

201028003B

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

我が国における日本脳炎の現状と 今後の予防戦略に関する研究

(H20-新興-一般-003)

平成20年度～平成22年度 総合研究報告書

平成23 (2011) 年 3 月

研究代表者 高 崎 智 彦

(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

我が国における日本脳炎の現状と 今後の予防戦略に関する研究

(H20-新興-一般-003)

平成20年度～平成22年度 総合研究報告書

平成23（2011）年3月

研究代表者 高崎 智彦

(国立感染症研究所)

目 次

I 総括研究報告

我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究

研究代表者 高崎智彦 (国立感染症研究所ウイルス第一部) 1

II 分担研究報告

1. ヒト血清中の日本脳炎ウイルス NS1 抗体を測定する ELISA 法 21
研究分担者：小西英二 (神戸大学医学部医療基礎学講座)
2. イノシンから分離された日本脳炎ウイルスの性状解析と急性脳炎患者への
γ-グロブリン製剤投与と日本脳炎血清診断 IgM 抗体検査系の標準化 30
研究代表者：高崎智彦 (国立感染症研究所ウイルス第一部)
3. 熊本県における日本脳炎ウイルスの活動とヒトの自然感染率に関する研究 34
研究分担者：原田誠也 (熊本県保健環境科学研究所微生物科学部)
4. 東京都における日本脳炎ウイルスの活動状況とヒトの自然感染率に関する研究 40
研究分担者：田部井由紀子 (東京都健康安全研究センター)
5. わが国の日本脳炎ならびに日本脳炎ワクチンの現状と急性脳炎、
日本脳炎における日本脳炎ウイルスに関する研究 47
研究分担者：多屋馨子 (国立感染症研究所 感染症情報センター)
6. 日本脳炎ウイルスゲノム 3'非翻訳領域内可変領域の解析と
レポーターレプリコンの構築 51
研究分担者：倉根一郎 (国立感染症研究所ウイルス第一部)
7. 岡山県における日本脳炎のリスク調査と日本脳炎の多様性 58
研究分担者：寺田喜平 (川崎医科大学小児科)
8. 小児日本脳炎患者発生の実情と日本脳炎細胞培養ワクチンに関する意識調査 61
研究分担者：脇口 宏 (高知大学小児思春期医学)
9. 伴侶動物および野生動物における日本脳炎感染状況の調査 64
研究分担者：前田 健 (山口大学農学部獣医微生物学教室)
10. 沖縄県における日本脳炎ウイルス調査 69
研究分担者：玉那覇康二 (沖縄県衛生環境研究所)
11. 日本脳炎ウイルスの分離とその病原性に関する研究 74
研究分担者：竹上 勉
(金沢医科大学総合医学研究所分子腫瘍学研究部門)
12. 日本脳炎ウイルスの疫学に関する研究 77
研究分担者：森田公一 (長崎大学・熱帯医学研究所)
13. 日本脳炎ウイルス感染のリスク評価指標設定および実施に関する研究 86
研究分担者：砂川富正 (国立感染症研究所 感染症情報センター)

III	研究成果の刊行に関する一覧表	89
IV	研究成果の刊行物・別刷	93

I . 総合研究報告書

我が国における日本脳炎の現状と今後の予防戦略に関する研究

研究代表者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第1部 室長）

研究要旨：日本脳炎は、2005年5月より予防接種の積極的勧奨が中止されている。日本脳炎ワクチンが定期接種からはずれたわけではないが、就学時前の小児の予防接種率は極端に低下している。このような状況下で日本脳炎の現状を解明することが、本研究班の目標である。我が国の日本脳炎ウイルスによる自然感染率を明らかにするため、抗日本脳炎ウイルス NS1 抗体 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) 法を確立したが、1歳未満の乳児における非特異反応を防止するためさらに改良を加え、NS1 抗原（非構造たん白抗原）の精製度を高めることにより、ヒト血清中のウシ血清アルブミン（BSA）に対する抗体の影響を受けにくくした。また、勧奨中止により非接種者数が増加したことから、中和抗体陽性率から年間自然感染率を推定した。この方法により、9歳以下の集団を対象にした場合、熊本県及び東京都では共に2.6%と推定された。一方、改良 NS1 抗体検出 ELISA により計算された年間自然感染率は、熊本県で1.8%、東京都で1.3%であった。また、岡山県の調査では、2009年も都市部と農村部を比較したが、3歳未満で抗体陽性者はおらず、3歳以降の未接種者では4-8%の不顕性感染者があったが農村部と都市部で有意差はなかった。本 NS1 抗体検査法を大阪府公衆衛生研究所に技術移転し、今後の普及に際しての障害・問題点を検討した。作成したプロトコルは技術移転に有用であることが確認された。また、日本脳炎 IgM 抗体捕捉 ELISA 法に関してその標準化を行った結果、長崎県における日本脳炎患者診断に寄与した。

2010年高知県の小児例は、高知県東部に位置する T 町に在住の日本脳炎の予防接種歴のない1歳6カ月女児であった。患児の家の近所に養豚業者がで、よく蚊に刺されていたという。日本脳炎ワクチン第一期の標準的な接種年齢は3歳であるが、居住地域や住環境によっては生後6カ月以降3歳未満でのワクチン接種を考慮すべきであることが示唆された。また、日本脳炎および細胞培養日本脳炎ワクチンに対する高知県の保護者の意識調査を実施したところ、日本脳炎の病像やベクターに対する理解は比較的正確であったが、新しいワクチンの存在については73%が知らず、公費で受けられることも広く知られていなかった。今後、積極的な広報活動がなければ、2005年以來の日本脳炎感受性者増加にはストップがかけられないことが示唆された。

一方、熊本県（1994年以降）および東京都（2004年から2009年）で保存されていた原因不明の無菌性髄膜炎・脳炎患者髄液から JEV 遺伝子の検出および抗日本脳炎 IgM 検査を行ったところ、遺伝子検査はすべて陰性であったが、熊本県では髄液中の IgM 抗体が3検体において陽性であった。

日本脳炎症例の血清診断に関しては、 γ -グロブリンの投与のあった急性脳炎症例2例を経験した。このような急性脳炎症例で日本脳炎抗体上昇が低い場合、 γ -グロブリン投与による影響を考えなければならない。このような症例で血清診断困難な場合は、髄液中の日本脳炎特異的 IgM 抗体を検出することで診断が確定するので、急性脳炎患者髄液の保存は極めて有用である。

石川県におけるウイルス媒介野外蚊からの JEV の分離を定点（3地点）、定時期（8月末）に行ったが、2009年の結果として RT-PCR 陽性サンプルは例年並みに5件あったが、ウイルス分離されなかったが、2010年には2株分離された。Ishikawa-K05株と JaGAr01株（遺伝子タイプ3型）との生物活性の比較では、細胞における増殖性は JaGAr01株が高いが、マウスに対する病原性では Ishikawa-K05株の方が毒性は若干高かった。

増幅動物に関しては、平成20年12月に兵庫県西宮市のイノシシから分離された。日本脳炎ウイルスに対して、現行の日本脳炎不活化ワクチンは有効であることが確認された。感染源調査では広島県で1株、静岡県で1株、熊本県で5株が分離された。また、長崎県ではブタから2株、コガタ

アカイエカから1株が分離された。沖縄県の感染源調査では、近年抗体上昇の時期が遅れ2008-09年は50%以上陽性を示す時期は7月中旬以降であった。現在の8月までの調査期間の見直しが必要と考えられた。また、2003年に日本脳炎で死亡した馬からの分離株および北海道で分離されたウイルス3株の遺伝子配列を決定した。動物の日本脳炎ウイルス感染状況としては、国内の室外飼育犬で45%、室内犬で8%であり、四国・九州で有意に高く東北地方は9%、北海道は0%であった。H22年度には、高い抗体陽性率を示した犬に関して、日本脳炎ウイルスを犬に感染させ、病原性・抗体上昇・ウイルス血症の有無を調べた。その結果、犬において日本脳炎ウイルス感染が成立するが発病せず、ウイルス血症も起こさないことが示された。このことは、犬は都市部や室内における日本脳炎ウイルス媒介蚊の存在を知るための安全で優れた指標となることが分かった。日本脳炎抗体を保有している野生動物としては、コウモリ、シカ、イノシシ、アナグマ、イタチ、テンが確認された。特にシカの抗体保有率は94%であった。

インドシナ半島北部のJEVが、比較的頻繁にかつ高速に東に向かって移動しており、日本列島に飛来する可能性とともに、インドシナ半島南部に土着し中国方向に転進しないJEVグループが存在することが明らかになった。しかし日本脳炎ウイルスの移動ルートとして、いまだ数千人単位の日脳患者が発生している中国から頻繁に日本脳炎ウイルスが日本本土に飛来していることが明らかになってきた。そこで長崎県では、日本脳炎ウイルスが飛来する場合もっとも早く到達すると考えられる1つの場所として長崎県五島列島における日本脳炎ウイルスの採取と解析を重点的に継続実施するとともに五島列島を含む長崎県全域のブタおよび野生イノシシの血清疫学調査を実施し野生イノシシにおける抗体陽性率を調査した。

分担研究者：

倉根一郎（国立感染症研究所 副所長）
小西英二（神戸大学医学部医療基礎学講座 准教授）
脇口 宏（高知大学医学部小児思春期学講座 教授）
寺田喜平（川崎医科大学小児科学講座教授）
森田公一（長崎大学熱帯医学研究所教授）
竹上 勉（金沢医大・総合医学研究所 教授）
玉那覇康二（沖縄県衛生環境研究所班長）
多屋馨子（国立感染症研究所感染症情報センター 室長）
原田誠也（熊本県保健環境科学研究所 研究参事）
田部井由紀子（東京都健康安全研究センター 主任研究員）
前田 健（山口大学農学部・獣医ウイルス学 教授）

A. 研究目的

日本脳炎は、2005年5月より予防接種の積極的勧奨が中止されている。日本脳炎ワクチンが定期接種からはずれたわけではな

いが、就学時前の小児の予防接種率は極端に低下している。このような状況下で日本脳炎の現状を解明することが、本研究班の目標である。具体的には①我が国における日本脳炎の自然感染率、不顕性感染率を調査し、発症率を解析する。②急性ウイルス性脳炎における日本脳炎に関する検査の実施及び発症時の病態（髄膜炎、脊髄炎、熱発）等を明らかにし、サーベイランス法を見直す。③ブタ以外の日本脳炎ウイルス増幅動物の検討、伴侶動物および野生動物の感染状況の調査、国内で活動する日本脳炎ウイルスの病原性をウイルス学的に解析する。

B. 研究方法

1. 日本脳炎ウイルス自然感染率の解明

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

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

熊本県における調査対象

2004 年～2008 年に、採取したヒト血清 1190 検体について NS1 抗体を測定した。中和抗体は、2005 年の 225 検体及び 2009 年の 276 検体について、50%プラーク減少法で、JEV に対する中和抗体を測定した。無菌性髄膜炎や脳炎等で検査依頼があり、凍結保存されていた 1994 年以降の原因の特定されなかった 195 検体（髄液）について、リアルタイム RT-PCR (TaqMan) 法により JEV 遺伝子の検出を行った。

東京都における調査対象

調査対象は、2004 年から 2009 年の 6 月から 11 月に感染症発生動向調査事業により病原体検索を目的として東京都内の病院より搬入された脳炎・脳症および髄膜炎等患者の髄液 681 件（2004 年 100 件、2005 年 107 件、2006 年 104 件、2007 年 127 件、2008 年 118 件および 2009 年 125 件）リアルタイム RT-PCR 法により JEV 遺伝子の検出を行った。

(倫理面への配慮)

本研究におけるヒト血清の使用は、各施設倫理委員会において承認された。

岡山県における調査対象および抗日本脳炎ウイルス抗体検査

川崎医大倫理委員会の承諾を得て、県南部にある川崎医大（川崎）と、県北部にある津山中央病院（津山）において、2008 年 5～10 月頃と 2009 年 5～10 月頃の患者残血清を頂き、日本脳炎ウイルス抗体（HI 法）を測定した。ワクチン接種歴を母子手帳あるいは予防接種手帳によって確認した。

2. 国内で活動する日本脳炎ウイルス

(JEV) について

蚊の調査

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

ブタの調査

(1) ウイルス分離

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

(2) オトリ豚の設置と抗体検査

調査開始前に JEV 未感染を確認した仔豚（生後 5 週齢）4 頭について平成 21 年 9 月～10 月まで経時的（毎週 1 回）に採血して得られた血漿中の抗 JEV 抗体価（IgG, IgM）を ELISA 法あるいは HI 試験により行った。血清は 1:10 から 1:5120 まで 2 倍階段希釈し、HI 抗体価が 1:40 以上を示した検体は 2-メルカプトエタノール (2-ME) で処理し、2-ME 感受性抗体 (IgM 抗体) の検出を行った。

ブタ以外の動物の調査

イヌの血清：2006 年から 2007 年にかけて全国の動物病院に来院した飼育犬合計 652 頭から血液を採取し血清を回収した。また沖縄県衛生環境研究所より沖縄本島北部の動物病院で集められたイヌ血清 72 検体用いた。

ユビナガコウモリの血清：2009 年 5 月に和歌山県田辺市導水路にて、和歌山県知事の許可を得て 50 頭のユビナガコウモリを捕獲し、血清を回収した。

野生動物の血清：有害鳥獣、錯誤捕獲、交通事故等で得られた野生動物から血清を回収した。2008 年から 2009 年にかけて捕獲した血清を調査した。すべての血清は 56°C で 30 分非働化した後ウイルス中和試験に供試した。

イノシシからのウイルス分離の解析

2008年12月12日に兵庫県西宮市甲陽園目神山町で捕獲されたイノシシから分離された日本脳炎ウイルス JaNBo37 株を用いた。日本脳炎ウイルス用のプライマーを用いてダイレクトシーケンス法により、ABI prism Avant 7100(ABI 社)によりウイルス遺伝子の塩基配列を決定し、ブタからの分離ウイルスと比較した。また、細胞培養日本脳炎不活化ワクチンを4倍、8倍、16倍、32倍希釈し、それぞれ0.5mLを4週令の一群10匹のマウス(DDY)に1週間隔で腹腔内投与により2回免疫したマウスの血清を用いて、チャレンジウイルスをBeijin-1株およびJaNBo37株にてブランク減少法により中和能を解析した。

3. 日本脳炎ウイルスの病原性について

近年日本国内で活動する JEV の病原性が低いのではないかという議論がある。そのため3テーマで病原性に関する研究を実施した。

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

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

(3) 日本脳炎ウイルスゲノム3'非翻訳領域内可変領域の解析

JEVの変異体は、以前に構築した感染性分子クローン(rJEV(Mie/41/2002)/pMW

119)を用いて変異体は計5種類(d5、d9、d5d9、d27、13a)の変異体を作製した。これらの変異体の株化細胞でのウイルス増殖能を検討した。

(4)日本脳炎ウイルスレポーターレプリコンの構築

基礎ウイルス学的解析や抗ウイルス剤スクリーニングに有用とされる非感染性自立的複製ゲノム(レプリコン)を日本脳炎ウイルスおよびデング1型ウイルスについて作製した。

4. 日本脳炎患者の実験室診断および臨床症例

日本脳炎の疑われる急性脳炎患者、髄膜炎患者の血清中、髄液中の日本脳炎ウイルス特異的IgM抗体を、IgM抗体捕捉ELISA法により測定した。また、γ-グロブリン製剤の投与された症例では、同一ロットの製剤の日本脳炎抗体価を測定し、抗体価への影響を評価した。

C. 研究結果

NS1抗体測定ELISA法

患者血清中のNS1抗体を測定するELISA法は報告されていたが、非特異反応が高かった。カゼインを用いてブロッキングすることで非特異反応を抑えることに成功した。しかし、ELISAにおいて生じた血清中BSA抗体による擬陽性反応は、ELISA希釈液にBSAを用いずにカゼインを用いることによる問題点が生じた。解決策として、NS1抗原中のBSA量をさらに低下させ、抗原非感作ウエルに、NS1抗原に混入したBSA量と同じ量のBSAを感作させ、感作ウエルとの吸光度の差を求める方法で擬陽性反応を抑えた。

年間の自然感染率＝

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

で昨年同様算出した。

熊本県における日本脳炎 NS1 抗体の保有状況と自然感染率

2004～2008年に収集された熊本県住民の血清1190検体の、各年度のNS1抗体陽性率を年齢群別に求めた。全体の陽性率としては、7.6%(1190検体中90検体)であった。年齢の上昇と共にNS1抗体陽性率は上昇した。NS1抗体保持期間を4.2年として、年間自然感染率を求めると、2004～

2008年の平均年間自然感染率は、男で1.9%、女で1.7%、全体で1.8%であり、有意な男女差は無かった。2005年～2007年の年間自然感染率は、2004年と2008年より有意に高かった。0～9歳のワクチン非接種者145名の中で、中和抗体陽性者は15名(10.3%)であった。ワクチン非接種者であるので、中和抗体の存在は自然感染の既往を示す。145名の平均生存期間は4.0年であったので年間自然感染率は2.6%(10.3/4.0)と計算された。同様の方法で、男の年間自然感染率は2.4%、女は2.9%と計算された。

無菌性髄膜炎や脳炎等で検査依頼があり、原因不明のまま凍結保存されていた1994年以降の髄液225検体について、リアルタイムPCR法によるJEV遺伝子検査とともに、Focus社製Anti-human IgM plateを反応プレート、Beijing 1株を抗原としたIgM Capture ELISA法(感染研变法)によるJEV-IgM抗体検査を行った

2010年に採取したヒト血清269検体のJEV中和抗体を、プラーク減少法(プラーク法)とフォーカス減少法(フォーカス法)を併用して測定し、両法の比較検討を行った。

東京都における日本脳炎 NS1 抗体の保有状況と自然感染率

2004～2006年に収集された熊本県住民の血清955検体のうち578検体をNS1抗体試験に供した。全体の陽性率は5.5%(578検体中32検体)で、NS1抗体陽性率は年齢の上昇と共に上昇する傾向にあった。NS1抗体陽性率から計算された平均年間自然感染率は、男で1.0%、女で1.6%、全体で1.3%であり、有意な男女差は無かった。男の2004年の年間自然感染率は2006年より高かったが、それ以外の年度間の違いは認められなかった。0～9歳のワクチン非接種者の中和抗体陽性率から年間自然感染率を計算した。その結果、男で3.2%、女で1.5%、全体で2.6%であった。

脳炎・脳症および髄膜炎等患者の髄液681件についてJEV遺伝子検出を実施したがいずれも陰性であった。

岡山県における小児の日本脳炎抗体保有率

2009年も都市部と農村部を比較したが、3歳未満で抗体陽性者はおらず、3歳以降の未接種者では4～8%の不顕性感染者があったが農村部と都市部で有意差はなかった。

小児日本脳炎例の詳細

(2009年)

高知県の症例は、高知県東部に位置するT町に在住の日本脳炎の予防接種歴のない1歳6カ月女児であった。患児の家の近所に養豚業者ができ、よく蚊に刺されていたという。髄液単純ヘルペスウイルスDNA-PCRは陰性であった。8月27日(第9病日)の頭部MRI拡散強調画像で大脳前頭葉皮質に高信号域を認めた。本症例は後遺症を残さず回復した。

熊本県の症例はワクチン未接種の男児(7歳10ヶ月)で、髄膜炎症状を呈し、脳炎までは至らずに回復した。発病日は8月6日であり、注意報発令日より、20日以上も前であった。

(2010年)

症例は6歳、女児。主訴は発熱と右上下肢の麻痺であった。現病歴は9月4日から発熱。翌日も39度台の発熱あり。軽度の頭痛に加え、ズボンが上げられない、フォークがうまく持てないなどの訴えがあったが、ふざけているかと思いついて経過観察していた。9月6日明け方にトイレに行った際に、「ティッシュが巻けない」と訴え、家族は右上肢がうまく使えていないことに気づき、救急外来を受診した。幼稚園通園中。自宅は山口市内中心部。日本脳炎ワクチンの接種歴はなかった。

γ-グロブリンの投与のあった急性脳炎症例2例

(症例1)患者は6歳女児、2008年11月3日に嘔吐・下痢で発病し、11月10日に痙攣等神経症状を呈し、反応が低下し救急搬送後入院となった。意識障害が持続し急性脳症として治療開始、11月11日から13日まで3日間γ-グロブリン計7.5gが投与された。中和抗体が<10xから40倍に上昇し、IgG抗体は陽性となった発病約半年後の2009年5月27日の血清では、中和抗体およびIgG抗体、IgM抗体いずれもが陰性となった。本症例に関して日本脳炎は否定さ

れ、日本脳炎抗体陽性の γ -グロブリン投与による抗体上昇と考えられた。本症例に投与された γ -グロブリン製剤の同一ロットは、IgG 抗体価 1280 倍以上、中和抗体価 640 倍であった。

(症例 2) 2008 年 5 月下旬に発病し、8 月に日本脳炎抗体 (HI および CF) 上昇を確認した。 γ -グロブリン投与前は CF 法にて 4 倍が 8 月には 16 倍となった。5 月 29 日から 7 月 23 日まで 6 回にわたり経時的に保存されていた髄液に関してウイルス遺伝子検査 (リアルタイム RT-PCR 法) は陰性であったが、日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体が 5 月 29 日から 6 月 19 日までが陽性であり、6 月 27 日の髄液で陰性となった。髄液中の日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体陽性は、日本脳炎ウイルスの中樞神経系における増殖を意味することから日本脳炎と結論された。なお、本症例に投与された γ -グロブリン製剤の同一ロットの日本脳炎抗体価は、IgG 抗体価 640 倍、中和抗体価 160 倍であった。

東南アジアと日本の日本脳炎ウイルス分子疫学解析

インドシナ半島北部の JEV が、比較的頻繁にかつ高速に東に向かって移動しており、日本列島に飛来する可能性とともに、インドシナ半島南部に土着し中国方向に転進しない JEV グループが存在することが明らかになった。

長崎県五島列島の蚊から分離された日本脳炎ウイルス (JEV)

124 プール中の *Culex tritaeniorhynchus* の 1 プールから 1 株のみ JEV ウイルス株 (JaNAr01G-09) が分離された。

コガタアカイエカの遺伝子的分類

日本脳炎ウイルスを媒介する蚊については、ミトコンドリア遺伝子の COI 遺伝子を決定することに成功した。コガタアカイエカの COI 領域の全長配列は、GenBank にも登録されておらず今回初めて明らかにすることができた。日本に生息するコガタアカイエカと南アジア地域に広く分布するコガタアカイエカには、COI 配列に違いが存在し、COI 遺伝子を用いることで海外のコ

ガタアカイエカと日本国内のコガタアカイエカを正確に分類することが可能となった。

沖縄島において 1985~2009 年に実施された日本脳炎ウイルス感染源調査の傾向

沖縄島の感染源調査では、近年抗体上昇の時期が遅れ 2008-09 年は 50%以上陽性を示す時期は 7 月中旬以降となっている。

日本イノシシから分離した日本脳炎ウイルスの解析

平成 20 年 12 月上旬に、兵庫県西宮市で捕獲されたイノシシの血液から日本脳炎ウイルスが分離されたウイルス (JaNBo37) は、2008-09 年のブタからの分離株と比較すると E 領域 142 番目のアミノ酸が、セリンであり他のブタ由来の株ではフェニルアラニンであったところが異なっていた。また、日本脳炎ウイルスで遺伝子欠損がよく認められる 3'NCR の領域については、上流域の近い部位に欠損が存在したが、ブタからの分離株では、22-30 番目の 9 塩基が欠損していたが、JaNBo37 株では 31-37 番目の異なる部位の 7 塩基が欠損していた。免疫学的解析を行った結果、現行細胞培養日本脳炎ワクチン (北京株) により免疫されたマウスの血清は、JaNBo37 株に対して感染防御効果としては十分な力価を示した

動物の日本脳炎ウイルス感染状況

動物の日本脳炎ウイルス感染状況としては、国内の室外飼育犬で 45%、室内犬で 8% であり、四国・九州で有意に高く東北地方は 9%、北海道は 0% であった。日本脳炎抗体を保有している野生動物としては、コウモリ、シカ、イノシシ、アナグマ、イタチ、テンが確認された。シカの抗体保有率は 94% であった。

ブタ用弱毒生ワクチン株の解析

ワクチン株 3 種と親株 2 種の全塩基配列を決定した。それぞれ、変異部位は異なり、一定の頻度で常に変異を繰り返していることが示唆された。また、北海道で 1980 年代後半に分離されたウイルスの遺伝子配列を決定した。いずれも遺伝子型 3 型であった。

日本脳炎ウイルスの 3'NCR 領域の遺伝子欠損に関する解析

近年分離される日本脳炎ウイルスの大部分は、遺伝子 1 型ウイルスであり、その多くが 3'NTR に遺伝子欠損を昨年度は確認した。感染性クローンを用いてその欠損を作製した組換え日本脳炎ウイルスを作成し、細胞での増殖を検討した結果、神経細胞での増殖能低下およびマウスの病原性が低下することが示唆された。

日本脳炎ウイルスレポーターレプリコンの構築

基礎ウイルス学的解析や抗ウイルス剤スクリーニングに有用とされる非感染性自立的複製ゲノム（レプリコン）を日本脳炎ウイルスおよびデング 1 型ウイルスについて作製した。その際、レプリコンの複製を簡便かつ高感度に検出するためのレポーター遺伝子（ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子）をウイルス構造遺伝子領域に置換挿入した。デング 1 型ウイルスレプリコンの複製が確認できなかったものの、日本脳炎ウイルスレプリコンでは確認された。またこのレプリコンの複製はリバビリンにより阻害された。一層の改良の余地はあるものの、今回作製した日本脳炎ウイルスレポーターレプリコンが活用可能であることが示された。

石川県の日本脳炎分離株の病原性

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

D. 考察

熊本県、東京都の日本脳炎 NS1 抗体検査の結果からは、どちらにおいても自然感染が存在することが確認された。NS1 抗体 ELISA 法がさらに改良され、本年度はさらに中和抗体からも自然感染率を推計したところ東京都、熊本県で 1.3%~2.6%であった。ヒトの年間自然感染率は日本脳炎ウイルスの自然界での活動を証明した。岡山県

の調査でも、3 歳以降の未接種者では 4-8%の不顕性感染者があった。さらにイヌの抗体陽性率が 25%であり四国では 61%であったことから、ヒトへの感染リスクが存在することが裏付けられた。

また、コウモリ、アナグマ、イタチ、テン、シカなどの野生動物でも日本脳炎抗体が陽性であり、シカでは 94%の抗体保有率であり、JEV 感染が野生動物でもかなり発生していると考えられ、ウイルスの越冬と関係する可能性が示唆された。また、兵庫県で 12 月に捕獲されたイノシシから分離されたウイルスは遺伝子型 1 型ウイルスであるが、ブタから分離されたウイルスとは、遺伝子配列が異なる部分も存在した。一方、遺伝子 3 型ウイルスで造られた日脳ワクチンで防御され、製造株を変更の必要性はないことが確認された。

日本脳炎ウイルスの性状解析に関しては、3'NTR 領域の欠損に関して、その生物学的意義の解明は、日本脳炎ウイルスの活動の抑制に結びつく可能性もある。また、日本脳炎ウイルス感染細胞の遺伝子発現量の解析は、今後ウイルスの病原性に結びつく可能性もある。また、家畜のワクチン株の性状解析によるウイルス弱毒化機構の解明も重要である。

高知県で発生した 1 歳 6 ヶ月の日本脳炎症例が発生したことから、定期接種第一期の標準的年齢は 3 歳であるが、侵淫地域では 1 歳過ぎからのワクチン接種も推薦されるべきと考えられる。熊本県の症例はワクチン未接種の男児（7 歳 10 ヶ月）で発病日は 8 月 6 日であり、注意報発令日より、20 日以上も前であったことから、注意報の発令基準の見直しも必要かもしれない。

また、 γ -グロブリンの投与のあった急性脳炎症例で日本脳炎抗体上昇が低い場合、 γ -グロブリン投与による影響を考えなければならない。このような場合、髄液中の日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体陽性は、日本脳炎ウイルスの中樞神経系における増殖により誘導されるものであり、実験室診断として非常に重要である。東京都と熊本県で病因の特定されなかった検体についてウイルス遺伝子検出を実施したが、いずれも陰性であったが、日本脳炎の患者の髄液からウイルス遺伝子を検出できるのは脳炎

発症後、1-2日以内であることから、本検体に関しても日本脳炎特異的IgM抗体を検査する必要があり、次年度実施する予定である。

E. 結論

1. 抗NS1抗体ELISA法をさらに改良し乳児のBSA抗体による非特異反応を抑えた。地方衛生研究所への小規模の予備的技術移転は首尾よく受け入れられ、プロトコルの有用性が示された。
2. 熊本県、東京都の健常人からNS1抗体(1.3~1.8%)が検出された。ワクチン未接種者の2.6%に中和抗体が確認された。
3. 兵庫県西宮市のイノシシから分離された日本脳炎ウイルス(JaNB037株)は、現行ワクチンにより防御される可能性が高い。
4. 日本脳炎抗体は飼い犬で25%であった。室外犬では45%であった。
5. 蚊から分離された日本脳炎ウイルスの遺伝子解析の結果、東南アジアから日本列島に飛来する可能性がある。しかし、インドシナ半島南部には中国方向に移動しないウイルス株も存在する。
6. γ -グロブリンの投与のあった急性脳炎症例で日本脳炎抗体上昇が低い場合、 γ -グロブリン投与による影響を考えなければならない。
7. 日本脳炎の診断には、髄液中のIgM抗体検査が重要である。
8. 日本脳炎ウイルス3'非翻訳領域内可変領域に変異を有する組換えウイルスを作製し、その増殖性および病原性を解析してきた。その結果、野外で観察される欠失がウイルス性状に及ぼす影響はさほど大きくない推測された。
9. 日本脳炎ウイルスレポーターレプリコンの構築に成功したが、今後更なる改良が必要である。

F. 健康危険情報

H22年、韓国で日本脳炎患者が24例と急増した。

G. 研究発表

1. 論文発表

Tomohiro Ishikawa, Douglas G. Widman, Nigel Bourne, Eiji Konishi, Peter W. Mason: Construction and evaluation of a chimeric pseudoinfectious virus vaccine to prevent Japanese encephalitis. *Vaccine* 26, 2772-2781, 2008.

Teiichi Matsunaga, Mizue Shoda, Eiji Konishi: Japanese encephalitis remains common in Japan. *Pediatric Infectious Disease Journal* 27, 769-770, 2008.

Eiji Konishi, Kyoko Yagawa, Atsushi Yamanaka: Vero Cells Infected with Vaccinia Viruses Expressing Japanese Encephalitis Virus Envelope Protein Induce Polykaryocyte Formation under Neutral Conditions. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 61, 410-411, 2008.

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

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

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 May;80(5):856-61.

Konishi E, Kitai Y.: Detection by ELISA of antibodies to Japanese encephalitis virus nonstructural 1 protein induced in subclinically infected humans. *Vaccine.* 2009 Nov 23;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 Nov 23;27(50):7129-30.

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;63:58-60.

Eiji Konishi, Yoko Kitai, Yukiko Tabei, Kouichi Nishimura, Seiya Harada: Natural Japanese encephalitis virus infection among humans in west and east Japan shows the need to continue a vaccination program. *Vaccine*. 28, 2664-2670, 2010

Yoko Kitai, Takashi Kondo, Eiji Konishi: Complement-dependent cytotoxicity assay for differentiating West Nile virus from Japanese encephalitis virus infections in horses. *Clinical and Vaccine Immunology* 17, 875-878, 2010

Eiji Konishi, Yoko Kitai, Kouichi Nishimura, Seiya Harada: Antibodies to bovine serum albumin in human sera: problems and solutions with casein-based ELISA in the detection of natural Japanese encephalitis virus infections. *Jpn J Infect Dis*. 63, 296-298, 2010

Jun-ichi Imoto, Tomohiro Ishikawa, Atsushi Yamanaka, Misako Konishi, Kenji Murakami, Tomoyuki Shibahara, Masanori Kubo, Chang Kweng Lim, Masataka Hamano, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Haruhide Udagawa, Yoshihiro Mukuta, Eiji Konishi: Needle-free jet injection of Japanese encephalitis DNA and inactivated vaccine mixture induces neutralizing antibodies in miniature pigs and protects against fetal death and mummification in pregnant sows. *Vaccine*. 28, 7373-7380, 2010

Tomohiro Ishikawa, Eiji Konishi: Combating Japanese encephalitis: Vero-cell derived inactivated vaccines and the situation in Japan. *Future Virol*. 5, 785-799, 2010

Yoko Kitai, Takashi Kondo and Eiji Konishi: Non-structural protein 1 (NS1)

antibody-based assays to differentiate West Nile (WN) virus from Japanese encephalitis virus infections in horses: Effects of WN virus NS1 antibodies induced by inactivated WN vaccine. *J Virol Meth*. 171, 123-128, 2011

Takasaki, T., Kotaki, A., Lim, C.-K., Tajima, S., Ohmatsu, T., Moi, M.-L., and Kurane, I. Arbovirus infections: the challenges of controlling an ever-present enemy. *J. Disaster Res*. 4: 322-328, 2009.

Tajima, S., Nerome, R., Nukui, Y., Kato, F., Takasaki, T., and Kurane, I. A single mutation in the Japanese encephalitis virus E protein (S123R) increases its growth rate in mouse neuroblastoma cells and its pathogenicity in mice. *Virology*, 396: 298-304, 2010.

Tajima, S., Takasaki, T., and Kurane, I. Restoration of replication-defective dengue type 1 virus bearing mutations in the N-terminal cytoplasmic portion of NS4A by the additional mutations in the NS4B. *Archives of Virology* 156: 63-69, 2011.

Tajima, S., Nerome, R., Nukui, Y., Kato, F., Takasaki, T., and Kurane, I. A single mutation in the Japanese encephalitis virus E protein (S123R) increases its growth rate in mouse neuroblastoma cells and its pathogenicity in mice. *Virology*, 396: 298-304, 2010.

田部井由紀子,岩崎則子,岡崎輝江,長谷川道弥,保坂三継,甲斐明美,小西英二: 東京都民における日本脳炎ウイルスの NS1 抗体保有状況. 病原微生物検出情報,30(6), 154-155,2009.

寺田喜平. 日本脳炎. 小児内科 40 増刊 1188-1190, 2008

Nidaira, M., Taira, K., Okano, S., Shinzato, T., Morikawa, T., Tokumine, M., Asato, Y., Tada, Y., Miyagi, K., Matsuda, S., Itokazu, K., Kudaka, J.,

Nakamura, M., Tamanaha, K. Survey of Japanese Encephalitis Virus in Pigs on Miyako, Ishigaki, Kume, and Yonaguni Islands in Okinawa, Japan. *Jp. J. Infect. Dis.*, 62, 220-224, 2009

仁平稔、平良勝也、岡野祥、松田聖子、糸数清正、久高潤、中村正治、玉那覇康二、宮城国太郎、多田雪宏。沖縄県石垣島のブタからの日本脳炎ウイルス抗体および遺伝子型Ⅲ型の日本脳炎ウイルス遺伝子の検出。病原微生物検出情報(IASR), 30, 9-10, 2009

Ohno Y, Sato H, Suzuki K, Yokoyama M, Uni S, Shibasaki T, Sashika M, Inokuma H, Kai K, Maeda K*. Detection of antibodies against Japanese encephalitis virus in raccoons, raccoon dogs and wild boars in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* 2009. 71(8):1035-1039.

Shimoda H, Ohno Y, Mochizuki M, Okuda M, Iwata H, Maeda K*. Dogs as sentinels for human infection with Japanese encephalitis virus. *Emerging Infectious Diseases*. 2010 Jul;16(7):1137-1139.

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* 10(2): 143-150, 2010

Nabeshima T and Morita K. Phylogeographic analysis of the migration of Japanese encephalitis virus in Asia. *Future Virology*. 5:343-351. 2010

Evidence of frequent introductions of Japanese encephalitis virus from south-east Asia and continental east Asia to Japan. Takeshi Nabeshima, Hyunh Thi Kim Loan, Shingo Inoue, Makoto Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta, Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huoung, Maria del Carmen Parquet, Futoshi Hasebe, and

Kouichi Morita. *J Gen Virol*. Vol.90: 827-832. 2009

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

前田明彦、脇口 宏：特集 新時代のワクチン戦略について考える 各論 1. 勧奨接種のワクチン—現行ワクチンの問題点と将来に向けて 2) 日本脳炎. *臨床検査* 54: 1882-1367, 2010

2. 学会発表

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

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

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

Atsushi Yamanaka, Yohei Sakai, Eiji Konishi: High prevalence of antibodies to Japanese encephalitis virus among inhabitants in Java Island, Indonesia, relative to a small pig population. The Forum of the Network of Research Centers on Infectious Diseases Conference. Hanoi, Vietnam, October, 2008

Morita K.; Arbovirus situation in Vietnam. Third AREVA-Pasteur Forum, "Mosquito and tick-borne viruses and their environment", Shanghai, China June

12-14, 2008

Morita K Isolation and Characterization of B-cell tropic dengue virus from a dengue hemorrhagic fever patient in Vietnam: 1st Philippine International Dengue Symposium, Quezon City, Philippines, 27 September, 2008.

Morita K. Isolation and Characterization of B-cell tropic dengue virus type 2 from a dengue hemorrhagic fever patient. The 3rd Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases, Nagasaki Japan. 10-11 October, 2008.

H. Kinoshita, V.T.Q. Huong, E.G. Mathenge, N.T. Hung, A. Kumatori, S. Inoue, K. Morita and F. Hasebe : CELL TROPISM OF DENGUE VIRUSES: POSSIBLE VIRUS POPULATION SWITCHING BETWEEN PATIENT AND MOSQUITO. The Second International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever - Global Innovation to Fight Dengue. Phuket, Thailand, 2008年10月15-17日 . (Oral Presentation 1: Molecular virology and diagnosis)

Basu Pandey, Ramesh Pun, Om Shah, Krishina Pant, Kouichi Morita, Shingo Inoue, Yae Kurosawa and Ichiro Kurane : EMERGENCE OF DENGUE VIRUS IN TARIA REGION OF NEPAL. The Second International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever -Global Innovation to Fight Dengue. Phuket, Thailand, 2008年10月

Kyaw-Zin Thant, Mya M. Ngwe-Tun, Yee-Yee Lwin, Sanda Lin, Kay-Thi Aye, Pe-Thet Khin, Tin Myint, Khin Htwe, Takeshi Nabeshima, Shingo Inoue, Maria D.C. Parquet and Kouichi Morita : MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF DENGUE VIRUSES CO-CIRCULATING IN UPPER MYANMAR IN THE YEAR 2006. The Second International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever - Global

Innovation to Fight Dengue. Phuket, Thailand, 2008年10月15-17日 .

Fuxun Yu, Futoshi Hasebe, Shingo Inoue, Kouichi Morita : The 3' untranslated rejoin of Japanese encephalitis virus genome inhibits in vitro RNA synthesis of JEV RNA dependent RNA polymerase. 8th Asia Pacific Congress of Medical Virology. Hong Kong, China, February 25-28, 2009

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

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

井上真吾、福家功、石川豊数、Guillermo Posadas Herrera、 Maria del Carmen Parquet、長谷部太、森田公一 : 西ナイルウイルス不活化ワクチンの開発と最小有効投与量の評価. 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市 (琴弾荘)、2008年5月30日-31日

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

左一八、在原雅貴、杉浦信夫、木全弘治、鈴木康夫、森田公一、鈴木隆 : 硫酸化糖鎖分子に対するフラビウイルス結合性の解析 : 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会・香川県観音寺市 (琴弾荘)、2008年5月30日-31日

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

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

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

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

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

長谷部太、Mai Le Thi Quynh、Thuy Nguyen Thi Thu、Thach Nguyen Co、Cuong Vuong Duc、Dinh Bui Thi、Phuong To Thanh、Ba Nguyen Van、井上真吾、余福勲、Thong Vu Dinh、森田公一：ベトナム

に棲息するコウモリにおける新興再興ウイルス感染症の調査。第 56 回日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008 年 10 月 26-28 日

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

久保亨、井上真吾、鍋島武、森田公一：デングウイルスの 4 血清型の全てを同時に検出可能なデングウイルス共通 RT-LAMP 法の確立。第 56 回日本ウイルス学会学術集会・岡山県岡山市、2008 年 10 月 26-28 日

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

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

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

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

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

北井陽子、白藤浩明、金平克史、神尾次彦、

近藤高志、小西英二：日本脳炎ワクチン接種後にウエストナイルウイルス(WNV)を実験感染したウマ血清中のWNV特異NS1抗体測定：ブロッキングELISA法とCDC法の評価。第15回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会。2008年10月

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

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

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

Atsushi Yamanaka, Soegeng Soegijanto, Fedik A. Rantam, Eiji Konishi: A simple method for evaluating dengue vaccine effectiveness using mice. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2008, Hokkaido, Japan, December 2008

Atsushi Yamanaka, Soegeng Soegijanto, Fedik A. Rantam, Aryati, Puspa Wardhani, Helen Susilowati, Eryk Hendrianto, Eiji Konishi: Complement levels control enhancing and neutralizing activities of mouse monoclonal antibodies against dengue viruses. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections-2008, Hokkaido, Japan, December 2008

Peter W. Mason, Douglas Widman, Tomohiro Ishikawa, Nigel Bourne, Ryosuke Suzuki, Evandro Winkelmann, Ilya Frolov, Ricardo Carrion, Eiji Konishi: Engineering third-generation vaccines for West Nile encephalitis, Japanese encephalitis, and dengue. The 1st Pan-American Dengue Research Network Meeting. Recife, Brazil, January 2009

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

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

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

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

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

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

江下優樹、牧野芳大、湯偉峰、青野裕士、高崎智彦、田島茂、高島郁夫、小林陸生、

倉根一郎. アカイエカにおける日本脳炎ウイルスの増殖について. 第43回日本脳炎ウイルス生態学研究会. 2008年5月30-31日(観音寺市)

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

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

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

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

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

Sato T, Fujieda M, Maeda A, Tanaka E, Miyamura, Chikamoto H, Hisano M, Akioka Y, Ishiura Y, Dohno S, Hattori M, Wakiguchi H: Monitoring of Epstein-Barr virus load and killer T cells in renal transplant recipients. The 13th Biennial Conference of the International Association for Research on Epstein-Barr

Virus and Associated Diseases, 2008, 11, 広州, 中華人民共和国.

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

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

多屋馨子. ワークショップ「日本脳炎ワクチンの展望」日本脳炎の国内における疫学. 第12回日本ワクチン学会. 2008
新井 智、多屋馨子、岡部信彦. 家畜用日本脳炎生ワクチン株に認められたアミノ酸変異. 第12回日本ワクチン学会 2008.
新井 智、多屋馨子、岡部信彦. 日本脳炎生ワクチン株に認められたアミノ酸変異. 日本獣医学会. 2008年10月
村上 学、上村 清、及川陽三郎、太田隆英、石垣靖人、竹上 勉: 石川県での分離 JEV の生物活性 第43回 日本脳炎ウイルス生態学研究会、観音寺 (2008. 5)

竹上 勉、村上 学、佐藤杏子、太田隆英、石垣靖人: 日本脳炎ウイルス感染に伴う宿主遺伝子 発現の網羅的解析、第12回神経ウイルス研究会、屋久島 (2008, 7)

太田隆英、前田雅代、村上 学、竹上 勉、達家雅明: B16メラノーマ細胞の実験転移に対する lapachol の二面的な作用、第67回日本癌学会総会、名古屋 (2008, 10)

竹上 勉、村上 学、佐藤杏子、太田隆英、石垣靖人: 日本脳炎ウイルス感染による宿主遺伝子発現およびmiRNA動態への影響、第15回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、岡山 (2008, 10)

村上 学、佐藤杏子、竹上 勉: 石川県(1998年-2008年)での野外蚊からの日本脳炎ウイルス分離と生物活性、第56回日本ウイルス学会、岡山 (2008, 10)

佐藤杏子、村上 学、竹上 勉：HCV-NS3 発現細胞における宿主遺伝子発現の解析、第 56 回日本ウイルス学会、岡山 (2008, 10)

佐藤杏子、村上 学、太田隆英、石垣靖人、竹上 勉：HCV-NS3 導入による宿主遺伝子の発現誘導、第 31 回日本分子生物学会、神戸、(2008, 12)

加藤文博、田島茂、小滝徹、司馬肇、細野邦昭、高崎智彦、倉根一郎：3'NTR 内に欠失・挿入変異を有する組換え日本脳炎ウイルスの性状解析。第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 (平成 21 年 6 月)

加藤文博、田島茂、小滝徹、司馬肇、細野邦昭、高崎智彦、倉根一郎：3'NTR 内に欠失・挿入変異を有する組換え日本脳炎ウイルスの増殖性および病原性解析。第 57 回日本ウイルス学会学術集会 (平成 21 年 10 月)

田島茂、加藤文博、高崎智彦、倉根一郎：ウイルス性状を左右する日本脳炎ウイルス E 蛋白質上のアミノ酸置換。第 57 回日本ウイルス学会学術集会 (平成 21 年 10 月)

田島茂、高崎智彦、倉根一郎：デング 1 型ウイルス非構造蛋白質 NS4A の N 末端側領域の解析。第 57 回日本ウイルス学会学術集会 (平成 21 年 10 月)

高崎智彦、小滝徹、田島茂、大松勉、林昌宏、倉根一郎：イノシシ末梢血からの日本脳炎ウイルスの分離と性状解析。第 57 回日本ウイルス学会学術集会 (平成 21 年 10 月)

山中敦史、Eryk Hendrianto、Amor P Ginting、Dian Dwi Sary、Soegeng Soegijanto、小西 英二：インドネシアのデング熱・デング出血熱患者における血清中の総補体価 CH50 の測定。第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、2009 年 6 月

北井 陽子、原田誠也、西村浩一、田部井由紀子、小西 英二：NS1 抗体測定による

近年の日本脳炎ウイルス自然感染率の調査。第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、2009 年 6 月

山中敦史、Kris Cahyo Mulyatno、Helen Susilowati、Eryk Hendrianto、Takako Utsumi、Mochamad Amin、Maria Inge Lusida、Soegeng Soegijanto、小西英二：2008 年インドネシアのバリ及び東ジャワ州の飼育ブタを対象とした日本脳炎抗体保有状況調査。第 16 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、2009 年 10 月
小西麻由、小西英二：日本脳炎ウイルス抗体をデングウイルス抗体から識別するブロック ELISA 法の確立。第 57 回日本ウイルス学会学術集会、2009 年 10 月

原田誠也、西村浩一、北井陽子、小西英二、小滝徹、高崎智彦、倉根一郎：熊本 県における日本脳炎ウイルスの疫学調査、第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2009 年 6 月北海道千歳市

田部井由紀子、長谷川道弥、岩崎則子、岡崎輝江、仲真晶子、矢野一好：デング熱診断における NS1 抗原検査の有用性について。地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究部会、2008 年 9 月。

多屋馨子：ワクチンで予防可能疾患：徹底討論 小児ワクチンの現状と課題。第 58 回日本感染症学会東日本地方会学術集会第 56 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会。平成 21 年 10 月。東京

多屋馨子：ワクチン戦略をめぐる諸問題 日本のワクチン戦略。第 57 回日本化学療法学会総会。東京

下田 宙、奥田 優、岩田祐之、望月雅美、前田 健「イヌにおける日本脳炎ウイルス感染状況 (全国調査)」第 44 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、2009 年 6 月 (北海道)

下田 宙、奥田 優、岩田祐之、田丸精治、亀尾由紀、寺田 豊、望月雅美、前田 健「イヌの抗体保有状況から再確認された日本脳炎ウイルスの蔓延」第 46 回山口県獣医