

200931003B

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

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19～21年度 総合研究報告書

平成22年3月

研究代表者 森川 茂
(国立感染症研究所)

厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

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19～21年度 総合研究報告書

平成22年3月

研究代表者 森川 茂
(国立感染症研究所)

目 次

I. 総合研究報告書

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	1
研究代表者：森川茂（国立感染症研究所ウイルス第一部）	

II. 研究成果の刊行に関する一覧表	9
--------------------------	---

III. 研究成果の刊行物・別刷	15
------------------------	----

I. 総合研究報告書

総合研究報告書

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

国立感染症研究所ウイルス第一部第一室長 森川 茂

研究要旨：近年、エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱、リフトバレー熱、南米出血熱、ニパウイルス脳炎、ハンタウイルス感染症、サル痘、重症急性呼吸器症候群、チクングニア熱等の大流行の頻発や感染地域の拡大が見られ、我国への侵入が危惧される。ウガンダのエボラ出血熱の原因病原は新種の Bundibugyo ebolavirus とされ、ザンビア・南アではラッサではない未知の旧世界アレナウイルスによる出血熱患者が発生した。南米出血熱もボリビアでの流行から新種の Chapare ウイルスが同定された。フィリピンでは豚の Reston ebolavirus 感染が明らかになり、ニパウイルスは、バングラディッシュで患者発生が続いているがアジアだけでなく西アフリカ等のオオコウモリも保有しているらしい。チクングニア熱は大規模な流行が発生し国内への輸入症例が報告されている。これら重篤なウイルス感染症の病原の多くは BSL4 病原体等で日本ではウイルスを取り扱えないが、実験室診断を誤った場合の社会的・公衆衛生学的インパクトが非常に大きく非常に正確な診断が必要である。このため、種々の方法による検査法を整備し、新種・新型のウイルス出現にも迅速に対応可能な体制の整備が望まれる。本研究では、この目的を達成するための研究を平成 19 年度から 21 年度の 3 年間行い以下の成果を得た。これらの成果により、防疫上緊急を要する多くのウイルス性出血熱等に対する診断法の確立や予防・治療法の開発に繋がる研究成果が得られた。

1) ウイルス性出血熱等の病原体診断法の開発・確立：南米出血熱、ニパウイルス感染症、エボラ出血熱、マールブルグ病、ハンタウイルス肺症候群、リフトバレー熱、チクングニア熱、サル痘等の血清診断法や病原診断法（遺伝子増幅法や抗原検出法）を開発した。エボラ出血熱、南米出血熱、ハンタウイルス肺症候群では病原ウイルス種の鑑別が可能な診断法も開発した。

2) 新興・再興ウイルス感染症発生時の迅速なウイルス同定法：新種や新型のウイルス性出血熱に対応可能な degenerated プライマーをデザインできるプログラム CoCoMo を開発した。また、未同定のウイルスが分離された場合に病原ウイルスの遺伝子を特異的プライマーを用いずに増幅して遺伝子配列情報を得ることができる非特異的ウイルス遺伝子増幅法(RDV)の組織・臓器検体への適用を図った。

3) 開発した診断系の応用：ラッサ熱、リフトバレー熱、クリミア・コンゴ出血熱の開発された診断系を用いてナイジェリアでの出血熱ウイルス抗体保有率の調査を実施した。フィリピンのレストンエボラウイルス宿主動物の調査を実施した。

4) 予防・治療に繋がる基礎的研究：ニパウイルスでは、アクセサリ遺伝子欠損ウイル

スを取り逆ジェネティクスで作製した結果、弱毒化しワクチン開発の可能性を示唆した。エボラウイルスでは、抗 GP 単クローン抗体による受動免疫による発症予防効果を確認した。マールブルグウイルスでは VP40 によるウイルス様粒子出芽過程に Tsg101 だけでなく Nedd4.1、Vps4B が宿主因子として関与することを明らかにし、粒子出芽過程を阻害する薬剤や si-RNA 等を検討する系を確立した。さらに Tetherin がフィロウイルスやアレナウイルスの粒子産生に阻害活性を持つことを明らかにした。南米アレナウイルス感染細胞を標的とする VSV シュードタイプを作製した。サル痘では、種痘後およびサル痘ウイルスチャレンジ後の約 200 のウイルス蛋白に対する抗体応答をプロテオミクス解析により明らかにした。サルの致死性モルビリウイルス感染症の病原ウイルスの同定とサルでの病原性の解析を行った。重症急性呼吸器症候群(SARS)ではパストツレラ菌との共感染等による発症モデル動物系を開発し発症機構の解析等を行った。

研究分担者：

甲斐智恵子（東京大学医科学研究所教授）
高田礼人（北海道大学人獣共通感染症共通感染症リサーチセンター教授）
安田二郎（科学警察研究所科学第一部室長）
有川二郎（北海道大学大学院医学研究科病原微生物学教授）
林 昌宏（国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官）
福士秀悦（国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官；平成 19- 20 年度）
水谷哲也（国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官；平成 21 年度）
西條政幸（国立感染症研究所ウイルス第一部室長）
田口文広（国立感染症研究所ウイルス第三部室長／現：日本獣医生命科学大学教授）
遠藤大二（酪農学園大学獣医放射線学教授）

A. 目的：

1 類感染症に分類されるエボラ出血熱・マールブルグ出血熱・ラッサ熱・クリミア・コンゴ出血熱・南米出血熱以外にも、重篤な症状と高い致死率を示すリフトバレー熱・ニパウイルス脳炎・ハンタウイルス肺症候群・重症急性呼吸器症候群・チクングニア熱等は日本には存在しない輸入ウイルス感染症である。近年、欧州ではラッサ熱輸入症例が多発し、米国ではヒトのサル痘の流行があった。2008 年にはラッサ熱の英国輸入症例、マールブルグ病のオランダ及び米国での輸入症例等が報告されている。

また、エボラ出血熱・マールブルグ出血熱・ラッサ熱、サル痘、リフトバレー熱の常在地であるアフリカでは大規模な流行が頻発し、エボラウイルスは新種の Bundibugyo eboravirus が、アレナウイルスではラッサウイルスとは異なる新種のウイルスが新興した。南米ではボリビアの出血熱の病因として新種アレナウイルス(Chapare virus)が同定された。クリミア・コンゴ出血熱はトルコで大規模な流行が発生している。チクングニア熱も大規模な流行が相次いでおり、日本でも輸入症例が発生している。チクングニア熱は蚊によって媒介され、発熱・関節炎・発疹を 3 主徴とし、時に出血傾向を呈する感染症で、2007 年以降、日本でも輸入症例が報告されている。ニパウイルス脳炎は、バングラディッシュで患者発生が相次いでいるが、中国のコウモリ等でもウイルス遺伝子が検出され、広範囲にウイルスが分布することが明らかになった。これらの防疫上緊急を要するウイルス感染症はレベル 4 病原体が多く、BSL4 施設が稼働していない現状ではウイルスを用いた診断や治療法、予防法の開発が充分整備されていない。さらに、BSL4 施設が稼働しても他国からレベル 4 病原体の分与を受けるのには、多くの規制が存在するため数年必要である。また、レベル 3 病原体の場合も十分に診断体制が整備されていないものが多い。感染

症法の改正により新たに一類感染症に指定された南米出血熱等、これまで診断体制が未整備の感染症もある。

これらのうち診断体制が未整備の感染症の診断法を確立し、ある程度診断体制が整備された感染症においては必要に応じた診断法の改良を目的とする。特に血清診断では、最も信頼度の高いウイルス中和試験法の確立が急務であるため、VSV-pseudotype 等を応用した代替え中和試験法の確立を多くの対象ウイルスで目指す。また、発症初期の診断に重要なウイルス検出法に関しては、特に変異の多いハンタウイルスやアレナウイルスの遺伝子検出法の改良等を行ない、併せて高感度なウイルス蛋白検出系を整備する。さらに、新型や新種のエボラウイルス、アレナウイルス等にも対応可能な遺伝子検出・同定を迅速に行なえるような高感度ウイルス遺伝子検出法の確立を目指す。

さらにこれらの感染症の予防・治療法の開発に繋がる基礎研究を行うことも本研究の目的とする。

サル痘、ニパウイルス感染症や重症急性呼吸器症候群では発症動物モデル系を用いた有効な治療法開発につながる基礎研究を進展させる。近年、死亡したサルから分離されたモルビリウイルスの病原性・感染性等も明らかにする。

フィロウイルスやアレナウイルスでは、ウイルス様粒子産生系を用いて粒子産生に促進的に作用する宿主因子と抑制的に作用する因子を明らかにし、ウイルス増殖抑制効果のある薬剤等開発に繋がる基礎研究を行なう。

B. 研究方法：

1) ウイルス性出血熱等の病原体診断法の開発・確立：

南米出血熱（アルゼンチン出血熱、ボリビア出血熱、ベネズエラ出血熱、ブラ

ジル出血熱）の病原ウイルス全ての組換え NP 発現バキュロウイルスを作製し、精製 NP 抗原による IgG-ELISA、NP 発現細胞を用いた間接蛍光抗体法を開発した。また代替え中和試験法を開発するために膜蛋白 GP をもつ VSV シュードタイプを作製した。アルゼンチン出血熱では患者血清を用いて、これらの血清診断法を評価した。アルゼンチン出血熱の病原であるフニンウイルスの単特異抗体を作製し、フニンウイルス特異的抗原検出法と南米アレナウイルス共通な抗原検出系を開発した。

エボラ出血熱では、ザイール、スーダン、アイボリーコースト、レストンエボラウイルスの4種の表面糖蛋白質の細胞外領域を分泌型蛋白質として発現精製する系を確立した。これらを抗原とする型別抗体検出系を開発した。また、共通エピトープを認識する単特異抗体を作製した。レストンエボラウイルスでは、NP 及び GP 特異的抗体検出 ELISA、間接蛍光抗体法を開発した。4種のエボラウイルスを高感度に検出する RT-PCR 法をエボラウイルス感染マウスの臓器に適用して有用性を検討した。また、マールブルグウイルスを高感度に検出可能な RT-LAMP 法を開発した。

4種のエボラウイルス検出 qRT-PCR は、新種 Bundibugyo エボラウイルスに対応可能な改変をし、標的遺伝子を化学合成して有用性を検討した。

ハンタウイルス肺症候群では、新世界ネズミ（アメリカネズミ亜科）由来ウイルスに極めて多種のウイルスがあり、その多様性も大きい。一方、腎症候性出血熱の原因ウイルスや病原性不明のハンタウイルスも多く分離同定されている。そこで、そこで、各種ハンタウイルス群別に遺伝子検出可能な RT-PCR 法を開発を

行った。また、ウイルスの核蛋白(NP)の可変領域から HPS ウイルスの系統解析を行った結果、5 グループに分類されることが分かった。そこで、北米由来のハンタウイルスの強毒型と弱毒型を鑑別可能な IgG-ELISA 法、新世界ハンタウイルスで HPS の原因ウイルスの大部分を占める Sin Nombre virus (SNV)、Andes virus (ANDV)、Laguna Negra virus (LANV) 感染を鑑別可能な IgG-ELISA を開発し、患者血清等を用いて評価した。

ニパウイルス感染症では、組換えウイルス蛋白を用いた IgG-ELISA 法や RT-PCR 法を開発し、実験感染動物検体を用いて評価した。

チクングニア熱では、日本人輸入症例から分離したウイルスにアフリカ株、アジア株を加えた 3 株を用いて、チクングニヤウイルス遺伝子検出 qRT-PCR を確立した。血清学的診断法として IgM 補足 ELISA 及びウイルス中和試験法を確立した。

リフトバレー熱では、組換えウイルス抗原を用いた IgG-ELISA 法、間接蛍光抗体法、VSV シュードタイプウイルスを用いた代替ウイルス中和試験法を開発した。また、抗原検出 ELISA 法も開発した。

2) 新興・再興ウイルス感染症発生時の迅速なウイルス同定法：

RT-PCR 法は、ウイルス感染症の急性期の病原同定に極めて有用な実験室診断法ではあるが、特に本研究で対象とする重篤なウイルス感染症では、対象の多くが RNA ウイルスであり遺伝子の多様性が大きく遺伝子検出法の障害となることが多い。さらに新種のエボラウイルスや新種のアレナウイルス出血熱等の発生が相次いでいることから、今回開発した遺伝子検出法等でも検出できないウイルス株の

出現が否定できない。そこで、これまで開発したウイルス種あるいは属ごとに共通する degenerated プライマーセットを予測するアルゴリズムを開発、発展させ、それに基づくプライマー設計プログラム (CoCoMo) を作成した。このプログラムによりデザインしたプライマーの有用性を *in silico* で検討し、さらに合成遺伝子や実際の検体に適用してその有用性を検討した。

また、全く未知の新興ウイルス感染症発生時等にウイルスが分離された場合に、特異的プライマーを用いずにウイルス遺伝子を増幅可能な RDV 法を、臨床検体にも適用できるような改良を図った。

3) 開発した診断系の応用：

ラッサ熱、リフトバレー熱、クリミア・コンゴ出血熱の開発された診断系等を用いてナイジェリアでの出血熱ウイルス抗体保有率の調査を実施した。また、フィリピンのレストンエボラウイルス宿主動物の調査を実施した。

4) 予防・治療に繋がる基礎的研究：

ニパウイルスでは、アクセサリ蛋白欠損ニパウイルスをリバーシジェネティクス系により作製し *in vitro*, *in vivo* での性状解析を行なった。また、N 蛋白と P 蛋白の相互作用の解析を実施した。

マールブルグウイルスのウイルス様粒子出芽過程に関与する細胞因子の解明と Tetherin によるウイルス粒子産生阻害機構の解析を行った。

エボラウイルスの中和活性を持つ単クローン抗体を用いた受動免疫による感染防御効果を、マウス及びモルモット感染実験系で解析した。

南米アレナウイルスでは、ウイルス感染細胞を標的とする VSV-レセプター-シ

ュードタイプの作製を試みた。

サル痘では、感染サル検体を用いて2種類の感染性粒子である intracellular mature virion (IMV) や extracellular enveloped virion (EEV) 関連蛋白に対する個別の抗体応答をプロテオミックにより解析した。痘そうワクチン免疫個体についても解析した。

サルの致死性モルビリウイルス感染症の病原ウイルスの同定とサルでの感染性・病原性を解析した。

重症急性呼吸器症候群では、マウスに馴化していないヒト型の SARS-CoV による小動物発症モデルを開発し発症機構を解析した。

C. 結果：

1) ウイルス性出血熱等の病原体診断法の開発・確立：

南米出血熱（アルゼンチン出血熱、ボリビア出血熱、ベネズエラ出血熱、ブラジル出血熱）と新興ウイルス（チャパレウイルス）による出血熱の病原ウイルス全ての組換え精製 NP 抗原による IgG-ELISA、NP 発現細胞を用いた間接蛍光抗体法を開発した。また膜蛋白 GP をもつ VSV シュードタイプを作製して代替え中和試験法を開発した。アルゼンチン出血熱では患者血清を用いて、これらの血清診断法を評価した結果、診断法として有用であることが確認された。急性期の診断法として有用な診断法であるウイルス抗原検出法を開発した。フニンウイルスと他の南米アレナウイルスとの鑑別も可能となった。

エボラ出血熱では、ザイール、スーダン、アイボリーコースト、レ斯顿エボラウイルスの分泌型 GP を用いた型別抗体検出系を開発し、アフリカ等での宿主動物検索に応用している。レ斯顿エボ

ラウイルスでは、NP 及び GP 特異的抗体検出 ELISA、間接蛍光抗体法を開発し、レ斯顿エボラウイルス感染サル血清を用いて有用性が評価された。4種のエボラウイルスを高感度に検出する RT-PCR 法は、広く用いられている filoA/B プライマーによる遺伝子検出系と同等の感度でさらに広くエボラウイルス種を検出可能であった。マールブルグウイルス検出可能な RT-LAMP 法は、Musoke 系統及び Ravn 系統のいずれのウイルスも高感度で検出可能であった。

4種のエボラウイルス検出 qRT-PCR は、新種の Bundibugyo エボラウイルスに対応可能な改変をし、5種全ての遺伝子を高感度に検出できた。

ハンタウイルスでは、各種ハンタウイルス群別に遺伝子検出可能な RT-PCR 法が開発できた。ハンタウイルス肺症候群 (HPS) では、北米由来のハンタウイルスの強毒型と弱毒型を鑑別可能な IgG-ELISA 法、HPS の原因ウイルスの大部分を占める SNV, ANDV, LANV の感染を鑑別可能な IgG-ELISA 法が確立された。

ニパウイルス感染症では、組換えウイルス蛋白を用いた IgG-ELISA 法や RT-PCR 法による診断法の有用性が明らかとなった。

チクングニア熱では、遺伝子検出 qRT-PCR、IgM 補足 ELISA 及びウイルス中和試験法を確立し、国内の診断体制を整備した。この診断法により、これまで15例の輸入症例が確認された。

リフトバレー熱では、組換えウイルス抗原を用いた IgG-ELISA 法、間接蛍光抗体法、VSV シュードタイプウイルスを用いた代替えウイルス中和試験法を開発し血清診断法が確立された。また、抗原検出 ELISA 法は高感度であり急性期の診断に有用であると考えられた。

2) 新興・再興ウイルス感染症発生時の迅速なウイルス同定法：

ウイルス種あるいは属ごとに共通する degenerated プライマー設計プログラム (CoCoMo) の開発に成功した。このプログラムによりデザインしたプライマーの有用性を *in silico* で検討し、さらに合成遺伝子や実際の検体に適用してその有用性を検討した結果、新種の Bundibugyo エボラウイルスにも対応可能なプライマーがデザインできた。アレナウイルスでは旧世界アレナ、新世界アレナを広く検出できることが明らかとなった。ハンタウイルスの遺伝子検出プライマーもデザインできた。

また、全く未知の新興ウイルス感染症発生時等にウイルス特異的プライマーを用いずにウイルス遺伝子を増幅可能な RDV 法を、臨床検体にも適用可能な改良を図った。多くの RNA ウイルスゲノムが宿主細胞由来 RNA より大きいことから、感染細胞から抽出した RNA (cDNA) をサイズ分画する方法や、臨床検体等を 0.45 μm フィルター処理後、超遠心や核酸分解酵素の処理によりウイルス核酸を純化させる方法を確立した。これらの方法と RDV 法を組み合わせることによりウイルス感染臓器等からのウイルス遺伝子が検出された。

3) 開発した診断系の応用：

ラッサ熱、リフトバレー熱、クリミア・コンゴ出血熱の開発された診断系等を用いてナイジェリアでの出血熱ウイルス抗体保有率の調査を実施した結果、ナイジェリアではラッサウイルスに加えてリフトバレー熱ウイルス抗体保有者が多いことが明らかとなった。また、フィリピンのレストンエボラウイルス宿主動物の

調査を実施した結果、ルーセットオオコウモリ系にのみ抗体陽性個体が見出された。

4) 予防・治療に繋がる基礎的研究：

ニパウイルスでは、N 蛋白の P 蛋白との結合に関与する領域として、467-496 番アミノ酸領域以外に、N 末に近い新領域を同定した。リバーズジェネティクス系により作製したアクセサリ蛋白欠損ニパウイルスでは、W 蛋白欠損ウイルスは野生型ウイルスと同等の病原性を示したが、C 蛋白欠損ウイルスでは病原性が消失した。感染ハムスターでの病理組織学的解析から、野生型と W 蛋白欠損ウイルスでは、脳、肺、腎、肝等で広範に病変を認めたのに対し、C 蛋白欠損ウイルスでは、ごく軽度な肺での炎症のみが認められ、ワクチン開発につながる成果が得られた。

マールブルグウイルスの出芽には、宿主因子として Nedd4.1、Tsg101、AP3 δ 、Vps4B が重要で、MVB 選別系が利用されていることが強く示唆された。Nedd4.1 はエボラウイルスの出芽にも関わる宿主因子であるが、両ウイルスでは Nedd4.1 内の異なる WW ドメインにウイルスマトリックス蛋白が結合した。Tetherin には、マールブルグウイルス粒子産生阻害効果があった。

エボラウイルスの中和活性を持つ単クローン抗体を精製し受動免疫による感染防御効果を、マウス及びモルモット感染実験系で解析した結果、暴露後投与でもある程度の効果が認められることが判明した。

南米アレナウイルスのレセプター蛋白を持つ VSV シュードタイプは、フニン、マチュポ、サビアウイルスの GP 発現細胞に特異的に感染した。

サル痘では、感染サル検体を用いて2種類の感染性粒子である intracellular mature virion (IMV) や extracellular enveloped virion (EEV) 関連蛋白に対する個別の抗体応答をプロテオミックにより解析した結果、サル痘ウイルス感染サルでは、EEV 関連蛋白 (F13L, A33R, A34R, A36R, B5R) と IMV 関連蛋白 (L1R, H3L, D8L, A13L, A17L, L5R) 全てに抗体応答があった。

サルの致死性モルビリウイルス感染症の病原ウイルスは野生型 CDV であった。分離ウイルスを実験感染したサルでは、最大で末梢血単核球の4%がウイルス感染し、全身の臓器・組織に感染が認められた。

重症急性呼吸器症候群では、マウスに馴化していないヒト型の SARS-CoV による小動物発症モデルを開発し発症機構を解析した。

ヒト型の S 蛋白質を持つ SARS-CoV が、パスツレラ菌感染マウスで SARS 発症モデルとなることを明らかにした。また、エステラーゼやトリプシン以外に、肺の細胞膜上で発現されているプロテアーゼ TMPRSS2 が SARS-CoV のレセプター結合後の感染過程に関与することも明らかになった。

D. 考察:

エボラ出血熱、マールブルグ出血熱、ラッサ熱、クリミア・コンゴ出血熱、リフトバレー熱、南米出血熱、ニパウイルス脳炎、ハンタウイルス感染症、サル痘、重症急性呼吸器症候群、チクングニア熱等は、近年大流行の頻発や感染地域の拡大が見られ、我国への侵入が危惧される。これらの防疫上緊急な感染症の診断体制を確立し、さらに予防・治療法の開発に繋がる基礎研究を行うことが本研究の目

的である。これらの多くは、BSL4 病原体で日本ではウイルスを取り扱えないが、実験室診断を誤った場合の社会的・公衆衛生学的インパクトが非常に大きいため、限りなく正確な診断が必要であるため、組換えウイルス蛋白を用いた診断法を複数整備、改良する研究を行った。その結果、研究対象とした多くのウイルスで血清診断・病原診断の多くが確立できた。

さらに、アレナウイルス (ラッサ、南米出血熱ウイルス等)、ハンタウイルスの様に遺伝的多様性により RT-PCR 等の遺伝子検出法で全てのウイルス株が検出できない可能性のあるウイルスや、新種のエボラウイルスの様に、新型や新興ウイルス感染症発生時のウイルス検出に極めて有用な PCR 用プライマー設計プログラム CoCoMo が開発された。このプログラムによりデザインした degenerated primers を整備することにより、通常の RT-PCR や RT-LAMP で検出されないウイルス株も検出できる可能性が示唆された。一方、未知の新興ウイルス感染症発生時には、非特異的遺伝子増幅法によるウイルス遺伝子配列決定法である RDV 法の有用性をさらに発展させるため、臨床検体や臓器・組織からの RDV 法の適用を可能とする基礎的な成果が得られた。これらを総合することにより、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がかなり整備できた。これらの診断法を用いて、ナイジェリアでの疫学調査を実施した結果、当地にはラッサ熱以外にリフトバレー熱感染既往者が高頻度で見出された。フィリピンでのレストンエボラウイルス抗体保有動物の調査では、ルーセットオオコウモリ属のみが抗体陽性であったことから宿主動物であることが示唆された。

ニパウイルスでは、アクセサリ遺伝

子欠損ウイルスが、生ワクチン候補となる可能性が示唆された。エボラウイルスでは、中和抗体による受動免疫効果が確認された。マールブルグウイルスではウイルス粒子出芽過程に関与する細胞因子と阻害効果のある細胞因子が同定され、今後の抗ウイルス薬の標的としての可能性が示唆された。南米アレナウイルス感染細胞を標的とするVSVシュードタイプが作製され、治療法への応用が期待される。サル痘では、感染後のウイルス蛋白への免疫応答が詳細に解析された。野生型CDVがカニクイザルに全身感染することが明らかとなったが、病原性発現機構の解析が期待される。重症急性呼吸器症候群(SARS)では、小動物によるヒト型SARS-CoVによる発症モデル系が開発され、肺でのプロテアーゼの重要性が判明した。これらの成果は、各感染症の予防・治療法開発へと繋がる基礎的知見であると考えられる。

E. 結論

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のため、対象ウイルスの遺伝子検出法、抗原検出法、抗体検出法がかなり整備された。新型ウイルスや新興ウイルスに対応可能な遺伝子検出法にも著しい進展が見られた。また、対象とする多くの出血熱ウイルス等で予防法・治療法につながる基礎的な成果が得られた。

F. 健康危険情報

2007年にウガンダで流行したエボラ出血熱は新種のBundibugyoエボラウイルスと同定された。ザンビア、南アで新種アレナウイルス(Lujoウイルス)による出血熱が発生した。南米出血熱でも新種ウイルスが新興しChapareウイルスが同定さ

れた。

2008-2009年にはラッサ熱の英国輸入症例、マールブルグ病のオランダ及び米国での初めての輸入症例等が報告されているため、これらの監視が極めて重要な状況となった。クリミア・コンゴ出血熱では、これまで非病原性と考えられたAP92型のウイルスによる患者発生が相次いだ。2007年夏にイタリアに侵入し、300人規模の流行が発生したチクングニヤ熱は、日本でも輸入症例が発生し、本研究で開発された診断法により15名の輸入症例を診断・同定した。チクングニヤ熱は、感染症法では指定外の感染症であるが全国規模での検査体制の整備と監視体制の強化が必要であることから、早期の4類感染症等への指定が必要と考えられる。

G. 研究発表

「II. 研究成果の刊行に関する一覧表」に記載

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I. :Diagnostic systems for viral hemorrhagic fevers and emerging viral infections prepared in the National Institute of Infectious Diseases. *J. Disaster Res.* 4:315-321, 2009
2. Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romanowski 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. *Clin Vaccine Immunol.* 2009 Aug; 16 (8) : 1132-8
3. Saijo M, Ami Y, Suzaki 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 non-human primates. *J Gen Virol.* 2009 Sep;90(Pt 9):2266-71.
4. Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S. Loop-mediated isothermal amplification- based diagnostic assay for monkeypox virus infections. *J Med Virol.* 2009 Jun;81(6):1102-8. 7.
5. Saito T, Fujii T, Kanatani Y, Saijo M, Morikawa S, Yokote H, Takeuchi T, Kuwabara N. Clinical and immunological response to attenuated tissue-cultured smallpox vaccine LC16m8. *JAMA.* 2009 Mar 11;301(10):1025-33.
6. Yamao T, Eshita Y, Kihara Y, Satho T, Kuroda M, Sekizuka T, Nishimura M, Sakai K, Watanabe S, Akashi H, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Miyata T, Sakata A, Hosokawa M, Nakashima M, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Nakauchi M, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. Novel virus discovery in field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). *Arch Virol.* 2009; 154(1):153-8.
7. 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.* 2008 Dec;80(12):2127-33.
8. Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I.: Real-time quantitative polymerase chain reaction for virus infection diagnostics. *Exp. Opin. Med. Diagnost.* 2:1155-1171, 2008
9. Sakai K, Ueno Y, Ueda S, Yada K, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Mutoh K, Yoshioka K, Nakamura M, Takehara K, Morikawa S, Mizutani T. Novel reovirus isolation from an Ostrich (*Struthio camelus*) in Japan. *Vet Microbiol.* 2009 Mar 2;134(3-4):227-32.
10. Imai, C., Fujita, K., Shimizu, F., Sugai, A., Yoneda, M. and Kai, C. Comparative and mutational analyses of promoter regions of rinderpest virus. *Virology*, 396: 169-177, 2010.
11. Sugai, A., Kooriyama, T., Sato, H., Yoneda, M. and Kai, C. Epitope mapping of canine distemper virus phosphoprotein by monoclonal antibodies. *Microbiol Immunol.* 53(12):667-74, 2009.
12. Nishimura, T., Kohara, M., Izumi, K., Kasama, Y., Hirata, Y., Huang, Y., Shuda, M.,

- Mukaidani, C., Takano, T., Tokunaga, Y., Nuriya, H., Satoh, M., Saito, M., Kai, C. and Tsukiyama-Kohara, K. Hepatitis C virus impairs P53 via persistent over-expression of 3 β -hydroxysterol δ 24-reductase. *J. Biol. Chem.*, in press 2009
13. Saitou, K., Mizumoto, K., Nishimura, T., Kai, C. and Tsukiyama-Kyohara, K. Hepatitis C virus core protein facilitates the degradation of Ku70 and reduces DNA-PK activity in hepatocytes. *Virus Res.* 144, 266-271, 2009.
 14. Igarashi, M., Ito, K., Yoshida, R., Tomabechi, D., Kida, H., and Takada, A. (2010) Predicting the Antigenic Structure of the Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus Hemagglutinin. *PLoS ONE* 5(1): e8553.
 15. Yoshida, R., Igarashi, M., Ozaki, H., Kishida, N., Tomabechi, D., Kida, H., Ito, K., and Takada, A. (2009) Cross-protective potential of a novel monoclonal antibody directed against antigenic site B of the hemagglutinin of influenza A viruses. *PLoS Pathog.* 5(3):e1000350.
 16. Simulundu, E., Mweene, A., Tomabechi, D., Hang'ombe, B., Ishii, A., Suzuki, Y., Nakamura, I., Sawa, H., Sugimoto, C., Ito, K., Kida, H., Saiwana, L., and Takada, A. (2009) Characterization of H3N6 avian influenza virus isolated from a wild white pelican in Zambia. *Arch. Virol.* 154(9):1517-1522.
 17. Urata, S., and Yasuda, J.: Regulation of Marburg virus budding by Nedd4.1; a different WW domain of Nedd4.1 is critical for the binding to Marburg and Ebola virus VP40. *Journal of General Virology*, 91, 228-234, 2010.
 18. Sakuma, T., Sakurai, A., and Yasuda, J.: Dimerization of tetherin is not essential for its antiviral activity against Lassa and Marburg viruses. *PLoS One*, 4, e6934, 2009.
 19. Sakuma, T., Noda, T., Urata, S., Kawaoka, Y., and Yasuda, J.: Inhibition of Lassa and Marburg virus production by Tetherin. *Journal of Virology*, 83, 2382-2385, 2009.
 20. 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.
 21. Schmidt-Chanasit J, Essbauer SS, Petraityte R, Yoshimatsu K, Tackman K, Contraths FJ, Sasnauskas K, Arikawa J, Thomas A, Pfeffer M, Scharninghausen JJ, Splettstoesser W, Wenk M, Heckel G, and Ulrich RG. Extensive host sharing of Central European Tula virus. *J Virol* 2010. in press.
 22. Huong VT, Yoshimatsu K, Luan VT, Tuan LV, Nhi L, Arikawa J, and Nguyen TMN. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Vietnam: Description of Disease and Implication of Virus and Potential Rodent Hosts. *Emer Infect Dis* 2010. in press
 23. Truong T-T, Yoshimatsu K, Araki K, Lee B-H, Nakamura I, Endo R, Shimizu K, Yasuda PS, Koma T, Taruishi M, Okumura M, Truong U-N, and Arikawa J. Molecular epidemiological and serological studies of hantavirus infection in Northern Vietnam. *J Vet Med Sci* 2009. 71:1357-1363.
 24. Mertens M, Wolfel R, Ullrich K, Yoshimatsu K, Blumhardt J, Romer I, Esser J, Schmidt-Chanasit J, Groschup MH, Dobler G, Essbauer SS, and Ulrich RG. Seroepidemiological study in a Puumala virus outbreak area in South-East Germany. *Med*

- Microbiol Immunol 2009. 198:83-91.
25. 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, and Takashima I. Epidemiological study of hantavirus infection in the Samara Region of European Russia. *J Vet Med Sci* 2009. 71:1569-1578.
 26. Chandy S, Yoshimatsu K, Boorugu HK, Chrispal A, Thomas K, Peedicyil A, Abraham P, Arikawa J, and Sridharan G. Acute febrile illness caused by hantavirus: serological and molecular evidence from India. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009. 103:407-412.
 27. Chandy S, Okumura M, Yoshimatsu K, Ulrich RG, John GT, Abraham P, Arikawa J, and Sridharan G. Hantavirus species in India: A retrospective study. *Indian J Med Res* 2009. 27:348-350.
 28. Lim, C.K., Nishibori, T., Watanabe, K., Ito, M., Kotaki, A., Tanaka, K., Kurane, I., Takasaki, T. Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from Sri Lanka: Isolation of two sub-strains with different characteristics. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2009. 81(5):865-868.
 29. Lim, C.K., Kurane, I., and Takasaki, T. (2010) Re-emergence of chikungunya virus, pp. 1-22. In Maeda, A. (ed), *Animal Viruses*. Transworld Research Network., Kerala, India.
 30. Aoyama, I., Uno, K., Yumisashi, T., Takasaki, T., Lim, C.K., Kurane, I., Kase, T., Takahashi, K. A Case of Chikungunya Fever Imported from India to Japan, Follow-Up of Specific IgM and IgG Antibodies over a 6-Month Period. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2010. 63(1):65-66.
 31. 林 昌宏。チクングニヤウイルス。臨床と微生物、36(3): 211-216, 2009
 32. Saijo, M.: Emerging and re-emerging infection threats to society. *J. Disaster Res.* 4:291-297, 2009
 33. Morimoto, K., Saijo, M.: Imported rabies cases and preparedness for rabies in Japan. *J. Disaster Res.* 4:346-357, 2009
 34. Matsuyama S, and Taguchi F. (2009) Two step conformational changes mediated by receptor binding and proteolysis of a coronavirus envelope glycoprotein. *J. Virol.* 83: 11133-11141
 35. Fukushima A, Fukuda N, Lai Y, Ueno T, Moriyama M, Taguchi F, Iguchi A, Shimizu K and Kuroda K. (2009) Development of a chimeric DNA-RNA hammerhead ribozyme targeting SARS virus. *Intervirology* 52: 99-92.
 36. Terahara K, Yoshida M, Taguchi F, Igarashi O, Nochi T, Gotoh Y, Yamamoto T, Tsunetsugu-Yokota Y, Beauchemin N, and Kiyono H. (2009) Expression of newly identified secretory CEACAM1a isoforms in the intestinal epithelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 383: 340-346
 37. Ishii K, Hasegawa H, Nagata N, Ami Y, Fukushi S, Taguchi F, and Tsunetsugu-Yokota Y. (2009) Neutralizing antibody against severe acute respiratory syndrome (SARS)-coronavirus spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. *Microbiol. Immunol.* 53:75-82.
 38. Shirato K, and Taguchi F. (2009) Indirect induction of mast cell degranulation and migration by respiratory syncytial virus infection. *Virology* 386: 88-93

39. Kawase M, Shirato K, Matsuyama S and Taguchi F. (2009) Protease-mediated entry via endosome of human coronavirus 229E. *J. Virol.* 83: 712-721.
40. Nakamura S, Yang CS, Sakon N, Ueda M, Tougan T, Yamashita A, Goto N, Takahashi K, Yasunaga T, Ikuta K, Mizutani T, Okamoto Y, Tagami M, Morita R, Maeda N, Kawai J, Hayashizaki Y, Nagai Y, Horii T, Iida T, Nakaya T. Direct metagenomic detection of viral pathogens in nasal and fecal specimens using an unbiased high-throughput sequencing approach. *PLoS ONE.* 2009. 4:e4219.
41. Shumpei Watanabe, Naoya Ueda, Koichiro Iha, Joseph S. Masangkay, Hikaru Fujii, Phillip Alviola, Tetsuya Mizutani, Ken Maeda, Daisuke Yamane, Azab Walid, Kentaro Kato, Shigeru Kyuwa, Yukinobu Tohya, Yasuhiro Yoshikawa, Hiroomi Akashi. Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. *Virus Genes.* 2009. 39. 90-93.
42. Tomomitsu Satho, Hamady Dieng, Tetsuya Mizutani, Yuki Eshita, Takeshi Miyata, Parimal Talukder, Nobuhiro Kashige, Abu Hassan Ahmad and Fumio Miake. Fluorescence can be used to trace the fate of exogenous micro-organisms inside the alimentary tract of mosquitoes. *Journal of Parasitology and Vector Biology.* 1. 013-018. 2009
43. 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.* 2008 Dec;82(23):11985-91.
44. 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.* 2008 Jul;57(4):357-65.
45. 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.* 2008 Sep;43(1):56-9.
46. 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.* 2008 Jun; 172 (6) :1625-37.
47. 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.* 2008 Feb; 52 (2):118-27.
48. 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.* 2008 Mar;61(2):140-2.
49. 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.* 2008 Feb;14(2):347-9.

50. Yasui, F., Kai, C., Kitabatake, M., Inoue, S., Yoneda, M., Yokochi, S., Kase, R., Sekiguchi, S., Morita, K., Hishima, T., Suzuki, H., Karamatsu, K., Yasutomi, Y., Shida, H., Kidokoro, M., Mizuno, K., Matsushima, K. and Kohara, M. Prior immunization with SARS-CoV nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J. Immunol.*, 18(9):6337-48, 2008
51. Takayama, I., Kubo, M., Takenaka, A., Fujita, K., Sugiyama, T., Arai, T., Yoneda, M., Sato, H., Yanai, T. and Kai, C. Pathological and phylogenetic features of prevalent canine distemper viruses in wild Masked palm civets in Japan. *Comp. Immunol. Microb.*, in press, 2008 Sep 5
52. Terao-Muto, Y., Yoneda, M., Seki, T., Watanabe, A., Tsukiyama-Kohara, K., Fujita, K. and Kai, C. Heparin-like glycosaminoglycans prevent the infection of measles virus in SLAM-negative cell lines. *Antiviral Res.*, 80: 370-376, 2008.
53. 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.
54. Hagiwara, K., Sato, H., Inoue, Y., Watanabe, A., Yoneda, M., Ikeda, F., Fujita, K., Fukuda, H., Takamura, C., Kozuka-Hata, H., Oyama, M., Sugano, S., Ohmi, S. and Kai, C. Phosphorylation of measles virus nucleoprotein upregulates the transcriptional activity of minigenomic RNA. *Proteomics*, 8, 1871-1879, 2008.6.
55. Inoue, Y., Tsukiyama-Kohara, K., Yoneda, M., Sato, H. and Kai, C. Inhibition of host protein synthesis in B95a cells infected with HL strain of measles virus. *Comp. Immunol. Microb.*, 32: 29-41, 2008.
56. Kishida, N., Sakoda, Y., Shiromoto, M., Bai, G.R., Isoda, N., Takada, A., Laver, G., and Kida, H. (2008) H2N5 influenza virus isolates from terns in Australia: genetic reassortants between those of the Eurasian and American lineages. *Virus Genes* 37(1) : 16-21.
57. Murakami S, Iwasa A, Iwatsuki-Horimoto K, Ito M, Kiso M, Kida H, Takada A, Nidom CA, Mai le Q, Yamada S, Imai H, Sakai-Tagawa Y, Kawaoka Y, Horimoto T. (2008) Cross-clade protective immunity of H5N1 influenza vaccines in a mouse model. *Vaccine* 26(50) : 6398-6404.
58. Soda, K., Ozaki, H., Sakoda, Y., Isoda, N., Haraguchi, Y., Sakabe, S., Kuboki, N., Kishida, N., Takada, A., and Kida H. (2008) Antigenic and genetic analysis of H5 influenza viruses isolated from water birds for the purpose of vaccine use. *Arch. Virol.* 153 (11) : 2041-2048.
59. Taruishi M, Yoshimatsu K, Hatsuse R, Okumura M, Nakamura I, and Arikawa J. Lack of vertical transmission of Hantaan virus from persistently infected dam to progeny in laboratory mice. *Arch Virol* 2008. 153:1605-1609.
60. Nakamura I, Yoshimatsu K, Lee BH, Okumura M, Taruishi M, Araki K, Kariwa H, Takashima I, and Arikawa J. Development of a serotyping ELISA system for Thailand virus infection. *Arch Virol* 2008. 153:1537-1542.
61. Chandy S, Yoshimatsu K, Ulrich RG, Mertens M, Okumura M, Rajendran P, John GT, Balraj V, Muliylil J, Mammen J, Abraham P, Arikawa J, and Sridharan G. Seroepidemiological study on hantavirus infections in India. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008. 102:70-74.

62. Arai S, Ohdachi SD, Asakawa M, Kang HJ, Mocz G, Arikawa J, Okabe N, and Yanagihara R. Molecular phylogeny of a newfound hantavirus in the Japanese shrew mole (*Urotrichus talpoides*). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008. 105: 16296-16301.
63. Yamamoto H, Li TC, Koshimoto C, Ito K, Kita M, Miyashita N, Arikawa J, Yagami K, Asano M, Tezuka H, Suzuki N, Kurosawa T, Shibahara T, Furuya M, Mohri S, Sato H, Ohsawa K, Ibuki K, and Takeda N. Serological evidence for hepatitis e virus infection in laboratory monkeys and pigs in animal facilities in Japan. *Exp Anim* 2008. 57:367-376
64. Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Sato Y, Morikawa S, Saijo M, Itamura S, Saito T, Ami Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T. Pathology and virus dispersion in cynomolgus monkeys experimentally infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus via different inoculation routes. *Int J Exp Pathol*. 2007 Dec;88(6):403-14.
65. Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2007 Sep;30(5-6):375-89.
66. 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*. 2007 Oct;81(19):10831-4.
67. Saijo M, Georges-Courbot MC, Marianneau P, Romanowski V, Fukushi S, Mizutani T, Georges AJ, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin Vaccine Immunol*. 2007 Sep; 14 (9) :1182-9.
68. Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Current knowledge on lower virulence of Reston Ebola virus (in French: Connaissances actuelles sur la moindre virulence du virus Ebola Reston). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2007 Sep;30(5-6):391-8.
69. Ike F, Bourgade F, Ohsawa K, Sato H, Morikawa S, Saijo M, Kurane I, Takimoto K, Yamada YK, Jaubert J, Berard M, Nakata H, Hiraiwa N, Mekada K, Takakura A, Itoh T, Obata Y, Yoshiki A, Montagnetelli X. Lymphocytic choriomeningitis infection undetected by dirty-bedding sentinel monitoring and revealed after embryo transfer of an inbred strain derived from wild mice. *Comp Med*. 2007 Jun;57(3):272-81.
70. Sakai K, Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Endoh D, Kurane I, Takehara K, Morikawa S. An improved procedure for rapid determination of viral RNA sequences of avian RNA viruses. *Arch Virol*. 2007;152(9):1763-5.
71. Mizutani T, Endoh D, Okamoto M, Shirato K, Shimizu H, Arita M, Fukushi S, Saijo M, Sakai K, Lim CK, Ito M, Nerome R, Takasaki T, Ishii K, Suzuki T, Kurane I, Morikawa S, Nishimura H. Rapid genome sequencing of RNA viruses. *Emerg Infect Dis*. 2007 Feb; 13(2):322-4
72. Urata S, Noda T, Kawaoka Y, Morikawa S, Yokosawa H, 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*. 2007 May;81(9):4895-9.

III. 研究成果の刊行物・別刷