

- 2) 我が国のRSVはRSV-A分類株はgenotype NA1あるいはGA2と一部GA5、subgroup B分類株はgenotype BAが主流である。2011年度に実施した分子生物学解析成績から、G遺伝子のC末端超可変領域において複数のアミノ酸置換があり、positive selection siteが確認され、継続したモニタリングが必要である。また、各域で解析されたsubtype A分類株の一部にC末端超可変領域に72塩基の重複を有する株が検出され、これら株はgenotype ON1に分類される。今後、その動向とphenotype等に注意すべきである。
- 3) HRVは多数分離・検出されたが、流行はいずれの地域でも通年でみられる。分子生物学解析の結果、多くはHRV-Aおよび-C分類株で、-B分類株は稀であり、それぞれのspeciesは遺伝学的に多様性を示す。とくに本ウイルスは後述するウイルス誘発喘息と喘息増悪因子として注目される。
- 4) 我が国のHMPVの主要subgroupはA2、B1およびB2である。患者の臨床症状は時に重症化傾向を示し、各種施設内での流行も原因究明された。とくに小児、高齢者等では引き続き注意が必要なsvARIsと考える。
- 5) HPIV-1山形分離株を解析した既報告で、我が国の流行株は大きく2つのクラスターに分類され、svARIsの原因ウイルスの一であることを明らかにした。また、HPIV山形および山口検出株の解析結果から、多数のHPIV-4a、4bが診断され、患者の臨床所見からHPIV-4もsvARIsの原因ウイルスとなりうることが示唆された。
- 6) 我が国のHBoVは大きく3つのグループに分類される株が流行しており、地域特性を有する可能性も推定される。今後、症例の集積と株の分子疫学解析等が必要なウイルスと考える。
- 7) SAFV分離株を用いた群馬県域の血清疫学研究ではウイルス分離株が同定、保存された結果、中和抗体価測定が可能となった。血清疫学はとくに稀少あるいは新興感染症やワクチン効果検証などでは研究戦略を決定するうえで、極めて有効な手段と考える。自治体衛生研究所で日常実施されているウイルスサーベイランス検査対象項目として血清疫学の再評価も必要であろう。
- 8) 若年成人における流行性筋痛症例にHPeV-3が関与していたことを初めて報告したが、我が国のウイルスサーベイランス機能の充実強化により、将来、これまで原因不明とされていた疾患が解明されることを期待したい。その意味で、本研究で試みたウイルス検索困難な症例の病原ウイルス推定あるいは確定に次世代シーケンサー等の活用を積極的に行い、病原ウイルスを速やかに診断した知見例は今後未知ウイルスあるいは新興感染症発生時の検査診断には極めて有効な戦略の一つと考える。また、EV68検査診断過程でウイルスサーベイランスに採用する検査診断技法は、精度向上を担保するうえでウイルス種によっては複数の検査診断技法を併用することが重要であることがあらためて再確認された。
- 9) 自治体衛生研究所で行なわれているウイルスサーベイランス成績は、近年とくにPCRを基にしたものが多い。科学テクノロジーの進展、マンパワー、技術の継承等、種々の要因により効率的な検査診断法がそれぞれの機関で採用されるべきであるが、少なくとも分離・検出株の保存、遺伝情報のGenBank等への登録、サーベイランス調査・研究成果の広くの公表、Archivesの充実、などの対応がなされなければ自治体、我が国が所管すべき貴重な研究資産は近い将来、消失すると考える。今後の積極的な対応に期待したい。
- 10) 小児科臨床グループは入院加療RSV感染乳幼児例について、退院後の喘鳴出現状況を後方視的に検討した。その結果、入院中喘鳴を認める場合、退院後、短期間で喘鳴出現し、家族喘息

歴も有意に高く、加えて RSV 罹患後 40% の児では喘鳴が出現し、入院中の喘鳴出現やロイコトリエン拮抗薬内服の有無、月齢には有意差を認めないことなどから、RSV 感染が喘鳴に強く関与しウイルス誘発性喘息の危険因子であることを明らかにした。急性喘鳴や喘息増悪に関与する RSV および HRV と臨床所見等に関して検討し、RSV 単独感染例および HRV 単独感染例の比較では、前者が年齢、診察時の SpO₂ 最低値および酸素投与の有無が急性喘鳴発症の有意な要因であり、また、HRV 単独感染例および RSV・HRV 重複感染例の比較では、後者が呼吸状態悪化の有意な要因であることを明らかにした。したがって、ARIs ウイルス感染による小児の気道炎症、気道過敏性亢進は低月・年齢児では RSV 感染が喘鳴・喘息の大きな発症要因で、喘鳴・喘息既往児では HRV 感染が喘息増悪の大きな要因と結論され、ウイルス起因の喘鳴・喘息症例、喘息児の症状増悪症例では RSV、HRV 感染を想定した evidence based medicine が期待できる。これら多くの症例の集積・検証から得られた知見を基に小児科領域における svARIs の臨床的定義を策定した。今回策定した基準は今後の臨床医療、とくに初診時のトリアージや治療方針決定に大きく貢献するものと考ええる。

- 11) 衛生研究所サーベイランスグループの研究過程で、RSV や HRV は各域で多数株検出されている。我われが提案した医療側と研究側の密な連携体制が、各域等で構築・維持されることは、疾患解明への新たな戦略となり、衛生研究所が行っているウイルスサーベイランス事業遂行上の重要な要因と考える。今後の更なる医診連携が強く望まれる。
- 12) 重度心身障害児 2 施設内の svARIs 流行の原因を確定診断し、感染ウイルスごとの特徴的な流行様相、臨床所見を明らかにした。FluV や RSV ではワクチンや抗ウイルス薬、予防薬が投与可

能であるが、その他の多くの ARIs ウイルスでは未開発である。臨床医学的に類症鑑別が推測可能であれば、早期の適切な施療も可能になると思われる。いっぽう、我われは先に高齢者施設内の HMPV 流行例から、HMPV 感染は小児のみならず高齢者においても重症化することを明らかにしている。長期入院(居)施設内の ARIs を含む感染症流行に際し原因の究明、効果的対策等の検証は入院(居)患者の健康、施設の衛生環境保持に重要な課題である。ARIs は我々の日常生活に極めて密着している感染症であるが、重要度の認識に乏しい感染症でもある。加えて、時代の変遷にそって感染症も変遷し、新興・再興感染症も多く出現している。新型 HCoV も出現している現在、今後、自治体衛生研究所において実施されるウイルスサーベイランス検査診断機能充実・強化、Public health laboratory を重大な責務とした研究活動への期待は一層増大すると考え、中長期的視点に立脚したサーベイランス実施が増々重要となっていると考える。

2. 重症呼吸器ウイルス感染症の実態調査および検査診断法に関する研究

- 1) 2007 年度において、全国の地方衛生研究所等において、年間 2,000 件以上の svARI 由来の検体が検査されていることがわかった。しかし、本邦における svARI 患者数は、推定で 100 万人以上存在することを考慮すると、調査期間中においては、本疾患の十分な病原体サーベイランスが行われていないと考えられた。現行の感染症法においては、臨床検体の提供が義務化されていないため、ボランティアベースによる主治医の協力を頼っている点が多い。したがって、svARI のサーベイランスを強化するためには、新たな検体提供および収集システムの構築が必要であることも示唆された。また、本研究においては、InfV や RSV が多くの svARI から検出されているが、検体数と検出ウイルスには各施

設間で大きな差がある。また、過半数の検体においては起病病原体が不明となっていることから、検査設備などのさらなる充実も必要であることが推定された。

- 2) 遺伝子検出に使用されている primer 配列と報告された配列の比較を行ったところ、特に RS virus については、検出用 primer 配列とデータベース上の報告遺伝子配列との乖離が大きく、このために不検出となるウイルスが存在する可能性が考えられた。
- 3) 呼吸器感染症と筋痛症が疑われ、病原体が検出できなかった症例について、患者由来検体の網羅塩基配列解読による病原体検出を行った結果、HPeV-3 が検出された。このウイルスと病態との関連に、一部不明な点があるが、HPeV-3 は HPeV-1 に比し、中枢神経症状を伴う割合が高いという報告があることから、本症例においては HPeV-3 の関与が示唆された。HPeV は培養が比較的困難なため、RT-PCR 法を中心とした方法により主に検査診断が行われている。しかしながら、報告される数多くの病原体をあまねく検査同定するためには、本症例のように患者由来検体の網羅解析法を用いることも一つの手段として推奨される。
- 4) ウイルス感染の有無を判定できるようなマーカー遺伝子の探索を行った。その結果、Viperin が一つの感染マーカーの候補となり得ることが示唆された。
- 5) ライノウイルスにおいては、p-distance を用いた数理統計解析法により、系統樹上、各株のタイプングを行うことが可能になった。今後、他の呼吸器ウイルスにおいても本法が応用可能であるか否か検討が必要である。
- 6) 重症呼吸器ウイルス感染症の定義について、さらに検討を行うとともにその実態および原因となる病原体を明らかにすることが必要であることが示唆された。

7) 新型コロナウイルスの高感度・迅速なリアルタイム RT-PCR 法の開発、マニュアルの作成および標準物質の配布により、全国の衛生研究所で本ウイルスの検査診断体制が確立された。

3. 重症呼吸器ウイルス感染症のサイトカイン解析に関する研究

- 1) 本研究により、HPIV3 感染によって、ヒト線維芽細胞が I κ B、および p38 MAPK のシグナル経路を介して多くのサイトカインを産生・放出することが明らかになった。これらの多量のサイトカイン産生とサイトカインバランスの不均衡が、部分的にはあるが喘息の病態生理や気道リモデリングに関与していることが示唆された。
- 2) HPIV3 は、肺の気道上皮細胞のみならず線維芽細胞にも感染し、種々のサイトカイン産生を亢進することも明らかになった。このことは、HPIV3 感染によって生ずる重症化、特にサイトカインストームへの関与も示唆する。さらに、これらのシグナル伝達経路として I κ B および p38 MAPK のリン酸化が特異的に関与していることも推察された。HPIV3 感染による肺線維芽細胞の炎症性サイトカインを中心としたサイトカインの異常産生による生体反応機構は、単に呼吸器感染症として、急性の気道炎症を惹起するだけでなく、喘息の発症や増悪および気道リモデリング等の重要な機構になっていると考えられた。
- 3) RSV 感染によって、ヒト胎児肺線維芽細胞が Akt、p38MAPK、ERK1/2 および I κ B α のシグナル経路を介して多くのサイトカインを産生・放出することが明らかになった。これらの多量のサイトカイン産生とサイトカインバランスの不均衡が、部分的にはあるが喘息の病態生理や気道リモデリングに関与していることが示唆された。また、今回の結果から、RSV は、肺の気道上皮細胞のみならず線維芽細胞にも感染し、種々のサイトカイン産生を亢進することも明

かになった。このことは、RSV 感染によって生ずる重症化、特にサイトカインストームへの関与も示唆する。

4) シグナル伝達経路として Akt、p38MAPK、ERK1/2 および I κ B α のリン酸化が特異的に関与していることも推察された。多くのサイトカインのシグナル蛋白とされる NF- κ B は、阻害蛋白である I κ B α により核内移行を抑制されているが、ウイルス感染などの刺激により I κ B α のリン酸化が起こり、I κ B α から遊離した NF- κ B の核内移行によりサイトカイン産生シグナルが核に伝達される。ステロイドが I κ B α mRNA を誘導し I κ B α を増加させることにより NF- κ B の核内移行を抑制しているとの報告もあり、本研究結果もこれに準ずるものと考えられる。このようにステロイドによるシグナル伝達機構の抑制がサイトカイン産生の抑制に関与することも示唆され、RSV 感染により引き起こされる喘息の病態緩和につながると考えられた。

4. ヒトパラミクソウイルス全般の病態解明・制御に関する研究

1) インフルエンザウイルス (季節性、スペイン風邪)、ヒトメタニューモウイルス、SARS コロナウイルスのみならず、ヒトパラインフルエンザウイルス 1~3 型ならびにマウスパラインフルエンザウイルス 1 型 (セндаイウイルス) もまた、TMPRSS2 を用いて多段階増殖できることがわかった。

2) TMPRSS2 やトリプシン無しでも、多段階増殖できるヒトパラインフルエンザウイルス 1 型が存在することが明らかになった。F タンパク質の開裂部位を見る限り、Furin でも開裂しないと予想できる。呼吸器感染症パラミクソウイルス活性化の新しいメカニズムの解明につながる可能性が示唆された。今後、F タンパク質や HN タンパク質の構造モデル解析の結果、また、タンパク質の発現実験、組換えウイルスを利用し

た実験などを通じて、その機構を明らかにしたい。

3) TMPRSS2 は、自身の活性化のために自己開裂する酵素である。自身の開裂部位の P1-P2-P3 位のアミノ酸はそれぞれ R-S-Q であり、セндаイウイルスや、ヒトメタニューモウイルス、インフルエンザウイルス H1 亜型の膜融合タンパク質のそれらと同一である。また、インフルエンザウイルス H2 亜型、H3 亜型、ヒトパラインフルエンザ 1 型のそれらも、アミノ酸の性質や構造上、R-S-Q と非常に似通ったもの (R-S-E または R-T-Q) で構成されている。一方、ヒトへの感染性を持たないウイルスでは、それらのアミノ酸は、TMPRSS2 のものと類似性をあまり有していない。また、TMPRSS2 以外の膜貫通型セリンプロテアーゼの P1-P2-P3 位のアミノ酸は、R-S-Q とは、性質の異なるアミノ酸で構成されている。すなわち、P1-P2-P3 位のアミノ酸に R-S-Q あるいは、それらと類似性をもつアミノ酸を有することが、TMPRSS2 による開裂ならびにヒトの呼吸器での増殖に重要であると推測した。

4) P3 位のアミノ酸が Q であることは、TMPRSS2 で開裂性を受けることに重要ではあるものの、TMPRSS2 特異的ではないと考えられた。一方、P2 位のアミノ酸を S から V、あるいは、S から R に変異させることにより、トリプシンでの開裂に比して、TMPRSS2 による開裂が大幅に低下したと考えられ、ヒトの呼吸器ウイルスの膜融合タンパク質が、P1-P2-P3 位に R-S-Q 配列を持つ意義、あるいは、TMPRSS2 のウイルス性肺炎発症に重要であることの可能性を強く示唆する結果が示された。

5. ヒトコロナウイルス(HCoV)全般の感染機序解明、分離技術の向上・制御に関する研究

1) TMPRSS2 発現細胞は、我々が人工的に作成したものであり、実際の肺での現象を反映してい

るのかどうかは不明である。したがって、今後、実際の肺に性質が近いと考えられる、ヒト肺胞上皮初代培養を用いて同様の実験を行い、肺由来細胞ではどのプロテアーゼが感染に利用され、どのようなプロテアーゼ阻害剤の組み合わせにより、感染を阻止できるのかを明らかにしたい。

- 2) ヒト肺胞上皮由来の培養細胞株は、Calu-3を除いて SARS-CoV に感受性を示さなかった。これは、細胞の様々な抗ウイルス効果が働いたためと考えられ、SARS はこれを回避する機構を備えていることが報告されている。今後、細胞のインターフェロン応答等をノックダウンして、Calu-3 のウイルス感受性を高める試みを行う。

6. 重症呼吸器ウイルス感染症関連ウイルスの防御抗体産生機構および制御に関する研究

- 1) 呼吸器ウイルス抗原タンパク質の合成にコムギ無細胞タンパク質合成系を活用した。その結果、リコンビナントウイルス外被タンパク質 (PIV-3-HN) のベクター構築および機能的タンパク質の大量精製に成功した。本法のような、無細胞タンパク質合成法は、生体の遺伝情報発現系を人工容器内に取り揃え、DNA からタンパク質を鋳型合成する試験管内合成法であるため、これらの問題が全て解決できる。その中でも、コムギ無細胞系は、真核生物のマルチドメインタンパク質の合成に優れた性能を発揮し、特にウイルスタンパク質のエピトープ領域の合成に優れていると考えられた。
- 2) 種々の呼吸器ウイルスに高感受性である MRC-5 細胞の不死化および新規アカゲザル細胞株の樹立に成功した。今後はこれらの細胞株のウイルス感受性のプロファイルを確認するとともに、ウイルス複製や病原性発現に至る分子基盤について解析を行う予定である。
- 3) 一度の合成で約 1 mg の精製タンパク質が作製できた。そして、これらのタンパク質をマンノース被覆リポソームに封入した。今後は、本標

品を BALB/c マウスに投与し、ワクチン抗原としての有効性を検討する予定である。

- 4) リポソーム内に封入されているタンパク質の定量を行ったところ、1 mg chol.あたりの HN タンパク封入量が 32 μg にまで増加した。また、これは予備実験として低濃度 HN タンパク溶液 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を用いて製造した際に 1 μg HN/ mg chol.であった場合と比較して、32 倍にまで封入量が増加した。HN タンパク封入 (包埋率) についても、両濃度の HN タンパク溶液を用いた場合、ともに 70%程度になった。これらの HN-MCL を 5 μg タンパク/ 15 μL (マウス 1 匹分) になるよう調製した。今後は OVA 封入リポソームをコントロールとして、マウスに免疫する予定である。これらのうち、HN に特異的なクローンが、48 株樹立出来た。今後、これらの細胞上清を用いて中和活性の検定を行う予定である。
- 5) pNifty-ISREx5-AP-1x5-NF-kBx5-SEAP 遺伝子または pIRES- ISREx5-AP- 1x5-NF-kBx5-GFP 遺伝子を導入し、ウイルス感染を定量的または視覚的に検出できる細胞系を構築した。今後は本細胞群を用いて広範囲な呼吸器ウイルスの感染感受性や細胞障害性について考察するとともに未知の病原性ヒト呼吸器ウイルスの検出を試みる予定である。

E. 結論

1. 包括的な重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランスに関する研究

- 1) RSV、HMPV、HRV、HPIV、HBoV、HCoV および EV68 などの svARIs への関与を明らかにした。特に、RSV、HMPV、HPIV などの感染は臨床的に重症化傾向を示す。
- 2) 上記 svARIs ウイルスについて、詳細な疫学、分子遺伝学解析等を行い、それぞれのウイルスの代表株について株の保存および GenBank へ

の遺伝情報登録等を実施し、研究資産活用を期した。

3) RSV と HRV 感染に起因する病態、とくに感染喘息への関与を臨床学、臨床ウイルス学および分子生物学的に精査検討し、小児科領域の ARIs 重症化基準を策定、公開した。

4) 施設内の svARIs ウイルス流行の原因ウイルスを診断し、治療指針、感染拡大防止対策の一助とした。

5) 地方衛生研究所における svARIs ウイルスサーベイランスに係る不断の側面的技術協力を行った。

2. 重症呼吸器ウイルス感染症の実態調査および検査診断法に関する研究

1) 感染症発生動向調査に基づき svARI の実態を把握する研究を行った結果、最も多く検出されたウイルスは InfV と RSV であった。また、過半数の検体からは起因ウイルスが検出されなかった。今後、有効な svARI のサーベイランスを実施するには、病原体サーベイランスの義務化、各地研の検査設備や検査体制の整備が必要であると思われた。

2) RNA ウイルス場合、遺伝子配列の変異が蓄積するため、定期的な primer の変更が必要である。今後 human metapneumovirus、RS virus について、ウイルス表面抗原の G protein 遺伝子を増幅する検出系を検討し、検出と同時に塩基配列によって、より正確な系統樹解析が可能となる検出系を開発することも必要である。

3) 本研究課題において、不明病態から病原体と想定されるウイルスを網羅配列解読法により偏見無く検出することができた。HPeV-3 は新規ウイルス種ではないが、従来の遺伝子検査法で多種多様に変異を導入する RNA ウイルス全てを検出するためには、検査数が膨大になり、煩雑にならざるを得ない。次世代シーケンサーによる検出・鑑別法は一部の研究者しか扱えない状

況だが、手法の簡便化と機器類・検査費用の低価格が実現すれば幅広く病原体検査に適応できると考えられる。将来の先端的な病原体検査法の開発を視野に入れ、半数以上にのぼる不明感染症例を詳細に解析しながら、広範な感染症対策に貢献するシステムを構築すべきだと考えている。

4) 細胞障害を起こさないウイルスにおいて Viperin や OAS-L の発現を検討することにより、ウイルス感染の有無を判定できる可能性が示唆された。

5) 全国衛生研究所において、新型コロナウイルス (HCoV-EMC/2012) に対する検査診断体制が確立された。

3. 重症呼吸器ウイルス感染症のサイトカイン解析に関する研究

1) HPIV3 感染によりヒト肺線維芽細胞から、種々のサイトカイン産生が誘導されることが明らかになった。この産生機構には、I κ B キナーゼおよび p38MAPK のリン酸化が重要であることが判明した。

2) 産生された多量のサイトカインが種々の病態、サイトカインストーム、喘息の発症増悪および気道リモデリングに関与することも推察された。

3) RSV 感染によりヒト肺線維芽細胞から、種々のサイトカイン産生が誘導されることが明らかになった。この産生機構には、Akt、p38MAPK、ERK1/2 および I κ B α のリン酸化が重要であることが判明した。また、産生された多量のサイトカインが種々の病態、サイトカインストーム、喘息の発症増悪および気道リモデリングに関与することも推察された。

4. ヒトパラミクソウイルス全般の病態解明・制御に関する研究

1) ヒトパラインフルエンザウイルス 1~3 型ならびにマウスパラインフルエンザウイルス 1 型が TMPRSS2 を用いて多段階増殖可能であること

が示唆された。

- 2) TMPRSS2 やトリプシン無添加でも多段階増殖できるヒトパラインフルエンザウイルス1型が存在することが明らかになった。これらの結果は、ヒトパラインフルエンザウイルスによる肺炎発症機構の解明、将来的な抗ウイルス剤開発につながる重要な知見であると考えられる。
 - 3) 基質タンパク質の開裂部の P3 位のアミノ酸が Q であることは、TMPRSS2 で開裂性を受けることに重要ではあるものの、TMPRSS2 特異的ではないと考えられた。一方、P2 位のアミノ酸が S であることは、一般的にセリンプロテアーゼによる開裂に重要ではないと考えられるものの、TMPRSS2 で開裂性を受けることには、非常に重要であると考えられた。これらの結果は、ヒトの呼吸器ウイルスの膜融合タンパク質が、P1-P2-P3 位に R-S-Q 配列を持つ意義、あるいは、TMPRSS2 のウイルス性肺炎発症に重要であることの可能性を強く示唆する結果と考えられる。
5. ヒトコロナウイルス(HCoV)全般の感染機序解明、分離技術の向上・制御に関する研究
- 1) ヒトコロナウイルスは肺特異的プロテアーゼ TMPRSS2 を利用して細胞に侵入することが明らかになった。また、セリンプロテアーゼ阻害剤とシステインプロテアーゼ阻害剤の同時処理により、細胞への感染を完全に阻止することも明らかになった。
 - 2) Hela-ACE2 は2種のコロナウイルスにとって、良い感受性細胞であるといえる。一方、肺胞上皮由来の Calu-3 細胞に感染する時、SARS コロナウイルスは、もっぱら TMPRSS2 を利用して侵入することと、セリンプロテアーゼインヒビターである Camostat により感染を阻止できることが解った。この結果は肺においても Camostat がウイルス感染を阻止する抗ウイルス薬となる可能性を示唆している。
6. 重症呼吸器ウイルス感染症関連ウイルスの防

御抗体産生機構および制御に関する研究

- 1) PIV-3 ワクチン開発に向け、コムギ無細胞系を用いたリコンビナントウイルス外被タンパク質 (PIV-3-HN) のベクター構築および機能的タンパク質の大量精製に成功した。全長 HN 蛋白はマンノース被覆リポソームに封入可能であった。今後は、本標品を BALB/c マウスに投与し、ワクチン抗原としての有効性を検討する必要がある。
- 2) 種々の呼吸器ウイルス分離や阻害剤スクリーニングのための優れた培養細胞モデル系は構築を目指し、ヒト胎児肺線維芽細胞 MRC-5 の不死化を行いこれに成功した。また、アカゲザル皮膚線維芽細胞から幹細胞を誘導することで呼吸器ウイルス感染感受性を示す培養細胞も樹立した。
- 3) HN 蛋白に特異的抗体を産生するクローンが、48 株樹立した。今後、これらの細胞上清を用いて中和活性の検定を行う。
- 4) pNifty-ISREx5-AP-1x5-NF-kBx5-SEAP 遺伝子または pIRES- ISREx5-AP- 1x5-NF-kBx5-GFP 遺伝子を導入し、ウイルス感染を定量的または視覚的に検出できる細胞系を構築した。今後は本細胞群を用いて広範囲な呼吸器ウイルスの感染感受性や細胞障害性について考察するとともに未知の病原性ヒト呼吸器ウイルスの検出を試みる必要がある。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

2012 年, 2013 年

- 1) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki Y, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Seasonal patterns of

- respiratory syncytial virus, influenza A virus, human metapneumovirus, and parainfluenza virus type 3 infections based on virus isolation data between 2004 and 2011 in Yamagata, Japan. *Jpn J Infect Dis.* in press.
- 2) Kiyota N, Kushibuchi I, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ryo A, Nishimura K, Hirata-Saito A, Harada S, Arakawa M, Kozawa K, Noda M, Kimura H. Genetic analysis of VP4/VP2 coding region in human rhinovirus species C detected from the patients with acute respiratory infection in Japan. *J Med Microbiol.* In press.
 - 3) Seki E, Yoshizumi M, Tanaka R, Ryo A, Ishioka T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Okayama Y, Goya T, Kimura H. Cytokine profiles, signaling pathways, and effects of fluticasone propionate in respiratory syncytial virus-infected human fetal lung fibroblasts. *Cell Biol Int.* in press.
 - 4) Nishi M, Sakai Y, Akutsu H, Nagashima Y, Quinn G, Masui S, Kimura H, Perrem K, Umezawa A, Yamamoto N, Lee SW, Ryo A. Induction of cells with cancer stem-cell properties from non-tumorigenic human mammary epithelial cells by defined reprogramming factors. *Oncogene* 2013
 - 5) Abiko C, Mizuta K, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Noda M, Kimura H, Ahiko T. An outbreak of parainfluenza virus type 4 infections among children with acute respiratory infections, in the 2011-12 winter season in Yamagata, Japan. *Jpn J Infect Dis.* in press.
 - 6) Sakano C, Kuroda M, Sekizuka T, Ishioka T, Morita Y, Ryo A, Tsukagoshi H, Kawai Y, Inoue N, Takada H, Ogasawara Y, Nishina A, Shimoda M, Kozawa K, Oishi K, Kimura H. Genetic analysis of non-hydrogen sulfide-producing *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Infantis isolates in Japan. *J Clin Microbiol.* 51(1):328-330, 2013.
 - 7) Nakamura M, Hirano E, Ishiguro F, Mizuta K, Noda M, Tanaka R, Tsukagoshi H, Kimura H. Molecular epidemiology of human metapneumovirus from 2005 to 2011 in Fukui, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 66(1): 56-59, 2013.
 - 8) Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ishioka T, Mizuta K, Noda M, Morita Y, Ryo A, Kozawa K, Kimura H. Seroepidemiology of saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 in Japan. *J Infect.* 66(2):191-193, 2013.
 - 9) Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLOS ONE.* 7(11):e50660, 2012.
 - 10) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Matsuzaki Y, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Epidemiology of parainfluenza virus types 1, 2 and 3 infections based on virus isolation between 2002 and 2011 in Yamagata, Japan. *Microbiol Immunol.* 56(12):855-858, 2012.
 - 11) Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Noda M, Kimura H, Mizutani T, Kato T, Kawanami T, Ahiko T. Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infections among adults, Yamagata, Japan, 2008. *Emerg Infect Dis.* 18(11):1787-1793, 2012.
 - 12) Miyakawa K, Sawasaki T, Matsunaga S, Tokarev A, Quinn G, Kimura H, Nomaguchi M, Adachi A, Yamamoto N, Guatelli J, Ryo A. Interferon-Induced SCYL2 Limits Release of HIV-1 by Triggering PP2A-Mediated

- Dephosphorylation of the Viral Protein Vpu. *Sci Signal*. 5(245):ra73, 2012.
- 13) Obuchi M, Toda S, Tsukagoshi H, Oogane T, Abiko C, Funatogawa K, Mizuta K, Shirabe K, Kozawa K, Noda M, Kimura H, Tashiro M. Molecular analysis of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus genome associated with fatal infection cases in Gunma, Tochigi, Yamagata, and Yamaguchi Prefectures, Japan during the first pandemic wave. *Jpn J Infect Dis*. 65(4):363-367, 2012.
 - 14) Nidaira M, Taira K, Hamabata H, Kawaki T, Gushi K, Mahoe Y, Maeshiro N, Azama Y, Okano S, Kyan H, Kudaka J, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H. Molecular epidemiology of human metapneumovirus (HMPV) from 2009 to 2011 in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis*. 65(4):337-340, 2012.
 - 15) Kato M, Ishioka T, Kita H, Kozawa K, Hayashi Y, Kimura H. Eosinophil granular proteins damage bronchial epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Int Arch Allergy Immunol*. 158(1):11-18, 2012.
 - 16) Kon M, Watanabe K, Tazawa T, Watanabe K, Tamura T, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H, Mizuta K. Detection of human coronavirus NL63 and OC43 from children with acute respiratory infections in Niigata, Japan, between 2010 and 2011. *Jpn J Infect Dis*. 65(3):270-272, 2012.
 - 17) Yoshida A, Kiyota N, Kobayashi M, Nishimura K, Tsutsui R, Tsukagoshi H, Hirano E, Yamamoto N, Ryo A, Saitoh M, Harada S, Inoue O, Kozawa K, Tanaka R, Noda M, Okabe N, Tashiro M, Mizuta K, Kimura H. Molecular epidemiology of attachment glycoprotein (G) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009/2010. *J Med Microbiol*. 61:820-829, 2012.
 - 18) Ikeda T, Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Matsuzaki Y, Fuji N, Imamura T, Oshitani H, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Acute respiratory infections due to enterovirus 68, in Yamagata, Japan between 2005 and 2010. *Microbiol Immunol*. 56(2):139-143, 2012.
 - 19) Arakawa M, Okamoto-Nakagawa R, Toda S, Tsukagoshi H, Kobayashi M, Ryo A, Mizuta K, Hasegawa S, Hirano R, Wakiguchi H, Kudo K, Tanaka R, Morita Y, Noda M, Kozawa K, Ichiyama T, Shirabe K, Kimura H. Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *J Med Microbiol*. 61(Pt 3):410-419, 2012.
 - 20) Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine Distemper Virus with the Intact C Protein Has the Potential to Replicate in Human Epithelial Cells by Using Human Nectin4 as a Receptor. *Virology*. (in press)
 - 21) Pratakpiriya W, Seki F, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. (2012) Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in the neurovirulence. *J Virol*. 86. 10207-10.
 - 22) Kawase M, Shirato K, van der Hoek L, Taguchi F, Matsuyama S. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *J Virol*. 2012 Jun; 86(12):6537-45.
 - 23) Okayama Y, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Matsumoto K, Hashimoto N, Ohmori K, Kawakami T, Saito H, Ra C. Omalizumab inhibits

- acceleration of FcεRI-mediated responsiveness of immature human mast cells by IgE. *Ann Allergy Asthma Immunol* 108(3): 188-194, 2012.
- 24) Kashiwakura J, Okayama Y, Furue M, Kabashima K, Shimada S, Ra C, Shiraganian RP, Kawakami Y, Kawakami T. Most highly cytokinergic IgEs have polyreactivity to autoantigens. *Allergy, Asthma & Immunology Research* 4(6):332-340, 2012.
- 25) Lee H, Kashiwakura J, Matsuda A, Watanabe Y, Sakamoto-Sasaki T, Matsumoto K, Hashimoto N, Saito S, Ohmori K, Nagaoka M, Tokuhashi Y, Ra C, Okayama Y. Activation of human synovial mast cells from rheumatoid arthritis or osteoarthritis patients in response to aggregated IgG through FcγRI and FcγRII. *Arthritis Rheum* Oct 10. doi: 10.1002/art.37741, 2012
- 26) Okayama Y, Kashiwakura J, Matsuda A, Sasaki-Sakamoto T, Nunomura S, Yokoi N, Ebihara N, Kuroda K, Ohmori K, Saito H, Ra C. The interaction between Lyn and FcεRIβ is indispensable for FcεRI-mediated human mast cell activation. *Allergy* 67(10):1241-9, 2012.
- 27) Ohtsubo-Yoshioka M, Nunomura S, Kataoka TR, Okayama Y, Ra C. Fc receptor beta chain deficiency exacerbates murine arthritis in the anti-type II collagen antibody-induced experimental model. *Mod Rheumatol* Oct 6. [Epub ahead of print] 2012.
- 28) Kataoka TR, Fujimoto M, Moriyoshi K, Koyanagi I, Ueshima C, Kono F, Tsuruyama T, Okayama Y, Ra C, Haga H. PD-1 regulates the growth of human mastocytosis cells. *Allergol Int* in press.
- 29) Ra C, Nunomura S, Okayama Y. Fine-tuning of mast cell activation by FcεRIβ chain. *Frontiers Immunol* doi: 10.3389/fimmu.2012.00112
- 30) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *J Proteomics*. 2012 Aug 3;75(3):4863-73.
- 31) 松田俊二, 小村珠喜, 塚越博之, 野田雅博, 木村博一. 重症心身障害児(者)病棟におけるヒトメタニューモウイルス感染症の流行. *感染症学雑誌*. 86(2):109-114, 2012.
- 32) 松田俊二, 小村珠喜, 塚越博之, 野田雅博, 木村博一: 重症心身障害児(者)病棟におけるヒトメタニューモウイルス感染症の流行. *感染症学雑誌*, 86 (2)、109-114、2012
- 33) 水田克巳: 呼吸器感染症の病原診断、エンテロウイルス・ライノウイルス. *臨床とウイルス* 40、134-141、2012
- 34) 横井一、田中俊光、水村綾乃、北橋智子: Real-time RT-PCR 法によるRS ウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別. *感染症学雑誌*, 86(5)、569-576、2012
- 35) 吉岡政純、石川和弘、池田雄史、清水恒広、野田雅博、木村博一: 小児における呼吸器感染症から検出されたヒトメタニューモウイルスに関する分子疫学および臨床医学的検討. *感染症学雑誌*, 86、2012 (印刷中)
- 36) Okayama Y, Matsuda A, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Nunomura S, Ohmori K, Gon Y, Asano M, Akihisa T, Terui T, Saito H, Ra C. Distribution and localization of FcεRIβ subunit in human mast cells. In: Marone G, Triggiani M and Genovese A (eds). *Translational Science: from Basic to Clinical Immunology and Allergy*. pp. 105-108. Pacini Editore, Pisa, Italy, 2012.
- 37) 松田俊二, 小村珠喜, 塚越博之, 野田雅博, 木村博一: 重症心身障害児(者)病棟における

- ヒト・メタニューモウイルス感染症の流行、
感染症学雑誌、86(2)、109-114、2012
- 38) 木村博一, 塚越博之, 石井晴之, 吉田綾子, 野田雅博, 小澤邦壽. 呼吸器関連ウイルス (RSV)の基礎と分子疫学. 臨床免疫・アレルギー科, 58(4): 414-418, 2012.
 - 39) 木村博一, 梁明秀, 岡山吉道. 急性呼吸器ウイルス感染と喘息. 感染・炎症・免疫, 42(2):59-63, 2012.
 - 40) 岡山吉道, 柏倉淳一, 羅智靖: ヒトマスト細胞のサブセットとその性状 臨床免疫・アレルギー科 57(6):597-600, 2012
 - 41) 柏倉淳一, 岡山吉道, 羅智靖: 神経ペプチドによるマスト細胞の活性化 臨床免疫・アレルギー科 57(6):634-638, 2012
 - 42) 岡山吉道, 柏倉淳一, 大森一光, 羅智靖: アナフィラキシーショックの病態生理 臨床免疫・アレルギー科 58(5): 571-574, 2012.
 - 43) 岡山吉道: マスト細胞とアレルギー 日大医学雑誌 71 (3):203-206, 2012.
 - 44) 柏倉淳一, 岡山吉道, 羅智靖: ヒトマスト細胞活性化における PAF および神経ペプチドの役割 臨床免疫・アレルギー科 58(5): 565-570, 2012.
 - 45) 岡山吉道, 柏倉淳一, 大森一光, 羅智靖: アナフィラキシーショックの病態生理 臨床免疫・アレルギー科 58(5): 571-574, 2012.
 - 46) 岡山吉道, 片岡竜貴: Systemic mastocytosis 日本臨床 別冊 2012 in press
- 2011 年
- 1) Nishina A, Kimura H, Kozawa K, Sommen G, Nakamura T, Heimgartner H, Koketsu M, Furukawa S, A superoxide anion-scavenger, 1,3-selenazolidin-4-one suppresses serum deprivation-induced apoptosis in PC12 cells by activating MAP kinase. Toxicol Appl Pharmacol. 257(3):388-395, 2011.
 - 2) Mizuta K, Saitoh M, Kobayashi M, Tsukagoshi H, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Katsushima N, Itagaki T, Noda M, Kozawa K, Ahiko T, Kimura H. Detailed genetic analysis of hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein gene in human parainfluenza virus type 1 isolates from patients with acute respiratory infection between 2002 and 2009 in Yamagata prefecture, Japan. Virol J. 8(1):533, 2011.
 - 3) Sakano C, Morita Y, Goto K, Yokota Y, Annaka H, Fujita M, Kobatake S, Ishioka T, Hoshino T, Boonmar S, Pulsrikarn C, Nishina A, Kozawa K, Yamamoto S, Kimura H. Prevalence and genotype of Salmonella Choleraesuis in Gunma Prefecture, Japan. Thai J Vet Med. 41(3):321-326, 2011.
 - 4) Itagaki T, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Mizuta K, Noda M, Kimura H, Matsuzaki Y. Saffold cardiovirus infection in children associated with respiratory disease and the similarity to coxsackievirus infection. Pediatr Infect Dis J. 30(8):680-683, 2011.
 - 5) Tsukagoshi H, Mizuta K, Abiko C, Itagaki T, Yoshizumi M, Kobayashi M, Kuroda M, Kozawa K, Noda M, Ryo A, Kimura H. The impact of saffold cardiovirus (SAFV) in patients with acute respiratory infection in Yamagata, Japan. Scand J Infect Dis. 43(8):669-671, 2011.
 - 6) Fujitsuka A, Tsukagoshi H, Arakawa M, Goto-Sugai K, Ryo A, Okayama Y, Mizuta K, Nishina A, Yoshizumi M, Kaburagi Y, Noda M, Tashiro M, Okabe N, Mori M, Yokota S, Kimura H. A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. BMC Infect Dis. 11:168, 2011.
 - 7) Nishi M, Akutsu M, Masui S, Kondo A, Nagashima Y, Kimura H, Perrem K, Shigeri Y,

- Toyoda M, Okayama A, Hirano H, Umezawa A, Yamamoto N, Sam W. Lee SW, Ryo A. A distinct role for Pin1 in the induction and maintenance of pluripotency. *J Biol Chem.* 286(13):11593-11603, 2011.
- 8) Nakamura M, Taira K, Tsukagoshi H, Itokazu K, Nidaira M, Okano S, Kudaka J, Noda M, Takeda M, Kimura H. Detection of various respiratory viruses in patients with influenza-like illness before and after emergence of the 2009 Pandemic H1N1 influenza virus in Okinawa. *Jpn J Infect Dis.* 64(1):87-89, 2011.
- 9) Tanaka T, Yokoi H, Kobayashi K, Iwanade H, Noguchi Y, Mitsui Y, Okamoto A, Saitoh M, Noda M, Takeda M, Okabe N, Kimura H. First detection of measles virus genotype G3 in a Japanese woman: An imported case. *Jpn J Infect Dis.* 64(3):262-263, 2011.
- 10) Omura T, Iizuka S, Tabara K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M, Kimura H. Detection of human metapneumovirus (HMPV) genomes during an outbreak of bronchitis and pneumonia in an old-age home in Shimane, Japan, in autumn 2009. *Jpn J Infect Dis.* 64(1):85-87, 2011.
- 11) Kato M, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Saitoh M, Kozawa K, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y, Kimura H. Different cytokine profile and eosinophil activation are involved in rhinovirus- and RS virus-induced acute exacerbation of childhood wheezing. *Pediatr Allergy Immunol.* 22(1 Pt 2):e87-94, 2011.
- 12) Ishioka T, Kimura H, Kita H, Obuchi M, Hoshino H, Noda M, Nishina A, Kozawa K, Kato M. Effects of respiratory syncytial virus infection and major basic protein derived from eosinophils in pulmonary alveolar epithelial cells (A549). *Cell Biol Int.* 35:467-474, 2011.
- 13) Hasegawa S, Hirano R, Okamoto-Nakagawa R, Ichiyama T, Shirabe K. Enterovirus 68 infection in children with asthma attacks: Virus-induced asthma in Japanese children *Allergy* 2011; 66(12) 1618-1620.
- 14) Hasegawa S, Matsushige T, Inoue H, Shirabe K, Fukano R, Ichiyama T. Serum and cerebrospinal fluid cytokine profile of patients with 2009 pandemic H1N1 influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine.* 2011; 54(2):167-72.
- 15) Matsuyama S. [Protease-dependent cell entry mechanism of coronaviruses]. *Uirusu.* 2011 Jun; 61(1):109-16. Review. Japanese.
- 16) Gon Y, Matsumoto K, Terakado M, Sekiyama A, Maruoka S, Takeshita I, Koza Y, Okayama Y, Ra C, Hashimoto S. Heregulin activation of ErbB2/ErbB3 signaling potentiates the integrity of airway epithelial barrier. *Exp Cell Res* 317:1947-53, 2011.
- 17) Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Haneda Y, Shirabe K, Ichiyama T. Characteristics of atopic children with pandemic H1N1 influenza viral infection: pandemic H1N1 influenza reveals 'occult' asthma of childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011 ;22, 119-23
- 18) 板垣勉、松寄葉子：ヒトメタニューモウイルス感染症の臨床経過とウイルス排泄期間の検討. *日本小児科学会雑誌*, 115(4), 782-787, 2011
- 19) Okabe N, Watanabe H, Ando S, Arakawa Y, Fujimoto T, Ikebe T, Imaoka K, Ishii N, Ito K, Kato H, Kimura H, Kobayashi M, Kurane I, Nozaki T, Sata T, Shimizu H, Tada Y, Takeda M, Tani N, Taniguchi K, Tashiro M, Taya K, Terajima J, Yamashita K, Wakita T. Annual Report on Findings of Infectious Disease Agents in Japan 2008. *Jpn J Infect Dis.* 62(supplement):1-131, 2011.

- 20) 岡山吉道, 柏倉淳一, 権寧博, 相良博典, 大森一光, 照井正, 橋本修, 羅智靖: マスト細胞救急医学 35(5): 533-535, 2011.
- 21) 岡山吉道, 柏倉淳一, 照井正, 権寧博, 浅野正岳, 秋久俊博, 松田彰, 羅智靖: マスト細胞の Fc レセプター-I 鎖ペプチドによる IgE 依存性の脱顆粒抑制 臨床免疫・アレルギー科 56(5):648-653, 2011.
- 2010 年
- 1) Yoshizumi M, Kimura H, Okayama Y, Ryo A, Nishina A, Noda M, Tsukagoshi H, Kozawa K, Kurabayashi M. Relationships between cytokine profiles and signaling pathways in parainfluenza virus-infected lung fibroblasts. *Front Microbiol.* 1: Article 124, 1-7, 2010.
- 2) Goto-Sugai K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M, Sugai T, Saito Y, Okabe N, Tashiro M, Kozawa K, Tanaka R, Morita Y, Nishina A, Kimura H. Genotyping and phylogenetic analyses of major genes in respiratory syncytial virus isolated from infants with bronchiolitis in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 63(6):393-400, 2010.
- 3) Tsukagoshi H, Masuda Y, Mizutani T, Mizuta K, Saitoh M, Morita Y, Nishina A, Kozawa K, Noda M, Ryo A, Kimura H. Sequence and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 isolates from children with upper respiratory infection in Gunma, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 63(5):378-380, 2010.
- 4) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Katsushima N, Matsuzaki Y, Hongo S, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Endemicity of human metapneumovirus subgenogroups A2 and B2 in Yamagata, Japan between 2004 and 2009. *Microbiol Immunol.* 54(10):634-638, 2010.
- 5) Okazaki K, Kondo M, Kubota M, Kakinuma R, Hoshino A, Kimura H, Itoh S. High-dose usage of lorazepam for refractory seizure in a Japanese infant of holoprosencephaly with cortical dysplasia. *Pediatr Int.* 52(4):e664-667, 2010.
- 6) Nakamura M, Itokazu K, Taira K, Kawaki T, Kudaka J, Nidaira M, Okano S, Kimura H, Noda M. Detection and phylogenetic analysis of human rhinoviruses from Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 63(3):221-223, 2010.
- 7) Itagaki T, Abiko C, Ikeda T, Aoki Y, Seto J, Mizuta K, Ahiko T, Tsukagoshi H, Nagano M, Noda M, Mizutani T, Kimura H. Detection and phylogenetic analysis of Saffold cardiovirus (SAFV) from children with exudative tonsillitis in Yamagata, Japan. *Scand J Infect Dis.* 42:950-952, 2010.
- 8) Toda S, Kimura H, Noda M, Mizuta K, Matsumoto T, Suzuki E, Shirabe K. Phylogenetic analysis of human metapneumovirus from children with acute respiratory infection in Yamaguchi, Japan during summer 2009. *Jpn J Infect Dis.* 63(2):139-140, 2010.
- 9) Mizuta K, Hirata A, Suto A, Aoki Y, Ahiko T, Itagaki T, Tsukagoshi H, Morita Y, Obuchi M, Akiyama M, Okabe N, Noda M, Tashiro M, Kimura H. Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus genogroup A (HRV-A) isolated from children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan. *Virus Res.* 147(2):265-274, 2010.
- 10) Matsuyama S, Nagata N, Shirato K, Kawase M, Takeda M, Taguchi F. Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. *J Virol.* 2010 Dec; 84(24):12658-64.
- 11) Matsuda A, Ebihara N, Yokoi N, Okayama Y, Watanabe Y, Kawasaki S, Tanioka H, Kawasaki S, Walls AF, Hamuro J, Kinoshita S, Murakami A: Basophils in the giant allergic keratoconjunctivitis. *Brit J Ophthalmol* 94(4):513-518, 2010.

- 12) Kajiwara N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, Okayama Y: Activation of human mast cells through the platelet activating factor receptor. *J Allergy Clin Immunol* 125(5):1137-1145, 2010.
 - 13) Fukunaga M, Nunomura S, Nishida S, Endo K, Gon Y, Hashimoto S, Hashimoto Y, Okayama Y, Makishima M, Ra C: Mast cell death induced by 24(S),25 -epoxycholesterol. *Exp Cell Res* 316:3272-3281, 2010.
 - 14) Kyuwa S, Takagaki S, Matsuyama S, Taguchi F, Saegusa J, Iwakura Y, Tagawa Y, Yoshikawa Y. Characterization of a variant virus from ascitic fluid of subacute granulomatous serositis in interferon-gamma-deficient C57BL/6 mice persistently infected with murine coronavirus strain JHM. *Viral Immunol.* 23(4):437-442, 2010.
 - 15) Watanabe S, Maeda K, Suzuki K, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Shimoda H, Kato K, Yoshikawa Y, Morikawa S, Kurane I, Akashi H, Mizutani T. Identification of a novel betaherpesvirus in bats using a rapid determination system for viral RNA sequences (RDV). *Emerg Infect Dis.* 16:986-988. 2010.
 - 16) Watanabe S, Mizutani T, Sakai K, Iizuka I, Shiota T, Sayama Y, Tsuda S, Kato K, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Shimada M, Yoshizaki S, Jounai N, Kondo A, Ichino M, Ryo A, Okuda K. DNA vaccine expressing HIV-1 gp120/immunoglobulin fusion protein enhances cellular immunity. *Vaccine.* 28(31):4920-4927, 2010.
 - 17) Pulikkan JA, Dengler V, Peer Zada AA, Kawasaki A, Geletu M, Pasalic Z, Bohlander SK, Ryo A, Tenen DG, Behre G. Elevated PIN1 expression by C/EBPalpha-p30 blocks C/EBPalpha-induced granulocytic differentiation through c-Jun in AML. *Leukemia.* 24(5):914-923, 2010.
 - 18) 木村博一, 野田雅博, 水田克巳, 松田俊二, 田代真人. ウイルス疾患の遺伝子解析と臨床への応用. *日本臨床*, 68(8):139-143, 2010.
 - 19) 岡山吉道, 松田彰, 布村聡, 佐々木朋美, 羅智靖: マスト細胞と高親和性 IgE 受容体 beta 鎖. *臨床免疫・アレルギー科* 53(5):481-485, 2010.
 - 20) 岡山吉道, 梶原直樹, 佐々木朋美, 羅智靖: 血小板活性化因子(platelet activating factor; PAF) によるマスト細胞活性化. *アレルギー・免疫* 17(6):124-129, 2010.
 - 21) 岡山吉道, 権寧博, 浅野正岳, 秋久俊博, 照井正, 羅智靖: PAF レセプターによるマスト細胞の活性化. *臨床免疫・アレルギー科* 54(2):149-154, 2010.
 - 22) 岡山吉道, 松田彰, 佐々木朋美, 羅智靖: アトピー関連遺伝子 ST2, IL-33 のアレルギー疾患における発現とその機序. *臨床免疫・アレルギー科* 54(5):553-557, 2010.
2. 著書
- 1) 木村博一, ウイルスと細菌の滅菌・消毒法. 木村博一編集, 食の安全に関する必要知識と実践, 大阪:メディカルレビュー社, 2012:49-57.
 - 2) 木村博一, 菅井和子, 田代真人. *Respiratory Syncytial(RS)ウイルス*. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:40-43.
 - 3) 木村博一, 水田克巳, 調恒明, 田代真人. *ヒトメタニューモウイルス*. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:57-59.
 - 4) 田代真人, 木村博一. *臨床ウイルス感染症学概論*. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:

- 羊土社, 2011:24-30.
- 5) 岡山吉道, 木村博一, 羅智靖. ライノウイルス. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:44-47.
 - 6) 水田克巳, 木村博一, 吉住正和, 田代真人. ヒトパラインフルエンザウイルス. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:36-38.
 - 7) 水田克巳, 調恒明, 木村博一, 田代真人. ヒトアデノウイルス. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:52-55.
 - 8) 野田雅博, 水田克巳, 木村博一, 田代真人. ウイルス感染症の実験室内検査診断の概要と実際. 牛島廣治, 田代真人監修. ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:202-204.
 - 9) 塚越博之, 調恒明, 木村博一. ウイルス遺伝子増幅及び解析法. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:269-290.
 - 10) 水田克巳, 木村博一, 調恒明, 酵素免疫測定法・免疫クロマト法. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:344-351.
 - 11) 塚越博之, 小澤邦壽, 木村博一. 蛍光抗体法. 牛島廣治, 田代真人監修, ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 第1版, 東京:羊土社, 2011:352-362.
3. 学会発表
- 1) 木村博一, 呼吸器ウイルス特に喘息関連ウイルスの基礎、分子疫学および感染細胞のサイトカイン産生. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2011(教育講演).
 - 2) 木村博一, 喘息関連ウイルス(RSV)の基礎と最新の分子疫学. 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2011(シンポジウム).

H. 知的財産の出願・登録状況

「幹細胞の安定性維持、複製を制御するためのペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 の利用」特願:2010-238548 出願日:平成22年10月25日出願人:公立大学法人横浜市立大学 発明者:梁明秀、西真由子

II. 総合分担研究報告書

総合分担研究報告書

包括的な重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランスに関する研究

研究分担者

野田雅博(国立感染症研究所感染症情報センター)

研究協力者

[衛生研究所サーベイランスグループ]

水田克巳(山形県衛生研究所)、平良勝也、仁平 稔(沖縄県衛生環境研究所)、荒川美果、榎渕(大貫)泉美(栃木県保健環境センター)、中川(岡本)玲子(山口県環境保健センター)、昆美也子(新潟県保健環境科学研究所)、大内好美、吉田時子、林 賢一(滋賀県衛生科学センター)、小村珠喜(島根県保健環境科学研究所)、横井一、田中俊光(千葉市環境保健研究所)、小林美保(群馬県衛生環境研究所)、平野映子、中村雅子(福井県衛生環境研究センター)、清田直子(熊本県保健環境科学研究所)、吉田綾子、筒井理華(青森県環境保健センター)、吉岡政純(京都市衛生環境研究所)、柴原乃奈(静岡市環境保健研究所)、宇野優香、神田典子(さいたま市健康科学研究センター)、竹内恵美(横須賀市健康安全科学センター)、森田幸雄(東京家政大学家政学部)、黒田 誠(国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター)、水谷哲也(国立感染症研究所ウイルス第一部、*^東東京農工大学)

[小児科臨床グループ]

菅井和子、藤塚麻子*、村田宗紀、宮地裕美子(国立病院機構横浜医療センター小児科、*^神神奈川県立こども医療センター)、斎藤義弘(東京慈恵会医科大学青砥病院小児科)、岩崎志穂(横浜市立大学附属市民総合医療センター小児総合医療センター)、板垣 勉(山辺こどもクリニック)

[重度心身障害児(者)施設グループ]

松田俊二(国立病院機構愛媛病院)、鈴木由美(国立病院機構下志津病院)、岡崎 薫(国立病院機構香川小児病院)

研究代表者

木村博一(国立感染症研究所感染症情報センター)

研究要旨

包括的な重症(sv)急性呼吸器感染症(ARIs)ウイルスサーベイランスに関する研究を行った結果、以下の知見が得られた。

- 1)svARIs 症例検体から ARIs ウイルス検索を試みた結果、Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)、ヒトメタニューモウイルス(HMPV)、ヒトライノウイルス(HRV)、ヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)等が本疾患へ強く関与していることを明らかにした。
- 2)これら分離・検出株の分子疫学解析結果から、我が国で流行しているそれぞれのウイルスは固有の遺伝学的多様性を有することが示唆された。
- 3)次世代シーケンサー解析等によるウイルス遺伝子解析は、原因不明疾患の究明に極めて有効な実験室内検査診断法であることが示唆された。
- 4)ウイルス感染による喘鳴は、RSV と HRV の関与が主体であること、喘鳴出現状況、気管支喘息発症リスク因子等を検証し、ウイルス学的因果関係を明らかにした。
- 5)臨床学的、検査診断学的知見を基に、小児科領域の svARIs 重症度基準を策定した。
- 6)重度心身障害児(者)施設内の ARIs 流行は HMPV、HRV および HPIV 感染が原因であることを明らかにし、臨床所見等の差異について検証した。
- 7)施設内 ARIs 流行時の効果的感染制御策について検証した。
- 8)自治体衛生研究所等技術者を対象にしたウイルスコース研修等の講師、病原体検出マニュアルの作成・開示、検査診断技術助言、等をとおした自治体衛生研究所への側面的技術協力を行った。

A. 研究目的

我が国におけるウイルスサーベイランスは自治体衛生研究所、医療機関、大学医学部等の連携体制のもとに実施されている。しかし、気管支炎や肺炎などの多くの重症(sv)急性呼吸器感染症(ARIs)の実態は充分には解明されていない。そこで、自治体衛生研究所等で実施される感染症発生动向調査等から得られた分離・検出株と症例情報等を基に、svARIsの包括的なウイルスサーベイランスおよび疫学解析ならびに臨床医学的知見の

集積と解析等を行い、全国レベルでの充実したARIs対策に資するための総合的なレファレンス体制整備等に関する研究を行う。本報告では2010年度から3年間に実施した研究について包括的に記述する。

B. 研究方法

サーベイランスグループに与えられた研究課題を遂行するため、つぎの3つのグループを組織し、以下の研究を行った。

[衛生研究所サーベイランスグループ]

自治体衛生研究所における svARIs ウイルスサーベイランス機能充実・強化を図り、積極的な svARIs ウイルスサーベイランス実施と科学的根拠に基づく地域・国の svARIs 感染実態把握ならびに地域住民の健康保持を目的とした衛生行政施策への還元を期す。また、本研究をとおして自治体衛生研究所等と連携し、検査診断に係る側面的技術協力を行う。

[小児科臨床グループ]

小児 svARIs 症例の原因ウイルス究明と臨床像、治療知見等を基盤とした解析を試みる。特に、小児気管支喘息の発症要因、発症時の検出 ARIs ウイルス種、検出頻度、ARIs の重症度基準に即し検出ウイルス種、増悪要因、等について前/後方視的解析を行う。これらの研究知見を基にして、新たな svARIs 重症度基準の策定と策定基準に即応した治療指針等の確立を期す。なお、重症度基準策定に関する研究課題は小澤邦壽(研究分担者;群馬県衛生研究所)との共同研究課題である。

[重度心身障害児(者)施設グループ]

国立病院に設置されている重度心身障害児(者)施設内で発生した svARIs 症例の原因ウイルス究明と効果的治療、病棟内感染制御を図ることにより、院内施設の衛生医療対策の向上を期す。なお、上記の 3 グループはそれぞれの研究過程で既知ウイルス感染が否定された症例あるいは起因ウイルス確定が困難な症例は、黒田 誠(研究分担者;国立感染症研究所遺伝子解析センター)および水谷哲也(研究分担者;東京農工大学)と連携し、

先進的な遺伝子解析診断研究を行う。重点研究対象ウイルスは、Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)、ヒトメタニューモウイルス(HMPV)、ヒトライノウイルス(HRV)、ヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)、ヒトコロナウイルス(HCoV)およびヒトボカウイルス(HBoV)等である。

C. 研究結果

[衛生研究所サーベイランスグループ]

1. svARIs ウイルス分離・検出成績

山形県、沖縄県、栃木県、山口県、新潟県、滋賀県、島根県、群馬県、福井県、熊本県、青森県、千葉市、京都市、静岡市、さいたま市および横須賀市のそれぞれの県・市域における svARIs ウイルスサーベイランス(2010年1月~2012年11月末)の結果、RSV: 638株、HMPV: 616株、HRV: 1,210株、HPIV: 947株、HCoV: 55株およびHBoV: 112株等がそれぞれ分離・検出された。その他、エンテロウイルス(EV)、サフォードカルディオウイルス(SAFV)、パレコウイルス、インフルエンザウイルス(FuIV)およびアデノウイルス(AdV)等の ARIs ウイルスが分離・検出された。

2. RSV

2-1. 山形県域における流行期は毎年11-12月期であり、明らかな季節性の流行様相を示す。いっぽう、沖縄県域における流行期は通年で、明らかな季節性は示さない。また、他の地域の流行期を比較すると若干の地域差がみられる。

2-2. 我が国の流行ウイルス株の主要な genotype

は subgroup A では GA2、subgroup B では BA が主流であり、地域内ではいずれも遺伝学的に近縁な株の感染流行である。なお、現在 genotype GA2 はさらに進化した genotype NA1 に分類される。

- 2-3. 千葉市域では、subgroup A および B の主流はそれぞれ genotype GA2 および BA で、他域と同様であるが、そのほかに subgroup A 分類株で genotype GA5 および Subgroup B 分類株で Subgroup A genotype GA2 のクローンが検出された。
- 2-4. 栃木県域の subgroup A 分類株は genotype NA1 に分類された。また、一部の subgroup A 分類株では、C 末端超可変領域に 72 塩基の重複を有する株が検出され、genotype ON1 に分類された。山口県域の subgroup A 分類株の一部でも、C 末端超可変領域に 72 塩基の重複がみられた。
- 2-5. 青森県、群馬県および熊本県域における検出株の主要タンパク抗原をコードする G 遺伝子 C 末端超可変領域について positive selection site を検索した結果、subgroup A では 6ヶ所(Asn250Ser、Met262Glu、Asn273Tyr、Leu274Pro、Arg297Lys および Arg297Glu)、subgroup B では 1ヶ所(Leu237Pro)の site があり、将来新たな変異が生じる可能性が示唆された。また、これら検出株の進化速度を最尤法により算出した結果、Subgroup A では 1.92×10^{-3} substitution/site/year、Subgroup B では 3.59×10^{-3} substitution/site/year であった。

3.HMPV

- 3-1. 山形県域における流行期は毎年 3-4 月期であり、明らかな季節性の流行様相を示す。いっぽう、沖縄県域における流行期は明らかな季節性を示さない。また、他の地域の流行期を比較すると若干の地域差がみられる。
- 3-2. 分離・検出株の遺伝子解析結果から、我が国で流行しているウイルス株の主要な subgroup は A2、B1 および B2 に分類される。
- 3-3. 島根県域の高齢者福祉施設 2ヶ所で発生した集団 ARIs 症例から subgroup B2 分類株が高率に検出された。同時期、近隣から採取されたサーベイランス検体からも、同型ウイルスが多数検出された。
- 3-4. 福井県域の検出株の F 遺伝子の一部について positive selection site を検討したが、いずれの株も positive selection site は確認されない。
- 3-5. 京都市における症例検討の結果、好発年齢層は 0~2 歳、好発月は 3 月、主たる臨床所見は発熱(38°C以上)、発咳であり、X 線画像診断で肺野所見が顕著な症例では重症化傾向を示す。

4.HRV

- 4-1. 我が国の流行ウイルス株の主流は species A および C 分類株であり、species B は少数である。流行はいずれの地域でも通年でみられ、流行株は遺伝学上、多様な type に分類される。
- 4-2. 熊本県および栃木県域で検出された HRV-C 株について、NJ 法および ML 法による系統