

## 1. ウイルス第一部

### 部長 倉根 一郎

#### 概要

当部では、本年度、以下の人事異動があった。平成 19 年 4 月 1 日付で大松勉が第二室研究員として採用され就任した。また、第三室中道一生研究員が主任研究官に昇任した。平成 19 年 6 月 30 日付で森本金次郎第三室長が安田学園女子大学薬学部教授に転出した。平成 19 年 11 月 1 日付けで西條政幸主任研究官が第三室長に就任した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、SARS コロナウイルス、ポックスウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、狂犬病ウイルス、JCウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス、リケッチア、クラミジア等の病原体の研究、血清及び分子疫学、感染症発症機序の解析と診断、治療、予防方法の研究を行った。それぞれの研究成果は論文及び国内外の学会等で発表された。

第一室においては、ウイルス性出血熱実験室診断法の開発と改良を行った。また新たに南米出血熱の実験室検査法の開発を開始した。痘そうワクチンの有効性をサル痘をモデルとして示した。さらにリンパ球性脈絡膜髄膜炎ウイルスに関する研究を進めるとともに、新興・再興ウイルスに対する網羅的検出方法を開発し、本法が有力な検査法である確認を行った。

第二室においては、日本各地のブタ血清から日本脳炎ウイルスの分離を行い、遺伝子及び病原性解析を行った。また、デングウイルスに対する新たな血清遺伝子検査法を確立し、輸入患者の病原体検査を一層充実させた。さらに、デングウイルス感染の病態解明にむけて研究を進展させた。チクングニヤウイルスに関しては分子疫学的解析を行った。

第三室においては狂犬病ワクチンの品質管理法の改良をめざす研究を開始した。さらに、進行性多巣性白質脳症診断のための JC ウイルス検査系を確立し、多数の疑似患者検体を検査した。手法の有用性が確認された。

第四室においては、水痘ワクチンの品質管理法の検討、新規抗水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) 薬の検索を行った。また、サイトメガロウイルス (CMV) による先天性感染

の迅速スクリーニング法を用いてパイロット調査を行い、さらにゲノムタイプの解析も行った。さらに、モルモット CMV を用いて母児感染様式を解析した。

第五室においては、リケッチア感染症検査法の検証と国内における実態調査を行った。また、ダニからのリケッチア検出を行った。Q 熱コクシエラの生態系における感染リスクを評価した。またリケッチア蛋白の網羅的解析を開始した。クラミジアに関しては、分離されたクラミジア株について分子生物学的解析を行った。また、肺炎クラミジア感染症に対する血清診断法も検討した。

以上の研究活動に対して、厚生労働省、HS 財団、文部科学省、環境省等から研究費の援助を受けた。痘そうワクチン、日本脳炎ワクチン、黄熱ワクチン、狂犬病ワクチン、水痘ワクチンについて国家検定及び依頼検査を行った。また、各ウイルス及び患者検体に関する行政検査、依頼検査を行った。さらに各病原体に関するレファレンス活動、国際協力活動を行った。各室において多数の協力研究員、研究生、実習生を受け入れた。

#### 業績 調査・研究

##### ・ウイルス性出血熱等に関する研究

##### 1. ラッサ熱に関する研究

(1) ナイジェリアにおけるラッサ熱流行の背景の調査および血清疫学

ナイジェリアは、致死率の高いウイルス性出血熱のひとつであるラッサ熱がはじめて認められた国である。2008 年 1 月にラッサ熱の存在がはじめて確認されたラッサ村 (ラッサ総合病院) およびナイジェリア北部の Maiduguri 市を訪れ、ラッサ熱流行地の状況を視察した。ナイジェリア北部に位置する Maiduguri 大学との共同研究として、ナイジェリアの人々におけるラッサウイルス感染状況を、当研究室で開発されたラッサウイルスの組換え核蛋白を抗原とした IgG ELISA を用いて調査し

た。238名から採取された血清中 51 検体 (21%) が陽性を呈した。つまり、比較的多くのナイジェリア人がラッサウイルス感染の既往があることを示している。今後は、ラッサ熱流行地におけるラッサウイルス感染リスクの解析およびラッサウイルス感染者における臨床的調査を行う必要がある。

[ 西條政幸, David N Bukbuk ( University of Maiduguri, Nigeria ), 水谷哲也, 福士秀悦, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川茂 ]

### 2. クリミア・コンゴ出血熱に関する研究

#### ( 1 ) 中国新疆ウイグル自治区におけるクリミア・コンゴ出血熱の流行の分子疫学的解析

2001年と2002年に中国新疆ウイグル自治区において流行したクリミア・コンゴ出血熱(CCHF)が流行した。2001年の流行時には、9人の患者から血清が採取された。2002年には、12名の疑い患者が報告され、これらすべての患者から血清が得られた。これらの患者血清から、PCR法によってクリミア・コンゴ出血熱ウイルス(CCHFV)の部分S-遺伝子と部分M-遺伝子の増幅を試みた。2001年と2002年のクリミア・コンゴ出血熱流行時の患者から部分S-遺伝子と部分M-遺伝子がともに増幅された患者は、それぞれ1人(XJ01Pt08)と3人(XJ02Pt02, XJ02Pt03, XJ02Pt11)であった。S-遺伝子およびM-遺伝子に基づく系統樹解析を行った。XJ01Pt08のCCHFVは、S-遺伝子による系統樹解析によると1966年に同地域で分離された66019株と近縁であるが、M-遺伝子による系統樹解析では1988年に分離された88166株に近縁であることが明らかにされた。XJ02Pt11から増幅されたCCHFVの遺伝子は、XJ01Pt08のそれと極めて近縁であった。一方、XJ02Pt02から得られたウイルス遺伝子は、S-遺伝子とM-遺伝子による解析により、1975年に分離された75024株に近縁のCCHFVであることが明らかにされた。患者XJ02Pt03から得られたウイルス遺伝子は、66019株に近縁であることが明らかにされた。患者XJ01Pt08およびXJ02Pt11に感染したCCHFVのS-遺伝子は66019株のそれと近縁で、M-遺伝子は88166株に近縁であった。つまり、それは66019株型ウイルスのS-遺伝子と88166株(8402株)型ウイルスのM-遺伝子が reassortmentして生じたCCHFVである可能性がある。[ 西條政幸, Tang Qing ( 中国 CDC ), 水谷哲也, 福士秀悦, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川茂 ]

### 3. リフトバレー熱に関する研究

#### ( 1 ) リフトバレー熱ウイルスの診断法に関する研究

リフトバレー熱は蚊により媒介されるウイルス感染症である。実験室内では、数多くの種の蚊がウイルスを媒介することが報告されており、いったんウイルスが侵入すると世界中どこでも流行する可能性が高い。しかし現在のところ、我が国におけるリフトバレー熱の実験室診断法は未整備である。病原ウイルスであるリフトバレー熱ウイルス(RVFPV)はブニヤウイルス科、フレボウイルス属に属するネガティブ鎖RNAウイルスである。本研究では、RVFPV抗原検出ELISAを構築するためのRVFPVの核蛋白質(NP)に対する単クローン抗体を作製し、これらの反応性を検討した。RVFPV-NPに対する単クローン抗体のうち、F2-36、G2-36およびD5-59はNPのC末端側領域のアミノ酸残基191-245を認識した。N末端のみを認識する単クローン抗体は現在のところ得られていないことから、NPのC末端領域は強い抗原性を示すと考えられた。単クローン抗体G6-21およびC10-54はNP全長にのみ反応したことから、これらの抗体はNP全長を含む高次構造を認識する可能性が考えられた。今後、合成ペプチドなどを用いてそれぞれの単クローン抗体のエピトープを詳細に検討する必要がある。また、リバースジェネティクス法を用いた擬似RVFPV粒子(VSVシュードタイプ: VSV-RVFPV-Gn/Gc)を作製し、ウイルスそのものを用いることのない、ウイルス中和試験による血清診断法の検討を行った。本研究で作製したVSV-RVFPV-Gn/Gc感染は $2 \times 10^3$  IU/mlと、低い感染価であった。中和抗体測定法として実用化するため、さらに高い感染価のVSV-RVFPV-Gn/Gcの作製を今後検討する予定である。[ 福士秀悦, 水谷哲也, 西條政幸, 倉根一郎, 緒方もも子, 森川茂 ]

### 4. アレナウイルスに関する研究

#### ( 1 ) 南米出血熱のIgG抗体検出ELISAに関する研究

南米出血熱(アルゼンチン出血熱、ボリビア出血熱、ベネズエラ出血熱、ブラジル出血熱)は、感染症法の改正に伴い1類感染症に新たに加えられたラッサ熱と類似したウイルス性出血熱である。原因ウイルスは、それぞれ、アレナウイルス科の新世界アレナウイルスのB cladeに分類されるフニン(Junin)ウイルス、マチュポ(Machupo)ウイルス、ガナリト(Guanarito)ウイルス、サビア(Sabia)ウイルスで、いずれもBSL4に分類される。このため、BSL4実験室が稼働していない日本では

ウイルスが培養できない。本研究では、組換えバキュロウイルスで発現・精製したフニンウイルス NP を抗原とした IgG ELISA を作製し、アルゼンチン出血熱患者血清 26 検体を用いて解析した結果、フニンウイルス感染細胞抗原を用いた IgG-ELISA とほぼ一致する結果が得られた。一方、フニンウイルス中和試験との比較では、中和力価が低い 5 検体は、本 IgG-ELISA、ウイルス抗原を用いた IgG-ELISA では陰性であった。

[ 森川 茂、福士秀悦、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、Victor Romanowski (アルゼンチンラプラタ国立大学) ]

( 2 ) フニンウイルスの外被糖蛋白を被った増殖欠損型水疱性口内炎ウイルスによるシュードタイプ感染系の開発

南米出血熱の一つであるアルゼンチン出血熱の診断法開発を目的として、フニンウイルス GPC 遺伝子を発現するプラスミドを作製し、増殖欠損型水疱性口内炎ウイルスのシュードタイプを作製した。本シュードタイプは、フニンウイルス感受性細胞に 1 回のみ感染し GFP を発現するため、感染を GFP の発光で検出できる。Vero E6 細胞を用いてシュードタイプの感染価を測定した結果、 $6 \times 10^6$  Infectious Unit/mL と高力価であった。本シュードタイプを用いて、フニンウイルスを用いないウイルス中和試験法を開発する予定である。

[ 福士秀悦、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川 茂、Victor Romanowski (アルゼンチンラプラタ国立大学) ]

( 3 ) フニンウイルスの単クローン抗体の作製

フニンウイルスの抗原検出 ELISA 法を開発するために、組換え精製フニンウイルス NP に対する単クローン抗体を 3 クローン作製した。いずれも、通常の ELISA 及び 2M urea 存在下での ELISA で同等の反応性を示すことから、アビディティーの高い抗体である。これらの単クローン抗体と GST タグを付加した部分 NP との反応性を WB 解析した結果、クローン E4-2、C11-12 はフニンウイルス NP の N 末端側 235 アミノ酸の領域を、クローン C6-9 は C 末端側 181 アミノ酸の領域を認識した。今後、より詳細なエピトープ決定を行い、これらの抗体を用いたウイルス抗原検出 ELISA 系を開発する予定である。

[ 福士秀悦、西條政幸、酒井宏治、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂、Victor Romanowski (アルゼンチンラプラタ国立大学) ]

( 4 ) リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス M1 株の全配列決定と系統学的解析

リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) は遺伝子配列の同義置換が多いため、検出精度の高い遺伝子検出法の開発が困難である。また、これまで公開されている遺伝子配列情報も少なく、それぞれの分離株の配列情報の決定は重要である。理研 BRC で導入マウス系統が LCMV に汚染していた事例で分離された M1 株の L-RNA 遺伝子配列を決定し、既に決定済みの S-RNA の遺伝子配列と共に系統学的解析を実施した。M1 株の L-RNA 遺伝子配列 (7,188bases) は、既知の LCMV と約 72% の一致と低く (既知の LCMV 間では、約 80-99% の一致) S-RNA と共に (既知の LCMV と約 79% の一致、既知の LCMV 間では、約 83-99% の一致) 既知の LCMV と遺伝的に距離があることが示された。S-RNA のコードする N 蛋白質及び GPC 蛋白質、L-RNA のコードする Z 蛋白質及び L 蛋白質の各アミノ酸配列を用いた系統学的解析においても、最近分離された、オーストラリアでの臓器移植による致死的感染患者由来ウイルス (Dandenong virus) とフランスでの死亡胎児 (羊水) 由来ウイルス (LE 株) に最も近縁であり、これらは既知の LCMV とは異なるグループを形成した。M1 株や Dandenong virus、LE 株のようなウイルス遺伝子を含め、あらゆる LCMV 遺伝子を検出できるシステムの構築が必要であると考えられた。

[ 酒井宏治、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎 (ウイルス第 1 部)、池郁男 (理研 BRC) ]

( 5 ) リンパ球脈絡髄膜炎ウイルスの核蛋白に対する単クローン抗体の作製

リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス (lymphocytic choriomeningitis virus, LCM ウイルス) は、旧世界アレンウイルスに分類されるウイルスであり、マウスやハムスターに感染しているウイルスである。ヒトが LCM ウイルスに感染すると、髄膜炎や網膜炎を引き起こすことが知られている。さらに、妊婦が感染すると胎児感染を引き起こし、先天性 LCM ウイルス感染症を発症させる例が報告されている。本研究では、LCM ウイルス感染症の診断法の開発に有用な LCM ウイルスの組換え核蛋白に対する単クローン抗体を作製した。3 クローン (24-1-E10, 24-2-E3, 24-2-E5) の単クローン抗体分泌ハイブリドーマを樹立した。これらの単クローン抗体は、LCM ウイルスの組換え核蛋白のみならず、ELISA 法、

WB 法，蛍光抗体法にて感染性 LCM ウイルスの核蛋白にも反応することが確認された。現在，これらの抗体の認識するエピトープを解析し，また，これらの単クローン抗体を用いた抗原検出法を開発している。

[ 西條政幸，水谷哲也，福土秀悦，緒方もも子，倉根一郎，森川茂 ]

### ・ SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

#### 1. SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する研究

( 1 )コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析

SARS コロナウイルス(SARS-CoV)の自然宿主は未だ不明であるが，最近，SARS-CoV 様のウイルス遺伝子が検出されたキクガシラコウモリ，あるいは，近縁なコウモリが SARS-CoV の自然宿主の候補として注目されている。SARS-CoV のレセプターである ACE2 のアミノ酸配列は動物種により多様であり，このことが各動物種のウイルス感受性を規定する要因の一つとなっている。本研究ではキクガシラコウモリおよびオオコウモリの SARS-CoV 感受性を明らかにすることを目的として，これらの ACE2 発現細胞を用いて SARS-CoV の感染性を解析した。その結果，キクガシラコウモリ ACE2 発現細胞では SARS-CoV の感染は認められなかったが，オオコウモリ ACE2 発現細胞では SARS-CoV の感染が認められ，感染効率率はヒト ACE2 発現細胞と同等であった。キクガシラコウモリ ACE2 の一部のアミノ酸配列をヒト，あるいはオオコウモリ ACE2 のアミノ酸配列に置換すると SARS-CoV の感染が認められた。キクガシラコウモリ ACE2 はレセプターとして機能しないことから，キクガシラコウモリには SARS-CoV は感染し難いと考えられた。一方，デマレルーセットオオコウモリから SARS-CoV 抗体が検出されていること，ACE2 がレセプター機能を有することから，オオコウモリ類が SARS-CoV に高い感受性を有することが示唆された。

[ 福土秀悦，水谷哲也，西條政幸，緒方もも子，酒井宏治，倉根一郎，森川 茂 (ウイルス第 1 部)，平井明香，新倉綾，山田靖子 (動物管理室)，横山勝 (病原体ゲノム解析研究センター)，前田健 (山口大学)，吉川泰弘 (東京大学) ]

( 2 ) CoCoMo(Primer Design from Collection of Common Motif)アルゴリズムの開発と SARS ウイルス共通プライマーの設計

類縁ウイルスに共通する PCR プライマーを自動的に設計する方法として「ウイルス間で共通する Motif を起点としたプライマー設計アルゴリズム」を開発した。このアルゴリズムは，ウイルス塩基配列のアライメントに基づいてプライマーを設定するという従来の方法と異なり，ウイルス間で共通した相互に相補的でない 6 塩基の Motif を自動的に選択することによりウイルス間共通プライマーを設計する。この自動化により，理論的には各種ウイルスの共通プライマーの設計をコンピュータ上で試行することにより「共通プライマーが設計可能なウイルスグループ」を設定することが可能となる。ただし，現状ではコンピュータのデータ処理能力の限界から，対象ウイルス種を限定する必要があるが示された。本研究では，このアルゴリズムで Corona ウイルス科内での共通プライマーを設計するため，コロナウイルスをゲノム塩基配列相互の相同性に基づいて 4 つのグループに分けた。そのうち，SARS ウイルス，Bat SARS ウイルスおよびチベット SARS ウイルスの 3 種の SARS から構成されるグループに適用して 33 種のプライマーを設計した。33 種のプライマーセットについて SARS ウイルスを増幅したところ，32 種のプライマーセットで明確な増幅が確認された。これらの結果から，CoCoMo アルゴリズムによってウイルス共通プライマーが設計できることが示唆された。今後は，対象ウイルス種を広げるためのアルゴリズムを改良するとともに，ウイルスのグループ構成を含めた自動化を検討する必要があるが示唆される。[ 水谷哲也，酒井宏治，倉根一郎，森川 茂，遠藤大二 (酪農学園大学) ]

### ・ ボックスウイルスに関する研究

#### 1. 痘そうワクチンに関する研究

( 1 )高度弱毒痘そうワクチン LC16m8 の霊長類におけるサル痘発症予防効果

近年，痘そうウイルスがバイオテロ病原体として用いられる危険性が指摘され，我が国では高度弱毒痘そうワクチン LC16m8 の再生産と備蓄対策がなされている。これまでの研究により，霊長類( カニクイザル)に  $10^6$ PFU のサル痘ウイルス (Zr-599 株) を皮下接種すると，致死性的サル痘を発症すること，LC16m8 を接種し，その 6 週間後に  $10^6$ PFU のサル痘ウイルス (Zr-599 株) を皮下接種してもサル痘発症を予防することが確かめられている。この LC16m8 の効果が，ワクチン接種後 6 ヶ月以上の比較的長期間持続するか否かを検討した。LC16m8 接種後約 6 ヶ月後に， $10^6$ PFU のサル痘ウイルス (Zr-599 株)

を皮下接種しても、その個体では接種部位の軽い潰瘍性病変を呈したのみで、全身性サル痘の発症は認められなかった。LC16m8 の霊長類におけるサル痘発症予防効果は、比較的長期にわたって持続し、その効果は人における天然痘予防効果にも当てはまるものと考えられる。

[西條政幸, 飯塚愛恵, 森川茂, 水谷哲也, 福土秀悦, 緒方もも子, 倉根一郎 (ウイルス第 1 部), 網康至・須崎百合子 (動物管理室), 長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子 (感染病理病理部)]

## 2. サル痘ウイルスに関する研究

### (1) サル痘ウイルスの迅速診断のための定量的 LAMP 法の開発と評価

サル痘ウイルスは、霊長類において天然痘様の急性発疹性疾患 (サル痘) を引き起こし、ヒトにおいても天然痘様疾患 (ヒトサル痘) を引き起こす。サル痘ウイルスはコンゴ盆地型と西アフリカ型に分類され、コンゴ盆地型の病原性が西アフリカ型のそれよりも高い。迅速・簡便に、しかも定量的に遺伝子を検出する方法として開発された Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を、サル痘ウイルス感染症の診断法として応用した。また、西アフリカ型とコンゴ盆地型を鑑別するための LAMP 法も開発した。サル痘ウイルス遺伝子検出法として、極めて高感度の nested PCR 法に比べて、感度は約 70% 程度で若干劣るものの、精度は 100% であった。また、サル痘症状が重いサル個体ほど、ウイルス血症レベルが高く、その持続期間も長かった。一方、サル痘症状が認められなかった個体ではウイルス血症は検出されなかった。本研究で開発された LAMP 法により高い感度と精度でサル痘ウイルス遺伝子が検出され、LAMP 法はサル痘ウイルス感染症の診断法として有用であることが確認された。

[西條政幸, 飯塚愛恵, 森川茂, 水谷哲也, 福土秀悦, 緒方もも子, 倉根一郎 (ウイルス第 1 部), 網康至・須崎百合子 (動物管理室), 長谷川秀樹・永田典代 (感染病理病理部)]

### (2) 敗血症を伴う劇症型サル痘の解析

霊長類がサル痘ウイルスに感染すると、ヒトにおける天然痘類似感染症 (サル痘) を発症する。サル痘ウイルスは病原性の比較的高いコンゴ盆地型と低い西アフリカ型に分類され、コンゴ盆地型と西アフリカ型はカニクイザルではそれぞれ重症 (時に致死性的) サル痘と比較的軽症サル痘を発症する。しかし、3 頭の西アフリカ型サル痘ウイルス感染カニクイザルの中で、1 個体が感染 10

日に死亡した。その個体では、典型的なサル痘症状は認められず、極めて高いウイルス血症を呈していることが認められた。サル痘ウイルス感染カニクイザルでは通常みられない、中枢神経感染症の存在も確認された。病理学的解析により、中枢神経組織、リンパ系臓器、消化器臓器、呼吸器臓器、内分泌組織、循環器臓器、泌尿生殖器系臓器など、調べられた臓器全てにウイルス抗原が存在した。また、本個体ではグラム陽性球菌の菌塊が肝臓や肺臓などの臓器に認められたことから、敗血症を伴っていたことも明らかにされた。西アフリカ型サル痘ウイルス感染カニクイザルの中でも、劇症型サル痘を発症する場合があります、その病態は全身臓器・組織にサル痘ウイルス感染が成立するという極めて特異的なものであった。この成績は、ヒトにおいてもサル痘ウイルス感染症により劇症型ヒトサル痘を発症する可能性があることを示している。特に敗血症を合併する場合に、劇症型ヒトサル痘を発症するリスクが高まると考えられる。

[西條政幸, 飯塚愛恵, 塩田 智之, 森川茂, 水谷哲也, 福土秀悦, 緒方もも子, 倉根一郎 (ウイルス第 1 部), 網康至・須崎百合子 (動物管理室), 長谷川秀樹・永田典代・岩田奈織子 (感染病理病理部)]

## ・ウイルス新規検査法に関する研究

### 1. 新興・再興ウイルスの網羅的検出方法 (Rapid Determination of Viral RNA Sequence; RDV 法) の開発・改良と応用に関する研究

#### (1) 改良型 RDV 法を用いたダチョウ由来ウイルスの同定

昨年度改良した RDV 法を用いて、日本で飼育されているダチョウ (*Struthio camelus*) の新鮮糞便より分離した、融合性の CPE を示す未同定のウイルスの遺伝子の同定を試みた。得られた遺伝子配列とデータベースを用いた遺伝子相同性解析により、7 つの部分遺伝子が既知のトリレオウイルスに近縁であることが示された。レオウイルスであることの確認のために、sigma A 蛋白質のトリレオウイルス共通プライマーを用いた PCR において特異的バンドを確認した。この増幅断片の塩基配列を決定し、系統樹を作成した結果、Orthoreovirus 属のニワトリ分離株が分類されるグループ 1 に属することが示された。本研究はダチョウ由来レオウイルス分離の最初の報告である。

[酒井宏治, 水谷哲也, 福土秀悦, 西條政幸, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川茂 (ウイルス第 1 部), 岡村雅史, 中

村政幸，竹原一明（北里大学）]

（2）改良型 RDV 法を用いた急性呼吸器患者からのレオウイルス同定

2007年11月に、インドネシアからの渡航者が、帰国後、高熱を伴う急性呼吸器症状を呈し、入院した。高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）及び重症急性呼吸器症候群（SARS）RSウイルス感染症の検査を実施したところ、インフルエンザ（A型、B型、H1亜型、H3亜型、H5亜型、H7亜型）及びSARSコロナウイルス、RSウイルスの遺伝子検査は全て陰性であった。ウイルス分離検査において、患者咽頭拭い液を用いて感染させたVero E6細胞において融合性のCEPが認められたため、改良型RDVを用いてウイルスの遺伝子の検出・同定を試みた。その結果、過去1例のみ論文報告のある極めて稀なオルソレオウイルスのネルソンベイウイルスに属するMelakaウイルス（Proc Natl Acad Sci U S A. 104: 11424-11429. 2007.）と類似のウイルスであると同定することができた。その後の、電子顕微鏡による鏡検においてもレオウイルス様粒子が認められ、RNAの電気泳動においてもレオウイルスと考えられる10分節の泳動パターンを示した。また、患者急性期血清と回復期血清を用いた分離株の50%減少ウイルス中和試験においても抗体価の有意な上昇を確認できた。以上より、当該患者はオルソレオウイルスのネルソンベイウイルスグループに属するウイルスに感染していたことが明らかとなった。[酒井宏治，水谷哲也，森川茂，福士秀悦，西條政幸，緒方もも子，倉根一郎（ウイルス第一部），影山努，小田切孝人，白戸憲也，田口文広（ウイルス第3部），永田典代，片岡紀代，長谷川秀樹（感染病理病理部），岩切章，山本正悟，三浦美穂，塩山陽子，河野喜美子，平田泰久，川畑紀彦（宮崎県衛生環境研究所）]

（3）RDV法の簡便化を目的とした改良（RDV ver3.0）

従来のRDV法ではダイレクトシーケンスを行なうための最終PCRにおいて、6万通り以上のプライマーの組み合わせがあった。我々は経験からウイルスを検出しやすいプライマーセットを選んで96wellのPCRを行ってきた。網羅的検出という目的を無くすことなくプライマーセットの組み合わせを減少させて、RDV法の効率化を目指した。最終PCRを行なう前のステップとしてDNAフラグメントに平滑末端でアダプターを結合させていたが、片側を突出末端にすることによりDNAフラグメントの両端に異なるアダプターを結合できるようになり、このことが最終PCRにおけるプライマーセット

を256通りまで減少することが可能になった。この改良法をRDV ver3.0と呼んでいる。ヨコセウイルス（フラビウイルス属）を手法の検討に用いると従来のRDV法では検出ができなかったが、RDV ver3.0では効率良く遺伝子断片をシーケンスできた。RDV ver3.0はその簡便さから汎用RDV法となる可能性がある。[水谷哲也，酒井宏治，福士秀悦，西條政幸，緒方もも子，飯塚愛恵，倉根一郎，森川茂（ウイルス第一部），渡辺俊平・明石朝臣（東京大学農学部）]

（4）RDV法の感度上昇を目的とした改良（RDV ver4.0）

RNAウイルス検出用のRDV ver2.1（昨年度報告）ver3.0では、検出感度は約1万ゲノムであり、血清などに含まれるウイルス粒子数が少ないと検出できない。また、短いゲノムを有するウイルスの感度が極端に悪い。そこで、検出感度をさらに上げることと、どのような長さのウイルスゲノムにも対応できるように、RDV法における非特異的増幅のステップを改良した。RNAをcDNAに逆転写した後にcDNA同士をライゲースにより結合させ、長いcDNAを作製してPhi29が効率良く増幅できる鋳型を作製した。このライゲーション反応には合成オリゴを添加することにより、cDNA間を架橋するという工夫を加えた。これをPhi29酵素で非特異的に増幅したのちは、従来のRDV法と同様にダイレクトシーケンスを行い、ウイルスの遺伝子配列を決定した。これをRDV ver4.0と呼んでいる。RDV ver4.0では1kbの合成アルブミンRNAを少なくとも1000コピーまで検出できることがわかった。RDV ver4.0は理論的にはRNAウイルスとDNAウイルスが混在していても両者を検出できる方法である。[水谷哲也，酒井宏治，福士秀悦，西條政幸，緒方もも子，飯塚愛恵，倉根一郎，森川茂（ウイルス第一部），江下優樹（大分大学医学部），山尾卓也・木原悠希・佐藤朝光（福岡大学薬学部）]

（5）RDV ver4.0による新しいウイルスの検出

タイのデングウイルス感染患者の住宅内で33匹の蚊の幼虫を採取し、磨り潰した後に蚊の培養細胞C6/36に添加した。8日後に培養上清からRNAを抽出し、特に細胞障害を起こしたものについてRDV ver4.0を用いて新規RNAウイルスの検出を試みたところ、約100塩基の遺伝子断片がリフトバレーウイルスなどのブニヤウイルスのL遺伝子と低い相同性があることがわかった。この遺伝子断片をアミノ酸に変換したところリフトバレーウイルスと約60%の相同性があった。培養上清をC6/36

細胞で4回継代したところ、3回目からこの遺伝子をPCRで検出できたので、この遺伝子配列を有する感染性のウイルス粒子の存在が証明された。このウイルスを採取された地区名から、Phasciharoen virus 1 (PhaV1)と呼ぶ。PhaV1はVero細胞には感染しないこと、C6/36細胞には感染するがウイルスの複製速度は遅いことなどが明らかになった。PhaV1は稲に感染するRice stripe virusにもリフトパレーウイルスと同様に相同性があるが、これ以上に相関なウイルスはGenBankには登録されていないので、新しいウイルスであると言える。PhaV1ゲノムの他の領域についても次世代高速大量シーケンシング(メガパイロシーケンシング)法で解析した。[水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂(ウイルス第一部)、黒田誠、関塚剛史(ゲノム解析センター)、江下優樹(大分大学医学部)、山尾卓也、木原悠希、佐藤朝光(福岡大学薬学部)]

### ・フラビウイルスに関する研究

#### 1. デングウイルスに関する研究

##### (1) デングウイルス1型NS1と相互作用する細胞側因子の探索

デングウイルス1型の非構造蛋白質であるNS1のC末端側にFlagと呼ばれる7アミノ酸からなるペプチドを融合させた蛋白質NS1Fを発現するプラスミドを構築した。これを用いてヒト肝がん由来細胞Huh-7内で融合蛋白質を発現させた後、融合蛋白質を抗Flag抗体を用いて回収することにより、融合蛋白質と結合する細胞側因子を同時に分離した。NS1Fとともに精製された細胞側蛋白質を質量分析(MS)法により解析したところ、数種類のシャペロン蛋白質がヒットした。また翻訳に関わる蛋白質も同定された。現在これらの相互作用候補蛋白質とNS1との相互作用を個別に確認中である。[田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

##### (2) デング熱患者における尿、唾液中のウイルス遺伝子、抗体検出に関する研究

デング熱輸入症例の尿および唾液からウイルス遺伝子およびIgM抗体の検出を試みた。その結果、ウイルス遺伝子を検出する場合があることを確認した。特にウイルス血症が消退しウイルス遺伝子が血液中から検出できない場合でも、尿中から検出することがあることが確認され、診断上の意義があることが明らかとなった。また、IgM抗体が尿中、唾液中から検出する場合もあることが

確認された。33例中TaqMan RT-PCRにより尿中のDV遺伝子が検出された症例は9例であった。このうち7例で遺伝子解析により確認された。また、尿中からのデングウイルス遺伝子の検出は、デングウイルス1型から4型までのすべてのウイルスで生じることも確認された。[高崎智彦、小滝 徹、原田文植、田島茂、倉根一郎、名和優・町田早苗(埼玉医科大学)、水野泰孝・加藤康幸・工藤宏一郎(国立国際医療センター)]

##### (3) デング熱サルモデルの開発

デングウイルス感染症の病態解析およびワクチン評価系のためのモデルとして、ある種のサルを用いたウイルス感受性試験を行ったところ低接種量においても高接種量と同等のウイルス血症を示し、この種のサルが他の動物種に比べ高い感受性を有することが明らかになった。さらに、各主要臓器における経時的なウイルス変化を追ったところ免疫系臓器におけるウイルス増殖が確認され、また病変の確認された臓器においては他の臓器に比べ高いウイルス量であることが確認された。また、異なる血清型を用いた二次感染実験においては、感染増強は確認されなかったがわずかな感染防御とともに白血球の抑制が観察された。

[大松 勉、高崎智彦、平山隆則、伊藤美佳子、小滝 徹、倉根一郎、明里宏文(医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター)、中村紳一郎(滋賀医科大学)、片貝裕子(予防衛生協会)]

##### (4) 治療ターゲットとしてのFc受容体を介したデング出血熱の病態形成機序の解析

デング出血熱の病態形成機序を宿主・ウイルス間の相互作用の見地から解明するため、Fc受容体をCos-7細胞に導入した細胞を用いて、Fc受容体を介したデング出血熱のin vitroにおける感染機構モデルを作製した。本モデルを用いた結果Fc受容体の膜結合領域およびリン酸化部位の欠損変異体においてデングウイルスの感染増強が認められなかったことからFc受容体の生理学的活性がデングウイルスの感染増強機構に関与していることが示唆された。[林 昌宏、高崎智彦、モイメイリン、倉根一郎]

##### (5) 台湾におけるデング熱発生状況現地調査とアジアのラボネットワークの確立

2007年8月に台湾におけるデング熱発生状況現地調査報告とラボネットワークの確立のため台湾疾病対策センター(CDC)高雄支所及び台湾高雄市CDCを訪問し、

高雄市のデング熱流行地域の現地調査を行った。本調査により台湾 CDC 高雄支所および高雄市 CDC と我々の連絡体制の確認を行った。さらに現地調査の結果デングウイルスの流行している地区は衛生環境も良いにもかかわらず、100m四方の狭い範囲で短期間に感染が広がったことが明らかとなり雨期におけるデングウイルス媒介蚊対策の困難な状況が明らかとなった。しがって今後もアジア各国との連絡体制を密にし、情報を共有することが重要であることが示された。またアジア各国のデング熱流行状況を把握するためのウェブサイト感染研ホームページ内に構築した。[林 昌宏、田島茂、小滝徹、柴崎謙一、高崎智彦、倉根一郎]

## 2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

### (1) 低継代日本脳炎ウイルス3型の病原性の解析

当研究室で使用している3型日本脳炎ウイルス Beijing-1(smb37)(B1smb37)株は、マウス脳での高継代(37代)に伴うゲノム変化が多数見つかっており、さらにマウスに馴化している可能性もあり、本来の3型としての性状を維持しているか疑問である。そこで我々は、継代数の少ない3型 JEV 3株 (JaTAn1/75(Tn1/75), JaTAn1/90(Tn1/90), JaTAn2/91(Tn2/91)) について、ゲノム配列、in vitro での増殖性、およびマウスに対する病原性を調べ、B1株や1型 JEV である Sw/Mie/41/2002(M41)株と性状を比較した。3'非翻訳領域の塩基配列を比較したところ、Tn1/90 および Tn2/91 株は Tn1/75 株に比べ9塩基短かった。一方、B1smb37 株は登録されている Beijing-1 株から25塩基欠失していることが明らかとなった。Vero 細胞およびブタ腎由来 PK15 細胞でのブランク形態では、B1smb37 株に比べ Tn1/90、Tn2/91 および M41 株は明らかに大きいブランクを、Tn1/75 はその中間の大きさを示した。また C6/36 細胞でのウイルス増殖能を比較したところ、Beijing-1(smb37)株に比べ Tn1/75、Tn1/90、Tn2/91 および M41 株は顕著に速い増殖速度を示した。マウスに対する病原性を調べたところ、Tn1/75、Tn1/90 および Tn2/91 の3株は M41 株よりも強毒であったが、B1smb37 株よりは明らかに弱毒であった。以上より、通常の3型は B1smb37 株ほどマウスでの病原性が高くないことが示唆された。[田島茂、貫井陽子、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

### (2) 遺伝子型間の病原性を規定するウイルス側因子の同定

3型の Sw/Mie/41/2002 株 (M41 株) に比べ、1型の

Beijing-1(smb37)(B1smb37)株はマウス病原性が顕著に高い。両ウイルスのE領域の塩基配列を決定後比較したところ、8アミノ酸の差異が認められた。そこで昨年度作製した M41 株の感染性分子クローンを用いて、E領域のみを B1smb37 株に置換したキメラウイルスを作製したところ、このウイルスは B1 株と同等の病原性を示した。さらに点変異を導入することにより病原性発現に関わるアミノ酸の特定を試みたところ、123番目のアミノ酸が B1smb37 株の病原性を規定することが明らかとなった。またこの変異体の増殖特性は、株化細胞を用いても B1smb37 株と同等であった。さらにこのアミノ酸の置換は、ウイルスのヘパリンセファロースへの結合能に影響することが明らかとなった。[貫井陽子、田島茂、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

### (3) 遺伝子型内の病原性を規定するウイルス側因子の同定

Sw/Mie/41/2002 株 (M41 株) に比べ、同じく1型の Sw/Mie/40/2002 株 (M40 株) はマウス病原性が顕著に高い。両者の病原性の差異を規定する部位を特定するため全塩基配列を決定したところ、翻訳領域内では7アミノ酸残基、非翻訳領域内では6ヌクレオチドが異なっていた。また B1smb37 株の場合とは異なり、E領域には差異は認められなかった。次に M41 株と M40 株との間でキメラウイルスを作製し病原性を調べたところ、M41 株の非構造蛋白質 NS4A 上の1アミノ酸のみが M40 株型となったキメラウイルスで顕著な病原性の上昇が観察された。これよりこのアミノ酸が1型内での病原性の差異を規定することが明らかとなった。[貫井陽子、田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

### (4) フォーカス(PAP)法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法に関する研修

第一回日本脳炎中和抗体価測定法研修会においてパーオキシダーゼ抗パーオキシダーゼ(PAP)法を応用したフォーカス計数法について感染症流行予測調査・日本脳炎感受性調査に参加する地方衛生研究所のうち愛知県の担当者に対して研修を行った。現在日本脳炎ウイルスの中和抗体価測定法に用いられているブランク法には約1週間を要するのに対し、フォーカス法においては3日間で結果が得られるため判定までの時間が短縮され、非特異反応も低く、96穴プレートの使用が可能のため、短時間で大量の検体を処理することが可能である。したがって本法は感染症流行予測調査の速やかな情報収集に寄与する。本会は実習形式で行い、各自実習結果において再現

性が認められた。[林 昌宏, 高崎智彦, 倉根一郎]

(5) ブタから分離された日本脳炎 1 型ウイルスのマウスにおける病原性解析

全国各地のブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体調査を行った。さらにブタ血清より日本脳炎ウイルスの分離を行い、遺伝子及び病原性解析を行った。マウスを用いた感染実験の結果これまで日本各地から得られた日本脳炎 型ウイルス分離株の中には強毒株が含まれており、今後も日本脳炎対策が必要であることを明らかとした。[林 昌宏 1, 高崎智彦 1, 田島 茂 1, 大松 勉 1, 貫井陽子 1, 根路銘令子 1, 小滝 徹 1, モイメンリン 1, 池田真紀子 1, 小山田敏文 2, 清水良太 2, 水野俊秀 3, 倉根一郎 1] (1. 国立感染症研究所ウイルス第一部, 2. 北里大学獣医学部獣医病理学研究室, 3. 国立循環器病センター人工臓器部)

(6) 無血清培地を用いた組織培養日本脳炎不活化ワクチン製造に関する研究

マウス脳由来の不活化精製ワクチンは、日本をはじめ広くアジアで使用されてきた。しかし、以前より 1) マウス脳由来の物質の混入の可能性、2) 急性散在性脳脊髄炎との因果関係が完全に否定できないこと、3) 精製に時間と費用がかかり過ぎること、4) マウス確保が将来的に不安定になる可能性、5) マウス焼却に伴う環境破壊および動物愛護の観点などから Vero 細胞を用いた組織培養不活化ワクチンの製造が急がれている。しかしこの場合、細胞培養に使用する牛胎児血清を通じて、牛由来成分が混入する可能性があるため市販されている無血清培地を用いて、Vero 細胞を維持培養できるように馴化させた。馴化した Vero 細胞 (Vero-SFM 細胞) を 15 継代後、毎回凍結保存し、再び解凍して無血清培地下に培養再開が可能であることを 20 継代まで確認した。また、日本脳炎ウイルスの増殖だけでなく日本脳炎ウイルスよりも増殖力が遅いデングウイルスを用いて、そのウイルス増殖能およびブラーク形成能を検討した。Vero-SFM 細胞上清中の細胞由来 DNA 量を測定し、ワクチン製造用細胞に関する WHO の基準を満たすことを確認した。[高崎智彦、田島茂、林昌宏、小滝徹、倉根一郎]

(7) 日本脳炎ウイルスの活動と気象との関連についての解析

我が国で 1965 年以来、実施されているブタにおける日本脳炎抗体調査のデータをもとに夏季の気温 (平均気温、最高気温、真夏日など)、降水量と日本脳炎ウイルス

の活動との相関関係を検討し、気温と正の相関をすることを見出し、地球温暖化と日本脳炎ウイルスの活動が関連する可能性を確認した。[柴崎謙一、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎]

### 3. ウエストナイルウイルスに関する研究

(1) ウエストナイルウイルス感染症に関する解説書の作製

ウエストナイルウイルスに関する一般的な解説書「ウエストナイルウイルス - あなたと地域ができる対策 - 」及び「ウエストナイル熱 Q&A」をそれぞれ小冊子として作製し、ウエストナイルウイルスに関して解説した CD-ROM と共に各検疫所、各都道府県等の関係機関に配布した。これはウエストナイルウイルスの性状、疫学的解析、ウエストナイル熱・脳炎の症状および予防法等を平易に解説したものである。また国立感染症研究所ウイルス第一部のホームページ内にウエストナイルウイルスの検査と治療、虫除け剤の安全な使用法等について解説した一般的な質問と回答(Q&A)集を作製し公開した。[林昌宏、高崎智彦、田島 茂、伊藤美佳子、根路銘令子、小滝 徹、倉根一郎]

(2) ウエストナイルウイルス組織培養由来不活化ワクチン (WN ワクチン) の性状解析

WN ワクチンをマウスに免疫した結果、防御に有効な中和抗体価の上昇が認められた。ところで我が国では長年にわたり日本脳炎ワクチン接種を行ってきた。そこで我が国に WN ワクチンを導入するモデルとして日本脳炎ワクチンを 1 度接種したマウスに WN ワクチンを追加接種した。その結果マウスモデルにおいて両ワクチンは相互に干渉することなくそれぞれのウイルスに対して相乗的な効果を示すことを明らかにした。これらの結果はウエストナイルウイルス侵入時の我が国における WN ワクチン接種スケジュールの検討に寄与する。[林 昌宏、高崎智彦、小滝 徹、倉根一郎]

### ・その他のアルボウイルスに関する研究

#### 1. チクングニヤウイルスに関する研究

(1) 本邦で初めて確認されたチクングニヤ熱輸入症例と患者血清からのウイルス分離とその性情解析

スリランカから帰国し発熱と重度の関節痛を呈した患者検体について実験室検査を行い、2007 年 1 月にチク

ングニア熱の輸入症例を確認した。また続いて発症した2例目のチクングニア患者血清より日本で初めてチクングニアウイルスを分離した。分離したウイルスの遺伝子解析を行ったところ本ウイルスは近年インドで流行しているチクングニアウイルスと相同性が高いことが明らかとなった。[林 昌宏, 高崎智彦, 小滝 徹, 倉根一郎]

### (2) チクングニヤウイルスの実験室診断法の開発と評価および応用

チクングニヤウイルス感染症は、わが国では現在のところ感染症法あるいは検疫法において定められていない感染症であるが、この流行の主媒介蚊は本邦においても沖縄県から東北地方まで広く分布しているヒトスジシマカである。ヨーロッパ・アメリカ・カナダ・東南アジア諸国では非常に警戒されているウイルス感染症である。そこで Robert Koch Institute を中心とした「ヨーロッパ輸入ウイルス感染症診断ネットワーク「1st External Quality Assurance (EQA) for the PCR & serology diagnostic of Chikungunya virus (CHKI)」の呼びかけに応じて、実験室診断感度を検討した。また、チクングニヤ熱流行地での帰国者でデング熱が疑われた症例について、チクングニヤウイルスの病原体診断・血清診断を実施した。[林 昌宏, 高崎智彦, 小滝 徹, 倉根一郎]

### 2. フラビウイルス共通プライマーを用いた迅速診断法の確立

フラビウイルス間で比較的共通した塩基配列の認められる膜(E)タンパク領域, 非構造タンパクであるNS3, NS5領域にそれぞれPCRプライマーを設計し, フラビウイルス遺伝子の増幅を検討した。その結果蚊によって媒介される日本脳炎ウイルス, ウエストナイルウイルス, セントルイス脳炎ウイルス, マレーバレー脳炎ウイルス, デングウイルス, ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルス, さらにコウモリから分離されたフラビウイルスであるヨコセウイルスを検出することが可能なフラビウイルス共通プライマーを作製することに成功した。本プライマーはフラビウイルス感染症の迅速診断に応用可能であることが示唆された。[林 昌宏, 高崎智彦, 小滝 徹, 倉根一郎]

### 3. ベネズエラウマ脳炎血清診断法の確立

平成19年度より施行されている感染症法改正において新たに4類感染症として追加されたベネズエラウマ脳炎に関して、より汎用性を高めるためにヒトIgG抗体捕

捉ELISA plateを用いたベネズエラウマ脳炎ウイルス診断用ELISA systemの開発を試み、抗原としてプロピオラクトンによる不活化抗原がより感度が高いことを明らかにした。また、より反応性の高いモノクローナル抗体同定を行なった。[大松 勉, 高崎智彦, 倉根一郎]

### 4. 野生コウモリにおけるフラビウイルス検出の試み

蚊媒介性ウイルスの中で日本のコウモリから唯一分離されているウイルスであるヨコセウイルスについて、横瀬地域のコウモリにおけるの常在の有無について検索を行った。本年度は野生の小型コウモリ15頭の各主要臓器からウイルスRNAの検出を試みたがウイルスRNAは確認されず、ヨコセウイルスの常在化は確認されなかった。[大松 勉, 高崎智彦, 倉根一郎, 江下優樹(大分大学医学部感染分子病態制御講座)]

## ・神経系ウイルスに関する研究

### 1. 狂犬病ウイルスに関する研究

#### (1) 狂犬病ワクチンの品質管理法に関する研究

狂犬病ワクチンの国家検定試験ではマウスを用いた力価試験および不活化試験を行っており、力価試験では攻撃ウイルス量およびワクチン力価をマウスの生死によって評価している。しかしながら、動物愛護の観点からは死亡する前段階において人道的エンドポイントを設定し、安楽殺による苦痛軽減措置を施すことが望ましい。そこで、過去の検定における約2400頭分のデータを基盤として人道的エンドポイントとなりうる段階を設定し、実際の力価試験によってその適用性を評価した。その結果、全身の麻痺症状を示した個体は、時間の経過に伴って著しい体重減少を示し、5~6日で死亡することが分かった。以上の結果から、全身の麻痺症状の発現を指標として人道的エンドポイントの設定が可能であることを明らかにした。また、不活化試験では哺乳マウスが使用されているが、同じく動物愛護の観点からは動物を使用しない試験が望まれる。[伊藤睦代, 中道一生, 久保山有紀, 倉根一郎, 西條政幸]

### 2. JCポリオーマウイルス(JCV)に関する研究

#### (1) 進行性多巣性白質脳症(PML)の診断および治療を目的としたJCVの脳脊髄液検査体制の整備とその評価

PMLは免疫不全患者等において発生する致命的な脱髄性疾患であり、持続感染しているJCVによって引き起

こされる。感度や特異性、侵襲性において優れた PML の診断技術を確立することを目的として、脳脊髄液から JCV を検出するリアルタイム PCR 検査系を確立した。また、全国の医療機関からの検査依頼に対応し、PML の診断支援および発生状況調査を行った。平成 19 年度では、神経学的所見や脳 MRI 等から PML が疑われた症例について計 85 件の依頼を受けた。13 検体 (9 症例) が JCV 陽性と判断された。PML 患者の基礎疾患は HIV 感染症が 5 例、白血病等の血液系疾患が 4 例であった。また、同一患者において複数回の定量的検査を実施した場合には、症状の進行もしくは改善 (HAART 導入後) に伴って JCV 量が増減することが明らかにされた。本検査系は PML の診断だけでなく、治療法の評価においても、有用なウイルス学的情報を提供する。[中道一生、久保山有紀、伊藤陸代、森本金次郎、倉根一郎、西條政幸]

### 3. 単純ヘルペスウイルスに関する研究

(1) 神経節に潜伏感染している単純ヘルペスウイルスの再活性化に関する研究：チミジンリン酸化酵素欠損薬剤耐性ヘルペスウイルスの再活性化に関する研究

単純ヘルペスウイルス感染症の治療にはアシクロビルやペンシクロビルなどの有効な薬剤が使用されている。しかし、免疫不全患者においては、単純ヘルペスウイルスを含むヘルペス科ウイルス感染症は重症化し、また、治療に難渋することがある。先天性免疫不全症候群 (Wiskott-Aldrich 症候群) 患者から分離された薬剤 (アシクロビル) 耐性単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) のチミジンリン酸化酵素 (TK) 遺伝子にはフレームシフト変異が認められ、このウイルスが産生する TK には酵素活性がないことが明らかにされている。これまでの報告では、TK 活性欠損 HSV-1 は再活性化されないと報告されている。本研究では、TK 活性欠損 HSV-1 感染症罹患後に、再び出現した口唇ヘルペス病変から分離されたウイルスをアシクロビル存在下で増殖させ、そこから 23 クローンのアシクロビル耐性株をブランク精製法にて得た。これらの各クローンの TK 遺伝子を解析したところ、この 23 クローン中 6 クローン (26%) に、本患者から分離されているアシクロビル耐性 HSV-1 の TK 遺伝子変異と同じ変異が認められた。この変異は薬剤耐性株が含まれない HSV-1 を同様に処理して得られるクローンでは、約 5% に認められる。これらの成績は、ヒトにおいては再活性化能を有しない TK 活性欠損 HSV-1 が、再活性化能を有する TK 陽性アシクロビル感受性 HSV-1 の再活性化に伴って再活性化することを示している。

[西條政幸、塩田智之、錫谷達夫 (福島県立医科大学微生物学)、伊藤陸代、中道一生、森川茂、倉根一郎]

## ・ヘルペスウイルスに関する研究

### 1. 水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) に関する研究

(1) 水痘ワクチンの遺伝子レベルでの品質管理法の検討

水痘ワクチンについては、容易に弱毒・強毒を判定しえる動物モデルなどのアッセイ系が存在しない。有効性と安全性の判断基準のひとつとして、現行ワクチンに特徴的な遺伝子配列が各製造ロットで保存されていることを今後保証することが望ましいと考えられる。そこで、ワクチン株と親株との塩基配列の差異を解析する方法として、蛍光エネルギー移動 (FRET) を応用した LightCycler の Tm 値解析を昨年度に引き続き検討した。[井上直樹、倉根一郎]

(2) 新規抗 VZV 薬の検索と評価

VZV は細胞フリーの感染粒子が得にくい、感染細胞と我々が樹立した VZV を簡便迅速に検出できるレポーター細胞株を共培養することにより、VZV 感染力価を 3 日間で測定できる。この系を用いて、昨年度の 5600 種類に加え、今年度 4000 種類のランダム化合物ライブラリーから VZV 感染を 20  $\mu$ M で阻害する新規抗ウイルス剤候補を検索し、細胞毒性がなく (>20  $\mu$ M)、VZV 感染阻害がある 7 化合物を新たに同定した。[中野友莉、福井良子、山口十四文 (帝京科学大)、倉根一郎、井上直樹]

### 2. サイトメガロウイルス (CMV) に関する研究

(1) 先天性 CMV 感染スクリーニングのパイロット調査と感染児のフォローアップ

我々が昨年度開発した先天性 CMV 感染のマスクリーニング法を用いて新生児 1000 例について先天性感染を検討した。昨年度の 600 例とあわせ計 1600 新生児中、スクリーニングを行わない限り同定されないような不顕性の先天性感染児を 6 例見出し、乾燥臍帯など追加検体を得て先天性感染を確認した。陽性児について、CT 検査や ABR 聴覚検査で異常は認められなかった。先天性 CMV 感染による遅延性の後遺症として、難聴や発達遅滞が知られることから、これら症例についてフォローアップを行なっている。[井上直樹、古谷野伸 (旭川医大)、稲見有希、津田美穂子、倉根一郎]

(2) CMV ゲノムタイプの解析

高度感音難聴を2才までに発症した乳幼児の約2割が先天性CMV感染によること、その頻度は遺伝的要因として知られるGJB2遺伝子変異と同程度であること、先天性CMV感染による難聴発症が遅延性・進行性であること、gB遺伝子の特定の型が先天感染、特に神経学的症状を呈する児より得られた株に有意に多いことなどを見出した。今年度は、さらに糖蛋白N(gN)、g0などの遺伝子型を解析し、gN、g0、gHの遺伝子型の解析から、これらの遺伝子間に連鎖があり、先天感染・後天感染を問わず大半の分離株が、7つの連鎖グループに分類できることを明らかにした。さらに、7グループに属さない株がg0遺伝子の3'末端から約200bp上流で相同組換えを起こしたものであることを明らかにした。RNAウイルスと異なりヘルペスウイルスの遺伝子配列は極めて安定であるため、こうした遺伝子組換えがヘルペスウイルスの新たな遺伝子型を形成し、結果的には病原性の異なるウイルスを生成していく過程ではないかと推測される。[顔海念、稲見有希、倉根一郎、井上直樹]

(3) モルモットCMV(GPCMV)を用いた先天性CMV感染に関する基盤的研究

胎盤構造の違いからマウスやラットCMVはヒトCMVのような経胎盤感染をおこさないため、GPCMVが唯一の小動物先天性感染動物モデルである。これまでに、GP83遺伝子領域をターゲットとしたreal-time PCR法の確立、抗GPCMVモノクローナル抗体の性状解析、入手可能な5種の近交系モルモット系統間にウイルス感受性の差がないこと、および腹腔内接種後のウイルス伝播様式がマウス・ヒトCMVと類似することを明らかにしてきた。全遺伝子配列決定の過程で、ATCCより購入したGPCMVストックに2種類のウイルスが混在することを見出した。一方のウイルス株では、約1.6kbの欠失が存在した。細胞培養系においては、欠失変異株の方がわずかながら増殖性がよいのに対して、腹腔内接種後の動物個体でのウイルス増殖を各組織において検討したところ、欠失変異株の増殖が著しく低下しており、欠失領域にコードされる遺伝子が個体での増殖に必須であることを明らかにした。[野澤直樹、山本由美子、福井良子、片野晴隆(感染病理部)、佐藤由子(感染病理部)、筒井祥博(浜松医大)稲見有希、中村幸之助、横井雅之、倉根一郎、井上直樹]

(4) 新規抗CMV薬146F7の作用機序の解析

昨年度9600種類のランダム化合物ライブラリーを検索して同定した新規抗CMV薬候補化合物のひとつ146F7に

ついてその作用機序を解析した。1)ヒト2倍体繊維芽細胞上でのヒトCMVに対する増殖阻害が、EC50値 $2.5 \pm 0.2 \mu\text{M}$ と同時に測定したganciclovirの $1.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$ に相当するほど有効であること、2)マウスCMV及びモルモットCMVに対しても有効であること、3)薬剤の添加や除去のタイミングを変えることで、感染後5-12時間辺りで効果があること、4)蛋白・RNAレベルとともに前初期蛋白IE1/IE2の発現を阻害していること、4)ウイルスの細胞への吸着・侵入は阻害しないことなどを、明らかにした。CMV感染初期過程を阻害するユニークな化合物として、さらに詳細な作用機序及び動物モデルでの効果を今後検討したい。[福井良子、神道慶子、山口十四文(帝京科学大)、倉根一郎、井上直樹]

・リケッチアに関する研究

1. リケッチアに関する研究

(1) リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築

つつが虫病をはじめ、近年の日本紅斑熱の増加や死亡例の発生、また新たな紅斑熱群やエーリキア症、アナプラズマ症等の発生に対応するため、リケッチア感染症の疫学的研究、検査・診断研究、予防・治療研究を進めた。19年度は疫学的研究としては、つつが虫病、日本紅斑熱について疫学情報の解析疫学データの集約方法の検討と、アンケートによる医師の認知度と届出率の調査を行い啓発の重要性が再確認された。国内実態調査としては、つつが虫病と日本紅斑熱の患者発生状況調査と、推定感染地におけるリケッチアのダニ、動物の浸淫状況調査、さらに近隣国でもアジア大陸共通紅斑熱の現地調査も進め、リスクマップ作成に向けたデータの蓄積をした。イヌとネコを歩哨動物とした全国的な血清疫学調査を行い、一部野生動物のリケッチア感染状況を調査した。アナプラズマ、エーリキアについては、国内におけるマダニの実態調査でアナプラズマ遺伝子群、未知の紅斑熱群リケッチアDNAを検出し、さらにアナプラズマ症や未知のリケッチア症の初症例を見出した。検査・診断については、早期診断体制の確立を目指し病原体迅速診断法の開発や、皮膚生検等からの検出法の確立を目指し検討した。地域毎のリファレンス体制構築に用いる菌株や患者血清を収集した。新たなタンパク質抗原の用意をして、病理試験への応用のための条件設定を検討中である。患者での検査材料の検討として、皮膚や刺し口の痂皮について検出法を検討し有用性を確認した。

予防・治療研究としては、患者の病態解析によって重症化の機序の解明と、より有効な治療法の確立をめざし、つつが虫病の重症度とサイトカイン血中濃度との関連性を、臨床例で見出し、in vitro でもテトラサイクリン系薬剤の有効性にも関与する可能性が示唆された。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、坂田明子、花岡 希、猪熊 壽(帯広畜産大学獣医学部)、岩崎博道(福井大学医学部)、大橋典男(静岡県立大学環境科学研究所)、岡部信彦、松井珠乃(感染症情報センター)、川端寛樹(細菌第 1 部)、倉田 毅(富山県衛生研究所)、高田伸弘(福井大学医学部)、田原研司(島根県保健環境科学研究所)、堤 寛(藤田保健衛生大学医学部)、藤田博己((財)大原総合病院附属大原研究所)、古屋由美子(神奈川県衛生研究所微生物部)、山本正悟(宮崎県衛生環境研究所微生物部)]

#### ( 2 ) 鳥類に由来するマダニ材料からのリケッチアの検出

日本国内の紅斑熱群リケッチアには様々な種が存在することが知られており、近年、日本紅斑熱リケッチア(*Rickettsia japonica*)以外の紅斑熱群リケッチアによる患者の発生の可能性が指摘されている。また、リケッチア症は、自然界においてマダニと野生動物の間に感染サイクルが構築されており、そのサイクルにヒトが侵入、マダニの刺咬によって感染を受け、発症する。このことから、自然界のマダニ、野生動物からの材料を用い、直接リケッチアを検出することは、ヒトの感染の可能性をあらかじめ防ぐ情報を提供するためのハザード・マップの作成に必要な情報を得るために有用である。山階鳥類研究所に協力する全国の関係者から集められた、野生鳥類に関連するマダニからリケッチアの検出、解析を継続している。[安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、藤田博己(大原総合病院附属大原研究所)、鶴見みや古、尾崎清明((財)山階鳥類研究所)、高野 愛、川端寛樹(細菌第 1 部)]

#### ( 3 ) 生物テロに使用される可能性の高いリケッチア属菌の高感度かつ迅速な検出法の確立

生物テロが疑われる不明熱患者発生時において、迅速に原因菌種を特定できる検出法や診断法を開発し実用化することを目的として、リケッチア属の検出、特に主に欧米で問題となっている *Rickettsia rickettsii* と *R. prowazekii*、我が国やアジア地域において問題となっている *R. japonica* を特異的に検出できる診断系の開発を目指し、Taqman MGB プローブの作製を試みた。現在作製したプローブセットの感度、特異性の検討等を行っている。今後本検出系が確立されれば、Fast PCR 系と

組み合わせることによって、より迅速性を向上するための検討を行う予定である。[花岡希、安藤秀二、坂田明子、岸本寿男(ウイルス第 1 部)、川端寛樹、高野愛(細菌第 1 部)]

#### ( 4 ) PCR 法を用いたリケッチア症病原体検出法の改良—コンタミネーション防止のためのポジティブコントロール作製

PCR 法を用いた特異的遺伝子の検出は、リケッチア感染症において病因を同定する簡便かつ有用な診断ツールではある。しかしながら、ポジティブコントロール(PC)としてリケッチア菌体から抽出した全ゲノム DNA を用いることから、PC のキャリーオーバーが発生してしまうリスクが常にあった。今回、組換え技術を用いて国内で常用されているつつが虫病診断用の PCR プライマー領域を含みながら、リケッチアとは明らかに異なる遺伝子配列を持つ他の微生物の同定済み DNA を組み込んだプラスミドを作製した。作製したプラスミドをテンプレートに PCR を実施し、確実に PCR 産物が増幅されることを確認し、反応系が確実に実施されたことの指標となることが示された。また、その増幅産物のサイズが *O. tsutsugamushi* 全 DNA から増幅される PCR 産物と明らかにことなることから、キャリーオーバーの有無をも確認できる。以上より、有用なポジティブコントロール作製に成功した。[花岡希、安藤秀二、坂田明子、岸本寿男(ウイルス第 1 部)、川端寛樹、高野愛(細菌第 1 部)]

#### ( 5 ) Q 熱コクシエラの生態系における感染リスク評価

Q 熱は重要な動物由来感染症であるが、本邦における Q 熱コクシエラの生態系での存在様式の実態は不明である。本研究ではヒト、家畜、ペット、野生動物などの動物と、ダニ等のベクターを含む環境での本菌の実態について調査を行い、国内における本病原体の存在様式を明らかにすることを目的とした。19 年度はまずヒトの Q 熱抗体価測定法についての検討として、健常人の保存血清を用いてスクリーニングとしての ELISA 法(キット)と、われわれが開発した非特異反応除去処理をした IFA 法との比較を行った。ELISA 法によって判定保留ならびに陽性と判定された検体について IFA 法で再検したところ、すべて判定保留以下となり、陽性検体は認めなかった。このことから ELISA 法の単独使用には注意が必要と考えられた。今後、畜産関係者等ハイリスクグループとの比較が検討課題である。次に家畜、ペット、野生動物、ベクターにおける Q 熱コクシエラの感染実態や存在についての調査を進めるにあたって、これらの検体の全

国的な収集を行った。これまでに約 1500 検体イヌ・ネコの血液、野生のシカの血液、ダニが得られ、次年度の遺伝子検査に向けての DNA 抽出や、抗体測定用の抗原等を整備している。[岸本寿男、安藤秀二、小川基彦、吉林台、坂田明子、花岡 希、(ウイルス第 1 部) 福士秀人、大屋賢司(岐阜大学応用生物科学部)、猪熊 壽(帯広畜産大学獣医学部)野村彩朱、矢野竹男(オリエンタル酵母(株))]

#### (6) つつが虫病リケッチアの発現タンパク質の網羅的解析

つつが虫の起因菌 *Orientia tsutsugamushi* の全塩基配列が報告され、ゲノム構造が他のリケッチアと異なること、いくつかの特徴的な遺伝子が存在することが明らかになった。そこで、本研究では、GeLC-MSMS を用いて、発現タンパク質の網羅的同定を行った。Kuroki 株を培養・精製し用いた。トリプシンおよび Lys-C を使って、ゲル内消化し、LC-MSMS 解析を行った。Lys-C と高分離カラムを用いることで、同定されるタンパク質が飛躍的に増加し、特に低分子領域 (<50kDa) での同定率が極めて改善された。最終的に、同定率は 49.4% (584/1152) であった。同定されたタンパク質を COG の機能カテゴリーに分類すると、翻訳カテゴリーに属するものが比較的多く、メタボリズムに属するものは少なかった。この発現プロファイルは、偏性細胞内寄生細菌に共通のものであり、他の細菌とは異なっていた。この結果は、リケッチアなどの偏性細胞内寄生細菌が進化の過程で、同じようなタンパク質を宿主に依存して失い、同じようなタンパク質を宿主細胞内で生き残るために保存してきたことを示しているのかもしれない。今後、同定されたタンパク質に対して、さらに詳細な解析を行う予定である。[小川基彦、岸本寿男、大内史子・萩原健一・花田賢一郎(細胞化学部)、松谷峰之介(山口大医学部)、内山恒夫(徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)]

#### (7) リケッチア種間のミトコンドリアプロセシングペプチダーゼ相同遺伝子の比較解析

リケッチアのゲノム解析より、リケッチアは現在までに知られているどの生物よりミトコンドリアに近縁であることが明らかになっている。さらに、リケッチアゲノム中にミトコンドリアプロセシングペプチダーゼ (MPP) と同源性の高い蛋白質 (rickettsial putative peptidase [RPP]) の遺伝子が存在することが明らかとなった。MPP は  $\alpha$ MPP、 $\beta$ MPP のヘテロダイマーとして核ゲノムコードの種々のミトコンドリア蛋白質前駆体の

輸送シグナルを認識して特異的に切断し、成熟体蛋白質を生成する酵素である。我々は、大腸菌で作製した組換え RPP がモノマーとしてペプチダーゼ活性を有すること、RPP がリケッチアで産生され、細胞膜に局在することを第 50 回、51 回の本学会で報告した。本研究では、種々のリケッチア種の rpp 遺伝子を比較解析し、MPP および RPP の分子進化の解明に資することを目的とした。発疹チフス群リケッチア *Rickettsia prowazekii*、*R. typhi*、および紅斑熱群リケッチア *R. aeschlimannii*、*R. africae*、*R. akari*、*R. conorii*、*Malish 7*、*R. conorii*、*Israel*、*R. felis*、*R. helvetica*、*R. honei*、*R. japonica*、*R. massilliae*、*R. montanensis*、*R. sibirica*、*R. slovacica*、*R. thailandii*、およびそのいずれにも属さない *R. bellii* を L 細胞で増殖し、定法によりリケッチア粒子を精製後、ゲノム DNA を抽出した (一部ゲノム DNA は *Dr. Brouqui* より分与)。これを基に各 rpp 遺伝子の塩基配列を決定し、比較解析した。得られた rpp 遺伝子の塩基配列について系統樹解析を行った結果、進化的に *R. bellii* が最古相にあり、*R. felis*、紅斑熱群の他のリケッチア種、発疹チフス群のリケッチア種がそれに続くことが推測された。また、解析した全てのリケッチア種の rpp 遺伝子間の相同性が非常に高く、MPP についての知見より推定されるペプチダーゼとしての活性中心、触媒部位、金属結合部位、基質認識部位等の配列が良く保存されていた。これらの結果より RPP の酵素活性は種間でよく保存されており、重要な生理活性を担っていることが推測される。[内山恒夫・鎌田和弥・八町和樹・足立昭夫 (徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)、小川基彦、岸本寿男、倉根一郎]

#### (8) リケッチア感染の宿主特異性

リケッチアは節足動物媒介性であるが、その属する群により異なるベクターを宿主としている。発疹チフス群リケッチア (typhus group rickettsiae [TGR]; *Rickettsia prowazekii*、*R. typhi*) は昆虫類 (シラミ、ノミ) をベクターとしており、一方、紅斑熱群リケッチア (spotted fever group rickettsiae [SFGR]; *R. rickettsii*、*R. conorii*、*R. japonica*、*R. akari* 等) はクモ形類 (マダニ、小形ダニ) をベクターとしている。このリケッチア群と宿主ベクターの組み合わせの特異性が細胞レベルでのリケッチアの増殖特異性と一致しているか否かについて検討した。TGR の *R. prowazekii* と *R. typhi*、SFGR の *R. japonica* と *R. conorii* あるいは *R. montanensis* をマダニ由来の DALBE3 細胞 (*Dermacentor albipictus* 由来)、ISE6 細胞 (*Ixodes*

scapularis 由来)、昆虫由来の NIAS-AeAl-2 細胞(Aedes albopictus 由来)、あるいは哺乳動物由来の ECV304 細胞(ヒト臍帯血管由来) Vero 細胞(サル腎由来)に接種し、培養した。3 日毎に培養液を交換し、培養液および細胞中に存在するリケッチアの感染価を定量した。また、これらのリケッチアを細胞に接種後に経時的に細胞を回収してブラック法でリケッチアを定量し、各種細胞へのリケッチアの付着能を調べた。TGR は AeAl2 細胞、Vero 細胞、ECV304 細胞に、SFGR は DALBE3 細胞、ISE6 細胞、Vero 細胞、ECV304 細胞にそれぞれ付着侵入し、増殖した。これに対し、SFGR と AeAl2 細胞との組み合わせ、あるいは、TGR と DALBE3 細胞、ISE6 細胞との組み合わせでは、細胞にリケッチアは付着侵入するが、増殖は認められなかった。これらの結果は、本来の宿主とリケッチアの関係と一致しており、ベクター中でのリケッチア増殖の可否が宿主細胞種とリケッチア群の相互関係のレベルで規定されている可能性が示唆された。今後、リケッチア増殖が成立しない宿主細胞・リケッチアの組み合わせについて、リケッチア付着侵入後の増殖阻害の機構について解析を進める予定である。[内山恒夫・岸真帆美・鎌田和弥・八町和樹・足立昭夫(徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)、小川基彦、岸本寿男、倉根一郎]

#### (9) リケッチア感染性保存に及ぼす糖の効果

ノミやマダニは飢餓状態でも年余に渡って休眠・生存し、吸血によりそのライフサイクルを再開する。この間リケッチアはこれらのベクター内で感染性を失わずに存在し続ける。この現象はこれらの節足動物がリケッチアのベクターたりえる要因のひとつである。この現象を解明する手がかりとして、節足動物のヘモリンフ中の血糖として知られるトレハロースに着目した。トレハロースは様々な生物が乾燥や冷却等に対応するために産生する物質としても知られており、リケッチアの感染性の保存にも効果を有する可能性があると考えた。トレハロースを含む種々の糖類について、リケッチアの感染性の保存に及ぼす効果を明らかにすることを目的とした。

リケッチアとして発疹チフス群リケッチア(TGR)の *R. typhi*、紅斑熱群リケッチア(SFGR)の *R. japonica* を用いた。リケッチアをトレハロース、ショ糖、麦芽糖等を含む緩衝液中で種々の温度で保温した。各糖を含む緩衝液中のリケッチアの感染価を経時的に Vero 細胞を用いたブラック法により測定した。二糖類のトレハロース、ショ糖、麦芽糖について調べたところ、トレハロース、ショ糖については麦芽糖に比べ感染性の保存効果が認め

られた。また、この効果は低温ほど大きかった。非還元糖のトレハロースとショ糖とに感染性の保存効果が認められ、ヘモリンフ中のリケッチアの感染性の保存は、主にトレハロースの効果による可能性が示唆された。一方、還元糖の麦芽糖では効果は認められなかったが、この効果が非還元糖であることによるのか否かは不明である。現在、他の糖類および節足動物の血液であるヘモリンフ中に存在する他の物質についても、その感染性保存に及ぼす効果を検討中である。[内山恒夫・岸真帆美(徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)、小川基彦、岸本寿男(ウイルス第一部)]

#### (10) 牛放牧地のエゾシカ及び放牧牛におけるアナプラズマ及びリケッチアの検索

近年我が国では人獣共通の新興リケッチア性病原体が多数発見されているが、ベクター・保菌動物等未知な点が多く、医学・獣医学領域において実態把握が求められている。このため北海道内の牛放牧地で捕獲されたエゾシカ 22 検体と同放牧中の牛 83 頭を対象とし、アナプラズマ及びリケッチアに対する抗体及び遺伝子を検索した。その結果:(1) *A. phagocytophilum*: 抗体検査ではエゾシカ 16 頭(72.7%)が陽性を示し、種特異的 PCR では、10 頭(45.5%)が陽性であったが、牛は共に全頭陰性であった。(2) *A. bovis*: 種特異的 PCR でエゾシカ 5 頭(22.7%)が陽性を示し、牛でも 3 頭(3.6%)が陽性を示した。*A. bovis* は我が国の牛からは初めての検出例であった。(3) *R. helvetica*: 抗体検査ではエゾシカ 15 頭(68.2%)および牛 8 頭(9.6%)が陽性を示した。リケッチア属特異的 Nested PCR では、エゾシカ 14 頭(63.6%)が陽性を示したが、遺伝子解析の結果は *R. helvetica* よりもむしろ *Rickettsia* sp. strain IO-1 と近縁であった。牛検体はすべてリケッチア PCR 陰性であった。[吉林台、岸本壽男(ウイルス第 1 部)、清野伸隆(帯広畜産大学・獣医)、早川大輔・鈴木正嗣(岐阜大学・獣医)、秦 寛・近藤誠司(北海道大学・北方圏フィールド科学センター)、松本高太郎・猪熊壽(帯広畜産大学・獣医)]

### ・クラミジアに関する研究

#### 1. オウム病クラミジアに関する研究

##### (1) オウム病の早期診断体制とコントロールに関する研究

オウム病の早期診断体制の確立と、患者発生のコントロールを目的として 18 年度に引き続き以下の検討をす

すめた。まずオウム病のより簡便な血清診断法として、*Chlamydomyxa psittaci*(*C. psittaci*)感染細胞を用いた間接蛍光抗体法(inclusion IFA)の臨床応用について検討した。19年度は、さらに臨床検体を増やし特異性、感度の検討と、判定基準の設定を行い、臨床応用の有用性について検討した。本法にてオウム病抗体陽性20検体を測定した結果、標準法のmicro-IF(MIF)法と高い相関性が認められた( $r=0.88$ )。一方、肺炎クラミジア抗体陽性血清では、本法の種特異性の高さが示唆された。また、改良した検体希釈液では、非特異反応によると思われるバックグラウンドを低下させることができた。以上のことから本血清診断法の臨床的有用性は高いと考えられた。[岸本寿男、安藤秀二、坂田明子、福士秀人・大屋賢司(岐阜大学応用生物科学部)、野村彩朱・矢野竹男(オリエンタル酵母(株))]

#### (2) オウム病の病態発現に関する病原因子の探求

オウム病の病態発現に関する病原因子の探求を比較ゲノム解析の視点から行う目的で、*C. psittaci*ゲノム配列の解読と比較解析を試みた。我が国において集団発生事例で分離されたMat116株を選定し、増殖と精製ゲノム配列の解読と比較解析に着手した。Mat116株ゲノムのDNAドラフト塩基配列は95コンティグ、総塩基数約1100kbpであった。この暫定配列を用い、*C. abortus*ゲノム配列との比較を行った所、それぞれに固有と思われる領域が複数見いだされた。現在、コードされる遺伝子についてアノテーションを行っており、今後は、*C. psittaci* Mat116株ゲノムDNAの完全塩基配列およびコードされる遺伝子を同定する予定である。全塩基配列決定後は、多種クラミジアゲノムとの詳細な比較解析を行い、オウム病の病態発現に関する病原因子の解明をめざす。[福士秀人・大屋賢司(岐阜大学応用生物科学部)、岸本寿男、安藤秀二、坂田明子、野村彩朱・矢野竹男(オリエンタル酵母(株))]

## 2. 肺炎クラミジアに関する研究

### (1) 肺炎クラミジア感染症の血清診断における「ヒタザイム C.ニューモニエ Ab-IgM」の判定基準の見直しと評価

肺炎クラミジア感染症の血清診断法「ヒタザイム C.ニューモニエ Ab-IgM」の現行の診断基準案については、カットオフ値が低いことや非特異反応の課題があり、見直しの必要性が指摘されており、その判定基準の再検討を行った。19施設から、肺炎クラミジア感染症例の保存

血清と、新たに肺炎クラミジア感染が疑われる呼吸器感染症患者の血清及び鼻咽頭スワブを収集した。血清は本ELISA法とMicro-IF法で抗体価を測定、スワブはPCR法による遺伝子検出を実施した。さらに、非特異的反応に關する因子としてリウマチ因子(RF)と一部検体の抗核抗体を測定し、新前処理剤の効果を検討した。基準の再設定のため健常小児(16歳未満)232検体及び健常成人(16歳以上)417検体の血清を用い、retrospective例で小児1,323検体、成人238検体、prospective例で小児(16歳未満)78検体、成人(16歳以上)129検体について検討した。1)ヒタザイムC.ニューモニエIgMによる健常小児での平均+3SDはID 2.11(陽性率1.7%)、健常成人はID 2.06(陽性率2.4%)であった。2)新前処理剤により、RF高値検体及び抗核抗体陽性検体の非特異的反応が抑制できた。この前処理剤による健常小児及び健常成人での平均+3SDは上記と同様の結果であった。3)prospective例は、小児ではID 2.00が17.9%、成人ではID 2.00が5.4%であった。健常小児と健常成人から得られた新たなIgMカットオフ値ID2.00は、Micro-IF法のほぼ32倍に相当し、そのprospective例の陽性率からみても、妥当な値と考えられた。[岸本寿男、安藤秀二、沼崎 啓(ウイルス第3部)、尾内一信(川崎医科大学小児科2)、山崎 勉(埼玉医科大学小児科)、中浜 力(中浜医院)、肺炎クラミジア血清診断法研究会]

### (2) 肺炎クラミジアと多発性硬化症に関する研究

特定疾患の微生物学的原因として、近年、多発性硬化症(以下MS)と、肺炎クラミジアとの関連の可能性が指摘されているが、不明な点が多い。本年度の研究では、MSと肺炎クラミジアの関連について患者血清と髄液を用いて検討した。MS症例、5例の血清と髄液での肺炎クラミジアのPCRではすべて検出限界以下であった。2例でIgGとIgM陽性例があり、ウェスタンブロット(WB)でも肺炎クラミジアに対する特異抗体が確認された。このことから、この2例はいずれも肺炎クラミジアの初感染、あるいは急性感染が示唆された。しかし、MSの経過からは、肺炎クラミジアの感染がMSの発症に關したのではなく、MSにたまたま肺炎クラミジア感染が起こった可能性が高いと推察された。前年度の成績とあわせて考えると、肺炎クラミジア感染は一部のMSの急性増悪の要因となる可能性はあるが、MS発症への直接的な關与を積極的に疑う証拠は認められなかった。[岸本寿男、安藤秀二、坂田明子、川端寛樹(細菌第1部)、池島秀明・星 恵子(昭和薬科大学薬物治療学)、加茂 力(聖

マリアンナ医科大学神経内科)、楠 進・宮本勝一(近畿大学医学部神経内科)、川越清隆、守川俊英、増田周子(日立化成工業(株))]

### ・その他の研究

#### 1. 川崎病の原因ウイルス特定に関する研究

日本における川崎病患者数は上昇しており年間1万人以上の小児が入院しているが、原因がわからないために対処療法で治療をおこなっている。川崎病は極地的な流行があることやグロブリン療法の有効性などからウイルスや細菌が起因になることが予想されている。しかしながら、これまで数多くのウイルスなどに関する論文が発表されているにも関わらず、起因となるウイルスは定かではない。そこで、我々は2人の患者血清からRNAとDNAを抽出し、69種類のウイルスについてリアルタイムPCRをおこなったところTTVが陽性であることがわかった。さらにコンベンショナルPCRでもTorque teno virus (TTV)のバンドが検出された。この患者のRNAとDNAをRDV法と次世代高速大量シーケンス(メガパイロシーケンス)法を組み合わせ、11,000遺伝子の配列を解析したところ、TTVの配列やGenBankに登録されていない遺伝子配列が得られたので、さらに解析中である。「水谷哲也、酒井宏治、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、飯塚愛恵、倉根一郎、森川茂(ウイルス第一部)、片野晴隆(感染病理部)、黒田誠、関塚剛史(ゲノム解析センター)、大場邦弘(公立昭和病院)、梅田陽、上村茂(昭和大学医学部)、川崎富作(日本川崎病研究センター)」

#### 2. バイオセーフティに関する研究

##### (1) バイオセーフティ教育の世界的現況-リスク評価に基づくバイオリスク管理の取り組み

感染症法の改正は、日本国内においてバイオセーフティおよびバイオセキュリティ対策の総合的、体系的な教育システムの構築を強く求めることになった。国際的にも世界保健機構(WHO)を中心にバイオリスク管理分野のWHOコラボレーションセンターの一つである米国NIHが主体となり教育システムの国際的基準が提案され、2007年7月に、バイオセーフティ分野の指導者訓練(Train-the-Trainer、TTT)がシンガポールで開催された。この指導者訓練の機会には、WHOの実験室バイオセーフティ指針(第3版)を背景に、バイオセキュリティの概念を加味し、各地域において体系的にバイオリス

ク管理を構築し、拡大することを目的としている。その概要は、地域の流行状況を含めた個々の地域における病原体のリスク評価をベースに、個々の施設の活動内容、病原体取り扱いの手法、施設のハード、ソフト、人員の教育訓練レベルに応じてバイオセーフティレベルを決定することを求めており、バイオリスクに関する概論、各論それぞれにおいても常に評価に基づく決定を必要としている。また、病原体を取り扱う人員は一定の教育レベルをもつ者であることから、受け入れられやすい効果的な成人教育の手法についても言及している。近年のバイオリスク管理の必要性の高まりのもと、各国においてもこの分野における体系的な教育システムの構築が試みられている。今後日本においても、新しい知見や医学的進歩をふまえ、バイオリスク管理分野の持続可能な教育プログラムとそれ自身の評価と更新が求められるであろう。[安藤秀二(ウイルス第1部)]

##### (2) バイオセーフティ・バイオセキュリティ教育の効果的運営に関する検討

平成19年6月以降、感染症法の改正にともない、病原体等を取り扱う施設現場での管理とそれらの輸送に関し混乱が生じた。問題解決の試みとして、特に法解釈を含めた病原体管理のあり方、輸送の実際にテーマを絞った4回のワークショップを開催した。各ワークショップの企画・準備、内容を検討し、実施後の各ワークショップ参加者の評価をもとに効果的な教育手法について考察した。人数を制限して対象者の背景を同一のものとするにより、短期のカリキュラムではテーマを絞ること、また、実習を含めた目に見えるもの、具体的イメージを展開しやすいカリキュラムを準備することにより、理解度が深まると考えられた。企画準備に一定の時間的余裕のあった回のワークショップワークショップの評価度が上昇したが、緊急に設定された3回目、4回目においては、企画運営を極めて限られた人数で対応したこと、1回目からの間にさまざまな機会に情報を得られる機会があったことなどから受講側の評価にばらつきが見られた。4回のワークショップにおいては十分な討議時間と質疑応答に時間をなるべく多く設定することにより一定の効果と評価を得られたと考える。しかしながら、効果的なバイオリスク管理教育を実施するには、教育訓練プログラム自体の評価をおこないながら、情報の更新と、情報の発信の仕方・ツールの開発、トピックスの取り込みなど常に内容を進化させる必要がある。受講生の効果をはかりながら繰り返し教育を行うことにより、国内に広く法規制による管理との整合性の保てるバイオリスク管理

のあり方を根付かせることが求められている。[安藤秀二(ウイルス第1部)、重松美加(感染症情報センター)、佐多徹太郎(感染病理部)、杉山和良、山崎利雄、伊木繁雄、嶋崎典子(バイオセーフティ管理室)]

### (3) 感染症法の基準に従った病原体等の輸送シミュレーション

感染症法の改正にともない、一部の病原体と病原体によって産生される毒素の国内輸送において法的な規制がかかったことから混乱が起こっている。具体的に解決策を示すために、感染症法によって輸送の基準の遵守が求められる特定病原体等を輸送することを計画し、手続、実際の輸送をシミュレートすることにより問題点の洗い出しを試みた。限られた期限内に実施するシミュレーションであったため、2種を1回、3種病原体を3回の輸送を実施した。実際の輸送の際には、個々の関係機関の組織内の情報共有と理解が不十分のような場面がみられ、関係機関が同様の理解をもつことができるような調整の機会を設置することが必要と考えられる。また、輸送時にかかる人員や機材の準備にはコストをかければ準備対応が可能と考えられるが、現状の基準では国際輸送よりも高いコストがかかることから、関係機関が協議し、安全保障と感染症対策のバランス、国際的なバランスの取れたルールの見直しが必要であろう。現在、国際ルールとの整合性をみながら、国内における輸送手段の事例集、情報の整理、法的基準の解説、マニュアル、電子媒体の申請書類様式を提供する準備を始めた。[安藤秀二(ウイルス第1部)、鹿住祐子(結核研究所)、藤本嗣人(感染症情報センター)、山崎利雄、伊木繁雄(バイオセーフティ管理室)]

### (4) 病原体等の保管・管理と輸送に関するワークショップ

平成19年6月の改正感染症法の施行にともない、病原体等を取り扱う施設現場での管理とそれらの輸送に関し混乱が生じた。一部法律の厳しい制限から、法律による規制のかからない病原体を含め多くの病原体が廃棄、輸送の停滞が起こったため、問題解決の試みとして、特に法解釈を含めた病原体管理のあり方、輸送の実際にテーマを絞ったワークショップを、地方衛生研究所職員を対象に開催した。実習を含めた十分な討議時間を設定することで、個々の施設、個人の理解において問題解決のために焦点とすべき項目を見極めることが可能となった。今後、感染症法で求められる対象病原体等の管理と法律で規制されないその他多くの病原体等の取扱いについて

も輸送上のルールに混乱があり、解決のために、事例集の作成や特定病原体等を含めた病原体等の輸送のルールについての情報を整理して提供するとともにマニュアルの作成・提供を予定している。さらに、ワークショップであげられた質疑応答をQ&Aとして情報発信していく計画である。同一対象者の講習を繰り返して理解度を深めるとともに、視点の異なる教育機関や病院検査室を対象とした同様の試みが必要と考える。[安藤秀二、重松美加(感染症情報センター)、佐多徹太郎(感染病理部)、杉山和良・山崎利雄・伊木繁雄・嶋崎典子(バイオセーフティ管理室)]

## レファレンス業務

### 1. フラビウイルスに関する行政検査

デングウイルス、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルスに関する病原体診断、血清診断を行政検査依頼に基づき、デング熱18件、日本脳炎2件、ウエストナイルウイルス1件について実施した。[田島茂、大松勉、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

### 2. JCポリオーマウイルスに関する行政検査

進行性多巣性白質脳症が疑われた患者について1件の依頼を受け、髄液のPCR検査を実施した。[中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、西條政幸]

### 3. クラミジアならびにリケッチア性関連疾患(輸入例含む)の検査業務

肺炎クラミジア、オウム病クラミジア、性器クラミジア、つつが虫病、日本紅斑熱、輸入リケッチア症、Q熱について検査(血清学的、分子生物学的、生物学的検査・実験室診断)を実施している。平成19年の行政検査においては、オウム病8例17検体、リケッチア症11例26検体、Q熱1例2検体を実施した。また、その他の検査依頼としてクラミジア4例7検体、リケッチア11例40検体を実施している。さらに、不明疾患ならびにマダニのヒト刺咬症例のリケッチア症との関連を多数検査検討した。[安藤秀二、坂田明子、岸本壽男、倉根一郎]

## 品質管理に関する業務

### 1. 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

平成19年度は、1ロットの乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定を実施し、合格と判定した。[緒方もも子、

福士秀悦、水谷哲也、森川茂、倉根一郎]

2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定及び依頼検査

平成19年度は7ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、7ロットすべてを合格と判定した。[田島茂、林昌宏、大松勉、高崎智彦、倉根一郎]

3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成19年度は2ロットの黄熱ワクチンの依頼検査を実施し、いずれも適と判定した。[林昌宏、田島茂、大松勉、高崎智彦、倉根一郎]

4. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定

平成19年度は、4ロット(RB04、RB05、RB06、RB07)の乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定(不活化試験および力価試験)を実施し、合格と判定した。[中道一生、伊藤睦代、森本金次郎、西條政幸、倉根一郎]

5. 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの国家検定のための攻撃用ウイルスの作製

力価試験において必要な狂犬病ウイルス(CVS株)の新ロット(CV01)を作製し、力価試験において使用可能であることを確認した。[中道一生、伊藤睦代、久保山有紀、森本金次郎、西條政幸、倉根一郎]

6. 水痘ワクチンの検定

水痘抗原国家検定1ロット、乾燥弱毒性水痘ワクチン国家検定6ロット、輸出用ワクチン依頼検査14ロットを実施し、全ロットとも合格であった。[井上直樹、原田志津子、野澤直樹、倉根一郎]

## 発表業績一覧

### . 誌上発表

1. 欧文発表

1) Ferguson, M., Kurane, I., Wimalarante, O., Shin, J., Wood, D. and WHO informal consultation group: WHO informal consultation on the scientific basis of specifications for production and control of inactivated Japanese encephalitis vaccines for human use, Geneva, Switzerland, 1-2 June 2006. *Vaccine*. 25(29):5233-5243, 2007

2) Oya, A. and Kurane, I.: Japanese encephalitis for a reference to international travelers. *Journal of Travel Medicine*. 14(4):259-268, 2007

3) Kurane, I.: Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 30(5-6):329-340, 2007

4) Anantapreecha, S., A-Nuegoonpipat, A., Prakrong, S., Chanama, S., Sa-Ngasang, A., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I.: Dengue virus cross-reactive hemagglutination inhibition antibody responses in patients with primary dengue virus infection. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 60(5):267-270, 2007.

5) Maeda, A., Maeda, J., Takagi, H. and Kurane, I.: Detection of small RNAs containing the 5'- and the 3'-end sequences of viral genome during West Nile virus replication. *Virology*. 371(1): 130-138, 2008

6) Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Fukushi, S., Yokoyama, M., Harashima, A., Sato, Y., Saijo, M., Morikawa, S., and Sata, T.: Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome in F344 rats infected with SARS coronavirus. *J. Virol.*, 81(4):1848-57, 2007

7) Yu, F., Le, M.Q., Inoue, S., Hasebe, F., Parquet, M.D., Morikawa, S., and Morita K.: Development of immunoglobulin m capture enzyme-linked immunosorbent assay system for severe acute respiratory syndrome coronavirus by using recombinant truncated nucleocapsid protein as antigen. *Clin. Vaccine Immunol.* 14(2):146-149, 2007.

8) Mizutani, T., Endoh, D., Okamoto, M., Shirato, K., Shimizu, H., Arita, M., Fukushi, S., Saijo, M., Sakai, K., Limn, C.K., Ito, M., Nerome, R., Takasaki, T., Ishii, K., Suzuki, T., Kurane, I., Morikawa, S., and Nishimura, H.: Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 13(2): 322-4, 2007.

9) Okada, M., Okuno, Y., Hashimoto, S., Kita, Y., Kanamaru, N., Nishida, Y., Tsunai, Y., Inoue, R., Nakatani, H., Fukamizu, R., Namie, Y., Yamada, J., Takao, K., Asai, R., Asaki, R., Kase, T., Takemoto, Y., Yoshida, S., Peiris, J.S., Chen, P.J., Yamamoto, N., Nomura, T., Ishida, I., Morikawa, S., Tashiro, M., and Sakatani, M.: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS coronavirus using

- SCID-PBL/hu mouse models. *Vaccine*, 25(16): 3038-3040, 2007
- 10 ) Urata, S., Noda, T., Kawaoka, Y., Morikawa, S., Yokosawa, H., and Yasuda, J. : Interaction of Tsg101 with Marburg virus VP40 depends on the PPPY motif, but not the PT/SAP motif as in the case of Ebola virus, and Tsg101 plays a critical role in the budding of Marburg virus-like particles induced by VP40, NP, and GP. *J. Virol.* 81(9):4895-9, 2007.
- 11 ) Mizutani, T., Fukushi, S., Kenri, T., Sasaki, Y., Ishii, K., Endoh, D., Zamoto, A., Saijo, M., Kurane, I., and Morikawa, S. : Enhancement of cytotoxicity against Vero E6 cells persistently infected with SARS-CoV by *Mycoplasma fermentans*. *Arch. Virol.* 152:1019-1025, 2007
- 12 ) Sakai, K., Mizutani, T., Fukushi, S., Saijo, M., Endoh, D., Kurane, I., Takehara, K., and Morikawa, S. : An improved procedure for rapid determination of viral RNA sequences of avian RNA viruses. *Arch. Virol.* 152(9):1763-5, 2007
- 13) Saijo, M., George-Courbot, M., Philippe, M., Romanowski, V., Fukushi, S., Mizutani, T., George, A., Kurata, T., Kurane, I. and Morikawa, S. : Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin Vaccine Immunol.* 14(9):1182-9, 2007
- 14) Ike, F., Bourgade, F., Ohsawa, K., Sato, H., Morikawa, S., Saijo, M., Kurane, I., Takimoto, K., Yamada, Y.K., Jaubert, J., Berard, M., Nakata, H., Hiraiwa, N., Mekada, K., Takakura, A., Itoh, T., Obata, Y., Yoshiki, A., and Montagutelli, X. : LCMV infection in a wild-derived mouse inbred strain undetected by dirty bedding sentinel health monitoring and revealed after embryo transfer. *Comp. Med.*, 57(3): 272-281, 2007.
- 15) Ikejiri, M., Saijo, M., Morikawa, S., Fukushi, S., Mizutani, T., Kurane, I., and Maruyama, T. : Synthesis and biological evaluation of nucleoside analogues having 6-chloropurine as anti-SARS-CoV agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17(9): 2470-3, 2007.
- 16) Morikawa, S., Saijo, M. and Kurane, I. : Current knowledge on lower virulence of Reston Ebola virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 30(5-6):391-8, 2007
- 17) Morikawa, S., Saijo, M. and Kurane, I. : Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 30(5-6):375-89, 2007
- 18) Fukushi, S., Mizutani, T., Sakai, K., Saijo, M., Taguchi, F., Yokoyama, M., Kurane, I., and Morikawa, S. : Amino acid substitutions in S2 region enhance SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. *J. Virol.* 81(19):10831-4, 2007
- 19) Kihara Y, Satho T, Eshita Y, Sakai K, Kotaki A, Takasaki T, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Lapcharoen P, Sumroiphon S, Iwanaga S, Ushijima H, Endoh D, Miyata T, Sakata A, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. : Rapid determination of viral RNA sequences in mosquitoes collected in the field. *J Virol Methods.* 146(1-2):372-4, 2007
- 20) Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Sato Y, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Ami Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T. : Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. *Int J Exp Pathol.* 88(6):403-14, 2007.
- 21) Saijo M, Suzutani T, Mizuta K, Kurane I, Morikawa S. : Characterization and susceptibility to antiviral agents of herpes simplex virus type 1 containing a unique thymidine kinase gene with an amber codon between the first and the second initiation codons. *Arch Virol.* 153(2): 303-14, 2008
- 22) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Iizuka I, Sakai K, Sata, T, Kurata T, Kurane I, and Morikawa S. : Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative PCR assay: differentiation of Congo Basin and West African MPXV strains. *Jpn J Infect Dis,* 61(2): 140-2, 2008.
- 23) Sunohara M, Morikawa S, Sato T, Miyado M, Sato I, Sato T, Fuse A. Promoter regulatory motifs involved in c-mpl gene expression induced by PMA. *Cell Biol Int.* 32: 692-697, 2008
- 24) Maeda K, Hondo E, Terakawa J, Kiso Y, Nakaichi N,

## ウイルス第一部

- Endoh D, Sakai K, Morikawa S, Mizutani T. Isolation of Novel Adenovirus from Fruit Bat (*Pteropus dasymallus yayeyamae*). *Emerg Infect Dis.* 14(2):347-9, 2008.
- 25) Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S, Taguchi F. Co-infection of respiratory bacterium with severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. *Microbiol Immunol.* 52(2):118-27, 2008.
- 26) Wang, H.Y., Takasaki T., Fu, S.H., Sun, X.H., Zhang, H.L., Wang, Z.X., Hao, Z.Y., Zhang, J.K., Tang, Q., Kotaki, A., Tajima, S., Liang, X.F., Yang, W.Z., Kurane, I. and Liang G.D. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. *Journal of General Virology*, 88: 885-894, 2007.
- 27) Mizuno, Y., Kotaki, A., Harada, F., Tajima, S., Kurane, I. and Takasaki, T. Confirmation of dengue virus infection by detection of dengue virus type 1 genome in urine and saliva but not in plasma. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101: 738-739, 2007.
- 28) Ito, M., Yamada, K., Takasaki, T., Pandey, B., Nerome, R., Tajima, S., Morita, K. and Kurane, I. Phylogenetic analysis of dengue viruses isolated from imported dengue patients: possible aid for determining the countries where infections occurred. *Journal of Tropical Medicine*, 14: 233-244, 2007.
- 29) Tajima, S., Nukui, Y., Takasaki, T. and Kurane, I. Characterization of the variable region in the 3' non-translated region of dengue type 1 virus. *Journal of General Virology*, 88: 2214-2222, 2007.
- 30) Nerome, R., Tajima, S., and et al. Molecular epidemiological analyses of Japanese encephalitis virus isolated from swine in Japan from 2002 to 2004, *Journal of General Virology*, 88: 2762-2768, 2007.
- 31) Omatsu T, Watanabe S, Akashi H, Yoshikawa Y.: Biological characters of bats in relation to natural reservoir of emerging virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 30(5-6):357-374, 2007
- 32) Nidaira M, Taira K, Itokazu K, Kudaka J, Nakamura M, Ohno A, Takasaki T. Survey of the antibody against Japanese encephalitis virus in Ryukyu wild boars (*Sus scrofa riukiuanus*) in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2007;60(5):309-311
- 33) Takasaki T, Kotaki A, Nishimura K, Sato Y, Tokuda A, Lim C-K, Ito M, Tajima S, Nerome R, Kurane I. Dengue virus type 2 isolated from an imported dengue patient in Japan: First isolation of dengue virus from Nepal. *J Travel Med.* 2008 15:46-49.
- 34) Fujii Y, Kitaura K, Nakamichi K, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. Accumulation of T-cells with selected T-cell receptors in the brains of Japanese encephalitis virus-infected mice. *Jpn J Infect Dis.* 2008 Jan;61(1):40-8
- 35) Dewi BE, Takasaki T, Kurane I. Peripheral blood mononuclear cells increase the permeability of dengue virus-infected endothelial cells in association with downregulation of vascular endothelial cadherin. *J Gen Virol.* 2008 Mar;89(Pt 3):642-52.
- 36) Nidaira M, Taira K, Itokazu K, Okano S, Kudaka J, Nakamura M, Ohno A, Takasaki T. Detection of Japanese encephalitis virus genome in Ryukyu wild boars (*Sus scrofa riukiuanus*) in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2008 Mar;61(2):164-5.
- 37) N Nozawa, S Koyano, Y Yamamoto, Y Inami, I Kurane, N Inoue. Real-time PCR assay using specimens on filter disks as a template for detection of cytomegalovirus in urine specimens. *J Clin. Microbiol* 45:1305-7, 2007.
- 38) K Ishibashi, T Tokumoto, K Tanabe, H Shirakawa, K Hashimoto, N Kushida, T Yanagida, N Inoue, O Yamaguchi, H Toma, T Suzutani. Association between outcomes of renal transplantation and antibody responses to cytomegalovirus strain-specific glycoprotein H epitopes. *Clin Infect Dis* 45:60-7, 2007.
- 39) N Inoue, S Koyano. Evaluation of screening methods for congenital CMV infection. *Ped Infect Dis J* 27:182-4, 2008.
- 40) H Yan, S Koyano, Y Inami, Y Yamamoto, T Suzutani, M

## ウイルス第一部

- Mizuguchi, H Ushijima, I Kurane, N Inoue. Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children. *Arch Virol* 153:667-674, 2008.
- 41)T Koshizuka, Y Kawaguchi, N Nozawa, I Mori, Y Nishiyama. Herpes simplex virus protein UL11 but not UL51 is associated with lipid rafts. *Virus Genes* 35:571-5, 2007.
- 42)M Shimakage, K Kawahara, S Harada, T Sasagawa, T Shinka, T Oka. Expression of Epstein-Barr virus in renal cell carcinoma. *Oncol Rep.* 18:41-6, 2007.
- 43)M Shimakage, H Sakamoto, S Harada, T Sasagawa, K Kodama. Expression of the Epstein-Barr virus in lymphoproliferative diseases of the lung. *Oncol Rep.* 17:1347-52, 2007.
- 44)Nomura T., Fujimoto T., Ebisutani C., Horiguchi H. and Ando S.:The First Fatal Case of Japanese Spotted Fever Confirmed by Serological and Microbiological Tests in Awaji Island, Japan. *Japanese Journal Infectious Diseases*, 60:241-243, 2007
- 45)Matsui,T., Nakashima, K., Ohyama,T., Kobayashi,J., Arima,Y., Kishimoto,T., Ogawa,M., Cai,Y., Shiga,S., Ando, S., Kurane,I., Tabara,K., Itagaki,A., Nitta,N., Fukushi,H., Matsumoto,A., and Okabe,N. An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. *Epidemiology and Infection*, 136(4):1-4, 2008
- 46)Ogawa, M., Renesto, P., Azza, S., Moinier,D., Fourquet, P., Gorvel, JP., Raoult, D.: Proteome analysis of *Rickettsia felis* highlights the expression profile of intracellular bacteria. *Proteomics* 7(8):1232-48, 2007
- 47)Takahashi S, Yamazaki T, Satoh K, Inoue M, Takahashi S, Ishihara O, Oka Y, Horiguchi Y, Okuwaki Y, Suzuki S, Kishimoto T. Longitudinal epidemiology of *Chlamydia trachomatis* serovars in female patients in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2007 60:374-6.
2. 和文発表
- 1)倉根一郎：ウエストナイル熱流行の問題点．臨床と微生物 34(5): 377-381, 2007
- 2)倉根一郎：日本脳炎ワクチン．日本医事新報 4352号（平成19年9月22日号）：68-72, 2007
- 3)水野泰孝、高崎智彦、倉根一郎：輸入デング熱症例の臨床的検討．日本医事新報 4354号（平成19年10月6日号）：66-69, 2007
- 4)倉根一郎：日本脳炎ワクチンと問題点．感染・炎症・免疫 39(3): 66-67, 2007
- 5)水谷哲也「新興ウイルス感染症の網羅的検出方法（RDV法）の確立と応用」、ウイルス、2007．57巻 pp217-226.
- 6)福士秀悦 「コウモリ由来ACE2発現細胞を用いたSARSコロナウイルスの感染性の解析」 *JVM獣医畜産新報* vol.61 No3 199-201.
- 7)森川茂「サル痘」 *新感染症学(日本臨床)*, 65(suppl 3): 150-153, 2007
- 8)森川茂「マールブルグ病」 *新感染症学(日本臨床)*, 65(suppl 3): 35-39, 2007
- 9)高崎智彦．デング熱・デング出血熱 *日本臨床* 65. 117-121 (2007)
- 10)高崎智彦．ウエストナイル熱・脳炎 *日本臨床* 65. 98-103 (2007)
- 11)原田文植、高崎智彦．海外で罹る危険性のある感染症 update デング熱・デング出血熱．*公衆衛生* 71(7) 556-560 (2007)
- 12)水野泰孝、高崎智彦．話題の疾患と治療「旅行者とデング熱」．*感染・炎症・免疫* 37(2),183-185 (2007)
- 13)高崎智彦．ウエストナイル熱・脳炎．*ウイルス* 57(2) 199-205 (2007)
- 14)木村幹男、高崎智彦、狩野繁之．感染症と新しい検査法と最近のトピックス - マラリア, デング熱．*小児科診療* 71(1) 137-144 (2008)
- 15)Nukui Y, Takasaki T. Mosquito-vector infections: West Nile fever. *Nippon Naika Gakkai Zasshi.* 96(11):2435-41 (2007)

## ウイルス第一部

- 16)高崎智彦．感染制御のための微生物学講座ウイルス  
デングウイルス(DENV) 感染制御 4(2) 139-142  
(2008)
- 17)水野泰孝、加藤康幸、工藤宏一郎、高崎智彦、倉根一  
郎．遷延する関節痛より確定診断に至ったチクングニヤ  
熱の本邦初症例．感染症学雑誌 81(5)600-601 (2007)．
- 18)水野泰孝、高崎智彦、倉根一郎．輸入デング熱症例の  
臨床的検討．日本医事新報 4354:66-69 (2007)．
- 19)水野泰孝、高崎智彦、倉根一郎．国立国際医療セン  
ターにおける輸入デング熱症例の臨床的検討．病原体検  
出情報 28(8) 217-218 (2007)
- 20)井戸田一郎、戸塚恭一、増田剛太、菅沼明彦、今村顕  
史、味澤 篤、根岸昌功、山田堅一郎、矢部貞夫、高崎  
智彦、倉根一郎． 病原体検出情報 28(8) 218-219  
(2007)
- 21) 林 昌宏、高崎智彦．ウエストナイル熱・脳炎-北米  
での爆発的な流行拡大と感染経路・予防について- .クリ  
ニカ , 34 (3):162-166, 2007
- 22)岸本寿男, 安藤秀二, 坂田明子．クラミジア感染症の  
過去と現在 - 疫学 .臨床と微生物 ,34(3):171 178,2007  
年 5 月
- 23)安藤秀二, 佐多徹太郎, 重松美加, 杉山和良, 中嶋建  
介．感染性物質の輸送規則に関するガイダンス  
2007-2008. ( WHO 出版物翻訳 ) 平成 19 年 8 月
- 24)松井珠乃, 佐藤弘, 岡部信彦, 安藤秀二, 岸本寿男,  
尹浩信, 坂崎善門, 瀬戸山充, 成田博実．熊本県, 宮崎  
県の皮膚科医におけるつつが虫病, 日本紅斑熱のサーベ  
イランス認知度と, 2005 年における診断・届出の現状 .  
日本皮膚科学会雑誌 , 117(12) : 1977 - 1980, 2007
- 25)佐藤 梢, 安藤秀二, 岸本寿男, 井上美由紀, 山崎 勉:  
Chlamydia trachomatis に対する gatifloxacin の in  
vitro 抗菌作用および殺菌作用 . あたらしい眼科  
25:85-87,2008
- 26)岸本寿男:8.リケッチア感染症.わかりやすい内科学.  
第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 510-511,2008 年 1 月
- 27)岸本寿男:9.Q 熱.わかりやすい内科学.第 3 版.井村裕  
夫ほか編.文光堂 512,2008 年 1 月
- 28)岸本寿男:10.マイコプラズマ感染症.わかりやすい内  
科学.第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 513,2008 年 1 月
- 29)岸本寿男:11.クラミジア感染症.わかりやすい内科学.  
第 3 版.井村裕夫ほか編.文光堂 514-516,2008 年 1 月
- 30)岸本寿男:抗クラミジア(クラミドフィラ)・ニューモニ  
エ抗体.最新臨床検査項目辞典.櫻林郁之介ほか監修.医歯  
薬出版. 650-651,2008 年 3 月
- 31)岸本寿男:クラミジア培養・同定.最新臨床検査項目辞  
典.櫻林郁之介ほか監修.医歯薬出版. 651,2008 年 3 月

## 学会発表

### 1. 国際学会

1)Yokote H, Shinmura Y, Kanehara T, Satou A, Nagai C,  
Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo  
M, Kurane I, and Hashizume S : Explicit Comparison of  
Smallpox Vaccines by PRNT Titer Requires Standardization  
of PRNT Methods. International Meeting on Emerging  
Diseases and Surveillance, Vienna 2007

2)Yokote H, Shinmura Y, Nagai C, Satou A, Kanehara T,  
Sasaki T, Matsui H, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A,  
Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Kurata T, and Hashizume S:  
Efficacy and Safety Evaluation of Attenuated Smallpox  
Vaccine LC16m8. International Meeting on Emerging  
Diseases and Surveillance, Vienna 2007

3)Lee SL, Di Caro A, Favier AL, Grolla AR, Lacote S,  
Morikawa S, Nitsche A, Olivera H, Zimmermann P, and  
Damon I : Smallpox Diagnostics: Global Preparedness.  
International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance,  
Vienna 2007

4)Urata S, Noda T, Morikawa S, Kawaoka Y, and Yasuda J :  
Cellular and Viral Requirements for Marburg Virus Budding.  
5th ASM biodefense and emerging diseases research meeting,  
Washington DC, 2007

## ウイルス第一部

- 5)Shinmura Y, Sasaki T, Matsui H, Kuranaga M, Yokote H, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, and Hashizume S : Investigation into the Protection Mechanisms of Attenuated Smallpox Vaccine LC16m8. 5th ASM biodefense and emerging diseases research meeting, Washington DC, 2007
- 6)Yokote H, Kanehara T, Satou A, Nagai C, Terano T, Ohkuma K, Oka T, Funatsu A, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, and Hashizume S : Establishment of PRNT Method for Smallpox Vaccines. 5th ASM biodefense and emerging diseases research meeting, Washington DC, 2007
- 7)Saijo M. Cytokine responses in monkeys infected with monkeypox virus. xSAMPLES Japan seminar, Yokohama, May 2007
- 8)Saijo M. Diagnostic systems for VHF developed in NIID, Japan. The 1st US-Japan Biodefence Meeting, Washington DC, June 2007
- 9)Saijo M. Highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, lacking B5R membrane protein expression, protects monkeys from monkeypox. The 1st US-Japan Biodefence Meeting, Washington DC, June 2007
- 10)Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Iwata N, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Kurane I, Kurata T, and Morikawa S : Therapeutic vaccination with a highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, for protection of nonhuman primates from monkeypox: 41st annual meeting of the US-Japan Cooperative Medical Science, Baltimore (2007. 7)
- 11)Nukui, Y., Tajima, S., Lim, C.K., Nerome, R., Takasaki, T., Kurane, I.: Definition of major determinant responsible for neurovirulence of Japanese encephalitis virus. 56th Annual meeting American society of tropical medicine and hygiene. Philadelphia, November 4-8, 2007.
- 12)Lim, C.K., Takasaki, T., Kotaki, A., Ishikawa, T., Kurane, I. Mouse Antibody Response to novel Vero-Cell-derived Inactivated Human West Nile Vaccine for Immunization against West Nile virus. 第41回日米医学ウイルス性疾患専門部会 2007年7月
- 13)Moi, M.L., Lim, C.K., Takasaki, T., Kurane, I. Role of Fc-gamma II receptor in antibody dependant enhancement of dengue viral infection. 第3回デングウイルス研究ネットワーク会議 2007年8月
- 14)N Inoue, Nozawa, S Koyano, Y Yamamoto, Y Inami, H Yan, I Kurane. Development of a filter paper-based real-time PCR assay for newborn CMV screening programs. 11th International CMV & Betaherpesvirus Workshop, Toulouse, France, May 13-17, 2007.
- 15)Ando S., Shigematsu M., Sakata A. And Sugiyama K. Survey of public health laboratories in Japan Asia Conference on Laboratory Biosafety and Biosecurity, Thailand, Bangkok, 2007 April 17-19
- 16)Shigematsu M., Gaudio J., Ando S. and Sugiyama K. Self-assessment questionnaire tool for facility Biosecurity. Asia Conference on Laboratory Biosafety and Biosecurity, Thailand, Bangkok, 2007 April 17-19
- 17)Ando S., Shigematsu M., Sakata A., Sugiyama K. Current Status and Strategy on Biosafety of Public Health Laboratories in Japan. Japan-Taiwan Symposium on Influenza Control and Biosafety, Tokyo, Sept. 6-7, 2007
- 18)Ando,S., Shigematsu,M., Shimazaki,N., Ikebe,T., Obuchi,M., Terashima,J., Sugiyama,K., Sata,T. Problem and Confusion of Infectious Substance Transport in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Conference,2008 Mar , バンコク
- 19)Shigematsu,M., Caskey,S., Gaudio,J., Ando,S. Biosecurity self-assessment tool trial run in Japan. 3rd Asia-Pacific Biosafety Conference, 2008 Mar , バンコク

## 2. 国内学会

- 1)木原悠希・佐藤朝光・酒井宏治・江下優樹・宮田健・鹿志毛信広・見明史雄・水谷哲也 「未知の蚊媒介性ウイルス検出を目的とした Whole genome amplification の応用」, 第59回日本衛生動物学会大会、大阪、2007年4月

## ウイルス第一部

- 2)西條政幸「アジアにおけるクリミア・コンゴ出血熱の流行と感染リスク因子」第 27 回日本医学会総会,大阪, 2007 年 4 月
- 3)西條政幸「アシクロビル (ACV) 耐性ウイルス性チミジンリン酸化酵素欠損 HSV-1 は ACV 感受性 HSV-1 とともに再活性化する」第 17 回抗ウイルス療法研究会, 高松, 2007 年 5 月.
- 4)水谷哲也「SARS-CoV や West Nile virus など新興・再興感染症の新規同定方法と実験動物の活用 (シンポジウム) 第 54 回 日本実験動物学会総会 2007 年 6 月 東京
- 5)前田健、本道栄一、寺川純平、木曾康郎、水谷哲也、遠藤大二、安本 茂「キクガシラコウモリ由来新規ヘルペスウイルスの分離・同定」第 22 回ヘルペスウイルス研究会、2007 年 6 月(福岡)
- 6)前田健、本道栄一、寺川純平、木曾康郎、水谷哲也、酒井宏治、遠藤大二、「オオコウモリ由来新規アデノウイルスの分離と同定」第 23 回中国四国ウイルス研究会、2007 年 6 月 (愛媛)
- 7)西條政幸「ウイルス性出血熱とその対策」岐阜赤十字病院講習会, 岐阜市, 2007 年 6 月
- 8)西條政幸「ウイルス性出血熱: バイオセーフティーレベル 4(BSL4)病原体と封じ込めレベル 4 (P4) 研究所での仕事を語る」みちのくウイルス塾, 仙台, 2007 年 7 月
- 9)西條政幸「国立感染症研究所における新興ウイルス感染症対策と感染動物実験」第 4 回北海道実験動物研究会, 札幌, 2007 年 7 月
- 10)水谷哲也、木原悠希、佐藤朝光、江下優樹、酒井宏治、高崎智彦、小滝徹、遠藤大二、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂「新興、再興ウイルスの網羅的検出方法、蚊媒介ウイルスへの応用」第 144 回日本獣医学会学術集会、江別、2007 年 9 月
- 11)酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、遠藤大二、岡村雅史、中村政幸、竹原一明、倉根一郎、森川茂「改良網羅的ウイルスゲノム検出方法を用いた鳥由来ウイルスの同定」第 144 回日本獣医学会学術集会、江別、2007 年 9 月
- 12)佐藤朝光、木原悠希、江下優樹、酒井宏治、見明史雄、牛島廣治、高崎智彦、小滝 徹、遠藤大二、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川 茂、水谷哲也「ウイルスの網羅的検出方法、RDV 法による蚊媒介性 RNA ウイルスの検出」ペスチウイルス研究会、北海道札幌市、2007 年 10 月 20 日
- 13)木原悠希、佐藤朝光、酒井宏治、江下優樹、宮田健、鹿志毛信広、見明史雄、水谷哲也「Rapid Determination of Viral RNA Sequence (RDV) 法による蚊媒介性 RNA ウイルスの検出」第 60 回日本寄生虫学会南日本支部大会・第 57 回日本衛生動物学会南日本支部大会・合同大会。熊本市、2007 年 10 月
- 14)佐藤朝光、江下優樹、酒井宏治、見明史雄、牛島廣治、高崎智彦、小滝徹、遠藤大二、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂、水谷哲也「タイで採集されたネッタシマカからの RDV 法による RNA ウイルスの検出」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月
- 15)水谷哲也、西村秀一、酒井宏治、前田健、清水博之、遠藤大二、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、倉根一郎、森川茂「新興ウイルス感染症の網羅的検出方法の確立と応用」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月
- 16)西條政幸、網康至、須崎百合子、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、飯塚愛恵、酒井宏治、佐多徹太郎、倉根一郎、森川茂「高病原性コンゴ盆地型サル痘ウイルス (MPXV) と低病原性西アフリカ型 MPXV の鑑別可能な定量的 PCR 法による MPXV 感染症の診断」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月
- 17)前田健、本道栄一、安本茂、遠藤大二、森川茂、水谷哲也「コウモリ由来ウイルスの分離・増殖のための新規培養細胞の樹立とその応用」、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007 年 10 月
- 18)酒井宏治、水谷哲也、福士秀悦、西條政幸、緒方もも子、遠藤大二、倉根一郎、森川茂「網羅的ウイルスゲノ

## ウイルス第一部

- △検出方法を用いたリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)の同定」第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 19)石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗、田代真人、田口文広「高度弱毒化ワクチニアウイルス DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討」第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 20)福士秀悦、前田健、平井明香、新倉綾、山田靖子、横山勝、吉川泰弘、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川茂「コウモリ由来 ACE2 を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析」第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 21)永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川茂、佐藤由子、佐多徹太郎「SARS-CoV 感染動物モデルにおける加齢による免疫応答の相違」第55回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2007年10月
- 22)西條政幸「Wiskott-Aldrich 症候群患者における単純ヘルペスウイルス 1 型感染症の経過：薬剤耐性感染症、潜伏感染、そして、再活性化」第55回日本ウイルス学会・学術集会、札幌、2007年10月
- 23)福士秀悦、前田健、平井明香、新倉綾、山田靖子、横山勝、吉川泰弘、水谷哲也、酒井宏治、西條政幸、倉根一郎、森川茂「コウモリ由来 ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルスの感染性の解析」第7回ヒトと動物の共通感染症研究会学術集会、東京、2007年11月
- 24)西條政幸、網康至、永田典代、長谷川秀樹、福士秀悦、水谷哲也、飯塚愛恵、佐多徹太郎、倉田毅、倉根一郎、森川茂「高度弱毒化天然痘ワクチン LC16m8 の暴露後使用時の天然痘予防効果：霊長類におけるサル痘モデルによる検討」第11回日本ワクチン学会学術集会、横浜、平成19年12月
- 25)石井孝司、横田恭子、長谷川秀樹、永田典代、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、鈴木哲朗、田代真人、田口文広「高度弱毒化ワクチニアウイルス DIs の組換え SARS ワクチンとしての検討」第11回日本ワクチン学会学術集会、横浜、平成19年12月
- 26)松本武久、上條加寿恵、山本典生、高谷大輔、佐藤万仁、大貫裕之、倉根一郎、西條政幸、竹田・志鷹真由子、廣田洋、梅山秀明、森川茂、山本直樹、横山茂之 SARS コロナウイルス (SARS-CoV) 3CL-Pro タンパク質の立体構造に基づく抗ウイルス感染症薬候補化合物の探索。第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会の合同大会、横浜、平成19年12月
- 27)水谷 哲也 「Whole Transcriptome Amplification キット：RNA 解析の新戦略 (ランチョンセミナー)」第30回日本分子生物学会 2007年12月 神奈川
- 28)酒井宏治・水谷哲也・福士秀悦・西條政幸・緒方もも子・飯塚愛恵・遠藤大二・池郁生・倉根一郎・森川茂 「リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) M1 株の遺伝子配列と分子系統学的解析」第145回日本獣医学会学術集会、相模原、2008年3月
- 29)遠藤大二、奥島順子、水谷哲也、酒井宏治、森川茂、林 正信「TA プライマー：多種ウイルス同時検出のための新たな degenerated プライマーの設計方法」第145回日本獣医学会学術集会、相模原、2008年3月
- 30)田島茂、貫井陽子、根路銘令子、高崎智彦、倉根一郎：Genotype 間キメラウイルスを用いた日本脳炎ウイルスの性状解析 第42回日本脳炎ウイルス生態学研究会 石川県白山市 2007年5月18-19日
- 31)田島茂、高崎智彦、倉根一郎：デング1型ウイルス NS1 糖鎖付加部位変異がウイルス複製に及ぼす影響 第55回日本ウイルス学会学術集会 札幌市 2007年10月21-23日
- 32)貫井陽子、田島茂、根路銘令子、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎：日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定。
- 33)田島茂、貫井陽子、高崎智彦、倉根一郎：70年代および90年代に分離された3型日本脳炎ウイルスの性状分析 第14回トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会 札幌市 2007年10月20日
- 34)貫井陽子、田島茂、林昌宏、高崎智彦、倉根一郎：日本脳炎ウイルス Genotype shift の生物学的意義、第81回日本感染症学会 2007年4月

## ウイルス第一部

- 35)井本淳一,石川知弘,山中敦史,小西美佐子,村上賢二,林昌宏,濱野正敬,高崎智彦,宇田川晴英,向田嘉宏,小西英二:ブタ流産予防を目的とした日本脳炎DNA/蛋白ワクチン混合投与方法及び針無投与方法の併用効果,第42回日本脳炎ウイルス生態学研究会2007年5月
- 36)高崎智彦,林昌宏,小滝徹,水野泰孝,加藤康幸,工藤宏一郎,渡邊香奈子,倉根一郎:チクングニヤ熱輸入2症例と実験室診断法,第42回日本脳炎ウイルス生態学研究会2007年5月
- 37)貫井陽子,田島茂,根路銘令子,林昌宏,高崎智彦,倉根一郎:日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定,第12回日本神経感染症学会2007年10月
- 38)モイメンリン,林昌宏,高崎智彦,倉根一郎:デング出血熱におけるFcγRIIA(CD32)受容体を介した抗体依存性感染増強(ADE)メカニズムの解析,第55回日本ウイルス学会2007年10月
- 39)貫井陽子,田島茂,根路銘令子,林昌宏,高崎智彦,倉根一郎:日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定,第55回日本ウイルス学会2007年10月
- 40)井本淳一,石川知弘,山中敦史,小西美佐子,村上賢二,林昌宏,濱野正敬,高崎智彦,小西英二:ブタにおける日本脳炎DNA/蛋白ワクチン混合針無投与方法の有効性評価,第55回日本ウイルス学会2007年10月
- 41)林昌宏,高崎智彦,小滝徹,モイメンリン,伊藤美佳子,倉根一郎:チクングニヤ熱輸入症例患者血清より日本で初めて分離されたチクングニヤウイルスの性状解析,第55回日本ウイルス学会2007年10月
- 42)大松勉,倉根一郎,高崎智彦:IgG capture ELISA法を用いたベネズエラウマ脳炎診断法の確立,第14回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会北海道2007年10月20日
- 43)渡辺俊平,大松勉,上田直也,加藤健太郎,遠矢幸伸,吉川泰弘,明石博臣:オオコウモリを用いたYokose virusの感染実験,第55回日本ウイルス学会、北海道2007年10月21-23日
- 44)古谷野伸,井上直樹,長森恒久,浅沼秀臣:先天性サイトメガロウイルス感染マスキングのパイロット調査(第1報)第55回日本ウイルス学会札幌2007年10月21日-23日
- 45)井上直樹,小杉伊三夫,倉根一郎:レポーター細胞株を用いたスクリーニングにより同定した新規抗サイトメガロウイルス(CMV)薬候補化合物146F7は感染初期過程を阻害する。第55回日本ウイルス学会札幌2007年10月21日-23日
- 46)飯島義雄,田中忍,貫名正文,伊藤正寛,春田恒和,安藤秀二,岸本寿男:トリ展示施設におけるオウム病集団発生例。第81回日本感染症学会総会,京都市,平成19年4月10-11日
- 47)和田耕一郎,上原慎也,狩山玲子,門田晃一,松本章,公文裕巳,村尾航,藤原道久,福士秀人,安藤秀二,小川基彦,岸本寿男,津川正也:男性尿道円及び子宮頸管炎患者から高頻度に分離されるChlamydomphila caviae類似株の臨床的検討。第81回日本感染症学会総会,京都市,平成19年4月10-11日
- 48)安藤秀二:2006年12月公布の改正感染症(特に病原体取扱規制)について解説。第15回ダニと疾患のインターフェース宮崎市,平成19年5月25日~27日
- 49)安藤秀二:国内のリケッチア感染症検査について。第15回ダニと疾患のインターフェース宮崎市,平成19年5月25日~27日
- 50)岸本寿男,安藤秀二,山崎勉,沼崎啓,尾内一信,田中敏博,中浜力:肺炎クラミジアの血清診断における「ヒタザイムC.ニューモニエAb-IgM」の診断基準の見直し。第55回日本化学療法学会総会,仙台市,平成19年6月1-2日
- 51)安藤秀二:事故・災害時のバイオセーフティ,独立行政法人製品評価技術基盤機構研修会,千葉県木更津市,平成19年6月21日
- 52)安藤秀二:国内のリケッチア症の状況と実験室診断の課題,衛生微生物技術協議会第28回研究会,岡山市,平成19年7月5日-6日

## ウイルス第一部

- 53)山本正悟,岩切章,三浦美穂,御供田陸代,本田俊郎,千々和勝己,石橋哲也,小河正雄,平野学,原健志,船津丸貞幸,松尾,藤田博己,片山丘,古屋由美子,田原研司,大瀬戸光明,安藤秀二,川端寛樹,岸本寿男:九州地域におけるリケッチア症(つつが虫病・日本紅斑熱)の発生状況と疫学的特徴衛生微生物技術協議会第28回研究会,岡山市,平成19年7月5日-6日
- 54)田原研司,保科 健,高尾信一,島津幸枝,葛谷光隆,藤井理津志,松本尚美,近藤玲子,大瀬戸光明,山本保男,千屋誠造,山内健生,山本正悟,片山丘,古屋由美子,新井 智,川端寛樹,安藤秀二,高野 愛,藤田博己,矢野泰弘,高田伸弘:中国・四国地域におけるリケッチア症(つつが虫病・日本紅斑熱)の発生状況と疫学的特徴衛生微生物技術協議会第28回研究会,岡山市,平成19年7月5日-6日
- 55)松井珠乃,佐藤弘,岡部信彦,安藤秀二,岸本寿男,尹 浩信,坂崎善門,瀬戸山充,成田博実:熊本県,宮崎県の皮膚科医におけるつつが虫病,日本紅斑熱のサーベイランス認知度と,2005年における診断・報告の現状.第5回南九州地区合同皮膚科地方会,鹿児島市,平成19年7月14~15日
- 56)安藤秀二:感染症研究におけるフィールド調査の重要性.静岡県立大学大学院月例セミナー.静岡市,平成19年7月9日
- 57)安藤秀二:バイオセーフティの実際I.ソフト面.平成19年度バイオセーフティ技術講習会主任管理者コース,東京平成19年9月5日
- 58)安藤秀二,坂田明子,高野愛,川端寛樹,藤田博己,宇根有美,五箇公一,岸本寿男:爬虫類寄生ダニ類からのリケッチアの検出.第54回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会,平成19年9月21日,仙台市
- 59)高野愛,安藤秀二,坂田明子,岸本寿男,倉根一郎,渡邊治雄,鶴見みや古,仲村昇,佐藤文男,高橋守,中村豊,福長将仁,藤田博己,川端寛樹:Caros 属ダニの病原体ベクターとしてのリスク評価.第54回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会,平成19年9月21日,仙台市
- 60)藤田博己,安藤秀二,川端寛樹:福島市の山林におけるタネガタマダニの紅斑熱群リケッチア保有状況調査.第54回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会 北日本支部合同大会,平成19年9月21日,仙台市
- 61)内山恒夫,小川基彦,鎌田和弥,八町和樹,倉根一郎,足立昭夫:リケッチア種間のミトコンドリアプロセッシングペプチダーゼ相同遺伝子の比較解析.第55回日本ウイルス学会,札幌,平成19年10月21日-23日
- 62)安藤秀二:輸入動物に見るマダニと病原体.第62回日本衛生動物学会西日本支部大会シンポジウム特別発言.平成19年10月21日,大津市
- 63)山内健生,小原真弓,長谷川澄代,堀元栄詞,岩井雅恵,林美貴子,米田豊,安藤秀二,堀田和,城石将幸,出村尚子,松浦涼子,廣瀬修,渡辺護:富山県の平野部における感染症媒介蚊の生息調査(2003年~2007年).第62回日本衛生動物学会西日本支部大会.平成19年10月21日,大津市
- 64)野村彩朱,矢野竹男,内田浩二,中尾義喜,安藤秀二,岸本寿男,大屋賢司,福士秀人:Chlamydophila psittaci 感染細胞を用いた間接蛍光抗体法(IFA)のオウム病血清診断の臨床応用.第25回日本クラミジア研究会・第14回リケッチア研究会合同研究発表会.平成19年10月27日~28日,東京
- 65)花岡希,安藤秀二,坂田明子,川端寛樹,高野愛,岸本寿男,倉根一郎:PCR法を用いたリケッチア病原体検出法の改良-コンタミネーション防止のためのポジティブコントロール作製.第25回日本クラミジア研究会・第14回リケッチア研究会合同研究発表会.平成19年10月27日~28日,東京
- 66)松井珠乃,佐藤弘,岡部信彦,安藤秀二,岸本寿男,山本正悟:宮崎県の内科標榜医療機関を対象としたつつが虫病・日本紅斑熱サーベイランスの認知度および報告状況.第25回日本クラミジア研究会・第14回リケッチア研究会合同研究発表会.平成19年10月27日~28日,東京
- 67)岸本寿男,安藤秀二,沼崎啓,尾内一信,山崎勉,中浜力:肺炎クラミジア血清診断法研究会.肺炎クラミジア感染症の血清診断における「ヒタザイム C.ニューモニエ Ab-IgM」の新たな判定基準の提唱.第25回日本クラミジア研究会・第14回リケッチア研究会合同研究発表会.平成19年10月27日~28日,東京

## ウイルス第一部

68)岸本寿男,安藤秀二,沼崎啓,尾内一信,山崎勉,中浜力:  
肺炎クラミジア感染症の血清診断における「ヒタザイム  
C.ニューモニエ Ab-IgM」の判定基準の見直しと評価.  
第 56 回日本感染症学会東日本地方総会・第 54 回日本化  
学療法学会合同学会 .平成 10 年 10 月 26 日~27 日,東京

69)内山恒夫,小川基彦,岸真帆美,岸本寿男,倉根一郎,足立  
昭夫:リケッチア感染の宿主特異性,第 14 回リケッチア  
研究会,東京,平成 19 年 10 月 27 日-28 日

70)安藤秀二:バイオセーフティ概論 .第 19 年度後期バイ  
オセーフティ技術講習会基礎コース .平成 19 年 11 月 19  
日,東京

71)鶴見みや古,尾崎清明,藤田博己,川端寛樹,安藤秀二,高  
橋守:鳥類標識調査における外部寄生虫採集調査 . 第 22  
回日本鳥類標識協会全国大会,2007 年 12 月 16 日,東京

72)安藤秀二:法改正に伴う病原体管理の現状と課題.  
平成 19 年度希少感染症技術研修会,平成 20 年 2 月,東  
京

73)安藤秀二:感染症患者の検体の取り扱いと病原体診断  
に関わる輸送の注意点. 第 23 回日本環境感染学会,平成  
20 年 2 月,長崎市

74)内山恒夫,小川基彦:リケッチア感染性保存に及ぼす  
糖の効果,第 81 回日本細菌学会,京都,平成 20 年 3 月 24  
日-26 日