

L-SCARB2, L-PSGL1 と放射性標識した EV71 F-particle を結合させ、37°Cにシフトした後に細胞内ウイルス粒子を Triton X-100 で可溶化し、ショ糖密度勾配遠心によってウイルス粒子の沈降定数の変化を検出した。さらに該当分画のウイルスを構成するカプシドタンパク、RNA ゲノムの有無をオートラジオグラフィーや qPCR によって決定した。

C. 研究結果

(1) ウイルス感染効率

図 1 A, B に示すように L-SCARB2 の感染効率は高く、RD 細胞と同等であった。L-PSGL1 細胞の感染効率は L 細胞よりも僅かに高い程度であった。

(2) ウイルスと受容体の結合

図 2 A に示すように L-SCARB2 よりも L-PSGL1 細胞へのウイルス結合量が数倍高いことが示された。さらに図 2 B に示すように同量の SCARB2-Fc よりも PSGL1-Fc が数倍のウイルスを結合することが示された。

(3) 細胞内侵入

ウイルスを低温で吸着させ、そのウイルスを検出すると L-SCARB2, L-PSGL1 の表面にウイルス粒子がドット状に検出された。図 2 A の結果を反映して L-PSGL1 細胞の表面にはより多量のウイルスが検出された。

37°Cにシフトした後は、細胞内にウイルス粒子が検出され、その一部は初期エンドソームのマーカである EEA1 と共

局在していた (図 3)。EEA1 と共局在するウイルスのドット数は L-SCARB2 細胞の方が L-PSGL1 よりも多く観察された。

(4) 脱殻反応

native virion は沈降定数 160S の粒子として観察されるが、L-SCARB2 と結合し 37°Cにシフト後では沈降定数 80S の粒子が観察された (図 4 A)。この粒子は L-PSGL1 に結合した細胞では観察されなかった。

SCARB2-Fc, PSGL1-Fc と混合したウイルスにおいては SCARB2-Fc と混合し、pH が 6.0 以下で反応させた場合にのみ 80S 粒子が観察された (図 4 B)。

80S 粒子は VP1, VP2, VP3 からなり、VP4 とゲノム RNA を欠損していた (図 5)。

D. 考察

SCARB2 はウイルスの細胞表面への結合、細胞内への侵入、特にエンドソームへの輸送に参与している。さらにエンドソームでの pH 低下が起こるとウイルス粒子に変化を引き起こし、VP4 とゲノム RNA を放出する脱殻反応の引き金となることが明らかになった。一方、PSGL1 は PSGL1 結合株を SCARB2 よりも高い親和性で結合する能力があり、細胞内へも侵入させることができる。しかしながら、どのような条件においてもウイルス粒子の脱殻反応産物は検出できる限界以下であることが判明した。

E. 結論

EV71 は SCARB2 を介して結合、侵入、脱殻を行うことができる。SCARB2 は poliovirus receptor (PVR) や Coxsackie-Adenovirus receptor (CAR), major group rhinovirus receptor (ICAM-1) と同様に 1 種類に分子のみでウイルスの吸着のみならずウイルスの脱殻反応を開始させるタイプの受容体であることが明らかになった。

2. EV71 感染モデルマウスの開発

A. 研究目的

現在、EV71 感染による神経病原性発現機構を解析するためのモデル動物として“サル”と“乳のみマウス”が用いられている。サルモデルはヒトでの病態に類似した病態を示すが、取扱いが簡便ではない。乳のみマウスは生後 1 週間程度で感受性を消失する他、筋肉組織でのウイルス増殖が顕著に見られるなどヒトでの感染様式と異なっていると考えられるためモデル動物として最適でない。従って EV71 神経病原性解析のための最適な動物モデルは現在のところ存在しておらず、ウイルス病原性試験やワクチン検定法の確立に至っていない。ヒトポリオウイルスレセプター-発現マウスはポリオウイルス感受性を獲得し、病原性解析およびワクチン検定に有用である。そこで同様にヒト SCARB2 を発現する遺伝子改変マウス

を作製し、ヒトでの感染様式と病態を模した EV71 感受性マウスモデルの確立を目指した。

B. 研究方法

昨年度、ヒト SCARB2 を発現する tg マウス 4 系統 (Tg-10、16、22、49) を作製し、EV71 感染が成立し、神経症状を呈することを見出した。また主なウイルス増殖部位は中枢神経系であり、ヒトでの感染様式と類似していることを報告した。今年度は異なる EV71 株を接種し、神経症状の有無を観察した。また tg マウスの週齢による EV71 に対する感受性を試験した。更に tg マウス系統間のヒト SCARB2 発現量と EV71 に対する感受性を比較した。

C. 研究結果

EV71 ウイルス株間での病原性の違いを比較するため、3 週齢の Tg-10 マウスに BrCr/USA/70、SK-EV006/Malaysia/97、C7/Japan/97、EV71/Isehara/Japan/99 株を 1×10^6 TCID₅₀ 脳内接種し、病態を観察したところ、試験した全てのウイルス株の感染により、神経症状を発現した(図 6)。またコクサッキーウイルス A16 (CVA16) G-10 株を 1×10^5 TCID₅₀ 脳内接種したところ神経症状を発現した。マウス週齢における EV71 に対する感受性を比較するため、6、10、14、23 週齢の Tg-10 マウスに EV71/Isehara/Japan/99 株を 1×10^6 TCID₅₀ 脳内接種し病態を観察したところ、四肢の弛緩性麻痺や運動失調などの神経症状

を示した(図7)。次に、tg マウス系統間の感受性を比較するため、Tg-10、16、22、49 系統の tg マウスに EV71/Isehara/Japan/99 株を 1×10^4 および 1×10^5 TCID₅₀ 静脈内接種し、神経症状発現率を比較したところ、Tg-16 系統が最も発現率が高く、他の 3 系統は同程度であった(表1)。定量 RT-PCR をおこなったところ Tg-16 系統で最もヒト SCARB2 発現量が高かった。

D. 考察

接種に用いた株のうち、SK-EV006/Malaysia/97 株並びに EV71/Isehara/Japan/99 株は乳のみマウスに効率よく感染し、筋肉などで増殖する。一方 BrCr/USA/70 株、C7/Japan/97 株は乳のみマウスでの増殖は効率が悪くマウスに馴化していないと考えられる。これらの株によっても神経症状発現を観察したことにより、本 tg マウスではマウス馴化株は必要ないと考えられる。更に、同じヒト SCARB2 を感染受容体として利用する CVA16 G-10 感染により、神経症状を発現することから、EV71 と CVA16 の神経毒力を比較可能であると考えられる。Tg マウスの週齢による感受性の比較から脳内接種においては成獣においても感受性は消失しない。また、最もヒト SCARB2 発現量が高い Tg-16 系統マウスで感受性が高いことからヒト SCARB2 発現量に依存して感受性も高まることが示唆された。

E. 結論

EV71 感受性マウスの性状解析から、ヒト SCARB2-tg マウスは“乳のみマウスモデル”の問題点を克服したよりよい動物モデルであると言える。ただし、感受性が弱いためモデルとしてはまだ充分ではない。最も強い感受性を示す Tg-16 系統はホモ化することが出来ないため、系統維持には不利である。マウス系統間の比較からヒト SCARB2 発現量に依存して EV71 に対する感受性が高まることが示唆されている。従って、神経病原性試験やワクチン検定法に利用可能なマウスモデルを樹立するためには、よりヒト SCARB2 発現量が高く、感受性が強く、かつホモ化可能で系統維持が有利である系統が必要である。

H. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. McWilliam Leitch EC, Cabrerizo M, Cardoso J, Harvala H, Ivanova OE, Koike S, Kroes AC, Lukashev A, Perera D, Roivainen M, Susi P, Trallero G, Evans DJ, Simmonds P. The association of recombination events in the founding and emergence of subgenogroup evolutionary lineages of human enterovirus 71. *J Virol.* 86:2676–2685, 2012
2. Yamayoshi S, Iizuka S, Yamashita T, Minagawa H, Mizuta K, Okamoto M, Nishimura H, Sanjoh K, Katsushima N, Itagaki T, Nagai Y, Fujii K, Koike S: Human SCARB2-dependent Infection by Coxsackievirus A7, A14, A16 and Enterovirus 71. *J Virol.* 86:5686–5696, 2012
3. Yamayoshi S, Ohka S, Fujii K, Koike S.: Functional Comparison of SCARB2 and PSGL1 as Receptors for Enterovirus 71. *J Virol. in press.*
2. Fujii K, Nagata N, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S: Establishment of a transgenic mouse model for EV71 infection. The XVIIth Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses (EUROPIC 2012), 2012.6.3–7. Saint Raphael France.
3. Koike S, Yamayoshi S, Fujii K: Scavenger receptor B2 is a receptor for Enterovirus 71. The XIth Awaji International Forum on Infection and Immunity. 2012.9.13. Awaji Hyogo.
4. Koike S, Yamayoshi S, Fujii K. Scavenger receptor B2-mediated Enterovirus 71 infection *in vitro* and *in vivo*. 第16回日本神経ウイルス研究会研究集会シンポジウム 2012.8.30 東京
5. Fujii K, Nagata N, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S: Generation of novel mouse model for study of EV71 neuropathogenesis, 第16回日本神経ウイルス研究会研究集会 2012.8.30 東京

2. 学会発表

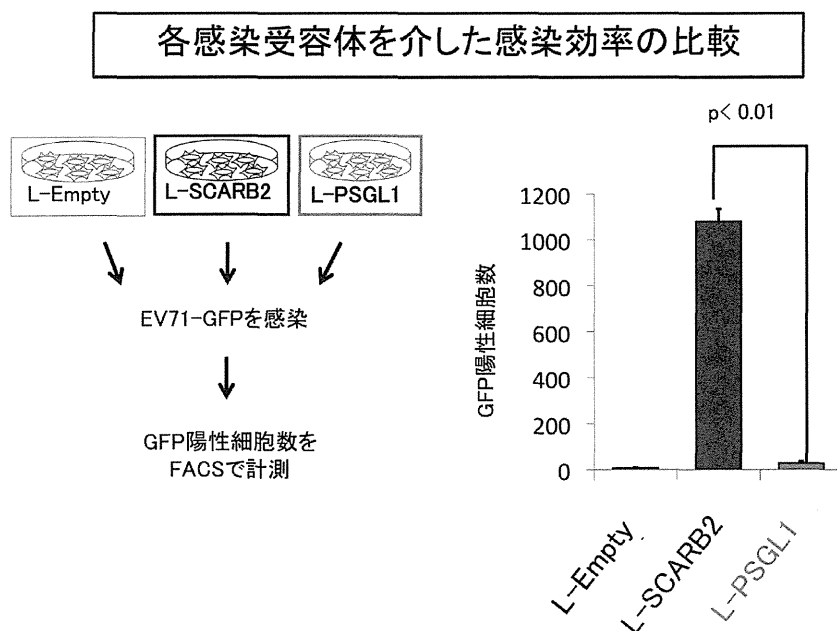
1. Yamayoshi S, Fujii K, Koike S: Functional analyses of Scavenger receptor B2 as a receptor for

- | | |
|---|--|
| <p>6. Fujii K, Nagata N, Yamayoshi S, Shimanuki M, Shitara H, Taya C, Koike S: Development of a transgenic mouse model for EV71 infection. The 34th Naito Conference on Infection, Immunity and their control for health: Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine 2012. 10. 17 Sapporo</p> <p>7. 山吉誠也、大岡静衣、藤井健、小池智 2つのエンテロウイルス71受容体 SCARB2 と PSGL1 の機能比較 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012. 11. 14 大阪市</p> <p>8. 藤井健、永田典代、山吉誠也、島貫碧、設楽浩志、多屋長治、小池智 EV71 感受性マウスモデルの作出と解析 第60回日本ウイルス学会学術集会 2012. 11. 14 大阪市</p> <p>9. 小池智 ポリオウイルス感染と自然免疫 第16回日本ワクチン学会学術集会シンポジウム 2012. 11. 18 横浜市</p> <p>10. Koike S.: Scavenger receptor B2-transgenic mouse model for EV71 infection. Singapore International Conference on Dengue and Emerging Infections. 2012. 11. 23 Singapore.</p> | <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|---|--|

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

A



B

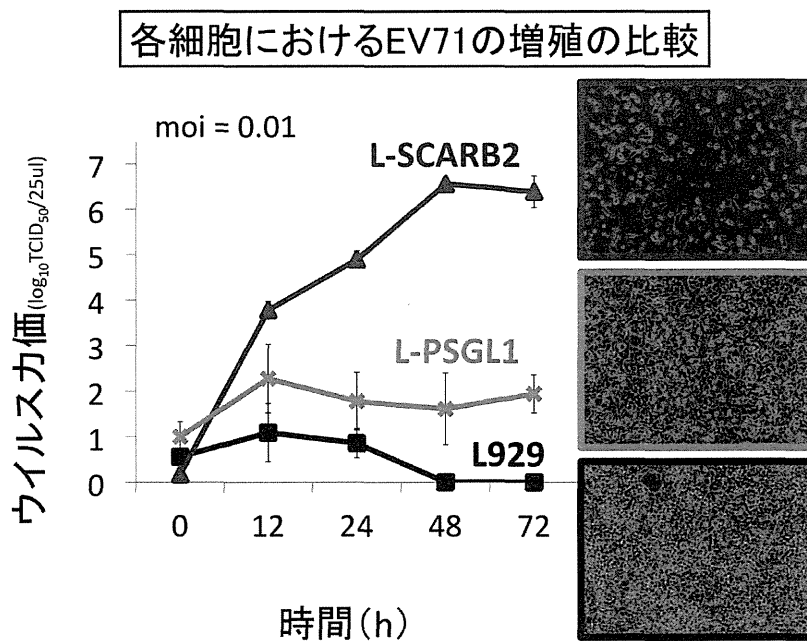
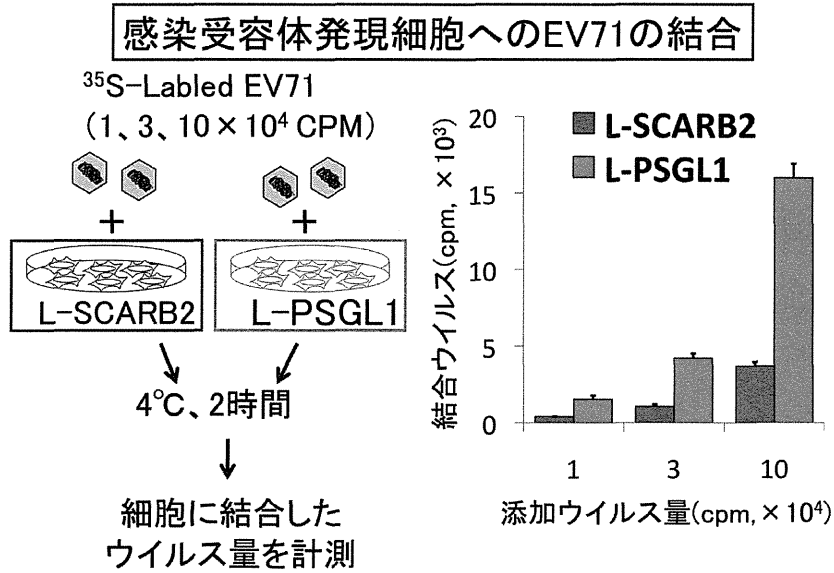


図 1

A



B

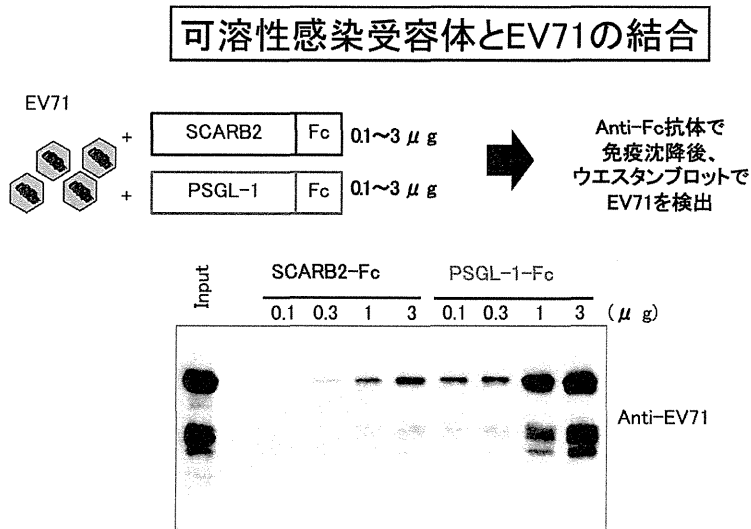


図 2

感染受容体発現細胞へのEV71粒子の侵入

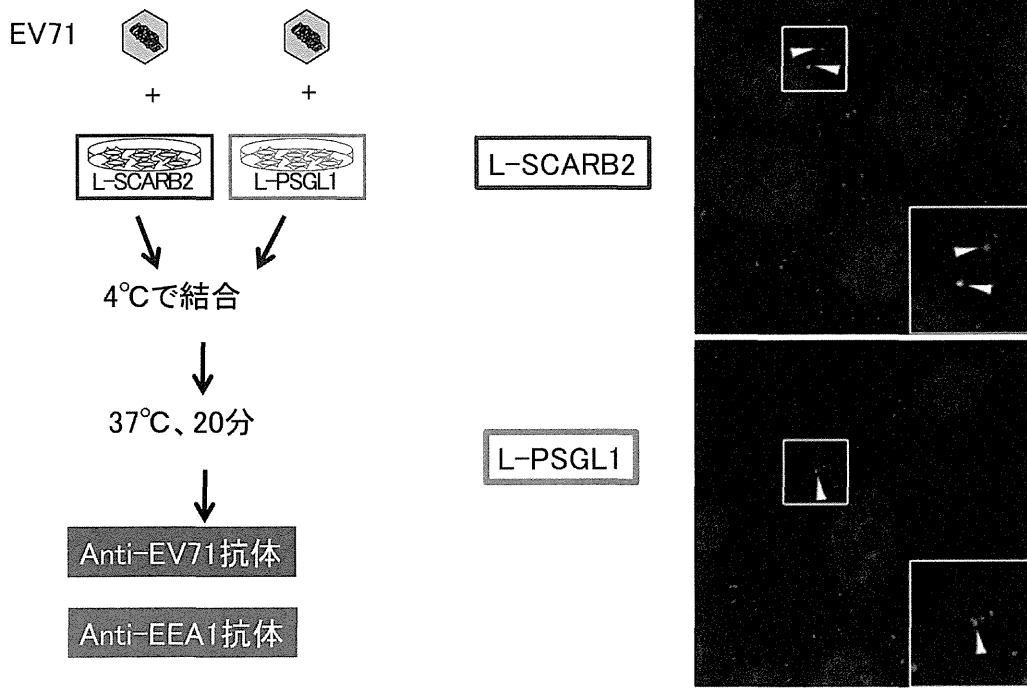
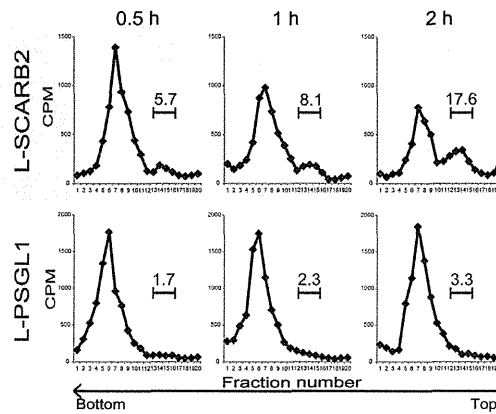


図 3

A

L-SCARB2 cell とL-PSGL1 cellに於ける
EV71 粒子の構造変化の誘導



B

EV71の構造変化にはSCARB2と酸性条件が必要

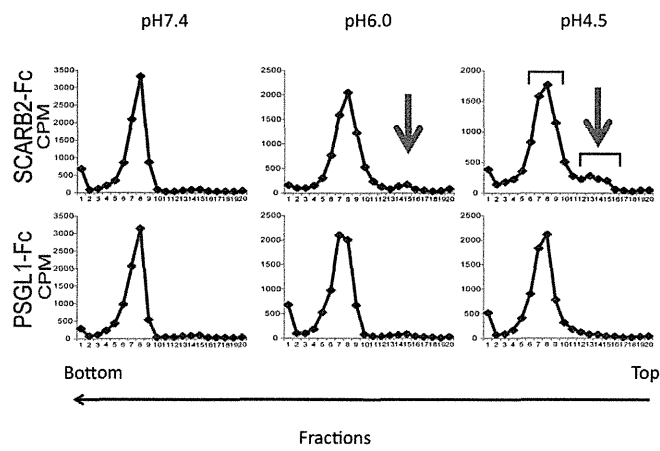


図 4

SCARB2による脱殻反応の開始

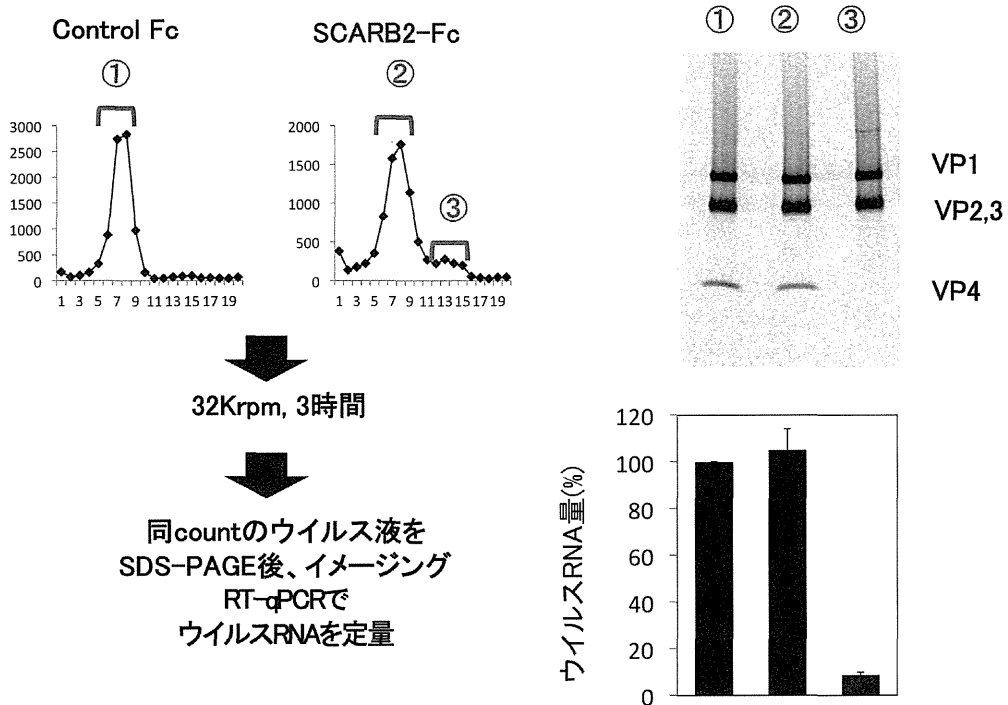


図 5

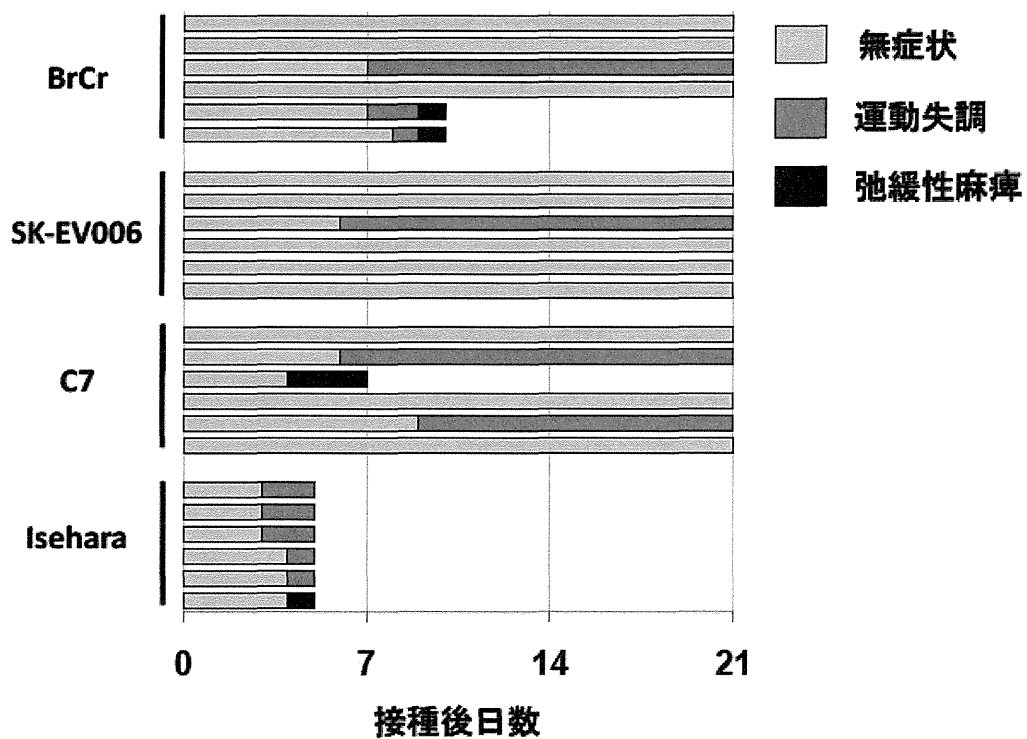


図 6 ウイルス株間における病原性の比較

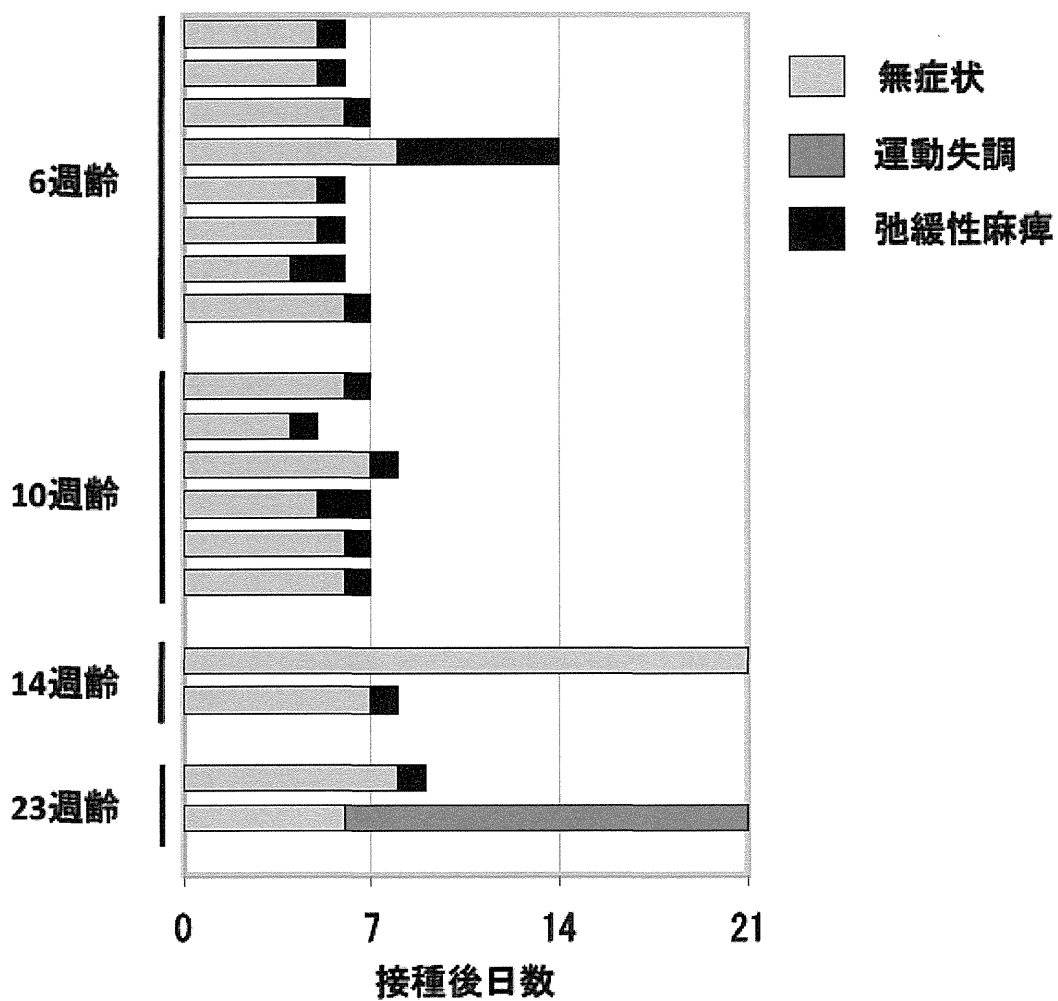


図7 トランスジェニックマウス週齢における
感受性の比較

表1 トランスジェニックマウス系統間における神経症状発現率の比較

マウス系統**	接種ウイルス量* ($\text{Log}_{10}\text{TCID}_{50}$)	
	4	5
Tg-10	1/12*	1/12
Tg-16	4/12	5/12
Tg-22	0/12	2/11
Tg-49	0/12	2/12

* EV71/Isehara/Japan/99 株を静脈内接種した。

**3 週齢マウスを使用した。

***神経症状発現マウス匹数/接種マウス匹数

厚生労働科学研究費補助（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）
「エンテロウイルス感染症制御のための診断・予防治療に関する
国際連携研究」研究報告書

経口生ポリオワクチン 1 回目及び 2 回目接種の全国累積接種率：2012 年調査結果

研究代表者 清水 博之 国立感染症研究所ウイルス 2 部室長
研究協力者 高山 直秀 東京都立駒込病院小児科医師
研究協力者 崎山 弘 崎山小児科医院院長

研究要旨 2011 年に続き、2012 年も 2 歳児を対象として経口生ポリオワクチン（OPV）1，2 回目の累積接種率調査を実施した。OPV 1 回目の累積接種率曲線は、生後 4-5 ヶ月から立ち上がり、生後 6-7 ヶ月で急激に上昇していたが、生後 12 ヶ月で 78.9 %に達したが、それ以降は上昇が少なく、生後 24 ヶ月で 85.8 %にとどまった。OPV 2 回目の累積接種率曲線は生後 7-8 ヶ月から立ち上がり、11-13 ヶ月と 17-19 ヶ月で大きく伸びて、生後 12 ヶ月で 38.9 %，生後 19 ヶ月で 66.4 %に達したが、その後は上昇が鈍り、生後 24 ヶ月でも 71.9 %に止まった。1 回目，2 回目とも 2011 年調査時の生後 24 ヶ月での累積接種率 1 回目 96.3 %，2 回目 85.2 %より大幅に低下していた。OPV 累積接種率の低下は、2012 年 9 月から不活化ポリオワクチン（IPV）が OPV に代わって定期接種に用いられることがマスコミを通じて一般に知らされたため、多くの保護者が OPV の接種を受けさせず、IPV 接種開始を待ったためと考えられる。今後は、IPV の接種時期が、ロタウイルスワクチン、ヒブワクチン、結合型肺炎球菌ワクチン、B 型肝炎ワクチン、BCG ワクチンと競合する中で、IPV 接種率が十分高い率に達するか否かを知るために、今後も累積接種率調査を続ける必要がある。

A. 研究目的

ワクチン接種は感染症予防ないし制圧に有効な手段であり、費用対効果比も大きいことが知られている。しかし、ワクチン接種が感染症予防手段として十分な効果をあげるためには小児期の適切な時期に高い接種率を達成することが必要である。一方で、接種率を高めるためには、接種率の現状を正しく把握して、予防接種政策を進める必要がある。全国の予防接種率を十分正確に把握するために、我々は 3 歳児を対象として 2002 年から麻疹ワクチンについて、無

作為抽出標本による月齢別ワクチン累積接種率（一定の月齢までにワクチン接種を受けた人の割合）調査を実施し、2003 年からは経口生ポリオワクチン（OPV）1，2 回目の調査も同時に行った。2009 年からは、調査対象を 3 歳児から 2 歳児に変更して実施してきた。2012 年も 2011 年同様 2 歳児を対象として調査を行った。

B. 研究方法

2012 年も、2009-11 年と同様に、2 歳児を対象として OPV 1，2 回目の累積接種

率調査を実施した。調査方法は、これまで通り全国から 5,000 人の 2 歳児を無作為抽出し、抽出された 2 歳児が居住する市区町村において予防接種担当者に、OPV 接種月齢の調査を依頼し、返送された調査票を基に、累積接種率を算定した。また、2012 年も 2011 年と同様に、東日本大震災により大きな被害を受けた岩手県、宮城県、福島県、栃木県、茨城県の全市区町村、および青森県と千葉県の一部市町村を調査対象から除外した。また、集計対象を OPV 接種済みで接種日が明らかな標本と未接種標本のみとし、ワクチン接種は済んでいるものの、接種日不明の標本を除外した点も昨年度調査時と同様である。

なお、2012 年 9 月 1 日から定期接種としてのポリオウイルスワクチンが OPV から不活化ポリオウイルスワクチン (IPV) に切り替えられたため、9 月 1 日以降にポリオウイルスワクチン接種を受けたとの報告 (1 回目は 46 件、2 回目は 90 件) は IPV 接種を受けたものと解釈して、OPV の集計からは除外した。

C. 研究結果

1. 回収率

2012 年 4 月 1 日現在で満 2 歳に達した小児を全国から 5,000 名抽出し、2012 年 10 月に、これらの 2 歳児が居住する 1,053 カ所の自治体に調査依頼状を発送した。2012 年 12 月 28 日現在で、926 カ所の自治体から回答が寄せられたので、市区町村数から算出した回収率は 87.9 % となった。

無作為抽出した 2 歳児の数 (標本数) は 5,000 名おり、うち 4,501 名分の記録が返送されたので、標本数から算出した回収率は 90.0 % となった。この回収率は、2011 年と同率であり、2009 年の 82.5 %、2010 年の 84.1 % を大幅に上回っていた。

2. OPV 1 回目接種

OPV 1 回目の接種者件数は、生後 2 ヶ月で 3 件、3 ヶ月で 10 件、4 ヶ月で 35 件と増加し、生後 6 ヶ月、7 ヶ月でそれぞれ 995 件、1,058 件に増加したのち減少に転じ、生後 10 ヶ月では 40 件となった。その後、再び増加し、生後 11 ヶ月で 231 件、生後 12 ヶ月で 227 件と第 2 のピークを形成した。生後 14 ~ 17 ヶ月は 9 ~ 21 件で推移し、生後 18 ヶ月で 76 件、生後 19、20 ヶ月で 50 件、24 件と減少し、生後 21、22 ヶ月で 2 件、その後は 0 件となった。

OPV 1 回目の累積接種率曲線は生後 3 ヶ月から立ち上がり、生後 6 ヶ月、7 ヶ月で急速に上昇していた。生後 9 ~ 10 ヶ月では上昇は緩やかになっていたが、生後 11 ~ 12 ヶ月で上昇がやや急になり、それ以降は上昇がきわめて緩やかになった (図 1)。生後 6 ヶ月での累積接種率は 26.2 % (95 % CI : 25.2 % ~ 27.9 %)、12 ヶ月での累積接種率は 78.9 % (95 % CI : 77.6 % ~ 80.1 %)、24 ヶ月では 85.8% (95 % CI : 84.7 % ~ 86.9 %) であり、2011 年調査時の 96.2 % (95 % CI : 95.6 % ~ 96.8 %) より 10%以上低くなっていた。

3. OPV 2 回目接種

OPV 2 回目の接種者件数は、生後 6 ヶ月から増え始め、生後 8 ヶ月が 86 件で第 1 のピークとなり、生後 12 ヶ月で 782 件で第 2 のピーク、生後 18 ヶ月が 352 件で第 3 のピークを形成したが、その後減少し、生後 24 ヶ月は 0 件となった。

OPV 2 回目の累積接種率曲線は生後 6 ヶ月から立ち上がり、生後 11 ヶ月から 13 ヶ月で急速に上昇していた。生後 13 ~ 17 ヶ月では上昇は緩やかになっていたが、生後 18、19 ヶ月で上昇が再び急になり、それ以降はきわめてゆっくりと上昇していた (図 2)。生後 12 ヶ月での累積接種率は 38.9

% (95 % CI : 37.4 % ~ 40.4 %), 18 ヲ月での累積接種率は 59.1 % (95 % CI : 57.6 % ~ 60.6 %), 24 ヲ月では 71.9% (95 % CI : 70.5 % ~ 73.3 %) で, 1 回目同様, 2011 年調査時の 85.3 % (95 % CI : 84.2 % ~ 86.3 %) より 10%以上低い累積接種率であった。

先に集計から除外した 2012 年 9 月 1 日以降に定期接種としてポリオワクチン接種を受けた小児を含めて (OPV+IPV) 累積接種率をみると, 1 回目接種済みは 3,638 件, 未接種は 593 件で, 生後 24 ヲ月での累積接種率は 86.0 % (95 % CI : 84.9 % ~ 87.0 %) であった。また, 2 回目接種済みは 3,041 件, 未接種は 1,153 で, 生後 24 ヲ月での累積接種率は 72.4 % (95 % CI : 71.0 % ~ 73.8 %) となった。

D. 考察

2012 年の調査は東日本大震災の被災地を除外して実施した。しかし, 2010 年の調査結果を, 今回の調査で除外した地域と調査対象とした地域に分けて累積接種率を比較した結果では, 両者の累積接種率に差がなかったもので, 被災地を除外しても, 全国累積接種率と見なしてよいと判断できる。

OPV 1 回目の累積接種率曲線が生後 6-8 ヲ月と生後 12 ~ 13 ヲ月で, また OPV 2 回目の累積接種率曲線が生後 11-13 ヲ月と生後 18-19 ヲ月で上昇が急になるのは, 今回の調査対象となった 2 歳児の多くが, 抽出方法の技術的理由により, 9 月ないし 10 月生まれになることと, OPV がこの月齡の小児を対象に春と秋の年 2 回の集団接種で行われている地域が多いことによると考えらる

2012 年調査による OPV1 回目および 2 回目接種の累積接種率は, 2009 年, 2010 年

の調査結果より 10 % 以上低い率であった。

2011 年頃より, OPV に由来する健康被害を恐れて, 不活化ポリオワクチン (IPV) 接種を希望する保護者が増加し, OPV 接種率の低下が懸念されていた。しかし, 2011 年の調査では, OPV 累積接種率の低下は見られなかった。全国から無作為抽出した 5,000 件の標本からデータをj得ている我々の調査法では, 地域によってはすでに起きていた OPV 接種率の低下を正確に感知できなかったのjであろう。

2012 年 9 月から不活化ポリオワクチン (IPV) が OPV に代わって定期接種に用いられることがマスコミを通じて一般に知らされたため, 多くの保護者が OPV の接種を受けさせず, IPV 接種開始を待ったため, OPV 接種率の低下が全国的に起こり, それjが, 累積接種率調査結果に明らかに反映されたものjと考えられる。

今後は, IPV の接種時期が, ロタウイルスワクチン, ヒブワクチン, 結合型肺炎球菌ワクチン, B 型肝炎ワクチン, BCG ワクチンと競合する中で, IPV 接種率が十分高い率に達する否か, また高い累積接種率を維持できるかを知るために, 今後も累積接種率調査を続ける必要がある。

E. 結論

2012 年 4 月に 2 歳となった小児群における OPV 累積接種率は, 2011 年以前に調査した累積接種率より 10 % 以上低くなっていた。2012 年 9 月から OPV に代わって IPV が定期接種のワクチンとなったため, 今後は IPV 累積接種率の継続的な調査が必要である。

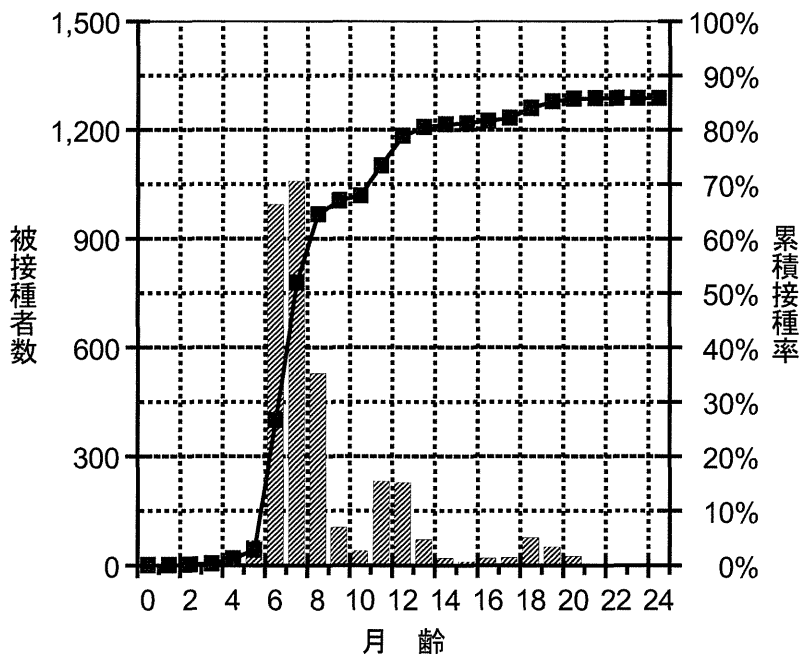


図 1. 経口生ポリオワクチン 1 回目の被接種者数及び累積接種率

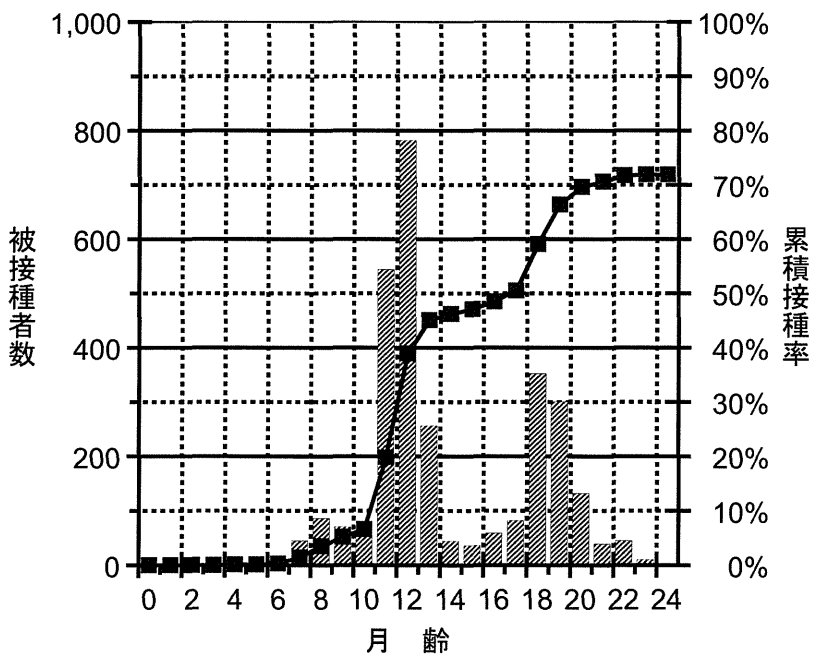


図 2. 経口生ポリオワクチン 2 回目の被接種者数及び累積接種率

研究成果の刊行に関する一覧表

1. Arita M, Kojima H, Nagano T, Okabe T, Wakita T Shimizu H. Oxysterol-binding protein (OSBP) family I is the target of minor enviroxime-like compounds. *J Virol* (in press)
2. Burns CC, Shaw J, Jorba J, Bukbuk D, Adu F, Gumede N, Pate MA, Abanida EA, Gasasira A, Iber J, Chen Q, Vincent A, Chenoweth P, Henderson E, Wannemuehler K, Naeem A, Umami RN, Nishimura Y, Shimizu H, Baba M, Adeniji A, Williams AJ, Kilpatrick DR, Oberste MS, Wassilak SG, Tomori O, Pallansch MA Kew O. Multiple Independent Emergences of Type 2 Vaccine-Derived Polioviruses during a Large Outbreak in northern Nigeria. *J Virol* (in press)
3. Kotani O, Shirato K, Nagata N, Ikeda H, Takahashi K, Taguchi F: Neuropathogenesis of a mouse-adapted porcine epidemic diarrhea virus infection in suckling mice. *J Gen Virol* (in press)
4. Umeki S, Suzuki R, Ema Y, Shimojima M, Nishimura Y, Okuda M, Mizuno T: Anti-adhesive property of P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) due to steric hindrance effect. *J Cell Biochem* (in press)
5. Himeda T, Hosomi T, Okuwa T, Muraki Y, Ohara Y: Saffold virus type 3 (SAFV-3) persists in HeLa cells. *PLoS ONE* (in press)
6. Matsushima Y, Shimizu H, Kano A, Nakajima E, Ishimaru Y, Dey SK, Watanabe Y, Adachi F, Mitani K, Fujimoto T, Phang TG, Ushijima H. Genome sequence of a novel species human adenovirus D associated with acute gastroenteritis. *Genome Announcement* 1:e00068-12,2013
7. Yamane S, Lee AW, Hanaoka N, Gonzalez G, Kaneko H, Ishida S, Kitaichi N, Ohno S, Koyanagi KO, Aoki K, Fujimoto T, Yawata N, Watanabe H. Identification of contamination in the American type culture collection stock of human adenovirus type 8 by whole-genome sequencing. *J Virol* 87:1285-6,2013
8. Sugiura H, Fujimoto T, Sugawara T, Hanaoka N, Konagaya M, Kikuchi K, Hanada E, Okabe N, Ohkusa Y: Prescription surveillance and polymerase chain

- reaction testing to identify pathogens during outbreaks of infection. *BioMed Research International* 2013; Article ID 746053, 7 pages, 2013
9. Khamrin P, Thongprachum A, Kikuta H, Yamamoto A, Nishimura S, Sugita K, Baba T, Kobayashi M, Okitsu S, Hayakawa S, Shimizu H, Maneekarn N, Ushijima H: Three clusters of Saffold viruses circulating in children with diarrhea in Japan. *Infect Genet Evol*, 13: 339-343, 2013
 10. Fukuhara M, Iwami S, Sato K, Nishimura Y, Shimizu H, Aihara K, Koyanagi Y: Quantification of the dynamics of enterovirus 71 infection by experimental-mathematical investigation. *J Virol* 87:701-705, 2013
 11. Yamayoshi S, Ohka S, Fujii K, Koike S: Functional Comparison of SCARB2 and PSGL1 as Receptors for Enterovirus 71. *J Virol* 87:3335-3347, 2013
 12. 清水博之: 東アジア地域を中心とした手足口病流行の現状、感染症, 2013 (印刷中)
 13. 清水博之: ポリオ流行のリスクとポリオワクチン. *モダンメディア*, 2013 (印刷中)
 14. 山下照夫、「第4章ウイルス 2各論 4.ウイルス別検査法 (4) アイチウイルス」の項を担当、食品衛生検査指針 (編集中)
 15. 伊藤 雅、山下照夫、廣瀬絵美、安達啓一、平松礼司、皆川洋子、愛知県で 2000 年~2011 年に検出されたエンテロウイルス 71 型の遺伝子解析、愛知県衛生研究所報 63:1-7,2013
 16. 中田恵子、山崎謙治、加瀬哲男: ヘルパンギーナ/不明熱症例における複数のエンテロウイルス検出事例-大阪府. *IASR* 34: 10、2013
 17. 清水博之: 不活化ポリオワクチンの現状、*ファルマシア* 49: 211-216, 2013
 18. 清水博之: 不活化ポリオワクチン導入の現状と今後の課題、*Bio Clinica* 28: 19-24, 2013
 19. 中野貴司: ポリオワクチン. *化学療法の領域* 29: 219-227, 2013
 20. Arita M, Iwai-Itamochi M, Wakita T Shimizu H. Reply to "poliovirus-neutralization test with poliovirus pseudovirus to measure neutralizing antibody in humans". *Clin Vaccine Immunol* 19: 459, 2012
 21. Nishimura Y, Shimizu H. Cellular receptors for human enterovirus species a. *Front Microbiol* 3: 105, 2012
 22. Nakajima N, Kitamori Y, Ohnaka S, Mitoma Y, Mizuta K, Wakita T, Shimizu H, Arita M. Development of a transcription-reverse transcription concerted reaction method for specific detection of human enterovirus 71 from clinical specimen. *J Clin Microbiol* 50: 1764-1768, 2012

23. Wong KT, Ng KY, Ong KC, Ng WF, Shankar SK, Mahadevan A, Radotra B, Su JI, Lau G, Ling AE, Chan KP, Macorelles P, Desai AS, Ravi V, Nagata N, Shimizu H, Takasaki T Enterovirus 71 encephalomyelitis and Japanese encephalitis can be distinguished by topographic distribution of inflammation and specific intraneuronal detection of viral antigen and RNA in the central nervous system. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 38: 443-453, 2012
24. Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto M, Abe K, Yamashita K, Hanaoka N, Okabe N, Yoshida H, Yasui Y, Kobayashi M, Fujii Y, Tanaka H, Yamamoto M, Shimizu H: Hand, Foot, and Mouth Disease Caused by Coxsackievirus A6, Japan, 2011. *Emerg Infect Dis* 18: 337-339, 2012
25. Miyamoto S, Inoue H, Nakamura T, Yamada M, Sakamoto C, Urata Y, Okazaki T, Marumoto T, Takahashi A, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H Tani K. Coxsackievirus B3 is an oncolytic virus with immunostimulatory properties that is active against lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 72: 2609-2621, 2012
26. Arita M, Wakita T Shimizu H. Valosin-Containing Protein (VCP/p97) Is Required for Poliovirus Replication and Is Involved in Cellular Protein Secretion Pathway in Poliovirus Infection. *J Virol* 86: 5541-5553, 2012
27. De W, Huanying Z, Hui L, Corina M, Xue G, Leng L, Hanri Z, Ling F, Yanling M, Huiqiong Z, Huan Z, Jing K, Caiyun L, Yoshida H, Changwen K. Phylogenetic and molecular characterization of Coxsackievirus A24 variant isolates from a 2010 acute hemorrhagic conjunctivitis outbreak in Guangdong, China. *Virol J* 9: 41, 2012
28. Yang J, Cui N, Wang H, Tao Z, Liu Y, Zhang H, Yoshida H, Song Y, Zhang Y, Song L, Li Y, Lin X, Ji S, Xu W, Xu A. Evaluating the prevalence and molecular epidemiology of echovirus 11 isolated from sewage in Shandong Province, China in 2010. *Virus Genes* 44:388-394.2012
29. Tao Z, Song Y, Wang H, Zhang Y, Yoshida H, Ji S, Xu A, Song L, Liu Y, Cui N, Ji F, Li Y, Chen P, Xu W. Intercity Spread of Echovirus 6 in Shandong Province, China: Application of Environmental Surveillance in Tracing Circulating Enteroviruses. *Appl Environ Microbiol* 78: 6946-6953, 2012
30. Li, Y., Yoshida, H., Wang, L., Tao, Z., Wang, H., Lin, X., Xu, A., An optimized method for elution of enteroviral RNA from a cellulose-based substrate, *Journal of Virological Methods* 186 : 62-67, 2012