

個体は繁殖休眠であると判定した。同一個体を用いて産卵経験の有無と卵巣の発育状態を調べることによって、産卵経験と繁殖休眠の関係を分析した。

2010年1月から3月中旬にあたかな日を選んで午後1時間のsweeping採集を8回行った。2009年3月中旬から4月には夕方約1時間のsweeping採集を計13日実施した

C. 研究結果

過去2年の調査結果と同様に、2009年も9月中旬から12月までコガタアカイエカの飛来が確認された(図1)。飛来時期と捕獲個体数の時間的推移はこれまでと同様であったが、飛来個体数は非常に少なかった(表1)。捕獲総数は3,441(雌2,774、雄667)で2007年の1/5、2008年の1/8.5で、ピーク時の1時間当たり捕獲個体数は267雌にすぎなかった。経産雌の割合は6.5%で2007、2008年の結果との差は有意ではなかった。休眠率は92.5%で、2008年とは有意差がなく、2007年よりは有意に高い値であった。2008年と2009年の卵巣観察結果を集計して、産卵経験の有無と休眠率の関係を表2に示した。経産雌の休眠率は32%(6/19)で、未経産雌の98%(401/411)よりも高かった。産卵経験がありかつ休眠する個体の割合は、1.4%(6/430)であった。2010年3月、4月の調査で捕獲されたコガタアカイエカは、わずか12雌にすぎず、2007年(11)とほぼ同数、2008年(211個体)と比較して約1/18であった。

D. 考察

コガタアカイエカの飛来時期と飛来個体数の時間的推移が過去の調査結果とほぼ同様であることは、この時期に見られるコガ

タアカイエカの集団飛来が明らかに日長の短日化や気温の低下によって引き起こされる行動であり、季節環境への適応の一側面であることを示唆している。また、飛来個体の90%以上が繁殖休眠の状態にあることから考えて、これらの飛来個体は越冬世代であり、翌春まで越冬場所に潜伏しているものと思われる。越冬場所がどのような場所であるかに関しては現在も不明であり、今後の詳しい調査が必要である。

越冬世代における経産雌の割合は2.6~6.5%であるが、産卵経験のある雌のうち繁殖休眠に入っていた個体は32%にすぎないことがわかった。非休眠個体は冬季に死亡すると考えられるので、この結果は約2/3の経産雌が冬季に死亡することを意味している。日本脳炎ウイルスの蚊体内での越冬可能性を考察するとき一番重要な、産卵経験がありかつ休眠する個体の割合は、1.4%(6/430)であった。これら休眠している経産雌の中に、過去に吸血によってウイルスを取り込んだ個体がどれだけ含まれており、翌春までどの程度生き残るかを今後の調査によって明らかにすることが重要である。

2009年の飛来個体数が過去2年間に比べてかなり少ないという調査結果は、本種の発生量の年変動を考える上で興味深い。調査したシーズンの数が3回と少ないのではっきりした結論は出せないが、秋の飛来個体数が多ければ翌春に現れる雌個体の数も多いという関係があるように思われる。同様の調査をさらに数シーズン継続できれば、冬季の生存率に関してある程度推定できると思われる。

E. 結論

コガタアカイエカの越冬世代成虫は9月

中旬に現われ、10、11月にかけて集団で越冬場所への移動を行うことが確認された。2009年の捕獲総数は少なく2007年の1/5、2008年の1/8.5であった。産卵経験がありかつ休眠する個体の割合は、1.4% (6/430)であった。翌春の捕獲個体数は合計12雌で、2007年と同程度、2008年の1/18であった。

G.研究発表

1. 論文発表

Tsuda, Y. and Kim, K.S. 2010.
 Prediapause migration and overwintering of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) observed in a park in urban Tokyo during 2007 to 2009.
 Med. Entomol. Zool., 61: 69-78.

2. 学会発表

津田良夫, 金京純. 東京都立公園

におけるコガタアカイエカの越冬生態調査 (2009年春と秋の調査結果) 第62回日本衛生動物学会大会、2010.4.2-4、鹿児島市。

津田良夫 都市部におけるコガタアカイエカの休眠前移動と越冬生態. 第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会、2010.5-28-29、東京。

H.知的所有権の取得状況

- 1. 特許取得
なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし

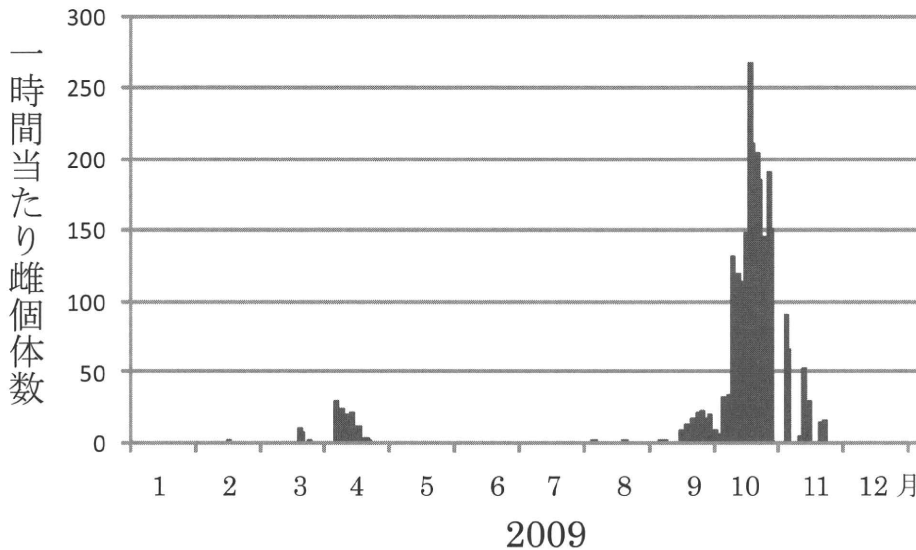


図 1 東京都の公園で捕虫網採集によって捕獲されたコガタアカイエカ雌成虫数の季節変化 (2009年の調査結果)

表 1 2009年9月～12月に飛来したコガタアカイエカ集団の調査結果
(過去2年間の調査結果との比較)

	2007	2008	2009
捕獲総数：雌	14,091	27,471	2,774
雄	2,802	1,717	667
捕獲総数	16,893	29,188	3,441
最高密度/時間	1,062	3,740	267
経産雌率(%)	4.4 (41/936)	2.6 (6/230)	6.5 (13/200)
休眠率(%)	85.7 (120/141)	96.5 (222/230)	92.5 (185/200)
翌春の捕獲個体数	11	211	12

表 2 産卵経験の有無と卵巢発育状態の関係

休眠/非休眠	経産/未經産		総計
	未經産	経産	
休眠(%)	401 (98)	6 (32)	407 (95)
非休眠(%)	10 (2)	13 (68)	23 (5)
合計	411 (100)	19 (100)	430 (100)

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書

野鳥由来蚊媒介性病原体の潜在的な感染経路に関する研究
(公園における鳥マラリア媒介蚊の研究結果からの考察)

研究分担者 津田良夫 国立感染症研究所
研究協力者 金 京純 国立感染症研究所

東京都の都市域にある公園で 2007 年から 2008 年にかけて捕虫網による蚊採集を実施した。その結果、公園内で繁殖している 6 種類、8,939 雌が採集された。これらの採集個体の中から、アカイエカの吸血蚊サンプル 220 個体を分析して、吸血源動物の同定と鳥マラリア原虫の検出を行った。分析したアカイエカ吸血蚊は 1 個体を除き、すべて野鳥から吸血しており、もっとも多く吸血していた鳥種はハシブトガラスで、全体の 64% を占めていた。次に多く吸血していたのは、スズメで 12.7%、ついでシジュウカラが 6.8% で、これら 3 種類で全体の 83.6% に達した。吸血蚊の腹部から鳥マラリア原虫が検出された個体は合計 53 個体で、原虫陽性個体の吸血源となっていた鳥は、ハシブトガラス、スズメ、シジュウカラ、メジロ、シメの 5 種類であった。未吸血個体の鳥マラリア原虫保有率は 33.7% (32/95 プール) であった。今回の分析結果と過去に同様の分析によって得られたヒトスジシマカとヤマトクシヒゲカの結果を総合して、野鳥由来蚊媒介性病原体の潜在的な感染ルートについて考察した。

A. 研究目的

蚊によって媒介される病原体の流行は、媒介能力を有する蚊が生息していなければ起こらない。また、媒介蚊が生息している地域であっても病原体が持ち込まれない限り流行することはない。媒介蚊の生息地域に蚊媒介性の病原体が持ち込まれていない状況下であっても、蚊媒介性病原体が持ち込まれた場合を想定して、どこで、どの程度の流行が起こるかを予測すること(蚊媒介性感染症のリスク評価)はある程度可能である。この蚊媒介性感染症のリスク評価に重要な情報としては、媒介蚊の生息密度、

野外での生存率、成虫の空間分布、ヒトとの接触頻度などが挙げられる。これら媒介蚊集団の性質をばらばらに推定することは可能であるが、集団全体として病原体を伝播できる状態にあるかどうかを評価するのは簡単ではない。例えば生息密度や生存率を調べることはできるが、調査でわかった生息密度や生存率が病原体を伝播するのに十分なレベルに達しているかどうかを判断するには別の情報が必要であり、それを知ることができれば、より信頼度の高いリスク評価が可能になる。

蚊によって媒介される病原体には、人は

感染せず野生動物と蚊の間だけで感染環が成立しているものが知られており、鳥マラリア原虫は野鳥と蚊の間で維持されている蚊媒介性の病原体である。人には感染しない蚊媒介性病原体ではあるが、鳥マラリア原虫の流行が起きているという事実は、媒介に関わっている蚊の密度や生存率が鳥マラリア原虫を伝播するのに十分なレベルにあることを示している。したがって野鳥類の鳥マラリア媒介蚊に関する生態学的な研究からは、人が感染する可能性のある未知の野鳥由来病原体の流行を予測する上で有用な情報を得ることができる。特に、野鳥が持っている病原体を吸血によって蚊が受け取り、それを別の動物に伝播していく道筋にどのような経路が考えられるかを知る上で、貴重な情報を提供できるからである。野鳥を吸血する蚊の種類や媒介蚊が吸血する野鳥や動物の種類、好んで吸血する野鳥や動物の種類、ヒトから吸血する割合などの情報に基づいて、未知の野鳥由来病原体が持ち込まれた際の感染ルートにある程度推測することは可能である。

本研究ではこのような考えに基づいて、東京都内の公園に生息する野鳥と蚊の間で鳥マラリア原虫がどのように維持されているのかを明らかにすることによって、都市部における野鳥由来蚊媒介性病原体の潜在的な感染ルートに関して考察を行った。

B.研究方法

都立林試の森公園において、2007年から2008年に捕虫網で採集されたアカイエカの成虫サンプルを分析した。成虫採集は、林試の森公園の南に位置する採集場所で日出から約1時間、シャガやヤブランなどの林床植物上で休息している蚊を捕獲した。捕

獲された成虫には、吸血して未消化の動物血液を保持している個体（吸血蚊）と保持していない個体（未吸血蚊）が含まれていた。吸血蚊は1個体ごとに、吸血源動物の同定と鳥マラリア原虫の有無をPCR法によって調べた。吸血蚊からの鳥マラリア原虫の検出は、1個体を胸部と腹部の2つに分けて行い、未吸血蚊の場合は1~10個体をプールして行った。

今回のアカイエカの分析結果と過去に分析したヒトスジシマカとヤマトクシヒゲカの結果を総合して、野鳥由来蚊媒介性病原体の潜在的な感染ルートについて考察した。

C.研究結果

調査期間中に採集された蚊のうち、この公園で繁殖している6種類について捕獲総数を表1に示した。最も捕獲個体数が多かったのは、ヒトスジシマカで全体の69.5%、ついでアカイエカが15.9%、ヤマトクシヒゲカが9%で、これら3種で全体の94.5%に達していた。さらに、トラフカクイカ（4.7%）を加えると全体の99.1%となり、これら4種が優占種であることがわかった。

分析した220個体のアカイエカ（吸血蚊）は1個体を除き、すべて野鳥から吸血していた（表2）。この公園のアカイエカがもっとも多く吸血していた鳥はハシブトガラスで、全体の64%を占めていた。次に多く吸血していたのは、スズメで12.7%、ついでシジュウカラが6.8%で、これら3種類で全体の83.6%に達した。ヒトを吸血していたアカイエカはわずかに1個体のみだった。吸血蚊の腹部から鳥マラリア原虫が検出された個体は合計53個体で、原虫陽性個体の吸血源となっていた鳥は、ハシブトガラス、スズメ、シジュウカラ、メジロ、シメの5

種類であった。未吸血個体の鳥マラリア原虫保有率は 33.7% (32/95 プール) であった。

ヒトスジシマカとヤマトクシヒゲカの吸血源動物に関しては、同じ調査地でえられたサンプルの分析結果があるので、これらの結果と本研究の調査結果をまとめて図 1 に示した。この連関図の野鳥のリストには、調査中に公園で見かけられた種類だが吸血されていなかった 7 種類も示してある。公園で生活するすべての動物が蚊の吸血源となっているわけではなく、その一部が利用されていること、また、蚊の種類によって吸血している動物の種類が異なることがはっきり示されている。

この公園に生息する 3 種の蚊が野鳥から吸血する頻度は、アカイエカが 99.5% と最も高く、ついでヤマトクシヒゲカが 86.7%、ヒトスジシマカは最も低く 8.4% であった。これとは逆に、ヒトから吸血する頻度はヒトスジシマカで最も高く 61.4%、次はアカイエカの 0.5%、ヤマトクシヒゲカはヒトから吸血していた個体は得られず 0% であった。アカイエカとヤマトクシヒゲカによって吸血される野鳥の中では、ハシブトガラス、スズメ、シジュウカラが吸血される機会が多いことがわかった。

D. 考察

調査した公園には図 1 に示したように多種類の動物が生活しており、そこに生息する蚊は遺伝的に決められた吸血嗜好性を反映しつつ蚊がそれぞれの動物と遭遇する頻度に応じて、利用しやすい動物から吸血していると思われる。蚊が吸血することによって成立している動物と蚊の関連が、図 1 に示したように量的にわかれば、蚊によ

て媒介される病原体がその群集の中で伝播していく経路をある程度推察することができる。

実際にこの公園で感染環が成立している鳥マラリア原虫の感染経路は以下のように説明される。吸血蚊の腹部から鳥マラリア原虫が検出されている個体は、鳥マラリアに感染した鳥から吸血してその感染血液を保持していた可能性が高い。そこで、腹部が原虫陽性であった吸血蚊の数は、その吸血源となった動物の原虫感染率を反映していると考えれば、この公園では主としてアカイエカとハシブトガラス、スズメ、シジュウカラの間で鳥マラリア原虫が維持されていると推察される (図 1 点線枠)。ヤマトクシヒゲカは鳥マラリア原虫の感染環の核となっている野鳥から吸血した個体が 9 個体あり、そのうち 2 個体は腹部が原虫陽性であった。したがって、ヤマトクシヒゲカも原虫を取り込む機会はあるが、原虫の感染動態にどれだけ貢献しているかは、サンプル数が少ないため今のところはっきりとはわからない。ヒトスジシマカは、鳥マラリア原虫の宿主となっている野鳥から吸血した個体がまったくいないため、鳥マラリアの感染には関与していない可能性が極めて高い。

ヒトから吸血した個体を破線枠で囲んで図 1 に示した。ヤマトクシヒゲカではヒトから吸血した個体は得られなかったため、本種を経由して何らかの病原体がヒトに伝播する可能性はない。ヒトスジシマカの場合はヒトをよく吸血するのだが、鳥マラリア原虫に関する限り、感染の核となっているハシブトガラスやスズメなどから吸血する機会がない。また、他の野鳥類から吸血

する機会も少ない (8.7%=7/83) ので、ヒトスジシマカによって野鳥類で感染している病原体がヒトに伝播される可能性も高くはない。野鳥類が感染している蚊媒介性病原体がヒトに伝播されるひとつの経路は、アカイエカによる吸血であるが、今回調査した公園ではその頻度は 1/220 と極めて低い。

今回の研究結果からは、鳥マラリア原虫のように鳥が感染しても大きなダメージを受けない蚊媒介性病原体であれば、それがヒトに伝播されるリスクはかなり低いと予想される。しかし、感染した野鳥類が大きなダメージを受けるウエストナイルウイルスのような場合は、かなり異なる状況が予想される。ヒトスジシマカは野鳥から吸血している個体は少ないが、哺乳類や両生類からも吸血している。この結果に示されているように、ヒトスジシマカは吸血機会さえあれば、かなり広い範囲の動物群から吸血する性質を持っている。ウエストナイルウイルスに感染したカラスの死亡率が高いことはよく知られているが、感染によって衰弱した鳥が動けなくなって地上に落ちてくれば、その周辺にいるヒトスジシマカによって容易に吸血されると思われる。つまり、野鳥が感染する病原体がそれに感染した野鳥個体に対してどのような影響を与えるかによって、その鳥とヒトスジシマカのように普段は鳥から吸血しない種類の蚊との遭遇機会が変化して、図 1 に示された関連図が大きく変化することが予想される。そして、感染した野鳥と遭遇する機会が高まることで、野鳥由来の病原体がヒトスジシマカに取り込まれる可能性が高くなり、その結果ヒトスジシマカの媒介によって、

ヒトが野鳥由来病原体に感染するリスクも著しく高くなると予想される。

E. 結論

鳥マラリアのような野鳥由来の蚊媒介性病原体の生態に関する研究によって、その調査地に生息する動物と蚊の間で成立している感染環と蚊-動物-ヒトの関連図を示すことができる。この関連図は、未知の野鳥由来病原体が持ち込まれた際の感染ルートを推測するために有用であることが示された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kim, K.S., Tsuda, Y., Sasaki, T., Kobayashi, M. and Hirota, Y. 2009. Mosquito blood meal analysis for avian malaria study in wild bird communities: laboratory verification and application to *Culex sasai* (Diptera: Culicidae) collected in Tokyo, Japan. *Parasitology Research* **105**, 1351-1357.

Kim, K.S. and Tsuda, Y. 2010. Seasonal changes in the feeding pattern of *Culex pipiens pallens* govern the transmission dynamics of multiple lineages of avian malaria parasites in Japanese wild bird community. *Molecular Ecology* **19**: 5545-5554.

2. 学会発表

Tsuda, Y. and Kim, K.S. Ecology of avian malaria in urban Tokyo: community structure, larval habitats, biting behavior of mosquitoes inhabiting at a study park. 1st Nordic Malaria Conference, 1 – 3 September 2010, Lund, Sweden.

Kim, K.S. and Tsuda, Y. Ecology of avian malaria in urban Tokyo: feeding pattern

and incidence of avian malaria parasite in <i>Culex pipiens pallens</i> . 1 st Nordic Malaria Conference, 1 – 3 September 2010, Lund, Sweden.	なし
H.知的所有権の取得状況	2. 実用新案登録
1. 特許取得	なし
	3. その他
	なし

表 1. 捕虫網採集によって捕獲された蚊の種類と雌個体数
(2007～2008年の調査結果)

種 類	調査年		合 計
	2007	2008	
ヒトスジシマカ <i>Aedes albopictus</i>	2,846	3,370	6,216
アカイエカ <i>Culex pipiens pallens</i>	1,007	414	1,421
ヤマトクシヒゲカ <i>Cx. sasai</i>	485	322	807
トラフカクイカ <i>Lutzia vorax</i>	197	225	422
ハマダラナガスネカ <i>Orthopodomyia anopheloides</i>	10	28	38
アカツノフサカ <i>Cx. rubithoracis</i>	13	19	32
オオクロヤブカ <i>Armigeres subalbatus</i>	1	2	3

表 2. アカイエカの吸血源動物の同定結果と鳥マラリア原虫の保有状況
(2007～2008年の調査結果)

吸血源動物	個体数	原虫陽性数	原虫陽性率(%)
ハシブトガラス (<i>Corvus macrorhynchos</i>)	141	39	29.1
スズメ (<i>Passer montanus</i>)	28	6	21.4
シジュウカラ Great tit (<i>Parus major</i>)	15	6	40
ツグミ (<i>Turdus naumanni</i>)	9	0	0
メジロ (<i>Zosterops japonicus</i>)	6	1	16.7
シメ (<i>Coccothraustes coccothraustes</i>)	5	1	20
キジバト (<i>Streptopelia orientalis</i>)	3	0	0
ムクドリ (<i>Sturnus cineraceus</i>)	4	0	0
シロハラ (<i>T. pallidus</i>)	3	0	0
オナガ (<i>Cyanopica cyamus</i>)	2	0	0
ヒヨドリ (<i>Microscelis amaurotis</i>)	1	0	0
クロジ (<i>Emberiza variabilis</i>)	1	0	0
マミチャジナイ (<i>T. obscurus</i>)	1	0	0
ヒト (<i>Homo sapiens</i>)	1	0	0
合 計	220	53	24.1

<i>Cx. sasai</i>			<i>Cx. p. pallens</i>			<i>Ae. albopictus</i>
原虫+	蚊数		蚊数	原虫+		
0	2	ドバト				
1	2	ワカケホンセイインコ				
1	3	センダイムシクイ	3	0		
0	1	カワラヒワ	141	39		
1	5	コゲラ	28	6		
		ウグイス	15	6		
		ハクセキレイ	9	0		
		ヤブサメ	6	1		
		シロハラ	5	1		
		ハシブトガラス	3	0		
		スズメ	4	0		
		シジュウカラ	2	0		
		ツグミ	1	0		
		メジロ	1	0		
		シメ	1	0		
		キジバト	1	0		
		ムクドリ	1	0		
		オナガ	1	0		
		ヒヨドリ	1	0		
		クロジ	1	0		
		マミチャジナイ	1	0		
		カルガモ				6
		鳥類種不明				1
0	2	ウシ				6
		ヒト	1	0		51
		ネズミ				10
		ネコ				8
		アカガエル属				2
		ヒキガエル属				1
		コオイガエル属				1

図1 林試の森公園に生息する3種蚊の吸血習性に基づく動物・鳥マラリア原虫との関連図

厚生労働省科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）
分担研究報告書

日本産哺乳類・鳥類の外部寄生虫に関する基礎的研究
～愛媛県南部における鳥類寄生マダニ類調査～

分担研究者 山内健生（富山県衛生研究所）
協力研究者 山本栄治（山本森林生物研究所）

研究要旨

2008-2010年の秋季、愛媛県久万高原町で44種2,742羽の鳥類を調査した結果、13種82羽から6種116個体のマダニ類を採集した。採集したマダニ類のほとんどはキチマダニ *Haemaphysalis flava* とアカコッコマダニ *Ixodes turdus* であり、残り4種は少数個体が採集されたにすぎなかった。これは、調査地周辺のマダニ相を反映したものといえる。20羽以上の個体を調査した鳥種のうち、マダニ寄生率をもっとも高かったのはシロハラで、14.7%であった。紅斑熱のベクターとして知られるヒトツトゲマダニ *I. monospinosus* が鳥類から初めて採集された。

A. 研究目的

マダニ類は原則的に寄生吸血性で、吸血の際に人獣共通の各種感染症を媒介する種も知られている。多くのマダニ類は哺乳類を宿主とするが、鳥類に寄生する種も少なくない。日本の鳥類寄生マダニ類の知見をまとめた山内（2001）によると、日本では10目68種の鳥類からマダニ類が採集されている。

鳥類の種によってマダニ寄生率に違いがあるとすれば、それは自然界におけるマダニ類と鳥類の関係を知る上で非常に重要な情報である。しかし、日本をはじめとした東アジアにおいて、鳥寄生マダニ類の寄生率に関する情報は皆無であった。

そこで、鳥類標識調査の際、渡り鳥におけるマダニ類の寄生率を調査した。

B. 研究方法

調査は、愛媛県久万高原町二名由良野の森（緯度 33°38′、経度 135°53′）で実施した。秋季には夏鳥が南方へ渡るため、2008-2010年の秋季、毎年約40日間かすみ網を調査地に設置し、鳥類を捕獲した。具体的な調査期間は以下の通りであった：2008年10月12日～12月4日、2009年10月14日～11月30日、2010年10月15日～11月29日。

生きた鳥類の体全体を調査することは困難であり、またマダニ類は主として鳥類の頭部に寄生するため、捕獲した鳥類の頭部を目視で注意深く調査し、マダニ類が寄生していた場合はピンセットを用いて採集した。採集したマダニ類は75-80%エタノール中に保存した後、分類同定した。

（倫理面への配慮）

本研究は許可を得て捕獲された鳥類の外

部寄生虫を対象としており、倫理面への配慮を必要としない。

C. 研究結果

44 種 2,742 羽の鳥類を調査した結果、13 種 82 羽から 6 種 116 個体のマダニ類を採集した (表 1)。採集したマダニ類のほとんどはキチマダニ *Haemaphysalis flava* とアカコッコマダニ *Ixodes turdus* であり、残り 4 種は少数個体が採集されたにすぎなかった。

キチマダニはさまざまな鳥種から採集されたが、アカコッコマダニでは大多数の個体がアオジから採集された。20 羽以上の個体を調査した鳥種のうち、マダニ寄生率をもっとも高かったのはシロハラで、14.7%であった。これは主としてキチマダニの寄生によるものであった。31 種の鳥類 (丸括弧内は調査個体数) : アオゲラ (1)、オオアカゲラ (2)、ツミ (1)、コジュケイ (2)、コノハズク (1)、ヒヨドリ (14)、モズ (8)、ミソサザイ (6)、ルリビタキ (45)、ジョウビタキ (31)、ノビタキ (10)、マミジロ (2)、クロツグミ (7)、アカハラ (4)、マミチャジナイ (2)、ツグミ (2)、ヤブサメ (8)、ウグイス (104)、メボソムシクイ (14)、キビタキ (15)、ムギマキ (2)、エゾビタキ (1)、エナガ (13)、ヒガラ (1)、メジロ (40)、ノジコ (122)、カラヒワ (1)、マヒワ (19)、アカマシコ (3)、ウソ (2)、およびカケス (11)からはマダニがまったく採集されなかった。

D. 考察

本調査地近隣におけるフランネル法によるマダニ採集成績 (稲荷ら, 2004) は、ヒトツトゲマダニ *I. monospinosus* を除いて本調査で採集された種をすべて含んでいる。ヒ

トツトゲマダニは愛媛県南部の山地に分布することが確認されている (山内未発表) ため、今回採集された鳥寄生マダニ類は、調査地周辺のマダニ相を反映したものといえる。

本調査結果と、鳥類寄生マダニ類に関する多くの既報の成績を考慮すると、鳥類はマダニ類の移動分散 (分布拡大) の要因としてそれほど重要な役割を担っているとは考えにくい。渡り鳥によってマダニ類が長距離を移動したと考えられる事例は存在するが、それらは非常に例外的な事例と考えるのが妥当であろう。

キチマダニは、多くの哺乳類と鳥類に寄生することが知られており、鳥類では 5 目 36 種が宿主として記録されている (山内, 2001)。本報告で、カヤクグリ、コホオアカ、アトリ、ベニマシコが本種の宿主として初めて記録された。このように、キチマダニが多く鳥種から記録されており、本調査でも 13 種から記録されたことは、キチマダニの幼若虫の宿主特異性が弱いことを示していると考えられる。

タカサゴチマダニ *H. formosensis* は、哺乳類と鳥類に寄生することが知られており、本報告で、アオジが本種の宿主として初めて記録された。

タネガタマダニ *I. nipponensis* は、哺乳類・鳥類・爬虫類に寄生することが知られており、本報告で、カヤクグリが本種の宿主として初めて記録された。

アカコッコマダニは典型的な鳥類寄生種で、3 目 27 種の鳥類が宿主として記録されている (山内, 2001)。本報告で、ノゴマが本種の宿主として初めて記録された。

ヒトツトゲマダニは紅斑熱の原因となる

Rickettsia helvetica のベクターであり (Ishiguro et al., 2008)、その幼若虫は小型哺乳類にそして成虫は大動物に寄生することが知られていた。本報告で、ヒトツトゲマダニがアオジから初めて採集された。これは本種が鳥類から採集された初めての記録となる。

E. 結論

愛媛県久万高原町で鳥類寄生マダニ類の調査を実施した。採集したマダニ類の大部分はキチマダニとアカコッコマダニであり、これは調査地周辺のマダニ相を反映したものと見える。シロハラのマダニ寄生率は高く、14.7%であった。紅斑熱のベクターとして知られるヒトツトゲマダニが鳥類から初めて採集された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 山内健生・高野 愛・坂田明子・馬場俊一・奥島雄一・川端寛樹・安藤秀二 (2010) タカサゴキララマダニによる人体刺症の5例. 日本ダニ学会誌, 19(1): 15-21.
- 2) 山内健生・福井米正・渡辺 護・中川彦人・上村 清 (2010) 富山県におけるマダニ人体刺症の40例. 衛生動物, 61(2): 133-143.
- 3) 山内健生・渡辺 護 (2010) 家屋内で採集したコウモリマルヒメダニ. 家屋害虫, 32(1): 23-25.

- 4) Yamauchi, T., Obara, M. and Yuasa, S. (2010) A new host record for *Nycteribia pleuralis* (Diptera: Nycteribiidae). *Biogeography*, 12: 141-142.

2. 学会発表

- 1) 山内健生・茂木周作・山本英恵・小原真弓・滝澤剛則 (2010年9月11日) 「イノシシの分布拡大はマダニの分布拡大をもたらすのか？」 第19回日本ダニ学会大会 宮城教育大学 (仙台市)
- 2) 山内健生・高野 愛・丸山宗利・川端寛樹 (2010年11月5日) 「マレー半島における *Amblyomma* 属マダニによる人体刺症、およびその人体咬着輸入例」 第65回日本衛生動物学会西日本支部大会 川崎医科大学 (倉敷市)

G. 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

H. 謝辞

一部の標本を同定していただいた北岡茂男博士にお礼申し上げます。

表 1. 愛媛県久万高原町で採集した鳥類寄生マダニ類 (2008-2010 年)

鳥類	調査個体数	マダニが寄生 していた個体数	寄生率 (%)	<i>H. flava</i>		<i>H. formosensis</i>	<i>H. longicornis</i>	<i>I. monospinosus</i>		<i>I. nipponensis</i>		<i>I. turdus</i>			
				幼虫	若虫	若虫	幼虫	若虫	若虫	♀成虫	幼虫	若虫	♀成虫		
ピンズイ	37	1	2.7	2											
カヤクグリ	16	2	12.5	1	2					1					
ノゴマ	273	2	0.7	1										1	
シロハラ	75	11	14.7	1	14									1	
シジュウカラ	12	1	8.3		1										
ホオジロ	305	7	2.3	2	2									2	1
コホオアカ	4	1	25.0		1										
カシラダカ	100	3	3.0		4										
ミヤマホオジロ	112	5	4.5		5										
アオジ	1108	44	4.0	4	12	1	3	1		1		25	20	1	
クロジ	52	3	5.8		1							2	1		
アトリ	67	1	1.5		1										
ベニマシコ	87	1	1.1		1										
その他31種	494	0													
合計	2742	82	3.0	11	44	1	3	1	1	1	1	27	25	2	

Dengue 1 型マウスモノクローナル抗体を用いた 中和活性及び増強活性の解析

研究分担者 小西 英二 (国立大学法人神戸大学)

研究要旨 Dengue 熱・Dengue 出血熱は地球規模の蚊媒介性ウイルス疾患である。わが国に侵入する可能性が高い。普遍的な予防にはワクチンが重要であるため、種々のタイプのワクチンが開発されてきた。しかし最近問題視されてきたのは、ワクチンが症状悪化に働く感染増強抗体をも誘導してしまう可能性である。昨年度は、血清中の中和活性と増強活性のバランスを調べる方法を開発した。また、マウスを用いた Dengue DNA ワクチンモデルを用いて、Dengue ワクチンが感染増強抗体を誘導することを示した。しかし、補体の存在下では増強活性が消失するか中和抗体に転換することも示した。今年度は、中和抗体誘導型のワクチンが誘導する増強抗体をさらに詳細に調べるために、Dengue 1 型ウイルス免疫マウスから樹立したモノクローナル抗体を用いて、中和活性のみを示す抗体及び増強活性のみを示す抗体の性状解析を行った。また、エピトープマッピングの結果、中和活性のみを示す抗体はエンベロープ蛋白のドメイン II に結合することを明らかにした。増強エピトープを同定することは、安全な Dengue ワクチン開発に重要と考えられる。

A. 研究目的

Dengue 熱・Dengue 出血熱は、最重要の蚊媒介性ウイルス疾患である。熱帯・亜熱帯地域に広く流行し、年間 5 千万から 1 億人の罹患者が推定されている。しかし、認可ワクチンはなく特異的な治療法も確立されていない。わが国では、1942 年～1945 年に大阪・神戸や長崎・佐世保で約 20 万人の患者が報告されたが、現在では輸入感染症として患者が発生するのみである。しかし、最近の 5 年間に年間 58～104 例が発生しており、特に 2010 年は 12 月 26 日時点で 241 例が報告されている。ヒトスジシマカは Dengue ウイルス媒介蚊としてネッタシマカに次いで重要であるが、わが国には東北以南に生息する。一方、ヒトは Dengue ウイルスの増幅動物であり、吸血蚊が感染するに十分なウイルス量を血液中に蓄える。したがって、流行地で感染を受けたヒトが潜伏期の間に入国し国内で発病しウイルス血症を呈すると、それが夏季であるとヒトスジシマカに伝播し、外国に渡航していない人にも患者が発生する可能性

がある。今年のフランス南部で起こった Dengue の流行では国内伝播が報告されている。

ワクチンは、Dengue 熱・Dengue 出血熱の予防に最も普遍的な手段と考えられている。種々の戦略でワクチン開発が進められてきたが、主として中和抗体を誘導するタイプのものである。ウイルス血症レベルが Dengue 熱から Dengue 出血熱への重症化に関係することは多くの研究者が認めていることであり、血中の中和抗体はウイルス血症レベルを低下させる方向に働く。したがって、中和抗体は防御の中心的役割を果たすと考えられる。しかも上記のように、ヒトは増幅動物でありウイルス血症レベルが高ければ、より多くの媒介蚊を感染させることにつながる。中和抗体誘導型のワクチンは、個体を病気から守るのみならず、蚊への伝播効率を下げることにより流行を抑えて社会を守る。

しかし、最近懸念されてきたのはワクチンが感染増強抗体を誘導する可能性である。中和抗体とは逆に感染増強抗体はウイルス血症レベルを高くするほうに働き、したがって Dengue の

重症化に關与する。この現象は抗体依存性感染増強 (ADE) と呼ばれ、生体内におけるウイルス増殖の場である単球系の細胞の表面に存在する $\text{Fc}\gamma$ レセプターを介して、抗体がウイルス感染性を増強させるメカニズムによる。中和抗体は低濃度で増強活性を示すため、ワクチンにより誘導された中和抗体も、そのレベルが時間の経過とともに低下した時に増強抗体になると考えられる。したがって、中和抗体を誘導するタイプのワクチンは、同時に増強抗体をも誘導することが、この懸念の根拠となっている。

生体内でのポリクローナルな状態では、中和抗体と増強抗体が共に存在する。昨年度は、ワクチンによって誘導された抗体の中和活性及び増強活性という生体内での相反する 2 つの活性のバランスを検出する測定法を開発した。また、その方法を用いて Dengue 4 価 DNA ワクチンを接種したマウスに誘導される抗体の、すべての型に対する中和・感染増強活性を調べた。その結果、ワクチンは感染増強抗体を誘導することが示されたが、補体の存在下では増強活性が消失するか中和抗体に転ずることが明らかにされた。本年度は、この現象をさらに詳しく調べるために、クローナルレベルの研究を行った。すなわち、Dengue 4 価 DNA ワクチンで免疫したマウスから樹立したモノクローナル抗体を用いて、その中和活性及び増強活性を調べた。

B. 研究方法

細胞 : K562、U937、HL60 細胞は、10% ウシ胎児血清 (FBS) 及び 1% ペニシリン・ストレプトマイシン添加 RPMI-1640 で、37°C、5% CO_2 の条件下で培養した。これらの細胞は浮遊系の細胞であるが、接着する細胞を選択して継代し、準接着系に馴化させた。

ウイルス : DENV1 (望月株)、DENV2 (ニューギニア C 株)、DENV3 (H87 株) 及び DENV4 (H241 株) を用いた。C6/36 細胞に感染させて得られた培養液を中和・増強活性の

測定に用いた。

モノクローナル抗体 : DENV1 を免疫原として作製した 8 種類のマウスモノクローナル抗体 (D1-IV-7F4、D1-IV-3B8、D1-I-11G12、D1-V-3H12、D1-III-9B1、D1-IV-1C8、D1-III-5B10、D1-III-9B6) を用いた。

従来の感染増強試験 : 感染細胞率、ウイルス産生量及び感染中心数に基づく方法を用いた。50 μl に調製した 2×10^5 個の浮遊系 K562 細胞に、10 倍階段希釈した検体 36 μl を加え、さらに 50 μl に調製した DENV を加えて、37°C で 2 時間保温した。この細胞浮遊液を遠心後、細胞を 1 ml の培養液に再浮遊した。感染細胞率に基づく方法では、培養 24 時間～48 時間後に一部の細胞を回収し、免疫染色により感染細胞率を求めた。また、ウイルス産生量に基づく方法では、この細胞をさらに 24 時間培養し、その培養液を回収してウイルス力価を測定した。いずれの従来法も、陰性対照 (抗体を加えていない 3 ウェル) の平均値 + $2 \times$ 標準偏差 (SD) 以上を示した場合に、増強活性陽性と判定した。

中和・増強活性の測定 : ポリ-L-リジンでコーティングした 96 穴マイクロプレートを使用し、モノクローナル抗体と Dengue ウイルスを混合した。具体的には、各ウェルでモノクローナル抗体を 36 μl に 10 倍階段希釈し、50 μl の 100 FFU のウイルスを加えて、37°C で 2 時間保温した。さらに、50 μl に浮遊した 1×10^5 個の準接着系 K562 細胞を各ウェルに加えて 24～48 時間 37°C で培養した。陰性対照として、抗体を加えていない 8 ウェルを設けた。固定後、免疫染色により感染細胞数を求めた。用いたウイルスの力価 (100 FFU) は K562 細胞において得られた値である。すなわち、陰性対照の感染細胞数が 100 になるように調整された力価であり、実験群で得られた感染細胞数を陰性対照の感染細胞数が 100 になるように換算した。

そして、陰性対照で得られた平均値+3SD 以上を示した場合に増強活性陽性、平均値-3SD 以下を示した場合に中和活性陽性と判定した。中和活性と感染増強活性は補体レベルに依存するため、補体を含む系と含まない系で行った。U937 また HL60 細胞を用いた実験も同様に行った。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、神戸大学動物実験委員会により承認された後に実施した。

C. 研究結果

K562 細胞を用いて得られた DENV1 に対する中和・増強活性：8 種類の抗 Dengue 1 型マウスモノクローナル抗体を用いて、DENV1 に対する中和・増強活性のバランスを比較した (図 1)。これらの抗体は、種々のパターンの濃度依存性曲線を示し、そのパターンから 4 つのグループに分類された。第 1 のグループは、D1-III-5B10、D1-III-9B6 に示されるように、いずれの抗体濃度においても、感染細胞数は陰性対照±3SD の範囲内であった。ELISA では抗体活性が認められるため、E 抗原には結合する抗体ではあるが、ウイルスに対しては中和及び増強のいずれの活性も示さないものである。第 2 のグループである D1-IV-1C8、D1-III-9B1 は、補体非存在下で抗体濃度に依存して中和及び増強活性を示した。すなわち、高濃度で中和、中程度の濃度で増強、また低濃度ではいずれの活性も認められなかった。また、補体非存在下で示された増強活性は、補体の添加により中和活性に転じた。このパターンは多くの血清やモノクローナル抗体において示されるものである。ところが、第 3 のグループである D1-IV-7F4 は、高濃度で中和活性を示したが、低濃度では増強活性を示さなかった。また、最後のグループである D1-I-11G12、D1-V-3H12、D1-IV-3B8 は、抗体濃度の高い条件においても増強活性が認められた。D1-IV-7F4 は補体存在下で中和活性は上昇したが、一方 D1-I-11G12、D1-V-3H12、D1-IV-3B8 は補体

の有無に関わらず増強活性を示した。以下、第 2 のグループを NE-Ab、第 3 を N-Ab、第 4 を E-Ab と称する。

従来の感染増強試験との比較：D1-IV-7F4 と D1-V-3H12 を、それぞれ N-Ab と E-Ab の代表的モノクローナル抗体とし、従来の感染増強試験を行った (図 2)。中和・増強試験法の結果と同様に、従来法においても N-Ab は中和活性のみを示し、E-Ab は、増強活性のみを示した。

他の細胞種を用いて得られた中和・増強活性：D1-IV-7F4、D1-V-3H12 及び D1-IV-1C8 を、それぞれ N-Ab、E-Ab 及び NE-Ab の代表的モノクローナル抗体とし、U937 細胞及び HL-60 を用いて中和・感染増強試験を行った (図 3)。U937 及び HL-60 細胞においても、K562 細胞とほぼ同様の活性パターンを示した。

他の型の Dengue ウイルスに対する中和・増強活性：D1-IV-7F4、D1-V-3H12 及び D1-III-9B1 を、それぞれ N-Ab、E-Ab 及び NE-Ab の代表的モノクローナル抗体とし、4 つの型のウイルスに対する中和・増強活性を調べた (図 4)。DENV1 に対して示された D1-IV-7F4 の中和活性は、DENV2、DENV3、DENV4 に対してはほとんど示されず、また増強活性も示さなかった。交差反応性が少ないものと考えられた。D1-V-3H12 は DENV1 に対して高濃度で増強活性を示したが、他の型に対しては高濃度では弱い中和活性を示し、中程度の濃度で増強活性を示した。D1-IV-9B1 では、いずれの型に対しても同様のパターンを示したが、補体非存在下における増強活性は DENV1 に対するよりも他の型に対するほうが強く示された。

ADE における Fc γ レセプターの関与：ADE は単球やマクロファージ等に発現している Fc γ レセプターを介して起こるとされている。K562 細胞が有する Fc γ RIIa (CD32) に対

する抗体で前処理した K562 細胞を用いて、D1-IV-7F4 (N-Ab)、D1-V-3H12 (E-Ab)、D1-IV-1C8 (NE-Ab) の中和・増強活性のパターンを調べ、前処理をしていない K562 細胞で得られた活性パターンと比較した (図 5)。前処理した K562 細胞では、増強活性が抑制され、今回示された ADE は Fc γ レセプターを介して起こることが示された。

エピトープの位置的關係: まず、増強活性のみを有する D1-IV-3B8、D1-V-3H12 または D1-I-11G12 を一次抗体、中和活性のみを有する D1-IV-7F4 を二次抗体として用いた競合試験を行った (図 6-A)。その結果、いずれの一次抗体を用いた場合でも、抗体濃度に関わらず阻害が全く認められなかったことから、中和活性のみを示す抗体と増強活性のみを示す抗体は、異なるエピトープに結合すると考えられた。次に、増強活性のみを有する抗体の中で、D1-V-3H12 または D1-IV-3B8 を一次抗体、D1-I-11G12 を二次抗体として競合試験を行ったところ、抗体濃度が高い場合でも阻害が全く認められなかった (図 6-B)。この結果から、増強活性のみを有する抗体の中にも、少なくとも 2 つのグループが存在することが明らかになった。

中和に関わるエピトープのマッピング: 中和活性を有する抗体の存在下において DENV を培養すると、中和活性を有する抗体との結合に関わる部位に変異を生じた抗原変異株 (エスケープミュータント) が選択的に増殖することが知られており、中和に関わるエピトープの探索に利用されてきた。そこで、中和活性のみを有する D1-IV-7F4 について、エスケープミュータントを作製した。D1-IV-7F4 は、DENV1 望月株に対しては、1:12800 よりも大きい中和抗体価を示したが、D1-IV-7F4 の存在下で選択したエスケープミュータントに対しては、1:40 の低い中和抗体価しか示さなかった。望月株とエスケープミュータントの間で、prM のシグ

ナル配列から NS1 の 3'末端までのアミノ酸配列を比較すると、ミュータントでは、1286 番目の塩基が A から G に置換したことにより、E タンパクの 118 番目のアミノ酸が、リジン (K) からグルタミン酸 (E) に置換していることが示された。118 番目のアミノ酸はドメイン II に含まれ、しかも E タンパクの表面に存在しているため、D1-IV-7F4 はドメイン II に結合すると考えられた。

D. 考察

中和抗体を誘導するタイプの Dengue ワクチンは、同時に増強抗体を誘導する懸念がある。ワクチン接種により増強抗体が誘導され、やがて重症型の患者を増やす可能性は、Dengue ワクチンの安全性に関わる重大な問題である。しかし、個々のワクチン開発研究において、そのワクチンが増強抗体を誘導するかどうかについては、ほとんど報告がなかった。本研究では、Dengue 4価 DNA ワクチンをモデルとして、マウスに誘導される抗体の中和活性及び増強活性を詳細に調べることにより、今後開発される Dengue ワクチンの安全性に寄与するものである。

ウイルス血症レベルは重症化に関係することが広く認められているが、Dengue ウイルスに感染すると種々の抗体が産生されるため、ポリクローナルレベルの解析では、ウイルス血症レベルを増加させる増強抗体と感染防御に働く中和抗体に関して詳細な解析を行うのは困難である。そこで今回はマウスモノクローナル抗体の中和活性及び増強活性に関する解析を行った。多くのモノクローナル抗体では、中和活性を示せば低濃度で増強活性をも示すこと、補体存在下では増強活性が効果的に抑制されることが明らかにされている。しかし今回使用した抗 Dengue 1 型モノクローナル抗体には、中和活性のみを示す抗体及び増強活性のみを示す抗体が存在していた。E-MAb は、補体存在下においても増強活性が抑制されず、重症化に関わる抗体であることが示唆された。また、NE-MAb は、中和及び増強活性をともに有し、

生体内の補体量が正常なレベルに存在すれば感染から防御されるが、補体レベルが低下した状態にある場合、重症化を引き起こすことが懸念された。逆に、N-MAbであるD1-IV-7F4は非常に中和活性が強く、増強活性が認められないことから治療に応用できると考えられる。

DENV1に対して中和活性のみを有するD1-IV-7F4との結合には、ドメインIIのfusion loop付近に存在する118番目のアミノ酸が関連することが明らかになった。fusion loopは、フラビウイルスに共通の保存配列である。DENVが宿主のエンドゾームに取り込まれると、エンドゾーム内の低いpHによってEタンパクの立体構造の変化が惹起され、fusion loopとエンドゾーム膜との融合が可能となることから、DENVの細胞内感染初期段階に重要な役割を果たすと考えられている。D1-IV-7F4は、fusion loopの近傍に結合することで、Eタンパクとエンドゾーム膜との融合を立体的に阻害し、中和活性を示すのではないかと推定された。GeneBankに登録されている株の中には、118番目のアミノ酸がEである株は存在せず、すべてKであった。118番目のアミノ酸がKからEに置換する変異は、DENV1にとって不利な一面があるのかもしれない。

一方、増強活性のみを有する抗体を誘導するエピトープは、E抗原上に少なくとも2か所存在することが示された。しかしながら、増強活性のみを有する抗体との結合に、具体的にどのアミノ酸が関わっているのかについては、現時点では明らかでない。安全なワクチン開発においては増強抗体誘導への配慮が必要であり、今後、E-Abの対応するエピトープを明らかにすることは重要と考えられる。

E. 結論

デング1型ウイルスに対して中和活性あるいは増強活性のみを示す抗体の存在及び性状を明らかにした。中和活性のみを示す抗体はエンベロップ蛋白のドメインIIに結合することを示した。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

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

Miwa Kuwahara, Eiji Konishi: Evaluation of extracellular subviral particles of dengue virus type 2 and Japanese encephalitis virus produced by *Spodoptera frugiperda* cells for use as vaccine and diagnostic antigens. *Clin Vaccine Immunol.* 17, 1560-1566, 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 and 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

Yoko Kitai, Hiroaki Shirafuji, Katsushi Kanehira, Tsugihiko Kamio, Takashi Kondo and Eiji Konishi: Specific Antibody Responses to West Nile Virus Infections in Horses Preimmunized with Inactivated Japanese Encephalitis Vaccine: Evaluation of Blocking ELISA and Complement-Dependent Cytotoxicity Assay. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. in press 2011

Eiji Konishi and Yamato Takizawa: Effect of pre-existing immunity to flaviviruses on balanced induction of neutralizing antibodies by a dengue tetravalent DNA vaccine in mice. *J Vaccin Vaccinat*. in press 2011

Eiji Konishi: Issues Related to Recent

Dengue Vaccine Development. *Tropical Medicine and Health*. in press 2011

2. 学会発表

石川知弘、小西英二: ベネズエラウマ脳炎ウイルスレプリコン発現システムを用いた日本脳炎ウイルスNS1タンパクの作成およびその性状解析。第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会。(2010)

瀧澤山人、小西英二: ジャカルタで1988年に患者から分離されたデング1型および3型ウイルスの遺伝子系統樹解析。第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会。(2010)

武田祥子、田淵裕子、小西英二: 感染増強活性あるいは中和活性のみを示すデングモノクローナル抗体の性状解析。第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会。(2010)

田淵裕子、小西英二: インドネシアとフィリピン住民におけるデングウイルス感染増強抗体の保有率。第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会。(2010)

Atsushi Yamanaka, Kris Cahyo Mulyatno, Helen Susilowati, Eryk Hendrianto, Amor P. Ginting, Dian Dwi Sary, Soengeng Soegijanto and Eiji Konishi: Correlation between complement component levels and disease severity in dengue patients in Indonesia. The 44th Joint Working Conference on Viral Diseases. US-Japan Cooperative Medical Science Program. 2010年6月

Eiji Konishi: Dengue DNA Vaccine Research under Indonesia-Japan Collaboration. International Seminar on Viral Diseases: Control and Management, 2010. 2010年9月

Eiji Konishi: ELISA to detect antibodies