

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 21 年 7 月 1 日付で安藤秀二主任研究官が第五室長に就任した。平成 22 年 1 月 1 日付で金井亨輔が第四室研究員として採用され就任した。平成 22 年 2 月 28 日付で野澤直樹研究員が退職し、平成 22 年 3 月 31 日付で大松勉研究員が退職した。

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、狂犬病ウイルス、JC ウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス (VZV)、サイトメガロウイルス (CMV)、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、南米出血熱等新興アレナウイルスによる出血熱検査診断法の開発と改良を行った。新興・再興ウイルスに対する網羅的検出方法を開発し、本法が新興ウイルスの検出に有力な検査法であることを示した。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。さらにサル痘ウイルスの病原性に関する研究を行った。

第二室においては、デングウイルス感染の病態解明にむけてウイルス解析とサルモデルの開発を行なった。日本各地のブタから分離した日本脳炎ウイルスの遺伝子及び病原性解析を行った。また、野性イノシシからも日本脳炎ウイルスを分離し解析した。チクングニヤウイルス検査法を開発し、患者の確定検査を行うとともに分離ウイルスの解析を行った。

第三室においては、進行性多巣性白質脳症診断のため、JC ポリオーマウイルス検査系を開発した。さらに開発した検査法を用いて、多数の疑い患者検体を検査した。またリンパ球脈絡髄膜炎ウイルス感染症の検査法を確立した。

第四室においては、CMV による先天性感染の迅速スクリーニング法を用いて感染児の調査とゲノムタイプに

よる感染経路解析を行った。モルモット CMV を用いて母児感染の研究を行った。また、レポーター細胞を用いて新規抗 CMV 剤や抗 VZV 剤のスクリーニングにより得た有力な化合物の解析を行った。

第五室においては、リケッチア迅速検査法の開発と国内における実態調査を行なった。また、リケッチア蛋白の網羅的解析を行った。クラミジアに関しては、検査法を改良し、オウム病の早期検査体制を確立した。

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

I. ウイルス性出血熱及び新興・再興ウイルス感染症に関する研究

1. 南米出血熱の実験室診断法の開発—間接蛍光抗体法による IgG 抗体検出系の開発

南米出血熱（アルゼンチン、ボリビア、ベネズエラ、ブラジル出血熱）は、新たに 1 類感染症に加えられたウイルス性出血熱である。原因ウイルスは、新世界アレナウイルスの B clade に分類されるフニン、マチュポ、ガナリト、サビアウイルス、チャパレウイルスで、BSL4 病原体に分類されるため、現状では日本ではウイルスが取扱えない。これまでに、フニンウイルスの組換え NP を用いた IgG-ELISA、抗原検出 ELISA を開発してきた。本研究では、フニンウイルスの組換え NP を発現する HeLa

細胞塗抹標本を抗原とする間接蛍光抗体法を開発した。精製組換え NP 免疫ウサギ血清を用いて、同様に調整した他の南米アレナウイルス抗原との交差反応性を調べた結果、全ての抗原に交差反応したが、旧世界アレナウイルスのラッサウイルス、LCM ウイルスの NP 抗原とは交差しなかった。アルゼンチン出血熱患者 2 検体の血清から抗体が検出されたが、ラッサ熱回復期患者血清とは交差しなかった。本法は IgG-ELISA と共に血清診断法として有用であると考えられた。[福士秀悦、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、中内美名（インフルエンザウイルス研究センター）、Agustín E. Ure・Victor Romanowski（アルゼンチンラプラタ国立大学）]

2. 新興アレナウイルス出血熱の抗原性の解析

ザンビア、南アで新興し、患者 5 名（致死率 80%）が発生した新興アレナウイルス性出血熱から、新種の旧世界アレナウイルス、Lujó（ルジョ）ウイルスが同定された。ルジョウイルスは、旧世界アレナウイルスのラッサウイルスや LCM ウイルスとは分子系統学的にかなり距離があると報告された。本研究では、ルジョウイルスの組換え核蛋白(NP)を発現精製してウサギ免疫血清を作製した。組換えルジョウイルス NP を用いた IgG-ELISA 及びルジョウイルス NP 発現 HeLa 細胞塗抹標本を用いた間接蛍光抗体法を開発し、各種アレナウイルスとの交差性に関して解析した。その結果、遺伝的にはかなり異なるラッサウイルスや LCM ウイルスと比較的強く交差したが、新世界アレナウイルスとは交差しなかった。今後、本研究で開発した血清診断法の有用性を患者検体等を用いて評価する必要がある。[森川茂、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、山本貴恵・谷口怜・伊波興一朗・久和茂（東京大学大学院農学生命科学研究科）、酒井宏治・網康至（動物管理室）]

3. 豚のレストンエボラウイルス感染症診断用 IgG-ELISA の確立

フィリピンの養豚場で豚がレストンエボラウイルスに感染していることが分かった。そこで、フィリピン RITM、東北大学-RITM 新興・再興感染症共同研究センターと共同して、豚のレストンエボラウイルス抗体検出系を確立した。

2008 年にフィリピンの 2 ヶ所の豚農場で致死性の急性呼吸器感染症が流行し、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス(PRRS)が検出され、一部の豚ではレストンエボラウイルス(RES)も世界で初めて検出された。組換えバキュロウイルスにより発現し精製した RES-N 蛋白(RES-NP)を抗原として用いた IgG-ELISA を豚検体用に調整し、ザイールエボラウイルス (ZAI) 及び RES 感染細胞抗原 (米国 CDC 作製) を用いた成績と比較した。また、組換え (ZAI)-NP 発現 HeLa 細胞を用いた間接蛍光抗体法(IF)を行った。その結果、精製組換え RES-NP 抗原と RES 感染細胞抗原を用いた IgG-ELISA は同等の感度であったが、ZAI 抗原を用いると抗体検出感度が低くなった。一方、RES 抗原による IgG-ELISA 陽性検体は、IF でも抗体陽性であった。この結果、これらを組み合わせることにより高い感度で豚の RES 抗体が検出できることが明らかとなった。

Bulacan 州の農場の豚は RES 感染細胞抗原で約 20%の豚が IgG 抗体陽性であり、一部の検体は精製組換え RES-NP 抗原や IF でも陽性を確認した。Pangasinan 州の農場の豚では全頭屠殺後に新規導入した豚は、検査した検体の全てが抗体陰性であった。RES の豚に対する病原性は不明であるが、Pangasinan 州の農場では豚の処分後に感染が見られないことから感染は終息したと考えられる。今後、フィリピンの他の豚農場での血清疫学調査が、豚での RES 感染の実態を解明するために必要である。[福士秀悦、飯塚愛恵、水谷哲也、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂、佐山勇輔・齊藤麻理子・鈴木陽・神垣太郎・玉記雷太・押谷仁（東北大学）、Olveda、R. (RITM、フィリピン)]

4. フィリピンのコウモリからのレストンエボラウイルス抗体検出

レストンエボラウイルス(RES)は過去 3 回カニクイサルで致死的な出血熱の流行を起こしており、2008 年には豚でも感染が確認されている。アフリカではエボラ、マールブルグウイルスの遺伝子や抗体がコウモリから検出されており、フィロウイルスの宿主動物はコウモリである可能性が指摘されている。そこで、本研究では、2008 から 2009 年にフィリピンで捕獲した 140 個体のコウモリの RES 抗体保有状況を調査した。組換え RES-NP および RES-GP を用いた IgG-ELISA では、ルーセットオオコウ

モリ属の16個体中7個体がいずれかに反応した。多くが高OD値を示した。このうち、1検体が間接蛍光抗体法で明瞭に陽性反応を呈した。これらのうち3個体は間接蛍光抗体法でも抗体陽性であった。他のコウモリは全て抗体陰性であったこと、アフリカのフィロウイルスがルーセットオオコウモリ属から検出されていることなどから、RESの自然宿主もルーセットオオコウモリ属である事が示唆された。[谷口 怜・渡辺俊平・上田直也・伊波興一朗・藤井ひかる・久和茂・明石博臣・吉川泰弘（東京大学大学院農学生命科学研究科）、Joseph Masangkay（フィリピン大学獣医）、大松勉、水谷哲也、西條政幸、倉根一郎、森川茂]

5. カニクイザルから分離されたイヌジステンパーウイルスのサルでの病原性の解析

カニクイザルに原因不明の肺炎、消化器症状等を主徴とする致死性の感染症が流行し、イヌジステンパーウイルス(CDV)が分離された。本研究では、サルから分離されたCDVの性状解析とカニクイザルへの感染実験を行い、その病原性を解明することを目的とした。dog-SLAM発現Vero細胞(dog-Vero)及びhuman-SLAM発現Vero細胞(human-Vero)を用いて臨床材料から分離されたCDVの塩基配列を決定した。また、分離されたCDVをカニクイザルに経鼻感染させて、ウイルス増殖及び病理組織学的解析を実施した。その結果、dog-Veroで効率良くCDVが分離され(CDV/dog-Vero)、human-Veroでも稀に分離された(CDV/human-Vero)。CDV/dog-VeroとCDV/human-Veroのほぼ全長の塩基配列は、Hタンパク質に1箇所のアミノ酸置換を生じる変異のみであった。実験感染後15日間の観察期間中、全てのサルは生存したが、CDV/dog-Vero感染動物では3頭中3頭が、CDV/human-Vero感染動物では3頭中1頭から、PBMC・呼吸器・消化器等の多くの組織・臓器からCDVが分離され、全身性CDV感染症が再現できた。CDV感染流行時のウイルスは、全てdog-SLAM指向性の野生型CDVであったことと、感染実験の成績から、CDVはカニクイザルに全身性感染症を起こし得ることが明らかとなった。[酒井宏治・網康至・須崎百合子（動物管理室）、永田典代・岩田奈織子・鈴木忠樹（感染病理部）、長谷川秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）、福士秀悦、水谷哲也、

緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂]

II. 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. ウイルス感染細胞から未知のウイルスを検出するためのRDV法の改良（RDV-SF）

RDV法は未知のウイルスを検出する方法であるが、従来のRDV法ではウイルス感染培養細胞の上清に含まれるウイルスを標的として網羅的な検出をおこなう必要があった。一般にウイルス核酸量は培養液中よりも細胞内の方が多い。また、培養液中にウイルスをほとんど放出しないウイルスも存在する。そこで、感染細胞からもRNAウイルスを検出できるようにRDV法を改良した。宿主細胞に最も多く含まれるRNAは18Sと28SリボソームRNAで、それぞれ約2kbと5kbである。また、細胞に発現しているmRNAの多くは5kb以下である。一方、インフルエンザウイルスなど一部のRNAウイルスを除くと、ほとんどのRNAウイルスのゲノムの長さは6kb以上である。ウイルス感染細胞から抽出したRNAもしくはcDNAをアガロースゲルを用いて電気泳動し、6kb以上に相当する箇所に含まれる核酸を抽出すると、理論的にウイルスRNA(cDNA)が得られることになる。そこで、カリシウイルスとフラビウイルスを用いてアガロースゲルから抽出した核酸を用いてRDV法をおこなったところ、それぞれのウイルスゲノムの遺伝子配列が得られた。この方法は、サイズフラクションを利用しているので、RDV-SizeFraction(RDV-SF)と呼んでいる。[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、渡辺俊平・明石朝臣（東京大学農学部）]

2. RDV法によるBat betaherpesvirus 2の発見と疫学的調査

昨年度はRDV法をより簡便にするために64通りで網羅性を保てるように改良した(RDV ver3.1)。この方法により和歌山県のコウモリから新規ベータヘルペスウイルス(bat betaherpesvirus 2: BatBHV-2)を検出し、すでに報告されているコウモリのヘルペスウイルスとの相同性を

解析したところ、Bat betaherpesvirus1 よりも tupaiid herpesvirus 1 に近いことがわかった。和歌山県のコウモリにおける BatBHV-2 の感染率を調べるために、50 匹のコウモリを採取したところ、PCR により 4 匹の脾臓においてウイルスが検出された。[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、渡辺俊平・明石朝臣（東京大学農学部）、前田健（山口大学農学部）]

3. タイにおける PhaV 保有蚊の疫学的調査

一昨年、タイで採取された蚊の幼虫から RDV 法を用いて新規ブニヤウイルス (PhaV) を検出したことを報告した。PhaV は系統樹上ではブニヤウイルスに属するが、相同性の高いウイルスは無いので新しい属を形成すると考えられる。また、最大 50 匹までプールした蚊の幼虫においては、約半数のグループから PCR で PhaV を検出したので、タイの蚊の成虫にも感染している可能性がある。そこで、タイで採取されたメスの蚊 75 匹を 5 匹ずつプールして RNA を抽出し、PCR をおこなったところ、すべてのグループにおいてウイルスが検出された。[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、江下優樹（大分大学）、西村美保・山尾卓也・佐藤朝光（福岡大学）、佐山勇輔・押谷学（東北大学）]

Ⅲ. ポックスウイルスに関する研究

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：サル痘ウイルス鼻腔内接種モデルでの検討

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。本研究では、LC16m8 のサル痘ウイルス暴露後接種効果を、霊長類を用いたサル痘ウイルス鼻腔内接種感染モデルにおいて検討した。ワクチン非接種群（コントロール群）4 頭、暴露（1,000,000 PFU/頭、鼻腔内接種）15 分後 LC16m8 接種群 4 頭、暴露 1 日後接種群 4 頭を用いた。鼻腔内接種暴露後には、3 週間にわたり臨床症状（体重、発熱、活動性、食欲等）を観察し、ウイルス血症レベル、抗体

応答、肉眼的病理所見を解析した。その結果、LC16m8 のサル痘ウイルス暴露後接種の明らかなサル痘発症軽症化または予防効果は認められなかった。[西條政幸、飯塚愛恵、塩田智之、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（感染病理部）]

2. サル痘ウイルス感染症におけるサル痘ウイルスの各種蛋白に対する抗体応答

サル痘ウイルスは、ポックスウイルス科オルソポックスウイルス属に分類される二本鎖 DNA ウイルスで、霊長類において天然痘様の急性発疹性疾患（サル痘、ヒトサル痘）を引き起こす。本研究では、輸入感染症対策として重要な感染症のひとつであるサル痘ウイルスに感染した場合の、サル痘ウイルスの各種蛋白に対する免疫応答を、カニクイザルのサル痘ウイルス感染モデルを用いてプロテオミク解析により明らかにした。全ての EEV 関連蛋白（F13L、A33R、A34R、A36R、B5R）に対する抗体は感染 10 日目には検出された。IMV 関連蛋白（L1R、H3L、D8L、A13L、A17L、L5R）に対する抗体応答は、H3L、D8L、A13L、A17L に認められ、L1R と L5R に対する応答は極めて弱かった。コア蛋白（F17R、E11L、I1L、I3L、L4R、J1R、D2L、D3R、A4L、A10L、A12L）に対する抗体応答は、F17R、I1L、および、A4L に対する応答が強く認められた。病原因子関連蛋白（C23L、C11R、C3L、N1L、K1L、E3L、A40R、A46R、B14R、B16R）の抗体応答では、C23L、C11R、および、E3L に対するものが比較的強く認められた。トランスクリプション関連蛋白および病原性関連蛋白に対する抗体応答についても解析した。サル痘ウイルス感染時には、全身感染に重要な働きを有する EEV 関連抗体を含め、多くの蛋白に対する抗体が誘導されることが明らかにされた。血清学的診断法の開発において、これらの研究成績は重要な知見を与えるものと考えられる。[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（感染病理部）]

3. 細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の増殖温度感受性

責任遺伝子の解析

細胞培養痘そうワクチンの製造承認株である LC16m8 株は、Lister 株から低温馴化により LC16 株、LC16mO 株を経由して樹立された株である。Lister 株では 41℃以上でも初代ウサギ腎細胞でのプラーク形成能があるのに対し、LC16mO 株と LC16m8 株は 41℃ではプラークを形成しない（増殖温度感受性）。増殖温度感受性に関与する遺伝子を明らかにするため Lister 株 DNA 断片をクローニングした Bacmid による LC16MO 株の温度感受性相補試験を実施した結果、B5R 遺伝子以外にウイルス DNA の HindIII-A 断片にある複数の遺伝子に関与することが明らかとなった。さらに LC16mO/8 株と Lister 株由来クローンのウイルスゲノムの塩基配列の比較解析から、温度感受性に関与する可能性のある遺伝子として、HindIII-A 断片に含まれる A8R、A33R、A36R、A53R、A55R、A56R 遺伝子の 6 遺伝子が見出された。このうち、LC16mO/8 株の A56R 遺伝子の 15 塩基欠失は、部分的に温度感受性に関与し、さらに A56R 遺伝子の部分欠失以外にも候補遺伝子に見られる変異のいずれかが関与することが明らかとなった。[飯塚愛恵、塩田智之、中内美名、水谷哲也、福士秀悦、緒方もも子、西條政幸、倉根一郎、森川茂]

IV. 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 1 型ウイルス非構造蛋白質 NS4A の N 末端側領域の解析

NS4A は 150 アミノ酸から成り、その C 末端側 100 アミノ酸のほとんどが膜結合領域であるが、N 末端側の 50 アミノ酸は膜とは結合せず細胞質側に存在すると考えられている。本研究ではこの N 末端側 50 アミノ酸に注目し、ウイルス増殖における本領域の必要性について考察した。

H20 年度までに、1) デング 1 型ウイルス NS4A の N 末端側がウイルスの増殖に必須であること、2) この部位がウイルス種特異性を示すことを明らかにしてきた。そこで本年度は特異性を示す部位を絞り込むことを試みた。本部位をフラビウイルス間での保存性から 3 領域 (11-23 部位、27-34 部位、35-50 部位) に分割し、それぞれを日

本脳炎ウイルスの該当部位と置換した変異ウイルスクローンを作製し、ウイルス産生を試みた。すると 27-34 部位を置換するとウイルスが産生されないことが明らかとなった。他の部位については、増殖速度こそ遅いもののウイルス産生は確認された。以上より 27-34 部位が最もウイルス種特異性に関与していることが示唆された。次に PCR-based random mutagenesis 法により 27-34 部位変異体の増殖性を復帰させる変異の導入を試みた。その結果、27-34 部位の変異が維持された復帰変異体を分離することが出来た。ウイルスゲノムの塩基配列を決定したところ、ミスセンス変異が複数見出された。現在どのような変異がウイルス複製の回復に寄与するか、またどのような機序によるものか検討中である。[田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

(2) デング 1 型ウイルス非構造蛋白質 NS1 と相互作用する細胞側因子の同定

NS1 は酵素活性こそ有さないものの、ウイルス複製に重要な役割を果たしていると考えられている。さらに NS1 は細胞外にも分泌され、病態の重症化にも寄与するとの報告もある。しかし NS1 の作用機序には不明な点が多い。NS1 の機能解析を進めるため、これまでに NS1 と相互作用する細胞側因子を免疫沈降法により分離し、質量分析 (MS) 法により同定を試みてきた。その結果数種類のシャペロン蛋白質が同定された。これらのうち、TCP-1beta、HSP60、GRP78 との相互作用をウエスタンブロットイングにより確認することができた。[田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

(3) 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 抗体の検出を継続して検討した。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。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ため、実際の診断に応用し、継続して評価を実施した。[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・竹下望・工藤宏一郎 (国立国際医療センター)]

(4) 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を行う上で最適な霊長類モデルは未だ確立されていない。そこで、我々は新世界ザルに属するマーモセットに着目し、そのデングウイルスに対する感受性について検索を行った。デングウイルス2型野外分離株を接種したマーモセットの一部で発熱・活動量低下といった臨床症状の変化が認められた。また、全ての個体で白血球減少が認められると共に、血小板減少・肝酵素の上昇、腎酵素の上昇も認められる個体も確認した。剖検の結果、これらの個体の一部では腎臓に肉眼的な変化が認められ、病理組織学的には腎臓および肝臓に著変が認められ、ウイルス抗原も検出した。デングウイルスに対して高い感受性を有するマーモセットを用いて、ワクチン防御効果の判定に使用できることを同血清型ウイルス（デングウイルス2型）を用いて確認した。〔大松勉、高崎智彦、倉根一郎、濱野正敬・明里宏文（医薬基盤研究所・筑波霊長類センター）、中村紳一郎（滋賀医科大学）、片貝裕子（予防衛生協会）〕

(5) デングウイルス再感染患者血清における感染増強抗体に関する研究

再感染時に多発するデング出血熱の要因の一つは初感染時に誘導された中和能を有しないDENV型交差抗体に起因する抗体依存性感染増強(ADE)によると考えられている。希釈しない患者血清における ADE 活性および抗体の役割が明らかにされていない。より生体内に近い条件で測定するため、患者血清中における ADE 活性を調べた。そこで Fc γ 受容体の1つである Fc γ RIIA(CD32a)を恒常発現する BHK-Fc γ RIIA/2 及び BHK-Fc γ RIIA/4 細胞を用いて ADE アッセイ法により原液の初感染並びに再感染における感染増強抗体を検討した。ADE 現象は再感染の患者血清に検出されたが同様な現象は初感染の患者血清に検出されなかった。また再感染患者血清と同患者から分離された DENV を用いた場合においても ADE 現象が観察された。再感染患者血清中に ADE 活性が検出されたことから、実際に感染増強抗体は再感染時に生体内におけるデング出血熱発症に重要な役割を果たす可能性が示唆された。〔モイメンリン、林昌宏、高崎智彦、

小滝徹、田島茂、倉根一郎〕

(6) Fc γ RIIA 発現 BHK-21 細胞を用いた抗デングウイルス高感度ウイルス分離法の確立

デングウイルス感染者血液からウイルスを分離する際に抗デングウイルス抗体が血中に検出されだすと分離効率が低下する。そこで感染性のある抗原（ウイルス）-抗体複合体が Fc γ RIIA と結合し Fc γ RIIA 発現 BHK-21 細胞に感染することで分離効率を高めることを明らかにした。血中からウイルス分離が困難であった低いウイルス力価の血清にも、少量の抗体を添加することにより分離効率が高まることも見出した。〔モイメンリン、林昌宏、高崎智彦、小滝徹、倉根一郎〕

2. 日本脳炎ウイルスに関する研究

(1) 欠失・挿入変異体を用いた日本脳炎ウイルス3'非翻訳領域の解析

近年分離される日本脳炎ウイルス（JEV）の3'非翻訳領域においてしばしば欠失が観察される。この欠失がウイルス性状にどのような変化をもたらすかを探るために、これまでに4種類の欠失変異体クローン(d5、d9、d5d9、d27)と1種類の挿入変異体クローン(a13)を構築し、in vitro での増殖性を比較してきた。昨年度までに Vero 細胞およびブタ腎由来 PK-15 細胞での増殖能に顕著な差異が観察されないことを明らかにした。本年度は他の株化細胞における増殖能およびマウスに対する病原性を比較した。マウス神経芽細胞腫由来 N18 細胞、ヒト神経芽細胞腫由来 IMR-32 細胞およびウズラ繊維芽細胞由来 QT-6 細胞において d27 変異体のみが野生型に比べ増殖能が低下していた。一方、マウス(ddY および C3H/He)に対する病原性を比較したが、いずれの変異体でも致死性に変化は見られなかった。以上より、近年欠失の観察される領域が神経系およびウズラ由来細胞でのウイルス増殖能に影響する可能性が示唆されたが、致死性については影響する可能性は低いことが示唆された。〔加藤文博、田島茂、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎〕

(2) E 蛋白質上の1アミノ酸置換（S123N）を有する組換え日本脳炎ウイルスの作製

日本脳炎ウイルスE蛋白質の123番目のアミノ酸残基はマウス神経芽細胞腫由来N18細胞における増殖能およびマウス病原性に重要な役割を果たす。国内外で同定されるJEVのほとんどがE蛋白質123番目のアミノ酸がセリン(123S)である。これまでに我々は、この部位がアルギニンであるウイルス(123R)が123Sに比べて有意に病原性が上昇することを見出している。一方、近年この部位がアスパラギン(123N)であるウイルスが、日本だけでなくベトナムや中国でも同定されてきている。しかし123N株の性状解析は全く行なわれていない。この性状解析を進めるため、123Sを123Nに置換した組換えJEVクローンを構築し、組換えウイルスを作製した。今後本ウイルスを使用して解析を進めてゆく。[山口幸恵、田島茂、高崎智彦、倉根一郎]

(3) 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(日本脳炎流行予測調査事業)

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、2株の日本脳炎ウイルスを分離した。遺伝子解析の結果いずれも遺伝子型1型日本脳炎ウイルスであった。したがって今後も日本脳炎対策が必要であることが示唆された。[林 昌宏、高崎智彦、田島 茂、大松勉、小滝徹、モイ メンリン、池田真紀子、倉根一郎]

(4) イノシシにおける日本脳炎ウイルス感染実態の調査研究

ヒトの住環境に出現したイノシシを中心に日本脳炎ウイルス感染状況をウイルス学および血清学的に検討した。平成20年12月上旬に、兵庫県西宮市で捕獲されたイノシシの血液から日本脳炎ウイルスが分離され、国内のブタから分離されたウイルスと近縁であった。また、約15%のイノシシが抗日本脳炎IgG抗体を保有していたが、IgM抗体が陽性であったのは38頭中1頭であった。[高崎智彦、田島茂、林昌宏、小滝徹、倉根一郎、澤辺京子・小林睦生(昆虫医科学部)]

(5) 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情報提供

これまでに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各担当者に対して研修を行ったが、これら担当者に対して最新の実験手技、抗体等の実験材料に対する情報を開発・提供した。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プラーク法には約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。[林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

(6) 日本脳炎ウイルスの活動と気象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感染源調査(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、真夏日の日数など)、降水量と日本脳炎ウイルス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た。さらに県単位の地域における相関の強さの相違を調査した。また、国立環境研究所との共同研究としてさらに詳細な気象データを入力し解析基盤を強化した。[柴崎謙一、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎、肘岡靖明(国立環境研究所)]

3. ウェストナイルウイルスに関する研究

(1) ウェストナイルウイルス脳炎等フラビウイルス脳炎における脳内免疫機構の解析

ウェストナイルウイルス、日本脳炎ウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルスは脳炎をひき起こすフラビウイルスである。これらのウイルス感染における中枢神経系の免疫病態機構を解明した。これらのウイルスの脳内感染で誘導されるT細胞は各ウイルスに特異的なT細胞であり、これらの現象は、明確な症状が認められなくても感染が成立していれば認められた。[藤井克樹、北浦一孝、高崎智彦、林昌宏、倉根一郎、早坂大輔・小池智(東京都神経科学総合研究所)、鈴木隆二(国立病院機構 相模原病院臨床研究センター)]

V. 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) チクングニヤウイルス迅速診断法の開発

現在チクングニヤウイルスの検出に使用している RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR 法に比較してより迅速な Hyper RT-PCR 法の開発を行った。Hyper RT-PCR の第一の特徴はその迅速性である。これまでの RT-PCR 法、リアルタイム RT-PCR 法を用いた遺伝子検出法では 1 時間以上の時間を要するが本法においては約 15 分で終了する。またその後の反応産物のアガロースゲルでの解析およびシーケンスでの遺伝子配列の確認も可能であるため通常シーケンス解析のできない LAMP 法と異なりチクングニヤウイルスの遺伝子型の解析も容易である。検討の結果チクングニヤウイルスに対して 1 コピー RNA/sample の検出感度を示す検出系を確立した。このときフラビウイルスであるデングウイルス、他のアルファウイルス及びヒト血液由来核酸に対して非特異反応は観察されなかった。[林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎、藤本嗣人・小長谷昌未（感染症情報センター）]

(2) チクングニヤ熱輸入症例のサーベイランス

H21 年度は 9 例の輸入症例を確認した。また、成田空港検疫所ではインドネシアから帰国の輸入症例を 1 例確認した。本患者からはチクングニヤウイルスが分離された。分離ウイルスは 2007 年にスリランカからの輸入症例から分離されたチクングニヤウイルス等と遺伝子解析した結果アジア型の遺伝子型であった。また、米国 CDC から分与いただいた抗アルファウイルス単クローン抗体を 2 次抗体として用いて In house IgM 捕捉 ELISA 法の感度および特異性を向上させた。[高崎智彦、林昌宏、モイメンリン、倉根一郎、関西空港検疫所、成田空港検疫所]

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 1-4 型、ダニによって媒介されるロシア春夏脳炎ウイルス、ポワッサンウイルス、ランガットウイルス、ネギシ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。このとき検出感度は 10^1 - 10^1 PFU/ml であった。また本プライマーはヒト血液およびカ由来 C6/36 細胞において非特異反応を示さなかった。したがって本プライマーはフラビウイルス遺伝子の特異的に検出し、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、東部ウマ脳炎、西部ウマ脳炎の診断法の確立

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ついては、これまで国内における迅速診断法は確立されていない。そこで血清診断法としてベネズエラウマ脳炎診断用 ELISA の確立を目指し、ELISA 用抗原としてベネズエラウマ脳炎ウイルス用中空粒子および抗原陽蛋白の作製を試みている。ベネズエラウマ脳炎構造蛋白質発現プラスミドを 3 種作成し、その発現を確認したところ細胞外への蛋白質の発現は認められるもののその発現効率は低かった。さらに、発現量の高いプラスミドの作製を今後検討し血清診断法を確立していくと共に、アルファウイルス共通単クローン抗体を用いて実験室診断法の確立を進めた。[大松勉、高崎智彦、倉根一郎]

VI. 神経系ウイルスに関する研究

1. 脳脊髄液を用いた JC ポリオーマウイルス遺伝子のリアルタイム PCR 検査体制の整備と進行性多巣性白質脳症(PML)の診断支援

PML は免疫不全患者等において発生する致死的な中枢神経系の脱髄性疾患であり、持続感染した JC ポリオーマウイルス(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、脳脊髄液を用いた JCV のリアルタ

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等のデータ解析を行った。平成 21 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 34 都道府県から計 139 件の依頼を受け、24 検体 (20 症例) を JCV 陽性と判断した。JCV 陽性患者の基礎疾患は HIV 感染症が 6 例、白血病およびリンパ腫等の血液疾患が 7 例、自己免疫疾患 (全身性エリテマトーデス) が 2 例、その他の疾患 (サルコイドーシス、間質性肺炎等) が 5 例であった。本検査系を用いた診断支援は、医療機関における PML の診断や治療において有用であることが示された。[中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、西條政幸]

2. リンパ球脈絡髄膜炎ウイルス感染症の検査法

アレナウイルス科のリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCM ウイルス) は、ネズミなどのげっ歯類が媒介する人獣共通感染症の一つで、唾液、尿、糞などを介してヒトに感染すると、無菌性髄膜炎や脳炎などを引き起こす。日本では人での感染例は報告されていないが、海外ではペットのハムスター等を介して人に感染した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確立を目的とした。組換えバキュロウイルスにより LCM ウイルス組換え核蛋白 (NP) 発現・精製し、NP に対する単クローン抗体およびポリクローナル抗体を作製した。抗原を特異的に検出するのに有用な単クローン抗体 (3 クローン) を用いた。おのおのの単クローン抗体とポリクローナル抗体をそれぞれ捕捉抗体、検出抗体として用いた LCM ウイルス蛋白を検出する抗原検出 ELISA 法を開発した。また、この単クローン抗体を間接蛍光抗体法でウイルス感染細胞に反応させると、特異的に LCM ウイルスに結合していることが明らかにされた。さらに、これらの抗体のエピトープ領域を同定したところ、LCMV-Armstrong 株、WE 株および M1 株で保存されている領域を認識していることが明らかにされた。これらの結果は、本研究で作製された単クローン抗体は、抗原検出 ELISA 法および病理組織中の LCM ウイルス抗原検出に有用であることを示している。[西條政幸、山口一美、王麗欣、中道一生、伊藤睦代、倉根一郎]

3. DNA ポリメラーゼ変異に基づくアシクロビル耐性単純ヘルペスウイルスに関する研究

臓器移植患者を含む免疫不全患者では、単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染症は難治性で、ウイルス性チミジンリン酸化酵素 (vTK) 関連薬アシクロビル (ACV) などに対する薬剤耐性 HSV 感染症が誘導されることがある。ACV 耐性 HSV の 95% は変異や欠損に、残りの 5% は DNA ポリメラーゼ変異による。DNA ポリメラーゼ (DNApol) 変異による HSV 感染症対策として、ACV、vTK 非関連薬である S2242、DNApol 阻害薬であるフォスカルネット (PFA) に耐性の単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) の性状 (薬剤感受性と DNApol 変異) を解析した。クローニングされた HSV-1 をそれぞれ ACV、PFA、または、S2242 薬剤存在下で増殖させ、耐性 HSV-1 (ACV 耐性株 3 クローン、PFA 耐性株 27 クローン、S2242 耐性株 15 クローン) を得た。これらのクローンの ACV、PFA、S2242、vTK 関連薬剤であるガンシクロビル (GCV)、ビリブジン (BVdU)、プロバビル (BVaraU) に対する感受性と vTK 非関連薬剤であるシドフォビル (CDV) に対する感受性をプラーク減少法により測定した。また、すべてのクローンの DNApol におけるアミノ酸変異を同定した。DNApol 変異による耐性クローンのほとんどは、GCV、BVdU、BVaraU に感受性を示した。高度感受性を示すクローンも認められた。一方、ACV 耐性クローンと PFA 耐性クローンは交差耐性を示す傾向が認められた。約半数の耐性クローンのアミノ酸変異は、保存領域 II と III にクローンで認められた。BVdU は、帯状疱疹に対する薬剤として使用されている。また、GCV や CDV はサイトメガロウイルス感染症に対して用いられている。これらの薬剤は比較的使用しやすい薬剤であることから、vTK 遺伝子に変異がなく、DNApol 変異による ACV または PFA 耐性 HSV-1 感染症が出現した場合には、比較的副作用の少ない BVdU や GCV を用いるのがよいと考えられる。[王麗欣、山口一美、中道一生、伊藤睦代、倉根一郎、西條政幸]

4. 組換え単純ヘルペスウイルスのチミジンリン酸化酵素の発現と迅速な薬剤感受性試験法の開発：HSV-2 および VZV への応用

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1)、2 型 (HSV-2)

および水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)による感染症は、アシクロビル(ACV)などのウイルス性チミジンリン酸化酵素(vTK)関連薬剤により治療される。本年度は、293T細胞に組換えvTKを一過性に発現させ、vTK欠損HSV-1感染時の薬剤の増殖抑制効果を測定することによる薬剤感受性試験成績を迅速に得るシステムの、HSV-2およびVZVのACVに対する感受性を測定する上での有用性を検討した。ACV感受性TASおよびTK欠損ACV高度耐性HSV-1TARを本システムのコントロールウイルスとして用いた。ACV感受性HSV-2UW268株およびvTK遺伝子に変異のある種々のACV耐性HSV-2のvTKを、発現ベクターを用いて293T細胞で一過性に発現させた。各々のHSV-2のvTK発現293T細胞におけるACVのHSV-1TARに対する増殖抑制効果をyield reduction assay法で検討した。ACVとBVDUの各濃度におけるHSV-1TARのvTK発現293T細胞における増殖程度は、プラークアッセイ法で解析した。ACV感受性HSV-2のvTKが発現された293T細胞では、40μg/mlのACVによりHSV-1TARの増殖は強く抑制されるのに対し、TK遺伝子にフレームシフト変異の認められる高度耐性株のvTK発現細胞では全く抑制されなかった。一方、アミノ酸変異によるACV耐性株10クローンの半数は本システムでACV耐性と判定されたが、残りの半数はACV感受性と判定された。また、VZVのvTKの発現細胞を用いて、同様の検討を行ったところ、VZVのACVやビリブジン(BVdU)への感受性を判定することが可能であった。[塩田智之、森川茂、倉根一郎、西條政幸]

Ⅶ. 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) 新規抗VZV化合物の作用機序の解析

レポーター細胞を用いたスクリーニングにより、9600種類のランダム化合物ライブラリーから同定したVZVに対し高い増殖阻害効果を示した化合物141B3及び35B2を解析した。プラーク減少試験の結果、141B3及び35B2の50%効果濃度は、それぞれ0.31μMと0.40μMであり、VZVに対して有効であるアシクロビルよりも低濃度で効果があることがわかった。リアルタイムPCRを用いた細

胞内のVZVのDNA量の解析から、DNA複製もしくはそれ以前の過程を両化合物共に阻害していることがわかった。また、ウイルス抗原、mRNA発現の阻害について検討し、141B3処理で前初期(IE)発現が見られなくなっているのに対し、35B2では見られることがわかった。また、35B2はIE62の初期遺伝子の転写活性化機能を阻害しないことが明らかになった。以上の結果から、141B3はウイルス侵入以降前初期mRNA発現以前のプロセス、35B2は初期転写活性化より後DNA複製より前のプロセスを阻害する化合物であることがわかった。[東知寿香、福井良子、松下実理、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

我々が開発した尿濾紙によるマススクリーニング法を用いて新生児1万1千例について先天性感染を検討した。昨年度までの結果と併せ17,656新生児中57例がCMV陽性、即ち、先天性CMV感染児であった。尿や乾燥臍帯など追加検体を得て最終的に全例について先天性感染を確認した。このうち、19%(11例)が明確な臨床症状を出生時に示し、これに加えて9例が低体重出生などであったため全体として35%程度に先天性感染の影響が出ている。すべての同定した先天性CMV感染児について、CT検査、ABR聴覚検査、発達検査などのフォローアップを行なっている。[井上直樹、津田美穂子、福井良子、山田壮一、倉根一郎、こども家庭総合研究事業(研究代表者：藤枝憲二)参加医療機関]

(2) CMVゲノムタイプ解析を利用した感染経路の検討

先天性CMV感染児57例中37例に年長同胞があり、現在までに、そのうちの18例について感染児とCMV遺伝子配列の比較を行うことができた。遺伝子型が多く型間配列も大きく異なるgNやUL144などの遺伝子の塩基配列を解析したところ、2例を除きすべてのペアで配列の完全な一致が見られた。従って、外部で感染を受けた年長同胞が尿・唾液などに排泄したウイルスにより、妊婦の感染が発生したものと考察され、ワクチン開発の重要性

が指摘できる。なお、遺伝子型は様々な組合せであることから、特定の遺伝子型株が、先天性感染に関与するわけではないとみられる。[井上直樹、津田美穂子、福井良子、倉根一郎]

(3) モルモット CMV (GPCMV) 糖蛋白の抗原性の検討

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、GPCMV ゲノム中に存在する特定の 1.6kb 領域が個体での増殖に必須であることを明らかにし、さらに、この領域にヒト CMV(HCMV)の UL128 および UL130 と相同性をもつ GP129 および GP131 がコードされ、HCMV で内皮や上皮細胞への感染指向性を決定することが明らかにされつつある UL130 などと類似した機能を持つことを示した。UL128 及び UL130 は、中和の標的となることから、サブユニットワクチンの有力な抗原候補となる可能性がある。そこで、GPCMV のホモログである GP129、GP131 がコードする糖蛋白を用いて、その可能性を個体レベルで検討することにした。そのために、GPCMV の糖蛋白 gB、gH、gL、gO、GP129、GP131 およびガラクトシダーゼを発現する計 7 種の組換えアデノウイルス (Ad) を作製した。GP131 発現 Ad (Ad-GP131) の GP131 蛋白の発現を確認し、GPCMV 感染モルモットの血清を用いた間接蛍光抗体法により、モルモット血清中に GP131 蛋白に対する抗体が存在することを確認した。よって、GP131 蛋白は抗体を誘導するための強い抗原になる可能性があることが示唆された。[加藤みなみ、山田壮一、橋本楓、福井良子、倉根一郎、井上直樹]

(4) GPCMV のゲノム構造の解析

GPCMV の分子生物学的解析を目的として ATCC より購入した 22122 株 GPCMV を 5 回継代したストック (ATCC-P5) のウイルス DNA をクローニングし、これまでに全塩基配列を決定し、その解析を進めていた。最近、UMN グループにより *in vitro* で長期継代培養された 22122 株 GPCMV から得られた BAC クローンを基にした全塩基配列が報告された。我々のものと UMN が決定した配列とを比較したところ 359 箇所異なっていた。HCMV では、新鮮分離株を長期継代培養した場合に、多くの変異が導

入されることが知られている。そこで、ATCC-P5 ストックを感染させたモルモットの唾液腺から分離したウイルスを *in vitro* で 3 回継代した SG-P3 を用いて、ダイレクトシーケンスにより基準となるべき個体に感染可能な GPCMV 株の配列を決定した。解析が不可能なりピート領域を除き、SG-P3 配列と ATCC-P5 配列は全ゲノム領域で同一であることが確認された。個体で増殖可能な我々のウイルス株の配列と比較すると、UMN 株では 27 個の ORF に構造変化があった。[金井亨輔、山田壮一、福井良子、倉根一郎、井上直樹]

(5) *In vivo imaging* による抗ヘルペスウイルス薬の個体での迅速評価系の確立

核酸基質アナログである抗ヘルペスウイルス薬は有効な反面、耐性の出現、副作用、投与法の制約などから作用機序の異なる薬剤の開発が求められている。我々は、*in vitro* において迅速簡便に CMV の力価を測定できるレポーター細胞株を樹立し、この細胞株を用いてランダム化合物 9600 種類よりいくつかの抗 CMV 化合物を同定してきた。こうした新規薬剤を *in vivo* において評価しようとするためには、多数の動物を用い、病理学的解析や臓器からのウイルス DNA 抽出等、多大な労力および時間を必要とする。そこで、*in vivo* での抗ウイルス効果の迅速評価法確立を目的として、GFP 発現組換えマウスサイトメガロウイルス (MCMV-GFP) を用いた *in vivo imaging* による簡便な薬剤評価系の構築を試みた。BALB/c マウスの背中に MCMV-GFP を皮下接種し、接種後 6 日間、Maestro *in-vivo* イメージングシステムを用いて経時的に蛍光の観察を行った。接種翌日から接種部位及びその周囲に GFP の特異的蛍光が 2 日目頃をピークとして観察された。また、蛍光強度とウイルス接種量の間には相関関係が認められた。MCMV-GFP を皮下接種した後 ganciclovir (GCV) を投与したところ、50mg/kg/日皮下投与および 100mg/kg/日腹腔投与により、非投与群と比較して平均蛍光強度の有意な減少が認められた ($p < 0.01$)。このことから、この系は個体での評価に値する化合物の初期評価として有用であると考えられた。[山田壮一、矢代恵子、福井良子、福地早紀、片野晴隆(感染病理部)、小杉伊佐夫(浜松医大)、河崎秀陽(浜松医大)、新井義文(浜松医大)、倉根一郎、井上直樹]

VIII. リケッチアに関する研究

1. リケッチアに関する研究

(1) 日本国内のリケッチア症実験室診断に関する状況調査

国内のリケッチア感染症の診断とレファレンス体制構築における課題と改善方法を明確にし、実験室診断体制をより安定したものにするを目的に、つつが虫病と日本紅斑熱の実験室診断の主体である地方衛生研究所の検査実施状況について調査を行った。全国衛生微生物技術協議会に参加の地方衛生研究所 77 箇所を対象に、リケッチア症(つつが虫病および日本紅斑熱)実験室診断の実施状況をアンケート調査した。血清診断、遺伝子診断、分離までの充実した施設がある一方、つつが虫病は商業検査機関において一部血清診断が実施可能なことから、日常業務から除外している施設もあり、全国的には実施施設が減少している。今回の各調査項目をより多角的に解析すると共に、商業検査機関の情報収集とあわせ、より効率的な検査体制の構築と安定強化のための施策を検討する必要がある。[安藤秀二、坂田明子]

(2) 病原性の異なる *Orientia tsutsugamushi* の発現タンパク質の 2 次元電気泳動による比較・解析

つつが虫の起因菌 *O. tsutsugamushi* の発現タンパク質に注目し、Karp 株と Kuroki 株を 2 次元電気泳動により解析し、その発現パターンを比較した。2 つの株間で発現パターンは大きく異なっており、病原性との関連が示唆された。一方で、発現量が多く、株間で共通に発現しているタンパク質が検出された。その中で特に主要なものは、56kDa 型特異的抗原、熱ショックタンパク質、セリンプロテアーゼ、ペプチド伸張因子であることが質量分析により同定された。機能が生存に必須であることから、本菌の偏性細胞内寄生細菌としての生存に重要な役割を担っている可能性が示唆された。[小川基彦、大内史子・萩原健一(細胞化学部)、松谷峰之介(山口大・農学部・生物機能科学)、内山恒夫(徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部)]

(3) リケッチアの重感染に関する研究

種々の細胞に複数種のリケッチアが重感染した場合の増殖について検討した。マダニ由来の DALBE3 細胞の場合、同時感染あるいはチフス群の *Rickettsia typhi* 感染 3 日後に重感染した紅斑熱群の *R. japonica* は増殖したが、*R. typhi* の増殖は抑制を受けた。これとは逆に昆虫由来の AeA12 細胞では、同時感染あるいは *R. japonica* 感染 3 日後に *R. typhi* を重感染した場合、*R. typhi* は増殖したが、*R. japonica* は増殖抑制を受けた。また、また、哺乳動物由来の Vero 細胞では、いずれの場合も、両リケッチアともに単独で感染した場合と同程度の増殖が見られた。人に複数種のリケッチアが感染した場合、単独で感染した場合よりリケッチア産生量が多くなり、重症化につながる可能性があることが示唆された。[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]

(4) リケッチア Sca 外膜蛋白質の細胞への付着侵入能の解析

リケッチアの sca 外膜蛋白質の働きを明らかにする目的で、これらの蛋白質を外膜上に発現する大腸菌を作製し、種々の細胞への接種実験を行った。哺乳動物由来 Vero 細胞には Sca0、Sca5 発現大腸菌は付着侵入したが、細胞内侵入後に不活化され、増殖は認められなかった。Sca3 発現大腸菌は Vero 細胞には付着しなかった。また、マダニ由来 ISE6 細胞にはいずれの大腸菌も付着しなかった。これらの結果からリケッチアの哺乳動物細胞への付着侵入に関与するのは Sca0、Sca5 であり、Sca3 は関与しないと考えられた。一方で、ダニ細胞にはこれらの外膜蛋白質の発現大腸菌は付着せず、付着侵入能は他の分子が担っていることが考えられた。[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]

(5) リケッチア迅速検出法の開発

薬剤に対する感受性が共通の様々なリケッチア属は、属を迅速に決定できれば、治療方針の決定等を含め様々な対応を迅速に進めることができる。各種検体からの迅速かつ特異的なリケッチア属迅速 DNA 検出・同定法の開発を目指した。ゲノム解析の終了しているリケッチアゲノム配列情報から、リケッチア属間で共通に高度に保存され、かつ他の生物の遺伝子に比して特異性の高い遺伝子群(リケッチア特異的オーソロググループ)に着目

し、リケッチア属特異的なオルソロググループが全 10 種類存在することを明らかにし、Real-time PCR、へ適応させた。これまで開発したプライマー、プローブを組み合わせ、試行全リケッチアを検出できるもの、Typhus 群のみを検出するもの、Typhus 群以外すべてを検出するもの等を開発した。プローブセットの検出感度は、試行全リケッチアを特異的かつ高感度に検出し、一時間以内に 1 コピーの合成 DNA を検出できた。[花岡希、坂田明子、安藤秀二、松谷峰之介・東慶直・白井睦訓(山口大学)、岸本寿男(岡山県環境保健センター)]

(6) LAMP 法によるリケッチア簡易迅速診断系の開発

これまで開発してきた Real-time PCR 系の迅速診断法は、蛍光プローブ系は高コストで、専用機器等が必要であり、環境の整っていない場では活用できないというデメリットから、安価かつ簡易的な検出法として、一定温度条件で濁度により検出可能な LAMP 法の開発を行った。リケッチア属特異的保存 ORF を標的とし、数十種類のプライマーセットをスクリーニングした結果、1 種類のプライマーセットが供試したすべてのリケッチア菌種の DNA を検出できた。また、Loop-primer を適応させ、60 分以内に 100 コピーの DNA を検出可能であった。蛍光試薬 (Loopamp 蛍光目視検出試薬[栄研化学]) を用いた検出結果に差は確認できなかった。検出感度が、100 コピーまでと、Real-time PCR と比較すると若干低感度であるが、屋外環境等フィールドへの応用や簡便さの利点から非常に有用な検出系である。[花岡希、坂田明子、安藤秀二、松谷峰之介・東慶直・白井睦訓(山口大学)、岸本寿男(岡山県環境保健センター)]

(7) リケッチア症ならびに関連リケッチアに関する野外調査

所内外の研究者の協力の下、リケッチア症の新規感染者が確認された地域や調査をより行う必要のあった地域を中心に、沖縄県、鹿児島県、鳥取県、岡山県、北海道等において野外調査を実施し、採取した各種材料を用いて多様なリケッチアに関する解析を行った。[安藤秀二、坂田明子、花岡希]

IX. クラミジアに関する研究

1. クラミジアに関する研究

(1) オウム病の発生リスクに関する研究

オウム病は、*Chlamydophila psittaci*(*C. ps*)を保有する鳥類が、繁殖期などのストレスがかかった時期に、高率に *C. ps* を含む排泄物を出すことにより、人への感染リスクが高まると考えられている。感染源として注意を要する鳥類の個体群に関して、経時的に糞便を採取、*C. ps* を検出することにより、季節的な変動を把握し、その対処法について考察した。今回、埼玉県で見つかった *C. ps* 保有群の排泄状況を通年で追い、夏から秋にかけて排出率のピークを認めた。従来より鳥の繁殖季節と重なる春から夏にかけて実際の患者発生状況がパラレルである。今回の対象は一群、一年間だけであり、個体群、単年度、地域特性などのバイアスの可能性もある。また、愛玩鳥のように閉鎖空間で人と密接に接するものと、野外に生息する鳥類の人との接触密度は明らかに異なる。今後、同群の経過を数年にわたって観察するとともに、既存の数少ない調査データなどとも共に比較検討する必要がある。その上で個体群の管理を含め、オウム病感染リスクを減ずるための鳥類との接触の仕方について科学的情報の提供を考慮する必要がある。[近真理奈・山本徳栄(埼玉県衛生研究所)、安藤秀二]

X. その他の研究

1. バイオセーフティに関する研究

(1) 緊急対応事例にみる輸送の実地研修と情報の更新の必要性の検証

2009 年 5 月に始まった新型インフルエンザ(以下、新型フル)対応の検査実施に関連し、全国からの検体搬送において、現場の混乱を招いた。その原因を記録として残すとともに、混乱の改善までの流れを追い、感染性物質の輸送に関する教育と情報更新の必要性について考察した。研究班で全ての衛研を対象とした輸送に関するワークショップが実施され、その後、地域に即した伝達講習、情報の共有の状況によって混乱の差が大きくなったと推測される。輸送というバイオリスク管理における一つの項

目だけでも、情報発信の繰り返し、整理・更新、情報発信の一元化または内容の整合性の確認などバイオリスク管理にかかわる情報の継続的発信・更新方法を検討することが必要である。[安藤 秀二]

(2) バイオリスク管理研修の実践に関する研究

世界保健機関は Train-the-Trainer の研修を開催したが、これに参加するには時間と費用の負担が生じる。また、定期開催もされておらず、受け入れ人数も少ないことから、地域、施設ごとの認定プログラムの立ち上げが期待されている。日本には、国家認定の仕組みが無いことから、外部評価を受けた教育プログラムは存在していない。海外のプログラムを参考に、国際基準に従って国内独自の研修プログラムの検討を行った。本年度は、検査技師や危機管理担当者を養成する学部生や、研究を開始した大学院生などを対象に、昨年実施した英国のプログラムを改良して運用し、受講者による評価を受けた。

[安藤 秀二、重松 美加(感染症情報センター)、藤本 秀士(九州大学大学院医学研究院保健学部門)]

2. 化学薬剤による未成熟染色体凝縮法 (PCC) の確立とその応用

染色体の解析は種・亜種の同定に際し遺伝学的手段として必須のみならず、先天性染色体異常症の診断など医学的にも重要な手段である。また染色体は後天的に放射線や環境変異原物質などにより損傷を受け、これら傷害による発癌や晩発傷害の解決も医学的に大きな課題であり、染色体の解析は遺伝子の損傷を評価するための必須の手段である。しかしながら遺伝子の損傷の程度が大きくなると、細胞周期の遅延あるいは停止により分裂中期染色体を得ることが困難あるいは不可能となり染色体解析そのものが不可能となっていた。未成熟染色体凝縮法はこの限界を克服する技術であり、オカダ酸あるいはカリクリンAなどの蛋白質脱リン酸化酵素阻害剤により極めて簡便で効率的にPCCを誘発する方法を開発した。この方法により従来困難であった染色体の解析に広く利用されることとなり、放射線生物学、環境変異原学、あるいは出生前診断などの広い分野に応用されている。[後藤英介]

3. 染色体凝縮機構を制御する遺伝子・蛋白質の系統的検索

真核細胞の遺伝子は分裂中期に凝縮し娘細胞に正確に分配されることにより遺伝情報が次世代細胞へと引き継がれる。染色体が凝縮することは遺伝子の正確な分配のために必須の機構であり、その制御に異常を来すと、致死、先天性奇形、発癌などの様々な問題を引き起こす。従ってその制御に関連する遺伝子・蛋白質群を系統的に検索することは発癌などのメカニズムの解明に大きく貢献することが期待される。上記化学薬剤によるPCC法とsiRNAを組み合わせることで染色体凝縮に影響を与える遺伝子・蛋白質群の系統的検索を行い、制御に関わる責任遺伝子を特定することを研究目的とする。[後藤英介]

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4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. 地方衛生研究所への日本脳炎流行予測調査用日本脳炎標準中和抗体の配布

日本脳炎流行予測調査で使用する日本脳炎標準中和抗体を日本脳炎流行予測調査に参加している10機関の地方衛生研究所に配布した。[林昌宏、高崎智彦、倉根一郎]

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

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21年の行政検査においては、オウム病1例3検体、リケッチア症10例22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8例18検体、リケッチア21例51検体、Q熱1例1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]

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 21 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、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

平成 21 年度は 37 ロットの日本脳炎ワクチンの国家検定を実施し、37 ロットすべてを合格と判定した。[田島茂、林昌宏、大松勉、小滝徹、池田真紀子、高崎智彦、倉根一郎]

3. 黄熱ワクチンの依頼検査

平成 21 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、小滝 徹、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 21 年度は、1 ロット (RB11) 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。[伊藤睦代、中道一生、大松勉、福士秀悦、高崎智彦、林昌宏、西條政幸、倉根一郎]

5. 水痘ワクチンの検定

水痘抗原国家検定 1 ロット、乾燥弱毒生水痘ワクチン国家検定 7 ロット、輸出用ワクチン依頼検査 15 ロットを実施し、全ロットとも合格であった。[井上直樹、山田壮一、福井良子、倉根一郎]

6. クラミジア体外診断薬の承認前試験

Chlamydia trachomatis の抗原検出ならびに核酸増幅キットの各 1 件について承認前試験の申請にもとづく書類審査を行った。[安藤秀二]

国際協力関係業務

1. 日本脳炎世界特別ラボラトリー

世界保健機関 (WHO) 日本脳炎世界特別ラボラトリー

として、血清診断のためのパネル血清およびパネル髄液候補検体を評価した。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して作成した研修用テキスト (英語版) を用いて WHO 西太平洋域内の日本脳炎実験室診断レファレンス実験室に普及を図った。また、WHO によりソウルで開催された第 1 回日本脳炎実験室診断実習コースにおいて講演、指導を行った。[高崎智彦、池田真紀子、林昌宏、小滝 徹、田島茂、大松勉、倉根一郎]

2. ベトナム国立衛生研究所強化プロジェクト

国際協力機構のベトナム国立衛生研究所強化プロジェクトの一環として、BSL3 実験室での作業を考慮したリケッチア実験室診断の技術指導のため、SOP 作成を含む現地での指導を 6 月及び 3 月におこなった。[安藤秀二]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Tobiume M, Sato Y, Katano H, Nakajima N, Tanaka K, Noguchi A, Inoue S, Hasegawa H, Iwasa, Y., Tanaka J, Hayashi H, Yoshida S, Kurane I, Sata T. Rabies virus dissemination in neural tissues of autopsy cases due to rabies imported into Japan from the Philippines: immunohistochemistry. *Pathology International* 59:555-566, 2009.

2) Sah OP, Subedi S, Morita K, Inoue S, Kurane I, Pandey BD. Serological study of dengue virus infection in Terai region, Nepal. *Nepal Medical College Journal* 11:104-106, 2009.

3) Kurane I. BSL4 facilities in anti-infectious disease measures. *Journal of Disaster Research* 4:352-355, 2009.

4) Kurane I: The emerging and forecasted effect of climate change on human health. *Journal of Health Science* 55:865-869, 2009.

5) Kurosawa Y, Kurane I, Yamamoto A. Observation of

- Japanese encephalitis virus particles on ceramic hydroxyapatite by scanning electric microscopy. *Medicine and Biology* 153:607-610, 2009.
- 6) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Iizuka I, Shiota T, Sakai K, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates. *Journal of General Virology* 90:2266-2271, 2009.
- 7) Satoh T, Dieng H, Mizutani T, Eshita Y, Miyata T, Talukder P, Kashige N, Ahmad AH, Miake F. Fluorescence can be used to trace the fate of exogenous micro-organisms inside the alimentary tract of mosquitoes. *Journal of Parasitology and Vector Biology* 1:13-18, 2009.
- 8) Watanabe S, Ueda N, Iha K, Joseph SM, Fujii H, Phillip A, Mizutani T, Maeda K, Yamane D, Azab W, Kato K, Kyuwa S, Tohya Y, Yoshikawa Y, Akashi H. Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. *Virus Genes* 39:90-93, 2009.
- 9) Sunohara M, Morikawa S, Murata H, Fuse A, Sato I. Modulation mechanism of c-Mpl promoter activity in megakaryoblastic cells. *Okajimas Folia Anatomica Japonica* 86:89-91, 2009.
- 10) Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S. Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. *Journal of Medical Virology* 81:1102-1108, 2009.
- 11) Yamao T, Eshita Y, Kihara Y, Satho T, Kuroda M, Sekizuka T, Nishimura M, Sakai K, Watanabe S, Akashi H, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Miyata T, Sakata A, Hosokawa M, Nakashima M, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Nakauchi M, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. Novel virus discovery from field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). *Archives of Virology* 154:153-158, 2009.
- 12) Nakamura S, Yang CS, Sakon N, Ueda M, Tougan T, Yamashita A, Goto N, Takahashi K, Yasunaga T, Ikuta K, Mizutani T, Okamoto Y, Tagami M, Morita R, Maeda N, Kawai J, Hayashizaki Y, Nagai Y, Horii T, Iida T, Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. *PLoS ONE* 4:e4219, 2009.
- 13) Sakai K, Ueno Y, Ueda S, Yada K, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Mutoh K, Yoshioka K, Nakamura M, Takehara K, Morikawa S, Mizutani T. Novel reovirus isolation from an Ostrich (*Struthio camelus*) in Japan. *Veterinary Microbiology* 134:227-232, 2009.
- 14) Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romanowski V, Kurane I, Morikawa S. Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses. *Clinical and Vaccine Immunology* 16:1132-1138, 2009.
- 15) Mizutani T. Characterization of signaling pathways in cells infected with SARS-CoV. *in Host Gene Responses to RNA Viral Infection*. Edited by Yang D. World Scientific Publishing, pp321-344, 2009.
- 16) Shirato K, Mizutani T. Replication, transcription, and translation of coronaviruses. *in Viral Genomes*. Edited by Freng Z and Long M) Nova Publishers, pp.159-167, 2009.
- 17) Eshita Y, Higashihara J, Onishi M, Mizuno M, Yoshida J, Takasaki T, Kubota N, Onishi Y. Mechanism of introduction of exogenous genes into cultured cells using DEAE-dextran-MMA graft copolymer as non-viral gene

carrier. *Molecules* 14:2669-83, 2009.

18) Takahashi H, Ohtaki N, Maeda-Sato M, Tanaka M, Tanaka K, Sawa H, Ishikawa T, Takamizawa A, Takasaki T, Hasegawa H, Sata T, Hall WW, Kurata T, Kojima A. Effects of the number of amino acid residues in the signal segment upstream or downstream of the NS2B-3 cleavage site on production and secretion of prM/M-E virus-like particles of West Nile virus. *Microbes and Infections* 11:1019-28, 2009.

19) Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. Involvement of the Fc γ receptor IIA cytoplasmic domain in antibody enhancement of dengue virus infection. *Journal of General Virology* 91:103-111, 2010.

20) Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Development of an antibody-dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expressing Fc γ RIIA. *Journal of Virological Methods* 163:205-209, 2010.

21) Lim CK, Nishibori T, Watanabe K, Ito M, Kotaki A, Tanaka K, Kurane I, Takasaki T. Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from Sri Lanka: isolation of two sub-strains with different characteristics. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 81:865-868, 2009.

22) Takasaki T, Kotaki A, Lim CK, Tajima S, Omatsu T, Meng Ling Moi, Kurane I. Arbovirus infections: the challenges of controlling an ever-present enemy. *Journal of Disaster Research*, 4 : 322-328, 2009.

23) Aoyama I, Uno K, Yumisashi T, Takasaki T, Lim CK, Kurane I, Kase T, Takahashi K. A case of Chikungunya fever imported from India to Japan, follow-up of specific IgM and IgG Antibodies over a 6-month period. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 63:65-66, 2010.

24) Hoi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. Discrepancy in Dengue virus neutralizing antibody titers

between plaque reduction neutralizing tests with Fc γ receptor (Fc γ R)-negative and Fc γ R-expressing BHK-21 cells. *Clinical and Vaccine Immunology* 17:402-407, 2010.

25) Yamamoto K, Matumoto K, Lim CK, Moi ML, Kotaki A, Takasaki T. Chikungunya fever from Malaysia. *Internal Medicine* 49:501-5, 2010.

26) Tajima S, Nerome R, Nukui Y, Kato F, Takasaki T, Kurane I. A single mutation in the Japanese encephalitis virus E protein (S123R) increases its growth rate in mouse neuroblastoma cells and its pathogenicity in mice. *Virology* 396:298-304, 2010.

27) Moi ML, Takasaki T, Kotaki A, Tajima S, Lim CK, Omatsu T, Kurane I. Dengue importations into Japan from Bali. *ProMed*, March 29, 2010, available from [<http://www.promedmail.org>], archive no.20100329.09. 2010.

28) Takasaki T, Moi ML, Kotaki A, Sakamoto M, Kobayashi K, Kurane I. Dengue importations into Japan from Tanzania. *ProMed*, March 23, 2010, available from [<http://www.promedmail.org>], archive no. 20100323.0922. 2010.

29) Nukuzuma S, Nakamichi K, Nukuzuma C, Takegami T. Inhibitory effect of serotonin antagonists on JC virus propagation in a carrier culture of human neuroblastoma cells. *Microbiology and Immunology* 53: 496-501, 2009.

30) Nukuzuma S, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Nukuzuma C, Miyoshi I, Takegami T. Archetype JC virus efficiently propagates in kidney-derived cells stably expressing HIV-1 Tat. *Microbiology and Immunology* 53: 621-628, 2009.

31) Yagi T, Hattori H, Ohira M, Nakamichi K, Takayama-Ito M, Saijo M, Shimizu T, Ito D, Takahashi K, Suzuki N. Progressive multifocal leukoencephalopathy developed in incomplete Heerfordt syndrome, a rare

- manifestation of sarcoidosis , without steroid therapy responding to cidofovir. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 112:153-156, 2010.
- 32) Morimoto K , Saijo M. Imported rabies cases and preparedness for rabies in Japan. *Journal of Disaster Research* 4:346-357, 2009.
- 33) Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Diagnostic systems for viral hemorrhagic fevers and emerging viral infections prepared in the National Institute of Infectious Diseases. *Journal of Disaster Research* 4:315-321, 2009.
- 34) Saijo M. Emerging and re-emerging infection threats to society. *Journal of Disaster Research* 4:291-297, 2009.
- 35) Yamada S, Nozawa N, Katano H, Fukui Y, Tsuda M, Tsutsui Y, Kurane I, Inoue N. Characterization of the guinea pig cytomegalovirus genome locus that encodes homologs of human cytomegalovirus major immediate-early genes , UL128, and UL130. *Virology* 391:99-106, 2009.
- 36) Kurashina Y, Liu X, Kato C, Inoue N, Saneyoshi M, Yamaguchi T. Influence of 3'-azido-2', 3'- dideoxyguanosine treatment on telomere length in human telomerase-immortalized human fibroblast cells. *Nucleic Acids Symposium Series* 53:249-250, 2009.
- 37) Otsuka T, Gomi Y, Inoue N, Uchiyama M. Varicella transmitted from a healthy vaccinee with herpes zoster, Japan. *Emerg Infect Dis* 15:1702-1703, 2009.
- 38) Nozawa N, Fang-Hoover J, Tabata T, Maidji E, Pereira L. Cytomegalovirus-specific, high-avidity IgG with neutralizing activity in maternal circulation enriched in the fetal bloodstream. *Journal of Clinical Virology Suppl* 4:S58-63, 2009.
- 39) Kasem S, Yu MH, Yamada S, Kodaira A, Matsumura T, Tsujimura K, Madbouly H, Yamaguchi T, Ohya K, Fukushi H. The ORF37 (UL24) is a neuropathogenicity determinant of Equine herpesvirus 1 (EHV-1) in the mouse encephalitis model. *Virology* 400:259-270, 2010.
- 40) Okuno K, Takashima K, Kanai K, Ohashi M, Hyuga R, Sugihara H, Kuwamoto S, Kato M, Sano H, Sairenji T, Kanzaki S, Hayashi K. Epstein-Barr virus can infect rabbits by the intranasal or perioral route: An animal model for natural primary EBV infection in humans. *Journal of Medical Virology* 82:977-986, 2010.
- 41) Hanaoka N, Matsutani M, Kawabata H, Yamamoto S, Fujita H, Sakata A, Azuma Y, Ogawa M, Takano A, Watanabe H, Kishimoto T, Shirai M, Kurane I, Ando S. Diagnostic assay for *Rickettsia japonica*. *Emerging Infectious Diseases* 15:1994-1997, 2009.
- 42) Takano A, Muto M, Sakata A, Ogasawara Y, Ando S, Hanaoka N, Tsurumi M, Sato F, Nakamura N, Fujita H, Watanabe H, Kawabata H. Relapsing fever spirochete in seabird tick, Japan. *Emerging Infectious Diseases* 15:1528-1530, 2009.
- 43) Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T, Yamamoto S. Surveillance recognition, and reporting of Tsutsugamushi disease (Scrub typhus) and Japanese spotted fever by general practice clinics in Miyazaki Prefecture, 2007. *Journal of Infection and Chemotherapy* 15:269-272, 2009.
- 44) Kishimoto T, Ando S, Numazaki K, Ouchi K, Yamazaki T, Nakahama C. Assay of *Chlamydia pneumoniae*-specific IgM antibodies by ELISA method—reduction of non-specific reaction and resetting of serological criteria by measuring IgM antibodies. *Japanese Journal Infectious Diseases* 62:260-264, 2009.
- 45) Hanaoka N, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Watanabe H, Kurane I, Kishimoto T, Ando S. Development of a pUC19-based recombinant plasmid to serve as a positive

- control in PCR for *Orientia tsutsugamushi*. *Microbiology and Immunology* 53: 305-308, 2009.
- 46) Ogawa M, Shinkai-Ouchi F, Matsutani M, Uchiyama T, Hagiwara K, Hanada K, Kurane I, Kishimoto T. Shotgun proteomics of *Orientia tsutsugamushi*. *Clinical Microbiology and Infection Suppl* 2:239-240, 2009
- 47) Uchiyama T, Ogawa M, Kishi M, Yamashita T, Kishimoto T and Kurane I. Restriction of the growth of typhus group rickettsiae in tick cells. *Clinical Microbiology and Infection Suppl* 2:332-3, 2009
2. 和文発表
- 1) 倉根一郎. 感染症への地球温暖化影響. *地球環境* 14: 279-298, 2009.
- 2) 森川茂. フィリピンにおけるレストンエボラウイルスのブタ等に与える影響. *LABIO* 21:36-38, 2009.
- 3) 西條政幸. アレナウイルス. *臨床と微生物* 37:113-116, 2010.
- 4) 西條政幸. 目に見えない敵と闘った者たち. *ミルシル* 2:7-10, 2009.
- 5) 西條政幸. エボラ出血熱とマールブルグ出血熱に関する最近の研究. *小児科臨床* 62:1931-1935, 2009.
- 6) 水谷哲也. 新興ウイルス感染症の網羅的検出方法 (RDV法) の確立と畜産分野への応用の可能性. *獣医畜産新報* (文永堂出版) 62:821-822, 2009.
- 7) 水谷哲也. 網羅的ウイルスゲノム検査 [新しいウイルス]. *臨床と微生物* 36:239-244, 2009.
- 8) 水谷哲也. 川崎病ウイルス病因説. *アクチュアル小児科診療 -Actual Series of Clinical Pediatrics. 「川崎病のすべて」*(総編集:五十嵐隆, 専門編集:石井正浩): pp30-31, 2009.
- 9) 田島茂, 高崎智彦. 日本脳炎. *診断と診療* 97:2097-2100, 2009.
- 10) モイメンリン, 高崎智彦. アジア渡航米国人における日本脳炎の3症例. 2003~2007年-米国. *Infectious Agents Surveillance Report* 30:244-245, 2009.
- 11) 江下優樹, 東原絢子, 大西政康, 水野正明, 吉田純, 住吉秀明, 吉岡秀克, 高崎智彦, 石川雄一, 久保田直治, 大西靖彦. DEAE-デキストラン共重合体を非ウイルス性遺伝子導入キャリアーとして用いた, 培養細胞への外来遺伝子導入. *大分大学工学部研究報告* 57:1-8, 2010.
- 12) 高崎智彦. フラビウイルス脳炎. *Brain and Nerve* 61:145-151, 2009.
- 13) 高崎智彦. 感染症ごとにみたウイルス感染症の診断と対策「日本脳炎・ウエストナイル熱」. *臨床検査* 53:77-81, 2009.
- 14) 高崎智彦. ウエストナイル熱・脳炎. *ズーノーシスハンドブック* (岸本寿男, 山田章雄 編), *メディカルサイエンス* pp28-29, 2009.
- 15) 大松勉, 高崎智彦. カリフォルニア脳炎. *ズーノーシスハンドブック* (岸本寿男, 山田章雄 編), *メディカルサイエンス社* pp38-39, 2009.
- 16) 林昌宏, 高崎智彦. セントルイス脳炎. *ズーノーシスハンドブック* (岸本寿男, 山田章雄 編), *メディカルサイエンス社* pp52-53, 2009.
- 17) 安藤秀二. ロッキー山紅斑熱. *ズーノーシスハンドブック* (岸本寿男, 山田章雄 編), *メディカルサイエンス社* pp201-203, 2009.
- 18) 安藤秀二, 高橋聡. Q熱. *ズーノーシスハンドブック* (岸本寿男, 山田章雄 編), *メディカルサイエンス社*

pp193-194, 2009.

19) 馬原文彦, 安藤秀二. 日本紅斑熱. *ズーノーシスハンドブック* (岸本寿男, 山田章雄 編), メディカルサイエンス社 pp198-200, 2009.

20) 安藤秀二. リケッチア性紅斑熱. *化学療法の領域* 26:240-248, 2010.

21) 飯島義雄, 秋吉京子, 田中忍, 貫名正文, 伊藤正寛, 春田恒和, 井上明, 安藤秀二, 岸本寿男. とり展示施設におけるオウム病集団発生事例. *感染症学雑誌* 83:500-505, 2009.

22) 中橋伸江, 山本貴子, 馬場俊一, 川端寛樹, 安藤秀二, 照井正. *Ixodes holocyclus* によるマダニ刺咬症の1例. *臨床皮膚科* 63:159-161, 2009.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Iizuka I, Shiota T, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Pathology of monkeypox in nonhuman primates leading to the difference in virulence between Gongo Basin and West African strains. 43rd Annual Meeting of the US-Japan Cooperative Medical Science Program and Special Minisymposium on Enterovirus 71, Philadelphia, PA, July 2009.

2) Bukbuk DN, Saijo M, Georges-Courbot MC, Marianneau P, George A, Shuetsu F, Mizutani T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleocapsid protein-based diagnosis of and seroepidemiological study on Lassa fever. The 109th ASM General Meeting, Philadelphia, PA, May 2009.

3) Watanabe S, Maeda K, Suzuki K, Kato K, Tohya Y, Mizutani T, Morikawa S, Akashi H. Identification of a novel herpesvirus in bat using improved RDV method. 8th International Congress of Veterinary Virology, Budapest,

August, 2009.

4) Moi, M. L., Lim C. K., Kotaki A., Takasaki T., & Kurane, I. Development of antibody-dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expressing Fc \square RIIA. 58th Annual Meeting. American Society of Tropical and Medicine and Hygiene. Washington, November 18-22, 2009.

5) Inoue N. Newborn CMV screening and genotyping of congenital cases. (Invited lecture) 12th International CMV & Betaherpesvirus Workshop, Boston, USA, May 2009.

6) Yamada S, Nozawa N, Katano H, Fukui Y, Tsuda M, Tsutsui Y, Kurane I, Inoue N. Characterization of the guinea pig CMV genome locus that encode homologs of human CMV major immediate-early genes, UL128, and UL130. 34th International Herpesvirus Workshop, Ithaca NY, USA, July 2009.

7) Yamada S, Kosugi I, Shindo K, Fukui Y, Katano H, Yashiro K, Higashi C, Tsuda M, Kurane I, Inoue N. Screening and characterization of chemical compounds that inhibit early phase of CMV and VZV infections. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, October 2009.

8) Yamada S, Kato M, Katano H, Fukui Y, Tsuda M, Tsutsui Y, Nozawa N, Kurane I, Inoue N. Characterization of guinea pig CMV GP129 and GP131, orthologs of HCMV UL128 and UL130, which are essential for efficient viral growth in vivo but not in vitro. 14th International Conference on Immunobiology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infections. Kobe, October 2009.

2. 国内学会

1) 佐藤朝光, 山尾卓也, 江下優樹, 木原悠希, 西村美保, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, 鹿志毛 信広, 見明史雄, 森川茂, 水谷哲也. Rapid determination of RNA viral sequence 法 ver4.0 によるネッタイシマカ

ウイルス第一部

- 幼虫からの新しいブニヤウイルスの検出. 第 61 回日本衛生動物学, 2009 年 4 月.
- 2) 西村美保, 佐藤朝光, 木原悠希, 山尾卓也, 江優樹, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, 鹿志毛信広, 見明史雄, 水谷哲也. Rapid determination of RNA viral sequence 法 ver4.0 によるネッタイシマカ幼虫からのウイルスの検出. 第 61 回日本衛生動物学, 2009 年 4 月.
- 3) 伊澤晴彦, 鯨田龍星, 星野啓太, 酒井宏治, 渡辺俊平, 津田良夫, 矢野和彦, 佐藤朝光, 佐々木年則, 斉藤一三, 小林睦生, 水谷哲也, 澤邊京子. 蚊から分離されたウイルスの RDV 法による同定. 第 61 回日本衛生動物学, 2009 年 4 月.
- 4) 酒井宏治, 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 松井珠乃, 網康至, 平井明香, 須崎百合子, 水谷哲也, 福士秀悦, 緒方もも子, 西條政幸, 藤本嗣人, 山田靖子, 岡部信彦, 佐多徹太郎, 倉根一郎, 森川茂. 水様性下痢を呈したカニクイザルから分離したアデノウイルスの分子系統学的解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.
- 5) 森川茂, 福士秀悦, 酒井宏治, 永田典代, 長谷川秀樹, 松井珠乃, 水谷哲也, 平井明香, 網康至, 西條政幸, 山田靖子, 岡部信彦, 佐多徹太郎, 倉根一郎. カニクイザルの致死性的イヌジステンパーウイルス感染事例の解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.
- 6) 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 西條政幸, 森川茂, 佐藤由子, 佐多徹太郎. SARS-CoV 感染動物における宿主の Th1/Th2 バランスと重症化の関連. 第 57 回日本ウイルス学会, 東京, 2009 年 10 月.
- 7) 岩田奈織子, 永田典代, 辻隆裕, 長谷川秀樹, 佐藤由子, 横田恭子, 水谷哲也, 西條政幸, 森川茂, 佐多徹太郎. SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SRAS-CoV の免疫効果と副反応について. 第 57 回日本ウイルス学会, 東京, 2009 年 10 月.
- 8) 佐山勇輔, 福士秀悦, 齊藤麻理子, 飯塚愛恵, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 鈴木陽, 神垣太郎, 玉記雷太, 倉根一郎, 押谷仁, 森川茂. フィリピンのレストランエボラウイルス感染症のウイルス遺伝子解析と感染状況の実態調査. 第 57 回日本ウイルス学会, 2009 年 10 月.
- 9) 西村美保, 早川洋一, 遠藤大二, 渡辺俊平, 佐藤朝光, 中島幸彦, 鹿志毛信広, 見明史雄, 緒方もも子, 森川茂, 水谷哲也. ミツバチに感染するウイルスの網羅的検出方法の確立. 第 57 回日本ウイルス学会, 2009 年 10 月.
- 10) 塩田智之, 飯塚愛恵, 森川茂, 倉根一郎, 水口雅, 西條政幸. 293T 細胞を用いた単純ヘルペスウイルスならびに水痘帯状疱疹ウイルス組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用. 第 57 回日本ウイルス学会, 2009 年 10 月.
- 11) 水谷哲也, 前田健, 渡辺俊平, 久和茂, 吉川泰弘, 明石博臣, 中内美名, 酒井宏治, 福士秀悦, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, 森川茂. ウイルスの網羅的検出法 (RDV 法 ver3.1) を用いたコウモリ由来新規 β ヘルペスウイルスの同定. 第 57 回日本ウイルス学会, 2009 年 10 月.
- 12) 中内美名, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, Ure A, Victor Romanowski V, 森川茂. 南米出血熱の実験室診断法の開発. 第 57 回日本ウイルス学会, 2009 年 10 月.
- 13) 飯塚愛恵, 塩田智之, 西條政幸, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 倉根一郎, 水口雅, 森川茂. 痘そうワクチン LC16m8 株の温度感受性に関する解析. 第 57 回日本ウイルス学会, 2009 年 10 月.
- 14) 西條政幸, 網康至, 須崎百合子, 塩田智之, 飯塚愛恵, 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, 倉根一郎, 佐多徹太郎, 倉田毅, 森川茂. コンゴ盆地型および西アフリカ型サル痘ウイルスの臓器親和性と病原性. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.

15) 西條政幸, 網至康, 須崎百合子, 永田典代, 長谷川秀樹, 新村靖彦. 横手公幸, 飯塚愛恵, 塩田智之, 佐多徹太郎, 倉田毅, 倉根一郎, 森川茂. 痘そうワクチン LC16m8 および *Listeria* 株免疫時における IMV および EEV 蛋白に対する抗体応答とサル痘予防効果. 第 13 回日本ワクチン学会学術総会, 札幌, 2009 年 9 月.

16) 塩田智之, 森川茂, 飯塚愛恵, 倉根一郎, 西條政幸. 293T 細胞を用いた HSV-1 組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用. 第 19 回日本抗ウイルス療法研究会, 東京, 2009 年 6 月.

17) 渡辺俊平, 前田 健, 水谷哲也, 鈴木和男, 藤井ひかる, 上田直也, 伊波興一朗, 谷口怜, 加藤健太郎, 遠矢幸伸, 久和 茂, 吉川泰弘, 明石博臣. 改良 RDV 法を用いたコウモリ由来新規 β ヘルペスウイルスの同定. 第 148 回日本獣医学会, 鳥取, 2009 年 9 月.

18) 谷口 怜, Masangkay Joseph, 渡辺俊平, 大松勉, 上田直也, 伊波興一朗, 藤井ひかる, 水谷哲也, 久和茂, 明石博臣, 吉川泰弘, 森川茂. フィリピンのコウモリからのレストンエボラウイルス抗体検出. 第 148 回日本獣医学会, 鳥取, 2009 年 9 月.

19) 水谷哲也, 伊澤晴彦, 澤辺京子, 星野啓太, 鎌田龍星, 小林睦生, 渡辺俊平, 明石博臣, 佐藤朝光, 酒井宏治, 緒方もも子, 倉根一郎, 森川茂. ウイルスの網羅的検出法 (RDV 法) の改良と新規ウイルスの検出. 第 148 回日本獣医学会, 鳥取, 2009 年 9 月.

20) 酒井宏治, 網至康, 水谷哲也, 岩切章, 山本正悟, 平井明香, 須崎百合子, 福士秀悦, 西條政幸, 永田典代, 長谷川秀樹, 山田靖子, 倉根一郎, 森川 茂. 急性呼吸器感染症患者からの新型レオウイルス分離とマウス感染モデルの作製. 第 148 回日本獣医学会, 鳥取, 2009 年 9 月.

21) Vuong BN, 水谷哲也, 荻部一司, Nguyen TH, 山本佑, 中村菊保, 小川晴子, 今井邦俊. Attempt to identify viruses isolated from fecal samples of migratory wild

birds by the Rapid Determination system of Viral nucleic acid sequences (RDV). 第 148 回日本獣医学会, 鳥取, 2009 年 9 月.

22) 水谷哲也, 黒田誠, 関塚剛史, 大場 邦弘, 緒方昌平, 石井正浩, 森雅亮, 横田俊平. 川崎病の原因究明 -I. ウイルスの網羅的解析-. 第 29 回日本川崎病学会, 名古屋, 2009 年 10 月.

23) 黒田誠, 関塚剛史, 佐藤誠一, 大場邦弘, 浜田洋通, 寺井勝, 緒方昌平, 石井正浩, 森雅亮, 横田俊平, 水谷哲也. 川崎病の原因究明 -II. 次世代シーケンサーによる網羅的解析-. 第 29 回日本川崎病学会, 名古屋, 2009 年 10 月.

24) 森雅亮, 黒田誠, 関塚剛史, 大場邦弘, 水谷哲也, 横田俊平. 川崎病の原因究明 -III. プロテオーム解析法を用いた患者血清の網羅的解析-. 第 29 回日本川崎病学会, 名古屋, 2009 年 10 月.

25) 伊澤晴彦, 鎌田龍星, 星野啓太, 酒井宏治, 渡辺俊平, 津田良夫, 矢野和彦, 佐藤朝光, 佐々木年則, 斉藤一三, 小林睦生, 水谷哲也, 澤邊京子. 蚊から分離されたウイルスの RDV 法による同定. 第 61 回日本衛生動物学会, 香川県高松市, 2009 年 4 月.

26) 佐藤朝光, 山尾卓也, 江下優樹, 木原悠希, 西村美保, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, 鹿志毛信広, 見明史雄, 森川茂, 水谷哲也. Rapid determination of RNA viral sequence 法 ver4.0 によるネッタインマカ幼虫からの新しいブニヤウイルスの検出. 第 61 回日本衛生動物学会, 香川県高松市, 2009 年 4 月

27) 渡辺俊平, 前田健, 水谷哲也, 鈴木和男, 加藤健太郎, 吉川泰弘, 明石博臣. 網羅的ウイルスゲノム検出法を用いたコウモリ由来新規 β ヘルペスウイルスの同定. 第 15 回日本野生動物医学会, 富山, 2009 年 9 月.

28) 前田健, 本道栄一, 佐藤宏, 鈴木和男, 浜夏樹, 横山真弓, 渡辺俊平, 明石博臣, 水谷哲也. 各種動物由来培

ウイルス第一部

- 養細胞の樹立とその際に分離された新規ウイルス. 第 24 回ヘルペスウイルス研究会, 静岡, 2009 年 7 月.
- 29) 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. 第 147 回日本獣医学会シンポジウム, 2009 年 4 月.
- 30) 水谷哲也. ウイルスの網羅的検出法 (RDV 法) を使って, 未知のウイルスを発見する. 岐阜大学連合獣医学際領域特別講義, 2009 年 6 月.
- 31) 水谷哲也. 未知・既知のウイルスの網羅的検出法. 第 9 回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム, 2009 年 6 月.
- 32) 水谷哲也. 未知のウイルスを発見する喜び. 近畿大学・インターフェイス分野別専門家特別講義, 2009 年 7 月.
- 33) 水谷哲也. 蜂群崩壊症候群の原因ウイルス解明のための網羅的ウイルス検出方法の確立. 山田養蜂場みつばち研究助成金・優秀賞受賞者講演, 2009 年 11 月.
- 34) 加藤文博, 田島茂, 小滝徹, 司馬肇, 細野邦昭, 高崎智彦, 倉根一郎. 3' NTR 内に欠失・挿入変異を有する組換え日本脳炎ウイルスの性状解析. 第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 北海道 (千歳), 2009 年 6 月.
- 35) 林昌宏, 小滝徹, 高崎智彦, 倉根一郎. フラビウイルス感染症迅速診断のための共通プライマーの開発. 第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 北海道, 2009 年 6 月.
- 36) 田島茂, 高崎智彦, 倉根一郎. デング 1 型ウイルス非構造蛋白質 NS4A の N 末端側領域の解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.
- 37) 田島茂, 加藤文博, 高崎智彦, 倉根一郎. ウイルス性状を左右する日本脳炎ウイルス E 蛋白質上のアミノ酸置換. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.
- 38) 加藤文博, 田島茂, 小滝徹, 司馬肇, 細野邦昭, 高崎智彦, 倉根一郎. 3' NTR 内に欠失・挿入変異を有する組換え日本脳炎ウイルスの増殖性および病原性解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009 年 10 月.
- 39) モイメンリン, 林昌宏, 小滝徹, 高崎智彦, 倉根一郎. Discrepancy in viremic titers in dengue serum samples between BHK cells and Fc γ R-expressing BHK cells. 第 16 トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会, 東京, 2009 年 10 月.
- 40) モイメンリン, 林昌宏, 小滝徹, 高崎智彦, 倉根一郎. Fc γ RIIA 発現 BHK-21 細胞を用いた抗デングウイルス抗体依存性感染増強 (ADE) アッセイの開発. 第 57 回日本ウイルス学会, 東京, 2009 年 10 月.
- 41) 林昌宏, 高崎智彦, モイメンリン, 大松勉, 小滝徹, 倉根一郎. 東南アジアにおけるチクングニヤ熱疑似患者血清の病原体および血清学的解析. 第 57 回日本ウイルス学会, 東京, 2009 年 10 月.
- 42) 青山幾子, 弓指孝博, 高崎智彦, 林昌宏, 加瀬哲男, 高橋和郎. 日本脳炎患者およびワクチン接種者血清のウエストナイルウイルスに対する中和抗体の交差反応性. 第 56 回日本ウイルス学会, 東京, 2009 年 10 月.
- 43) 佐藤弘, 多屋馨子, 高崎智彦, 倉根一郎, 岡部信彦. 感染症流行事業予測調査事業担当者グループ. わが国におけるヒトおよびブタの日本脳炎抗体保有状況 (2008 年度感染症流行予測調査より). 第 13 回日本ワクチン学会, 札幌, 2009 年 9 月.
- 44) 高崎智彦. 輸入人畜共通感染症—新たに追加された 4 類感染症に注目する—. 第 68 回日本公衆衛生学会総会, 奈良, 2009 年 10 月.
- 45) 高崎智彦. 日本脳炎ウイルスの生態学—越冬の謎は解明されたか—, 大谷明先生記念セッション. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京 2009 年 10 月.
- 46) 水野泰孝, 氏家無限, 竹下望, 加藤康幸, 金川修三,

ウイルス第一部

工藤宏一郎, 林昌宏, 高崎智彦. 遷延する関節痛を主訴に来院したチクングニヤ熱の3例. 第58回日本感染症学会東日本地方会学術集会, 東京, 2009年10月.

47) 柴田紳一郎, 小平彩里, 林昌宏, 高崎智彦, 倉根一郎. デングウイルス診断検出法の検討. 第57回日本ウイルス学会, 東京, 2009年10月.

48) Fujii Y, Kitaura K, Matsutani T, Takasaki T, Ogata M, Suzuki S, Itoh T, Kurane I, Suzuki R. Global analysis and characterization of the T-cell receptor α chain(TRA) and β chain(TRB) sequences in the common marmoset(*Callithrix jacchus*). 第39回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 2009年12月.

49) 中道一生, 伊藤睦代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 脳脊髄液中のJCポリオーマウイルスを検出するためのリアルタイムPCR検査系の確立と進行性多巣性白質脳症(PML)の診断支援. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009年10月.

50) 中道一生, 伊藤睦代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 定位微量投与系を用いたマウスポリオーマウイルスの脳における持続感染様式の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009年10月.

51) 奴久妻聡一, 亀岡正典, 杉浦重樹, 中道一生, 奴久妻智代子, 三好勇夫, 竹上勉. HIV-1 TatによるArchetype JCウイルスの増殖促進. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009年10月.

52) 中道一生, 伊藤睦代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 脳脊髄液を用いたJCポリオーマウイルス遺伝子のリアルタイムPCR検査体制の整備と進行性多巣性白質脳症(PML)の診断支援. 第14回日本神経感染症学会総会学術集会, 宇都宮, 2009年10月.

53) 井上直樹, 神道慶子, 福井良子, 永野瑛子, 倉根一郎, 山口十四文. 水痘帯状疱疹ウイルス及びサイトメガロウイルスの前初期蛋白による転写活性化機能を阻害する抗

ウイルス化合物の解析. 第19回抗ウイルス療法研究会, 東京, 2009年5月.

54) 山田壮一, 野沢直樹, 片野晴隆, 福井良子, 津田美穂子, 筒井祥博, 倉根一郎, 井上直樹. ヒトサイトメガロウイルス(CMV)の弱毒化に関与する遺伝子群に相同性を有する, モルモットCMV 1.6kb ゲノム領域遺伝子群の解析. ヘルペスウイルス研究会, 静岡, 2009年6月.

55) 井上直樹, 古谷野伸, 山田壮一, 錫谷達夫, 倉根一郎. ゲノムタイプ解析から予想されるヒトサイトメガロウイルス株間での高頻度な相同組換え. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009年11月.

56) 山田壮一, 小杉伊三夫, 片野晴隆, 倉根一郎, 井上直樹. GFP組換えマウスサイトメガロウイルスを用いた *in vivo* imagingによる抗ヘルペスウイルス薬 *in vivo* 評価系の確立. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009年11月.

57) 井上直樹. 出生直後の自動ABRで発見された先天性サイトメガロウイルス感染症の1例(演者: 中島準也先生)に対する指定発言. 第570回日本小児科学会東京都地方会講話会, 東京, 2009年12月.

58) 安藤秀二, 黒澤昌啓, 坂田明子, 藤田博己, 矢野泰弘, 高野愛, 川端寛樹, 花岡希, 斉藤若奈, 岸本寿男. 仙台市で確認された新しい紅斑熱群リケッチア症. 第83日本感染症学会総会, 東京, 2009年4月.

59) 竹下望, 柳沢邦雄, 加藤康幸, 金川修造, 坂田明子, 安藤秀二, 岸本寿男, 照屋勝治, 菊池嘉, 岡慎一, 工藤宏一郎. インドネシアからの輸入症例と考えられる急性腎不全を伴った発疹熱の一例. 第83日本感染症学会総会, 東京, 2009年4月.

60) 井本一也, 大路剛, 山本舜悟, 細川直登, 岸本寿男, 安藤秀二, 坂田明子. 当院で経験した発疹熱(Murine Typhus)の症例. 第83日本感染症学会総会, 東京, 2009年4月.

- 61)大橋典男, 千屋誠造, 船戸豊彦, 塩尻正明, 高野愛, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本寿男. 国内初の新興感染症「ヒトアナプラズマ症」2症例について. 第83日本感染症学会総会, 東京, 2009年4月
- 62)山本徳栄, 近真理奈, 山口正則, 大山龍也, 藤田博己, 安藤秀二, 小川基彦, 岸本寿男. 埼玉県の野生化アライグマにおけるリケッチア類の保有状況調査-第一報. 第83日本感染症学会総会, 東京, 2009年4月
- 63)高田伸弘, 藤田博己, 安藤秀二, 川端寛樹, 矢野泰弘, 高野愛, 岸本壽男. 仙台市内河川敷にみるネズミ分布相の特性-広東住血線虫や紅斑熱感染環との絡み. 第61回日本衛生動物学会大会, 香川, 2009年4月
- 64)矢野泰弘, 高田伸弘, 岩崎博道, 藤田博己, 角坂照貴, 及川陽三郎, 田原研司, 山本正悟, 本田俊郎, 平良勝也, 岡野祥, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本壽男. 環東シナ海の島嶼に分布するツツガムシ, 疫学的な関連は?. 第61回日本衛生動物学会大会, 香川, 2009年4月
- 65)山内健生, 小原真弓, 渡辺護, 安藤秀二, 品川保弘, 長谷川澄代, 中村一哉, 滝澤剛則. 富山県産哺乳類に寄生していたマダニ類. 第61回日本衛生動物学会大会, 香川, 2009年4月
- 66)藤田博己, 大竹秀男, 矢野泰弘, 安藤秀二, 川端寛樹, 岸本壽男, 坂田明子, 高田伸弘. 宮城県で確認できたマダニとマダニ保有リケッチア. 第61回日本衛生動物学会大会, 香川, 2009年4月
- 67)藤田博己, 高田伸弘, 矢野泰弘, 馬原文彦, 川端寛樹, 安藤秀二, 岸本壽男, 坂田明子. 四国のマダニ類における紅斑熱群リケッチアの分離状況. 第61回日本衛生動物学会大会, 香川, 2009年4月
- 68)藤田博己, 安藤秀二. 北日本にみる新型都市型紅斑熱のベクター. 第17回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー. 福井県大野市, 2009年6月
- 69)安藤秀二. マダニ媒介感染症の野外調査について. 衛生微生物技術協議会第30回研究会, 大阪府堺市, 2009年7月
- 70)中野敏明, 衛藤光, 横田恭子, 古川恵一, 安藤秀二, 坂田明子. *R. africae*によるマダニ刺症の2例. 日本皮膚科学会関東支部会, 東京, 2009年7月
- 71)安藤秀二, 藤田博己, 坂田明子, 矢野泰弘, 大竹秀男, 及川陽三郎, 角坂照貴, 黒澤昌啓, 川端寛樹, 高田信弘. 仙台市での *Rickettsia heilongjiangensis* 感染症例の発見と保有マダニ調査. 第55回日本寄生虫学会・衛生動物学会北日本支部合同大会, 帯広, 2009年10月
- 72)伊東拓也, 高田伸弘, 及川陽三郎, 藤田博己, 坂田明子, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野愛. 日本北端地域におけるマダニ媒介性病原体の調査. 第55回日本寄生虫学会・衛生動物学会北日本支部合同大会, 帯広, 2009年10月
- 73)藤田博己, 高田伸弘, 及川陽三郎, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野愛, 坂田明子. 青森県における紅斑熱ベクター調査. 第55回日本寄生虫学会・衛生動物学会北日本支部合同大会, 帯広, 2009年10月
- 74)内山恒夫, 岸真帆美, 小川基彦. リケッチア Sca 外膜蛋白質発現大腸菌の種々の細胞への付着侵入能. 第57回日本ウイルス学会, 東京, 2009年10月
- 75)岸本寿男, 吉林台, 猪熊壽, 花岡希, 坂田明子, 小川基彦, 安藤秀二, 福士秀人, 大屋賢司, 野村彩朱, 矢野竹男. Q熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究. 第27回日本クラミジア研究会・第16回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009年11月
- 76)小川基彦, 大内史子, 萩原健一, 松谷峰之介, 内山恒夫. 病原性の異なる *Orientia tsutsugamushi* の発現タンパク質の2次元電気泳動による比較・解析-第一報-. 第27回日本クラミジア研究会・第16回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009年11月

77) 近真理奈, 山本徳栄, 安藤秀二. 埼玉県の野鳥におけるオウム病病原体の保有状況. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

78) 松谷峰之介, 東慶直, 小川基彦, 花岡希, 川端寛樹, 倉根一郎, 安藤秀二, 岸本寿男, 白井睦訓. 日本紅斑熱の原因菌 *Rickettsia japonica* の全ゲノム配列解析. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

79) 山本正悟, 安藤秀二, 岸本壽男. つつが虫病および日本紅斑熱の早期診断における刺口(痂皮)の有用性. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

80) 花岡希, 松谷峰之介, 川端寛樹, 山本正悟, 藤田博己, 坂田明子, 東慶直, 小川基彦, 岸本寿男, 白井睦訓, 倉根一郎, 安藤秀二. 病原性 *Rickettsia japonica* グループにおける特異的 ORF の同定と検出系への応用. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

81) 藤田博己, 高田伸弘, 矢野泰弘, 及川陽三郎, 川端寛樹, 安藤秀二, 坂田明子, 高野愛. 国内のキチマダニから分離された *Rickettsia canadensis* について. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

82) 小原真弓, 山内健生, 渡辺護, 安藤秀二, 石倉康宏, 品川保弘, 長谷川澄代, 中村一哉, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 倉田毅, 滝澤剛則. 富山県におけるマダニ類と保有リケッチア. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

83) 松本一俊, 松尾繁, 八尋俊輔, 原田誠也, 山本正悟, 安藤秀二. 熊本県における日本紅斑熱の発生状況とベクター. 第 27 回日本クラミジア研究会・第 16 回リケッチア研究会合同研究発表会, 東京, 2009 年 11 月

84) 平良勝也, 近藤章之, 岡野祥, 藤田博己, 角坂照貴, 高田信弘, 安藤秀二, 下地崇, 下地久代, 平良セツ子. 沖縄県宮古島で初めて確認されたつつが虫病. 第 41 回沖縄県公衆衛生学会, 沖縄, 2009 年 11 月

85) 山本正悟, 安藤秀二, 岸本寿男. つつが虫病および日本紅斑熱の早期診断における刺口(痂皮)の有用性. 第 79 回日本感染症学会西日本地方会学術集会, 福岡, 2009 年 11 月

86) 安藤秀二. 衛生行政における感染研の役割—ウイルス第一部第五室の事例より—. 人獣共通感染症とダニ関連感染症 in 奄美 2009 セミナー, 鹿児島県奄美市, 2009 年 12 月

87) 平良勝也, 近藤章之, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 安藤秀二, 他. 沖縄県宮古島で初めて確認されたつつが虫病. 平成 21 年度日本獣医師会学会年次大会日本獣医公衆衛生学会, 宮崎, 2010 年 1 月

88) 小川基彦, 大内史子, 萩原健一, 松谷峰之介, 内山恒夫. 病原性の異なる *Orientia tsutsugamushi* の発現タンパク質の 2 次元電気泳動による比較・解析. 第 83 回日本細菌学会総会, 横浜, 2010 年 3 月

89) 内山恒夫, 岸真帆美, 小川基彦. リケッチアの重感染. 第 83 回日本細菌学会総会, 横浜, 2010 年 3 月

90) 東慶直, 松谷峰之介, 花岡希, 小川基彦, 岸本寿男, 安藤秀二, 白井睦訓. 日本紅斑熱病原菌 *R. japonica* のゲノム解析. 第 83 回日本細菌学会総会, 横浜, 2010 年 3 月

91) 大屋賢司, 黒田誠, 関塚剛史, Meyers G, 岸本寿男, 安藤秀二, 福士秀人. オウム病クラミジア *Chlamydia psittaci* 日本分離株の全ゲノム配列決定. 第 83 回日本細菌学会総会, 横浜, 2010 年 3 月

ウイルス第一部