

200904003A

厚生労働科学研究費補助金
地球規模保健課題推進研究事業
(国際医学協力研究事業)

ウイルス感染症の診断、疫学および 予防に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

平成22 (2010) 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補助金
地球規模保健課題推進研究事業
(国際医学協力研究事業)

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21年度 総括・分担研究報告書

平成22 (2010) 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..... 27	
	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..... 34	
	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..... 44	
	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..... 47	
	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..... 56	
	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..... 61	
	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..... 66	
	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..... 74	
	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..... 78	
	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..... 82	
	研究分担者：浅野正岳（日本大学歯学部）	
11	下痢症ウイルスの病原性解析に関する研究..... 85	
	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..... 92	
	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..... 108	
	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	119
	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	123
IV	研究成果の刊行物・別刷	129

I. 総括研究報告書

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、を目的として研究を進めた。

アルボウイルス研究においては、日本脳炎ウイルス抗体とデングウイルス抗体を識別するブロッキング ELISA 法を確立した。また、本州においてもダニ媒介性脳炎ウイルス陽性ダニが検出され、日本における北海道以外の地域への侵入が示唆された。ウイルス性出血熱研究においては、N 末端の 50 アミノ酸を欠いた NP を抗原とする ELISA により、北米由来 Sin Nombre virus (SNV) 型、南米由来 Andes virus (ANDV) 型および Lagna Negra virus (LANV) 型ハンタウイルスの鑑別が可能となった。また、3 種混合抗原 ELISA により、多種類のげっ歯類血清のハンタウイルススクリーニングが可能となった。ウイルス性下痢症の研究においては、ロタウイルスワクチンが血清型の壁を超えて有効に働いていることが確認された。ロタウイルス感染は type III インターフェロンを強く誘導していることが判明した。急性胃腸炎症状で受診した外来患者糞便中の病原因子の検索を行った結果、ノロウイルスに次いでサポウイルスが多く検出された。狂犬病研究においてはワクチン接種者から狂犬病固定毒株を幅広くかつ高い活性で中和する単クローン抗体を得た。狂犬病ウイルス CVS11 株によりマウスにおいて後躯麻痺を伴う致死性の脳炎が発病した。狂犬病ウイルス西ヶ原株 P 蛋白は Ni-CE 株 P 蛋白よりも効率的に STAT1 の核内移行を阻止することを示した。

研究分担者

浅野正岳：日本大学歯学部 講師

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
准教授

井上 智：国立感染症研究所 室長

苅和宏明：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 室長

小西英二：神戸大学医学部 准教授

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

近年、世界各地で新興・再興感染症が流行し人類に対する脅威となっている。これらの中にはウイルス性感染症が多く含まれている。アルボウイルス感染症、ウイルス性下痢症、狂犬病および重篤なウイルス性出血熱などが、アジア各地で流行し、多数の患者発生と死亡が報告されている。しかしこれらの感染症の流行地では、診断体制が未整備なため正確な患者数や流行地の特定などの疫学情報が欠如している。またこ

れらの感染症に対するワクチンの改良と開発を早急に実施する必要にせまられている。本研究においては、特にアジアにおいて問題となるウイルス感染症を対象として、診断法の開発、アジアにおける疫学状況を明らかにすること、病態形成機序の解明及び予防、診断法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

日本脳炎ウイルス NS-1 特異的エピトープに対するモノクローナル抗体を用いて、JE ウイルス抗体をデング (DEN) ウイルス抗体から識別するブロッキング ELISA 法を確立し、ヒト血清を用いて評価した。さらに日本で分離された JE ウイルス Ishikawa-K05 株のマウスへの病原性を JaGAr01 株と比較した。

ダニ媒介性脳炎ウイルスの中空ウイルス粒子を用いた ELISA 法と中和試験による確定診断により、日本全国各地から集めた野ネズミ血清を用いた抗体調査を実施してウイルス汚染地区の特定を行った。野ネズミの脾臓からウイルス分離を行い、遺伝子解析を行った。

2) ウイルス性出血熱

HPS 原因ハンタウイルスのうち、北米由来 Sin Nombre virus (SNV) 型、南米由来 Andes virus (ANDV) 型および Lagna Negra virus (LANV) 型ハンタウイルスの核蛋白 (NP) 全長および N 末端トランケートをバキュロウイルスベクターで昆虫細胞中に発

現させ、IFA、Western blotting および ELISA 抗原として用いた。それぞれのウイルスに対する患者血清、自然感染げっ歯類血清を用いて交差反応性を解析した。

Seoul virus (SEOV) 型ハンタウイルス自然感染ドブネズミ (ベトナムハノイ) の抗体価 (IgM と IgG)、脾臓細胞 (CTL) およびウイルスとゲノム検出によって、自然宿主動物における感染病態を解析した。

極東ロシア由来 Amur virus (AMV)、北海道由来 Hokkaido virus (HOKV) および SNV の NP を大腸菌発現組換 NP として調整し、3 種類を混合して ELISA 抗原とした。二次抗体としてペルオキシダーゼ標識プロテイン G を用いた。

天然痘に関しては、サル痘ウイルス感染カニクイザルに LC16m8 株を実験接種し接種部位における潰瘍性病変誘導性の相違について解析し、特に、B5R 遺伝子が復帰し細胞選択性が失われた LC16m8-revertant 株出現の有無について解析した。

3) ウイルス性下痢症

ワクチンの有効性解析は、ブラジル、レシフェにおいて、5 歳未満の小児下痢症患者から便検体を収集し、ロタウイルスワクチン接種歴を確認し、ロタウイルス陰性の下痢症患者を対照として、症例対照研究により行った。

ロタウイルスと生体防御機構の相互作用解析には、ヒト大腸癌由来細胞 HT-29 において、2 本鎖 RNA 刺激後およびロタウイルス感染後に誘導される遺伝子をマイクロアレイ法を用いて比較検討した。

サポウイルスの検出は、ORF1 の構造タンパク質コード領域に設計したプライマーセットを用いた RT-PCR により行い、増幅産物のダイレクトシーケンスによって同定した。B 群ロタウイルスの解析には、塩基配列非依存の単一プライマーを用いた 2 本鎖 RNA の遺伝子クローニング法により、11 本すべての cDNA を調製し、これを利用して塩基配列を決定した。

4) 狂犬病

ワクチン接種過免疫供血者から EB ウイルストランスフォーメーション法により単クローン産生細胞を樹立し、クローニングにヒト型単クローン抗体タロンを得た。さらにその性状解析を行なった。

狂犬病ウイルス CVS11 株を C57BL/6J マウスの右後肢下腿三頭筋に末梢感染させて脳炎の発症を観察した。

狂犬病ウイルスの P 蛋白質の抗 IFN 作用に着目し、P 蛋白質による自然免疫阻害とウイルスの病原性発現との関わり関する検討を行った。

C. 研究結果

1) アルボウイルス感染症

日本脳炎ウイルス研究においては、ブロッキング ELISA 法を用いヒト血清において JE と DEN の鑑別診断が可能となった。以上の成績からブロッキング ELISA により DEN ウイルス流行地で JE ウイルス感染が鑑別できる。Ishikawa-K05 株は JaGAr01 株よりマウスで病原性が高かった。

デングウイルス 2 型ウイルスに高親和性

の白血病由来 K562clone3 細胞は赤芽球系細胞に分化した細胞であった。Syndecan-2 が K562 clone3 細胞上の DEN2 ウイルスに対する結合性獲得に重要であることが判ったので、デング病原性解明の一助となる。

日本各地から集めた合計931検体の野ネズミ血清のうち北海道の17検体と北海道以外では島根県の2検体がダニ媒介性脳炎ウイルス陽性となり、同地域にTBEウイルスの流行巣が存在することが示唆された。北海道の北斗市でダニ媒介性脳炎ウイルスが分離された。

2) ウイルス性出血熱 :

SNV、ANDV および LANV 型ウイルスの全長 NP 抗原は、SNV、ANDV および LANV 型ウイルスいずれに対する患者と感染げっ歯類血清と同程度に交差反応した。一方、NP 抗原の N 末端の 50 アミノ酸を欠いたトランケート NP を抗原とする ELISA はこれら三型の感染を血清学的に鑑別診断出来た。すなわち、全長 NP 抗原でスクリーニングし、その後トランケート NP で血清型鑑別が可能と考えられ、我が国への輸入症例について迅速に診断することが可能となった。

ベトナムのドブネズについて、ウイルス分離とゲノム検出 (PCR) 陽性例および抗体陽性例を得た。それぞれから、脾臓細胞を良い状態で凍結保存することが出来ることから、CTL 活性の解析を開始する予定である。これにより、従来解析されていない自然感染げっ歯類の持続感染メカニズムの一端を明らかに出来るものと考えている。

抗原性が互いに大きく異なる AMV、HOKV

および SNV 型ハンタウイルス NP の 3 種混合抗原 ELISA は、ペルオキシダーゼ標識プロテイン G によって多種類のげっ歯類血清についても従来の IFA 法と同程度の抗体検出が可能であった。これにより、簡便に一種類の方法で多種類のげっ歯類血清のハンタウイルススクリーニングが可能となり、今後、検疫所や検査機関での応用が期待される。

高度弱毒性 LC16m8 株接種サル 8 例中 1 例で強い潰瘍性病変を示す例が認められた。しかし、潰瘍部位から分離されたウイルスは全て LC16m8 株であり、LC16m8-revertant 株の出現は認められなかった。すなわち、LC16m8 株自体にそのような病変を誘導する性質が備わっていることを示唆している。今後天然痘ワクチン開発の際の重要な性質と考えられた。

3) ウイルス性下痢症 :

ブラジルでの調査により、ワクチン株とは完全に異型である G2P[4] の流行に対して、ワクチンの有効性は 73% と比較的高く、ロタウイルスワクチンが血清型の壁を超えて有効に働いている証拠が得られた。マイクロアレー法の結果、2 本鎖 RNA 刺激に比較して、ロタウイルス感染は type III インターフェロンを強く誘導していることが判明した。また、発現のピークは感染 3 時間後に見られ、感染多重度の上昇に伴って、発現が増強された。急性胃腸炎症状で受診した外来患者糞便中の病原因子の検索を行った結果、ノロウイルスに次いでサポウイルスが多く検出され、その流行はドラスティ

ックなゲノグループの入れ替わりを伴っていた。1980年に鳥取で分離されたB群と思われていたブタロタウイルス SKA-1株は、塩基配列がB群とはかなり異なり、むしろ、最近、中国で報告されているヒトロタウイルス B219株およびJ19株と類似しており、新しい群に属すると考えられた。

4) 狂犬病：

ワクチン接種過免疫供血者から EB ウイルストランスフォーメーション法により単クローン産生細胞を樹立し、クローニングの結果2種類のヒト型単クローン抗体を得た。ひとつは IgG3 型抗体で、狂犬病固定毒株を幅広くかつ高い活性で中和することができ、ウイルス G 蛋白の主要抗原領域 II に位置する非常に保存性の高いアミノ酸 (Lys198) 周辺を認識しており、マウス攻撃試験でも効果的な中和能を示した。他方の抗体は、IgM 型でこれまで報告のない抗原部位を認識し、有効な中和活性を示した。

狂犬病ウイルス CVS11 株を C57BL/6J マウスの右後肢下腿三頭筋に末梢感染させて後躯麻痺を伴う致死性の脳炎を発病させることに成功した。この麻痺はウイルス接種側で顕著で、麻痺の主因は脊髄での顕著な壊死性病変に起因していた。

狂犬病ウイルス西ヶ原株 P 蛋白は Ni-CE 株 P 蛋白よりも効率的に STAT1 の核内移行を阻止した。西ヶ原株及び Ni-CE 株 P の両者とも STAT1 との結合能を保持していたが、西ヶ原株 P が主に細胞質に局在するのに対し、Ni-CE 株のそれは細胞質と核の両方に分布していた。

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。

アルボウイルス感染症には日本脳炎 (JE)、デング熱・デング出血熱やダニ媒介性脳炎 (TBE) などの重篤で患者が多発しているものが含まれる。日本脳炎の患者は本邦においては 10 名以下であるが、世界的には東南アジアを中心に 5 万人程発生している。日本脳炎ウイルスとデングウイルスは東南アジアでは同じ地域に流行しているため、両者を鑑別する方法を開発し、ウイルス分布状況を把握する基盤をかくりつした。ダニ媒介性脳炎は近年北海道において患者が発生し、原因ウイルスが分離されたが、本州においても陽性ダニが検出され、日本における北海道以外の地域での汚染状況について検査を継続する必要性が示された。

ウイルス性出血熱においては輸入感染症対策が重要であり、げっ歯類媒介性人獣共通感染症の代表でもあるハンタウイルス感染症 (ハンタウイルス肺症候群：HPS と腎症候性出血熱：HFRS) およびバイオテロ対策として効果的ワクチンの開発が望まれている天然痘について研究を行った。ハンタウイルス感染症について、HPS 原因ウイルスの迅速かつ安全な血清型鑑別診断法の開発と HFRS 原因ウイルスのげっ歯類宿主での病態解析を行い、さらに、HFRS と HPS ウイルスに感染したさまざまな種類のげっ歯類血清中の抗体検出を一種類の試薬で行う

血清診断法を開発した。これらの成果は、今後ウイルス性出血熱のアジアにおける状況を調査する基盤となる。

ウイルス胃腸炎の原因となる主要病原体として、ロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、腸管アデノウイルスの5つがあり、アデノウイルス以外はみなRNAウイルスである。ロタウイルスに関しては、すでに世界100カ国以上でワクチンの使用が承認されている現状に鑑み、わが国への近い将来の導入を念頭に置き海外における有効性についての調査を行った。研究成果は、我が国におけるロタウイルスワクチンの導入にあたって重要なデータとなる。

狂犬病ウイルスに関する研究においては、樹立された2種類のヒト型単クローン抗体のいずれもが、効果的に狂犬病ウイルスを中和できた。また両者ともこれまでにヒト型抗体では報告されたことの無い抗体認識エピトープを認識するもので、幅広い狂犬病ウイルス野外株の中和に効果的に作用することが期待され、今後のアジアでのヒトに対する曝露後治療に資するものと考えられた。狂犬病ウイルスに感染した宿主の潜伏期間中及び発病初期の特徴的な臨床症状を明らかにできるモデル実験系を確立できたことで、狂犬病の疑われた患者や家族、医療関係者等の暴露リスク者等に対する迅速な公衆衛生対応と適切な予防的ワクチン接種を可能にして狂犬病に対する公衆衛生行政に大いに寄与するものと考えられる。強毒の狂犬病ウイルス西ヶ原株のP蛋白質

はIFNシグナル伝達経路の転写因子であるSTAT1の核内移行を効率的に阻害する。一方弱毒のNI-CE株のP蛋白質はSTAT1の核内移行をほとんど阻害しない。これらの事実は、狂犬病の脳内での広がりと病原性を規定する一つの要因であることが示唆され、新たな治療法などを模索する上での貴重な治験を提供するものと考えられた。

E. 結論

アルボウイルス研究においては、日本脳炎ウイルス抗体とデングウイルス抗体を識別するブロッキングELISA法を確立した。また、本州においてもダニ媒介性脳炎ウイルス陽性ダニが検出され、日本における北海道以外の地域への侵入が示唆された。

ウイルス性出血熱研究においては、N末端の50アミノ酸を欠いたNPを抗原とするELISAにより、北米由来Sin Nombre virus (SNV)型、南米由来Andes virus (ANDV)型およびLaguna Negra virus (LANV)型ハンタウイルスの鑑別が可能となった。また、3種混合抗原ELISAにより、多種類のげっ歯類血清のハンタウイルススクリーニングが可能となった。

ウイルス性下痢症の研究においては、ロタウイルスワクチンが血清型の壁を超えて有効に働いていることが確認された。ロタウイルス感染はtype III インターフェロンを強く誘導していることが判明した。急性胃腸炎症状で受診した外来患者糞便中の病原因子の検索を行った結果、ノロウイルスに次いでサポウイルスが多く検出された。

狂犬病研究においてはワクチン接種者から狂犬病固定毒株を幅広くかつ高い活性で中和する単クローン抗体を得た。狂犬病ウイルス CVS11 株によりマウスにおいて後躯麻痺を伴う致死性の脳炎が発病した。また、狂犬病ウイルス西ヶ原株 P 蛋白は Ni-CE 株 P 蛋白よりも効率的に STAT1 の核内移行を阻止することを示した。

F. 健康危機管理情報

なし

G. 研究発表

Development of an antibody-dependent enhancement assay for dengue virus using stable BHK-21 cell lines expressing FcγRIIA. Moi ML, Lim CK, Kotaki A, Takasaki T, Kurane I. J Virol Methods. 2009 Sep 23. [Epub ahead of print]

Involvement of the Fc{gamma} receptor IIA cytoplasmic domain in antibody dependent enhancement of dengue virus infection. Moi ML, Lim CK, Takasaki T, Kurane I. J Gen Virol. 2009 Sep 23. [Epub ahead of print]

Induction of specific and flavivirus--Cross-reactive CTLs by immunization with a single dengue virus-derived CTL epitope peptide. Masaki H, Fujii Y, Wakasa-Morimoto C, Toyosaki-Maeda T, Irimajiri K, Tomura TT,

Kurane I. Virus Res. 2009 Sep;144(1-2):188-94

Omagari D, Mikami Y, Suguro H, Sunagawa K, Asano M, Sanuki E, Moro I, Komiyama K. . Poly I:C-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in intestinal epithelial cells. Clin Exp Immunol, 156, 294-302, 2009

Tegshduuren E, Yoshimatsu K, Taruishi M, Endo R, Shimizu K, Koma T, Yasuda PS, Kariwa H, Arikawa J, and Ishihara C. :Studies on the susceptibility of the Japanese grass vole, *Microtus montebelli*, to Tula virus and Puumala virus of the hantaviruses. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2010. in press

Chandy, S., Yoshimatsu, K., Boorugu, H. K., Chrispal, A., Thomas, K., Peedicayil, A., Abraham, P., Arikawa, J., Sridharan, G. :Acute febrile illness caused by hantavirus: Serological and molecular evidence from India. Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Elsevier, Volume103,, Issue, PagesS1-S1, 2009

Thang, T. T., Yoshimatsu, K., Araki, K., Lee, B. H., Okumura, M., Taruishi, M., Endo, R., Nakamura, I., Koma, T., Yasuda, S. Shimizu, K. Ni, T. U., Arikawa, J. Molecular

epidemiological and serological studies of hantavirus infection in Northern Vietnam. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 71(10);P1357-1363, 2009

Chandy, S., Okumura, M., Yoshimatsu, K., Ulrich, R.G., John, G.T., Abraham, P., Arikawa, J., Sridharan G. Hantavirus species in India : A retrospective study. *Indian J Med Microbiol* 2009;27:P348-50

Schmidt-Chanasit, J., Essbauer, S., Petraityte, R., Yoshimatsu, K., Tackmann, K., Conraths, F.J., Sasnauskas, K., Arikawa, J., Thomas, A., Pfeffer, M., Scharninghausen, J.J., Spletstoeser, W., Wenk, M., Heckel, G., Ulrich, R.G. Extensive host sharing of central European Tula virus. *Journal of Virology*. Vol. 84, No. 1. 2009

Ito, Y., Ito, N., Saito, S., Masatani, T., Nakagawa, K., Atoji, Y., Sugiyama, M. Amino Acid Substitutions at Positions 242, 255 and 268 in Rabies Virus Glycoprotein Affect Spread of Viral Infection. *Microbiol. Immunol.* (in press), 2009

Boldbaatar B., Inoue S., Sugiura N., Noguchi A., Orbina J.R.C., Demetria C., Miranda M.E., and Yamada A. (2009) Rapid detection of rabies virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Jpn. J. Infect. Dis* s. 62:187-191

Inoue S., Boldbaatar B., Sugiura N., Noguchi A., and Park C.-H. 2009. Rabies. In: *Animal Viruses* (Maeda A., ed.). RESEARCH SIGNPOST. (in press)

Tobiume M., Sato Y., Katano H., Nakajima N., Tanaka K., Noguchi A., Inoue S., Hasegawa H., Iwasa Y., Tanaka J., Hayashi H., Yoshida S., Kurane I., and Sata T. (2009) Rabies virus dissemination in neural tissues of autopsy cases due to rabies imported into Japan from the Philippines: immunohistochemistry. *Pathol. Int.* 59:555-66

Reiko Nakagawa-Okamoto, Tomoko Arita-Nishida, Shoichi Toda, Hiroto Kato, Hiroyuki Iwata, Miho Akiyama, Osamu Nishio, Hirokazu Kimura, Mamoru Noda, Naokazu Takeda, and Tomoichiro Oka. Detection of multiple sapovirus genogroups and genogroups in oyster-associated outbreaks. *Jpn J Infect Dis* 2009;62:63-66

Tomoichiro Oka, Mami Yamamoto, Kana Miyashita, Satoko Ogawa, Kazuhiko Katayama, Takaji Wakita and Naokazu Takeda. Self-assembly of sapovirus recombinant virus-like particles from

polyprotein in mammalian cells. *Microbiol Immunol* 2009; 53: 49- 52

Iwakiri A, Ganmyo H, Yamamoto S, Otao K, Mikasa M, Kizoe S, Katayama K, Wakita T, Takeda N, Oka T. Quantitative analysis of fecal sapovirus shedding: identification of nucleotide substitutions in the capsid protein during prolonged excretion. *Arch Virol.* 2009;154(4):689-93

Yoshida T, Kasuo S, Azegami Y, Uchiyama Y, Satsumabayashi K, Shiraishi T, Katayama K, Wakita T, Takeda N, Oka T. Characterization of sapoviruses detected in gastroenteritis outbreaks and identification of asymptomatic adults with high viral load. *J Clin Virol.* 2009;45(1):67-71

Ootsuka Y, Yamashita Y, Ichikawa T, Kondo R, Oseto M, Katayama K, Takeda N, Oka T. Molecular characterization of sapoviruses detected in sporadic gastroenteritis cases in 2007 in ehime prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2009;62(3):246-248

Harada S, Okada M, Yahiro S, Nishimura K, Matsuo S, Miyasaka J, Nakashima R, Shimada Y, Ueno T, Ikezawa S, Shinozaki K, Katayama K, Wakita T, Takeda N, Oka T. Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenteritis and characterization of sapovirus strains between 2002 and 2007 in Kumamoto Prefecture, Japan. *J Med Virol.* 2009;81(6):1117-27

Oka T, Miyashita K, Katayama K, Wakita T, Takeda N. Distinct genotype and antigenicity among genogroup II sapoviruses. *Microbiol Immunol.* 2009 Jul;53(7):417-20

Kitajima M, Oka T, Tohya Y, Katayama H, Takeda N, Katayama K. Development of a broadly reactive nested reverse transcription-PCR assay to detect murine noroviruses, and investigation of the prevalence of murine noroviruses in laboratory mice in Japan. *Microbiol Immunol.* 2009 Sep;53(9):531-4

Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Tsunemitsu H, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Mori H, Nakamura H, Wakita T, Takeda N, Sato H. Structural and biological constraints on diversity of regions immediately upstream of cleavage sites in calicivirus precursor proteins. *Virology.* 2009 Nov 10;394(1):119-29

Kariwa H, Tkachenko EA, Morozov VG, Seto T, Tanikawa Y, Kolominov SI, Belov SN,

Nakamura I, Hashimoto N, Balakiev AE, Dzagurnova TK, Daud NH, Miyashita D, Medvedkina OA, Nakauchi M, Ishizuka M, Yoshii K, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I. Epidemiological study of hantavirus infection in the Samara Region of European Russia. J Vet Med Sci. 71: 1569-1578. 2009

Konishi E, Sakai Y, Kitai Y, Yamanaka A: Prevalence of antibodies to Japanese encephalitis virus among inhabitants in Java Island, Indonesia, with a small pig population. Am J Trop Med Hyg. 2009;80(5):856-61

Yamanaka A, Konishi E: A simple method for evaluating dengue vaccine effectiveness in mice based on levels of viremia caused by intraperitoneal injection of infected culture cells. Vaccine. 2009;27(28):3735-43

Konishi E, Kitai Y: Detection by ELISA of antibodies to Japanese encephalitis virus nonstructural 1 protein induced in subclinically infected humans. Vaccine. 2009;27(50):7053-8

Konishi E: Status of natural infection with Japanese encephalitis virus in Japan: prevalence of antibodies to the nonstructural 1 protein among humans and

horses. Vaccine. 2009;27(50):7129-30

Konishi E, Tabuchi Y, Yamanaka A: A simple assay system for infection-enhancing and -neutralizing antibodies to dengue type 2 virus using layers of semi-adherent K562 cells. J Virol Methods. 2010;163(2):360-7

Yamanaka A, Mulyatno KC, Susilowati H, Hendrianto E, Utsumi T, Amin M, Lusida MI, Soegijanto S and Konishi E: Prevalence of Antibodies to Japanese Encephalitis Virus among Pigs in Bali and East Java, Indonesia, 2008. Japanese Journal of Infectious Diseases 2010 in press

Iizuka, I., Saijo, M., Shiota, T., Ami, Y., Suzuki, Y., Nagata, N., Hasegawa, H., Sakai, K., Fukushi, S., Mizutani, T., Ogawa, M., Nakauchi, M., Kurane, I., Mizuguchi, M., Morikawa, S.: Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. Journal of Medical Virology 80:1102-1108, 2009

Saijo, M., Ami, Y., Suzuki, Y., Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Iizuka, I., Shiota, T., Sakai, K., Ogata, M., Fukushi, S., Mizutani, T., Sata, T., Kurata, T., Kurane, I., Morikawa, S.: Virulence and

pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates. *Journal of General Virology* 90:2266-2271, 2009

Nakauchi, M., Fukushi, S., Saijo, M., Mizutani, T., Ure, A.E., Romonowski, V., Kurane, I., Morikawa S.: Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses. *Clinical and Vaccine Immunology* 16:1132-1138, 2009

Saijo, M.: Emerging and re-emerging infection threats to society. *Journal of Disaster Research* 4:291-297, 2009

Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I.: Diagnostic systems for viral hemorrhagic fevers and emerging viral infections prepared in the National Institute of Infectious Diseases. *Journal of Disaster Research* 4:315-321, 2009

Morimoto, K., Saijo, M.: Imported rabies cases and preparedness for rabies in Japan. *Journal of Disaster Research* 4:346-357, 2009

Yoshii K, Ikawa A, Chiba Y, Omori Y, Maeda J, Murata R, Kariwa H, Takashima I. Establishment of a neutralization test involving reporter gene-expressing virus-like particles of tick-borne encephalitis virus. *J Virol Methods*. 2009. 161, 173-6

Hayasaka D, Nagata N, Fujii Y, Hasegawa H, Sata T, Suzuki R, Gould EA, Takashima I., Koike S. Mortality following peripheral infection with tick-borne encephalitis virus results from a combination of central nervous system pathology, systemic inflammatory and stress responses. *Virology*. 2009. 390, 139-50

Y. Pongsuwanna, R. Guntapong, R. Tacharoenmuang, M. Prapanpoj, M. Kameoka, K. Taniguchi: A long-term survey on the distribution of the human rotavirus G type in Thailand. *J Med Virol* 82(1):157-163, 2010

Dipanjan Dutta, Parikshit Bagchi, Arunachal Chatterjee, Murti Kant Nayak, Anupam Mukherjee, Shiladitya Chattopadhyay, Shigeo Nagashima, Nobimichi Kobayashi, Satoshi Komoto, Koki Taniguchi, Mamta Chawla-Sarkar: The molecular chaperone heat shock

- protein-90 positively regulates rotavirus infection. *Virology* 391:325-333, 2009
- Maeno Y, Shinzato M, Nagashima S, Rittling SR, Denhardt DT, Uede T, Taniguchi K: Effect of Osteopontin on Diarrhea Duration and Innate Immunity in Suckling Mice Infected with a Murine Rotavirus. *Viral Immunol* 22(2): 139-144, 2009
- Cunliffe NA, Ngwira BM, Dove W, Nakagomi O, Nakagomi T, Perez A, Hart CA, Kazembe PN, Mwansambo CC. Serotype G12 rotaviruses, Lilongwe, Malawi. *Emerg Infect Dis* 15:87-90, 2009
- Castello AA, Nakagomi T, Nakagomi O, Jiang B, Kang JO, Glass RI, Glikmann G, Gentsch JR. Characterization of genotype P[9]G12 rotavirus strains from Argentina: high similarity with Japanese and Korean G12 strains. *J Med Virol* 81:371-381, 2009
- Cuong N T, Minh N B, Anh D D, Thu N H, Tu N T, Nam T V, Thuy V T, Ogino M, Alam M M, Nakagomi T, Nakagomi O, Yamashiro T. Molecular epidemiology of rotavirus diarrhoea among children in Haiphong, Vietnam: the emergence of G3 rotavirus. *Vaccine* 27 (suppl 5): F75-F80, 2009
- Nakagomi T, Chang BR, Nakagomi O. Rotavirus hospitalization and molecular epidemiology in Northern Japan, 1987- 1996. *Vaccine* 27 (suppl 5): F93-F96, 2009
- Sherchand JB, Nakagomi O, Dove W, Nakagomi T, Yokoo M, Pandey BD, Cuevas L, Hart CA, Cunliffe NA. Molecular Epidemiology of Rotavirus Diarrhea among Children Aged <5 Years in Nepal: Predominance of Emergent G12 Strains during 2 Years. *J Infect Dis* 200 (Suppl): 182-197, 2009
- Gurgel R, Bohland A, Vieira S, Oliveira D, Fontes P, Barros V, Ramos M, Dove W, Nakagomi T, Nakagomi O, Correia J, Cunliffe N, Cuevas L. Incidence of Rotavirus and All-Cause Diarrhea in Northeast Brazil following the Introduction of a National Vaccination Program. *Gastroenterology*. 137:1970- 1975, 2009
- Shiota S, Mannen K, Matsumoto T, Yamada K, Yasui T, Takayama K, Kobayashi Y, Khawplod P, Gotoh K, Ahmed K, Iha H, Nishizono A. Development and evaluation of a rapid neutralizing antibody test for rabies. *Journal of Virological Methods*, 2009 ; 161 : 58-62

Inoue S., Alonzo M., Kurosawa Y., Reyes J. Dimaano E., Alera M., Saito M., Oishi K., Hasebe F., Matias R., Natividad F. and Morita K. Evaluation of a dengue IgG-indirect ELISA and a Japanese encephalitis IgG-indirect ELISA for diagnosis of secondary dengue virus infection. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2009

Kinoshita H, Mathenge EG, Hung NT, Huong VT, Kumatori A, Yu F, Parquet MC, Inoue S, Matias RR, Natividad FF, Morita K., Hasebe F. Isolation and characterization of two phenotypically distinct dengue type-2 virus isolates from the same dengue hemorrhagic Fever patient. *Jpn J Infect Dis.* Vol. 62(5):343-50. 2009

Le Roux CA, Kubo T, Grobbelaar AA, van Vuren PJ, Weyer J, Nel LH, Swanepoel R, Morita K., Paweska JT. Development and evaluation of a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Rift Valley fever virus in clinical specimens. *J Clin Microbiol.* Vol. 47(3): 645-51. 2009

Takeshi Nabeshima, Hyunh Thi Kim Loan, Shingo Inoue, Makoto Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta, Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huong, Maria del Carmen Parquet, Futoshi Hasebe,

and Kouichi Morita. Evidence of frequent introductions of Japanese encephalitis virus from south-east Asia and continental east Asia to Japan. *J Gen Virol.* Vol.90: 827-832. 2009

Kouichi Morita. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis in East Asia. *Vaccine.* Vol.27:7131-7132, 2009

中込とよ子, 中込 治:世界的に使用されているロタウイルスワクチンのわが国における必要性 *臨床とウイルス* 37(3): 167-177, 2009

中込とよ子, 中込 治:世界的に使われているロタウイルスワクチン. *臨床検査* 53:111-116, 2009

山田 健太郎, 西園 晃:最近注目される微生物-その臨床的意義と検査法 (Part 2 ウイルス) 「イムノクロマトキットによる狂犬病の迅速簡便検査法」, *臨床と微生物*, 36(3), 263-267, 2009

片山和彦:ノロウイルス感染症 *臨床検査* ウイルス感染症-最新の動向 70-77, 2009

片山和彦:ノロウイルス感染症の現状と対策 *Medicament News* 特集=感染症を巡るトピックス 第1969号 1-4 2009

森田公一：蚊媒介性の熱帯性ウイルス疾患
—デング出血熱の発症機序をめぐって—；
最新医学 (The Medical Frontline) , Vol
64(4), 919-923, 2009

森田公一、木下一美：デング熱研究の最前
線；医学のあゆみ (J.Clin.Exp.Med.)
Vol.229(4), 241-245, 2009

森田公一：日本脳炎ワクチン、化学療法の
領域、Vol.25:1459-1465. 2009

2. 学会発表

英文発表

Atsushi Yamanaka, Yuko Tabuchi, Eryk
Hendrianto, Amor P Ginting, Dian Dwi Sary,
Soegeng Soegijanto, and Eiji Konishi:
Development of a method to measure both
infection-enhancing and neutralizing
antibodies against dengue virus, and its
application to clinical samples. The 9th
Awaji International Forum on Infection
and Immunity, Hyogo, 2009年9月

Atsushi Yamanaka, Eryk Hendrianto, Amor
P Ginting, Dian Dwi Sary, Soegeng
Soegijanto, and Eiji Konishi:
Relationship between complement
activity and disease severity in dengue
fever and dengue hemorrhagic fever
patients in Indonesia. The International
Joint Forum on Infectious Diseases,

Bangkok, 2009年9月

Takeshi Nabeshima, Hyunh Thi Kim Loan,
Shingo Inoue, Makoto Sumiyoshi, Yasuhiro
Haruta, Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huong,
Maria del Carmen Parquet, Futoshi Hasebe,
Kouichi Morita: Frequent introductions
of Japanese encephalitis virus from
Southeast Asia and continental East Asia
to Japan. International Joint Forum on
Infectious Diseases 2009. Siam City
Hotel, Bangkok, Thailand, 2009年9月16
-17日. (Oral Presentation II)

Futoshi Hasebe, Nguyen Thi Thu Thuy,
Nguyen Co Thach, Vuong Duc Cuong, Ngo
Khanh Phuong, Shingo Inoue, Yu Fuxun,
Pham Cong Tien, Dang Tuan Dat, Phan Thi
Nga, Le Thi Quynh Mai, Kouichi Morita:
2009 Bats Survey in Vietnam - Bats are
important reservoir hosts of arboviruses.
International Joint Forum on Infectious
Diseases 2009. Siam City Hotel, Bangkok,
Thailand, 2009年9月16-17日. (Poster
Session)

Futoshi Hasebe, Takeshi Nabeshima, Hyunh
Thi Kim Loan, Shingo Inoue, Makoto
Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta, Phan Thi Nga,
Vu Thi Que Huong, Maria del Carmen
Parquet, Kouichi Morita: Frequent
introductions of Japanese encephalitis
virus from south-east Asia and

continental east Asia: FIRST GMS FORUM ON JAPANESE ENCEPHALITIS PREVENTION AND CONTROL: ACHIEVEMENTS AND ORIENTATION, Hue City, Vietnam, 20-30 October, 2009.

Kouichi Morita, Kenta Okamoto, Tomoshirou Endo, Shingo Inoue, Takeshi Nabeshima, Posadas H. Guillermo, Fuxun Yu, Nguyen Thanh Thuy, Bui Minh Trang, Nguyen Tran Hien, Vu Sinh Nam, Filipinas F. Natividad, Phan Thi Nga, Futoshi Hasebe: Development of a new method for detection and identification of new encephalitis viruses and unknown viruses: FIRST GMS FORUM ON JAPANESE ENCEPHALITIS PREVENTION AND CONTROL: ACHIEVEMENTS AND ORIENTATION, Hue City, Vietnam, 20-30 October, 2009.

Phan Thi Nga, Do Phuong Loan, Nguyen Viet Hoang, Bui Minh Trang, Le Thi Hien Thu, Futoshi Hasebe, Shingo Inoue, Kouichi Morita, Arnaud Fontanet, Paul Brey, Nguyen Tran Hien: Development of a new method for detection and identification of new encephalitis viruses and unknown viruses: FIRST GMS FORUM ON JAPANESE ENCEPHALITIS PREVENTION AND CONTROL: ACHIEVEMENTS AND ORIENTATION, Hue City, Vietnam, 20-30 October, 2009.

Kouichi Morita, Takeshi Nabeshima, Hyunh Thi Kim Loan, Shingo Inoue, Makoto

Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta, Vu Thi Que Huong, Maria del Carmen Parquet, Futoshi Hasebe, Phan Thi Nga: Frequent introductions of Japanese encephalitis virus from Southeast Asia and continental East Asia: The 4th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases, Nagasaki City, Japan, 26-28 December, 2009.

Kazuya I.P.J. HIDARI, Kouichi MORITA, Takashi SUZUKI : ANTI-DENGUE VIRUS ACTIVITY OF SULFATED POLYSACCHARIDES. Emerging Infectious Diseases 2009. Duke-NUS Graduate Medical School & Ministry of Health, Singapore, 2009 年 12 月 8-11 日 .

Yasunami M, Nguyen TPL, Horie H, Kurata S, Yamazaki A, Shibata H, Vu TQH, Tran TT, Ha MT, Vo VT, Tran VD, Kikuchi M, Morita K, Hirayama K : SUSCEPTIBILITY TO SEVERE DENGUE VIRUS INFECTION CONFERRED BY LYMPHOCYTE ACTIVATION GENE 3 (LAG3) POLYMORPHISM. Duke-NUS Graduate Medical School & Ministry of Health, Singapore, 2009 年 12 月 8-11 日 .

M. A. Islam, Choudhury, M. A. H. Z., Banu, S., Solaiman, H., Moula, K., and Morita, K. : ISOLATION AND IDENTIFICATION OF THREE SERO-TYPES OF DENGUE VIRUSES FROM THE OUTBREAK YEAR 2007 AND 2008 IN BANGLADESH.