

平成19-20年度 厚生労働省科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業(2年目)研究発表

新規に発生しているレンサ球菌による 劇症型感染症の臨床的・細菌学的解析と 診断・治療法に関する研究

研究代表者： 砂川 慶介

北里大学大学院感染制御科学府 & 北里生命科学研究所
感染症学

本研究班の目的

【背景】 急速な少子・高齢化社会を迎えた我が国の中で市中感染症において、β溶血性レンサ球菌、肺炎球菌等による劇症型あるいは**侵襲性感染症例が増加**している。

【目的】 本研究班は当該感染症に着目し、基礎と臨床系研究者とが横断的に連携し、次の項目を**3ヵ年計画**で研究する。

解析項目

1. 全国規模の菌株の分子疫学解析と宿主側の要因解析。
2. 動物モデルの構築による病態解析、重症化メカニズムの解明。
3. 発症例が増加しているGGGSのゲノム解析。
4. 迅速診断法ならびに発症予防対策。
5. 発症例に対する適切な治療法の確立。
6. ガイドライン作成と啓発活動。

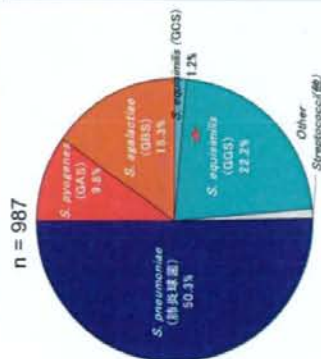


GGS

研究分担者一覧

生方 公子	北里大学大学院感染制御科学府 & 北里生命科学研究所	教授
渡邊 治雄	国立感染症研究所細菌第一部	部長・副所長
池辺 忠義	国立感染症研究所細菌学第一部	主任研究官
阿戸 学	国立感染症研究所免疫部第二室	第二室長
松井 英剛	北里大学大学院感染制御科学府 & 北里生命科学研究所	講師
秋山 敬	国立国際医療センター 感染症制御研究部	室長
大石 和彦	大阪大学微生物病研究所 感染症国際研究センター 高病原性感染症研究部門	特任教授
吉田 教	獨協医科大学病院、臨床検査医学講座	准教授
藤島 清太郎	慶應義塾大学医学部救急部	診療科副部長
坂田 宏	旭川厚生病院小児科	主任部長
岩田 敏	(独)国立病院機構 東京医療センター 小児科	統括診療部長

【疫学-1】 侵襲性感染症由来・収集株の内訳

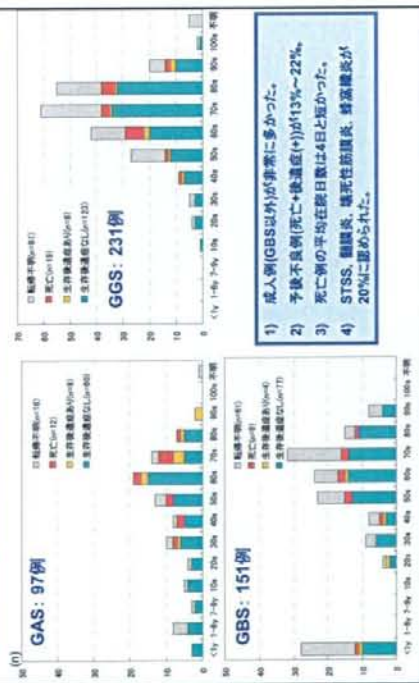


★ *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* - GGS

Summary

- 1) 全国186医療機関より菌株受領。
- 2) β溶血レンサ球菌と肺炎球菌例がほぼ同数。
- 3) レンサ球菌では、注目されていたなかったGGG (*S. equisimilis*) が最も多く、次いで GBS, GAS の順であった。
- 4) 発症例は、市立・市民病院、厚生連・財団系病院クラスが救命救急、時間外受診例が多かった。
- 5) 急激な症状悪化例が多かった。

【疫学-2】β溶血性レンサ球菌感染症：年齢分布と予後



【疫学-3】予後と関連する血液検査項目と基礎疾患の有無

解析項目	GAS	GGS	GBS	肺炎球菌
予後不良率(%)	22.1%	17.3%	12.9%	27.7%
基礎疾患(+) ^{a)}	56.4%	75.0%	87.4%	56.1%
WBC (< 5,000/ μ l)	4.5 b)	3.0	1.3	5.7
PLT (< 13 × 10 ⁴ / μ l)	7.4	4.1	4.2	3.9
CRP (< 1 mg/dL)	0.8	0.2	1.1	0.3

- a) 基礎疾患は糖尿病や慢性腎臓病が多く、次いで心、肝、腎疾患例が多く認められた。
 b) WBC、PLT、CRPの力ラウム中、予後不良(死亡+後遺症(+))群と、予後良好群間の検査値に有意差がみられた場合はOdds比を赤字で示した。

宿主側疫学解析結果

- ① 基礎疾患を有する例、② WBCとPLTが低値の例では予後不良となりやすい。

【菌の疫学-1】菌の病原因子と発症例の予後との関係

Mタンパク

1) GAS: *emm1*型は全体の33%を占め、死亡率が有意に高い。
 2) GGS: *stG6792*型が24.6%を占め、死亡率が有意に高い。

英膜

1) GBS: 新生児: III, Ia, Ib型, 成人: Ib, V型
 成人分離株は跋米とは異なる。
 2) 肺炎球菌
 小児: 6B > 19F > 14 > 23F (耐性多い)
 成人: 12F > 3 > 14 = 4 (軽度耐性多い)

【菌の疫学-2】GAS 劇症株における制御系遺伝子解析

結果-1: 劇症株は制御系の*csrS/csrR*遺伝子に有意に変異を持つことが明らかになった。



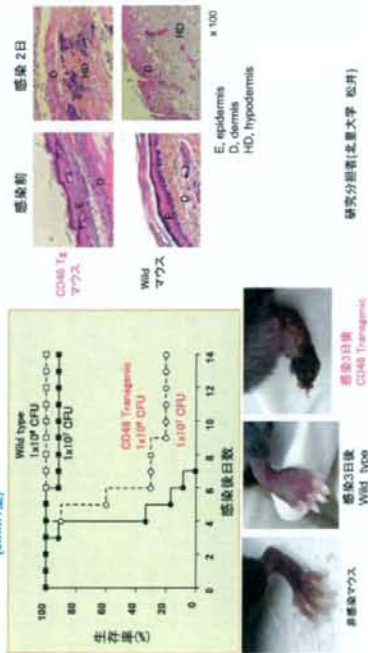
ヒト好中球を用いた試験管内実験により、

- 結果-2: ① *csrS*遺伝子の変異は、Streptolysin O(SLO)の産生量を著しく上昇させ、好中球への傷害(毒死)が有意に高まった。
 ② GASの増殖性も増強された。

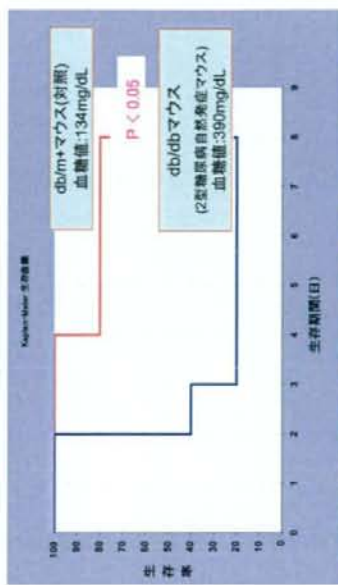
研究分担者(国立感染症研究所、阿戸、蓮池)

【動物モデル】 GAS による劇症型感染症のモデル構築

劇症型由来: #472株 マウス: ヒトCD46 transgenic vs Wild type 方法: footpad 感染



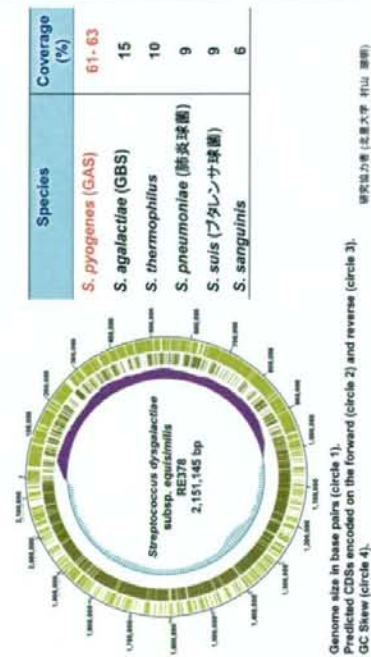
【動物モデル】 GGS (#124)による劇症型感染症のモデル構築



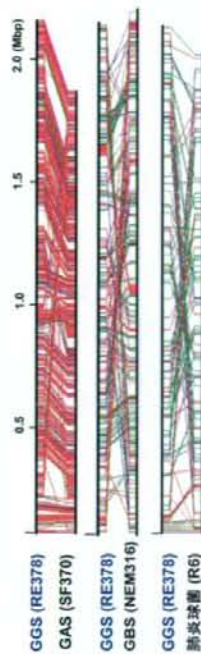
1型, 2型の糖尿病マウスとも, GGSに對して感受性が高く, GGSの感染モデルとして有用であることが明らかとなった。

研究分担者(国立国際医療研究センター 秋山)

【ゲノム解析-1】 GGS (RE378株, 劇症型感染症由来)のゲノム



【ゲノム解析-2】 GGS(RE378株, 劇症型感染症由来)と他のレンサ球菌とのゲノム再配置マップ



GGSとGASでは、「病原性に関わる多くの遺伝子が高いhomologyを有している」とことが明らかになった。

「GGSは病原性が高い菌種である」との管見活動が必要である。

研究協力者(奈良大学 村山 謙明)

平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：防疫上緊急を要するウイルス性出血熱等に対する病原体診断法の確立
及び予防・治療法の開発に関する研究

課題番号：H19-新興一般-003

研究代表者：森川 茂

I. 研究の意義

- (1) BSL4 のウイルスが日本では扱えないため代替法で診断・治療法・予防法の開発
- (2) 南米出血熱・ニパウイルス脳炎・ハンタウイルス肺症候群・リフトバレー熱等の診断法の整備
- (3) エボラ出血熱、マールブルグ病、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱等の診断系の改良と充実
- (4) 新興ウイルス感染症発生時や新種エボラウイルス出現時等に対応可能な遺伝子検出同定法の開発
- (5) 予防・治療に繋がる基礎的研究の充実

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 診断体制未整備の対象ウイルス感染症の診断法の確立
- (2) エボラ出血熱、マールブルグ病、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱等の診断系の改良・充実
- (3) 新興感染症発生時や新種ウイルス出現時のウイルス検出・同定法の開発
- (4) 上記の成果に基づく疑い患者の迅速・正確な診断が期待される
- (5) 予防・治療法の開発に繋がる基礎的知見の取得

III. 2年間の研究成果

- ・主任研究者 (森川茂)：南米出血熱ウイルスの診断法
 - (1) アルゼンチン出血熱患者の抗体検出 IgG-ELISA 法の確立
 - (2) 南米アレンウイルス検出及びウイルス種を識別する抗原補足 ELISA 法の開発
 - (3) 南米アレンウイルスの外被蛋白を被った VSV^ψpseudotype の作製
 - (4) サルの致死性ジステンパーウイルス感染症の同定
- ・分担研究者 (甲斐知恵子)：ニパウイルスの診断法とウイルスの弱毒化と応用
 - (1) 組換え N, P, M, G 蛋白抗原の抗体の作製と感染細胞の抗原検出
 - (2) RT-PCR 法の開発と感染動物検体によるバリデーション
 - (3) アクセサリー蛋白を欠損した弱毒化ウイルスの作製
- ・分担研究者 (高田礼人・安田二郎)：エボラウイルスの診断法と抗ウイルス薬の検討
 - (1) 高感度なウイルス遺伝子検出 RT-PCR 法、RT-LAMP 法の確立 (高田・安田)
 - (2) フィロウイルスの表面糖蛋白質の分泌型組換え蛋白を用いた IgG 抗体検出 ELISA 法の開発 (高田)
 - (3) エボラウイルスの表面糖蛋白質に対する抗体や C 型レクチンによる感染防御効果 (高田)
 - (4) マールブルグウイルス出芽に関わる宿主因子 (Tsg101, Vps4) の解明と、ドミナントネガティブ蛋白や si-RNA による出芽抑制効果の確認。HIV Vpu の標的である tetherin の粒子産生阻害効果の確認 (安田)
- ・分担研究者 (有川二郎)：HPS ウイルス (ハンタウイルス) の診断法と分子疫学
 - (1) ネズミ亜科由来、ハタネズミ亜科由来、アメリカネズミ亜科由来ウイルス特異的 RT-PCR の開発
 - (2) ハタネズミ由来ハンタウイルス (Puumala と Tula) 感染を鑑別する迅速 ELISA 法の開発
 - (3) HPS 原因ウイルスの特異的抗原部位による 5 グループ化
- ・分担研究者 (林昌宏)：チクングニヤウイルスの診断法と治療法の検討
 - (1) 不活化ウイルス抗原を用いた IgM 抗体検出系と中和試験法の確立
 - (2) リアルタイム RT-PCR 法の確立と関係機関へのシステム配布
 - (3) チクングニヤ熱輸入症例からのウイルス分離と遺伝子解析
- ・分担研究者 (福土秀悦)：リフトバレーウイルス (RVFV) の診断法
 - (1) 組換え NP を抗原とした抗体測定 ELISA の開発
 - (2) 全ての RVFV 株を検出する抗原捕捉 ELISA 法の開発
 - (3) ウイルスの L 遺伝子を標的とするリアルタイム RT-PCR 法の開発と評価
- ・分担研究者 (西條政幸)：クリミア・コンゴ出血熱、サル痘の診断法とワクチン、抗ウイルス薬の検討
 - (1) 劇症型サル痘発症サルでの、全臓器でのウイルス増殖・サイトカインレベルの重要性を解明
 - (2) サル痘ウイルスの経皮感染サルでは経鼻感染よりも重症化し、消化管臓器にも感染が認められ、予後も悪いことを解明。

- (3) 中国新疆のクリミア・コンゴ出血熱ウイルスのLセグメントの遺伝子配列解析から遺伝子再構成の可能性を示唆

・分担研究者 (田口文広): 重症急性呼吸器症候群の発症モデル動物系による発症機構とワクチン、治療法

- (1) LPS 投与後のマウス馴化 SARS-CoV 感染によるマウス SARS モデルの開発
 (2) マウス SARS モデルの解析から、エラストラーゼ産生の発症における重要性の解明
 (3) 微弱肺炎マウスで継代した SARS-CoV は、人体内で増殖したウイルスとS遺伝子の類似性が高く、マウスやハムスターに対する病原性も高いことを確認

・分担研究者 (遠藤大二): 新興ウイルスが出現した場合の迅速なウイルス同定法の開発

- (1) 新たなアルゴリズムによる degenerated プライマー設計プログラムを開発し、ラッサウイルスに近縁な LCMV 検出用の高感度な degenerated プライマーを設計
 (2) ウイルスゲノム上の短いモチーフを元にしてプライマーを設計する方法を発展させ、アレナウイルス等のウイルス科を数組のプライマーペアでカバーするプライマー設計プログラムを作成

IV. 21年度の課題

- (1) 開発途上及び未整備の対象ウイルス検査法の確立とバリデーション
 (2) 取扱いのできない BSL4 ウイルスの VSV シールドタイプによるウイルス中和試験法の確立
 (3) 遺伝的多様性の多いアレナウイルス、ハンタウイルスの遺伝子検出法の改良
 (4) 新種エボラウイルス (Bundibugyo ebolavirus) に対応可能な遺伝子・蛋白検出法、抗体検出法の整備とフィリピンでのエボラウイルスへの対応
 (5) サル痘、ニパウイルス感染症や重症急性呼吸器症候群の発症動物モデル系を用いた治療法開発
 (6) フィロウィルスのウイルス様粒子作製系を用いたウイルス増殖抑制効果法の開発等
 (7) サルの致死性ジステンパーウイルス感染症の感染病理の解明

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 1 類感染症や重要なウイルス感染症疑い患者の迅速・正確な実験室診断
 (2) 患者の隔離、二次感染防止対策をより有効に行なえる
 (3) これら重要な感染症の予防・治療法の開発に寄与する

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- ・主任研究者
- Ure AE, Ghiringhelli PD, Possee RD, Morikawa S, Romanowski V: Argentine hemorrhagic fever diagnostic test based on recombinant Junin virus N protein. *J Med Virol*. 80(12):2127-33, 2008
 - Takimoto K, Taharaguchi M, Morikawa S, Ike F, Yamada YK. ; Detection of the antibody to LCM virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. *Exp Anim*. 57(4):357-65, 2008
 - Saijo, M., George-Corbot, M., Philippe, M., Victor, R., Fukushi, S., Mizutani, T., George, A., Kurata, T., Kurane, I. and Morikawa, S. ; Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin Vaccine Immunol*. 14(9):1182-9, 2007
- ・分担研究者 (甲斐知恵子)
- Sato, H., Honma, R., Yoneda, M., Miura, R., Tsukiyama-Kohara, K., Ikeda, F., Seki, T., Watanabe, S., Kai, C. Measles virus induced cell-type specific changes in gene expression. *Virology*, 321-330, 2008.
 - Yoneda, M., Guillaume, V., Ikeda, F., Sakuma, Y., Sato, H., Wild, T. F. and Kai, C. Establishment of a Nipah virus rescue system. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 103(44), 16508-16513, 2006.
- ・分担研究者 (高田礼人)
- Takada, A., Ebihara, H., Feldmann, H., Geisbert, T.W., Kawaoka Y. Epitopes required for antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J. Infect. Dis*. 196 (Suppl 2): S347-56, 2007.
 - Takada, A., Ebihara, H., Jones, S., Feldmann, H., Kawaoka, Y. Protective efficacy of neutralizing antibodies against Ebola virus infection. *Vaccine* 25 : 993-999, 2007.
- ・分担研究者 (安田二郎)
- Urata, S., Noda, T., Kawaoka, Y., Morikawa, S., Yokosawa, H., and Yasuda, J.: Interaction of Tsg101 with Marburg virus VP40 depends on the PPPY motif, but not the PT/SAP motif as in the case of Ebola virus, and Tsg101 plays a critical role in the budding of Marburg virus-like particles induced by VP40, NP, and GP. *J. Virol*. 81, 4895-4899, 2007.
 - Kurosaki, Y., Takada, A., Ebihara, H., Grolla, A., Kamo, N., Feldmann, H., Kawaoka, Y., and Yasuda, J.: Rapid and Simple Detection of Ebola Virus by Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification. *J. Virol. Methods*. 141, 78-83, 2007.
- ・分担研究者 (有川二郎)
- Nakamura, I., K. Yoshimatsu, B. H. Lee, M. Okumura, M. Taruishi, K. Araki, H. Kariwa, I. Takashima, and J. Arikawa. Development of a serotyping ELISA system for Thailand virus infection. *Arch Virol* 153:1537-42, 2008.
 - 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. Vaccine Immunol*. 14(2): 173-181, 2007.
- ・分担研究者 (林昌宏)
- Lim CK, 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*. 374(1):60-70, 2008.

- ・分担研究者 (福土秀悦)
- 1. Fukushi S, Watanabe R, Taguchi F. Pseudotyped vesicular stomatitis virus for analysis of virus entry mediated by SARS coronavirus spike proteins. *Methods Mol Biol*. 2008;454:331-8.
- 2. Fukushi S, Mizutani T, Sakai K, Saijo M, Taguchi F, Yokoyama M, Kurane I, Morikawa S. Amino Acid substitutions in the s2 region enhance severe acute respiratory syndrome coronavirus infectivity in rat Angiotensin-converting enzyme 2-expressing cells. *J. Virol*. 81(19):10831-10834, 2007.
- ・分担研究者 (西條政幸)
- 1. Saijo M, Ami Y, Suzuki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Izuka 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.
- 2. 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.
- ・分担研究者 (田口文広)
- 1. Watanabe R, Matsuyama S, Shirato K, Maejima M, Fukushi S, Morikawa S and Taguchi F. Entry from cell surface of SARS coronavirus with cleaved S protein as revealed by pseudotype virus bearing cleaved S protein. *J. Virol*. 82: 11985-11991, 2008
- 2. Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S and Taguchi F. Co-infection of respiratory bacterium with SARS coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. *Microbiol. Immunol*. 52: 118-127, 2008
- ・分担研究者 (遠藤大二)
- 1. Maeda K, Hondo E, Terakawa J, Kiso Y, Nakaichi N, Endoh D, Sakai K, Morikawa S, Mizutani T. Isolation of novel adenovirus from fruit bat (*Pteropus dasymallus yeyeyamae*). *Emerg Infect Dis*. 14(2):347-9, 2008.
- 2.

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

・ 南米出血熱、ニパ脳炎、フィロ、ハンタ、リフトバレー熱、チクングニア熱の抗体検出系 (ELISA, IF 等の開発)

・ 南米出血熱、リフトバレー熱の代替中和試験法の開発

南米出血熱、ニパ脳炎、フィロ、ハンタ、リフトバレー熱、チクングニアウイルスの遺伝子検出系の開発

・ 南米アレナ、ハタネズミ由来ハンタウイルス感染の鑑別 ELISA の開発

・ 遺伝的多様性の多いアレナウイルス検出用 *degenerated primer* のデザインアルゴリズムの開発

・ アクセサリー遺伝子欠損弱毒ニパウイルスの作製

・ フィロウイルス出芽に関与する細胞因子の解明

・ SARS 発症モデルの重症化機構の解明

・ サル痘感染サルの重症化機構の解明

防疫上緊急を要するウイルス性出血熱等に対する病原体診断法の整備が進行しつつある

防疫上緊急を要するウイルス性出血熱等に対する予防・治療法の開発につながる成果

○研究代表者の研究歴等**・過去に所属した研究機関の履歴**

1983-1988 : 国立予防衛生研究所

1989-1991 : 英国 NERC Institute of Virology and Environmental Microbiology

1991-現在 : 国立感染症研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1983-1988 : 国立予防衛生研究所 (北村敬) 東大医科学研究所 (速水正憲)

1989-1991 : 英国 NERC Inst. Virology and Environmental Microbiology (David HL Bishop)

1991-現在 : 国立感染症研究所 (倉根一郎) 北海道大学 (有川二郎) 中国 CDC (唐青) 米国 CDC (CJ Peters)

他

・主な研究課題

ウイルス性出血熱の実験室診断と分子疫学に関する研究

天然痘、サル痘の迅速診断法に関する研究

SARSの実験室診断とウイルス学的研究

新興ウイルス感染症の迅速同定法に関する研究

・これまでの研究実績

1. Ure AE, Ghiringhelli PD, Possee RD, Morikawa S, Romanowski V: Argentine hemorrhagic fever diagnostic test based on recombinant Junin virus N protein. *J Med Virol.* 80(12):2127-33, 2008
2. Watanabe R, Matsuyama S, Shirato K, Maejima M, Fukushi S, Morikawa S, Taguchi F: Entry from the cell surface of severe acute respiratory syndrome coronavirus with cleaved S protein as revealed by pseudotype virus bearing cleaved S protein. *J Virol.* 82(23):11985-91, 2008.
3. Takimoto K, Taharaguchi M, Morikawa S, Ike F, Yamada YK: Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. *Exp Anim.* 57(4):357-65, 2008
4. 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(1):56-9, 2008.
5. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T: Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. *Am J Pathol.* 172(6):1625-37, 2008.
6. 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 severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. *Microbiol Immunol.* 52(2):118-27, 2008.
7. Maeda K, Hondo E, Terakawa J, Kiso Y, Nakaichi N, Endoh D, Sakai K, Morikawa S, Mizutani T: Isolation of novel adenovirus from fruit bat (*Pteropus dasymallus yayeyamae*). *Emerg Infect Dis.* 14(2):347-9, 2008.
8. Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Fukushi, S., Yokoyama, M., Harashima, A., Sato, Y., Saijo, M., Morikawa, S., and Sata, T.: Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome in F344 rats infected with SARS coronavirus. *J. Virol.*, 81(4):1848-57, 2007
9. Yu, F., Le, M.Q., Inoue, S., Hasebe, F., Parquet, M.D., Morikawa, S., and Morita K.: Development of immunoglobulin m capture enzyme-linked immunosorbent assay system for severe acute respiratory syndrome coronavirus by using recombinant truncated nucleocapsid protein as antigen. *Clin. Vaccine Immunol.* 14(2):146-149, 2007.
10. Urata, S., Noda, T., Kawaoka, Y., Morikawa, S., Yokosawa, H., and Yasuda, J.: Interaction of Tsg101 with Marburg virus VP40 depends on the PPPY motif, but not the PT/SAP motif as in the case of Ebola virus, and Tsg101 plays a critical role in the budding of Marburg virus-like particles induced by VP40, NP, and GP. *J. Virol.* 81(9):4895-9, 2007.
11. Saijo, M., George-Corbot, M., Philippe, M., Victor, R., Fukushi, S., Mizutani, T., George, A., Kurata, T., Kurane, I. and Morikawa, S.: Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin Vaccine Immunol.* 14(9):1182-9, 2007
12. Ike, F., Bourgade, F., Ohsawa, K., Sato, H., Morikawa, S., Saijo, M., Kurane, I., Takimoto, K., Yamada, Y.K., Jaubert, J., Berard, M., Nakata, H., Hiraiwa, N., Mekada, K., Takakura, A., Itoh, T., Obata, Y., Yoshiki, A., and Montagnetelli, X.: LCMV infection in a wild-derived mouse inbred strain undetected by dirty bedding sentinel health monitoring and revealed after embryo transfer. *Comp. Med.*, 57(3): 272-281, 2007.
13. Morikawa, S., Saijo, M. and Kurane, I.: Current knowledge on lower virulence of Reston Ebola virus. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 30(5-6):391-8, 2007
14. Morikawa, S., Saijo, M. and Kurane, I.: Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 30(5-6):375-89, 2007
15. Fukushi, S., Mizutani, T., Sakai, K., Saijo, M., Taguchi, F., Yokoyama, M., Kurane, I., and Morikawa, S.: Amino acid substitutions in S2 region enhance SARS-CoV infectivity in rat ACE2-expressing cells. *J. Virol.* 81(19):10831-4, 2007

平成20年度厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症研究事業中間評価委員会資料
平成21年2月19日

防疫上緊急を要するウイルス性出血熱等に対する病原体診断法の確立及び予防・治療法の開発に関する研究 (H19-新興-一般-003)

(平成19年度から21年度の3年計画)

森川 茂・国立感染症研究所
甲斐知憲子・東京大学医科学研究所
高田礼人・北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター
安田二朗・科学振興研究所
林昌宏・国立感染症研究所
瑛土善徳・国立感染症研究所
西條政幸・国立感染症研究所
山口文広・国立感染症研究所
遠藤大二・群馬県立大学

研究の目的

1. 日本では扱えないBSL4ウイルスの診断・治療法・予防法の開発
2. 南米出血熱・ニバウイルス脳炎・ハンタウイルス肺炎候群・リフトバレー熱等の診断法の整備
3. エボラ出血熱、マールブルグ病、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱等の診断系の改良と充実
4. 新興ウイルス感染症発生時や新種エボラウイルス出現時等に対応可能な遺伝子検出同定法の開発
5. 予防・治療に繋がる基礎的研究の充実

ニバウイルスの診断法とリバーシジェネティクスによるウイルスの閉塞化と応用

NPを標的にしたRT-PCR法によるウイルス検出

高感度検体のハイスターでもまず弊に頼りて検出ウイルス遺伝子が検出できた

1. 3種類のアウタープライマーを用いた検出ウイルスをreverse primers法で検出
2. 2本ウイルスの検出率が著しく低下した



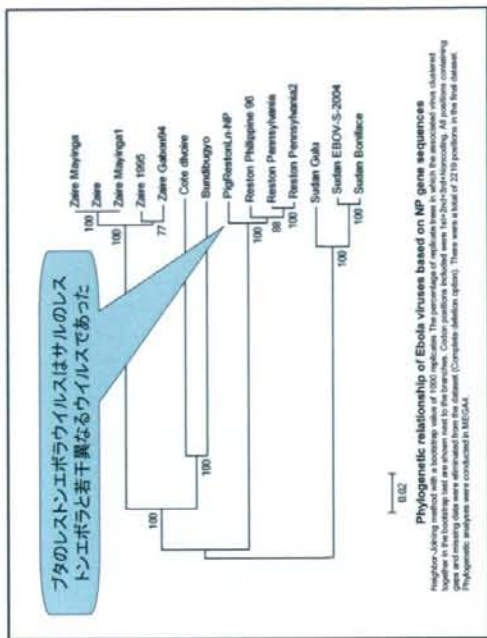
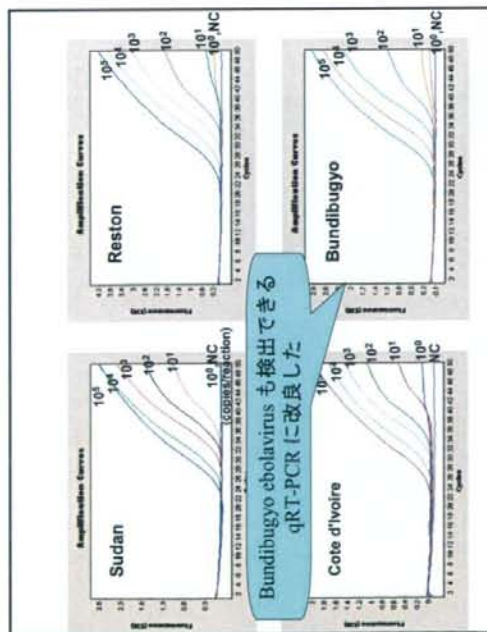
ニバウイルス糖鎖入蛋白質の発現と抗体の作製

藤井久美子, P. M. G 蛋白質発現装置

これらもウサギに感染し、ポリクローナル抗体を作製
ELISA法、免疫抗体法での検出性を確認

Junin virus NP抗体検出法

1. 結合えJunin virus NPによるIgG-ELISA: AHF患者血清36検体、非患者血清120検体を用いて検討した結果、感度90%、特異度99%
2. 結合えJunin virus NP発現細胞によるIF: AHF患者血清5検体、ラッサ熱患者血清3検体を用いて検討した結果、抗体の交叉はなかった



新たなアルゴリズムによるPCRプライマー設計プログラムの開発

これまで既知の遺伝子配列情報からデザインされたPCR primerは、アレナ、フィロ、HPSウイルスでは検出できないウイルス株がある

より多様なPCR primerをデザインするソフトが必要!

これまで既知の遺伝子配列情報をインプットすることにより、自動的に新しいウイルス種にも対応可能なPCRプライマーを設計するコンピュータプログラムを作成し、アレナウイルスについて検証した

これまで、旧世界アレン用の論文発表された種々のEpyranolaseを抽出し、抽出した種々のEpyranolaseをデータベースに入力して、異なるprimerを抽出した。

アレナウイルス用にデザインされた13種のPrimerセットを旧世界アレナウイルスのLCMV-M1株に適用した結果10種のセットで検出できた。

チンゲンニアウイルスの検査体制の確立と性状解析

研究の意義:

- チンゲンニアウイルスは国によって既知はコタンジンや日本にも分布するトリスリンガ)
- チンゲンニアでは、発熱、頭痛、発疹の3つが特徴であり重症疾患としてチンゲンニア出血熱、ウエストニール病)
- 2008年以前にチンゲンニアウイルスが検出された。日本でも2008年11月山形県の名取市で発生
- 感染経路や感染源にまでわかっていないため、検査可能な検体が少なかった

研究結果:

- RT-PCR法、qRT-PCR法、HA検出ELISA法、中和法による診断法を確立
- チンゲンニアウイルスの遺伝子配列をシーケンシングし、ウイルス遺伝子抽出検査の検体採集場所の作成
- 分画ウイルスの性状解析
- 「ヨーロピック」輸入ウイルス遺伝子配列ネットワークによる6名のHAで診断法をバリデーション

21例の検体:

- ベルギーから7例、トルコから7例、インドネシアから7例、中国から2例、日本から2例
- 輸入検体から分画ウイルスの検出をモデルを用いて性状解析
- 感染経路にこれまでの検査を適用し、チンゲンニアウイルスの遺伝子配列解析の国内での確立、普及

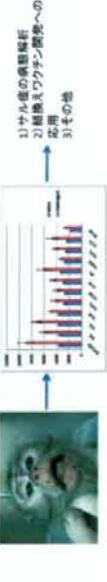
日本でも既に輸入症例が5名発生している。これらの実態を調査することを可能にした。

サル痘ウイルス感染症の病態解析と免疫応答

1) 劇症型サル痘ウイルス感染症の病態解析

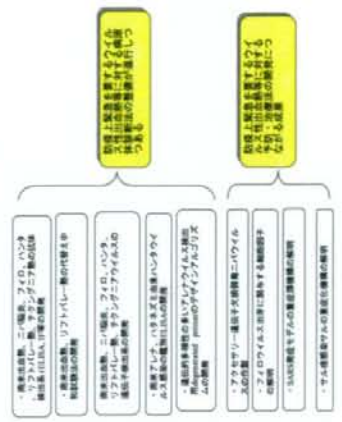


2) 重症型のサル痘ウイルス感染時の各ウイルス蛋白への抗体反応



- 1) サル痘の病態解析
- 2) 劇症型ワクチン開発への応用
- 3) その他

まとめ



平成20年度 新興・再興感染症研究事業 成果概要

研究課題：感染症への国民啓発に効果的なリスクコミュニケーション方法と教育方法に関する研究課題番号：H19-新興一般-004研究代表者：丸井英二**I. 研究の意義**

(1) リスクコミュニケーションは1980年代に初めて定義された比較的新しい概念で、経験や勘に依るのではなく心理学を基本としたコミュニケーションスキルを利用する。しかし感染症の情報伝達、普及啓発に携わる保健医療関係者には心理学やコミュニケーションを学ぶ機会がほとんどなく理解に乏しいと考えられる。

(3) 感染症の情報伝達、普及啓発に携わる関係者が正しく情報が伝わらないと感じていたり、感染防止からは誤った国民の対処行動が見られることに関連している。

(4) 国民が感染症に対し正しく理解し、適切な対処行動をとるために、情報伝達側が①リスクコミュニケーションの考え方、スキルを身につけること②プログラムとツールが必要となる。

II. 研究の目的、期待される成果

(1) リスクコミュニケーションに携わる人々が、考え方を学び、能力を向上させること、

(2) 実施に際して使用できるプログラム・ツール開発

(3) 専門家が不在であっても、最低限の知識を普及させることが期待でき、これまでの情報伝達の限界を解決するものとなりうる。

(4) 国民は、特に意識をしないまでも感染症の知識を習得でき、感染の防御などができるようになることが期待できる。

(4)

III. 2年間の研究成果

・主任研究者：丸井英二

(1) 全体の総括

・分担研究者：吉川肇子

(1) ゲーミングシミュレーション開発における心理学的構築

(2) 高度安全実験施設に関するリスクコミュニケーションの効果的な方法の考察

・分担研究者：吉川肇子、杉浦淳吉、山崎瑞紀、濱田篤郎、谷口清洲、

(1) ゲーミングシミュレーション開発における心理学的、感染症学的構築、情報提供

開発に着手したツール・プログラム一覧（12ツールの開発に着手し、10つの試作品が完成）

	テーマ	対象	対象とする感染症	目的	種類
1	世界旅行ゲーム 「トラベルトラブル」	小学生以上	世界で流行が見られる感染症	知識の習得	ボードゲーム (H20 完成)
2	人生ゲーム	高校生以上	ライフステージにそった感染症	知識の習得 能力向上	ボードゲーム
3	エイズカルテット	高校生以上	HIV/AIDS	知識の習得	カードゲーム (H20 完成)
4	アニマルズ	高校生以上	世界で流行が見られる感染症	知識の習得	カードゲーム
5	ボンボヤージ	高校生以上	主として国内で発生が見られる感染症	知識の習得	カードゲーム
6	リスクイポーカー	高校生以上	主として国内で発生が見られる感染症	知識の習得	カードゲーム
7	パンデミックフルカルテット	高校生以上	新型インフルエンザ	知識の習得	カードゲーム (H19 完成)
8	ひつじインフェクション	成人 (関係者)	ノロウイルス感染症	知識の習得	ボードゲーム (H20 完成)
9	説得納得ゲーム 新型インフルエンザ編	成人 (専門家)	新型インフルエンザ	技術習得 能力向上	カードゲーム
10	クロスロード 新型インフルエンザ編	成人 (専門家)	新型インフルエンザ	危機意識の惹起 能力向上	カードゲーム (H20 完成)
11	取材ゲーム	成人 (専門家)	主として国内で発生が見られる感染症	技術の習得 能力向上	形態未定
12	新型インフルエンザ カルテット	高校生以上	新型インフルエンザ	知識の習得	カードゲーム (H19 完成)
13	英語版エイズカルテット	日本語が理解できない者	HIV/AIDS	知識の習得	カードゲーム
14	点字版 新型インフルエンザ カルテット	視覚障害者	新型インフルエンザ	知識の習得	カードゲーム
15	英語版 新型インフルエンザ カルテット	高校生以上	新型インフルエンザ	知識の習得	カードゲーム

・分担研究者：重松美加、

(1) 海外事例収集

(2) ゲーミングシミュレーション開発における心感染症学的構築、情報提供

・分担研究者：押谷仁 (H19)

(1) 新型インフルエンザ対策一般向け映像教材開発

・分担研究者：堀口逸子、

(1) 試作のためのニーズ調査

(2) 試作されたゲーミングシミュレーションの評価

(3) 高度安全実験施設に関するリスクコミュニケーションの効果的な方法の考察

IV. 21年度の課題

(1) 1年目、2年目に開発されたゲーミング・シミュレーションツールについて、利用者(小学生、成人など)を想定した、評価を実施し完成させる。

(2) ツールとプログラムの利用の在り方について、検討する。

(3) 情報弱者(視覚、聴覚障害者など)向けに、開発されたツールとプログラムの改定利用を検討する。

(4) 状況に応じて、国民のニーズ把握のためにインターネット調査などを実施する。

(5) 状況に応じて、紙媒体などの開発を行う。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 各種効果的なツールとプログラムが開発(完成)される。

(2) 保健所を中心とする行政機関の職員のリスクコミュニケーションの能力向上に寄与することが期待できる。

(3) 情報弱者を対象としたものを開発することによって、漏れのないリスクコミュニケーション戦略が立案可能となる。

(4) 開発されたツールを活用することによって、リスクコミュニケーションが円滑に図られる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

<原著>

(1) 堀口逸子, 吉川肇子, 角野文彦, 丸井英二 新型インフルエンザ(パンデミックフル)に備えた危機管理研修教材の開発とその有用性の検討-ゲーミング・シミュレーションを利用して- 厚生の指標 第55巻第3号p 11-15, 2008

(2) 柏木知子, 堀口逸子, 丸井英二 住民への普及啓発が必要な感染症は何か 感染症専門医を対象とした質的調査, 感染症学会誌(印刷中), 2009

(3) 堀口逸子, 柏木知子, 丸井英二 住民への普及啓発が必要な感染症は何か 行政機関感染症対策担当者を対象とした質的調査, 感染症学雑誌第82巻第2号p67-72, 2008

(4) 吉川肇子, 重松美加 リスクコミュニケーションとは その歴史と現代における課題 医事新報 第4397 p 78-83, 2008

<その他>

(1)堀口逸子 ゲーミング・シミュレーションで学ぶ新型インフルエンザ対策 公衆衛生情報 1001号 p18-19, 2008

(報道)

(2)新型インフルエンザ、遊んで覚えて正しい知識—厚労省研究班、カードゲーム作製。2008/05/09, 日本経済新聞 夕刊

(3)ゲームで学ぶ新型インフルエンザ 厚労省 解説入りカード作成 2008/05/03, 熊本日日新聞朝刊, 17 ページ

(4)＜医療新世紀＞医メール 2008/04/11, 秋田魁新報 朝刊1版, 10 ページ

(5)新型インフル ゲームで学ぶ 厚労省が作成 カードに絵と解説 2008/03/26, 中国新聞朝刊, 12 ページ

(6)食の問題・新型インフルに備え カードゲームで模擬訓練 2008/11/04, 東京読売新聞 朝刊, 18 ページ

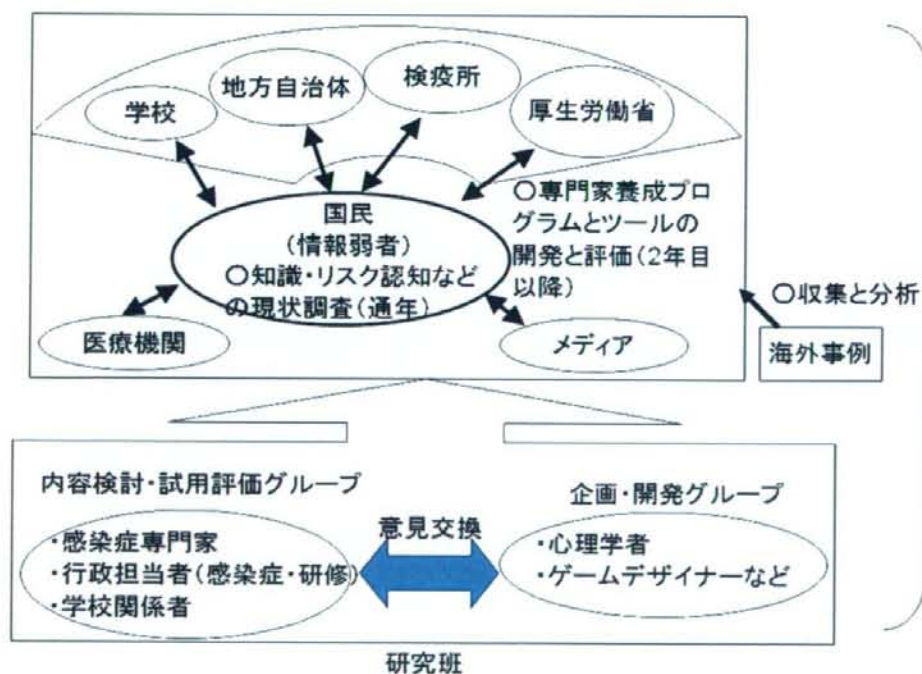
(7)カードゲーム使ってエイズ予防＝東京 2008/11/30, 東京読売新聞 朝刊, 37 ページ

(8)新型インフルエンザ*カードで学ぼう*厚労省が作製 2008/03/25, 北海道新聞朝刊全道, 18 ページ

(9) [メディカルニュース] / 新型インフル学ぶゲーム 2008/03/20, 沖縄タイムス 朝刊, 18 ページ

(10)★短信★ ◆ゲームで学ぶ新型インフル 2008/03/17, 岩手日報朝刊, 7 ページ

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等



アドバイザーボード(メディア関係者・患者団体など)からの助言

○研究代表者の研究歴等

※主任研究者に関するもののみを記載してください。

※A4用紙1枚にまとめてください。

・過去に所属した研究機関の履歴

- 昭和52年 東京大学医学部疫学講座
- 昭和60年 東京大学医学部国際交流室
- 昭和61年 ハーバード大学公衆衛生大学院
- 平成3年 東京大学留学生センター
- 平成4年 東京大学大学院国際保健学
- 平成7年 国立国際医療センター研究所地域保健医療研究部
- 平成12年 順天堂大学医学部公衆衛生学教室

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

内山巖雄（京都大学大学院工学研究科）、吉川肇子（慶応義塾大学商学部）、堀口逸子（順天堂大学医学部）、高木廣文（東邦大学医学部）、濱田篤郎（海外勤務健康管理センター）、谷口清洲・重松美加（国立感染症研究所）

・主な研究課題

厚生労働科学研究費補助金

「大規模感染症発生時の効果的かつ適切な情報伝達の在り方に関する研究」

「新型インフルエンザに対するリスクコミュニケーションの在り方に関する研究」

科学技術振興調整費

「BSL-4施設を必要とする新興感染症対策

サブテーマ4：BSL-4施設に関するリスクコミュニケーションに関する研究」

・これまでの研究実績

※ 発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

- ・人々が共に健康に生きるー健康教育再考ー、栄養日本、49(8):691-702、2006
- ・食のベネフィットとリスク、保健の科学、48(5):356-360、2006
- ・食物アレルギー、表示、リスクコミュニケーション、食品衛生学雑誌、47(4):J267-269、2006
- ・占領期における急性感染症の発生推移、日本医史学雑誌(0549-3323)53(2):229-248、2007
- ・住民への普及啓発が必要な感染症は何かー行政機関感染症対策担当者を対象とした・質的調査ー
What is the infectious disease for which the information to Japanese people is necessary?、
感染症学会誌、2008年2月号掲載予定

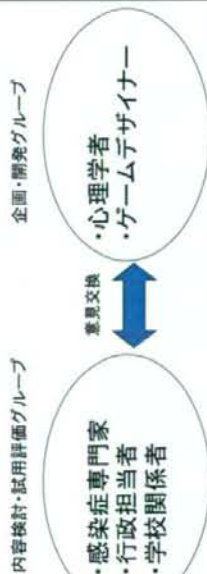
感染症への国民啓発に効果的なリスクコミュニケーション方法と教育方法に関する研究
平成19-21年(2年目)

順天堂大学医学部公衆衛生学教室
丸井英二

意義と目的

- 感染症に関わる専門家がリスクコミュニケーションの概念を理解し、能力を向上させることによって、効果的な普及啓発が図られる。
- 専門家が不在であっても、国民が最低限の知識を得ることができる。
- 国民が、感染症に関して正しく理解し、リスク回避行動をとることができる。
- リスクコミュニケーションに効果的なゲーミングシミュレーションを利用したプログラムとツールを開発する。

研究班の構成



開発されたプログラムとツール一覧 —19-20年度—

テーマ	対象	対象となる感染症 世界で流行が見られる感染症	目的
1 目標設定ゲーム 人生ゲーム	小学生以上 高校生以上	ライナスウイルスによる感染症	知識の習得 能力向上
2 エイズカルデット	高校生以上	HIV/AIDS	知識の習得
3 ゴンベネージ	高校生以上	主として国内で発生が見られる感染症	知識の習得
4 リトル・ボーイ	高校生以上	主として国内で発生が見られる感染症	知識の習得
5 ハンズ・アップ! なぞなぞ	高校生以上	新型インフルエンザ	知識の習得
6 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得 能力向上
7 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得 能力向上
8 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得 能力向上
9 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得 能力向上
10 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得 能力向上
11 怪盗団ゲーム	小学生以上 成人(専門家)	主として国内で発生が見られる感染症	知識の習得 能力向上
12 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得 能力向上
13 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	HIV/AIDS	知識の習得
14 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得
15 怪盗団ゲーム 斬魔インフルエンザ編	小学生以上 成人(専門家)	新型インフルエンザ	知識の習得

カルテット(カードゲーム)

- 目的
 - ✓コミュニケーションの基本となる「聴く」トレーニング
 - ✓言葉(専門的な用語)に慣れる
 - ✓知識を習得する
- テーマ(遊び方は、YOUTUBE にて公開)
 - ✓インフルエンザと新型インフルエンザ
 - 「新型インフルエンザが流行ったら」
 - <http://jp.youtube.com/watch?v=GeWYux8Jteo>
 - ✓HIV/AIDS
 - 「WHT IS AIDS ?」
 - <http://jp.youtube.com/watch?v=x0NR4TLIYIA>

カルテット(カードゲーム)

- 「新型インフルエンザが流行ったら」

(報道) 新型インフルエンザ、遊んで覚えて正しい知識——厚生省研究班、カードゲーム制作しんじょう

2008/05/09, 日本経済新聞 夕刊 他6紙



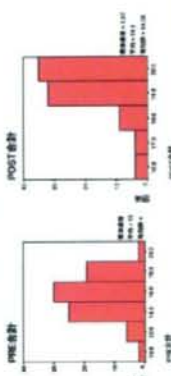
 - 「WHT IS AIDS ?」

(報道) カードゲームを使ってエイズ予防=東京 2008/11/30, 東京読売新聞 朝刊, 37ページ



- ・プレイ調査終了
・本調査(評価)終了し、論文作成中

エイズカルテット評価

- T大学看護科2年生女子 86名
 - 実施前後の質問紙調査
 - カード内容に関する20問の○×式
 - 結果
 - ✓平均正答数 15.0問→19.1問 P<0.0001
- 日本エイズ学会疫学調査
- 

質問項目と正答率(%)

質問	POST
1 AIDSは細菌感染症の病気である	79.2
2 HIV感染後1, 2年でAIDSを発症する	89.2
3 AIDS発症前にリンパ腫がはれる	91.7
4 AIDS発症時には、体重が減少することがある	45.2
5 AIDS発症前に発熱や下痢の症状があることがある	82.1
6 AIDSを予防すると、他の病気にもかかりやすくなる	100
7 母体からHIVに感染している、胎盤を通して赤ちゃんに感染するおそれがある	99.5
8 HIVを感染したから、セックスを避けたら感染するおそれがある	96.4
9 HIVに感染したら、セックスを避けてはならない	95.2
10 産婦科のHIV検査は、匿名である	91.8
11 産婦科のHIV検査は、無料である	99.8
12 産婦科のHIV検査は、匿名である	100
13 産婦科のHIV検査は、無料で匿名である	77.4
14 HIVに感染しても、適切な治療を行えば今までどおり生活できる	84
15 HIVに感染しても、適切な治療を行えば今までどおり生活できる	98.3
16 産婦科では、HIV感染後約3ヶ月以降に陽性反応が出る	100
17 産婦科では、200AEL1人がHIVに感染している	46.4
18 産婦科では、AIDSによる年間死亡に一番は、妊産婦や産科病の人口(平成19年)とほぼ同じ	94.8
19 日本では、HIV感染者は増加傾向に、AIDS患者は減少傾向にある	66.7
20 日本では、男性のHIV感染者が増加している	91.7
	95.7