

### 3. ウイルス第三部

部長 竹田 誠

#### 概要

当部は、村山庁舎に配置され、第1室(麻疹)、第2室(風疹)、第3室(ムンプス)、第4室(インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン)で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務及び国際協力である。

当部は、麻疹、風疹、おたふくかぜ(ムンプス)の各ワクチン、γ-グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定の SOP や標準品等の整備を行い、試験法の標準化と精度管理に努めている。また、平成24年10月1日に導入された薬事法施行規則の一部を改正する省令等に従い、国家検定における各種品質管理の試験の実施に加えて、ワクチン製剤の国家検定に製造・記録等要約書の審査(SLP)を実施している。国際協調の観点からも、国際的にも通用する品質管理体制を取っている。感染症対策やワクチン政策に対する社会的要求が一層高まる中で、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保と National Control Laboratory としての責任を果たすために、限られた人員と予算の中で、国民や社会の要望に応えるために努力を続けている。

研究活動では、麻疹・風疹に関しては、全国の地方衛生研究所の協力のもとに全国的、ならびに世界保健機関(WHO)との連携のもとに国際的実験室診断ネットワーク体制の構築ならびに推進に関する研究、正確かつ実用的な実験室診断技術の開発研究を進め、流行株の詳細な調査によってわが国が、WHO 西太平洋地域事務局の麻疹排除認定委員会から麻疹排除認定を受けた(平成27年3月)ことに大きく貢献した。また、臓器移植等により免疫抑制状態にある患者へのワクチン接種の有効性や安全性に関する研究、麻疹ワクチンウイルス株の増殖に関する研究、麻疹ウイルスの抗原性に関する

研究、細胞内動態に関する研究等を進めている。また、また、先端技術の応用として、麻疹ウイルスの再生医療用ベクターとしての応用研究、麻疹ウイルスを応用した新たなワクチン開発に関する研究等を行っている。麻疹ウイルスの近縁ウイルスである犬ジステンパーウイルス(CDV)は、サルに致死性のアウトブレイクを起こす事がある。そのため、CDV のヒトに対する危険性についての研究を実施している。風疹に関しては、風疹の病原診断に関する開発研究、流行株の変遷に関する研究、弱毒生ワクチンの性質決定の分子基盤を明らかにするための研究を行っている。さらに風疹ウイルス受容体や、風疹ウイルスの増殖を助ける宿主因子の探索などを通じて、風疹ウイルス増殖の詳細な細胞内分子機構の解析研究を実施している。ムンプス(おたふく風邪)に関しては、ムンプスウイルスの遺伝子操作手法の開発や改良に関する研究、神経病原性の分子メカニズムに関する研究、ムンプスウイルスの増殖に関与する宿主因子に関する研究、新規ワクチン開発に関する研究を実施している。また、重要なテーマとして、ムンプスワクチンの効果や安全性を評価するための動物モデルの開発研究や、国内、海外の流行株の解析などを通じた流行実態の解明のための研究を実施している。インターフェロン・サイトカインに関しては、宿主側の新たな制御機構を研究するとともに、ウイルス側による阻害機構を明らかにするための研究を行い、感染症を包括的に理解し、また、新しい生命現象の解明を通じて広く人類に貢献することを目指している。また、免疫機構の解析を通じて、より効果的な新たなワクチンの開発を目指している。急性呼吸器ウイルスに関して、中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの診断法の開発、ならびにその標準化や普及のための活動を実施し、実際の実験室診断に役立っている。また、MERSコロナウイルスや、その他のヒトコロナウイルスの抗原性や増殖機構に関する研究を行っている。コロナウイルスの他にも、RSウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ヒトメタ

## ウイルス第三部

ニューモウイルスの増殖機構や病態解明に関する研究を行い、その知見をもとにした抗ウイルス剤開発を目指している。特に、呼吸器感染症ウイルスの活性化に関与する宿主プロテアーゼの解明を通じた、新たな抗ウイルス剤の開発のための研究を実施している。

国際協力では、WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワーク (Global Measles and Rubella Laboratory Network) の Global Specialized Laboratory (GSL)、ならびに WHO 西太平洋地域の Regional Reference Laboratory (RRL)として、麻疹ならびに風疹の診断や流行調査に資するための研究を遂行し、また、ムンプスウイルスなどに関しても周辺諸国の診断技術の向上のための研究協力を実施している。また、JICA の依頼に応じてアジア、アフリカ、中国等からの研修生に麻疹や風疹の診断に関する実習や講義、研修等を実施している。

## 業績

### 調査・研究

#### I. 麻疹ウイルスに関する研究

##### 1. 麻疹検査診断ネットワークの構築に関する研究

麻疹は WHO が中心となり排除、根絶を目指している感染症である。麻疹排除は「ある地域において、質の高いサーベイランス体制が存在する下で、土着麻疹ウイルスによる麻疹の伝播が1年間以上ない状態」と定義されており、質の高いサーベイランス体制として、精度管理された施設において 80%以上の麻疹疑い症例が検査診断されている事等が求められている。また、WHO より排除認定を受けるには 36 ヶ月間、土着麻疹ウイルスによる流行がない事、適切なサーベイランス体制が存在する事、土着株による感染が遮断されている事を示唆するウイルスの遺伝子情報がある事が求められている。2007 年以降、地方衛生研究所を中心とした麻疹遺伝子検査診断体制の整備を進め、2014 年には麻疹症例数の約 80%で PCR 検査が実施され、麻疹ウイルスの遺伝子型解析がなされた。その結果、日本の土着株である遺伝子型 D5 のウイルスは検出されず、麻疹症例は輸入麻疹、あるいは輸入関連麻疹であると考えられた。さらにウイルスの遺伝子解析、疫学調査から、輸

入株による流行は 1 年間継続していない事を明らかにした。また民間検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査の実態も把握した。これらの情報を含めた報告書により、2015 年 3 月に日本は麻疹排除状態にあると WHO 西太平洋地域麻疹排除認定委員会より認定された。一方、病原体検出マニュアルを改訂し、標準化した real-time PCR 法を記載し、プローブ、プライマーを地衛研に配布し、地衛研への導入を促した。また、20 カ所の地方衛生研究所を対象に、RT-PCR 法、real-time PCR 法の精度管理を行った。今後も地方衛生研究所と協力し、これらの活動を通して、より精度の高い麻疹検査診断体制を維持、改善していく。[駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、竹田誠、麻疹・風疹レファレンスセンター、地方衛生研究所]

#### 2. 小児臓器移植児に対する麻疹ワクチンの安全性と有効性に関する研究

免疫抑制剤療法中の臓器移植児では、ウイルスの罹患による死亡率が高いことが報告されており、日本小児腎臓病学会では、ハイリスク患者への積極的な生ワクチンの接種を奨励している。本研究では、弱毒生麻疹・風疹混合生ワクチンを接種した生体肝移植児の細胞性・液性免疫応答の解析を行い、そのワクチン効果についての評価を行った。IFN- $\gamma$  ELISPOT 法を用いて麻疹に特異的な細胞性免疫応答について解析を行ったところ、315 検体のうち 98 検体で陽性反応が認められた(陽性率 31.1%)。また、278 検体の液性免疫応答を PA 法、HI 法、中和法を用いて測定したところ、PA 法では 216 検体(陽性率 77.7%)、HI 法では 153 検体(陽性率 55.2%)、中和では 183 検体(陽性率 65.8%)で麻疹特異的抗体が検出できた。細胞性免疫応答及び液性免疫応答の陽性率とワクチン接種回数との関係を統計解析した結果、細胞性免疫応答では陽性率と接種回数に関連は認められなかったが液性免疫では PA 法において、ワクチンの 2 回接種が有意な抗体応答を誘導することが示された。今後は、得られたデータのより詳細な解析を進める予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓、竹田誠、国立成育医療研究センター:宮田一平、宮入烈、船木孝則、新潟大学医学部小児科:齊藤昭彦]

## ウイルス第三部

### 3. 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C をベースとした組換えワクチンの開発に関する研究

リバースジェネティクス法の確立と相まって、麻疹ウイルスをベクターとした組換えワクチンについては、国内外の多くの研究室から報告がある。本研究では、本邦で使用されている麻疹ワクチン株、AIK-Cを用いた組換えワクチン、特に HIV や結核に対する候補ワクチンの開発を進めている。これまでのところ、緑色蛍光タンパク遺伝子 (EGFP)、可変型 HIV env 遺伝子 (gp145) を H-L 遺伝子間、結核抗原遺伝子 (Ag85) を発現する組換え AIK-C の作製が終了し、小動物モデル (マウス) を用いた *Ex vivo* における研究では、EGFP を発現する組換え AIK-C は、骨髄由来の未熟樹状細胞 (immature DC) へ感染することを確認している。現在、マウスを用いた免疫誘導効果の実験を進めており、組換えワクチンとしての効果を評価する予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓、竹田誠]

### 4. モルビリウイルスにおける Nectin-4 分子利用能に関する研究

麻疹ウイルス (MV) ワクチン株は初代鶏胚線維芽細胞 (CEF) に馴化しており良く増殖する。しかし CEF でのウイルス受容体はまだ明らかでない。本研究では、CEF に nectin-4 相同分子 (CEF nectin-4) が発現していることを明らかにし、加えて MV が CEF nectin-4 をウイルス受容体として利用できることを明らかにした。今年度は、MV ワクチン株が CEF への感染において実際に CEF nectin-4 を利用しているかについて、nectin-4 の利用能を減少させるアミノ酸変異を導入したワクチン株組換えウイルス (AIK/H(Y543A)-le-EGFP) を用いて解析した。CEF に感染させたところ、変異ウイルスでは巨細胞形成が認められず、感染効率が減少した。一方で、ポリクローナル抗ヒト nectin-4 抗体を用いて AIK-le-EGFP の CEF 感染が阻止できるか解析したところ、感染の減少が認められたが完全な感染阻止は出来なかった。CEF nectin-4 が CEF における主要な MV 受容体かを解析する為に、CEF nectin-4 のアミノ酸配列をもとにペプチド抗体を作製した。作製した抗体が感染阻止能力をもつか CEF nectin-4 発現 CHO 細胞と MV を用いて解析を行ったが、感染の減少が認められなかった為、CEF における CEF nectin-4 の感染阻止実験は実施できなかった。以上

より、MV ワクチン株の CEF への感染において CEF nectin-4 が主要な受容体かは明らかに出来なかったが、本分子を利用して感染していることが示された。[關文緒、染谷健二、中津祐一郎、田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠]

### 5. 麻疹および風疹ウイルス分離に有用な細胞株の開発

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

### 6. 麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態の解析

麻疹ウイルスは宿主細胞内に侵入した後、細胞質内でウイルスゲノム RNA および構造タンパク質の新規合成を行う。それらのウイルス粒子構成要素と宿主のタンパク質が協調的に働くことにより、麻疹ウイルスの複製が起こると考えられるが、その詳細な機序は明らかになっていない。麻疹ウイルスの細胞内動態をより詳細に解析するために、感染細胞内でウイルスタンパク質と相互作用する宿主因子を共精製し、麻疹ウイルスの複製に関与する新規宿主因子の同定を試みた。感染細胞内から宿主因子を共精製するために、RNP 複合体と相互作用

## ウイルス第三部

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

### 7. iPS細胞作製用麻疹ウイルスベクターの開発

iPS細胞は複数の転写因子を同時に繊維芽細胞に導入する事で誘導される。導入方法はレトロウイルスベクターやプラスミドが用いられるが、DNA 性の因子を使う限り、宿主ゲノムへの外来性DNAの挿入の可能性が排除できないことが問題となっている。そこで RNA ウイルスである麻疹ウイルスを用いたベクター開発を試みている。以前報告したウイルスゲノムの分節化の技術、及び F 遺伝子を欠損させる技術を用いて、1、宿主ゲノムに影響しない、2、伝播能力のない、3、細胞障害性の少ない、4、複数の外来遺伝子搭載が可能、な理想的なベクターが開発可能であると考えている。転写因子 Oct3 の発現量を増大させる事で iPS 細胞作製に成功した。成功したベクターは、麻疹ウイルスを2分節化し、一方の分節に麻疹ウイルス(N,P,M)遺伝子と転写因子(Oct3, Sox2, l-myc)、もう一方の分節にウイルス遺伝子(H, L)と転写因子(klf4, Pin1)と蛍光タンパク質 EFPF を導入した組換えウイルスである。さらに麻疹ウイルスベクターで作製した iPS 細胞は従来の方法で作製した細胞と比較して、より初期化段階の進んだ基底状態であることが分かった。[田原舞乃、平本貴史\*、谷憲三朗\*、竹田誠、\*九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学]

### 8. 麻疹ウイルス H タンパク質のエピトープ解析

Hタンパク質上のエピトープについて多くの論文が発表されているが、それぞれが独自の解析手法やエピトープ名を用いているため、相互の関連を理解することが難しい。近年、Hタンパク質と受容体との複合体の立体構造も明らかにされており、これらのデータを再評価し、補完的データを加えることによりHタンパク質のエピトープの全体像を明らかにした。

Dr. Claude P. MulerからHタンパク質に対するモノクローナル抗体の分与を受け、ルシフェラーゼ発現組換えウイルスを用いて中和解析を行い、これまでに得られている結果と比較した。Hタンパク質は、二量体を形成し、二量体同士がさらに結合した二量体による二量体(四量体)を形成している。エピトープは、大きく5つに分かれた。Hemagglutinating and noose epitopeと呼ばれているエピトープは、受容体結合部位の近傍にあり、免疫誘導能の強いエピトープであると考えられた。第二のエピトープは、受容体結合部位そのもので、免疫誘導能の強いエピトープであった。このエピトープ内の変異によって、一部の抗体による中和からエスケープするが、同時に受容体との結合能が消失した。第三のエピトープ(sugar-shielded epitopeと命名)も受容体結合部近傍に位置しているが、流行株の一部では、新たに獲得したN結合型糖鎖によって隠された状態になっていた。ワクチンの有効性には、影響はないと考えられた。第四のエピトープ(loop epitopeと命名)は、受容体結合部位とは離れた場所にある比較的長いループ構造上に位置していた。二量体同士の結合や膜融合を担うFタンパクとの相互作用に関係すると考えられた。第五のエピトープも、受容体結合部位とは離れた場所に位置しており、Neutralizing epitopeと呼ばれているエピトープである。このエピトープも二量体同士の結合に関係すると考えられた。

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

## II. 風疹ウイルスに関する研究

### 1. 風疹ウイルス流行株の分子疫学的検討

2013年に成人男性を中心として発生した風疹の流行が終息し、2014~2015年には風疹患者数が減少した。風疹の排除を達成し、証明するためには、土着株による流行が途切れていることを明らかにしなくてはならない。そこで、日本の土着株と定義されるものがどのようなウイルス株であり、それが継続して検出されるかを検討した。E1 遺伝子内遺伝子型決定窓領域について遺伝子配列の決定された株での系統学的解析を行ったところ、2010年から2013年までの風疹ウイルス株は、系統

## ウイルス第三部

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

### 2. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の確立に関する研究

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

### 3. 風疹ウイルスワクチン株の温度感受性を規定する分子生

### 物学的基盤の解明

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

### 4. 第二次抗風疹血清パネルの値付けと抗風疹抗体検出キットの性能評価

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

## ウイルス第三部

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

### 5. 風疹ウイルス受容体の探索

風疹ウイルスの細胞への感染及び赤血球凝集活性には細胞・赤血球上のスフィンゴミエリン(SM)が重要な役割を果たすことをこれまでに明らかにし、細胞への感染においては、その初期にSMが役割を果たすことを同時に明らかとした。そこで、SMが感染初期のどの段階で影響を与えるかを確認したところ、SM分解酵素であるスフィンゴミエリナーゼ(SMase)で細胞を処理することによりウイルスによる細胞の膜融合が引き起こされないことが明らかとなった。このことは、細胞上のSMがウイルス感染のうちウイルスの吸着～膜融合を引き起こすまでのいずれかの段階でSMが重要な役割を果たすことを示すものと考えられた。またSMの有無がウイルスゲノムの複製に影響を与えるかを検討した結果、SMase処理によりゲノム複製は抑制されないことを明らかとした。これらのことより、細胞のSMはウイルス感染において吸着～膜融合に重要な役割を果たさないと明らかとすることができた。[大槻紀之、坂田真史、花田賢太郎\*、岡本貴世子、安楽正輝、竹田誠、森嘉生：\*細胞化学部]

### 6. シュードタイプウイルスを用いた風疹ウイルス細胞侵入機構の解析

風疹ウイルスの自然宿主はヒトに限定され、ウイルス血症により全身感染を引き起こすと考えられている。しかし、自然宿主がヒトに限定される理由や体内伝播における主要な増殖組織や細胞等については、不明な点が多い。これまでに、風疹ウイルスのエンベロープタンパク質を持つ水疱性口内炎ウイルス(風疹ウイルスシュードタイプ VSV:RVpv)を作製したことを報告した。本研究では、RVpvを用いて風疹ウイルスのヒト細胞

への侵入機構について解析を行った。種々の接着系ヒト細胞株と浮遊系ヒト免疫細胞へRVpvを接種して、Vero細胞(風疹ウイルスの実験に用いられる標準的な細胞株)を比較対象として感染性を検討した。本研究に用いた一部の接着系ヒト細胞株(HEK293T, Huh7, NJG, JAR, JEG3)にRVpvはVero細胞と同等以上の感染性を示した。一方、浮遊系ヒト免疫系細胞株(U937, THP-1, Raji, M8166, Jurkat, MT2)にはRVpvは全く感染性を示さなかった。以上の結果より、風疹ウイルスが一部のヒト接着系細胞株へVero細胞と同等に侵入すること、並びに浮遊系免疫細胞への侵入効率が極めて低いことが示唆された。[坂田真史、谷英樹\*、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生：\*ウイルス第一部]

### 7. 風疹ウイルスのヒト由来感受性細胞の探索

風疹ウイルスの自然宿主はヒトに限定される。しかし、ヒトに由来する培養細胞において、効率よく風疹ウイルスが増殖する細胞株はほとんど明らかになっていない。ヒト由来の種々の細胞株を用いて風疹ウイルスに対する感受性を検討した。その結果、ヒト胎盤絨毛組織に由来する細胞株(NJG, JAR, JEG3)が風疹ウイルスにVero細胞と同等の高い感受性を示すことを明らかにしている。本研究では、更に胎盤絨毛由来の細胞株における風疹ウイルスの感染動態を解析するために、ウイルス産生能を検討した。Vero, NJG, JAR, JEG3細胞へ風疹ウイルスを感染させて、感染後120時間まで24時間毎に培養上清を回収した。プラーク法により培養上清のウイルス力価を測定した。感染24-48時間後のウイルス力価はNJG, JAR, JEG3全ての細胞でVero細胞と同等だった。感染72-120時間では、NJGとJARはVero細胞と比較して10-100倍低いウイルス力価を示した。一方、JEG3細胞はVero細胞と同等のウイルス力価を示した。以上の結果より、JEG3細胞が風疹ウイルスに対してVero細胞と同等の感受性とウイルス産生能を持つことが明らかになった。JEG3細胞はヒト細胞における風疹ウイルスの感染動態を解析するために有用であると考えられた。[坂田真史、安楽正輝、大槻紀之、竹田誠、森嘉生]

### III. ムンプスウイルスに関する研究

## ウイルス第三部

### 1. 上衣細胞特異的 miRNA の相補配列を導入した新規ムンプスワクチン候補株の作製

現行の国産おたふくかぜ(ムンプス)ワクチンは、副反応としてワクチン接種後の無菌性髄膜炎の問題を抱えている。これはムンプスウイルス(MuV)が脳上衣細胞で増殖することで、炎症が誘発されるためと考えられている。そこで MuV の増殖を上衣細胞特異的に抑制するため、上衣細胞において高発現する microRNA である miR449 の相補配列をゲノムに有する組換え MuV (rOdate/miR449)を遺伝子操作系によって作出した。培養細胞およびラットを用いて検討した結果、rOdate/miR449 は防御免疫を付与するのに十分な末梢での増殖を保持しつつ、無菌性髄膜炎の発生リスクを軽減しうることが示唆されたため、霊長類を用いてさらにワクチンとしての有用性について評価を行った。マーモセットを用いて rOdate/miR449 の全身での増殖性および免疫原性について評価した結果、親株である rOdate 接種群では5頭中2頭の中枢神経(橋および視床を含む)からウイルス RNA が検出され、そのうち1頭では発熱症状を認めたのに対し、rOdate/miR449 接種群の中枢神経からはウイルスRNAは検出されなかった。一方、誘導された中和抗体価については両群で有意な差は認められなかった。カニクイザルを用いた免疫実験においても、rOdate/miR449 によって誘導された中和抗体価は親株と同等以上であり、さらに現行のワクチン株である Jeryl-Lynn 接種群に比べ有意に高い値であった。以上の結果より、miR449 相補配列をゲノムに組み込む手法はより安全なおたふくかぜワクチンの開発に有用な手法であると考えられた。[加藤大志、網康至\*、永田典代\*\*、須崎百合子\*、岩田奈織子\*\*、竹田誠、木所稔:\*動物管理室、\*\*感染病理部]

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

分子シャペロンの一つである Heat shock protein 90 (Hsp90) は多くの RNA ウイルスの増殖に重要な役割を果たしていることが知られている。そこでムンプスウイルス感染における Hsp90 の役割について、Hsp90 阻害剤である 17-AAG を用いて検討した。17-AAG 処理によって、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼである L タンパク質の発現量が低下し、ウイルス RNA 合成およびウイルス産生が抑制された。17-AAG 処理下では、L タンパ

ク質は Heat shock protein 70 (Hsp70) およびユビキチンリガーゼである CHIP との相互作用が増加したことから、Hsp90 の機能を阻害すると、L タンパク質は Hsp70/CHIP 依存的にプロテアソームによって分解されることが示唆された。一方、17-AAG は P タンパク質と相互作用した L タンパク質の安定性およびポリメラーゼ活性には影響を及ぼさなかったことから、Hsp90 の L タンパク質に対するシャペロンとしての役割は一過性であると考えられた。以上の結果より、L タンパク質は Hsp90 によって適切にフォールディングされた後、P タンパク質へと受け渡され、ポリメラーゼとしての機能を発揮することが明らかになった。[加藤大志、久保田耐、中津祐一郎、木所稔、竹田誠]

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

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

予め体温測定用の発信器を腹腔内に挿入したマーモセット(各群 3 頭)に初回免疫を JL 株で、追加免疫を国産株で行う相互補完免疫群 2 群 (JL+星野、および JL+鳥居接種群)と、3 群の対照群 (JL+JL、星野+星野、鳥居+鳥居)をおいた。100 PFU の各ワクチン株を 8 週間隔で 2 回皮下接種した。その 8 週後に  $10^4$  PFU/頭の大館株を経鼻で攻撃接種し、体重、体温、活動性、中和抗体価、血中ウイルス量 (BVL) を経時的に測定した。攻撃後 5 週目に解剖し、中枢神経系、リンパ組織、主要臓器について、病理学的、ウイルス学的な検索を行った。

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

## ウイルス第三部

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

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

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

### 4. マーモセットモデル系による次世代ムンプスワクチンの評価

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

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

### 5. 全国的なサーベイランス網の構築と国内流行株の解析

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

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

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

[木所稔、村野けい子、竹田誠、庵原俊昭\*、各地方衛生研究所の研究協力者\*\*:\*国立病院機構三重病院、\*\*秋田県健康環境センター、仙台市衛生研究所、茨城県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、神奈川県衛生研究所、新潟県保健環境科学研究所、石川県保健環境センター、静岡市環境保健研究所、愛知県衛生研究所、滋賀県衛生科学センター、大阪府立公衆衛生研究所、神戸市環境保健研究所、広島市衛

## ウイルス第三部

生研究所、山口県環境保健センター、北九州市環境局環境科学研究所、佐賀県衛生薬業センター、熊本県保健環境科学研究所、沖縄衛生環境研究所]

### 6. ムンプスのラボ診断用新規アッセイ系の確立

ムンプスワクチン定期接種導入後のワクチン効果を評価するために、国内におけるムンプスウイルス(以下 MuV)の流行状況を正確に把握する体制を整備することが喫緊の課題となっている。そのためには迅速で精度の高いラボ診断技術が必須となる。現在国内のムンプスのラボ診断は RT-PCR 法が主流となっている。RT-PCR 法は感度が高く、ウイルスのゲノム配列情報が得られる等の利点がある一方で、交差汚染のリスクが高い点が問題となっている。そこで、交差汚染リスクの低い Real-time PCR 法を確立し、その手技をムンプスサーベイランス網の主体となる地方衛生研究所に導入することを目指す。

RT-PCR 法の欠点を補完する新たな診断方法として、RNA から直接診断できるワンステップ Real-time PCR 法について 2 種類の市販キット(QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen)、および LightCycler 480 RNA Master Hydrolysis Probes(Roche)) について、その検出感度、信頼性について検討した。その結果、いずれのキットにおいても少なくとも 4 コピーからウイルス RNA が検出可能であり、感度の点では両キットとも申し分ないことが確認された。一方、信頼性の点では再現性と定量性の点で QuantiTect Probe RT-PCR Kit が優れていた。

[木所稔、村野けい子、加藤大志]

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

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

れ 10 年以上にわたって全く同じ SH 遺伝子配列を持つ 4 株を用いた。ウイルス培養上清から、総 RNA を抽出し、RNA シーケンスキットによってサンプル調製を行い、MiSeq を用いて全ゲノム配列情報を取得した。ゲノム配列情報の解析は CLC WorkBench を用いた。

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

[木所稔、村野けい子、白銀勇太]

## IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

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

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

### 2. 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)の RT-LAMP 法による検査法の開発

2012 年に発生した MERS-CoV による重症肺炎は、現在でも中東を中心として発生が続いている。現在 MERS-CoV の診断は、主にリアルタイム RT-PCR による遺伝子検出によって行わ

## ウイルス第三部

れている。これに加え、我々は日本国内で広く利用されている RT-LAMP 法を利用した MERS-CoV 検出法の開発をおこなっている。これまでにウイルスの Nucleocapsid (N) protein の保存領域を検出する LAMP プライマーセットを開発したが、さらに他の遺伝子領域でウイルス検出ができるように、開発を続けている。現在までに、2領域でリアルタイム PCR と同程度の感度でウイルスを検出することに成功している。本法は MERS-CoV の遺伝子診断法として有用であると考えられ、既存のリアルタイム RT-PCR 法に加えて運用することで、MERS-CoV の遺伝子診断の確実化に貢献すると考えられる。[白戸憲也、松山州徳]

### 3. コロナウイルスの細胞侵入機構について

ヒトコロナウイルス229E (HCoV-229E) は小児に蔓延している風邪の病原体である。このウイルスが細胞侵入するとき、細胞のプロテアーゼを利用することが知られている。プロテアーゼの種類によって2つの経路を通ることが解っているが、1つ目は細胞外のプロテアーゼを利用してスパイク蛋白を活性化し細胞表面から侵入するものであり、2つ目はエンドソームに取り込まれた後に、カテプシンLにより活性化されエンドソームから侵入するものである。我々は上記2種ウイルスについて、臨床検体から分離されたウイルスは、培養細胞での継代を重ねたウイルスと較べてカテプシン利用効率が著しく低いことを見出した。コロナウイルスがエンドソームを介して侵入する場合、ウイルス増殖に不利であるため、ウイルスはエンドソームを避けるように進化したと考え、証明を試みている。[白戸憲也、松山州徳]

### 4. ヒト RS ウイルスの複製に関与する宿主因子の特定

Respiratory syncytial virus(RSV)は世界中に広く分布しており、生涯にわたり再感染を繰り返す。特に生後6カ月以内の乳幼児で重症化するが、近年では高齢者での重症患者も増加している。RSV に対するワクチンは未だ存在せず、過去のワクチントライアルにおいては逆に重症化した。従って RSV 感染症のコントロールには、ワクチン以外にも抗ウイルス薬の開発が有用と考えられる。抗ウイルス薬開発の標的を検索するためにはウイルス複製のメカニズムが明らかになっている必要がある。RS ウイルスは nucleolin が主要な receptor であるというこ

とが報告されているが、他の co-receptor やウイルス複製に関与する宿主因子はよくわかっていない。そこで RSV 低感受性の MDCK 細胞に RS ウイルス感受性のヒト細胞由来の cDNA ライブラリーを導入し、RS ウイルス感受性化した細胞クローンと親株の MDCK を用いたマイクロアレイ解析を行い、高発現分子、膜型分子、プロテアーゼなどを条件としたスクリーニングを行った結果、いくつかの分子がピックアップされ、なかでも CCL2、Ephrin-B2、および RARRES2 の3分子が RS ウイルス複製に関与している可能性が示唆された。すなわち、これらの強制発現により、RS ウイルス複製は上昇した。Ephrin-B2 および RARRES2 は膜型分子であるが、これらに対する siRNA 処理により、ウイルス複製が低下することが明らかとなった。[白戸憲也、松山州徳]

### 5. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、B 型インフルエンザウイルスのマウス生体内での増殖に必須ではない

我々は、マウス生体内での季節性インフルエンザ A ウイルス (IAV) の増殖に宿主プロテアーゼである TMPRSS2 が必須であることを証明した (Sakai et al. 2014. J. Virol.)。本研究では IAV と同じオルソミクソウイルス科に属するインフルエンザ B ウイルス (IBV) のヒト臨床分離株 3 株とマウス馴化株 1 株の計 4 株を用いて、培養細胞及びマウス生体内における TMPRSS2 の影響を解析した。IBV 感染 HeLa 細胞では HA タンパク質の開裂は認められなかったが、IBV 感染ヒト TMPRSS2 発現 HeLa 細胞及び IBV 感染マウス TMPRSS2 発現 HeLa 細胞培養細胞ではそれぞれ HA タンパク質の開裂が認められた。次に、TMPRSS2 遺伝子をノックアウトしたマウス (TMPRSS2 KO マウス) と TMPRSS2 遺伝子を発現している通常の野生型マウス (WT マウス) に IBV をそれぞれ経鼻感染させ、ウイルス学的解析を実施した。マウスの致死率、体重変動、肺洗浄液のウイルス力価の結果とはほぼ同様に、KO マウスと WT マウスの肺乳剤のウイルス力価や HA 開裂率についても、顕著な差は認められなかった。したがって、IAV とは異なり、IBV の病原性の発現に TMPRSS2 は必須でないことが明らかとなった。[酒井宏治、網康至\*、安楽正輝、中島典子\*\*、駒瀬勝啓、長谷川秀樹\*\*、高山郁代\*\*\*、高下恵美\*\*\*、浅沼秀樹\*\*\*、小田切孝人\*\*\*、田代真人\*\*\*、竹田誠:\*動物管理室、\*\*感染病理部、\*\*\*インフルエンザウイルス研究センター]

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

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

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

ヒトメタニューモウイルス (hMPV) 及びヒト RS ウイルスは、共にパラミクソウイルス科 ニューモウイルス亜科に分類され、特に乳児及び高齢者において、重篤な下気道感染症を引き起こす。また、これらウイルス感染に対する免疫応答は、再感染

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

## サーベイランス業務

1. 平成 27 年度感染症流行予測調査における風疹感受性調査のため、標準血清 (HI 抗体陽性血清並びに陰性血清) を用意し、感染症情報センターを通じて配布した。HI 試験誤差の有無を検討するための調査用検体を整備・配布し、各施設で測定してもらい、その結果を集計した。また、平

## ウイルス第三部

成 25, 26 年度に得られた成績をまとめ報告した。[大槻紀之、感染症情報センター、森嘉生]

### 品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 3 ロット、風しんワクチン中間段階 4 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 0 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 5 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 3 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 36 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 15 ロットの検定を行った[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、駒瀬勝啓、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生、久保田耐、木所稔、加藤大志、竹田誠]
2. 人免疫グロブリン製剤 215 ロットの検定(麻疹抗体測定試験)を行った。[關文緒、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠]
3. インターフェロン製剤 2 ロット(rec  $\beta$ -1b 1 ロット、天然型  $\beta$  1 ロット)の収去検査を行った。[白戸憲也、白銀勇太、松山州徳]
4. 薬食機発 0304 第 1 号通知に基づき、抗風疹抗体パネルの整備を行った。所内ボランティアより週種したヒト血清約 120 検体について、抗風疹抗体(IgG または全抗体種)測定用の体外診断用医薬品 6 種による値付けを行った。[岡本貴世子、永井美智、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

### レファレンス業務

1. 麻疹の行政検査 2 件を実施した[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、山田裕加里、駒瀬勝啓]
2. 1 カ所の地方衛生研究所に Vero/hSLAM 細胞を配布した。[關文緒、山田裕加里、駒瀬勝啓]
3. 麻疹病原体検出マニュアルを一部、改訂した [中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓]
4. 全国 73 カ所の地方衛生研究所に麻疹リアルタイム PCR 用、プライマー、プローブ、標準 RNA を配布した。また 1 カ所の地方衛生研究所に RT-PCR 用参照 RNA を配布

した。[中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓]

5. 20 ヶ所の地方衛生研究所に麻疹検査法に関する外部精度管理を実施した。[中津祐一郎、染谷健二、關文緒、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、駒瀬勝啓]
6. 第 36 回衛生微生物技術協議会においてレファレンスセンター関連会議を行い、レファレンスセンター等報告を行った。[駒瀬勝啓、森嘉生]2015 年 7 月 22-24 日
7. 風疹に関する行政検査 1 件を実施した。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生]
8. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 13 カ所の地方衛生研究所等に配布した。[森嘉生、永井美智]
9. 病原体検出マニュアル・風疹(第 3.1 版)の改訂を行った。[森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、安井善宏\*、皆川洋子\*、倉田貴子\*\*、上林大起\*\*、加瀬哲男\*\*、\*愛知県衛生研究所、\*\*大阪府公衆衛生研究所]
10. ムンプスの行政検査を 4 件実施した。[木所稔]
11. MERS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 22 件 海外 3 件。[白戸憲也、松山州徳]
12. SARS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件。[白戸憲也、松山州徳]
13. MERS コロナウイルス確定診断、行政検査 8 件。[白戸憲也、白銀勇太、松山州徳]
14. 6 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス RT-PCR 用のプライマーセット及び陽性コントロールウイルス RNA を送付した。[木所稔、村野けい子]

### 国際協力業務

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

## ウイルス第三部

- meeting(2015年6月30~7月2日:スイス、ジュネーブ)に参加し、日本の麻疹ウイルス、風疹ウイルスの分子疫学、CRS サーベイランスについての発表を行うとともに、診断法、検体輸送法、精度管理等に関して議論した。[駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠]
- ベトナムハノイの NIHE を訪問し、麻疹の検査診断法について協議した[駒瀬勝啓](2015年9月7日~11日)
  - 第12回日本台湾感染症シンポジウム(2015年9月10-11日)に参加し、日本の風疹の現状及び分子疫学について発表を行うとともに台湾の風疹の状況について情報収集した。[森嘉生]
  - MERS-CoV, 50th US-Japan Cooperative Medical Science Program (2016年1月11~15日、メリーランド、USA)に参加 [松山州徳]
  - WHO Expert Working Group Meeting on RSV Surveillance based on the GISRS Platform, 2016年2月2~3日、スイス、ジュネーブ)に参加、[白戸憲也]
  - 中国、香港で行なわれた「The Sixth Regional Hands-on Training on Laboratory Molecular Diagnosis of Measles and Rubella」に temporary adviser として参加し、麻疹、風疹の分子生物学的検査診断法の研修を行なった。[駒瀬勝啓](2016年2月29日~3月4日)

### 研修業務

- 平成26年度 検定・検査教育講習会 新規者向け講習会で「ウイルス製剤の検定」について講義をおこなった。[駒瀬勝啓]2015年6月11日
- ベトナムからの研修生8名に「麻疹と麻疹ワクチン」に関する講義を行った。[駒瀬勝啓](2015年9月2日)
- MERS 国際研修、2015年12月7~11日、感染研村山庁舎 [白戸憲也、松山州徳]
- JICA「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化(WHOとの連携案件)」研修生9名に「麻疹と麻疹ワクチン」の講義を行なった。[駒瀬勝啓](2016年1月28日)
- JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生14名に麻疹抗体測定法、

PCR 法等の実習を行った。[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓] 2016年1-2月

- JICA 集団研修「ポリオ及び風疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、中東、アフリカ諸国の研修生14名に風疹検出 RT-PCR 法、風疹ウイルス分離同定の実習を行った。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生] 2016年1-2月
- JICA 集団研修「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化」研修において、風疹ワクチンの国家検定に関する講義を行った(2016年1月28日)[森嘉生]

### 発表業績一覧

#### I. 誌上発表

#### 欧文発表

- [Seki F](#), [Someya K](#), [Komase K](#), [Takeda M](#). A chicken homologue of nectin-4 functions as a measles virus receptor. *Vaccine*. 2016 Jan 2;34(1):7-12.
- [Sakai K](#), [Ami Y](#), [Nakajima N](#), [Nakajima K](#), [Kitazawa M](#), [Anraku M](#), [Takeyama I](#), [Sangsriatanakul N](#), [Komura M](#), [Sato Y](#), [Asanuma H](#), [Takashita E](#), [Komase K](#), [Takehara K](#), [Tashiro M](#), [Hasegawa H](#), [Odagiri T](#), [Takeda M](#). (2016) Tmprss2 independency for haemagglutinin cleavage in vivo differentiates influenza B virus from influenza A virus. *Sci Rep* 6:29430
- [Sakai K](#), [Sekizuka T](#), [Ami Y](#), [Nakajima N](#), [Kitazawa M](#), [Sato Y](#), [Nakajima K](#), [Anraku M](#), [Kubota T](#), [Komase K](#), [Takehara K](#), [Hasegawa H](#), [Odagiri T](#), [Tashiro M](#), [Kuroda M](#), [Takeda M](#). (2015) A mutant H3N2 influenza virus uses an alternative activation mechanism in Tmprss2 knockout mice by loss of an oligosaccharide in the hemagglutinin stalk region. *J Virol*.89:5154-8.
- [Sakai K](#), [Hagiwara K](#), [Omatsu T](#), [Hamasaki C](#), [Kuwata R](#), [Shimoda H](#), [Suzuki K](#), [Endoh D](#), [Nagata N](#), [Nagai M](#),

### ウイルス第三部

- Katayama Y, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Mizutani T, Maeda K. (2015) Isolation and characterization of a novel Rhabdovirus from a wild boar (*Sus scrofa*) in Japan. *Vet Microbiol.* 179(3-4):197-203.
5. Tahara M, Burckert J, Kanou K, Maenaka K, Muller CP, Takeda M. (2016) Measles virus hemagglutinin protein epitopes: The basis of antigenic stability. *Viruses* 8:E216
6. Okamoto K, Mori Y, Komagome R, Nagano H, Miyoshi M, Okano M, Aoki Y, Ogura A, Hotta C, Ogawa T, Saikusa M, Kodama H, Yasui Y, Minagawa H, Kurata T, Kanbayashi D, Kase T, Murata S, Shirabe K, Hamasaki M, Kato T, Otsuki N, Sakata M, Komase K, Takeda M. (2016) Evaluation of sensitivity of TaqMan RT-PCR for rubella virus detection in clinical specimens. *J. Clin. Virol.* 80: 98-101.
7. Okamoto K, Ami Y, Suzuki Y, Otsuki N, Sakata M, Takeda M, Mori Y. (2016) Analysis of the temperature sensitivity of Japanese rubella vaccine strain TO-336.vac and its effect on immunogenicity in the guinea pig. *Virology* 491:89-95.
8. Katoh H, Kubota T, Kita S, Nakatsu Y, Aoki N, Mori Y, Maenaka K, Takeda M, Kidokoro M. (2015) Heat shock protein 70 regulates degradation of the mumps virus phosphoprotein via the ubiquitin-proteasome pathway. *J. Virol.*, 89(6), 3188-99.
9. Katoh H, Nakatsu Y, Kubota T, Sakata M, Takeda M, Kidokoro M. (2015) Mumps virus is released from the apical surface of polarized epithelial cells, and the release is facilitated by a Rab11-mediated transport system. *J. Virol.*, 89(23), 12026-34.
10. Katoh H, Kubota T, Ihara T, Maeda K, Takeda M, Kidokoro M. (2016) Cross-neutralization between human and African bat mumps viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 22(4), 703-6.
11. Shirato K, Azumano A, Nakao T, Hagihara D, Ishida M, Tamai K, Yamazaki K, Kawase M, Okamoto Y, Kawakami S, Okada N, Fukushima K, Nakajima K and Matsuyama S. (2015). Middle East respiratory syndrome coronavirus infection not found in camels in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases.* 68(3):256-258
12. Shirato K, Ujike M, Kawase M and Matsuyama S. (2015). Identification of CCL2, RARRES2 and EFNB2 as Host Cell Factors that Influence the Multistep Replication of Respiratory Syncytial Virus. *Virus Research.* 210:213-226.
13. Rota P, Moss WJ, Takeda M, de Swart RL, Thompson KM, Goodson JL.(2016) Measles. *Nat Rev Dis Primers* 2:16049
14. Mulders MN, Rota PA, Icenogle JP, Brown KE, Takeda M, Rey GJ, Mamou MCB, Dosseh ARG, Byabamazima CR, Ahmed HJ, Pattamadilok S, Zhang Y, Gacic-Dobo M, Strebel PM, Goodson JL. (2016) Global measles and rubella laboratory network support for elimination goals, 2010-2015. *MMWR* 65:438-442
15. Kimura H, Saitoh M, Kobayashi M, Ishii H, Saraya T, Kurai D, Tsukagoshi H, Shirabe K, Nishina A, Kozawa K, Kuroda M, Takeuchi F, Sekizuka T, Minakami H, Ryo A, Takeda M. (2015) Molecular evolution of haemagglutinin (H) gene in measles\_virus. *Sci Rep.* 5:11648.
16. Yamamoto M, Matsuyama S, Li X, Takeda M, Kawaguchi Y, Inoue J, Matsuda Z. (2016) Identification of nafamostat as a potent inhibitor of Middle East respiratory syndrome (MERS) corona virus S-mediated membrane fusion using the split protein-based cell-cell fusion assay. *Antimicrob Agents Chemother* (in press)
17. Okamoto M, Miyazawa T, Morikawa S, Ono F, Nakamura S, Sato E, Yoshida T, Yoshikawa R, Sakai K, Mizutani T, Nagata N, Takano J, Okabayashi S, Hamano M, Fujimoto K, Nakaya T, Iida T, Horii T, Miyabe-Nishiwaki T, Watanabe A, Kaneko A, Saito A, Matsui A, Hayakawa T, Suzuki J, Akari H, Matsuzawa T, Hirai H. (2015) Emergence of infectious malignant thrombocytopenia in Japanese macaques (*Macaca fuscata*) by SRV-4 after transmission to a novel host. *Sci Rep.* 5:8850.
18. Sakata R, Nagita A, Kidokoro M, Kato A, Ogino K.

### ウイルス第三部

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

#### 和文発表

1. 竹田誠、酒井宏治、關文緒、(2016) イヌジステンパーウイルスの流行と宿主域の拡大、*感染症* 46:8-12
2. 竹田誠、駒瀬勝啓、(2015) 麻疹排除へ向けて、*化学療法の領域* 31:1326-32
3. 竹田誠、駒瀬勝啓、(2015) 近年の歩みとこれからの課題、*生体の科学* 66:309-12
4. 竹田誠(分担執筆)(2015) *臨床微生物検査、臨床検査法提要(改訂34版)*、金井正光(監修)、金原出版株式会社
5. 駒瀬勝啓、染谷健二、竹田誠、(2015) 麻疹検査診断の現状、*病原微生物検出情報* 36:59-60
6. 駒瀬勝啓、染谷健二、竹田誠、(2015) 海外の麻疹の状況-2014年のWPR、EUR、AMRの状況、*病原微生物検出情報* 36:68-70
7. 駒瀬勝啓(2015) 欧米における麻疹の状況と日本の麻疹の排除の維持、*感染症免疫* 45(3): 259-261
8. 駒瀬勝啓(2015) 日本の麻疹の状況と麻疹排除の進捗、*モダンメディア* 61(4); 81-90.
9. 駒瀬勝啓、竹田誠、(2016) インドネシアにおける麻疹の状況、*病原微生物検出情報* 37:67-68.
10. 酒井宏治、関塚剛史、(2015) インフルエンザ A ウイルスの HA ストック領域の糖鎖欠失によるプロテアーゼ特異性の変化、*臨床とウイルス* 43(3):75-85.
11. 森嘉生、坂田真史、竹田誠、(2015) 海外の風疹の状況と風疹ウイルス遺伝子型の動向、*病原微生物検出情報* 36:135-137
12. 松山州徳、中東呼吸器症候群(Middle East Respiratory Syndrome:MERS)、*臨床と微生物*,42 巻 3 号, 2015
13. 松山州徳、中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)、*小児科臨床* 68(1): 27-32, 2015.
14. 松山州徳、13年前の SARS コロナウイルスのアウトブレイク、*LABIO21*,1 月号 (2016)
15. 松山州徳、MERS-CoV の基礎研究、*IASR* 12 月号, 2015

16. 白戸憲也、MERS コロナウイルスの宿主としてのラクダについて、*IASR* 12 月号, 2015
17. 松山州徳、韓国における MERS の感染拡大と日本の対応、*獣疫学雑誌* 19(2),(2015)
18. 松山州徳、感染症法において規制対象となるコロナウイルス、*SARS と MERS*,JBSANL,No.14(2015)
19. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス、*大阪大学学友会誌* 10 月号(2015)
20. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルス、*LABIO21*,10 月号 (2015)
21. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)、*小中高学保健ニュース*,9/28 号(2015)
22. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)、*救急医学*, 9 月臨時増刊号 Vol.39 No10 (2015)
23. 松山州徳、MERS-CoV コロナウイルス感染症、*獨協医学会雑誌 特集号* (2015)
24. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)、*公衆衛生*, 79 巻 7 号 (2015)
25. 松山州徳、MERS コロナウイルス、*公衆衛生情報*,4 月号 (2015)
26. 白戸憲也、MERS コロナウイルスの検査法について、*IASR* 12 月号, 2015
27. 久場由真仁、喜屋武向子、新垣絵理、高良武俊、加藤峰史、岡野祥、久高潤、大城裕子、宜保諒、森近省吾、安里とも子、大城勇磨、饒平名長令、座嘉比照子、大野惇、砂川洋子、木村太一、金城房枝、當間卓弥、池田勉、大屋記子、木所稔、(2016) 遺伝子型 G ムンプスウイルスによる 5 年ぶりの流行性耳下腺炎の流行—沖縄県、*病原微生物検出情報(速報)* 3 月 29 日

#### II. 学会発表

##### 国際学会

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

### ウイルス第三部

- progress, current situation and future prospects of measles and rubella in Japan. The 9th Japan–China–Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention.
3. Seki F, Someya K, Tahara M, Nakatsu Y, Komase K, Takeda M. (2015 June 14–19 Siena Italy) Measles virus has the ability to infect chicken embryonic fibroblasts through chicken nectin-4. Negative strand virus meeting 2015.
  4. Seki F, Someya K, Komase K, Takeda M. (2015 October 6–7, Decatur, GA, USA) A possible role of the nectin-4 homologue chicken molecule as a cellular receptor for measles virus vaccines to spread in chicken embryonic fibroblasts. 4th Mini Measles Rubella Symposium.
  5. Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Sekizuka T, Nakajima N, Anraku M, Tahara M, Kubota T, Komase K, Takehara K, Odagiri T, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. (2015 June 14–19, Siena, Italy) Host and viral determinants of proteolytic activation of influenza viruses. Negative Strand Virus Meeting 2015.
  6. Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Sekizuka T, Nakajima N, Anraku M, Kubota T, Odagiri T, Kuroda M, Hasegawa H, Tashiro M, Takeda M. (2015 September 17–20, Potomac, MD, USA) Host and viral determinants of in vivo proteolytic activation of influenza viruses. 2015 ASBMB Special Symposia Series. Membrane-Anchored Serine Proteases.
  7. Sakai K, Ami Y, Sekizuka T, Kitazawa M, Nakajima K, Anraku M, Nakajima N, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M, Kuroda M, Takeda M (2015 September 6–9, Hyogo, Japan) Molecular determinants of proteolytic activation of respiratory Ortho- and Paramyxoviruses in vivo. The 14th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
  8. Mori Y, Sakata M, Takeda M. (2015 Oct 6–7, Atlanta, Georgia, USA) Molecular epidemiology of rubella epidemic in Japan between 2012 and 2013 The 4<sup>th</sup> 4th Measles–Rubella Mini Symposium.
  9. Sakata M, Tani H, Otsuki N, Okamoto K, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y. (2015 Oct 6–7, Atlanta, Georgia, USA) Analysis of susceptibility of a variety of human cell lines to rubella virus. The 4<sup>th</sup> 4th Measles–Rubella Mini Symposium.
  10. Shirato K, Ujike M, Kawase M and Matsuyama S, Identification of host cell factors that influence the multistep replication of respiratory syncytial virus. (2015). American Society for Virology 34th Annual Meeting, London, Ontario, Canada. July 11–15.
  11. Hiramoto T, Tahara M, Sakamoto C, Nakatsu Y, Kubota T, Ono H, Kohara H, Takeda M, Tani K. (2015 May 13–16, New Orleans, Louisiana, USA) Newly developed measles virus vector can simultaneously transfer multiple genes into human hematopoietic cells and induce ground state like pluripotent stem cells. The 18th Annual Meeting, American Society of Gene & Cell Therapy.
- #### 国内学会
1. Takeda M, Sakai K, Ami Y, Kitazawa M, Nakajima K, Natthanan S, Anraku M, Nakajima N, Komase K, Takehara K, Hasegawa H, Tashiro M, A natural host model revealed the essential role of the host protease TMPRSS2 for respiratory paraxoxovirus pathogenicity, W1-E-01、第 63 回日本ウイルス学会学術集会、福岡、2015 年 11 月
  2. 竹田誠、田原舞乃、平本貴史、山口沙織、坂本千香、小原洋志、谷憲三朗、麻疹ウイルス改変ベクターの開発と高品質 iPS 細胞の作成、第 4 回 Negative Strand Virus–Japan、沖縄、2015 年 1 月 19–21 日
  3. 竹田誠、酒井宏治、A 型ならびに B 型インフルエンザウイルスの病原性発現における宿主プロテアーゼ要求性の明確な違いについて、第 47 回日本小児科学会、福島、2015 年 10 月 31 日～11 月 1 日
  4. 駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹排除の進捗状況– 流行ウイルスの解析による評価 –、第 56 回日本臨床ウイルス学会学術集会、岡山、2015 年 6 月 13–14 日
  5. 駒瀬勝啓、大園強、緑川圭、三柴雅昭、渡辺創、永田明義、梅木和宣、竹田誠、麻疹 IgM EIA キットの改良が麻疹排除に与えたインパクト、第 18 回日本ワクチン学会学

### ウイルス第三部

術集、2015年11月14-15日

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

### ウイルス第三部

- バイオセーフティー学会, 2015年9月(東京)口演
23. 松山州徳, 海外でのMERSの流行と日本の対応, 生活と環境全国大会, 2015年10月(京都)口演
24. 松山州徳, 中東呼吸器症候群(MERS)の現状と対策, 日本医師会獣医師会, 2015年11月(東京)口演
25. 松山州徳, 重症急性呼吸器ウイルス, SARSとMERS, 日本獣医公衆衛生学会, 2016年2月26日(秋田)口演
26. 松山州徳, LAMP法による中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの検出, LAMP研究会, 2016年2月27日(名古屋)口演
27. Shirato K, MERS Surveillance Team, Kawase M, Fukushima K, Nakajima K and Matsuyama S, Middle East respiratory syndrome coronavirus infection not found in camels in Japan, 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015年11月(福岡)ポスター
28. 白戸憲也, 前嶋田, 川瀬みゆき, 松山州徳, 田口文広, 豚 aminopeptidase N は豚流行性下痢ウイルスの受容体ではないが, 酵素活性によりウイルス感染を促進する, 第158回日本獣医学会学術集会 2015年9月(北海道)口演
29. 白戸憲也, 中東呼吸器症候群(MERS)について, 第31回日本環境感染学会総会, 2016年2月19日(京都)口演
30. 平本貴史, 田原舞乃, 山口沙織, 坂本千香, 小野宏彰, 竹田誠, 谷憲三朗, 遺伝子改変非伝播型麻疹ウイルスベクターを用いたヒトiPS細胞と基底状態iPS様細胞の樹立, 第14回日本再生医療学会, 横浜, 2015年3月19-21日
31. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Fukushi S, Sekimukai H, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice as an infectious animal model for MERS-CoV. 第63回日本ウイルス学会, 福岡, 2015年11月22-24日
32. 金井瑞恵, 砂川富正, 神谷元, 奥野英雄, 多屋馨子, 大石和徳, 竹田誠, 北島博之: Follow-up information of congenital rubella syndrome in Japan, 2012-2014 (2012-2014年出生の先天性風しん症候群児フォローアップ調査: 暫定情報), 第119回日本小児科学会, 札幌, 2016年5月13-15日
33. 宮野真輔, 木多村知美, Xeuatvongsa Anonh, Vongphrachanh Phengta, 森嘉生, 駒瀬勝啓, 竹田誠, 蜂矢正彦, ラオス人民民主共和国における全国血清疫学調査による麻疹および風疹抗体価測定と予防接種プログラムの有効性の評価, 第19回日本ワクチン学会学術集会, 2015.11.14-15
34. 加藤博史, 八幡祐一郎, 神谷元, 森野紗衣子, 奥野英雄, 福住宗久, 多屋馨子, 砂川富正, 松井珠乃, 森嘉生, 大石和徳, 事業所における風疹集団発生後の緊急ワクチン接種に関する状況と課題, 第19回日本ワクチン学会学術集会, 2015.11.14-15
35. 加藤博史, 神谷元, 八幡祐一郎, 森野紗衣子, 奥野英雄, 福住宗久, 多屋馨子, 砂川富正, 松井珠乃, 森嘉生, 大石和徳, 企業における海外渡航者への風しんワクチン接種の重要性について-X 券事業所での風しんアウトブレイク調査より, 第19回日本渡航医学会学術集会, 2015.7.25-26
36. 蜂屋佑磨 白戸憲也 松山州徳 小熊圭介 泉對博, 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)抗体検出法の検討 第158回日本獣医学会学術集会 2015年9月(北海道)口演
37. Taguchi F, Shirato K, Maejima M, Kawase M, Matsuyama S, Porcine aminopeptidase N (pAPN) is not a receptor for porcine epidemic diarrhea virus (PEDV), but promotes its infection via protease activity, 第63回日本ウイルス学会学術集会 2015年11月(福岡)口演

### III. その他

1. 竹田誠, 麻疹ウイルスの特性とウイルスサーベイランスの必要性, NPO 法人医師と団塊シニアの会, 麻疹排除記念講演会, 麻疹排除への道のりと今後, 東京, 2016年1月23日
2. Takeda M. Molecular basis for pathogenesis of Orthomyxo- and Paramyxoviruses, 2015年10月10日, University of Georgia, USA
3. 竹田誠, インフルエンザウイルス生体内活性化における

## ウイルス第三部

HA 糖鎖と宿主プロテアーゼ TMPRSS2 の役割、第 9 回  
CBI 学会 FMO 研究会、合理的創薬でウイルス感染症を  
抑え込む〜リレンザ®開発者からのメッセージ〜、東京工  
業大学キャンパスイノベーションセンター、2015 年 5 月 13  
日

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