

## 1. ウイルス第一部

部長 西條 政幸

### 概要

ウイルス第一部長西條政幸は、2021年3月31日を以て国立感染症研究所を退職し、札幌市保健福祉局・保健所に異動した。

ウイルス第一部では、特定一種病原体を含む出血熱ウイルス、ポックスウイルス、節足動物媒介性ウイルス(アルボウイルス)、神経系ウイルス、ヘルペスウイルス、リケッチア、クラミジア、コクシエラ等の病原体を所掌とし、これらの病原体と病原体によって引き起こされる疾患に関する研究、リファレンス、検査業務及び痘そう、日本脳炎、狂犬病、水痘ワクチン等の生物製剤検定業務を遂行している。さらに本年度は、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の国内及び世界的な流行を受けて、COVID-19の病原体である severe acute respiratory syndrome coronavirus 2(SARS-CoV-2)に関するリファレンス・行政検査業務及び流行対策に迅速に対応した。

第一室においては、主にエボラウイルス等の特定一種病原体及び出血熱ウイルスによって引き起こされる感染症の研究及び業務を行っている。現在、国立感染症研究所は、高度封じ込め施設(BSL-4施設)において取り扱われるべき特定一種病原体を保持している。これらの感染性病原体を用いて、日本の特定一種病原体対策に資するリファレンス・診断法開発等の業務を遂行している。特に、エボラウイルス等に対する、より精度の高い検査法を確立するために中和抗体測定システムを開発した。またライブセルイメージング技術を活用し、フィロウイルスタンパク質の機能及び細胞内局在に関する研究を行った。重症熱性血小板減少症候群(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)及び Soft tick bunyavirus 等の国内において流行地域拡大や健康被害の発生が危惧されるウイルスに関する基礎、臨床・疫学、病原性発現基盤、治療法開発等の研究、高度弱毒化痘瘡ワクチンの組換え技術を用いて高病原性ウイルスに対するワクチンを開発した。またデング出血熱発症機序の解明等の研究を継続した。

第二室においては、ヒトに様々な健康被害をもたらす、日本国内及び国外においても公衆衛生的に重要な蚊媒介性

フラビウイルスである日本脳炎ウイルス(JEV)、デングウイルス(DENV)、ジカウイルス(ZIKV)に関する研究を行った。DENV及びJEVに関しては、デング熱患者検体を用いて他のフラビウイルス感染との血清学的交差応答やJEVの非構造タンパク質検出系による新規検査法の開発を行った。ZIKV感染症関連研究では、組換えZIKVを作出するためのリバーシジェネティクス法と様々な動物モデルを駆使して、ZIKV感染症の病原性発現機序を分子レベルで明らかにした。またSFTSウイルス(SFTSV)に近縁のダニ媒介性ウイルスで米国においてヒトにSFTS様の疾患を引き起こすハートランドウイルス(HRTV)のリバーシジェネティクス法、動物感染モデル、高度弱毒化組換え痘瘡ワクチンベクター等の様々なアプローチを駆使して、増殖及び病原性発現の分子機序を明らかにし、さらにワクチン開発に資する研究を行った。

第三室においては、狂犬病ウイルス及びJCウイルス等の予後不良な中枢神経系感染症を引き起こすウイルスに関する研究を行った。狂犬病ワクチンの品質保証試験の代替法開発に関する研究を行った。2006年以来14年ぶりとなった輸入狂犬病に関する行政検査を獣医科学部および感染病理部と共同で担当した。進行性多巣性白質脳症(PML)の診断支援のため、JCウイルスの遺伝子検査を行った。さらに、JCウイルスの変異タイプ検査系を確立した。昆虫媒介性の脳炎・発熱性疾患ウイルスの輸入例対策として、アメリカ大陸や欧州で流行している蚊媒介性ブニヤウイルスによる脳炎・熱病(サンドフライ熱ウイルス、カリフォルニア脳炎グループウイルス、オロプーシュウイルス等)の診断システムの確立、血清疫学研究、抗ウイルス薬及びウイルスタンパク質の細胞内局在に関する研究を行った。小児の重篤な中枢神経疾患の原因となるチャンディブラウイルスについて、抗ウイルス薬のスクリーニングおよび動物モデルに関する研究を行った。また、SARS-CoV-2の武漢株および新規変異株について、国内外の研究機関への分与業務を担当した。

第四室においては、主に単純ヘルペスウイルス1型(herpes simplex virus 1, HSV-1)とヒトに致死的な脳炎を惹起するヘルペスBウイルスに関する研究がなされた。HSV-

1 のアシクロビル耐性獲得機序を分子レベルで明らかにすると共に国内の医療機関から難治性 HSV-1 感染症、水痘・帯状疱疹ウイルス感染症およびヒトサイトメガロウイルス (HCMV) 感染症患者における原因ウイルスの薬剤感受性検査を受け入れた。2019 年 11 月に日本で初めてサル由来  $\alpha$  ヘルペスウイルスであるヘルペス B ウイルスによる中枢神経感染症患者が確認された。獣医科学部と共同で B ウイルス感染症検査を担当するとともに、血清学及び分子生物学的ウイルス検出法を開発し、分子・血清疫学的研究を行った。またヘルペスウイルスと神経細胞との相互作用や EB ウイルスに関する基礎的な研究も継続された。

第五室においては、マダニ媒介細菌感染症の総合的な対策の構築を目的に、国内の研究者と共同し、各種細菌性病原体の性状・病態等の解明、病原体ゲノム情報のアーカイブ化、日本紅斑熱リケッチアの病態マウスモデルの確立、ツツガムシ病リケッチア型特異的組換え抗原を用いた血清学的診断法の開発に関する研究を行った。さらにツツガムシの共生細菌に関する研究や紅斑熱リケッチア群に属するものの弱毒型のリケッチアだと考えられている *Ca. Rickettsia longicornii* の解析等、基礎から応用領域を含む包括的な研究も実施された。一方、リケッチア分離株のリソース構築やリケッチア症検査法の開発と評価に関する各地方衛生研究所との連携を維持・強化するための活動も継続された。

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。

COVID-19 への対応として、ウイルス第一部は、感染症危機管理研究センター、ウイルス第一部、ウイルス第二部、エイズ研究センター、細菌第一部を中心に組織された国立感染症研究所戸山庁舎 COVID-19 検査担当班において、各検疫所、地方自治体、医療機関より依頼された COVID-19 患者検体に対するウイルス遺伝子検査法を用いた迅速検査を担当した。また、感染病理部、獣医科学部、ウイルス第三部、病原体ゲノム解析研究センター、感染症危機管理研究センター、安全実験管理部、総務部調整課と協力して、分与用 SARS-CoV-2 ウイルスストックの作製および、国内外へのウイルス分与を担当した。さらに、ウイルス分離、迅速検査法・血清学的診断法の開発、抗ウイルス薬による治療効果、ワクチン開発研究等、日本の新型コロナウイルス対策に資する研究も実施された。

2020 年度には痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチン、带状疱疹ワクチンおよび水痘抗原の国家検定と黄熱ワクチンの行政検査を担当した。ウイルス第一部が担当する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、各種国際協力活動を行った。また、協力研究員と大学や研究機関等から研究生、実習生を受け入れた。

## 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) SFTSV の治療用抗体開発に関する研究

SFTS は症状が重篤で致命率も 30%前後と高い。SFTS に対する特異的な治療法は存在しない。これまでにカニクイザルを用いて作製された抗 SFTSV 抗血清 (精製抗体) の投与が SFTS の霊長類モデルおよびマウスモデルにおいて特異的治療薬として有効であることを明らかにした。単クローン抗体による治療薬開発のためにヒトやマウスの単クローン抗体を収集し解析した結果、治療用抗体の標的となり得るエピトープがウイルス GP 上に複数確認された。今後治療用に抗体を選択する際の指標になると考えられた。[下島昌幸、杉元聡子、高松由基、黒須剛、吉河智城、西條政幸]

###### 2) SFTSV の病原性解析

SFTSV の性状や病原性発現機序を理解し SFTS の予防や治療に役立てるための研究として、SFTSV を培養細胞で継代し変異ウイルスを複数得て、継代前のウイルスと病原性を比較した結果、マウスモデルで低病原性を示す変異ウイルスが存在した。遺伝子操作系を応用して解析したところ、その病原性の低下は GP 内の変異によることが判明した。SFTSV の病原因子として non-structural protein (NSs) が知られているが、GP も病原因子となり得ることが判明した。[下島昌幸、杉元聡子、高松由基、黒須剛、吉河智城、西條政幸]

###### 3) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした重症熱性血小板減少症候群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の製造承認株であるワクチ

ニアウイルス株 LC16m8 (m8) は、ワクチンとしての免疫原性を維持しつつ安全性の高いワクチン株である。現在 m8 の長所を生かして、SFTSV 感染症への効果的なワクチンの開発を行っている。既に SFTSV の核タンパク質 (N)、膜タンパク質 (GPC) をそれぞれ単独、または両方を発現する組換え m8 (それぞれ m8-N、m8-GPC、m8-N+GPC) のワクチン効果はマウス、サルを用いた動物実験により確認されている。本年度はこれらの組換え m8 が誘導する SFTSV に対する特異抗体がワクチン効果に寄与するかを検討した。I 型 IFN レセプター欠損マウスに、上記の組換え m8 と対照として蛍光タンパク質 EGFP を発現する m8-EGFP を免疫して血清を回収し、予めナイーブな IFN レセプター欠損マウスに投与後に SFTSV を接種し、その 5 日後に血清と脾臓を回収しウイルス量を測定した。m8-GPC、m8-N+GPC 免疫マウス血清投与群における血清中の SFTSV 量は m8-EGFP 免疫マウス血清投与群と比較して有意に低かった。興味深いことに *in vitro* では SFTSV 中和活性が認められなかった m8-N 免疫マウス血清を投与した群における SFTSV 量は統計学的には有意でないものの m8-EGFP 免疫マウス血清投与群と比較してより低いことが確認された。更に m8-N+GPC 免疫マウス血清投与群の血清中、脾臓中の SFTSV 量は m8-N、m8-GPC 免疫マウス血清投与群のそれらと比較してより低くなっていた。これらの結果より m8-N 免疫によって誘導された N に対する特異抗体は *in vitro* での中和活性は示さないにもかかわらず *in vivo* では SFTSV の増殖を抑制し、更には GP に対する特異抗体と協調的に作用してより強力な SFTSV 増殖抑制効果を示すことが明らかとなった。[吉河智城、加藤博史、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸]

#### 4) SFTSV の薬剤耐性に関する研究

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は SFTSV によるダニ媒介性疾患であり、日本では毎年 40~100 名の患者が報告されている。抗ウイルス薬 favipiravir は SFTS に対する治療薬候補である。本薬剤の臨床応用に関して、ウイルスの薬剤耐性化の可能性を検討した。培養細胞を用いて、高濃度 favipiravir 存在下で 5 代および 10 代継代して得られたウイルスと非存在下で継

代した対照ウイルス間では favipiravir に対する感受性に差がないことが確認された。これらのウイルスのポリメラーゼ遺伝子の配列を比較したところ、存在下での継代ウイルスでは 10 か所以上の変異が見られた一方、対照ウイルスでは 1 か所のみであった。Favipiravir は変異原ではあるが、耐性変異を起こさないことが示唆された。[伊藤(高山)睦代、佐藤正明、加藤博史、河原田香、西條政幸]

#### 5) 天然化合物等の SFTSV に対する増殖抑制効果に関する研究(1)

カフェ酸類似の化合物 8 種の増殖抑制効果の検討では、芳香族環の 2 つのヒドロキシル基の配座がカフェ酸と同じ 3,4-dihydroxyhydrocinnamic acid のみが、活性を示した。さらに、芳香族環にヒドロキシル基が 2 つある構造の Catechol だけでも、活性を示すことを発見し、o-dihydroxybenzene が抗ウイルス活性の基本構造であることが示された。[小川基彦、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸; 白砂圭崇、深澤征義(細胞化学部)]

#### 6) 天然化合物等の SFTSV に対する増殖抑制効果に関する研究(2)

緑茶由来カテキン 4 種およびフラボノール 2 種の抗 SFTSV 活性を評価した。エピガロカテキンガレート (EGCg) およびエピガロカテキン (EGC) がウイルス増殖を顕著に抑制した。これら化合物はウイルス粒子に直接作用し、感染能を失活させることで抗ウイルス活性を発揮すると考えられた。また、EGCg と EGC の構造の一部であるピロガロール (1, 2, 3-トリヒドロキシベンゼン) にも抗ウイルス活性が認められ、抗ウイルス活性の基本構造が示された。[小川基彦、安藤秀二、下島昌幸、西條政幸; 深澤征義(細胞化学部)]

#### 7) LAMP 法を用いた SFTSV 検出系の構築

本研究では、病院の検査室等でも実施可能な血清検体の簡易前処理法を開発し、これを応用した loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法による SFTSV 検出系を構築した。簡易前処理法による RT-LAMP は、 $1.0 \times 10^{3.5}$  copies/mL のウイルス RNA を含む臨床検体から検出可能であり、現行 PCR と比較し感度 84.9% であった。従来、液状試薬を LAMP 用反応チューブに分注する作業が必要であったが、乾燥試薬を用いる系を確立し、さらなる簡便化をおこなった。

本検出系は、迅速で簡便な SFTSV 検査を可能とするものであり、臨床現場での実用化が期待される。[福士秀悦、木下一美、原田志津子、山田壮一、黒須剛、吉河智城、下島昌幸、西條政幸]

## 2. 出血熱ウイルス感染モデルを用いた病原機序の解析

### 1) 出血熱ウイルス感染モデルを用いた病原機序の解析

ウイルス性出血熱は重篤な疾患を起こす。重症ウイルス性出血熱の病態機序の解明、効果的な治療法の開発、治療法検定系の開発を目指し、感染動物モデル系を用いた解析を行った。これまで3型デングウイルス DV3P12/08 株を、インターフェロン系ノックアウトマウス (IFN-KO マウス) に感染させた。血漿漏出を伴う致死感染モデルを用いて解析を行い、マウスへの感染によりある特殊な T 細胞集団が増殖・活性化し、過剰なサイトカイン産生、血漿漏出へと誘導していることを明らかにした。T 細胞受容体 (TCR) 解析により、感染により誘導されるこの T 細胞集団はポリクローナルな増殖であることが明らかになった。このことより T 細胞の活性化には、TCR による抗原提示細胞を介した認識は関与せず、他の要因によると推察された。一方、ミエロイド系細胞だけの I 型インターフェロンレセプターが部分的にノックアウトされている (lysmcre+ifnar1-floxed) マウスとマウス臓器に順化させたデングウイルスを用いて、これまでと同様の現象が観察される致死モデル系を樹立した。観察をまとめると、ミエロイド系細胞への感染が、なんらかの機序によりある T 細胞集団を活性化させ、血漿漏出や出血症状を伴う重症化を誘導したと考えられた。[黒須剛、下島昌幸、吉河智城; 奥崎大介 (大阪大学微生物病研究所)]

### 2) フィロウィルスの複製機構に関する研究

フィロウィルスのウイルス転写因子であるウイルスタンパク質 VP30 は、可逆的リン酸化を介して転写・複製機構を制御することが知られている。しかし、①VP30 がフィロウィルスのヌクレオカプシドにどのように取り込まれるのか、②ヌクレオカプシドにおける VP30 のオリエンテーションはどうなっているのか、VP30 のヌクレオカプシド形成における役割については不明な点が多かった。そこで、①については、各種顕微鏡解析と生化学的解析を用いてヌクレオカプシドタンパク質との

相互作用を明らかにすることで、その分子機構の一端を解明することに成功した。②については、濃縮・精製したウイルスまたはウイルス様粒子のエンベロープを界面活性剤で溶解し、ヌクレオカプシドを露出させ、VP30 特異抗体を用いた免疫電顕法により VP30 のオリエンテーションを決定することができた。さらに本研究で確認された現象がエボラウイルス (EBOV) とマールブルグウイルス (MARV) のどちらでも観察されたことから、VP30 とヌクレオカプシドの相互作用はフィロウィルス全般で保存された分子機構であり、新たな抗 EBOV 薬の標的になり得ることが示唆された。[高松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸]

### 3) ライブイメージング法を用いた高病原性ウイルスの細胞内動態に関する研究

EBOV で構築した非感染性のライブセルイメージングシステムを他の高病原性ウイルスに応用した。具体的にはマールブルグ出血熱を起こす MARV について、EBOV と同様にタンパク質発現系を用いたライブセルイメージングシステムを構築し、ヌクレオカプシドの輸送に必須なウイルスタンパク質を同定した。また、日本を含むアジアで流行している SFTS の病原体である SFTSV について、感染細胞におけるウイルスタンパク質複合体の輸送経路を同定した。同様に喫緊の国際公衆衛生上の最重要課題のひとつである新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) についても、SFTSV と同様に感染細胞におけるタンパク質複合体の輸送経路を同定することに成功した。現在、どのタンパク質のどのドメインが細胞内輸送に関与するのか研究を進めている。[高松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸]

### 4) MARV のヌクレオカプシド形成機構に関する研究

フィロウィルス科の MARV の構造解析は EBOV に比べて遅れており、ヌクレオカプシドの基礎構造である NP-RNA 複合体の微細構造も分かっていなかった。今回、京都大学ウイルス・再生医科学研究所微細構造ウイルス学分野との共同研究で、クライオ電子顕微鏡を用いて、MARV の NP-RNA 複合体の微細構造を 3.1 Å で決定することに成功した。本研究の成果は、MARV の転写・複製を制御する新しい治療薬開発に大きく貢献する。[高松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸]

5) 高病原性ウイルスの複製を制御する新規治療法に関する研究

日本及び国際的に重要な高病原性ウイルスに対する新規治療法を構築するために、フラビウイルスを対象に長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野と共同研究を進めた。その結果、site-1 protease 阻害剤 (PF-429242) がジカウイルスの複製を抑制することを発見した。また、アレナウイルスを対象に、京都大学ウイルス・再生医科学研究所微細構造ウイルス学分野と共同研究を進めた。京都大学が保有する化合物ライブラリー (2000 以上のアメリカ食品医薬品局 FDA に認可されている化合物) に属する薬剤を順次スクリーニングすることで、アレナウイルス科のウイルス複製を広く制御する化合物を同定することに成功した。[高松由基、吉河智城、黒須剛、下島昌幸、西條政幸]

3. 新規ブニヤウイルスに関する研究

1) Soft tick bunyavirus の性状解析に関する研究

近年国内で分離され soft tick bunyavirus (STB ウイルス、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) と系統樹解析から非常に近縁であると考えられている。STBV によるヒトの感染症の発生は知られていないが、マウスモデルを用いたこれまでの研究で STBV と ISKV とで病原性の発現機序は同じであることが示され、STBV によるヒトの感染症が発生し得る可能性が考えられた。治療法開発に取り組み、抗インフルエンザ薬のアビガンと抗ウイルス単クローン抗体が治療薬剤候補となり得ることを示した。[下島昌幸、杉元聡子、西條政幸]

4. 出血熱ウイルスワクチンの開発

1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台としたエボラウイルス病ワクチンの開発

前年度までに私たちは LC16m8 をベースとして、感染細胞で EBOV (ザイール株、スーダン株、ブンディブギョ株、タイフォレスト株)、MARV のエンベロープ糖タンパク質 (GP) を発現する組換え m8 (m8-GP) を作製した。本年度は m8-GP のワクチンとしての有効性を、EBOV ザイール株の GP を外套した組換え VSV をサロゲートウイルスとして用いるhamsterモデルにより評価

した。hamsterにザイール EBOV の GP 遺伝子または対照として蛍光タンパク質 EGFP をゲノムに保持する組換え m8 (m8-Zaire\_GP または m8-EGFP) をhamsterに皮内接種した。組換え m8 の免疫から 1 週間後にザイール EBOV の GP 遺伝子を保持する組換え VSV を腹腔内接種により感染させて、体重変化を経時的に測定した。m8-Zaire\_GP を接種されていたhamster群は感染後 2 日目から体重は増加傾向となり、14 日後まで体重は増殖し続けた。一方で m8-EGFP 接種群について、致死感染を起こしたhamsterはいなかったが、接種 2 日目で体重の減少が確認され、その後 5 日目程度までは体重増加は横ばいであった。その後 14 日目まで体重は増加傾向となったものの m8-Zaire\_GP 接種群と比較して体重の違いは明らかであった。以上より m8-Zaire\_GP の EBOV ワクチンとしての効果が強く期待できる結果となった。[吉河智城、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸]

5. ウイルスの配列決定法に関する研究

1) 次世代シーケンシングを用いた RNA ウイルスの両末端配列を含めた全ゲノム配列迅速決定法の開発

高病原性ウイルス感染症の患者検体から分離されたウイルスの全ゲノム配列決定は必要かつ重要である一方で、一定の労力と時間を要する。また高病原性ウイルス感染症の原因ウイルスにはアレナウイルスやブニヤウイルスと言ったマイナス鎖分節ウイルスが多く、その末端配列決定にはしばしば技術的困難が伴う。2019 年度は比較的価格かつ高性能の次世代シーケンサーである MinION を用いてマイナス鎖分節ウイルス RNA の両末端配列を含めた全ゲノム配列の迅速決定法の確立を行った。今年度はこの方法の更なる拡張を目指し、全ての RNA ウイルスの両末端配列を含めた全ゲノム配列の迅速決定法の確立を行った。サンプルはマイナス鎖分節ウイルス RNA ウイルスである、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV, 2 分節) と重症熱性血小板減少症候群ウイルス (SFTSV, 3 分節)、A 型インフルエンザウイルス (IFV, 8 分節)、非分節マイナス鎖 RNA ウイルスであるイヌジステンパーウイルス (CDV)、プラス鎖 RNA ウイルスである SARS-CoV-2 を感染させた細胞の培養上清を用いた。前年度までに

確立した方法である3'末端へのリンカーライゲーション、ライブラリー調整時に用いる逆転写酵素や、PCR 酵素の更なる最適化により、今回検討した全てのウイルスについて全ゲノム配列決定に成功した。シーケンス結果は、少なくとも LCMV、SFTSV、CDV、そして SARS-CoV-2 についてはサンガー法により決定したゲノム配列、または GenBank に登録されているリファレンス配列と 100%一致していた。IFV については現在サンガー法によるシーケンス決定を行っており正確性を確認中である。[吉河智城、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸]

## II. 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) デング熱患者血清の他のフラビウイルスへの交差反応の解析

デングウイルス(DENV) は、ジカウイルス(ZIKV)、日本脳炎ウイルス(JEV)、ウエストナイルウイルス(WNV)、ダニ媒介脳炎ウイルス(TBEV)などと同様に、フラビウイルス科フラビウイルス属に分類されるウイルスである。2015 年に南米を中心に ZIKV 感染症が流行した際に、抗 ZIKV 抗体と抗 DENV 抗体との交差反応により ZIKV 感染症の血清学的診断が困難となることが注目された。フラビウイルス間の抗体の交差反応の詳細を解析することは、フラビウイルス感染症の正確な血清学的診断にとって重要である。デング熱患者血清が他のフラビウイルス抗原に交差反応を示すか否かに関しては、デング熱流行国のデング熱患者血清を用いた解析は精力的になされ、論文も多数発表されている。一方、デング熱非流行国からデング熱流行国へ渡航し、デング熱を発症した患者の血清を用いた解析の報告は少ない。そこで、本研究では、日本からデング熱流行国へ渡航し、渡航先で DENV に感染しデング熱を発症した患者から採取されたペア血清を用いて、その血清が他のフラビウイルスに交差反応を示すか否かについて解析した。日本からデング熱流行国へ渡航し、ウイルス遺伝子検出検査(RT-PCR法)によってデング熱と診断され、急性期血清と回復期血清のペア血清を入手できたデング熱患者を対象とした。前記のデング熱患者 7 人より採取されたペア

血清(16血清)を用いて、① DENV、ZIKV、WNV、TBEV に対する IgM capture ELISA、② DENV、TBEV に対する IgG ELISA、③ DENV、ZIKV、WNV、TBEV、JEV に対する中和試験を実施した。IgM capture ELISA では DENV IgM capture ELISA で陽性を示した 9 血清のうち、ZIKV、JEV、WNV、TBEV IgM capture ELISA に対して、それぞれ、2、4、2、1 血清が交差反応を示した。IgG ELISA では DENV IgG ELISA で陽性となった 10 血清のうち 9 血清が TBEV IgG ELISA で交差反応を示した。中和試験においては、いずれの血清からも ZIKV および TBEV に対する中和抗体価は検出されなかった。5 血清(いずれも回復期血清)が WNV に対する中和活性を示したが、いずれの血清も、WNV に対する中和抗体価は、それぞれの患者が感染した血清型の DENV に対する中和抗体価の 1/4 以下であった。9 血清(急性期血清 3、回復期血清 6)から JEV に対する中和抗体価が検出された。急性期血清、回復期血清の両方で JEV に対する中和抗体価が検出された血清(急性期血清 3、回復期血清 3 の計 6 血清)は、抗 DENV 抗体による交差反応以外の要因(過去の JE ワクチン接種、あるいは JEV に対する不顕性感染の既往)によって JEV に対する中和活性を示したものと考えられた(その 3 組のペア血清では、急性期血清から回復期血清にかけての JEV に対する中和抗体価の上昇が確認されなかったため)。残りの 3 血清(いずれも回復期血清)は、抗 DENV 抗体による交差反応によって JEV に対する中和能を示したものと考えられた。いずれの血清においても、JEV に対する中和抗体価は、それぞれの患者が感染した血清型の DENV に対する中和抗体価の 1/4 以下であった。本解析の結果、デング熱の血清学的診断にはペア血清を用いた中和試験が重要であることが示された。[前木孝洋、田島茂、加藤文博、柴崎謙一、池田真紀子、谷口怜、高崎智彦、林昌宏、西條政幸]

### 2. JEV に関する研究

#### 1) JEV 遺伝子型 V 型に対する組換え生ワクチン開発の試み

近年韓国では、これまでと異なる遺伝子型(V 型)の

JEVが蔓延している。V型株は従来型(I型あるいはIII型)とは遺伝学的に遠縁にあたり、血清学的にも異なる性状を示す。さらにV型株に対し、III型株で製造されている現行の日本脳炎ワクチンの効果が低い傾向があるとの報告もある。そこで本研究では、V型株に対して効果的な日本脳炎ワクチンの開発を試みた。以前私たちが作製したV型株のEタンパク質をコードする組換えI-Vキメラ型JEVを用い、そのEタンパク質に病原性減弱に関わる10個のアミノ酸置換を導入した新たな組換えJEVを作製した。また同時に、I型株のEタンパク質に同様のアミノ酸置換を導入した組換えI型JEVも作製した。アミノ酸置換導入により、ヒトおよびマウス神経芽細胞腫由来細胞株における増殖能の低下がみられた。また、マウスにおける神経浸潤毒性および神経毒性も顕著に低下していた。今後マウスにおける中和抗体誘導能および病態発症抑制能を解析する予定である。[田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、西條政幸、林昌宏]

2) 岡山県で発生した日本脳炎患者および広島検疫所坂出出張所で捕獲されたJEV感染蚊検体で検出されたJEVゲノム解析

岡山県で発生した日本脳炎患者の髄液より、JEVゲノムの一部(Eタンパク質領域)を増幅し、塩基配列を決定した。また、香川県で広島検疫所坂出出張所の調査により採取されたプール蚊検体RNAより、JEVの全長ゲノム領域を増幅し、全塩基配列を決定した。両ゲノム配列は99%以上の非常に高い相同性を示し、遺伝子型は1型であった。また令和元年度に広島県で発生した日本脳炎患者検体より同定したJEVゲノム配列とも同様に高い相同性を示した。[田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、西條政幸、林昌宏]

3) JEVNS1抗原検出による日本脳炎診断法の確立

日本脳炎は、JEVが原因で生じる中枢神経感染症である。患者が日本脳炎を発症した場合でも、患者から採取された髄液あるいは血清からJEV遺伝子が検出されることは極めて稀であるため、日本脳炎の診断は、主に、抗JEV抗体を検出することによってなされる。JEVなどのフラビウイルスに対する抗体は、他のフラビ

ウイルスに交差反応を示すことが報告されているため、抗JEV抗体検出検査を用いて正確に日本脳炎を診断するためには、特異性の高い中和試験を実施する必要がある。しかし、中和試験は手技が煩雑であり、判定までに日数を要する。そこで、本研究では、迅速でより特異性の高い日本脳炎の診断法の開発を目的として、JEVのNS1抗原検出系の構築を試みた。JEVのNS1抗原検出系を構築するにあたり、NS1タンパク質に対するモノクローナル抗体を樹立する必要がある。本年度は、昨年度までに構築したNS1発現プラスミドから昆虫細胞と組換えバキュロウイルスとを用いてNS1タンパク質を発現させ、可溶化することに成功した。さらに、モノクローナル抗体を樹立するために必要な量の抗原を精製できることを確認した。[前木孝洋、田島茂、加藤文博、柴崎謙一、池田真紀子、谷口怜、西條政幸、林昌宏]

3. ZIKVに関する研究

1) ZIKV PRVABC59株およびNIID123株のリバースジェネティクス法を用いた増殖性および病原性の解析

ZIKVは分子系統学的にアフリカ型とアジア・アメリカ型の2つの型(lineage)に分類される。アジア・アメリカ型はさらに3種類の亜型(東南アジア亜型、太平洋亜型、アメリカ亜型)に分類可能である。これまでに私たちは、各亜型に属する分離株の*in vitro*における増殖性、およびウイルス接種マウスにおけるウイルス動態と精巣に及ぼす影響を調べ、アメリカ亜型(PRVABC59株)が最も増殖性が高く、精巣に与える病変も強いことを明らかにした。亜型間の差異の引き起こすウイルス側の要因を探るため、ZIKV PRVABC59株および東南アジア亜型ZIKV NIID123株のリバースジェネティクスを確立し、その増殖性および病原性を解析した。PRVABC59株は、NIID123株に比べると、培養細胞での増殖性やマウスにおける病原性がより強いことを示した。病原性の差は特にマウスの精巣において顕著であり、マウスにPRVABC59株を接種すると、精巣の萎縮が観察されるが、NIID123株接種マウスでは見られなかった。さらに両株の増殖性、病原性の差に影響をおよぼすアミノ酸の違いを解析したところ、ウイルスのprMタンパク質の146番目のアミノ酸の違いが、

両株の増殖性や病原性の違いに影響を与えていることを示した。[田島茂、稲垣拓哉、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、林昌宏、西條政幸]

## 2) ZIKV 妊娠感染モデルとしてのマーマオセットの評価

先天性 ZIKV 感染症は妊娠女性が ZIKA に感染して経胎盤感染により胎児が ZIKA に感染して引き起こされる小頭症をはじめとした病態のことである。2017-2019 年度、私たちは妊娠前期および後期のマーマオセットに ZIKV PRVABC59 株を皮下接種し、それにより流産がみられた個体についてはその流産物を回収し、また流産しなかった個体については急性期後期に安楽死処置後に、各臓器を採取しウイルス学的解析、病理学的解析を行なった。妊娠前期のマーマオセットの妊娠状態は不安定であり、些細なことでも流産が生じる可能性が高い。妊娠前期におけるウイルス接種の物理的行為自体が流産を誘発している可能性を排除するため、2020 年度、私たちは妊娠マーマオセットへ陰性対照として培地を接種、妊娠継続への影響を検討した。培地接種のみでは流産は誘発されず、過去に行われた妊娠マーマオセットにおける流産はいずれも ZIKV 感染によることが示唆された。[谷口怜、林昌宏、前木孝洋、中山絵里、田島茂、西條政幸; 網康至、須崎百合子(安全実験管理部); 鈴木忠樹、永田典代、岩田奈織子(感染病理部); Moi Meng Ling(長崎大学); Muhammad Azami Nor Azila(筑波大学); 高崎智彦(神奈川県衛生研究所)]

## 3) ZIKV のマウス脳における病原性解析

ZIKV は遺伝子学的にアフリカ型とアジア型に分類される。女性が妊娠中に ZIKV に感染すると、胎児が小頭症などの先天性疾患に罹患する可能性がある。しかし、先天性 ZIKV 感染症はアジア型 ZIKV の感染でのみ確認されている。妊娠 Interferon  $\alpha/\beta$  受容体ノックアウト(IFNAR $^{-/-}$ )マウスを用いてアフリカ型とアジア型の母体から胎仔脳へのウイルスの移行効率の差を評価した。マウス胎仔で脳血液関門が機能し始める妊娠 15 日目に母マウスにそれぞれの遺伝子型の ZIKV を接種し、感染 3 日目に胎仔脳のウイルス遺伝子量を測定した。アフリカ型 MR766 株およびアジア型

PRVABC59 株で、胎仔脳内の ZIKV 量および胎仔脳のウイルス陽性率に差は認められなかった。母体組織の ZIKV 力価も株間で差が認められなかった。胎盤の ZIKV 力価は PRVABC59 株で高かったが、胎盤の ZIKV 力価と胎仔脳の ZIKV 量に相関は認められなかった。次に、乳飲みマウスおよび成熟マウスに MR766 または PRVABC59 株を脳内接種し、接種後の生存率を比較した。乳飲みマウスの生存期間は、PRVABC59 感染マウスと比較して MR766 感染マウスで短かった。成熟マウスでは PRVABC59 株感染マウスは約 40% が生残したのに対し、MR766 感染マウスは感染 7 日目までに 100% 死亡した。脳内接種した成熟マウス脳組織中の ZIKV 力価を感染 4 日目に測定したところ、MR766 感染マウスで ZIKV 力価が高かった。以上より、PRVABC59 株と MR766 株の胎仔脳への移行効率に差はないが、MR766 株は脳での増殖効率が高く、アフリカ型 ZIKV が概して脳での増殖効率が高い場合、胎児に小頭症以上に重篤な症状を引き起こす可能性が考えられた。[中山絵里、柴崎謙一、田島茂、谷口怜、前木孝洋、林昌宏、西條政幸; Andreas Suhrbier (QIMR Berghofer Medical Research Institute)]

## 4) ZIKV のマウス血液脳関門透過性に関する研究

ZIKV MR766 株の 3 つの構造タンパク質 C、prM、E のうち、prM タンパク質が MR766 株のマウスにおける神経侵入性に関与していることを昨年度までに明らかにした。MR766 株の prM タンパク質を PRVABC59 株の prM タンパク質に置換したキメラウイルスでは、*in vitro* 脳血液関門モデルにおいて血管内皮細胞のトランスサイトーシス効率が低下した。タンパク質表面の疎水性が高まるとタンパク質が凝集しやすくなること、正電荷を有するナノ粒子やリポソームは負電荷を帯びた細胞表面に結合して細胞内に取り込まれることが知られている。MR766 およびキメラウイルスの構造解析および等電点電気泳動により、prM タンパク質を置換することでウイルスの正電荷、ウイルス表面の疎水性パッチ数およびパッチ面積が減少していることが分かった。以上より、MR766 の高い血液脳関門透過性は prM タンパク質の正電荷や疎水性が関与していることが示唆された。[中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、

田島茂、前木孝洋、谷口怜、林昌宏、西條政幸；小川進也（東京大学）；Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）]

5) マウス初代培養細胞における ZIKV の増殖性解析

IFNAR<sup>-/-</sup>マウスにおいて病原性の異なる MR766 株、PRVABC59 株、MR766 の prM タンパク質を PRVABC59 の prM タンパク質に置換させたキメラウイルスについて、IFNAR<sup>-/-</sup>マウス由来初代培養細胞におけるウイルス増殖が *in vivo* でのウイルス増殖を反映するかどうかを解析した。マウス胎仔脳由来ニューロン、マウス胎仔線維芽細胞 (MEF)、骨髄由来マクロファージを分離・培養し、MR766、PRVABC59、キメラウイルスを接種した後、培養上清中のウイルス力価を経時的に測定した。I 型インターフェロン応答が欠損している Vero 細胞における増殖性は 3 つのウイルスで類似していたが、マウス初代培養細胞における増殖性は、ニューロン、MEF、マクロファージのいずれにおいても MR766、キメラウイルス、PRVABC59 の順で増殖能が高かった。ニューロンにおける MR766 の増殖性は、脳内接種後の脳組織における MR766 の増殖と相関していたのに対し、キメラウイルスおよび PRVABC59 株のニューロンにおける増殖と脳内接種後の脳でのウイルス増殖、MR766、PRVABC59、キメラウイルスの MEF、マクロファージでの増殖とウイルス血症レベル (末梢でのウイルス増殖) はいずれも相関していなかった。今回使用した初代培養細胞は *in vivo* において一定程度ウイルスに感染することは示されているが、*in vivo* でのウイルス増殖を完全に反映しておらず、今回用いた初代培養細胞においては、*in vivo* でのウイルス増殖を予測することは困難であると考えられた。[中山絵里、田島茂、谷口怜、前木孝洋、林昌宏、西條政幸；河合康洋（安全実験管理部）；Andreas Suhrbier（QIMR Berghofer Medical Research Institute）]

4. ダニ媒介脳炎ウイルスに関する研究

1) フラビウイルスに起因する脳炎の調査

原因不明急性脳炎、脳症症例の中に、日本脳炎およびダニ媒介脳炎の症例が含まれているか否かを解析することを目的とした研究を実施した。原因不明の

急性脳炎・脳症患者 12 人から採取された脳脊髄液および血清 33 検体を用いて、日本脳炎およびダニ媒介脳炎の実験室診断検査 (IgM 捕捉 ELISA) を行った。いずれの症例も日本脳炎およびダニ媒介脳炎は否定的であり、今回解析の対象とした、原因不明の急性脳炎・脳症と診断された患者 12 人には日本脳炎およびダニ媒介脳炎患者は含まれていないと考えられた。日本ではダニ媒介脳炎患者はこれまで北海道以外では確認されておらず、本州以南におけるその分布は明らかとなっていない。今後も不明脳炎患者におけるフラビウイルスの調査は必要であると考えられた。[前木孝洋、林昌宏、田島茂、中山絵里、谷口怜、西條政幸；多屋馨子、新橋玲子 (感染症疫学センター)]

2) 抗 TBEV 高度免疫負荷血清の作製

TBEV はフラビウイルス科フラビウイルス属に分類される。TBEV の中でもロシア春夏脳炎ウイルス (RSSEV) は極東亜型に属し、致命率の高い脳炎を引き起こす。2019 年度に私たちは国立感染症研究所戸山庁舎に保存されていた RSSEV (RSSE 1960/9/9 smb Vero sup 4 days) の性状を解析するとともに、不活化条件を検討した。2020 年度には、不活化させた TBEV を ddY マウスに免疫、さらに感染性の TBEV を感染させることで高度免疫負荷血清を作製した。その結果中和抗体価が 640 倍希釈まで陽性のマウス血清を得ることに成功した。今後、TBEV の検査診断および研究における陽性コントロール血清として有用であると考えられる。[谷口怜、田島茂、前木孝洋、柴崎謙一、勝田奈穂子、中山絵里、林昌宏、西條政幸]

5. その他の研究

1) リバースジェネティクス法によるヨコセウイルスの性状解析

2019 年度に確立した、ヨコセウイルスのリバースジェネティクス法を用いて、ヨコセウイルスの性状を解析した。ヨコセウイルスは分子系統学的解析からは蚊媒介性フラビウイルスに属すると推測されるが、他の蚊媒介性フラビウイルスと異なり、蚊由来細胞 C6/36 細胞での増殖能が著しく低い。この理由を探るため、感染に重要な prM タンパク質および E タンパク質を、蚊媒介性

フラビウイルスの JEV のそれに置換させた組換えキメラウイルスを作製した。その組換えキメラウイルスは Vero 細胞では増殖したが、C6/36 細胞での増殖性は確認されなかった。このことから、ヨコセウイルスの prM-E タンパク質領域が蚊由来細胞における低増殖性の主因子である可能性は低いと考えられた。[田島茂、林昌宏、西條政幸]

## 2) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台としたハートランドウイルスに対するワクチン開発

ハートランドウイルス (HRTV) は、2009 年にアメリカで原因不明の高熱、血小板減少、白血球減少、肝機能障害等を呈した患者から分離されたウイルスである。現在、HRTV 感染症に対する有効なワクチンはない。細胞培養痘そうワクチン LC16m8 株は、ワクチンとしての免疫原性を保持しつつ、安全性が高いワクチン株である。そこで、本研究では HRTV が発現する表面糖タンパク質 (GPC)、核タンパク質 (N)、非構造タンパク質 (NSs) を単独、あるいは GPC と N の両方を発現する組換えワクシニアウイルスを作製し、そのワクチンとしての有効性を検討することを試みた。

2020 年度までに構築した各タンパク質の発現プラスミドを用いて、GPC 単独、N 単独、NSs 単独および GPC と N の両方を発現する組み換えワクシニアウイルスの作製に成功した。今後、選択薬剤を用いて、作製した組換えワクシニアウイルスを精製し、それぞれのタンパク質が発現していることを確認した上で、動物実験に用いるためのストックウイルスを作製する。[前木孝洋、谷口怜、吉河智城、加藤文博、柴崎謙一、池田真紀子、田島茂、林昌宏、西條政幸]

## 3) 非構造タンパク質 (NSs) を欠損させた HRTV の性状解析

HRTV は、2009 年にアメリカで発熱、血小板減少、白血球減少、肝機能障害等を呈した患者から分離されたフェニウウイルス科バンダウイルス属に分類されるウイルスである (2019 年の時点、正式分類名はハートランドバンダウイルス)。HRTV の非構造タンパク質 (NSs) を欠損させた組換え体 (rHRTV-NSsKO) を遺伝子操作系により作出し、その性状を解析した。

rHRTV-NSsKO および野生型の組換え体 (rwHRTV) の Vero 細胞、A549 細胞における増殖性を評価した結果、いずれの細胞においても rHRTV-NSsKO の増殖効率は rwHRTV と比較して低下した。また A549 細胞において rHRTV-NSsKO 感染下では rwHRTV 感染下と比較して 1 型インターフェロン関連遺伝子の有意な上昇が観察された。一過性に NSs を発現させた 293T 細胞では 1 型インターフェロンの発現が阻害された。これらのことから HRTV の NSs は 1 型インターフェロンカスケードを中心とした阻害作用があることが見出された。さらに致死動物モデルである AG129 マウスを用いた病原性の評価においても NSs 欠損による HRTV の弱毒化が確認された。また、rHRTV-NSsKO 接種 AG129 マウスに致死量の AG129 を感染させた結果、感染マウスは全て生残した。HRTV の非構造タンパク質を欠損させた弱毒株がワクチンとなる可能性が見出された。[谷口怜、下島昌幸、前木孝洋、柴崎謙一、勝田奈穂子、中山絵里、田島茂、林昌宏、西條政幸]

## 4) HiBiT-tag を付与した組換え HRTV の作製

HRTV 感染による細胞障害性効果 (CPE) は軽微で、ブランクは不明瞭であるため、HRTV の増殖性の有無の評価及び定量には、フォーカス法が用いられている。本研究ではより簡便に HRTV の増殖性の程度を簡便に評価できるようにする目的で、HiBiT ペプチドで修飾した HRTV を作製した。感染性粒子量と HiBiT によるルシフェラーゼの照度に相関性が認められた。ルシフェラーゼの照度を測定することにより細胞における HRTV の増殖の程度を評価することが可能となった。ハイスループットの抗ウイルス薬スクリーニング等のシステム構築に有用と考えられる。[谷口怜、下島昌幸、前木孝洋、柴崎謙一、勝田奈穂子、中山絵里、田島茂、林昌宏、西條政幸]

## III. 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) 不活化狂犬病ワクチン中の残存ウイルスを検出する不活化試験法の代替法開発

不活化狂犬病ワクチンに感染性のある狂犬病ウイルス

スが残存していないかを確認するための不活化試験には、哺乳マウスの脳内にワクチンを接種する工程が含まれている。動物愛護の観点より、動物を使用しない代替法の開発および導入が求められている。これまでに私たちは蛍光抗体法および ELISA 法を用いて、動物を使用しない代替法を開発してきた。その感度等を両者と比較したところ、蛍光抗体法を用いた不活化試験が ELISA 法を用いたそれよりも感度がより高かった。しかし、ELISA 法の検出限界は 0.015 ffu/assay と非常に低く、ワクチン1本あたりに感染性ウイルスが1粒子でも混入した場合には検出可能であることから、どちらの試験法も実用可能と考えられた。今後動物を用いることのない不活化試験の導入に向けて、陽性対照の設定、哺乳マウスもしくは欧州薬局方 (EP) 掲載の *in vitro* アッセイとの直接比較、不活化不足のワクチンを用いた実験、複数ラボでのバリデーションを行う。[伊藤(高山)睦代、河原円香、佐藤正明、加藤文博、北浦慧、西條政幸]

## 2) 狂犬病ワクチン力価試験法の代替法の検討

狂犬病ワクチンの有効性を確認する力価試験においては、マウスを試験ワクチンにより免疫した後に感染性のある狂犬病ウイルスを脳内接種し、その生死を指標としてワクチンの防御能の評価を行う方法が用いられている。しかし、動物に与える苦痛が問題となっている。私たちは、動物を使用しない代替法への変更を目的として、欧州医薬品品質理事会 (EDQM) 主催の狂犬病ワクチン力価試験における抗原 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 開発のための国際共同プロジェクトに参加した。本年度より EDQM から提供されたサンプルを用いた試験を開始した。[伊藤(高山)睦代、河原円香、西條政幸]

## 2. JC 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 (PML) は免疫不全患者等において発生する予後不良の神経脱髄疾患であり、JC ウイルス (JCV) によって引き起こされる。その診断

では、脳脊髄液中の JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。ウイルス第一部では、医療機関への診断支援および PML の実験室サーベイランスを目的として本検査を継続している。2007 年度から 2020 年度までに合計 2555 件の検査依頼を受け、PML 疑い患者 329 名の脳脊髄液検体から JCV ゲノム DNA を検出した。また、PML の専門家委員会と連携を取りながら症例の登録および情報の分析を進めた。本年度においては 31 名の患者が脳脊髄液 JCV 陽性を呈し、PML と診断された。被検者の情報に基づいてデータベースを構築して国内の動向を解析したところ、悪性リンパ腫ならびに全身性エリテマトーデスを背景とした PML の割合が増加傾向であることが示唆された。また、多発性硬化症に対して疾患修飾薬、あるいは多発性骨髄腫に対して免疫調節薬が投与された患者において PML が散見され、基礎疾患の治療における PML の発生について臨床に周知する必要性が示唆された。[中道一生、西條政幸]

### 2) 脳脊髄液中 JCV の変異タイプ検査系の確立および臨床検査における実用化

PML の診断や治療においては、脳脊髄液中の JCV のゲノム DNA を標的とした PCR 検査が有用であり、一般的なリアルタイム PCR 検査の検出下限値は検体 1 mL あたり 200 コピー程度である。しかしながら、PML の背景となる基礎疾患の種類、もしくは病態の進行段階によっては 100 コピー/mL を下回る JCV が脳脊髄液中に存在していることがある。そのため、検体中の微量の JCV を確実に検出するための超高感度 PCR 検査系 (検出下限値 10 コピー/mL) を確立し、PML の診断支援に活用している。本研究では、検体中の JCV ゲノムを超高感度で検出しつつ、検出されたウイルスがアーキタイプ (健常人においても無症候性に持続感染している JCV) なのか、プロトタイプ (PML 患者において特徴的なゲノムの一部に変異を有する JCV) なのかを識別するためのデュプレックス PCR 検査系を開発した。また、PML の診断支援において提出された CSF 検体を用いて当検査系を評価することで、臨床検査における実用性を示した。[中道一生、西條政幸]

3. 昆虫媒介性の脳炎ウイルスに関する研究

1) ジェームスタウンキャニオンウイルスに対する診断系の確立

ジェームスタウンキャニオンウイルス (JaCV) は節足動物媒介性脳炎を引き起こし、ときに死に至る。日本では JaCV 感染症患者は報告されていないが、アメリカ大陸で流行しており、報告数は増加傾向にある。日本国内では検査体制が未整備であることから、血清及び遺伝検査系を開発・整備した。間接蛍光抗体法、RT-PCR (SYBR green アッセイ、Taqman アッセイ)、ELISA 法は確立済みである。この ELISA 法を用いて、246 名の日本人血清を調査したところ、全て陰性であった。[加藤博史、伊藤(高山)睦代、福士秀悦、佐藤正明、河原円香、西條政幸]

2) JaCV に対する治療薬の評価

3 つの薬剤 (favipiravir、ribavirin、2'-Fluoro-2'-deoxycytidine [2'-FdC]) の JaCV に対する効果について、*in vitro* と *in vivo* で評価した。まず、Vero 細胞を用いて、それぞれの薬剤の JaCV に対する増殖抑制効果を調べたところ、全ての薬剤が用量依存的に JaCV の増殖を濃度依存的に抑制した。次に、JaCV をマウスの脳内に接種し、ウイルス接種前とウイルス接種時から 5 日間それぞれの薬剤を投与したところ、favipiravir はコントロールに比べて、生存日数を延長させ、かつ、脳内のウイルス量も低下させた。他の薬剤はコントロールと変わりがなく、効果は認められなかった。[加藤博史、伊藤(高山)睦代、佐藤正明、河原円香、北浦慧、西條政幸]

3) オロプーシュウイルスウイルス検出系の確立と国内野生動物における感染状況の調査

節足動物媒介性のオルソブニヤウイルスのうち主に南米に分布するオロプーシュウイルス (OROV) はヒトに急性熱性疾患や髄膜炎、脳炎をおこす。日本での OROV の浸潤状況を調べるため、モノクローナル抗体を作製し、様々な動物種に利用可能な競合 ELISA 系を構築した。齧歯類 16 検体、シカ 142 検体、イノシシ 187 検体、ペットのイヌ 37 検体、ネコ 27 検体、鳥

類 2 検体、合計 411 検体の国内動物血清を用いて、競合 ELISA を行ったところ、シカ血清 2 検体、イノシシ血清 1 検体で陽性となった。また中和アッセイを行ったところ、シカ血清 3 検体・イノシシ血清 4 検体が中和活性を示した。国内の野生動物が OROV に感染している可能性が示された。[河原円香、伊藤(高山)睦代、加藤博史、吉河智城、北浦慧、佐藤正明、西條政幸]

4) OROV 核タンパク質における新規核局在機構の解析

OROV は細胞質内で RNP 複合体を形成することが既に知られているが、各タンパク質の細胞内での詳細な挙動については、よく分かっていない。私たちは OROV の核タンパク質 (N) に対するモノクローナル抗体を用いた観察によって、N タンパク質が感染細胞の核に局在することを明らかにした。N タンパク質および核に局在することがすでに知られている非構造 (NS) タンパク質を細胞に単独もしくは共発現させ、挙動について観察した。その結果、N および NS タンパク質はどちらも核に局在したものの共局在はせず、それぞれが独立して核移行していることが示唆された。N タンパク質の核移行についての分子生物学的な解析による核移行の機序の解明が必要である。[河原円香、伊藤(高山)睦代、吉河智城、佐藤正明、北浦慧、西條政幸]

5) カリフォルニア脳炎ブニヤウイルスについての研究

カリフォルニア脳炎ブニヤウイルス感染症はカリフォルニア脳炎オルソブニヤウイルスによって引き起こされる感染症である。日本においてはこの感染症患者は報告されていないが、同ウイルスを媒介する蚊が日本にも生息している。このことから、国内に侵入すると自然界に定着する可能性がある。本研究では、実験用マウスを用いてラクロスウイルス (LACV) の病原性を解析した。 $10^1 \sim 10^3$  の LACV を腹腔内接種および鼻腔内接種し 28 日間生死を観察した。腹腔内接種では  $10^2$  接種群で 1 匹、鼻腔内接種では  $10^2$  および  $10^3$  接種群でそれぞれ 1 匹が死亡した。死亡マウスの脳からは RT-PCR にて LACV ゲノムが検出された。今後、動物モデル開発のための適正な接種ウイルス量等を

検討する予定である。[佐藤正明、加藤博史、伊藤(高山)睦代、河原円香、西條政幸]

6) チャンディプラウイルスの薬剤評価マウスモデルの探索

チャンディプラウイルス(Chandipura Virus, CHPV)はラブドウイルス科に属するウイルスであり、ヒトはサンショウバエを媒介して感染する。インドでは小児における致死性の脳炎の原因のひとつである。有効な治療法はなく、*in vivo* 薬剤評価系も報告はされていない。乳児マウス(10-14日齢)は感染モデルとして確立されているが、手技が困難で、喰殺などの死亡事象が起こることから薬剤評価には不向きと考えた。本研究では免疫不全マウスで致死モデルの探索を行い、C.B-17 SCID の CHPV 静脈内投与感染が致死モデルになることを明らかにした。感染時の生存曲線、臨床スコア、体重変動、腫瘍臓器のウイルス量変動・病理学的評価を行い、神経指向性も観測された。同モデルはフアビピラビルを含む抗ウイルス薬の効果を評価するのに有用と考えられる。[伊藤(高山)睦代、北浦慧、佐藤正明、加藤博史、河原円香、西條政幸]

7) 薬剤ライブラリスクリーニングによるチャンディプラウイルスに対する抗ウイルス薬の探索

FDA 承認を受けている薬剤ライブラリーを用いて薬剤スクリーニングを行い、候補薬剤を抽出した。1次スクリーニングでは細胞の生存率をベースにスクリーニングし、2次スクリーニングはウイルス増殖抑制効果でスクリーニングした。結果的に4つの候補薬が検出された。いずれも用量依存的なウイルス抑制効果を示し、Time of addition assay で post-entry step に作用していることが判明した。候補薬のうち2つは IC<sub>90</sub> が報告されている最大血中濃度(C<sub>max</sub>)の範囲内に収まっており、さらなる解析がなされる必要がある。[伊藤(高山)睦代、北浦慧、河原円香、佐藤正明、加藤博史、西條政幸]

IV. 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に関する研究

3) 単純ヘルペスウイルス 1 型(HSV-1)のアシクロビル耐

性新規機序に関する研究

HSV-1 の抗ウイルス薬であるアシクロビル(ACV)への耐性は、thymidine kinase (TK) または DNA polymerase (DNApol) 遺伝子に変異が導入される事により獲得される。これまで、HSV-1 の TK 遺伝子を欠損させ、HSV-1 UL50-51 領域に水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)の TK 遺伝子を挿入させたキメラウイルス HSV-1-VZV-TK(親株)の、VZV-TK 及び DNApol 両遺伝子のいずれにも変異が認められなかった ACV 耐性 HSV-1-VZV-TK クローンに関して、その薬剤耐性に関わることが示唆される遺伝子変異を同定し、その変異導入組換え体を用いて、様々な細胞及び薬剤への耐性能の比較を行なった。2020年度は、マウスモデルを用いて *in vivo* での当該変異ウイルスの ACV に対する感受性を解析するため、まず BALB/c マウスを用いて LD<sub>50</sub> の算出を試みた。4週齢の BALB/c マウスを用いて元株(HSV-1 F BAC)、変異導入組換えウイルス及びその復帰体ウイルスを  $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^4$  pfu 及び  $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^3$  pfu/マウスで経鼻及び脳内接種したところ、どちらの接種ルートにおいても、ほぼ全てのマウスが生存した。3週齢の BALB/c マウスを用いて  $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$  pfu/マウスで脳内接種したところ、接種後7日までに全匹が死亡した。今後、3週齢 BALB/c マウスを用いて  $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^3$  pfu/マウスでの脳内接種により LD<sub>50</sub> を算出すると共に、ACV に対する *in vivo* における感受性を解析する。[山田壮一、原田志津子、福士秀悦、西條政幸]

4) HSV-1 のチミジンキナーゼ(TK)遺伝子終止コドン変異による TK 発現および薬剤耐性、病原性に及ぼす影響

HSV-1 はアシクロビル(ACV)存在下で増殖する過程で、ウイルスチミジンキナーゼ(TK)遺伝子または DNA ポリメラーゼ(DNApo)遺伝子に変異が入ることにより、ACVに耐性となる。これまで、薬剤耐性問題に対して TK や DNApol 遺伝子上の薬剤耐性のマッピングや、薬剤耐性機序の解析、また新規薬剤の開発が行われてきた。TK 遺伝子の最初の開始コドン(1<sup>st</sup> position)と二つ目の開始コドン(46<sup>th</sup> position)間の 8<sup>th</sup> position にアンバー終始コドンが存在する HSV-1 14-2

株(N 末端の 45 アミノ酸が欠損する TK が発現)が ACV に対して感受性を示すことが報告されている。一方、44<sup>th</sup> position にアンバー終始コドンが挿入された HSV-1 KG111 株は 39°C で ACV 耐性を示すことが知られている。本研究では、ともに TK 遺伝子の 8 番目と 44 番目のそれぞれの位置に終止コドンを挿入させた組換え HSV-1 [HSV-1-TK(8AUG)および HSV-1-TK(44AUG)] を作製し、それぞれの薬剤感受性、病原性を解析した。Plaque reduction assay による ACV と BVdU に対する感受性を解析したところ、HSV-1-TK(8AUG)は感受性を示し、HSV-1-TK(44AUG)は耐性を示した。マウスに対する病原性を解析したところ、HSV-1-TK(8AUG)は wild type の HSV-1 と同等に高い病原性を示した。一方、HSV-1-TK(44AUG)はこれらよりも病原性が低かった。これらの薬剤感受性、病原性の違いは TK 遺伝子の最初の開始コドンと二つ目の開始コドンの間の終止コドンの位置に依存すると考えられた。[山田壮一、Phu Hoang Anh Nguyen(東京大学)、原田志津子、木下一美、福士秀悦、西條政幸]

#### 5) 感覚神経オルガノイドを用いたヘルペスウイルス感染性の解析

生体内の運動神経組織を形成するために、運動神経細胞の培養系として微小流路を用いる手法が提案されている。この手法では、微小流路が軸索の伸長方向を一方方向に制御するガイドとして機能することで、生体内の運動神経組織と似た束状の形態を持つ運動神経オルガノイドの形成が可能となる。運動神経オルガノイドは、束状組織内に細胞体が含まれておらず、軸索と細胞体を個別に RNA-seq 解析をすることができる。本研究では、運動神経と同じ末梢神経系の感覚神経オルガノイドを形成させ、形成させたオルガノイドをヘルペスウイルス感染性の解析に応用することを目的とした。前年度は微小流路(幅・高さは 150 μm、長さ 6 mm)を用いて感覚神経の束状組織を得ることができた。一方で、当該流路を用いた場合、束状組織部分にも細胞体の混入が確認され、軸索だけで束状組織を形成しているオルガノイドを得ることができなかった。この問題を解決するため、微小流路手前に細胞体が束状組織へ混入することを防止するための幅 10 μm、

高さ 3 μm のスリット構造のアレイを持つ微小流路を設計・製作した。今後は、この微小流路を用いて、感覚神経オルガノイドの形成を試みる。[福士秀悦、今井勇也(工学院大)、山田壮一、原田志津子、西條政幸]

### 3. ヘルペス B ウイルスに関する研究

#### 1) ヘルペス B ウイルス陽性サル神経節を用いた BV 遺伝子型解析

ヘルペス B ウイルス(Macacine alphaherpesvirus 1, BV)は、主に東南アジアに生息するマカクザル(rhesus monkey, cynomolgus monkey, Japanese macaque など)が保有するヘルペスウイルスであるが、ヒトに感染すると致死的な神経症状を引き起こし、回復しても神経学的後遺症が残る。BV 感染は、主にサルを用いた研究の従事者に起こり、咬傷や針刺し事故等により感染する。世界的に、これまで約 50 例近くが確認されている。2019 年には、日本において初めて BV 病患者が報告された。BV は、遺伝子型により、主に rhesus type、cynomolgus type 及び pig tail type に型別され、サル種ごとに遺伝子型特異的な BV を保有するとされている。ヒトでの感染事例の多くは、rhesus monkey との接触が原因と考えられており、rhesus type の BV は他の type の BV より病原性が高いことが示唆されている。しかしながら、rhesus monkey のみが rhesus type の BV を保有するのか、あるいは、他のサル種も保有しているのかどうかは明らかでない。本研究では、BV 抗体陽性と判定された cynomolgus monkey 由来神経節から得た BV DNA を用いて、感染している BV の遺伝子型別解析を試みた。30 頭の BV 陽性 cynomolgus monkey から三叉神経節及び仙骨神経節を検体として、DNA を抽出した。抽出された DNA を用いて、gG 遺伝子を標的とした BV 特異的な real-time PCR による検出を行った。また、gB 遺伝子を標的とした PCR を行い、増幅産物が認められた場合、その塩基配列を決定し、系統樹解析を行った。Real time PCR により、30 頭の cynomolgus monkey の内 3 頭が SG 陽性、10 頭が TG 陽性、1 頭が仙骨神経節(SG)及び三叉神経節(TG)陽性であった。Real time PCR 陽性の 14 頭の内、7 頭(SG 陽性 3 頭、TG 陽性 4 頭)から gB 遺伝子を標的とした PCR で増幅産物が得られ、塩基配列が解

読された。得られた塩基配列をもとに系統樹解析を行ったところ、5頭が cynomolgus type、2頭が rhesus type の BV に感染していることが分かった。本結果から、rhesus type の BV は、rhesus monkey 以外のサルにも感染し、潜伏感染することが分かった。ヒトへの感染においては、rhesus type が検出されたとしても、rhesus monkey 以外のサルからの感染ルートも考慮する必要がある。今後、遺伝子型ごとの感染性や病原性について更なる研究が必要である。[山田壮一、福士秀悦、木下一美、西條政幸(ウイルス第一部);石嶋慧多、前田健(獣医科学部)]

## 2) BV 感染症の新規診断法に関する研究

マカク属サルの咬傷などにより BV がヒトに感染すると致死的な疾患(BV 病)となる場合がある。サル類は医学・生物学の分野で広く研究に用いられ、また、動物園での飼育や、最近ではペットとして飼われるケースが増えている。日本で飼育されているマカク属サルの30%以上がすでに BV に感染しているという報告もある。日本における症例では、発症から1年以上経って、BV 病との診断に至った経緯から考えると、BV 病に罹患していながら正確に診断されていない患者がいる可能性が高い。BV 感染症は稀な感染症であるが、潜在的脅威は存在しており、十分な事前対策が必要である。サル取扱い従事者の BV 感染リスクを評価するためには、血清中抗体検出法が必須であるが、BV は HSV と近縁なため、特異的抗体検出法が未整備である。本研究では、BV 特異的モノクローナル抗体を作製し、これを利用した BV 特異的抗体検出法の開発を目的として、BV の各種糖タンパク質遺伝子のクローニングと発現を行った。[木下一美、山田壮一、福士秀悦、西條政幸]

## 4. Epstein-Barr ウイルスに関する研究

### 1) Epstein-Barr ウイルス核タンパク質 EBNA1 が相互作用因子に及ぼす影響に関する研究

Epstein-Barr ウイルス(EBV)はヒトに広く蔓延しているヘルペスウイルスであるが、バーキットリンパ腫や上咽頭癌などの発がんに関与することが知られている。EBV の核タンパク質 EBNA1 は感染最初期に発現

し、EBV の造腫瘍性機能に不可欠である。私たちは EBNA1 が EBNA2 の転写活性化能に対して補因子機能を持つことを見出し、C 末端 10 アミノ酸欠損変異体 EBNA1d10 が、補因子機能を欠くこととドミナントネガティブ活性を持つことを報告した。さらに昨年までに、ドミナントネガティブ変異体の発現制御を施した実験系で EBNA1 が LCL など EBV 感染細胞の増殖に重要かつ必須の役割を持っている事を明らかにしてきた。EBNA1 と相互作用する細胞性因子の探索を行い、幾つかの遺伝子情報を得たが、HAX-1 (hematopoietic-substrate-1 associated protein X-1)を同定した。すでに報告のある因子ではあるが、今回我々はこの相互作用因子が EBNA1 との共発現で修飾を受けることと、ドミナントネガティブ変異体との共発現ではその修飾が見られないことを発見した。EBNA1 のタンパク修飾機能と細胞増殖との関連を研究している。[原田志津子、西條政幸]

## V. 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 (2020 年度)

リケッチア症の強い地域特性を考慮し、本研究では、全国ブロックの横糸となる地方衛生研究所のリケッチア・レファレンスセンターを中心とした全国共通基盤の構築を目指している。COVID-19 パンデミック下、多くの感染症の患者が減少傾向を示したのと対極に、国内の代表的なリケッチア症、日本紅斑熱は過去最高の数の届出となった。検査を実施している地方衛生研究所への聞き取りから、前年 2019 年に改訂した検査マニュアルを導入する施設が増えたことも、確実に患者の確定診断に繋がったとも考えられる。COVID-19 流行下でも増加傾向にあるリケッチア症に関し、全国の担当施設を中心に情報・技術の普及と情報共有をおこなった。[安藤秀二;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);平良雅克(千葉県衛生研究所);新開敬行(東京都健康安全研究センター);楠原一、小林章人(三重県保健環境研究所);佐賀由美子、畠田嵩久(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);木田浩司(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);戸梶彰彦(高知県衛生研究所);眞鍋佳月、本田俊郎(鹿児島県環境保健センター)

2) ダニ媒介性細菌感染症の総合的な対策に向けた研究

マダニ媒介細菌感染症の総合的な対策の構築を目的に、国内の研究者と共同し、リケッチアをはじめ、ボレリア、アナプラズマ等の各種細菌性病原体の性状・病態等の解明、病原体ゲノム情報のアーカイブ化、診断法の開発・改良、治療法の検討に資する情報の収集を行った。[安藤秀二;今内覚(北海道大学);大橋典男(静岡県立大学);岩崎博道(福井大学);高野愛(山口大学);林哲也(九州大学);有吉紅也(長崎大学);川端寛樹(細菌第一部)]

2. リケッチア症の基礎的研究

1) 日本紅斑熱リケッチア感染マウスモデルの確立

日本紅斑熱は *R. japonica* によって引き起こされる疾病である。本研究では日本紅斑熱のマウスモデルの確立を試みた。 $1 \times 10^6$  PFU の *R. japonica* を BALB/c および C3H/HeN マウスに静脈内接種したところ、5 日目をピークとして両系統のマウスで有意な体重減少、立毛等の症状が見られ、その後すべてのマウスが回復した。C3H/HeN マウスの方がより大きな体重減少を示したため、C3H/HeN マウスにおいてより詳細な解析を行った。免疫染色では、接種 5 日目の脳、肺、肝臓、脾臓、消化管、腎臓において *R. japonica* の抗原が観察された。接種 1~8 日目の脳、肺、肝臓、脾臓より qPCR にて *R. japonica* の DNA が検出された。抗 *R. japonica* 抗体は、接種後 7 日目から検出された。以上のことから、C3H/HeN マウスの *R. japonica* 感染マウスモデルとしての可能性が示された。[佐藤正明、伊藤(高山)睦代、小川基彦、安藤秀二、西條政幸]

2) ツツガムシ病リケッチアの病原性に関する研究

ツツガムシ病の重症化メカニズムを解明するため、

ツツガムシ病リケッチア強毒株および弱毒株の感染マウスを致死および治癒の病態モデルとして用い、主な標的器官であるマクロファージ、肝臓および脾臓におけるリケッチア数およびサイトカインの変動について解析を行っている。致死あるいは治癒機序に密接に関連する特徴的なサイトカインの変動が明らかになりつつある。[小川基彦、安藤秀二、西條政幸]

3) ツツガムシの共生細菌に関する研究

日本国内の複数の地域で、ツツガムシ病の媒介ダニ・ツツガムシの幼虫を採取し、16SrRNA 細菌叢解析を行った。宿主のダニや昆虫に影響を与えることが知られている *Wolbachia* 属の菌が、ダニの種類や地域に関係なく広く国内のツツガムシから検出された。16SrRNA 全長の配列から、*Wolbachia* 属の菌は新種である可能性が高く、国内には非常によく似た2種類の菌が存在することが示された。[小川基彦、西條政幸;高橋守(埼玉医大);松谷峰之介(東京農大);高田伸弘(福井大);野田伸司(鹿児島大)]

4) *Ca. Rickettsia longicornii* の解析

*Ca. Rickettsia longicornii* は、紅斑熱群リケッチアに含まれる日本紅斑熱リケッチア *R. japonica* や極東紅斑熱リケッチア *R. heilongjiangensis* に近縁であることが知られ、多くのフタトゲチマダニから分離、検出される。しかしながら、紅斑熱様症状を示した患者から分離、検出されたことはない。これらのことから、ヒトへの病原性は極めて低いと考えられることから、病原性解析や診断ツールへの利用も可能と考えられる。微生物学的性状の解析や全ゲノム配列解析を進めるとともに、日本紅斑熱患者血清への反応性を確認した。[安藤秀二;大橋典男、蘇泓如、田井仁(静岡県立大学);林哲也、笠間健太郎(九州大学);藤田博己(馬原アカリ医学研究所)]

5) ツツガムシ病リケッチア型特異的組換え抗原(TSA)を抗原とした血清診断法の開発

ツツガムシ病リケッチアの型特異抗原(TSA)を発現する組換えバキュロウイルスを作成した。組換え

バキュロウイルス感染 sf-9 昆虫細胞を抗原とした間接蛍光抗体 (IF) 法によるツツガムシ病の血清診断法を開発した。[小川基彦、安藤秀二、西條政幸]

## VI. 新型コロナウイルスに関する研究

### 1) 痘そうワクチン LC16m8 株を土台とした新型コロナウイルス感染症ワクチンの開発

私たちは m8 の全ゲノムを組込んだ人工細菌染色体 (bacterial artificial chromosome; BAC)、pLC16m8.8S-BAC を用いて、任意の領域に外来遺伝子を迅速かつ簡便に導入し、ここから感染性を持つ m8 をリカバリーさせる改良型システム (m8-BAC システム) を確立している。喫緊の課題である新型コロナウイルス感染症に対するワクチンを開発すべく、この m8-BAC システムを用いて原因ウイルスである SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質 (S) の S1 領域 (細胞レセプター結合領域を含む)、S2 領域 (膜融合能を持つ領域を含む)、そして S 全領域を発現する組換え m8 (それぞれ m8-S1、m8-S2、m8-S\_full) を作製し、それらのワクチン効果を SARS-CoV-2 に高感受性であるハムスターを用いて検討した。ハムスターに m8-S1、m8-S2、または m8-S\_full を免疫した後に SARS-CoV-2 を経鼻接種し、その 4 日後に肺を回収してウイルス量を測定した。対照である野生型 m8 免疫群と比較して、m8-S1、m8-S2、m8-S\_full 免疫群は有意にウイルス量の減少が確認された。特に m8-S\_full 免疫ハムスター群は m8-S1 や m8-S2 免疫群よりも肺内ウイルス量の減少効果が大きく、野生型 m8 免疫群と比較して  $1 \times 10^4$  以上のウイルス量の減少が確認された。以上より m8-S\_full は新型コロナウイルス感染症ワクチンとして期待できる結果となった。[吉河智城、三須政康、黒須剛、杉元聡子、高松由基、下島昌幸、西條政幸]

### 2) COVID-19 患者検体に対する迅速診断法の整備

新興感染症として、急速にその流行が広がった COVID-19 に対応するため編成された国立感染症研究所戸山庁舎 COVID-19 検査担当班に参加し、検疫所、地方自治体、医療機関からの検査依頼に対応した。また懸念される変異株 (VOC) であるアルファ株およびベータ株の検査にも迅速に対応した。[林昌宏、田島

茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、西條政幸; 藤本嗣人、花岡希、岡本貴代子 (感染症危機管理研究センター); 加藤孝宣、アリ フセイン (ウイルス第二部); 草川茂、立川愛 (エイズ研究センター); 齊藤慎二 (インフルエンザウイルス研究センター)、大西真 (副所長)]

### 3) SARS-CoV-2 感染無症状・軽症患者におけるウイルス量低減効果の検討を目的としたファビピラビルの多施設非盲検ランダム化臨床試験

RT-PCR によって SARS-CoV-2 ウイルスの感染が確認された無症状又は軽症患者を対象に、ファビピラビルを 10 日間経口投与し、その有効性及び安全性を検討する特定臨床研究に参加した。抗インフルエンザ薬として認可されているファビピラビルは、ウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ広域阻害剤である。したがってインフルエンザウイルス以外の RNA ウイルスに対してもその有効性が期待される。そこで COVID-19 無症状・軽症患者に対するファビピラビルの有用性を明らかとすることを目的として全国 25 の病院で実施された前向き無作為化非盲検多施設共同試験に参加した。特に本研究によって得られた臨床患者検体に対して RT-PCR 法を用いた COVID-19 ハイスループット実験室迅速診断を行い、患者検体中の SARS-CoV-2 ウイルス RNA のコピー数とウイルスクリアランスを検討した。本研究の主要評価項目は 6 日目までのウイルスクリアランスであった。副次評価項目は 6 日目までのウイルス量の変化であった。探索的評価項目には解熱までの時間と症状の解消が含まれた。89 人の患者が登録され、さらに治験開始 1 日後にファビピラビルを投与される前期治療群と開始 6 日後に投与される後期治療群に無作為にそれぞれ登録された。そのうち 69 人がウイルス学的に評価可能であった。開始 6 日以内のウイルスクリアランスは、前期治療群および後期治療群でそれぞれ 66.7% および 56.1% であった (調整後のハザード比 [aHR]、1.42; 95% 信頼区間 [95% CI]、0.76~2.62)。開始 1 日後に発熱 ( $37.5^{\circ}\text{C}$  以上) が認められた 30 人の患者の解熱までの時間は、前期治療群および後期治療群でそれぞれ 2.1 日および 3.2 日であった (aHR、1.88; 95% CI、0.81~4.35)。また治療中に、84.1% が一過性の高尿酸血症を発症した。ファビピラビルは 6 日後

までにウイルスクリアランスを有意に改善しなかったが、解熱までの時間は短縮した。28 日間の実施期間中、いずれの患者においても重篤化および死亡は認められなかった。(臨床研究実施計画・研究概要公開システム jRCTs041190120) [林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、西條政幸; 土井洋平、日比野将也、廣瀬正裕、堀口智也、岩田 充永、松山晃文、坂野寿弥、古関竹直、寺町真由美、宮田雅美、湯澤由紀夫、近藤征史(藤田医科大学); 馳亮太(成田赤十字病院); 山本倫子(相模原協同病院); 笠松悠(京都府立医科大学附属病院); 武藤義和(公立陶生病院); 本間義人(愛媛県立中央病院); 寺田正樹(済生会新潟病院); 小川拓(奈良県立医科大学感染症センター); 加志崎史大(伊勢原協同病院); 横山俊彦(日本赤十字社愛知医療センター); 木場隼人(小松市民病院); 笠原英樹(NTT 東日本札幌病院); 横田和久(東京都保健医療公社荏原病院); 加藤英明(横浜市立大学附属病院); 吉田順一(下関市立市民病院); 北俊之(国立病院機構金沢医療センター); 加藤康幸(国際医療福祉大学成田病院); 神尾直(湘南鎌倉総合病院); 児玉亘弘(福岡徳洲会病院); 内田勇二郎(北九州市立医療センター); 池田啓浩(永寿総合病院); 篠田雅宏(東京品川病院); 中川淳(神戸市立医療センター中央市民病院); 中積広貴(石川県立中央病院); 今井匠、吉田寿子、加葉田大志朗、新谷歩(大阪市立大学)]

#### 4) SARS-CoV-2 のウイルス分離に関する研究

COVID-19 患者の鼻咽頭拭い液、唾液検体等からの SARS-CoV-2 分離に VeroE6/TMPRSS2 細胞が適している。本研究では SARS-CoV-2 分離する際、検体を接種した VeroE6/TMPRSS2 細胞を継代する必要がなく、接種後 4 日以内でウイルス分離陽性、陰性が判定できることを明らかにした。N2 primer/probe set を用いた SARS-CoV-2 PCR 陽性 203 検体について VeroE6/TMPRSS2 細胞によるウイルス分離を行ったところ、Ct 値 20.2 以下の検体は分離陽性であった。一方、Ct 値 35 以上でも 29 検体中 2 検体(6.9%)が分離陽性であったことから、Ct 値が高い(低いウイルスコピー数を含む)検体でも感染性ウイルスを含むリスクがあると考え

られた。[山田壮一、福士秀悦、木下一美、原田志津子、西條政幸]

#### 5) SARS-CoV-2 の血清診断法に関する研究

SARS-CoV-2 の S タンパク質のレセプター結合領域(Receptor-binding domain:RBD)はウイルスが細胞に感染するために必須の領域であるとともに、中和抗体の主なターゲットとなる。本研究では RBD を哺乳動物細胞で発現させ、これを抗原とした ELISA による血中 IgG 抗体検出系を構築した。また、SARS-CoV-2 タンパク質を被った水疱性口炎ウイルス(VSV)シュードタイプを作製し、BSL-2 で実施可能な SARS-CoV-2 感染性解析法を構築した。本方法はハイスループット血清中和抗体スクリーニング法として、またウイルス感染を阻止する抗ウイルス剤のスクリーニング法としての活用が期待される。[木下一美、山田壮一、福士秀悦、原田志津子、西條政幸]

### レファレンス業務

#### 1. 行政検査

##### 1) 黄熱ワクチンに対する行政検査

2020年度は2ロットの黄熱ワクチンの行政検定を実施し、合格と判定した。[前木孝洋、中山絵里、谷口怜、田島茂、林昌宏、西條政幸]

##### 2) 日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ジカウイルスおよびチクングニアウイルスに対する行政検査

日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ジカウイルスおよびチクングニアウイルスに対する行政検査を4件実施した。[田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、勝田奈穂子、柴崎謙一、林昌宏、西條政幸]

##### 3) SARS-CoV-2に対する行政検査

COVID-19の患者から採取された臨床検体に対する行政検査を実施した。[林昌宏、田島茂、前木孝洋、谷口怜、中山絵里、小川基彦、勝田奈穂子、柴崎謙一、西條政幸; 藤本嗣人(感染症危機管理研究センター)、加藤孝宣(ウイルス第二部)、草川茂(エイズセンター)、大西真(副所長)]

##### 4) SFTSに対する行政検査

2件のSFTSに関する行政検査を実施した。[下島昌幸、高松由基、吉河智城、黒須剛、西條政幸]

##### 5) フィロウイルス感染症に対する行政検査

1件のフィロウイルス感染症に関する行政検査を実施した。[下島昌幸、高松由基、吉河智城、黒須剛、西條政幸]

6) 狂犬病に関する行政検査

1件の輸入狂犬病に関する行政検査を実施した。当該症例は14年ぶりの輸入狂犬病であると診断された。[伊藤(高山)睦代、佐藤正明、加藤博史、河原円香、西條政幸]

7) リケッチア感染症の行政検査

34症例のリケッチア症に関する行政検査を実施した。[安藤秀二]

8) クラミジア感染症の行政検査

1症例のオウム病疑いに関する行政検査を実施した。[安藤秀二]

9) Q熱の行政検査

4症例のQ熱疑いに関する行政検査を実施した。[安藤秀二]

2. 病原体および病原体由来RNAの配布

1) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の分与

国立感染症研究所において臨床検体より分離されたSARS-CoV-2およびその変異株に関して、安全実験管理部、ウイルス第三部および総務部と連携して国内外への分与を行った。本年度の実績は以下の通りである。国内研究機関等への分与:武漢株21件、新規変異株33件、ウイルスゲノムRNA 42件。国外研究機関等への分与:武漢株1件、新規変異株9件。[伊藤(高山)睦代、下島昌幸、福士秀悦、佐藤正明、河原円香、高松由基、吉河智城、黒須剛、緒方もも子、西條政幸;河合康洋、伊木繁雄、花木賢一(安全実験管理部)]

3. 病原体を用いた検査法の整備

1) ウイルス性出血熱のウイルス遺伝子検査法の確立

遺伝子検査法の精度、特異度の検討に一種病原体を用いることが可能となった。今年度は一類感染症の診断に用いるウイルス遺伝子検査法のうち、リアルタイム定量PCR法の整備とその特異度の確認を行った。まず一類感染症のウイルス遺伝子の特異的に検出するリアルタイム定量PCRプライマー、プロ

ーブ配列を既報から引用、若しくは新規に設計し、またRNAスタンダードを作製した。これらを用いて一種病原体のウイルス液から抽出したウイルスRNAを用いて検討したところ100%の特異度を示した。今後は引き続きその感度などの検討を行う予定である。[吉河智城、黒須剛、高松由基、西條政幸、下島昌幸]

2) ウイルス性出血熱の中和抗体測定法の確立

一種病原体を用いることが可能となり、中和抗体測定法の実施が可能となった。一種病原体をマウスに投与し、抗血清を作製した。この抗血清を用いて中和抗体測定法を確立した。[黒須剛、吉河智城、高松由基、西條政幸、下島昌幸]

4. 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

2020年度は2ロットの乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定を実施し合格と判定した。[下島昌幸、高松由基、吉河智城、黒須剛、緒方もも子、西條政幸]

2) 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定

2020年度は29ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、29ロットすべてを合格と判定した。[田島茂、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、柴崎謙一、勝田奈穂子、伊藤(高山)睦代、中道一生、林昌宏、西條政幸]

3) 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの標準品制定と生物学的製剤基準の改訂

参照不活化狂犬病ワクチン(国内参照品)の在庫が少なくなってきたため、国内メーカーと協同でロット更新のための研究をおこなった。第7次WHO国際標準品と新規参照品ともに力価試験3回を行い、相対力価が2.5 IU/mLとなる溶解液量を算出した。[伊藤(高山)睦代、佐藤正明、加藤文博、河原円香、北浦慧、西條政幸]

4) 水痘ワクチンの検定

乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定28ロットを実施し、全ロットとも合格と判定した。[原田志津子、山田壮一、福士秀悦、福井良子、西條政幸]

5) 乾燥組換え帯状疱疹ワクチンの検定

乾燥組換え帯状疱疹ワクチン1ロットを検定し、合格と判定した。[原田志津子、山田壮一、福士秀悦、福井良子、西條政幸]

## 5. その他のレファレンス業務

### 1) アルボウイルス検査コントロールRNA配布

デングウイルス(1-4型)、ジカウイルス、日本脳炎ウイルス、チクングニアウイルスの検査に用いるコントロールRNAを要望のあった地方衛生研究所および保健所に配付した。[田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、林昌宏]

### 2) アルボウイルス遺伝子検査用新規陽性コントロールの作製

これまで地方衛生研究所等におけるデングウイルス、ジカウイルス、チクングニアウイルス遺伝子検査(リアルタイムRT-PCR法)の陽性コントロールとして、感染性ウイルスより抽出・精製した全長ウイルスゲノムを配布してきた。しかしこれらのゲノムコピー数は不明であり、ゲノム定量に適さない。さらに陽性コントロールが誤って臨床検体等へ混入した場合、検出シグナルの真偽を判断することが困難である。そこで我々はこれらの問題を改善するために、*in vitro*合成ウイルスRNAを作製することを試みた。リアルタイムRT-PCR標的部位を含むデングウイルス1型~4型、ジカウイルス、およびチクングニアウイルスゲノムcDNA約300-400ヌクレオチドをクローニングプラスミドにクローニングし、得られたプラスミドを鋳型にしてウイルスRNA領域を*in vitro*合成した。リアルタイムRT-PCR法により、これらが陽性コントロールとして使用可能であることを確認した。今後、クローニングしたプラスミドに陽性コントロール特異的配列を組み込む予定である。[田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、西條政幸、林昌宏]

### 3) 急性脳炎および出血熱に関する検査業務

日本脳炎、デング熱、ジカ熱、ダニ媒介脳炎およびチクングニア熱に関する行政検査以外の実験室診断を8件実施した。[田島茂、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、勝田奈穂子、柴崎謙一、林昌宏、西條政幸]

4) 感染症流行予測調査事業(日本脳炎)に係る業務  
感染症流行予測調査事業(日本脳炎)に用いる標準血清および一次抗体を要望のあった地方衛生研究所に配付した。[林昌宏、田島茂;新井智、森野紗衣子、多屋馨子(感染症疫学センター)]

### 5) HSV-1及びHCMVの薬剤耐性検査

HSV-1及びHCMVの薬剤耐性検査をそれぞれ2検体及び11検体行った。[山田壮一、福士秀悦、津田美穂子、福井良子、西條政幸]

### 6) 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等に血清診断用標準抗原、標準株の配布・分与を行った。また、抗原やコントロールの供給に関しては、各ブロックのリケッチアセンターと必要とする地方衛研との調整を行い、各地域内の連携強化を試みた。[安藤秀二]

### 7) 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、行政検査の他依頼により、リケッチア症(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症例も含む)、オウム病、Q熱の疑い症例、また、不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を多数検討した。[安藤秀二]

## 6. 国際協力関係業務

### 1) WHO-痘瘡ウイルス研究専門家会議

2020年11月5-6日にかけて、WHO-痘瘡ウイルス研究専門家会議がWEB開催された。当会議にはアドバイザーとして参加した。痘瘡ウイルスに関連する研究の推進状況やワクチン開発について報告された。[西條政幸]

### 2) GHSAG-LN会議

今年度はGHSAG-LN会議が複数回WEB開催された。今年度の議題は主にCOVID-19対策に関するものであった。[西條政幸;前田健(獣医科学部)]

### 3) WHO西太平洋地域日本脳炎研究室ネットワークにおけるレファレンスパネルの評価

WHO西太平洋地域(WPRO)では日本脳炎研究室

ネットワークが維持されており、第2室は世界特別研究室(GSL)に指定されている。日本脳炎研究室ネットワークにおける検査品質の維持向上のためにもう一つのGSLである米国CDCより、フィリピンWPRO本部を介して配布された日本脳炎IgM捕捉ELISA法およびデングウイルスIgM捕捉ELISA法に対する各血清およびCSFパネルの評価をそれぞれ実施した。特に今回は血清およびCSFパネルの凍結乾燥品におけるその安定性を評価した。その結果、①当室の検査品質および②凍結乾燥された各パネルの安定性がそれぞれ確認された。以上の結果、血清パネルおよびCSFパネルの凍結乾燥品においては、コールドチェーンを必要としないことが示唆された。本ネットワークにおける各国日本脳炎研究室の検査品質の維持向上には適切なリファレンスが必須である。よって本調査において常温での適切なリファレンス配布の可能性が示されたことは、リファレンス配布におけるコスト削減、およびWPROにおける各国日本脳炎研究室の検査品質の維持向上に寄与することが期待される。[林昌宏、勝田奈穂子、田島茂、谷口怜、前木孝洋、中山絵里、西條政幸]

- 4) 狂犬病ワクチンの品質検査に関する国際連携研究への参加  
 欧州医薬品品質理事会(EDQM)による狂犬病ワクチン力価試験の代替法開発プロジェクト(BSP148)に参加している。[伊藤(高山)睦代、河原円香、西條政幸]
- 5) JICAによる技術協力プロジェクトによりナイジェリアCDCおよびコンゴ民主共和国生物医学研究所から派遣された研修生を受け入れ  
 アルボウイルス等の実験室診断に関する研修を行った。[林昌宏、田島茂、前木孝洋、中山絵里、谷口怜、伊藤(高山)睦代、中道一生、佐藤正明、加藤博史、河原円香、福士秀悦、原田志津子、山田壮一、安藤秀二、小川基彦、下島昌幸、黒須剛、吉河智城、高松由基、西條政幸]

Phanthanawiboon S, Omokoko MD, Ono KI, Saijo M, Ramasoota P, Ikuta K. Chimeric flavivirus enables evaluation of antibodies against dengue virus envelope protein in vitro and in vivo. *Scientific Rep* 10:21561, 2020

- 2) Yoshikawa T, Taniguchi S, Kato H, Iwata-Yoshikawa N, Tani H, Kurosu T, Fujii H, Omura N, Shibamura M, Watanabe S, Egawa K, Inagaki T, Sugimoto S, Phanthanawiboon S, Harada S, Yamada S, Fukushi S, Morikawa S, Nagata N, Shimajima M, Saijo M. A highly attenuated vaccinia virus strain LC16m8-based vaccine for severe fever with thrombocytopenia syndrome. *PLoS Pathog* 17:e1008859, 2021
- 3) Yoshikawa T. Vaccine development for severe fever with thrombocytopenia syndrome. *Viruses* 13, 627, 2021
- 4) Shibamura M, Yoshikawa T, Yamada S, Inagaki T, Nguyen PHA, Fujii H, Harada S, Fukushi S, Oka A, Mizuguchi M, Saijo M. Association of human cytomegalovirus (HCMV) neutralizing antibodies with antibodies to the HCMV glycoprotein complexes. *Virol J* 17:120, 2020
- 5) Raini SK, Takamatsu Y, Dumre SP, Urata S, Mizukami S, Moi ML, Hayasaka D, Inoue S, Morita K, Tun MMN. The novel therapeutic target and inhibitory effects of PF-429242 against Zika virus infection. *Antiviral Res.* 192:105121, 2021
- 6) Suemori K, Saijo M, Yamanaka A, Himeji D, Kawamura M, Haku T, Hidaka M, Kamikokuryo C, Kakihana Y, Azuma T, Takenaka K, Takahashi T, Furumoto A, Ishimaru T, Ishida M, Kaneko M, Kadowaki N, Ikeda K, Sakabe S, Taniguchi T, Ohge H, Kurosu T, Yoshikawa T, Shimajima M, Yasukawa M. A multicenter non-randomized, uncontrolled single arm trial for evaluation of the efficacy and the safety of the treatment with favipiravir for patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome. *PLoS Negl Trop Dis* 15(2):e0009103, 2021
- 7) Tsuru M, Suzuki T, Murakami T, Matsui K, Maeda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimajima M, Shimada T,

## 発表業績一覧

### 1. 欧文発表

- 1) Kurosu T, Hanabara K, Asai A, Pambudi S,

- Hasegawa H, Maeda K, Morikawa S, Saijo M. Pathological characteristics of a patient with severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) infected with SFTS virus through a sick cat's bite. *Viruses* 13(2):204, 2021
- 8) Kimura M, Egawa K, Ozawa T, Kishi H, Shimojima M, Taniguchi S, Fukushi S, Fujii H, Yamada H, Tan L, Sano K, Katano H, Suzuki T, Morikawa S, Saijo M, Tani H. Characterization of pseudotyped vesicular stomatitis virus bearing the heartland virus envelope glycoprotein. *Virology* 556:124-132, 2021
- 9) Park ES, Fujita O, Kimura M, Hotta A, Imaoka K, Shimojima M, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Diagnostic system for the detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus RNA from suspected infected animals. *PLoS One* 16(1):e0238671, 2021
- 10) Lombe BP, Miyamoto H, Saito T, Yoshida R, Manzoor R, Kajihara M, Shimojima M, Fukushi S, Morikawa S, Yoshikawa T, Kurosu T, Saijo M, Tang Q, Masumu J, Hawman D, Feldmann H, Takada A. Purification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein and its utility for serological diagnosis. *Sci Rep* 11(1):2324, 2021
- 11) Khalil J, Yamada S, Tsukamoto Y, Abe H, Shimojima M, Kato H, Fujita T. The Non-structural protein NSs of SFTSV causes cytokine storm through the hyper-activation of NF- $\kappa$ B. *Mol Cell Biol* MCB.00542-20, 2020.
- 12) Murakami S, Kitamura T, Suzuki J, Sato R, Aoi T, Fujii M, Matsugo H, Kamiki H, Ishida H, Takenaka-Uema A, Shimojima M, Horimoto T. Detection and characterization of vat Sarbecovirus phylogenetically related to SARS-CoV-2, Japan. *Emerg Infect Dis* 26(12):3025-3029, 2020
- 13) Watanabe M, Arii J, Takeshima K, Fukui A, Shimojima M, Kozuka-Hata H, Oyama M, Minamitani T, Yasui T, Kubota Y, Takekawa M, Kosugi I, Maruzuru Y, Koyanagi N, Kato A, Mori Y, Kawaguchi Y. Prohibitin-1 contributes to the cell-to-cell transmission of herpes simplex virus 1. *J Virol* JVI.01413-20, 2020
- 14) Ogawa M, Shirasago Y, Tanida I, Kakuta S, Uchiyama Y, Shimojima M, Hanada K, Saijo M, Fukasawa M. Structural basis of antiviral activity of caffeic acid against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *J Infect Chemother* 27(2):397-400, 2021
- 15) Matsuyama S, Kawase M, Nao N, Shirato K, Ujike M, Kamitani W, Shimojima M, Fukushi S. The inhaled steroid ciclesonide blocks SARS-CoV-2 RNA replication by targeting the viral replication-transcription complex in cultured cells. *J Virol* JVI.01648-20, 2020
- 16) Watanabe S, Fukushi S, Harada T, Shimojima M, Yoshikawa T, Kurosu T, Kaku Y, Morikawa S, Saijo M. Effective inactivation of Nipah virus in serum samples for safe processing in low-containment laboratories. *Virol J* 17(1):151, 2020
- 17) Tani H, Kimura M, Yamada H, Fujii H, Taniguchi S, Shimojima M, Fukushi S, Morikawa S, Saijo M. Activation of platelet-derived growth factor receptor beta in the severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. *Antiviral Res* 182:104926, 2020
- 18) Ogawa M, Shimojima M, Saijo M, Fukasawa M. Several catechins and flavonols from green tea inhibit severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in vitro. *J Infect Chemother* 27(1):32-39, 2021
- 19) Taniguchi S, Yoshikawa T, Shimojima M, Fukushi S, Kurosu T, Tani H, Fukuma A, Kato F, Nakayama E, Maeki T, Tajima S, Lim CK, Ebihara H, Kyuwa S, Morikawa S, Saijo M. Analysis of the function of the lymphocytic choriomeningitis virus S segment untranslated region on growth capacity in vitro and on virulence in vivo. *Viruses* 12(8):896, 2020.
- 20) Umeki K, Yasuda A, Umekita K, Megumi R, Nomura H, Kawaguchi T, Matsuda M, Takajo I, Shimojima M, Okayama A. Detection of anti-SFTSV nuclear protein antibody in the acute phase sera of patients using double-antigen ELISA and immunochromatography. *J Virol Methods* 285:113942, 2020
- 21) Peng SH, Yang SL, Tang SE, Wang TC, Hsu TC, Su CL,

- Chen MY, Shimojima M, Yoshikawa T, Shu PY. Human case of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection, Taiwan, 2019. *Emerg Infect Dis* 26(7):1612-1614, 2020
- 22) Sugimoto S, Suda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Mizutani T, Saijo M, Shimojima M. Terminal genome sequences of the soft tick bunyavirus. *Microbiol Resour Announc* 9(18):e00126-20, 2020
- 23) Akagi K, Miyazaki T, Oshima K, Umemura A, Shimada S, Morita K, Senju H, Tashiro M, Takazono T, Saijo T, Kurihara S, Sekino M, Yamamoto K, Imamura Y, Izumikawa K, Yanagihara K, Uda A, Morikawa S, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Saijo M, Mukae H. Detection of viral RNA in diverse body fluids in an SFTS patient with encephalopathy, gastrointestinal bleeding and pneumonia: a case report and literature review. *BMC Infect Dis* 20(1):281, 2020
- 24) Shimojima M, Sugimoto S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kurosu T, Saijo M. Efficient functional screening of a cellular cDNA library to identify severe fever with thrombocytopenia syndrome virus entry factors. *Sci Rep* 10(1):5996, 2020
- 25) Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, Shimada T, Matsui T, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Morikawa S, Hasegawa H, Saijo M, Oishi K; SFTS Epidemiological Research Group Japan. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, Japan, 2013-2017. *Emerg Infect Dis* 26(4):692-699, 2020
- 26) Kawahara M, Takayama-Ito M, Kato H, Kitaura S, Satoh M, Saijo M. Development of an assay for detecting the residual viable virus in inactivated rabies vaccine by enzyme-linked immunosorbent assay. *Biologicals*. 70:59-63, 2021
- 27) Nukuzuma S, Nukuzuma C, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Tasaki T, Hidaka K, Takegami T. Characterization of JC polyomavirus derived from COS-IMRb cells. *Jpn J Infect Dis* 74(1):48-53, 2021
- 28) Nishimura K, Iwai Y, Yabuki M, Fuse H, Nakamichi K, Takahashi K, Suzuki T, Saijo M, Fukushima T, Kuwabara S. Lenalidomide-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin Exp Neuroimmunol* 12(1):63-65, 2021
- 29) Takayama-Ito M, Saijo M. Antiviral drugs against severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection. *Front Microbiol* 11:150, 2020
- 30) Kato H, Satoh M, Kawahara M, Kitaura S, Yoshikawa T, Fukushi S, Dimitrova K, Wood H, Saijo M, Takayama-Ito M. Seroprevalence of Jamestown Canyon virus in the Japanese general population. *BMC Infect Dis* 20(1):790, 2020
- 31) Nakayama K, Nakamura M, Konishi A, Kaneko S, Nakamichi K, Saijo M, Yakushiji Y, Kusaka H. JC virus granule cell neuronopathy associated with Ruxolitinib: A case report and review of the literature. *eNeurological Sci* 21:100269, 2020
- 32) Usui Y, Nakano H, Komatsu J, Nakamichi K, Saijo M, Takano S, Kamiya KI, Hamaguchi T, Yamada M. Progressive multifocal leukoencephalopathy during treatment with lenalidomide and elotuzumab for multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 61(9):2234-2237, 2020
- 33) Ueno H, Kikumoto M, Takebayashi Y, Ishibashi H, Takahashi T, Yasutomi H, Umemoto K, Nakamichi K, Saijo M, Ichinohe T, Maruyama H. Pomalidomide-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in multiple myeloma: cortical susceptibility-weighted imaging hypointense findings prior to clinical deterioration. *J Neurovirol* 26(3):452-455, 2020
- 34) Katsuse K, Akiyama K, Ishida T, Kitayama C, Ishibashi Y, Ochi M, Kumasaka T, Takahashi K, Suzuki T, Nakamichi K, Saijo M, Hashida H. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with primary amyloid light-chain amyloidosis. *Clin Neurol Neurosurg* 192:105709, 2020
- 35) Inagaki T, Yamada S, Fujii H, Yoshikawa T, Shibamura M, Harada S, Fukushi S, Le QM, Nguyen TC, Nguyen TTT, Nguyen TT, Nguyen TT, Quach TV, Thong DV, Mori K, Sasaki M, Setiyono A, Handharyani E, Takeyama H, Hasebe F, Saijo M. Characterization of a novel alphaherpesvirus isolated

- from the fruit bat pteropus lylei in vietnam. *J Virol* 94(18):e00673-20, 2020
- 36) Nguyen PHA, Yamada S, Shibamura M, Inagaki T, Fujii H, Harada S, Fukushi S, Mizuguchi M, Saijo M. New mechanism of acyclovir resistance in herpes simplex virus 1, which has a UAG stop codon between the first and second AUG initiation codons. *Jpn J Infect Dis* 73(6):447-451, 2020
- 37) Noguchi K, Majima R, Takahashi K, Iwase Y, Yamada S, Satoh K, Koshizuka T, Inoue N. Identification and functional analyses of a cell-death inhibitor encoded by guinea pig cytomegalovirus gp38.1 in cell culture and in animals. *J Gen Virol* 101(12):1270-1279, 2020
- 38) Oluwayelu D, Afrough B, Adebisi A, Varghese A, Eun-Sil P, Fukushi S, Yoshikawa T, Saijo M, Neumann E, Morikawa S, Hewson R, Tomori O. Prevalence of antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ruminants, Nigeria, 2015. *Emerg Infect Dis* 26(4):744-747, 2020
- 39) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. *Br Med J Open Respir Res* 8(1):e000830, 2021
- 40) Tani H, Kimura M, Tan L, Yoshida Y, Ozawa T, Kishi H, Fukushi S, Saijo M, Sano K, Suzuki T, Kawasuji H, Ueno A, Miyajima Y, Fukui Y, Sakamaki I, Yamamoto Y, Morinaga Y. Evaluation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using a vesicular stomatitis virus possessing SARS-CoV-2 spike protein. *Virol J* 18(1):16, 2021
- 41) Shirato K, Tomita Y, Katoh H, Yamada S, Fukushi S, Matsuyama S, Takeda M. Performance evaluation of real-time RT-PCR assays for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 developed by the National Institute of Infectious Diseases, Japan. *Jpn J Infect Dis* (in press, doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.1079)
- 42) Gaowa, Wulantuya W, Sato K, Liu D, Cui Y, Yin X, Zhang L, Li H, Wang T, Liu R, Wu L, Lu S, Gao T, Zhang Z, Cao M, Wang G, Li C, Yan D, Ohashi N, Ando S, Kawabata H. Surveillance of *Borrelia miyamotoi*-carrying ticks and genomic analysis of isolates in Inner Mongolia, China. *Parasites and Vectors* 14(1):368, 2021
- 43) Ohashi H, Watashi K, Saso W, Shionoya K, Iwanami S, Hirokawa T, Shirai T, Kanaya S, Ito Y, Kim KS, Nomura T, Suzuki T, Nishioka K, Ando S, Ejima K, Koizumi Y, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Suzuki T, Hashiguchi T, Maenaka K, Matano T, Muramatsu M, Saijo M, Aihara K, Iwami S, Takeda M, Mckeating JA, Wakita T. Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and 1 nelfinavir, and their usage for combination treatment. *iScience* doi: 10.1016/j.isci.2021.102367.
- 44) Kinoshita H, Arima Y, Shigematsu M, Sunagawa T, Saijo M, Oishi K, Ando S. Descriptive epidemiology of rickettsial infections in Japan: Scrub typhus and Japanese spotted fever, 2007-2016. *Int J Infect Dis* doi: 10.1016/j.ijid.2021.02.069.
- 45) Sato Y, Mekata H, Sudaryatma PE, Kirino Y, Yamamoto S, Ando S, Sugimoto T, Okabayashi T. Isolation of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus from various tick species in area with human SFTS cases. *Vector Borne Zoonotic Dis* 21(5):378-384, 2021
- 46) Su H, Onoda E, Tai H, Fujita H, Sakabe S, Azuma K, Akachi S, Oishi S, Abe F, Ando S, Ohashi N. Diversity unearthed by the estimated molecular phylogeny and ecologically quantitative characteristics of uncultured *Ehrlichia* bacteria in *Haemaphysalis* ticks, Japan. *Sci Rep* 11:687, 2021
- 47) Tai H, Su H, Takamoto N, Fujita H, Takano A, Oishi S, Abe F, Ando S, Ohashi N: Growth characteristics of *Rickettsia* species LON strains closely related to *Rickettsia japonica* isolated from *Haemaphysalis longicornis* ticks in mouse-derived L929 and human-derived THP-1 host cell lines. *Jpn J Infect Dis* 74(2):102-109, 2021

- 48) Ogawa M, Ando S, Saijo M. Evaluation of recombinant type-specific antigens of *Orientia tsutsugamushi* expressed by a baculovirus-insect cell system as antigens for indirect immunofluorescence assay in the serological diagnosis of scrub typhus. *Jpn J Infect Dis* 73 (5): 330-335, 2020
- 49) Tajima S, Taniguchi S, Nakayama E, Maeki T, Inagaki T, Lim CK, Saijo M. Amino acid at position 166 of NS2A in Japanese encephalitis virus (JEV) is associated with in vitro growth characteristics of JEV. *Viruses* 12:709, 2020
- 50) Aonuma H, Iizuka-Shiota I, Hoshina T, Tajima S, Kato F, Hori S, Saijo M, Kanuka H. Detection and discrimination of multiple strains of Zika virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Trop Med Health* 48:87, 2020
- 51) Doi Y, Hibino M, Hase R, Yamamoto M, Kasamatsu Y, Hirose M, Mutoh Y, Homma Y, Terada M, Ogawa T, Kashizaki F, Yokoyama T, Koba H, Kasahara H, Yokota K, Kato H, Yoshida J, Kita T, Kato Y, Kamio T, Kodama N, Uchida Y, Ikeda N, Shinoda M, Nakagawa A, Nakatsumi H, Horiguchi T, Iwata M, Matsuyama A, Banno S, Koseki T, Teramachi M, Miyata M, Tajima S, Maeki T, Nakayama E, Taniguchi S, Lim CK, Saijo M, Imai T, Yoshida H, Kabata D, Shintani A, Yuzawa Y, Kondo M. A prospective, randomized, open-label trial of early versus late favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19. *Antimicrob Agents Chemother* 64(12):e01897-20, 2020
- 52) Suzuki T, Kutsuna S, Nakamoto T, Ota M, Ishikane M, Yamamoto K, Maeki T, Tajima S, Nakayama E, Taniguchi S, Lim CK, Saijo M, Ohmagari N. Dengue virus serotype 1 exported to Japan from Côte d'Ivoire, 2019. *Jpn J Infect Dis* 74(2):148-150, 2020
- 53) Prow NA, Liu L, McCarthy MK, Walters K, Kalkeri R, Geiger J, Koide F, Cooper TH, Eldi P, Nakayama E, Diener KR, Howley PM, Hayball JD, Morrison TE, Suhrbier A. The vaccinia virus based Sementis Copenhagen Vector vaccine against Zika and chikungunya is immunogenic in non-human primates. *NPJ Vaccines* 5(1):44, 2020
- 54) Hazlewood JE, Rawle DJ, Tang B, Yan K, Vet LJ, Nakayama E, Hobson-Peters J, Hall RA, Suhrbier A. A zika vaccine generated using the chimeric insect-specific Binjari virus platform protects against fetal brain infection in pregnant mice. *Vaccines (Basel)* 8(3):496, 2020
- 55) Nguyen W, Nakayama E, Yan K, Tang B, Le TT, Liu L, Cooper TH, Hayball JD, Faddy HM, Warrillow D, Allcock RJN, Hobson-Peters J, Hall RA, Rawle DJ, Lutzky VP, Young P, Oliveira NM, Hartel G, Howley PM, Prow NA, Suhrbier A. Arthritogenic Alphavirus Vaccines: Serogrouping Versus Cross-Protection in Mouse Models. *Vaccines (Basel)*. 8(2):209, 2020
2. 和文発表
- 1) 林昌宏. 【東京オリンピック・パラリンピックで注意すべきインバウンド感染症】注意しなければいけないウイルス感染症 蚊媒介性感染症. *臨床と微生物*. 2020. 47(3):262-269.
  - 2) 林昌宏. わが国におけるデング熱ウイルス感染症の最近の動向. *臨床免疫・アレルギー科* 73(2):209-214, 2020.
  - 3) 北崎佑樹, 岩崎博道, 北井隆平, 高橋健太, 中道一生, 濱野忠則. 脳脊髄液中の JCV-DNA 遺伝子検査が 2 回とも陰性であったが, 開頭脳生検で診断確定した HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 1 例. *BRAIN and NERVE* 72(5):541-546, 2020
  - 4) 加藤博史, 西條政幸, 林昌宏, 伊藤(高山)睦代, 塩田(飯塚)愛恵, 福土秀悦, ポサダス・エセラ・ギジェルモ, 森本金次郎, 佐藤正明. P 遺伝子欠損非増殖性組換え狂犬病ウイルスベクターを用いた狂犬病と中東呼吸器症候群に対する 2 価ワクチンの開発. *感染症学雑誌* 94(2):285-285 2020 年 3 月
  - 5) 高橋芳徳, 大澤良介, 安藤秀二, 平良雅克, 細川直登. 南アフリカ共和国から帰国後に発症した African tick-bite fever の 1 例. *感染症学雑誌* 95(2):133-136, 2021
  - 6) 島田瑞穂, 川端寛樹, 安藤秀二, 彭志中, 小林由美江, 廣瀬芳江, 周藤史憲, 清水和彦, 高橋孝行, 小

- 松本悟. 栃木県足利赤十字病院における 3 年間 (2017~2019 年) のマダニ刺症 72 例の検討—タカサゴキアラマダニ刺症 62 例を中心に—. 衛生動物 71(3):219-223, 2020
- 7) 安藤秀二. リケッチア, 中込治監修, 神谷茂・錫谷達夫編集 標準微生物学 第 14 版:278-286, 2021
- 8) 安藤秀二. リケッチア感染症診断マニュアル (令和元年 6 月版) の概要. 病原体微生物検出情報, 41(8):141, 2020
- 9) 藤田博己, 安藤秀二. 日本紅斑熱リケッチア媒介マダニの国内分布状況. 病原体微生物検出情報, 41(8):138-139, 2020
- 10) 伊藤 (高山) 睦代, 西條政幸. 狂犬病. *Clinical Neuroscience* 38:1275-1277, 2020
- 11) 山田壮一, 福土秀悦, 西條政幸. 突発性発疹のウイルス学的な検査法 *IASR* 41:214-215, 2020
- 12) 新倉 (座本) 綾, 佐藤雅彦, 川端寛樹, 大久保 (佐藤) 梢, 安藤秀二, 石原智明, 花木賢一. 利尻島におけるマダニ相と保有病原体の調査. *利尻研究 Rishiri Studies* 39: 41-46, 2020
- 13) 中山絵里, 前木孝洋, 谷口怜, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸. デング熱の流行状況. *IASR* 41: 93-94, 2020
- 14) 西村光司, 金澤剛二, 森岡一朗, 林昌宏, 田島茂, 前木孝洋, 中山絵里, 谷口怜, 西條政幸. 5 年ぶりに確認された日本国内で感染したデング熱の 3 例. *IASR* 41:94-96, 2020
- 15) 西條政幸. 最近の重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の動向. *バムサジャーナル* 32:11-14, 2020
- 16) 田島茂, 中山絵里, 前木孝洋, 谷口怜, 林昌宏, 西條政幸. 2014 年に国内感染例として発表されている, 兵庫県西宮市でのデングウイルス 1 型によるデング熱患者について. *IASR* 41:97-99, 2020
- 17) 前木孝洋, 中山絵里, 谷口怜, 田島茂, 林昌宏, 西條政幸. デング熱ワクチンの現状と展望. *IASR* 41:99-100, 2020
- 18) 児玉文宏, 枝川峻二, 永坂敦, 松野啓太, 好井健太郎, 澤洋文, 山岸彩沙, 古澤弥, 山口亮, 矢野公一, 山口宏樹, 後藤明子, 駒込理佳, 三好正浩, 伊東拓也, 小山内佑太, 角千春, 堀田明豊, 前田健, 安藤秀二, 西條政幸. 北海道における新規オルソナイロウイルス (エンゾウイルス: *Yezo virus*) によるマダニ媒介性急性発熱性疾患の発見. *IASR* 41:11-13, 2020
- 19) 西條政幸. 私たちは数百年に一度の人間社会に大きな影響をおよぼすウイルス感染症流行のなかにいる—動物由来のウイルスとしての特徴とワクチン開発への期待. *科学 (岩波書店)* 90(6):512-517, 2020
- 20) 西條政幸. 一人の免疫不全患者から学ぶウイルス感染症学: 薬剤耐性単純ヘルペスウイルス 1 型感染症. *Neuroinfection* 25:1-6, 2020
- 21) 西條政幸. 最近の重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の動向. *バムサジャーナル* 32:11-14, 2020
- 22) 西條政幸. 災害医療 2020 – 大規模イベント, テロ対応を含めて. サーベイランスの強化 (感染症対策) *日本医師会雑誌* 149 (増刊号) :244-255, 2020
- 23) 北崎佑樹, 岩崎博道, 北井隆平, 高橋健太, 中道一生, 濱野忠則. 脳脊髄液中の JCV-DNA 遺伝子検査が 2 回とも陰性であったが, 開頭脳生検で診断確定した HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 1 例. *BRAIN and NERVE* 72(5):541-546, 2020
- 24) 安藤秀二. つつが虫病・日本紅斑熱. *日本獣医師会雑誌* 73:6-12, 2020

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Taniguchi S, Lim CK, Maeki T, Tajima S, Nakayama E, Kato F, Azami NAM, Ami Y, Suzuki T, Moi ML, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Takasaki T, Kurane I, Saijo M. Evaluation of vertical infection of pregnant marmosets with Zika virus. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 22nd International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, Bangkok, Thailand, February 2020
- 2) Maeki T. Analysis of cross-reactivity of flaviviruses with sera of Japanese travelers who were diagnosed with dengue, Bangkok, Thailand, February 2020
- 3) Ohka S, Nishizawa D, Yamada S, Hasegawa J, Fukui Y, Iseki M, Hiranuma A, Arita H, Hanaoka K, Yajima C, Kato J, Ogawa S, Kasai S, Ebata Y, Nakayama K, Hayashida M, Fukushi S, Saijo M, Ikeda K. A gene

associated with herpes zoster or post-herpetic neuralgia affects varicella-zoster virus infection or replication. American College of Neuropsychopharmacology, Virtual Meeting, December 2020

## 2. 国内学会

- 1) 藤田博己, 角坂照貴, 川端寛樹, 安藤秀二. タネガタマダニとアサヌマダニが保有する紅斑熱群リケッチア *Rickettsia monacensis* の国内における概要と感染症例の国内潜在の可能性. 第 72 回日本衛生動物学会, 東京, 2020 年 4 月
- 2) 西條政幸. 蚊媒介感染症. 第 95 回日本感染症学会学術講演会 第 69 回日本化学療法学会総会 合同学会. 東京 (WEB 開催), 2020 年 5 月
- 3) 谷口愼, 林昌宏, Moi Meng Ling, 網康至, 須崎百合子, 鈴木忠樹, 永田典代, 岩田奈織子, 田島茂, 西條政幸. コモンマーモセットのジカウイルス垂直感染モデルとしての評価. 第 67 回日本実験動物学会総会, 大阪 (誌上開催), 2020 年 5 月
- 4) 西條政幸. イントロダクション (SFTS の現状). 第 94 回日本感染症学会学術講演会, 東京, 2020 年 8 月
- 5) 大岡静衣, 西澤大輔, 山田壮一, 長谷川準子, 福井良子, 井関雅子, 有田英子, 花岡一雄, 加藤実, 小川節郎, 平沼彩子, 笠井慎也, 中山京子, 江畑裕子, 林田眞和, 福土秀悦, 西條政幸, 池田和隆. 帯状疱疹・帯状疱疹後神経痛に関連する遺伝子 A の発現は、水痘帯状疱疹ウイルス感染細胞の細胞融合能を亢進する. 第 50 回日本神経精神薬理学会, 仙台, 2020 年 8 月
- 6) 西條政幸. ウイルス性出血熱と日本の対策. 第 163 回日本獣医学会学術集会, 山口, 2020 年 9 月
- 7) 西條政幸. 日本で流行している重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) と新型コロナウイルス感染症 (COVID-19). 第 56 回日本放射線学会秋季臨床大会, WEB 開催, 2020 年 10 月
- 8) 西條政幸. 治療・予防法開発に基づく対策が急がれる動物由来ウイルス感染症: SFTS と COVID-19. 第 3 回静岡中部渡航医学セミナー, 静岡, 2020 年 10 月
- 9) 西條政幸. 哺乳動物と SFTS のリスクについて: ペットとしてのネコやイヌからの感染リスクと治療・予防法開発. 第 69 回日本感染症学会東日本地方会 第 67 回日本化学療法学会 合同学会, 東京, 2020 年 10 月
- 10) 西條政幸. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の特徴を正確に捉える. 第 63 回日本内科学会信越支部主催生涯教育講演会. 内科信越講演会, 松本, 2020 年 10 月
- 11) 西條政幸. 新型コロナウイルス感染症 最新の知見からみた今後の対応策について. 公益財団法人 日本精神神経科診療所協会主催, 令和 2 年度第 1 回災害支援対策全国会議, 2020 年 10 月
- 12) 吉河智城. 高度弱毒化痘そうワクチン株 LC16m8 をベースとした SFTS ワクチンの開発. 第 24 回日本ワクチン学会学術集会, WEB 開催, 2020 年 12 月
- 13) 江頭柗平, 角元利行, 久保田暁, 作石かおり, 岩田淳, 斐成寛, 赤松延久, 中道一生, 西條政幸, 三浦義治, 長谷川潔, 藤尾圭志, 戸田達史. HIV/ナタリズマブ非関連進行性多巣性白質脳症に対するメフロキン, ミルタザピン療法. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山県, 2020 年 10 月
- 14) 根岸奈央, 池口亮太郎, 宗勇人, 小林正樹, 吉澤浩志, 飯嶋睦, 清水優子, 中道一生, 高橋健太, 北川一夫. 臓器移植患者における進行性多巣性白質脳症について: 症例報告と文献的レビュー. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山県, 2020 年 10 月
- 15) 小川基彦, 下島昌幸, 西條政幸, 深澤征義. 緑茶由来フラボノイド類の重症熱性血小板減少症候群ウイルスに対する増殖抑制効果. 日本薬学会第 141 年会, 広島, 2021 年 3 月 26 日~29 日
- 16) 高橋芳徳, 大澤良介, 平良雅克, 安藤秀二, 細川直登. 南アフリカ共和国から帰国後に発症した African tick-bite fever の 1 例, 第 32 回臨床微生物学会, 2021 年 1 月 29 日~3 月 31. Web 開催
- 17) 安藤秀二. 日本紅斑熱~日本で最も多いマダニ媒介感染症. 第 20 回 人と動物の共通感染症研究会, 東京 (web 開催), 2020 年 10 月
- 18) 安藤秀二. ダニ媒介感染症における東日本と全国と

- の比較〜リケッチア症を中心に. 第 69 回日本感染症学会 東日本地方会 シンポジウム「野生生物とダニ媒介性疾患」東京(Web 開催), 2020 年 10 月
- 19) 西條政幸. アフリカにおけるエボラウイルス病の流行: 今も続いている. 第 20 回人と動物の共通感染症研究会, 東京 (Web 開催), 2020 年 10 月
- 20) 濱口眞衣, 鈴木圭輔, 藤田裕明, 宇塚岳夫, 松田葉月, 宍戸-原由起子, 新井聡子, 中村利生, 菊地慈, 中道一生, 西條政幸, 平田幸一. 脳生検で診断し, ミルタザピン及びメフロキンにて寛解した非 HIV 性進行性多巣性白質脳症の一例. 第 38 回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2020 年 10 月
- 21) 西條政幸. エボラウイルス病: 動物から人へ, 時々起こる感染症. 日本学術会議シンポジウム, 「One health: 新興・再興感染症 動物から人へ, 生態系が産み出す感染症」, WEB 開催, 2020 年 11 月
- 22) 西條政幸. 新型コロナウイルス対策と産業ストレス: SARS-CoV-2 と COVID-19 のウイルス学的, 感染症学的特徴. 第 28 回日本産業ストレス学会, 2020 年 12 月
- 23) 吉河智城. 高度弱毒化痘そうワクチン株 LC16m8 をベースとした SFTS ワクチンの開発. 第 24 回日本ワクチン学会学術集会, WEB 開催, 2020 年 12 月
- 24) 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に対する治療・予防法開発. 福岡県 One Health 国際フォーラム 2021. 福岡国際会議場, 2021 年 1 月
- 25) 西條政幸. 疫学・概要 (イントロダクション). 日本神経感染症学会特別シンポジウム, WEB 開催, 2021 年 3 月
- 26) 西條政幸. SARS-CoV-2 と COVID-19 の基礎的は話 (ワクチンに関わる話題を含む). 日本救急医学会 第 26 回専門医セミナー, WEB 開催, 2021 年 3 月