

200726002A

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

ウエストナイルウイルスの侵入に備えての診断、
予防対策への基盤的研究（H17-新興-一般-018）

平成19年度 総括研究報告書

主任研究者 倉根一郎

（国立感染症研究所）

平成20（2008）年3月

目 次

I. 総括研究報告

- ウエストナイルウイルスの侵入に備えての診断、予防対策への基盤的研究・・・・・・・・・・ 1
主任研究者：倉根一郎（国立感染症研究所・ウイルス第一部）

II. 分担研究報告

- 地方衛生研究所と検疫所における WNV 検査準備状況・・・・・・・・・・ 19
分担研究者：岡部信彦（国立感染症研究所・感染症情報センター）
- 急性脳炎患者におけるウエストナイルウイルス除外サーベイランス・・・・・・・・・・ 27
分担研究者：高崎智彦（国立感染症研究所・ウイルス第一部）
- 本邦産ヤブカ属蚊類から発見された新規フラビウイルスの遺伝子構造解析・・・・・・・・・・ 35
分担研究者：小林陸生（国立感染症研究所・昆虫医科学部）
- 富山県における蚊の発生調査（2003～2007年）とウイルス浸淫状況・・・・・・・・・・ 41
分担研究者：滝澤剛則（富山県衛生研究所・ウイルス部）
- ウエストナイルウイルス媒介蚊アカイエカ種群の越冬に関する生理学的研究・・・・・・・・・・ 54
分担研究者：小林陸生（国立感染症研究所・昆虫医科学部）
- 鳥類における WNV 検出法および抗 WNV 抗体検出法の確立に関する研究・・・・・・・・・・ 62
分担研究者：山田章雄（国立感染症研究所・獣医科学部）
- ウエストナイル熱ワクチンの開発・・・・・・・・・・ 69
分担研究者：森田公一（長崎大学・熱帯医学研究所）
- 遺伝子組換えを用いたウエストナイルウイルスサブユニットワクチンの開発・・・・・・・・・・ 75
分担研究者：小島朝人（国立感染症研究所・感染病理部）
- アジュバント併用による効果的な日本脳炎ワクチン1回接種法の検討・・・・・・・・・・ 80
分担研究者：森 康子（医薬基盤研究所・基盤研究部）
- 治療法開発のためのウイルス高病原性機序の解明・・・・・・・・・・ 85
分担研究者：佐多徹太郎（国立感染症研究所・感染病理部）
- ウエストナイルウイルスの新規検査法の開発に向けたウイルス様粒子の作製・・・・・・・・・・ 89
分担研究者：前田秋彦（北海道大学大学院・獣医学研究科）
- ウエストナイルウイルスによる脳炎発症に関わる T 細胞の解析・・・・・・・・・・ 93
分担研究者：鈴木隆二（国立病院機構相模原病院・臨床研究センター）

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	96
-------------------	----

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

総括研究報告書

ウエストナイルウイルス侵入に備えての診断、予防対策への基盤的研究

主任研究者：倉根一郎（国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長）

研究要旨：

わが国におけるウエストナイルウイルス対策のための総合的科学基盤を確立することを目的として、社会学・疫学研究、検査・診断研究（予防・治療法研究、蚊検査法研究、鳥検査法研究）、予防・治療法研究（ワクチン開発基盤研究、病原性治療法基礎研究）の3項目に分けて遂行した。社会学・疫学研究においては、(1) ウエストナイル熱流行状況に関する国民向け情報をホームページに掲載した。(2) ウエストナイル熱予防対策用CD-R説明書、ウエストナイル熱予防対策用CD-R説明書を作成し国民の啓発に努めた。また、(3) 地方衛生研究所と検疫所におけるウエストナイルウイルス検査準備状況を明らかにした。検査・診断研究においては、(1) 病原体・血清検査法を確立し、国内の各研究機関に技術移転した。(2) 非感染性ウイルス用粒子を用いた検査キットを作製した。(3) 蚊からのウイルス分離法、感染蚊検出法を確立した。(4) 媒介蚊からのウイルス分離法、遺伝子検出法を確立した。検査した蚊はすべて陰性であった。(5) 国内の鳥類における抗体保有状況を検査しすべて陰性であった。予防・治療法研究においては、(1) 組織培養細胞由来不活性化ワクチンの試験的作製し前臨床試験を終了した。(2) 中空粒子による中和抗体誘導を示した。(3) フラビウイルスワクチンにおけるポリ・グルタミン酸とアルミアジュバントの有用性を確認した。(4) 病態解明のための動物モデルを作製した。(5) ウエストナイルウイルスに対する細胞免疫解析法を確立し、脳内進入T細胞の役割を明らかにした。成果は、国民の理解の増進、ウエストナイル熱・脳炎の輸入症例や国内発生時の診断、ウイルス水際対策の促進、媒介蚊対策、鳥類サーベイランス、ワクチン開発の促進、治療法開発、への活用が可能である。以上の研究によりウエストナイルウイルスに対する総合的な厚生労働行政施策を策定するため科学的基盤および情報基盤を進展させた。

分担研究者：

岡部信彦（国立感染症研究所感染症情報センター センター長）

小島朝人（国立感染症研究所感染病理部 室長）

小林陸生（国立感染症研究所昆虫医科学部 部長）

佐多徹太郎（国立感染症研究所感染病理部 部長）

鈴木隆二（国立病院機構相模原病院臨床研究センター 室長）

高崎智彦（国立感染症研究所・ウイルス第一部 室長）

滝澤剛則（富山県衛生研究所 部長）

森田公一（長崎大学熱帯医学研究所 教授）

山田章雄（国立感染症研究所獣医科学部 部長）

前田秋彦（北海道大学大学院獣医学研究科 准教授）

森 康子（医薬基盤研究所基盤研究部 部門長）

A. 研究目的

ウエストナイル熱・脳炎は北米大陸においては2007年にも引き続き多くの患者発生が報告されている。また、2005年には日本でも初めて輸入ウエストナイル熱患者が確認された。さらに近年シベリア等世界の他の地域においても流行やウイルスの侵入が報告されている。このような状況からウエストナイルウイルスはわが国にとっても大きな脅威であると考えらるべきである。現在、ウエストナイルウイルスは未だわが国へは侵入していないが、高感受性を有するトリや蚊は日本国

内にも存在することから、仮にわが国に本ウイルスが侵入した場合には急速に日本各地に侵淫することも予想される。また輸血、臓器移植、母乳、透析、経胎盤感染等、蚊の吸血以外の経路による感染対策も必要となる。また、国内への侵入に備えたワクチンの早急な整備も必要となる。さらに、海外において感染した疑い患者が帰国した場合には、迅速な検査による確定診断が必要となる。従って、ウエストナイルウイルス感染対策としてウイルス、ヒト、蚊、トリ等多面的な研究が要求される。

ウエストナイルウイルス対策のための総合的科学基盤の確立を目的とする。以下の7つの目標を有する。1) 世界のウエストナイル熱流行状況の把握により、国民のウエストナイル熱・脳炎に対する理解を深める、2) ウエストナイル熱検査法の確立、ウイルス検出法の確立と標準化、国内各施設への技術移転、およびウエストナイルネットワークの構築を行う、3) 国内への侵入に備えたワクチンの早急な整備のための基盤確立する、4) 感染蚊検査法の確立、標準化、及び国内各施設への技術移転、および日本における媒介蚊の感受性を明らかにする、5) 感染トリ検査法の確立、標準化、及び国内各施設への技術移転を行う、6) 治療法開発に向けてのウエストナイルウイルス高病原性機序を解明する、7) ウエストナイルウイルスに対する防御免疫を解明する、ことにより新たな治療法開発への基盤を確立する。本研究の研究成果は我が国において、北米におけるようなウエストナイル熱・脳炎の大流行を防ぎ、

国民の健康を守り、社会の安定を維持することに貢献する。

B. 研究方法

本研究は主任研究者倉根、分担研究者11名（岡部、小林、山田、高崎、森田、小島、森、佐多、前田、鈴木、滝澤）の計12名が遂行した。社会学・疫学研究、検査・診断研究（予防・治療法研究、蚊検査法研究、鳥検査法研究）、予防・治療法研究（ワクチン開発基盤研究、病原性治療法基礎研究、防御免疫基盤研究）に関して研究を進めた。国内におけるウエストナイル熱の理解状況、病原体・遺伝子検査法の確立、感染蚊・感染鳥検出のための検査法の確立、ワクチン及びアジュバント開発の基盤的研究、及びウイルスの高病原性解明のためのモデル開発、病原性の分子基盤の解明、を行なった。研究はこれらの各分担研究が独立した科学的事実の集積にとどまることなく、有機的に関連して進められるよう進められた。確立した技術の国内各機関への技術移転、継続的な改訂を行なうことにより、日本全体におけるウエストナイル検査システム網の充実を行なう等、成果が行政施策に直結しうるように遂行した。

（倫理面への配慮）

ヒト検体を用いる場合には、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針を遵守し、各研究機関における倫理委員会において承認を得た上で研究を遂行した。動物を用いる実験の倫理面においては、各研究機関の動物実験委員会において審査し承認を得た上で行なった。

C. 研究結果

1. 地方衛生研究所と検疫所におけるウエストナイルウイルス検査準備状況

ウエストナイルウイルス感染症が疑われた場合その検査を担当すると思われる地方衛生研究所における検査体制を把握し、より効果的な体制作りのため、地方衛生研究所ネットワークにおけるメーリングリストを用いて全国の地衛研77カ所と、郵送法による検疫所を対象にした質問票調査を実施し、得られた回答について単純集計を行った。回答を得たすべての全ての都道府県型地衛研と、79%の市区型地衛研において検査実施可能と回答を得た。遺伝子検査は多くの地衛研で実施することが可能であった(98%)が、血清学的検査の実施可能率は低かった(11%)。多くは国立感染症研究所が公開しているマニュアルにしたがって検査の実施が予定されているが、迅速性・簡便性や特定の株の検出を目的として独自選定されたプライマーセットや RT-LAMP 法などが導入されている。地域ブロック内における協力体制は、近畿支部と中国・四国支部において構築されており、検査依頼などが可能とされている。また、検査に関する相談先が確保できていない地衛研が存在することが認められ、ウイルス検査専任担当者が3人未満の地衛研においては、協力体制の構築・相談先の確保ともにその割合が3人以上の地衛研と比して低かった。検疫所においては、検査の実施が2検疫所で実施することが定められており、検疫所内における協力体制が構築されていた。

2. ウエストナイルウイルス感染の検査・診断法に関する研究

1) 急性ウイルス性脳炎患者におけるウエストナイルウイルス除外検査:

2005年は、ウエストナイル熱・脳炎を疑った検査依頼が13件、日本脳炎の検査依頼が12件の計25件があった。そのうち、日本脳炎が5例、ウエストナイル熱が2件であった。2006年は、ウエストナイル熱・脳炎症例はなく、日本脳炎が4例であった。2007年もウエストナイル熱・脳炎症例はなく、日本脳炎が6例であった。2006年の日本脳炎症例のなかの1例は、発病後7ヶ月に渡って経時的に抗体価を測定した。急性期の検体(血清、髄液)は得られなかった。最初の血清は、発病後21日めであった。この血清中のIgM抗体は、日本脳炎ウイルスに対してIndex20以上、ウエストナイルウイルスに対してはIndex=3.04とどちらも陽性であったが、日本脳炎に有意に高かった。また、中和抗体は、日本脳炎に対して2560倍(陽性)、ウエストナイルウイルスに対して80倍(陽性)であった。IgM抗体は、発病後4ヶ月では陰性となったが、抗WNV中和抗体は4ヶ月目まで80倍を維持し、5ヶ月目に40倍に低下したが、7ヶ月後でも40倍を維持した。一方抗日本脳炎ウイルス中和抗体は、7ヶ月後も2560倍を維持した。また、IgG抗体に関しては、発病後21日目、28日目の時点で抗日本脳炎ウイルスIgG抗体は陽性であったが、抗ウエストナイルウイルスIgG抗体は陰性であった。その後、抗日本脳炎ウイルスIgG抗体はさらに上昇し、抗

ウエストナイルウイルスIgG抗体も陽性となった。しかし、抗ウエストナイルウイルスIgG抗体は、84日目をピークに減少傾向を示した。抗日本脳炎ウイルスIgG抗体は7ヶ月後まで上昇傾向を示した。

2) ウエストナイルウイルスの新規検査法の開発に向けたウイルス様粒子の作製:

ウエストナイルウイルス(WNV)とフラビウイルスの同一血清型群に属する日本脳炎ウイルス(JEV)の感染を血清学的に鑑別する方法として、ウイルス様粒子(VLP)を用いた中和試験法の開発を企図した。本研究では、内部にWNVのレプリコンをパッケージングし、粒子の殻をWNVあるいはJEVの構造蛋白質で構成されたVLPを作製した。レプリコンの発現マーカーとして赤色および緑色蛍光色素遺伝子を導入したところ、両蛍光色素の発現が認められた。また、レプリコンの発現を定量化するために分泌型アルカリフォスファターゼ遺伝子をレプリコンに導入したところ、本レプリコンを導入した哺乳類動物細胞の培養上清中に、分泌されるアルカリフォスファターゼの経時的な増加を確認した。

3) ウエストナイルウイルス感染蚊検出のための遺伝子検査法の確立:

① 本邦産ヤブカ属蚊類から発見された新規フラビウイルスの遺伝子構造解析

本邦における野外捕集蚊からフラビウイルスの検出および分離を実施した結果、ヒトスジシマカをはじめとするヤブカ属蚊類から

新規フラビウイルスを見出し、*Aedes flavivirus* (AEFV)と命名した。AEFVは蚊由来細胞系に接種した場合にのみRT-PCRにより検出が可能であり、CPEは弱い傾向にあり、出現しない場合も見られた。決定されたAEFVゲノムは11,066ヌクレオチドで構成され、3,341アミノ酸から成る1つのポリプロテインをコードしたORFを含んでおり、さらに5'および3'末端部にそれぞれ96、945ヌクレオチドの非翻訳領域を有するものであった。またアミノ酸配列情報からAEFVを構成する各種タンパクを生成するのに必要である開裂部位が予測され、そのほとんどがそれぞれの開裂条件に適合するものであり、3つの構成タンパクおよび7つの非構成タンパクの生じることが確認できた。AEFVのフラビウイルスにおける系統関係は、昆虫フラビウイルス(*Culex flavivirus*: CXFV、Cell fusing agent: CFA、Kamiti river virus: KRV)、本邦における既分離フラビウイルス(Japanese encephalitis virus: JEV、Yokose virus: YOKV、Tick borne encephalitis virus: TBEV、Apoi virus: APOIV)およびDengue type 2 virus (DEN2V)を比較対象として、非構成タンパクNS5について解析を行った。その結果、AEFVはCXFV、CFA、KRVと同じ昆虫フラビウイルスのcladeに配置されることが推定された。さらにこれまでに分離されたAEFV4株について、NS5領域の部分ヌクレオチド配列に基づき昆虫フラビウイルスにおける系統関係を推定したところ、すべてCXFV、CFA、KRVとは離れたひとつのcladeに包含され、ヤブカ属由来のCFA、KRVとより近縁であることが明らかとなった。AEFVは、得られたNS5遺伝子の部分配列情報から、本邦産イエカ属蚊類から分離さ

れた*Culex flavivirus* (CXFV)を含む昆虫フラビウイルスのグループに属することが予想された。更なる性状を決定するために、千葉県成田市産ヒトシジマカから分離されたAEFVの1株についてゲノムの全ヌクレオチド配列決定を試みた。その結果、AEFVはCXFVと系統的に明確に区別され、ヤブカ属蚊類から分離されている昆虫フラビウイルスに近縁の新規フラビウイルスであることが明らかとなった。

② 富山県における蚊の発生調査とウイルス保有調査

ウエストナイルウイルス(WNV)の侵入監視のため、富山県内における蚊の発生状況を調査した。5年間の蚊成虫調査で6属13種9850頭(9649♀、201♂)が捕集され、アカイエカ群、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカの3種で96.3%を占めた。コガタアカイエカは、水田近くの一般住宅で特に多く捕集された。アカイエカ群は都市部や海岸付近において多く捕集された。ヒトスジシマカも都市部で多く採集された。海岸付近の一般住宅では、イヌが死亡した後に捕集されるアカイエカ群の個体数が大幅に減少した。トラップを樹上にも設置した地点では、アカイエカ群とハマダライエカが樹上において有意に多く捕集された。成虫調査を補完するため4地点で行った幼虫の調査では、アカイエカ群およびヒトスジシマカが多く採集され、コガタアカイエカは採集されなかった。

現時点での富山県内のWNVと日本脳炎ウイルス(JEV)の浸淫状況を把握するため、蚊におけるウイルス保有状況、カラスおよびコウモリの抗体保有状況を調べた。調査した蚊14,146個体(514プール)からWNVは検

出されなかったが、10 プールからI型の JEV が分離された。カラスおよびコウモリからは WNV および JEV に対する抗体は検出されなかった。蚊のウイルス保有調査と野生動物の抗体調査を統合すると、現時点で県内における WNV の浸淫の可能性は少ないと考えられる。

③ ウエストナイルウイルス媒介蚊アカイエカ種群の越冬に関する生理学的研究

2005年2月上旬、埼玉県K市の用水路内に見出したアカイエカ越冬個体の脂肪酸分析を行い、シス型パルミトオレイン酸(C16:1)含量が全体の50%近くを占めていることを明らかにした。次いで、感染研敷地内で周年実施している捕集調査から、2007年に捕集されたアカイエカ種群蚊の脂質含量および脂肪酸組成を調べたところ、アカイエカの脂質含量は5月上旬から下旬にかけて徐々に低下したが9~10月と再び増加し、その増減に伴いパルミトオレイン酸含量も変動することが判明した。アカイエカは、低温・短日の環境変化に向けてパルミトオレイン酸含量を増加させることが推察された。室内実験において、種々の温度・日長条件下でのアカイエカおよびチカイエカの成虫の生存日数を比較したところ、すべての飼育条件においてアカイエカはチカイエカよりも長命であった(雌1.4~1.9倍、雄2.6~8倍)。この寿命の違いを脂質含量および脂肪酸組成から検討した結果、アカイエカでは低温(10℃)条件下で羽化20日目以降シス型パルミトオレイン酸の占める割合が全体の50%以上になり、体重に占める脂質含量が2倍以上に増加することが分かった。一方、チカイエカでは、羽化時のパルミトオレイン酸含量20%はそ

の後もほとんど変動せず、脂質含量の増加も見られなかった。パルミトオレイン酸は融点が $-0.5^{\circ}\text{C}\sim+0.5^{\circ}\text{C}$ (昆虫のリン脂質中では $-40^{\circ}\text{C}\sim+40^{\circ}\text{C}$)の凍結し難い脂肪酸である。アカイエカは低温下でもパルミトオレイン酸量を増加することができることで低温下での生存を有利にし、越冬を可能にしていると推察された。

4) 鳥類におけるウエストナイルウイルス検出法および抗ウエストナイルウイルス抗体検出法の確立に関する研究:

ウエストナイルウイルスの日本への侵入や、国内での流行の拡大には、野鳥の果たす役割も大きいと考えられる。そこで、鳥におけるウエストナイルウイルスや抗ウエストナイルウイルス抗体を検出する方法について日本脳炎ウイルスとの鑑別を考慮しながら検討した。マイクロアレイによる遺伝子検出法は、1検体から同時に多数の標的遺伝子の検出ができる利点がある。そこでウエストナイルウイルスの遺伝子診断系の確立の一環として、マイクロアレイ法を用いたウエストナイルウイルス特異的遺伝子の検出系について検討した。

ウエストナイルウイルス遺伝子検出の特異性および感度を検討するため、ウエストナイルウイルスをはじめとする各種のフラビウイルス属ウイルスならびに鳥類のウイルス性疾患の原因ウイルス遺伝子をプローブとしたカスタムマイクロアレイを作製した。ウエストナイルウイルス4株、日本脳炎ウイルス3株からRNAを抽出・精製して試験材料とし、カスタムマイクロアレイの反応特異性および検

出感度を検討した。その結果、ウエストナイルウイルス4株のうちの3株、日本脳炎ウイルス3株はRNA濃度4 ng/ μ lでそれぞれウエストナイルウイルス、JEV遺伝子プローブ群と特異的反応が見られ、他種のウイルス遺伝子プローブ群とは反応が認められなかった。0.4 ng/ μ lでは検出限界以下となった。今回作製したカスタムマイクロアレイによって、ウエストナイルウイルス遺伝子の特異的な検出が可能であったが、一部のWNV株では特異的反応が認められなかった。

3. ウエストナイルワクチン開発に関する

(1) ヒト用ウイルス不活化ワクチンの最少有効投与量ならびにIgG抗体価の検討

① ワクチン感染防御実験-1

ホルマリン不活化ワクチン(106.4 μ g/mL)を13.3 μ gから809pgまで4倍階段希釈し、2回腹腔内投与した場合は13.3 μ gから3.2ngまで100%感染防御した。809pgで86%感染防御した。

② ワクチン感染防御実験-2

ホルマリン不活化ワクチン(106.4 μ g/mL)を52ngから12.6pgまで4倍階段希釈し、2回腹腔内投与した場合は52ngから3.2ngまで100%感染防御した。809pg以降71%、14%、29%、13%と生残率が低下していった。

③ 抗フラビウイルス IgG 間接ELISA

上記のワクチン感染防御実験-1に用いたマウスの血清について抗フラビウイルスIgG間接ELISAを実施したところ、第2回ワクチン接種2週間におけるIgG抗体

研究

1) 不活化およびリコンビナント生ウエストナイルワクチン開発に関する研究:

ヒト用不活化ワクチン並びに家畜用リコンビナント生ワクチン開発を目的とした。ヒト用不活化ワクチンには、Vero細胞を用いた組織培養法でウエストナイルウイルス(ニューヨーク分離株)を増殖し、ホルマリン処理により不活化する方法により作製した。本年度はヒト用ホルマリン処理不活化ワクチンの最少有効投与量を検討し、中枢神経系への影響など追加のGLP試験を実施した。

価は投与ワクチン量に比例し、1:1167以上のIgG抗体価を有すれば100%感染防御することが判明した。

(2) 動物の安全性薬理試験

① ラットにおける中枢神経系への影響

ワクチン投与群で対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

② イヌにおける心血管系への影響

ワクチン投与群において4例中3例で平均血圧が投与後8時間で145mmHgとなり、対照群に比較して21mmHg(17%)の増加が認められた(表-4)。有意な差ではなかったが血圧を上昇させる傾向を示した。また、心拍数、心電図についてもいずれの時点においても有意な影響を示さなかった。

③ イヌにおける呼吸器系への影響

ワクチン投与群において呼吸数、動脈血中のpO₂、pCO₂、pH、ヘモグロビンO₂飽和についていずれの時点においても有意な影響を示さなかった。

④ イヌにおける一般状態への影響
ワクチン投与群においていずれの時点においても一般行動に異常を示さなかった。

2) 遺伝子組換えを用いたウエストナイルウイルスサブユニットワクチンの開発:

ウエストナイルウイルス(WNV)ワクチン開発のために、中和抗体を誘導するウイルス様粒子(VLP)産生細胞の樹立を目的とした。今年度は、VLP 抗原産生細胞株の樹立を試みた。

遺伝子導入後の薬剤選択により樹立した CHO 細胞クローンから VLP 産生量の大きいクローンを選択した。さらに再クローニングを行い VLP 産生量のより大きいクローンを選択した。2 度目の再クローニングで、得られたクローンの VLP 産生量は 1 度目の再クローニングを超えなかった。樹立したクローンが無血清培地へ馴化させた結果、細胞は付着培養系より浮遊培養系へと変化した。無血清培地へ馴化した細胞はさらにタンパク質不含培地でも継代可能であることが分かった。樹立した細胞クローンを 50 代以上継代したが VLP 産生量は低下しなかった。また、抗 WNV E 抗体を用いた間接蛍光抗体法で観察したが、細胞クローンはほぼ 100% の確率で抗原陽性であった。ウエスタンブロット法による解析で、細胞内での E、prM および M 抗原の発現は感染細胞ライセートと VLP 発現 CHO 細胞クローン、および無血清培地馴化クローンでそれぞれ発現量の比やプロセッシングに差が見られたものの、培養上清超遠心ペレットには、すべてのクローンで成熟した E、M タ

ンパク質を確認できた。ショ糖密度勾配による解析により、CHO 細胞クローン由来の VLP は、比重 1.15g/mL 付近のフラクションに単一のピークを示した。電子顕微鏡による観察により、CHO 細胞クローン由来の精製 VLP は直径 25nm 程度のサイズの均一な粒子を形成していることを確認した。不活化ウイルス同様、VLP を免疫した血清は WNV によるプラーク形成を阻害できることを確認した。

また、VLP を BALB/c マウスに免疫した血清が中和活性を示すことを確認した。以上から、ウイルスチャレンジ実験を行い、VLP のワクチン有効性を検証する段階まで到達できた。

3) ウエストナイルワクチン用アジュバントの開発に関する研究:

ウエストナイルウイルス侵入に備えての予防対策にはワクチン開発は大きな意義を有する。特に不活化ワクチンあるいは非感染性のサブユニットワクチン開発においては安全かつ効果的なアジュバントの併用が重要である。モデルとして日本脳炎ウイルスに対するワクチンとの併用投与による同ワクチンの感染防御効果の是非について検討した。日本脳炎ワクチンは流行地域への渡航のためのトラベラーズワクチンとしての需要などもあり、1 回接種で十分な感染防御効果を示すワクチン改良の検討が望まれる。既存の JE ワクチンを用いてアジュバント併用によるワクチンの 1 回接種法の有用性の検討についてマウスを用いて行った。JE ワクチンの 1 回接種後の中和抗体価は 2 回接種時の約 10 分の 1 であり、JEV 感染に

対する生存率は 50% に留まった。一方、同ワクチンにアジュバントとして水酸化アルミニウムゲルないしポリγ-グルタミン酸ナノ粒子を加えることで1回接種後の中和抗体価が2回接種時のレベルに上昇し、生存率も 100% となった。以上の結果より、併用により1回接種で十分な感染防御効果を誘導するアジュバント開発の可能性が示唆された。

4. ウエストナイルウイルスの病原性の解明に関する研究

1) 治療法開発のためのウイルス高病原性機序の解明:

ウエストナイルウイルス(WNV)の病態解明および開発した治療薬あるいはワクチンを評価するための動物モデルの作製を試みた。ウイルス接種 5 日目からマウスは、体重減少、立毛などの臨床症状を示した。重症例では後肢の弛緩性麻痺、沈鬱、立毛を示す脳炎症状、あるいは腹部膨満を伴う食欲低下を示し、静脈内接種 27 匹中 25 匹、皮下接種 26 匹中 18 匹が致死性であった。残りは一過性の体重減少後、回復あるいは無症状で耐過した。材料採取が可能であった、静脈内接種群 5 匹と皮下接種群 13 匹を病理学的に検索した。

弛緩性麻痺のみられた 2 例では脊髄の神経細胞の脱落とそれに伴う炎症が(図 1 A)、脳炎症状の見られた 3 例では大脳皮質の神経細胞でウイルス抗原が陽性であり、それに伴う炎症所見が認められた。一方で、一過性の体重減少後、回復した 4 例では、21 日目の経過観察後の解剖で、脳あるいは脊髄の一部に炎症所見が認め

られた。同様の臨床症状のもの 1 例が、組織学的に著変はみられなかった。立毛、腹部膨満で死亡した 3 例で、腸管上皮の壊死、リンパ球のアポトーシス(TUNEL 法により確認した)が観察され、腸管の神経叢で一部壊死所見がみられたが、その特異性は不明であった(前年度報告書参照のこと。データは示さない)。これらの個体で脳炎所見はみられなかった。無症状で 21 日耐過した 5 例はいずれも組織変化はみられなかった。WNV 抗原陽性細胞は一週間目に死亡した個体の神経細胞にみとめられたが、9 日以降ではほとんど検出されなかった。なお、接種方法による特徴的な病変の相違はなかった。

2) ウエストナイルウイルスによる脳炎発症に関わる T 細胞の解析:

WNV 感染マウス脳炎モデルを用いて、WNV 感染時における中枢神経障害のメカニズムを免疫調節に関与する T 細胞に着目し、これが脳炎の発症と防御に果たす役割を明確に解明する事を目的に、脳炎発症に伴って脳内浸潤 T 細胞の詳細な解析を行った。

感染 10 日目の脳内には 3 個体に共通した特徴的 TCR レパトアの偏りとして、V α 1-1, V α 2-1, V β 5-2, V β 8-2, V β 11-1, V β 16-1 を認めた。また、偏りが認められた TCR レパトアに対して、CDR3 size spectratyping により clonality を検討した結果、V α 1-1, V α 1-2, V α 2-1, V β 5-2, V β 8-2, V β 15-1 において、高い clonality が認められた。これらのうち、CDR3 アミノ酸配列の解析では、V α 1-1, V α 2-1 に関しては、異なる個体間で同一のクロ

ーンが高頻度に存在している事が確認され、V β に関しては高頻度で共通したTCR β 領域の使用を認めた。

リアルタイムPCRによる脳浸潤T細胞の機能的な解析を行った結果、感染が進むにつれてCD3、CD8、INF γ 、IL-2、TNF α の上昇が認められ、Th1/Tc1タイプであることが確認された。またWNVエンベロープに対する特異的プライマーを用いて、組織中に存在したウイルスRNA量を検討した結果、脳内に多数のウイルスが存在することも確認された。以上より、感染10日目の脳内には特徴的なT細胞レセプター(TCR)レパトアの偏りが観察された。さらに、偏りのあった各レパトアは高いclonalityが存在している事が観察された。複数の個体間でCDR3に同一のアミノ酸配列を示すクローンが存在していた。また、感染後にINF γ 、IL-2、TNF α の増加が経時的に認められた。以上の事から、近交系マウスを用いたWNV脳炎モデルでは、脳内に浸潤したT細胞はクローンレベルで同一もしくは近似したWNV関連エピトープを認識している事が示唆された。さらに、脳内に浸潤したT細胞がTh1/Tc1タイプであることが明らかとなった。

D. 考察

ウエストナイル熱・脳炎は北米大陸においては2007年も多くの患者の発生があった。さらに、日本へ渡り鳥が飛来するシベリアにもウエストナイルウイルスが侵入していることが明らかとなっている。本研究はウエストナイルウイルス対策のための総合的科学基盤の確立を目的として遂

行された。

現在わが国におけるウエストナイル熱における問題点として、(1)ウエストナイル熱・脳炎に対する国民の理解、啓発のための情報は十分でない、(2)ウエストナイル熱・脳炎の実験室診断技術の標準化、普及は十分でない、(3)ウエストナイル熱ワクチンは実用化されていない、(4)日本産蚊種のウエストナイルウイルス媒介能や分布調査は行われていない、(5)ウエストナイルウイルス感染鳥検査技術の確立と標準化、普及は十分でない、(6)ウエストナイルウイルスに対する防御免疫、高病原性の機序は解明されていない、等があげられる。その解決を目標として、研究を遂行した。研究は大きく社会学・疫学的研究、検査・診断研究(実験室検査法開発研究、蚊検査法研究、鳥検査法研究)、予防・治療法研究(ワクチン開発基盤研究、病原性治療法基礎研究)の3項目に分けて遂行された。

倉根はウエストナイル熱予防対策用CD-R説明書およびQ&A小冊子を作成し国民の理解を進めた。岡部は地方衛生研究所と検疫所におけるウエストナイルウイルス検査準備状況を明らかにした。小林は媒介蚊からのウイルス分離法、遺伝子検出法を確立し、その課程で本邦産ヤブカ属蚊類から発見された新規フラビウイルスの遺伝子構造を解析した。国内で収集した検査した蚊がすべて陰性であることを示した。滝澤は富山県の定点における蚊捕獲数の変化を示した。山田は鳥類からのウエストナイルウイルス遺伝子検出法を確立した。国内の鳥類における抗体保有状況を検査しすべて陰性であった。

高崎はウエストナイル熱検査法の改良を行い、急性ウイルス性脳炎患者におけるウエストナイルウイルス除外検査を行った。森田は組織培養不活性化ウエストナイルワクチンの試験的作製を行い、安全性を確認した。小島はサブユニットワクチン候補として中空粒子による中和抗体誘導を明らかにした。森はフラビウイルスワクチンにおけるポリ・グルタミンサ酸アジュバントの有用性を確認した。佐多はウエストナイル熱、脳炎の病態解明のための動物モデルを作製した。前田は新型検査キットの開発に使用しうる非感染性ウイルス用粒子の作製に成功した。鈴木はウエストナイル脳炎における脳内の細胞性免疫解析法を確立した。今年度は計画どおり研究が進展した。

本年度の成果は今後以下のように活用される。(1) ウエストナイル熱・脳炎に対する国民の理解が増進される。(2) ウエストナイル熱・脳炎の輸入症例、国内発生時の迅速かつ確実な診断が可能となり、さらに、地方衛生研究所や検疫所のウエストナイル熱検査の向上と水際対策が促進される。(3) ウイルス侵入時におけるウエストナイルウイルス媒介蚊サーベイランス、および媒介蚊対策に対する科学基盤が提供される。(4) 鳥類による国内へのウエストナイルウイルス侵入のサーベイランス、および侵入した場合の対策を促進する。(6) ウエストナイル熱ワクチン開発が促進される。(7) アジュバントによる防御免疫誘導の増強が可能となる。(7) ウエストナイルウイルス病原性の科学基盤に基づいた治療法開発が可能となる。以上により、わが国における

総合的なウエストナイルウイルス対策の推進が可能となる。

E. 結論

わが国におけるウエストナイルウイルス対策のための総合的科学基盤の確立を目的とし、社会学的研究、検査・診断研究（実験室検査法開発研究、蚊検査法研究、トリ検査法研究）、予防・治療法研究（ワクチン開発基盤研究、病原性治療法基礎研究、防御免疫基盤研究）を遂行した。ウエストナイル熱・脳炎はまだ一般国民に十分には認識されていない。一方、検査・診断研究においては、確立した実験室診断法がヒトにおけるウエストナイルウイルス感染の確定診断に有用であるが、他の類似ウイルス感染時の交差反応に注意すべきであることを明らかにした。感染蚊や感染鳥の検出法の確立を確立した。予防・治療法研究においては、組織培養細胞由来不活性化ワクチンの試験的作製を行い前臨床試験として安全性を示した。また、ウエストナイルウイルスの病原性解明のためのモデルが確立した。本年度の研究によって、ウエストナイルウイルス対策のための総合的科学基盤が大きく進展した。

F. 健康危機管理情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hoshino K., Isawa H., Tsuda Y., Yano K.,
Sasaki T., Yuda M., Takasaki T.,

- Kobayashi M. and Sawabe K. Genetic characterization of a new insect flavivirus isolated from *Culex pipiens* mosquito in Japan. *Virology*. 359: 405-414. 2007
- Hamano, M., Lim, C.K., Takagi, H., Sawabe, K., Kuwayama, M., Kishi, N., Kurane, I., Takasaki, T. Detection of antibodies to Japanese encephalitis virus in the wild boars in Hiroshima prefecture, Japan. *Epidemiology and Infection*, 12, 1-4, 2007
- Nerome, R., Tajima, S., Takasaki, T., Yoshida, T., Kotaki, A., Lim, C.K., Ito, M., Sugiyama, A., Yamauchi, A., Yano, T., Kameyama, T., Morishita, I., Kuwayama, M., Ogawa, T., Sahara, K., Ikegaya, A., Kanda, M., Hosoya, Y., Itokazu, K., Onishi, H., Chiya, S., Yoshida, Y., Tabei, Y., Katsuki, K., Tabata, K., Harada, S., Kurane, I. Molecular epidemiological analyses of Japanese encephalitis virus isolates from swine in Japan from 2002 to 2004. *J. Gen. Virol*, 2007. 88(Pt 10):2762-8.
- Yu, F., Hasebe, F., Inoue, S., Mathenge, E. G., Morita, K., Identification and characterization of RNA-dependent RNA polymerase activity in recombinant Japanese encephalitis virus NS5 protein. *Arch Virol*. Vol.152 (10): 1859-1869, 2007.
- Dimaano, E. M., Saito, M., Honda, S., Miranda, E. A., Alonzo, M.T.G., Valerio, M.D., Mapua, C.A., Inoue, S., Kumatori, A., matias, R., Natividad, F.F., Oishi, K. Lack of efficiency of high-dose intravenous immunoglobulin treatment of severe thrombocytopenia in patients with secondary dengue virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* Vol. 77 (6), 1135-1138, 2007.
- Pandey, B.D., Morita, K., Khanal, S.R., Takasaki, T., Miyazaki, I., Ogawa, T., Inoue, S., Kurane, I., Dengue Virus, Nepal. *Emerging Infectious Diseases*. Vol.14 (3), 514-515, 2007.
- Kitabatake, M., Inoue, S., Yasui, F., Yokochi, S., Arai, M., Morita, K., Shida, H., Kidokoro, M., Murai, F., Le, M.Q., Mizuno, K., Matsushima, K., Kohara, M., SARS-Co V spike protein-expressing recombinant vaccinia virus efficiently induces neutralizing antibodies in rabbits pre-immunized with vaccinia virus. *Vaccine*, Vol.25, 630-637, 2007.
- Lim, C.K., Takasaki, T., Kotaki, A., Kurane, I. Vero cell-derived inactivated West Nile (WN) vaccine induces protective immunity against lethal WN virus infection in mice and shows a facilitated neutralizing antibody response in mice previously immunized with Japanese encephalitis

vaccine. *Virology* 2008

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

Maeda, J., Takagi, H., Hashimoto, S., Kurane, I., and Maeda, A. A PCR-based protocol for generating West Nile virus replicons. *J. Virol. Methods* 148 : 244-252, 2008

Zheng, K., Zhou, H.-Q., Yan, J., Ke, C.-W., Maeda, A., Maeda, J., Takashima, I., Kurane, I., Ma, H., and Xie, X.-M. Molecular characterization of the E gene of dengue virus type 1 isolated in Guangdong Province, China, in 2006. *Epidemiology and Infection* In press 2008

Fujii Y, Kitaura K, Nakamichi K, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I.: Accumulation of T-cells with selected T-cell receptors in the brains of Japanese encephalitis virus-infected mice. *Jpn J Infect Dis.* 2008; 61(1):40-8.

Kasai, S., Komagata, O., Tomita, T., Sawabe, K., Tsuda, Y., Kurahashi, H., Ishikawa, T., Motoki, M., Takahashi, T., Tanikawa, T., Yoshida, M., Shinjo, G.,

Hashimoto, T., Higa, Y. and Kobayashi, K. PCR-Based identification of *Culex pipiens* complex collected in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* (in press) 2008.

Okamoto, S., Yoshii, H., Ishikawa, T., Akagi, T., Akashi, M., Takahashi, M., Yamanishi, K., Mori, Y. Single dose of inactivated Japanese encephalitis vaccine with poly(γ -glutamic acid) nanoparticles provides effective protection from Japanese encephalitis virus. *Vaccine* 26:589-594, 2008.

2. 学会発表

1) 国際学会

Lim, C.K., Takasaki, T., Kotaki, A., Ishikawa, T., Kurane, I. Mouse Antibody Response to novel Vero-Cell-derived Inactivated Human West Nile Vaccine for Immunization against West Nile virus. 第41回日米医学ウイルス性疾患専門部会 2007年7月

Moi, M.L., Lim, C.K., Takasaki, T., Kurane, I. Role of Fc-gamma II receptor in antibody dependant enhancement of dengue viral infection. 第3回 Dengue ウイルス研究ネットワーク会議 2007年8月

Inoue, S., Khan, A.H., Fuke, I., Ishikawa, T., Herrera, G.P., Hasebe, F., Morita, K., Development of inactivated vaccine against West Nile virus infection. 19th Philippine Association

for Laboratory animal Science (PALAS) Annual Scientific Conference. (Mandaluyong City, Metro Manila, Philippines, May 18, 2007).

Shinji Kasai, Osamu Komagata, Yoshio Tsuda, Takashi Tomita and Mutsuo Kobayashi (2007) A simplified molecular identification of the vectors of West Nile fever, *Culex pipiens* complex collected in Japan. 41st Joint Conference on Parasitic Diseases, February 3, 2007, The University of Tokyo, Japan

Nga, P.T., Thuy, N.T., Yen, N.T., Dat, D.T., Inoue, S., Parquet, M.C., Morita, K., Emerging possible sub-type of Nam Dinh virus associated with acute encephalitis syndrome in Vietnam. Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2007. (Nagasaki city, Japan, January 15-16, 2007).

Lan, N.T.P., Kikuchi, M., Huong, V.T., Ngu, V.T., Dao, H.N., Tham, V.D., Dat, T.V., Ha, D.Q., Oyama, T., Morita, K., Yasunami, M., Hirayama, K., Susceptible and protective HLA alleles against dengue hemorrhagic fever in Vietnam. Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2007. (Nagasaki city, Japan, January 15-16, 2007).

Hirayama, K., Lan, N.T.P., Kikuchi, M., Huong, V.T., Ngu, V.T., Dao, H.N., Tham, V.D., Dat, T.V., Ha, D.Q., Oyama, T., Yasunami, M., Morita, K., Genetic Predisposition to dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) Asian Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2007. (Nagasaki city, Japan, January 15-16, 2007).

2) 国内学会

星野啓太, 伊澤晴彦, 津田良夫, 矢野和彦, 佐々木年則, 油田正夫, 高崎智彦, 小林睦生, 澤邊京子. 本邦イエカ属蚊類から分離された新規フラビウイルスの性状解析. 第59回日本衛生動物学会大会, 2007年4月3-4日, 大阪市.

津田良夫, 星野啓太, 伊澤晴彦, 伊澤晴彦, 中口梓, 葛西真治, 片野理恵, 金京純, 駒形修, 富田隆史, 佐々木年則, 林利彦, 澤邊京子, 小林睦生. 渡り鳥飛来地における蚊の捕集とウエストナイル熱病原体の検出結果. 第59回日本衛生動物学会大会, 2007年4月3-4日, 大阪市.

鈴木智之, 菅原民枝, 大日康史, 多田有希, 岡部信彦渡航者: 渡航予定者におけるウエストナイル熱の認知状況, 48回日本熱帯医学会・第21回日本国際保健医療学会合同学会, 別府市, 2007年

貫井陽子, 田島茂, 林昌宏, 高崎智彦, 倉根一郎: 日本脳炎ウイルス Genotype shift の生物学的意義, 第81回日本感染症学会 2007年4月

井本淳一、石川知弘、山中敦史、小西美佐子、村上賢二、林 昌宏、濱野正敬、高崎智彦、宇田川晴英、向田嘉宏、小西英二：ブタ流産予防を目的とした日本脳炎 DNA/蛋白ワクチン混合投与方法及び針無投与方法の併用効果、第 42 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2007 年 5 月

高崎智彦、林 昌宏、小滝 徹、水野泰孝、加藤康幸、工藤宏一郎、渡邊香奈子、倉根一郎：チクングニヤ熱輸入 2 症例と実験室診断法、第 42 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2007 年 5 月

貫井陽子、田島 茂、根路銘令子、林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎：日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定、第 12 回日本神経感染症学会 2007 年 10 月

モイ メンリン、林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎：デング出血熱における Fc γ IIA (CD32) 受容体を介した抗体依存性感染増強 (ADE) メカニズムの解析、第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

貫井陽子、田島 茂、根路銘令子、林 昌宏、高崎智彦、倉根一郎：日本脳炎ウイルスの病原性を規定するウイルス因子の同定、第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

井本淳一、石川知弘、山中敦史、小西美佐子、村上賢二、林 昌宏、濱野正敬、高崎智彦、小西英二：ブタにおける日本

脳炎 DNA/蛋白ワクチン混合針無投与方法の有用性評価、第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

林 昌宏、高崎智彦、小滝 徹、モイ メンリン、伊藤美佳子、倉根一郎：チクングニヤ熱輸入症例患者血清より日本で初めて分離されたチクングニヤウイルスの性状解析、第 55 回日本ウイルス学会 2007 年 10 月

大滝 尚広、高橋 秀宗、田中 恵子、石川 豊教、東 雍、佐多 徹太郎、小島 朝人：ウエストナイルウイルスサブユニットワクチンの開発、第 11 回日本ワクチン学会 学術集会、2007 年 12 月、横浜。

岡本成史、吉井洋紀、小島朝人、石川豊教、明石 満、高橋理明、山西弘、森 康子：ポリ- γ -グルタミン酸ナノ粒子の日本脳炎ワクチンアジュバントとしての可能性、第 11 回日本ワクチン学会学術集会、2007 年 12 月、横浜。

岡本成史、吉井洋紀、小島朝人、石川豊教、明石 満、高橋理明、山西弘一、森 康子：アジュバントとの併用による効果的な日本脳炎ワクチンの 1 回接種法の検討、第 55 回日本ウイルス学会学術集会、2007 年 10 月、札幌。

星野啓太, 伊澤晴彦, 津田良夫, 矢野和彦, 佐々木年則, 高崎智彦, 小林睦生, 澤邊京子. 本邦イエカ属蚊類から分離された新規フラビウウイルスの性状解析. 第59回日本衛生動物学会大会. 2007年4月2-4日, 大阪

星野啓太, 伊澤晴彦, 津田良夫, 佐々木年則, 高崎智彦, 澤邊京子, 小林睦生. 本邦生息蚊における昆虫フラビウウイルスの検出およびその性状解析. 第42回日本脳炎ウイルス生態学研究会. 2007年5月18-19日, 石川

岡本成史, 吉井洋紀, 小島朝人, 石川豊教, 明石 満, 高橋理明, 山西弘一, 森 康子 アジュバントとの併用による効果的な日本脳炎ワクチンの1回接種法の検討 第55回日本ウイルス学会学術集会(札幌) 2007年10月21-23日

岡本成史, 吉井洋紀, 小島朝人, 石川豊教, 明石 満, 高橋理明, 山西弘一, 森 康子 ポリ- γ -グルタミン酸ナノ粒子の日本脳炎ワクチンアジュバントとしての可能性 第11回日本ワクチン学会学術集会(横浜) 2007年12月8-9日

井上真吾, 福家 功, 石川豊教, Posadas Guillermo, Parquet Maria del Carmen, 長谷部 太, 森田公一: 西ナイルウイルス不活化ワクチンの開発と有効投与量の評価. 第48回日本熱帯医学会大会・大分県別府市, 2007年10月12-13日

余 福勲, 長谷部 太, 井上真吾, Edward Mathenge, 木下一美, 森田公一: Mosquito La protein binds to the 3' untranslated region of the positive and negative strand Japanese encephalitis virus RNAs and inhibits RNA replication in vitro. 第48回日本熱帯医学会大会・大分県別府市, 2007年10月12-13日

斎藤麻里子, 本田章子, 井上真吾, 有吉紅也, 大石和徳: デングウイルス二次感染症におけるマクロファージによる血小板食食クリアランスの亢進. 第48回日本熱帯医学会大会・大分県別府市, 2007年10月12-13日

木下一美, Baclig Michael O., Gervacio Leonora T.S., Matias Ronald.R., Natividad, Filipinas F., Nguyen Thanh Hung, Vu Thi Que Huong, 井上真吾, 森田公一, 長谷部 太: フローサイトメトリーを用いたデング患者血液の解析. 第48回日本熱帯医学会大会・大分県別府市, 2007年10月12-13日

Posadas Guillermo, 鍋島 武, Parquet Maria del Carmen, Suu Pham Ti, Thuy Nguyen Thanh, Nga Phan Thi, 井上真吾, 長谷部 太, 森田公一: ベトナム北部の蚊からの Banna ウイルス近縁ウイルスの分離. 第48回日本熱帯医学会大会・大分県別府市, 2007年10月12-13日

久保 亨, 森田公一, Paweska Janusz, Le Roux channel: Rift Valley Fever ウイルスに対する LAMP 法の確立. 第48回日本

熱帯医学会大会・大分県別府市、2007年
10月12—13日

安井文彦、甲斐知恵子、北島正大、井上
真吾、米田美佐子、森田公一、松島綱治、
小原道法：SARS-CoV スクレオキャプシド
タンパク質の免疫による SARS-CoV 感染後
の肺炎重篤化への関与。第 55 回日本ウ
イルス学会学術集会・北海道札幌市、2007
年 10 月 21 日-23 日

Parquet Maria del Carmen、余 福勲、
鍋島 武、Pasadas Guillermo、長谷部
太、森田公一：New virus isolated from
mosquitoes in Vietnam. 第 55 回日本ウ
イルス学会学術集会・北海道札幌市、2007
年 10 月 21 日-23 日

加藤大介、左 一八、長谷部 太、森田
公一、鈴木康夫、鈴木 隆：フラビウイ
ルス結合性糖鎖分子の構造と機能。第
55 回日本ウイルス学会学術集会・北海道
札幌市、2007 年 10 月 21 日-23 日

余 福勲、長谷部 太、井上真吾、木下
一美、森田公一：Mosquito La protein
binds to the 3' end of the positive and
negative strand JEV RNAs and inhibits
RNA replication in vitro. 第 55 回日本
ウイルス学会学術集会・北海道札幌市、
2007 年 10 月 21 日-23 日

久保 亨、森田公一：Rift Valley Fever
ウイルスに対する LAMP 法の確立。第
55 回日本ウイルス学会学術集会・北海道
札幌市、2007 年 10 月 21 日-23 日

鍋島 武、Parquet Maria del Carmen、
余福勲、Pasadas Guillermo、井上真吾、
長谷部 太、森田公一：ベトナム北部の
蚊からの Banna ウイルス近縁ウイルスの
分離。第 55 回日本ウイルス学会学術集
会・北海道札幌市、2007 年 10 月 21 日-23
日

前田秋彦、前田潤子、高木弘隆、堀内基
広、倉根一郎 ウエストナイルウイルス
のマイナス鎖 smallRNA の合成 第 54 回
日本ウイルス学会、名古屋 (2006. 11) 前
田秋彦、前田潤子、橋本新吾、高木弘隆、
高島郁夫、倉根一郎 ウエストナイルウ
イルス E 蛋白質糖鎖付加のウイルス粒
子形成と細胞変性効果への影響 第 42 回
日本脳炎ウイルス生態学研究会、石川
(2007. 6)

浅川満彦、大沼学、吉野智生、佐々木均、
前田秋彦、長嶺隆、天野洋祐、伊東孝、
斉藤美加、外平友佳理、村田浩一、桑名
貴 酪農学園大学野生動物医学センター
WAMC における野鳥病原体感染のリスク評
価研究 (概要紹介) 第 13 回日本野生動
物医学会、岩手 (2007. 9)

前田潤子、高木弘隆、倉根一郎、高島郁
夫、前田秋彦 中空ウイルス粒子を用い
たウエストナイルと日本脳炎ウイルスに
対する感染血清の鑑別 第 144 回日本獣
医学会、江別 (2007. 9)

前田秋彦、前田潤子、高木弘隆、高島郁
夫、倉根一郎 2006 年、中国・広東省で