

### 3. ウイルス第三部

部長 田代 真人

#### 概 要

当部は村山支所に配置され、第1室(インフルエンザウイルス)、第2室(風疹ウイルス)、第3室(麻疹ウイルス)、第4室(ムンプスウイルス)、第5室(ウイルス性呼吸器感染症とサイトカイン)で構成される。研究業務は、各ワクチン製剤とサイトカイン製剤の品質管理、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法に関する研究、レファレンス業務および国際協力を行った。

人事異動では、7月1日に田口文広が第5室主任研究官に、9月1日に小沢正次がウイルス第1室の主任研究官に、10月1日に大槻紀之が第2室研究員に、菅井敏行が第3室研究員に、松山州徳が第5室研究員に各々採用された。一方、5月31日にウイルス第3室の荻野倫子研究員が退職し、平成16年3月31日に小長谷昌功第5室長が定年退職した。

業務では、インフルエンザ、風疹、麻疹、おたふくかぜの各ワクチンおよびγグロブリン製剤に関する国家検定、検査、特別審査、研究業務を担当した。インターフェロン製剤の収去検査と各感染症の体外診断薬依頼検査も行った又、各種標準品・参照品を製造して配布した。科学の進歩に応じて、生物学的製剤基準の改定を行ない、またGMPやWHO新基準に準拠した品質管理体制の構築と国際的に通用する近代的な品質管理体制への転換を図った。

研究業務では、インフルエンザ流行動向調査事業、感染症流行予測事業、ウイルス株系統保存事業を進め、全国各地衛研と協力して流行ウイルスの解析と流行予測を行い、国内のワクチン株を選定した。新型インフルエンザ対策として、ワクチン緊急開発体制、抗ウイルス剤備蓄、健康危機管理のあり方等を検討して提言した。WHO麻疹拡大予防接種計画に応じて、麻疹の免疫抑制機構、ワクチンの安全性と有効性、成人麻疹の実態と原因、2次性ワクチン効果不全の鑑別と実態解明、国及びWHOワクチン政策見直し提言、IgM抗体簡易診断法の実用化、麻疹ウイルス分離用細胞の開発、麻疹ウイルスの分子疫学等の研究を進めた。風疹ウイルスでは母児感染・先天性風疹症候群の分子疫学および血清診断法の標準化、風疹ウイルス病原性機序、ワクチン政策の再検討の研究を行った。ムンプスウイルスでは、分子疫学、分子病態・病原性機構の研究、ワクチン全般については細胞や牛血清由来に由来するウイルスの検出方法の改

良、動物由来の材料等を使用しない新ワクチンの開発を行った。またインターフェロン感受性・抵抗性の解析、二重鎖RNA依存性蛋白リン酸化酵素の研究を進めた。またリバース・ジェネティクスを駆使したセンダイウイルスの研究によりウイルス病原性の分子機構の解析を進めた。

国際協力では、WHOインフルエンザ協力センターとして各国から送付されたウイルスを解析し、WHOインフルエンザワクチン推奨株を決定した。WHO世界インフルエンザ計画に参画し、地球レベルでの監視体制、大流行対応計画の策定および、WHO総会での採択を図った。また、中国や東南アジアでのインフルエンザ計画を支援した。麻疹、風疹に関しては、WHO拡大予防接種計画の策定・実施に協力し、標準検査法の開発・普及を行った。

SARSの流行に際しては、WHO-SARS研究ネットワークおよび西太平洋地域検査機関に指定され、SARSコロナウイルスの同定と検査方法の確立を進めた。更に、国内外からの臨床検体の検査と海外への技術支援、WHOによる様々な対策指針の立案・策定に参画した。厚労省・文科省の緊急特別研究では、全所的な協力体制を構築し、ウイルス性状の解析、迅速診断法、治療法、ワクチン、動物モデルの各開発を進めた。迅速簡易診断キットを実用化し、各検査所等へ配備した。

年度後半の高病原性鳥インフルエンザの流行に際しては、WHO協力センターとして、国内外におけるヒトへの感染診断、分子疫学の解明、新型インフルエンザワクチン緊急開発を行った。また、WHOの要請に応じて東南アジア諸国に対して緊急技術支援を行った。文科・農水・厚労の合同研究を分担し、迅速簡易診断キットを開発した。また、国内およびWHOの新型インフルエンザ対策へ様々な提言・助言を行ない、我が国における新型インフルエンザ準備計画の策定を進めた。

#### 研 究 業 績

## I. インフルエンザウイルスに関する研究

### 1. インフルエンザウイルス流行株のサーベイランス

インフルエンザの流行状況を把握し、次シーズンのワクチン株を選定するために全国 74 地方衛生研究所および関連施設の協力のもとに、インフルエンザウイルスの分離および性状解析を実施した。2003/2004 シーズンは前シーズンと同じく A/H3N2 型(総分離数の 95%)と B 型ウイルス(総分離数の 5%)の混合流行で、A/H1 型ウイルスの流行はなかった。流行規模は前シーズンの約 64%と小さかった。A/H3 型では、前シーズン後半から増えてきた変異株 A/福建/411/2002 類似株が分離株の大半を占めていたが、これらの多くはワクチン株 A/Panama/2007/99 に対する抗体ともよく交叉反応した。一方、B 型ウイルスは、ここ 2 シーズン続いた B/ビクトリア系統の流行から、抗原的にも遺伝的にも別系統に分類される B/山形系統に入る株が分離株の大半を占めていた。これらは 3 シーズン前のワクチン株からは抗原的に大きく変化しており、また、遺伝子解析においても区別が可能であった。同様の流行状況は欧米諸国においても報告されていることから、これらの情勢を総合的に判断して、2004/2005 シーズンのわが国のワクチン株は A/NewCaledonia/20/99(H1N1)、A/Wyoming/3/2003(H3N2)(A/福建類似株)、B/上海/361/2002(山形系統株)が選定された。これら、解析結果は定期的に WISH-NET を通じてまたは個別に地衛研に報告された。また解析結果は衛生微生物技術協議会、ウイルス学会等の研究集会などを通じて研究機関へも還元され、さらに感染研 HP で一般にも還元された。[西藤岳彦、小淵正次、斎藤利憲、伊東玲子、中矢陽子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、金子睦子、小田切孝人、田代真人]

### 2. 高病原性鳥インフルエンザの流行における実験室診断と国際協力

2003 年から 2004 年の始めにかけて日本を含む東アジア諸国の家禽の間で高病原性 A/H5N1 型鳥インフルエンザの大流行が起こった。ベトナム、タイではヒトへも感染し 23 名の死者を出すまでに至り、これに起因した新型インフルエンザウイルスの出現とそれによる世界的な汎流行が危惧されている。当室では WHO インフルエンザ協力センターとして、東南アジア諸国の H5N1 型ウイルス感染が疑われる患者の検体を受け入れ、ウイルス遺伝子検出、ウイルス分離による病原体診断、血清中の中和抗体検出による血清診断を行い、実験室診断における国際協力を行った。一方、山口県の養鶏場での流行においては、従業員や家族から採取した検体について感染診

断を行い全例陰性であることを確認し、その結果を山口県及び、厚生労働省にそれぞれ速やかに報告し、その後の対策に反映された。さらに、動物衛生研究所から H5N1 型国内分離株の入手、WHO-H5 ネットワークから海外分離株の入手を行い、それらの抗原解析、遺伝子解析、ワクチン開発を行った。これら国内外の情報交換は WHO ネットワークを通して頻繁に行われ、これによって随時最新の H5N1 型ウイルスの流行状況を把握し、新型インフルエンザ対策に対応した。一方、科学技術振興調整費による「高病原性鳥インフルエンザ対策に関する緊急調査研究」における当室の研究としては、病原体診断系の改良や新規に高感度遺伝子検出系を開発し、短期間で効果的な研究成果を上げた。[小田切孝人、二宮愛、今井正樹、小淵正次、板村繁之、西藤岳彦、斎藤利憲、伊東玲子、中矢陽子、金子睦子、田代真人]

### 3. 高病原性鳥型インフルエンザのヒト感染事例に関する技術協力(ベトナム)

2003 年暮れから 2004 年初頃にかけてアジア各地で高病原性トリ型インフルエンザ(H5 亜型)の集団発生が家禽で認められた。これに伴い、タイ、ベトナムではヒトへの散発的な感染事例が発生した。ベトナム・ホーチミン市のパスツール研究所および熱帯病病院におけるヒト H5 感染の診断技術確立のため、世界保健機構(WHO)の要請を受けて各 2 週間、計約 4 週間の期間にわたる技術協力を行った。現地では RT-PCR による臨床検体を用いた H5 診断法を確立すると共に、熱帯病病院の BSL-3 実験施設の評価を行った。[板村繁之、西藤岳彦]

### 4. 動物インフルエンザウイルスのサーベイランス

新型インフルエンザウイルスの出現時に、それに抗原性が近似したワクチン製造株を速やかに供給できるように、自然界に存在する 15 種類全ての HA 亜型のウイルスの収集・系統的分類及びそれらに対する抗血清の作製を完了させた。また新たに野鳥から 9 株が分離され、それらの抗原解析の結果、H2N3、1 株、H7N7、1 株、H8N4、1 株、H10N1、3 株、H10N7、3 株が分離され、感染研の動物インフルエンザウイルス保存バンクに組み込まれた。新型ウイルスが中間宿主のブタの世界に侵入しているのか否かを監視するために、全国 22 地区の地衛研に依頼して、ブタでの H5、H7、H9 ウイルスに対する抗体調査を行った。血清中の抗体価は、A/Hong Kong/213/2003(H5N1)、A/mallard/Netherlands/12/00(H7N3)、A/Hong Kong/1073/99(H9N2)各不活化ウイルスを抗原に用い HI 試

験にて測定した。その結果、H7 ウイルスに対しては全て陰性であった。一方、H5 ウイルスと H9 ウイルスに対してそれぞれ1頭と2頭のブタで陽性反応が検出され、その結果は感染研でも追証された。しかし、これらの血清はブタの間で常在している H1 ウイルスあるいはヒトの H1 ウイルスにも反応したことから、交叉反応なのか、特異反応なのかを区別することができなかった。そこで、中和試験で区別できるか否かを検討したが、HI 試験と同様の成績が得られ、現時点で可能な解析系では判定が困難であった。今後、ウイルスの流行状況を直接的に把握できるウイルス分離法を用いた監視体制を確立する予定である。[今井正樹、二宮愛、西藤岳彦、板村繁之、斎藤利憲、小淵正次、小田切孝人、田代真人]

#### 5. WHO 西太平洋地域(WPR) 諸国におけるインフルエンザサーベイランスへの支援

中国は新型インフルエンザの出現にとって重要な地域であるとともに世界のワクチン標準株が多く分離される国であることから、中国におけるインフルエンザサーベイランス情報および分離株は世界のインフルエンザ対策にとって重要な役割を占めている。しかし、中国国内におけるサーベイランス網の整備や海外諸国との連携はまかり立ち遅れていることから、WHO、感染研、米国 CDC が協力して2000 年から5カ年計画で中国のサーベイランスの強化を目的とした技術支援を行ってきた。4年目になる本年度は、感染研から田代が中国のサーベイランス拠点を視察し、問題点や改善点を提言した。

一方、中国各地で分離され亜型同定が行われた分離株については、中国 CDC から定期的に感染研へ送られ(本年度は計 191 株が送付された)、詳細な抗原解析、遺伝子解析が行われた。これら解析結果は中国へ適宜還元されるとともに WHO ワクチン株選定会議でワクチン推奨株の選定のための資料として活用された。[田代真人、小田切孝人、西藤岳彦、小淵正次、斎藤利憲、伊東玲子、中矢陽子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、金子睦子]

#### 6. ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランス

抗インフルエンザ薬として磷酸オセルタミビル(タミフル)やザナミビル(リレンザ)が開発され、先進諸国ではインフルエンザの治療薬として臨床現場で使用されている。しかし、これら薬剤に対する耐性株の出現頻度や耐性株の性状などに関する情報は少ない。そこで WHO ではこれら耐性株に関する世界規模でのサーベイランスを行い、抗ウイルス薬の使用や新型インフルエンザ対策における国家備蓄の検討などに映させるために、ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株ネッ

トワーク(NISN)を設立した。WHO インフルエンザ協力センターであるウイルス第3部第1室もこのプロジェクトに参加し、地衛研から収集した国内分離株を NISN に送付し、耐性株のスクリーニングを行った。わが国は世界で使用されている抗インフルエンザ薬の2/3が消費されているといわれていることから、わが国における耐性株のスクリーニングは特に重要であり、今後も継続される。[西藤岳彦、小淵正次、斎藤利憲、伊東玲子、中矢陽子、板村繁之、今井正樹、二宮愛、金子睦子、小田切孝人、田代真人]

#### 7. WHO 新型インフルエンザ準備・対応計画ガイドラインの作成 (WHO世界インフルエンザ計画会議およびWHO国内インフルエンザセンター長会議の企画・主催)

WHO インフルエンザ協力センターおよび WHO 国内インフルエンザセンターとして、2002 年から開始された WHO 世界インフルエンザ計画の策定および実施に参画し、毎年流行するインフルエンザ対策および新型インフルエンザ大流行に備えた準備と対応計画立案のためのガイドライン策定を行なった。その結果、2003 年5月の WHO 総会において、インフルエンザ対策は WHO 政策の中で優先度の高い政策課題として採択された。これに応じて、各国のインフルエンザサーベイランス体制、健康被害の把握、ワクチン製造・供給・接種体制、新型インフルエンザ対策を4本柱として規定し、これに対する WHO の行動計画策定を行った。また、通常期および大流行期におけるワクチン政策および抗インフルエンザ薬の使用計画についてのガイドライン・勧告をまとめた。

2003 年2月に香港でヒトの感染死亡が起こった H5N1 型高病原性鳥インフルエンザ、同じくオランダにおける H7N7 型高病原性鳥インフルエンザ、さらに2004 年に東アジアで広く流行して多数の感染者と死亡者を出した H5N1 型鳥インフルエンザに対しては、緊急の検査方法およびワクチン候補ウイルスの開発を行った。これらの新型インフルエンザ出現の懸念に対応して、WHO 新型インフルエンザ緊急対応策の策定を行い、また APEC および G7+1 における新型インフルエンザ対策の専門家会議において、対応策の検討を進めた。さらに、9 月には沖縄で WHO 世界インフルエンザ計画会議および WHO 国内インフルエンザセンター長会議を主催し、これらの内容の具体的実施計画を検討・策定するとともに、各国において速やかにこの計画を実施できるように、政治的・経済的な方策を検討して各国に要請した。

[小田切孝人、西藤岳彦、板村繁之、小淵正次、今井正樹、二宮愛、斎藤利憲、田代真人]

## 8. WHO 新型インフルエンザワクチン開発に関するガイドラインの作成

H5N1 型などの高病原性鳥インフルエンザに由来する人の新型インフルエンザウイルスが出現した際には、強毒型のウイルスをそのままワクチン製造に用いることは出来ない。そこで、リバーズジェネティクス遺伝子操作技術を応用したウイルスの弱毒化操作が必要であり、このような技術を用いたワクチン製剤の開発方法、製造方法、承認許認可体制、知的所有権問題、安全性の確保方法、WHO および各国の役割と国際協力、ワクチンメーカー等との協議と協力等について、数回にわたる国際会議に参加し、わが国の立場および WHO 協力センターの立場から意見を述べ、WHO 新型インフルエンザワクチン開発に関するガイドラインを作成した[小田切孝人、西藤岳彦、板村繁之、小渕正次、今井正樹、二宮愛、斎藤利憲、田代真人]

## 9. 新型インフルエンザ大流行への準備・対策案の検討

新型インフルエンザ大流行が起これば、未曾有の健康被害と社会機能の麻痺が起ることが危惧されている。そこで、WHO の勧告に応じて、わが国においても、新型インフルエンザに対する事前準備と緊急対応計画を予め確立しておく必要があり、このための検討を、厚生労働科学研究費補助金「新興・再興感染症」の研究班を組織して進めた。様々なシナリオに基づいた健康被害と社会的影響について検討を行い、それに対する事前準備のあり方、緊急対応計画についての提言を行った。今年度は、特に、高病原性鳥インフルエンザに由来する病原性の特に強い新型ウイルスによる検討と被害の推定、ワクチンの緊急開発方法と問題点およびその解決案、抗インフルエンザ薬の備蓄に関する問題点と選択肢に関する検討を進めた[小田切孝人、西藤岳彦、板村繁之、小渕正次、二宮愛、今井正樹、斎藤利憲、田代真人]

## 10. 新型インフルエンザワクチン(H5 型および H7 型)の力価測定系の確立

新型インフルエンザが流行した場合に備えて、鳥由来の亜型のウイルスでワクチン製造株の種ウイルスを作製すると同時に、その力価を一元放射免疫拡散(SRD)法で測定できるシステムを確立することが重要である。2003 年度には香港で H5N1 型ウイルス、オランダで H7N7 型ウイルスがヒトから分離されている。そこで、これらの亜型のウイルスについて SRD 用の抗血清試薬を作製し、力価測定が可

能になった。[今井正樹、二宮愛、板村繁之、西藤岳彦、小渕正次、斎藤利憲、金子睦子、小田切孝人、田代真人]

## 11. 新型インフルエンザワクチンの開発

1)ワクチン株の作製:高病原性トリインフルエンザウイルスの流行に備えるために、リバーズジェネティクス法を用いてワクチンを作製し、その安全性と有効性を検証した。2003 年に香港でヒトから分離された高病原性トリインフルエンザウイルス A/Hong Kong/213/03 (H5N1)の NA 遺伝子と弱毒型に改変した HA 遺伝子をクローニングした。これらの遺伝子を含む弱毒化組換え H5N1 ウイルスを、発育鶏卵で高増殖する A/PR/8/34(H1N1)株遺伝子をバックボーンとするリバーズジェネティクス系を用いて作製した。2)ワクチン株の病原性試験:組み換えウイルスの病原性を調べるために、ニワトリ及びマウスへの接種試験を行った。その結果、このウイルスはニワトリとマウスに対して病原性を示さないことがわかった。さらに、培養細胞を用いて H5 ウイルスの弱毒化の指標であるトリピン依存性試験を行ったところ、このウイルスはトリピン非存在下では、その増殖が著しく抑制されることがわかった。従って、この組み換えウイルスは、ニワトリおよびマウスに対して十分に弱毒化されていることが確認された。[二宮愛、今井正樹、喜田宏\*:北海道大学大学院、小田切孝人、田代真人]

## 12. B 型インフルエンザウイルスの発育鶏卵分離による抗原性の変化に関する研究

A 型及び B 型インフルエンザウイルスを発育鶏卵で分離すると、細胞分離株との間で抗原性が異なることが知られている。インフルエンザワクチンは現在発育鶏卵で分離、増殖されているためこの抗原性の変化がワクチンの効果や、サーベイランスの結果に大きな影響を与える可能性がある。数株の B 型ウイルスの発育鶏卵分離株と細胞分離株のペアについて、抗原性、免疫原性、レセプター特異性について検討した。発育鶏卵分離株と細胞分離株の間で、HA タンパクの糖鎖結合部位の数が異なることが明らかになり、それに伴い抗原性、免疫原性が変化することが示された。ハムスターモデルを用いたワクチンの効果試験では2者の間で有意な差は認められなかった。また2者の間でレセプター特異性は変化しないがレセプターへの親和性が異なることが明らかとなった。[西藤岳彦、中矢陽子、鈴木隆\*、伊東玲子、斎藤利憲、齋藤博之\*\*、高尾信一\*\*\*、佐原啓二\*\*\*\*、小田切孝人、村田剛臣\*\*\*\*\*、碓井太一\*\*\*\*\*、鈴木康夫\*、田代真人:\*静岡県立大学、\*\*秋田衛生科学研究所、\*\*\*広島県保健環境センター、\*\*\*\*静岡県環境衛生科学研究所、\*\*\*\*\*静岡大学]

13. 新型インフルエンザワクチンに用いるアジュバントワクチンの有効性の検討

H5N1 型ワクチン株および鳥由来の弱毒型 H7 型ウイルスを用いてホルマリン不活化全粒子ワクチンを作製した。これらをアルミニウムアジュバントと共にマウスに皮下接種し、血清中の HI および中和抗体を測定してワクチンの効果を検討した。その結果、微量の抗原でもアジュバントの使用により、効果的に血中抗体を誘導できる可能性が示された。[二宮愛、今井正樹、小田切孝人、田代真人]

14. B 型インフルエンザウイルス BM2 蛋白の機能に関する研究

B 型インフルエンザウイルス第 7 分節 RNA は 2 種類の膜蛋白質、M1 および BM2 をコードしている。BM2 は B 型ウイルスのみに存在する蛋白質であるが、その機能は不明である。我々は、ウイルス増殖過程における BM2 の機能を明らかにするために、リバーシジェネティクス(RG)法を用いて BM2 欠損および部分欠失変異株を作製し、その性状解析を行った。B/山形/1/73 株を骨組みとした RG 系を用いて、BM2 欠損変異株と BM2 部分欠失変異株の作製を試みた。その結果、これらの変異株は全く回収されなかった。そこで BM2 をトランスに補充してやるとこれらの変異株は回収され、野生株と同様のレベルまで増殖能が回復した。以上の結果は、BM2 は B 型インフルエンザウイルスの増殖には必須な蛋白質であることを示している。[今井正樹、二宮愛、小淵正次、小田切孝人]

15. 新型インフルエンザ(A/H5N1)に対する全粒子ワクチンの臨床試験

ワクチンの準備は新型インフルエンザ対策の要として最も重要である。現行ワクチンの製造方法で新型インフルエンザに対する安全で有効なワクチンを製造できるのかを確認することを目的として、以前にリバーシジェネティクスの手法によって作製したウイルス株をワクチン製造株として新型インフルエンザ (A/H5N1) に対する不活化ワクチンの試験製造を行い臨床試験を実施した。その結果、顕著な副反応は認められなかったが、しかしながら血清中の抗体価の上昇も認められず、ワクチンの免疫原性を高める必要があることが明らかになった。そこで、本年度は現在では製造されていないが製造法としては認可されている不活化全粒子ワクチンを試験製造して臨床試

験を実施した。全粒子ワクチンについても、顕著な副反応は認められなかった。一方、免疫原性についても一部に有意な血清抗体価の上昇が見られたが、その抗体価は低い値であった。より有効性の高い新型インフルエンザに対するワクチン開発の必要性が示唆された。[板村繁之・小田切孝人・田代真人]

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹抗体検出キットの国内標準品の作製と評価

風疹抗体価の表示の統一をはかるために、抗風疹 IgG 及び IgM 抗体測定用の国内標準品候補を作製した。EIA、HI、中和抗体価を測定し、WHO の国際標準品に対する相対抗体価を算出すると、IgG 抗体測定用国内標準品候補の相対抗体価はいずれの方法でも誤差の範囲で良く一致していた。それらの加重平均からその相対抗体価は 90.9 IU/ml と推定された。このことから、EIA、HI、中和のどの方法でも国際標準品に対する相対比較による測定を行うことにより、共通の抗体価が得られることが示された。[海野幸子、堀内善信\*、\*細菌第 2 部、加藤宏幸、大槻紀之、門澤和恵]

2. Vero 細胞を用いた風疹ワクチンウイルスの無血清増殖系の確立と増殖

(1)ウイルスの生物学的性状の解析(続)

無血清培地 DM-201 単独、或いはそれに大豆由来ペプトンを添加した培地に馴化させた Vero 細胞でそれぞれ 3 代継代した風疹ワクチンウイルスの E1 遺伝子は、元のワクチンウイルス及び従来の牛血清を含む培地で培養された Vero 細胞で継代されたウイルスと同じ配列であった。また、これら継代を経たウイルスの RK13 細胞での増殖は元のワクチンウイルスと同様に高温で抑制された。DM-201 培地に馴化した Vero 細胞で無血清培地を用いて少なくとも 3 代継代を繰り返しても、ウイルスの性質は安定していると考えられた。[海野幸子、加藤宏幸、大槻紀之、門澤和恵、大良勇治]

3. 青年層の抗風疹抗体の保有状況

2002 年と 2003 年の某医学部大学生それぞれ 66 人及び 80 人について抗風疹抗体保有状況を調べた。年毎の風疹ウイルス HI 抗体陽性率は、80.3%と 88.8%であった。その内、女性の陽性率は 84.6%と

100%で、男性の77.5%と80.4%に比べ両年も高かった。2003年の平均年齢は女性22.0歳、男性23.5歳で、経過措置による定期接種対象者に該当する。しかし、男性の抗体陰性者の平均年齢は25.3歳で、これまでワクチンの接種対象ではなかった年齢層である。今回得られた青年層の抗体保有の傾向は、2002年の流行予測調査の結果と一致していた。[海野幸子、門澤和恵、中島節子]

#### 4. マイクロアレイを用いた風疹ウイルスワクチン株の弱毒性の検討

風疹ウイルス(M-33株)感染細胞では、dsRNA またはインターフェロンによって活性化される遺伝子群の顕著な上昇が認められ、中にはその後機能が明らかになった RIG-1 等の新規 mRNA も含まれた。これら遺伝子発現の変化とウイルスの弱毒性との関連を調べるために風疹ウイルスワクチン株(TO-336Vac)とその親株(TO-336WT)による感染細胞の遺伝子発現変化を比較した。各ウイルスを同一MOI(約8)でHEL(ヒト胚肺繊維芽細胞)に感染させ、35°Cで培養した。8、56、96時間後に細胞のRNAを回収し、それらの遺伝子発現を調べた。その結果、ワクチン株とその親株の感染細胞において上記遺伝子群が変化していたが、互いに明瞭な差異は認められなかった。[加藤宏幸、海野幸子]

### III. 麻疹ウイルスに関する研究

#### 1. 患者材料からの麻疹ウイルスの分離と同定

血液、咽頭ぬぐい液などからB95a細胞、Vero/SLAM細胞を用いて麻疹ウイルス分離を行った。麻疹の分離効率にはB95a細胞とVero/SLAM細胞ではほぼ同等であった。分離された麻疹ウイルスの遺伝子型別はWHOが推奨する方法に従って行った。昨年度から、H1型が頻繁に分離されるようになり、本年度もH1型だけが分離された。[齋藤義弘、田代真人]

#### 2. Vero/SLAM細胞を用いた麻疹中和試験法の確立

麻疹ウイルス実験室株と野外株の双方のレセプターを有するVero/SLAM細胞を用いた麻疹中和試験法を確立した。CPE法、ブラック減少法のいずれにおいても測定が可能であり、従来の中和試験とよく相関していた。またワクチン株(遺伝子型A)で免疫した血清を用いて麻疹野外株(遺伝子型D3、D5、H1)に対する中和価を本法

で比較したが、最近の野外株に対するワクチンの防御効果の減弱は認められなかった。さらに本年度はVero/SLAM細胞のシードを作製し、当研究室から各研究機関に分与する体制を整えた。Vero/SLAM細胞におけるSLAMの発現は、抗SLAM抗体を用いたフローサイトメリーでモニターしているが、G418を加えた培地で培養するかぎり、少なくとも100代までは安定していた。[齋藤義弘、宮嶋直子、田代真人、柳雄介\*: \*九大大学院]

#### 3. 国内抗麻疹標準血清の作製

WHOを中心として、血清抗体価を抗体測定法にかかわらず統一して表示する動きがある。英国NIBSCより入手した麻疹国際標準血清(5 IU/ml)を参照品として、ヒトの血清で国内標準品の作製を試みた。今回の候補血清の国際標準品に対する相対力価はHI法とEIA法において誤差の範囲内で一致し、その力価は5.453 IU/mlと算出された。一方、中和試験法での相対力価は、3.022 IU/mlとHI法とEIA法のそれと比較して乖離が認められた。[齋藤義弘、堀内善信\*: \*細菌第2部、田代真人]

#### 4. 牛血清を使用しない麻疹ワクチン製造法の開発に関する研究

弱毒生麻疹ワクチンは鶏初代胚細胞を用いて製造される。異常プリオンをはじめ未知の動物由来の感染性因子の迷入を防ぐためには、ワクチン製造過程から完全に動物由来物質を排除することが不可欠である。本年度はワクチンの原材料となる細胞以外に動物由来成分を全く使用しないで麻疹ワクチンの製造が可能かどうか検討を行った。その結果、現行の製造法と同等量のワクチンウイルスを得るためには、無血清培地に細胞増殖因子を添加するなどの工夫が必要であることが示唆された。

[齋藤義弘、大槻紀之、関谷成則、田代真人]

#### 5. 重症心身障害児(者)に対する麻疹生ワクチンの安全性と有効性の検証

麻疹ウイルスが、感染すると宿主に免疫抑制を起こす事が知られている。麻疹生ワクチンは微弱ながらこの性質を持っている。特に免疫機能の低下している患者では、野外麻疹ウイルス感染は時に致命的となり、ワクチンでの予防が強く望まれる。このような背景の中で、重症心身障害者の麻疹ワクチン接種は、野外ウイルスに罹患すると重症化する傾向があることから、是非にも接種したいワクチンの

筆頭となっている。今回、神奈川県立総合リハビリテーションセンターの医師とともに重症児(者)に対する麻疹ワクチン接種の安全性と有効性の検証を行った。[岡田晴恵、秋元未来、菅井敏行、田代真人]

#### 6. 骨髄移植児(者)に対する麻疹生ワクチンの安全性有効性の検証

現在、我が国では年間約 3000 例の骨髄移植が行われている。移植後の患者が、野外麻疹ウイルスに感染すると重症化することから麻疹ワクチンによる予防は、重要である。今回、骨髄移植児(者)の麻疹生ワクチンの接種の安全性と有効性の検討を行った。これは、移植患者に対する安全性有効性の確認とともに適切な接種時期の決定を目的とした。[岡田晴恵、秋元未来、田代真人]

#### 7. 麻疹ウイルスV蛋白質によるI型 IFN 情報伝達経路の阻害機構の解析

麻疹ウイルスのP遺伝子は、他の多くのパラミクソウイルスと同じように、P蛋白質の他にVおよびC蛋白質を重複してコードしている。VおよびC蛋白質が、IFNによって誘導される宿主細胞の抗ウイルス効果を阻害する機能を有しているかを調べるために、麻疹ウイルスのV蛋白質発現HeLa細胞、および、C蛋白質発現HeLa細胞を樹立した。これらの細胞を用いて、麻疹ウイルスV蛋白質がI型IFNによる抗ウイルス活性を阻害する事を確認した。また、麻疹ウイルスV蛋白質が、JAK-STAT経路におけるシグナル伝達分子であるSTAT2及びSTAT1のリン酸化を阻害、もしくは抑制する事が明らかになった。[宮嶋直子、竹内薫\*:\*筑波大・基礎医学]

#### 8. CD46、SLAM(CD150)を経由しない麻疹ウイルスの感染機構

麻疹ウイルスは、主にリンパ系細胞に感染するが、上皮系、内皮系、神経系の細胞にも感染する事が知られている。麻疹ウイルスレセプターとしては、実験室継代株は、CD46、SLAM両方を認識するが、麻疹ウイルス野外株は、SLAMのみを認識する事が報告されている。しかし、SLAMは特定の活性化リンパ系細胞に限って発現するとされており、上皮系、内皮系、神経系細胞におけるSLAM発現の報

告はない。我々は、初代ヒト細気管支上皮細胞(SAEC、Clonetics社より購入)に、GFPを発現する麻疹ウイルス野外株が感染し、巨大な細胞融合を形成する事を見出し、麻疹ウイルス野外株が、SLAMを発現していない細胞に感染し得る事が示された。この感染が、抗CD46抗体でもブロックできなかった事から、CD46でも、SLAMでもない、新たな麻疹ウイルスレセプターの存在する可能性が示された。[宮嶋直子、竹内薫\*:\*筑波大・基礎医学]

### IV. ムンプスウイルスに関する研究

#### 1. ムンプスウイルスの分離状況

日本国内における近年のムンプスウイルス流行株の経年変化を調べるために、各県の衛生研究所の協力を仰いで臨床分離株を収集し、本年度までに113株のSH遺伝子型別を決定した。ムンプスウイルスはそのSH遺伝子の基配列を基にA-Kまでの遺伝子型に分類されており、現在使われているワクチン株は1980年以前から本邦で流行していたB型に分類される。1999年以前に分離された株はワクチン株と同じB遺伝子型株が大部分を占めていたが、2000年以降に分離される株は、A、B、G、H、K型の株が並行して流行する傾向が見られ、B型株はごくわずかしか認められなかった。本年度に分離された株もその傾向の中にあり、全国的に流行株の入れ替えが起こっているものと推定される。[加藤 篤、久保田 耐、田代真人]

#### 2. ムンプスワクチンウイルスの牛由来成分を使用しない培養方法に関する研究

現行のおたふくかぜ生ワクチンは牛血清等の動物由来物質を含む培地で増殖維持されたニワトリ胚繊維芽細胞(CEF)を用いて製造される。ワクチン製造における動物由来因子の使用はそれらに由来する感染性因子が製剤中に迷入する危険性を伴う。市販の無血清合成培地によるCEF細胞の培養は、従来の牛血清入り培地と同等以上に細胞活性が高く、ムンプスウイルスの増殖性も高いことが分

かっている。そこで、従来の牛血清入り培地と、無血清培地とでそれぞれ培養した CEF 細胞に、市販ワクチン等を接種し、増殖してくるウイルスの性状に違いが認められるかどうかを、プラークサイズの変化と、SH 遺伝子の塩基配列を比較することによって検討した。その結果、試験に用いた培養条件下では、いずれのワクチン株においてもプラークサイズ、塩基配列のいずれにおいても有意な変化を認めなかった。以上の結果から、無血清培地がムンプスワクチン製造に利用できる可能性が示された。[加藤 篤、久保田 耐、木所 稔、田代真人]

### 3. ムンプスウイルスの IFN 作用抑制機構の研究

ムンプスウイルス(MuV)感染細胞では IFN による抗ウイルス効果が抑制されており、その原因はウイルス V 蛋白質により宿主インターフェロン(IFN)情報伝達系に関わる STAT1 蛋白質が分解されるためだとされている。一方、麻疹ウイルスでもウイルス V 蛋白質により IFN による抗ウイルス効果が抑制される事が見いだされたが、この場合は STAT1 蛋白質の分解はない。MuV の V 蛋白質は宿主細胞の RACK1 蛋白質と結合し、その結合が抗 IFN 効果と関連すると予想されている。麻疹ウイルス V 蛋白質も RACK1 と結合することが明らかになり、RACK1 と V 蛋白質の結合が STAT1 蛋白質の分解と抗 IFN 効果の発動にどのように関わっているのかに興味をもたれた。[久保田耐、横沢紀子\*、横田伸一\*、藤井暢弘\*:\*札幌医大]

### 4. ムンプスウイルスの温熱耐性誘導抑制機構の研究

ムンプスウイルス(MuV)持続感染細胞では化学ストレスによる熱ショック蛋白質 HSP27 の発現誘導が抑制され、細胞の温熱耐性性能が減少している。MuV 感染細胞の熱ショック蛋白質発現誘導能は STAT1 蛋白質発現プラスミドの導入により回復することから、化学ストレスにより誘導される HSP27 の発現には STAT1 蛋白質が関わること、また MuV 感染細胞の温熱耐性性能減少の原因がウイルス V 蛋白質による STAT1 蛋白質の分解によることが明らかになった。[久保田耐、横沢紀子\*、横田伸一\*、藤井暢弘\*:\*札幌医大]

## V. インターフェロン・サイトカイン・重症急性呼吸器症候群 (SARS) に関する研究

### 1. センダイウイルス(SeV) C 蛋白質発現 L 細胞でのアポトーシス抑制

センダイウイルス(SeV) C 蛋白質発現 L 細胞では IFN 感受性が全くみられないばかりか、Poly(I):Poly(C)およびウイルスにより誘導される IFN 産生能も 80%程度抑制される。この C 蛋白質発現細胞での IRF3 のリン酸化によるホモダイマー形成、核内移行は正常細胞と差がなかった。一方、この C 蛋白質発現細胞では Poly(I):Poly(C)ーリポソーム、2重鎖 RNA レオウイルスによるアポトーシスも抑制された。また TNF によるアポトーシスも顕著に抑制され、相互の相乗的、相加的効果も抑制された。SeV C 発現細胞では生体内での細胞死からこれらのメカニズムによって免れることが持続感染の必要条件と思われる。[小長谷昌功、宮嶋直子、荻野利夫、斉藤早久良]

### 2. 新規国際標準品 $\alpha$ Ly と国内標準品の力価の整合性に関する研究

天然型インターフェロン IFN  $\alpha$  Ly の国際標準品が更新され、共同研究に参加した。しかし、その最終力価が国内標準品 (J501) と 30% 程度のズレがあることが、国内企業から指摘され、力価試験を実施したところ、指摘通りであることが確認された。その件について WHO 標準品委員会に申し入れ、我が国の企業だけの生産品であるので、国際標準品の力価変更を要望した。WHO 専門家委員会への議題提出を求めたが他国における生産計画がないことを確認したうえで、正式議題とする方針となった。[小長谷昌功、宮嶋直子、荻野利夫、斉藤早久良]

### 3. 天然型 IFN- $\beta$ の国際、国内標準品更新に関する研究

国際標準品の更新の共同研究に参加し、CHO 細胞由来糖付加型 IFN- $\beta$  (00/572) が次期の国際標準品として認定された。その際、東レが供給した天然型 IFN- $\beta$  で NIBSC が作成した凍結乾燥アンブル (00/576) が不要になったので、それを譲り受け、次期国内標準品とすることとなり、検定検査協議会で承認を受けることとなった。総本数 2000 本の内、感染研が 300 本程度保管し国内標準品として配布することになっている。

[小長谷昌功、宮嶋直子、荻野利夫、斉藤早久良]

### 4. センダイウイルス(SeV) C 蛋白質発現細胞での IFN 作用抑制機構の研究

センダイウイルス(SeV) C 蛋白質発現 HeLa 細胞は 3 種のインターフェロン (IFN)  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  のいずれに対しても完全な抵抗性を示す。昨年に



引き続き IFN に対する抵抗性のメカニズムについて検討した。SeV-C 蛋白発現 HeLa 細胞では IFN $\gamma$  処理後リン酸化された STAT1 が巨大分子を形成して蓄積していくことが明らかにされた。この原因として、正常な脱リン酸化反応が起きない機構が働いている可能性が考えられ、現在さらに検討を加えている。[斎藤早久良、荻野利夫、宮嶋直子、加藤篤、小長谷昌功]

#### 5. 二本鎖 RNA 依存性蛋白リン酸化酵素(PKR)について

昨年に引き続き、古細菌のもつタンパク合成開始因子 aIF2 $\alpha$  がヒトの PKR の基質になりうるかどうかを調べた。天然型の aIF2 $\alpha$  とアミノ酸の置換体を大腸菌に発現させ、精製法を改善して、凝集体らしい分子を除き、基質として用意し、我々のところで部分生成した PKR を用いてリン酸化反応を行ったところ、天然型の aIF2 $\alpha$  は弱いながらもヒト PKR によってリン酸化されること、また aIF2 $\alpha$  の 48 番目のセリンがリン酸化されることが明確になった。また、古細菌中にも aIF2 $\alpha$  をリン酸化する活性が検出された。[斎藤早久良、田原舞乃\*、木村誠\*、加藤篤、小長谷昌功、\*九州大学]

#### 6. パラミクソウイルスのアクセサリ-遺伝子の機能

パラミクソウイルスのアクセサリ-遺伝子である V や C 蛋白質の機能についてはまだよくは理解されていない。しかしながら、センダイウイルス(SeV)の C 蛋白質、ムンプスウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス2型、ニューカッスル病ウイルス、ニバウイルス、麻疹ウイルスの V 蛋白質がインターフェロン(IFN)のシグナル伝達を阻害し、細胞が抗ウイルス状態になるのを妨げていることが明らかになっている。そこで、SeV の C 蛋白質のどの部分が抗 IFN 効果にとって重要かを調べるために荷電アミノ酸をアラニンに置換した変異 C 蛋白質を作製し、その抗 IFN 能を調べたところ、151/153/154 のアミノ酸が関わっており、また STAT1 と V 蛋白質の結合と抗 IFN の発揮との間の相関が無いことが判明した。[加藤 篤、小長谷昌功、田代真人、永井美之\*、\*富山衛研]

#### 7. SARS ワクチンの緊急開発に関する研究

2002 年の 11 月に中国南部の広東省で起こった非定形肺炎の集団発生に端を発した重症急性呼吸器症候群(SARS)は、2003 年 7 月 5 日に WHO から終息宣言が出されるまでの間に、東アジア諸国を中心として世界 32 ヶ国に広がり、8422 人の感染者と 916 人の死者を出

した。わが国では SARS 対策のひとつとして科学技術振興調整費による感染研吉倉所長を班長とする「SARS の診断及び検査手法に関する緊急調査研究」班が組織され、ウイルス第3部では所内の関連部署の協力を得て「SARS 診断系の開発」(分担研究者、田代)、「SARS ワクチンの開発」(分担研究者、小田切)に関する共同研究を行った。

「SARS ワクチンの開発」研究グループにおいては、弱毒型ワクシニアウイルスベクターを用いた SARS 成分ワクチンおよび遺伝子組み換え人工ウイルスワクチンの作製が行われ、ベクターに E+M 遺伝子、E+M+S 遺伝子を組み替えたウイルスの作製に成功した。また、不活化全粒子ワクチンを開発するために、アルムアジュバントおよび経鼻免疫用のアジュバントを用いた試作ワクチンをマウスに接種して種々の免疫効果について検討した。さらに、ワクチンの有効性を評価するための動物実験モデル系の検索を行い、マウス、ラットが有用であることを見つけ、SARS ワクチンの開発に関する基礎研究を行った。

[小田切孝人、板村繁之、西藤岳彦、田代真人、森川茂\*、西條政幸\*、石井孝司\*、鈴木哲朗\*、宮村達男\*、高須賀直美\*\*\*、藤井英樹\*\*\*、横田恭子\*\*\*、竹森利忠\*\*\*、長谷川秀樹\*\*\*\*、永田典代\*\*\*\*、岩田奈織子\*\*\*\*、佐藤由子\*\*\*\*、原嶋綾子\*\*\*\*、佐多徹太郎\*\*\*\*、網康至\*\*\*\* \*ウイルス第1部、\*\*ウイルス第2部、\*\*\*免疫部、\*\*\*\*感染病理部、\*\*\*\*\*動物管理室]

#### 8. WHO-SARS 研究ネットワークへの参加と病原体同定、診断方法・ワクチン開発における国際協力

昨年度後半から中国南部を基点に東南アジアから全世界へ広がった SARS については、病原体の特定と診断方法の確立を目的とした 9 カ国 11 研究機関(後に中国の 2 研究機関が参加)で構成される WHO-SARS 研究ネットワークが組織された。ウイルス第 3 部に設置されている WHO インフルエンザ協力センターがこれに指定され、ウイルス第 1 部、感染病理部との協力の下に、病原の検索、同定に協力した。さらに診断方法として、RT-PCR のプライマーの評価など至適条件の決定、ELISA や中和試験など抗体価測定方法を確立した。またウイルスの熱安定性、不活化条件、消毒剤の効果など、実験操作上の安全確保と公衆衛生対策に必要な条件を解明した。これらの情報や検査試薬などを国内外の検査研究機関へ提供し、技術支援を行った。さらに、WHO 西太平洋地域 SARS レファレンス検査機関にも指定され、国内外から送付された多数の臨床検体について、ウイルス分離、同定、遺伝子診断、抗体検査を行った。一方、WHO-SARS 専門家会議など多くの WHO 会議に参画し、自然宿主と感染伝播経路、感染発症機構、ウイルスおよびその取り扱いに関

する安全性評価、感染防御免疫機構、感染・発症予防および治療方法などの研究領域の優先度、ワクチン開発および抗ウイルス剤開発の方向性等について、提言を行った。[小田切孝人、西藤岳彦、板村繁之、二宮愛、今井正樹、斎藤利憲、田口文広、松山州徳、田代真人]

#### 9. SARS に関する緊急研究業務

SARS に対する緊急対応の一環として、感染研内に、ウイルス第 1 部、ウイルス第 2 部、ウイルス第 3 部、感染病理部、獣医科学部、免疫部、遺伝子解析室、実験動物管理室、バイオセフティー管理室より構成される共同研究グループを構成した。緊密な協力体制を構築し、遺伝子塩基配列の系統的解明、各ウイルス遺伝子クローニングと発現、感染細胞・ウイルス抗原の大量作製、各種抗体・モノクローナル抗体作製、抗原エピトープの同定、動物モデル開発などの SARS 研究に必要な材料・情報を作成し共有した。次に、これらを駆使して、自然宿主の検索、感染発症・病理機構の解析、組換えウイルス蛋白を利用した安全な抗体検査系の開発、不活化ワクチン・ウイルス様粒子ワクチンの開発、抗ウイルス剤のスクリーニングと動物モデルでの効果検証、有効な消毒方法の確立、実験室レベルの安全確保などに関する研究を、効率よく推進した。[小田切孝人、板村繁之、西藤岳彦、田代真人; 森川茂\*、西條政幸\*、石井孝司\*\*、鈴木哲朗\*\*、宮村達男\*\*、高須賀直美\*\*\*、藤井英樹\*\*\*、横田恭子\*\*\*、竹森利忠\*\*\*、長谷川秀樹\*\*\*\*、永田典代\*\*\*\*、岩田奈織子\*\*\*\*、佐藤由子\*\*\*\*、原嶋綾子\*\*\*\*、佐多徹太郎\*\*\*\*、網康至\*\*\*\* :\*ウイルス第1部、\*\*ウイルス第2部、\*\*\*免疫部、\*\*\*\*感染病理部、\*\*\*\*\*動物管理室]

#### 10. SARS-CoV のランプ法による迅速遺伝子診断法の確立

重症急性呼吸器症候群 SARS の診断法として、SARS-CoV 遺伝子の検出、感染性ウイルスの分離の他に中和試験や蛍光抗体法等の血清学的診断法がある。この中で SARS 発症初期の診断法としては、迅速性、感度などの点から遺伝子検出法が最も優れている。これまで WHO の提唱したプライマーを用いた逆転写遺伝子増幅法(RT-PCR)による診断が一般的であったが、栄研化学が開発した loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法の有用性について栄研化学の協力のもとに検討した。WHOからのSARSサンプルの blind test では、10コピー以上を検出することが可能であり、世界の SARS レファレンスラボが同時に行った結果と比べて、陽性率、SARS 遺伝子濃度で100%の正解率を示し、極めて特異性及び感度の高い検査法であることが証明された。また、ベトナム

からの SARS 患者検体(血清)を用いて検討した結果、ランプ法は従来の RT-PCR 法と比べ感度が高く、高率に検体中の遺伝子検出が可能であった。また、通常の RT-PCR 法では反応時間が2-3時間必要とするが、ランプ法では約 30 分であり、迅速診断法としては、非常に優れていることが証明された。SARS では発症直後の患者からのウイルス遺伝子の検出率が低いことが問題となっているが、患者検体量を増やしウイルス遺伝子を濃縮することにより、更に感度を上げる方法を開発することが今後も課題である。[納富継宣\*、田口文広、板村繁之、松山州徳、水谷哲也\*\*、源原博子\*\*\*、田代真人:\*栄研化学(協力研究員)、\*\*ウイルス第1部、\*\*\*血液・安全性研究部]

#### 11. SARS-CoV の細胞内侵入に関する研究

SARS-CoV は標的細胞に侵入する際、粒子表面のS蛋白と細胞表面のレセプターとの相互作用により膜融合が惹起されると考えられる。最近、200kD のS蛋白がトリプシンにより解裂して100kDになると膜融合が誘導されること、またS蛋白の解裂活性化はエンドソーム内で起こっている可能性があることが示された。この新しいメカニズムを解析するために、SARS のS蛋白のトリプシンおよび他のプロテアーゼに対する感受性を調べた。その結果、trypsin、thermolysin、等で処理した感染細胞では、1時間以内に強い細胞融合が認められ、200kD のS蛋白は100kDに解裂しており、これは抗体の認識部位から膜貫通S2サブユニットと推定された。Chymotrypsin 等の処理では細胞融合は弱く、S蛋白の200kD及び100kDの両バンドは消失した。collagenaseでは細胞融合は全く起こらずS蛋白の解裂も見られなかった。プロテアーゼ処理後に残存する100kDのS2の存在と膜融合活性の発現が並行することから、S蛋白の活性化には、S蛋白の解裂と、S2が分解されずに残ることが必要であると推測できる。また100kDのS2はこれらのプロテアーゼに耐性であることから、S2の構造変化産物として知られている6-helix bundleである可能性がある。今後、プロテアーゼがS蛋白にどのような構造変化を起こさせ、その変化が脂質二重膜にどう作用するのか、またエンドソームの酸性条件下でも同様の変化が起るのか等を明らかにしたい。[松山州徳、川瀬まゆみ、石井孝司\*、森川茂\*\*、田代真人、田口文広:\*ウイルス第1部、\*\*ウイルス第2部]

#### 12. SARS-CoV Sタンパクの解裂に関する研究

SARS-CoV の細胞内侵入(膜融合)にはS蛋白の解裂が重要であることが示唆されている。SARS-CoVによる膜融合にS蛋白の解裂

がどのように関与しているのかを知る目的で SARS-CoV S 蛋白の宿主プロテアーゼによる解裂予想部位(マウス肝炎ウイルス(MHV)の解裂部位からの類推)に解裂シグナルを導入した変異 S 蛋白を作製し、その細胞融合能について検討した。SARS-CoV S 蛋白中程には2か所の塩基性アミノ酸クラスター[アミノ酸 758-761(1)、793-797(2)]が存在する。各々の部位を MHVS 蛋白の宿主プロテアーゼ依存性の解裂シグナルと類似のアミノ酸配列に置換した変異 SARS-S 遺伝子を作製し(各々 CL1、CL2 と命名)、Vero E6 細胞で発現させた。解裂シグナルを持たない親株 S、CL1 蛋白は細胞融合活性を示さなかったが、CL2 発現細胞では細胞融合が認められた。これらの結果から、SARS-CoV S 蛋白は CL2 部位における特異的な解裂により細胞融合活性を獲得することが推測された。今後、CL1、CL2 蛋白の解裂性を検討すると共に、CL2S 蛋白を持つ pseudotype レトロウイルスを用いて、SARS-CoV の細胞内侵入にエンドゾームの酸性環境が必須か否かについて検討したい。

[前島雅美、福土秀悦\*、松山州徳、川瀬まゆみ、中垣慶子、森川茂\*、田代真人、田口文広:\*ウイルス第1部]

## VI その他の研究

### 1. ワクチンの品質管理に関する検討

牛血清には高率に牛ポリオーマウイルス(BPyV)遺伝子が混入していることが報告されている。我が国においても 50%以上の牛血清に BPyV 遺伝子の混入が確認されている。現在の所 BPyV 遺伝子の検出が感染性ウイルスの存在を意味するかどうか、またヒトへの危険性について不明ではあるが、麻疹、風しん等多くの生ウイルスワクチンはその製造に牛血清を使用しているため、BPyV 遺伝子がワクチン中に混入する可能性がある。そこで、麻疹、風しん、おたふくかぜ生ワクチンから BPyV 遺伝子の検出を行ったところいずれのワクチンからも BPyV 由来遺伝子は確認されなかった。[大槻紀之、伊藤治\*、海野幸子、

加藤宏幸、田代真人:\*農林水産省動物医薬品検査所]

### 2. 痘瘡ワクチンの品質管理に関する検討

LC16m8 (m8) 株は千葉県血清研究所で開発された弱毒痘瘡ワクチン株である。しかし、m8 株には復帰変異が起り、病原性の昂進したリバータントウイルス(RV)が出現することが分かっている。RV の混入は痘瘡ワクチンの安全性に直接関わる問題であることから、

痘瘡ワクチンの安全性を評価するための動物モデルを検討した。ウサギ皮膚反応試験では RV 含有率の異なるウイルス液(0.03%、0.8%、4.0%、40.0%)をウサギの皮内に接種し、発赤の程度(ErD50 値)を比較した。その結果、RV 含有率が 5%を越えると ErD50 値に有意差が出ることを示唆された。SCID マウス感染実験では、RV と m8 株との病原性の差が約 1000 倍有ることが示され、この系によって痘瘡ワクチンの安全性を高感度に評価できる事が示された。[木所 稔、森川茂\*:\*ウイルス第1部]

## 検定、検査、審査

### 検定

インフルエンザワクチン	小分製品	60 件
乾燥弱毒生風しんワクチン	中間段階	2 件
	小分製品	18 件
弱毒生麻疹ワクチン	中間段階	1 件
	小分製品	20 件
γグロブリン製剤の麻疹抗体力価測定		194 件
乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン	中間段階	0 件
	小分製品	8 件

### 試験検査

[ウイルス行政検査]		
インフルエンザウイルスの抗原解析		22 件
風疹ウイルスの遺伝子検出		3 件
麻疹ウイルスの分離、同定		5 件
分離ムンプスウイルスの野外株かワクチン株かの同定		1 件

### [収去検査]

インターフェロン製剤の収去検査		
(製造所)	(IFN 型)	(ロット数)
シュERING	IFN-α 2b	3
武田薬品	IFN-α 2a	1
ロッシュ	IFN-α 2a	3

### インターフェロンの特別審査

(製造所)	(IFN 型)
-------	---------

山之内製薬 IFN- $\alpha$  (コンセンサス)  
 中外製薬 IFN- $\alpha$  (ペグ化製剤)

export protein, directly associates with the viral ribonucleoprotein complex. Archives of Virology 148: 1873-1884 (2003)

## 発表業績一覧

### I 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) McKimm-Breschkin, J., Trivedi, T., Hampson, A., Hay, A., Klimov, A., Tashiro, M., Hayden, F., Zambon, M. : Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to Zanamivir and Oseltamivir. Antimicrobial agents and Chemotherapy 47, 2264-2272 (2003)
- 2) Haazmans, B. L., Kuiken, T., Martina, B. E., Ouchier, R. A. M. F., Rimmelzwaan, G. F., Amerongen, G. V., Rhiel, D. V., Rhiel, T., Itamura, S., Chan, K-H., Tashiro, M., Osterhaus, A.D. M.E. :Pegylated interferon-alpha protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. Nature Med. 10, 1-4 (2004)
- 3) Poon, L.L.M.W., Leunga, C.S., Tashiro, M., Chan, K.H., Wong, B.W.Y., Yuen, K.Y., Guan, Y., Peiris, J.S.M. :Rapid Detection of SARS Coronavirus by Loop-mediated Isothermal Amplification. Clin. Chem. 50, 1050-1052 (2004)
- 4) Nakajima, N., Asahi-Ozaki, Y., Nagata, N., Sato, Y., Dizon, F., Paladin, F.J., Olveda, R.M., Odagiri, T., Tashiro, M and Sata, T.: SARS coronavirus-infected cells in lung detected by new in situ hybridization technique. Jpn. J. Infect. Dis., 56, 139-141 (2003)
- 5) Kawakami, C., Saito, T., Nakaya, Y., Nakajima, S., Munemura, T., Saikusa, M., Noguchi, Y., Fujii, K., Takaoka, M., Ito, R., Saito, T., Odagiri, T. and Tashiro, M.: Isolation of influenza A H1N2 viruses from an outbreak in Yokohama city during the 2001-2002 influenza season in Japan. Jpn J Infect Diseases 56:110-113 (2003)
- 6) Imai, M., Watanabe, S., Odagiri, T. : Influenza B virus NS2, a nuclear export protein, directly associates with the viral ribonucleoprotein complex. Archives of Virology 148: 1873-1884 (2003)
- 7) Watanabe, S., Imai, M., Ohara, Y., Odagiri, T. : The influenza B virus BM2 protein is transported through the *trans* Golgi network as an integral membraneprotein. J Virol. 77: 10630-10637 (2003)
- 8) Obuchi, M., Fernandes, M. and Barber, G. N. : Development of recombinant vesicular stomatitis viruses that exploit defects in host defense to augment specific oncolytic activity. J Virol. 77:8843-8856 (2003)
- 9) Park, C.H., Matsuda, K., Sunden, Y., Ninomiya, A., Takada, A., Ito, H., Kimura, T., Ochiai, K., Kida, H., Umemura, T. :Persistence of viral RNA segments in the central nervous system of mice after recovery from acute influenza A virus infection. Vet. Microbiol. 97:259-268 (2003)
- 10) Tanaka, H., Park, C. H., Ninomiya, A., Ozaki, H., Takada, A., Umemura, T., Kida, H. :Neurotropism of the 1997 Hong Kong H5N1 influenza virus in mice. Vet. Microbiol. 95:1-13 (2003)
- 11) Takada, A., Matsushita, S., Ninomiya, A., Kawaoka, Y., Kida, H. :Intranasal immunization with formalin-inactivated virus vaccine induces a broad spectrum of heterosubtypic immunity against influenza A virus infection in mice. Vaccine 21:3212-3218 (2003)
- 12) Koyama, H. A., Irie, H., Kato, A., Nagai, Y., Adachi, A. : Virus multiplication and induction of apoptosis by Sendai virus: role of the C proteins. Microbes Infect. 5:373-378 (2003)
- 13) Yokota, S., Yokosawa, N., Kubota, T., Okabayashi, T., Arata, S., Fujii, N. : Suppression of thermotolerance in mumps virus-infected cells is caused by lack of HSP27 induction contributed by signal transducer and activator of transcription-1. J Bio. Chem. 278:41654-41660 (2003)
- 14) Yokota, S., Saito, H., Kubota, T., Yokosawa, N., Amano, K., Fujii, N. : Measles virus suppresses interferon- $\alpha$  signaling pathway: suppression of Jak1 phosphorylation and association of viral accessory proteins, C and V, with interferon- $\alpha$  receptor complex. Virology 306:135-146 (2003)
- 15) Tahara, M., Ohsawa, A., Saito, S., Kimura, M. :*In vitro* phosphorylation of initiation factor 2  $\alpha$  (eIF2  $\alpha$ ) from

ウイルス第三部

- hyperthermophilic *Archaeon Pyrococcus horikoshii* OT3. J.Biochemistry 135:479-485 (2004)
- 16) Takeuchi, K., Miyajima, N., Nagata, N., Takeda, M., Tashiro, M. : Wild-type measles virus induces large syncytium formation in primary human small airway epithelial cells by SLAM(CD150)-independent mechanism. Virus Research 94 : 11-16 (2003)
- 17) Takeuchi, K., Kadota, S., Takeda, M., Miyajima, N., Nagata, K. : Measles virus V protein blocks interferon(IFN)- $\alpha/\beta$  but not IFN- $\gamma$  signaling by inhibiting STAT1 and STAT2 phosphorylation. FEBS letter 545 : 177-182 (2003)
- 18) Miura, S. H., Nakagaki, K. and Taguchi, F. : N terminal domain of murine coronavirus receptor CEACAM1 is responsible for fusogenic activation and conformational changes of the spike protein. J. Virol. 78, 216-223 (2004)
1. 和文発表
- 1) 二宮愛、小田切孝人: SARS の診断 臨床医 29:1922-1929 (2003)
- 2) 小田切孝人: 近年のインフルエンザの流行状況。Pharma Medica 21: 23-28 (2003)
- 3) 西藤岳彦: インフルエンザの種間伝播 インフルエンザ 4: 150-154 (2003)
- 4) 西藤岳彦: インフルエンザ・SARS 化学療法の領域 20: 209-215 (2003)
- 5) 小田切孝人、二宮愛、板村繁之、西藤岳彦、宮嶋直子、森川茂、西條政幸、田代真人: SARS 診断法の開発と SARS 検査の結果。インフルエンザ 5:35-24 (2004)
- 6) 小田切孝人: 東アジア諸国で大流行している高病原性トリインフルエンザウイルス。小児科 45:434-439 (2004)
- 7) 小田切孝人: SARS の検出 からだの科学[増刊]9-14 (2004)
- 8) 板村繁之: インフルエンザワクチン。Mebio 20 (11) : 79-83 (2003)
- 9) 板村繁之: 動物インフルエンザウイルスならびに香港 H5N1 ウイルスの近況 Pharma Medica 21 (11) : 55-60 (2003)
- 10) 板村繁之: 重症急性呼吸器症候群(SARS)とインフルエンザ-病原体 臨床と微生物 31:65-71(2004)
- 11) 齋藤義弘、坂田宏子、佐藤威、田代真人: Vero/hSLAM 細胞での麻疹ウイルスの分離 病原微生物検出情報 25 (3): 14-15(2004)
- 12) 岡田晴恵: 麻疹. INFECTIOUS DISEASES REPORT, 7, 2003
- 13) 浜端宏英、知念正雄、安次嶺馨、小濱守安、高良聡子、岡田晴恵、佐藤 威、田代真人: 乳児に対する麻疹ワクチン接種の評価 外来小児科 6(3):220-228(2003)
- 14) 岡田晴恵、田代真人: 重症急性呼吸器症候群(SARS)の流行と対応. 科学 73(7): 723-730(2003)
- 15) 岡田晴恵、山田明: 感染症対策(2) 科学 73(8): 842-846 (2003)
- 16) 岡田晴恵: 増えつつある医療従事者の感染症 労働と健康 29(5): 16-17(2003)
- 17) 岡田晴恵、田代真人: 新型インフルエンザ大流行の脅威と問題点 科学 73(10): 1089-1097 (2003)
- 18) 岡田晴恵: SARS 流行の被害を追う 総合臨床 52(10): 2720-2721 (2003)
- 19) 岡田晴恵、田代真人: インフルエンザワクチン(1) 科学 73(11):1192-1199(2003)
- 20) 岡田晴恵、田代真人: インフルエンザワクチン(2) 科学

73(12): 1280-1287(2003)

- 21) 岡田晴恵、坂東昌子、その他共著:生命のフィロソフィ世界思想社:(2003)11月
- 22) 岡田晴恵、田代真人:感染症とたたかう 岩波新書:(2003)12月
- 23) 田代真人、岡田晴恵:新型インフルエンザ大流行の脅威と対策 最新医学社 59(2): 7-14(2004)
- 24) 岡田晴恵:成人麻疹の増加とその背景 Medical Tribune37(7): 48-49 (2004)
- 25) 岡田晴恵:IgG avidity 検査 臨床と微生物 31(2):(2004)
- 26) 岡田晴恵:麻疹IgG抗体のavidity測定の臨床的意義 病原微生物検出情報 25(3): 15-16(2004)
- 27) 飯田章博、加藤 篤.:センダイウイルスベクター ウイルス 53:171-175 (2003)
- 28) 加藤 篤 :「センダイウイルスベクター 実験医学別冊「遺伝子導入と発現解析プロトコール」羊土社 98-106 (2003) 9月
- 29) 永田恭助、加藤 篤 : RNAウイルス複製機構解明がもたらすもの 蛋白質核酸酵素 48:1333-1338 (2003)
- 30) 加藤 篤 :センダイウイルスアクセサリーC 蛋白質の機能 蛋白質核酸酵素 48:1364-1370 (2003)
- 31) 杉本正信、大石和恵、木所 稔、橋爪 壮 : 国産天然痘ワクチンの新たな役割 蛋白質核酸酵素 48:1693-1701 (2003)
- 32) 竹田誠、宮嶋直子、竹内薫:麻疹ウイルス研究のあらたな展開 医学のあゆみ205 : 285-290 (2003)
- 33) 田口文広:コロナウイルス 臨床医 29(11):1947-1950(2003)
- 34) 田口文広:SARS ウイルスの起源とコロナウイルス 化学療法の領域 20(1): 24-32 (2004)
- 35) 田口文広:SARS コロナウイルスの基礎ウイルス学 インフルエンザ5(1):21-27(2004)
- 36) 田口文広 : SARS コロナウイルス ウイルス 53(12):201-209(2003)
- 37) 松山州徳、多田有希、岡部信彦、田代真人、田口文広:重症急性呼吸器症候群(SARS)材料取り扱いのためのWHOバイオセーフティガイドライン 臨床検査 48 :43-50 (2004)

## II 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Odagiri, T. : Detecting human and novel influenza viruses for vaccine preparation and pandemic preparedness. US-Japan Cooperative Medical Science Program, Acute Respiratory Infections Panel, Yokohama, Japan, January 8-10, 2003.
- 2) Watanabe, S., Imai, M. and Odagiri, T.: The influenza B virus BM2 protein is transported in cytoplasm through the trans-golgi network as an integral membrane protein. 12<sup>th</sup> International Conference on Negative Strand Viruses, Pisa, Italy, June 14-19,2003
- 3) Imai, M., Watanabe, S., Ninomiya, Ai. and Odagiri, T.: Integral membrane protein BM2 of influenza B virus is a necessary component for generation of infectious virus. Options for the Control of Influenza V. Okinawa, Japan, October 7-11, 2003.
- 4) Imai, M., Mizuno, T. and Kawasaki, K. : Numbers of influenza hemagglutinin trimers necessary for membrane fusion: a kinetics examination with single particle analysis of reconstituted vesicles of hemagglutinin. Options for the Control of Influenza V. Okinawa, Japan, October 7-11, 2003.
- 5) Thant, K-Z., Katow, S., Nakajima, S., Kato, H., Umino, Y., Myint, T-T, Moe, K., Thein, S.: Molecular epidemiology of Myanmar rubella virus strain at the beginning of the 21. 6th Asia Pacific Congress of Medical Virology, Kuala Lumpur, Malaysia, December7-10, 2003
- 6) Okada, H., Sato, T., Kashiwagi, R., Naoi, T., Hamano, K.,

### ウイルス第三部

- Yamada, A., Tashiro, M. : Distinctions between primary infection of measles and secondary vaccine failure in adolescents and young adults in Japan. 6th Asia Pacific Congress of Medical Virology, Malaysia, December 7-10, 2003
- 7) Kubota, T., Yokosawa, N., Yokota, S., Tashiro, M., Kato, A., Fujii, N. : Association of mumps virus V protein with RACK1 results in dissociation of STAT1 from the alpha interferon receptor complex. XII International Conference of Negative Strand Viruses, Pisa, Italy, June 14-19, 2003
- 8) Kato, A., Grogan, C.C., Sugahara, F., Sakaguchi, T., Moyer, S.A., Tashiro, M., Nagai, Y. : Identification of the amino acid residues of Sendai virus C protein that are critically required for its interferon antagonism. XII International Conference of Negative Strand Viruses, Pisa, Italy, June 14-19, 2003
- 9) Takeuchi, K., Takeda, M., Miyajima, N., Tashiro, M., Yanagi, Y. and Nagata, K. : Involvement of P/C/V and M genes in regulating cell specificity of measles virus infection, 12th international conference on negative strand viruses, Pisa, Italy, June 14-19, 2003
- 10) Taguchi, F., Matsuyama, S. and Miura-Suzuki, H. : Fusogenic activation and conformational changes of murine corona virus spike protein by soluble receptor. IXth International Symposium on Nidoviruses, Egmond aan Zee, The Netherlands, May 24-29, 2003
- 11) Miura-Suzuki, H. and Taguchi, F. : N terminal domain of murine coronavirus receptor CEACAM1 is responsible for fusogenic activation of spike protein. IXth International Symposium on Nidoviruses, Egmond aan Zee, The Netherlands, May 24-29, 2003
- 12) Taguchi, F. : Entry mechanism of murine coronavirus. Minophagen symposium on "The present and future of the SARS research". Tokyo, Japan, Dec. 8, 2003
- 13) Taguchi, F., Matsuyama, S. : Cell entry mechanism of murine coronavirus: Fusogenic activation and conformational changes of the spike protein by soluble receptor. Second Japan-China symposium on infectious diseases, Hong Kong, China, February 18, 2004
- ## 2. 国内学会
- 1) 小田切孝人、西藤岳彦、斉藤利憲、板村繁之、今井正樹、二宮愛、山下和予、岡部信彦、田代真人: 2002/2003 シーズンのインフルエンザウイルス流行株について、第24回衛生微生物技術協議会研究会 福岡、2003年7月
  - 2) 小田切孝人: SARSの実験室診断、第24回衛生微生物技術協議会 福岡、2003年7月
  - 3) 小田切孝人: SARSのウイルス学的診断とワクチン開発の展望 第7回日本ワクチン学会 名古屋、2003年10月
  - 4) 今井正樹、渡辺真治、二宮愛、小田切孝人: リバーシジェネティクス法によるB型インフルエンザウイルス BM2変異株の作製とBM2蛋白質の機能解析、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
  - 5) 森川茂、板村繁之、西藤岳彦、西條政幸、小田切孝人、倉根一郎、田代真人: 重症急性呼吸器症候群 (SARS)の血清診断、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
  - 6) 板村繁之、二宮愛、西藤岳彦、森川茂、西條政幸、小田切孝人、倉根一郎、田代真人: RT-PCR 法による重症急性呼吸器症候群 (SARS)コロナウイルスの検出感度の検定、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
  - 7) 小田切孝人、西藤岳彦、板村繁之、今井正樹、二宮愛、田代真人: 2002/2003 シーズンのインフルエンザ流行株の解析と次シーズンのワクチン株、第51回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、2003年10月
  - 8) 中島典子、尾崎康子、永田典代、佐藤由子、樋口好美、小田切孝人、田代真人、佐多徹太郎: ホルマリン固定パラフィン法米剖検肺組織標本におけるSARS コロナウイルス感染細胞の同定、第51回日本ウイルス学会学術集会・総会、京都、

ウイルス第三部

2003年10月

東京、2004年2月

- 9) 今井正樹、水野敬文、川崎一則:インフルエンザウイルス膜融合の最小ユニット:必要なヘマグルチニン分子数について III、第41回日本生物物理学会年会、新潟、2003年9月
- 10) 今井正樹:B型インフルエンザウイルスBM2蛋白の性状と機能、RNAウイルス研究の新展開 III、鈴鹿、2004年3月
- 11) 海野幸子、加藤宏幸、田代真人、中島節子:風疹ワクチン株と現在流行している野生株の遺伝子配列及び抗原性の比較、第51回日本ウイルス学会学術集会、京都、2003年10月
- 12) 大槻紀之、田口邦史、千田恵、伊藤治:組織培養用牛由来血清からのウシポリオーマウイルス遺伝子断片の検出、第136回日本獣医学会学術集会、青森、2003年10月
- 13) 能田健、大槻紀之、永井英貴、PKRクマール、関谷聡、西川諭:リアルタイムPCRによるRNAアプタマー定量法の検討、第136回日本獣医学会学術集会、青森、2003年10月
- 14) Hussam Alhaji Ali、沢田拓士、畠山仁、片山芳也、大槻紀之、伊藤治:Invasion of chicken embryo fibroblast cell monolayer by Pasteurella multocida、第136回日本獣医学会学術集会、青森、2003年10月
- 15) 海野幸子、堀内善孝、加藤宏幸、大槻紀之:風疹抗体測定法のための国内標準品の作製、第3回抗体測定法研究会 東京、2004年2月
- 16) 齋藤義弘、坂田宏子、田代真人:SLAM/Vero細胞を用いた麻疹中和抗体価の測定、第44回日本臨床ウイルス学会、鹿児島、2003年6月
- 17) 齋藤義弘、坂田宏子、田代真人:過去20年間における筋注用 $\gamma$ グロブリン製剤中の麻疹ウイルス抗体価の推移、第44回日本臨床ウイルス学会、鹿児島、2003年6月、
- 18) 齋藤義弘、堀内善信、田代真人:HI法、EIA法、NT法に対する抗麻疹標準血清作製の試み、第4回抗体測定法研究会、
- 19) 岡田晴恵、秋元未来、佐藤威、田代真人、高山直秀、武内可尚:成人麻疹の病態解析(初感染患者とSVF例の血清学的鑑別および免疫病態・臨床症状の比較)、第44回日本臨床ウイルス学会、鹿児島、2003年6月
- 20) 秋元未来、岡田晴恵、齋藤義弘、田代真人:若年成人(大学生)における麻疹のキャンパス内流行の調査について、第44回日本臨床ウイルス学会、鹿児島、2003年6月
- 21) 加藤 篤:ウイルス感染とインターフェロン・サイトカインシステムからの回避、第68回日本インターフェロン・サイトカイン学会、東京、2003年7月
- 22) 飯田章博、井上 誠、喜納宏昭、徳炭由美子、北里海雄、朱垂峰、加藤 篤、永井美之、長谷川護:細胞質遺伝子治療の確立へ:リバースジェネティクスを活用した遺伝子治療用センダイウイルスベクターの開発、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
- 23) 井上 誠、金谷 匠、徳炭由美子、秋葉栄治、加藤 篤、坂口剛正、永井美之、飯田章博、長谷川護:センダイウイルスM蛋白質の微小管経路による細胞質内輸送:F、HN、C蛋白質との複合体形成とRNPとは別ルートでの輸送、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
- 24) 加藤 篤、久保田 耐、小長谷昌功、田代真人、永井美之:センダイウイルスC蛋白質の抗インターフェロン効果とRNA合成抑制能、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
- 25) 齋藤早久良、荻野利夫、宮嶋直子、加藤 篤、小長谷昌功:センダイウイルスCタンパク発現HeLa細胞におけるインターフェロン抵抗性の機構-その2-、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月
- 26) 木所 稔、田代真人、堀内 清、志田壽利:痘瘡ワクチン株LC16m8由来リバータントウイルスの生物学的性状の解析、



### ウイルス第三部

第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

27) 栗原由紀子、砺波一夫、尾関英徳、福原茂朋、油谷浩幸、加藤 篤、栗原裕基: 頭部/心臓神経堤細胞の発生分化における Endothelin-1 の役割、第26回日本分子生物学会年会、神戸、2003年12月

28) 加藤 篤、小長谷昌功、久保田 耐、田代真人、永井美之: 宿主自然免疫に対抗するセンダイウイルスC蛋白質、第26回日本分子生物学会年会、神戸、2003年12月

29) 砺波一夫、栗原由紀子、油谷浩幸、加藤 篤、栗原裕基: 鰓弓形成に関与する Endothelin-1 の下流遺伝子の同定: DNA マイクロアレイを用いた検討、第26回日本分子生物学会年会、神戸、2003年12月

30) 横沢紀子、横田伸一、岡林環樹、久保田耐、藤井暢弘: ムンプスウイルスVタンパク質によるSTAT1 およびSTAT3のユビキチン化機構の解析、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

31) 小長谷昌功、斎藤早久良、荻野利夫、宮嶋直子、加藤篤: SeV C発現細胞における2本鎖RNA 誘導性細胞死の抑制と影響因子、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

32) 門田伸一、宮嶋直子、竹田誠、竹内薫、永田恭介: 麻疹ウイルスV蛋白質による抗IFN活性の分子機構の解析、第68回日本インターフェロン・サイトカイン学会、東京、2003年7月

33) 門田伸一、宮嶋直子、竹田誠、竹内薫、永田恭介: 麻疹ウイルスV蛋白質によるI型IFN情報伝達経路の阻害機構の解析、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

34) 竹内薫、宮嶋直子、竹田誠、田代真人、永田典代、柳雄介、永田恭介: CD46, SLAM(CD150)を経由しない麻疹ウイルスの感染機構、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

35) 竹内薫、門田伸一、宮嶋直子、竹田誠、永田恭介: 麻疹ウイルスの細胞指向性を規定するウイルス側因子と細胞側因子、

科学研究費(C)企画シンポジウム「RNAウイルス研究の新展開Ⅲ」鈴鹿、2004年3月

36) 中垣慶子、中垣和英、田口文広: マウス肝炎ウイルス神経病原性的大脑培養細胞を用いた解析: 第一標的細胞と受容体発現細胞、第7回日本神経ウイルス研究会、帯広、2003年9月

37) 中垣慶子、中垣和英、田口文広: マウス肝炎ウイルス神経病原性的大脑由来の培養細胞を用いた解析: 第一標的細胞と受容体発現細胞、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

38) 三浦秀佳、中垣慶子、田口文広: マウスコロナウイルス受容体の活性中心に関する研究、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

39) 田口文広: マウスコロナウイルスと受容体の相互認識機構、第15回獣医免疫研究会、東京、2003年8月

40) 田口文広: SARS(重症急性呼吸器症候群)の対策—動物感染症の研究の経験から、第136回日本獣医学会、青森、2003年10月

41) 田口文広: コロナウイルス、第41回日本細菌学会中部支部総会、新潟、2003年10月

42) 田口文広: ウイルス学的に見た SARS ウイルス、第51回日本ウイルス学会総会、京都、2003年10月

43) 田口文広: SARS ウイルスの正体—診断法はどこまで進化したか、第8回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム、東京、2004年3月