

## 1. ウイルス第一部

### 部長 西條 政幸

#### 概要

ウイルス第一部において、2015年度には以下の人事異動があった。高崎智彦（第二室長）が2016年3月31日付けで退職し、神奈川県衛生研究所所長に就任した。また、福間藍子（第一室研究員）及び藤井ひかる（第四室研究員）が2015年3月31日付けで退職した。一方、佐藤正明（第五室研究員）が2015年4月1日付けで主任研究官に昇格した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、新興ウイルス感染症、ポックスウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、チクングニアウイルス、狂犬病ウイルス、JCウイルス、ヘルペスウイルス（単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、他）、リケッチア、クラミジア等の病原体の基礎研究、血清及び分子疫学、感染症発症機序の解析と診断、治療、予防方法に関する研究を行った。それぞれの研究成果は学術雑誌及び国内外の学会等において発表された。

ウイルス第一部の研究・業務領域に、エボラ出血熱（エボラウイルス病）等のウイルス性出血熱の診断・治療・予防法、病態発現機構の研究が含まれる。これらの業務を遂行するためには、感染性ウイルスを用いる必要があった。しかし、これまで村山庁舎に設置されていた高度封じ込め施設はBSL-4施設としての稼働されてこなかったため、感染性のあるウイルスを用いた研究は行えなかった。しかし、2015年8月7日に厚生労働大臣によるBSL-4施設としての指定を受け、今後高度封じ込め施設をBSL-4施設として稼働させることになった。

第一室においては、ウイルス性出血熱に関連する研究として、重症熱性血小板減少症候群（severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS）に関する研究が継続された。SFTSウイルス（SFTS virus, SFTSV）に対する抗ウイルス薬の探索、SFTSの診断システム開発、臨床疫学的特徴の解明、日本のSFTSVに関する分子疫学、SFTSに対するワクチン開発、等の研究がなされ

た。また、SFTSVの細胞への侵入機構の解明等の基礎研究もなされた。エボラ出血熱等のウイルス性出血熱に対するワクチン開発が開始された。クリミア・コンゴ出血熱ウイルスやアレナウイルスの細胞への侵入機構に関する研究も実施された。

第二室においては、これまでから引き続きデングウイルス、日本脳炎ウイルス、チクングニアウイルス等のアルボウイルス感染症の診断・治療・予防法、病態解明機構に関する研究がなされた。また、2015年から中南米で大流行したジカウイルス感染症に対する検査法の開発、地方衛生研究所への検査技術支援等を担当した。デング熱輸入感染事例の診断に加え、チクングニア熱、ジカウイルス感染症疑い事例のウイルス学的検査も担当した。

デングウイルスに関する研究では、デングウイルスに抗ウイルス活性を示す薬剤サイクロフェニル（CF）を見出し、その増殖抑制効果の評価および作用機序を解析した。デングウイルス感染症は通常良好な経過をとり回復するが、時に出血熱等を引き起こし重篤な病態を引き起こす。その病態出現機序をインターフェロン系ノックアウトマウス（IFN-NO マウス）感染動物モデル系を用いて解析した。

日本脳炎ウイルスに関する研究においては、遺伝子型V型の日本脳炎ウイルスの性状解析、不活化日本脳炎ワクチンの遺伝子型がV型の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体誘導能を解析するとともに、遺伝子型V型の日本脳炎ウイルス遺伝子増幅法を開発した。

その他、フラビウイルスに関する研究として、日本脳炎ワクチン非接種者の末梢血単核球から、誘導しISAAC（ImmunoSpot Array Assay on a Chip）法によりウエストナイルウイルスに反応するヒト型モノクローナル抗体を樹立し、治療薬としての有用性を動物モデルを用いて評価した。また、ジカウイルスにおいてデングウイルスと同様にNS1が検査の標的になり得るかどうかを検証し、迅速検査システム開発に着手した。

チクングニアウイルス感染症の病態解明に関する研

究，感染動物モデル開発を継続した。

第三室においては，狂犬病ワクチン検定法を改良するために，乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における統計学的解析手法の導入・改良について検討した。また，狂犬病ウイルスベクターを用いたワクチン開発に関する基礎研究が継続された。リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）の抗原蛋白質（GPC）の遺伝子を組込んだ非増殖性組換え狂犬病ウイルスの作出し，その効果の発現機序について解析するとともに，同様の手法を用いて MERS コロナウイルスに対するワクチン開発も開始された。

狂犬病ウイルスの P 遺伝子，G 膜蛋白質，等の機能解析に関する研究が継続された。

進行性多巣性白質脳症（PML）患者の脳脊髄液（CSF）に出現する JC ウイルス（JCV）のウイルス遺伝子定量によるウイルス学的検査依頼を全国の医療機関から受けた。2007 年度から 2015 年度までに約 1,500 件の検査依頼に対応し，約 140 名の CSF 中 JCV-DNA 陽性者を確認した。被検者の情報をデータベースに登録し解析した。近年では自己免疫疾患を有する患者において PML と診断される患者が増加していることが明らかにされた。JCV に関する基礎研究として，高速演算によるシミュレーションによって JCV の調節領域に存在する短鎖 DNA 配列の頻度を解析し，得られたデータを統計学的に解析した。その結果，PML 患者において検出される JCV の変異には一定の規則性が存在することが示唆された。このように，PML については臨床的な側面の研究から基礎研究まで，幅広い研究がなされた。

第四室においては，ヘルペスウイルス感染症，主に単純ヘルペスウイルス 1 型（HSV-1），水痘・帯状疱疹ウイルス（VZV）およびサイトメガロウイルス（CMV）感染症の研究が継続された。

HSV-1 に関する研究として，HSV-1 感染時における細胞周期制御機構に関与する新規ウイルス因子の探索，薬剤耐性 VZV の迅速な検査系の開発に関する研究が継続された。アシクロビル等の抗ウイルス薬の治療に抵抗性を示す免疫抑制下にある患者の病変から採取された検体について，薬剤感受性検査を含むウイルス学的な検査を引き受け，いくつかの例で薬剤耐性 HSV-1 感染症が証明された。

高度弱毒化痘瘡ワクチン LC16m8 株をベクターとした HSV，CMV，B ウイルスに対するワクチン開発の基盤的研究が開始された。

第五室においては，リケッチア感染症およびクラミジア感染症に関する研究がなされた。

ダニ媒介性細菌感染症の疾患発生に係る地域特性把握のための野外調査を実施し，ヒゲナガチマダニから分離されていたリケッチアは，多座配列タイピング（multi locus sequence typing）解析から *R. rickettsi* や *R. phillipii* のクラスターに属することが明らかにされた。国内でさらに既知の病原リケッチア以外の種による患者発生の可能性が示唆された。

リケッチア属菌遺伝子を検出するための LAMP 法を開発し，その診断における有用性を評価した。

200 名を超えるリケッチア症疑い患者の中に，SFTS 患者が含まれるか否かについて，当部に保管されているリケッチア症疑い患者血清を用いて後方視的に調べた。1 名が SFTS であったことが証明された。

昨年度と同様にリケッチア感染症対策のための感染研と地方衛生研究所等との連携の基に，総合的研究から基礎研究までの幅広い研究がなされた。

以上の研究活動に対して，厚生労働省，日本医療研究開発機構（AMED），文部科学省，等から研究費の助成を受けた。2015 年度は，細胞培養痘そうワクチン，日本脳炎ワクチン，狂犬病ワクチン，水痘ワクチンの国家検定と黄熱ワクチンと水痘抗原の依頼検査を担当した。さらに，各ウイルスやリケッチア等による感染症，および，患者検体に関する行政検査，依頼検査を担当した。各病原体に関するレファレンス活動，国際協力活動を行った。AMED の助成により 2 名の流動研究員を受け入れた。また，各室において協力研究員，研究生，実習生を大学や研究機関等から受け入れ，人材育成に貢献した。

## 業績

### 調査・研究

#### I. ウイルス性出血熱および新興・再興感染症に関する研究

##### 1. 重症熱性血小板減少症候群（SFTS）に関する研究

###### 1) SFTS の検査法に関する研究

SFTS は、新規フレボウイルスの一種である SFTS ウイルス (SFTSV) によって引き起こされるマダニ媒介性感染症であり、その致死率は極めて高い。本研究では、SFTSV の遺伝子量を定量的に、かつ、迅速に測定するためのリアルタイム PCR による SFTSV 遺伝子検出法を開発し、全国地方衛生研究所に配布するための検討を行った。SFTSV の M セグメントの塩基配列のバリエーションが多いため、リアルタイム定量 PCR で検出できないウイルスが存在することが明らかにされた。M セグメントのバリエーションが多い SFTSV 株が最近増えているかどうか、さらに継続した調査が必要である。本研究により、岡山県環境保健センター、愛媛県立衛生環境研究所、宮崎県衛生環境研究所、鹿児島県環境保健センター、山口県環境保健センターの各研究施設において、リアルタイム PCR による SFTS 診断が可能となった。[福士秀悦、福間藍子、谷英樹、黒須剛、谷口怜、下島昌幸]

## 2) SFTS の血清学的検査法の開発及び疫学調査に関する研究

国内外における SFTS の病態解明、疫学調査、感染リスク評価を行うためには、SFTS の正確な検査法を確立する必要がある。そこで、ウイルス感染細胞または組換え核蛋白質を抗原とした間接蛍光抗体法 (IFA) 及び ELISA 法を開発し、SFTS 疑い患者の血清を用いて、その血清学的診断における有用性を評価した。感染細胞を抗原とした IFA 及び ELISA 法による血清中の IgM・IgG 抗体の検出が可能であった。また、組換え核蛋白質を抗原とした抗体検出方法の抗体検出感度は、感染細胞を抗原とした方法のそれと同程度であった。感染細胞または組換え核蛋白質を抗原とした抗体検出により、回復期での診断が可能になると考えられた。

これまでに SFTS 患者報告数が国内で 2 番目に多い愛媛県において、患者発生地域を中心とした農林業に従事する 50 歳以上のハイリスクグループを対象に抗 SFTSV 抗体保有率に関する調査が行われた。ELISA 法及び IFA で共に陽性を示した検体は、694 検体中 2 検体で (0.29%)、そのうち 1 検体のみ中和活性が陽性を示した。この結果から、SFTS 流

行地域においても抗 SFTSV 抗体保有率は非常に低いことが明らかとなった。[福間藍子、福士秀悦、谷英樹、谷口怜、吉河智城、黒須剛、緒方もも子、下島昌幸、西條政幸；森川茂 (獣医科学部)；四宮博人 (愛媛県立衛生環境研究所)]

## 3) SFTSV の細胞侵入機構の解析

SFTSV の細胞侵入に関して、エンベロープ蛋白質遺伝子欠損水疱性口内炎ウイルス (VSVΔG) に SFTSV のエンベロープ蛋白質 (GP) を外套したシュードタイプウイルス (SFTSVpv) を作製し、様々な哺乳動物細胞に高い効率で細胞侵入することが明らかにされた。また、pH 依存的な細胞侵入および各種 C 型レクチン (DC-SIGN, DC-SIGNR, LSECtin) が細胞侵入効率を増強させることも明らかにされた。さらに、コレステロールから生合成される 25-hydroxycholesterol (25-HC) が SFTSV の細胞への感染を阻害するか否かを検証した。25-HC は SFTSV の増殖を抑制するとともに、SFTSVpv の細胞侵入も阻害することが明らかにされた。感染細胞の細胞融合も阻害されたことから、25-HC はエンドソーム内での膜融合を阻害することでウイルス増殖を抑制していると考えられた。[谷英樹、下島昌幸、福士秀悦、谷口怜、福間藍子、吉河智城、緒方もも子、西條政幸；森川茂 (獣医科学部)]

## 4) SFTSV エンベロープ蛋白質の融合に関わるアミノ酸部位の同定

SFTSV のエンベロープ蛋白質 (GP) を発現するプラスミドを用いて、酸性下での膜融合能を調べると、複数の日本株では pH5 で膜融合が観察されるのに対し、中国株である HB29 ではほとんど膜融合が見られなかった。そこで、これらのアミノ酸配列を比較して、異なる部位をそれぞれ、日本株もしくは HB29 株のアミノ酸に置換して、どのアミノ酸配列が膜融合に関与しているのかを検証した。その結果、962 番目のアミノ酸がセリンであることが膜融合を誘導することに重要であることが明らかにされた。[谷英樹、福士秀悦、黒須剛、谷口怜、緒方もも子、下島昌幸、西條政幸；森川茂 (獣医科学部)；河内健吾 (日本獣医

生命科学大学)]

5) SFTSV の感染中和抗体開発に関する基盤研究

SFTSV の感染を抑制・阻害する方法の一つとして、SFTSV 感染を中和（阻害）する効力のある抗体製剤を開発することが考えられる。これまでの私たちの解析で感染回復患者血清中には、感染中和抗体が存在することが明らかとなっており、この抗血清はマウスモデルにおける SFTSV の感染を防御できることも報告されている。そこで SFTSV の HB29 株の GP に対するモノクローナル抗体を作製し、この抗体が株間に影響せず間接蛍光抗体法および ELISA 法にて特異的に反応することを明らかにした。現在、感染マウスモデルでの抗ウイルス効果を検証するための準備がなされている。[谷英樹，福間藍子，福士秀悦，谷口怜，黒須剛，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸]

6) SFTSV に対する T-705 の動物モデルでの評価

SFTS は、死亡率が高く極めて予後不良の感染症であるが、有効な特異的治療薬はない。昨年度、インターフェロン受容体ノックアウトマウスを用いて、抗ウイルス薬 T-705 (favipiravir, 富山化学工業) の SFTSV 感染症に対する治療薬としての有用性を評価した。本年度は、人への臨床試験を想定した T-705 の用量，投与方法（経口投与）による治療効果を評価した。その結果，低用量の T-705 投与であっても，マウスの生存率は高く，治療効果も認められることが明らかにされた。また，T-705 を用いて治療されたマウスにおいても，血中には中和抗体が誘導されていることが明らかにされた。[谷英樹，福間藍子，福士秀悦，吉河智城，黒須剛，谷口怜，緒方もも子，下島昌幸，西條政幸；岩田奈織子，佐藤由子，鈴木忠樹，永田典代，長谷川秀樹（感染病理部）；宇田晶彦，森川茂（獣医科学部）；米納孝，古田要介（富山化学工業）]

2. クリミア・コンゴ出血熱（CCHF）に関する研究

1) CCHF ウイルスの感染機構および中和抗体測定に関する研究

CCHF ウイルス（Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, CCHFV）等の病原性の高い出血熱ウ

イルスは BSL-4 施設内で取り扱われる必要があるが，BSL-4 施設がない国々では CCHFV の細胞への感染機構の解析等の性状解析や中和抗体価測定等のウイルス学的検査はできない。CCHFV のエンベロープ蛋白質を水疱性口炎ウイルス（vesicular stomatitis virus, VSV）に外套させたシュードタイプウイルスは BSL-2 で取り扱いが可能であり，シュードタイプウイルスを用いることで BSL-2 で感染機構を解析することができるようになるが，私たちは CCHFV の（GP）エンベロープ蛋白質の C 末端の 53 アミノ酸を欠損させることで力価の高い感染性のシュードタイプウイルスが得られること，またその感染機序が野生型の CCHFV と一致することを見出した。このシュードタイプウイルスを用いることで，CCHFV が宿主膜蛋白質である DC-SIGN を細胞への感染に用いることが明らかにされた。一方で，GP 蛋白質が中和抗体の主要な標的であることから，CCHF 患者および健常者の血清についてシュードタイプウイルスを用いて得られた中和抗体価と野生型 CCHFV を用いて得られた中和抗体価を比較した。両者間に高い相関があることが明らかにされた。シュードタイプウイルスを用いることにより，ヒト血清中の CCHFV に対する中和抗体を間接的に測定できることが示された。[下島昌幸，福士秀悦，谷英樹，西條政幸；須田遊人，村上晋，堀本泰介（東京大学）；Roger Hewson, Stuart Dowall（英国 PHE）]

3. プテロパインオルソレオウイルス（PRV）に関する研究

1) PRV 感染症の血清診断法に関する研究

近年，マレーシアやインドネシアで呼吸器症状をヒトに引き起こすコウモリ由来オルソレオウイルス Pteropine orthoreovirus (PRV) について，私たちはこれまでに抗体測定法として組換え蛋白質を用いた ELISA やウイルス感染細胞を用いた間接蛍光抗体法，感染性ウイルスを用いた中和抗体測定法を確立した。この方法を用い，PRV 感染症の報告がなかったベトナムに居住する人々の血清を用いて PRV に対する抗体の有無を調べた。そ

の結果, ELISA 陽性者が 6 人確認され, うち 2 人は高い中和抗体価を呈した. このことはベトナムにおいても PRV 感染症が発生していることを示している. 一方, PRV の分離株間で major outer capsid (MOC) 蛋白質は高度に保存され, 逆に cell attachment protein (CAP) 蛋白質は保存性が低くヒト由来分離株は大きく分けて 3 グループに分類された. MOC 蛋白質を抗原として感染の有無を調べる ELISA と CAP 蛋白質を抗原として感染していた株を推測する ELISA を構築した. PRV のある株に感染していた患者の回復期血清を評価したところ, 予想通りの結果が得られた. [下島昌幸, Singh H, 福士秀悦, 黒須剛, 谷口怜, 西條政幸; 江川和孝 (岐阜大学連合獣医学); Ngoc TC, Quoc Huy NV, Chuong TX, Le Van A (ベトナムフエ医科薬科大学); 楊明, 菅又昌実 (首都大学東京)]

#### 2) PRV 感染症の感染動物モデル開発に関する研究

PRV のマウスにおける病原性を解析するとともに, 感染動物モデルを開発した. 経気道感染経路でマウスに PRV を感染させた場合, PRV は肺で顕著に増殖し, 急性肺炎の病理所見を誘導した. また, PRV 抗原は主に細気管支から肺胞道, 肺胞において検出された. PRV 感染症の病態の解明, 治療・予防法の開発に有用なモデルになると考えられた. [下島昌幸, Singh H, 福士秀悦, 黒須剛, 谷口怜, 西條政幸; 江川和孝 (岐阜大学連合獣医学)]

#### 4. 中東呼吸器症候群 (MERS) に関する研究

##### 1) MERS の診断法に関する研究

中東呼吸器症候群 (Middle East Respiratory Syndrome, MERS) は 2012 年にサウジアラビアで最初に報告のあった, 新種のコロナウイルス MERS コロナウイルス (MERS-CoV) による致命率の高い感染症である.

MERS-CoV 感染 Vero 細胞溶解液を抗原とした ELISA 法を開発した. 本法は MERS-CoV のスパイク (S) 蛋白質抗原に対する抗体を検出できるため, MERS に特異的な血清学的診断に有用である. また, この ELISA 法を安全に行うため,

MERS-CoV 感染細胞ライセートの調製法 (界面活性剤および UV 照射処理) により MERS-CoV が十分に不活化されるかどうか検討した. MERS-CoV 培養液を 1%NP40 で処理することにより, ウイルス感染価は  $10^{5.4}$  以上低下した. このウイルス液を Vero 細胞に接種し, その後 28 日間 (継代 3 回含む) 培養しても感染性のある MERS-CoV は検出されなかった. ウイルス培養液を UV トランスイルミネーター上で UV 照射 1min 処理することにより, ウイルス感染価は  $10^{5.8}$  以上低下した. これらの結果から MERS-CoV は 1% NP 40 処理で完全に不活化することができ, UV 照射 1 min により二重に不活化できることが明らかになった. [福士秀悦, 福間藍子, 谷英樹, 黒須剛, 谷口怜, 下島昌幸]

##### 2) MERS の血清学的診断に関する研究

MERS-CoV の膜蛋白質を外套したシュードタイプウイルスは, ウイルスの侵入機構や指向性の研究, 侵入機構の阻害剤の検討, 中和活性の測定に利用することができる. 本研究では, MERS-CoV のスパイク (S) 蛋白質を外套した VSV シュードタイプウイルス (MERSspv) を作製した. まず, C 末端を 16 アミノ酸欠損した S 蛋白質を外套した MERSspv を作製し, 本来の MERS-CoV と同様の侵入機構を示すか否かについて検討した. その結果, MERS-CoV の受容体である DPP4 に対する抗体, 及び S 蛋白質を免疫したウサギ抗血清により MERSspv の Vero 細胞への感染が阻害された. MERSspv が MERS-CoV と同様に S 蛋白質と DPP4 との結合を介して細胞に侵入することが示された. MERSspv を用いて, エチオピアのヒトコブラクダの血清の中和活性を測定したところ, 93%以上が陽性を示した. この結果から, エチオピアのヒトコブラクダ間で MERS-CoV 感染が蔓延していることが示された. また, MERSspv を用いて測定された中和抗体価は, 感染性のある MERS-CoV を用いて測定された中和抗体価とほぼ一致した (感度 98.8%). このことから MERSspv を用いた中和活性測定法は, MERS の診断や MERS-CoV の疫学的解析に有用であると考えられた. [福間藍子,

福士秀悦, 谷英樹, 谷口怜, 吉河智城, 黒須剛, 緒方もも子, 下島昌幸, 西條政幸; 森川茂 (獣医科学部)]

## 5. 新規ブニヤウイルスに関する研究

### 1) Soft tick bunyavirus (STBV) の性状解析及び血清診断法に関する研究

近年国内で分離され soft tick bunyavirus (STBV) と名付けられたブニヤウイルスは中央アジアでシククル熱を引き起こしている Issyk-kul virus (ISKV) と系統樹解析により近縁のウイルスであると考えられている。本研究では, STBV の性状が ISKV のそれとウイルス学的に類似しているか否かについて検討した。SW13, Vero, Jurkat 細胞における増殖性は類似し, Jurkat 細胞では C 型レクチン DC-SIGN あるいは LSECtin を発現させると増殖性が高まることも類似していた。STBV を感染させたマウスから得られた血清は間接蛍光抗体法において ISKV に交叉反応を示した。つまり ISKV と STBV の抗原性は互いに類似するウイルスであった。国内の血清バンク 1,000 検体を組換え N 蛋白質を抗原とした ELISA でスクリーニングし, 高 OD 値を示した検体について間接蛍光抗体法で抗体の有無を調べたが全て陰性であり, STBV によるヒトの感染はほとんど生じていないと考えられた。[下島昌幸, 西條政幸; 須田遊人, 村上晋, 堀本泰介 (東京大学)]

## 6. アレナウイルスに関する研究

### 1) 新興出血熱ウイルスの細胞内侵入受容体の評価

ラッサウイルスで新たに報告された新規細胞内侵入受容体であるリソソーム関連膜蛋白質 1 (LAMP-1) のラッサウイルスおよび近縁のルジヨウイルスでの関与について検討した。LAMP-1 は, 通常リソソーム内に発現しており細胞表面にはほとんど発現していないため, この残留シグナルを欠損させた, もしくは変異を入れた変異体を作製した。この発現プラスミドを用いて, 細胞内で LAMP-1 および LAMP-1 変異体を発現させて, ラッサウイルスおよびルジヨウイルスのエンベロープ蛋白質 (GP) の発現細胞と共培養し, 酸性条件下で処理後の膜融合活性を, 同じく T7 ポリ

メラゼ発現プラスミドと T7 ルシフェラーゼプラスミドの高感度リポーターアッセイ系を用いて検証した。その結果, LAMP-1 の発現は免疫蛍光抗体法を用いて確認できたものの, LAMP-1 と変異体とで発現局在が変わらず, リポーター活性もほぼ同等の値を呈した。[谷英樹, 福士秀悦, 黒須剛, 谷口怜, 緒方もも子, 下島昌幸, 西條政幸; 河内健吾 (日本獣医生命科学大学)]

## II. ボックスウイルスに関する研究

### 1. 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした出血熱ウイルスに対するワクチン開発

細胞培養痘そうワクチンであるワクチニアウイルス LC16m8 株は, 免疫原性を維持しつつ安全性は高いことが知られている。遺伝子組換え技術を用いて, 2013 年に初めて国内でも流行していることが確認された SFTSV 感染症, 更には 2014 年にアフリカ地域で大流行を起こしたエボラ出血熱の原因ウイルスであるエボラウイルス, 同じくフィロウイルス科に分類されるマールブルグウイルスに対するワクチンを LC16m8 をベクターとして開発した。本年度は前年度に作製した SFTSV の GPC, NP, そして膜裏打ち抗原である Z 抗原を, 単価または複数価発現する組換え LC16m8 (recLC) をマウスに接種することで, SFTSV に特異的な抗体が誘導されることが確認された。また, エボラウイルス (ザイール, スーダン, プンディブギョ, タイフォレスト株) 及びマールブルグウイルスの膜表面抗原である GPC を発現する組換え LC16m8 を作製した。これらのワクチンとしての有効性を評価する予定である。[吉河智城, 山田壮一, 藤井ひかる, 原田志津子, 津田美穂子, 福井良子, 福士秀悦, 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 緒方もも子, 下島昌幸, 西條政幸; 森川茂 (獣医科学部); 柴村美帆 (東京大学); 大村夏美 (早稲田大学)]

### 2. BAC (Bacterial Artificial Chromosome) システムによる組換えワクチニアウイルス作製法の確立

ワクチニアウイルスを土台とした組換えワクチンの開発速度を上げるためには, 組換えワクチニアウイルスの作製法をより簡便にすることが望ま

しい。そこでワクシニアウイルス LC16m8 株を BAC にクローニングし大腸菌に保持させることで、大腸菌の遺伝学を利用出来る、組換え LC16m8 の作製系 (VAC-BAC システム) の確立を試みた。BAC を構成するための必須遺伝子と薬剤耐性遺伝子を保持するプラスミド pBeloBAC11 を土台として、ワクシニアウイルスと相同性を持つ領域を組み込んだプラスミド pVAC-BAC11 を作製した。次にこれを用いて BAC の必須遺伝子が組み込まれた組換え LC16m8 (m8-BAC) を作製した。この m8-BAC を細胞に感染させた後にウイルス遺伝子を回収し、この遺伝子を用いて大腸菌をトランスフォーム、薬剤選択により、LC16m8 の遺伝子がクローニングされた BAC プラスミド、pLC16m8-BAC の作出に成功した。更にこのプラスミドを HEK293 細胞にトランスフェクションと同時にヘルパーウイルスを感染させることで、感染性のある組換え LC16m8 が産生された。[吉河智城, 山田壮一, 藤井ひかる, 原田志津子, 津田美穂子, 福井良子, 福士秀悦, 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 緒方もも子, 下島昌幸, 西條政幸; 森川茂 (獣医科学部), 柴村美帆 (東京大学); 大村夏美 (早稲田大学)]

### III. フラビウイルスに関する研究

#### 1. デングウイルスに関する研究

##### 1) サイクロフェニルのフラビウイルス増殖抑制効果

排卵誘発剤として臨床使用されている薬剤サイクロフェニル (CF) のデングウイルスに対する増殖抑制効果を評価し、さらにその作用機序を解明した。デングウイルス (dengue virus, DENV) の血清型 (1 型から 4 型) 間によって効果に差異があるものの、各種哺乳類由来培養細胞において CF が DENV 増殖を CF 濃度依存的に抑制した。一方、蚊由来 C6/36 細胞では DENV 増殖を抑制しなかった。CF は哺乳類由来培養細胞に存在する宿主側因子を介して DENV 増殖抑制作用を発揮することが示唆された。Time-of-addition アッセイにより、DENV 感染後 18 時間以上経過してから CF を添加しても放出される感染性ウイルス粒子及び細胞内ウイルス RNA 合成が有意に抑制

されなかった。一方 CF 添加が DENV 感染後 18 時間未満の場合では、ウイルス RNA 量に比べ、感染性ウイルス粒子数が有意に減少した。また、レポーターレプリコンアッセイにおいても、CF 濃度依存的な RNA 量の減少が認められた。これらの結果より、CF は遺伝子複製、および遺伝子複製より後期の過程に複合的に作用することで DENV 増殖を抑制することが示唆された。[田島茂, 加藤文博, 西條政幸; 藤間大貴 (早稲田大学)]

##### 2) データベース構築のためのデングウイルス遺伝子解析

DENV の塩基配列データベース構築のため、デング熱患者検体に含まれる DENV の遺伝子配列を解析した。患者血清 102 検体において、血清から抽出したウイルス RNA を RT-PCR によって 4 断片に分けて増幅し、増幅産物を次世代シーケンサーを用いて全遺伝子配列を決定した。その結果、86 検体において全長に近いウイルスの遺伝子配列を得ることができた。また、台湾においては 2015 年にデング熱の大流行が起き、4 万件を超える症例が報告されている。台湾 CDC との共同研究で、デング熱・出血熱患者 22 例の血清から同様の方法で DENV の全遺伝子配列を解析した。その結果、台湾の流行株は遺伝子型がコスモポリタン III 型の DENV 2 型であった。[中山絵里, 田島茂, 高崎智彦; 加藤健吾, 山下明史, 関塚剛史, 黒田誠 (病原体ゲノム解析センター)]

##### 3) 出血熱ウイルス感染モデルを用いたデングウイルス病原機序の解析

デング出血熱は、その致死率は比較的高く、広義のウイルス性出血熱に分類される、DENV 感染症の病態のひとつである。熱帯・亜熱帯地域で毎年多数のデング出血熱感染者が報告されているが、病態発現機序は詳細には明らかにされていない。本研究ではインターフェロン系ノックアウトマウス (IFN-NO マウス) 感染動物モデル系を用いてデング出血熱病態発現機序を解析した。DENV-3 型 (DV3P12/08) 株は、IFN-NO マウスに血漿漏出を伴う致命的を引き起こした。DV3P12/08 を感染させたこのマウスに抗 TNF- $\alpha$

中和抗体を導入することにより生存期間は延長された。また、アンジオポエチン I を投与することによっても生存期間が延長した。抗 TNF- $\alpha$  中和抗体による防御機序を解明するため、抗 TNF- $\alpha$  中和抗体を投与した感染マウスの肝臓から得られた RNA を用いてマイクロアレイ解析を行った。比較解析により得られた、血漿漏出に関与すると考えられる候補因子を得た。現在候補因子の病態への関与について検討している。これらの候補の中には、その他のウイルス性出血感染にも関与すると考えられる因子が含まれていた。今後更にデング出血熱の病態発現機構について解析する必要がある。[黒須剛, 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 西條政幸; 奥崎大介 (大阪大学微生物病研究所)]

## 2. 日本脳炎に関する研究

### 1) 遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスの性状解析

近年、中国と韓国の蚊から相次いで遺伝子型 V 型 (GV) の日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus, JEV) が約 60 年ぶりに分離された。GV に分類される JEV (JEV-GV) は中国分離株を含めこれまでに 2 株しか分離されていない。系統樹解析から GV は、現在の主流株である GI や GIII とは遺伝学的に離れていることが明らかにされているが、ウイルス性状に関する解析はあまりなされていない。そこで私たちは、当研究室で保有されている JEV-GV (Muar 株) を用いて、Muar 株の *in vitro* での増殖性、マウスに対する病原性、および現行ワクチンの JEV-GV に対する有効性について解析した。GI に分類される JEV (JEV-GI, Mie/41/2002 株), GIII に分類される JEV (JEV-GIII, Beijing-1 株) および JEV-GV (Muar 株) の *in vitro* での増殖性およびマウス病原性をそれぞれ比較した。Vero 細胞では Muar 株は Beijing-1 株と同等の増殖能を示し、Mie/41/2002 株のそれよりも低い増殖能を示した。マウス神経芽細胞腫由来 N18 細胞では、Beijing-1 株の増殖能は他株の増殖能に比べ顕著に高く、Muar 株は 3 株の中で最も増殖能が低かった。しかし、マウスに対する病原性は Muar

株と Beijing-1 株で同等であり、Mie/41/2002 株のそれよりも有意に高かった。現行ワクチンの Muar 株に対する中和力価は Mie/41/2002 株 (JEV-GI) や Beijing-1 株 (JEV-GIII) に比べ低い値を示した。Mie/41/2002 株の E 配列を近年中国で分離された GV 株 XZ0934 株のものに置換した組換え JEV を作製し中和試験を行ったところ、中和力価が Muar 株と同等レベルまで低下した。現行ワクチンを接種したマウスに Muar 株および Beijing-1 株を接種し死亡率を比較したが、両方で差はみられなかった。Muar 株を接種したマウス血清を用いて中和試験を行ったところ、GI, GIII 株に比べ Muar 株に対して高い中和能を示した。以上の結果から、Muar 株のマウス病原性は Beijing-1 株と同等であるが、培養細胞での増殖性については両方で異なることが明らかにされた。JEV-GV に対する現行ワクチンの中和抗体誘導能は他の遺伝子型に比べ低いものの、発症阻止効果は JEV-GV 株に対しても認められた。[田島茂, 谷ヶ崎和美, 中山絵里, 高崎智彦]

### 2) 遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスの遺伝子検出法の開発

国内で JEV-GV は分離されていないが、すでに国内に存在している可能性がある。今後国内における JEV-GV の存否を調査する必要がある。そこで、JEV-GV の遺伝子検出システムを開発した。その成果として、1) 現在までに私たちが使用してきた JEV-GI, JEV-GIII 検出用プライマー・プローブセットでは JEV-GV を検出できないことが明らかにされ、2) 最近使用し始めた 3'非翻訳領域を標的とした同セットでは、JEV-GV が検出されるが、同時にウエストナイルウイルス遺伝子も高感度に検出されることが示され、3) JEV-GV 特異的 TaqMan 法を開発した。新たな検出系は、日本脳炎の診断だけでなく、野外における感染動物のスクリーニングにも有用であると考えられる。[田島茂, 高崎智彦]

### 3. その他のフラビウイルスに関する研究

#### 1) 全てのウエストナイルウイルス lineage の遺伝子を検出可能なリアルタイム RT-PCR 法の開発



ウエストナイルウイルス (West Nile virus, WNV) 感染症は、アフリカやアメリカ大陸で流行している蚊媒介性ウイルス感染症である。日本では WNV による国内感染事例は確認されていない。また、動物や蚊から分離されてもいない。しかし、日本国内での WNV 感染症流行に備えて、検査体制を整備する必要がある。WNV は 6 種類の lineage に分類されるが、現在私たちが WNV 同定に使用している検出系やその他国外の研究機関から発表された検出系が全ての WNV に対応できているかは不明である。そこで本研究では、これら私たちが有する現行、および最近発表された方法 (TaqMan qRT-PCR 法) が全 lineage に対応可能かを調べた。さらに新たな TaqMan qRT-PCR セットを開発し、その特異性および検出感度について考察した。その結果 1) 現行の WNV 用プライマー・プローブセットでは、lineage によっては検出されないことが明らかにされた。2) 最近、報告された WNV 遺伝子検出法 (TaqMan 法) の有用性についても検討した。現行セットと同様検出不能な lineage があることが明らかにされた。3) すべての lineage に対応可能な新規 TaqMan プライマー・プローブセットを開発した。[田島茂]

## 2) NS1 蛋白質を標的としたジカウイルス感染症迅速診断系の確立

ジカウイルス (Zika virus, ZIKV) はフラビウイルス科フラビウイルス属に分類され、1947 年に、黄熱研究のためにジカ森林公園で飼育されていたおとりザルから分離された。ZIKV 感染症が中南米で大規模流行し、妊娠女性が ZIKV に感染すると胎児における小頭症の原因となることが明らかにされた。2016 年に世界保健機関は中南米における ZIKV 感染症の大規模流行を「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」と宣言した。フラビウイルスの非構造蛋白質である NS1 は、DENV 感染症では発症後、血中に大量に分泌されることから迅速診断系の標的として用いられている。本研究では ZIKV 感染症において DENV と同様に ZIKV-NS1 が迅速診断系の標的になり得るか否かを検討した。ZIKV-NS1 遺伝子の 3 末

端側に FLAG タグが付加された ZIKV-NS1

(FLAG-ZIKV-NS1) を発現する哺乳類細胞発現ベクターを作製した。哺乳類細胞における FLAG-ZIKV-NS1 発現を、DENV および WNV の NS1 を発現する同ベクターをそれぞれ用いた時の発現と比較した。その結果、培養細胞上清における NS1 の分泌量は DENV-NS1 とほぼ同程度であり、ZIKV 感染症においても NS1 が迅速診断系の標的になり得ることが示唆された。[谷口怜, 谷ヶ崎和美, 加藤文博, 中山絵里, 高崎智彦, 田島茂, 西條政幸]

## 3) 抗ウエストナイルウイルスヒト型モノクローナル抗体の感染防御能の評価

日本脳炎ワクチン非接種者の末梢血単核球から、誘導し ISAAC (ImmunoSpot Array Assay on a Chip) 法により WNV に反応するヒト型モノクローナル抗体 3 種類を作製した。これらのヒト型モノクローナル抗体に関して、その中和抗体価およびマウスにおける防御能を評価した結果、WNV (NY 株) に対して有意な中和活性を示し、マウスを用いた受動免疫実験でも一定の防御効果を示した。それらの抗体に関してエピトープマッピングをした。

[高崎智彦, 中山絵里; 正木秀幸 (近畿大学医学部), 小澤龍彦, 岸裕幸, 村口篤 (富山大学大学院医学薬学研究部)]

## IV. トガウイルスに関する研究

### 1. チクングニアウイルスに関する研究

#### 1) 輸入患者から分離したチクングニアウイルスの系統樹解析

当研究室において 2006 年から 2016 年 3 月の間に 53 例の輸入チクングニア熱患者がウイルス学的に証明され、これらの患者から 12 株のチクングニアウイルス (Chikungunya virus, CHIKV) が分離された。CHIKV はアジア型、西アフリカ型、東・中央・南アフリカ (ECSA) 型の 3 つの遺伝子型に分類される。患者から分離された CHIKV の全遺伝子配列を次世代シーケンサーを使用して決定し、系統的に解析した。2013 年 12 月以降にチクングニア熱の流行が確認されているカリブ

海諸国からの3人の患者およびフィリピン、インドネシアからの6人の患者から分離された、計9株のCHIKVはすべてアジア型に分類された。スリランカ、マレーシアからの2人の患者から分離された3株のCHIKVはECSA型に分類された。また、2016年2月にキューバを訪問した患者から分離されたCHIKVは、カリブ海諸国で分離されているCHIKVと近縁であった。近隣諸国からCHIKVがキューバに侵入していることが示唆された。これまでキューバではCHIKVの国内流行の報告はなく、すでにキューバにCHIKV感染症が拡大していることが明らかにされた。[中山絵里、田島茂、谷口怜、柴崎謙一、高崎智彦]

## 2) チクングニアウイルス臨床分離株のマウスにおける病原性解析

野生型 C57BL/6 マウスを用いたチクングニア熱のマウスモデルについて報告されているが、私たちのこれまでの研究ではCHIKV臨床分離株は同マウスに対して病原性を示さなかった。そこで、マウスモデルを構築したオーストラリアのQIMR Berghofer Medical Research Institute の Andreas Suhrbier 博士の支援を得て、Suhrbier 博士の保有する2株のCHIKVをそれぞれマウスの足背部に皮下接種することでマウスに関節炎を発症させることができた。発症したマウスでは感染2日目にウイルス血症が最大となった。関節腫脹は感染6日目で最大となり、感染10日目には治癒することが確認された。また、接種するCHIKV株によってウイルス血症、関節の症状の程度に差があることも明らかにされた。今後、採取した組織におけるCHIKV感染症に関する組織学的・ウイルス学的解析を実施する。[中山絵里、高崎智彦；河合康洋（動物管理室）；高橋健太（感染病理部）]

## 3) チクングニアウイルスレプリコンの作製

CHIKVは約12kpの一本鎖+RNAウイルスである。その遺伝子には5'から非構造蛋白質、構造蛋白質がそれぞれ順にコードされている。翻訳された非構造蛋白質はウイルスおよび宿主の酵素によりプロセスされ、ウイルスの複製複合体を形成する。複製複合体の機能を解析することはその治

療法の開発につながる。CHIKVの非構造遺伝子領域を用いてレプリコンを作製することにより、CHIKVの複製複合体の機能解析が可能であることがこれまでに報告されている。そこでCHIKV遺伝子のうち、非構造蛋白質をコードする領域およびサブゲノミックプロモーター領域のクローニングを行い、レプリコンを作製した。[林昌宏、Guillermo Posadas Herrera、伊藤（高山）睦代、堀谷まどか、山口幸恵、垣内五月、塩田愛恵、高崎智彦、西條政幸]

## V. 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) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における3Rsの導入

ワクチン国家検定試験はワクチンの有効性および安全性を確認する目的で行われている。国家検定試験ではマウスやウサギ等の実験動物が使用されるものも多いが、近年動物を使用した国家検定試験を見直す動きが世界的に広がっている。狂犬病ワクチンの有効性を確認する力価試験はマウスの生死を指標としており、動物に与える苦痛が大きい。これまで私たちは動物が苦痛を感じると考えられる期間を短縮するため、体重または症状を指標とした人道的エンドポイント導入について検討してきた。その結果、人道的エンドポイントとして麻痺の症状を指標とするのが適当と考えられた。今年度の国家検定試験2ロット（ロットA、B）について全身麻痺を指標とした場合の苦痛軽減効果についても評価した。狂犬病ウイルスHEP-Flury株が接種されたマウスはウイルス接種4日目から症状を呈し始め、6.9から7.3日（平均7.1日）で全身麻痺の症状が観察され始めた。死亡する個体が最も多かったのは12日目（平均11.4日）だった。各ロットについて苦痛の軽減効果について解析したところ、動物が苦痛を感じる期間はロットAでは平均4.4日、ロットBでは平均4.3日短縮されることが明らかにされた。また、全身麻痺を示した個体は全て死亡したことから、人道的エンドポイントを導入した場合においても、試験結果には影響を与えな

- いことが示された。[伊藤（高山）睦代，林昌宏，西條政幸]
- 2) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン国家検定法における統計学的解析手法の検討
- 狂犬病ワクチン検定試験の力価試験成績の統計学的解析としてはReed-Muench法が用いられている。その他の統計学的解析手法のひとつとしてProbit法を用いた場合における解析結果について昨年度に続き検討したところ，両方法により算出されたワクチン力価に優位な差はなかった。[林昌宏，伊藤（高山）睦代，西條政幸]
- 3) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスに対するワクチン開発に関する研究
- 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いてアレナウイルスに分類されるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) に対するワクチンを開発し，マウス感染モデルを用いてその効果を解析をした。攻撃試験の再試験を2回実施したところ，それぞれ100%および83%の発症防御率であり，LCMVに対して免疫が誘導された。この成績は，開発された組換えウイルスがLCMVワクチンとして有用であること，また，非増殖性狂犬病ウイルスベクターがラッサウイルス (アレナウイルスに分類される) に対するワクチン開発に応用できる可能性を示唆する。[伊藤（高山）睦代，林昌宏，塩田愛恵，堀谷まどか，Guillermo Posadas Herrera，西條政幸]
- 4) 非増殖性狂犬病ウイルスベクターを用いた中東呼吸器症候群 (MERS) のワクチン開発
- 中東呼吸器症候群 (MERS) に対するワクチンは開発途上にある。本研究ではMERSコロナウイルス (MERS-CoV) のS蛋白質をP欠損狂犬病ウイルスベクターに発現させることにより，免疫原性の高い生ワクチンを作成することを目的とした。既に確立されているP遺伝子欠損非増殖型狂犬病ウイルスベクターの系を用いて，MERS-CoVのS蛋白質のS1ドメインを発現する組換え狂犬病ウイルスΔP-MS1を作成した。当該組換え狂犬病ウイルスにMERS CoV S1ドメインが挿入されていることは

RT-PCRにより確認された。今後，MERS-CoV S1ドメインが発現していることを蛍光抗体法およびウェスタンブロッティングを用いて確認し，そのワクチンとしての効果を解析する予定である。[飯塚愛恵，林昌宏，伊藤（高山）睦代，福士秀悦，堀谷まどか，Guillermo Posadas Herrera，西條政幸]

5) 狂犬病ウイルスP蛋白質の精製法の確立

狂犬病ウイルスのP蛋白質はL蛋白質とRNP複合体を形成し，ヌクレオキャプシドとL蛋白質の結合の仲介や，これ以外にもインターフェロンの作用を阻害するなど様々な役割を持っていることがわかってきているが，その機能についてはいまだ不明な点が多い。そこでP蛋白質の機能を解析するためにP蛋白質を発現する組換えバキュロウイルスを作製した。得られたP蛋白質に対する精製条件をHisタグカラム，陰イオンカラムおよび硫酸沈降法を用いて行い，その精製条件を確立した。今後P蛋白質の抗原性およびその性状を検討する。[林昌宏，堀谷まどか，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，垣内五月，西條政幸]

6) バキュロウイルス発現系を用いた狂犬病ウイルスG蛋白質の発現

狂犬病のG蛋白質 (RV-G) は防御免疫を誘導する主な蛋白質であり，中和抗体を誘導する唯一の蛋白質である。またRV-Gはこれまでに昆虫細胞発現系，大腸菌発現系，植物発現系等において可溶化および安定した三量体を形成することが難しいことが知られている。これまでにRV-Gの膜貫通領域 (TMD) を削除したトランケート型RV-GSおよび野生型RV-GLを発現するリコンビナントバキュロウイルスを作製し，低pH下においてRV-GSおよびRV-GLはそれぞれ膜融合活性を有することを示した。[林昌宏，Wouter van den Braak，堀谷まどか，伊藤（高山）睦代，山口幸恵，垣内五月，Guillermo Posadas Herrera，塩田愛恵，西條政幸]

2. JCポリオーマウイルスに関する研究

- 1) 脳脊髄液中JCウイルス検査による進行性多巣性白質脳症の診断支援および発生動向に関する臨床・疫学的解析

進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal

leukoencephalopathy, 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, JCウイルス (JC virus, JCV) によって引き起こされる.

PMLの診断には, 脳脊髄液(cerebrospinal fluid, CSF)中のJCV遺伝子DNAのPCRによる検出が有用である. 当研究室では2007年度より医療機関への診断支援およびPML実験室サーベイランスを目的として本検査を継続して受け入れた. 2007から2015度までに約1,500件の検査依頼に対応し, 約140名のCSF中 JCV-DNA陽性者を確認した. 被検者の情報をデータベースに登録し解析し, 近年では自己免疫疾患を有する患者におけるPML患者が増加していることが示唆された. また, PMLの診断や治療において臨床医と連携を取りながらPML症例の解析およびサーベイランスが実施された. [中道一生, 林昌宏, 西條政幸]

## 2) JCウイルス遺伝子の変異様式のin silico解析

JCVは多くの健常人において無症候性に持続感染しており, ウイルス遺伝子のDNA配列は終生にわたって安定している. 一方, PML患者の脳および脳脊髄液に出現するJCVでは, ウイルス遺伝子の調節領域に患者個人レベルの多様な変異が認められる. 本研究では, 高速演算によるシミュレーションによって調節領域に存在する短鎖DNA配列の頻度を解析し, 得られたデータを統計学的に解析した. PML患者において検出されるJCVの変異には一定の規則性が存在することが示唆された. [中道一生, 林昌宏, 西條政幸]

## 3) LAMP法を用いたPML患者の脳脊髄液中のJCV遺伝子検出法の診断における有用性の評価

LAMP法を用いて, CSF中のJCV遺伝子の検出および定量する迅速・簡便な検査法を開発し, その有用性を検討した. JCV検査のため全国の医療機関から送られてきたCSF (153検体) を用いてLAMP法を行ったところ, 反応あたり最少20コピー(3,000コピー/mL CSF)のJCV遺伝子が100%の率で検出された. TaqMan-リアルタイムPCR法と比較したところ, 感度は84% (42/50), 特異度は97% (100/103),  $\kappa$ 係数は0.83, 陽性的中率および陰性的中率はそれぞれ93%と93%であった. LAMP法で決定された

JCV遺伝子量は, リアルタイムPCR法によるそれと高い相関を呈した. LAMP法では, 他のポリオーマウイルス (BKV, SV40, MPyV) や脳炎を引き起こすウイルス (HSV1, VZV, measles virus, JEV, WNV), プロウイルス (HIV-1 subtype B & C) の遺伝子には非特異的な濁度の上昇を示さず, 交差反応を示さなかった. したがってLAMP法によるJCVの検出・定量は, PMLの診断や治療方針の指標に有用であり, 治療薬のモニタリング等に期待できると考えられた. [木下一美, 中道一生, 伊藤睦代, 塩田愛恵, 林昌宏, 西條政幸]

## VI. ヘルペスウイルスに関する研究

### 1. 単純ヘルペスウイルス (HSV) に関する研究

#### 1) 再活性化効率評価可能な組換えヘルペスウイルス作製系の構築

現行の組換えヘルペスウイルス作製系を用いて作製した組換えウイルスは, 野生株と比較して末梢感染時の病原性が低くなり, 再活性化効率の評価も困難となるため, これらを保持した組換えウイルス作製系が求められる. 昨年度, HSV-1 臨床株よりプラークの形状により複数のクローンを分離, 精製し, in vitro における表現型と中枢神経における病原性の評価を行った. 本年度はこれらのクローンについて末梢感染時の病原性評価を行い, 野生株と同程度であったクローンについて, 組換えヘルペスウイルス作製系の構築にあたり, その遺伝子内に EGFP/BAC 配列を挿入した. [藤井ひかる, 山田壮一, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸]

#### 2) HSV-1 臨床由来株の病原性評価と病原性低下要因の探索

昨年度, HSV-1 臨床株よりプラークの形状により複数のクローンを分離, 精製し, in vitro における表現型と中枢神経における病原性を評価した. 本年度はこれらのクローンについて末梢感染時の病原性を評価した. 更に, 末梢感染時に病原性が著しく低下していたクローンについて次世代シーケンス法を用いて, 病原性低下の原因を探索した. [藤井ひかる, 山田壮一, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸]

3) HSV-1 感染時における細胞周期制御機構に関与する新規ウイルス因子の探索

HSV-1 は培養細胞感染時にその細胞周期を G1/S 期や G2/M 期に停止させることが知られており、またこれに関与するウイルス因子についてもいくつか同定されている。しかし、既存の HSV-1 因子以外にも細胞周期を制御する HSV-1 因子の存在が示唆されている。そこで本研究においては細胞周期制御に関与する HSV-1 因子を新規に同定し、その制御機構を明らかにすることを目的とした。本年度は、昨年度作製した候補因子発現ベクターを 293T 細胞に導入した際の細胞周期の変化の観察を行うことで、候補因子を絞り込んだ。[藤井ひかる, 山田壮一, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸]

4) HSV-1 臨床サンプルにおける TK 遺伝子の variation 解析法の構築

造血幹細胞移植等による免疫抑制状態患者において、HSV-1 はしばしば重篤な症状を引き起こす。そのため、予防的にアシクロビル (ACV) をはじめとする抗ヘルペスウイルス薬投与がなされるが、長期にわたる抗ウイルス薬投与は薬剤耐性 HSV-1 の出現を誘導する。しかし、薬剤耐性 HSV-1 の出現および消失過程における解析はほとんどなされていない。そこで本研究では、HSV-1 患者から採取したサンプルを用いて、耐性獲得の原因遺伝子の一つであるチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子の変異の変遷を高感度に解析可能な系を構築した。本系はサンプル中に存在する 5~95% の variation を定量可能であり、またサンガー法では検出されなかった variation についても検出されることが明らかにされた。[藤井ひかる, 山田壮一, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸; 垣内五月 (東京大学)]

2. 水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) に関する研究

1) 弱毒生水痘ワクチン株弱毒化機序の解析

弱毒生水痘ワクチン株である vOka 株は、Oka 株 (pOka 株) をヒト及びモルモット由来細胞にて継代することにより弱毒化されたワクチンであり、有効性及び安全性が高いワクチン株として世界中で使用されている。しかしながら、その弱

毒化の機序は未だ詳細に明らかにされていない。一方、日本では最近になって、水痘ワクチンが定期接種化された。その有効性を評価する事業 (流行予測事業) が開始された。定期接種により水痘発症や重症化が減少することが考えられる一方で、break through 水痘の増加などが懸念される。そこで本研究では、水痘ワクチンの安定性及び有効性の根拠ともなるその弱毒化機序を明らかにすること及び有効性を評価すること (血清学的検査) や break through 水痘におけるワクチン株と野生株の判別等のサーベイランス検査の強化を図ることを目的とした。本年度は、ワクチン株遺伝子を次世代シーケンスにより解読し、既知の報告及び海外株との比較により弱毒化の原因となる遺伝子変異の詳細を解析した。既知の報告と異なる 16 塩基の変異 (遺伝子内変異 14, 内アミノ酸置換 10) が同定された。今後それらの変異の弱毒化への影響に関して解析する予定である。[山田壮一, 藤井ひかる, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸]

2) 薬剤耐性 VZV の迅速な診断系の開発

免疫抑制状態の水痘もしくは帯状疱疹患者の治療には抗ヘルペスウイルス薬であるアシクロビル (ACV) が用いられるが、長期投与はしばしば薬剤耐性ウイルスの出現を招く。薬剤耐性株出現時には、早期検出により、より有効な他の抗ウイルス薬に切り替えることが望まれる。薬剤治療に抵抗性を示す患者の病変から分離された水痘・帯状疱疹ウイルス (varicella-zoster virus, VZV) の ACV に対する感受性は半数阻害濃度測定により判定する方法が用いられてきた。しかし、VZV は細胞外へ放出されるウイルスが少ないため、病変からのウイルス分離率は 20-43% と低く、更に同一クローンを精製することも困難である。また、細胞変性効果が出るまでに一般的に数週間要することからも、同じ  $\alpha$  ヘルペスウイルス亜科に属する HSV-1 や HSV-2 と比較してウイルス分離による薬剤耐性の解析は困難である。近年、より迅速に薬剤耐性 VZV の診断を行う系として遺伝子型による判定法が用いられるようになった。しかし、本診断系は既知の薬剤耐性遺伝子型のデータベー

スに照合することで判定するため、報告がないものについて判定することができないという問題点がある。

本研究では、二つの方法を用いて VZV チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子変異に起因する VZV 薬剤耐性株の迅速な診断系の樹立を目指した。一つ目は、VZV-TK 遺伝子変異による薬剤耐性の獲得はその ACV リン酸化能消失に起因するため、試験管内で VZV-TK の ACV リン酸化能を定量化する系を構築し、これを指標とすることで迅速に薬剤耐性の診断可能な系を確立する。本年度は昨年度に引き続き、リン酸化能定量系の確立のために、*in vitro* における VZV-TK 発現系を構築した。二つ目は、網羅的に ACV 耐性獲得に重要な TK におけるアミノ酸変異を探索し、データベース化することで薬剤耐性 VZV の迅速な診断系の確立を目指す。方法としては、HSV-1-TK の代わりに VZV-TK を発現する HSV-1 キメラウイルスを作製し、これを薬剤存在下で増殖させることで薬剤耐性株を分離する。分離されたウイルスについて薬剤耐性の原因となった変異を同定し、耐性獲得に関与する変異のデータベースを作製する。本年度は HSV-1-TK の代わりに VZV-TK を発現する HSV-1 キメラウイルスを作製し、HSV-1-TK の欠損、VZV-TK の発現を感染細胞において確認した。また、キメラウイルスの薬剤感受性を評価した。[藤井ひかる, 山田壮一, 吉河智城, 原田志津子, 西條政幸; 大村夏美 (早稲田大学)]

### 3. その他のヘルペスウイルスに関する研究

#### 1) B ウイルス (MaHV-1) に関する研究

Macacine herpesvirus 1 (MaHV1, 通称 B ウイルス) は、アジア産マカク属のサルからヒトへと致死感染を起こすことから、サルを扱う実験従事者における安全性の確保が必要である。現在では、適切な実験時の安全管理、供給コロニーでの B ウイルス陽性サルの排除等により B ウイルス感染症患者報告は減少している。しかし、野生サルを含め高い割合で抗体陽性サルが存在しており、潜在的な脅威は残ったままである。本研究では、B ウイルス感染症に対する予防としてワクシニアウイルス LC16m8 に B ウイルス蛋白質を組み込んだ

ワクチンを開発する研究を開始した。本年度は、B ウイルスの膜糖蛋白である gD, gE, gI, gL, gG を PCR により B ウイルス遺伝子より調整及び gB, gH をオリゴ生成し、発現ベクター及び相同組換え用のベクターへのクローニングを試みた。gD に関して発現ベクター及びワクシニアベクターへの組み込み及び同蛋白質の発現を確認した。[山田壮一, 吉河智城, 藤井ひかる, 原田志津子, 西條政幸]

## Ⅶ. リケッチアに関する研究

### 1. リケッチア症対策の総合的研究

#### 1) リケッチア・レファレンスセンター活動に関する研究 (2015 年度)

国内のリケッチア症は、ベクターやリケッチアの種類により、地域特性が強い疾患であるため、リケッチア症の国内の広がりを考慮すると、いずれの地域でも同レベルで確実な検出技術を有することが望ましく、全国の横糸となるレファレンスセンターの地方衛生研究所を中心とした全国共通基盤構築を目指している。27 年度は、センター会議等においてリケッチア症の疫学、診断法情報のアップデートを継続した。[安藤秀二; 川森文彦 (静岡県環境衛生科学研究所); 佐藤寛子 (秋田県健康環境センター), 鈴木理恵 (福島県衛生研究所), 坂恭平 (青森県環境保健センター); 山本徳栄 (埼玉県衛生研究所); 長島真美 (東京都健康安全研究センター); 赤地重宏 (三重県保健環境研究所), 名古屋真由美, 滝澤剛則 (富山県衛生研究所); 寺杣文男 (和歌山県環境衛生研究センター); 近平雅嗣 (兵庫県健康生活科学研究所健康科学研究センター), 濱野雅子, 岸本寿男 (岡山県環境保健センター); 島津幸枝 (広島県立総合技術研究所保健環境センター); 松本道明 (高知県衛生研究所); 中堂園文子, 御供田睦代 (鹿児島県環境保健センター); 野町太朗 (宮崎県衛生環境研究所); 大橋典男 (静岡県立大学)]

#### 2) ダニ媒介性細菌感染症の疾患発生に係る地域特性把握のための野外調査 2015

千葉県, 鹿児島県の協力者を中心に, イノシシ,

シカ等の材料をそれぞれ数十検体確保するとともに、*Rickettsia* 属のスクリーニングを進めた。マダニは1,000を超える新規検体を確保、過去の未解析材料とともにスクリーニングを進めた。ヒゲナガチマダニから分離されていたリケッチアは、MLS解析から米国で患者が報告される *R. rickettsi* や *R. phillipii* のクラスターに属したことから、国内でさらに既知の病原リケッチア以外の種による患者発生の可能性がある。[安藤秀二; 藤田博己, 藤田信子 (馬原アカリ医学研究所); 平良雅克 (千葉県衛生研究所); 門馬直太 (福島県県北保健福祉事務所); 安藤匡子 (鹿児島大学)]

3) リケッチア症疑い患者における重症熱性血小板減少症候群の後方視的調査

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は SFTS ウイルス (SFTSV) によるマダニ媒介性感染症で、中国では 2011 年に、日本では 2013 年に初めて患者報告された。リケッチア症など他のダニ関連疾患を疑われた患者の中には SFTS 患者が含まれる可能性があり、過去に日本紅斑熱やつつが虫病が疑われた患者血清を用いて、SFTS 患者の後方視的調査を行った。患者 (1995~2012 年) 血清のべ 762 検体について ELISA 法にて SFTSV に対する抗体を測定、1 症例の血清が ELISA と間接蛍光抗体で SFTSV 抗体陽性を示した。急性期血清から SFTSV 遺伝子も検出された。当該患者は 2011 年の診察でダニ刺咬が認められ、発熱はあったが発疹は認められなかった。マダニ関連疾患を疑う患者ではリケッチア症等だけでなく、SFTS も鑑別診断に加える必要がある。[佐藤正明, 小川基彦, 福間藍子, 谷口玲, 谷英樹, 富士秀悦, 黒須剛, 下島昌幸, 安藤秀二, 西條政幸; 明石晋太郎 (国立病院機構浜田医療センター); 小川宏, 分山隆敏 (独立行政法人地域医療機能推進機構徳山中央病院)]

4) リケッチア属 LAMP 法の適用に関する検討

国内のリケッチア性疾患は多様で、感染症法では届け出られない関連疾患も散発している。輸入感染症も踏まえ全リケッチア種検出用に開発された LAMP 法について、プライマー設計当時未登

録で近年急速に登録数が増えたリケッチア種の全遺伝子情報とともに in silico 再解析を行った。また日本紅斑熱, African tick bite fever (ATBF), つつが虫病患者それぞれ数検体に適用したところ、つつが虫病患者材料は陰性の一方、日本紅斑熱と ATBF 患者材料から遺伝子増幅が可能であった。[安藤秀二, 佐藤正明, 小川基彦; 花岡希 (感染症疫学センター), 松谷峰之介, 白井睦訓 (山口大学医学部)]

2. リケッチア症基礎的研究

1) つつが虫病リケッチアのマクロファージ系細胞における増殖に関する研究

マウスマクロファージ系 Raw264.7 細胞における一酸化窒素 (NO) によるつつが虫病リケッチアの増殖促進効果に関する研究を行っている。これまでに、リケッチアは、感染後初期に、細胞質に逃れ NO や他の殺菌メカニズムを回避していることが示された。引き続き、マクロファージ内で細胞質に逃れたあと、殺菌に働くはずの NO が逆にリケッチアの増殖に関与しているメカニズムの解明を行っている。[小川基彦, 佐藤正明, 西條政幸, 安藤秀二]

2) プラーク形成法を用いた *R. japonica* 感染価測定系の確立と応用

*Rickettsia spp.* は細胞内寄生細菌であるので、*R. japonica* の感染価を測定するためのプラーク形成法を確立した。*R. japonica* 感染細胞の上清懸濁液を段階希釈し、L929 および Vero 細胞に接種し、0.5%メチルセルロース入りの培地で重層し培養した。接種後 7-8 日後クリスタルバイオレットやメチレンブルーを用いて細胞単層を染色することで、形成されたプラークが明瞭に観察された。この結果からこの系を用いて *R. japonica* 感染価を測定したり抗菌薬に対する感受性を簡便に調べたりすることが可能になった。[佐藤正明, 小川基彦, 西條政幸, 安藤秀二]

3) リケッチア感染症の病態解明のための実験学的解析

血清型により病原性も多様な *Orientia tsutsugamushi* (*O. tsutsugamushi*) を中心に、マウ

ス感染実験を行った。強毒型3株と弱毒2株、抗原性が大きく異なる Shimokoshi 型等を、KO と野生型マウスに接種した。強毒株接種 KO マウスにおいて観察期間終了を迎えずに人道的エンドポイントに達し、マウス系統と株の組み合わせにより、腹水貯留、サイトカイン産生に差があり、弱毒株2株間でもサイトカイン産生等に差があった。Shimokoshi 型では KO マウスに体重減少が見られたもののそれは一過性で、観察期間の接種2週間後には野生型マウス血中から *O. tsutsugamushi* は完全にクリアされた。[安藤秀二；安藤匡子（鹿児島大学）；松村隆之，阿戸学（免疫部）]

#### 4) つつが虫病リケッチア感染細胞を抗原とした ELISA 法の開発

結果判定がより客観的なつつが虫の血清診断法の開発を目指し、感染細胞を抗原とした ELISA 法の開発を検討した。間接蛍光抗体法 (IF) と比較し評価を行ったところ、カットオフ値が平均+3×標準偏差のとき、感度および特異性ともに良い結果が得られた。また、血清診断基準を IgM > 平均+3×標準偏差 and/or ペア血清で4倍以上の抗体価の上昇と定めると、患者すべてが陽性と診断された。さらに、陰性血清や他のリケッチア患者の血清との反応についても解析を行っており、詳細な検討を行っている。[小川基彦，佐藤正明，西條政幸，安藤秀二]

#### 5) 組換え発現リケッチア抗原蛋白質の作製と臨床応用への試み

日本のリケッチア症は、主に日本紅斑熱とつつが虫病で、感染症法の四類感染症に属し、診断後直ちに届出が必要な疾病である。これらの疾病対策における診断法の一つが患者血清を用いた血清診断法である。本研究では病原体を扱うことなく *Rickettsia spp.* の遺伝子 DNA をもとに特定の部位について組換え発現蛋白質を作製することで、よりの確なりケッチア症の早期血清診断の実現を目指した。菌体表面に存在するとされている既報の蛋白質 GroEL (シャペロニン蛋白質全長)、外膜蛋白質である Partial rOmpA (C 末端から 503 アミノ酸) のおよび rOmpB (全長) について 6xHis

融合蛋白質を作製した。GroEL と rOmpB は *R. japonica* 菌体で免疫した抗血清に反応した。[佐藤正明，小川基彦，西條政幸，安藤秀二]

#### 6) エーリキア属の探索

マダニ関連疾患では原因不明となる症例は多い。その対象疾患として、国内状況が不明なエーリキア属の検討を開始した。ヤマトマダニ約 200 匹に対して、エーリキア属標的の PCR, Realtime PCR を行った。20 件の検体が陽性、陽性ヤマトマダニ 5 検体をマウスに接種することにより、1 株の *Candidatus Ehrlichia ovata* が分離された。本菌は実験動物マウスに急性の致死的病態を示すことが報告されていた。今後、分離株を増やすことを試みるとともに、マウスでしか安定的に維持できないことから、検査系開発のため *in vitro* での順化条件の検討を開始した。[安藤秀二；平良雅克(千葉県衛生研究所)；藤田博己(馬原アカリ医学研究所)，角坂照貴(愛知医科大学)]

### 3. その他の研究

#### 1) バイオセーフティに関する研究 (感染性物質輸送におけるヒヤリハット事例収集とリスク評価)

臨床検体を含む感染性物質は、現在、一定条件の梱包等をクリアしたものだけが限られた輸送業者により移動可能である。しかし実態は、必ずしも適切な梱包や輸送業者によって行われているとはいえない。事例を示した。バイオリスクを考える際、実験室、施設の管理運営ばかり目が行きがちであるが、感染性物質の専門家ではない者がかわる輸送では、包装容器の使用法はじめ、感染性物質が安全・確実に輸送されることが、医療・医学等の社会的信頼に繋がる。そのためには、医学部等、将来これらの分野にかかわる者の基礎レベルでの教育導入が必須である。[安藤秀二]

### レファレンス業務

#### 1. 行政検査

##### 1) SFTS に対する行政検査

72 件の SFTS に関する行政検査が実施された。[下島昌幸，谷口怜，谷英樹，黒須剛，福士秀悦，福間藍子，緒方もも子，西條政幸]

##### 2) エボラ出血熱に対する行政検査



3 件のエボラ出血熱に関する行政検査が実施された。[下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 黒須剛, 福士秀悦, 福間藍子, 緒方もも子, 西條政幸]

3) ラッサ熱に対する行政検査

1 件のラッサ熱に関する行政検査が実施された。

[下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 黒須剛, 福士秀悦, 福間藍子, 緒方もも子, 西條政幸]

4) ヘルペスウイルス感染症に関する行政検査

HSV 及び VZV に関する行政検査をそれぞれ 1 件ずつ計 2 件が実施された。[山田壮一, 吉河智城, 藤井ひかる, 原田志津子, 西條政幸]

5) ヘルペスウイルス検査コントロール DNA 配布

HSV-1, VZV 及び HHV-6A, 6B, 7 の検査に用いるコントロール DNA を要望のあった地方衛生研究所に配布した。[山田壮一, 吉河智城, 藤井ひかる, 原田志津子, 西條政幸]

2. その他のレファランス業務

1) HSV-1, HCMV 及び VZV の検査

HSV-1, HCMV 及び VZV 感染症に関するウイルス学的検査が, それぞれ 3 検体, 2 検体及び 1 検体実施された。[山田壮一, 津田美穂子, 福井良子, 西條政幸]

2) ジカウイルス検査キット, 試薬の配布

全国 79 地方衛生研究所に, ジカウイルス IgM 抗体検出システムおよびジカウイルス遺伝子検出試薬を配布した。[高崎智彦, 田島茂, 中山絵里, 谷口怜]

3) リケッチア臨床分離株の収集および標準抗原の分与

リケッチア関連の臨床分離株の収集を行うとともに, レファレンスセンターに血清診断用標準抗原, 標準株を配布した。[安藤秀二]

サーベイランス業務

1. リケッチアならびにクラミジアに関する検査業務

リケッチアならびにクラミジアに関する病原体診断と血清診断を, 行政検査依頼以外にも, リケッチア症(つつが虫病, 日本紅斑熱を含む紅斑熱群リケッチア症, 発疹チフス群リケッチア症等輸

入患者も含む), オウム病, Q 熱の疑い患者, また, 不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬患者のリケッチア症との関連について多数検討された。[安藤秀二]

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

中間段階 1 ロットの痘そうワクチンの国家検定が実施され合格と判定された。[福士秀悦, 谷英樹, 谷口怜, 黒須剛, 緒方もも子, 下島昌幸, 西條政幸]

2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

2015 年度は 38 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定が実施され, 38 ロットすべてが合格と判定された。[田島茂, 中山絵里, 谷口怜, 池田真紀子, 谷ヶ崎和美, 伊藤睦代, 林昌宏, 中道一生, 高崎智彦, 西條政幸]

3. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

2015 年度は, 2 ロット (RB24, RB25) 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) が実施され, 合格と判定された。[伊藤 (高山) 睦代, 林昌宏, 佐藤正明, 堀谷まどか, 塩田愛恵, Guillermo Posadas Herrera, 西條政幸]

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ウイルス (ラビピュール筋注用) 承認前試験

乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン (ラビピュール筋注用) の承認前試験 (不活化試験および力価試験) が実施された。[伊藤 (高山) 睦代, 林昌宏, 佐藤正明, 堀谷まどか, 塩田愛恵, Guillermo Posadas Herrera, 西條政幸]

5. 水痘ワクチンの検定

乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定 34 ロット及び水痘抗原国家検定 1 ロットが実施され, 全ロットとも合格と判定された。[原田志津子, 山田壮一, 吉河智城, 藤井ひかる, 福井良子, 西條政幸]

6. 体外診断薬の承認前試験

クラミジア・トラコマティス体外診断薬の承認前試験 1 件が実施された。また, *in silico* 解析と標的遺伝子領域のみ組み込んだプラスミドによって

評価された申請品について問題提起するとともに、体外診断薬実務者ワーキンググループにおいて、今後の承認前試験に関する取り組みに方について議論した。[安藤秀二]

もに現地野外視察を行い、一部マダニ採集を試みた。[安藤秀二（ウイルス第一部）、川端寛樹（細菌第一部）、大橋典男（静岡県立大学）]

## 国際協力関係業務

### 1. インドにおけるウイルス感染症に対する鑑別診断法の精度向上

AMED 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業「インドにおける高品質迅速診断キットの普及によるデングウイルス、チクングニアウイルス及びインフルエンザウイルスなどのウイルス感染症に対する鑑別診断法の精度向上」において、インド人2名（Shilpee Kumar 氏と Jaspreet Jain 氏）を2016年1月16日から3月6日まで研修生として受け入れた。また Rajni Gaind 氏と Sujatha Sunil 氏を2016年2月20日から2月23日まで招へいし、研究内容・方針について打合せした。[黒須剛，西條政幸]

### 2. フィリピンにおけるレストンエボラウイルスの流行調査

フィリピン RITM によるフィリピン国内のサルにおけるレストンエボラウイルスの流行状況の調査をサポートするため、同施設を訪問し病原体あるいは抗体検出について技術支援した。[富士秀悦，谷口怜，下島昌幸]

### 3. JICA 国際技術研修会への参画

2106年2月1日 JICA 国際研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において感染研村山庁舎を訪れたアジア諸国のワクチン関係者に対して、日本の狂犬病ワクチンについて講義するとともに、不活化試験に用いられる蛍光抗体法を実習指導をした。[林昌宏，伊藤（高山）睦代，佐藤正明，堀谷まどか，塩田愛恵，Guillermo Posadas Herrera；塩田智之（ウイルス第2部）]

### 4. 内モンゴル河套学院（Hetao College）への技術支援

河套学院（Hetao College）におけるダニ媒介感染症研究室の立ち上げ支援のため、セミナー参加とダニ媒介性人獣共通感染症に関して研究打ち合わせした。あわせて河套学院と協力関係のある Bayannur CDC, Inner Mongolia CDC スタッフと情報交換と

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Ramadhany R, Hirai I, Sasaki T, Ono K, Ramasoota P, Ikuta K, Kurosu T. Antibody with an engineered Fc region as a therapeutic agent against dengue virus infection. *Antiviral Res* 124:61-68, 2015
- 2) Kurosu T. The current situation of dengue research. *Juntendo Med J* 61:407-412, 2015
- 3) Okabayashi T, Sasaki T, Masrinoul P, Chantawat N, Yoksan S, Nitatpattana N, Chusri S, Morales Vargas RE, Grandadam M, Brey PT, Soegijanto S, Mulyantno KC, Churrotin S, Kotaki T, Faye O, Faye O, Sow A, Sall AA, Puiprom O, Chaichana P, Kurosu T, Kato S, Kosaka M, Ramasoota P, Ikuta K. Detection of chikungunya virus antigen by a novel rapid immunochromatographic test. *J Clin Microbiol* 53:382-388, 2015
- 4) Phanthanawiboon S, Limkittikul K, Sakai Y, Takakura N, Saijo M, Kurosu T. Acute systemic infection with dengue virus leads to vascular leakage and death through tumor necrosis factor- $\alpha$  and Tie2/Angiopoietin signaling in mice lacking type I and II interferon receptors. *PLoS One* 11(2):e0148564, 2016
- 5) Kaneyuki S, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Taniguchi S, Fukuma A, Shimojima M, Kurosu T, Morikawa S, Saijo M. Ulcerative lesions with hemorrhage in a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome observed via upper gastrointestinal endoscopy. *Jpn J Infect Dis* (in press, 2015)
- 6) Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H,

- Nagata N. No susceptibility of neonatal and adult rats against the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Jpn J Infect Dis* (in press, 2016)
- 7) Fukuma A, Fukushi S, Yoshikawa T, Tani H, Taniguchi S, Kurosu T, Egawa K, Suda Y, Singh H, Nomachi T, Gokuden M, Ando K, Kida K, Kan M, Kato N, Yoshikawa A, Kitamoto H, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Morikawa S, Shimojima M, Saijo M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus antigen detection using monoclonal antibodies to the nucleocapsid protein. *PLoS Negl Trop Dis* 10(4):e0004595, 2016
  - 8) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Shimojima M, Watanabe H, Saijo M. Efficacy of T-705 (favipiravir) in the treatment of infections with lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *mSphere*1(1). pii: e00061-15, 2016
  - 9) Singh H, Shimojima M, Ngoc TC, Quoc Huy NV, Chuong TX, Le Van A, Saijo M, Yang M, Sugamata M. Serological evidence of human infection with Pteropine orthoreovirus in Central Vietnam. *J Med Virol* 87(12):2145-2148, 2015
  - 10) Singh H, Morioka K, Shimojima M, Van An L, Nakajima H, Hemmi A, Uchiyama K, Loong SK, AbuBakar S, Yang M, Sugamata M. A handy field portable ELISA-system for rapid onsite diagnosis of infectious diseases. *Jpn J Infect Dis* (in press, 2015)
  - 11) Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Saijo M. Combination effects of ribavirin and interferons on severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. *Virol J* 12:181, 2015
  - 12) Singh H, Yoshikawa T, Kobayashi T, Fukushi S, Tani H, Taniguchi S, Fukuma A, Yang M, Sugamata M, Shimojima M, Saijo M. Rapid whole genome sequencing of Miyazaki-Bali/2007 pteropine orthoreovirus by modified rolling circular amplification with adaptor ligation – next generation sequencing. *Sci Rep* 5:16517, 2015
  - 13) Fukuma A, Tani H, Taniguchi S, Shimojima M, Saijo M, Fukushi S. Inability of rat DPP4 to allow MERS-CoV infection revealed by using a VSV pseudotype bearing truncated MERS-CoV spike protein. *Arch Virol* 160(9):2293-2300, 2015
  - 14) Shinohara N, Matsumoto C, Chatani M, Uchida S, Yoshikawa T, Shimojima M, Satake M, Tadokoro K. Efficacy of the Mirasol pathogen reduction technology system against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV). *Vox Sang* (109):417-419, 2015)
  - 15) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Le Van A, Sugamata M, Yang M. Increased sensitivity of 3D-Well enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for infectious disease detection using 3D-printing fabrication technology. *Biomed Mater Eng Suppl* 1:S45-53, 2015
  - 16) Singh H, Shimojima M, Shiratori T, An le V, Sugamata M, Yang M. Application of 3D printing technology in increasing the diagnostic performance of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for infectious diseases. *Sensors (Basel)* 15(7):16503-165015, 2015
  - 17) Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Singh H, Suda Y, Shirabe K, Toda S, Shimazu Y, Nomachi T, Gokuden M, Morimitsu T, Ando K, Yoshikawa A, Kan M, Uramoto M, Osako H, Kida K, Takimoto H, Kitamoto H, Terasoma F, Honda A, Maeda K, Takahashi T, Yamagishi T, Oishi K, Morikawa S, Saijo M. Phylogenetic and

- geographic relationships of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in China, South Korea, and Japan. *J Infect Dis* 212(6):889-898, 2015
- 18) Tajima S, Nakayama E, Kotaki A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Saito Y, Shibasaki K, Saijo M, Takasaki T. Whole genome sequencing-based molecular epidemiologic analysis of autochthonous dengue virus type 1 strains circulating in Japan in 2014. *Jpn J Infect Dis* (in press, 2016)
- 19) Kato F, Ishida Y, Oishi S, Fujii N, Watanabe S, Vasudevan SG, Tajima S, Takasaki T, Suzuki Y, Ichiyama K, Yamamoto N, Yoshii K, Takashima I, Kobayashi T, Miura T, Igarashi T, Hishiki T. Novel antiviral activity of bromocriptine against dengue virus replication. *Antiviral Res* 12:141-147, 2016
- 20) Imai K, Nakayama E, Maeda T, Mikita K, Kobayashi Y, Mitarai A, Honma Y, Miyake S, Kaku K, Miyahira Y, Kawana A. Chikungunya fever in Japan imported from the Caribbean islands. *Jpn J Infect Dis* (in press, 2016)
- 21) Tajima S, Yagasaki K, Kotaki A, Tomikawa T, Nakayama E, Moi ML, Lim CK, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. In vitro growth, pathogenicity, and serological characteristics of the Japanese encephalitis virus genotype V Muar strain. *J Gen Virol* 96(9):2661-2669, 2015
- 22) Sano Y, Nakano Y, Omoto M, Takao M, Ikeda E, Oga A, Nakamichi K, Saijo M, Maoka T, Sano H, Kawai M, Kanda T. Rituximab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy derived from non-Hodgkin lymphoma: neuropathological findings and results of mefloquine treatment. *Intern Med* 54(8):965-970, 2015.
- 23) Nukuzuma S, Sugiura S, Nakamichi K, Kameoka M, Nukuzuma C, Tasaki T, Takegami T. Replication of IMR-32-adapted JC virus clones in human embryonic kidney cells. *Microbiol Immunol* 59(4):238-242, 2015
- 24) Yoshida T, Kawamoto M, Togo M, Kohara N, Ito T, Nakamichi K, Saijo M, Mizuno T. Progressive multifocal leukoencephalopathy developing after liver transplantation showing marked neurological symptom improvement and arrest of further deterioration of imaging findings: A case report. *J Neurological Sci* 359(1-2):1-3, 2015.
- 25) Ejiri H, Lim CK, Isawa H, Kuwata R, Kobayashi D, Yamaguchi Y, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Kakiuchi S, Horiya M, Kotaki A, Takasaki T, Maeda K, Hayashi T, Sasaki T, Kobayashi M, Saijo M, Sawabe K. Genetic and biological characterization of Muko virus, a new distinct member of the species Great Island virus (genus Orbivirus, family Reoviridae), isolated from ixodid ticks in Japan. *Arch Virol* 160(12):2965-2977, 2015
- 26) Moi ML, Ami Y, Shirai K, Lim CK, Suzaki Y, Saito Y, Kitaura K, Saijo M, Suzuki R, Kurane I, Takasaki T. Formation of infectious dengue virus-antibody immune complex in vivo in marmosets (*Callithrix jacchus*) after passive transfer of anti-dengue virus monoclonal antibodies and infection with dengue virus. *Am J Trop Med Hyg* 92(2):370-376, 2015
- 27) Takajo I, Sekizuka T, Fujita H, Kawano A, Kawaguchi T, Matsuda M, Kubo K, Miyauchi S, Umekita K, Nagatomo Y, Kuroda M, Takasaki T, Okayama A, Ando S. Possible case of novel spotted fever group rickettsiosis in a Japanese traveler returning from India. *Emerg Infect Dis* (in press, 2015)
- 28) Oba M, Omatsu T, Takano A, Kawabata H, Ando S, Mizutani T. A Novel bunyavirus from the doft tick, *Argas vespertilionis*, in Japan. *J Vet Med Sci* 78:443-445, 2016

- 29) Toyomane K, Konnai S, Niwa A, Githaka WN, Isezaki M, Yamada S, Ito T, Takano A, Ando S, Kawabata H, Murata S, Ohashi K. Identification and the preliminary in vitro characterization of IRIS homologue from salivary glands of *Ixodes persulcatus* Schulze. *Ticks Tick Borne Dis* 7:119-125, 2016
- 30) Andoh M, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Fujita H, Une Y, Goka K, Kishimoto T, Ando S. Detection of *Rickettsia* and *Ehrlichia* spp. in Ticks Associated with Exotic Reptiles and Amphibians Imported into Japan. *PLoS One* 10(7):e0133700, 2015
- 31) Shinohara K, Kutsuna S, Takasaki T, Moi ML, Ikeda M, Kotaki A, Yamamoto K, Fujiya Y, Mawatari M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Kato Y, Ohmagari N. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines. *J Travel Med* 23(1): pii: tav011, 2016
- 32) Pok KY, Squires RC, Tan LK, Takasaki T, Abubakar S, Hasebe F, Partridge J, Lee CK, Lo J, Aaskov J, Ng LC, Konings F. First round of external quality assessment of dengue diagnostics in the WHO Western Pacific Region, 2013. *Western Pac Surveill Response J* 6(2):73-81, 2015
- 33) Hayakawa K, Takasaki T, Tsunemine H, Kanagawa S, Kutsuna S, Takeshita N, Mawatari M, Fujiya Y, Yamamoto K, Ohmagari N, Kato Y. Persistent seropositivity for yellow fever in a previously vaccinated autologous hematopoietic stem cell transplantation recipient. *Int J Infect Dis* 37:9-10, 2015
- 34) Sato R, Hamada N, Kashiwagi T, Imamura Y, Hara K, Nishimura M, Kamimura T, Takasaki T, Watanabe H, Koga T. Dengue hemorrhagic fever in a Japanese traveler with pre-existing Japanese encephalitis virus antibody. *Trop Med Health* 43(2):85-88, 2015
- 35) Saito Y, Moi ML, Kotaki A, Ikeda M, Tajima S, Shiba H, Hosono K, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Detecting dengue virus nonstructural protein 1 (NS1) in urine samples using ELISA for the diagnosis of dengue virus infection. *Jpn J Infect Dis* 68(6):455-460, 2015
- 36) Hoshino K, Isawa H, Kuwata R, Tajima S, Takasaki T, Iwabuchi K, Sawabe K, Kobayashi M, Sasaki T. Establishment and characterization of two new cell lines from the mosquito *Armigeres subalbatus* (Coquillett) (Diptera: Culicidae). *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 51(7):672-679, 2015
- 37) Kutsuna S, Kato Y, Moi ML, Kotaki A, Ota M, Shinohara K, Kobayashi T, Yamamoto K, Fujiya Y, Mawatari M, Sato T, Kunimatsu J, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Takasaki T, Ohmagari N. Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan, 2014. *Emerg Infect Dis* 21(3):517-520, 2015
- 38) Moi ML, Honma Y, Mori S, Kuze T, Kanekawa M, Isoda T, Moriwaki N, Hosogai T, Kotaki A, Kurane I, Saijo M, Miyake S, Takasaki T. Virological confirmation of concurrent dengue virus serotypes 1 and 4 by virus isolation using Fc-gamma receptor-expressing BHK cells. *Int J Infect Dis* 33:177-178, 2015
- 39) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Hayasaka D, Sato Y, Kojima A, Kariwa H, Takashima I, Takasaki T, Kurane I, Sata T, Hasegawa H. The pathogenesis of 3 neurotropic flaviviruses in a mouse model depends on the route of neuroinvasion after viremia. *J Neuropathol Exp Neurol* 74:250-260, 2015
- 40) Kitao A, Ieki R, Takatsu H, Tachibana Y, Nagae M, Hino T, Nakaji H, Shimojima M, Saijo M, Okayama M, Kenzaka T. Severe fever with thrombocytopenia syndrome presenting as hemophagocytic syndrome: two case reports. *Springerplus*. 22:5:361, 2016

- 41) Kawagishi T, Kanai Y, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. Reverse genetics for fusogenic bat-borne orthoreovirus associated with acute respiratory tract infections in Humans: Role of outer capsid protein  $\sigma C$  in viral replication and pathogenesis. *PLoS Pathog* 12(2):e1005455, 2016
- 42) Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. No susceptibility of neonatal and adult rats against the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Jpn J Infect Dis* (in press, 2016)
2. 和文発表
- 1) 西條政幸. 社会のあり方とウイルス感染症(総論). *臨床とウイルス* 44(1):5-10, 2016
- 2) 西條政幸. 環境の変化とウイルス感染症:緒言. *臨床とウイルス* 44(1):3-4, 2016
- 3) 西條政幸. 高病原性病原体の感染が疑われる患者の検査 ウイルス性出血熱. *Medical Technology* 43(13):1442-1449, 2015
- 4) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群. *血液内科* 71(3):371-375, 2015
- 5) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS) - マダニが媒介するウイルス感染症. *実験医学* 33(17):2708-2713, 2015
- 6) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群と日本におけるその流行状況. *Medical Science Digest* 41(12):435-438, 2015
- 7) 西條政幸. 新興・再興ウイルス感染症 -SFTS, MERS および EVD-. *現代化学* 534:18-21, 2015
- 8) 西條政幸. マダニが媒介する新しい感染症 -重症熱性血小板減少症候群-. *MB Derma* 233:55-62, 2015
- 9) 西條政幸. ウイルス性出血熱 エボラウイルス病およびその他. *感染・炎症・免疫* 45(1):2-9, 2015
- 10) 西條政幸, 森田公一. エボラウイルス病の国内対策: BSL-4 施設の必要性. *ウイルス* 65(1):89-94, 2015
- 11) 高崎智彦. 国内で発生したデング熱流行2014年. *ウイルス* 65(1):115-118, 2015
- 12) 日谷明裕, 山谷和花, 党雅子, 叶一乃, 本田なつ絵, 高崎智彦, 春木宏介. デング熱罹患後にうつ状態が遷延化し脱毛を伴った1例. *感染症学雑誌* 89(2):279-282, 2015
- 13) 下島昌幸. 一類感染症へのわが国の対策とBSL-4施設の必要性. 感染症いま何が起きているのか. *実験医学増刊(羊土社)* 33(17): 2857-2860, 2015
- 14) 西條政幸. 序-国境を越える重症新興・再興感染症-. 化学療法の領域(特集・国境を越える重症新興・再興感染症)(*医薬ジャーナル社*. 31(6):1246-1247, 2015
- 15) 下島昌幸. 西アフリカにおけるエボラ出血熱の流行の背景と対策. 化学療法の領域(特集・国境を越える重症新興・再興感染症)(*医薬ジャーナル社*. 31(6):1254-1258, 2015
- 16) 西條政幸. 常時警戒すべき輸入感染症 -日本において監視されるべき輸入感染症-. 化学療法の領域(特集・国境を越える重症新興・再興感染症)(*医薬ジャーナル社*. 31(6):1246-1247, 2015
- 17) 西條政幸. 【エボラ出血熱とマールブルグ病】疫学と感染症対策のあり方. *医学のあゆみ(感染症最前線とグローバル・ヘルス, 医歯薬出版株式会社)* 253:19-25, 2015
- 18) 須田遊人, 下島昌幸. クリミア・コンゴ出血熱-治療法, 予防法, 診断法の展望. *医学のあゆみ(感染症最前線とグローバル・ヘルス, 医歯薬出版株式会社)* 253:31-35, 2015
- 19) 黒須剛, 西條政幸. エボラウイルス, エボラウイルス病とは. *IASR* 36:96, 2015.
- 20) 福間藍子, 西條政幸. エボラウイルスの分子疫学的解析. *IASR* 36:100-101, 2015
- 21) 谷英樹, 西條政幸. エボラワクチン, 治療薬の開発状況. *IASR* 36:101-103, 2015
- 22) 福士秀悦. エボラ出血熱:感染研の検査対応. *IASR* 36:109-111, 2015
- 23) 吉河智城, 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 西條政幸, 大石和徳, 森川茂. 国内で確認された株を含む SFTS ウイルスの分子系統学的解析. *IASR* 37:44-45, 2016

- 24) 福間藍子, 吉河智城, 福士秀悦, 下島昌幸, 西條政幸. SFTSV 定量的リアルタイム RT-PCR 法と, SFTS 患者のウイルス量と予後の関係性について IASR 37:45-47, 2016
- 25) 下島昌幸. 中国・韓国における SFTS 流行状況: 更新情報. IASR 37:47-48, 2016
- 26) 谷英樹. 抗 SFTS ウイルス薬開発の進捗状況. IASR 37:49-50, 2016
- 27) 福士秀悦. SFTS 以外の新規ダニ媒介性ウイルス感染症について. IASR 37:53-54, 2016
- 28) 田島茂. Advanced Communication. ワクチンジャーナル 3: 32, 2015
- 29) 中山絵里, 西條政幸. エボラウイルス感染症. Surgery Frontier. 22(3):44-49, 2015.
- 30) 中山絵里, 西條政幸. エボラウイルス感染症: 疫学, 臨床, 治療薬・ワクチン開発. Infection Front 34:5-7, 2015
- 31) 中山絵里, 高崎智彦. デング熱. 化学療法の領域 31(6): 1268-1274, 2015
- 32) 中山絵里, 高崎智彦. チクングニア熱. 臨床と微生物 42(3): 243-247, 2015
- 33) 伊崎祥子, 田中覚, 田島孝士, 中道一生, 西條政幸, 野村恭一. 特発性 CD4+リンパ球減少症の関連が示唆された小脳・脳幹型進行性多巣性白質脳症の 1 例. 臨床神経学 55(5):345-348, 2015
- 34) 林昌宏. チクングニア熱の流行域の拡大. 化学療法の領域 31(6):1276-1282, 2015
- 35) 林昌宏. 致死的な人獣共通感染症である狂犬病. 日本医事新報 4749:49, 2015
- 36) 森川茂, 木村昌伸, 朴ウンシル, 今岡浩一, 宇田晶彦, 堀田明豊, 藤田 修, 古山裕樹, 加来義浩, 澤辺京子, 川端寛樹, 安藤秀二, 西條政幸, 前田健, 鎌田龍生, 下田宙, 高野愛, 藤田博己, 高田伸弘. SFTS ウイルスの国内分布調査 (第三報). IASR 37: 50-51, 2016
- 37) 安藤秀二. つつが虫病, 木村哲・喜田宏編 人獣共通感染症 第3版, p192-196, 医薬ジャーナル社, 大阪, 2016年2月
- 38) 瀧口純司, 置村健二郎, 石井真梨子, 岡村佳代子, 坂本浩一, 稲本真也, 安藤秀二. 神戸市内で発生し呼吸不全を伴った重症日本紅斑熱の一例. 感染症学会誌, 90:120-124, 2015
- 39) 角坂照貴, 安藤秀二. 病気を起こすダニ@ツツガムシ, 島野智之, 高久元編 ダニの話し, p43-52, 朝倉書店, 東京, 2016年1月
- 40) 安藤秀二. チフス群リケッチア症, 岡部信彦編集代表, 感染症予防必携第3版, p573-576, 日本公衆衛生協会, 東京, 2015年6月

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Taniguchi S, Fukuma A, Morikawa S, Saijo M. Analyses of cell entry and fusion mechanisms of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. XVIth International Conference on Negative Strand Viruses. Italy, 14-19 June 2015
- 2) Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Tani H, Yoshikawa T, Suzuki T, Hasegawa H, Morikawa S, Shimojima M, Saijo M. Development of nucleocapsid protein monoclonal antibody based antigen-capture ELISA for detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. XVIth International Conference on Negative Strand Viruses. Italy, 14-19 June 2015
- 3) Sakata M, Tani H, Otsuki N, Okamoto K, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y: Analysis of susceptibility of a variety of human cell lines to rubella virus. 4th Measles-Rubella Mini Symposium. Georgia USA, October 6-7, 2015.
- 4) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Komeno T, Furuta Y, Shimojima M, Saijo M. Efficacy of favipiravir in the treatment of lethal severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. 18th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID). USA, January 13-14,

2016.

- 5) Ando S, Hanaoka N: Rapid and High Sensitivity Detection Assay, Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) System, for Rickettsia spp. ESCCAR2015 International Congress on Rickettsia and other Intracellular Bacteria, Lausanne, Switzerland, June 13-16, 2015
- 6) Saijo M. Clinical and virological aspects of SFTS in Japan: what we have studied and what we should study. The 9th Japan-China-Korea forum on communicable disease control and prevention (第9回日中韓感染症シンポジウム), Kyoto, November 2015

## 2. 国内学会

- 1) 田島茂. 日本脳炎ウイルス遺伝子型V型 Muar 株の性状解析. 第50回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 京都, 2015年5月
- 2) 池田淳司, 松嶋聡, 小平農, 石井亘, 関島良樹, 高橋健太, 長谷川秀樹, 中道一生, 西條政幸, 池田修一. 髄液 JCV-PCR 陰性で脳生検で確定診断した進行性多巣性白質脳症 2 症例の検討. 第56回日本神経学会学術集会, 新潟, 2015年5月
- 3) 三浦義治, 岸田修二, 中道一生, 西條政幸, 三條伸夫, 雪竹基弘, 浜口毅, 水澤英洋, 山田正仁. 本邦発症の進行性多巣性白質脳症に関する疫学調査と塩酸メフロキンの効果に関する検討. 第56回日本神経学会学術集会, 新潟, 2015年5月
- 4) 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 谷口怜, 福間藍子, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する ribavirin および interferon の in vitro 併用効果. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 東京, 2015年5月
- 5) 谷英樹, 福士秀悦, 福間藍子, 谷口怜, 吉河智城, 宇田晶彦, 森川茂, 古田要介, 米納孝, 下島昌幸, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルス増殖におけるファビピラビル(T-705)の抑制効果. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 東京, 2015年5月
- 6) 江川和孝, 下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 福間藍子, 吉河智城, 福士秀悦, 西條政幸: プテロパインオルソレオウイルスに対するリバビリンの増殖抑制効果の検討. 第25回抗ウイルス療法学会総会, 東京, 2015年5月
- 7) 安藤秀二. 仙台市内で発生した *R. heilongjiangensis* による紅斑熱群リケッチア症. 第23回 SADI, 名取市, 2015年6月
- 8) 今内寛, 村瀬優介, 伊東拓也, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋和彦. *Ixodes persulcatus* Salp15 による Lyme disease spirochetes 伝播促進効果. 第23回 SADI, 名取市, 2015年6月
- 9) 角坂照貴, 藤田博己, 藤田信子, 高野愛, 安藤秀二. 写真でマダニの同定は可能か(2). 第23回 SADI, 名取市, 2015年6月
- 10) 夏秋優, 川端寛樹, 安藤秀二. マダニ刺症に伴う persistent arthropod bite reaction. 第23回 SADI, 名取市, 2015年6月
- 11) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラウイルス病と西日本における SFTS. 第29回ヘルペスウイルス研究会, 長崎市, 2015年6月
- 12) 西條政幸. エボラ出血熱, デング熱に関する話題. 第826回松本市医師会生涯教育講座, 松本市, 2015年6月
- 13) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群の発見の経緯と今後の研究. 第209回 ICD 講習会, 神奈川, 2015年6月
- 14) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の流行の現状と課題. 鹿児島県医師会, 鹿児島 ICT ネットワーク講演会, 鹿児島市, 2016年6月
- 15) 西條政幸. 中東呼吸器症候群(MERS)についての解説. 第56回日本臨床ウイルス学会, 岡山市, 2016年6月
- 16) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラ出血熱と日本国内におけるデング熱の流行の背景を考える. 函館小児科医会講演会, 函館市, 2015年6月
- 17) 西條政幸. 国内外の新興・再興ウイルス感染症の流行状況と対策: エボラウイルス病, 重症熱性血小板減少症候群, デング熱. 月例医学研究会(市立函館病



- 院), 函館市, 2015年7月
- 18) 西條政幸. 国境を越える感染症: エボラウイルス病. H27年度にいがた市民大学, 新潟市, 2015年7月
- 19) 西條政幸. 日本における SFTS の流行と最近の話題. 第 20 回日赤臨床検査技師学会, 東京, 2015年7月
- 20) 西條政幸. 西アフリカでのエボラウイルス感染症の流行と日本の対応(検査体制). 衛生微生物技術協議会第 36 回研究会, 仙台市, 2015年7月
- 21) 西條政幸. SARS と MERS: 動物由来コロナウイルスによるヒトにおける感染症の病態, 疫学, そして, 対策. 日本学術会議 公開学術講演会「感染症との戦い」, 札幌市, 2015年8月
- 22) 西條政幸. SFTS とは. 第 15 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会, 東京, 2015年9月
- 23) 下島昌幸. 我が国における新興・再興感染症について -エボラ出血熱-国内検査法と体制. 第 15 回日本バイオセーフティ学会学術集会, 東京, 2015年9月
- 24) 下島昌幸. エボラ検査. 第 15 回日本バイオセーフティ学会学術集会, 東京, 2015年9月
- 25) 林昌宏, Braak WVD, 堀谷まどか, 伊藤(高山)睦代, Guillermo PH, 塩田愛恵, 山口幸恵, 垣内五月, 西條政幸. バキュロウイルス発現系を用いた狂犬病ウイルス G タンパク質の発現. 第 158 回日本獣医学会学術集会, 青森(十和田市), 2015年9月
- 26) 黒須剛, Phanthanawiboon S, 坂井祐介, Limkittikul K. デングウイルス感染マウスモデルを用いた重症化機序の解析. 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田市), 2015年9月
- 27) 江川和孝, 下島昌幸, 谷口怜, 谷英樹, 福間藍子, 吉河智城, 福士秀悦, 西條政幸. 既存抗ウイルス薬によるプテロバインオルソレオウイルスの増殖抑制作用の検討. 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田市), 2015年9月
- 28) 谷口怜, 前田健, 堀本泰介, Masamgkay J, uentespina R Jr, 大松勉, 永田典代, 江川和孝, 福士秀悦, 谷英樹, 吉川泰弘, 久和茂, 下島昌幸, 西條政幸. フィリピンのコウモリから分離されたプテロバインオルソレオウイルスの性状解析及び疫学的研究. 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田市), 2015年9月
- 29) 村瀬優介, 今内覚, 伊東拓也, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 村田史郎, 大橋 和彦. シュルツェマダニ (*Ixodes persulcatus*) 由来 Salp15 因子によるライム病ボレリア伝播促進機能の解析, 第 158 回日本獣医学会, 青森(十和田), 2015年9月
- 30) 安藤秀二. リケッチア症. 第 1 回節足動物媒介感染症研修会(国際医療センター), 東京, 2015年9月
- 31) 池田淳司, 松嶋聡, 小平農, 石井亘, 関島良樹, 浅沼恵, 後藤哲哉, 高橋健太, 中道一生, 池田 修一. 脳生検で診断し早期治療により良好な経過をとった全身性エリテマトーデス合併進行性多巣性白質脳症の一例. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015年10月
- 32) 吉田誠克, 川本未知, 十河正弥, 幸原伸夫, 伊藤孝司, 中道一生, 西條政幸, 水野敏樹. メフロキン投与により神経症状の改善と画像所見の進行停止がみられた, 肝移植後発症の進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015年10月
- 33) 三浦義治, 中道一生, 岸田修二, 西條政幸, 高橋健太, 鈴木忠樹, 三條伸夫, 阿江竜介, 澤洋文, 奴久妻聡一, 原由紀子, 雪竹基弘, 濱口毅, 水澤英洋, 山田正仁. 本邦発症の進行性多巣性白質脳症サーベイランスの現状と課題—厚労科研 PML 研究班 PML サーベイランス報告—. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015年10月
- 34) 木下一美, 中道一生, 伊藤睦代, 塩田愛恵, 林昌宏, 倉根一郎, 西條政幸. LAMP 法を用いた PML 患者の脳脊髄液中の JC ウイルス診断. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野市, 2015年10月
- 35) 中道一生, 林昌宏, 西條政幸. コンピューターシミュレーションによる JC ウイルスゲノムの変異様式の解析. 第 20 回日本神経感染症学会, 長野, 2015年10月
- 36) 熊谷圭悟, 山地俊之, 山本章嗣, 安藤秀二, 花田賢太郎. 宿主細胞因子 CERT が *Chlamydia trachomatis* 感染に果たす役割. 第 33 回日本クラミジア研究会, 岡山市, 2015年10月
- 37) 西條政幸. グローバル時代の感染症: 最近発生した新興・再興ウイルス感染症(エボラウイルス病, MERS,

- SFTS 等)の流行状況と今後の課題. 第 64 回日本感染症学会東日本地方会学術集会, 札幌市, 2015 年 10 月
- 38) 西條政幸. 日本における節足動物媒介性ウイルス感染症の流行: デング熱, TBE と SFTS の流行状況, および, 今後の対策. 第 47 回日本小児感染症学会総会, 福島, 2015 年 10 月
- 39) Dhole P, Nakayama EE, Phanthanawiboon S, Limkittikul K, Ikuta K, Shioda T, Kurosu T. Sequence analysis of dengue virus type 2 in brain and thymus of infected interferon receptor KO mice: Implication for neuroinvasiveness. 日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 40) Kurosu T, Phanthanawiboon S, Sakai Y, Limkittikul K, Saijo M. Acute systemic infection with dengue virus leads vascular leakage and death through TNF-alpha and Tie2/Angiopoietin signaling in mice. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 41) Shimojima M, Taniguchi S, Fukushi S, Tani H, Saijo M. 1 アミノ酸変異による SFTS ウイルス GP 蛋白質の細胞融合能の変化 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 42) Yamada S, Shimojima M, Narita R, Kato H, Saijo M, Fujita T. SFTS ウイルス感染時における自然免疫応答の解析 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 43) Sakata M, Tani H, Okamoto K, Otsuki N, Anraku M, Nagai M, Takeda M, Mori Y. Analysis of pseudotyped VSV bearing rubella virus envelope proteins. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 44) Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. E 型肝炎ウイルス受容体候補の妥当性検証. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 45) Kawagishi T, Kanai Y, Tani H, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. コウモリ由来レオウイルスにおける cell attachment タンパク質の機能解析. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 46) Kanai Y, Kawagishi T, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T. オルソレオウイルスがコードする FAST 蛋白質の機能解析. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 47) Taniguchi S, Fukushi S, Yoshikawa T, Tani H, Fukuma A, Shimojima M, Morikawa S, Saijo M. リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスのゲノム末端の非翻訳領域の機能解析. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 48) Kitagawa Y, Sakai M, Shimojima M, Saijo M, Itoh M, Gotoh B. SFTS ウイルス NSs 蛋白質による I 型 IFN 応答経路の阻害. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 49) Satoh M, Ogawa M, Akashi S, Ogawa H, Wakeyama T, Ando S, Shimojima M, Saijo M. 過去のダニ疾病疑い患者における SFTS の後方視的流行調査. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 50) Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Taniguchi S, Shimojima M, Saijo M. Inability of rat DPP4 to allow MERS-CoV infection revealed by using a VSV pseudotype bearing truncated MERS-CoV spike protein. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 51) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Yang M, Sugamata M, Saijo M. Serologic assays for detection of human infection with Pteropine orthoreovirus and evidence of human infection with PRV in Vietnam. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 52) Tajima S, Tomikawa T, Nakayama E, Kotaki A, Moi ML, Ikeda M, Yagasaki K, Saito Y, Shibasaki K, Saijo M, Takasaki T. Complete nucleotide sequences of two groups of autochthonous DENV-1 strains in Japan, 2014. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月

- 53) 藤間大貴, 佐藤洋隆, 柿坂道範, 加藤博文, 日紫喜隆行, 竹山春子, 西條政幸, 高崎智彦, 間陽子, 田島茂. サイクロフェニルのフラビウイルス増殖抑制効果. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 54) Kato F, Tajima S, Takasaki T, Miura T, Igarashi T, Hishiki T. Generation of novel recombinant DENV for development of non-human primate model. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 55) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Konishi E, Kato T, Tajima S, Takasaki T, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicit neutralizing antibodies against JEV and Hepatitis C virus. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 56) Yamaguchi Y, Lim CK, Ito-Takayama M, Kakiuchi S, Horiya M, Tajima S, Takasaki T, Kuane I, Watanabe H, Saijo M. The role of matrix metalloproteinase-3 in Japanese encephalitis virus entry into the mouse brain. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 57) Lim CK, Ejiri H, Isawa H, Kuwata R, Kobayashi D, Yamaguchi Y, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Kakiuchi S, Horiya M, Kotaki A, Takasaki T, Maeda K, Hayashi T, Sasaki T, Hamasaki C, Kobayashi M, Saijo M, Sawabe K. Characterization of Muko virus, a new distinct member of the species Great Island virus, isolated from ixodid ticks in Japan. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 58) Iizuka-Shiota I, Lim CK, Takayama-Ito M, Fukushi S, Horiya M, Posadas-Herrera G, Saijo M. Characterization of Recombinant  $\Delta$ P-R bearing MERS-CoV S protein. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 59) Horiya M, Lim CK, Ito-Takayama M, Posadas-Herrera G, Iizuka-Shiota I, Yamaguchi Y, Saijo M. バキュロウイルス発現系を用いた狂犬病ウイルス P タンパク質の精製法の確立. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 60) Yamaguchi Y, Lim CK, Ito-Takayama M, Kakiuchi S, Horiya M, Tajima S, Takasaki T, Kurane I, Watanabe H, Saijo M. The role of matrix metalloproteinase-3 in Japanese encephalitis virus entry into the mouse brain. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 61) Moi ML, Shirai K, Ami Y, Lim CK, Suzaki Y, Kitaura K, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Dengue virus induced viremia and hemorrhagic signs in a nonhuman primate model, marmosets (*Callithrix jacchus*), during secondary infection. 第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 62) Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Uda A, Morikawa S, Komeno T, Furuta Y, Shimojima M, Saijo M. Efficacy of favipiravir (T-705) against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. 第 63 回日本ウイルス学会, 福岡市, 2015 年 11 月
- 63) 伊藤(高山)睦代, 林昌宏, 森本金次郎, 山口幸恵, 垣内五月, 堀谷まどか, 塩田(飯塚)愛恵, Guillermo PH, 西條政幸. 非増殖性狂犬病ウイルススペクターのアレナウイルスワクチンとしての有用性. 第 19 回日本ワクチン学会総会, 犬山市, 2015 年 11 月
- 64) Nakayama E, Tajima S, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Takasaki T. Next-Generation Sequencing of dengue virus genome. 第 22 回ガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 福岡市, 2015 年 11 月,
- 65) 西條政幸. 西アフリカにおけるエボラ出血熱と日本における SFTS の流行: 求められる対策. 第 3 回日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム「越

- 境性感染症の現状と課題」, 東京, 2015 年 11 月
- 66) 安藤秀二. 紅斑熱群リケッチア・つつが虫病 情報 update. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月
- 67) 藤田信子, 藤田博己, 角坂照貴, 安藤秀二, 川端寛樹: 西日本の夏季発生ツツガムシ病の現状と媒介者について. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月
- 68) 小川基彦, 佐藤正明, 西條政幸, 安藤秀二. リケッチア感染細胞を抗原として用いた ELISA 法の検討. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月
- 69) 佐藤正明, 小川基彦, 安藤秀二, 下島昌幸, 西條政幸. 過去のダニ疾病疑い患者における SFTS の後方視的流行調査. 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月
- 70) 山本徳栄, 近 真理奈, 大山通夫, 大山龍也, 藤田博己, 新倉(座本)綾, 安藤秀二. 埼玉県内の野生化アライグマから採取したマダニ類(第1報). 第 22 回リケッチア研究会, 東京, 2015 年 11 月
- 71) 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の流行状況と課題. 第 27 回遺伝子病制御研究所研究集会(北海道大学), 札幌市, 2015 年 12 月
- 72) 加藤文博, 石田祐樹, 大石真也, 藤井信孝, 田島茂, 高崎智彦, 三浦智之, 五十嵐樹彦, 日紫喜隆行. Bromocriptine による抗 Dengue ウイルス活性機構の解析. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 神戸市, 2015 年 12 月
- 73) 鈴木亮介, 嵯峨涼平, 藤本陽, 渡邊則幸, 松田麻未, 長谷川慎, 渡士幸一, 相崎英樹, 中村紀子, 小西英二, 加藤孝宜, 田島茂, 高崎智彦, 竹山春子, 脇田隆宇. 日本脳炎ウイルスを利用した新規ワクチンプラットフォームの開発. 第 38 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学会大会合同大会, 神戸市, 2015 年 12 月
- 74) 高城一郎, 松田基弘, 高崎智彦, 小笠原由美子, 安藤秀二, 岡山昭彦. インドより帰国後, 発熱, 頭痛, 皮疹, 飛蚊症様症状を呈した 66 歳の日本人女性. 第 56 回日本熱帯医学会, 大阪市, 2015 年 12 月
- 75) 安藤秀二. リケッチア症の最新の検査情報と知見. 第 8 回日本リケッチア症臨床研究会, 大津市, 2016 年 1 月
- 76) 川森文彦, 池ヶ谷朝香, 荒畑沙織, 佐原啓二, 安藤秀二, 大橋典男. リケッチア感染症(つつが虫病, 紅斑熱)の迅速検査法体系の構築. 獣医学術学会年次大会「日本獣医公衆衛生学会」, 秋田市, 2016 年 2 月
- 77) 西條政幸. 最近の新興・再興ウイルス感染症の流行と課題(エボラ, デング, SFTS 等). 第 16 回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム, 東京, 2016 年 2 月
- 78) 安藤秀二. わが国で問題となっているダニ媒介性感染症～ウイルスからリケッチア. 山形県獣医師会 平成 27 年度公衆衛生講習会(村山支部), 山形市, 2016 年 3 月
- 79) 小川基彦, 佐藤正明, 西條政幸, 安藤秀二. つつが虫病リケッチア感染細胞を抗原とした ELISA 法の開発. 第 89 回日本細菌学会, 大阪市, 2016 年 3 月
- 80) 加倉井真樹, 島田瑞穂, 安藤秀二, 出光俊郎. 茨城県西部でみられた多数のチマダニ属のマダニ若虫による刺咬症. 第 275 回日本皮膚科学会東海地方会, 名古屋市, 2016 年 3 月