

200829032A

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

我が国における日本脳炎の現状と 今後の予防戦略に関する研究

(H20-新興-一般-003)

平成20年度 総括・分担研究報告書

平成21 (2009) 年 3 月

研究代表者 高 崎 智 彦
(国立感染症研究所ウイルス第一部)

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業

我が国における日本脳炎の現状と 今後の予防戦略に関する研究

(H20-新興-一般-003)

平成20年度 総括・分担研究報告書

平成21 (2009) 年 3 月

研究代表者 高 崎 智 彦
(国立感染症研究所ウイルス第一部)

目 次

I 総括研究報告

我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究	1
------------------------------	---

II 分担研究報告

1. ヒト血清中の日本脳炎ウイルス NS1 抗体を測定する ELISA 法： 基礎的条件の確立と評価	17
研究分担者：小西英二（神戸大学医学部医療基礎学講座）	
2. 熊本県における日本脳炎ウイルスの活動とヒトの自然感染率に関する研究	25
研究分担者：原田誠也（熊本県保健環境科学研究所微生物科学部）	
3. 東京都における日本脳炎ウイルス自然感染率に関する研究 ー日本脳炎ウイルスの NS1 抗体保有状況ー	34
研究分担者：田部井由紀子（東京都健康安全研究センター）	
4. 岡山県の都市部および農村部における日本脳炎のリスク調査	39
研究分担者：寺田喜平（川崎医科大学小児科）	
5. 予防接種歴のない日本脳炎の 11 歳女児症例	43
研究分担者：脇口 宏（高知大学小児思春期医学）	
6. 伴侶動物および野生動物における日本脳炎感染状況の調査	51
研究分担者：前田 健（山口大学農学部獣医微生物学教室）	
7. 日本脳炎ウイルスの疫学に関する研究	58
研究分担者：森田公一（長崎大学・熱帯医学研究所）	
8. 日本脳炎ウイルスの分離とその病原性に関する研究	67
研究分担者：竹上 勉 （金沢医科大学総合医学研究所分子腫瘍学研究部門）	
9. わが国における日本脳炎の現状と、日本脳炎ウイルスに関する検討	70
研究分担者：多屋馨子（国立感染症研究所 感染症情報センター）	
10. 沖縄県の宮古島、石垣島、久米島、与那国島のブタおよび西表島の 野生イノシシにおける日本脳炎ウイルス感染状況調査	76
研究分担者：玉那覇康二（沖縄県衛生環境研究所）	
11. イノシシから分離された日本脳炎ウイルス	81
研究代表者：高崎智彦（国立感染症研究所）	
12. 日本国内でブタおよび蚊から分離された日本脳炎ウイルスの解析	86
研究分担者：倉根一郎（国立感染症研究所）	

III 研究成果の刊行に関する一覧表	91
--------------------	----

IV 研究成果の刊行物・別刷	93
----------------	----

I. 総括研究報告書

我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究

研究代表者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第1部 室長）

研究要旨：日本脳炎は、2005年5月より予防接種の積極的勧奨が中止されている。日本脳炎ワクチンが定期接種からはずれたわけではないが、就学時前の小児の予防接種率は極端に低下している。このような状況下で日本脳炎の現状を解明することが、本研究班の目標である。我が国の日本脳炎ウイルスによる自然感染率を明らかにするため、抗日本脳炎ウイルス NS1 抗体 ELISA 法を確立し、熊本県、東京都の健康人から NS1 抗体が検出された。熊本県の年間日本脳炎自然感染率は 2.8%と推定された。また、都市部と農村部では日本脳炎ウイルスへの感染リスクは農村部に高いことが明らかとなった。増幅動物に関しては、兵庫県西宮市のイノシシから日本脳炎ウイルスが分離され、増幅動物としての可能性が示唆された。沖縄県石垣島のブタから、近年国内のブタからは分離されていない遺伝子型 3 型の日本脳炎ウイルスが検出された。長崎県五島列島でのオトリ豚の調査では、9月-10月に感染蚊に刺される機会が十分あることが明らかとなった。アライグマ、タヌキの日本脳炎抗体保有率は約 60%であり、飼い犬でも 25%であった。日本脳炎ウイルスの活動が続いていると考えられる。ウイルス学的な観点では、3' NTR 領域の欠損はウイルス遺伝子型にかかわらず、1980年代後半から認められた。また、蚊からの分離ウイルスの遺伝子解析から、日本脳炎ウイルスは国内で維持されている株も存在するが、東南アジアから比較的頻繁にかつ高速に東に向かって移動しており、日本列島に飛来することが示唆された。

分担研究者：

倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第1部 部長）

小西英二（神戸大学医学部医療基礎学講座 准教授）

脇口 宏（高知大学医学部小児思春期学講座 教授）

寺田喜平（川崎医科大学小児科学講座 准教授）

森田公一（長崎大学熱帯医学研究所教授）

竹上 勉（金沢医大・総合医学研究所 教授）

玉那覇康二（沖縄県衛生環境研究所班長）

多屋馨子（国立感染症研究所感染症情報センター 室長）

原田誠也（熊本県保健環境科学研究所 研究参事）

田部井由紀子（東京都健康安全研究セン

ター 主任研究員)
前田 健 (山口大学農学部・獣医ウイルス学 准教授)

A. 研究目的

日本脳炎は、2005年5月より予防接種の積極的勧奨が中止されている。日本脳炎ワクチンが定期接種からはずれたわけではないが、就学時前の小児の予防接種率は極端に低下している。このような状況下で日本脳炎の現状を解明することが、本研究班の目標である。具体的には①我が国における日本脳炎の自然感染率、不顕性感染率を調査し、発症率を解析する。②急性ウイルス性脳炎における日本脳炎に関する検査の実施率及び発症時の病態(髄膜炎、脊髄炎、熱発)等を明らかにする。③ブタ以外の日本脳炎ウイルス増幅動物の検討、国内で活動する日本脳炎ウイルスの病原性の解析をする。

B. 研究方法

1. 日本脳炎ウイルス自然感染率の解明

NS1抗体測定 ELISA法: 日本脳炎ウイルス中山株のNS1/NS2A遺伝子をCHO細胞に導入して得られたNS1連続発現細胞の培養上清よりアフィニティー精製したNS1をELISAの抗原に使用した。ウェルあたり10 ngをマイクロプレートに感作し、希釈液(0.05 M Tris, 1 mM EDTA, 0.15 M NaCl, 0.05 % Tween20, 0.2 % カゼイン, pH 8.0)を用いて37℃で30分間ブロッキング後、1:100希釈のヒト血清を37℃で1時間反応させた。その後、アルカリホスファターゼ標識抗ヒトIgG抗体、パラニトロフェニルリン酸を順次反応させ、吸光度を

測定した。非特異反応を除くために、各検体について抗原を感作しないウェルを設け、抗原感作したウェルの吸光度と非感作ウェルの吸光度の差を求めた。プレート間誤差を補正するために、陽性コントロールを同時に測定し、吸光度が1.0となるように各検体の吸光度を補正した値をELISA値として表した。

熊本県における調査対象

2004年～2008年間に、厚生労働省感染症流行予測調査事業の感受性調査用として集めた血清のうち、20歳以上のヒト血清650件について、平成16年度厚生労働科学研究補助金、新興・再興感染症「節足動物媒介性ウイルスに対する診断法の確立、疫学及びワクチン開発に関する研究」研究報告書「日本における近年の日本脳炎ウイルス自然感染状況：8県の住民を対象とした調査」に記載された小西らの方法に準拠し、NS1抗体を測定した。

東京都における調査対象

調査対象は、ワクチン接種の状況が大きく変化した2005年とその前後の年である2004年～2006年に流行予測調査事業によって採取された都民の血清964件(2004年:319件、2005年:311件、2006年:334件)のうちで、JEV(JaGAR#01株)に対する中和抗体が陽性であり、かつ血清検体が残存していた497件(2004年:177件、2005年:145件、2006年:175件)である。また、中和抗体が陰性であった82件(2004年:28件、2005年:25件、2006年:29件)を陰性対照として用いた。

(倫理面への配慮)

NS1 抗体研究におけるヒト血清の使用は、各施設倫理委員会において承認された。

岡山県における調査対象および抗日本脳炎ウイルス抗体検査

川崎医大倫理委員会の承諾を得て、2008 年 5～10 月頃に都市部にある川崎医大(川崎)と、農村部にある津山中央病院(津山)、さとう記念病院(さとう)での患者残血清から日本脳炎ウイルス抗体(HI 法、EIA 法 IgG、IgM 抗体)とその患者のワクチン接種歴を母子手帳あるいは予防接種手帳によって確認した。

以上の各地の疫学調査に加えて全国的な疫学調査として現在の日本脳炎感染状況の把握：感染症流行予測調査で用いているヒト血清抗体保有状況調査の結果を用いて比較した。

2. 国内で活動する日本脳炎ウイルスについて

蚊の調査

捕集した蚊を分類後、雌雄判別及び吸血の有無を確認し、40-60 pool (20 匹 / pool) を作製した。媒介蚊の各 pool はホモジナイズした後、C6/36 細胞あるいは乳のみマウス脳に接種してウイルス分離を行った。分離・同定した JEV はエンベロープタンパク E 領域の塩基配列を決定した後、系統樹解析に供した。

ブタの調査

(1) ウイルス分離

夏季のブタ血清のうち、IgM 抗体陽性となった週およびその前の週のブタ血清を C6/36 細胞あるいは Vero 細胞に接種してウイルスを分離した。分離・同定した JEV はエンベロープタンパク (E) 領域および 3' NCR 領域の塩基配列を決定した。系統樹解析等を実施した。

(2) オトリ豚の設置と抗体検査

調査開始前に JEV 未感染を確認した仔豚(生後 5 週齢) 4 頭について平成 20 年 9 月～10 月まで経時的(毎週 1 回)に採血して得られた血漿中の抗 JEV 抗体価(IgG, IgM)を ELISA 法あるいは JaGAR #01 株(Denka Seiken, Tokyo, Japan)を 4 単位に調整し抗原とした HI 試験により行った。血清は 1:10 から 1:5120 まで 2 倍階段希釈し、HI 抗体価が 1:40 以上を示した検体は 2-メルカプトエタノール(2-ME)で処理し、2-ME 感受性抗体(IgM 抗体)の検出を行った。

ブタ以外の動物の調査

(1) アライグマの血清：合計 204 頭のアライグマから血清が回収され、解析に用いられた。そのうち 54 検体は 2005 年 5 月から 2006 年 6 月に兵庫県で回収された。62 検体は 2006 年 6 月から 2007 年 2 月に大阪府で回収された。68 検体は 2007 年 6 月から 2008 年 2 月に回収された。20 検体は 2007 年 5 月から 2007 年 9 月に北海道で回収された。

(2) イノシシの血清：イノシシ 36 頭の血清は 2007 年 11 月から 2008 年 3 月に和歌山県で回収された。

(3) タヌキの血清：タヌキ 19 頭の血清は 2007 年 11 月から 2008 年 3 月に和歌山県で回収された。

(4)イヌの血清:イヌの血清は2006年11月から2007年10月にかけて47都道府県の動物病院に来院したイヌ603頭から回収された。すべての血清は56℃で30分非働化した後ウイルス中和試験に供試した。

イノシシからのウイルス分離

イノシシの捕獲場所は、兵庫県下、西宮市を中心とした市街地である。当該イノシシは兵庫県西宮市甲陽園目神山町で、平成20年12月12日に捕獲された。ただちに採血し15日に血清を分離し200μlからRNAを抽出し、リアルタイムRT-PCR (TaqMan法)により、ウイルス遺伝子を検出した。ウイルス分離にはサル腎由来のVero細胞を用いた。また、血清中感染性粒子数は、Vero細胞を用いたブランク形成法により実施した。日本脳炎ウイルス用のプライマーを用いてダイレクトシークエンス法により、ABI prism Avant 7100(ABI社)によりウイルス遺伝子の塩基配列を決定した。

3. 日本脳炎ウイルスの病原性について

(1)日本脳炎ウイルスの弱毒化影響部位の検索:日本でブタに用いられている弱毒生ワクチン株、3株(m株:京都微生物研究所、at株:日本生物研究所およびML-17株:阪大微生物研究会)と親株2種類(AT31株:at株の親株、およびJaOH0566株:ML-17株の親株)を用いた。ワクチン株mの親株mukai株は現存しておらず、入手することはできなかった。ウイルスはVero細胞に感染させた後、培養液からVirus RNAを抽出し、上記同様の方法で塩基配列を決定した。

(2) 遺伝子発現の解析:日本脳炎ウイルス感染細胞から抽出されたRNAを増幅・標識し、DNAマイクロアレイシステム(Affymetrix)を用いて宿主細胞遺伝子の発現量を調べ、ウイルスの宿主細胞におよぼす病原性を検討した。

C. 研究結果

NS1抗体測定ELISA法

患者血清中のNS1抗体を測定するELISA法は報告されていたが、非特異反応が高かった。今回カゼインを用いてブロッッキングすることによって非特異反応を抑えることに成功した。従来の免疫染色法では、結果を肉眼で判定するのに対し、ELISA法では吸光度で客観的な結果を得ることができるようになった。ELISA法を用いた場合の算出したところ4.2年であった。したがって年間の自然感染率=

$$\frac{(1 \text{ 時点における抗体陽性率})}{(NS1 \text{ 抗体の持続期間})}$$

で理論上算出できることになる。

熊本県における日本脳炎 NS1 抗体の保有状況と自然感染率

2004年~2008年に採取した20歳以上のヒト血清650件のNS1抗体検査結果を表5に示した。各年の保有率は、2004年:9.6%(125件中12件)、2005年:16.8%(125件中21件)、2006年:12.1%(124件中15件)、2007年:16.0%(125件中20件)及び2008年:5.3%(151件中8件)で、平均11.7%であり、年により保有率に差があった。NS1抗体の持続期間を4.2年とした場合、計算上の年間自然感染率は2.8%となった。また、NS1抗体保有者は50歳以上の

高齢者に多かった。

東京都における日本脳炎 NS1 抗体の保有状況と自然感染率

2004 年が 177 件中 16 件、2005 年が 145 件中 7 件及び 2006 年が 175 件中 9 件であり、中和抗体陽性者の中で NS1 抗体の陽性率は 6.4% であり、各年では 2004 年が 9.0%、2005 年が 4.8% 及び 2006 年が 5.1% であった。東京都の NS1 抗体保有率は、熊本県と比較してやや低い陽性率であった。

岡山県における小児の日本脳炎抗体保有率

全体の抗体陽性率を農村部と都市部と比較すると、HI 法、EIA-IgG および EIA-IgM 抗体のすべてで農村部が高かった。特に感度の悪い HI 法では、農村部が 2 倍以上高いことから抗体価も高いと予想できた。不顕性感染が推定される検体も確認された。

高知県における 2001 年の小児例の詳細

予防接種歴のない日本脳炎の 11 歳小児例を報告した。視床および後頭回に片側性に T2 および DWI で高信号域を認め、病巣の描出に有用であった。ヘルペス脳炎などとは異なる分布であり、本症を疑う重要な所見であると考えられた。

東南アジアと日本の日脳ウイルス分子疫学解析

日本脳炎ウイルスは東南アジアから比較的頻繁にかつ高速に東に向かって移動しており、日本列島に飛来する。しかし国内分離株の中には国内で越冬し維持されている株も存在する。

長崎県五島列島の蚊から分離された日本脳炎ウイルス (JEV)

媒介蚊 60 プール中 7 プールから JEV が分離された。分離された JEV 7 株はいずれも同一日の同一場所から捕集されたものであった。この 7 株の E 領域の塩基配列を NJ 法により系統樹解析すると 2001 年及び 2003 年に雲南省、2004 年に香川県で分離された JEV (Genotype 1) と近縁な株であり、2007 年に長崎県本土 (諫早市) で分離されたウイルスとは異なった系統であることが明らかとなった。

長崎県五島列島のオトリ豚日脳検査結果

9 月初旬から野外で飼育され始めたオトリ豚では、4 週目から 7 週目に IgM の上昇が認められ、JEV に感染したことが確認された。

沖縄県沖縄本島以外の島の JEV 活動状況

宮古島、石垣島、久米島、与那国島における HI 試験によるブタ血清中 JEV 抗体保有状況調査の結果、これらの島の JEV 活動状況は、沖縄本島や西日本と比べて極めて低いことが示された。

石垣島のブタ 112 検体中 1 検体から JEV 遺伝子が検出され、遺伝子型 3 型ウイルスであり近年の台湾の分離株に近いことが確認された。

また、西表島のイノシシの HI 抗体陽性率は 75.0% を示し、以前の調査の 3.7% よりはるかに高いことが判明した。

日本イノシシからの日本脳炎ウイルスの分離と抗体保有状況

平成 20 年 12 月上旬に、兵庫県西宮市で捕獲されたイノシシの血液から日本脳炎ウイルスが分離された。イノシシは近年、国内のブタから分離されたウイルスと近縁なウイルス（遺伝子型 1 型）であった。2007 年 11 月から 2008 年 3 月にかけて和歌山県で捕獲したイノシシ 36 頭のウイルス中和抗体保有率を調査した結果、30 頭(83.3%)に JEV 中和抗体が存在した。

アライグマの JEV 中和抗体保有状況

2005～2008 年にかけて近畿地方で捕獲されたアライグマ 184 頭の JEV に対する中和抗体保有状況は 109 頭(59.2%)に 1:10 以上の抗体価が存在した。

タヌキの JEV 中和抗体保有率

2007 年 11 月から 2008 年 3 月に和歌山県で捕獲されたタヌキのウイルス中和抗体保有率を調べた結果、19 頭中 12 頭の 63.2%が陽性であった。

飼育犬における JEV 中和抗体保有状況

日本全国の獣医科病院に来院したイヌ 603 頭の JEV に対する中和抗体保有状況を調査した結果、152 頭(25.2%)に 1:10 以上の抗体陽性が認められた。

ブタ用弱毒生ワクチン株の解析

ワクチン株 3 種と親株 2 種の全塩基配列を決定した。全長はいずれの株も 10977 nt、推定されたアミノ酸は 3432 aa で、ワクチン株に共通で親株と異なるアミノ酸配列は Envelope の一アミノ酸のみであった。このワクチン株にのみ共通のアミノ酸は、中国でヒトに対して使用されている弱毒生ワク

チン株 (SA14-14-2) においても保存されていた。本アミノ酸変異部位は既に弱毒化に影響のある部位として報告されているものであったが、病原性において極めて重要な部位である可能性が改めて示唆された。

日本脳炎ウイルスの 3'NCR 領域の遺伝子欠損に関する解析

近年分離される日本脳炎ウイルスの大部分は、遺伝子 1 型ウイルスであり、その多くが 3'NTR に遺伝子欠損が確認される。主たる欠損配列 GAAAAATAAATTA 以外にその上流 (5'側) のストップコドン直下に 5 塩基の欠損がある株群、3'遺伝子側に 9 塩基欠損のある株群が存在することを確認された。

日本脳炎ウイルス遺伝子 3 型に関しても 1 型ウイルス同様、1980 年代後半の分離株に関しては 3' NCR 領域に欠損があった。しかし、1981 年のウイルス株 (3 型) では欠損が認められなかった。

石川県の日本脳炎分離株の病原性

マウス実験から 2005 年分離の JEV 株 (Ishikawa-K05、遺伝子タイプ 1 型) の病原性は必ずしも低いものではなく、近年の国内分布ウイルスの病原性変動に注目すべきである。DNA マイクロアレイによる解析で、JEV 増殖性に IFN 経路遺伝子発現量の差異が大きく影響することが再認識された。

D. 考 察

熊本県、東京都の日本脳炎 NS1 抗体検査の結果からは、どちらにおいても自然感染が存在することが確認された。熊本県では年間自然感染率が 2.8%であった。東京では

熊本よりやや低い感染率であり、JEV 感染リスクは熊本の方がやはり高いと考えられる。一方、岡山県の調査では、都市部より農村部でリスクが高いということが確認された。また、五島列島のオトリ豚の実験では、9月にJEV 感染リスクが十分あることが明らかとなった。近年、9月および10月の患者発生が多いことも考慮すると、現在の日本脳炎の感染リスクは、9月、10月に十分存在することに留意する必要がある。

一方、沖縄県の調査では、石垣島で遺伝子が検出された日本脳炎ウイルスが遺伝子型3型であった。近年日本国内のブタからの分離株は1型であるが、3型ウイルスが国内から消えたわけではないことが確認された。しかし、遺伝子解析によると台湾の株と近似であることから、地域的な分布であるか臆性も否定できない。

また、西日本を中心にヒトの住環境頻繁に出現するようになったイノシシの末梢血から日本脳炎ウイルスが分離された。このことは、野生のイノシシもブタ同様に増幅動物である可能性を示唆した。また、兵庫県で12月12日に捕獲されたイノシシからウイルスが分離されたことから、日本脳炎ウイルスの越冬に何らかの役割を果たしている可能性も考えられる。これらの知見に関連して、西表島のイノシシにおける日脳ウイルス抗体保有率が上昇していることは、注意すべき実態である。

イノシシ以外の動物に関しては、アライグマ、タヌキでも約6割前後の抗体保有率であった。また、飼い犬に関しては25%と野生動物に比較して保有率は低かったことから、感染蚊に刺される機会は多くないと考えられるが、ヒトとともに生活する飼い

犬において25%の抗体陽性率を示したものであり、ヒトへのリスクは十分存在すると考えるべきである。

日本脳炎ウイルスの性状解析に関しては、3'NTR 領域の欠損に関して、近年分離される遺伝子1型ウイルスだけでなく、1987年分離の3型ウイルスにも欠損の存在が確認されたのは興味深い知見である。その生物学的意義の解明は、日本脳炎ウイルスの活動の抑制に結びつく可能性もある。また、日本脳炎ウイルス感染細胞の遺伝子発現量の解析は、今後ウイルスの病原性に結びつく可能性もある。

E. 結 論

1. 抗NS1抗体ELISA法を確立した。
2. 熊本県、東京都の健康人からNS1抗体が検出された。熊本県の年間日本脳炎自然感染率は2.8%と推定された。
3. 兵庫県西宮市のイノシシから日本脳炎ウイルスが分離され、増幅動物としての可能性が示唆された。
4. 沖縄県石垣島のブタから、近年国内のブタからは分離されていない遺伝子型3型の日本脳炎ウイルスが検出された。
5. アライグマ、タヌキの日本脳炎抗体保有率は約60%であり、飼い犬でも25%であった。日本脳炎ウイルスの活動が続いていると考えられる。
6. 蚊から分離された日本脳炎ウイルスの遺伝子解析の結果、東南アジアから比較的頻繁にかつ高速に東に向かって移動しており、日本列島に飛来する可能性がある。
7. 蚊から分離された遺伝子1型ウイルス

のマウスでの病原性は必ずしも低いものではなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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.

小西英二：日本脳炎ワクチンに関する最近の話題。臨床と微生物, 36, 41-44, 2009,

小西英二：日本脳炎DNAワクチンの開発。臨床獣医, 27 (3), 22-26, 2009

萩田聡子、寺田喜平、片岡直樹、高崎智彦、倉根一郎、梶 俊策、桑門克治、御牧信義、中島英和、高山裕規。岡山県における日本脳炎のリスク調査。小児科臨床。61:795-799, 2008

寺田喜平。日本脳炎。小児内科。40:1188-1190 (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 Sannarangaiah1, Paban Kumar Dash,P. V. L. Rao1 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

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

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. PLoS Neglected
Tropical Diseases. Vol. 2. e304, 2008

Evidence of frequent introductions of
Japanese encephalitis virus from
south-east Asia and continental east
Asia to Japan. Takeshi Nabeshima,
Hyunh Thi Kim Loan, Shingo Inoue,
Makoto Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta,
Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huoung,
Maria del Carmen Parquet, Futoshi
Hasebe, and Kouichi Morita. J Gen
Virol. Vol.90: 827-832. 2009

Yamakawa J, Ishigaki Y, Takao F,
Takahashi T, Yoshida J, Moriya J,
Takata T, Tatsuno T, Sasaki K, Ohta T,
Takegami T, Yoshizaki F: The Kampo
Oregedokuto, Bofutsushosan and
Boiogito have different activities to
regulate gene expression in
differentiated rat white adipocytes:
Comprehensive analysis of genetic
profiles. Bio Pharm Bull 31:
2083-2089, 2008

Sun W, Dong L, Takegami T et al. :
Bacterial diversity in synovial fluids of
patients with RMD determined by
cloning and sequencing analysis of the
16S ribosomal RNA gene. Oral Surg
Oral Med Oral Pathol Oral Radiol
Endod 105:566-571,2008

Maeda M, Murakami M, Takegami T,
Ota T: Promotion or suppression of
experimental metastasis of B16
melanoma cells after oral
administration of lapachol Toxicology
and Applied Pharmacology 229:232-238,
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

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

2. 学会発表

Atsushi Yamanaka, Saori Kosugi, Eiji Konishi: Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection controlled by complement levels. The 42nd Joint Viral Diseases Panel Meeting US-Japan Collaborative Medical Sciences Program. May, 2008

山中敦史、酒井陽平、小西英二：インドネシアのジャワ島住民における日本脳炎ウイルス抗体保有状況。第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会。2008年5月

北井陽子、近藤高志、小西英二：ウエストナイルウイルス感染を鑑別する補体利用の抗体測定法。第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会。2008年5月

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

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 .

Fuxun Yu, Futoshi Hasebe, Shingo Inoue, Kouichi Morita : The 3' untranslated rejoin of Japanese encephalitis virus genome inhibits in vitro RNA synthesis of JEV RNA dependent RNA polymerase. 8th Asia

Pacific Congress of Medical Virology. Hong Kong, China, February 25-28, 2009

吉川亮、井上真吾、吾郷昌信、森田公一：長野県におけるイノシシの日本脳炎抗体保有率調査（1）. 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市（琴弾荘）、2008年5月30日-31日

鍋島武、井上真吾、住吉誠、春田泰弘、Phan Thi Nga, Hyunh Thi Kim Loan, Vu Thi Que Huoung, Maria del Carmen Parquet, 長谷部太、森田公一：東アジア、東南アジアにおける日本脳炎ウイルス遺伝子型の遷移. 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市（琴弾荘）、2008年5月30日-31日

井上真吾、福家功、石川豊数、Guillermo Posadas Herrera, Maria del Carmen Parquet, 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最小有効投与量の評価. 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市（琴弾荘）、2008年5月30日-31日

村木優子、松浦正明、福家功、真鍋貞夫、石川豊数、奥野良信、東雍、森田公一：ウエストナイルワクチンのマウス及びイヌにおける免疫原性について. 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市（琴弾荘）、2008年5月30日-31日

左一八、在原雅貴、杉浦信夫、木全弘治、

鈴木康夫、森田公一、鈴木隆：硫酸化糖鎖分子に対するフラビウイルス結合性の解析：第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市（琴弾荘）、2008年5月30日・31日

長谷部太、木下一美、VuThiQueHuong、Michael O.Baclig、Ronald R. Matias、Filipinas F.Natividad、井上真吾、森田公一：第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市（琴弾荘）、2008年5月30日・31日

NGWE TUN MYA MYAT、Kyaw Zin Thant、Parquet Maria del C.、井上真吾、Yee Yee Lwin、Pe Thet Khin、Tin Myint、Khin Htwe、鍋島武、森田公一：ミャンマー北部におけるデングウイルス感染症の分子疫学のおよび血清学的調査。Molecular epidemiological and serological surveillance on dengue virus infection in Upper Myanmar. 第49回日本熱帯医学会大会・東京都国立国際医療センター、2008年10月25-26日

鍋島武、Hyunh Thi Kim Loan、井上真吾、住吉誠、春田泰宏、Phan Thi Nga、Vu Thi Que Huong、Parquet Maria del Carmen、長谷部太、森田公一：東アジア、東南アジアにおける日本脳炎ウイルス遺伝子型の遷移。Japanese encephalitis virus travelling from Southeast Asia to East Asia. 第49回日本熱帯医学会大会・東京都国立国際医療センター、2008年10月25-26日

木下一美、Huong Vu Thi Que、Hung Nguyen Thanh、Michael Baclig O、Corazon Buerano C、Ronald Matias R、Filipinas Natividad F、井上真吾、森田公一、長谷部太：デング患者の抹消血中におけるウイルス準種(viral quasispecies)と細胞向性。第56回日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008年10月26-28日

左一八、森田公一、鈴木隆：フラビウイルス-硫酸化糖鎖分子間相互作用の解析。第56回日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008年10月26-28日

長谷部太、Mai Le Thi Quynh、Thuy Nguyen Thi Thu、Thach Nguyen Co、Cuong Vuong Duc、Dinh Bui Thi、Phuong To Thanh、Ba Nguyen Van、井上真吾、余 福勲、Thong Vu Dinh、森田公一：ベトナムに棲息するコウモリにおける新興再興ウイルス感染症の調査。第56回日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008年10月26-28日

鍋島武、井上真吾、Maria del Carmen Parquet、長谷部太、森田公一：日本脳炎ウイルスの東南アジアから日本への移動経路について。第56回日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008年10月26-28日

久保亨、井上真吾、鍋島武、森田公一：デングウイルスの4血清型の全てを同時に検出可能なデングウイルス共通RT-LAMP法の確立。第56回日本ウイル

ス学会学術集会・岡山県岡山市、2008年
10月26-28日

久保亨、森田公一：黄熱病ウイルスに対
する RT-LAMP 法の確立。第 56 回日本ウ
イルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008
年 10 月 26-28 日

久保亨、井上真吾、岡本健太、森田公一：
精製黄熱病ウイルスを用いた間接 ELISA
法による黄熱病血清疫学診断系の確立と、
そのケニア共和国における応用。第 56 回
日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山
市、2008 年 10 月 26-28 日

余福勲、長谷部太、井上真吾、森田公一：
JEV NS3 protein inhibit RNA
polymerase activity of JEV NS5 protein
in vitro. 第 56 回日本ウイルス学会学術集
会・岡山県岡山市、2008 年 10 月 26-28
日

森田公一：アジアにおける疫学。第 12 回
日本ワクチン学会学術集会・熊本市、2008
年 11 月 8-9 日

村木優子、松浦正明、福家功、真鍋貞夫、
石川豊数、奥野良信、東雍、森田公一：
培養細胞を用いた不活化ウエストナイル
ワクチンの開発。第 12 回日本ワクチン学
会学術集会・熊本市、2008 年 11 月 8-9
日

北井陽子、白藤浩明、金平克史、神尾次
彦、近藤高志、小西英二：日本脳炎ワク
チン接種後にウエストナイルウイルス

(WNV) を実験感染したウマ血清中の
WNV 特異 NS1 抗体測定：ブロッキング
ELISA 法と CDC 法の評価。第 15 回ト
ガ・フラビ・ペスチウイルス研究会。2008
年 10 月

宮川優子、山中敦史、小西英二：デング 2
型ウイルスを用いたマウスモデルにおけ
る中和抗体のウイルス血症防御能。第 56
回日本ウイルス学会学術集会。2008 年 10
月

北井陽子、近藤高志、小西英二：補体
を利用したウマ血清中ウエストナイルウ
イルス特異的 NS1 抗体の測定。第 56 回日
本ウイルス学会学術集会。2008 年 10 月

桑原三和、小西英二：日本脳炎ワクチン
抗原を連続産生する昆虫細胞株の樹立。
第 12 回日本ワクチン学会学術集会。2008
年 11 月

Atsushi Yamanaka, Soegeng 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, Soegeng 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

Takasaki Tomohiko, A. Kotaki, S. Tajima, T. Hirayama, Y. Mizuno, N. Takeshita, I. Kuran. Diagnosis of dengue virus infection by detection of dengue virus genome in urine and saliva. The second international conference on dengue and dengue haemorrhagic fever (Phuket, Thailand) 2008. October.

貫井陽子、小滝徹、田島茂、林 昌宏、加藤文博、大松勉、小杉伊三夫、高崎智彦、倉根一郎。2007年度国内日本脳炎患者髄液より分離したウイルスの分子疫学的解析および過去3年間における日本脳炎症例のまとめ。第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会。2008年5月30-31日（観音寺市）

林昌宏、根路銘令子、小山田敏文、清水良太、田島茂、貫井陽子、水野俊秀、大松勉、小滝徹、モイ メンリン、池田真紀子、倉根一郎、高崎智彦。三重県の同一農場から分離された日本脳炎1型ウイルスのマウスにおける病原性解析。第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会。2008年5月30-31日（観音寺市）

大松勉、渡辺俊平、上田直也、伊波興一郎、Joseph S. Masangkay、明石博臣、吉川泰弘、高崎智彦、倉根一郎。フィリピンのコウモリにおけるアルボウイルスの暴露について。第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会。2008年5月30-31日（観音寺市）

藤井克樹、早坂大輔、小池智、北浦一孝、高崎智彦、鈴木隆二、倉根一郎。フラビウイルス脳炎における脳内の生体反応の解析。第56回日本ウイルス学会学術集会。Oct. 26-28.2009(岡山市)

北浦一孝、藤井克樹、林昌宏、高崎智彦、鈴木隆二、倉根一郎。ウエストナイルウイルス感染マウスにおける脳炎発症に関わる脳内浸潤T細胞の解析。第56回日本ウイルス学会学術集会。Oct. 26-28.2009(岡山市)

江下優樹、牧野芳大、湯偉峰、青野裕士、高崎智彦、田島茂、高島郁夫、小林睦生、倉根一郎。アカイエカにおける日本脳炎ウイルスの増殖について。第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会。2008年5月30-31日（観音寺市）

高崎智彦. 昆虫媒介感染症～デング熱を中心に～. 第 23 回 Transfusion Medicine Conference. 2009 年 1 月 31 日 (神奈川県葉山町)

原田誠也、松尾 繁、中島龍一、小滝 徹、高崎智彦、倉根一郎. 肥育ブタの日本脳炎抗体調査の検討と分離ウイルスの遺伝子解析. 平成 20 年度日本獣医公衆衛生学会九州地区学会 (那覇市)

原田誠也、松尾 繁、中島龍一、小滝 徹、高崎智彦、倉根一郎. 肥育ブタの日本脳炎抗体調査の検討と分離ウイルスの遺伝子解析. 平成 20 年度日本獣医公衆衛生学会年次大会 (岩手市)

前田 明彦、藤枝 幹也、古賀 眞紀子、脇口 宏: 遷延性発熱を呈した Parvovirus B19 感染症の 1 例. 高知県ウイルス感染症研究会, 2008 年 3 月高知

佐藤哲也、藤枝幹也、前田明彦、石浦嘉人、堂野純孝、脇口 宏、田中絵里子、宮村正和、久野正貴、近本裕子、秋岡佑子、服部元史: 小児腎移植における EB ウイルス(EBV)モニタリング - EBV 負荷量および killer T 細胞の推移 -, 第 18 回 EB ウイルス感染症研究会 2008, 3 月, 東京

原 拓麿、宗景匡哉、前田明彦、島崎洋成、堂野純孝、臼井大介、細川卓利、広瀬かほり、濱田昌史、藤枝幹也、脇口 宏: Mondini 内耳奇形に合併した化膿性髄膜炎の 1 例. 第 40 回日本小児感染症学会, 2008 年 11 月、名古屋

屋

Sato T, Fujieda M, Maeda A, Tanaka E, Miyamura, Chikamoto H, Hisano M, Akioka Y, Ishiura Y, Dohno S, Hattori M, Wakiguchi H: Monitoring of Epstein-Barr virus load and killer T cells in renal transplant recipients. The 13th Biennial Conference of the International Association for Research on Epstein-Barr Virus and Associated Diseases, 2008, 11, 広州, 中華人民共和国.

前田 健、大野 佳、佐藤 宏「伴侶動物と野生動物における日本脳炎ウイルス感染の血清疫学調査」第 43 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2008 年 6 月(香川)

大野 佳、前田 健、甲斐一成、佐藤 宏、鈴木和男「野生動物における日本脳炎ウイルスの感染状況」第 146 回日本獣医学会学術集会、2008 年 9 月(宮崎)

多屋馨子. ワークショップ「日本脳炎ワクチンの展望」日本脳炎の国内における疫学. 第 12 回日本ワクチン学会, 2008

新井 智、多屋馨子、岡部信彦. 家畜用日本脳炎生ワクチン株に認められたアミノ酸変異. 第 12 回日本ワクチン学会 2008.

新井 智、多屋馨子、岡部信彦. 日本脳炎生ワクチン株に認められたアミノ酸変異. 日本獣医学会, 2008 年 10 月

村上 学、上村 清、及川陽三郎、太田隆英、石垣靖人、竹上 勉: 石川県での分離 JEV の生物活性 第 43 回 日本脳炎ウイルス生態学研究会、観音寺 (2008, 5)

<p>竹上 勉、村上 学、佐藤杏子、太田隆英、石垣靖人：日本脳炎ウイルス感染に伴う宿主遺伝子 発現の網羅的解析、第 12 回神経ウイルス研究会、屋久島 (2008, 7)</p>	<p>H. 知的所有権の取得状況 1. 特許取得 なし 2. 実用新案登録 なし</p>
<p>太田隆英、前田雅代、村上 学、竹上 勉、達家雅明：B16メラノーマ細胞の実験転移に対するlapacholの二面的な作用、第 67 回日本癌学会総会、名古屋 (2008, 10)</p>	<p>3. その他 なし H. 知的所有権の取得状況 1. 特許取得 なし</p>
<p>竹上 勉、村上 学、佐藤杏子、太田隆英、石垣靖人：日本脳炎ウイルス感染による宿主遺伝子発現および miRNA 動態への影響、第 15 回トガ・フラビ・ペステウイルス研究会、岡山 (2008, 10)</p>	<p>2. 実用新案登録 なし 3. その他 なし</p>
<p>村上 学、佐藤杏子、竹上 勉：石川県 (1998 年—2008 年)での野外蚊からの日本脳炎ウイルス分離と生物活性、第 56 回日本ウイルス学会、岡山 (2008, 10)</p>	
<p>佐藤杏子、村上 学、竹上 勉：HCV-NS3 発現細胞における宿主遺伝子発現の解析、第 56 回日本ウイルス学会、岡山 (2008, 10)</p>	
<p>佐藤杏子、村上 学、太田隆英、石垣靖人、竹上 勉：HCV-NS3 導入による宿主遺伝子の発現誘導、第 31 回日本分子生物学会、神戸、(2008, 12)</p>	