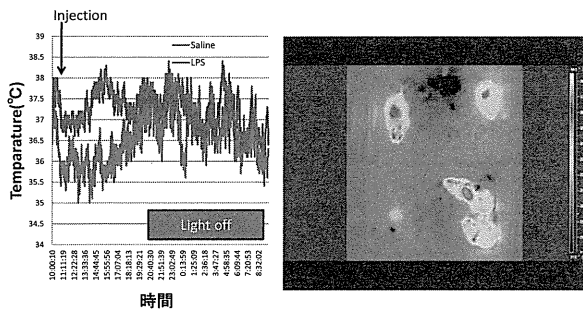


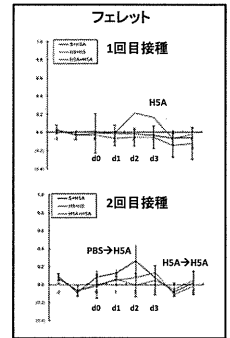
成果: マウスを用いた発熱の解析システムの構築



特願2011-102045 「実験用小動物のための体温測定装置および体温測定方法」

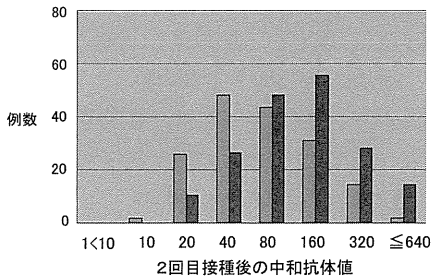
成果: 動物種によるワクチン後の発熱反応の違い

	H5+Alum 1回目接種	H5+Alum 2回目接種
ヒト	あり	なし (発熱程度は減少)
カニクイザル	なし? (明らかな発熱は認めず)	---
ウサギ	なし	なし
フェレット	あり	なし (発熱程度は減少)
マウス	なし (明らかな発熱は認めず)	---



成果: 発熱がある子供のほうが中和抗体価が高い傾向にある

■ 1回目2回目ともに発熱なし ■ 1回目ないし2回目で発熱



血清中のサイトカイン、ケモカインも同様の結果
Nakayama T et al Vaccine 2011

成果: IgG subclass抗体の検出と意義

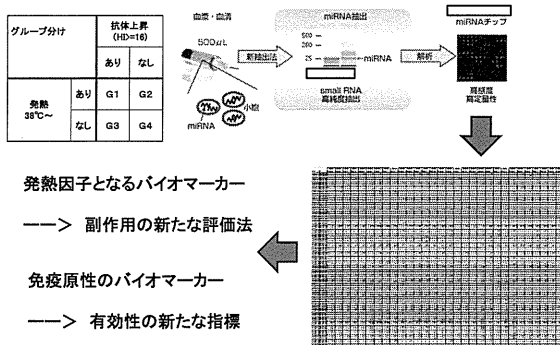
WIV Alum でIgG subclassの反応は自然感染に近いものと考えられ2009パンデミックの自然感染よりも強い免疫応答を誘導した。

	NT	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
2009 Pdm 自然感染(n=53)	50 (94.3%)	42 (79.2%)	2 (3.8%)	16 (30.2%)	24 (45.3%)
2009 Pdm Vac. split(n=74)	55 (74.3%)	23 (41.8%)	2 (2.7%)	12 (16.2%)	0 (0%)
H5 WIV Alum Vac. 小児(n=193)	193 (100%)	67 (34.7%)	12 (6.2%)	4 (2.1%)	42 (21.8%)
H5 WIV Alum Vac. 成人(n=19)	19 (100%)	0 (0%)	1 (5.3%)	0 (0%)	2 (10.5%)

いずれも4倍以上の抗体応答

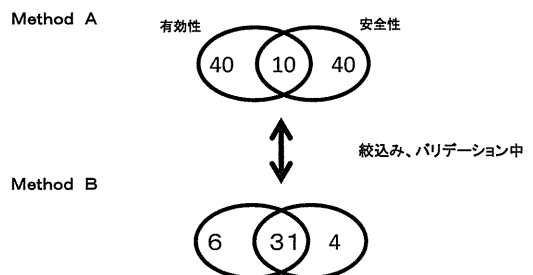
Nakayama T et al Vaccine 2012

成果: 血清バイオマーカーとしてのマイクロRNA解析



成果: 血清バイオマーカーとしてのマイクロRNA解析

発熱(安全性)、抗体価(有効性)を予測する
miRNAバイオマーカー候補を同定



成果まとめ

- 各種インフルエンザワクチンの免疫学的機序を生体レベルで証明し、ヒトでの現象との関連性を示した (Koyama S et al *Science T M* 2010など)。
- インフルエンザワクチンにて最も汎用されているアラムアジュバントの作用機序の一端を解明した (Marichal T et al. *Nature Med* 2011, Kuroda E et al, *Immunity* 2011)
- ワクチン接種後の小児の発熱の疫学的解析を行い、H5N1パンデミックワクチン (アルミ添加全粒子不活化抗原:WIV+Alum)はサイトカイン等を誘導していることが判明した。高い発熱率を示したものの良好な免疫応答を示したことに関連すると思われる。また、血清マイクロRNA(miRNA)の発現解析から、発熱 (安全性)、抗体価 (有効性)のバイオマーカー候補の同定に成功した。
- 上記のH5N1全粒子ウイルスおよびアラムアジュバントによる小児のみ、かつ1回目免疫のみでの発熱に関し、マウスでの再現実験を行うため新たにマウス体温と行動を計時的に記録する装置を開発した (特許申請済)。これらの計測を各種動物で行ったところ、フェレットは最もヒトの臨床データに近い結果が得られた。
- 新たに開発した18F-PET、インジウム標識¹¹¹In法を用いてワクチン、アジュバントの可視化解析に成功した。(Nochi T et al, *Nature Material* 2010, Tokuhara D et al *PNAS* 2010)

成果まとめ2

- 高病原性鳥インフルエンザH5N1経鼻ワクチンの効果をカニクイザルを用い、感染防御能力が1年以上持続する事、cladeの異なるワクチン株による交叉防御効果があること、さらにcladeの異なるワクチン株による追加免疫により広い交叉防御効果があることがカニクイザルで示された。
- 国内外で分離されたH5N1ウイルスの遺伝子と抗原性の解析を行い、その多様性を継続して調べた。その結果、現在流行しているH5N1ウイルスは、1996年香港で初めて出現したウイルスの抗原性とは異なる変異株がその主流であった。そこで、A/duck/Hokkaido/Vac-3/2007 (H5N1)株から不活化全粒子ワクチンを試製し、経鼻接種によりマウスまたはサルを免疫後、これらの抗原変異株で攻撃した。その結果、今回用いたH5N1抗原変異株に対しても不活化全粒子ワクチンは有効な免疫を誘導できることが分かった。
- 本研究内容の「議論を深め」、「啓蒙を図る」一環として、ワクチンフォーラム2010を開催し、本研究班主催のアジュバントワークショップにてアジュバント開発研究の新展開や審査行政への提言を行い、また、本研究班を中心に「次世代アジュバント研究会」を発足させ、アカデミアのアジュバント研究者、企業の開発担当者、PMDAの審査担当者を招き相互の意見交換を行った。またアジュバント研究のアウトリーチ活動も積極的に行い、アジュバントに特化した専門書の発行、アジュバントに関する講演会などを行った。

平成24年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題：地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究

課題番号：H22-新興-一般-005

予定期間：H22年度からH24年度まで

研究代表者：小田切 孝人

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：インフルエンザウイルス研究センター

職名：室長

年次別研究費(交付決定額)：

1年目 24,500,000 円 2年目 21,560,000 円 3年目 19,598,000 円 計 65,658,000 円

I. 研究の意義

- (1) 新型インフルエンザウイルスおよびハイリスク変異株の早期検出と流行把握には、全国地方衛生研究所(地衛研)におけるPCR診断検査系の整備と技術研修による補強が必須。その予備研究が必要。
- (2) 全国地衛研での検査・サーベイランス体制の改善と強化を効率良く実施するには、その中核となる全国6地方ブロック代表地衛研とそれを補佐する5地衛研からなるコア・サポート地衛研ネットワークが必要。これと基礎研究開発チームが一体となった共同研究体制の構築が必要。
- (3) 全国規模での検査・サーベイランスを効率良く運用するためには、この共同研究体制で開発した検査系、標準手順書をコア・サポート地衛研で試験運用し、問題点の改良、再標準化という準備過程が必要。これによって、地衛研にとって現実的な検査・サーベイランス体制が組める。
- (4) パンデミック以降の地衛研組織の弱体化と現場担当者の定期異動により、地衛研での検査・サーベイランス技術の継承と定着が課題。これを克服するために、本研究班主導で地衛研に外部精度管理評価試験(EQA)を定期的実施し、検査体制の自己点検と改善支援が必要。

II. 研究の目的：

本研究班で組織した11地衛研からなるコア・サポート地衛研—感染研・協力研究機関との共同研究体制を基盤として、以下の研究を行う。

- (1) コア・サポート地衛研—感染研共同研究体制を基軸とした診断検査、サーベイランスの強化。
- (2) 研究開発チームで新規に作製したインフルエンザ薬剤耐性株検出系を採用した全国規模でのサーベイランスの実施。
- (3) PCR検査精度の自己点検、改善のためのEQA戦略の策定とコア・サポート地衛研による試験実施、問題点の改善。
- (4) サーベイランスで捉えた変異株の機能的解析、リスク評価に動体力学を用いた新解析法の導入。
- (5) 動物由来のウイルス感染時の国民の抗体調査およびインフルエンザワクチンの血清学的評価の基盤維持。

期待される成果：

- (1) コア・サポート地衛研—感染研—基礎研究開発グループの3構成からなる共同研究体制から、新規に開発した手法を検査、サーベイランスに応用した機能的、科学的サーベイランスが実施できる。
- (2) 初年度に開発したTaqMan-PCR法を用いた10,000株にもおよぶ世界最大規模のA/H1N1pdm09薬剤耐性株サーベイランスを実施し、国内医療機関やWHOへ多くの情報を提供した。
- (3) 地衛研における検査、サーベイランスにEQA試験を導入することで、検査、サーベイランス技術の改善と一定以上のレベル維持が期待できる。
- (4) 大規模サーベイランスで捉えた変異株のリスク評価法にウイルス蛋白の動体力学的解析法を採用することで、変異の作用機序解明やウイルスの変化予測法の開発へ発展させることが期待できる。これは、WHOが取り組んでいるワクチン株選択法の改良ともリンクし、国際貢献もできる。

Ⅲ. 3年間の研究成果

・研究代表者

● 小田切孝人（研究統括）

- (1) 6 地方ブロック代表の 11 地衛研からなるコア・サポート地衛研と感染研（本研究班）との共同研究体制の構築。
- (2) 研究開発チームが開発した検査系、遺伝子解析系、検査精度管理評価試験をコア・サポート地衛研での予備試験を実施後に、全国地衛研へ技術移転、それをういた検査・サーベイランスの実施。サーベイランス戦略の策定と問題点の共有、改善策の検討。
- (3) コア・サポート地衛研と共同でインフルエンザ検査診断マニュアルの改訂。

・研究分担者

● 皆川洋子（地方衛生研究所連携網の運用、薬剤耐性株、変異株の早期検出）

- (1) 2009 年新型インフルエンザ国内発生時に強化された感染研－地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制をコア・サポート地衛研とともに更に強化発展させた。これを基盤として、以下の活動に不可欠な情報を把握した。
- (2) コア・サポート地衛研とともに本研究班技術開発チーム（高下、影山）らが開発した TaqMan RT-PCR を用いた薬剤耐性変異株検出系の検証。2010/11 シーズンから全国規模で耐性株サーベイランスを実施。
- (3) コア・サポート地衛研とともに EQA の試験的实施。問題点の提起、改良を行った。
- (4) 2010/11 シーズン高病原性鳥インフルエンザの国内各地での発生に伴う遺伝子検査法改良等の情報伝達。地衛研における鳥インフルエンザ検査体制に関する調査を研究協力地衛研間で実施した。

● 藤田信之（遺伝子解析によるウイルス変異検出・進化系統樹解析、大量遺伝子解析法の開発）

- (1) 感染研が分与を受けた季節性ウイルスのうち、2009/2010 シーズン株 216 株、2010/2011 シーズン株 304 株、2011/2012 シーズン株 306 株（合計 826 株）の HA、NA、M 分節の塩基配列を解析し、概ね 3-6 日以内に結果を感染研に報告した。
- (2) ハイリスク変異株の出現時に、迅速に全セグメントの塩基配列解析を行えるように、A(H1N1)pdm09 型、A(H3N2)型と B 型の全セグメント解析プロトコルを開発した。
- (3) 次世代型のシーケンサーである MiSeq（イルミナ社）を用いた全セグメント解析プロトコルの開発を行い、4 日間で 20 株程度の解析が可能な暫定プロトコルを作成した。

● 佐藤裕徳（ウイルス蛋白の機能的構造変化解析系と変化予測系の開発、サーベイランスへの応用）

- (1) コンピュータを用いてウイルス蛋白質の機能構造の迅速モデリング化のための計算科学解析環境を整備した。これをサーベイランスで検出した抗原変異、薬剤耐性変異の性質変化の解析に応用し、リスク評価、および未知の変異による薬剤耐性株発生のリスク評価の基盤構築をした。
- (2) この解析系を用いて、新規の B 型ウイルス薬剤耐性変異を同定し、耐性獲得の機序を解明した。

● 影山 努（新型インフルエンザ変異株、高病原性株診断検査系構築と改良、精度管理試験の導入）

- (1) PCR遺伝子診断系の改良の実施。TaqManプローブを用いたRT-PCR法による薬剤耐性株検出系を全国地衛研へ技術し、全国規模での耐性株サーベイランスの基盤を構築した。
- (2) PCR検査系の精度向上のために、EQA試験系の構築。コア・サポート地衛研への試験的導入と結果の評価および問題点の改良を行った。
- (3) 全国地衛研を対象としたEQA実施のモデル案を考案し、その準備を完了した。

● 高下恵美（変異株のリスク評価、薬剤耐性株サーベイランスの実施、試験系の改良）

- (1) 抗インフルエンザ薬感受性試験系の新規構築および改良に成功。薬耐性株サーベイランス体制の拡充と問題点の解決を行った。
- (2) 薬耐性株の発生状況の迅速把握と情報提供を行った。

● 齋藤玲子（インフルエンザワクチン接種前後の抗体価調査、血清検体の確保）

- (1) 平成 22～24 年度にかけて、新潟県内の介護施設・病院の職員（成人）、介護施設入所者（高齢者）の血清を採取し、ワクチン接種前後で HI 抗体価を調査し、ワクチンの有効性の評価を行った。
- (2) ワクチン株選定や新規ウイルス感染の血清疫学調査のフィールド維持、検体の確保を継続的に行う。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) コア・サポート地衛研でPCR診断検査のEQA試験の予備試験を2回実施し、全国地衛研で実施するための問題点の把握とその修正を完了した。これによって、H25年度からのプロジェクト(新規申請中)で実施可能となっている。一方、株サーベイランスに用いる分離、ウイルス抗原解析、遺伝子解析等に関するEQA試験は、全く手付かずの状況であり、全国規模での実施の必要性を含めた検討とコア・サポート地衛研での予備試験が必要である。
- (2) 全国地衛研の鳥インフルエンザウイルス(感染が疑われるヒト対象に限定)検査体制を調査し、それに応じてテコ入れが必要である。
- (3) 新型インフルエンザウイルスが出現した際に、遺伝子解析、データ処理の迅速化を進めるために、次世代型シーケンサーを用いた全セグメント解析が必須である。これを株サーベイランスに応用するための解析費用の圧縮戦略とプロトコルの完成が必要である。
- (4) ハイリスク変異株の特定や適切なワクチン株の選定により一層役立つ情報を提供するために、新たな計算科学解析環境を整備し、サーベイランス体制と一体となってその解析系の有効性を検証し、今後の新型インフルエンザ対策の科学的基盤を拡充する必要がある。
- (5) ワクチン株選定に有用な情報として、国民の抗体保有率とワクチンの免疫原性の調査を経時的に継続していく必要がある。

V. 行政施策への貢献の可能性

本研究は、全国地衛研、その中核を担うコア・サポート地衛研、感染研、協力大学機関研究チームとの連携を通して、検査手法の開発、検査・サーベイランス技術の精度維持、改善、強化を行うことを目的としていることから、厚生労働行政に直結している。

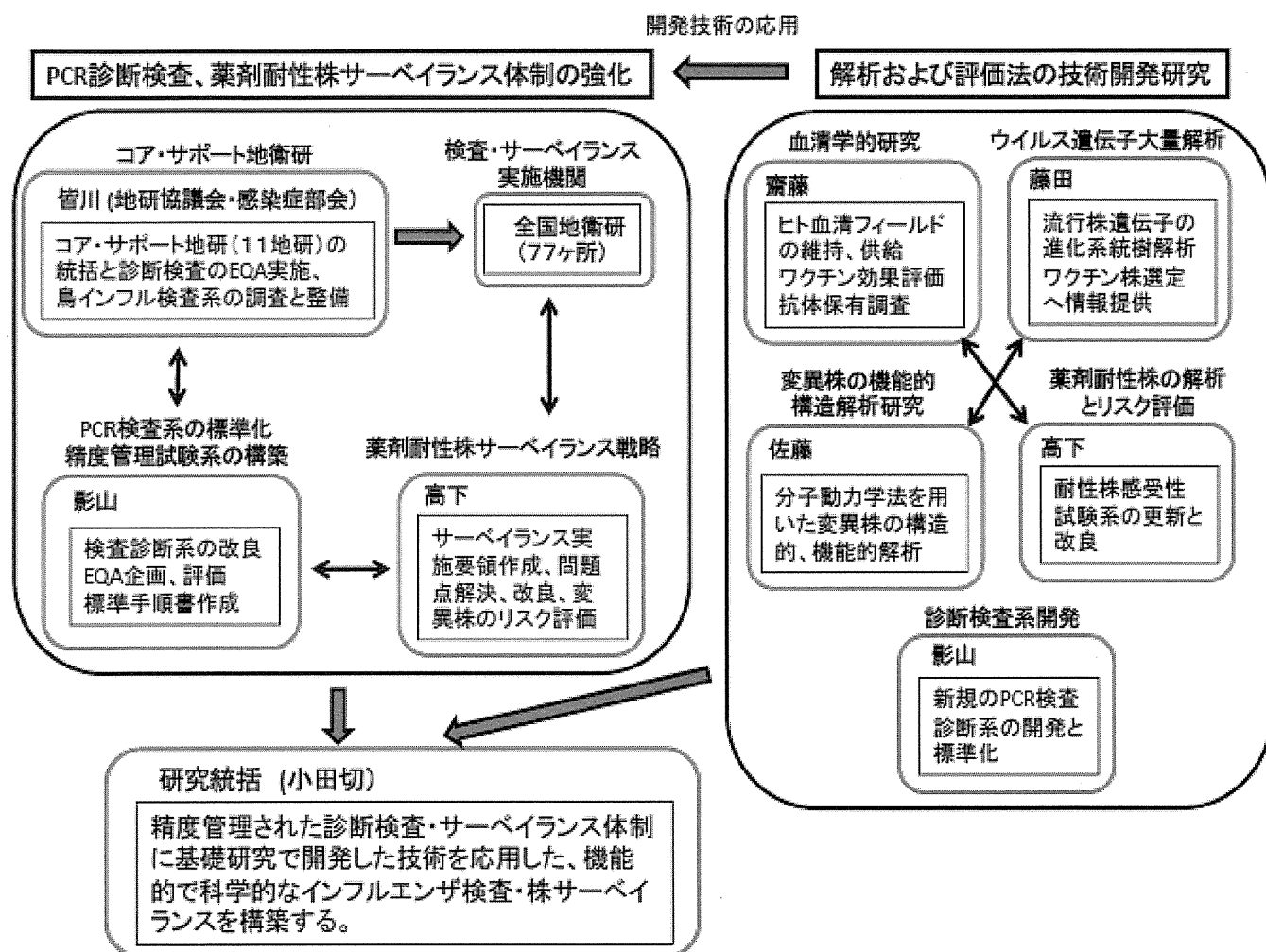
VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- Seiichiro Fujisaki, Emi Takashita, Masaru Yokoyama, Tae Taniwaki, Hong Xu, Noriko Kishida, Hironori Sato, Masato Tashiro, Masaki Imai, and Takato Odagiri A single E105K mutation far from the active site of influenza B virus neuraminidase contributes to reduced susceptibility to multiple neuraminidase-inhibitor drugs *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2012; 429 :51-56
- Kishida N, Fujisaki S, Yokoyama M, Sato H, Saito R, Ikematsu H, Xu H, Takashita E, Tashiro M, Takao S, Yano T, Suga T, Kawakami C, Yamamoto M, Kajiyama K, Saito H, Shimada S, Watanabe S, Aoki S, Taira K, Kon M, Lin JH, Odagiri T Evaluation of influenza virus A/H3N2 and B vaccines on the basis of cross-reactivity of postvaccination human serum antibodies against influenza viruses A/H3N2 and B isolated in MDCK cells and embryonated hen eggs. *Clin Vaccine Immunol.* 2012 Jun;19(6):897-908
- Nakauchi M, Ujike M, Obuchi M, Takashita E, Takayama I, Ejima M, Oba K, Konomi N, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T; the influenza virus surveillance group of Japan. Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. *J Med Virol.* 2011 Jul;83(7):1121-1127
- Makoto Ujike, Miho Ejima, Akane Anraku, Kozue Shimabukuro, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida, Xu Hong, Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Kazuyo Yamashita, Hiroshi Horikawa, Yumiko Kato, Akio Oguchi, Nobuyuki Fujita, Masato Tashiro, Takato Odagiri, and the Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Monitoring and Characterization of Oseltamivir-Resistant Pandemic (H1N1) 2009 Virus, Japan, 2009–2010 *Emerging Infect Dis.* 2011; 17, 470-479,
- ガイドライン：WHO information for molecular diagnosis of influenza virus in humans (2011, 2012)
- マニュアル：インフルエンザ診断マニュアル(第2版)(平成24年3月)
高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル(第3版)(平成24年3月)

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。

研究の役割分担と成果および相互関係



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴、主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・昭和52年～59年 東北大学医学部細菌学教室 (石田名香雄 教授)
鳥およびブタインフルエンザウイルスの生態学的研究
- ・昭和54年～56年 米国ミシガン大学公衆衛生学部疫学教室 (Prof. Dr H.F. Maassab)
弱毒化インフルエンザ経鼻ワクチンの研究開発、病原性の遺伝学的研究
- ・昭和60年～平成10年 自治医科大学医学部ウイルス学教室 (飛田清毅 教授)
インフルエンザ弱毒経鼻ワクチンの研究開発、インフルエンザウイルス増殖機構の研究
- ・平成10年～12年 金沢医科大学医学部微生物学教室 (大原義朗 教授)
インフルエンザウイルス粒子形成機構の研究
- ・平成12年～21年 国立感染症研究所ウイルス第3部第1室 (倉根一郎部長、田代真人部長)
インフルエンザ株サーベイランス、インフルエンザ診断系開発・分子疫学、
新型ワクチン株開発研究、ワクチン品質管理
- ・平成21年から現在 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第1室 (田代真人部長)
インフルエンザ株サーベイランス、分子疫学、血清疫学、ワクチン有効性の評価研究

・これまでの研究実績(抜粋)

1. **Seiichiro Fujisaki, Emi Takashita, Masaru Yokoyama, Tae Taniwaki, Hong Xu, Noriko Kishida, Hironori Sato, Masato Tashiro, Masaki Imai, and Takato Odagiri** *A single E105K mutation far from the active site of influenza B virus neuraminidase contributes to reduced susceptibility to multiple neuraminidase-inhibitor drugs* *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2012; 429 :51-56
2. Klimov AI, Garten R, Russell C, Barr IG, Besselaar TG, Daniels R, Engelhardt OG, Grohmann G, Itamura S, Kelso A, McCauley J, Odagiri T, Smith D, Tashiro M, Xu X, Webby R, Wang D, Ye Z, Yuelong S, Zhang W, Cox N; Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Southern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2012. WHO recommendations for the viruses to be used in the 2012 Southern Hemisphere Influenza Vaccine: Epidemiology, antigenic and genetic characteristics of influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B influenza viruses collected from February to September 2011 *Vaccine.* 2012 Oct 5;30(45):6461-71.
3. **Kishida N, Fujisaki S, Yokoyama M, Sato H, Saito R, Ikematsu H, Xu H, Takashita E, Tashiro M, Takao S, Yano T, Suga T, Kawakami C, Yamamoto M, Kajiyama K, Saito H, Shimada S, Watanabe S, Aoki S, Taira K, Kon M, Lin JH, Odagiri T** *Evaluation of influenza virus A/H3N2 and B vaccines on the basis of cross-reactivity of postvaccination human serum antibodies against influenza viruses A/H3N2 and B isolated in MDCK cells and embryonated hen eggs.* *Clin Vaccine Immunol.* 2012 Jun;19(6):897-908
4. Aina A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. *J Med Virol.* 2012 Feb;84(2):336-44.
5. Yanagita H, Yamamoto N, Fuji H, Liu X, Ogata M, Yokota M, Takaku H, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Hoshino T. Mechanism of drug resistance of hemagglutinin of influenza virus and potent scaffolds inhibiting its function. *ACS Chem Biol.* 2012 Mar 16;7(3):552-62
6. Sriwilaijaroen N, Fukumoto S, Kumagai K, Hiramatsu H, Odagiri T, Tashiro M, Suzuki Y. Antiviral effects of *Psidium guajava* Linn. (guava) tea on the growth of clinical isolated H1N1 viruses: Its role in viral hemagglutination and neuraminidase inhibition. *Antiviral Res.* 2012 May;94(2):139-46.
7. Kazuo Ohnishi, Yoshimasa Takahashi, Naoko Kono, Noriko Nakajima, Fuminori Mizukoshi, Shuhei Misawa,

- Takuya Yamamoto, Yu-ya Mitsuki, Shu-ichi Fu, Nakami Hirayama, Masamichi Ohshima, Manabu Ato, Tsutomu Kageyama, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Kazuo Kobayashi, Shigeyuki Itamura, and Yasuko Tsunetsugu-Yokot. Newly Established Monoclonal Antibodies for Immunological Detection of H5N1 Influenza Virus. *Jpn.J.Infect.Dis.*, 2012: 65,19-27
8. ***Nakauchi M, Ujike M, Obuchi M, Takashita E, Takayama I, Ejima M, Oba K, Konomi N, Odagiri T, Tashiro M, Kageyama T; the influenza virus surveillance group of Japan. Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay. J Med Virol. 2011 Jul;83(7):1121-1127***
 9. Ikeno D, Kimachi K, Ibaragi K, Kudo Y, Goto S, Odoh K, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Kino Y. Differences in the priming effect of various clades/subclades of inactivated H5N1 vaccine for booster injection with heterologous clades of vaccine strains *Vaccine.* :29: 4156-4161, 2011
 10. Harada Y, Ninomiya-Mori A, Takahashi Y, Shirakura M, Kishida N, Kageyama T, Tada Y, Tashiro M, Odagiri T. Inactivated and adjuvanted whole-virion clade 2.3.4 H5N1 pre-pandemic influenza vaccine possesses broad protective efficacy against infection by heterologous clades of highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in mice. *Vaccine.* 2011 Oct 26;29(46):8330-8337
 11. Dapat C, Suzuki Y, Kon M, Tamura T, Saito R, Dapat IC, Yamazaki O, Odagiri T, Fujisaki S, Suzuki H. Phylogenetic analysis of an off-seasonal influenza virus A (H3N2) in Niigata, Japan, 2010. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(3):237-41.
 12. Yuma Iwai, Hitoshi Takahashi, Dai Hatakeyama, Kazunori Motoshima, Minoru Ishikawa, Kazuyuki Sugita, Yuichi Hashimoto, Yuichi Harada, Shigeyuki Itamura, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Yoshihisa Sei, Kentaro Yamaguchi and Takashi Kuzuhara *Anti-influenza activity of phenethylphenylphthalimide analogs derived from thalidomide Bioorganic & Medicinal Chemistry*
Volume 18, Issue 14, 15 July 2010, Pages 5379-5390
 13. Nongluk Sriwilaijaroen, Akio Kadowaki, Yuriko Onishi, Nobuki Gato, Makoto Ujike, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Yasuo Suzuki *Mumefuralandrelated HMF derivatives from Japanese apricot fruitjuice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A(H1N1) virus Food Chemistry* 127, 1-9, 2011
 14. ***Makoto Ujike, Miho Ejima, Akane Anraku, Kozue Shimabukuro, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida, Xu Hong, Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Kazuyo Yamashita, Hiroshi Horikawa, Yumiko Kato, Akio Oguchi, Nobuyuki Fujita, Masato Tashiro, Takato Odagiri, and the Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Monitoring and Characterization of Oseltamivir-Resistant Pandemic (H1N1) 2009 Virus, Japan, 2009–2010 Emerging Infect Dis. 2011: 17, 470-479,***
 15. Matsuzaki Y, Mizuta K, Aoki Y, Suto A, Abiko C, Sanjoh K, Sugawara K, Takashita E, Itagaki T, Katsushima Y, Ujike M, Obuchi M, Odagiri T, Tashiro M. A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir. *Virol J.* 2010 Mar 5;7(1):53
 16. ***Makoto Ujike, Kozue Shimabukuro, Kiku Mochizuki, Masatsugu Obuchi, Tsutomu Kageyama, Masayuki Shirakura, Noriko Kishida, Kazuyo Yamashita, Hiroshi Horikawa, Yumiko Kato, Nobuyuki Fujita, Masato Tashiro, Takato Odagiri, and the Working Group for Influenza Virus Surveillance in Japan Oseltamivir-Resistant Influenza Viruses A (H1N1) during 2007–2009 Influenza Seasons, Japan Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 6, 926-935, 2010***
 17. Ikeno D, Kimachi K, Kino Y, Harada S, Yoshida K, Tochiyama S, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, Okada K, Miyazaki C, Ueda K. Immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1, NIBRG-14) vaccine administered by intramuscular or subcutaneous injection. *Microbiol Immunol.* 2010

Feb;54(2):81-8.

18. Teiichiro Shiino, Nobuhiko Okabe, Yoshinori Yasui, Tomimasa Sunagawa, Makoto Ujike, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida, Hong Xu, Emi Takashita, Akane Anraku, Reiko Ito, Teruko Doi, Miho Ejima, Hiromi Sugawara, Hiroshi Horikawa, Shuji Yamazaki, Yumiko Kato, Akio Oguchi, Nobuyuki Fujita, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Haruo Watanabe. Molecular Evolutionary Analysis of the Influenza A(H1N1)pdm, May–September, 2009: Temporal and Spatial Spreading Profile of the Virus in Japan. PLoS ONE 2010; 5(6):e11057-e11067
19. Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer DR, Carter WA, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus. J Med Virol. 2010 Oct;82(10):1754-61.
20. Yuma Iwai, Hitoshi Takahashi, Dai Hatakeyama, Kazunori Motoshima, Minoru Ishikawa, Kazuyuki Sugita, Yuichi Hashimoto, Yuichi Harada, Shigeyuki Itamura, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Yoshihisa Sei, Kentaro Yamaguchi and Takashi Kuzuhara. Anti-influenza activity of phenethylphenylphthalimide analogs derived from thalidomide. Bioorganic & Medicinal Chemistry 2010; 18 (14), 5379-5390

平成 25 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規公募課題の応募状況

地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究 (25180301)

厚生労働科学研究(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究(H22-新興-一般-005)

研究代表者 小田切孝人(感染症インフルエンザウイルス研究センター)
 研究分担者 皆川 洋子(愛知県衛生研究所、地全協感染症対策部会)
 藤田信之(独立行政法人製品評価技術基盤機構)
 齋藤玲子(新潟大学医学部国際保健学講座)
 佐藤裕徳(感染症病原体ゲノム解析研究センター)
 影山 努(感染症インフルエンザウイルス研究センター)
 高下 恵美(感染症インフルエンザウイルス研究センター)

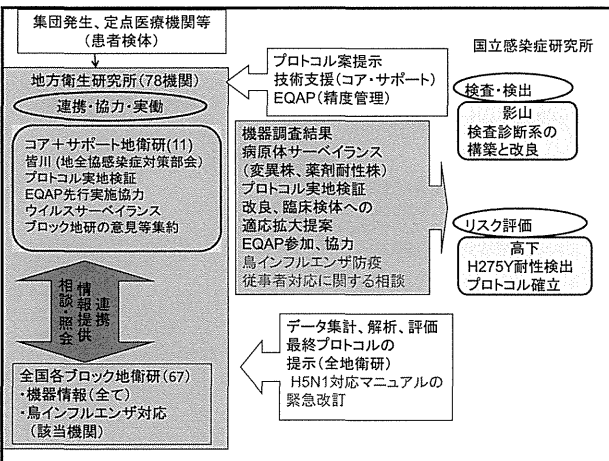
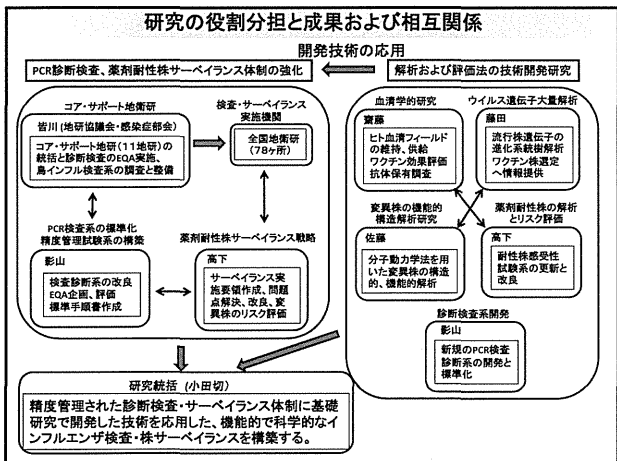
研究協力者
 (コア地衛研: 6地衛研) 山形県衛生研究所: 池田辰也、水田克己
 東京都健康安全研究センター: 長島真美、新開敬行、林志直
 大阪府立公衆衛生研究所: 加藤哲男、高橋和郎
 山口県環境保健センター: 戸田昌一、調 恒明
 福岡県保健環境研究所: 吉野秀亮、千々和勝己
 愛知県衛生研究所: 安井善宏
 (サポート地衛研: 5地衛研) 北海道衛生研究所: 駒込理佳、長野秀樹
 横浜市衛生研究所: 川上千春
 富山県衛生研究所: 小淵正次、滝澤剛則
 堺市衛生研究所: 内野清子、田中智之
 沖縄県衛生環境研究所: 平良勝也
 感染症感染症情報センター: 山下和子

本研究プロジェクトの意義と期待される成果

背景と意義
 パンデミック以降の地衛研組織の弱体化と現場担当者の定期異動により、地衛研での検査・サーベイランス技術の継承と定着が課題。本研究班主導で地衛研・感染研共同研究網を構築し、地衛研のインフルエンザ検査・株サーベイランス体制の改善と強化が必要。

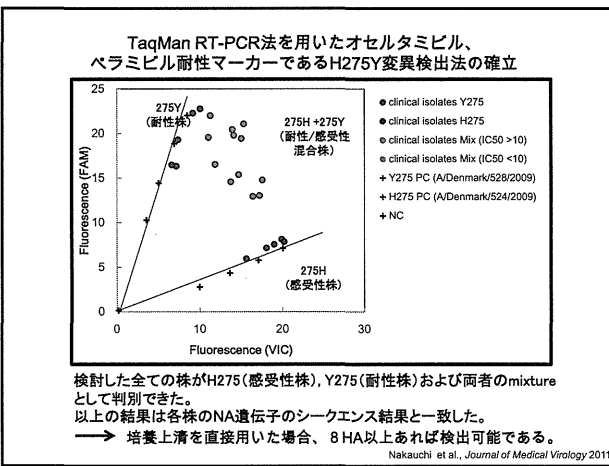
期待される成果

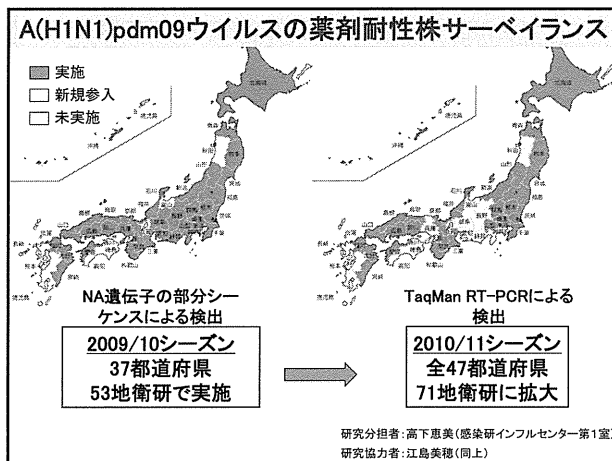
1. 全国規模での検査・株サーベイランス体制の改善を効率良く実施するためには、中核となるコア・サポート地衛研と感染研研究チームが連携したNetworkを構築する。
 ↳ 地衛研の実情に合った改善策、実施戦略が組める。
2. PCR検査・株サーベイランス体制の改善のために、外部精度管理評価試験(EQAP)を導入する。
 ↳ 検査精度、標準手順書の改善ができる。株サーベイランス体制の改善へつなげられる。
3. 研究開発チームが新規に構築した技術を地衛研の検査・株サーベイランスに適用する。
 ↳ 精度管理された診断検査・サーベイランス体制を効率的かつ科学的視点で運用できる。



地衛研の活動: 緊急連携対応

- 2010年11月~11年3月、国内各地で高病原性鳥インフルエンザA/H5N1が発生し、家禽の殺処分等が実施された
- 地衛研は、防疫作業従事者・濃厚接触者(農家など)が健康観察期間中にインフルエンザを疑われた場合の一次(スクリーニング)検査を担当 ⇒ 感度の担保が不可欠
- 検査体制の確認(各機関)
 H5検出プロトコルが当時流行中のH5に適合しているか、感染研に照会→プロトコル緊急改訂
- TaqMan RT-PCRによるH1N1pdm09耐性株検出系の試験運用と手順書の標準化を実施(コア・サポート地衛研で実施)、全国規模の薬剤耐性株サーベイランスを実施(全国地衛研で実施)
- PCR検査系の精度見直しと改善のための外部精度管理評価試験(EQAP)の試験的実施と手順書案の改訂、全国展開へ向けた準備(コア・サポート地衛研で実施)





日本国内の薬剤耐性株サーベイランス

インフルエンザシーズン	総解析株数	A(H1N1)pdm09		A(H3N2)		B	
		解析株数	耐性(%)*	解析株数	耐性(%)**	解析株数	耐性(%)
2009/10	6,167	6,005	69 (1.1%)	49	0	113	0
2010/11	4,126	3,844	78 (2.0%)	135	1 (0.7%)	147	0
2011/12	562	9	0	290	1 (0.3%)	263	0

欧米諸国をものしり、世界最大規模の薬剤耐性株サーベイランスを継続している

インフルエンザウイルス核酸検出検査(TaqMan RT-PCR法)の外部精度管理(EQAP)実施

第1回目 H23年度実施 } コア・サポート地衛研で試験実施
第2回目 H24年度実施 }

↓

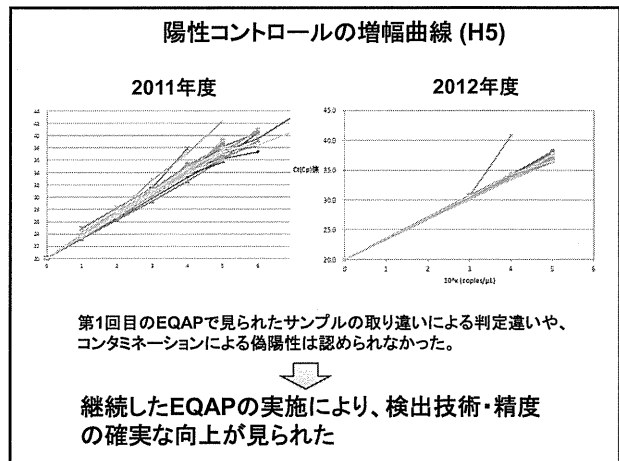
EQAP実施方針

- H5N1感染疑いの検体が含まれているという前提で、各地衛研のSOPに沿ってインフルエンザウイルスの型・亜型の同定検査を行う。
- ①RNA抽出が不要な4検体(既に核酸抽出済み)および②(不活化ウイルス)より、各地衛研のSOPに従ってRNAの抽出を行い、その抽出したRNAを用いて、リアルタイムRT-PCR法による型・亜型同定を行い、各Ct(Cp)値の算出を行う。

研究分担者: 影山努(感染症研インフルエンザセンター第2室)
研究協力者: 高山郁代(同上)

サンプル名	型・亜型	濃度 (copies/μl)	検出限の検出率(%)	検出率(%)
A	H5N1	1.0 × 10 ⁵	15/11 (100%)	
B	H5N1	1.0 × 10 ³	15/11 (100%)	
C	H5N1	1.0 × 10 ²	15/11 (100%)	
D	H5N1	10	9/11 (81%)	8/11 (72.7%)
E	H1N1pdm09	1.0 × 10 ⁵	15/11 (100%)	
F	H1N1pdm09	1.0 × 10 ³	15/11 (100%)	
G	H1N1pdm09	4.3 × 10 ²	15/11 (100%)	
H	H3N2	1.0 × 10 ⁵	15/11 (100%)	
I	H3N2	1.0 × 10 ³	15/11 (100%)	
J	H3N2	50	10/11 (91%)	6/11 (54.5%)
K	H3N2	40	10/11 (91%)	6/11 (54.5%)

※ TaqMan RT-PCR法による検出率、2回目検出率で同定
*** TaqMan RT-PCR法による検出率、2回目検出率で同定



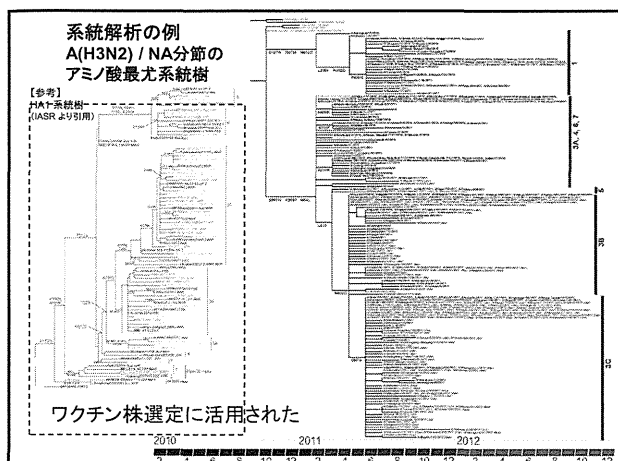
- ### 基礎研究で開発した新技術のサーベイランスへの応用の試み
1. サンガー法による全8セグメント解析プライマーセットの構築
 - A(H1N1)pdm09型ウイルス(完了)
 - A(H3N2)型ウイルス(完了)
 - B型ウイルス(完了)
 2. 次世代型シーケンサーによる全8セグメント解析系の構築と株サーベイランスへの応用(進行中)
 - 次世代型シーケンサー MiSeq(イルミナ社)を使用し、4日間で20株程度の全セグメント解析が可能な暫定プロトコルを作成。
 - セグメントの内部配列に依存しないため、新型ウイルスにも対応が可能と考えられる。
 3. ハイリスク変異株の特定や適切なワクチン株の選定に新たな計算科学解析環境を整備し、Bioinformaticsをサーベイランスへ導入する(進行中)

NITEにおける遺伝子解析の実績(2013年1月9日現在)

シーズン	解析株数			
	A(H1N1)pdm09	A(H3N2)	B	計
2009/2010	73	38	105	216
2010/2011	75	99	130	304
2011/2012	9	186	111	306
2012/2013	6	36	0	42

➢ A型のNA, M, HA2セグメントおよびB型のNA, HA2セグメントを解析
➢ A(H1N1)pdm09型では、調べた株のすべてがM分節にアマタジン耐性変異を保持していた。
➢ 上記に加えて、既知のNA阻害剤耐性変異が散発的に検出されたが、それ以外は高リスクを疑わせる変異は検出されなかった。

研究分担者: 藤田信之(独立行政法人製品評価技術基盤機構)
研究協力者: 小口晃央(同上)



インフルエンザウイルス蛋白質の機能的構造変化解析系の構築と変化予測

目的
蛋白質の機能的構造とその変化を迅速に解析する系を構築し、本研究で見出された変異のリスク評価に役立てる

方法
コンピュータを用いて生体高分子の構造と物理化学的性質を解析する計算科学の解析技術を応用する

成果の発信
BBRC 429: 51-56, 2012
Clinical and Vaccine Immunology 19:897-908, 2012
Jpn J Infect Dis. 64:448-50, 2011

成果
(i) 2009年A香港型とB型のワクチン原株は、鶏卵培養によりHA蛋白質受容体結合ポケット周辺に変異を獲得して抗原性が変化するリスクがあること。
(ii) 2011年B型ウィリアム系統の株は、薬剤結合部位から離れた場所が生じる変異で薬剤耐性を獲得するリスクをもつこと、などを明らかにした

研究分担者: 佐藤裕徳(感染症 病原体ゲノム解析研究センター)
研究協力者: 横山謙(同上)

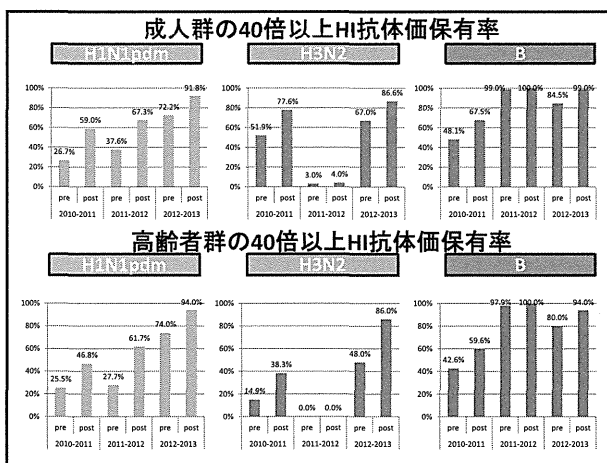
インフルエンザワクチン接種後の抗体価調査によるワクチンの有効性の評価

- 過去3シーズンのインフルエンザワクチン接種前後の血清抗体価をHI法により測定した。対象は高齢者施設(新潟県新潟市)の入所者(高齢者)と施設のスタッフ(成人)の2群とした。
- 2010-2011シーズンは病院(新潟県小出市)のスタッフを成人群として加えた。
- ワクチン接種後の採血は接種の3-4週間後に行った。

対象	高齢者群(平均年齢)	成人群(平均年齢)
2010-2011	47名(86.3±7.9歳)	532名(42.1±12.4歳)
2011-2012	47名(88.4±8.3歳)	101名(42.4±14.1歳)
2012-2013	50名(87.1±7.6歳)	97名(41.1±12.9歳)

ワクチン構成	H1N1pdm	H2N2	B
2010-2011	A/01/7/1/2009	A/01/7/210/2009	B/7/8/60/2008
2011-2012	A/01/7/1/2009	A/01/7/210/2009	B/7/8/60/2008
2012-2013	A/01/7/1/2009	A/01/7/361/2011	B/7/8/60/2008

研究分担者: 齋藤玲子(新潟大学大学院歯学総合国際保健学 研究協力者: 葛蒲川由郷(同上))



今後に残された課題と対応計画

- 本研究でコア・サポート地衛研でPCR検査のEQAPが終了し、標準手順書、評価法が完成したことから、H25年度から全国地衛研でEQAPを実施したい。これには研究予算措置が必須。
- ウイルス分離、抗原解析など株サーベイランス手法のEQAPは、全く手付かずの状況。全国規模での実施の要否を検討。そのために、コア・サポート地衛研で試験的実施を計画している。
- 全国地衛研の鳥インフルエンザウイルス(感染が疑われるヒト対象に限定)検査体制の調査を継続中。それに応じて、今後はテコ入れが必要。
- 新型やハイリスク変異株が出現した際に、遺伝子解析、データ処理の迅速化を進めるために、次世代型シーケンサーでの解析の検討が必要。解析費用の圧縮戦略とプロトコルの完成を目指す。
- ハイリスク変異株の特定や適切なワクチン株の選定に新たな計算科学解析環境を整備し、Bioinformaticsをサーベイランスへ適宜応用する予定。
- 血清疫学のためのフィールド維持、国民の抗体保有率とワクチンの免疫原性の調査を継続する。

平成24年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題：現在、国内で分離・同定できないウイルス性出血熱等の診断等の対応方法に関する研究

課題番号：H22-新興-一般 -006

予定期間：H22年度からH24年度まで

研究代表者：森川 茂

所属研究機関：国立感染症研究所

所属部局：獣医科学部

職名：部長

年次別研究費(交付決定額)：

1年目 40,000,000円 2年目 35,200,000円 3年目 31,292,000円 計 106,492,000円

I. 研究の意義

(1) 診断法の開発・改良と疫学的解析

- 1) 新種の出血熱ウイルスの診断法の整備
- 2) HPSウイルス、食虫目ハンタウイルスの診断法の整備
- 3) 新興ポックスウイルス、食虫目ハンタウイルスの国内の動物の感染の実態解明
- 4) 変異ウイルス・新種ウイルス・新興ウイルスに対応可能な遺伝子検出法の改良

(2) 宿主域拡大・病原性獲得のメカニズムの解明

- 1) イヌのモルビリウイルス (CDV) のサルへの宿主域拡大の分子機構の解明
- 2) ニパウイルスの病原性の分子機構の解明
- 3) 出血熱ウイルス等の侵入機構・粒子形成・出芽機構の解析とその阻害法開発の基礎研究

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 新種のエボラウイルスやアレナウイルス等による出血熱の血清診断法の確立
- (2) ウイルス性出血熱の新種ウイルスに対応可能な遺伝子検出診断法の改良
- (3) 変異ウイルス・新種ウイルス・新興ウイルス発生時の迅速な対応が可能
- (4) 宿主域拡大・病原性獲得機構から、ヒトへの感染拡大のリスク評価

III. 3年間の研究成果

・研究代表者 (森川茂)：新種アレナウイルス性出血熱の診断法、モルビリウイルス、ポックスウイルスの宿主域拡大の解析

- (1) 南米出血熱の血清診断法の確立、新種アレナウイルス (ルジヨ) とラッサ、LCM ウイルスを鑑別可能な抗原検出法の開発
- (2) サルの致死的ジステンパーウイルスのサル、イヌでの病原性解析
- (3) 牛痘ウイルスの国内のドブネズミ 700 匹の血清疫学調査 (全て陰性) (森川、西條、有川)

・研究分担者 (谷英樹)：出血熱ウイルスの治療・予防法の確立に資する細胞侵入機構の解析

- (1) 新興アレナ(ルジヨ)ウイルスの GP を外套したシュードタイプによる解析から、ルジヨウイルスが他のアレナウイルスと異なる細胞指向性、細胞侵入機構を持つことを解明

・研究分担者 (甲斐知恵子) : ニパウイルスの病原性の分子機構の解明

- (1) マレーシア株ゲノム cDNA の G, P 遺伝子をヒト-ヒト感染するバングラディッシュ株に組換えキメラニパウイルスゲノム cDNA クローンの作製
- (2) SmartAmp 法によるニパウイルス特異的な簡易迅速検出法の開発
- (3) 3'-UTR の mRNA 不安定化機構の解明

・研究分担者 (高田礼人、安田二郎) : 新種エボラウイルスや新種アレナウイルス等の診断法

- (1) ブンディブギョエボラウイルスの遺伝子も検出可能なフィロウイルス共通遺伝子検出 RT-PCR 法の確立・評価、フィロウイルスの分泌型組換え GP を用いた IgM, IgG 抗体検出 ELISA 法の評価と血清疫学的解析 (高田)
- (2) マールブルグ、ラッサウイルスの RT-LAMP 法の開発・評価 (安田)

・研究分担者 (安田二郎) : 出血熱ウイルスの粒子形成、出芽機構の解析

- (1) 細胞因子 Tetherin によるナイロウイルス、エボラウイルスの粒子形成の抑制効果の解析

・研究分担者 (有川二郎) : 南米ハンタウイルス肺症候群(HPS)ウイルスの診断法・分子疫学と病原性

- (1) HPS の血清診断系の開発、HPS, HFRS の病原ウイルス同定可能なイムクロマト法の開発
- (2) HPS 動物モデルの開発と好中球の関与の解明

・研究分担者 (新井智) : 食虫目のハンタウイルスの診断系確立と国内の感染状況の把握

- (1) 三重・新潟・群馬・岡山のヒミズからの Asama ウイルスの検出、北海道のバイカル、オオアシ、エゾトガリネズミから新種のハンタウイルスの検出、韓国のチョウセンコジネズミからの Jeju virus の検出とオオアシトガリネズミを宿主とするハンタウイルスの疫学的解析
- (2) 上記の新種ハンタウイルスを含むユニバーサルな遺伝子診断法の確立 (新井、有川)

・研究分担者 (西條政幸) : ナイジェリア等でのウイルス性出血熱の血清疫学調査

- (1) ナイジェリア北部での出血熱ウイルス抗体保有率の解明 (ラッサウイルス抗体保有 20%等)
- (2) ナイジェリア北部での RVFV 抗体保有率の解明 (抗体保有 13%)

・研究分担者(遠藤大二、水谷哲也) : 新種ウイルスや新興ウイルス出現時の迅速なウイルス同定法の開発

- (1) CoCoMo アルゴリズムによる出血熱ウイルス等の高感度 degenerated プライマー設計と検証
- (2) ウイルスの網羅的検出(RDV)法の臨床検体への適用のための検体前処理法の検討
- (3) 上記とメガシーケンサーを組み合わせた新興ウイルス同定法への応用

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 新興ウイルス感染症(中国で新興した重症発熱性血小板減少症候群 SFTS、米国の SFTS 様感染症、豚のエボラウイルス感染症の疫学 (フィリピン以外に中国でも発生、他のアジア諸国は不明)、ユビナガコウモリから検出された新種のフィロウイルスの疫学、新興出血熱から同定された新種ラブドウイルス (Bas-Congo) 等の診断体制の確立と疫学的知見の蓄積によるリスクを評価する
- (2) 開発した診断法のより積極的な活用と海外等への技術移転を行う
- (3) 種々のハンタウイルスの人への感染の有無を血清疫学的に解明する
- (4) サルに病原性のある CDV の病原性因子の詳細な解析を行う

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 1類感染症や新種のウイルス性出血熱などの感染症疑い患者の迅速・正確な実験室診断
- (2) 米国ヨセミテ国立公園でHPS流行時の国内検査体制を確立した
- (3) 新興ウイルス感染症発生時の迅速な病原の同定
- (4) 患者の隔離、二次感染防止対策の有効な実施
- (5) これら重要なウイルス感染症の予防・治療法の開発に寄与

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- (1) マニュアル
国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに反映

- (2) 発表論文

研究代表者(森川茂)

1. 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. in press*
2. Satoshi Taniguchi, Yusuke Sayama, Noriyo Nagata, Tetsuro Ikegami, Mary E Miranda, Shumpei Watanabe, Itoe Iizuka, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Yoshiyuki Ishii, Masayuki Saijo, Hiroorni Akashi, Yasuhiro Yoshikawa, Shigeru Kyuwa and Shigeru Morikawa. Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. *BMC Veterinary Research, in press*
3. Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa. Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Viruses, in press (special issue: Arenaviruses)*
4. 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. 2012 Jun 18;8:82.*
5. 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. 2012 Jul;86(14):7650-61.*
6. Tani H, Morikawa S, Matsuura Y. Development and Applications of VSV Vectors Based on Cell Tropism. *Front Microbiol. 2012 2:272.*
7. 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. 2012 Mar;180(1-2):68-74.*
8. 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. 2012 Mar 15;424(2):99-105.*
9. Yusuke Sayama, Yuki Eshita, Takuya Yamao, Miho Nishimura, Tomomitsu Satho, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Kouji Sakai, Shuetsu Fukushi, Masayuki Saijo, Hitoshi Oshitani, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa and Tetsuya Mizutani. Prevalence of Phasi Charoen Virus in Female Mosquitoes. *J. Parasitology and Vector Biology. 2011. 3, 19-21.*
10. Taniguchi S, Watanabe S, Masangkay JS, Omatsu T, Ikegami T, Alviola P, Ueda N, Iha K, Fujii H, Ishii Y, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Kyuwa S, Akashi H, Yoshikawa Y, Shigeru Morikawa S. Reston Ebola Virus Antibodies in Bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis, 2011 17(8):1559-60*
11. Abe M, Ito N, Sakai K, Kaku Y, Oba M, Nishimura M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Sugiyama M, Mizutani T. A novel sapelovirus-like virus isolation from wild boar. *Virus Genes. 2011, 43(2):243-8.*
12. Ogawa H, Miyamoto H, Ebihara H, Ito K, Morikawa S, Feldmann H, Takada A. Detection of all known filovirus species by reverse transcription- polymerase chain reaction using a primer set specific for the viral nucleoprotein gene. *J Virol Methods. 2011 Jan;171(1):310-3.*

研究分担者(甲斐知恵子)

1. Huang M, Sato H, Hagiwara K, Watanabe A, Sugai A, Ikeda F, Kozuka-Hata H, Oyama M, Yoneda M, Kai C. Determination of a phosphorylation site in Nipah virus nucleoprotein and its involvement in virus transcription. *J Gen Virol. 2011 Sep;92(Pt 9):2133-41.*
2. Watanabe A, Yoneda M, Ikeda F, Sugai A, Sato H, Kai C. Peroxiredoxin 1 is required for efficient transcription and replication of measles virus. *J Virol. 2011 Mar;85(5):2247-53.*
3. Yoneda M, Guillaume V, Sato H, Fujita K, Georges-Courbot MC, Ikeda F, Omi M, Muto-Terao Y, Wild TF, Kai C. The nonstructural proteins of Nipah virus play a key role in pathogenicity in experimentally infected animals. *PLoS One. 2010 Sep 15;5(9):e12709.*
4. Omi-Furutani M, Yoneda M, Fujita K, Ikeda F, Kai C. Novel phosphoprotein-interacting region in Nipah virus nucleocapsid protein and its involvement in viral replication. *J Virol. 2010; 84(19): 9793-9.*

研究分担者(高田礼人)

1. Marzi A, Yoshida R, Miyamoto H, Ishijima M, Suzuki Y, Higuchi M, Matsuyama Y, Igarashi M, Nakayama E, Kuroda M, Saijo M, Feldmann F, Brining D, Feldmann H, and Takada A. Protective efficacy of neutralizing monoclonal antibodies in a nonhuman primate model of ebola hemorrhagic fever. *PLoS ONE 7(4):e36192, 2012.*
2. Nidom, C.A., Nakayama, E., Nidom, R.V., Alamudi, M.Y., Dauly, S., Dharmayanti, I.N., Dachlan, Y.P., Amin, M., Igarashi, M., Miyamoto, H., Yoshida, R., and Takada, A. Serological evidence of ebola virus infection in Indonesian orangutans. *PLoS ONE 7(7):e40740, 2012.*
3. Ishii, A., Thomas, Y., Moonga, L., Nakamura, I., Ohnuma, A., Hang Ombe, B.M., Takada, A., Mweene, A.S., and Sawa, H. Molecular surveillance and phylogenetic analysis of Old World Arenaviruses in Zambia. *J. Gen. Virol. 93(Pt 10):2247-2251, 2012.*
4. Kajihara, M., Marzi, A., Nakayama, E., Noda, T., Kuroda, M., Manzoor, R., Matsuno, K., Feldmann, H., Yoshida, R., Kawaoka, Y., and Takada, A. Inhibition of Marburg virus budding by nonneutralizing antibodies to the envelope glycoprotein. *J. Virol. 86(24):13467-13474, 2012.*
5. Nakayama, E. and Takada, A. Ebola and Marburg viruses. *J. Disaster Res. 6(4):381-389, 2011.*

6. Nakayama, E., Tomabechei, D., Matsuno, K., Kishida, N., Yoshida, R., Feldmann, H., and Takada, A. Antibody-dependent enhancement of Marburg virus infection. *J. Infect. Dis. Suppl* 3:S978-985, 2011.
7. Ishii, A., Thomas, Y., Moonga, L., Nakamura, I., Ohnuma, A., Hang'ombe, B., Takada, A., Mweene, A., and Sawa, H. (2011) Novel arenavirus, Zambia. *Emerg. Infect. Dis.* 17(10):1921-1924
8. Ogawa, H., Miyamoto, H., Ebihara, H., Ito, K., Morikawa, S., Feldmann, H., and Takada, A. (2011) Detection of all known filovirus species by reverse transcription-polymerase chain reaction using a primer set specific for the viral nucleoprotein gene. *J. Virol. Methods* 171(1):310-313.
9. Nakayama, E., Yokoyama, A., Miyamoto, H., Igarashi, M., Kishida, N., Matsuno, K., Marzi, A., Feldmann, H., Ito, K., Saijo, M., Takada, A. (2010) Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus species-specific antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 17(11):1723-1728.
10. Matsuno, K., Kishida, N., Usami, K., Igarashi, M., Yoshida, R., Nakayama, E., Shimojima, M., Feldmann, H., Irimura, T., Kawaoka, Y., and Takada, A. Different potential of C-type lectin-mediated entry between Marburg virus strains. *J. Virol.* 84(10):5140-5147, 2010.
11. Matsuno, K., Nakayama, E., Noyori, O., Marzi, A., Ebihara, H., Irimura, T., Feldmann, H., and Takada, A. C-type lectins do not act as functional receptors for filovirus entry into cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 403(1):144-148, 2010.

研究分担者 (安田二朗)

1. Urata S, Yasuda J. Molecular mechanism of arenavirus assembly and budding. *Viruses.* 2012; 4(10):2049-79.
2. Takeda E, Nakagawa S, Nakaya Y, Tanaka A, Miyazawa T, Yasuda J. Identification and functional analysis of three isoforms of bovine BST-2. *PLoS One.* 2012;7(7):e41483.
3. Yasuda J. Ebolavirus Replication and Tetherin/BST-2. *Front Microbiol.* 2012;3:111.
4. Fukuma, A., Kurosaki, Y., Morikawa, Y., Grolla, A., Feldmann, H., and Yasuda, J.: Rapid detection of Lassa virus by reverse transcription – loop-mediated isothermal amplification. *Microbiology and Immunology*, 55, 44-50, 2011.
5. Yasuda, J.: Marburg virus budding: ESCRT of progeny virion to the outside of the cell. *Future Virology*, 5, 627-637, 2010.
6. Kurosaki, Y., Grolla, A., Fukuma, A., Feldmann, H., and Yasuda, J.: Development and evaluation of the simple diagnostic assay for Marburgvirus using reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification method. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, 2330-2336, 2010.

研究分担者 (有川二郎)

1. 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* (2012) 185: 74–81.
2. Saasa N, Yoshida H, Shimizu K, Sanchez-Hernandez C, Romero-Almaraz MD, Koma T, Sanada T, Seto T, Yoshii K, Ramos C, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I, Kariwa H, The N-terminus of the Montano virus nucleocapsid protein possesses broadly cross-reactive conformation-dependent epitopes conserved in rodent-borne hantaviruses. *Virology* (2012) 428: 48-57.
3. Yasuda SP, Yoshimatsu K, Koma T, Shimizu K, Endo R, Isozumi R, Arikawa J, Application of Truncated Nucleocapsid Protein (N) for Serotyping ELISA of Murinae-Associated Hantavirus Infection in Rats. *J Vet Med Sci* (2012) 74: 215-19.
4. Tegshduure E, Yoshimatsu K, Taruishi M, Endo R, Shimizu K, Koma T, Yasuda P S, Kariwa H, Arikawa J, Ishihara C : Different cross-reactivity of human and rodent sera to Tula virus and Puumala virus. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 33, e67-e73, 2010
5. Koma T, Yoshimatsu K, Pini N, Safronetz D, Taruishi M, Levis S, Endo R, Shimizu K, Yasuda SP, Ebihara H, Feldmann H, Enria D and Arikawa J : Truncated hantavirus nucleocapsid proteins for serotyping sin nombre, Andes, and Laguna Negra hantavirus infections in Humans and Rodents. *J Clin Microbiol* 48, No.5, 1635-1642, 2010

研究分担者 (西條 政幸)

1. Marzi A, Yoshida R, Miyamoto H, Ishijima M, Suzuki Y, Higuchi M, Matsuyama Y, Igarashi M, Nakayama E, Kuroda M, Saijo M, Feldmann F, Brining D, Feldmann H, Takada A. Protective efficacy of neutralizing monoclonal antibodies in a nonhuman primate model of Ebola hemorrhagic fever. *PLoS One* 7(4):e36192, 2012
2. 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* 180:68-74, 2012
3. Kato F, Kotaki A, Yamaguchi Y, Shiba H, Hosono K, Harada S, Saijo M, Kurane I, Takasaki T, Tajima S. Identification and characterization of the short variable region of the Japanese encephalitis virus 3' NTR. *Virus Genes.* 44:191-197, 2012
4. Shiota T, Lixin W, Takayama-Ito M, Iizuka I, Ogata M, Tsuji M, Nishimura H, Taniguchi S, Morikawa S, Kurane I, Mizuguchi M, Saijo M. Expression of herpes simplex virus type 1 recombinant thymidine kinase and its application to a rapid antiviral sensitivity assay. *Antiviral Res.* 2011 Aug;91(2):142-9.
5. 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, Perloth M, Greenberg RN. Safety and immunogenicity of LC16m8, an attenuated smallpox vaccine in vaccinia-naïve adults. *J Infect Dis.* 2011; 204(9):1395-402
6. Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Recent progress in the treatment of CCHF and future perspectives. *Future Virology*, 5: 801-809, 2010

研究分担者 (新井 智)

1. S. Arai, S. H. Gu, L. J. Baek, K. Tabara, S. Bennett, H.-S. Oh, N. Takada, H. J. Kang, K. Tanaka-Taya, S. Morikawa, N. Okabe, R. Yanagihara, J.-W. Song. Divergent ancestral lineages of newfound hantaviruses harbored by phylogenetically related crocidurine shrew species in Korea. *Virology* 424(2): 99-105. 2012
2. H. J. Kang, S. Arai, A. G. Hope, J. A. Cook, R. Yanagihara. Novel hantavirus in the flat-skulled shrew (*Sorex roboratus*). *Vector-borne and zoonotic diseases.* 10: 593-597. 2010.

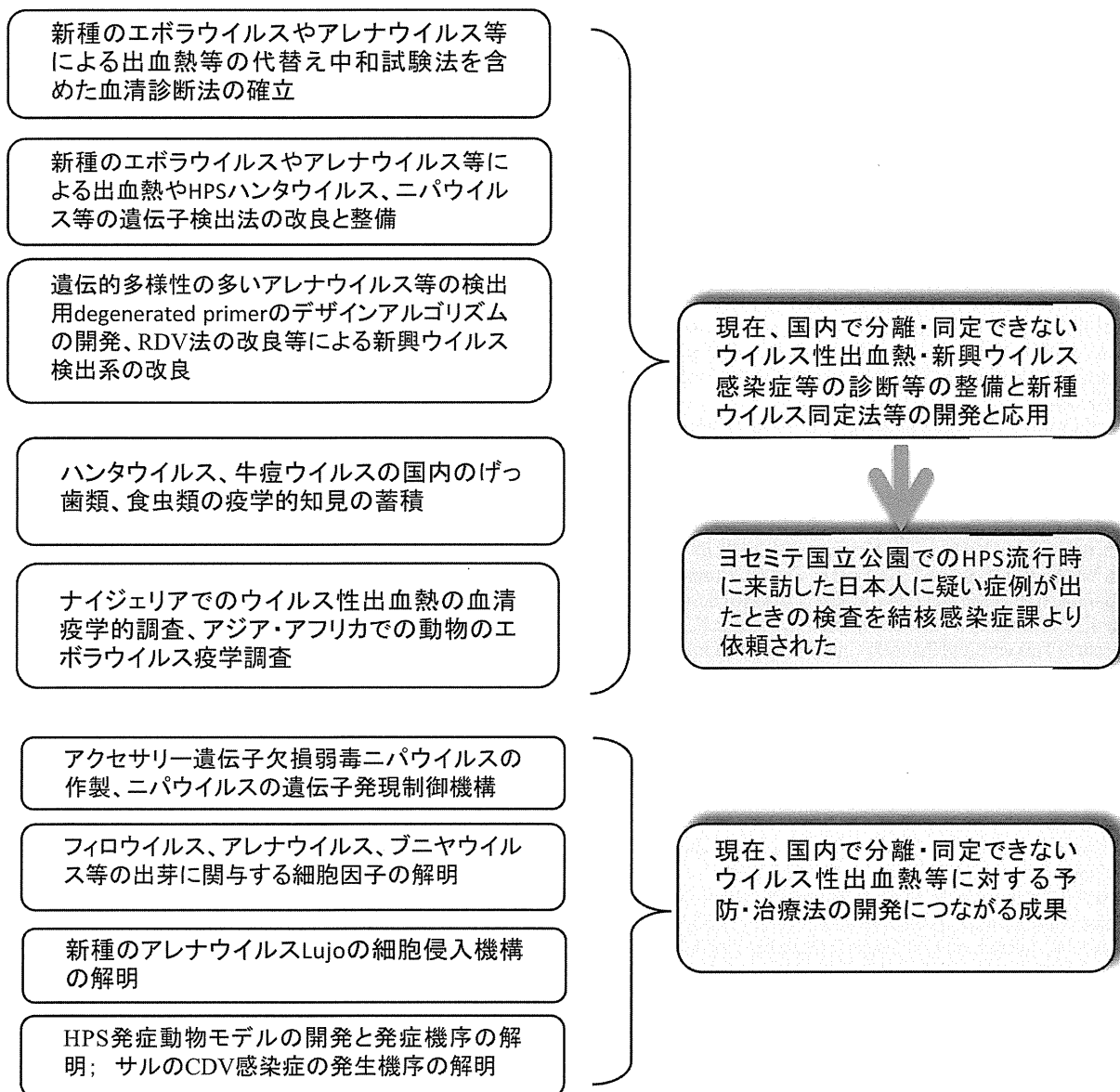
研究分担者 (水谷哲也)

1. 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.* 2012; 44(1):40-4.
2. Abe M, Ito N, Sakai K, Kaku Y, Oba M, Nishimura M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Sugiyama M, Mizutani T. A novel sapelovirus-like virus isolation from wild boar. *Virus Genes.* 2011 Oct;43(2):243-8.
3. Mizutani T, Sayama Y, Nakanishi A, Ochiai H, Sakai K, Wakabayashi K, Tanaka N, Miura E, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Ono S. Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Virology.* 2011 Mar 30;412(1):179-87.

研究分担者 (遠藤大二)

1. Shirato K, Maeda K, Tsuda S, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kiwi 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.* 2012; 44(1):40-4.
2. Jimba M, Takeshima SN, Matoba K, Endoh D, Aida Y. BLV-CoCoMo-qPCR : Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm. *Retrovirology.* 2010 Nov 2;7:91.
3. Teraoka H, Ito S, Ikeda H, Kubota A, Elmagd M M A, Kitazawa T, Kim EY, Iwata H and Endoh D. Differential Display System with Vertebrate-Common Degenerate Oligonucleotide Primers: Uncovering Genes Responsive to Dioxin in Avian Embryonic Liver. *Environ Sci Technol.* 2011

Ⅶ. Ⅲ (3年間の研究成果)の概要図等



●研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

1983-1988：国立予防衛生研究所

1989-1991：英国 NERC Institute of Virology and Environmental Microbiology

1991-現在：国立感染症研究所

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1983-1988：国立予防衛生研究所（北村敬）東大医科学研究所（速水正憲）

1989-1991：英国 NERC Inst. Virology and Environmental Microbiology (David HL Bishop)

1991-現在：国立感染症研究所（倉田毅、倉根一郎、西條政幸）北海道大学（有川二郎）中国 CDC（Tang Qing、Mifang Liang）米国 CDC(CJ Peters)アルゼンチン(Victor Romanowski, Delia Enria) 英国（Roger Hewson）他

・主な研究課題

ウイルス性出血熱の実験室診断と分子疫学に関する研究

アレナウイルスのレセプターに関する研究

天然痘、サル痘の迅速診断法、ワクチニアウイルスの弱毒化に関する研究

SARS の実験室診断とウイルス学的研究

新興ウイルス感染症の迅速同定法に関する研究

サルの CDV 感染症に関する研究

・これまでの研究実績（2008-2012）

1. 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. in press*
2. Neekun Sharma, Akitoyo Hotta, Yoshie Yamamoto, Osamu Fujita, Akihiko Uda, Shigeru Morikawa, Akio Yamadaa, Kiyoshi Tanabayashia. Detection of *Francisella tularensis*-specific antibodies in patients with tularemia using a novel competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and Vaccine Immunology, in press*
3. Satoshi Taniguchi, Yusuke Sayama, Noriyo Nagata, Tetsuro Ikegami, Mary E Miranda, Shumpei Watanabe, Itoe Iizuka, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Yoshiyuki Ishii, Masayuki Saijo, Hiroomi Akashi, Yasuhiro Yoshikawa, Shigeru Kyuwa and Shigeru Morikawa. *Analysis of the humoral immune responses among cynomolgus macaque naturally infected with Reston virus during the 1996 outbreak in the Philippines. BMC Veterinary Research, in press*
4. Shuetsu Fukushi, Hideki Tani, Tomoki Yoshikawa, Masayuki Saijo, Shigeru Morikawa. *Serological assays based on recombinant viral proteins for the diagnosis of arenavirus hemorrhagic fevers. Viruses, in press (special issue: Arenaviruses)*
5. Harutaka Katano, Seiichi Sato, Tsuyoshi Sekizuka, Akiko Kinumaki, Hitomi Fukumoto, Yuko Sato, Hideki Hasegawa, Shigeru Morikawa, Masayuki Saijo, Tetsuya Mizutani, Makoto Kuroda. *Pathogenic characterization of a cervical lymph node derived from a patient with Kawasaki disease. Int J Clin Exp Pathol 2012;5(8):814-823*
6. 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.*

2012 Jun 18;8:82.

7. 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.* 2012 Jul;86(14):7650-61.
8. Tani H, Morikawa S, Matsuura Y. Development and Applications of VSV Vectors Based on Cell Tropism. *Front Microbiol.* 2012 2:272.
9. 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.* 2012 Mar;180(1-2):68-74.
10. 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.* 2012 Mar 15;424(2):99-105.
11. 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.* 2012 Feb;44(1):40-4.
12. Yusuke Sayama, Yuki Eshita, Takuya Yamao, Miho Nishimura, Tomomitsu Satho, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, Yupha Rongsriyam, Kouji Sakai, Shuetsu Fukushi, Masayuki Saijo, Hitoshi Oshitani, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa and Tetsuya Mizutani. Prevalence of Phasi Charoen Virus in Female Mosquitoes. *J. Parasitology and Vector Biology.* 2011. 3, 19-21.
13. 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* 2011, 204(9):1395-402
14. Taniguchi S, Watanabe S, Masangkay JS, Omatsu T, Ikegami T, Alviola P, Ueda N, Iha K, Fujii H, Ishii Y, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Kyuwa S, Akashi H, Yoshikawa Y, Shigeru Morikawa, S. Reston Ebola Virus Antibodies in Bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis,* 2011 17(8):1559-60
15. Abe M, Ito N, Sakai K, Kaku Y, Oba M, Nishimura M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Sugiyama M, Mizutani T. A novel sapelovirus-like virus isolation from wild boar. *Virus Genes.* 2011, 43(2):243-8.
16. Shiota T, Lixin W, Takayama-Ito M, Iizuka I, Ogata M, Tsuji M, Nishimura H, Taniguchi S, Morikawa S, Kurane I, Mizuguchi M, Saijo M. Expression of herpes simplex virus type 1 recombinant thymidine kinase and its application to a rapid antiviral sensitivity assay. *Antiviral Res.* 2011 Jun 2;91(2):142-149.
17. Shiota T, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. Long-term observation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infection in a child with Wiskott-Aldrich syndrome and a possible reactivation mechanism for thymidine kinase-negative HSV-1 in humans. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(2):121-6.
18. Mizutani T, Sayama Y, Nakanishi A, Ochiai H, Sakai K, Wakabayashi K, Tanaka N, Miura E, Oba M, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Ono SI. Novel DNA virus isolated from samples showing endothelial cell necrosis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Virology* 2011;412(1):179-87.
19. Ogawa H, Miyamoto H, Ebihara H, Ito K, Morikawa S, Feldmann H, Takada A. Detection of all known filovirus species by reverse transcription- polymerase chain reaction using a primer set specific for the viral nucleoprotein gene. *J Virol Methods.* 2011 Jan;171(1):310-3.
20. Saijo M, Morikawa S, Kurane I. Recent progress in the treatment for Crimean-Congo hemorrhagic fever and future perspectives. *Future Virology,* 2010, 5(6): 801-809.
21. Sunohara M, Morikawa S, Murata H, Fuse A, and Sato I. PKC plays a crucial roles in c-mpl gene expression in megakaryoblastic cells. *Okajimas Folia Anat Jpn* 87(3):151-4 (2010)
22. Watanabe S, Masangkay JS, Nagata N, Morikawa S, Mizutani T, Fukushi S, Alviola P, Omatsu T, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Fujii H, Tsuda S, Endoh M, Kato K, Tohya Y, Kyuwa S, Yoshikawa Y, Akashi H. Bat coronaviruses and experimental infection of bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis.* 2010 Aug;16(8):1217-23.
23. 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. Novel betaherpesvirus in bats. *Emerg Infect Dis.* 2010 Jun;16(6):986-8.
24. Shumpei Watanabe, Tetsuya Mizutani, Kouji Sakai, Itoe Iizuka, Tomoyuki Shiota, Yusuke Sayama, Shumpei Tsuda,

- Kentaro Kato, Shuetsu Fukushi, Masayuki Saijo, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa, and Hiroomi Akashi. Development of a method to detect viral RNA sequences from cultured cells by combining size fraction and a rapid determination system for viral RNA sequences (RDV). J. Vet. Sci. Tech. 2010. 1. 1000103 (open access)*
25. *Sakai K, Ueno Y, Ueda S, Yada K, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Mutoh K, Yoshioka K, Nakamura M, Takehara K, Morikawa S, Mizutani T. Novel reovirus isolation from an Ostrich (Struthio camelus) in Japan. Vet Microbiol. 2009 Mar 2;134(3-4):227-32.*
 26. *Sunohara M, Morikawa S, Murata H, Fuse A, Sato I. Modulation mechanism of c-Mpl promoter activity in megakaryoblastic cells. Okajimas Folia Anat Jpn. 2009 Nov;86(3):89-91.*
 27. *Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogata M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S. Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections. J Med Virol. 2009 Jun;81(6):1102-8.*
 28. *Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romanowski V, Kurane I, Morikawa S. Characterization of Monoclonal Antibodies to Junin Virus Nucleocapsid protein and Application to the Diagnosis of Hemorrhagic Fever Caused by South American Arenaviruses. Clin Vaccine Immunol. 2009 Aug;16(8):1132-8.*
 29. *Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Iizuka I, Shiota T, Sakai K, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates. J Gen Virol. 2009 Sep;90(Pt 9):2266-71*
 30. *Saito T, Fujii T, Kanatani Y, Saijo M, Morikawa S, Yokote H, Takeuchi T, Kuwabara N. Clinical and immunological response to attenuated tissue-cultured smallpox vaccine LC16m8. J Am Med Assoc. (JAMA) 301(10):1025-33, 2009.*
 31. *Yamao T, Eshita Y, Kihara Y, Satho T, Kuroda M, Sekizuka T, Nishimura M, Sakai K, Watanabe S, Akashi H, Rongsriyam Y, Komalamisra N, Srisawat R, Miyata T, Sakata A, Hosokawa M, Nakashima M, Kashige N, Miake F, Fukushi S, Nakauchi M, Saijo M, Kurane I, Morikawa S, Mizutani T. Novel virus discovery in field-collected mosquito larvae using an improved system for rapid determination of viral RNA sequences (RDV ver4.0). Arch Virol. 2009;154(1):153-8.*
 32. *Ure AE, Ghiringhelli PD, Possee RD, Morikawa S, Romanowski V. Argentine hemorrhagic fever diagnostic test based on recombinant Junin virus N protein. J Med Virol. 2008 Dec;80(12):2127-33.*
 33. *Sunohara M, Morikawa S, Sato T, Miyado M, Sato I, Sato T, Fuse A. Promoter regulatory motifs involved in c-mpl gene expression induced by PMA. Cell Biol Int. 2008 Jun;32(6):692-7.*
 34. *Sakai K, Ueno Y, Ueda S, Yada K, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Mutoh K, Yoshioka K, Nakamura M, Takehara K, Morikawa S, Mizutani T. Novel reovirus isolation from an Ostrich (Struthio camelus) in Japan. Vet Microbiol. 2009 Mar 2;134(3-4):227-32.*
 35. *Watanabe R, Matsuyama S, Shirato K, Maejima M, Fukushi S, Morikawa S, Taguchi F. Entry from the cell surface of severe acute respiratory syndrome coronavirus with cleaved S protein as revealed by pseudotype virus bearing cleaved S protein. J Virol. 2008 Dec;82(23):11985-91.*
 36. *Takimoto K, Taharaguchi M, Morikawa S, Ike F, Yamada YK. Detection of the antibody to lymphocytic choriomeningitis virus in sera of laboratory rodents infected with viruses of laboratory and newly isolated strains by ELISA using purified recombinant nucleoprotein. Exp Anim. 2008 Jul;57(4):357-65.*
 37. *Watanabe S, Mizutani T, Sakai K, Kato K, Tohya Y, Fukushi S, Saijo M, Yoshikawa Y, Kurane I, Morikawa S, Akashi H. Ligation-mediated amplification for effective rapid determination of viral RNA sequences (RDV). J Clin Virol. 2008 Sep;43(1):56-9.*
 38. *Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Fukushi S, Harashima A, Sato Y, Saijo M, Taguchi F, Morikawa S, Sata T. Mouse-passaged severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus leads to lethal pulmonary edema and diffuse alveolar damage in adult but not young mice. Am J Pathol. 2008 Jun;172(6):1625-37.*
 39. *Ami Y, Nagata N, Shirato K, Watanabe R, Iwata N, Nakagaki K, Fukushi S, Saijo M, Morikawa S, Taguchi F. Co-infection of respiratory bacterium with severe acute respiratory syndrome coronavirus induces an exacerbated pneumonia in mice. Microbiol Immunol. 2008 Feb;52(2):118-27.*
 40. *Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Fukushi S, Mizutani T, Iizuka I, Sakai K, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Diagnosis and assessment of monkeypox virus (MPXV) infection by quantitative*