

### 3. ウイルス第三部

部長 竹田 誠

#### 概要

当部は、村山庁舎に配置され、第一室(麻疹)、第二室(風疹)、第三室(ムンプス)、第四室(インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン)で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務及び国際協力である。

当部は、麻疹、風疹、ムンプス(おたふく風邪)の各ワクチン、 $\gamma$ -グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務等を担当している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定の標準手順書(SOP)や標準品等の整備を行い、試験法の標準化と精度管理に努めている。また、国家検定における各種品質管理の試験の実施に加えて、ワクチン製剤の国家検定に製造・記録等要約書(SLP)の審査を実施している。国際協調の観点からも、国際的にも通用する品質管理体制を取っている。感染症対策やワクチン政策に対する社会的要求が一層高まる中で、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保と国家試験機関(NCL)としての責務を果たし、そして、国民や社会の要望に応えることを目的に業務に取り組んでいる。

サーベイランス活動では、麻疹・風疹に関しては、全国の地方衛生研究所と協力しながら全国的、ならびに世界保健機関(WHO)と連携して国際的実験室診断ネットワーク体制の構築ならびに推進に関する研究を進めている。その活動を通じて、より正確で実用的な実験室診断技術の開発研究を推進し、日本で流行する麻疹ウイルスの詳細な調査、解析を行っている。感染症疫学センターや厚労省と協力して、2015年3月に認定を受けた麻疹排除状況がその後も継続していることを示すために貢献している。また、麻疹ウイルスに関する研究においては、ポリオウイルスに感受性を有さず麻疹ウイルスを効率よく分離できる細胞の確立、麻疹ウイルスワクチン株を利用した新たなワクチン開発に関する研究等を行っている。麻疹ウイルスの近縁ウイルスである各種モルビリウイルスの進化や宿主域についての研究を実施している。風疹に関しては、風疹の病

原診断および解析に関する開発研究、流行ウイルス株の変遷に関する研究、風疹抗体価の読み換えに関する研究、弱毒生ワクチンの性質決定の分子基盤を明らかにするための研究を行っている。さらに風疹ウイルス受容体や、風疹ウイルスの増殖を助ける宿主因子の探索などを通じて、風疹ウイルス増殖の詳細な細胞内分子機構の解析研究を実施している。ムンプス(おたふく風邪)に関しては、ムンプスウイルスの遺伝子操作手法の開発や改良に関する研究、神経病原性の分子メカニズムに関する研究、ムンプスウイルスの増殖に関与する宿主因子に関する研究、新規ワクチンおよび治療薬の開発に関する研究を実施している。また、重要なテーマとして、ムンプスワクチンの効果や安全性を評価するための動物モデルの開発研究や、国内、海外の流行株の解析などを通じた流行実態の解明のための研究を実施している。インターフェロン・サイトカインに関しては、宿主側の新たな制御機構を研究するとともに、ウイルス側による阻害機構を明らかにするための研究を行い、感染症を包括的に理解し、また、新しい生命現象の解明を通じて広く人類に貢献することを目指している。また、免疫機構の解析を通じて、より効果的な新たなワクチンの開発を目指している。呼吸器ウイルスの診断法の開発、ならびにその標準化や普及のための活動を実施し、実験室診断に役立てている。特に新型コロナウイルスの発生以降、ウイルスの診断、抗ウイルス剤の開発、増殖機構に関する研究を行っている。また、RSウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルスについても増殖機構や病態解明に関する研究を行い、その知見をもとにした抗ウイルス剤の開発を目指している。特に、呼吸器感染症ウイルスの活性化に関与する宿主プロテアーゼの解明を通じた、新たな抗ウイルス剤の研究を実施している。

国際協力では、WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワーク(Global Measles and Rubella Laboratory Network)のGlobal Specialized Laboratory(GSL)として、麻疹ならびに風疹の診断や流行調査に資するための研究を遂行し、また、ムンプスウイ

ルスなどに関しても周辺諸国の診断技術の向上のための研究協力を実施している。

## 業績

### 調査・研究

#### I. 麻疹ウイルスに関する研究

##### 1. 麻疹検査診断ネットワークの構築に関する研究

WHO 等が中心となり進めている麻疹排除計画では、検査診断に基づいた麻疹サーベイランス体制の確立を求めている。これに従い、日本では、「麻疹に関する特定感染症予防指針」を改訂し、原則、すべての麻疹疑い例に対して、ウイルス遺伝子検査と麻疹 IgM 検査の両方を実施することとしている。ウイルス遺伝子検査は、2007 年以降、感染研、レファレンスセンター、地方衛生研究所(地衛研)が共同で整備を進めてきた麻疹検査診断ネットワークの中において、主に全国の地衛研により実施され、IgM 検査は保険を利用して民間検査センター(検査センター)により実施されている。本研究は WHO の評価に資する検査診断ネットワークを構築することを目的としている。2015 年 3 月に日本は、WHO 西太平洋地域地域麻疹排除認証委員会により麻疹排除状態にあると認定された。2019 年においては 744 例の麻疹症例が報告され、うち 400 症例から麻疹ウイルスの遺伝子型決定部位の遺伝子が検出され、塩基配列、遺伝子型が決定された。ウイルスの塩基配列、発症時期、発生場所、渡航履歴等の解析から、2019 年においても、伝播を 1 年間以上、続けた麻疹ウイルスは存在せず、流行株の再興は認められず、麻疹の排除状態は維持されていると考えられた。なお、2019 年においては 7428 症例が、2020 年においては 780 症例が地衛研において検査されている。一方、検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査結果、実態を随時、把握した。さらに検査センターに対して、麻疹 IgM 抗体、風疹 IgM 抗体に対する外部精度管理を実施し、検査施設としての適合性を示した。今後も地方衛生研究所や検査センターと協力し、より精度の高い麻疹検査診断体制を維持、改善していく。[關文緒、染谷健二、田原舞乃、山田裕加里、竹田誠、森嘉生、大槻紀之、麻疹・風疹レファレンスセンター、地方衛生研究所]

##### 2. 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C をベースとした組換えワク

チンの開発に関する研究

麻疹ワクチンをベースとした組換えワクチン開発の基礎データを得るため、免疫学的研究に汎用されている卵白アルブミン(OVA) 遺伝子をコードする組換え AIK-C 株 (AIK-C OVA)を 6 種類作製してその性状を解析した。AIK-C OVA 6 種類中 5 種類は、OVA 挿入サイトに影響されることなく高力価のウイルス増殖を示した。OVA は、6 種類の AIK-C を感染させた細胞全てで発現すること、また、リーダー領域下流、N-P 遺伝子間、M-F 遺伝子間、H-L 遺伝子間に OVA 遺伝子を挿入すると高発現することが ELISA、及び Realtime PCR で確認できた。さらに SLAM 発現マウスを用いた免疫応答の確認試験では、AIK-C OVA を接種したマウスに OVA 特異的液性・細胞性免疫応答が誘導されていたことが確認できた。今後は、より詳細なデータを得るため、動物数を増やした試験を行う予定である。[染谷健二、竹田誠]

##### 3. ポリオウイルスレセプター (PVR) をノックアウト(KO)した PVR KO Vero/huSLAM 細胞の開発

世界保健機関 (WHO)は、世界規模でのポリオ根絶に向けて、各研究施設におけるポリオウイルスの取扱いに関する厳格な管理を求めている (Global Action Plan III: GAP III)。ポリオウイルスはその性状から、臨床検体、環境検体に含まれている可能性があり、今後は培養細胞を用いた検体からのウイルス分離に関しても何らかの制約を求められることが示唆されている。現在、麻疹ウイルスの分離に用いられている Vero/huSLAM 細胞は、ポリオウイルスに対して感受性があり、そのため GAP III に対応する、ポリオウイルス非感受性 Vero/huSLAM 細胞を開発することは重要と考えられる。本研究では、細胞化学部と共同研究で作製した、ポリオウイルスレセプターノックアウト Vero 細胞 (PVR KO Vero)に SLAM 遺伝子を導入した、PVR KO Vero/huSLAM を作製した。本細胞は、親細胞(PVR KO Vero)同様ポリオウイルスに対する感受性を消失していること、野外株ベースの麻疹ウイルスに感受性を持つことを確認できた。[染谷健二、竹田誠:中村優子、花田賢太郎(細胞化学部)]

##### 4. モルビリウイルスと哺乳動物共進化に関する研究

地球上に現存することが分かっている 8 種のモルビリウイル

ス(MoV)の宿主特異性は、受容体 SLAM の利用能に大きな影響を受けている。SLAM 遺伝子の変異により特定の MoV 感染から免れるように進化した個体は、次第に集団の中で優勢になったと予想され、すでに SLAM 進化と MoV 進化との関連(共進化)が示唆されている(Ohishi et al. 2010 *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*)。本研究では、MoV と SLAM に関して、タンパク質の機能的側面や計算確率的側面、地球環境生態学的側面を補完し、ウイルスと哺乳動物共進化の明確な一例を示すことで、ネオウイルス学の創出に貢献することを目的に研究を進めている。当初の仮説と異なり MoV 各種は宿主域より広い動物種の SLAM 分子を利用可能であることが明らかとなった。SLAM 結合面の変化による SLAM 利用能力の差について解析を進めるため、牛痘ウイルス(RPV)・小反芻獣疫ウイルス(PPRV)・鯨類モルビリウイルス(CeMV)-H タンパク質が利用能力を持ち、犬ジステンパーウイルス(CDV)・麻疹ウイルス(MV)-H タンパク質は利用能力を持たないマウス SLAM について、MoV-H 間キメラを作製し細胞融合を指標に解析した。CDV-H タンパク質は SLAM 結合面の1アミノ酸変異で利用能力を獲得したが、MV-H タンパク質は SLAM 結合面以外の構造を含む複数箇所への変異、または強い融合能を持つ F タンパク質が必要であることが明らかとなった。MV・CDV における SLAM と H 間結合解離様式に差があることは報告されており、CDV-H は MV-H と異なり、1アミノ酸変異で SLAM と十分な結合を獲得しやすい構造を持つ可能性が示唆された。

[關文緒、竹田誠、松尾直也(立教大学大学院 理学研究科 化学専攻理論創薬・分子設計)、中野祥吾、伊藤創平(静岡県立大学・食品栄養科学部食品生命科学科食品蛋白質工学研究室)、常盤広明(立教大学大学院 理学研究科 化学専攻理論創薬・分子設計)、大石和恵(東京工芸大学)、丸山正(北里大学)]

#### 5. 麻疹風疹混合ワクチンの品質管理に関する研究

麻疹風疹混合ワクチンは1970年代に樹立されたワクチン株を用いて製造される生ワクチンである。生ワクチンはその開発過程や製造工程の特性上、単一クローンのウイルスで構成されている可能性は低く、ワクチンの中には解析・決定されているワクチン株遺伝子配列とは異なる遺伝子配列を有するバリエーションウイルスが一定の割合で含まれることが予想されている。

本研究では次世代シーケンス技術(NGS)を用い、国内で販売されている3社の麻疹風疹混合ワクチン中に含まれる麻疹ウイルス及び風疹ウイルスのバリエーション配列の検出を試みた。この結果麻疹・風疹ウイルスともに一定のバリエーションが存在することが確認できた。このうち麻疹ウイルスでは10%以上の混入率を有すると考えられるバリエーション配列は麻疹ウイルス遺伝子全長約15Kbpに対し2~10箇所であった。風疹ウイルスにおいては10%以上の混入率を有すると考えられるバリエーション配列は麻疹ウイルス遺伝子全長約10Kbpに対し2~11箇所であったものの、混入比率が38%以上ある箇所があり混入比率の高いバリエーションが存在することが示唆された。風疹ウイルスではワクチン株の特性として温度感受性を有することが明らかとなっており、今回検討した3製剤のうち2製剤のワクチン株は温度感受性決定領域遺伝子が特定されているが2株とも当該配列にはバリエーション配列を有さないことが明らかとなった。今後異なるロットのワクチンとの混入比率の比較、より効率的なNGS手法の検討を行い、ワクチンの品質管理につながる検討を行っていく予定である。[大槻紀之、山田裕加里、石井孝司(品質保証管理部)]

## II. 風疹ウイルスに関する研究

### 1. 風疹ウイルス流行株の分子疫学的検討

風疹の排除を達成し国際的に認証されるためには、同一ウイルスによる流行が1年以上継続せず、途切れていることを明らかにしなくてはならない。2018年の夏頃から2020年初頭まで風疹の全国流行が発生したが、どのような遺伝子型のウイルスが流行の原因となっているかを検討した。全国地方衛生研究所で遺伝子配列の決定されたウイルス株(2018年658株、2019年482株、2020年9株)について遺伝子解析による分類を行った。その結果、約95%のウイルスは遺伝子型1Eであり、さらにそのほとんどが遺伝学的に同一のウイルスに由来することが示唆された。疫学的にこのウイルスの由来は不明である。2017年までこのウイルスは日本で見つかっていない一方、近縁のウイルスは中国、インドネシアなどのアジア諸国で日本の流行前から検出されており、このような国から持ち込まれた可能性がある。本ウイルスは日本で最初に検出されてから1年8ヶ月以上継続して検出されたことから、現在の日本は風疹排除の要件を満たしていないことが明らかとなった。今後、排除

達成のためには、現在のウイルス株による流行が遮断され、その時点から新たなウイルスによる1年間を超える流行が起きないことを継続的に確認していく必要がある。[森嘉生、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠、全国地方衛生研究所]

## 2. 地方衛生研究所における風疹検査の調査研究

風疹の排除認定を受けるためには、国内のサーベイランス体制が国際的な基準を満たしていることが前提となる。国内の感染症サーベイランス情報登録システムである NESID では検査陽性の情報しか登録されず、検査実施数ならびに検査陰性数の情報は得ることができない。そのため、麻疹風疹リファレンスセンターのネットワークを介して2016年以降、全国地方衛生研究所における検査実績を調査している。風疹の全国流行があった2019年には、全国で6,839件の検査が実施され、1,289件が陽性であったことが示された。一方で2020年は、風疹の流行が収束したため、全国で788件の検査実施、50件の陽性であった。その他、5日以内に施設に搬入された症例数や検体搬入後、検査が4日以内に実施された症例数も調査された。[森嘉生、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠、全国地方衛生研究所]

## 3. ラオス、ベトナムにおける麻疹および風疹に対する集団免疫の調査

東南アジア各国において麻疹および風疹に対する予防接種が導入されているにも関わらず、麻疹および風疹の流行がしばしば発生している。2014年の調査においてラオスではワクチン接種が高い接種率で実施された集団において、麻疹に対する抗体保有率が期待されるレベルに達していないことが明らかとなり、ワクチンの取り扱い等に問題があることが示唆された。周辺国のベトナムにおいても同様の問題が生じていないか明らかにするため、2019年にベトナム中南部の市民から採取された血液(n=2,093)を用いて、麻疹および風疹に対する抗体測定を行った。年齢条件が不適合例などを除外して2,079名で解析したところ、ベトナムでは麻疹抗体保有率は多くの世代で非常に高かった(概ね98%以上)。一方、風疹に対してはワクチン接種機会のあった世代では概ね100%に近い抗体保有率を示したが、過去に接種を受ける機会のなかった成人の世代において抗体保有率が低い(約70%)ことが示され

た。ベトナムにおいては、予防接種が適切に実施されていることが示唆された。[森嘉生、大槻紀之、町田聡子、永井美智、山田祐加里、村野けい子、竹田誠、蜂矢正彦、宮野真輔、駒田謙一(国立国際医療研究センター)]

## 4. 新規風疹ウイルスリバーシジェネティクス法の構築とレポーター発現風疹ウイルスの作製

風疹ウイルスのリバーシジェネティクス法(組換え感染性ウイルスの作製)は、風疹ウイルスゲノムの完全長 cDNA からゲノム RNA を大量に合成し、その RNA を細胞へ導入しなければいけない問題点があった。従来法より簡便かつ迅速に組換えウイルスを作製することを目的として、哺乳類細胞発現プラスミドを用いて完全長 cDNA を細胞へ導入するだけで組換えウイルスが作製可能なリバーシジェネティクス法の構築を試みた。昨年度作製したサブゲノムレプリコンプラスミド(pcHHR-HS-Rep)を基にして、風疹ウイルスゲノムの完全長 cDNA (pcHHR-HS)を作製した。更に pcHHR-HS のサブゲノムプロモーター直下にレポーターとして mCherry または NLuc 遺伝子を挿入し、自己切断ペプチドの塩基配列で構造遺伝子の ORF と連結した pcHHR-HS-mCherry と pcHHR-HS-NLuc を作製した。それぞれの cDNA を BHK 細胞へ導入し、培養上清のウイルス力価を測定したところ、約  $10^8$  PFU/ml の各ウイルス溶液(HS, HS-mCherry, HS-NLuc)が得られた。Vero 細胞へ HS と HS-mCherry を接種して、培養上清のウイルス力価を測定することで増殖性を比較したが、同程度であった。HS-NLuc 感染細胞におけるルシフェラーゼ活性の動態は、上清力価の動態と強く相関した。以上の結果より、哺乳類細胞発現プラスミドを用いて、迅速簡便に組換え感染性ウイルスの作製が可能となった。また、作製したレポーター発現ウイルスは、サブゲノムプロモーターの制御下でレポーター遺伝子が発現し、その発現が上清力価と強く相関することから、風疹ウイルスの複製や産生の評価に有用であることが示唆された。[坂田真史、中津祐一郎、加藤文博、竹田誠、森嘉生]

## 5. 風疹ウイルスを認識する病原体認識レセプターの同定

我々はこれまでに、風疹ウイルスに対する感受性の高い培養細胞を作製することを目標とし、CRISPR-Cas9 法によるゲノム編集技術を用いて、宿主インターフェロン(IFN)応答の誘導

に関わるアダプター分子である IPS-1 を欠損させたヒト肺がん由来 A549 細胞を作出し、その細胞において風疹ウイルスの複製効率が飛躍的に向上することを見出している。IPS-1 は宿主の病原体認識レセプターである RIG-I および MDA5 の下流に存在するアダプター分子であり、最終的に IFN 遺伝子の発現を制御する転写因子 IRF3 を活性化することで、宿主の IFN 応答を誘導する。上述の解析より、風疹ウイルスが IPS-1 依存的に IFN 応答を誘導することは明らかであったが、どちらの病原体認識レセプターにより認識されるかは不明なままであった。そこで本研究では CRISPR-Cas9 法により、RIG-I または MDA5 を欠損した A549 細胞、およびその両方を欠損した A549 細胞を作製し、それらの細胞における風疹ウイルス増殖効率、および風疹ウイルスによる IRF3 の活性化の程度を評価した。その結果、風疹ウイルスは、RIG-I および MDA5 の両方により認識され、その両方を欠損した細胞でのみ増殖効率が顕著に向上することが明らかとなった。今後は、宿主による風疹ウイルス認識機序、および風疹ウイルスと宿主自然免疫応答の関わり合いを詳細に解析していく予定である。[中津祐一郎、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

#### 6. 風疹ウイルスの細胞侵入に必須な宿主因子の探索

風疹ウイルスの細胞侵入過程を解明するため、細胞侵入に必要とされる宿主因子の探索を試みた。風疹ウイルスに感受性のあるヒト培養細胞において CRISPR/CAS9 による網羅的ノックアウトスクリーニングを行なった。その結果、ある遺伝子(未公開)をノックアウトした細胞では、風疹ウイルスレプリコンは正常に複製できること、ウイルスの細胞への吸着には影響がないことが示された。一方で、風疹ウイルスのエンベローブタンパク質を被った VSV シュードタイプウイルスの侵入は完全に抑制されることから、この宿主因子は風疹ウイルスの細胞侵入に必須であることが示唆された。また、このノックアウト細胞においてはウイルスエンベローブと細胞膜の脂質混合が生じることから、この宿主因子が、それ以降の過程で細胞侵入に影響していることが示唆された。[森嘉生、坂田真史、中津祐一郎、竹田誠、岡本徹、松浦善治(大阪大学微生物病研究所)]

### III. ムンプスウイルスに関する研究

#### 1. ユニバーサル抗原を用いた新規ムンプスワクチンの開発

ムンプスウイルスの主要な中和標的は膜タンパク質である Hemagglutinin-neuraminidase(HN)タンパク質である。感染またはワクチン接種によって誘導される中和抗体は HN タンパク質の受容体結合領域から離れた領域を認識することが明らかになっており、このことがムンプスワクチンの免疫原性が他のワクチンに比べ低く、また長期免疫効果が弱い原因の 1 つであると考えられている。そこで本研究では、受容体結合領域から離れた中和エピトープに糖鎖を付加することで、別の領域(受容体との相互作用を直接的に阻害できるような領域)に抗体誘導を起こさせ、高い中和活性を有する抗体を得ることを目的とした。*in silico* 解析によって既知の中和エピトープ周辺に糖鎖を付加するため変異(3ヶ所)を推定し、それら変異 HN タンパク質によって誘導される中和抗体価がどのように変化するか評価した。マウスを用いた免疫実験の結果、野生型と比較して、高い中和抗体が誘導するような変異はなく、一方で変異を導入することで有意に中和能が低下する抗原が認められた。現在、変異を複数組み合わせ合わせた HN タンパク質を作製し、マウスにおける免疫原性の評価を行っている。[加藤大志、村野けい子、加藤文博、若田愛加、竹田誠、加納和彦、木所稔(品質保証管理部)]

#### 2. 鳥居株感染性クローンを用いた、ムンプスワクチンに含まれるバリエーションの神経病原性解析

ワクチン株に含まれるどのバリエーションが神経毒性に影響を及ぼしているか明らかにするために、ワクチン株である鳥居株の感染性分子クローンにバリエーションに含まれるいくつかの変異を挿入した変異体を作製し、プラークサイズや増殖能を解析した。また新生ラットを用いた神経病原性の解析により、性状に影響を及ぼす責任変異の箇所をある程度絞り込むことに成功した。[加藤文博、加藤大志、須崎百合子、網康至(動物管理室)、木所稔(品質保証管理部)、竹田誠]

#### 3. ムンプスワクチン接種非ヒト霊長類における自然免疫系の解析

ムンプスワクチン接種カニクイザルにおいて、自然免疫系の解析系を行った。様々な種のワクチンを接種した計 15 頭のカニクイザルから末梢血単核球細胞 (PBMC) を分離し、フローサイトメトリーにてリンパ球サブセットの解析を行った。また、ワ

クチン接種後に野生株にて攻撃接種し、PBMC からウイルスの N および HN 抗原を標的とした抗体を用いフローサイトメトリーにて抗原検出を試みた。その結果、防御に 관련된 T 細胞サブセットの割合がやや上昇していることが認められた。[加藤文博、加藤大志、村野けい子：須崎百合子、網康至(動物管理室)、木所稔(品質保証管理部)、竹田誠]

#### 4. ムンプスウイルスの封入体におけるウイルス-宿主インタラクトーム解析

ムンプスウイルスの RNA 合成の場である封入体に集積する宿主因子を同定し、ウイルスタンパク質との相関関係の描出およびウイルス増殖における機能解析を実施した。まずウイルスのポリマーゼタンパク質である L タンパク質に、ビオチンリガーゼである TurboID を挿入し、L タンパク質の近傍に存在する宿主因子を網羅的にビオチン化した。次に、ビオチン化タンパク質をストレプトアビジンで濃縮し、質量分析によって同定した。その結果、L タンパク質の近傍の局在する宿主タンパク質として、766 因子を得た。それら因子について、Gene Ontology 解析およびインタラクトーム解析を実施し、ムンプスウイルスの封入体にリクルートされる宿主因子の機能分類および相互作用ネットワークを明らかにした。また siRNA によるノックダウン実験の結果、同定された宿主因子の中にはウイルス増殖に重要な因子が数多く含まれていた。現在、各因子について、ムンプスウイルスの RNA 合成および増殖における役割について解析を進めている。[加藤大志、劉亜軽、村野けい子、若田愛加、加藤文博、坂田真史、竹田誠：関塚剛史(病原体ゲノム解析研究センター)]

#### 5. 抗ムンプスウイルス薬候補 CD437 の性状解析および抗ウイルスメカニズム解明

ムンプスウイルスに対し、抗ウイルス活性を有する化合物探索のために、GFP 発現組換えムンプスウイルスを用いた高効率スクリーニング系を構築した。1120 種からなる薬理活性既知の化合物ライブラリーからスクリーニングを行った結果、レチノイド受容体アゴニストである CD437 が抗おたふくかぜウイルス活性を有することが明らかになった。またムンプスウイルス以外のパラミクソウイルスとして麻疹ウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス 1 型および 3 型、RS ウイルスについて抗ウイルス

活性を測定したところ、いずれのウイルスに対しても効果が確認された。CD437 はレチノイド受容体アゴニストとして報告されているが、他のレチノイド受容体アゴニストにおいて抗ウイルス活性が認められなかったこと、および、関連因子である RIG-I を欠損させた細胞株において抗ウイルス活性を発揮したことから、従来考えられていた機序とは異なる機序で抗ウイルス活性を発揮していることが推測された。また、ウイルス複製過程の後期過程に作用していることが明らかとなった。[加藤文博、中津祐一郎、村野けい子：山地俊之(細胞化学部)、若田愛加、久保田耐、木所稔(品質保証管理部)、加藤大志、竹田誠]

#### 6. ウイルス-宿主インタラクトーム解析結果に基づく新規抗ウイルス化合物探索

インタラクトーム解析によりムンプスウイルス複製に関与すると考えられる宿主因子を標的とした化合物を探索するために、宿主因子に相互作用があると目される化合物の情報を収集し、構造活性相関により候補化合物の絞り込みを行った。得られた候補化合物の抗ムンプスウイルス活性を評価したところ、HSP90 やサイクリン依存性キナーゼに対し薬理活性を示す化合物がヒット化合物として得られた。これら化合物について半数阻害濃度および半数細胞毒性濃度を測定した結果、それらの比(選択域)が 1000 以上のものが複数含まれることが明らかになった。さらに一部を麻疹ウイルスにおいて抗ウイルス活性を評価した結果、ムンプスウイルスと同等の抗ウイルス活性を示すことが明らかになった。[加藤文博、中津祐一郎、関塚剛史(病原体ゲノム解析研究センター)、山地俊之(細胞化学部)、若田愛加、久保田耐、加藤大志、竹田誠]

#### 7. ムンプスウイルス感染における核小体タンパク質の役割

パラミクソウイルス科の Matrix(M)タンパク質は、主に細胞質においてウイルスの粒子形成や出芽時に中心的な役割を担う。また M は核移行・核外輸送シグナルを持つことから、核小体に局在する特徴をもっている。核小体はリボソーム生合成の場であるが、B23をはじめとする核小体タンパク質が様々なウイルスタンパク質との相互作用を介して、ウイルス感染制御に関与することが明らかになってきた。ムンプスウイルス(MuV)の感染細胞では M が核小体に局在することから、ウイルスが増殖する過程で核小体を利用している可能性が高い。そこで

本研究では、MuV Mの詳細な局在を明らかにするとともに、核小体が MuV 感染にどのように関与しているのか、Mとの関連性を含めて解析を行った。共焦点顕微鏡により MuV の感染細胞における M の局在を確認したところ、核小体が形成する繊維中心(FC)、高密度繊維成分(DFC)および顆粒成分(GC)の3つの領域の中で、MはFC および DFC に局在していることがわかった。次に、これまでにウイルス感染との関与が示唆されている B23、Treacle、NOP2 に加え NOLC1、NOP58、NOL12 の6種類の核小体タンパク質を対象に、各々の siRNA を導入した A549 細胞に MuV を接種した。接種後 96 時間の培養上清中のウイルス力価を測定した結果、Treacle ノックダウン細胞でのみ MuV 増殖が 10~100 倍程度低下した。さらに Treacle ノックダウン細胞における MuV の増殖性を詳細に解析するため、ウイルス接種後 24、48、72、96 時間の培養上清中の力価を測定したところ、コントロール細胞に比べ 24 時間以降ウイルス増殖は低下した。また、麻疹ウイルス(MeV)を Treacle ノックダウン細胞に感染させ、72 時間後のウイルス力価を測定したところ、Treacle の発現抑制は MuV だけでなく MeV の増殖性も低下させることがわかった。さらに、MuV の M と Treacle の相互作用を確認するため、精製タグを付加した M を作製しプルダウンアッセイを行ったところ、Treacle は M と共沈殿した。以上の結果より、Treacle は MuV だけでなく MeV の効率的な増殖に重要であることが明らかとなった。また、MuV の M および Treacle が相互作用することから、MuV の感染制御にはそれらの相互作用が関与することが示唆された。今後は、どのようなメカニズムで Treacle が MuV の増殖に寄与しているのかを解明する予定である。[若田愛加、加藤文博、劉亜軽、加藤大志、竹田誠]

#### IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

##### 1. 新型コロナウイルスのウイルス分離に関する研究

肺胞の細胞膜に発現するプロテアーゼ TMPRSS2 は、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の増殖を促進させることが知られている。このプロテアーゼの発現細胞(VeroE6/TMPRSS2細胞)は、SARS-CoV-2 のウイルス分離に有用であると考えられ、国内外で広く利用されている。我々は実際にこの細胞を用いて新型コロナウイルス陽性者の検体からウイルス分離をおこなっている。[松山州徳、富田有里子、白戸憲也、川瀬

みゆき、竹田誠]

##### 2. 新型コロナウイルスの抗ウイルス薬に関する研究

新型コロナウイルス感染症と戦うためには、効果的な抗ウイルス薬が必要である。我々は、コロナウイルスの増殖を抑える薬のスクリーニングを行い、吸入コルチコステロイド「シクレソニド」が、培養細胞において SARS-CoV-2 の RNA 複製を抑えることを発見した。2020 年にはこの薬の臨床試験が盛んに行われたが、症状を改善する効果は認められないことが報告され、臨床ではほとんど使用されなくなった。[松山州徳、川瀬みゆき、直亨則、白戸憲也; 富士秀悦(ウイルス第一部)]

##### 3. コロナウイルスのスパイク蛋白の構造変化に関する研究

エンベロープウイルスはその表面に存在する膜融合蛋白を用いて、ウイルス膜と細胞膜を融合させ、ウイルス遺伝子を細胞内へ送り込む。しかしどうやって膜融合蛋白が膜を融合させているのか、その動作機構は未解明である。コロナウイルスは膜融合蛋白「スパイク」の活性化に宿主細胞のプロテアーゼを必要とする点において特殊であり、その特徴を利用した解析により、この分野における新たな展開が期待できる。我々は、ウエスタンブロット法によりスパイクのプロテアーゼ分解産物を解析し、構造変化の中間体構造を解明すべく研究をおこなっている。本研究は、既存の構造生物学技術では解析不可能な、不安定なタンパク質の動作を検出する新たな試みである。[川瀬みゆき、白戸憲也、松山州徳]

##### 4. モバイルリアルタイム PCR 装置、PCR1100 を用いた SARS-CoV-2 遺伝子検出法の開発

我々の開発したリアルタイム RT-PCR による SARS-CoV-2 検出法は病原体検出マニュアルとしてまとめられ、参照用に公表されているが、あくまで感染研、特に当部での検査環境における検査精度を最優先して構築されているため、機器は LightCycler480、試薬はキアゲン社の QuantiTect Probe RT-PCR キットを用いるように最適化されている。この検査条件では N1 セットで 7 コピー前後、N2 セットで 2 コピー前後のウイルス RNA をおおむね検出することが可能であり、非特異反応は見られない。しかし QuantiTect Probe RT-PCR キットは反応時間が長いため、反応時間の短縮が求められた。PCR1100 はモバ

イルタイプのリアルタイム RT-PCR 機器であり、1 回に 1 反応のみで、かつ精製した RNA からスタートする必要はあるものの、RT-PCR 反応自体は 20 分未満に抑えられる。そこで本機を用いた検出法を新たに開発した。プローブセットとしてはこちらで構築した 3 番目の N 遺伝子セット(N3 セット)と 1 番目の S 遺伝子セット(S1 セット)を採用し、LightCycler480 を用いた N2 セットによる検出と比較し、ほぼ同程度の感度、特異性を示すものが構築できた。大量検体処理は Lightcycler、ごく少数の検査は PCR1100 と使い分けが可能と考えられる。[白戸憲也、直亨則、松山州徳、影山務(インフルエンザウイルス研究センター)]

#### 5. PCR1100 を用いた超高速リアルタイム RT-PCR 法による RS ウイルス検出法の開発

RS ウイルス感染症は RS ウイルスによって引き起こされる呼吸器疾患であり、特に生後 6 か月齢未満の乳幼児における初感染では重篤化する。近年では高齢者における命の灯を消す最後の感染症としても重要視されている。RS ウイルス感染症は感染症法における五類感染症であり、小児科定点による定点報告対象疾患である。現在 RS ウイルス感染症の臨床検査は主に迅速抗原検出キットによる抗原検出を用いて行われている。迅速抗原検出キットは非常に簡便であるが感度が低いことが欠点である。近年行われている WHO による RS ウイルスのグローバルサーベイランスでは検査法としては抗原検出ではなくリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子診断法を用いることが決定している。世界ではインフルエンザですらリアルタイム RT-PCR で検出することが普通であり、抗原検査に特化しているのは先進国では日本くらいである。そこで本研究では、本邦での検査を世界基準レベルに向上させるために、迅速抗原検出法に取って代われる遺伝子検出による迅速診断法の開発を行った。モバイルリアルタイム PCR 装置、PCR1100 に注目し、WHO 法として採用されている米国 CDC 法を用いて検査条件の設定を行った。通常リアルタイム RT-PCR では非常に非特異反応の多い系であるが、PCR1100 を用いることで非特異反応をほとんどなくすることが出来た。検出感度もおおむね数コピーであり、非特異反応と区別するためにカットオフ値を設定せざるを得ない通常リアルタイム RT-PCR を比べてやや高くなった。PCR1100 は事前の RNA 抽出が必要で

あることが難点であるが、臨床検体を用いた検証の結果、シリンジだけで数分で簡易に RNA が抽出できる M1 Sample Prep キットと組み合わせることで、全体の工程は 25 分ほどになり、抗原検出キットに近づけることが可能であった。[白戸憲也、直亨則、影山務(インフルエンザウイルス研究センター)]

#### 6. リアルタイム RT-PCR 法による SARS-CoV-2 検出法(感染研法)の改良およびプライマー・プローブ配列におけるミスマッチ検索

2019 年末に SARS-CoV-2 が発生して間もなく、公表された全長配列(Wuhan-Hu-1, MN908947)をもとに遺伝子検出法を早急にセットアップし、2020 年 1 月中には全国地衛研に検査キットの配布を行った。最初にセットアップされた検査法は我々で開発した N2 セットと WHO 法の Corman の N セットの 2 セットが用いられていた。しかし Corman の N セットは感度がやや低いため、早々に WHO 法から削除されていること、およびウイルスゲノムの変異により N2 セットが使えなくなることに備え、N セットに変わる N2 セットと同感度のセットが必要であった。そこで新たにスパイク(S)タンパク質のうち S2 領域を標的とした S2 セットを開発した。感度、特異性、検査済みの臨床検体からの検出率は N2 セットと同等であり、S2 セットを掲載した SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル(Ver1.1)を公開している (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/lab-manual-m/10032-sars-cov-ref2.html>)。プライマー・プローブ領域のミスマッチ検索は GISAID に登録されている配列を用いて行った。GISAID 上で「complete」「high coverage」「low coverage excl」のチェックボックスをチェックし、宿主が「Human」である配列に絞って評価を行った。2020 年 12 月の時点で 19 万程の配列が利用でき、N2 セットはそれらのうちの 2.6%、S2 セットは 1.2%でミスマッチがみられた。プラスミドテンプレートにミスマッチを導入し、変異テンプレートの検出評価を行ったが、見られるミスマッチのほとんどは検出感度に影響がなかった。N2 セットのフォワードプライマーの 3'末端が C から T になるミスマッチでは感度が数十倍低下したが、全く検出できなくなる事は無かった。N2 セットのプローブ領域では 6 番目の G が T になるミスマッチがみられ、これら N2 領域で見られるミスマッチの 6 割を占めていた。このミスマッチにより増幅曲線が直線になる傾向があるもの、QuantiTect Probe RT-PCR キットを用いる限



りでは検出感度に影響はなかった。一方 Takara-bio 社のマスターミックスでは蛍光値がほとんど上がらなくなり、陽性を見逃す可能性が高いこともわかった。従って、ミスマッチの存在率は高くないものの、N2 セットと S2 セットを併用することで、陽性を見逃すおそれはなくなると考えられた。[白戸憲也、加藤大志、山田壮一(ウイルス 1 部)、福士秀悦(ウイルス 1 部)、松山州徳]

#### 7. 抗 SARS-CoV-2 薬剤の探索

脂質代謝に影響を与える約 30 種類の薬剤や化合物の抗 SARS-CoV-2 活性を解析した。その結果、核内受容体 PPAR $\gamma$  を阻害する Ciglitazone が、SARS-CoV-2 に強い増殖阻害効果を発揮することが明らかとなった。また、SARS-CoV-2 と同じベータコロナウイルス( $\beta$ -CoV)に属するヒトコロナウイルス HCoV-OC43 に対しても増殖阻害効果を示した。次に Ciglitazone 類縁化合物を約10種入手し、 $\beta$ -CoV 増殖阻害効果を解析したところ、同様の効果を示すものは無かった。Ciglitazone の作用は多岐にわたるため、その効果が脂質代謝への影響によるものであるかは、現在のところ不明である。今後、類縁化合物の結果と RNA 複製小胞形成への影響、ウイルス増殖の抑制点などの解析から、ciglitazone による  $\beta$ -CoV 増殖阻害機構を明らかにする予定である。[田原舞乃:花田賢太郎(細胞化学部)、渡士幸一(ウイルス第二部)、竹田誠]

#### サーベイランス業務

1. 令和2年度感染症流行予測調査における風疹感受性調査のため、標準血清(HI抗体陽性血清並びに陰性血清)を用意し、感染症疫学センターを通じて配布した。試験誤差の有無を検討するための事前確認検査用検体を整備・配布し、各施設で測定してもらい、その結果を集計した。令和元年度の調査結果を解析し、報告した[坂田真史、感染症疫学センター、森嘉生]
2. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に関する行政検査7件(個別症例)を行った[直亨則、白戸憲也、松山州徳、竹田誠]

#### 品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階 4 ロット、風しんワクチン中間段階 4 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 2 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 2 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 2 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 30 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 23 ロットの検定を行った。[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、大槻紀之、坂田真史、森嘉生、久保田耐、加藤大志、加藤文博、若田愛加、竹田誠]
2. 人免疫グロブリン製剤 182 ロットの検定(麻疹抗体測定試験)を行った。[關文緒、大槻紀之、竹田誠]
3. PHA 用標準抗麻しん血清について 3 件の製品交付を行った。[關文緒、大槻紀之]
4. 風疹抗体測定用体外診断用医薬品の承認前試験を 3 件実施した。[中津祐一郎、坂田真史、森嘉生、竹田誠]
5. 抗風疹 IgG 抗体パネルの整備のため、健康人ボランティア 236 名から血液を採取し、抗風疹 IgG の抗体価測定を実施した。陰性検体(n=16)について、抗風疹 IgG 陰性パネルに追加登録した。[森嘉生、永井美智、竹田誠]

#### レファレンス業務

1. 麻疹遺伝子検査に用いる遺伝子検査用参照 RNA を 3 ヶ所の地方衛生研究所・保健所に配布した。[山田裕加里、大槻紀之]
2. WHO による麻疹・風疹 IgM 検出ならびに麻疹・風疹ウイルス遺伝子検査の外部精度管理を受けた。[大槻紀之、山田裕加里、森嘉生、永井美智、竹田誠]
3. 風疹遺伝子検査に用いる参照 RNA を 3 カ所の地方衛生研究所等に配布した。[森嘉生、永井美智、竹田誠]
4. WHO による麻疹・風疹 IgM 検出ならびに麻疹・風疹ウイルス遺伝子検査の外部精度管理を受けた。[大槻紀之、山田裕加里、森嘉生、永井美智、竹田誠]
5. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(コンベンショナル)配布 国内 2 件
6. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(N セット用)配布 国内のべ 2 件
7. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(N2 セット用)配布 国内のべ 19 件

## ウイルス第三部

8. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査用陽性コントロール RNA(S2 セット用)配布 国内 44 件
  9. SARS コロナウイルス 2 遺伝子検査評価用RNA(N2 セット用変異導入テンプレート)国内配布 48 か所
  10. SARS コロナウイルス RNA 配布 国内 1 件
  11. SARS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件
  12. RS ウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 3 件
  13. メタニューモウイルス RNA 配布 国内 1 件
  14. パラインフルエンザウイルス RNA 配布 国内 1 件
2. Arima Y, Kutsuna S, Shimada T, Suzuki M, Suzuki T, Kobayashi Y, Tsuchihashi Y, Nakamura H, Matsumoto K, Takeda A, Kadokura K, Sato T, Yahata Y, Nakajima N, Tobiume M, Takayama I, Kageyama T, Saito S, Nao N, Matsui T, Sunagawa T, Hasegawa H, Hayakawa K, Tsuzuki S, Asai Y, Suzuki T, Ide S, Nakamura K, Moriyama Y, Kinoshita N, Akiyama Y, Miyazato Y, Nomoto H, Nakamoto T, Ota M, Saito S, Ishikane M, Morioka S, Yamamoto K, Ujiiie M, Terada M, Sugiyama H, Kokudo N, Ohmagari N, Ohnishi M, Wakita T, and the COVID-19 Response Team. (2020) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection among returnees to Japan from Wuhan, China, 2020. *Emerg Infect Dis* 26:1596-1600.

### 国際協力業務

1. 18th WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting(2020年6月16-26日、オンライン開催)に参加し、Global Specialized Laboratoryとしてのウイルス第三部の活動について報告した。[竹田誠、森嘉生、大槻紀之]一部のセッションのChairを務めた。[竹田誠]
  2. Annual Atlanta Winter Summit of the WHO Global Measles Rubella Laboratory (2021年1月25日～29日、web開催)に参加し、WHO各地域における麻疹風強い流行状況などについて情報収集を行うとともに意見交換を行った。[竹田誠、大槻紀之]
3. de Swart RL, Takeda M. (2020) Editorial overview: Combating measles during a COVID-19 pandemic. *Curr Opin Virol.* 41:iii-vii.
  4. Gewaid H, Aoyagi H, Arita M, Watashi K, Suzuki R, Sakai S, Kumagai K, Yamaji T, Fukawasa M, Kato F, Hishiki T, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Muramatsu M, Wakita T, Aizaki H. (2020) Sphingomyelin is Essential for the Structure and Function of the Double-Membrane Vesicles in Hepatitis C Virus RNA Replication Factories. *J Virol.* 94(23):e01080-20.
  5. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, Kinoshita N, Hattori SI, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Kawaoka Y. (2020) Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N Engl J Med.* 383:592-594.

### 研修業務

1. 令和2年度希少感染症診断技術研修会において、風疹検査と遺伝子解析に関する講義をおこなった[森嘉生](2021年2月9日)

### 発表業績一覧

#### I. 誌上発表

欧文発表

1. Aonuma H, Iizuka-Shiota I, Hoshina T, Tajima S, Kato E, Hori S, Saijo M, Kanuka H. (2020) Detection and discrimination of multiple strains of Zika virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Trop Med Health.* 48:87.
6. Hiramoto T#, Tahara M# (#contributed equally), Liao J, Soda Y, Miura Y, Kurita R, Hamana H, Inoue K, Kohara H, Miyamoto S, Hijikata Y, Okano S, Yamaguchi Y, Oda Y, Ichianagi K, Toh H, Sasaki H, Kishi H, Ryo A, Muraguchi A, Takeda M, Tani K. (2020) Non-transmissible MV vector with segmented RNA genome

- establishes different types of iPSCs from hematopoietic cells. *Mol Ther.* 28:129–141.
7. Ikegame S, Hashiguchi T, Hung CT, Dobrindt K, Brennand KJ, Takeda M, Lee B. (2021) Fitness selection of hyperfusogenic measles virus F proteins associated with neuropathogenic phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 118:e2026027118.
  8. Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, Watanabe T, Ujie M, Takahashi K, Ito M, Yamada S, Fan S, Chiba S, Kuroda M, Guan L, Takada K, Armbrust T, Balogh A, Furusawa Y, Okuda M, Ueki H, Yasuhara A, Sakai-Tagawa Y, Lopes TJS, Kiso M, Yamayoshi S, Kinoshita N, Ohmagari N, Hattori SI, Takeda M, Mitsuya H, Krammer F, Suzuki T, Kawaoka Y. (2020) Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 117:16587–16595.
  9. Kato H, Kamiya H, Mori Y, Yahata Y, Morino S, Griffith M, Ikegata A, Sahara K, Furuta T, Okuno H, Fukusumi M., Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Matsui T, Oishi K. (2020) Rubella outbreak among workers in three small- and medium-size business establishments associated with imported genotype 1E rubella virus- Shizuoka, Japan. *Vaccine.* 38:7278–7283.
  10. Kato F, Matsuyama S, Kawase M, Hishiki T, Katoh H, Takeda M. (2020) Antiviral activities of mycophenolic acid and IMD-0354 against SARS-CoV-2. *Microbiol Immunol* 64:635–639.
  11. Komabayashi K, Matoba Y, Seto J, Ikeda Y, Tanaka W, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki Y, Itagaki T, Shirato K, Mizuta K. (2020) Isolation of human coronaviruses OC43, HKU1, NL63, and 229E in Yamagata, Japan, using primary human airway epithelium cells cultured by employing an air-liquid interface culture. *Jpn J Infect Dis.* 74:285–292.
  12. Matsumoto K, Hoshino A, Nishimura A, Kato T, Mori Y, Shimomura M, Naito C, Watanabe K, Hamazaki M, Mitsui N, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Kanegane H, Morio T. (2020) DNA ligase IV deficiency identified by chance following vaccine-derived rubella virus infection. *J Clin Immunol.* 40:1187–1190.
  13. Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, Saito S, Takayama I, Nagata N, Sekizuka T, Katoh H, Kato F, Sakata M, Tahara M, Kutsuna S, Ohmagari N, Kuroda M, Suzuki T, Kageyama T, Takeda M. (2020) Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 117:7001–7003.
  14. Matsuyama S, Kawase M, Nao N, Shirato K, Ujike M, Kamitani W, Shimojima M, Fukushi S. (2020) The inhaled steroid ciclesonide blocks SARS-CoV-2 RNA replication by targeting the viral replication-transcription complex in cultured cells. *J Virol.* 95:e01648–20.
  15. Mori Y. (2020) Summary of the special symposium “Towards Elimination of Rubella”. *Vaccine* 38:6344–6345.
  16. Nakayama E, Kato F, Tajima S, Ogawa S, Yan K, Takahashi K, Sato Y, Suzuki T, Kawai Y, Inagaki T, Taniguchi S, Le TT, Tang B, Prow NA, Uda A, Maeki T, Lim CK, Khromykh AA, Suhrbier A, Saijo M. (2021) Neuroinvasiveness of the MR766 strain of Zika virus in IFNAR-/- mice maps to prM residues conserved amongst African genotype viruses. *PLoS Pathog.* 17: e1009788.
  17. Nao N, Saikusa M, Sato K, Sekizuka T, Usuku S, Tanaka N, Nishimura H, Takeda M. (2020) Recent molecular evolution of human metapneumovirus (HMPV): Subdivision of HMPV A2b strains. *Microorganisms.* 8:E1280.
  18. 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. (2021) Potential anti-COVID-19 agents, cepharanthine and nelfinavir, and their usage for combination treatment. *iScience*. 24:102367.
19. Ohashi H, Wang F, Stappenbeck F, Tsuchimoto K, Kobayashi C, Saso W, Kataoka M, Yamasaki M, Kuramochi K, Muramatsu M, Suzuki T, Sureau C, Takeda M, Wakita T, Parhami F, Watashi K. (2021) Identification of anti-severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) oxysterol derivatives in vitro. *Int J Mol Sci*. 22:3163.
20. Okamoto K, Shirato K, Nao N, Saito S, Kageyama T, Hasegawa H, Suzuki T, Matsuyama S, Takeda M. (2020) An assessment of real-time RT-PCR kits for SARS-CoV-2 detection. *Jpn J Infect Dis*. 73:366-368.
21. Okemoto-Nakamura Y#, Someya K# (#contributed equally), Yamaji T, Saito K, Takeda M, Hanada K. (2021) Poliovirus-nonsusceptible Vero cell line for the World Health Organization global action plan. *Sci Rep*. 11:6746.
22. Seki F, Yamamoto Y, Fukuhara H, Ohishi K, Maruyama T, Maenaka K, Tokiwa H, Takeda M. (2020) Measles virus hemagglutinin protein establishes a specific interaction with the extreme N-terminal region of human signaling lymphocytic activation molecule to enhance infection. *Front Microbiol*. 11:1830.
23. Seki F, Ohishi K, Maruyama T, Takeda M. (2020) Phocine distemper virus uses phocine and other animal SLAMs as a receptor but not human SLAM. *Microbiol Immunol*. 64:578-583.
24. Shionoya K, Yamasaki M, Iwanami S, Ito Y, Fukushi S, Ohashi H, Saso W, Tanaka T, Aoki S, Kuramochi K, Iwami S, Takahashi Y, Suzuki T, Muramatsu M, Takeda M, Wakita T, Watashi K. (2021) Mefloquine, a potent anti-severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) drug as an entry inhibitor *in vitro*. *Front Microbiol*. 12:651403.
25. Shirato K, Nao N, Katano H, Takayama I, Saito S, Kato F, Katho H, Sakata M, Nakatsu Y, Mori Y, Kageyama T, Matsuyama S, Takeda M. (2020) Development of genetic diagnostic methods for novel coronavirus 2019 (nCoV-2019) in Japan. *Jpn J Infect Dis* 73:304-307.
26. Shirato K, Tomita Y, Katoh H, Yamada S, Fukushi S, Matsuyama S, Takeda M. (2021) 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*. Online ahead of print.
27. Shirato K, Nao N, Matsuyama S, Takeda M, Kageyama T. (2020) An ultra-rapid real-time RT-PCR method using the PCR1100 to detect Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Jpn J Infect Dis*. 74:29-34.
28. Takeda M, Seki F, Yamamoto Y, Nao N, Tokiwa H. (2020) Animal morbilliviruses and their cross-species transmission potential. *Curr Opin Virol*. 41:38-45.
29. Tomita Y, Matsuyama S, Fukuhara H, Maenaka K, Kataoka H, Hashiguchi T, Takeda M. (2021) The physiological TMPRSS2 inhibitor HAI-2 alleviates SARS-CoV-2 infection. *J Virol*. 95:e00434-21.
30. Tomita Y, Takeda M, Matsuyama S. (2021) The anti-influenza virus drug favipiravir has little effect on replication of SARS-CoV-2 in cultured cells. *Antimicrob Agents Chemother*. 65:e00020-21.
31. Uchino K, Miyoshi T, Mori Y, Komase K, Okayama F, Shibata Y, Yoshida H, Numata T, Takeda M, Tanaka T. (2020) Comparison of virological and serological methods for laboratory confirmation of rubella. *J Clin Virol*. 123:104257.
32. Yamagishi T, Ohnishi M, Matsunaga N, Kakimoto K,

- Kamiya H, Okamoto K, Suzuki M, Gu Y, Sakaguchi M, Tajima T, Takaya S, Ohmagari N, Takeda M, Matsuyama S, Shirato K, Nao N, Hasegawa H, Kageyama T, Takayama I, Saito S, Wada K, Fujita R, Saito H, Okinaka K, Griffith M, Parry AE, Barnetson B, Leonard J, Wakita T. (2020) Environmental sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 during a COVID-19 outbreak on the Diamond Princess cruise ship. *J Infect Dis.* 222:1098-1102.
33. Yamamoto M, Kiso M, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Takeda M, Kinoshita N, Ohmagari N, Gohda J, Semba K, Matsuda Z, Kawaguchi Y, Kawaoka Y, Inoue JI. (2020) The anticoagulant nafamostat potently inhibits SARS-CoV-2 S protein-mediated fusion in a cell fusion assay system and viral infection in vitro in a cell-type-dependent manner. *Viruses.* 12:E629.
34. Yamamoto Y, Nakano S, Seki F, Shigeta Y, Ito S, Tokiwa H, Takeda M. (2021) Computational analysis reveals a critical point mutation in the N-terminal region of the signaling lymphocytic activation molecule responsible for the cross-species infection with canine distemper virus. *Molecules.* 26:1262.
- 和文発表
1. 大槻紀之、竹田誠 (2020) 麻疹・風疹・ムンプスの制圧とワクチン *ファルマシア* 55:1034-1038
  2. 白戸憲也 (2020) SARS-CoV-2 遺伝子検出法について *臨床とウイルス* 48:248-257
  3. 白戸憲也 (2020) コロナウイルス感染の基礎と SARS-CoV-2 ウイルス *70:155-166*
  4. 新橋玲子、森野紗衣子、多屋馨子、新井智、高梨さやか、鈴木基、森嘉生、竹田誠 (2020) 2019年度風疹感受性調査実施都道府県、2019年度感染症流行予測調査における風疹の予防接種状況および抗体保有状況 (暫定結果). *病原微生物検出情報.* 41:162-164
  5. 關文緒、竹田誠 (2020) 麻疹 *産科と婦人科* 87
  6. 染谷健二、大槻紀之、竹田誠 (2020) 海外の麻疹—2019年の流行状況について *病原微生物検出情報* 41:59-60
  7. 竹田誠 (2020) モルビリウイルスの新たな宿主への適応と進化 *臨床とウイルス* 48:371-377
  8. 竹田誠 (2020) SARS-CoV-2 のウイルス学 *周産期医学* 51:319-323
  9. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルスの特徴と検出法について *JBSA Newsletter* 10:10-14.
  10. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) について *up-to-date 子供の感染症* 8:4-9
  11. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) とは *Current Therapy* 38:1128-1133.
  12. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の宿主プロテアーゼによる開裂活性化 *JSPN News Letter 臨時号* AUG. 2020 *JSPN against COVID-19* 16-19
  13. 竹田誠 (2020) COVID-19 の実験室検査診断 *インフルエンザ [その他の呼吸器感染症]* 21:133-137.
  14. 竹田誠 (2020) 新型コロナウイルス SARS-CoV-2 のウイルス学的特徴 *公衆衛生情報* 50:6-7
  15. 竹田誠 (2020) 急性呼吸器感染症ウイルスの病原性発現ならびに制御に関する研究 *モダンメディア* 66:4-10
  16. 竹田誠 (2020) TMPRSS2 発現細胞と呼吸器ウイルスの分離培養 *病原微生物検出情報* 41:115-117
  17. 田原舞乃、竹田誠 (2020) 光制御性ウイルスベクターウイルスベクターの遺伝子発現や増殖を自由自在に操れる世界初の技術 *感染炎症免疫* 50:144-145.
  18. 多屋馨子、鈴木基、竹田誠 (2020) 麻疹の抗体保有状況—2019年度感染症流行予測調査 (暫定結果) *病原微生物検出情報* 41:58-59

19. 中津祐一郎、森嘉生、大槻紀之、竹田誠 (2020) 外部  
精度管理事業(麻疹・風疹). 病原微生物検出情報  
41:161-162
20. 森嘉生、竹田誠 (2020) 地方衛生研究所等における  
風疹ウイルス遺伝子検査実施状況の調査. 病原微生物  
検出情報 41:160-161
21. 山川賢太郎、藤本陽、宮本和慶、大島拓真、鈴木忠樹、  
永田典代、白戸憲也、佐藤英雄、長谷川晃、金子敦、八  
木慎太郎、青柳克己 (2020) イムノクロマト法を用いた  
新型コロナウイルスSARS-CoV-2抗原検出試薬の開発  
医学と薬学 77:937-944

## II. 学会発表

### 国際学会

1. Ikegame S, Oguntuyo1 K, Hashiguchi T, Takeda M, Lee  
B (2020 July 13-17. Fort Collins, Colorado, USA) Identify  
and interrogating the functional constraints that  
contribute to the lack of antigenic drift in  
paramyxoviruses. 39th Annual Meeting for American  
Society for Virology.
2. Matsuyama S, An inhaled corticosteroid ciclesonide is a  
potent blocker of SARS-CoV-2 replication, IUMS Korea,  
Nov 18, 2020

### 国内学会

1. 松山州徳, 新型コロナウイルスの出現で見えてきた  
様々な問題, 第18回日本防護服協会学術総会, 2021  
年2月25日
2. 竹田誠, COVID-19の流行から1年目の経験、次の1  
年、その後:SARS-CoV-2のウイルス学 第32回日本臨  
床微生物学会 Web開催、2021年1月29日-2月28  
日
3. 駒田謙一、市村康典、森嘉生、竹田誠、蜂矢正彦、ベト  
ナム中南部における乾燥ろ紙血液を用いた麻疹・風疹・  
ムンプスIgG抗体保有率の推定と予防接種プログラムの

評価 第24回日本ワクチン学会 愛知(Web開催)、  
2020年12月19日-20日

4. 竹田誠, 麻疹についての最新の知見:麻疹ウイルスの人  
への感染(適応)機構 第52回日本小児感染症学会  
大阪(Web開催)、2020年11月7-8日
5. 松山州徳, SARS-C-V-2のウイルス学的特徴, 感染症  
学会 緊急シンポジウム「COVID-19」, 第69回日本感  
染症学会東日本地方会学術集会・第67回日本化学療  
法学会東日本支部総会 合同学会, 2020年10月21日
6. 中村(桶本)優子、染谷健二、齊藤恭子、山地俊之、竹  
田誠、花田賢太郎、感染症対策へのゲノム編集技術の  
応用-CRISPR/Cas9システムによる新規の細胞株の創  
出- 第69回日本感染症学会東日本地方会学術集  
会、第67回日本化学療法学会東日本総会、合同学会、  
グランドニッコー東京 台場、2020年10月21日-23日
7. 竹田誠, モルビリウイルスの新たな宿主への適応と進化  
第61回日本臨床ウイルス学会 新潟(Web開催)、2020  
年10月2日-31日
8. 松山州徳, ウイルス学的特徴からの考察 第94回日本  
感染症学会学術講演会 特別シンポジウム 2020年8  
月20日
9. 久米庸平、橋本浩一、佐久間弘子、鈴木重雄、佐藤晶  
諭、竹田誠、細矢光亮、気道感染入院患児におけるRS  
ウイルスサブタイプの検討 第123回日本小児科学会  
神戸、2020年4月10-12日
10. 長澤耕男、竹田誠、岡部信彦、皆川洋子、コプリック斑陽  
性患者から検出されるウイルスについての検討 第123  
回日本小児科学会 神戸、2020年4月10-12日
11. 竹田誠, 新型コロナウイルス検査の初期対応と今(The  
initial response of the laboratory diagnosis team to  
SARS-CoV-2 in Japan and the current situation) 第  
93回日本薬理学会 横浜、2020年3月16-18日(予  
定)→誌上開催に変更

## 12. III. その他

## ウイルス第三部

1. 竹田誠、麻疹:動物から人へ、そして人の感染症 日本  
学会会議・人と動物の共通感染症研究会 公開シンポジ  
ウム One health:新興・再興感染症 2020年11月14  
日
2. 竹田誠、エビデンスから考える新型コロナウイルス 第  
185回六稜トークリレー 大阪、2020年10月3日