

200628002A

厚生労働科学研究費

新興・再興感染症研究事業

野生げっ歯類及び節足動物に由来する感染症の
診断、疫学及び予防に関する研究

平成 18 年度 総括研究報告書

主任研究者 高島郁夫

北海道大学大学院獣医学研究科

平成 19 (2007) 年 3 月

目次

I. 総括研究報告

- 野生げっ歯類及び節足動物に由来する感染症の診断、疫学及び予防に関する研究 1
高島郁夫

II. 分担者研究報告

1. ハンタウイルス感染症の疫学的研究 8
荻和宏明
2. ハンタウイルス感染症の診断法 13
有川二郎
3. Q熱の診断と疫学 19
福士秀人
4. わが国の野鼠における *Bartonella* 属菌とアライグマにおけるエーリキア・アナプラズマ感染状況 21
丸山総一
5. エルシニア感染症の疫学
病原性 *Yersinia* の感染防御抗原の特定ならびに免疫磁気ビーズ法による
検出法に関する研究 25
林谷秀樹
6. バベシア感染症の診断法の開発と疫学 30
辻 正義
7. ダニ媒介性脳炎ウイルスの病原性 33
岩崎琢也
8. 回帰熱の診断と疫学 35
福長将仁

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 40

IV. 研究成果の刊行物・印刷 41

総括研究報告書

野生げっ歯類及び節足動物に由来する感染症の診断、疫学
及び予防に関する研究

主任研究者 高島郁夫 北海道大学大学院獣医学研究科 教授

研究要旨

ダニ媒介性脳炎の準ウイルス様粒子を用いて人用の IgG-ELISA および IgM-ELISA による感度と特異性に優れた血清診断法の開発を行った。さらにダニ媒介性脳炎ウイルスのマウス感染モデルで接種経路による発症の違いを検討した。ハンタウイルスの流行型を血清学的に鑑別する ELISA を開発した。ロシアのボルガ川流域およびアジア諸国(タイ、インドネシア、ベトナム、インド、韓国)において疫学調査を実施しハンタウイルス感染症の病原巢の野生げっ歯類の種類と流行ウイルス型を特定した。Q 熱のネコにおける抗体調査を実施し高い抗体陽性率を確認した。*Bartonella* 感染症の国内での野生げっ歯類における疫学調査を実施し、アカネズミ(62%、83/153)、ヒメネズミ(50%、73/121)が陽性であることを明らかにした。エゾリスが *B.microti* 様原虫を保有していることを明らかにした。回帰熱ボレリアの抗原蛋白遺伝子 3 種をクローン化して大量発現に成功し、3D 構造を明らかにした。

研究分担者

苅和宏明・北海道大学・助教授
有川二郎・北海道大学・教授
福士秀人・岐阜大学・教授
丸山総一・日本大学・教授
林谷秀樹・東京農工大学・助教授
岩崎琢也・東京都神経科学総合研究所・
客員研究員
辻 正義・酪農学園大学・教授
福長将仁・福山大学・教

内で確認されている。これら 6 種の感染症については全国的な疫学調査が実施されていないため、汚染地や実際の患者数も不明のままである。海外ではダニ媒介性脳炎はロシアを中心にユーラシア大陸で毎年 10,000 人前後の患者発生があり、また新種のハンタウイルス性肺症候群の流行が北米、南米の諸国で発生し、これらの流行地へ渡航する日本人の感染が懸念されている。また日本へは毎年海外から 70 万匹以上のげっ歯類が輸入され、感染症の検査なしに愛玩動物として一般家庭で飼育されているため、そこで上記 6 種の感染症につき、精度の高い診断法を確立し、疫学調査を実施して国内汚染地の特定とヒトにおける感染状況の解明に努める。輸入げっ歯類について抗体調査と病原体分離の成績をもとに、リスクアナリシスを行い、検査体制を整える。また海外においても調査を実施し、疫学情報の収集と病原体分離を行う。新規ワクチン(ダニ媒介性脳炎)を開発するため、ウイル

A. 研究目的

国内ではダニ媒介性脳炎の患者が発見され、原因ウイルスが分離された。またハンタウイルス抗体陽性者、バベシア症患者、Q 熱患者、エルシニア感染症患者およびボレリア感染症患者が国

スの病原性の分子基盤を解明する。

B. 研究方法

ダニ媒介性脳炎ウイルス準ウイルス様粒子を用いたヒト用の IgG-、IgM-ELISA による血清診断法を開発する。ハンタウイルスの遺伝子組み換え技術により作出した抗原を用いた迅速で特異性の高い血清診断法を開発する。これを用いたハンタウイルス感染症の国内および国外での疫学調査を実施し、ウイルスを分離して遺伝子性状と抗原性を調べる。Coxsackievirus を培養細胞に接種し、診断用抗原として蛍光抗体法を開発する。国内の野生げっ歯類から *Bartonella* 属菌を分離し、遺伝子性状を調べる。エルシニア感染症の迅速な遺伝子診断法を開発し疫学調査を実施する。バベシア症の疫学調査を日本国内およびユーラシア大陸各地で行い病原体の型別を行う。回帰熱ボレリアの菌体表層蛋白の一種 VmpP 遺伝子をクローニングし発現タンパクにおいてエピトープを特定し、立体構造を解明する。

(倫理面への配慮)

ヒトの血清と剖検材料の採取はインフォームドコンセントに基づき行い、成績の公表は氏名を伏せて実施する。本研究における動物実験は各研究機関に属する動物委員会に計画を申請し、承認を得た後に実施する。ウイルスを用いた実験は P-3 実験室において行う。

C. 研究結果

ダニ媒介性脳炎(TBE): 北海道で分離された TBE ウイルス Oshima 株の準ウイルス様粒子を用いてヒト用の ELISA による血清診断法を開発した。IgG-ELISA は敏感度 98.8%(82/83)、特異

度 100%(12/12)を示した。IgM- ELISA では中和試験陽性の 17 検体のうち 16 検体が陽性であり、さらに中和試験で判定不能の 15 検体のうち 11 検体を陽性と判定できた。

ハンタウイルス感染症: ロシアボルガ川流域のサマラ市郊外の森林において 145 匹の野生げっ歯類を捕獲し抗体調査を実施したところ、ヨーロッパヤチネズミのみ陽性例(6/68、8.8%)が認められた。RTPCR によってウイルス遺伝子が検出され(7/68)、S 遺伝子の塩基配列の調査の結果、本ウイルスはプーマラ型であることが判明した。

Q 熱: 間接蛍光抗体法により 43 自治体の動物病院のネコについて抗体検出を行った。抗体価 16 倍以上の陽性例は 12.6%(90/74)であった。

Bartonella 感染症: 今回調査した野生げっ歯類のうち、アカネズミの *Bartonella* 感染率は、62%(83/153)、ヒメネズミの感染率は 50%(4/8)、エゾヤチネズミは 23.5%(4/17)であった。これらのうち人に対して病原性のある *B.grahamii* がアカネズミとヒメネズミから高率に分離された。

エルシニア感染症:

バベシア症: 北海道野幌原始林の近くで交通事故で死亡した 6 匹のエゾリスから *Babesia microti* 様原虫の遺伝子が PCR により増殖された。この遺伝子の塩基配列を決定し、これまで公表されているデータと比較したところ、本原虫は米国型の *B. microti* に最も近縁であることが判明した。

回帰熱: *Borelia duttonii* の回帰初期に出現する抗原蛋白 VlpP の 3D 構造の解析に成功し、立体構造では長い 4 本と短い 1 本の 2 らせんとそれらを結ぶループ構造からなり、二量体の蛋白質であった。

D. 考察

ダニ媒介性脳炎: 1993年北海道上磯町で日本で初めてダニ媒介性脳炎(TBE)の患者が発見された。その後の我々の疫学調査で原因のTBEウイルス Oshima 株が患者発生地区のおとりのイヌから分離された。そのため、国内におけるTBEのヒトにおける感染状況を調査する必要がある課題となっている。ヒトの感染状況を明らかにするための血清疫学調査において今回開発したIgG-, IgM-ELISAは有用と考えられる。

ハンタウイルス感染症: サマラのヨーロッパヤチネズミから検出されたウイルスはプーマラウイルスであることがあきらかとなった。さらにウイルス遺伝子の系統樹からもサマラのウイルスは北欧のプーマラウイルスとは遺伝子学的にかなり離れていることが判明し、またサマラではヨーロッパヤチネズミからプーマラウイルスがヒトに感染していることが明らかとなった。

Q熱: ネコについての抗体検査の結果は、16倍以上の陽性検体は12.6%(90/714)検出された。この抗体保有率は従来の成績とほぼ同じであり、ネコがQ熱の病原巣動物として今後も監視し、注意して飼育する必要があると考えられた。

Bartonella 感染症: アカネズミとヒメネズミが保有している菌は*B.grahamii*であり、本菌は人に視神経網膜炎の原因となるため、今後アカネズミとヒメネズミから本菌のヒトへの感染を監視する必要がある。

バベシア症: 北海道のエゾリスが*B.microti*様原虫を保有しており、さらにこれが人のバベシア症の主な原因となっている米国型*B.microti*に最も近縁な遺伝子配列を示したので今後、エゾリ

スをヒトのバベシア症の病原巣動物として監視する必要がある。

回帰熱ボレリア: 今回回帰熱ボレリアの感染に重要な抗原vlpPの3D構造があきらかとなったことから、この情報を感染防御のためのワクチンの開発のための応用が期待される。

E. 結論

ダニ媒介性脳炎の精度の高い診断法が開発され、ハンタウイルス感染症、Q熱、バルトネラ感染症、バベシア感染症、エルシニア感染症、ボレリア感染症の国内外における病原巣動物における疫学情報が収集された。

F. 健康危険情報

1) ロシアのボルガ川流域の腎症候性出血熱多発地帯ではヨーロッパヤチネズミが病原巣となり、プーマラウイルス感染によって腎症候性出血熱の流行が起きている。

2) 国内に生息するアカネズミとヒメネズミがヒトに視神経網膜炎を起す*Bartonella grahamii*を保有している。

3) 北海道のエゾリスが*Babesia microti*様原虫を保有している。

研究発表

1. 論文発表

1) Obara, M., Yoshii, K., Kawata, T., Hayasaka, D., Goto, A., Mizutani, T., Kariwa, H., and Takashima, I.: Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of tick-borne encephalitis using subviral particles. *J. Virol. Methods.* 134:55-60, 2006

- 2) Baek, L.J., Kariwa, H., Lokugamage, K., Yoshimatsu, K., Arikawa, J., Takashima, I., Kang, J.I., Moon, S.S., Chung, S.Y., Kim, E.J., Kang, H.J., Song, K.J., Klein, T.A., Yanagihara, R., and Song J.W.: Soochong virus: an antigenically and genetically distinct hantavirus isolated from Apodemus peninsulae in Korea. *J. Med. Virol.* 78:290–297, 2006
- 3) 荻和宏明、谷川洋一、萩谷友洋、Lokugamage, K., Lokugamage, N., Nur Hardy Bin Abu Daud, 好井健太郎、高島郁夫: 齧歯類とハンタウイルス感染症. *獣医畜産新報*, 59:633–638, 2006
- 4) Pattamadilok, S., Lee, B. H., Kumperasart, S., Yoshimatsu, K., Okumura, M., Nakamura, I., Araki, K., Khoprasert, Y., Dangsupa, P., Panlar, P., Jandrig, B., Kruger, D. H., Klempa, B., Jakel, T., Schmidt, J., Ulrich R., Kariwa, H. and Arikawa, J.: Geographical distribution of hantaviruses in Thailand and potential human health significance of Thailand virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 75: 994–1002, 2006
- 5) Okumura, M., Yoshimatsu, K., Kumperasart, S., Nakamura, I., Ogino, M., Taruishi, M., Sungdee, A., Pattamadilok, S., Ibrahim, I. N., Erlina, S., Agui, T., Yanagihara, R. and Arikawa, J.: Development of Serological Assays for Thottapalayam Virus, an Insectivore-Borne Hantavirus. *Clin. Vac. Immunol.* 2007: in press.
- 6) Lee, B. H., Yoshimatsu, K., Araki, K., Okumura, M., Nakamura, I., Arikawa, J.: A pseudotype vesicular stomatitis virus containing Hantaan virus envelope glycoproteins G1 and G2 as an alternative to hantavirus vaccine in mice. *Vaccine* 24: 2928–34, 2006
- 7) Kabeya, H., Yamasaki, A., Ikariya, M., Negishi, R., Chomel, B. B., and Maruyama, S.: Characterization of Th1 activation by *Bartonella henselae* stimulation in BALB/c mice: Inhibitory activities of interleukin-10 for the production of interferon- γ in spleen cells. *Vet. Microbiol.* 119: 290–296, 2007.
- 8) Li, W., Chomel, B., Maruyama, S., Guptil, L., Sander, A., Raoult, D. and Fournier, P-E.: Multi-spacer typing to study the genotypic distribution of *Bartonella henselae* populations. *J. Clin. Microbiol.* 47: 2499–2506, 2006.
- 9) Inokuma H, Makino T, Kabeya H, Nogami S, Fujita H, Asano M, Inoue S, Maruyama S. Serological survey of *Ehrlichia* and *Anaplasma* infection of feral raccoons (*Procyon lotor*) in Kanagawa Prefecture, Japan. *Vet Parasitol.* in press 2007
- 10) 岩田剛敏, 宇根有美, Alexandre Tomomitsu Okatani, 加藤行男, 中臺文, 林谷秀樹: サルから分離された *Yersinia pseudotuberculosis* の病原性状. *獣畜新報* 59: 300–301, 2006.
- 11) Koujitani E., Horisaka T., Okatani A.T., Nomura Y., Iwata T., Hara-Kudo Y., Kumagai S. and Hayashidani H.: Immuno-magnetic separation and agar layer methods for the isolation of Freeze-Injured *Yersinia enterocolitica* O:8 from Water. *J.Vet.Med.Sci.* 68, 195–199, 2006.
- 12) Tsuji, M., Zamato, A., Kawabuchi, T., Kataoka, T., Nakajima, R., Asakawa, M., Ishihara, C. Babesia microti-like parasites in Eurasian red squirrels (*Sciurus vulgaris orientis*) in

- Hokkaido, Japan. J. Vet. Med. Sci. 68: 643-646, 2006
- 12) Tabuchi, N., Tomodo, K., Kawaguchi, H., Iwamoto, H. and Fukunaga, M. : Immunodominant epitope in the C-terminus of a variable major protein in *Borrelia duttonii*, an agent of tick-borne relapsing fever. Microbiol. Immunol. 50 : 293-305, 2006.
- 13) Shao, R., Barke, S.C., Mitani, H., Takahashi, M. and Fukunaga, M. : Molecular mechanisms for the variation of mitochondrial gene content and gene arrangement among chigger mites of the genus *Leptotrombidium* (Acari: Acariformes). J. Mol. Evol. 63 : 251-261, 2006.
2. 学会発表
- 1) 好井健太郎、後藤明子、小原真弓、川上和江、伊川綾江、苅和宏明、高島郁夫: ウイルス様粒子を用いたフラビウイルスの粒子形成機構の改正、および診断法・予防法への応用: 第 141 回日本獣医学会、つくば(2006, 3)
- 2) 苅和宏明、Lokugamage, N., 谷川洋一、萩谷友洋、Lokugamage, K., 吉松組子、有川二郎、高島郁夫: タイリクヤチネズミに保有されるハンタウイルスの分離の試み: 第 141 回日本獣医学会、つくば(2006, 3)
- 3) 好井健太郎、小原真弓、後藤明子、苅和宏明、高島郁夫: ダニ媒介性脳炎ウイルスのウイルス様粒子を用いた ELISA 法による血清疫学的診断法の開発 : 第 54 回日本ウイルス学会、名古屋(2006, 11)
- 4) Yoshii, K., Goto, A., Obara, M., Kawakami, K., Kariwa, H., and Takashima, I.: Involvement of conserved region of flavivirus prM protein in virus particle budding. 40th Joint Working Conference on Viral Diseases, Sendai, (2006, 7)
- 5) Kariwa, H., Tanikawa, Y., Nur Hardy A.D., Yoshii, K., Yoshimatsu, K., Arikawa, J., Takashima, I.: Establishment of animal model for Puumala virus infection in Syrian hamsters. 40th Joint Working Conference on Viral Diseases, Sendai, (2006, 7)
- 6) 吉松組子、奥村恵、垂石みどり、中村一郎、有川二郎: クマネズミ(*Rattus rattus*)由来ハンタウイルス: 第54回日本ウイルス学会学術集会、名古屋 (2006.11)
- 7) 垂石みどり、吉松組子、荒木幸一、奥村恵、中村一郎、梶野喜一、有川二郎: ハンタウイルス持続感染モデルマウスにおけるウイルス特異的 T 細胞の解析: 第54回日本ウイルス学会学術集会、名古屋 (2006.11)
- 8) 奥村恵、吉松組子、垂石みどり、中村一郎、有川二郎: TULA 型ハンタウイルス鑑別診断系の作成と PUU 型との抗原性比較: 第54回日本ウイルス学会学術集会、名古屋 (2006.11)
- 9) Yoshimatsu, K. Okumura, M. Nakamura, I., Taruishi, M. Pattamadilok, S. Kumperasart, S., Chandu, S., Sridharan, G., Ibrahim, I. N., Erlina, S., Truong, N. and ARIKAWA, J.: Prevalence of hantavirus antibody in humans and rodents in southeast asia: U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program 40th Joint Working Conference on Viral Diseases. Sendai (2006, 7)
- 10) Ibrahim IN, Erlina S, Sumarno, Ariati Y, Yoshimatsu K, Arikawa J: Rodents, Shrews,

- Ektoparasites and Diseases at Thousand Islands District, Jakarta Province, Indonesia: 3rd International Conference on Rodent Biology and Management. Hanoi (2006, Aug 28 – Sep 1)
- 11) Rost S, Pelz HJ, Bajomi D, León V, Yoshimatsu K, Song KJ, Mueller CR: Novel sequence variants of the VKORC1 gene in rodents from potential warfarin-resistance areas in Europe, East-Asia and both Americas.: 3rd International Conference on Rodent Biology and Management. Hanoi (2006, Aug 28 – Sep 1)
- 12) Yoshimatsu K, Okumura M, Nakamura I, Taruishi M, Pattamadilok S, Kumperasart S, Chandy S, Sridharan G, Ibrahim IN, Erlina S, Truong N, Arikawa J: Prevalence of hantavirus antibody in humans and rodents in southeast asia: 3rd International Conference on Rodent Biology and Management. Hanoi (2006, Aug 28 – Sep 1)
- 13) 井上 快, 丸山総一, 壁谷英則, 瀧川裕一郎, 谷原 光, 佐藤雪太, 川森文彦, 増澤俊幸, 角坂照貴, 高田伸弘, 藤田博己, 川端寛樹: わが国の *Rattus* 属の齧歯類における *Bartonella* 属菌の分布. 第142回日本獣医学会, 山口(2006, 9)
- 14) Inoue, K., Maruyama, S., Kabeya, H., Yamada, N., Sato, Y., Yukawa, M., Ohashi, O., Masuzawa, T., Kawamori, F., Kadosaka, T., Takada, N., Fujita, H., Koizumi, N., and Kawabata, H. Prevalence of *Bartonella* species among wild rodents in Japan and the genetical typing of the isolates. Joint Meeting American Society of Rickettsiology (2006, 9, USA).
- 15) Kabeya, H. and Maruyama, S. Cytokine production profiles in the experimentally *Bartonella henselae* infected cats. Joint Meeting American Society of Rickettsiology (2006, 9, USA).
- 16) Maruyama, S. and Kabeya, H. Situation of *Bartonella* infection in Japan: from humans to rodents. Symposium on Bartonellae as emerging zoonoses and emerging pathogens.(2006, 9. School of Veterinary Medicine, UC Davis and the WHO/PAHO collaborating center on new emerging zoonoses)
- 17) Iwata, T., Une, Y., Okatani, A. T., Kato, Y., Nakadai, A., Hirota, Y., and Hayashidani, H. Virulence characteristics of *Yersinia pseudotuberculosis* isolated from breeding monkeys in Japan. 9th International Congress on *Yersinia*. Kentucky (2006.10)
- 18) Tabuchi, N., Tomoda, T., Kawaguchi, H., Iwamoto, H., Fukunaga, M. : Immunodominant Epitope in the C-terminus of a Variable Major Protein in *Borrelia duttonii*, an Agent of Tick-Borne Relapsing Fever : 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress. Kyoto (2006. 6)
- 19) 三谷春美、高橋守、増山真佐子、福長将仁 : ダニのミトコンドリア遺伝子解析 : 第14回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー、青森 (2006. 6)

- 20) 湯浅伸輔、三谷春美、高橋守、増山真佐子、
福長将仁 : *Leptotrombidium*属ダニは2系統に
分岐する : 第14回ダニと疾患のインターフェイ
スに関するセミナー、青森 (2006. 6)
- 21) 田淵紀彦、福長将仁 : 環境変化における
回帰熱ボレリア *Borrelia duttonii* の differential
display解析 : 第18回微生物シンポジウム、岡
山 (2006. 9)
- 22) 湯浅伸輔、三谷春美、高橋守、福長将仁 :
ミトコンドリア遺伝子構成比較によるツツガム
シの系統解析 : 第15回日本ダニ学会大会、
福山 (2006, 10)
- 23) 田淵紀彦、片柳克夫、川口博史、福長将
仁 : *Borrelia turicatae* VspE の同定および構
造解析 : 第45回日本薬学会中国四国支部学
術大会、広島 (2006, 10)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

野生齧歯類及び節足動物に由来する感染症の予防、診断及び疫学に関する研究

ハンタウイルス感染症の疫学的研究

分担研究者 苅和宏明 北海道大学大学院獣医学研究科 助教授

研究要旨

ハンタウイルスはげっ歯類を病原巣動物として自然界に分布し、人が感染すると腎症候性出血熱(HFRS)やハンタウイルス肺症候群(HPS)などの重篤な疾病を引き起こす。日本においてはドブネズミと北海道のエゾヤチネズミがハンタウイルスの病原巣動物となっているが、20年以上もHFRSの発生はみられていない。一方、ロシアにおいては極東地区でセスジネズミやハントウアカネズミなどによって媒介される重症型のHFRSが流行している。また、同じロシアでもウラル山脈の西側では比較的軽症型のHFRSが流行している。特にボルガ川流域では年間6,000から8,000名ものHFRS患者の発生が報告されており、ロシア国内で最も患者発生数の多い地域となっている。しかしながら、この地域におけるHFRSの媒介動物は明らかにされておらず、ハンタウイルスの疫学的調査の実施が望まれていた。そこで、ボルガ川中流域の中核都市であるサマラ市において、げっ歯類の疫学調査を行い、ハンタウイルスの感染状況の解明を試みた。サマラ市郊外の森林において145匹の野生げっ歯類を捕獲し、血液、肺、腎臓、脾臓、肝臓を採取した。血清中の抗ハンタウイルス抗体をELISAにて測定したところ、ヨーロッパヤチネズミでのみ陽性例が6例(8.8%)認められた。ヨーロッパヤチネズミの肺からRT-PCRによりウイルス遺伝子を増幅し、塩基配列の決定を行ったところ、本ウイルスはPuumala型のハンタウイルスであることが明らかになった。以上のことから、ロシアのボルガ川流域のHFRS多発地帯ではヨーロッパヤチネズミが病原巣動物となり、PUUVの感染によって患者発生が起きていることが強く示唆された。

A. 研究目的

ハンタウイルスはげっ歯類を自然宿主とする、マイナス一本鎖のRNAウイルスで、Hantaan型、Seoul型、Puumala型など20種類以上のウイルス型の存在が知られている。本ウイルスは人に感染すると腎症候性

出血熱(HFRS)やハンタウイルス肺症候群(HPS)などの重篤な疾患を引き起こす。ロシアのボルガ川流域では年間6,000から8,000名ものHFRS患者の発生が報告されており、ロシア国内で最も患者発生数の多い

地域となっている。しかしながら、この地域における HFRS の媒介動物は明らかにされておらず、ハンタウイルスの疫学的調査の実施が望まれていた。そこで、ボルガ川中流域の中核都市であるサマラ市において、げっ歯類の疫学調査を行い、ハンタウイルスの感染状況の解明を試みた。

B. 研究方法

1. げっ歯類の疫学調査

サマラ市郊外の森林において 145 匹の野生げっ歯類を捕獲し、血液、肺、腎臓、脾臓、肝臓を採取した。採取した臓器は使用時まで-80C で保存し、血清はハンタウイルスの抗体検査時まで-40 Cで保存した。

2. ELISA による抗体検出

北海道のエゾヤチネズミから検出されたハンタウイルスのヌクレオキャプシド (NP)を大腸菌で発現させたものを抗原として ELISA を実施した。抗原をコートした 96 穴プレートをカゼインでブロッキングし、さらにげっ歯類の血清をアプライした。抗体の検出はペルオキシダーゼ標識プロテイン G を用いた。

3. PCR

ハンタウイルスの S 遺伝子を標的として PCR を行った。RNA の抽出は型のごとく行い、逆転写反応を行った後、Platinum Taq Polymerase を用いてウイルス遺伝子の増幅を行った。増幅された PCR 産物はそのまま塩基配列決定のための鋳型に用いた。

4. ウイルス遺伝子の解析

検出されたウイルスの S 遺伝子について、ほぼ全長 (62-180nt) の塩基配列を決定し、Clustal X により多重解析を行って

系統樹を作成した。

(倫理面からの配慮について)

今回の調査ではロシア国内でげっ歯類の捕獲を行った。本調査はロシア国内の野生動物保護および福祉の理念に基づいて、申請され、許可されたものである。

C. 研究結果および考察

サマラ市郊外の森林において 145 匹の野生げっ歯類を捕獲し、血液、肺、腎臓、脾臓、肝臓を採取した。捕獲されたげっ歯類の内訳はヨーロッパヤチネズミが 68 匹、セスジネズミが 21 匹、キクビアカネズミが 19 匹、およびウラルアカネズミが 37 匹であった。まず、すべてのげっ歯類の血清について ELISA を実施し、抗ハンタウイルス抗体の検出を試みた。その結果、ヨーロッパヤチネズミで陽性例が 6 例 (8.8%)認められたが、それ以外のげっ歯類では抗体陽性例は見られなかった。次にヨーロッパヤチネズミの全例について RT-PCR によるウイルス遺伝子の検出を行ったところ、7 例 (うち抗体陽性 4 例) が陽性となった。これら 7 例の S 遺伝子について他のハンタウイルスと比較したところ、サマラのウイルスはロシアの PUUV 分離株である Kazan 株および CG1820 株との塩基配列が 93~95%と最も高い一致率を示したが、フィンランド由来の PUUV である Sotkamo 株とは約 85%とやや低い一致率を示した。Hantaan 型 (HTNV) や Sin Nombre 型 (SNV) のウイルスとはそれぞれ 74%と 71%の一致率であった。したがって、サマラのヨーロッパヤチネズミから検出されたウイルスは PUUV であることが明らかになった。ウイルス遺伝子の系統樹が

らもサマラのウイルスがロシアの PUUV にもっとも近縁であり、北欧の PUUV とは遺伝学的にかなり離れていることが判明した。さらに今回、サマラのヨーロッパヤチネズミから検出されたウイルス遺伝子はサマラ市の HFRS 患者から検出されたウイルス遺伝子と 92%以上の一致率を示したことから、サマラではヨーロッパヤチネズミから PUUV がヒトに感染して HFRS が発生していることが明らかになった。

D. 結論

ロシアのボルガ川中流域のサマラ市近郊の森林でげっ歯類の疫学調査を行い、ヨーロッパヤチネズミがハンタウイルスの病原巣動物になっていることが判明した。また、遺伝子解析の結果からヨーロッパヤチネズミが PUUV を保有していることが明らかになった。さらに、サマラの HFRS 患者由来のウイルス遺伝子の配列とヨーロッパヤチネズミの配列が 92%以上の一致率を示した。

以上のことから、ロシアのボルガ川流域の HFRS 多発地帯ではヨーロッパヤチネズミが病原巣動物となり、PUUV の感染によって HFRS の流行が起きていることが強く示唆された。

この地域では年間 6,000 から 8,000 名の HFRS 患者が発生しているが、これらの患者の多くは PUUV の感染を受けたものと推察される。今後 PUUV に対するワクチン開発の進展が強く望まれる。

E. 健康危険情報

ロシアのボルガ川流域の HFRS 多発地帯ではヨーロッパヤチネズミが病原巣動物となり、

PUUV の感染によって HFRS の流行が起きているものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Pattamadilok, S., Lee, B.H., Kumperasart, S., Yoshimatsu, K., Okumura, M., Nakamura, I., Araki, K., Khoprasert, Y., Dangsupa, P., Panlar, P., Jandrig, B., Kruger, D.H., Klempa, B., Jakel, T., Schmidt, J., Ulrich, R., Kariwa, H., and Arikawa, J.: Geographical distribution of hantaviruses in Thailand and potential human health significance of Thailand virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75:994-1002, 2006
- 2) Shirato, K., Miyoshi, H., Kariwa, H., and Takashima, I.: The kinetics of proinflammatory cytokines in murine peritoneal macrophages infected with envelope protein-glycosylated or non-glycosylated West Nile virus. *Virus Res.* 121:11-16, 2006
- 3) Obara, M., Yoshii, K., Kawata, T., Hayasaka, D., Goto, A., Mizutani, T., Kariwa, H., and Takashima, I.: Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of tick-borne encephalitis using subviral particles. *J. Virol. Methods.* 134:55-60, 2006
- 4) Kariwa, H., Fujii, N., and Takashima, I.: Inactivation of SARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical

- conditions and chemical reagents. *Dermatology*. 212(S1):119-123, 2006
- 5) Okabayashi, T., Kariwa, H., Yokota, S., Iki, S., Indoh, T., Yokosawa, N., Takashima, I., Tsutsumi, H., and Fujii, N.: Cytokine regulation in SARS coronavirus infection compared to other respiratory virus infections. *J. Med. Virol.* 78:417-424, 2006
- 6) Baek, L.J., Kariwa, H., Lokugamage, K., Yoshimatsu, K., Arikawa, J., Takashima, I., Kang, J.I., Moon, S.S., Chung, S.Y., Kim, E.J., Kang, H.J., Song, K.J., Klein, T.A., Yanagihara, R., and Song J.W.: Soochong virus: an antigenically and genetically distinct hantavirus isolated from *Apodemus peninsulae* in Korea. *J. Med. Virol.* 78:290-297, 2006
- 7) Kariwa, H., Nakauchi, M., Takashima, I.: Epidemiology of SARS. In SARS edited by Mizutani, T., Transworld Research Network, Kerala, India, p29-40, 2006
- 8) 苅和宏明：げっ歯類とハンタウイルス感染症, ANIMATE, 特別号 1: 124-131, 2006
- 9) 苅和宏明、谷川洋一、萩谷友洋、Lokugamage, K., Lokugamage, N., Nur Hardy Bin Abu Daud, 好井健太朗、高島郁夫：齧歯類とハンタウイルス感染症. 獣医畜産新報, 59:633-638, 2006
2. 学会発表
- 1) 好井健太朗、後藤明子、小原真弓、川上和江、伊川綾江、苅和宏明、高島郁夫：ウイルス様粒子を用いたフラビウイルスの粒子形成機構の改正、および診断法・予防法への応用：第 141 回日本獣医学会、つくば(2006, 3)
- 2) 苅和宏明、Lokugamage, N., 谷川洋一、萩谷友洋、Lokugamage, K., 吉松組子、有川二郎、高島郁夫：タイリクヤチネズミに保有されるハンタウイルスの分離の試み：第 141 回日本獣医学会、つくば(2006, 3)
- 3) 原田祐里、好井健太朗、伊川綾江、苅和宏明、高島郁夫：レプリコンを利用したウエストナイルウイルスとダニ媒介性脳炎ウイルスのキメラウイルス様粒子の作製：第 142 回日本獣医学会、山口(2006, 9)
- 4) 白戸憲也、三次洋嗣、苅和宏明、高島郁夫：エンベロープ蛋白の糖鎖付加配列の有無がウエストナイルウイルス感染マウス腹腔マクロファージからの炎症性サイトカインの分泌に及ぼす影響：第 142 回日本獣医学会、山口(2006, 9)
- 5) 好井健太朗、小原真弓、後藤明子、苅和宏明、高島郁夫：ダニ媒介性脳炎ウイルスのウイルス様粒子を用いた ELISA 法による血清疫学的診断法の開発：第 54 回日本ウイルス学会、名古屋(2006, 11)
- 6) 中内美名、好井健太朗、苅和宏明、高島郁夫：SARS コロナウイルスのウイルス様粒子の作製：第 54 回日本ウイルス学会、名古屋(2006, 11)
- 7) Yoshii, K., Goto, A., Obara, M., Kawakami, K., Kariwa, H., and Takashima, I.: Involvement of conserved region of flavivirus prM protein in virus particle budding. 40th Joint Working Conference on Viral Diseases, Sendai, (2006, 7)
- 8) Kariwa, H., Tanikawa, Y., Nur Hardy

A.D., Yoshii, K., Yoshimatsu, K.,
Arikawa, J., Takashima, I.:
Establishment of animal model for
Puumala virus infection in Syrian
hamsters. 40th Joint Working Conference
on Viral Diseases, Sendai, (2006, 7)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

野生齧歯類および節足動物に由来する感染症の診断、疫学および予防に関する研究

ハンタウイルス感染症の診断法の開発に関する研究

分担研究者 有川 二郎 北海道大学大学院医学研究科附属動物実験施設 教授

研究要旨:昨年度までの研究で、アジアにおけるハンタウイルス感染症の流行を診断するために、新たに2種類のハンタウイルス(Thailand (THAIV))および Thottapalayam virus (TPMV)抗体を検出・鑑別する系を確立した。一次スクリーニングとして、Hantaan (HTNV)/Puumala (PUUV)/Sin Nodmbre (SNV)/TPMV 抗原を用いたスクリーニング ELISA を実施する。その後、HTNV に陽性の場合にはさらに HTNV/Seoul (SEOV)/Dobrava (DOBV)/THAIV の鑑別 ELISA を用いて、罹患ウイルスタイプを決定する。今年度はこの系を用いて疫学的調査を継続し、インドおよびベトナムにおける不明熱患者・齧歯類の調査を拡大した。その結果、インドで不明熱患者の中から新たな陽性例を見いだした。ベトナムでは齧歯類の疫学的調査を継続して行い、分子疫学的調査を拡大した。その結果東南アジアの SEOV は独自のクレイドを形成する可能性が示された。さらに、診断・鑑別を行うことのできる範囲を拡大するため、PUUV 関連ウイルスの中で Tula virus (TULAV)と PUUV の診断抗原を作成し、中和抗体価と比較することによって鑑別抗原の必要性について検討した。

A. 研究目的

ハンタウイルス感染症は、げっ歯類媒介性の人獣共通感染症で、腎症候性出血熱(HFRS)とハンタウイルス肺症候群(HPS)が知られている。ハンタウイルスのうち、Hantaan (HTNV)、Seoul (SEOV)、Dobrava (DOBV)および Puumala (PUUV)の少なくとも4つの血清型が HFRS の原因となる。また SinNombre virus を始めとするアメリカネズミ亜科のげっ歯類によって媒介されるハンタウイルスは HPS の原因ウイルスである。HTNV および SEOV および DOBV はネズミ亜科のげっ歯類、そして PUUV はハタネズミ亜科のげっ歯類によって媒介

される。3つのグループのウイルスは互いに抗原性が大きく相違し交差反応性が低いことから、ハンタウイルス感染症の血清診断を行うためには少なくとも3種類の抗原が必要であると考えられる。また、げっ歯類からハンタウイルス抗原を検出する場合でも、3種類の抗血清が必要である。

げっ歯類南アジア地区を起源に発生したと考えられており、このためアジアには特にネズミ亜科のげっ歯類げっ歯類の種類が豊富である。また、研究報告は少ないもののこれまでに、病原性との関連が明らかでないハンタウイルスが数多く報告されている。不明熱とされている中にハンタウイル

ス感染症が存在する可能性も考えられている。タイのネズミ亜科齧歯類である *Bandicota indica* から分離された THAIV が報告されている。また、インドにおいて食虫目のスクスより分離されたハンタウイルス Thottapalayam virus (TPMV)は他のハンタウイルスとは抗原的にも遺伝子配列の比較においても最も似たハンタウイルスである。本研究では、これらのウイルスに罹患した患者あるいは齧歯類・食虫類を検出することを目的として、TPMV を含むスクリーニングシステムを確立してきた。診断抗原にモノクローナル抗体 E5/G6 のエピトープのタグを導入し、これまでに確立した既報の各種ハンタウイルス抗原と同様に 抗原捕捉 ELISA を行うことによって血清の反応性を比較検討できる系を確立した。さらにアジア地区にはハタネズミ亜科の齧歯類も多く棲息し、極東地区では病原性は明らかではないものの少なくとも3種類の PUUV 関連ウイルスも報告されている。その中にはヤチネズミ属 (*Clethrionomys* 属)由来とハタネズミ属 (*Microtus* 属)由来のものがあり、これらの感染を鑑別する系を準備しておく必要があると考えられる。

本年は PUUV とヨーロッパハタネズミ由来 Tula virus (TULV)の核蛋白遺伝子から、ネズミ亜科由来ハンタウイルス鑑別診断抗原にならって鑑別抗原を作成し、ヨーロッパの HFRS 患者血清を用いてその有用性を検討した。

B. 研究方法

ウイルス:TULV および PUUV およびその cDNA クローンはヘルシンキ大学の A. Plyusnin 博士より分与された。

「抗原」:ハンタウイルスを Vero E6 細胞に感染させ、ガラスプレート上に固着後アセトン固定し、間

接蛍光抗体法(IFA)抗原とした。また、感染細胞は SDS で処理し、Western blotting 抗原とした。TULV NP の全長(アミノ酸:全長抗原)をバキュロウイルスベクター(AcNPV:BAC-TO-BAC GIBCO BRL)を用いて昆虫細胞(High Five)に発現させた。その際、昨年度の分析結果を考慮し、2カ所のアミノ酸変異を導入し E5/G6 抗体との反応性を確保した。組み換えバキュロウイルス感染細胞は SDS で処理し、Western blotting 抗原とした。また、ガラススライドに固着後アセトン固定し IFA 抗原とした。

「ELISA、Western blotting, 中和試験」: Western blotting と中和試験は既報の方法に従った (Araki et al J. Clin Microbiol. 2001)。

「患者血清、免疫血清」:HTNV/SEOV に感染した中国・韓国・日本の患者血清、タイおよびインドの不明熱患者血清、ベトナムで捕獲されたスクス血清を用いた。陽性コントロールとして、TULV を接種したマウス血清・ハタネズミ血清を用いた。

(倫理面からの配慮について)

・用いた感染血清(患者血清)は何れも、韓国、中国、タイ、インド、フィンランド、スウェーデン、ドイツの研究所から分与されたものである。当該研究所で既に研究目的で使用が認められているものであり、さらに無記名で分与されたものであることから、倫理面からの問題はない。各種免疫血清の採血は、何れも深麻酔後全採血、安楽死処分を行ったものであり、動物福祉の観点からも問題はないと判断された。

C. 研究結果

(1)インド不明熱患者血清の調査

インド南部の不明熱患者から5例のハンタウイルス抗体陽性例を確認した。1例は弱い IgM のみが

検出され、鑑別 ELISA による罹患ウイルスの特定はできなかった。その他の4例は HTNV に対し弱い陽性であり、蛍光抗体法でも陽性は確認された。

(2) ベトナム齧歯類およびスunksの調査

ベトナム北部の中国との国境付近の Vinhphuc 省およびハノイ市の Haibatrung 地区のマーケットで捕獲された 100 頭の動物の血清および分子疫学調査を行った。その結果 Haibatrung 地区のドブネズミのみから陽性が検出され、その陽性率は 16%であった。クマネズミからは陽性例は検出されなかった。また、捕獲場所を特定した場合には陽性率が 30%となる地点があり、陽性コロニーが局在している可能性が示された。また、驚くべきことにマーケット周辺では 51 頭のラットに対して 22 頭のスunksが捕獲されている。これらを TPMV 抗原を用いてスクリーニングしたところ陽性例は見つからなかった。これまでにスunksの血清反応を測定するために、系統化されたインドネシア由来スunks血清を用いて、Protein A を 2 次抗体とする系を確立してきた。しかしながら、今回のベトナム由来スunks血清は Protein A との反応性が弱いいため、種の特特定を含め、2 次抗体の検討が必要である。Haibatrung 地区のドブネズミからは SEOV のゲノムが検出された。これから得られた塩基配列は、昨年度までに明らかにしたベトナム国際貿易港 Haiphong 港由来 SEOV の配列と同じグループに属するものの、独自の配列を持っていた。また、これらのベトナム由来 SEOV と最も近縁なのはインドネシア由来 SEOV であることが明らかとなった。

(3) ハタネズミ亜科由来ハンタウイルスの鑑別抗原の作成と評価

PUUV と TULV の全長抗原をバキュロウイルスベクターを用いて作成した。しかしながら、TULV はそのアミノ酸配列から抗原補足抗体 E5/G6 との反応性が弱く、PUUV との反応性の比較が難しいことが分かった。そのため、反応性を高める変異を導入した結果、安定した ELISA 系を構築することができた。ヨーロッパの HFRS 患者血清で反応性を確認したところ、やはり、全長抗原は交差反応性が高いことが示された。これらの血清を中和試験で確認したところ、PUUV に対して高い中和抗体価を示し、PUUV 感染であることが確認された。PUUV 感染に紛れる可能性のある TULV 感染を簡便に検出するためには、鑑別抗原を用意する必要があることが明らかとなった。現在、N 末端を削除した鑑別抗原を作成中である。また、これらの鑑別系を評価するために、TULV 感染血清が必要である。そのため、日本で系統化された日本産ホンドハタネズミに PUUV と TULV を接種し、陽性血清を準備した。それぞれのウイルスに対する抗体の上昇が確認され、今後のシステムの評価に有用であると考えられた。

D. 考察

昨年度までに進めていたすべてのハンタウイルス感染症をスクリーニングすることが可能となる 4 種類の診断抗原をそろえたスクリーニング系を用いて、疫学調査を継続した。すなわちユーラシア大陸で HFRS の原因となるハンタウイルスを検出する HTNV, PUUV 抗原、および、アメリカ大陸で HPS の原因となるウイルスを検出するための SNV 抗原、および食虫目由来ハンタウイルスを検出する TPMV 抗原である。HTNV 関連ウイルスのうち病原性を持つことが知られている HTNV, SEOV,

DOBV, THAIV に関しては血清型鑑別診断 ELISA の構築が終了し、迅速に血清型を予測することができる。

本年度は、完成したシステムを用いて一部の疫学調査を開始した。引き続きインド Verolle 周辺のハンタウイルス抗体陽性例を血清型鑑別 ELISA で調べた結果、THAIV 感染が示唆される例と、鑑別不能例が見つかった。このことは THAIV の自然宿主である *Bandicota indica* がインドにも広く分布していることに関連すると考えられる。しかしながら、鑑別不能例の存在は、インド南部に新規の HTNV 関連ウイルスが存在する可能性を示唆している。

また、ベトナムでは港湾地区を中心に SEOV 感染がヒトおよびラットで確認されていたが、今年度はハノイ中心部での SEOV 感染がラットで確認された。この SEOV の遺伝子を RT-PCR で増幅し G2 領域の 1101 塩基の配列を得ることができた。従来 SEOV の分子疫学的解析において G2 領域の 330 塩基を用いる方法が広く使われている。この領域は高感度で増幅可能で疫学調査に有効であり、かつ系統樹解析でもほぼ良い結果を得ることができる。しかしながら、類似のウイルスの系統解析を行う目的では説得力のある結果を得られなかった。この領域の解析ではインドネシアとベトナムのウイルスが類似であり、また、日本の大阪由来 B-1 ウイルスが同じ系統に属してしまう。しかしながら、今回得られた 1101 塩基の解析では B-1 ウイルスは日本のウイルスと同じ系統に属し、ベトナムのハノイ由来・Haiphong 港由来ウイルスの系統は別に分岐する結果が得られた。一方 B-1 ウイルスは札幌由来株などとともに日本由来ウイルスと同じ系統に属した。このおよそ 1100 塩基を増幅するプライマーセット

(SEOMF1936/M12)も 330 塩基を増幅するプライマーセット(SEOMF1936/SEOMR2353)とほぼ同様の頻度で増幅することができ、さらに得られる配列情報はより有用であることが明らかとなった。これはハンタウイルスの分子疫学を進める上での方法的な収穫であった。

ハノイ中心部のスクスについては設定した 2 次抗体がうまく働いていないことから、形態的には類似であるが(捕獲時の全個体の写真が保存されているため明らかである)、別種の食虫類の可能性も考えられる。遺伝子を用いた種の同定法などについて食虫類の専門家との連携が必要であると考えられた。

昨年度までの調査でベトナムのヒト血清陽性例に鑑別不能例が確認されている。また、インドでも、鑑別不能例が確認された。これらの結果はアジア地区においてハンタウイルスが予想以上のバリエーションで存在し、ヒトに感染しうることを示唆すると考えられ、例数を重ねたさらなる解析が必要と考えられる。また、多様なハンタウイルス感染を検出し、鑑別するためにも、今まで解析を進めてこなかったハタネズミ亜科由来ハンタウイルス感染症の検出および簡便な鑑別方法の確立は調査を進める上で重要であると考えられる。さらに、南北アメリカ大陸には HPS の原因となる SNV 関連ウイルスが多種類存在する。これらのウイルスは抗原性に交差反応性が高いため、中和試験以外の鑑別方法は現在のところ無い。さらに、数十種類もの多様なアメリカネズミ亜科に属する齧歯類がそれぞれ独自のハンタウイルスを持つとされている。HPS ウイルスを使った中和試験の代替法として鑑別診断 ELISA を導入することで、安全に宿主齧歯類を推測する系が確立できると考えられる。今後は本

研究を通じて確立した鑑別診断法を HPS 関連ウイルスにも応用して行くことも必要であろう。これにより輸入症例を鑑別し、罹患地域を推測するために有用な情報を得られることが可能になると考えられる。

E. 結論

本研究によって、TPMV, THAIV, PUUV, TULV を加えたさらに広範囲なハンタウイルス感染症の血清診断体制を整えた。また、インドおよびベトナムでの調査の結果から未知のハンタウイルス感染症の発見が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

- 1) Pattamadilok, S., Lee, B. H., Kumperasart, S., Yoshimatsu, K., Okumura, M., Nakamura, I., Araki, K., Khoprasert, Y., Dangsupa, P., Panlar, P., Jandrig, B., Kruger, D. H., Klempa, B., Jakel, T., Schmidt, J., Ulrich, R., Kariwa, H. and Arikawa, J.: Geographical distribution of hantaviruses in Thailand and potential human health significance of Thailand virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 75: 994-1002, 2006
- 2) Okumura, M., Yoshimatsu, K., Kumperasart, S., Nakamura, I., Ogino, M., Taruishi, M., Sungdee, A., Pattamadilok, S., Ibrahim, I. N., Erlina, S., Agui, T., Yanagihara, R. and Arikawa, J.: Development of Serological Assays for Thottapalayam Virus, an

Insectivore-Borne Hantavirus. *Clin. Vac. Immunol.* 2007: in press.

- 3) Lee, B. H., Yoshimatsu, K., Araki, K., Okumura, M., Nakamura, I., Arikawa, J.: A pseudotype vesicular stomatitis virus containing Hantaan virus envelope glycoproteins G1 and G2 as an alternative to hantavirus vaccine in mice. *Vaccine* 24: 2928-34, 2006
 - 4) Baek, L. J., Kariwa, H., Lokugamage, K., Yoshimatsu, K., Arikawa, J., Takashima, I., Kang, J. I., Moon, S. S., Chung, S. Y., Kim, E. J., Kang, H. J., Song, K. J., Klein, T. A., Yanagihara, R., Song, J. W.: Soochong virus: An antigenically and genetically distinct hantavirus isolated from *Apodemus peninsulae* in Korea. *J. Med. Virol.* 78: 290-7, 2006
- ##### 2.学会発表
- 1) 吉松組子、奥村恵、垂石みどり、中村一郎、有川二郎:クマネズミ(*Rattus rattus*)由来ハンタウイルス:第54回日本ウイルス学会学術集会、名古屋 (2006.11)
 - 2) 垂石みどり、吉松組子、荒木幸一、奥村恵、中村一郎、梶野喜一、有川二郎:ハンタウイルス持続感染モデルマウスにおけるウイルス特異的T細胞の解析:第54回日本ウイルス学会学術集会、名古屋 (2006.11)
 - 3) 奥村恵、吉松組子、垂石みどり、中村一郎、有川二郎:TULA型ハンタウイルス鑑別診断系の作成とPUU型との抗原性比較:第54回日本ウイルス学会学術集会、名古屋 (2006.11)
 - 4) Yoshimatsu, K. Okumura, M. Nakamura, I., Taruishi, M. Pattamadilok, S. Kumperasart, S.,

- Chandy, S., Sridharan, G., Ibrahim, I. N., Erlina, S., Truong, N. and ARIKAWA, J.: Prevalence of hantavirus antibody in humans and rodents in southeast asia: U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program 40th Joint Working Conference on Viral Diseases. Sendai (2006. 7)
- 5) Ibrahim IN, Erlina S, Sumarno, Ariati Y, Yoshimatsu K, Arikawa J: Rodents, Shrews, Ektoparasites and Diseases at Thousand Islands District, Jakarta Province, Indonesia: 3rd International Conference on Rodent Biology and Management. Hanoi (2006, Aug 28 – Sep 1)
- 6) Rost S, Pelz HJ, Bajomi D, León V, Yoshimatsu K, Song KJ, Mueller CR: Novel sequence variants of the VKORC1 gene in rodents from potential warfarin-resistance areas in Europe, East-Asia and both Americas.: 3rd International Conference on Rodent Biology and Management. Hanoi (2006, Aug 28 – Sep 1)
- 7) Yoshimatsu K, Okumura M, Nakamura I, Taruishi M, Pattamadilok S, Kumperasart S, Chandy S, Sridharan G, Ibrahim IN, Erlina S, Truong N, Arikawa J: Prevalence of hantavirus antibody in humans and rodents in southeast asia: 3rd International Conference on Rodent Biology and Management. Hanoi (2006, Aug 28 – Sep 1)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
あれば記入してください。
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし