

1. 空腸特異的な cDNA の単離

今後、サブトラクションの結果得られたすべてのクローンについて、空腸 cDNA ライブラリーから完全長の cDNA を得、今回ライブラリーの導入発現に有用であることが示唆された MOLT-4、Jurkat、U937、P388 いずれかに導入し、導入細胞がウイルス結合活性を獲得するかどうか調べる。

2. ノロウイルスが吸着しない細胞の同定

ノロウイルスが付着性の細胞株に吸着することは他のグループによる報告と一致する。これに対して、これまで検討されてこなかった浮遊性の細胞株にはほとんど吸着しないことが明らかになった。今後、Expression cloning (前述) に用いるとともに、サブトラクションの結果得られたクローンのこれら細胞株における発現量を RT-PCR により検討し、ウイルスの吸着する細胞での発現量と比較する。

3. ノロウイルスの吸着する細胞と吸着しない細胞上の表面分子発現量の比較

今回、MT-2 で発現の高い分子が 43 選択されてきた。しかし、この中にサブトラクションで得られた 25 種類のクローンは含まれず、今回はレセプター分子を絞り込むことは出来なかつ

た。今後、この 43 種類の細胞表面分子中にノロウイルスの吸着に参与する分子が含まれていないかを検討する。具体的には、それぞれの表面分子に対する抗体を用いてウイルス結合の阻害効果を検討する。

E. 結論

ノロウイルスの細胞への吸着については多くの報告があり、*in vitro* においては細胞株の由来する動物種、臓器にかかわらず、ほとんど全ての培養細胞に吸着することが知られている。レセプターについては報告するグループにより結果が異なり、細胞表面の 105kDa のタンパクが結合因子ではないかとする報告が 2000 年に、糖鎖ではないかとする報告が 2002 年になされており、結論が出ていない。また、いずれの因子もヒト小腸特異的に発現されるものでなく、ノロウイルスの小腸特異性を説明し得てない。今回、サブトラクションの結果得られた 25 の空腸特異的なクローンの解析により、ノロウイルスの組織特異性を明らかに出来るものと期待される。また、ウイルスが吸着しない細胞の同定、その性状解析もレセプター因子の解明につながるものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H.,

Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., and Takeda, N., : Phylogenic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology* , 299(2), 225-239(2002).

2. 学会発表

- (1) 白土（堀越）東子、片山和彦、田村克、名取克郎、岡智一郎、武田直和、宮村達男「ノーウォーク様ウイルスの組織特異性を決定する因子の検討」第50回日本ウイルス学会学術集会総会、2002年10月16-18日、札幌
- (2) 片山和彦、白土（堀越）東子、岡智一郎、小嶋慈之、影山努、福士秀悦、武田直和、宮村達男「Norwalk-like virus

の Full-length cDNA クローンを用いた複製機構の解析」第50回日本ウイルス学会学術集会総会（同上）

- (3) 影山努、小嶋慈之、高井玲子、星野文則、福士秀悦、白土東子、岡智一郎、片山和彦、武田直和「Norwalk-like viruses を genogroup 特異的に認識するモノクローナル抗体の作製」第50回日本ウイルス学会学術集会総会（同上）

- (4) 松原尚子、片山和彦、白土東子、岡智一郎、小川智子、武田直和、浜野国勝、福士秀悦、小嶋慈之、影山努、高井玲子、星野文則、宮村達男「バキュロウイルス発現系を用いた Norwalk-like viruses タンパク質の発現」第25回日本分子生物学会年会、2002年12月11-14日、横浜

研究成果の刊行に関する一覧表

1. Utagawa ET, Nakazawa E, Matsuo K, Oishi I, Takeda N, Miyamura T: Application of an automated specimen search system installed in a transmission electron microscope for the detection of caliciviruses in clinical specimens. *J. Virol. Methods* 2002;100: 49-56.
2. Someya Y, Takeda N, Miyamura T: Identification of Active-Site Amino Acid Residues in the Chiba Virus 3C-Like Protease. *J. Virol.* 2002;76: 5949-5958.
3. Sheikh S, Sugitani M, Kinukawa N, Moriyama M, Arikawa Y, Komiyama K, Li T-C, Takeda N, Ishaque SM, Hasan M, Suzuki K: Hepatitis E virus infection in fulminant hepatitis patients and apparently healthy population in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg* 2002;66: 721-724.
4. Niikura M, Takamura S, Kim G, Kawai S, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Li T-C, Takeda N, Yasutomi Y: Chimeric recombinant hepatitis E virus-like particles as an oral vaccine vehicle presenting foreign epitopes. *Virology* 2002;293: 273-280.
5. Kojima S, Kageyama T, Fukushi S, Hoshino FB, Shinihara M, Uchida K, Natori K, Takeda N, Katayama K: Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J Virol Methods* 2002;100: 107-114.
6. Kitamoto N, Tanaka T, Natori K, Takeda N, Nakata S, Jiang X, Estes MK: Cross-reactivity among several recombinant calicivirus virus-like particles (VLPs) with monoclonal antibodies obtained from mice immunized orally with one type of VLP. *J. Clin. Microbiol.* 2002;40: 2459-2465.
7. Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino FB, Fukushi S, Shinohara M, Uchida K, Suzuki Y, Gojobori T, Takeda N: Phylogenetic Analysis of the Complete Genome of 18 Norwalk-like Viruses. *Virology* 2002;299: 225-239.
8. Ishko H, Shimada Y, Yanoha M, Hashimoto O, Hayashi A, Sakae K, Takeda N: Molecular diagnosis of human enteroviruses by phylogeny-based classification using the VP4 sequence. *J. Infect. Dis.* 2002;185: 744-754.

9. Ishiko H, Miura R, Shimada Y, Hayashi A, Yamazaki S, Takeda N: Human rhinovirus 87 identified as human enterovirus 68 by VP4-based molecular diagnosis. *Intervirology* 2002;45: 136-141.
10. Doan LT, Okitsu S, Nishio O, Pham DT, Nguyen DH, Ushijima H. :Epidemiological features of rotavirus infection among hospitalized children with gastroenteritis in Ho Chi Ming City, Vietnam. *J Med. Virol.* 2003, 69:588-94.
11. Higo-Moriguchi K, Akahori Y, Iba Y, Kurosawa Y, and Taniguchi K. : Cross-reactive neutralizing monoclonal antibodies against human rotavirus recovered from phage-display library. (Submitted for publication)
12. Sasaki J, Taniguchi K: The 5' -end sequence of the genome of Aichi virus, a picornavirus, contains an element critical for viral RNA encapsidation. *J Virol* 77:3542-3548, 2003
13. Adah MI, Wade A, Oseto M, Kuzuya K and Taniguchi K: First detection of human group C rotaviruses in Nigeria and sequence analysis of their genes encoding VP4, VP6 and VP7 proteins. *J Med. Virol* 66:269-275, 2002
14. Pongsuwanna Y, Guntapong R, Chiwakul M, Tacharoenmuang R, Onvimala N, Wakuda M, Kobayashi N and Taniguchi K: Detection of a human rotavirus with G12 and P [9] specificity in Thailand. *J. Clin. Microbiol.* 40:13390-13394, 2002.
15. Adah M. I. Abel W., Oseto M., Kuzuya K., and Taniguchi K. : First detection of human group C rotaviruses in Nigeria and sequence analysis of their genes encoding VP4, VP6 and VP7 proteins. *J. Med. Virol.*, 66:269-275, 2002
16. Takahashi K, Ohashi K, Abe Y, Mori S, Taniguchi K, Ebina T, Nakagomi O, Terada M, and Shigeta S. : Protective Efficacy of a Sulfated Sialyl Lipid (NMSO3) against Human Rotavirus-Induced Diarrhea in a Mouse Model. *Antimicrob Agents Chemother.* 46:420-424, 2002
17. 田中智之、斎藤博之、原 みゆき、東方美保、武田直和. 嘔吐下痢症の対応と予防. *健* 2003, 2, 42-44.
18. 内野清子、岩上泰雄、田中智之. モノクローナル抗体による免疫学的検出法. *日本臨床* 2002. 60 (6), 1188-1193

19. 近藤玲子、山下育孝、吉田紀美、大瀬戸光明、浅井忠男、井上博雄、西尾治、秋山美穂：愛媛県において10月から流行したノーウォークウイルス様ウイルス胃腸炎。病原微生物検出情報、24：9-10（2003）
20. 西尾 治、加藤由美子：PCR産物のマイクロプレートハイブリダイゼーションによるノーウォークウイルスの確認および遺伝子型別について、日本臨床、2002
21. 古田敏彦、竹内寛行、東谷市郎、西尾 治：大アサリの喫食を原因とするノーウォーク様ウイルスとA型肝炎ウイルスによる食中毒事例—浜松市、病原微生物検出情報、23、119-120、2002
22. 西尾 治、秋山美穂、長谷川斐子、古屋由美子、大瀬戸光明、杉枝正明：輸入生鮮魚介類からのA型肝炎ウイルス検出状況、病原微生物検出情報、23、274-275、2002
23. 入谷展弘、勢戸祥介、春木孝裕、川本尋義、西尾 治、久保英幸、村上 司、蓑城昇次、瀧野 薫、小倉 壽：河川水からのNorwalk virusの検出、生活衛生、46、137-143、2002
24. 入谷展弘、勢戸祥介、春木孝裕、西尾 治、久保英幸、村上 司、蓑城昇次、瀧野 薫、綾田 稔、小倉 壽：リアルタイムPCR法を用いたNorwalk virus検出法の評価、大阪市立環境科学研究所報告、64、6-10、2002
25. 西尾 治、新川奈緒美：ノーウォーク様ウイルスによる集団発生、日本医事新報No. 4105、5-9、2002
26. 西尾 治、西 香南子、福田伸治、西田知子、篠原美千代、沖村容子、新川奈緒美、杉枝正明、古屋由美子、大瀬戸光明、鈴木 宏：ウイルス性食中毒の病因、臨床とウイルス、31：（1）、2003 印刷中
27. 古田俊彦、秋山美穂、加藤由美子、西尾 治：ノロウイルス（ノーウォークウイルス）とA型肝炎ウイルスに汚染されたウチムラサキ貝による食中毒事例、感染症学雑誌、77（2）、89-94、2003
28. 福田美和、川田一伸、矢野拓也、杉山 明、中山 治、西尾 治、関根大正、櫻井悠朗：養殖カキのウイルス浄化試験、感染症学雑誌、77:2、95-102、2003
29. 名取克郎 「組換え抗原を用いた血清診断」 日本臨床；60、2002年
30. 片山和彦：ノーウォークウイルス診断法の進歩。ワールドフォーカス No. 43 p1-2, 2003

31. 片山和彦：新世紀の感染症学：カリシウイルス. 日本臨牀 p468- 474, 2003.
32. 白土東子、片山和彦：新世紀の感染症学：ノロウイルス. 日本臨牀 p475-479, 2003.

20020623

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.80-P.83の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。