Rizzo R, Russo D, Kurokawa K, Sahu P, Lombardi B, Supino D, Zhukovsky M, Vocat A, Pothukuchi P, Kunnathully V, Capolupo L, Boncompain G, Vitagliano C, Marino FZ, Aquino G, Montariello D, Henklein P, Mandrich L, Botii G, Clausen H, Mandel U, Yamaji T, Hanada K, Budillon A, Perez F, Parashuraman S, Hannun YA, Nakano A, Corda D, D'Angelo G and Luini A. Golgi maturation-dependent glycoenzyme recycling controls glycosphingolipid biosynthesis and cell growth via GOLPH3. EMBO J., 40, e107238, 2021.
10) Goto A, Mizuike A, and Hanada K. Sphingolipid metabolism occurring at the ER-Golgi contact zone and its impact on membrane trafficking, CONTACT, 3,1-13, 2020. (invited review article) (A.G. and A.M. are co-first authors)
11) Yamaji T. Preparation of Fluorescent Recombinant Shiga Toxin B-Subunit and its Application to Flow Cytometry. Methods Mol. Biol., 2132, 463-474, 2020.
12) Farabi K, Manabe Y, Ichikawa H, Miyake S, Tsutsui M, Kabayama K, Yamaji T, Tanaka K, Hung S-C, Fukase K. Concise and reliable syntheses of glycodendrimers via self-activating click chemistry: robust strategy for mimicking multivalent glycan-pathogen interactions. J. Org. Chem., 85, 16014-16023, 2020.
13) Akiyama H, Ide M, Yamaji T, Mizutanii Y, Niimi Y, Mutoh T, Kamiguchi H, Hirabayashi Y. Galabiosylceramide is present in human cerebrospinal fluid. Biochem. Biophys. Res. Commun., 536, 73-79, 2021.
14) Okemoto-Nakamura Y, Someya K, Yamaji T, Saito K, Takeda M, Hanada K. Poliovirus-nonsusceptible Vero cell line for the World Health Organization global action plan. Sci. Rep. 11, Article 6746, 2021. (Y.O.-N. and K.S. are co-first authors)
15) Mikami D, Sakai S, Nishimukai M, Yuyama K, Mukai K, Igarashi Y. Structure-dependent absorption of atypical sphingoid long-chain bases from digestive tract into lymph. Lipids Health Dis., 20(1), 24, 2021.
16) Furukawa JI, Hanamatsu H, Yokota I, Hirayama M, Ando T, Kobayashi H, Ohnishi S, Miura N, Okada K, Sakai S, Yuyama K, Igarashi Y, Ito M, Shinohara Y, Sakamoto N. Comprehensive Glycomic Approach Reveals Novel Low-Molecular-Weight Blood Group-Specific Glycans in Serum and Cerebrospinal Fluid. J Proteome Res., 7;20(5), 2812-2822, 2021.
17) Sakai S, Makino A, Nishi A, Ichikawa T, Yamashita T, Taniguchi M, Tokudome Y, Hirabayashi Y, Akiyama M, Crumrine D, Uchida Y, Elias PM, Tsuchida T, Hamanaka S. Pathogenic and Compensatory Mechanisms in Epidermis of Sphingomyelin Synthase 2-Deficient Mice. Skin Pharmacol Physiol., 29, 1-7, 2021.

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Sugiki T, Kumagai K, Shinya S, Kobayashi N, Fujiwara T, Hanada K, Kojima C. Molecular basis for specific interaction between the PH domain of the human ceramide transfer protein CERT and the *Chlamydia trachomatis* inclusion membrane protein IncD, 2020 World Conference on Protein Science, Sapporo, 2020.7.6-10.
2) Monaco-Brown M, Cerone J, Ogbamikael S, Yager E, Yamaji T, Barroso M, Hanada K, Konan K. Modulation of Zika virus replication via glucosylceramide 1 synthase and glycosphingolipids, Eastern Society for Pediatric Research Annual Meeting ESPR2021, 2021.3.9-12, Virtual Meeting.

2. 国内学会

1) 清水 芳実、篠田 雄大、白砂 圭崇、近藤 昌夫、新屋直子、花田 賢太郎、八木 清仁、鈴木 哲朗、脇田 隆字、染谷 友美、白水 美香子、深澤 征義 C 型肝炎ウイルス侵入を阻害する抗 OCLN 低分子抗体の創出、第 93 回日本生化学会大会、2020.9.14-16、オンライン.

2) 深澤征義 ウイルスの侵入過程を標的とした抗ウイルス戦略、第 64 回日本薬学会関東支部大会、2020.9.19、オンライン.

3) 小川基彦、下島 昌幸、西條政幸、深澤征義 緑茶由来フラボノイド類の重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する抗ウイルス活性、日本薬学会第 141 年会、2021.3.26-29、オンライン.

4) 村江真奈、小林明日香、祝部真澄、斎藤顕宜、宮崎智、深澤征義、野口耕司 新型コロナウイルスのスパイク蛋白質変異体の機能評価、日本薬学会第 141 年会、2021.3.26-29、オンライン.

5) 花田賢太郎 Overview, シンポジウム「バイオロジクスにおけるウイルス安全性確保の新潮流」, 第 141 回日本薬学会, 2021.3.26-29、オンライン.

6) 齊藤恭子, 花田賢太郎 Vero 細胞ゲノムに存在するサル内在性レトロウイルスの性状解析, シンポジウム「バイオロジクスにおけるウイルス安全性確保の新潮流」, 第 141 回日本薬学会, 2021.3.26-29、オンライン.

7) 中尾直樹, 上野雅晴, 酒井祥太, 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 非天然骨格を有する CERT 阻害剤の SBDD 研究, 第 141 回日本薬学会, 2021.3.26-29、オンライン.

8) 花田賢太郎 オルガネラ間脂質輸送の研究：遺伝学と生化学と細胞生物学との幸せなコラボレーションーション, 第 72 回日本細胞生物学会, シンポジウム「細胞内物質輸送システム：温故知新」, 2020.6.9-11、紙上開催.

9) 中村（桶本）優子, 染谷健二, 齊藤恭子, 山地俊之, 竹田誠, 花田賢太郎 感染症対策へのゲノム編集技術の応用 ―CRISPR/Cas9 システムによる新規の細胞株の創出―, 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 67 回日本化学療法学会東日本支部総会・合同学会, 2020.10.21-23、オンライン.

10) 水池彩, 酒井祥太, 山地俊之, 花田賢太郎 小胞体-ゴルジ体連携ゾーンにおける CERT の機能制御に関する因子の探索, 第 62 回日本脂質生化学会, 2020.5.14-15、紙上開催.

11) 島﨑健太朗, 熊谷圭悟, 花田賢太郎 高浸透圧ストレスにより誘導されるセラミド輸送タンパク質 CERT のリン酸化およびその責任キナーゼに関する解析, 第 62 回日本脂質生化学会, 2020.5.14-15、紙上開催.

12) 田村律人, 村上博昭, 黒澤健司, 花田賢太郎 精神発達遅滞との関連が示唆されるセラミド輸送タンパク質遺伝子 *CERT1* 上のミスセンス変異の解析, 第 62 回日本脂質生化学会, 2020.5.14-15、紙上開催.

13) 相崎英樹, 青柳東代, 若江亨祥, 有田峰太郎, 渡士幸一, 鈴木亮介, 熊谷圭悟, 山地俊之, 深澤征義, 村松正道, 脇田隆字, 花田賢太郎 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 62 回日本脂質生化学会, 2020.5.14-15、紙上開催.

14) 田村律人,村上博昭,黒澤健司, 花田賢太郎 精神発達遅滞との関連が示唆されるセラミド輸送タンパク質遺伝子 *CERT1* 上のドミナント遺伝性変異の解析, 第 93 回日本生化学会, 2020.9.14-16、オンライン.

15) 熊谷圭悟 偏性細胞内寄生細菌クラミジア・トラコマティスによる宿主セラミドの獲得機構, 第 93 回日本生化学会, 2020.9.14-16、オンライン.

16) 杉木俊彦, 熊谷圭悟, 新家粧子, 小林直宏, 藤原敏道, 花田賢太郎, 児嶋長次郎 ヒト脂質輸送蛋白質 CERT がクラミジア封入体の膜蛋白質 IncD にハイジャックされる分子機序の溶液 NMR 解析, 第 59 回 NMR 討論会, 高崎市、2020.11.18-20.

17) 村上博昭, 田村律人, 榎本友美, 黒澤健司, 花田賢太郎 セラミド輸送タンパク質 CERT のセリンリピートモチーフにおける機能獲得型変異は精神発達遅滞の原因となる, 第 65 回日本人類遺伝学会, 2020.11.18-21、オンライン.

18) 小西一弘, 里村和浩, 遠藤俊徳, 花田賢太郎, 長田直樹: 全ゲノム配列を用いた Vero 細胞系列の系統, 第 22 回日本進化学会, 2020.9.6-8、オンライン.

19) 森本貫太, 鈴木詔子, 谷田以誠, 角田宗一郎, 古田陽子, 内山安男, 花田賢太郎, 鈴木佑典, 山地俊之 P1 糖鎖エピトープを有する糖タンパク質の志賀毒素受容体としての機能解析, 第 39 回日本糖質学会年会, 2020.11.21、オンライン.

20) 花房慶、中山仁志、山地俊之、岩渕和久, ヒトマクロファージの免疫応答における極長鎖脂肪酸鎖を含むスフィンゴ脂質の役割, 第 39 回日本糖質学会年会, 2020.11.21、紙上開催.

21) 熊谷圭悟, 花田賢太郎 CERT 阻害剤 HPA-12 の立体異性体が示す抗クラミジア活性とその作用機序,

第 13 回セラミド研究会学術集会, 2020.11.27、オンライン.

22) 秋山央子、井出三津子、山地俊之、植田晃広、新美芳樹、武藤多津郎、上口裕之、平林義雄, ヒト脳脊髄液にはガラビオシルセラミド（Gb2）が存在する, 第 62 回日本脂質生化学会, 2020.5.14-15、紙上開催.

23) 山地俊之, 志賀毒素の効率的な輸送に受容体糖脂質の脂質部位は重要である, 令和 2 年度 PRIME 会議 2020/11/18,19, オンライン.

24) 山地俊之, ゲノム編集法を用いた生体膜脂質や糖鎖の代謝及び感染症研究, 東京医科歯科大学大学院特別セミナー, 2021,1,18, オンライン.

25) 山地俊之, Application of genome editing technologies to studies on sphingolipid biology, シンポジウム「Sphingolipid biology and therapy」第 141 回日本薬学会, 2021.3.26-29、オンライン.

11. 昆虫医科学部

部長　葛西 真治

概 要

昆虫医科学部は，感染症の伝播等，人に害を与える節足動物を対象とした基礎的研究・調査に加え，これら衛生害虫等の防除に寄与する情報収集と提供，講義・研修等による社会への貢献に努めている．令和 2 年度の研究及び業務の概要は以下の通りである．

気候変動に伴い，ヒトスジシマカの生息域が徐々に北上している．定着条件を満たすと思われる北海道道南地域で引き続き調査を行ったが，本種の生息は確認されなかった．ヒトスジシマカの吸血活動開始時期の予測や気候との関連を探る目的で全国 40 か所で初見日を調査した．ヒトスジシマカの超高精細バーコード解析（SNPs解析）を行い，国内集団の遺伝子構成を調べた．日本産ニクバエ科の DNA バーコード解析を行い，多種ニクバエの分子同定を可能にするとともに，一部隠蔽種（認識されていない新種）の可能性を見出した．北陸 2 県の渡り鳥飛来地や SFTS 発生地においてマダニ採集を行い，マダニが保有するウイルス・吸血源動物調査および渡り鳥による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，大陸型コガタアカイエカの国内での発生動態を明らかにする目的で，長崎県諫早市と五島市において調査を行った．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，ニセミギワフンコバエを我が国から初めて記録した．レファレンス業務として 5 件の衛生害虫類の同定依頼に対応した．

コガタアカイエカ 971 個体より，3 株の日本脳炎ウイルスを分離し，依然として国内に日本脳炎ウイルス（JEV）の感染サイクルが維持されていることを明らかにした．ヤマトヤブカを用いて 3 つの遺伝子型の JEV の感染実験を行ったところ，いずれの型も媒介可能であることが示された．次世代シーケンサーを用いたウイルスその他微生物等遺伝子の網羅的解析を行った結果，キチマダニやヤマトアブからトリパノソーマ原虫の遺伝子を検出し，ツバメヒメダニより新規ニャウイルス Sekira virus を，キンイロヌマカからブニヤウイルス，オルソミクソウイルスを検出するとともに，新規の昆虫特異的フラビウイルスの分離に成功した．また，ハエ目短角亜目から初めてのフラビウイルスとなる Tabanus rufidens flavivirus をアブ類より検出した．6 種の培養細胞から 4 種の新規ウイルスを含む 15 種類の潜在感染ウイルスを検出し，より効率的な病原ウイルスの分離・検出法確立への応用が期待された．日本でのジカウイルス（ZIKV）流行に備え，国内産ヒトスジシマカを用いた ZIKV 感染実験系を確立した．また，獲得免疫機構を利用して，野外蚊の ZIKV 感染履歴を評価する手法確立の足掛かりとなるデータを集積した．蚊におけるフラビウイルス感受性機構解明を目的とし，ガーナ産ネッタイシマカ胚子より安定培養が可能な細胞系を樹立した．

東南アジア産ネッタイシマカの遺伝子解析で，超強力な殺虫剤抵抗性をもたらすアレルが局地的に高頻度で分布している実態を明らかにした．成田空港に侵入したネッタイシマカが強い殺虫剤抵抗性を示し，抵抗性遺伝子を保有していることを明らかにした．トコジラミの変異型アセチルコリンエステラーゼ（AChE）は有機リン剤への感受性は低下する一方で，AChE 本来の能力は低下している可能性を明らかにした．ヒトスジシマカに対する殺虫剤の野外効力試験では，ピレスロイド剤乳剤の高い防除効果を確認した．シトクロム P450 酸化酵素である CYP6BB2 の遺伝子をノックアウトしたネッタイシマカ系統では，ペルメトリン感受性が低下することを確認した．首都圏のとある家屋では，庭先で捕集される蚊の 89%がアカイエカであるにも関わらず屋内では 88%がチカイエカであったことから，チカイエカの屋内侵入性およびヒト親和性の高さがデータによって強く裏付けられた．

人事面では，当該部の正規職員 6 名（葛西真治，伊澤晴彦，比嘉由紀子，佐々木年則，駒形修（薬剤耐性研究センターとの併任），前川芳秀）に加え，感染研ポスドク枠として小林大介，再任用職員として冨田隆史，林利彦，澤邉京子（安全実験管理部との併任），非常勤職員として古谷章悟，研究生として Michael Amoa-Bosompem，Faustus Akakperiwen Azerigyik（いずれも東京医科歯科大院），Astri Nur Faizah（東大院），岩田基晃（筑波大院），実習生として松村凌，甲斐泉，草苅咲季（いずれも明治大），臨時職員として古城一美，高岡安希，加藤知華，廣中和江，黒木章弘，谷口ひとみほか，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. 衛生昆虫の分布および媒介生態に関する調査・研究

1. 長崎県北部における媒介蚊調査

2020 年 8 月に長崎県大村市および多良岳周辺で蚊の幼虫・成虫採集を行った. ドライアイストラップでは 4 属 10 種 109 個体, 8 分間捕虫網採集では 5 属 8 種 137 個体を得た. ドライアイストラップで最も多かったのは, ヒトスジシマカ, 次いでヤマダシマカであった. また希少種のコガタキンイロヤブカを1個体採集した. 8 分間捕虫網採集でのヒトスジシマカの平均採集密度は, 雌 4 個体/8 分/回であった. 幼虫採集では, 6 属 6 種 103 個体を採集し, 採集数が多かったのはヒトスジシマカであった. 次いでキンパラナガハシカとフタクロホシチビカであった. コガタキンイロヤブカ他数種類を遺伝子解析用試料として冷凍保存した. [前川芳秀]

2. 新宿区定点における疾病媒介蚊の発生モニタリング調査

都市域に発生する疾病媒介蚊の種類相, 生息密度, 季節消長を監視することを主目的として, 感染研構内の 2 ヶ所(地上 1.5m と樹上 7.5m)に週1回ドライアイストラップを設置して成虫の採集を行った. 2020 年 1－12 月までの期間中, 2 属 5 種, 782 個体が採集された. 優占種はデング熱媒介蚊として重要なヒトスジシマカとウエストナイル熱の潜在的な媒介蚊のアカイエカ種群の 2 種で, 採集総数の 98.7%を占めた. ヒトスジシマカは 7～9 月にかけて密度が高く, 最高 45 個体/日であった. アカイエカ種群は 6 月上旬から 10 月まで増減を繰り返しながら発生していた. 2018 年以降, 密度が減少傾向にあり, 採集地の環境変化の影響が考えられた. [比嘉由紀子, 谷口ひとみ, 前川芳秀]

3. 日本型および大陸型コガタアカイエカの発生動態

春先に初めて確認されるコガタアカイエカ集団を採集し, 各型の発生動態を明らかにすることを目的とし 2020 年 3 月中・下旬と 4 月に長崎県五島市および諫早市の豚舎において採集を行った. 3 月中旬はまだ気温が低くコガタアカイエカ成虫密度は低いものの, 五島市で 2 個体, 諫早市で 1 個体採集された. 3 月下旬は五島市では採集されなかった. 一方諫早市では 94 個体採集された. 4 月は諫早市で 156 個体採集された. 新型コロナウイルス感染症の影響で 4 月の五島市での調査は行われなかった. 得られたサンプルはナミカ亜科 Culicinae の蚊に汎用的に開発されたハイブリダイゼーションプローブを用い日本型, 大陸型, ハイブリッド型を調べる予定である. [比嘉由紀子, 前川芳秀; 二見恭子, 砂原俊彦(長崎大学熱帯医学研究所)]

4. ヒトスジシマカの分布北限に関する研究

2020 年 8 月末に北海道函館市の緑地, 公園, 教育関連施設, 寺社, 鉄道・港湾施設などで 8 分間人囮捕虫網採集と幼虫採集を行った. 成虫採集では, 2 属 4 種 51 個体を採集し, ヤマトヤブカが最も多かった. 幼虫採集では, イエカ属, ハマダラカ属, ヤブカ属の 3 属 3 種を確認し, アカイエカ種群が大量に発生しているのを確認した. 成虫採集と幼虫採集とも, ヒトスジシマカは採集できなかった. 引き続き監視を続け, 定点での蚊相や密度を蓄積する一方で, 郊外の蚊相調査も行い, 比較検証を行う必要があると考えられた. [前川芳秀, 澤邉京子, 比嘉由紀子]

5. ヒトスジシマカ初見日調査

2020 年 4～6 月にかけて岩手県盛岡市から鹿児島県鹿児島市にいたる全国 40 地点で, 全国の調査協力者とともにヒトスジシマカの吸血活動初見日調査を行った. 最も早く吸血活動が確認されたのが鹿児島市の 4 月 25 日, 遅かったのが盛岡市の 6 月 5 日で, 緯度との相関が認められ, ヒトスジシマカの初見日予測には気温が重要な要因であることが示唆された. 2017 年の先行研究によって得られた予測モデル(3 月 1 日以降初見日が確認される前日までの日平均気温)によって吸血初見日予測が可能であった 10 地点で誤差がみられたが, 地理的な相関はみられなかった. 3 月以降の気温に加え, 他の要因もヒトスジシマカの吸血活動初見日に影響していることが示唆された. [比嘉由紀子, 葛西真治, 伊澤晴彦, 高岡安希, 前川芳秀, 斎藤一三, 小林睦生, 二瓶直子, 古谷章悟, 渡辺護; 井上健(佐賀); 大塚靖(鹿児島大学); 大橋眞(滋賀); 小川直美(山形); 荻野和正(産業医科大学); 金山彰宏(有生研); 金京純(鳥取大学); 佐々木均(有生研); 佐藤卓(岩手県環境保健研究センター); 佐藤英毅(有生研); 平健介(神奈川); 田原雄一郎(有生研); 中野敬一(有生研); 中村哲(広島); 秦和寿(有生研); 平林公男(信州大学); 藤田龍介(九州大学); 二見恭子(長崎大学); 武藤敦彦(日本環境衛生センター); 元木貢(有生研); 横山紘子(高知); 吉田政弘(大阪); 米島万由子(熊本大学)]

6. ヒトスジシマカの出身地推定

ナミカ亜科 Culicinae の蚊に汎用的に開発されたハイブリダイゼーションプローブを用い, ヒトスジシマカの出身地推定

の可能性を検討した. このプローブセットは NGS ライブラリから蚊の種類を問わず約 3,000 箇所の標的ゲノム領域を濃縮することができ, 集団遺伝学や量的形質遺伝子座（QTL）解析に有用な SNPs 遺伝子型の情報を得ることが可能である. 開発したプローブセットを用いて国内外で得られたヒトスジシマカでクラスタリングを試みたところ, 国内のヒトスジシマカ集団は, 大きく沖縄県ほか九州各地, それ以外の全国の集団に分かれた. また, ベトナムやインドネシアの個体とも大きく分かれており, 本方法によって出身地推定が可能であると考えられた. [比嘉由紀子, 前川芳秀, 葛西真治, 高岡安希; 糸川健太郎（病原体ゲノム解析研究センター）]

7. マダニの吸血源動物種の特定

ダニ媒介感染症の自然界での感染環を知る上で, マダニの宿主動物を知ることは重要な情報となる. これまで, 動物由来血液を高感度に検出する Reverse line blot hybridization（RLB）法に対し, 本邦産動物種を検出する特異的 probe を作製するなど改良を進めた結果, 哺乳類 18 種と鳥類 15 種の検出が可能になった. 国内の主要な哺乳動物は概ね検出できると思われるが, 渡り鳥を含む鳥類の種類は非常に多いため, 本法での検出には限界があることが示唆された. そこで本年度は, RLB 法および次世代シーケンス（NGS）解析を併用する系での検出法を検討した. 現在までに 48 検体が陽性反応を示したため, 次いでそれらを NGS 解析に供し, 動物種特異的な配列を検出する予定である. [谷口ひとみ, 比嘉由紀子, 伊澤晴彦, 渡辺護, 澤邉京子]

8. SFTSおよびOzウイルス等ダニ媒介性ウイルスの感染環解明に資する野鼠類生息調査

2014 年愛媛県大洲市で採集されたタカサゴキララマダニからオルソミクソウイルス科トーゴトウイルス属の新規ウイルス（Oz ウイルスと命名）が分離された. そこで, 本地域に浸淫する SFTS および Oz ウイルスを主な対象とし, これらダニ媒介性ウイルスの自然界での感染環を解明するために, 両ウイルスの保有宿主と考えられる野鼠類の生息調査ならびにそれらからのウイルス検出を行った. 2016 年 5 月から 2020 年 10 月までに合計で 76 頭の野鼠類（アカネズミ 63 頭, ヒメネズミ 10 頭, その他 3 頭）を捕獲し, 寄生マダニ類（mite およびツツガムシ等を含む）1,000 頭以上を採集した. ヤマアラシチマダニ若虫が最も多く寄生していたが, 本種を含む寄生マダニ類からウイルスは検出されなかった. [小林大介, 伊澤晴彦, 澤邉京子; 前田健（獣医科学部）; 米満研三（山口大）; 鍬田龍星（岡山理科大）; 木村俊也（愛媛県食肉検査研究センター）; 下田宙（山口大）]

9. SFTS 感染ネコの周辺環境におけるマダニ相調査ならびに殺虫剤によるマダニ駆除

2019 年の SFTS を発症した飼いネコの事例において, 飼い主を含む周辺住民の健康被害が危惧されたことから, 当該地域のマダニ相調査及び殺虫剤によるマダニ駆除を行った. 2019 年 6 月から 2020 年 6 月までの植生マダニ調査の結果, 3 属 6 種 3,325 頭のマダニが採集され, タカサゴチマダニとキチマダニが優占種であることが判明した. 2019 年 11 月にピレスロイド剤の炭酸ガス製剤とプロペタンホス MC 剤によるマダニ駆除を行い, 処理後約半年間, 両薬剤の併用区では比較的長期間マダニ密度が低く維持されたことが明らかになった. 今後もネコ等の伴侶動物が罹患し, ヒトへの感染が危惧される事例は起り得ることから, 有効なマダニ対策を検討し, 備える必要があることを提言した. [小林大介, 伊澤晴彦, 前川芳秀, 比嘉由紀子, 葛西真治, 林利彦, 澤邉京子; 木村俊也（愛媛県食肉検査研究センター）; 鍬田龍星（岡山理科大）; 南博文（南動物病院）; 五十嵐真人（日本防疫殺虫剤協会）]

10. 日本産ニクバエ科の DNA バーコーディング

研究者人口の減少により衛生動物の種同定ができる人材育成が厳しくなっている. 多くの研究者に受け入れられやすいDNAバーコーディングによる種同定を行うデータベース構築を目的として, 日本産ニクバエ科 36 種 76 個体のミトコンドリア COI 領域を対象としたDNAバーコード解析を行った. その結果, 基本的に形態分類に一致する系統樹が作成され, 遺伝的距離は多くの種で 4.42～13.68%, 近縁種で 0.92～1.69%で（欧米における先行研究によると種間変異は 2.8%とされる）, COI バーコード領域を利用した種同定が十分に可能であることが示された. また, ツシマニクバエにおいては隠蔽種の存在が示唆された. [岩田基晃, 比嘉由紀子, 倉橋弘, 葛西真治, 澤邉京子; 戒能洋一(筑波大学); 大宮正也, 柿沼進（国際双翅類研究所）]

11. 無弁翅ハエ類の分類学的および分布に関する研究

日本から初めてニセミギワフンコバエ（*Pseudocollinella Digna*）を記録した. 本種はブルガリア産1♂で記載され, その後どこからも記録されてこなかった. 台湾から記載された *P. sinplicisternum* は本種の同物異名であることが判明した. 日本や台湾では比較的多く見られ, その他の地で記録がない事から本種は本来東アジアの種であり, ブルガリアには何らかの理由で移入された個体が記載されたのではないかと思われた. [林利彦]

II. 衛生昆虫からの病原体の分離と検出，および媒介生理に関する研究

1. 長崎県におけるコガタアカイエカの日本脳炎ウイルス保有実態調査

国内における日本脳炎ウイルス媒介蚊の日本脳炎ウイルス保有状況や，流行しているウイルス株の遺伝子型を把握するため，2019 年 8 月下旬に長崎県内の畜舎において採集された 971 頭（39 プール）のコガタアカイエカから，日本脳炎ウイルスの分離を試みた．その結果，3 株の日本脳炎ウイルスが分離された．エンベロープタンパク質の塩基配列に基づいた遺伝子型の同定および分子系統解析を行ったところ，全ての分離株は遺伝子型Iと判明し，2018 年に同所で分離された株とクラスターを形成した．これらの結果から，国内では日本脳炎ウイルスの感染サイクルが維持されており，依然として感染リスクが存在することが示された．[松村凌，小林大介，Astri Nur Faizah，MichaelAmoa-Bosompem，伊澤晴彦，佐々木年則，比嘉由紀子，津田良夫，前川芳秀，澤邉京子；二見恭子，森本康愛，砂原俊彦，皆川昇（長崎大学熱帯医学研究所）；松本文昭，浦川美穂，三浦佳奈，山下綾香，小嶋裕子，吉川亮（長崎県環境保健研究センター）；藤田龍介（九州大）]

2. ヤマトアブから検出された新規フラビウイルスの配列解析

アブ類が媒介するアルボウイルスについてはこれまで報告がなく，またアブ類が保有するその他の RNA ウイルスについてもほとんど知見がない．本研究では，石川県で捕集されたヤマトアブの保有ウイルス調査の過程において検出された新規フラビウイルスの配列解析を実施した．ゲノムにコードされるウイルス遺伝子の比較解析と分子系統解析の結果，本ウイルスは昆虫特異的フラビウイルスに近縁な新規ウイルスであることが示唆され， Tabanus rufidens flavivirus と命名した．ハエ目短角亜目からのフラビウイルスの検出は，本研究が世界で初めての事例となり，フラビウイルスの系統進化に関しての重要な新知見となった．[小林大介，渡辺護，Astri Nur Faizah，Michael Amoa-Bosompem，比嘉由紀子，澤邉京子，伊澤晴彦]

3. 吸血性節足動物からのトリパノソーマ原虫の検出

吸血性節足動物の吸血生態の理解を目的として，住血原虫を指標とした吸血源動物推定法の確立を試みた．石川県で採集されたキチマダニおよびヤマトアブからトリパノソーマ原虫様の配列が検出され，それら配列の分子系統解析を実施した結果，キチマダニ由来のものはイヌ科動物に感染する原虫種，一方でヤマトアブから検出されたものはウシに感染する原虫種と近縁であることが判明した．そのため，これらのトリパノソーマ原虫が検出された節足動物は，原虫種の宿主である各種の哺乳動物を吸血源動物として利用していることが推察された．[小林大介，渡辺護，Astri Nur Faizah，Michael Amoa-Bosompem，比嘉由紀子，澤邉京子，伊澤晴彦]

4. ツバメヒメダニから検出された新規ニャウイルスの配列解析

ヒメダニ類は様々なアルボウイルスを媒介することが知られている．我が国におけるヒメダニ類媒介ウイルスとしては，岩手県採集のクチビルカズキダニから分離された Midway virus の存在が知られるのみである．本研究では，国内に分布するヒメダニ類の保有するウイルスを調査することを目的として，静岡県三島市で採集されたツバメヒメダニを対象にウイルスの網羅的解析を行った．その結果，ニャウイルス属の新規ウイルスを検出し， Sekira virus（SEKRV）と命名した．SEKRV は既知のニャウイルスとは異なり，ウイルス糖タンパク質やマトリックスタンパク質遺伝子を欠くユニークな特徴を持つことも判明した．[小林大介，Astri Nur Faizah，Michael Amoa-Bosompem，澤邉京子，伊澤晴彦；小松謙之（シー・アイ・シー）]

5. キンイロヌマカの保有する RNA ウイルス叢の解析

蚊やマダニなどが媒介するウイルスの感染リスクを把握するためには，これら吸血性節足動物が保有するウイルスの実態を明らかにすることが重要である．本研究では，石川県で採集されたキンイロヌマカの保有する RNA ウイルス叢を明らかにすることを目的として，次世代シーケンサーを用いた RNA ウイルスの網羅的な探索および，虫体からのウイルス分離を試みた．その結果，ブニヤウイルス，オルソミクソウイルス，フラビウイルス様配列が検出された．さらに，新規の昆虫特異的フラビウイルスの分離に成功した．現在，これら検出されたウイルスの詳細な解析を実施している．[松村凌，小林大介，渡辺護，比嘉由紀子，澤邉京子，伊澤晴彦；糸山享（明治大）]

6. 衛生害虫由来培養細胞に潜在感染するウイルスの探索と同定

蚊やマダニ，ハエ由来の培養細胞株は，それら節足動物が媒介する病原体の分離や詳しい性状解析を実施する上で，重要な研究ツールとなっている．これまでに我々は，ヒトスジシマカ由来 C6/36 細胞に持続感染している 2 種類の昆虫特異的ウイルスを見出し，これらがデングウイルスやジカウイルス，日本脳炎ウイルスの増殖を顕著に抑制することを報告した．本研究では，種々の衛生害虫由来培養細胞における潜在感染ウイルスの探索を目的とした網羅的ウイルス解析を行った．その結果，既存の 6 種類の培養細胞から 4 種の新規ウイルスを含む 15 種類のウイルスが検出された．現在，これら新規ウイルスについての詳しい遺伝子解析を行っている．[松村凌，小林大介，Astri Nur Faizah，伊澤晴彦；糸山享（明治大）]

7. 日本産コガタアカイエカおよびヤマトヤブカの日本脳炎ウイルス媒介能評価

日本脳炎ウイルス（JEV）は，エンベロープ遺伝子配列に基づき，5 つの遺伝子型に分類される．我が国では現在，I 型が優占的に流行している．しかしながら近年，近隣国において V 型の流行が散発的に報告されており，JEV 主要媒介蚊であるコガタアカイエカ以外の蚊種からの検出事例が多数報告されている．本研究では，本邦産コガタアカイエカとヤマトヤブカの実験室系統を用いた JEV 遺伝子型 I，III，V 型の感染実験を行い，ウイルス媒介効率の比較を実施した．その結果，これらの蚊は全ての遺伝子型を媒介可能であることが示され，とりわけコガタアカイエカにおいては，全ての遺伝子型を効率的に媒介できることが示された． [Astri Nur Faizah，小林大介，Michael Amoa-Bosompem，澤邉京子，伊澤晴彦]

8. 国内産ヒトスジシマカを用いたジカウイルス感染実験系の確立

2015 年に南米を中心にアウトブレークしたジカウイルス感染症に関して，今後国内での感染流行が発生する可能性も想定されることから，国内に生息する蚊のジカウイルス感受性と媒介能について把握しておく必要がある．本研究では，神奈川県海老名市で 2018 年 8 月に採取されたヒトスジシマカ系統を用い，ジカウイルスの感染実験系の確立を試みた．その結果，唾液中にジカウイルスが検出され，国内産ヒトスジシマカでジカウイルス感染実験系を確立することができた．[佐々木年則，小林大介，斎藤一三，伊澤晴彦，澤邉京子；林昌宏（ウイルス第一部）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）；皆川昇（長崎大学熱帯医学研究所）]

9. 蚊でのジカウイルス感染履歴評価の試み

調査地における過去のジカウイルス感染・流行状況を把握する目的で，最近明らかになってきている蚊の獲得免疫機構を指標とした感染履歴の評価系確立を試みた．蚊の培養細胞にジカウイルスを感染させると 7 日から 10 日後にジカウイルス由来の vDNA を検出することができた．この検出系を用いて，調査地で採取された蚊からジカウイルス由来 vDNA を検出することを試みている．[佐々木年則，小林大介，斎藤一三，伊澤晴彦，澤邉京子；林昌宏（ウイルス第一部）；高崎智彦（神奈川県衛生研究所）；皆川昇（長崎大学熱帯医学研究所）]

10. ガーナ産ネッタイシマカ由来新規培養細胞系の樹立

蚊由来培養細胞は，蚊媒介性ウイルス研究において必要不可欠なツールとなっている．今回，デングウイルスやジカウイルス，黄熱ウイルスの研究に有用な新規ネッタイシマカ由来細胞系の樹立を試みた．2016 年にガーナ共和国北部で採集されたネッタイシマカを起源とする飼育系統（GH98）の胚子を用いて初代培養を行った．培養液には VP-12 培地（牛胎児血清添加）を用い，適宜更新を行いながら培養を続けたところ，付着性細胞の顕著な増殖が確認されるようになった．さらに split ratio 1:8 程度で継代を繰り返した結果，安定した維持培養が可能となった．現在，各種ウイルスに対する感受性について調査している．[Michael Amoa-Bosompem，小林大介， Astri Nur Faizah， 伊澤晴彦；鍬田龍星（岡山理大）；糸川健太郎（病原体ゲノム解析研究センター）；岩永史朗（東京医科歯科大）]

III. 衛生害虫の防除，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. 東南アジアで採集したネッタイシマカの VGSC のアレル解析

VGSC はピレスロイド剤の作用点である．ベトナム産 278 個体について VGSC のアミノ酸変異の解析を行い，ホモ型で確認できた 80 検体から 5 つの変異型 C，WC， FWI， FTW，FTWC の存在を明らかにするとともに，FTW 型が最も高頻度（約 70%）で存在していることを明らかにした．また，カンボジアのプノンペンで採集された集団では，最もピレスロイド抵抗性レベルが高い FTWC 型が 63%を占めており，デング熱媒介蚊防除が困難な現状を明らかにした．[高岡安希，古谷章悟，駒形修，冨田隆史，葛西真治；糸川健太郎（病原体ゲノム解析研究センター）]

2. ブラジル・マラカナンで採集したネッタイシマカから見出された，ピレスロイド剤抵抗性に関与する新たな VGSC 変異

2016 年にブラジル・リオデジャネイロ州マラカナンで採集したネッタイシマカの殺虫剤抵抗性集団を用いて殺虫剤抵抗性の要因を解析した．ピレスロイド系殺虫剤の標的である VGSC 遺伝子が 2 型含まれていることを明らかにし，これらの遺伝子型をもとに 2 系統（MCNaeg-LIC と MCNaeg-C）を分離した．次世代シーケンサー解析によるコード領域全長解読の結果，MCNaeg-LIC は V410L，S723T，V1016I，F1534C を有し，MCNaeg-C 系統は V253F，M374I，G923S，F1534C を有していることが判明した．両系統はピレスロイド剤に同程度の強い抵抗性を示した．これらのうち，V253F のアミノ酸変異は VGSC における第 2 のピレスロイド受容体（PyR2）の領域に位置していた． [古谷章悟，高岡安希，駒形修，冨田隆史，葛西真治；糸川健太郎（病原体ゲノム解析研究センター）]

3. ピレスロイド系殺虫剤抵抗性ネッタイシマカの解毒に関わる責任遺伝子へのアプローチ

ネッタイシマカのピレスロイド剤抵抗性に関与する解毒代謝系の因子を特定するために，共力剤 PBO の共力効果が高い FTWC 系統を感受性系統 SMK と掛け合わせた．5 世代交配後に，VGSC 変異の有無で選抜し，作用点変異の抵抗性遺伝子 *kdr* を持たず，かつ解毒代謝酵素シトクロム P450 による抵抗性機構を有する系統 WC-cSMK を作製した． [古谷章悟，高岡安希，駒形修，冨田隆史，葛西真治；糸川健太郎（病原体ゲノム解析研究センター）]

4. 成田国際空港で採集されたネッタイシマカの殺虫剤抵抗性及び抵抗性機構

2013 年と 2015 年に成田国際空港で採集されたネッタイシマカの子孫集団（NRT13，NRT15）のピレストロイド剤感受性を調べた．NRT13 と NRT15 のペルメトリンに対する抵抗性比は 64.9 倍と 28.6 倍であり，共力剤の効果も認められたことから代謝機構も有していることを明らかにした．両系統とも作用点 VGSC のアミノ酸変異が認められた．カルボキシルエステラーゼ（CE）を電気泳動により分離し活性染色した結果，両系統と感受性標準系統の間に明確な差は認められなかったため，CE の抵抗性への関与の可能性は低いと考察された．[草苅咲季，駒形修，冨田隆史，葛西真治； 糸山享（明治大学）]

5. 変異型アセチルコリンエステラーゼをもつネッタイトコジラミのメトキサジアゾン感受性の低下

私たちはこれまでに，ネッタイトコジラミで見つかったアセチルコリンエステラーゼ（AChE）の変異 F348Y が有機リン・カーバメート系殺虫剤の抵抗性をもたらすことを明らかにしている．2016 年に那覇市で採集され，野生型と変異型の AChE が混在しているネッタイトコジラミの 2 コロニーを用いて，メトキサジアゾンの殺虫試験を局所施用法で行った．また，Y348 の保有とメトキサジアゾン感受性の間に相関があるか調べた．その結果，変異保有個体に有意な感受性の低下が認められた．[冨田隆史，皆川恵子（（一財）日本環境衛生センター），小松謙之（（株）シー・アイ・シー），駒形修，葛西真治]

6. 有機リン・カーバメート系抵抗性トコジラミの F348Y 変異型アセチルコリンエステラーゼ（AChE）の性質変化

抵抗性トコジラミから見いだされた変異型 AChE に関して，この変異が酵素の本来の性質にもたらす影響について調べた．野生型 F348（感受性），変異型 Y348（抵抗性）の AChE はいずれもブチリルチオコリンを分解しなかった．これはこれまで昆虫の AChE の一般的な性質として認識されてきたことに矛盾しなかった．一方，変異型，野生型 AChE はアセチルチオコリンとプロピオニルチオコリンを共に分解したが，変異型では親和性，活性がいずれも低かった．変異型 AChE は殺虫剤（活性体）による阻害は受けにくく抵抗性に貢献するものの，基質を分解するという本酵素本来の能力が低下していることが示された．[駒形修，冨田隆史，葛西真治；糸川健太郎（病原体ゲノム解析研究センター）]

7. 東京2020オリンピック・パラリンピック開催に向けたデング熱媒介蚊ヒトスジシマカ対策の検討

東京 2020 オリンピック・パラリンピック開催に備え，2016 年以降，合計 12 薬剤と 7 散布機を組み合わせて様々な場面を想定した野外での殺虫試験を行ってきた．2020 年は，9 月に埼玉県内の総合公園において，ペルメトリン 5%乳剤を車載式動力噴霧器，およびペルメトリン 5%ULV 乳剤を，海外製 ULV 散布機を用いてそれぞれ散布し，ヒトスジシマカ成虫への効力評価を行った．その結果，いずれの処理区においてもヒトスジシマカが効率よく駆除されたことが確認された．また，各薬剤と散布機器の利点・欠点などの貴重な情報や，教育ビデオ用の動画資料も収集・蓄積することができた．[葛西真治，駒形修，古谷章悟，澤邉京子；皆川恵子，橋本知幸（日本環境衛生センター）；五十嵐真人，千保聡（日本防疫殺虫剤協会）]

8. *CYP6BB2* をノックアウトしたネッタイシマカ系統のピレスロイド感受性

これまでの研究で，ネッタイシマカのシトクロム P450 酸化酵素 CYP6BB2 はピレスロイド剤の一種であるペルメトリンを分解することを明らかにしてきた．CRIPER/Cas9 の技術を用いて抵抗性系統 SP の *CYP6BB2* 遺伝子を 50%ノックアウトしたネッタイシマカについて行った代謝試験では，非ノックアウト遺伝子を有する個体の方がペルメトリンを多く代謝することを明らかにしている．そこで，この混合集団から *CYP6BB2* のノックアウト／非ノックアウトの個体を分離し，それぞれの集団についてペルメトリンで殺虫試験を行った．その結果，1 試験区 20 個体で，ノックアウト集団では死亡率の平均が 89.2%（36 回繰り返し），非ノックアウト集団では死亡率の平均が 59.8%（26 回繰り返し）であった．以上のことから，SP 系統では *CYP6BB2* 遺伝子が機能を失うことで，僅かながらペルメトリンの感受性が増大することが明らかになった．[高岡安希，駒形修，冨田隆史，葛西真治]

9. 横浜市内の一軒家庭において，2010 年の 3 月 16 日から 12 月 15 日にかけて，計 23 回のトラップ設置により捕集したアカイエカ種群蚊について，PCR 法による種判別を行った．チカイエカが占める割合は採集回毎で幅が認められたが，シーズンを通してチカイエカが 50%を超えることはなく，アカイエカが優勢であった．全体では 89.2%がアカイエカで占められており，トラップを設置した地点（屋外）においてはアカイエカが優占種であることが明らかになった．この民家の屋内では 2007 年と 2008 年に 149 個体のアカイエカ種群が捕集され，うち 86%がチカイエカで占められていた．以上のことから，チカイエカはアカイエカに比べて屋内侵入性とヒト親和性が高いことが明らかになった．[高岡安希，二瓶直子，駒形修，冨田隆史，葛西真治]

レファレンス業務

I. 衛生動物同定検査報告

令和 2 年 4 月から令和 3 年 3 月までの間に 5 件の昆虫の同定依頼があった．内訳はハエ症等のハエ類 2 件，ハリアリ等のアリ類 2 件，シロアリが 1 件であった．[林利彦，比嘉由紀子，前川芳秀]

研修業務

1) 蚊の生態.東京都令和 2 年度「感染症を媒介する蚊対策講習会」. 2020 年 6 月 16 日，東京 [澤邉京子]

2) 第 6 回動物由来感染症研修会， 感染症を媒介する節足動物：蚊，2021 年 1 月，オンライン（オンデマンド形式） [葛西真治]

3) 第 56 回ねずみ衛生害虫駆除技術研修会，衛生害虫に関する最近の話題， 2021 年 1 月 20 日， オンライン [葛西真治]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Amoa-Bosompem M, Kobayashi D, Murota K, Faizah AN, Itokawa K, Fujita R, Osei JHN, Agbosu E, Pratt D, Kimura S, Kwofie KD, Ohashi M, Bonney JHK, Dadzie S, Sasaki T, Ohta N, Isawa H, Sawabe K, Iwanaga S. Entomological Assessment of the Status and Risk of Mosquito-borne Arboviral Transmission in Ghana. Viruses. 12(2), 147, 2020.

2) Faizah AN, Kobayashi D, Isawa H, Amoa-Bosompem M, Murota K, Higa Y, Futami K, Shimada S, Kim KS, Itokawa K, Watanabe M, Tsuda Y, Minakawa N, Miura K, Hirayama K, Sawabe K. Deciphering the Virome of *Culex vishnui* Subgroup Mosquitoes, the Major Vectors of Japanese Encephalitis, in Japan. Viruses, 12(3), 264, 2020.

3) Amoa-Bosompem M, Kobayashi D, Itokawa K, Faizah AN, Kuwata R, Dadzie S, Hayashi T, Yamaoka S, Sawabe K, Iwanaga S, Isawa H. Establishment and characterization of a cell line from Ghanaian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on *Aedes*-borne flavivirus susceptibility. In Vitro Cellular and Developmental Biology – Animal, 56(9), 792-798, 2020.

4) Kobayashi D, Murota K, Itokawa K, Ejiri H, Amoa-Bosompem M, Faizah AN, Watanabe M, Maekawa Y, Hayashi T, Noda S, Yamauchi T, Komagata O, Sawabe K, Isawa H. RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses. Ticks and Tick-Borne Diseases, 11(2), 101364, 2020.

5) Kobayashi D, Murota K, Faizah AN, Amoa-Bosompem M,

Higa Y, Hayashi T, Tsuda Y, Sawabe K, Isawa H. RNA virome analysis of hematophagous *Chironomoidea* flies (Diptera: Ceratopogonidae and Simuliidae) collected in Tokyo, Japan. Medical Entomology and Zoology, 71(3), 225-243, 2020.

6) Kobayashi D, Faizah AN, Amoa-Bosompem M, Watanabe M, Maekawa Y, Hayashi T, Higa Y, Sawabe K, Isawa H. Analysis of *Trypanosoma* sequences from *Haemaphysalis flava* (Acari: Ixodidae) and *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae) collected in Ishikawa, Japan. Medical Entomology and Zoology, 71(4), 279-288, 2020.

7) Faizah AN, Kobayashi D, Amoa-Bosompem M, Higa Y, Tsuda Y, Itokawa K, Miura K, Hirayama K, Sawabe K, Isawa H. Evaluating the competence of the primary vector, *Culex tritaeniorhynchus*, and the invasive mosquito species, *Aedes japonicus*, in transmitting three Japanese encephalitis virus genotypes. PLoS Neglected Tropical Diseases, 14(12), e0008986, 2020.

8) Murota K, Suda Y, Shirafuji H, Ishii K, Katagiri Y, Suzuki M, Kobayashi D, Isawa H, Tanaka S, Yanase T. Identification and characterization of a novel orbivirus, Yonaguni orbivirus, isolated from cattle on the westernmost island of Japan. Archives of Virology, 165(12), 2903-2908, 2020.

9) Supriyono, Kuwata R, Torii S, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Kuroda Y, Tatemoto K, Tran NTB, Takano A, Omatsu T, Mizutani T, Itokawa K, Isawa H, Sawabe K, Takasaki T, Yuliani DM, Abiyoga D, Hadi UK, Setiyono A, Hondo E, Agungpriyono S, Maeda K. Mosquito-borne viruses, insect-specific flaviviruses (family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*), Banna virus (family *Reoviridae*, genus *Seadornavirus*), Bogor virus (unassigned member of family *Permutotetraviridae*), and alphamesoniviruses 2 and 3 (family *Mesoniviridae*, genus *Alphamesonivirus*) isolated from Indonesian mosquitoes. Journal of Veterinary Medical Science, 82(7), 1030-1041, 2020.

10) Okamoto K, Ferreira RJ, Larsson DSD, Maia FRNC, Isawa H, Sawabe K, Murata K, Hajdu J, Iwasaki K, Kasson PM, Miyazaki N. Acquired Functional Capsid Structures in Metazoan Totivirus-like dsRNA Virus. Structure, 28(8), 888-896.e3, 2020.

11) Kobayashi D, Komatsu N, Faizah AN, Amoa-Bosompem M, Sawabe K, Isawa H. A novel nyavirus lacking matrix and glycoprotein genes from *Argas japonicus* ticks. Virus Research, 292, 198254, 2021.

12) Sasaki T, Adachi T, Itoh K, Kubota M, Yamagishi T, Hirao M, Isawa H, Oishi K, Shibayama K, Sawabe K. Detection of *Bartonella quintana* infection among the Homeless Population in Tokyo, Japan, from 2013-2015. Japanese Journal of Infectious Diseases, Jan 29, 2021.

13) Kobayashi D, Watanabe M, Faizah AN, Amoa-Bosompem M, Higa Y, Tsuda Y, Sawabe K, Isawa H. Discovery of a Novel Flavivirus (*Flaviviridae*) From the Horse Fly, *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae): The Possible Coevolutionary Relationships Between the Classical Insect-Specific Flaviviruses and Host Dipteran Insects. Journal of Medical Entomology, 58(2), 880-890, 2021.

14) Itokawa K, Hu J, Sukehiro N, Tsuda Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Minakawa N, Sawabe, K. Genetic analysis of *Aedes aegypti* captured at two international airports serving to the Greater Tokyo Area during 2012-2015. PLoS One, 15(4), e0232192, 2020.

15) Sugiura M, Kimoto F, Itokawa K, Kasai S. Novel CONCOMITANT mutations L932F and I936V in the voltage-gated sodium channel and its association with pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology, 58(2), 798-806, 2021.

16) Itokawa K, Furutani S, Takaoka A, Maekawa Y, Sawabe K, Komagata O, Tomita T, de Lima Filho JL, Alves LC, Kasai S. A first, naturally occurring substitution at the second pyrethroid receptor of voltage-gated sodium channel of *Aedes aegypti*. Pest Management Science, 77(6), 2887-2893, 2021.

17) Hayashi T. A new record of the genus *Pseudocollinella* Duda (Diptera, Sphaeroceridae) from Japan. Medical Entomology and Zoology, 72, 17-19, 2021

18) Maekawa Y, Pemba D, Kumala J, Gowelo S, Higa Y, Futami K, Sawabe K, Tsuda Y. DNA barcoding of

mosquitoes collected through a nationwide survey in 2011 and 2012 in Malawi, Southeast Africa. Acta Tropica. 213, 105742, 2020.

19) Hirabayashi K, Nihei N, Kobayashi M, Tsuda Y, Sawabe K. Elevational distribution of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, in the inland mountain area of Nagano and Yamanashi Prefectures, Japan. Journal of the American Mosquito Control Association, 36(1), 1-10, 2020.

20) Kawada H, Futami K, Higa Y, Rai G, Suzuki T, Rai S. K. Distribution and pyrethroid resistance status of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* populations and possible phylogenetic reasons for the recent invasion of *Aedes aegypti* in Nepal. Parasites & Vectors, 13, 213, 2020.

21) Futami K., Iwashita H, Higa Y, Lutiali P. A, Sonye G. O, Mwantele C, Njenga S. M, Minakawa N. Geographical distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti formosus* (Diptera: Culicidae) in Kenya and environmental factors related to their relative abundance. Journal of Medical Entomology, 57, 772-779, 2020.

2. 和文発表

1) 小林大介, 佐々木年則, 伊澤晴彦. 野外捕集蚊からのヤブカ媒介性ウイルスの検出およびウイルスの国内定着に関する考察.衛生動物, 71(2), 85-90, 2020.

2) 葛西真治. はじめに―訓練の背景―, 東京 2020 オリンピック・パラリンピックに向けてのデング熱媒介蚊駆除訓練. 衛生動物, 71(2), 65-66, 2020.

3) 比嘉由紀子, 前川芳秀, 皆川恵子, 武藤敦彦, 佐々木均, 葛西真治.「東京 2020 オリ・パラリンピックに向けてのデング熱媒介蚊駆除訓練」蚊密度調査について. 衛生動物, 71(2), 73-78, 2020.

4) 葛西真治, 宇賀神知則, 清水一郎, 武藤敦彦, 佐々木均, 池田文明, 澤邉京子. 新宿御苑で開催されたデング熱媒介蚊駆除訓練の背景と概要. 衛生動物, 71(2), 67-71, 2020.

5) 谷川力, 渡邉徹, 元木貢, 清水一郎, 葛西真治. デング熱の国内感染に備えた新宿御苑での殺虫剤散布訓練. 衛生動物, 71(2), 79-83, 2020.

6) 比嘉由紀子, 前川芳秀, 澤邉京子, 葛西真治. 日本におけるネッタイシマカの分布, 侵入および定着. 病原微生物検出情報, 41(6), 3-4, 2020.

7) 前川芳秀, 比嘉由紀子, 澤邉京子, 葛西真治. ヒトスジシマカの分布域拡大について. 病原微生物検出情報, 41(6), 4-5, 2020.

8) 葛西真治, 澤邉京子. わが国におけるデング熱流行のリスクと媒介蚊対策の備え. 病原微生物検出情報, 41(6), 12-13, 2020.

9) 澤邉京子. 日本の節足動物媒介感染症対応に関する一連の研究－高病原性鳥インフルエンザとデング熱の国内流行に注目して－. 衛生動物, 71(1), 1-13, 2020.

10) 山内健生, 渡辺護, 澤邉京子. 石川県におけるマダニ相調査(2013～2014 年). 衛生動物, 71(2), 101-104,2020.

11) 山内健生, 渡辺護, 澤邉京子. 滋賀県におけるマダニ相調査（2013 年）. 日本ダニ学会誌, 29(1), 9-12,2020.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Astri Nur Faizah, Daisuke Kobayashi, Haruhiko Isawa, Kyoko Sawabe, Michael Amoa-Bosompem, Kozue Miura, Kazuhiro Hirayama. Evaluating the Competency of the Invasive Mosquito Species, *Aedes j. japonicus*, in Transmitting Various Japanese Encephalitis Virus Genotypes, American Society of Tropical Medicine & Hygiene 69th Annual Meeting, 2020 年 11 月 15 日-19 日, Web 開催

2. 国内学会

1) Michael Amoa-Bosompem, Daisuke Kobayashi, Katsunori Murota, Astri Nur Faizah, Kentaro Itokawa, Mitsuko Ohashi, Toshinori Sasaki, Haruhiko Isawa, Kyoko Sawabe, Shiroh Iwanaga. Virome analyses of *Aedes aegypti* mosquitoes collected in Ghana and their possible impact on arbovirus transmission. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

2) 松村凌, 小林大介, Astri Nur Faizah, 糸山享, 伊澤晴彦.

蚊・マダニ由来培養細胞に潜在感染するウイルスの探索と同定. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

3) 伊澤晴彦, 小林大介, 室田勝功, 糸川健太郎, 江尻寛子, Michael Amoa-Bosompem, Astri Nur Faizah, 渡辺護, 前川芳秀, 林利彦, 山内健生, 野田伸一, 駒形修, 澤邉京子.マダニが保有するM分節欠損フレボウイルスのゲノム解析と進化的位置づけ. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

4) 木村俊也, 鍬田龍星, 南博文, 小林大介, 伊澤晴彦, 前川芳秀, 比嘉由紀子, 林利彦, 葛西真治, 澤邉京子. SFTS 感染ネコの周辺環境におけるマダニ相および SFTS ウイルス調査. 第72回日本衛生動物学会大会, 2020年4月17日-19日, みなし大会

5) Astri Nur Faizah, Daisuke Kobayashi, Michael Amoa-Bosompem, Haruhiko Isawa, Yukiko Higa, Kozue Miura, Kazuhiro, Hirayama, Kyoko Sawabe. Evaluating the Infection, Dissemination and Transmission Rates of Japanese Encephalitis Virus Genotype I, III, and V by their main vector, *Culex tritaeniorhynchus*. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

6) 佐々木年則, Arlene G Bertuso, 伊澤晴彦, 高崎智彦, 皆川昇, 澤邉京子. ネッタイシマカのデングウイルス感受性関連遺伝子の解析. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

7) 小林大介. 大会シンポジウム ポスト NGS の衛生動物学: 吸血性節足動物の保有する多種多様なウイルスの世界. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

8) 黒木章弘, 糸川健太郎, 駒形修, 澤邉京子, 葛西真治, 野入英世, Sarkar Santana Rani, Shyamal Kumar Paul, 松本芳嗣, 三條場千寿. ネパールにおけるサシチョウバエ *Phlebotomus argentipes* のピレスロイド剤抵抗性遺伝子頻度の遷移. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

9) 葛西真治, 宇賀神知則, 比嘉由紀子, 小林大介, 澤邉京子, 清水一郎, 武藤敦彦, 佐々木均, 池田文明. 東京 2020 オリンピック・パラリンピックを見据えたデング熱媒介蚊駆除訓練. 第72回日本衛生動物学会大会, 2020年4月17日-19日, みなし大会

10) 駒形修, 糸川健太郎, 冨田隆史, 葛西真治. 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に対する感受性の比較. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17 日-19 日, みなし大会

11) 木村俊也, 鍬田龍星, 南博文, 小林大介, 伊澤晴彦, 前川芳秀, 比嘉由紀子, 林利彦, 葛西真治, 澤邉京子. SFTS 感染ネコの周辺環境におけるマダニ相および SFTS ウイルス調査. 第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17-19 日, みなし大会

12) 前川芳秀, 三條場千寿, 皆川恵子, 葛西真治, 澤邉京子. 新潟県佐渡島での蚊相調査 (2019).第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17-19 日, みなし大会

13) 澤邉京子. 「デング熱の流行:考え得るシナリオと流行に対する備え」2014 年事例の紹介. 第 72 回日本衛生動物学会大会市民公開講座, 2020 年 4 月 17-19 日, みなし大会

14) 岩田基晃, 比嘉由紀子, 葛西真治, 大宮正也, 柿沼進, 戒能洋一, 倉橋弘, 澤邉京子. 日本産ニクバエ亜科の種同定のための DNA バーコード整備.第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17-19 日, みなし大会

15) 岩田基晃, 比嘉由紀子, 葛西真治, 大宮正也, 柿沼進, 戒能洋一, 倉橋弘, 澤邉京子. 日本産ツシマニクバエ *Parasarcophaga tsushimae* (Diptera: Sarcophagidae) の分子分類学的再検討と隠蔽種について.第 72 回日本衛生動物学会大会, 2020 年 4 月 17-19 日, みなし大会

16) Astri Nur Faizah, Daisuke Kobayashi, Haruhiko Isawa, Yoshihide Maekawa, Michael Amoa-Bosompem, Kris C. Mulyatno, Shifa Fauziyah, Sri Subekti Bendryman, Kozue Miura, Kazuhiro Hirayama, Kyoko Sawabe . Entomological Surveillance and Detection of Japanese Encephalitis Virus GIV in *Culex vishnui* Collected in

Tabanan Regency, Bali, Indonesia. 第 163 回日本獣医学会学術集会， 2020 年 9 月 8 日-10 日，山口市（Web 開催）

17) 葛西真治.気候変動と節足動物媒介感染症.第 3 回気候変動適応の研究会, 2020 年 12 月 7 日，オンライン

１２．獣医科学部

部長　　前田　健

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、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、SFTS、新興動物由来感染症を、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、B ウイルス、コロナウイルス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、SARS-CoV-2 に関しては部全体での対応を行っている。

第一室では、SFTS ウイルスの動物感染実験、愛玩動物の診断、動物での疫学調査を行っている。その過程で、静岡県では最初の患者報告に先駆けてネコ・イヌの SFTS 発症例を確定し、また、SFTS 発症ネコの流死産例についても解析を行った。国内 COVID-19 の伴侶動物での病態解明のためネコで感染実験を行い、発症はしないが急性期にウイルスを鼻腔、口腔から排出することを明らかにした。検査用 *Brucella canis* 抗原の製造撤退による民間検査機関での抗体検査中止に対応するため、厚生労働省と協議の上、当室で検査抗原を作成し、行政検査としてブルセラ症抗体検査を開始した。長野県内の新規ブルセラ属菌の位置づけを明らかにするため、遺伝子解析等を行った。カプノサイトファーガ感染症の疫学調査を継続して実施するとともに、*C. canimorsus* の莢膜遺伝子型とヒトへの病原性の関連の解析および当室で発見した新菌種の公衆衛生上のリスク評価を進めている。鼠咬症は継続して依頼検査および調査研究を実施している。Bウイルスに関してはサルでの疫学調査を行い、野生のサルの多くが感染していることを再確認した。

第二室では、国内外の関係機関等の協力を得て狂犬病、炭疽、ヘニパウイルス感染症等に係る予防体制の推進に係る調査研究を行って、感染源動物及び危機管理対応に関わる診断系の構築、アジアを中心とした海外の感染症研究機関等との共同研究によるラボラトリーネットワーク構築の強化を継続して行った。豊橋市における狂犬病患者の発生を受けて、現地調査に同行するとともに、診断・ウイルス分離を行った。更に、分離ウイルスを用いた新規ワクチン開発も開始した。また、国産の狂犬病ワクチン生産の問題点を解決するためのワクチン改良に関しても研究を開始した。更に、狂犬病以外のリッサウイルスの調査のための、抗体診断のための基盤を整備している。

第三室では、野兎病の病原性関連遺伝子破壊株の病原性を確認、宿主側の感染防御に関わる遺伝子の同定、環境における生残性の検討、国内患者由来株である *Francisella hispaniensis* の全塩基配列を決定した。更には死亡動物調査システムの構築と運用を行っており、SFTS への展開応用を進めている。野生鳥獣肉に関わる E 型肝炎ウイルスのリスクに関して、検査を継続している。動物の SARS-CoV-2 感染を検査するための、検査法を確立した。また、SARS-CoV-2 の全ゲノム解析法を導入し、ヒトを含む SARS-CoV-2 ゲノムの解析を実施している。更に、SARS-CoV-2 の所における抗体検査チームに参加し、貢献している。

当該年度は、客員研究員 6 名:森川茂(岡山理科大学獣医学部)、春原正隆(日本歯科大学生命歯科学部)、下田宙(山口大学共同獣医科学部)、佐藤克(佐藤獣医科)、朴天鎬(北里大学獣医学部獣医病理学研究室)、武藤淳二(科学警察研究所法科学第一部生物第5研究室)

協力研究員 6 名:山崎明子(岩手大学農学部)、彦野弘一(帝京科学大学生命環境学部)、山田健太郎(大分大学全学研究推進機構)、後飯塚僚(東京理科大学生命医科学研究所)、櫻井正幸(東京理科大学生命医科学研究所)、岡田修平(東京理科大学生命医科学研究所)

研究生 7 名:黒田雄大(山口大学共同獣医学部)、立本完吾(山口大学共同獣医学部)、Milagros Virhuez Mendoza(山口大学共同獣医学部)、原田倫子(山口大学共同獣医学部)、井上雄介(山口大学共同獣医学部)、土井寛大(日本獣医生命科学大学獣医学部)、紀熙華(東京理科大学 生命医科学研究所)

実習生 3 名:池田聖(東京農業大学農学部動物科学科)、西本耕生(東京農業大学農学部動物科学科)、宮川武大(東京農業大学農学部動物科学科)が在籍した。

当部は、山口大学共同獣医学研究科(専任教員:前田健)・連合獣医学研究科(指導教員:前田健)、及び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:前田健、准教授:井上智)として学生指導を行っている。

業 績

調査・研究

I. 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として、各種愛玩動物由来感染症の発生状況調査、カプノサイトファーガ属菌の薬剤耐性と莢膜遺伝子型の解析、エキノコックス症における愛知県の野犬の陽性率調査と北海道の農村部飼育犬調査、ドバトの *Chlamydia psittaci* や野良猫の *C. felis* の保有状況調査、愛玩用エキゾチックアニマルの流通過程や展示施設における異常死等の原因解明、地域猫および家庭飼育猫における薬剤耐性菌保有率調査、などを行い、得られた知見を元に一般飼育者・国民に対する啓発のための情報発信を行った。[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(岐阜大学)]

II. 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.)による動物由来感染症で、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、令和 2 年度には、患者 1 例(*B. canis* 感染 1 例)が届け出られ、1999 年度からの累計では、47 例(*B. melitensis* または *B. abortus* 感染 15 例、*B. canis* 感染 32 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、前田健]

2. ブルセラカニス抗原の調整とブルセラ症抗体検査体制の確立

ヒトのブルセラ症検査に使用していた *B. canis* 抗原のシングルサプライヤーの製造撤退により、これまで行われていた民間検査機関でブルセラ症の抗体検査診断ができなくなった。厚生労働省と協議の末、感染研で *B. canis* の検査用抗原を作成し、家畜ブルセラ属菌に対する抗体検査と合わせて行政検査として検査を実施することになった。検査用抗原の作成と検査のバリデーション、検査実施開始を受けて、厚生労働省健康局結核感染症課より 2020 年 10 月 21 日付で、地方自治体衛生主管部局・日本医師会など関係諸機関に 2020 年 10 月 26 日以降、ブルセラ症の検査は当方にて行政検査として実施する旨、通知を発出し、対応を開始した。[今岡浩一、鈴木道雄、前田健]

3. 既存のブルセラ属菌とは異なるブルセラ属菌による感染事例の検討

新規ブルセラ属菌(SCH17, MAH18)の MLST9 によるシーケンスタイピング(ST)では、7 遺伝子については B. suis biovar 5 の配列と完全一致したが、glk と omp25 については 2 株の間に、それぞれ 1 塩基の置換が認められた。全体では、ST19(*B. suis* biovar5)、25(*B. pinnipedialis*)、53 (*B. microti*)と近縁だがそれぞれ異なる 1 遺伝子に違いがあった。鞭毛関連遺伝子群では、*B. suis* biovar 5 と同様に新規ブルセラ属菌は半数ほどを欠損していた。全ゲノム解析や MLST9、生化学的性状解析の結果などから、新規ブルセラ属菌は *B. suis* biovar 5 の subspecies の位置づけになる可能性が考えられた。また、長野県内の動物病院を受診した犬 87 頭・猫 115 頭の調査では、家畜 *Brucella* 属菌に対する抗体陽性はいなかったが、*B. canis* に対する抗体陽性犬が 2 頭確認された。

[今岡浩一、鈴木道雄、朴ウンシル、前田健;森川茂(岡山理科大学)]

4. 両生類由来ブルセラ属菌に関する研究

国内で各種のカエルから分離された *Brucella* 属菌 6 株について、MLST9 によるタイピングを行った。その結果、国内分離株は 3 つのシーケンスタイプ(ST)に分けられた。海外分離株にはこれらと完全一致する ST はなく、それぞれが新しい ST であることが明らかとなった。Glucokinase(*glk*)遺伝子をターゲットとした PCR 検出系を構築した。同検出系は国内カエル分離株全てを検出するが、家畜 *Brucella* 菌を主とする Classic *Brucella* は検出せず、両者の鑑別が可能となった。[鈴木道雄、今岡浩一、前田健]

III. 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* 属菌は、ヒトがイヌやネコに咬傷・掻傷を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計 114 例(うち死亡 22 例)を把握した。このうち *C. canimorsus* 感染が 109 例(うち死亡 21 例)とその大半を占めていた。患者の年齢は 20～90 代で、40 代以上が 96%を占め、平均年齢は約 65 歳であった。また、性別は男性 84 例、女性 30 例で男性が 74%を占めた。症状は敗血症が 80%超を占め、報告されている患者の大半が重症例であった。国内臨床分離株の 9.2%がクラス D のβ-ラクタマーゼを保有していた。ネコ口腔から分離された新規の *Capnocytophaga* 属菌について、*C. felis* と命名して論文発表し、正式な新菌種として認められた。[鈴木道雄、今岡浩一、前田健]

Ⅳ. 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、LC16m0 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 LC16m0 型(medium size plaque; MSP)のウイルスが出現する。これまでに、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。その検出を更に簡便化すると共に、ウイルスレベルで検出できる検出系を検討した。Vaccinia virus の B5R は 317 個のアミノ酸からなり、signal peptide (1-19aa), short consensus repeats (SCR) I (20-71aa), SCR II (75-124aa), SCR III (129-181aa), SCR IV (185-236aa), transmembrane domain (276-303aa) の domain から構成されている。痘そうワクチン株である LC16m8 の B5R は途中で 1 塩基欠損により中止コドンは生じるために、92 個のアミノ酸からなる。MSP はその欠損部位周辺に 1 塩基挿入、4 塩基挿入、2 塩基欠損により open reading frame が復帰し、全長の B5R を有する。そのため、Vaccinia virus, LC16m0, MSP は全長の B5R 遺伝子を有し、相同性が高い。そこで、LC16m8 及び MSP の B5R の共通抗原として、1-92 アミノ酸の中で 3 種類の抗原(Ag1:20-75aa, Ag2-1:46-86aa, Ag2-2:51-86aa)の作製を計画した。また、B5R の細胞外ドメインは short consensus repeats 構造が繰り返されているため、その部位を除いた 237-275aa の部位を MSP 特異的抗原(Ag3)としてデザインした。それぞれのアミノ酸の N 末端に GST タグを付与する大腸菌用発現プラスミド pGEX-6p-1 に各種 PCR 産物を挿入し大腸菌発現及び精製により、4 種類の抗原を作製した。LC16m0-B5R に対するウサギ由来抗血清、LC16m8-B5R に対するウサギ由来抗血清を用いて、作製した抗原の特異性を immunoblot 解析により確認した。LC16m0-B5R に対するウサギ由来抗血清は B5R 全長に対する抗体であるため、LC16m8 及び MSP 共通抗原を検出できる。LC16m0-B5R に対するウサギ由来抗血清による immunoblot 解析では 4 種類全ての抗原において陽性反応が確認された。また、LC16m8-B5R に対するウサギ由来抗血清を用いた immunoblot 解析では Ag1, 2-1 及び 2-2 においては予想されたサイズでバンドが確認されたが、Ag3 においてはバンドが認められず、予想通りの結果となり、Ag1, 2-1, 2-2 及び 3 において抗原の特異性は確認された。

一方、天然痘ウイルスがバイオテロに用いられる可能性があることから、痘そうワクチン接種者と感染者が鑑別できる診断系の確立も必要である。その診断系は最近再流行しているサル痘ウイルスや牛痘ウイルスも vaccinia virus の B5R と相同性が高く、これらが検出できる診断法にもなり得る。今回作製できた 4 種類の抗原はより簡便化された MSP 検出系のウサギ由来抗血清作製の抗原にもなるが、バイオテロに用いられる可能性のある天然痘ウイルス感染者と痘瘡ワクチン接種者を血清学的に鑑別できる抗原としても利用可能である。現在は作製できた 4 種類の抗原をウサギに接種し、それぞれ特異的抗血清を作製中である。[Milagros Virhuez Mendoza、朴ウンシル、前田健]

Ⅴ. 動物由来感染症に関する研究

1. 遺伝子型による SFTSV の病原性相違検索に関する研究

これまでネコを用いた SFTSV 感染実験からネコはヒトと同様に SFTSV 感染するが、ヒトより重篤化することが分かっている。しかし、感染させた SFTSV の株によって病原性に相違が確認されたため、致死的マウスモデルを用いて、その原因を検証した。IFNαR1 遺伝子欠損 (IFNαR1 KO) マウスは SFTSV 感染の致死的モデルとして用いられる。SFTS 患者から分離された遺伝子型 J1 に属する SPL010 はネコ及び IFNαR1 KO マウスとも感染 5 日目(5 dpi)から体重減少が認められ、7-8 dpi では生存率が 0-30%になる。この時期には白血球減少、血小板減少も認められ、病理組織学的所見では頸部リンパ節、鼠径リンパ節、腸間膜リンパ節の腫大が観察され、ウイルス抗原も陽性を示す。しかし、SFTS 発症ネコから分離された遺伝子

型 C5 に属する Cat#1 を感染させたネコ及び IFNαR1 KO マウスは上記の症状や所見は認められない。SFTSV に対する IgG や中和抗体力価の上昇は認められ、感染は成立している。そこで、遺伝子型 J1、C4, C5 に属する複数の SFTSV を IFNαR1 KO マウスに感染させ、50%致死容量(LD_{50})を測定した。その結果、遺伝子型 J1 及び C4 に属する SFTSV は高い致死率を示し、遺伝子型 C5 に属する SFTSV は低い致死率を示した。しかし、C5 の中でも J1 と同様に高い致死率、低い LD_{50} を示す株が確認され、遺伝子型というよりは SFTSV の株、そのものに病原性の相違を現す原因があると考えられた。現在、その原因遺伝子を検索するために、reverse genetics による SPL010 株及び Cat#1 株のキメラウイルス作製を試みている。[朴ウンシル、立本完吾、石嶋彗多、宇田晶彦、野口章、黒田雄大、加来義浩、奥谷晶子、今岡浩一、前田健;森川茂、渡辺俊平(岡山理科大);下島昌幸、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(感染病理部)、長谷川秀樹(インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター)、網康至、花木賢一(安全実験管理部)]

2. ネコの新型コロナウイルス感染症に関する研究

国内外に COVID-19 患者のペットから新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の遺伝子が検出される事例が報告された。更に、野生動物や動物園で飼育されている動物の SARS-CoV-2 自然感染事例も相次いで報告され、動物の新型コロナウイルス感染症として検証することが目的である。ネコに 10^2, 10^4, 10^6 $TCID_{50}$を接種した結果、感染後 7 日目(dpi)まで鼻腔、口腔から感染性のあるウイルスを排泄することが分かった。SARS-CoV-2 に対する中和抗体が上昇する時期とウイルスが減少する時期が一致することから、中和抗体などの免疫からウイルスが排除されることが分かった。呼吸器症状や消化管症状は認められなかったが、肺組織からはウイルスの抗原及び軽度の炎症細胞浸潤が観察され、ネコは SARS-CoV-2 感染によって COVID-19 患者ほど重症化はしないことが推測された。しかし、10^2 $TCID_{50}$ の少量のウイルス感染によっても大量のウイルスを排泄し、一部のネコは直腸からも持続的に感染性のあるウイルスを排泄することが分かったため、コロナ渦でネコが感染源になるリスクがあることが示唆された。ネコは SARS-CoV-2 感染により重症化はしないが、感染源になり得るため、注意喚起が必要である。また、ネコは自然感染モデルや COVID-19 の治療薬及びワクチン開発のモデルにもなり、現在も研究を進めている。[朴ウンシル、黒田雄大、宇田晶彦、加来義浩、奥谷晶子、立本完吾、石嶋慧多、前田健 (獣医科学部);網康至(安全実験管理部)、白倉雅之、鈴木康司、長谷川秀樹(インフルエンザウイルス研究センター);原田俊彦(安全実験管理部);相内章、志和希、岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹(感染病理部)]

3. Ama ウイルスに関する研究

国内のダニから分離された新規オルソナイロウイルスである Ama ウイルスの病原性に関する感染実験を実施した。病原性が不明であるため、様々なウイルスの致死的モデルとして知られている IFNαR1 KO マウスに 10^3 ffu の Ama ウイルスを感染させた。感染後 3 日目、5 日目に採血し、ウイルスゲノム検出を試みた結果、3 日目では 13 copies/μlのウイルスゲノムが検出され、ウイルス血症が確認されたが、5 日目では検出されず、ウイルスが排除された可能性が考えられた。更に、Ama ウイルスに対する IgG の力価を蛍光抗体法により測定した結果、感染後 21 日目では 10,000 倍まで上昇していることが分かった。しかし、体重減少等の症状は認められなかったため、Ama ウイルスは IFNαR1 KO マウスでは病原性を示さないことが明らかとなった。現在、Ama ウイルス感染 IFNαR1 KO マウス体内のウイルス抗原を免疫組織化学染色により確認するために、ウサギ由来の抗血清作製を計画している。近年新規ウイルスが相次いで報告される中で、病原性不明の感染症に備えてこのような実験体制を確立することはこの研究の一つの意義である。[朴ウンシル、立本完吾、前田健;小林大介、伊澤晴彦(昆虫医科学部)]

VI. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に関する研究

1. 伴侶動物における SFTS の調査研究

国内の伴侶動物における SFTS の発生状況を把握することを目的として、2017 年から継続して SFTS ウイルス遺伝子検出と抗 SFTS ウイルス抗体検出を実施している。本年度においては、SFTS 疑いのネコ 123 例、イヌ 32 例について検査を実施し、ネコ 23 例、イヌ 1 例が SFTS と確定診断された。累積した症例から、SFTS 発症イヌではヒトと異なり高 CRP 値を呈すること、ネコと同様に高い死亡率(8 例中 4 例、50%) を示すことが明らかになった。[石嶋慧多、立本完吾、井上雄介、原田倫子、朴ウンシル、前田健]

2. SFTS ウイルスの系統解析

伴侶動物由来の SFTS ウイルス 77 株について M 分節の末端領域を除く全塩基配列を決定し、既報のウイルス株と合わせて系統解析を実施した。既知の分類と同様、日本の遺伝子型(J1-3) と中国の遺伝子型(C1-5)に分類された。日本の SFTS ウイルスの大部分は J1 型に属していた。日本のネコから分離された J1 型の SFTS ウイルスは韓国のヒト由来株と 99.9%以上の相同性を示していた。他の遺伝子型はそれぞれ地域性のある分布を示したが、C4 型のネコ由来のウイルス株は、浙江省・韓国由来株と高い相同性(99.4%以上)を示した。[石嶋慧多、朴ウンシル、立本完吾、前田健]

3. 流行地におけるイヌの血清を用いた ELISA 系確立

国内の SFTS 流行地で症状と関係なく採取された血清 199 検体について、中和試験を実施した。その結果、13 検体が中和抗体価 10 倍以上と判定された。IgG 検出 ELISA を実施し、ROC 解析を実施した結果、カットオフ値を OD 値>0.129 と設定したときに、感度=特異度=92.31%で IgG 陽性検体を検出可能だった。IgM 検出 ELISA については、遺伝子検査の結果と比較して ROC 解析を実施したところ、カットオフ値を OD 値>0.645 と設定することで、特異度 100%で検出可能であった。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

4. 山口県のシカ、イノシシにおける SFTS ウイルス中和試験の実施

2009 年から 2019 年に山口県内で捕獲されたシカ 789 頭、イノシシ 517 頭の血清を用いてウイルス中和試験による抗 SFTSV 抗体調査を実施した。血清 10 倍希釈において、シカで 789 頭中 510 頭(64.6%)、イノシシで 517 頭中 199 頭(38.5%)が中和抗体を有していた。捕獲年別でシカでは 2009 年から 2012 年まで約 40%の抗体陽性率を示したが、2013 年以降上昇し、2015 年以降は約 80%以上の抗体陽性率を維持した。イノシシでは 2014 年まで 20%から 30%の抗体陽性率が 2015 年に約 60%まで上昇し、その後 40－60%を推移した。山口県においても SFTSV の流行状況に変化が起きていることが分かった。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

5. 国内のシカ、イノシシにおける SFTS ウイルスの血清疫学調査

今年度、改めてシカおよびイノシシにおける ELISA 法について、ウイルス中和試験との比較により、カットオフ値を算出した。その結果、シカでは OD 値:0.390、イノシシでは OD 値:0.160 が求められた。算出したカットオフ値を用いた集計結果では、日本のシカ 3443 頭中 864 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 25.1%であった。イノシシにおいては 2110 頭中 626 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 29.7%であった。ヒトや動物での SFTS 発症例が数多く報告されている関西・中国・四国・九州ではシカ、イノシシ共に抗体陽性率が高い。それに対し、症例報告がない関東以北においては陽性率が低く示された。しかし、関東地方の一部地域においてはシカで 2015 年(7%)、2016 年(20%)2017 年(19%)、2018 年(37%)、2019 年(32%)と抗体陽性率が上昇している地域も認められている。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

6. 家畜動物を対象とした SFTS ウイルスの疫学研究

中国地方において飼育される飼養牛を対象に ELISA 試験とウイルス中和試験を用いた抗体疫学検査を実施した。その結果、133 頭中 1 頭(0.8%)の牛が抗 SFTSV 抗体を保有していた。中国の疫学研究では牛をはじめ山羊や羊などの反芻家畜動物において高い抗体陽性率が報告されていたが、それらに比べ、国内の飼養牛においては低い抗体陽性率を示すことが分かった。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

VII. 狂犬病に関する研究

1. わが国の狂犬病予防体制の推進のための研究

狂犬病予防体制推進の方策を検討するために、フランス、イギリス、オーストラリア、台湾等の関係機関における取り組みと国内の狂犬病体制整備事業を比較することによって日本で必要と考えられる狂犬病サーベイランス、検査、情報収集等の体制整備強化方法の検討を行った。いずれの国も狂犬病に対するリスク評価とリスク管理に基づいたヒト対策と動物対策が準備されており、医師および獣医師の定期的な研修会開催等による One Health 視点での取り組みの継続も行われていた。特に、コウモリ等の野生動物に対するサーベイランスが進展しており、狂犬病の感染疑い患者に対する発症予防(PEP)の徹底とともに、動物による咬傷患者データベース、野生動物の死亡個体調査、コウモリの狂犬病サーベイランス等によって、ヒト対策(発症予防の徹底)を軸に野生動物を含めたサーベイランス強化が One Health 体制整備の要として行われていた。[井上智、堀田明豊、野口章、前田健;フランス・パスツール研究所狂犬病ユニット、フランス食品環境健康安全機構狂犬病野生動物ナンシーラボラトリー、英国動物衛生獣医診断機構、

オーストラリア疾病予防センター、台湾動物衛生研究所、台湾CDC、台湾大学獣医大学院]

2. アジアの狂犬病ラボラトリーネットワーク促進と共同研究体制強化等に関する研究

フィリピン熱帯医学研究所(RITM)とともに動物の洞毛等神経組織を利用した新規病理診断法の開発およびバーチャルスライド等を利用した遠隔地とのオンライン研修及び手技伝達方法の構築検討、ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)の専門家とともにアジアにおけるドッグマーケットの狂犬病リスクに係る調査、台湾で報告された野生動物の狂犬病侵淫に係るサーベイランスの現状、チェンマイにおける狂犬病施策の課題等についてオンラインを介した知見の共有と分析を継続した。[朴 天鎬(北里大学);Daria Manalo(フィリピン熱帯学研究所);Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu,Ngo Chau Giang,Hoan Thi Thu Ha(ベトナムNIHE);費昌勇(台湾大学獣医大学院);Wilaiwan Petsophonsakul(タイCMU);井上智、野口章、奥谷晶子]

3. 日本における野生動物等の狂犬病サーベイランス構築と普及に係る調査研究

本年度は新型コロナウイルス感染症の流行拡大を受けて、Zoomによる遠隔配信で第8回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会を行った。宮崎大学大動物手術室備付け高解像度カメラで病理解剖手技を配信して鮮明かつ詳細な映像を遠隔地参加者と共有しつつ逐次解説を行うことで参加者の理解を促すことにより参加者から大変分かりやすいとの高評価を得ることができた。また、野生動物を対象にした狂犬病のモニタリング方法を構築するために有害捕獲およびロードキル野生動物(タヌキ、アナグマ)の微生物検査成績を学会で報告した。[兼子千穂、山田健太朗、三澤尚明(宮崎大学);有川玄樹(宮崎県);井上智、堀田明豊、野口章;伊藤睦代(ウイルス第一部)]

4. 狂犬病陽性患者からの狂犬病ウイルスの分離

海外から渡航した狂犬病疑い患者の行政検査を令和2年5月に行い狂犬病陽性であることが確定された。この患者検体を哺乳マウスの脳内に接種し狂犬病ウイルスの分離に成功した。また遺伝子解析の結果、フィリピンで流行しているクラスターに属した。[野口章、井上智、加来義浩、奥谷晶子、原田倫子、前田健]

5. 従来のヒト用HEP-Flury株狂犬病ワクチンの改良のための研究

日本国内ではヒト用狂犬病ワクチンとしてHEP-Flury株由来ワクチンを使用・製造してきたが、初代ニワトリ胚培養細胞を用いているため、大量生産を妨げる製造コストが高く、国内生産は衰退している。そのため、ワクチン製造に優れたVero細胞に馴化したHEP-Flury株由来狂犬病ワクチンを作製し、また接種方法を検討することで、安価で予防効果の高いワクチンへと改良することを目的とする。本年度、Vero細胞でHEP-Flury株の継代を重ねた結果、10継代以降増殖性が上昇し、20継代以降ウイルス増殖性がさらに速くなった。作成株の遺伝子解析を実施したところ、増殖性の良くなった10代継代株で3カ所のアミノ酸変異、更に増殖がよくなった30代継代株で更に4カ所のアミノ酸変異が認められた。親株と馴化株を比較したところ、中和活性に差は認められなかった。今後、リバースジェネティクス法にてVero細胞への馴化に関連する遺伝子を解明するとともに、馴化株を用いた不活化ウイルスを作成し、接種経路・回数を検討する予定である。[原田倫子、野口章、前田健]

6. 街上毒株Toyohashi株の固定毒化の解明のための研究

2020年5月に国内で14年ぶりに狂犬病患者が報告され、狂犬病ウイルス街上毒株のToyohashi株を分離した。Toyohashi株を系統解析の結果フィリピンで認められている株と類似していた。街上毒株の固定毒化はパスツールの時代より実施されているが、その固定毒化過程は明らかとなっていない。そのため、分離したToyohashi株をin vitroとin vivoで継代・馴化することでそれに伴う固定毒化過程を解明することを目的とする。本年度はin vivo実験としてToyohashi株を乳飲みマウスで2代脳内継代した後、4週齢ICRマウスで8代脳内継代した。また、in vitro実験としてマウスで2代脳内継代したToyohashi株をMNA細胞・Vero細胞に接種・継代した。今後、遺伝子解析を実施し、アミノ酸変異等の有無を明らかとし、病原性の変化等を解析する予定である。[原田倫子、野口章、井上智、前田健]

7. 街上毒株Toyohashi株のGタンパクを組み込んだワクシニアワクチンの作製

海外において野生動物からの狂犬病ウイルスの感染は多く、野生動物における狂犬病ワクチンとして狂犬病ウイルスGタン

パクを組み込んだ経口ワクシニアワクチンが使用されている。しかし、使用されているワクシニアウイルスは Copenhagen 株という病原性を保有している株であるため、ヒトが接触した際にワクシニアウイルスに感染し皮膚病変を呈したといった報告がある。そのため、病原性の低いワクシニアウイルスに狂犬病ウイルス G タンパクを組み込んだワクシニアワクチンを開発する必要がある。本研究は病原性の低い LC16m8 に Toyohashi 株の G タンパクを組み込んだワクシニアワクチンの開発を目的とする。現在、LC16m8 に Toyohashi 株の G タンパクを組み込んだ recToyohashi G LC16m8 を作成した。今後、街上毒株との攻撃試験を実施し、ワクチンとしての効果を解析する予定である。[原田倫子、朴ウンシル、前田健]

8. 狂犬病ウイルスの新規リニアエピトープの解析

狂犬病ウイルスのリニアエピトープを用いた新たな抗体検査系の確立を目指す。狂犬病ウイルス HEP-Flury 株の G 蛋白質細胞外ドメインを 100 アミノ酸ずつ 5 つのペプチドに分け大腸菌で発現させた。ペプチド発現大腸菌溶解液を抗原とし、ウエスタンブロットでワクチン接種済みの人の血清を当てたところ2つのペプチドで反応を示した。1つはまだ報告がない領域のエピトープであり、今後正確なエピトープの位置を決定し、ペプチド ELISA やルミネックスを用いた抗体検査系の確立へ応用する。[井上雄介、加来義浩、野口章、井上智、前田健]

9. 狂犬病ウイルスの増殖を阻害する抗 P 蛋白質 intrabody 発現ナノ粒子の in vivo 接種

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。これまで RABV の P 蛋白質(RABV-P)に対する抗体の single chain variable fragment (scFv)を、脳組織の神経細胞において細胞内発現抗体(intrabody)として発現させ、発症後の治療に応用することを目指してきた。本年度は、マウス生体における遺伝子の導入・発現確認のため、scFv 遺伝子を封入した、組成の異なる 4 種類のナノ粒子液を、マウス 2 匹の左右後肢の腓腹筋および 25 匹の鼻腔に接種した。感染病理部の協力のもと、scFv 発現状況を解析した。腓腹筋については、穿刺痕周囲の組織を採取し、免疫染色後に観察した。その結果、いずれも接種部位周辺の線維芽細胞、筋細胞、脂肪細胞等に scFv の発現が確認された。経鼻接種後の鼻腔および脳組織の scFv 発現状況については、現在も解析を継続している。[加来義浩、野口章、井上智、前田健;飛梅実(感染病理)]

VIII. リッサウイルス感染症に関する研究

1. リッサウイルスのシュードタイプウイルスの作製

現在世界中で 17 種のリッサウイルスが同定されている。検査系の確立の為に水疱性口炎ウイルス(VSV)を用いたシュードタイプウイルスの作製を行った。7 種のリッサウイルス、狂犬病ウイルス(RABV)、オーストラリアコウモリリッサウイルス(ABLV)、ヨーロッパコウモリリッサウイルス 1,2(EBLV-1,EBLV-2)、ドゥベンヘイグウイルス(DUVV)、モコラウイルス(MOKV)、ラゴスコウモリウイルス(LBV)のシュードタイプウイルスの作製に成功した。狂犬病ワクチン接種済みのイヌの血清を用いて中和試験を行ったところ、同じフィログループ 1 に属する 5 種(RABV,ABLV,EBLV-1,EBLV-2,DUVV)で交差反応が見られた。フィログループ 2 に属する MOKV, LBV ではほとんど交差反応は見られなかった。今後、各リッサウイルス G 蛋白に対する抗血清の作製と感染性ウイルスを用いた中和試験を行い、シュードタイプウイルスの性能を評価する。更にシュードタイプウイルスを海外へ輸送し、海外における野生動物の抗体保有調査も行う予定である。[井上雄介、加来義浩、野口章、井上智、前田健]

IX. ヘニパウイルス感染症に関する研究

1. 地方衛生研究所で実施可能なニパウイルス診断法の構築

ニパウイルス(NiV)感染症は、予防法や治療法がなく致死率も高いことから、患者が発生した場合の健康被害や社会・経済への影響は甚大なものとなる。疑い事例発生時に早期診断を実施することで、適切な患者対応を早め、二次感染を防ぐことを目的に、地方衛生研究所(地衛研)で実施可能な迅速・安全な診断法(抗体、抗原および遺伝子検出)の開発・普及を目指している。今年度に実施した内容を以下に示す。1) soluble NiV-G(NiV-sG)蛋白質の作製:抗 NiV-G 抗体検出イムノクロマト系の構築に供することを目的に、NiV-G の細胞質内ドメインおよび膜貫通ドメインを欠失させ、His/S-tagを結合した NiV-sG の作製を行った。NiV マレーシア株(NiV-M)およびバングラデシュ株(NiV-B)の sG 発現プラスミドを HEK293T 細胞に transfect し、2 日後の上清を回収し、Ni-NTA ビーズを用いて精製した。SDS-PAGE により、NiV-M-sG, NiV-B-sG に由来する 65-70kDa のバンドを確認した。2) 抗 NiV-G モノクロ

ーナル抗体(MoAb)の作製:NiV-M-sG 発現プラスミドをマウス 4 匹に 2 週間毎に免疫し、経時的に採血を行った。シュードタイプ VSV を用いた中和試験により抗体価を測定したところ、抗体価の上昇を確認した。上述の NiV-sG で最終免疫を実施した後、もっとも中和抗体価が高いマウスから脾臓を摘出し、ハイブリドーマを作製する。3) NiV-N 検出サンドイッチ ELISA の構築:国立感染症研究所・獣医科学部で保有している複数の抗 NiV-N MoAb の反応性を IFA で比較し、サンドイッチ ELISA に使用する MoAb を選択した。[加来義浩、野口章、井上智、前田健]

2. シュードタイプ VSV を用いたコウモリ血清のヘニパウイルス抗体調査

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。これまでの研究で 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。今年度は、昨年度より継続して、本 SNT を用いて、ヘニパウイルス浸潤地域であるフィリピンで採取されたコウモリ血清の抗体調査を実施した。岡山理科大学の渡辺俊平博士より提供されたコウモリ類の血清 160 検体を SNT に供したところ、陽性反応を呈した検体は確認されなかった。これらの検体は、次年度以降、NiV-G 発現 HEK293T 細胞の可溶化抗原を用いた、抗 NiV-G 抗体検出 ELISA 法の特異性評価に使用される。[加来義浩、前田健]

X. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

1. ベトナム北部で分離された炭疽菌の遺伝学的および血清学的解析について

ベトナム衛生研究所(National Institute of Hygiene and Epidemiology:NIHE) との共同研究において、北部の炭疽発生地域における患者、患畜および環境検体からの確実な病原体分離を実施するため地域拠点研究所および NIHE の実験室を対象とした病原体分離のための使用培地の選定および、遺伝子検査系のための使用試薬等の技術移転を行った。また、炭疽に罹患したヒト患者からの血清および非発生地域からのヒト血清を用いて、抗体獲得状況等を把握するための血清疫学解析を行うため、炭疽菌毒素抗原および試薬の調整を行った。[奥谷晶子、井上智、前田健;森川茂(岡山理科大学)、Ha Hoang(ベトナム NIHE)]

2. 国内に生息する野生動物腸内細菌叢等のメタゲノム解析

国内に生息する各種の野生動物の便・腸内容物や周辺環境土壌からメタゲノム解析を行い、動物体内や環境中検体からの潜在的な感染リスクを推定するため、和歌山県内で採取されたアライグマ(n＝16)、ハクビシン(n＝2)、アナグマ(n＝10)の糞便を回収し糞便から直接 DNA および RNA を抽出した。DNA は 16S rRNA 遺伝子によるメタゲノム解析に RNA はショットガン解析を行うための検体調整を行った。また、東京大学医学部附属病院より分与された入院患者の血液検体から分離されたセレウス菌 30 株について全ゲノム解析を行い、これまでに解析してある土壌、食中毒由来セレウス菌の全ゲノム配列との比較解析を行った。[奥谷晶子、前田健、森川茂(岡山理科大学)]

XI. ブータンにおける人獣共通感染症の浸潤調査

ブータン Royal Centre for Disease Control (RCDC)および National Centre of Animal Health(NCAH)とともに、同国における 1)狂犬病、2)クリミアコンゴ出血熱(CCHF)、3)炭疽、4)コウモリ由来感染症の浸潤状況の把握および有効な防疫策の構築を目的とした共同研究を進めている。共同研究を円滑に進め、将来的に上記以外の感染症を対象にすることも視野に入れ、2019 年度に感染研・獣医科学部／RCDC／NCAH の 3 者で MoU を締結した。本年度の各テーマの実施内容を以下に示す。1) 狂犬病:ブータン国内のワクチン接種者(防疫担当者等)の中和抗体保有調査を実施するため、日本より狂犬病ウイルス(RABV)抗体簡易検出法(RAPINA 法)の検査キットを送付した。ブータン側で、抗 RABV ヒト免疫グロブリンを RAPINA に供し、キットの反応性・感度を確認した。2) CCHF:ブータン南部の家畜飼養者における CCHF ウイルスの浸潤状況調査を実施するにあたり、調査対象となる地域および農家の選定を継続的に行った。ブータン南部のインド国境付近の Chukha, Samtse, Sarpang の 3 州において、各州からヤギ 400～500 頭ずつの採材を完了した。3) 炭疽:土壌検体からの炭疽菌および類縁菌の分離に用いる培地や培養条件等の技術および資材支援を継続的に行った。ブータン側でティンプー近郊の複数の地点から土壌の採取を行った。4) コウモリ由来感染症:各種病原体の抗体調査を実施するにあたり、戸山庁舎・動物実験施設においてルーセットオオコウモリ 2 頭を飼育し、採血法を検討した。ブータン側で、コウモリ類の分布域に関する情報を得るため、複数の国立公園のレンジャーにアンケート

を実施した。[加来義浩、奥谷晶子、前田健]

XII. 野兎病に関する研究

1. 日本分離野兎病菌の全ゲノム解析

2008 および 2009 年に国内の斃死ノウサギから分離された野兎病菌 KU-1 および NVF1 株の全ゲノムを Pacbio の RS II sequencing platform により解析し、決定した。両株の GC 含量はともに 32.18%で、全長はそれぞれ 1,907,828 および 1,907,706 bp であった。これらゲノム配列は DDBJ に登録し、それぞれ Accession numbers AP023460 および AP023459 として公開された。これらの 2 株のゲノム配列は極めて相同性が高く、他の公開されている *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* biovar *japonica* のチベット由来 T01 株やトルコ由来 PHIT-FT049 株と近いがことが示された。これらのデータは今後の国内分布野兎病菌の分子疫学解析の発展に有用である。[堀田明豊、藤田修、鈴木道雄、森川茂、宇田晶彦、前田健]

2. モノクローナル抗体による野兎病菌の感染防御に関する研究

抗野兎病菌マウスモノクローナル(MAbs)による感染防御試験を試みた。マウスの鼻腔より野兎病菌を 10^3CFU 接種し、その 2 時間後に 100μg の MAbs を腹腔内に接種したところ、3 種のリポ多糖体(LPS)を認識する MAbs 接種群の生残期間が有意に延長した。これら3種の MAbs を、野兎病菌 10CFU を皮内接種したマウスの腹腔に同様に接種したところ、菌凝集能を有す MAb M14B11 接種群が 50%(2/4)耐過し、他の2MAbs 接種群の生残期間の延長が認められた。MAb M14B11(1, 10, 100, 1,000ng)と野兎病菌 10^2CFU の混合液を皮内に同時接種したところ、1,000ng 接種群に生残期間の延長、耐過個体(1/8)が認められたが、有意差は認められなかった。これより菌凝集力価を有す抗体の感染防御への関与が考えられたが、マウスにおける野兎病の耐過には相当量の抗体の持続的供給が必要と考えられた。[堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、鈴木道雄、森川茂、前田健]

XIII. 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

人獣共通感染症引き起こす病原体の拡散と野生動物大量死は、密接にかかわっている可能性が指摘されている。そこで、自治体、検疫所、および自衛隊の協力を得て、カラスを含む鳥類や、その他の野生動物(コウモリ、ネコ、イヌ、シカ、クマ、イノシシ、アライグマ、タヌキ、キツネ、イタチ、ハクビシンなど)の死亡個体数調査を、DAS (Dead Animal Surveillance) システムを用いて実施してきた。令和2年度は、DAS システムに登録されたデータを用いて、野生動物の死亡個体数の変動を解析した。この結果、10月のカラスの死亡個体数において、一過性の有意な増加が観察された。このカラスの死亡個体数急増は、平成30年度から令和2年度までの3年間の秋に、特定の自治体で観察された現象であることから、当該自治体と連携して原因解明が必要であると考えられた。また本年度は、新興人獣共通感染症である重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスのイヌやネコにおける疫学調査支援のためのシステムの開発も行った。[宇田晶彦、前田健]

XIV. 動物由来ヘルペスウイルスに関する研究

1. サルにおける B ウイルス特異抗体検出系の構築

B ウイルス特異抗体検出系をマルチプレックスビーズアッセイにより構築し、すでに中和抗体の保有状況が判明している国内のニホンザル、カニクイザルの血清を用いて評価を行った。B ウイルスの糖蛋白 gD の 363-394 ペプチドが最も特異性が高く、HSV-1 に対する中和抗体価と高い相関を示した。得られた蛍光強度の S/N 比の Cut-off 値を 3.048 に設定した場合、その感度・特異度は 86.67%だった。また、このペプチドは B ウイルス患者血清中の抗体とも反応することが確認された。[石嶋慧多、宇田晶彦、前田健; 山田壮一、福士秀悦、西條政幸 (ウイルス第 1 部); 藤井ひかる、森川茂(岡山理科大学)]

XV. 新型コロナウイルスに関する研究

1. ヒト ACE2 トランスジェニック(hACE2 Tg)マウスの SARS-CoV-2 感受性試験

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の宿主域は比較的広く、サル、ゴールデンハムスター、ミンク、フェレット、ネコ等で感染が成立することが知られている。しかし、2020 年初旬に分離された SARS-CoV-2 株をマウスに接種した場合、一過性のウイルス増殖は見られるものの臨床症状を示さないことから、マウスはモデル動物として利用されてこなかった。一方で、SARS-CoV-2 のレセプターであるヒト ACE2(hACE2)を発現するトランスジェニック(Tg)マウスであれば、SARS-CoV-2 への感受性を示すと期待されていた。そこで、hACE2Tg マウスを用意し、SARS-CoV-2 WK521 株に対する感受性試験を実施した。この結果、

hACE2Tg マウスは、極めて微量のウイルス量 (10 $TCID_{50}$/匹) で致死的感染を引き起すことが明らかとなり、COVID-19 の感染モデル動物として有用である可能性が示唆された。[宇田晶彦、野口章、朴ウンシル、奥谷晶子、加来義浩、黒田雄大、Milagros Virhuez Mendoz、前田健]

2. 不活化野兎病に対するアジュバントの感染防御効果確認試験

免疫原性が乏しい不活化野兎病菌に対するアジュバントの感染防御効果を確認するために、10 種類のアジュバントと不活化野兎病菌の混合液をマウスに皮下免疫を 3 回行った。この結果、AS01 相当(liposome/ MPL/ QS21)処置群では液性免疫が、ALUM 処置群と MF59 相当(Squalene/ Tween 80/ Span 85)処置群の一部のマウスでは細胞性免疫が誘導されていた。しかし、野兎病菌強毒株 SCHU P9 による攻撃試験を行ったところ、AS01 相当処置群で 12.5%(1/8 匹)のマウスが生残したのみで、その他9種類の処置群のマウスは全て死亡した。このことから、不活化野兎病菌ではアジュバントを添加しても、必要十分な液性免疫および細胞性免疫がマウスに付与されていない可能性が示唆された。[宇田晶彦、朴ウンシル、黒田雄大、Milagros Virhuez Mendoz、立本完吾、石嶋慧多、堀田明豊、前田健]

3. COVID-19 患者の飼育するペットにおける感染

COVID-19 患者の飼育するイヌおよびネコのぬぐい液を用いて遺伝子検出を行ったところイヌ 7 頭、ネコ 6 頭が遺伝子陽性となり、最長でイヌは 10 日間、ネコは 15 日間遺伝子が検出された。十分に量がある検体に関してはウイルス分離を行い、ネコ 1 頭のぬぐい液から SARS-CoV-2 が分離された。次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析の結果、イヌのぬぐい液由来 3 株、ネコのぬぐい液由来 1 株、ネコ由来分離ウイルス 1 株の全塩基配列の決定に成功した。これらの配列はすべて日本独自のクレードである Pango lineage の B.1.1.214 もしくは B.1.1.284 に属していた。このことは、国内のヒトからこれら動物にウイルスが伝播した可能性を示唆している。また今回調査した動物とその同居動物の血清を用いたウイルス中和試験により、SARS-CoV-2 に対する中和抗体価を測定した。その結果、イヌでは 4 頭中 3 頭が、ネコでは 8 頭中 7 頭が抗体陽性となった。本研究から、感受性が低いとされていたイヌでも感染が良く見られること、感染動物からヒトへの感染リスクがあるため取り扱いにより注意しなければいけないことがわかった。[黒田雄大、山本つかさ、石嶋慧多、前田健]

4. 培養細胞馴化株の作出

感染研のリファレンス株である WK-521 株を Vero9013 細胞とマクロファージ系のネコ胎子由来(fcwf-4)細胞でそれぞれ継代・馴化させた株を作出した。作出した株の全塩基配列を次世代シーケンスによって決定した。TMPRSS2 発現 VeroE6 細胞 Vero9013 細胞、fcwf-4 細胞におけるそれぞれの株のプラーク数を求めたところ、馴化株では親株である WK-521 株とは異なり、TMPRSS2 発現 VeroE6 細胞でのプラーク数よりも Vero9013 細胞でのプラーク数が多い傾向が見られた。また、Vero9013 細胞馴化株は fcwf-4 細胞でほとんどプラークを形成しなかったが、fcwf-4 馴化株は親株よりも fcwf-4 細胞でのプラーク形成能が高かった。ヒト型 ACE2 トランスジェニックマウスへの fcwf-4 細胞馴化株接種実験を行ったところ、ある株は親株より約 100 倍弱毒化していた。今後は、様々な培養細胞中での増殖性・実験動物回復期血清を用いた既存株との抗原性の比較を行う予定である。[黒田雄大、山本つかさ、朴ウンシル、宇田晶彦、前田健]

5. ORF7 遺伝子欠損株の解析

臨床検体から分離された ORF7 遺伝子欠損株とその親株の比較解析を行い、ORF7 遺伝子の機能解析を試みた。遺伝子欠損を RT-PCR で確認した後、7a 蛋白の発現の有無を IFA と感染ネコ血清を用いたウェスタンブロットで確認した。TMPRSS2 発現 VeroE6 細胞におけるプラークサイズを比較したところ、差は認められなかった。また、Vero9013 細胞と Calu-3 細胞における増殖曲線にも差は認められなかった。しかし、欠損株と親株を混合して Calu-3 に接種すると親株の割合が増加することがわかった。Vero9013 細胞ではこの現象が見らなかったので、これは 7a 蛋白の IFN 応答阻害能によるものだと推測された。COVID-19 回復者血清を用いたウイルス中和試験を行ったが抗原性の違いは認められず、ORF7 遺伝子はウイルスの抗原性には関与しないことがわかった。[黒田雄大、朴ウンシル、宇田晶彦、前田健;糸川健太郎、関塚剛史、黒田誠(ゲノムセンター)]

6. 猫コロナウイルスとの交差反応性の発見

SARS-CoV-2 はヒトだけではなく様々な動物に感染することが知られている。そこで SARS-CoV-2 感染細胞ライセートを用いた ELISA による抗体診断がネコにおいて実用可能かどうかを

検討した。SARS-CoV-2 流行以前の血清 197 検体を検査すると 12 検体の吸光度が暫定的カットオフ値 0.5 以上となり陽性となった(陽性率 6.1%)。この陽性率は他のコロナウイルス感染に影響されていると考え、ネコにおいて主要なコロナウイルスである I 型猫コロナウイルス(FCoV)に対するウイルス中和試験を実施した。そうしたところ、中和抗体陽性が 73 検体あり、それらの SARS-CoV-2 に対する ELISA 平均吸光度は、I 型 FCoV 中和抗体陰性検体の ELISA 平均吸光度よりも有意に高値だった。したがって、I 型 FCoV 感染が SARS-CoV-2 に対する抗体を誘導していることが疑われた。そこで、I 型 FCoV 感染実験ネコ経過血清を用いて ELISA 試験を行った。4 頭中すべてで SARS-CoV-2 に対する抗体が検出され、最も長いもので 600 日以上も抗体が持続していた。また、発現タンパクを用いた ELISA の結果からは SARS-CoV-2 の N 蛋白だけではなく、驚くべきことに S 蛋白の RBD 領域にも交差反応することが明らかになった。しかし、SARS-CoV-2 の中和抗体陽性となる血清はなかった。ヒトにおいてウイルス中和試験との相関が非常に高く、抗体診断に用いられている Roche 社の cobas を用いて SARS-CoV-2 の N ペプチドに対する抗体の検出を試みたが、この系も I 型 FCoV 感染に影響されることがわかった。したがって、ネコにおいて最も確実な SARS-CoV-2 抗体検査系は中和試験であることがわかった。[黒田雄大、山本つかさ、朴ウンシル、前田健;鈴木忠樹(病理)、高橋宜聖(治ワク)]

XVI. E 型肝炎ウイルスに関する研究

1. E 型肝炎ウイルスの疫学調査

E 型肝炎ウイルスに対する抗体保有状況および E 型肝炎ウイルス感染状況の調査をイノシシおよびシカにおいて実施した。これまでに 15 県のイノシシ 2363 頭と 13 道県のシカ 1822 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 360 頭(15.2%)が抗体陽性であった。一方、シカにおいては 1 頭(0.1%)が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ 1471 頭中 25 頭(1.7%)、シカ 1380 頭中 1 頭(0.1%)が陽性であった。イノシシにおける抗体陽性率に関しては、性別における違いは認められなかったが、体重が 30 kg以下の個体は有意に陽性率が低かった。一方、遺伝子検出率は 30 kg以下の個体が有意に高かった。このことは、30 kg以下の個体が E 型肝炎ウイルスに感染していること、すなわち、子豚が HEV を保有しているリスクが高いことが示された。また、培養細胞に馴化した増殖性の速い HEV の作出にも成功した。マダニ媒介性感染症で致死率が極めて高い重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスのイノシシとシカにおける感染リスクを調査した結果、15 府県のイノシシ 2110 頭中 12 県の 626 頭(29.7%)、28 道府県のシカ 3443 頭中 23 府県の 864 頭(25.1%)から抗 SFTS ウイルス抗体が検出された。狩猟者は HEV のみならず SFTSV に関しても注意が必要である。[Milagros Virhuez Mendoza、立本完吾、前田健]

2. 迅速診断のための HEV の細胞馴化

HEV に関する研究や診断が進まないのは HEV の増殖が非常に遅いためである。分与していただいたウイルスは Alexander 細胞で 13 代継代したものであったが、感染後 28 日目でようやく 25 サイクルの PCR でバンドが検出された。Real-time PCR でも感染後 21 日目に検出されるのみであった。最初の頃は 6 週間に 1 回の継代などを繰り返した。2 年半で 20 回の継代に成功した。その過程で、P13 から P17 のウイルスは 25 サイクルの RT-PCR で検出されるのは、感染後 28 日であったが、P18-P30 は感染後 21 日、P31-34 は感染後 14 日目に検出されるようになった。理想は感染後 7 日目に検出されるウイルスの作製を目指したが、これ以上は難しいと判断し、20 代継代を加えた P34 で解析を進めることとした。P34 と P15 の Alexander 細胞での増殖性を定量 RT-PCR で比較した結果、P34 では 7 日目より 10^4 コピー/mL のウイルスが検出された。一方、P15 では 14 日目までウイルスは検出されなかった。馴化によるウイルスへの影響を比較した結果、カプシド蛋白の P ドメインに集中的に変異が観察された。この領域が培養細胞での増殖に重要である可能性が示唆された。[Milagros Virhuez Mendoza、前田健]

XVII. マダニ媒介性ウイルス感染症の疫学調査

タカサゴキララマダニより感染研の昆虫医科学部で分離され、ウイルス一部でマウスにおける病原性が評価された新規トーゴトウイルスである Oz ウイルス感染症に関して、山口県における疫学調査を実施した結果、ウイルス中和試験でヒト 24 名中 2 名、ニホンザル 40 頭中 19 頭、イノシシ 124 頭中 75 頭、シカ 76 頭中 50 頭が陽性であることが判明した。より多くの動物での調査を可能にするために、ELISA 系を確立した結果、和歌山県・三重県のサル、大分県・和歌山県・岐阜県のイノシシ、和歌山県・岐阜県・千葉県のシカが陽性であり、富山県・栃木県のイノシシは陰性であることが判明した。Oz ウイ

ルスが人獣共通感染症であり、西日本で流行していることが確認された。フタトゲチマダニより昆虫医科学部で分離され、ウイルス一部でマウスにおける病原性を評価された Kabuto Mountain ウイルスの血清疫学調査を実施した結果、ウイルス中和試験により、山口県のヒト 20.8%、サル 3.4%、イノシシ 33.5%、シカ 4.7%、クマ 7 頭中 0 頭、ヌートリア 27 頭中 0 頭が陽性であることが確認された。他のフレボウイルスとの交差反応の可能性も考え、間接蛍光抗体法・ELISA とともに確認している。野生動物におけるフレボウイルス感染症を網羅的に調査するための SFTS ウイルス、Kabuto Mountain ウイルス、Mukawa ウイルスを含めた 14 種のフレボウイルスの N 蛋白、11 種の G 蛋白の発現に成功した。[前田健; 伊澤晴彦、沢辺京子(昆虫医科学部)、Ngo T.B. Tran、下田宙(山口大学)]

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：15 件 (行) [今岡浩一]
2) カプノサイトファーガ感染症疑い患者検体または分離菌株の依頼検査：2 件(依) [鈴木道雄]
3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：3 件(依) [今岡浩一]
4) SFTS 疑い犬・猫検体の依頼検査：155 件(依) [石嶋慧多、立本完吾、朴ウンシル、井上雄介、原田倫子、前田健]
5) 狂犬病の行政検査・依頼検査 [野口章、井上智、加来義浩、奥谷晶子、前田健]

狂犬病疑い患者検体の行政検査:2 件(内 1 件は狂犬病陽性、1 件は陰性)

狂犬病疑い犬検体の依頼検査:1 件(陰性)

6) 野兎病疑い患者検体の行政検査：2 件[堀田明豊]
7) SARS-CoV-2 (全所対応の一部)

国内の検疫所において採取され、SARS-CoV-2 遺伝子陽性となった検体からウイルス分離を実施し、分離された 24 株について全塩基配列を決定した。これらの株の一部は他研究機関へ分与された。[前田健、黒田雄大、山本つかさ; 福士秀悦、山田壮一(ウイルス第 1 部); 藤本嗣人(感染症危機管理研究センター)]

品質管理に関する業務

Ⅰ. 地方衛生研究所等(38 機関)を対象に、猫・犬における SFTSV 遺伝子検出に関する External Quality Assuarance(EQA)を行った。また、10 機関を対象に「死亡動物のモニタリングシステム」のトライアルとシステム向上のためのフィードバックを実施した。

[朴ウンシル、宇田晶彦、今岡浩一、前田健]

研修業務

1) ブルセラ症について. 令和 2 年度希少感染症診断技術研修会、東京、2021 年 2 月 [今岡浩一]
2) 第8回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び令和元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、2021 年 1 月 25 日-26 日、宮崎大学(宮崎県)[井上智、堀田明豊、野口章、伊藤睦代]
3) Inoue S. OIE virtual workshop: Preparing for and dealing with incursion of an infectious disease - rabies. OIE World Organization for animal Health. Tokyo, Japan. (Time: 12-3pm JST) 22nd - 23rd March 2021.
4) Inoue,S. OIE virtual workshop: Preparing for and dealing with incursion of an infectious disease - rabies (Simulation exercise for nominated participants). OIE World Organization for animal Health. Tokyo, Japan. (Time: 3.30-6.30pm JST) 24th March 2021.
5) 「SFTS の最新の状況について」 令和 2 年度動物由来感染症対策技術研修会、WEB 公開、2020 年 11 月 [石嶋慧多、立本完吾、朴ウンシル、前田健]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ.誌 上 発 表

欧文発表

1) Morikawa M, Mitarai S, Kojima I, Okajima M, Hatai H, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuu A, Yoshida A, Hayashi K, Ozawa M, Masatani T. Detection and molecular characterization of Babesia sp. in wild boar (Sus scrofa) from western Japan. Ticks Tick Borne Dis. 2021 Jul;12(4):101695. doi:

10.1016/j.ttbdis.2021.101695. Epub 2021 Feb 27. PMID: 33677233.

2) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K; Virus Diagnosis Group (NIID Toyama). Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. BMJ Open Respir Res. 2021 Feb;8(1):e000830. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000830. PMID: 33627333; PMCID: PMC7907832.

3) Rattanatumhi K, Prasertsincharoen N, Naimon N, Kuwata R, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Virhuez Mendoza M, Hondo E, Rerkamnuaychoke W, Maeda K, Phichitraslip T. A serological survey and characterization of Getah virus in domestic pigs in Thailand, 2017-2018. Transbound Emerg Dis. 2021 Feb 22. doi: 10.1111/tbed.14042. Epub ahead of print. PMID: 33617130.

4) Tsuru M, Suzuki T, Murakami T, Matsui K, Maeda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Shimada T, Hasegawa H, Maeda K, Morikawa S, Saijo M. Pathological Characteristics of a Patient with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) Infected with SFTS Virus through a Sick Cat's Bite. Viruses. 2021 Jan 29;13(2):204. doi: 10.3390/v13020204. PMID: 33572914; PMCID: PMC7912689.

5) Kirino Y, Ishijima K, Miura M, Nomachi T, Mazimpaka E, Sudaryatma PE, Yamanaka A, Maeda K, Sugimoto T, Saito A, Mekata H, Okabayashi T. Seroprevalence of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in Small-Animal Veterinarians and Nurses in the Japanese Prefecture with the Highest Case Load. Viruses. 2021 Feb 2;13(2):229. doi: 10.3390/v13020229. PMID: 33540629; PMCID: PMC7912989.

6) Park ES, Fujita O, Kimura M, Hotta A, Imaoka K, Shimojima M, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Diagnostic system for the detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus RNA from suspected infected animals. PLoS One. 2021 Jan 28;16(1):e0238671. doi: 10.1371/journal.pone.0238671. PMID: 33507990; PMCID: PMC7842937.

7) Tamukai K, Minami S, Kadekaru S, Mitsui I, Maeda K, Une Y. New canine parvovirus 2a infection in an imported Asian small-clawed otter (Aonyx cinereus) in Japan. J Vet Med Sci. 2021 Apr 3;83(3):507-511. doi: 10.1292/jvms.20-0480. Epub 2021 Jan 21. PMID: 33473050; PMCID: PMC8025432.

8) Kimprasit T, Nunome M, Iida K, Murakami Y, Wong ML, Wu CH, Kobayashi R, Hengjan Y, Takemae H, Yonemitsu K, Kuwata R, Shimoda H, Si L, Sohn JH, Asakawa S, Ichiyanagi K, Maeda K, Oh HS, Mizutani T, Kimura J, Iida A, Hondo E. Dispersal history of Miniopterus fuliginosus bats and their associated viruses in east Asia. PLoS One. 2021 Jan 14;16(1):e0244006. doi: 10.1371/journal.pone.0244006. PMID: 33444317; PMCID: PMC7808576.

9) Hotta A, Sharma N, Fujita O, Uda A, Tanabayashi K, Tian D, Yamada A, Morikawa S, Maeda K. Virulence of *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* Biovar *japonica* and Phenotypic Change during Serial Passages on Artificial Media. Microorganisms. 2020 Nov 27;8(12):1881. doi: 10.3390/microorganisms8121881. PMID: 33261098; PMCID: PMC7760542.

10) Hotta A, Fujita O, Tanabayashi K, Uda A, Shindo J, Park CH, Sato H, Suzuki M, Morikawa S, Maeda K. Complete Genome Sequences of Two Strains of Francisella tularensis subsp. *holarctica* bv. japonica. Microbiol Resour Announc. 2020 Nov 5;9(45):e01127-20. doi: 10.1128/MRA.01127-20. PMID: 33154017; PMCID: PMC7645672.

11) Nabeshima K, Sato S, Kabeya H, Komine N, Nanashima R, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Suzuki K, Maruyama S. Detection and phylogenetic

analysis of Bartonella species from bat flies on eastern bent-wing bats (Miniopterus fuliginosus) in Japan. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2020 Dec;73:101570. doi: 10.1016/j.cimid.2020.101570. Epub 2020 Oct 25. PMID: 33129175.

12) Tomino Y, Andoh M, Horiuchi Y, Shin J, Ai R, Nakamura T, Toda M, Yonemitsu K, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Kodera Y, Oshima I, Takayama K, Inadome T, Shioya K, Fukazawa M, Ishihara K, Chuma T. Surveillance of Shiga toxin-producing Escherichia coli and Campylobacter spp. in wild Japanese deer (Cervus nippon) and boar (Sus scrofa). J Vet Med Sci. 2020 Sep 24;82(9):1287-1294. doi: 10.1292/jvms.19-0265. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32655094; PMCID: PMC7538328.

13) Tarigan R, Shimoda H, Doysabas KCC, Maeda K, Iida A, Hondo E. Role of pattern recognition receptors and interferon-beta in protecting bat cell lines from encephalomyocarditis virus and Japanese encephalitis virus infection. Biochem Biophys Res Commun. 2020 Jun 18;527(1):1-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.04.060.

14) Masatani T, Hayashi K, Morikawa M, Ozawa M, Kojima I, Okajima M, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuu A, Yoshida A. Molecular detection of tick-borne protozoan parasites in sika deer (Cervus nippon) from western regions of Japan. Parasitol Int. 2020 Dec;79:102161. doi: 10.1016/j.parint.2020.102161. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32569748.

15) Tamukai K, Minami S, Kurihara R, Shimoda H, Mitsui I, Maeda K, Une Y. Molecular evidence for vaccine-induced canine distemper virus and canine adenovirus 2 coinfection in a fennec fox. J Vet Diagn Invest. 2020 Jul;32(4):598-603. doi: 10.1177/1040638720934809. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32560597; PMCID: PMC7438639.

16) Ishida-Kuroki K, Takeshita N, Nitta Y, Chuma T, Maeda K, Shimoda H, Takano A, Sekizaki T. 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Five Species of Wild Animals in Japan. Microbiol Resour Announc. 2020 May 28;9(22):e00368-20. doi: 10.1128/MRA.00368-20. PMID: 32467273; PMCID: PMC7256260.

17) Ishida-Kuroki K, Takeshita N, Nitta Y, Chuma T, Maeda K, Shimoda H, Takano A, Sekizaki T. 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Wild Deer (Cervus nippon) in Japan. Microbiol Resour Announc. 2020 May 28;9(22):e00346-20. doi: 10.1128/MRA.00346-20. PMID: 32467271; PMCID: PMC7256258.

18) Supriyono, Kuwata R, Torii S, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Kuroda Y, Tatemoto K, Tran NTB, Takano A, Omatsu T, Mizutani T, Itokawa K, Isawa H, Sawabe K, Takasaki T, Yuliani DM, Abiyoga D, Hadi UK, Setiyono A, Hondo E, Agungpriyono S, Maeda K. Mosquito-borne viruses, insect-specific flaviviruses (family Flaviviridae, genus Flavivirus), Banna virus (family Reoviridae, genus Seadornavirus), Bogor virus (unassigned member of family Permutotetraviridae), and alphamesoniviruses 2 and 3 (family Mesoniviridae, genus Alphamesonivirus) isolated from Indonesian mosquitoes. J Vet Med Sci. 2020 Jul 31;82(7):1030-1041. doi: 10.1292/jvms.20-0261. Epub 2020 May 25. PMID: 32448813; PMCID: PMC7399325.

19) Suzuki M, Umeda K, Kimura M, Imaoka K, Morikawa S, Maeda K. *Capnocytophaga felis* sp. nov. isolated from the feline oral cavity. Int J Syst Evol Microbiol. 2020 May;70(5):3355-3360. doi: 10.1099/ijsem.0.004176. PMID: 32375938.

20) Manalo D.L., Gomez, M.R.R., Jarilla B.R., Ang M.J.C., Tuason L.T., Demetria C.S., Medina P.B., Dilig J.E., Avenido-Cervantes E.F., Park C-H., Inoue S. (2020) A preliminary evaluation of a locally produced biotinylated polyclonal anti-rabies antibody for direct rapid immunohistochemical test (DRIT) in the Philippines. Acta Tropica. 211:5578-5579.

doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105610.

21) Shiwa N., Manalo D.L., Boldbaatar B., Noguchi A., Inoue S. and Park C-H. (2020) Follicle-sinus complexes in muzzle skin of domestic and wild animals as diagnostic material for detection of rabies. J. Vet. Med. Sci. 82:1204-1208. doi: 10.1292/jvms.20-0252.

22) Tu W-J., Wang M-C., Jau G-C., Chang Y-K., Lin C-C., Inoue S., Butudom P., Lai C-H., Fei C-Y. (2020) A study of the temporal dynamics and human exposure to the Formosan ferret-badger (*Melogale moschata subaurantiaca*) rabies, 2013 to 2019, Taiwan. Thai J. Vet. Med. 50:543-548.

23) Thi Thu Ha Hoang, Duc Anh Dang, Thanh Hai Pham, Minh Hoa Luong, Nhu Duong Tran, Tran Hien Nguyen, Thuy Tram Nguyen, Tran Tuan Nguyen, Satoshi Inoue, Shigeru Morikawa, Akiko Okutani. Epidemiological and comparative genomic analysis of *Bacillus anthracis* isolated from northern Vietnam. PloS one 15(2) e0228116. 2020.

24) Okada A, Hotta A, Kimura M, Park E, Morikawa S, Inoshima Y. A retrospective survey of the seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in wild animals in Japan. Vet Med Sci.2020 29 Nov.doi:10.1002/vms3.400

25) Nakamura T, Shimizu T, Inagaki F, Okazaki S, Saha SS, Uda A, Watanabe K, Watarai M. dentification of Membrane-Bound Lytic Murein Transglycosylase A (MltA) as a Growth Factor for Francisella novicida in a Silkworm Infection Model. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Jan 22;10:581864. doi: 10.3389/fcimb.2020.581864.

.

2. 和文発表

1) 前田 健「Globalizationと人獣共通感染症」日本臨牀2021. 79巻2号 124-132

2) 前田 健「人獣共通感染症:動物から学ぶ」実験医学(羊土社)2021. 39 (2) 56-64

3) 2020

4) 前田 健「ペットと野生動物におけるCOVID-19」動物用ワクチンーニュースレター2020. 12.24 No.22 P32-39

5) 石嶋慧多、朴ウンシル、松鵜 彩、早坂大輔、桐野有美、岡林環樹、森川 茂、水谷哲也、松野啓太、前田健「国内ではこれまで経験のない脅威:SFTS」ヒトと動物の共通感染症研究会ニュースレターNo.19、2020年8月 p15-17

6) 前田 健「4.7 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」『犬の内科診療 Part 2』(石田卓夫総監修) 緑書房 2020年7月30日 p274-278

7) 前田 健「1-6 ズーノーシス (人獣共通感染症)」『衛生動物の事典』pp12-13 (朝倉書店、東京) 2020年5月

8) 加藤亮介, 井出京子, 上原雅江, 仲野唯, 池添正哉, 岡田邦彦, 嶋崎剛志, 木村昌伸, 今岡浩一. 海外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. 日本臨床微生物学会雑誌, 30(4):258-263, 2020 (Abstract in English)

9) 矢崎達也, 佐藤俊一, 臼田真帆, 野村俊, 原亮祐, 渡部理恵, 石井亘, 星研一, 今岡浩一, 矢彦沢裕之. 髄液から *Streptobacillus notomytis* 特異的遺伝子が検出された、鼠咬症による髄膜炎の 1 例. Neuroinfection, 25(1):150-154, 2020 (Abstract in English)

10) 今岡浩一. ナイチンゲールが晩年まで苦しんだ感染症?ーブルセラ症. in:ナイチンゲールの越境 2・感染症:ナイチンゲールはなぜ「換気」にこだわったのか(岩田健太郎, 徳永哲, 平尾真智子, 丸山健夫, 今岡浩一, 岩田恵里子, 百島祐貴 著), 日本看護協会出版会, pp.67-73, 2021

11) 井上 智. 1章 法定伝染病/1-5 狂犬病. 家畜伝染病ハンドブック. 編集:村上賢二, 彦野弘一. 朝倉書店. 初版第1刷(11月1日), p24-30, 2020

12) 井上 智.[解説] 狂犬病という動物由来感染症:バイオセーフティの視点を込めて. BMSA, 第33巻, 第2号, 14-22 (66-74)(3月31日発行), 2021

13) 野兎病. 堀田明豊. 家畜伝染病ハンドブック. 編集:村上賢二, 彦野弘一. 朝倉書店. 初版第1刷(11月1日), p197-198, 2020

Ⅱ. 学 会 発 表

獣医科学部

1.国際学会

なし

2. 国内学会

1) 安田和世, 甲田賢治, 鈴木道雄 犬咬傷 4 日後に死亡したカプノサイトファーガ・カニモルサス感染症の 1 剖検例. 第 110 回日本病理学会総会, 東京, 2020 年 7 月

2) 椎名亮太, 志和 希, 君付和範, DL Manalo, 井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発症犬の三叉神経と脳幹に関する病理学的研究. 第 163 回日本獣医学会学術集会(Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.

3) 河合せりな, 志和 希, 君付和範, 山田健太郎, 井上謙一, 井上 智, 朴 天鎬. 街上毒狂犬病ウイルスの脳内侵入経路に関する実験病理学的研究. 第 163 回日本獣医学会学術集会(Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.

4) 伊東紗希, 志和 希, 君付和範, 山田健太郎, 井上 智, 朴 天鎬. 街上毒狂犬病ウイルス(1088 株)を右後肢筋肉内に接種したヌードマウスの肉球に関する病理学的研究. 第 163 回日本獣医学会学術集会(Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.

5) 粟津原優美, 兼子千穂, 志和 希, 君付和範, 井上 智, 朴 天鎬. タヌキの鼻口部洞毛および肉球におけるメルケル細胞の局在. 第 163 回日本獣医学会学術集会(Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.

6) 君付和範, 齊藤信夫, 山田健太郎, Daria L. Manalo, Milagros R. Manangitt, 朴 天鎬, 井上 智, Beatriz P. Quiambao, 西園 晃. フィリピン中部ルソン島における犬狂犬病の発症状況と迅速診断キットを用いた評価. 第 163 回日本獣医学会学術集会(Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.

7) 清水隆, 仲村岳真, 渡邉健太, 宇田晶彦, 度会雅久「野兎病菌病原因子の同定と機能解析」、2020/9/8-10 第 163 回日本獣医学会学術集会(山口大、山口)

8) 岡崎翔馬, 清水隆, 渡邉健太, 宇田晶彦, 度会雅久「カイコ感染モデルを用いた野兎病菌病原因子の探索」、2020/9/8-10 第 163 回日本獣医学会学術集会(山口大、山口)

9) 立本完吾, 石嶋慧多, 黒田雄大, Milagros Virhuez Mendoza, Eun-sil Park, 鈴木和男, 前田 健,「アライグマにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染の解析」第 72 回日本衛生動物学会大会,東京医科歯科大学(東京), 2020 年 4 月 17 日.

3.セミナー・講演等

1) 前田 健「動物のコロナウイルス感染症の多様性」第 13 回日本医師会・日本獣医学会による連携シンポジウム「with コロナ禍におけるペットとの付き合い方ー正しく知ろう、動物とヒトのコロナウイルス感染症」令和 3 年 2 月 20 日（土）13:00-16:00WEB 配信

2) 前田 健「SFTS について考える」第 20 回人と動物の共通感染症研究会・学術集会令和 2 年 10 月 24 日(金) 14:20-14:40 (WEB 開催)

3) 前田 健「身の回りで何が起きているのか～犬猫、魚から環境まで～（オーバービュー)」第 69 回日本感染症学会東日本地方学術集会シンポジウム 13 身の回りに潜む耐性菌～犬猫、魚から環境まで～令和 2 年 10 月 22 日 16:40-18:10 (WEB 開催)

4) 前田 健「動物における新型コロナウイルス感染症」令和 2 年度動物由来感染症対策技術研修会令和 2 年 10 月 (WEB 開催)

5) 前田 健「伴侶動物と楽しく暮らしながら乗り越えよう」オンライン日本臨床獣医学フォーラム新興感染症シンポジウム令和 2 年 9 月 (LIVE 配信)

6) 前田 健「SFTS の病態：マダニ以外の感染経路」第 94 回日本感染症学会学術集会講演会 シンポジウム 24「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) -明らかになった事実, 残された疑問-」2020 年 8 月 20 日 (木) 10:20-12:00 (グランドニッコー東京 台場)

7) 前田 健「動物での新型コロナウイルス感染症：動物での診断と疫学」第 17 回日本獣医内科学アカデミー学術大会(JCVIM2021)2021 年 2 月 19 日 (金) ～3 月 7 日 (日) WEB 配信

8) 前田 健「動物における新型コロナウイルス：動物からヒト、ヒトから動物へ」令和 2 年度獣医公衆衛生講習会 2021 年 2 月 15 日 (月) ～3 月 12 日 (金) WEB 配信

9) 前田　健「コロナウイルスと野生動物」令和 2 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会オンラインセミナー（第 3 回目）「保全医学の視点と野生動物における感染症の現状」配信日時：令和 3 年 3 月 6 日(土) 13：00～16：00

10) 前田　健「野生動物を介したマダニ媒介感染症の拡大」福岡県”One Health”国際フォーラム 2021. 2021 年 1 月 30 日(土)18:00 から配信開始

11) 前田　健「動物由来感染症について」日本ペストコントロール協会　令和 2 年度防除技術研修会・感染症対策講習会 2020/12/03－13

12) 前田　健「動物における新型コロナウイルス感染症」令和 2 年度動物由来感染症対策技術研修会令和 2 年 10 月（講義資料）

13) 前田　健「SARS-CoV-2 発生は珍しいことではない：動物由来感染症から学ぶ」大阪大学共創機構講演会令和 2 年 9 月 4 日（金）14:00-17:00（WEB 会議）

14) 鈴木道雄　カプノサイトファーガ感染症. 第 20 回人と動物の共通感染症研究会, オンライン, 2020 年 10 月

１３.血液・安全性研究部

部長　　濵口　功

概　要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定・検査および標準品の整備・交付、またこれらの業務に関連した科学的調査・研究を行っている。

検定業務においては、これまで試験の実施、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行ってきた。令和２年度は新型コロナウイルスワクチンの承認前検査に関して緊急の対応が求められた。当部では物理化学試験に関する検討を主に行い、一部試験を実施した。また、ワクチン及び血液製剤に関する品質管理試験の見直しも継続して行い、国家検定からの試験削除に関する検証を行った。さらに今後の血液製剤の国家検定のあり方として、ワクチンにおいて既に導入が図られている SLP(サマリーロットプロトコール)審査導入を進めている。令和３年７月の本格施行に向け、SLP 審査の試行を開始した。本格施行までに経験値を積み、万全の体制で施行開始を目指す。一方、部内においては品質管理業務における業務負担の軽減と業務の均てん化を進めている。SLP 審査をより精度高く着実に実施することにより、ダブルチェックを徐々に減らすことは可能と考える。SLP 審査導入を契機に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。

検査業務においては、令和２年度は SARS-CoV-2 の感染拡大が見られ、当部においても全所的な核酸検査業務、抗体検査業務に多くの部員が参加した。また、血液の安全性確保の観点から、微量の SARS-CoV-2 を検出できる高感度核酸検査法の開発を進めると共に、国立国際医療センターや慶應義塾大学の回復者血漿療法における SARS-CoV-2 ウイルス検査に協力している。

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 Web による WHO の専門家会議に出席し、国際標準品制定に携わった。また、輸血血液を含む血液製剤の安全性や対外診断薬に関する国際的な課題については、WHO の Blood Regulators Network や SAGE-IVD 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 が後援している国際会議に Web で参加し、国家検定への SLP 審査制度の試行状況について発表し、今後の検定の在り方について議論した。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」の大きく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及び体制整備に関する研究を行っている。この他にも、HTLV-1 感染の疫学調査、感染予防や感染治療薬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、血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立、体外診断薬に関連する調査・研究を行っている。さらに「ワクチン」に関して、新規アジュバント候補品の開発、ワクチンの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、ワクチンの安全性に関するメカニズム解析等を行っている。こうした当部の研究業務は、日本医療研究開発機構、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費等の補助により行われている。

令和２年度は SARS-CoV-2 の蔓延が拡大する中、学会活動等は著しく制限された。部内においては検定・検査及び研究業務の継続と各部員の健康維持に向けて、適切な感染防止対策を講ずるとともに、テレワーク等の新しい働き方にも柔軟に対応している。

人事の面では、令和２年４月に関洋平研究員が第一室に着任した。活躍を大いに期待している。また、令和３年４月に第一室長の大隈和先生が関西医科大学・医学部・微生物学講座の教授に就任された。長年に渡り当部の研究及び品質管理業務に多大な貢献をいただいた。お礼を申し上げるとともに、新天地での活躍を祈っている。同じく４月に斎藤益満主任研究官が感染症危機管理研究センターに配置換えとなった。活躍を祈っている。

業 績

調査・研究

I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1. 病原体検出法に関する研究

1) 感染症安全対策体制整備事業

日本の献血血液に関しては、主要な病原体に対する血清学的検査及び核酸増幅検査が実施されており、極めて高い安全性が保持されてきた。しかし、グロバール化が進み国内ではほとんど発生例のないような感染症や海外での新興・再興感染症が国内に輸入され、問題となることが少なくない。平成25 年4月より新たな病原体が移入した場合に備えて国立感染症研究所と厚生労働省血液対策課、日本赤十字社との連携のもと「感染症安全対策体制整備事業」を開始した。その中で、新規病原体に対する高感度核酸検査法の開発およびモニタリングを実施し、新たな感染症リスクの早期把握と評価を実施してきた。令和2年度は世界的に大流行している新型コロナウイルスに対する高感度核酸検出系を開発し、さらに多数の変異株に対応可能なマルチプレックス検査系の性能を評価した。さらに、COVID-19 核酸検査のための国内参照品の作製し、共同測定により国内参照品を値付けし、試験法の標準化を可能とした。

[大隈和、倉光球、手塚健太、野島清子、石井美恵子、松山州徳(ウイルス第三部)、水上拓郎、濵口功]

2) SARS-CoV-2 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、本邦における血液製剤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、海外からの新たな病原体の輸入例が増加し、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。令和2年度は、世界的なパンデミックを引き起こしたSARS-CoV-2 が微量に血液製剤に混入した場合を想定し、Primer-probe の大規模スクリーニングを実施し、高感度核酸検出法を構築した。血液を介して感染するHBV, HCV, HIV や蚊媒介ウイルス、一般的なコロナウイルスには非特異増幅がないことを確認した。

[倉光球、手塚健太、松山 州徳(ウイルス第三部)、白戸憲也(ウイルス第三部)、直亨則(ウイルス第三部)、林昌宏(ウイルス第一部)、鈴木忠樹(感染病理部)、今井一男(自衛隊中央病院)、松岡佐保子、大隈和、濵口功]

3) 血液からの重症熱性血小板減少症候群ウイルス等の検出法確立に関する研究

近年我が国ではデングウイルスの国内感染例の発生や海外での重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)の同定に伴う国内感染例の確認等がなされ、国際的な人の移動や新たな病原体の発見等に伴う新興・再興感染症病原体の献血血液等への混入リスクは益々認知されている。そのため、血液への混入状況をいち早く察知し血液製剤のリスクを低減化する必要がある。そこで本研究では、血液製剤の安全性確保と安定供給に貢献することを目的に、既に国内感染が認められ献血血液等におけるスクリーニング法の整備が急がれる SFTSV の高感度核酸検査法の確立を目指す。本年度はこれまでに同定したプライマー・プローブセットを用いたマルチプレックス・リアルタイム RT-PCR 法の性能評価(検出感度、検出特異性)を実施した。また、いくつかの SFTSV 特異的リアルタイム RT-PCR 法との比較検討も実施した。

[手塚健太、大隈和、下島昌幸(ウイルス第一部)、岡田義昭(埼玉医大)、濵口功]

4) HTLV-1 簡易迅速抗体検査法の性能評価

HTLV-1 感染の検査は、献血スクリーニング検査や妊婦健診等で主に抗体検査が実施されるが、HBV, HCV, HIV などと違い迅速抗体検査法(即日検査キット)がないため、保健所等での検査が普及しにくい状況があることが課題となっている。そこで、抗体検査キット開発メーカーが開発した簡易迅速HTLV 抗体検査キットについて、国内の大学や日本赤十字社が参加する多施設共同研究にて、HTLV-1 陽性検体や判定困難例、陰性例等を用いて、キットの性能を評価し、HTLV-1 抗体検査の速やかな普及に向けた取り組みをはじめた。これまでのところ国内 10 施設が参加し、約 2500 検体の規模で性能を評価している。

[倉光球、百瀬暖佳、手塚健太、濵口功、他国内 9 施設]

5) 血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)のコントロールサーベイ事業

2013-14 年に血液製剤の NAT が新しいマルチプレックス試験法に更新され、NAT ガイドラインと輸血用血液の NAT 感度の改正が行われた。2020 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 CRF WHO 国際参照パネルを用いた第 11 回 NAT コントロールサーベイを実施した。輸血用血液の NAT スクリーニング試験と HIV-1/2 識別試験、血漿分画製剤の原料血漿プールの NAT 試験において、10 種類の異なる Subtype/CRF の HIV-1 陽性検体を問題なく検出できることを確認した。陰性対照はすべて陰性と判定された。NAT コントロールサーベイ対象施設全 13 施設において、様々な HIV-1 Subtype/CRF 検体を問題なく検出できることが確認できた。

[松岡佐保子、佐藤結子、池辺詠美、手塚健太、倉光球、濵口功]

2. 国際・国内標準品整備に関する研究

1) 国内検体を用いた HCV 陽性感染症検体パネルの整備と評価

HCV 検出/測定用の感染症検体パネルについて HCV 陽性 20 検体の整備を行い、HCV 抗体の確認とプロファイル解析、HCV RNA 値、および HCV コア抗原値の分布を評価した。HCV 部分配列のシーケンス解析を行って遺伝子型を検討し、日本で見られる 1b 型、2a 型、 2b 型を多く含んでいることを確認した。2 検体でコア抗原値が低値となりうるアミノ酸変異を認め、うち 1 検体では HCV RNA 値と比較してコア抗原値が低値となった。

[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、濵口功]

2) SARS-CoV-2 核酸検査のための国内参照品の作製と値付けのための共同測定

力価が定められた生ウイルス由来の核酸検査用標準品は日本にはなく、国際標準品も現在のところ貴重品であり入手が困難であることから、国内参照品を整備した。SARS-CoV-2 (JPN/ty/wk-521)を 60℃60 分の加熱により不活化し感染性がないことを確認後、血漿ベースマトリックスで希釈(血液用 NIID_001/2020)したもの、ユニバーサルバッファーで希釈したもの(一般用 NIID_002/2020)を 1000 本ずつ作製し、臨床検査薬協会の協力を得て、10 施設で値付けを実施した。また国際標準品の入手が可能であった日本赤十字社と国立感染症研究所の2施設のデータを元に、国内参照品に対して国際単位 IU/mL の表示値を付与した。定量法と定性法の双方の結果を考慮し、一般用(NIID_002/2020)を国内参照品とし、その力価を 6.92 log10 Units/mL (7.08 log10IU/mL)、また国内参照品に対する相対価として血液用(NIID_001/2020)の力価を 6.73 log10 Units/ mL (6.88 log10 IU/ mL) とした。

[野島清子, 落合雅樹(品質保証・管理部)、関洋平、大隈和、水上拓郎、濵口功]

3) ウイルス等に関する体外診断薬の国際標準品に関する動向調査

2020 年度の SoGAT 会議では第 1 次 HSV-1 DNA 国際標準品、第 1 次 HSV-2 DNA 国際標準品、第 1 次 SARS-CoV-2 RNA 国際標準品、第 1 次 WNV RNA 国際標準品、第 1 次 MERS 抗体国際標準品、第 1 次 SARS-CoV-2 抗体国際標準品、第 1 次 vivax 抗原国際標準品, 第 1 次 vivax 抗体国際標準品の進捗が報告された。準備の整ったものは WHO ECBS に諮問され、英国機関 NIBSC より順次交付が開始されている。第 1 次 SFTS RNA 国際標準品に関しては、2022 年の制定を目指すことが報告された。

[百瀬暖佳、濵口功]

4) 体外診断薬の性能評価に係る諸外国の動向調査

米国での体外診断薬の評価体制を調査した。体外診断薬のうち、高リスクの class III に分類される場合は市販前承認が、中リスクの class II に分類される場合は市販前届が課されるものが多い。市販前届では先発機器と申請品との実質的同等性を示す必要があるが、古い先発機器を対照として選択できる状態にあり、改善が求められている。また、FDA による審査期間の長期化が問題となっていたが、業務の一部を第三者機関が担う等の対策が取られ、審査期間は短縮化の傾向にある。審査プロセスの合理化に向けて、電子化の導入も進められている。

[百瀬暖佳、濵口功]

3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1) B 型肝炎ウイルス X 蛋白質(HBx)と LC3B の分子間相互作用解析

HBx は LC3B(オートファジー関連因子)と直接相互作用できる LC3-interacting region(LIR)配列を BH3 様モチーフに持つため、LC3B と直接結合できると考えた。前年度は、この BH3 様モチーフと LC3B との相互作用を GST プルダウンと ITC で解析し、HBx BH3 様モチーフが LC3B と約 1〜3 μM の親和性で結合することを明らかにした。現在、この結合様式を詳細

に解明するため、複合体結晶構造解析と NMR 複合体構造解析に取り組んでいる。
［楠英樹、濵口功］

2） 患者由来 C 型肝炎ウイルス (HCV)の培養細胞での増殖

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 の培養細胞での増殖を試みている。HCV JFH1 株以外の株が増殖できる FU97 細胞に HCV の増殖に重要である宿主因子 Sec14L2 を発現する細胞を作製し、Sec14L2 を高発現する細胞株をクローニングし、新たに入手した患者由来血漿を感染させた。その結果ゲノム RNA レベルではあるが、今回初めて患者由来 HCV の増殖を検出することが出来た。
[野島清子、下池貴志（ウイルス第二部）、脇田隆字、 村松正道（ウイルス第二部）、岡田義昭（埼玉医大）]

3） 新型コロナウイルスの不活化に関する研究

新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の無症候感染者が存在することから、健常な感染者が献血する可能性がある。また血液検体から SARS-COV-2 RNA が検出される RNAemia の存在や中国および米国の献血者からの SARS-CoV-2 RNA 陽性者が報告されていることから、原料血漿にウイルスが混入するリスクは否定できない。そこで原料血中にウイルスが混入した場合を想定し、血漿分画製剤の不活化法と同様な 60℃の液状加熱処理(キャップ裏側に残存するウイルスの影響をなくすために 60℃の温浴に沈めた)の影響を検討した結果、60℃30 分処理でウイルスは検出限界以下となることが分かり、変異株についても同様であった。
[野島清子、濵口功、岡田義昭（埼玉医大）]

4） 日本人妊婦からの HTLV-2 の国内感染株の発見

日本は HTLV-2 の非流行国であると考えられている。妊婦健診で実施される HTLV 検査で確認検査（LIA 法）の結果、HTLV-2 感染と判定された妊婦の末梢血単核球の DNA で qPCR による HTLV-2 核酸検出を試みたところ、HTLV-2 核酸が検出された。HTLV-2 ゲノムを特異的 Primer で PCR 増幅し、サンガーシーケンス法で全長のプロウイルスゲノムを解析したところ、全長 8960 塩基対のゲノムが決定された（LC534557）。コード領域の系統樹解析の結果、HTLV-2a と c の間に位置する株であり、また LTR 領域の解析では HTLV-2c により近い株であることが明かになった。感染経路については不明であった。本例は、日本人から遺伝子レベルで HTLV-2 感染が確認された最初の例である。
［倉光球、大隈和、堀谷まどか（慈恵医大）、関塚剛史（病原体ゲノム解析センター）、黒田誠（病原体ゲノム解析センター）、濵口功］

5） HTLV-1 感染伝播における細胞内因子 M-Sec の機能解明

HTLV-1 の感染様式は、主に細胞間感染である。細胞間感染は細胞同士が物理的に接触して感染するため、抗体や抗ウイルス剤のアクセスが困難となり、ウイルスの潜伏化の一因と考えられる。そのため、細胞間感染の分子メカニズムの解明は、体内における HTLV-1 感染伝播の抑制法を確立するために重要である。これまでの研究で、細胞内因子 M-Sec は、正常 T 細胞では発現しないが、HTLV-1 感染 T 細胞では異所性発現すること明らかにしていた。さらに本研究によって、M-Sec は、HTLV-1 感染 T 細胞において、(1)遠隔の細胞同士を物理的に接着させる細胞膜ナノチューブ形成の促進、(2)細胞運動の亢進、(3)HTLV-1 gag タンパク質の局在の制御、を行うことによって HTLV-1 の感染伝播を促進することがわかった。現在、独自に同定している M-Sec 阻害剤 NPD3064 の抗 HTLV-1 剤としての可能性を検討している。
[日吉真照、高橋尚史（熊本大）、野依修（立命館大）、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）、安永純一郎（熊本大）、松岡雅雄（熊本大）、宇都宮與（今村総合病院）、鈴伸也（熊本大）]

6） HTLV-1 Env 蛋白質 N93D 変異体とニューロピリン 1(Nrp1)b1 の分子間相互作用解析

HTLV-1 Env 蛋白質の残基 90-94 の領域はニューロピリン 1(Nrp1)の結合に関与している。この領域の 93 番目のアスパラギンがアスパラギン酸に置換された変異（N93D）がブルジルアマゾンでの HTLV-1 感染症候性患者で見られる。本研究では、この N93D 変異が Nrp1 b1 との結合にどの様に影響するかを Env ペプチド（残基 85-94）を用いて調べた。その結果、N93D 変異体は、wild-type より 2 倍強く Nrp1 b1 と結合することが明らかになった。また、N93D 変異体との相互作用において、Nrp1 b1 の Trp301, Lys347, Glu348, Thr349 の 4 残基の NMR シグナルが wild-type と比較してより大きな化学シフト変

化を示した。これら 4 残基は Nrp1 b1 の同じ表面上にあることから、N93D 変異体の Asp93 残基が、Nrp1 b1 の上記 4 残基を介して、Nrp1 b1 と強く結合すると考えられる。
［楠英樹、大島千夏、濵口功］

7）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、これまで細胞溶解性ウイルスである水疱性口内炎ウイルス(VSV)を用いて HTLV-1 感染細胞を標的化し溶解・死滅させる治療法の開発に取り組み、HTLV-1 受容体を発現した組換え VSV が HTLV-1 感染ヒト化マウスにおいて有効であることを見出している。本治療法の実用化を目指し、前臨床試験としての非ヒト霊長類感染モデルにおける組換え VSV の薬効評価に向け in vitro での検証を行ったところ、HTLV-1 と遺伝的にも機能的にも高い相同性を有するニホンザル STLV-1 の受容体を発現させた組換え VSV は in vitro において STLV-1 Env 発現細胞を標的化し殺傷することができ治療効果を示した。このことから、HTLV-1 感染に対するウイルス療法の開発に向けて、STLV-1 感染ニホンザルでの本組換え VSV の薬効評価が可能であることが示唆された。
［関洋平、大隈和、手塚健太、倉光球、水上拓郎、明里宏文（京都大）、濵口功］

8）サル組織を用いた HTLV-1 水平感染様式の解明

HTLV-1 の水平感染様式解明に向け、ヒト由来の生殖器官サンプルを用いて解析を行うことは非常に困難であるため、HTLV-1 と類似した特徴を有する STLV-1 自然感染ニホンザルを用いて解析を進めている。感染サルの生殖器官におけるプロウイルス DNA 量を測定したところ、脾臓に加えて卵巣や膣において高い PVL が検出され生殖器官におけるウイルス感染が認められた。さらに組織学的な解析を行うため、STLV-1 のプラス鎖およびマイナス鎖 mRNA 検出用プローブ（pX/SBZ probe）を構築し、組織中の mRNA を超高感度に検出・視覚化可能な技術である RNA in situ ハイブリダイゼーション（ISH）法の確立を行った。感染サル由来脾臓を用いて解析したところ、いずれのプローブにおいてもウイルス RNA が検出され、STLV-1 を標的とする ISH 法が機能していることが示された。このことから、STLV-1 感染サルは水平感染様式解明のための動物モデルとして有用であると考えられ、現在、確立した ISH 法を用いて解析を進めている。
［関洋平、手塚健太、平舘裕希、水上拓郎、倉光球、大隈和、村田めぐみ（京都大）、明里宏文（京都大）、濵口功］

9）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。また、製剤のウイルス安全性について評価し、スパイク実験等を行い、ウイルスの各分画中の存在、感染率を明らかにし、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、その安全性・有効性について検証した。その結果，HTLV-IG の投与による副反応や安全性に関し，懸念となることは発生しなかった。また，有効性に関し，効果を示唆するデータを得られつつある。
［野島清子、明里宏文（京都大）、佐竹正博（日本赤十字）、蕎麦田理英子（日本赤十字社）、森内浩幸（長崎大）、斉藤滋（富山大）、内丸薫（東京大）、濵口功、水上拓郎］

10）ヒト化マウスを用いた HTLV-1 母子感染モデルの構築

妊娠中のヒト化マウスに PBMCs を事前に移植し、さらに HTLV-1 感染細胞である MT-2（MMC 処理済）を移植することで、感染細胞が新生仔マウスにおいて検出可能な 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一方、血中には検出されない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り、この方法を用いることで、HTLV-IG 投与による胎盤感染、経膣感染のリスク軽減が可能であることが確認された。
［野島清子、明里宏文（京都大）、内丸薫（東京大）、濵口功、水上拓郎］

11）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。母子感染が成立しなかった児の母親の胎盤にはプロウイルスが検出されないのに対し、母子感染が成立した児の母親の胎盤では全例で HTLV-1 プロウイルスが検出された。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]

12） HTLV-1感染による血液胎盤バリア破綻機序の解析

HTLV-1 キャリアの臨床的な知見から、妊娠中の胎盤を介した胎内感染経路の存在が示唆されている。母体と胎児は胎盤内の血液胎盤関門によって隔てられ、栄養素以外の生体物質の移動は厳密に制限されている。一方で種々のウイルス感染によって血液胎盤関門のバリア機構が破綻することが知られている。胎盤内の血液胎盤関門を構成する細胞群（栄養膜細胞、間葉系細胞、血管内皮細胞）の HTLV-1 感受性を検討したところ、他の細胞と比較して、栄養膜細胞において極めて高い感受性が確認された。この感受性は受容体分子の発現量に依存すると考えられた。さらに HTLV-1 感染栄養膜細胞はウイルス抗原を高発現しており、HTLV-1 感染栄養膜細胞を投与したヒト化マウスでは全例で HTLV-1 感染が成立した。栄養膜細胞は胎盤におけるHTLV-1 の主要な標的であり、経路胎盤感染に関与する可能性が示唆された。

[手塚健太、淵直樹（長崎大）、三浦清徳（長崎大）、大隈和、倉光球、松岡佐保子、濵口功]

13） 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。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。実験動物中央研究所と共同研究契約を締結し、個体の産生・表現系解析・知財管理を実施している。

[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、伊藤守（実中研）、濵口功]

14） HTLV-1水平感染者に特異的な抗体の性状解析

HTLV-1の水平感染と考えられるHTLV-1キャリア（抗体陽転者）では血中ウイルス量が母子感染と考えられるHTLV-1キャリア（持続感染者）よりも低値を示し、HTLV-1関連疾患の発症リスクも低い可能性が示唆されている。HTLV-1キャリア血中におけるHTLV-1特異的抗体の抗原認識部位を検討したところ、持続感染者ではほとんど検出されないが、抗体陽転者が全例で保有する特徴的な抗体が存在することが明らかになった。このような抗体はHTLV-1エンベロープタンパク質の主要な中和ドメインを認識し、in vitroで高い中和活性を有することが示されているが、生物・物理的な特性は未解明な部分が多い。本研究では水平感染者より目標の抗体を単離・精製し、詳細に性状解析することによって、HTLV-1感染制御における抗HTLV-1抗体の生理的意義の解明や将来の感染予防法開発への応用を目指し検討している。

[手塚健太、倉光球、相良康子（日本赤十字社）、高起良（大阪鉄道病院）、高橋宜聖（免疫部）、多田稔（国衛研）、池辺詠美、大隈和、松岡佐保子、濵口功]

15） 小胞体ストレス誘導を標的とした新規 HTLV-1 感染症治療薬の開発

HTLV-1 感染症に対する新規治療薬の開発から、HIV インテグラーゼ阻害剤 MK-2048 が HTLV-1 感染細胞特異的に Unfolded Protein Response(UPR)の PERK 経路を活性化し、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。さらに、HTLV-1 キャリア検体を用いた解析から HTLV-1 感染細胞では、UPR の制御因子である小胞体シャペロン 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。そこで、小胞体ストレス誘導を標的として、PERK 経路活性化剤を中心に抗 HTLV-1 効果を示す薬剤について検討を進め、nM オーダーで感染細胞の増殖を抑制する低分子加化合物 TU-A を見出した。現在は TU-A の抗 HTLV-1 効果について、モデルマウスでの検証を進めている。

[池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、佐藤結子、山岸誠(東京大)、親泊政一(徳島大)、内丸薫(東京大)、濵口功]

16) HTLV-1 ぶどう膜炎の発症機序と病態の解明

HTLV-1 感染は全身の諸臓器に様々な病変を生じるが、HTLV-1 感染者の約 0.1%にぶどう膜炎を引き起こす。HTLV-1 ぶどう膜炎は女性に多く、一部に甲状腺機能亢進症の既往があることが知られているが、その原因は解明されていない。HTLV-1 感染細胞株と網膜色素上皮細胞株の共培養後の上清で IL-6, IFNγ,TNFα の産生が認められた。共培養による IFNγ の産生は甲状腺機能亢進症治療薬 Methimazole の添加により増強し、ぶどう膜炎の病態に甲状腺機能亢進症治療薬が関与している可能性が示唆された。

[松岡佐保子、池辺詠美、手塚健太、倉光球、鴨居功樹(東京医科歯科大)、濵口功]

4. 血液製剤の安全性確保に関する研究

1) オンライン輸血製剤副反応情報収集システムを用いたヘモビジランス(血液安全監視)研究

輸血製剤の副反応把握システムの確立は、安全性の確保や、製剤を導入している様々な国の施策を評価する上で極めて重要である。そこで 2007 年より輸血製剤による副反応情報を収集するオンラインシステムを立ち上げ、全国の医療機関に参加協力を依頼している。参加機関は、2ヶ月ごとに、赤血球、血小板、血漿の 3 製剤の製剤別使用数、副反応件数とその症状・診断を報告し、感染研にて解析を実施している。本年度は、2019 年 1 月から 12 月までの 35 病院のデータを集計し解析結果を日本輸血・細胞治療学会 HP にて報告した。血小板製剤の副反応発生率は 1.79%と高率であったものの、例年(2%～3%)と比較すると低い数字であり日赤の洗浄血小板製剤の販売開始による洗浄血小板製剤使用率増加の効果である可能性が示唆された。

[池辺詠美、松岡佐保子、濵口功]

2) 輸血の安全性向上を目指したトレーサビリティの確保された新規血液製剤情報収集システムの開発

本研究では日本における輸血副反応の全容を可能な限り正確に把握することを目指し、日本赤十字社における供血者の選択から医療機関における受血者の転帰までの Blood transfusion chain を全てトレース可能なヘモビジランスシステムの構築を進めている。新システムの普及拡大には輸血を実施している各医療機関が簡易なシステムでデータを提供できる環境の構築が重要と考え、各医療機関と日本赤十字社からの輸血データ収集ならびに集計情報作成を容易に行う集積環境を新規に構築し、パイロットスタディを繰り返し実施し改良を重ねた。2021 年度より、全国の医療機関を対象に新システムを用いた輸血情報収集を開始する環境が整備できた。

[松岡佐保子、池辺詠美、濵口功]

3) 海外の原料血漿採取方法の安全性に関する研究

血漿分画製剤の世界的な需要の増加に伴い必要とされる血漿量も増加している。我が国では、血液法で定めた血液製剤の安全性の向上・安定供給の確保を図るための基本的な方針に従い、厚生労働大臣が毎年血液製剤の安定供給に関する需給計画を定め、製造販売業者への配分している。近年グロブリン製剤の適応が拡大して世界的に血漿分画製剤の需要が益す中にあって、いかに原料血漿を確保するか、安全性を確保するかは重要な課題である。本研究では、各国の状況を把握するために国内外での法令等で規定されているドナースクリーニングに関する内容を整理し、さらに日本へ輸入される製剤の原料血漿の採漿センターにアンケート調査を行うことにより、安全対策の一環として分画用原料血漿にどのような感染症マーカーのスクリーニングをどのような文書に基づいて実施しているのか、またはボランタリーに実施しているのか等、血漿分画製剤の安全性確保の実態を調査し、我が国の血漿分画製剤の安定供給と安全性向上の方策に役立てた。

[野島清子、河原和夫(東京医科歯科大)]

5. SARS-CoV-2 に関する検査業務

1) 新型コロナウイルス核酸検査(全所対応)

村山庁舎の新型コロナウイルス核酸検査に協力し、検体処理班、試薬調整班、事務処理班等の工程のシフトに入り、検疫所等から感染研に検査依頼された検体に対して、核酸検査のそれぞれの工程を実施した。

[倉光球、手塚健太、斎藤益満、池辺詠美、松岡佐保子、

佐々木永太、百瀬暖佳、谷生道一、水上拓郎、楠英樹、大隈和、濵口功]

2) 回復者血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性確認のための核酸検査(1)

COVID-19 の治療法開発のため、国立国際医療研究センター(NCGM)が中心となり、日本赤十字社、国立感染症研究所が協力する形で、COVID-19 回復者血漿療法の臨床研究がスタートした。 当部は、COVID-19 回復者の抗体価スクリーニング時および血漿採漿時の血漿に対して SARS-CoV-2 核酸検査を実施し、血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性についての評価を担当した。血漿 2ml から核酸を抽出し、CDC_N2 および NIID_N2 法の 2 法にて RT-PCR で核酸検査した。2021 年 3 月末までに NCGM の回復者血漿のスクリーニング検体 568 件, 採取した回復者血漿 172 件について、全 110 回の SARS-CoV-2 の核酸検査を実施し、結果を報告した。

[倉光球、手塚健太、池辺詠美、佐々木永太、百瀬暖佳、忽那賢志(NCGM)、佐竹正博(日本赤十字社)、濵口功]

3) 回復者血漿の SARS-CoV-2 に対する安全性確認のための核酸検査(2)

COVID-19 の治療法開発のため、慶應義塾大学が中心となり、日本赤十字社、国立感染症研究所が協力する形で、COVID-19 回復者血漿療法の臨床研究がスタートした。2021 年 3 月までに慶應義塾大学関連医療施設からの回復者血漿に関し、当部で SARS-CoV-2 の核酸検査を実施し、SARS-CoV-2 に対する安全性を評価するための体制を整備した。

[倉光球、手塚健太、池辺詠美、佐々木永太、百瀬暖佳、田野崎隆二(慶應大)、佐竹正博(日本赤十字社)、濵口功]

4) 新型コロナウイルス感染者における中和活性の評価に関する研究(全所対応)

厚生労働省および国立感染症研究所では、SARS-CoV-2 の感染動態を調査するため大規模血清疫学調査を開始した。当部も本調査に参加・協力し、各種検体を収集し、SARS-CoV-2 の N 抗体を測定した後に、Microneutralization 法により中和活性を測定している。また、英国株、南アフリカ株、ブラジル株等の新規変異株に対する中和能の変化についても随時、検証している。引き続き、大規模血清疫学調査に協力している。

[水上拓郎、大隈和、野島清子、関洋平、濵口功]

Ⅱ. 品質管理に関する業務、研究

1. 血液製剤

1) 血液製剤へのサマリーロットプロトコール(SLP)審査制度の導入に向けた検討

製造・試験記録要約書(サマリーロットプロトコール(SLP))審査制度の 2021 年 7 月からの施行を目指し、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課と血液製剤メーカーの協力を得て、法令上の運用について最終確認を行った。血液製剤は、中間体原薬(MF)を原料としてほぼすべて種類の小分製品が連産されることがあるため、これまでに運用されているワクチン製剤の原薬とは状況が大きく異なることが分かり、軽微変更や一部変更承認に係る MF 別冊の様式変更、小分製品の様式変更について整理した。また施行期間中にほぼすべての製剤において施行が実施出来る様、適宜本省および血液製剤メーカーと会合を持った。

[野島清子、大隈和、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、楠英樹、佐々木永太、斉藤益満、水上拓郎、石井孝司(品質保証・管理部)、落合雅樹(品質保証・管理部)、内藤誠之郎(品質保証・管理部)、藤田賢太郎(品質保証・管理部)、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 2019 年 7 月より試行された。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 審査の電子化を導入することが必要であると考え, 各社 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確定した。2021 年7月の施行に向けて, 公示・入札するための仕様書の確定し, 入札手続きを進め, 最終的に開発業者が決定した。

[水上拓郎、野島清子、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、
佐々木永太、斉藤益満、大隈和、濵口功]

3）抗HBs人免疫グロブリン製剤力価試験の試験法の変更についての検討

抗 HBs 人免疫グロブリン製剤の抗体価測定法は生物学的製剤基準により「放射免疫測定法」及び「酵素免疫測定法」が定められている。一方、検査施設等の抗HBs抗体価の測定には、高感度の「化学発光免疫測定法」等が導入されている。そこで製剤製造所との共同測定を実施し、「化学発光免疫測定法」等が生物学的基準法に定められている測定法と同等以上の精度で抗 HBs 抗体価を測定可能であることを確認した。生物学的製剤基準について「化学発光免疫測定法」等での抗体価測定を可能とする変更の手続きを進めている。

[池辺詠美、松岡佐保子、佐藤結子、濵口功]

4）血液型判定用抗体参照品の新規ロット制定のための品質評価

血液型判定用抗体参照品（①参照抗 A 抗体（256 倍）、②参照抗 B 抗体（256 倍）、③参照抗 D 抗体（64 倍）（食塩液凝集試験用）、④参照抗 D 抗体（64 倍）（アルブミン液凝集試験用）、⑤参照抗ヒトグロブリン抗体の 5 品目）は感染研における国家検定、収去試験、承認前試験における使用、および血液型判定用抗体の製造業者からの交付申請に応じて交付する事を目的として作製されている。

現行品の使用期限が 2021 年 3 月 31 日であるため、2021 年度からの交付に向けて、新規ロットの候補品を製造し、最終製品の先行サンプルを用いて、①特異性試験、②凝集価試験、③凝集力試験の品質評価試験を実施した。

当該参照品は 2021 年 4 月より国内向けに交付を開始している。

[池辺詠美、松岡佐保子、佐藤結子、濵口功]

5）乾燥濃縮人α1-プロテイナーゼインヒビターの承認前試験

（1）生物活性試験、比活性試験

当該製剤について生物活性試験、比活性試験を生物学的製剤基準に従って実施した。試験成績は、提出された全 3 ロットにおいて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]

（2）たん白質含量試験、含湿度試験

当該製剤について、たん白質含量試験と含湿度試験を実施した。

[楠英樹、日吉真照、濵口功]

（3）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生物学的製剤基準の一般試験法に従って実施した。試験成績は、提出された全 3 ロットにおいて基準を満たしていた。

[池辺詠美、水上拓郎、古畑啓子、佐藤結子、今井恵子、濵口功]

6）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

厚生省薬務局長通知「保存血液等の抜き取り検査実施要領」における、ヒスタミン加人免疫グロブリン（乾燥）製剤の「ヒスタミンの確認試験」が、令和 2 年 8 月 7 日の改定により、当部とメーカーの共同研究により開発した液体クロマトグラフ法を用いた「ヒスタミンの定量試験」に変更された。本試験法ではヒスタミン抽出に煩雑な操作が含まれるため、操作毎のバラツキを補正するための内標準物質の探索を行った。その結果、1-(3-Aminopropyl)-2-methyl-1*H*-imidazole が適切な候補物質と考えられたため、今後、抽出効率や再現性等について検証を行う。

[谷生道一、楠英樹、濵口功]

7）血液製剤の異常毒性否定試験の省略に関する検討

血液製剤の異常毒性否定試験は、2005 年に国家検定から廃止されており、現在は製造所における自家試験のみが引き続き実施されている。今般、ワクチン製剤において，主要ワクチン5製剤に関し、異常毒性否定試験の回数制限規定が検討・導入され、一定数のロットについて、連続した適合性が認められれば、以降については省略可能となった。 2021年7月より血液製剤においても SLP 制度が本施行され，品質管理が強化されることから、血液製剤に関しても、異常毒性否定試験の省略が可能であるか検討を進め，検定廃止以降過去 16 年間の結果を精査した結果、対象製剤全てにおいて「不合格」はなく、試験結果により検定申請が不適となったロットもなく，再試験率も低く，試験成績も安定していたこと，さらに病理検査等による異常所見等の報告もなかったことから，今後，異常毒性否定試験を廃止しても問題がないことが確認された。

2021 年2月の当委員会で結果を報告し，厚生労働省にも報告した。

[池辺詠美、水上拓郎、松岡佐保子、大隈和、濵口功]

8) アンチトロンビン III および乾燥イオン交換樹脂処理ヒト免疫グロブリン製剤におけるウサギ発熱試験の検定基準削除の検討

ウサギ発熱試験は生物学的製剤基準の一般試験法に記載され、ワクチン等及び血液製剤の安全性試験、品質管理試験として長年にわたり実施されている。現在その多くがエンドトキシン試験に置き換えられ、一部の製剤はその試験成績が安定していることから検定基準から削除されている。今回、ウサギ発熱試験を実施している製剤のうち、アンチトロンビン III および乾燥イオン交換樹脂処理ヒト免疫グロブリン製剤について、過去の自家試験記録ならびに国家検定成績を精査した。その結果、承認以降ウサギ発熱試験で不合格となったロットはないことから、検定による試験のダブルチェックは不要と考えられた。検定基準廃止案として業務運営委員会ならびに検定協議会に諮り、承認された。

[佐々木永太、水上拓郎、濵口功]

2．ワクチン製剤

1) SARS-CoV-2 ワクチン(ファイザー社、モデルナ社、アストラゼネカ社)の承認前検査の実施

当該製剤(ファイザー社、モデルナ社、アストラゼネカ社)について、pH 試験を実施した。

[楠英樹、谷生道一、濵口功]

2) 沈降 13 価肺炎球菌結合型ワクチン(無毒性変異ジフテリア毒素結合体)におけるアルミニウム含量試験(誘導結合プラズマ発光分光分析法)の削除に関して

沈降 13 価肺炎球菌結合型ワクチン(無毒性変異ジフテリア毒素結合体)の国家検定の 1 つとして、アルミニウム含量試験(誘導結合プラズマ発光分光分析法が実施されてきた。今回、本製剤において、過去7年間(2013 年～2019 年)に製造所が実施してきた自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、両成績は良く一致していた。また、再現性・安定性の観点からも当該試験を国家検定としてダブルチェックする必要性は低いと考えられた。検定基準廃止案として業務運営委員会ならびに検定協議会に諮り、承認された。

[百瀬暖佳、谷生道一、楠英樹、濵口功]

3) 生物学的製剤基準の改正に伴う異常毒性否定試験の省略について

生物学的製剤基準の改正に伴い、肺炎球菌ワクチン(23 価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン)、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン、インフルエンザ HA ワクチンに関しては、異常毒性否定試験の省略が可能となった。そこで、対処製剤の製造販売業者より提出された必要数のロットの連続した試験結果のリストを精査し、試験省略の条件を満たすことを確認して省略の手続きを行った。

[池辺詠美、水上拓郎、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) SARS-COV-2 mRNA ワクチン (Pfizer) 接種者における有効性および安全性に関する研究

SARS-COV-2 は 2019 年に中国で発生した後、パンデミックとなり世界規模で感染拡大した。2020 年末には新規モダリティである mRNA ワクチンが開発され、日本でも 2 月に Pfizer 社製の mRNA ワクチン (コミナティ筋注) が承認され、国立病院機構 村山医療センターでも接種が開始された。そこで村山医療センターと共同研究を開始し、1 回目接種後 20 日前後の血液より血清を分離し、非動化した後、Microneutralization 法により SARS-CoV-2 に対する中和抗体価を測定した。今後、2 回目接種後 20 日前後および 100 日前後の検体の中和活性についても測定し、抗体推移について検証する予定である。また、接種後血清を用いOMICS解析をすることで、mRNAワクチン接種後の安全性評価に資するバイオマーカーを探索する。

[水上拓郎、野島清子、関洋平、吉原愛雄(村山医療センター)、濵口 功]

2) 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、マーカー遺伝子の発現変動をルシフェラーゼ活性でモニターするレポーター細胞株を樹立して評価した。全粒子ワクチン処理によってルシフェラーゼ活性の有意な亢進を認めた

が、活性のピークが従来法よりも 1 日遅くなり、全体的な所要期間が延長した。高感度な遺伝子発現解析法として、従来のリアルタイム PCR 法の簡便化も検討している。
[百瀬暖佳、佐々木永太、水上拓郎、濵口功]

3) ゲノミクス技術を駆使したスクリーニングシステムによる新規ワクチンアジュバントの同定と作用機序解析

これまでに肺のバイオマーカー遺伝子発現プロファイルを解析することで、アジュバントの有効性と安全性を一部予測可能であることを明らかにしている。ドラッグリポジショニングの概念により、既承認薬や医薬品添加物を用いて、アジュバント活性のある化合物の探索を行ったところ、経鼻インフルエンザワクチンおよび新型コロナウイルスワクチンで強力な IgA 抗体産生誘導能を持つ化合物の同定に成功した。現在、アジュバント作用の鍵となるサイトカイン分泌機序や抗原提示増強機能に着目して、作用機序の解明を行っている
[佐々木永太、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター)、百瀬暖佳、水上拓郎、濵口功]

4) 水酸化アルミニウム（alum）含有経鼻ワクチンにおける 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。古くからヒト用ワクチンに使用されている alum は、経鼻接種ワクチンに添加することで顕著な IgA 抗体産生を誘導することを見出したが、その作用機序として肺胞上皮細胞からの IL-33 分泌と、それに続く ILC2 の活性化が関与することを見出した。また、alum 投与によって肺胞中に dsDNA や IL-1α などの免疫賦活化因子が多く放出されるが、これらの IgA 抗体産生誘導の影響は小さいことを見出し、IL-33 の重要性が示された。
[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、審良静男(大阪大)、濵口功]

5) アジュバント全身投与時の肺における形質細胞様樹状細胞（pDC）の動態とその機能解明

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全身投与（腹腔内投与あるいは筋肉内投与）することで、肺に pDC を集簇させ、粘膜感作抗原に対してアジュバント作用を示すことを明らかにしている。本年度は、CXCR3 中和抗体によるブロッキングにより、上記のアジュバント作用が消失すること、1 型 IFN シグナルが CXCL9/10/11 発現誘導に必須であることを見出した。さらに、インフルエンザウイルス感染実験により、1型 IFN 誘導型アジュバントの全身投与が粘膜感作ワクチンの防御効果の増強に働くことを明らかにした。
[佐々木永太、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター)、百瀬暖佳、水上拓郎、濵口功]

6) グルタチオン（GSH）枯渇によるワクチン免疫調整機構の解明

GSH は細胞内の酸化ストレス軽減に寄与する重要なトリペプチドである。免疫細胞の GSH 変動はサイトカイン分泌や抗原提示能に影響を与えることが示唆されている。GSH を免疫後一定期間低下させたマウスでスプリットインフルエンザワクチンの IgG 抗体産生が増強されることを見出した。さらにこの現象は、経鼻接種では認められず、筋肉内注射で顕著に認められることを見出した。
[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、濵口功]

7) アジュバントとしてのⅠ型インターフェロンとキトサンの相乗作用について

ジフテリアトキソイドを抗原にⅠ型インターフェロン（IFN）とキトサンをアジュバントとして同時経鼻投与すると、これらアジュバントが相乗的に抗体産生を増強させることを報告してきた。その機構を調べるため、これらの間に直接相互作用が存在するか検討をはじめた。そのためにまずマウスの骨髄細胞を使用して予備実験を行った。IFN 単独またはキトサンとの混合物を細胞に添加し、24 時間後の IFNγ 産生を測定したところ有意差は得られなかった。一方、これらの混合物は沈殿が生成する可能性があるため、遊離 IFN の遠心での分離を試みている。
[前山順一]

Ⅳ. 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:56 試験
(血液凝固第Ⅷ因子力価試験:22、アンチトロンビンⅢ力価試

験:12、活性化血液凝固第 VII 因子力価試験:1、血液凝固第 X 因子力価試験(APTT 法):1、血液凝固第 II 因子力価試験:3、血液凝固第 VII 因子力価試験:3、血液凝固第 IX 因子力価試験:3、血液凝固第 X 因子力価試験(PT 法):3、プロテイン C 力価試験:3、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処理抗 HBs 人免疫グロブリン:1 ロット、乾燥抗 D(Rho)人免疫グロブリン:2 ロット)

免疫グロブリン G 重合物否定試験:119 ロット

抗補体性否定試験: 62 ロット

含湿度試験:112 ロット

たん白質含量試験(ローリー法):1 ロット

たん白窒素含量試験:3 ロット

凝固性たん白質含量及び純度試験:9 ロット

アルミニウム含量試験(ICP):6 ロット

フェノール含量試験:10 ロット

クエン酸ナトリウム含量試験:2 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:61 ロット

発熱試験:17 ロット

人ハプトグロビン力価試験:6 ロット

2. 抜き取り検査

血液凝固第 IX 因子力価試験:4 ロット

活性化凝固因子否定試験:4 ロット

たん白窒素含量試験:4 ロット

含湿度試験:2 ロット

pH 試験:2 ロット

ヒスタミン確認試験:1 ロット

ヒスタミン含量試験(HPLC 法):1 ロット

3. 依頼検査

たん白質含量試験(ローリー法):2 ロット

異常毒性否定試験:5 ロット

4. 行政検査

異常毒性否定試験(黄熱ワクチン):2 ロット

5.承認前検査

含湿度試験 : 3 サンプル

たん白質含量試験 : 3 サンプル

pH 試験 : 6 サンプル

生物活性試験 : 3 ロット

比活性試験 : 3 ロット

6. 総合判定

(国家検定項目)

乾燥人フィブリノゲン:8 ロット

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子:22 ロット

乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ:12 ロット

乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子:1 ロット

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体:3 ロット

筋注用人免疫グロブリン:3 ロット

乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン:3 ロット

乾燥スルホ化人免疫グロブリン:62 ロット

pH4処理酸性人免疫グロブリン:14 ロット

PEG 処理人免疫グロブリン:30 ロット

乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン:54 ロット

乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン:1 ロット

pH4処理酸性人免疫グロブリン(皮下注射):16 ロット

抗破傷風人免疫グロブリン:1 ロット

PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン:1 ロット

乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン:2 ロット

PEG 処理抗 HBs 人免疫グロブリン:1 ロット

乾燥抗 D (Rho)人免疫グロブリン: 2 ロット

人血清アルブミン:121ロット

加熱人血漿たん白:4ロット

人ハプトグロビン:6 ロット

(抜き取り検査)

ヒスタミン加人免疫グロブリン:2 ロット

乾燥濃縮人血液凝固Ⅸ因子:4 ロット

7. 体外診断用医薬品の承認前検査

B型肝炎ウイルス表面抗原、1件:3 ロット

C型肝炎ウイルス抗体、1件:3 ロット

国際協力関係業務・研修業務

1) 2020 年6月12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）Tanio M, Nakamura T, Kusunoki H, Ideguchi K, Nakashima K, Hamaguchi I, Validation of HPLC method for the determination of histamine in human immunoglobulin formulations, 2020, ***J AOAC Internat***, 105(5): 1223-1229, doi: 10.1093/jaoacint/qsaa017.

2）Ikebe E, Matsuoka S, Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nakashima M,, Seiichiro Kobayashi S, Makiyama J, Yamagishi M, Oyadomari S, Uchimaru K, Hamaguchi I, Activation of PERK-ATF4-CHOP pathway as a novel therapeutic approach for efficient elimination of HTLV-1-infected cells, 2020 ***Blood adv***, May 12; 4(9):1845-1858. doi: 10.1182/bloodadvances. 2019001139.

3）Murata M, Yasunaga J-I, Washizaki A, Seki Y, Kuramitsu M, Keat TW, Hu A, Okuma K, Hamaguchi I, Mizukami T, Matsuoka M, Akari H, Frequent horizontal and mother-to-child transmission 1 may contribute to high prevalence of STLV-1 infection in Japanese macaques,2020, ***Retrovirology,*** Aug 24; 17(1):15, doi: 10.1186/s12977-020 -00525-1.

4）Saito M, Hasegawa H, Yamauchi S, Nakagawa S, Sasaki D, Nao N, Tanio M, Wada Y, Matsudaira T, Momose H, Kuramitsu M, Yamagishi M, Nakashima M, Nakahata S, Iha H, Ogata M, Imaizumi Y, Uchimaru K, Morishita K, Watanabe T, Miyazaki Y, Yanagihara K. A high-throughput detection method for the clonality of Human T-cell leukemia virus type-1-infected cells in vivo. 2020. ***Int J Hematol.*** Sep;112(3):300-306. doi: 10.1007/s12185-020-02935-5.

5）Tezuka K, Fuchi N, Okuma K, Tsukiyama T, Hasegawa Y, Hasegawa H, Sasaki D, Miura S, Higasijima A, Sasaki E, Mizukami T, Kuramitsu M, Matsuoka S, Masuzaki H, Miura K, Hamaguchi I, Human T-cell Leukemia Virus Type 1 Targets Human Placental Trophoblasts in Seropositive Pregnant women, 2020, ***J Clin Invest***, Nov 2;130(11):6171-6186. doi: 10.1172/JCI135525.

6）Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhata K, Mizukami T, Hamaguchi I, Immunogenicity and toxicity of different adjuvants can be characterized by profiling lung biomarker genes after nasal immunization, Frontiers in Immunology, 2020, ***Front Immunol***, Sep 11;11:2171. doi:10.3389/fimmu. 2020.02171. eCollection 2020.

7）Okuma K, Kuramitsu M, Niwa T, Taniguchi T, Masaki Y, Watanabe K, Matsumoto C, Sobata R, Sagara Y, Nakamura H, Satake M, Miura K, Fuchi N, Masuzaki H, Okayama A, Umeki K, Yamano Y, Sato T, Iwanaga M, Uchimaru K, Nakashima M, Utsunomiya A, Kubota R, Ishitsuka K, Hasegawa H, Sasaki D, Koh K-R, Taki M, Nosaka K, Ogata M, Naruse I, Kaneko N, Okajima S, Tezuka K, Ikebe E, Matsuoka S, Itabashi K, Sauito S, Watanabe T, Hamaguchi I, Establishment of a novel diagnostic test algorithm for human T-cell leukemia virusu type 1 infection with line immunoassay replacement of western blotting: a collaborative study for performance evaluation of diagnostic assays in Japan,2020, ***Retrovirology,*** Aug 24; 17(1):26. doi: 10.1186/s12977-020-00534-0

8）Sasaki E, Hamaguchi I, Mizukami T. Pharmacodynamic and safety considerations for influenza vaccine and adjuvant design. 2020, ***Expert Opin Drug Metab Toxicol,*** Aug 24;1-11. doi: 10.1080/17425255.2020.1807936.

9）Kuramitsu M, Okuma K, Horiya M, Sekizuka T, Kaneko N, Saito E, Sokunaga J, Kuroda M, Hamaguchi I, First Case of Molecularly Identified and Genetically Characterized Human T-Cell Leukemia Virus Type 2 Infection in a Pregnant Woman in Non-Endemic Japan, 2020, ***J Virol Methods***, Oct 21;114005. doi: 10.1016/j.jviromet.2020.114005.

10）Kurozumi-Karube H, Kamoi K, Ando N, Uchida M, Hamaguchi I, Ohno-Matsui K *In vitro* evaluation of the safety of adalimumab for the eye under HTLV-1 infection status: a preliminary study, 2020, ***Front Microbiol***, Dec 23;11:522579. doi: 10.3389/fmicb.2020. 522579.

11）Lotfi S, Nasser H, Noyori O, Hiyoshi M, Takeuchi H, Koyanagi Y, Suzu S. M-Sec facilitates intercellular transmission of HIV-1 through multiple mechanisms. 2020. ***Retrovirology***. Jul 10;17(1):20. doi: 10.1186/s12977-020

-00528-y.

12）Yahiro T, Hara T, Matsumoto T, Ikebe E, Fife-Koshinomi N, Xu Z, Hiratsuka T, Iha H, Inomata M. 2020. Corrigendum to "Long-Term Potable Effects of Alkalescent Mineral Water on Intestinal Microbiota Shift and Physical Conditioning". ***Evid Based Complement Alternat Med***. Oct 5;2020:6706239. doi: 10.1155/2020/6706239. eCollection 2020.

13）Maeyama JI, Kurata-Iesato Y, Isaka M, Komiya T, Sakurai S. Induction of antibody responses in mice immunized intranasally with Type I interferon as adjuvant and synergistic effect of chitosan. 2020. ***Microbiol Immunol.*** Sep;64(9):610-619. doi: 10.1111/1348-0421.12832.

14）Taniguchi K, Hayashi D, Yasuda N, Nakayama M, Yazawa K, Ogawa S, Miyatake Y, Suda S, Tomita H, Tokuda M, Itoh S, Maeyama JI, Ohara N, Yamamoto S, Hida S, Onozaki K, Takii T. Comparative Study of the Susceptibility to Oxidative Stress between Two Types of Mycobacterium bovis BCG Tokyo 172. 2021. ***mSphere.*** Mar 10;6(2):e00111-21. doi: 10.1128/mSphere.00111-21.

15）Maeyama JI, Iho S, Suzuki F, Hayashi D, Yamamoto T, Yamazaki T, Goto Y, Ozeki Y, Matsumoto S, Yamamoto S. Evaluation of a booster tuberculosis vaccine containing mycobacterial DNA-binding protein 1 and CpG oligodeoxynucleotide G9.1 using a Guinea pig model that elicits immunity to Bacillus Calmette-Guérin. 2021. ***Tuberculosis*** (Edinb). *In press*

16）Nomoto H, Kutsuna, Okuma K, Tezuka K, Ikebe E, Saito S, Terada M, Endo M, Suzuki T, Miyasato Y, Nakamoto T, Inada M, Hamaguchi I, Ohmagari N, No SARS-CoV-2 RNA detection in the convalescent plasma of COVID-19 patients with different disease severity, 2021, ***J Infect Chemother***, *In press*

17）Kamoi K, Horiguchi N, Kurozumi-Karube H, Hamaguchi I, Yamano Y, Uchimaru K, Watanabe T, Horizontal transmission of HTLV-1 causing uveitis, 2021, ***Lancet Infect Dis***, *In press*

18）Terada M, Kutsuna S, Togano T, Saito S, Kinoshita N, Shimanishi Y, Suzuki T, Miyazato Y, Inada M, Nakamoto T, Nomoto H, Ide S, Sato M, Maeda K, Matsunaga A, Satake M, Matsubayashi K, Tsuno H, Kojima M, Kuramistu M, Tezuka K, Ikebe E, Okuma K, Hamaguchi I, Shiratori K, Sato M, Kawakami Y, Inaba K, Igarashi S, Yamauchi R, Matsumura M, Ishimaru K, Cho H, Kuge C, Ishihara M, Gouda M, Tanaka K, Ishizaka Y, Ohmagari N, 2021, How we secured a COVID-19 Convalescent Plasma Procurement Scheme in Japan, ***Transfusion***, *In press*

19）Kusagawa S, Kawana-Tachikawa A, Matsubayashi K, Hoshi Y, Ishimaru K, Hamaguchi I, Evaluation of Geenius HIV-1/2 Confirmatory Assay for the confirmatory and differential diagnosis of HIV-1/HIV-2 in Japan and reliability of the Geenius Reader in the diagnosis of HIV-2, ***BMC Infectious Diseases***, *In press*

20）Matsuoka S, Kuwata T, Ishii H, Sekizuka T, Kuroda M, Sano M, Okazaki M, Yamamoto H, Shimizu M, Matsushita S, Seki Y, Saito A, Sakawaki H, Hirsch VM, Miura T, Akari H, Matano T, A Potent anti-Simian Immunodeficiency Virus Neutralizing Antibody Induction Associated with a Germline Immunoglobulin Gene Polymorphism in Rhesus Macaques. ***J Virol.*** *In press*

21）Iwamoto Y, Seki Y, Taya K, Tanaka M, Iriguchi S, Miyake Y, Nakayama EE, Miura T, Shioda T, Akari H, Takaori-Kondo A, Kaneko S, Generation of macrophages with altered viral sensitivity from genome-edited rhesus macaque iPSCs to model human disease. ***Mol Ther Methods Clin Dev.*** *In press*

22）Kusunoki H, Tanaka T, Ohshima C, Sakamoto T, Wakamatsu K, Hamaguchi I, The N93D mutation of the HTLV-1 envelope glycoprotein found in symptomatic patients enhances neuropilin-1 b1 domain binding, 2021, ***Biochim Biophys Acta Proteins Proteom***, *In press*

23）Moriyama S, Adachi Y, Sato T, Tonouchi K, Sun L, Fukushi S, Yamada S, Kinoshita H, Nojima K, Kanno T, Tobiume M, Ishijima K, Kuroda Y, Park ES, Onodera T, Matsumura T, Takano T, Terahara K, Isogawa M, Nishiyama A, Kawana-Tachikawa A, Shinkai M, Tachikawa N, Nakamura S, Okai T, Okuma K, Matano T, Fujimoto T, Maeda K, Ohnishi M, Wakita T, Suzuki T, Takahashi Y. Temporal maturation of neutralizing antibodies in COVID-19 convalescent individuals improves potency and breadth to circulating SARS-CoV-2 variants. ***Immunity***. *In press*

2. 和文発表

1)濵口功, 松岡佐保子. ヘモビジランス-周術期の輸液・輸血療法 All in One. 麻酔科プラックティス（文光堂）, 2020. 140-143.

2) 濵口功. HTLV-1 感染の現状.神経感染症 2020. 5(1) 92-94.

3)百瀬暖佳, 加藤孝宣, 濵口功. 標準物質を用いた抗 HBs 抗体定量用体外診断薬の評価.日本輸血細胞治療学会誌,2020,66 巻 4 号 p.629-633.

4) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 濵口功. 体外診断用医薬品の性能評価 AMED 研究事業を踏まえて（特別寄稿） The Medical & Test Journal,2020,第 1510 号(4)

5) 濵口功. HTLV-1 感染症-ウイルス感染症の検査診断法. 臨床と微生物. 2021. 48(2). 167-170.

Ⅱ.学 会 発 表

1. 国際学会

1） Nojima K. Updates in Lot Release System for Blood Products in Japan, 5th WPRO NCL Workshop /Global Bio Conference, Seoul,(WEB 開催),2020 年 9 月

2. 国内学会

1) 大隈和, 倉光球, 手塚健太, 水上拓郎, 村田めぐみ, 明里宏文, 濵口功.STLV-1 感染ニホンザルによる HTLV-1 標的ウイルス療法の開発に向けた検討. 日本実験動物学会,大阪,2020 年 5 月

2) 濵口功. トレーサビリティの実用化に向けて. 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会,(WEB 開催),2020 年 5 月

3) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 浅沼秀樹, 古畑啓子, 水上拓郎, 濵口功. 遺伝子マーカーを用いたアジュバント含有経鼻ワクチンの細胞傷害性と有効性評価. 第 27 回日本免疫毒性学会学術年会,(WEB 開催),2020 年 9 月

4) 水上拓郎, 百瀬暖佳, 佐々木永太, 古畑啓子, 楠英樹, 浅沼秀樹, 濵口功. Reverse toxicology による新規アジュバントスクリーニング系の開発. 第 47 回日本毒性学会 web 開催,2020 年 9 月

5) 池辺詠美, 松岡佐保子, 手塚健太, 倉光球, 大隈和, 中島誠, 小林誠一郎, 牧山純也, 山岸誠, 親泊政一, 内丸薫, 濵口功. 小胞体ストレス応答を標的とした新規抗 HTLV-1 薬の開発. 第 93 回日本生化学会大会シンポジウム,(WEB 開催),2020 年 9 月

6) 濵口功. 血液製剤を対象とした血レーサビリティの構築. 第 27 回日本輸血・細胞治療学会秋期シンポジウム,(WEB 開催),2020 年 10 月

7) 大隈和, 濵口功. HTLV-1感染診断の考え方. 世界HTLVデー記念講演会,(WEB開催),2020年11月

Ⅲ.知的財産権

なし

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。令和 2 年 4 月に、感染研の情報ネットワーク管理を業務とする第三室が新設され、3 室からなる体制になった。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で、互いの専門性を生かした取組が期待されている。

第一室は、室長(藤本浩文)、主任研究官 2 名(作道隆、本田尚子)、研究員 1 名(楊光)、再任用職員 2 名(深澤秀輔(真菌部と併任)、前山順一(血液･安全性研究部と併任))、非常勤職員 1 名(土田耕三)の 7 名からなり、放射線同位元素等規制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)が務めた。特定放射性同位元素防護管理者は、戸山庁舎は藤本が、村山庁舎は石井が務めた。

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 RI を用いない実験スペースの不足を解消する必要性もあり、まず平成 29 年度までに戸山庁舎の 4 階から地下 2 階部分の RI 管理区域の非管理区域化が行われた。村山庁舎では、令和元年度に 6 号棟 BSL3 区域内の放射能管理区域が廃止され、ポリオウイルス取扱施設に改修された。また、ハンセン病研究センター庁舎では庁舎内の全ての放射線施設を廃止することが決定され、令和2年度にRI施設の廃止作業が完了した。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)、再任用職員 2 名(木所稔、板村繁之(国際協力室、インフルエンザウイルス研究センターと併任))、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 8 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業務並びにこれらに必要な調査及び研究を行った。

今後の国家検定のあり方として、ワクチンにおいてすでに導入されている製造･試験記録等要約書(サマリーロットプロトコール:SLP)審査について、血液･安全性研究部が中心となって血液製剤等への導入の検討を進めているが、品質保証･管理部も、血漿分画製剤メーカー及び抗毒素製剤メーカーから提出された SLP 相当様式(案)の確認等に協力している。また、国家検定の期間短縮を主な目的として、現在は逼迫時等に限定されている並行検定の平常時からの適用(常時並行検定)について検討を行い、令和 2 年 6 月より一部のワクチン製品で本制度が導入された。

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)への加盟申請に合わせて、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。令和 2 年 8 月 26 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。監視指導･麻薬対策課と PMDA による OMCL の認定に係る調査については、新型コロナウイルス感染症の流行の影響により、年度末時点では提出した書類の監査のみが実施されており、実地調査は令和 3 年に実施される予定となっている。

生物学的製剤に係る国際的な協力活動については、生物学的製剤の標準化に係る WHO Collaborating Centre(WHOcc)活動(WHO Collaborating Centre for Standardization and Evaluation of Biologicals)が全所的に行われており、毎年の活動全般の取りま

とめと報告、4 年に 1 度の再認定作業は部の重要な任務である。また、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）で議論される内容について、所内の意見取りまとめを行い、国際会議の場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も行っている。

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良を進めている。

令和2年4月に新設された第三室は、感染研の所内ネットワークシステム（研究情報ネットワーク:NIH-NET）の管理運用を主な業務として、室長（椎野禎一郎、9 月より）、主任研究官 1 名（加納和彦）の 2 名で発足した。これまではこのような業務を担当する部署は感染研には存在せず、主として研究情報運営委員会が担ってきたが、今後は品質保証･管理部第三室が所掌として担当していくことになり、研究情報運営委員会と共同で、所員のインターネット利用基盤の整備を行っている。なお、総務部所属の 3 名の非常勤職員（髙橋信彦、髙橋園香、氏原正敏）も、研究情報運営委員会の事務局として所内ネットワーク管理業務を遂行している。

NIH-NET の管理運用業務としては、e-mail の利用、Web サイト閲覧、研究用 Web サイト基盤の提供などである。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。また、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 のセキュリティ強化策の検討、所員に対する情報セキュリティ教育及び訓練等を実施するとともに、インシデント発生時は、CSIRT（Computer Security Incidence Response Team）事務局としてその対応にあたった。テレワーク環境の整備に向けては、所内 VPN サービスの拡充と ICT（Information and Communication Technology）の利活用の検討を行った。さらに、ホームページ管理運営委員会と共同で感染研公式 Web サイトの運用も行った。

最後に人事面では、第一室、第二室にそれぞれ再任用職員 1 名が着任し、業務面、研究面いずれも強化が図られた。業務面の負担が大きい部であるが、増員により負担がやや軽減されたこともあり、両室とも研究面での発展を図りたいと考えている。一方、第三室室長の椎野禎一郎が 3 月末に退職し、国立国際医療研究センターに転出した。研究員の楊光は、3 月末の任期満了に伴い東京慈恵会医科大学のポスドクとなり、感染研の協力研究員としてウイルス第二部で研究を行うことになった。また、これまで長年にわたり所の放射線管理業務を主導し、再任用期間終了後も非常勤職員として村山庁舎の管理業務を担当した土田耕三が退職した。皆さんの今後のご活躍をお祈りしたい。

I. 放射性同位元素使用状況

1. 戸山(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	1707.831	9.620	124.775
^{14}C	139.116	4.070	9.340
^{32}P	0	27.750	27.750
^{35}S	53.866	0	0.174

保管量下限数量比合計 15.5

2. 村山

(単位 MBq)

核種	前年度繰越量	入庫量	使用量
^{3}H	45.695	0	45.695
^{14}C	3.589	18.500	12.097
^{32}P	0	55.500	55.500

保管量下限数量比合計 1.0

II. 従事者数

1. 戸山 74名(国立健康･栄養研究所も含む)

2. 村山 10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
令和2年4月9日	8	新規
4月10日	5	新規
4月13日	9	新規
6月 3日	1	新規
10月 2日	1	新規
11月 9日	94	継続
11月 13日	70	継続
12月 9日	2	継続
12月 10日	1	継続
12月 11日	1	継続
12月 22日	1	継続
12月 25日	1	継続
令和3年 1月 19日	1	継続
1月 26日	1	継続
2月 8日	3	新規
3月 19日	1	新規
合 計	200	

セキュリティに係る講習会を除く

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

令和2年4月7日	24	戸山 TBS、 防災センター 排水設備担当業者
令和2年4月8日	29	村山 TBS、 警備室
合 計	53	

業 績

調査･研究

I. 放射線による DNA 損傷とその修復機構の解析

1. クラスターDNA 損傷に対する修復タンパク質の認識･結合機構の解析

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、DNA 二本鎖末端近傍の損傷塩基の有無が Ku-DNA 間の結合力に与える影響を、実験的手法に理論的手法を組み合わせて解析を行っている。昨年度、内部に塩基損傷がない DNA 末端の方が、TG が存在する DNA 末端よりも Ku と強く結合するが、Ku-DNA 複合体の形成しやすさは TG を含む DNA 末端の方がわずかに高い傾向があることが判明し、Ku の DNA 末端認識機構と、Ku 結合後の複合体の安定性は分けて考える必要があることが示唆

された。本年度は、塩基損傷を含む末端モデルとしてこれまでとは異なる場所にTGを配置した場合でも同様の差異が観察されるかを検証するため、まずは分子シミュレーションを用いて配置する TG の位置の検討を進めている。

［藤本浩文、石井孝司;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）］

2. 損傷修復タンパク質の核移行制御機構に関する研究

Kuのサブユニットである Ku70の核移行シグナル（NLS）を含むペプチド鎖と核輸送タンパク質であるimportin-α（Impα）との相互作用を分子シミュレーション、および細胞生物学的手法を用いて解析し、Ku70 NLS中のリジン残基がアセチル化されるとImpα-Ku70 NLS間の結合力が低下する可能性を示した。これまでの実験ではリジン残基のアセチル化の効果を検証するために、リジンをグルタミンに置換した組換えタンパク質（KQ mutant）を擬似アセチル化リジンのモデルとして用いてきたが、KQ mutantを用いた実験ではリジンのアセチル化の効果を過大評価してしまう場合があることが示唆されている。そこで、本年度はK70NLS中のアセチル化の対象となるリジン残基を全てアセチルリジンに置換したペプチド鎖を合成し、通常のリジン残基を持つペプチド鎖（K70NLS WT）、KQ mutant（K70NLS KQ）、アセチルリジンに置換したペプチド鎖（K70NLS AcK）とImpαとを作用させ、pull-down法、bio-layer interferometry（BLI）法を用いてK70NLSとImpαとの結合力を測定した。その結果いずれの手法を用いた場合でも、K70NLS WT > K70NLS AcK > K70NLS KQの順に結合力が下がることが示され、以前分子シミュレーションによってImpα-NLS間の結合力の推定した結果と一致した。

また、Kuタンパク質の遺伝子は哺乳類以外の生物種にも広く存在することが知られているが、それらの遺伝子産物が哺乳類細胞におけるKuと同様のDNA修復機能を有しているかはよくわかっていない。そこで、昆虫細胞ゲノム中のKu70と予想される遺伝子をクローニングし培養細胞中で発現させたところ、遺伝子産物は発現後速やかに核に移行された。また、NLSと予想された配列を欠失させると核移行が阻害されることも確認された。NLSと予想された部位のアミノ酸配列は哺乳類のKu70の配列とよく似ているため、昆虫においても哺乳類におけるKu70と同様の核移行機構が存在しているかもしれない。［楊光、藤本浩文、石井孝司;小池学（量研機構）］

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。

細胞外搬出を担う遺伝子が座位するゲノム上の領域をポジショナルクローニングの手法で絞り込み、ウイルスの受容体としても知られる膜貫通型タンパク質の相同分子をコードする遺伝子を原因遺伝子の候補としてこれまでに同定していた。この遺伝子は、系統によっては40コピーほどの多重重複がゲノム配列に見られた。優性と優性阻害の対立遺伝子間での発現の差異を調べたところ、優性阻害の対立遺伝子においては、遺伝子の一部からアンチセンス鎖が作り出されていることが分かった。アンチセンス鎖は複数のレトロトランスポゾンと連結していた。［作道隆;伴野豊（九州大学）、桑崎誠剛、生川潤子、山本公子、飯塚哲也、瀬筒秀樹（農研機構）］

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を精製過程で除去したSM依存性リボソームは、特定のコドンにたいして翻訳精度が野生型より高く、SM 濃度依存的にミス翻訳の頻度が野生型に近づくことがルシフェラーゼアッセイおよびウェスタンブロッティングにより分かった。［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. 細菌型チロシンキナーゼに関する研究

細菌には真核生物キナーゼとは相同性のないチロシンキナーゼが存在する。昨年度までに黄色ブドウ球菌のチロシンキナーゼ触媒サブユニット、調節サブユニットをヒト培養細胞株に発現させキナーゼ活性の検出に成功し、また触媒サブユニット、調節サブユニッ

トの相互作用とキナーゼ活性化が強く相関することを明らかにした。今年度、肺炎球菌より1組、枯草菌より2組のチロシンキナーゼ触媒サブユニット−調節サブユニットペアをクローニングし、ヒト培養細胞に発現させた。その結果、今まで確認されていなかったこれらタンパクのキナーゼ活性を、初めて検出することができた。異なる細菌由来の触媒サブユニットと調節サブユニットを共発現させても多くの場合、両サブユニットの相互作用とチロシンリン酸化が観察され、細菌型チロシンキナーゼの活性化機構はグラム陽性菌間である程度共通していることが示唆された。［深澤秀輔］

V. アジュバントとしてのI型インターフェロンとキトサンの相乗作用について

ジフテリアトキソイドを抗原にI型インターフェロン（IFN）とキトサンをアジュバントとして同時経鼻投与すると、これらアジュバントが相乗的に抗体産生を増強させることを報告してきた。その機構を調べるため、これらの間に直接相互作用が存在するか検討をはじめた。そのためにまずマウスの骨髄細胞を使用して予備実験を行った。IFN単独またはキトサンとの混合物を細胞に添加し、24時間後のIFNγ産生を測定したところ有意差は得られなかった。一方、これらの混合物は沈殿が生成する可能性があるため、遊離IFNの遠心での分離を試みている。［前山順一;井坂雅徳（名古屋市大）］

VI. 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、測定器を用いて取得した細胞画について、ディープラーニングにより細胞の形態学的な変化を検出することが可能であるか検討を開始した。［落合雅樹、堀内善信、内藤誠之郎、石井孝司;山本明彦（安全実験管理部）、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）ワクチンのリスク評価に関する研究

ワクチンに対する品質リスク評価手法の改善を図るため、これまでに実施した品質リスク評価（試行）に対するアンケート調査に基づいて、共通重要度の設定を行い、リスク評価の区分の基準設定を試みた。共通重要度の導入によって、リスク評価により高い客観性を持たせることが期待できる。また、リスク評価に基づいて国家検定における試験実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方として、「リスク評価に基づく一部ロット試験導入の基本方針（案）」を作成した。［石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔］

2）血液製剤等の国家検定へのSLP審査導入について

令和元年7月1日から血液製剤等へのSLP審査導入に伴う試行が開始され、令和3年7月1日から本格施行されるため、血漿分画製剤メーカー及び抗毒素製剤メーカー等から提出されたSLP相当様式（案）の確認などに協力した。［石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、木所稔］

3）国家検定制度の見直しについて−並行検定の導入

ワクチンの安定供給を確保する観点から、平常時から幅広いワクチンに並行検定を適用すること（常時並行検定）について問題点等を整理し、優先度が高く問題点が少ない製剤から並行検定を導入し、効果と問題点を検証しながら、対象製剤を広げていくのが現実的と考えられた。以上の検討結果を踏まえ令和2年6月に最終段階7品目と中間段階5品目において並行検定の常時実施のシステムが導入された。［石井孝司、内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔］

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（安全実験管理部）、小島肇（国立医薬品食品衛生研究所）］

4. 参照不活化狂犬病ワクチンのロット更新に対する統計解析支援

感染研を含む2施設により参照不活化狂犬病ワクチン（国内参照品）のロット更新のための共同研究が行われ、結果データの解析を支援した。国内参照品候補品の力価はWHO国際標準品（第7次）に対する相対力価として評価し、2.5 IU/mLとなる溶解液量を算出した。［落合雅樹；伊藤睦代、西條政幸（ウイルス第一部）］

5. 国産ムンプスワクチンの副反応発生機構の解明とムンプスワクチンの品質管理への応用

国産ムンプスワクチン鳥居株による副反応例（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、副反応由来株に特異的な塩基置換が認められた。また、鳥居株ワクチンを網羅的ゲノム解析によるヴァリアント解析した結果、副反応株と同じ変異を持つヴァリアントが元のワクチンに10%程度含まれる事が明らかとなった。従って、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、ワクチンから単離したAMVと、AMV以外のクローン（Tmj）、および元のワクチン（Tori）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ToriおよびTmjよりも有意に高く、一方、Tmjは、Tori（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、Toriを接種したラット脳内ではAMVが優位に増殖していた。以上の結果から、AMVが鳥居株による無菌性髄膜炎の原因であることが明らかとなり、鳥居株に含まれるAMVの含有率をモニターすることにより、鳥居株の安全性を評価できる可能性が示唆された。［木所稔；村野けい子（ウイルス第三部）；石井孝司］

6. 網羅的ゲノム解析に基づくムンプスワクチンの改良研究

国産ムンプスワクチン鳥居株による副反応例（無菌性髄膜炎）由来ワクチンウイルスと元のワクチンに対する網羅的ゲノム解析の結果、鳥居株に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、限界希釈（LD）法によって鳥居株からクローン単離し、そこからAMVを除いた全てのクローンを混合・再構成したワクチン（T-LDmix）と、増殖能の高いメジャークローン（Tmj）を、改良型ワクチン候補株として選択した。候補株の安全性を評価するために、マーモセットに脊髄内接種した。対照としてJeryl-Lynn（JL）株、鳥居株（T-ori）、およびAMVを用い、各組織のウイルス量と、病理学的変化をスコア化して評価した。その結果中枢神経系組織、およびリンパ系組織におけるウイルス量では、JL株が最も低く、次いでTmj、T-ori、T-LDmix、AMVの順で高値を示した。また、中枢神経系の病理スコアにおいても同一の傾向が認められた（Tmj接種群は未解析）。これらの結果から、Tmj株が安全性の点で元株（T-ori）より優れ、ワクチン候補株として有望であることが示唆された。［木所稔；網康至（安全実験管理部）、村野けい子、加藤文博、加藤大志（ウイルス第三部）、須崎百合子（安全実験管理部）、永田典代（感染病理部）、石井孝司］

VII. HIVウイルスゲノムを活用した伝播ネットワーク解析に関する研究

1. 国内HIV伝播クラスタ探索プログラムの開発とそこで得られた国内伝播クラスタの動向に関する研究

HIV研究の進歩とARTの普及によって、HIV/AIDS感染対策は新たな時代を迎えたが、我が国ではその感染対策が十分に施されているとはいえない状況である。本研究は、国内に伝播するHIVの伝播過程を、遺伝子配列による分子系統樹再構築技術で決定された伝播クラスタに新規に診断された感染者由来のウイルスが所属しているかどうかを簡便に推定することで同定するプログラム（SPHNCS）を開発し、その情報システムを用いて国内のHIV伝播キー集団の多様な微細構造を知り予防対策に生かすことを目的とした。本年度は、2019年までに協力診療機関で診断されて症例・検体データのクレンジングが終了した、HIV-1サブタイプB新規感染者のpol領域の遺伝子配列と必要な疫学情報をSPHNCSに入力した。またCRF01_AE感染者についても2019年までのデータのSPHNCSでの伝播クラスタ解析を終えた。その結果、サブタイプBでは2013-16年に著しく増加していたTC2が九州地方を中心に流行を広げている一方で、他の大きな伝播クラスタは新規感染が抑制されつつあることがわかった。一方首都圏では、CRF01_AEとnon-Bを含むdTC未所属症例が多く検出された。このことは、いくつかの地方ではHIV-1の域内の伝播リスクが未だ懸念されることと共に、大都市

圏では従来のリスクグループでの感染の抑制と新たな感染リスクの増大が同時に生じていることを示している。[椎野禎一郎]

2.HIVゲノム・宿主ゲノム等のデータベース構築・公開に向けた体制整備のための研究

HIV感染症では昨今、抗HIV薬治療下の加齢関連疾患の発症が問題になるなど、周辺分野における課題が多い。様々な研究事業で捕捉された宿主・ウイルスゲノム情報をデータベース(DB)化して広く二次利用できれば、発生動向把握と予防対策・病態把握・発症予防の研究などを通して問題の解決に大きく寄与するが、HIV感染者のゲノム情報を収集し、それを二次利用するにあたっては、HIV感染症が持つ背景が倫理的・法的・社会的(ELSI)な障壁となる。本研究は我が国におけるHIV臨床ゲノム情報DBの体制整備と、それを公開する際のELSI課題を整理することを目的とする。本年度は、ELSI研究者・基礎研究者・疫学研究者・ゲノム研究者・医療関係者・検査会社・システム構築専門家・NGO団体関係者等よりなる研究班を構成して広く議論を行った。まず、HIV耐性班と連携のうえで「HIV臨床ゲノムデータ保有施設協議会」を組織して、先行研究であるHIV薬剤耐性班のDBに登録された感染者情報の研究倫理審査の過程と同意書についてアンケート調査を行った。その結果、HIV耐性班の症例リポジトリに登録された検体の66%が薬剤耐性検査の保険収載の年である2006年以前のものであることが明らかになった。また「臨床研究に関する倫理指針」が定められた2003年のあと、各施設がそれに対応できるまである程度時間を要していることも示唆した。つまりレガシーデータの大半はそれらの社会背景を踏まえ、倫理の整備も十分でない時代のものが多い。結果として、臨床ゲノムDSが対象とする症例のうちHIV耐性班の検査依頼による2,948検体の同意書が取られていない。既存の検体データの二次利用においては、少なくともOpt-outによる患者への再通知・合意形成が必要だが、担当者不在となった施設・病院閉鎖の検体についてはこの手段がないため、情報共有は極めて難しいことがわかった。臨床ゲノム班が同意書を取り直した1,192症例については、同意書の範囲で宿主ゲノムの共有は可能である。残りの5,526症例は、責任医療機関が明らかなため今後HIV耐性班によって再同意を取ることが可能である。しかし、これらの症例の情報公開については、慎重な判断とさらなる議論が必要と思われる。今年度、HIV臨床ゲノム班のDSを上記の問題に合わせて再設計し、制限事項フラグを追加したことで、合意状況に問題のある検体の公開に制限をかけることを可能とした。

一方、HIV耐性班等に参画しているエイズ診療拠点病院の研究者間のネットワークを形成し、そのなかでHIV耐性班の参画分担機関における同意文書を2019年度に研究班が改定した同意書と比較する等の調査を行い、結果を皆で議論した。その結果、宿主ゲノムとHIVゲノムの二次利用に際しては、共にHIV感染者に対するスティグマと差別に十分な配慮が必要であり、十分な合意のない段階での公開・共有はできないという結論に至った。特にHIVゲノムに関して国際的に全配列の目的外の共有を避ける方向に向かっていることが明らかとなったことで、国内でも議論を活発化していかなければならない。MGeNDの扱っている集計データは、伝播クラスタの同定の危惧が低い。しかし、配列全体が公開され、それが特定の集団と関連付けられる事態は避けなければならない。伝播クラスタの把握の公衆衛生上の意義は大きい。これらの点について、今後当事者との十分な話し合いを行っていく必要がある。本研究事業において構築されたHIV感染症の幅広い分野の研究者間の情報共有システムは、こうした活動にも活用できる。[椎野禎一郎、加納和彦]

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)、清水友紀、内藤万佐子(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、セキュリティに係る毎週の点検等、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、研究支援係を通じて戸山と村山の各事業所の線源固有情報等を6月に電子登録した。[楊光、本田尚子、作道隆、藤本浩文、深澤秀輔、前山順一、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)、内藤万佐子(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

令和2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 16件、修正 12件、改訂 75件、廃止 7件、有効SOP数 584通。検査SOP:新規作成2件、修正 1件、改訂 3件、廃止 0件、有効SOP数 56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、木所稔、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、木所稔、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。令和2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19通であった。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、木所稔、石井孝司;草柳秀雄(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;草柳秀雄(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(令和2年8月26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、板村繁之、木所稔、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、厚労省監麻課とPMDAによるOMCLの認定に係る調査のための事前資料を作成して、厚労省監麻課に提出した。新型コロナウイルス感染症の感染状況を考慮して、調査の実施は次年度(令和3年度)に延期された。[石井孝司、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔;草柳秀雄、安藤逸人(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･検査教育研修への協力

検定検査教育小委員会による研修の実施に協力し、また新規者向け講習会において講師を務めた。また、研修の参加者名簿の整備、参加者への受講証の発行、研修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、木所稔、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)第一階層文書の整備

検定検査品質保証委員会が「検定･検査業務の品質マネジメント指針」第17版案及び第18版案を作成するのに協力し、それぞれ令和2年9月1日、令和3年2月1日に一部改正された。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔、石井孝司]

2)第二階層文書の整備

検定検査品質保証委員会が「検定･検査に係る教育訓練に関する手順書」第4版案、「検定･検査に係る苦情等の処理に関する手順書」第3版案、「SLP様式作成及び変更に係る手順書」第4版案、「SLP様式作成指針」第3版案及び「承認書等取扱規程」第5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、板村繁之、木所稔、石井孝司]

10. 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]

11. 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良を進めた。さらに、新型コロナワクチンの導入に備えて厚生労働省、PMDAと打合せ等を行った。[落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔、岡村望、石井孝司;多屋馨子、新井智、森野紗衣子、新橋玲子、高梨さやか、鈴木基(感染症疫学センター)]

12. 検定･検査業務必携の改定

平成20年3月以降、長らく改定がなされていなかった検定･検査業務必携について、関係する法規の改定や科学的知見の蓄積に伴う更新などを中心にワーキンググループを組織して、改定を進めて行くことになった。所内の執筆者の協力を得て本年度中に、大部分の改定原稿を入手した。引き続き編集作業を進めている。[板村繁之、内藤誠之郎、藤田賢太郎、落合雅樹、石井孝司;駒瀬勝啓(感染症疫学センター)、柊元巌(病原体ゲノム解析研究センター)]

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。[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]

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;草柳秀雄、田中豊(総務部)]

信頼性保証に係る国際協力関係業務

I. 国際会議参加

1．第71回WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議(WHO ECBS;令和2年8月、Web)[石井孝司、落合雅樹;久枝一(寄生動物部)、高橋宜聖(免疫部)]

2. 第5回 WPR-NCLワークショップ韓国医薬品食品安全庁主催(令和2年9月、Web)[落合雅樹;野島清子(血液･安全性研究部)]

3．WHO会議 for development of the Performance Evaluation Framework of WHO Listed Authorities(WLA-PEF;令和2年10月-12月、Web)[石井孝司、落合雅樹]

4．第72回WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議(WHO ECBS;令和2年10月、Web)[石井孝司、落合雅樹;浜口功(血液･安全性研究部)]

5. WHO生物学的製剤の国立試験検査機関ネットワークミーティング:Covid-19 ワクチン(WHO-NNB;令和2年12月、Web)[石井孝司、内藤誠之郎]

6．第73回WHO 生物学的製剤の標準化に関する専門家会議(WHO ECBS;令和2年12月、Web)[石井孝司、落合雅樹]

情報ネットワーク管理業務

I. 日常業務

現在、NIH-NETでは以下の業務が行われている。[椎野禎一郎、加納和彦;髙橋信彦、髙橋園香、氏原正敏(総務部)]

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たが、令和2年2月の侵入事案を受けて、これを停止した。

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. 研究者への外部Web接続環境の提供

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、新規登録者及び継続者向け講習を実施している。新規登録者への講習会は、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 または講習会によって行っている。

II. 今年度の活動内容

令和2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。[椎野禎一郎、加納和彦;髙橋信彦、髙橋園香、氏原正敏(総務部)]

1. テレワーク環境整備のため、限られたユーザのみ利用していた既存の VPN サービスを、多くの職員が利用できるようにした。

2. ICT(Information and Communication Technology)の利活用を推進するため、Microsoft Office365 を試験的に導入し、本格導入に向けて、活用方法の検討及び導入における問題点の洗い出しを開始した。

3. 前年度に構築した Moodle を基盤とした継続者向け e-learning システムを用い、継続者向けの情報セキュリティ講習を実施した。

4. 標的型メール攻撃訓練を実施した。

III. 主なシステム障害とセキュリティインシデント

1. 20/05/02 サーバスイッチ・外部向けネットワーク機器群への UPS 故障

同日午前5:00に、戸山庁舎管理棟2F サーバ区画・スイッチラックに置かれ、スイッチおよびファイアウォールに電源を供給している UPS が機器障害のため停止した。このため、NIH-NET 全域ですべての通信が途絶した。9:55にバックアップの UPS に電源系統を交換することで復旧。理由は、UPS の経年劣化とみられるが、次期システムではよりモニタリングしやすい機器を調達することが求められる。[椎野禎一郎、加納和彦;髙橋信彦、髙橋園香、氏原正敏(総務部)]

その他

I. 放射線管理に係る事項

1. 初めて管理者になって1年以内、以降3年に1度の受講が義務づけられているセキュリティのための定期講習（令和2年8月）を受講した。[藤本浩文、石井孝司]

2. 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（令和2年12月17日）を開催し、各施設が抱える問題点、今後の計画を共有した。[楊光、本田尚子、作道隆、藤本浩文、深澤秀輔、前山順一、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)、内藤万佐子(総務部)]

3. 戸山庁舎の安全連絡協議会(第57回令和2年9月16日、第58回令和3年3月10日)の放射線管理関係の資料を作成したが、協議会は中止となり、委員への資料配布のみとなった。[石井孝司、藤本浩文、作道隆、本田尚子、楊光、深澤秀輔、前山順一、土田耕三;内藤万佐子(総務部)]

4. ハンセン病研究センターの安全連絡協議会に出席し、委員に放射線管理の状況を説明した。[藤本浩文;福冨康夫、塚本裕美子、大舘幸江(ハンセン病研究センター)、内藤万佐子(総務部)]

5. 村山庁舎施設運営連絡協議会（第21回令和2年8月5日、第22回令和3年3月23日）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。[石井孝司]

6. 令和元年度に行われた原子力規制庁による戸山庁舎および村山庁舎の立入検査および所の組織再編に伴う部門名の改称を踏まえ、放射能管理に係る所の諸規程や手順書を改訂した。[楊光、本田尚子、作道隆、藤本浩文、深澤秀輔、前山順一、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)、内藤万佐子(総務部)]

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、4機関(国外:2機関、国内:2 機関)であった。[落合雅樹、藤田賢太郎;富樫祐子(総務部)、内藤誠之郎、内田孝子、堀内善信;脇田隆字(所長)]

III. 新型コロナウイルスの対応に係る事項

1. 検査対応に関して、一部の検査室の整備を行った。また、検査作業の一部を担当した。[作道隆、楊光、本田尚子、藤本浩文、深澤秀輔、石井孝司;加藤孝宣(ウイルス第二部)、草川茂(エイズ研究センター)、小泉信夫(細菌第一部)、野尻直未、花岡希、藤本嗣人(感染症危機管理研究センター)、大西真(副所長)]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Kawashima T, Nomura S, Tanoue Y, Yoneoka D, Eguchi A, Chris F. S. Ng, Matsuura K, Shi S, Makiyama K, Uryu S, Kawamura Y, Takayanagi S, Stuart Gilmour, Miyata H, Sunagawa T, Takahashi T, Tsuchihashi Y, Kobayashi Y, Arima Y, Kanou K, Suzuki M, and Hashizume M. Excess All-Cause Deaths during Coronavirus Disease Pandemic, Japan, January–May 2020, Emerg Infect Dis. 27(3):789-795. doi: 10.3201/eid2703.203925. (2021)
2) Shiino T, Hachiya A, Hattori J, Sugiura W, Yoshimura K. Nation-wide viral sequence analysis of HIV-1 subtype B epidemic in 2003-2012 revealed a contribution of men who have sex with men to the transmission cluster formation and growth in Japan. Front. Reprod. Health doi: 10.3389/frph.2020.531212. (2020)
3) Maeyama J., Iho S., Suzuki F., Hayashi D., Yamamoto T., Yamazaki T., Goto Y., Ozeki Y., Matsumoto S. and Yamamoto S. Evaluation of a booster tuberculosis vaccine containing mycobacterial DNA-binding protein 1 and CpG oligodeoxynucleotide G9.1 using a Guinea pig model that elicits immunity to Bacillus Calmette-Guérin. Tuberculosis 128: 102067 (2021)
4) Taniguchi K., Hayashi D., Yasuda N., Nakayama M., Yazawa K., Ogawa S., Miyatake Y., Suda S., Tomita H., Tokuda M., Itoh S., Maeyama J., Ohara N., Yamamoto S., Hida S., Onozaki K., Takii T. Comparative Study of the Susceptibility to Oxidative Stress between Two Types of Mycobacterium bovis BCG Tokyo 172 mSphere 6: e00111-21 (2021)
5) Maeyama J., Kurata-Iesato Y., Isaka M., Komiya T., Sakurai S. Induction of antibody responses in mice immunized intranasally with Type I interferon as adjuvant and synergistic effect of chitosan. Microbiol Immunol. 64: 610-619 (2020)
6) Utsumi T., Lusida M.I., Dinana Z., Wahyuni R. M., Soegijanto S., Soetjipto, Athiyyah A. F., Sudarmo S. M., Ranuh R. G., Darma A., Juniastuti, Yamani L., N., Doan Y. H., Shimizu H., Ishii K., Matsui C., Deng L., Abe T., Katayama K. and Shoji I. Molecular epidemiology and genetic diversity of Norovirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in East Java, Indonesia in 2015-2019. Infection, Genetics and Evolution 88: 104703 (2021)

2. 和文発表

1) 木所 稔『予防接種パーフェクトガイド』IV.各ワクチンのパーフェクトガイド、②任意接種、34) おたふくかぜワクチン、小児科診療、83（11）特大号、診断と治療社、1631-1635（2020）
2) 板村繁之 インフルエンザ流行期に新型コロナウイルスはどのように流行するのか？ 現代化学、596:26-29(2020)
3) 小川孝、櫻井陽、吉田智志、松本潤、紀平哲也、松井美紀子、河村美尋、河内健吾、福島慎二、宮田一平、清水英明、板村繁之、尾内一信、濱田篤郎、谷憲三朗、岡部信彦、山口照英 感染症の予防を目的とした組換えウイルスワクチンの開発に関する考え方。医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、51:658-668(2020)

II. 学 会 発 表

1. 国際学会等

1) Shiino T, Hachiya A, Nagashima, Sadamasu K, Otani M, Koga M, Kamisato A, Yoshimura K, Kikuchi T on behalf of the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network.

Temporal analysis of HIV sequence among the Japanese population revealed transmission clusters that do not have access to the successful preventive measures which were implemented in Japan. 23nd International AIDS Conference, July 6-10, 2020, San Francisco, USA

2) Kurotani KA, Prince KP, Mildred A. Adusei-Poku, Matsuoka S, Nicholas I. Nii-Trebi, Evelyn Yayra Bonney, Sampson Badu Ofori, William Kwabena Ampofo, Ishikawa K, Matano T, Shiino T. Phylogeny-based transmission dynamics of HLA-associated amino acid variants in HIV-1 infected individuals in Ghana. 23nd International AIDS Conference, July 6-10, 2020, San Francisco, USA

3) Otani M, Shiino T, Hachiya A, Yoshimura, Kikuchi T, Matano T, on behalf of the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. The Changing Transmission Dynamics of HIV-1 CRF01_AE in Japan: Increased presence of Men who have Sex with Men (MSM). 4th HIV Research for Prevention Conference (HIVR4P). 27. Jan – 4. Feb 2021. Virtual.

2. 国内学会等

1) 椎野禎一郎 基礎分野におけるエイズ予防指針の課題:HIV ゲノム･ヒトゲノムの研究の HIV 予防への応用の有用性とその課題. 第 34 回日本エイズ学会学術集会総会. 2020 年 11 月. 千葉

2) 椎野禎一郎、中村麻子、南 留美、蜂谷敦子、大谷眞智子、吉村和久、菊地正、日本薬剤耐性 HIV 調査研究グループ. 国内伝播クラスタ検索プログラム"SPHNCS"による 2017-18 シーズンのサブタイプ B の流行状況. 第 34 回日本エイズ学会学術集会総会. 2020 年 11 月. 千葉

3) 石井孝司 ワクチンの品質管理における動物実験:3R の応用 第 22 回日本動物実験代替法学会 2020 年 11 月 Web 開催

15. 安全実験管理部

部長　花木 賢一

概 要

安全実験管理部はバイオセーフティ管理室と動物管理室を統合して、令和 2 年 4 月 1 日に 1 部 2 室体制で発足した。部長には動物管理室長であった花木賢一が就任し、バイオセーフティ管理室の流れを汲む第一室の室長には河合康洋、動物管理室の流れを汲む第二室の室長には滝本一広がそれぞれ就任した。その他の部員は、第一室所属として高木弘隆、伊木繁雄、原田俊彦、第二室所属として田原口元子、新倉綾、結城明香、令和 3 年 1 月 1 日に採用された米満研三である。

第一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、病原体等の取扱届・申請や受入・分与等に関わる業務、3 庁舎に設置されている封じ込め（BSL-3）実験室と村山庁舎に設置されている高度封じ込め（BSL-4）実験室を含む BSL-4 施設等の管理運営を担っている。その他、病原体等の安全管理に関わるバイオセーフティ・バイオセキュリティに関する研究、教育訓練、研修並びに情報収集と提供を行っている。今年度の病原体等に関する話題では、エボラウイルス、マールブルグウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、ラッサウイルス、南米出血熱ウイルスを 9 月に輸入して所持したこと。また、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）が令和 2 年 1 月 28 日に期限付（令和 3 年 1 月末まで、その後 1 年間延長。）で指定感染症（二類相当）へ、3 月 26 日に新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）が四種病原体へそれぞれ指定されたことである。その他の話題として、COVID-19 のパンデミックにより消毒薬不足が社会問題となった。そのことを解消する目的として、独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）が経済産業省の依頼により SARS-CoV-2 に対する消毒方法の有効性評価に関する検討委員会を設置した。部長は委員として参画し、第一室は多くの評価試験の結果を提供した。

第二室は実験動物の飼育と健康管理、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。実験動物の飼育と健康管理では、動物実験施設の管理運営と実験の障害になるような特に指定された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、実験動物学に関わる研究、動物モデルを用いたヒトの感染症の研究等を行った。

広報に関わることとして、戸山庁舎とハンセン病研究センターで開催される安全連絡協議会において、バイオセーフティに関する取り組みの説明と病原体等の取扱い状況、並びに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説明を行った（村山庁舎で開催される施設運営連絡協議会では照会があった場合のみ）。その他、感染研の視察者・見学者へ BSL-3 実験室または BSL-4 施設、動物実験施設の説明や案内を行った。

人事では令和 2 年 3 月 31 日付で棚林清（バイオセーフティ管理室長）と網康至（動物管理室主任研究官）が定年退官、倉文明が再任用職員としての任期が満了となり、同年 4 月 1 日付で棚林清、澤邉京子が第一室、網康至、岩城正昭、木村昌信、持田恵子が第二室へ再任用職員として配属された。その他、同年 4 月 1 日付で渡邉則幸が非常勤研究員（第一室）として採用された。

業 績

調査・研究

Ⅰ. SARS-CoV-2 に関する研究

1. 新型コロナウイルスの消毒におけるエタノール製剤代替品に関する研究

SARS-CoV-2 の感染拡大に伴い、最も汎用されるエタノール製剤の需給バランスが崩れた。そこで、経済産業省タスクフォースの一環として、エタノール製剤の代替資材による当該ウイルスの不活性化効果の検証を行った。そして、2003 年の SARS-CoV 流行対応時のノウハウを活用するとともに新規評価方法も確立し、より幅広い代替資材の検証を短期間で完了した。その結果は NITE が公表した「新型コロナウイルスに対する代替消毒方法の有効性評価（最終報告）」（令和 2 年 6 月 29 日）に反映された。［髙木弘隆、花木賢一］

2. SARS-CoV-2 に汚染されたリネン類等を介した COVID-19 の感染リスク評価

（1）リネン類等からの SARS-CoV-2 の検出

COVID-19 患者の内、無症状の場合には宿泊療養施設、有症状（軽症）の場合には病院へ入院措置が執られているが、それら患者が使用したリネン類を介した接触または飛沫感染による伝播が危惧されている。そこで、（a）患者の使用したリネン類のウイルス汚染状況、（b）リネン類の交換作業者

等のウイルス曝露リスクを評価するための作業後の個人防護具（PPE）と室内エアーサンプルのウイルス汚染状況をリアルタイム RT-PCR により解析した。（a）は一部にウイルス RNA が検出されたが、ウイルス分離はできなかった。（b）はウイルス RNA の検出例が少なく、ウイルス分離もできなかった。以上の結果を踏まえ、軽症までの COVID-19 患者の使用したリネン類の取扱者は、一般的な PPE を装着することで十分に感染防護できると考えられた。［新倉綾、高木弘隆、岩城正昭、持田恵子、花木賢一；黒須一見、山岸拓也（薬剤耐性研究センター）］

（2） 布・革上の SARS-CoV-2 生残性に関する研究

布や革等の衣類素材に SARS-CoV-2 を接種し、ウイルスがどの程度の期間感染性を有するかを検討した。各種素材表面に 10^3 $TCID_{50}$/5μL のウイルスを接種後、20℃・40%RH に静置した。指定時間を経過した素材から細胞用培地でウイルスを回収し、感受性細胞に接種して細胞変性効果の有無から感染性ウイルスの存在を判定した。その結果、ウイルス液が浸透した素材は接種直後から感染性ウイルスが検出されない傾向を認めた。一方、撥水した素材は感染性ウイルスが検出される傾向があり、最も長い例では接種後 9 日後も感染性を認めた。感染性ウイルスが検出されなかった素材は回収液中のウイルス RNA 量も少なかったことから、ウイルス自体が素材に吸着している可能性が考えられた。［原田俊彦、花木賢一；黒須一見、山岸拓也（薬剤耐性研究センター）］

Ⅱ. バイオリスク管理に関する研究

1. 臨床検体中の病原体不活化条件の検討

今年度は SARS-CoV-2 の放射線による不活化条件、及びサンプリングしたスワブ等を運搬する際に使用するウイルス輸送液 (VTM) 中の同ウイルスの不活化条件について検討した。コバルト 60 を用いたガンマ線照射では、90%ヒト血清中の 10^7 $TCID_{50}$/mL のウイルスを検出限界未満とするために 10 kGy の線量が必要であった。2%ウシ胎仔血清含有細胞培地中のウイルスも概ね同程度の線量で不活化できたことから、ガンマ線は紫外線と異なり溶液中の蛋白質等の夾雑物による阻害を受けにくいという利点があることが分かった。熱処理では 90% VTM 中の SARS-CoV-2 を不活化するため、90%ヒト血清中に比べて長時間の処理が必要であることが分かり、加熱処理する場合は溶媒に留意する必要があることが示された。［原田俊彦；松山州徳（ウイルス第三部）；福士秀悦（ウイルス第一部）；藤本浩文、石井孝司（品質保証・管理部）］

2. 高病原性病原体取扱いに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）』と『気密性能』、及びこれらの評価・検証方法に関して、我が国では規格化されたものが無い。今年度はこれまでの調査結果及び実験結果をまとめ、提言書として日本バイオセーフティ学会誌に投稿した。本稿は封じ込め施設の情報収集・整理と実証実験方法の例示により、設計者、施工者、利用者、特にこれまで実験室建設に携わったことのない者にとって参考になることが期待される。［原田俊彦、河合康洋；福士秀悦（ウイルス第一部）；篠原克明（信州大学）］

（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

実験室内の除染に用いられるホルムアルデヒドガスの代替として二酸化塩素ガス（CD）が注目されている。今年度はこれまでの調査結果及び実験結果をまとめ、提言書として日本バイオセーフティ学会誌に投稿した。特に留意すべき点として、CD 燻蒸を行うには実験室内の部材に注意が必要であること、実験室を設計する場合にはそのことに留意して部材を選定すること、燻蒸時には実験室内を消灯すべきであるが、トラブル発生時に室内の様子を確認する手段を用意しておくこと、といったことが挙げられた。これらは CD 燻蒸実施時の参考になることが期待される。［原田俊彦、河合康洋；福士秀悦（ウイルス第一部）；篠原克明（信州大学）］

（3） 実験用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

ア. 実験用サル感染実験におけるリスク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

イ. 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等の策定

今年度はこれまでの調査結果及び実験結果をまとめ、提言書として日本バイオセーフティ学会誌に投稿した。［河合康洋、原田俊彦；福士秀悦（ウイルス第一部）；篠原克明（信州大学）］

（4） 個人防護具の再利用に関する研究

ア. N95 マスク、サージカルマスク及び一般向け不織布マスクの再利用を想定した除染方法に関する検討

COVID-19 のパンデミックにより世界的にマスク不足となった。そこで、SARS-CoV-2 に対する不活化効果が確認されている物理的・化学的消毒方法が N95 マスク、サージカルマスク及び一般向け不織布マスクへ応用可能かどうか、微粒子捕集効率により検証した。その結果、すべてのマスクの捕集効率に影響を及ぼさず、フィルタ繊維内部まで消毒可能と評価されたのは湿熱及び乾熱処理であった。［伊木繁雄；（株）

アルバーネット;興研(株);認定 NPO バイオメディカルサイエンス研究会]

イ. 再利用を目的とした新たな個人防護具(PPE)の消毒方法の研究

COVID-19 のパンデミックにより PPE の不足が問題となった。そこで、再利用を目的とした PPE の消毒方法として、過酸化水素蒸気とその他候補物資について不活化条件(濃度、処理時間等)を検討した。また、製造業者毎に素材、形状が異なるため、複数の製品を用いて不活化条件、及び処理後の残留について検証した。その結果、検討した方法によってマスクの除染が可能であること、マスクの種類によって処理に用いた候補物資の残留時間が異なることが明らかとなった。[河合康洋、原田俊彦、花木賢一]

Ⅲ. 実験動物学に関わる研究

1. 体温に基づく人道的エンドポイント設定に関する研究

マウスでは肛門周囲温度あるいは腹部温度と直腸温度の間に非常に強い正の相関が認められた。そこで、生物学的製剤の検定において体温の変化を人道的エンドポイントの指標にし得るか検討した。ボツリヌス抗毒素力価試験では、毒力が強く現れる群のすべての個体で死亡の前日に顕著な体温低下がみられた。毒力が中程度に現れる群では、死亡した個体では前日に体温の顕著な低下を認めたが、体温低下にかかわらず生存する個体が半数存在した。一方、破傷風トキソイド力価試験とジフテリア抗素力価試験では、死亡に先立つ体温変化は認められなかった。[田原口元子、岩城正昭、花木賢一;妹尾充敏(細菌第二部)]

2. 実験用カニクイザルにおけるコリネバクテリウム・ウルセランス(*Corynebacterium ulcerans*)保菌状況の調査

C. ulcerans は動物由来感染症の原因菌であり、ジフテリア菌(*C. diphtheriae*)に近縁である。*C. ulcerans* の一部の菌株はジフテリア毒素を産生し、また、ジフテリアに酷似した臨床症状を誘起する。そこで、カニクイザルが *C. ulcerans* を保菌しているかどうかを調査した。ベトナムとカンボジアから輸入されたカニクイザル 39 頭について、咽頭スワブからの菌分離を試みた結果、6 頭から *C. ulcerans* が分離され、すべてジフテリア毒素産生能を持たない菌株であった。また、ベトナム由来サルから分離された菌株とカンボジア由来サルから分離された菌株は異なる分子タイプ(MLST 法)に属することが示唆された。[岩城正昭、結城明香、米満研三、網康至、須崎百合子;妹尾充敏(細菌第二部)]

Ⅳ. 動物モデルを用いた研究

1. ムンプスウイルス感染モデル動物の開発と病態解析

現行ワクチン株である鳥居株を限界希釈法によりウイルスクローニングを行い得られた株のうち、マーモセットを用いた試験により神経病原性が明らかに低い新たな新規ワクチン候補株(T/mj 株)について、5頭のカニクイザルに皮下接種して免疫原性を評価すると同時に、血清アミラーゼ、リパーゼの変動を解析して病原性の評価を行った。オリジナル鳥居株、新規ワクチン候補株(T-neo 株)は、5頭中1頭に血清中アミラーゼの有意な上昇が観察されたのに対して、T/mj 株では観察されなかった。この結果から、T/mj 株はオリジナル鳥居株、新規ワクチン候補株(T-neo)の2株より、唾液腺での病原性が低いことが示唆された。[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

(1) 経口感染モデルを用いた研究

経口感染する肝炎ウイルスがどのように腸管バリアを乗り越えて標的臓器である肝臓に到達するか全く解っていない。そこで、腸管におけるウイルス複製や侵入様式、及びそれらを制御する自然免疫応答を明らかにすることを目的として、昨年度は HAV に経口感染するマウスモデルを確立した。今年度はマウスモデルに HAV を経口投与後、種々の臓器におけるウイルス量を経時的に調べた。その結果、肝臓でのウイルス複製の開始前からピーク時までの観察期間中に腸管でウイルス増殖は検出されず、HAV は腸管で複製を伴わずに侵入することが示唆された。現在、侵入機構及び侵入時の腸管での宿主免疫応答について解析を行っている。[結城明香、西郷明子、田原口元子、花木賢一;松田麻未、鄭シン、鈴木亮介、村松正道(ウイルス第二部)]

(2) 新規治療薬に関する研究

A 型肝炎は大抵の場合は保存的加療により自然軽快するため特異的治療薬がない。そこで、新規治療薬の開発を目指し、多方面からアプローチを行っている。

ア. 治療候補薬を探索するために行った細胞培養実験において強力な抗 HAV 効果がみられた mTOR 阻害剤について、マウスモデルを用いて生体レベルで治療効果を評価している。昨年度の研究で感染マウスにおいて抗ウイルス効果が確認された A 剤に続き、今年度は A 剤と標的分子シグナルを共有する B 剤について評価を実施した。その結果、ウイルス複製抑制や肝炎の軽減は認められなかった。この2剤間の差異は、抗ウイルスメカニズムの詳細な解析とより強力な治療薬の開発に役立つと考えられる。

イ. A 型肝炎の新しい治療法として開発中のヒトモノクローナル抗体について、マウスモデルを用いて効果を検証している。

今年度は候補抗体を評価するための予備実験を行った。［結城明香、西郷明子、花木賢一；松田麻未、鄭シン、鈴木亮介、村松正道（ウイルス第二部）；寺原和孝、高橋宜聖（免疫部）；山根大典（東京都医学総合研究所）］

Ⅴ．その他の研究

1. ウイルスに関する研究

（1）ヒトサポウイルスの培養に関する研究

ヒト由来細胞によるヒトサポウイルス培養系の検討により、十二指腸由来細胞と胆汁酸を用いることにより genotype GI.1 と GII.3 が効率よく増殖することを見出し、継代培養によるウイルスパネルの作成も可能となった。物理化学的不活化について、糞便由来サンプルの加熱では特に GII.3 の耐熱性が顕著であった。UV-C 照射では糞便由来ウイルスと培養ウイルスで比較すると、糞便由来ウイルスでは 5.4J/cm^2 照射でも不活化しなかった。［高木弘隆；岡智一郎、下池貴志（ウイルス第二部）；片岡紀代（感染病理部）、野田衛（国立医薬品食品衛生研究所）；斎藤博之（秋田県保健環境センター）；小林孝行（福岡県保健環境研究所）；高橋知子（岩手県環境保健研究センター）；辰巳智香（島根県保健環境科学研究所）］

（2）ヒトパレコウイルスの培養と受容体に関する研究

ヒトサポウイルス培養法の検討過程で、糞便検体に混在していた 3 型ヒトパレコウイルス（hPeV）が増殖分離された。細胞変性効果も明瞭で、到達感染力価も 10^8/50 μ L を超えた。同様の方法で生活排水サンプル（RT-PCR では hPeV 陰性）から 4 型 hPeV の分離にも成功した。特に 3 型 hPeV については受容体が明らかではなかったため、CRISPR/Cas9 ゲノムワイドノックアウトレンチウイルスライブラリーを用いた受容体の探索を実施し、有力な候補を得た。［高木弘隆；岡智一郎(ウイルス第二部)；斎藤博之（秋田県保健環境センター）］

（3）生活排水のウイルス動態に関する研究

2 年に亘る生活排水中のウイルス検出とその動態調査を完了するにあたり、2020 年 3 月から 10 月までの緊急事態宣言期間と人流によるウイルス動態を考察したところ、人流抑制とともに全体的なウイルス検出も減少し、特に前年度までほぼレギュラーで検出されていたアストロウイルスが不検出となった。しかし、宣言解除とともに検出は増加傾向に転じたため、生活排水中のウイルス動態は人流抑制をよく反映することが改めて示唆された。［高木弘隆；岡智一郎（ウイルス第二部）；坂上亜希恵、植木洋（宮城県保健環境センター）］

（4）生活排水から分離され哺乳類オルソレオウイルス（MRV）に関する研究

生活排水サンプルからのウイルス分離を試行する過程で、VeroE6/TMRPSS2 細胞と VeroE6 細胞を用いた培養により 2 つのサンプルからウイルス様粒子が電顕観察で確認された。次世代シーケンス解析を行った結果、一部の分節にリアソータントが確認される 2 つの MRV が得られた。両者では特にヒト腸管由来細胞への感受性が大きく異なっており、今後、病原性解析などへの展開が期待される。［高木弘隆；喜多村晃一、岡智一郎（ウイルス第二部）、片岡紀代（感染病理部）、坂上亜希恵、植木洋（宮城県保健環境センター）］

2. マダニ媒介性・動物由来感染症に関する研究

感染リスク評価には、科学的調査と研究データの集積が必要である。離島は独自の自然環境をもち、個別の評価が必要であるが、十分な解析が実施されていないことが多い。利尻島の野ネズミ類からハバロフスクで報告のある *Candidatus* E. khabarensis が日本で初めて検出され、*Babesia microti* US-lineage も道東以外では初めて検出された。*Borrelia* は陰性だったが、2018 年の調査では、*Ixodes persulcatus*、*I. pavlovskyi* からそれぞれ *Borrelia bavariensis* と *Bo. garinii* が検出されていることから、今後も調査・解析を重ねる必要がある。［新倉（座本）綾、花木賢一；安藤秀二（ウイルス第一部）；川端寛樹、大久保（佐藤） 梢（細菌第一部）；佐藤雅彦（利尻町立博物館）］

品質管理に関する業務

Ⅰ．実験動物関連

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（座本）綾、田原口元子、結城明香、須崎百合子、花木賢一］

国際協力関係業務

Ⅰ．バイオセーフティ関連

1. ベトナム社会主義共和国：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専門家として参加した。COVID-19 の流行に伴いベトナム国を訪れることはできなかったが、ホーチミン・パスツール研究所における新規 BSL-3 実験室への改修工事に関するオンライン会議に参加し、実験室レイアウト及び必要な施設・設備要件について助言を行った。その結果、改修の仕様書が完成し、同国保健省に提出して審査を受けているところである。[河合康洋、原田俊彦、花木賢一]

2. コンゴ民主共和国:国立生物医学研究所拡充計画

コンゴ民主共和国にて感染症対策を担う唯一の国立機関である国立生物医学研究所(National Institute for Research and Biomedical: INRB)の検査、研究及び研修実施のために新設された BSL-3 検査施設の管理・運営について技術的な支援を行なっている。今年度は同施設で管理・運営を担う人材を選考するための事前アンケートを実施した。今後はこのアンケートを基に人選を行う予定である。また、実際に施設の管理・運営に携わる人を対象に本邦研修を行う予定である。[河合康洋、原田俊彦、花木賢一]

3. SARS-CoV-2 の国際的共有とバイオバンクへの寄託

SARS-CoV-2 武漢株、Alpha、Beta 及び Gamma 株を海外の研究機関 12 か所に分与した。また、European Virus Archive-GLOBAL(EVAg)及び American Type Culture Collection(ATCC)BEI Resources へ Gamma 株を寄託した。[河合康洋、伊木繁雄、花木賢一;伊藤(高山)睦代、佐藤正明、河原円香、福士秀悦、西條政幸(ウイルス第一部)]

研修業務

Ⅰ. バイオセーフティ・バイオリスク管理関係

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(村松正道ウイルス第二部長)はバイオリスク管理の考え方についての講義、部長は安全管理規程等の規則についての講義、また、第一室員はバイオセーフティの実践についての講義及び PPE の脱着と手洗い方法についてデモンストレーション並びに実習を担当した(表 1)。今年度は 108 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、2 回開催して 2 名の受講者があった(表 3)。

表 1 バイオリスク管理講習会の内容、講師

講義内容	講師
基本的なバイオリスクの考え方	村松正道 (ウイルス第二部)
病原体等安全管理規程及び規則等、実験室安全管理の実際	花木賢一
組換え生物等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	河合康洋
バイオセーフティの実践 (病原体等安全取扱の基本)	伊木繁雄
PPE(デモンストレーション)他	原田、河合、伊木
バイオセーフティの実践 (安全キャビネットの使い方)	伊木繁雄
バイオセーフティの実践 (病原体等の輸送について)	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 令和2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月中止	―
6月中止	―
8月4日	53
10月19日	21
12 月 1 日	12
2月2日	22
計	108

表 3 令和2年度外国人対象講習会受講者数

実施日	受講者数
7月14日	1
3月3日	1
計	2

2. 特定病原体等及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・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、運搬方法及び立入検査の内容等について講習会を開催した。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として、病原体の所持規制等に関する講習会を併せて開催した。[河合康洋]

3. 特別管理区域講習会

各庁舎の施設保守管理と警備の担当者を対象として、バイオセーフティ・バイオセキュリティ、緊急時の対応等についての講習・実習を庁舎毎に実施した。[河合康洋、花木賢一]

4. 各種所内での研修での講義・実習

都道府県地方衛生研究所職員等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、安全キャビネットの使い方、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。[河合康洋、伊木繁雄]

5. その他の研修

東京理科大学の依頼による 2020 年度の病原性微生物等安全管理のための講習会は、COVID-19 の流行により対面形式による講義を断念し、2019 年度講習会の録画を視聴することにより実施した。[伊木繁雄]

Ⅱ. 動物実験関係

1. 動物実験講習会

動物実験委員会(委員長:阿戸学感染制御部長)が主催する動物実験講習会において、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。令和 2 年度新規講習受講者は 65 名(外国人 1 名を含む)、DVD による継続講習受講者は 9 名であった(表 4)。また、新規動物実験計画書の承認は 450 件(前年度からの継続分を含む)であった。[田原口元子、木村昌信、滝本一広、花木賢一]

2. 施設利用講習会

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(表4)。令和3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 272 人、村山庁舎 311 人、ハンセン病研究センター42 人である。

表 4 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 16,20 日	DVD				2
4 月 22 日	村山		1		
4 月 23 日	戸山	7			10
5 月 7 日	DVD				1
5 月 21 日	戸山	(3)*			
6 月 8 日	戸山	5			7
6 月 12,17 日	DVD				2
6 月 16 日	*戸山*	*1*			*1*
6 月 30 日	村山		3		
7 月 2,10 日	DVD				2
7 月 15 日	村山		3		
8 月 3 日	戸山	10			12
8 月 3 日	DVD				1
8 月 6 日	村山		3		
10 月 7 日	ハンセン			1	
10 月 19 日	村山		2		
10 月 23 日	戸山	8			11
11 月 2 日	村山		1		
11 月 6 日	ハンセン			4	
1 月 4 日	村山				1
1 月 6 日	ハンセン			4	
1 月 27 日	ハンセン			1	
1 月 28 日	戸山	10			13
2 月 1 日	戸山	8			10
2 月 2 日	DVD				1
2 月 17 日	村山		3		
3 月 26 日	ハンセン			2	
合計		49	16	12	74

(斜体文字は外国人対象講習会;開催場所欄の「DVD」はメディア貸出による自習;動物実験欄の下線付き数字は継続講習会);＊4 月 23 日施設利用(戸山)受講者のうち実地講習のみ受講

3. 特別管理区域講習会

各庁舎の施設保守管理と警備の担当者を対象として、動物実験施設管理や緊急時の対応等についての講義と実地見学を庁舎毎に実施した。[滝本一広、網康至、花木賢一;武田哲(感染制御部)]

4. その他の研修

例年、東京大学農学部獣医学専修 3 年生に対して戸山庁舎動物実験施設を例とする施設管理の概説と見学を行っている。しかし、今年度の実施日が新型コロナウイルス対策の特別措置法に基づく緊急事態宣言下であったことから、オンラインによる講義へ変更して実施した。[滝本一広、花木賢一]

その他

Ⅰ. バイオセーフティ・バイオリスク管理関係

1. BSL-3, 4 実験室の管理・運営及び利用状況

3 庁舎に設置されている BSL-3 実験室並びに村山庁舎に設置されている BSL-4 施設・実験室の管理・運営を第一室員と非常勤職員で担当した。具体的には、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及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。BSL-4 施設については、利用者及び業務管理課と共に曝露事故対応訓練を行った。BSL-4 実験室内で針刺し事故が発生したとの想定の下、実際に曝露者を国立国際医療研究センター病院へ公用車にて搬送し、スキームの確認と問題点の洗い出し等を行った。また、施設技術者と警備担当者に対する講習と施設入室者に対する講習指導を行った。その他、関連する事項として 3 庁舎の BSL-2 実験室に設置されている安全キャビネットの点検日程の調整と確認を行った。［原田俊彦、伊木繁雄、高木弘隆、澤邉京子、棚林清、山本明彦、河合康洋、花木賢一］

2. BSL-3, 4 実験室の管理・運営及び利用状況

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、その他として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に関する問い合わせ、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、BSL-2 及び BSL-3 実験室の管理運営、病原体の消毒方法並びにバイオリスク管理等についての問い合わせが総務部調整課研究支援係へ寄せられ、それらに対する回答、情報提供を行った。［高木弘隆、伊木繁雄、原田俊彦、棚林清、河合康洋、花木賢一］

3. 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送付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て確認作業を行った。［高木弘隆、伊木繁雄、原田俊彦、河合康洋、山本明彦、棚林清；武田哲（感染制御部）］

4. 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（感染症法）」に基づき、感染症の患者の検体または当該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・還元等を通じて精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。今年度は課題 1 として薬剤耐性菌、課題 2 としてインフルエンザウイルス（核酸）、課題 3 としてチフス菌、パラチフス A 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共に、適切に梱包されているかについてチェックシートを用いて確認した。［原田俊彦、河合康洋、花木賢一］

5. 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）、監視伝染病病原体（家畜伝染病予防法）、及び規制対象外の BSL-3 病原体等、並びにそれらの取扱者と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を構築して運営している。今年度はシステムを継続的に運用できるように引き続き更新した。また、ホームページ管理では情報の拡充を図り、各種情報のリニューアル、アップデートした内容をより解りやすく掲載した。［柴崎謙一、原田俊彦、河合康洋］

6. SARS-CoV-2 の分与

当所において臨床検体より分離された SARS-CoV-2 とその変異株に関して、総務部と連携して国内外への分与を行った。令和 3 年 3 月末日までの実績は以下の通りである。
国内：武漢株 55 件、新規変異株 33 件、ウイルス RNA 42 件
国外：武漢株 7 件、新規変異株 9 件
［河合康洋、伊木繁雄、花木賢一；伊藤（高山）睦代、佐藤正明、河原円香、福士秀悦、北浦慧、西條政幸（ウイルス第一部）］

7. 研究所一般公開

COVID-19 の流行を鑑み、令和 2 年度の感染研一般公開は実施されなかった。［原田俊彦、伊木繁雄、河合康洋、山本明彦、棚林清、澤邉京子；広報運営委員会］

Ⅱ. 動物管理関係

1. 実験動物飼育状況

各庁舎に設置されている動物実験施設は部長を管理者（施設長）、管理者を補佐して実験動物の管理を担当する実験動物管理者、第二室員、委託職員により運営されている。令和 2 年度末時点での 3 庁舎で飼養保管している動物種（飼養数合計）は、マウス（7,429 匹）、ラット（253 匹）、モルモット（122 匹）、ウサギ（90 羽）、スナネズミ（11 匹）、ハムスター（44 匹）、フェレット（38 匹）、ネコ（4 匹）、霊長類（135 頭）、ニワトリ（8 羽）、カモ（2 羽）、コウモリ（1 匹）である。［田原口元子、新倉綾、結城明香、滝本一広、網康至、岩城正昭、持田恵子、花木賢一；武田哲（感染制御部）］

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。令和 2 年度は 24 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、網康至、須崎百合子、花木賢一］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1）Bai H, Li W, Guan D, Su J, Ke C, Ami Y, Suzaki Y, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Characterization of a Novel Rat Hepatitis E Virus Isolated from an Asian Musk Shrew (*Suncus murinus*). Viruses. 12:715, 2020

2）Harada T, Fukushi S, Kurosu T, Yoshikawa T, Shimojima M, Tanabayashi K, Saijo M. Inactivation of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus for improved laboratory safety. J Biosafety Biosecurity 2:31-35, 2020

3）Oka T, Yamamoto SP, Iritani N, Sato S, Tatsumi C, Mita T, Yahiro S, Shibata S, Wu FT, Takagi H. Polymerase chain reaction primer sets for the detection of genetically diverse human sapoviruses. Arch Virol, 165:2335-2340, 2020

4）Takagi H, Oka T, Shimoike T, Saito H, Kobayashi T, Takahashi T, Tatsumi C, Kataoka M, Wang Q, Saif LJ, Noda M. Human sapovirus propagation in human cell lines supplemented with bile acids. Proc Natl Acad Sci USA. 117:32078-32085, 2020

5） Watanabe S, Fukushi S, Harada T, Shimojima M, Yoshikawa T, Kurosu T, Kaku Y, Morikawa S, Saijo M. Effective inactivation of Nipah virus in serum samples for safe processing in low-containment laboratories. Virol J. 17:151, 2020

6） Zhang W, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Jirintai S, Takahashi M, Okamoto H, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Persistent infection with a rabbit hepatitis E virus created by a reverse genetics system. Transbound Emerg. 68:615-625, 2021

2. 和文発表

1）佐藤雅彦，高橋守，新倉（座本）綾．利尻島におけるパブロフスキーマダニの鳥類寄生例．利尻研究 40:25-28, 2021

2）佐々木瑞希，新倉（座本）綾，佐藤雅彦，塩﨑彬，中尾稔．利尻島初記録のテニア科条虫 *Versteria mustelae*（Gmelin,1790）．利尻研究 40:87-90, 2021

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

なし

2. 国内学会

1）高木弘隆．新型コロナウイルスに対する次亜塩素酸水の有効性と積極的感染防止活動による水環境からの検出ウイルス動態変容について．機能水シンポジウム. 2020 年 10 月．東京

2）松井真理，鈴木里和，梅山隆，河合康洋，宮崎義継，菅井基行．地方衛生研究所等におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌検査の外部精度管理．第 32 回日本臨床微生物学会総会. 2021 年 1 月．WEB

3）高木弘隆．ウイルスと口腔衛生 知られていること、知らなかったこと（教育講演）．第 22 回日本口腔機能水学会. 2021 年 2 月．京都

１６．国際協力室

室長　　松岡　隆介

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、外国人研修生等の受け入れと、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。外国人研修生等の受け入れについては、令和2年4月から令和3年3月までに、10カ国・地域から14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、令和2年4月から令和3年3月までに、2カ国・地域に2名を派遣した（別表2）。なお、オンラインや電話による国際会議等への出席については、令和 2 年4月から令和 3 年 3 月までに、261会議等に426名が出席した。

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) 令和2年9月10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17回日本-台湾感染症シンポジウムを開催（オンライン会議にて、新型コロナウイルス感染症と実地疫学専門家養成コースを題材に、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) 令和 2 年 10 月 29-30 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（中国 CDC）、韓国国立疾病管理庁（KDCA）〕のシンポジウム及び、第14回日中韓感染症フォーラムを開催（オンライン会議にて、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、同シンポジウムでは、新型コロナウイルス感染症への対応について、また感染症フォーラムでは、インフルエンザと新型コロナウイルス感染症の現状と診断検査戦略について、各機関の取り組み状況の発表と討議を行った。）。

ウ 外国機関へのワクチン株供与

なし

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（オンライン等含）

(ア) 令和 3 年 3 月 20 日-25 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」（8 カ国・10 名・品質保証・管理部、病原体ゲノム解析研究センター、エイズ研究センタ

ー)。

イ 集団研修フォローアップ
なし

ウ その他研修
なし

(2) JICA 技術プロジェクト等への協力
ア ベトナム国における JICA 協力
「感染症の予防・対応能力向上のための実験室の機能及び連携強化プロジェクト」
(ア) 派遣
なし

(イ) その他
令和 3 年 2 月 9 日 感染研と JICA 担当者との意見交換会(オンライン)

(3) 国際緊急援助隊への協力
なし

(4) その他研修協力
なし

3. 国際機関及び外国政府機関等との協力の調整
(1) WHO・WPRO 関連調整
ア 会議等開催
なし

イ 会議等派遣(オンライン等含) ※一部を抜粋
(ア) 令和 2 年 6 月 15 日 WPRO ワクチン地域戦略に関する Country Consultation 会議(オンライン・1 名)
(イ) 令和 2 年 6 月 16-18 日 WHO WPRO 第 29 回 TAG/EPI ワクチン予防可能疾患専門家助言会議(オンライン・2 名)
(ウ) 令和 2 年 7 月 1-2 日 WHO 新型コロナウイルス感染症バーチャルリサーチイノベーションフォーラム(オンライン・2 名)
(エ) 令和 2 年 7 月 10 日 WHO 西太平洋地域事務局が主催する APSEDⅢ(Asia Pacific Strategy for Emerging Diseases)(オンライン・1 名)
(オ) 令和 2 年 7 月 17 日 WHO 本部、WPRO AMR コラボレーションセンターに関する会議(オンライン・1 名)
(カ) 令和 2 年 8 月 11 日、9 月 3 日 WHO 2020 年南半球用インフルエンザワクチン株選定事前会議(オンライン・3 名)
(キ) 令和 2 年 8 月 24 日 第 30 回 WHO ERL, CCs, インフルエンザワクチン製造 関係者会議(オンライン・2 名)
(ク) 令和 2 年 8 月 24-27 日 第 71 回 WHO Expert Committee on Biological Standardization (ECBS)会議(オンライン・2 名)
(ケ) 令和 2 年 9 月 3 日 WHO 2020 年南半球用人獣共通インフルエンザワクチン株選定事前会議(オンライン・3 名)
(コ) 令和 2 年 9 月 16、21、29 日-10 月 1 日 南半球インフルエンザワクチン株選定会議(オンライン・3 名)
(サ) 令和 2 年 9 月 23 日 WHO AMR コラボレーションセンター年次会議(オンライン・1 名)
(シ) 令和 2 年 10 月 5-7 日予防接種に関する戦略的諮問委員会ミーティング(オンライン・1 名)
(ス) 令和 2 年 10 月 6-8 日 WHO インフルエンザと新型コロナ感染症サーベイランスコンサルテーション会議(オンライン・1 名)
(セ) 令和 2 年 10 月 14-16 日 WHO 標準品 Performance Evaluation Framework 開発会議(オンライン・2 名)
(ソ) 令和 2 年 10 月 19-22 日 第 72 回 WHO Expert Committee on Biological Standardization(ECBS)会議(オンライン・3 名)
(タ) 令和 2 年 10 月 22 日 WPRO AMR Guidance Call (オンライン・1 名)
(チ) 令和 2 年 10 月 26 日 WHO 2020 年インフルエンザウイルス抗ウイルス薬感受性サーベイランスワーキンググループバーチャル会議(オンライン・1 名)
(ツ) 令和 2 年 11 月 2 日 WHO アドホック会議:新型コロナワクチン臨床評価(オンライン・1 名)
(テ) 令和 2 年 11 月 4 日 インフルエンザワクチン Cross Functional ワーキンググループ会議(オンライン・2 名)
(ト) 令和 2 年 11 月 4-5 日 第 22 回天然痘ウイルス研究諮問委員会ミーティング(オンライン・1 名)
(ナ) 令和 2 年 11 月 9、16 日 BCG 力価試験における ATP 測定法の検討(オンライン・2 名)
(ニ) 令和 2 年 11 月 25 日第 26 回 WHO 西太平洋地域におけるポリオ根絶の認証に関する地域委員会(オンライン・2 名)

(ヌ) 令和 2 年 12 月 1-3 日 WPRO ウイルス性肝炎根絶専門家コンサルテーション会議（オンライン・1 名）
(ネ) 令和 2 年 12 月 7 日 生物製剤 NCL ネットワーク会議：新型コロナワクチン（オンライン・2 名）
(ノ) 令和 3 年 1 月 6、20 日、2 月 3 日 インフルエンザワクチン候補株及び国際標準試薬作製に関する WHO CC、ERL、国際ワクチン製造会社協会間会議（オンライン・1 名）
(ハ) 令和 3 年 1 月 12-13 日 新型コロナウイルス変異株対応に関する研究開発グローバル会議（オンライン・1 名）
(ヒ) 令和 3 年 1 月 12 日-2 月 10 日 WHO からの要請に基づく、新型コロナウイルス感染症に関する調査（中国・1 名）
(フ) 令和 3 年 1 月 15-16 日 WHO アドホック会議：新型コロナ変異株（オンライン・1 名）
(ヘ) 令和 3 年 1 月 15-16 日 WHO アドホック会議：新型コロナワクチン Knowledge Gaps and Research Priorities（オンライン・3 名）
(ホ) 令和 3 年 1 月 25-29 日 WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワークのための技術会議（オンライン・1 名）
(マ) 令和 3 年 2 月 11-12 日 WHO 新型コロナワクチンアドホック会議（オンライン・4 名）
(ミ) 令和 3 年 2 月 17 日 AMR ワンヘルス東京会議（オンライン・3 名）
(ム) 令和 3 年 2 月 17、19、23、25 日 北半球インフルエンザワクチン株選定会議（オンライン・3 名）
(メ) 令和 3 年 2 月 23-25 日 第 4 回 Global Vaccine and Immunization Research フォーラム（GVIRF 2021）（オンライン・1 名）
(モ) 令和 3 年 2 月 24 日 WHO 西太平洋地域事務局が主催する APSED（オンライン・1 名）
(ヤ) 令和 3 年 3 月 24 日 WHO 西太平洋地域事務局が主催する APSED Whole Genome Sequence（WGS）サーベイランスシステムに関する会議（オンライン・1 名）
(ユ) 令和 3 年 3 月 25-26 日 ポリオ実験室ネットワーク非公式会議 （オンライン・2 名）

ウ WHO フェローシップ受入
なし

エ WHO 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)
なし

(2) 国内会議支援(所内開催)
なし

(3) 海外の要人来訪（オンライン等含）
ア 令和 2 年 4 月 2 日 駐日ウズベキスタン共和国大使館 大使・他 1 名表敬訪問。
イ 令和 2 年 4 月 24 日 駐日欧州連合代表部 一等参事官・他 2 名、駐日欧州連合加盟国大使館 科学技術担当参事官等 23 名意見交換。（オンライン）
ウ 令和 2 年 5 月 7 日 在京シンガポール大使館 大使・他 2 名意見交換。（オンライン）
エ 令和 2 年 5 月 20 日 駐日欧州連合代表部 大使・他 4 名、駐日欧州連合加盟国大使館 大使等 26 名意見交換。（オンライン）
オ 令和 2 年 5 月 22 日 在京米国大使館 科学イノベーション開発課長・他 4 名意見交換。（オンライン）
カ 令和 2 年 6 月 23 日 在京シンガポール大使館 大使・他 2 名意見交換。（オンライン）
キ 令和 2 年 7 月 9 日 韓国国立感染症対策センター（KCDC：現 KDCA） IHR 参加国連絡窓口担当官・他 1 名意見交換。（電話）
ク 令和 2 年 8 月 17 日 在京シンガポール大使館 大使・他 1 名意見交換。（オンライン）
ケ 令和 2 年 9 月 17 日 駐日ドイツ連邦共和国大使館 大使・他 1 名表敬訪問・意見交換。
コ 令和 3 年 3 月 11 日 在京シンガポール大使館 大使・他 2 名意見交換。（オンライン）

(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、厚生労働省健康局結核感染症課、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係る応募情報等掲載している。

１７．感染症疫学センター

センター長　　鈴木　基

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（https://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、令和２年度には 22 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～第三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。

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

令和２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ている。

令和元年度に、当研究班での検討結果に基づき、原因不明の重症感染症を感染症法の枠組みでイベントベースサーベイランスとしてとらえるための疑似症サーベイランスが導入されたところであったが、これは、令和２年1 月に探知された新興感染症である新型コロナウイルス感染症に対して、その臨床像と疫学の情報が十分でない段階から、この疑似症サーベイランスをプラットフォームとして症例の探知が行われ、これは、指定感染症として全数把握対象となるまで、継続された。新型コロナウイルス感染症の発生をうけ、同研究班で作成された疑似症サーベイランスの事例集が厚生労働省から自治体に対して配布され、疑似症サーベイランスにおける公衆衛生上の重要性の評価のポイントについて周知を行った。

［松井珠乃、砂川富正、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

令和元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。

［松井珠乃、島田智恵、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

2019-20 シーズンについても前４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。COVID-19 パンデミックにより、インフルエンザの発生動向や関連する指標への影響が生じた可能性もあり、注意点も追記した。

［砂川富正、高橋琢理、土橋酉紀、加納和彦、小林祐介、多屋馨子、新橋玲子、松井珠乃、大日康史、菅原民枝、山岸拓也、鈴木基；長谷川秀樹、渡邉真治（インフルエンザウイルス研究センター）、梅田浩史、竹下望、井上大地、中山まりな（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。病原体サーベイランスについて、次期システム更改を見すえた現行システムのデータ入力、入力結果の検索・閲覧、解析等に関する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これまでのシステム更改における要検討項目等と合わせて整理し、厚生労働省健康局結核感染症課に情報提供した。

［砂川富正、高橋琢理、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、新井智、森野紗衣子、北本理恵、多屋馨子、鈴木基］

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ったが、新型コロナウイルス感染症流行の状況と HER-SYS を通した同感染症への届出開始という想定出来なかった事態を受け、今後の進目方についての協議が必要な状況となった。

［砂川富正、有馬雄三、加納和彦、土橋酉紀、高橋琢理、小林祐介］

６. サーベイランスのシステム評価

FETP21 期が、第二室の担当者の助言も得ながら、千葉県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE ）感染症、風疹、百日咳、腸管出血性大腸菌感染症、薬剤耐性緑膿菌（定点）、ロタウイルス感染症（定点）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。

［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。令和２年度は、「令和 2 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。「学校等欠席者・感染症システム活用事例集」の作成に技術的協力を行った。また、COVID-19 の流行下に於いて文部科学省が学校等における感染対策の軸の一つとして当システムの全国学校等への普及事業の展開を開始したことに呼応して、当システムと自治体等で学校運営状況を把握するために設置している「校務支援システム」との連携を行うための情報システムの仕様策定にも協力した。

［椎野禎一郎、宮間浩史、鈴木基］

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、令和元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。COVID-19 パンデミック下におけるインフルエンザの動向の状況把握の為に、情報源の一つとして活用された。

［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. 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「感染症法に基づく医師届出ガイドライン（初版）－百日咳－」に基づき届け出られたデータ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、就学時前の追加接種の必要性について提言した。

［砂川富正、多屋馨子、高橋琢理、有馬雄三、神谷元（IDSC）、渡邉佳奈、黒澤克樹（FETP）、蒲地一成、大塚菜緒（細菌第二部）］

１０. インフルエンザ及び RS ウイルスの患者情報・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。令和 2 年度（2020/21 シーズン）については、新型コロナウイルス感染症流行と対象医療機関の状況から系統的な情報収集については実施しなかった。なお、RS ウイルスに

ついても同じプラットフォームを用いた同様な計画を沖縄県宮古島市において予定したが、調査チーム・母体となる同市内の医療機関における新型コロナウイルス感染症に対する状況から実施に至らなかった。

［砂川富正、土橋酉紀、神谷元、高橋琢理、小林祐介、福岡夕紀（沖縄県立宮古病院)］

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。2019 年夏には、WHO 本部に、MEM 法を用いた我が国に於ける PISA の包括的な解析結果（2015/16～2017/18 シーズン）を正式に提供した。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。2020-21 シーズンのインフルエンザに於いては、複数の情報源と指標を監視した結果、流行せず、PISA に於いても、前例の無い低レベルのインパクトと評価された。

［有馬雄三、高橋琢理、新城雄士、加納和彦、土橋酉紀、砂川富正、松井珠乃；大石和徳（富山県衛生研究所)］

2. 新興・再興感染症の体制の脆弱性評価

令和元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、キャリアラダーの考えを取り入れた実地疫学専門家人材の育成方法と、行政における活用を促進する方法を検討し自治体からの 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、派遣促進の検討材料とした。

［松井珠乃、島田智恵、山岸拓也、八幡裕一郎、神谷元］

3. 医療機関等における抗 SARS-CoV-2 抗体保有状況に関する研究

新型コロナウイルス感染症の集団発生を経験した医療機関に勤務する職員に対して、3 か月間隔で 2 回の抗体検査とアンケート調査を実施し、感染のリスク因子、抗体化の推移や症状別の抗体価について検討した。［多屋馨子、新橋玲子、椎野禎一郎、新井智、森野紗衣子、高梨さやか、熊田萌、浅野彩香、村上咲帆、北本理恵、北上悦子、田中佳織、松井珠乃、島田智恵、神谷元、山岸拓也、鈴木基；相内章、永田典代、岩田奈織子、佐野芳、鈴木忠樹（感染病理部)、森山彩野、松村隆之、小野寺大志、高橋宜聖（免疫部)、山田壮一、加藤博史、福士秀悦（ウイルス第一部)、大隈和、野島清子（血液安全性研究部)、前田健（獣医科学部)、藤本嗣人（感染症危機管理研究センター)、助川久美子、中村ふくみ（東京都立墨東病院)、加藤賢一郎（中野江古田病院)、上野高史（福岡記念病院)、長谷川充（岡部病院)、清水秀文（東京新宿メディカルセンター)、高杉香志也（与論徳洲会病院)、中村能人、湯城宏悦（山田記念病院)、竹内知子（墨田区保健所)、越田理恵（金沢市)、大西真］

III. 感染症の疫学、統計等に関する研究

1. 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］

２.広域食中毒事例の早期探知システム及び調査における複数の情報源による調査表の集約の研究

令和元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の早期探知システムの開発および実装に取り組み（令和元年度)、令和 2 年度からは具体的に活用している。また、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。今後、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、高原理、有馬雄三；大西真（細菌第一部)］

３.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、2020 年 4 月号：麻疹、5 月号：腸管出血性大腸菌感染症、6 月号：デング熱・デング出血熱、7 月号：新型コロナウイルス感染症、8 月号：日本紅斑熱、9 月号：風疹・先天性風疹症候群、10 月号：HIV/AIDS、11 月号：インフルエンザ、12 月号：突発性発疹、2021 年 1 月号：急性 C 型肝炎、2 月号：新型コロナウイルス感染症、3 月号：薬剤耐性アシネトバクター感染症である。

［赤塚昌江、高原理、徳永真里子、砂川富正、高橋琢理、有馬雄三、土橋酉紀、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、鈴木基；伊豫田淳、池辺忠義（細菌第一部)、柴山恵吾、加藤はる（細菌第二部)、西條政幸、安藤秀二、吉河智城、林昌宏（ウイルス第一部)、村松正道、清水博之、鈴木亮介（ウイルス第二部)、竹田誠、森嘉生（ウイルス第三部)、長谷川秀樹、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)、久枝一（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)、磯貝達裕（国際協力室)、大澤英司（企画調整主幹)、大西真（副所長)、脇田隆字（所長)、梅田浩史、新井剛史（厚生労働省)（特集担当者＋IASR 委員)］

４.性感染症に関する疫学研究

令和二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、梅毒に関して 2015-2018 年 3 年間の 4 県（兵庫県、千葉県、徳島県、岐阜県）で実施している全数調査の結果を用い、NESID 報告の妥当性を報告医療機関ベースに Capture-recapture 法で見積もり、過小評価であることを確認し、日本性感染症学会で報告した。

［芹沢悠介、佐藤哲郎、鵜飼友彦、笠松亜由（以上、FETP)、大西真、錦信吾（以上、細菌第一部）、高橋琢理、加納和彦、有馬雄三、山岸拓也、砂川富正、鈴木基］

５.急性脳炎・急性弛緩性麻痺の原因究明に関する研究

令和 2 年度厚生労働科学研究「急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症等の神経疾患に関する網羅的病原体検索を含めた原因及び病態の究明、治療法の確立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。

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。さらに、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 年に全国で多発した AFP 症例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した。以上の解析は日本小児神経学会、日本小児科学会とも合同で実施した。

［多屋馨子、新橋玲子、新井智、森野紗衣子、北本理恵、田中佑汰、砂川富正、藤本嗣人、花岡希；清水博之（ウイルス第二部）、林昌宏、前木孝洋（ウイルス第一部）、四宮博人（愛媛県立衛生環境研究所）、八代将登（岡山大学）、原誠（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（自治医科大学放射線医学）、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）］

６．重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の疫学研究

令和元年度 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：島田智恵）の一環として、発生届により報告された患者の疫学調査、獣医療従事者のリスクを調査する予定であったが、COVID-19 の流行により、調査そのものが中断した。

研究班の活動とは別に、発生動向調査の疫学情報をまとめ、情報供用のサイトを運用している。

また、SFTS が空気感染する可能性があると報告した論文に対し、空気感染の可能性ありとするのは慎重な検討が必要という旨のレターを雑誌に投稿し採用された。

［北原瑞枝（FETP）、島田智恵、松井珠乃；加藤博史、西條政幸（ウイルス第一部）、大石和徳（富山県衛生研究所）］

７．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。COVID-19 パンデミックによって、激減した渡航者数も考慮し、解釈の注意等追記した。

［三輪晴奈（FETP）、笠松亜由（FETP）、島田智恵、松井珠乃、加納和彦、有馬雄三、砂川富正、鈴木基］

８．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、令和元年度には、Pandemic Influenza Severity Assessment （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。2020-21 シーズンのインフルエンザに於いては、PISA に於いても、前例の無い低レベルのインパクトと評価された。一方、我が国においては、インフルエンザに対して、症候群としてサーベイランスを行っていない為、COVID-19 の際には、パンデミックのアセスメントが困難である事も明らかになった。

［高橋琢理、有馬雄三、松井珠乃、砂川富正、鈴木基；谷口清州（国立病院機構三重病院）］

９．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）。その後も感染性胃腸炎に関する情報収集は継続され、2021 年 1 月 25 日現在まで 1,144 延べインフルエンザ定点（小児科・内科定点数）からの情報が集約された。しかし、実際には 2018/19 シーズンからの報告定点数は減少の一途を辿っ

ており、流行による影響は当然あったと考えられるが、サーベイランスシステムとしての評価を行う必要がある。また、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；喜屋武向子、久場由真仁（沖縄県衛生環境研究所）、谷口清州、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）］

１０．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

ア. 薬剤耐性研究センターとのリスク評価定例会議の開催

病原体情報を取り扱う AMR 研究センターと毎週テレビ電話会議を行い、サーベイランスデータに基づくリスク評価を行った。2019 年 4 月 1 日～2020 年 3 月 31 日の期間の計 35 回の会議で、87 事例のリスク評価を行い、うち 30 事例（34%）はリスク評価後に、自治体に対応を確認した。87 事例のうち、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は 52 事例（60%）、バンコマイシン耐性腸球菌は 23 事例（27%）であった。

［松井真理、鈴木里和、黒須一見、山岸拓也、菅井基行（以上、AMR 研究センター）、島田智恵、門倉圭佑、渡邊佳奈、芹沢悠介、笠松亜由、黒澤克樹、中下愛実］

イ. バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）アウトブレイク事例対応

VRE アウトブレイクが発生した医療機関において、2020 年 6 月に、当該保健所と医療機関との合同会議を開催した。

［山岸拓也、黒須一見（薬剤耐性研究センター）］

ウ. 薬剤耐性菌医療関連感染アウトブレイクのリスク評価手法に関する研究

WHO 西太平洋地域事務局（The Western Pacific Region：WPRO）と AMR Outbreak Guidance などリスク評価手法の協議を行っている。また、2020 年 2 月 17 日に厚生労働省が主催した Tokyo AMR One-Health Conference に出席し、Working Group 2（Health-care management）の座長を務め、今後 3 年間の方針立案に貢献した。

［山岸拓也］

エ. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）サーベイランス評価に関する研究

感染症発生動向調査（NESID）の CRE 届出評価のため、千葉県内における 2015 年から 2018 年までの CRE 発生に関するアンケート調査を 2020 年 2 月、6 月に行い、NESID の届出との比較を行った。千葉県内 286 医療機関中 98 医療機関からの反応(34%)があった。同調査では、CRE 感染症患者数は 2015 年以降、毎年 28、65、66、56 であり、Capture- Recapture 法を応用した推計では、2015 年以降 80、91、92、110 の CRE 感染症患者が県内で発生していると考えられた。NESID 感度は 80%から 88%であり、4 年間で大きな変動を認めなかった。

（2） 「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」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 2020 向けにまとめた。

［松井珠乃、山岸拓也、高橋琢理、砂川富正］

（3） 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や国民健康保険情報の収集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）］

１１．三類感染症の Multistate Outbreak の可視化疫学解析システムの開発

科学研究費助成事業「三類感染症の Multistate Outbreak の可視化疫学解析システムの開発」（研究代表者：八幡裕一郎）の研究で、散発的に発生する三類感染症の Multistate outbreak の迅速な探知のための可視化されたツールを構築した。ツールの構築は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。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用いて実際のデータを用いたトライアルを実施した。
［八幡裕一郎］

１２．ガーナ共和国における下痢症サーベイランス

2020 年度「国立研究開発法人日本医療研究開発機構・医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業　地球規模課題対応国際科学技術プロブラム」（研究代表者：清野宏）でガーナ共和国の Greater Accra Region の Ga West Municipal を下痢症サーベイランスのモデル地区として選定し、サーベイランス評価、サーベイランスデータ解析の試行を今年度は遠隔で行った。
［神谷元、八幡裕一郎；石岡大成（高崎市保健所）、谷口清洲（国立病院機構三重病院）］

１３．ガーナ共和国における入国拠点における中核的能力整備

2020 年度ファイザーヘルスリサーチ振興財団研究助成「開発途上国における入国地点での人及びベクターサーベイランス強化による新興感染症対策に関する国際共同研究」（研究代表者：八幡裕一郎）で、ガーナ共和国における空港検疫所、海港検疫所及び国境検疫所の Point of Entry で、入国者の健康状態の情報収集及び解析、蚊及びげっ歯類のベクターサーベイランスの情報収集及び解析を行った。
［八幡裕一郎；谷口清州（国立病院機構三重病院）］

IV.　予防接種ならびに予防接種で予防可能疾患における今後の感染症対策に関する研究

１.麻疹ならびに風疹の予防に関する研究

令和 2 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：鈴木基、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。
［多屋馨子、森野紗衣子、新井智、小林祐介、砂川富正、高橋琢理、加納和彦、土橋酉紀、松井珠乃、神谷元、八幡裕一郎、島田智恵、福住宗久、鈴木基］

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（2019 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

［多屋馨子、砂川富正、大日康史、菅原民枝、八幡裕一郎、新井智、森野紗衣子、高橋琢理、加納和彦、土橋酉紀、神谷元、島田智恵、松井珠乃、FETP 一同、鈴木基］

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、駒瀬勝啓、多屋馨子、鈴木基；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

令和元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。新規 SSPE 症例の検出も含めた活動として厚労省に難病等患者データの申請を行っているが様式が変更となり、情報の確保が困難となっており対応が必要である。沖縄県内において SSPE が過少報告の可能性があると考えられたことから検査体制について整備し

たものの、数例の疑い例については臨床症状から対象とはならなかった。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、駒瀬勝啓；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

令和 2 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：鈴木基、研究分担者：平原史樹、研究分担者：多屋馨子）の一環として、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。

［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）、多屋馨子、熊田萌、森野紗衣子、新井智、新橋玲子、島田智恵、駒瀬勝啓、神谷元、八幡裕一郎、高橋琢理、砂川富正、鈴木基；可児佳代（風しんをなくそうの会 hand in hand）］

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、2018 年第 32 週から毎週、風しんに関する疫学情報を作成し、HP に公表した。

［多屋馨子、新井智、加納和彦、砂川富正、熊田萌、浅野彩香、田中佳織、古賀千稔世、鈴木基］

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。

［熊田萌、森野紗衣子、多屋馨子、鈴木基］

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構築に取り組んできた。今後、フォローアップ調査について検討する。

［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、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に定期的に報告を行った。

また、新型コロナワクチンに関しては、より迅速なモニタリングを行うため、ダッシュボードの作成を行った。

［多屋馨子、森野紗衣子、新井智、田中佳織、新橋玲子、浅野彩香、鈴木基；落合雅樹、藤田賢太郎、内藤誠之郎、板村繁之、木所稔、石井孝司（品質保証･管理部）］

（2） 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

令和 2 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：鈴木基、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（大阪大学）、佐藤弘、新井智、鈴木基］

（3） 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、森野紗衣子、新橋玲子、田中佳織、鈴木基 ; 落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔、石井孝司（品質保証・管理部）］

（4） ロタウイルスワクチンと腸重積症に関する研究

令和 2 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：鈴木基、研究分担者：砂川富正）の一環として、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。

［砂川富正、神谷元、八幡裕一郎、多屋馨子、大日康史、菅原民枝、鈴木基 ; 岡部信彦（川崎市健康安全研究所）］

（5） 国内の小児予防接種の累積接種率調査

令和 2 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：鈴木基、研究協力者：崎山弘）の一環として令和 2 年度の小児の累積予防接種率調査を実施した。

［鈴木基、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）］

（6） 国内における vaccine safety database （VSD）構築に関する研究

令和元年度厚労科研費「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 構築を進めている。

［西藤なるを（西藤小児科こどもの呼吸器アレルギークリニック）、砂川富正、神谷元］

（7） 国保レセプトデータとワクチン台帳の情報を活用した副反応及びワクチン効果検討のための試行

埼玉県川口市に於いて国民健康保険のレセプト情報と予防接種台帳の情報を紐付けし、ワクチン接種後の副反応及びワクチン効果の検討の実地を目的に対象とするワクチン、対象とする副反応の ICD コート、ワクチン効果測定のための対象とする疾患とワクチンの選定を川口市及び厚生労働省予防接種室と協議した。協議後、川口市のレセプト情報とワクチン接種台帳の情報を元に副反応の抽出の可能か否かの検討及びワクチン効果の実施の可能性の検討を行い、迅速なワクチン効果の実施と副反応の評価データセットとしての可能性を示した。

［神谷元、八幡裕一郎 ; 坂本博文（川口市国民健康保険課）］

１０．成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスに関する研究

令和 2 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継続している。

［鵜飼友彦、三輪晴奈（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、鈴木基 ; 大石和徳（富山県衛生研究所）］

１１．流行下における百日咳ワクチン有効性および妊婦の同ワクチン KAP 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。妊婦の百日咳ワクチン接種に関する意識・態度・実践に関する分析と論文化に取り組んでいる。

［砂川富正、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（大阪精神医療センター）、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）］

１２．不活化ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況および抗体保有状況の検討

令和元年度 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。

2019 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、各年齢の抗体保有状況と、不活化ポリオワクチンの効果の維持について検討した。

［多屋馨子、森野紗衣子、北本理恵；清水博之（ウイルス第二部）］

１３．医療従事者向け予防接種啓発ツールの開発

医療従事者、並びに自治体関係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。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並びにアップデートを行っている。

［神谷元、森野紗衣子、砂川富正、多屋馨子、八幡裕一郎；中村晴奈、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）］

１４．国内抗 PspA 抗体血清疫学調査

令和 2 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を調査した。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、解析を行い、令和 2 年度論文にて結果を報告した。

［森野紗衣子、北上悦子、新井智；大石和徳（富山県衛生研究所）、中山大輝（阪大微生物病研究会）、金城雄樹（東京慈恵会医科大学）］

１５．日本脳炎ワクチンの効果および副反応データの解析

令和 2 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：鈴木基、研究分担者：新井智）および令和 2 年度科学研究費(基盤研究 C)「副反応報告データを用いた Vero 細胞由来日本脳炎ワクチンの副反応の解析(研究代表者：新井智)」により、環境中の日本脳炎感染リスクの評価及び副反応発生状況について検討した。

［新井智、菊池風花、妹尾佳英、新橋玲子、森野紗衣子、多屋馨子、鈴木基；戸梶彰彦、潮のどか(高知県衛生環境研究所)］

１６．百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（研究代表者：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。今年度は接種後 1 年後の抗体価の変化を調査した。

［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］

１７．侵襲性髄膜炎菌感染症に関する研究

令和元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、研究分担者：神谷元）において、昨年度作成した「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）をラグビーW 杯において活用し、評価した。また認められた問題点について改善を加えている。

［福住宗久、神谷元；土井育子、中村晴奈（FETP）、砂川富正；高橋英之、大西真（細菌第一部）］

１８．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（FETP）、谷口清州、杉浦勝美、根来奈緒美（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）］

１９．ワクチンファクトシートの作成

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会基本方針部会ワクチン評価に関する小委員会からの依頼に基づき、9 価 HPV ワクチンに関するファクトシートの作成を行った。

［多屋馨子、 新井智、 森野紗衣子、 新橋玲子、 高梨さやか、浅野彩香、鈴木基； 石井克幸、 森清一郎、 竹内隆正、 柊元巌、 黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）；五十嵐中（横浜市立大学）、片野田耕太（国立がん研究センター）、 松本光司（昭和大学）、池田俊也（国際医療福祉大学）］

２０．新型コロナワクチンに関するホームページの作成

新型コロナワクチンに関する情報発信のためのホームページを作成した。

［多屋馨子、 新井智、 森野紗衣子、 新橋玲子、 高梨さやか、田中佳織、浅野彩香］

２１．新型コロナウイルスに関する小児血清疫学サーベイランスに関する研究

小児における新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対する抗体保有状況調査から、小児への SARS-CoV-2 感染拡大状況を評価するとともに、一定の地域において経年的に調査することで、小児における抗体保有状況（集団免疫）の推移を把握することを目的として、令和 2 年度に調査に協力いただいた香川県内の市町にて初回調査を行った。抗 SARS-CoV-2 抗体価測定は電気化学発光免疫測定法 （ECLIA 法）を用いて行い、保護者による自記式調査票にて疫学情報の収集を行った。令和 2 年度の調査は 2020 年 12 月以前に実施し、第 3 波とされる地域での流行拡大前の状況を捉えることができた。今後、年度ごとの調査を継続し同一地域での小児における抗体保有状況の経年変化を検討する。

［多屋馨子、森野紗衣子、新井智、新橋玲子、高梨さやか、北本理恵、村上咲帆、妹尾佳英、浅野彩香、北上悦子、田中佳織、鈴木基、森山彩野、高橋宜聖（免疫部）、相内　章、菅野隆行、飛梅　実、飯田　俊、鈴木忠樹（感染病理部）、福士秀悦（ウイルス第一部）；他　所外協力者］

II.　病原体等の研究

1.　新規および既知のウイルス感染症対策およびワクチン予防可能疾患対策としての新規ウイルス検出系の開発と系統解析

未知の感染症対策の一環として国内外の新規及び既知

の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、可能限り配列の決定を進めた。

［新井智、菊池風花、妹尾佳英、多屋馨子、鈴木基；森川茂（獣医科学部）、Nguyen Truong Son（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）、Richard Yanagihara（ハワイ大学）］

III.　学会等の中での研究、貢献

１．日本感染症学会

2019 年度評議員として活動を行った。

［砂川富正、神谷元、藤本嗣人、多屋馨子］

2019 年度ワクチン委員会委員として活動を行った。

［神谷元、多屋馨子］

２．日本ワクチン学会

2019 年度は下記の学会活動を行った。

［多屋馨子（第 23 回日本ワクチン学会学術集会会長、監事）、砂川富正（理事）、大石和徳（理事長；富山県衛生研究所）］

第 23 回日本ワクチン学会学術集会を開催した。

［多屋馨子、神谷元、北本理恵、新井智、森野紗衣子、新橋玲子、田中佳織、北上悦子、浅野彩香、熊田萌、菊池風花、青木啓太、田中佑汰、千代崎智大、松井珠乃、砂川富正、藤本嗣人、村上光一、岡本貴代子、島田智恵、加納和彦、高原理、高橋琢理、土橋酉紀、赤塚昌江、駒瀬勝啓、高橋健一郎、椎野禎一郎、平井晋一郎、FETP 第 19 期・20 期、宮間浩史、松石みゆき、鈴木基；伊藤睦代（ウイルス第一部）、大石和徳（富山県衛生研究所）］

Vaccine 誌編集委員として活動を行った。

［多屋馨子、神谷元］

３．日本小児科学会

令和 2 年度予防接種・感染症対策委員会専門委員会におい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（委員長）、神谷元（副委員長）］

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］

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］

小児感染症専門医検討委員会委員として活動した。

［高梨さやか］

教育委員会委員として活動した。

［高梨さやか］

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･感染症委員会副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主催の新型コロナウイルス関連の資料作成、声明の発出作業など、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］

１１．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］

１２．日本外来小児科学会

予防接種委員会の委員として実務的な検討を行っている

［神谷元］

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、加納和彦、高橋琢理、有馬雄三、土橋酉紀、小林祐介、駒瀬勝啓、中里篤、大竹由里子、新井伸一、加藤信子、高原理、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、鈴木基］

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。COVID-19 に関しては､継続して「注目すべき感染症」等を通して還元した。「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 2019 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。また、幾つかの感

染症（コレラ、デング等）においては、WHO・WPRO へも毎年報告した。

IDWR「注目すべき感染症」記事一覧
（https://www.niid.go.jp/niid/ja/chumoku.html　）

- 2020 年第 3 号 2019-nCoV（新型コロナウイルス）感染症」
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2484-idsc/9371-idwrc-2003.html
- 2020 年第 7 号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9446-idwrc-2007.html
- 2020 年第 14 号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9567-idwrc-2014.html
- 2020 年第 16 号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9596-idwrc-2016.html
- 2020 年第 18,19 合併号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9626-idwrc-201819.html
- 2020 年第 21 号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9669-idwrc-2021.html
- 2020 年第 23 号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9688-idwrc-2023.html
- 2020 年第 25 号新型コロナウイルス感染症（COVID-19）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9726-idwrc-2025.html
- 2020 年第 27 号国内における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の状況
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9746-idwrc-2027.html
- 2020 年第 28 号国内における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の状況
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9761-idwrc-2028.html
- 2020 年第 30 号国内における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の状況
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9794-idwrc-2030.html
- 2020 年第 31,32 合併号国内における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の状況（第 31 週現在）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9824-idwrc-203132.html
- 2020 年第 39 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9902-idwrc-2039.html
- 2020 年第 41 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9935-idwrc-2041.html
- 2020 年第 44 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9960-idwrc-2044.html
- 2020 年第 46 号直近の新型コロナウイルス感染症お

よびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/9991-idwrc-2046.html

- 2020 年第 48 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10025-idwrc-2048.html
- 2020 年第 50 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10083-idwrc-2050.html
- 2020 年第 52・53 合併号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10122-idwrc-205253.html
- 2021 年第 3 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10161-idwrc-2103.html
- 2021 年第 5 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10194-idwrc-2105.html
- 2021 年第 7 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10219-idwrc-2107.html
- 2021 年第 9 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10248-idwrc-2109.html
- 2021 年第 11 号直近の新型コロナウイルス感染症およびインフルエンザの状況
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10272-idwrc-2111.html

［砂川富正、加納和彦、高橋琢理、土橋酉紀、駒瀬勝啓、有馬雄三、小林祐介、大竹由里子、新井伸一、高原理、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、鈴木基］

３.病原体情報の収集と月報の作成

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、集計解析および、月報の作成、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った。2020 年 1 月-2020 年 12 月の病原体検出報告数（2021 年 7 月 13 日現在）は、病原菌検出報告（３A：地衛研・保健所）は 1,977 件、病原体個票は病原菌（原虫・寄生虫を含む）が地衛研 3,854 件、保健所 161 件、ウイルス（リケッチア，クラミジアを含む）が地衛研 11,716(陰性：99,111)件（うち最多は SARS-CoV-2 で 11,808)、保健所 14,341(陰性：12,817)件、検疫所 256 件（ウイルス)、集団発生病原体票は病原菌等が地衛研 74 件、保健所 1 件、ウイルス等が地衛研 162 件、保健所 5 件、ヒト以外からの病原体検出票は病原菌等が地衛研 80 件、ウイルス等が地衛研 2 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 12 号（第 41 巻）が編集・印刷発行された。特集記事については英訳を順次行い掲載した。

［小林祐介、赤塚昌江、徳永真里子、駒瀬勝啓、加納和彦、土橋酉紀、高橋琢理、有馬雄三、高原理、砂川富正；深澤英輔（品質保証・管理部）］

（3） 月報記事の執筆

感染症疫学センターが中心となり、以下の IASR 記事

の執筆を行った

- 新型コロナウイルス感染症における積極的疫学調査の結果について（第 1 回) (2020 年 6 月 3 日時点：暫定)
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9803-487p01.html
- 新型コロナウイルス感染症における積極的疫学調査の結果について（第 2 回）(2020 年 10 月 5 日時点：暫定）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9994-490p01.html
- バスツアー関連新型コロナウイルス感染症集団感染事例、2020 年 10 月
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/10029-491p02.html
- 中国武漢市からのチャーター便帰国者について：新型コロナウイルスの検査結果と転帰（第一報：第 1 便について）（2020 年 2 月 14 日現在）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9525-483p01.html
- 中国武漢市からのチャーター便帰国者について：新型コロナウイルスの検査結果と転帰（第二報：第 2 便について）（2020 年 2 月 22 日現在）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9527-483p02.html
- 中国武漢市からのチャーター便帰国者について：新型コロナウイルスの検査結果と転帰（第三報：第 3 便について）および第 1～3 便帰国者のまとめ（2020 年 2 月 27 日現在）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9528-483p03.html
- 中国武漢市からのチャーター便帰国者について：新型コロナウイルスの検査結果と転帰（第四報：第 4、5 便について）および第 1～5 便帰国者のまとめ（2020 年 3 月 25 日現在）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9557-483p04.html
- 名古屋市における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行の評価：検査数・陽性数・陽性率および検査対象の層別化の重要性
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/9646-485p01.html
- 新宿区繁華街におけるいわゆる「接待を伴う飲食店」における新型コロナウイルス感染症の感染リスクに関する調査研究（中間報告）
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2488-idsc/iasr-news/10081-491p04.html
- 新型コロナウイルス感染症の感染性
  https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2536-related-articles/related-articles-492/10177-492r02.html

［土橋酉紀、高橋琢理、有馬雄三、小林祐介、駒瀬勝啓、加納和彦、砂川富正、FETP 一同、山岸拓也、神谷元、八幡裕一郎、島田智恵、松井珠乃、宮原麗子、鈴木基］

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 2020 年の患者報告件数（感染症発生動向調査）は、全数が 77,621 件、定点が 1,485,678〔年間の平均報告定点数；インフルエンザ定点 4,932 、小児科定点 3,152 、眼科定点 694、基幹病院定点（週報）478 、ＳＴＤ定点 981、基幹病院定点（月報）479〕 、動物感染症が 9 例であった。

［大竹由里子、新井伸一、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」（https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-map.html ）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。２０２０-２０２１年シーズンは、定点医療機関からのインフルエンザ患者数、推計受診者数、基幹定点からのインフルエンザによる入院患者数、NESID 病原体サーベイランス、いずれにおいてもほぼ皆無であったことから、冬季のインフルエンザの流行は発生しなかったと考えられた。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、鈴木基］

６. 麻しんおよび風しん動向の WPRO への報告

感染症発生動向調査により得られた麻しんおよび風しんの報告数をもとに、WHO の報告形式に適合した集計表を月毎に作成し、WHO 西太平洋事務局に報告した。

［砂川富正、駒瀬勝啓、小林祐介］

７. 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、土橋酉紀、小林祐介、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、鈴木基］

８. 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（2020 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（2020 年 3 月現在 9 種類のグラフ・マップ)。

［多屋馨子、新井智、加納和彦、田中佳織、熊田萌、浅野彩香、古賀千稔世］

９. 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 2018 年から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・調整等を行ってきた。さらに、2018 年、2019 年についての届出情報に基づいた疫学の特徴について確認を行い（HP 掲載)、2020 年度においても届出に係る課題の抽出に取り組んだ。

［砂川富正、高橋琢理、神谷元、多屋馨子 ; 蒲地一成、大塚菜緒（細菌第二部)］

１０. 新型コロナウイルス感染症の指定感染症に係る業

務

2020年1月に中華人民共和国から世界保健機関に対して、人に伝染する能力を有することが新たに報告された新型コロナウイルスよる急性呼吸器症候群について、「新型コロナウイルス感染症」を感染症法における指定感染症とする厚生労働省健康局結核感染症課の届出基準策定、届出票変更および関係者へのヒアリング・調整等を行った。また、指定に関連したNESID（患者情報・病原体情報）システムの変更、IDWR・IASRの情報還元方法の検討及び調整等を行った。2020年中途より開始されたHER-SYSへ入力された情報の分析を行い、システムとして確認された膨大な課題を毎週確認し、厚生労働省と情報の共有及び改善を図った。

［砂川富正、土橋酉紀、高橋琢理、有馬雄三、小林祐介、加納和彦、椎野禎一郎、加藤信子、高原理、徳永真里子、赤塚昌江、駒瀬勝啓、鈴木基］

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の次期システムへの移行（2024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、土橋酉紀、高橋琢理、有馬雄三、加納和彦、小林祐介、椎野禎一郎、加藤信子、赤塚昌江、鈴木基］

2. 病原体検出情報システム

NESIDの次期システムへの移行（2024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。また、新型コロナウイルス感染症の入力への対応を行った。

［砂川富正、高橋琢理、土橋酉紀、有馬雄三、赤塚昌江、高原理、徳永真里子、加納和彦、加藤信子］

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、2018年度から感受性調査及び感染源調査のデータがすべてNESIDで一元管理されており、2020年度は3年目の登録が行われた。2020年度は、ロタウイルス感染症感染源調査が新たに加わり、予定通り調査は実施されたが、新型コロナウイルス感染症の感染拡大により当該システムの改変が延期された。そのため、データはNESIDに未登録状態でありデータ登録及び集計システムが課題として残る。

また、2021年度から感染症流行予測調査事業に新たに新型コロナウイルス感染症感受性調査が加わることに伴うシステム改変の調査、検討を行った。

［北本理恵、新井智、森野紗衣子、新橋玲子、多屋馨子、鈴木基；藤井克樹、染谷雄一、村松正道（ウイルス第二部）、鈴木忠樹（感染病理部）］

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、加納和彦、椎野禎一郎、高橋琢理、加藤信子、砂川富正、鈴木基］

(2) インターネット等による病原体情報の提供

ア. 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。

イ. 「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）を更新して掲載した。

ウ. 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。

エ. 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）。

オ. 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。

カ. 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）。

キ. 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。

［小林祐介、赤塚昌江、徳永真里子、新井伸一、高原理、砂川富正、鈴木基］

（3） 調査報告書やガイダンス等の提供

感染症疫学センターで実施作成した調査報告書やガイダンス等について、ホームページ等での提供を行った。

「報告書」等

・ ＜速報＞長崎市に停泊中のクルーズ船内で発生した新型コロナウイルス感染症の集団発生事例 : 中間報告」
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2484-idsc/9622-covid19-20.html
（英語版 : https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/2484-idsc/9650-covid19-14-200323-e-2.html ）

・ 長崎市に停泊していたクルーズ船内で発生した新型コロナウイルス感染症の集団発生事例 : 最終報告
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2484-idsc/9772-covid19-20-final.html

・ 感染症発生動向調査及び積極的疫学調査により報告された新型コロナウイルス感染症確定症例 112 例の記述疫学（2020 年 2 月 24 日現在）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/covid-19/9440-covid19-14.html

・ Descriptive epidemiology of 112 confirmed cases of novel coronavirus infectious disease (COVID-19) as reported by the national epidemiological surveillance of infectious diseases (NESID) system and active epidemiological investigation (as of February 24, 2020)
https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/2484-idsc/9473-2019-ncov-08-e-2.html

・ 感染症発生動向調査及び積極的疫学調査により報告された新型コロナウイルス感染症確定症例 287 例の記述疫学（2020 年 3 月 9 日現在）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/covid-19/9489-covid19-14-200309.html
Descriptive epidemiology of 287 confirmed cases of new coronavirus infection reported by the national epidemiological surveillance of infectious disease system (NESID) and active epidemiological surveillance (as of March 9, 2020)
https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/2484-idsc/9497-covid19-14-200309-e.html

・ 感染症発生動向調査及び積極的疫学調査により報告された新型コロナウイルス感染症確定症例 516 例の記述疫学（2020 年 3 月 23 日現在）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/covid-19/9533-covid19-14-200323.html

・ Descriptive epidemiology of 516 confirmed cases of novel coronavirus infection reported by the national epidemiological surveillance of infectious diseases (NESID) system and active epidemiological surveillance (as of March 23, 2020)
https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/2484-idsc/9555-covid19-14-200323-e.html

・ 我が国における超過死亡の推定（2020 年 4 月までのデータ分析）

https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/9748-excess-mortality-20jul.html

- 我が国における超過死亡の推定（2020 年 5 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/9835-excess-mortality-20aug.html
- 我が国における超過死亡の推定（2020 年 6 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/9887-excess-mortality-20sep.html
- 我が国における超過死亡の推定（2020 年 7 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/9945-excess-mortality-20oct.html
- 我が国における超過死亡の推定（2020 年 8 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/9986-excess-mortality-20nov.html
- 我が国におけるすべての死因を含む超過死亡の推定（2020 年 9 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/10070-excess-mortality-20dec.html
- 我が国におけるすべての死因を含む超過死亡の推定（2020 年 10 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/10150-excess-mortality-21jan.html
- 我が国におけるすべての死因を含む超過死亡数および過少死亡数 （2020 年 11 月までのデータ分析）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc/493-guidelines/10216-excess-mortality-210305.html

ガイダンス等の資料（感染研・厚労省・学会等）

- 発症からの感染可能期間と再陽性症例における感染性・二次感染リスクに関するエビデンスのまとめ
https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2484-idsc/10174-covid19-18.html
- 「Maintaining surveillance of influenza and monitoring SARS-CoV-2 – adapting Global Influenza surveillance and Response System (GISRS) and sentinel systems during the COVID-19 pandemic: Interim guidance.」Geneva: World Health Organization; 2020 (WHO/2019-nCoV/ Adapting_GISRS/2020.1). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.（Contribution as Epidemiology considerations working group member (Yuzo Arima))

［土橋酉紀、高橋琢理、有馬雄三、小林祐介、駒瀬勝啓、加納和彦、砂川富正、FETP 一同、山岸拓也、神谷元、八幡裕一郎、島田智恵、鈴木基］

２．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。新型コロナウイルス感染症(COVID-19) 、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、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、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、鈴木基］

３．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。

［熊田萌、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 30 年度（2018 年度）および令和元年度（2019 年度）報告書を作成した。

［多屋馨子、北本理恵、新井智、森野紗衣子、新橋玲子、高梨さやか、浅野彩香、古賀千稔世、田中佑汰、村上咲帆、鈴木基］

２.感染症流行予測調査結果の発信

2020 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 2020 年 12 月と 2021 年 1 月の 2 報、ブタの日本脳炎抗体保有状況については 2020 年 7 月から 2021 年 1 月まで計 13 回、速報結果をホームページに掲載した。

［多屋馨子、新井智、森野紗衣子、熊田萌、浅野彩香、北本理恵、田中佳織、鈴木基］

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、2020 年度版を作成した。

［多屋馨子、北本理恵、新井智、森野紗衣子、鈴木基］

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 2020 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 2019 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、森野紗衣子、新井智、多屋馨子、鈴木基］

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、北本理恵、新井智、森野紗衣子、新橋玲子、鈴木基］

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、令和 2 年度では 18 件の協議・評価を行い 6 件の報告を行った。

［松井珠乃、松本喜美子、鈴木基；宮崎義継（真菌部・ハンセン病研究センター)］

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。2020 年度（2019 年採血血清）の受け入れ血清は 2,554 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（2020 年度申請 1 件、血清分与 246 本）。

［新井智、田中佑汰、村上咲帆、北本理恵、多屋馨子、鈴木基］

２.職員血清の保管業務

毎年度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返却を行った。

［森野紗衣子、多屋馨子、新井智、鈴木基］

３.事務局業務

2020 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、鈴木基］

４.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、森野紗衣子、田中佳織、浅野彩香］

VII. 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］

（2） JICA、国際緊急援助隊（JDR）感染症対策チームへの貢献

派遣前の研修や派遣に係る仕組みについて、作業部会員、研修担当として支援を行った。

［山岸拓也、神谷元、島田智恵、松井珠乃、鈴木基］

（3） JICA 国際緊急援助隊感染症対策チーム作業部会

疫学班の班長として実務的な検討を行った。

［島田智恵］

２. WPRO への協力

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。

［福住宗久］

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

FETN 運営委員会、および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、鈴木基］

４. 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 の共催で毎年開催されている国際研修「Laboratory Techniques for Diagnosis and Monitoring of HIV Infection」は、令和２年度は COVID-19 のパンデミックの影響により日本での講習が中止となった。代替として、令和元年度の参加者を集め、オンラインを用いた再講習・ミーティングが行われたが、その講師として、講義およびミーティングへの参加を行った。講習は HIV 塩基配列解析から系統樹解析・薬剤耐性試験までの流れの再確認を行い、ミーティングでは COVID-19 流行下における各国の HIV 検査・予防対策事業の状況の情報交換や、COVID-19 の最新の学術的成果を踏まえた、各国および本邦の対策に対する議論・提言等を行った。

［椎野禎一郎］

VIII. 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：山岸拓也、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、松井珠乃、鈴木基］

２. 全般実施状況

FETP の実施は 23 年目となり、令和 3 年 3 月に 21 期生 5 名が研修を修了した。

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

令和 2 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積極的疫学調査への協力を行った。

- 34 都道府県（北海道、青森県、岩手県、福島県、群馬県、埼玉県、茨城県、東京都、千葉県、神奈川県、長野県、新潟県、岐阜県、滋賀県、愛知県、三重県、京都府、大阪府、兵庫県、石川県、富山県、広島県、島根県、香川県、徳島県、愛媛県、福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、宮崎県、大分県、鹿児島県、沖縄県）から計 138 回の COVID-19 クラスター対応支援要請を受け、支援を実施した。
- カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）アウトブレイク事例対応

［研修指導 : 山岸拓也、八幡裕一郎、神谷元、島田智恵、小林祐介、錦信吾、土橋酉紀、松井珠乃、鈴木基、砂川富正］

５.研修活動（講義・セミナー受講）

サーベイランス評価、プレゼンテーションセミナー、論文の書き方などに関するセミナーを行った

[Anita Samuel, 山岸拓也、島田友恵、神谷元、八幡裕一郎、高橋琢理、有馬雄三、砂川富正、鈴木基]

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。
- 茨城県、神奈川県、東京都、香川県、広島県、札幌市、帯広市、栃木県で COVID-19 対応に関する研修会を行った。
- 厚生労働省「障害者支援施設及び障害福祉サービス事業所等における感染症対策力向上支援業務」に関する研修を行った。

東京都病院協会が主催する東京都院内感染対策推進事業で高齢者施設を対象とした COVID-19 対応に関する講演を行った。

７.感染症疫学研究

令和 2 年度に研修終了した 21 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。

- 門倉圭佑　千葉県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症患者数の推計と感染対策の実施状況
- 北原瑞枝　2015 年から 2020 年における腸管出血性大腸菌感染症患者の発生状況及び属性の比較
- 芹沢悠介　国内における梅毒症例の見積もり
- 中村晴奈　日本における侵襲性髄膜炎菌感染症の特徴と今後に向けた対策
- 渡邉佳奈　感染症発生動向調査に基づく 百日咳アウトブレイクの探知方法および 2020 年患者報告における疫学的特徴とその背景の検討

８.感染症サーベイランス活動

毎週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、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。

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、森野紗衣子、島田智恵、新橋玲子、IDES 岩本和世］

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であるが、新型コロナウイルス感染症に対する自治体の業務ひっ迫を考慮して本年度は開催中止となった。

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感染症集団発生対策研修

国立保健医療科学院における短期研修である感染症集団発生対策研修で感染症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］

(2)　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。

［砂川富正、鈴木基、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遠隔で実施した。

［八幡裕一郎］

１５．その他の研修の実施

(1)　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、砂川富正］

(2)　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、第一室、第三室］

(3)　横浜市立大学研修生の受け入れ

横浜市立大学医学部研修生の受け入れを行い、指導した。

［山岸拓也］

IX.　その他

１．情報提供及び広報活動

(1)　電話、メールの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 10 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 100 件の対応を行った。

［FETP 一同、神谷元、八幡裕一郎、山岸拓也、福住宗久、島田智恵、松井珠乃、多屋馨子、新井智、森野紗衣子、砂川富正、高橋琢理、土橋酉紀、有馬雄三、小林祐介、宮間浩史、鈴木基］

(2)　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 COVID-19、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、山岸拓也、宮間浩史、鈴木基］

(3)　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、鈴木基］

(4)　感染症意見交換会の開催

IASR で特集された疾患を対象として、メディア等を対象とした感染症意見交換会を、毎月最終週の月曜日に開催した。

［多屋馨子、砂川富正、宮間浩史、松石みゆき、鈴木基、他所内職員］

X.　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［鈴木基］
- 厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策専門家会議構成員　［鈴木基］
- 厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード・メンバー　［鈴木基］
- 厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会委員［鈴木基］
- 厚生労働省麻しん・風しんに関する小委員会 委員［多屋馨子］
- 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［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　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］
- 内閣府食品安全委員会薬剤耐性ワーキンググループ委員［山岸拓也］
- 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・評価委員［多屋馨子］
- PMDA 専門委員［多屋馨子］

XII. 品質管理に関する業務

1．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、森野紗衣子、田中佳織、新橋玲子、鈴木基；落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、板村繁之、木所稔、石井孝司（品質保証・管理部）］

XIV. 研修員一覧

氏名	区分	所属
押谷　仁	客員研究員	センター長室
斉藤　繭子	客員研究員	センター長室
西浦　博	客員研究員	センター長室
谷口　清州	客員研究員	第一室
中島　一敏	客員研究員	第一室
松井　珠乃	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
仁宮　洸太	協力研究員	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
石金　正裕	協力研究員	第一室
金山　敦宏	協力研究員	第一室
具　芳明	協力研究員	第一室
小林　彩香	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
関谷　紀貴	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
蜂巣　友嗣	協力研究員	第一室
堀　成美	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
渡邊　愛可	協力研究員	第一室
松井　佑亮	協力研究員	第一室
門倉　圭佑	協力研究員	第一室
北原　瑞枝	協力研究員	第一室
芹沢　悠介	協力研究員	第一室
柿本　健作	協力研究員	第一室
土井　育子	協力研究員	第一室
川上　千晶	協力研究員	第一室
上月　愛瑠	協力研究員	第一室
MATTHEW　MYERS　GRIFFITH	協力研究員	第一室
松本　かおる	協力研究員	第一室
竹田　飛鳥	協力研究員	第一室
藤倉　裕之	協力研究員	第一室
鵜飼　友彦	協力研究員	第一室

黒沢　克樹	協力研究員	第一室
中村　晴奈	協力研究員	第一室
佐藤　哲郎	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
菊池　風花	実習生	第三室

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Yamagishi T, Kamiya H, Kakimoto K, Suzuki M, Wakita T. Descriptive study of COVID-19 outbreak among passengers and crew on Diamond Princess cruise ship, Yokohama Port, Japan, 20 January to 9 February 2020.Euro Surveill. 2020 Jun;25(23).

2) Sekizuka T, Kuramoto S, Nariai E, Taira M, Hachisu Y, Tokaji A, Shinohara M, Kishimoto T, Itokawa K, Kobayashi Y, Kadokura K, Kamiya H, Matsui T, Suzuki M, Kuroda M. SARS-CoV-2 Genome Analysis of Japanese Travelers in Nile River Cruise. Front Microbiol. 2020 Jun 5;11:1316. doi: 10.3389/fmicb.2020.01316. eCollection 2020.

3) Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K, Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AE, Barnetson B, Leonard J, Wakita T. Environmental sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 during COVID-19 outbreak in the Diamond Princess cruise ship. J Infect Dis. 2020 Jul 21:jiaa437. doi: 10.1093/infdis/jiaa437.

4) Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, Saito S, Takayama I, Asanuma H, Nao N, Tanaka R, Hashino M, Takahashi T, Kamiya H, Yamagishi T, Kakimoto K, Suzuki M, Hasegawa H, Wakita T, Kuroda M. Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Aug 18;117(33):20198-20201

5) Kato H, Kamiya H, Mori Y, Yahata Y, Morino S, Griffith M, Ikegaya A, Sahara K, Furuta T, Okuno H, Fukusumi M, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Oishi K. Rubella outbreak among workers in three small- and medium-size business establishments associated with imported genotype 1E rubella virus-Shizuoka, Japan, 2015. Vaccine. 2020 Oct 1:S0264-410X(20)31205-6.

6) Sekizuka T, Itokawa K, Hashino M, Kawano, Kamiya H, Sugaya T, Tanaka R, Yatsu K, Ohnishi A, Goto K, Tsukagoshi H, Ehara H, Sadamasu K, Taira M, Shibata S, Nomoto R, Hiroi S, Toho M, Shimada T, Matsui T, Sunagawa T, Yahata Y, Yamagishi T, Suzuki M, Wakita T, Kuroda M. A Genome Epidemiological Study of SARS-CoV-2 Introduction into Japan. mSphere. 2020 Nov 11;5(6):e00786-20.

7) Aye AMM, Bai X, Borrow R, Bory S, Carlos J, Caugant DA, Chiou CS, Dai VTT, Dinleyici EC, Ghimire P, Handryastuti S, Heo JY, Jennison A, Kamiya H, Tonnii Sia L, Lucidarme J, Marshall H, Putri ND, Saha S, Shao Z, Sim JHC, Smith V, Taha MK, Van Thanh P, Thisyakorn U, Tshering K, Vázquez J, Veeraraghavan B, Yezli S, Zhu B. Meningococcal disease surveillance in the Asia-Pacific region (2020): The global meningococcal initiative. J Infect. 2020 Jul 27:S0163-4453(20)30506-5.

8) Saitoh A, Saitoh A, Katsuta T, Mine M, Kamiya H, Miyairi I, Ishiwada N, Oshiro M, Kira R, Shimizu N, Suga S, Tsugawa T, Fujioka M, Miyazaki C, Morioka I, Korematsu S, Nakano T, Tanaka-Taya K, Yoshikawa T, Iwata S, Kusuhara K, Azuma H, Moriuchi H, Okabe N, Hosoya M, Tsutsumi H, Okada K. Effect of a vaccine information statement (VIS) on immunization status and parental knowledge, attitudes, and beliefs regarding infant immunization in Japan. Vaccine. 2020 Nov 25;38(50):8049-8054.

9) Kanayama A, Sasahara T, Takahashi H, Kamiya H, Morisawa Y, Kaku K.Carriage Rate and Characteristics of Neisseria meningitidis Among Dormitory Students. Jpn J Infect Dis. 2021 Jan 29. Doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.890.

10) Yahata Y, Kamiya H, Griffith MM, Tsuchihashi Y, Kawakami S, Nii S, Sunagawa T. Knowledge, attitudes, and practices associated with pertussis vaccination during pregnancy: Japan, 2016-2017. Jpn J Infect Dis. 2021 Mar 31. Doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.489.

11) Sekiya N, Sunagawa T, Takahashi H, Kamiya H, Yoshino S, Ohnishi M, Okabe N, Taniguchi K. Serogroup B invasive meningococcal disease (IMD) outbreak at a Japanese high school dormitory: An outbreak investigation report from the first IMD outbreak in decades.Vaccine. 2021 Apr8; 39 (15): 2177-2182. Doi: 10.1016/j.vaccine.2021.02.034. Epub 2021 Mar 16.

12) Yamagishi T, Doi Y. Insights on COVID-19 epidemiology from a historic cruise ship quarantine. Clin Infect Dis. 2021 May 18;72(10):e458-e459.

13) Expert Taskforce for the COVID-19 Cruise Ship Outbreak. Epidemiology of COVID-19 Outbreak on

Cruise Ship Quarantined at Yokohama, Japan, February 2020. Emerg Infect Dis. 2020 Nov;26(11):2591-2597.

14) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis in heterosexual women: case characteristics and risk factors for recent syphilis infection in Tokyo, Japan, 2017-2018. Int J STD AIDS. 2020 Nov;31(13):1272-1281.

15) Lowbridge C, Chiew M, Russell K, Yamagishi T, Olowokure B, Li A. Regional event-based surveillance in WHO's Western Pacific Region. Western Pac Surveill Response J. 2020 Jun 30;11(2):11-19.

16) Sasaki T, Adachi T, Itoh K, Kubota M, Yamagishi T, Hirao M, Isawa H, Oishi K, Shibayama K, Sawabe K. Detection of Bartonella quintana infection among the Homeless Population in Tokyo, Japan, from 2013-2015. Jpn J Infect Dis. 2021 Jan 29. Doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.505. Online ahead of print.

17) Yahata Y, Fielding J, Kamiya H, Takimoto N, Ishii J, Fukusumi M, Sunagawa T. Factors associated with knowledges and attitudes about measles and rubella immunization in a non-health care occupational setting in Japan. Japan. J Infect Chemother. Accepted Dec 7, 2020.

18) Kato H, Yahata Y, Hori Y, Fujita K, Ooura N, Kido T, Yoshimoto K, Matsui T, Izumiya H, Ohnishi M, Oishi K. A shigellosis outbreak associated with a sports festival at a kindergarten in Kitakyushu City, Japan. J Infect Chemother. 2020 Jul 2:S1341-321X(20)30191-4.

19) Kawashima T, Nomura S, Tanoue Y, Yoneoka D, Eguchi A, Ng CFS, Matsuura K, Shi , Makiyama K, Uryu S, Kawamura Y, Takayanagi S, Gilmour S, Miyata H, Sunagawa T, Takahashi T, Tsuchihashi Y, Kobayashi Y, Arima Y, Kanou K, Suzuki M, and Hashizume M. Excess All-Cause Deaths during Coronavirus Disease Pandemic, Japan, January–May 2020. Emerg Infect Dis. 2021;27(3):789-795.

20) Kinoshita H, Arima Y, Shigematsu M, Sunagawa T, Saijo M, Oishi K, Ando S. Descriptive epidemiology of rickettsial infections in Japan: Scrub typhus and Japanese spotted fever, 2007-2016. Int J Infect Dis. 2021 Feb 18:S1201-9712(21)00155-7.

21) Kanai M, Arima Y, Shimada T, Hori N, Yamagishi T, Sunagawa T, Tada Y, Takahashi T, Ohnishi M, Matsui T, Oishi K. Increase in congenital syphilis cases and challenges in prevention in Japan, 2016-2017. Increase in congenital syphilis cases and challenges in prevention in Japan, 2016-2017. Sex Health. 2021 May;18(2):197-199. (accepted Jan 2021)

22) Arima Y, Kutsuna S, Shimada T, Suzuki M, Suzuki T, Kobayashi Y, Tsuchihashi Y, Nakamura H, Matsumoto K, Takeda A, Kadokura K, Sato T, Yahata Y, Nakajima N, Tobiume M, Takayama I, Kageyama T, Saito S, Nao N, Matsui T, Sunagawa T, Hasegawa H, Hayakawa K, Tsuzuki S, Asai Y, Suzuki T, Ide S, Nakamura K, Moriyama Y, Kinoshita N, Akiyama A, Miyazato Y, Nomoto H, Nakamoto T, Ota M, Saito S, Ishikane M, Morioka S, Yamamoto K, Ujiie M, Terada M, Sugiyama H, Kokudo N, Ohmagari N, Ohnishi M, Wakita T, the COVID-19 Response Team. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection Among Returnees to Japan From Wuhan, China, 2020. Emerg Infect Dis. 2020 Apr 10;26(7).

23) Arima Y, Takahashi T, Sunagawa T, Suzuki M. (2020) Epidemiology of Influenza with a Description of Recent Trends in Japan: What Are the Key Epidemiologic Features of Seasonal Influenza? In: Fujita J. (eds) Influenza. Respiratory Disease Series: Diagnostic Tools and Disease Managements. Springer, Singapore (pages 15-25).(書籍)

24) Cook, J. A.; Arai, S.; Armién, B.; Bates, J.; Bonilla, C. A. C.; Cortez, M. B. d. S.; Dunnum, J. L.; Ferguson, A. W.; Johnson, K. M.; Khan, F. A. A.; Paul, D. L.; Reeder, D. M.; Revelez, M. A.; Simmons, N. B.; Thiers, B. M.; Thompson, C. W.; Upham, N. S.; Vanhove, M. P. M.; Webala, P. W.; Weksler, M.; Yanagihara, R.; Soltis, P. S., Integrating Biodiversity Infrastructure into Pathogen Discovery and Mitigation of Emerging Infectious Diseases. BioScience 2020, 70, (7), 531-534.

25) Fukui, D.; Tu, V. T.; Thanh, H. T.; Arai, S.; Harada, M.; Csorba, G.; Son, N. T., First Record of the Genus *Plecotus* from Southeast Asia with Notes on the Taxonomy, Karyology and Echolocation Call of *P. homochrous* from Vietnam. Acta Chiropterologica 2020, 22, (1), 57-74, 18.

26) Kikuchi, F.; Aoki, K.; Ohdachi, S. D.; Tsuchiya, K.; Motokawa, M.; Jogahara, T.; Sơn, N. T.; Bawm, S.; Lin, K. S.; 31he, T. L.; Gamage, C. D.; Ranorosoa, M. C.; Omar, H.; Maryanto, I.; Suzuki, H.; Tanaka-Taya, K.; Morikawa, S.; Mizutani, T.; Suzuki, M.; Yanagihara, R.;

Arai, S., Genetic Diversity and Phylogeography of Thottapalayam thottimvirus (*Hantaviridae*) in Asian House Shrew (*Suncus murinus*) in Eurasia. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 2020, 10, (438).

27) Liphardt, S. W.; Kang, H. J.; Arai, S.; Gu, S. H.; Cook, J. A.; Yanagihara, R., Reassortment Between Divergent Strains of Camp Ripley Virus (*Hantaviridae*) in the Northern Short-Tailed Shrew (*Blarina brevicauda*). Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 2020, 10, 460.

28) Maung Maung Theint, S.; 32he, T.; Myat Myat Zaw, K.; Shimada, T.; Bawm, S.; Kobayashi, M.; Saing, K. M.; Katakura, K.; Arai, S.; Suzuki, H., Late Quaternary Environmental and Human Impacts on the Mitochondrial DNA Diversity of Four Commensal Rodents in Myanmar. Journal of Mammalian Evolution 2020.

29) Mori, S.; Thwe, T.; Thu, W. M.; Yasuda, S. P.; Bawm, S.; Tsuchiya, K.; Katakura, K.; Arai, S.; Yoshimatsu, K.; Suzuki, H., Species and genetic diversity of *Bandicota* (Murinae, *Rodentia*) from Myanmar based on mitochondrial and nuclear gene sequences. Mammal Research 2020, 65, (3), 493-502.

30) Yokomichi, H.; Tanaka-Taya, K.; Koshida, R.; Nakano, T.; Yasui, Y.; Mori, M.; Ando, Y.; Morino, S.; Okuno, H.; Satoh, H.; Arai, S.; Mochizuki, M.; Yamagata, Z., Immune thrombocytopenic purpura risk by live, inactivated and simultaneous vaccinations among Japanese adults, children and infants: a matched case–control study. International Journal of Hematology 2020, 112, (1), 105-114.

31) Tu, V. T.; Görföl, T.; Csorba, G.; Arai, S.; Kikuchi, F.; Fukui, D.; Koyabu, D.; Furey, N. M.; Bawm, S.; Lin, K. S.; Alviola, P.; Hang, C. T.; Son, N. T.; Tuan, T. A.; Hassanin, A., Integrative taxonomy and biogeography of Asian yellow house bats (Vespertilionidae: *Scotophilus*) in the Indomalayan Region. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 2021, 59, (3), 772-795.

32) Morino S, Kitagami E, Nakayama H, Koizumi Y, Tanaka-Taya K, Kinjo Y, Oishi K. Seroepidemiological analysis of anti-pneumococcal surface protein A (PspA) immunoglobulin G by clades in Japanese population. Vaccine. 2020; 38(47):7479-7484.

33) Uehara T, Morino S, Oishi K, Nakamura Y, Togashi N, Imaizumi M, Nishimura S, Okada S, Yara A, Fukushima H, Imagawa K, Takada H. Pneumococcal Serotype-specific Opsonophagocytic Activity in Interleukin-1 Receptor-associated Kinase 4-deficient Patients. Pediatr Infect Dis J. 2021 Jan 19. Doi: 10.1097/INF.0000000000003060.

34) Chepngeno J, Takanashi S, Diaz A, Michael H, Paim FC, Rahe MC, Hayes JR,Baker C, Marthaler D, Saif LJ, Vlasova AN. Comparative Sequence Analysis of Historic and Current Porcine Rotavirus C Strains and Their Pathogenesis in 3-Day-Old and 3-Week-Old Piglets. Front Microbiol. 2020 Apr 24;11:780. Doi:10.3389/fmicb.2020.00780.

35) Hoque SA, Khandoker N, Thongprachum A, Khamrin P, Takanashi S, Okitsu S, Nishimura S, Kikuta H, Yamamoto A, Sugita K, Baba T, Kobayashi M, Hayakawa S, Mizuguchi M, Maneekarn N, Ushijima H. Distribution of rotavirus genotypes in Japan from 2015 to 2018: Diversity in genotypes before and after introduction of rotavirus vaccines. Vaccine. 2020;38(23):3980-3986. Doi:10.1016/j.vaccine.2020.03.061.

36) Takeuchi H, Hasan SMT, Zaman K, Takanashi S, Hore SK, Yeasmin S, Ahmad SM,Alam MJ, Jimba M, Iwata T, Khan MA. Impact of Haemophilus influenzae type b combination vaccination on asthma symptoms and pneumonia in 5-year-old children in rural Bangladesh: a longitudinal study and comparison with a previous cross sectional study. Respir Res. 2021;22(1):35. Doi: 10.1186/s12931-021-01629-8.

37) Shimbashi R, Suzuki M, Chang B, Watanabe H, Tanabe Y, Kuronuma K, Oshima K, Maruyama T, Takeda H, Kasahara K, Fujita J, Nishi J, Kubota T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Sunagawa T, Oishi K; Adult IPD Study. Effectiveness of 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine against Invasive Pneumococcal Disease in Adults, Japan, 2013-2017. Emerg Infect Dis. 2020 ;26(10):2378-2386.

38) Nakamura R, Chong PF, Haraguchi K, Katano H, Tanaka-Taya K, Kira R. Disseminated cortical and subcortical lesions in neonatal enterovirus 71 encephalitis. J Neurovirol. 2020;26(5):790-792.

39) Chong PF, Yoshida T, Yuasa S, Mori H, Tanaka-Taya K, Kira R. Acute Flaccid Myelitis With Neuroradiological Finding of Brachial Plexus Swelling. Pediatr Neurol. 2020 ;109:85-88.

40) Chong PF, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Okumura A, Mori H, Tanaka-Taya K; AFM Study Group.Three-Year Longitudinal Motor Function and Disability Level of Acute Flaccid Myelitis. Pediatr Neurol. 2021 ;116:14-19.

41) Arai S, Satoh H, Okuno H, Morino S, Oishi K, Tanaka-Taya K. Comparison of Haemophilus influenzae Seroprevalence in Serum Samples Collected from 0- to 5-Year-Old Japanese Children in 1980, 1995, 2010, and 2012. Jpn J Infect Dis. 2020 ;73(1):51-54.

42) Saitoh A, Saitoh A, Katsuta T, Mine M, Kamiya H, Miyairi I, Ishiwada N, Oshiro M, Kira R, Shimizu N, Suga S, Tsugawa T, Fujioka M, Miyazaki C, Morioka I, Korematsu S, Nakano T, Tanaka-Taya K, Yoshikawa T, Iwata S, Kusuhara K, Azuma H, Moriuchi H, Okabe N, Hosoya M, Tsutsumi H, Okada K.Effect of a vaccine information statement (VIS) on immunization status and parental knowledge, attitudes, and beliefs regarding infant immunization in Japan.Vaccine.2020 ;38(50):8049-8054.

43) Kobayashi A, Shimada T, Tanaka-Taya K, Kanai M, OkunoKobayashi H, Kinoshita M, Matsui T, Oishi K. Epidemiology of a workplace measles outbreak dominated by modified measles cases at Kansai international airport, Japan, during august-september 2016.Vaccine. 2020 ;38(32):4996-5001.

2. 和文発表

1) 神谷元. 冬のインフルエンザ・夏のオリンピックに備える「流行性耳下腺炎」臨床雑誌内科感染症 2020(Vol.125 No.1)2020 年 1 月号

2) 神谷元. 新型コロナウイルス感染症対策 (特集 新型コロナウイルス感染症対策 : 図書館の記録). 専門図書館 Bulletin of the Japan Special Libraries Association (301・302), 2-6, 2020-10

3) 小林亜由香, 中島淳, 大塚武, 飯草正実, 酒井雄一郎, 佐多章, 大城健哉, 菊地孝司, 菊池俊, 松本裕子, 宮原聖奈, 宮平勝人, 神谷元, 高橋英之, 東田修二, 齋藤良一. 市販輸送培地における Neisseria meningitidis 生菌数の経時的変動. 日本臨床微生物学会雑誌 The journal of the Japanese Society for Clinical Microbiology 31(2), 108-112, 2021

4) 神谷元. 忘れちゃいけない やらなきゃいけない 子どもを守るワクチン接種(第 14 回)妊婦と子どもを守るワクチン接種. チャイルドヘルス 23(11), 853-855, 2020-11. 診断と治療社

5) 神谷元. 髄膜炎菌ワクチン (特集 予防接種パーフェクトガイド). 小児科診療 83(11), 1641-1645, 2020-11 診断と治療社

6) 神谷元, 柿本健作, 島田智恵, 松井珠乃. 感染症サーベイランス情報を対応に活かす (特集 徹底解説 東京 2020 対策 : 今こそ!マスギャザリングへの備え). 公衆衛生 =The journal of public health practice 84(5), 293-297, 2020-05 医学書院

7) 柿本健作, 砂川富正, 鈴木基, 小林和夫, 神谷元, 入谷展弘, 本村和嗣, 河原寿賀子, 平山隆則, 桑原靖, 吉田英樹, 松井珠乃. G20 大阪サミットにおける感染症強化サーベイランス. 保健医療科学 69(2), 153-164, 2020

8) 八幡裕一郎. 保健所の感染症アウトブレイク時における疫学調査. 生活と環境, 2020; 765(11): 27‐34.

9) 笠松亜由, 太田雅之, 山岸拓也, 高橋琢理, 有馬雄三. 梅毒と HIV 感染症. 臨床とウイルス. Vol. 49 No. 1 2021.3.

10) 鈴木基, 宮原麗子, 有馬雄三. 新型コロナウイルス感染症の国内流行とサーベイランス. 臨床と微生物. 第 47 巻第 6 号. 2020.6.

11) 土橋酉紀, 砂川富正. ロタウイルスに関するサーベイランス.臨床と微生物.第 47 巻第 2 号.2020.2

12) 土橋酉紀, 砂川富正, 鈴木基. 日本と世界における新型コロナウイルス感染症の流行.日本内科学会雑誌第 109 巻第 11 号.2020.11.

13) 土橋酉紀, 砂川富正. 2009 年のパンデミックを振り返る. チャイルドヘルス第 266 号.2020.11.

14) 森野紗衣子, 多屋馨子. 風疹・麻疹の流行とその対策. Derma. 2020; 297: 13-20.

15) 森野紗衣子, 多屋馨子. 風疹第 5 期定期接種導入の背景と実施状況. 小児科.2020 ; 61(8): 1133-1141.

16) 森野紗衣子. ワクチンで何が変わった? ウイルス感染症. 小児科診療. 2020; 83(11): 1413-1423.

17) 森野紗衣子, 多屋馨子. 話題の感染症 水痘ワクチン定期接種化で水痘発生動向はどう変わったか. Modern Media. 2021; 67(2): 25-33.

18) 森野紗衣子. ワクチン各論　水痘・帯状疱疹. 小児科臨床. 2020; 73(12): 1738-1744

19) 森野紗衣子. 疾患別のワクチン情報　肺炎球菌(PCV). Jmed mook. 2020; 68: 114-117.

20) 新橋玲子, 多屋馨子. 新型コロナウイルス感染症、インフルエンザ、百日咳、破傷風、風疹、麻疹に関する疫学情報. Up-to-date 子どもの感染症. 2020; 8: 4-9.

21) 岡田賢司, 多屋馨子, 久保田恵巳, 城青衣, 菅原美絵, 津川毅, 並木由美江, 東健一, 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. 感染症・予防接種レター(第 84 号)　ワクチンの筋肉内接種. 小児保健研究. 2021; 80(1): 102-103.

22) 黒澤寛史, 青景聡之, 池山貴也, 賀来典之, 川崎達也, 小泉沢, 齊藤修, 居石崇志, 竹内宗之, 武田充人, 西村奈穂, 清水直樹, 志馬伸朗, 西田修, 多屋馨子, 神谷元, 天羽清子, 大城誠, 勝田友博, 菅秀, 津川毅, 西村直子, 菱木はるか, 藤岡雅司, 細矢光亮, 水野由美, 吉川哲史, 和田泰三, 尾内一信, 齋藤昭彦, 森内浩幸, 日本集中治療医学会小児集中治療委員会日本小児集中治療連絡協議会 COVID-19 ワーキンググループ. 日本小児科学会予防接種・感染症対策委員会および日本集中治療医学会小児集中治療委員会　日本小児集中治療連絡協議会 COVID-19 ワーキンググループ活動報告(第 2 報). 日本小児科学会雑誌. 2021; 125(3):521-527.

23) 岡田賢司, 多屋馨子, 久保田恵巳, 城青衣, 菅原美絵, 津川毅, 並木由美江, 東健一, 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. 感染症・予防接種レター(第 83 号)　新型コロナウイルス感染症対策をとおして明らかとなった未就学児施設のインフラとしての役割　子どもの成長発達を保障しながら感染症対策を続けるために必要な環境とは. 小児保健研究. 2020; 79(6): 636-638.

24) 多屋馨子.【周産期の薬】新生児編　基本的薬剤の選び方・使い方・注意点　ワクチン. 周産期医学. 2020; 50 supple: 331-334.

25) 大石和徳, 佐藤弘, 多屋馨子. 感染症の現状と対策-薬学領域が果たす役割　再度発生した風しんの国内流行の背景と公衆衛生対策. 薬学雑誌. 2020; 140(7): 901-904.

26) 多屋馨子.【その症状は"かぜ"?まちがいやすい病気イロイロ】かぜとまちがいやすい個々の病気　麻疹. 小児看護. 2020; 44(1): 40-44.

27) 多屋馨子.【小児疾患診療のための病態生理 1　改訂第 6 版】感染症　風疹、先天性風疹症候群. 小児内科. 2020; 52supple: 968-974.

28) 岡田賢司, 多屋馨子, 久保田恵巳, 城青衣, 菅原美絵, 津川毅, 並木由美江, 東健一, 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. 感染症・予防接種レター(第 82 号)　予防接種の接種間隔に関する制度が変更されます. 小児保健研究.2020; 79(5): 533-535.

29) 多屋馨子.【感染症から子どもを守るために-新型コロナウイルス感染症からの学びとワクチンの最新情報-】感染症と免疫・ワクチン　ワクチン各論　風疹. 小児科臨床. 2020; 73(12): 1732-1737.

30) 多屋馨子.【感染症から子どもを守るために-新型コロナウイルス感染症からの学びとワクチンの最新情報-】感染症と免疫・ワクチン　ワクチン各論　麻疹(はしか). 小児科臨床. 2020; 73(12): 1727-1731.

31) 多屋馨子.【予防接種パーフェクトガイド】おさえておくべき基礎知識　健康被害. 小児科診療. 2020; 83(11): 1505-1512.

32) 多屋馨子.「予防接種法施行令の一部を改正する政令」及び「予防接種法施行規則及び予防接種実施規則の一部を改正する省令」の公布について　ロタウイルスワクチン. ファルマシア. 2020; 56(10): 938.

33) 多屋馨子, 岡田賢司, 久保田恵巳, 城青衣, 菅原美絵, 津川毅, 並木由美江, 東健一, 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. 感染症・予防接種レター(第 81 号)　新型コロナウイルス感染症(COVID-19). 小児保健研究. 2020; 79(4): 393-395.

34) 三鴨廣繁, 多屋馨子, 石黒信久, 岩田敏, 内田美保, 岡田賢司, 金井信一郎, 豊川真弘, 中野貴司, 藤村茂, 山岸由佳, 一般社団法人日本環境感染学会ワクチン委員会医療関係者のためのワクチンガイドライン(第 3 版). 日本環境感染学会誌.2020; 35(4): i-ii,S1-S31.

35) 多屋馨子.【ワクチン・ギャップ解消後のワクチン Q&A】ワクチンは不足したりしませんか? チャイルド ヘルス. 2020; 23(9): 642-645.

36) 多屋馨子. 急性弛緩性麻痺-新たな 5 類感染症全数把握疾患-　急性弛緩性麻痺(AFP)と急性弛緩性脊髄炎(AFM)　オーバービュー. 脳と発達. 2020; 52(4): 254-258.

37) 岡田賢司, 中野貴司, 大城誠, 吉良龍太郎, 清水直樹, 細矢光亮, 宮入烈, 多屋馨子, 森島恒雄, 岡部信彦, 森内浩幸, 楠原浩一, 東寛, 黒澤寛史, 池山貴也, 賀

来典之, 川崎達也, 齊藤修, 居石崇志, 竹内宗之, 西村奈穂, 志馬伸朗, 西田修, 日本小児科学会予防接種・感染症対策委員会, 新興・再興感染症対策小委員会新興・再興感染症対策小委員会およびCOVID-19ワーキンググループ活動中間報告. 日本小児科学会雑誌. 2020; 124(5): 918-921.

38) 多屋馨子. 【東京オリンピック・パラリンピックで注意すべきインバウンド感染症】注意しなければいけないウイルス感染症　麻疹、風疹. 臨床と微生物. 2020; 47(3): 244-250.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Yamagishi T. The tale of Diamond Princess. ID week 2020: Chasing the sun. Web conference. October 22, 2020

2) Kamiya H. Invasive meningococcal disease in Japan and Preparation for International Mass Gatherings Global Meningococcal Initiative 4th Summit Meeting March 22–25, 2021. Virtual Meeting

1. 国内学会

1) 神谷元. シンポジウム２８「ワクチンシンポジウム―誰に、何を、いつ、その効果は？」髄膜炎菌ワクチン. 第９４回日本感染症学会総会・学術講演会 (Zoom 会議)

2) 神谷元. 国際シンポジウム：How to improve vaccination rates in children. Japanese Immunization: where we stand and where we aim.　第123回日本小児科学術集会(Zoom 会議)

3) 神谷元. シンポジウム１　ロタウイルスワクチン定期接種化国内のロタウイルス感染症の疫学とロタウイルスワクチン.第52回日本小児感染症学会総会・学術集会(Zoom 会議)

4) 神谷元. 麻疹アウトブレイクへの対応. 第90回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 第63回日本感染症学会中日本地方会学術集会, 第68回日本化学療法学会西日本支部総会. 2020年11月（福岡）

5) 神谷元. ミニシンポジウム３　ワクチン. ロタウイルスワクチンの定期接種導入. 第69回日本感染症学会東日本地方学術集会、第67回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会2020　(Zoom 会議)

6) 神谷元. 第341回　ICD講習会. 今改めてワクチン・予防接種について考える. 第69回日本感染症学会東日本地方学術集会、第67回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会2020　(Zoom 会議)

7) 神谷元. 特別企画「COVID-19―19人の専門家からのアップデート」. 国内の疫学と積極的疫学調査. 第61回日本臨床ウイルス学会 (Zoom 会議)

8) 山岸拓也. COVID-19 – 19人の専門家からのアップデート「ダイヤモンドプリンセス号総括」. 第61回日本臨床ウイルス学会. 2020年10月2日-31日オンライン配信.

9) 山岸拓也.クラミジア. 第 68 回日本感染症学会東日本地方会ベーシックレクチャー. 仙台. 2020年10月23日

10) 山岸拓也. 共通講習2：感染対策「新型コロナウイルスの施設内感染を防ぐには」. 第 33 回日本性感染症学会学術集会. オンライン. 2020年12月5日.

11) 藤倉裕之, 山岸拓也, 高橋琢理, 佐藤哲郎, 加納和彦, 錦信吾, 砂川富正, 松井珠乃, 鈴木基, 大西真. 2015-2018年の異性間性的接触における梅毒発生動向の傾向. 第33回日本性感染症学会学術集会. 2020年12月5日.

12) 八幡裕一郎. 現場の活動からCOVID-19対応の社会的協働を展望する新型コロナウイルス感染症の集団発生（クラスター）対策等に関する支援. 第79回日本公衆衛生学会総会. 2020年10月14日(Zoom 会議).

13) 土橋酉紀, 具芳明, 藤友結実子, 谷原真一, 砂川富正, 桑原正雄. 病院医師と診療所医師における抗菌薬処方行動の傾向.　第 94 回日本感染症学会学術講演会.2020年8月. 東京都

14) 松山亮太, 渡邊大, 土橋酉紀, 鍵浦文子, 加納和彦, 高橋琢理, 松井佑亮, 白阪琢磨, 砂川富正, 梯正之.CD4 細胞数データとインシデンス法を利用した日本 におけるHIV感染者数の推定.第31回日本疫学会学術総会.　2021年1月

15) 森野紗衣子, 佐藤弘, 高梨さやか, 新橋玲子, 新井智, 多屋馨子, 鈴木基. ムンプス流行と小児のムンプス抗体保有状況の年次変化. 第 24 回 日本ワクチン学会. 2020年12月. Web 開催.

16) 新橋玲子, 多屋馨子, 鈴木基. ワクチン導入に伴う肺炎球菌感染症の疫学変化. 第69回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 2020年10月. Web 開催.

17) 多屋馨子. 臨床検査技師のためのワクチン講座 医療関係者のための麻疹、風疹、流行性耳下腺炎、水痘ワクチン. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 2021 年 1 月. Web 開催.
18) 多屋馨子. Life-course Immunization の実現に向けて ～生涯を通じた予防接種の重要性～ 現役ミドル世代のワクチン MR ワクチン. 第 79 回日本公衆衛生学会総会. 2020 年 10 月. Web 開催.
19) 多屋馨子. 肺炎球菌ワクチン オーバービュー. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 2020 年 10 月. Web 開催.
20) 多屋馨子. 教えて先輩 感染症キャリアの作り方 臨床ウイルス学・予防接種学. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 2020 年 10 月. Web 開催.
21) 是松聖悟, 宮田一平, 三浦克志, 長谷川俊史, 小林一郎, 亀田誠, 手塚純一郎, 佐藤泰憲, 西藤成雄, 藤本嗣人, 多屋馨子, 岡田賢司, 藤澤隆夫, 尾内一信. 喘息発作入院のサーベイランスを介した呼吸器感染症の早期検出と流行把握の研究. 第 52 回日本小児感染症学会. 2020 年 11 月. Web 開催.
22) 野田麻里絵, チョン・ピンフィー , 安元佐和, 奥村彰久, 森墾, 多屋馨子, 鳥巣浩幸. 2018 年秋に多発した急性弛緩性脊髄炎の末梢神経障害. 第 63 回日本小児神経学会学術集会. 2020 年 5 月. Web 開催.
23) 新井智, 森野紗衣子, 多屋馨子. 近年日本で分離された日本脳炎ウイルスの性状. 第 61 回日本臨床ウイルス学会. 2020 年 10 月. Web 開催.
24) 多屋馨子. ワクチンにより予防できるウイルス感染症の最新情報. 第 61 回日本臨床ウイルス学会. 2020 年 10 月. Web 開催.
25) 多屋馨子. アジアが風邪引くと日本がくしゃみする! 疹撃の麻疹・風疹. 第 123 回日本小児科学会学術集会.2020 年 4 月. Web 開催.
26) 多屋馨子. 急性弛緩性麻痺(AFP)サーベイランスとエンテロウイルス D68. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会.2020 年 8 月. Web 開催.

１８．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、約40年の歳月が流れている。この間の科学の進歩はめざましく、抗HIV薬開発も進展したが、世界のHIV感染者数は3800万人、年間約170万人が新たにHIVに感染し、約70万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、本邦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2004年以降毎年1,000件以上（2019年：1,095件）で、感染者数の増大が続いている。特にエイズ発症で感染が判明する件数が多く（2019年：345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。2020年は、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）流行があり、HIV検査数減少に伴うHIV感染者報告数減少が問題となっている。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・神経認知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組み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。

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、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・腸内マイクロバイオーム等の解析研究を推進して、薬剤耐性株動向調査を継続するとともに、HIV複製・感染病態の解明、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。

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すとともに、国内HIV/AIDS動向・疫学的解析にも貢献し、国内感染者推定研究を展開して成果をあげている。さらに、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等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。日米連携および日仏連携シンポジウム開催をはじめとして、国際共同研究推進および若手研究者育成にも尽力している。

一方、HTLV感染症に関する研究では、感染者の感染免疫動態の解析を進めるとともに、ワクチン開発研究を推進している。HIV/HTLV感染症と同様、無症候感染者からの「みえない感染拡大」を特徴とするCOVID-19についても、HIV感染症研究で培われた最先端技術を駆使して感染免疫学的解析研究・ワクチン開発研究を展開している。

以上のように、エイズ研究センターは、HIV・HTLV 感染症、さらには「みえない感染拡大」の制圧に向けた研究の推進およびその成果の国内外への発信・導入により、わが国における感染拡大防止および感染者の QOL の向上、さらには世界の感染症の制圧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い、CTL エピトープとして *90-010-Ie* で Tat_{37-44}、*90-010-Id* において $Vif_{191-201}$ を同定し、MHCクラスIハプロタイプ *90-010-Ie* 及び *90-010-Id* の感染初期の選択圧パターンにつき比較解析を行った。本年度は、immunodominantなエピトープ特異的CTL集団中におけるpAMPK低発現亜集団の解析を行い、当該の集団中に消耗マーカー高発現を来さない亜集団がさらに存在することを見出した。本結果は、感染初期のNAb の存在によるウイルス特異的細胞性免疫応答の機能的保持につき示唆を与える知見である。

[山本浩之、Hau Thi Thu Trang、菅野芳明、西澤雅子、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} 株感染アカゲザ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てきた。昨年度までに、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ること、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し、上記 4 領域の点変異は中和エスケープであって、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、NAb誘導群ではEnv領域の選択圧が亢進していることを見出し、またSIVの各病原性蛋白質がB細胞を侵襲し直接的に負の攪乱を与える機構を評価する *in vitro* 実験系を確立し、高精度イメージング解析の条件設定を行ってきた。本年度は、*in vitro* イメージング解析の画像処理の知見を踏まえる形で、SIV 感染個体における免疫細胞の *in vivo* イメージング解析の基礎的検討を行った。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) 中和抗体誘導に関与する B 細胞受容体遺伝子多型に関する研究

ワクチン接種やウイルス感染における中和抗体誘導には個人差が存在するが、その詳細な機序について十分には明らかになっていない。我々は、以前に中和抗体感受性SIV感染アカゲザルより広域交差性抗 SIV 中和抗体 B404 を同定し、その誘導機序を解析してきた。中和抗体感受性 SIV 感染アカゲザル 10 頭における抗 SIV 中和抗体誘導および B 細胞受容体(BCR)遺伝子を解析した結果、B404 クラス抗体が使用する可変領域の由来する germline VH3.33 遺伝子には遺伝子多型が存在し、この遺伝子多型が SIV 感染個体における B404 クラス抗体の誘導を規定していることを明らかにした。本研究結果は、中和抗体誘導の有無を規定する要因としてgermline抗体遺伝子多型もありうることを明らかにした点で重要である。また、このB404クラス抗体誘導にいたるVH3.33遺伝子型を有するサルを用いた系は、中和抗体誘導機序解明に有用である。

[松岡佐織、石井洋、山本浩之、野村柚仁、佐野雅人、岡崎みどり、俣野哲朗;関塚剛、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)、桑田岳夫、松下修三(熊本大学)、Vanessa Hirsch(NIH/NIAID)、齊藤暁(宮崎大学)、関洋平、明里宏文、阪脇廣美、三浦智行(京都大学)]

(4) 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。本年度は昨年度に引き続き、個体数を増やして、急性期および慢性期由来の自己ウイルスを用いた解析を展開し、中和抗体が CTL と協同して潜伏感染維持に関する各種解析を進めた。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、吉村和久;明里宏文(京都大学)]

(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

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。多様な SIV 亜種による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。CD8α抗体投与により感染制御個体から CD8α+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、CD8α+細胞(CD8+T, NK 細胞)が感染防御に働くこと、Ex-vivo 解析から抗ウイルス活性は IL-15 依存性であることが判明した。しかし感染制御群と非感染制御群には有意な SIV 特異的 CD8+T 細胞が誘導されていたことから、IL-15 応答性エフェクター機能は、細胞性免疫を含む獲得免疫に補完的に機能し、多様な SIV 亜種による感染制御に働いていることが推測される。IL-15 応答性エフェクター機能は、感染制御群と非感染制御群の間に統計学的に有意な違いがあることから、新たな SIV/HIV 感染制御免疫と考えられる。IL-15 応答性エフェクター機能は単球・樹状細胞に依存することから、宿主は、自然免疫機能により SIV 感染を感染初期から認識・制御することが推測される。今後、IL-15 応答性エフェクター活性化の機序、関連する免疫細胞、遺伝子発現の解明が求められる。

[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 HIV ワクチンの抗原設計に関する研究

グローバルな HIV 感染拡大抑制にはワクチン開発が必要とされる。我々はこれまで CTL 誘導ワクチン開発研究を推進し、デリバリー系としてセンダイウイルス(SeV)ベクターを開発して、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で安全性と免疫原性の確認にいたっている。さらに抗原最適化に向けた研究を展開し、Gag・Vif を標的として、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(CaV11)を開発して、アカゲザルを用いた実験で、Gag・Vif 特異的 CD4 陽性 T 細胞を誘導せずに Gag・Vif 特異的 CTL 誘導することを確認した。低用量SIV経直腸反復接種実験においては、ワクチン接種による有意な感染防御効果が認められた。本研究結果は、Gold Standard Model において CTL 誘導ワクチンの経粘膜感染防御効果を示した有数の成果であり、有望な HIV ワクチン抗原デザインとして、今後の研究進展が期待される。

[石井洋、野村拓志、中村碧、関紗由里、山本浩之、武田明子、岡崎みどり、俣野哲朗;寺原和孝(免疫部)、阪脇廣美、三浦智行(京都大学)、徳炭剛、原裕人、朱亜峰(ID ファーマ)、David Watkins (George Washington Medical School)]

(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。EnvF 抗原が広域交差性抗 HIV 中和抗体により認識されることおよび CD4・CCR5 を介した膜融合能を保持していることを明らかにし、抗体誘導のための抗原として構造的に適していることを示した。EnvF 抗原の免疫原性を解析するため、ウサギおよびカニクイザルへの SeV-EnvF および NVP-EnvF ワクチン接種実験を行ったところ、複数の HIV 株由来の Env gp120 に結合する抗体が誘導されることを明らかにした。また、複数のワクチン接種個体由来の血漿において抗 HIV 中和活性が観察され、EnvF 抗原が抗体誘導ワクチンのための新規プラットフォームとして有用であることが示された。

[石井洋、中村碧、野村柚仁、俣野哲朗;徳炭剛、原裕人、朱亜峰(ID ファーマ)]

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 全長または Gag206-216、Gag241-249 エピトープを主抗原とする 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実験で、MHC-I ハプロタイプ A 共有サル群は SIV 複製制御にいたることを示し、Gag206-216 および Gag241-249 エピトープ特異的 CTL がその複製制御に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、MHC-I ハプロタイプ A 共有サルの解析で、ワクチン誘導交差性 CD8 陽性 T 細胞が長期複製制御維持に寄与することを示唆する知見が得られている。一方、MHC-I ハプロタイプ A 共有サルのうち非 SIV 複製制御群において、7 か所の MHC-I ハプロタイプ A 関連エピトープに変異が選択される時期を調べたところ、感染後 1 年以内にほとんどの MHC-I ハプロタイプ A 関連エピトープに変異選択がみられ、特に Gag206-216 および Nef9-19 エピトープ領域における変異が早期に選択されることがわかった。本研究結果は、ウイルス複製制御下におけるウイルスと宿主 CTL との相互作用の理解に結びつく基盤情報として重要である。

[野村拓志、山本浩之、石井洋、Ntim Afia Asante、俣野哲朗;明里宏文、阪脇廣美、三浦智行(京都大学)]

(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して、ウイルスゲノム、HLA 遺伝子型、腸内マイクロバイオーム等のデータ収集・蓄積を進めている。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推進中である。

[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、俣野哲朗;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)、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)]

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、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。本年度は In Silico Guided Hits を中心に各種解析を行い、抗 HIV 活性、中和抗体の相乗効果、および分子動力学計算法を用いた結合領域推定等を進めることができた。本結果は、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、吉村和久;鳴海哲夫(静岡大学)]

(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。本年度も昨年度に引き続き、は、構築した KP-5 ウイルスパネルに対して、各種感受性解析を展開し、各点変異における詳細解析を進めた。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。これまでに、HIV 感染者 CTL クローンから iPS 細胞を樹立し、iPS 細胞由来 HIV 特異的再分化 T 細胞(HIV-iPS-T)の作製に成功した。HIV-iPS-T は高い増殖能と機能性を有しており、親クローンに比して、試験管内で長期間にわたり HIV 複製抑制効果が持続することが明らかとなった。現在、本治療戦略の *in vivo* での効果検証を行うため、サルエイズモデルを用いて検討を進めている。アカゲザル由来 iPS 細胞から SIV 特異的再分化 T 細胞を作製し、SIV 感染アカゲザルへの移植実験を実施している。

[立川愛、俣野哲朗、石井洋、三木祥治;金子新、阪脇廣美、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い、これまでに報告のない多数の反応性ペプチドについて HLA 拘束性を決定した。また、細胞製剤としての高品質なウイ

ルス特異的T細胞の作製に向けて、刺激培養法の検討も行なっている。
[立川愛;高橋聡(東京大学)、森尾友宏(東京医科歯科大学)、川名敬(日本大学)]

(5) HIV-1 カプシドを標的とした低分子化合物によるウイルス感染制御に関する研究

我々は、これまで *in silico* スクリーニングによって、HIV-1 カプシド(CA)の二量体化に関与する Helix9-Helix9 相互作用を標的とする低分子化合物を複数選定してきた。R2 年度はその中の一つで、MKN-3 と命名した化合物の誘導体(TKB063)の抗 HIV-1 活性の評価および作用機序に関する基本的な解析を行った。TKB063 は、MT-4 細胞と HIV-1 NL4-3 を用いた MTT 試験において、EC50 が約 5 μM と中程度の抗 HIV-1 活性を示した。一方、50 μM においてもほとんど細胞毒性を示さなかった。興味深いことに、TKB063 は 50 μM においても、NL4-3 および VSV-G シュードタイプ NL4-3 の TZM-bl 細胞への感染をほとんど阻害しなかった。そこで、MT-4 細胞に高濃度の HIV-1 を吸着させたのち、化合物の存在または非存在下で温度を 37 度に上げて感染を進行させ、感染後 30 時間において産生されたウイルス量を p24ELISA にて測定した。また、産生ウイルスの感染価を TZM-bl 細胞にて評価した。産生ウイルス量は 25μM の TKB063 で処理した細胞においても大きな減少は認められなかった。一方、産生ウイルスの感染価は、処理した TKB063 の濃度に依存して低下していた。以上の結果から、新規抗 HIV-1 低分子化合物 TKB063 は、HIV-1 複製後期過程において CA に作用して、産生されるウイルスの感染性を低下させていることが示唆された。
[村上努;佐藤裕徳、横山勝(病原体ゲノム解析研究センター)、辻耕平、小早川拓也、玉村啓和(東京医科歯科大学)]

(6) ウイルスポリメラーゼの不可逆阻害を目指した新規2'-&βセレノ核酸アナログの創製研究

木村らは、これまでにウイルスポリメラーゼの不可逆阻害を目指した新規 2'-&β セレノ核酸アナログの創製研究を行ってきている。これまでにウイルスポリメラーゼの不可逆阻害を目指した新規 2'-&β セレノ核酸アナログの創製研究を行ってきている。既に 2'-β seleno NA(Pro Seleno A)が HBV および HIV-1 の複製を阻害し、HIV-1 に関しては核酸系逆転写酵素阻害剤(NRTI)耐性 HIV-1 にも顕著な阻害を示すことを明らかにした。さらに、Pro Seleno A のセレン(Se)の置換基をエステル基に置換した誘導体は Pro Seleno A より抗 HIV-1 活性がやや弱いこと、当置換基を特定の電子吸引基に置換した誘導体はやや強い抗 HIV-1 活性をそれぞれ示すことなどを明らかにしてきた。今年度は、開発中の抗ウイルス薬にも導入可能な新規プロドラッグの活性評価を行った。期待する抗ウイルス活性は観測されたものの、プロドラッグの部分構造に起因する課題も推察された。
[村上努;木村康明、阿部洋(名古屋大学)]

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 と宿主のゲノム多様性に関する研究

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。欧米・アフリカを中心に HIV と宿主ゲノム多様性に関する研究が行われているが、アジア地域における解析は十分でない。流行する HIV 株、宿主の遺伝的背景は地域によって異なっているため、アジア地域での解析を行うことが重要である。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、流行 HIV 株の遺伝子解析と、宿主免疫応答・免疫関連遺伝子の解析を実施している。T 細胞免疫応答を決定する HLA の遺伝子解析では、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、本コホートでは確認されず、HIV と宿主双方の遺伝的要因が HIV 感染病態に大きく影響することが示唆された。現在、B 細胞免疫応答についても、解析を進めており、HIV 感染者における HIV 特異的 B 細胞応答と、標的エンベロープ(Env)多型の関連解析を実施している。国立感染症研究所研究者によるベトナム若手研究者への技術指導や研究討議も精力的に行なっている。
[立川愛、山本浩之、Trang Thi Thu Hau、石川晃一、松岡佐織、椎野禎一郎、俣野哲朗;Nguyen Thi Lan Anh、Tran Thi Minh Tam (NIHE)、成瀬妙子(長崎大学)、木村彰方(東京医科歯科大学)、大橋順(東京大学)]

(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 700 検体以上の HIV 感染者血液および 100 検体の HIV 陰性血液を採取し、また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行いガーナ健常者および HIV 陽性者の腸内マイクロバイオームを明らかにした。さらにガーナエイズコントロールプログラム(NACP)との共同研究として HIV 陽性者における HIV 薬剤耐性遺伝子解析を開始している。
[石川晃一、Mildred Amoa-Bosompem、Parbie Prince Kofi、Runtuwene Lucky Ronald、関紗由里、松岡佐織、立川愛、椎野禎一郎、俣野哲朗;神谷元(感染症疫学センター)、清野宏、石坂

彩、水谷壮利(東京大学)、堀浩樹、谷口清州(三重大学)、William Ampofo、Dorothy Yeboah-Manu、Abraham Kwabena Anang(野口記念医学研究所)、成瀬妙子(長崎大学)、木村彰方(東京医科歯科大学)]

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

17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: 2003-2020 年に新規 HIV/AIDS 診断例 10414 件が登録された。2020 年(1 月~12 月)は 449 件を登録し、エイズ動向調査の新規報告数を分母とすると、同時点の捕捉率は 41.0%であった。2020 年新規登録例の年齢中央値 36(IQR28-45)歳、日本国籍男性 79.7%、日本国籍女性 3.8%、外国国籍男性 14.5%、外国国籍女性 1.8%、HIV-1 サブタイプ・CRF は B: 79.0%, CRF01_AE: 12.4%, G or CRF02_AG: 1.6%, C: 1.4%, CRF07_BC: 1.2%であり、外国国籍男性の占める割合が近年増加傾向である一方、近年増加傾向であった CRF01_AE の占める割合はわずかに減少した。伝播性薬剤耐性変異 (TDR)保有率は NRTI 7.2% (31/433), NNRTI 1.6% (7/433), PI 0.7% (3/433), INSTI 0.2% (1/428)、何らかの TDR 保有率は 9.2% (40/434)であった。TDR の保有率は 2017 年まで 10%前後で推移し、2018-2019 年は 5-6%前後へと一時減少したが、2020 年は再増加した。本邦の TDR の主体で国内伝播がみられる M46I/L, T215X, K103N のうち、T215X をもつ既存の国内伝播クラスタの新規報告が 2020 年に再増加し、TDR 保有率増加の主因となった。

(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)における新規報告例の解析は、近年巨大な国内伝播クラスタの多くに所属する新規感染者が抑制されつつあることを示した。一方、一部のクラスタは依然として成長が続いている。成長が続いている国内伝播クラスタの特徴は分化が少なく密度が高いネットワーク構造を持ち、若年者が多かった。巨大クラスタの拡大は、特定地域におけるいくつかのアウトブレイクからなる傾向があった。結果として、近年大きなクラスタは、より地域性を高めていることが観察された。また、九州、沖縄、首都圏など同一地域の少数例で成り立っていたいくつかのクラスタにおいても、1〜2 年の間に感染者が急増するアウトブレイク例が観察された。Subtype B の伝播クラスタに属する感染者は、2016 年までは全体の 3/4 を占めていたが、2020 年には 65%まで減っていた。それに対して、孤発例(B:14%, CRF01_AE: 7%)や、CRF01_AE のクラスタ例(6%)、その他のサブタイプ(8%)が増加していた。CRF01_AE の伝播クラスタ解析は、その多くが近年は MSM が主体であることが明らかとなった。

(ウ) 薬剤血中濃度モニタリング研究:国立国際医療研究センターおよび名古屋医療センターを中心として抗 HIV 薬血中濃度測定検査の提供、薬物動態解析を行った。

[菊地正、大谷眞智子、小島潮子、西澤雅子、椎野禎一郎、吉村和久;松田昌和、蜂谷敦子、今橋真弓(名古屋医療センター)、増田純一、林田庸総、潟永博之、杉浦亙(国立国際医療研究センター)、渡邉大(大阪医療センター)、南留美(九州医療センター)、佐藤かおり、豊嶋崇徳(北海道大学)、吉田繁(北海道医療大学)、伊藤俊広(仙台医療センター)、古賀道子(東京大学医科学研究所)、貞升健志(東京都健康安全研究センター)、近藤真規子(神奈川県衛生研究所)、宇野俊介(慶応義塾大学)、猪狩英俊(千葉大学)、寒川整、中島秀明(横浜市立大学)、吉野友祐(帝京大学)、堀場昌英(東埼玉病院)、茂呂寛(新潟大学)、渡邉珠代(石川県立中央病院)、森治代(大阪健康安全基盤研究所)、藤井輝久(広島大学)、高田清式(愛媛大学)、中村麻子(福岡県保健環境研究所)、健山正男(琉球大学)、上野貴将、松下修三(熊本大学)]

(2) 国内HIV伝播に関する研究

国内伝播クラスタの迅速判定プログラム(SPHNCS)によって感染伝播クラスタ(TC)に属すると推定された患者HIVのenv領域(gp120)の多様性及び感染伝播による経年変化を解析した。解析したTC1とTC9でV1,V2,V4領域の挿入・結節変異が見られ、変異の生じる部位はglycosylation部位の前後であることが示されたが、TCごとに特徴的な挿入・欠失変異は認められなかった。また経年変化についてもTCごとの変化の特徴は認められなかった。現在はTC1に属すると推定される患者1症例(gp120領域にV1,V2領域に挿入・欠失をもつ)を用いて同一患者内におけるgp120領域の経時的な変化を解析した。その結果、最初の採取ポイントの検体にはV2領域に挿入変異を持つVariantと持たないVariantが混在していたが、その後V2に挿入変異を持つ配列がdominantになっていることが示された。同一患者内でのgp120領域の経時変化とTC内でのgp120領域の経時変化について、症例数を増やしてさらに解析を進める。

[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、東京都、大阪府、福岡県の 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、未診断者数、診断率を推定した。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。本調査により得られた診断に至るまでの期間分布をエイズ発生動向調査報告値に外挿し、日本国内の HIV 診断率が90%に達していないことを示した。現在は地域別血清学的調査を継続するとともに、推定値の精度向上に向けた研究を推進中である。

[松岡佐織、Mark de Souza、俣野哲朗;貞升健志、長島真美（東京都健康安全研究センター）、森治代（大阪健康安全基盤研究所）、財津修一、和佐野ちなみ（福岡市保健環境研究所）、中村麻子（福岡県保健環境研究所）]

3. 検査・研究技術の開発・確立に関する研究

(1) HIV-1 ウイルス検出による感染急性期診断法についての検討

即日検査で使用されるイムノクロマト法HIVスクリーニング検査試薬は、抗HIV-1/2抗体とHIV-1抗原をそれぞれ検出できる。抗HIV抗体確認検査試薬Geenius HIV 1/2キットの登場により、抗HIV-1/2抗体陽性の確認検査は技術的に平易となったが、HIV-1 抗原陽性の確認検査法は高価な反応・測定装置を使用する診断薬しかないため、要確認検査検体の依頼を受ける中・小規模検査室での実施は難しい。昨年までに確立した、一般的なPCR試薬で補助的に使用できる検査法2法の反応条件をさらに検討したところ、検出下限を 1x10^3 コピー/mL 以下まで向上させることができた。国内で普及しているin-house TaqMan PCR法と比べても遜色ない検出感度であった。HIV-1サブタイプ/CRF/グループパネルを用いた検討で、2種類のTaqMan PCR法を含むすべての方法で使用した全HIV-1サブタイプ/CRFを検出でき、一般的な PCR 試薬を使用する 1 法が HIV-1 グループ O も同じ検出感度で検出できた。イムノクロマト法を原理とする診断薬の HIV-1 抗原検出下限が 10^5 コピー/mL 以上であることから、精度管理の問題をクリアできれば、HIV-1 抗原陽性の要確認検査検体確認検査法補助として使用可能であると考えられる。

[草川茂]

(2) 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、改訂版を2019年11月に公開した。更に HIV 遺伝検査の導入を検討しかつ希望があった地方衛生研究所に対して HIV 陽性サンプル、検査用サンプルの配布を行うとともに技術支援を行った。

[草川茂、松岡佐織;貞升健志、長島真美（東京都健康安全研究センター）、川畑拓也（大阪健康安全基盤研究所）、佐野貴子、近藤真規子、櫻木淳一（神奈川県衛生研究所）]

IV. その他の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、さらに、サルにて抗体誘導能を確認した。構築したサル経静脈HTLV-1感染モデルにおける解析では、抗体誘導ワクチンの感染防御効果を示す結果が得られた。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、データを蓄積している。

[中村碧、野村拓志、石井洋、菅野芳明、俣野哲朗;網康至、須﨑百合子（安全実験管理部）、徳炭剛、原裕人、朱亜峰（ID ファーマ）、内丸薫、渡邉俊樹（東京大学）]

(2) HTLV 体外診断薬の性能評価

体外診断薬製造販売承認申請の際、国立感染症研究所において承認前試験の実施が求められる品目のうち、申請数が少ない HTLV 診断薬評価用パネルの整備が遅れている。近年、新しい検出法に基づく HTLV 一次検査用診断薬の申請が続いており、性能が向上した診断薬のカットオフ近傍を含む検体パネルの整備と、そのパネルを用いた既承認品の性能評価および新規申請品の評価が求められている。日本赤十字社から譲渡を受けた検体の測定を行い、明らかな陰性検体を除いた検体パネル候補品を整備した。同時に整備が必要な陰性検体パネル候補品と併せて、既承認診断薬の評価と陽性/陰性検体パネル整備を行う準備が完了した。

[草川茂、立川愛;加藤孝宣（ウイルス第二部）、浜口功（血液・安全性研究部）、松林圭二（日本赤十字社血液事業本部）]

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 (*Macaca fascicularis*) 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 9 年間の累積検査頭数は 272 頭に上り、うち FV 陽性は 137 頭(50%)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 83 株のウイルス分離に成功した。比較対照として実験用アカゲザル (*Macaca mulatta*) FV も同様に調査・ウイルス分離を行なってきた。昨年度報告した通り、アカゲザル FV はカニクイザル FV とは系統樹上で異なったクラスター群を形成する。ところが今回、アカゲザルより分離されたにもかかわらず、“インテグラーゼ遺伝子の 5’半分(PCR 検出対象領域)”のシーケンスがカニクイザル FV クラスター群に属するウイルスを1株発見した。自然組換えウイルス株である可能性を考えて全ゲノム長のシーケンスを行った結果、ゲノム全体がカニクイザル FV と見分けがつかないことが判明した。当該アカゲザルの供給業者がアカゲザルとカニクイザルを共に飼育していることから、業者の施設で飼育途中にカニクイザルから感染したのではないかと推測している。

[阪井弘治、俣野哲朗;網康至、須﨑百合子(安全実験管理部)]

3. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に関する研究

⑴ COVID-19 患者における免疫応答に関する研究

COVID-19 感染拡大においてワクチンの開発と、治療法の確立が急務であるが、そのためには COVID-19 の免疫病態を明らかにすることが重要である。複数の医療機関の協力の下、COVID-19 患者検体を収集し、免疫学的解析を実施している。細胞性免疫応答に関連する HLA 遺伝子型の解析を行なったところ、HLA-DRB1*09:01 に高い重症度との関連が見られ、COVID-19 重症化との関連が知られている高血圧、心血管系疾患よりも強い関連が確認された。SARS-CoV-2 特異的細胞性免疫応答について、その定量系を確立した。

[立川愛、三木祥治、俣野哲朗;鈴木忠樹(感染病理部)、高橋宣聖(免疫部)]

(2) SARS-CoV-2 感染動物モデルを用いた感染免疫学的研究

COVID-19は、HIV/HTLV感染症と同様、無症候感染者からの「みえない感染拡大」を特徴とし、そのため感染拡大抑制が極めて困難である。我々は、HIV感染症研究で培われた最先端技術を駆使して、COVID-19についての感染免疫学的解析研究・ワクチン開発研究を展開することとした。まず、サルにおけるSARS-CoV-2経鼻感染モデルを構築し、感染免疫動態の解析を推進した。感染成立後の抗CD8抗体接種によるCD8 depletionでは、ウイルス複製制御不全にいたらないことを見出した。本研究結果は、CD8陽性T細胞の機能不全が、病態増悪に直結するとは限らないことを示している。

[野村拓志、山本浩之、西澤雅子、Hau Thi Thu Trang、原田恵嘉、石井洋、関紗由里、中村碧、岡崎みどり、大源幸恵、立川愛、俣野哲朗;永田典代、片野晴隆、鈴木忠樹(感染病理部)、朴ウンシル、前田健(獣医科学部)、須﨑百合子、網康至(安全実験管理部)]

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、昨年度末の体外診断薬委員会において承認前試験実施の承認が得られた HIV 検査試薬 1 品目について、実地試験を実施し、試験成績報告書を提出した。

[草川茂]

2. HIV 行政検査

要確認検査症例(HIV 即日検査陽性例)の検査依頼が 1 件あり対応、試験成績報告書を提出した。

[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

体外診断薬製造販売承認申請書記載項目の一つである、国内臨床検体を用いた同一検出原理の既承認診断薬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。本年度は、譲渡申請は無かったが、承認前試験のために、2019 ロット HIV-1 陽性検体パネル、2016 ロット HIV 陰性検体パネル各 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

参加企業の協力により得られた2019ロットHIV-1陽性/陰性検体パネルの測定結果をフィードバックし、企業担当者と検討を行った。一部偽陽性も見られたが、診断薬の性能に大きな問題は無かった。参加企業の承諾を得て、最終試験成績を国立感染症研究所国内標準パネル委員会ホームページにて公開した。昨年度から情報提供を開始したパネル検体のHIV-1サブタイプ/CRF情報と併せ、既承認診断薬の性能の確認と本パネルの試験成績を用いて製造販売承認申請される製品の評価に役立つと考えられた。

[草川茂、立川愛;加藤孝宣(ウイルス第二部)、浜口功、百瀬暖佳(血液・安全性研究部)、寺原和孝(免疫部)、森嘉生(ウイルス第三

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. HIV-1 NAT 検査精度管理用標準物質「18-00」配布と検査精度管理

HIV 要確認検査への対応を行っている地方衛生研究所を対象に、HIV-1 NAT 検査法の精度管理に資する目的で 2018 年度から配布を開始した標準物質「18-00」の測定を実施した。-80ºC 保存 3 年目までの測定値は規格(値付け値 ± 0.5Log)の範囲内であり、安定性に問題は無かった。1 件の標準物質「18-00」譲渡申請があり対応した。また、HIV-1 NAT 検査法の新規導入、試験担当者の教育訓練等に活用する目的で、2018 年度外部精度管理調査に使用した検体の残余検体の配布を開始した。

[草川茂、松岡佐織、立川愛]

2. HIV-2 NAT 検査用管理物質の整備

抗体確認検査において HIV-1/2 鑑別困難な症例に補助的に用いる HIV-2 NAT 検査法を開発する目的で整備し、昨年度国際標準品との相関により単位を定めた HIV-2 標準物質の安定性を検討した。測定値は規格(値付け値 ± 0.5Log)の範囲内であり、安定性に問題は無かった。我が国では、HIV-1 は主に特定のグループ(グループ M)による流行であるのに対し、HIV-2 は複数のグループとクループ間組換体が見いだされ、その塩基配列のバリエーションが大きいこと、セットポイントの RNA コピー数が低いことから、複数の、HIV-1 以上の精度の NAT 検査法を整備しておくことが求められる。これらの標準物質を用いた検討が進行中である。

[草川茂]

国際協力関係業務

I. 令和 2 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」(令和 3 年 3 月 20 日-3 月 25 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。前々回のフェーズ(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。平成29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。本年度は、COVID-19感染拡大に伴い、数回の開催時期延期を経て、最終的にオンライン開催に変更された。そこで本年度は、既に研修を受講した帰国研修員を主要対象として、①帰国後の本研修の知識および技術の活用状況、各国が直面している諸課題、およびCOVID-19対応に関するフォローアップ、および②HIV、COVID-19そして各種関連感染症に関する最新知識・技術のアップデート、を主目的に、5日間のライブオンライン・コンサルティング、および11講義20動画から成るオンデマンド講義、を用いたフォローアップおよびアップデート研修に変更した。通常のインタビューに加えて、研修員の強い要望に応える形で、急遽、「COVID-19検体の採取方法」に関する緊急ミーティングも実施した。結果、ライブオンライン・コンサルティングおよびオンデマンド講義ともに非常に高い評価を得ることができ、主目的である①本研修の知識および技術のフォローアップ、および ②最新知識・技術のアップデート、の双方を達成することができた。また、関係者からも本研修について改めて非常に高い評価を頂き、本研修の効果・有効性を確認することができた。

[原田恵嘉、村上努、立川愛、山本浩之、草川茂、西澤雅子、菊地正、野村拓志、関紗由里、俣野哲朗;椎野禎一郎(感染症疫学センター)、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)、谷口清州(三重病院)]

研修業務

1. 令和 2 年度エイズ対策研修講義 国立保健医療科学院 (令和 2 年 10 月 6-8 日)[松岡佐織]

発 表 業 績 一 覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Ishii H, Matsuoka S, Ikeda N, Kurihara K, Ueno T, Takiguchi M, Naruse TK, Kimura A, Yokoyama M, Sato H, Matano T. Determination of a T cell receptor of potent $CD8^+$ T cells against simian immunodeficiency virus infection in Burmese rhesus macaques. Biochem Biophys Res Commun 521:894-899, 2020.

2) Iwamoto M, Saso W, Nishioka K, Ohashi H, Sugiyama R, Ryo A, Ohki M, Yun J-H, Park S-Y, Ohshima T, Suzuki R, Aizaki H, Muramatsu M, Matano T, Iwami S, Sureau C, Wakita T, Watashi K. The machinery for endocytosis of epidermal growth factor receptor coordinates the transport of incoming hepatitis B virus to the endosomal network. J Biol Chem 295:800-807, 2020.

3) Yamamoto H, Ishii H, Matano T. Mucosal vaccines against HIV/SIV infection. Mucosal Vaccines, 2nd Ed (Ed: Kiyono H, Pascual DW), Academic Press, Chapter 42, p713-722, 2020.

4) Nakamura-Hoshi M, Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H, Ishii H, Matano T. Inefficient Tax-specific T-cell responses in mice after syngeneic transplantation with *tax*-transgenic mouse-derived adult T-cell leukemia cells. Jpn J Infect Dis 73:221-225, 2020.

5) Ishii H, Terahara K, Nomura T, Takeda A, Okazaki M, Yamamoto H, Tokusumi T, Shu T, Matano T. A novel immunogen selectively eliciting $CD8^+$ T cells but not $CD4^+$ T cells targeting immunodeficiency virus antigens. J Virol 94:e01876-19, 2020.

6) Nagashima M, Kumagai R, Kitamura Y, Matsuoka S, Imamura A, Chiba T, Sadamasu K. Examination of the efficient HIV confirmatory testing protocol using HIV-1/2 antibody differentiation assay. Jpn J Infect Dis 73:173-175, 2020.

7) Koibuchi T, Koga M, Kikuchi T, Horikomi T, Kawamura Y, Lim LA, Adachi E, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H. Prevalence of Hepatitis A Immunity and Decision-tree Analysis Among Men Who Have Sex With Men and Are Living With Human Immunodeficiency Virus in Tokyo. Clin Infect Dis 71(3):473-479, 2020.

8) Koga M, Lim LA, Ogishi M, Satoh H, Kikuchi T, Adachi E, Sugiyama R, Kiyohara T, Suzuki R, Muramatsu M, Koibuchi T, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H. Comparison of the Clinical Features of Hepatitis A in People Living with HIV between Pandemics in 1999-2000 and 2017-2018 in the Metropolitan Area of Japan. Jpn J Infect Dis 73(2):89-95, 2020.

9) Tsutsumi T, Sato H, Kikuchi T, Ikeuchi K, Lim LA, Adachi E, Koga M, Okushin K, Kawahara T, Koibuchi T, Yotsuyanagi H. Factors associated with clearance of hepatitis B virus surface antigen in patients infected with human immunodeficiency virus. Medicine (Baltimore) 99(29):e21271, 2020.

10) Nakamura-Hoshi M, Takahara Y, Matsuoka S, Ishii H, Seki S, Nomura T, Yamamoto H, Sakawaki H, Miura T, Tokusumi T, Shu T, Matano T. Therapeutic vaccine-mediated Gag-specific $CD8^+$ T-cell induction under anti-retroviral therapy augments anti-virus efficacy of $CD8^+$ cells in simian immunodeficiency virus-infected macaques. Sci Rep 10:11394, 2020.

11) Parbie PK, Mizutani T, Ishizaka A, Kawana-Tachikawa A, Runtuwene LR, Seki S, Abana CZ, Kushitor D, Bonney EY, Ofori SB, Uematsu S, Imoto S, Kimura Y, Kiyono H, Ishikawa K, Ampofo WK, Matano T. Fecal microbiome composition in healthy adults in Ghana. Jpn J Infect Dis 74:42-47, 2021.

12) Toyoda M, Kamori D, Tan TS, Goebuchi K, Ohashi J, Carlson J, Kawana-Tachikawa A, Gatanaga H, Oka S, Pizzato M, Ueno T. Impaired ability of Nef to counteract SERINC5 is associated with reduced plasma viremia in HIV-infected individuals. Sci Rep 10:19416, 2020.

13) Sato H, Ota Y, Kido Y, Matsumoto T, Matsubara Y, Matano T, Hirata Y, Kawana-Tachikawa A, Yamaoka Y, Yotsuyanagi H, Adachi E. Gut-homing $CD4^+$ T cells are associated with the activity of gastritis in HIV-infected adults. AIDS Res Hum Retroviruses 36:910-917, 2020.

14) Runtuwene LR, Kawashima S, Pijoh VD, Tuda JSB, Hayashida K, Yamagishi J, Sugimoto C, Nishiyama S, Sasaki M, Orba Y, Sawa H, Takasaki T, James AA, Kobayashi T, Eshita Y. The *lethal(2)-essential-for-life* [*L(2)EFL*] gene family modulates dengue virus infection in *Aedes aegypti*. Int J Mol Sci 21:7520, 2020.

15) Tsuji K, Baffour-Awuah Owusu K, Kobayakawa T, Wang M, Fujino M, Kaneko N, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H. Exploratory studies on CA-15L, an anti-HIV active HIV-1 capsid fragment. Bioorg Med Chem 28:115488, 2020.

16) Kobayakawa T, Ebihara K, Tsuji K, Kawada T, Fujino M, Honda Y, Ohashi N, Murakami T, Tamamura H. Bivalent HIV-1 fusion inhibitors based on peptidomimetics. Bioorg Med Chem 28:115812, 2020.

17) Watanabe S, Fujino M, Saito Y, Ahmed N, Sato H, Sugimoto C, Okamura T, Hanaki K, Nakayama EE, Shioda T, Matsushima K, Ansari AA, Villinger F, Mori K. Protective Immune Responses Elicited by Deglycosylated Live-Attenuated Simian Immunodeficiency Virus Vaccine Are Associated with IL-15 Effector Functions. J Immunol 205:1331-1344, 2020.

18) Pomplun NL, Vosler L, Weisgrau KL, Furlott J, Weiler AM, Abdelaal HM, Evans DT, Watkins DI, Matano T, Skinner PJ, Friedrich TC, Rakasz EG. Immunophenotyping of rhesus CMV-specific CD8 T cell populations. Cytometry A 99:278-288, 2021.

19) Tanimoto K, Naruse TK, Matano T, Kimura A. Development and evaluation of a rapid and cost-efficient NGS-based MHC class I genotyping method for macaques by using a prevalent short-read sequencer. Immunogenetics 73:175-186, 2021.

20) Baumeister W, Carafoli E, Matano T. (Ed) The COVID-19 Pandemic. Biochem Biophys Res Commun 538 (Special Issue):1-258, 2021.

21) Matsuoka S, Kuwata T, Ishii H, Sekizuka T, Kuroda M, Sano M, Okazaki M, Yamamoto H, Shimizu M, Matsushita S, Seki Y, Saito A, Sakawaki H, Hirsch VM, Miura T, Akari H, Matano T. A potent anti-simian immunodeficiency virus neutralizing antibody induction associated with a germline immunoglobulin gene polymorphism in rhesus macaques. J Virol 95:e02455-20, 2021.

22) Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim KS, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, McKeating JA, Wakita T. Potential anti-COVID-19 agents, Cepharanthine and Nelfinavir, and usage for combination treatment. iScience 24:102367, 2021.

23) Otani M, Shiino T, Kondo M, Hachiya A, Nishizawa M, Kikuchi T, Matano T, Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Phylodynamic analysis reveals changing transmission dynamics of HIV-1 CRF01_AE in Japan from heterosexuals to men who have sex with men. Int J Infect Dis 108:397-405, 2021.

24) Mizutani T, Aboagye SY, Ishizaka A, Afum T, Mensah GI, Asante-Poku A, Asandem DA, Parbie PK, Abana CZ, Kushitor D, Adachi M, Hori H, Ishikawa K, Matano T, Taniguchi K, Opare D, Doris A, Asiedu-Bekoe F, Ampofo WK, Yeboah-Manu D, Koram KA, Anang AK, Kiyono H. Gut microbiota signature of pathogen-dependent dysbiosis in viral gastroenteritis. Sci Rep 11:13945, 2021.

25) Nomura Y, Matsuoka S, Okazaki M, Kuwata T, Matano T, Ishii H. Neutralizing antibody induction associated with a germline immunoglobulin gene polymorphism in neutralization-resistant SIVsmE543-3 infection. Viruses 13:1181, 2021.

26) Nomura T, Yamamoto H, Nishizawa M, Hau TTT, Harada S, Ishii H, Seki S, Nakamura-Hoshi M, Okazaki M, Daigen S, Kawana-Tachikawa A, Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Shiwa N, Iida S, Katano H, Suzuki T, Park ES, Maeda K, Suzaki Y, Ami Y, Matano T. Subacute SARS-CoV-2 replication can be controlled in the absence of $CD8^+$ T cells in cynomolgus macaques. PLoS Pathog 17:e1009668, 2021.

27) Kobayakawa T, Tsuji K, Konno K, Himeno A, Masuda A, Yang T, Takahashi K, Ishida Y, Ohashi N, Kuwata T, Matsumoto K, Yoshimura K, Sakawaki H, Miura T, Harada S, Matsushita S, Tamamura H. Hybrids of small-molecule CD4 mimics with polyethylene glycol units as HIV entry inhibitors. J Med Chem 64:1481-1496, 2021.

28) Koga M, Suganuma A, Kikuchi T, Yoshimura Y, Shoji K, Kobayashi I, Takezaki S, Kato Y, Kimura M, Maruyama H; Research Group on Chemotherapy of Tropical Diseases, Japan. Primaquine plus clindamycin as a promising salvage therapy for Pneumocystis jirovecii pneumonia: A retrospective analysis in Japanese patients. J Infect Chemother 27(6):924-928, 2021.

29) Tsuda H, Koga M, Nojima M, Senkoji T, Kubota M, Kikuchi T, Adachi E, Ikeuchi K, Tsutsumi T, Koibuchi T, Yotsuyanagi H. Changes in survival and causes of death among people living with HIV: Three decades of surveys from Tokyo, one of the Asian metropolitan cities. J Infect Chemother 27(7):949-956, 2021.

30) Izumi K, Shindo T, Ngo HT, Nakayama-Hosoya K, Akahane K, Tamai M, Nguyen TTT, Kawana-Tachikawa A, Inukai T, Takaori-Kondo A. KIR3DL1 allotype-dependent modulation of NK cell immunity against chronic myeloid leukemia. Immunohorizons 5(8):687-702, 2021.

31) Moriyama S, Adachi Y, Sato T, Tonouchi K, Sun L, Fukushi S, Yamada S, Kinoshita H, Nojima K, Kanno T, Tobiume M, Ishijima K, Kuroda Y, Park ES, Onodera T, Matsumura T, Takano T, Terahara K, Isogawa M, Nishiyama A, Kawana-Tachikawa A, Shinkai M, Tachikawa N, Nakamura S, Okai T, Okuma K, Matano T, Fujimoto T, Maeda K, Ohnishi M, Wakita T, Suzuki T, Takahashi Y. Temporal maturation of neutralizing antibodies in COVID-19 convalescent individuals improves potency and breadth to circulating SARS-CoV-2 variants. Immunity 54(8):1841-1852, 2021.

32) Miki S, Sasaki H, Horiuchi H, Miyata N, Yoshimura Y, Miyazaki K, Matsumura T, Takahashi Y, Suzuki T, Matano T, Kawana-Tachikawa A, Tachikawa N. On-admission SARS-CoV-2 RNAemia as a single potent predictive marker of critical condition development and mortality in COVID-19. PLoS One 16(7):e0254640, 2021.

33) Parbie PK, Mizutani T, Ishizaka A, Kawana-Tachikawa A, Runtuwene LR, Seki S, Abana CZ, Kushitor D, Bonney EY, Ofori SB, Uematsu S, Imoto S, Kimura Y, Kiyono H, Ishikawa K, Ampofo WK, Matano T. Dysbiotic Fecal Microbiome in HIV-1 Infected Individuals in Ghana. Front Cell Infect Microbiol 11:646467, 2021.

34) Ikeda Y, Adachi K, Tomio K, Eguchi-Kojima S, Tsuruga T, Uchino-Mori M, Taguchi A, Komatsu A, Nagamatsu T, Oda K, Kawana-Tachikawa A, Uemura Y, Igimi S, Osuga Y, Fujii T, Kawana K. A placebo-controlled, double-blind randomized (Phase IIB) trial of oral administration with HPV16 E7-expressing *Lactobacillus*, GLBL101c, for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 (CIN2). Vaccines (Basel) 9(4):329, 2021.

35) Anzurez A, Naka I, Miki S, Hosoya-Nakayama K, Isshiki M, Watanabe Y, Nakamura-Hoshi M, Seki S, Matsumura T, Takano T, Onodera T, Adachi Y, Moriyama S, Terahara K, Tachikawa N, Yoshimura Y, Sasaki H, Horiuchi H, Miyata N, Miyazaki K, Koga M, Ikeuchi K, Nagai H, Saito M, Adachi E, Yotsuyanagi H, Kutsuna S, Kawashima A, Miyazato Y, Kinoshita N, Kouno C, Tanaka K, Takahashi Y, Suzuki T, Matano T, Ohashi J, Kawana-Tachikawa A. Association of *HLA DRB1*09:01* with severe COVID-19. HLA 98(1):37-42, 2021.

36) Takano T, Matsumura T, Adachi Y, Terahara K, Moriyama S, Onodera T, Nishiyama A, Kawana-Tachikawa A, Miki S, Hosoya-Nakayama K, Nakamura-Hoshi M, Seki S, Tachikawa N, Yoshimura Y, Miyata N, Horiuchi H, Sasaki H, Miyazaki K, Kinoshita N, Sudo T, Akiyama Y, Sato R, Suzuki T, Matano T, Takahashi Y. Myeloid cell dynamics correlating with clinical outcomes of severe COVID-19 in Japan. Int Immunol 33(4):241-247, 2021.

37) Kusagawa S, Kawana-Tachikawa A, Matsubayashi K, Hoshi Y, Ishimaru K, Hamaguchi I. Evaluation of Geenius HIV-1/2 Confirmatory Assay for the confirmatory and differential diagnosis of HIV-1/HIV-2 in Japan and reliability of the Geenius Reader in the diagnosis of HIV-2. BMC Infect Dis 21:569, 2021.

38) Tsuji K, Wang R, Kobayakawa T,Baffour-Awuah Owusu K, Fujino M, Kaneko M, Yamamoto N, Murakami T, Tamamura H. 2021. Potent leads based on CA-19L, an anti-HIV active HIV-1 capsid fragment. Bioorg Med Chem 30:115923, 2021.

39) Kobayakawa T, Yokoyama M, Tsuji K, Fujino M, Kurakami M, Boku S, Nakayama M, Kaneko M, Ohashi N, Kotani O, Murakami T, Sato H, Tamamura H. Small-molecule anti-HIV-1 agents based on HIV-1 capsid proteins. Biomolecules 11:208, 2021.

40) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K; Virus Diagnosis Group (NIID Toyama). Virus Diagnosis Group (NIID Toyama): Hanaoka N, Nojiri N, Kawana-Tachikawa A, Kusagawa S, Ishikawa K, Harada S, Matsuoka S, Kikuchi T, Ishii H, Seki S, Nakamura-Hoshi M, Miki S, Runtuwene LR, Koizumi N, Iyoda S, Takahashi H, Izumiya H, Mitobe J, Yamamoto S, Morita M, Lee K, Shimuta K, Saito K, Fukasawa M, Hoshino Y, Miyazawa K, Nagi M, Shimokawa C, Morishima Y, Sakudoh T, Kaku Y, Lim CK, Tajima S, Maeki T, Nakayama E, Taniguchi S, Ogawa M, Kato T, Aly HH, Wakae K, Fukano K. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. BMJ Open Respir Res 8:e000830, 2021.

41) Kanno Y, Hau TTT, Kurokawa R, Nishizawa M, Nomura T, Matano T, Yamamoto H. Late-phase dominance of a single epitope-specific CD8+ T-cell response in passive neutralizing antibody-infused SIV controllers. AIDS, in press.

42) Kawai Y, Kawana-Tachikawa A, Kitayama S, Ueda T, Miki S, Watanabe A, Kaneko S. Generation of highly proliferative rejuvenated cytotoxic T cell clones through pluripotency reprogramming for adoptive immunotherapy. Mol Ther, in press.

43) Kamori D, Hasan Z, Carlson J, Kawana-Tachikawa A, Gatanaga H, Oka S, Ueno T. Impact of human leukocyte antigen-associated polymorphisms on variability of HIV-1 accessory and regulatory proteins. AIDS Res Hum Retroviruses, in press.

2. 和文発表

1) 松岡佐織. 早期診断率に基づく日本国内 HIV 感染者数の推計. 病原微生物検出情報(IASR)41:177, 2020.

2) 草川茂, 松岡佐織, 立川愛, 俣野哲朗. In-house HIV-1 核酸増幅検査法精度管理. 病原微生物検出情報(IASR)41:179, 2020.

3) 野村拓志. サルを用いた SARS-CoV-2 感染症研究. ハムリー「オベリスク」26(2):12-17, 2021.

4) 鹿島幸恵, 鈴木穣, 立川(川名)愛. 感染症の 1 細胞解析. 医学のあゆみ 276(10):972-976, 2021.

5) Alitzel Anzurez, 立川(川名)愛, 俣野哲朗. HIV 感染症と免疫老化. 日本臨牀 79:188-194, 2021.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Ishii H, Terahara K, Nomura T, Tokusumi T, Shu T, Suzuki H, Fujiwara D, Sakawaki H, Miura T, Matano T. Protective efficacy of a vaccine inducing Gag/Vif-specific $CD8^+$ T but not $CD4^+$ T cells against repeated intrarectal low-dose SIVmac239 challenges. 23rd International AIDS Conference (AIDS 2020), Jul 6-10, 2020, Virtual.

2) Shiino T, Hachiya A, Nagashima M, Sadamasu K, Otani M, Koga M, Kamisato A, Yoshimura K, Kikuchi T, The Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Temporal analysis of HIV sequence among the Japanese population revealed transmission clusters that do not have access to the successful preventive measures which were implemented in Japan. 23rd International AIDS Conference (AIDS 2020), Jul 6-10, 2020, Virtual.

3) Kurotani KAF, Parbie PK, Adusei-Poku MA, Matsuoka S, Nii-Trebi NI, Bonney EY, S Ofori SB, Ampofo WK, Ishikawa K,

Matano T, Shiino T. Phylogeny-based transmission dynamics of HLA-associated amino acid variants in HIV-1 infected individuals in Ghana. 23rd International AIDS Conference (AIDS 2020), Jul 6-10, 2020, Virtual.

4) Koga M, Tsutsumi T, Senkouji T, Kubota M, Saito M, Okushin K, Ikeuchi K, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Kawana-Tachikawa A, Hosomich K, Matano T, Yotsuyanagi H. Predictors associated with better response to Japanese aluminum-free hepatitis A vaccine to Japanese people living with HIV: Lessons from the hepatitis A outbreaks in Tokyo. 23rd International AIDS Conference (AIDS 2020), Jul 6-10, 2020, Virtual.
5) Nakamura-Hoshi M, Ishii H, Tokusumi T, Shu T, Matano T. Immunogenicity of Sendai virus particles carrying HTLV-1 Env. 21st Kumamoto AIDS Seminar, Nov 11, 2020, Online.
6) Parbie PK, Mizutani T, Ishizaka A, Seki S, Abana CZY, Kushitor D, Bonney EY, Ofori SB, Ampofo WK, Ishikawa K, Matano T. Assessing plasma T-helper cells signature and fecal microbiome in HIV infected individuals. 21st Kumamoto AIDS Seminar, Nov 11, 2020, Online.
7) Hau TTT, Nishizawa M, Nomura T, Kawana-Tachikawa A, Nguyen LAT, Matano T, Yamamoto H. Association of Envelope-specific B-cell differentiation and viral selective pressure signature in subtype A/E HIV-1-infected individuals. 21st Kumamoto AIDS Seminar, Nov 11, 2020, Online.
8) Runtuwene LR. New paradigm for sequencing technology in zoonotic research. One Health Gadjah Mada University's webinar series: Novel Technology for Wildlife Pathogen Identification. Dec 9, 2020, Online.
9) Ishii H, Terahara K, Nomura T, Tokusumi T, Shu T, Sakawaki H, Miura T, Matano T. Anti-Env antibody-independent protection of repeated intrarectal low-dose SIVmac239 challenges in rhesus macaques by vaccination inducing Gag/Vif-specific $CD8^+$ T but not $CD4^+$ T cells. 4th HIV Research for Prevention Conference (HIVR4P), Jan 27-28 and Feb 3-4, 2021, Virtual.
10) Otani-Inoue M, Shiino T, Kondo M, Hachiya A, Nishizawa M, Kikuchi T, Matano T. The changing transmission dynamics of HIV-1 CRF01_AE in Japan: increased presence of men who have sex with men (MSM). 4th HIV Research for Prevention Conference (HIVR4P), Jan 27-28 and Feb 3-4, 2021, Virtual.
11) Parbie PK. HIV-associated gut dysbiosis in Ghana adults. Noguchi Memorial Institute for Medical Research, Institutional seminar. University of Ghana. Feb 23, 2021, Accra, Ghana.

2. 国内学会

1) 松岡佐織. 臨床医に知ってほしい HIV の基礎知識「疫学にみる最近の傾向」. 第 94 回日本感染症学会学術講演会, 2020 年 8 月 19-21 日, 東京.
2) 児玉知子, 大澤絵里, 松岡佐織, 浅見真理, 戸次香奈, 松嶋根卓也, 三浦宏子, 欅田尚樹, 横山徹爾. 日本における Universal Health Coverage の達成状況と課題. 第 35 回日本国際保健医療学会学術大会, 2020 年 11 月 1-3 日, Online 開催.
3) 俣野哲朗. ウイルス免疫学&免疫ウイルス学:感染免疫学の新たな理解の深化(エイズワクチン戦略から得たもの). シンポジウム HIV 学術研究の今「感染免疫学の視点から」. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
4) 石井洋. サルエイズモデルにおける抗原特異的T細胞反応動態の解析と効果的な HIV ワクチン開発への応用. シンポジウム HIV 学術研究の今「感染免疫学の視点から」. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
5) 石井洋, 寺原和孝, 野村拓志, 徳炭剛, 朱亜峰, 阪脇廣美, 三浦智行, 俣野哲朗. GagVif 特異的 CD8 陽性 T 細胞の選択的誘導による SIV 経直腸感染阻害効果. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
6) 関紗由里, 岩谷靖雅, 石井洋, 俣野哲朗. Vif の抗原提示に関する研究. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
7) 野村拓志. サルエイズモデルにおける組織リザーバー解析. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
8) 山本浩之. 教育講演 4(基 B)ワクチン. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
9) 菊地正. 教育講演 5(基 B)疫学. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
10) 菊地正, 蜂谷敦子, 西澤雅子, 椎野禎一郎, 俣野哲朗, 佐藤かおり, 豊嶋崇徳, 伊藤俊広, 林田庸総, 潟永博之, 岡慎一, 古賀道子, 長島真美, 貞升健志, 近藤真規子, 宇野俊介, 谷口俊文, 猪狩英俊, 寒川整, 中島秀明, 吉野友祐, 堀場昌英, 茂呂寛, 渡邉珠代, 今橋真弓, 松田昌和, 重見麗, 岡﨑玲子, 岩谷靖雅, 横幕能行, 渡邉大, 小島洋子, 森治代, 藤井輝久, 高田清式, 中村麻子, 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. 国内新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性HIV-1の動向. 第34回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
11) 椎野禎一郎, 中村麻子, 南留美, 蜂谷敦子, 大谷眞智子, 吉村和久, 菊地正. 国内伝播クラスタ検索プログラム"SPHNCS"による 2017-18 シーズンのサブタイプ B の流行状況. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.

12) 大谷眞智子, 椎野禎一郎, 近藤真規子, 蜂谷敦子, 西澤雅子, 菊地正, 俣野哲朗. 日本における non-B サブタイプの感染状況 ーCRF02_AG と CRF07_BC で観察された MSM クラスタの報告ー. 第34回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020年11月27-12月25日, Web 開催.
13) 田中貴大, 古賀道子, 津田春香, 千光寺智恵, 久保田めぐみ, 安達英輔, 齋藤真, 池内和彦, 菊地正, 堤武也, 四柳宏. COVID-19流行中のHIV感染通院患者におけるメンタルヘルス. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020 年 11 月 27-12 月 25 日, Web 開催.
14) 原田恵嘉. HIV侵入阻害剤の開発. 第34回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020年11月27-12月25日, Web 開催.
15) 村上努, 小早川拓也, 倉上真樹, 横山勝, 小谷治, 辻耕平, 佐藤裕徳, 玉村啓和. カプシド二量体化を標的とした新規抗HIV-1 低分子化合物の解析. 第34回日本エイズ学会学術集会・総会, 2020年11月27-12月25日, Web 開催.
16) 俣野哲朗. ウイルス持続感染防御・制御に結びつく細胞性免疫誘導ワクチンに関する研究. 第15回高橋賞受賞記念講演. 第24回日本ワクチン学会学術集会, 2020年12月19-20日, Web 開催.
17) 石井洋. 慢性持続感染を呈するHIV感染症の克服に向けたワクチン開発戦略. シンポジウム Emerging infectious disease に対するワクチン開発. 第24回日本ワクチン学会学術集会, 2020年12月19-20日, Web 開催.
18) 俣野哲朗. HIV・HTLV・SARS-CoV-2 に対するワクチン開発研究の現況. シンポジウム「感染症に対するワクチン開発研究の最前線」. 日本薬学会第141年会, 2021年3月26-29日, Online 開催.

１９．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。計算科学の解析環境の整備・強化を進めながら、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連携して学際研究を展開することにより、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・機能に及ぼす影響をコンピュータシミュレーションする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。令和2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。

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。バイオインフォマティクス解析を検査現場でも有効に執り行うことができるよう、ゲノムデータベース管理および次世代シークエンスデータ解析を同時に行えるシステムGenEpid-J（Genomics and Epidemiology in Japan）をこれまでに構築し、継続して運用している。本システムを用いて、病原細菌、薬剤耐性菌、ウイルスのゲノム解析及びデータベース管理を実施している。それらデータベース上のゲノム情報を用いて、大規模ゲノム比較解析およびゲノム分子疫学解析も遂行した。また、細菌感染症において重要な生物種の公開ゲノム配列および生解読データを回収し、GenEpidシステムで解析した結果をデータベース化するgGENEPIDの開発・運用を引き続き運用している。感染症が疑われる難病及び原因不明症例のメタゲノム解析も進めており、これらデータ解析も、GenEpidシステムで運用している。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、ESBLおよび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、真核生物のゲノム解析にも着手し、昆虫ゲノム解析およびヒト培養細胞のバイオインフォマティクス解析も進めている。本年度末は、SARS-CoV-2のゲノム解析に重点を起き、地方自治体、本研究所の各部・センターと協力し、感染拡大を阻止するためのゲノムデータの蓄積および解析を行なっている。

業　績

調査・研究

I. HPVに関する研究

1. HPVの感染増殖機構の研究

(1) HPV細胞侵入機構の解明

HPVの細胞内侵入に関わる宿主タンパク質を網羅的に解析するため、ウシパピローマウイルスE2タンパク質を発現するプラスミドを内包したHPV18偽ウイルスを作成し、CRISPRノックアウトHeLa細胞ライブラリーに感染させた。14日間の培養後、生存した細胞から染色体DNAを抽出し、sgRNA配列とリード数を次世代シーケンサー

で解析した。ヘパラン硫酸合成と ER/Golgi など小胞輸送に関連する sgRNA に加え、gamma secretase 複合体の sgRNA が顕著に濃縮された。HPV は細胞表面のヘパラン硫酸プロテオグリカン(HSPGs)に結合し取り込まれた後、細胞内を逆方向に移動する。Gamma secretase はこの逆行輸送に関与することが知られている。今回の網羅解析により、HPV 細胞内侵入過程における HSPGs と gamma secretase の重要性が示され、本システムが正しく機能していることがわかった。(石井克幸、関塚剛史、山地俊之［細胞化学部])

(2) HPV ゲノム保持に働く転写因子 HOXC13 に関する研究

毛包に多く発現する転写因子 HOXC13 は HPV ゲノム保持能を有するヒト角化細胞 NIKS にも発現しており、siRNA によるノックダウンで HPV16 及び HPV18 の初期遺伝子の発現は低下する。また、HOXC13 は同 HPV 転写調節部位(LCR)に結合する。HOXC13 発現プラスミドを NIKS 細胞と子宮頸外部細胞 Ect1 及び子宮頸内部細胞 End1 に導入し、HPV16 のプロモーター活性をルシフェラーゼによるレポーターアッセイで測定した。全ての細胞において活性の上昇が観測され、特に Ect1 細胞で顕著であった。HOXC13 は HPV16 の初期遺伝子の発現を正に調節することが遺伝子導入実験でも示された。(石井克幸)

(3) HPV ゲノム維持に関わる細胞タンパク質の探索

HPV16 ゲノムを安定に保持するヒト骨肉腫細胞 U2OS (U2OS/HPV16)を用いて宿主ヒト細胞の抗ウイルス因子のスクリーニングを行った結果、HPV16 ゲノム量を低下させる宿主タンパク質として RNA ヘリカーゼである MOV10 を見出した。ヒト子宮頸癌細胞 C33A にて、HPV 複製タンパク質 E1/E2 の共発現により、HPV 複製オリジン配列を含むルシフェラーゼプラスミドの複製レベルを定量化する細胞アッセイを用いて、内在性 MOV10 の siRNA ノックダウンの効果を調べたところ、MOV10 ノックダウンにより HPV 複製レベルが有意に低下することが示された。また U2OS/HPV16 で特異的に発現する細胞遺伝子群を探索するために、U2OS/HPV16 及び U2OS から全 RNA を精製し、次世代シークエンサーによる RNA-Seq 解析を行った。その結果、U2OS/HPV16 において U2OS と比較して nerve development に関わる遺伝子群の発現低下が認められ、その中にはホメオボックス遺伝子(HOXA5, HOXB2, HOXD3)が含まれていた。(田中恒成、柊元巌)

(4)PTEN が HPV 複製に及ぼす作用の解析

これまでに PIP_3 を脱リン酸化する PTEN の活性が、U2OS/HPV16 で上昇していることが示唆されたことから、PTEN 活性が HPV DNA 複製に及ぼす効果を、培養細胞での一過性 HPV 複製系で検討した。HPV 複製オリジン配列をルシフェラーゼプラスミドに組み込み、ヒト子宮頸癌細胞 C33A にて HPV 複製タンパク質 E1/E2 の共発現によりオリジンプラスミドの複製を誘起して、HPV 複製レベルをルシフェラーゼ活性により定量化する細胞アッセイを用いた。C33A は内在性 PTEN の発現が認められないが、発現プラスミドの導入により FLAG タグ付き PTEN を過剰発現させると HPV DNA 複製が約 30%抑制された。一方、酵素活性を失った PTEN 変異体(C124S, G129E)では抑制効果が若干減弱した。これらの結果から、PTEN 活性の上昇によりウイルスゲノム複製が低レベルに抑えられることが、宿主免疫系から逃れる HPV の潜伏持続感染につながっている可能性が考えられた。(田中恒成、柊元巌、佐々木雄彦［東京医科歯科大学])

2. HPV 感染状況についての調査・研究

(1) 子宮頸癌及び前癌病変での 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。本年度は 201 検体の HPV タイピングを実施した。2012 年からの累積検体数は 3169 検体となった。(中村浩美、柊元巌、岩田卓[慶應大学])

(2) HPV67 ゲノム配列解析

国際癌研究機関 (IARC) は、200 種以上の HPV 遺伝子型のうち、12 種を発癌性が認められる Group 1、1 種を発癌性がおそらくある Group 2A、7 種を発癌性が疑われる Group 2B と分類している。HPV67 は系統樹上は Group 1 の HPV16 と同じ species α9 に属するが、IARC の分類では Group 2B に含まれる。HPV67 が単一感染として検出された子宮頸部擦過細胞検体 (SCC, 2 例; CIN2/3, 6 例; NILM, 1 例)より DNA を抽出し、全長ウイルスゲノムを PCR にて増幅したのち、次世代シークエンサーを用いてその配列を決定した。得られた全長ゲノム配列に対して、最尤法による系統樹解析を行い、各検体の HPV67 バリアント帰属を決定した。その結果、9 例の HPV67 陽性検体すべてが、lineage A に帰属しており、8 例が sublineage A1、1 例が sublineage A2 であった。(小暮剛太、柊元巌、岩田卓[慶應大学]、小貫麻美子[昭和大学]、松本光司[昭和大学])

(3) HPV ワクチン効果を検証するための疫学研究

前癌病変及び子宮頸癌と診断された 40 歳未満の日本人女性における HPV16/18 検出率を経年的に調べることで、人口レベルでの HPV ワクチン導入効果を検証することを目的と

している。そのために全国 22 か所の拠点病院で子宮頸部擦過細胞検体を収集し、国立感染症研究所に検体を集約して、精度と信頼度がバリデートされた HPV タイピングを実施する。令和 2 年度は合計 1087 例(CIN1 162 例、CIN2 242 例、CIN3 504 例、AIS 35 例、子宮頸部浸潤癌 144 例)の HPV タイピングを実施して、HPV 型判定結果を昭和大学の研究事務局に送付した。また PCR にて増幅されたが 31 種類の HPV 型特異的プローブで検出できなかった HPVX 検体(13 例)については、PCR 産物のダイレクトシークエンスを行い、その HPV 型判定を行った。本研究の以前の研究期間中に用いられていた HPV タイピング法(リニアアレイ)と、今回新たに採用した HPV タイピング法(PGMY-CHUV)との間の結果の一致度を検証し、HPV16/18 の検出に関して二つの方法は完全に一致することを確認した。(中村浩美、柊元巌、岩田卓[慶應大学]、小貫麻美子[昭和大学]、松本光司[昭和大学])

3. HPV 感染による発癌機構の研究

(1) HPV の遺伝子発現機構に関する研究

HPV の初期遺伝子は、自身のゲノム複製や子宮頸癌細胞の増殖に必須なウイルスタンパク質をコードし、転写調節領域(LCR)により発現が制御される。これまでに、細胞の転写因子 TEAD1 と転写共役因子 VGLL1 の複合体が初期遺伝子の転写に必要なことを明らかにし、LCR に 11 カ所の TEAD1 結合配列を特定した。そのうち 6 カ所は、初期遺伝子の転写活性化因子である NFI の結合配列と部分的にオーバーラップしていた。TEAD1/VGLL1 と NFI が協調して転写を調節している可能性を考え、今年度はこれら 3 つのタンパク質間の相互作用を調べた。それぞれの発現ベクターを HEK293 細胞に同時にトランスフェクションし、NFI に対する免疫沈降を行った結果、TEADI 及び VGLL1 が共沈した。NFI と VGLL1 の発現ベクターのみをトランスフェクションした場合、VGLL1 は共沈しなかったことから、NFI は TEAD1 を介して TEAD1/VGLLI 複合体に結合し、初期遺伝子の転写を活性化している可能性が示唆された。(森清一郎)

(2) HPV の遺伝子発現に関与する宿主因子の探索

TEAD1 と複合体を形成する他の宿主因子を探索する目的で、野生型及び TEAD1 結合配列に変異を導入した LCR-DNA に結合する子宮頸癌細胞の核タンパク質を Data independent acquisition(DIA)プロテオーム解析によって網羅的に調べた。変異導入により、TEAD1 と VGLL1 を含む約 50 種類の宿主タンパク質の LCR-DNA への結合が 1/3 以下に減少した。このうち約 20 種類のタンパク質について、siRNA を用いて HPV の遺伝子発現との関りを調べた。転写調節機能や RNA 結合能を持つ 5 つのタンパク質の発現をそれぞれノックダウンすると HPV16 及び HPV18 の初期遺伝子の発現が顕著に低下したことから、これらの宿主因子は TEAD1 と転写複合体を形成して HPV の遺伝子発現に寄与している可能性がある。(森清一郎)

(3) HPV16 E7 により発現が変動する細胞遺伝子の解析

HPV16 の三つのバリアント(A1, A4, A5)は子宮頸癌の進展リスクが異なり、A4 は子宮頸癌で検出頻度が高く、A5 は子宮頸部軽度病変で検出頻度が高い。これらの HPV16 バリアントは、それぞれ特徴的なアミノ酸配列を持つ E7 タンパク質をコードしている。これらの E7 の細胞機能の違いを明らかにするために、A1, A4, A5 の E7 を発現する組換えレトロウイルスを作成し、ヒト子宮頸部角化細胞株(HCK1T)に感染させて、それぞれの E7 を安定に発現する細胞(HCK1T_A1, HCK1T_A4, HCK1T_A5)を得た。同時にベクターウイルスを感染させた細胞(HCK1T_V)も作成した。これらの細胞から全 RNA を調製し、次世代シークエンサーによる RNA-seq 解析を行った。TCC-GUI により発現変動遺伝子(DEG)群を探索した結果、10% FDR を満たす DEG として、HCK1T_A1/A4/A5 と HCK1T_V の比較では 59 遺伝子、HCK1T_A4 と HCK1T_A1/A5 の比較では 48 遺伝子、HCK1T_A5 と HCK1T_A1/A4 の比較では 37 遺伝子が抽出された。E7 を発現している HCK1T_A1/A4/A5 ではコントロールの HCK1T_V と比べて、MCM2, MCM5, MCM7 などの細胞周期に関連する遺伝子群の発現上昇、IFIT2, IFI44L などの抗ウイルス遺伝子の発現低下が認められた。さらに E7 バリアント間で発現量が異なる遺伝子として、HCK1T_A4 で TOMM6 の発現上昇、ZC3H11A の発現低下、HCK1T_A5 で ZACN の発現上昇、MFSD2B の発現低下が検出された。(柊元巌)

4. HPV 標的細胞についての研究

(1) HPV 標的細胞の探索

子宮頸部の扁平上皮と円柱上皮の境界部(SCJ)は高リスク型 HPV の感染部位と考えられているが、標的細胞は同定されていない。高リスク型である HPV18 の LCR で制御された GFP 発現レンチウイルスを作成し、臨床検体の SCJ を構成する細胞に感染させた。僅かだが GFP 陽性細胞が FACS により確認できた。この GFP 陽性細胞を解析することにより HPV 標的細胞の特性が明らかになる可能性がある。(豊原佑典[東京大学]、石井克幸、田口歩[東京大学])

(2) iPS 技術を用いた HPV 標的細胞の作成

HPV18 の LCR 制御 GFP 遺伝子をもつ iPS 細胞の作成を試みた。上記制御遺伝子を有するレンチウイルスを iPS 細胞に感染させ、薬剤耐性となるクローンを回収した。中間中胚葉に分化誘導させ、3 継代培養した後、HOXC13 遺伝子をトラン

スダクションした。9 クローンのうち 1 クローンが GFP 陽性を示した。HPV18 LCR 制御 GFP 遺伝子を組み込んだ iPS 細胞を作成することができた。(石井克幸)

II. 相同配列を避けた iPS 細胞のゲノム編集

ヒト iPS 細胞において相同配列が存在する領域に対してアレル特異的にゲノム編集を行う手法を調べた。置換変異を二段階で導入するために、人工スペーサー配列に挟まれた蛍光タンパク質遺伝子と薬剤耐性遺伝子を long ssDNA として準備し、HDR のドナーとして用いた。long ssDNA の導入効率を高くするような遺伝子導入条件により、CRISPR/Cas9 システムとともにこの long ssDNA をヒト iPS 細胞に導入し、薬剤耐性コロニーの出現を調べたが、コロニーの出現が見られなかった。ヒト iPS 細胞はゲノム編集過程の DNA 二本鎖切断に感受性が高いとされているため、p53 mRNA に対する siRNA を同時に導入することによりコロニー数の増加を図ったが、それでも 1 実験 (35mm dish) あたり数個にとどまり、さらなる最適化が必要と考えられた。(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。特記すべき有害事象は認められなかった。(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. HIV-1 の構造生物学研究

(1)拡張アンサンブル法によるHIV-1 エンベロープ三量体の構造的特徴の解析

ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)の粒子表面上のエンベロープタンパク質は、三量体を形成することで主要中和エピトープを遮蔽することが知られている。しかし、遮蔽構造の発現・維持の分子メカニズムは未だ明らかにされていない。我々は、HIV-1エンベロープタンパク質三量体の構造的特徴を、拡張アンサンブル法の一つであるGaussian Accelerated Molecular Dynamics (GaMD) シミュレーションにより調べた。MDシミュレーションはAmber16のpmemd.cudaモジュールにより実行した。計算条件は、温度310K、圧力1 bar、塩濃度150 mM NaClとした。2 nsのConventional MD後、2 μsのGaMDを実行した。GaMDにより得られたトラジェクトリーはAmberTools17のcpptrajにより解析した。その結果、GaMDにより得られたエンベロープタンパク質三量体の平衡構造は、それぞれのプロトマーが非対称に配置されていた。さらに、それぞれのプロトマーがなす角度は、一定ではなく時間ともに変化していることが明らかになった。(横山勝、小谷　治、中村浩美、佐藤裕徳)

(2)HIV-1 エンベロープにおける脆弱部位の推定

HIV-1 は易変異性ウイルスであり、変異を許容し難い脆弱部位は明らかでない。ウイルス粒子表面に位置するエンベロープの脆弱部位を知ることができれば、その部位はウイルスにとって致死的な治療標的となる。本研究では、統計的カップリング行列およびランダム行列理論により HIV-1 エンベロープにおける脆弱部位の推定を行った。我々の解析により得られた最大固有値のセクターを HIV-1 エンベロープ三量体の立体構造に表示すると、Clade B と Clade C のどちらにおいても、C-C loop に位置していた。最大固有値のセクターの多様性解析を行うと、アミノ酸残基は極めて保存されていた。このセクターを構成するアミノ酸残基に変異導入解析を行うと、いずれの変異もウイルス感染性が無くなることが明らかになった。このセクターは HIV-1 エンベロープの脆弱部位であると考えられる。(横山勝、小谷治、土肥直哉[徳島大]、駒　貴明[徳島大]、野間口雅子[徳島大]、佐藤裕徳)

(3)HIV カプシド阻害剤候補の探索

HIV Gagタンパク質は、HIVの生活環全体に関わる重要な構造タンパク質であるため、既存の抗HIV薬とは作用点の異なる新たなクラスの創薬シーズ創出が期待できる。我々は、これまでin silicoスクリーニングによって、HIV-1カプシド(CA)の二量体化に関与するHelix9-Helix9相互作用を標的とする低分子化合物を複数選定してきた。本研究では、その中の一つで、MKN-3と命名した化合物の誘導体(TKB063)の抗HIV-1活性の評価および作用機序に関する基本的な解析を行った。新規抗HIV-1低分子化合物TKB063は、HIV-1複製後期過程においてCAに作用して、産生されるウイルスの感染性を低下させていることが示唆された。(横山勝、小谷治、村上努[エイズ研究センター]、倉上真樹 [東京医科歯科大]、小早川拓也 [東京医科歯科大]、辻　耕平[東京医科歯科大]、玉村啓和[東京医科歯科大]、佐藤裕徳)

(4)HIV-1多機能分子の構造生物学研究

HIV-1ゲノムRNAのLTR領域は、ウイルス複製の様々な素過程(逆転写、パッケージング、粒子形成)で機能する多機能分子の性質を持つ。特に、粒子形成におけるLTR構造・機能

研究は未開拓分野であり、次代の抗HIV創薬の有力標的となりうる。しかし、未だLTRの多機能発現の仕組みは不明である。今年度は、パッケージング能を低下させる塩基置換2箇所(G226/A227)がLTR構造に与える影響について調べた。既知のLTR構造情報(PDB ID: 2N1Q)から分子モデリングにより構築したLTRモデルを用いて、変異体モデル(G226/A227置換)を構築した。その変異体の準安定構造を獲得するために、MDシミュレーションを実施した。その結果、2塩基置換によりLTR構造が不安定化することがわかった。さらに2塩基置換はLTRの根幹構造であるthree-way junction 領域の動態、折畳み様式、相互作用ネットワークを変化させた。これらの結果より、G226/A227がLTRの構造安定性をシス制御する機能部位であることを明らかにした。(小谷治、横山勝、櫻木小百合[大阪大学 微生物病研究所]、櫻木淳一[大阪大学 微生物病研究所]、塩田達雄[大阪大学 微生物病研究所]、佐藤裕徳)

IV-2. インフルエンザウイルスの構造生物学研究

(1)抗インフルエンザHAストーク抗体による中和と中和逃避の構造生物学的研究

様々なインフルエンザウイルス亜型に対して中和能を有する広域中和抗体の一つである抗HAストーク抗体の研究開発に向けて、抗HAストーク抗体F11クローンによる中和と中和逃避の構造基盤の構築を目指す。今年度は、既知のHA三量体/抗HAストーク抗体の結合様式(PDB ID: 5JW4)を鋳型にして、糖鎖付加型HA三量体/F11-Fab複合体モデルを構築した。その複合体モデルを用いて、MDシミュレーションを実施した。その結果、F11抗体は糖鎖付加型HAストーク構造上のHydrophobic groove近傍に結合し、二つのHA単量体を架橋して結合することがわかった。次にF11抗体改変に向けた抗体変異導入解析を実施し、HA親和性を上げるF11抗体アミノ酸変異部位4箇所を予測した。今後は、実験で予測した変異の効果(中和能、抗体結合能)を検証する。(小谷治、齊藤慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、鈴木康司[インフルエンザウイルス研究センター]、相内章[感染病理部])

(2)インフルエンザA(H3N2)HAタンパク質三量体の適応進化のための構造的基礎の解析

近年、インフルエンザウイルスA(H3N2)のクレード3C.2aにおいて、赤血球凝集活性が低下している。この赤血球凝集低下の理由を明らかにするために、H3N2 HA タンパク質の分子動力学計算を実行し、3C.2a 特異的突然変異(A128T/N144S/S159Y/K160T)がA(H3N2) HAタンパク質の立体構造に及ぼす影響を調べた。H3N2 のワクチン株と 3C.2a 特異的突然変異を有する赤血球凝集低下株のシアル酸(三糖および五糖)との結合エネルギーの比較を行った。ワクチン株では三糖も五糖と同様に強く結合する。一方、赤血球凝集低下株では五糖では結合するが、三糖では結合が困難であると考えられる。この解析結果は、糖鎖チップの実験結果を説明する。(横山 勝、小谷 治、中村浩美、藤崎誠一郎[インフルエンザウイルス研究センター]、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)

IV-3. SARS-CoV-2の構造生物学研究

(1)新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)S タンパク質の構造安定性評価系の構築

コロナウイルス粒子上のスパイク(S)タンパク質のアミノ酸置換は、ウイルスの受容体親和性や病原性の生物活性を変化させる。新型コロナウイルス SARS-CoV-2 について、変異が S タンパク質の構造・機能に与える影響を調べることはCOVID-19リスク評価の一助につながる。今年度は、国内の臨床試料中のウイルスにみられた 7 カ所のアミノ酸変異(S50L, R357K, E471K, D614G, R683G, A846V, D950Y)がSタンパク質の物性に与える影響について MD シミュレーションを用いて調べた。特にウイルスの感染・伝播能に関わるSタンパク質の構造安定性について評価した。Sタンパク質三量体モデルの MD シミュレーションを実施し、熱力学的に準安定な S タンパク質三量体構造を取得した。その構造を用いて、in silico 変異導入解析から、7 カ所の変異による構造安定性への影響を評価した。その結果、S タンパク質の構造安定性を向上させる変異(S50L, A846V, D950Y; Stability -2.50±0.74 kcal/mol)と低下させる変異(R357K, E471K, D614G; 2.08±0.88 kcal/mol)に区分することができた。R683G 変異は構造安定性に影響しなかった(0.03±0.64 kcal/mol)。これらの結果より、ウイルスが生存するために必要な S タンパク質の構造安定性には幅があると考えた。(小谷治、横山勝、関塚剛史、糸川健太郎、黒田 誠)

(2)抗 SARS-CoV-2 S タンパク質抗体の中和・中和逃避の構造解析基盤の構築

SARS-CoV-2 ウイルス粒子表面にある S タンパク質は抗体の標的分子となるため、COVID-19ワクチン開発における有力な抗原の一つである。しかし、抗 S 抗体による中和と中和逃避の分子メカニズムは未だ不明な点が多い。今年度は、既知のSタンパク質/抗S抗体複合体の構造情報もとに抗S抗体の中和・中和逃避の構造解析基盤を構築した。SARS-CoV-2 Sタンパク質三量体モデル(Close型)とRBD領域が露出した SARS-CoV-2 S タンパク質三量体モデル(Open型)を用い、既知の S タンパク質/抗 S 抗体複合体の構造情報4種類(S309抗体、CR3022抗体、cc12.1抗体、4A8抗体)

を鋳型にし、それぞれ S タンパク質/抗 S 抗体複合体モデルを構築した。それらのモデルを用いて、MD シミュレーションを実施し、得られた準安定構造から結合様式を調べた。その結果、各抗体が相互作用する S タンパク質上のアミノ酸残基を特定した。次に、in silico mutagenesis 法を用いて、変異による S タンパク質変異体の抗体親和性への影響を調べた。その結果、変異による抗体親和性への影響は、①どのアミノ酸に変えても抗体親和性が下がる、②どのアミノ酸に変えても抗体親和性が上がる、③どのアミノ酸に変えても抗体親和性に影響しない、④アミノ酸の種類によって抗体親和性が変化する、4 つのグループに分類された。今後、分類されたアミノ酸群の構造特性について調べ、COVID-19 リスク評価に向けた構造解析基盤の構築を目指す。(小谷治、横山勝、関塚剛史、糸川健太郎、黒田誠)

IV-4. デングウイルスの構造生物学研究

(1)デングウイルス 2 型 E タンパク質と中和抗体の分子動力学計算による解析

デングウイルスによる感染症の重症型デング発症機序の一つとして抗体依存性感染増強(ADE)があり、単クローン抗体には、増強活性の強い抗体と中和活性の強い抗体がそれぞれ存在する。デングウイルスと中和抗体の結合様式の解明は、ADE を避けた治療抗体やワクチンの開発に重要な基盤となる。本研究では、デングウイルス 2 型(DV2)特異的に強力な中和活性を示すマウス単クローン抗体 2-14-8 の結合部位を明らかにするために、DV2 の 16681 株 E/M タンパク質と 2-14-8 抗体の複合体の分子動力学(MD)計算を行い、DV2 の 16681 株と逃避変異株(R89S 株)の比較を行った。E/M タンパク質と 2-14-8 抗体の結合エネルギーを計算すると、16681 株または R89S 株の 2-14-8 抗体との結合エネルギーは、それぞれ-35.28 ± 7.16 kcal/mol、-1.70 ± 7.54 kcal/mol であった。R89S 株の 2-14-8 抗体との結合エネルギーは、16681 株よりも大きく低下することが明らかになった。(横山勝、中山英美[大阪大学 微生物病研究所]、小谷 治、塩田達雄[大阪大学 微生物病研究所]、佐藤裕徳)

V. 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

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。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 の構築している。現在、公衆衛生上重要となる病原細菌 36 種、合計約 95 万サンプルのゲノム解析データを格納している。更に、本年度は SARS-CoV-2 のゲノム解析を行う web アプリケーションの開発・改良も実施し、地方衛生研究所が解読したゲノム解読データの解析を行う基盤を構築した。(関塚剛史、谷津弘仁、糸川健太郎、黒田誠)

VI. バイオテロ・新興再興感染症・薬剤耐性菌対策としての超高速ゲノム解読・解析システムの構築

バイオテロ・新興再興感染症による非常事態に対応するため、“迅速・網羅的・正確”を兼ね備えた次世代シークエンサーによる超高速ゲノム解読システムをこれまで構築してきた。また、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、SARS-CoV-2 ゲノム配列決定に重点を置き、本年度までに、合計 20,402 サンプルの全長ゲノム配列を取得し、公開データベース GISAID にて公開済みである。(関塚剛史、糸川健太郎、橋野正紀、谷津弘仁、田中里奈、黒田誠)

VII-1. SARS-CoV-2 比較ゲノム分子疫学解析

2019 年 12 月より世界的に流行している新型コロナウイルス SARS-CoV-2 について、患者検体 RNA から効率的にウイルスの全ゲノム配列を決定するための実験プロトコルの改良・開発を行った。現在世界的に用いられている、ARTIC Network multiplex tilling PCR 法のプライマーの内、増幅に問題のある、12 本のプライマーについて改良を行い、より広範囲な条件でゲノム確定をすることが可能なプライマーセットを開発した。また、国内で流行している変異株について、変異によるミスマッチを考慮した改良を行い、継続的にゲノム解析を行えるように対応した。(糸川健太郎、関塚剛史、橋野正紀、田中里奈、黒田誠)

SARS-CoV-2 ゲノムの自動解析パイプラインを作成し、ネットワーク解析結果を描画・閲覧する web サイトの改良を行なった。国内における SARS-CoV-2 の lineage の推移をモニタリングし、本年度に国内で生じた感染ピークにおけるゲノム比較解析を行なった。また、海外より帰国した有症者から検出された本ウイルスのゲノム比較解析も実施し、懸念される変異系統 (variant of concern)の出現の監視と国内における伝播の有無の確認を行なった。

(関塚剛史、糸川健太郎、橋野正紀、田中里奈、谷津弘仁、黒田誠;影山努、齊藤慎二、高山郁代、浅沼秀樹、長谷川秀樹 [インフルエンザウイルス研究センター]、松山州徳、白戸憲也、竹田誠[ウイルス第三部]、高橋琢理、神谷元、山岸

拓也、柿本健作、鈴木基 [感染症疫学センター]、鈴木忠樹[感染病理部]、脇田隆字 [国立感染症研究所]、他多数の地方衛生研究所・保健所・検疫所関係者）

VII-2. ラボネットワーク強化のための SARS-CoV-2 ゲノム配列解読及び解析法の研修

自治体職員を対象に、新型コロナウイルスのゲノム解読法および解析法についての研修会を行った。令和2年度は、10月と 3 月に二度開催し、計 18 か所の自治体・機関からの参加があった。本研修会の成果により、多数の自治体において、単独でゲノム解読から解析まで行うことが可能となり、各自治体の行政へ、更に迅速にデータを報告することが可能となった。（糸川健太郎、関塚剛史、橋野正紀、田中里奈、黒田誠）

VIII. 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)を運用している。現在、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、今年度までに計約 150 株のゲノム配列を決定し、データベースを作成した。（関塚剛史、田中里奈、谷津弘仁、橋野正紀、黒田誠、金森肇[東北大学大学院医学系研究科内科病態学講座・総合感染症学分野]、楠本正博[国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構] ）

IX. 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、結核菌の国内分離株の大規模分子系統解析を円滑に行うための web 解析ツールの改変を行なった。（関塚剛史、谷津弘仁、黒田誠、村瀬良朗[公益財団法人結核予防会結核研究所]、瀧井猛将[公益財団法人結核予防会結核研究所]、岩本朋忠[神戸市環境保健研究所]、御手洗聡[公益財団法人結核予防会結核研究所]、加藤誠也[公益財団法人結核予防会結核研究所] ）

X. 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。TYG1620 株の病原性解明を目的に、全ゲノム解読および *in vivo* 実験を実施した結果、Type 7 Secretion System (T7SS) が病原性に寄与する事が示唆された。さらに、*in vitro* 実験により T7SS 依存的な細胞傷害性の保有を見出すとともに、Secretome 解析を実施し、T7SS 依存的な分泌毒素候補を同定した。昨年度までの研究成果を踏まえ、T7SS 依存的な分泌毒素候補の1つである Early Secreted Antigenic Target of 6 kDa (ESAT-6) like protein に着目し、解析を実施した。ESAT-6 like protein は、T7SS を保有する他のグラム陽性病原細菌（結核菌、黄色ブドウ球菌）において、T7SS 依存的な毒素として報告されている。そこで、ESAT-6 like protein が TYG1620 株の示す T7SS 依存的細胞傷害性に寄与しているのかを確認するために、TYG1620 株を親株として相同組換え法により欠損変異株を作製した。作製した変異株については、次世代シーケンサーを使用し ESAT-6 like protein をコードする遺伝子の欠損を確認した。TYG1620 株と欠損変異株の濃縮培養上清を作製し、上皮細胞株に添加した結果、TYG1620 株と比較して欠損変異株では細胞傷害性が有意に減弱することが確認された。この結果から、ESAT-6 like protein が TYG1620 株の T7SS 依存的細胞傷害性に関与する事が示唆された。（橋野正紀、糸川健太郎、関塚剛史、黒田誠）

XI. 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

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により、細菌毒素、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が可能となる。NGS を用いた deep sequencing による網羅的な解析が必須であり、これまで、解析用 web アプリケーションを開発してきた。昨年度に引き続き、解析用 web アプリケーションの改良を実施した。また、パラミクソウイルスを接種した際のインタラクトーム解析を行い、ムンプスウイルスの感染に関与する宿主因子を抽出した。

（関塚剛史、黒田誠、山地俊之[細胞化学部]、花田賢太郎[細胞化学部]、加藤大志[ウイルス第三部]、竹田誠[ウイルス第三部] ）

XII. 薬剤耐性熱帯熱マラリア株の新規ゲノムアセンブリ

熱帯熱マラリア原虫のカンボジア由来感受性およびカンボジア由来抵抗性の計二株について、量的形質遺伝子座（QTL）解析を行う事前準備として全ゲノムアセンブリを行った。それぞれの株からナノポアシーケンサーによるロングリードおよびイルミナ HiSeq によるショートリードのデータを取得した。これらのデータを用いてハイブリッド *de novo* アセンブリを行い、二つの系統それぞれで 14 本の染色体全てをアセンブルすることができた。得られた二つの系統のゲノムアセンブリおよび公開されている *P. falciparum* 3D7 株（薬剤感受性）のレファレンスアセンブリの比較ゲノム解析を行ったところ、薬剤抵抗性株における構造変異（遺伝子増幅、遺伝子欠失等）を複数個所見つけることができた。これらの構造変異に含まれる遺伝子は抵抗性株の持つ薬剤抵抗性の原因遺伝子の候補として次年度以降さらなる検証を行う。また、感受性と抵抗性株において SNP マーカーが各 14 本の染色体に十分な密度で存在していることを確認した。

（糸川健太郎、小林大介[昆虫医科学部]、新澤直明[東京医科歯科大] ）

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、4 価、9 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。また 9 価 HPV ワクチンのファクトシートを疫学センターと共同で作成した。

（石井克幸、竹内隆正、森　清一郎、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。2021 年 3 月にオンライン開催された National HPV Reference Laboratories Conference に参加して、日本でのリファレンスラボ活動と HPV ワクチンの現状について講演した。（中村浩美、柊元巌）

発 表 業 績 一 覧

I. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Yamaguchi-Naka M, Onuki M, Tenjimbayashi Y, Hirose Y, Tasaka N, Satoh T, Morisada T, Iwata T, Sekizawa A, Matsumoto K, Kukimoto I. Molecular epidemiology of human papillomavirus 18 infections in Japanese women. ***Infect Genet Evol.*** Sep;83:104345, 2020.

2) Kukimoto I, Matsumoto K, Takahashi F, Iwata T, Tanaka K, Yamaguchi-Naka M, Yamamoto K, Yahata H, Nakabayashi M, Kato H, Tsuda N, Onuki M, Yaegashi N; MINT Study II Group. Human Papillomavirus (HPV) Genotyping Assay Suitable for Monitoring the Impact of the 9-Valent HPV Vaccine. ***Tohoku J Exp Med.*** Aug;251(4):287-294, 2020.

3) Taguchi A, Nagasaka K, Plessy C, Nakamura H, Kawata Y, Kato S, Hashimoto K, Nagamatsu T, Oda K, Kukimoto I, Kawana K, Carninci P, Osuga Y, Fujii T. Use of Cap Analysis Gene Expression to detect human papillomavirus promoter activity patterns at different disease stages. ***Sci Rep.*** Oct 22;10(1):17991, 2020.

4) Hirose Y, Yamaguchi-Naka M, Onuki M, Tenjimbayashi Y, Tasaka N, Satoh T, Tanaka K, Iwata T, Sekizawa A, Matsumoto K, Kukimoto I. High Levels of Within-Host Variations of Human Papillomavirus 16 E1/E2 Genes in Invasive Cervical Cancer. ***Front Microbiol.*** Nov 24;11:596334, 2020.

5) Kawahara R, Fujii T, Kukimoto I, Nomura H, Kawasaki R, Nishio E, Ichikawa R, Tsukamoto T, Iwata A. Changes to the cervicovaginal microbiota and cervical cytokine profile following surgery for cervical intraepithelial neoplasia. ***Sci Rep.*** Jan 25;11(1):2156, 2021.

6) Song C, Takai-Todaka R, Miki M, Haga K, Fujimoto A, Ishiyama R, Oikawa K, Yokoyama M, Miyazaki N, Iwasaki K, Murakami K, Katayama K, Murata K. Dynamic rotation of the protruding domain enhances the infectivity of norovirus. ***PLoS Pathog.***, 16(7):e1008619, 2020.

7) Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Morita H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Sato H, Doi I, Sato Y, Takao S, Shimazu Y, Shimomura T, Ito T, 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 neuraminidase mutation isolated from immunocompromised patients. ***Pathogens***, 9(9):725, 2020.

8) Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani O, Ainai A, van Riet E, Tabata K, Saito K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Maruno T, Usami K, Uchiyama S, Ogawa-Goto K, Hasegawa H. An influenza HA stalk reactive polymeric

IgA antibody exhibits anti-viral function regulated by binary interaction between HA and the antibody. ***PLoS ONE***, 16(1):e0245244, 2021.

9) Kobayakawa T, Yokoyama M, Tsuji K, Fujino M, Kurakami M, Boku S, Nakayama M, Kaneko M, Ohashi N, Kotani O, Murakami T, Sato H, Tamamura H. Small-Molecule Anti-HIV-1 Agents Based on HIV-1 Capsid Proteins. ***Biomolecules*** 2021, 11, 208.
10) Sakuragi S, Kotani O, Yokoyama M, Shioda T, Sato H, Sakuragi J. Identification of a Novel Cis-Acting Regulator of HIV-1 Genome Packaging. ***Int. J. Mol. Sci.*** 2021, 22, 3435.
11) Sato K, Kumagai Y, Sekizuka T, Kuroda M, Hayashi T, Takano A, Gaowa, Taylor KR, Ohnishi M, Kawabata H. Vitronectin binding protein, BOM1093, confers serum resistance on *Borrelia miyamotoi*. ***Sci Rep.*** 2021 Mar 9;11(1):5462.
12) Sekizuka T, Itokawa K, Yatsu K, Tanaka R, Hashino M, Kawano-Sugaya T, Ohnishi M, Wakita T, Kuroda M; COVID-19 Genomic Surveillance Network in Japanese Airport Quarantine. COVID-19 genome surveillance at international airport quarantine stations in Japan. ***J Travel Med.*** 2021 Feb 23;28(2):taaa217.
13) Matsuoka S, Kuwata T, Ishii H, Sekizuka T, Kuroda M, Sano M, Okazaki M, Yamamoto H, Shimizu M, Matsushita S, Seki Y, Saito A, Sakawaki H, Hirsch VM, Miura T, Akari H, Matano T. A Potent anti-Simian Immunodeficiency Virus Neutralizing Antibody Induction Associated with a Germline Immunoglobulin Gene Polymorphism in *Rhesus Macaques*. ***J Virol.*** 2021 Jan 13;95(7):e02455-20.u
14) Hayashi M, Matsui M, Sekizuka T, Shima A, Segawa T, Kuroda M, Kawamura K, Suzuki S. Dissemination of IncF group F1:A2:B20 plasmid-harbouring multidrug-resistant *Escherichia coli* ST131 before the acquisition of $bla_{\text{CTX-M}}$ in Japan. ***J Glob Antimicrob Resist.*** 2020 Dec;23:456-465.
15) Sekizuka T, Itokawa K, Hashino M, Kawano-Sugaya T, Tanaka R, Yatsu K, Ohnishi A, Goto K, Tsukagoshi H, Ehara H, Sadamasu K, Taira M, Shibata S, Nomoto R, Hiroi S, Toho M, Shimada T, Matsui T, Sunagawa T, Kamiya H, Yahata Y, Yamagishi T, Suzuki M, Wakita T, Kuroda M. A Genome Epidemiological Study of SARS-CoV-2 Introduction into Japan. ***mSphere.*** 2020 Nov 11;5(6):e00786-20.
16) Kuramitsu M, Okuma K, Horiya M, Sekizuka T, Kaneko N, Saito E, Sokunaga J, Kuroda M, Hamaguchi I. First case of molecularly identified and genetically characterized human T-cell leukemia virus type 2 infection in a pregnant woman in non-endemic Japan. ***J Virol Methods.*** 2021 Jan;287:114005.
17) Morita M, Okada K, Yamashiro T, Sekizuka T, Roobthaisong A, Wongboot W, Chantaroj S, Tu ND, Xangsayarath P, Sithivong N, Noilath K, Vongdouangchanh A, Kuroda M, Hamada S, Izumiya H, Ohnishi M. Phylogenetic Analysis Revealed the Dissemination of Closely Related Epidemic *Vibrio cholerae* O1 Isolates in Laos, Thailand, and Vietnam. ***Open Forum Infect Dis.*** 2020 Oct 16;7(11):ofaa492.
18) Sekizuka T, Katsukawa C, Kuroda M, Shibayama K, Otsuji K, Saito M, Yamamoto A, Iwaki M. Limitations of Ribotyping as Genotyping Method for Corynebacterium ulcerans. ***Emerg Infect Dis.*** 2020 Oct;26(10):2457-2459.
19) Nagaoka H, Hirai S, Morinushi H, Mizumoto S, Suzuki K, Shigemura H, Takahashi N, Suzuki F, Mochizuki M, Asanuma M, Maehata T, Ogawa A, Ohkoshi K, Sekizuka T, Ishioka T, Suzuki S, Kimura H, Kuroda M, Suzuki M, Murakami K, Kanda T. Coinfection with Human Norovirus and *Escherichia coli* O25:H4 Harboring Two Chromosomal $bla_{\text{CTX-M-14}}$ Genes in a Foodborne Norovirus Outbreak in Shizuoka Prefecture, Japan. ***J Food Prot.*** 2020 Sep 1;83(9):1584-1591.
20) Kanamori H, Aoyagi T, Kuroda M, Sekizuka T, Katsumi M, Ishikawa K, Hosaka T, Baba H, Oshima K, Tokuda K, Hasegawa M, Kawazoe Y, Kushimoto S, Kaku M. *Chromobacterium haemolyticum* Pneumonia Associated with Near-Drowning and River Water, Japan. ***Emerg Infect Dis.*** 2020 Sep;26(9):2186-2189.
21) Nao N, Saikusa M, Sato K, Sekizuka T, Usuku S, Tanaka N, Nishimura H, Takeda M. Recent Molecular Evolution of Human Metapneumovirus (HMPV): Subdivision of HMPV A2b Strains. ***Microorganisms.*** 2020 Aug 21;8(9):1280.
22) Wakabayashi Y, Sekizuka T, Yamaguchi T, Fukuda A, Suzuki M, Kawahara R, Taguchi M, Kuroda M, Semba K, Shinomiya H, Kawatsu K. Isolation and plasmid characterisation of *Salmonella enterica* serovar Albany harbouring *mcr-5* from retail chicken meat in Japan. ***FEMS Microbiol Lett.*** 2020 Aug 1;367(15):fnaa127

23) Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, Saito S, Takayama I, Asanuma H, Nao N, Tanaka R, Hashino M, Takahashi T, Kamiya H, Yamagishi T, Kakimoto K, Suzuki M, Hasegawa H, Wakita T, Kuroda M. Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. ***Proc Natl Acad Sci U S A.*** 2020 Aug 18;117(33):20198-20201.

24) Shimizu A, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Kuroda M, Koizumi A, Fujita M, Yamada Y, Saruki N. Meningitis and bacteremia by nonhemolytic Group B *Streptococcus* strain: A whole genome analysis. ***Microbiol Immunol.*** 2020 Sep;64(9):630-634.

25) Yoshida S, Iwamoto T, Arikawa K, Sekizuka T, Kuroda M, Inoue Y, Mitarai S, Tsuji T, Tsuyuguchi K, Suzuki K. Bacterial population kinetics in heteroresistant *Mycobacterium tuberculosis* harbouring rare resistance-conferring mutations in *gyrA* and *rpoB* imply an epistatic interaction of mutations in a pre-XDR-TB patient. ***J Antimicrob Chemother.*** 2020 Jul 1;75(7):1722-1725.

26) Shirakawa T, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki S, Ozawa M, Abo H, Furuya Y, Akama R, Matsuda M, Shimazaki Y, Kijima M, Kawanishi M. Comparative Genomic Analysis of Third-Generation-Cephalosporin-Resistant *Escherichia coli* Harboring the *bla*$_{CMY-2}$-Positive IncI1 Group, IncB/O/K/Z, and IncC Plasmids Isolated from Healthy Broilers in Japan. ***Antimicrob Agents Chemother.*** 2020 Jun23;64(7):e02385-19.

27) Shigemura H, Sakatsume E, Sekizuka T, Yokoyama H, Hamada K, Etoh Y, Carle Y, Mizumoto S, Hirai S, Matsui M, Kimura H, Suzuki M, Onozuka D, Kuroda M, Inoshima Y, Murakami K. Food Workers as a Reservoir of Extended-Spectrum-Cephalosporin-Resistant *Salmonella* Strains in Japan. ***Appl Environ Microbiol.*** 2020 Jun17;86(13):e00072-20.

28) Adachi T, Chong JM, Nakajima N, Sano M, Yamazaki J, Miyamoto I, Nishioka H, Akita H, Sato Y, Kataoka M, Katano H, Tobiume M, Sekizuka T, Itokawa K, Kuroda M, Suzuki T. Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings from Autopsy of Patient with COVID-19, Japan. ***Emerg Infect Dis.*** 2020 Sep;26(9):2157-2161.

29) Takahashi K, Sato Y, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki T, Hasegawa H, Katano H. High expression of JC polyomavirus-encoded microRNAs in progressive multifocal leukoencephalopathy tissues and its repressive role in virus replication. ***PLoS Pathog.*** 2020 Apr 23;16(4):e1008523.

30) Itokawa K, Sekizuka T, Hashino M, Tanaka R, Kuroda M. Disentangling primer interactions improves SARS-CoV-2 genome sequencing by multiplex tiling PCR. ***PLoS One.*** 2020 Sep 18;15(9):e0239403.

31) Kenri T, Suzuki M, Sekizuka T, Ohya H, Oda Y, Yamazaki T, Fujii H, Hashimoto T, Nakajima H, Katsukawa C, Kuroda M, Shibayama K. Periodic Genotype Shifts in Clinically Prevalent Mycoplasma pneumoniae Strains in Japan. ***Front Cell Infect Microbiol.*** 2020 Aug 6;10:385.

32) Sekizuka T, Kuramoto S, Nariai E, Taira M, Hachisu Y, Tokaji A, Shinohara M, Kishimoto T, Itokawa K, Kobayashi Y, Kadokura K, Kamiya H, Matsui T, Suzuki M, Kuroda M. SARS-CoV-2 Genome Analysis of Japanese Travelers in Nile River Cruise. ***Front Microbiol.*** 2020 Jun 5;11:1316.

33) Sugiura M, Kimoto F, Itokawa K, Kasai S. Novel CONCOMITANT mutations L932F and I936V in the Voltage-Gated Sodium Channel and Its Association With Pyrethroid Resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). ***J Med Entomol.*** 2021 Mar 12;58(2):798-806.

34) Faizah AN, Kobayashi D, Amoa-Bosompem M, Higa Y, Tsuda Y, Itokawa K, Miura K, Hirayama K, Sawabe K, Isawa H. Evaluating the competence of the primary vector, *Culex tritaeniorhynchus*, and the invasive mosquito species, *Aedes japonicus japonicus*, in transmitting three Japanese encephalitis virus genotypes. ***PLoS Negl Trop Dis***. 2020 Dec 28;14(12):e0008986.

35) Amoa-Bosompem M, Kobayashi D, Itokawa K, Faizah AN, Kuwata R, Dadzie S, Hayashi T, Yamaoka S, Sawabe K, Iwanaga S, Isawa H. Establishment and characterization of a cell line from Ghanaian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on Aedes-borne flavivirus susceptibility. ***In Vitro Cell Dev Biol Anim.*** 2020 Oct;56(9):792-798.

36) Supriyono, Kuwata R, Torii S, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Kuroda Y, Tatemoto K, Tran NTB, Takano A, Omatsu T, Mizutani T, Itokawa K, Isawa H, Sawabe K, Takasaki T, Yuliani DM, Abiyoga D, Hadi UK, Setiyono A, Hondo E, Agungpriyono S, Maeda K. Mosquito-borne viruses, insect-specific flaviviruses

(family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*), Banna virus (family *Reoviridae*, genus *Seadornavirus*), Bogor virus (unassigned member of family *Permutotetraviridae*), and alphamesoniviruses 2 and 3 (family *Mesoniviridae*, genus *Alphamesonivirus*) isolated from Indonesian mosquitoes. ***J Vet Med Sci.*** 2020 Jul 31;82(7):1030-1041 .

37) Faizah AN, Kobayashi D, Isawa H, Amoa-Bosompem M, Murota K, Higa Y, Futami K, Shimada S, Kim KS, Itokawa K, Watanabe M, Tsuda Y, Minakawa N, Miura K, Hirayama K, Sawabe K. Deciphering the Virome of *Culex vishnui* Subgroup Mosquitoes, the Major Vectors of Japanese Encephalitis, in Japan. ***Viruses.*** 2020 Feb 28;12(3):264.

38) Amoa-Bosompem M, Kobayashi D, Murota K, Faizah AN, Itokawa K, Fujita R, Osei JHN, Agbosu E, Pratt D, Kimura S, Kwofie KD, Ohashi M, Bonney JHK, Dadzie S, Sasaki T, Ohta N, Isawa H, Sawabe K, Iwanaga S. Entomological Assessment of the Status and Risk of Mosquito-borne Arboviral Transmission in Ghana. ***Viruses.*** 2020 Jan 27;12(2):147.

39) Fujita R, Inoue MN, Takamatsu T, Arai H, Nishino M, Abe N, Itokawa K, Nakai M, Urayama SI, Chiba Y, Amoa-Bosompem M, Kunimi Y. Late Male-Killing Viruses in *Homona magnanima* Identified as Osugoroshi Viruses, Novel Members of *Partitiviridae*. ***Front Microbiol.*** 2021 Jan 20;11:620623.

40) Itokawa K, Hu J, Sukehiro N, Tsuda Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Minakawa N, Sawabe K. Genetic analysis of *Aedes aegypti* captured at two international airports serving to the Greater Tokyo Area during 2012-2015. ***PLoS One.*** 2020 Apr 28;15(4):e0232192.

41) Kobayashi D, Murota K, Itokawa K, Ejiri H, Amoa-Bosompem M, Faizah AN, Watanabe M, Maekawa Y, Hayashi T, Noda S, Yamauchi T, Komagata O, Sawabe K, Isawa H. RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses. ***Ticks Tick Borne Dis.*** 2020 Mar;11(2):101364.

2. 和文発表

1) 柊元巖、パルボウイルス、標準微生物学（改訂第 14 版）、420-422, 2021.

2) 黒田誠　SARS-CoV-2 ゲノミクスとサーベイランスへの応用　ウイルス 第 70 巻 第 2 号 2021

3) 黒田誠　SARS-CoV-2 ゲノム解析から わかること　感染・炎症・免疫 第 51 巻 第 1 号　2021

II. 学 会 発 表

1. 国際学会

なし

2. 国内学会

1) 柊元巖、岩田卓、小貫麻美子、松本光司. 日本人女性での HPV18 ゲノム配列の分子疫学解析、第 79 回日本癌学会学術総会（2020 年 10 月、広島）

2) 村上 努、小早川拓也、倉上真樹、横山 勝、小谷 治、辻 耕平、佐藤裕徳、玉村啓和. カプシド二量体化を標的とした新規抗 HIV-1 低分子化合物の解析. 第 34 回日本エイズ学会学術集会・総会（2020 年 11 月、WEB 開催）

3) 糸川健太郎. 遺伝子・ゲノム・集団　～NGS による衛生害虫のゲノム解析. 大会シンポジウム　ポスト NGS の衛生動物学. 第 72 回日本衛生動物学会大会（文京区、2020 年 4 月）

4) 黒田誠、関塚剛史、糸川健太郎、谷津弘仁. 病原細菌ゲノム情報データベース Global Genome Epidemiology Database (gGENEPID)によるゲノム情報支援 第 94 回日本細菌学会総会（オンライン開催、2021 年 3 月）

5) 橋野正紀、関塚剛史、糸川健太郎、黒田誠. Streptococcus intermedius の病原性における 7 型分泌装置の特性解析 第 94 回日本細菌学会総会（オンライン開催、2021 年 3 月）

6) 関塚剛史、糸川健太郎、谷津弘仁、橋野正紀、黒田誠. 東京における下水処理排水のメタゲノムおよびレジストーム解析 第 94 回日本細菌学会総会（オンライン開催、2021 年 3 月）

III. 学会等(財団等を含む)の学術賞受賞者

なし

IV.研究助成金等(財団等の競争的資金)獲得者

なし

２０．インフルエンザウイルス研究センター

センター長　　長谷川　秀樹

概　要

当センターは、インフルエンザウイルスに関する研究・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 および国内インフルエンザワクチン株の選定、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、令和 2 年 4 月 1 日、佐藤佳代子が主任研究官に昇任した。桑原朋子、齋藤慎二の任期を延長した。

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。また新型コロナウイルス対策として S タンパク質変異ウイルス検出系を構築し、全国での変異株検出に貢献した。全所対応として新型コロナウイルス感染症疑い患者検体の確認検査を行った。

ワクチンに関する研究としては、ワクチン接種後のヒト血清抗体と流行株との反応性を評価した human serology を毎年継続し、WHO ワクチン株選定に貢献した。4 価ワクチンの力価測定のために、交差反応性のないモノクロ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令和二年度のワクチン株の選定を行った。前年度に引き続き、インフルエンザワクチン力価測定用の標準試薬（抗原、抗血清）を製造し、国際標準化を行った。それらはワクチンの国家検定の標準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）、およびネパール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、パンデミックリスク評価法に関する会議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。

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 10 年以上が経過し、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. バロキサビル耐性変異ウイルスのヒトからヒトへの感染伝播

国立感染症研究所と全国地方衛生研究所は共同で、2017/18 シーズンから抗インフルエンザ薬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。バロキサビルの臨床試験では、バロキサビル投与後の患者から、PA 蛋白質の 38 番目のアミノ酸に変異(I38T/M/F)を持つインフルエンザウイルスが検出されており、ウイルスのバロキサビル感受性低下を引き起こすバロキサビル耐性変異であることが明らかになっている。我々のサーベイランスでは、バロキサビル未投与の小児から PA 蛋白質の 23 番目のアミノ酸に E23K 変異を持つウイルスを検出した。PA E23K 変異ウイルスはバロキサビルに対する感受性が低下していたが、ノイラミニダーゼ阻害剤に対する感受性は保持されていた。また、PA E23K 変異ウイルスは野生型ウイルスと比較して増殖能が低下していたが、疫学データにより、ヒトからヒトへの感染伝播が示唆された。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、極めて重要であり、引き続きバロキサビル耐性株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、永田志保、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、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所]

2. ペラミビル耐性 B 型インフルエンザウイルスの検出

国立感染症研究所と全国地方衛生研究所が共同で実施しているノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランスにおいて、国内で初めてノイラミニダーゼ阻害剤耐性の B 型インフルエンザウイルスを検出した。NA 蛋白質の 273 番目のアミノ酸に H273Y 変異を持つこの B/山形系統ウイルスは、インドネシアに在住し、一時帰国した患者から検出され、インドネシアからの輸入例と考えられる。NA H273Y 変異ウイルスはペラミビル耐性を示し,オセルタミビルに対する感受性も低下していた。患者はノイラミニダーゼ阻害剤未投与で、ペラミビル耐性 B 型ウイルスがヒトからヒトへ感染伝播したと考えられる。海外からの輸入例についても耐性ウイルスの発生動向を注視していく必要がある。[高下恵美、永田志保、森田博子、藤崎誠一郎、三浦秀佳、白倉雅之、岸田典子、中村一哉、桑原朋子、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、渡邉真治、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所]

3. 免疫不全患者から検出された多剤耐性 A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルスの性状解析

ノイラミニダーゼ阻害剤を長期投与された免疫不全患者から、NA 蛋白質に二重耐性変異を持つ A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルスを 3 株検出した。これらのウイルスは、NA 蛋白質の 275 番目のアミノ酸変異 H275Y に加えて I223R、I223K あるいは G147R 変異を持っていた。NA H275Y/I223R、NA H275Y/I223K および NA H275Y/G147R 変異ウイルスは、単一の NA H275Y 変異ウイルスと比較して、オセルタミビルとペラミビルに対する交叉耐性が増強され、ザナミビルに対する感受性も低下していた。これらの多剤耐性ウイルスはバロキサビルに対して感受性を示したことから、バロキサビルは多剤耐性ウイルスに対する治療の選択肢となり得ると考えられる。[高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、森田博子、中村一哉、岸田典子、桑原朋子、三浦秀佳、佐藤彩、秋元未来、菅原裕美、渡邉真治、小田切孝人、全国地方衛生研究所]

4. 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。これまでの実験から、これらの NA はレセプ

ター結合能を有すること、また埼玉株が鶏卵において NA を介して感染を成立させられることが明らかとなった。この埼玉株 NA があれば、HA の抗原部位への変異を阻止することが出来るかどうかを、鶏卵で継代すると HA の抗原部位に変異が入ることが報告されている2株のウイルスの HA を用いて検証した。埼玉株以外の HA と埼玉株 NA を持つウイルスを鶏卵で 10 代継代したところ、HA に変異が入りづらくなっていることが示唆された。したがって、埼玉株 NA のようにレセプター結合能を有するNAを用いれば、鶏卵で継代してもHAのレセプター結合部位や抗原部位への変異を回避することができ、より有効なワクチンを提供できる可能性が示された。［桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、白倉雅之、中村一哉、岸田典子、高橋仁、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、長谷川秀樹、小田切孝人］

5. ワクチン株の製造工程におけるスプリット化効率に関する物理化学的解析

平成 29 年度 A(H3N2)ワクチン株は、当初、埼玉株（野生株）が選定されたが、実際のワクチン製造開始後に予想以上に生産性が低い状況が判明したため、前年度ワクチン株であった香港株（高増殖性リアソータント）に変更された。そこで、ウイルスのワクチン株としての適性に関する理解を深めるため、ワクチン株の生産性に与える重要な特性のひとつであるスプリット化効率について、埼玉株（以下、ST 株）、香港株（以下、HK 株）、および過去の野生株由来のワクチン株である New York 株（以下、NY 株）に対して、物理化学的解析を行った。逆相 HPLC を用いて、各株のスプリット化工程の界面活性剤による HA 蛋白の可溶化率を評価したところ、HK 株 ＞ NY 株 ＞ ST 株 の順で大きく、実生産におけるスプリット化工程の収率と同じ傾向であった。また、逆相 HPLC の保持時間から HA 蛋白の親水性の大小を評価したところ、NY 株 ＞HK 株 ＞ST 株　の順であり、アミノ酸配列からの計算値(Hopp-Woods 指標)の大小とも一致した。このように、スプリット化効率の悪い ST 株は、NY 株や HK 株より HA 蛋白の親水性は低いことが示唆されたが、各株のスプリット化効率に寄与する因子としては明確な相関性を示していないので、更なる因子探索が必要と考える。［嶋崎典子、桑原朋子、渡邉真治、板村繁之］

6. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)疑い患者検体の確認検査

昨年度に引き続き 2020 年 4 月から、地方自治体から送付された SARS-CoV-2 感染疑い患者検体および及び空港検疫からの帰国者・入国者から採取された検体に対して、リアルタイム RT-PCR 法による SARS-CoV-2 の同定検査を実施した。［インフルエンザウイルス研究センター、感染症危機管理研究センター、ウイルス第三部、エイズ研究センター、ウイルス第二部、血液・安全性研究部、安全実験管理部、病原体ゲノム解析研究センター、細菌第二部、品質保証・管理部、総務部、国立国際医療研究センター］

7. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)患者検体のゲノムサーベイランス

2021 年 1 月から、COVID-19 感染が確認された患者検体からRNA抽出を実施し、次世代シークエンス法によるSARS-CoV-2 のゲノム解析を実施した。［インフルエンザウイルス研究センター、感染症危機管理研究センター、病原体ゲノム解析研究センター、ウイルス第三部、ウイルス第二部、血液・安全性研究部、細菌第二部］

8. 新型コロナウイルス S タンパク質変異ウイルス検出系の構築

SARS-CoV-2 S タンパク質 N501Y 変異を検出するリアルタイム RT-PCR 法を構築し、マニュアルを整備した。また、陽性コントロールを作製し、全国の希望検査施設へ配布した。［影山努、齊藤慎二、高山郁代、長谷川秀樹］

9. 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)ワクチン開発のための動物実験モデルの構築に関する研究

世界的な SARS-CoV-2 のパンデミックの発生に伴い、新規ワクチン開発につながる動物実験系の構築を目指し、サル、フェレット、ハムスター等を用い、SARS-CoV-2 を感染させた場合のウイルスの増殖性、ならびに免疫応答に関する解析を行った。フェレットにSARS-CoV-2を経鼻的に感染させ、経時的に鼻腔洗浄液、咽頭スワブ、直腸スワブを回収してウイルスの増殖性を検討した結果、鼻腔と咽頭スワブで感染5日目まで高いウイルス増殖が認められ、その後急速な減少が認められた。一方で直腸でのウイルス増殖は気道より有意に低

く、消化管では積極的なウイルスの増殖は行われていないことが示唆された。多くのフェレットでは重篤な症状は認められず、感染7日後の肺を中心とした下気道の病理組織学的解析においても、重篤な症状につながる病変は認められなかった。［白倉、岸田、渡邉、有田、鈴木、浅沼、長谷川、永田*、岩田*、志和*、鈴木*（感染病理部*）］

II. インフルエンザワクチンに関する研究

1. インフルエンザワクチンの血清学的評価に関する研究

ワクチン接種者血清の抗体保有率、上昇倍率、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、2020/21 シーズン（令和 2 年度）の季節性インフルエンザワクチン接種をうけた成人層 24 人および高齢者層 24 人のそれぞれペア血清を用いて、ワクチン製造株および流行株に対する反応性を A(H1N1)pdm09 と B 型については赤血球凝集抑制(HI)試験 で、A(H3N2)については HI 試験で実施することが困難であるため中和試験で評価した。成人層はワクチン製造株の A/Guangdong-Maonan/SWL1536/19 (CNIC-1909) (H1N1) pdm09、B/Victoria/705/18 (BVR-11) （ビクトリア系統）及び B/Phuket/3073/13（山形系統）株に対して 80HI 価以上を示すワクチン接種後の血清を使用した。高齢者層は、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/19 (CNIC-1909) (H1N1) pdm09 と、B/ Victoria/705/18 (BVR-11) （ビクトリア系統）、または B/Phuket/3073/13（山形系統）株のいずれかに対して 80HI 価以上示すワクチン接種後の血清を使用した A(H1N1)pdm 野外流行株については、ワクチン接種者血清は、ワクチン株（細胞分離株）と比べると低い反応性を示す株があった。A(H1N1)pdm09 ウイルスの HA の 156 番目に K のアミノ酸を持つウイルスとの反応性に大きな低下が認められた。A(H3N2)流行株については、ワクチン株（細胞分離株）との反応性に比べて、ワクチン株と同じクレードの野外流行株に対して若干反応性が低下し、違うクレードの流行株に対しては大きく反応性が低下した。この低下は H3N2 流行株の HA の変異だけでなく、H3N2 ワクチン株の卵順化による抗原性の変化が大きく影響していることが考えられた。B ビクトリア系統及び B 山形系統流行株については、ワクチン株（細胞分離株）との反応性と比べると、ほぼ同等の反応性をしめした。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幾何平均値は、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。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考えられる。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、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、長谷川秀樹］

2. 細胞培養季節性インフルエンザワクチンの実用化に向けての取り組み

日本の季節性インフルエンザワクチン製造に細胞培養法を導入するための基盤確立を目的とし、2018 年度から 3 年間継続した AMED 研究の最終年度にあたり、下記課題に取り組んだ。［(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)：(i)感染研所有の NIID-MDCK 細胞を用いて 2019/20 シーズンの臨床検体から分離したウイルス（元株）について、ワクチン製造所へ情報共有を行った。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。(ii) パンデミック対応の一環として、H2 亜型ウイルス 2 株の増殖性を NIID-MDCK 細胞およびメーカー2 社の細胞を用いて行った。その結果、NIID-MDCK 細胞では、高増殖性が確認されたが、メーカー細胞では、細胞やウイルスの違いにより多少ばらつきが確認された。実際の、パンデミックウイルスでも同様の結果となる可能性はあるので、対応の必要性が示唆された。(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）。その中で、SRD 試薬のうち羊抗血清のメーカー間での共有化や羊抗血清の代わりとしての mAb の使用の可能性を検討した。血清共有化に関しては、抗原性が

同等であるワクチン株 H 株、S 株各々の HA で免疫した羊抗血清を用いた場合、SRD 試験で推定された HA 抗原量に 20%程度の違いが確認された。今後、細胞培養ワクチンが実用化されるまでに、SRD 試験で用いる羊抗血清の反応性と免疫に用いるワクチン株の抗原性の関連を踏まえた上で、羊抗血清の共有化について検討することが望ましい。［信澤枝里、高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、ワクチン製造所（KM バイオロジクス、第一三共バイオテック、武田薬品工業、阪大微研会）］

3. 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（2017/2018、2018/2019）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、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（2017/2018 または 2018/2019 シーズン採取の臨床検体から作製）の抗原性を、2018/2019 または 2019/2020 シーズン市中流行株と比較した。その結果、作製した全ての細胞培養ワクチン株は市中流行株と抗原性の相違がないことが示された。［信澤枝里、高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、ワクチン製造所（第一三共バイオテック、阪大微研会）］

4. 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確認を行った。2018/2019 シーズン採取の臨床検体から作製した A/H3N2 亜型の細胞培養ワクチン株を大量培養後に HA 精製を行い、それらをヒツジに免疫し HA 抗原量測定試薬（SRD 試験用の抗血清）の作製を行った。また 2014/2015 シーズン採取の臨床検体から作製した A/H1N1pdm09 亜型、A/H3N2 亜型、B/ビクトリア系統、B/山形系統および A/H7N9 亜型の細胞培養ワクチン株を用いて作製した SRD 試薬（一次標準品、標準抗原、ヒツジ抗血清）を用いて、標準抗原の HA 抗原量を測定したところ、SRD 試験による妥当な径のリング形成が困難なものもあり、標準抗原の調製法などの更なる検討も必要であることが示された。

SRD 試験に使用する試薬の中で、ヒツジ抗血清の代わりとしてモノクローナル抗体(mAb)を用いた SRD 試験法の開発を行った。A/H1N1pdm09 の HA に対する 18 種類のmAb および H1HA ストークに対する 41 種類の mAb を SRD 試験に使用し、その有用性を検討した結果、これらのmAb を単独ではなく複数組み合わせて混合し使用することで、H1pdm09 特異的に明瞭で妥当な径のリング形成を確認することができた。［高橋仁、中内美名、長谷川秀樹、信澤枝里、ワクチン製造所（第一三共バイオテック、阪大微研会）］

5. 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

インフルエンザウイルスとパラインフルエンザウイルス 3 型(HPIV3)を感受性の高い NIID-MDCK 細胞に共感染させて経時的に培養上清中に放出される各ウイルスゲノム量をリアルタイム PCR 法で定量した。その結果、インフルエンザウイルスのゲノム量は維持されるが、HPIV3 のゲノム量は有意に減少した。そのため、インフルエンザウイルスと HPIV3 のウイルス干渉により、インフルエンザウイルスは HPIV3 の増殖を抑制することが示唆された。［浜本いつき、浅沼秀樹、長谷川秀樹］

6. 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。本動物モデルで構築した解析系がヒトへ応用可能かどうかを検討するため、感染から回復したヒトから回収した鼻腔洗浄液の気道抗体応答の解析を行った。その結果、感染したと思われる亜型に対する高い気道抗体応答が認められていた。現在本材料を用いた特異的プラーク減少についての検討を行なっている。［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)、長谷川秀樹]

7. 一元放射免疫拡散試験（SRD 法）の画像解析技術による自動化測定の検討

これまで、インフルエンザワクチンの新規品質管理試験法の開発に取り組んでおり、本年度は、SRD 法の改良として、試験実施における人の負担低減を目指し、画像解析技術を導入することで、計測精度は目視と同程度のまま、機械による自動化測定の実現性を検討した。具体的には、平行線定量法での解析値および各 SRD 沈降輪の直径について、目視計測と画像解析自動計測(機械計測)で比較した。測定サンプルは、平成 30 年度参照ワクチン（含有株：A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)(H1N1)pdm09 、 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (IVR-186)(H3N2) 、 B/Phuket/3073/2013 、 B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69A)）を用いた。その結果、平行線定量法による SRD 値について、複数名の目視計測のバラツキに比べて、機械計測のバラツキの方が大きかった。特に、H3 株(IVR-186)では、機械計測は SRD 値が高い方に乖離したため、SRD 沈降輪の直径自体について解析したところ、同一プレートを目視計測と機械計測で計測したリング径の差は-1.0～0.4mm の範囲となり、機械計測は標準抗原を小さく計測していた。この要因は SRD 試薬の抗血清の性質に依存すると考えられる。すわなち、リングの自動計測はある程度出来そうだが、目視と同様なリング認識にはまだ課題があることが明確になった。また、リング様相（抗血清の抗原との反応性）が株によって異なるため、株毎の計測設定は必要であり、リング境界について目視と同等の認識ができない場合もあった。従って、プレート上の沈降輪全てに対して、目視と同等でリング認識できるようにするため、今後は、解像度の高い機械、あるいはリング境界のマニュアル補正を AI 等で学んでいくような計測ソフトを持つ機械について検討する必要性が明らかとなった。[嶋崎典子、板村繁之、原田勇一、佐藤佳代子、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

8. インフルエンザワクチン国家検定の見直し

現在、ワクチンの国家検定試験は、製造されるすべてのロットについて実施されているが、SLP の導入、製造所における GMP 導入など、ワクチンの品質向上が図られているため、国家検定の内容を見直し、全ロット検定の要否について検討が行われている。インフルエンザワクチンについても本見地に立ち、特に重要な力価(SRD)試験について、令和2年度を含む過去3年の検定成績から評価を行なった。検定成績と製造所の成績は概ねよく一致しており、過去のトレンドからも大きな乖離は認められなかった。しかしながら、標準品の安定性や、標準品と人的要因の複合的な問題など、予測困難な事象が散発するため、少なくとも年毎に試薬及び試験の確認作業が必要であると示唆された。[原田勇一、嶋崎典子、中村一哉、板村繁之、長谷川秀樹]

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 山形系統のレファレ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、約 60 カ所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、森田博子、渡邉真治、長谷川秀樹]

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)のレファレ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(韓国、台湾、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、森田博子、渡邉真治、長谷川秀樹]

3. 全国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・技術移転

全国地方衛生研究所では、インフルエンザウイルスの NA 遺伝子型解析ならびに PA 遺伝子型解析により抗インフルエンザ薬耐性株の検出を行っている。しかしながら、シーズン毎の流行状況により解析株数が大きく変動するため、検査精度の維持・向上を目的として、検査の実態調査を行った。本年度は、NA 遺伝子型解析について、昨年度までの 53 地方衛生研究所に続き、3 地方衛生研究所を対象に、新たに合成した陽性コントロール RNA を配布し、TaqMan RT-PCR 法により解析を行った。また、PA 遺伝子型解析について、2 地方衛生研究所を対象に、新たに開発した RNase H2-dependent PCR 法の陽性コントロール cDNA を配布し、検査の効率化を目的とした技術移転を行った。［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、森田博子、永田志保、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、菅原裕美、渡邉真治、長谷川秀樹、全国地方衛生研究所］

4. インフルエンザウイルス核酸診断検査法の地方衛生研究所に対する外部精度評価の実施

令和 2 年度外部精度管理事業に参加した、全国 49 ヶ所の地方衛生研究所に対して、インフルエンザウイルスの核酸検出検査（リアルタイム RT-PCR 法）による型・亜型診断検査の外部精度評価(EQA)を実施した。各地方衛生研究所から送付された結果報告およびアンケートに対して解析を行い、EQA の結果については各所に報告した。また、EQA を実施した結果、各所が行うインフルエンザウイルス核酸診断検査法に何らかの問題点が見つかった場合はトラブルシューティングを実施する事とし、各所のトラブルシューティングに関する質問事項等に対応し、検査精度向上に向けた改善法などについて助言を行った。［影山 努、齊藤慎二、高山郁代、長谷川秀樹］

5. インフルエザワクチンの力価測定用標準抗原国際キャリブレーション

WHO ERL として、ワクチンの力価測定用標準抗原に関する国際キャリブレーションを実施した。具体的には、B/Singapore/INFTT-16-0610/2016 cell-derived [NIBSC]、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09 [NIBSC]、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09 [CBER]、A/Hawaii/70/2019 (H1N1)pdm09 rHA [CBER]、A/Victoria/2454/2019 (IVR-207) (H3N2) [CBER]、/Victoria/2454/2019 (IVR-207) (H3N2) [NIBSC]、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [TGA]、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [TGA]（追加ロット）、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [NIBSC]、A/Hong Kong/2671/2019 (IVR-208) (H3N2) [CBER]、A/Victoria/2570/2019 (IVR-215) (H1N1)pdm09 [TGA]、A/Victoria/2570/2019 (IVR-215) (H1N1)pdm09 [TGA]（追加ロット）、A/Victoria/2570/2019 (IVR-215) (H1N1)pdm09 [NIBSC]、A/Minnesota/41/2019 rHA (H3N2) [CBER]、A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121) (H3N2) [NIBSC]、B/Phuket/3073/2013 (BVR-1B) [TGA]、A/Delaware/55/2019 cell-derived (H1N1)pdm09 [CBER] 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、高橋 仁、藤崎誠一郎、中内美名、高山郁代、高下恵美、浜本いつき、長谷川秀樹］

6. 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

令和 2 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/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09、A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Victoria/705/2018 (BVR-11)の 4 株について、国家検定の力価試験に使用する参照抗インフルエンザ HA 抗血清と標準インフルエンザ HA 抗原（一元放射免疫拡散試験用）を作製し、標準抗原に含有される HA 抗原の含有量、及び参照抗血清の至適濃度の設定を実施し、本年度国内標準品として制定した。また、B 型ウイルスの 2 株については、SRD 試験方法の評価研究結果に基づき、SRD 試験の実施区分を制定した。［嶋崎典子、原田勇一、板村繁之、仲山紀子、佐藤佳代子、中村一哉、高橋 仁、高山郁代、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、渡辺佳世、長谷川秀樹］

7. 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、令和 2 年度のワクチン製造株である A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09 、A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121) (H3N2) 、B/Phuket/3073/2013、B/Victoria/705/2018 (BVR-11)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、高橋 仁、高山郁代、岸田典子、白倉雅之、浅沼秀樹、鈴木康司、有田知子、中村一哉、藤崎誠一郎、菅原裕美、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、渡辺佳世；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）、長谷川秀樹］

8. 標準インフルエンザワクチン(CCA 用)の作製

標準インフルエンザワクチン(CCA 用)は毎年新規ロットを作製している。令和 2 年度は令和元年度に調製、納品された B/大阪/2/70 株を用いた原液ロットから、令和 2 年度用の標準インフルエンザワクチン(CCA 用)を調製し、ロット制定を行った。［佐藤佳代子、仲山紀子、鈴木康司、岸田典子、高山郁代、原田勇一、長谷川秀樹］

9. 標準インフルエンザワクチン(CCA 用)の安定性評価

標準インフルエンザワクチン（CCA 用）にこれまで用いていたワクチン原液の更新が必要となり、令和元年度よりワクチン原液の安定性試験を開始した。12 ヶ月時点で B/大阪/2/70 株を用いたワクチン原液は管理幅内であった。継続して安定性を測定していく予定である。原液製造株として B/プーケット/3073/2013 株を用いた場合には調製メーカーにより管理幅を逸脱する検体もあったことから、原液製造株を B/大阪/2/70 株から変更する時には検討が必要である。［佐藤佳代子、仲山紀子、鈴木康司、岸田典子、高山郁代、原田勇一、長谷川秀樹］

サーベイランス業務

1. 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、主に 2019/20 および 2020/21 シーズンに分離された A(H1N1)pdm09：171 株、A(H3N2)：43 株、B 型ビクトリア系統：101 株、B 型山形系統：2 株について、抗原性解析を行った。A(H1N1)pdm09 分離株は、2020/21 シーズンの WHO ワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hawaii/70/2019 の類似株および鶏卵分離株 A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 に対するフェレット感染血清とよく反応する株が多かったが、反応のよくない株も確認された。反応のよくない株は、共通して HA の 156 番目のアミノ酸として K を有していた。A(H3N2)分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hong Kong/45/2019 に対するフェレット感染血清とは比較的よく反応したが、鶏卵分離株 A/Hong Kong/2671/2019 に対するフェレット感染血清との反応性はよくなかった。これは、鶏卵分離株は、卵馴化による変異の影響のために、野外野生株と抗原性が違っていることを示している。B/ビクトリア系統分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離および鶏卵分離株 B/Washington/02/2019 に対するフェレット感染血清とよく反応した。B/山形系統分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 B/Phuket/3073/2013 に対するフェレット感染血清との反応性があまり良くない株があった。［岸田典子、中村一哉、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、森田博子、菅原裕美、渡邉真治、長谷川秀樹、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

アジア近隣諸国 WHO ナショナルインフルエンザセンターからの 55 株（台湾 2 株、ネパール 14 株、ミャンマー5 株、ラ

オス 34 株）について、抗原性解析を行なった。A(H1N1)pdm09 分離株は、国内流行株と同様に 2020/21 シーズンの WHO ワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hawaii/70/2019 の類似株および鶏卵分離株 A/Guangdong-Maonan/SWL1536 /2019 に対するフェレット感染血清とよく反応する株が多かったが、反応のよくない株も確認された。A(H3N2)分離株は、2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離株 A/Hong Kong/45/2019 に対するフェレット感染血清と反応性の良い株と良くない株が確認された。最近の H3N2 流行株は HA 遺伝子系統樹上多様であり、試験結果はワクチン株と抗原的に異なる株が存在していることを示唆している。また、鶏卵分離株 A/Hong Kong/2671/2019 に対するフェレット感染血清との反応性は、いずれの株もよくなかった。B ビクトリア系統分離株は、多くは 2020/21 シーズンのワクチン推奨株である細胞分離および鶏卵分離株 B/Washington/02/2019 に対するフェレット感染血清とよく反応したが、一部の株の反応性はよくなかった。これらの株は、HA の 150 および 197 番目のアミノ酸（いずれも抗原部位）の変異の影響と考えられた。B 山形系統は 2019/20 シーズン分離株は無かった。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。［岸田典子、中村一哉、佐藤彩、秋元未来、藤崎誠一郎、白倉雅之、高下恵美、桑原朋子、三浦秀佳、森田博子、菅原裕美、渡邉真治、長谷川秀樹］

3. 2019/2020 および 2020/21 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、A(H1N1)pdm09 亜型 108 株、A(H3N2)亜型 48 株、B 型ビクトリア系統 88 株、B 型山形系統 2 株について HA, NA 及び PA 遺伝子の系統樹解析を行った。A(H1N1)pdm09 亜型流行株はサブクレード 6B.1A（S74R, I295V, S164T）内で、成熟 HA のアミノ酸の 183 番目に変異を持つ複数の群（183P-1～183P-7）に分岐している。解析した株は全て 183P-5 に属し、その大部分は 183P-5A（N129D, T185I）に属した。また、183P-5A 内で 183P-5A1(D187A, Q189E)および 183P-5A2(N156K, K130N, L161I, V250A, E506D)が分岐した。A(H3N2)亜型は、ほとんどが 3C.2a（L3I, N144S, F159Y, K160T, N225D, Q311H, D489N）内の 3C.2a1（N121K, N171K, I406V, G484E）に属した。さらに、3C.2a1b.1a（E62G, T128A, T135K, A138S, R142G, G186D, D190N, F193S, S198P）、3C.2a1b.1b（E62G, T128A, T135K, S137F, A138S, R142G, F193S）、3C.2a1b.2a（E62G, K83E, Y94N, T131K, R142G, I522M, V529I）、3C.2a1b.2b（E62G, T131K, R142G, Q197R, S219F, V347M, E484G, V529I）が派生した。なお 3C.2a1b.2a 内には抗原部位に変異を有する集団が確認されている。B 型ビクトリア系統は全てクレード 1A（N75K, N165K, S172P）内の 1A.3（162～164 番目の 3 アミノ酸欠損、K136E）に属した。山形系統は解析した 19/20 シーズンの 2 株がクレード 3（S150I, N165Y, N202S, S229D）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 87%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、永田志保、佐藤彩、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］

4. インフルエンザウイルス流行株の抗インフルエンザ薬感受性試験

薬剤耐性ウイルスの検出状況を逐一把握し、速やかに情報発信することは公衆衛生上極めて重要である。令和 2 年度には、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 13 株（1.5%）検出された。耐性株はいずれも散発例で、地域への感染拡大は認められなかった。また PA 蛋白質に耐性変異をもつバロキサビル耐性変異株は検出されなかった。海外株では、耐性株は検出されなかった。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%であった。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随時一般公開し、耐性株の流行状況に関する情報提供を行った。［高下恵美、森田博子、永田志保、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、長谷川秀樹、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所］

5. 2020/21 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 H5N8 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

2020/21 シーズンは、国内各地において、家禽、野鳥及び環境中からの H5N8 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。これら報告があった中から分離株を受け入れ、遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。遺伝子解析の結果、受入株の HA 遺伝子は、すべて H5 HA クレード 2.3.4.4 b に属し、受入株の多くは、2019/20 シーズンに欧州において分離された株と近縁であった。しかし、鹿児島県において分離された株（A/mallard/Kagoshima/KU-d89/2021）は、HA 遺伝子系統樹上、他の分離株と少し離れたグループに属し、2020/21 シーズンに欧州において分離された株と類似していた。当センターで所有している同クレードに属するリファレンス株である A/mute swan/Shimane/3211A001/2017 (H5N6) 及びクレード 2.3.4.4 c に属する H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス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、A/mute swan/Shimane/3211A001/2017 (H5N6) に対する抗血清は、受入株にあまり反応しなかった。しかし、クレード 2.3.4.4 c に属する H5N6 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスに対するフェレット抗血清は、受入株に良く反応した。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、迫田義博*、内田裕子**、西藤岳彦**、小澤 真***、渡邉真治、長谷川秀樹：*北海道大学、**動物衛生研究所、***鹿児島大学］

6. 携帯品非加熱家きん肉から分離された H9N2 亜型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

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、解析を実施している。今年度は、H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスを 1 株提供され、遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。

分与株である AQ-HE31-26 株はベトナム国ホーチミンで搭載された鶏肉から分離された。遺伝子解析の結果、Y280/G9 系統に属し、近年、ベトナム国において分離されている H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスと類似していた。同系統に属するワクチン製造候補株である A/chicken/Hong Kong/G9/97 株及び Y280/G9 系統のレファレンス株である SJ008 株（A/chicken/Hong Kong/308/2014）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、A/chicken/Hong Kong/G9/97 株に対する抗血清は、本ウイルス株に良く反応した。これらの解析を実施することは、東南アジア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、岩中麻里*、渡邉真治、長谷川秀樹：*動物検疫所海外病検査課］

7. 中国においてヒトから分離された Eurasian avian-like A（H1N1）豚インフルエンザウイルスの性状解析

中国 CDC より、ヒトから分離された Eurasian avian-like H1N1 豚インフルエンザウイルス遺伝子型 4（G4）株を分与され、性状解析を実施した。分与株と同系統に属するワクチン製造候補株である CNIC-1601 株（A/Hunan/42443/2015）に対するフェレット抗血清を用いて HI 試験を実施した結果、分与株は CNIC-1601 株に対する抗血清に反応した。さらに、より詳細に抗原性解析を実施するために分与株に対するフェレット抗血清を作製し抗原性解析を行った。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。［有田知子、鈴木康司、高山郁代、白倉雅之、渡邉真治、長谷川秀樹］

8. 我が国に飛来する野生水禽における A 型鳥インフルエンザウイルスの保有調査

2003 年末以降、東アジアの家禽で発生した H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスが東南アジア、中近東、

アフリカ、ヨーロッパへと拡散した。この感染拡大経路は渡り鳥の飛行ルートとも相関していることから、渡り鳥によってこれら鳥インフルエンザウイルスが我が国に持ち込まれる可能性がある。また、最近では H5N8、H5N6、H7N9、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、齊藤慎二、長谷川秀樹、影山努］

9. 日本のブタにおける新型インフルエンザウイルスの発生の監視

全国 5 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、ウイルスが分離されなかった。［齊藤慎二、高山郁代、長谷川秀樹、影山努］

10. 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、A(H3N2)：5 株ウイルスの分離に成功した。［鈴木康司、有田知子、浜本いつき、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹］

11. 季節性インフルエンザワクチン製造株候補の解析

WHO 関連機関で開発された高増殖リアソータント 2 株に対し、フェレット抗血清を作製して抗原性解析（two-way test）および遺伝子解析を行い、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) B/Kanagawa/AC1867/2019（BX-93A)

(2) B/Kanagawa/AC1867/2019（BX-93B)である。

これらは親株および 2020/21 シーズン北半球向け WHO 基準株と抗原的に同等と評価された。［有田知子、鈴木康司、渡辺佳世、浜本いつき、中内美名、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹］

ワクチンの安定供給に関する業務

2021/22 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

2021/22 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/Pennsylvania/1025/2019(IVR-213)
・A/Victoria/2570/2019 (IVR-215)
・A/Victoria/3/2010 (IVR-216
・A/Victoria/1/2020 (IVR-217)
・A/Indiana/2/2020(NYMC X-349)
・A/Indiana/2/2020(NYMC X-349A)

A(H3N2)：

・A/Hong Kong/2671/2019(NYMC X-341)
・A/Paris/2554/2019(NYMC X-347)
・A/Paris/2554/2019(NYMC X-347A)
・A/Paris/2554/2019(IVR-218)
・A/Pennsylvania/1026/2019(NYMC X-353)
・A/Perth/20/2020(IVR-220)
・A/Tasmania/503/2020 (IVR-221)
・A/Cambodia/e0826360/2020 (IVR-224)
・A/Beijing-Miyun/51/2020(CNIC-2001)
・A/Beijing-Miyun/51/2020(CNIC-2001A)

B 型ビクトリア系統：

・B/Kanagawa/AC1867/2019
・B/Kanagawa/AC1867/2019 (NYMC BX-93A)
・B/Kanagawa/AC1867/2019 (NYMC BX-93B)
・B/Rhode Island/01/2019
・B/Sichuan-Jingyang/12048/2019

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 の 2 株を試験交付、A(H1N1)pdm09 の 4 株と A(H3N2)の 2 株と B 型ビクトリア系統の 3 株を分与(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、2021/22 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、有田知子、渡辺佳世、高橋仁、信澤枝里、浅沼秀樹、長谷川秀樹］

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/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019(CNIC-1909) (H1N1)pdm09、A/Hong Kong/2671/2019(NIB-121) (H3N2)、B/Phuket/3073/2013、B/Victoria/705/2018 (BVR-11)）を使用して SRD 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、中村一哉、長谷川秀樹］

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

2020-21 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 1 株、A(H3N2)亜型 32 株、B 型 Victoria 系統3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された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、嶋崎典子、仲山紀子、高橋仁、高山郁代、中村一哉、岸田典子、佐藤彩、浅沼秀樹、浜本いつき、板村繁之、長谷川秀樹］

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 GISRS 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、10 月に Web で開催された 9th Meeting of the WHO Expert Working Group on Surveillance of Influenza Antiviral Susceptibility (AVWG) for the GISRS に参加し、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。［高下恵美］

2. WHO FluNet へのインフルエンザウイルス国内流行状況に関する情報提供

WHO によるインフルエンザウイルスサーベイランスのためのグローバルデータベース FluNet に、国内のインフルエンザウイルス流行状況について情報提供するため、毎週、WHO FluMart プラットフォームにインフルエンザを含む呼吸器ウイルスの国内検出数をアップロードした。［高下恵美］

3. WHO 世界インフルエンザ監視対応システムにおける流行株の 2 次元的抗原性分析への参加と協力

WHO 世界インフルエンザ監視対応システムメンバーである Cambridge 大学グループが開発した 2 次元的ウイルス抗原性分析法(Cartography 法)を用いて流行株の解析をするため、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B 型ウイルスの抗原解析データおよび遺伝子解析データを Cambridge 大学へ提供した。これらの成績は、WHO ワクチン株選定会議で協議され、ワクチン株選定に貢献した。［岸田典子、桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳、森田博子、永田志保、菅原裕美、渡邉真治、長谷川秀樹］

4. 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。[岸田典子、桑原朋子、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、白倉雅之、佐藤彩、秋元未来、三浦秀佳菅原裕美、渡邉真治、長谷川秀樹]

5. WHO 関連会議への出席とインフルエンザワクチン株選定への参画

9 月と 2 月に WHO ジュネーブ本部主催によるインフルエンザワクチン株選定会議(web 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。[渡邉真治、浅沼秀樹、長谷川秀樹]

6. インフルエンザワクチンの品質管理に関する WHO 関連会議への出席と国際協力に関する協議、技術改良への参画

WHO ERL の一員として 7 月及び 1 月に web 会議として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、技術改良にかかる ERL 間の共同研究結果を報告すると共に、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。[原田勇一、佐藤佳代子、嶋崎典子、高橋　仁、藤崎誠一郎、中内美名、高山郁代、中村一哉、仲山紀子、長谷川秀樹]

7. WHO-ERL ID-MS 法技術会議への参加

ID-MS 法の国内導入を開始したことを受け、WHO-ERL 及び米国 CDC の間で定期的に開催されている ID-MS 法技術会議(web 会議)に参加し、試験成績の共有並びに技術的な議論を行った。

8. Pandemic Influenza Vaccine Response (PIVR)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

インフルエンザパンデミックに対する国際共同研究として、これまで個別に取り組まれて来た、標準試薬制定にかかる品質管理手法の改良が、その他のより広範なパンデミック対策を包含する、WHO 主催の PIVR に統合されることになった。WHO-ERL が PIVR に協力することを決定したことを受け、PIVR 会議及び付随する技術的ワーキンググループに参加し、パンデミック対応に関する議論、研究結果の共有を行なった。[原田勇一、長谷川秀樹]

研修業務

1. 検査機関に対する検査能力・精度管理等の向上を目的とした講習会(地衛研基礎講習会)への参画 1

感染研主催の「令和2年度地衛研基礎講習会」に講師として参画し、インフルエンザウイルス分離培養の基礎に関する講義を行った。[中村一哉]

2. 検査機関に対する検査能力・精度管理等の向上を目的とした講習会(地衛研基礎講習会)への参画 2

感染研主催の「令和2年度地衛研基礎講習会」に講師として参画し、ウイルス検査室の運用に関する講義を行った。[影山　努]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

１. 欧文発表

1. Sato M, Takashita E, Katayose M, Nemoto K, Sakai N, Hashimoto K, Hosoya M. Detection of variants with reduced baloxavir marboxil susceptibility after treatment of children with influenza A during the 2018-2019 influenza season. J Infect Dis. 2020 Jun 16;222(1):121-125.

2. Ito H, Nishimura H, Kisu T, Hagiwara H, Watanabe O, Kadji FMN, Sato K, Omiya S, Takashita E, Nobusawa E. Low response in eliciting neuraminidase inhibition activity of sera among recipients of a split, monovalent pandemic influenza vaccine during the 2009 pandemic. PLoS One. 2020 May 13;15(5):e0233001.

3. Takashita E, Yasui Y, Nagata S, Morita H, Fujisaki S, Miura H, Shirakura M, Kishida N, Nakamura K, Kuwahara T, Sugawara H, Sato A, Akimoto M, Kaido T, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of a Peramivir-Resistant Influenza B/Yamagata-

Lineage Virus Imported from Indonesia in Aichi, Japan, March 2019. Jpn J Infect Dis. 2020 Sep 24;73(5):386-390.

4. Takashita E, Abe T, Morita H, Nagata S, Fujisaki S, Miura H, Shirakura M, Kishida N, Nakamura K, Kuwahara T, Mitamura K, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a PA E23K substitution detected from a child without baloxavir treatment. Antiviral Res. 2020 Aug;180:104828.

5. Harada N, Shibata W, Koh H, Takashita E, Fujisaki S, Okamura H, Nanno S, Yamada K, Nakamae H, Hino M, Kakeya H. Successful treatment with baloxavir marboxil of a patient with peramivir-resistant influenza A/H3N2 with a dual E119D/R292K substitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a case report. BMC Infect Dis. 2020 Jul 6;20(1):478.

6. Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Morita H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Sato H, Doi I, Sato Y, Takao S, Shimazu Y, Shimomura T, Ito T, 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 Neuraminidase Mutation Isolated from Immunocompromised Patients. Pathogens. 2020 Sep 2;9(9):725.

7. Takashita E. Viruses Resistant to Oseltamivir or Baloxavir: What Do the Data Reveal About Resistance? Influenza-Advances in Diagnosis and Management. 2020:221-229.

8. Huddleston J, Barnes JR, Rowe T, Xu X, Kondor R, David E. Wentworth DE, Whittaker L, Ermetal B, Daniels RS, McCauley JW, Fujisaki S, Nakamura K, Kishida N, Watanabe S, Hasegawa H, Barr I, Subbarao K, Barrat-Charlaix P, Neher RA, Bedford T. Integrating genotypes and phenotypes improves long-term forecasts of seasonal influenza A/H3N2 evolution. Elife. 2020 Sep 2;9:e60067.

9. Sano K, Saito S, Suzuki T, Kotani O, Ainai A, van Riet E, Tabata K, Saito K, Takahashi Y, Yokoyama M, Sato H, Maruno T, Usami K, Uchiyama S, Ogawa-Goto K, Hasegawa H. An influenza HA stalk reactive polymeric IgA antibody exhibits anti-viral function regulated by binary interaction between HA and the antibody. PLoS One. 7;16(1):e0245244. 2021.

10. Takayama I, Semba S, Yokono K, Saito S, Nakauchi M, Kubo H, Kaida A, Shiomi M, Terada A, Murakami K, Kaji K, Kiya K, Sawada Y, Oba K, Asai S, Yonekawa T, Watanabe H, Segawa Y, Notomi T, Kageyama T. Clinical evaluation of fully automated molecular diagnostic system “Simprova” for influenza virus, respiratory syncytial virus, and human metapneumovirus. Sci Rep. 10(1):13496. 2020.

11. Takayama I, Nguyen GB, Dao XC, Pham TT, Dang QT, Truong TP, Do VT, Pham TPT, Fujisaki S, Odagiri T, Hasegawa H, Nakajima N. Next-Generation Sequencing Analysis of the Within-Host Genetic Diversity of Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses in the Upper and Lower Respiratory Tracts of Patients with Severe Influenza. mSphere. 6(1):e01043-20. 2021.

12. Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, Saito S, Takayama I, Nagata N, Sekizuka T, Katoh H, Kato F, Sakata M, Tahara M, Kutsuna S, Ohmagari N, Kuroda M, Suzuki T, Kageyama T, Takeda M. Enhanced Isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing Cells. Proc Natl Acad Sci USA. 117(13):7001-7003, 2020.

13. Okamaoto K, Shirato K, Nao N, Saito S, Kageyama T, Hasegawa H, Suzuki T, Matsuyama S, Takeda M. An Assessment of Real-Time RT-PCR Kits for SARS-CoV-2 Detection. Jpn J Infect Dis. 73(5):366-368, 2020.

14. Shirato K, Nao N, Kawase M, Kageyama T. An ultra-rapid real-time RT-PCR method for detecting human orthopneumovirus using PCR1100. Jpn J Infect Dis.74(1):29-34, 2021.

15. Shirato K, Nao N, Matsuyama S, Takeda M, Kageyama T. An ultra-rapid real-time RT-PCR method using the PCR1100 to detect Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. Jpn J Infect Dis. 73(6):465-468, 2020.

16. Takagi Y, Imamura T, Endo S, Hayashi K, Akiyama S, Ikuta Y, Kawaguchi T, Sumita T, Katori T, Hashino M, Saito S, Odagiri T, Oba K, Kuroda M, Kageyama T. Neurogenic pulmonary edema following febrile status epilepticus in a 22-month-old infant with multiple respiratory virus co-detection: a case report. BMC Infect Dis. .20(1):388-394, 2020.

17. Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, Saito S, Takayama I, Asanuma H, Nao N, Tanaka R, Hashino M, Takahashi T, Kamiya H, Yamagishi T, Kakimoto K, Suzuki M, Hasegawa H, Wakita T, Kuroda M. Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. Proc Natl Acad Sci USA. 117 (33) 20198-20201, 2020.

18. Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K, Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AM, Barnetson B, Leonard J, Wakita T. Environmental sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 during COVID-19 outbreak in the Diamond Princess cruise ship. J Infect Dis. 222(7):1098-1102, 2020.

19. Arima Y, Shimada T, Suzuki M, Suzuki T, Kobayashi Y, Tsuchihashi Y, Nakamura H, Matsumoto K, Takeda A, Kadokura K, Sato T, Yahata Y, Nakajima N, Tobiume M, Takayama I, Kageyama T, Saito S, Nao N, Matsui T, Sunagawa T, Hasegawa H, Ohnishi M, Wakita T. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection among Returnees to Japan from Wuhan, China, 2020. Emerg Infect Dis. 26(7):1596-1600, 2020.

20. Noriko Shimasaki and Hideaki Morikawa. Prevention of COVID-19 Infection with Personal Protective Equipment. Journal of Disaster Research. 16(1), p61-69, 2021.

21. Takahashi H, Fujimoto T, Horikoshi F, Uotani T, Okutani M, Shimasaki N, Hamamoto I, Odagiri T, Nobusawa E. Determination of the potency of a cell-based seasonal quadrivalent influenza vaccine using a purified primary liquid standard. Biologicals, 68:32-39, 2020.

22. Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhata K, Mizukami T, Hamaguchi I. Immunogenicity and Toxicity of Different Adjuvants Can Be Characterized by Profiling Lung Biomarker Genes After Nasal Immunization. Front Immunol. 2020 Sep 11;11:2171.

23. Miyakawa K, Jeremiah SS, Ohtake N, Matsunaga S, Yamaoka Y, Nishi M, Morita T, Saji R, Nishii M, Kimura H, Hasegawa H, Takeuchi I, Ryo A. Rapid quantitative screening assay for SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using HiBiT-tagged virus-like particles. J Mol Cell Biol. 2020 Nov 5;12(12):987-990.

24. Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, Shimada T, Matsui T, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Morikawa S, Hasegawa H, Saijo M, Oishi K; SFTS Epidemiological Research Group Japan. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome, Japan, 2013-2017. Emerg Infect Dis. 2020 Apr;26(4):692-699.

25. Fukuyama S, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Nakajima N, Gregg RW, Katsura H, Tomita Y, Maemura T, da Silva Lopes TJ, Watanabe T, Shoemaker JE, Hasegawa H, Yamayoshi S, Kawaoka Y. Pathogenesis of Influenza A(H7N9) Virus in Aged Nonhuman Primates. J Infect Dis. 2020 Sep 1;222(7):1155-1164.

26. Yamaoka Y, Matsunaga S, Jeremiah SS, Nishi M, Miyakawa K, Morita T, Khatun H, Shimizu H, Okabe N, Kimura H, Hasegawa H, Ryo A. Zika virus protease induces caspase-independent pyroptotic cell death by directly

cleaving gasdermin D. Biochem Biophys Res Commun. 2021 Jan 1;534:666-671.

27. Ainai A, van Riet E, Ito R, Ikeda K, Senchi K, Suzuki T, Tamura SI, Asanuma H, Odagiri T, Tashiro M, Kurata T, Multihartina P, Setiawaty V, Pangesti KNA, Hasegawa H. Human immune responses elicited by an intranasal inactivated H5 influenza vaccine. Microbiol Immunol. 2020 Apr;64(4):313-325.

28. Emi-Sugie M, Shoda T, Futamura K, Takeda T, Ainai A, Hasegawa H, Saito H, Matsumoto K, Matsuda A. Robust production of IL-33 and TSLP by lung endothelial cells in response to low-dose dsRNA stimulation. J Allergy Clin Immunol. 2020 Dec;146(6):1449-1452.e2.

29. Nako T, Fukumoto H, Hasegawa H, Saeki H, Katano H. Functional Analysis of Trichodysplasia Spinulosa-Associated Polyomavirus-Encoded Large T Antigen. Jpn J Infect Dis. 2020 Mar 24;73(2):132-139.

30. Abe M, Katano H, Nagi M, Higashi Y, Sato Y, Kikuchi K, Hasegawa H, Miyazaki Y. Potency of gastrointestinal colonization and virulence of Candida auris in a murine endogenous candidiasis.
PLoS One. 2020 Dec ;15(12):e0243223.

31. Takahashi T, Sano K, Suzuki T, Matsumura T, Sakai K, Tominaga T, Sato Y, Katano H, Hasegawa H. Virus-infected peripheral blood plasmablasts in a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome. Int J Hematol. 2021 Mar;113(3):436-440.

２．和文発表

1. 高下恵美　バロキサビルの耐性－基礎から。新型コロナウイルス感染症流行下のインフルエンザ診療ガイド 2020-21、2020:143-145.

2. 高下恵美　バロキサビル マルボキシルは、NA 阻害薬耐性株に対しても有効なのでしょうか。インフルエンザ～その他の呼吸器感染症、2020;21(3):42.

3. 高下恵美　グローバル視点からみるインフルエンザの動向について教えてください。up-to-date 子どもの感染症、2020;8:10-11.

4. 大場邦弘, 仙波晶平, 五十嵐瑞穂, 小林真也, 鈴木大地, 秋山聡香, 小花奈都子, 川口隆弘, 林健太, 野田雅裕, 影山努. 呼気性喘鳴を伴う下気道炎の乳児における β2 刺激薬吸入の反応性と病原呼吸器ウイルスの検討. アレルギー 69(suppl): 304-304, 2020.

5. 影山　努. ウイルス感染症の検査診断法 コロナウイルス感染症. 臨床と微生物　48(2),　120-124,　2021

6. 影山　努. 動物インフルエンザウイルスとインフルエンザパンデミック. チャイルドヘルス 23(11), 824-827, 2020.

7. 嶋崎典子 : 室内でのウイルスや細菌に対する感染対策。防菌防黴, 49(1), 31-42, 2021.

II. 学　会　発　表

１．国際学会

1. Takashita E. Antiviral resistance: frequency of resistance, impact on patient, risk of transmission.　APACI 2020 Webinar Series on Pandemic Preparedness, Web, December 2020.

２．国内学会

1. 長谷川秀樹：シンポジウム 「インフルエンザ Up-to-Date」
第 94 回日本感染症学会、Web、2020 年 8 月

2. 長谷川秀樹 : 新規不活化経鼻インフルエンザワクチンの開発　第 52 回日本小児感染症学会、Web, 2020 年 11 月

3. 川上千春、七種美和子、清水耕平、小澤広規、宇宿秀三、高下恵美、藤崎誠一郎、中村一哉、岸田典子、渡邉真治：　過去 3 シーズンに流行した AH1pdm09 インフルエンザウイルスの解析　第 52 回日本小児感染症学会、

Web、2020 年 11 月

4. 嶋崎典子：ウイルス感染対策における個人防護具・環境除菌の性能評価と適正使用　日本防菌防黴学会 令和２年度微生物汚染と対策に関する基礎講座、大阪 web、2020 年 12 月.

5. 長谷川秀樹：シンポジウム４の座長と講演「Emerging infectious disease」　第 24 回日本ワクチン学会、愛知、2020 年 12 月

２１．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、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）、第七室（ゲノム疫学研究室）、および第八室（真菌研究室）から構成されている。第一室では細菌学的な基礎、応用研究、行政検査業務、レファレンス業務、及び関連する抗生物質製剤の品質管理業務、研究を行っている。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。第四室では薬剤耐性菌感染症の集団発生への対応能力の強化に係るものをつかさどる。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。第七室では薬剤耐性菌ゲノム情報の取得・情報解析ならびに薬剤耐性菌バンクの運営を行う。第八室では真菌に関する薬剤耐性感染症に係る調査研究、特に薬剤耐性真菌の疫学調査、検査・予防・治療薬の研究を行う。

令和 2 年度は調査研究としては薬剤耐性菌に関する研究、院内感染に関する研究、抗生物質の品質管理に関する研究、サーベイランスデータを用いた研究を実施した。また業務としてはレファレンス、サーベイランス、品質管理、国際協力、研修を実施した。一室・四室は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（カルバペネム耐性菌感染症、VRE 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継続した。二室では JANIS データを活用した研究、高齢者施設入所者の薬剤耐性菌保菌調査および予後調査を継続した。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)を継続した。また三室が中心となり WHO が実施するワンヘルスサーベイランス、三輪車サーベイランス(Tricycle Surveillance)プロジェクトを日本・ベトナムをフィールドとして開始した。七室では薬剤耐性菌多検体ゲノム解析システムのハイスループット化を行い、5,595 検体の解析を実施した。 薬剤耐性菌バンクでは順天堂大学医学部細菌学が保有する MRSA 株他約 900 株の譲渡を受けた。行政検査業務では一室が保健所、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。品質管理業務では一室が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。また Jenderal Sudirman University Dr. Hidayati Rizka 氏（インドネシア）の技術研修を受け入れた（令和 2 年 1 月～3 月）。

薬剤耐性研究センターは令和 3 年 3 月 22 日付で WHO Collaborating Centre for AMR Surveillance and Research (JPN-97)に認定された。

人事では令和 2 年 4 月 1 日より山岸拓也が第四室室長に、名木稔が第八室長に、10 月 1 日より菅原庸が第七室長に着任した。

業　績

調査・研究

Ⅰ．薬剤耐性菌に関する研究

1. 薬剤耐性菌に関する菌株・検体等の解析依頼の概要

医療機関や地方衛生研究所等から解析依頼を受けた、菌株 142 株（菌種内訳：*Acinetobacter* sp. 1 株、*Enterobacter cloacae* complex 3 株, *Enterococcus* spp. 118 株、*Escherichia coli* 12 株、*Klebsiella aerogenes* 2 株, *Klebsiella pneumoniae* 1 株、*Klebsiella oxytoca* 3 株、*Proteus* sp. 1 株、*Staphylococcus aureus* 1 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、シークエンス解析を実施し、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、村松茂、稲嶺由羽、菅井基行]

11 医療機関、1 大学から依頼を受け、以下の菌株の解析を実施した（*E. coli*5 株、*A. baumannii* 5 株、*Achromobacter*

spp. 1 株、*E. aerogenes* 1 株、*E. coli* 12 株、*Enterobacter* spp. 1 株、*Hafnia alvei* 1 株、*K. pneumoniae* 8 株、*P. aeruginosa* 2 株、*P. putida* 1 株、*Ralstonia mannitolilytica* 2 株、*S. maltophilia* 1 株、*Providencia stuartii* 4 株)。NGS を用いて保有薬剤耐性遺伝子の検索、タイピングを実施した。これらの薬剤耐性菌は、薬剤耐性菌バンク棟へ収容した。[鹿山鎮男、于連升、内野清香、久恒順三、菅原庸、菅井基行]

5 医療機関、3 大学から依頼を受け、以下の菌株の解析を実施した(*S. aureus* 219 株、*E. faecium* (VRE) 3 株、*C. difficile* 3 株)。NGS を用いてゲノタイピング、保有する薬剤耐性遺伝子や病原因子関連遺伝子の検索を実施した。これらの薬剤耐性菌は、薬剤耐性菌バンク棟へ登録・保管した。[久恒順三、岩尾泰久、沓野祥子、菅原庸、菅井基行]

2. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)の臨床疫学研究

2017 年 4 月から 2018 年 3 月までに診断された 1,681 例の CRE 感染症の届出例のうち CRE 菌株が得られた 740 例(44.0%)について解析を行った。全症例においては、血流感染、呼吸器感染、大腸菌による感染が独立した死亡のリスクであったが分離菌株がカルバペネマーゼ遺伝子陽性であることは死亡のリスクではなかった。一方、KPC/NDM 型による感染は IMP 型に比べ有意に死亡割合が高かった。 [池上千晶(感染症疫学センター、FETP)、松井真理、鈴木里和、菅井基行]

3. 国内で分離された *Acinetobacter baumannii* international clone II の比較解析

Acinetobacter baumannii international clone II 系統株は、カルバペネム耐性アシネトバクター属として世界的に最も多く報告されるクローンであり、国内でも複数の院内感染事例が報告されている。疫学関連のない株であっても Multilocus Sequence Typing ではしばしば同一の Sequence Type (ST)を示すことから、より詳細な比較のため国内 17 医療機関で分離された 47 株を含む *A. baumannii* international clone II 系統 49 株の SNPs 数を評価した。今回使用したデータセットの ST208 株では、同一医療機関分離株の SNPs 数は 0～19 個、異なる医療機関分離株では 19～90 個であった。保有する耐性遺伝子パターンなどの比較を引き続き実施している。[松井真理、鈴木里和、稲嶺由羽、久恒順三]

4. 国内の臨床検体より分離された *Enterobacter cloacae* complex の分子疫学解析

2015 年～2016 年に国立病院機構 12 施設より分離された *Enterobacter cloacae* complex 56 株を対象に分子疫学解析を実施した。Multilocus Sequence Typing では、12 の新規 Sequence Type (ST)を含む 20 の ST に分類された。*hsp60* 配列に基づく菌種名は、*E. hormaechei* subsp. *steigerwaltii* が 16 株と最も多く、*E. roggenkampii* 9 株、*E. kobei* 8 株、*E. asburiae* 7 株、*E. hormaechei* subsp. *hofmannii* 6 株と続いた。薬剤感受性や保有する薬剤耐性遺伝子のパターンには菌種特性があることが示唆され、より詳細な比較解析を実施している。[松井真理、稲嶺由羽、鈴木里和、甲斐久美子、(以下 病原体ゲノム解析研究センター)関塚剛史、黒田誠]

5. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)サーベイランス評価に関する研究

感染症発生動向調査(NESID)の CRE 届出評価のため、千葉県内における 2015 年から 2018 年までの CRE 発生に関するアンケート調査を 2020 年 2 月、6 月に行い、NESID の届出との比較を行った。千葉県内 286 医療機関中 98 医療機関からの反応(34%)があった。同調査では、CRE 感染症患者数は 2015 年以降、毎年 28、65、66、56 であり、Capture-Recapture 法を応用した推計では、2015 年以降 80、91、92、110 の CRE 感染症患者が県内で発生していると考えられた。NESID 感度は 80%から 88%であり、4 年間で大きな変動を認めなかった。[門倉圭佑(FETP)、山岸拓也、松井真理]

6. 台湾および日本で分離されたカルバペネマーゼ産生菌の比較解析

台湾や日本を含む環太平洋は IMP 型カルバペネマーゼ産生菌が定着している一方、NDM 型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌は主に海外から流入した新たな薬剤耐性菌である。日本・台湾とも 2010 年代前半は NDM-1 が多かったが後半になり中国における流行に伴い、NDM-5 が急増していた。$bla_{\text{NDM-5}}$ は接合能を有する IncX3 プラスミド上に存在することが多く、この IncX3 プラスミドの配列は多様性が低い。そのため、$bla_{\text{NDM-5}}$ 保有 IncX3 プラスミドが関与する腸内細菌目細菌の多菌種にわたる院内感染事例においてはタイピング解析が困難である。そこで台湾と日本の院内感染事例において、疫学関連の有無が明らかな症例における分子疫学解析を行い、配列多様性の乏しいプラスミドにおける比較可能性の検討を実施した。[鈴木里和、松井真理、甲斐久美子、村松茂、稲嶺由羽]

7. 薬剤耐性菌研究における海外研究拠点と連携

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、および AMED 新興・再興感染症研究基盤創生事業海外拠点である大阪大学・タイ拠点、東京大学・中国拠点、長崎大学・ベトナム拠点などと連携し、アジア諸国のヒト・動物・環境から分離された薬剤耐性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、菅原庸、坂本典子、于連升、菅井基行、柴山恵吾（細菌第二部）]

8. 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。株式会社コンポン研究所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。コリスチンの作用を増強させる既承認薬の作用機序の解析を行った。[鈴木仁人、平林亜希、成瀬秀則 (協力研究員)]

9. 食品から分離された薬剤耐性菌の解析

中国学園大学で薬剤耐性菌選択培地にて食品から分離された 16 株を解析し、菌種同定、タイピング、薬剤耐性遺伝子の同定を実施すると共に、結果を報告した。[鹿山鎭男、于連升、菅原庸、菅井基行、川野光興 (協力研究員)]

10. エジプトにて分離された薬剤耐性菌の解析

広島大学大学院 統合生命科学研究科 食品生命科学プログラム（食品衛生学）島本整教授との共同研究にて、エジプト由来の β-ラクタマーゼ遺伝子保有株、*mcr* 遺伝子保有株（菌株内訳：*E. coli* 5 株、*P. stuartii* 4 株、*A. baumannii* 4 株、*P. aeruginosa* 1 株）の遺伝子検査を実施した。Illumina 社のショートリードシークエンサーMiniSeq/MiSeq および Oxford Nanopore Technologies 社のロングリードシークエンサーMinION/GridION を用いて、一塩基多型(SNP)による系統樹解析、染色体やプラスミド上の薬剤耐性遺伝子の詳細な解析を行った。[于連升、鹿山鎭男、久恒順三、菅原庸、菅井基行]

11. 市中下水、河川水、海水、と畜場排水、食鳥処理場排水および病院下水から分離される薬剤耐性菌の解析

信州大学、岐阜大学、埼玉県立大学から依頼を受け、712 株の解析を行った。うち 696 株を MALDI-TOF MS による菌種同定、NGS を用いて 86 株のショートリード解析、18 株のロングリード解析を行い、MLST (multi locus sequence typing) による菌株遺伝型の型別、ResFinder による薬剤耐性遺伝子の検出、PlasmidFinder による保有プラスミドの型別を行った。[于連升、鹿山鎭男、若井智世、内野清香、安齋栄子、沓野祥子、近藤恒平、菅原庸、菅井基行]

12. グラム陽性薬剤耐性菌の研究

薬剤耐性菌ナショナル・サーベイランス（JARBS, 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」について、最終的に 62 施設の国立病院から 796 株収集できた。このうち、黄色ブドウ球菌は 751 株収集され、ゲノム配列解読した。臨床データとの統合解析を行なった。

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。

慶應大皮膚科（天谷教授）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。[久恒順三、岩尾泰久、沓野祥子、菅井基行]

13. 薬剤耐性菌感染症治療を目的としたファージの研究

薬剤耐性菌 IMP-6 産生 *Klebsiella pneumoniae* を殺菌するファージの採取及び宿主領域の決定、感染効率の解析を行った。[近藤恒平、菅井基行]

14. ベトナムにおける深在性真菌症原因菌の疫学研究とカンジダ属菌の抗真菌薬耐性発生状況調査

ベトナム国立衛生疫学研究所（NIHE）、Vietnam Military Medical University （VMMU)と連携し、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。NIHE とVMMU 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。[名木稔、宮﨑義継（真菌部）]

15. 病原真菌 *Candida glabrata* の細胞外ステロール取り込みによる抗真菌薬耐性化に関する研究

C. glabrata のステロール取り込みと薬剤耐性との関連を調べるため、ステロール取り込み活性化変異株を用い、ステロール添加条件における薬剤感受性を調べた。ステロール合成阻害薬であるアゾール系薬の場合、ステロール添加条件では感受性が低下し、ステロール取り込みのアゾール耐性への関与が示唆された。真菌エルゴステロールに結合して膜を傷害する AMPH-B の感受性は、取り込まれるステロール種、特にステロイド骨格 7 位の二重結合の有無によって大きく異なった。二重結合を有するステロール添加条件では感受性は高く、有しないステロール添加条件では低感受性を示した。ヒトの主要ステロールは 7 位二重結合の無いコレステロール

であり、*C. glabrata* が感染時にコレステロールを取り込んだ場合、AMPH-B 低感受性化が予想される。[名木稔、田辺公一(龍谷大)、宮﨑義継(真菌部)]

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

研究協力医療機関より分与された *B. cereus* 36 株および、MLST データベースに登録されている日本国内の院内感染由来株 84 株の計120 株について MLST シェーマに用いられる7つの alleleをすべて連結したconcatenate配列を作成、系統樹解析を行った。系統樹解析基づく分類は原則としてPriest らの提案する方法に基づいたが、日本独自の株による群はあらたな clade 等に分類した。Priest らの Clade1 が血液等の無菌検体と関連する可能性があり、特に院内感染事例では clade1 の特定の群(CereusIII, IV)との相関が示唆された。ハイリスククローンとして報告されている ST1420 はCereusIII に属していた。 [鈴木里和、稲嶺由羽、久恒順三]

2. 多剤耐性 *Acinetobacter bereziniae* (MDR non-Ab)の分子疫学解析

鳥取大学医学部 臨床感染症学講座 千酌浩樹教授との共同研究にて、2003 年 1 月から 2021 年 2 月まで鳥取大学医学部附属病院の患者および環境から分離された *A. bereziniae* 36 株(MDRA 26 株、感受性株 10 株)のショートリード解析を行った。うち 7 株のロングリード解析も実施し、bla_{IMP-19} 保有するプラスミドの全長の塩基配列を決定した。比較解析を行ったところ、bla_{IMP-19} の周辺構造は 2001 年～2006 年京都府・滋賀県の病院患者から分離された *A. bereziniae* 保有 bla_{IMP-19} の周辺構造と一致していた。[于連升、鹿山鎭男、久恒順三、矢原耕史、菅井基行]

3. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の医療関連感染の疫学と対応に関する研究

16 自治体(北海道、青森県、群馬県、埼玉県、茨城県、千葉県、神奈川県、長野県、岐阜県、滋賀県、京都府、石川県、広島県、徳島県、長崎県、沖縄県)からの要請を受け、COVID-19 アウトブレイクが発生した約 50 か所の医療機関および介護施設にて疫学調査および感染管理支援を実施した。また、県庁および保健所では主に市中感染事例について疫学調査支援を実施した。集団発生の規模は 2～318 名であり、2020 年 12 月以降より 100 名を超える集団感染事例が 4 件発生した。収束後はこれらの調査結果を自治体や施設担当者らとまとめ、国立感染症研究所病原微生物検出情報(IASR)や論文等で報告した。[黒須一見、山岸拓也]

Ⅲ. 抗生物質の品質管理に関する研究

1. 微生物学的力価測定法に関する検討

日本薬局方(日局)微生物学的力価測定法試験法において重要となる阻止円の直径測定法では、現行の日局の記載とは測定原理が一部異なるより高精度の機器が国内で普及しつつある。この機器と旧来使用されていた機器との比較を行い、同等の測定力価が得られることを明らかにした。ただし、新機種では測定カメラの軸に僅かな偏位があり、それが測定値に微小な差異を生じる要因であることが明らかとなった。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、稲嶺由羽、近田俊文、菅井基行]

2. ゲンタマイシン硫酸塩成分別力価に関する検討

複合医薬品であるゲンタマイシン硫酸塩に関しては、その主要な構成成分であるゲンタマイシン C1, C1a, C2 を親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)で分離し、三連四重極型質量分析計を用いて、感度・特異性高く定量する系が構築されている。この定量法とゲンタマイシンの各成分の測定力価を統合することで、ゲンタマイシン硫酸塩の力価を物理化学的に評価する測定法の開発を行った。また、バイオアッセイにて測定したゲンタマイシンの成分ごとの力価を日局では C1:C2:C1a＝1:1.35:1(C1=C1a<C2)としての試験法が記載されているが、実測値では C1<C2<C1a であった。同等の結果は他の研究においても報告されていた。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、稲嶺由羽、近田俊文、前川恵子(同志社女子大学)]

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と、集計データの公開

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 に準拠し集計し、集計データを GLASS に提出した。また、このプログラムで 2019 年のデータを都道府県別に行った結果を、CSV ファイルおよび Excel ツールとして公開した。その CSV ファイルは、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で、ワンヘルスプラットフォーム web サイトに組み込まれた。また、その過程で、WHO GLASS と JANIS のデータ集計時の重複処理方式の違いを整理した上で、その違いが耐性率の集計値に与える影響が軽微であることを明らかにした論文を、WHO GLASS チームとの共著で国際誌に発表した。さらにこの研究成果を、英国 Wellcome Trust の薬剤耐性カンファレンスで選抜口頭発表し、第二位に選ばれるなど高い評価を得た。[矢原耕史、梶原俊毅、平林亜希、菅井基行、(以下 細菌第二部)柴山恵吾]

2. 市中耐性菌サーベイランスデータの集計

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、解析するプログラムの開発を、昨年度に引き続き行った。民間会社 2 社からデータの提供を受け、黄色ブドウ球菌他 5 菌種を対象に、都道府県別、年齢区分別、さらに衛生検査所の実態に即した検査材料別での集計を行い、集計データを、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し、ワンヘルスプラットフォームで公開する準備を進めた。[矢原耕史、梶原俊毅、安斎栄子、柴山恵吾（以下 細菌第二部）]

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 2015-2016 年の各年で算出し、その分離頻度の分布を都道府県レベルで明らかにした。その上で、国立国際医療研究センターから公開されている抗菌薬使用量データとの関連を回帰モデルで検討し、第三世代セファロスポリンおよびフルオロキノロンの使用量との間に、統計的に有意な関連を見出した。この成果を国際誌に発表した。[平林亜希、矢原耕史、梶原俊毅、菅井基行、柴山恵吾（以下 細菌第二部）]

4. 市中耐性菌サーベイランスデータの解析

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んだ。日本で生じて世界に拡散していったとされるセファロスポリン低感受性を司る *penA*-10 と *penA*-34 遺伝子と、それを主に有する2つの系統に注目し、ハーバード大学・オックスフォード大学との共同研究により日本株と海外株のデータを統合解析し、その起源と進化・伝播のタイムライン、メカニズム、プロセスを明らかにした。特に、欧米へ拡散した *penA*-34 遺伝子は、他のナイセリア属との組換えの後、野生型 *penA*-1 を有する別の日本株との更なる組換えによって生じたことを明らかにした。さらに、文献データから、過去の日本における抗菌薬使用様式の下で当該耐性遺伝子を選択された可能性を示した。以上の成果を国際一流誌に発表し、英国 Wellcome Trust の薬剤耐性カンファレンスで発表した。[矢原耕史、平林亜希]

5. JANIS の海外展開（ASIARS-Net）

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、アジア地域では国レベルの薬剤耐性菌（AMR）サーベイランスが十分に実施できていない国が多い。これらの国の AMR サーベイランスを、JANIS に基づいて構築したシステムを活用して支援するのが、JANIS の海外展開である。その名称を新たに ASIARS-Net とし、画面上の文言を JANIS から ASIARS-Net に統一し、公式ホームページ（https://janis.mhlw.go.jp/english/asiars-net/）を開設し、利用国毎にデータベースを分割して運用するシステムの改良を重ねた。ユーザ向けページのデザインを刷新すると同時に、利用国が新たに増えた場合に当該国向けのシステムを構築し URL を発行する手順とツールを整備した。[矢原耕史、平林亜希、梶原俊毅、菅井基行、柴山恵吾（以下 細菌第二部）]

6. JANIS SSI 部門データを活用した手術部位感染症発症(SSI)抑制に関する研究

呼吸器外科手術に着目し、年間平均手術件数が SSI 発症に及ぼす影響について検討を行った。全 74 医療機関、21,154 件の胸腔鏡下手術(VATS)を対象に各医療機関の年間平均手術数を 50 件未満、50～100 件、100 件より多い群に分類し、それぞれの SSI 発症率が 1.47%、0.75%、1.17%で、50～100 件/年の手術件数のグループが最も SSI 発生率が低かった。多変量解析を行い、NNIS risk index で層別化を行い、risk index 1 のグループでは 50-100 件/年群と比較しその他の群の odds ratio(OR)が約 2.5 で、risk index 2-3 のグループでは 50 件未満/年のグループの OR が 4.83 であることを明らかにした。[梶原俊毅、矢原耕史、平林亜希、黒須一見、菅井基行、柴山恵吾（以下 細菌第二部）]

7. JANIS データを活用したその他の研究

まず、JANIS の現在の状況と今後の発展の方向性をまとめた英文のオープンアクセスレビューを刊行した。次に、肺炎球菌のペニシリン耐性率とペニシリン消費量の関連に関する、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との共同研究に参加した。2013 年から 2018 年の間に、肺炎球菌のペニシリン感受性が徐々に回復すると同時に、ペニシリン消費量が増えており、ペニシリンを主に使用しても肺炎球菌のペニシリン感受性が低下する訳ではないことを示した。[矢原耕史、梶原俊毅、平林亜希、菅井基行、柴山恵吾（以下 細菌第二部）]

8. 高齢者施設における薬剤耐性菌の保菌調査および感染症の予後に関する研究

広島県で、地域の高齢者医療施設群をモデルとして①機能分類に基づいた高齢者施設における耐性菌保菌状況の調査を行い ②耐性菌感染症の発症予後因子を明らかにする。全6施設の保菌調査を行った。口腔検体中、保菌調査を実施した入所者のうちESBL、CRE を選択する培地に増殖

を確認した陽性率（AMR-GNR 率）は介護福祉施設で17.3%、介護保健施設では19.7%であった。一方、便検体ではAMR-GNR率は介護福祉施設で60.0%、介護保健施設では57.6%であった。また便中のESBL産生*E. coli*の割合は50.0%であった。

予後調査結果を回収できた 4 施設で、入所から 2020 年 9 月までの期間の死亡率は 9.5-23.1%であること、死亡の大半は施設内で生じていること、抗菌薬投与状況には施設間で差があることを示した。 [梶原俊毅、矢原耕史、菅井基行]

9. 薬剤耐性菌医療関連感染アウトブレイクのリスク評価手法に関する研究

WHO 西太平洋地域事務局（The Western Pacific Region: WPRO）と AMR Outbreak Guidance などリスク評価手法の協議を行っている。また、2020 年 2 月 17 日に厚生労働省が主催した Tokyo AMR One-Health Conference に出席し、Working Group 2（Health-care management）の座長を務め、今後 3 年間の方針立案に貢献した。[山岸拓也]

10. 食品（野菜・肉等）から分離された薬剤耐性菌の解析

令和 2 年度食品健康影響評価技術研究「家畜由来薬剤耐性菌の水圏・土壌環境を介した野菜汚染の定量評価及び人への伝播に関する研究（課題番号:JPCAFSC2020200）」と連携し、食品由来薬剤耐性菌のゲノム解析を実施した。[于連升、鹿山鎭男、菅原庸、久恒順三、鈴木仁人、菅井基行]

レファレンス業務

Ⅰ. 薬剤耐性菌関係

1. 薬剤耐性菌検査のための陽性コントロール DNA 及び検査手技動画手順書等の提供

地方衛生研究所等における薬剤耐性菌検査支援のため全国 77 施設に、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 検出のための陽性コントロール DNA とともに送付した。 [松井真理、甲斐久美子、村松茂、稲嶺由羽、鈴木里和]

2. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査に関するレファレンス業務

令和 2 年度厚生労働省外部精度管理事業として、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）のカルバペネマーゼ遺伝子の検出と β-ラクタマーゼ産生性の確認を課題に、全国 67 施設の地方衛生研究所又は保健所にそれぞれ CRE 4 株を送付し、精度評価を実施した。参加施設の回答がばらついた試験手法は、その要因を検討し参加施設へ還元するとともに、病原体検出マニュアル薬剤耐性菌の次期改訂作業を進めた。 [松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、稲嶺由羽、村松茂、菅井基行]

3. 病原体検出マニュアル薬剤耐性菌の改訂

病原体検出マニュアル薬剤耐性菌を改訂し、Ver2.0 を公開した。令和元年度厚生労働省外部精度管理事業カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の結果に基づき CRE の表現型検査方法と判定の項目を改訂したほか、カルバペネマーゼ遺伝子検出用のマルチプレックス PCR 法、シークエンスによるカルバペネマーゼ遺伝子型別方法等を新規追加した。 [松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、稲嶺由羽、村松茂、菅井基行]

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病原体情報のうち、検査結果の矛盾がある検体について問い合わせと修正依頼を毎週実施した。さらに 2019 年検体採取分の試験検査結果について、報告率が 70%以下の自治体への問い合わせ等を実施したのち、1,799 株の報告データを公開のため集計した。 [松井真理、鈴木里和]

2. 薬剤耐性菌感染症リスク評価の試み

感染症サーベイランスシステム（NESID）の感染症発生動向調査システムに報告される患者情報を取り扱う感染症疫学センターと、病原体検出情報システムに報告される病原体情報を取り扱う薬剤耐性研究センターとで毎週テレビ電話会議を行い、両サーベイランスデータに基づく薬剤耐性菌感染症のリスク評価を行った。2020 年 4 月 1 日～2021 年 3 月 31 日の計 46 回の会議で、71 事例のリスク評価を行い、うち 48 事例（68%）は自治体に対応状況等を確認した。[松井真理、鈴木里和、山岸拓也、黒須一見、菅井基行、島田智恵（感染症疫学センター）、（以下 感染症疫学センターFETP）門倉圭佑、渡邊佳奈、芹沢悠介、笠松亜由、中下愛美、黒澤克樹]

Ⅱ. 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）

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）にて「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）」を実施した。

グラム陰性桿菌を対象とする JARBS-GNR では、耐性菌を約 25000 株収集し、PCR を実施すると共に 7000 株の NGS、

薬剤感受性試験を実施した。 [鹿山鎭男、久恒順三、矢原耕史、川上小夜子、若井智世、青木貞男、菅原庸、平林亜希、梶原俊毅、笹田万友美、于連升、坂本典子、鈴木仁人、中澤美佳子、瀧世志江、石塚貴久、安齋栄子、北村徳一、沓野祥子、岩尾泰久、近藤恒平、菅井基行]

Ⅲ. 薬剤耐性菌バンク

昨年度に受け入れた米国 CDC AR Panel について、国内1研究機関に共同研究契約を結んだ上で無償譲渡した。[菅原庸、鹿山鎭男、菅井基行]　順天堂大学医学部細菌学が保有する MRSA 株他 1,019 株の譲渡を受けた。[北村徳一、久恒順三、菅井基行、菅原庸] ワンヘルスサーベイランス関連で環境由来株として大腸菌を含むグラム陰性菌を5,312株、患者血液培養由来株 74 株を保存した。[于連升、鹿山鎭男、菅井基行、菅原庸] JARBS 株（腸内細菌科細菌、*Acinetobacter* 属菌、緑膿菌他）14,958 株、JARBS-SA 株（*Staphylococcus aureus*）727 株、JARBS-VRE 株（*Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. casseliflavus*）34 株を受け入れた。[北村徳一、鹿山鎭男、久恒順三、沓野祥子、菅井基行、菅原庸]

Ⅳ. WHO サーベイランスと協調したワンヘルス薬剤耐性菌動向調査に係る研究（三輪車プロジェクト）

ESBL 産生大腸菌を用いた WHO サーベイランス Tricycle Surveillance のプロトコルに基づき、2020 年秋以降、環境由来の検体として河川水、下水、と畜場排水、食鳥処理場排水、海水を収集した（協力施設：北海道大学、信州大学、埼玉県立大学、岐阜大学、広島大学、広島県立総合技術研究所）。2021 年 3 月までに大腸菌を 4,156 株、ESBL 産生大腸菌を 107 株分離した。うち 591 株のショートリード NGS 解析、115 株の薬剤感受性試験を行った。[于連升、鹿山鎭男、内野清香、若井智世、瀧世志江、安齋栄子、北村徳一、菅原庸、矢原耕史、坂本典子、近藤恒平、沓野祥子、久恒順三、菅井基行、増田加奈子 (協力研究員)]

品質管理に関する業務

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（10 品目）：ドキソルビシン塩酸塩、セフォペラゾン、ピペラシリン、アクラルビシン、ゲンタマイシン硫酸塩、バンコマイシン塩酸塩、セフポドキシムプロキセチル、エリスロマイシン、セフォチアムヘキセチル塩酸塩、テイコプラニン

サブロット更新（4 品目）：バカンピシリン塩酸塩、クリンダマイシン塩酸塩、セフチブテン塩酸塩、クラリスロマイシン[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、稲嶺由羽、近田俊文]

2. 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、エピルビシン塩酸塩標準品，クラリスロマイシン標準品，スルバクタム標準品，セフェピム塩酸塩標準品，セフォチアム塩酸塩標準品，セフトリアキソンナトリウム標準品，タゾバクタム標準品，バンコマイシン塩酸塩標準品，ピペラシリン標準品，ミノサイクリン塩酸塩標準品，ロキシスロマイシン標準品の 11 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]

3. 交付用菌株の凍結乾燥品アンプル製造

日本薬局方において規定されている試験用菌株 *Escherichia coli* NIHJ の交付用凍結乾燥品アンプルを作成、菌量等の品質試験を実施した。[鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、近田俊文]

4. 後発医薬品品質確保対策事業関連

2020 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。試験は試験担当室として、真菌部において実施された。試験品目：注射用セフェピム塩酸塩 4 ロット [鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、吉村由美子、稲嶺由羽、近田俊文]

5. バンコマイシン塩酸塩製剤の出荷判定妥当性確認

監視指導・麻薬対策課からの依頼、「バンコマイシン製剤の出荷にかかる試験結果の確認ついて」に基づき、2社において実施されたバンコマイシン塩酸塩点滴静注用 0.5g 16 ロット分の試験成績書等を精査した。精査の結果、1 社については力価算定の計算方法に誤りがあり今後改善が必要な旨報告した。[鈴木里和、松井真理、稲嶺由羽、村松茂、近田俊文]

国際協力関係業務

Ⅰ. JICA 関連

1. 2020 年 4 月にオンラインセミナー「アジア・アフリカのコロナ対策の最前線と保健医療体制：Post COVID-19 に向けて」で講演を実施した。[黒須一見]

2. JICA チョーライ病院向け病院運営・管理能力向上支援プロジェクト研修技術支援

2020 年 11 月にホーチミン市チョーライ病院内で開催された第3回感染管理担当者養成研修の運営・企画指導を実施した。[黒須一見]

Ⅱ. 技術研修

公益財団法人武田科学振興財団の依頼を受け、2020 年 1 月～3 月、インドネシア Jenderal Sudirman University の Dr. Hidayati Rizka 氏を受け入れて、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）の薬剤耐性遺伝子の検出方法、ゲノム解析の方法などに関する研修を実施した。［于連升、沓野祥子、久恒順三、鹿山鎭男、菅井基行］

研修業務

Ⅰ. 薬剤耐性菌に関する研修

1. 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。2020 年 9 月 8 日～9 日に 1 名、11 月 11 日～12 日に 2 名、合計 3 施設 3 名が参加した。 [松井真理、鈴木里和、甲斐久美子、村松茂、稲嶺由羽]

2. 薬剤耐性菌に関する講義（抗菌薬総論）および実技（カルバペネマーゼ等産生確認試験）の動画を作成し、関連資料とともに地方衛生研究等の薬剤耐性菌検査担当者向け自己学習用 DVD を作成、希望した 77 施設に配布した。
[稲嶺由羽、松井真理、甲斐久美子、村松茂、鈴木里和]

II. COVID-19 に関する研修

1. 地方自治体（茨城県、神奈川県、東京都、香川県、広島県、札幌市、帯広市）、東京都病院協会、日本在宅ケア学会で COVID-19 対応に関する研修会や講演を行った。[黒須一見、山岸拓也]

2. 厚生労働省院内感染対策講習会事業に係る講習会
環境整備と個人防護具の適正使用に関する講義を実施し、2020 年 9 月から 2021 年 3 月までオンライン配信された。[黒須一見]

3. 厚生労働省「障害者支援施設及び障害福祉サービス事業所等における感染症対策力向上支援業務」
障害者施設における COVID-19 感染予防対策の講演を実施し、2020 年 12 月から 2021 年 3 月までオンライン配信された。[山岸拓也]

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、村松茂、稲嶺由羽、菅井基行]

2. バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）アウトブレイク事例対応
VRE アウトブレイクが発生した医療機関において、2020 年 6 月に、当該保健所と医療機関との合同会議を開催した。[黒須一見、山岸拓也]

3. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）アウトブレイク事例対応
CRE アウトブレイクが発生した医療機関において、2020 年 9 月－11 月に疫学調査、感染管理の助言、当該保健所と医療機関との合同会議を複数回開催した。[山岸拓也]

4. バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）アウトブレイク事例対応
VRE アウトブレイクが発生した医療機関において、2021 年 3 月に疫学調査と職員への指導、当該保健所と医療機関との合同会議を開催した。[黒須一見、山岸拓也、松井真理、鈴木里和、菅井基行]

II. 国のガイドライン、ガイダンス、マニュアルの作成

1. 国立感染症研究所・国立国際医療研究センター.「新型コロナウイルス感染症の感染管理」の当所ホームページ上での公開と改定. [黒須一見、山岸拓也]

2. 厚生労働省.「介護現場における（施設系、通所系、訪問系など）感染対策の手引き」第一版、第二版の作成[山岸拓也]

3. 厚生労働省.「障害福祉サービス施設・事務所職員のための感染対策マニュアル - 入所系、通所系、訪問系」の作成. [山岸拓也]

4. 厚生労働省.「障害福祉サービス事業所等における新型コロナウイルス感染症発生時の業務継続ガイドライン」の作成. [山岸拓也]

5. 厚生労働省. 繁華街における COVID-19 対策ビデオ監修[山岸拓也]

III. 自治体等への助言、等

1. 自治体首長等との意見交換、説明
2020 年 6 月 9 日新型コロナウイルス感染症に関する対応に関し、奈良県知事との意見交換を行った。また、2020 年 6 月 20 日新型コロナウイルス感染症に関する厚生労働大臣勉強会で札幌市高齢者施設事例に関する説明を行った[山岸拓也]

2. 群馬県健康危機管理チーム会議

2020 年 8 月 25 日、11 月 17 日、2021 年 2 月 2 日に会議に参加し、県の対策への助言を行った。[山岸拓也]

3. 東京都 iCDC 感染管理チーム会議

2020 年 9 月 17 日、11 月 26 日に会議に参加し、都の方針への助言を行った。[山岸拓也]

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Hashimoto Y, Kita I, Suzuki M, Hirakawa H, Ohtaki H, Tomita H. First report of the local spread of vancomycin-resistant Enterococci ascribed to the interspecies transmission of a *vanA* gene cluster-carrying linear plasmid. mSphere. 2020 Apr;5(2):e00102-20.

2) Tsubouchi T, Suzuki M, Niki M, Oinuma KI, Niki M, Kakeya H, Kaneko Y. Complete genome sequence of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606^{T}, a model strain of pathogenic bacteria causing nosocomial infection. Microbiol Resour Announc. 2020 May;9(20):e00289-20.

3) Nguyen NT, Takemura T, Pham AHQ, Tran HT, Vu KCT, Tu ND, Huong LT, Cuong NT, Kasuga I, Hasebe F, Suzuki M. Whole-genome sequencing and comparative genomic analysis of *Shewanella xiamenensis* strains carrying *bla*$_{OXA-48}$-like genes isolated from a water environment in Vietnam. J Glob Antimicrob Resist. 2020 Jun;21:272-274.

4) Sadamoto S, Shinozaki M, Nagi M, Nihonyanagi Y, Ejima K, Mitsuda A, Wakayama M, Tochigi N, Murakami Y, Hishima T, Nemoto T, Nakamura S, Miyazaki Y, Shibuya K. Histopathological study on the prevalence of trichosporonosis in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue autopsy sections by in situ hybridization with peptide nucleic acid probe. Med Mycol. 2020 Jun;58(4):460-468.

5) Kiga K, Tan XE, Ibarra-Chávez R, Watanabe S, Aiba Y, Sato'o Y, Li FY, Sasahara T, Cui B, Kawauchi M, Boonsiri T, Thitiananpakorn K, Taki Y, Azam AH, Suzuki M, Penadés JR, Cui L. Developing CRISPR-Cas13a-based antimicrobials for killing antimicrobial-resistant bacteria. Nat Commun. 2020 Jun;11(1):2934.

6) Yamagishi T, Kamiya H, Kakimoto K, Suzuki M, Wakita T. Descriptive study of COVID-19 outbreak among passengers and crew on Diamond Princess cruise ship, Yokohama Port, Japan, 20 January to 9 February 2020. Euro Surveill. 2020 Jun;25(23):2000272.

7) Shigemura H, Sakatsume E, Sekizuka T, Yokoyama H, Hamada K, Etoh K, Carle Y, Mizumoto S, Hirai S, Matsui M, Kimura H, Suzuki M, Onozuka D, Kuroda M, Inoshima Y, Murakami K. Food workers as a reservoir of extended-spectrum-cephalosporin-resistant *Salmonella* strains in Japan. Appl Environ Microbiol. 2020 Jun;86(13):e00072-20.

8) Shirakawa T, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki S, Ozawa M, Abo H, Furuya Y, Akama R, Matsuda M, Shimazaki Y, Kijima M, Kawanishi M. Comparative Genomic Analysis of Third-Generation-Cephalosporin-Resistant *Escherichia coli* Harboring the *bla*$_{CMY-2}$-Positive IncI1 Group, IncB/O/K/Z, and IncC Plasmids Isolated from Healthy Broilers in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Jun;64(7):e02385-19.

9) Kajihara T, Yahara K, Stelling J, Eremin SR, Tornimbene B, Thamlikitkul V, Hirabayashi A, Anzai E, Wakai S, Matsunaga N, Hayakawa K, Ohmagari N, Sugai M, Shibayama K. Comparison of de-duplication methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance. PLoS One. 2020 Jun;15(6):e0228234.

10) Lowbridge C, Chiew M, Russell K, Yamagishi T, Olowokure B, Li A. Regional event-based surveillance in WHO's Western Pacific Region. Western Pac Surveill Response J. 2020 Jun;11(2):11-19.

11) Sato Y, Iguchi M, Kato Y, Morioka H, Hirabayashi A, Tetsuka N, et al. Number of concomitant drugs with thrombocytopenic adverse effects and the extent inflammatory response resolution are risk factors for thrombocytopenia in patients treated with linezolid for more than 14 days. Nagoya J Med Sci. 2020 Aug;82(3):407-414.

12) Wakabayashi Y, Sekizuka T, Yamaguchi T, Fukuda A, Suzuki M, Kawahara R, Taguchi M, Kuroda M, Semba K, Shinomiya H, Kawatsu K. Isolation and plasmid characterisation of *Salmonella enterica* serovar Albany harbouring *mcr-5* from retail chicken products in Japan. FEMS

Microbiol Lett. 2020 Aug;367(15):fnaa127.

13) Kenri T, Suzuki M, Sekizuka T, Ohya H, Oda Y, Yamazaki T, Fujii H, Hashimoto T, Nakajima H, Katsukawa C, Kuroda M, Shibayama K. Periodic genotype shifts in clinically prevalent *Mycoplasma pneumoniae* strains in Japan. Front Cell Infect Microbiol. 2020 Aug;10:385.

14) Morishita Y, Aoki Y, Ito M, Hagiwara D, Torimaru K, Morita D, Kuroda T, Fukano H, Hoshino Y, Suzuki M, Taniguchi T, Mori K, Asai T. Genome mining-based discovery of fungal macrolides modified by GPI-ethanolamine phosphate transferase homologs. Org Lett. 2020 Aug;22(15):5876-5879.

15) Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, Saito S, Takayama I, Asanuma H, Nao N, Tanaka R, Hashino M, Takahashi T, Kamiya H, Yamagishi T, Kakimoto K, Suzuki M, Hasegawa H, Wakita T, Kuroda M. Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Aug;117(33):20198-20201.

16) Khalifa H, Soliman A, Saito T, Kayama S, Yu L, Hisatsune J, Sugai M, Nariya H, Ahmed A, Shimamoto T, Matsumoto T, Shimamoto T. First report of foodborne *Klebsiella pneumoniae* coharboring *bla*$_{\text{VIM-1}}$, *bla*$_{\text{NDM-1}}$, and *mcr-9*. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Aug;64(9):e00882-20.

17) Sadek M, Nariya H, Shimamoto T, Kayama S, Yu L, Hisatsune J, Sugai M, Nordmann P, Poirel L, Shimamoto T. First genomic characterization of *bla*$_{\text{VIM-1}}$ and *mcr-9*-coharbouring *Enterobacter hormaechei* isolated from food of animal origin. Pathogens. 2020 Aug;9(9):687.

18) Soliman AM, Ramadan H, Ghazy E, Yu L, Hisatsune J, Kayama S, Sugai M, Nariya H, Shimamoto T, Jackson CR, Shimamoto T. Emergence of *Salmonella* Genomic Island 1 Variant SGI1-C in a Multidrug-Resistant Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae* ST485 from Egypt. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Aug;64(9):e01055-20.

19) Nagaoka H, Hirai S, Morinushi H, Mizumoto S, Suzuki K, Shigemura H, Takahashi N, Suzuki F, Mochizuki M, Asanuma M, Maehata T, Ogawa A, Ohkoshi K, Sekizuka T, Ishioka T, Suzuki S, Kimura H, Kuroda M, Suzuki M, Murakami K, Kanda T. Coinfection with Human Norovirus and *Escherichia coli* O25:H4 Harboring Two Chromosomal *bla*$_{\text{CTX-M-14}}$ Genes in a Foodborne Norovirus Outbreak in Shizuoka Prefecture, Japan. J Food Prot. 2020 Sep;83(9):1584-1591.

20) Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K, Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AE, Barnetson B, Leonard J, Wakita T. Environmental Sampling for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 During a COVID-19 Outbreak on the Diamond Princess Cruise Ship. J Infect Dis. 2020 Sep;222(7):1098-1102.

21) Fukano H, Miyama H, Takatsuki S, Hirabayashi A, Suzuki M, Yoshida M, Uwamino Y, Hasegawa N, Hoshino Y. Complete genome sequence of M*ycolicibacterium* sp. strain NIID-NTM18, isolated from cardiac implantable electronic device infection and most similar to *Mycolicibacterium litorale*. Microbiol Resour Announc. 2020 Sep;9(36):e00830-20.

22） Shanmugakani RK, Sugawara Y, Akeda Y, Hagiya H, Sakamoto N, Aye MM, Myint T, Hamada S, Tomono K. *bla*$_{\text{OXA-731}}$, a new chromosome-encoded *bla*$_{\text{OXA-48}}$-like variant in *Shewanella* sp. from the aquatic environment in Myanmar. Environ Microbiol Rep. 2020 Oct;12(5):548-554.

23) Tsuzuki S, Akiyama T, Matsunaga N, Yahara K, Shibayama K, Sugai M, Ohmagari N. Improved Penicillin Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* and Increased Penicillin Consumption in Japan, 2013-18. PLoS One. 2020 Oct; 15(10):e0240655.

24) Expert Taskforce for the COVID-19 Cruise Ship Outbreak. Epidemiology of COVID-19 Outbreak on Cruise Ship Quarantined at Yokohama, Japan, February 2020. Emerg Infect Dis. 2020 Nov;26(11):2591-2597.

25) Nishiki S, Arima Y, Yamagishi T, Hamada T, Takahashi T, Sunagawa T, Matsui T, Oishi K, Ohnishi M. Syphilis in heterosexual women: case characteristics and risk factors for recent syphilis infection in Tokyo, Japan, 2017-2018. Int J STD AIDS. 2020 Nov;31(13):1272-1281.

26) Abe R, Akeda Y, Sugawara Y, Takeuchi D, Matsumoto Y, Motooka D, Yamamoto N, Kawahara R, Tomono K, Fujino Y,

Hamada S. Characterization of the Plasmidome Encoding Carbapenemase and Mechanisms for Dissemination of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. mSystems. 2020 Nov;5(6):e00759-20.

27) Sekizuka T, Itokawa K, Hashino M, Kawano-Sugaya T, Tanaka R, Yatsu K, Ohnishi A, Goto K, Tsukagoshi H, Ehara H, Sadamasu K, Taira M, Shibata S, Nomoto R, Hiroi S, Toho M, Shimada T, Matsui T, Sunagawa T, Kamiya H, Yahata Y, Yamagishi T, Suzuki M, Wakita T, Kuroda M. A Genome Epidemiological Study of SARS-CoV-2 Introduction into Japan. mSphere. 2020 Nov;5(6):e00786-20.

28) Ayibieke A, Kobayashi A, Suzuki M, Sato W, Mahazu S, Prah I, Mizoguchi M, Moriya K, Hayashi T, Suzuki T, Iwanaga S, Ablordey A, Saito R. Prevalence and characterization of carbapenem-hydrolyzing class D β-Lactamase-producing *Acinetobacter* isolates from Ghana. Front Microbiol. 2020 Nov;11:587398.

29) Yahara H, Hiraki A, Maruoka Y, Hirabayashi A, Suzuki M, Yahara K. Shotgun metagenome sequencing identification of a set of genes encoded by *Actinomyces* associated with medication-related osteonecrosis of the jaw. PLoS One. 2020 Nov;15(11):e0241676.

30) Hayashi M, Matsui M, Sekizuka T, Shima A, Segawa T, Kuroda M, Kawamura K, Suzuki S. Dissemination of IncF group F1:A2:B20 plasmid-harbouring multidrug-resistant *Escherichia coli* ST131 before the acquisition of *bla*$_{\text{CTX-M}}$ in Japan. J Grob Antimicrob Resist. 2020 Dec;23:456-465.

31) Abe M, Katano H, Nagi M, Higashi Y, Sato Y, Kikuchi K, Hasegawa H, Miyazaki Y. Potency of gastrointestinal colonization and virulence of *Candida auris* in a murine endogenous candidiasis. PLoS One. 2020 Dec;15(12): e0243223.

32) Kado I, Hisatsune J, Tsuruda K, Tanimoto K, Sugai M. The impact of fixed orthodontic appliances on oral microbiome dynamics in Japanese patients. Sci Rep. 2020 Dec;10(1):21989.

33) Hirabayashi A, Yahara K, Kajihara T, Sugai M, Shibayama K. Geographical distribution of Enterobacterales with a carbapenemase IMP-6 phenotype and its association with antimicrobial use: an analysis using comprehensive national surveillance data on antimicrobial resistance. PLoS One. 2020 Dec;15(12):e0243630.

34) Kawakita T, Mukai T, Yoshida M, Yamada H, Nakayama M, Miyamoto Y, Suzuki M, Nakata N, Takii T, Ryo A, Ohara N, Ato M. Point mutation in the stop codon of *MAV_RS14660* increases the growth rate of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis*. Microbiology. 2021 Feb;167(2).

35) Kumwenda GP, Sugawara Y, Akeda Y, Matsumoto Y, Motooka D, Tomono K, Hamada S. Genomic features of plasmids coding for KPC-2, NDM-5 or OXA-48 carbapenemases in Enterobacteriaceae from Malawi. J Antimicrob Chemother. 2021 Jan 1;76(1):267-270.

36) Yahara K, Suzuki M, Hirabayashi A, Suda W, Hattori M, Suzuki Y, Okazaki Y. Long-read metagenomics using PromethION uncovers oral bacteriophages and their interaction with host bacteria. Nat Commun. 2021 Jan; 12(1):27.

37) Sasaki T, Adachi T, Itoh K, Kubota M, Yamagishi T, Hirao M, Isawa H, Oishi K, Shibayama K, Sawabe K. Detection of *Bartonella quintana* infection among the Homeless Population in Tokyo, Japan, from 2013-2015. Jpn J Infect Dis. 2021 Jan. Online ahead of print.

38) Yoshida M, Sano S, Chien JY, Fukano H, Suzuki M, Asakura T, Morimoto K, Murase Y, Miyamoto S, Kurashima A, Hasegawa N, Hsueh PR, Mitarai S, Ato M, Hoshino Y. A novel DNA chromatography method to discriminate *Mycobacterium abscessus* subspecies and macrolide susceptibility. EBioMedicine. 2021 Feb;64:103187.

39) Igarashi M, Sawa R, Umekita M, Hatano M, Arisaka R, Hayashi C, Ishizaki Y, Suzuki M, Kato C. Sealutomicins, new enediyne antibiotics from the deep-sea actinomycete *Nonomuraea* sp. MM565M-173N2. J Antibiot. 2021 Feb; 74:291-299.

40) Mageiros L, Méric G, Bayliss SC, Pensar J, Pascoe B, Mourkas E, Calland JK, Yahara K, Murray S, Wilkinson TS, Williams LK, Hitchings MD, Porter J, Kemmett K, Feil EJ, Jolley KA, Williams NJ, Corander J, Sheppard SK. Genome evolution and the emergence of pathogenicity in avian *Escherichia coli*. Nat Commun. 2021 Feb;12(1):765.

41) Fukano H, Terazono T, Hirabayashi A, Yoshida M, Suzuki M, Wada S, Ishii N, Hoshino Y. Human pathogenic *Mycobacterium kansasii* (former subtype Ⅰ) with zoonotic potential isolated from a diseased indoor pet cat, Japan. Emerg Microbes Infect. 2021 Feb;10(1):220-222.

42) Eda R, Maehana S, Hirabayashi A, Nakamura M, Furukawa T, Sakai K, Kojima F, Sei K, Suzuki M, Kitasato H. Complete genome sequencing and comparative plasmid analysis of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from a hospital sewage water in Japan. J Glob Antimicrob Resist. 2021 Mar;24:180-182.

43) Lin YC, Kuroda M, Suzuki S, Mu JJ. Emergence of the mcr-1 colistin resistance gene in extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. J Glob Antimicrob Resist. 2021 Mar;24:278-284.

44) Yu L, Kitagawa H, Kayama S, Hisatsune J, Ohge H, Sugai M. Complete genome sequence of *Aeromonas caviae* strain MS6064, a *mcr-3*-carrying clinical isolate from Japan. Microbiol Resour Announc. 2021 Mar;10(9):e01037-20.

45) Hirabayashi A, Ha VTT, Nguyen AV, Nguyen ST, Shibayama K, Suzuki M. Emergence of a plasmid-borne tigecycline resistance in *Klebsiella pneumoniae* in Vietnam. J Med Microbiol. 2021 Mar;70(3).

46) Yoshida M, Fukano H, Asakura T, Suzuki M, Hoshino Y. Complete genome sequence of *Mycobacterium heckeshornense* JCM 15655T, closely related to a pathogenic non-tuberculous mycobacterial species *Mycobacterium xenopi*. Microbiol Resour Announc. 2021 Mar;10(10):e00020-21.

47) Kajihara T, Yahara K, Hirabayashi A, Shibayama K, Sugai M. Japan Nosocomial Infections Surveillance: current status, international collaboration, and future directions of a comprehensive antimicrobial resistance surveillance system. Jpn J Infect Dis. 2021 Mar;74(2):87-96.

48) Rimbara E, Suzuki M, Matsui H, Nakamura M, Morimoto M, Sasakawa C, Masuda H, Namura S, Osaki T, Nagata N, Shibayama K, Tokunaga K. Isolation and characterization of *Helicobacter suis* from human stomach. Proc Natl Acad Sci USA. 2021 Mar;118(13):e2026337118.

49) Yahara K, Ma KC, Mortimer TD, Shimuta K, Nakayama SI, Hirabayashi A, Suzuki M, Jinnai M, Ohya H, Kuroki T, Watanabe Y, Yasuda M, Deguchi T, Eldholm V, Harrison OB, Maiden MCJ, Grad YH, Ohnishi M. Emergence and evolution of antimicrobial resistance genes and mutations in *Neisseria gonorrhoeae*. Genome Med. 2021 Mar;13(1):51.

50) Osnes MN, Dorp LV, Brynildsrud OB, Alfsnes K, Schneiders T, Templeton KE, Yahara K, Balloux F, Caugant DA, Eldholm V. Antibiotic treatment regimes as a driver of the global population dynamics of a major gonorrhea lineage. Mol Biol Evol. 2021 in press.

51) Kajihara T, Yahara K, Hirabayashi A, Kurosu H, Sugai M, Shibayama K. Association between the frequency of surgeries for video-assisted thoracic surgery and the incidence of consequent surgical site infections: a retrospective observational study based on national surveillance data. BMC Infect Dis. 2021 in press.

52) Ito Y, Sasaki T, Li Y, Tanoue T, Sugiura Y, Skelly AN, Suda W, Kawashima Y, Okahashi N, Watanabe E, Horikawa H, Shiohama A, Kurokawa R, Kawakami E, Iseki H, Kawasaki H, Iwakura Y, Shiota A, Yu L, Hisatsune J, Koseki H, Sugai M, et al. *Staphylococcus cohnii* is a potentially biotherapeutic skin commensal alleviating skin inflammation. Cell Reports. 2021 in press.

53) Maehana S, Eda R, Hirabayashi A, Niida N, Nakamura M, Furukawa T, Ikeda S, Kojima F, Sakai K, Sei K, Kitasato H, Suzuki M. Natural factories that manufacture antimicrobial resistance genes: quadruple bla_{GES}–containing plasmids in *Aeromonas* and *Pseudomonas* species. Int J Antimicrob Agents. 2021 in press.

54) Soliman AM, Nariya H, Tanaka D, Yu L, Hisatsune J, Kayama S, Kondo K, Sugai M, Shimamoto T, Shimamoto T. Vegetable-derived carbapenemase-producing high-risk *Klebsiella pneumoniae* ST15 and *Acinetobacter baumannii* ST2 clones in Japan: coexistence of bla_{NDM-1}, bla_{OXA-66}, bla_{OXA-72}, and an Abar4-like resistance island in the same sample. Appl Environ Microb. 2021 in press.

55) Hirabayashi A, Yanagisawa E, Takahashi H, Yahara K, Boeing P, Wolfenden B, Ann V, Veng M, Lorne V, Nov V,

Darapheak C, Shibayama K, Suzuki M. On-site genomic epidemiological analysis of antimicrobial resistant bacteria in Cambodia with portable laboratory equipment. Front Microbiol. 2021 in press.

56) Yamagishi T, Doi Y. Insights on COVID-19 epidemiology from a historic cruise ship quarantine. Clin Infect Dis. 2021 in press.

57) Soliman AM, Ramadan H, Zarad H, Sugawara Y, Yu L, Sugai M, Shimamoto T, Hiott LM, Frye JG, Jackson CR, Shimamoto T. Coproduction of Tet(X7) conferring high-level tigecycline resistance, fosfomycin FosA4, and colistin Mcr-1.1 in *Escherichia coli* strains from chickens in Egypt. Antimicrob. Agents Chemother. 2021 in press.

2. 和文発表

1) 川田将也、三宅隆仁、近藤仁、奥芝俊一、山口亮、矢野公一、北原瑞枝、山岸拓也、松井珠乃、鈴木基. 札幌市内中核病院における医療従事者新型コロナウイルス感染症例の感染状況. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(5):82-84.

2) 名木 稔. カンジダに対する抗真菌薬の作用機序と耐性機構. 医学書院 臨床検査. 2020 年; 64(7):786-790.

3) 山岸拓也、神谷元、鈴木基、柿本健作. ダイヤモンド・プリンセス号新型コロナウイルス感染症事例における事例発生初期の疫学. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(7): 106-108.

4) 坂本壮、伊藤史生、中村聡志、中村朗、倉澤勘太、山田悟史、石出広、井元浩平、蜂巣友嗣、門倉圭佑、山岸拓也. 千葉県内知的障害者施設で集団発生した新型コロナウイルス感染症対応の経験. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(7):114-115.

5) 山口亮、東小太郎、小野嵩史、川西稔展、千葉紘子、寺田健作、中西香織、藤川知子、三觜雄、矢野公一、門倉圭佑、黒澤克樹、鵜飼友彦、黒須一見、山岸拓也. 札幌市における 2020 年 4 月以降の新型コロナウイルス感染症再流行の特徴. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(7):127-129.

6) 黒須一見、山岸拓也、黒澤克樹、門倉圭佑、原敏行、藤川知子、山口亮、三觜雄、矢野公一. 札幌市内中核病院における医療従事者の新型コロナウイルス感染症事例の感染伝播について. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(7): 129-130.

7) 山口亮、東小太郎、小野嵩史、川西稔展、千葉紘子、寺田健作、中西香織、藤川知子、三觜雄、矢野公一、黒澤克樹、門倉圭佑、鵜飼友彦、黒須一見、山岸拓也. 札幌市内の高齢者向け社会福祉施設における新型コロナウイルス感染症事例の特徴. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(7):130-131.

8) 鈴木里和、松井真理、菅井基行、池上千晶、山岸拓也、島田智恵、松井珠乃. 中小規模医療機関におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(8):19-20.

9) 上地あゆみ、大城春奈、下地法明、玉城 格、原國政直、宮城哲哉、高良武俊、木村太一、松井真理、鈴木里和、菅井基行、関塚剛史、黒田誠、粟国徳幸、手登根稔. 海外渡航歴のない患者より FRI 型カルバペネマーゼの新規バリアント *bla*$_{FRI-7}$ を保有する *Enterobacter cloacae* complex を検出した一症例. 日本臨床微生物学会雑誌. 2020 年; 30(4):273-278.

10) 山口亮、高木悠太、東小太郎、千葉紘子、寺田健作、中西香織、藤川知子、斉藤佳代子、三觜雄、矢野公一、田中宏之、渋間朋子、山谷智美、葛間明美、津田信一郎、貞本晃一、石井安彦、大原宰、人見嘉哲、廣島孝、中下愛実、中村晴奈、鵜飼友彦、芹沢悠介、島田智恵、砂川富正、鈴木基、山岸拓也. 札幌市・小樽市における新型コロナウイルス感染症の昼カラオケ関連事例における感染リスク因子. 病原微生物検出情報 IASR. 2020 年; 41(10):185-187.

11) 鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、近田俊文、菅井基行 ProtoCOL3 を用いた抗生物質の微生物学的力価試験法における阻止円の直径の測定に関する検討. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2020 年; 51(10):548-554.

12) 福田千恵美、松田明日香、松井真理、鈴木里和、関塚剛史、黒田誠、菅井基行. *bla*$_{GES-5}$ 保有 *Serratia marcescens* が検出された 1 症例. 日本臨床微生物学会雑誌. 2021 年; 31(1):17-21.

13) 山岸拓也、土橋酉紀、砂川富正、鈴木基、糸井利幸、松村淳子、山田典子、石井安彦、人見嘉哲、廣島孝、山口亮、斉藤佳代子、川西稔展、東小太郎、田中寿賀子、矢野公一. バスツアー関連新型コロナウイルス感染症集団感染

事例、2020 年 10 月. 病原微生物検出情報 IASR. 2021 年; 42(1):17-19.

14) 小林祐介、有馬雄三、神谷元、八幡裕一郎、山岸拓也、砂川富正、鈴木基、太田雅之、新城雄士、鈴木忠樹、岩本和世、森山彩野、高橋宜聖、抗体検査チーム、藤本嗣人、大西真、行政検査チーム、脇田隆字. 新宿区繁華街におけるいわゆる「接待を伴う飲食店」における新型コロナウイルス感染症の感染リスクに関する調査研究（中間報告）. 病原微生物検出情報 IASR. 2021 年; 42(1):21-22.

15) 松井真理、鈴木里和、菅井基行. アシネトバクター属菌の薬剤耐性機構と検査. 病原微生物検出情報 IASR. 2021 年; 42(3):3-4.

16) 有川衣美、村瀬浩太郎、大羽広宣、二宮正巳、松井真理、鈴木里和、菅井基行. TMB-1 メタロ-β-ラクタマーゼ産生 *Acinetobacter pittii* を検出した 1 例 病原微生物検出情報 IASR. 2021 年; 42(3):8-9 .

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

1) Matsui M, Suzuki S, Sugai M. National pathogen surveillance for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Japan, 2017-2018. 30th ECCMID, April, 2020. (COVID-19 の影響で現地開催は中止、アブストラクト公開のみ)

2) Yoshida M, Fukano H, Yamamoto K, Suzuki M, Morimoto K, Hasegawa N, Mitarai S, Ato M, Hoshino Y. Systematic evaluation of clarithromycin (CAM) resistance related mutations in *Mycobacterium abscessus* complex based on whole-genome sequencing analysis and drug susceptibility testing. ERS International Congress 2020, Austria (Virtual), September, 2020.

3) Yamagishi T. The tale of Diamond Princess. ID week 2020: Chasing the sun. Web conference, October, 2020.

4) Yahara K, Kajihara T, Eremin SR, Tornimbene B, Thamlikitkul V, StellingJ, Hirabayashi A, Anzai E, Wakai S, Matsunaga N, Hayakawa K, Ohmagari N, Sugai M, and Shibayama K. Comparison of de-duplication methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance. Antimicrobial Resistance – Genomes, Big Data and Emerging Technologies, UK (Virtual), November, 2020.

5) Yahara K, Ma KC, Mortimer TD, Shimuta K, Nakayama S, Hirabayashi A, Suzuki M, Jinnai M, Ohya H, Kuroki T, Watanabe Y, Yasuda M, Deguchi T, Eldholm V, Harrison OB, Martin C. J. Maiden MCJ, Grad YH, Ohnishi M. Emergence and evolution of cephalosporin-resistance genes and fluoroquinolone-resistance mutations spreading worldwide in *Neisseria gonorrhoeae*. Antimicrobial Resistance – Genomes, Big Data and Emerging Technologies, UK (Virtual), November, 2020.

6) Sugai M. The challenges of Biofilm infection in current Antimicrobial Resistant Bacteria. 1'st Jenderal Soedirman International Medical Conference (JIMC) 2020 In conjunction with 5th Annual Scientific Meeting (Temilnas) Consortium of Biomedical Science Indonesia (KIBI 2020) Nano-science in Health and Medical Fields: Current State and Opportunities, Indonesia (Web), Noveber, 2020.

7) Sugai M. WG1 Short Presentation. Tokyo AMR One Health Conference, Tokyo (Web), February, 2021.

8) Yamagishi Y. WG2 Short Presentation, Chair. Tokyo AMR One Health Conference, Tokyo (Web), February, 2021.

2. 国内学会

1) 臼井優、福田昭、鈴木仁人、矢原耕史、川西路子、横田伸一、佐藤豊孝、浅井鉄夫、田村豊. *mcr* 保有プラスミドが大腸菌の性状に及ぼす影響とゲノム解析. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

2) 佐藤豊孝、小笠原徳子、臼井優、鈴木 仁人、林航、長野則之、田村豊、高橋聡、横田伸一. コリスチン耐性菌の定着性と治療効果に及ぼす影響. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

3) 川上小夜子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行. JANIS データからみる日本の疫学. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

4) Le MN, Kayama S, Yoshikawa M, Hara T, Kashiyama S, Hisatsune J, Tsuruda K, Onodera M, Ohge H, Tsuga K, Sugai M. Oral colonization of long-term care facility residents with antimicrobial-resistant bacteria. Oral Carriage of AMR

Bacteria in a Long Term Care Facility's Residents—Prevalence and Risk Factor. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

5) 久恒順三. ゲノムから見た日本で分離された MRSA の変遷. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

6) 阿部雅広、名木稔、東祥嗣、宮﨑義継. 腸管からの *Candida auris* 播種と腸内細菌叢の関連に関するステロイド投与下マウスモデルによる解析. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

7) 梅山隆、名木稔、阿部雅広、犬飼達也、東祥嗣、壇辻百合香、中山靖子、山越智、上野圭吾、高塚翔吾、橋本ゆき、星野泰隆、福山まり、小川伸子、宮﨑義継. 糸状真菌症診断のピットフォールと新たな展開「培養法における工夫と注意点」. 第 94 回日本感染症学会総会・学術講演会、東京、2020 年 8 月

8) 池田光泰、鹿山鎭男、桑原隆一、荒井千夏、小松澤均、菅井基行、大毛宏喜. シカジーニアス ESBL 遺伝子型検出キット 2 の有用性. 第 69 回日本医学検査学会、東京、2020 年 9 月（日臨技学術奨励賞　優秀演題賞）

9) 深野華子、寺園司、平林亜希、吉田光範、鈴木仁人、和田新平、石井則久、星野仁彦. イエネコにおける *Mycobacterium kansasii* (subtype Ⅰ)感染症例とゲノム解析. 第 4 回日本ワンヘルスサイエンス学会年次学術集会、東京、2020 年 9 月

10) 菅井基行. 教育講演　耐性菌ナショナルサーベイランス. 第 68 回日本化学療法学会総会、神戸（オンライン発表）、2021 年 9 月

11) 山岸拓也. COVID-19 － 19 人の専門家からのアップデート「ダイヤモンドプリンセス号総括」. 第 61 回日本臨床ウイルス学会、2020 年 10 月オンライン配信

12) 名木稔、東祥嗣、鈴木健裕、知花博治、田辺公一、阿部雅広、堂前直、山越智、宮﨑義継. *Candida glabrata* におけるマイトファジー遺伝子 *ATG32* の転写調節機構の解明. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会、東京、2020 年 10 月

13) 阿部雅広、名木稔、東祥嗣、金城雄樹、宮﨑義継. Vulvovaginal candidiasis における NKT 細胞の役割解析. 第 64 回日本医真菌学会総会・学術集会、東京、2020 年 10 月

14) 深野華子、吉田光範、鈴木仁人、于連升、有川健太郎、岩朋忠、星野仁彦. 地域特異性の高い *Mycobacterium shigaense* のロングリードシークエンサーを使用した比較ゲノム解析. 第 95 日本結核・非結核性抗酸菌症学会、横浜、2020 年 10 月

15) 山岸拓也. クラミジア. 第 68 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 66 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会、仙台、2020 年 10 月

16) Kayama S, Sugai M. The launch of "Japanese Antimicrobial Resistant Bacterial Surveillance (JARBS)". 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 67 回日本化療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2020 年 10 月

17) 鹿山鎭男、菅井基行. JARBS(Japan Antimicrobial Resistant Bacterial Surveillance)が目指すこと. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 第 67 回日本化療法学会東日本支部総会 合同学会、東京、2020 年 10 月

18) 菅井基行. AMR2020 － 我が国の薬剤耐性の現状 － 皮膚科医に向けたメッセージ. 第 72 回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2021 年 10 月オンライン開催

19) 榮山新、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. カルバペネマーゼ遺伝子多重保持株 *Acinetobacter baumannii* OCU_Ac16a が有する bla_{TMB-1} と bla_{OXA-58} の機能性. 第 90 回日本感染症学会西日本地方会学術集会・第 63 回日本感染症学会中日本地方会学術集会・第 68 回日本化学療法学会西日本支部総会、福岡、2020 年 11 月

20) 徳永健吾、林原絵美子、松井英則、鈴仁人、大崎 敬子、井田陽介、三好佐和子、長濱清隆、大野亜希子、三好潤、久松理一、岡本晋. 胃 MALT リンパ腫における *Helicobacter suis* 感染症の関与. 2020 年度日本消化器関連学会 (JDDW 2020)、神戸、2020 年 11 月

21) 菅井基行. AMR に関する最近の話題 -これまでとこれから-. 第 49 回薬剤耐性菌研究会、埼玉県熊谷市、2020 年 11 月

22) Hirabayashi A, Yahara K, Kajihara T, Sugai M, Shibayama K. IMP-6 表現型を有する腸内細菌目細菌の地理的分布と抗菌薬使用量との関連性:薬剤感受性全国サーベイランスデータを用いた解析. 第 49 回薬剤耐性菌研究会、埼玉県熊谷市、2020 年 11 月

23) 川上小夜子、矢原耕史、柴山恵吾、菅井基行. 2019 年の JANIS データから見る薬剤耐性菌の動向. 第 49 回薬剤耐性菌研究会、埼玉県熊谷市、2020 年 11 月

24) 曽我英司、林航、飯村将樹、泉克俊、吉田諭史、于連升、鹿山鎭男、菅井基行、長野由紀子、長野則之. 病院下水由来複数菌種に潜在する GES-5, -24 カルバペネマーゼ産生菌及び国内で初めての GES-24・VEB-1 ESBL 同時産生菌の出現. 第 49 回薬剤耐性菌研究会、埼玉県熊谷市、2020 年 11 月

25) 林航、曽我英司、飯村将樹、泉克俊、吉田諭史、于連升、鹿山鎭男、菅井基行、長野由紀子、長野則之. 病院下水環境に認められた *bla*$_{GES-5}$, *bla*$_{GES-24}$ 及び *bla*$_{GES-24}$/*bla*$_{VEB-1}$ 保有プラスミドの特性解析. 第 49 回薬剤耐性菌研究会、埼玉県熊谷市、2020 年 11 月

26) 阿部雅広、名木稔、金城雄樹、宮崎義継. マウスモデルを用いた vulvovaginal candidiasis に対する免疫学的応答の解析. 真菌症フォーラム 2020 学術集会、2020 年 11 月オンライン開催

27) 星野泰隆、壇辻百合香、阿部雅広、名木稔、上野圭吾、中山靖子、小川伸子、福山まり、橋本ゆき、福島深雪、越川拓郎、岡本圭祐、宮澤拳、高塚翔吾、梅山隆、山越智、石川淳、宮崎義継. 病原真菌の培養検査における現状. 真菌症フォーラム 2020 学術集会、2020 年 11 月オンライン開催

28) 菅井基行. JARBS 研究の進捗状況について. 令和2年度 感染対策委員会(全国国立病院院長協議会)、2020 年 11 月オンライン開催

29) 山岸拓也. 共通講習 2:感染対策「新型コロナウイルスの施設内感染を防ぐには」. 第 33 回日本性感染症学会学術集会、2020 年 12 月オンライン開催

30) 藤倉裕之、山岸拓也、高橋琢理、佐藤哲郎、加納和彦、錦信吾、砂川富正、松井珠乃、鈴木基、大西真. 2015-2018 年の異性間性的接触における梅毒発生動向の傾向. 第 33 回日本性感染症学会学術集会、2020 年 12 月オンライン開催

31) 鈴木仁人、林原絵美子、松井英則、徳永健吾、柴山恵吾. *Helicobacter suis* 胃粘膜感染と病態発症. 第 26 回日本ヘリコバクター学会学術集会、静岡県浜松市、2021 年 1 月

32) 菅井基行. わが国の AMR 対策―これまで・これから―. “One Health”国際フォーラム、福岡(オンライン発表)、2021 年 1 月

33) 菅井基行. JANIS と連動した薬剤耐性菌サーベイランス JARBS. 第 350 回 ICD 講習会(第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会時)、2021 年 1 月 31 日オンライン開催

34) 松井真理、鈴木里和、梅山隆、河合康洋、宮崎義継、菅井基行. 地方衛生研究所等におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌検査の外部精度評価. 第32回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021 年 1 月-2 月オンライン開催

35) 塩本高之、児玉洋江、塩座美夏、谷村睦美、金戸恵子、木村恵理子、松井真理、鈴木里和、菅井基行. カルバペネマーゼ産生性試験で陽性を示す, AmpC b-ラクタマーゼ遺伝子 *bla*$_{ACT-28}$ 保有 *Enterobacter cloacae* complex について. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021 年 1 月-2 月オンライン開催

36) 川上小夜子、矢原耕史、安斎栄子、若井智世、青木貞男、平林亜希、梶原俊毅、柴山恵吾、菅井基行, 厚生労働省院内感染サーベイランス(JANIS)検査部門報告 薬剤耐性菌の動向 2008～2019 年公開情報を中心に. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021 年 1 月-2 月オンライン開催

37) 鹿山鎭男. 薬剤耐性菌サーベイランス JARBS-GNR 中間報告. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021 年 1 月-2 月オンライン開催

38) 久恒順三. 目的に応じた MRSA 遺伝子解析法. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021 年 1 月-2 月オンライン開催

39) 名木稔. *Candida auris* と抗真菌薬耐性. 第 32 回日本臨床微生物学会総会・学術集会、2021 年 1 月-2 月オンライン開催

40) 鈴木仁人. ブドウ糖非発酵グラム陰性桿菌の薬剤耐性

とその制御. 第 55 回緑膿菌感染症研究会、2021 年 2 月オンライン開催

41) 鈴木仁人、浅井さとみ、平林亜希、氣駕恒太朗、相羽由詞、渡邊真弥 、梅澤和夫、宮地勇人、崔龍洙、柴山恵吾. アシネトバクター属菌に拡散している cGAS 遺伝子陽性プラスミド. 第 55 回緑膿菌感染症研究会、2021 年 2 月オンライン開催

42) 榮山新、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. *Acinetobacter baumannii* OCU_Ac16a が保持する bla_{TMB-1} と bla_{OXA-58} の機能性の検討. 第 55 回緑膿菌感染症研究会、2021 年 2 月オンライン開催

43) 藤本凜太郎、坪内泰志、鈴木仁人、仁木誠、仁木満美子、老沼研一、山田康一、掛屋弘、金子幸弘. 当院で分離された多剤耐性 *Acinetobacter baumannii* 株の完全長ゲノム解析から見出した知見. 第 55 回緑膿菌感染症研究会、2021 年 2 月オンライン開催

44) Yahara K, Suzuki M, Hirabayashi A, Suda W, Hattori M, Suzuki Y, Okazaki Y. Long-read metagenomics using PromethION uncovers oral bacteriophages and their interaction with host bacteria. 第 15 回ゲノム微生物学会、2021 年 3 月オンライン開催

45) 伴野詢太、浅野航佑、鈴木仁人、横山武司、田中良和. クライオ電子顕微鏡単粒子解析を用いたアミノ配糖体抗菌薬の新規作用機序の探索. 日本生物物理学会北海道支部・東北支部合同例会、2021 年 3 月オンライン開催

46) 鈴木仁人. ESKAPE 病原細菌の薬剤耐性プラスミド. 日本農芸化学会 2021 年度大会、2021 年 3 月オンライン開催

47) Yahara H, Hiraki A, Maruoka Y, Hirabayashi A, Suzuki M, Yahara K . Shotgun metagenome sequencing identification of a set of genes encoded by Actinomyces associated with medication-related osteonecrosis of the jaw. . 第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月オンライン開催

48) 鈴木仁人. 日本の科学技術を推進するネットワーク構築. 第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月オンライン開催

49) 矢原耕史、矢原寛子、平木昭光、丸岡豊、平林亜希、鈴木仁人. 唾液のショットガンメタゲノム解読による口腔疾患に関連する微生物と遺伝子の同定. 第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月オンライン開催

50) 橋本佑輔、鈴木仁人、野村隆浩、久留島潤、平川秀忠、谷本弘一、富田治芳. VanA 型バンコマイシン耐性遺伝子群保有線状プラスミドによる VRE 院内感染事例の解析. 第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月オンライン開催

２２．感染症危機管理研究センター

センター長　　齋藤　智也

概 要

令和元年度まで国立感染症研究所感染症疫学センター（IDSC）が担っていた業務には、疫学調査研究、ワクチン効果副反応による調査研究、検査技術研修の実施、並びに感染症の健康危機情報の収集などがあるが、東京オリンピック・パラリンピックや大阪・関西万博などによる感染症発生の危機の可能性を控え、感染症疫学センターの業務が多岐に亘っており、一つのセンターでは十分な役割を果たすことが困難となってきていた。このような状況の中、感染症疫学センターの危機対応関連部門、病原診断部門、講習部門を分離して感染症危機管理研究センターを新設し、疫学部門を感染症疫学センターが、危機管理部門を感染症危機管理研究センターが担うことでそれぞれの分野をより効率的、かつ強力に推進することとなった。

感染症危機管理研究センター（CEPR）は、令和2年4月1日に設置された。感染症疫学センターの旧第三室（病原診断室）、旧第四室（細菌研修室）、旧第五室（ウイルス研修室）を移設し、新たに第一室（緊急時対応室）、第二室（クライシスコミュニケーション室）を設置して加え、5室体制で発足した。国立感染症研究所の感染症危機に対する情報集約・コミュニケーションハブとして、感染症危機対応の迅速化・円滑化を進めるとともに、病原診断検査・開発・研究・研修等を通じて国内の病原体検査体制の向上への貢献を通じて、我が国の感染症危機管理の向上を目指している。令和3年1月1日、齋藤智也がセンター長として着任した。CEPR 第一室～第五室の概要は以下のとおりである。

第一室（緊急時対応室）

感染症及び特定疾病の危機管理に関する調査及び研究並びに関係行政機関への連絡調整を行う室である。第一室は、危機発生時等の緊急時に緊急時対応センター（EOC；Emegency Oepations Center）をアクティベーションし、関係するセンター・部と協力し、所内の情報集約・調整拠点として、また対厚生労働省等、外部機関との窓口として機能する。

第二室（クライシスコミュニケーション室）

感染症その他の特定疾病の危機管理に関する情報の提供を行う室である。平時はサイエンスコミュニケーションを促進し、感染症の知見を広く、正しく、わかりやすく伝えていく役割を担い、緊急時にはクライシス・緊急事態コミュニケーションを戦略的に行う。またこれらに資する研究を行う室である。

第三室（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を行い、令和2年度は、新型コロナウイルスの検査対応を実施し、PCR 検査を実施した。IDSC 第一・二・三室やウイルス第二部、感染病理部等、所内の多くの部・センターと連携しながら、例えば原因不明の急性脳炎患者からの網羅的遺伝子検査など、病原体診断に関した研究を進めている。

第四室（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。又、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等も行っている。

第五室（ウイルス研修室：岡本貴世子室長）

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。

令和2年度は、COVID-19 の発生に伴う危機管理業務を中心に推移し、特に三室～五室は検査への対応に注力することとなった。流行状況を鑑み、研修業務も集合研修として企画された研修の開催を見送らざるを得なくなったが、新たにウェブ講義による地方衛生研究所向けの講習を提供することができた。新たに設置された一室・二室は、体制整備を進めるとともに、SARS-CoV-2 変異株のリスク評価の取りまとめと公表が中心業務となった。

業績

調査・研究

I. 感染症の危機管理に関する研究

1. 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

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)」においては、感染症の危機管理能力の脆弱性評価と強化方策の実装を行うことを目的としている。特に、(1)脆弱性評価ガイダンスを活用した地域の感染症危機管理能力の評価と実装、(2)実働・机上の訓練・演習を通じた脆弱性評価手法の検討、(3)感染症患者の医療体制のキャパシティ評価、(4)疫学調査機能の強化方策の実装研究に取り組んでいる。また、新型コロナウイルス感染症の勃発に伴い、追加研究として新型コロナウイルス感染症対策の評価、迅速検査法の確立、迅速診断キットのための抗体作成、発生動向の把握・分析、新型コロナウイルス感染症環境ガイドラインの作成、ワクチンの開発、救急医療体制の構築を行うことに取り組んだ。
[齋藤智也、神谷元(感染症疫学センター)、長谷川直樹(インフルエンザウイルス研究センター)、調恒明(山口県環境保健センター)、中里栄介(佐賀県鳥栖保健福祉事務所)、中瀬克己(吉備国際大学)、田村大輔(自治医科大学)、大曲貴夫(国立国際医療研究センター)、市川学(芝浦工業大学)、中島一敏(大東文化大学)、松山晃文(大阪府立病院機構)、河岡義裕・石井健(東京大学医科学研究所)、梁 明秀(横浜市立大学)、森田公一(長崎大学熱帯医学研究所)、西浦博(京都大学)、林基哉(北海道大学)、金勲(国立保健医療科学院)、森下竜一(大阪大学)、志馬伸朗(広島大学)]

2. 大規模イベント時の健康危機管理対応に資する研究

厚生労働科学研究「大規模イベント時の健康危機管理対応に資する研究(研究代表者:齋藤智也)」において、オリンピック・パラリンピック等、大規模な国際イベント(マスギャザリングイベント)における様々な健康危機の発生リスクに対し、リスクの評価、対応能力の開発、中長期的な対応能力の向上に結びつける遺産化のために、体系的な記録や検証に取り組んでいる。2020年度は本来東京オリンピック・パラリンピック大会が行われる予定であったが、新型コロナの発生により延期となったため、2019 年度に実施された G20 サミット、ラグビーワールドカップにおける対策の事後評価を行い、マスギャザリングイベントにおける公衆衛生対策に関する教訓をとりまとめた。また、コロナ禍で延期された東京オリンピック・パラリンピック大会について、官学連携体制の経過をまとめたほか、ホストタウン等を含めた新型コロナウイルス感染症対策の検討を行い、ホストタウン向けにはアクションチェックリストを作成し提供した。また、東京オリンピック・パラリンピック大会開催に向けた新型コロナ対策に関して進捗を整理した。
[齋藤智也;島田智恵(感染症疫学センター)、冨尾淳(東京大学)、森村尚登(東京大学)、和田耕治(国際医療福祉大)、市村康典(岡山県)]

3. CBRNE テロリズム等の健康危機事態における対応能力の向上及び人材強化に関わる研究

厚生労働科学研究「CBRNE テロリズム等の健康危機事態における対応能力の向上及び人材強化に関わる研究(研究代表者:近藤久禎)」において、主に呼吸器感染以外の感染症・生物テロ問題を扱う国際的なグループ、世界健康安全保障行動グループバイオロジカルワーキンググループ(GHSAG BioWG)の国外の専門家ネットワークを通じた科学的・政策的知見を集約し、各国政策・実事例の分析、結果を国内政策にフィードバックすることを目的とした研究に取り組んでいる。また、明らかにされた課題・改善点に継続的に対応していくために、本邦の健康危機管理対応に資する人材強化事項を検討している。今後、新型コロナウイルス感染症への対応から、少しずつ生物テロ対応への教訓をフィードバックしつつ、有事の際の意見交換枠組みを維持していく。
[齋藤智也]

4. バイオテロ対策のための備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの備蓄等, バイオテロ病原体への検査対応, 公衆衛生との関連のあり方に関する研究

厚生労働行政推進調査事業費補助金「バイオテロ対策のための備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの備蓄等, バイオテロ病原体への検査対応, 公衆衛生との関連のあり方に関する研究(研究代表者:西條政幸)」において、生物テロ対策の公衆衛生対策、とくに公衆衛生セクターとセキュリティセクターの連携の在り方について検討を進めてきた。本年度は、生物テロ対応に関して、医療関係者のみならず、非医療関係者にも利用可能な研修資料を作成し、実研修に提供する

こと、また、当研究班の前身の研究班で開発してきた、公衆衛生機関とセキュリティ関係機関の連携強化を目的とした演習素材の改良に向けた検討を主な目的としている。諸外国の文献調査に基づき、公衆衛生・医療関係者のみならず、非医療関係者を含めた対象者への研修素材の作成や、今後の公衆衛生機関と法執行機関の連携研修プログラムの検討を行っている。
［齋藤智也］

5. 新型コロナウイルス感染症に対する疫学分析を踏まえたクラスター対策等の感染拡大防止策の統括研究

厚生労働科学特別研究「新型コロナウイルス感染症に対する疫学分析を踏まえたクラスター対策等の感染拡大防止策の統括研究（研究代表者：鈴木基）」において、新型コロナウイルス感染症対応におけるクラスター対策班に従事した活動経験から、中長期的な視点での感染症対策の危機管理能力の向上・公衆衛生対応の評価の観点から今後の課題の検討を行うことを目的として、成功要因と問題点のナラティブな検討を行った。初期に感染者・死亡者数を抑制できた要因としては、初期の疾病検知と積極的疫学調査による流行動態と疾病スペクトラムの的確な把握、監視から対策への迅速な連携、市民の行動変容に結びついたことが挙げられた。問題点としては、データマネジメントの不備とコミュニケーションへの十分な資源投入がなされていないことを指摘した。
［齋藤智也］

6. 新型コロナウイルス感染症等の感染症サーベイランス体制の抜本的拡充に向けた人材育成と感染症疫学的手法の開発研究

厚生労働科学特別研究事業「新型コロナウイルス感染症等の感染症サーベイランス体制の抜本的拡充に向けた人材育成と感染症疫学的手法の開発研究（研究代表者：鈴木基）」において、感染症サーベイランスの実務を担う専門家の育成に向けたカリキュラムを検討し、教材をパワーポイント形式で開発することを目的として、パンデミック対策および感染症疫学用語の基礎知識、そして SARS-CoV-2 変異株に関する教育資料を作成した。［齋藤智也］

II. 感染症の疫学、検査診断法等に関する研究

1. 新型コロナウイルス検査における検体プール化に関する研究

新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業である、「一類感染症等の患者発生時に備えた臨床的対応に関する研究（加藤康幸（国際医療福祉大学）」研究の一環として、厚生労働科学研究　研究代表者：国立感染症研究所感染症危機管理研究センター　第三室長　藤本 嗣人として、新型コロナウイルス核酸検査における唾液検体等のプール化（混合）の影響について検討した。複数の核酸検査系を用いて、検体プール化の検査感度への影響を評価し、結果を厚生労働省を通じて公表した。
［藤本嗣人、花岡希］

2. 急性脳炎・急性弛緩性麻痺の原因究明に関する研究

感染症疫学センターとともに、令和 2 年度厚生労働科学研究「急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症等の神経疾患に関する網羅的病原体検索を含めた原因及び病態の究明、治療法の確立に資する臨床疫学研究」（研究代表者：多屋馨子、研究分担者：藤本嗣人）の一環として、感染研での倫理承認後、病原体不明急性を行い、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。

危機管理研究センター第四室で脳炎に関与しうる主要な病原体 33 種類について、multipelx PCR および個別の PCR により解析した。急性脳炎の病原体解析も同様に実施した。
［藤本嗣人、花岡希、野尻直未；多屋馨子、新橋玲子、新井智、森野紗衣子、北本理恵、田中佑汰、砂川富正（感染症疫学センター）、清水博之（ウイルス第二部）、林昌宏、前木孝洋（ウイルス第一部）、四宮博人（愛媛県立衛生環境研究所）、八代将登（岡山大学）、原誠（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）］

3. 国内における手足口病の発生動向に関する研究

令和 2 年度は COVID-19 の流行に伴う感染対策が取られたためか、手足口病の患者数が極めて少なかった。マスコミからの取材に対応し、患者数が前年の 100 分の 1 程度に減少していることを公表した。
［藤本嗣人、花岡希、野尻直未、小長谷昌未］

4. アデノウイルスに対するオゾン消毒剤の評価研究

アデノウイルスは一般的な手指消毒薬に対して高い耐性を持つ。アデノウイルスによる流行性角結膜炎や咽頭結膜熱は、限られた空間で爆発的に感染し、院内感染などのアウトブレイクを引き起こしている。そこでオゾン入りアルコール製剤である ALTANT（イーテック、神戸市）のアデノウイルスに対する有効性を国立感染症研究所と E-TECH との共同研究として評価した。異なる型のアデノウイルスを 9:1 の割合で混合し、TCID50 アッセイを用いて、異なる時間帯（フラッシュ（3 秒未満）から 5 分）の瞬間反応後にアデノウイルスの生存率を測定した。その結果、ALTANT はアデノウイルスの型類によって反応性に若干の差はあるものの、反応後 1 分以内にアデノウイルスの力価が低下することが示された。アデノウイルスの生存率は 4log10 以上減少し、3 分後にはウイルスは完全に死滅した。JJID で論文報告した。

［花岡希、野尻直未、高橋健一郎、藤本嗣人；吉田英一（E-TECH）］

5. 日本および世界で流行しているエンテロウイルスの検査法およびその活用法に関する検討

令和 2 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）の一環として研究した。急性弛緩性麻痺の病原体とであるエンテロウイルス D68 の高感度検出法の改良を進めた。

［藤本嗣人、花岡希；清水博之（ウイルス第二部）］

6. 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

令和元年度厚生労働科学研究「急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症等の神経疾患に関する網羅的病原体検索を含めた原因及び病態の究明、治療法の確立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、急性弛緩性脊髄炎症例について病原体検索を行った。

［藤本嗣人、花岡希、小長谷昌美： 多屋馨子（感染症疫学センター）］

7. 全国的なパレコウイルス 3 型流行時における筋痛症患者からのウイルス検査

ヒトパレコウイルス 3 型（PeV-A3）感染による成人の流行性筋痛症の 1 例を経験した．近位筋優位の筋痛・筋力低下，握力低下を認める患者では，PeV-A3 感染による流行性筋痛症を鑑別に挙げ，乳幼児との sick contact を聴取し適切に診断をつけることが重要であることを日本内科学会誌に報告した。

［花岡希、藤本嗣人；中村ふくみ（東京都立墨東病院）］

8. 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 89 型が日本でも流行していることを兵庫県立健康科学研究所、小林小児科(藤枝市)等とともに明らかにして論文公表した。

［高橋健一郎、花岡希、藤本嗣人、小長谷昌未；小林正明（小林小児科）、荻美貴（兵庫県立健康科学研究所）］

9. パレコウイルスに関する研究

パレコウイルスは小児を中心に呼吸器感染症を引き起こしている。小児では敗血症等の重症感染症を起こすこともある。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］

10. 性感染症関連病原体の病原性解明のための研究

尿道炎などに関連する病原体の探索を仙台市泌尿器科クリニック　あいクリニック（伊藤晋院長）と共同で実施した。また、プライベートケアクリニック東京（新宿、尾上泰彦院長）の院長と萬田和久、客員研究員として花岡希、国立感染症研究所細菌第一部の大西真や中山周一らと、梅毒感染症の簡便な検査法について検討を行った。

［花岡希、野尻直未、藤本嗣人］

11. 郵送検査の精度管理に関する研究

アルバコーポレーションと国立感染症研究所との共同研究で、クラミジア・淋菌・トリコモナス・カンジダ・HIV・梅毒・B 型肝炎・C 型肝炎・マイコプラズマ・ウレアプラズマ・一般細菌検査・HPV・HSV・アデノウイルスの 郵送検査における検査法の改良や精度管理に関する研究を実施した。また、令和 2 年度厚生労働科学研究費

補助金　エイズ対策政策研究事業「HIV 検査体制の改善と効果的な受験勧奨のための研究」研究代表者　今村顕史（東京都立駒込病院）　分担研究者　渡曾　睦子（東京医療保健大学）　分担研究課題「HIV 検査・郵送検査における制度・法的根拠の課題分析と解決方法の検討」の協力研究者として「郵送検査における病原体診断について」を担当し、HIV 郵送検査ガイドラインの検討等も行った。

［花岡希、萬田和志（アルバコーポレーション）、藤本嗣人］

12. Brincidofovir に関する研究

シンバイオ製薬株式会社と国立感染症研究所との共同研究で、Brincidofovir の抗ウイルス活性を、アデノウイルスやヘルペスウイルス、BK ウイルス等に対して評価した。

［花岡希、安仁屋恵（シンバイオ製薬株式会社）、藤本嗣人］

13. 風疹ウイルスゲノム検出法の検討

風疹の発症時にはウイルスの排出が多いためウイルスゲノム検出による検査が有用であることから、日本ではリアルタイム PCR が汎用されているが、高価な装置が必要であり反応に約2時間を要する。消光プライマーを用いた消光LAMP法は、反応時間が短く操作も簡便で、高度な設備を必要としない等の長所があり、特に臨床現場での検査（POCT；Point Of Care Testing）や途上国では有用なウイルスゲノム検出法の一つである。本研究では、本法を用いた風疹ウイルスゲノム検出法（風疹 Q-LAMP 法）は従来の風疹リアルタイム PCR 法と比較して遜色ない感度が得られることを確認した。さらに、コールドチェーンの不要な乾燥試薬の適用及び更なる簡便化を目的として核酸抽出操作の不要な系について検討を行っている。

［岡本貴世子、門澤和恵、青沼えり（埼玉県衛生研究所）］

14. *Escherichia albertii* に関する研究

食中毒細菌 *Escherichia albertii* の疫学に関して研究を行った。R2 年度は本菌の運動性に関する検討および培養法に関して検討した。運動性では、本菌は通常の培養温度（35℃～37℃）では、運動性を示さないものの、希釈した培地中にて、25℃程度の培養温度で、8 時間程度培養すると運動性が確認できる菌株が存在することが分かった。この性状は本菌の同定に役立つ性状の一つと考えられた。培養法では、基礎培地として緩衝ペプトン水を用いない方法に関して検討を行った。その結果、他の培地であっても同様の発育支持性を示すことが判明し、今後の検討に資する結果が得られた。

［村上光一、平井晋一郎、土井朋美、山田珠美］

15. 腸管出血性大腸菌の反復配列多型解析法の検証

腸管出血性大腸菌（EHEC）の分子疫学的解析法である反復配列多型解析（MLVA）法は、菌株の類似性を判定する能力に優れていることから、全国の地方衛生研究所で広く用いられている。検査の過程では EHEC 菌株を継代培養する必要があるが、継代培養により発生した変異が MLVA 法の結果に与える影響はあまり調査されていない。本研究では、過去に当所に搬入された EHEC 菌株の中から、MLVA 法で様々な TR 数を持つ約 20 菌株の EHEC を選び、これらを 20 日間連続で継代培養して TR の変化頻度を調査した。その結果、全ての供試菌株において、継代培養は MLVA 法の結果に大きな影響を与えなかったことから、本法は分子疫学的解析法として有効性が高いことが明らかとなった。

［大西真（細菌第一部）、平井晋一郎、泉谷秀昌（細菌第一部）］

16. 成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの充実化に資する研究

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）の一環として、侵襲性細菌のうち侵襲性インフルエンザ菌の血清型別等を担当した。R2 年度は新型コロナウイルス感染症の流行の影響もあり、搬入検体数が 30 検体のみであった。血清型の結果は NTHi が 27 件、f 型が 2 件、e 型が 1 件であった。

［村上光一、平井晋一郎、土井朋美、山田珠美；久保田眞由美（細菌第二部）、大石和徳（富山県衛生研究所）］

III. 学会等の中での研究、貢献

1. 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. 新型コロナウイルス感染症の検査に関する業務

1. 戸山庁舎での対応

国立感染症研究所の全所的検査対応において、副所長の指揮のもと、戸山庁舎における班長として藤本、村山庁舎における班長として岡本は、各部と連携しながら新型コロナウイルスのリアルタイム PCR 検査を実施した。2021 年 3 月 31 日までに、戸山庁舎において 8,875 件の検査を実施した。陽性検体はウイルス分離チームおよびゲノム解析センターでウイルスの性状解析およびゲノム解析され、日本の感染症対策に活用された。

［藤本嗣人、花岡希、野尻直未、吉田初佳（第三室）；林昌宏（ウイルス第一部）、加藤 孝宣（ウイルス第二部）、草川 茂（エイズ研究センター）、小泉 信夫（細菌第一部）、立川 愛（エイズ研究センター）、田島 茂（ウイルス第一部）、前木 孝洋（ウイルス第一部）、中山 絵里（ウイルス第一部）、谷口 怜（ウイルス第一部）、小川 基彦（ウイルス第一部）、 Aly Hussein、若江 亨祥、深野 顕人（ウイルス第二部）、深澤 征義（細胞化学部）、森嶋 康之（寄生動物部）、加来 義浩（獣医科学部）、名木 稔（薬剤耐性研究センター, 真菌部）、齊藤 恭子（細胞化学部）、下川 周子（寄生動物部）、作道 隆（品質保証管理部）、星野泰隆、宮澤拳（真菌部）、石川 晃一、原田 恵嘉、松岡佐織、菊地正、石井洋、関紗由里、中村碧、三木祥治、Lucky Ronald Runtuwene（エイズ研究センター）、伊豫田淳、高橋英之、泉谷秀昌、三戸部治郎、山本章治、森田昌知、李謙一、志牟田健（細菌第一部）(以上、戸山庁舎)］

２．村山庁舎での対応

村山庁舎では、水際対策の一環として空港検疫で採取された 2183 検体の SARS-CoV-2 ゲノム検出リアルタイム PCR 検査を村山庁舎検査チームで実施し、うち 6 検体が陽性であった。国内のクラスター対策の一環として、クラスターの発生した自治体の要請に従い、696 検体の SARS-CoV-2 ゲノム検出リアルタイム PCR 検査を実施し、うち 22 検体が陽性であった。

［岡本貴世子、荒木久美子、村上光一、平井晋一郎、高山郁代、齋藤慎二、高橋仁（インフルエンザウイルス研究センター）、大槻紀之（ウイルス第三部）、鈴木亮介（ウイルス第二部）、倉光球（血液・安全性研究部）、柊元巌（病原体ゲノム解析研究センター）、見理剛（細菌第二部）］

３．ゲノム解析

SARS-CoV-2 N501Y 変異株が国内で検出されたことを受け、SARS-CoV-2 変異株モニタリングの一環として、民間検査会社と協力し、国内で SARS-CoV-2 陽性となった 1,461 検体の全ゲノム配列を次世代シーケンスにより決定した。得られたゲノム情報は病原体ゲノム解析研究センターにて解析後、 Global Initiative on Sharing All Influenza Data （GISAID）に登録した。

［岡本貴世子、荒木久美子、平井晋一郎、高橋仁（インフルエンザウイルス研究センター）、大槻紀之（ウイルス第三部）、鈴木亮介（ウイルス第二部）、倉光球（血液・安全性研究部）、柊元巌、黒田誠（病原体ゲノム解析研究センター）、見理剛（細菌第二部）］

4. 徳之島での新型コロナウイルス検査の実施（モバイルラボの運営管理）

小泉信夫（細菌第一部）指揮の下、モバイルラボとして鹿児島県環境保健センターと連携し、徳之島での緊急新型コロナウイルス検査を実施した。検査の実施に伴い、移動可能な検査ラボをセットアップした。

［花岡希、濵田結花（鹿児島県環境保健センター）、本田俊郎（鹿児島県環境保健センター）、小泉信夫（細菌第一部）］

II. 感染症危機に関する情報収集・発信業務

1. 新型コロナウイルス感染症の変異株リスク評価に係る業務

2020 年 12 月に英国で感染・伝播性が非常に高い新規変異株が検出されて以来、変異株に関して、遺伝子配列情報に基づく性状の分析、実験室データでの感染・伝播性や免疫原性に関する評価、疫学的評価、海外での諸施策、対策に関する情報を収集・整理し、日本におけるリスク評価や対応に関する推奨事項を取りまとめてホームページ等で公開した（表）。厚労省アドバイザリーボードにも資料提出し議論の材料として活用された。

表 変異株に関するリスク評価

作成日	タイトル
2020/12/22 16:00 時点	英国における新規変異株 (VUI-202012/01)の検出について(第1報)
2020/12/25 20:00 時点	感染性の増加が懸念されるSARS-CoV-2 新規変異株について(第2報)(タイトル変更)
2020/12/28 14:00 時点	感染性の増加が懸念されるSARS-CoV-2 新規変異株について(第3報)
2021/01/02 15:00 時点	感染性の増加が懸念されるSARS-CoV-2 新規変異株について(第4報)
2021/01/10	ブラジルからの帰国者から検出された新型コロナウイルスの新規変異株について
2021/01/25 18:00 時点	感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される SARS-CoV-2 の新規変異株について(第5報)(タイトル変更)
2021/02/12 18:00 時点	感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される SARS-CoV-2 の新規変異株について(第6報)
2021/03/03 14:00 時点	感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される SARS-CoV-2 の新規変異株について(第7報)
2021/03/12	フィリピンからの入国者から検出された新型コロナウイルスの新規変異株について

[鈴木基(感染症疫学センター)、鈴木忠樹(感染病理部)、新城雄士(感染病理部・感染症疫学センター)、黒田誠(病原体ゲノム解析研究センター)、齋藤智也]

III. 研修業務

1. 国立保健医療科学院による研修

(1)短期研修:ウイルス研修

令和 2 年 11 月 9 日から 27 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)を行う予定であった。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、インフルエンザウイルス、風疹ウイルス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たが、新型コロナウイルス流行状況に鑑み、本年度は実施されなかった。

[岡本貴世子、村上光一、平井晋一郎、小林純子、門澤和恵]

(2)短期研修:新興再興技術研修

令和 2 年 10 月 5 日から 9 日まで 4 日間、国立感染症研究所村山庁舎で、新興再興技術研修(国立保健医療科学院・当所共同実施)を行う予定であった。本研修は、レジオネラの検査診断が適切に実施できるよう、レジオネラ症およびレジオネラ検査診断に関連する体系的な知識を理解し、基本的かつ実践的なレジオネラ検査診断技術の習得を目的としていたが、新型コロナウイルス流行状況に鑑み、本年度は実施されなかった。

[村上光一、岡本貴世子、平井晋一郎、土井朋美、山田珠美]

IV. 教育・講習業務

1. 検査機関に対する検査能力・精度管理等の向上を目的とした講習(地衛研基礎講習)

令和 2 年度より、地方衛生研究所での経験年数の少ない職員の増加傾向を受けて、新たな予算措置により新規に地方衛生研究所職員を対象とした講習会「検査機関に対する検査能力・精度管理等の向上を目的とした講習会(地衛研基礎講習)」を実施することとなった。感染症対策の拠点となる地方衛生研究所職員の検査及び精度管理能力の向上を目的としている。今年度は令和 3 年 3 月 15 日から 19 日まで実施した。新型コロナウイルス感染症の流行状況に鑑みて今年度は Zoom による Web 講義とした。地方衛生研究所の 60 名(細菌分野・ウイルス分野 各 30 名)を受講生として決定した。

講習内容は地衛研の業務において、必須となる技術・知識に関する講義を行った。第1日目は全体講義として、感染症行政全般及び「新型コロナウイルスの基礎・疫学調査・検査法・分子疫学」、「新型コロナウイルス検査における地衛研の役割」及び「地衛研での精度管理」等に新型コロナウイルスに関する最新の知見について、各専門家が講義を行った。2-3 日目は細菌分野の講習を行い、「検査基礎技術に関するビデオ」を配信・解説し、さらに講師により「主要な食中毒原因菌(赤痢菌、*Escherichia albertii*、サルモネラ、腸管出血性大腸菌)の検査」及び

「地衛研職員の業務経験談」等を zoom を用いて講義した。4-5 日目はウイルス分野であり、「バイオセーフティ」、「ウイルス検査法概論」、「ウイルス検査で必須となる検査法（PCR 法、シークエンス、ウイルス分離法）」及び「感染症発生動向調査」等に関する講義を行った。
［村上光一、平井晋一郎、土井朋美、山田珠美、岡本貴世子、小林純子、門澤和恵］

2. 希少感染症診断技術向上事業に関する業務

令和 2 年 1 月 29～30 日に全国自治体の検査技術担当者に対して所全体で、例えばウイルス第三部による新型コロナウイルス検査法など必要かつ要望が多かった検査等に関する研修の当日運営をおこなった。
［藤本嗣人、花岡希、宮﨑義継（真菌部）］

3. **教育・講義等**

- 消防大学校における緊急消防援助隊教育科 NBC コースにて「生物災害対応」を担当した。［齋藤智也］
- 群馬県医師会主催群馬県感染予防・対策研修会にて「変異株とクラスター対策」を講義した。［齋藤智也］
- 日本技術士会神奈川県支部講演会（第 92 回）にて「感染症発生動向調査とアデノウイルス感染症」を講義した。［花岡希］

V. 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。

・細胞の送付
・難同定株の同定
・検査法の標準化
・検査法に関する問い合わせへの対応
・新しい検査法の開発
・アデノウイルス感染症に関する啓発
・正確な情報発信（HP・メディア）

［花岡希、藤本嗣人、全国地方衛生研究所］

2. *Escherichia alberti* のレファレンスセンターとしての活動

平成 28 年 11 月 9 日健感発 1109 第 2 号 *Escherichia albertii* に係る報告について（依頼）に基づき、全国の地方衛生研究所、保健所等へ本菌あるいは本菌の DNA の配布を行う体制を整えている。
［村上光一、平井晋一郎、土井朋美、山田珠美］

VI. 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. 令和3年度 地方衛生研究所等で実施するノロウイルス及びA型肝炎ウイルスの精度管理事業実施要領

「ノロウイルスの検出法について」（平成 15 年 11 月 5 日付け食安監発第 1105001 号）及び「ふん便及び食品中の A 型肝炎ウイルスの検査法について」（平成 14 年 8 月 16 日付け食監発第 0816001 号）に基づき使用する検査用陽性コントロールを作製の上、各都道府県等の食品衛生検査施設のべ 16 ヶ所へ配布した。
［岡本貴世子、門澤和恵、小林純子］

VII. 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 のバイオロジカルワーキンググループの共同議長として、運営方針や議論のテーマの企画、ウェブ会議の司会進行等を実施し、各国の感染症危機管理に関する情報共有の促進に寄与した。
［齋藤智也］

（2） 諸外国との意見交換

- 2021 年 3 月に開催された日中意見交換会（China-Japan Dialogue on COVID-19）において、変異株の発生状況等、COVID-19 対策について中国 CDC との意見交換に参画した。

［齋藤智也］

- 2021 年 2 月に開催された Japan Society 主催のライブウェビナー”Combating COVID-19: Japan’s Response & Efforts”に登壇し、COVID-19 対策と危機管理について意見交換を行った。
  ［齋藤智也］

VIII. 厚生労働省等 部会等 委員

- WHO Review Committee on the functioning of the International Health Regulations (2005) during the COVID-19 Response メンバー
  ［齋藤智也］
- International Olympic Committee Independent Expert Panel on COVID-19 for Olympic Games Tokyo 2020 メンバー
  ［齋藤智也］
- 世界健康安全保障行動グループ Global Health Security Action Group (GHSAG) バイオワーキンググループ Bio-Working Group 共同議長
  ［齋藤智也］
- 厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード指定感染症としての措置・運用のあり方に関するワーキンググループ メンバー
  ［齋藤智也］
- 東京オリンピック・パラリンピック競技大会における新型コロナウイルス感染症対策調整会議アドバイザー
  ［齋藤智也］
- 東京都感染症対策アドバイザー
  ［齋藤智也］
- 東京都感染症医療体制協議会新型コロナウイルス感染症東京都調整本部（調整部会） 委員
  ［齋藤智也］
- 東京都感染症対策支援チーム メンバー
  ［齋藤智也］
- マッチング等の試行によるシンクタンク機能の検証のための感染症対策及びサイバーセキュリティに関する調査（シンクタンク検証委員会） 委員
  ［齋藤智也］
- 内閣府戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）課題「国家レジリエンス（防災・減災）の強化」「Ⅷ. 水素燃料電池バス防災・感染症対策システム開発 」公募審査員
  ［齋藤智也］
- 内閣府マッチング等の試行によるシンクタンク機能の検証のための感染症対策及びサイバーセキュリティに関する調査（シンクタンク検証委員会）委員
  ［齋藤智也］
- 日本公衆衛生協会令和2年度地域保健総合推進事業「健康危機緊急時対応体制整備事業」準備チーム
  ［齋藤智也］

IX. その他

1. 情報提供及び広報活動

- 国内外において注目を集めた感染症、特にCOVID-19、手足口病について、メディアからの取材対応を行った。
  ［齋藤智也、藤本嗣人］

IX. 研修員一覧

氏名	区分	所属
西尾　治	客員研究員	第三室
木村　博一	客員研究員	第四室
石岡　大成	客員研究員	第四室
荻　美貴	協力研究員	第三室
川村　朋子	協力研究員	第三室
小長谷　昌未	協力研究員	第三室
高橋　健一郎	協力研究員	第三室
安仁屋　恵	協力研究員	第三室
長澤　耕男	協力研究員	第四室
鵜木　晶子	実習生	第四室
山口　真由子	実習生	第四室

発表業績一覧

Ⅰ. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Misaki T, Saito T, Okabe N. Building a robust interface between public health authorities and medical institutions in a densely populated city: State-of-the-art integrated pandemic and emerging disease preparedness in the Greater Tokyo Area in Japan. In: Inoculating Cities: Case Studies of Urban Pandemic Preparedness. Ed. Katz R and Boyce M. Academic Press, London, United Kingdom. 2021.

2) Tokumoto A, Akaba H, Oshitani H, Jindai K, Wada K, Imamura T, Saito T, Shobugawa Y. COVID-19 Health System Response Monitor: JAPAN. World Health Organization Regional Office of South-East Asia. 2021.

3) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K; Virus Diagnosis Group (NIID Toyama). Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. BMJ Open Respir Res. 2021 Feb;8(1): e000830.

4) Onda Y, Kanda J, Hanaoka N, Watanabe M, Arai Y, Hishizawa M, Kondo T, Yamashita K, Nagao M, Fujimoto T, Takaori-Kondo A. Possible nosocomial transmission of virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Ann Hematol. 2021 Mar;100(3):753-761.

5) Onda Y, Kanda J, Sakamoto S, Okada M, Anzai N, Umadome H, Tashima M, Haga H, Watanabe C, Hanaoka N, Fujimoto T, Takaori-Kondo A. Detection of adenovirus hepatitis and acute liver failure in allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients. Transpl Infect Dis. 2020 Oct 19:e13496.

6) Hanaoka N, Ito S, Nojiri N, Konagaya M, Yasuda M, Fujimoto T, Deguchi T. Human adenovirus B7d-associated urethritis following suspected sexual transmission. Emerg Infect Dis. 2020 Oct;26(10):2444-2447.

7) Hanaoka N, Nojiri N, Takahashi K, Yoshida E, Fujimoto T. Evaluation of the anti-adenoviral activity of ozonated alcohol disinfectant - ALTANT. Jpn J Infect Dis. 2020 Apr 30.

8) Kaneko H, Hanaoka N, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatano H, Ikuta K, Sekiryu T, Fujimoto T. Five Cases of Epidemic Keratoconjunctivitis Due to Human Adenovirus Type 85 in Fukushima, Japan. Jpn J Infect Dis. 2020 Jul 22;73(4).

9) Hanaoka N, Konagaya M, Uchio E, Fujimoto T. Characteristic of slow growth in cell culture of adenovirus type 54 causing nationwide outbreak epidemic keratoconjunctivitis in Japan. Tsukahara-Kawamura T, Jpn J Ophthalmol. 2020 May;64(3):312-320.

10) Ozaki K, Matsushima Y, Nagasawa K, Aso J, Saraya T, Yoshihar K, Murakami K, Motoya T, Ryo A, Kuroda M, Katayama K, Kimura H. Molecular evolution of the protease region in Norovirus genogroup II. Frontiers in Microbiology, 2020 Jan 14;10:2991. doi: 10.3389/fmicb.2019.02991. eCollection 2019.

11) Kubomura A, Sekizuka T, Onozuka D, Murakami K, Kimura H, Sakaguchi M, Oishi K, Hirai S, Kuroda M, Okabe N. Truncated class 1 Integron gene cassette arrays contribute to antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli.* BioMed Research International, 2020 Jan 31;2020:4908189. doi: 10.1155/2020/4908189. eCollection 2020.

12) Kimura H, Kurusu H, Sada M, Kurai D, Murakami K, Kamitani W, Tomita H, Katayama K, Ryo A. Molecular pharmacology of ciclesonide against SARS-CoV-2. J Allergy Clin Immunol. 2020 Aug;146(2):330-331.

13) Kimura H, Kurusu H, Sada M, Kurai D, Murakami K, Kamitani W, Tomita H, Katayama K, Ryo A. Molecular pharmacology of ciclesonide against SARS-CoV-2. J Allergy Clin Immunol. 2020 Aug;146(2):330-331

14) Sada M, Saraya T, Ishii H, Okayama K, Hayashi Y, Tsugawa T, Nishina A, Murakami K, Kuroda M, Ryo A, Detailed molecular interactions of favipiravir with SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and influenza virus polymerases in silico. Microorganisms. 2020 Oct 20;8(10):1610.

15) Aoki Y, Watanabe Y, Kitazawa K, Ando N, Hirai S, Yokoyama E. Emergence of *Salmonella* enterica subsp. *enterica* serovar Chester in a rural area of Japan. J Vet Med Sci. 2020 May 15;82(5):580-584.

16) Ishioka T, Aihara Y, Carle Y, Shigemura H, Kubomura A, Motoya T, Nakamot A, Nakamura A, Fujimoto S, Hirai S, Oishi K, Nagaoka H, Kimura H, Murakami K. Contrasting results from two commercial kits testing for the presence of *Clostridium perfringens* enterotoxin in feces from norovirus-infected human patients. Clin Lab. 2020 May

1;66(5):929-936.

17) Nagaoka H, Hirai S, Morinushi H, Mizumoto S, Suzuki K, Shigemura H, Takahashi N, Suzuki F, Mochizuki M, Asanuma M, Maehata T, Ogawa A, Ohkoshi K, Sekizuka T, Ishioka T, Suzuki S, Kimura H, Kuroda M, Suzuki M, Murakami K, Kanda T. Coinfection with human norovirus and *Escherichia coli* O25:H4 harboring two chromosomal *bla*CTX-M-14 genes in a foodborne norovirus outbreak in Shizuoka Prefecture, Japan. J Food Prot. 2020 Sep 1;83(9):1584-1591.

18) Shigemura H, Sakatsume E, Sekizuka T, Yokoyama H, Hamada K, Etoh Y, Carle Y, Mizumoto S, Hirai S, Matsui M, Kimura H, Suzuki M, Onozuka D, Kuroda M, Inoshima Y, Murakami K. Food workers as a reservoir of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella* in Japan. Appl Environ Microbiol. 2020 Jun 17;86(13):e00072-20.

19) Kawase J, Hirai S, Yokoyama E, Hayashi F, Kurosaki M, Kawakami Y, Fukuma A, Sakai T, Kotani M, Asakura H. Phylogeny, prevalence, and Shiga toxin (Stx) production of clinical *Escherichia coli* O157 clade 2 strains isolated in Shimane Prefecture, Japan. Curr Microbiol. 2021 Jan;78(1):265-273.

20) Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K, Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AE, Barnetson B, Leonard J, Wakita T: Environmental Sampling for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 During a COVID-19 Outbreak on the Diamond Princess Cruise Ship. J Infect Dis. Sep 1;222(7):1098-1102. 2020

2. 和文発表

1) 齋藤智也. 日本のパンデミック対策と新型コロナウイルス感染症. 法律時報. 93(3). 65-68. 2021.

2) 佐々木周作, 齋藤智也, 大竹文雄.ワクチン接種意向の状況依存性：新型コロナウイルス感染症ワクチンに対する支払意思額の特徴とその政策的含意. 経済産業研究所ディスカッション・ペーパー (21J007) 1-27. 2021.

3) 齋藤智也. 健康危機管理能力を高める 新型コロナ対策を中心に 新型インフルエンザ等対策特別措置法の課題. 地域保健. 52(1). 2021.

4) 齋藤智也. 新型インフルエンザ等対策特別措置法の課題. 地域保健. 2021 年 1 月. 26-29.

5) 藤本嗣人. 感染症の検査診断法 アデノウイルス・パレコウイルス・エンテロウイルス感染症. 臨床と微生物, Vol.48 (2), 132～136, 2021.

6) 藤本嗣人. アデノウイルス感染症. 小児内科, Vol52 増刊号, 1054～1058, 2020.

7) 花岡希、中山周一、尾上泰彦 、野尻直未、萬田和志 、大西真.梅毒核酸検査における唾液やうがい液の有用性についての検討. 日本性感染症学会誌, Vol31. No.1.2020.

8) 佐藤空見子, 永井章子, 小原準, 遠藤千春, 林哲也, 大岡唯祐, 瀬戸順次, 村上光一. 山形県内と畜場搬入豚の *Escherichia albertii* 保菌状況及びその疫学的特徴. 日本獣医師会雑誌 2020 年 73(5):265-273.

9) 村上光一, 平井晋一郎, 黒田誠, 長岡宏美, 藤本秀士. *Escherichia albertii*. モダンメディア 2020 66(4):101-110.

Ⅱ. 学会発表

1. 国際学会

特になし

2. 国内学会

1) 齋藤智也. パンデミック対策と“パンデミック経済学”への期待. 進化経済学会特別シンポジウム「感染リスクフリーの経済対策を考える」. 進化経済学会. 2021.

2) 冨尾淳, 齋藤智也. ラグビーワールドカップ2019日本大会の開催都市における保健医療対策. 第26回日本災害医学会総会・学術集会. 2021.

3) 藤本 嗣人, 小長谷 昌未, 花岡 希, 高橋 健一郎, 小林 正明, 清水 博之, 野尻 直未. 手足口病患者の咽頭・糞便・皮膚検体からのウイルス検出・定量. 感染症学学会. 2020.

4) 藤本 嗣人, 花岡 希, 小長谷 昌未, 小林 正明, 中川 尚, 秦野 寛, 川村 朋子, 内尾 英一, 金子 久俊. アデノウイルス用銀増幅イムノクロマトキットのアデノウイルス検出限界. 感染症学学会. 2020.

5) 櫻井 彩奈, 石川 元直, 田畑 達也, 高橋 健一郎, 花岡 希, 藤本 嗣人. 血液からヒトパレコウイルス3型が分離された成人の流行性筋痛症. 感染症学学会. 2020.

6) 花岡 希, 藤本 嗣人. オゾン化アルコール消毒剤

「アルタント」の抗アデノウイルス活性について. 感染症学学会. 2020.

7) 高橋 健一郎, 花岡 希, 鈴木 葉子, 杉原 茂孝, 藤本 嗣人, 田村 まり子. 小児急性咽頭炎に対する臨床症状に基づいたアデノウイルス抗原迅速検査の効果的な使用方法の検討.感染症学学会. 2020.

8) 花岡 希, 吉田 英一, 藤本 嗣人. オゾン化アルコール消毒剤「アルタント」、オゾン化ノンアルコール消毒剤「イソタント」の抗アデノウイルス活性について.日本環境感染学会. 2020.

9) 常岡 有希子, 長谷川 稜, 田宮 彩, 佐原 利典, 野原 千洋子, 花岡 希, 藤本 嗣人, 横田 和久, 中村 ふくみ. ヒトパレコウイルス(HPeV)3型感染による成人の流行性筋痛症の1例.日本内科学会関東地方会. 2020.

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令和2年は 4 名(ネパール人 2 名、フィリピン人 1 名、日本人 1 名。男性 2 名、女性 2 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 20 万人(2019 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。

わが国でもハンセン病問題は医療だけでなく、社会における極めて厳しい偏見、差別など社会的な問題を含んでおり、それを解決していくためには国民一人一人が、ハンセン病に関する理解や認識を深めていく必要がある。不本意な経験をされた患者さんたちが受けたこれまでの経緯と苦痛を勘案すると、ハンセン病研究センターの責任は重く、研究を進める力を持っている日本こそがハンセン病対応で世界に貢献することを目標とし、国際協力も視野に入れた診断と治療に応用できる研究・実学をめざしている。

しかし、今般の COVID-19 感染拡大に際して医療従事者や感染者の差別が報じられるなど、ハンセン病への反省が活かされていない現状を突き付けられ、感染症全般に対しての国民の根深い偏見をなくすべく啓発の努力を重ねる必要があることを痛感させられた。

当センターのより安全で円滑な運用のため定期的に「安全連絡協議会」を開催し、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、地域の皆さんと共調して運用することを心掛けている。今年度は新型コロナウイルス感染症感染拡大防止の観点から、会場が密にならないよう Web 参加を併用し、会場でアクリルパーティションを設置し、令和3年 2 月 25 日に第 13 回協議会を開催した。

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、隣接の国立療養所多磨全生園と共催し「市民公開講座」を年 2 回、春と秋に開催していたが、感染拡大防止等の観点から、令和 2 年度は開催見送りとした。

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、国立療養所多磨全生園と協力して、昭和 52 年から「ハンセン病医学夏期大学講座」が毎年度開催され、令和元年度迄に 1,661 人の者が受講している。例年、国立療養所多磨全生園と当センターを会場として 5 日間開催していたが、令和2年度は感染拡大防止等の観点から Web 参加のみとした。12 月 12 日の 1 日のみの講座開催としたが、例年の受講者数の約 4 倍の 136 人が参加した。

国際協力事業

1. 研修生受け入れ事業

新型コロナウイルス感染症の影響により、海外から研修生を受け入れることができなかった。

2. 国際共同研究と職員の海外派遣状況

国立感染症研究所新型コロナウイルス感染症対策行動計画に則り、令和 2 年度は海外出張を見合わせた。

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領が施行され、ハンセン病研究センターで行政検査を実施している。

表 1. 令和 2 年度(2020 年度)行政検査実績

受付検体数(番号)	21
総検査件数	30
病理学的検査件数	9
血清抗体価検査件数	3
PCR 検査件数	14
薬剤耐性遺伝子検査件数	4
実症例数	17

表 2. 行政検査実績の推移

年度	受付数(番号)	総検査件数	病理件数	血清件数	PCR 件数	薬剤耐性検査件数	実症例数
H9 年度	22	27	7	13	7	0	22
H10 年度	23	31	5	21	5	0	31
H11 年度	21	33	10	13	10	0	21
H12 年度	31	50	19	12	19	0	17
H13 年度	693	737	27	657	53	(2)	671
H14 年度	195	261	43	138	80	0	154
H15 年度	27	54	13	21	20	(3)	23
H16 年度	55	98	23	40	35	(4)	37
H17 年度	82	104	15	64	25	(3)	72
H18 年度	35	62	18	12	32	(10)	29
H19 年度	119	163	30	68	47	18	99
H20 年度	64	95	14	22	47	12	44
H21 年度	32	53	9	9	30	5	25
H22 年度	28	51	12	8	25	6	22
H23 年度	35	60	14	13	28	5	23
H24 年度	43	63	13	15	33	2	33
H25 年度	17	26	1	6	15	4	12
H26 年度	23	39	0	7	23	9	17
H27 年度	18	37	0	8	18	11	14
H28 年度	22	34	0	11	18	5	16
H29 年度	12	21	0	9	11	1	12
H30 年度	43	59	23	10	22	4	27
R 1 年度	76	86	51	1	30	4	42
R 2 年度	21	30	9	3	14	4	17

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。

令和 2 年度(令和 2 年 4 月～令和 3 年 3 月)の検査件数は 17 症例、30 件であった(表 1 参照)。1回(1症例)の検査で複数の検査項目の依頼もあった。ハンセン病診断には複数の検査が推奨されているが、各医療機関で実施できない検査が当センターに依頼されるために依頼検査項目に差異が生じている。薬剤耐性遺伝子検査は平成 19 年度から開始した。

17 症例のうち 4 例は「ハンセン病新規患者」と最終診断された。

PCR 検査では 4 例が陽性であり、うち 4 例に対し薬剤耐性検査を行い、リファンピシン、DDS、キノロン系薬に耐性なしであることを確認した。皮膚スメア検査のサポートも行い、令和 2 年度は 9 件のスメア標本の検鏡を行った。うち 1 件は陽性であった。

各年度の検査件数の推移は表 2 の通りである。

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。

行政検査は SOP(Standard Operating Procedures)に則り行政検査を実施しているが、検査法改良や検査申し込みから検査結果通知までの期間短縮などに取り組み、患者・主治医に一層有益な検査のあり方を追求する。

[宮本友司、森修一、町田聡子、阿戸学、宮﨑義継]

らい菌の供給

令和 2 年 4 月より令和 3 年 3 月までの 1 年間において、のべ 14 回、37 匹、 4 施設(国内 4)、7 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]

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。低温培養可能な細胞株を用いたらい菌の細胞内寄生機構、らい菌の分裂に関する形態の解析を進めている。また、らい菌の DNA ジャイレースのの温度感受性解析を行なっている。らい菌の薬剤耐性遺伝子検査は、ヒトDNAの混在が問題となるが、次世代シークエンサーを用いた検査手法の解析を行っている。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サイトカイン産生の役割、C 型レクチン受容体と抗酸菌の相互作用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、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。*M.leprae* の近縁種 *M.lepromatosis* はらい菌 PCR の標的配列を保有していないため、その鑑別法を開発し、疫学調査を行っている。さらに、2 型らい反応（ENL）の発生と関連するらい菌 RNA の探索を行っている。現在、ザンビア、中国、ベトナム、ミャンマー、インドネシア、スリランカ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に関わる新規遺伝子探索、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 2020 年は 3 件の登録があり、累計 76 例のブルーリ潰瘍が集積されている。また、*M. ulcerans* については感染伝播経路の探索研究として、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継続した。

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ス」（内部データベース）の作成を継続すると共に、web 公開型学術データベース「近現代ハンセン病資料アーカイブス」（https://www.archhdjp.jp/）の作成・公開を行い、国際ハンセン病会議資料、国内外ハンセン病学術誌、明治期のハンセン病患者の実態に関する資料、療養所の内部の様相を知る資料の公開を行った。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進展した。

BSL3、ABSL3 施設が稼動している第二研究棟においては、結核菌に関する研究を行っている。結核菌の培養、保存、*in vitro* での結核菌の各種解析を行うとともにマウス、サルを使用した *in vivo* における感染実験を行い、ハンセン病や結核に対する組換え BCG ワクチンに関して、組換え株の有効性・安全性の検証で進展が認められた。組換え BCG 技術を活用してCOVID-19ワクチンの開発も行なっている。また、潜在性結核における免疫応答研究、結核菌異物排出トランスポーターの一分子動態解析研究などが行われた。

最後に人事であるが、2020 年 4 月 1 日付で、辻村祐佑、深野華子が主任研究官として、着任した。

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

らい菌のシュワン細胞への感染がヒト末梢神経障害の誘導に深く関与しているが、その障害機構は未だに不明である。らい菌の増殖には 30℃前後が至適温度である。そこで、低増殖性低体温性シュワン細胞株の獲得を試み、それに成功した。30℃で培養したシュワン細胞は S-100 陽性で、らい菌を貪食することが明らかになった。

［前田百美、田村敏生、遠藤真澄、阿戸学］

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に含まれる miRNA の網羅的解析を行った。幾つかの miRNA は非感染細胞に比べて、より多く含んでいた。ハンセン病特異的な miRNA の同定により新たな発想に基づくワクチン開発に進める。さらに、マウスではヒト様の病変を形成しないが、C3HeB/FeJ マウスでは乾酪壊死を伴う肉芽腫を形成することから、らい菌感染動物モデルとしての有用性を検討する。

［辻村祐佑、前田百美、田村敏生、塚本裕美子、向井徹、阿戸学］

2. 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、ワクチン効果の高い BCG 株を選抜し上記外来抗原を組み込んだ組換え BCG を作製し、継代を繰り返しても外来抗原を安定的に発現することを見出した。

［塚本裕美子、前田百美、田村敏生、辻村祐佑、宮本友司、向井徹］

3. 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い、特定の配列上のメチル化アデニンが免疫応答を活性化することを見出した。

［塚本裕美子、田村敏生、前田百美］

4. マクロファージにおけるらい菌刺激に対する調節性サイトカイン産生反応の種差

IL-10 はヒトのハンセン病において LL 型病巣局所で発現量の多い調節性 regulatory サイトカインである。らい菌刺激によるマウスマクロファージのサイトカイン産生には、脂質シグナリングに関与する PGE2 が大きく影響していて、COX-2 活性化による PGE2 産生が、PGE2 受容体を刺激して細胞内 cAMP 濃度が上昇することが IL-10 の産生に必要であることが分かったが、M-CSF で培養して得られたヒト末梢血単球由来 M 型マクロファージの IL-10 産生には PGE2 の関与は低いことが分かった。

［福富康夫、前田百美、阿戸学］

5. T 型ハンセン病発症における IFN-γ 産生の役割

IFN-γ はヒトのハンセン病において TT 型病巣局所で発現量が多いサイトカインである。らい菌貪食刺激によるマウスマクロファージの TNF 産生は IFN-γ により増強されたが、IFN-γ は IL-10 産生を抑制する作用を有し、その結果、TNF 産生は増強された。ヒトマクロファージでも同様に IFN-γ は IL-10 を抑制し TNF を増強した。しかし IL-10 産生機構における脂質シグナリングの関与は少なく、その原因が、マクロファージの種差というよりも、「末梢血単球由来」M-マクロファージ（ヒト）と「腹腔常在細胞中」マクロファージ（マウス）という由来組織の違いによる可能性も否定できない。

［福富康夫、前田百美、阿戸学］

6. BCG を用いた COVID-19ワクチンの開発

SARS-CoV-2 の receptor binding domain（RBD）を分泌発現する組換え BCG の構築を行った。親株として BCG Tokyo 由来の2株を用い、安定した分泌のため BCG ゲノム上へ RBD 発現ユニットを6種設計し構築を試みた。さらに構築に用いた薬剤耐性マーカーの除去を行った。結果2種の発現ユニットが良好な RBD 蛋白を分泌発現した。今後実用化に向け、継代による発現の安定性検討および免疫原性の検討を進めていく。

［向井徹、阿戸学、松本壮吉（新潟大）］

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、2018-2019 年にてザンビアで検診を行った。ELISA 法を用いて血清中の抗 MMP-II 抗体を測定した。南部州の農村部での抗体陽性率は 14.1% (n=362)に対し西部州の都市部においては 3.2% (n=401)と低い抗体陽性率が見られた。高い抗体値を呈しているヒトのさらなる、フォローアップが必要と考えられた。

［前田百美、向井徹、宮本友司、遠藤真澄、松岡正典、阿戸学、鈴木定彦（北海道大）］

2．ミャンマー連邦共和国における *M. lepromatosis* の疫学調査

もう一つのハンセン病起因菌 *M. lepromatosis* の疫学調査をミャンマー国において開始した。同国の倫理審査通過後、日本で確立したらい菌と *M. lepromatosis* の鑑別 PCR を同国にて臨床サンプルを用い検討した結果、鑑別可能であることが示された。現在、新規患者の臨床サンプルの収集進め、今後鑑別 PCR 法により *M. lepromatosis* の感染状況の検討を行う。

［向井徹、阿戸学、Khin SA (DMR, Myanmar) ］

3．ハンセン病治療薬存在下におけるらい菌の網羅的遺伝子発現解析

ハンセン病治療薬に対し、らい菌がどのように反応しているのかを解明するため、治療薬存在下でのらい菌の網羅的な遺伝子発現解析を実施した。ヌードマウス内で増殖させたらい菌を、Rifampicin で処理し、RNA-seq 解析した結果、一部の基礎代謝系に属する遺伝子群の発現が、Rifampicin 無しの場合に比べ比較的強く亢進していることが判明した。一方、結核菌を同様に処理した場合は、異なる発現傾向を示した。これらの結果は、らい菌が他の抗酸菌とは異なる特有のメカニズムによって Rifampicin に反応することにより、代謝機構又は菌体成分を変化させている可能性を示唆している。

［宮本友司、前田百美、吉田光範、阿戸学］

4．Nested Multiplex PCR によるらい菌薬剤耐性と型別解析

らい菌 DNA を含み、ヒト DNA が多量に混在する臨床試料からのらい菌ゲノム上の様々な領域の塩基配列情報を得るために、Nested Multiplex PCR と次世代シーケンサーを組み合わせた方法を開発した。これを用いて日本、フィリピン、ネパール等に由来する 17 臨床試料（少菌型の 2 試料を含む）を調べた結果、フィリピン由来の 3 試料、ブラジル、バングラデシュ、東チモール、ネパール由来のそれぞれ 1 試料は遺伝子型 1A、ネパール由来の 3 試料が 1D、日本由来 5 試料、インドネシア、フィリピン由来それぞれ 1 試料は 3K であり、日本由来の 3 試料がダプソン耐性を示す *folP1* 変異を持っていた。

［中田登、森修一、阿戸学］

5．皮膚に病変を作る抗酸菌の温度感受性増殖のメカニズムに関する研究

皮膚に病変を作る抗酸菌は、らい菌を含めて 37℃ではほとんど増殖せず、30℃から 33℃でよりよく増殖しこれが病因と密接に関係している可能性がある。この分子機構を明らかにするため。*M. marinum* 臨床分離株からまず 35℃でよく増殖する変異株を分離し、ゲノムシーケンシングにより親株から変異した DNA 配列部分を複数検出した。これらの変異の中で温度感受性増殖と関連している部分の特定を行っている。

［中田登、阿戸学］

6．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、これがらい菌の温度感受性増殖の一因となっていると考えられるが、アミノ酸配列で 95%以上一致する *M. haemophilum* の DNA ジャイレースは温度感受性を示さないことから、両者の配列で一致しない主な領域7カ所について、らい菌 DNA ジャイレースをそれぞれ 1 カ所ずつ *M. haemophilum* の配列で置き換えて温度感受性を調べた結果、これらの置換では温度感受性の性質を維持したままであったことから、複数の領域が温度感受性に関与していることが示唆された。

［中田登、阿戸学］

7．らい菌遺伝子検出法および精度管理法の確立

ハンセン病の診断においてらい菌遺伝子の検出は重要な検査である。検出法さらに鑑別法として Real Time PCR, Nested PCR, LAMP 法を選択し、各手法および精度管理の標準化を図る。各種方法の確立は、様々な検査環境にある開発途上国において、状況に合致した検出法の技術移転に貢献すると考えられる。

［向井徹、前田百美、宮本友司、阿戸学］

8．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

TOF-MS 法では鑑別できない MABC の亜種分類を鑑別し、また MABC のマクロライド誘導耐性の有無を簡便に示唆する方法を搭載した核酸クロマト法を開発し、論文報告を行うとともに国内・国際特許を申請し、国内販売に関しては 2021 年前半を目処に開始の予定である。まだ、東アジア地域における肺 MABC 患者より分離した菌株を使用し次世代シーケンサ(NGS)による菌株情報に基づいたゲノム疫学を沖

縄、台湾などとの国内・国際共同研究として展開中である。

［吉田光範、深野華子、宮本友司、金城武士（琉球大）、長野宏昭 (沖縄中部病院)、森本耕三（複十字病院）、佐野創太郎(カネカ)、宮本重彦（カネカ）、御手洗聡（結核研究所）、周如文（台湾 CDC）、薛博仁（国立台湾大）、長谷川直樹（慶應義塾大）、阿戸学、星野仁彦］

9．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、吉山崇（複十字病院）、永井英明（国立病院機構東京病院）、山崎晶（大阪大）］

10．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）、吉山崇（複十字病院）、山崎晶（大阪大）］

11．同定不明抗酸菌の分離・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。

［深野華子、鹿住祐子、阿戸学、坂上伸哉（株式会社エス・アール・エル）、星野仁彦］

12．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。CLR には、抗酸菌免疫を増強する活性化型受容体と免疫を減弱させる抑制型受容体があることが判明した。抑制型受容体を発現した細胞株を使用して受容体のアンタゴニストを探索する解析を開始した。治療薬開発に結びつく可能性が考えられる。

［星野仁彦、深野華子、片野晴隆（感染病理部）、山崎晶（大阪大）］

13．人獣共通感染症としての *M.kansasii* の病原性

肺 NTM 症のうち MAC 症、MABC 症に次いで国内の患者数が多いのが *M. kansasi* 症である。これまで、*M. kansasii* には *hsp65* 遺伝子制限酵素パターン解析により 7 亜型に分類されてきたが、ゲノム解析手法の進展により 2019 年に再分類が行われた。このうち、*M. kansasii* (subtype I) がヒト呼吸器疾患の原因菌であるが、感染源やリザーバーの存在、感染経路については殆ど理解されていない。

生涯屋内飼育されたイエネコが眼瞼に膿瘍性肉芽腫を呈し、菌株分離と NGS 解析を実施したところ、ネコ由来株は *M. kansasii* (subtype I)であり、呼吸器疾患由来 *M. kansasii* ゲノムとの比較において、平均 99.23%の一致率を示した。このことからイエネコは呼吸器疾患原因菌である *M. kansasii* (subtype I)のリザーバーになり得、NTM に対するワンヘルスアプローチの重要性を示唆するものとなった。

［深野華子、吉田光範、寺園司 (寺園動物病院)、星野仁彦］

14．*Mycobacterium shigaense* のゲノム解析

M. shigaense は 2009 年に初めて報告された比較的新しい NTM であり、2018 年までに国内外で7症例が報告されている。これまでに報告された7症例のうち5症例についてはいずれも患者の居住地が滋賀県内であり、非常に高い地域特異性を持った NTM 症である。7症例中6症例は皮膚疾患だが1症例は呼吸器疾患であり、病態の特徴も明らかではない。また、同菌種は滋賀県内に存在する琵琶湖の流出河川である淀川河川水からも分離されており、臨床分離株と環境分離株との関連については定かでない。国内外の臨床分離株・環境分離株について SNP 解析および決定した完全ゲノム配列長を元に、リアレンジメント・リコンビネーション解析、相同性解析を実施した国内外由来株は非常に高い相同性を持つことが明らかとなったが、特に滋賀県在住患者由来株と淀川河川由来環境株間では SNP 数が非常に少なく、この結果はこれらが同一クローンであることを強く示唆していた。このことから今後、患者への感染経路の検討が急がれる課題となった。

［深野華子、吉田光範、有川健太郎（神戸市健康科学研究所） 岩本朋忠（神戸市健康科学研究所）、星野仁彦］

15. 非結核性抗酸菌感染小動物の非侵襲的モニタリング法の開発

非結核性抗酸菌に対する新規治療薬開発には、動物モデルの開発も重要である。抗菌薬候補物質の小動物に対する効果判定に肺内細菌数を測定する場合は、サクリファイスしてCFU数を計算することで計算しているのが現状である。これは動物愛護の点からも、研究者の労力や研究費の点からも、正確性の点からも問題があると考えられる。そこで蛍光・発光物質を組み込んだ抗酸菌を小動物へ感染させ、IVIS (in vivo imaging system)と小動物用CTスキャン装置で、サクリファイスする事なく経過観察を行う系を構築中である。

［深野華子、山本健太郎、吉田光範、星野仁彦］

Ⅳ.らい菌生存度の判定に関する研究

1. らい菌など抗酸菌の形態観察

ヌードマウスフットパッドに接種して増殖してきたらい菌を回収して固定した後に光学顕微鏡で観察すると、松葉状の形をしている菌は、走査型電顕にて観察した結果、分裂直後の菌であることが分かった。すなわち、隔壁形成の後、細胞壁の一部分で繋がっている二つの菌であり、抗酸菌増殖時に特徴的な形態変化であった。隔壁形成は細胞壁直下の内側の細胞膜部分から起こり、最後に中央部分が絞り込まれるような形で菌体が二分されていた。現在、分裂に関与する各種タンパクの発現や局在を調べている。

［福富康夫、山本健太郎、前田百美、天内肇、小林宏尚（感染病理部）、阿戸学］

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因子

M. avium の MmpL の異なる 3 カ所のアミノ酸残基における、計 4 種類の変異がクロファジミン耐性を増強することを明らかにしたが、これらのアミノ酸残基をコードするコドンに変異を加え、新たに計 11 種の変異体を作製して *M. bovis* BCG をホストとする系で調べたところ MIC に変化が見られたことから、これらのアミノ酸残基がクロファジミン排出に重要な役割を担っていることが示唆された。

［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* と *pepQ* はともにクロファジミン耐性に関与しているが、両者の関係を調べるため *M. bovis* BCG の *mmpSL5* 破壊株と、発現亢進株についてそれぞれ *pepQ* 破壊株を分離した。その結果、*mmpSL5* 破壊株では *pepQ* 破壊によってクロファジミン感受性に変化がみられなかったが、発現亢進株では MIC が上昇した。このことから *pepQ* が *mmpSL5* に直接または間接的に作用してクロファジミン排出に影響を与えていることが示唆された。

［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。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、これまで解析した 10 臨床試料に加えて7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、らい菌遺伝子解析に有効であることが示された。

［中田登、岩尾泰久、森修一、阿戸学］

4. 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）、阿戸学、星野仁彦］

5. 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存在下においてMmpL5は三量体を形成し細胞膜上に固定された。一方で、MmpS5非存在下では単量体を形成し膜上を自由拡散することがわかった。薬剤の排出にはこの三量体化が必須であると示唆される。以上の結果をまとめ、論文を投稿した。さらに、MmpS5とMmpL5の直接的な結合を解析する実験を進めている。

［山本健太郎、中田登、向井徹、川岸郁朗（法政大）、阿戸学］

6. 非結核抗酸菌の増殖速度に関与する遺伝子変異

非結核抗酸菌*M. avium* subsp. *hominisuiss*104株の培養中に、コロニー出現時期の早い変異株を見出した。変異株は、親株に比べ増殖速度の亢進と高い流動性を示した。ゲノム解析の結果、変異株はタンパクをコードする遺伝子の停止コドンに点変異が起こり、オペロンを形成する2つの隣接するタンパクが融合タンパクとなっていることが判明した。変異の親株型への遺伝子置換によって、本変異が増殖速度増大に関する責任遺伝子であることが判明した。

［河喜多智美、向井徹、吉田光範、宮本友司、山田博之（結核研究所）、瀧井猛将（結核研究所）、中田登、中山真彰（岡山大）、梁明秀（横浜市立大）、大原直也（岡山大）、阿戸学］

Ⅵ.ブルーリ潰瘍および近似疾患に関する研究

1．*M. ulcerans* および *M. shinshuense* のゲノム解析

M. ulcerans によるブルーリ潰瘍は難治性の皮膚疾患である。これまでに、マウス実験感染モデル系を用い rifalazil の有効性や末梢神経傷害と毒性脂質マイコラクトンの関係を明らかにした。また日本のブルーリ潰瘍（“*M. ulcerans* subsp. *shinshuense*”感染症）は 2020 年度までで 76 症例を収集し、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。2019 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）、小椋義俊（九州大）、林哲也（九州大）、四津里英（長崎大）、鈴木敏彦（東京医科歯科大）、鈴木幸一（帝京大）、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）、和文医学雑誌（レプラ（日本癩学会雑誌））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。LEPRA 誌および日本癩学会誌、国際らい会議録のデジタル化も平行して行い、「近現代ハンセン病資料アーカイブス」（https://www.archhdjp.jp/）に掲載し、本 HP をプラットホームとして共同研究者とのデータ共有を進め、研究を進展させている。

［森修一、阿戸学、廣野義幸（東京大）］

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開放医療への移行が WHO 主導により行われたが、日本や米国では隔離政策が継続された。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、ハンセン病隔離政策の進展と維持の要因を広く検証する事に寄与することを目的とする。

本年度は引きつづき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ス」（内部データベース）の作成を継続すると共に、「近現代ハンセン病資料アーカイブス」（https://www.archhdjp.jp/）に日本癩学会雑誌（レプラ）、社会復帰者の記録である『愛情の壁』、『生活の壁』、『としつきの音』、ハンセン病ワーカーの記録である『道遙か ハンセン病患者の傍らに』、光田健輔の記録である『光田健輔と日本のらい予防事業』、その他、100 点を追加公開した。また、元多磨全生園園長である大平 馨資料のデジタル目録を完成し（約 1600 点）し資料のデジタル化、データベース化を進めた。療養所の内部の様相を知る資料として『甲田の裾』（松丘保養園機関誌 1931-2019 年）のデジタルを完了し、HP への公開（「甲田の裾電子図書室」）の基礎システムを開発した。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進展し、入所者日記「菊地日記 62 年分」のデジタル化を終了、元松丘保養園園長の資料である「荒川 巌デジタルアーカイブス」679 点の公開を行った。

［森修一、阿戸学、廣野義幸（東京大）、川西健登（元国立療養所松丘保養園）、横山　慎（国立療養所松丘保養園）、尾崎元昭（国立療養所長島愛生園）、野上玲子（国立療養所菊地恵楓園）、熊野公子（兵庫県立がんセンター）］

4．日本におけるハンセン病開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・戦後を通じ開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開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、戦後の療養所の実態の再検証を進め、療養所の役割を再考し、その維持の要因を検討した。また、日本の隔離政策を世界の開放医療（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。今年度は沖縄でのハンセン病医療援助の実態を明らかにし、戦後のハンセン病対策を検証した。

［森修一、阿戸学、尾崎元昭(国立療養所長島愛生園)、廣野義幸（東京大）］

発 表 業 績 一 覧

Ⅰ. 誌 上 発 表

1. 欧文発表

1) Toyama T, Mori T, Kato J, Sugita K, Hasegawa N, Nakata N, Hoshino Y, Okamoto S. 2020. Disseminated *Mycobacterium massiliense* infection in a patient with myelodysplastic syndrome undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Transpl Infect Dis*. 22(3): e13278. doi: 10.1111/tid.13278.

2) Shibata T, Makino A, Ogata R, Nakamura S, Ito T, Nagata K, Terauchi Y, Oishi T, Fujieda M, Takahashi Y, Ato M. 2020. Respiratory syncytial virus infection exacerbates pneumococcal pneumonia via Gas6/Axl-mediated macrophage polarization. *J Clin Invest*. 130(6): 3021-3037. doi: 10.1172/JCI125505.

3) Nithichanon A, Chetchotisakd P, Matsumura T, Takahashi Y, Ato M, Sakagami T, Lertmemongkolchai G. 2020. Diagnosis of NTM active infection in lymphadenopathy patients with anti-interferon-gamma auto-antibody using inhibitory ELISA vs. indirect ELISA. *Sci Rep*. 10(1): 8968. doi: 10.1038/s41598-020-65933-x.

4) Nithichanon A, Tussakhon I, Samer W, Kewcharoenwong C, Ato M, Bancroft GJ, Lertmemongkolchai G. 2020. Immune responses in beta-thalassaemia: heme oxygenase 1 reduces cytokine production and bactericidal activity of human leucocytes. *Sci Rep*. 10(1): 10297. doi: 10.1038/s41598-020-67346-2.

5) Niki M, Yoshiyama T, Nagai H, Miyamoto Y, Niki M, Oinuma KI, Tsubouchi T, Kaneko Y, Matsumoto S, Sasaki Y, Hoshino Y. 2020. Nutritional status positively impacts humoral immunity against its *Mycobacterium tuberculosis*, disease progression, and vaccine development. *PLoS One*. 15(8): e0237062. doi: 10.1371/journal.pone.0237062.

6) Morishita Y, Aoki Y, Ito M, Hagiwara D, Torimaru K, Morita D, Kuroda T, Fukano H, Hoshino Y, Suzuki M, Taniguchi T, Mori K, Asai T. 2020. Genome Mining-Based Discovery of Fungal Macrolides Modified by glycosylphosphatidylinositol (GPI)-Ethanolamine Phosphate Transferase Homologues. *Org Lett*. 22(15): 5876-5879. doi: 0.1021/acs.orglett.0c01975.

7) Fukano H, Miyama H, Takatsuki S, Hirabayashi A, Suzuki M, Yoshida M, Uwamino Y, Hasegawa N, Hoshino Y. 2020. Complete Genome Sequence of *Mycolicibacterium* sp. Strain NIID-NTM18, Isolated from Cardiac Implantable Electronic Device Infection and Most Similar to *Mycolicibacterium litorale*. *Microbiol Resour Announc*. 9(36): e00830-20. doi: 10.1128/MRA.00830-20.

8) Matsumura T, Nishiyama A, Aiko M, Ainai A, Ikebe T, Chiba J, Ato M, Takahashi Y. 2020. An anti-perfringolysin O monoclonal antibody cross-reactive with streptolysin O protects against streptococcal toxic shock syndrome. *BMC Res Notes*. 13(1): 419. doi: 10.1186/s13104-020-05264-2.

9) Uno S, Asakura T, Morimoto K, Yoshimura K, Uwamino Y, Nishimura T, Hoshino Y, Hasegawa N, Nontuberculous Mycobacteriosis and Bronchiectasis-Japan Research Consortium (NTM-JRC). 2020. Comorbidities associated with nontuberculous mycobacterial disease in Japanese adults: a claims-data analysis. *BMC Pulm Med*. 20(1): 262. doi: 10.1186/s12890-020-01304-6.

10) Fujita F, Kawakami Y, Yamasaki H, Sugihara S, Miyake T, Miyamoto Y, Hoshino Y, Ishii N, Yamasaki O, Morizane S. 2020. Coexistence of *Mycobacterium ulcerans* ssp. *shinshuense* and *Mycobacterium avium* in a patient with Buruli ulcer-compatible lesions. *J Dermatol*. 47(11): e400-e401. doi: 10.1111/1346-8138.15542.

11) Yonekawa A, Miyake N, Minami J, Murakami D, Fukano H, Hoshino Y, Kubo K, Chong Y, Akashi K, Shimono N. 2020. Parotitis caused by *Mycobacteroides abscessus* subspecies *abscessus*. *Auris Nasus Larynx*. S0385-8146(20): 30304-7. doi: 10.1016/j.anl.2020.11.005.

12) Nithichanon A, Samer W, Chetchotisakd P, Kewcharoenwong C, Ato M, Lertmemongkolchai G. 2020. Evaluation of plasma anti-GPL-core IgA and IgG for diagnosis of disseminated non-tuberculous mycobacteria infection. *PLoS One*. 15(11): e0242598. doi: 10.1371/journal.pone.0242598.

13) Tsujimura Y, Shiogama Y, Soma S, Okamura T, Takano J, Urano E, Murakata Y, Kawano A, Yamakawa N, Asaka MN, Matsuo K, Yasutomi Y. 2020. Vaccination with intradermal bacillus Calmette-Guérin (BCG) provides robust protection against extrapulmonary tuberculosis but not pulmonary infection in cynomolgus

macaques. *J Immunol.* 205(11): 3023-3036. doi: 10.4049/jimmunol.2000386.

14) Yamamoto K, Nakata N, Mukai T, Kawagishi I, Ato M. 2021. Co-expression of MmpS5 and MmpL5 Contributes to Both Efflux Transporter MmpL5 Trimerization and Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *mSphere*. 6(1): e00518-20. doi: 10.1128/mSphere.00518-20.

15) Enany S, Ato M, Matsumoto S. 2021. Differential Protein Expression in Exponential and Stationary Growth Phases of *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* 104. *Molecules*. 26(2): 305. doi: 10.3390/molecules26020305.

16) Tajiri K, Imanaka-Yoshida K, Tsujimura Y, Matsuo K, Hiroe M, Aonuma K, Ieda M, Yasutomi Y. 2021. A New Mouse Model of Chronic Myocarditis Induced by Recombinant Bacille Calmette-Guèrin Expressing a T-Cell Epitope of Cardiac Myosin Heavy Chain-α. *Int J Mol Sci*. 22(2): 794. doi: 10.3390/ijms22020794.

17) Kato S, Shida H, Okamura T, Zhang X, Miura T, Mukai T, Inoue M, Shu T, Naruse TK, Kimura A, Yasutomi Y, Matsuo K. 2021. CD8 T Cells Show Protection against Highly Pathogenic Simian Immunodeficiency Virus (SIV) after Vaccination with SIV Gene-Expressing BCG Prime and Vaccinia Virus/Sendai Virus Vector Boosts. *J Virol*. 95(4): e01718-20. doi: 10.1128/JVI.01718-20.

18) Kawakita T, Mukai T, Yoshida M, Yamada H, Nakayama M, Miyamoto Y, Suzuki M, Nakata N, Takii T, Ryo A, Ohara N, Ato M. 2021. Point mutation in the stop codon of *MAV_RS14660* increases the growth rate of *Mycobacterium avium* subspecies *hominissuis*. *Microbiol*. 167(2): 001007. doi: 10.1099/mic.0.001007.

19) Yoshida M, Sano S, Chien JY, Fukano H, Suzuki M, Asakura T, Morimoto K, Murase Y, Miyamoto S, Kurashima A, Hasegawa N, Hsueh PR, Mitarai S, Ato M, Hoshino Y. 2021. A novel DNA chromatography method to discriminate *Mycobacterium abscessus* subspecies and macrolide susceptibility. *EBioMedicine*. 64: 103187. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103187.

20) Fukano H, Terazono T, Hirabayashi A, Yoshida M, Suzuki M, Wada S, Ishii N, Hoshino Y. 2021. Human pathogenic *Mycobacterium kansasii* (former subtype I) with zoonotic potential isolated from a diseased indoor pet cat, Japan. *Emerg Microbes Infect*. 10(1): 220-222. doi: 10.1080/22221751.2021.1878935.

21) Yoshida M, Fukano H, Asakura T, Suzuki M, Hoshino Y. 2021. Complete Genome Sequence of *Mycobacterium heckeshornense* JCM 15655^{T}, Closely Related to a Pathogenic Nontuberculous Mycobacterial Species, *Mycobacterium xenopi*. *Microbiol Resour Announc*. 10(10): e00020-21. doi: 10.1128/MRA.00020-21.

22) Tanigawa K, Hayashi Y, Hama K, Yamashita A, Yokoyama K, Luo Y, Kawashima A, Maeda Y, Nakamura Y, Harada A, Kiriya M, Karasawa K, Suzuki K. 2021. *Mycobacterium leprae* promotes triacylglycerol *de novo* synthesis through induction of GPAT3 expression in human premonocytic THP-1 cells. *PLoS One*. 16(3): e0249184. doi: 10.1371/journal.pone.0249184.

2. 和文発表

1) 鎗山あずさ、米井希、口広智一、宮本友司、深野華子、石井則久。ミノサイクリン内服で著名に縮小したブルーリ潰瘍の 1 例。臨床皮膚科、74(6): 447-452, 2020.

2) 西内由紀子、大田篤、矢野大和、岩本朋忠、阿戸学、松本壮吉、大原直也、丸山史人。抗酸菌のバイオフィルム形成と休眠時遺伝子発現比較。BACTERIAL ADHERENCE & BIOFILM、33: 49-52, 2020.

3) 琴基天、岡崎静、深野華子、吉田光範、星野仁彦、幸野健、佐伯秀久、神田奈緒子。皮膚 *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* 感染症の 1 例。皮膚科の臨床、62(7): 1053-1058,2020.

4) 村上遥子、佐々木優、岸晶子、宮本友司、石井則久、林 伸和。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。皮膚科の臨床、62(7): 1049-1052, 2020.

5) 深野華子、奥田マキ、柏木彩、星野仁彦。ベタキリンを含む肺 MAC 症多剤併用療法確立への検討。臨床薬理の進歩、41: 1-7, 2020.

6) 森修一、阿戸学。「近現代ハンセン病資料アーカイブス」の公開と今後の展開。日ハンセン病学会雑誌、 89(1): 13-18, 2020.

7) 森修一、森山一隆、岸田松美、阿戸学。「ハンセン病文庫友の会」11 年の活動の歴史とその意義について－奄美大島での調査協力を通じて知ったこと－。日ハンセン病学会雑誌、89(1): 19-23, 2020.

8) 森修一、阿戸学。近現代ハンセン病資料アーカイブス事業－「沖縄らい検診等援助計画報告書」資料の公開－。日ハンセン病学会雑誌、89(2): 27-95, 2020.

9) 森修一、阿戸学。近現代ハンセン病資料アーカイブス

事業－「昭和 42 年度　沖縄らい検診等援助計画報告書」資料の公開－。日ハンセン病学会雑誌、89(3): 101-142, 2021.

Ⅱ. 学 会 発 表

1. 国際学会

なし

2. 国内学会

1) 李殷先、北見由季、末木博彦、深野華子、三上万里子、石井則久　前額、上肢に繰り返し出現し、原因菌同定に難渋した皮膚非結核性抗酸菌症の 1 例。第 119 回日本皮膚科学会総会、2020 年 6 月、WEB
2) 阿戸学、松村隆之、池辺忠義　劇症化病態の解明に向けて。第 94 回日本感染症学会学術集会、2020 年 8 月、東京
3) 深野華子、寺園司、平林亜希、吉田光範、鈴木仁人、和田新平、石井則久、星野仁彦　イエネコにおける *Mycobacterium kansasii* (subtype Ⅰ)感染症例とゲノム解析。第 4 回日本ワンヘルスサイエンス学会、2020 年 9 月、WEB
4) 藤原啓司、森本耕三、吉田光範、村瀬良朗、古内浩司、御手洗聡、大田健　複十字病院における肺 *M. abscessus* complex（MABC）患者のゲノム分子疫学解析。第 60 回日本呼吸器学会学術講演会、2020 年 9 月、WEB
5) 藤原永年、中屋愼、山本三郎、水野浄子、宮本友司、吉田光範、深野華子、前田伸司、星野仁彦　魚類感染する *Mycobacterium ulcerans* 近縁抗酸菌の脂質生化学的特徴。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
6) 村瀬良朗、青野昭男、御手洗聡、吉田光範、藤原啓司、古内浩司、大田健、森本耕三　病原体ゲノム情報に基づく肺 *M. abscessus* complex (MABC)患者の感染経路の推定。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
7) 深野華子、吉田光範、鈴木仁人、于連升、有川健太郎、岩本朋忠、星野仁彦　地域特異性の高い *Mycobacterium shigaense* のロングリードシークエンサーを使用した比較ゲノム解析。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
8) 星野仁彦、吉田光範、深野華子　抗酸菌に対して next generation sequencer (NGS)を用いた比較ゲノム解析。第 95 回日本結核・非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会、2020 年 10 月、WEB
9) 阿戸学、松村隆之　感染制御における抗体医薬の現状と未来。第 90 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 63 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 68 回日本化学療法学会西日本支部総会、2020 年 11 月、福岡市
10) 岩立和子、北見由季、村上遥子、末木博彦、深野華子　左上腕に生じ、家族内感染を疑わせた *Mycobacterium* (*M.*) *abscessus* subsp. *massiliense* による皮膚非結核性抗酸菌症の 1 例。第 84 回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2020 年 11 月、WEB
11) 三上万理子、村瀬千晶、四津里英、鈴木幸一、山崎正規、阿戸学、石井則久　日本国内の皮膚関連の顧みられない熱帯病（皮膚 NTDs）2019-2020 の傾向。第 84 回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2020 年 11 月、WEB
12) 星野仁彦　*Mycobacterium abscessus* complex×3 亜種とマクロライド感受性を識別する新規 DNA クロマトグラフィ法の開発。第 51 回結核・非定型抗酸菌症治療研究会、2020 年 12 月、東京
13) 阿戸学　科学研究を生業として持続させていくために－国立研究所の場合を中心に－。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
14) 小野寺大志、橘香奈、戸高玲子、阿戸学、長谷川秀樹、Garnet K、片山和彦、高橋宜聖　ウイルス様粒子構造はノロウイルスに対する IgA 抗体応答を増強する。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
15) 藤原永年、中屋愼、宮本友司、綾田稔、中崇、前田伸司　臨床分離株 *Mycobacterium intracellulare* Ku11 株由来新規糖ペプチド脂質抗原の糖鎖延長遺伝子群解析。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
16) 松村隆之、西山紋惠、相内章、池辺忠義、千葉丈、阿戸学、高橋宜聖　SLO に交差反応する抗 PFO モノクローナル抗体は STSS に対して宿主防御的に作用する。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB
17) 河喜多智美、前田百美、山崎晶、梁明秀、阿戸学　C 型レクチン受容体 Mincle はらい菌感染マウスの宿主防御機構に関与する。第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、WEB

２５．総務部総務課図書室

図書室長（総務課長併任）飯野　賢一
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（令和2年度収集件数：744 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。

令和2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			105	180	285
	購入		81	4	85
		電子版	80	1	81
	交　換		8	4	12
	寄　贈		16	172	188
単行本			41	220	261
	購　入		19	26	45
		電子版	0	0	0
	寄　贈		22	194	216

文献相互貸借状況			供与	依頼	合計
総数			79	752	831
	三庁舎間		38	38	76
	外部機関総数		41	714	755
		協力機関	13	82	95
		国公立大学/機関	20	316	336
		私立大学/機関	8	316	324

[編集翻訳係]

編集翻訳係では、令和 2 年は JJID 第 73 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、次の通り委員の交替があった。令和 2 年 3 月末に棚林清が退官により委員を辞した。令和 2 年 8 月に大澤英司が異動により委員を辞し、竹下望（企画調整主幹）が編集委員として加わった。令和 3 年 1 月に齋藤智也（感染症危機管理研究センター長）、松岡隆介（国際協力室長）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（ScholarOne）、掲載等（J-STAGE）の作業を行った。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 5.3 倍に増えた。海外からの投稿が 83%を占め、53 ヵ国に及んだ。地方衛生研究所のネットワークにおいて、感染症部門で中心的な役割を果たされていた山形衛生研究所長の水田克己先生に総説の執筆を依頼した。

一方、受理された論文は、冊子出版、オンライン公開に先がけて、毎月十数報を Advance Publication として最終原稿のままオンライン公開を行った。さらに、新型コロナウイルス感染症対策の重要性に鑑み、掲載を決定した最新の新型コロナウイルス関連論文を Pre-Advance Publication として、より早期に感染研ホームページ上に公開した。

令和 2 年の JJID の発行頁数（掲載論文数）は以下の通りである。

1 号/87 頁（17 編）、2 号/87（16）、3 号/85（17）、4 号/59（13）、5 号/74（17）、6 号/94（18）。

表. 令和 2 年における投稿論文数と受理された論文数

国内、海外の内訳	投稿論文数	受理論文数	特記事項
国内	175 編	83 編	内、感染研からの投稿論文数 27 編
海外	933 編	50 編	53 ヶ国

平成 28 年までは論文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 年以降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、令和 2 年においても受理から実際に掲載されるまでの期間は概ね 5～9 ヶ月であった。また、令和 2 年は、新型コロナウイルス関連の投稿が増加し、前年と比較して投稿数が倍増した。

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。「国立感染症研究所情報セキュリティポリシー」は、平成 28 年度から「厚生労働省セキュリティポリシー」に統合され、またこの時同時に「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の改訂を行った。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、平成 30 年度より、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運用を開始した。

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。情報セキュリティインシデントが発生した際には、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たが、令和 2 年 2 月の侵入事案を受けて、これを停止した。

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. 研究者への外部 Web 接続環境の提供

   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、新規登録者及び継続者向け講習を実施している。新規登録者への講習会は、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 または講習会によって行っている。

Ⅳ. 今年度の活動内容

令和2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）テレワーク環境整備のため、限られたユーザのみ利用していた既存の VPN サービスを、多くの職員が利用できるように拡充した。

（2）ICT（Information and Communication Technology）の利活用を推進するため、Microsoft Office365 を試験的に導入し、本格導入に向けて、活用方法の検討及び導入における問題点の洗い出しを開始した。

（3）前年度に構築した Moodle を基盤とした継続者向け e-learning システムを用い、継続者向けの情報セキュリティ講習を実施した。

（4）標的型メール攻撃訓練を実施した。

Ｖ．令和２年度中の主なシステム障害とセキュリティインシデントは以下の通りである。

1．20/05/02　**サーバスイッチ・外部向けネットワーク機器群への UPS 故障**

同日午前5：00に、戸山庁舎管理棟2F サーバ区画・スイッチラックに置かれ、スイッチおよびファイアウォールに電源を供給している UPS が機器障害のため停止した。このため、NIH-NET 全域ですべての通信が途絶した。9：55にバックアップの UPS に電源系統を交換することで復旧。理由は、UPS の経年劣化とみられるが、次期システムではよりモニタリングしやすい機器を調達することが求められる。

２７．広報委員会

広報委員長　　阿戸　学

概　要

広報委員会は、国立感染症研究所の研究活動等を広く社会に公表し、理解を得ることにより開かれた研究所とすることを目的として、広報活動に関する業務を遂行している。また、広報委員会の業務を円滑に遂行するために、各部・センター・省令室から委員一名を選出し、戸山庁舎および村山庁舎でそれぞれ、広報運営委員会を組織している。広報委員会の業務を支援するために、委員の他に、再任用職員 2 名が委員会業務をおこなっている。委員会の庶務は調整課で処理される。

広報委員会の活動内容は以下の通りである。

(1)研究所概要(パンフレット、広報ビデオ、インターネットホームページを含む)等の作成およびその更新・改定の実務。
(2)研究所一般公開の企画・運営に関わる実務。
(3)市民向けセミナーの企画・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。

令和2年度は新型コロナウイルス感染症の流行に伴って、所に来場者を迎えて対面型で行うアウトリーチ活動の実施が極めて困難となった。村山庁舎、戸山庁舎広報運営委員会では、新型コロナウイルス感染症の流行の推移を観察しながら、オンラインでの発信を含めたアウトリーチ活動のあり方を模索した。その結果、両庁舎とも令和2年度の研究所一般公開は中止とし、次年度以降の流行状況を確認しながら、オンラインを含めたアウトリーチ活動の開催を検討することになった。

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．武蔵村山市立雷塚小学校出前授業
2．感染研訪問による見学・研修

業　績

1．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、オンライン(zoom webinar)によって、令和 3 年 2 月 26 日に、6年生を対象とした授業2コマを実施した。講師は感染症疫学研究センター森野紗衣子主任研究官が、インフルエンザ及び新型コロナウイルス感染症対策に関する講義を行った。現地において 1 名の研究職員・2 名の事務職員が出向参加した。

2．感染研訪問による見学・研修

令和 2 年度は 3 件の見学・研修があった。

(1)9 月 30 日に、大阪教育大学附属高等学校平野校舎2年生3名が「東南アジアの蚊による感染症(主にデング熱)」について、Zoom によるインタビューを行い、昆虫医科学部およびウイルス第一部が対応した。
(2)11 月 10 日に群馬県立前橋高等学校 1 年生 80 名程度が「探求基礎」におけるオンライン研修(リモート)を行い、感染病理部および真菌部が対応した。
(3)1 月 13 日に国立病院機構災害医療センター医師 1 名が戸山庁舎を訪問し、感染研での疫学研究、FETP の業務につき見学した。広報委員会および感染症疫学センターが対応した。