

201204003A

厚生労働科学研究費補助金  
地球規模保健課題推進研究事業  
(国際医学協力研究事業)

# ウイルス感染症の診断、疫学および 予防に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

平成25年（2013）年3月

研究代表者 中 込 治  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

厚生労働科学研究費補助金  
地球規模保健課題推進研究事業  
(国際医学協力研究事業)

# ウイルス感染症の診断、疫学および 予防に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

平成25年(2013)年3月

研究代表者 中 込 治  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科

# 目 次

## I. 総括研究報告

	(ページ)
ウイルス感染症の診断、疫学および予防に関する研究 .....	1

## II. 分担研究報告

1	アルボウイルスの病原性に関する研究 .....	19
	研究分担者：森田公一（長崎大学熱帯医学研究所）	
2	ウイルス性下痢症の疫学、ワクチンと疾病負担に関する研究 ロタウイルスの分子疫学:日本で検出された G2 ロタウイルス株 VP7 遺伝子の 分子進化 .....	32
	研究代表者：中込 治（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）	
3	ウイルス性下痢症の疫学、ワクチンと疾病負担に関する研究 小児の急性胃腸炎の原因としてのノロウイルスの分子疫学:ゲノグループ、 ゲノタイプ GII.4 変異株の世界的分布 .....	36
	研究代表者：中込 治（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）	
4	狂犬病の病原性と治療法開発に関する研究 狂犬病ウイルス街上毒の N 型糖鎖と病原性との関連ならびに侵淫国で 利用可能な狂犬病迅速診断法の有用性評価 .....	42
	研究分担者：西園 晃（大分大学医学部）	
5	ハンタウイルス感染症の診断法に関する研究 .....	51
	研究分担者：有川二郎（北海道大学大学院医学研究科）	
6	ウイルス性出血熱や新興ウイルス感染症の診断法の開発に関する研究 ...	57
	研究分担者：森川 茂（国立感染症研究所獣医科学部）	

**III.** 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 63

**IV.** 研究成果の刊行物・別刷 ..... 69

# I. 総括研究報告

## ウイルス感染症の診断、疫学および予防に関する研究

研究代表者:中込 治 (長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座・教授)

### 研究要旨:

本研究はアルボウイルス感染症、ウイルス性下痢症、狂犬病、ウイルス性出血熱を中心に、特にアジアにおいて問題となるウイルス感染症を対象とし、(1)特異性と迅速性に優れた診断法を開発すること、(2)ウイルス感染症流行において疫学調査を実施し流行地の特定と患者発生状況を明確にすること、(3)ヒトや動物、節足動物からウイルスを分離し、流行ウイルス株のゲノムの性状、抗原性、病原性、進化のメカニズム等を明らかにすること、(4)新規治療法やワクチンの改良と開発のための基盤を確立すること、(5)アジアや米国の研究者と協力研究を推進することにより、国際的な視点からの感染症研究体制を強化することを目的とした。

アルボウイルス感染症分野において、日本脳炎ウイルス(JEV)はNS1タンパク質のフレームシフトにより変異タンパク質 NS1'を合成し、これによりトリ細胞での高い増殖性を獲得することで自然界の中で効率よく拡散、増幅している可能性が示唆され、その分子マーカーも特定した。その結果、これまでにアジア、日本で分離された JEV のほとんどが NS1'を持つ事が示唆された。さらに日本で野外蚊から分離される JEV は遺伝子型が I 型であり、E 蛋白でのアミノ酸置換、ゲノム RNA の 3'UTR でのヌクレオチド欠失があった。しかし細胞障害性は従来株と同様で、病原性は必ずしも低くはなく今後もアジアと日本国内での JEV の病原性変動を調査する必要があると示唆された。デングウイルス中和に関するエピトープについてはブロッキング ELISA の手法により、7F4 抗体に対応するエピトープすなわち E タンパク質のドメイン II が、ヒトにおける型特異的中和抗体の誘導に重要な役割を果たすことが示唆され今後のワクチン開発に有用な所見が得られた。

ウイルス性下痢症分野において、わが国で 30 年にわたり検出された G2 ロタウイルス株の VP7 遺伝子は、地球規模での進化系統樹の 2 系統と 2 亜系統に属するものであり、最近の株は IVa-1 に属し、IVa-3 が 2011 年に 1 株出現したことが確認された。世界的には IVa-1 から IVa-3 への移行がみられ、単価ワクチンが定期接種に導入された地域ではこの移行が加速される傾向がある。これは単価ワクチンの使用が多いわが国でさらに接種率が向上した場合の野生株に与える影響評価にとって重要な基盤情報になる。

小児の散発性胃腸炎の原因としてのノロウイルスについてみるとその 96%は遺伝子群 GII 型であり、そのうち GII.4 型がカプシド領域で 70%、ポリメラーゼ領域で 60%を占める主要な型であった。ポリメラーゼ領域とカプシド領域の境界で起こったリコンビナントはノロウイルスの実に 26%であったが、GII.4 型では、ほとんどが非リコンビナント株であった。本

研究により、アジアの発展途上国で重要性を増しているノロウイルスに対するワクチン開発に際し、GII.4 型と、それに次ぐ GII.3 型を候補とすることが適切であることが示された。本研究はノロウイルスの遺伝子型の世界における分布を初めて示したものであり、ノロウイルス研究における重要な研究基盤情報である。

狂犬病分野において、末梢から中枢への遡上能力の低下した 1088 変異株では、ウイルス外表のエンベロップ蛋白に新たな糖鎖付加が生じていたが、末梢感染時における中和抗体の誘導は親株感染と同程度であった。また固定毒の弱毒化機構の一つとして、血管脳関門の透過性亢進による免疫担当細胞の脳内への浸潤の増加も報告されているが、このような証拠も得られなかった。したがって、糖鎖付加による変異株の弱毒化は、宿主の免疫応答を強く誘導するためではなく未知の機構の可能性があり、それを解明することは狂犬病に対する新たな治療法確立のための手掛かりになることが期待された。

狂犬病動物の脳材料を用いた狂犬病ウイルス抗原診断法 (RICT 法) の診断能力は、国際標準法である免疫蛍光抗体法と比較して 95%近い鋭敏性と特異性を示し、高価で時間のかかる従来法よりはるかに簡便、安価であった。またワクチン接種後のヒトまたはイヌの血清中の狂犬病ウイルスに対する中和抗体価を簡便・迅速に測定できる、血中ウイルス中和抗体迅速測定法 (RAPINA 法) は、従来の標準法であるウイルス中和試験とほぼ 100%近い一致率を示し、測定の迅速性と簡便さから多くの途上国での汎用が期待された。同時に我が国に狂犬病が再侵入し、再興した場合でも対応可能なリスク管理のできる手段をも確立したといえる。

ウイルス性出血熱分野において、腎症候性出血熱 (HFRS) とハンタウイルス肺症候群 (HPS) の原因となるハンタウイルスの全ての血清型についての抗体スクリーニング用および血清型鑑別用の診断抗原の調整に成功し、ELISA 法とイムノクロマト法 (ICG 法) に応用した。これらの方法は、患者血清や感染げっ歯類の診断に高感度、高特異性であることが確認された。この研究によって、ハンタウイルス感染症が存在し、または危惧されている東アジア諸国における診断体制を準備することが出来、流行地域の特定による封じ込め対策や初期の治療方針の選択に有用な情報を得ることが出来ると考えられる。また、ベトナム、インドネシア、スリランカで疫学的調査・研究に一部使用し、有効性を確認した。特に、ICG 法は ELISA 法に比べてもより迅速かつ簡便で、感度・特異性も高く、今後さらに発展させたい。ウイルス性出血熱の予防対策は日米医学協力計画での重点対応分野の一つであり、迅速診断・対応が強く求められる疾患である。そのなかで、ハンタウイルス感染症はげっ歯類媒介性人獣共通感染症の代表でもあり、その高特異性・迅速性診断法の開発と疫学への応用は、本研究課題の目指すところを同じくしている。

2006 年に中国広西自治区のサル繁殖施設 (31,260 頭) でアカゲザル 10,000 頭が発症し 4,250 頭死亡 (2006 年) する事例があり、イヌディステンパーウイルス (CDV) が分離同定された。その後、中国で複数回の CDV によるサルの致死性感染症流行が報告されている。国内でもカニクイザルに致死性 CDV 感染症が報告されている。本研究では、流行時のサルの血清学的解析、病理学的解析等により、流行の全容を明らかにした。また、イヌ

などの肉食動物を宿主とする CDV が霊長類に大規模な致死感染症を起こした。この CDV は、サルレセプター(受容体)を有効に利用できることが、サルからサルへの伝播が容易におきた原因であると考えられた。霊長類への病原性獲得に関しては、レセプターの利用とは別のウイルス遺伝子内の変異が関与しているかどうかは不明である。

研究分担者:

有川二郎:北海道大学大学院医学研究科 教授

西園 晃:大分大学医学部 教授

森川 茂:国立感染症研究所獣医科学部 部長

森田公一:長崎大学熱帯医学研究所 教授

#### A. 研究目的

新興・再興感染症の発生と流行は世界各地で人類に対する脅威となっているが、その多くはウイルスを病因とするものである。重篤な脳炎や出血を特徴とするアルボウイルス感染症、膨大な疾病負担をもたらしているウイルス性下痢症、致命率 100%の狂犬病および重篤なウイルス性出血熱などが、アジア各地で流行し、多数の患者と死者をもたらしている。しかしこれらの感染症の流行地では、診断体制が不十分のため正確な患者数や流行地の特定などの疫学情報が不足している。さらに、病原ウイルスのゲノム情報にもとづく分子疫学的情報にいたってはきわめて不十分である。さらに、ワクチンの開発、改良、導入をすみやかに実施する必要がある。

本研究においては、特にアジアにおいて問題となる上記のウイルス感染症を対象とし、これらの感染症診断法の開発と改良、患者発生状況の把握、さらに流行地において、ヒトや動物、節足動物からウイルスを分離し、流行ウイルス株のゲノムの性状、抗原性、病原性、進化のメカニズム等を明らかにする。もって、新規治療法やワクチンの改良と開発のための基盤を確立することを目的とする。

#### B. 研究方法

##### 1) アルボウイルス感染症

JEV の NS1 と NS1' の生物学的役割を分子レベルで明らかにするため、NS1 と NS1' を発現するウイルスを遺伝子工学的手法で作成して、霊長類、げっ歯類、蚊培養細胞での増殖性や細胞内での動向を分子生物学的手法や共焦点レーザー蛍光顕微鏡による観察により解析した。また JEV の野生株の解析には石川県において蚊からウイルス分離を実施して遺伝子解析を実施するとともに各種細胞での増殖性やインターフェロン刺激性について評価した。デングウイルスの中和機序の解明については、デング 1 型ウイルスに対する E タンパク質のドメイン II を認識する型特異的マウスモノクローナル抗体 (D1-IV-7F4) とインドネシア人患者血清との競合をエピトープブロッキング ELISA の手法で測定し患者血清中の抗体ウイルス中和におけるドメイン II の重要性を定量的に評価した。

##### 2) ウイルス性下痢症

1980 年～2011 年の約 30 年間の間に検出された G2 株からゲノム RNA を抽出し、G 血清型をコードしている VP7 遺伝子を逆転写し、PCR 法により増幅した後、塩基配列を決定した。こ



れにデータベース上に登録されている G2VP7 遺伝子を加え、合計 54 株に由来するわが国における G2VP7 遺伝子の分子系統樹を、われわれのグループが確立したグローバルレベルでの G2VP7 遺伝子の分子進化系統樹の中に位置づけて解析した。

小児の急性散発性胃腸炎の原因としてのノロウイルスの遺伝子群、遺伝子型頻度に関しては、2004 年～2012 年に発表された文献のシステマティックレビューにより行った。とくに、ノロウイルスの遺伝子型頻度については 2010 年に再定義された分類に統一するため、それぞれの論文で報告されているウイルス株について、DNA データベースにさかのぼり、ダウンロードした塩基配列を独自に再解析した上で評価した。

### 3) 狂犬病

野外で採取された本来の狂犬病ウイルスに近いウイルスである 1088 株を、マウスの末梢筋肉組織から実験的に接種することで、本来の狂犬病感染を模した病態を作り出し、経時的な中枢・末梢組織でのウイルス抗原の分布や宿主の自然・獲得免疫応答、中枢神経系への侵入に関わるウイルス学的特徴を解析した。さらに培養神経細胞で継代を繰り返して、致死性の低下した 1088 株ウイルスと親株を比較することで、ウイルスゲノム変異や抗原性変化の面から病原性に関わる因子を解析した。一方、これまで開発してきたイムノクロマト法による簡便な狂犬病ウイルス抗原診断法(RICT 法)と競合イムノクロマト法に基づく血中ウイルス中和抗体迅速測定法(RAPINA 法)の有用性(迅速性、簡便性、低価格)を、狂犬病侵淫地であるアジア各国(タイ、バングラデシュ、スリランカなどの国々)をフィールドとして検討した。

### 4) ウイルス性出血熱

抗原的に異なる3つのハンタウイルスの抗原グループを検出するために、三種類の抗原を用意した。すなわち、ネズミ亜科げっ歯類を宿主とするウイルス(HTNV, SEOV, DOBV, THAIV)、ハタネズミ亜科げっ歯類を宿主とするウイルス(PUUV)および南北アメリカ大陸由来ウイルス(ANDV, SNV, LANV および多くの病原性不明のウイルス)の三種類である。それらについて、ハンタウイルス N タンパクの共通抗原部位(N 末端 103 アミノ酸、またはそれらを除いた N タンパクを大腸菌、若しくはバキュロウイルス)を発現ベクターとして調整し、ELISA およびイムノクロマト法の抗原として用いた。アルゼンチン、ベトナム(ハノイ市、ハイフォン市)、インドネシア、スリランカで得られた患者血清やげっ歯類血清を用いて診断法の感度、特異性を検討した。スリランカでラット属のげっ歯類から得られたハンタウイルスと宿主ラット遺伝子を系統解析した。

カニクイザルコロニーで発生した CDV 感染症の剖検例の病理学的解析を行った。臓器、組織は 10%ホルマリン緩衝液固定後、パラフィン包埋切片を用いた組織検索と免疫組織化学法によるウイルス抗原の検索を実施した。免疫組織化学法には CDV NP に対するモノクローナル抗体(CDV-NP, VMRD Inc)を用いた。

また、サル血清中の抗体応答を ELISA により行った。重症例のケモカイン・サイトカイン反応を human cytokine 25-plex antibody bead kit (Invitrogen)を用いて Luminex100 により解析した。

(倫理面からの配慮について)

#### 1) アルボウイルス感染症

ヒト血清の使用は、神戸大学大学院医学研究科医学倫理委員会において承認された。

## 2) ウイルス性下痢症

すでに公刊されている論文に由来するウイルス株、データベース上に公開されている既存の塩基配列情報、および衛生研究所が感染症発生動向調査関連の病原体検査により得られたウイルス株を使用した研究であり、個人情報取り扱いの配慮や生命倫理に関する取り組みを必要とする研究を含まないため、人権の保護に関する法令の遵守への対応に該当しない。

またデータベース上に公開されている既存の文献情報をシステムティックに解析したものであるため、該当しない。

## 3) 狂犬病

マウスを使用した実験については大分大学の動物実験倫理委員会の承認を得て行われた。

## 4) ウイルス性出血熱

ヒト血清については保有研究施設等で予めインフォームドコンセントを得た後、分与されたものである。用いた血清(動物血清)の採血では、何れも深麻酔後全採血、安楽死処分を行ったものであり、動物福祉の観点からも問題はないと判断された。

人の検体は用いていない。サルは導入時検疫中であり、動物検疫官の指示により適切に処置されたものを分与された。国立感染症研究所での動物実験には該当しない。

## C. 研究結果

### 1) アルボウイルス感染症

JEV は NS1 タンパク質のフレームシフトにより変異タンパク質 NS1' を合成し、これによりトリ細胞での高い増殖性を獲得することで自然界の中で効率よく拡散、増幅している可能性が

示唆され、その分子マーカーも特定した。その結果、これまでにアジア、日本で分離された JEV のほとんどが NS1' を持つ事が示唆された。さらに日本で野外蚊から分離される JEV は遺伝子型が I 型であり、E 蛋白でのアミノ酸置換、ゲノム RNA の 3'UTR でのヌクレオチド欠失があった。しかし細胞障害性は従来の株と同様で、病原性は必ずしも低くはなく今後もアジアと日本国内での JEV の病原性変動を調査する必要が示唆された。デングウイルス中和に関するエピトープについてはブロッキング ELISA の手法により、7F4 抗体に対応するエピトープすなわち E タンパク質のドメイン II が、ヒトにおける型特異的中和抗体の誘導に重要な役割を果たすことが示唆され今後のワクチン開発に有用な所見が得られた。

## 2) ウイルス性下痢症

わが国で 30 年にわたり検出された G2 ロタウイルス株の VP7 遺伝子は、地球規模での進化系統樹の 2 系統と 2 亜系統に属するものであり、最近の株は IVa-1 に属し、IVa-3 が 2011 年に 1 株出現した。世界的には IVa-1 から IVa-3 への移行がみられ、単価ワクチンが定期接種に導入された地域ではこの移行が加速される傾向がある。これは単価ワクチンの使用が多いわが国でさらに接種率が向上した場合の野生株に与える影響評価にとって重要な基盤情報になる。

小児の散発性胃腸炎の原因としてのノロウイルスについてみるとその 96% は遺伝子群 GII 型であり、そのうち GII.4 型が capsid 領域で 70%、polymerase 領域で 60% を占める主要な型であった。polymerase 領域と capsid 領域の境界で起こったリコンビナントはノロウイルスの実に 26% であったが、GII.4 型では、ほとんどが非リコンビナント株であった。本研究により、

アジアの発展途上国で重要性を増しているノロウイルスに対するワクチン開発に際し、GII.4型と、それに次ぐGII.3型を候補とすることが適切であることが示された。本研究はノロウイルスの遺伝子型の世界における分布を初めて示したものであり、ノロウイルス研究における重要な研究基盤情報である。

### 3) 狂犬病

末梢から中枢への遡上能力の低下した1088変異株では、ウイルス外表のエンベロープ蛋白に新たな糖鎖付加が生じていたが、末梢感染時における中和抗体の誘導は親株感染と同程度であった。また固定毒の弱毒化機構の一つとして、血管脳関門の透過性亢進による免疫担当細胞の脳内への浸潤の増加も報告されているが、このような証拠も得られなかった。したがって、糖鎖付加による変異株の弱毒化は、宿主の免疫応答を強く誘導するためではなく未知の機構の可能性があり、それを解明することは狂犬病に対する新たな治療法確立のための手掛かりになることが期待された。

狂犬病動物の脳材料を用いたRICT法の確診能力は、国際標準法である免疫蛍光抗体法と比較して95%近い鋭敏性と特異性を示し、高価で時間のかかる従来法よりはるかに簡便、安価であった。またワクチン接種後のヒトまたはイヌの血清中の狂犬病ウイルスに対する中和抗体価を簡便・迅速に測定できるRAPINA法は、従来の標準法であるウイルス中和試験とほぼ100%近い一致率を示し、測定の迅速性と簡便さから多くの途上国での汎用が期待された。同時に我が国に狂犬病が再侵入し、再興した場合でも対応可能なリスク管理のできる手段をも確立したといえる。

また平成24年5月31日大分県獣医師会総会で「狂犬病について」と題して、狂犬病に対

する理解を深め、狂犬病清浄状態を維持するため狂犬病対策の最前線にいる獣医師に対しての講演を行った。

### 4) ウイルス性出血熱

HFRSとHPSの原因となるハンタウイルスの全ての血清型についての抗体スクリーニング用および血清型鑑別用の診断抗原の調整に成功し、ELISA法とICG法に応用した。これらの方法は、患者血清や感染げっ歯類の診断に高感度、高特異性であることが確認された。この研究によって、ハンタウイルス感染症が存在し、または危惧されている東アジア諸国における診断体制を準備することが出来、流行地域の特定による封じ込め対策や初期の治療方針の選択に有用な情報を得ることが出来ると考えられる。また、ベトナム、インドネシア、スリランカで疫学的調査・研究に一部使用し、有効性を確認した。特に、ICG法はELISA法に比べてもより迅速かつ簡便で、感度・特異性も高く、今後さらに発展させたい。ウイルス性出血熱の予防対策は日米医学協力計画中での重点対応分野の一つであり、迅速診断・対応が強く求められる疾患である。そのなかで、ハンタウイルス感染症はげっ歯類媒介性人獣共通感染症の代表でもあり、その高特異性・迅速性診断法の開発と疫学への応用は、本研究課題の目指すところを同じくしている。

2006年に中国広西自治区のサル繁殖施設(31,260頭)でアカゲザル10,000頭が発症し4,250頭死亡(2006年)する事例があり、イヌデイステンパーウイルス(CDV)が分離同定された。その後、中国で複数回のCDVによるサルの致死感染流行が報告されている。国内でもカニクイザルに致死感染が報告されている。本研究では、国内流行時のサルの血清学的解析、病理学的解析等により、流

行の全容を明らかにした。また、イヌなどの肉食動物を宿主とする CDV が霊長類に大規模な致死感染を起こした。この CDV は、サルからサルへの伝播が容易におきた原因であると考えられた。霊長類への病原性獲得に関しては、レセプターの利用とは別のウイルス遺伝子内の変異が関与しているかは不明である。

#### D. 考察

##### 1) アルボウイルス感染症

日本脳炎ウイルスはフラビウイルス科のウイルスであり、非構造タンパク質 NS1 はウイルス RNA 合成複合体の一部を形成している。しかしフレームシフトが原因で合成される NS1'があるのは日本脳炎ウイルスやウエストナイルウイルスの脳炎を起こすフラビウイルスでのみ報告されている現象であり、病原性との関連が示唆されている。今回、本研究において NS2B の 62 番目の塩基がフレームシフトに重要な要素の 1 つであることが明らかとなった。今のところ NS1' と脳炎との関連は明らかではないが、トリでのウイルス増殖に優位に働く可能性が示唆された。このことは、日本脳炎ウイルスやウエストナイルウイルスがトリに関する事実と合致しており興味深い。

野外 JEV の調査においては、JEV が北陸地域に広く分布していることは他のデータも含めてみると明らかである。分離株について生物活性等を調査しているが、比較として用いている JaGAR01 株に比べ、病原性は必ずしも低くないが、2010 年分離の Ishikawa-10 株で若干の病原性低下がみられた。細胞 (Vero) への障害作用についても両遺伝子タイプの JEV 株に差は見られず、またウイルス感染に伴う細胞における大きな差異はみられなかった。しかし、

その性状においては Ishikawa-10 株では神経芽腫細胞での増殖性低下があり、これらの性状はマウスに対する毒性において同じ遺伝子タイプの JEV 株での差異に通じる現象と推定される。また I 型インターフェロン (IFN) に対する感受性が異なる点については引き続き解析が必要であろう。

しかしながら、ここに示した結果は、現在の日本国内において多数派として分布しているウイルス (遺伝子タイプ 1 型) の毒性が低下していることを必ずしも意味しない。2007 年には日本脳炎患者が石川県において発生している。近い将来起こる可能性のある日本脳炎の感染、流行を防ぐためにはウイルスの遺伝子解析と共に、ウイルス複製制御、病原性の要因解析を行っていく必要があり、引き続き北陸地域分布ウイルスの分離の試み、遺伝子・細胞レベルからの解析を継続していくことが重要といえる。JE ワクチン問題があったことによる低年齢児における JEV ワクチン接種率低下と抗体陽性者数の減少がある現在、ウイルス病原性解析はウイルス感染対策として重要なものと考えられる。

デングウイルスの抗体による中和機序研究に関して、今回用いたエピトープブロッキング ELISA は特異エピトープに対するモノクローナル抗体と検体中の抗体を競合的に反応させ、阻害率により検体中に存在する特異的な抗体を検出する方法である。交差性が高いウイルス感染症を鑑別するために用いられる血清診断法である。フラビウイルス感染症を鑑別する方法としては、これまでにマレー渓谷脳炎ウイルス抗体とクンジンウイルス抗体の鑑別、ウエストナイルウイルス抗体とセントレイス脳炎ウイルス抗体の鑑別、ウエストナイルウイルス抗体と JEV 抗体の鑑別、そして JEV 抗体と DENV 抗体の鑑別を可能にする 4 つのブロッキング

ELISA が報告されてきた。診断のみならず、多数検体を対象とした疫学調査にも用いられている信頼性の高い抗体検査法である。

今回、ブロッキング ELISA の手法により、インドネシア住民血清中には 7F4 に競合する DENV1 抗体が存在することが明らかとなった。しかも、50%阻害 ELISA 抗体価と DENV1 に対する中和抗体価に有意の相関が示されたことから、7F4 抗体に競合するヒト血清中の抗体は、DENV1 に対する中和における主要な役割を果たすと考えられる。

過去に感染を受けたヒトにおける血清中の中和抗体は E 蛋白のドメイン I と II に対するものであり、免疫マウスに示されるようにドメイン III に対する中和抗体の誘導は少ないとされる。そして、ドメイン I と II に対する主な抗体は、型交差性であり、中和活性が低いまたは無い。したがって、血清が示す中和抗体は、一部の抗体種が担っていることになる。本研究により、この中和抗体は、E 蛋白上の 7F4 エピトープにより誘導されることが示唆された。今後、予防のためのワクチン研究や、治療のための抗体研究に 7F4 抗体の貢献が期待される。

## 2) ウイルス性下痢症

世界的にはⅡ系統 IVa-1 からⅡ系統 IVa-3 への移行がみられた。単価ワクチンが定期接種に導入された地域において、この移行が加速される傾向がみられ、わが国においても今後Ⅱ系統 IVa-3 の G2 株が増加すると思われる。

ノロウイルスは RNA ウイルスであり、RNA ウイルスの特徴としてゲノムが非常に大きな変異性をもっている。また細胞培養での分離や実験動物に感染せず、生物学的性状が明らかにできないという問題を抱えてきた。そこでノロウイルスの分類は最もよく保存されていると推定さ

れた RNA ポリメラーゼ領域の型別によって行われてきた。一方、ゲノムの解明が進むにつれカプシド領域を使った型別も、ウイルスの抗原性を反映すると推定されることから広く行われるようになった。1 本鎖の RNA であるためゲノムのどこをとって型別をしても同じ結果が出るのが一般的であれば問題はないが、ノロウイルスにはリコンビネーションが 4 分の 1 の臨床検出株に起こっていることが本研究により示された。そこで本研究では既存の論文について、詳細に分析し、ゲノムのどの部分を解析し、どのような型別を行っているかを明確にした上で、ノロウイルスのゲノタイプ分布の現状を明らかにした。また、あいまいである現状に対して、カプシドゲノタイプとポリメラーゼゲノタイプの 2 つを明確に区別して表記するよう提案した。

さらに、ロタウイルスワクチンの普及により小児の重症下痢症が減少することが期待され、ノロウイルスの小児期における重症下痢症の原因としての相対的役割が増大すると想定される。従って、ノロウイルスに対する防御免疫の形成の上から重要と思われるカプシドゲノタイプの上からすると GII.4 と GII.3 が 3/4 以上を占めることを明らかにした意義は大きい。すなわちワクチンを開発するとすれば、これら 2 つのゲノタイプによる感染を予防できるワクチンを開発すべきであると提案する。

## 3) 狂犬病

G 蛋白質第 194 位への N 型糖鎖追加の場合と同様に、第 247 位への N 型糖鎖追加 1088 株はマウスにおいて末梢感染時のみ病原性低下が認められた。しかし、今回の 1088 株 D247N 変異株は他の部位にも変異が認められ、また、第 247 位に N 型糖鎖を有しながらも末梢感染での病原性が高い固定毒も存在するため、第 247 位への N 型糖鎖付加は弱毒化

に關与していない、もしくは context dependent に關与している可能性が考えられた。第 247 位に糖鎖付加部位をもつ狂犬病ウイルスが米国のコウモリ (*Eptesicus fuscus*) より分離されており、そのコウモリおよびマウスに対する病原性は低かったという報告がある (Davis et al, Arch. Virol., 2013)。したがって、自然界においてコウモリ間ではこのような N 型糖鎖追加により弱毒化した狂犬病ウイルスが循環しているのかもしれない。治療 (ミルウォーキー・プロトコル) により狂犬病から生還した患者の報告 (Willoughby et al, N. Engl. J. Med., 2005) について、その中で治療が成功した背景としてコウモリ由来の弱毒型狂犬病ウイルスに感染した可能性を挙げているが、そうである蓋然性は低くはなく、実際にミルウォーキー・プロトコルの成功率も低いことから、この治療法は通常の (多くがイヌによる強毒型による) 狂犬病に対してはほとんど効果はないのかもしれない。

また、今回の D247N 変異株は第 194 位への N 型糖鎖追加の場合とは異なり、末梢感染時における中和抗体の誘導は親株感染の場合と同程度であった。また、固定毒の弱毒化機構の一つとして、血管脳関門の透過性亢進による免疫担当細胞の脳内への浸潤の増加が報告されているが (Phares et al, J. Immunol., 2006 等)、このような証拠も得られなかった (data not shown)。したがって、D247N 変異株の弱毒化は宿主の免疫応答を強く誘導することによるものではなく、未知の機構によるものであり、それを解明することは狂犬病治療法確立のための手掛かりになるのではないかと考えられた。

RICT 法による狂犬病ウイルス抗原の迅速診断は、高価な設備 (蛍光顕微鏡、インキュベーター) や試薬 (蛍光標識抗体) などを必要とせず、ウイルス流行国での幅広い利用が期

待される。今後脳乳剤以外にも、唾液を用いたウイルス蛋白の検出が RICT 法により可能かどうかを検討することで、病獣の開頭をせずにより簡便な診断が可能かを検討したい。

また RAPINA 法も、これまで生のウイルスを利用して行われていたウイルス中和試験の煩雑さを一挙に解消できる可能性が示され、ウイルス流行国でのヒトの追加免疫の必要性の評価や動物 (特にイヌ) へのワクチン効果の持続を評価する上で、有用性が非常に高いと考えられる。さらに我が国においても海外渡航の際の狂犬病ワクチンの追加免疫の必要性についての外来での判断や動物検疫の現場において利用価値が高いと思われる。現在、RAPINA 法の臨床使用に向けた申請作業の途中であり、今後広く海外でも使用できるように普及を図っていきたい。

#### 4) ウイルス性出血熱

ラットを対象とした ICG 法が、実験動物のみならず、野外感染ラット血清においても有効であることが明らかとなった。一般に、げっ歯類はハンタウイルスに持続感染することから、この方法は迅速に野外でスクリーニングできることから、効率的に情報を集めることを可能にすることが期待される。ヒト ICG 法も検出感度 91-100%、特異性 100%と実用化が期待されるストリップを作製することができた。NE 患者血清においてのみ、およそ 90%のやや低い検出感度が感染初期血清にみられた。今後免疫グロブリン M (IgM) 検出ストリップを開発する必要があると考えられた。HPS ウイルスに関して、PUU103 抗原への交差は見られたものの、感染初期も含めて診断することができた。開発した①から③のストリップはそれぞれ有効であった。使用する地域によって、また、他にどのような抗原ラインを組み合わせで鑑別したいのか

等、目的によって使い分ける事が可能であると考えられた。これらの ICG を使用したスクリーニングの後、代替中和法である ELISA を組み合わせる事で、迅速、安全かつ詳細なハンタウイルス血清診断システムが構築出来ると考えられる。これは公衆衛生上重要な情報を迅速に収集できることを示すものである。

疫学的調査からは東南アジア、南アジア、東アジアにおいてそれぞれ固有 SEOV および THAIV 関連ウイルスがあり、これら宿主であるドブネズミ、クマネズミ、bandicoot 類が重要であることが示唆された。また、これらのラットがハンタウイルスのみならず他の病原体を同時に媒介していることも明らかとなった。しかしながら未だに限定された情報しか得られていないことから、さらなる情報の蓄積が必要であると考えられた。

モルビリウイルス属に分類される CDV や麻疹ウイルスは互いに近縁なウイルスである。しかし、麻疹ウイルスは、ヒト及び霊長類に感染発症させるが、CDV はイヌ及びその他の肉食獣を宿主とする。これは、それぞれのウイルスが宿主動物やヒトのレセプターに適応していることが原因の一つであると考えられる。

モルビリウイルスは、まずリンパ球上のシグナル伝達リンパ球活性化分子 (SLAM) をレセプターとして感染し、感染リンパ球によるウイルス血症を起こす。感染リンパ球から毛細血管内皮を通して上皮細胞に感染し全身感染を起こす。上皮細胞上のレセプターは昨年 nectin4 であることが明らかにされた。サル感染症の原因となった CDV 株がサルの SLAM, nectin4 を有効に使うて感染するかを解析した結果、本来の宿主であるイヌの SLAM, nectin4 と同程度の効率でレセプターとして機能していることが分かっている。イヌから分離された CDV と比較してサルから分離された CDV は、N, P, F,

H, L 遺伝子に変異が認められる。特に F と H 遺伝子にアミノ酸置換を伴う変異が多い。このため、本来のイヌを宿主とする CDV から何らかの変異導入がサルへの馴化に寄与していると考えられる。どの様な変異がサルへの馴化に寄与しているかは今後の解析が必要である。いずれにしても、この CDV のサルのレセプターの効率良い利用によりサルからサルへの効率良いウイルス伝播がおきたと考えられる。病原性獲得に関しては、レセプターの利用とは別の変異が関与しているかは不明である。

一方、このウイルスはヒトの SLAM は有効に利用できなかった。ヒトとサルの SLAM はアミノ酸配列が非常に良く一致することから、麻疹ウイルスに共通に感受性があるが、この CDV 株が何故ヒトの SLAM を有効に利用できないかは、今後の解析が必要である。しかし、この CDV によるヒトへの感染リスクは、このままでは高くはないと考えられる。今後、ヒトの SLAM を効率よく利用できる変異が容易に生じるのかを明らかにしたい。

## E. 結論

### 1) アルボウイルス感染症

日本脳炎ウイルスの NS1 タンパク質はフレームシフトにより NS1' を合成し、これによりトリ細胞での高い増殖性を獲得することで、自然界の中で効率よく拡散、増幅している可能性が示唆された。

石川県における採集野外蚊からの日本脳炎ウイルス分離は遺伝子型が I 型タイプであり、E 蛋白でのアミノ酸置換、ゲノム RNA の 3'UTR でのヌクレオチド欠失が明らかとなった。感染による細胞障害はタイプ 3 型 JEV 株 (JaGAR01) と同様にあり、病原性は必ずしも低いものではなかったが、タイプ 1 型ウイルスでは分離年によって、IFN に対する感受性、細胞

間での複製力等の性状差異がみられた。こうしたウイルス変異、宿主応答がウイルス病原性に大きく影響することが再認識された。近年の国内分布 JEV の病原性変動に注意すべきと考える。

デングウイルス中和に関するエピトープについてブロッキング ELISA の手法により、7F4 抗体に対応するエピトープが、ヒトにおける型特異的中和抗体の誘導に重要な役割を果たすことが示唆された。

## 2) ウイルス性下痢症

本研究は、ロタウイルスワクチンの接種率の向上、とくに、わが国をはじめ世界の多くの国で使われている単価ロタウイルスワクチンの使用が増大した場合に議論となる可能性の高い野生ロタウイルス株の G/P 遺伝子型分布、とくに G2 株 VP7 遺伝子の分子進化について、重要な分子疫学的基盤情報を提供するものである。

また小児期の散発性胃腸炎の原因となるノロウイルスのゲノタイプの世界における分布の現状を世界で初めて示したものであり、ノロウイルス研究における重要な研究基盤情報を提供するものである。

## 3) 狂犬病

狂犬病ウイルス G 蛋白質第 247 位への N 型糖鎖付加は、弱毒化に関与している可能性が示唆された。また、それによる弱毒化は未知の機構によるものであり、その解明は狂犬病治療法確立につながるものと考えられた。

我々の開発したイムノクロマト法による狂犬病ウイルスの抗原診断法 (RICT 法) と血清中のウイルス中和抗体価測定診断法 (RAPINA 法) は、狂犬病の流行国でも安価で、簡便に利用でき、今後広くアジアやアフリカなどの狂犬病流行国で利用が進むことが期待された。

## 4) ウイルス性出血熱

近年、我が国でのハンタウイルス感染例の報告はないが、近隣諸国や世界的にもハンタウイルスは流行しており、また新しいウイルスも発見されている。今の所これらの新しいウイルスは病原性が不明なものも多いが、輸入症例の出現する可能性には常に配慮する必要がある。とくに、南北アメリカ大陸で流行している HPS は経過が早くかつ重症になりやすいため、早期診断が求められている。このような状況のなかで、本研究で示した各種診断抗原やスクリーニングおよび鑑別診断用抗原の開発は、本疾患に対する公衆衛生対策上必要であると考えられる。

本来、イヌなどの肉食動物を宿主とする CDV が霊長類に大規模な致死性感染症を起こした。この CDV は、サルのリセプターを有効に利用できることが、サルからサルへの伝播が容易におきた原因であると考えられた。霊長類への病原性獲得に関しては、リセプターの利用とは別のウイルス遺伝子内の変異が関与しているかは不明である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Doan YH, Nakagomi T, Nakagomi O. Repeated circulation over 6 years of intergenogroup mono-reassortant G2P[4] rotavirus strains with genotype N1 of the NSP2 gene. *Infect Genet Evol* 12(6):1202-1212, 2012

- 2) Nakagomi T, Nakagomi O, Dove W, Doan YH, Witte D, Ngwira B, Todd S, Duncan Steele A, Neuzil KM, Cunliffe NA.



- Molecular characterization of rotavirus strains detected during a clinical trial of a human rotavirus vaccine in Blantyre, Malawi. *Vaccine* 30 Suppl 1: A140-151, 2012
- 3) Noguchi A, Nakagomi T, Kimura S, Takahashi Y, Matsuno K, Koizumi H, Watanabe A, Noguchi H, Ito T, Ohtsuka M, Uemura N, Takeda O, Komatsu A, Kikuchi W, Komatsu M, Fukaya H, Miura S, Toda H, Nakagomi O, Takahashi T. Incidence of intussusception as studied from a hospital-based retrospective survey over a 10-year period (2001-2010) in Akita Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis* 65(4): 301-305, 2012
  - 4) Matthijnsens J, Nakagomi O, Kirkwood CD, Ciarlet M, Desselberger U, Van Ranst M. Group A rotavirus universal mass vaccination: how and to what extent will selective pressure influence prevalence of rotavirus genotypes? *Expert Rev Vaccines* 11(11):1347-1354, 2012
  - 5) Doan YH, Nakagomi T, Aboudy Y, Silberstein I, Behar-Novat E, Nakagomi O, Shulman LM. Identification by Full Genome Analysis of a Bovine Rotavirus Transmitted Directly to, and Causing Diarrhea in a Human Child. *J Clin Microbiol* 51(1): 182-189, 2013
  - 6) Luan VD, Yoshimatsu K, Endo R, Taruishi M, Huong VT, Dat DT, Tien PC, Shimizu K, Koma T, Yasuda SP, Nhi L, Arikawa J. Studies on hantavirus infection in small mammals captured in southern and central highland area of Vietnam. *J Vet Med Sci* 74(9): 1155-1162, 2012
  - 7) Koma T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Li T, Amada T, Shimizu K, Isozumi R, Mai LT, Hoa NT, Nguyen V, Yamashiro T, Hasebe F, Arikawa J. A survey of rodent-borne pathogens carried by wild *Rattus* spp. in Northern Vietnam. *Epidemiol Infect*: 1-9, Epub ahead of print
  - 8) Koma T, Yoshimatsu K, Taruishi M, Miyashita D, Endo R, Shimizu K, Yasuda PS, Amada T, Seto T, Murata R, Yoshida H, Kariwa H, Takashima I, Arikawa J. Development of a serotyping enzyme-linked immunosorbent assay system based on recombinant truncated hantavirus nucleocapsid proteins for New World Hantavirus infection. *J Virol Methods* 185(1): 74–81, 2012
  - 9) Schlegel M, Tegshduuren E, Yoshimatsu K, Petraityte R, Sasnauskas K, Hammerschmidt B, Friedrich R, Mertens M, Groschup MH, Arai S, Endo R, Shimizu K, Koma T, Yasuda S, Ishihara C, Ulrich RG, Arikawa J, Kollner B. Novel serological tools for detection of Thottapalayam virus, a Soricomorpha-borne hantavirus. *Arch Virol* 157(11): 2179-2187, 2012
  - 10) Hossain M, Ahmed K, Bulbul T, Hossain S, Rahman A, Biswas M N U, Nishizono A. Human rabies in rural Bangladesh. *Epidemiol Infect* 140(1):1964-1971, 2012
  - 11) Yamada K, Park CH, Noguchi K, Kojima D, Kubo T, Komiya N, Matsumoto T, Mitui MT, Ahmed K, Morimoto K, Inoue S, Nishizono A. Serial passage of a street rabies virus in mouse neuroblastoma cells resulted in attenuation: Potential role of the additional N-glycosylation of a viral

- glycoprotein in the reduced pathogenicity of street rabies virus. *Virus Res* 165(1): 34-45, 2012
- 12) Ahmed K, Wimalaratne O, Dahal N, Khawplod P, Nanayakkara S, Rinzin K, Perera D, Karunanayake D, Matsumoto T, Nishizono A. Evaluation of a monoclonal antibody-based rapid immunochromatographic test for direct detection of rabies virus in the brain of humans and animals. *Am J Trop Med Hyg* 86(4):736-740, 2012
  - 13) Nishizono A, Yamada K, Khawplod P, Shiota S, Perera D, Matsumoto T, Wimalaratne O, Mitui MT, Ahmed K. Evaluation of an improved rapid neutralizing antibody detection test (RAPINA) for qualitative and semiquantitative detection of rabies neutralizing antibody in humans and dogs. *Vaccine* 30(26): 3891-3896, 2012
  - 14) Virojanapirom P, Khawplod P, Sawangvaree A, Wacharapluesadee S, Hemachudha T, Yamada K, Morimoto K, Nishizono A. Molecular analysis of the mutational effects of Thai street rabies virus with increased virulence in mice after passages in the BHK cell line. *Arch Virol* 157(11): 2201-2205, 2012
  - 15) Jamil KM, Ahmed K, Hossain M, Matsumoto T, Ali MA, Hossain S, Hossain S, Islam A, Nasiruddin M, Nishizono A. Arctic-like rabies virus, Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 18(12): 2021- 2024, 2012
  - 16) Yamada K, Noguchi K, Nonaka D, Morita M, Yasuda A, Kawazato H, Nishizono A. Addition of a single N-glycan to street rabies virus glycoprotein enhances virus production. *J Gen Virol* 94(2): 270-275, 2013
  - 17) Watanabe I, Yamada K, Aso A, Suda O, Matsumoto T, Yahiro T, Ahmed K, Nishizono A. Relationship between Virus-Neutralizing Antibody Levels and the Number of Rabies Vaccinations: a Prospective Study of Dogs in Japan. *Jpn J Infect Dis* 66(1): 17-21, 2013
  - 18) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. *J Virol* 87(2): 1105-1114, 2013
  - 19) Sharma N, Hotta A, Yamamoto Y, Fujita O, Uda A, Morikawa S, Yamada A, Tanabayashia K. Detection of *Francisella tularensis*-specific antibodies in patients with tularemia using a novel competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Vaccine Immunol*, *in press*
  - 20) Taniguchi S, Sayama Y, Nagata N, Ikegami T, Miranda ME, Watanabe S, Iizuka I, Fukushi S, Mizutani T, Ishii Y, Saijo M, Akashi H, Yoshikawa Y, Kyuwa S, Morikawa S. Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. *BMC Vet Res* 8(1):189, 2012
  - 21) Fukushi S, Tani H, Yoshikawa T, Saijo M, Morikawa S. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis

- of arenavirus hemorrhagic fevers. *Viruses* 4(10):2097-2114, 2012 (special issue: Arenaviruses)
- 22) Katano H, Sato S, Sekizuka T, Kinumaki A, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Morikawa S, Saijo M, Mizutani T, Kuroda M. Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. *Int J Clin Exp Pathol* 5(8):814-823, 2012
- 23) Sayama Y, Demetria C, Saito M, Azul RR, Taniguchi S, Fukushi S, Yoshikawa T, Iizuka I, Mizutani T, Kurane I, Malbas FF Jr, Lupisan S, Catbagan DP, Animas SB, Morales RG, Lopez EL, Dazo KR, Cruz MS, Olveda R, Saijo M, Oshitani H, Morikawa S. A seroepidemiologic study of Reston ebolavirus in swine in the Philippines. *BMC Vet Res* 18(8):82, 2012
- 24) Lihoradova O, Kalveram B, Indran SV, Lokugamage N, Juelich TL, Hill TE, Tseng CT, Gong B, Fukushi S, Morikawa S, Freiberg AN, Ikegami T. The dominant-negative inhibition of double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR increases the efficacy of Rift Valley fever virus MP-12 vaccine. *J Virol* 86(14):7650-7661, 2012
- 25) Fukushi S, Nakauchi M, Mizutani T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Antigen-capture ELISA for the detection of Rift Valley fever virus nucleoprotein using new monoclonal antibodies. *J Virol Methods* 180(1-2):68-74, 2012
- 26) Arai S, Gu SH, Baek LJ, Tabara K, Bennett SN, Oh HS, Takada N, Kang HJ, Tanaka-Taya K, Morikawa S, Okabe N, Yanagihara R, Song JW. Divergent ancestral lineages of newfound hantaviruses harbored by phylogenetically related crocidurine shrew species in Korea. *Virology*. 424(2):99-105, 2012
- 27) Kennedy JS, Gurwith M, Dekker CL, Frey SE, Edwards KM, Kenner J, Lock M, Empig C, Morikawa S, Saijo M, Yokote H, Karem K, Damon I, Perlroth M, and Greenberg RN. Safety and Immunogenicity of LC16m8, an Attenuated Smallpox Vaccine in Vaccinia-Naive Adults. *J Inf Dis* 204(9):1395-1402, 2012
- 28) Shirato K, Maeda K, Tsuda S, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kyuwa S, Endoh D, Matsuyama S, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa Y, Akashi H, Mizutani T. Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. *Virus Genes* 44(1):40-44, 2012
- 29) Okamoto K, Kinoshita H, Parquet Mdel C, Raekiansyah M, Kimura D, Yui K, Islam MK, Hasebe F, Morita K. Dengue virus strain DEN2 16681 utilizes a specific glycochain of syndecan-2 proteoglycan as a receptor. *J Gen Virol* 93(4): 761-770, 2012
- 30) Furuta T, Murao LA, Lan NTP, Huy NT, Huong VTQ, Thuy TT, Tham VD, Nga CTP, Ha TTN, Ohmoto Y, Kikuchi M, Morita K, Yasunami M, Hirayama K, Watanabe N. Association of Mast Cell-Derived VEGF and Proteases in Dengue Shock Syndrome. *PLoSNTD* 6(2):e1505, 2012
- 31) Hasebe F, Thuy NTT, Inoue S, Yu F, Kaku Y, Watanabe S, Akashi H, Dat DT, Mai LTQ, Morita K. Serologic Evidence of

- Nipah Virus Infection in Bats, Vietnam. *Emerg Infect Dis* 18(3):536-537, 2012
- 32) Lauber C, Ziebuhr J, Junglen S, Drosten C, Zirkel F, Nga PT, Morita K, Snijder EJ, Gorbalenya AE. Mesoniviridae: a proposed new family in the order Nidovirales formed by a single species of mosquito-borne viruses. *Arch Virol*, 157(8):1623-1628, 2012
- 33) 中込とよ子、中込 治: ロタウイルス感染症とロタウイルスワクチン. *メディカル・テクノロジー* 40(9): 1005-1008, 2012
- 34) 山田健太郎、西園 晃: イムノクロマト法による狂犬病とデング熱の迅速診断法. *臨床と微生物* 39(6): 713-719, 2012
- 35) 西園 晃、山田健太郎: ラブドウイルス. *ウイルス* 62(2): 183-196, 2012
- 36) 森田公一: ウエストナイル熱・ウエストナイル脳炎(pp.324-327)、黄熱病(pp.334-337)、デング熱(pp.403-406)、ニパウイルス感染症(pp.423-426). (感染症事典編集委員会(編): 感染症事典、オーム社、東京 所収)2012
- 37) 森田公一: アルボウイルス. (柳 雄介、堤裕幸(編): 新編ウイルスの今日的意味、医薬ジャーナル社、大阪、pp.82-90 所収)2012
2. 学会発表
- 1) Nakagomi T, Doan YH, Dove W, Iturriza-Gomara M, Ngwera B, Nakagomi O, Cunliffe N. Full-genome analysis of G8 rotavirus strains in Malawi over a 10-year-period. The 11th International Symposium on Double-Stranded RNA Viruses, Puerto Rico, USA. November 27 - December 1, 2012.
- 2) Nakagomi O, Do LP, Doan YH, Nakagomi T. Genotype G2 strains in Japan in the global and evolutionary context. The 10th International Rotavirus Symposium, Bangkok, Thailand. September 19-21, 2012.
- 3) Doan YH, Nakagomi T, Aboudy Y, Silberstein I, Behar-Novat E, Nakagomi O, Shulman LM. Identification by full genome analysis of a bovine rotavirus transmitted directly to, and causing diarrhea in a human child. The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases and the 11th Nagasaki-Singapore Medical Symposium, Nagasaki, Japan. December 10-12, 2012.
- 4) Nakagomi O. Molecular epidemiology of gastroenteritis viruses from the global perspective. The 6th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases and the 11th Nagasaki-Singapore Medical Symposium, Nagasaki, Japan. December 10-12, 2012.
- 5) Amada T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Koma T, Shimizu K, Isozumi R, Hayashimoto N, Takakura A, Arikawa J. Development of immunochromatographic test strips for the detection of HFRS and HPS hantavirus antibody in the human and rodent serum. The 9th Japan-China International Conference of Virology, Sapporo, Japan. June 12-13, 2012.
- 6) Amada T, Hayashimoto N, Yoshimatsu K, Yasuda S, Shimizu K, Koma T, Isozumi R, Takakura A, Arikawa J. Development of immunochromatographic test for the detection of HFRS and HPS Hantavirus