

## 2. ウイルス第二部

部長 脇田 隆宇

### 概要

当部が対応するウイルスは主として消化器系疾患の原因ウイルスであり、A、B型肝炎ワクチン、不活化ポリオワクチン、弱毒生ロタワクチンを検定、検査対象としている。

第1室は下痢症ウイルスを担当するとともに、ポリオワクチン、ロタワクチンの検定、検査を担当する。本年度はポリオ単独不活化ワクチン(サノフィ:イモバックスポリオ)の出検は1件、沈降精製百日せき破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン DPT-sIPV、2種類(一般財団法人阪大微生物病研究会:テトラビック皮下注シリンジ、一般財団法人化学及血清療法研究所:クワトロバック皮下注シリンジ)は、中間段階7件、小分け製品9件の検定を行った。またサノフィ社のポリオ単独ワクチンを第一三共社のDPTと混合した沈降精製百日せき破傷風不活化ポリオ混合ワクチン DPT-cIPV(サノフィ第一三共:スクエアキッズ皮下注シリンジ)は、10件の出検があり、D抗原ELISAによる検定を実施した。ロタウイルスワクチンについてはGSK:ロタリックスが11件、MSD:ロタテックが5件出検され、検定を行った。ワクチン導入前後のロタウイルスの流行状況を把握するための研究、ロタウイルスの基礎研究が継続された。

ノロウイルスに関しては、ノロウイルスワクチンシーズの開発研究が終了し、企業へのライセンス契約に向けて調整が始まった。流行予測プログラム、NoroCast version 1の完成した。NoroCastのさらなる精度向上のため全国の衛生研究所と協力しつつ、次世代シーケンサーを用いた下痢症ウイルス全ゲノム塩基配列解析と時系列分子系統解析が継続され、ゲノム全長データの蓄積が続いている。感染研ではレファレンスセンターとしての機能を良く果たすとともに、カリシウイルスに関する基礎研究が進展している。未だに培養細胞で増殖させることのできないヒトノロウイルスに対して、慶応大学医学部との共同研究によりオルガノイドテクノロジーを導入し、ヒト腸管の試験管内培養系の安定した運用にこぎ着けた。また、米国バイラー医科大

学との共同研究により、ヒト腸管オルガノイドを用いたヒトノロウイルスの培養増殖の成果がもたらされた。ヒト及びネズミ、ノロウイルスのリバースジェネティクスシステム、ゲノムワイドの遺伝子ノックアウトシステムであるCRISPER/Cas9システムを用いたノロウイルスのレセプター検索によりマウスノロウイルスのレセプター分子を同定することに成功した。ノロウイルス感受性を示す株化培養細胞の構築を目指し、基盤研究が進行している。

第2室はWHO世界ポリオ根絶計画に参画している。WHOの指定をうけて、世界の特殊専門ラボとして、また西太平洋地域の指定ラボとして世界各地で分離されるポリオウイルスの性状解析を続けた。西太平洋地域では2000年以来ポリオフリーを維持してきた。西太平洋地域以外でも野生株ポリオ流行国は残り3ヶ国となり、いよいよ世界的ポリオ根絶達成およびその後のOPV接種停止が視野に入ってきている。その一方、2015年9月から2016年にかけて、ラオスで1型ワクチン由来ポリオウイルスの大規模な流行が発生し、多くのAFP症例および接触者の糞便検体の検査を実施した。ワクチン接種率の低いハイリスク地域では、ワクチン由来ポリオウイルスの流行に、依然留意が必要とされる。糞便および環境水検体からポリオウイルスを直接検出・同定する手法の検討を進め、PVR-MB法およびECRA法によりポリオウイルスを迅速かつ高感度に検出する系の実用化を検討している。WHOは2014年12月にポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する新たなWHO行動指針(GAP III-2014)を公開した。我が国でも本指針に対応したバイオリスク管理を進める必要がある。また、JICAとの共催により実施した第26回ポリオ実験室診断技術研修会(ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術としては第7回目)ではポリオ流行国など各国からの参加者に対して講義および実習を実施した。国内エンテロレファレンスセンターとしてレファレンス活動、行政検査をおこなった。

## ウイルス第二部

また、抗ピコルナウイルス化合物 MDL-860 耐性ポリオウイルスの解析およびポリオウイルス阻害機構の解析を進めた。

第3室及び第4室ではB型およびC型肝炎ウイルスの行政研究および基礎研究をおこなった。行政研究としては、肝炎ウイルス感染の予防、肝炎ウイルスキャリア対策、肝癌死亡の減少に貢献することを目的として、肝炎情報の収集とウイルス第二部のホームページにおいてデータベース構築および情報発信をおこなっている。検診で発見されるキャリアの治療導入が重要であり、肝炎ウイルス検査陽性者のフォローアップに関しては自治体、分担研究者、拠点病院と連携して全国の県、市町村にて、肝炎ウイルス検査陽性者をフォローアップしている。厚生労働省肝炎総合対策推進国民運動事業「知って、肝炎プロジェクト」と共同して、感染研の一般公開に元プロレスラーの小橋健太氏を招き、肝炎ウイルス検査の重要性等の広報活動を行った。基礎研究促進を目的に、肝炎研究基盤整備事業で肝炎セミナーを開催した。さらに、3月には国内の肝炎ウイルス研究者による肝炎ウイルス研修会を開催し、若手研究者の育成に努めた。B型肝炎ウイルスの研究ではNTCPに関係するエンター研究が進展した。さらにウイルスの生活環に関わる宿主因子などの同定および解析が進んだ。C型肝炎ウイルス研究も様々な研究課題が展開されているが、Direct Active Antiviral(DAA)による画期的な抗ウイルス療法の登場により、今後の研究の方向性を検討する時期にある。より効果的で安価な治療法の開発、感染予防法の開発が求められる。

第5室の最重要課題はA型及びB型肝炎ワクチンの検定、検査である。本年度はA型肝炎ワクチン1件、B型肝炎ワクチン31件の検定をおこなった。B型肝炎ワクチンが平成28年10月より定期接種化されたため、B型肝炎ワクチンは出検数が大幅に増加した。肝炎ワクチンは動物を用いた力価試験を実施しているが、試験管内力価試験への切り替えが望まれる。A型肝炎ウイルスの研究では、2016年のA型肝炎の流行状況の分子疫学的解析を行った。また、A型肝炎抗体保有状況の全国規模の血清疫学調査を1973年から約10年おきに実施しており、本年度はその準備を行った。E型肝炎ウイルスの研究では、レセプター探

索研究と抗ウイルス薬探索研究を継続した。また、調理不十分な豚肉の喫食からのE型肝炎ウイルス感染を防止するため、各加熱条件で処理したHEV混合豚肉から抽出したHEVの感染性低減効果について評価した。動物のE型肝炎ウイルスではラット、フェレット、ラクダ、スunksなどの解析が進んだ。

以下のような国際的技術協力をおこなった。

### 第1室

Dr. Zayyin Dinana (インドネシア・アイルランガ大学) 平成27年7月4日～平成27年7月14日、下痢症ウイルスの検出、分子疫学の研修

Dr. Rury Mega Wahyuni (インドネシア・アイルランガ大学) 平成28年10月25日～平成28年11月10日、下痢症ウイルスの検出、分子疫学の研修

Dr. Punita Gauchan, Ms. Chantal Ama Agbemabiese (長崎大学) 平成28年11月28日～12月2日、下痢症ウイルス次世代シーケンス解析の研修

Dr. Francis Ekow Dennis (野口記念医学研究所) 平成28年12月11日～12月30日、下痢症ウイルス次世代シーケンス解析の研修

### 第5室

白 慧敏 (中国内モンゴル包頭医科大学) <中国留学基金派遣> 平成28年12月～平成29年12月、E型肝炎の分子生物学に関する研究

人事面では、定員削減の影響もあり新規の職員採用が困難な状況が続いている。様々な問題に対応するためにも新規職員の採用に努力していく。

不活化ポリオワクチン、ロタワクチンの検定導入に尽力された片山和彦第一室・室長は平成28年8月末で退職し、北里大学北里生命科学研究所・大学院感染制御科学府ウイルス感染制御学I教授として転出した。芳賀慧研究員は、平成28年9月末日に期間満了で退職し、北里大学北里生命科学研究所・大学院感染制御科学府ウイルス感染制御学I特任助教として転出した。片山氏、芳賀氏のこれまでの尽力に感謝する。

平成28年6月に村上耕介研究員が帰国し、第一室に復

## ウイルス第二部

帰した。平成 29 年 3 月より、Doan Hai Yen 研究員が第二室の任期付研究員として採用された。

## ウイルス第二部

### <別> 検査業務

#### 検定業務

##### 第1室:

- ・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン(テトラビック) 5件
- ・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン(クアトロバック) 4件
- ・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン(ポリオ原液:中間段階) 7件
- ・不活化ポリオワクチン(ソークワクチン)(イモボックスポリオ)

0件

- ・沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(ソークワクチン)混合ワクチン(スクエアキッズ) 10件
- ・経口弱毒生ヒトロタウイルスワクチン(ロタリックス) 11件
- ・5価経口弱毒生ロタウイルスワクチン(ロタテック) 5件

##### 第5室:

- ・乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン(エイムゲン) 1件
- ・組換沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)(ビームゲン) 2件
- ・組換沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)(ヘプタボックスII)

29件

- ・次期参照沈降A型肝炎ワクチンの値付け 1回(3回繰り返しのうちの1回)

#### 行政検査

##### 第1室

ノロウイルス・サポウイルス・ロタウイルス

合計 1 件

##### 第2室

ポリオウイルス

合計 1 件

##### 第3室

体外診断薬承認前試験;コバス 6800/8800 システム HBV

(ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社)

業績

調査・研究

I. 下痢症ウイルスに関する研究

(1) 分泌型・非分泌型ヒト腸管エンテロイドへのヒトノロウイルス感染の解析

ペイラー医科大学で作製された腸管エンテロイドバンクのうち、分泌型及び非分泌型のエンテロイドへ GII.3 及び GII.4 ヒトノロウイルスを感染させ、感染の有無をリアルタイム PCR で解析した。その結果、GII.4 は分泌型へ感染するが非分泌型へ感染しなかった。一方で GII.3 は分泌型のみでなく一部の非分泌型にも感染した。このことは、ヒト個体の疫学調査の結果と一致しており、エンテロイドへの感染様式が *in vivo* における感染を反映していることを示唆した。

[Ettayebi K, Crawford SE, 村上耕介, Estes MK (ペイラー医科大学)]

(2) ヒトノロウイルス GII.3 のエンテロイドへの感染メカニズムの解析

ヒトノロウイルス GII.3 はエンテロイドへ感染するために胆汁を必要とする。GII.3 の感染メカニズムを明らかにするため、胆汁のどの成分が感染に関わっているのかを解析した。その結果、胆汁酸が GII.3 感染に関与していることを明らかにした。

[村上耕介, Tenge VR, Ettayebi K, Crawford SE, Estes MK (ペイラー医科大学)]

(3) ヒト腸管オルガノイド培養技術の導入

ヒトに感染するノロウイルス(HuNoV)は、ヒト腸管上皮では非常に効率よく増殖可能だが、株化培養細胞を用いて増殖させることはできない。慶応大学医学部の佐藤俊郎准教授より技術指導を受け導入した腸管オルガノイドを、モノレイヤー化することに成功した。モノレイヤーオルガノイドは、ヒトノロウイルス感受性を示した。

[藤本陽, 村上耕介, 芳賀慧, 戸高玲子, 染谷雄一, 石井孝司, 片山和彦(感染研), 佐藤悦郎, 杉本真也(慶応大学医学部)]

(4) ヒトノロウイルスのゲノム解析

2003 年以降 2016 年までの下痢症ウイルス感染患者便検体を全国の地方衛生研究所の協力により収集することにより、ウイルスの網羅的なゲノム全長の塩基配列の解析を次世代シーケンサー (MiSeq: イルミナ) を用いて行うプロジェクトが終了し、解析が進行した。ベイジアン法を用いた時系列分子系統解析により、GI が 2 リネージ、GII が 3 リネージに分別可能なことが明らかになった。さらに、ヒトノロウイルスはリネージごとに異なる性質を有する可能性が示唆された。ヒトノロウイルスの流行予測システム NoroCast version 1 の開発に成功した。本システムは、代表開発者である名古屋市立大学鈴木善幸教授の研究室ホームページに公開されている。

[Doan Hai Yen, 芳賀慧, 片山和彦, 戸高玲子, 木村博一(感染症疫学センター)、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)、四宮博人(愛媛県衛生環境研究所)、調恒明(山口県環境保健センター)、鈴木善幸(名古屋市立大学)]

(5) GatVirusWeb 整備、病原体ゲノムライブラリーの構築

CaliciWeb をアップグレードした GatVirusWeb に搭載可能なロタウイルスタイピングツールの開発がさらに進み、β テストに移行する準備が進められた。来年度、3 箇所の地研でハードウェア、ソフトウェア両面からのロタウイルスタイピングツールのテストが始まる。

[三瀬敬治(札幌医大)、Doan Hai Yen, 戸高玲子, 藤井克樹, 芳賀慧, 片山和彦]

(6) ノロウイルスの網羅的 VLP および抗体の作製

ヒトノロウイルスの研究、抗原抗体検出システムの開発、ワクチン開発などにウイルス様中空粒子 (VLP) と、それを用いて作製する抗血清は、極めて有用なツールである。当部室では、VLP と抗血清の作製を継続し、パネルを維持している。VLP ライブラリーを用いて、VLP 特異的モノクローナル抗体、GI もしくは GII をブロードレンジに認識するモノクローナル抗体の作製を行い、一部分をワクチンシーズとして民間企業にライセンスアウトするための準備が進行した。

[三木元博(デンカ生研), 藤本陽, 戸高玲子, 芳賀慧, 染谷雄一, 脇田隆宇, 片山和彦]

(7)ヒトノロウイルスの感染に関与する真のレセプターの探索法の検討

ヒトノロウイルス(HuNoV)の腸管粘膜層への接着には組織血液型抗原(HBGA)が関与する可能性があるが、細胞への侵入には別の分子が関与している可能性が高い。細胞への侵入に寄与する分子が HuNoV の真のレセプターと考えられる。我々は、リバーシジェネティクスで作製した GFP 遺伝子内包ウイルス、もしくは特殊な蛍光をラベルした VLP を用いて、HuNoV 感染感受性細胞をラベルして分取し、非感受性細胞と感受性細胞のトランスクリプトーム解析を実施した。

[藤本陽、,芳賀慧、戸高玲子、村上耕介、染谷雄一、片山和彦、黒田誠(病原体ゲノム解析センター)]

(8)ノロウイルス中和抗体認識部位の同定

MNV に対して中和活性のあるモノクローナル抗体のエピトープを明らかにするため、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析を進めている。具体的には、感染性 MNV を大量に精製し、それに中和モノクローナル抗体の Fab 部分分離精製して結合させ、クライオ電子顕微鏡のサンプルに供することで、結合様式を明らかにする。[三木元博(デンカ生研)、戸高玲子、藤本陽、芳賀慧、村田和義(岡崎生理学研究所)、片山和彦]

(9)マウスノロウイルスレセプターの検索

マウスノロウイルス(MNV)感受性細胞である RAW 細胞は、マウスノロウイルスを感染させると、2-3 日後に死滅する。我々は、ゲノムワイドな遺伝子ノックアウトシステムである CRISPER/Cas9 システムを用いて、RAW 細胞の遺伝子をランダムにノックアウトした RAW 細胞ライブラリーを作製することとした。このランダムノックアウト RAW 細胞に MNV を感染させると、レセプターがノックアウトされた細胞のみが生き残る。生き残った細胞に導入された gRNA を、次世代シーケンサーで解析したところ CD300lf, CD300ld 遺伝子がノックあるとされていた。CD300lf, CD300ld をクローニングし、そのいずれかを導入して発現させた細胞は、ヒト、サル、ネコ、ハムスターなどのマウス以外の哺乳類由来の培養細胞であっても MNV 感受性細胞となり、MNV の増殖培養が可能になることを見いだ

した。CD300lf, CD300ld は、RAW の MNV 感受性を司る因子、つまり、MNV の機能性レセプターであることが明らかになった。

[芳賀慧、藤本陽、戸高玲子、村上耕介、中西章(国立長寿医療研究センター)、村田和義(岡崎生理学研究所)、片山和彦]

(10)マウスノロウイルス増殖阻害化合物の阻害メカニズムの解析

マウスノロウイルスの感染、増殖を阻害した新規化合物がウイルスプロテアーゼに作用する可能性を検証するため、in vitro translation system を用いて検討したところ、少なくとも検討条件下では、本化合物はマウスノロウイルスプロテアーゼ活性を阻害しないと考えられた。

[岡智一郎、大場舞、安藤隆幸、小和田和宏(静岡環衛研)、小郷尚久、浅井章良(静岡県立大薬)]

(11)ノロウイルス VLP の X 線結晶構造解析

高輝度光科学研究センターにおいてノロウイルスチバ株(GI.4)のVLPの三次元結晶のX線結晶構造解析を実施し、直径23nm粒子のX線回折データを得た。これを解析し、23nm粒子の結晶構造を決定した。

[染谷雄一、長谷川和也(高輝度光科学研究センター)、熊坂崇(高輝度光科学研究センター)]

(12)ノロウイルス VLP の電子顕微鏡単粒子解析

ノロウイルス GI 株 (GI.1~GI.9) の VLP を昆虫細胞で調製し、理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センターにおいて電子顕微鏡単粒子解析を実施した。いくつかの株について電子顕微鏡単粒子解析を進めている。

[染谷雄一、染谷友美(理化学研究所)]

(13)抗ノロウイルスヒト型モノクローナル抗体発現系の改良

ノロウイルスチバ株(GI.4)のVLPを用いて単離されたヒト型モノクローナル抗体(scFv抗体)を改変し、大腸菌で高効率に発現する系の改良を試みた。

[染谷雄一]

(14) ファージディスプレイ法によるヒト型抗ノロウイルス抗体の単離と応用

本研究では、ヒト由来ファージ抗体ライブラリーから多数の抗ノロウイルス (NoV) 抗体を単離・解析し、交叉反応性抗 NoV 中和抗体の作製を試みる。これまでに、ウイルス様空粒子 (VLP) を抗原に用い、遺伝子型特異的、遺伝子群内交叉反応性、そして遺伝子群間交叉反応性のヒト型抗 NoV ファージ抗体を単離してきた。今年度は、10 遺伝子型 10 株の VLP を用いた ELISA を行い、交差反応性の高い抗体は、他の遺伝子型株の血液型抗原への結合も阻害したのに対し、交差反応性の低い抗体は、他の遺伝子型株の血液型抗原への結合は阻害しないことを明らかにした。

[白土東子, 守口匡子 (藤田保健衛生大学), 染谷雄一, 奥野良信 (阪大微研), 黒澤良和 (藤田保健衛生大学), 谷口孝喜 (藤田保健衛生大学) ]

(15) 量子ドット蛍光色素を用いた V 溝バイオセンサによるノロウイルスの検出

感染力の強い NoV の感染拡大を防ぐため、オンサイトで環境中の NoV が検出できる高感度な検査装置が求められている。NoV のオンサイト検査を実現するため、量子ドット蛍光色素を用いた V 溝バイオセンサを設計し、評価を進めている。今年度は、GII.4 遺伝子型株の VLP の検出を実施した。その結果、濃度 0.01 ng/mL の VLP の検出を実現した。濃度 0.01 ng/mL は、検出領域の V 溝内に存在する VLP 数に換算すると 100 粒子にあたる。今後は、他の遺伝子型の VLP を用いた試験を実施し、交差反応性の検証を進める。

[白土東子, 芦葉裕樹 (産総研), 守口匡子 (藤田保健衛生大学), 藤巻真 (産総研) ]

(16) ノロウイルス RNA 依存的 RNA ポリメラーゼの in vitro RNA 合成系の薬剤による阻害

構築したノロウイルスの RNA 依存的 RNA ポリメラーゼ (RdRp) の in vitro RNA 転写活性測定系を用いて、薬剤

(2'-C-Methyl-Cytidine Triphosphate: 2'CM-CTP) は、濃度依存的に RdRp の RNA 合成反応を阻害することを示すことが出来、RdRp に対する新規薬剤の阻害機構を調べるのに役立つことが出来ることが明らかとなった。

[下池貴志, 岡智一郎]

2. サポウイルスに関する研究

(1) サポウイルスのゲノム解析

サポウイルスのゲノム多様性の解明を目的として、ヒト及びブタ由来のサポウイルス株のうち、フルゲノム配列が報告されていない遺伝子型の株を中心に long PCR、次世代シーケンサー、5'-RACE を組み合わせた解析方法の検討を開始し、世界的にも稀な2つの遺伝子型についてそのフルゲノム配列を決定した。今後も同様の解析を継続し、全遺伝子型のフルゲノム配列の決定を目指す。

岡智一郎, YenHai Doan, 芳賀慧, 小川知子 (千葉県衛生研究所), 森功次 (東京都健康安全研究センター), 山崎彰美 (柏保健所), 滝澤剛則 (富山県衛生研究所)]

(2) サポウイルスゲノム末端に存在する共通構造の解析

サポウイルスゲノムの 5' 末端配列は最初の 3 塩基以外共通配列を見いだすことができない。今回 5' 末端の約 40 塩基の領域に共通の2次構造が保存されていることを明らかにした。この特徴的な構造はサポウイルスのゲノム複製、翻訳に関与している可能性がある。

[下池貴志, 岡智一郎]

(3) サポウイルス構造タンパク質を認識するモノクローナル抗体のエピトープ解析

感染性ウイルスと同様の構造特性を有すると考えられているサポウイルスのウイルス様中空粒子を用いてヒト由来の4つの遺伝子群 (genogroup I, II, IV, V) すべてに反応するモノクローナル抗体、遺伝子群特異的に反応するモノクローナル抗体のエピトープ解析を試み、ウェスタンブロッティング等の反応性から、立体構造を認識している可能性が高いことが示唆された。

[岡智一郎, 三木元博, 北元憲利 (兵庫県立大学)]

#### (4) サポウイルス中空粒子の構造解析

サポウイルス粒子構造を明らかにするため、均一かつ分解物の少ないウイルス様中空粒子 (VLPs) の調製ができた株について、クライオ電子顕微鏡観察、クライオ位相差トモグラフィを用いて VLPs の構造解析を行い、8 Å を下回る解像度を得た。

[村田和義(岡崎生理研), Song Chihong, 岡 智一郎, 三木元博, 片山和彦]

### 3. カリシウイルスに関する研究

#### (1) カリシウイルス増殖阻害化合物の検索

培養細胞での効率的な増殖が可能なカリシウイルス (マウスノロウイルス、ブタサポウイルス、ネコカリシウイルス) をターゲットにこれらのウイルスの感染増殖を阻害する化合物を検索し、それぞれのウイルスを特異的に阻害する化合物、いずれのウイルスも阻害する化合物を見出した。

[大場舞(静岡環衛研), 岡智一郎, 高木弘隆(バイオセーフティ), Qihong Wang, Linda J. Saif (オハイオ州立大), 安藤隆幸, 荒畑沙織, 池ヶ谷朝香, 小和田和宏, 川森文彦(静岡環衛研), 小郷尚久, 浅井章良 (静岡県立大薬)]

#### (2) 培養可能なカリシウイルスの新規 plasmid-based リバースジェネティクス系の構築

カリシウイルスの細胞内発現手段の開発を目的として我々はすでにヒト由来 elongation factor 1 $\alpha$  promoter を用いる DNA launch 型リバースジェネティクスの構築に成功しているが、一部の細胞ではこの promoter が発現しなかったため、培養細胞で効率的に増殖可能なネコカリシウイルスをモデルに、そのほかの promoter での感染性ウイルス作出を検討し、ウイルス由来 promoter でもネコカリシウイルスのゲノム遺伝子の発現、感染性ウイルスの作出が可能であることを明らかにした。

岡 智一郎, 高木弘隆(バイオセーフティ管理室), 遠矢幸伸(日大獣医)

### 4. ロタウイルスに関する研究

#### (1) 北海道におけるロタウイルス分子疫学研究

##### ア) ロタウイルス検体の収集

札幌医科大学との共同研究で、北海道におけるA群ロタウイルス (RVA) 流行株を調査するため、2015年に北海道各地の病院で採取されたロタウイルス胃腸炎入院症例の便検体を収集した。NTT東日本病院(札幌市)、札幌北辰病院(札幌市)、岩見沢市立総合病院(岩見沢市)、苫小牧市立病院(苫小牧市)、製鉄記念室蘭病院(室蘭市)、市立函館病院(函館市)、浦河赤十字病院(浦河町)の7か所から、それぞれ9、24、13、24、13、6、5検体(合計94検体)のRVA陽性検体を収集することができた。

[藤井克樹、団海燕、片山和彦]

##### イ) ロタウイルスのフルゲノムシーケンシス解析

採取した RVA 陽性の 94 検体について、次世代シーケンサーを用いて全ゲノム配列を解析した。RVA の遺伝子型分布は Wa-like G1P[8]が 15%、DS-1-like G1P[8]が 67%、G2P[4]が 2%、G9P[8]が 12%、G9P[4]が 1%、重複感染が 3%であった。G9P[4]株は DS-1 型の遺伝子型構成を有していた。函館は G9P[8]株が優勢(6株中5株)であったが、それ以外の地域はいずれも DS-1-like G1P[8]が優勢(50.0%~92.3%)であった。これは2014年の遺伝子型分布と全く異なっており、RVAの流行がシーズン間で大きく変動している事を示していた。

[藤井克樹、団海燕、片山和彦]

##### ウ) ロタウイルス遺伝子の系統樹解析

2015年北海道のRVA株について、各遺伝子の系統樹解析を行った。DS-1-like G1P[8]、G2P[4]、G9P[8]に関しては前年とほぼ同じ塩基配列の株が流行していたが、Wa-like G1P[8]に関しては、前年は lineage 1のみが流行していたのに対し、2015年は lineage 2が多くを占めていた。更にこの lineage 2のNSP4遺伝子は通常の1型ではなく2型であり(G1-P[8]-H1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1)、系統樹解析の結果からDS-1-like G1P[8]株との間でリアソートメントを起こしたものであると考えられた。

[藤井克樹、団海燕、片山和彦]

(2) 核酸自動電気泳動装置によるロタウイルスゲノムのタイピング法の確立

ア) タイピング解析の条件検討

核酸自動電気泳動装置MultiNA（島津製作所）を用いたRVAの迅速・簡便な検査法の確立のため、必要な標準株を12株選定した（Wa-like G1P[8]、DS-1-like G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]およびRVC）。波形データを長鎖、中鎖、短鎖の3領域に分割し、各標準株との間で、3領域の相関係数を加重平均した値（similarity index）を比較することで、高精度にタイピングできる事を見出した。更に、RVA陰性検体、ノロウイルス陽性検体、アストロウイルス陽性検体を用いても、偽陽性と判定されないことを確認した。

[藤井克樹、片山和彦]

イ) タイピング法の評価

タイピング法の評価のため、感染研で保存しているRVA株をランダムに100株（Wa-like G1P[8]が34株、DS-1-like G1P[8]が28株、G2P[4]が10株、G3P[8]が3株、G9P[8]が25株）選定し、正しくタイピングされるか否かを検討した。その結果、バンドの検出率は73%であり、検出感度はPAGE（78%）とほぼ同等か若干劣る程度であった。また、検出できた検体のうち、遺伝子型構成のレベルで正しくタイピングされたのは93%であり、この解析アルゴリズムで高精度にタイピング可能であることを示していた。

[藤井克樹、片山和彦]

4. その他（品質管理に関する業務）

(1) ポリオワクチンのD抗原含量試験に用いる抗体に関する検討

日本ポリオ研究所（現 阪大微研会ポリオ研究所）が開発した2種の抗体（マウスモノクローナル抗体、および、ウサギポリクローナル抗体）がセービン株由来不活化ポリオワクチンのD抗原含量試験だけでなく、ソークワクチン（野生株由来不活化ポリオワクチン）のD抗原含量試験にも用いることができることを明らかにした。

[染谷雄一]

(2) 不活化ポリオワクチンの力価試験（ラット免疫原性試験）に用いるラット系統の検討

昨年度に引き続き実施した。セービンワクチンの力価試験では日本エスエルシー社のWistarラットが使用されているが、国内他機関の検討によりこの系統は真のWistarではなく、F344系統に遺伝的に近縁であることが示された。海外では不活化ポリオワクチンの力価試験には真のWistarラット（日本エスエルシー社のWistarラットが流通している可能性は極めて低い）が使用されており、データの比較ができないなど問題が生じかねない。そこで、日本チャールス・リバー社のWistarラットに参照不活化ポリオワクチン（セービン株）（国内参照品）を接種して中和抗体価測定を行ったところ、免疫応答に差異はあるものの、国内参照品の力価単位は2種のラットで大きな差異はないと結論した。

[染谷雄一、網康至（動物管理室）]

II. エンテロウイルスに関する研究

1. 実験室診断およびレファレンス活動

(1) 国内エンテロウイルスレファレンスセンターとしての活動

ア) レファレンスセンターとしてエンテロウイルス標準株と標準抗血清を保管し、要望に応じて地方衛生研究所等に配付した。2016年度は、抗血清16種類、細胞7種類を配布した。

[吉田 弘、有田峰太郎、西村順裕、清水博之]

イ) 病原体検査における信頼性確保に関する検討

改正感染症法の完全施行（平成28年4月）に伴い都道府県知事による病原体検査には一定の質の確保が求められることとなった。質の確保のための取り組みの一つとして外部精度管理調査は、有効な方法である。一部の疾患を除けば、感染症発生動向調査に対応したウイルス検査の評価法について未開発のままである。このため試行的に5類小児科定点把握疾患である手足口病検査につい

て、外部精度管理調査のための、試料の調製法、評価法の在り方等、検討を行っている。

[伊藤雅、皆川洋子(愛知県衛研)、峯岸俊貴(埼玉県衛研)、近藤眞規子(神奈川県衛研)、中田恵子(大阪府公衛研)、北川和寛(福島県衛研)、高橋雅輝(岩手県環境研セ)、濱崎光宏(福岡県環境研)、吉田弘(感染研)]

### (2) 不活化ポリオワクチン(IPV)導入後の環境水サーベイランス(4年目)によるポリオウイルスの監視

平成28年度は感染症流行予測調査事業として16か所、調査研究2か所の計18か所の協力を得て流入下水を用いた環境水サーベイランスを実施した。18か所の下水利用人口は、延べ約600万人である。IPVへ切り替えた平成24年9月以後、平成26年10月に3型ポリオワクチン株が流入下水から検出されている。平成28年度調査期間中、2例目のポリオウイルスが7月に検出された。実施要領に基づく行政検査により、3型ワクチン株であることが判明している。検出は当該月のみであったため、一過性の輸入例と考えられた。引き続きポリオウイルスの監視を行っていく。

[板持雅恵(富山県衛研)、伊藤雅(愛知県衛研)、大沼正行(山梨県衛研)、小澤広規(横浜市衛研)、木田浩司(岡山県環境研セ)、北川和寛(福島県衛研)、葛口剛(岐阜県環境研)、後藤明子(北海道衛研)、高橋雅輝(岩手県環境研セ)、筒井理華(青森県環境研セ)、中田恵子(大阪府公衛研)、中野守(奈良県環境研セ)、西澤佳奈子(長野県環境研)、濱島洋介(和歌山県環境研セ)、堀田千恵美(千葉県衛研)、諸石早苗(佐賀県環境研セ)三好龍也(堺市衛研)、吉富秀亮(福岡県環境研)、吉田弘(感染研)]

### (3) ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術集団研修(JICA共催)の開催

第26回ポリオ実験室診断技術研修会(ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術としては第7回目)を実施した。感染研での研修期間は2017年1月16日～2月10日、研修参加者は、アフガニスタンから2名、コンゴ民主共和国から1名、インドネシアから1名、ケニアから2名、ナイジェリアから2名、

パキスタンから2名、フィリピンから1名、ベトナムから2名の計13名であった。WHOワクチン予防可能疾患実験室ネットワークにおける国家実験室として必要な技術習得のための実習および講義を実施した。ポリオ根絶および麻疹排除の現状と問題点を中心とした講義および討議を行った。

[清水博之、吉田弘、有田峰太郎、西村順裕、Doan Hai Yen、和田純子、脇田隆字]

### (4) WHO Global Specialized Polio Laboratory (GSL)としての活動

ア) National Polio Laboratoryが存在しないラオスおよびカンボジアのNational Polio Laboratoryとして実験室診断を行った。本年度はカンボジア91検体およびラオス785検体の糞便からポリオウイルスの分離および同定を行った。カンボジアの糞便検体からポリオウイルス3型1株が検出されたが、ワクチン株と同定された。

[吉田弘、有田峰太郎、西村順裕、和田純子、清水博之]

イ) ラオスにおける1型ワクチン由来ポリオウイルスの流行  
2015年9月7日に発症したAFP症例由来の糞便検体から1型ポリオウイルスが分離され、型内鑑別試験およびVP1領域の塩基配列解析により、分離株はSabin 1型との比較で3.3%の変異を有する1型VDPVと同定され、地域集団における1型VDPVの長期的伝播が示唆された。強化AFPサーベイランスに由来するポリオウイルス分離株の解析により、2015年9月から2016年1月にかけて発症した11例のAFP症例が、1型VDPVによるポリオ症例であることが明らかとなった。その後、2016年度にラオスのAFP症例および接触者から分離されたポリオウイルスは、すべてワクチン株と同定され、1型VDPV伝播は終息したものと考えられる。2016年5月18日にAFP症例から採取した糞便からの検出以降、2型ポリオウイルスは検出されておらず、tOPV接種停止以降、ラオスでは2型VDPV伝播は認められていない。

[吉田弘、有田峰太郎、西村順裕、和田純子、清水博之、Phengta Vongphrachanh, Bouaphanh Khamphongphane, Bounthanom Sengkeoprasedth (Laos EPI)、Walter William Schluter (WHO/WPRO),

Siddhartha Sankar Datta (WHO/Laos)]

ウ) WHO/GPEI および感染研国際協力室と協力し、2016年6月13日～6月15日に感染研戸山庁舎において開催された AD Hoc Small Working Group of the GPLN on Development and Evaluation of New Reagents and Approaches for Polio Diagnostics の開催準備および会議運営を担当した。日本における環境サーベイランス、感染性ウイルスを用いないポリオウイルス中和試験、ラオスにおける 1 型 VDPV 流行状況等に関する発表を行った。

[吉田 弘, 有田峰太郎, 西村順裕, 和田純子, 清水博之, 内藤万佐子, 熊谷優子 (国際協力室)]

エ) 2016年7月6日～7月7日に、NIBSC で開催された「ワクチン製造、臨床・品質管理試験および研究のための、新たなポリオウイルス株の安全性と封じ込めに関する科学的協議」へ参加し、ポリオウイルス基礎研究者、検査担当者、ワクチン製造メーカー等の専門家とともに、GAPIII に基づくポリオウイルス・バイオリスク管理に関する評価検討を行った。

[清水博之]

オ) 2016年9月13-14日に、WHO/WPRO で開催された「第6回西太平洋地域ワクチン予防可能疾患実験室ネットワーク会議」へ参加し、日本におけるポリオ根絶の確認と実験室診断の概要、ラオスにおける 1 型ワクチン由来ポリオウイルス流行、日本における EV-D68 感染症の流行状況、等に関する情報提供を行った。[清水博之]

カ) 2016年10月25日～27日に、パスツール研究所(パリ、フランス)において開催された Meeting of the Ad Hoc Small Working Group on improving Polio Laboratory diagnostics に参加し、検体からのウイルス直接検出法改良と評価、ポリオウイルス・バイオリスク管理に対応した実験室診断の現状と課題、等に関する技術的評価検討を行った。

[清水博之]

キ) 2017年3月14日～3月16日にWHO本部において開催された Meeting of the Ad Hoc Small Working Group on improving Polio Laboratory diagnostics および The 23th Informal Consultation of the Global Polio Laboratory Network に参加し、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に対応した実験室診断、ポリオ根絶最終段階におけるサーベイランスの現状と課題、等について技術的検討を行った。

[清水博之]

ク) 日本ポリオ根絶会議構成員として、Country Progress Report on Maintaining Polio-free Status in Japan for the 22<sup>th</sup> Regional Commission for the Certification of Poliomyelitis Eradication in the Western Pacific ドラフト作成と会議資料作成を担当した。

[清水博之]

ケ) セービンワクチン力価試験およびD抗原量試験共通化に関する国際共同研究

WHO、NIBSC が中心となり、セービンワクチンの力価試験およびD抗原量試験を共通化するための国際共同研究が、セービンワクチン国際標準品制定を最終目的に進められている。5月2日に行われた会議

(One-day Workshop on Sabin IPV D Antigen Content and Potency Assays Harmonization) に出席するとともに、第1回目の共同研究成果をNIBSCが総括したレポートをレビューした。

[染谷雄一]

コ) ポリオワクチン製造に関するWHOガイドラインの更新作業

セービンワクチンの実用化とポリオウイルスの封じ込めに伴い、ポリオワクチン製造に関するWHOガイドライン(WHO TRS 926, Annex 2)の記載内容を更新する作業が進められている。2016年9月22日、23日に渡ってジュネーブで会合が拓かれ、ワーキンググループのメンバーとして参加した。第2回の会合が2017

年9月19日、20日にジュネーブで予定されている。

[染谷雄一]

## 2. WHO 西太平洋地域の2016年のポリオウイルス分離状況

### (1) WHO 西太平洋地域のポリオウイルス分離状況

2016年にラオスおよびカンボジアから送付されたAFP症例および接触者由来の糞便検体876検体について、ウイルス分離検査及びポリオウイルスの型内株鑑別を行なった。

2015年9月7日に発症したAFP症例由来の糞便検体から1型ポリオウイルスが分離され、型内鑑別試験およびVP1領域の塩基配列解析により、分離株はSabin1型との比較で3.3%の変異を有する1型VDPVと同定された。強化AFPサーベイランスに由来するポリオウイルス分離株の解析により、2015年9月から2016年1月にかけて発症した11例のAFP症例が、1型VDPVによるポリオ症例であることが明らかとなった。広範な地域におけるAFP症例および接触者の糞便検体から、分子系統学的関連性を有する計26株の1型VDPVが検出された。すべてのVDPV株は分子系統学的関連性を有する一方、分離株間で比較的高い多様性を有しており、長期間かつ広範なVDPV伝播が示唆された。VP1以外のゲノム遺伝子領域の予備的解析によると、ラオスの1型VDPV株は、これまで報告されたVDPV株の多くで報告されているC群エンテロウイルスとのゲノム遺伝子組換えは認められておらず、すべてのゲノム領域がSabin1株に由来する非組み換えウイルスであった。

[清水博之、吉田弘、有田峰太郎、西村順裕和田純子、脇田隆字]

## 3. 世界ポリオ根絶計画に関わる研究

### (1) ポリオウイルス直接同定法の開発

ラオスで発生したワクチン由来ポリオウイルス株の流行で回収されたポリオウイルス陽性便検体を用いて、ポリオウイルスの直接同定を以前確立したECRA法を用いて検討した。結果、100 uLの便抽出液から直接RNAを抽出して検出する方法および500 uLの便抽出液とポリオウイルス

レセプター感作磁気ビーズを用いた方法により、82%の陽性検体からポリオウイルスを同定することに成功した。この結果から、便抽出液からのポリオウイルス直接同定の効率を上げるためには、より大量の便抽出液(> 500 uL)を使う必要があることが示唆された。

[有田峰太郎、清水博之]

### (2) 新規抗ポリオウイルス化合物の同定

東京大学の有する化合物ライブラリーの一部(70,338化合物)を用いてスクリーニングを行い、16個の抗ポリオウイルス化合物を同定した。このうち12化合物はPI4KB阻害剤であり、2化合物はウイルスタンパク2Cの阻害剤であり、残り2化合物はOSBP阻害剤であることが判明した。現在、同定された化合物を用いて、作用機序の解析を行っている段階である。

[有田峰太郎、小島 宏建(東京大学 創薬機構)]

### (3) 抗ピコルナウイルス化合物MDL-860の耐性ポリオウイルスパネルを用いた解析

MDL-860は、*in vivo*で抗ウイルス活性を示す数少ない抗ピコルナウイルス化合物の一つであるが、その標的および作用機序は不明であったため、その標的および作用機序の解明を試みた。エンビロキシム耐性ポリオウイルスがMDL-860に対して耐性を示すことを見出した。しかし、MDL-860は、*in vitro*における宿主タンパクPI4KBの活性および宿主タンパクOSBPの細胞内局在に影響せず、またメンゴウイルスの複製も阻害しないことから、これまでに例のない非典型的enviroxime様化合物であることが示唆された。

[有田峰太郎、Dobrikov G (Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgaria), Purstinger G (University of Innsbruck, Austria), Galabov AS (The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgaria)]

### (4) 抗ピコルナウイルス化合物MDL-860のPI4KB活性に対する影響の解析 MDL-860の*in vivo*における宿主タンパクPI4KBの活性への影響を解析するために、MDL-860

処理による細胞内の PI4KB の局在およびポリオウイルス感染細胞内のホスファチジルイノシトール-4-リン酸 (PI4P) の定量を行なった。MDL-860 は、PI4KB 阻害剤処理と比べ 2~3 時間遅く PI4KB をゴルジ体へ誘導し、ポリオウイルス感染細胞内の PI4P 量を低下させた。これらの結果から、MDL-860 は *in vitro* における PI4KB の活性には影響しないものの、*in vivo* における活性を阻害することが示唆された。

[有田峰太郎, Dobrikov G (Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgaria), Purstinger G (University of Innsbruck, Austria), Galabov AS (The Stephan Angeloff Institute of Microbiology, Bulgaria)]

#### (5) 次世代シーケンスによるポリオウイルス遺伝子解析の至適化・標準化

世界ポリオ根絶計画最終段階におけるポリオウイルス病原体サーベイランスに由来する検体の遺伝子検査では、ウイルス伝播やゲノム遺伝子組換えについての、より詳細かつ網羅的な遺伝子情報が必要な場合があることから、次世代シーケンス解析の導入が進められている。その一方、次世代シーケンスによるウイルス遺伝子解析の手法は標準化されておらず、遺伝子解析や結果の質的評価法は、かならずしも統一されていない。WHOポリオウイルス実験室ネットワークにおいて、次世代シーケンスによるポリオウイルス遺伝子解析の至適化・標準化を図るため、ポリオウイルスやエンテロウイルスを含む検体をRIVMで調整し、異なる施設で次世代シーケンス解析を実施するPilot studyを開始した。[Doan Hai Yen, 清水博之]

#### 4. 日本におけるポリオフリーの維持に関わる研究

##### (1) 不活化ポリオワクチン累積接種率調査

我が国の定期接種の接種状況を把握する目的で、無作為に抽出した全国の満 2 歳児 5000 人と満 6 歳児 5000 人を対象として、Hib ワクチン、小児用肺炎球菌ワクチン、BCG ワクチン、四種混合ワクチン、水痘ワクチン、MR ワクチン(第1期、第2期)、日本脳炎ワクチンの累積接種率を調査した。2016 年調査の結果では、四種混合ワクチン 1 回目の累積接種率は 4 か月で 90.8%、追加接種は 23 か月で 82.8%であった。個々のワクチンの接種状況はこの 3

年間で大きな変化はなく概ね良好であるが、予防接種制度の変遷が予防接種に関する受療行動に与える影響が大きいことが示唆された。

[崎山 弘(崎山小児科)、城 青衣(都立駒込病院)、梅本 哲(医療産業研究所)、清水博之、大石和徳(感染症疫学センター)]

##### (2) 不活化ポリオワクチン導入後の予防接種状況および抗体保有状況に関する研究

わが国ではポリオの定期接種に使用されるワクチンが 2012 年に経口生ポリオワクチンから IPV に切り替わり、現在は 3 種類の IPV (cIPV、DPT-sIPV、DPT-cIPV) が使用可能である。IPV 導入から 5 年目の 2016 年度の調査結果を用いてポリオの予防接種状況・抗体保有状況の現況を検討するとともに、継時的な推移について検討を行った。2011~2016 年度調査における 5 歳未満児のうち、接種歴不明者を除く対象者についてポリオワクチンの 1 回以上の接種歴があった者の割合をみると、2011~2012 年度は 90%未満であったが、2013~2016 年度は 95%以上と高かった。IPV のみの被接種者の割合は 2013 年度:45%、2014 年度:70%、2015 年度:86%、2016 年度:93%と増加していた。2016 年度は 0~3 歳における被接種者の 95%以上が IPV のみの被接種者であり、そのうちの多くに 3 回以上の接種歴があった。中和抗体保有状況についてみると、1 型・2 型に対して 2011~2012 年度は 90%未満、2013~2016 年度は 95%以上であった。また、3 型に対しては 2013 年度:75%、2014 年度:88%、2015 年度:95%、2016 年度:96%と、IPV のみ被接種者の割合の増加にともない抗体保有率の上昇がみられた。

[佐藤 弘, 多屋馨子(感染症疫学センター)、清水博之]

##### (3) 原発性免疫不全症患者におけるワクチン由来ポリオウイルス排泄の検討

経口生ポリオウイルスワクチンは、まれにワクチン由来ポリオ麻痺(VAPP)を起こすことがある。特に、原発性免疫不全症では、持続感染を起こしVAPPになる頻度が高いとされているが、日本では、これまで調査されていなかった。9

例の被験者に由来する糞便検体合計26検体からRNAを抽出しCODEHOP-snPCR法によるエンテロウイルス遺伝子検出を試みたところ、すべての糞便検体において、ポリオウイルス遺伝子の増幅および検出は認められなかった。3名の異なる被験者より、3種類のエンテロウイルス遺伝子が検出され、塩基配列解析の結果、それぞれ、CV-A14、CV-B2およびCV-A16と同定された。エンテロウイルス持続感染は認められず、一過性エンテロウイルス感染であることが示唆された。

[野々山恵章(防衛医大)、清水博之]

#### (4) 日本人成人に対する不活化ポリオワクチン皮下注の免疫原性

かつて日本の定期接種プログラムは OPV2 回接種で、諸外国と比べて回数が少なかった。2012 年 9 月に、日本でも IPV が導入され、日本人成人に追加接種を行う機会が多くなった。IPV を皮下注した場合の免疫原性の評価を実施した。健常成人 12 名の年齢群は、20 歳代 2 例、30 歳代 4 例、40 歳代 6 例であった。OPV 接種歴は、2 回接種している者が 9 例、不明が 3 例であった。IPV 接種前に中和抗体を保有する者は、OPV 株の Sabin1 型で 11 名、Sabin2 型で 12 名、Sabin3 型で 5 名であった。また強毒型標準株の Mahoney で 9 名、MEF-1 で 12 名、Saukett で 1 名であった。追加接種後の中和抗体価は、被験者全例で、全ての株に対し中和抗体価 8 倍以上となった。IPV 皮下注後、すべてのポリオウイルス株に対する中和抗体価は顕著に上昇した。IPV 皮下注後の中和抗体価は、すべての血清型において、Sabin 株と IPV 抗原の材料である強毒株において大きな差異は認められなかった。また 2 型 VDPV 株に対する中和抗体価も、Sabin 2 株に対する抗体価と同等であり、十分な発症予防効果を示すことが示唆される。

[福島慎二、濱田篤郎(東京医大)、清水博之、中野貴司(川崎医大)]

#### 5. エンテロウイルスおよびその他腸管ウイルスに関する研究

##### (1) エンテロウイルス 68 擬似ウイルスの作製

エンテロウイルス 68 に対する抗ウイルス化合物の評価を行うために、エンテロウイルス 68 擬似ウイルスの作製を試みた。エンテロウイルス 68 Fermon 株のカプシドタンパクを HEK293 細胞で発現させ、ルシフェラーゼ発現エンテロウイルス 68 レプリコンをトランスフェクションすることで、擬似ウイルスを作製した。調製したエンテロウイルス 68 擬似ウイルスは、感染によりポリオウイルス擬似ウイルスの 1/10,000 程度のシグナルを出した。今後、エンテロウイルス 68 擬似ウイルスを用いて、抗エンテロウイルス化合物の活性を確認する予定である。

[有田峰太郎]

##### (2) 抗エンテロウイルス活性を示す植物抽出液の同定

抗エンテロウイルス活性を示す植物抽出液の同定を行った。7,488 の植物抽出液から、抗エンテロウイルス活性を示す 137 の抽出液を同定した。現在、同定された抽出液の中に含まれる未知の抗エンテロウイルス化合物の同定を進めている段階である。

[有田峰太郎、淵野裕之(医薬基盤研)]

##### (3) 可溶性蛋白質発現プラスミドの作製

Scavenger receptor class B member 2 (SCARB2)はエンテロウイルス 71 の受容体のひとつである。組換え SCARB2 蛋白質を哺乳動物細胞で分泌発現させるために、新規発現プラスミドの作製を試みた。SCARB2 は2回膜貫通型の蛋白質であり、細胞外領域のみを分泌発現させるにはシグナルペプチドが必要である。そこで、「インターロイキン6のシグナルペプチド、クローニング用の制限酵素(CpoI)サイト、His タグ」あるいは「インターロイキン6のシグナルペプチド、クローニング用の制限酵素サイト、抗体定常(Fc)領域、His タグ」をコードする DNA を合成し、pEF6 プラスミドのマルチクローニングサイトに挿入した。作製したプラスミドをそれぞれ pEF6-CpoI-His、pEF6-CpoI-Fc-His と名付けた。

[西村順裕、清水博之]

##### (4) 可溶性 SCARB2 分子の大量発現

SCARB2 とエンテロウイルス 71 の相互作用を詳細に解

析するために、可溶性 SCARB2 組換え蛋白質の大量発現を行った。SCARB2 は2回膜貫通型の蛋白質であり、その細胞外領域の C 末端に His タグ(SCARB2-His) あるいは抗体 Fc 領域と His タグ(SCARB2-Fc-His)を融合させた組換え蛋白質の発現を試みた。SCARB2 の細胞外領域をコードする cDNA を、哺乳動物細胞分泌発現プラスミド pEF6-CpoI-His, pEF6-CpoI-Fc-His の EF1a プロモーター下流にクローニングした。これらの発現プラスミドを 293T 細胞にトランスフェクションしたところ、細胞培養上清中に大量の組換え SCARB2 蛋白質が分泌された。

[西村順裕、清水博之]

(5) His タグ付加可溶性 SCARB2 分子のニッケルカラムによる精製の試み

可溶性 SCARB2 組換え蛋白質の C 末端に His タグ(SCARB2-His) あるいは抗体 Fc 領域と His タグ(SCARB2-Fc-His)を融合させた組換え蛋白質の精製を試みた。これらの発現プラスミドをトランスフェクションした 293T 細胞培養上清からニッケルカラムによる SCARB2-His および SCARB2-Fc-His の精製を試みた。しかし、精製蛋白質を SDS-PAGE で解析したところ、組換え SCARB2 蛋白質以外に、約 200 kD の目的外蛋白質が多量に検出された。

[西村順裕、清水博之]

(6) 高純度 SCARB2-His 組換え蛋白質の精製

SCARB2-His 組換え蛋白質精製の際の、約 200kDa の目的外蛋白質混入の低減を目的とした。この目的外蛋白質はウシ胎仔血清(FBS)に含まれると考えられたため、FBS を多量のニッケルビーズと反応させるという前処理により吸収除去することを試みた。吸収済 FBS を濾過滅菌し、293T 細胞の培養および SCARB2-His 蛋白質発現に使用した。この吸収済 FBS を使用した 293T 細胞培養液から SCARB2-His 精製を試みたところ、約 200kDa の目的外蛋白質はほとんど検出されず、高純度の SCARB2-His 蛋白質を得ることができた。

[西村順裕、清水博之]

(7) SCARB2 に対するポリクローナル抗体の作製

SCARB2 の細胞内動態を詳細に解析するために、ポリクローナル抗体の作製を試みた。ウサギ2羽を精製 SCARB2-His 蛋白質で免疫した。抗体価の上昇を確認するために、SCARB2-His を固相化した ELISA を行った。2羽のウサギはいずれも高い抗体価の上昇を示し、全血を採取した。その抗血清はフローサイトメトリーにおいても、SCARB2 の発現検出に利用可能であった。

[西村順裕、清水博之]

(8)北部ベトナムにおける手足口病の疫学とウイルス遺伝子解析

ベトナムでは、近年、死亡例・重症例を含む手足口病あるいはエンテロウイルス 71(EV71)感染症の流行が報告されている。2011-2012 年には、ベトナム全土で、死亡例を含む多くの重症例を伴う大規模な手足口病流行が発生し、公衆衛生上の大きな問題となっている。本年度は、おもに、2015-2016 年に北部ベトナムで報告された手足口病症例の実験室診断を行い、EV71 を含めた原因ウイルスの解析を行った。2014~2015 年の手足口病症例からの EV71 の検出頻度は比較的 low、CVA6 の検出頻度が増加した。2011-2012 年の大規模手足口病流行以降、北部ベトナムにおいて、死亡例を含む手足口病重症例の多発は認められていない。2013 年以降に検出された、EV71 株のほとんどは遺伝子型 B5 であり、2011~2012 年に多く認められた遺伝子型 C4 の検出頻度は一時的に低下したが、2016 年に遺伝子型 C4 の再出現が認められた。

[中村朋史、清水博之、片岡周子(北海道大学)、Tran Thi Nguyen Hoa、Nguyen Thi Hien Thanh (NIHE)]

(9) エンテロウイルス71抗血清国際標準品樹立のための国際共同研究

手足口病重症例の主要な原因ウイルスは、EV71であることから、アジア諸国では現在、EV71ワクチン開発が積極的に進められている。臨床試験における有効性・安全性の結果を踏まえ、2015年12月、中国で、世界初の不活化エンテロウイルス71ワクチンが承認され、中国市場に導入された。不活化EV71ワクチンの品質管理およびEV71血清疫学解

析の国際的標準化のために、EV71中和試験に用いるEV71抗血清国際標準品の樹立が必要とされている。そのため、The WHO collaborative study to establish the 1st International Standard for anti-EV71 serum に参加し、NIBSCから提供される13種類の抗血清(ヒトプール血清等)とEV71 C4 523 株を用いたEV71中和抗体価測定を実施した。その結果、EV71抗血清国際標準品候補のうち、14/140が the 1<sup>st</sup> IS for anti-EV71 serum (Human)に選定された。

[Gill Cooper, Javier Martin (NIBSC), 清水博之]

#### (8) エンテロウイルス D68(EV-D68)流行対応と実験室診断体制の整備

EV-D68は *Enterovirus D* に分類されるが、温度感受性および酸耐性等のウイルス学的性状から、EV-D68はライノウイルス同様、主として呼吸器感染症に関与するユニークなエンテロウイルスである。2014年、米国で、EV-D68感染症の広範な流行が発生し、呼吸器感染症だけでなく、急性弛緩性脊髄炎(Acute Flaccid Myelitis: AFM)・急性弛緩性麻痺(Acute Flaccid Paralysis: AFP)や脳神経障害等、中枢神経疾患合併症症例からEV-D68が検出されたことから、エンテロウイルスによる再興感染症として注目を集めた。日本でも、2015年8月以降、病原微生物検出情報におけるEV-D68検出数の増加が認められ、重症例を含む呼吸器感染症由来検体からのEV-D68検出事例が相次いで報告された。EV-D68検出数は、2015年9月をピークに急増したが、EV-D68感染症流行とはほぼ同時期に、小児を中心としたAFP症例の報告が相次ぎ、一部AFP症例からEV-D68が検出された。感染研では、EV-D68特異的リアルタイムPCR法が、他のエンテロウイルス遺伝子検出法と比較して感度が高いという結果を得、EV-D68以外の病原体の関与の可能性も含めた検査体制の整備を進めた。髄液や血液からのEV-D68検出頻度は低く、多くのEV-D68感染事例では、呼吸器由来検体からEV-D68遺伝子が検出された。2016年は、EV-D68は、呼吸器感染症症例および麻痺事例から、ほとんど検出されず、流行に周期性があることが示唆された。

[多屋馨子、花岡希、藤本嗣人(感染症疫学センター)、清

水博之]

#### (9) 我が国の病原体サーベイランスデータからみるEV-D68検出症例

全国の地方衛生研究所(地衛研)において行われた病原体検査の結果が、感染症サーベイランスシステムの病原体検出情報に報告されている。病原体検出情報を基にエンテロウイルスD68型(EV-D68)の流行実態の把握を試みた。2000年から2015年までに報告されたEV-D68検出例の年齢群、診断名等について特徴を調べた。2005年以降、561例のEV-D68陽性例が報告された。2009年までは年間に数例程度であったが、2010年129例、2013年122例、2015年は281例の報告があった。検体採取月別では、どの年も9月をピークに夏から秋にかけて検出が増加していた。年齢中央値は3歳で、1歳を中心に0-4歳群が最も多く、5-9歳群が続いた。主な診断名は、下気道炎、上気道炎、気管支喘息など呼吸器疾患が大半であった。急性脳炎、心肺停止、急性片麻痺、末梢神経麻痺などの症例も報告されていた。EV-D68を検出した検体の大多数は咽頭拭い液であったが、糞便、血液、等からの検出例の報告もあった。

[木下一美、有馬雄三、砂川富正、多屋馨子、大石和徳(感染症疫学センター)、清水博之]

#### (10) 乳飲みマウスによるEV-D68型の分離

2015年秋に、我が国でEV-D68の大きな流行があり、急性弛緩性麻痺との関連が疑われたものの、未だ解明には至っていない。秋田県健康環境センターでは、感染症発生動向調査で収集された検体からのウイルス分離の一環として、乳飲みマウスへの接種を実施している。2015年8~10月にかけて、喘息を主訴とする患者の咽頭拭い液を腹腔内に接種したところ、著明な弛緩性麻痺を呈する例が相次ぎ、最終的に13株を分離し、遺伝子解析および中和試験によりEV-D68と同定した。これらの株を飲みマウスに接種したところ、弛緩性麻痺が、前肢にまで及ぶことが観察された。今回分離したEV-D68は、乳飲みマウスにおいて前肢にまで及ぶ弛緩性麻痺が再現的に観察できるという特徴がある。

EV-D68 の病原性研究にとって、実験動物モデルが得られたことには重要な意義を持つ。

[斎藤博之、秋野和華子、佐藤寛子、藤谷陽子、柴田ちひろ、佐藤了悦(秋田県健康環境センター)、清水博之]

#### (11) EV-D68 感染マウスモデルの検討

2015年に国内で分離された EV-D68 を用いてその病原性を明らかにするための感染動物モデルを構築することを目的とした。秋田県において感染症発生动向調査で収集された呼吸器疾患患者の咽頭ぬぐい液のうち、新生仔マウスで分離された EV-D68 を使用した。新生仔マウス分離後にヒト横紋筋肉腫由来 RD-A 細胞で 1 回増殖したものをストックウイルス液とした。臨床分離株を 37°C 培養条件下で H1-HeLa 細胞にて継代したところ、効率よく増殖するウイルスを 4 株得ることができたが、そのうち 1 株が新生仔マウスに対する神経病原性を維持していた。

[宮崎誠、永田典代 (感染病理部)、斎藤博之、柴田ちひろ(秋田県健康環境センター)、Doan Hai Yen、清水博之]

#### (12) 次世代シーケンスによる EV-D68 の遺伝子解析

2015年に国内で検出された EV-D68 株を用いて、次世代シーケンス解析の条件検討を行った。培養細胞分離 EV-68 株、あるいは、乳のみマウスで分離した EV-D68 株の組織ホモジュネート検体から RNA を抽出し、次世代シーケンス解析を試みたところ、多くの検体において、特異的プライマーによる遺伝子増幅無しに、ランダムプライマーによる次世代シーケンスが可能であった。秋田県で呼吸器疾患患者から検出された EV-D68 株、および島根県で急性弛緩性麻痺を含む症例等から検出された株は、分子系統解析において、すべて 2014年に米国で流行した遺伝子型 Clade B に属するが、中国、日本で 2015年に検出された EV-D68 株との相関性が高いことが明らかとなった。

[斎藤博之 (秋田県健康環境センター)、藤澤直輝 (島根県保健環境科学研究所)、Doan Hai Yen、清水博之]

6. ポリオウイルスのバイオセーフティ及びバイオセキュリティシステムに関する調査研究

(1) WHO ポリオウイルス病原体バイオリスク管理行動計画 (GAPIII) について

2016年6月現在、1型野生株ポリオウイルス流行国は、パキスタンおよびアフガニスタンに限局しており、WHO は、世界ポリオ根絶計画の早期達成を目指している。WHO Polio Eradication and Endgame Strategic Plan 2013-2018 では、世界ポリオ根絶達成の要件のひとつとして、ポリオウイルス取扱い施設から地域社会へのポリオウイルス再侵入のリスクを最小限とするための、ポリオウイルスの安全な取扱いと封じ込め活動の徹底を挙げている。そのため、WHO は、2014年12月に、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する世界的行動計画改訂第三版である WHO Global Action Plan to minimize poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of OPV use(野生株ポリオウイルスの型特異的根絶および経口ポリオワクチン使用の段階的停止後におけるポリオウイルス取扱い施設関連リスクを最小化するための WHO 世界的行動計画; GAPIII)を公開し、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理の厳格化を求めている。GAPIII は、ポリオ根絶最終段階におけるポリオウイルスのバイオリスク管理標準について、具体的かつ詳細に示した行動計画であり、世界中のポリオウイルス取扱い施設を、診断・研究・ワクチン製造等に関わる必須な機能を遂行するために必要とされる最小限の認証された施設(Essential Poliovirus Facility; PEF)に限定し、これらの施設では、GAPIII に示されたバイオリスク管理標準に準じてポリオウイルスを取扱うことを求めている。OPV 使用国で、2016年4～5月に実施された trivalent OPV 接種の世界的停止にともない、感染研でも不要な2型ポリオウイルス感染性材料を廃棄し、GAPIII に準拠したワクチン株(Sabin 2株)を含む2型ポリオウイルス感染性材料のバイオリスク管理体制の整備を進めた。厚労省結核感染症課、日本ポリオ根絶会議等と協力して、WHO GAPIII によるポリオウイルス病原体バイオリスク管理体制整備に向けた周知と国内対応を進めた。

[清水博之]

(2) WHO ポリオウイルス病原体バイオリスク管理行動計画 (GAPIII)国内対応

ポリオ根絶最終段階に向けたポリオワクチン戦略の一環として、2016年4月のbivalent OPV導入後は、2型ワクチン株 (Sabin2/OPV2株)についても、GAPIIIに基づく病原体管理の対象となる。標準株として広く用いられているワクチン株も病原体管理の対象となることから、ポリオウイルス検査・研究施設だけでなく、より広範な医学生物学施設へのポリオウイルス病原体廃棄・管理の必要性についての周知が必要とされる。そのため、National Poliovirus Containment Coordinator として、ポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する周知を進めるため、GAPIIIおよびContainment Certification Scheme (CCS)の和訳版を作成し、内容について整理するとともに、GAPIIIを反映したPEF認証について検討した。また、sIPVワーキンググループを組織し、sIPV製造施設におけるポリオウイルス病原体バイオリスク管理に関する技術的情報交換とポリオウイルス感染性材料を使用しないsIPV品質管理方法の検討を進めた。2型ポリオウイルスを用いたIPV検定業務および品質管理研究のため、GAPIIIに準拠したPEFとしてとして、感染研村山庁舎BSL3実験室の整備を行った。

[染谷雄一、西村順裕、有田峰太郎、吉田弘、清水博之、脇田隆宇、伊木繁雄、棚林 清(バイオセーフティ管理室)]

(3) WHO ポリオ実験室ネットワーク DVD を用いたバイオセーフティ教育訓練

WHO本部ポリオ実験室ネットワーク事務局で作成したポリオ実験室バイオセーフティ教育訓練用DVDを、外国人研修生に対するバイオセーフティ教育訓練に使用した。WHOポリオ実験室教育訓練DVDは、実験室のバイオセーフティ、機器の維持管理、バイオセーフティ以外の実験室安全管理、実験室のアレンジメント等、実験室・検査室の運用・安全管理・教育訓練に関する具体的な事例が取り上げられており、病原体を扱う実験室の安全管理の全体像を理解するうえで有用な教育訓練資料である。外国人研修生を対象としたJICA集団研修において、WHOバイオセーフティ教育訓練用DVDを用いたバイオセーフティ教育訓練を実施した。

実施した。

[伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)、清水博之]

III. 肝炎ウイルスに関する研究

1. A型肝炎ウイルス(HAV)に関する研究

(1) 2016年のA型肝炎流行状況の分子疫学的解析

2016年のA型肝炎は269例の報告があり、42例の配列解析を実施した。40例(95%)がIA、2例(5%)がIIIAであった。滋賀県東近江市で集団発生があり、2015年12月末から2月初めにかけて6名が感染した。いずれも2014年に日本で流行した株と極めて近縁であった。また、2015年から台湾、台北市を中心に同性愛者間のA型肝炎の流行があり、2016年には非同性愛者にも拡大し大きな流行となった。HIVとの共感染の比率が極めて高い(48%)ことが特徴である。本流行株はIAであるが、日本での2014年の流行株とは明らかに異なるクラスターに属する。日本でも大阪市、西宮市のA型肝炎で本株が検出され、大阪市の患者は同性愛者であり、HIVと共感染していた。

[石井孝司、清原知子、吉崎佐矢香、佐藤知子、\*島田智恵、\*中村奈緒美、\*砂川富正、\*\*野田 衛、脇田隆宇(\*感染症情報センター、\*\*国立衛研食品衛生管理部)、他 31 地方衛生研究所との共同研究]

(2) A型肝炎の血清疫学調査

直近のA型肝炎の流行状況を把握するため、全国規模の血清疫学調査を開始した。この調査は1973年から約10年おきに実施され、年齢別の抗A型肝炎ウイルス(HAV)体保有率、抗体陽性者の抗体価推移などから、年々進むHAV感受性者の減少及び高齢化を明らかにしてきた。

今回の調査は日本赤十字社の献血者血清と国立感染症研究所血清銀行保存血清を対象とし、抗HAV抗体保有率の推移を解析する。

A型肝炎は感染症法によって単独疾患として感染症発生動向調査の4類感染症に分類され、無症状病原体保有者を含む全診断症例の届出が義務づけられている。抗体保有状況と患者発生動向を合わせて検討すること

により、予防対策の効率化が期待される。

今年度は調査の立案、計画、検体確保までを実施した。

[清原知子、石井孝司、脇田隆字]

## 2. B型肝炎ウイルス(HBV)に関する研究

### (1) B型慢性肝炎症例におけるラミブジン耐性変異がエンテカビル耐性に与える影響の解析

エンテカビル投与中に HBVDNA が再上昇した症例の患者血清中に rtV173L, rtL180M, rtM204V の変異を有する株を確認した。これらの 3 つの変異を有する株, rtL180M, rtM204V 変異のみを有する株, 変異を持たないコンセンサス株をもとに 1.4 倍長の HBV コンストラクトを構築し培養細胞に導入し RTD-PCR にてエンテカビル感受性の評価を行った。rtV173L/L180M/M204V の変異を有する株は野生株と比較して EC50 値が約 100 倍に増加していた。rtL180M/M204V のラミブジン耐性変異のみでも EC50 値が約 100 倍に増加していたが, rtL180M/M204V 変異に rtV173L 変異を加えても EC50 値に変化を認めなかった。しかしその一方で, rtL180M/M204V に rtV173L が加わることでウイルスの複製効率が約 8 倍上昇し, これらの変異もエンテカビル耐性に関わっていると考えられた。

[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

### (2) B型慢性肝炎のエンテカビル長期投与中に再燃をきたした症例の新規耐性変異の解析

エンテカビル投与中に HBVDNA が再上昇した症例の患者血清中に rtL180Q, rtM204V, N238H, L269I の変異を有する株を確認した。これら 4 つの変異を有する株とこれらの変異を持たないコンセンサス株をもとに 1.4 倍長の HBV コンストラクトを構築し培養細胞に導入し RTD-PCR にてエンテカビル感受性の評価を行った。これら 4 つ変異を有する株は変異を持たない株と比較し, EC50 は約 60 倍高かった。rtL180Q/M204V の変異を有する株は野生株と比較し EC50 値は約 4 倍高値であったが, これに rtN238H を加えても EC50 値に変化を認めなかった。しかし rtL180Q/rtM204V に

rtL269I を加えた株は野生株と比較し EC50 値が約 85 倍に増加し, さらに N238H の変異が加わることでウイルス複製効率が約 4 倍上昇し, これらによりエンテカビルに耐性を示すと考えられた。

[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

### (3) HBV エンテカビル耐性株のテノホビル感受性評価

エンテカビル耐性が確認された rtV173L, rtL180M, rtM204V の変異を有するコンストラクトと変異を持たないコンストラクトおよび rtL180Q, rtM204V, N238H, L269I の変異を有するコンストラクトと変異を持たないコンストラクトを培養細胞に導入し RTD-PCR にてテノホビル感受性の評価を行った。rtV173L, rtL180M, rtM204V の変異を有する株と変異を持たない株, および rtL180Q, rtM204V, N238H, L269I の変異を有する株と変異を持たない株はともにテノホビル感受性を示し, テノホビルに対する EC50 は同等であった。

[山田典栄, 杉山隆一, 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

### (4) B型肝炎 genotype Ae 症例のアミノ酸変異の検討

B型急性肝炎(AH-B) genotype Ae 症例 7 例(HBeAg 陽性 7 例), B型慢性肝炎(CH-B) genotype Ae 症例 5 例(HBeAg 陽性 2 例, HBeAg 陰性 3 例)の HBV 株全長の塩基配列を Direct Sequence 法にて決定し, PreCore-Core 領域, S 領域, RT 領域, X 領域のアミノ酸変異を検討した。AH-B および HBeAg 陽性の CH-B はいずれの領域も genotype Ae の Consensus 配列と比較して変異は認めなかった。一方, HBeAg 陰性の CH-B は BCP, PreC-Core, PreS-S に多くのアミノ酸変異を認めた。HBeAg 陰性 CH-B の 3 例はいずれも HBeAg 産生を低下させる PreCore 領域の nt. 1896 の変異は認めず, 2 例は BCP 領域の nt. 1762/1764 の変異を認めた。1 例はこれらに変異はなく Kozak Sequence の nt. 1809/1814 に変異を認めた。

[山田典栄, 安田清美(清川病院), 四柳宏(東京大学), 脇田隆字, 加藤孝宣]

(5) HBV 感染がNK細胞により誘導されるアポトーシスの感受性に与える影響の解析

HBV の培養細胞での複製モデルを用いて、HBV が複製している HepG2 細胞にアポトーシス刺激を加え、免疫細胞により誘導される宿主のアポトーシスに HBV 複製が与える影響を評価した。HBV 複製プラスミドを導入した HepG2 細胞を TNF- $\alpha$  で刺激したところ、HBV 遺伝子型 A 株が複製している細胞では遺伝子型 A, B, C 株の細胞と比較してアポトーシス感受性が低下していた。さらに HBV 複製プラスミドを導入した HepG2 細胞に NK 細胞を移入することにより誘導されるアポトーシスに対する感受性を評価した。その結果、NK 細胞による誘導でも遺伝子型 A 株が複製している HepG2 細胞において感受性の低下が観察された。これらのアポトーシス感受性に与える影響の差は、HBV 株が得られた症例の臨床像と関連している可能性が考えられた。

[椎名正明 (新百合ヶ丘総合病院), 山田典栄, 杉山隆一, 脇田隆宇, 加藤孝宣]

(6) HBV 遺伝子型 A 株によるアポトーシス感受性低下に関わる宿主因子の解析

HBV 遺伝子型 A 株によるアポトーシス感受性の低下に関わる宿主因子の同定のため、遺伝子型 A, B, C 株を導入した HepG2 細胞で遺伝子発現解析を行った。その結果、遺伝子型 B, C 株の導入では TNF- $\alpha$  レセプターの mRNA が強く誘導されたのに対し、遺伝子型 A 株の導入ではその誘導が抑制されていた。以上の結果から、HBV 遺伝子型 A 株の感染では宿主細胞の TNF- $\alpha$  レセプターの発現が抑制され、感染細胞の排除を阻止することで感染の遷延化を引き起こしていると考えられた。

[椎名正明 (新百合ヶ丘総合病院), 山田典栄, 杉山隆一, 脇田隆宇, 加藤孝宣]

(7) HBV 検体パネルを用いたイムノクロマト法 HBs 抗原測定系の性能評価

HBV 陽性および陰性検体パネルを用いてイムノクロマト法 HBs 抗原測定系の性能評価を行った。HBV 陰性

検体パネル 53 検体を用いた評価ではすべての試薬で陰性の結果が得られた。HBV 陽性検体パネル 80 検体の測定では、これまでに多く用いられている 2 種類のイムノクロマトキットでの測定では 9 検体で陰性を示した (陽性率; 88.8%)。これら陰性の検体は、HBs 抗原量の低いものが多く、用いたキットの検出感度が不十分なため陰性を示したと考えられた。一方、新規に発売が予定されている高感度のイムノクロマトキットによる測定では全て陽性の結果であった。

[村山麻子, 山田典栄, 脇田隆宇, 加藤孝宣, 百瀬暖佳, 松岡佐保子, 浜口功 (血液・安全性研究部)]

(8) HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価のためのリコンビナント HBs パネルの検討

HBs 抗原検出用体外診断薬の絶対評価に使用できる様々なウイルス株由来のリコンビナント HBs タンパク質の作製を試みた。精製のために各種タグを付加した HBs タンパク質を培養細胞で発現させ、培養上清中、細胞破砕液に含まれる HBs 抗原量を測定した。細胞破砕液にはどのウイルス株由来の HBs タンパク質も多く発現していたが、HBs が培養上清中には分泌されにくいウイルス株があることが判明した。そこで細胞破砕液中の HBs タンパク質をアフィニティーカラムにより精製したが、いずれのタグを用いた場合でも、精製度の高いリコンビナントタンパク質は得られなかった。

[村山麻子, 山田典栄, 脇田隆宇, 加藤孝宣, 百瀬暖佳, 松岡佐保子, 浜口功 (血液・安全性研究部)]

(9) Regulation of Ski2/RNA exosome system to suppress HBV-X mRNA.

We have shown the mechanism by which the Ski2/RNA exosome system target HBV-X mRNA for degradation. Since HBV-X is required for HBV-infectivity, regulating its degradation, and subsequently, its expression levels can be used to suppress HBV. We focused on the analysis of the transcription regulation of Ski2 as an important component of the Ski2/RNA exosome system. We constructed Ski2

promoter and we are analyzing the transcription factors required for its induction.

[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(10) Cytokine Screening for Ski2 regulation.

Since Ski2 antagonized HBV-replication, we hypothesized it has an anti-viral role, and analyzed its induction during inflammation. We identified IL-1b inflammatory cytokine to be a major inducer of Ski2 expression in both HepG2, and Primary Hepatocytes, suggesting its induction and the activation of Ski2/RNA exosome system in inflammation. We further demonstrated the degradation of HBV-X mRNA mediated by IL-1b treatment. The signaling mechanism by which IL-1b can induce Ski2 expression is under investigation.

[Hussein H Aly, Fumihiro Shiromoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(11) The role of exosomes released from HBV infected cells on Kupffer cells function.

We aimed to purify exosomes released from HBV-infected cells, and analyze HBV-induced changes in its contents, and its possible effect on the function of Kupffer cells, the major subset of hepatic macrophages, compared to non-infected cells. We successfully purified the exosomes secreted from the supernatants of HBV-infected and control cells, and sent the specimen for spectrometry and RNA seq analysis to identify possible changes in its cargo. We are in the process of validation and confirmation of the results obtained.

[Hussein H Aly, Takanobu Kato, Takaji Wakita]

(12) シクロスポリンおよびその誘導体の HBV 侵入阻害作用の解析

シクロスポリンは細胞毒性を示すことなく HBV 感染受容体 NTCP とエンベロープタンパク質 LHBs の結合を阻害し、HBV 感染を阻害する。シクロスポリン誘導体を用いた解析により、HBV 感染にはシクロスポリンの免疫抑制作用及びシクロフィリン阻害作用は必要なく、また NTCP 依存的胆汁酸の阻害を引き起こさないものも存在することが示された。

[志村 聡美, 渡士 幸一, 深野 顕人, Michael Peel (SCYNEXIS), 河合文啓 (横浜市立大), 朴三用 (横浜市立大), 楠原洋之 (東京大), 脇田隆字]

(13) HBV キャプシド形成における微小管の役割の解析

Hep38.7-Tet 細胞を用いたスクリーニングより、ノコダゾールが HBV 複製を阻害することが示された。ビンブラスチンやコルヒチンなど微小管合成を阻害する別の化合物も同等の効果を有していたことより、微小管は効率良い HBV 複製に必要であることが示唆された。また微小管合成阻害により HBV キャプシド形成が低下することを見出した。

[岩本将士, 渡士幸一, Haitao Guo (インディアナ大), 脇田隆字]

(14) HBV 侵入を阻害するプロアントシアニジンの解析

HepG2-hNTCP-C4 細胞を用いたスクリーニングにより、プロアントシアニジンが HBV 感染を低下させることを見出した。この化合物は HBV の preS1 領域との相互作用を介して HBV 粒子に直接結合することが明らかとなった。これは HBV 粒子を標的とするので NTCP 依存的胆汁酸の取り込みには影響しない利点を持つことが示された。

[九十田千子, 渡士幸一, 岩本将士, 河合文啓 (横浜市立大), 朴三用 (横浜市立大), 齊藤重貴子 (大阪電通大), 脇田隆字]

(15) NTCP を標的とした HBV 侵入阻害化合物の同定

NTCP と相互作用する低分子化合物を化合物アレイによりスクリーニングし、74 のヒット化合物を得た。これらのうちいくつかは HepG2-hNTCP-C4 細胞への HBV 感染を阻害した。得られた化合物は C 型肝炎ウイルス感染には影響を与えなかったが、D 型肝炎ウイルス感染を阻害したこと

より、化合物の効果は NTCP 依存的侵入に特異的であることが示唆された。

[金子学, 渡士幸一, 九十田千子, 二村友史(理研 CSRS), 近藤恭光(理研 CSRS), 長田裕之(理研 CSRS), 河合文啓(横浜市立大), 朴三用(横浜市立大), 松永智子(横浜市立大), 梁明秀(横浜市立大), 脇田隆字]

#### (16) FDA 承認化合物を用いた HBV 感染阻害化合物の同定

HepaRG 細胞を用いて FDA 承認化合物ライブラリーより HBV 感染を阻害する化合物を同定した。この化合物は HBV の宿主への吸着阻害を引き起こすことなく内在化 HBV を低下させることが示唆された。また構造活性相関解析により、HBV 感染阻害に関わる化学構造を特定した。

[深野顕人, 渡士幸一, 河合文啓(横浜市立大), 朴三用(横浜市立大), 脇田隆字]

#### (17) 抗ウイルス薬の標的候補分子の同定

テトラサイクリン誘導 HBV 発現細胞の HepAD38 細胞 (genotype D) からサブクローニングされた Hep38.7-Tet 細胞を用いて、細胞外 HBeAg 量を指標に 3 種類の siRNA Library (DNA damage response, Epigenetic, Nucleic Acid Binding) のスクリーニングを実施した。HBeAg 分泌阻害を示した 80 遺伝子を primary hits として選抜した。さらに再現性評価として、HBeAg 分泌阻害及び cccDNA 合成阻害を示した 21 遺伝子を second hits として選抜した。次に Hirt DNA を精製し cccDNA 量の減少と knockdown 効率の相関を検討した。1 遺伝子が cccDNA 産生に関与している可能性が考えられた。

[木下渉(JT 医総研), 渡士幸一, 脇田隆字]

#### (18) B 型肝炎流行予測調査のサポート業務

B型肝炎ワクチンの定期接種化に伴い、B型肝炎の流行予測調査が開始された。この調査は HBs 抗原、HBc 抗体、HBs 抗体の試験を含み、各検体の試験結果を複合的に判断して、ワクチンの実施状況、効果を評価することを目的とする。

当室では実施機関からの技術的質問および確認検査に対応する。他の VPD 疾患と異なり、調査の過程において被験者の B型肝炎感染が判明する可能性も考えられ、デリケートな対応が求められる。現在の B型肝炎流行予測調査実施機関は 2 自治体である。これまでに応じたサポート業務は以下の通りである。

- ・抗 HBs 抗体価の算出方法
- ・HBs 抗原陽性及び／あるいは HBc 抗体陽性検体の確認試験
- ・試験結果の解釈
- ・結果を被験者に知らせる際の説明内容の作製 (科学的な部分)

[清原知子, 石井孝司, 脇田隆字]

#### (19) B 型肝炎ワクチン *in vitro* 試験 (継続)

B型肝炎ワクチンは各製造所によって、HBs 抗原発現宿主細胞、HBs 抗原のサブタイプ、アジュバントの種類、製造方法などが異なる。*In vitro* 試験はこれらの差に影響されるため、*in vivo* 試験のように全製造所のワクチンを一律に比較することは困難である。しかしながら、*in vivo* 試験の結果を基に、各製造所で固有のリファレンスワクチン(ワーキングリファレンス)を設定すれば、製造ワクチンの抗原性の consistency が確認できる。今年度は B型肝炎ワクチン「ヘプタバックス II」の複数ロットについて *in vitro* 相対力価を測定し、一貫性の確認を行った。同一原液から作製された一連のロットは *in vitro* 相対力価が近似値を示した。今後、原液が異なるロットについても検討を進める。

現行の *In vitro* ELISA キットに続く次代キットのために、抗 HBs 抗血清(ウサギ)を作製した。現在使用している抗 HBs 抗血清(羊)に比べて抗体価が低かったため、IgG を精製し、固相化 HBs 抗体としての使用を検討する。

[清原知子, 石井孝司, 脇田隆字]

#### (20) 本邦における急性 B 型肝炎のサーベイランス

感染症法に基づくサーベイランス事業で、1999 年から 2015 年間の 16 年間の急性 B型肝炎の発生動向を調べ報告した。急性 B型肝炎の発生は 2010 年ころから約 50

症例以下に抑制されていた。

[Zheng Xin, 相崎英樹, 高橋琢理, 砂川富正, 大石和徳 (感染症疫学センター)、田中純子 (広島大), 脇田隆宇]

### 3. C型肝炎ウイルス(HCV)に関する研究

#### (1) 抗 HCV 活性を持つビタミン D 誘導体のスクリーニング

ビタミン D 前駆体の一つである 25 ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> には抗 HCV 作用があることが知られている。その作用機序を解明するために、VDR 結合能と転写活性化能が既知のビタミン D 誘導体ライブラリーを用いて抗 HCV 活性を持つ誘導体のスクリーニングを行った。その結果、9 種類のビタミン D 誘導体に抗 HCV 活性が見られた。抗 HCV 活性を持つビタミン D 誘導体は構造的に類似したものが多かった。

[村山麻子, 脇田隆宇, 加藤孝宣]

#### (2) ビタミン D 誘導体の HCV ライフサイクルに与える影響の解析

抗 HCV 活性を示すビタミン D 誘導体について、single cycle virus production assay を用いて、これらの誘導体が HCV のライフサイクルのどのステップを阻害するのかを調べた。その結果、これらの薬剤は共通して細胞内での感染性ウイルス産生を特異的に阻害していることが明らかとなった。

[村山麻子, 脇田隆宇, 加藤孝宣]

#### (3) ビタミン D 誘導体の抗 HCV 効果の作用点の解析

抗 HCV 活性を示すビタミン D 誘導体が細胞内での感染性ウイルス産生を阻害することから、これらの薬剤がウイルス形成に重要な宿主因子の発現量に与える影響を調べた。その結果、いずれのビタミン D 誘導体の薬剤投与によっても、アポリポプロテインの発現量が減少したことから、ビタミン D 誘導体によりアポリポプロテインが減少することにより HCV 増殖が阻害されたと考えられた。

[村山麻子, 脇田隆宇, 加藤孝宣]

#### (4) 第二世代 NS5A 阻害剤の抗ウイルス活性の評価

第一世代の NS5A 阻害剤は、JFH-1 株以外の遺伝子型 2 の HCV 株に対しては効果が低い。第二世代の NS5A 阻害剤の抗ウイルス効果を異なる遺伝子型の全長 HCV 株を用いて検討した。第一世代の NS5A 阻害剤の一つである Daclatasvir は H77S 株 (遺伝子型 1a), を低濃度で阻害したが, J6cc 株 (遺伝子型 2a), J8cc 株 (遺伝子型 2b) に対する阻害効果は弱かった。それに対して, 第二世代の NS5A 阻害剤は, 遺伝子型に関わらず, いずれの全長 HCV 株の複製も低濃度で阻害した。

[村山麻子, Mingjun Huang (Achillion), 脇田隆宇, 加藤孝宣]

#### (5) 第二世代 NS5A 阻害剤の薬剤耐性変異の検討

第二世代の NS5A 阻害剤は, J6cc 株 (遺伝子型 2a), J8cc 株 (遺伝子型 2b) に対しても JFH-1 株 (遺伝子型 2a) と同じように阻害した。そこで, 薬剤存在下でウイルス感染細胞の長期培養を行い, 耐性ウイルスの出現を検討した。その結果, JFH-1 株では薬剤耐性ウイルスは得られなかったが, J6cc 株, J8cc 株では薬剤耐性ウイルスが得られた。これらの薬剤耐性ウイルスは, 第一世代の NS5A 阻害剤において報告されている耐性変異のすぐ近傍に変異が導入されていた。これらの変異を J6cc 株, J8cc 株にそれぞれ導入すると, 第二世代の NS5A 阻害剤に対する感受性をそれぞれ 100 分の一以下に低下させた。

[村山麻子, Mingjun Huang (Achillion), 脇田隆宇, 加藤孝宣]

#### (6) J6CF 株の NS4A 領域の細胞培養適応変異の機能解析

培養細胞での増殖がみられない HCV J6CF 株を増殖可能なウイルスに改変するために必要な点変異の同定を試みた。ウイルス RNA を導入した細胞を長期に培養することにより, NS4A 領域に適応変異が得られた。この変異は, NS4A 自身の細胞内局在には影響がなかったが, NS3 と共発現すると, NS3 の細胞内局在を変化させた。

[村山麻子, 鈴木亮介, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(7) HCV NS5A-ISDR アミノ酸変異が HCV 増殖に与える影響の解析

HCV の NS5A に存在する IFN 感受性領域 (ISDR) のアミノ酸変異は, IFN 治療における治療効果の予測因子として知られている. そこで, JFH-1 株を用いた培養細胞系を用い, ISDR のアミノ酸変異が HCV の増殖に与える影響を検討した. HCV JFH-1 株の NS5A を Genotype 1b 株に置換したキメラウイルス (JFH1/5ACon1 株) を用い, さらに, NS5A の ISDR を wt に置換した i-wt 株および, ISDR に 7 つのアミノ酸変異を持つ i-7mut 株を作製した. これらのコンストラクトを用い, ISDR の変異が HCV ライフサイクルの各ステップに与える影響を評価した. これらの株の HCV 全長 RNA の導入により細胞内の core 抗原量には差は認めなかったが, 上清中の core 抗原量は i-7mut 株をトランスフェクションした細胞でのみ低値であり, この株では感染性粒子生成効率が低下していると考えられた.

[杉山隆一, 村山麻子, 藤田めぐみ, 山田典栄, 石井孝司, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(8) HCV NS5A-ISDR アミノ酸変異が IFN 感受性に与える影響の解析

ISDR のアミノ酸変異が IFN 感受性に与える影響を評価するため, JFH1/5ACon1 株と i-7mut 株の導入細胞で IFN による ISG 誘導能を評価した. その結果, JFH1/5ACon1 株の導入細胞では IFN- $\alpha$  添加による ISGs 誘導の抑制が観察されたが, i-7mut 株の導入細胞ではこの抑制が減弱していた. その機序について検討を行ったところ, JFH1/5ACon1 株の導入細胞では NS5A 蛋白質が ISG 誘導に関わる STAT1 と直接結合することでそのリン酸化を抑制していたが, i-7mut 株の導入細胞では NS5A 蛋白質と STAT1 の結合能が低下し, STAT1 リン酸化の抑制が低下していた. これらの観察された事象は, ISDR が関わる IFN 耐性発現機序に関与していると考えられた.

[杉山隆一, 村山麻子, 藤田めぐみ, 山田典栄, 石井

孝司, 脇田隆字, 加藤孝宣]

(9) 感染性 HCV 粒子産生機構の解析

感染性 HCV 粒子形成過程を低下させるフルタミドは肝細胞内のトリグリセリド量低下により脂肪滴量を減少させることが示された. またこの効果はトリグリセリド分解促進ではなく生合成抑制によると示唆された. またこの経路に関わる新たな因子の発現がフルタミドによって低下することが明らかとなった.

[大橋啓史, 渡士幸一, 深澤征義(細胞化学部), 脇田隆字]

(10) 抗 HCV 治療の最適化の解析

既存あるいは開発段階にある抗 HCV 剤 15 剤の単剤での薬効を定量評価し, 薬剤によりヒル係数が固有であることが明らかとなった. 次に 52 通りの 2 剤併用での薬効を定量し相加相乗効果を評価した. さらに臨床で用いられる代表的な 8 通りの 3 剤併用での薬効を評価し, 臨床濃度での薬剤組み合わせが最も高い薬効を発揮するかを比較評価した. またこの解析により 2 剤併用と比較して 3 剤併用が最大約 10,000 倍, 変異ウイルス出現頻度が約 11,000 分の 1 となり, その有用性が示された.

[大橋啓史, 中嶋翔, 渡士幸一, 小泉吉輝(金沢大), 岩見真吾(九州大), 田中靖人(名古屋市大), Alan Perelson(ロスアラモス国立研), 脇田隆字]

(11) HCV 中和エピトープを有する日本脳炎ウイルス (JEV) 様粒子抗原の作製

これまでに HCV 中和エピトープを有する JEV 様粒子が 2 価ワクチン抗原として中和抗体を誘導する事を示したが, より強く HCV に対する中和抗体を誘導可能な抗原を作製する為に, 新たに JEV E タンパク質中の 12 箇所について外来遺伝子の挿入可能性を検討し, 粒子形成, 分泌を損なわずに HCV 中和エピトープの挿入を許容する部位を新たに 3 箇所同定した. これまでの研究で同定した 3 箇所と合わせた 6 箇所のうち, 5 箇所にエピトープを搭載した粒子を 6 種類作製したところ, 一部で粒子形成, 分泌を損なわない組み合わせが確認された.

[矢藤慶悟, 松田麻未, 渡邊則幸, 田村浩二(東京理科大), 脇田隆字, 鈴木亮介]

#### (12) 遺伝子型4および5由来の1回感染性 C 型肝炎ウイルス粒子の作製

1回感染性のHCV粒子(HCVtcp)は、細胞培養由来のC型肝炎ウイルス(HCVcc)と同様の感染様式であることから、ワクチン接種後の中和抗体の評価に適している。これまでに遺伝子型1、2、3由来のHCVtcpの作製が可能であったが、新たに遺伝子型4および5由来のコアタンパク質からNS2までの領域を発現するプラスミドを構築した。これを用いて遺伝子型4および5由来のHCVtcpの産生に成功したことから、より幅広い遺伝子型のHCVに対する中和抗体の評価が可能となった。

[矢藤慶悟, 遠坂崇, 松田麻未, 田村浩二(東京理科大), 脇田隆字, 鈴木亮介]

#### (13) HCV の株間における感染に必要なレセプター分子の違いの解析

細胞表面に発現しているCD81、Claudin 1、SR-BI、occludinの4つの分子は、HCVの細胞への侵入に必須のレセプター分子として報告されている。しかしながら、これまでのHCVの侵入過程の解析は、限られた株を用いて行われてきているため、多様性に富むHCVすべての株が同様にこれらのレセプターを必要としているかについては明らかではなかった。そこで遺伝子型1-5までの複数株由来のHCVtcpを用い、感染に必要なレセプターを解析したところ、すべての株はその感染にCD81が必須であったが、一部の株においてはClaudin 1非依存性の感染を示す事が明らかとなった。HCVのClaudin 1非依存的な感染のメカニズムとその意義について、今後明らかにしたい。

[鈴木亮介, 矢藤慶悟, 遠坂崇, ススムエー, 松田麻未, 深澤征義(細胞化学部), 松浦善治(大阪大), 脇田隆字]

#### (14) HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の病態に関する研究

C型慢性肝炎に対する治療はIFN/DAAの治療で9割以

上の患者にSVRが期待できる。しかしながら、発癌リスクの高い線維化進展例や高齢者の多くがSVRとなる一方、IFNと異なりDAAの肝発癌抑制作用については不明であり、今後SVR後の肝障害や発癌が増加することが懸念される。そこで、今後増加するSVR後症例の肝障害・肝発癌のリスク評価と抑制法の開発のため、SVR後の肝病態の解明と新たな検査系・対処法の確立を目指す。

[青柳東代, 相崎英樹, 小池和彦(東京大学), 平松直樹(大阪大学), 黒崎雅之(武蔵野赤十字病院), 林和彦(名古屋大学), 飯島尋子(兵庫医科大学), 坪田昭人(東京慈恵会医科大学), 鈴木哲朗(浜松医科大学), 考藤達哉(国立国際医療研究センター), 丸澤宏之(京都大学), 福原崇介(大阪大学), 和氣健二郎(ミノファーゲン製薬), 市野瀬志津子(東京医科歯科大学), 脇田隆字]

#### (15) HCV 感染に伴う細胞微細構造変化の解析

HCV感染に伴う肝組織の微細構造変化については多くの報告があるものの統一的な判断基準はない。SVR症例の肝組織の電顕観察を進め、SVR後F値が改善しない症例で優位に発がんを認めた。また、SVR後も長期にわたりオルガネラ異常が観察され、「post-SVR syndrome」というような病態を見出した。SVR後も継続する指標としてミトコンドリア障害、核膜異常、軽減する指標としてDMVを見出した。

[青柳東代, 松田麻未, 市野瀬志津子(東京医科歯科大), 和氣健二郎(ミノファーゲン製薬), 相崎英樹, 脇田隆字]

#### (16) HCV 生活環に関与するHCV-NS4B結合膜蛋白の同定と解析

NS4B発現細胞からpull-down法によりNS4Bに結合する膜蛋白を精製し、プロテオーム解析、siRNA screeningを行ったところ、複製過程に関与するタンパクとしてPREBおよびSURF4を見出した。PREB、SURF4は複製複合体を含むHCV特有の膜構造物形成に重要な役割を果たしてもと考えられた。

[Lingbao Kong(江西農業大学), 山越智(生物活性物質部), 鈴木哲朗(浜松医科大学), 相崎英樹, 脇田隆字]

(17) スフィンゴ脂質の HCV 複製複合体を含む小胞形成における役割の解析

スフィンゴ脂質合成阻害剤により、HCV 複製が抑制されることを見出した。スフィンゴ脂質が DMV 形成に関わっている可能性が示された。

[グイード ホッサム, 深澤征義(細胞化学部), 花田賢太郎(細胞化学部), 相崎英樹, 脇田隆字]

(18) HCV 生活環に関与する HCV-NS5A 結合膜蛋白の同定と解析

NS5A 発現細胞から pull-down 法により NS5A に結合する膜蛋白を精製し、プロテオーム解析、siRNA screening を行ったところ、翻訳、複製過程に関与するタンパクとして ELAVL1 を見出した。HCV RNA と結合する ELAVL1 は NS タンパク質と結合の有無により、HCV 翻訳・複製を調整しているものと考えられる。

[ガオ ユーティン, 後藤耕司(東大感染症内科), 山越智(生物活性物質部), 小池和彦(東大消化器内科), 鈴木哲朗(浜松医科大学), 相崎英樹, 脇田隆字]

(19) HCV 感染に伴う核膜孔変化の解析

電顕観察により、HCV 感染に伴い核膜孔の増加が観察された。そのメカニズムとウイルス産生に与える影響を調べるため、NS4B, NS5A 発現細胞から pull-down 法により NS4B, NS5A に結合する核膜蛋白を同定した。共通する蛋白に着目し、解析を進める。

[ガオ ユーティン, 青柳東代, 相崎英樹, 山越智(生物活性物質部), 鈴木哲朗(浜松医科大学), 脇田隆字]

(20) HCV 粒子形成に関与する脂肪滴周辺膜蛋白の同定と機能解析

脂肪滴周辺膜のプロテオーム解析、siRNA によるスクリーニングで、HCV 粒子形成に関与する生体膜蛋白として HSD を見出した。HSD は NS5A と結合し、HCV 粒子形成の場である脂肪滴へ導くことが示された。さらに、HSD は脂肪滴の産生にも影響を与えることが判明した。

[フランク ブイーバサゴイチ, 相崎英樹, 深澤征義(細胞化学部), 花田賢太郎(細胞化学部), 本島清人(明治

薬科大学), 鈴木哲朗(浜松医科大学), 脇田隆字]

(21) 肝星細胞の HCV 感染性の解析

肝星細胞の活性化が肝線維化と密接に関連していることから、HCV が肝星細胞に感染増殖するかを明らかにすることは重要な課題である。HCV 感染細胞と星細胞共培養すると HCV が星細胞に移行した。HCVRNA が複製活性を維持したまま、細胞間をエクソゾームを介して移動することを見いだした。

[Zheng Xin, 在津拓馬, 青柳東代, 相崎英樹, 松浦知和(慈恵医大), 鈴木哲朗(浜松医科大学), 脇田隆字]

(22) GL の Autophagy 誘導のメカニズムの解析

慢性 C 型肝炎患者に用いられているグリチルリチンの抗 HCV 作用について検討した。その結果、HCV 生活環のうち、特に感染性粒子形成において強い阻害効果を示した。その阻害効果は PLA2 の抑制と autophagy 亢進によるものの可能性が示唆された。GL の Autophagy 誘導のメカニズム、PLA2IB の HCV 粒子放出のメカニズムについて調べている。

[青柳東代, 松本喜弘(慈恵医大消化器内科), 相崎英樹, 松浦知和(慈恵医大病院中央検査部), 和氣健二郎(ミノファーゲン製薬), 脇田隆字]

(23) 肝炎検査陽性者のフォローアップシステムの構築

肝炎ウイルス感染を知りながら治療を続けていない人も57-120万人も存在すると推定されている。そこで、肝炎ウイルス検査により見いだされた陽性者を専門医療機関へ導き、フォローアップすることを目的にしている。県・市(A 県、東京都 A 市、神奈川県 A 市、愛知県 A 市、静岡県・香川県・福井県の市)をモデル地区として、陽性者をフォローアップした。

[相崎英樹, 飯島尋子(兵庫医大), 石上 雅敏(名古屋大学), 片野義明(名古屋大学), 菊池嘉(国立国際医療研究センター), 工藤正俊(近畿大学), 坂本穰(山梨大学), 島上哲朗(金沢大学), 正木尚彦(国立国際医療研究センター), 吉岡健太郎(藤田保健), 米田政志(愛知医大), 渡邊

綱正(名古屋市立大学),脇田隆字]

(24) 肝炎情報の収集とデータベース構築及び情報発信

肝炎ウイルス感染の予防、肝炎ウイルスキャリア対策、肝癌死亡の減少に貢献することを目的として、肝炎ウイルス感染、病態等を含む国内外の情報等の収集とデータベースの構築、および情報の提供を行って来た。感染研ウイルス第二部のホームページから、一般のヒト、家庭医、専門家向けに、それぞれ適切な内容の情報を発信している。感染症週報「HBV, HCV」を更新し、最新の治療について報告した。

[相崎英樹, 田中純子(広島大),脇田隆字]

(25) 本邦における急性 C 型肝炎のサーベイランス

感染症法に基づくサーベイランス事業で、1999 年から 2013 年間の 14 年間の急性 C 型肝炎の発生動向を調べ報告した。急性 C 型肝炎の発生は 2010 年ころから約 50 症例以下に抑制されていたものの、HIV 陽性同性愛者の性的感染が増加傾向を示し、遺伝子を調べたところ、同じウイルスが蔓延している可能性が示唆された。

[相崎英樹, 砂川富正(感染症疫学センター)、田中純子(広島大),脇田隆字]

(26) HIV 陽性者における急性 C 型肝炎の集団発生について

2012 年、HIV 陽性同性愛者から 5 人の急性 HCV 感染例が見出された。解析の結果、感染源を共有している可能性及び、濃厚かつ繰り返す感染機会を有していた可能性が考えられたため、全国の保健所を通じて、HIV 陽性者に対し HCV 感染予防について啓発を行ったところ、一時的であるが急性肝炎の発生を抑制できた。2014、2016 年に再び発生したことから、継続的な啓発の必要性が示された。

[青柳東代、井戸田一朗(しらかば診療所)、相崎英樹、脇田隆字]

(27) 遺伝子型 2b ウイルスのコアと脂肪滴の局在の検討

遺伝子型 2b 感染細胞内の HCV コアと脂肪滴の局在を免

疫染色し、免疫蛍光法で検出し、蛍光顕微鏡で観察した。その結果、JFH1 のコア蛋白質の大部分が脂肪滴周囲に局在しており、一方 J6/JFH1 と 2b では JFH1 とは異なる局在が見られた。

[Su Su Hmwe, Goki Suda (Hokkaido University), Naoya Sakamoto (Hokkaido University), Michio Imamura (Hiroshima University), Nobuhiko Hiraga (Hiroshima University), Kazuhiko Chayama (Hiroshima University), Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(28) 遺伝子型 3a の患者血清から分離した HCV 株の解析  
フランスの遺伝子型 3a の C 型肝炎患者 16 人の血清から HCV RNA を抽出し、cDNA を合成し、HCV コア領域を含むように PCR を行い、シーケンスした。その HCV 株の遺伝子型 3a(S52)のコンセンサス配列と比較した。その塩基配列を解析した結果、脂肪肝とコアのアミノ酸の配列の関係が確認出来なかった。

[Su Su Hmwe, Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(29) 複製効率の良い遺伝子型 1b(NC1 株)のサブジェノミックレプリコン構築の検討

細胞培養で複製効率の良い遺伝子型 1b のウイルス株は未だに存在しない。Wild type 遺伝子型 1b の RNA をエレクトロポレーション法により肝癌由来の Huh7.5.1 細胞に導入しコロニー形成アッセイを行った。得られた 12 クロノンの塩基配列をシーケンスした結果、NS4B と NS5A 領域に変異を同定した。得られた NS4B と NS5A の変異を wild type のネオマイシン耐性遺伝子を持つサブジェノミックレプリコンに導入し、8 つのコンストラクトを作製した、複製が上昇するかを検討する。

[Su Su Hmwe, Hideki Aizaki, Takaji Wakita]

(30) HCV E1(282-311)領域に対する抗体の樹立

アミノ酸配列から抗原性の高いと予想される 12 アミノ酸 (293-304) と 30 アミノ酸 (282-311) のペプチドをウサギに免疫してポリクローナル抗体を作製した。作製した抗体の反応性について組換えタンパク質を用いて解析したところ、12 アミノ酸の抗体は主に E1(282-311)の真ん中、30 アミノ酸

の抗体はC端側の配列を認識した。ウサギ血清から精製したIgGを用いてウイルス感染の阻害実験を行ったところ、12アミノ酸の抗体については感染阻害効果が観察された。12アミノ酸の領域は抗体による感染阻害のターゲットとなり得ると考えられる。

[渡邊則幸、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字]

### (31)Gaussia Luciferase (GLuc)を組み込んだ HCV 感染系の樹立

HCV 培養系で最も増えるキメラ HCV である Jc1 (J6 株の構造領域+JFH-1 株の非構造領域)に分泌型ルシフェラーゼの GLuc を組み込んだ Jc1-GLuc を作製して、その性状を解析した。Jc1-GLuc については、Jc1 の非構造領域の p7とNS2の切断部位に GLuc と自己切断配列を付加した遺伝子配列を組み込んで作製した。鋳型となる Jc1-GLuc プラスミドから RNA を合成し、細胞にトランスフェクションしてウイルスの増殖について解析した。培養上清中の HCV コア量、ルシフェラーゼ活性を継時的に測定して、ウイルスの増加を確認した。更に、力価は低いウイルスの感染性についても確認できた。

[渡邊則幸、脇田隆字]

### (32)適応変異を獲得した Jc1-GLuc の樹立

Jc1-GLuc ウイルスが自己の増殖を上昇させるような適応変異を獲得するかを調べるために長期培養を行った。細胞に合成 RNA をトランスフェクション後、継代培養して継時的に培養上清中のコアタンパク質量を測定した。トランスフェクション後 5 日から 15 日にかけて培養上清中のコアタンパク質が 100 倍以上に上昇した。更に、ルシフェラーゼ活性、ウイルスの感染力価についてもコアと同様に上昇した。遺伝子の全長配列を調べたが Jc1 配列にアミノ酸変異はなく、GLuc 配列中に 9 アミノ酸の欠損が観察された。9 アミノ酸を欠失する Jc1-GLuc を作製してこの欠失がコア量の上昇に関係するのかを調べる予定である。

[渡邊則幸、脇田隆字]

### (33)遺伝子型 4a の C 型肝炎ウイルス感染系の構築

主にエジプトに感染者が存在する遺伝子型 4aHCV のウ

イルス感染系の構築を試みた。ED41 レプリコンの適合変異を有する全長配列を有するプラスミドを構築して全長 RNA を合成し、Huh7.5.1 細胞にトランスフェクションした。一部の構築では培養上清中に感染性ウイルスの産生を認めた。さらに naïve 細胞への感染を繰り返して、感染性の増強を観察した。現在ウイルスゲノム上の適合変異について解析している

[相原那々子、渡邊則幸、伊達朋子、相崎英樹、脇田隆字]

### (34)Cohnの血漿分画法によるC型肝炎ウイルスの不活化の評価

血漿分画製剤はプール血漿をCohnエタノール分画法により製造される。これまでグロブリン、アルブミン製剤におけるHCV感染事故はほとんどない。実験室レベルでのCohnエタノール分画法を確立し、調べた結果、17%エタノール処理により、グロブリン分画(上清)には感染性HCVが分画されないことを明らかにした。本年度はその理由を調べるため、各画分をショ糖密度勾配遠心により密度の違いで分画した。その結果、17%エタノール処理により、感染性HCVは処理前よりも比重が大きい画分に分画されることが明らかとなった。

[下池貴志、野島清子\*, 脇田隆字, 岡田義昭\*\* \*: 血液・安全性研究部, \*\*: 埼玉医科大学]

## 4. E型肝炎ウイルス(HEV)に関する研究

### (1) HEV レセプター候補と大・小ウイルス様中空粒子 (VLP) の結合特性解析。

HEV レセプター候補と感染性ウイルスとの結合確認の前段階として、大・小サイズの VLP との結合能について検討した。大きいサイズの VLP は遺伝子を内包し感染性ウイルスにより構造が近く、小さいサイズの VLP は遺伝子を内包していないことから、両者とレセプター候補の間には結合特性に差異があることが予想された。今回の解析により、大きいサイズの VLP のみがレセプター候補との結合能を有することが確認された。当該候補の形態学的に感染性ウイルスに近い粒子に対する結合能の存在は、感染性粒子との結合能を示唆している。

[塩田智之, 李天成, 吉崎佐矢香, 西村順裕, 清水博之, \* 下島昌幸, \* 西條政幸, 脇田隆宇, 石井孝司 (\* ウイルス第一部) ]

(2) 抗レセプター候補抗体による HEV 感染阻害効果確認を目指した抗体作製。

HEV 感染実験には長期間を要し、大量の抗体が必要な為、レセプター候補組換え抗原を用いたウサギ抗体の作製を行ったが、感染阻害が認められなかった。原因として、ヒトとウサギの当該因子の相同性が高く、生理学的に重要なエピトープの相同性も高いと考えられ、感染を効果的に阻害する抗体の作製が困難であったと考えられた。そこで、相同性の低いニワトリを用いて抗体作製を行った。今後、ニワトリ抗体での感染阻害効果確認を目指す。

[塩田智之, 李天成, 吉崎佐矢香, 西村順裕, 清水博之, \* 下島昌幸, \* 西條政幸, 脇田隆宇, 石井孝司 (\* ウイルス第一部) ]

(3) CRISPR/Cas9 による感受性細胞ゲノム編集による候補因子削除後の検証。

複数のノックアウト細胞クローンにおいて、候補因子全長および空のベクターを導入した所、感受性復帰よりもむしろ更に抑制される現象が確認されている。詳細な機構は不明であるが、ノックアウトによって不完全な候補因子発現形態が残存した場合、ノックインにおける発現が阻害されると同時に、より高次の機能的発現抑制を引き起こしていることが考えられる。残りのクローンにおいても実験を行い、感受性を確認を目指す。

[塩田智之, 李天成, 吉崎佐矢香, 西村順裕, 清水博之, \* 下島昌幸, \* 西條政幸, 脇田隆宇, 石井孝司 (\* ウイルス第一部) ]

(4) HEV レプリコンを用いたウイルス増殖阻害物質のスクリーニング

HEV レプリコン RNA を導入した細胞に薬剤ライブラリーを添加し、レプリコンのレポーター遺伝子の発現を指標と

して阻害剤のスクリーニングを行った。数種の化合物ライブラリーを用いて本レプリコンの増殖を抑制する化合物のスクリーニングを行ったところ、ウイルス増殖阻害活性を持つ化合物の一部に共通の作用機序が存在することを見出した。また、植物エキストラライブラリーの一部にも強い増殖抑制活性を持つものが存在するため、これらのエキスの分画を行い活性成分の単離を行っている。[吉崎佐矢香, 脇田隆宇, 石井孝司]

(5) HEV 非構造蛋白およびプロテアーゼ領域のコムギ胚芽無細胞系での発現と活性検出

HEV の非構造蛋白は、複製に必須な複数の酵素からなるポリプロテインである。また、プロテアーゼと推定される領域は、活性中心に変異を導入するとレプリコンの複製が見られなくなることからウイルス増殖に必須と考えられるが、非構造蛋白のプロセッシング機構等については不明のままであり、また毒性が強く大腸菌や哺乳類細胞での発現が極めて困難である。そのため、非構造蛋白をコードする ORF1 全長とプロテアーゼと推定される領域の2種について、コムギ胚芽無細胞系での発現を行い活性を検討した。その結果、ORF1 全長蛋白から弱いプロテアーゼ活性を確認することができた。今後、プロテアーゼ活性発現領域の同定と、ウイルス複製に果たす役割について検討する。[高橋宏隆, 澤崎達也 (愛媛大学プロテオサイエンス研究センター)、吉崎佐矢香, 脇田隆宇, 石井孝司]

(6) リバースジェネティクス法を用いた DcHEV 感染クローンの作製及び人獣共通感染症の可能性

本研究では、in vitro で全長 DcHEV RNA を合成し、DcHEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションした。経時的に培養上清を採取し、ウイルス抗原と RNA を ELISA および RT-PCR により測定し、ウイルス増殖の有無を確認した。全長 DcHEV RNA の感染性および霊長類への感染性を評価するため、培養上清をカニクイザルに接種した。接種後一ヶ月から培養上清から DcHEV RNA および抗原が検出された。この培養上清を接種したカニクイザルの血清、糞便から DcHEV が検出された。

以上の結果により DcHEV 全長 RNA が感染性を有することが明らかになり、DcHEV の人獣共通感染の可能性も示唆された。

[李 天成、吉崎 佐矢香、\*網 康至、\*須崎百合子、脇田隆字 (\*動物管理室)]

#### (7) Rat HEV ORF4 の機能の解析

Rat HEV の遺伝子構造は他の HEV と類似するが、Ferret HEV と同じ ORF4 というユニークなフレームを持っている。現在、ORF4 の機能はまだ明らかにされていない。本実験では Rat HEV (ドイツ株) rat HEV を用いて ORF4 のスタートコドン無くした全長 cDNA を作製したうえ、in vitro で RNA を合成した。ORF4 を持たない rat HEV RNA をヒト肝癌細胞 PLC/PRF/5 にトランスフェクションし、また、ヌードラット (Long Evans-rnu/rnu) 肝臓に直接に接種して、ウイルス増殖の変化を観察した。ORF4 を持たない rat HEV の増殖能が最初少し低いが、だんだん正常にもどった。塩基配列解析の結果、ORF4 のスタートコドンが回復した。

[李 天成、吉崎 佐矢香、\*網 康至、\*須崎百合子、脇田隆字 (\*動物管理室)]

#### (8) Nude rat と Rat HEV をモデルにした抗ウイルス製剤の評価

Rat HEV をヌードラット (Long-Evans rnu/rnu) に感染させると、rat HEV の持続感染を呈する。この持続感染モデルは、薬剤の抗ウイルス効果の観察に好適であると考えられる。本実験では rat HEV を感染させたヌードラットにリバビリンを経口投与し、抗ウイルス効果を観察した。その結果、リバビリンの経口投与による抗ウイルス作用が確認された。抗ウイルス作用は投与量に相関していた。また、リバビリンによる副作用も確認された。リバビリン投与によるウイルス変異の有無を確認している。

[李 天成、吉崎 佐矢香、\*網 康至、\*須崎百合子、脇田隆字 (\*動物管理室)]

#### (9) Genotype 6 HEV の感染性の検討

Genotype 6 HEV は日本のイノシシから分離された新型 HEV であり、ヒト由来 HEV と同じ Species に分離されていてヒトへの感染性が疑われている。それを確認するため、G6 HEV RNA 陽性の肝臓乳剤をカニクイザルに静脈接種し、経時的に採血採便し、ウイルス抗原と RNA を ELISA あるいは RT-PCR により測定した。その結果、接種後三ヶ月経過時点ではカニクイザルの血清糞便から G6 HEV が検出されなかった。抗体も陰性であった。現在感染材料を再調達して再試験準備中である。

[李天成、吉崎 佐矢香、\*網 康至、\*須崎百合子、\*\*岡本宏明、脇田 隆字、(\*動物管理室、\*\*自治医大)]

#### (10) Rabbit E 型肝炎ウイルス様粒子の作製およびその応用

Rabbit HEV はウサギから検出された新型 HEV であり、G3 に分類されているにもかかわらず、ヒト由来 G3 HEV に異なる宿主を持っている。Rabbit HEV 抗原性解析のため、本研究では Rabbit HEV の構造蛋白を組換えバキュロウイルスで発現し、ウイルス様粒子の作成を試みた。N 末端 13aa あるいは 111aa を欠失した DcHEV ORF2 を RT-PCR 法で増幅した。定法どおり作製した組換えバキュロウイルスを昆虫細胞 Tn5 細胞に感染させ、構造蛋白を発現し、ウイルス様粒子 (HEV-LPs) の作製に成功した。Rabbit HEV-LPs を用いて抗体検出 ELISA 法を樹立した。現在、従前既知の G1, G3, G4 G5, G6, DcHEV の抗原性と比較し、Rabbit HEV の抗原性を同定している。

[白慧敏、李天成、\*片岡紀代、\*\*網 康至、\*\*須崎百合子、脇田隆字 (\*感染病理部、\*\*動物管理室)]

#### (11) 中国広東省における rat HEV 全長ゲノムのクローニング及び配列の解析

ラット及びスunksの糞便を出発材料として、rat HEV 全長配列を解析した。Rat HEV RNA 陽性便を 10%便乳剤に作成し、RNA を抽出した。RT-PCR 法を用いて Rat HEV 全長配列の増幅を試みた。全長配列及びアミノ酸

の解析により、中国広東省に生息するラットとスナク  
ス由来の rat HEV は高いホモロジーを持っているこ  
とが明らかになっていた。

[李天成、\*Ke Changwen、\*\*網康至、\*\*須崎百合子、  
脇田隆字 (\*中国広東 CDC、\*\*動物管理室)]

#### (12) 新しいフェレット E 型肝炎ウイルスの全長配列解 析および病原性の検討

本研究ではアメリカから離乳前のフェレットを 9 匹購  
入し、経時的に採血と採便を行ない、血液中のウイル  
ス抗原、抗体、ウイルス遺伝子、便中のウイルス抗原、  
抗体、およびウイルス遺伝子を測定した。また、血中  
の ALT/AST、 $\gamma$ GTP を測定することにより、ウイルスの  
感染の特徴および病原性等を検討した。離乳前のフェ  
レットもすでに ferret HEV に感染され、フェレット  
における ferret HEV の感染は不顕性感染、急性肝炎、  
持続感染という 3 つのパターンをとることが示された。  
また、全長配列を解析した結果、これらのフェレット  
に感染した Ferret HEV は独自のクラスタを形成し、  
Ferret HEV の遺伝子の多様性が示唆された。

[李天成、吉崎佐矢香、\*片岡紀代、\*\*網康至、\*\*須  
崎百合子、Yen Hai Doan、芳賀慧、石井孝司、\*\*\*武  
田直和、脇田隆字 (\*感染病理部、\*\*動物管理室、  
\*\*\*\*大阪大学微生物病研究所、日本・タイ感染症共同  
研究センター)

#### (13) 各加熱条件で処理した HEV の感染性低減効果につ いての評価

HEV G3 又は G4 を各々の温度と時間で加熱後、  
PLC/PRF/5 細胞に感染させ、  
HEV ゲノム RNA 量を定量し、3 週間後に HEV ゲノム  
RNA が検出できるか否かで HEV の加熱による不活化条  
件を評価した。その結果、厚生労働省が提唱する 63°C、  
30 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性が失われていた。  
更に、65°C、5 分間の加熱では、G3、G4 共に感染性は失  
われていたが、65°C、1 分間の加熱では、G3、G4 共に感  
染性は保持されていた。一方で、70°C、5 分間の加熱で  
は、G3、G4 共に感染性が失われていたが、70°C、1 分間

の加熱では、G3 では感染性は不活化されたが、G4 では  
感染性を保持していた。

[杉山 隆一、\*今川 稔文、塩田 智之、李 天成、吉崎 佐矢  
香、石井 孝司、脇田 隆字 (\* 浜松医科大学)]

#### (14) 各加熱条件で処理した HEV 混合豚肉から抽出した HEV の感染性低減効果についての評価

HEV G3 又は G4 を豚挽肉と混ぜ、各々の温度と時間で  
加熱後、ウイルスを回  
収し、PLC/PRF/5 細胞に感染させ、3 週間後に培養上清  
から HEV ゲノム RNA が検出できるか否かで、豚挽肉に混  
入する HEV の加熱による不活化条件を評価した。その結  
果、厚生労働省が提唱する 63°C、30 分間の加熱では、  
G3、G4 共に感染性が失われていたが、63°C、5 分間の加  
熱では、不活化されなかった。更に、70°C、5 分間の加熱  
では、G3、G4 共に感染性が失われていたが、70°C、1 分  
間の加熱では、G3、G4 共に感染性を保持していた。また、  
65°C、5 分間の加熱では、G3 では感染性は不活化された  
が、G4 では感染性を保持していた。

[杉山 隆一、\*今川 稔文、塩田 智之、李 天成、吉崎 佐矢  
香、石井 孝司、脇田 隆字 (\* 浜松医科大学)]

#### その他のウイルスに関する研究

##### (1) フェレットからフェレットコロナウイルスの解析 および全長配列の解析

アメリカから輸入した 63 頭のフェレットから ferret  
systemic coronavirus (FRSCVs) と ferret enteric  
coronaviruses (FRECVs) の二種類の Ferret  
coronavirus が検出された。FRSCV の陽性率は 34.9%  
(22/63)、FRECV の陽性率は 84.1% (53/63) だった。  
さらに初めて二株の FRSCV の全長配列の解析に成功  
した。

[李天成、吉崎佐矢香、\*片岡紀代、\*\*網康至、\*\*須崎  
百合子、Yen Hai Doan、\*\*\*武田直和、脇田隆字 (\*  
感染病理部、\*\*動物管理室、\*\*\*\*大阪大学微生物病研  
究所、日本・タイ感染症共同研究センター)

##### (2) 一回感染性ウイルスを用いたフラビウイルス属中和ア

ッセイ系の開発

フラビウイルスの血清診断法は、ELISA 法による抗体検査はウイルス間で交差反応を示す事が問題である一方、より交差反応が低い中和アッセイ法は、感染性ウイルスが必要であり、それを取り扱う施設にも制限がある上に煩雑な操作を必要とし、一度に多くの検体を調べる事は難しい。そこで、生のウイルスの代替として中和アッセイに用いる事が可能な1回感染性ウイルス(SRIPs)を利用して、既存の方法に代わる安全かつ簡便な中和アッセイ系を開発した。デングウイルス由来のレポーター遺伝子を導入した非構造領域のプラスミドと、構造領域遺伝子に日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、ジカウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス等を用い、各ウイルスの外皮を持つ SRIPs を作製した。

[松田麻未, 山中敦史(タイ,マヒドン大), 小西英二(タイ,マヒドン大), 高崎智彦(神奈川県衛生研), 鈴木亮介]

(3) 各種フラビウイルス特異的なマウス血清の作製

日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルス、ジカウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス等の prME 領域を発現するプラスミドをマウスに免疫し、各ウイルスに特異的な抗体の誘導を行った。これらの血清は一部では交差反応を示すものの、免疫したフラビウイルスに対して最も強い中和活性を示した。また日本脳炎ウイルスとジカウイルスの NS1 についても、同様に免疫を行い、感染細胞の染色に使用可能な血清を得た。さらに一部において、モノクローナル抗体の取得を試みている。

[松田麻未, 矢藤慶悟, 別所知明 (デンカ生研), 桑原三和 (デンカ生研), 山崎誠(デンカ生研), 小西英二(タイ,マヒドン大), 高崎智彦(神奈川県衛生研), 鈴木亮介]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Agbemabiese CA, Nakagomi T, Doan YH, Do LP, Damanka S, Armah GE, Nakagomi O. Genomic constellation and evolution of Ghanaian G2P[4] rotavirus strains from a global perspective. *Infect Genet Evol.* 2016 45: 122-131, 2016

- 2) Ahmed SR, Takemeura K, Li TC, Kitamoto N, Tanaka T, Suzuki T, Park EY. Size-controlled preparation of peroxidase-like graphene-gold nanoparticle hybrids for the visible detection of norovirus-like particles. *Biosensors and Bioelectronics.* 2017 Jan 15;87:558-565.
- 3) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Hoshino S, Hijikata M, Kato T, Wakita T. RNA Exosome Complex Regulates Stability of the Hepatitis B Virus X-mRNA Transcript in a Non-stop-mediated (NSD) RNA Quality Control Mechanism. *J Biol Chem.* 2016 Jul 29;291(31):15958-74.
- 4) Arita M. Poliovirus studies in the endgame of the polio eradication program. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, Jan 24;70: 1-6, 2017
- 5) Chen CL, Huang JY, Wang CH, Tahara SM, Zhou L, Kondo Y, Schechter J, Su L, Lai MM, Wakita T, Cosset FL, Jung JU, Machida K. Hepatitis C virus has a genetically determined lymphotropism through co-receptor B7.2. *Nat Commun.* 2017 Jan 9;8:13882.
- 6) Dahanayaka N., Kiyohara T, Agampodi S., Samaraweera P., Kulasoorya G., Ranasinghe J., Semage S., Yoshizaki S., Wakita T, and Ishii K. Clinical features and transmission pattern of hepatitis A: an experience from a hepatitis A outbreak caused by two co-circulating genotypes in Sri Lanka. *Am J Trop Med Hyg.* 2016 Oct 5;95(4):908-914.
- 7) Do LP, Doan YH, Nakagomi T, Kaneko M, Gauchan P, Ngo CT, Nguyen MB, Yamashiro T, Dang AD, Nakagomi O. Molecular characterisation of wild-type G1P[8] and G3P[8] rotaviruses isolated in Vietnam 2008 during a vaccine trial. *Arch Virol* 161:833-50, 2016
- 8) Doan YH, Haga K, Fujimoto A, Fujii Y, Takai-Todaka R, Oka T, Kimura H, Yoshizumi S, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Shirabe K, Shinomiya H, Sakon N, Katayama K. Genetic analysis of human rotavirus C: The appearance of Indian-Bangladeshi strain in Far East Asian countries. *Infect Genet Evol.* 2016 Jul;41:160-173.

- 9) Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Zeng XL, Qu L, Kou B, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Ramani S, Atmar RL, Estes MK. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science*, 2016 Sep 23;353(6306):1387-1393
- 10) Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Miki M, Doan YH, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Functional receptor molecules CD300lf and CD300ld enable murine norovirus to internalize into host cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016 Oct 11;113(41):E6248-E6255
- 11) Inoue T, Hmwe SS, Shimada N, Kato K, Ide T, Torimura T, Kumada T, Toyoda H, Tsubota A, Takaguchi K, Wakita T, Tanaka Y. Clinical Significance of Two Real-Time PCR Assays for Chronic Hepatitis C Patients Receiving Protease Inhibitor-Based Therapy. *PLoS One*. 2017 Jan 24;12(1):e0170667.
- 12) Iritani N, Yamamoto SP, Abe N, Kubo H, Oka T, Kaida A. Epidemics of GI.2 sapovirus in gastroenteritis outbreaks during 2012-2013 in Osaka City, Japan. *J Med Virol*. 2016; 88:1187-93.
- 13) Kai Y, Hikita H, Morishita N, Murai K, Nakabori T, Iio S, Hagiwara H, Imai Y, Tamura S, Tsutsui S, Naito M, Nishiuchi M, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Yamada R, Oze T, Yakushijin T, Hiramatsu N, Sakamori R, Tatsumi T, Takehara T. Baseline quasispecies selection and novel mutations contribute to emerging resistance-associated substitutions in hepatitis C virus after direct-acting antiviral treatment. *Sci Rep*. 2017 Jan 30;7:41660.
- 14) Kaneko S, Kakinuma S, Asahina Y, Kamiya A, Miyoshi M, Tsunoda T, Nitta S, Asano Y, Nagata H, Otani S, Kawai-Kitahata F, Murakawa M, Itsui Y, Nakagawa M, Azuma S, Nakauchi H, Nishitsuji H, Ujino S, Shimotohno K, Iwamoto M, Watashi K, Wakita T, Watanabe M. Human induced pluripotent stem cell-derived hepatic cell lines as a new model for host interaction with hepatitis B virus. *Sci Rep*. 2016 Jul 8;6:29358.
- 15) Karandikar UC, Crawford SE, Ajami NJ, Murakami K, Kou B, Ettayebi K, Papanicolaou GA, Jongwutiwes U, Perales MA, Shia J, Mercer D, Finegold MJ, Vinjé J, Atmar RL, Estes MK. Detection of human norovirus in intestinal biopsies from immunocompromised transplant patients. *J Gen Virol*. 97(9): 2291-2300 (2016)
- 16) Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, Makino K. Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF. *Neurology: Clinical Practice*. <http://cp.neurology.org/content/early/2016/11/04/CJ.0000000000000311.short>, 2016
- 17) Kinoshita W, Ogura N, Watashi K, Wakita T. Host factor PRPF31 is involved in cccDNA production in HBV-replicating cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Jan 22;482(4):638-644.
- 18) Koizumi Y, Ohashi H, Nakajima S, Tanaka Y, Wakita T, Perelson AS, Iwami S, Watashi K. Quantifying antiviral activity optimizes drug combinations against hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Feb 21;114(8):1922-1927.
- 19) Lee EM, Alsagheir A, Wu X, Hammack C, McLauchlan J, Watanabe N, Wakita T, Kneteman NM, Douglas DN, Tang H. Hepatitis C Virus-Induced Degradation of Cell Death-Inducing DFFA-Like Effector B Leads to Hepatic Lipid Dysregulation. *J Virol*. 2016 Mar 28;90(8):4174-85.
- 20) Leong CR, Funami K, Oshiumi H, Mengao D, Takaki H, Matsumoto M, Aly HH, Watashi K, Chayama K, Seya T. Interferon-stimulated gene of 20 kDa protein (ISG20) degrades RNA of Hepatitis B virus to impede the replication of HBV in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 7(42):68179-68193, 2016.
- 21) Li T.C., Yang T., Yoshizaki S., Ami Y., Suzaki Y., Ishii K., Kishida N., Shirakura M., Asanuma H., Takeda N. and Wakita T. Ferret Hepatitis E Virus

- Infection Induces Acute Hepatitis and Persistent Infection in Ferrets. *Veterinary Microbiology*, 183: 30-36 (2016)
- 22) Li TC, Zhou X, Yoshizaki S, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Production of Infectious Dromedary Camel Hepatitis E Virus by a Reverse Genetic System: Potential for Zoonotic Infection. *J Hepatol*. 2016 Dec;65(6):1104-1111.
- 23) Matsumura T, Sugiyama N, Murayama A, Yamada N, Shiina M, Asabe S, Wakita T, Imawari M, Kato T. Antimicrobial peptide LL-37 attenuates infection of hepatitis C virus. *Hepatol Res*. 2016 Aug;46(9):924-32.
- 24) Miyoshi M., Kakinuma S., Tanabe Y., Ishii K., Li T.C., Wakita T., Tsuura Y., Watanabe H., Asahina Y., Watanabe M. and Ikeda T. A Case of Chronic Hepatitis E Infection in a Persistently Immunosuppressed Patient Unable to be Eliminated after Ribavirin Therapy. *Internal Medicine*, 55: 2811-2817 (2016)
- 25) Motoya T., Nagata N., Komori H., Doi I., Kurosawa M., Keta T., Sasaki N and Ishii K. The high prevalence of hepatitis E virus infection in wild boars in Ibaraki Prefecture, *Japanese Journal of Veterinary Medical Science*, 77: 1705-1709 (2016)
- 26) Murayama A, Sugiyama N, Suzuki R, Moriyama M, Nakamura N, Mochizuki H, Wakita T, Kato T. Amino Acid Mutations in the NS4A Region of Hepatitis C Virus Contribute to Viral Replication and Infectious Virus Production. *J Virol*. 2017 Jan 31;91(4). pii: e02124-16.
- 27) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Completion of the Entire Hepatitis C Virus Life Cycle in Vero Cells Derived from Monkey Kidney. *MBio*. 2016 Jun 14;7(3). pii: e00273-16.
- 28) Nakagomi T, Do LP, Agbemabiese CA, Kaneko M, Gauchan P, Doan YH, Jere KC, Steele AD, Iturriza-Gomara M, Nakagomi O, Cunliffe NA. Whole-genome characterisation of G12P[6] rotavirus strains possessing two distinct genotype constellations co-circulating in Blantyre, Malawi, 2008. *Arch Virol* 162: 213-226, 2017
- 29) Nakajima S, Watashi K, Ohashi H, Kamisuki S, Izaguirre-Carbonell J, Kwon AT, Suzuki H, Kataoka M, Tsukuda S, Okada M, Moi ML, Takeuchi T, Arita M, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Hasegawa H, Takasaki T, Sugawara F, Wakita T. Fungus-Derived Neoechinulin B as a Novel Antagonist of Liver X Receptor, Identified by Chemical Genetics Using a Hepatitis C Virus Cell Culture System. *J Virol*. 90: 9058-74. doi: 10.1128/JVI.00856-16, 2016.
- 30) Nitta S, Asahina Y, Matsuda M, Yamada N, Sugiyama R, Masaki T, Suzuki R, Kato N, Watanabe M, Wakita T, Kato T. Effects of Resistance-Associated NS5A Mutations in Hepatitis C Virus on Viral Production and Susceptibility to Antiviral Reagents. *Sci Rep*. 6: 34652. doi: 10.1038/srep34652, 2016.
- 31) Noguchi A, Ito H, Miura S, Fujii Y, Katayama K, Nakagomi T, Nakagomi O, Takahashi T.: Regional Variations in the Incidence of Rotavirus Hospitalizations between Children Living in Defined regions of Akita and Kyoto Prefectures, Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2017, 70: 167-170.
- 32) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif LJ, Asai A. Discovery and Synthesis of Heterocyclic Carboxamide Derivatives as Potent Anti-norovirus Agents. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2016 May; 64:465-75.
- 33) Oka T, Doan YH, Haga K, Mori K, Ogawa T, Yamazaki A. Genetic Characterization of Rare Genotype GII.5 Sapovirus Strain Detected from a Suspected Food-Borne Gastroenteritis Outbreak among Adults in Japan in 2010. *Jpn J Infect Dis* 70: 223-224, 2017

- 34) Oka T, Lu Z, Phan T, Delwart EL, Saif LJ, Wang Q. Genetic Characterization and Classification of Human and Animal Sapoviruses. *PLoS One*. 2016 May; 26;11:e0156373.
- 35) Oka T, Doan YH, Haga K, Mori K, Ogawa T, Yamazaki A. Genetic characterization of rare genotype GII.5 sapovirus strain detected from food-borne suspected gastroenteritis outbreak among adults in Japan, 2010. *Jpn J Infect Dis*. 2017 Mar 24;70(2):223-224.
- 36) Okamura H, Nio Y, Akahori Y, Kim S, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Fatty acid biosynthesis is involved in the production of hepatitis B virus particles. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Jun 17;475(1):87-92.
- 37) Qu L, Murakami K, Broughman JR, Lay MK, Guix S, Tenge VR, Atmar RL, Estes MK. Replication of Human Norovirus RNA in Mammalian Cells Reveals Lack of Interferon Response. *J Virol*, 90(19): 8906-8923 (2016)
- 38) Puig-Basagoiti F, Fukuhara T, Tamura T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Yamamoto S, Mori H, Kurihara T, Okamoto T, Aizaki H, Matsuura Y. Human Cathelicidin Compensates for the Role of Apolipoproteins in Hepatitis C Virus Infectious Particle Formation. *J Virol*. 2016 Sep 12;90(19):8464-77.
- 39) Ricco G, Bonino F, Lanza M, Scatena F, Alfieri CM, Messa P, Marchisio E, Mascolo G, Romanò L, Galli C, Li TC, Wakita T, Miyamura T, Brunetto MR. New immunoassays for total, IgA and IgM antibodies against hepatitis E virus: Prevalence in Italian blood donors and patients with chronic liver or kidney diseases. *Dig Liver Dis*. 2016 May;48(5):536-41.
- 40) Ruchusatsawat K., Wongpiyabovorn J., Kawidam C., Thiemsing L., Sangkitporn S., Yoshizaki S., Tatsumi M., Takeda N. and Ishii K. An Outbreak of Acute Hepatitis Caused by Genotype IB Hepatitis A Viruses Contaminating the Water Supply in Thailand. *Intervirology* 59: 197-203 (2017)
- 41) Saga R, Fujimoto A, Watanabe N, Matsuda M, Hasegawa M, Watashi K, Aizaki H, Nakamura N, Tajima S, Takasaki T, Konishi E, Kato T, Kohara M, Takeyama H, Wakita T, Suzuki R. Bivalent vaccine platform based on Japanese encephalitis virus (JEV) elicits neutralizing antibodies against JEV and hepatitis C virus. *Sci Rep*. 2016 Jun 27;6:28688.
- 42) Sato H, Yokoyama M, Nakamura H, Oka T, Katayama K, Takeda N, Noda M, Tanaka T, Motomura K. Evolutionary Constraints on the Norovirus Pandemic Variant GII.4\_2006b over the Five-Year Persistence in Japan. *Front Microbiol*. 2017 Mar 13;8:410.
- 43) Shimizu H. Development and introduction of inactivated poliovirus vaccines derived from Sabin strains in Japan. *Vaccine* 34: 1975-1985, 2016
- 44) Shimizu K, Hamaguchi S, Ngo CC, Li TC, Ando S, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Koma T, Isozumi R, Tsuda Y, Fujita H, Pham TT, LE MQ, Dang AD, Nguyen TQ, Yoshida LM, Ariyoshi K, Arikawa J. Serological evidence of infection with rodent-borne hepatitis E virus HEV-C1 or antigenically related virus in humans. *J Vet Med Sci*. 2016; 78: 1677-1681.
- 45) Shirasago Y, Shimizu Y, Tanida I, Suzuki T, Suzuki R, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M, Fukasawa M. Occludin-Knockout Human Hepatic Huh7.5.1-8-Derived Cells Are Completely Resistant to Hepatitis C Virus Infection. *Biol Pharm Bull*. 2016 May 1;39(5):839-48.
- 46) Suzuki Y, Doan YH, Kimura H, Shinomiya H, Shirabe K, Katayama K. Predicting genotype compositions in norovirus seasons in Japan. *Microbiol Immunol* 60:418-26, 2016
- 47) Suzuki R, Saito K, Matsuda M, Sato M, Kanegae Y, Shi G, Watashi K, Aizaki H, Chiba J, Saito I, Wakita T, Suzuki T. Single-domain Intrabodies against HCV Core Inhibit Viral Propagation and Core-induced NF- $\kappa$ B Activation. *J Gen Virol*. 2016 Apr;97(4):887-92.

- 48) Takeda M, Ikeda M, Satoh S, Dansako H, Wakita T, Kato N. Rab13 Is Involved in the Entry Step of Hepatitis C Virus Infection. *Acta Med Okayama*. 2016 Apr;70(2):111-8.
- 49) Takemura K, Adegoke O, Takahashi N, Kato T, Li TC, Kitamoto N, Tanaka T, Suzuki T, Park EY. Versatility of a localized surface plasmon resonance-based gold nanoparticle-alloyed quantum dot nanobiosensor for immunofluorescence detection of viruses. *Biosens Bioelectron*. 2017 Mar 15;89(Pt 2):998-1005.
- 50) Tao Z, Wang Z, Lin Z, Wang S, Wang H, Yoshida H, Xu A, Song Y. One-year Survey of human enteroviruses from sewage and the factors affecting virus adsorption to the suspended solids. *Sci Rep* 2016 Aug 11;6:31474
- 51) Tsunematsu S, Suda G, Yamasaki K, Kimura M, Izumi T, Umemura M, Ito J, Sato F, Nakai M, Sho T, Morikawa K, Ogawa K, Tanaka Y, Watashi K, Wakita T, Sakamoto N. Hepatitis B virus X protein impairs  $\alpha$ -interferon signaling via up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3 and protein phosphatase 2A. *J Med Virol*. 2017 Feb;89(2):267-275.
- 52) Tsutsumi T, Okushin K, Enooku K, Fujinaga H, Moriya K, Yotsuyanagi H, Aizaki H, Suzuki T, Matsuura Y, Koike K. Nonstructural 5A Protein of Hepatitis C Virus Interferes with Toll-Like Receptor Signaling and Suppresses the Interferon Response in Mouse Liver. *PLoS One*. 2017 Jan 20;12(1):e0170461.
- 53) Yamada N, Sugiyama R, Nitta S, Murayama A, Kobayashi M, Okuse C, Suzuki M, Yasuda K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K, Wakita T, Kato T. Resistance mutations of hepatitis B virus in entecavir-refractory patients. *Hepatol Comm*. 1: 110-121, 2017.
- 54) Yamamoto S, Fukuhara T, Ono C, Uemura K, Kawachi Y, Shiokawa M, Mori H, Wada M, Shima R, Okamoto T, Hiraga N, Suzuki R, Chayama K, Wakita T, Matsuura Y. Lipoprotein Receptors Redundantly Participate in Entry of Hepatitis C Virus. *PLoS Pathog*. 2016 May 6;12(5):e1005610.
- 55) Yao WL, Ikeda S, Tsukamoto Y, Shindo K, Otakaki Y, Qin M, Iwasawa Y, Takeuchi F, Kaname Y, Chou YC, Chang C, Watashi K, Wakita T, Noda T, Kato H, Fujita T. Establishment of a human hepatocellular cell line capable of maintaining long-term replication of hepatitis B virus. *Int Immunol*. 2017 Mar 1;29(3):109-120.
- 56) Yokokawa H, Higashino A, Suzuki S, Moriyama M, Nakamura N, Suzuki T, Suzuki R, Ishii K, Kobiyama K, Ishii KJ, Wakita T, Akari H, Kato T. Induction of humoral and cellular immunity by immunisation with HCV particle vaccine in a non-human primate model. *Gut*. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312208, 2016.
- 57) Zhang W, Sano N, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Wakita T, Ikeda H, Li TC. Virus-like particles of porcine bocavirus generated by recombinant baculoviruses can be applied to sero-epidemic studies. *Virus Res*. 2016 Jun 2;217:85-91.
2. 和文発表
- 1) 相崎英樹、和気健二郎、脇田隆宇、ここまでわかったC型肝炎ウイルスの感染・複製機構、目覚しく治療効果を発揮するC型肝炎治療、Mebio、メジカルビュー社、東京、2017;34(1);4-13.
- 2) 相崎英樹、脇田隆宇、C型肝炎治療における新時代の幕開け、C型肝炎ウイルスの複製・増殖のメカニズム、医薬ジャーナル、医薬ジャーナル社、大阪 2016;52;67-70
- 3) 相崎英樹、脇田隆宇、肝炎ウイルス検査のすすめ、くらしの豆知識、国民生活センター、2016、200-201.
- 4) 石井孝司 E型肝炎の増加と今後の対策 検査と

- 技術 44: 1138-1141 (2016)
- 5) 板持雅恵, 滝澤剛則, 伊東愛梨, 三浦美穂, 伊藤雅, 小澤広規, 北川和寛, 葛口剛, 後藤明子, 島あかり, 下野尚悦, 高橋雅輝 筒井理華, 中田恵子, 中野守, 西澤佳奈子, 濱崎光宏, 吉富秀亮, 堀田千恵美, 松岡保博, 三好龍也, 吉田弘 平成27年度ポリオ環境水サーベイランス (感染症流行予測調査事業および調査研究) にて検出されたエンテロウイルスについて病原体検出情報 37 (10); 208-209: 2016
- 6) 加藤孝宣, 明里宏文. C型肝炎ワクチンとアジュバント. 次世代アジュバント開発のためのメカニズム解明と安全性評価 (監修: 石井健) シーエムシー出版: 316-322, 2017.
- 7) 加藤孝宣. B型肝炎ウイルス感染の診断. 国立感染症研究所 病原微生物検出情報 (IASR) <特集> 急性B型肝炎 37(8): 8-9, 2016.
- 8) 九十田千子, 渡土幸一. 抗B型肝炎ウイルス薬の現状と新規薬剤開発のアプローチ. 化学療法の領域, 33(1): 73-78, 2017
- 9) 相崎英樹, Zheng Xin, 石井孝司, 脇田隆宇, 砂川富正, 大石和徳, 吉岡健太郎, 特集進化するB型肝炎治療「B型肝炎疫学の最新状況」、消化器・肝臓内科、2017 1(4):390-397.
- 10) 清原知子. 生物製剤, 2. 19 沈降B型肝炎ワクチン, 第17改正日本薬局方解説
- 11) 清水博之 エンテロウイルスD68. 感染炎症免疫 46 : 51-54, 2016
- 12) 清水博之 エンテロウイルス71ワクチン開発の現状. 小児科 57 : 929-936, 2016
- 13) 清水博之 エンテロウイルスD68型. 感染と消毒 23 : 133-137, 2016
- 14) 清水博之 エンテロウイルスと子どもの麻痺. 小児保健研究 76, 208-217 2017
- 15) 清水博之 ポリオ. 化学療法の領域 33 : 40-48, 2017
- 16) 染谷雄一, 塩田智之, 神谷元, 「FSA-EFSA 食品媒介ウイルスに関するワークショップ」への参加報告 Attendance Summary Report of the FSA-EFSA Workshop on Foodborne Viruses 2016、食品衛生研究、2016年12月号:7-15 (査読無・依頼執筆)
- 17) 中村朋史、清水博之 エンテロウイルスD68のウイルス学的特徴. 臨床とウイルス 44 : 72-78, 2016
- 18) 西村順裕 エンテロウイルスと受容体についての最新の理解. 医学のあゆみ 260: 509-512, 2017
- 19) 濱崎光宏 吉田弘 エンテロウイルスのウイルス学的検査診断—血清診断・培養からPCR・次世代シーケンサーまで 小児科 Vol. 57 No. 7 :949-956, 2016
- 20) 藤本嗣人、花岡 希、多屋馨子、清水博之 エンテロウイルス(D68 を含む)の検査方法. 臨床とウイルス 44 : 84-89, 2016
- 21) 政木隆博, 加藤孝宣. 肝炎ウイルス研究の進歩: マイクロ RNA-122 によるC型肝炎ウイルスゲノム複製の制御機構. 竹原徹郎, 金井隆典, 下瀬川徹, 島田光生 編集 Annual Review 消化器 2016. 中外医学社, p.68-73, 2016.
- 22) 渡土幸一, 相崎英樹. B型肝炎ウイルス研究のトピックス. 小児科、57(9): 1107-1111、2016

## II. 学会発表

### 国際学会

- 1) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. The cell line derived from immortalized human hepatocytes was highly susceptible to blood-borne hepatitis B virus in the three-dimensional culture condition. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
- 2) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA quality control decay regulates HBV X-mRNA stability. 2016 International Meeting, molecular Biology of Hepatitis B virus, Poster presentation, September

- 21-24, 2016 Seoul, Korea.
- 3) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Kato T, Wakita T. Non-Stop mediated RNA decay mechanism regulates Hepatitis B virus replication. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.
  - 4) Aly HH, Suzuki J, Watashi K, Chayama K, Wakita T. Precore stop codon regulates the stability of HBV X-mRNA. 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus. 2016/4/9-10. Taipei (Taiwan)
  - 5) Aly HH, Shiromoto F, Kato T, Watashi K, Chayama K, Wakita T. Targeting HBV-X by regulating Non-Stop mediated RNA decay. Japan-Taiwan-Korea research symposium on the study of hepatitis B virus. April 18-20, 2016, Taipei, Taiwan.
  - 6) Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng X, Kao YT, Hossam GE, Zaitu T, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Shimada N, Kato K, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Ultrastructure of hepatocytes in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. The 26th of Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver, ANNUAL MEETING 2017. 2017/2/15-19. Shanghai (China)
  - 7) Aoyagi H, Iijima H, Zheng X, Watashi K, Suzuki S, Masaki T, Shimada N, Tsubota A, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Abnormal hepatocellular organelles remain to be observed in sustained virological response patients. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver Single Topic Conference, Nagasaki, Japan, 2017.
  - 8) Arita M, Nakamura T, Shimizu H. Molecular assays for the detection and characterization of poliovirus isolates and antibodies. Scientific consultation on the safety and containment of new poliovirus strains for vaccine production, clinical/regulatory testing and research. NIBSC, Potters Bar, United Kingdom, 7 July, 2016
  - 9) Ariumi Y, Watashi K, Wakita T. DDX3 and INI1/hSNF5 restrict HBV replication through alteration of subcellular localization of HBx. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
  - 10) Date T, Aihara N, Watanabe N, Aizaki H, Sugiyama M, Mizokami M, William IV Delaney, Guofeng Cheng, Wakita T. Infectious Genotype 4a Hepatitis C Virus in Cell Culture. APASL STC. Kaohsiung, Taiwan, June 10-12, 2016 ポスター
  - 11) Doan YH, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Oka T, Mukherjee A, Suzuki Y, Imamura D, Shinoda S, Chawla-Sarkar M, Katayama K. The difference of rotavirus profile between Japan and India: implications for the effectiveness of rotavirus vaccine (Poster). The 12th International Rotavirus Symposium, Melbourne, Australia, 7-9 September, 2016
  - 12) Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Ramani S, Zeng X, Qu L, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Atmar RL, Estes MK. Strain-Specific Human Norovirus Replication in Biologically Relevant Human Enteroid Cultures. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.
  - 13) Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Ramani S, Zeng X, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Atmar RL, Estes MK. Human Noroviruses Replicate in Stem Cell-Derived Human Intestinal

- Enteroids. NoroCORE Full Collaborative & Stakeholders Meeting. Apr 2016, Crystal City, USA.
- 14) Fujii K, Sudaka Y, Imura A, Takashino A, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike K. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in SCARB2-dependent infection. Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016
- 15) Fujimoto A, Haga K, Sugimoto S, Sato T, Doan YH, Miki M, Todaka R, Katayama K. Cultivation of Human Norovirus using Human Duodenal Organoids. 6 th International Calicivirus Conference, Georgia, USA, 9-13 October, 2016
- 16) Fukano K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. Establishment of the method for evaluating molecular interaction between hepatitis B virus entry inhibitors and sodium taurocholate cotransporting polypeptide. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 17) Fukasawa M, Shimizu Y, Shirasago Y, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M. Identification of HBV entry inhibitors, based on the cyclosporin structure. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto, Japan, Oct11-15, 2016 ポスター
- 18) Gewaid HE, Aoyagi H, Watashi K, Suzuki R, Aly HH, Kumajai K, Yamaji T, Fukasawa M, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Hanada K, Wakita T, Aizaki H. Sphingomyelin is a component in the membranous replication factories. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 19) Ashiba H, Sugiyama Y, Wang X, Shirato H, Higo-Moriguchi K, Taniguchi K, Ohki Y, Fujimaki M. Detection of norovirus virus-like particles using a surface plasmon resonance-assisted fluoroimmunosensor optimized for quantum dot fluorescent labels. Biosensors and Bioelectronics, 93, 260-266, 2017
- 20) Haga K, Fujimoto A, Doan YH, Takai-Todaka R, Miki M, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Identification of the functional receptor for murine norovirus. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.
- 21) Haga K, Fujimoto A, Doan YH, Takai-Todaka R, Miki M, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Identification of the functional receptor for murine norovirus . 6 th International Calicivirus Conference, Georgia, USA, 9-13 October, 2016
- 22) Hikita H, Kai Y, Tatsumi T, Morishita N, Yamada R, Yakushijin T, Kondo Y, Kato T, Suemizu H, Sakamori R, Takehara T. Both selection from quasispecies and new mutation during treatment are involved in emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.
- 23) Imagawa T., Li T.C., Shiota T., Yoshizaki S., Ishii K. and Wakita T. Heat inactivation of Hepatitis E virus. The 64th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Sapporo, Japan, October 23-25, 2016
- 24) Ishii K. Epidemiological and genetic analyses of recent hepatitis A virus infection in Japan. The 10th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention. Beijing, China, December 19-20, 2016

- 25) Ishii K. Epidemiology and molecular genetic analysis of hepatitis A in Japan. 中日合作交流成果汇报会, Guangzhou, China, December 6, 2016
- 26) Ito K, Yoneda M, Angata K, Watashi K., Wakita T., Tanaka Y, Mizokami M, Narimatsu H. Development of Novel Anti-viral Agents against Hepatitis B Virus by using an siRNA Screening Panel Targeting the Carbohydrate Synthesis System. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 27) Ito K, Yoneda M, Angata K, Watashi K., Wakita T., Tanaka Y, Tong S, Mizokami M, Narimatsu H. Development of Novel Anti-viral Agents against Hepatitis B Virus by using an siRNA Screening Panel Targeting the Carbohydrate Synthesis System. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
- 28) Iwamoto M., Sugiyama M, Suzuki R., Aizaki H., Tanaka Y, Mizokami M, Ohtani N, Wakita T., Watashi K. Hepatitis B virus capsid formation is regulated by microtubules and their posttranslational modification. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 29) Kai Y, Hikita H, Tatsumi T, Murai K, Sakane S, Shiode Y, Nozaki Y, Makino Y, Nakabori T, Saito Y, Tanaka S, Kondo Y, Kato T., Suemizu H, Sakamori R, Takehara T. Quasispecies of HCV is not necessary for emerging resistance-associated substitution of HCV after DAA treatment. AASLD The Liver Meeting 2016, November 11-15, Boston, MA, USA, 2016.
- 30) Kaneko M., Watashi K., Kamisuki S, Iwamoto M., Tsukuda S., Ohashi H., Kawai F, Mizokami M, Park SY, Tanaka Y, Suzuki R., Aizaki H., Sugawara F, Otani N, Wakita T. Vanitaracin A is a novel entry inhibitor of hepatitis B and D viruses through targeting NTCP. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 31) Karandikar UC, Crawford SE, Ajami NJ, Murakami K., Kou B, Ettayebi K, Papanicolaou GA, Jongwutiwes U, Perales M-A, Shia J, Mercer D, Finegold MJ, Vinjé J, Atmar RL, Estes MK. Identifying intestinal cell types that can support replication of human norovirus in intestinal biopsies from immunocompromised patients and intestinal stem cell derived cultures. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.
- 32) Kinoshita H, Arima Y, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Hanaoka N, Fujimoto T, Oishi K, Shimizu H. Detection of Enterovirus D68 Based on the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases System in Japan from 2005 to 2015, Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016
- 33) Kotani O, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H., Sato H, Nagata N. Scaffold virus *in vivo* passages drive the structural evolution of the capsid protein for enhancing replication fitness in neural cells. Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016
- 34) Lee AR., Shimoike T., Wakayama T., and Kishigami S. Phenotypes of Aging postovulatory Oocytes After Somatic Cell Nuclear Transfer in Mice. Cellular Preprogramming 18, 147-154 (2016).
- 35) Masaki T., Kato T., Maezaki Y, Nakamura M, Matsuura T, Wakita T. Hepatitis C virus targets the microRNA-induced silencing complex and attenuates host cellular microRNA functions. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.

- 36) Masaki T, Matsumoto Y, Aizaki H, Nagamori S, Watashi K, Park J, Kanai Y, Kojima S, Wakita T, Matsuura T. Induction of NTCP expression in a human HCC cell line by retinoic acid and its possible effect on host susceptibility to HBV infection. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
- 37) Matsuda M, Yamanaka A, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Wakita T, Suzuki R. Multiple flaviviruses neutralization assay based on single-round infectious particles. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 38) Murakami K, Ettayebi K, Tenge VR, Neill FH, Crawford SE, Atmar RL and Estes MK. Replication of GII.3 human norovirus in human intestinal enteroids. Seventh Annual Frontiers in Digestive Diseases Symposium. Feb 2016, Houston, USA.
- 39) Murakami K, Tenge VR, Ettayebi K, Crawford SE, Neill FH, Ramani S, Zeng X, Atmar RL, Estes MK. Characterization of Active Components in Bile that Enhance GII.3 Human Norovirus Replication in Human Intestinal Enteroids. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.
- 40) Murayama A, Sugiyama N, Wakita T, Kato T. Evaluation of Antiviral Activities of Vitamin D Derivatives in Hepatitis C Virus Lifecycle. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.
- 41) Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Agoh M, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Shimizu H, Hasegawa H. Virulence Of Recent Coxsackievirus B2 Isolates In A Neonatal Mouse Model. Europic 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016
- 42) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa F, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Role of lipid droplets in the emergence of drug resistant virus against direct acting antivirals. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 43) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Zhu C, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif L J and Asai A. Discovery and synthesis of heterocyclic carboxamide derivatives as potent anti-norovirus agents. The 6th International Calicivirus Conference, Savannah, GA, USA. 2016.10.9-13.
- 44) Ohba M, Oka T, Ando T, Arahata S, Ikegaya A, Takagi H, Ogo N, Zhu C, Owada K, Kawamori F, Wang Q, Saif L J and Asai A. Discovery of novel anti-calicivirus agents. The 3rd International Conference on Pharma-Food (ICPF 2016) 2016.11.16-18, Shizuoka
- 45) Oka T. Molecular Epidemiology of Human Sapoviruses The 6th International Calicivirus Conference, Savannah, GA, USA. 2016.10.9-13.)
- 46) Qu L, Murakami K, Broughman JR, Lay MK, Guix S, Tenge VR, Atmar RL Estes MK. Replication of Human Norovirus RNA in Mammalian Cells Reveals a Lack of Interferon Response. Sixth International Conference on Calicivirus. Oct 2016, Savannah, USA.
- 47) Shi G, Matsuda M, Suzuki R, Wakita T, Suzuki T. Critical Role of the Basic Residue Clusters within Domain-I of HCV Core in Interaction with Viral Genome and Particles assembly. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Kyoto, Japan. 2016. 10. 11-15.
- 48) Shimizu H, Vongphrachanh P, Khamphongphane B, Sengkeoprasedth B, Nakamura T, Nishimura Y, Arita M, Wada J, Yoshida H, Schluter WW, Datta SS.

- Outbreak of type 1 vaccine-derived poliovirus in Lao People's Democratic Republic in 2015-2016, European 2016, Switzerland, 4-8 September, 2016
- 49) Shimizu H. NIID Polio GSL activity. 2016 The 6<sup>th</sup> Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016
- 50) Shimizu H. NPV surveillance in Japan, 2015-2016, EV-D68 outbreak in Japan, 2015. The 6<sup>th</sup> Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016
- 51) Shimizu H. Outbreak of type 1 vaccine-derived poliovirus in Lao People's Democratic Republic in 2015-2016. The 6<sup>th</sup> Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016
- 52) Shimizu H. Poliovirus surveillance after the IPV introduction in Japan 2013-2016. The 6<sup>th</sup> Meeting on Vaccine-preventable Diseases Laboratory Networks in the Western Pacific Region. WHO/WPRO, Manila, the Philippines, 12-13 September, 2016
- 53) Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto, Japan, Oct11-15, 2016 口頭発表
- 54) Sugiyama R, Sugiyama N, Murayama A, Tasaka-Fujita M, Yamada N, Nitta S, Masaki T, Ishii K, Ryo A, Wakita T, Kato T. Amino acid substitutions in IFN sensitivity-determining region of HCV-NS5A affect infectious virus production and ISG production. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.
- 55) Suzuki R, Matsuda M, Shimoike T, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Wakita T. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.
- 56) Suzuki R, Matsuda M, Shimoike T, Watashi K, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Wakita T. Activation of protein kinase R by hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 57) Shiota T, Li TC, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Characterization of a hepatitis E virus receptor candidate. HCV2016 - 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto International Conference Center, 2016 October 11
- 58) Toyama M, Hamasaki T, Okamoto M, Ikeda M, Watashi K, Wakita T, Yamashita A, Moriishi K, Sharon A, Baba M. A novel Neplanocin A derivatives selectively inhibit HBV replication. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
- 59) Tsukuda S, Watashi K, Hamada Y, Isogawa M, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Inhibition of HBV entry process through targeting host and viral molecules. 4th Taiwan-Korea-Japan Research Symposium on Hepatitis B Virus. 2016/4/9-10. Taipei (Taiwan)
- 60) Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M,

- Wakita T. Proanthocyanidin and its analogs are new class of HBV and HDV entry inhibitors that target the viral preS1 region. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
- 61) Tsukuda S., Watashi K., Iwamoto M., Suzuki R., Aizaki H., Kojima S, Sugiyama M, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Retinoid inhibitors abolish the host permissiveness to hepatitis B virus infection by modulating the expression of NTCP. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 62) Wakita T. HCV Virology. APASL STC. Kaohsiung, Taiwan, June 10-12, 2016 招待講演
- 63) Watanabe N., Aihara N., Date T., Aly HH., Aizaki H., Wakita T. Identification and analysis of a novel important envelope region required for HCV infection. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Kyoto, Japan, Oct11-15, 2016 ポスター
- 64) Watanabe N., Date T., Aly HH., Aizaki H., Wakita T. Infectious Genotype 4a Hepatitis C Virus in Cell Culture. APASL STC. Kaohsiung, Taiwan, June 10-12, 2016 口頭発表
- 65) Watashi K., Nakajima S., Ohashi H., Kamisuki S., Kwon AT., Suzuki H., Tsukuda S., Suzuki R., Aizaki H., Kato T., Sugawara F., Wakita T. The HCV cell culture system identified fungal-derived neoechinulin B as a novel antagonist of liver X receptor. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. October 11-15, Kyoto, 2016.
- 66) Watashi K., Shimura S., Peel M., Sluder A., Kawai F., Iwamoto M., Tsukuda S., Suzuki R., Aizaki H., Sugiyama M., Park SY., Tanaka Y., Mizokami M., Wakita T. Strategy for hepatitis B and D virus entry inhibition without affecting bile acid transport. 2016 International HBV Meeting The Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. 2016/9/21-24. Suoul (Korea).
- 67) Watashi K. Mechanism of HBV entry and the role of NTCP. APASL Single Topic Conference (STC) - 6th HBV Conference. 2016/12/16-18. Beijing (China)
- 68) Yokokawa H., Midori Shinohara M., Nakamura N., Iwamura T., Suzuki T., Wakita T. Identification and characterization of human monoclonal anti-E2 antibodies cloned from chronic hepatitis C patients. APDW2016, Kobe, Japan, Nov2-5, 2016 ポスター
- 69) Zaitso T., Aoyagi H., Matsuda M., Watanabe N., Fujimoto A., Watashi K., Suzuki R., Fukuhara T., Matsuura M., Wake K., Suzuki T., Matsuura T., Tamura K., Wakita T., Aizaki H. Human hepatic stellate cells are permissive for hepatitis C virus infection/replication and play important roles in fibrosis. 23rd International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. 2016/10/11-15. Kyoto (Japan)
- 70) Zheng X., Aoyagi H., Hossam GE., Zaitso T., Puig-Basagoiti F., Kao YT., Watashi K., Suzuki R., Takahashi T., Sunagawa T., Oishi K., Wakita T., Aizaki H. Acute Hepatitis B in Japan, April 1999 ~ December 2015. The 26th of Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver, ANNUAL MEETING 2017. 2017/2/15-19. Shanghai (China)

## 2. 国内学会

- 1) 相崎英樹、吉岡健太郎、青柳東代、渡士幸一、鈴木亮介、是永匡紹、脇田隆宇。自治体における肝炎ウイルス検査陽性者追跡システムの構築 第41回日本肝臓学会東部会、ワークショップ3 京王プラザホテル、(2016. 12. 8-9) 口頭発表
- 2) 青柳東代、飯島尋子、松田麻未、渡士幸一、鈴木亮介、政木隆博、坂巻有里子、市野瀬志津子、坪田昭人、和氣健二郎、脇田隆宇、相崎英樹。HCVに対する抗ウイルス治療後、SVR後の肝細胞の超

- 微細構造の変化. 第26回抗ウイルス療法学会総会, 2016/5/13-15. 名古屋
- 3) 青柳東代, 飯島尋子, 松田麻未, 渡土幸一, 鈴木亮介, 政木隆博, 坪田昭人, 和氣健二郎, 脇田隆宇, 相崎英樹. HCV に対する抗ウイルス治療後、SVR 後の肝細胞の超微細構造の変化 第41回日本肝臓学会東部会、パネルディスカッション1 京王プラザホテル、(2016. 12. 8-9) 口頭発表
  - 4) 赤堀祐一, 加藤博己, 藤田尚志, 森石恆司, 渡土幸一, 脇田隆宇, 土方誠. 立体培養したHBV受容体hNTCP発現不死化ヒト肝細胞による新たなHBV培養系を用いた抗HBV薬評価系の構築. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋
  - 5) 有田峰太郎: 宿主因子を標的とするポリオウイルス複製阻害剤の探索. 第89回日本生化学大会、シンポジウム「アカデミア発創薬探索研究」、仙台、2016. 9. 25
  - 6) アリ ハッサン フセイン, 鈴木淳也, 渡土幸一, 茶山一彰, 加藤孝宣, 脇田隆宇. Non-Stop decay regulates HBV-X mRNA levels. 広島肝臓プロジェクト研究センターシンポジウム, 広島, 2016. 6. 25.
  - 7) アリ ハッサン フセイン, 鈴木淳也, 渡土幸一, 茶山一彰, 加藤孝宣, 脇田隆宇. NSD regulation of HBV replication. 第15回あわじしま感染症・免疫フォーラム, 兵庫, 2016. 9. 6-9.
  - 8) 石井孝司: A型肝炎とE型肝炎の動向と対策、平成28年度新潟県臨床検査技師会研修会、平成28年12月、新潟
  - 9) 石井孝司: 日本におけるA型肝炎、E型肝炎の最近の話題、平成28年度静岡県獣医師会公衆衛生部会、平成28年10月、静岡
  - 10) 大場舞, 岡智一郎, 安藤隆幸, 荒畑沙織, 池ヶ谷朝香, 高木弘隆, 小郷尚久, 小和田和宏, 川森文彦, 浅井章良. テアフラビン類の抗カリシウイルス活性 日本薬学会第137年会, 2017. 3. 24-27 仙台
  - 11) 大場舞, 岡智一郎, 安藤隆幸, 荒畑沙織, 池ヶ谷朝香, 高木弘隆, 小郷尚久, 小和田和宏, 川森文彦, 浅井章良. ノロウイルス不活化剤の探索とその実用化に関する研究(第2報) 第53回全国衛生化学技術協議会年会 2016. 11-17-18、青森
  - 12) 大場舞, 岡智一郎, 安藤隆幸, 荒畑沙織, 池ヶ谷朝香, 高木弘隆, 小郷尚久, 小和田和宏, 川森文彦, 浅井章良. ノロウイルス不活化剤の探索とその実用化に関する研究(1)～紅茶由来成分 テアフラビン類～ 第53回静岡県公衆衛生研究会 2017. 2. 9 静岡
  - 13) 大場舞, 岡智一郎, 安藤隆幸, 荒畑沙織, 池ヶ谷朝香, 高木弘隆, 小郷尚久, 小和田和宏, 川森文彦, 浅井章良. 代替ウイルスを用いたテアフラビン類の抗ノロウイルス活性の検討について 第32回茶学術研究会講演会・第13回日本カテキン学会年次学術大会合同大会 2017. 3. 10 静岡
  - 14) 岡智一郎. 第6回国際カリシウイルス学会の報告ウイルス性下痢症研究会 第28回学術集会.
  - 15) 岡智一郎, 高木弘隆, 遠矢幸伸. 培養可能なカリシウイルスの新規 plasmid-based リバースジェネティクス系の構築 第39回日本分子生物学会、2016. 11. 30-12. 2 横浜
  - 16) 岡村瞳, 赤堀祐一, 金ソレイ, 渡土幸一, 脇田隆宇, 土方誠. 脂肪酸生合成経路の阻害によるHBV粒子の産生抑制機構の解析. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋
  - 17) 加藤孝宣, 山田典栄, 百瀬暖佳, 村山麻子, 松岡佐保子, 大隈和, 豊田九朗, 浜口功, 脇田隆宇. Evaluation of Detection Assays for Hepatitis B Virus DNA and HBs Antigen by Using Reference Panel of Blood Specimens. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
  - 18) 小嶋聡一, 掛谷秀昭, 古谷裕, 相崎英樹, 松浦知和, 次世代生命基盤技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究. 第26回抗ウイルス療法学会総会、名古屋、2016年5月13-15日.

- 19) 清原知子, 石井孝司, 砂川富正, 加納和彦, 木下一美, 大石和徳, 脇田隆宇. A型肝炎と海外渡航. 第20回日本渡航医学会, 岡山. 2016年7月23, 24日
- 20) 木下一美, 有馬雄三, 砂川富正, 多屋馨子, 大石和徳, 清水博之, 我が国のサーベイランスデータからみるエンテロウイルス D68 型検出症例 第90回日本感染症学会学術集会 4月15日~16日, 仙台, 2016,
- 21) 佐藤 弘, 多屋馨子, 大石和徳, 清水博之 不活化ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況・抗体保有状況について (2011~2015年度感染症流行予測調査より) 第20回日本ワクチン学会学術集会, 東京, 2016年10月22~23日
- 22) 清水博之, WHO ポリオウイルス病原体バイオリスク管理行動計画 (GAPIII) について. 衛生微生物技術協議会第37回研究会. 広島, 2016. 7月22日
- 23) 清水博之, エンテロウイルス D68 感染症の流行とウイルス学的特徴. 大阪小児感染症研究会 第23回講演会, 大阪, 2016年10月15日
- 24) 清水博之, 世界ポリオ根絶計画と日本の貢献, 聖路加国際大学 WHO プライマリヘルスケア看護開発研究センターPeople Centered Careセミナー, 疾病の根絶・制圧と日本の貢献, 東京, 2017年1月7日,
- 25) 清水博之, 世界ポリオ根絶計画の進捗と残された課題第26回 感染研シンポジウム WHO the expanded program on immunization (EPI) と麻疹・ポリオの排除・根絶, 東京, 2016年5月23日
- 26) 下池貴志, 芳賀慧, 脇田隆宇: Activity of HuNV RNA dependent RNA polymerase in different genotypes. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 2016年10月, 北海道
- 27) 杉山真也, 田中靖人, 溝上雅史, 脇田隆宇. B型肝炎ウイルス粒子を直接標的とする侵入阻害剤 proanthocyanidin. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋
- 28) 鈴木哲朗, 鈴木亮介. ウイルス複製小胞とミトコンドリアとの細胞内コミュニケーション. 第2回デザイン生命工学研究会, 神戸, 2017年3月21日.
- 29) 鈴木亮介, 松田麻未, 山中敦史, 好井健太郎, 渡士幸一, 相崎英樹, 小西英二, 高崎智彦, 脇田隆宇. デングウイルスレプリコンを用いたフラビウイルス網羅の中和抗体アッセイ系の開発. 第51回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 福島, 2016年5月13-14日.
- 30) 鈴木亮介. フラビウイルス粒子を利用したHCVワクチン抗原の開発. 第12回 肝免疫・ウイルス・フロンティア (Liver 2016), 東京, 2016年4月9日
- 31) 染谷雄一, 塩田智之, 神谷元. International Workshop on Foodborne Viruses (FSA,EFSA ロンドン会議) 報告. 食品安全委員会微生物・ウイルス専門調査会 (第66回), 食品安全委員会中会議室, 2016年6月6日
- 32) 竹内 (柴田) 潤子, 岩本将土, 渡士幸一. B型肝炎ウイルスの適応進化メカニズム解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原
- 33) 九十田千子, 渡士幸一, 小嶋聡一, 脇田隆宇. B型肝炎ウイルスを標的とした新規侵入阻害剤の同定と作用機序の解析. 第52回日本肝臓学会総会. 2016/5/19-20. 幕張
- 34) 九十田千子, 渡士幸一, 濱崎義知, 齊藤安貴子, 五十川正記, 田中義正, 鈴木亮介, 相崎英樹, 小嶋聡一, 杉山真也, 田中靖人, 溝上雅史, 脇田隆宇. B型肝炎ウイルス粒子を直接標的とする侵入阻害剤proanthocyanidin. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋
- 35) 外山政明, 濱崎隆之, 岡本実佳, 渡士幸一, 脇田隆宇, 馬場昌範. ペリミドトリアジノン誘導体の抗HBV効果について. 第26回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋
- 36) 西村順裕 エンテロウイルス 71 と受容体 PSGL-1 の結合とその制御. 東京大学医学研究所共同

- 研究拠点事業 平成 28 年度若手研究者シンポジウム「若手研究者が切り拓く次世代ウイルス学」, 東京, 2017. 2. 17
- 37) 新田沙由梨, 朝比奈靖浩, 加藤孝宣. HCV NS5A 阻害剤耐性変異株の特徴と薬剤感受性に関する検討. 第 102 回日本消化器病学会総会. 東京, 2016. 4. 21-23.
- 38) 新田沙由梨, 朝比奈靖浩, 加藤孝宣. NS5A 阻害剤耐性変異の HCV ライフサイクルへの影響と薬剤感受性の解析. 第 52 回日本肝臓学会総会. 千葉, 2016. 5. 19-20.
- 39) 橋本里菜, 櫻井文教, 國戸偉丸, 長基康人, 岡本涼太, 立花雅史, 高山和雄, 坂本直哉, 脇田隆宇, 水口裕之, ゲノム編集による遺伝子改変ヒト iPS 細胞由来肝細胞を用いた C 型肝炎ウイルスによる自然免疫応答の解析, 日本薬学会第 137 年会, 仙台国際センター, (2017. 3. 21-22)
- 40) 深澤征義, 白砂圭崇, 清水芳実, 谷田以誠, 近藤昌夫, 八木清仁, 鈴木哲朗, 鈴木亮介, 杉山和夫, 脇田隆宇, 花田賢太郎. C 型肝炎ウイルス感染における Occludin 分子の重要性～Occludin ノックアウトヒト肝培養細胞を用いた検討. 第 89 回日本生化学会大会 仙台, 2016 年 9 月 25-27 日.
- 41) 深野 顕人, 志村 聡美, Michael PEEL, Ann SLUDER, 河合 文啓, 九十田 千子, 鈴木 亮介, 相崎 英樹, 朴 三用, 脇田 隆宇, 小笠原 裕樹, 渡士幸一. B型肝炎ウイルスの侵入受容体の解析とその新規阻害剤の同定. 日本薬学会第137年会. 2017/3/24-27. 仙台
- 42) 福島慎二, 清原知子, 石井孝司, 中野貴司, 濱田篤郎. A型肝炎ワクチン接種後の抗体価維持期間と追加接種の効果 (第一報). 第 20 回日本ワクチン学会. 2016 年 10 月 22, 23 日
- 43) 藤井克樹: ロタウイルスの新知見 2016 ウイルス性下痢症研究会第 28 回学術集会 (札幌) 2016 年 10 月 22 日
- 44) 法月正太郎, 木多村知美, 溝上雅史, 清原知子, 脇田隆宇, 蜂矢正彦. ラオスにおける B 型肝炎ワクチン接種歴と HBs 抗原、HBc 抗体、HBs 抗体の陽性率についての検討. 第 20 回日本ワクチン学会. 2016 年 10 月 22, 23 日.
- 45) 政木隆博, 加藤孝宣, 脇田隆宇. C 型肝炎ウイルスによる宿主 microRNA 機能抑制の分子機構. 第 52 回日本肝臓学会総会. 千葉, 2016. 5. 19-20.
- 46) 松田麻未, 矢藤慶悟, 鈴木亮介. リバースジェネティクスを用いた一回感染性フラビウイルス粒子の作製. 第 2 回デザイン生命工学研究会, 神戸, 2017年3月21日. 4
- 47) 溝上雅史, 脇田隆宇. B型肝炎ウイルス感染を阻害する新規macrocyclesの同定と、NTCP依存性胆汁酸取り込み抑制能を欠失した選択的阻害剤の創出. 第 26 回抗ウイルス療法学会総会. 2016/5/13-15. 名古屋
- 48) 三谷 成二, 櫻井 文教, 山本 達郎, 高山 和雄, 立花 雅史, 渡士幸一, 脇田 隆宇, 飯島 沙幸, 田中 靖人, 水口 裕之. ヒト iPS 細胞由来肝細胞の B 型肝炎ウイルス in vitro 感染評価系への応用. 日本薬学会第137年会. 2017/3/24-27. 仙台
- 49) 宗片圭祐, 安井文彦, 伊藤 靖, 石井孝司, 喜田 宏, 小笠原一誠, 小原道法: ワクチニアウイルス DIs 株を母体としたインフルエンザ HA 組換えワクチンのカニクイザルでの発症防御効果の検討, 第 20 回日本ワクチン学会, 平成 28 年 10 月、東京
- 50) 村山麻子, 杉山奈央, 脇田隆宇, 加藤孝宣. Vero 細胞を用いた C 型肝炎ウイルス感染複製系の構築. 第 23 回肝細胞研究会. 大阪, 2016. 7. 7-8.
- 51) 村山麻子, 脇田隆宇, 加藤孝宣. Evaluation of antiviral activities of vitamin D derivatives. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 52) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 松岡佐保子, 大隈和, 山田典栄, 村山麻子, 豊田九朗, 脇田隆宇, 浜口 功. Evaluation of In Vitro Diagnostics for Hepatitis C Virus by Using Domestic Reference Panel. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10.

- 23-25.
- 53) 吉田弘「感染症法改正にかかわる病原体サーベイランスと信頼性確保について」平成28年度地域保健総合推進事業 地全協九州支部地域専門家会議、佐賀市、2016年10月20-21日
- 54) 吉田弘「環境水ウイルスサーベイランスとは」第57回日本臨床ウイルス学会ランチョンセミナー、郡山市、平成28年6月19日
- 55) 李天成、周顕鳳、吉崎佐矢香、網康至、須崎百合子、中村朋史、脇田隆宇。リバスジェネティク法によるDcHEVの作製およびその人獣共通感染の可能性の検討。第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016. 10. 23-25.
- 56) 脇田隆宇、B型肝炎ウイルスに対する「創薬」研究とC型肝炎ウイルスに対する「創薬後」研究、第26回抗ウイルス療法学会、名古屋市立大学(2016. 5. 13-15) 招聘講演
- 57) 脇田隆宇、C型肝炎ウイルス感染細胞における膜小胞形成機構、平成28年度 北海道大学遺伝子制御研究所「感染、免疫、がん、炎症」研究集会、北海道大学など、(2017. 3. 13-14)
- 58) 渡邊則幸、伊達朋子、フセイン・アリ、相崎英樹、脇田隆宇。Induction of neutralization E2 antibody by immunization of recombinant E2 proteins. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016. 10. 23-25. ポスター発表
- 59) 渡士幸一、九十田千子、脇田隆宇。新規作用機序を有するB型肝炎ウイルス創薬。第52回日本肝臓学会総会。2016/5/19-20. 幕張
- 60) 渡士幸一、志村聡美、Michael Peel、Ann Sluder、河合文啓、岩本将士、杉山真也、朴三用、田中靖人、溝上雅史、脇田隆宇、B型肝炎ウイルス感染を阻害する新規 macrocycles の同定と、NTCP依存性胆汁酸取り込み抑制を欠失した選択的阻害剤の創出、第26回抗ウイルス療法学会、名古屋市立大学(2016. 5. 13-15) 口頭発表
- 61) 渡士幸一。Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter, sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP). 第29回肝臓フォーラム(東部)。2016/7/9. 東京
- 62) 渡士幸一。肝炎ウイルスの創薬研究。京都大学ウイルス研究所セミナー、ウイルス研究の潮流シリーズ。2016/7/13. 京都
- 63) 渡士幸一。肝炎ウイルス研究の現状と、抗ウイルス創薬研究。Summer Retrovirus Conference (SRC) 2016. 2016/7/7-8. 京都
- 64) 渡士幸一、九十田千子、脇田隆宇。B型肝炎ウイルス侵入過程を標的とした創薬研究。第41回日本肝臓学会東部会。2016/12/8-9. 東京
- 65) Akahori Y, Kato H, Fujita T, Moriishi K, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Development of novel hepatitis B virus culture system using immortalized human hepatocytes. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016. 10. 23-25. 口頭発表
- 66) Aly HH, Watashi K, Chayama K, Hijikata M, Wakita T. Non-Stop mediated RNA decay mechanism targets HBV-X mRNA for degradation at the RNA exosome. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016. 10. 23-25.
- 67) Aoyagi H, Iijima H, Puig-Basagoiti F, Zheng Xin, Yu Ting Kao, Gewaid E. Hossam, Zaitu T, Matsuda M, Watashi K, Suzuki R, Masaki T, Tsubota A, Mimata A, Sakamaki Y, Ichinose S, Wake K, Wakita T, Aizaki H. Ultrastructure of liver cells in chronic hepatitis C patients who achieve a sustained virological response. 第15回あわじしま感染症・免疫フォーラム、淡路夢舞台国際会議場、(2016. 9. 6-9) 口頭発表
- 68) Doan YH, Dennis FD, Chawla-Sarkar M, Ohta N, Armah GE, Katayama K. The difference of rotavirus profile between Japan, India and Ghana: Implications for the effectiveness of rotavirus vaccine. Joint. Seminar on Infectious Diseases, Field of Microbiology, TMDU/ J-GRID Project University of Ghana and Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, March 13-14, 2017

- 69) Doan YH, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Shima Y, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Sakon N, Yoshioka K, Shinohara M, Kozawa K, Suzuki R, Sahara K, Kimura H, Shinomiya H, Katayama K. Genome-wide evolutionary analyses of human rotaviruses A detected in Japan between 2005 and 2015. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 70) Fujii K, Sudaka Y, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike K. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in a cynomolgus monkey model. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 71) Fujii Y, Kumagai H, Todaka R, Katayama K : Development of rapid and simple rotavirus typing method using automated electrophoresis system (自動電気泳動システムを用いた迅速・簡便なロタウイルスタイピング法の開発) 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 72) Fujimoto A, Haga K, Sugimoto S, Sato T, Doan YH, Miki M, Takai-Todaka R, Katayama K. Cultivation of human norovirus using human duodenal organoids. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 73) Fukano K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Wakita T, Ogasawara Y, Watashi K. B型肝炎ウイルスの侵入受容体阻害剤の同定とその機序の解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原
- 74) Funami K, Leong CR, Oshiumi H, Okamoto M, Takaki H, Matsumoto M, Chayama K, Watashi K, Seya T. ISG20 inhibits HBV replication by accelerating decay of HBV genome. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 75) Haga K, Fujimoto A, Doan YH, Shimoike T, Todaka R, Miki M, Murakami K, Yokoyama M, Murata K, Nakanishi A, Katayama K. Identification of the functional receptor for murine norovirus. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 76) Iwamoto M, Kaneko M, Ohashi H, Kawai F, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Ryo A, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Protein kinase C triggers the internalization of hepatitis B and D viruses into hepatocytes. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 77) Iwamoto M, Kaneko M, Ohashi H, Kawai F, Suzuki R, Aizaki H, Park SY, Ryo A, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Protein kinase C triggers the internalization of hepatitis B and D viruses into hepatocytes. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原
- 78) Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Matsunaga H, Iwamoto M, Kawai F, Ohashi H, Tsukuda S, Shimura S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Sam-Yong Park, Ito T, Ohtani N, Sugawara F, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. A novel tricyclic polyketide, vanitaracin A, specifically inhibits the entry of hepatitis B and D viruses through targeting NTCP. 東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム. 2016/12/10. 野田
- 79) Kaneko M, Watashi K, Kamisuki S, Matsunaga H, Iwamoto M, Kawai F, Ohashi H, Tsukuda S, Shimura S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park SY, Ito T, Ohtani N, Sugawara F, Tanaka Y, Mizokami M, Sureau C, Wakita T. 細胞培養系を用いた新規抗B型肝炎ウイルス化合物の同定. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原
- 80) Kotani O, Yokoyama M, Nishimura Y, Nagata N, Shimizu H, Sato H, Prediction of enterovirus A71 functional region for the viral encapsidation. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10月23日~25日
- 81) Matsuda M, Yamanaka A, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Wakita T, Suzuki R. Development of a neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 82) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M,

- Simizu H, Hasegawa H: Utility of a neonatal mouse model for studying coxsackievirus B2. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosal route. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 83) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Aryl hydrocarbon receptor regulates the assembly of hepatitis C virus and affects the emergence of drug resistant virus against DAAs. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 84) Ohashi H, Nakajima S, Kim S, Suzuki R, Aizaki H, Fukasawa M, Kamisuki S, Sugawara F, Ohtani N, Wakita T, Watashi K. Aryl hydrocarbon receptorのC型肝炎ウイルス感染応答における役割・分子メカニズムの解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原
- 85) Okamura H, Akahori Y, Nio Y, Watashi K, Wakita T, Hijikata M. Fatty acid biosynthesis specifically regulates hepatitis B virus particle production. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 86) Rahayu R, Ohsaki E, Okamoto T, Watashi K, Ueda K. Analysis of the HBV life cycle in a HepG2 expressing human NTCP. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 87) Shimizu H, Nakamura T, Nishimura Y, Arita M, Yoshida H. Outbreak of type 1 vaccine-derived poliovirus in Laos in 2015-2016. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 88) Shimoike T, YoungBin Park, Kei Haga K, and Wakita T. Activity of HuNV RNA dependent RNA polymerase in different genotypes. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25. 口頭発表
- 89) Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima H, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 90) Shirasago Y, Shimizu T, Tanida I, Suzuki T, Suzuki R, Sugiyama K, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Kondoh M, Fukasawa M. Occludin-knockout human hepatic cells are non-permissive to hepatitis C virus infection. RNA2016 京都, 2016年6月28日-7月2日.
- 91) Shirasago Y, Shimizu Y, Kondoh M, Suzuki T, Wakita T, Hanada K, Yagi K, Fukasawa M. Prevention of hepatitis C virus infection by anti-occludin monoclonal antibodies in animal model. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25. 口頭発表
- 92) Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Nishimura Y, Shimizu H, Shimojima M, Saijo M, Wakita T, Ishii K. Molecular characterization of the hepatitis E virus receptor candidate (E型肝炎ウイルスレセプター候補の分子特性). 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 93) Shiota T. Toward the identification of hepatitis E virus receptor (E型肝炎ウイルスの受容体同定を目指して). AMEDリサーチ・レジデント講演会、AMED20階201会議室、2016年11月28日
- 94) Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, Isogawa M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Sugiyama M, Saito A, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Characterization of oligomeric flavonoids as a novel class of anti-HBV entry inhibitors that directly target viral envelope protein. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 95) Tsukuda S, Watashi K, Iwamoto M, Suzuki R, Aizaki H, Kojima S, Wakita T. 低分子化合物を用いたB型肝炎ウイルスの感染感受性決定機構の解析. 第13回ウイルス学キャンプ in 湯河原. 2016/8/30-31. 湯河原
- 96) Wakita T, Kong L, Hossam Gewaid, Zheng, Xin, Aizaki H. Molecular mechanisms of HCV membrane replication complex formation.. 第15回あわじしま感染症・免疫フォーラム、淡路夢舞

- 台国際会議場、(2016. 9. 6-9) 招聘講演
- 97) Watashi K, Shimura S, Peel M, Sluder A, Kawai F, Iwamoto M, Tsukuda S, Suzuki R, Aizaki H, Sugiyama M, Park SY, Tanaka Y, Mizokami M, Wakita T. Strategy for hepatitis B and D virus entry inhibition without impairing NTCP-mediated bile acid uptake. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 98) Yamashita Y, Mizota F, Yamashita M, Ochi A, Doan YH, Haga K, Fujimoto A, Katayama K, Kimura H, Shinomiya H. A novel chimeric GII.P21-GII.1 norovirus strain from epidemics of acute gastroenteritis in Ehime prefecture, Japan. 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 99) Doan YH, Fujii Y, Haga K, Fujimoto A, Takai-Todaka R, Shima Y, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Sakon N, Yoshioka K, Shinohara M, Kozawa K, Suzuki R, Sahara K, Kimura H, Shinomiya H, Katayama K: Genome-wide evolutionary analyses of human rotaviruses A detected in Japan between 2005 and 2015 (2005年から2015年までに日本において検出されたA群ロタウイルスのゲノムワイドな進化解析) 第64回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 2016. 10. 23-25.
- 100) Yokokawa H, Shinohara M, Nakamura N, Iwamura T, Suzuki T, Wakita T, Identification and characterization of human monoclonal anti-E2 antibodies cloned from chronic hepatitis C patient spleen cells. 第39回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、(2016. 11. 30-12. 2) ポスター発表
- III. その他
- 1) 有田峰太郎 ポリオ根絶最終段階で求められるポリオウイルス研究とその応用. 第26回感染研シンポジウム、2016.5.23
- 2) 清水博之 エンテロウイルスについて. 第9回健康局記者勉強会. 東京、2016年8月29日
- 3) 清水博之 ポリオウイルスのバイオリスク管理. エンテロウイルスD68感染症. 平成28年度感染症危機管理研修会. 東京、2016年10月13日
- 4) 清水博之 ポリオ根絶に向けた検査と病原体管理. 平成28年度希少感染症診断技術研修会、東京、2017年2月21日
- 5) 清水博之: 世界ポリオ根絶計画とポリオワクチン. 知の市場・市民連携セミナー. 東京、2016年12月6日
- 6) 渡土幸一. 肝炎ウイルス培養系を利用した新規抗ウイルス剤の探索研究. AMED肝炎等克服実用化研究事業公開報告会 -肝炎研究 今、未来-. 2017/3/11. 東京
- 7) Someya Y. One-day Workshop on Sabin IPV D Antigen Content and Potency Assays Harmonization. 2017年5月2日 米国・シアトル
- 8) Someya Y. Working Group meeting on developing WHO guidelines on safe production of polio vaccines. 2017年9月22日、23日 スイス・ジュネーブ