

徴のある株であることが示唆された。

#### A. 研究目的

近年、世界各地で新興・再興感染症が流行し人類に対する脅威となっている。これらの中にはウイルス性感染症が多く含まれ、今年度は国内で重症熱性血小板減少症候群患者が確認された。重篤な脳炎や出血症状を特徴とするアルボウイルス感染症、急性腸管感染症の第一の原因となっているウイルス性下痢症、致死率100%の狂犬病および重篤なウイルス性出血熱などが、アジア各地で流行し、多数の患者と死者をもたらしている。しかしこれらの感染症の流行地では、不十分な診断体制の正確な患者数や流行地の特定などの疫学情報が欠如していることが多い。さらにこれらの感染症に対するワクチンの改良と開発を早急に実施する必要に迫られている。

本研究においては、特にアジアにおいて問題となるウイルス感染症を対象とする。新興ウイルス感染症として、SFTS (severe fever with thrombocytopenia syndrome ; 重症熱性血小板減少症候群) を、ウイルス性下痢症としてロタウイルスおよびノロウイルス感染症を、ウイルス性出血熱としてハンタウイルス感染症を、アルボウイルス感染症として日本脳炎やデング熱を、さらに狂犬病を研究対象とする。

これらの感染症診断のために特異性と迅速性に優れた診断法を開発する一方で最新の分子生物学的技術を応用し、上記ウイルス性感染症流行において疫学調査を実施して流行地の特定と患者発生状況を明確にする。さらに特定された流行地において、ヒトや動物、節足動物からウイルスを分離し、流行ウイルス株の遺伝子性状、抗原性、病原性等を明らかにする。さらに新規治療法やワクチンの改良と

開発のための基盤を確立する。上記の研究においては、ベトナム国立衛生疫学研究所 (National Institute of Hygiene and Epidemiology, NIHE)、タイ赤十字協会・サオバブハ女王記念研究所 (Queen Saovabha Memorial Institute, Thai Red Cross Society, Thailand)、チュラロンコーン大学 (Chulalongkorn University, Thailand)、フィリピン熱帯医学研究所 (Research Institute for Tropical Medicine, Philippines) 等及び米国の協力者との協力研究を推進する。

#### 1) 新興ウイルス感染症

SFTS (severe fever with thrombocytopenia syndrome ; 重症熱性血小板減少症候群) ウイルスは 2011 年に中国で同定された新規ブニヤウイルスである。2013 年 1 月に日本国内において初めての SFTS 患者が確認され、現在では RT-PCR 法による患者の診断検査体制が全国に整備されている。中国では、フタゲチマダニ (5.4%) およびオウシマダニ (0.6%) から SFTS ウイルス遺伝子が検出されていて、SFTS はマダニ媒介性の感染症であると考えられている。また、ヤギ (80%)、ヒツジ (70%)、ウシ (60%)、イヌ (38%) 等の動物からウイルス抗体が検出されており、マダニと動物間でウイルスが保持されている可能性が示唆されている。しかし動物からヒトへの感染は報告されていないことから、ヒトへの感染はマダニによる刺咬が主因であると考えられている。国内のマダニにおける SFTSV の調査のためにリアルタイム RT-PCR を開発しているが、本年新たに西インドでコウモリから分離された SFTSV に近縁なウイルスである Malsoor virus、血清学的に交差すると報告されている Bhanja virus 血清群とを

識別できるリアルタイム RT-PCR 法を開発することを目的とする。

## 2) ウイルス性下痢症

ウイルス性下痢症の中でロタウイルス下痢症はもっとも頻度が高く、また、重症になることが多い点において、もっとも重要な病原体である。世界保健機関(WHO)は、ロタウイルスワクチンの開発と導入を優先課題として推進してきた。ロタウイルスワクチンは、アメリカ合衆国、中南米、ヨーロッパ、オーストラリアなど約 30 か国で定期予防接種に組み入れられている。このような状況下で、ロタウイルスワクチンがわが国でも使用され始めたが、ロタウイルスワクチンの接種率の向上に伴い、下痢症患者から検出される野生ロタウイルス株に何らかの影響がおよぶことが予想される。とくに単価ロタウイルスワクチンについては、遺伝子型が異なる G2 株の相対的増加との因果関係についての議論がある。本研究は、このような議論の基盤情報として、わが国における G2 株の分子進化の様相を明らかにすることを目的とした。また、ロタウイルスワクチンは発展途上国で有効性が低いことが明らかにされてきているが、その原因の一つとして途上国で流行している野生株が先進国のそれと大きく異なるのではないかと懸念があった。そこでベトナム国立衛生疫学研究所と共同で、ロタウイルスワクチンの臨床試験が行われたときに流行していた野生株の全ゲノム解析を行い、それが先進国で流行しているウイルス株と大きく異なるかどうか明らかにすることを目的とした。

## 3) ウイルス性出血熱

ハンタウイルスは、げっ歯類を中心とする小型ほ乳類媒介性の人獣共通感染症である、腎症候性出血熱(HFRS)とハンタウイルス肺症候

群(HPS)の原因ウイルスである。ハンタウイルスのうち、Hantaan (HTNV)、Seoul (SEOV)、Dobrava (DOBV) Thailand (THAIV) および Puumala (PUUV) ウイルスは HFRS の原因となる。HFRS は中国、極東ロシアから東アジア諸国、また、北欧からヨーロッパ全域にかけて広く流行し、公衆衛生上も大きな問題となっている。また Sin Nombre virus (SNV)、Andes virus (ANDV) を始めとするアメリカネズミ亜科のげっ歯類によって媒介されるハンタウイルスはまた北米・南米諸国で HPS の原因となっている。HPS の輸入症例がカナダやフランスで報告されていることから、我が国においても注意を払うべき疾患である。

HTNV および SEOV および THAIV および DOBV はネズミ亜科のげっ歯類、そして PUUV はハタネズミ亜科のげっ歯類によって媒介される。これらの他に翼手目およびトガリネズミ目に属するほ乳類によって保有されている病原性不明のハンタウイルスが報告されている。これらのハンタウイルス群のウイルスは互いに抗原性が大きく相違し交差反応性が低いことから、病原性ハンタウイルス感染症の血清診断を行うためには少なくとも3種類の血清型の抗原が必要である。ユーラシア大陸には SNV および ANDV をのぞくハンタウイルスが存在し、特に東南アジア、東アジアからは SEOV, THAIV 関連ウイルスが報告されている。

本研究では HFRS および HPS の原因ウイルスを保有する宿主げっ歯類および HFRS, HPS 輸入感染例を迅速に診断するための手段を確立することを目的として、イムノクロマトグラフィー(ICG) の開発を試みた。

## 4) 狂犬病

狂犬病ウイルスは通常、感染動物の咬傷を

介して末梢組織に感染し、その後、中枢神経系に侵入してそこで増殖することにより致死的な脳炎を引き起こす。狂犬病の治療法は未だ確立されていない。狂犬病ウイルスの増殖機構の解明、特にウイルスが利用している宿主細胞機能の同定は、抗狂犬病ウイルス薬の開発につながることを期待される。

教科書的に、狂犬病ウイルスは細胞膜(形質膜)直下でアセンブリーし、そこから細胞外へウイルス粒子が出芽となっている。しかし、我々の電子顕微鏡による観察では、形質膜からの出芽はほぼ認められず、ウイルスの細胞質内封入体であるネグリ小体の周囲に二重膜が取り囲み、むしろそこからウイルス粒子が出芽している像が高頻度に認められた(図1)。この膜については、細胞内消化システムであるオートファジーによる可能性が考えられ、近年、細胞内オートファジーがウイルスの増殖に関与しているとの報告が数多くなされているが(Dreux and Chisari, Cell Cycle, 2010)、狂犬病ウイルスでは未だない。

そこで、我々は狂犬病ウイルスの増殖におけるオートファジーの関与について着目し(図2)、解析を行った。

## 5) アルボウイルス感染症

アジアで猛威をふるう蚊媒介性ウイルス(日本脳炎ウイルスやデングウイルスなど)について、その流行状況や変異状況を分子疫学解析で明らかにするとともに、病原性に関する因子を分子レベルで解明することを目的とする。

## B. 研究方法

### 1) 新興ウイルス感染症

1. SFTSV-S セグメントRNAを標的としてMGBプローブを用いるリアルタイムRT-PCRを10種類デザインした。これらのうち、SFTSVの検出

感度が高いもの、マダニ由来核酸による非特異反応が出ないもの、マダニ由来核酸によりSFTSVの検出感度に影響しないものを選択した。

2. 1で選択された候補リアルタイムRT-PCRのうち、それらの標的配列を、近縁なウイルスであるHeartland virus、Malsoor virus、比較的近縁なBhanja virusと比較することにより、SFTSV特異的であるか、交差があるかを検討した。

3. Bhanja virus血清群に分類されるPalmaウイルス、Forecariahウイルスを米国より入手し、実際に2でSFTSV特異的と考えられたリアルタイムRT-PCRがBhanja virus血清群を検出していないかを検討する。

### 2) ウイルス性下痢症

1980-2011の31年間に検出された35株のG2株からVP7遺伝子の分子系統樹に基づいて、選択した12株から抽出したゲノムRNAを用いて、全遺伝子分節の塩基配列を決定した。また、データベースに登録されているG2株に由来する全遺伝子分節の塩基配列をMEGA5により解析した。またワクチンの臨床試験と同時期に流行していた野生の優勢株であるG1P[8]とG3P[8]株から4株を選択し、それらの臨床材料から抽出したゲノムRNAを用いて、全遺伝子分節の塩基配列を決定した。

### 3) ウイルス性出血熱

病原性ハンタウイルス感染をスクリーニングするために、抗原としてHTNV, PUUV, ANDVの3種類を使用した。抗原性の強いウイルス構成タンパクとして核タンパク(N)のN末端部位103アミノ酸を抗原として選択した。これをHTNV, PUUV, ANDVの3種類について大腸菌ベクターを用いて作成した。また、これらの抗原に結合する抗体を迅速に診断するために、

ストリップ上に抗原ラインを塗布した ICG を作成した。さらに、それぞれの宿主の免疫グロブリンを検出するために、各種二次抗体および Protein A を比較検討し、最適なストリップを作成することを試みた。SEOV をラットあるいはマウスに接種した実験感染抗血清、HTNV あるいは PUUV をマウスに接種した実験感染抗血清を用いて ICG ストリップの作成と評価を行った。

#### 4) 狂犬病

本研究では、狂犬病ウイルス街毒 1088 株および固定毒 CVS 株を使用した。また、狂犬病ウイルスの感受性細胞としてマウス神経芽細胞種由来の NA (C1300) 細胞を使用した。

ウイルス感染細胞におけるウイルス N 蛋白質と LC3 蛋白質の局在については蛍光抗体法により調べた。FITC 標識抗狂犬病ウイルス N 蛋白質抗体は Fujirebio 社より、抗 LC3 抗体は MBL 社より、Alexa Fluor568 標識抗マウス IgG 抗体は Life Technologies 社より入手した。

オートファジーの誘導が狂犬病ウイルスの増殖に与える影響については、その誘導剤として Trehalose (Sigma-Aldrich 社) を使用して検討した。すなわち、ウイルスを NA 細胞に multiplicity of infection (moi) 1 で感染させ、Trehalose (100 mM) 存在もしくは非存在下で一定時間培養した。培養後、培養上清と細胞を回収し、上清についてはフォーカス法によりウイルス力価 (FFU/ml) を測定し、細胞についてはウェスタンブロットにより、ウイルス M 蛋白質 (Hiramatsu et al, Virology, 1992)、LC3 および  $\beta$ -actin (abm 社) の検出を行った。

オートファジーの抑制が狂犬病ウイルスの増殖に与える影響については、オートファジー関連分子 Atg5 の siRNA によるノックダウン法により検討を行った。すなわち、マウス Atg5 に

対する siRNA (Sigma-Aldrich 社) を、核酸導入試薬 TransIT-TKO (Mirus 社) を用いて 100 nM で細胞に導入し、一定時間培養後、各ウイルスを moi = 1 で感染させた。さらに 48 時間培養後、サンプルを回収し、ウイルス力価測定およびウェスタンブロット法による各種蛋白質の検出を行った。抗 Atg5 抗体は MBL 社より入手した。

#### 5) アルボウイルス感染症

小西英二博士 (大阪大学微生物病研究所)、竹上勉博士 (金沢医科大学) と共同で下記の研究を実施した。

##### <日本脳炎ウイルスの細胞向性>

日本脳炎ウイルスの全遺伝子 RNA 配列を cDNA に逆転写して、プラスミドベクター (SP6 プロモーターをもつ pMW119) に組み込み、2 つの日本脳炎ウイルス感染性 cDNA クローンを構築した。親株は JaTH160 (NS1' 産生株) と JaOArS982 変異株 (NS1' 非産生株) である。精製したプラスミドからウイルス RNA を転写し、培養細胞に導入し培養上清から感染性ウイルス (JaTH-IC、S982-IC) を回収した。それぞれの人為的に作成したクローンウイルスはハムスター、サル、ブタ、トリ培養細胞 (BHK, Vero, PS, DF-1) に感染させ、増殖性を比較した。さらに、孵化鶏卵に接種してトリ胚におけるウイルス増殖を検証した。細胞中のウイルス RNA 量はリアルタイム RT-PCR 法を用いて定量・比較した。

##### <デングウイルスの分子疫学>

ベトナムにおいて分離されたデングウイルス、および現存する世界で最も古いデングウイルス分離株であるデング 1 型ウイルス望月株 (1943 年に長崎で堀田進博士により分離) を ABI キャピラリーシーケンサーでウイルス E 蛋白質遺伝子全長の塩基配列を決定した。

Neighbor Joining 法により遺伝子の樹状解析を実施してデングウイルスの分子疫学解析を行った。望月株については、これまでに分離され、エンベロープ蛋白(E)の塩基配列が GenBank に登録された約 2000 株の DENV-1 から、同一国で同一年に分離された株については 1 株のみを代表にすることにより約 300 株に縮小した集団を対象にして、ベイズ法により系統樹を作成した。また、マルチプルアラインメントにより、ユニークなアミノ酸を探索した。

(倫理面からの配慮について)

新興ウイルス感染症：ヒト検体や動物実験を行わないことから、倫理上の問題はない。

ウイルス性下痢症：検体の収集については長崎大学およびベトナム国立衛生疫学研究所の倫理委員会の審査・承認を得て行った。

ウイルス性出血熱：マウスへの感染実験については北海道大学動物実験委員会の審査・承認を得て実施した。患者血清の使用に関しては北海道大学動物実験委員会の審査・承認を得て実施した。

アルボウイルス感染症：本研究は、ヒト材料を用いた実験や動物実験を行っていない。

## C. 研究結果

### 1) 新興ウイルス感染症

1. SFTSV-S セグメント RNA を標的として MGB プローブを用いるリアルタイム RT-PCR を 10 種類デザインした。これらのうち、SFTSV の検出神田が高いもの、マダニ由来核酸による非特異反応が出ないもの、マダニ由来核酸により SFTSV の検出感度に影響しないものを選択した。その結果、デザインした 1 種のセット(表1)

のみがすべての条件を満たした。これらの検出感度は 10copies/reaction で、ウイルスの感染価では 1ffu/reaction であった(図1)。

2. 1で選択された候補リアルタイム RT-PCR のうち、それらの標的配列を、近縁なウイルスである Heartland virus、Malsoor virus、比較的近縁な Bhanja virus(図2)と比較した。その結果、1で選択されたリアルタイム RT-PCR のプライマー、プローブとも近縁のウイルス種とは配列が保存されていないことから、本リアルタイム RT-PCR は、SFTSV 種特異的であると想定される。

3. 2で想定されたリアルタイム RT-PCR の SFTSV 特異性を評価するために、米国のアルボウイルスライブラリーから Palma ウイルス、Forecariah ウイルスを入手した。ウイルスを Vero 及び Vero E6 細胞に感染させたところ Vero E6 細胞での細胞変性効果が強かった。これらのウイルスのシードウイルスを作製しており、その力価を測定後に1、2で選択されたリアルタイム RT-PCR が実際に SFTSV 特異的であるのかを検証する予定である。

### 2) ウイルス性下痢症

12 株の G2 ロタウイルス株についてゲノム遺伝子型構成

(VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5)を決定したところ、8 株が DS-1 型遺伝子型構成

(G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2)を示す一方、3 株が

G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N1-T2-E2-H2 を示す遺伝子分節再集合体であった。NSP2 遺伝子分節再集合体の 3 株が持つ NSP2 遺伝子は同一 lineage に属し、その p-distance は 0.013

～0.001 である一方、他の遺伝子分節ではより大きな divergence があった。また、表面タンパク質である VP7 遺伝子の系統樹におけるトポロジーと VP4 遺伝子のトポロジーとがほぼ同一であった。1983 年に秋田市で検出された 83A001 株はすべての遺伝子分節において G2 株のプロトタイプである DS-1 株と同一 lineage に属していた。

ベトナムでのロタウイルスワクチン臨床試験と同時期・同一地域で流行していた野生株である G1P[8] と G3[8] の 4 株は、典型的な Wa 型遺伝子型構成 (G1/G3-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-E1-H1) を示した。

### 3) ウイルス性出血熱

#### 1. ストリップの作成

ヨーロッパ、アジアでは SEOV、HTNV 等のネズミ亜科のげっ歯類およびハタネズミ亜科のげっ歯類の媒介する PUUV とその近縁ウイルスが存在するため、これらのウイルスに対する抗体を検出することが必要である。そこで HTNV、PUUV の抗原を塗布した Multiplex ICG を作成した。コロイドラベル二次抗体としては、ネズミ亜科げっ歯類の免疫グロブリンと強く反応する抗マウス IgG 二次抗体、抗ラット IgG 二次抗体、およびハタネズミ亜科げっ歯類およびヒトの免疫グロブリンと強く反応する Protein A を使用したものの三種類を作成した。

#### 2. ハンタウイルス実験感染げっ歯類血清による ICG の評価

これらはまず、実験感染血清を用いて評価した。抗ラット二次抗体を使用した場合、SEOV 実験感染ラット血清 4 例は HTNV 抗原のみに反応した。また HTNV 実験感染マウス血清 2 例は Protein A でも抗マウス二次抗体と同様の

反応を示したが、抗マウス二次抗体の方が強い反応を示した。PUUV 実験感染マウス血清 2 例は、Protein A および抗マウス二次抗体を使用した場合に PUUV 抗原のみに反応した。一方、非感染マウス血清ではいずれの場合もラインは観察されなかった。

#### 3. 患者血清を用いた ICG の評価

HFRS 患者血清のうち、日本および中国に由来する SEOV、HTNV 感染によるものは HTNV 抗原とのみ反応した。一方、スウェーデンおよびドイツ由来の PUUV 感染による HFRS 患者血清は PUUV 抗原と強く反応し、およそ 30% が ANDV 抗原と交差反応した。また北米および南米由来の HPS 患者血清は ANDV 抗原と強く反応し、はっきりとした ICG のラインが得られたが、およそ 30% に PUUV 抗原への交差反応が認められた。HTNV 抗原への交差反応は認められなかった。一方、抗ハンタウイルス抗体陰性健常ヒト血清ではいずれの場合もラインは観察されなかった。

#### 4) 狂犬病

狂犬病ウイルス感染 NA 細胞において、蛍光抗体法により狂犬病ウイルス N 蛋白質と LC3 の局在について観察を行ったところ、ウイルス封入体の周囲に LC3 が局在する像が認められた(図 3)。

オートファジーの誘導が狂犬病ウイルスの増殖に与える影響については、感染細胞を Trehalose で処理することで検討した。実際、図 4 に示すように、Trehalose 処理によりオートファジー誘導の指標の一つである LC3-II の発現量の増大が確認された。この状況下で、1088 株については、Trehalose 処理により細胞中のウイルス M タンパク質発現量はほとんど変化していなかったが、培養上清中へのウイルス産

生量が有意に増加した(図4)。一方、CVS株については、接種後48時間後においてTrehalose処理によりウイルス産生量が有意に低下していた(図4)。

オートファジーの抑制が狂犬病ウイルスの増殖に与える影響については、当初は阻害剤(3-MA)を用いて検討したが、細胞毒性が強かったため、オートファジー誘導に必須の分子であるAtg5をsiRNAによりノックダウンすることで検討を行った。図5に示すように、Atg5に対するsiRNAの導入により、Atg5の発現が低下し、LC3-IIの発現量もわずかであるが低下した。この状況において、1088株およびCVS株の培養上清中へのウイルス産生量は、コントロールsiRNA導入とAtg5特異的siRNA導入の間に、有意な差は認められなかった。

#### 5) アルボウイルス感染症

クローンウイルスS982-ICはNS1のみ、JaTH-ICはNS1とNS1'を発現していた。この差異はNS2A遺伝子の67番塩基に差異(前者はA、後者はG)によりウイルスRNAの高次構造が変化し、リボソームフレームシフトが発生することが示唆され、それぞれのクローンウイルスのNS2A遺伝子の67番塩基を相手側の塩基に置換することで、NS1'発現のオン・オフが逆転したことによりそのメカニズムが解明された。NS1'発現ウイルスを培養細胞に感染させると、トリ由来DF-1細胞で特異的にNS1'の発現量の増加が見られ顕著なウイルス量、ウイルスRNA合成の増加が観察され、NS1'発現株と非発現株をDF-1細胞に同時に感染させるとNS1'発現株は競合において顕著な優位性をしめした。(図1)

ベトナムで2013年に分離されたデングウイルスの遺伝子解析の結果、デング1型~4型までの全ての血清型の株が分離された。多く

のデングウイルス分離株はベトナム由来の株が地域に土着して変化していることが明らかとなった。しかしながら、2013年にはタイ国由来のデング3型ウイルスがベトナム南部に侵入したことが確認された。また、脳炎を呈した患者の髄液から過去に分離され未同定であったウイルスの2株のデングウイルスであることが確認された。

Eの塩基配列に基づく遺伝子系統解析では、望月株は遺伝子型I(GI)に分類されたが、アミノ酸配列に基づくGI株とクラスターを形成せず、他のすべての遺伝子型株の上位で分岐した。この際、望月株とそれに次いで1944年及び1945年に分離されたハワイ株以外のすべては、塩基配列に基づくクラスターと同様に、アミノ酸配列においても遺伝子型に基づくクラスターが形成された。望月株にはユニークなアミノ酸の変異がE配列上の5か所に存在し、また約2000株の中で8株以下にしか見られない特徴あるアミノ酸の変異が4か所に存在した。合計9か所のうち、6か所はドメインIIに位置した。

#### D. 考察

##### 1) 新興ウイルス感染症

マダニ媒介性のSFTSは、中国では2009年に初めて流行し2011年に病原体が同定された新興ウイルス感染症である。日本では2013年初頭に患者が初めて確認された。SFTSウイルスを持つ動物やウイルス感染を媒介するマダニの国内分布を調査する為のSFTSウイルス検出用検査法は必須である。一方、SFTSVと遺伝的に近縁なウイルスがその後分離されており、さらにBhanja virus血清群が血清学的に交差するという報告がされた。このため、マダニからのSFTSV検出には、1)SFTSVの検出感度が高い、2)マダニ由来核酸による非特

異反応が出ない、3) マダニ由来核酸により SFTSV の検出感度に影響しない、4) 近縁なウイルスである Heartland virus、Malsoor virus、比較的近縁な Bhanja virus を検出せず、SFTSV 特異的に検出できることが必要である。本研究では、これらの要素をすべて満たすリアルタイム RT-PCR が作製された。なお、SFTSV は中国と日本では遺伝的に若干異なることが知られているが、本リアルタイム RT-PCR は、いずれの SFTSV も同等に検出できることから、日本だけでなくアジア諸国のマダニ等からの SFTSV 検出に有用と考えられる。

## 2) ウイルス性下痢症

解析した株のうち 3 株は NSP2 遺伝子分節再集合体であったが、これは、DS-1 型遺伝子型構成をもつ典型的な G2 ロタウイルス株が Wa 型のウイルスから NSP2 遺伝子を獲得した後、さらに拡散、伝播を続けている間に intragenotype reassortment を重ねて形成されたものと考えられた。また、VP7 遺伝子と VP4 遺伝子のトポロジーとが同じであることから、これらの遺伝子が co-segregate しながら進化していると想定された。ベトナムでの野生の優勢株である 4 株の G1P[8] と G3[8] 株が、ロタウイルスワクチンの有効性が高い米国を含め世界各地で流行している典型的な Wa 型遺伝子型構成のウイルスであることは、流行株の違いがワクチンの有効性が低い原因であるとは考えにくいことを示すものである。すなわち、発展途上国での有効性が高いワクチンの開発や改良に向けては、ワクチンの免疫原性の向上や宿主集団がもつ特徴(例えば母乳中の抗体がテイクを低くすることなど)など多面的なアプローチが必要であると思われる。

## 3) ウイルス性出血熱

アジア、ヨーロッパおよび北・南米で流行しているハンタウイルスの患者診断用および宿主げっ歯類摘発用のハンタウイルス ICG の試作が完了した。今後、使用例を増やして有用性を評価する必要がある。北米・南米大陸では SNV、および ANDV 関連ウイルスが存在する。しかし、アフリカには固有のげっ歯類が存在するが、未だハンタウイルスの保有状況は明らかではない。これらを検出するために、二次抗体としては抗シカネズミ、Prtein A、抗コトシラット、抗マストミス抗体などが必要となるが、多様な北米、南米、アフリカ大陸のげっ歯類をカバーできるかどうか明らかにする必要がある。アフリカおよび南北アメリカ大陸についても、二次抗体等の検出用試薬の検討を進めてハンタウイルス抗体検出用デバイスを提供できる体制を確立することが必要である。

## 4) 狂犬病

蛍光抗体法によりネグリ小体周囲に LC3 が共局在することが観察され、ネグリ小体を囲む膜がオートファジー由来であることが示唆された。今後、免疫電子顕微鏡法等でより詳細に確認する必要がある。

Trehalose によるオートファジーの誘導においては、1088 株ではウイルス産生の亢進が認められたが、CVS 株では低下していた。この違いはウイルス側の要因、すなわち街上毒(細胞非馴化株)と固定毒(細胞馴化株)の違いによると考えられた。また、Trehalose 処理によりウイルス産生量に変動は認められたが、細胞内ウイルス量に変化はほとんど認められなかったことから、Trehalose はウイルス粒子形成に影響を与えていることが示唆された。しかしながら、Trehalose はオートファジーとは別の機構で狂犬病ウイルスの増殖に影響を与えている可能性については否定できない。



一方、オートファジーの抑制が狂犬病ウイルスの増殖に与える影響については、今回、Atg5 の siRNA によるノックダウンにより検討を行ったが、意味のある結果は得られなかった。これは、siRNA による Atg5 のノックダウン効率がそれほど高くなかったため、オートファジーの抑制が弱かったことによると考えている。これについては、他の分子を標的とすることや shRNA を利用するなどの実験方法を改善する必要があると考えられた。

#### 5) アルボウイルス感染症

トリは自然界における JEV の感染環の重要なメンバーと考えられているが今回の研究結果は、自然界で分離される日本脳炎ウイルスの 99%以上が NS1' を発現していることと合致している。また、感染細胞の観察では NS1' と NS5 が共局在していることから、NS1' が JEV の遺伝子複製に関与し replication complex として RNA 複製を亢進することで、トリ細胞におけるウイルス量の増加をもたらすと考えられた。今後、NS1' の研究を通し、JEV 株の宿主特異性におけるさらに詳細な分子基盤、病原性発現の分子機構を詳細に解明することが期待される。

ベトナムでは4つの血清型のデングウイルスが同時に流行している状況が続いている。ウイルスは地域で独自に進化(変化)を続けている。しかしながらタイ国のデング3型ウイルスがベトナム南部に侵入するなど、おもにヒトの移動により特定のウイルス群の移動と拡大が発生するものと考えられる。デングウイルスが脳炎患者の髄液から分離されたことは、デングウイルスの向神経性の問題であるのか、あるいは宿主側の要因であるかは不明であり今後、検討が必要である。

DENV の都会型における増幅動物はヒトで

あり、媒介蚊への伝播効率はウイルス血症のレベルに依存することから、ヒトの持つ中和抗体や感染増強抗体は DENV の進化に大きな影響を与える。最古に分離された望月株が、抗体誘導に大きく関わる E 上に多くの特徴あるアミノ酸変異をもち、しかもヒトの抗体のターゲットの1つであるドメイン II に多く位置することは興味深い知見である。

#### E. 結論

##### 1) 新興ウイルス感染症

SFTSV 特異的で、近縁のウイルスを検出しないリアルタイム RT-PCR が確立された。本リアルタイム RT-PCR は、マダニ等からの SFTSV 検出に有用と考えられる。

##### 2) ウイルス性下痢症

G2P[4]ウイルスのゲノム全体が過去約40年間にわたり、ダイナミックな変化をしていることは、ワクチンが野生株に与える影響を評価する上での基盤情報として有用である。また、途上国でワクチンの有効性が低い原因が同地で流行している野生のロタウイルス株が先進国と異なるものでないことは、途上国で高い有効性を示すワクチンの改良・開発を進める上での重要な情報となるものと考えられる。

##### 3) ウイルス性出血熱

本研究で作成した ICG を用いることにより、抗体陽性者およびウイルス宿主のスクリーニング効率を大幅に上昇させ、疫学的情報の質を高めることにより、本症のコントロールに貢献すると考えられる。これらの情報に基づいて、今後、アフリカ地区を含めた、地球規模でのハンタウイルス感染症対策に資することができると考えられる。

#### 4) 狂犬病

今回の研究結果より、狂犬病ウイルスの増殖にオートファジーの関与が示唆されたが、狂犬病治療法確立に向けて、今後さらに詳細な研究が必要である。

#### 5) アルボウイルス感染症

日本脳炎ウイルスの自然界での宿主として重要な鳥類において、NS1'がウイルス増殖性に重要な役割をになうことが示された。

デングウイルスは熱帯地域においてそれぞれの地域で変化を続けているが、一部は国を越えて移動し拡大しており、病原性の変遷等について十分なモニタリングを継続する必要がある。

世界最古の分離株である望月株は、塩基配列に基づく従来の系統樹においてはGIに分類されたが、アミノ酸配列に基づけば異なるトポロジーを形成し、特徴のあるアミノ酸変異が比較的多く認められた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Doan YH, Nakagomi T, Aboudy Y, Silberstein I, Behar-Novat E, Nakagomi O, Shulman LM. Identification by full genome analysis of a bovine rotavirus transmitted directly to, and causing diarrhea in a human child. *J Clin Microbiol* 51(1): 182-189, 2013
- 2) Tran TN, Nakagomi T, Nakagomi O. Evidence for genetic reassortment between human rotaviruses by full genome

sequencing of G3P[4] and G2P[4] strains co-circulating in India. *Trop Med Health* 41(1): 13-20, 2013

- 3) Nakagomi T, Doan YH, Dove W, Ngwira B, Iturriza-Gómara M, Nakagomi O, Cunliffe NA. G8 rotaviruses with conserved genotype constellations detected in Malawi over 10 years (1997-2007) display frequent gene reassortment among strains co-circulating in humans. *J Gen Virol* 94(pt 6): 1273-1295, 2013
- 4) Nakagomi T, Kato K, Tsutsumi H, Nakagomi O. The burden of rotavirus gastroenteritis among Japanese children during its peak months: an internet survey. Continued circulation of G12P[6] rotaviruses over 28 months in Nepal: successive replacement of predominant strains. *Jpn J Infect Dis* 66(4): 269-275, 2013
- 5) Gauchan P, Nakagomi T, Sherchand JB, Yokoo M, Pandey BD, Cunliffe NA, Nakagomi O. Continued circulation of G12P[6] rotaviruses over 28 months in Nepal: successive replacement of predominant strains. *Trop Med Health* 41(1): 7-12, 2013
- 6) Amada T, Yoshimatsu K, Yasuda SP, Shimizu K, Koma T, Hayashimoto N, Gamage CD, Nishio S, Takakura A, Arikawa J. Rapid, whole blood diagnostic test for detecting anti-hantavirus antibody

- in rats. *J Virol Methods* 193(1):42-49, 2013
- 7) Nakamura I, Hang'ombe BM, Sawa H, Kobayashi S, Orba Y, Ishii A, Thomas Y, Isozumi R, Yoshimatsu K, Mweene AS, Takada A, Sugimoto C, Arikawa J. Cross-reactivity of secondary antibodies against African rodents and application for sero-surveillance. *J Vet Med Sci* 75(6):819-825, 2013
  - 8) Ibrahim IN, Shimizu K, Yoshimatsu K, Yunianto A, Salwati E, P Yasuda S, Koma T, Endo R, Arikawa J. Epidemiology of hantavirus infection in Thousand Islands regency of Jakarta, Indonesia. *J Vet Med Sci* 75(8):1003-1008, 2013
  - 9) Hossain M, Ahmed K, Marma AS, Hossain S, Ali MA, Shamsuzzaman AK, Nishizono A. A survey of the dog population in rural Bangladesh. *Prev Vet Med* 111(1-2): 134-138, 2013
  - 10) Matsumoto T, Ahmed K, Karunanayake D, Wimalaratne O, Nanayakkara S, Perera D, Kobayashi Y, Nishizono A. Molecular epidemiology of human rabies viruses in Sri Lanka. *Infect Genet Evol* 18: 160-167, 2013.
  - 11) Senba K, Matsumoto T, Yamada K, Shiota S, Iha H, Date Y, Ohtsubo M, Nishizono A. Passive carriage of rabies virus by dendritic cells. *Springerplus* 2:419, 2013.
  - 12) Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, Ishido A, Shigeoka T, Tominaga T, Kamei T, Honda M, Ninomiya D, Sakai T, Senba T, Kaneyuki S, Sakaguchi S, Satoh A, Hosokawa T, Kawabe Y, Kurihara S, Izumikawa K, Kohno S, Azuma T, Suemori K, Yasukawa M, Mizutani T, Omatsu T, Katayama Y, Miyahara M, Ijuin M, Doi K, Okuda M, Umeki K, Saito T, Fukushima K, Nakajima K, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Fukuma A, Ogata M, Shimojima M, Nakajima N, Nagata N, Katano H, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Yamagishi T, Oishi K, Kurane I, Morikawa S, Saijo M. The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *J Infect Dis* 2013 Nov 14. in press
  - 13) Kwallah AO, Inoue S, Muigai AW, Kubo T, Sang R, Morita K, Mwau M. A real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid detection of yellow fever virus. *J Virol Methods* 193(1): 23-27, 2013
  - 14) Ngwe Tun MM, Thant KZ, Inoue S, Kurosawa Y, Lwin YY, Lin S, Aye KT, Thet Khin P, Myint T, Htwe K, Mapua CA, Natividad FF, Hirayama K, Morita K. Serological characterization of dengue virus infections observed among dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome cases in upper Myanmar. *J Med Virol* 85(7): 1258-1266, 2013

- 15) Hayasaka D, Aoki K, Morita K. Development of simple and rapid assay to detect viral RNA of tick-borne encephalitis virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Virology* 10(68), 2013
- 16) Hayasaka D, Shirai K, Aoki K, Nagata N, Simantini DS, Kitaura K, Takamatsu Y, Gould E, Suzuki R, Morita K. TNF- $\alpha$  acts as an immunoregulator in the mouse brain by reducing the incidence of severe disease following Japanese encephalitis virus infection. *PLoS One* 8(8): e71643, 2013
- 17) Thuy NT, Huy TQ, Nga PT, Morita K, Dunia I, Benedetti L. A new nidovirus (NamDinh virus NDiV): Its ultrastructural characterization in the C6/36 mosquito cell line. *Virology* 444(1-2): 337-342, 2013
- 18) Pandey BD, Nabeshima T, Pandey K, Rajendra SP, Shah Y, Adhikari BR, Gupta G, Gautam I, Tun MM, Uchida R, Shrestha M, Kurane I, Morita K. First isolation of dengue virus from the 2010 epidemic in Nepal. *Trop Med Health* 41(3): 103-111, 2013
- 19) Takamatsu Y, Uchida L, Nga PT, Okamoto K, Nabeshima T, Thao DT, Hai do T, Tuyet NT, Duc HM, Luat le X, Hasebe F, Morita K. An approach for differentiating echovirus 30 and Japanese encephalitis virus infections in acute meningitis/encephalitis: a retrospective study of 103 cases in Vietnam. *Virology* 10(280), 2013
- 20) Chagan-Yasutan H, Ndhlovu LC, Lacuesta TL, Kubo T, Leano PS, Niki T, Oguma S, Morita K, Chew GM, Barbour JD, Telan EF, Hirashima M, Hattori T, Dimaano EM. Galectin-9 plasma levels reflect adverse hematological and immunological features in acute dengue virus infection. *J Clin Virology* 58(4): 635-640, 2013
- 21) Do LP, Nakagomi T, Doan YH, Kitahori Y, Nakagomi O. Molecular evolution of the VP7 gene of Japanese G2 rotaviruses before vaccine introduction. *Arch Virology* 159(2): 315-319, 2014
- 22) Yamada K, Noguchi K, Nishizono A. Characterization of street rabies virus variants with an additional *N*-glycan at position 247 in the glycoprotein. *Arch Virology* 159(2): 207-216, 2014.
- 23) Yamada K, Noguchi K, Nishizono A. Efficient *N*-glycosylation at position 37, but not at position 146, in the street rabies virus glycoprotein reduces pathogenicity. *Virus Res* 179: 169-176, 2014.
- 24) Takamatsu Y, Okamoto K, Dinh DT, Yu F, Hayasaka D, Uchida L, Nabeshima T, Buerano CC, Morita K. NS1' protein expression facilitates production of Japanese encephalitis virus in avian cells and embryonated chicken eggs. *J Gen*

- Virol 95(Pt 2): 373-383, 2014
- 25) 下島昌幸, 福士秀悦, 谷 英樹, 吉河智城, 森川 茂, 西條政幸. 日本における重症熱性血小板減少症候群. ウイルス 63: 7-12, 2013
  - 26) 森田公一. デング熱と vector-borne diseases. 化学療法の領域 29(8): 25-32, 2013
  - 27) 森田公一. デング熱. 臨床と研究 90(12): 18-22, 2013
  - 28) 森川 茂. 重症熱性血小板減少症候群. 獣疫学雑誌 17(2): 142-143, 2014
  - 29) 森田公一. デング熱の世界的な流行と予防対策に関する将来的展望. 化学療法の領域 30 (2): 275-281, 2014
2. 学会発表
- 1) Arikawa J, Amada T, Yoshimatsu K, Hayashimoto N, Koma T, Shimizu K, Gamage CD, Shiokawa K, Nishio S, Ahlm C, Takakura A. Development of an immunochromatography strip test for detecting anti-hantavirus antibody in rodent and human sera by using an N-terminal common antigenic site of hantavirus N protein. IX International Conference on HFRS HPS & Hantaviruses, Beijing, China, June 5-7, 2013
  - 2) Arikawa J, Koma T, Yoshimatsu K, Nagata N, Sato Y, Shimizu K, Amada T, Nishio S, Hasegawa H. Role of neutrophils in the induction of pulmonary edema during hantavirus infection in C.B-17Scid mice. 15th International negative strand virus meeting, Granada, Spain, June 16-21, 2013
  - 3) Nakagomi O, Alam MM, Pun SB, Gauchan P, Yokoo M, Doan YH, Tran TN, Nakagomi T, Pandey BD. The first identification of Rotavirus B from children and adults with acute diarrhoea in Kathmandu, Nepal. Vaccines for Enteric Diseases (VED 2013), Bangkok, Thailand, November 6-8, 2013
  - 4) Nakagomi T, Nakagomi O. Estimating the risk of intussusceptions during the first week after the first dose of the monovalent human rotavirus vaccine to Japanese infants 6-20 weeks of age. Vaccines for Enteric Diseases (VED 2013), Bangkok, Thailand, November 6-8, 2013
  - 5) Doan YH, Nakagomi T, Nakagomi O. Molecular evolution of G2 rotavirus detected in Japan between 1980 and 2011. Vaccines for Enteric Diseases (VED 2013), Bangkok, Thailand, November 6-8, 2013
  - 6) Doan YH, Nakagomi T, Minh NB, Yamashiro T, Anh DD, Nakagomi O. Whole genome characterization of rotavirus strains circulating during a clinical trial of human rotavirus vaccine in Nha Trang, Vietnam. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections, Sendai, January

20-22, 2014

- 7) Nguyen TT, Nabeshima T, Posadas-Herrera G, Dang DT, Alonzo MT, Suarez LA, Mya TN, Nguyen HK, Pham LL, Le MQ, Buerano CC, Natividad FF, Hasebe F, Morita K. Changing Pattern of DENV Serotypes in Vietnam. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections, Sendai, January 20-22, 2014
- 8) Thuong NV, Lan PT, Thanh CL, Thang CM, Nhon MT, Nhung HT, Mai NT, Truong NQ, Ngu TT, Quoc DK, Ngoc Ha NT, Huy NT, Ton T, Kikuchi M, Quang LC, An TV, Huong QT, Morita K, Hirayama K. Cell-mediated immunity in dengue virus infection – Increase of activated Th1 and CD8 effector T cells on Day -1 of defervescence indicates protection against severe form of dengue. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections, Sendai, January 20-22, 2014
- 9) Toda M, Njeru I, Tipo SO, Kareko D, Mwau M, Inoue S, Ichinose Y, Morita K. Establishing a disease outbreak alert system in Kenya: Findings from the baseline survey. Asian-African Research Forum on Emerging and Reemerging Infections, Sendai, January 20-22, 2014
- 10) 大城亮作, 中込とよ子, 中込治. 成人の急性下痢症におけるロタウイルス A の陽性割合 : a systematic review. 第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市, 2013 年 6 月 8~9 日
- 11) 西村直子, 野口篤子, 伊藤陽里, 辰巳正純, 大場邦弘, 中込治, 中込とよ子, 藤井克樹, 片山和彦. 我が国で流行したロタウイルスの遺伝子型の全国分布 (2012 年). 第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市, 2013 年 6 月 8~9 日
- 12) 藤井克樹, 村上耕介, 戸高玲子, 中込とよ子, 中込治, 片山和彦. ゲノム遺伝子型構成解析による網羅的ロタウイルス分子疫学基盤構築. 第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市, 2013 年 6 月 8~9 日
- 13) 中込とよ子, 中込治. インドで分離された G3P[4]株 107E1B および G2P[4]116E3D の全ゲノム解析. 第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市, 2013 年 6 月 8~9 日
- 14) 中込治, 中込とよ子. 連続して流行する同一の遺伝子型 (G12P[6]) 内のロタウイルス株の進化: ネパールでの分子疫学的観察. 第 54 回日本臨床ウイルス学会, 倉敷市, 2013 年 6 月 8~9 日
- 15) 山田健太郎, 野口賀津子, 西園晃. 狂犬病ウイルス街上毒 N 型糖鎖付加変異株の性状解析. 第 66 回日本細菌学会九州支部総会 第 50 回日本ウイルス学会九州支部総会, 長崎市, 2013 年 9 月 6~7 日
- 16) Ernest W. Apondi, Koki Taniguchi, Satoshi Komoto, Yoshimasa Maeno,

- Mitsutaka Wakuda, Mohammad Shah, Kouichi Morita, Yoshio Ichinose. Detection and molecular characterization of rotavirus strains from diarrhoeal children in Kiambu, Kenya, between 2009 and 2011. 第 66 回日本細菌学会九州支部総会 第 50 回日本ウイルス学会九州支部総会, 長崎市, 2013 年 9 月 6~7 日
- 17) 青木康太郎, 早坂大輔, Mya Myat Ngwe, 嶋田聡, 森田公一. 日本脳炎ウイルス感染マウスにおける感染量とインターフェロン応答の分析. 第 66 回日本細菌学会九州支部総会 第 50 回日本ウイルス学会九州支部総会, 長崎市, 2013 年 9 月 6~7 日
- 18) 君付和範, 小宮拓巳, 井上 智, 山田健太郎, 西園晃, 朴天鎬. 狂犬病ウイルス(1088-N0)を後肢筋肉内に接種したヌードマウスの中樞神経系および末梢組織病変. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 19) 小宮拓巳, 山田健太郎, 君付和範, 井上智, 西園晃, 朴天鎬. 狂犬病ウイルス(1088-N4#14)に感染後耐過した ddY マウスの中樞神経系に関する病理学的研究. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 20) 山田健太郎, 野口賀津子, 西園晃. G 蛋白質第 37 位への N 型糖鎖の効率的な付加は狂犬病ウイルス街上毒の病原性を低下させる. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 21) 前田健, 高橋徹, 奥田優, 水谷哲也, 山岸拓也, 森川茂, 下島昌幸, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスの分離・同定. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 22) 森川茂, 木村昌伸, 福士秀悦, 加来義浩, 朴ウンシル, 鈴木道雄, 井上智, 今岡浩一, 柳井徳磨, 下島昌幸, 西條政幸, 前田健. 動物の SFTS ウイルス抗体調査. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 23) Nguyen Dung, 下田宙, 濱崎千菜美, 寺田農, 野口慧多, 鋤田流星, 高野愛, 森川茂, 前田健. 飼育犬から重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスと交差する抗体の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 24) 谷口怜, 福士秀悦, Joseph Masangkay, 渡辺俊, 大松勉, 下田宙, 前田健, 下島昌幸, 西條政幸, 明石博臣, 吉川泰弘, 久和茂, 森川茂. フィリピンのコウモリからの SFTS ウイルスと交差する抗体の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日
- 25) 宇田晶彦, 福士秀悦, 加来義浩, 吉河智城, 下島昌幸, 新倉綾, 安藤秀二, 川端寛樹, 高野愛, 前田健, 藤田博己, 澤邊京子, 西條政幸, 森川茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出. 第 156 回日本獣医学会学術集会, 岐阜市, 2013 年 9 月 20~22 日

- 26) Doan Hai Yen, Punita Gauchan, 中込とよ子, 中込治. Continued circulation of multiple G2 strains with virtually identical VP7 genes before vaccine introduction in Nepal. 第 54 回日本熱帯医学会大会, 長崎市, 2013 年 10 月 3~5 日
- 27) Tran T. Lan Anh, 吉田レイミント, 中込とよ子, Punita Gauchan, 有吉紅也, Dang Duc Anh, 中込治, Vu Dinh Thiem. A high incidence of intussusception revealed by a retrospective hospital-based study in Nha Trang, Vietnam between 2009 and 2011. 第 54 回日本熱帯医学会大会, 長崎市, 2013 年 10 月 3~5 日
- 28) Doan Hai Yen, 中込とよ子, 中込治. わが国で検出された G2 ロタウイルス株の全ゲノムレベルでの分子進化解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 29) 中込とよ子, 中込治. Super-short pattern をもつ特異なヒトロタウイルス AU19 の全ゲノムレベルでの解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 30) 中込治, 中込とよ子. ネパールにおけるロタウイルス B の分子疫学. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 31) 山田健太郎, 野口賀津子, 西園晃. 狂犬病ウイルス街上毒において G 蛋白質第 37 位への N 型糖鎖の効率的な付加は末梢感染後の病原性を低下させる. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 32) 吉河智城, 福士秀悦, 谷英樹, 宇田晶彦, 谷口怜, 福間藍子, 前田健, 高橋徹, 森川茂, 下島昌幸, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の確定診断に使用されているコンベンショナル PCR の評価, 及びリアルタイム定量 PCR との比較. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 33) 福間藍子, 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 谷口怜, 下島昌幸, 森川茂, 前田健, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の血清学的診断法の開発. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 34) 西條政幸, 高橋徹, 前田健, 水谷哲也, 大松勉, 吉河智城, 谷英樹, 福士秀悦, 下島昌幸, 福間藍子, 緒方もも子, 鈴木忠樹, 中島典子, 片野晴隆, 永田典代, 長谷川秀樹, 山岸拓也, 倉根一郎, 森川茂. 後方視的に重症熱性血小板減少症候群と診断された 11 名のウイルス学的・臨床的・疫学的研究. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 35) 森川茂, 木村昌伸, 福士秀悦, 福間藍子, 加来義浩, 朴ウンシル, 谷英樹, 吉河智城, 井上智, 今岡浩一, 下島昌幸, 西條政幸, 前田健. SFTS ウイルス抗体陽性動物の調査. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日



- 36) 谷口怜, 福士秀悦, Joseph Masangkay, 渡辺俊平, 大松勉, 下田宙, 前田健, 福間藍子, 吉河智城, 谷英樹, 下島昌幸, 西條政幸, 明石博臣, 吉川泰弘, 久和茂, 森川茂. フィリピンのコウモリからの重症熱性血小板減少症候群ウイルスに反応する抗体の検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 37) 宇田晶彦, 福士秀悦, 加来義浩, 吉河智城, 下島昌幸, 新倉綾, 井上智, 安藤秀二, 前田健, 西條政幸, 森川茂. マダニからの SFTS ウイルス遺伝子の検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 38) 谷英樹, 下島昌幸, 福間藍子, 谷口怜, 吉河智城, 福士秀悦, 森川茂, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群ウイルス GP を外套したシュードタイプ VSV の作製. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 39) 高橋徹, 亀井敏昭, 前田健, 水谷哲也, 下島昌幸, 福士秀悦, 谷英樹, 吉河智城, 森川茂, 長谷川秀樹, 中島典子, 鈴木忠樹, 永田典代, 片野晴隆, 山岸拓也, 大石和徳, 西條政幸. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)の日本における初症例. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 40) 前田健, 濱崎千菜美, 久保翔太郎, 遠藤泰之, 寺田農, 鋏田流星, 高野愛, 下田宙, 森川茂. 国内飼育犬から重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスに対する抗体の検出. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 41) 余福勲, Ferdinard Adungo, 内田玲麻, 井上真吾, 森田公一. Preparation of genetically-engineered antigen of RVF virus for development of antibody-detecting diagnostic test kits. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 42) 早坂大輔, 青木康太郎, Mya Myat Ngwe Tun, 嶋田聡, 森田公一. 日本脳炎ウイルス感染マウスにおける感染量とインターフェロン応答の解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 43) 高松由基, 岡本健太, Dihn Tuan Duc, 余福勲, 早坂大輔, 内田玲麻, 鍋島武, Corazon C Buerano, 森田公一. 日本脳炎ウイルスの NS1'タンパク質は、鳥細胞でのウイルス産生を増加させる. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 44) 安倍智子, 左一八, 梅原薫, Sabaratnam S. Vikineswary, 森田公一, 野口博司, 鈴木隆. オオヒラタケ熱水抽出物によるデングウイルス感染阻害. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日
- 45) Mya Myat Ngwe Tun, Daisuke Hayasaka, Kotaro Aoki, Masachika Senba, Kenji Shirai, Ryuji Suzuki, Kouichi Morita.

TNF- $\alpha$  and IL-10 reduce the incidence of mortality in mice following tick-borne encephalitis virus infection. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸市, 2013 年 11 月 10~12 日

クチン学会学術集会, 津市, 2013 年 11 月 30 日~12 月 1 日

- 46) 中込とよ子, 中込治, 堤裕幸, 加藤一也.  
アンケート調査により得た直接非医療費と生産性損失に基づくロタウイルスワクチン予防接種の費用対効果. 第 17 回日本ワ

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

(新興ウイルス感染症分野)

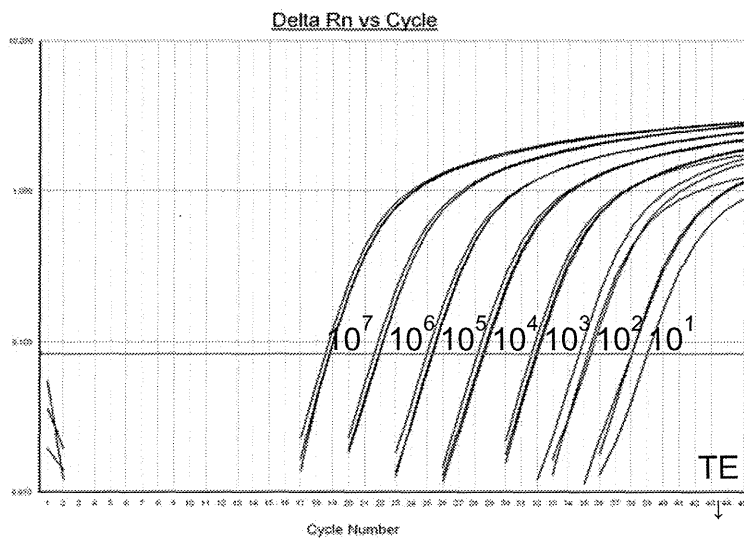
表 1. SFTSV 特異的リアルタイム RT-PCR に用いるプライマーとプローブ

SFTSV-S2-237s: GCAACAAGATCGTCAAGGCATCAGG

SFTSV-S2-400a: TGCTGCAGCACATGTCCAAGTGG

SFTSV-S2-317MGB (FAM 標識): CTGGTTGAGAGGGCA

図 1. MGB probe によるリアルタイム RT-PCR の SFTSV 検出感度



1 0 コピーの SFTSV が検出可能であり、1 FFU の感染価のウイルスが検出される。

図 2. SFTSV と近縁なウイルスとその分布

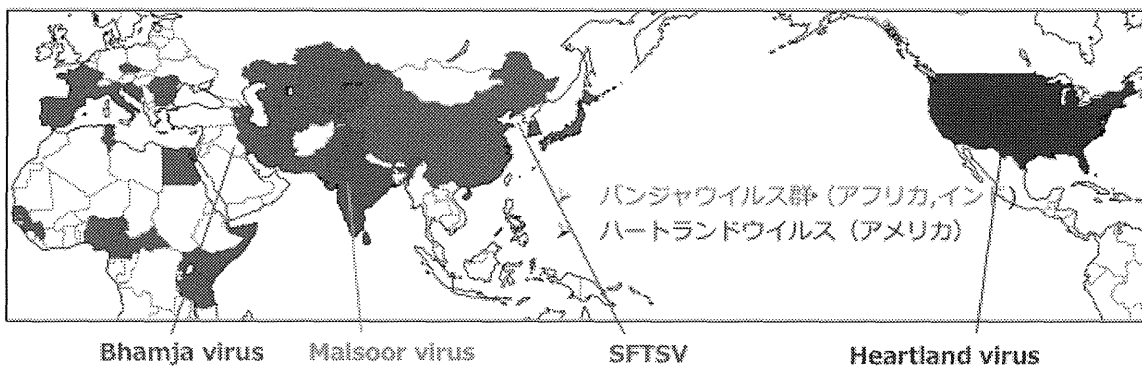


図 3. SFTSV と近縁なウイルスの SFTSV 特異的リアルタイム RT-PCR 標的領域の塩基配列の比較

リアルタイム RT-PCR 増幅領域	SFTSV-237s primer	
		SFTSV-52-466s
SFTS virus strain Y81	.....A.S.A...GT.C.E...T.GAAA.CS.G...A..CAAAC.GGCTAGAGTC...A... .....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Haartland virus isolate Patient1	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Shanxi virus strain INK2789	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Shanxi virus strain IN288	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Shanxi virus strain K-1819	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Malsoor virus strain NIV1050650	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Palma virus strain Po714.92	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Forecariah virus strain DakArk4927	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
SFTS virus strain Y81	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Haartland virus isolate Patient1	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Shanxi virus strain INK2789	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Shanxi virus strain IN288	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Shanxi virus strain K-1819	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Malsoor virus strain NIV1050650	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Palma virus strain Po714.92	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...
Forecariah virus strain DakArk4927	.....A.GTC...CAGC.CT.G...G.AAGC.TGAG.CT.AC...A..C..A.G.CE...CC.A...	.....AAG....AT..T.TTGA...AA.GG.TG.S.A.A...A....C...T...G.A.C...C.....T...

Malsoorウイルスは西インドのオオコウモリから分離された近縁ウイルス