

1. ウイルス第一部

部長 倉根一郎

概要

ウイルス第一部において、本年度、以下の人事異動があった。平成 15 年 4 月 1 日付で田島（白鳥）茂が第二室研究員として採用され理化学研究所より就任した。平成 15 年 8 月 1 日付で井上直樹が主任研究官として採用され米国 CDC より就任した。同日、水谷哲也が主任研究官として北海道大学より転任した。また、平成 15 年 9 月 1 日付で福士秀悦が第一室研究員として採用され、BML より就任した。平成 16 年 3 月 31 日付で第四室長柳壹夫、主任研究官新井陽子、主任研究官志賀定祠が定年退官した。

研究業務としては、出血熱ウイルス、ポックスウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、狂犬病ウイルス、エプスタイン・バーウイルス（EBV）、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペスウイルス 8、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、感染症発症病理機構の解析と診断、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、BSL4 実験室を使用しない出血熱ウイルスの診断体制の確立を目的とした研究を行っており、本年度はクリミア・コンゴ出血熱ウイルスに対する Real Time PCR 法を開発した。一方、痘そうワクチンの品質管理に関しては、リバータントウイルスの検出と性状解析に関する研究を行った。ま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、SARS の血清診断法の確立、SARS コロナウイルスの感染機序に関する研究を行った。

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、国内に分布する日本脳炎ウイルスに比較解析を行った。また、ウエストナイル熱の病原体・血清診断法を確立し、さらにそれを用いてのサーベイランス体制の確立を行った。デングウイルスに対する新たな病原体検査法を確立し、熱帯・亜熱帯地域からの輸入患者の病原体検査を一層充実させた。また、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。

第三室においてはタイ国の狂犬病ウイルス株や新たに中央アジアでコウモリから分離されたリッサウイルスについて遺伝子解析を行った。また、HEP-Flury 株を用いた cDNA 発現系を開発し、この系を用いて P 遺伝子を欠損した増殖欠損ウイルスを作製した。この cDNA 発現系を用いて作製した変異ウイルスを用いての神経病原性の解析を行った。さらに、狂犬病ウイルスに対するマクロファージの応答に関する研究を行った。

第四室においては、EBV の潜伏感染に関する研究及び疫学的研究を進展させた。EBNA-2 及び EBNA-1 に対する抗体価を健常人において調査し、EBV 再活性化に関する知見を得た。EBNA-LP、EBNA-2 に関して、相互作用する細胞蛋白の同定と転写活性化における機能解析の研究を進展させた。また、ヒトヘルペスウイルス 8 に対する新たな抗体測定法を作製し、抗体価と疾患との関連に関する研究を進展させた。

第五室においては、クラミジア感染症の血清・病原体検査法を確立した。国内各地での肺炎クラミジア感染症、オウム病の集団発生例に関して対応し調査を行い、さらに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。リケッチア感染症については Q 熱の新しい血清・病原体検査法として Real Time PCR 法を確立し、従来の方法との比較において有用性を確認した。また、シムカニアに関する研究を開始した。

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、水痘抗原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材料に関する行政検査、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を行った。また、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。

研究業績

I 第一室

1. ウイルス性出血熱に関する研究

(1) クリミア・コンゴ出血熱ウイルス感染症の real-time TaqMan-PCR による診断法の開発

クリミア・コンゴ出血熱ウイルス感染症の診断のための real-time TaqMan-PCR 法を開発し、クリミア・コンゴ出血熱患者血清、感染ダニから得られた cDNA を用いて評価した。PCR のためのプライマーおよびハイブリダイゼーションプローブをクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの S-遺伝子に設計した。Nested PCR 法でクリミア・コンゴ出血熱と診断された 10 人の患者から得られた血清のうち、8 人の血清からクリミア・コンゴ出血熱遺伝子が今回開発された real-time TaqMan-PCR で検出された。また、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス遺伝子が nested RT-PCR 法で増幅されたダニから得られた cDNA から、本法でクリミア・コンゴ出血熱遺伝子が増幅された。一方、nested RT-PCR 法で陰性を呈したサンプルは、real-time TaqMan-PCR でも陰性を呈した。この遺伝子増幅法では定量的に遺伝子量を決定することが可能であった。今回開発された real-time TaqMan-PCR 法は、診断のみではなく、病勢の判定にも有用であると考えられる。[西條政幸、唐青（中国ウイルス性疾患疾病予防センター）、森川茂、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎]

(2) クリミア・コンゴ出血熱に罹患した母親から感染したと考えられる 4 歳女児例のウイルス学的検討

中国西部新疆ウイグル自治区には、クリミア・コンゴ出血熱の流行地があり、同地域でクリミア・コンゴ出血熱に罹患した母親の発症から 5 日目に発熱を呈した 4 歳女児例を経験した。母親およびこの女児の血清から nested RT-PCR 法でウイルスゲノム (S-遺伝子の部分遺伝子) が検出され、その遺伝子産物の塩基配列を決定したところ、完全に一致した。クリミア・コンゴ出血熱の潜伏期間 (4-7 日) およびこの成績から、女児はクリミア・コンゴ出血熱に罹患した母親からクリミア・コンゴ出血熱ウイルスに感染したものと考えられた。家族内感染がウイルス学的に証明されたはじめてのケースである。クリミア・コンゴ出血熱ウイルスのヒトからヒトへの感染予防の重要性が示唆された。[西條政幸、唐青（中国ウイ

ルス性疾患疾病予防センター）、森川茂、前田秋彦（現、北海道大学獣医学部）、福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、倉根一郎]

2. ポックスウイルスに関する研究

(1) 天然痘ウイルスの迅速診断のための real time PCR 法の開発と評価

近年、天然痘（痘そう, variola）ウイルスが用いられたバイオテロリズムの危険性が指摘され、また、アフリカ大陸にのみ発生が認められていたサル痘が、2003 年に米国で流行した。そのため天然痘やサル痘（monkeypox）の迅速診断の必要性が高まっている。Variola ウイルス、monkeypox ウイルス、オルソポックス属ウイルス、および、ワクシニア（vaccinia）ウイルスにそれぞれ特異的プライマー（それぞれ Var1/2、Gabon-1/-2、ATI-up-1/low-1、Vac1/2）を用いた polymerase chain reaction (PCR) 法および variola ウイルスゲノムを特異的に検出するためのリアルタイム PCR 法を整えた。これらのウイルスゲノム検出法の精度や感度を、variola ウイルスを含むオルソポックス属ウイルスゲノムを用いて評価した。リアルタイム PCR 法は PCR 法に比べて 10-10,000 倍の感度を示した。Variola ウイルスおよび monkeypox ウイルス特異的プライマーを用いた PCR 法により、それぞれ特異的に variola ウイルスと monkeypox ウイルスのゲノムが増幅された。オルソポックス属ウイルス共通プライマーおよび vaccinia ウイルス特異的プライマーを用いた PCR では、variola、monkeypox、牛痘（cowpox）、キャメルポックス（camelpox）、ectromeria ウイルスすべてのゲノムが増幅された。リアルタイム PCR 法や PCR 法による天然痘とサル痘の診断は、迅速であり、かつ、特異的である。さらにリアルタイム PCR 法は、PCR 法に比較してより高感度である。[西條政幸、森川茂、前田秋彦（現、北海道大学獣医学部）、緒方もも子、倉根一郎、長谷川秀樹（感染病理部）、Inger Damon (Pox Division, CDC, Atlanta, GA)]

(2) LC16m8 株天然痘ワクチンの霊長類におけるサル痘発症予防効果の検討

1960 年代に我が国で橋爪壯博士（千葉血清研究所）により開発された天然痘ワクチン LC16m8 株は、天然痘ワクチンで問題となる中枢神経系合併症（種痘後脳炎、脳症）の発生頻度が極めて低いとされ、実際 50,000 人前後の小児を対象とした臨床治験では、重篤な合併症は報告されていない。しかし、このワクチンは、免疫ターゲット蛋

ウイルス第一部

白として重要なもののひとつである B5R 遺伝子に 1 塩基欠損があり、完全な B5R を発現しない。また、LC16m8 株の天然痘予防効果は、本ワクチンが臨床応用された当時すでに天然痘がほぼ根絶されていたため、確認されていない。そこで、霊長類（カニクイザル）を用いて、LC16m8 株のサル痘発症予防効果を Lister 株天然痘ワクチンの効果と比較して検討した。未ワクチン接種群では、サル痘特異的な症状が出現したが、LC16m8 株および Lister 株ワクチン接種群では全く症状が出現しなかった。また、血中サイトカインレベル、生化学的検査所見、末梢血液検査、ウイルス血症レベルの解析でも、LC16m8 株のサル痘発症予防効果は、Lister 株と同等であることが確認された。LC16m8 株は、サル痘の発症予防に有効であり、天然痘の予防にも有効であることが推察された。[西條政幸、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、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）]

(3) LC16m0 型リバータントウイルスの遺伝子解析と生物学的性状

乾燥細胞培養痘そうワクチンに含まれる LC16m0 型のリバータントウイルスの含有率は、ウイルスの継代数に相関して上昇する。そこで、LC16m0 型のリバータントウイルスを RK13 細胞、VeroE6 細胞を用いたブランクアッセイからクローニングして、その B5R 遺伝子の配列を比較した。また、それぞれの生物学的性状を、RK13 細胞と VeroE6 細胞でのブランクサイズ、鶏卵漿尿膜でのポックサイズに関して解析した。その結果、RK13 細胞でスモールブランクを形成するウイルスは、LC16m8 株と同様に B5R 遺伝子に frameshift mutation があり、リバータントウイルスは、B5R 遺伝子の変異により frameshift mutation を回避していたが、その変異部位により 7 グループに分類された。LC16m0 に復帰する変異は見られなかった。また、いずれのリバータントウイルスも、RK13 細胞、VeroE6 細胞でラージブランクを形成し、鶏卵漿尿膜でラージポックを形成した。[森川 茂、緒方もも子、灰谷あずさ、西條政幸、倉根 一郎、木所 稔（ウイルス第三部）]

(4) LC16m0 型リバータントウイルスの検出法

乾燥細胞培養痘そうワクチンに含まれる LC16m0 型のリバータントウイルスの検出を PRK 細胞、RK13 細胞、VeroE6 細胞を用いたブランクアッセイ、鶏卵漿尿膜でのポックサイズでそれぞれ行い、各試験法のリバータントウイルス検出法を比較した。その結果、リバータントウイルス含有率 = 「VeroE6 細胞でのラージブランク力価/RK13 細

胞でのブランク力価」による LC16m0 型のリバータントウイルス検出法が最も高感度であった。[森川 茂、緒方もも子、西條政幸、倉根 一郎]

(5) LC16m0 型リバータントウイルスの含まれる LC16m8 株のウサギ皮膚増殖試験

乾燥細胞培養痘そうワクチンに含まれる LC16m0 型のリバータントウイルスの混入・出現は、乾燥培養痘そうワクチン承認時には想定されていなかったため、どの程度リバータントウイルスが混入するとワクチンの性状、安全性に影響するかは不明である。本研究では、種々の割合で LC16m0 型のリバータントウイルスが含まれる LC16m8 株を用いてウサギ皮膚増殖性試験を行い、リバータントウイルス含有率と皮膚増殖性との関係を明らかにした。その結果、リバータントウイルス含有率 4% 程度まではウサギ皮膚増殖試験において有意差がでないものの、それ以上になると有意差がでると想定された。[西條 政幸、緒方もも子、倉根 一郎、森川 茂、木所 稔（ウイルス第三部）、永田 典代・長谷川 秀樹（感染病理部）須崎 百合子・網 康至（同実験動物管理室）]

3. SARS コロナウイルス（SARS-CoV）に関する研究

(1) SARS-CoV の組換え核蛋白を抗原とした IgG ELISA 法の開発と評価

SARS-CoV は、重症急性呼吸窮迫症候群（severe acute respiratory syndrome）の患者から分離された新種のコロナウイルスで、我が国ではクラス 3 病原体に指定されている。また、SARS-CoV の実験室内感染も報告されており、SARS-CoV の組換え蛋白が抗原とする抗体検出法は、抗原を作製する stage で感染性ウイルスを用いる必要がなく、大変有用である。SARS-CoV の組換え核蛋白を抗原とした IgG-ELISA は、中和抗体検出法、SARS-CoV を抗原とした ELISA に比較して、高い感度と精度を有することが確かめられた。本法は、SARS の血清学的診断に有用である。[西條政幸、森川茂、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、倉根一郎、田口文広・荻野利夫・松山州徳（ウイルス第三部）、Hoang Thuy Long (National Institute of Hygiene and Epidemiology, Hanoi, Vietnam)]

(2) ACE2 発現細胞を用いた SARS コロナウイルス感染機構の解析

アンギオテンシン変換酵素 2 (ACE2) は SARS コロナウイルス (SARS CoV) のレセプター分子として報告されている。

ヒトとマウスではACE2のアミノ酸配列の相同性が約80%である。マウスを用いたSARS-CoVの感染実験ではウイルスの複製は1-2日をピークに約1週間で消失してしまうことからマウスの体内では必ずしも効率的にウイルスが増殖しているとは言えない。SARS-CoVがマウス由来の培養細胞で増殖可能かどうか、またマウス由来ACE2がレセプターとして機能するかどうか*in vitro*で調べるために、ヒトおよびマウス由来ACE2 cDNAをHeLa, およびL細胞にトランスフェクトし、薬剤による選別を行い stable にACE2を発現する細胞株を作製した。今後、これらの細胞を用いてSARS-CoVの増殖効率を解析する予定である。[富士秀悦、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂]

(3) SARS-CoV 感染細胞における p38 MAPK の活性化

SARS-CoV の病原性を解明する目的で、Vero E6 細胞に感染後のシグナル伝達系の変化について検討した。SARS-CoV はこの細胞に感染すると約 24 時間で細胞障害を起こすので、DNA を抽出して電気泳動をおこなったところ、DNA fragmentation が観察され apoptosis を起こしていることがわかった。Western blot による解析では、ストレス応答系のシグナル伝達である p38 MAPK が活性化していることが明らかとなった。さらに、p38 MAPK の下流に位置する MAPKAPK-2、HSP-27、eIF4E、CREB などリン酸化していた。これらの蛋白質は p38 MAPK の特異的な阻害剤 (SB203580) でそのリン酸化が抑制された。また、この阻害剤を用いると細胞傷害も遅れることから、p38 MAPK の活性化がウイルスによる細胞死に関与していることが明らかになった。[水谷哲也、富士秀悦、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂]

(4) あらかじめウイルス種を想定することなく RNA ウイルスを検出する方法の開発と SARS-CoV への適用

サブトラクション法である Representational difference analysis (RDA) 法を用いて、感染細胞特異的な DNA 断片としてウイルスゲノムがクローニング可能であることは知られているが、この方法を RNA ウイルスの検出に適用する場合、細胞内に大量に存在するリボゾーム RNA によって反応が阻害されるため、実用的な感度が得られない。宿主細胞のリボゾーム RNA 配列をプライミングする可能性の低いオリゴマー群 (制限プライマーミックス) を用いることにより、検出する対象のウイルス種を限定することなく RNA ウイルスを検出可能な RDA 法の変法を開発し、SARS-CoV への適用を試みた。リボゾーム RNA に結合しない 6 塩基配列はヒトおよびラットのリボ

ゾーム RNA 塩基配列に基づき、塩基配列出現頻度解析プログラムを用いて設計した。頻度解析に基づいて合成されたリボゾーム RNA での出現頻度が極めて低い 96 種のヘキサマーを cDNA 合成に用いたところ、RDA 法によるモデル分子の検出感度は 30 倍以上増加することが示唆された。SARS-CoV 感染細胞からもウイルスの cDNA 断片が RDA 法によって特異的に増幅された。これらの結果は、SARS-CoV に限らず RDA 法を利用することにより、ウイルス種を想定することなく RNA ウイルスのゲノム断片を分取・同定できる可能性が示している。[水谷哲也、森川 茂、遠藤 大二 (酪農学園大学)、牧 与志之 (シグマアルドリッチジャパン)、斎藤 秀俊・桐沢 力雄・林 正信 (酪農学園大学)]

(5) SARS-CoV の経代培養によるゲノム変異

SARS-CoV の欠損干渉ウイルス (DI) を得る目的で、Vero E6 細胞を用いて高い感染価による連続経代をおこなった。20 回経代しても DI ウイルスは認められなかったが、Envelope 蛋白質に欠損のあるウイルスが優位に増殖し、ほぼすべてのウイルスが E 蛋白質欠損ウイルスになった。この結果は、E 蛋白質の欠損はウイルスの複製や粒子形成に影響を及ぼさないことを示している。[水谷哲也、富士秀悦、西條政幸、倉根一郎、緒方もも子、森川茂、山田靖子 (動物管理室)、高橋一朗 (遺伝子資源室)]

4. West Nile virus に関する研究

(1) West Nile virus の媒介蚊 (ヒトスジシマカ) のエンドサイトーシスにおける JNK の重要性

東北以南に生息するヒトスジシマカは West Nile Virus を媒介する有力な候補である。我々はヒトスジシマカ由来 C6/36 細胞が細菌をファゴサイトーシスすることや種々の抗菌物質を分泌することを明らかにした。さらに、ショウジョウバエ以外の昆虫では初めてストレス応答シグナル伝達系の MAPK のひとつ、JNK のクローニングに成功した。蚊の JNK は細菌の表面物質である LPS や高温により活性化し、幼虫 (ぼうふら) に JNK の RNAi 法を適用することにより、おそらく脱皮を阻害し、成虫になる割合を激減することに成功した。また、低レベルで常時活性化されている JNK を抑制することによりファゴサイトーシスやエンドサイトーシスを阻害したという結果を得た。C6/36 細胞では JNK の阻害剤を用いることにより West Nile Virus の感染を抑制できたことから、このウイルスの感染における JNK の重要性が明らかとなった。[水谷哲也、倉根一郎、高崎智彦、江下優樹 (大分大学)、高島郁夫 (北海道大学)]

5. その他の研究

(1) Norovirus の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの発現と酵素活性について

Norovirus (NV) は 3' 末端に poly (A) 配列をもつ約 7.5 kb のプラス鎖 1 本鎖の RNA をゲノムとして有している。ORF 1 の 3D 領域には他の RNA ウィルスに見られるような RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) の特徴的なアミノ酸配列 (GDD モチーフ) が存在する。この RdRp 蛋白質の性状について解析することを目的としてバキュロウィルスを用いた RdRp 蛋白質の発現および精製を行い、その酵素活性について検討した。精製した NV RdRp 蛋白質に RdRp 活性が認められた。一方、GDD モチーフに変異を導入した蛋白質には活性がみられなかった。2 価陽イオンの至適条件は 2mM MnCl₂ であった。HCV の RdRp で報告されているような terminal nucleotidyl transferase (TNT) 活性は検出されなかった。また、RdRp 反応により得られた product は二本鎖を形成していた。鋳型 RNA の 3' 末端から poly (A) を削った場合、あるいは鋳型 RNA に primer RNA を加えた場合でも活性に影響は認められず、poly (A) および primer 非依存的な RdRp 活性であった。これらの結果から、NV RdRp は鋳型ゲノム RNA に対し相補的な RNA を de novo で合成する活性を有すると考えられた。[富士秀悦、岡智一郎・武田直和・片山和彦 (ウイルス第二部)]

II 第二室

1. 日本脳炎ウイルスに関する研究

(1) 日本脳炎ウイルスのサーベイランス

2002 年、ブタ血清から分離された日本脳炎ウイルスを、血清学的、遺伝学的並びに進化的に解析するだけでなく、その病原性をマウスにおける中枢神経毒性及び中枢神経侵入性の面から調査し、ワクチン株との比較を行った。分離された 8 株の日本脳炎ウイルス Eタンパク領域の遺伝子配列は、いずれも 3 型の現ワクチン株とは異なり、遺伝子型 1 型であった。何れの分離ウイルスもワクチン株同様の高い感染価 (PFU/ml) を示し、ワクチン株 Beijing-1 の高度免疫抗血清に対する中和抗体価は、Beijing-1、Nakayama-NIH 株に比べて、JEV/sw/Hiroshima/25/2002 以外の分離株は 1log 程度低い値を示し、抗原性の変異が示唆された。哺乳マウス脳における中枢神経毒性試験の結果は、ワクチン株の Beijing-1 で LD₅₀ は 7 日目 で 5pfu であったが、

JEV/sw/Chiba/88/2002 のそれは Beijing-1 株の 1/25 であり、sw/Hiroshima/25/2002 は濃い希釈で 1 匹の麻痺発症が見られただけであった。他方、5 株の新分離ウイルス 3' NTR 領域の塩基配列を決定したところ、共通して 68-80 番目に塩基の欠失が見られることが確認された。[根路銘令子、高崎智彦、田島 茂、伊藤美佳子、野村秀和、小滝徹、山田竜臣、倉根一郎 (国立感染症研究所ウイルス第一部) 吉田隆史 (国立感染症研究所ウイルス第一部、三菱化学 BCL)、小川知子 (千葉県衛研)、尾西一 (石川県保環センター)、神田政弘 (静岡県西部食肉衛検)、佐原啓二 (静岡県環衛科研)、渋谷香 (高知県衛研)、吉田靖子 (東京都衛研)、杉山明 (三重県科技振センター)、沖浩臣 (和歌山県衛公研センター)、山西重機 (香川県衛研)、甲木和子・田端康二 (熊本県保環科研)、糸数清正 (沖縄県衛環研)]

(2) 病因未確定無菌性髄膜炎患者における日本脳炎ウイルスの遺伝子検出

平成 11 年から 14 年に広島県で無菌性髄膜炎により、検査依頼があり、エンテロウィルス等が陰性であった小児 (0 歳から 15 歳) の患者 57 症例の髄液に関して、日本脳炎ウイルス遺伝子を PCR 法によりスクリーニングしたところ、4 症例において産物が認められ、遺伝子解析の結果、日本脳炎ウイルス遺伝子と判定された。[高崎智彦、伊藤美佳子、小滝 徹、倉根一郎、桑山 勝 (広島県保健環境センター)]

2. ウエストナイルウイルスに関する研究

(1) ウエストナイル熱・脳炎診断法の確立とサーベイランス体制の構築

1999 年 8 月に西半球で初めてニューヨークで発生したウエストナイル脳炎の原因ウイルスであるウエストナイルウイルスは、日本脳炎ウイルスに近いウイルスである。そのため日本国内に侵入した場合、日本脳炎との鑑別が極めて重要となる。ウイルス遺伝子の検出のため、ニューヨークで分離されたウイルス株の遺伝子配列から、新たにプライマーを作製しその感度を検討した。また、CDC より分与された IgM 抗体陽性患者血清を用いて、IgM 捕捉 ELISA 法を確立し、成田空港検疫所において、検査希望者に対する検査を行った。また全国各地の医療機関からの検査依頼に関して、抗体検査、PCR 検査を実施した。その結果は全例陰性であった。また、米国における大流行を受けて、地方衛生研究所地域ブロック 7 施設に対し、病原体診断法、血清診断法に関する研修会を実施した (8

月6日)。「高崎智彦、伊藤美佳子、小滝 徹、倉根一郎、松本泰治・横田勉・河合誠義 (成田空港検疫所)」

(2) 臓器移植・骨髄移植に対するウエストナイルウイルス検出法の確立とサーベイランス体制の構築

2003年から検査依頼事例が生じている骨髄移植、臓器移植に関するウエストナイルウイルス感染の有無の検査を検査会社2社が実施するうえで、厚生労働本省の依頼により感染研との3施設間で検査の感度・特異性を統一するために、TaqMan RT-PCR用の増幅領域であるE領域と3' NC領域の合成RNAを作製した。クローン化したウエストナイルウイルスのプラスミド(クローン2)をテンプレートにして、CDCが作製したプライマーを用いてそれぞれのシーケンスをし、プラスミドのインサートにEタンパクが存在することが確認した。このウエストナイルウイルスのプラスミドを用いてT7 RiboMax Express Large Scale RNA Production SystemsによりRNAを合成した。E領域の合成RNAは 7.7×10^{11} copies/ μ lであり、3' NCの合成RNAは 7.8×10^{10} copies/ μ lの濃度のRNAが合成された。どちらも10 copies/ μ lが検出限界であった。「高崎智彦、伊藤美佳子、田島 茂、根路銘令子、小滝 徹、倉根一郎、奴久妻聡一 (神戸市環境保健研究所)」

(3) ウエストナイルウイルス DNA ワクチンの作製とマウスに対する防御効果の検討

ウエストナイルウイルス(NY99-6922株)のprM/E遺伝子をベクタープラスミドpcDNA3に組込んだDNAワクチン(PcWNMI 向)を作製し、マウスにおける評価を行った。従来のDNAワクチンの作製法に基づいて、prMの上流20アミノ酸からなるシグナルペプチドが含まれるようプライマーを設計し、NY99-6922株のcDNAからprM/E領域の遺伝子を増幅した。EcoRI及びXbaIによりpcDNA3に組み込み、pcWNMEを作製した。prM/E遺伝子領域についてシーケンス解析を行ったところ、得られた8クローンのうち、7クローンにGenBankに登録されている塩基配列と少なくとも1塩基の相違が認められたが、他の1クローンは全く同じ配列であった。このクローンを以下のマウス実験に使用した。100 μ gまたは10 μ gのpcWNMEを雌ddYマウス(1群6匹)に、5週令及び8週令時に針無注射器を用いて免疫した。2回免疫後、100 μ g接種群では1:2560の中和抗体価が、10mg接種群では1:80の中和抗体価が認められた。13週令時に500LD₅₀のWNVで腹腔内チャレンジを行い生死を観察すると共に、ウイルス血症に対する防御も評価する目的で、血清中のWNV遺伝子の存在をTaqManRT-PCR法を用いて調べた。いずれのワクチン接種群についても

ウイルス遺伝子は検出されず100%生残したのに対し、対照のcDNA3投与群及び非免疫群ではWNV遺伝子が検出され、6匹中4匹(pcDNA3投与群)または6匹(非免疫群)が死亡した。これらの結果は、pcWNMEの中和抗体誘導能を示すと共に防御効力を示唆する。「高崎智彦、伊藤美佳子、倉根一郎、奴久妻聡一 (神戸市環境保健研究所)、石川知弘・小西英二 (神戸大学医学部)」

3. 黄熱ウイルスに関する研究

(1) 黄熱ワクチンへのALV混入に関する研究

現行の黄熱ワクチンはニワトリ胚細胞を用いて製造されている。近年、ニワトリ胚細胞を用いて生産されている麻疹およびおたふく風邪ワクチンに、ニワトリ胚線維芽細胞に由来する内在性ニワトリレトロウイルス(EAV)および内在性ニワトリレトロウイルス(ALV-E)の粒子が混入していることが報告された。同様に、最近黄熱ワクチンにもこれらの粒子の混入が認められたという報告がなされた。そこで黄熱ワクチンにこれらのウイルスRNAおよびDNAが混入しているかを調べた。YF-VAX (Connaught Laboratories, live 17D virus) 4ロット6バイアルを蒸留水で溶解後RNAを抽出し、ALV-Eに特異的なプライマーを用いてRT-PCRおよびPCRを行った。調べたすべてのワクチンにおいてRT-PCRおよびPCR産物が得られた。次にRNA溶液をDNaseIで処理後RT-PCRおよびPCRをおこなったところ、RT-PCR産物に比べPCR産物の量が顕著に低下した。このことから、YF-VAXにはE-ALVのRNAだけでなくDNAも混入していることが明らかとなった。一方、外因性ALV(exoALV)の混入についても調べたが、RNA、DNAともに検出されなかった。「田島 茂、高崎智彦、伊藤美佳子、根路銘令子、倉根一郎、加藤 篤 (ウイルス第三部)」

4. デングウイルスに関する研究

(1) 2003年度輸入デングウイルス感染症、ウエストナイルウイルス感染症の検査・診断

デングウイルス感染症は東南アジアを中心として世界的規模で熱帯・亜熱帯地域に広がっており、再興感染症の一つとして、極めて重要な感染症になっている。わが国では過去約60年間国内流行のない感染症であるが、近年、流行地からの入・帰国者などによって輸入感染症としてわが国に持ち込まれる症例がみられる。輸入デングウイルス感染症では、PCRによるウイルス遺伝子検出とウイルス分離およびIgM-捕捉ELISAによるIgM抗体の

両検出法により、流行地域からの帰国者で初感染のデング熱の確定診断が可能であった。本年はまた、インドからカナダに帰国する旅行者が、機中で熱発し成田空港検疫所にて診察・検査した結果、デング熱であることが判明した症例があった。[高崎智彦、伊藤美佳子、小滝 徹、田島 茂、根路銘令子、倉根一郎、三輪俊樹・高橋 正樹・松本泰治・横田 勉・河合 誠義 (成田空港検疫所)]

(2) 2003 年における輸入デング熱患者から分離されたウイルスの遺伝子解析

1996 年から 2002 年にデング流行地からの入・帰国者で、検査依頼のあった不明熱患者検体について輸入デングウイルス感染症を検討した。感染患者の大半はタイ、インド、フィリピン、インドネシアなど東南アジアからの帰国者であるが、タヒチ、グアテマラ、ナイジェリア、コートジボアール、ブラジルなどオセアニア、中南米、アフリカからの帰国者からも陽性例が検出されており、日本人旅行者が熱帯地域のどの地区でもデングウイルス感染を受けていると思われる。これらの輸入デング熱・デング出血熱患者から分離されたデングウイルス 36 株 (1 型 1 7 株、2 型 7 株、3 型 5 株、4 型 4 株) に関して E 領域の遺伝子解析を実施した。[伊藤美佳子、山田堅一郎、小滝 徹、高崎智彦、倉根一郎、三輪俊樹・高橋正樹・横田勉・河合 誠義 ((成田空港検疫所)]

(3) デングウイルス感染症の実験室内診断：TaqMan RT-PCR 法による血清型別検出法の確立

デングウイルス感染症は東南アジア・南米を中心として拡がっており、再興感染症の一つとして、世界的に重要な感染症になっている。わが国でも輸入感染症として診断される症例が増加している。デングウイルス感染症の実験室内診断としては、主として RT-PCR 法と ELISA 法による抗体測定等が行われている。今回、簡便で迅速にデングウイルス遺伝子を検出する Real Time PCR (TaqMan RT-PCR 法) を用いた検出法を検討した。プライマーおよびプローブは、世界の分離株を比較・検討し、各血清型間において相同性が低く、なおかつ各血清型内において保存された部位に対して作製した。作製した Real Time PCR と RT-PCR との感度の比較を、HI 試験、IgM-ELISA、RT-PCR などにより初感染のデング熱感染と診断された検体について行った。血清型特異的プライマーおよびプローブによりデングウイルスは 100%の感度で的確に各血清型に分類され、他のフラビウイルスを検出しなかった。また、通常行われている RT-PCR より感受性が高かった。[伊藤美佳子、山田堅一郎、田島茂、根路銘令子、小滝 徹、

高崎智彦、倉根一郎]

(4) デングウイルスの中和抗体による防御能および感染増強の解析

デングウイルスには血清型 1-4 の 4 つの型が存在する。ヒトにおいてはデング熱・デング出血熱を起すウイルスであり、初感染とは異なる血清型のウイルスによる感染増強が確認されている。そこで、感染増強のメカニズムを解明するために、サルに抗デングウイルス血清を用いて、デングウイルス交叉性中和抗体および血清型特異中和抗体による感染増強を観察した。

サルにデングウイルスを感染後、免疫血清を経時的に採取し、①ウイルス血症の推移②血清型特異的中和抗体価および交叉性中和抗体価の推移③交叉性中和抗体および型特異的中和抗体の感染増強を解明するために、デングウイルスと希釈した交叉性中和抗体および型特異的中和抗体の感染増強現象を解析した。その結果、感染後 58 週目の交叉性中和抗体および型特異中和抗体によりデングウイルスの感染が最も増強された。さらに、交叉性中和抗体は 1 : 3 倍希釈で、型特異中和抗体は 1 : 30 倍希釈で最も感染の増強が認められたことから、初感染とは異なる血清型のウイルスの方が、同型のウイルスよりも再感染時に感染増強が発生しやすいことが明らかとなった。このことから、ヒトのデングウイルス再感染時の感染増強が最も発生しやすいのは、初期感染時の中和抗体が減少し、再感染時のウイルスの血清型が初感染時とは異なる型のウイルスであることが考えられた。[伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎、向井鎌三郎(霊長類センター)]

(5) 日本人デングウイルス感染者における血清型特異的 IgM 抗体検出法の改良

デング熱の血清診断法として開発されたウイルス特異的 IgM 抗体検出のための IgM 捕捉 ELISA 法は、デングウイルス血清型間の交差反応の存在のために、通常血清型の同定は比較的困難である。デングウイルスの血清型診断法としての IgM-ELISA 法の有用性を高める目的で、反応系に蛋白変性試薬を添加することにより、感染ウイルス血清型に特異的 IgM 抗体の検出を検討した結果、薬剤添加後に感染ウイルス血清型に対する IgM 抗体反応は、他の血清型に対する交叉反応よりも増強された。[高崎智彦、伊藤美佳子、倉根一郎、名和 優・赤塚俊隆 (埼玉医科大学微生物学)]

(6) デングウイルス 1 型完全長 cDNA クロンの作成お

よびウイルス産生系の確立

完全長 cDNA クローンはウイルス蛋白質機能の解析や変異体ウイルスを作成する上で非常に有用なツールとなる。デングウイルスの完全長 cDNA クローンは、これまでにいくつかの外国の研究室で作成されているが、我が国では作成の報告はない。我々はデングウイルス 1 型完全長 cDNA クローンの作成を試みた。作成する上での親株は当研究室で分離されたデングウイルス 1 型 02-20 株を用いた。ウイルス cDNA は 3 つの領域に分けて PCR で増幅後、それぞれを低コピー数プラスミドベクター pMW119 に連結しクローニングした。各断片の塩基配列を確認後、3 つの断片を 1 つのプラスミドベクター上に順次連結し、最終的に完全長のデングウイルス 1 型をコードする cDNA クローンを構築した。

次に本 cDNA クローンに由来するウイルスの産生を試みた。ウイルス cDNA の 3' 末端に付加した制限酵素 SacII 部位 1 ヶ所でプラスミドベクターを切断して直鎖上にした後、5' 末端に付加した T3 プロモーターから *in vitro* で転写反応を行い、完全長ウイルス RNA を得た。これをリボソーム試薬 (DMRIE-C) を用いて Vero 細胞に導入し、5 日後に培養上清 (1 次ウイルス液) を回収した。またこの上清を再び Vero 細胞に接種し、5 日後に培養上清 (2 次ウイルス液) を回収した。それぞれのウイルス力価を測定したところ、2 次ウイルス液が高力価 (約 4×10^8) を示した。このウイルス液からウイルス RNA を回収し、全塩基配列を決定したところ、親株と完全に一致した。また Vero 細胞に接種したときのプラークの大きさや増殖速度も親株とほぼ一致した。[田島 茂、高崎智彦、倉根一郎]

5. その他のウイルスに関する研究

(1) Yokose ウイルスの全塩基配列の決定および性状解析

Yokose ウイルスは 1971 年にコウモリ血液より分離されたウイルスである。血清学的解析およびウイルスゲノムの一部 (NS5 領域の一部) の遺伝子解析などから、Yokose ウイルスはフラビウイルスに属することが示されたが、ゲノム構成、媒介するベクター、病原性などは不明であった。本年度我々は Yokose ウイルスの全ゲノムの塩基配列を決定した。Yokose ウイルスは、全長 10857 ヌクレオチドで、3425 アミノ酸からなる蛋白質がコードされる領域 (10275 ヌクレオチド) と、150 ヌクレオチドの 5' 非翻訳領域および 432 ヌクレオチドの 3' 非翻訳領域からなることが明らかとなった。各ウイルス蛋白質のアミノ酸配列を 6 種類の代表的なフラビウイルス (デング 2 型、日本脳炎、ウエストナイル、黄熱、ダニ媒介性脳炎、Rio

bravo) と比較すると、ほとんどの蛋白質で黄熱ウイルスと最も高い相同性が示された。系統樹解析からも 6 種類のウイルスのなかでは黄熱ウイルスと最も近縁であることが示された。ヒト血清を用いた細胞染色では、デング熱患者由来血清および黄熱ワクチン接種者由来血清でウイルス抗原を検出することが可能であった。ウエスタンブロット解析では、デング熱患者血清、黄熱ワクチン接種者血清、およびデングウイルス感染マウス血清を用いることにより、E、NS1、および NS3 に相当すると思われるウイルス蛋白質が検出された。プラーク減少法による中和試験では、黄熱ワクチン接種者血清で非常に弱い中和活性が観察された。蚊媒介性フラビウイルスで保存性の高い 3' 非翻訳領域内の配列 CS1 を Yokose ウイルスも有していたことから、本ウイルスは蚊によって媒介される可能性が示唆された。しかしヒトスジシマカ由来培養細胞である C6/36 への感染実験では明確な増殖は確認できなかった。[田島 茂、高崎智彦、倉根一郎、江下優樹 (大分医科大学)]

(2) ウシ白血病ウイルス感染個体内でのウイルス遺伝子発現制御機構の解析

ウシ白血病ウイルス (BLV) は地方病性牛白血病 (EBL) の原因ウイルスである。感染個体内での BLV の発現は、感染後一過性に上昇した後潜伏化する。一方感染個体の末梢血リンパ球を培養するとウイルス発現は速やかに再活性化する。これらの機構は、ウイルスが個体内で生存し、さらに伝搬する上で非常に重要と考えられる。本年度は BLV の潜伏化・再活性化機構の解明を目標とし、メチル化がウイルス転写制御領域 (LTR) 依存的転写に及ぼす影響、プロウイルス LTR のメチル化状態、および再活性化に係わるシグナル伝達経路について調べた。LTR を連結したレポータープラスミドをメチラーゼ処理した後、転写活性を測定したところ、メチラーゼ非処理のものに比べ転写量が顕著に低下した。次に、BLV 感染健康牛、BLV 感染持続性リンパ球増多症牛、EBL 牛、および BLV 感染健康羊の感染細胞中のプロウイルス LTR 上の転写制御コア領域 U3 領域および R 領域の一部のメチル化状態を調べた。すると発症ステージや BLV の発現量に関係無く、ほとんどメチル化されていないことが明らかとなった。これより本領域のメチル化は、転写を抑制する能力は有するものの、BLV の潜伏化には関与しないことが示唆された。次にウイルスの再活性化条件を定量的 RT-PCR 法により検討した。すると採血後の全血あるいは白血球を 37°C で保温するだけで速やかに再活性化が引き起こされた。またこの再活性化は PKC 阻害剤の添加により抑制された。

そこで保温前後でのPKCの活性状態を調べるため、PKCの局在およびリン酸化状態を調べた。すると保温後、膜に局在するリン酸化PKC量が増加したことから、白血球中のPKCが採血後の保温により活性化されることが明らかとなった。以上より採血後PKC経路が活性化され、これによりプロウイルス発現が活性化される可能性が示唆された。[田島茂、間陽子（理化学研究所）]

Ⅲ 第三室

1. 狂犬病ウイルスに関する研究

(1) 日本の狂犬病ウイルスの起源に関する解析

日本での狂犬病は1970年にネパールで野犬にかまれ発症死亡した症例以外には、1957年以降発生していない。われわれは、過去の日本の狂犬病ウイルスがどのような経路によって侵入し流行したかを知る目的で、世界の狂犬病ウイルスのN遺伝子133株と実験室で保存されている日本の株と比較解析した。その結果、これらのウイルスは少なくとも9のクラスターに分けられた。過去の日本の狂犬病ウイルス高免、西ヶ原株はヨーロッパ、中近東、アフリカ等と最も広い地域で分離されたウイルスのグループに属し、そのうちの中国の株と同じクラスターを形成した。小松川株は北極、ロシア、カナダ等のグループに属し、そのなかのハバロフスク、バイカル湖地域で分離されたウイルス株と同じクラスターを形成した。過去の日本の狂犬病ウイルスは、中国とロシアで分離されたウイルスに近く、これらの地域から日本に入ったと考えられた。[新井陽子、亀岡洋祐（遺伝子資源室）]

(2) 狂犬病ウイルス cDNA 発現系を利用した増殖欠損ウイルスの作製

狂犬病ウイルスのヒト用ワクチン株であるHEP-Flury株のcDNA発現系を利用して狂犬病ウイルスのP遺伝子を欠損したウイルスを作製した。そのウイルスの性状をin vitro 及び in vivo で解析した結果、このP遺伝子欠損ウイルスはP蛋白質発現細胞でのみ増殖可能で、マウスでの病原性が全くないことが分かった。さらに、ワクチンとしての防御効果があることが示された。この増殖欠損ウイルス作製系を利用して、より安全で有効な組換えウイルスワクチンの開発や遺伝子発現ベクターとしての応用が可能であると考えられた。[森本金次郎、中道一生、倉根一郎、井上智（獣医科学部）、庄司洋子、酒井健夫（日大・獣医衛生）]

(3) 狂犬病ウイルス cDNA 発現系を利用した神経病原性の解析

狂犬病ウイルス固定毒の中には末梢感染からでも病原性を示すものから、脳内感染においても発症しないものまで、病原性の強弱に様々な程度の差がある。狂犬病ウイルスのヒト用ワクチン株であるHEP-Flury株のcDNA発現系を利用して、cDNA上で変異を導入することにより変異ウイルスを作製し、あるいは異なる株の遺伝子と取り替えることにより、種々の組換え狂犬病ウイルスを作製した。このような組換え狂犬病ウイルスを利用して、狂犬病ウイルスの神経病原性の機構を解析中である。[森本金次郎、中道一生、倉根一郎、庄司洋子、酒井健夫（日大・獣医衛生）]

(4) タイ国バンコク市狂犬病ウイルス流行株の遺伝子解析

狂犬病流行地であるタイ国バンコク市において採取された狂犬病感染イヌの脳より得られた狂犬病ウイルスG遺伝子の塩基配列を決定し、バンコク流行株の分子疫学的解析を行った。さらに同一個体から得られた株内での塩基置換部位の解析（quasispecies解析）を行い、流行株の変動のメカニズムを解析した。[森本金次郎、倉根一郎、西園晃（大分医大）、Pakamat Khawplod（The Thai Red Cross Society）]

(5) 狂犬病ウイルスを利用した神経伝達機構の解析

狂犬病ウイルスは逆向性に軸索を伝って伝播することが知られている。この性質を利用し、神経伝達のプローブとしての狂犬病ウイルスの開発を行っている。狂犬病ウイルスcDNA発現系を用いて、神経伝達のトレーサーとして有用な組換え狂犬病ウイルスを構築し、神経伝達機構の解析を行った。[森本金次郎、倉根一郎、井上謙一、飯島敏夫（東北大・生命科学）]

(6) 狂犬病ウイルスに対するマクロファージ応答メカニズム

狂犬病ウイルス(RV)感染に対するマクロファージ系細胞株RAW264の活性化機序を調べた。RVを接種したRAW264におけるサイトカインとケモカイン、炎症性メディエーター等の遺伝子発現プロファイルを解析し、一酸化窒素合成酵素(inducible nitric oxide synthase, iNOS)とCXCケモカイン(CXC chemokine ligand 10, CXCL10/IP-10)の発現が飛躍的に増加することを示した。またRVによるiNOSとC

XCL10の発現誘導にはMAPキナーゼファミリーに属するExtracellular-signal regulated kinases (ERK) 1/2カスケードを介した細胞内シグナル伝達が関与することを見出し、マクロファージがウイルス粒子をエンドサイトーシスにより取り込む過程でERK1/2が活性化されることを明らかにした。[中道一生、森本金次郎、倉根一郎]

2. 他のリッサウイルスに関する研究

(1) 中央アジアのキルギスタンとタジキスタンのコウモリ (Myotis genus) から分離された2つのリッサウイルスの解析

前年度に引き続き中央アジアのコウモリからのリッサウイルスの分離同定をおこなった。Aravan ウイルスは、1991年キルギスタンで、Khujuand ウイルスは、2001年にタジキスタンのコウモリから分離された。この2種類のリッサウイルスのN、G、P遺伝子の塩基配列を決定し、系統樹解析をおこなった。これらのウイルスは、アジアにおける狂犬病ウイルス以外のはじめてのリッサウイルスであり、新しい遺伝子型が示唆された。また1983年にノボシビルスク、1995年にオムスクのコウモリから分離されたウイルスは狂犬病ウイルスCVS株と一致し、実験室内での継代によるコンタミが考えられた。今後、コウモリからのリッサウイルスが、アジアの地域でも公衆衛生上問題となる可能性があり、またリッサウイルスの分類学においても重要となろう。[新井陽子、亀岡洋祐 (遺伝子資源室)、米国CDCとの共同研究]

IV 第四室

1. エプスタイン・パールウイルス (EBV) に関する研究

(1) EBVウイルスのEBNA-2タンパク質に対するIgG抗体が我が国の高年齢群で高い陽性率と高い抗体価を示す^{注1)} 高齢化社会の感染症研究^{注2)} (注1: EBNA-2 IgGの抗体価はEBV初感染で発症の場合はその後低下消失する。しかし我が国のEBV感染はほとんどの人が幼少児期不顕性感染である点に特徴がある。注2: 老人性リンパ増殖症との関連も考えられる。)

我が国では欧米と異なり、幼少児期に大多数がEBVに感染して潜伏感染が成立する。EBVが不顕性初感染を起こした後、各EBNA特にEBNA-2 IgG抗体価がどのように動くのかが、これまで不明であった。不顕性初感染を起こ

した人の血清抗体価の変動を生涯にわたって分析することは実施困難であるが、EBV初感染が幼少児期に非常に高率に起こる我が国の健康人の血清を年齢群別に分析することによってその近似値が得られる、と考へ本研究を行った。1) EBNA-2 IgG陽性率は、1-2歳年齢群で上昇、3-4、5-9、10-14、15-29歳年齢群でプラトーになり、40歳以上年齢群でほぼ100%であった。EBNA-1陽性率とEBNA/Raji陽性率は共に、1-2歳群で上昇、維持され、40歳以上年齢群で100%であった。2) EBNA-2 IgGの幾何学的平均値(GMT)は、5-9歳、10-14歳、15-29歳年齢群でプラトーを示し、40歳以上年齢群でより高い値を示した。EBNA-1 IgGのGMTは、1-2歳群でプラトーに達しより高い年齢群で変化しなかった。3) EBNA-2抗体価の抗EBNA-1抗体価に対する比が1.0以上を示す血清の割合が、40歳以上で約25%、他の年齢層では非常に少なかった。本研究は、我が国の40歳以上年齢群で、潜伏感染EBVの再活性化あるいはEBV超感染が、広く繰り返し起こっている可能性を示唆する。EBVと我が国の老人性リンパ増殖症(加齢性EBV関連B細胞リンパ増殖異常症)との関連も考えられる結果であり、高齢化社会における感染症の研究として意義を有する。[原田志津子、鎌田良雄、北村 亮、岡部信彦(感染症情報センター)、泉福英信(細菌第一部)、柳 壹夫]

(2) EBV核蛋白EBNA-LPと相互作用する細胞性因子の検索と機能解析

EBV潜伏感染時に発現する核蛋白EBNA-LPの機能を解析するために、我々はこれまで酵母実験系や免疫沈降法などでEBNA-LPと相互作用する細胞性蛋白の検索をおこない幾つかの遺伝子産物を報告してきた。今年度は未発表の蛋白についての相互作用能やEBNA-LPによるリン酸化等の修飾活性を検討した。[原田志津子、平田顕恵]

(3) EBV核蛋白EBNA-LPとEBNA-2との相互作用

EBVの潜伏感染に重要な役割をもつ核蛋白EBNA-LPとEBNA-2は協調的に作用して遺伝子の転写活性化を促進するが、直接的な相互作用はこれまで証明されていなかった。我々はin vitro実験系でEBNA-LPのW2繰り返し領域とEBNA-2の酸性アミノ酸に富む転写活性化領域とが直接相互作用する事をみだしPNASに報告した。EBNA-LPが多量体を形成し、さらにEBNA-2との相互作用能をもつ事から、こうした性質を保持しながら野生型EBNA-LPの転写活性化補因子機能を欠く欠損変異体の機能効果を検討したところ、EBNA-LPの機能を抑制するドミナントネガティブとして働くことが明らかになった。[原田志津子、

加藤美緒]

(4) EBV 核蛋白 EBNA-LP のドミナントネガティブ発現細胞の樹立

EBNA-LP の EBV 感染細胞における機能を解析するために、EBV 潜伏感染細胞を用いて EBNA-LP ドミナントネガティブ変異体を誘導発現する細胞株を作った。テトラサイクリン誘導系、および Cre-loxP 系で誘導発現細胞樹立を試み、多数のクローンから薬剤添加後の誘導発現効果の大きい細胞株を複数樹立した。それら細胞株の増殖などの性状を解析した。[原田志津子、加藤美緒、加賀美奈子、平田顕恵]

2. ヒトヘルペスウイルス 8 (HHV-8) に関する研究

(1) HHV-8 ORF73 抗原に対する抗体上昇とカポジ肉腫発症との相関

HHV-8 に対する抗体検出のための新たな蛍光抗体法及び酵素抗体法の開発・従来法との比較を今までに行なってきた。今回新しい方法で HIV 患者血清を解析したところ、カポジ肉腫発症群と非発症群の間で潜伏感染抗原 ORF73 に対する抗体価の上昇に差があることを見出し、この抗体の変動が診断マーカーとして利用できるかさらに例数を増やし検討している。[井上直樹、Spira, T., Lam, L., Corchero, J.L., Luo, W. (CDC)]

(2) 抗 HHV-8 IgA 抗体の検出

組換え体 SFV を用いて発現させた HHV-8 の ORF73 及び K8.1 を抗原として、カポジ肉腫からの回復患者の血中及び唾液中の抗 HHV8 IgA 抗体を検出した。IgA 抗体は分泌型であること、口腔内に積極的に分泌されていることを見出した。[Mbopi-Keou, F.-X., Hocini, H., Legoff, J., Picketty, C. Malkin, J.-E., 井上直樹, Teo, C.G. (UK)]

(3) リポーター細胞を用いた中和抗体価測定法

感受性細胞がない HHV8 の力価測定のために、感染によりリポーター遺伝子が活性化される細胞株を樹立し、中和抗体の測定を可能にした。HIV と HHV-8 重感染者について中和抗体の検出頻度と抗体価をカポジ肉腫発症群と非発症群間で比較したが有意な差は見られなかった。このことからカポジ肉腫発症の抑制において中和抗体は一義的役割を果たさないと考察された。[井上直樹、Spira, T., Lam, L. (CDC)]

(4) HHV-8 感染に伴う細胞応答

毛細血管内皮細胞は HHV8 感染に応答して細胞性の抗ウイルス遺伝子の発現を亢進した。インターフェロン α による感染阻害はウイルス複製阻害剤である PFA よりも効果的であった。また、HHV-8 がコードする v IRF-1 はインターフェロン α による感染阻害を一過性であるが阻害することを見出した。[Offermann, K., Pozharskaya, V., Krug, L.T. (Emory Univ.), 井上直樹]

3. サイトメガロウイルス (CMV) に関する研究

(1) 乾燥臍帯を用いた先天性 CMV 感染のレトロスペクティブな診断法の確立

胎児期の CMV 感染 (先天性 CMV 感染症) は全出生児数百人に 1 人の高い頻度で起こる感染症で、その約 1 割が出生時顕性、さらに残りの不顕性感染児の 1 割が持続するウイルス増殖により数年以内に聴覚障害 (感音性難聴) を発症すると考えられている。先天性 CMV と聴覚障害の関係を調べるために、乾燥保存された臍の緒も検査材料として利用できる。[古谷野伸 (旭川医大)、錫谷達夫 (福島医大)、井上直樹]

V 第五室

1. リケッチアに関する研究

(1) Q 熱の血清診断における IF 法と ELISA 法の診断基準設定の検討

Q 熱は、その診断において病原体診断が容易でないことから、血清学的診断は重要である。しかし、Q 熱の血清診断の標準化はまだ十分ではない。今回、IFA 法と ELISA 法での急性感染の診断基準設定を Western Blotting(WB)を参考に比較検討した。血清は、海外の研究機関由来 Q 熱患者血清 16 検体と、日本の市中肺炎患者 150 例の pair 血清、および本邦の Q 熱患者の single 血清 4 検体、陰性コントロール血清 4 検体、計 324 検体を使用した。IFA 法は Nine Mile II 相菌を抗原とした。ELISA 法には PanBio 社のキットを使用した。Q 熱に対する特異抗体の保有を確認するため全血清で WB を行い、27 kDa Q 熱特異蛋白に対する抗体の有無をみた。IFA では IgM32~64 倍まで、および IgG64~128 倍までを保留領域とし、それらを超える場合をそれぞれ陽性、それ未満を陰性とした。ELISA では Index 値(ID)10~16 を保留

領域とし、それらを超える場合をそれぞれ陽性、それ未満を陰性とした。判定は慢性あるいは回復期の血清、急性期から回復初期の血清、陰性血清、保留領域血清に分けて判断した。IF法で陽性であった例では、慢性および回復期血清は3方法すべてでIgGが陽性、IgMが陰性であった。急性期から回復初期の血清は、3方法すべてでIgMおよびIgGが陽性であった。また陰性の血清は3方法でIgM、IgGともに陰性であった。従ってIF法はWBとの一致率が良好であった。一方、ELISAで陽性であったQ熱例では、3つの方法すべてでIgGあるいはIgMが陽性となったものの、保留領域の13検体ではIF法とWBが陽性となる検体はなかった。非特異反応の可能性も含めて今後さらに検体を増やして検討する必要があるが、ELISA保留領域の判定には、可能な限り複数の診断法で確認をすることが望ましいと考えられた。[Agus Setiyono、小川基彦、岸本寿男、佐藤 梢、志賀定詞、蔡 燕]

(2) Real Time PCR (TaqMan)による *Coxiella burnetii* 検出法の開発

Q熱の診断および感染源の特定は、起因菌の *Coxiella burnetii* の分離・培養が難しいことから、主に遺伝子検出によって行われている。そこで今回、多量の検体の同時処理が可能で、簡便かつ迅速な新しい検出法の確立を目的に、TaqMan probeを用いたReal Time PCRによる検出法の開発および評価を行った。*C. burnetii* の外膜蛋白質 com1 遺伝子ならびにゲノムに繰り返り配列が存在するIS遺伝子を標的として、他の菌やヒトゲノムへのホモロジーが極めて低く、*C. burnetii* のみに特異性が高いTaqManPCR用のプローブおよびプライマーを各1組ずつ設計した(QompおよびQIS)。粗精製のNine Mile株II相菌を粒子数を計測後、DNAを抽出し、感度検定に用いた。また、小児呼吸器感染症例の喀痰200検体およびダニ80検体からDNAを抽出し検出を試みた。QISは、一反応(チューブ)あたり0.01~0.1個の菌が検出可能で最も感度が高かった。また、Qompは0.1~1個の菌が検出可能で、同じ遺伝子を標的としたNested PCRより感度が高かった。これらの結果から、今回設計したプライマーおよびプローブによるReal Time PCR法は、従来のNested-PCRより感度が高く、実用であった。今後、検体数を増やして検討を行う予定である。また、実際の検出感度は、臨床検体からのDNA抽出の効率に大きく左右されるので、血液検体などを用いたスパイク試験も今後報告する予定である。[小川基彦、佐藤 梢、Agus Setiyono、岸本寿男、山崎 勉(埼玉医科大学小児科)]

(3) 四類届出リケッチア症の TaqMan 法による検出法の開発

つつが虫病、紅斑熱群リケッチアおよびチフス群リケッチア症に関しても、上述のQ熱に対するTaqMan法の開発と同様の検討を行い、感度、特異性、血液でのスパイク試験の検討を行っている。[小川基彦]

(4) LAMP 法による *Coxiella burnetii* 検出の基礎検討

近年、市中肺炎の起因微生物として *Coxiella burnetii* が注目されているが、臨床的な鑑別が難しく、国内で診断ができる機関が限られている。そこで我々は迅速遺伝子増幅法であるLAMP(Loop-mediated Isothermal Amplification)法を利用した *C. burnetii* 検出系を確立した。LAMPプライマーは、*C. burnetii* の27-kDa outer membrane protein をコードした遺伝子(com1)を標的として設計した。この設計したプライマーについて、*C. burnetii* Nine Mile株抽出DNAを鋳型としてLAMP反応を行った。非 *C. burnetii* 32菌株についての特異性試験を行った。感度対照としてnested PCRを行った。*C. burnetii* Nine Mile株抽出DNAに対して、本法は対照としたnested PCRと同等の検出感度を示した。非 *C. burnetii* 32菌株に対して、LAMP増幅は認められなかった。従って、本法は、*C. burnetii* の迅速検出に有用であると考えられた。[百田隆祥・小島禎・池戸正成(栄研化学株式会社 生物化学研究所)、小川基彦、佐藤梢、Agus Setiyono、岸本寿男]

(5) 慢性疲労症候群様患者におけるコクシエラ感染の検討

2002年より慢性疲労症候群様患者におけるコクシエラ感染の検討を継続して行っている。これまでに、47名の患者に関し、血清抗体価の測定および血中からの遺伝子検出を行ったが、陽性例は得られていない。今後も、検体の採取時期を症状の強いときに限定するなどの工夫をしてさらに継続して行う予定である。[伴信太郎(名古屋大学・医学部)、袴田康弘(静岡県立病院・総合診療科)、小川基彦]

(6) 韓国における乳牛、健康者、肺炎患者の *Coxiella burnetii* の抗体保有率

Q熱 *Coxiella burnetii* 感染症は世界中で発生があり、動物における繁殖障害やヒトでの呼吸器感染症の原因となっている。韓国ではこれまでQ熱の疫学や臨床事例の

研究はほとんどなされていない。今回は韓国の農場における繁殖障害牛の *C.burnetii* 抗体保有率調査を実施した。また同時に韓国農村部の健常者と市中肺炎(CAP)の患者においても同様の調査を実施した。

繁殖障害が認められたウシ血清 414 検体を 2001 年 3 月から 6 月に採取、また健常者血清 205 検体、CAP 患者血清 111 検体を 2001 年に採取した。間接 Micro-immunofluorescence (Micro-IF) 法で *C.burnetii* の抗体の測定を行い、1:16 を陽性とした。

ウシ血清の陽性率は全体で 28.5%、地域により 11.1~59.3%の差が認められた。健常者の 2%、CAP 患者の 13% で *C.burnetii* 抗体陽性であった。

韓国において、*C.burnetii* はウシの繁殖障害の重要な原因である可能性があり、ヒトでも CAP の一因である可能性が示唆されたが、抗体保有についての意義付けを含めてさらに詳細な検討を行なう必要がある。[Woo Jin KIM, Seung-Joon LEE (Department of Internal Medicine, College of Medicine, Kangwon National University), Tae-Wook HAN (Department of Veterinary Medicine, College of Animal Resources Science, Kangwon National University), 小川基彦 (国立感染症研究所 ウイルス第一部)]

(7) 地方衛生研究所におけるつつが虫病診断の現状—アンケートによる調査結果と感染症発生動向調査との比較—

1999年4月に施行された新感染症法に基づく感染症発生動向調査により、つつが虫病は全数把握疾患となっている。今回、アンケート調査により、つつが虫病症例の診断における地方衛生研究所(以下地衛研)の現状を知ることがを試みた。また、2000年には756例、2001年は491例のつつが虫の症例報告をうけた感染症発生動向調査の結果と比較することにより感染症発生動向調査システムの評価もあわせて行った。2002年7月に、全国の地衛研計73施設のつつが虫病検査担当者に対して2000年、2001年の各施設におけるつつが虫病検査の実施状況を郵送によりアンケート調査した。回答率は、都道府県地衛研43/47施設(91%)、その他(政令市など)の地衛研24/26施設(92%)であった。また、つつが虫病と診断された症例数について、都道府県別にアンケート調査と感染症発生動向調査の結果を比較した。

つつが虫病特異検査を通常業務として実施しているのは、2001年においては、都道府県地衛研38施設、その他地衛研4施設であった。通常実施している検査法はFA法のみ26施設、FA法+PCR法9施設、IP法のみ2施設、IP法+PCR法2施設、PCRのみ1施設、FA法+IP

法1施設、FA法+PCR法+IP法1施設であった。血清検査の際、通常使用する抗原は、標準3株(Kato,Karp,Gilliam株)のみ23施設、標準3株+Kawasaki,Kuroki株(以下基本5株)15施設、基本5株+その他株2施設、Kawasaki株のみ1施設であった。2000年のつつが虫病疑い症例の検体受け入れ総症例数は1090例で、そのうち確定診断されたのは570例(52%)、2001年は、受け入れ総症例数は823例、うち確定診断されたのは330例(40%)であった。また、2000年、2001年ともに、地衛研における確定症例数と感染症発生動向調査の届け出症例数が似通った数値をとった県があった。

地衛研はつつが虫病検査について多数の検体を受け入れており、診断において大きな役割を果たしている現状が明らかになった。また、複数の検査法を同時に行ったり、通常コマーシャルラボでは使わない株を用いるなど、地衛研においては精度の高い検査が実施されていた。個々の症例を比較することができないため、確定することは困難であるが、地衛研における確定症例数と感染症発生動向調査の届け出症例数が似通った数値をとった県においては、臨床医、保健所、地衛研の連携がよく、サーベイランスのシステムが良好に機能していることを示唆すると考察された。[松井珠乃(国立感染症研究所 Field Epidemiology Training Program)小川基彦、岸本寿男、海保郁男(千葉県衛生研究所 ウイルス研究室)、大山卓昭・ジョン コバヤシ・岡部信彦(感染症情報センター)]

2. クラミジアに関する研究

(1) オウム病クラミジア感染のペットにおける実態把握に関する研究

我が国のオウム病クラミジア感染のペットにおける実態把握を行い、侵淫現状を把握することを目指した。愛玩鳥のオウム病クラミジア(*C.psittaci*)の保有状況を、2003年4月から約一年間、輸入卸売りおよび小売業者、動物病院、および展示施設からの検体を材料とし、PCR法にて調査した。生鳥は糞便ないしクローカの拭い液を検査材料とした。死亡鳥は脾臓ないし肝臓を検査材料とした。これらの検体約0.1gからDNAを抽出し、主要外膜タンパク質遺伝子(MOMP)を標的とするPCRによってクラミジアの検索を行った。健康鳥ないし感染症が疑われた病鳥、491および71検体について検索したところ、それぞれ25検体(5.4%)および5検体(7.6%)からクラミジアが検出された。施設別にみると動物病院7.9%、動物販売業者5.6%、および展示施設3.1%であった。斃死鳥では感染症が疑われた59検体中13検体(28.3%)からク

ラミジアが検出されたが、他の原因が疑われ、剖検を依頼された27検体ではクラミジアは検出されなかった。クラミジアが検出された鳥種は様々であったが、オカメインコ、セキセイインコおよびゴシキセイガイインコからの検出数ならびに検出率が高かった。また、上記と別に10数箇所の鳥類飼育施設とペットショップに依頼して採取した約600検体の糞について検討したところ、1%~18%とばらつきがあるものの、平均5%程度の陽性率であった。今回検索した動物販売業者からの依頼検体の多くは輸入個体であるが、陽性率は5.6%と、従来の比率とほぼ同様であった。

さらに、愛玩鳥の *C.psittaci* 治療法について、*C.psittaci* 陽性の保菌鳥の治療と経過観察を行い、半年までの陰性化を確認した。このことから、無症状の保菌鳥に対しては約2週間のテトラサイクリンによる治療の有効性は高いと考えられた。今後病鳥に対する治療効果に関し、期間、投与量等の比較を行い、適切な治療法について検討する。[岸本寿男、蔡 燕、志賀定嗣、小川基彦、Agus Setiyono、佐藤 梢、福士秀人(岐阜大学農学部獣医学部畜微生物)]

(2) 人のオウム病の疫学的調査

開業医20施設を受診した市中肺炎例168例に関し、ペア血清を用いたmicro-IFによる抗体測定と、咽頭スワブからの分離によるオウム病の検索を行った。結果は急性のオウム病抗体を保有する例はなく、分離例もなかった。現在引き続きさらに100例程度の追加検討を行っている。[岸本寿男、志賀定嗣、蔡 燕、小川基彦、Agus Setiyono、佐藤 梢、中浜 力(中浜医院)]

(3) 新たなPCRプライマーによる鳥からの *C. psittaci* 遺伝子検出法の開発

従来報告されている *C.psittaci* 用の PCR は属特異プライマーで増幅した後、制限酵素での切断を要するか、nested PCR を必要とするため煩雑である。我々は one step PCR のプライマーを開発し、最適な条件、特異性、感度等の検討を行った。*C. psittaci* の主要外膜蛋白質 MOMP 遺伝子を標的として、*C. psittaci* のみに特異性が高いプライマー1組を設計した(Cpsi-1およびCpsi-2)。*C. pneumoniae*、*C. trachomatis*、*C. pecorum* および他の30菌種を用い、特異性を検討した。*C. psittaci* 6BC株精製EBからDNAを抽出し、感度検定に用いた。また、他の報告されているオウム病診断用プライマー2組と比較した。さらに、動物園やペットショップのトリ糞便140検体(オウム病集団発生事例の7検体を含む)、オウム病

患者喀痰1検体を用いて検出を試みた。Cpsi-1/2は一反応あたり6~60fg(約0.6~6ゲノムコピー)を検出可能で、他のプライマーを用いたPCRより感度が高かった。トリ140検体から4検体、オウム病患者喀痰1検体が陽性であった。これらの結果から、今回設計したプライマーによるPCR法は、*C. psittaci* 特異的で高感度であった。また、Cpsi-1/2はone-step PCRで*C. psittaci*のみ増幅できるため、簡便で実用的と考えられた。今後検体数を増やしてさらに検討する予定である。[蔡 燕、岸本寿男、志賀定嗣、小川基彦、Agus Setiyono、佐藤 梢]

(4) ヒトの簡便なオウム病血清診断法の開発

ヒトでの診断法として種特異的で簡便なELISA法が望まれている。*C.psittaci*の基本小体の精製を行い、その外膜複合蛋白を抗原としたELISA法の開発を目指した。測定系は構築し得たが、現在までのところまだ十分な特異性が得られていないため、今後、抗原の選択についてさらに検討の予定である。[蔡 燕、岸本寿男、志賀定嗣、小川基彦、Agus Setiyono、佐藤 梢]

(5) ヒトのアウトブレイクの原因となったヘラジカ由来 *Chlamydia psittaci* の遺伝学的解析とその感染源に関する調査

2001年5月川崎市夢見ヶ崎動物公園においてヘラジカの出産の介助に携わった職員および獣医師の5名がオウム病に感染するという事例が報告された。その後の解析で、胎盤および死亡ヘラジカ胎仔の肺からPCRによりクラミジアの遺伝子が検出され、胎盤からクラミジアの分離に成功した。今回、分離されたクラミジアの遺伝学的性状を解析した。

ヘラジカ分離株の遺伝学性状の解析は、外膜タンパク質(ompA)の塩基配列を決定し、既報の株と比較し行った。また、精製菌から抽出したゲノムDNAのAlu1制限酵素による切断パターンを、他のクラミジアの株と比較した。次に、この動物公園内で飼育されているヘラジカの血清(当該メスジカの他、オス1、メス1)の分離株に対する抗体価を測定して、ヘラジカ間での流行の可能性を調査した。また、有害駆除された動物公園周辺のカラスおよびドバトの糞便、脾臓、肝臓からPCRによる遺伝子検出および塩基配列の決定を行い、ヘラジカ分離株との比較解析を行った。ヘラジカ分離株のompAの塩基配列は、既報のトリ由来 *C.psittaci* に高い相同性を示した。特に、既報の鳩由来株に相同性が高かった。また、PCRにより選択的に増幅された微量の集団を解析している危険性を排除するため、Alu1消化によるゲノムパターンの解析

を行った結果、*C.psittaci*と同じパターンを示したため、分離された株では*C.psittaci*が主要なpopulationであるか、単独の感染であることが明らかになった。次に、ヘラジカの血清抗体価Ig(whole)は当該メス感染時1024倍、感染後9ヶ月で64倍に減少し、他のメスジカは感染後8ヶ月で64倍、オスジカは8倍であり、他のメスが過去に感染していた可能性は残ったが、オスジカが感染していた可能性はきわめて低かった。従って、オスから交尾によって感染した可能性はきわめて低くなった。さらに、周辺のカラス4羽およびドバト12羽の糞便、肝臓、脾臓から、PCRによる検出を行った結果、ドバト2羽の糞便、うち1羽の肝臓および脾臓も陽性となった。陽性検体のompA塩基配列は、ヘラジカ分離株とアミノ酸配列で99.8%、塩基配列で99.9%一致していた。従って、今回のアウトブレイクは動物公園の周囲にいたドバトから、何らかの原因でヘラジカに感染し、胎盤で爆発的に増殖したクラミジアがヒトのアウトブレイクの原因となった可能性がきわめて強くなった。このようなケースは世界的にも珍しく、今後もこういったケースが他にもあるのか、広く調査解析を進めていく必要があると思われる。[小川基彦、岸本寿男、佐藤 梢、志賀定詞、蔡 燕、Agus Setiyono、多田有希(感染症情報センター)、長澤 實(川崎市立夢見ヶ崎動物公園)]

(6) *Chlamydia pneumoniae*のタイピングに関する研究(第1報)

*Chlamydia pneumoniae*は、一般にゲノム型、血清型が1つと考えられタイピングが困難と考えられてきた。また、現在までに4菌株の全塩基配列が公表されているが、非常に近似しているためタイピングの困難さが予想される。しかし、菌株のタイピングが可能になると、疫学調査、病原因子の解析、潜伏感染と再感染の区別など種々の知見に役立つと考えられる。そこで、これまでに全塩基配列の明らかにされた菌株の情報を比較し、遺伝子サイズの異なる領域を検索した。その結果明らかとなった遺伝子サイズの異なる領域数カ所について、PCRで増幅し電気泳動で確認した。世界各国で分離されたJ138(日本)、CWL-029(米国)、Kajani6(フィンランド)、TW183(台湾)、AR39(米国)、IOL207(イラン)について比較検討したところ、AR39、IOL207以外の各国の株は区別できた。しかし、日本で分離されたJ138(下関)、YK41(広島)、TFC100、105(岡山県市中肺炎)、岡山・倉敷集団発生由来11株、熊本県集団発生由来8株を検討したところ、熊本集団発生由来の1株と岡山県市中肺炎由来の1株を除いてすべて同じパターンとなり、区別はできなかった。今回開発したタイピング法では、分離さ

れた国別のタイピングは可能であるが、日本で分離された株についてはタイピングが困難であった。今後さらに精度の良いタイピング法の検討が望まれる。[尾内一信・遠藤雅子(川崎医科大学小児科学2講座) 岸本寿男、山崎勉、志賀定詞、小川基彦]

(7) 抗*Simkania negevensis*抗体検出についての検討

Simkania negevensis(*S. negevensis*)はイスラエルのKahaneらが1993年に分離報告し、現在*Chlamydia*目*Simkania*科に分類されている微生物である。成人では市中肺炎を、小児では細気管支炎を引き起こし、細気管支炎ではその25%に関与しているとの報告がある。我々は*Chlamydia*の抗体測定法の一つであるMicroplate immunofluorescence antibody technique(MFA法)を使って対象に抗*S. negevensis*抗体の検出を行った。健常者588人を、培養2日目の単層を形成したVero細胞に*S. negevensis*(ATCC VR-1471)を接種した。接種後5日目に、感染させたVero細胞をtrypsinで剥離してマイクロプレートに移植し、さらに2日間培養した後に固定し、MFA法の抗原とした。MFA法は抗原と被検血清を反応させた後、FITC標識抗ヒトIgG抗体と反応させたものを蛍光顕微鏡で検鏡し、封入体部分が蛍光染色されている感染細胞が認められるものを陽性と判定した。血清IgGの抗体価が8倍以上のものを陽性者と判定した。その結果、*Chlamydia*と同様に特徴的な封入体の蛍光染色を確認でき、抗体陽性と判定したものは588人中、40%の235人であった。年齢別抗体保有率は4歳以下では8.0%であったが、5~14歳で約30%に上昇し、15歳以降ほぼ横ばいとなり47~57%を示した。以上のことから、本邦においても広く*S. negevensis*感染が存在することが示された。また抗体保有率が小児期に上昇していることから、この時期の何らかの病態に関与していることが示唆された。[山口徹也(浜松医科大学小児科)、山崎勉・井上美由紀(埼玉医科大学小児科)、小川基彦、志賀定詞、岸本寿男、尾内一信(川崎医科大学小児科2講座)、大関武彦・中川裕一(浜松医科大学小児科)]

(8) *Simkania negevensis*培養条件の検討

*S. negevensis*の細胞培養については、限られた施設でのみ施行されていて、至適培養条件については明らかでない点が多い。そこで、今回は培養条件の比較検討を行い、*S. negevensis*の増殖に最適な条件を求めた。培養条件の検討は、 4×10^4 個/mLに菌数を調整した*S. negevensis*をVero細胞に接種し、5%CO₂条件下37℃で5日間培養した。培養液は、RPMI1640培地を

使用した。細胞はメタノールにて固定後、抗 *S.negevensis* 家兎ポリクローナル抗体と抗家兎FITC 標識抗体を用いて封入体を染色した。*S.negevensis* の封入体は、30 視野計測し、各検討項目について3回ずつ施行して平均封入体数を算定した。培養条件の検討項目は、前処理としてポリエチレングリコール (PEG) とDEAE デキストラン、接種時の超音波処理の有無、接種後の遠心吸着の有無、培養液のfetal calf serum濃度、抗生剤およびglucose添加の有無とした。

今回の検討からは、*S.negevensis* の増殖に関して、抑制的あるいは影響を及ぼさなかった項目は、PEGあるいはDEAEデキストランによるVero細胞の前処理、接種時の超音波処理であった。一方、促進的と判断された項目は、接種時の遠心吸着、培養液への10%FCSの添加であった。[井上美由紀・山崎 勉 (埼玉医科大学小児科)、山口徹也 (浜松医科大学小児科)、小川基彦、志賀定嗣、岸本寿男、尾内一信 (川崎医科大学小児科 2 講座)、大関武彦・中川裕一 (浜松医科大学小児科)]

(9) 市中肺炎例の *C.pneumoniae* 肺炎診断における IgM 測定の意義について

C.pneumoniae 感染症の血清診断では、ペア血清での判定が重要ではあるが、IgG、IgA 抗体価の変動が緩やかなため確定診断が困難なことが多い。そこでシングル血清でも診断的意義が高いとされる特異 IgM 測定の有用性について、成人市中肺炎例を対象に、ELISA 法、micro-IF 法により比較検討した。関東以西の第一線の臨床医 20 施設を受診し、インフォームドコンセントが得られた中等症までの市中肺炎例 168 例について、各種起因菌の検索と肺炎クラミジアについては培養、PCR、とペア血清の *C.pneumoniae* 抗体を測定した。ELISA 法はヒタザイム C.ニューモニエ(日立化成)を用い、micro-IF は *C.pneumoniae* AR39 株を含めたクラミジア 3 種の抗原を用いて、それぞれ IgG,A,M について検討した。IgM の測定は RF を除去処理後に行った。*C.pneumoniae* 急性感染の抗体価判定基準として、ELISA はペア血清での IgG の ID 値 1.35 以上上昇か IgA の 1.00 以上上昇、あるいはペアのどちらかが IgM 1.60 以上のもの、これらのいずれかをみたとすこととした。また micro-IF は、ペアでの IgG の 4 倍以上上昇、あるいはペアのどちらかが IgM 32 倍以上のいずれかを満たすこと、とした。*C.pneumoniae* 急性感染確定例は、ELISA で 26/168 例(16%)、micro-IF で 14/168 例(8.3%)であった。このうちペア血清 IgG,IgA の有意な上昇で診断可能であった例は、ELISA で 2 例のみ、micro-IF では 1 例もなく、残りはすべて IgM による

判定基準での診断であった。*C.pneumoniae* 肺炎の血清診断において、IgG、IgA のペアでの判定でも急性感染確定診断は困難であったが、その理由として、血清採取の間隔の約 2 週間が短期間であったことが考えられる。一方、IgM 測定は、ELISA 法、micro-IF 法ともに有用であった。また、ELISA 法は簡便であり、micro-IF より診断率が優れていたことから、経過観察期間が比較的短い一般開業医の外来診療の現場では今後特に臨床応用の意義が大きいと思われる。[岸本寿男、志賀定嗣、小川基彦、佐藤 梢、Agus Setiyono、蔡 燕、中浜 力(中浜医院)]

VI. 検定検査業務

1. 乾燥細胞培養痘そうワクチンの国家検定

平成 15 年度は、5 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、5 ロット全てを合格と判定した。[緒方もも子、福士秀悦、水谷哲也、西條政幸、森川茂、倉根一郎]

2. 日本脳炎不活化ワクチンの国家検定および依頼検査

平成 15 年度は、36 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、36 ロット全てを合格と判定した。[根路銘令子、高崎智彦、伊藤美佳子、田島茂、倉根一郎]

3. 黄熱ワクチン依頼検査

平成 15 年度は 2 ロットの黄熱ワクチン依頼検査の行政検査を実施した。[伊藤美佳子、高崎智彦、根路銘令子、田島茂、倉根一郎]

4. ウイルス行政検査

ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルス行政検査が 4 件依頼され、実施した。[高崎智彦、伊藤美佳子、根路銘令子、田島茂、倉根一郎]

5. 狂犬病ワクチンの検定

乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン 2 ロットについて、生物学的製剤基準に基づいて、力価試験および不活化試験を行ない、合格と判定した。[新井陽子、森本金次郎、中道一生、倉根一郎]

6. 水痘ワクチンの検定

ウイルス第一部

乾燥水痘生ワクチン国家検定4ロット、輸出用ワクチン依頼検査5ロット、水痘抗原国家検定1ロットを実施し、全ロットとも合格であった。[柳 壹夫、原田志津子、井上直樹、倉根一郎]

7. リケッチア関連の検査

四類全数把握届出感染症のQ熱、つつが虫病、日本紅斑熱、発疹チフスリケッチアおよび類症鑑別に必要な菌株の維持および抗原の作成を行った。また、検査として、患者34名計80検体の血清診断および遺伝子検出などを行った。その結果、ケニアで感染したと思われる輸入紅斑熱1例、オーストラリアで感染したと思われるQ熱1例、ベトナムで感染したと思われる発疹熱1例、ネパールで感染したと思われるつつが虫病1例が、陽性と診断された。患者数は多くないが、異なったリケッチアに感染した患者が、異なった地域から帰国後報告されたことは、改めて輸入感染症としてのリケッチア症に注意を払う必要性が示唆された結果であった。(なお、リケッチアの型別は、徳島大学・医学部、フランス CNRS, unite des Rickettsie との共同研究により行い継続中である。)[小川基彦、岸本寿男、倉根一郎]

8. クラミジア関連の検査

クラミジア特異抗体測定のためのmicro-IF用抗原として *C.pittaci* Budgerigar No.1 株を 6ml 6.3×10^8 と、*C.trachomatis* D株(C/TW-3/OT)5ml 4.5×10^8 の精製を行った。

国内研究施設への分与は細胞2箇所、クラミジア株2箇所、micro-IF抗原5箇所に行った。

依頼検査として国内から市中肺炎例のクラミジア3種の抗体価、PCR、分離を約200例500検体にて施行した。[志賀定嗣、岸本寿男、倉根一郎]

VII 国際協力

1. JICA ガーナ感染症対策プロジェクトへの短期専門家派遣

西條政幸主任研究官が、昨年度に引き続き国際協力事業団(現、国際協力機構、JICA)が行っているガーナ感染症対策プロジェクトを通じたガーナ大学野口研究所スタッフへの技術協力を行うために、JICAの短期専門家としてガーナ大学に2003年8月24日から3週間にわたり派遣された。派遣先では、エボラウイルス、マールブルグ

ウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルスおよびラッサウイルス感染症の診断法の技術供与を行うとともに、それらのウイルス感染症の血清疫学的研究の技術援助を行った。

2. JICA ガーナ性感染症プロジェクトの最終評価

ガーナにおける性感染症の原因病原体の解析と技術移転を目的に、JICA および野口研究所(NMIMR)との共同研究を行ってきた。プロジェクトの終了に際し評価を行った。中間評価で指摘されたクラミジアの検査の精度に問題があることや、日本で分離等の技術研修を受けた担当者が実際の検査に携わっていないことなどの問題点があることも改善されていなかったため、最終的に extra counterpart 研修として、感染研で受け入れた。また検体をガーナから持ち込んで確認を行った。感染研でのPCRとrRNA detection test (APTIMA)による確認試験の結果から、NMIMRのクラミジア検査の信頼性は低いと考えざるを得なかった。ただし幸い、感度、特異性に最も優れたrRNA detection testでの *C. trachomatis* クラミジア陽性率は3%という結果が得られたこと、PCRで陽性であった8株はsequence analyseによるgenotypingでE、Gの2株であることが明らかになったことは疫学的に意義のあることと考えられた。クラミジアのほかにもHB抗原の陽性率が高かったことや、*N. gonorrhoeae*の検出率が低いことなど、その理由については考察が必要であるが興味深い結果が得られた。

VIII 協力研究員、研究員、実習生等

第一室	協力研究員	畠山修司、榑木俊聡、小安重夫
	実習生	灰谷あずさ
第二室	客員研究員	鈴木隆二、名和 優
	協力研究員	吉田靖子、正木秀幸、吉田隆史、山本 晃、原田 誠、飯塚信二、矢部貞雄、中山幹男、山田堅一郎
	研究生	藤井克樹、Beti Ernawati Dewi、
第三室	協力研究員	Pakamatz Khawplod
	研究生	庄司洋子
	実習生	滝川 彩
第四室	協力研究員	関沢 剛、大川雅子、小澤 茂、青塚新一、伊藤さゆり
	研究生	北村 亮

第五室 協力研究員 平野由紀、山崎 勉、井筒 浩、
萩原敏且、麻生宣子、宮野昭弘、
山野宏晃、大口純人、山口徹也、
佐藤 梢
流動研究員 蔡 燕、Agus Setiyono

発表業績一覧

I. 誌上发表

1. 欧文発表

- 1) Eshita, Y., Takasaki, T., Yamada, K., and Kurane, I.: Isolation of arboviruses from field-collected mosquitoes. *Anthrology in Biosafety*. 6: 63-71. 2003
- 2) Kurane, I., West, K., Tuazon, C.U., Zeng, W.L. and Ennis, F.A.: Definition of two new epitopes on human immunodeficiency virus type I gag protein recognized by human CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *Journal of Clinical Virology*. 27: 38-43, 2003
- 3) Mori, K., Tamura, M., Yashino, T., Asada, H., Kawamoto, M., Shikida, T., Kurane, I., and Kubo, T.: Modulation of T-cell functions by the laser surgery in patients with allergic rhinitis. *Acta Oto-Laryngologica*. 123: 704-708, 2003
- 4) Nawa, M., Takasaki, T., Yamada, K., Kurane, I., and Akatsuka, T.: Interference in Japanese encephalitis virus infection of Vero cells by a cationic amphiphilic drug, chlorpromazine. *Journal of General Virology*. 84: 1737-1741, 2003
- 5) Tanabayashi, K., Mukai, R., Yamada, A., Takasaki, T., Kurane, I., Yamaoka, M., Terazawa, A., and Konishi, E.: Immunogenicity of a Japanese encephalitis DNA vaccine candidate in cynomolgus monkeys. *Vaccine*. 21: 2338-2345, 2003
- 6) Pandey, B.D., Yamamoto, A., Morita, K., Kurosawa, Y., Rai, S.K., Kandel, R., Adhikari, S.K., and Kurane, I.: Sero-diagnosis of Japanese encephalitis in Nepal by the particle agglutination assay. *Epidemiology and Infection*. 131: 881-885, 2003
- 7) Konishi, E., Ajiro, N., Nukuzuma, C., Mason, P. W., and Kurane, I.: Comparison of protective efficacies of plasmid DNAs encoding Japanese encephalitis virus proteins that induce neutralizing antibody or cytotoxic T lymphocytes in mice. *Vaccine*. 21: 3675-3683, 2003
- 8) Sa-ngasang, A., Wibulwattanakit, S., Chanama, S., O-rapinpatipat, A., A-nuegoonpipat, A., Anantapreecha, S., Sawanpanyalert, P., and Kurane, I.: Evaluation of RT-PCR as a tool for diagnosis of secondary dengue virus infection. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 56: 205-209, 2003
- 9) Nawa, M., Takasaki, T., Yamada, K., Kurane, I., and Akatsuka, T.: Development of IgM-capture enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of dengue, using beta-propiolactone-inactivated dengue viral antigens. *Dengue Bulletin*. 27: 95-99, 2003
- 10) Tang Q, Saijo, M., Zhang Y, Asiguma, M., Dong T, Han L, Shimayi B, Maeda, A., Kurane, I., Morikawa, S.: A patient with Crimean-Congo hemorrhagic fever diagnosed with recombinant nucleoprotein-based antibody detection systems. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10:489-491, 2003
- 11) Suzutani, T., Ishioka, K., De Clercq E, Ishibashi, K., Kaneko, H., Kira, T., Hashimoto, K., Ogasawara, M., Ohtani, K., Wakamiya, N., Saijo, M.: Differential mutation patterns in thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus type 1 clones passaged in the presence of acyclovir or penciclovir. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47:1707-1713, 2003
- 12) Mizutani, T., Kobayashi, M., Eshita, Y., Inanami, O., Yamamori, T., Goto, A., Ako, Y., Miyoshi, H., Miyamoto, H., Kariwa, H., Kuwabara, M. and Takashima, I.: Characterization of JNK-like protein derived from a mosquito cell line, C6/36. *Insect Molecular Biology* 12: 61-66, 2003
- 13) Mizutani, T., Kobayashi, M., Eshita, Y., Shirato, K., Kimura, T., Ako, Y., Miyoshi, H., Takasaki, T., Kurane, I., Kariwa, H., Umemura, T., Takashima, I.: Involvement of the JNK-like protein of the *Aedes albopictus* mosquito cell line, C6/36, in phagocytosis, endocytosis and infection of West Nile virus. 2003. *Insect Molecular Biology* 12: 491-499, 2003
- 14) Niikura, M., Ikegami, T., Saijo, M., Kurata, T., Kurane, I., Morikawa, S.: Analysis of linear B-cell epitopes of the nucleoprotein of ebola virus that distinguish ebola virus subtypes. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10(1):83-7. 2003
- 15) Tang, Q., Saijo, M., Han, L., Niikura, M., Maeda, A., Ikegami, T., Xinjung, W., Kurane, I., and Morikawa, S.: Detection of immunoglobulin G to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in sheep sera by recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent and immunofluorescence assays. *Journal of Virological Methods*, 108: 111-116. 2003

- 16) Ikegami, T., Saijo, M., Niikura, M., Miranda, M.E.G., Calaor, A.B., Hernandez, M., Manalo, D.L., Kurane, I., Yoshikawa, Y. and Morikawa, S.: Immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay using truncated nucleoproteins of Reston Ebola virus. *Epidemiology and Infection*. 130:533-9. 2003
- 17) Sunohara, M., Morikawa, S., Sato, T., Sato, I., Sato, T., and Fuse, A.: Modulation of human c-mpl gene expression by thrombopoietin through protein kinase C. *Cellular and Molecular Biology*, 49: Online Pub:OL393-8 2003
- 18) Maeda, A., Lee, B.-H., Yoshimatsu, K., Saijo, M., Kurane, I., Arikawa, J. and Morikawa, S.: The Intracellular Association of the Nucleocapsid Protein (NP) of Hantaan Virus (HTNV) with Small Ubiquitin-Like Modifier-1 (SUMO-1) Conjugating Enzyme 9 (Ubc9). *Virology*, 305: 288-297. 2003
- 19) Ikegami, T., Niikura, M., Saijo, M., Miranda, M.E., Calaor, A.B., Hernandez, M., Acosta, L.P., Manalo, D.L., Kurane, I., Yoshikawa, Y. and Morikawa, S.: Antigen-capture Enzyme-linked Immunosorbent Assay that specifically detects Reston Ebola Virus Nucleoprotein. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 10: 552-557, 2003
- 20) Lee BH, Yoshimatsu K, Maeda A, Ochiai K, Morimatsu M, Araki K, Ogino M, Morikawa S, Arikawa J.: Association of the nucleocapsid protein of the Seoul and Hantaan hantaviruses with small ubiquitin-like modifier-1-related molecules. *Virus Research* 98(1):83-91. 2003
- 21) Sakamoto, T., Ushijima, H., Okitsu, S., Suzuki, E., Sakai, K., Morikawa, S. and W. E.G. Muller : Establishment of an HIV cell-cell fusion assay by using two genetically modified HeLa cell lines and reporter gene. *Journal of Virological Methods* 114: 159-166, 2003
- 22) Takasaki, T., Yabe, S., Nerome, R., Ito, M., Yamada, K., Kurane, I.: Partial protective effect of inactivated Japanese encephalitis vaccine on lethal West Nile virus infection in mice. *Vaccine* 21(31) 4514-4518, 2003
- 23) Yamada, K., Takasaki, T., Nawa, M., Yabe, S., Kurane, I.: Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and hemagglutination inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10(4) 725-728, 2003.
- 24) Tajima S., Tsukamoto M., Aida Y.: Latency of viral expression in vivo is not related to CpG methylation in the U3 region and part of the R region of the long terminal repeat of bovine leukemia virus. *Journal of Virology* 77, 4423-4430, 2003
- 25) Konnai S., Takeshima S., Tajima S., Okada K., Onuma M., Aida Y.: The influence of ovine MHC class II DRB1 alleles on immune response in bovine leukemia virus infection. *Microbiology and Immunology*, 47, 223-232, 2003
- 26) Usui T., Konnai M., Tajima S., Watarai S., Aida Y., Ohashi K., Onuma M.: Protective effects of vaccination with bovine leukemia virus (BLV) Tax DNA against BLV infection in sheep. *Journal of Veterinary Medical Science*, 65, 1201-1205, 2003
- 27) Takahashi M., Tajima S., Takeshima SN., Konnai S., Yin SA., Okada K., Davis WC., Aida, Y.: Ex vivo survival of peripheral blood mononuclear cells in sheep induced by bovine leukemia virus (BLV) mainly occurs in CD5- B cells that express BLV. *Microbes and Infection*, 6, 584-595, 2004
- 28) Inoue, K., Shoji Y., Kurane, I., Iijima, T., Sakai, T., Morimoto, K.: An improved method for recovering rabies virus from cloned cDNA. *Journal of Virological Methods* 107: 229-236, 2003
- 29) Arai, Y.T., Kuzmin, I.V., Kameoka, Y., Botvinkin, A.D.: New Lyssavirus Genotype from the Lesser Mouse-eared Bat (*Myotis blythi*), Kyrgyzstan. *Emerging Infectious Diseases* 9: 333-337, 2003
- 30) Kuzmin IV, Orciari LA, Arai YT, Smith JS, Hanlon CA, Kameoka Y, Rupprecht CE. Bat lyssaviruses (Aravan and Khujand) from Central Asia: phylogenetic relationships according to N, P and G gene sequences. *Virus Research* 2003, 97: 65-79.
- 31) Ito, M., Itou, T., Shoji, Y., Sakai, T., Ito, F.H., Arai, Y.T., Takasaki, T., Kurane, I.: Discrimination between dog-related and vampire bat-related rabies viruses in Brazil by strain-specific reverse transcriptase-polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Clinical Virology* 26: 317-330, 2003
- 32) Shoji, Y., Inoue, S., Nakamichi, K., Kurane, I., Sakai, T., Morimoto, K.: Generation and characterization of P gene-deficient rabies virus. *Virology* 318: 295-305, 2004
- 33) Harada, S., Kamata, Y., Ishii, Y., Eda, H., Kitamura, R., Ban, F., Kuranari, J., Nakajima, H., Kuze, T., Hayashi, M., Obayashi, M., Ito, S., Okabe, N., Senpuku, H., Miyasaka, N., Nakamura, Y., Kanegane, H., Yanagi, K.: Maintenance of serum IgG antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen-2 throughout life in healthy individuals from a population with a high childhood incidence of asymptomatic primary EBV infection. *Clinical Diagnostics and Laboratory Immunology* 11: 123-130, 2004.
- 34) Inoue, N., Winter, J., Lal, R., Offermann, M.K. and Koyano, S.: Characterization of entry mechanisms of human herpesvirus 8 by using an Rta-dependent reporter cell line.

Journal of Virology 77: 8147-8152, 2003.

35) Koyano, S., Mar, E.-C., Stamey, F.R. and Inoue, N.:

Glycoproteins M and N of human herpesvirus 8 form a complex and inhibit cell fusion. Journal of General Virology 84:1485-1491, 2003.

36) Koyano, S., Hirano, Y., Araki, A., Muroho, K., Fujieda, K., Suzutani, Yagyu, T. and K.Inoue, N. : Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using dried umbilical cords. Pediatric Infectious Disease Journal 23:481-482, 2004.

37) Mbopi-Keou, F.-X., Hocini, H., Legoff, J., Picketty, C. Malkin, J.-E., Inoue, N. Scully, C.M., Porter, S.R., Teo, C.G. and Belec, L.: Salivary production of IgA and IgG to human herpesvirus 8 latent and lytic antigens in individuals with resolved Kaposi's sarcoma. AIDS 18:338-340, 2004.

38) Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Kasai, S., Severson, D.W., Kono, Y. and Tomita, T.: An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in Japanese encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. B.B.R.C. 313, 794-801, 2004.

39) Nikolaou, K., Varinou, L., Inoue, N. and Arsenakis M. : Identification and characterization of gene products of ORF U90/89 of human herpesvirus 6. Acta Virologica 47:17-26, 2003.

40) Peng, C-W., Xue, Y., Zhao, B., Johanssen, E., Kieff, E. and Harada, S.: Direct interactions between Epstein-Barr virus leader protein (EBNALP) and the EBNA2 acidic domain underlie cooperative transcriptional regulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:1033-1038, 2004.

41) Yamazaki, T., Inoue, M., Ogawa, M., Shiga, S., Kishimoto, T., Hagiwara, T., Matsumoto, T., Hayashi, T.: Inactivation of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia (Chlamydomphila) pneumoniae* by ozone. Lett Appl Microbiol. 38(5):406-9. 2004

42) Yamazaki, T., Inoue, M., Sasaki, N., Hagiwara, T., Kishimoto, T., Shiga, S., Ogawa, M., Hara, Y., Matsumoto, T.: In vitro inhibitory effects of tea polyphenols on the proliferation of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae*. Jpn J Infect Dis. 56(4):143-5. 2003.

43) Yamaguchi, T., Yamazaki, T., Inoue, M., Ogawa, M., Shiga, S., Nakagawa, Y., Kishimoto, T., Ouchi, K. and Ohzeki, T.: Factors Improving the Propagation of *Simkania negevensis* Strain Z in Cell Culture Jpn. J. Infect. Dis., 57, 103-106, 2003

2. 和文発表

1) 伊藤美佳子、倉根一郎：デング熱・デング出血熱. 総合臨床 52(増刊)：1109-1115, 2003

2) 倉根一郎：ウエストナイル熱. ウイルス 53: 1-6, 2003.

3) 倉根一郎：ウエストナイルウイルス：北アメリカにおける脅威. Molecular Medicine: 890-894, 2003.

4) 倉根一郎：ウエストナイル熱と日本の対策. ファルマシア 39:545-548, 2003

5) 倉根一郎：デング熱・デング出血熱、黄熱. 臨床と微生物 30:356-360, 2003

6) 倉根一郎：ウエストナイルウイルスの侵入を水際で防ぐ. 化学 58(No.12):18-20, 2003

7) 倉根一郎：ウエストナイルウイルス感染症のその後. 感染症と化学療法. 7: 28-31, 2003

8) 倉根一郎：新しいウイルス性疾患：ウエストナイル熱、SARSなど. Medical Practice. 20: 2087-2091, 2003

9) 倉根一郎：デング熱・デング出血熱. 感染症 33(6):243-253, 2003

10) 高崎智彦、倉根一郎：ウエストナイルウイルス感染症と移植. 今日の移植. 17(1): 144-149, 2004

11) 倉根一郎：デング熱・デング出血熱. 臨床ウイルス. 32: 23-29, 2004

12) 前田秋彦、倉根一郎：ニパウイルス感染症. 動物由来感染症—その診断と対策(神山恒夫、山田章雄編) 真興交易医書出版部 101-105, 2003

13) 倉根一郎：日本脳炎. 動物由来感染症—その診断と対策(神山恒夫、山田章雄編) 真興交易医書出版部 106-109, 2003

14) 前田秋彦、倉根一郎：ヘンドラウイルス感染症. 動物由来感染症—その診断と対策(神山恒夫、山田章雄編) 真興交易医書出版部 110-114, 2003

15) 小田切孝人、二宮 愛、板村繁之、西藤岳彦、宮島直子、森川 茂、西條政幸、田代真人：SARS 診断法の開発と SARS 検査の結果. インフルエンザ(メディカルレビュー社) 5:35-42, 2004

16) 西條政幸：サル痘ウイルス感染症. 臨床と微生物 31:21-24, 2004

17) 西條政幸：ウイルス性出血熱. 化学療法の領域 20:224-228, 2004

18) 森川 茂：ウイルス性出血熱、動物由来感染症：その診断と対策、真公交易 (ISBN4-88003-694-3), pp71-76, April 2003

19) 森川 茂：リンパ球性脈絡髄膜炎、動物由来感染症：その診断と対策、真公交易 (ISBN4-88003-694-3), pp 119-122, April 2003

ウイルス第一部

- 20) 森川 茂：マールブルグ病、総合臨床（増刊：感染症診断・投薬ガイド）Vol 52, 601-604, 2003
- 21) 森川 茂：ウイルス性出血熱のその検査、モダンメディア、第49巻第4号、103-109
- 22) 森川 茂（2003）：ラッサウイルス 日本臨床 61巻増刊号3（通巻821号）539-543, 2003
- 23) 森川 茂（2003）：フィロウイルス 日本臨床 61巻増刊号3（通巻821号）544-549, 2003
- 24) 高崎智彦：ウエストナイル熱（West Nile Fever）. CURRENT CONCEPTS IN INFECTIOUS DISEASES 22(3) 18-19, 2003
- 25) 高崎智彦：ウエストナイルウイルス感染症. 畜産技術. 581(10) 28-31, 2003
- 26) 高崎智彦：ウエストナイル熱. 臨床医. 29(10) 1779-1782. 2003
- 27) 高崎智彦、伊藤美佳子：ウイルス性脳炎～ウエストナイル脳炎～. 化学療法の領域 19(5) 797-801, 2003.
- 28) 高崎智彦：フラビウイルス感染症およびその流行における鳥類の役割. 鶏病研究会報. 39(増刊号) 1-6. 2003
- 29) 田部井由紀子、吉田靖子、長谷川道弥、長島真美、村田以和夫、諸角 聖、山田堅一郎、高崎智彦、倉根一郎：デングウイルス初感染例における中和抗体測定による血清型判定が可能な病日期間の検討. 臨床とウイルス. 32(1). 30-35, 2004
- 30) 新井 智、多屋馨子、岡部信彦、高崎智彦、倉根一郎：わが国における日本脳炎の疫学と今後の対策について. 臨床とウイルス. 32(1). 13-22, 2004
- 31) 高崎智彦：再興感染症と注目される感染症「黄熱」. からだの科学 [増刊] 166-170. 2004
- 32) 高崎智彦：先生の知りたい最新医学がここにある「ウエストナイル熱」. 健 32号(9) 42-44, 2003
- 33) 高崎智彦：西ナイル熱. きょうの健康. 187(10) 123-125, 2003
- 34) 高崎智彦：最近注目すべき感染症「ウエストナイル熱/脳炎」 MBC Forum ' 03 11-24, 2003
- 35) 高崎智彦：図説「感染症シリーズ ウエストナイル熱/脳炎」. 医療 58(2)114-118, 2004
- 36) 根路銘令子、倉根一郎：日本脳炎ワクチン. 臨床検査. 48 (4) : 399-415, 2004.
- 37) 伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎：「輸血のすべて」Ⅲ輸血関連感染症検査 ウイルス検査 5. ウエストナイル 月刊 Medical Technology 31(13) 1411-1415 (2003年)
- 38) 伊藤美佳子、高崎 智彦：特集：輸血と感染症 2003 2. 新興輸血感染症 2) 「ウエストナイル熱・ウエストナイル脳炎」
血液フロンティア 13(5)613-617. 2003
- 39) 田島茂、倉根一郎：デング熱・デング出血熱 成人病と生活習慣病 33 : 1111-1115, 2003
- 40) 田島茂、倉根一郎：ウエストナイル熱 からだの科学増刊「新興再興感染症」、156-160, 2004
- 41) 森本金次郎：リバーズジェネティクスを用いた狂犬病ウイルス病原性の解析—ワクチン開発への応用— 獣医畜産新報 第56巻 第7号 603-604 2003
- 42) 新井陽子：1940年代に分離された日本の狂犬病ウイルス(高免株と小松川株)の系統樹解析、感染症学雑誌 2004 第78巻第9号
- 43) 小川基彦、Agus Setiyono、岸本寿男：Q熱の抗体価測定の意義と問題点. 化学療法領域 20 : 39-43,2004.
- 44) 岸本寿男：肺炎クラミジア感染症の本邦における現状と今後の展開.Prog. Med.23:1008-1019,2003
- 45) 岸本寿男、大口純人：炎症抑制による動脈硬化進展防止.The Lipid 14(5) : 491-497.2003
- 46) 岸本寿男、小川基彦、志賀定詞：理解して実践する感染症診療・投薬ガイド第Ⅱ部疾患各論Ⅳ.4類感染症(全数把握)5.オウム病 総合臨床 52:1012-1016,2003
- 47) 岸本寿男、小川基彦、志賀定詞：理解して実践する感染症診療・投薬ガイド第Ⅱ部疾患各論Ⅳ.4類感染症(定点把握)22.クラミジア肺炎(オウム病を除く) 総合臨床 52:942-948,2003
- 48) 岸本寿男、小川基彦、蔡 燕、志賀定詞:特集:ペットを介する病気 オウム病 小児科 44:781-788,2003
- 49) 岸本寿男、小川基彦、蔡 燕、志賀定詞:話題の感染症 オウム病(*C.psittaci* 感染症) 最近の動向 臨床医 29:1806-1818,2003
- 50) 岸本寿男、山口恵三、渡辺 彰、斉藤 厚:新しい診断と治療のABC 17呼吸器4肺炎 座談会 市中肺炎と院内肺炎の新しい展開 最新医学社 230-247,2003
- 51) 岸本寿男、小川基彦、蔡 燕:呼吸器感染症—最新の話 話題 クラミジア 呼吸と循環 52:149-154,2004
- 52) 岸本寿男、小川基彦、蔡 燕:特集 外来で診る呼吸器感染症 細菌感染症の診断と治療 鑑別が重要な肺炎 クラミジア肺炎 総合臨床 52,2753-2759,2003
- 53) 岸本寿男、小川基彦:抗生物質・抗菌薬療法の実際 A. 感染症からみた抗生物質・抗菌薬の選択と使用の実際 オウム病,クラミジアニューモニエ肺炎 Medical Practice 臨時増刊号 241-245,2003
- 54) 岸本寿男、小川基彦:クラミジアニューモニエ肺炎 呼吸器疾患最新の治療 2004-2006 南江堂 214-216,2003
- 55) 岸本寿男: 臨床検査項辞典 クラミジア・ニューモニア抗体 Medical Technology(別冊)950,2003

56) 岸本寿男: 臨床検査項辞典 クラミジア培養・同定
Medical Technology(別冊)51,2003

57) 岸本寿男: 特集クラミジア感染症の最近の動向 クラミジア感染症の内科領域における最近の動向 化学療法
の領域 20:413-417,2004

58) 松井珠乃、小川基彦、岸本寿男、海保郁男、大山卓
昭、ジョン コバヤシ、岡部信彦: 地方衛生研究所にお
けるツツガムシ病診断の現状-アンケートによる調査結果
と感染症発生動向調査との比較- 感染症学雑誌 78:
248-252,2004

59) 亀崎佐織、末廣 豊、福永真之介、竹川剛史、古村
速、川崎浩三、尾内一信、志賀定嗣、小川基彦、山崎 勉、
岸本寿男: 小児気管支喘息におけるアジスロマイシン投
与の効果, 日本小児アレルギー学会誌 18:168-175,2004

60) 岸本寿男: 動物由来感染症その診断と対策 オウム病
(Psittacosis) 神山恒夫、山田章雄編 p.133-139, 真興交易
(株)医書出版部 2003 年

61) 小川基彦: 動物由来感染症その診断と対策 ツツガム
シ病(Tsutsugamushi disease, Scrub typhus) 神山恒夫、
山田章雄編 p.140-145, 真興交易(株)医書出版部 2003 年

62) 小川基彦: 動物由来感染症その診断と対策 日本紅斑
熱(Japanese spotted fever) 神山恒夫、山田章雄編
p.146-150, 真興交易(株)医書出版部 2003 年

63) 小川基彦: 動物由来感染症その診断と対策 Q熱(Q
fever) 神山恒夫、山田章雄編 p.151-155, 真興交易(株)医書
出版部 2003 年

64) 岸本寿男、小川基彦: ダイナミックメディスン クラ
ミジア感染症 1 クラミジア・トラコマチス p.98-100, 西
村書店 2003 年

65) 岸本寿男、小川基彦: ダイナミックメディスン クラ
ミジア感染症 2 肺炎クラミジア p.101-102, 西村書店
2003 年

66) 山崎 勉、岸本寿男: 疾患別・症状別 今日の治療と
看護 改訂第 2 版, クラミジア感染症, p.976-978, 南江堂
2004 年

67) 山崎 勉、岸本寿男: 疾患別・症状別 今日の治療と
看護 改訂第 2 版, マイコプラズマ感染症 p.978-979, 南江
堂 2004 年

68) 岸本寿男: 医学大辞典 伊藤正男他編 医学書院
2003 年

その他

1) 高崎智彦、倉根一郎: 世界におけるデング熱・デング
出血熱. 病原微生物検出情報 25(2)33-34, 2004

2) 岡田幸助、尹善愛、池田学、今内覚、田島茂、竹嶋伸
之輔、高橋雅彦、平田統一、沼宮内茂、御領政信、小沼

操、間陽子: 御明神牧場におけるウシ白血病ウイルス接
種実験概要 平成 14 年度岩手大学農学部附属寒冷フイ
ールドサイエンス教育研究センター年報 1: 69-78, 2003

3) 松江フォーゲルパークオウム病調査委員会: 松江フォ
ーゲルパークで発生したオウム病調査報告書. 2003年
12月

4) 動物展示施設における人と動物の共通感染症対策ガイ
ドライン作成ワーキンググループ 2003. 動物展示施設
における人と動物の共通感染症対策ガイドライン2003
(平成15年 厚生科学研究費補助金新興・再興感染症研究
事業「動物由来感染症対策としての新しいサーベイラン
スシステムの開発に関する研究」)

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Kurane, I.: Research and development of vaccines against
Japanese encephalitis. Global Vaccine Research Forum. Seoul,
Korea, June 30 – July 2, 2003.

2) Kurane, I.: Japanese encephalitis vaccines. International
Workshop “vaccination at the beginning of 21st century”.
Tokyo, July 11-13, 2003.

3) Kurane, I.: Progress in the analysis of the pathogenesis of
dengue hemorrhagic fever. 6th Asia Pacific Congress on
Medical virology. Kuala Lumpur, Malaysia, December 7-10,
2003.

4) Saijo, M., Qing Tang, Maeda, A., Kurane, I., Morikawa, S.:
Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever
in the Xinjiang Uygur Autonomous Region, P. R. China.
37th Annual Meeting of the US-Japan Cooperative Medical
Science Program, July 2003, Houston, Texas

5) Saijo, M.: Diagnosis of viral hemorrhagic fevers including
variola prepared in the National Institute of Infectious
Diseases, Tokyo, Japan. International symposium on
bioterrorism sponsored by Korean National Institute of Health,
November, 2003, Seoul, Korea

6) Tajima S., Aida Y.: Analysis of “silencing” and
“reactivation” mechanisms of the expression of bovine
leukemia virus. 11th international conference on human
retrovirology: HTLV, June 9-12, 2003.

7) Takahashi M., Tajima S., Takeshima S., Okada K., Aida Y.:
Regulation of apoptosis by bovine leukemia virus encoding
Tax with elevated transactivation activity. 11th International
conference on human retrovirology: HTLV, June 9-12, 2003.

8) Aida Y., Konnai S., Takeshima S., Tajima S., Yin S., Onuma
M., Okada K.: Influence of polymorphism of MHC class II

ウイルス第一部

alleles on immune response in bovine leukemia virus infection. 11th International conference on human retrovirology:HTLV, June 9-12, 2003.

- 9) Morimoto, K.: Generation of propagation of P gene-deficient rabies virus. 37th US-Japan Joint Working Conference on Viral Diseases, Houston, Texas, July 17-19, 2003
- 10) Inoue, S., Shoji, Y., Morimoto K.: The pathogenicity and antigenicity of P-gene deficient rabies HEP-Flury strain. The 2003 Rabies in the Americas Conference, Philadelphia, Pennsylvania, October 20-24, 2003
- 11) Morimoto, K.: Generation of P-gene deficient rabies virus. The 2003 Rabies in the Americas Conference, Philadelphia, Pennsylvania, October 20-24, 2003
- 12) Ito, S. and Yanagi, K.: Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 colocalizes with cellular replication foci in the absence of EBV plasmids. The 28th International Herpesvirus Workshop, Madison, Wisconsin, U.S.A., July 31-August 6, 2003.
- 13) Inoue, N., Krug, L. T., Offermann, M. K. and Winter, J.: Characterization of entry mechanisms of human herpesvirus 8 by using an Rta-dependent reporter cell line. The 28th International Herpesvirus Workshop. Madison, Wisconsin, U.S.A., July 31-August 6, 2003.
- 14) Mbopi-Keou, F.-X., Hocini, H., Legoff, J., Picketty, C. Malkin, J.-E., Inoue, N. Scully, C.M., Porter, S.R., Teo, C.G. and Belec, L.: Salivary production of IgA and IgG to human herpesvirus 8 latent and lytic antigens in individuals with resolved Kaposi's sarcoma. AIDS Vaccine 2003 Conference, New York, September 18-21, 2003.
- 15) Peng, C-W., Harada, S., Xue, Y., Zhao, B. and Kieff, E.: EBNA-LP cooperates with EBNA-2 through two novel domains. The 28th International Herpesvirus Workshop. Madison, Wisconsin, U.S.A., July 31-August 6, 2003.

2. 国内学会

- 1) 倉根一郎：ウエストナイル熱とその現状。新潟県ウエストナイル熱講習会。新潟市、平成 15 年 4 月 18 日
- 2) 倉根一郎：フラビウイルス感染症の現状とその対策。中国・四国ウイルス研究会、観音寺市、平成 15 年 5 月 24 日
- 3) 倉根一郎：輸血とウエストナイルウイルス。第 51 回日本輸血学会総会、p222、平成 15 年 5 月 29-31 日

- 4) 倉根一郎：ウエストナイルウイルスとウエストナイル熱。平成 15 年度東京都健康局・病院経営本部専門性向上研修 環境衛生実務研修、東京都、平成 15 年 6 月 10 日
- 5) 倉根一郎：デング熱・デング出血熱。第 44 回日本臨床ウイルス学会、鹿児島市、平成 15 年 6 月 26-27 日
- 6) 倉根一郎：ウエストナイル熱の現状と対策。第 18 回尿路ウイルス研究会、東京都、平成 15 年 9 月 22 日
- 7) 倉根一郎：ウエストナイルウイルス。第 4 回感染病態シンポジウム、仙台市、平成 15 年 11 月 15 日
- 8) 倉根一郎：節足動物媒介性ウイルス感染症と地球温暖化。環境省地球環境研究総合推進費一般公開シンポジウム、東京都、平成 15 年 11 月 25 日
- 9) 西條政幸、森川茂、倉根一郎：組換え核蛋白を用いたクリミア・コンゴ出血熱の血清学的診断。第 77 回日本感染症学会総会。2003 年 4 月、福岡
- 10) 西條政幸、森川茂、前田秋彦、倉根一郎：急性期クリミア・コンゴ出血熱患者におけるウイルス血症と液性免疫応答。日本ウイルス学会 第 51 回学術集会・総会、2003 年 10 月、京都
- 11) 西條政幸：流行地で学ぶクリミア・コンゴ出血熱ウイルス感染症。トガ・フラビ・ベスチウイルス研究会。2003 年 10 月、京都
- 12) 板村繁之、森川茂、田代真人：重症急性呼吸器症候群(SARS) コロナウイルスの感染性とゲノムの不活化。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、2003 年 10 月、京都。
- 13) 森川茂、板村繁之、西藤岳彦、西條政幸、小田切孝人、倉根一郎、田代真人：重症急性呼吸器症候群(SARS) の血清診断法。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、2003 年 10 月、京都。
- 14) 板村繁之、二宮愛、西藤岳彦、森川茂、西條政幸、小田切孝人、倉根一郎、田代真人：RT-PCR 法による重症急性呼吸器症候群(SARS) コロナウイルスの検出感度の検定。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、2003 年 10 月、京都。
- 15) 西條政幸、森川茂、前田秋彦、倉根一郎：急性期クリミア・コンゴ出血熱患者におけるウイルス血症と液性免疫応答。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、2003 年 10 月、京都。
- 16) 鈴木映子、岩坂正和、上野照剛、林京子、巽正志、森川茂、沖津祥子、牛島廣治：HIV-1 の cell to cell fusion における gp41-mediated fusion。第 51 回日本ウイルス学会学術集会・総会、2003 年 10 月、京都。
- 17) 高崎智彦：ウエストナイル熱—診断法と防疫対策—第 38 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003 年 5 月 15-16 日

ウイルス第一部

- 18) 佐々木年則、澤邊京子、伊澤晴彦、江下優樹、伊藤美佳子、高崎智彦、倉根一郎、小林睦生：イムノクロマトグラフィーによる蚊からのウエストナイルウイルスの検出。第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003年5月15-16日
- 19) 佐藤利明、斎藤隆行、古屋由美子、今井光信、宮澤真紀、高崎智彦、倉根一郎：ウエストナイルウイルスの遺伝子検査—感染研マニュアルの死亡カラスへの応用事例— 第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003年5月15-16日
- 20) 伊藤美佳子、山田堅一郎、高崎智彦、根路銘令子、野村秀和、Beti Ernawati Dewi, 倉根一郎：Real Time PCRによるDengue virusの血清型分類。第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003年5月15-16日
- 21) 名和 優、赤塚俊隆、高崎智彦、伊藤美佳子、倉根一郎：デングウイルス血清型特異的IgM検出のためのタンパク変性試薬（チオシアン酸ナトリウム）を用いたELISA。第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003年5月15-16日
- 22) 新井 智、高崎智彦、森 伸生、多屋馨子、早川丘芳、倉根一郎、岡部信彦：感染症流行予測事業担当者、1982年から2002年までの日本脳炎患者発生状況。第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003年5月15-16日
- 23) 根路銘令子、高崎智彦、野村秀和、山田堅一郎、伊藤美佳子、倉根一郎：日本脳炎ウイルスのサーベイランス。第38回日本脳炎ウイルス生態学研究会 小樽 2003年5月15-16日
- 24) 高崎智彦：「ウエストナイルウイルス感染症」 新興疾病・人獣共通感染症に関する国際ワークショップ 東京 2003年6月19日
- 25) 高崎智彦：「ウエストナイルウイルス感染症について」第2回関西感染症フォーラム 大阪 2003年6月21日
- 26) 高崎智彦：最近注目すべき感染症—ウエストナイル熱／脳炎—。MBC FORUM '03 東京 2003年7月19日
- 27) 高崎智彦：NHK きょうの健康「西ナイル熱」 NHK 2003年7月31日
- 28) 田島茂、高崎智彦、倉根一郎：黄熱ワクチンへのALV混入に関する研究。第10回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会 京都 2003年10月26日
- 29) 名和 優、赤塚俊隆、高崎智彦、倉根一郎：C6/36細胞表面に吸着した日本脳炎ウイルスの弱酸性条件における膜融合と、ウイルス遺伝子の直接侵入による感染。第10回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会 京都 2003年10月26日
- 30) 田島茂、高崎智彦、松野重夫、中山幹男、倉根一郎：Yokose ウイルスの全塩基配列の決定および他のフラビウイルスとの相同性の比較。第51回日本ウイルス学会 京都 2003年10月27-29日
- 31) Beti Ernawatti, 高崎智彦、倉根一郎：PBL induce increase in the permeability on dengue virus infected-endothelial cells associated with down regulation of VE-cadherin. 第51回日本ウイルス学会 京都 2003年10月27-29日
- 32) 新井 智、多屋馨子、高崎智彦、辻正義、石原智明、倉根一郎、岡部信彦：日本脳炎ウイルス非構造タンパク質NS1の発現。第51回日本ウイルス学会 京都 2003年10月27-29日
- 33) 名和 優、赤塚俊隆、高崎智彦、伊藤美佳子、倉根一郎：デングウイルス血清型特異的IgM検出のためのタンパク変性試薬（チオシアン酸ナトリウム）を用いたELISA。第51回日本ウイルス学会 京都 2003年10月27-29日
- 34) 根路銘令子、高崎智彦、野村秀和、倉根一郎：日本脳炎ウイルスのサーベイランス：ブタ血清からのウイルス分離とその解析。第51回日本ウイルス学会 京都 2003年10月27-29日
- 35) 伊藤美佳子、山田堅一郎、高崎智彦、根路銘令子、田島 茂、野村秀和、Ernawati Dewi Beti, 倉根一郎：Real time PCRによるDengue virusの血清型分類。第51回日本ウイルス学会 京都 2003年10月27-29日
- 36) 高橋雅彦、田島茂、間陽子：変異体 Tax を有する牛白血病ウイルス(BLV)によるアポトーシス制御。第51回日本ウイルス学会・総会、京都、2003年10月27-29日
- 37) 市村香苗、高木道浩、田島茂、大橋和彦、小沼操、間陽子：ウシ白血病ウイルス感染ヒツジ由来末梢血単核球におけるNKレセプターとアポトーシス関連因子の発現。第51回日本ウイルス学会・総会、京都、2003年10月27-29日
- 38) 新井 智、多屋馨子、高崎智彦、早坂丘芳、倉根一郎、岡部信彦：近年の日本脳炎患者発生状況および感染リスク。第3回人と動物の共通感染症研究会学術集会 東京 2003年11月1日
- 39) 高崎智彦：フラビウイルス感染症およびその流行における鳥類の役割。平成15年秋季全国鶏病技術研修会 広島 2003年11月6日
- 40) 高崎智彦、倉根一郎：第3回日本医薬品等ウイルス安全性研究会シンポジウム。東京 2003年12月19日
- 41) 高崎智彦：話題の感染症—ウエストナイル熱を中心に—。第19回日本環境感染学会 横浜 2004年2月20日
- 42) 高崎智彦：「医療機関における海外渡航者へのアドバイスのために—海外旅行者に必要なワクチン—。感染症

ウイルス第一部

シリーズ 平成 15 年度 第 3 回 大阪 2004 年 2 月 26 日

43) 本井ゆり恵、井上智、井上さやか、八田一、佐藤こずえ、森本金次郎、山田章雄：免疫鶏卵法で作製した坑狂犬病ウイルスリコンビナント蛋白 IgY の反応性と有用性 第 135 回日本獣医学会学術集会 東京 2003 年 3 月 30 日-4 月 1 日

44) 森本金次郎：リバーシジェネティクスを用いた狂犬病ウイルス病原性の解析 第 135 回日本獣医学会学術集会 微生物分科会シンポジウム 東京 2003 年 3 月 30 日

45) 新井陽子、亀岡洋祐：日本の狂犬病ウイルスの起源に関する解析 第 51 回日本ウイルス学会総会 京都 2003 年 10 月 27-29 日

46) 庄司洋子、井上智、中道一生、倉根一郎、酒井健夫、森本金次郎：P 遺伝子欠損狂犬病ウイルスの作出と性状解析 第 51 回日本ウイルス学会総会 京都 2003 年 10 月 27-29 日

47) 伊藤さゆり、柳 壹夫：EB ウイルス (EBV) の潜伏感染に必須な EBV 核抗原-1 は細胞 DNA の複製部位が集合する場“複製フォーカス”に、局在する一潜伏感染の新しいメカニズム。日本ウイルス学会第 51 回学術集会、京都、2003 年 10 月 27-29 日

48) 伊藤さゆり、柳 壹夫：Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 that is an origin-binding protein and the only EBV protein essential for replication and maintenance of EBV plasmid DNAs colocalizes with cellular DNA replication foci in the absence of EBV plasmids. 第 26 回日本分子生物学会年会 神戸 2003 年 12 月 10-13 日

49) 原田志津子、伴 文彦、北村 亮、岡部信彦 (感染症情報センター)、中村良子 (昭和大学)、柳 壹夫：健康人成人層における EBV ウイルス核蛋白質 EBNA-2 に対する抗体価の分析。日本ウイルス学会第 51 回学術集会、京都、2003 年 10 月 27-29 日

50) 原田志津子、Elliott Kieff：The Epstein-Barr virus nuclear protein (EBNA) 2 acidic domain binds to EBNA-LP. 第 26 回日本分子生物学会年会、神戸、2003 年 12 月 10-13 日

51) 島影美鈴、原田志津子、笹川寿之：EB ウイルス BamHI Y1Y2 領域をプローブとした mRNA in situ hybridization. 日本ウイルス学会第 51 回学術集会、京都、2003 年 10 月 27-29 日

52) 佐藤 梢、小川基彦、Agus Setiyono、山崎 勉、岸本寿男：Real Time PCR (TaqMan) による *Coxiella burnetii* 検出法の開発。第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

53) Agus Setiyono、小川基彦、佐藤 梢、蔡 燕、志賀定詞、岸本寿男：Q 熱診断における IFA と ELISA の診断基準の設定。第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

54) 百田隆祥、小島禎、池戸正成、小川基彦、佐藤梢、Agus Setiyono、岸本寿男：LAMP 法による *Coxiella burnetii* の検出の基礎。第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

55) Kim, W. J., Lee, S. J., Han, T. W., Ogawa, M. : Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle, healthy people and pneumonia patients in Korea. 第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

56) 松井珠乃、小川基彦、岸本寿男、海保郁男、大山卓昭、ジョンコバヤシ、岡部信彦：地方衛生研究所におけるツツガムシ病診断の現状-アンケートによる調査結果と感染症発生动向調査との比較。第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

57) 小川基彦、岸本寿男、佐藤 梢、志賀定詞、蔡 燕、Agus Setiyono、多田有希、長澤 實：ヒトのアウトブレイクの原因となったヘラジカ由来 *Chlamydia psittaci* の遺伝学的解析とその感染源に関する調査。第 52 回東日本感染症学会。横浜。2003 年 10 月 30 日-31 日

58) 佐藤 梢、小川基彦、Agus Setiyono、山崎 勉、岸本寿男：Real Time PCR (TaqMan) による *Coxiella burnetii* 検出法の開発。第 52 回東日本感染症学会。横浜。2003 年 10 月 30 日-31 日

59) 百田隆祥、小島禎、池戸正成、小川基彦、佐藤梢、Agus Setiyono、岸本寿男：LAMP 法を用いた *Coxiella burnetii* の検出。第 15 回日本臨床微生物学会総会。筑波。2004 年 1 月 24 日

60) 尾内一信、遠藤雅子、小川基彦、志賀定詞、山崎 勉、岸本寿男：*Chlamydomydia pneumoniae* のタイピングに関する研究 (第 1 報) 第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

61) 岸本寿男、志賀定詞、小川基彦、佐藤 梢、Agus Setiyono、蔡 燕：市中肺炎例の *C. pneumoniae* 肺炎診断における IgM 測定の意義について 第 21 回日本クラミジア研究会・第 10 回リケッチア研究会。東京。2003 年 11 月 1 日-2 日

62) 岸本寿男、志賀定詞、小川基彦、蔡 燕、Agus setiyono、倉根一郎、山崎 勉：Micro-IF 法による *C. pneumoniae* 血清抗体測定国際的基準化 (Phase3) 並びに ELISA 法との比較 第 77 回 日本感染症学会総会。福岡。2003 年 4 月 17 日-18 日

63) 岸本寿男：パネルディスカッション VII リケッチア

及びクラミジア感染症の現状と展望 第52回日本医学検査学会 埼玉 2003年5月16日-17日

64) 山口徹也、山崎 勉、小川基彦、志賀定祠、岸本寿男、尾内一信：Micro-immunofluorescence 法による抗 *Simkania negevensis* 抗体検出法についての検討 第 77 回 日本感染症学会総会.福岡. 2003年4月17日-18日

65) 岸本寿男、志賀定祠、小川基彦、蔡 燕、Agus Setiyono、佐藤 梢、山崎 勉、山口徹也、中浜 力：成人市中肺炎例における肺炎クラミジア特異 IgM 抗体測定の有用性 第 52 回 日本感染症学会総会東日本地方会. 神奈川. 2003年10月30日-31日

66) 山口徹也、山崎 勉、小川基彦、志賀定祠、岸本寿男、尾内一信：抗 *Simkania negevensis* 抗体検出法についての検討 第 52 回 日本感染症学会総会東日本地方会. 神奈川. 2003年10月30日-31日