

D. 考察

チクングニヤウイルスの日本国内進入を調べる迅速診断法として、遺伝子検査の重要性があるが、今回、TaqMan Probe リアルタイム RT-PCR、通常の RT-PCR 法 (One step 法、Two step 法) 共に検証した結果、どちらも 10^7 稀釈まで検出という高感度にチクングニヤウイルス遺伝子を検出できる事が判明した。さらに、いままで蛍光プローブを用いる TaqMan 法は、通常の PCR 法よりも高感度だと言われていたが、今回の我々の実験データは、プライマーペアの設定次第では、TaqMan TaqMan Probe リアルタイム RT-PCR を凌ぐほどの高感度な検出が可能である事が示唆された。

また、通常の RT-PCR 法における One step 法、Two step 法で検出感度に差が見られなかった事から、Two step 法は、結果的に同じ濃度の RNA を同量した場合に検出感度が高い事になる。また、不安定な RNA を cDNA にして保存できるメリットがある。一方 One step 法は、遺伝子の汚染により偽 PCR 産物が増幅されるリスクを低減できる、また、Two step 法よりも簡便であることから、それぞれのメリットがある。迅速診断にかんしていえば、検出感度が同様であるならば、One step 法が実際の現場では使いやすいと思われる。

今回データは示さなかったが TouchDown PCR 方を使用する事により非特異反応が減り、その効果として PCR 産物の増加が得られる事が知られている。今回、この方法を用いて非常に高感度にチクングニヤウイルス遺伝子を検出する事ができた。表 1. に示

したようにプライマーペア Chik10225s/Chik10573cm で PCR 産物のサイズが 318bps で 10^8 稀釈まで検出が可能であり、通常の RT-PCR 法において一番増幅しやすいサイズで最高検出感度を得るというリーズナブルな結果が示された。

現在、我々をはじめ地方衛生研究所で所有している Genetic Analyzer は、ABI 社のキャピラリータイプが圧倒的に多く、この装置の塩基配列決定能力は、1 フラグメント 600~800 b p s であることを考慮し、かつ分子疫学的解析をより有効にするには、 10^7 稀釈を検出しているプライマーペアもチクングニヤウイルス遺伝子の RT-PCR 法の選択しに入れる事も可能である事が示唆された。

今回の実験でTaqManによるTaqMan Probe リアルタイムRT-PCR、通常のRT-PCR法共にチクングニヤウイルス遺伝子の 10^7 乗以上の稀釈を検出できる事が明確になり、検出に十分に有効である事が判った。

E. 結論

チクングニヤウイルスの検出には、目的や研究者の実施し慣れた方法 (TaqMan Probe リアルタイムRT-PCRか通常のRT-PCR法か) を用いて確定診断を実施して問題のない事が判った。さらに、通常のRT-PCR法を用いればチクングニヤウイルスの分子疫学的解析の強力な材料になる事も明らかとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

なし

実用新案登録

なし

その他

なし

表1 プライマーペアによるPCR産物サイズ及び検出限界希釈

		Chik10408c	Chik10573cm	Chik10713c	Chik11238c	Chik11300c
Chik9979s	大きさ bps	429	594	734	1259	1321
	検出限界 10 倍希釈	-7	-6	-6	-6	-6
Chik10025s	大きさ bps	383	548	688	1213	1275
	検出限界 10 倍希釈	-7	-6	-6	-7	-6
Chik10255s	大きさ bps	153	318	458	983	1045
	検出限界 10 倍希釈	-7	-6	-6	-6	-7
Chik10294sm	大きさ bps	/	279	419	944	1006
	検出限界 10 倍希釈	/	-6	-7	-7	-7
Chik10389s	大きさ bps	/	184	333	903	920
	検出限界 10 倍希釈	/	-7	-7	-7	-7

図1 RT-PCR、PCRの反応条件

OneStep RT-PCR Kit の反応条件

50°C	30 min) 40 cycles
95°C	15 min	
94°C	30 sec	
53°C	30 sec	
72°C	60 sec) 40 cycles
72°C	10 min	
4°C	hold	

Two Step RT-PCR のPCRの反応条件

98°C	10 sec) 10 cycles
58°C (-0.5°C / cycle)	30 sec	
72°C	60 sec) 40 cycles
98°C	10 sec	
53°C	30 sec	
72°C	60 sec) 40 cycles
72°C	10 min	
4°C	hold	

図2 プライマーの設定場所

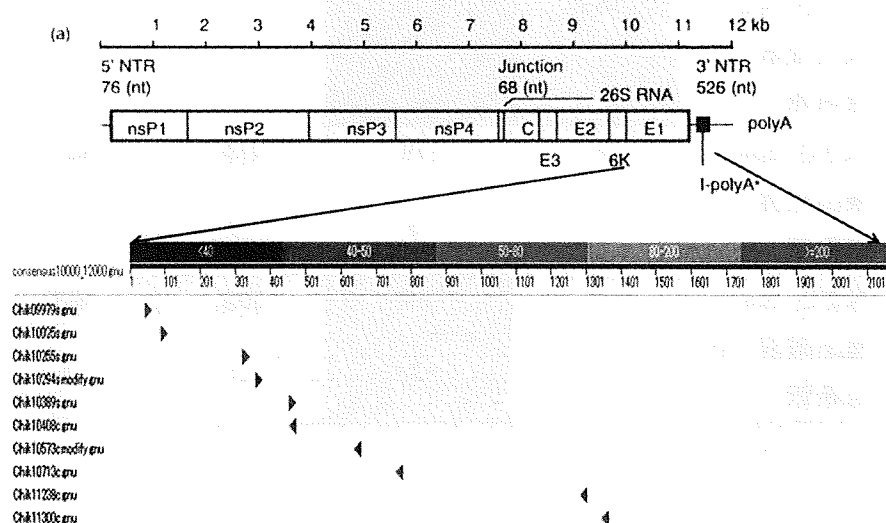


図3. One Step と Two Step による増幅の比較
Primers: Chik10294s、Chik10573c

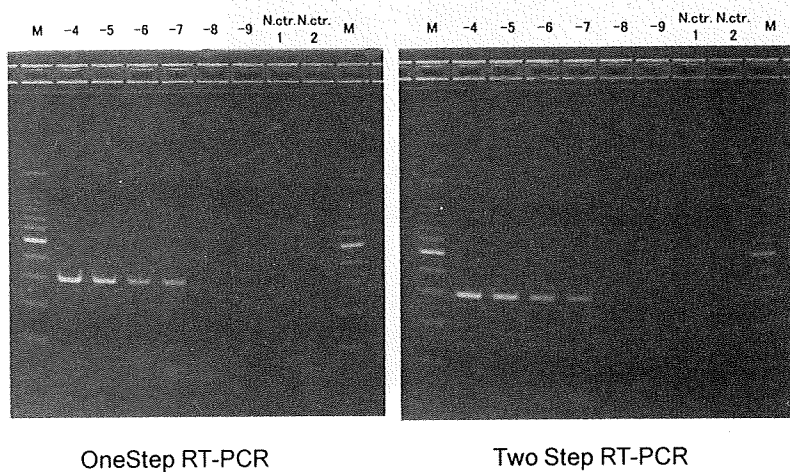


図4. リアルタイムRT-PCR による検出限界

Probe: Taq-Chik638P、Primer: Taq-Chik607F、Taq-Chik672R

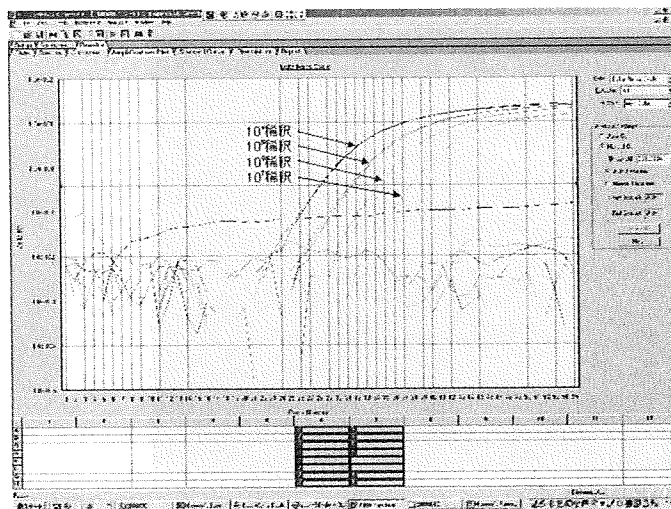


図5. プライマーの組み合わせによる増幅限界 E-Gel 48 1% Agarose

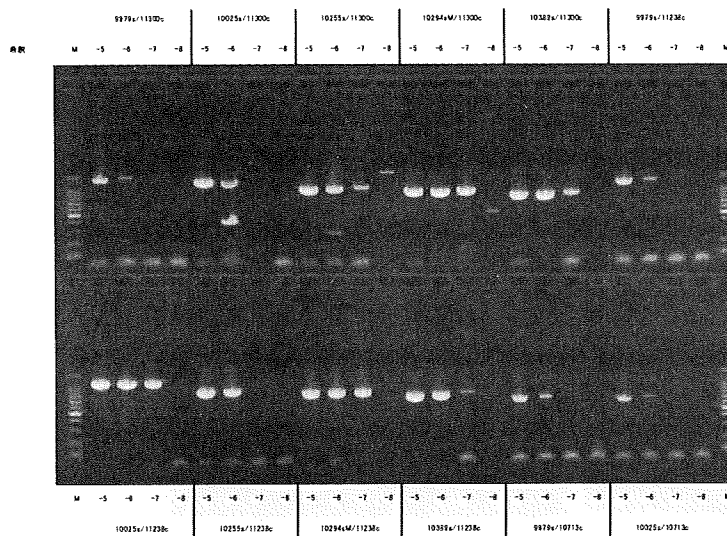
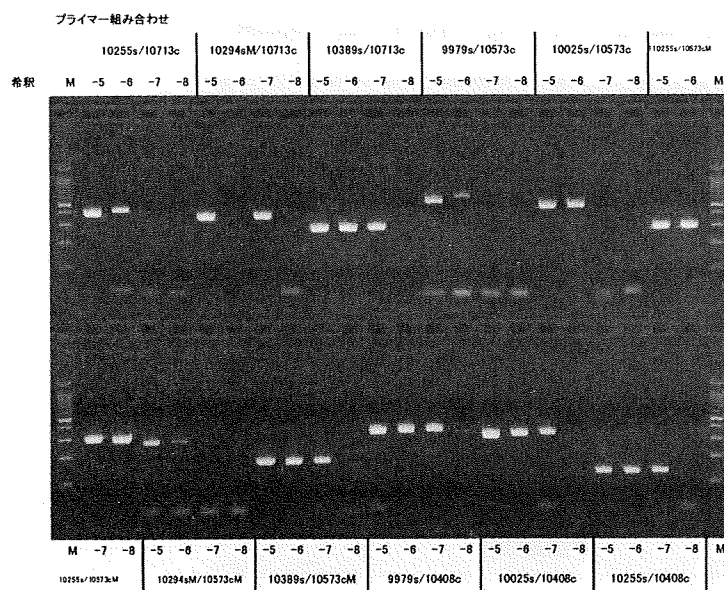


図6. プライマーの組み合わせによる増幅限界 E-Gel 48 2% Agarose



分担研究報告書

我が国におけるチクングニア熱輸入例に関する研究

研究分担者：倉根一郎（国立感染症研究所ウイルス第一部長）

研究協力者：高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部第二室長）

林 昌宏（国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官）

研究要旨：チクングニア熱はアジア各国で大きな流行を起こしている。これまで我が国では2006年2例、2008年3例、2009年10例のチクングニア熱患者が確定診断された。感染国はインドネシア6例、インド3例、スリランカ2例、マレーシア2例、タイ1例、ミャンマー1例であった。アジアにおいては、2006年、2007年は南アジアで流行が大きかったが、2008年、2009年は流行が東南アジアに広がっている。我が国における輸入例の感染国が、2008年まではスリランカ、インドが主であったが、2009年はインドネシア、タイ、マレーシアであったことは、アジアにおける流行状況を反映していると考えられる。今後も輸入症例の数は増加することが予想されることから、一層の注意が必要な感染症といえる。

A. 研究目的

チクングニア熱は2005年インド洋諸島で流行が発生し、その流行はインド、スリランカ、イタリア、マレーシア、タイ、シンガポールに拡大するとともに欧州、米国、アジア、オセアニア諸国において多くの輸入症例が報告されている。アジア諸国では近年シンガポール、マレーシア、タイでの流行が確認されている。チクングニア熱は、我が国では感染症法に定められていない疾患であるため、輸入例に関するデータは感染症法の枠内では報告されてこなかった。本研究では、これまでに経験されたチクングニア熱輸入例を解析

し我が国におけるチクングニア熱患者の現状を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

これまで我が国においてチクングニア熱と確定診断された輸入例を感染国等の面から解析し、感染国におけるチクングニア熱流行状況と比較した。

C. 研究結果

これまで2006年2例、2008年3例、2009年10例のチクングニア熱症例が確定診断されている（表1）。感染国はインドネシア6例、

インド3例、スリランカ2例、マレーシア2例、タイ1例、ミャンマー1例であった。年齢は30-50代であった。

アジア各国において報告された患者数を表2に示す。2006年インドにおいて140万人、2007年スリランカにおいて約4万人と南アジアで流行が大きかったが、2008年、2009年は流行が東南アジアに広がっている。我が国における輸入例の感染国が、2006年、2008年はスリランカ、インドが主であったが、2009年はインドネシア、タイ、マレーシアであったことは、アジアにおける流行を反映していると考えられる。

D. 考察

我が国においてはチクングニア熱症例の輸入例は報告されているが、チクングニアウイルスはまだ国内には侵淫しておらず国内感染例はない。我が国と同様に、欧米諸国においても多くの輸入症例が報告されている。特に、2007年イタリアにおいてインドからの1人の帰国者から流行が発生し約300人の患者発生がした例は注目すべき事例であった。シンガポールでは2007年12月まで主にインドからの輸入症例が散発していたが、2008年1月に国内感染例が初めて報告され、2009年までに900例が報告された。国立感染症研究所昆虫医科学部、小林部長らの報告によれば、主たる媒介蚊であるヒトスジシマカは秋田、岩手県を北限として日本の大部分の地域に生息する。チクングニア熱患者においてはウイルス血症のレベルが高く、吸血により蚊が感染者から感染する可能性も高い。今後も輸入症例の数は増加することが予想されることから、一層の注意が必要な感染症といえる。

E. 結論

我が国においては2006年2例、2008年3例、2009年10例のチクングニア熱症例が確定診断されている(表1)。感染国はインドネシア6例、インド3例、スリランカ2例、マレーシア2例、タイ1例、ミャンマー1例であった。東南アジア各国では依然流行が続いていることから、今後も輸入症例の数は増加することが予想される。一層の注意が必要な感染症といえる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

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.

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.

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.

H. 学会発表

C. Lim, T. Nishibori, K. Watanabe, M. Ito, A. Kotaki, I. Kurane., T. Takasaki. Chikungunya Virus Isolated from a Patient Who Came Back to Japan from Sri Lanka: Isolation of two strains with different characteristics. The West Nile virus 2009 National Conference (Savannah, GA, USA) 2009/2/19-20.

林 昌宏, 高崎智彦, モイ メンリン, 大松 勉, 小滝 徹, 倉根一郎: 東南アジアにおけるチクングニヤ熱疑い患者血清の病原体および血清学的解析. 第 56 回日本ウイルス学会 (東京都) 2009 年 10 月 25-27 日

水野泰孝、氏家無限、竹下望、加藤康幸、金川修造、工藤宏一郎、高崎智彦、林 昌宏、倉根一郎: 遅延する関節痛を主訴に来院したチクングニヤ熱の 3 症例. 第 58 回日本感染症学会東日本地方会学術集会 (東京都) 2009 年 10 月 30-31 日

林 昌宏、小滝 徹、高崎智彦、倉根一郎. フラビウイルス感染症迅速診断のための共通プライマーの開発. 第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 (北海道) 2009 年 6 月 19-20 日

I. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1. これまで確定診断されたチクングニア熱輸入症例

症例番号	年齢	性別	渡航先	発症年
1.	36	女性	スリランカ	2006
2.	59	女性	スリランカ	2006
3.	37	男性	インド	2008
4.	41	女性	マレーシア	2009
5.	48	女性	インドネシア	2009
6.	52	男性	インドネシア	2009
7.	46	女性	インド	2009
8.	30	男性	インドネシア	2009
9.	36	女性	インドネシア	2009
10.	43	女性	インドネシア	2009
11.	39	女性	マレーシア	2009
12. *	30	男性	インド	2009
13.	35	男性	インドネシア	2009
14.	56	女性	タイ	2009
15.	—	—	ミャンマー	2009

*症例 12 は長崎大学熱帯医学研究所において検査された。

表 2. アジア各国で報告されたチクングニア熱患者数 (千人)

流行国	2006年	2007年	2008年	2009年
インド	1400	60	70	68.2
スリランカ	1	37.6	18	1
マレーシア	0.2	0.1	4.3	5.4
インドネシア	0.5	1	10	0.3
タイ	0	0	2	47.7
シンガポール	0	0.3	0	0

ダニにおけるクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの各分節遺伝子の
発現と診断への応用

研究分担者 西條政幸 国立感染症研究所ウイルス第1部

研究要旨：クリミア・コンゴ出血熱は、クリミア・コンゴ出血熱ウイルスにより引き起される出血熱ウイルスで、ダニ媒介ウイルス感染症のひとつでもある。クリミア・コンゴ出血熱ウイルスは、核蛋白をコードする S-遺伝子、膜蛋白をコードする M-遺伝子、RNA ポリメラーゼをコードする L-遺伝子の3つの分節 RNA を有する。クリミア・コンゴ出血熱の致死率は5～40%と高い。ヒトへの感染経路は、感染ダニによる刺咬やウイルス血症を伴う家畜動物との接触である。特にダニを介して感染する患者が多い流行では比較的大規模である。本研究では、クリミア・コンゴ出血熱流行地から採取されたダニからの S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子を増幅する nested RT-PCR 法を開発し、流行地で採取されたダニから S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子の増幅を試みた。ダニにおいては S-遺伝子と L-遺伝子の発現が比較的高いことが明らかにされた。ダニからのクリミア・コンゴ出血熱ウイルス遺伝子増幅には、S-遺伝子と L-遺伝子の nested RT-PCR 法を組み合わせることが重要である。

A. 研究目的

クリミア・コンゴ出血熱は、ブニヤウイルス科ナイロウイルス属に分類される陰性鎖一本鎖 RNA ウイルスであるクリミア・コンゴ出血熱ウイルスによる致死率の比較的高い感染症である。Hyalomma 属ダニや Ixodes 属のダニに維持されており、ヒトはクリミア・コンゴ出血熱ウイルス感染ダニに咬まれたり、ウイルス血症を伴う哺乳動物（ヒツジ等）と接触したりして感染する。その臨床症状は、発熱、多臓器不全、出血傾向等である。クリミア・コンゴ出血熱の致死率は5～40%と高く、我が国の感染症法ではエボラ出血熱等と

ともに1類感染症に指定されている。

本研究では、クリミア・コンゴ出血熱患者および流行地から採取されたダニからの S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子を増幅する nested RT-PCR 法を開発した。それを用いて、クリミア・コンゴ出血熱患者や流行地で採取されたダニから S-遺伝子、M-遺伝子、L-遺伝子の増幅を試み、ダニやヒト（クリミア・コンゴ出血熱患者）における各分節遺伝子発現の程度を比較検討した。

B. 研究方法

1) クリミア・コンゴ出血熱流行地で採取さ

れたダニ。2001年および2002年の4月に中国新疆ウイグル自治区を訪れ、クリミア・コンゴ出血熱流行地においてヒツジなどの家畜や原野に生息するダニを採取した(図1)。血清およびダニからRNAを精製し、さらにランダムプライマーを用いたreverse transcription法でcDNAを作製した。

2) Nested RT-PCR

テンプレート(cDNAサンプル)およびデザインされたプライマーセットを用いて、それぞれReady-to-Go PCR(Pharmacia社)およびHigh Fidelity PCR(Roche Diagnostics社)を用いた(表1)。一回目のPCRおよび二回目のPCR増幅条件は、ともに94°C-2分、30サイクルの増幅ステップ(94°C-30秒、52°C-30秒、72°C-30秒)、および、72°C-5分である。各PCRに用いられたプライマーの塩基配列等は表1に示した。

(倫理面からの配慮について)

特記事項なし。

C. 研究結果

1) ダニからのクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの各RNA分節の検出。部分M-遺伝子は、74プールサンプル全てから検出されなかった。一方、6サンプルから部分S-遺伝子が増幅され、8サンプルからL-遺伝子が増幅された(表2)。4サンプルからは、S-遺伝子およびL-遺伝子がともに増幅された。6サンプルからはS-遺伝子

またはL-遺伝子が増幅された(図2)。

D. 考察

本研究では示していないが、クリミア・コンゴ出血熱患者の診断には、本研究で採用されている部分S-遺伝子増幅によるnested RT-PCR法が感度および特異度の上でもっとも有用である。しかし、ダニにおけるクリミア・コンゴ出血熱ウイルス遺伝子の発現程度は、L-遺伝子、S-遺伝子の順に高く、M-遺伝子はほとんど発現されていないことが示唆された。7人のS-部分遺伝子陽性のクリミア・コンゴ出血熱患者血清のうち4人の患者血清から、部分M-遺伝子が増幅されている。一方、本研究では、S-遺伝子発現が非常に高いサンプルからも部分M-遺伝子は増幅されなかった。本研究で用いられたM-遺伝子増幅用nested RT-PCR法は、塩基配列において変異の比較的高いM-遺伝子を広く増幅できるようにプライマーデザインを工夫したにもかかわらず、ダニからは部分M-遺伝子は増幅されなかった。

ダニにおけるクリミア・コンゴ出血熱ウイルスの浸延状況を調査するには、S-遺伝子増幅のみならず、L-遺伝子増幅を併せて実施することが重要であることが示唆された。

今回開発された部分L-遺伝子増幅用nested RT-PCR法は、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス中国株のL-遺伝子塩基配列をもとにデザインされた。クリミア・コンゴ出血熱ウイルスL-遺伝子は、RNAポリメラーゼを発現する遺伝子であり、比較的保存領域の多い遺伝子である。L-遺伝子増幅用nested

RT-PCR に用いられたプライマーセットは中国株のみならず. 他の地域で流行するクリミア・コンゴ出血熱ウイルス遺伝子の増幅にも応用可能と考えられる.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Iizuka, I., Saijo, M., Shiota, T., Ami, Y., Suzaki, 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

2) 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 nonhuman primates.

Journal of General Virology

90:2266-2271, 2009

3) 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

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

5) 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

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

7) Yagi, T., Hattori, H., Ohira, M., Nakamichi, K., Takayama-Ito, M., Saijo, M., Shimizu, T., Ito, D., Takahashi, K., Suzuki, N. : Progressive multifocal leukoencephalopathy developed in incomplete Heerfordt syndrome, a rare manifestation of sarcoidosis, without steroid therapy responding to cidofovir. Clinical Neurology and Neurosurgery (in press)

2. 学会発表

- 1) 塩田智之、森川茂、飯塚愛恵、倉根一郎、西條政幸: 293T細胞を用いたHSV-1組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用. 第19回日本抗ウイルス療法研究会, 東京 (2009. 6)
- 2) Bukbuk, D.N., Saijo, M., Georges-Courbot, M. C., Marianneau, P., George, A., Shuetsu, F., Mizutani, T., Kurata, T., Kurane, I., Morkawa, S.: Recombinant nucleocapsid protein-based diagnosis of and seroepidemiological study on Lassa fever. The 109th ASM General Meeting, Philadelphia, PA (2009.05)
- 3) Saijo, M., Ami, Y., Suzaki, Y., Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Ogata, M., Iizuka, I., Shiota, T., Fukushi, S., Mizutani, T., Sata, T., Kurata, T., Kurane, I., Morikawa, S.: Pathology of monkeypox in nonhuman primates leading to the difference in virulence between Gongo Basin and West African strains. 43rd Annual Meeting of the US-Japan Cooperative Medical Science Program and Special Minisymposium on enterovirus 71, Philadelphia, PA (2009.07)
- 4) 西條政幸, 網至康, 須崎百合子, 永田典代, 長谷川秀樹, 新村靖彦, 横手公幸, 飯塚愛恵, 塩田智之, 佐多徹太郎, 倉田毅, 倉根一郎, 森川茂. 痘そうワクチン LC16m8およびLister株免疫時におけるIMVおよびEEV蛋白に対する抗体応答とサル痘予防効果. 第13回日本ワクチン学会学術総会, 札幌 (2009.09)
- 5) 中道一生, 伊藤陸代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 脳脊髄液中のJCポリオーマウイルスを検出するためのリアルタイムPCR検査系の確立と進行性多巣性白質脳症 (PML) の診断支援. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 6) 酒井宏治, 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 松井珠乃, 網康至, 平井理香, 須崎百合子, 水谷哲也, 福士秀悦, 緒方もも子. 西條政幸, 藤本嗣人, 山田靖子, 岡部信彦, 佐多徹太郎, 倉根一郎, 森川茂. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 7) 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 西條政幸, 森川茂, 佐藤由子, 佐多徹太郎. SARS-CoV感染動物における宿主Th1/Th2バランスと重症化の関連. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 8) 塩田智之, 飯塚愛恵, 森川茂, 倉根一郎, 水口雅, 西條政幸. 293T細胞を用いた単純ヘルペスウイルスならびに水痘帯状疱疹ウイルス組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 9) 森川茂, 福士秀悦, 酒井宏治, 永田典代, 長谷川秀樹, 松井珠乃, 水谷哲也, 平井理香, 網康至, 緒方もも子, 西條政幸, 山田靖子, 岡部信彦, 佐多徹太郎, 倉根

- 一郎. カニクイザルの致死性イヌジステンパーウイルス感染事例の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 10) 飯塚愛恵, 塩田智之, 西條政幸, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 倉根一郎, 水口雅, 森川茂. 痘そうワクチンLC16m8株の温度感受性に関する解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 11) 水谷哲也, 前田健, 渡辺俊平, 久和茂, 吉川泰弘, 明石博臣, 中内美名, 酒井宏治, 福士秀悦, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, 森川茂. ウイルスの網羅的検出法 (RDV法ver 3.1) を用いたコウモリ由来新規 β ヘルペスウイルスの同定第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 12) 中内美名, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, Austin Ure, Victor Romanowski, 森川茂. 南米出血熱の実験室診断法の開発. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 13) 中道一生, 伊藤陸代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 定位微量投与系を用いたマウスポリオーマウイルスの脳における持続感染様式の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 14) 岩田奈織子, 永田典代, 辻隆裕, 長谷川秀樹, 佐藤由子, 横田恭子, 水谷哲也, 西條政幸, 森川茂, 佐多徹太郎. SARS-CoV感染動物モデルを用いたUV不活化SARS-CoVの免疫効果と副作用について. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 15) 佐山勇輔, 福士秀悦, 斎藤麻理子, 飯塚愛恵, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 鈴木陽, 神垣太郎, 玉記雷太, 倉根一郎, 押谷仁, 森川茂. フィリピンのレストンエボラウイルス感染症のウイルス遺伝子解析と感染状況の実態調査. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 16) 西條政幸, 網康至, 須崎百合子, 塩田智之, 飯塚愛恵, 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 緒方もも子, 福士秀悦, 水谷哲也, 倉根一郎, 佐多徹太郎, 倉田毅, 森川茂. コンゴ盆地型および西アフリカ型サル痘ウイルスの臓器親和性と病原性. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1. クリミア・コンゴ出血熱ウイルスの各分節遺伝子増幅に用いられたプライマーセット

標的遺伝子	PCR		名前	塩基配列	
S-遺伝子	1回目	Forward	CCHF-F2/C	5' -TGGATACTTTCACAAACTC	
		Reverse	CCHF-R3/C	5' -GACAAATTCCTGCACCA	
	2回目	Forward	CCHF-F3/C	5' -GAGTGTGCCTGGGTAGCTC	
		Reverse	CCHF-R2/C	5' -GACATTACAATTCGCCAGG	
	M-遺伝子	1回目	Forward	CCHF-M-F1A	5' -TTTCATTGTCACCAGTACAATC
				CCHF-M-F1B	5' -TTTCATTATCACCAGTTCAATC
CCHF-M-F1C				5' -TTTCATTGTCACCGTTCAATC	
Reverse			CCHF-M-R2A	5' -ACAAAAGTGGTGTGATGAT	
			CCHF-M-R2B	5' -ACAAAAGTGAATTTATGAT	
			CCHF-M-R2C	5' -ACAAAAGTGGTGTGATAAT	
			F2/VLG	5' -TTCACAAGTATCTGTCTCTTT	
			F2/XJ75024	5' -TACACAAGCATCTGCCTCTTT	
			F2/XJ7001	5' -TACACAGGCATATGCCTCTTT	
F2/UG		5' -TACACAAGCATATGCCTCTTT			
		F2/SPU41	5' -TACACAAGTATGTGTCTCTTT		
		2回目	Forward	CCHF-M-R1A	5' -TTGCAGATGCTCAAGTGC
				CCHF-M-R1B	5' -TTGCAAACGTTTAAGTGC
			Reverse	R1/Matin	5' -TTGCAGATGCTCAAGTGC
		R1/UG		5' -TTGCAGACGTTCAAATGC	
R1/VLG	5' -TTGCAGATACTCAAGTGT				
L-遺伝子	1回目	Forward	L-F1	5' -AAACATGAGCTTACACAGAATG	
			Reverse	L-R1 (88166)	5' -AGCCAAGACCTTGGTACAGA
		L-R1 (68031)	5' -AGCCAAGACCTTGGCACAGA		
	2回目	Forward	L-F2	5' -CATAAAGAAAAGTGTGATG	
			Reverse	L-R2 (88166)	5' -TTGGTCGTCGTCACCTCATGTC
		L-R2 (68031)	5' -TTGGTCGTCATCACTCCTGTC		
		L-R2 (8402)	5' -TTGGTCGGCGTCACTCCTGTC		

表 2. ダニプールサンプル 74 検体からの nested RT-PCR による部分 S-遺伝子と L-遺伝子の増幅

PCR における標的遺伝子	S-遺伝子		計	
	+	-		
L-遺伝子	+	4	4	8
	-	2	64	66
計	6	68	74	

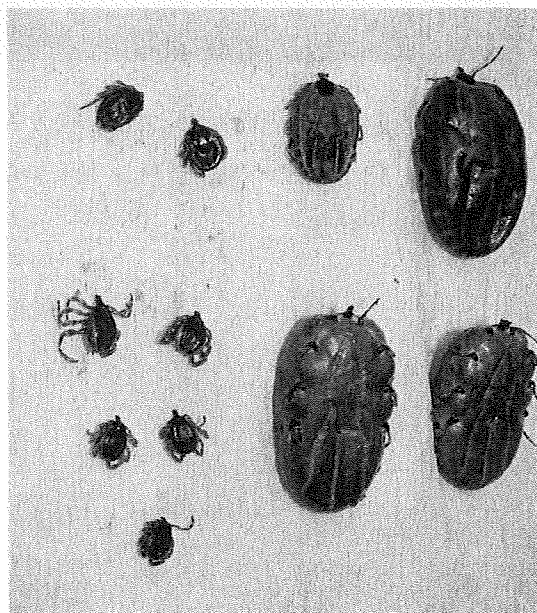


図 1. 中国新疆ウイグル自治区のクリミア・コンゴ出血熱流行地で採用されたダニ (*Hyalomma asiaticum*) の写真.

M Pr 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

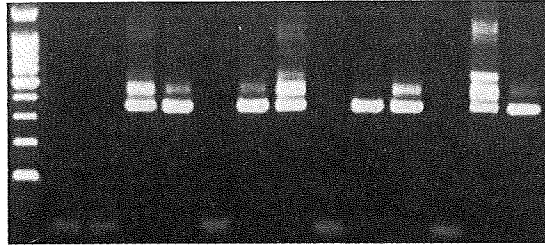


図2. ダニプールサンプルからS-遺伝子（上段）およびL-遺伝子（下段）の増幅. 2001年に採取されたダニプールサンプル13検体のうち、2サンプルからS-遺伝子増幅され、6サンプルからはL-遺伝子のみが増幅された.

研究成果の刊行に関する一覧表（平成 21 年度）

書 籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版 社名	出版 地	出版 年	ページ
葛西真治 霜田政美 後藤慎介 駒形修 加藤康仁	第 6 章 環境適応	神村 学 日本典秀 葛西真治 竹内秀明 畠山正統 石橋 純	分子昆虫学 ポストゲノムの 昆虫研究 (ISBN978-4- 320-05695-4)	共立 出版	東京	2009	448pp
Kawada H.	An Inconvenient Truth of Pyrethroid - Does it have a promising future?	Clark J, Bloomquist J R, Kawada H	Advances in Human Vector Control ISBN13: 9780841269774	Oxford Univ Pr	Oxford	2009	171 -190
Kasai S, Ishii N, Natsuaki M, Fukutomi H, Komagata O, Kobayashi M, Takashi T	Monitoring of <i>kdr</i> -mediated pyrethroid resistance in head louse colonies in Japan	Clark J, Bloomquist J R, Kawada H	Advances in Human Vector Control ISBN13: 9780841269774	Oxford Univ Pr	Oxford	2009	217 -224
Lim, C.K. Kurane, I. Takasaki, T.	Re-emergence of chikungunya virus	Maeda, A.	Animal Viruses ISBN 978-81-7895-450-9	Transworld Research Network	Kerala	2009	1-22

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawada H, Higa Y, Komagata O, Kasai S, Tomita T, Nguyen T Y,	Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant <i>Aedes aegypti</i> populations	PLoS Neglected Tropical Diseases	3(10)	e0000527	2009

Luu L L, Sánchez R A P, Takagi M.	in Vietnam.				
Higa Y, Nguyen TY, Kawada H, Tran HS, Nguyen TH, Takagi M	Geographic distribution of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> collected from used tires in Vietnam	Journal of American Mosquito Control Association		<i>in press</i>	
Tsuda, Y. Kim, K. S.	Prediapause migration and overwintering of <i>Culex</i> <i>tritaeniorhynch</i> <i>us</i> (Diptera: Culicidae) observed in a park in urban Tokyo during 2007 to 2009	Med. Entomol. Zool.	61(1)	<i>in press</i>	
富田隆史	スミスリン耐性の アタマジラミへの よい対処法を教え て下さい	健康教室	60	22-25	2009
富田隆史	殺虫剤抵抗性アタ マジラミ対策が喫 緊の課題	健康教室	4月号	33-37	2009
富田隆史 駒形修 葛西真治	アタマジラミとス ミスリン抵抗性	皮膚病診療	31	906-913	2009

Kim, K. S. Tsuda, Y. Yamada, A.	Blood-meal identification and detection of avian malaria parasite from mosquitoes (Diptera: Culicidae) inhabiting coastal areas of Tokyo Bay, Japan	Journal of Medical Entomology	46	1230-1234	2009
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	<i>Am. J. Trop. Med. Hyg.</i>	81(5)	865-868	2009
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	<i>Jpn. J. Infect. Dis.</i>	63(1)	65-66	2010
林昌宏	チクングニヤウイ ルス	臨床と微生物	36(3)	211-216	2009