

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。

以下、令和3年(2021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確立された、ヒト腸管オルガノイドに基づく安定な培養増殖系を用いて、ウイルス複製機構、病原性発現機構解明に向けた基礎的研究に加えて、不活化剤、治療薬、予防薬等の評価を進めている。また、サポウイルスの培養増殖系も確立されている。第一室は「ノロウイルス(下痢症ウイルス)レファレンスセンター」として、地方衛生研究所と協力して、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の開発や検査精度向上などに尽力し、これらの成果を種々の下痢症ウイルスの検出マニュアル作成や改訂に反映させた。

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(単独不活化ポリオワクチン製剤)は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ヶ国となり、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、3月には国内

の肝炎ウイルス研究者による肝炎ウイルス研修会を開催し、若手研究者の育成に努めた。B型肝炎ウイルスの研究では、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、動物モデルの開発が求められる。

第五室はA型およびB型肝炎ワクチンの国家検定、A型およびE型肝炎のウイルス検査を担当している。本年度はA型肝炎ワクチン1件、B型肝炎ワクチン12件の国家検定をおこなった。2021年12月の生物学的製剤基準改定により、B型肝炎ワクチン試験管内力価試験が国家検定に導入された。これに対応して、試験管内力価試験の試験法の確立、SOPの作成、SLP審査に関わる書類整備を行った。またA型肝炎およびE型肝炎の国内流行状況について積極的疫学調査による分子疫学的解析を担当しており、全国の地方衛生研究所と協調してウイルス配列情報の収集、解析を行った。研究業務ではA型肝炎ウイルスのウイルス複製機構の解明、ウイルス制御法、新規抗原の開発のための分子ウイルス学的研究を行なっている。またE型肝炎ウイルスの研究では、様々な遺伝子型の分子クローンの樹立、感染動物モデルの確立と病原性の解析、低分子化合物のスクリーニング等の研究を推進している。

人事面では、第四室に上田竜一、李瑩芳博士が研究員として着任し、深野顕人博士研究員が国立国際医療研究センターへ栄転となった。三氏の今後の活躍を期待する。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

I. 不活化ポリオワクチンの品質管理

セービン株由来不活化ポリオワクチンのD抗原量試験に関するWHO国際共同研究
令和3年7月～8月にD抗原量試験に使用するヒトモノクローナル抗体の有用性について評価を行い、得られたデータを英国NIBSCに提出した。[染谷雄一]

研修に関する業務

I. 国立保健医療科学院主催ウイルス研修

下痢症ウイルス

国立保健医療科学院主催の令和3年度ウイルス研修に

おいて下痢症ウイルスに関する講義を行った。[岡智一郎、藤井克樹、村上耕介]

肝炎ウイルス

国立保健医療科学院主催の令和3年度ウイルス研修において肝炎ウイルスに関する講義を行った。またA型肝炎ウイルスの検査実習を行った。[杉山隆一、松田麻未、李天成、鈴木亮介]

行政検査

第一室:

ノロウイルス 1件 4検体

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
9例 16検体

第五室:

E型肝炎ウイルス検査
2件 2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

初年度にあたる2020年度のロタウイルスの感染源調査は新潟県、大阪府、兵庫県の3自治体が参加する形で行った。qPCRによるスクリーニングで、大阪府で1例、兵庫県で1例の合計2例のロタウイルス陽性検体が検出された。患者年齢はそれぞれ10歳と3歳であり、ロタウイルス感染症患者としてはやや高齢であった。いずれもワクチン接種歴の無い症例であったため、ワクチンの効果を疑う症例ではなく、2020年度のロタウイルスワクチン有効性は100%と算出された。[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

大阪府および兵庫県で検出されたロタウイルス検体について、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行った。その結果、大阪府のウイルス株の遺伝子型構成はG9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1(典型的なWa型G9株)、兵庫県のウイルス株はG9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1(NSP4モノアソータント株)であった。これらは従来から全国的に検出されていた株に類似しており、2020年時点で検出されるウイルス株としては特殊なものではなかった。[藤井克樹、染谷雄一]

II. A型およびE型肝炎の流行調査

(1) 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 20検体

E型肝炎 39検体

[杉山隆一、清原知子、李天成、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)]

(2) 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)]

(3) 感染中和能を有するヒト型モノクローナル抗体の探索

高橋らが作製した抗ノロウイルスVLPヒト型モノクローナル抗体の感染中和能を腸管オルガノイドにより解析した。抗体存在下でGII.2, GII.3, GII.4感染性粒子を感染させた結果、全てを中和する抗体はなかったものの、GII.2及びGII.3を中和するものが見出された。今後はエピトープ解析を通じて感染メカニズムを明らかにする。[村上耕介、山岡曜子、平石依里、高橋宜聖(治療薬・ワクチン開発研究センター)、村松正道]

(4) 食品中ノロウイルスの不活化に関する研究

食品内部に存在するノロウイルスを腸管オルガノイドに感

染させる系の確立に取り組んだ。モデル食品として、食中毒事例がありスモールスケールで解析可能なシジミを選定した。殻から取り出した身にマイクロシリンジでノロウイルスを注入し、90°Cで5分間加熱した後、身を均質化してウイルスを抽出した。ウイルス抽出液を腸管オルガノイドに接種したところ、未加熱サンプルで腸管オルガノイドへの感染が成立すること、一方で加熱サンプルでは感染性が失われたことを示した。[林豪士、山岡曜子、伊藤篤、釜石隆(水産技術研究所)、Mary K. Estes(ベイラー医科大学)、村松正道、村上耕介]

(5) ノロウイルス感染における腸内因子の関与

ノロウイルスの腸管オルガノイドの感染には胆汁酸が関与する。このことからノロウイルス感染には他にも腸内因子が関与することが予想されたため、その候補として脂質について検証を行った。その結果、複数の脂質が含まれる市販脂質混合液を添加した際、ノロウイルス感染が促進される傾向を見出した。[小林さくら、村上耕介]

(6) ヒトノロウイルス感染を制御する宿主因子の探索

宿主の抗ウイルス応答に重要なJAK-STAT経路がヒトノロウイルス感染に関与しているか検証するため、CRISPR/Cas9法を用いてSTAT1遺伝子が欠損した腸管オルガノイドを樹立した。当該細胞のヒトノロウイルス増殖を評価したが、親株と比較してウイルス増殖に違いは認められなかった。よって、JAK/STAT経路非依存的な宿主因子・経路によりヒトノロウイルス増殖が制御されている可能性が示唆された。[林豪士、村上耕介、松田麻未、鈴木亮介、村松正道]

(7) ヒトノロウイルス感染を阻害する生薬エキスの探索

腸管オルガノイド培養系を用いて、生薬エキスのヒトノロウイルス増殖抑制効果を評価した。試験した約20種の生薬エキスのうち、1種の生薬がヒトノロウイルス増殖を抑制した。また、当該生薬はVeroE6/TMPRSS2細胞内でのSARS-CoV-2増殖も阻害した。今後、本生薬の抗ウイルス活性の作用機序を解析していく予定である。[林豪士、谷川尚(城西大・薬)、北村雅史(城西大・薬)、村上耕介、村松正道]

(8) 遺伝子群Iノロウイルスと組織血液型抗原との相互作用解析

遺伝子群Iに属するノロウイルス(GI.1~GI.9)のウイルス様中空粒子(VLP)を昆虫細胞より調製し、さまざまな組織血液型抗原(HBGA)への結合の有無をELISAベースのアッセイ系で解析したところ、すべてのGI株のVLPがLewis b抗原に結合することが明らかになった。[染谷雄一]

(9) ノロウイルスVLPのX線結晶構造解析

ノロウイルスチバ株(GI.4)の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)]

(10) ノロウイルスVLPの電子顕微鏡単粒子解析

ノロウイルスGI株のVLPの電子顕微鏡単粒子解析を行った。抗体との複合体との構造情報も得、構造精密化を進めている。[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) ヒトサポウイルス株のウイルスストックの調製

ヒト十二指腸由来細胞株(HuTu80)を用いてヒトサポウイルスのgenogroup I, II, Vの複数の遺伝子型株について、ウイルス増殖に成功した。さらにこれらすべてについてウイルス継代、ウイルスストックの調製を行った。これにより、さらに多くの遺伝子型株について、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)、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)、斎藤博之(秋田県保健環境センター)、八尋俊輔(熊本県保健環境科学研究所)、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)]

(2) ヒトサポ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 を用いて大量調製したサポウイルスGI.2, GII.1株の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い、サンドイッチ ELISA に使用できることを確認した。ウイルス増殖系が構築されるまでは昆虫細胞等で発現させたウイルス様中空粒子を用いて抗血清を調製していたが、ヒトサポウイルスそのものを免疫抗原として特異抗血清を作出できることを示した。[岡智一郎、李天成、片岡紀代(感染病理部)、米満研三、網康至、須崎百合子、高木弘隆(安全実験管理部)]

(3) リバースジェネティクス系を用いたヒトサポウイルスの作出
in vitro で合成したキャップ構造を持つ全長 HuSaV GII.3 RNAをHuTu80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。[李天成、片岡紀代(感染病理部)、Doan Yen Hai(感染症危機管理研究センター)、村松正道、岡智一郎]

(4) ヒトサポウイルス感受性規定細胞因子の検索

HuTu80細胞およびそのサブクローン、クローンを用いて Transcriptome 解析およびCRISPR/Cas9を用いたゲノムワ

イドノックアウトスクリーニング/次世代シーケンサーによる解析を実施し、ヒトサポウイルスの感受性を決定する細胞因子を検索している。[岡智一郎、高木弘隆(安全実験管理部)、中村優子(細胞化学部)]

(5) 細胞培養法を活用した浄水処理工程におけるヒトサポウイルスの除去・不活化特性の評価

ヒトサポウイルスについて細胞培養法を応用した感染性試験法を開発し、飲料水処理プロセスにおける感染性 HuSaV の低減効率評価へ適用した。[胡秋晗、白川大樹、白崎伸隆、松下拓、松井佳彦(北海道大学)、高木弘隆(安全実験管理部)、岡智一郎]

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

北海道の小児科クリニック(札幌市および苫小牧市)で2010年から2018年の間に採取されたロタウイルス陽性便検体についてNGS解析を実施し、244検体のロタウイルスゲノム解析に成功した。これによりワクチンが導入される前の2010年から近年までのウイルス株の変遷を連続的に把握することができた。2012年までは典型的なG1やG2、G3が多く、2012年以降はDS-1-like G1、2014年以降はG8、2016年以降はequine-like G3等の非典型的な株の流行が認められた。また、2017年にはG12が4例検出された。[藤井克樹、津川毅(札幌医科大学)]

(2) リアルタイムPCRによるロタウイルス検出方法の検討

ロタウイルスを検出・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)が現在幅広く利用されているが、非特異反応の発生が問題となっている。そこで正確性改善のためNSP3およびNSP5遺伝子にプライマー・プローブを再設計したが非特異反応の劇的な軽減は認められなかった。一方、反応条件の変更を試みたところ、Freemanらのセットで、フォワードプライマー、リバースプライマー、プローブの終濃度をそれぞれ0.4 μM、0.2 μM、0.2 μMとすることで非特異反応の軽減が認められた。[藤井克樹]

(3) ロタウイルスのリバースジェネティクス法の確立

ロタウイルスの基礎的研究に活用するため、リバースジェネティクス法によるウイルス作製を試みた。藤田医科大学の河本聡志准教授らが確立した手法(J Virol. 2018)に則り、サルロタウイルスSA11株の作製に成功した。また、細胞の自然免疫シグナル(STAT1およびIRF3)を抑制したMA104-N*V細胞(スタンフォード大学のGreenberg教授より分与)を用いる

ことで、更に効率良くロタウイルス SA11 株を作製できることを確認した。[藤井克樹]

4. その他の下痢症ウイルスに関する研究

(1) ヒトパレコウイルス 1-6 型共通の新規ウイルス受容体因子の同定

胃腸炎患者糞便から分離された 3 型ヒトパレコウイルスが効率的に増殖した HuTu80 細胞を用いて CRISPR/Cas9 を用いたゲノムワイドノックアウトスクリーニングにより同定した新規パレコウイルス受容体候補因子が、パレコウイルス 1-6 型すべての感染・増殖に必須であることを明らかにした。[渡邊香奈子(新潟大学)、岡智一郎、高木弘隆(安全実験管理部)、Anisimov Sergei、高橋雅彦(新潟大学)、大桑孝子、樋口雅也(金沢医科大学)、齋藤昭彦、藤井雅寛(新潟大学)]

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

2021 年度のエンテロウイルスレファレンスセンター会議を Zoom で開催した。2021 年度は、細胞を 1 箇所、抗血清を 2 箇所に分与した。

[吉田弘、有田峰太郎]

(2) 病原体等検査における検査プロセスの改善に向けた自主管理体制の検討

感染症法に基づく病原体検査では、検査部門の自主的な取り組みによる検査結果の信頼性の確保が求められる。検査の各工程でどのような予防可能なリスクがあるか 2019 年 12 月～2020 年 11 月の間、ヒヤリハット事例について収集した。調査期間中、延べ 62 件のヒヤリハット報告があり PCR 検査に関する工程が多くを占めた。新型コロナウイルス検査拡大に伴い他部門から応援要員が参加しヒューマンエラーの増加が懸念されたが、幸い大きな事象は報告されていない。OJT で技術研修を行い、ヒヤリハット事例を文書化し報告することによって「本人の気づき」を促進した可能性がある。今後は参加した職員のヒアリングなどを通して更なる分析が必要である。[筒井理華(青森県健康福祉部保健衛生課)、小笠原和彦(青森県環境保健センター)、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。2021 年度は 80 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 5 株、ポリオウイルス(ワクチン株)が 2 株分離された。

[西村順裕、菊池みなみ、喜多村晃一、吉田弘、有田峰太郎]

3. 世界ポリオ根絶計画に関わる研究

(1) 2 型ワクチン由来ポリオウイルスの NGS 解析

2019-2020 年にフィリピンで流行した 2 型ワクチン由来ポリオウイルス(cVDPV2)、及び同時期のフィリピンで免疫不全患者から見つかった 2 型ワクチン由来ポリオウイルス(iVDPV2)について、網羅的なゲノム情報を得るために次世代シーケンシング(NGS)を用いた全長ゲノム配列解析を行っている。フィリピン cVDPV2 は 2021 年 6 月に終息宣言がなされたが、同 iVDPV2 は長期感染によるウイルス排出が続いている。これらのウイルス株に対し、全長配列からの分子疫学情報の整理を行うとともに、時系列による変異頻度の推移、アミノ酸置換を伴う変異の割合、中和抗原部位の変異、quasi-species の変化、cVDPV2 と iVDPV2 の特徴の違い、ウイルス進化についてデータを蓄積し検討を進めている。また、これまで各国から分離され公的データベースに登録されている iVDPV2 の全長あるいは部分配列を取得し、その変異の特徴についてパイオインフォマティクス解析を行った。

[喜多村晃一、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。従来用いてい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) PSGL-1 遺伝子をノックアウトした Jurkat 細胞の樹立

ヒト P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1)はエンテロウイルス 71 の受容体である。Jurkat 細胞へのエンテロウイルス 71 感染機構の解明のため、PSGL-1 遺伝子のノックアウトを CRISPR/Cas9 によって試みた。PSGL-1 遺伝子を標的とする CRISPR/Cas9 を Jurkat 細胞にエレクトロポレーションし、クローン化した。PSGL-1 のノックアウトはゲノムシーケンシングとフローサイトメトリーにより確認し、ノックアウト細胞株(Jurkat-PSGL-1-KO 細胞)を樹立した。

[西村順裕]

(2) Jurkat-PSGL-1-KO 細胞へのヒト SCARB2 の安定発現

Jurkat-PSGL-1-KO 細胞の樹立の際に、CRISPR/Cas9 のオフターゲット効果によりエンテロウイルス 71 の複製が阻害された可能性を否定するために、ヒト PSGL-1 遺伝子の再発現を試みた。EF1a プロモーターにてヒト PSGL-1 を発現するプラスミドを Jurkat-PSGL-1-KO 細胞にエレクトロポレーションし、遺伝子導入された細胞を抗生物質で選択した。ヒト PSGL-1 蛋白質の発現をフローサイトメトリーで確認し、Jurkat-PSGL-1-KO [+PSGL-1]細胞を樹立した。

[西村順裕]

(3) Jurkat-PSGL-1-KO 細胞におけるエンテロウイルス 71 感染性の解析

Jurkat-PSGL-1-KO 細胞にエンテロウイルス 71 を感染させ、ウイルス増殖を検討した。PSGL-1 をノックアウトしたいずれの

クローンにおいても、エンテロウイルス 71 は細胞変性効果を誘導しなかった。したがって PSGL-1 のノックアウトが成功していることと、エンテロウイルス 71 の Jurkat 細胞への感染においては PSGL-1 が必須であることが確認された。

[西村順裕]

(4) 宿主因子PI4KB/OSBPに依存しないポリオウイルス変異体の解析

昨年度発見した宿主因子PI4KB/OSBPに依存しないポリオウイルス変異体の解析を引き続き行った。同定された変異のうち、ウイルスタンパク2Bの中に見つかった2B-Q20H変異の役割がこれまで不明であった。今回の解析で、2B-Q20H変異は、1) 単独では宿主因子へのウイルス複製の依存性に全く影響しないこと、2) 上流の変異として3A-R54W, 2B-F17L変異の2つがある場合にのみ、宿主因子へのウイルス複製の依存性を下げること、3) 2B-Q20H変異はPI4KB/OSBPのない細胞の間でのウイルス伝播の効率を上げること、を見出した。これらの結果から、ポリオウイルスは宿主因子PI4KB/OSBPに高次の依存(ウイルス複製、ウイルス粒子形成、ウイルス伝播)をしており、その依存性が解除されるためには少なくとも3つの変異が必要とされることが示唆された。

[有田峰太郎]

(5) 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

昨年度に作成した 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) 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。2021年度から、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を開始した。

[菊池みなみ、喜多村晃一、西村順裕、吉田弘、有田峰太郎、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。2021 年度は、5 地衛研からの計 1,185 血清検体について、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。

[西村順裕、喜多村晃一、菊池みなみ、有田峰太郎]

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 の増殖を抑制する低分子化合物を探索する為、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。この化合物存在化で HAV を継代すると、薬剤に対して耐性を獲得したウイルスが得られた。引き続き耐性を獲得したウイルスの変異部位と薬剤耐性の関連を解析を進めている。

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

(2) A 型肝炎ウイルスの DNA ベースのサブゲノムレプリコンの構築

国内で主に流行している遺伝子型 IA の HAV の中で、培養細胞で増殖効率の良い株を選択し、このウイルス遺伝子をクローニングし、構造領域を欠損させてルシフェラーゼ遺伝子を挿入した HAV ゲノムを、RNA polymerase I プロモーターとターミネーターの間に挿入したプラスミドを構築した。プラスミドを細胞に導入させると、一過性にルシフェラーゼの発現が認められた。DNA ベースのサブゲノムレプリコンは、HAV

の生活環の解析に役立つ事が期待される。

[鈴木亮介、西山直子、松田麻未、村松正道]

(3) 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 年の 119 件に引き続き、2021 年も 71 件の報告に留まった。そのうち、10 検体の遺伝子情報を収集し、解析を行った。その内訳は遺伝子型 IA: 90.0%、遺伝子型 IIIA: 10.0%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。

[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 cccDNAの変異頻度を増減させる宿主因子の解析

ウイルスゲノムにC-to-Uの変異を導入する抗ウイルス因子 APOBEC3タンパク質群(APOBEC3s)と、その変異を修復する機能が推定される宿主DNA修復因子UNGが、HBV複製の基点となるcccDNAに作用することを、培養細胞を用いた実験系で明らかにした。HBVを安定発現するHepG2.2.15.7細胞へインターフェロンγを添加すると、内在性APOBEC3遺伝子群の発現が誘導され、cccDNAに変異が導入された。さらにその条件下でUNGによる修復を阻害すると変異が高頻度に蓄積されウイルス複製能が低下することが明らかになった。また、公的データベースを用いた遺伝子発現データ解析から、慢性B型肝炎患者の肝臓において実際にAPOBEC3sの発現上昇が起きていることが確認され、培養細胞での結果が実際の患者肝臓でも起きている可能性が示唆された。

[喜多村晃一、深野顕人、Lusheng Que、Yingfang Li、若江亨祥、村松正道]

(2) HBV 陽性検体パネル候補検体の HBV 配列解析

HBV 陽性検体パネル候補検体 20 検体の HBV の配列解析を行った。これらの検体からDNAを分離し、PCR法でHBVの全長を増幅した後に、その塩基配列を決定した。HBV 遺伝子型はイムニス HBV ゲノタイプ EIA(特殊免疫研究所)を用いて判定し、さらに塩基配列の結果と比較することで確認した。HBV 陽性検体パネル 20 検体の遺伝子型の内訳は、遺伝子型 A 株 7 例、B 株 6 例、C 株 7 例であった。全長配列の確認により、20 検体中 4 検体で preS 領域から HBs 領域の欠損が見られた。また 20 検体中 2 検体で HBe 抗原が産生されなくなる nt. 1838 への A の挿入が見られた。

[山田典栄、加藤孝宣]

(3) B 型慢性肝炎患者における HBV 全長の次世代シーケンス解析

テノホビル・アラフェナミド(TAF)投与中の B 型慢性肝炎患者 7 例の HBV 全長の次世代シーケンス解析を行った。患者血清より HBV DNA を抽出し HBV の全長を重複する 8 フラグメントに断片化する PCR を行った後、各サンプル識別のためのインデックスとフローセル結合領域を含んだプライマーを用いて PCR を行い、DNA ライブラリーを作成し次世代シーケンス(New Generation Sequencing: NGS)を行った。NGS 解析データの平均カバレッジレベルは 149,892 リードであった。解析の結果、いずれの症例も核酸アナログ耐性変異として報告されている変異は認めなかったが、RT 領域に複数のアミノ酸変異が確認された。

[山田典栄、安田清美 (清川病院)、加藤孝宣]

(4) TAF 投与後 DNA 陰性化に 1 年以上要した B 型肝炎患者の RT 領域アミノ酸変異の解析

症例は 30 歳代、女性、遺伝子型 C の B 型慢性肝炎患者であり、TAF 投与開始後 HBV DNA は緩やかに低下したが開始から 12 カ月時点では HBV DNA の陰性化は得られず 1.5 logIU/ml 前後で経過し、その後 15 カ月で陰性化が得られた。治療開始前、開始後の 2 ポイントの NGS 解析を行ったところ、既報の核酸アナログ耐性変異は認めなかったが、治療開始前より rtS106C、rtI224V、rtQ215H の変異が確認された。これらの変異の比率はそれぞれ 21%から 30%、16%から 30%、12%から 30%に上昇しており、治療反応不良性に関与している可能性が示唆された。

[山田典栄、安田清美 (清川病院)、加藤孝宣]

(5) TAF 投与下にて低レベル DNA 陽性で経過する B 型肝炎患者の RT 領域アミノ酸変異の解

症例は 60 歳代、女性、遺伝子型 C の B 型慢性肝炎患者であり、TAF 投与開始後 HBV DNA は緩やかに低下したが、3 年以上経過後も 1.5 - 2.0logIU/ml 前後で浮動し経過しており未だ陰性化が得られていない。治療開始前、開始後の 2 ポイントの NGS 解析を行ったところ、既報の核酸アナログ耐性変異は認めなかったが、治療開始前より rtT118A、rtL220I の変異が確認された。これらの変異の比率はそれぞれ 58%から 69%、56%から 67%に上昇しており、治療反応不良性に関与している可能性が示唆された。

[山田典栄、安田清美 (清川病院)、加藤孝宣]

(6) TAF 投与下にて中レベル DNA 陽性で経過する B 型肝炎患者の RT 領域アミノ酸変異の解析

症例は 40 歳代、男性、遺伝子型 C の B 型慢性肝炎患者

であり、TAF 投与開始後 HBV DNA は緩やかに低下したが、3 年以上経過後も 2.5 - 3.5logIU/ml 前後で浮動し経過しており未だ陰性化が得られていない。治療開始前、開始後の 2 ポイントの NGS 解析を行ったところ、既報の核酸アナログ耐性変異は認めなかったが、治療開始前には確認されなかった rtH156Y の変異が治療開始後に出現し 30%を占めた。また治療開始前より rtL269I の変異が確認され治療開始前 44%から治療開始後 71%に上昇した。これらの変異は治療反応不良性に関与している可能性が示唆された。

[山田典栄、安田清美 (清川病院)、加藤孝宣]

(7) TAF 反応良好 B 型肝炎患者の RT 領域アミノ酸変異の解析

B 型慢性肝炎患者において TAF 投与開始から 1 年後に HBV DNA が陰性であった症例を反応良好例と定義し、反応良好例 4 例の治療開始前、開始後の 2 ポイントの NGS 解析を行った。いずれの症例も既報の核酸アナログ耐性変異は認めなかった。4 例中 1 例で反応不良例においても認められた rtQ215H の変異が確認され、4 例中 3 例で rtL269I の変異が確認された。HBV 遺伝子型 C の rt269 は国立感染症研究所ウイルス第二部の肝炎ウイルス配列情報データベースデータベース上、約半数がイソロイシンであり rtL269I の TAF 反応性との関与はさらなる検討が必要であると考えられた。

[山田典栄、安田清美 (清川病院)、加藤孝宣]

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

HBV Core 領域 I97L 変異は HBe 抗原陰性化後の B 型慢性肝炎患者において HBV DNA の低下と HBsAg の陰性化に関与することが報告されている。その機序を明らかにするため培養細胞を用いた 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]

(9) 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

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]

(10) 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]

(11) 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]

(12) HBV ウイルス株による HBs 抗原発現効率の違いについての検討

異なる増殖能を持つ HBV-C1 株、HBV-C2 株を用いて増殖能に関わる遺伝子領域、変異について検討した。HBV-C1 株は、感染性ウイルスの産生能は高いが、培養上清に分泌する HBs 抗原は少なかった。一方で、HBV-C2 株は感染性ウイルスの産生は HBV-C1 株に劣るが、培養上清に 10 倍程度多くの HBs 抗原を分泌した。

[村山麻子、加藤孝宣]

(13) HBs 抗原の分泌効率の違いに関わる HBV の変異の同定

異なる増殖能を持つ HBV-C1 株、HBV-C2 株のそれぞれの領域の配列を入れ替えたコンストラクトを用いて、HBs 抗原

の分泌量の違いの原因となるウイルス領域を同定した。さらに、その領域内の配列を比較し、変異導入ウイルスを用いて、原因となる変異を同定した。

[村山麻子、加藤孝宣]

(14) DMSO が HBV 感染効率に及ぼす影響の検討

HBV の培養細胞へ感染させる場合、DMSO を添加することにより感染効率の上昇が認められるが、一方で DMSO は濃度により細胞増殖阻害や細胞毒性を示すことが知られている。そこで HBV レポーターウイルスを用いて HBV 感染における至適の DMSO の濃度を検討した。HepG2/NTCP 細胞では、DMSO 濃度 2%と比較して 2.5%、3%と上昇させるに従って感染効率が上昇したが、3%では細胞増殖速度の低下が見られ、3.5%では感染効率は 3%と同等であったが、細胞毒性が見られた。

[村山麻子、加藤孝宣]

(15) HBV の遺伝子導入後のタイムコースでのウイルス産生の検討

HBV レポーターウイルスのコンストラクトを HepG2/NTCP 細胞に導入し、遺伝子導入後 1-8 日の培養上清中の HBs 抗原量と、感染性を調べた。培養上清に分泌される HBs 抗原量は時間経過とともに増加した。一方で、レポーターウイルスの感染性は、2 日目の培養上清から検出可能となり、6 日目がピークで、その後減少した。

[村山麻子、加藤孝宣]

(16) L-HBs 抗原を用いた新規 HB ワクチンの抗体誘導能の検討

現在、HB ワクチンとして酵母で作られた S-HBs 抗原が用いられている。この HB ワクチンは安全で感染予防効果が期待できる優れたワクチンであるが、その一方で抗体が十分に誘導されない不応者が 10%程度存在し、さらに中和エピトープに特定の変異を持つ株(ワクチンエスケープ変異株)では感染阻止が不能な場合があることが知られている。L-HBs 抗原は HBV の感染レセプターである NTCP への結合領域を含み、現行の S-HBs 抗原を用いたワクチンとは異なるエピトープに対する抗体誘導が期待できる。そこで霊長類であるマカクに L-HBs 抗原を K3-SPG および Addavax のアジュバントと共に接種し、その安全性と抗体誘導能について検討を行った。その結果、L-HBs 抗原と K3-SPG を組み合わせた HB ワクチンでは十分な抗体誘導が見られなかったが、L-HBs 抗原と Addavax を組み合わせた HB ワクチンでは、現行の S-HBs 抗原ワクチンであるビームゲンと同程度の抗体誘導が認められた。

[村山麻子、山田典栄、清原知子、鈴木亮介、明里宏文(京

都大学)、加藤孝宣]

(17) L-HBs 抗原を用いた新規 HB ワクチンの感染中和活性の検討

L-HBs 抗原と Addavax を用いた新規 HB ワクチンの接種による感染中和活性を培養細胞を用いた HBV 感染系を用いて評価した。その結果、L-HBs 抗原と Addavax を用いた HB ワクチンを接種したマカクの血清では、ビームゲン接種マカクから得られた血清よりも強い感染中和活性が観察された。L-HBs 抗原と K3-SPG を用いた HB ワクチン接種マカクの血清では十分な感染中和活性が観察されなかった。

[村山麻子、山田典栄、明里宏文(京都大学)、加藤孝宣]

(18) L-HBs 抗原を用いた新規 HB ワクチンのワクチンエスケープ変異株に対する感染中和活性の検討

HB ワクチンを接種したマカクの血清から抗体を精製し、その感染中和活性を HBV レポーターウイルス感染系を用いて定量的に評価した。その結果、L-HBs 抗原と Addavax を用いた HB ワクチン接種により得られた抗体では、ビームゲン接種により得られた抗体よりも強い感染中和活性が観察され、さらにビームゲン接種により得られた抗体では感染中和が難しいワクチンエスケープ変異株に対しても通常の HBV 株と同様の感染中和活性が観察された。

[村山麻子、山田典栄、明里宏文(京都大学)、加藤孝宣]

(19) L-HBs 抗原を用いた新規 HB ワクチンの HBV 各種遺伝子型株に対する感染中和活性の検討

HB ワクチンにより誘導された抗体による感染中和活性について遺伝子型依存性の評価を行った。遺伝子型 C の HB ワクチンであるビームゲン接種により得られた抗体では、HBV 遺伝子型 A 株、B 株、C 株に対して同様に強い感染阻害活性が観察されたが、遺伝子型 D 株に対しては感染中和活性がやや低下していた。一方、L-HBs 抗原(遺伝子型 C)と Addavax を用いた HB ワクチン接種により得られた抗体では、遺伝子型 A 株、C 株、D 株に対して強い感染阻害活性が見られたが、遺伝子型 B 株に対する感染中和活性が低下していた。

[村山麻子、山田典栄、明里宏文(京都大学)、加藤孝宣]

(20) BCL3 a new host factor required for HBV infection.

To identify new host factors affecting HBV life cycle, we performed loss of function experiment using gene-specific siRNA to identify the factors that are important for HBV replication. Silencing one of these factors, BCL3, showed a significant suppression of intracellular and extracellular HBV-DNA levels, with no effect on HBeAg and cccDNA levels after

infection. Overexpression experiment also confirmed the role of BCL3 in HBV DNA levels. These data suggest a role of BCL3 on HBV replication. The mechanism is under investigation.

[Hussein H Aly, Saied Hussein, Takanobu Kato]

(21) DHX35 is a new anti-viral host factor.

In 2016, we reported the host helicases that suppress HBV replication in HepAD38.7 cells. One of these helicases was DHX35. In 2021, we analyzed the role of DHX35 on HBV infection in HepG2-NTCP cells. We found that silencing of DHX35 significantly induced HBV-eAg, pgRNA, and HBV-DNA levels. Suggesting an anti-viral effect of DHX35 on HBV life cycle. These results were reproduced when silencing of DHX35 was performed after HBV infection, suggesting that the effect of DHX35 mainly regulate the stages after HBV entry and establishment of cccDNA. Overexpression experiment showed that higher levels of DHX35 is correlated with significant suppression of HBV-pgRNA and HBV replication. The mechanism by which DHX35 affect HBV life cycle is under investigation.

[Hussein H Aly, Saied Hussein, Takanobu Kato]

(22) RXR agonists suppress HBV infection

In 2021 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 2021, we found that pan RXR agonists, Bexarotene, but not other RAR agonists significantly suppressed HBV infection. Mechanistic analysis found that Bexarotene inhibited the early stages of HBV infection by suppressing KIF4 levels Bexarotene suppressed HBV-preS1 and NTCP interaction and blocked HBV entry. These data were confirmed by analyzing the surface protein levels of NTCP which was significantly suppressed after the administration of Bexarotene.

[Hussein H Aly, Sameh Aly Gad, Takanobu Kato]

(23) Bexarotene suppressed KIF4 expression and HBV infection by targeting FOXM1 levels.

After identifying that Bexarotene suppressed HBV infection by the reduction of KIF4 expression, we further analyzed the mechanism. FOXM1 is a main regulator of KIF4 expression. We found that Bexarotene suppressed FOXM1 levels, leading to the subsequent reduction of KIF4 expression and HBV infection. These data were confirmed by western blot analysis

which showed that FOXM1 levels were suppressed after Bexarotene treatment. The importance of the transcriptional activity of FOXM1 was confirmed by adding Bexarotene to the cells followed by the transfection of WT FOXM1, or dominant negative FOXM1 mutant. Interestingly transfection with WT FOXM1 rescued the surface expression of NTCP while the DN FOXM1 mutant increased the suppressive effect of Bexarotene. [Hussein H Aly, Sameh Aly Gad, Takanobu Kato]

(24) Identification of NTCP sequence required for its transportation to cell surface.

The interaction between NTCP and KIF4 required for the surface transport of NTCP was analyzed. While NTCP was found to interact with KIF4 in cell lysate, it was not detected by using recombinant NTCP and KIF4 proteins in vitro. These data suggest that the interaction between NTCP and KIF4 is indirect and is mediated by an adapter protein complex. We aimed to identify the adapter protein. First we analyzed the NTCP sequence required for the interaction with KIF4 through the construction of several NTCP deletion mutants. We identified a sequence at the C-terminal transmembrane domain of NTCP which is required for the interaction with KIF4. Further analysis is undergoing to clarify the role of this specific sequence to the transporter activity of KIF4 and to identify the adapter protein.

[Hussein H Aly, Sameh Aly Gad, Takanobu Kato]

(25) Identification of a new HBV entry blocker.

Based on our previously published work showing the negative effect of RXR agonists on HBV entry; we speculated that a new RXR agonist with a better pharmacokinetics could be used as HBV entry inhibitor drug. Although Bexarotene is approved by FDA in cancer treatment, however its poor solubility, non-specificity, and poor pharmacokinetics are preventing its broad use as an anti-viral drug. We searched for newly developed RXR agonists and identified S169 compound as a new RXR agonist which suppressed HBV infection. Further analysis is undergoing to confirm the mechanism and analyze its in vivo effect.

[Hussein H Aly, Sameh Aly Gad, Takanobu Kato]

(26) NTCP多量体化が誘導するB型肝炎ウイルス内在化機構の解析

HBVの感染受容体であるNTCPの多量体形成がHBVの細胞内侵入に重要だということを明らかにしてきた。NTCP多量体化に重要なアミノ酸残基を決定し、HBV侵入過程にお

けるNTCP多量体化の位置づけを解析した。NTCPのアラニンスキャンニングにより、NTCP多量体形成に重要なアミノ酸残基として274番目のフェニルアラニンを同定した。さらに、HBV細胞内侵入に必須とされる上皮成長因子受容体とNTCPの相互作用の下流にNTCP多量体化が位置することを明らかにした。

[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]

(27) 上皮成長因子受容体によるB型肝炎ウイルス制御機構の解析

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。そこでEGFRとNTCPの相互作用様式を解析している。

[岩本将士、塩野谷果歩、佐宗若奈、渡士幸一]

(28) エンテカビル耐性B型肝炎ウイルスポリメラーゼの生化学的および構造学的研究

既存薬であるエンテカビル(ETV)の耐性発現メカニズムを理解するために、生化学的手法と構造的手法を併用してETV耐性変異を持つHBV逆転写酵素(RT)を解析した。構造解析はETV感受性を獲得したHBV RT模倣ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)RTをモデルとした。これら解析より、ETVがHBV RTを標的とするメカニズムとして、HBV RTのM171が重要であると示唆した。さらに現在、M171変異体の解析を進めている。

[中嶋章悟、渡士幸一、加藤孝宣、村松正道、脇田隆宇、安武義晃(産業技術総合研究所)、豊田哲也(福祉村病院)]

(29) 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。また薬物動態試験の結果、コレステロール誘導体は肝臓に蓄積することがわかった。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)、渡士幸一]

(30) NTCP-EGFR相互作用を標的としたHBV感染阻害戦

略

HBV 感染受容体 NTCP と上皮増殖因子受容体(EGFR)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 のエンドサイトーシス機能やシグナル伝達系の活性化といった代表的な生理機能に影響を与えることなく、NTCP-EGFR 結合を阻害し、HBV の細胞内侵入を阻害した。このペプチドは、エンテカビル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、NTCP-EGFR 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)、渡士幸一]

(31) HBV 感染阻害効果を示す天然化合物の同定

HBV に対して抗ウイルス活性を持つ化合物 Exophillic acid を、天然化合物ライブラリのスクリーニングにより同定した。Exophillic acid は HBV だけでなく、HDV の感染も阻害した。さらなる解析の結果、この化合物の標的因子は HBV の感染受容体である NTCP であり、NTCP に直接結合することで HBV の細胞内への侵入を阻害していることがわかった。今後の誘導体展開により、より強い HBV 感染阻害活性を持つ化合物を同定し、創薬開発を目指す。

[小林ちさ、岩本将士、大島美月、山崎雅子、倉持幸司(東京理科大)、渡士幸一]

(32) Role of the host RNase, MCPIP1, as an anti-HBV effector downstream of an inflammatory cytokine, IL-1 β

The mechanism underlying IL-1 β -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-1 β , suggesting that MCPIP1 is required for IL-1 β -mediated HBV RNA reduction. Overall, these results suggest that MCPIP1 may be involved in the antiviral effect downstream of IL-1 β .

[李瑩芳、闕路晟、深野顕人、喜多村晃一、若江亨祥、村松正道]

(33) 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、若江亨祥、村松正道、脇田隆宇、相崎英樹]

(34) B型肝炎ワクチン試験管内力価試験の国家検定導入

2021 年 12 月の生物学的製剤基準改定により、B型肝炎ワクチン試験管内力価試験が国家検定に導入された。これにあわせて「組換え沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)の試験管内力価試験に関する SOP」を新規作成し、既存 SOP を修正した。また付属書類の整備や検定コンピュータの再設定等も行った。

[清原知子、鈴木亮介、杉山隆一、村松正道]

(35) B型肝炎ワクチン in vitro 力価試験法の検討

これまで行ってきた in vitro 試験(試験管内力価試験)のデータをまとめ、検定・検査業務委員会および検定検査協議会に報告し、実用化の承認を得た。

[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]

(36) 宿主因子 APOBEC による HBV cccDNA 変異蓄積機構の解明

宿主因子 APOBEC が HBV cccDNA に変異を蓄積する事を明らかにした。APOBEC3B,3C,3G の発現は慢性 B 型肝炎検体で正常肝より発現が高く、インターフェロン γ (IFN- γ)で発現が誘導されることが細胞培養実験で示された。cccDNA への変異蓄積は IFN- γ により正に、宿主 DNA 修復因子 UNG により負に制御されており、これらの活性のバランスがウイルス遺伝子破壊や多様性創出に寄与している事が示唆された。

[喜多村晃一、李瑩芳、闕路晟、深野顕人、若江亨祥、村松正道]

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)、湯永博之 (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つた。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 であつた。

[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つた。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つた。

[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 (ミノファージェン製薬)、市野瀬志津子 (東京医科歯科大学)、脇田隆宇、村松正道]

(7) HCV に伴う細胞微細構造変化の解析

SVR 症例の肝組織の電顕観察を進め、ER 異常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、市野瀬志津子 (東京医科歯科大)、和氣健二郎 (ミノファージェン製薬)、相崎英樹、脇田隆宇、村松正道]

(8) 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。HCV RNA 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。

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

(10) 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し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としている。県・市(A 県、東京都 A 市、神奈川県 A 市、愛知県 A 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、飯島尋子(兵庫医大)、石上雅敏(名古屋大学)、片野義明(名古屋大学)、菊池嘉(国立国際医療研究センター)、工藤正俊(近畿大学)、坂本穰(山梨大学)、島上哲朗(金沢大学)、正木尚彦(国立国際医療研究センター)、吉岡健太郎(藤田保健)、米田政志(愛知医大)、渡邊綱正(名古屋市立大学)、脇田隆宇、村松正道]

(11) 肝炎情報の収集とデータベース構築及び情報発信

肝炎ウイルス感染の予防、肝炎ウイルスキャリア対策、肝癌死亡の減少に貢献することを目的として、肝炎ウイルス感染、病態等を含む国内外の情報等の収集とデータベースの構築、および情報の提供を行って来た。感染研ウイルス第二部のホームページから、一般のヒト、家庭医、専門家向けに、それぞれ適切な内容の情報を発信している。

[相崎英樹、田中純子(広島大)、脇田隆宇、村松正道]

(12) 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 型肝炎の発生动向を調べ報告した。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。

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

(13) 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、脇田隆宇、村松正道]

(14) HCV 感染、ウイルス排除後の遺伝子発現変化

蛍光で HCV 感染がモニター可能な実験系を用いて 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、網羅的な遺伝子発現解析を行った。HCV 感染により約 580 遺伝子、HCV 排除により約 360 遺伝子に発現変化があった。HCV 排除により感染前の状態に回復する可逆的な遺伝子、回復しない不可逆的な遺伝子があった。これらの遺伝子のうち感染により遺伝子発現が増加する 20 遺伝子(排除後に回復しないものが 12 遺伝子)、減少する 12 遺伝子(排除後に回復しないものが 4 遺伝子)に注目して解析を進める。

[渡邊則幸、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、脇田隆宇]

(15) 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(PL、QRLF、PLEK)を導入した 3 種の KT9-SGR プラスミドに、更に NS5a/NS5b 切断部位近傍のアミノ酸変異 D2415G 変異を導入した。このアミノ酸変異は他の 1b 型においてウイルス複製を上昇させる報告があることから、おそらく NS5a/NS5b 切断効率をあげることで結果的に HCV RNA 複製を上昇させると予想できる。SGR コロニー形成実験の結果、R2415G 変異が有ることで、SGR コロニー数が増加した。この変異は KT9 株においても RHV 複製を上昇させる結果だった。更にアミノ酸変異を組み合わせることで感染性 1b 型 HCV 株の樹立を試みる。

[工藤隆一、渡邊則幸、鈴木貴也、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(16) E2 モノクローナル抗体の樹立

前年度は 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。2 種の抗体(#33、#155)に注目して解析を進め結合領域を同定した。今年度は同じ抗原を用いて更に 4 種類の E2 抗体産生ハイブリドーマを樹立した。その内、1 つの E2 抗体について#33 ほどではないが感染阻害効果を示した。4 種の抗体についてもエピトープマッピングを行い、これらの抗体も#33 と#155 の結合領域に分類されることから、E2-ferritin 免疫では主に 2 領域に対する E2 抗体が誘導されるようだ。

[渡邊則幸、鈴木貴也、青柳東代、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(17) Rodent Hepacivirus (RHV) RNA が複製する sub-genomic replicon (SGR)細胞の樹立とアミノ酸変異の解析

RHV-SGR RNA を、Hepa1-6 細胞、MCA-RH7777 細胞に遺伝子導入して Hepa1-6-SGR 細胞を 15 クローン、MCA-RH7777-SGR 細胞を 7 クローン樹立した。遺伝子配列解析の結果、Hepa1-6-SGR についてはすべてのクローンでアミノ酸変異が検出されたが、MCA-RH7777-SGR については 7 クローンのうち 1 クローンでのみアミノ酸変異が検出された。更に、Hepa1-6 と比較して RH7777 細胞では多くの SGR コロニーが形成されたことから、RH7777 細胞は RHV 複製に適した細胞内の環境があると考えられる。

[園部円、渡邊則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(18) RHV-SGR 細胞から cured 細胞の作製

2 クローンの RH7777-SGR 細胞(#6、#7)からウイルス排除をすることで cured 細胞の作製を行った。ラットインターフェロンまたは抗 HCV 薬である Sofosbuvir (SOF) の存在下で継代培養することでウイルス排除を行った。インターフェロン処理では十分なウイルス量の低下が観察できなかったが、SOF 処理については、20 日処理以降でウイルスが検出限界以下まで減少して、その後 SOF を除いても 2 週間以上ウイルス量は検出されなかった。これらの細胞に RHV RNA を遺伝子導入することで、作製した cured 細胞の RHV 複製を観察する。同時に残りの RH7777-SGR クローンについても cured 細胞を作製している。

[園部円、渡邊則幸、相崎英樹、村松正道、脇田隆字]

(19) HCV 粒子形成に関与する脂肪滴周辺膜蛋白の同定と機能解析

脂肪滴周辺膜のプロテオーム解析、siRNA によるスクリー

ニングで、HCV 粒子形成に関与する生体膜蛋白として HSD を見出した。HSD は NS5A と結合し、HCV 粒子形成の場である脂肪滴へ導くことが示された。さらに、HSD は脂肪滴の産生にも影響を与えることが判明した。

[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]

(20)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レポータ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]

(21) C型肝炎ウイルス産生および肝細胞内脂質代謝メカニズムの解析

HCV感染実験により、真菌二次代謝産物由来ネオエキヌリンB(NeoB)の誘導体から、NeoBと同等またはより強いHCV増殖抑制効果を示す化合物を同定した。またこれらの化合物は主に感染性HCV粒子産生を抑制することが示された。また感染性粒子構築の足場として利用される脂肪滴を退縮させることが観察された。

[山崎雅子、大橋啓史、倉持幸司(東京理科大学)、渡士幸一]

(22)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、闕路晟、上田竜大、若江亨祥、村松正道、脇田隆字、相崎英樹]

(23)ステロール誘導体及び脂質関連リガンドの抗 HCV 効果

Huh7.5.1 細胞、ステロール誘導体及び脂質関連リガンドライブラリーを用いた HCV RNA 定量によるスクリーニングにより、抗 HCV 産生効果を示す新規化合物が得られた。これらの化合物の中から粒子放出過程に効果がある化合物が得られたので、これを用いて感染性粒子産生制御機構を解析している。

[栗原僚己、大橋啓史、渡士幸一]

4. E型肝炎ウイルス(HEV)に関する研究

(1) HEV 持続感染ウサギの長期観察

Rabbit HEVを感染させたウサギは一定の比率で持続感染を呈することが明らかになった。持続感染ウサギを経時的に採血、採便し、血中および便中のウイルス量、血中 ALT を測定し、持続感染を長期間にわたって観察した。その結果、持続感染は3年以上続いたが、明らかな臨床症状が見られなかった。また、持続感染とともにウイルス遺伝子の変異を随時継続的に解析したが、明らかな変異は認められなかった。

[張文静、Doan Hai Yen (感染症危機管理研究センター)、網康至 (動物管理室)、須崎百合子 (動物管理室)、村松正道、李天成]

(2) Rabbit HEV 持続感染ウサギを用いた抗ウイルス製剤の評価

Rabbit HEV を感染させた一部のウサギは持続感染を呈するので rabbit HEV 持続感染ウサギは抗ウイルス製剤の評価の動物モデルとして有用である。リトナビルは抗 HIV 薬であるが、HEV の複製を抑制することが報告された。本実験は rabbit HEV 持続感染ウサギにリトナビルを経口投与してその抗 HEV 作用を評価した。リトナビルを餌と混合して経口投与し、週に一回の採血および週に二回の採便を行なった。血液および便中のウイルス遺伝子を定量することにより、抗ウイルス作用を評価した。リトナビルを 100mg/匹/day, 150mg/匹/day, 200mg/匹/day 二週間連続投与したが、明らかな抗ウイルス効果が見られなかった。

[李天成、Doan Hai Yen (感染症危機管理研究センター)、網康至 (動物管理室)、須崎百合子 (動物管理室)、村松正道]

(3) HEV に対するスナネズミの感受性の検討

G1 と G4 HEV がスナネズミに感染する報告がいくつかあった。スナネズミの HEV 感染モデルとしての可能性を確かめるために遺伝子型の異なる HEV(G1, G3, G4, G5, G7, G8, rabbit HEV, rat HEV)をスナネズミに接種しその感受性を検討した。遺伝子型によってスナネズミにおける HEV の増殖能が異なるが、多くの遺伝子型 HEV に感受性を有することが明らかになった。今後さらにスナネズミにおける HEV の病原性を検討する。

[張文静、網康至、須崎百合子 (動物管理室)、Doan Hai Yen (感染症危機管理研究センター)、村松正道、李天成]

(4) Rat HEV の霊長類への感染性の検討

Rat HEV はラット由来の HEV であるが、ヒトからも分離され

たことが報告された。霊長類への感染性を確認するため、rat HEV をカニクイザルとアカゲザルに接種した。接種後、便中にウイルスの排出が確認された。抗 rat HEV 抗体も検出され、ratHEV に対するアカゲザルの感受性を有することが示唆された。

[Yang Fengmai (昆明中国科学院医学生物学研究所)、張文静、Doan Hai Yen (感染症危機管理研究センター)、網康至 (動物管理室)、須崎百合子 (動物管理室)、村松正道、李天成]

(5) G1 HEV の複製および感染性に対する ORF4 の影響

遺伝子上に G1 HEV は ORF4 を有するがその機能が不明である。本実験では ORF4 を無くした G1 HEV 変異体を作製し、その複製をリバースジェネティック法で解析した。その結果 ORF4 が G1 HEV の複製に影響しないことが明らかになった。

[張文静、網康至、須崎百合子 (動物管理室)、Doan Hai Yen (感染症危機管理研究センター)、村松正道、李天成]

(6) 家畜おけるにおける 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、日本と中国の牛、馬、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、馬および羊に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]

(7) 中国雲南省の献血者における HEV 保有状況の調査

中国雲南省ではウシにおける HEV の高頻度な感染が報告され、特に牛乳における HEV RNA 陽性の報告があった事から、この地域における健常人の HEV の保有状況を調査する必要がある。1864 人の献血者を対象に血中の抗 HEVI 抗体を検査した。その結果、抗 HEVIgG, IgM, IgA 抗体の陽性率はそれぞれ 13.4%, 1.1%, 1.8% で他の地域に比べて高いものではなかったことが明らかになった。

[Ping Fu, Ling Ke, Bingting Wu, LiShan Cheng, yu Liu (中国輸血研究所)、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。さらにこれらの化合物について日本での

検出が多い遺伝子型 3 および 4 の 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。

[杉山隆一、石井孝司(品質保証・管理部)、鈴木亮介、脇田隆宇、村松正道]

(9) E 型肝炎ウイルス G1 の分離

国内で発生する E 型肝炎は主に遺伝子型 3 および遺伝子型 4 の HEV が原因であり、遺伝子型 1 (G1) の報告は稀である。インドで感染した事が疑われる G1 の感染例が報告されたため、この検体から PLC/PRF/5 細胞の垂種を用いてウイルス分離を行った。便乳剤を感染させた細胞でウイルスの増殖が認められた。増殖したウイルスの全長遺伝子配列を決定したところ、サブタイプ 1g である事が明らかとなった。

[小林さくら、森愛(神戸市健康科学研究所)、杉山隆一、李天成、岩本朋忠(神戸市健康科学研究所)、村松正道、鈴木亮介]

(10) 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。2021 年の E 型肝炎報告数 452 件のうち、59 検体の遺伝子情報を収集し、解析を行った。その内訳は遺伝子型 3 が 89.3%、遺伝子型 4 が 10.2%であった。国内での流行はこれまでと同様に主に遺伝子型 3 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、李天成、清原知子、村松正道、鈴木亮介]

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) 宿主のシアロ糖鎖は新型コロナウイルスの感染増殖に重要な役割を持つ

宿主のシアロ糖鎖が SARS-CoV-2 の効率的な感染に重要な役割を果たしていることを示唆する結果を得た。 α 2-6 結合型シアロ酸含有化合物および細胞表面に局在するシアロ酸の欠如により SARS-CoV-2 の感染が有意に低下した。一方で、別のコロナウイルスである SARS-CoV の感染に対する影響はわずかであった。また、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の S1 サブユニットが α 2-6 結合型シアロ糖鎖に直接結合し、宿主細胞表面に効率よく付着することが示された。

[佐宗若奈、山崎雅子、中北慎一(香川大学)、福土秀悦(ウイルス第一部)、土本佳奈、Nongluk Sriwilaijaroen (Thammasat University)、蟹江治(東海大学)、村松正道、高橋宜聖、俣野哲朗(エイズ研究センター)、竹田誠(ウイル

ス第三部)、鈴木康夫(静岡県立大学)、渡士幸一]

(2) 下水検体からの SARS-CoV-2 RNA 検出方法の検討

下水沈殿物を使用することで効率よく SARS-CoV-2 RNA が検出できることをこれまでに示したが、新しい手法であるため事例の蓄積が必要である。そこで新たに 2 か所の下水処理場から採取された下水を用いて、ウイルス RNA を沈殿物から回収する手法(沈殿物抽出法・仮称)と、上清から回収する既存の手法(PEG 沈殿法)について比較した。1 年以上にわたり採取された下水検体での比較の結果、沈殿物抽出法が統計学的に有意に高い陽性率を示したが、PEG 沈殿法でのみ陽性となった検体も複数あった。このことから下水調査では処理場ごとに両手法を試行し事前検討することが重要だと考えられる。また、PCR 法では CDC N1/N2 プライマープローブセットを duplex で使用することで高感度に検出できることが確認された。さらに PCR 法の比較では 1-step 法と 2-step 法の間に出検感度の有意差はなく、cDNA を他のウイルス検出にも使うなど用途に応じて使い分けが可能であることが示された。

[北川和寛(福島県衛生研究所)、喜多村晃一、吉田弘]

(3) 高齢者介護施設排水中の新型コロナウイルス調査手法の検討

新型コロナウイルスは上気道由来分泌物や糞便に含まれるため、高齢者施設などを対象とした排水調査により非侵襲的に感染者の有無を検知できる可能性がある。中部圏の特別養護老人ホーム(A,B,C 施設)の協力を得て、令和 3 年 1 ~6 月まで週 1~月 1 回、トラップ法、グラブ法により施設排水を約 100ml 採取した。排水は沈殿物抽出法にてウイルス RNA を精製し N1N2 領域を増幅するリアルタイム PCR 法にてウイルスゲノムを検出した。A 施設は令和 2 年 11 月、C 施設は令和 3 年 1 月にクラスターが発生したことがわかっており、排水調査の結果、A,C 施設は少なくとも約 2 か月間排水中でウイルスゲノムが検出された。グラブ法に比べトラップ法の方が検出効率は高い傾向であった。施設排水の状況に合わせた採水法を選択することで、ウイルスゲノム検出が可能であることを示した。

[吉田弘]

2. シュードウイルスを用いたヒトコロナウイルス (HCoV) 中和抗体測定系の構築

レンチトランスファーベクターにレポーターとして NanoLuc 遺伝子を挿入したプラスミド、gag および pol 発現プラスミド、各 HCoV の S タンパク質遺伝子発現プラスミド(HCoV -229E, HCoV -NL63, HCoV -HKU1, HCoV -OC43, SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV)を 293T 細胞へ導入し、それぞれ

のシュードウイルス(pv)を作製した。感染細胞には 293T, Huh7.5.1, Vero E6, Vero E6 TMRSS2, MRC5, A549, Calu3, LLC-MK2, Hela229 細胞を用い、各 HCoV pv の感染を検討した。

[松田麻未、渡邊則幸、林豪士、政木隆博、宮崎和雄(マイキャンテクノロジーズ)、松山州徳(ウイルス第三部)、松浦知和(慈恵医大)、村松正道、鈴木亮介]

3. 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 and CTLs markers were 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.

[關路晟、李瑩芳、若江亨祥、村松正道]

4. 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関連しており、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)、關路晟、李瑩芳、鄭シン、深野顕人、喜多村晃一、村松正道、吉崎智一(金沢大学)]

5. 1 回感染性ポリオーマウイルス中和試験系の確立

ヒトポリオーマウイルスの BKV、JCV、MCV は、多くが若年期までに感染するものの、健康人ではほとんどが不顕性である。一方で免疫抑制状態では、BKV は泌尿器疾患、JCV は PML、MCV は皮膚癌を発症することがあるため、免疫抑制剤の使用時などに、あらかじめ既感染を知ることが重要である。そこで、簡易に BKV、JCV、MCV の感染中和抗体を測定するために、レポーターを持つ1回感染性粒子を利用した中和

試験を確立した。

[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(浜松医大)、鈴木亮介]

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関連しており、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)、關路晟、李瑩芳、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) Achadu O, Abe F, [Li TC](#), Khoris IM, Lee D,; Lee J, Suzuki T, Park Enoch. Molybdenum Trioxide Quantum Dots-encapsulated Nanogels for Virus Detection by Surface-enhanced Raman Scattering on a 2D Substrate. ACS Appl Mater Interfaces. 2021 Jun 23;13 (24):27836-27844

2) 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).

3) [Arita M](#). High-order epistasis and functional coupling of infection steps drive virus evolution toward independence from a host pathway. Microbiology Spectrum, **2021**, doi: 10.1128/Spectrum.00800-21. (2021)

4) Bai H, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Takeda N, Muramatsu M, [Li TC](#). Immunogenicity and Antigenicity of Rabbit Hepatitis E Virus-Like Particles Produced by Recombinant Baculoviruses. Viruses. 2021 Aug 9; 13 (8):1573.

5) Elbahrawy A, Ibrahim MK, Eliwa A, Alboraie M, Madian A, [Aly HH](#). Current situation of viral hepatitis in Egypt. Microbiol Immunol. 2021 Sep; 65(9): 352-372. doi: 10.1111/1348-0421.12916.

6) Fu P, Lin B, Wu B, Ke L, Yang T, Du Y, Cheng L, Li Z, [Li TC](#), Liu Y. Hepatitis E virus prevalence among blood donors in Dali, China. Virol J. 2021 Jul 7;18(1):141.

7) [Fukano K](#), [Oshima M](#), Tsukuda S, [Aizaki H](#), Ohki M, Park SY, [Wakita T](#), [Wakae K](#), [Watahi K](#), [Muramatsu M](#). NTCP Oligomerization Occurs Downstream of the NTCP-EGFR Interaction during Hepatitis B Virus Internalization. J Virol.

2021 Nov 23;95(24):e0093821.

- 8) Ganganboina AB, Takemura K, Zhang W, Li TC, Park EY. Cargo encapsulated hepatitis-E virus like particles for ultrasensitive HEV antibody detection. *Biosens Bioelectron.* 2021 Aug 1;185:113261. doi: 10.1016/j.bios.2021.113261. Epub 2021 Apr 22.
- 9) Gad SA, Sugiyama M, Tsuge M, Wakae K, Fukano K, Oshima M, Sureau C, Watanabe N, Kato T, Murayama A, Li Y, Shoji I, Shimotohno K, Chayama K, Muramatsu M, Wakita T, Nozaki T, Aly HH. The kinesin KIF4 mediates HBV/HDV entry through the regulation of surface NTCP localization and can be targeted by RXR agonists in vitro. *PLoS Pathog.* 2022 Mar 21; 18(3): e1009983. doi: 10.1371/journal.ppat.1009983.
- 10) Hayashi T, Murakami K, Hirano J, Fujii Y, Yamaoka Y, Ohashi H, Watashi K, Estes MK, Muramatsu M. Dasabuvir Inhibits Human Norovirus Infection in Human Intestinal Enteroids. *mSphere* e0062321 (2021)
- 11) Honda T, Yamada N, Murayama A, Shiina M, Aly HH, Kato A, Ito T, Ishizu Y, Kuzuya T, Ishigami M, Murakami Y, Tanaka T, Moriishi K, Nishitsuji H, Shimotohno K, Ishikawa T, Fujishiro M, Muramatsu M, Wakita T, Kato T. Amino Acid Polymorphism in Hepatitis B Virus Associated With Functional Cure. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2021; 12(5): 1583-1598. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.07.013.
- 12) Hosoi H, Murata S, Suzuki T, Li TC, Hatanaka K, Tanaka-Taya K, Mushino T, Kuriyama K, Tamura S, Hanaoka N, Sonoki T. A cluster of BK polyomavirus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis.* 2021 Sep 21:e13736.
- 13) Ibrahim MK, Abdelhafez TH, Takeuchi JS, Wakae K, Sugiyama M, Tsuge M, Ito M, Watashi K, El Kassas M, Kato T, Murayama A, Suzuki T, Chayama K, Shimotohno K, Muramatsu M, Aly HH, Wakita T. MafF Is an Antiviral Host Factor That Suppresses Transcription from Hepatitis B Virus Core Promoter. *J Virol.* 2021 Jul 12;95(15):e0076721.
- 14) Imagawa T, Ito M, Matsuda M, Nakashima K, Tokunaga Y, Ohta I, Li TC, Suzuki R, Suzuki T. Virus-like particles with FLAG-tagged envelope protein as a tetravalent dengue vaccine candidate. *Sci Rep.* 2021 Sep 2;11(1):17542.
- 15) Ishizaka A, Koga M, Mizutani T, Lim LA, Adachi E, Ikeuchi K, Ueda R, Aoyagi H, Tanaka S, Kiyono H, Matano T, Aizaki H, Yoshio S, Mita E, Muramatsu M, Kanto T, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H. Prolonged Gut Dysbiosis and Fecal Excretion of Hepatitis A Virus in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus. *Viruses.* 2021 Oct 18;13(10):2101. doi: 10.3390/v13102101. PMID: 34696531
- 16) Kikuchi M, Sawabe M, Aoyagi H, Wakae K, Watashi K, Hattori S, Kawabe N, Yoshioka K, Tanaka J, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H. Development of an intervention system for linkage-to-care and follow-up for hepatitis B and C virus carriers. *Hepatol Int.* 2022 Feb;16(1):68-80.
- 17) Kimura-Someya T, Kato-Murayama M, Katsura K, Sakai N, Murayama K, Hanada K, Shirouzu M, Someya Y. Lewis fucose is a key moiety for the recognition of histo-blood group antigens by GI.9 norovirus, as revealed by structural analysis. *FEBS Open Bio*, 2022, 12(3), 560-570.
- 18) Kitamura K and Shimizu H. The Molecular Evolution of Type 2 Vaccine-Derived Polioviruses in Individuals with Primary Immunodeficiency Diseases. *Viruses.* 2021. 13(7): 1407. 10.3390/v13071407
- 19) Kitamura K, Fukano K, Que L, Li Y, Wakae K, Muramatsu M. Activities of endogenous APOBEC3s and uracil-DNA-glycosylase affect the hypermutation frequency of hepatitis B virus cccDNA. *J Gen Virol.* 2022 Apr;103(4).
- 20) Kitamura K, Sadamasu K, Muramatsu M, Yoshida H. Efficient detection of SARS-CoV-2 RNA in the solid fraction of wastewater. *Science of The Total Environment.* 2021. 763: 144587. 10.1016/j.scitotenv.2020.144587
- 21) Kitamura K, Takagi H, Oka T, Kataoka M, Ueki Y, Sakagami A. Intertypic reassortment of mammalian orthoreovirus identified in wastewater in Japan. *Sci Rep.* 11(1):12583 (2021)
- 22) Kobayashi C, Watanabe Y, Oshima M, Hirose T, Yamasaki M, Iwamoto M, Iwatsuki M, Asami Y, Kuramochi K, Wakae K, Aizaki H, Muramatsu M, Sureau C, Sunazuka T, Watashi K. Fungal Secondary Metabolite Exophillic Acid Selectively Inhibits the Entry of Hepatitis B and D Viruses. *Viruses.* 2022 Apr 6;14(4):764.
- 23) Kobayashi S, Mori A, Sugiyama R, Li TC, Fujii Y, Yato K, Matsuda M, Shiota T, Katsumata M, Iwamoto T, Muramatsu M, Suzuki R. Isolation and genome sequencing of hepatitis E virus genotype 1 imported from India to Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2022 Jun 30.
- 24) Li P, Li Y, Wang Y, Liu J, Lavrijsen M, Li Y, Zhang R, Versteegen MMA, Wang Y, Li TC, Ma Z, Kainov DE, Bruno MJ, de Man RA, van der Laan LJW, Peppelenbosch MP, Pan Q. Recapitulating hepatitis E virus–host interactions and facilitating antiviral drug discovery in human liver–derived organoids. *Sci Adv.* 2022 Jan 21;8(3):eabj5908. doi: 10.1126/sciadv.abj5908. Epub 2022 Jan 19.
- 25) Murayama A, Kato T. Inhibition of Hepatitis C Virus by Vitamin D. *Vitam Horm.* 2021;117:227-238. doi: 10.1016/bs.vh.2021.06.006. Epub 2021 Jul 12. PMID: 34420582.
- 26) Murayama A, Momose H, Yamada N, Matsubayashi K, Muramatsu M, Hamaguchi I, Kato T. Performance Evaluation of In Vitro Screening and Diagnostic Kits for Hepatitis C Virus Infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 11: 793472. doi: 10.3389/fcimb.2021.793472.
- 27) Nagashima M, Kawakami M, Hayashi M, Kumagai R, Kasuya F, Yoshida I, Kashiwara N, Morita K, Yamada K, Fujiwara T, Kitamura K, Yoshida H, Chiba T, Sadamasu K. RNA detection by RT-qPCR and non-isolation of SARS-CoV-2 in concentrated wastewater (June–August 2020, Tokyo). *Japanese Journal of Infectious Diseases.* Epub 2021 Oct 29. 10.7883/yoken.JJID.2021.055
- 28) Nakajima S, Watashi K, Kato T, Muramatsu M, Wakita T, Tamura N, Hattori SI, Maeda K, Mitsuya H, Yasutake Y, Toyoda T. Biochemical and Structural Properties of Entecavir-Resistant Hepatitis B Virus Polymerase with L180M/M204V Mutations. *J Virol.* 2021 Jul 26;95(16):e0240120. doi: 10.1128/JVI.02401-20. Epub 2021 Jul 26. PMID: 34076480
- 29) Okamoto K, Yamada N, Suzuki T, Muramatsu T, Uemura H, Gatanaga H, Kato T, Hatakeyama S. Emergence of Hepatitis

- C Virus Genotype 2c Infection Among Human Immunodeficiency Virus-Infected Men Who Have Sex With Men in Tokyo, Japan. *Sex Transm Dis.* 2022; 49(1): e29-e33.
- 30) Sekiguchi K, Koba R, Oka T, Tohya Y. Caliciviruses induce mRNA of tumor necrosis factor α via their protease activity. *Virus Res.* 306:198595 (2021)
- 31) Shi S, Zheng X, Suzuki R, Li Z, Shiota T, Wang J, Hirai-Yuki A, Liu Q, Muramatsu M, Song SJ. Novel flavonoid hybrids as potent antiviral agents against hepatitis A: Design, synthesis and biological evaluation. *Eur J Med Chem.* 2022 Aug 5;238:114452.
- 32) Shinnakasu R, Sakakibara S, Yamamoto H, Wang PH, Moriyama S, Sax N, Ono C, Yamanaka A, Adachi Y, Onodera T, Sato T, Shinkai M, Suzuki R, Matsuura Y, Hashii N, Takahashi Y, Inoue T, Yamashita K, Kurosaki T. Glycan engineering of the SARS-CoV-2 receptor-binding domain elicits cross-neutralizing antibodies for SARS-related viruses. *J Exp Med.* 2021 218(12):e20211003.
- 33) Shimoike T, Hayashi T, Oka T, Muramatsu M. The predicted stem-loop structure in the 3'-end of the human norovirus antigenomic sequence is required for its genomic RNA synthesis by its RdRp. *J Biol Chem.* 297(4):101225 (2021)
- 34) 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: Mefloquine, a Potent anti-Severe Acute Respiratory Syndrome-related Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) drug as an entry inhibitor in vitro, *Frontiers in Microbiology*, 12:651403, 2021
- 35) Sun L, Li Y, Misumi I, González-López O, Hensley L, Cullen JM, McGivern DR, Matsuda M, Suzuki R, Sen GC, Hirai-Yuki A, Whitmire JK, Lemon SM. IRF3-mediated pathogenicity in a murine model of human hepatitis A. *PLoS Pathog.* 2021 17(9):e1009960.
- 36) Takagi T, Oka T, Ami Y, Suzaki Y, Saito H. A human intestinal cell line suitable for the propagation of Type 1-6 human parechovirus with a clear cytopathic effect. *Jpn J Infect Dis.* (2021)
- 37) Tanikawa T, Hayashi T, Suzuki R, Kitamura M, Inoue Y. Inhibitory effect of honokiol on furin-like activity and SARS-CoV-2 infection. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 12(1):69-72 (2022)
- 38) Tenge VR, Murakami K, Salmen W, Lin SC, Crawford SE, Neill FH, Prasad BVV, Atmar RL, Estes MK. Bile Goes Viral. *Viruses* 13(6) (2021)
- 39) 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).
- 40) Wu FT, Oka T, Kuo TY, Doan YH, Liu LTC. Sapoviruses detected from acute gastroenteritis outbreaks and hospitalized children in Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association.* 120(8):1591-1601 (2021)
- 41) Xuanwu Pang, Pu Li, Lifeng Zhang, Lusheng Que, Min Dong, Bo Xie, Qihui Wang, Yinfeng Wei, Xing Xie, Lanxiang Li, Chunyue Yin, Liuchun Wei, Kexin Huang, Yiming Hua, Qingniao Zhou, Yingfang Li, Lei Yu, Weidong Li, Zengnan Mo, Maosheng Zhang, Jing Leng, Yanling Hu. Emerging Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Mutation Hotspots Associated with Clinical Outcomes and Transmission. *Front Microbiol.* 2021 Oct 18; 12:753823.
- 42) Yamanaka A, Matsuda M, Okabayashi T, 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. *mSphere.* 2021 6(4):e0033921.
- 43) Yato K, Matsuda M, Watanabe N, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Tamura K, Wakita T, Muramatsu M, Suzuki R. Induction of neutralizing antibodies against hepatitis C virus by a subviral particle-based DNA vaccine. *Antiviral Res.* 2022 Mar;199:105266. doi: 10.1016/j.antiviral.2022.105266. Epub 2022 Feb 20.
- 44) 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
- 45) Yang F, Li Y, Li Y, Jin W, Duan S, Xu H, Zhao Y, He Z, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Takeda N, Zhang W, Muramatsu M, Li TC. Experimental Cross-Species Transmission of Rat Hepatitis E Virus to Rhesus and Cynomolgus Monkeys. *Viruses.* 2022 Jan 29;14(2):293.
- 46) Zhang W, Kataoka M, Doan YH, Oi T, Furuya T, Oba M, Mizutani T, Oka T, Li TC, Nagai M. Isolation and characterization of mammalian orthoreovirus type 3 from a fecal sample from a wild boar in Japan. *Arch Virol.* 166(6):1671-1680 (2021)
- 47) Zheng X, Guo R, Liu Q, Wakae K, Watanabe N, Fukano K, Que L, Li Y, Aly HH, Watashi K, Suzuki R, Murayama A, Kato T, Aizaki H, Wakita T, Huang X, Yan Y, Song SJ, Muramatsu M. Identification of natural compounds extracted from crude drugs as novel inhibitors of hepatitis C virus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2021 Aug 27; 567: 1-8. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.06.022.
- 48) 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.
- 49) Zhang W, Ami Y, Suzaki Y, Kataoka M, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. A Cross-Species Transmission of a Camel-Derived Genotype 8 Hepatitis E Virus to Rabbits. *Pathogens* 2021, 10 (11), 1374
- 50) Zhang W, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Generation of a Bactrian Camel Hepatitis E Virus by a Reverse Genetics System. *J Gen Virol.* 2021 Jul;102(7).
- 51) Zhang W, Kataoka M, Doan HY, Wu FT, Takeda N, Muramatsu M, Li TC. Isolation and Characterization of a Subtype 4b of Hepatitis E Virus Using a PLC/PRF/5 cell-derived Cell Line Resistant to Porcine Sapelovirus Infection. *Jpn J Infect Dis.* 2021 Apr 30. 10.7883

52) Zhang W, Kataoka M, Doan YH, Oi T, Furuya T, Oba M, Mizutani T, Oka T, Li TC, Nagai M. Isolation and characterization of mammalian orthoreovirus type 3 from a fecal sample from a wild boar in Japan. Arch Virol. 2021 Jun;166 (6):1671-1680.

2. 和文発表

1) 相崎英樹, C型肝炎ウイルスの感染増殖と病原性発現メカニズム, 創薬研究者がこれだけは知っておきたい最新のウイルス学, 技術情報協会, 東京, 2021, 3-11

2) 青柳東代, 村松正道, 脇田隆宇, 相崎英樹, C型肝炎のウイルス学と病態, C型肝炎患者の今後の課題—肝炎, 肝硬変, 肝がん—, 消化器内科, 東京, 2021, 6-13

3) 小林孝行, 中村麻子, 上田紗織, 芦塚由紀, 岡智一郎, 高木弘隆. 福岡県内の終末処理場流入水および胃腸炎患者検体からのヒトサポウイルス検出率向上に向けた取り組み. IASR Vol. 42 p124-126: 2021年6月号.

4) 高木弘隆, 岡智一郎. 汎用培養細胞によるヒトサポウイルスの培養法について. 食品衛生学雑誌. 2021. 62 (3): J53-55.

5) 塩野谷果歩, 渡士幸一: HBV 培養細胞系を利用したウイルス侵入メカニズムの解析と創薬研究の進展, 医学のあゆみ, 281(3): 243-246, 2022

6) 杉山隆一, 石井孝司. 食中毒の現状と微生物検査 A型肝炎ウイルスとE型肝炎ウイルス. 臨床検査 66 (1), 26-31, 2022

7) 鈴木亮介, 李天成, 塩田智之 E型肝炎ウイルスの感染増殖系「創薬研究者がこれだけは知っておきたい最新のウイルス学」25-31. 2021

8) 村上耕介, 染谷雄一「ノロウイルス増殖機構と創薬への応用」創薬研究者がこれだけは知っておきたい最新のウイルス学. 技術情報協会 2021年8月

9) 村上耕介「ノロウイルス」創薬研究者・アカデミア研究者が知っておくべき最新の免疫学とその応用技術. 技術情報協会 2021年8月.

10) 小澤広規, 吉田弘. 横浜市における新型コロナウイルスの下水調査. 環境浄化技術 第21巻第1号, p21-25, 2022年

11) 吉田弘. ポリオ環境水サーベイランスと下水中の新型コロナウイルス調査. 月刊下水道 45巻1号, p82-84, 2022年

12) 吉田弘. ポリオ環境水サーベイランスと新型コロナウイルス調査. 水環境学会誌 第44巻(A)第11号, 379-382, 2021

13) 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. YAKUGAKU ZASSHI 142(1), 11-15, 2022

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Aoyagi H, Iijima H, Kikuchi M, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Shimada N, Kato K, Tsubota A, Tsutsumi T, Okushin K, Moriya K, Koike K, Muramatsu M, Kenjiro Wake, Wakita T, Aizaki H. The 21th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Toronto, Canada, 06-09/7/2021.

2) Fukano K, Oshima M, Tsukuda S, Aizaki H, Ohki M, Park SY, Wakita T, Wakae K, Watashi K, Muramatsu M. NTCP oligomerization is initiated downstream of the NTCP-EGFR interaction during HBV internalization. 2021 International HBV Meeting. 2021/9/26-30. Toronto.

3) Gad SA, Sugiyama M, Tsuge M, Wakae K, Fukano K, Watanabe N, Kato T, Murayama A, Li Y, Shoji I, Shimotohno K, Chayama K, Muramatsu M, Wakita T, Nozaki T, Aly HH. Kinesin KIF4 is a key regulator for surface localization of NTCP, and HBV/HDV infection. 2021 International Meeting, Biology of the Hepatitis B and D Viruses. Sep. 26 - 30, 2021. Toronto, Canada.

4) Kikuchi M, Aoyagi H, Wakae K, Watashi K, Hattori S, Kawabe N, Yoshioka K, Tanaka J, Muramatsu M, Wakita T, Sawabe M, Aizaki H. Development of a community-based intervention system for linkage to care and follow-up for hepatitis virus-positive individuals cooperating with health care providers. Global Hepatitis Summit, The 17th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Taipei, Taiwan, June 17 - 20, 2021.

5) Yingfang Li, Lusheng Que, Fukano K, Koura M, Kitamura K, Wakae K, Muramatsu M. MCP1P1 reduces HBV-RNA by targeting its epsilon structure. HBV international meeting. Canada/Web. September. 2021.

2. 国内学会

1) 小林淳, 有田峰太郎, 加藤龍一. OSBP-ORD変異体とエンテロウイルス増殖阻害剤を用いたOSBP機能の評価系. 第68回日本ウイルス学会学術集会. 令和3年11月16日, 神戸, 口頭

2) 石坂彩, 古賀道子, 水谷壮利, 林阿英, 安達英輔, 池内和彦, 上田竜大, 青柳東代, 清野宏, 俣野哲朗, 相崎英樹, 由雄祥代, 村松正道, 考藤達哉, 堤武也, 四柳宏. HIV陽性者におけるA型肝炎ウイルス罹患による急性炎症と腸内細菌叢の動態解析, 第35回日本エイズ学会学術集会, 東京, 2021年11月21-23日

3) browse 裕之, 有田峰太郎, 河上仁美, 川原信夫, 吉松嘉代. 植物エキスライブラリーを用いた抗エンテロウイルス活性化化合物の探索. 日本生薬学会第67回年会. 令和3年9

月20日、東京、ポスター

- 4) 岩本将士、柴田ゆき野、川崎純菜、小嶋将平、Yung-Tsung Li、岩見真吾、村松正道、Hui-Lin Wu、和多和宏、朝長啓造、渡士幸一、堀江真行. 新規デルタウイルスの同定と性状解析により明らかとなったデルタウイルス伝播戦略の多様性について. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会(神戸/オンライン 2021 年 11 月)
- 5) Oshima M, Fukano K, Iwamoto M, Frank S, Feng W, Zheng X, Yamasaki M, Wakae K, Aizaki H, Kuramochi K, Muramatsu M, Wakita T, Farhad P, Watashi K. 2021 年. Identification of an oxysterol derivative that inhibits HBV infection by interrupting NTCP oligomerization. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会(神戸/オンライン 2021 年 11 月)
- 6) Oshima M, Fukano K, Iwamoto M, Frank S, Feng W, Zheng X, Yamasaki M, Wakae K, Aizaki H, Kuramochi K, Muramatsu M, Wakita T, Farhad P, Watashi K. 2022 年. 新規作用機序により B 型肝炎ウイルス感染を阻害する酸化ステロール合成誘導体の同定. 日本薬学会第 142 年会(オンライン 2022 年 3 月)
- 7) 胡秋吟、白川大樹、白崎伸隆、高木弘隆、岡智一郎、松下拓、松井佳彦. 浄水処理工程におけるヒトサポウイルスの除去・不活化特性の評価: in vitro 細胞培養法の活用. 第 56 回日本水環境学会年会. 2022 年 3 月 16~18 日
- 8) 高木弘隆、岡智一郎. 腸管系ウイルス培養における新知見-ヒトの生理からウイルス増殖を考える- ウイルス性下痢症研究会第 32 回学術集会. 2021 年 11 月 15 日
- 9) 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
- 10) 大嶋美月、岩本将士、大橋啓史、倉持幸司、村松正道、渡士幸一. 2022 年. 新型コロナウイルス及び B 型肝炎ウイルス感染実験系を用いた抗ウイルス材評価への応用, 化学工学会第 87 回年会 (オンライン 2022 年 3 月)
- 11) 渡邊香奈子、岡智一郎、高木弘隆、Anisimov Sergei、高橋雅彦、大桑孝子、樋口雅也、藤井雅寛. ヒトパレコウイルスの受容体遺伝子の同定. 日本ウイルス学会第 68 回学術集会(神戸)2021 年 11 月 16-18 日
- 12) 加藤孝宣、明里宏文. コモンマーモセットを用いた C 型肝炎ウイルスワクチン研究. 第 11 回日本マーモセット研究会大会. 2022 年 2 月 2 日, オンライン開催.
- 13) 加藤孝宣、山田典栄、本多隆. Functional cure に関与するコア領域のアミノ酸変異が HBV ライフサイクルに与える影響の解析. 第 57 回日本肝臓学会総会. 2021 年 6 月 17 日 - 18 日, 札幌.
- 14) 政木隆博、川口憲治、松本喜弘、松浦知和、加藤孝宣、村松正道、脇田隆宇. C 型肝炎ウイルスによる癌抑制性マイクロ RNA の機能障害とその分子機構. 第 57 回日本肝臓学会総会. 2021 年 6 月 17 日 - 18 日, 札幌.
- 15) 喜多村晃一、貞升健志、吉田弘. 下水沈殿物を用いた新型コロナウイルスRNA検出方法の検討. 第80回日本公衆衛生学会総会. 令和3年12月21-23日、東京(ハイブリッド開催)、ポスター.
- 16) 菊池みなみ、川部直人、青柳東代、服部悟、若江亨祥、渡士幸一、吉岡健太郎、佐竹正博、是永匡昭、田中純子、村松正道、脇田隆宇、沢辺元司、相崎英樹. 自治体と医療関係者が連携した肝炎ウイルスキャリアの動向調査および陽性者のフォローアップシステムによる行動変容の解析. 第 57 回日本肝臓学会総会、札幌ハイブリッド開催、2021 年 6 月 17-18 日
- 17) 清原知子、村松正道. B型肝炎ワクチン定期接種化の効果(感染症流行予測調査より). 第 57 回日本肝臓学会総会、北海道札幌(オンライン参加), 2021.6.17-18.
- 18) 關路晟、李瑩芳、若江亨祥、村松正道. APOBEC3B inducing by Interferon-gamma contributes to Merkel cell polyomavirus genome mutagenesis in Merkel cell carcinoma. 第 94 回日本生化学会大会, Web 開催、20211103-20211105.
- 19) 關路晟、李瑩芳、若江亨祥、村松正道. Interferon-gamma induced APOBEC3B contributes to Merkel cell polyomavirus genome mutagenesis in Merkel cell carcinoma. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会, Web 開催、20211116-20211118.
- 20) 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.
- 21) 塩野谷果歩、山崎雅子、岩波翔也、伊藤悠介、福士秀悦、大橋啓史、佐宗若奈、田中智博、青木伸、倉持幸司、岩見真吾、高橋宜聖、鈴木忠樹、村松正道、竹田誠、脇田隆宇、渡士幸一. 2021 年. 抗マリア薬メフロキンの強力な新型コロナウイルス感染阻害活性, 第 68 回日本ウイルス学会学術集会, (神戸/オンライン開催 2021 年 11 月)
- 22) 伊藤英里子、清水咲子、岩瀬陽一郎、染谷雄一. 「ラット用皮内注射デバイスを用いたセービン株由来不活化ポリオワクチンの皮内投与による免疫誘導効果」第 25 回日本ワクチン学会学術集会、軽井沢、2021 年 12 月 3-5 日
- 23) Balingit JC, Nguyen CT, Suzuki R, Matsuda M, Nguyen TTT, Takemura T, Vu BTH, Hasebe F, Mai LTQ, Morita K, Moi ML. Antibody-dependent enhancement in the long-term humoral immunity against dengue virus serotype 1 infection. 第 27 回トガ・フラビペスチウイルス研究会 (オンライン開催) 2021/12/10,
- 24) Balingit JC, Nguyen CT, Suzuki R, Matsuda M, Nguyen TTT, Takemura T, Vu BTH, Hasebe F, Mai LTQ, Morita K, Moi ML. DENV-1 Genotype Variance Drives Discrepancies in Homotypic Neutralizing and Enhancing Activities of Antibodies during Natural Infections. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催)、2021.11.16-18.
- 25) 逸見拓矢、相内章、橋口隆生、飛梅実、宮本翔、菅野隆之、上野朗、佐野芳、田村浩二、鈴木亮介、鈴木忠樹.

- SARS-CoV-2 S 組換えタンパクを抗原としたワクチンの経鼻接種によって誘導される免疫応答とワクチン効果の解析. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 26) 逸見拓矢, 相内章, 橋口隆生, 飛梅実, 宮本翔, 菅野隆之, 上野朗, 佐野芳, 田村浩二, 鈴木亮介, 鈴木忠樹 SARS-CoV-2 スパイクタンパクを抗原とする経鼻組換えタンパクワクチンによる免疫応答とワクチン効果の評価. 第 25 回日本ワクチン学会学術集会. 軽井沢, 2021.12.3-5.
- 27) 今川稔文, 伊藤昌彦, 高林秀次, 田中一雄, 記野秀人, 松田麻未, 鈴木亮介, 宮本和慶, 小杉伊三夫, 高崎智彦, 鈴木哲朗. Zika virus infection causes damage in reproductive organs of a pregnant common marmoset. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 28) 山中敦史, Pimploy Rattanaamnuaychai, 松田麻未, 鈴木亮介, 楠木俊江, 丹賀直美, 山口諒也, 糸井清恵, 齋藤結愛, 清水淳, 宮崎和雄. A rapid and high-throughput method for detecting antibody-dependent infection-enhancing activity against dengue virus. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 29) 杉山隆一, 石井孝司, 鈴木亮介, 脇田隆宇, 村松正道. 低分子化合物ライブラリーを用いた HEV 増殖阻害物質の探索. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 30) 鈴木亮介, 松田麻未, 西山直子, 小林さくら, 鈴木祐成, 結城(平井)明香, 山根大典, 村松正道 レポーター遺伝子を持つ組換え A 型肝炎ウイルスを用いた抗ウイルス低分子化合物の探索. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 31) 齋藤恭子, 深澤征義, 鈴木亮介, 高崎智彦, 花田賢太郎. Vero 細胞における黄熱ウイルス 17D 株サブゲノミックレプリコンの持続的な複製の性状解析. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 32) Zheng X, Shi S, Suzuki R, Yuki A, Wakae K, Liu Q, Jiang S, Muramatsu M. A 型肝炎ウイルスにおける新規抑制剤の開発. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 33) 中嶋章悟, 大橋啓史, 竹田誠, 渡土幸一. 2021 年. 新型コロナウイルス感染細胞実験を用いたハイスループット化合物スクリーニング系の構築. 第 44 回日本分子生物学会年会(横浜 2021 年 12 月)
- 34) 林豪土, 村上耕介, 平野順紀, 松田麻未, 鈴木亮介, 村松正道 腸管オルガノイド培養系を用いたヒノウイルス感染に対する宿主免疫機構の解析. 第 7 回 デザイン生命工学会 2022 年 3 月 (オンライン)
- 35) 林豪土, 村上耕介, 平野順紀, 藤井克樹, 山岡曜子, 大橋啓史, 渡土幸一, Mary Estes, 村松正道 Screening of an antiviral compound library identifies dasabuvir as a novel anti-human norovirus inhibitor 第 68 回日本ウイルス学会学術集会(神戸)2021 年 11 月 16-18 日
- 36) Fukano K, Oshima M, Tsukuda S, Aizaki H, Ohki M, Park SY, Wakita T, Wakae K, Watashi K, Muramatsu M. Functional relevance between NTCP oligomerization and EGFR during hepatitis B virus internalization. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2021/11/16-18
- 37) Gad SA, Kato T, Muramatsu M, Chayama K, Wakita T, Aly HH. KIF4a, a new host factor required for surface localization of NTCP, and HBV/HDV infection. 第 17 回広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム. July. 10, 2021.
- 38) Gad SA, Sugiyama M, Wakae K, Fukano K, Watanabe N, Kato T, Murayama A, Li Y, Shoji I, Shimotohno K, Chayama K, Muramatsu M, Wakita T, Aly HH. Kinesin KIF4 is a possible therapeutic host target and key regulator for surface localization of NTCP, and HBV/HDV infection. The 68th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. Nov. 16 - 18, 2020. Kobe.
- 39) 深野顕人, 九十田千子, 大嶋美月, 大木規央, 朴三用, 若江享祥, 相崎英樹, 脇田隆宇, 渡土幸一, 村松正道. 感染受容体 NTCP の多量体化が導く B 型肝炎ウイルス細胞内侵入機構の解明. 日本薬学会第 142 年会. 名古屋. 2022/3/25-28
- 40) 深野顕人, 大嶋美月, 九十田千子, 相崎英樹, 大木規央, 朴三用, 脇田隆宇, 若江享祥, 渡土幸一, 村松正道. SLC10A1/NTCP 多量体形成が制御する B 型肝炎ウイルス細胞内侵入機構の解析. 第 94 回日本生化学会大会. オンライン. 2021/11/3-5
- 41) 津川毅, 藤井克樹, 赤根祐介, 本庄紗帆, 近藤謙次 ウシ由来ロタウイルス G15 株のヒト初感染例の分子的特徴 (Molecular characterization of the first human G15 rotavirus strain of zoonotic origin from the bovine species) 第 68 回日本ウイルス学会学術集会(神戸)2021 年 11 月 16-18 日
- 42) 藤井克樹, 津川毅, 中田修二, 村松正道 札幌市において小規模な流行を起こしたロタウイルス G12 株の全遺伝子解析 (Full-genome analysis of rotavirus G12 strains that caused a small epidemic in Sapporo) 第 68 回日本ウイルス学会学術集会(神戸)2021 年 11 月 16-18 日
- 43) 松田麻未, 李天成, 中西章, 中道一生, 齋藤誠, 松浦知和, 村松正道, 三浦義治, 鈴木哲朗, 鈴木亮介. 神経疾患患者血清の ELISA と中和試験による JC ポリオーマウイルス抗体測定. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催), 2021.11.16-18.
- 44) 村山麻子, 山田典栄, 村松正道, 加藤孝宣. HBs 抗原の preS1 領域の N 末端アミノ酸欠損による高感染性 B 型肝炎ウイルスの産生. 第 57 回日本肝臓学会総会. 2021 年 6 月 17 日 - 18 日, 札幌.
- 45) Yamasaki M, Ohashi H, Nishiuchi K, Muramatsu M, Kamisuki S Kuramochi K, Watashi K. Neochinin B and its derivatives, a potent antiviral agents against hepatitis C virus and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会(神戸/オンライン 2021 年 11 月)
- 46) 矢藤慶悟, 深野顕人, 松田麻未, 田中智久, 森石恆司, 西辻裕紀, 下遠野邦忠, 田村浩二, 加藤孝宣, 村松正道, 鈴木亮介. B 型肝炎ウイルス preS2 領域に対する抗体はウ

イルス感染を抑制する. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸 (オンライン開催)、2021.11.16-18.

- 47) 吉田弘、上田真稔、服部泰臣、森都美子、横江公美. 高齢者介護施設排水中の新型コロナウイルス調査手法の検討. 第80回日本公衆衛生学会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 48) 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.
- 49) 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.
- 50) 小澤広規、吉田弘、大久保一郎. 横浜市における採水頻度を増やした下水中の新型コロナウイルス調査. 第80回日本公衆衛生学会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 51) 須賀原千明、小澤広規、吉田弘. 新型コロナウイルス感染動態予測に向けたモデル構築に関する検討. 第80回日本公衆衛生学会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 52) 大久保一郎、吉田弘、北島正章、濱崎光宏、佐々木頭、上田真稔. 自由集会 13「環境水中の新型コロナウイルス調査の今後」. 第 80 回日本公衆衛生学会総会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 53) 筒井理華、吉田弘. 病原体等検査における検査プロセスの改善に向けた自主管理体制の検討. 第80回日本公衆衛生学会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 54) 北川和寛、末永美知子、金成由美子、吉田弘. 福島県における下水中の新型コロナウイルス調査. 第80回日本公衆衛生学会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 55) 濱崎光宏、吉田弘. 終末処理場の流入水沈査からの新型コロナウイルスRNA抽出方法の検討. 第80回日本公衆衛生学会. 東京. 令和3年12月21-23日.
- 56) 李瑩芳、村松正道. The role of MCP1 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.
- 57) 若江享祥、終元巖. "APOBEC3s mutate Merkel cell polyomavirus genome in Merkel cell carcinoma" 第 80 回日本癌学会、横浜、(2021/9/30-10/2)
- 58) 渡士幸一、村松正道、脇田隆字. 感染受容体 NTCP の多量体化を標的とした新規 B 型肝炎ウイルス感染阻害戦略. 第 57 回日本肝臓学会総会 (札幌/オンライン 2021 年 6 月)
- 59) 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

III. その他

1. 研究会

1) 林豪士、村上耕介、平野順紀、松田麻未、鈴木亮介、村松正道. 腸管オルガノイド培養系を用いたヒトノロウイルス感染に対する宿主免疫機構の解析. 第 7 回デザイン生命工学研究会 (オンライン) 2022. 3.10.

2) 松田麻未、渡邊則幸、林豪士、政木隆博、松浦知和、村松正道、鈴木亮介. シュードウイルスを用いた新型コロナウイルス中和抗体測定系. 第 7 回デザイン生命工学研究会 (オンライン) 2022. 3.10.

2. 新聞取材

1) 相崎英樹、鈴木亮介. 肝炎ウイルスなお警戒を 2022.2.28 山口新聞、2022.3.30 佐賀新聞