

表1 カキ中のFファージプラーク法、Fファージ及びNoVリアルタイムPCR法の結果

検体	検体採取日	プラーク法 (PFU/ml)	ファージ群別リアルタイムPCR (ct値)				NoVリアルタイムPCR 実測値(copy/5 μ L)	
			I群	II群	III群	IV群	NoV G I	NoV G II
2100020oy	2010/12/14	1					—	—
2100019oy	2010/12/14	13	—	—	—	—	—	3.12
4100408oy	* 2010/12/7		—	38	—	—	3.47	86.34
4110301oy	* 2011/1/11	46	—	37	—	—	33.6	63.2
4110401oy	* 2011/1/11	0	—	40	39	—	7.8	25.4
4110501oy	* 2011/1/11	1	—	—	—	—	1.3	6.6
4100307oy	* 2010/11/4		—	—	—	—	—	—
4100407oy	* 2010/11/4		—	—	—	—	—	—
4100507oy	* 2010/11/4		—	—	—	—	—	—
2100011oy	2010/11/16		—	—	—	—	—	—
2100012oy	2010/11/16		—	—	—	—	—	—
2100013oy	2010/11/30		—	42	—	—	—	—
2100014oy	2010/12/6		—	39	—	—	—	17
2100015oy	2010/12/6		—	—	—	—	—	—
2100021oy	2010/12/15		—	—	—	—	—	—
2110001oy	2011/1/17	0	41	—	—	—	—	—
2110002oy	2011/1/18	0	—	—	—	—	—	1.9
2110003oy	2011/1/18	0	—	41	—	—	3.32	21.19
2110004oy	2011/1/18	0	—	41	—	—	2.72	4.01
2110005oy	2011/1/18	0	—	41	40	—	3.15	6.5
2110006oy	2011/1/24	0	—	—	—	—	—	1.78
2110007oy	2011/1/25	0	—	—	—	—	2.22	1.94
2110008oy	2011/2/7	0	—	—	—	—	—	6.01
2110009oy	2011/2/7	0	—	—	—	—	—	—
2110010oy	2011/2/7	0	—	—	—	—	—	—
2110011oy	2011/2/7	0	—	—	—	—	—	—
4110302oy	* 2011/2/8	2	—	—	—	—	—	—
4110402oy	* 2011/2/8	1	—	—	—	—	—	—
4110502oy	* 2011/2/8	0	—	—	—	—	—	—
4110303oy	* 2011/3/9	6	—	—	—	—	1.91	3.77
4110403oy	* 2011/3/9	1	—	40	41	—	1.86	—
4110503oy	* 2011/3/9	2	—	41	—	—	17.4	33.45
4110304oy	* 2011/4/4		—	—	—	—	—	—
4110404oy	* 2011/4/4		—	—	—	—	—	2.63
4110504oy	* 2011/4/4		—	43	—	—	—	3.13
4110305oy	* 2011/5/11		—	—	—	—	—	—
4110405oy	* 2011/5/11		—	—	—	—	—	—
4110505oy	* 2011/5/11		—	—	—	—	—	—
4110306oy	* 2011/10/24		—	40	—	—	—	—
4110406oy	* 2011/10/24		—	39	—	—	6.66	—
4110506oy	* 2011/10/24		—	38	—	—	8.25	—
2110012oy	2011/11/15		—	—	—	—	—	—
2110013oy	* 2011/11/15		—	—	—	—	—	—
2110014oy	2011/11/15		—	—	—	—	—	—
2110015oy	* 2011/11/15		—	—	—	—	—	—
2110016oy	2011/11/28		—	—	—	—	—	—
2110017oy	2011/11/28		—	—	41	—	—	—
2110018oy	2011/11/28		—	—	—	—	—	—
2110019oy	2011/11/28		—	46	—	—	—	—
2110020oy	2011/11/28		—	—	—	—	—	—
4110307oy	* 2011/11/28		—	—	—	—	2.04	1.87
4110407oy	* 2011/11/28		—	40	—	—	2.49	—
4110507oy	* 2011/11/28		—	41	—	—	—	—
2110021oy	2011/12/5		—	—	—	—	—	—
2110022oy	* 2011/12/5		38	39	40	—	32.15	7.72
2110023oy	2011/12/6		—	39	—	—	8.07	9.12
2110024oy	2011/12/6		—	—	—	—	—	—
2110025oy	2011/12/6		—	—	—	—	1.32	—
2120010oy	2012/1/31	0	—	—	—	—	—	8.82
4120302oy	* 2012/2/6	0	—	—	—	—	—	5
4120402oy	* 2012/2/6	2	—	—	—	—	—	1.1
4120502oy	* 2012/2/6	0	—	—	—	—	—	—

*: 非清浄海域

表2 プラーク法によるFファージの検出とリアルタイムPCR法によるFファージおよびNoVの検出の比較

Fファージ		プラーク法		リアルタイムPCR法 (Ⅱ群またはⅢ群)	
		陽性	陰性	陽性	陰性
NoV	陽性	6	8	7	7
	陰性	2	5	0	7
陽性一致率*		43% (6/14)		50% (7/14)	
陰性一致率*		71% (5/7)		100% (7/7)	
全体一致率		52% (11/21)		67% (14/21)	

* NoVの結果に対する一致率

表3 ヒト糞便におけるリアルタイムPCR法でのFファージの検出

検体	年齢	検体採取日	プラーク法 (PFU/ml)	ファージ群別リアルタイムPCR (ct値)				NoVリアルタイムPCR 実測値(copy/5 μ L)		その他ウイルス 検出結果
				I群	II群	III群	IV群	NoV G1	NoV G2	
1110545F	1歳	2011/10/10	-	-	-	-	-	-	-	CA16
2112803F	37歳	2011/10/26	-	-	-	-	-	10の6乗	-	
2112806F	45歳	2011/10/26	-	-	-	-	-	10の5乗	-	
2112807F	成人	2011/10/25	-	-	-	-	-	-	-	
1110548F	0歳	2011/10/13	-	-	-	-	-	-	-	
1110590F	7歳	2011/11/6	-	-	-	-	-	-	-	Echo7
1110593F	2歳	2011/11/8	-	-	-	-	-	-	-	Sapo Ad2
1110615F	4歳	2011/11/21	-	-	-	-	-	10の7乗	-	

表4 MS2ファージ(I群)のプラーク数およびリアルタイムPCR法におけるCT値との関連性

希釈倍率	実測値		予想値	
	プラーク法 (PFU/ml)	I群リアルタイムPCR (ct値)	プラーク法 (PFU/ml)	I群リアルタイムPCR (ct値)
10の-1乗		16		
10の-2乗		20		
10の-3乗		24		
10の-4乗		28		
10の-5乗		31		
10の-6乗	カウント不能	35	1000-10000	35
10の-7乗	548	38	100-1000	38
10の-8乗	93		10-100	41
10の-9乗				
10の-10乗				

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」
研究分担報告書

熊本県におけるイノシシ、シカ及びブタの
E 型肝炎保有状況等調査
- 平成 23 年度 -

研究協力者 原田 誠也, 西村 浩一 熊本県保健環境科学研究所
研究分担者 田中 智之 堺市衛生研究所
研究協力者 石井 孝司, 李 天成 国立感染症研究所

研究要旨

イノシシ、シカ及びブタの E 型肝炎ウイルス (HEV) 保有状況及びブタ血清中の IgG 抗体保有率を調査した。これまでの調査で、HEV 遺伝子はシカからは全く検出されなかったが、イノシシの 9.2%から検出された。一方、ブタでは血清から 0.09%であったが、廃棄肝臓の 6%から検出された。また、ブタ血清の 72%が HEV に対する IgG 抗体陽性であり、養豚場間で抗体保有率に大きな差がみられたことから、ブタへの HEV 感染は飼育環境等に影響されていることが推察された。

A. 研究目的

感染症発生动向調査によれば、わが国の E 型肝炎発症事例は年間 20~30 例であり、このうちの約 3 割がイノシシ、シカ及びブタ肉の生食が原因と推定されている。このことから、イノシシ、シカ及びブタの HEV による汚染状況を調査し、その実態を把握することにより、これらの食肉による健康被害防止に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

1. 材料

2011 年 5~9 月の間に熊本県内のと畜場で処理されたブタの放血液及び 2011 年

12 月 8 日のと畜検査で廃棄されたブタ肝臓並びに 2011 年 3 月~2012 年 1 月に県内で捕獲されたイノシシ及びシカ肉等を材料とした。

2. RT-PCR 法による HEV 遺伝子検出及び塩基配列解析

ブタの放血液を 30 分以上室温に放置して分離した血清を、さらに 3,000rpm で 10 分間遠心した上清を検体 (血清検体) として用いた。

また、約 2g のブタ肝臓、イノシシ及びシカ肉等をペースト状にした後、PBS(-) で 50%乳剤とし 3,000rpm で 10 分間遠心した。その上清をさらに 10,000rpm で 10 分間遠心してその上清を検体 (乳剤検体)

として用いた。

血清及び乳剤検体の 100 μ l から AGPC 法で RNA を抽出 (最終的に 50 μ l の DEPC 処理水に溶解) し, Random Primer 法で cDNA を合成した。

ORF2 領域を増幅するプライマーセット [1st PCR: HEV-F1 (5' -TAYCGHAAYCAAGGHTGGCG-3') / HEV-R2 (5' -TGYTGGTTRTCRTARTCTG-3') 及び 2nd PCR: HEV-F2 (5' -GGBGTBGCNGAGGAGGAGGC-3') / HEV-R1 (5' -CGACGA AATYAATTCTGTCG-3')] を用いて PCR を実施後, 2%アガロースゲルで電気泳動を行い, HEV 遺伝子の増幅バンドを確認した。

HEV 遺伝子の増幅バンドが確認された検体については 2nd PCR 産物を精製後ダイレクトシーケンスすることにより塩基配列を決定した。

3. ELISA による IgG 抗体測定

2010 年 7 月～2011 年 9 月に採取した 96 6 検体のブタ血清中の HEV に対する特異的な IgG 抗体を, ウイルス様中空粒子 (G1-sHEV-LPs) を抗原とした ELISA 法により測定した。判定は HEV に感染していないと推定された養豚場 1 施設のブタ集団の測定値 ($n=38$, 平均: 0.133, SD: 0.050) から Cutoff 値 (平均+3 \times SD) を計算し, OD 値 0.283 以上を抗体陽性とした。

(倫理面への配慮)

本研究では, 特定の研究対象者は存在せず, 倫理面への配慮は不要である。

C. 研究結果

1. RT-PCR 法による HEV 遺伝子検出

イノシシ 17 頭 (筋肉 17, 肝臓 14 及び血液 11 検体) 及びシカ 6 頭 (筋肉 6 及び

肝臓 4 検体) を検査した結果, イノシシの肝臓 1 検体から HEV 遺伝子が検出された。2006 年から継続調査してきたイノシシ及びシカの HEV 遺伝子検査結果の集計を表 1 に示した。これまで, HEV 遺伝子はシカからは全く検出されなかったが, イノシシでは 142 頭中 13 頭 (陽性率 9.2%) から検出された。

一方, ブタでは HEV 遺伝子は血清 420 検体からは全く検出されなかったが, 廃棄肝臓 133 検体中 9 検体から検出された。HEV 遺伝子が検出されたブタのほとんどは (9 頭中 8 頭) は同一養豚場で飼育されたブタであった。

2010 年から継続しているブタの HEV 遺伝子検査結果の集計を表 2 に示した。この 2 年間の調査で肝臓 183 検体中 11 検体 (陽性率 6.0%) から, 血清 1146 検体中 1 検体 (陽性率 0.09%) から HEV 遺伝子が検出された。

2. HEV 遺伝子の塩基配列解析

イノシシから検出された HEV の遺伝子型は 3 型及び 4 型であったが, ブタからは 3 型のみが検出された。

検出された HEV 遺伝子の塩基配列解析結果を図 1 に示した。ORF2 領域の 338bp の塩基配列を比較したところ, 養豚場間の相同性は 92%以下であった。一方, 養豚場内では養豚場 I のブタから検出された 7 株の HEV 遺伝子の相同性は 99.1%～100%, 養豚場 III のブタから検出された 2 株の HEV 遺伝子の相同性は 99.7%であった。また, イノシシから検出された HEV 遺伝子は, 遺伝子型 3 型では人吉・球磨地域の相同性は 100%, 遺伝子型 4 型では天草地域の相同性は 99%以上, 人吉・球磨地域と

天草地域間の相同性は 97.6%, その他の地域間の相同性は 86%以下であった。

3. ELISA 法による IgG 抗体保有率

養豚場毎の検査結果を表 3 に示した。

HEV に対する IgG 抗体保有率の平均は 72%であったが、養豚場間では 0~100%と大きな差が見られた。

Specific Pathogen Free (SPF) 豚を飼育している 5 養豚場の抗体保有率は、1 施設を除き 15%未満と低かった。

一方、SPF 豚以外の一般養豚場のうち、養豚場名の明らかな 20 施設の抗体保有率は、80%以上が 12 施設(60%)、60%~80%が 4 施設(20%)及び 60%未満が 4 施設(20%)であり、SPF 豚の養豚場より抗体保有率が高かった。

D. 考察

イノシシ及びブタからこれまでに検出された HEV 遺伝子の塩基配列を解析した結果、異なる地域で捕獲されたイノシシ間での相同性は 91%以下であったのに対し、同一地域で捕獲されたものは 99%以上であり非常に高かった。ブタでもイノシシと同様な傾向が見られ、同一養豚場内のブタでは 99%以上であったのに対し、異なる養豚場間では 91%以下であった。これらのことから、イノシシでは地域毎に、ブタでは養豚場毎に非常に類似した遺伝子を有する HEV が浸淫していると考えられた。

ブタの HEV に対する IgG 抗体保有率が養豚場間で 0~100%と大きく開きがあることや、廃棄肝臓から HEV 遺伝子が検出されたブタのほとんどが同一施設で飼育されていたことから、養豚場間の HEV 汚

染の差は、飼育形態や飼育環境など複数の要因が重なり合うことにより、ブタの HEV への感染の機会(ウイルス暴露の頻度や感染時期)に差が生じるためであると推察された。

E. 結論

熊本県内で捕獲されたシカからは HEV 遺伝子は全く検出されなかったが、イノシシの 9.2%から HEV 遺伝子が検出された。

また、2011 年度はと畜検査時のブタの放血液からは HEV 遺伝子は検出されなかったが、これまでの調査で 0.09%と非常に低い割合ではあるが検出されている。

このようにイノシシ肉やブタ肉は HEV に汚染されている可能性があるため、感染防止のためには内臓以外の部位においても十分な加熱調理を行ったうえで摂食することが重要である。さらに、調理時の二次汚染も考えられることから、他の食品との調理器具(包丁、まな板等)の共用を避けることも重要である。

なお、熊本県内で捕獲されたシカからは HEV 遺伝子は検出されていないものの、国内において検出事例があることから、イノシシと同様の肉調理等の取扱いが必要である。

また、養豚場間で HEV 遺伝子保有率や抗体保有率に大きな開きが生じる原因の究明ができれば、ブタの HEV 感染防止に役立てることができ、ブタ肉による人への HEV 感染を制御できるものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 西村浩一, 原田誠也, 李 天成, 石井孝司, 田中智之, 野田 衛: 熊本県におけるイノシシ, ブタ及びシカの E 型肝炎ウイルス保有状況に関する実態調査, 第 32 回日本食品微生物学会学術総会, 2013 年 10 月, 東京都
- 2) Tomoyuki Tanaka, Noritoshi Kitamoto, Tomoichiro Oka, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Setsuko Iizuka, Yoshiharu Morino,

Yasutaka Yamashita, Seiya Harada, Naokazu Takeda and Kazuhiko Katayama. Rapid Detection kit for norovirus and sapovirus with viruses specific monoclonal antibodies. The 5th China Medicinal Biotech Forum November 7-9, Beijing, China

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

表 1 イノシシ及びシカの HEV 遺伝子検査結果 (2006~2012 年)

	イノシシ(142 頭)				シカ(61 頭)			
	筋肉	肝臓	血液	計	筋肉	肝臓	血液	計
検査数	100	108	43	251	41	54	26	121
陽性数	2	12	4	18	0	0	0	0
陽性率(%)	2.0	11.1	9.3	9.2*	0.0	0.0	0.0	0.0

* 陽性頭数(13 頭) / 検査頭数(142) × 100

表 2 ブタの HEV 遺伝子検査結果

	ブタ(1329 頭)	
	肝臓	血液
検査数	183	1146
陽性数	11	1
陽性率(%)	6.0	0.09

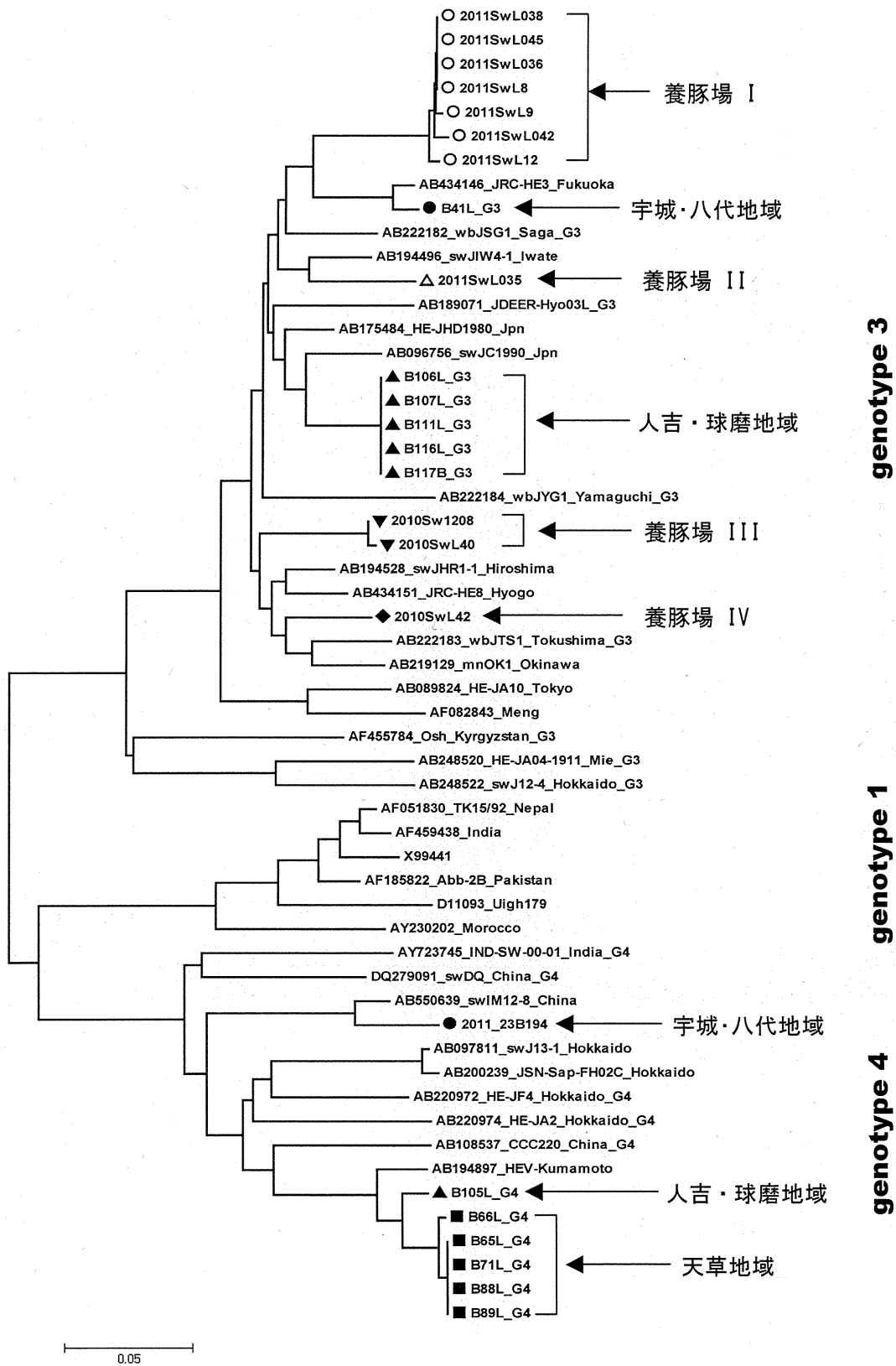


図1 イノシシ及びブタから検出された HEV 遺伝子解析結果

表3 ブタの HEV に対する特異的 IgG 抗体保有率

養豚場	2010			2011			計	
	陰性	陽性	保有率	陰性	陽性	保有率	検査数	保有率
A 養豚場 (SPF)	10		0.0%	28	2	6.7%	40	5.0%
B 養豚場 (SPF)				26	4	13.3%	30	13.3%
C 養豚場 (SPF)				14	1	6.7%	15	6.7%
D 養豚場 (SPF)	11		0.0%				11	0.0%
E 養豚場 (SPF)					5	100.0%	5	100.0%
F 養豚場	22	93	80.9%	9	50	84.7%	174	82.2%
G 養豚場	13	66	83.5%		74	100.0%	153	91.5%
H 養豚場	9	81	90.0%	1	42	97.7%	133	92.5%
I 養豚場	5	67	93.1%	1	18	94.7%	91	93.4%
J 養豚場	16	30	65.2%	3	32	91.4%	81	76.5%
K 養豚場	29	11	27.5%				40	27.5%
L 養豚場	1	4	80.0%	4	26	86.7%	35	85.7%
M 養豚場	29		0.0%	4	1	20.0%	34	2.9%
N 養豚場				2	28	93.3%	30	93.3%
O 養豚場	2	3	60.0%	1	14	93.3%	20	85.0%
P 養豚場	1	4	80.0%	2	3	60.0%	10	70.0%
Q 養豚場	3	7	70.0%				10	70.0%
R 養豚場	5		0.0%				5	0.0%
S 養豚場	1	4	80.0%				5	80.0%
T 養豚場	1	4	80.0%				5	80.0%
U 養豚場					5	100.0%	5	100.0%
V 養豚場	2	3	60.0%				5	60.0%
W 養豚場					5	100.0%	5	100.0%
X 養豚場				5		0.0%	5	0.0%
Y 養豚場		4	100.0%				4	100.0%
不明	1	4	80.0%	10		0.0%	15	26.7%
合計	161	385	70.5%	110	310	73.8%	966	71.9%

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」

研究協力報告書

サポウイルス VLPs に対する新規単クローン抗体の樹立とその解析

研究協力者	北元 憲利	兵庫県立大学
研究分担者	田中 智之	堺市衛生研究所
研究協力者	岡智 一郎	国立感染症研究所
研究協力者	李 天成	同
研究協力者	村上 耕介	同
研究協力者	片山 和彦	同

研究要旨

ヒトに急性胃腸炎を起こすサポウイルス（Sapovirus、SaV）は、遺伝子学的に多様性であり、現在 4 つの Genogroup（GI, GII, GIV および GV）に分類されている。SaV の検出法は PCR 法に依存しており、免疫学的診断法は確立されていない。本研究では、SaV の簡便・迅速・経済的・多検体が検出可能な診断法を開発する目的で、SaV-VLPs に対する MAbs の作製を試みた。これまでに、いくつかの MAbs を得たが、本年度はさらに新規作製 MAbs を加えて、その解析と有用性について検討した。各 Genogroup（GI、GII、GIV および GV）の VLPs を抗原とした ELISA 法およびウエスタンブロット法により各抗体の反応性を調べたところ、すべての Genogroup に交叉する抗体が認められた。また、Genogroup 特異的あるいは Genotype 特異的な抗体も得られた。すべての Genogroup に反応する抗体について、競争 ELISA 法により検討したところ、認識部位の異なる抗体があることが分かった。

A. 研究目的

ヒトカリシウイルスはノロウイルス属（Norovirus、NoV）およびサポウイルス属（Sapovirus、SaV）に分類され、両者はさらに多数の Genogroup に亜分類されている。NoV 感染の診断法として、現在、免疫学および遺伝子学的診断法が利用されている。両者を比較した場合、遺伝子学的方法（PCR 法）は、感度および特異性の点で優れており、リアルタイム PCR 法などを用いれば、かなり迅速性も増してきてはいるが、操作

が煩雑で手間と技術が必要とされ、試薬も高価である。一方、免疫学的方法は、特異性や感度の点で遺伝子学的方法にはやや劣るものの、迅速、簡便で経済的にも優れ、多検体が同時に検出可能なスクリーニングなどに適している。この免疫学的手法に単クローン抗体（MAbs）を利用すれば、より特異性が高くなることが期待される。

これまで、ノロウイルス様粒子（NoV-VLPs）に対する MAbs をいくつか作製し、ウイルスの抗原学的解析に応用するととも

に、MAbs の特性を生かした NoV-ELISA 法やイムノクロマト法の開発を手がけてきた。

一方、SaV も頻度は低いものの、感染性胃腸炎の重要な原因ウイルスとして知られており、ここ数年発症事例の報告が増えている。SaV の遺伝子学的な検出法はあるものの、免疫学的な診断法が確立されているとはいえない。本研究では、SaV の簡便・迅速・経済的・多検体検出可能な診断法を開発する目的で、各 Genogroup の SaV-VLPs を免疫源として MAbs の作製を行い、その解析と有用性について検討した。

B. 研究方法

1) 用いた SaV-VLPs

免疫源として、バキュロウイルスで発現されたレコンビナント SaV-VLPs を用いた。すなわち、GI. 1 (Mc114 株)-、GI. 5 (Yokote1 株)-、GII. 3 (Syd53 株)-、GIV. 1 (Syd3 株)-、および GV. 1 (NK24 株)-VLPs を用いた。同様に、今回新たに作製された GI. 6 (Nichinan 株)-VLP を免疫源として用いた。抗原的解析には、ほ乳動物のベクターを用いて作製された GII. 2 (Mc10)-、GII. 3 (C12)-VLPs を、また、新規に作られた GII. 3 (20082029 株)-、GII. 3 (D1711 株)-、GII. 3 (Kushiro5 株)-、GII. 3 (Nayoro4 株)-、GII. 3 (Kumamoto6 株)-、GII. 3 (20072248 株)- および GIV. 1 (Yakumo8 株)-VLPs を使用した。VLPs はいずれも岡ら (国立感染研) において作製された。

2) 単クローン抗体の作製

免疫法として、腹腔投与を行った。細胞融合法は常法に従って行った。抗体陽性細胞のスクリーニングは、免疫源を固相化した ELISA 法にて行った。選択された抗体産生細胞をマウスの腹腔内に接種し、得られた腹水を抗体として用いた。

3) 抗体の解析

得られた抗体の各 VLPs に対する交叉性は、ELISA 法およびウエスタンブロット法にて検討した。

4) 競争 ELISA

抗体の特異性は、競争 ELISA 法により確認した。即ち、各 Genogroup の VLP を coating したプレートに、あらかじめ抗体と各 VLP を混合した反応液を添加し、VLP の競合の程度を比較した。競争の評価は、 $[B/Bo = (\text{抗体} + \text{段階希釈抗原}) \text{の OD} - \text{対照の OD} / \text{抗体のみの OD} - \text{対照の OD}]$ で表した。

倫理面への配慮

動物実験に際しては、兵庫県立大学および環境人間学部研究倫理委員会規定に基づき、同審査委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

前年度までに得られた抗体に本年度得られた抗体を加えると、計 65 抗体となった。このうち、24 抗体を腹水化し、いくつかの VLPs に対する反応性を検討した (表 1)。各 Genogroup の VLPs を固層化した ELISA 法により抗体の反応性を調べたところ、交叉反応性が異なるクローンが存在することが分かった。

1) 各 Genogroup-VLPs と反応する MAbs

GI. 5 (Yokote1) に対する抗体の 1 つ 8127 は、すべての株に交叉反応性を示すことを以前に報告した。この抗体は GI および GV の VLPs に対しては強陽性を示したが、GII および GIV の VLPs に対しては弱陽性であった。今回新たに GI. 6 (Nichinan) に対する抗体が 7 つ得られたが、このうち 4 抗体 (5C9、1A1、5C1 および 6C4) はいずれの VLPs に対して同等の強さの陽性反応を示した (表 1)。

一方、3抗体(6D3、3D2および4G7)は8127と同様の反応性を示した。

ウエスタンブロット法において、8127、5C9および1A1は、各GenogroupのVLPsと58~60kDのタンパク質と反応した(図1)。

2) Genogroup特異的なMAbs

GI.5(Yokotel)およびGII.3(Syd53)に対する抗体の中には、GenogroupのVLPsと反応する抗体があり、Genogroup特異的と考えられた。616抗体は、GI.1、GI.5およびGI.6のVLPsと反応した。また、1803および8083抗体は、GIIすべてのVLPsと反応した。また、819および806は、調べた限り2株ではあるが、GIVのVLPsと反応した。

3) Genotypeあるいは株特異的なMAbs

抗体1015は、GII.3のすべての株に対して反応するが、他のGII(GII.2、GII.4およびGII.7)VLPsには反応しない抗体であった。また、各VLPs株(免疫源)とのみに反応する抗体もあった。

4) 競争ELISA法による特異性の確認

各GenogroupのVLPをcoatingし、競争ELISA法により特異性を確認した。抗体5C9は、各GenogroupのVLPにより同等に競合された(図2AおよびB)。また、抗体1A1は、5C9と同様の結果を示した(図2CおよびD)。一方、8127は、GIおよびGVとの株とは競合したが、GIIおよびGIVの株とは弱い競合しか示さなかった(図2EおよびF)

D. 考察

元来、SaV-VLPsはNoV-VLPsなどに比較してその産生量が悪いといわれ、それがSaV研究の隘路となっていた。研究分担者の岡ら(国立感染研)は、Mc10(GII.2)およびC12(GII.3)のように、SaV-VLP発現系として、ほ乳動物のベクターを用いてVLPsを発

現することを可能にし、さらにカイコを用いた新たなSaV-VLPの作製に成功した。このことにより、種々のVLPsに対する単クローン抗体を作製することも可能になった。今回、新規VLPを免疫源として、広く交叉性を示す単クローン抗体を新たに樹立することができた。

前回報告した8127は、SaVのGenogroup間すべてに交叉反応を示したが、株の違いにより反応性の強弱があり、競争ELISAの結果にも反映されていた。このMAbsはSaVの共通領域を認識したとみられるため、野外材料を用いたイムノクロマト法によりその有用性を検討したが、その検出率はGIIおよびGIVに対して低かった。今回新たに得られた抗体(5C9、1A1、および5C1)は、ELISA法により、各GenogroupのVLPsに対して、同等の強さで反応した。また、競争ELISAにより、3抗体は、同じ抗原部位を認識した抗体であることが示唆され、8127とは異なる部位を認識したものと考えられる。今後、これらの新規抗体を用いることで、SaVの簡便迅速診断法の開発が期待される。

一方、前回報告した抗体616は、同Genogroupの3株(GI.1 Mc114、GI.5 YokotelおよびGI.6 Nichinan)と反応し、調べた限り2株(Mc114およびYokotel)と競合を示した。このことにより、616は、GI株の共通した領域を認識したものと思われる。また、1803は、すべてのGII-VLPsと反応し、GII特異性の抗体と考えられる。このようなGenogroupに特異的な抗体を用いれば、既存のNoVの診断キット(GIおよびGIIを区別)のようにGenogroupの鑑別診断に利用することも可能である。さらに、Genogroupの異なるいくつかのクローンにより、抗体パネルを構築したり、カクテルにして検出する

ことも可能と考えられる。

データには示していないが、得られた多くの MAbs は、株 (免疫源) 特異的であった。しかし、GIV および GV に関しては抗原として、それぞれ 2 および 1 株の VLP しか用いていない。同グループのいくつかの株を用いて検討すれば、Genogroup あるいは Genotype 特異的な抗体が存在する可能性がある。株特異性の抗体は、検出・診断としての利用は難しいが、抗原的な解析などには役立つことが期待される。

今後、得られた抗体を用いて、詳細な抗原的解析やエピトープマッピングを行うとともに SaV の ELISA 法あるいはイムノクロマト法などによる検出系を構築し、流行疫学、早期発見および早期予防に寄与したい。

E. 結論

SaV の簡便・迅速・経済的・多検体が検出可能な診断法を開発する目的で、SaV-VLPs に対する MAbs の作製を試み、得られた MAbs の解析とその有用性について検討した。

ELISA 法およびウエスタンブロット法により各抗体の反応性を調べたところ、株あるいは Genotype 特異的、Genogroup 特異的、また、すべての Genogroup に交叉する抗体が作製された。また、いくつかの抗体の特異性は競争 ELISA 法により確かめられた。抗体 8127 の有用性を野外材料を用いたイムノクロマト法により検討したが、GII および GIV の検出率は低かった。Genogroup 特異性抗体を用いたカクテル抗体を用いることに

より、ELISA 法あるいはイムノクロマト法などによる検出系の構築は可能と考える。

F. 研究業績

学会発表

- 1) Noritoshi Kitamoto, Tomoichiro Oka, Grant S. Hansman, Kazuhiko Katayama, Yoji Kato, Tomoyuki Tanaka. Broadly reactive monoclonal antibody with several recombinant Sapovirus-like particles (SV-VLPs). International Union of Microbiological Societies 2011 Congress. 2011 (September), Sapporo.
- 2) Tomoyuki Tanaka, Noritoshi Kitamoto, Tomoichiro Oka, Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Hisaaki Yoshida, Setsuko Iizuka, Yoshiharu Morino, Yasutaka Yamashita, Seiya Harada, Naokazu Takeda and Kazuhiko Katayama. Rapid Detection kit for norovirus and sapovirus with viruses specific monoclonal antibodies. The 5th China Medicinal Biotech Forum November 7-9, Beijing, China

G. 知的財産の出願、登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録

TABLE 1 Reactivities of monoclonal antibodies with 15 SaV VLPs in ELISA																			
Group	MAb	Immunogen	Isotype	Reactivity ^a												GIV		GV	
				GI ^b			GII							GIV		GV			
				1 ^c	5	6	2	3	3	3	3	3	3	4	7	1	1	1	
				Mc114	Yokote1	Nichinan	Mc10	C12	20082029	D1711	Syd53	Kushiro5	Nayoro4	Kumamoto6	20072248	Syd3	Yakumo8	NK24	
A	5C9	Nichinan	IgG1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	1A1	Nichinan	IgG1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5C1	Nichinan	IgG1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	6C4	Nichinan	IgM	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	8127	Yokote1	IgG1	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++
	6D3	Nichinan	IgG1	++	+++	+++	++	+	+	+	NT	++	++	++	++	++	++	++	++
	3D2	Nichinan	IgG1	+	++	+++	++	+	+	++	NT	+	++	+	+	+	+	+	++
	4G7	Nichinan	IgG1	+	NT	+++	+	+	+	+	NT	+	+	+	+	+	+	+	+
B	616	Yokote1	IgG1	++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1325	Mc114	IgG1	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5001	Mc114	IgG1	++	-	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	-	
	4357	Mc114	IgG1	++	-	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	-	
	627	Yokote1	IgG1	-	++	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	-	
	7F8	Nichinan	IgM	-	-	++	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	
	1F2	Nichinan	IgM	-	-	++	-	-	-	-	NT	-	-	-	-	-	-	-	
C	1803	Syd53	IgG3	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	
	8083	Syd53	IgG3	-	-	NT	++	++	NT	NT	++	NT	NT	NT	NT	-	-	-	
	1015	Syd53	IgG2b	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	
D	819	Syd3	IgG1	-	-	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	++	++	-	
	806	Syd3	IgG1	-	-	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	++	++	-	
E	1496	NK24	IgG1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	
	155	NK24	IgG1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	
	4971	NK24	IgG1	-	-	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	+++	
	1052	NK24	IgG1	-	-	NT	-	-	NT	NT	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	+++	
	anti-SV serum			+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
	PBS			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

^a Reactivities: +++, strong (OD ratio of sample/PBS, >10); ++, moderate (5-9); +, weak (1-4); -, negative (<1); NT, not tested.

^b Genogroup

^c Genotype

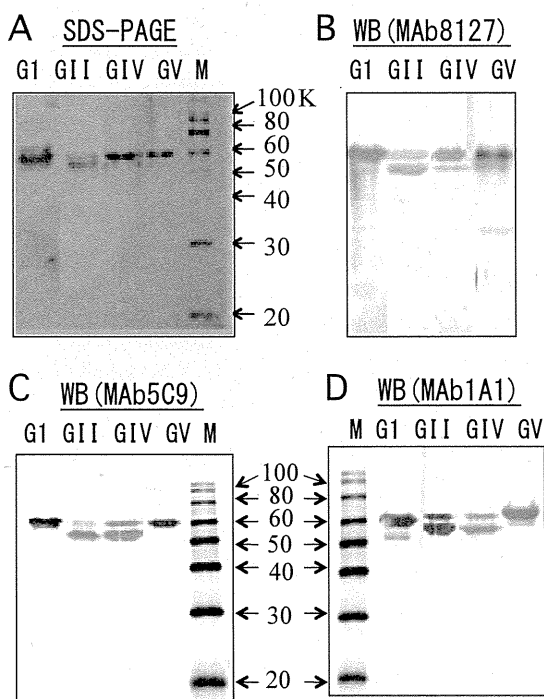


図1. SaV VLPs の SDS-PAGE の CBB 染色 (A) および western blots における抗体の反応性 (B-D). VLPs : GI (GI.5 Yokote1 [A および B]), GI.6 Nichinan [C および D]), GII (20072248)、GIV (Yakumo8)、GV (NK24). 抗体 : 8127 (B)、5C9 (C)、1A1 (D). Lane M : : molecular mass markers.

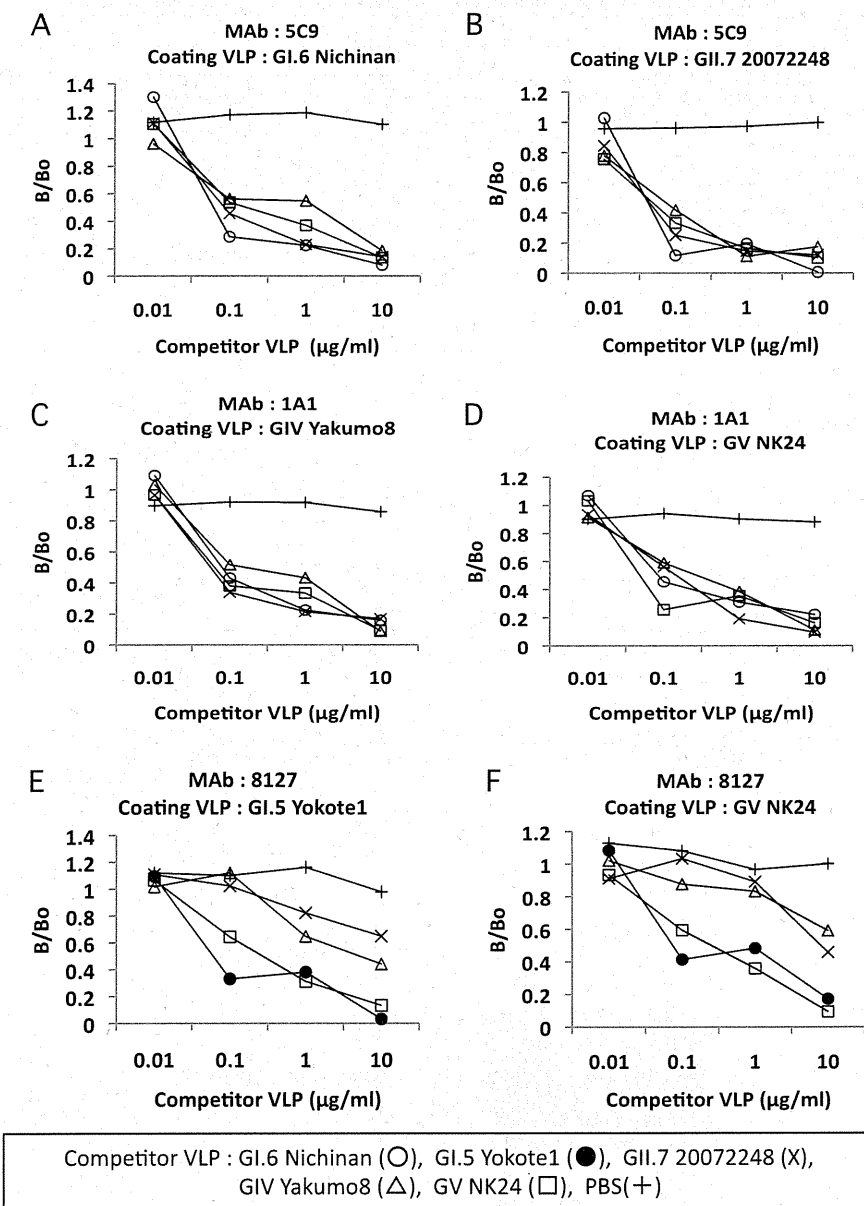


図 2. 抗体の競争 ELISA

Coated VLPs : GI.6 Nichinan (A), GII.7 20072248 (B), GIV Yakumo8 (C), GI.5 Yokote1 (E), GV NK24 (D and F). Competitor VLPs : GI.6 Nichinan (○), GI.5 Yokote1 (●), GII.7 20072248 (X), GIV Yakumo8 (△), GV NK24 (□). 抗体 : 5C9 (A and B), 1A1 (C and D), 8127 (E and F)

研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧表

1. 論文発表

Akazawa D., Morikawa K., Omi N., Takahashi H., Nakamura N., Mochizuki H., Date T., Ishii K., Suzuki T. and Wakita T. Production and Characterization of Hepatitis C Virus Particles from Serum-free Culture. *Vaccine*, 29: 4821-4828 (2011)

Hansman G. S., Taylor D. W., McLellan J. S., Smith T. J., Georgiev I., Tame J. R. H., Park Sam-Yong., Yamazaki M., Gondaira F., Miki M., Katayama K., Murata K., Kwong P. D. Structural basis for broad detection of genogroup II noroviruses by a monoclonal antibody that binds to a site occluded in the viral particle. *J. Virol.* published ahead of print 25 Jan. 2012.

Hansman, G. S., Biertumpfel, C., Georgiev, I., McLellan, J. S., Chen, L., Zhou, T., Katayama, K., Kwong, P. D. Crystal structures of GII.10 and GII.12 norovirus protruding domains in complex with histo-blood group antigens reveal details for a potential site of vulnerability. *Journal of virology* vol. 85, 6687-701, 2011.

Hansman, G. S., Shahzad-Ul-Hussan, S., McLellan, J. S., Chuang, G. Y., Georgiev, I., Shimoike, T., Katayama, K., Bewley, C. A., Kwong, P. D. Structural basis for norovirus inhibition and fucose mimicry by citrate. *J of Virol.* Vol.86, 284-92, 2012.

Iritani N., Kaida A., Abe N., Sekiguchi J., Kubo H., Takakura K., Goto K., Ogura H., Seto Y.: An increase of GII.2 norovirus infections during the 2009-2010 season in Osaka City, Japan, *Journal of Medical Virology* 84, 517-525, 2012

Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Shimada T., Nakamura N., Tada Y., Noda M. and Wakita T.: Epidemiological and genetic analysis of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010., *Hepatology International*, 5: 204-205 (2011)

Ishii K., Kiyohara T., Yoshizaki S., Wakita T., Shimada T., Nakamura N., Nakashima K., Tada Y. and Noda M. Epidemiological and genetic analyses of a diffuse outbreak of hepatitis A in Japan, 2010. *Journal of Clinical Virology*, *Journal of Clinical Virology*, 53(3)219-224 (2012)

Ivo N. SahBandar, Kiyomi Takahashi, Kazushi Motomura, Zubairi Djoerban, Iman Firmansyah, Katsuhiko Kitamura, Hironori Sato, Herdiman T. Pohan, Shigehiro Sato : The Indonesian Variants of CRF33_01B: Near-Full Length Sequence Analysis, *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Jan;27(1):97-102

Iwasaki Y., Mori K., Ishii K., Maki N., Iijima S., Yoshida T., Okabayashi S., Katakai Y., Lee Y. J., Saito A., Funai H., Kimura N., Ageyama N., Yoshizaki S., Suzuki T., Yasutomi Y., Miyamura T., Kannnagi M. and Akari H. Long-term persistent GBV-B infection and development of a chronic and progressive hepatitis C-like disease in marmosets. *Frontiers in Microbiology*, in press

Kitajima, M., Oka, T., Haramoto, E., Phanuwan, C., Takeda, N., Katayama, K., Katayama, H. Genetic diversity of genogroup IV noroviruses in wastewater in Japan. *Letters in applied microbiology*. Vol. 52, 181-4, 2011.

Kumagai Y, Noda M, and Kasuga F. : New Approaches for Tackling Foodborne Infections, *Journal of Disaster Research*, 6(4), 451-458 (2011)

Li T. C., Song S. Yang Q., Ishii K., Takeda N., and Wakita T. A cell culture system for hepatitis E virus. *Hepatology International*. 5: 202 (2011)

Matsuhira, T. Kaji, C. Murakami, S. Maebashi, K. Oka, T. Takeda, N. Katayama, K. Evaluation of four antiseptics using a novel murine norovirus. *Exp Anim*. Vol. 61, 35-40, 2012

Miyamura T., Ishii K., Kanda T., Tawada A., Sekimoto T., Wu S., Nakamoto S., Arai M., Fujiwara K., Imazeki F., Kiyohara T., Wakita T. and Yokosuka O. Possible widespread presence of hepatitis A virus subgenotype IIIA in Japan: recent trend of hepatitis A causing acute liver failure. *Hepatology Research*, in press

Murakami K, Suzuki S, Aoki N, Okajima T, Nadano D, Uchida K, Yamashita K, Oka T, Katayama K, Takeda N, Matsuda T. Binding of Norovirus virus-like particles (VLPs) to human intestinal Caco-2 cells and the suppressive effect of pasteurized bovine colostrum on this VLP binding. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 74(3): 541-547. 2010.

Nakamura S, Tsuchiya H, Okahara N, Nakagawa T, Ohara N, Yamamoto H, Li TC, Takeda N, Ogasawara K, Torii R. Epidemiology of Hepatitis E Virus in Indoor-Captive Cynomolgus Monkey Colony. *J Vet Med Sci*. 2012. in press.

Oka T, Mori K, Iritani N, Harada S, Ueki Y, Iizuka S, Mise K, Murakami K, Wakita T, Katayama K. : Human sapovirus classification based on complete capsid nucleotide sequences. *Arch Virol.*, 2011 Nov 11, [Epub ahead of print]

Oka T, Takagi H, Tohya Y, Murakami K, Takeda N, Wakita T, Katayama K. : Bioluminescence technologies to detect calicivirus protease activity in cell-free system and in infected cells. *Antiviral Res.*, 2011 Apr;90(1):9-16.

Oka, T., Murakami, K., Wakita, T., Katayama, K. Comparative site-directed mutagenesis in the catalytic amino acid triad in calicivirus proteases. *Microbiol Immunol.* Vol. 55, 108-114. 2011.

Sharp, T. M., Guix, S., Katayama K., Crawford, S. E., Estes, M. K. Inhibition of Cellular Protein Secretion by Norwalk Virus Nonstructural Protein p22 Requires a Mimic of an Endoplasmic Reticulum Export Signal. *PLoS ONE* 5(10) e13130, 2010.

Takanashi S, Chen N, Shen Q, Jung K, Zhang Z, Yokoyama M, Lindesmith L, Wang Q, Saif LJ Characterization of the emerging GII.g/GII.12 norovirus from a gastroenteritis outbreak in US in 2010. *J. Clin. Microbiol.*, 49:3234-3244, 2011.

Tetsuya Yoshida, Tatsuko Miyasaka, Yuka Azegami, Yurie Uchiyama, Hitomi Kasahara, Hiromi Ueda, Koji Ishii, Mamoru Noda: Investigation of epidemiology and HAV genomes regarding three hepatitis A infections that occurred in April -May, 2010, *Jpn J Infect Dis*, 64, 260-261 (2011)

Tian-Cheng Li, Susumu Ochiai, Hiroaki Ishiko, Takaji Wakita, Tatsuo Miyamura, and Naokazu Takeda. A retrospective study on imported hepatitis E in Japan. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2012. In press.

Tian-cheng Li, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Arikawa J, Koma T, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Mai LT, Hoa NT, Yamashiro T, Hasebe F, Takeda N, Wakita T. Characterization of self-assembled virus-like particles of rat hepatitis E virus generated by recombinant baculoviruses. *Journal of General Virology* (2011), 92, 2830-2837.

Yoshiyuki Suzuki: Overestimation of nonsynonymous/synonymous rate ratio by reverse-translation of aligned amino acid sequences. *Genes & Genetic Systems*, 2011, 86:123-129.

横井 一, 田中俊光, 小林圭子, 岩撫晴子, 野口喜信, 三井良雄, 岡本 明, 若岡未記, 西郡恵理子, 渡部展彰, 清田智子, 加曾利東子, 大山照雄, 西村正樹, 本橋 忠, 小川さやか, 小山大雅, 長嶋真美, 大野喜昭, 大塚正毅, 中台啓二, 池上 宏, 石井孝司, 野田 衛: A型肝炎ウイルスによる食中毒事例-千葉市, *病原微生物検出情報*, 32(3), 18-19 (2011)

岸田典子, 高下恵美, 藤崎誠一郎, 徐 紅, 伊東玲子, 土井輝子, 江島美穂, 金 南希, 菅原裕美, 佐藤 彩, 今井正樹, 小田切孝人, 田代真人, 本村和嗣, 横山 勝 柊元 巖, 佐藤裕徳, 小口晃央, 山崎秀司, 藤田信之: 2010/11シーズンのインフルエンザ分離株の解析, *病原微生物検出情報月報* Vol. 32 p. 317-323: 2011年 11

月号

吉澄志磨, 後藤明子, 石田勢津子, 野田 衛: 二枚貝関連の食中毒疑い事例における各種胃腸炎ウイルスの関与-北海道, 病原微生物検出情報, 32(12)361-363 (2011)

吉田徹也, 粕尾しず子, 畔上由佳, 内山友里恵, 笠原ひとみ, 上田ひろみ, 長瀬 博, 藤田 暁, 野田 衛: ノロウイルスおよびサポウイルスの掃除機内ダスト中の汚染実態調査, 小児科, 52(10)1419-1423 (2011)

溝口嘉範, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本壽男, 安原広己, 上間匡, 野田 衛: ふき取り検体のノロウイルス検査法の改良, 病原微生物検出情報, 32(12)358-359 (2011)

斎藤 博之, 東方 美保, 岡 智一郎, 片山 和彦, 田中 智之, 野田 衛: パンソルビン・トラップ法による食品からのウイルス検出法, 病原微生物検出情報, 32(12)355-357 (2011)

斎藤博之: 食品のノロウイルス検査の汎用化を目指したパンソルビン・トラップ法の開発, 日本食品微生物学会雑誌, Vol. 1, No. 1, 2012 (印刷中)

細見卓司, 谷脇 妙, 松本一繁, 藤戸亜紀, 鍋島 民, 下司 勲, 松本道明, 今井 淳, 大野雅子, 麻岡文代, 吉澄志磨, 井手 忍, 山崎謙治, 左近直美, 中田恵子, 増本久人, 南 亮仁, 野田日登美, 野田 衛, 片山和彦: 高知県で発生した Norovirus GII/14 による食中毒事例と他県事例株との比較, 病原微生物検出情報, 32(7), 199-201 (2011)

篠原美千代, 富岡恭子, 峯岸俊貴, 内田和江, 鈴木典子, 島田慎一, 河橋幸恵, 岸本剛, 野田衛: 非晶性リン酸カルシウム微粒子を用いた食品からのウイルス検出法, 病原微生物検出情報, 32(12)357-358 (2011)

小林慎一, 藤原範子, 安井善宏, 伊藤 雅, 山下照夫, 藤浦 明, 皆川洋子: 2005~2009年の5年間におけるA群ロタウイルス検出状況-愛知県, 病原微生物検出情報, 32(3): 72-73, 2011.

植木 洋, 高橋由理, 鈴木優子, 阿部美和, 佐藤由紀, 沖村容子, 高橋達也, 佐藤 淳, 豊嶋 潤, 熊谷 祥, 野田 衛: 2010年度に県内で集団発生した感染性胃腸炎事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型-宮城, 病原微生物検出情報, 32(6), 173-174 (2011)

青木紀子, 青木里美, 山下育孝, 田中 博, 岡 裕三, 土井光徳, 本村和嗣, 野田 衛: 愛媛県における急性胃腸炎の散発例および集団発生例からのノロウイルスの検出状況と遺伝子型別分類(2009/2010 シーズン). 愛媛衛環研年報, 13, 7-14 (2010)

石井孝司 A型肝炎ウイルスのウイルス学的特徴 日本臨床 69:559-565 (2011)

石井孝司 B型肝炎の現状とワクチン 愛知県小児科医会会報 94: 38-46 (2011)

石井孝司, 清原知子 A型肝炎の血清保有状況と最近の流行状況 小児科 52:
1819-1825 (2011)

石井孝司, 李 天成 E型肝炎 公衆衛生 75: 43-46 (2011)

田中俊光, 横井一, 水村綾乃, 小林圭子, 木原顕子, 都竹豊茂, 中台啓二, 加曾利東子, 落合弘章, 大山照雄, 西村正樹, 山本一重, 野田 衛: 生シラスが原因食品と疑われる有症苦情事例について-千葉市, 病原微生物検出情報, 32(12)363-364 (2011)

田中智之. 消化器症候群 ノロウイルス ウイルス感染症の検査・診断スタンダード. 羊土社発行 P129-133, 2011

道免和文, 小野原伸也, 田中博文, 春野政虎, 下田慎治, 姜 貞憲, 石井孝司, 高橋和明 2010年A型肝炎ウイルス福岡株に対する分子疫学的検討-1999年ボルネオ(カリマンタン)島由来株との近縁性 肝臓 52: 497-502 (2011)

本村和嗣: ノロウイルスの生き残り戦略, Medico Vol. 42 No.2 p. 32-35: 2011年2月号, 協和企画

本村和嗣: ノロウイルス感染症” 臨床とウイルス Vol 39 p.115-p.122: 2011年7月

野田 衛, 山下和予: ノロウイルス食中毒の発生動向および調査・検査体制の取り組み, 食品衛生研究, 62(1):1-19 (2012)

野田 衛, 上間 匡, 片山和彦, 岡 智一郎, 山下和予, 岡部信彦, 石丸 歩, 松岡隆介, 温泉川肇彦, 地方衛生研究所 (51 機関): 食品媒介事例を中心としたノロウイルス, サポウイルスの塩基配列情報および疫学情報の共有化の取り組み, 病原微生物検出情報, 32(12)354-355 (2011)

野田 衛: 生牡蠣におけるノロウイルス汚染と検査・除去法, 日本医事新報, 4584, 55-56 (2012)

2. 学会発表

Akari H., Iwasaki Y., Mori K., Ishii K., Maki N., Iijima S., Yoshida T., Okabayashi S., Katakai Y., Lee Y. J. and Saito A. Long-term persistent GBV-B infection and development of a progressive chronic hepatitis C-like disease in marmosets. 15th International Congress of Virology, Sapporo, Japan, September