

12. 獣医科学部

部長 森川 茂

概要

獣医科学部は、戸山庁舎に配置され、第1室、第2室、第3室の3室で構成される。動物由来ウイルス感染症、動物由来細菌感染症のリファレンス・研究業務を行っている。第1室はブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、鼠咬症、新興ウイルス感染症を、第2室は狂犬病、リッサウイルス感染症、ニパウイルス感染症、炭疽を、第3室は野兔病等に関するリファレンス業務、研究業務を行った。また、室横断的に重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスのマダニ、動物での生態に関する研究業務を遂行した。第1室は、ブルセラ症の血清診断法を用いて犬の血清疫学調査を継続的に実施している。無尾類に由来するブルセラ属菌の分離と性状、遺伝的解析を行った。カプノサイトファーガ感染症では、患者の発生状況調査を継続して行い、今年度には確定患者6名の患者を実験室診断し、これまでの調査と併せると中高年齢の男性が多く、ネコ咬傷・掻傷による感染が海外よりも多かった。近年同定されたネコモルビリウイルスは、ネコの疫学的研究から国内でもネコが高率に感染しているが、イヌにはほとんど感染していないことから感染宿主域が狭く人へのリスクは高くないと考えられた。また、他のモルビリウイルスと血清学的に交叉せず、モルビリウイルス属とは別属のウイルスと考えられた。無尾類から分離されたブルセラ属菌は、既知のブルセラ属菌のゲノム領域が数か所大きく欠損していることから鑑別検査法が作製された。第2室では、狂犬病を含むラブドウイルス感染症、ニパウイルス感染症、炭疽菌等に関する業務を行っている。半世紀にわたって狂犬病の報告が無かった台湾で2013年に野生動物での狂犬病の流行が確認されたことから、国内の狂犬病の危機管理に関わる調査・研究を継続して行い、台湾・ベトナム・フィリピン・タイ等との連携構築も継続的に行っている。国内の機関に配布する脳スタンプ標本の安全性を担保するためにウイルス不活化条件を検討した。炭疽菌・セレウス菌のゲノム解析から日本に分布する菌のゲノムデータライブラリーを作成した。ニパウイルス感染症の遅発性・再発性脳炎の診断法をマレーシアと協力して実施した。第3室は、野兔病菌の血清診断法、遺伝子診断法の開発・整備等を行っている。野兔病菌の細胞内増殖性、病原性発現機構、病原性などの基礎研究等を行っている。病原性遺

伝子をノックアウトした人為的弱毒株による野兔病ワクチン開発に関する研究も行っている。これらの研究活動に対して、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)、厚生労働省科学研究費、文部科学省科学研究費等の研究費の援助を受けた。

当該年度は、協力研究員2名 大塚亨(東京都動物愛護相談センター城南島出張所)、田中智奈美(東京都動物愛護相談センター城南島出張所)、実習生3名 望月あみ(千葉化学大学 危機管理理学部)、北条実由紀(麻布大学 生命環境科学部)、阿崎美佳(日本大学 文理学部物理生命システム学科)が入所した。また、研究協力員3名 大塚亨(東京都動物愛護相談センター城南島出張所)、Boldbaatar Bazartseren(モンゴル獣医学研究所)、岡田貴志(東京農工大学 農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センター)、研究生1名 比嘉雅彦(日本獣医生命科学大学 獣医保健看護学科)、実習生2名 望月あみ(千葉科学大学 危機管理理学部)、稲木由衣(麻布大学生命 環境科学部)が退所した。

当部は、岐阜大学大学院連合獣医学研究科の連携大学院講座(教授:森川茂、准教授:井上智)及び東京大学大学院農学生命科学研究科(連携教授:森川茂)として、当該年度は2名の博士課程大学院生が所属した。

業績

調査・研究

I. ブルセラ症に関する研究

1. ブルセラ症の疫学的調査研究

ブルセラ症(Brucellosis)は、1999年4月1日施行の感染症法で4類感染症として、診断した医師に届出が義務づけられている。当室では国内症例について行政検査対応を担当しているが、平成28年度には、患者3例(*Brucella abortus* (*B. abortus*)感染1例、*B. canis*感染2例)が届け出られ、1999年度からの累計では、39例(*B. melitensis* または *B. abortus* 感染13例、*B. canis* 感染26例)となった。前者はすべて輸入症例であり、後者はすべて国内感染例となっている。

また、近年 *B. canis* 感染については無症状病原体保有者として届け出られる例が多い。そこで、国立感染症研究所の血清銀行の近年の保存血清を用いて、一般人の *B. canis* に対する抗体を測定した。その結果、6/1,000 (0.6%) が抗体陽性を示した。抗体陽性率 3.9% と報告があった 1970 年代ほどではないが、現在でも、潜在的な *B. canis* 感染者が存在していることが明らかとなった。[今岡浩一、朴ウンシル、木村昌伸、森川茂(感染研・獣医科学部)、蓮池陽子、岡島淳悟(東京都動物愛護相談センター)]

2. 無尾類に由来するブルセラ属菌の感染性の検討

無尾類から分離されたブルセラ属菌 (Novel Brucella) 3 株 (A141, A105 と A9h) の *in vitro* での細胞内動態と増殖能を検討し、*B. abortus* との動態・増殖能を比較した。Novel Brucella の 3 株はいずれもヒト培養細胞に感染し、約 24 時間後をピークとして増殖した。このうち A141 株は、細胞に感染し易く、初期の感染菌量が多くなるため早期にピークに達した。*B. abortus* と *B. suis* も同様の増殖を示すが、*B. canis* は Novel Brucella よりも効率が悪かった。次に、ELISA 法を用いて、各種抗血清と各菌株との反応を調べ、抗原性を検討した。3 種の Novel Brucella で抗原性に明らかな違いが認められた。Real-time PCR 法による遺伝子検出法を検討したが、A141, A105 と A9h には明らかな反応性の違いが認められた。これらのことから、Novel Brucella は 3 種 3 様の性状を示す事が明らかとなった。[今岡浩一、木村昌伸、鈴木道雄、朴ウンシル、森川茂(感染研・獣医科学部)、宇根有美(麻布大学・病理学研究室)]

II. カブノサイトファーガ感染症に関する研究

1. カブノサイトファーガ感染症の調査研究

Capnocytophaga canimorsus (*C. canimorsus*) は、ヒトがイヌやネコに咬傷・搔傷(以下、咬搔傷)を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計 68 例(うち死亡 16 例)を把握し、(1) 患者は中高年齢者中心であり、(2) 基礎疾患の有無によらず、(3) 国内ではネコ咬傷・搔傷を感染原因とする割合が海外より高い、ことを確認した。また、東京都動物愛護相談センター引取りネコの *C. canimorsus* 保菌率を検討し、1 歳以上 63.7%、1 歳未満 18.6%、歯あり 52.0%、歯なし 13.2% と、年齢や歯の有無で保菌率に差があることを明らかにした。さらに、2016 年に新菌種として認められた *C. canis* についても保菌率を検討したところ、*C. canimorsus* と同様の保菌状況を示した。また、*C. canimorsus* 特異的迅速検出法として、SYBR Green を用いた Real-time PCR 法を開発した。また、*C. canimorsus* の国内臨床分離株について、MALDI-Biotyper を用いた質量分析

法による解析を行った。その結果 17 株中 16 株が十分高いスコアで *C. canimorsus* と同定され、本法が *C. canimorsus* の菌種同定に有用であることが確認された。[鈴木道雄、朴ウンシル、木村昌伸、森川茂、今岡浩一(感染研・獣医科学部)、鈴木仁人(感染研・細菌第二部)、蓮池陽子、岡島淳悟、田中智奈美(東京都動物愛護相談センター)]

III. 鼠咬症に関する研究

1. 鼠咬症の調査研究

いわゆる鼠咬症 (Rat-bite fever) の原因病原体として、*Streptobacillus moniliformis* と *Spirillum minus* が知られていたが、近年、我々の調査・解析により、クマネズミの保菌している *Streptobacillus* 属菌は *S. notomytis* であることが明らかとなった。さらに、小笠原諸島で捕獲され繁殖されているクマネズミより分離された菌株の遺伝子を詳細に検討したところ、*S. moniliformis* や *S. notomytis* と遺伝子的に異なっており、新菌種 *S. rattii* として報告した。これらの各菌種を判別・同定する特異的遺伝子検出法を開発した。[今岡浩一、木村昌伸(感染研・獣医科学部)、谷川力(イカリ消毒)、Eisenberg T. (Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Germany)]

IV. Bas-Congo ウイルスの調査研究

1. Bas-Congo ウイルスのウイルス学的解析

Bas-Congo ウイルス (BASV) は、コンゴ民主共和国で 3 名のウイルス性出血熱患者から検出された。患者血清中のウイルス遺伝子の次世代シーケンズ解析から、BASV はラプトウイルス科のウイルスと同定されたが、既知のラプトウイルスとはゲノム構造が異なっており、属分類は未定である。患者からウイルスは分離されていないため、ウイルス学的性状など基礎データが乏しい。そこで、BASV のウイルス学的性状を解析するため、水疱性口内炎ウイルス (VSV) のシェードタイプ (BASVpv) を作成した。まず、BASV の感染宿主域を BASVpv により解析した結果、ヒト、サル、ネコ、イヌ、ウサギ、ハムスター、マウス、コウモリの細胞が感受性を示した。同じ動物由来でも由来組織等により BASVpv 感受性に差が見られたが、VSV 同様に広い宿主域を持つことが示唆された。

多くのラプトウイルスは受容体結合後にエンドゾーム内の低 pH 環境下で膜融合を起こし、細胞質内へ侵入する。そこで、BASV 感受性細胞に endosomal acidification inhibitor を処理し、BASVpv の感染性を解析した結果、濃度依存的に細胞への侵入および感染が阻害された。さらに、BASV の膜糖蛋白質 (G 蛋白質) を一過性に発現させた細胞を低 pH 処理し、細胞融合能を観察した結果、pH5 で顕著に細胞融合が確認された。つまり、BASV の細胞内侵入は BASV の G 蛋白

質が pH 依存性に構造変化を起こし、膜融合能が活性化することによるもので、特に至適 pH は pH5 であることが分かった。[朴ウンシル、今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、森川茂(感染研・獣医科学部)]

2. Bas-Congo ウイルスの抗体作製および診断法の開発

BASV は感染性ウイルスが分離されていないため、基礎データが乏しく、BASV に対する抗体や診断法も確立されていない。そこで、BASV の N および G 蛋白質に対する抗体の作製および間接蛍光抗体法 (IF) による抗体検出法、BASVpv を用いた中和抗体の測定法の開発を試みた。まず、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質を発現する組換えバキュロウイルスをそれぞれ作製し、家兎に免疫して N 蛋白質および G 蛋白質に対する抗体を作製した。特に BASV の G 蛋白質に対する抗体は BASVpv に対する感染中和能があることが確認された。この結果から、BASVpv を用いて BASV に対する中和抗体測定が可能であり、診断にも有用であることが分かった。さらに、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質を持続的に発現する HeLa 細胞を確立した。これら細胞を用いて、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質に対する抗体を用いて IF を行うと、特異蛍光が確認され診断にも有用であると考えられた。[朴ウンシル、今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、森川茂(感染研・獣医科学部)]

3. Bas-Congo ウイルスの有効なワクチン候補開発

BASV の遺伝子配列は 97%程が患者血清中のウイルス遺伝子から決定されているが、ウイルスは分離されていないため自然宿主、病原性、感染経路など全く不明である。流行時には医療スタッフへの二次感染もあったことから、BASV 感染によるウイルス性出血熱患者が発生した際に、医療スタッフ、疫学調査対応者や実験室診断検査対応者等への感染リスクを考慮すると、有効なワクチン候補を事前に用意しておくことは重要である。そこで、BASV に対する有効なワクチン開発を目的とし、BASV の G 蛋白質を発現する組換えバキュロウイルスを家兎に免疫した結果、BASVpv に対する中和抗体が誘導できた。組換え G 蛋白質は、有効なワクチン候補になり得ると考えられた。次に、BASV の G 蛋白質を外殻した VSV シュードタイプ (BASVpv) を過酸化水素で不活化し、家兎に免疫原として免疫する予定であり、大量培養を実施中である。GFP 発現型 BASVpv を 3%過酸化水素で、4°C、6~7 時間処理すると感染性はなくなるが、抗原性は保たれることが確認された。また、BASV の N 蛋白質および G 蛋白質をそれぞれ発現する組換えワクシニアウイルスを作製している。[朴ウンシル、今岡浩一、鈴木道雄、木村昌伸、森川茂(感染研・獣医科学部)]

V. 細胞培養痘そうワクチンに関する研究

1. 細胞培養痘そうワクチンの特性解析および品質試験法に関する研究

Lister 株から低温馴化により LC16 株、LC16mO 株を経由して樹立された安全性の高いワクチン株である LC16m8 株は、継代培養するとプラークサイズのやや大きい LC16mO 型のウイルス (medium size plaque; MSP) が出現する。これまでの解析から、MSP は *b5r* 遺伝子の一塩基欠失を相補する変異ウイルスであり、その変異のパターンが複数あることが分かっている。これまでに、バイオアッセイで得られる MSP の出現頻度やパターンの解析が次世代シーケンス (NGS) 解析により得られることを示した。NGS 解析は取得データの処理に比較的時間を要することから、これまでの MSP の変異パターン解析で得られた主要な MSP を定量的に検出可能な real-time PCR 法を開発した。その結果、MSP の遺伝子変異特異的配列を 3'末端とする primer を用いた real-time PCR で、LC16m8 株と特定の MSP を識別できた。本試験法で、主要な MSP と LC16m8 株を種々の割合で混合した物を用いたスパイク試験を実施した結果、MSP 含有率 0.01~1%まで検出できた。ワクチン中の MSP のうち L1, L4, L5 型の 3 種の頻度の高い MSP を検出した結果、本試験法はバイオアッセイよりも遥かに簡便に含有率を算出できたことから品質管理法としても有用と考えられた。[森川茂、朴ウンシル、奥谷晶子(感染研・獣医科学部)、吉河智城、下島昌幸、西條政幸(同・ウイルス第一部)、倉根一郎(同・所長)、横手幸幸、金原知美、丸野真一、新村靖彦(化血研)]

VI. 狂犬病に関する研究

1. 狂犬病の危機管理に関わる調査・研究

国・自治体・獣医系大学の協力を得て、狂犬病対応ガイドラインに基づいて行われている国内の体制整備の現状分析を行って自治体における狂犬病の動物調査モデルの開発とこれに係る検査技術等の伝達と改良、発生時を想定した対応の準備に必要な連携及び施設運用モデルの検討を行った。研究に参加した自治体で、動物由来感染症の感染源対策に関与する自治体の公衆衛生部局間の連携及び衛生研究所・保健所・動物(愛護)管理センターの協働モデルを試行・検証し、同時に動物の狂犬病調査実施とこれを利用した狂犬病調査に付随して必要となる鑑別診断や施設衛生管理等の疾病対策として外部寄生体や寄生虫疾患調査の研修と試行・検討・普及啓発を行った。また、真正の狂犬病を理解するためにアジアの狂犬病発生国の感染症研究所(フィリピン熱帯医学研究所、台湾動物衛生研究所等)と動物の狂犬病検査に係る技術等の交換と発生対策に係る知見の

共有を自治体担当者と共に行った。[井上智、堀田明豊、野口章、森川茂；畠山薫（東京都健康安全研究センター）；水越文徳、鈴木尚子（栃木県保健環境センター）、浦口宏二（北海道衛生環境研究所）、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所）、大迫英夫、戸田純子（熊本県保健環境科学研究所）；柴田伸一郎、小平彩里（名古屋市衛生研究所）；西條和芳、矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）；本谷匠、後藤慶子（茨城県衛生研究所）；朴天鎬（北里大学）、加藤卓也、常盤俊大（日本獣医科学生命大学）、三澤尚明、桐野由美、目堅博久（宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター）、山田健太郎（大分大学医学部）；佐藤克（狂犬病臨床研究会）；Daria Manalo（フィリピン熱帯学研究所）、楊志元（台湾 CDC）；費昌勇（台湾大学獣医大学院）；協力自治体（徳島県、沖縄県、北海道、熊本県、名古屋市、富山県、新潟県、石川県、福井県、富山市、新潟市、金沢市；宮崎県、長崎県、大分県、鹿児島県、沖縄県、宮崎市、福岡市、北九州市、熊本市；石川県、愛知県、福島県、福岡県）秋田県、山形県、福島県、仙台市、盛岡市、青森市、秋田市、郡山市、いわき市；京都府、大阪府、兵庫県、滋賀県、京都市、大阪市、神戸市、高槻市、西宮市、豊中市、東大阪市、枚方市、堺市、大津市；広島県、岡山県、鳥取県、島根県、山口県、広島市、岡山市、姫路市、呉市、福山市；徳島県、愛媛県、香川県、高知県、松山市、高松市、高知市、和歌山県、和歌山市、名古屋市；宮崎県、福岡県、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県、鹿児島県、沖縄県、福岡市、長崎市、佐世保市；千葉市、埼玉県、千葉県；北海道）]

2. ベトナム国立衛生疫学研究所 (National Institute of Health and Environments:NIHE)との狂犬病ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究

狂犬病ウイルスのベトナム全国での分子疫学を明らかにするために NIHE、ベトナム南部のホーチミンパスツール研究所、感染源動物のサーベイランスが可能な獣医系の診断研究所を連携させたラボラトリーネットワークによる共同研究を構築し、地方衛生研究所の専門家と開発した診断系（RT-LAMP 法、realtime RT-PCR 法等）について検証を行い日本の狂犬病診断体制強化を行った。野外株を利用した検査系の検証と分離株の分子疫学的解析によってベトナム近隣国で流行しているウイルス株と同じ遺伝子型を示すサブグループが示され、医系機関と獣医系機関の連携構築によって国境を越えて輸入される食用犬の流通経路とイヌの流行株調査及び臨床診断のみで終わっている患者検体の実験室診断によるベトナム全土での狂犬病流行機序の解明がベトナムの狂犬病制御に必要であると考えられた。[井上智、野口章、森川茂；畠山薫（東京都健康安全研究センター）、水越文徳（栃木県保健

環境センター）、小平彩里（名古屋市衛生研究所）、矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）、浦口宏二（北海道衛生環境研究所）、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所）、戸田純子（熊本県保健環境科学研究所）；Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang、Hoan Thi Thu Ha（ベトナム NIHE）；Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam（ベトナム・ホーチミンパスツール研究所）、Hò Bang（ベトナム・ザライ省予防医療センタ）、Huong Thi Thu Huynh（ベトナム・ホーチミン市動物衛生獣医診断センター）]

3. 近隣アジア諸国との狂犬病ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究

近隣国の医系・獣医系機関の狂犬病専門部局と輸入狂犬病を想定した簡易診断系の構築に係る狂犬病ウイルスの遺伝子検出と抗原検出系の検証等に必要となる検査マテリアルと診断プロトコルの共有、分離株の遺伝子解析を加えた狂犬病流行の最新知見等に関する情報の共有等を行った。[井上 智、野口 章、加来義浩、奥谷晶子、森川 茂；畠山薫（東京都健康安全研究センター）、水越文徳（栃木県保健環境センター）；小平彩里（名古屋市衛生研究所）、矢野さやか（徳島県県民くらし安全局安全衛生課）、浦口宏二（北海道衛生環境研究所）、喜屋武尚子（沖縄県衛生環境研究所）、戸田純子（熊本県保健環境科学研究所）、平良雅克（千葉県衛生研究所）；朴天鎬（北里大学）；Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang、Hoan Thi Thu Ha（ベトナム NIHE）、Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam（ベトナム・ホーチミンパスツール研究所）、Hò Bang（ベトナム・ザライ省予防医療センタ）、Huong Thi Thu Huynh（ベトナム・ホーチミン市動物衛生獣医診断センター）；謝若郁、楊志元（台湾 CDC）、Shu-Chia Hu（台湾動物衛生研究所）、Boldbaatar Bazartseren（モンゴル・獣医学研究所）；Daria L. Manalo（フィリピン・熱帯医学研究所）、Wilaiwan Petsophonsakul、Yada Aronthippaitoon（タイ・チェンマイ大学）]

4. 近隣アジア諸国と協働した狂犬病の簡易診断技術開発と分子疫学を利用した発生トレンド解析に係る研究

タイ・チェンマイで行われている狂犬病に対するヒト及びイヌの集団免疫における簡易抗体調査を可能にする cELISA 法の開発をチェンマイ大学（医学部・獣医学部）との協働で行った。モンゴル・台湾・ベトナムで流行している動物の狂犬病ウイルス株について遺伝子配列の特定を行って発生トレンドの推移を解析した。オオカミ由来の狂犬病ウイルス株がモンゴルで流行していることが示された。[野口 章、朴ウンシル、森川 茂、井上 智；Wilaiwan Petsophonsakul、Yada Aronthippaitoon（タイ・チェンマイ大学、Boldbaatar Bazartseren（モンゴル・獣医学研究所）；Daria L. Manalo（フィ

リピン・熱帯医学研究所);河合明彦(生産開発科学研究所);畠山薫(東京都健康安全研究センター)、水越文徳(栃木県保健環境センター);朴天鎬(北里大学);Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang、Hoan Thi Thu Ha(ベトナム NIHE)、Huynh Thi Kim Loan、Bui Chi Tam(ベトナム・ホーチミンパストゥール研究所)、Huong Thi Thu Huynh(ベトナム・ホーチミン市動物衛生獣医診断センター);謝若郁、楊志元(台湾 CDC)、Shu-Chia Hu(台湾動物衛生研究所)

5. シュードタイプ VSV で算出した狂犬病ウイルス中和抗体価の国際単位への換算

狂犬病ウイルス(RABV)の中和抗体検査(SNT)は、イヌの輸出入検疫、地域における免疫保有率の調査、ヒトのワクチン接種後の抗体検査等で行われている。これまでに、感染性 RABV を使用しないで安全かつ簡便に中和抗体を測定できるよう、分泌型アルカリフォスファターゼ(SEAP)発現シュードタイプ VSV を利用した SNT(シュードタイプ法)を開発した。現在の国際標準法である RFFIT では中和抗体価が国際単位(international unit: IU)に換算して算出され、0.5 IU/ml 以上が感染防御に有効な指標とされている。一方、シュードタイプ法では、これまで中和抗体価の単位として血清の希釈倍数を用いてきたことから、シュードタイプ法で得られた抗体価の IU への換算を試みた。狂犬病ワクチン接種/未接種ヒト血清に対して RFFIT とシュードタイプ法を実施し、RFFIT では定法により中和抗体価を算出した。シュードタイプ法では、無血清対照接種細胞の培養上清の OD₄₀₅ 値から 75%減少した被験血清の血清希釈倍数(D75)を中和抗体価としたうえで、標準血清(IU=2.0)の D75 を IU = 2.0 相当と規定し、(被験血清の D75/標準血清の D75)×2.0 = 被験血清の IU とした。両法で得られた中和抗体価(IU)は相関しており($R^2 = 0.597$)、とくに IU < 10 の血清において高い相関($R^2 = 0.852$)が認められた。シュードタイプ法により安全、迅速に RABV の中和抗体の IU を求めることができた。[加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VI. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

1. ベトナム国立衛生疫学研究所(National Institute of Health and Environments: NIHE)との炭疽ラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究

ベトナム・ディエンピン省の炭疽疑い患者・患畜および土壌から分離された検体を利用して次世代シーケンサ(MiSeq)による全ゲノム解読を行った後に SNP による分子系統解析および病原性遺伝子の BLAST 検索を行った。その結果、ベトナム患者由来の炭疽菌は非常に近

縁であることおよび土壌由来の炭疽菌類似菌はセレウス菌であることが明らかとなった。[奥谷晶子、井上智、野口章、森川茂; Hoan Thi Thu Ha (NIHE)]

2. 国内土壌からのセレウス菌グループ菌種の分離とその分子遺伝学的解析について

セレウス菌群の各菌種の国内土壌からの分離同定および遺伝学的解析による病原性のリスク評価を行うため、国内土壌中からセレウス菌群であるセレウス菌やチュリゲンシス菌を多数分離している。

土壌由来 11 株および患者由来 8 株のセレウス菌について次世代シーケンサ(MiSeq)による全ゲノム解読を行った。MLST 解析および SNP による系統解析を行ったところ、土壌由来の株の中には臨床分離株由来と近縁であることが明らかとなった。一方、病原性遺伝子の有無を BLAST 検索では、一部の菌で溶血毒素遺伝子 *hbl* オペロン、細胞毒素 *cytK* 遺伝子が欠失していることが明らかとなった。[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

3. 緑茶由来カテキンの炭疽菌抗菌効果の検証

緑茶由来カテキン(ガレート型カテキン)は、野生型および抗菌剤耐性炭疽菌(栄養型)に対する高い増殖阻止効果があり、抗菌剤(細胞壁合成阻害剤、DNA ジャイレーズ機能阻害剤、タンパク質合成阻害剤)との併用効果を測定したところ、すべての抗菌剤において 100 μ g/ml のカテキン添加下において増殖が完全に阻止された。一方抗菌剤との併用の際、最小有効濃度を少し超えた程度の濃度添加下ではカテキンが拮抗的に働き、抗菌効果を阻害することが明らかとなった。このようなカテキンとの併用効果は抗菌剤の作用機序別に異なり、細胞壁合成阻害剤との併用効果が最も高かった。カテキンは炭疽菌芽胞そのものにたいする殺菌効果はなかったが、芽胞が栄養型へ発芽した後の増殖阻止効果が認められた。[奥谷晶子、加来義浩、野口章、井上智、森川茂]

VII. ヘニパウイルスに関する研究

1. ヘニパウイルスの細胞内領域末端を欠損した F, G 蛋白質を用いた効率的なシュードタイプ VSV の作製

ヘンドラウイルス(HeV)は致死率が高いうえ、治療法・ヒト用ワクチンが開発されていないことから、近縁のニパウイルス(NiV)とともに、多くの国で BSL4 病原体に分類されている。これまでに NiV についてはシュードタイプ VSV を用いた中和試験(SNT)を開発し、BSL2 における高感度・高特異性の血清診断が可能となっていたが、HeV については高力価のシュードタイプが作製できず、特異的な血清診断法を構築でき

なかった。そこで、HeV のエンベロープ蛋白質である F および G 蛋白質の細胞質内領域の末端部分をそれぞれ段階的に欠失させた変異蛋白質を発現し、高力価のシュードタイプの作製を試みた。その結果、HeV-FΔ22(末端 22 残基欠失) / GΔ16(同 16 残基)を組み合わせて使用したシュードタイプ VSV では、野生型 F, G 蛋白質を用いた場合より、約 8 倍高い力価が得られた。また NiV シュードタイプについても、同様に検討したところ、NiV-FΔ22(末端 22 残基欠失) / GΔ20(同 20 残基)の組み合わせで、野生型よりも約 5 倍高い力価が得られた。HeV, NiV の両シュードタイプを用いて、2014 年のフィリピンでのニパウイルス感染症流行時の患者血清に対して comparative SNT を実施したところ、いずれの血清も NiV シュードタイプに対して、より高い抗体価を示した。本研究により、ヘニパウイルス感染症の疑い症例に対して、comparative SNT によりヘニパウイルスとニパウイルス感染症の血清学的な鑑別診断が可能となった。[加来義浩、朴ウンシル、野口章、今岡浩一、井上智、森川茂]

VII. 野兎病に関する研究

1. 日本分離 *Francisella tularensis* 継代菌のマウス病原性

日本分離 *F. tularensis* 継代菌のマウスに対する病原性を比較した。NVF1 および KU-1 株の Eugon チョコレート培地 10 および 20 代継代菌 (EP10 および EP20) ならびに CDM 培地 50 代継代菌 (CP50) を C57BL/6J マウスに 10^1 cfu 皮内接種した。両株の EP10 接種群の全個体は接種後 5-9 日に斃死した。その接種後日数の中央値 (MTD) は 8 であった。一方、NVF1 株 EP20 および CP50 接種群ならびに KU-1 株 EP20 接種群では生残個体が確認され、KU-1 株 CP50 接種群の斃死接種後日数の MTD は 9.5 であり、これら継代菌には病原性低下が認められた。両株の CP50 は各元株同様、細胞内増殖性を有したため、*F. tularensis* の病原性は必ずしも細胞内増殖性と一致しないことが示された。また *F. tularensis* は Eugon チョコレート培地で 10-20 代の継代にて弱毒化することが示された。[堀田明豊、藤田修、田徳雨、宇田晶彦、森川茂]

2. *Francisella tularensis* の経表皮感染に関する研究

F. tularensis の表皮からの感染性を体毛の無い Hos:HR-1 マウスにて検証した。マウス左腹部に、19G 注射針にて皮膚を 4 箇所穿刺した穿刺群、アセトンで 10 分間塗布し皮膚バリアを破壊したアセトン処理群、および無処理群の 3 群に分け、マウス左腹部に 10^7 cfu の *F. tularensis* 菌液を塗布した。穿刺群は全 8 匹が接種後 6-8 日で斃死した。アセトン処理群は接種後 8 日に 1 匹、9 日に 2 匹、15 日に 3 匹が左側腸骨下リンパの腫脹を呈し、

斃死したが、2 匹が生残した。無処理群は全 6 匹が接種後 21 日まで生残した。生残した 8 匹の血清に抗 *F. tularensis* 抗体は認められず、これらマウスは感染成立しなかったと考えられた。斃死マウスの皮膚切片を観察したところ、毛組織に菌抗原および炎症細胞の集簇が認められた。また穿刺群では皮下組織の広範囲に、アセトン処理群ではリンパ節に限局的に、菌抗原が認められた。*F. tularensis* は無処理の皮膚上からの感染は極めて困難であるが、アセトン処理のようなわずかな脱脂処理により皮膚上から感染可能となることが示唆された。[堀田明豊、田徳雨、朴ウンシル、宇田晶彦、藤田修、森川茂]

3. 野兎病菌の病原性に関わる遺伝子の新規同定

強毒 SCHU P9 株から、FTT0217、FTT0245、FTT0272、FTT0627、FTT0965c、FTT1261c 遺伝子破壊株を作出し、その病原性を評価した。4 種類の遺伝子破壊株 (Δ FTT0217、 Δ FTT0245、 Δ FTT0272、 Δ FTT1261c) は、強毒 SCHU P9 株と同等の液体培地およびマクロファージ中での生育能を示し、マウスに対する病原性も強く保たれていた。このことから、これらの 4 種類の遺伝子は病原性と無関係であることが明らかとなった。一方で、FTT0627 遺伝子破壊株 (Δ FTT0627) は、液体培地中での増殖速度が低下し、これに伴いマクロファージ中での生育も悪化、マウスに対する致死性 ($LD_{50} = 10^6$ cfu) も有意に低下していた。また、FTT0965c 遺伝子破壊株 (Δ FTT0965c) は、液体培地中での増殖速度は正常であったが、マクロファージ中での増殖能低下、マウスに対する完全なる病原性欠失が確認された。これらの結果から、野兎病菌 FTT0627 および FTT0965c 遺伝子は、野兎病菌の病原性に深く関与している可能性が示唆された。[宇田晶彦、田徳雨、古山裕樹、朴ウンシル、阿崎美佳、堀田明豊、藤田修、森川茂]

4. 野兎病菌 pdpC 遺伝子破壊株のワクチン効果と安定性に関する検討

野兎病菌 pdpC 遺伝子にイントロンを挿入することで遺伝子破壊した株 (Δ pdpC) は、マウスに対する病原性を完全に失っている事をこれまでに明らかにした。本年度は、 Δ pdpC 株のワクチン効果とゲノム安定性について検討した。 Δ pdpC 株をワクチンとして接種した 3 週間後のマウスにおいて、接種経路 (筋肉、皮下、経鼻) に依存せず抗野兎病菌抗体は強く誘導され、マウスの体内からは生菌が検出されず一掃されていた。また、 Δ pdpC 株はマウスを用いて 19 代継代しても、pdpC 遺伝子破壊のために挿入したイントロンは安定的に維持されていた。これらのことから、マウス体内においても Δ pdpC 株の弱毒

性は安定的に維持されていると考えられた。また、強毒 SCHU P9 株を致死量の 100 倍量接種した無免疫のマウスは 6 日以内に全ての個体が死亡するのに対し、 Δ pdpC 株で免疫したマウスは半数が生存した。これらの結果から、マウスに対する Δ pdpC 株の弱毒性は安定的に維持されるが、ワクチン効果は限定的である可能性が示唆された。[田徳雨、宇田晶彦、古山裕樹、朴ウンシル、阿崎美佳、堀田明豊、藤田修、森川茂]

VIII. SFTS および近縁ウイルスに関する研究

1. SFTS ウイルスの動物における抗体保有率の調査

これまでの調査で SFTS 非流行地だがシカの SFTS ウイルス抗体陽性率が高かった宮城県、SFTS 流行地に隣接する長野県、岐阜県、静岡県、滋賀県、これらに隣接する流行地の三重県、京都府、兵庫県の 8 府県のニホンジカ 200 頭の抗体陽性率を調査した。その結果、過去 3 年間抗体陽性率が 25 から 38% であった宮城県では 0%、長野県 (25 頭)、岐阜県 (23 頭)、静岡県 (18 頭) では全て陰性、滋賀県で 3.6%、京都府 0%、三重県 4.2%、兵庫県 20% であった。昨年度までの調査で長野県は 3~7%、岐阜県は 0~3%、静岡県は 10~26%、滋賀県は 9~12%、京都府は 13~26%、三重県は 9~24%、兵庫県は 33~36% の抗体陽性率であった。これと比較して今年度はシカの抗体陽性率が低かった。抗体陽性率が調査した府県で低下した理由は不明であることから、継続した調査が必要である。今年度は陽性動物数が少なくウイルスは分離できなかった。[木村昌伸、朴ウンシル、今岡浩一、森川茂]

2. Bhanja ウイルスに関する研究

Bhanja 血清型ウイルスの Forecariah および Palma ウイルスを感染させた IFNA^{-/-}マウス臓器の病理像を確認した。脾臓では全接種マウスにて高から中度の白脾髄の壊死や構造喪失、中等度の赤脾髄へのマクロファージ浸潤、ウイルス抗原陽性像が認められた。肝臓では全マウスで炎症細胞の集簇およびクッパー細胞の増殖が認められ、その周辺にウイルス抗原陽性像が認められた。また、肝細胞のシート状壊死が認められた。肺では肺胞壁の肥厚、炎症細胞の浸潤が認められたが、ウイルス抗原陽性は一部のみであった。胸腺では実質の壊死、ウイルス抗原陽性像が認められた。脳、腎臓、心臓においては病変およびウイルス抗原は一部の個体でのみ認められた。Forecariah および Palma ウイルスの主要増殖部位は脾臓および肝臓と考えられた。これらウイルスは神経組織にて増殖するとされる既報の Bhanja ウイルスとは異なる

病原性を有す可能性がある。[堀田明豊、朴ウンシル、宇田晶彦、田徳雨、藤田修、森川茂]

レファレンス業務等

1. 衛生微生物技術協議会動物由来感染症レファレンスセンター業務 (井上智、堀田明豊、藤田修、木村昌伸、森川茂)

平成 28 年度は、動物の野兎病のレファレンス機能向上を衛生微生物協議会の動物由来感染症レファレンスセンターに所属している 7 カ所の地方衛生研究所 (地衛研) の協力のもとに 24 地衛研とレファレンスネットワークを構築して、パネル血清を利用した微量凝集反応試験および疑似検体を利用した遺伝子検査について EQA を実施した。

2. 行政検査・依頼検査等

- 1) ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査：4 件(行) [今岡浩一]
- 2) カプノサイトファーガ感染症疑い患者検体または分離菌株の行政・依頼検査：1 件(行)、10 件(依) [鈴木道雄]
- 3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：1 件(行) [今岡浩一]
- 4) 野兎病疑い患者検体の血清学的検査 行政検査 2 件 (広島県、東京都各 1 件) [藤田修、堀田明豊]
- 5) 野兎病菌疑い菌の細菌学的同定 行政検査 1 件 (熊本県) [藤田修、堀田明豊]

研修業務

- 1) Inoue S., Noguchi A., Nguyen V.D., Huynh T.K.L., Bui C.T., Huynh H.T.T., Hsieh J.Y., Hu S.-C., Bazartseren B., Manalo D.L., Aronthippaitoon Y., 浦口宏二, 喜屋武向子, 畠山 薫, 戸田純子, 小平彩里, 水越文徳, 矢野さやか, 平良雅克. Workshop for molecular diagnosis of rabies and technical training at NIID. 2017 Jan. 9-10, Tokyo, Japan
- 2) 奥谷晶子. 動物由来感染症. FETP17 期生対象初期研修. 2016 年 4 月, 国立感染症研究所
- 3) 井上 智, 加藤卓也. 平成 28 年度第 1 回公衆衛生専門技術研修 (学術講演会). 神奈川県衛生研究所企画情報部. 2016 年 6 月 23 日, 神奈川県衛生研究所, 神奈川県
- 4) 井上 智, 水越文徳. 平成 28 年度石川県獣医師会公衆衛生部会研修会. 石川県獣医師会. 2016 年 6 月 30 日, ホテル金沢, 金沢市, 石川県
- 5) 井上 智, 堀田明豊. 平成 28 年度狂犬病予防業務北

- 陸ブロック技術研修会, 厚生労働省健康局結核感染症課. 2016年12月1-2日, 富山県衛生研究所, 富山県
- 6) 井上 智, 堀田明豊. 第4回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成28年度狂犬病予防業務九州・沖縄ブロック技術研修会, 主催: 宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター・厚生労働省健康局結核感染症課. 2016年12月5-7日, 宮崎大学, 宮崎県
- 7) 奥谷晶子 全国のテロ対策に従事する警察官対象の細菌性生物剤に関する基礎知識(特に炭疽菌について). 2016年12月, 東京都府中市警察大学校

その他の協力

1. 国内の獣医系大学の学部生の学生実習

文部科学省「人獣共通感染症・食品由来感染症実習プログラム」を、平成28年9月12日～9月16日まで感染研にて実施した。[獣医科学部、感染症疫学センター、動物管理室、バイオセーフティ管理室]

2. 岐阜大学大学院連合獣医学研究科・獣医学特別実験-□-

平成28年12月13日～16日に、岐阜大学大学院連合獣医学研究科大学院博士課程学生5名を対象とした「VSV シュードタイプによる狂犬病ウイルス中和抗体の検出」研修と講義を担当した。[加来義浩、井上智、森川茂]

競争的外部資金

I. AMED(国立研究開発法人日本医療研究開発機構)委託費 感染症実用化研究事業(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

- 1) 「動物由来感染症の制御に資する検査・診断・予防法及びサーベイランスの強化と事前対応に関する研究」(新興実用化一般)(研究代表者: 森川茂) 研究分担: 今岡浩一、宇田晶彦、奥谷晶子
- 2) 「アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究」(新興実用化一般)(研究代表者: 脇田隆字) 研究分担: 森川茂、井上智
- 3) 「動物由来感染症に対するリスク管理手法に関する研究」(新興実用化)(研究代表者: 吉川泰弘) 研究分担: 今岡浩一、井上智
- 4) 「我が国における高病原性病原体取扱い者の安全を確保するための研究」(研究代表者: 西條政幸) 研究分

担: 森川茂

- 5) 「一類感染症等の新興・再興感染症の診断・治療・予防法の研究」(研究代表者: 下島昌幸) 研究分担: 森川茂
- 6) 「重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に対する診断・治療・予防法の開発及びヒトへの感染リスクの解明等に関する研究」(研究代表者: 西條 政幸) 研究分担: 森川茂

II. 厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)

- 1) 「近隣地域からの侵入が危惧されるわが国にない感染症の発生予防に関する研究(25180801)」(新興一般)(研究代表者: 荻和宏明) 研究分担: 井上智、今岡浩一
- 2) 「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究(H28-新興行政-一般-006)」(研究代表者: 宮崎義継) 研究分担: 森川茂
- 3) 「バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法の確立、及び細胞培養痘そうワクチンの有効性、安全性に関する研究(H26-新興行政-指定-002)」(研究代表者: 西條政幸) 研究分担: 森川茂

III 文部科学省(学術研究助成基金助成事業)

- 1) 基盤研究(C)「国内で分離されるセレウス菌の網羅的分類とゲノム解析による病原性関連遺伝子の探索」(研究代表者: 奥谷晶子)
- 2) 基盤研究(C)「細胞内発現する人工小型抗体」封入ナノ粒子の血中投与による狂犬病治療法の開発」(研究代表者: 加来義浩)
- 3) 基盤研究(C)「新種のブニヤウイルスとラブドウイルスによる新興人獣共通感染症のリスク評価」(研究代表者: 森川茂) 研究分担: 加来義浩
- 4) 基盤研究(C)「重症敗血症患者から分離された新規Capnocytophaga 属菌に関する研究」研究代表者: 鈴木道雄
- 5) 基盤研究(C)「野兎病菌の感染防御に必要不可欠な宿主遺伝子の同定」(研究代表者: 宇田晶彦)

IV. 一般財団法人助成金

- 1) 大下財団研究助成金「野兎病菌の経表皮感染メカニズムに関する研究」(2016年-2017年)(助成対象者: 堀田明豊)

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Tobias Eisenberg, Koichi Imaoka, Masanobu Kimura, Stefanie P. Glaeser, Christa Ewers, Torsten Semmler, Jörg Rau, Werner Nicklas, Tsutomu Tanikawa and Peter Kämpfer. *Streptobacillus ratti* sp. nov. isolated from a black rat (*Rattus rattus*). Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 66(4):1620-1626, 2016
- 2) Park E.-S., Suzuki M., Kimura M., Mizutani, H., Saito, R., Kubota, N., Hasuike, Y., Okajima, J., Kasai, H., Sato, Y., Nakajima, N., Maruyama, K., Imaoka K. and Morikawa S. Epidemiological and pathological study of feline morbillivirus infection in domestic cats in Japan. BMC Veterinary Research, 12:228, 2016
- 3) Boonsriroj H., Manalo L.D., Kimitsuki K., Shimatsu T., Shiwa N., Shinozaki H., Takahashi Y., Tanaka N., Inoue S. and Park C.-H. A pathological study of the salivary glands of rabid dogs in the Philippines. J. Vet. Med. Sci. 78(1):35-42, 2016
- 4) Chang S.-S., Tsai H.-J., Chang F.-Y., Lee T.-S., Huang K.-C., Fang K.-Y., Wallace R.M., Inoue S., Fei C.-Y. Government response to the discovery of a rabies virus reservoir species on a previously designated rabies-free island, Taiwan 1999 to 2014. Zoonoses Public Health. 63:396-402. doi: 10.1111/zph.12240. [Epub ahead of print], 2016
- 5) Chiou H.-Y., Jeng C.-R., Wang H.-Y., Inoue S., Chan F.-T., Liao J.-W., Chiou M.-T., and Pang V.F. Pathology and molecular detection of rabies virus in ferret badgers associated with a rabies outbreak in Taiwan. J. Wildlife Dis., 52:57-69, 2016
- 6) Nguyen T.T., Nguyen T.K.A., Yoshihiro K., Ngo C.C., Nguyen V.D., and Inoue S. Development of neutralization test for determination of antibody against rabies using pseudotyped Vesicular stomatitis virus (pseudotyped vsv). J. Prev. Med., XXVI:151-159, 2016
- 7) Lee S., Kaku Y., Inoue S., Nagamune T. and Kawahara M. Growth signal body selects functional intrabodies in the mammalian cytoplasm. Biotechnol. J., 11:565-573, 2016
- 8) Shimatsu T., Shinozaki H., Kimitsuki K., Shiwa N., Manalo D.L., Perez R.C., Dilig J.E., Yamada K., Boonsriroj H., Inoue S. and Park C.-H. Localization of the rabies virus antigen in Merkel cells in the follicle-sinus complexes of muzzle skins of rabid dogs. J. Virol. Methods., 237:40-46, 2016
- 9) Nguyen T. D., Takasuka H., Kaku Y., Inoue S., Nagamune T., Kawahara M. Engineering a growth sensor to select intracellular antibodies in the cytosol of mammalian cells. J. Biosci. Bioeng. 124, 125–132. [doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.02.017] , 2017
- 10) Fujino M, Sato H, Okamura T, Uda A., Takeda S, Ahmed N, Shichino S, Shiino T, Saito Y, Watanabe S, Sugimoto C, Kuroda M, Ato M, Nagai Y, Izumo S, Matsushima K, Miyazawa M, Ansari AA, Villinger F, and Mori K. Simian Immunodeficiency Virus Targeting of Cxcr3+ Cd4+ T Cells in Secondary Lymphoid Organs Is Associated with Robust Cxcl10 Expression in Monocyte/Macrophage Subsets. Journal of Virology, 2017, 91(13), e00439-17.
- 11) Saha SS, Hashino M, Suzuki J, Uda A., Watanabe K, Shimizu T, and Watarai. Contribution of Methionine Sulfoxide Reductase B (MsrB) to *Francisella Tularensis* Infection in Mice. FEMS Microbiology Letters, 2017, 364(2), ffw260.
- 12) Suzuki J, Hashino M, Matsumoto S, Takano A, Kawabata H, Takada N, Andoh M, Oikawa Y, Kajita H, Uda A., Watanabe K, Shimizu T, and Watarai M. Detection of *Francisella Tularensis* and Analysis of Bacterial Growth in Ticks in Japan. Lett Appl Microbiol., 2016, 63(4), 240-6.
- 13) Hotta A., Tanabayashi K, Fujita O., Shindo J, Park CH, Kudo N, Hatai H, Oyamada T, Yamamoto Y, Takano A, Kawabata H, Sharma N., Uda A., Yamada A, and Morikawa S. Survey of *Francisella tularensis* in Wild Animals in Japan in Areas Where Tularemia Is Endemic. Japanese Journal of Infectious Diseases, 2016, 69(5), 431-4.
- 14) Suzuki J, Uda A., Watanabe K, Shimizu T, and Watarai M. Symbiosis with *Francisella Tularensis* Provides Resistance to Pathogens in the Silkworm. Scientific Reports, 2016, 10(6), 31476.
- 15) Uda A., Sharma N., Takimoto K, Deyu T., Koyama Y., Park ES., Fujita O., Hotta A., and Morikawa S. Pullulanase Is Necessary for the Efficient Intracellular Growth of *Francisella Tularensis*. PLoS One, 2016, 11(7), e0159740.
- 16) Ogawa K, Komagata O, Hayashi T, Itokawa K, Morikawa S., Sawabe K, Tomita T. Field and laboratory evaluations of the efficacy of DEET repellent against Ixodes ticks. Jpn J Infect Dis. 2016;69(2):131-4.
- 17) 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.* 2016, 69(6): 525-527.
- 18) 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.* 2016 Jan 6;1(1).
 - 19) Arai S, Kang HJ, Gu SH, Ohdachi SD, Cook JA, Yashina LN, Tanaka-Taya K, Abramov SA, Morikawa S, Okabe N, Oishi K, Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (*Sorex caecutiens*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016 Jul;16(7):468-75.
 - 20) Singh H, Shimojima M, Fukushi S, Fukuma A, Tani H, Yoshikawa T, Taniguchi S, Yang M, Sugamata M, Morikawa S, Saijo M. Serologic assays for the detection and strain identification of Pteropine orthoreovirus. *Emerg Microbes Infect.* 2016 May 11;5:e44.
 - 21) 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.* 2016 Apr 5;10(4):e0004595.
 - 22) Tani H, Shimojima M, Fukushi S, Yoshikawa T, Fukuma A, Taniguchi S, Morikawa S, Saijo M. Characterization of Glycoprotein-Mediated Entry of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus. *J Virol.* 2016, 12;90(11):5292-301.
 - 23) Zamoto-Niikura A, Morikawa S, Hanaki KI, Holman PJ, Ishihara C. *Ixodes persulcatus* ticks as a vector for *Babesia microti* U.S. lineage in Japan. *Appl Environ Microbiol.* 2016 82(22):6624-6632.
 - 24) Arai S, Taniguchi S, Aoki K, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Tanaka-Taya K, Masangkay JS, Omatsu T, Puentespina R Jr, Watanabe S, Alviola P, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Quibod MN, Morikawa S, Yanagihara R, Oishi K. Molecular phylogeny of a genetically divergent hantavirus harbored by the Geoffroy's rousette (*Rousettus amplexicaudatus*), a frugivorous bat species in the Philippines. *Infect Genet Evol.* 2016, 45:26-32.
2. 和文発表
- 1) 小野寺啓, 上北洋徳, 渡邊達也, 平カヤノ, 渡部千沙, 齋藤博子, 瀬戸順次, 鈴木裕, 今岡浩一. ラット咬傷歴が認められない鼠咬症例. in:病原微生物検出情報, 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 38(2): 43-44, 2017
 - 2) 井上 智. 世界における狂犬病の発生状況と国内対策について. 平成 27 年度研修(特別講演). 全国公衆衛生獣医師協議会. 獣医公衆衛生研究(Journal of Japan Association of Public Health Veterinarians). 2016-3, Vol.18-2:38-45, 2016
 - 3) 井上 智, 松山州徳. 狂犬病の話題・中東呼吸器(MERS)の話題(Rabies and the Middle East Respiratory Syndrome (MERS)). 旅行者が知っておくべき世界の状況と最近のトピックス. 日本旅行医学会学会誌. 第 14 号 2016.3 (Journal of The Japanese Society of Travel Medicine). Vol.12-No.1:36-39, 2016
 - 4) 井上 智, 伊藤睦代, 野口 章. 狂犬病の現状と課題(Rabies in the World by the Terms of One Health). 特集:One Health の視点からみた感染症の現状と対策. 最新医学. 第 72 巻(第 4 号)2017.4.10(The Medical Frontline). Vol.12-No.4 :78-86 (554-562), 2017
 - 5) 井上 智. 狂犬病臨床研究会の成長と 10 年後に期待すること. ニュースレター(創立 10 周年記念号 狂犬病臨床研究会(The Japanese Society of Clinical Study for Rabies))vol.9 :18, 2017.3
 - 6) 森川 茂. ペットとウイルス感染症 臨床とウイルス(特集 環境の変化とウイルス感染症)44(1) :47-52, 2016
 - 7) 森川 茂. 重症熱性血小板減少症候群 特集 新興・再興感染症 日本臨床 p1985-1991, 74(12), 2016
 - 8) 堀田明豊 日本における野兎病 化学療法の領域 Vol.33 No.3 p67-74
- II. 学会発表
1. 国際学会
 - 1) Doi K., Sugiura N., Kato T., Inoue S. and Hayama S. Chronospatial Analysis of Distribution and Parasitism of Hard Ticks (*Ixodidae*) using CPUE based Relative Population Density of Feral Raccoon (*Procyon lotor*). JPN-KOR joint symposium in veterinary epidemiology. 11 June, 2016. Lecture R-No.8, Agriculture building 1 of Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
 - 2) Inoue S., Hotta A., Hayama, S., Uraguchi K., Kyan H.,

- Kurihara Y., Kimura S., Yano S., Noguchi A., Kato T., Park C.-Ho., Sato M. Rabies surveillance according to the guidelines of animal rabies survey in Japan. JPN-KOR joint symposium in veterinary epidemiology. 11 June, 2016. Lecture R-No.8, Agriculture building 1 of Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.
- 3) Nguyen T.D., Kaku Y., Inoue S., Nagamune T. and Kawahara M. Development of a Growth Sensor Detecting Antigen–Antibody Interactions in Mammalian Cells. 2016 Synthetic Biology: Engineering, Evolution & Design (SEED). 18-21 July, 2016. Hilton Chicago, Chicago, IL, USA.
 - 4) Shigeru Morikawa. Current situation of SFTS in Japan. The 10th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Beijing, China, 2016.12.
2. 国内学会
- 1) 瀧口恭男, 駿河洋介, 秋葉容子, 内藤亮, 鈴木道雄, 今岡浩一. 当院における *Capnocytophaga* spp. 感染症の検討. 第 90 回日本感染症学会総会, 仙台, 2016 年 4 月
 - 2) 今岡浩一, 木村昌伸, 水谷浩志, 宗村佳子, 蓮池陽子, 朴ウンシル, 鈴木道雄, 森川茂. 一般成人における抗 *Brucella canis* 抗体保有状況. 第 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月
 - 3) 木村昌伸, 宇根有美, 奥谷晶子, 鈴木道雄, 朴ウンシル, 森川茂, 今岡浩一. 無尾類に由来するブルセラ属菌. 第 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月
 - 4) 森川茂, 朴ウンシル, 木村昌伸, 福士秀悦, 今岡浩一. モンゴルにおける動物のクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの血清疫学. 第 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月
 - 5) 黒沢未希, 大柳忠智, 積田奈津希, 高橋儀行, 高木妙子, 鈴木道雄, 今岡浩一, 國島広之, 竹村弘. 動物咬傷後に *Capnocytophaga* 属が分離された 2 症例. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月
 - 6) 采原隆志, 鈴木道雄, 今岡浩一, 林原絵美子, 柴山恵吾. 動物濃厚接触患者の血液培養より分離された *Helicobacter trogontum* の 1 症例. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月
 - 7) 梶原裕貴, 秋葉容子, 駿河洋介, 面すみれ, 鈴木道雄, 今岡浩一. 血液から検出された *Capnocytophaga sputigena* に関する検討. 第 28 回日本臨床微生物学会総会, 長崎, 2017 年 1 月
 - 8) 城間裕子, 馬渕仁志, 金城譲, 宮里賢, 仲地紀哉, 豊見山良作, 島尻博人, 鈴木道雄, 今岡浩一. 早期診断により救命しえた *Capnocytophaga canimorsus* 敗血症の 1 例. 日本内科学会第 316 回九州地方会, 福岡, 2017 年 1 月
 - 9) 鈴木道雄, 今岡浩一. *Capnocytophaga canimorsus* 感染症, 日仏獣医学会第 56 回例会, 東京, 2017 年 3 月
 - 10) 君付和範, 山田健太郎, 小宮拓巳, 井上智, 西園晃, 朴天鎬. 狂犬病ウイルス(1088-N4#14)に感染後耐過した ddY マウスの中枢神経系に関する病理学的研究. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県
 - 11) 志和希, 島津太一, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo, 井上智, 朴天鎬. 狂犬病発病犬の味蕾乳頭(有郭乳頭)と舌小唾液腺(エブネル腺)に関する病理学的研究. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県
 - 12) 朴天鎬, 島津太一, 志和希, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo, 井上智. 狂犬病発病犬の鼻口部洞毛は死後組織診断材料として極めて有用である. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県
 - 13) 井上智. 国と自治体で進めている国内サーベイランスについて. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県
 - 14) 小林由紀, 日高侑也, 井上智, 山田健太郎, 伊藤直人, 林昌宏, 伊藤琢也. 狂犬病ウイルスゲノムにおける高度保存 RNA 配列の同定解析. 狂犬病研究会第 15 回記念大会. 2016 年 4 月 3-4 日, 下呂温泉水明館, 下呂市, 岐阜県
 - 15) 比嘉雅彦, 土井寛大, 加藤卓也, 井上智, 羽山伸一. 群馬県高崎市に生息する中型食肉目の抗 *Orientia tsutsugamushi* 抗体保有状況. 第 24 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー2016 鹿児島大会 (24th Seminar on Acari-Diseases Interface 2016 in Kagoshima). 2016 年 5 月 27-29 日, 休暇村指宿, 指宿市, 鹿児島県
 - 16) 土井寛大, 杉浦奈都子, 加藤卓也, 井上智, 羽山伸一. 神奈川県三浦半島における外来アライグマの相対生息密度から見たマダニ類の寄生状況と分布. 第 24 回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー2016 鹿児島大会 (24th Seminar on Acari-Diseases Interface 2016 in Kagoshima). 2016 年 5 月 27-29 日, 休暇村指宿, 指宿市, 鹿児島県

- 17) 井上 智. 医学と獣医学の協働による狂犬病の制御. 司宰機関企画(One Health シンポジウム). 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
- 18) 中島千景, Daria L. Manalo, 君付和範, 川本尚未, 須見康代, 山岸光葉, 篠崎春美, 島津太一, 志和 希, 山田健太郎, 井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発症犬の鼻口部洞毛組織の死後診断的有用性の再確認と洞毛組織における病理学的所見. 病理学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
- 19) 奥谷晶子, 加来義浩, 野口 章, 井上 智, 森川 茂. 国内で分離された *Bacillus cereus* group の全ゲノム配列解析. 公衆衛生学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
- 20) 野口 章, 井上 智, 加来義浩, 奥谷晶子, 森川 茂. 狂犬病ウイルスのガンマ線照射による不活化条件. 公衆衛生学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
- 21) 加来義浩, 井上 智, 野口 章, Nguyen Tuyet Thu, Vinh Dong Nguyen, Thi Kieu Anh Nguyen, 森川 茂. シュードタイプ VSV で算出した狂犬病ウイルス中和抗体価の国際単位への換算. 公衆衛生学分科会. 第 129 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
- 22) 青木啓太, 新井智, 谷口怜, 吉川泰弘, 久和茂, 多屋馨子, Joseph S. Masangkay, 大松勉, Roberto Puentespina, 渡辺俊平, Phillip Alviola, 森川 茂, Richard Yanagihara, 大石和徳. フィリピンのおオコウモリから検出された新規ハンタウイルスの遺伝子解析. 2016 年 9 月 6 日-8 日, 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 神奈川県
- 23) 土井寛大, 杉浦奈都子, 加藤卓也, 井上 智, 羽山伸一. 外来アライグマ(*Procyon lotor*)の相対的生息密度が及ぼすマダニ類(Ixodidae)の寄生状況・生息密度への影響. 第 22 回日本野生動物医学大会. 2016 年 9 月 16 日-18 日, 宮崎市民プラザ, 宮崎市, 宮崎県
- 24) 志和希, 川本尚未, 君付和範, Daria Llenaresas Manalo, 井上 智, 朴 天鎬. フィリピン熱帯医学研究所で狂犬病陽性と診断された発症犬の神経病理学的研究. 第 4 回日本獣医病理学専門家協会学術集会. 2017 年 3 月 30-31 日, タワーホール船堀, 江戸川区, 東京都
- 25) 奥谷晶子 森川茂 日本国内で分離された *Bacillus cereus* group の全ゲノム配列を用いた遺伝学的解析. 日本獣医師会 獣医学術学会 2017 年 2 月 金沢市
- 26) 奥谷晶子 日本細菌学会シンポジウム「感染症とバイオテロリズム」シンポジスト講演「炭疽菌と生物テロ」 2017 年 3 月 仙台市
- 27) 清水隆, 鈴木尋, 渡邊健太, 度会雅久, 宇田晶彦. 中心体に作用する野兎病菌エフェクターの解析, 第 90 回日本細菌学会総会, 仙台, 2017 年 3 月.
- 28) 清水隆, 鈴木尋, 渡邊健太, 宇田晶彦, 度会雅久. VI 型分泌機構をコードする *Francisella Pathogenic Island* の解析, 第 69 回 日本細菌学会中国・四国支部総会, 2016 年 10 月.
- 29) 堀田明豊, 宇田晶彦, 藤田修, 田徳雨, 古山祐樹, 森川茂. 長期継代により変化する野兎病菌の性状に関する研究, 第 159 回日本獣医学会, 藤沢, 2016 年 9 月.
- 30) 岡藤理恵, 鈴木尋, 宇田晶彦, 渡邊健太, 清水隆, 度会雅久. カイクを用いた野兎病菌の節足動物内動態の解析, 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月.
- 31) 藤田修, 林利彦, 宇田晶彦, 朴ウンシル, 木村昌伸, 藤田博己, 今岡浩一, 森川茂. シカシラミバエは自然界での SFTSV の維持に関与しているのか? 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月.
- 32) 宇田晶彦, Sharma Neekun, 滝本一広, 田徳雨, 古山裕樹, 朴ウンシル, 藤田修, 堀田明豊, 森川茂. 野兎病菌プラナーゼ遺伝子の病原性に関する検討. 159 回日本獣医学会学術集会, 藤沢, 2016 年 9 月.
- 33) 谷英樹, 福間藍子, 谷口怜, 福士秀悦, 黒須剛, 古山裕樹, 宇田晶彦, 森川茂, 米納孝, 古田要介, 下島昌幸, 西條政幸. マウス感染モデルにおけるファビピラビルによる重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染症治療効果. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会, 名古屋, 2016 年 5 月.
- 34) 高田伸弘, 夏秋優, 早坂大輔, 宇田晶彦, 矢野泰弘, 高田由美子. 兵庫県北部の SFTS 感染環; 野鼠の抗体検査とマダニの病原保有率. 第 68 回日本衛生動物学会大会, 宇都宮, 2016 年 4 月.
- 35) 宇田晶彦. 日本における SFTS ウイルスの自然界における存在様式. 第 90 回日本感染症学会総会・学術講演会, 仙台, 2016 年 4 月.
- 36) 森川 茂. 国立感染症研究所の BSL-4 施設が大臣指定を受けるまでの道のりと今後の施設内での業務等について. 第 16 回日本バイオセーフティ学会総会・学術集会ワークショップ: BSL4 の現状と展望 大宮, 埼玉. 2016 年 11 月

- 37) Yoshihiro Kaku, Eun-sil Park, Akira Noguchi, Koichi Imaoka, Satoshi Inoue, Shigeru Morikawa. ヘニパウイルスC末端欠損F, G蛋白質を用いた効率的なシュードタイプ VSV の作製 (Efficient generation of henipavirus VSV pseudotypes by deleting C-terminus of viral F and G proteins). 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道
- 38) Shigeru Morikawa, Masanobu Kimura, Tomoki Yoshikawa, Yoshihiro Kaku, Eun-sil Park, Koichi Imaoka, Masayuki Saijo and Ken Maeda. Positive correlation between SFTS virus antibody positive rate in wild deer and number of SFTS patients. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道
- 39) 藤田修, 宇田晶彦, 木村昌伸, 藤田博己, 今岡浩一, 森川 茂. ニホンジカより採取したマダニ類の SFTS ウイルス遺伝子保有状況から見た自然界における SFTS ウイルスの維持様式. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道
- 40) 谷英樹、福間藍子、谷口怜、福士秀悦、黒須剛、古山裕樹、宇田晶彦、森川 茂、米納孝、中嶋希、古田要介、下島昌幸、西條政幸. マウス感染モデルにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染に対する T-705 の治療効果. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (The 64th annual meeting of the Japanese society for virology). 2016 年 10 月 23 日-25 日, 札幌コンベンションセンター, 札幌市, 北海道
3. セミナー・講演等
- 1) 今岡浩一. 人獣共通感染症の動向とリスク評価について. 平成 28 年度中央畜産技術研修会 (畜産物安全行政), 白河, 2016 年 6 月
- 2) Inoue S. 日本狂犬病監視 (Rabies surveillance in Japan). 專題演講 (Specialized seminar). 29 Jan, 2016. 行政院農業委員會家畜衛生試驗所 (Council of Agriculture, Executive Yuan, Animal Health Research Institute). 新北市 (New Taipei city), 台湾 (Taiwan)
- 3) Inoue S. 日本寵物狂犬病疫苗注射概況 (An introduction of pet rabies vaccination in Japan). 台日狂犬病研討會 (Taiwan-Japan rabies conference). 30 Jan, 2016. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局、高雄市動物保護處. 高雄市 (Kaohsiung city), 台湾 (Taiwan).
- 4) Inoue S. Rabies surveillance in Japan. Laboratory network for animal rabies diagnosis. Specialized seminar. 3 Feb, 2016. Taiwan DCD, Kun-Yang office. Taipei city, Taiwan
- 5) Inoue S. Overview of prevention and control of zoonosis diseases in public health. Hoi nghi khoa hoc y te du phong Thanh pho Ha Noi lan thur nhat 2016. 26 Feb, 2016. Trung tam Y te Dur phong Ha Noi. Hanoi city, Vietnam
- 6) 井上 智, 加藤卓也. 動物の狂犬病調査ガイドライン作成の背景と進捗状況等について. 平成 28 年度第 1 回公衆衛生専門技術研修 (学術講演会). 神奈川県衛生研究所企画情報部. 2016 年 6 月 23 日, 神奈川県衛生研究所, 神奈川県
- 7) 井上 智, 水越文徳. 世界における狂犬病の発生状況と国内対策について. 平成 28 年度石川県獣医師会公衆衛生部会研修会. 石川県獣医師会. 2016 年 6 月 30 日, ホテル金沢, 金沢市, 石川県
- 8) 井上 智, 水越文徳. 狂犬病のトピック: 感染源調査とレファレンスネットワークについて. 狂犬病を中心とした動物由来感染症に関するセミナー. 富山衛生研究所. 2016 年 7 月 1 日, 富山県衛生研究所講堂, 射水市, 富山県
- 9) 井上 智. 狂犬病: ガイドライン等に基づいた狂犬病検査の注意点等について. 平成 28 年度狂犬病予防業務北陸ブロック技術研修会, 厚生労働省健康局結核感染症課. 2016 年 12 月 1-2 日, 富山県衛生研究所, 富山県
- 10) 井上 智. 国内における防疫体制整備と積極的検査について. 第 4 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び平成 28 年度狂犬病予防業務九州・沖縄ブロック技術研修会, 主催: 宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター・厚生労働省健康局結核感染症課. 2016 年 12 月 5-7 日, 宮崎大学, 宮崎県
- 11) 井上 智. 狂犬病の発生状況と国内対策について (飼い犬の登録と予防注射の役割) 公衆衛生推進事業講習会. 福島県獣医師会 (主催)/福島県医師会 (共催). 2017 年 1 月 26 日, 福島県自治会館, 福島市, 福島県
- 12) 常盤俊大, 井上 智. 動物由来感染症対策の基盤強化のための寄生虫検査法技術講習会. 寄生虫検査技術講習会. 2017 年 1 月 22 日, 兵庫県動物愛護センター三木支所. 三木市, 兵庫県
- 13) 常盤俊大, 井上 智. 動物由来感染症対策の基盤強化のための寄生虫検査法技術講習会. 平成 28 年度行政担当者向け寄生虫学検査講習会. 2017 年 3 月 3

日, 熊本県保健環境科学研究所. 宇土市, 熊本県

- 14) 井上 智. 狂犬病を疑う視点の持ち方. 咬傷犬狂犬病検診に関するワークショップ(狂犬病臨床診断の第一歩). 平成 28 年度日本獣医師会小動物臨床講習会. 2017 年 3 月 5 日, 東京都獣医師会. フォーラムエイト, 渋谷区, 東京都
- 15) 堀田明豊. 解剖・検査における安全確保、バイオセーフティ、廃棄方法等について。平成 28 年度狂犬病予防業務北陸地方ブロック技術研修会。2016 年 12 月 1 日、富山県衛生研究所、射水市、富山県
- 16) 堀田明豊. 解剖・検査における安全確保、バイオセーフティ、廃棄方法等について。平成 28 年度狂犬病診断研修会。2016 年 12 月 5 日、宮崎大学、宮崎市、宮崎県