

200804003A

厚生労働科学研究費
社会保障国際協力推進研究事業

ウイルス性感染症の診断、疫学及び 予防に関する研究

平成20年度 総括研究報告書

平成21（2009）年3月

研究代表者 倉根 一郎
国立感染症研究所ウイルス第1部

厚生労働科学研究費
社会保障国際協力推進研究事業

ウイルス性感染症の診断、疫学及び 予防に関する研究

平成20年度 総括研究報告書

平成21（2009）年3月

研究代表者 倉根 一郎
国立感染症研究所ウイルス第1部

目 次

I	総括研究報告	(ページ)
	ウイルス性感染症の診断、疫学及び予防に関する研究	1
	研究代表者：倉根一郎(国立感染症研究所ウイルス第1部)	
II	研究分担報告	
1	ウイルス感染症の疫学に関する研究	23
	研究分担者：高島郁夫(北海道大学大学院獣医学研究科)	
2	フラビウイルスの疫学に関する研究	27
	研究分担者：小西英二(神戸大学大学院保健学研究科)	
3	フラビウイルス感染の治療法に関する研究	33
	研究分担者：竹上勉(金沢医科大学総合医学研究所)	
4	アルボウイルスの病原性に関する研究	36
	研究分担者：森田公一(長崎大学熱帯医学研究所)	
5	ハンタウイルス感染症の診断法に関する研究	44
	研究分担者：有川二郎(北海道大学大学院医学研究科)	
6	ハンタウイルス感染症の疫学的研究	49
	研究分担者：荻和宏明(北海道大学大学院獣医学研究科)	
7	ウイルス性出血熱の診断法の開発に関する研究	54
	研究分担者：西條政幸(国立感染症研究所ウイルス第1部)	
8	ウイルス性下痢症の疫学、ワクチンと疾病負担に関する研究	61
	研究分担者：中込治(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)	
9	ウイルス性下痢症の病態解析に関する研究	64
	研究分担者：谷口孝喜(藤田保健衛生大学医学部)	
10	下痢症ウイルスの病原性に関する研究	66
	研究分担者：小林宣道(札幌医科大学医学部)	
11	下痢症ウイルスの病原性解析に関する研究	75
	研究分担者：片山和彦(国立感染症研究所ウイルス第2部)	
12	狂犬病に対する治療法の開発に関する研究	83
	研究分担者：西園晃(大分大学医学部)	
13	狂犬病の診断法の確立に関する研究	95
	研究分担者：井上智(国立感染症研究所獣医科学部)	

1 4	狂犬病の疫学と神経病原性に関する研究	102
	研究分担者：伊藤直人(岐阜大学応用生物科学部)	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	107
IV	研究成果の刊行物・別刷	111

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（社会保障国際協力推進研究事業）

総括研究報告書

ウイルス性感染症の診断、疫学及び予防に関する研究

研究代表者：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：アルボウイルス感染症、ウイルス性下痢症、ウイルス性出血熱、狂犬病を中心に、特にアジアにおいて問題となるウイルス感染症に関し、(1)新たな診断、検査法を確立し普及すること、(2)疫学調査により国内外における流行状況を明らかにし、対策のための基盤を確立すること、(3) 病原体の解析をもとに病態形成機序を明らかにし、予防治療法確立のための基盤を確立すること、を目的して研究を進めた。アルボウイルス研究においては、ダニ媒介性脳炎ウイルスの新たな検査法を確立した。インドネシア、ジャワ島における日本脳炎ウイルスの活動を明らかにした。ウイルス性出血熱研究においては、アメリカ大陸に存在するハンタウイルスに対する検査法を開発し、アジアにおけるハンタウイルスとの鑑別を可能とした。ウイルス性下痢症の研究においては、バングラデシュにおけるロタウイルス流行株の分子基盤が明らかにした。また、リバーズジェネティクス系を用い、交叉性中和エピトープの抗原モザイクを有する感染性ロタウイルスを作製した。狂犬病研究においてはインドネシアにおける狂犬病ウイルス流行株を明らかにした。また、新たな抗原検査法を開発した。

研究分担者：

有川二郎：北海道大学大学院医学研究科
教授

伊藤直人：岐阜大学応用生物科学部
教授

井上 智：国立感染症研究所 室長

荻和宏明：北海道大学大学獣医学研究科
准教授

片山和彦：国立感染症研究所 主任研究官

小西英二：神戸大学医学部 准教授

小林宣道：札幌医科大学 教授

西條政幸：国立感染症研究所 室長

高島郁夫：北海道大学大学院獣医学研究科
教授

竹上 勉：金沢医科大学 教授

谷口孝喜：藤田保健衛生大学医学部 教授
中込 治：長崎大学大学院医歯薬総合研究
科 教授

西園 晃：大分大学医学部 教授

森田公一：長崎大学熱帯医学研究所 教授

A. 研究目的

日本およびわが国を取りまくアジア地域においては、依然として多くのウイルス感染症が問題となっている。アルボウイルス感染症においては、デング熱患者が東南アジアを中心に多数発生している。ウイルス性下痢症は東南アジアの幼児を中心に流行しているが近年、日本においてもノロウイルス感染症等の流行がおり死者も発生したことから大きな問題となっている。腎症候性出血熱はアジアにおいては中国を中心に多数の患者発生を記録している。狂犬病は依然としてアジア諸国では多数の死者を記録している。本研究においてはアルボウイルス感染症、ウイルス性下痢症、ウイルス性出血熱、狂犬病を中心に、特にアジアにおいて問題となるウイルス感染症につき、

- (1) 検査法の確立と普及、(2) 疫学調査により国内外における流行状況を解明する、
- (3) 各種病原体の解析をもとに病態形成機序を解明し予防治療法確立のための基盤を確立する、ことを目的とする。

B. 研究方法

1. アルボウイルス感染症

検査法開発：ダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) の中空ウイルス様粒子 (SPs) を用い、

野鼠から TBEV 特異抗体を検出する ELISA 法を開発した。野鼠における本法の診断結果と中和試験での結果を比較した。

疫学調査：ブタ飼育数の少ない環境における JEV の自然界での活動を解明するため、インドネシア、ジャワ島住民血清日本脳炎抗体保有状況を調べた。

石川県において野外蚊からの日本脳炎ウイルス (JEV) の分離を定点、定時期に行い、さらにウイルス病原性についての解析を行った。

病態解明：デング出血熱患者から C6/36 細胞と K562/3 細胞を用いてデングウイルスが分離し、さらにその性状を解析した。

2. ウイルス性出血熱；

検査法開発：迅速にハンタウイルス感染を検出するための血清診断法の開発、広い範囲のハンタウイルスを検出する PCR 法を開発した、アジアにおけるいわゆる不明熱にハンタウイルスが関与しているかどうかについて検討を行った。

疫学調査：メキシコではハンタウイルス感染の流行状況がほとんど調査されていないことから、まずげっ歯類におけるハンタウイルス感染の疫学調査を実施した。

病原性の解明：サル痘ウイルス強毒株であるコンゴ盆地型 Zr-599 株と病原性の低い西アフリカ型 Liberia 株の遺伝子を比較することにより、病原性に関わる遺伝子を解析した。

3. ウイルス性下痢症；

検査法開発：ロタウイルスのリバースジェネティクス系を開発し、この系を利用して、VP4 上の交叉性中和エピトープの抗原モザイクを有する感染性ロタウイルスの調製を行った。

疫学調査：既報の疫学的データをもとに必要な指標を算出し、決定樹を含むモデルを作成した。このモデルを使い、ワクチン導入を行った場合のロタウイルス下痢症による入院患者発生数がどのようになるかを予測した。

バングラデシュ北部マイメンシン市において、小児および成人より下痢便検体を採取し、ロタウイルスの検出および遺伝子型別を行なうとともにそれらの系統遺伝学的関係を解析した。

病原性解明：哺乳類細胞内でのノロウイルス (NoV) 複製を再現するため、リバースジェネティクスシステムの構築を目指し、GII/3 株の全長遺伝子 cDNA を哺乳類プロモーターEF-1 α 下流にクローニングしたコンストラクトを用いて、ウイルス蛋白の翻訳と切断、さらにウイルス様粒子の形成を解析した。

4. 狂犬病；

検査法開発：狂犬病侵淫地での媒介動物主にイヌの実験室内診断をより迅速に行うための検査法と、ウイルス表面の G 蛋白に対する抗体測定のための検査法を、イムノクロマト法に基づいて作製し有用性を確認した。

より安価に特異抗体を生産可能な方法と

して、免疫グロブリン V_H 鎖、V_L 鎖の抗原結合領域だけから構成される小型の抗体様分子である「single chain variable fragment (scFv)」を利用した狂犬病の抗原診断法を開発した。

疫学調査：インドネシアで流行する狂犬病ウイルスの遺伝的關係及び動態を明らかにするために、スマトラ、ジャワ、カリマンタン、スラウェシ及びフロレスの各島から採取された野外ウイルス 10 株について、これらの N 遺伝子部分的塩基配列を決定し解析した。

C. 研究結果

1. アルボウイルス感染症：

新しく開発したダニ媒介性脳炎ウイルス (TBEV) 中空粒子を用いた ELISA 法の結果と中和試験での結果を比較したところ、敏感度 91.4%、特異度 100% とともに高い検出精度を示した。本法は、TBEV 流行地区での疫学調査で得た野鼠にも応用可能であったことから、TBEV 分布状況の把握のためのスクリーニング法として有用であることが示された。

インドネシア、ジャカルタ住民の 2.2%、またスラバヤ住民の 1.8% が日本脳炎ウイルスに 1:160 以上の中和抗体価を示した。ブタ飼育数が少ないにもかかわらず、ジャワ島住民は比較的高い頻度で日本脳炎ウイルスの自然感染を受けていることが明らかになった。

石川県において 990 匹の野外蚊を採取した。しかし日本脳炎ウイルスは分離されな

かった。2005年に分離されたウイルス Ishikawa-K05株と JaGAR01株（遺伝子タイプ3型）との比較では、細胞における増殖性は異なるが、マウスに対する病原性に差異は無く、強毒性であった。

デング出血熱患者からその標的細胞と患者血液中のウイルスを解析した。デングウイルスの患者血液中の多様性と細胞向性の多様性が認められた。

2. ウイルス性出血熱：

ハンタウイルス Andes virus (ANDV) と Sin Nombre virus (SNV) 感染の簡易鑑別診断法をヒトおよび病原巣動物で開発するため抗原の作製を行った。SNV、ANDV、およびエルモロキヤニオン様ウイルスの組換えNP抗原のN末端を50アミノ酸あるいは100アミノ酸欠いたトランケート抗原をバキュロウイルスベクターで発現させ抗原とした。これらの組換え抗原の発現量と抗原性を Western blotting および IFA で確認した。

メキシコにおいて211匹のげっ歯類を捕獲し、これらについて抗ハンタウイルス抗体とウイルス遺伝子の検出を行った。その結果、8種のげっ歯類中25例の抗体陽性の肺からRNAを抽出し、RT-PCRによってハンタウイルスのS遺伝子の検出を試みた。メキシコのハンタウイルスは *Peromyscus-Habromys* 属系、*R. fulvescens* 系、および *R. megalotis* 系の3系統のウイルスに大きく分類された。

サル痘ウイルス D14L, D10L, B10R 遺伝子の塩基配列を決定した。207個からなる分

泌型補体結合蛋白をコードする遺伝子は Liberia 株では欠損していた。Zr-599 株の病原因子のアミノ酸は221個と予想されるのに対して、Liberia 株 n それは118個のアミノ酸からなると予想された。

3. ウイルス性下痢症：

ロタウイルス VP4には、3つの交叉性中和エピトープ (I, II, および III) が存在するが、部位特異的変異を導入することにより、サルロタウイルス SA11 株由来の VP4 の交叉性中和エピトープ II を、ヒトロタウイルス DS-1 株のそれと入れ替えた。得られたキメラウイルスは、交叉性中和エピトープ II の抗原性は DS-1 型に、他のエピトープは SA11 型であった。

5歳までに約6.5%の小児がロタウイルスによる入院を経験し、出生コホート1000人の仮定の行政単位では、67人が入院することになると推定した。ロタウイルスワクチンが任意接種として導入されれば、入院患者は51人、定期接種となれば18人になると推定された。

バングラデシュ北部において小児、成人におけるロタウイルスの検出率は各々26%、10%であり、遺伝子型ではともに G2 が最も多く、G1、G9 がそれに続き、新興型の G12 も少数検出された。小児および成人由来の、G1、G2、G9、G12 を規定する VP7 遺伝子、P[4]、P[6]、P[8] を規定する VP4 遺伝子は各型内で互いに約98%以上の一致率を示し、いずれも単一のクラスターに分類された。

ノロウイルス GII/3 株全長遺伝子を発現

した細胞内には全ての非構造蛋白と構造蛋白が発現し、ゲノム RNA の複製とマイナス鎖の合成、サブゲノム RNA の合成が観察された。更に細胞内には、比重 1.40 g/ml のウイルス様粒子が産生された。産生された粒子は、比重 1.40 g/ml を示し、完全長のゲノム RNA とウイルス様粒子がパッケージされていた。

4. 狂犬病：

狂犬病ウイルス N 蛋白を特異的に認識する単クローン抗体を利用したイムノクロマト法による抗原迅速診断アッセイ系を開発した。また、狂犬病の G 蛋白を検出できる単クローン抗体でキットを構築し、不活化した狂犬病ウイルスと血清を反応後、このキットに添加することで中和抗体の存在を定性的に測定する迅速検査法を開発した。

狂犬病ウイルス P 蛋白質 (RV-P) に特異的に反応する single chain variable fragment (scFv) の作出を行った。scFv は蛍光標識を行い、狂犬病ウイルス実験株 (CVS-11) に対する反応性を調べた。4 種類のヘテロなクローン scFvNo. 19、38、80、115 の作出に成功した。蛍光標識した 4 つのクローンはいずれも感染細胞中の狂犬病ウイルス (CVS-11) 抗原に特異的に反応することが確認された。

インドネシアで流行する狂犬病ウイルス株はひとつのクラスターを形成し、かつアジア各国で流行するウイルスと遺伝的に近縁であることが明らかとなった。これらのインドネシア株は、中国で流行するウイル

スと特に近縁であった。インドネシアで流行するウイルスは、さらに 3 つの系統グループ (ID1、ID2 及び ID3) に分類された。

D. 考察

日本および他のアジア地域においては、依然として多くのウイルス感染症が問題となっている。

アルボウイルス研究においては、ダニ媒介性脳炎ウイルスの新たな血清診断法を確立した。本方法は今後の疫学的研究において有用である。また、日本脳炎ウイルスの自然宿主とされるブタが非常に少ないインドネシアジャワ島においても住民は比較的高い頻度で日本脳炎ウイルスの自然感染を受けていることが明らかになり、自然界における日本脳炎ウイルスの感染環の解析が必要であることが示唆された。

ウイルス性出血熱研究においてはアメリカ大陸におけるハンタウイルスの系統樹解析を行うとともに、また、この地域に存在するハンタウイルス感染の検査法の確立を行い、アジアにおけるハンタウイルス感染との鑑別を可能とするための基盤が確立された。

ウイルス性下痢症の研究においては、バングラデシュにおけるロタウイルス流行株の分子基盤が明らかにされた。すでに、ロタウイルスのリバースジェネティクス系が開発されている。今後この系を用いることによって、病原性の解明、新型ワクチンの開発等の研究が大きく進展することが期待される。

狂犬病研究においては狂犬病ウイルス感染の新しい検査系開発、新しい治療法開発のための基盤が確立されつつある、また、今年度はインドネシアにおいて流行している狂犬病ウイルス株の正常が明らかにされた。平成18年、日本人2名がフィリピンにおいて狂犬病ウイルスに感染し発症した。これらの事例から狂犬病がアジアにおいて大きな問題であることが再認識された。また感染地の確認等のためにも、アジア各国での狂犬病ウイルス株の基礎データの蓄積が重要である。

E. 結論

アルボウイルス研究においては、ダニ媒介性脳炎ウイルスの新たな検査法を確立した。インドネシア、ジャワ島における日本脳炎ウイルスの活動を明らかにした。ウイルス性出血熱研究においては、アメリカ大陸に存在するハンタウイルスに対する検査法を開発し、アジアにおけるハンタウイルスとの鑑別を可能とした。ウイルス性下痢症の研究においては、バングラデシュにおけるロタウイルス流行株の分子基盤が明らかにした。また、リバーシジェネティクス系を用い、交叉性中和エピトープの抗原モザイクを有する感染性ロタウイルスを作製した。狂犬病研究においてはインドネシアにおける狂犬病ウイルス流行株を明らかにした。また、新たな抗原検査法を開発した。

F. 健康危機管理情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Takasaki, T., Kotaki, A., Nishimura, K., Sato, Y., Tokuda, A., Lim, C.K., Ito, M., Tajima, S., Nerome, R. and Kurane, I.: Dengue virus type 2 isolated from an imported dengue patient in Japan: first isolation of dengue virus from Nepal. *Journal of Travel Medicine*. 15(1): 46-49, 2008.

Fujii, Y., Kitaura, K., Nakamichi, K., Takasaki, T., Suzuki, R. and Kurane, I.: Accumulation of T-cells with selected T-cell receptors in the brains of Japanese encephalitis virus-infected mice. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 61(1): 40-48, 2008.

Lim, C.K., Takasaki, T., Kotaki, A. and 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*. 374(1):60-70, 2008

A-Nuegoonpipat, A., Panthuyosri, N., Anantapreecha, S., Chanama, S., Sa-Ngasang, A., Sawanpanyalert, P. and Kurane, I.: Cross-reactive IgM responses in patients with dengue or Japanese encephalitis. *Journal of Clinical Virology*. 42(1):75-77, 2008

Arai, S., Matsunaga, Y., Takasaki, T., Tanaka-Taya, K., Taniguchi, K., Okabe, N., Kurane, I., and Vaccine Preventable Diseases Surveillance Program of Japan. Japanese encephalitis: surveillance and elimination effort in Japan from 1982 to

2004. Japanese Journal of Infectious Diseases. 61(5):333-338, 2008.
- Chandy, S., Yoshimatsu, K., Ulrich, R. G., Mertes, M., Okumura, M., John, T., Balraj, V. Muliylil, J., Mammen, J., Abraham, P., Arikawa, J., Sridharan, G., : Seropidemiological study on hantavirus infections in India. ELSEVIER/Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (2008) 102. 70-74
- Taruishi, M., Yoshimatsu, K., Hatsuse, R. Okumura, M., Nakamura, I., Arikawa, J.: Lack of vertical transmission of Hantaan virus from persistently infected dam to progeny in laboratory mice. Arch Virol 2008;153(8):1605-9. 2008. 7
- Arai, S., Ohdachi, D. S., Asakawa, M., Kang, H, J., Mocz, G., Arikawa, J., Okabe, N., Yanagihara, R., : Molecular phylogeny of a new found hantavirus in the Japanese shrew mole (*Urotrichus talpodeis*) PNAS 105: 16296-16301, 2008
- Mita T, Shimizu K, Ito N, Yamada K, Ito Y, Sugiyama M, Minamoto N: Amino acid at position 95 of the matrix protein is a cytopathic determinant of rabies virus. Virus Res. 2008. 137: 33-39.
- Susetya H, Sugiyama M, Inagaki A, Ito N, Mudiarto G, Minamoto N: Molecular epidemiology of rabies in Indonesia. Virus Res. 2008. 135: 144-149.
- Hotta K., Bazartseren B., Kaku Y., Noguchi A., Okutani A., Inoue S. and Yamada A. 2008. Effect of cellular cholesterol depletion on rabies virus infection. Virus Res. 139:85-90.
- Nishizono A., Khawplod P., Ahmed K., Goto K., Shiota S., Mifune K., Yasui T., Takayama K., Kobayashi Y., Mannen K., Tepsumethanon V., Mitmoonpitak C., Inoue S. and Morimoto K. 2008. A simple and rapid immunochromatographic test kit for rabies diagnosis. Microbiol. Immunol. 52:243-249.
- Ishida S, Yoshizumi S, Miyoshi M, Ikeda T, Okui T, Katayama K, Takeda N, Oka T. Characterization of sapovirus strains in outbreaks in Hokkaido, Japan. Jpn J Infect Dis 61: 504-. 2008
- Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H, 2008. Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. J Virol 82: 11247-62. 2008.
- Wu FT, Oka T, Takeda N, Katayama K, Hansman GS, Muo CH, Liang SY, Hung CH, Dah-Shyong Jiang D, Hsin Chang J, Yang JY, Wu HS, Yang CF. Acute gastroenteritis caused by GI/2 sapovirus, Taiwan. Emerg Infect Dis 14: 1169-71. 2007
- Oka T, Yamamoto M, Yokoyama M, Ogawa S, Hansman GS, Katayama K, Miyashita K, Takagi H, Tohya Y, Sato H, Takeda N. Highly conserved configuration of catalytic amino acid residues among calicivirus-encoded proteases. J Virol 81: 6798-806. 2007.
- Hansman GS, Sano D, Ueki Y, Imai T, Oka T, Katayama K, Takeda N, Omura T. Sapovirus in water, Japan. Emerg Infect Dis 13: 133-5. 2007

Guix, S., Asanaka, M., Katayama, K., Crawford, S. E., Neill, F. H., Atmar, R. L., Estes, M. K. Norwalk Virus RNA is infectious in mammalian cells. *Journal of Virology* 81:12238-12248. 2007

Hansman, G. ., Oka, T., Katayama, K., Takeda, N. Human sapoviruses: genetic diversity, recombination, and classification. *Reviews in medical virology* 17:133-141, 2007.

Yoshii K, Goto A, Kawakami K, Kariwa H, Takashima I. Construction and application of chimeric virus-like particles of tick-borne encephalitis virus and mosquito-borne Japanese encephalitis virus. *J Gen Virol.* 89: 200-211, 2008.

Kariwa H, Noda H, Nakauchi M, Ishizuka M, Hashiguchi K, Hashimoto S, Yoshii K, Asano A, Agui T, Kogaki H, Kurano Y, Uchida Y, Fujii N, Okada M, Takashima I. Characterization and epitope mapping of monoclonal antibodies to the nucleocapsid protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Jpn J Vet Res.* 55: 115-127, 2008.

Nakamura I, Yoshimatsu K, Lee BH, Okumura M, Taruishi M, Araki K, Kariwa H, Takashima I, Arikawa J. Development of a serotyping ELISA system for Thailand virus infection. *Arch Virol.* 153: 1537-1542. 2008.

Abu Daud NH, Kariwa H, Tkachenko E, Dzagurnova T, Medvedkina O, Tkachenko P, Ishizuka M, Seto T, Miyashita D, Sanada T, Nakauchi M, Yoshii K, Maeda A, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I. Genetic and antigenic analyses of a

Puumala virus isolate as a potential vaccine strain. *Jpn J Vet Res.* 56: 151-165, 2008.

Tomohiro Ishikawa, Douglas G. Widman, Nigel Bourne, Eiji Konishi, Peter W. Mason: Construction and evaluation of a chimeric pseudoinfectious virus vaccine to prevent Japanese encephalitis. *Vaccine* 26, 2772-2781, 2008.

Teiichi Matsunaga, Mizue Shoda, Eiji Konishi: Japanese encephalitis remains common in Japan. *Pediatric Infectious Disease Journal* 27, 769-770, 2008.

Eiji Konishi, Kyoko Yagawa, Atsushi Yamanaka: Vero Cells Infected with Vaccinia Viruses Expressing Japanese Encephalitis Virus Envelope Protein Induce Polykaryocyte Formation under Neutral Conditions. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 61, 410-411, 2008.

Alam MM, Kobayashi N, Ishino M, Nagashima S, Paul SK, Chawla-Sarkar M, Krishnan T, Naik TN. Identical rearrangement of NSP3 genes found in three independently isolated virus clones derived from mixed infection and multiple passages of rotaviruses. *Arch Virol,* 2008, 153:555-559.

Aung TS, Kobayashi N, Oo KY, Aung MS. Prevalence of human rotavirus in adult diarrheal patients in Myanmar, 2002-2003. *Myanmar Journal of Current Medical Practice,* 2008, 12:2-5.

Nagashima S, Kobayashi N, Ishino M, Alam MM, Ahmed MU, Paul SK, Ganesh B, Chawla-Sarkar M, Krishnan T, Naik TN, Wang Y-H. Whole genomic characterization of a

human rotavirus strain B219 belonging to a novel group of the genus Rotavirus. *J Med Virol*, 2008, 80:2023-2033.

Ghosh S, Samajdar S, Sinha M, Kobayashi N, Taniguchi K, Naik TN. Molecular characterization of rare bovine group A rotavirus G15P[11] and G15P[21] strains from eastern India: identification of simian SA11- like VP6 genes in G15P[21] strains. *Virus Genes*, 2008, 37:241-249.

Samajdar S, Ghosh S, Chawla- Sarkar M, Mitra U, Dutta P, Kobayashi N, Naik TN. Increase in prevalence of human group A rotavirus G9 strains as an important VP7 genotype among children in eastern India. *J Clin Virol*, 2008, 43:3340339.

Samajdar S, Ghosh S, Dutta D, Chawla-Sarkar M, Kobayashi N, Naik TN. Human group A rotavirus P[8] Hun9-like and rare OP354-like strains are circulating among diarrhoeic children in Eastern India. *Arch Virol*, 2008, 153:1933-1936.

Paul SK, Kobayashi N, Nagashima S, Ishino M, Watanabe S, Alam MM, Ahmed MU, Hossain MA, Naik TN. Phylogenetic analysis of rotaviruses with genotypes G1, G2, G9 and G12 in Bangladesh : evidence for a close relationship between rotaviruses from children and adults. *Arch Virol*, 2008, 153:1999-2012.

Wang Y-H, Kobayashi N, Zhou X, Nagashima S, Zhu Z-R, Peng J-S, Liu M-Q, Hu Q, Zhou D-J, Watanabe S, Ishino M. Phylogenetic analysis of rotaviruses with predominant G3 and emerging G9 genotypes from adults and children in Wuhan, China. *J Med Virol*,

2009, 81:382-389.

Saijo, M., Suzutani, T., Mizuta, K., Kurane, I., Morikawa, S.: Characterization and susceptibility to antiviral agents of herpes simplex virus type 1 that codes a unique thymidine kinase gene with an amber codon between the first and the second initiation codons. *Arch Virol* 153:303-314, 2008

Saijo, M., Ami, Y., Suzaki, Y., Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Ogata, M., Fukushi, S., Mizutani, T., Iizuka, I., Sakai, K., Sata, T., Kurata, T., Kurane, I., Morikawa, S.: Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative PCR assay: differentiation of Congo Basin and West African MPXV strains. *Jpn J Infect Dis* 61:140-142, 2008

Ami, Y., Nagata, N., Shirato, K., Watanabe, R., Iwata, N., Nakagaki, K., Fukushi, S., Saijo, M., Morikawa, S., Taguchi, F.: Co-infection of respiratory bacterium with SARS coronavirus incudes an exacerbated pneumonia in mice. *Infect Microbiol* 52:118-127, 2008

Watanabe, S., Mizutani, T., Sakai, K., Kato, K., Tohya, Y., Fukushi, S., Saijo, M., Yoshikawa, Y., Kurane, I., Morikawa, S., Akashi, H.: Ligation-mediated amplification for effective rapid determination of viral RNA sequences (RDV). *J Clin Virol* 43:56-59, 2008

Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I.: Real-time quantitative polymerase chain reaction for virus infection diagnostics. *Exp Opin Med Diagnost* 2:1155-1171, 2008

- Nagao A, Takegami T, Nakagawa H, Matsui S, Matsunaga T, Ishigaki Y.: Multiple shRNA expressions in a single plasmid vector improve RNAi against the XPA gene. *Biochem. Biophys. Res Commun* 370: 301-305, 2008
- Komoto S, Kugita M, Sasaki J, Taniguchi K: Generation of recombinant rotavirus with an antigenic mosaic of cross-reactive neutralization epitopes on VP4. *J Virol* 82(13):6753-6757, 2008
- K Sugata, K Taniguchi, A Yui, F Miyake, S Suga, Y Asano, M Ohashi, K Suzuki, N Nishimura, T Ozaki, T Yoshikawa: Analysis of rotavirus antigenemia and extraintestinal manifestations in children with rotavirus gastroenteritis. *Pediatrics* 122:392-397, 2008
- Yi-Pei Lin, Su-Yuan Chang, Chuan-Liang Kao, Koki Taniguchi, Li-Ming Huang, Fu-Tian Chiang, and Chun-Nan Lee: Determination of Rotavirus VP6 Genogroup by Reverse Transcription -Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol* 46(10):3330-3337, 2008
- Takeshi Nabeshima, Phan Thi Nga, Posadas Guillermo, Maria del Carmen Parquet, Fuxun Yu, Nguyen Thanh Thuy, Bui Minh Trang, Nguyen Tran Hien, Vu Sinh Nam, Shingo Inoue, Futoshi Hasebe, and Kouichi Morita. Isolation and Molecular Characterization of Banna Virus from Mosquitoes, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 14(8), 1276-1279; 2008
- Basu Dev Pandey, Kouichi Morita, Santa Raj Khanal, Tomohiko Takasaki, Isao Miyazaki, Tetsuro Ogawa, Shingo Inoue, Ichiro Kurane. Dengue virus, Nepal. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 14(3), 514-515; 2008
- Manmohan Parida, Santhosh Sannarangaiah, Paban Kumar Dash, P. V. L. Raol and Kouichi Morita: Loop mediated isothermal amplification(LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Reviews in Medical Virology* Vol.18: 407-422:2008
- Kazuya Hidari, Naonori Takahashi, Masataka Arihara, Masato Nagaoka, Kouichi Morita, Takashi Suzuki.: Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga, *Biochemical and Biophysical Research Communications* Vol.376, 91-95: 2008
- Nguyen Thi Phuong Lan, Mihoko Kikuchi, Vu Thi Que Huong, Do Quang Ha, Tran Thi Thuy, Vo Dinh Tham, Ha Manh Tuan, Vo Van Tuong, Cao Thi Phi Nga, Tran Van Dat, Toshifumi Oyama, Kouichi Morita, Michio Yasunami, Kenji Hirayama. Protective and Enhancing HLA Alleles, HLA-DRB1*0901 and HLA-A*24, for Severe Forms of Dengue Virus Infection. *Dengue Hemorrhagic Fever and Dengue Shock Syndrome PLoS Neglected Tropical Diseases*. Vol. 2. e304, 2008
- Characterization and application of monoclonal antibodies specific to West Nile virus envelope protein. Liu J, Liu B, Cao Z, Inoue S, Morita K, Tian K, Zhu Q, Gao GF. *J Virol Methods*. Vol. 154(1-2):20-6. 2008
- Nakagomi T, Cuevas LE, Gurgel RG, Elrokhsi

SH, Belkhir YA, Abugalia M, Dove W, Montenegro FM, Correia JB, Nakagomi O, Cunliffe NA, Hart CA. Apparent extinction of non-G2 rotavirus strains from circulation in Recife, Brazil, after the introduction of rotavirus vaccine. *Archives of Virology* 153: 591-593, 2008

Kheyami AM, Nakagomi T, Nakagomi O, Dove W, Hart CA, Cunliffe NA. Molecular Epidemiology of Rotavirus Diarrhea among Children in Saudi Arabia: First detection of G9 and G12 Strains. *Journal of Clinical Microbiology* 46:1185-1191, 2008

Gurgel RQ, Cunliffe NA, Nakagomi O, Cuevas LE. Rotavirus genotypes circulating in Brazil before national rotavirus vaccination: a review. *Journal of Clinical Virology* 43:1-8. 2008

Naghypour M, Nakagomi T, Nakagomi O. Issues with reducing the rotavirus-associated mortality by vaccination in developing countries. *Vaccine*. 26: 3236-3241 2008

Nakagomi T, Correia JB, Nakagomi O, Montenegro FM, Cuevas LE, Cunliffe NA, Hart CA. Norovirus infection among children with acute gastroenteritis in Recife, Brazil: disease severity is comparable to rotavirus gastroenteritis. *Archives of Virology* 153: 957-960. 2008

Bozdayi G, Dogan B, Dalgic B, Bostanci I, Sari S, Battaloglu NO, Rota S, Dallar Y, Nishizono A, Nakagomi O, Ahmed K. Diversity of human rotavirus G9 among children in Turkey. *Journal of Medical Virology* 80:733-740, 2008

Al-Mashhadani MN, Nakagomi O, Dove W,

Ahmed H, Nakagomi T, Hart CA, Cunliffe NA. Norovirus gastroenteritis among children in Iraqi Kurdistan. *Journal of Medical Virology* 80:506-509, 2008

Shibuya T, Yamashiro T, Masaike Y, Ohuchi M, Uechi G, Nishizono A. Identification of a human monoclonal Fab with neutralizing activity against H3N2 influenza. A strain from a newly constructed human Fab library. *Microbiol Immunol*. 2008; 52(3):162-70.

Nishizono A, Khawplod P, Ahmed K, Goto K, Shiota S, Mifune K, Yasui T, Takayama K, Kobayashi Y, Mannen K, Tepsumethanon V, Mitmoonpitak C, Inoue S, Morimoto K. A simple and rapid immunochromatographic test kit for rabies diagnosis. *Microbiol Immunol*. 2008; 52(4):243-9.

Shiota S, Khawplod P, Ahmed K, Mifune K, Nishizono A. A pilot study on intradermal vaccination of Japanese rabies vaccine for pre-exposure immunization. *Vaccine*. 2008 Sep 26:6441-6444.

Takashima I, Kariwa H, Shirato K. Epidemiology and diagnosis of West Nile virus infection. *Glo Env Res*. 2008. 12, 21-25.

森田公一:「日本脳炎ウイルス」、*Drug Delivery System* 23(2):159-161, 2008.

森田公一:「西ナイル熱」、*Medical Practice* 25(5):799-801, 2008

森田公一:「ウエストナイルウイルス」、「日本脳炎ウイルス」、*ウイルスハンドブック*、32-35 河野茂 編集、日本医学館 2008

片山和彦 「ノロウイルス感染症」*チャイルドヘルス 特集*; 詳しく知りたい冬のウ

ウイルス感染症 vol.11, no.11 p25-29, 2008.

片山和彦 ウイルス感染症-最新の動向
ノロウイルス感染症 臨床検査 vol.53
p70-76:2009

福士秀悦, 平井明香, 新倉綾, 山田靖子,
前田健, 吉川泰弘, 横山勝, 水谷哲也, 酒
井宏治, 西條政幸, 倉根一郎, 森川茂: コ
ウモリ由来ACE2発現細胞を用いたSARSコロ
ナウイルスの感染性の解析. 獣医畜産新報
61:199-201, 2008

北本憲利, 森川茂, 西條政幸, 加藤陽二,
田中智之: 抗ワクシニアウイルス単クロー
ン抗体のサル痘ウイルスに対する反応性と
その有用性. 感染症学雑誌82:224-225,
2008

西園 晃.: 変貌する感染症 人類の備え
は十分か? 「狂犬病」, 総合臨床, 57 (11),
2667-2672, 2008

2. 学会発表

英文発表

Yoshimatsu, K., Taruishi, M., Arikawa,
J., Analysis of the hantavirus-specific
CD8+ cell response in mice. The 7th
Japan-China International Conference
of Virology University of Tokyo, School
of Medicine (2008.6)

Okumura, M., Yoshimatsu, K., Kumperasart,
S Nakamura, I., Taruishi, M., Sungdee, A.
Pattamadilok, S., Yanagihara, R.,
Arikawa, J.: Antigenic profile of
thottapalayam virus and development of a
serodiagnostic assay XII International
Congress of Virology Istanbul, Turkey
(2008.8)

Kariwa, H., Miyashita, D., Hernandez, C.,
Romero-Almaraz, M., Ramos, C., Seto, T.

Murata, R., Bin Abu Daud, N., Ishizuka,
M. Nakauchi, M., Yoshii, K., Yoshimatsu, K.
Arikawa, J., Takashima, I. :
Epidemiological Investigation of
Hantavirus Infection in Mexico XII
International Congress of Virology
Istanbul, Turkey (2008.8)

Inoue, S. Rabies in Japan. Session 4:
Country reports on rabies surveillance,
prevention and control, legislation and
policies developed, IEC, multi-sectoral
collaborations and community-based
model in human and animals. Workshop on
strengthening cooperation and sharing
information on rabies among ASEAN plus
three countries. The ASEAN plus three
Emerging Infectious Diseases Programme.
23-25 April 2008, Ha Long, Vietnam.

Kaku, Y., Noguchi, A., Okutani, A., Hotta,
K., Bazartseren, B., Yamada, A. and Inoue,
S. Inhibition of rabies virus growth by
intrabody against phosphoprotein in
mouse neuroblastoma cells. 42nd joint
working conferece on viral diseases and
satellite meeting. US-Japan Cooperative
Medical Science Program. 26-28 May, 2008.
Nagasaki, Japan.

Medina, P.B., Acosta, L.P., Jarilla, B.,
Demetria, C.S., Malbas, F., Inoue, S. and
Manalo, D.L. Development of local rabies
fluorescent isothiocyanate conjugate
(FITC) for direct antigen detection by
fluorescent microscopy (FAT)
(Preliminary results). Asian
DFederation of Laboratory Animal Science.
27-29 September, 2008. China.

Inoue, S. and Bazartseren, B. Rabies in
Japan. Meeting Salon of The State Central
Veterinary Laboratory (SCVL). 22

September 2008, Ulaanbaatar, Mongol.

Inoue, S. Rabies in Japan. Diagnostic skill and advanced methods (2nd technical conference). 26 September 2008, Ulaanbaatar, Mongol.

Orbina, J. R. C., Bajaro, J. D. P., Kamigaki, T., Noguchi, A., Inoue, S., Manalo, D. L., Demetria, C. S., De Guzman, A. S., Quiambao, B. P., Segubre-Mercado, E. M., Saito, M., Suzuki, A., Lupisan, S. P., Olveda, R. M., and Oshitani, H. Molecular epidemiology of rabies in the Philippines. Establishment of methods and preliminary results. The launching of the Tohoku University-RITM collaborating research center for emerging and reemerging infectious diseases. RITM Auditorium. 20 October 2008, Manila,

Oka T, Iwakiri A, Yamamoto S, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Sequential analysis of fecal sapovirus shedding. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)

Oka T, Yamamoto M, Miyashita K, Katayama K, Wakita T, and Takeda N. Role of amino acid residues located upstream from cleavage site on sapovirus ORF1 polyprotein processing. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)

Kazuhiko Katayama, Grant S. Hansman, Tomoichiro Oka, Yoshiyuki Suzuki, Takaji Wakita and Naokazu Takeda. The newly identified human Norovirus strain HK299 may be recombinant between genogroup. 第14回国際ウイルス学会、2008年8月10-15日、トルコ (イスタンブール)

Tomoichiro Oka, Masaru Yokoyama, Kazuhiko Katayama, Mami Yamamoto, Kana Miyashita, Satoko Ogawa, Kazushi Motomura, Hiroshi Tsunemitsu, Takaji Wakita, Hironori Sato, and Naokazu Takeda. Substrate specificities of calicivirus-encoded 3C-like proteases. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases 2008年10月6日 ベトナム (ハノイ)

Takashima I, Murata R, Hashiguchi K, Kariwa, H: A seroepidemiological study of a West Nile virus infection among wild birds in Far East Russia and the relationship between glycosylation of the virus: XIVth International Congress of Virology, Istanbul (2008, 8)

Kariwa H, Miyashita D, Hernandez CS, Romero-Almaraz ML, Ramos C, Seto T, Murata R, Abu Daud NH, Ishizuka M, Nakauchi M, Yoshii K, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I: Epidemiological investigation of hantavirus infection in rodents from Mexico: XIVth International Congress of Virology, Istanbul (2008, 8)

Atsushi Yamanaka, Soengeng Soegijanto, Fedik A. Rantam, Eiji Konishi: A simple method for evaluating dengue vaccine effectiveness using mice. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2008, Hokkaido, Japan, December 2008

Atsushi Yamanaka, Soengeng Soegijanto, Fedik A. Rantam, Aryati, Puspa Wardhani, Helen Susilowati, Eryk Hendrianto, Eiji Konishi: Complement levels control enhancing and neutralizing activities of mouse monoclonal antibodies against

dengue viruses. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2008, Hokkaido, Japan, December 2008

Peter W. Mason, Douglas Widman, Tomohiro Ishikawa, Nigel Bourne, Ryosuke Suzuki, Evandro Winkelmann, Ilya Frolov, Ricardo Carrion, Eiji Konishi: Engineering third-generation vaccines for West Nile encephalitis, Japanese encephalitis, and dengue. The 1st Pan-American Dengue Research Network Meeting. Recife, Brazil, January 2009

Atsushi Yamanaka, Yohei Sakai, Eiji Konishi: High prevalence of antibodies to Japanese encephalitis virus among inhabitants in Java Island, Indonesia, relative to a small pig population. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases Conference. Hanoi, Vietnam, October, 2008

Wang Y-H, Kobayashi N, Zhou X, Nagashima S, Zhu Z-R, Sun S-H, Liu M-Q, Peng J-S, Hu Q, Zhou D-J. Molecular epidemiology of rotaviruses in Wuhan, China, Jun. 2006-Feb. 2008: predominance of variant G3 strains and increase of G9 strains. The 7th Japan-China International Conference of Virology. June, 2008, Tokyo.

Kobayashi N, Nagashima S, Alam M, Wang Y-H, Krishnan T, Chawla-Sarkar M. Whole sequence analysis of novel group rotavirus B219 and group B rotaviruses. The 7th Japan-China International Conference of Virology. 2008, Tokyo.

Zhou X, Kobayashi N, Wang YH, Zhu ZR, Zhou DJ, Sun SH. Molecular epidemiologic

analysis of group A rotaviruses in children with diarrhea in Wuhan city, China, 2007. The 13th International Congress on Infectious Diseases. 2006, Kuala Lumpur, Malaysia.

Chawla-Sarkar M, Dutta D, Bagchi P, Krishnan T, Nagashima S, Kobayashi N. "Host cellular proteins": key determinants of rotavirus infection and pathogenesis. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections. 2008, Sapporo.

Saijo, M.: Virological insight into Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreak in Xinjiang, China: Third AREVA-Pasteur Forum, Shanghai, China (2008. 6)

Saijo, M., Ami, Y., Suzuki, Y., Nagata, N., Hasegawa, H., Iwata, N., Ogata, M., Fukushi, S., Mizutani, T., Kurane, I., Kurata, T., Morikawa, S.: Post-exposure vaccination with a highly attenuated vaccinia vaccine, LC16m8, for protection of nonhuman primates from monkeypox: 13th International Conference on Infectious Diseases, KL, Malaysia (2008. 6)

Izuka, I., Saijo, M., Ami, Y., Suzuki, Y., Nagata, N., Hasegawa, H., Ogata, M., Sakai, K., Fukushi, S., Mizutani, T., Kurane, I., Morikawa, S.: The loop-mediated isothermal amplification-based diagnostics for monkeypox virus infection: 13th International Conference on Infectious Diseases, KL, Malaysia (2008. 6)

Morita K.; Arbovirus situation in Vietnam. Third AREVA-Pasteur Forum, "Mosquito

and tick-borne viruses and their environment”, Shanghai, China June 12-14, 2008

Morita K Isolation and Characterization of B-cell tropic dengue virus from a dengue hemorrhagic fever patient in Vietnam: 1st Philippine International Dengue Symposium, Quezon City, Philippines, 27 September, 2008.

Morita K. Isolation and Characterization of B-cell tropic dengue virus type 2 from a dengue hemorrhagic fever patient. The 3rd Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases, Nagasaki Japan. 10-11 October, 2008.

H. Kinoshita, V.T.Q. Huong, E.G. Mathenge, N.T. Hung, A. Kumatori, S. Inoue, K. Morita and F. Hasebe : CELL TROPISM OF DENGUE VIRUSES: POSSIBLE VIRUS POPULATION SWITCHING BETWEEN PATIENT AND MOSQUITO. The Second International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever — Global Innovation to Fight Dengue. Phuket, Thailand, 2008年10月15-17日. (Oral Presentation 1: Molecular virology and diagnosis)

Basu Pandey, Ramesh Pun, Om Shah, Krishina Pant, Kouichi Morita, Shingo Inoue, Yae Kurosawa and Ichiro Kurane : EMERGENCE OF DENGUE VIRUS IN TARIA REGION OF NEPAL. The Second International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever — Global Innovation to Fight Dengue. Phuket, Thailand, 2008年10月15-17日. (Poster Presentation)

Kyaw-Zin Thant, Mya M. Ngwe-Tun, Yee-Yee

Lwin, Sanda Lin, Kay-Thi Aye, Pe-Thet Khin, Tin Myint, Khin Htwe, Takeshi Nabeshima, Shingo Inoue, Maria D.C. Parquet and Kouichi Morita : MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF DENGUE VIRUSES CO-CIRCULATING IN UPPER MYANMAR IN THE YEAR 2006. The Second International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever — Global Innovation to Fight Dengue. Phuket, Thailand, 2008年10月15-17日. (Poster Presentation)

K. Ahmed, P. Khawplod, A. Nishizono : A Simple and Rapid Immunochromatographic Test Kit for The Diagnosis of Rabies 平成20年8月10日~15日 トルコ イスタンブールXIV International Congress of Virology

Kamruddin Ahmed : Devropment of Diagnostic Methods for Rabies 平成20年12月12日 仙台市 人獣共通感染症国際シンポジウム

和文発表

吉松組子、垂石みどり、有川二郎：マウスのハンタウイルスに対する細胞性免疫応答の解析：第55回日本実験動物学会総会（2008.5）

Bazartseren Boldbaatar、加来義浩、野口章、奥谷晶子、堀田こずえ、井上 智、山田章雄。Rapid detectin of rabies virus by RT-LAMP。第56回日本ウイルス学会、2008、10月、岡山

岡 智一郎、山本 真民、宮下 佳奈、グラント・ハンスマン、片山 和彦、脇田 隆字、武田 直和「ネコカリシウイルスプロテアーゼのトランス切断活性の検討」第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会 平成19年12月 横浜