

## 1. ウイルス第一部

### 部長 倉根 一郎

#### 概要

当部において、本年度の人事異動は、平成 18 年 4 月 1 日付で福士秀悦第一室研究員が主任研究官に昇任した。平成 19 年 3 月 31 日付で根路銘令子主任研究官が退官した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、SARS コロナウイルス、ボックスウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、狂犬病ウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、エプスタイン・パールウイルス (EBV)、リケッチア、クラミジア等の病原体の研究、血清及び分子疫学、感染症発症機序の解析と診断、治療、予防方法の研究を行った。それぞれの研究成果は論文及び国内外の学会等で発表された。

第一室においては、SARS の実験室診断法の開発と改良、SARS コロナウイルスの感染機序に関する研究を行った。痘そうワクチンの有効性をサル痘をモデルとして示すとともに、痘そうワクチンの品質管理に関する研究を推進させた。また、リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに関する研究を進めるとともに、新興・再興ウイルスに対する網羅的検出方法を開発し、本法が有力な検査法である確認を行った。

第二室においては、日本各地のブタ血清から日本脳炎ウイルスの分離を行い、遺伝子及び病原性解析を行った。また、デングウイルスに対する新たな血清遺伝子検査法を確立し、輸入患者の病原体検査を一層充実させた。また、デングウイルス感染の病態解明にむけて研究を進展させた。また、チクングニヤに対する検査法の確立を行い本邦初の感染例を確定した。

第三室においてはタイ国の狂犬病ウイルス株について遺伝子解析を行った。また、狂犬病ウイルスの弱毒化に関する因子、狂犬病ウイルス感染時の脳内免疫応答、特にサイトカイン、ミクログリアに関する解析を行った。さらに、進行性多巣性白質脳症診断のための JC ウイルス検査系を確立した。

第四室においては、水痘ワクチンの品質管理法の検討、新規抗水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) 薬の検索と評価法の確立を行った。また、サイトメガロウイルス (CMV)

による先天性感染の迅速スクリーニング法の確立・パイロット調査などを行った。さらに、モルモット CMV を用いて母児感染様式を解析した。EBV に関しては潜伏感染の機序に関する研究を進展させた。

第五室においては、リケッチア感染症検査法の検証と国内における実態調査を行った。また、ダニからのリケッチア検出を行った。Q 熱スクリーニングのための血清診断法を検討した。クラミジアに関しては、動物由来クラミジア感染症の遺伝子・病原体検査法を確立し調査に応用した。さらに分離されたクラミジア株について分子生物学的解析を行った。また、肺炎クラミジア感染症に対する血清診断法も検討した。

以上の研究活動に対して、厚生労働省、H S 財団、文部科学省、環境省等から研究費の援助を受けた。痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、黄熱ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチンについて国家検定及び依頼検査を行った。また、各ウイルス及び患者材料に関する行政検査、依頼検査を行った。さらに各病原体に関するレファレンス活動、国際協力活動を行った。各室において多数の協力研究員、研究生、実習生を受け入れた。

#### 業績

##### 調査・研究

###### ・ SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

###### 1. SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

(1) SARS-CoV と *Mycoplasma fermentans* の共感染が細胞に及ぼす影響

SARS-CoV と他の病原微生物の共感染による病態の変化については報告がないので、*Mycoplasma fermentans* が感染している細胞に SARS-CoV が感染したときの変化を検討した。Vero E6 細胞に SARS-CoV を感染させると 48 時間後にはほとんどの細胞はアポトーシスを起こして死滅するが、一部の細胞が生き残ってウイルスを産生しながら増殖する。しかし、*M. fermentans* の感染後に SARS-CoV を感染させると、全ての細胞が死滅した。我々は SARS-CoV 感染における JNK や Akt のシグナル伝達系の活性化が持続感染の成立には重要であることを報告してきた。SARS-CoV の Nucleocapsid 蛋白質を発現した

細胞では JNK と Akt がリン酸化されることが明らかとなった。*M. fermentans* による Toll like receptor の活性化はこの現象には関係していないことが示唆された。また、*M. fermentans* 感染細胞と非感染細胞で発現している細胞性 mRNA に大きな変化はなかった。*M. fermentans* は細胞の増殖を抑制し、かつ、細胞のアポトーシスに対する感受性を高めていた。一方、SARS-CoV 感染後に生き残った細胞では、抗アポトーシスシグナルの Akt と細胞死を促進すると考えられる p38 MAPK のリン酸化が同時に起こっており、微妙なバランスを保ちながら細胞が生存していることが明らかとなった。以上の結果から、SARS-CoV 持続感染細胞ではアポトーシスに対して感受性が高くなっているため、*M. fermentans* の共感染によって容易に細胞死が誘導されることが示唆された。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、酒井宏治、倉根一郎、森川 茂、佐々木裕子・見理剛(細菌第2部)、石井孝司(ウイルス第2部)、座本 綾(動物管理室)、遠藤大二(酪農学園大学獣医学部)]

(2) VSV シュードタイプを用いた SARS-CoV に対する中和抗体測定法の改良

安全、且つ迅速な SARS-CoV 感染の血清診断法の開発を目的として、SARS-CoV の外被蛋白質(S)を被った組換え水泡性口内炎ウイルス(VSV)シュードタイプを作製した。従来の VSV シュードタイプは、GFP 遺伝子が組み込まれていた。このシュードタイプによる中和抗体測定方法は検体数が少なく迅速に判定する場合に優れた手法であった。しかし、感染を定量的に判定するためには、1 ウェルごとの細胞の写真撮影と解析ソフトによる GFP 陽性細胞数のカウントが必要であることから、多くの検体を同時に処理するという点においては、必ずしも優れた手法とは言えないのが現状であった。本研究では、これを多検体同時処理可能なものにするため、GFP を SEAP に置き換えた VSV/SEAP-SARS-St19 を作製した。このシュードタイプの感染性はマイクロプレートルミノメーターで 96 ウェルプレートと同時に解析可能であった。VSV/SEAP-SARS-St19 の感染は SARS-CoV-S タンパク質特異的であり、健常人血清による非特異的中和活性も低かったことから、VSV/SEAP-SARS-St19 は SARS-CoV 感染の中和試験のハイスループット化に有用であると考えられた。[福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川 茂]

(3) ラット ACE2 発現細胞で継代した SARS-CoV の変異の解析

ラットに馴化した SARS-CoV を分離し、馴化に関与する遺伝子変異について解析するため、ラット型レセプター(ラット ACE2)発現 CHO 細胞を用いたウイルスの継代培養を行い、分離されたウイルスの性状解析を行った。ラット ACE2 を発現する CHO 細胞で 15 代継代培養したウイルス(RatP15)は、ラット ACE2 発現 CHO 細胞では、親株である Frankfurt-1 に比べ 100 倍以上高い増殖効率を示した。一方、mutant ラット ACE2 発現細胞では、RatP15 と Frankfurt-1 は同程度に増殖した。このことから、RatP15 はラット ACE2 発現細胞に馴化したと考えられた。RatP15 には、S1 ドメインの RBD には変異がなく、S2 ドメインに 2 カ所アミノ変異が認められた。そのうち 1 カ所は Heptad repeat ドメインに位置していた。また、SARS-CoV S 蛋白質を被った VSV シュードタイプを用いた解析では、これらの変異 S 蛋白質を被ったシュードタイプは ratACE2 発現細胞に高い感染性を示した。このウイルスは S2 ドメインにアミノ酸変異を持つことから、SARS-CoV の他動物種への馴化には、RBD の変異のみならず、S2 ドメインの変異による S 蛋白質全体の構造変化なども関与すると考えられた。[福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川 茂]

### ・ボックスウイルスに関する研究

#### 1. サル痘ウイルスに関する研究

(1) サル痘ウイルスの迅速診断のための定量的 real time PCR 法の開発と評価

ヒトにおけるサル痘ウイルス感染症はヒトサル痘と呼ばれ、アフリカ中央部から西部にかけて流行し、重要な再興ウイルス感染症のひとつである。中央アフリカに分布するサル痘ウイルスコンゴ盆地型は、西アフリカに分布するサル痘ウイルス西アフリカ型よりも病原性が高い。サル痘ウイルス遺伝子の中の ATI 遺伝子には、コンゴ盆地型と西アフリカ型にそれぞれ特異的な塩基配列が認められる。また、痘瘡ウイルスを含む他のオルソボックスウイルスに認められない塩基配列も認められる。これらの特徴に基づいて、サル痘ウイルス遺伝子を、特異的に、かつ、コンゴ盆地型サル痘ウイルスと西アフリカ型サル痘ウイルスを区別して増幅させ、高感度に検出する定量的 real-time LightCycler PCR 法 (qLC-PCR) を開発した。カニクイザルに 2 種類のサル痘ウイルスをそれぞれ感染させ、経時的に採取された末梢血液や咽頭スワブからのウイルス分離検査と比較して、本 qLC-PCR は感度および精度ともに 90% を超え、サル痘ウイルス感染症の診断に有用であることが明らかにされた。[西條政幸、森川 茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根

一郎、網康至・須崎百合子（動物管理室）、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理病理部）]

## 2. 痘そうワクチンに関する研究

（1）高度弱毒痘そうワクチン LC16m8 が治療的ワクチンとして使用される場合の霊長類におけるサル痘発症予防効果

近年、痘そうウイルスがバイオテロ病原体として用いられる危険性が指摘され、我が国では高度弱毒痘そうワクチン LC16m8 の再生産と備蓄対策がなされている。このワクチンを治療的に用いる場合、つまり、感染後早期にワクチン投与する場合の効果、霊長類におけるサル痘発症モデルを用いて解析した。その結果、ワクチン非接種カニクイザル（非接種群、3 頭）にサル痘ウイルスを感染させた場合に全て死亡したのに対し、サル痘ウイルスを同様に 3 頭のカニクイザル（m8 治療群）に感染させ、続いて LC16m8 接種を施行した場合には、1 頭は死亡し 2 頭が生存した。最大ウイルス血症レベルも、非接種群では平均  $10^8$  コピー/ml に達したのに対し、m8 治療群の生存例では  $10^7$  コピー/ml 未満であった。サル痘ウイルス接種部位に出現した潰瘍性病変も、m8 治療群では非接種群に比べて有意に小さく、また、治癒傾向が早期に認められた。このように、カニクイザルがサル痘ウイルスに感染した場合に、暴露後早期に LC16m8 を接種することによりサル痘の症状を軽減することが可能であることが明らかにされた。万が一バイオテロリズムにより天然痘が流行し、かつ、痘瘡ウイルスに暴露されたと考えられる場合には、痘瘡ウイルス暴露後早期に LC16m8 を接種することにより天然痘の発症の予防または症状の軽減を期待できると考えられる。[西條政幸、森川 茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、網康至・須崎百合子（動物管理室）、長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子（感染病理病理部）]

（2）痘瘡ウイルスと他のオルソボックスウイルス鑑別と大痘瘡・小痘瘡ウイルスを鑑別する Light Cycluser PCR 法の開発と評価

近年、天然痘（痘瘡）ウイルスによるバイオテロリズムの危険性が指摘されている。また、アフリカ大陸に限局していたサル痘が、2003 年に米国で流行したことから、天然痘やサル痘の迅速診断の必要性が高まっている。天然痘やサル痘ウイルスは、他のオルソボックスウイルスと抗原的には識別できず、既種痘者の場合、抗ワクチニア抗体があるため血清診断は難しい。このため、診断はウイルス種の同定が必要になる。これまでに、サル痘ウ

イルス特異的 Light Cycluser (LC)-PCR を開発し、サル痘ウイルス感染サル検体を用いて評価したが、今年度は、天然痘の原因ウイルス（痘瘡ウイルス）と他のオルソボックスウイルスとの鑑別 LC-PCR 及び、強毒な大痘瘡ウイルスとやや弱毒な小痘瘡ウイルスの鑑別 LC-PCR を開発した。これらの痘瘡ウイルス以外のボックスウイルスとの反応性については予め評価した上で、米国 CDC において痘瘡ウイルス DNA の検出感度を検討した。その結果、1) オルソボックスウイルス共通 LC-PCR は、痘瘡ウイルスを含めて高感度に検出できた。2) 痘瘡ウイルス特異的 LC-PCR は、他のボックスウイルスと交差せず特異的かつ高感度に痘瘡ウイルスを検出できた。3) 大痘瘡・小痘瘡鑑別 LC-PCR は、高感度かつ特異的に両者を鑑別できた。[森川 茂、福士秀悦、緒方もも子、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎]

## ・ウイルス性出血熱に関する研究

### 1. リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに関する研究

（1）日本人のリンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに対する抗体保有率

リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルス（Lymphocytic choriomeningitis virus, LCM ウイルス）は、旧世界アレンウイルスに分類されるウイルスであり、マウスやハムスターに感染しているウイルスである。ヒトが LCM ウイルスに感染すると、髄膜炎や網膜炎を引き起こすことが知られている。さらに、妊婦が感染すると胎児感染を引き起こし、先天性 LCM ウイルス感染症を発症させる例が報告されている。本研究では、LCM ウイルスの組換え核蛋白を抗原とした IgG-ELISA を用いて、日本人 960 人の血清中の抗 LCM ウイルス抗体保有率を検討した。IgG-ELISA 陽性（400 倍稀釈検体の OD 値が 0.200 以上）を呈した検体は 12 検体（1.3%）であった。さらに、これらの検体について LCM ウイルス感染細胞を抗原とした間接蛍光抗体法や中和抗体法で抗 LCM ウイルス抗体の有無を検討したところ、全て陰性を呈した。本研究から、日本人の多くは LCM ウイルスに感染していないと予想される。[西條政幸、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂]

（2）リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルス（LCMV）に汚染したマウス系統の調査

理研がパスツール研から導入した、野生由来近交系マウス *Mus musculus musculus*, MAI/Pas (MAI) 系統が LCMV 感染している可能性が示唆され、本系統マウスの抗体、ウイルス検出を行なった結果、ウイルス垂直感染

マウスでは抗体陰性が多く、陽性例でも抗体価が低かった。LCMV 検出 RT-PCR は文献的に報告されている多くの primer sets では検出できないか検出感度が低かった。ウイルス分離は 15 匹の腎臓から 2 例分離できた。分離ウイルス M1, M2 株の S-RNA 遺伝子配列を決定し、本ウイルス株特異的 RT-PCR を用いて再検討した結果、本系統のマウスは 100%持続感染していることが明らかになった。また、本 LCMV 株は、これまで遺伝子配列の解析されている他の LCMV 株とは最も分子系統学的に離れていた。[森川 茂、酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、滝本一広・山田靖子(動物管理室)、池郁男(理研 BRC)]

(3) リンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルス (LCMV) の組換え N 蛋白を用いた抗体検出系の開発

LCMV や近縁な Lassa ウイルス等のアレナウイルスの N 蛋白に対する抗体は感染すると最も早期に、また高力価に上昇するため、抗体検出抗原として適している。組換えバキュロウイルスによりこれらの N 蛋白は多量に発現できるが、可溶化には 8M 以上の濃度の urea が必要である。これらの抗原は、2,000 倍程度に希釈して低濃度にするにより可溶化でき ELISA 用抗原として用いられる。しかし、より高感度にするため、あるいは蛋白アレイのようなより迅速、高感度な系を構築するためには、高濃度な可溶化蛋白が必要である。そこで、LCMV の組換え N 蛋白の可溶化と抗原性に関して検討した。至適 buffer 条件下で不溶性 N 蛋白を 2,000 気圧の超高压処理を 18 時間行なった結果、超高压処理による蛋白質のリフォールディングにより 80%の N 蛋白が可溶化できた。この可溶化蛋白と 8M urea で可溶化した N 蛋白の抗原性を ELISA で比較した結果、抗原性に相違は認められなかったが、前者では、高濃度でも可溶化しているため ELISA による抗体検出感度が高かった。また、迅速・高感度な蛋白アレイに応用できることも明らかとなった。本技術を用いることにより、ラッサウイルスや南米出血熱ウイルスの抗体検出系の改良、高感度化が可能であると思われる。[森川 茂、酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、滝本一広・山田靖子(動物管理室)、池 郁男(理研 BRC)]

### ・ウイルス新規検査法に関する研究

1. 新興・再興ウイルスの網羅的検出方法 (Rapid Determination of Viral RNA Sequence; RDV 法) の開発と応用に関する研究

(1) 新興・再興ウイルスの網羅的検出方法 (RDV 法) の開発

RNA ウイルス感染細胞からウイルス核酸を検出する新しい方法として、「リボゾーマル RNA に結合しにくいプライマーセット」を用いた逆転写反応後にサブトラクションを行なう方法を発表した。この方法は、細胞の RNA が含まれていても RNA ウイルスの核酸を特異的に増幅できるという点で優れているが、遺伝子産物をクローニングしなければならない点と、1 週間の日数を要するという欠点があった。そこで、既存の全ゲノム均等増幅の技術と独自に開発したダイレクトシーケンスの方法を組み合わせることにより、迅速な RNA ウイルス検出方法を開発した。この技術 (Rapid Determination of Viral RNA Sequence; RDV 法) は、

1. 動物や人の血清・培養上清から DNA を排除したウイルスのゲノム RNA を抽出し、
2. 逆転写酵素と RNase H を用いて効率よく 2 本鎖の cDNA を作成する。
3. 全ゲノム均等増幅法によりウイルスゲノムの 1 次ライブラリーを作成する。
4. 更に、Hae III 切断とリンカーライゲーション後に、2 次ライブラリーを作成し、
5. 特殊な技術を用いたダイレクトシーケンス法によりウイルスゲノムの塩基配列を決定、

できる。RDV 法は網羅的に RNA ウイルスのゲノムの cDNA を増幅するので、あらゆる RNA ウイルスを検出でき。また、この操作は 2 日以内で完了するので、新興・再興ウイルス感染症発生時などの緊急時に有用であると考えられる。更に、ダイレクトシーケンス法の採用により、組換え DNA 申請を行なわなくてもウイルスゲノムの塩基配列を知ることが可能になった。[水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、酒井宏治、倉根一郎、森川 茂、根路銘令子、伊藤美佳子、林 昌宏、高崎智彦、石井孝司・鈴木哲朗・有田峰太郎・清水博之(ウイルス第 2 部)、白戸憲也(ウイルス第 3 部)、遠藤大二(酪農学園大学)、岡本道子・西村秀一(仙台医療センター)]

(2) RDV 法の蚊媒介ウイルスへの応用

Rapid Determination of Viral RNA Sequence (RDV 法) は、既存の全ゲノム均等増幅の技術と独自に開発したダイレクトシーケンスの方法を組み合わせることにより、迅速な RNA ウイルス検出方法を可能にした。RDV 法を用いて蚊が媒介するウイルスを検出できるか検討した。タイのデングウイルス感染患者の室内で捕捉された蚊をすりつぶし、C6/36 細胞に添加した後、培養上清が

ら RNA を抽出して RDV 法をおこなった。RDV 法で得られたアンプリコンをダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定したところ、デングウイルス（4 型）と Cell free agent virus の部分配列が得られた。蚊のすりつぶし液から RNA を抽出してこれらのウイルスに対する RT-PCR をおこない、蚊にこれらのウイルスが感染していることを確認した。RDV 法は網羅的に RNA ウイルスのゲノムの cDNA を増幅するので、あらゆる RNA ウイルスを検出でき、この操作は 2 日以内で完了する。本研究で、デングウイルスや西ナイルウイルスなどの人獣共通感染症の原因ウイルスを媒介する蚊のすりつぶし液を培養細胞へ感染させた培養上清を用いて、RDV 法による非特異的な増幅でデングウイルスなどを検出できた。[水谷哲也、酒井宏治、高崎智彦、小滝 徹、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川 茂、遠藤大二（酪農学園大学）、木原悠希・佐藤朝光（福岡大学）、江下優樹（大分大学）]

### （3）RDV 法によるキクガシラコウモリ由来新規ヘルペスウイルスの分離・同定

SARS コロナウイルスの自然宿主として考えられているキクガシラコウモリより培養細胞の樹立を試み、その過程で新規ヘルペスウイルスの分離に成功した。キクガシラコウモリ（英名 Horseshoe bat: *Rhinolophus ferrumequinum*）を都道府県知事の許可を得て捕獲し、脾臓由来の初代培養細胞の継代 3 代目から CPE が出現した。RDV 法により新規ヘルペスウイルス（BV1）の分離に成功した。このウイルスは FASTA 解析を行った結果、既知のウイルスではウマヘルペスウイルス 2 型と最も相溶性が高いことが示唆された。さらにヘルペスウイルス共通のプライマーセットを用いて PCR ならびに増幅断片の塩基配列を決定した結果、ヘルペスウイルス科、ガンマヘルペスウイルス亜科、ラディノウイルスに属することが示された。本研究はコウモリ由来ヘルペスウイルス分離の最初の報告である。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川 茂、前田健・本道栄一・寺川純平・木曾康郎（山口大学）、遠藤大二（酪農学園大学・獣医放射線）、安本茂（神奈川県立がんセンター）]

### （4）RDV 法によるオオコウモリ由来新規アデノウイルスの分離と同定

翼手目大翼手亜目クビワコウモリの一様であるヤエヤマオオコウモリ（英名 Ryukyu flying fox: *Pteropus dasymallus yayeyamae*）を山口県知事の許可の下捕獲

し、脾臓由来初代培養細胞の継代 4 代目より CPE が出現、RDV 法によりウイルス（FBV1）分離に成功した。このウイルスはデータベースとの遺伝子相溶性解析により、イヌアデノウイルスやウシアデノウイルスに近縁であることが示された。アデノウイルスであることを確認するため、DNA ポリメラーゼ領域のアデノウイルス共通プライマーを用いた PCR にて特異バンドを確認した。この増幅断片の塩基配列を決定し、系統樹を作成した結果、Mastadenovirus 属に属することが示された。ウイルスゲノムを制限酵素切断パターンにより解析した結果、約 30kbp であることが推測された。BALB/c マウスの腹腔内にウイルス接種をした結果、外見上は変化を認めなかった。コウモリ由来アデノウイルスはこれまで一切報告が無く、本報告が初めてである。健常コウモリの脾臓より分離されたことから、持続感染したウイルスであると予測された。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、前田健・本道栄一・寺川純平・木曾康郎（山口大学）、遠藤大二（酪農学園大学・獣医放射線）]

### （5）RDV 法を用いたトリ由来ウイルスの同定

RDV 法の検出感度の向上を改良し、発育鶏卵で分離した鳥由来ウイルスの遺伝子の検出・同定を試みた。改良 RDV 法では whole transcriptome amplification system を用いて逆転写反応と増幅反応をひとつのチューブで行なうことにより、簡便性と感度が上昇した。野生鴨の新鮮糞便を発育鶏卵に摂取し、HA 反応は陽性であるが PCR によるインフルエンザウイルスが陰性の検体を得られた。改良 RDV 法により、効率よくトリパラミクソウイルス（APMV）の N, F, L 遺伝子断片を検出することができた。遺伝子配列既知の APMV-6/duck/Taiwan/Y1/98 の L 遺伝子特異的プライマーにより検体から RT-PCR 増幅産物が得られ、その塩基配列は APMV-6 と高い相溶性（98.6%）を示した。本法は感染細胞の培養上清や血清のみならず発育鶏卵で増殖させたウイルスについても適用可能であり、鳥由来ウイルスの同定に有用であると考えられた。[酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、遠藤大二（酪農学園大学）、岡村雅史・中村政幸・竹原一明（北里大学）]

### （6）RDV 法を用いたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の同定

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）は、遺伝子配列の同義置換が多いために全てのウイルス株を網羅で

きる RT-PCR 用プライマーの設定が困難である。そこで、ウイルス核酸を非特異的に増幅できる RDV 法を LCMV の検出に適用した。LCMV Armstrong 株及び M1 株をそれぞれ感染した HeLa 細胞の培養上清を検体とした。感染細胞の培養上清から効率良く LCMV Armstrong 株、M1 株の S 遺伝子断片をそれぞれ効率良く検出することができた。理研 BRC で導入マウス系統が LCMV に汚染していた事例では、これまで報告されていた LCMV 検出プライマーの内いくつかのプライマーを用いた RT-PCR で遺伝子が検出されたが、最終的には分離ウイルス (M1, M2 株) の S-RNA の全遺伝子配列を決定後に作製した分離株特異的なプライマーで再検討した結果、同一系統のマウスの 100% がウイルスに感染していることが初めて明らかになった。このように、同義置換が非常に多い LCMV のようなウイルスの場合は、既知のウイルス遺伝子配列情報から作製されたプライマーでは検出感度が低い、あるいは検出されないウイルス株がある。本研究では、LCMV のように同義置換の高頻度なウイルスの遺伝子検出・同定法として、特異的 primers を必要としない RDV 法が有用であることを示した。[酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂、池 郁男 (理研 BRC)、遠藤大二 (酪農学園大学)]

## ・フラビウイルスに関する研究

### 1. 日本脳炎ウイルスに関する研究

(1) 日本脳炎ウイルス genotype 1 完全長 cDNA クローンの作製とウイルス産生系の確立

日本で主にブタから分離される日本脳炎ウイルスの genotype は、1990 年代初頭に境に 3 型から 1 型へ変化した。一方 genotype の変化と時期を同じくして、日本脳炎患者数が 1990 年代初頭に顕著に減少した。このことから 1 型と 3 型との間で増殖性・病原性に差がある可能性が指摘されているが、それを実証する実験的データは得られていない。我々は日本脳炎ウイルス 1 型の増殖性および病原性について詳細な解析を進めるため、組換え日本脳炎ウイルス 1 型のウイルス産生系の確立を試みた。鋳型となるウイルスは、当部で日本脳炎ウイルス感染ブタ血清より分離し、前年度に全塩基配列を決定した Sw/Mie/41/2002 株を使用した。これまでに完全長 cDNA クローンを作成し、本クローンに由来するウイルス粒子を回収することにも成功した。今後本クローンをを用いて変異体を作成し、病原性解析等を行なう予定である。[田島 茂、貫井陽子、根路銘令子、高崎智彦、倉根一郎]

(2) 本邦における日本脳炎ウイルス抗原変異並びに地域差に関する調査研究

ブタ血清からのウイルス分離

2006 年には、三重県から送付されたブタ血清より 1 株の日本脳炎ウイルスが分離された (JEV/Sw/Mie/51/2006)。このウイルスを用いたブランク形成試験では、現行ワクチン株 (Beijing-1 株) に比べてブランクサイズは大きく、ベロ細胞における感染価は  $1 \times 10^6$  PFU/ml であった。E 蛋白領域の遺伝子配列は遺伝子 1 型であった。

離乳マウスにおける神経毒性及び神経侵入性の解析  
2005 年に三重県の豚血清より分離された 2 株の日本脳炎ウイルス (Sw/Mie/83/2005, Sw/Mie/84/2005) について、離乳マウス (DDY, 3 週齢、メス) における神経毒性及び神経侵入性試験を実施した結果、神経毒性は 2.88 と 2.98 ( $\log_{10}$  PFU/LD<sub>50</sub>)、神経侵入性は 3.83 と 4.24 ( $\log_{10}$  PFU/LD<sub>50</sub>) で、比較的低いレベルであることが明らかになった。[根路銘令子、高崎智彦、田島 茂、小滝 徹、林 昌宏、倉根一郎、田部井由紀子 (東京都衛研)、小川知子 (千葉県衛研)、足立 聡 (静岡県環衛科研)、細谷佳行 (静岡県西部食肉衛検)、山内昭則 (三重県科技振センター)、尾西 一 (石川県保環センター)、内田順子 (香川県衛研)、島津幸枝 (広島県保環センター)、永安聖二 (高知県衛研)、原田誠也 (熊本県保環科研)、糸数清正 (沖縄県衛環研)]

(3) 腹腔経路で感染させた日本脳炎ウイルスの、離乳マウスの脳内および血清中におけるウイルス増殖様態

4 株の日本脳炎ウイルス (Beijing-1, Nakayama-NIH, Sw/Mie/41/2002、Sw/Mie/40/2004) を  $10^5$  PFU ウイルス量 (100 $\mu$  /マウス) に希釈調製し、各 20 匹の DDY マウス (SPF) (3 週齢、メス) に腹腔内接種により感染させた。感染後 10 日間、毎日マウス 2 匹を麻酔下で心臓採血し、その後脳を採取した。血清と脳内のウイルス量は、Vero9013 細胞を用いたブランク法で測定した。その結果、これら 4 株のウイルス間には、マウスにおける神経侵入性および脳内と血清中のウイルス増殖様態に明かな違いのあることが判明した。[根路銘令子、林 昌宏、田島 茂、貫井陽子、小滝 徹、高崎智彦、倉根一郎]

### 2. デングウイルスに関する研究

(1) デング 1 型ウイルス NS1 N 型糖鎖付加部位変異クローンの作製とウイルス産生能の解析

フラビウイルスの非構造蛋白質 NS1 は、分子量

45-50kDa の糖蛋白質であり、小胞体や細胞膜上に局在し、また細胞外にも分泌される。ウイルスゲノムの複製や疾患の重症化に NS1 が関与するとの報告があるが、その機能・作用機序は不明である。我々はデング 1 型ウイルス (DENV-1) の増殖における NS1 N 型糖鎖付加の意義について解析するため、糖鎖付加部位に変異を有する DENV-1 分子クローンを作製し、ウイルス産生能を調べた。DENV-1 感染性分子クローン rDENV-1(02-20)/pMW119 を用いて、N 型糖鎖付加部位である 130 番目と 207 番目の Asn を、一方および両方を Ala に置換したクローン (rDENV-1-130Ala、-207Ala、および-130.207Ala/pMW119) を作製した。各クローンより合成したゲノム RNA を Vero 細胞にトランスフェクトしウイルス産生を試みた。207Ala 変異体からは野生型クローンとほぼ同等のウイルス産生が観察されたが、130Ala および 130.207Ala 変異体からはウイルス産生を確認できなかった。また野生型クローンと 130Ala クローン RNA をヒトヘパトマ由来細胞 Huh-7 および蚊由来細胞 C6/36 細胞にトランスフェクトしたところ、野生型のみウイルス増殖が確認された。以上の結果より、DENV-1 NS1 の 130 番目の Asn はウイルス複製において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。[田島 茂、高崎智彦、倉根一郎]

#### (2) N 型糖鎖付加阻害剤ツニカマイシンがデング 1 型ウイルスゲノム RNA 複製に及ぼす影響

NS1 への N 型糖鎖付加がデング 1 型ウイルスゲノムの複製に及ぼす影響を調べるため、野生型 DENV-1(02-20) を感染させた細胞を N 型糖鎖付加阻害剤であるツニカマイシンで処理し、24 時間後のウイルス RNA 蓄積量を調べた。すると非処理に比べ細胞内のウイルス RNA 量がプラス鎖、マイナス鎖ともに低下していた。これより糖鎖付加反応がウイルス RNA 複製に関係することが示唆された。[田島 茂、高崎智彦、倉根一郎]

#### (3) デング 1 型ウイルス非構造蛋白質 NS1 の哺乳動物細胞内および蚊細胞内発現プラスミドの構築

今後 DENV-1 NS1 の機能解析を進めてゆく上で、NS1 を単独発現させる系は必須である。そこで哺乳動物細胞内発現ベクター pME18Neo および節足動物内発現ベクター pIEx-4 に野生型および N 型糖鎖付加部位変異を有する NS1 を組み込んだ。また NS1 の C 末端側に Flag 配列を連結した。哺乳動物用については Vero あるいは Huh-7 細胞に、節足動物用は C6/36 細胞に導入後、ウエ

スタンプロット法により発現を確認した。[田島 茂、高崎智彦、倉根一郎]

#### (4) デング熱患者における尿、唾液中のウイルス遺伝子、抗体検出に関する研究

デング熱輸入症例の尿および唾液からウイルス遺伝子および IgM 抗体の検出を試みた。その結果、すべての症例からではないが、ウイルス遺伝子を検出する場合があることを確認した。特にウイルス血症が消退しウイルス遺伝子が血液中から検出できない場合でも、尿中から検出することがあることが確認され、診断上の意義があることが明らかとなった。また、IgM 抗体が尿中、唾液中から検出する場合もあることが確認された。[高崎智彦、小滝 徹、原田文植、田島 茂、倉根一郎、名和 優・町田早苗 (埼玉医大)、水野泰孝・加藤康幸・工藤宏一郎 (国立国際医療センター)]

#### (5) デング熱サルモデルの開発

デングウイルス感染の病態解析およびワクチン評価のための動物モデルとして、サルにデングウイルスを感染させ、症状の有無、ウイルス血症を解析したところある種のサルにおいて、血尿 (肉眼的血尿、尿潜血) が確認され、感染後数日間ウイルス血症を検出し、尿中からもウイルス遺伝子を検出した。[高崎智彦、平山隆則、伊藤美佳子、小滝 徹、倉根一郎、明里宏文・片貝裕子・中村紳一朗 (医薬基盤研究所・霊長類医学科学研究センター)]

#### (6) デング出血熱小動物モデルの開発

スナネズミを用いたデングウイルス感染小動物モデルを開発した。白色系がデングウイルスに対して検出可能なウイルス血症をきたすことが明らかとなったが、症状をきたすことはなかった。また、再感染による感染増強効果を検討したがその効果は認められなかった。[高崎智彦、濱野正敬、倉根一郎、松田潤一郎 (医薬品医療基盤研究所)]

#### (7) 治療ターゲットとしての Fc 受容体を介したデング出血熱の病態形成機序の解析

デング出血熱の病態形成機序を宿主・ウイルス間の相互作用の見地から解明するため、Fc 受容体を Cos-7 細胞に導入した細胞を作製し、Fc 受容体を介したデング出血熱の in vitro における感染機構を解析した。解析にはデング熱・出血熱患者血清から分離したデングウイルス 2 型および 3 型の強毒株を用いた。これら実験の結果 Fc 受容体のリン酸化部位の欠損変異体ではデングウ

イルスの感染増強が認められなかったことから Fc 受容体によって誘導されるシグナル伝達がデングウイルスの感染増強機構に関与していることが示唆された。[林 昌宏、高崎智彦、モイ メイリン、倉根一郎]

### 3. チクングニヤウイルスに関する研究

#### (1) チクングニヤウイルスに関する実験室診断法の確立

チクングニヤウイルス(Bah306 株、AF 株)を用いて、通常の RT-PCR 法およびリアルタイム PCR 法(TaqMan RT-PCR 法)を確立した。またフランスパスツール研究所から無償供与いただいた抗体陽性血清を用いて、抗チクングニヤウイルス IgM 捕捉 ELISA 法を確立した。[高崎智彦、林 昌宏、伊藤美佳子、小滝 徹、田島 茂、倉根一郎]

#### (2) 本邦で初めて確認されたチクングニヤ熱輸入症例と患者血清からのウイルス分離

スリランカから帰国し発熱と重度の関節痛を呈した患者検体について実験室検査を行い、2007 年 1 月にチクングニヤ熱の輸入症例を確認した。また続いて発症した 2 例目のチクングニヤ熱患者血清より日本で初めてチクングニヤウイルスを分離した。分離したウイルスの遺伝子解析を行ったところ本ウイルスは近年インド洋諸島から西インドにかけて流行しているチクングニヤウイルスと相同性が高いことが明らかとなった[林 昌宏、高崎智彦、小滝 徹、倉根一郎、水野泰孝・加藤康幸・工藤宏一郎(国立国際医療センター国際疾病センター)、渡邊香奈子(新潟県保健環境科学研究所)]

#### (3) 本邦で初めて分離されたチクングニヤウイルスの形態学的解析

わが国においてはじめて分離されたチクングニヤウイルスの形態学的観察を行った。ウイルス培養上清を精製・濃縮し電子顕微鏡を用いて形態学的観察を行ったチクングニヤウイルスの属するアルファウイルスに特徴的な直径約 70nm の正二十面体構造をもつウイルス粒子が多数観察された。[林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

### 4. フラビウイルス検査法に関する研究

#### (1) フラビウイルス共通プライマーを用いた迅速診断法の確立

フラビウイルス間で比較的共通した塩基配列の認められる膜(E)タンパク領域、非構造タンパクである NS3、NS5 領域にそれぞれ PCR プライマーを設計し、フラビ

ウイルス遺伝子の増幅を検討した。その結果蚊によって媒介される日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、マレーバレー脳炎ウイルス、デングウイルス、ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルスのいずれも検出することが可能なフラビウイルス共通プライマーを作製することに成功した。本プライマーはフラビウイルス感染症の迅速診断に応用可能であることが示唆された。[林 昌宏、高崎智彦、小滝 徹、倉根一郎]

### ・神経系ウイルスに関する研究

#### 1. 狂犬病ウイルスに関する研究

##### (1) タイ国バンコク市狂犬病流行株の遺伝子解析

狂犬病流行地であるタイ国バンコク市において、狂犬病を発症したイヌの脳から狂犬病ウイルス G 遺伝子を増幅し、塩基配列に基づいて流行株の分子疫学的解析を行った。また、同一個体から得られた株内での塩基置換部位の解析(quasispecies 解析)を行った。タイ国流行株の遺伝子配列変動のメカニズムを解析している。[森本金次郎、倉根一郎、西園 晃(大分医大)、Pakamat Khawplod、Henry Wilde (The Thai Red Cross Society)、Sukathida Ubol (Mahidol University)]

##### (2) 中国の狂犬病流行株の遺伝子解析とワクチン株の遺伝子解析

近年、中国において増加中の狂犬病に関して、中国防疫制御センター(China CDC)脳炎部唐青(Tang, Quing)博士と協力して研究を行っている。中国において最も発症例の多い広西省チワン自治区を中心とした中国南部の省において、イヌより採取された狂犬病ウイルスの遺伝子解析を行い、狂犬病の流行様式の解析を行っている。また、中国で使用しているワクチン株である CTN 株のゲノム全長の塩基配列の決定を行っている。[森本金次郎、Quing Tang (China CDC)]

##### (3) 狂犬病ウイルス侵襲に対する脳内免疫応答の解析

狂犬病ウイルス(CVS 株)が末梢から脳へと効率的に移行する性質を利用し、ウイルス侵襲に対する脳の免疫応答様式を解析した。末梢から脳への RV 感染では、その最初期においてケモカイン CCL5 および CXCL10 の発現が誘導され白血球の動員を促すことが示唆された。また、CCL5 および CXCL10 の発現は脳幹および小脳において鋭敏に応答することが明らかとなった。さらに、インターフェロンは脳幹、炎症性サイトカインは小脳において応答し、ケモカインの発現を間接的に増強する可能性が

示唆された。[中道一生、伊藤睦代、久保山有紀、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

### (4)ウイルス感染に対するミクログリア活性化機序の解析

狂犬病ウイルス等の神経系ウイルスによって侵襲を受けた脳では、常在型のマクローファージ様細胞であるミクログリアが活性化し病原体の排除に働く。ウイルス感染に対するミクログリアの活性化機序を分子、および形態レベルで解析した。ミクログリアにおける炎症性遺伝子の発現は、NF- $\kappa$ B ならびに JNK、p38 を介したシグナル経路によって誘導されることを示した。また、分岐状の静止型細胞からアメーバ型の貪食細胞へと変化する過程には、JNK 経路を介した細胞骨格の再構築が関与することを明らかにした。[中道一生、齋木めぐみ、久保山有紀、伊藤睦代、森本金次郎、倉根一郎]

### (5)狂犬病ウイルスワクチン株の弱毒化に関する因子の解析

HEP-Flury 株は高度に弱毒化した狂犬病ウイルスであり、ヒト用狂犬病ワクチンの製造において使用されている。本株の弱毒化に関する因子をリバーシジェネティクス法によって解析した。高い病原性を示すウイルス株および本株のウイルス膜蛋白質(G 蛋白質)のアミノ酸配列を比較した結果、本株では第 333 位にアルギニンではなくグルタミンをコードすることが分かった。また、G 蛋白質の第 333 位をアルギニンに置換した変異ウイルスでは、脳内のウイルス伝播ならびにマウスに対する神経病原性が増加することが分かった。[伊藤睦代、倉根一郎、森本金次郎]

## 2. JC ウイルス(JCV)に関する研究

### (1) 髄液を用いた JCV 検査系の確立

進行性多巣性白質脳症(PML)は、免疫不全患者等において発生する致死的な脱髄性疾患であり、持続感染した JCV によって引き起こされる。脳生検試料と比較して採取が容易な髄液を用いた JCV 検査体制を整備するため、T 抗原および VP1 領域を標的としたプライマーおよび TaqMan プローブを設計し、数コピーから 10E9 コピーまでのウイルス DNA を定量するためのリアルタイム PCR を確立した。また、PML 患者等の髄液を用いたバリデーションを実施し、本検出系が JCV 検査において実用可能であることを示した。[中道一生、久保山有紀、伊藤睦代、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

### (2) JCV 持続感染細胞の培養系の確立

培養細胞における JCV の増殖は極めて遅く、感染実験等において十分量のウイルスを得るためには長期の細胞培養と熟達した実験手技を要する。JCV の調製をより簡便化するため、持続感染細胞(CJ-7)の培養系を確立した。CJ-7 細胞は COS-7 細胞に JCV の全長ゲノム DNA を導入することで樹立された細胞であり、安定して JCV を産生する。また、COS-7 細胞と同様に取扱いが容易であるため、JCV を対象とした幅広い研究において有用なツールとなり得ることが分かった。[中道一生、奴久妻聡一(神戸市環境保健研究所)、伊藤睦代、久保山有紀、齋木めぐみ、森本金次郎、倉根一郎]

### (3) JCV 蛋白質に対する抗体パネルの作製

JCV の蛋白質に対する抗体パネルの作製を目的として、T 抗原および t 抗原、VP1、VP2/3、Agno をコードする各領域を大腸菌発現ベクターに組み込み、ヒスチジンタグもしくは GST タグとの融合蛋白質として発現させた。融合蛋白質をタグの親和性等により精製した後、ウサギに免疫し十分量の抗血清を作製した。各抗体の特異性を間接免疫蛍光法ならびにウェスタンブロット法を用いて調べた。作製された抗体パネルは、JCV の複製機序の解析ならびに免疫組織化学検査において有用なツールとなることが示唆された。[伊藤睦代、中道一生、齋木めぐみ、久保山有紀、森本金次郎、倉根一郎]

## . ヘルペスウイルスに関する研究

### 1. 水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) に関する研究

(1)水痘ワクチンの遺伝子レベルでの品質管理法の検討  
水痘ワクチンについては、容易に弱毒・強毒を判定しえる動物モデルなどのアッセイ系が存在しない。有効性と安全性の判断基準のひとつとして、現行ワクチンに特徴的な遺伝子配列が各製造ロットで保存されていることを今後保証することが望ましいと考えられる。そこで、ワクチン株と親株との塩基配列の差異を解析する方法として、蛍光エネルギー移動 (FRET) を応用した LightCycler の Tm 値解析を検討してきた。本年度は、ワクチン株で配列に混じりが知られる 18 塩基部位を検討し、15 部位について期待される PCR 産物を得て P-0ka とワクチン株との分別が可能であった。本方法を用いて、海外メーカーの非ライセンスワクチン 2 ロットについて、ワクチン親株及び本邦メーカーの国家検定を合格し重大副作用が発生しなかったことが確認されているワクチンの 1 ロットを比較検討した。我国の生物学的製剤基準に照らしてはるかに継代数が多いこの非ライセンスワクチ

ン製剤は、本来のワクチン株配列から逸脱していることが見出された。遺伝子レベルでの確認を生物学的製剤基準に導入するために、本邦メーカーや水痘ワクチン専門家とワーキンググループに設け、プロトコルなどを共有化する作業を開始した。[井上直樹、倉根一郎]

### (2) 新規抗 VZV 薬の検索と評価

VZV は細胞フリーの感染粒子が得にくいので、感染細胞と VZV を簡便迅速に検出できるレポーター細胞株を共培養することにより、VZV 感染力価を 3 日間で測定できることを昨年度示した。この系を用いて、VZV 感染を 20  $\mu\text{M}$  で阻害する新規抗ウイルス剤候補を 5600 種類のランダム化合物ライブラリーから検索した。1 次スクリーニングで約 200 化合物に候補を絞り込み、最終的に、細胞毒性がなく ( $>20 \mu\text{M}$ )、VZV 感染阻害がある 7 化合物を同定した。確認の結果、1 つは、核酸アナログで VZV に対する効果がよく知られる araC であることが判明し、スクリーニング系が期待通り働いていることが結果的には裏付けられた。また、1 つは、免疫染色法を用いて阻害効果を確認する実験を行ったところ、効果が見られなかったことから、ルシフェラーゼに対する阻害剤と判断し以後の検討から除いた。残りの 5 化合物のうち 2 つは異なる側鎖を有する thienyl carboxamide 系の化合物であり、特に EC50 が 1.25  $\mu\text{M}$  以下と比較的強い阻害効果があった。[永野暎子、福井良子、山口十四文(帝京科学大)、倉根一郎、井上直樹]

## 2. サイトメガロウイルス (CMV) に関する研究

### (1) 特殊濾紙を用いたリアルタイム PCR 法の確立

生後 3 週間以内の尿検体を用いることにより自然感染と区別して先天性 CMV 感染を診断できる。しかし従来の方法による尿の収集・輸送・保存、尿からのウイルス分離や PCR による CMV DNA の検出などには膨大な労力と費用が必要であるため、新生児を対象とした先天性感染のマススクリーニングは普及していない。昨年度までに、尿検体を含む特殊濾紙片から溶出した DNA をリアルタイム PCR に供することで、CMV ゲノムコピー数の定量を可能とした。今年度はさらに各種条件を最適化し、濾紙から打ち抜いた 3mm 径ディスクを 1 回洗浄後そのまま直接リアルタイム PCR に供し、ディスク当り 50 ゲノムまでの感度で CMV を検出できる迅速・簡便な CMV 検出法を確立した。本法は尿検体以外にも、唾液・髄液・気管内分泌液・血漿検体にも使用可能であった。[野澤直樹、古谷野伸(旭川医大)、山本由美子、倉根一郎、井上直樹]

### (2) 先天性 CMV 感染スクリーニングのパイロット調査と感染児のフォローアップ

上記のリアルタイム PCR 法を用いて、先天性 CMV 感染のマススクリーニングのパイロット調査を開始した。2 箇所の産科で約半年間に出生し、親権者より同意書が得られた 600 例の新生児をスクリーニングした。その結果、スクリーニングを行わない限り同定されないような不顕性の先天性感染児を 2 例見出し、乾燥臍帯など追加検体を得て先天性感染を確認した。これら 2 例は、CT 検査や ABR 聴覚検査で異常は認められなかった。先天性 CMV 感染による遅延性の後遺症として、難聴や発達遅滞が知られることから、これら症例についてフォローアップを行っている。[井上直樹、古谷野伸(旭川医大)、山本由美子、稲見有希、倉根一郎]

### (3) CMV ゲノムタイプの解析

高度感音難聴を 2 才までに発症した乳幼児の約 2 割が先天性 CMV 感染によること、その頻度は遺伝的要因として知られる GJB2 遺伝子変異と同程度であること、先天性 CMV 感染による難聴発症が遅延性・進行性であることなどを、我々は明らかにしてきた。しかしながら、すべての先天性感染児が難聴を発症するわけではないことや発症時期が異なることから、特定の性質をもつ CMV 株が先天性感染後の高度難聴発症に関与する可能性がある。そこで、健常小児、先天性感染による高度難聴患児、顕性の先天性感染新生児、上記スクリーニングにより同定された不顕性の先天感染新生児より得られた CMV 株について、UL144, gB, gH 遺伝子についてその遺伝子型の比較検討を行なった。その結果、gB 遺伝子の特定の型が先天感染児より得られた株に有意に多いことを見出した。[顔海念、古谷野伸(旭川医大)、稲見有希、山本由美子、錫谷達夫(福島医大)、牛島廣治(東大医)、倉根一郎、井上直樹]

### (4) モルモット個体におけるモルモット CMV(GPCMV)の感染様式の検討

GPCMV は先天性 CMV 感染の唯一の小動物モデルとしてその有用であるが、詳細な分子生物学的解析法が確立していない。そこで我々はまず、これまでに確立した GP83 遺伝子領域をターゲットとしたリアルタイム PCR 法を用いて、入手可能な 5 種の近交系モルモットに GPCMV を腹腔内接種し、モルモット体内でのウイルス感染動態を解析した。その結果、系統間でのウイルス感受性には差が認められなかったが、ウイルス感染 7 日後で脾臓など大半の臓器に、感染 21 日後では特に唾液腺に高レベルのウ

イルス DNA が検出され、GPCMV はマウス・ヒト CMV と類似した伝播様式を示すことを明らかとした。[野澤直樹、中村幸之助、横井雅之、山本由美子、倉根一郎、井上直樹]

(5) GPCMV 全塩基配列の決定と前初期蛋白 IE2 に対する抗体の作製

GPCMV ゲノムを各種の制限酵素で切断後、クローニングし、得られたプラスミドライブラリーを用いて約 230kB の全塩基配列を決定した。中間部分にヘルペスウイルスで共通な配列が、両末端に GPCMV 特有の配列を見出した。この塩基配列情報をもとに、ウイルス感染の極めて早い時期に発現することが期待される前初期蛋白 IE2 を GST 融合蛋白として大腸菌で発現させた。発現蛋白をアフィニティ精製後、GST 部分を特異的プロテアーゼにて除去した。この IE2 蛋白を用いて、ウサギを免疫し、IE2 に対する特異的抗体を得た。この抗体は、組織免疫染色などに有用であることを示した。[井上直樹、横井雅之、山本由美子、稲見有希、小村広美、片野晴隆(感染病理部)、野澤直樹、倉根一郎]

(6) 新規抗 CMV 薬の検索と評価

CMV レポーター細胞を用いて、CMV の感染初期過程を 20  $\mu$ M で阻害する新規抗ウイルス剤候補を 9600 種類のランダム化合物ライブラリーから検索した。最終的に、細胞毒性がなく (>20  $\mu$ M)、CMV 感染阻害効果がある 7 化合物を同定した。[福井良子、倉根一郎、井上直樹]

### 3. エプスタイン・バールウイルス (EBV) に関する研究

(1) EBV 核蛋白 EBNA-LP と相互作用する細胞性因子の検索と機能解析

EBV 潜伏感染に重要なウイルス核蛋白である EBNA-LP の機能を解析するために、我々はこれまで免疫沈降法や昨年度の酵母実験系などで EBNA-LP と相互作用する細胞性蛋白の検索を試み、幾つかの遺伝子産物を報告してきた。今年度はそれら候補遺伝子についての相互作用能分析のための融合蛋白やプラスミド作製をし、分析を深めるとともに、EBNA-LP の補因子機能への関与や局在などを検討した。[原田志津子、加藤美緒、平田顕恵]

(2) EBV 核蛋白 EBNA-LP のドミナントネガティブ発現細胞の性状解析

EBNA-LP の EBV 感染細胞における機能を解析するために、EBV 潜伏感染細胞由来の EBNA-LP ドミナン

トネガティブ変異体の誘導発現細胞株を作成し、発現細胞の性質をこれまで解析してきた。すでに一部のウイルス遺伝子の発現が RNA レベルで低下していることや、リポーター分析での解析で myc など細胞遺伝子の発現活性が優位に低下することを明らかにした。また、アポトーシスが昂進し、特定の細胞周期が遅延することを見いだした。今年度はそのメカニズム検討のため、変異蛋白の発現による細胞遺伝子発現の様式の変動を DNA アレイ法の複数の方法を検討して網羅的に検索した。いくつかの変動遺伝子については、定量的 PCR 法で確認した。それら遺伝子が関与する機構について検討を続けている。[原田志津子、平田顕恵、野澤直樹、加藤美緒]

### リケッチアに関する研究

1. リケッチアに関する研究

(1) リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築

わが国におけるつつが虫病、増加する日本紅斑熱、新たなリケッチア症、エーリキア症やアナプラズマ症等への対応のため、疫学、検査診断、予防治療の研究を総合的に進め、リケッチア症の国内実態解明、早期診断と警鐘システムを構築することを目的に以下の検討を行った。

つつが虫病、日本紅斑熱発生状況の集約、マダニ等ベクター、病原体、動物の全国調査、国内侵入の点からアジア大陸の現地調査を実施した。医師の本症に対する認知度を調査した。新規診断ツール候補抗原、免疫組織染色法を検討した。つつが虫病、日本紅斑熱の現行検査法の検証改良を行った。エーリキア、アナプラズマの新規遺伝子検出法の開発を試みた。重篤例、死亡例とイヌ感染実験で病態解析を行った。さらにこれらの検討を総合的に進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、小川基彦、坂田明子、川端寛樹(細菌第一部)、岡部信彦(感染症情報センター)、高田伸弘(福井大学医学部)、大橋典男(静岡県立大学環境科学研究所)、堤 寛(藤田保健衛生大学医学部)、岩崎博道(福井大学医学部)、藤田博己((財)大原総合病院附属大原研究所)、猪熊 壽(帯広畜産大学獣医学部)、古屋由美子(神奈川県衛生研究所微生物部)、田原研司(島根県保健環境科学研究所)、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所ウイルス科)、倉田 毅(富山県衛生研究所)]

(2) 鳥類に由来するマダニ材料からのリケッチアの検出

日本国内の紅斑熱群リケッチアには様々な種が存在することが知られており、近年、日本紅斑熱リケッチア (*Rickettsia japonica*) 以外の紅斑熱群リケッチアによ

る患者の発生の可能性が指摘されている。また、リケッチア症は、自然界においてマダニと野生動物の間に感染サイクルが構築されており、そのサイクルにヒトが侵入、マダニの刺咬によって感染を受け、発症する。このことから、自然界のマダニ、野生動物からの材料を用い、直接リケッチアを検出することは、ヒトの感染の可能性をあらかじめ防ぐ情報を提供するためのハザード・マップの作成に必要な情報を得るために有用である。山階鳥類研究所に協力する全国の関係者から集められた、野生鳥類に関連するマダニからリケッチアの検出、解析を試みた。[安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、藤田博己( (財) 大原総合病院附属大原研究所)、鶴見みや古・尾崎清明( (財) 山階鳥類研究所)、高野 愛・川端寛樹(細菌第一部)]

### (3) 日本国内におけるリケッチア感染症検査法の検証

日本国内のリケッチア症(つづが虫病や日本紅斑熱)の実験室診断の診断技術レベルの維持を目的に、現在国内で実施可能なリケッチア診断法の評価を複数の施設で検証した。間接蛍光抗体法(IFA)、補体結合反応(CF)について市販抗原および自家作製抗原を用い、ペア血清抗体検査においてつづが虫病が確定した患者血清の抗体価を比較した。また、非特異的に疑陽性を示した検体について複数の施設において比較した。CFではこれらの半数以上が陰性となり感度が極めて低く、患者発生地の血清型にも大きく左右された。また、市販抗原と自家抗原の結果を比較すると、自家抗原による値の方が若干高い数値を示した。これらの結果から、現行のリケッチア症実験室診断の熟練と精度管理の維持についての検討の必要性と、また民間検査施設では実施されていないPCRや日本紅斑熱の抗体検査も含めて、国内のリケッチア感染症検査体制の再検討と維持のためのネットワークの構築が急務と考えられた。[安藤秀二、岸本壽男、小原真弓(富山県衛生研究所)、田原研司(島根県保健環境科学研究所)、古屋由美子(神奈川県衛生研究所)、藤田博己(大原総合病院附属大原研究所)、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所)]

### (4) *Rickettsia felis*のプロテオーム解析

紅斑熱群リケッチアの一種 *Rickettsia felis* の全ゲノム配列が明らかにされ、多くの特徴的な遺伝子がコードされていることなどが示された。そこで、ショットガンプロテオミクスにより発現タンパクを解析した。その結果、165 の異なるタンパク質を同定し、putative adhesin、Sca ファミリーなどリケッチアの感染に關するタンパク質、タイプ4分泌系やトキシアンチトキシニンなど他

の細菌で病原性への関与が示唆されているタンパク質が発現していた。さらに、バイオインフォマティクス解析による細菌23種との発現プロファイルの比較では、偏性細胞内寄生細菌は翻訳に關するタンパク質を、また他の一般細菌はエネルギー産生や代謝に關するタンパク質をより多く発現していることを明らかにした。また、一部のタンパク質は、細菌のあいだで広く遺伝子(オルソログ)が保存されているにもかかわらず、リケッチアにだけ発現されているものもあった。今後は、Sca ファミリーや adhesin などの感染過程における詳細な役割、病原性に關するタンパク質やリケッチア特異的なタンパク質の宿主細胞内での役割、すなわち宿主細胞との相互作用、また環境の変化における発現の変化について解析する予定である。[小川基彦、Renesto, P.・Azza, S.・Moinier, D.・Fourquet, P.・Gorvel, JP.・Raoult, D.(Mediterranean University)]

### (5) リケッチアの環境応答タンパクのダニのライフサイクルでの変化

*R. massiliae* が持続的に感染しているマダニ *Rhipicephalus turanicus* のコロニーを確立し、リケッチアの持続感染における環境応答タンパクの解析を行った。その結果、外膜タンパク質 rOmpA の発現が、ダニのステージによって変化することを発見した。最近の報告でも、*Dermacentor andersoni* と共生する *R. peacockii* は、ダニの細胞では rOmpA を発現していないことが明らかにされており、ダニの体内でのリケッチアの生存や維持に何らかの役割を担っている可能性も示されている。今後こういった外膜タンパク質の宿主細胞内での役割、すなわち宿主細胞との相互作用について解析する予定である。[小川基彦、Matsumoto, K.・Parola, P.・Raoult, D.・Brouqui, P.(Mediterranean University)]

## 2. Q熱コクシエラに関する研究

### (1) Q熱のスクリーニングに用いる血清診断法の検討

バイオテロにQ熱コクシエラ(*C. burnetii*)が用いられた場合を想定し、患者特定に重要なスクリーニングのための血清診断法の検討を行った。Q熱の血清診断において、従来の *C. burnetii* 感染細胞を抗原としたIFA法での陽性判定には非特異反応による偽陽性の結果がしばしば問題となっており、Q熱疑い患者にスクリーニングとして用いた場合、臨床現場での混乱が予想される。今回その非特異反応の問題を解決するため、非特異反応除去剤の検討を行い、改良法を開発、実用化した。これまでの低値陽性例が多いとされたいわゆる本邦独特の非典型Q熱は、本法の非

特異反応除去剤によって陰性となる例も出てくる可能性があり、今後本法による再検討の必要性が示唆された。[岸本壽男、安藤秀二、小川基彦、福士秀人(岐阜大学)、蔡燕・矢野竹男・中尾義喜(オリエンタル酵母工業(株)長浜生物科学研究所)]

## ・クラミジアに関する研究

### 1. オウム病クラミジアに関する研究

#### (1)オウム病の早期診断体制とコントロールに関する研究

オウム病は診断治療が遅れると致死的となることもあり侮れない。オウム病の早期診断体制確立とコントロールを行うには、まずは診断法の確立と普及が欠かせない。現在オウム病の血清診断の標準法のひとつである micro-IF 法は、精製抗原の準備が煩雑で判定にも熟練を要するため扱いにくく、施行可能な施設は限られている。そこでオウム病のより簡便な血清診断法として、*C.psittaci* 感染細胞を用いた間接蛍光抗体法 (inclusion IFA) の臨床応用について検討した。本法でオウム病患者血清を測定した結果、micro-IF 法と高い相関性が認められ、判定も容易であった。また、界面活性剤を添加した検体希釈液では、PBS に比べ、非特異反応によると思われるバックグラウンドを低下させることができた。今後、本邦の臨床的有用性の検証を進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、小川基彦、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学)、蔡燕・矢野竹男・中尾義喜(オリエンタル酵母工業(株)長浜生物科学研究所)]

#### (2)動物展示施設におけるオウム病集団発生事例での感染源調査

2005 年 12 月に神戸市内の鳥展示施設で発生したオウム病集団発生事例での感染源調査のため、トリならびにヒトから検出された *C.psittaci* 株について遺伝子学的な解析を行った。オウム病発生時に 87 羽由来の糞などの検体を調査したところ、5 羽由来の検体がクラミジア陽性であった。肺炎で入院した 1 名の気管支洗浄液より、クラミジア遺伝子が検出でき、MOMP 1,438bp の塩基配列を決定した。PCR で陽性となったトリ由来のクラミジア MOMP の配列と比較したところ、ヒムネオオハシ由来の遺伝子配列が、患者のそれと 100%一致した。それ以外のトリ由来のものは 1~5 塩基異なっていた。その肺炎患者はヒムネオオハシが 3 羽放たれていた約 4.3 m<sup>2</sup>の部屋の閉鎖空間に出入りしており、そこで感染性の排泄物を吸い込んで感染したものと推察された。[飯島義雄・秋吉京子・大石英明・田中 忍・貴名正文・伊藤正寛(神戸市環

境保健研究所)、春田恒和(神戸市立中央市民病院)、福士秀人(岐阜大学)、安藤秀二、岸本壽男]

#### (3) オウム病の病態発現に関する病原因子の探究

オウム病の病態については、菌株の病原性の相違や宿主との関連などまだ不明な点が多い。病態発現を比較ゲノム解析の視点から行うためには、*C.psittaci* ゲノム配列の解読と比較解析が必要であるが、現時点で *C.psittaci* の全ゲノム配列は未解読である。そこで本年度は、我が国において集団発生事例で分離された Mat116 株、およびセキセイインコ由来 Budgerigar No.1 株の 2 株を選定し、ゲノム配列の解読と比較解析に着手した。現在までに菌の増殖と EB 精製を終え、順次高純度ゲノム DNA の抽出を行いつつあり、今後解析を進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、小川基彦、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学)、蔡燕・矢野竹男・中尾義喜(オリエンタル酵母工業(株)長浜生物科学研究所)]

### 2. 肺炎クラミジアに関する研究

#### (1) 肺炎クラミジアと多発性硬化症についての研究

特定疾患の微生物学的原因として、近年、多発性硬化症 (以下 MS) と、肺炎クラミジアとの関連の可能性が指摘されているが、不明な点が多い。本年度の研究では、本邦の MS 症例血清 26 検体を用いて、肺炎クラミジア抗体価測定を行い、MS との関連を検討した。IgG 抗体保有は MS 症例対健常者ではそれぞれ、65.4%:49.5%、IgG 高値は 4.7%:0.8%、IgM 抗体陽性 15.4%:4.8%であり、MS 症例の方がいずれも高率であった。しかし、呼吸器感染症例、ならびに肺炎クラミジア急性呼吸器感染症例の IgG 抗体保有はそれぞれ 51.6%:87.2%、IgG 高値は 7.7%:57.4%、IgM 抗体陽性 18.5%:27.2%であり、MS 症例よりもさらに高率であった。現時点では MS と肺炎クラミジアの関連の有無について判断することは困難であり、今後、検体数の追加と髄液での PCR などの検討をさらに進める予定である。[岸本壽男、安藤秀二、坂田明子、川端寛樹(細菌第一部)、楠 進・宮本勝一(近畿大学医学部神経内科)、川越清隆・守川俊英・増田周子(日立化成工業(株))]

#### (2) 肺炎クラミジア感染症における血清診断法の検討

肺炎クラミジア感染症の血清診断における「ヒタザイム C.ニューモノエ Ab-IgM」の判定基準の見直しと評価を行った。19 施設から、肺炎クラミジア感染症例の保存血清と、新たに肺炎クラミジア感染が疑われる呼吸器感染症患者の血清及び鼻咽頭スワブを収集し検討した。基準の再設定のため健常小児 (16 歳未満) 232 検体及び健

常成人(16歳以上)417検体の血清を用い、retrospective例で小児1,323検体、成人238検体、prospective例で小児(16歳未満)78検体、成人(16歳以上)129検体について検討した。ヒタザイムC.ニューモニエIgMによる健常小児での平均+3SDはID 2.11(陽性率1.7%)、健常成人はID 2.06(陽性率2.4%)であった。新前処理剤により、RF高値検体及び抗核抗体陽性検体の非特異的反応が抑制できた。prospective例は、小児ではID 2.00が17.9%、成人ではID 2.00が5.4%であった。新たなIgMカットオフ値ID 2.00は、micro-IF法のほぼ32倍に相当し、そのprospective例の陽性率からも、妥当な値と考えられたため、新たな診断基準の提案を予定している。[岸本壽男、安藤秀二、沼崎 啓(ウイルス第三部)、尾内一信(川崎医科大学2小児科)、山崎 勉(埼玉医科大学小児科)、中浜 力(中浜医院)、肺炎クラミジア血清診断法研究会]

### ・その他の研究

#### 1. 染色体に関する研究

(1) 化学薬剤による未成熟染色体凝縮法(PCC)の確立とその応用

染色体の解析は種・亜種の同定に際し遺伝学的手段として必須のみならず、先天性染色体異常症の診断など医学的にも重要な手段である。また染色体は後天的に放射線や環境変異原物質などにより損傷を受け、これら傷害による発癌や晩発傷害の解決も医学的に大きな課題であり、染色体の解析は遺伝子の損傷を評価するための必須の手段である。しかしながら遺伝子の損傷の程度が大きくなると、細胞周期の遅延あるいは停止により分裂中期染色体を得ることが困難あるいは不可能となり染色体解析そのものが不可能となっていた。未成熟染色体凝縮法はこの限界を克服する技術であり、オカダ酸あるいはカリクリンAなどの蛋白質脱リン酸化酵素阻害剤により極めて簡便で効率的にPCCを誘発する方法を開発した。この方法により従来困難であった染色体の解析に広く利用されることとなり、放射線生物学、環境変異原学、あるいは出生前診断などの広い分野に応用されている。[後藤 英介]

(2) PCC法とピーズロード法による染色体構造構築と染色体複製の動態の視覚化

染色体は分裂中期に凝縮し良く知られた分裂中期染色体構造を構成することが一般に知られている。一方染色体凝縮と染色体の複製は強く関連した現象であることが近年数多くの報告から明らかになっている。しかしなが

らこれらの報告は細胞周期間期核の観察でなされたものであり、その分解能には限界があり、また染色体構造との関係性は明らかでなかった。薬剤によるPCC法とピーズロード法によるDNA複製領域を直接標識する方法により染色体の複製と染色体構造の構築の動態を従来より明瞭にとらえ視覚化することに成功し、染色体の凝縮がDNA複製に並行して進行していることを明らかにした。[後藤英介]

#### 2. ウイルスに関する研究

(1) 293T細胞における単純ヘルペスウイルスのチミジンリン酸化酵素の発現とその性状の解析

単純ヘルペスウイルス1型および2型(HSV-1およびHSV-2)や水痘・帯状疱疹ウイルスのチミジンリン酸化酵素(thymidine kinase, TK)は、アシクロビルなどの薬剤をリン酸化する酵素であり、抗ヘルペス薬の標的蛋白のひとつである。これらのウイルスのチミジンリン酸化酵素を哺乳細胞で発現させ、その性状を解析する方法を開発した。HSV-1またはHSV-2のチミジンリン酸化酵素遺伝子をpcDNA3.1(+)-発現ベクターのMCSに挿入し、その発現ベクターを293T細胞にトランスフェクトする。次いで48時間geneticin含有増殖培地を用いて培養すると、293T細胞においてTKが発現していることが明らかにされた。さらに、対象となるTK非発現293T細胞にTK欠損薬剤(アシクロビルなど)耐性HSV-1を感染させ、次いでアシクロビル存在下で細胞を培養しても、同ウイルスの増殖は抑制されないが、TK発現293T細胞にTK欠損薬剤耐性HSV-1を感染させ、アシクロビル存在下で細胞を培養すると、同ウイルスの増殖は抑制されていた。このシステムを用いて、各種変異を有するHSV-1やHSV-2のTKを293T細胞において発現させ、抗ウイルス薬存在下でTK欠損薬剤耐性HSV-1の増殖抑制の程度を解析することにより、TKの薬剤リン酸化能を評価することが可能である。このシステムを応用することによりウイルスの薬剤感受性試験の迅速化を図ることが可能になると考えられる。[西條政幸、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、森川茂]

#### 3. バイオセーフティに関する研究

(1) 地方衛生研究所のバイオセーフティに関する状況調査

各自治体が有する地方衛生研究所は、地域の公的な感染症対策の科学的拠点として重要な立場にある。平成19年6月の改正感染症法の施行により病原体の取り扱いに

ついて法的な管理が進められようとしている現在、ほとんどの地方衛生研究所が病原体管理においては法的に厚生労働大臣の許可を必要とする第二種の病原体取り扱い施設となり、また、地域の病原体取り扱い施設のモデルとしての新たな指導的立場が期待される。平成 18 年度は、これら地方衛生研究所に対してバイオセーフティとバイオセキュリティに関する全国調査として平成 17 年度末から実施したアンケート調査を解析し、平成 18 年度春の状況として過去に実施された調査と比較検討した。設備保有状況、病原体取り扱いのための規則などは整備されてきているものの、教育訓練、感染事故対策、職員の健康管理などはいまだ未整備のままであり、施設間の格差が広がるとともに、人員や予算の削減、施設の老朽化などからも法改正に伴う様々な事案に対して具体的な措置・活動が取れない状況にあることが多くの施設にとって問題となっており、早急な解決を進める必要がある。[安藤秀二(バイオセーフティ管理室併任)、坂田明子]

## レファレンス業務

### 1. フラビウイルスに関する行政検査

日本脳炎 2 件、デング熱 10 件、チクングニア熱 1 件の行政検査が依頼されこれを実施した。[高崎智彦、伊藤美佳子、根路銘令子、林 昌宏、田島 茂、倉根一郎]

### 2. クラミジアならびにリケッチア性関連疾患(輸入例含む)の検査業務

肺炎クラミジア、オウム病クラミジア、性器クラミジア、つつが虫病、日本紅斑熱、輸入リケッチア症、Q熱について検査(血清学的、分子生物学的、生物学的検査・実験室診断)を実施している。平成18年の行政検査においては、オウム病 3 例 1 9 検体、リケッチア症 2 例 4 検体、Q 熱 1 例 3 検体を実施した。また、その他の検査依頼としてクラミジア 3 例 3 検体、リケッチア 1 例 2 1 検体、Q 熱 3 例 6 検体を実施している。さらに、不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を検査検討した。[安藤秀二、岸本壽男、倉根一郎]

### 3. クラミジアおよびリケッチア標準株、各種培養細胞の培養維持、診断用抗原の作製・分与

リケッチア診断体制構築のために *Orientia tsutsugamushi* の生菌 2 株を地方衛生研究所に分与した。また、クラミジアおよびリケッチア診断用不活化抗原を 4 施設のべ 8 種供与するとともに、不活化クラミジア 1 株を製品交付した。[安藤秀二、岸本壽男、倉根一郎]

## 品質管理に関する業務

### 1. 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

平成 18 年度は、1 ロットの乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定を実施し、合格と判定した。[緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、森川茂、倉根一郎]

### 2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定及び依頼検査

7 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、7 ロットすべてを合格と判定した。[根路銘令子、田島茂、伊藤美佳子、林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

### 3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成 18 年度は 2 ロットの黄熱ワクチン依頼検査の行政検査を実施し、適と判定した。1 件の副作用情報に基づく依頼検査を行政検査として実施した。[林 昌宏、根路銘令子、田島茂、伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎]

### 4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成 18 年度は、3 ロットの乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定(不活化試験および力価試験)を実施し、合格と判定した。[森本金次郎、中道一生、伊藤睦代、倉根一郎]

### 5. 水痘ワクチンの検定

乾燥水痘生ワクチン国家検定 6 ロット、輸出用ワクチン依頼検査 9 ロットを実施し、全ロットとも合格であった。[井上直樹、原田志津子、野澤直樹、倉根一郎]

## 研修業務

### 1. 地方衛生研究所職員に対する研修

地方衛生研究所職員に対するクラミジアおよびリケッチアに関する各種診断技術の指導を行っている。随時、希望機関の職員を受け入れ、研修を行うとともに、国立保健科学研究所ウイルスコースならびに希少感染症診断技術研修会において講義を行った。[安藤秀二、岸本壽男、倉根一郎]

### 2. 地方衛生研究所九州ブロックにおけるバイオセーフティ研修

地方衛生研究所は感染症対策において、感染症法の中でも地域における科学的拠点としてその重要性が示されている。平成 18 年度、前年度の中国四国ブロックに続き、九州ブロックの地方衛生研究所の技術研修としてバイオセーフティとバイオセキュリティに関する研修依頼があった。前年度の研修にバイオセキュリティに関する情報

を加え、バイオセーフティに関する総論・各論の講義、地方衛生研究所の希望に即した実習を含む研修を2日間にわたって実施し、実践的なバイオセーフティ教育プログラムの効果的な構築を試み、教育プログラムの評価を行い、その有用性について検討した。[安藤秀二(バイオセーフティ管理室併任)、重松美加(感染症情報センター)、高木弘隆(バイオセーフティ管理室)]

### 3. 長野県の公的機関に対するバイオセーフティ研修の試行

病原体を取り扱う施設は多様である。全体の組織としてはひとつである地方自治体においても、地方衛生研究所、保健所、公立病院など様々な形態の病原体取り扱い施設を持っている。平成18年度は、これらの業務形態の施設すべてを対象とした検査室バイオセーフティに関する研修会を一度の研修で実施する依頼を長野県より受けたことから、講義と実習による研修を計画、実施し、多様な施設を対象とした研修スタイルの課題点を研修終了後に行った受講者による研修内容に対する評価シートとあわせて検討した。施設の多様性も反映し、受講者の希望するバイオセーフティに関する関心も多様であった。このことから、バイオセーフティにおける個々の内容に関し十分な研修ができなかったが、体系的にバイオセーフティの全体をつかむ機会はすべての施設に不足しており、バイオセーフティの全体像を把握し、各施設の状況を念頭においてバイオセーフティに関しての対策を各々が考える機会となったことが多くの参加者から感想が寄せられた。全国的にはさらに多様な病原体取り扱い施設があることから、柔軟性のある教育プログラムの構築とバイオセーフティの個々のテーマに十分対応できる研修ツールの作成が必要であることが確認された。[安藤秀二(バイオセーフティ管理室併任)、篠原克明・杉山和良(バイオセーフティ管理室)]

### 4. フォーカス(PAP)法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法に関する研修

第一回日本脳炎中和抗体価測定法研修会においてパーオキシダーゼ抗パーオキシダーゼ(PAP)法を応用したフォーカス計数法について感染症流行予測調査・日本脳炎感受性調査に参加する地方衛生研究所9施設(山形県、宮城県、新潟県、三重県、富山県、山口県、愛媛県、熊本県、沖縄県)の担当者に対して実習を中心に研修を行った。現在日本脳炎ウイルスの中和抗体価測定法にはウイルスにより形成されるプラークを指標としたプラーク法が用いられている。しかしながらプラーク形成には約1週間

を要し、多くの6穴プレートが必要とするため作業が煩雑となる。フォーカス法においてはフォーカスの形成に要する時間は46時間であり、判定までの時間が短縮され、非特異反応も低く、96穴プレートの使用が可能のため、短時間で大量の検体を処理することが可能である。したがって本法は感染症流行予測調査の速やかな情報収集に寄与する。本会は実習形式で行い、各自実習結果において再現性が認められた。[林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

## 発表業績一覧

### 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Sa-ngasang, A., Anantapreecha, S., A-nuegoonpipat, A., Chanama, S., Wibulwattanakij, S., Pattanakul, K., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I.: Specific IgM and IgG responses in primary and secondary dengue virus infections determined by enzyme-linked immunosorbent assay. *Epidemiology and Infection* 134 (84): 820-825, 2006.
- 2) Maeda, A., Maeda, J. and Kurane, I.: SUMOylation in viral infection: Does SUMO wrestle or help virus infection? *Current Topics in Biochemistry*. pp99-120. 2006
- 3) Huan, H.Y., Pan, X.L., Fu, S.H., Wang, L., Li, M.H., Kurane, I. and Liang G.D.: Molecular characterization of full-length genome of Japanese encephalitis virus (02-76) newly isolated in China *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*. 20 (3): 203-208, 2006.
- 4) Saijo M, Niikura M, Ikegami T, Kurane I, Kurata T, Morikawa S: Laboratory diagnostic systems for Ebola and Marburg hemorrhagic fevers developed with recombinant proteins. *Clinical and Vaccine Immunology* 13:437-443, 2006
- 5) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S: Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, lacking B5R membrane protein expression protects monkeys from monkeypox. *Journal of Virology* 80:5179-5188, 2006
- 6) Saijo M, George-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Philippe M, Georges AJ, Kurane I, Morikawa S: Marburgvirus nucleoprotein-capture enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to recombinant nucleoprotein detection of authentic Marburgvirus. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 59:323-325, 2006
- 7) Ikejiri M, Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Maruyama T: Anti-SARS-CoV activity of nucleoside analogs having 6-chloropurine as a nucleobase.

- Nucleic Acids Symposium Series 50:113-114, 2006
- 8) Ikejiri M, Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Maruyama T: Synthesis and biological evaluation of nucleoside analogues having 6-chloropurine as anti-SARS-CoV agents. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters* 17:2470-2473, 2007
- 9) Shirato K, Nishimura H, Saijo M, Okamoto M, Noda M, Tashiro M, Taguchi F: Diagnosis of human respiratory syncytial virus infections using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Journal of Virological Methods* 139:78-84, 2007
- 10) Ike F, Bourgade F, Ohsawa, K, Sato H, Morikawa,S., Saijo M, Kurane I, Takimoto K, Yamada YK, Jaubert J, Berard M, Nakata H, Hiraiwa, N, Mekada K, Takakura A, Itoh T, Obata Y, Yoshiki A, Montagutelli, X. : LCMV infection in a wild-derived mouse inbred strain undetected by dirty bedding sentinel health monitoring and revealed after embryo transfer. *Comp. Med.*, 57(3):272-281, 2007.
- 11) Urata S, Noda T, Kawaoka Y, Morikawa,S., Yokosawa H, Yasuda J. : Interaction of Tsg101 with Marburg virus VP40 depends on the PPPY motif, but not the PT/SAP motif as in the case of Ebola virus, and Tsg101 plays a critical role in the budding of Marburg virus-like particles induced by VP40, NP, and GP. *J Virol.* 81(9):4895-9, 2007.
- 12) Mizutani T, Fukushi S, Iizuka D, Inanami O, Kuwabara M, Takashima H, Yanagawa H, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Inhibition of Cell Proliferation by SARS-CoV infection in Vero E6 cells. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2006. 46: 236-243
- 13) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Regulation of p90RSK phosphorylation by SARS-CoV infection in Vero E6 cells. *FEBS Lett.* 2006. 580: 1417-1424
- 14) Obara M, Yoshii K, Kawata T, Hayasaka D, Goto A, Mizutani T, Kariwa H, Takashima I. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of tick-borne encephalitis using subviral particles. *J Virol Methods.* 2006. 134. 55-60.
- 15) Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Mizutani T, Morikawa S, Suzuki T, Taguchi F, Tashiro M, Takemori T, Miyamura T, Tsunetsugu-Yokota Y. Induction of protective immunity against severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection using highly attenuated recombinant vaccinia virus DIs. *Virology* 2006. 351:368-380.
- 16) Mizutani T, Fukushi S, Ishii K, Sasaki Y, Kenri T, Saijo M, Kanaji Y, Shiota K, Kurane I, Morikawa S. Mechanisms of establishment of persistent SARS-CoV-infected cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006. 347:261-265.
- 17) Mizutani T. Overview on Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) In SARS 2006 (Edited by Tetsuya Mizutani). Transworld Research Network. 1-16. 2006.
- 18) Shirato K., Ujike M., Watanabe R., Mizutani T. SARS as an emerging disease In SARS 2006 (Edited by Tetsuya Mizutani). Transworld Research Network. 17-28. 2006.
- 19) Endoh D., Mizutani T., Saito H. Representational difference analysis of non-poly(A) RNA In SARS 2006 (Edited by Tetsuya Mizutani). Transworld Research Network. 157-. 2006.
- 20) Mizutani T. Signal Transduction in SARS-CoV-infected cells. (review) In *Emerging Infectious Diseases.* (S.K. Lai., Eds.) Ed. S. K. Lai, 1102: 86-95. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*
- 21) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Kanaji Y, Kurane I, Taguchi F, Morikawa S. Evaluation of a Novel Vesicular Stomatitis Virus Pseudotype-Based Assay for Detection of Neutralizing Antibody Responses to SARS-CoV. *J Med Virol.* 78, 1509-1512, 2006.
- 22) Yu F, Le MQ, Inoue S, Hasebe F, Parquet MD, Morikawa,S., Morita K. : Development of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assay system for severe acute respiratory syndrome coronavirus by using recombinant truncated nucleocapsid protein as antigen. *Clin Vaccine Immunol.* 14(2):146-149, 2007.
- 23) Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JS, Chen PJ, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa,S., Tashiro M, Sakatani M. : Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. *Vaccine*, 25(16): 3038-3040, 2007
- 24) Nagata, N, Iwata, N, Hasegawa, H, Fukushi, S, Yokoyama, M, Harashima, A, Sato, Y, Saijo, M, Morikawa,S., and Sata, T. : Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome in F344 rats infected with SARS coronavirus, *J. Virol.*, 81(4):1848-57, 2006
- 25) Zamoto A, Taguchi F, Fukushi S, Morikawa S, Yamada YK. Identification of ferret ACE2 and its receptor function for SARS-coronavirus. *Adv Exp Med Biol* 581, 519-522, 2006.

- 26) Matsuyama S, Ujike M, Ishii I, Fukushi S, Morikawa,S., Tashiro M, and Taguchi F. : Enhancement of SARS-CoV infection by proteases. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581:253-8, 2006.
- 27) Okada M., Takemoto Y., Okuno Y., Hashimoto S., Fukunaga Y., Tanaka T., Kita Y., Kanamaru N., Takai H., Sakaguchi Y., Furukawa I., Izumiya M., Yoshida S., Matsumoto M., Kase T., JSM Peiris, Daphne E. deMello, Pei-Jer Chen, Yamamoto N., Yoshinaka Y., Nomura T., Ishida I., Morikawa S., Tashiro M., and Sakatani M.: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS Corona Virus using mouse and SCID-PBL/HU mouse models. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581:593-6, 2006.
- 28) Ishii K., Hasegawa H., Nagata N., Mizutani T., Morikawa,S., Tashiro M., Suzuki T., Taguchi F., Takemori T., Miyamura T. and Tsunetsugu-Yokota Y. (2006) Highly attenuated vaccinia virus DIs as a potential SARS vaccine. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581:593-6.
- 29) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Asahi-Ozaki, Y., Sato, Y., Harashima, A., Morikawa,S., Saijo, M., Itamura, S., Saito, T., Odagiri, T., Tashiro, M., Ami, Y., and Sata, T. Pathological and virological analyses of SARS-CoV infections in experimental animals. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581:515-8, 2006.
- 30) Fukushi S, Mizutani T.: Pseudotyped vesicular stomatitis virus for functional analysis of SARS coronavirus spike protein. *Adv Exp Med Bio* 581:293-296, 2006.
- 31) Mizutani T., Endoh D., Okamoto M., Shirato K., Shimizu H., Arita M., Fukushi S, Saijo M., Sakai K., Chang Kweng Lim, Ito M., Nerome R., Takasaki T., Ishii K., Suzuki T., Kurane I., Morikawa S., Nishimura H.: Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. *Emerg Infect Dis.* 13,322-324, 2007
- 32) Hamano M, Lim CK, Takagi H, Sawabe K, Kuwayama M, Kishi N, Kurane I, Takasaki T. Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan. *Epidemiol Infect.* 12,1-4, 2007
- 33) Wang HY, Takasaki T, Fu SH, Sun XH, Zhang HL, Wang ZX, Hao ZY, Zhang JK, Tang Q, Kotaki A, Tajima S, Liang XF, Yang WZ, Kurane I, Liang GD. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. *J Gen Virol.* 88, 885-94, 2007
- 34) Azuma M, Nishioka Y, Ogawa M, Takasaki T, Sone S, Uchiyama T.: Murine typhus from Vietnam, imported into Japan. *Emerg Infect Dis.* 12(9):1466-8, 2006
- 35) Hoshino K, Isawa H, Tsuda Y, Yano K, Sasaki T, Yuda M, Takasaki T, Kobayashi M, Sawabe K.: Genetic characterization of a new insect flavivirus isolated from *Culex pipiens* mosquito in Japan. *Virology* 359(2):405-414, 2007
- 36) Itoda I, Masuda G, Suganuma A, Imamura A, Ajisawa A, Yamada K, Yabe S, Takasaki T, Kurane I, Totsuka K, Negishi M. Clinical features of 62 imported cases of dengue fever in Japan. *Am J Trop Med Hyg.* 75(3):470-474, 2006.
- 37) Eshita, Y., Takasaki, T., Takashima, I., Komalamisra, N., Ushijima, H., and Kurane, I. : Vector competence of Japanese mosquitoes for dengue and West Nile viruses (III. Biology, Natural Products and Biotechnology). In: *Pesticide Chemistry, Crop Protection, Public Health, Environmental Safety*, (Edited by Ohkawa, J. , Miyagawa, H. and Lee, P.W.), Wiley-VCH, Weinheim, pp.217-225, 2007
- 38) Dieng H., Boots M., Tamori N., Satoh T., Higashihara J., Okada T., Kato K., Komaramisra N., Ushijima H., Takasaki T., Kurane I., Eshita Y. : Effects of food, embryo density and conspecific immatures on hatchability in dengue vector *Aedes albopictus*. *House and Household Insect Pests* 28(2): 117-127, 2007
- 39) Khawplod, P., Shoji, Y., Ubol, S., Wilde, H., Mitmoonpitak, C., Nishizono, A., Kurane, I., Morimoto, K.: Genetic analysis of dog rabies viruses circulating in Bangkok. *Infection, Genetics and Evolution* 6: 235-240, 2006
- 40) Gotoh E. and Durante M.: Chromosome condensation outside of mitosis: Mechanisms and new tools. *Journal of Cellular Physiology.* 209(2):297-304 and Front Cover Page, 2006
- 41) Tanno, Y., Kobayashi, K., Tatsuka, M., Gotoh, E. and Takakura, K.: Mitotic arrest caused by an x-ray microbeam in a single cell expressing egfp-aurora kinase B. *Radiation Protection and Dosimetry.* 122: 301-306, 2006
- 42) Nakamichi, K., Saiki, M., Kitani, H., Kuboyama, Y., Morimoto, K., Takayama-Ito, M., Kurane, I.: Suppressive effect of simvastatin on interferon-beta-induced expression of CC chemokine ligand 5 in microglia. *Neuroscience Letters.* 407(3): 205-210, 2006
- 43) Nakamichi, K., Saiki, M., Kitani, H., Kuboyama, Y., Morimoto, K., Takayama-Ito, M., Kurane, I.: Roles of NF-kappaB and MAPK signaling pathways in morphological and cytoskeletal responses of microglia to double-stranded RNA. *Neuroscience Letters.* 414(3): 222-227, 2007
- 44) Takayama-Ito, M., Inoue, K., Shoji, Y., Inoue, S., Iijima,

- T., Sakai, T., Kurane, I., Morimoto, K.: A highly attenuated rabies virus HEP-Flury strain reverts to virulent by single amino acid substitution to arginine at position 333 in glycoprotein. *Virus Research*. 119(2): 208-215, 2006
- 45) Yamada, K., Ito, N., Takayama-Ito, M., Sugiyama, M., Minamoto, N.: Multigenic relation to the attenuation of rabies virus. *Microbiology and Immunology*. 50(1): 25-32, 2006
- 46) Krug, L.T., Teo, C.G., Tanaka-Taya, K., and Inoue, N. Newly identified human herpesviruses. pp. 197-276. *In: (Eds) Fong, I.W., Alibek, K. Emerging Infectious Diseases of the 21st Century*. Springer, NY. 2006.
- 47) Wang, G.Q., Suzutani, T., Yamamoto, Y., Fukui, Y., Nozawa, N., Schmid, D.S., Kurane, I. and Inoue, N.: Generation of a reporter cell line for the detection of infectious varicella-zoster virus and its applications for antiviral studies. *Antimicrob Agents Chemother*. 50:3142-45, 2006.
- 48) Ogawa, H., Baba, Y., Suzutani, T., Inoue, N., Fukushima, E., and Omori, K. Congenital cytomegalovirus infection diagnosed by polymerase chain reaction with the use of preserved umbilical cord in sensorineural hearing loss children. *Laryngoscope*. 116:1991-4, 2006.
- 49) Ogawa, H., Suzutani, T., Baba, Y., Koyano, S., Nozawa, N., Ishibashi, K., Fujieda, K., Inoue, N. and Omori, K.: Etiology of severe sensorineural hearing loss in children: independent impact of congenital cytomegalovirus infection and GJB2 mutations. *J Infect Dis*. 195:782-88, 2007
- 50) Katano, H., Sato, Y., Tsutsui, Y., Sata, T., Maeda, A., Nozawa, N., Inoue, N., Nomura, Y. and Kurata, T.: Pathogenesis of cytomegalovirus-associated labyrinthitis in a guinea pig model. *Microbes Infect*. 9:183-91, 2007
- 51) Kumar, N., McLean, K., Inoue, N., Moles, D.R., Scully, C., Porter, S.R., and Teo, C.G. Human herpesvirus 8 genoprevalence in populations at disparate risks of Kaposi's sarcoma. *J Med Virol*. 79:52-9, 2007.
- 52) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yamagata, H., Masai, H., Yoneda, Y. and Yanagi, K. : Nuclear Import of Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 Mediated by NPI-1 (Importin alpha5) Is Up- and Down-Regulated by Phosphorylation of the Nuclear Localization Signal for Which Lys379 and Arg380 Are Essential *Journal of Virology*. 80, 1979-1991, 2006
- 53) Shimakage, M. Harada, S., Kawahara, K., Oka, T., Yanoma, S., Horii, K., Sasagawa, T.: Detection of Epstein-Barr virus antigen leader protein expression in various cancers. *New Developments in Epstein-Barr virus research*, C.S.Umar ed. Nova Science pub. p261-276, 2006
- 54) Nakashima, K., Tanaka, T., M.H., Kramer, Takahashi, H., Ohyama, T., Kishimoto, T., Toshima, H., Miwa, S., Nomura, A., Tsumura, N., Ouchi, K., Okabe, N.: Outbreak of *Chlamydia pneumoniae* Infection in a Japanese Nursing Home, 1999-2000. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 27:1170-1177, 2006
- 55) Kawabata, H., Ando, S., Kishimoto, T., Kurane, I., Takano, A., Nogami, S., Fujita, H., Tsurumi, M., Nakamura, N., Sato, F., Takahashi, M., Ushijima, Y., Fukunaga, M., Watanabe, H. : First Detection of *Rickettsia* in Soft-Bodied Ticks Associated with Seabirds, Japan. *Microbiology and Immunology*, 50: 403-406, 2006
- 56) Iwai, M., Nakayama, T., Matsuura, K., Hasegawa, S., Ando, S., Obara, M., Nagai, Y., Yoshida, H., Horie, H. : Assesment of Efficacy of a Live Oral Poliovirus Vaccine for Virulent Sable-like Poliovirus 1 Strains in Japan. *Acta virologica*, 50: 139-143, 2006
- 57) Ouchi, K., Endo, M., Okazaki, A., Komura, H., Miyashita, N., Yamazaki, T., Ando, S., Kishimoto, T. Typing of *Chlamydothila pneumoniae*. *Chlamydial Infection*, Max Chernesky et. al. (ed.), 37-40, 2006
- 58) Kaibu, H., Iida, K., Ueki, S., Ehara, H., Shimasaki, Y., Watanabe S., Anzai, H., Takebu, W., Muta, T., Kusaba, T., Kishimoto, T., Ando, S. : Psittacosis in all four members of a family in Nagasaki, Japan. *Japanese Journal Infectious Disease*, 59: 349-350, 2006
- 59) Lee, K. J., Kwon S. J., Choi, B. R., Bae, S. M., Kishimoto, T., Ando, S., Mashida, C., Lee Y.H., Oh, H.B., Kim, K.S. : Outbreak of respiratory tract infections on an islet in Korea: possible *Chlamydia pneumoniae* infections. *Japanese Journal Infectious Disease*, 59: 294-298, 2006
- 60) Kim, W.J., Hahn, T.W. Kim, D.Y., Lee, M.G, Jung, K.S., Ogawa, M., Kishimoto, T., Lee, M.E., Lee, S.J.: Seroprevalence of *Coxiella burnetii* Infection in Dairy Cattle and Non-symptomatic People for Routine Health Screening in Korea. *Journal of Korean Medical Science*. 21 (5): 823-826, 2006
- 61) Ogawa, M., Matsumoto, K., Parola, P., Raoult, D., Brouqui, P.: Expression of RompA and RompB protein in *Rickettsia massiliae* during *Rhipicephalus turanicus* life cycle. *Annal NewYork Academic Science* 1078: 352-356, 2006
- 62) Azuma, M., Nishioka, Y., Ogawa, M., Takasaki, T., Sone,

## ウイルス第一部

- S., Uchiyama, T.: Murine typhus from Vietnam, imported into Japan. *Emerging Infectious Disease* 12(9): 1466-1468, 2006
- 63) Hoshida, S., Nishino, M., Tanouchi, J., Kishimoto, T., Yamada, Y.: Acute *Chlamydia pneumoniae* infection with heat shock protein 60-related response in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 183: 109-112, 2005
- ### 2. 和文発表
- 1) 倉根一郎: 開発中の日本脳炎ワクチン 小児科 47: 321-525, 2006
- 2) 林昌宏, 倉根一郎: ウエストナイル熱・脳炎の流行状況 臨床と微生物 33(4): 393-398, 2006
- 3) 倉根一郎: ウエストナイル熱とウエストナイル脳炎 脳と神経 58(1): 542-552, 2006
- 4) 西條政幸: 今話題の新興・再興ウイルス感染症・地域と住民 (市立名寄短期大学道北地域研究所) 24: 97-106, 2006
- 5) 西條政幸: 根絶されなかった天然痘の今. 小児科臨床 60: 149-154, 2006
- 6) 西條政幸: ウイルス講座 天然痘 感染制御 2: 342-346, 2006
- 7) 西條政幸: クリミア・コンゴ出血熱. 日本臨床65 (臨時増刊3): 322-324, 2007
- 8) 西條政幸: ラッサ熱. 日本臨床65 (臨時増刊3): 40-43, 2007
- 9) 森川茂: SARSコロナウイルス検査法の進展 化学療法の領域 (医薬ジャーナル社) 22(12): 39-46, 2006
- 10) 森川茂: サル痘 新感染症学 (日本臨床), 65(suppl 3): 150-153, 2007
- 11) 森川茂: マールブルグ病新感染症学 (日本臨床), 65(suppl 3): 35-39, 2007
- 12) 水谷哲也: 第 III 部 治療における最近の新薬 (薬効別) の位置付け ~新薬の広場~ ワクチン. 新薬展望 2006. 143-147. 2006. 医薬ジャーナル社
- 13) 石井孝司, 水谷哲也: SARSコロナウイルス研究の最前線 「医学のあゆみ」2006. 218. 839-844 医歯薬出版
- 14) 林昌宏, 高崎智彦: 特集 ウイルス性疾患の動向と最近の治療「ウエストナイル熱・脳炎 - 北米での爆発的な流行拡大と感染経路・予防について -」. クリニカ 34(3), 162-166, 2007
- 15) 水野泰孝, 高崎智彦: 話題の疾患と治療「旅行者とデング熱」. 感染・炎症・免疫 37(2), 183-185, 2007
- 16) 高崎智彦: ウイルス感染症 UPDATE「ウエストナイルウイルス感染の拡大」医学のあゆみ 218(10) 849-854, 2006
- 17) 高崎智彦: ウエストナイル熱・脳炎 日本臨床 65. 98-103, 2007
- 18) 高崎智彦: デング熱・デング出血熱 日本臨床 65. 117-121, 2007
- 19) 澤邊京子, 佐々木年則, 星野啓太, 伊澤晴彦, 小滝 徹, 伊藤美佳子, 高崎智彦, 江下優樹, 小林睦生: 日本国内における蚊からのウエストナイルウイルス検出法の検討. *Med. Entomol. Zool.* 57(4): 279-286, 2006
- 20) 細川隆史, 中嶋秀人, 高崎智彦, 杉野正一, 木村文治, 花房俊昭: 髄液から日本脳炎ウイルスが検出された無菌性髄膜炎の 1 例. *臨床神経学* 47, 109-111, 2007
- 21) 高崎智彦: ウイルス性肝炎と血液媒介性感染症. 医療・福祉系学生のための専門基礎科目 (金芳堂) p. 509-513 2007
- 22) 高崎智彦: 神経系感染症. 医療・福祉系学生のための専門基礎科目 (金芳堂) p. 517-520 2007
- 23) 高崎智彦: 創傷感染症. 医療・福祉系学生のための専門基礎科目 (金芳堂) p. 521-525 2007
- 24) 高崎智彦, 伊藤美佳子: 鳥類と感染症. 保全鳥類学 [山階鳥類研究所編, 山岸哲 監修] (京都大学学術出版会) p. 313-320
- 25) 原田志津子: EBV と細胞内シグナル伝達 「ヘルペスウイルス学」日本臨床 64 巻 増刊号 p. 552-557, 2006 年
- 26) 岸本寿男, 安藤秀二, 小川基彦: 検査結果の見方 抗体検査結果の判定法 - クラミジア. ベットサイドで役立つ微生物検査ガイド, p p 401-404, 文光堂, 2006 年 7 月
- 27) 岸本寿男, 安藤秀二: 新しい臨床検査・未来の臨床検査 各論 感染症検査 抗クラミジア・ニューモニエ IgM 抗体. 検査と技術, 34: 1261-1262, 2006 年 11 月
- 28) 岸本寿男, 安藤秀二, 小川基彦: 非定型肺炎の治療 - クラミジア肺炎 *Medical Practice*, 23: 1953-1957, 2006 年 11 月
- 29) 安藤秀二, 岸本寿男: バイオテロリズムとダニ媒介性感染症. 柳原保武監修. 高田伸弘ほか編 全国農村教育協会, 249-255, 2007 年 3 月
- 30) 安藤秀二, 岸本寿男: 伝染病予防法から感染症法へ. 柳原保武監修. 高田伸弘ほか編 全国農村教育協会, 33-37, 2007 年 3 月
- 31) 岸本寿男, 安藤秀二, 小川基彦: Q 熱の現状と課題. 柳原保武監修. 高田伸弘ほか編 全国農村教育協会, 205-217, 2007 年 3 月
- 32) 岸本寿男, 安藤秀二: 肺炎クラミジア, 日本臨床,

Sp.3 : 428-432, 2007 年 3 月

33) 岸本寿男, 安藤秀二: オウム病, 日本臨床, Sp.3 : 188-191, 2007 年 3 月

34) 岸本寿男, 安藤秀二: クラミジアの病原因子, 日本臨床, Sp3 : 458-463, 2007 年 3 月

35) 岸本寿男: オウム病, 今日の治療指針, 医学書院, 140-141, 2006 年 1 月

36) 岸本寿男, 安藤秀二: リケッチア感染症, 小児科診療, 診断と治療社, 69:169-172, 2006 年 4 月

37) 岸本寿男, 佐藤 梢, 井上美由紀, 山口徹也, 山崎 勉: 肺炎クラミジア, 図説呼吸器系細菌感染症疫学・診断・治療, 佐々木次雄編, じほう, 79-104, 2006 年 11 月

38) 正木明夫, 安藤秀二, 堀元栄嗣, 松浦久美子: 当医院における最近 5 シーズンのインフルエンザ発生状況 Epidemiological and virological investigation on influenza during five (2000/01~2004/05) in Masaki pediatric clinic (Toyama) 小児感染免疫, 18, 3-17, 2006

39) 大口純人, 岸本寿男: 虚血性心疾患のリスクファクター 基礎病態である動脈硬化の危険因子、感染症・喫煙・ホモシスチン The Lipid: 17, 229-235, 2006 年 7 月

## . 学 会 発 表

### 1. 国際学会

1) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Highly attenuated vaccinia vaccine, LC18m8, lacking B5R membrane protein expression protects monkeys from monkeypox. 12th International Conference of Infectious Diseases. Lisbon, Portugal, June 2006

2) Yokote H, Shinmura Y, Satou A, Kanehara T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Kurata T, Hashizume S. Safety and efficacy of attenuated smallpox vaccine LC16m8 in animals. 12th International Conference of Infectious Diseases. Lisbon, Portugal, June 2006

3) Saijo M, Georges-Courbot MC, Fukushi S, Mizutani T, Marianneau P, Georges AJ, Kurane I, Romanowski V, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-base diagnosis of Lassa fever-antibody and antigen detection systems. Filoviruses: Recent advances and future challenges, An ICID global conference. Winnipeg, Canada, September 2006

4) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Difference in pathogenesis of monkeypox virus (MPXV) in nonhuman primates between

MPXV Zr-599 (Congo Basin) and Liberia (Western Africa) strains. US-Japan Cooperative Medical Science Program 40th Virology Panel Meeting. Sendai, Japan, June 2006

5) Shinmura Y, Sasaki T, Matsui H, Kuranaga M, Yokote H, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Hashizume S. Investigation into the protection of attenuated smallpox vaccine LC16m8. 5th ASM Biodefence Research Meeting. Washington DC, February 2006

6) Yokote H, Kanehara T, Satou A, Nagai C, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Hashizume S. Establishment of PRNT method for smallpox vaccine. 5th ASM Biodefence Research Meeting. Washington DC, February 2006

7) Watanabe, R., Maejima, M., Fukushi, S., Matsuyama, S., Morikawa, S., and Taguchi, F. Cleavage of spike protein defines the entry pathway of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV). Keystone Symposia, Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Singapore. December 10-15, 2006.

8) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Harashima, A., Sato, Y., Fukushi, S., Saijo, M., Morikawa, S., and Sata, T. Animal models of severe acute respiratory syndrome using rodent-passaged SARS-CoV. Keystone Symposia, Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Singapore. December 10-15, 2006.

9) Fukushi, S., Mizutani, T., Sakai, K., Saijo, M., Kurane, I., and Morikawa, S. Amino acid substitutions on S2 region responsible in enhancement of SARS-CoV infection to rat ACE2-expressing cells. Keystone Symposia, Respiratory viruses of animals causing diseases in humans. Singapore. December 10-15, 2006.

10) Morikawa, S., Saijo, M., Qing, T., and Kurane, I. A diversity of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in China. The 1st Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases. Thailand, 29-30 Jan 2007.

11) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I.: Role of variable region of 3' NTR in dengue type 1 virus replication. 40<sup>th</sup> Joint Working Conference on Viral Diseases. Sendai. July 24-26, 2006.

12) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I.: Characterization of the variable region in the 3' NTR of dengue virus type 1. The 1st Thailand-Japan Joint Forum on Infectious Diseases. Bangkok, Thailand. January 29-30, 2007.

13) Morimoto, K.: Rabies situations in the world - the virus structure, pathogenesis, diagnosis and control. Conference on

## ウイルス第一部

rabies control in China. Nanjing, China. May 10, 2006

14) Morimoto, K.: Rabies detection. Academic conference on Rabies in 2006. Beijing, China. October 26, 2006

15) Wang, G.Q., Suzutani, T., Yamamoto, Y., Fukui, Y., Nozawa, N., Schmid D.S., Kurane, I. and Inoue, N.: Generation of a reporter cell line for the detection of infectious varicella-zoster virus and its applications for antiviral studies. 31st International Herpesvirus Workshop. Seattle, USA., July 22-28, 2006

16) Inoue, N., Suzutani, T., Ogawa, H., Koyano, S., Baba, Y., Yamamoto, Y., Inami, Y., Nozawa, N., Omori, K., Fujieda, K. and Kurane, I.: Epidemiology of congenital CMV infection in pediatric patients with severe sensorineural hearing loss: prevalence, viral loads, and genotypes. 31st International Herpesvirus Workshop. Seattle, USA., July 22-28, 2006

17) Kuremiya, E., Ishibashi, K., Nishimura, H., Inoue, N., Kaneko, H., Suzutani, T. Design of molecular diagnostic methods in a highly conserved region in the human cytomegalovirus (HCMV) glycoprotein H gene. 31st International Herpesvirus Workshop. Seattle, USA., July 22-28, 2006

18) Harada, S.: Epstein-Barr virus nuclear protein EBNA1P is critical for maintaining lymphoblastoid cell line growth. The 12th biennial conference of the International Association for Research on Epstein-Barr virus. Boston, USA July, 2006

19) Kitamura, R., Sekimoto, T., Ito, S., Harada, S., Yoneda, Y., Yanagi, K.: Phosphorylation of the nuclear localization signal of EBNA-1 up- and down regulates its nuclear import mediated by importin alpha5. The 12th biennial conference of the International Association for Research on Epstein-Barr virus. Boston, USA July, 2006

20) Ando, S., Shigematsu, M., Ogawa, M., Kishimoto, T.: Trend of Tsutsugamushi Disease in Japan. The 12<sup>th</sup> International Congress on Infectious Disease, Lisbon, Portugal, June 15-18, 2006

21) Ouchi, K., Endo, M., Okazaki, A., Komura, H., Miyashita, N., Yamazaki, T., Ando, S., Kishimoto, T.: Typing of *Chlamydomphila pneumoniae*. The 11<sup>th</sup> International Symposium on Human Chlamydial Infections, Ontario, Canada, June 18-23, 2006

### 2. 国内学会

1) 西條政幸：パイオテロ病原体としての出血熱ウイルスおよび痘そうウイルス感染症の診断法の開発．第80回日本感染症学会総会・学術総会，東京，2006年4月

2) 池尻昌宏，西條政幸，森川茂，福士秀悦，水谷哲也，倉根一郎：6-クロロプリンを塩基とした核酸誘導体のSARS-CoV抑制作用．第16回抗ウイルス化学療法研究会．福島市，2006年5月

3) 永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，福士秀悦，西條政幸，森川茂，佐藤由子，佐多徹太郎：マウス，ラット順化SARS-CoVを用いたSARS発症動物モデルの作製．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

4) 西條政幸，網康至，須崎百合子，永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，緒方もも子，福士秀悦，水谷哲也，倉根一郎，佐多徹太郎，倉田毅，森川茂：サル痘ウイルスZr-599株（コンゴ盆地型）とLiberia株（西アフリカ型）の霊長類における病原性．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

5) 西條政幸，錫谷達夫，水田克巳，倉根一郎，森川茂：チミジンリン酸化酵素遺伝子の1番目と45番目のコドンに存在するメチオニンの間に終始コドンが存在するHSV-1の薬剤感受性．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

6) 木所稔，西條政幸，網康至，須崎百合子，永田典代，岩田奈織子，長谷川秀樹，緒方もも子，福士秀悦，水谷哲也，志田壽利，田代真人，佐多徹太郎，倉根一郎，倉田毅，森川茂：改良痘そうワクチン株m8 のカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

7) 石岡顕，福永永子，佐藤友香，橋本浩一，石橋啓，西條政幸，錫谷達夫：HSV-1変異株がIFN感受性となるメカニズム．第54回日本ウイルス学会学術集会．名古屋，2006年11月

8) 渡辺理恵，前島雅美，福士秀悦，松山州徳，森川茂，田口文広：SARSコロナウイルス解裂性スパイク蛋白を持つpseudotypeウイルスの細胞内侵入機構に関する研究第54回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

9) 福士秀悦，水谷哲也，酒井宏治，西條政幸，緒方もも子，倉根一郎，森川茂：ラットACE2発現細胞で継代したSARS-CoVのS遺伝子変異第54回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

10) 永田典代，岩田奈緒子，長谷川秀樹，福士秀悦，西條政幸，森川茂，佐藤由子，佐多徹太郎：マウス，ラット馴化SARS-CoVを用いたSARS発症動物モデルの作製第54回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

11) 氏家誠，福士秀悦，森川茂，田口文広：SARS-CoVスパイク（S）蛋白質のCys-rich領域は細胞間融合及びウイルス細胞侵入活性に重要な働きを持つ第54回日本ウイルス学会学術集会，2006年11月

## ウイルス第一部

- 12) 座本 綾, 福士秀悦, 田口文広, 森川 茂, 山田靖子: フェレットACE2とSARS-CoV S蛋白質の親和性の解析 第54回日本ウイルス学会学術集会, 2006年11月
- 13) 水谷哲也, 福士秀悦, 見理 剛, 佐々木裕子, 遠藤大二, 座本 綾, 西條政幸, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川 茂: Mycoplasma fermentansとSARS-coronavirusの共感染が細胞に及ぼす影響 第33回マイコプラズマ学会, 東京 2006年6月
- 14) 水谷哲也, 遠藤大二, 白戸憲也, 岡本道子, 渡辺理恵, 福士秀悦, 西條政幸, 倉根一郎, 石井孝司, 鈴木哲朗, 清水博之, 高崎智彦, 森川茂, 西村秀一: 新興・再興感染症に備えた迅速な網羅的ウイルスゲノム検出方法 第42回日本獣医学会, 山口 2006年9月
- 15) 水谷哲也, 福士秀悦, 石井孝司, 西條政幸, 緒方もも子, 遠藤大二, 座本 綾, 倉根一郎, 森川 茂: SARS-coronavirus とMycoplasma fermentansの共感染が細胞に及ぼす影響. 第54回日本ウイルス学会, 愛知 2006年11月
- 16) 水谷哲也: 教育講演・獣医師から見た国際感染症の驚異と対策 -SARSを例として-. 第5回東北国際保健研究会, 福島 2006年4月
- 17) 水谷哲也: 特別講演・新興・再興ウイルスの網羅的検出方法. 第13回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 東京 2007年1月
- 18) 田島茂, 根路銘令子, 高崎智彦, 倉根一郎: 日本脳炎ウイルス genotype 1 完全長 cDNA クロンの作製とウイルス産生系の確立 第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会 長崎 2006年5月26-27日
- 19) 高崎智彦, 小滝徹, 根路銘令子, 林 昌宏, 伊藤美佳子, 田島茂, 倉根一郎, 松井 真, 中村龍文, 阿部康二, 寺田喜平, 中嶋秀人, 国重誠: 本邦の原因不明脳炎・無菌性髄膜炎における日本脳炎ウイルス関与に関する回顧的調査. 第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会 長崎 2006年5月26-27日
- 20) 町田早苗, 名和 優, 伊藤美佳子, 高崎智彦, 倉根一郎: IgA 抗体捕捉酵素免疫吸着測定法による日本人 Dengue 熱患者の血清診断 第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会 長崎 2006年5月26-27日
- 21) 星野啓太, 伊澤晴彦, 佐々木年則, 津田良夫, 比嘉由紀子, 矢野和彦, 高崎智彦, 小林睦生, 澤邊京子: 本邦生息蚊類が保有するフラビウイルスの検出および性状解析. 第41回日本脳炎ウイルス生態学研究会 長崎 2006年5月26-27日
- 22) 田島茂, 貫井陽子, 高崎智彦, 倉根一郎: Dengue 1 型ウイルス 3 NTR 内 variable 領域のウイルス増殖における役割 第54回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2006年11月19-21日
- 23) 貫井陽子, 田島茂, 小滝徹, 根路銘令子, 高崎智彦, 倉根一郎: 日本脳炎ウイルス genotype 1 型完全長 cDNA クロンの作製とウイルス産生系の確立 第54回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2006年11月19-21日
- 24) 加藤廣幸, 羽田野善郎, 水野泰孝, 上田晃弘, 源河いくみ, 川名明彦, 金川修造, 原田文植, 高崎智彦, 倉根一郎, 狩野繁之, 岡慎一, 木村哲, 工藤宏一郎: フラビウイルス IgM 抗体が偽陽性となった熱帯熱マラリアの一例. 第80回日本感染症学会 東京 2006年4月20-21日
- 25) 井戸田一郎, 井上康子, 伊藤美佳子, 高崎智彦, 倉根一郎, 戸塚恭一, 鳴門弘: ミクロネシア連邦ヤップ州に在住する日本人における Dengue 熱発生状況について. 第80回日本感染症学会 東京 2006年4月20-21日
- 26) 原田文植, 高崎智彦, 高木弘隆, 林昌宏, 伊藤美佳子, 倉根一郎: 日本人 Dengue 熱患者における抗ウエストナイルウイルス交差中和抗体に関する検討 第80回日本感染症学会 東京 2006年4月20-21日
- 27) 林 昌宏, 高崎智彦, 根路銘令子, 伊藤美佳子, 田島茂, 森田公一, 石川豊数, 倉根一郎: 日本脳炎ウイルス中和抗体保有マウスのウエストナイル不活化ワクチンによる免疫応答の研究 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日
- 28) 町田早苗, 名和優, 山城哲, 西園晃, 高崎智彦, 倉根一郎: マウス樹上細胞株 Jaws II 細胞を用いた Dengue ウイルス感染機構の解析 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日
- 29) 井本淳一, 石川知弘, 村上賢二, 林昌宏, 濱野正敬, 高崎智彦, 倉根一郎, 小西英二: ブタにおける日本脳炎 DNA ワクチンおよびタンパクワクチンの混合投与による中和抗体の誘導. 第54回日本ウイルス学会学術集会 名古屋 2006年11月19-21日
- 30) 名和優, 町田早苗, 高崎智彦, 田島茂, 原田文植, 水野泰孝, 加藤康幸, 倉根一郎: Dengue ウイルス感染の抗体検査: 患者尿中より IgA, IgM 抗体の検出. 第13回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会 東京 2007年1月19日
- 31) 高崎智彦, 小滝徹, 原田文植, 西村聖美, 水野泰孝, 加藤康幸, 工藤宏一郎, 倉根一郎: Dengue 熱患者における尿および唾液中の Dengue ウイルス遺伝子検出. 第13回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会 東京 2007年1月19日
- 32) Guan-Qing Wang, 福井良子, 錫谷達夫, 古谷野伸, 山本由美子, 柳舞美, 野澤直樹, 倉根一郎, 井上直樹: ヒトサイ

## ウイルス第一部

トメガロウイルス及び水痘帯状疱疹ウイルスの力価を迅速に測定できるレポーター細胞株の樹立及びその抗ウイルス剤評価への応用 第16回抗ウイルス化学療法研究会 福島 2006年5月26-27日

33) 山本和歌子,野澤直樹,古谷野伸,山本由美子,倉根一郎,井上直樹: 乾燥臍帯およびGuthrie紙乾燥血液を用いた低出生体重児CMV感染症例の感染経路の推定 第21回ヘルペスウイルス研究会 岐阜 2006年6月8-10日

34) 井上直樹,野澤直樹,山本由美子,稲見有希,Vladimir Loparev,倉根一郎: LightCyclerによるTm値解析を応用した水痘ワクチンの品質管理 第21回ヘルペスウイルス研究会 岐阜 2006年6月8-10日

35) 野澤直樹,古谷野伸,倉根一郎,井上直樹: 尿・唾液などの液体試料を塗布した濾紙片を直接使用したリアルタイムPCR法の開発:尿中のCMV検出を事例として 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日

36) 顔海念,古谷野伸,錫谷達夫,野澤直樹,倉根一郎,牛島廣治,井上直樹: 先天性及び後天性感染においてサイトメガロウイルス遺伝子型に差はあるか? 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日

37) 片野晴隆,佐藤由子,筒井祥博,佐多徹太郎,前田明彦,野澤直樹,井上直樹,倉田毅: モルモットサイトメガロウイルスを用いた実験的ウイルス性内耳障害 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日

38) 福島永子,石橋啓,西村秀一,井上直樹,金子久俊,石岡賢,錫谷達夫: サイトメガロウイルス(HCMV)の分子診断に適した多型の少ない遺伝子領域の同定と応用 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日

39) 石橋啓,井上直樹,福島永子,橋本浩一,金子久俊,石岡賢,錫谷達夫: サイトメガロウイルスにおける抗糖タンパクH抗体の測定 第54回日本ウイルス学会 名古屋 2006年11月19-21日

40) 島影美鈴,河原邦光,笹川寿之,原田志津子,岡聖次,新家俊明: 腎細胞癌とnephroblastomaにおけるEpstein-Barrウイルスの発現 第65回日本癌学会総会 横浜 2006年9月

41) 岸澤有華,渡部直己,小熊豊,安藤秀二,岸本寿男,三好正浩: 非常に高力価の血清抗体価を呈し肝生検が診断の契機となった急性Q熱症例. 第80回日本感染症学会, 東京, 2006年4月20日

42) 安藤秀二: バイオセーフティの基礎と実践-微生物を安全に扱うために-埼玉県臨床衛生検査技師会公衆衛生検査研究班・微生物検査研究班研修会, 大宮市, 2006年4月28日

43) 安藤秀二: クラミジア肺炎の現状と課題. 衛生微生物

協議会第27回研究会, 札幌, 2006年6月29-30日

44) 三好正浩,後藤明子,山野公明,本間寛,菊池志帆,有澤有華,上野弘志,安藤秀二,岸本寿男: 国内感染が疑われた急性Q熱の一症例とその疫学調査から得られた知見について. 衛生微生物協議会第27回研究会, 札幌, 2006年6月29-30日

45) 安藤秀二,篠原克明,杉山和良: 微生物検査室における管理について, 長野県臨床検査技術研修会, 長野市, 2006年7月14日

46) 安藤秀二: バイオセーフティの実際-ソフト面. BMSAバイオセーフティ技術講習会主任管理者コース, 2006年8月30日

47) 安藤秀二,坂田明子,佐藤梢,小川基彦,藤田修,堀田明豊,宇田晶彦,棚林清,百田隆祥,小島禎,池戸正成,岸本寿男: 鶏卵からのQ熱コクシエラ検出に関する研究(第3報). 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

48) 岸本寿男,安藤秀二,小川基彦,沼崎啓,尾内一信,山崎勉,田中敏博,中浜力: 肺炎クラミジアの血清診断におけるIgMの課題ヒタザイムC.ニューモニエIgMの診断基準見直し(第2報). 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

49) 飯島義男,秋吉京子,大石英明,田中忍,貫名正文,伊藤正寛,春川恒和,福士秀人,安藤秀二,岸本寿男: トリ展示施設におけるオウム病集団発生例. 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

50) 和田耕一郎,上原慎也,狩山玲子,門田晃一,松本明,公文裕巳,村尾航,藤原道久,福士秀人, Rajesh Chahota,柳陳堅,蔡燕,安藤秀二,小川基彦,岸本寿男: 男性尿道炎及び子宮頸管炎患者から高頻度に分離される*Chlamydia pneumoniae*類似株に関する検討. 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

51) 遠藤雅子,尾内一信,岡崎旭美,古村速,宮下修行,山崎勉,安藤秀二,岸本寿男: *Chlamydia pneumoniae*のタイピングに関する研究(第4報), 第24回日本クラミジア研究会・第13回リケッチア研究会合同研究会, 北九州市, 2006年10月

52) 須藤広誠,金地伸拓,坂東修二,永村徳浩,

## ウイルス第一部

岸本寿男, 安藤秀二, 坂田明子, 佐藤 梢, 石田俊彦: 家族内発症したオウム病の3例, 第95回日本内科学会四国地方会, 松山市, 2006年11月

53) 平野由紀, 柴原浩章, 島田和彦, 安藤秀二, 小川基彦, 岸本寿男, 山崎 勉, 高橋敬一, 鈴木光明: クラミジア・トラコマティスによる卵管性不妊症モデルマウスの作製. 19回日本性感染症学会, 金沢市, 2006年12月

54) 安藤秀二: バイオセーフティの概論及び対策, 独立行政法人製品評価技術基盤機構研修会, 千葉県木更津市, 2006年12月

55) 松井珠乃, 佐藤 弘, 岡部信彦, 安藤秀二, 岸本寿男, 坂崎善門, 尹浩信: 熊本県内の皮膚科医におけるつつが虫病・日本紅斑熱サーベイランス. 日本皮膚科学会第190回熊本地方会, 熊本市, 2006年12月

56) 安藤秀二: バイオセーフティ概論と実際-微生物を安全に扱うために-衛生微生物技術協議会九州ブロック技術研修会, 熊本市, 2007年1月

57) 安藤秀二: 日本のリケッチア感染症の現状 - 日本紅斑熱を中心に - 平成18年度希少感染症診断技術研修会, 東京都, 2007年2月

58) 蔡 燕, 野村彩朱, 矢野竹男, 内田浩二, 中尾義喜, 岸本寿男, 安藤秀二, 福土秀人: *Chlamydophila psittaci* 感染細胞を用いた間接蛍光抗体法(IFA)のオウム病血清診断における臨床応用, 臨床化学学会近畿地区学術研究報告会 2006年10月