

201420014A-B

病原体解析手法の高度化による効率的な
食品由来感染症探知システムの構築に関する研究

(課題番号：H24-新興-一般-005)

平成 26 年度 総括・研究分担報告書
及び

平成 24～26 年度 総合研究報告書

(厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業))

研究代表者 泉谷 秀昌

国立感染症研究所 細菌第一部

平成 27(2015)年 3月

目次

1. 平成 26 年度総括研究報告書

病原体解析手法の高度化による

効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究…………… 1

研究代表者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所

2. 平成 26 年度分担研究報告書

グループ 1：細菌

(I) 国立医薬品食品衛生研究所・国立感染症研究所

a) 病原体解析手法の高度化による

効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究…………… 15

研究分担者 寺嶋 淳 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 石原 朋子 国立感染症研究所

伊豫田 淳 国立感染症研究所

泉谷 秀昌 国立感染症研究所

地方衛生研究所

b) 国内分離 0157:H7 の系統解析に関する研究…………… 22

研究分担者 伊豫田 淳 国立感染症研究所

研究協力者 勢戸 和子 大阪府立公衆衛生研究所

木全 恵子 富山県衛生研究所

磯部 順子 富山県衛生研究所

江藤 良樹 福岡県保健環境研究所

市原 祥子 福岡県保健環境研究所

右田 雄二 長崎県環境保健研究センター

緒方喜久代 大分県衛生環境研究センター

本田己喜子 福岡市保健環境研究所

久保田 勉 北九州市環境科学研究所

河野喜美子 宮崎県衛生環境研究所

松本 一俊 熊本県食肉衛生検査所

久高 潤 沖縄県衛生環境研究所

浅井 紀夫 京都府保健環境研究所

矢端 順子 山口県環境保健センター

富永 潔 山口県環境保健センター

寺嶋 淳 国立医薬品食品衛生研究所

石原 朋子 国立感染症研究所

泉谷 秀昌 国立感染症研究所

小椋 義俊 宮崎大学

齊藤 剛仁 国立感染症研究所

| | |
|----------------------|--------------|
| 井口 純 | 宮崎大学 |
| 小林 秀樹 | 動物衛生研究所 |
| 工藤由起子 | 国立医薬品食品衛生研究所 |
| 大西 真 | 国立感染症研究所 |
| EHEC ワーキンググループ (詳細略) | |

(II) 北海道・東北・新潟ブロック

a) 病原体解析手法の高度化による

効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究…………… 28

| | | |
|-------|-------|---------------|
| 研究分担者 | 八柳 潤 | 秋田県健康環境センター |
| 研究協力者 | 池田 徹也 | 北海道立衛生研究所 |
| | 坂本裕美子 | 札幌市保健福祉局衛生研究所 |
| | 武沼 浩子 | 青森県環境保健センター |
| | 福田 理 | 青森県環境保健センター |
| | 岩渕 香織 | 岩手県環境保健研究センター |
| | 瀬戸 順次 | 山形県衛生研究所 |
| | 鈴木 裕 | 山形県衛生研究所 |
| | 山口 友美 | 宮城県保健環境センター |
| | 坂本 宣子 | 仙台市衛生研究所 |
| | 菊地 理慧 | 福島県衛生研究所 |
| | 川瀬 雅雄 | 新潟県保健環境科学研究所 |
| | 足立 玲子 | 新潟市衛生環境研究所 |

b) 黄色ブドウ球菌に汚染された錦糸たまごが関連した食中毒事例…………… 38

| | | |
|-------|-------|--------------|
| 研究協力者 | 川瀬 雅雄 | 新潟県保健環境科学研究所 |
| | 猪又明日香 | 新潟県保健環境科学研究所 |
| | 木村 有紀 | 新潟県保健環境科学研究所 |
| | 細谷美佳子 | 新潟県保健環境科学研究所 |
| | 紫竹美和子 | 新潟県保健環境科学研究所 |
| | 榎田 瑞恵 | 新潟県新発田保健所 |
| | 今野 遥子 | 新潟県新発田保健所 |
| | 村山 晶子 | 新潟県新発田保健所 |
| | 昆 美也子 | 新潟県新発田保健所 |

c) 馬刺しを原因食品とした腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例…………… 41

| | | |
|-------|-------|----------|
| 研究協力者 | 菊地 理慧 | 福島県衛生研究所 |
| | 富田 望 | 福島県衛生研究所 |
| | 菅野 奈美 | 福島県衛生研究所 |
| | 二本松久子 | 福島県衛生研究所 |

| | |
|-------|----------|
| 小黒 祐子 | 福島県衛生研究所 |
| 吉田 学 | 福島県衛生研究所 |
| 笹原 賢司 | 福島県衛生研究所 |

(Ⅲ) 関東・甲・信・静岡ブロック

関東ブロックで分離された食中毒起因菌の分子疫学解析法の検討と

PFGE 法の精度管理・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 45

| | | |
|-------|-------|---------------|
| 研究分担者 | 甲斐 明美 | 東京都健康安全研究センター |
| 研究協力者 | 山城 彩花 | 茨城県衛生研究所 |
| | 桐谷 礼子 | 栃木県保健環境センター |
| | 松井 重憲 | 群馬県衛生環境研究所 |
| | 倉園 貴至 | 埼玉県衛生研究所 |
| | 平井晋一郎 | 千葉県衛生研究所 |
| | 古川 一郎 | 神奈川県衛生研究所 |
| | 松本 裕子 | 横浜市衛生研究所 |
| | 植松 香星 | 山梨県衛生環境研究所 |
| | 関口 真紀 | 長野県環境保全研究所 |
| | 松橋 平太 | 静岡県環境衛生科学研究所 |
| | 小西 典子 | 東京都健康安全研究センター |
| | 齊木 大 | 東京都健康安全研究センター |
| | 尾畑 浩魅 | 東京都健康安全研究センター |
| | 貞升 健志 | 東京都健康安全研究センター |

(Ⅳ) 東海・北陸ブロック

研究分担 東海・北陸地方11施設（地方衛生研究所及び衛生試験所）による

IS printing Systemデータベースへの登録及び

パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）等活用状況調査・・・・・・・・・・・・・・・・ 51

| | | |
|-------|-------|-------------|
| 研究分担者 | 松本 昌門 | 愛知県衛生研究所 |
| 研究協力者 | 鈴木 匡弘 | 愛知県衛生研究所 |
| | 山田 和弘 | 愛知県衛生研究所 |
| | 北川恵美子 | 石川県保健環境センター |
| | 野田万希子 | 岐阜県保健環境研究所 |
| | 土屋美智代 | 岐阜市衛生試験所 |
| | 木全 恵子 | 富山県衛生研究所 |
| | 中根 邦彦 | 岡崎市総合検査センター |
| | 新名由季子 | 福井県衛生研究所 |
| | 永井 佑樹 | 三重県保健環境研究所 |
| | 藪谷 充孝 | 名古屋市衛生研究所 |
| | 多和田光紀 | 豊田市衛生試験所 |
| | 山本 新也 | 豊橋市保健所衛生試験所 |

(V) 近畿ブロック

近畿ブロックにおける病原体解析手法の高度化による

効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 65

| | | |
|-------|-------|----------------|
| 研究分担者 | 勢戸 和子 | 大阪府立公衆衛生研究所 |
| 研究協力者 | 梅原 成子 | 滋賀県衛生科学センター |
| | 河野 智美 | 滋賀県衛生科学センター |
| | 浅井 紀夫 | 京都府保健環境研究所 |
| | 平田 佐知 | 京都府保健環境研究所 |
| | 清水 麻衣 | 京都市衛生環境研究所 |
| | 荻田 堅一 | 兵庫県立健康生活科学研究所 |
| | 濱 夏樹 | 神戸市環境保健研究所 |
| | 高澤木綿子 | 姫路市環境衛生研究所 |
| | 村山隆太郎 | 尼崎市衛生研究所 |
| | 中村 寛海 | 大阪市立環境科学研究所 |
| | 下迫 純子 | 堺市衛生研究所 |
| | 岩崎 直昭 | 堺市衛生研究所 |
| | 田辺 純子 | 奈良県保健研究センター |
| | 辻本 真弓 | 奈良県保健研究センター |
| | 阿部 剛士 | 奈良県保健研究センター |
| | 廣岡真理子 | 和歌山市衛生研究所 |
| | 中岡加陽子 | 和歌山県環境衛生研究センター |
| | 田口 真澄 | 大阪府立公衆衛生研究所 |
| | 原田 哲也 | 大阪府立公衆衛生研究所 |
| | 河原 隆二 | 大阪府立公衆衛生研究所 |

(VI) 中国・四国ブロック

a) 病原体解析手法の高度化による

効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 78

| | | |
|-------|-------|---------------------|
| 研究分担者 | 中嶋 洋 | 岡山県環境保健センター |
| 研究協力者 | 川上 優太 | 島根県保健環境科学研究所 |
| | 川瀬 遵 | 島根県保健環境科学研究所 |
| | 大島 律子 | 岡山県環境保健センター |
| | 河合 央博 | 岡山県環境保健センター |
| | 檀上 博子 | 岡山県環境保健センター |
| | 山田 裕子 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |
| | 増田加奈子 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |
| | 今井 佳積 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |
| | 田内 敦子 | 広島市衛生研究所 |
| | 千神 彩香 | 広島市衛生研究所 |

| | |
|-------|----------------|
| 築地 裕美 | 広島市衛生研究所 |
| 児玉 実 | 広島市衛生研究所 |
| 石村 勝之 | 広島市衛生研究所 |
| 野村 恭晴 | 山口県環境保健センター |
| 亀山 光博 | 山口県環境保健センター |
| 矢端 順子 | 山口県環境保健センター |
| 富永 潔 | 山口県環境保健センター |
| 石田 弘子 | 徳島県立保健製薬環境センター |
| 小山絵理子 | 徳島県立保健製薬環境センター |
| 嶋田 啓司 | 徳島県立保健製薬環境センター |
| 福田千恵美 | 香川県環境保健研究センター |
| 仙波 敬子 | 愛媛県立衛生環境研究所 |
| 木村千鶴子 | 愛媛県立衛生環境研究所 |
| 金山 知代 | 高知県衛生研究所 |

b) 島根県における IS printing 法による

腸管出血性大腸菌0157の分子疫学解析の有用性の検討.....100

| | | |
|-------|-------|--------------|
| 研究協力者 | 川上 優太 | 島根県保健環境科学研究所 |
| | 川瀬 遵 | 島根県保健環境科学研究所 |

c) 広島県で分離された腸管出血性大腸菌0157, 026, 0111における

分子疫学的解析法の検討.....103

| | | |
|-------|-------|---------------------|
| 研究協力者 | 山田 裕子 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |
| | 増田加奈子 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |
| | 今井 佳積 | 広島県立総合技術研究所保健環境センター |

d) VT1産生腸管出血性大腸菌026:H11株の分子疫学的解析.....111

| | | |
|-------|-------|----------|
| 研究協力者 | 田内 敦子 | 広島市衛生研究所 |
| | 千神 彩香 | 広島市衛生研究所 |
| | 築地 裕美 | 広島市衛生研究所 |
| | 児玉 実 | 広島市衛生研究所 |
| | 石村 勝之 | 広島市衛生研究所 |

e) 2014年に山口県内で多発した腸管出血性大腸菌026感染症の分子疫学的解析.....115

| | | |
|-------|-------|-------------|
| 研究協力者 | 亀山 光博 | 山口県環境保健センター |
| | 矢端 順子 | 山口県環境保健センター |
| | 野村 恭晴 | 山口県環境保健センター |
| | 富永 潔 | 山口県環境保健センター |

| | |
|---------------------------------------|----------------------|
| f) 徳島県で発生したカンピロバクター属菌事例における分子疫学解析について | 121 |
| 研究協力者 | 石田 弘子 徳島県立保健製薬環境センター |
| | 小山絵理子 徳島県立保健製薬環境センター |
| | 嶋田 啓司 徳島県立保健製薬環境センター |

(VII) 九州ブロック

| | |
|--|-----|
| a) 九州地区における効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究 —IS型別データベースの運用、EHEC検出状況、精度管理（ISPS、PFGE）及び 集団発生事例の解析— | 124 |
|--|-----|

| | | |
|-------|-------|---------------|
| 研究分担者 | 世良 暢之 | 福岡県保健環境研究所 |
| 研究協力者 | 麻生嶋七美 | 福岡市保健環境研究所 |
| | 藤田 景清 | 北九州市環境科学研究所 |
| | 吉武 俊一 | 佐賀県衛生薬業センター |
| | 浦山みどり | 長崎県環境保健研究センター |
| | 江原 裕子 | 長崎市保健環境試験所 |
| | 緒方喜久代 | 大分県衛生環境研究センター |
| | 古川 真斗 | 熊本県保健環境科学研究所 |
| | 杉谷和加奈 | 熊本市環境総合センター |
| | 黒木真理子 | 宮崎県衛生環境研究所 |
| | 穂積 和佳 | 鹿児島県環境保健センター |
| | 高良 武俊 | 沖縄県衛生環境研究所 |
| | 村上 光一 | 福岡県保健環境研究所 |
| | 西田 雅博 | 福岡県保健環境研究所 |
| | 江藤 良樹 | 福岡県保健環境研究所 |
| | 前田詠里子 | 福岡県保健環境研究所 |
| | 岡元 冬樹 | 福岡県保健環境研究所 |

| | |
|-----------------------------|-----|
| b) 北九州市内の幼稚園で集団発生した細菌性赤痢の状況 | 134 |
|-----------------------------|-----|

| | | |
|-------|-------|-------------|
| 研究協力者 | 藤田 景清 | 北九州市環境科学研究所 |
| | 中村 悦子 | 北九州市環境科学研究所 |
| | 徳崎 里美 | 北九州市環境科学研究所 |
| | 齊藤 寛 | 北九州市環境科学研究所 |

| | |
|--------------------------------------|-----|
| c) 非典型的な生化学的性状を示す腸管出血性大腸菌O111の集団感染事例 | 138 |
|--------------------------------------|-----|

| | | |
|-------|-------|------------|
| 研究協力者 | 高良 武俊 | 沖縄県衛生環境研究所 |
| | 岡野 祥 | 沖縄県衛生環境研究所 |
| | 新垣 絵理 | 沖縄県衛生環境研究所 |
| | 久高 潤 | 沖縄県衛生環境研究所 |

| | |
|-------|-----------|
| 池田 勉 | 沖縄県八重山保健所 |
| 宮城 雄一 | 沖縄県八重山保健所 |
| 大屋 記子 | 沖縄県八重山保健所 |

グループ 2 : ウイルス

| | |
|---|------------------------|
| (I) 下痢症ウイルスの総合データベース構築総括..... | 142 |
| 研究分担者 | 片山 和彦 国立感染症研究所 |
| | 鈴木 善幸 名古屋市立大学大学院 |
| | 三瀬 敬治 札幌医科大学 |
| | 芳賀 慧 国立感染症研究所 |
| 研究協力者 | デニス フランシス・エコー ガーナ野口研究所 |
| (II) ロタウイルスのRNA-PAGE泳動パターンによる流行株分類法の検討..... | 153 |
| 研究分担者 | 藤井 克樹 国立感染症研究所 |
| | 片山 和彦 国立感染症研究所 |
| (III) ノロウイルスタンパク質の構造解析..... | 159 |
| 研究分担者 | 朴 三用 横浜市立大学 |
| | 朴 英斌 国立感染症研究所 |
| 3. 研究成果の刊行に関する一覧表 (平成 26 年度) | 164 |

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

平成 26 年度総括研究報告書

病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システム
の構築に関する研究

研究代表者 泉谷秀昌 国立感染症研究所細菌第一部第二室長

研究要旨：

食品由来感染症に由来するウイルスや細菌の解析情報は、疫学情報とともに、原因究明や事例拡大を阻止するうえで重要な因子である。腸管出血性大腸菌（EHEC）のクレード解析ならびに病原因子の解析から、溶血性尿毒症症候群の発症リスクが高いクレードと毒素型の組み合わせが示唆された。平成 23 年度までの厚生労働科学研究事業で、ネットワーク上で病原体のデータベースを利用するシステム、パルスネットの構築を進めた。BioNumerics server を利用したパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）のデータベース構築を継続した。腸管出血性大腸菌（EHEC）0157 の解析では、IS-printing system（IS 法）のオンラインデータベース化を行い、6 ブロック研究分担者からのデータ登録ができるシステムを構築し、運営にあたっての問題点を改修した。EHEC 0157、026、0111 に関しては multilocus variable-number tandem-repeat analysis（MLVA）による本格的な解析を開始した。

一方、ウイルスでは、前期厚生労働科学研究事業で構築したカリシウェブの運用を継続しているが、構造生物学とウイルスタンパク質の機能解析と分子疫学を融合させ、単なる直鎖状の配列ばかりでなく、立体構造のデータ、タンパク質の機能データも加味した分子疫学データベースツールである、GatVirusWeb（GVW）の構築を目指している。今年度はヒトノロウイルス（HuNoV）GII.3 U201 株の RNA dependent RNA polymerase（RdRp）の構造解析に初めて成功した。ロタウイルス RNA-PAGE のバンドパターンの蓄積から、泳動パターンのフィッティング解析によって算出される相関係数を用いた株分類法の開発を行った。GVW はこうした腸管系ウイルスに関する統合データベース機能とともに、フォーラムを通じた情報共有ツールとしてカリシウェブにかわる機能を目指している。

| | | |
|---------------------|------|----------------|
| 研究分担者 | 勢戸和子 | （大阪府公衆衛生研究所） |
| グループ 1： | 中嶋 洋 | （岡山県環境保健センター） |
| 八柳 潤（秋田県健康環境センター） | 世良暢之 | （福岡県保健環境研究所） |
| 甲斐明美（東京都健康安全研究センター） | 伊豫田淳 | （国立感染症研究所） |
| 松本昌門（愛知県衛生研究所） | 寺嶋 淳 | （国立医薬品食品衛生研究所） |

研究協力者：石原朋子（感染研）、および各地方衛生研究所等関係者（各研究分担報告書を参照）

グループ 2：

片山和彦（国立感染症研究所）

村上耕介（国立感染症研究所）

藤井克樹（国立感染症研究所）

朴英斌（国立感染症研究所）

三瀬敬治（札幌医科大学）

鈴木善幸（名古屋市立大学）

朴三用（横浜市立大学）

佐藤裕徳（国立感染症研究所）

研究協力者：芳賀 慧（国立感染症研究所ウイルス第二部）、デニス フランシス・エコー（ガーナ野口研究所）

A. 研究目的

食品由来感染症の原因病原体となるウイルスや細菌の遺伝学的解析方法について検討し、高度な解析能を有する手法に基づく病原体対解析を行い、原因解明のために解析結果を共有して当該感染症の予防や制御に資する情報ネットワークを構築することを目的とする。原因病原体の解析データと疫学情報を含むデータベースをオンラインで利用することにより、食品由来感染症の発生に即応できる情報を提供できる体制を構築する。

B. 研究方法

対象となる病原体別に本研究班を 1) 細菌、2) ウイルスの二グループに分け、それぞれの班を中心に病原体検査法の開発、評価及びネットワークの構築を行う。各グループでの研究方法について以下に述べる。

1) 細菌グループ； a) 日本全国の地方衛生研究所（地研）を 6 ブロックに分け、各ブ

ロック内の地研で分離菌株（腸管出血性大腸菌 0157 等）に対する PFGE 解析及び 0157 については IS-pringint system（IS 法）の精度管理を継続した。b) 平成 22 年度に立ち上げた BioNumerics サーバーの環境整備を継続した。クライアント PC の OS アップグレードなど、PFGE 画像の解析ソフトウェアである BioNumerics (BN) を介した、全国 6 ブロックの研究分担者によるオンラインで BN サーバーアクセス体制を整備した。c) EHEC 0157 の IS 法オンラインデータベースに関しては、平成 23 年度までの厚生労働科学研究事業で構築してきたデータベースを基盤に、より実用に向けた改修を行い、分担研究者からのデータ収集が行いやすいように改修した。d) 分担研究者の統括ブロックにおいて、発生事例に応用した PFGE 或いは IS 法によるデータベース構築を継続した。e) EHEC 0157、026、0111 に関して multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) による解析の運用を開始した。f) それに伴い、地研で MLVA を実施するためのプロトコールおよびコントロール DNA の調製などを行った。g) PFGE、IS 法等の得られた結果を迅速に共有するため、電子メール配信および食中毒調査システム (NESFD) 掲示板を使用した。h) EHEC 0157 分離株のうち、HUS 患者由来株および無症状保菌者由来株を選定し、mismatch amplification mutation assay (MAMA)-PCR によりクレード 8 型別を行った。それ以外のクレードについては 32 カ所の SNP を調べた。統計解析はカイ二乗検定またはフィッシャーの正確性検定を使用した。

2) ウイルスグループ；

HuNoV U201 株の RdRp, MNV-S7 株の RdRp

コード領域を大腸菌のコドンに最適化して、人工合成し、pCold-TF, pCold に InFusion cloning system によってクローニングした。これらが大腸菌 BL-21 に transformation し、HisTag タンパク質の発現を行った。ワールドショックによる大量発現は、30℃にて6時間から8時間の増殖の後、IPTG を添加し、12℃にて一晚発現させた。大腸菌は、超音波処理し、細胞を破砕した後、上清を分取してタロンビーズに結合させて精製した。溶出にはイミダゾールを用いた。

ロタウイルスのゲノムは11本の分節二本鎖 RNA (double-stranded RNA: dsRNA) から成り、ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (RNA-PAGE) により分節ごとに分離される。本研究では、共同研究者より提供されたユニークな RNA-PAGE パターンを示したロタウイルス陽性便検体を用いた。便検体から10%PBS懸濁液を調製し、TRIzol® LS Reagent (Life technologies) および Direct-zol RNA MiniPrep Kit (ZYMO Research) を使用してウイルス RNA の抽出を行った。マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA における泳動は、DNA500 ポリマーキットを用いて行った。得られたバンドパターンは、相対移動度だけではなく、画像と electrophoregram (泳動波形とピーク位置が示されたグラフ) の蓄積を行った。すべての検体について、次世代シーケンスシステムを用いたウイルスゲノムの塩基配列解析を行い、遺伝子型を決定してパターンライブラリーに蓄積した。

C. 研究結果

細菌グループ；

1. 感染研・国衛研における研究

平成26年度も引き続き、感染研の PFGE データベースを BN サーバー上にアップデートし、6分担研究者に利用できる状況とした。

2014年に分離された EHEC について MLVA および PFGE 解析を行い、その遺伝子型別に基づいて分離株の動向について調べた。EHEC 0157 1447 株に対して、537 の MLVA 型が付与された。このうち 695 株について PFGE 解析を行い、356 のサブタイプが付与された。解析した EHEC 株のうち、5 地研以上で検出された MLVA コンプレックスもしくはタイプに含まれる株は 639 株であった。コンプレックスは 0157 12 種類、026 1 種類であり、コンプレックスに含まれない広域タイプは 0157 で 3 種類、026 で 2 種類、0111 で 1 種類であった。

上記のうち、MLVA コンプレックス 14c007 など複数の地研で検知された MLVA コンプレックス、MLVA 型、PFGE パターンについては NESFD、電子メール回覧等で6ブロック研究分担者を含めた迅速な情報共有を図った。

MLVA 法については、希望する地研に対しプロトコールおよびコントロール DNA を配布し、技術支援を行った。

国内でヒトから分離される EHEC のうち、血清群 0157 (血清型 0157:H7/H-) は依然として全体の半数以上を占め、EHEC 感染の重症合併症である溶血性尿毒症症候群

(hemolytic uremic syndrome: HUS) 発症例の80%以上は血清群 0157 による。国内で分離される 0157 の系統解析を行う目的で、塩基配列ベースによる系統解析法 (clade 1-9 型別法) を用いて 1999-2011 年までに

国内で分離された計 656 株（パルスフィールドゲル電気泳動パターンがそれぞれ異なる無症状保菌者由来株 387 株と HUS 患者由来株 269 株）について clade 型および *stx* 遺伝子亜型の分布解析を行った。その結果、1) clade 3, 6, 8 は HUS 患者由来株に有意に多いこと、2) clade 7 は無症状保菌者由来株に有意に多いこと、3) *stx2a* 保有株は clade 8 であれば HUS 由来株に有意に多く、clade 7 であれば無症状保菌者由来株に有意に多いこと、4) *stx2a stx2c* 保有株は clade 6/8 であれば HUS 由来株に有意に多く、clade 7 であれば無症状保菌者由来株に有意に多いことが明らかとなった。以上の結果から、HUS 発症リスクの高い clade と *stx* 型の組み合わせは、clade 8 + *stx2a* または clade 6/8 + *stx2a stx2c* であることが明らかとなった。

2. 北海道・東北・新潟ブロック

平成 24 年度と平成 25 年度に引き続き、北海道・東北・新潟ブロックの地方衛生研究所における IS printing system (IS 法) の精度管理に関する共同研究を実施した。秋田県で分離された EHEC 0157 分離株 4 株から抽出した DNA 溶液を供試し、キット付属のプロトコールに従い IS 法を実施した。1st Set PCR の結果において、テンプレートを 4 μ l と他機関より多く反応系に添加した機関が EC16130 株の 1-08 と 1-09、EC16169 株の 1-09 を陽性と判定したのに対して、他の 9 機関はこれらを陰性と判定した。EC16180 株に発生した、1-03 と同等の輝度のエキストラバンドを 3 機関が陽性と判定し、他の 7 機関が陰性と判定した。2nd Set PCR の結果は 10 機関全てで一致した。以上の結果から、結果不一致の要因の一つ

に、反応系に添加する DNA 量に関与すること、また、正規のバンドと同等の輝度を呈するエキストラバンドにより、結果不一致が発生することが示された。以上の結果から、IS 法の精度管理に未だに課題が存在することが浮き彫りとなり、今後もブロック内における IS 法の精度管理の取り組みを継続し、問題点を洗い出すことによりブロック内地方衛生研究所の IS 法精度向上を目指す必要があると考えられた。

3. 関東・甲・信・静岡ブロック

IS 法は PFGE 型と比較して、やや解像度は劣る場合もあるが、ほぼ同程度に菌株間の識別が可能であった。本法は非常に簡便・迅速に結果が判定でき、結果が「0」「1」で判定できるため、他施設と比較する場合に非常に有効なツールである。また、本法は PCR 法で 36 箇所バンドの有無を比較する方法であるが、これら以外に特徴あるエキストラバンドを判定することは、より菌株を特徴付けるために有効であった。しかし、今回の精度管理で明らかになった点としては、IS 法は 18 本のバンドを判定するマルチプレックス PCR 法であるため、電気泳動時間によっては、バンドとバンドの間隔が狭く、判定が困難な例、アガロースゲルの染色が薄いために判定できなかった例があった。また、2nd Primer set の判定が困難であった施設が複数認められた。検査試薬の精度管理も含めて注意が必要である。IS 法では、1st Primer set で *eae* と *hly* の存在を確認している。0157 では、ほとんどの株で *eae* や *hly* が陽性となるため、これらの遺伝子を内部コントロールとして利用することが重要である。

4. 東海・北陸ブロック

東海・北陸地方 11 施設において今年度に検出された 119 株の 0157 について IS 法を実施した。本データベースを用いて解析を行ったところ、119 株は 57 の異なった IS 型に型別された。これら IS 型のうち 11 の IS 型は 2 施設以上から検出されていた。このうち 7 つの IS 型は東海地方の市県から検出されていたが、残りの 4 つの IS 型は東海・北陸両地方の市県から検出されていた。今回の解析から最も多くの市県から検出された IS 型は AA047 型で東海・北陸両地方にまたがる 5 市県で 15 株検出された。その内訳は福井県 7 株、岐阜県 4 株、名古屋市 2 株、愛知県、石川県それぞれ 1 株であった。以下 AA078 型は 4 市県由来 8 株検出され、その内訳は東海地方愛知県、三重県それぞれ 3 株、豊橋市、名古屋市それぞれ 1 株であった。AA063 型は東海・北陸両地方にまたがる 4 市県由来 6 株が検出され、その内訳は岐阜県 3 株、富山県、福井県、豊田市それぞれ 1 株であった。

平成 26 年度東海・北陸 11 施設に対する調査では 2 施設で PFGE の結果が疫学解析に活用されていた。これら 2 施設の泳動像は疫学調査等に活用されるに十分な画質を有していたことから解析もスムーズに進んだものと思われる。対象とした病原菌は腸管出血性大腸菌 0157 であった。また、1 施設で MLVA の結果が集団事例の疫学解析に活用されていた。今後、PFGE に加え MLVA も疫学解析に用いられるようになると思われる。

国立感染症研究所で実施した 0111 の MLVA 解析の結果、複数の市県から検出された患者由来株の MLVA 型が一致した。患者はいずれも同一チェーン店の焼肉店を利用し

ていたことから、食材を加工している施設従業員 98 名の検便を実施したが、0111 は検出されなかった。今後も国立感染症研究所からの情報を活用して腸管出血性大腸菌感染症の防止に努めたい。

5. 近畿ブロック

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 0157 の遺伝子型別法について、IS 法および PFGE 法の精度管理を実施するとともに、発生状況や流行菌型を把握するため、近畿 IS データベースの充実と活用を図った。さらに、国立感染症研究所が実施している MLVA 法について、地方衛生研究所への導入が可能か検証した。IS 法の精度管理は 1 施設で判定の不一致がみられ、電気泳動量が均一でないために生じた移動度のずれを誤判定したと考えられた。PFGE 法の精度管理では一部でバンドが不明瞭な画像もあったが、自動バンド認識を手動で補正して作成したデンドログラムでは、菌株ごとに 94%以上の近似度を示した。どちらの方法も、電気泳動量や供試菌株の濃度を揃える、歪みのないように泳動するなどの注意点を共有することが望ましいと考えられた。近畿 IS データベースには、2015 年 2 月 6 日現在で 2,326 株の登録があり、2014 年分離株は 12 施設から 233 株登録され、IS 法で 79 タイプに型別された。5 施設から 20 株登録された近畿 IS コード「84591 215275」のうち 6~7 月に分離された 12 株は感染研 MLVA タイプ 14c016 で、今夏の全国的な流行型のひとつであったが、同一型の集積に気づかず情報交換に至らなかった。近畿 IS データベースへの照合依頼もあり、ブロック内での流行の有無にかかわらず、迅速なデータの登録と情報

交換に務めるべきであった。MLVA法の検証は、感染研から配布された24株のコントロールDNAについて解析したが、少ないながらサンプルによって増幅産物が得られない遺伝子座があり、蛍光漏れや非特異的増幅などの問題点も明らかになった。

6. 中国四国ブロック

中四国地域の分子疫学的手法の維持・向上と、より精度の高いデータベースの構築を目的として、EHEC 0157 菌株を用いて PFGE 法及び IS 法に関する精度管理を実施した。PFGE 法による解析では、泳動像ほどの施設もクリアで、デンドログラム解析はやや類似度に違いが見られたが、ほぼ一致した結果であった。IS 法による解析では、1st set primer で増幅されたバンドの1つが1施設で異なった結果であったが、それ以外はすべての施設の結果が一致した。

中四国地域で発生した EHEC 感染事例について、疫学情報を収集して解析した。本年度より、国立感染症研究所での分子疫学的解析は、0157 等の血清群については、PFGE 法に代わり MLVA 法による型別が行われることになったため、収集した情報を MLVA 型および IS コードにより解析した。その結果、0157 では7種類の同一 IS コードの菌により、複数の県で感染事例が発生しており、このうち1つの IS コードによる事例では、県境を越えて疫学的な関連性が見られた。解析能の比較では、MLVA 型がより詳細な分子疫学的解析が可能であった。

7. 九州ブロック

九州地区では、1. IS 法による IS 型別データベースの運用、2. EHEC 検出状況の解析、3. EHEC による集団発生事例の集約、4. 精度管理 (IS 法、PFGE) 及び 5. 集団発生事例の詳細な解析の5項目について取り組んだ。

九州地区における EHEC 0157 の IS 型別の登録数は平成 26 年 12 月現在で 1194 件 (平成 22 年度 312 件、平成 23 年度 227 件、平成 24 年度 229 件、平成 25 年度 223 件及び平成 26 年度 203 件) であり、毎年 200 件前後の登録で推移している。九州地区で平成 26 年度に収集された EHEC は 549 株であった。その内訳は、EHEC 0157 が 255 株、026 が 141 株、0111 が 75 株、0103 が 40 株、0121 が 10 株、0145 が 7 株、その他の血清型が 20 株及び血清型別不能が 1 株であった。九州地区は非 EHEC 0157 の占める比率が 53.4% であり、本研究で 0157 に加えて非 0157 EHEC の情報収集にも積極的に取り組んでいる成果が現れているものと思われた。平成 26 年度の EHEC による集団発生事例は 15 事例であった。その内訳は、EHEC 0157 によるものが 7 事例で、非 0157 EHEC によるものは 8 事例で、026 によるものが 4 事例、0111 によるものが 2 事例、0103 によるものが 2 事例であった。精度管理では例年行っている IS 法と併せて、PFGE についても今回初めて実施した。IS 法では、エキストラバンドがある菌株では誤判定も見られた。PFGE では、泳動は概ね良好に行われていたが、10 地研の各担当者が判定したバンド数で、全 4 株一致した地研はなかった。バンドの濃淡やバックグラウンドに差がみられたこと、また担当者によりバンドの有無の判定に差があることが原因と考えられた。

ウイルスグループ；

本研究で構築を目指す GatVirusWeb は、構造生物学的とウイルスタンパク質の機能解析と分子疫学を融合させ、から単なる直

ウイルスグループ；

鎖状の配列ばかりでなく、立体構造のデータ、タンパク質の機能も加味した分子疫学ツールの構築を目指す。ノロウイルスにおいて、ORF1にコードされる RNA dependent RNA polymerase (RdRp)の X線結晶構造解析を行うため、大腸菌で RdRp を発現し結晶化を試みたところ、ヒトノロウイルス (HuNoV) GII.3 U201 株の RdRp、マウスノロウイルス (MNV) S7 株の RdRp の結晶化に成功し、立体構造を解明した。構築に成功した構造と、データベース上に報告されている他の遺伝子型に由来する構造を比較したところ全ての RdRp はクローズドコンフィグレーションであった。昨年度より継続して試みていた RdRp 以外の VP2, VPg を protease, GFP 等、結晶構造が解析され、熱力学的に安定した構造を持つタンパク質と組み合わせた融合タンパク質として発現させ、可溶化並びに、結晶化する試みは失敗した。現在、VP2 は eIF4E, G との共結晶化、VPg は VP1 との共結晶化を試みている。

ロタウイルス (RV) は二本鎖 RNA で構成される 11 本の遺伝子分節をゲノムとして有する。RV 感染患者の便検体から抽出した RNA をポリアクリルアミドゲルで電気泳動 (RNA-PAGE) すると、その分子量や二次構造の違いにより各分節を分離・検出することが可能である。この泳動パターンは遺伝子型や株によって異なるため、検体間のウイルスの類似性を推定する事も可能である。我々の保有する検体を用いて、RNA-PAGE のバンドパターンとそれらの遺伝子型との関連性について検討を行ったところ、VP2、VP3、VP6、VP7、NSP1、NSP2、NSP3、NSP5 の各遺伝子分節において遺伝子型とバンドパターンに明確な関連性が認められた。この結果

から、RNA-PAGE によるパターン分類法を利用して、RV 流行株を広範かつ簡便に調査するシステムを構築できる可能性が示唆された。最終年度は、マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA を用いた泳動パターンフィッティング解析によって算出される相関係数を用いた株分類法の開発を行った。

CaliciWeb では、NoV、SaV などヒト腸管感性カリシウイルスを対象とした、ゲノム情報を疫学情報と共に蓄積し、構造タンパク質領域を標的としたバイオインフォマティクスによる解析を行ってきた。

CaliciWeb の活動により、NoV の病原性変化を加味するため、従来の構造タンパク質領域だけではなく、非構造タンパク質領域をもターゲットとした NoV の新規分類方法が提案された。本研究で構築を試みる

GatVirusWeb は、構造生物学的とウイルスタンパク質の機能解析と分子疫学を融合させ、単なる直鎖状の配列ばかりでなく、立体構造のデータ、タンパク質の機能も加味した分子疫学ツールの構築を目指す。さらに、リコンビネーション、リアソートによる加速度的分子進化を反映可能な分子疫学ツールの開発により、下痢症ウイルスの効果的な感染防御に貢献する。本年度は、ノロウイルスの多機能タンパク質 VPg, VP2 に加え RNA dependent RNA polymerase (RdRp) の発現、結晶解析へのアプローチを開始した、また、ロタウイルスの分子疫学基盤構築のため、RNA-PAGE による簡便かつ網羅的スクリーニング手法の確立を開始した。さらにセグメントウイルスのゲノムリアソートメントを計算し、進化を予測可能な新たなアルゴリズムの開発にも着手した。

CaliciWeb は、ロタウイルスの遺伝子情報

を加え、GatVirusWebとしてリスタートした。本年度は、ロタウイルス、ノロウイルスの次世代シーケンサーを用いた配列解析プラットフォームの構築も目指した。

D. 考察

食品由来感染症に由来するウイルスや細菌の解析情報は、疫学情報とともに、原因究明や事例拡大を阻止するうえで重要な要素である。また、解析情報を共有化することにより、広域株の検出や広域で発生している事例の探知にもつながる。EHEC系統および病原因子の解析から、重症化、すなわちHUS発症に伴う菌側のリスク要因が明らかとなり、流行の注意喚起を行う上で一つの指標になると考えられる。平成23年度までの厚生労働科学研究事業で、ネットワーク上で病原体のデータベースを利用するシステム、すなわちウイルスではカリシウェブ、細菌ではパルスネットの構築を進めてきた。システム担当者の交代等があるため、本システムを有効に機能させるためには継続的な精度管理が必須である。パルスネットでは、主たる解析方法であるPFGEの精度管理が各地方衛生研究所で継続的に実施されており、技術の継承・標準化が行われている。近年EHEC 0157においてはIS法が普及しており、本年度は各ブロックにおいて精度管理が実施された。両方法とも多くの地研で活用されており、地研間および地研-感染研間で情報共有を進めていくために、こうした精度管理の継続が必要である。MVLAについては、今年度感染研で本格的な運用が始められた。少数ながらも既にいくつかの地研ではMLVAが導入されていたが、今後、本法の導入を検討・開始する地研が増えてくることが予想され、導入時の問

題点・精度管理の手法などについて検討していく必要がある。

さらに、こうした解析結果の迅速な共有の経路として感染研BNサーバー・電子メールによる回覧・NESFDを介した情報発信等を活用し、効果的な方法について検討していく必要がある。

ノロウイルスGII.3タイプのRdRpの結晶構造を初めて解くことに成功し、de novo RNA合成活性があることを示した。今後、RNA-RdRp複合体についても解析を行い、バリエーション間のRNA合成活性との関係が明らかになることが期待される。

ロタウイルスRNA-PAGEは迅速かつ簡便なロタウイルスの解析法として実用化が期待されており、今年度は泳動パターンの蓄積を行った。泳動像の領域を区分し各区分のパターンフィッティングを行うことで、パターン分類を可能とした。

ノロウイルス、サポウイルスなどのカリシウイルスに特化したCaliciWebから、他の下痢症ウイルス情報も統合したGatVirusWebの構築を始めた。CaliciWebは従来から流行の注意喚起などに役割を果たしてきた。GatVirusWebでもその流れを汲みつつ、流行予測プログラムなどの開発も進めており、国内外の重要な情報共有の場として機能させていく予定である。

E. 結論

病原体解析情報のデータベースをネットワーク上で共有・利用することにより、食品由来感染症の探知・感染源究明に利用できるシステムが構築されてきた。ウイルスのGatVirusWeb(前CaliciWeb)では、広範なウイルスを対象に遺伝子情報、タンパク質の構造情報、解析プログラムの実装など

が進められている。細菌のパルスネットにおいては、リアルタイムな事例探知に向けて、解析情報の正確さを保持するための精度管理と解析情報の更新が継続されている。今後も、分子遺伝学的手法に基づいた病原体解析手法を継続的に評価して利用することが、有用なデータベース構築に必要なだと考えられる。また、効果的な情報発信、情報共有の仕方についても考慮していく必要がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 誌上発表

1. Iyoda S, Manning SD, Seto K, Kimata K, Isobe J, Etoh Y, Ichihara S, Migita Y, Ogata K, Honda M, Kubota T, Kawano K, Matsumoto K, Kudaka J, Asai N, Yabata J, Tominaga K, Terajima J, Morita-Ishihara T, Izumiya H, Ogura Y, Saitoh T, Iguchi A, Kobayashi H, Hara-Kudo Y, and Ohnishi M, EHEC Working Group in Japan: Phylogenetic clades 6 and 8 of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 with particular *stx* subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers. Open Forum Infectious Diseases, 1 (2): first published online July 18, 2014.
2. Themphachana M, Nakaguchi Y, Nishibuchi M, Seto K, Rattanachay P, Singkhamanan K, Sukhumungoon P: First report in Thailand of a

stx-negative *Escherichia coli* O157 strain from a patient with diarrhea. Southeast Asian J Trop. Med. Public Health 2014, 45:881-889.

3. Okamoto F, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Etoh Y, Kaida M, Makigusa M, Nakashima K, Jinnouchi Y, Takemoto H, Kakegawa H, Yamasaki C, Manabe S, Sasaki M, Ogata K, Ikebe T and Sera N: A foodborne outbreak of group A streptococcal infection in Fukuoka Prefecture, Japan. Jpn J Infect Dis. 2014;67(4):321-2
4. Maeda E, Murakami K, Etoh Y, Onozuka D, Sera N, Asoshima N, Honda M, Narimatsu H, Iyoda S, Watahiki M and Fujimoto S: Does Sequence Type 33 of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O91 Cause Only Mild Symptoms? J Clin Microbiol. 2015 Jan;53(1):362-4.
5. Noda T, Murakami K, Etoh Y, Okamoto F, Yatsuyanagi J, Sera N, Furuta M, Onozuka D, Oda T, Asai T and Fujimoto S: Increase in resistance to extended-spectrum cephalosporins in *Salmonella* isolated from retail chicken products in Japan. PLoS One 2015 in press.
6. Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, Ito H, Doan Y. H, Takahashi T, Ozaki T, Katayama K, Nakagomi O. Spread and predominance in Japan of novel GIP[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like

- genotype constellation typical of G2P[4] strains. *Infect Genet Evol.* Vol. 28:426-33. doi: 10.1016/j.meegid.2014.08.001. Epub Aug 8, 2014.
7. Mizukoshi F, Kuroda M, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Funatogawa K, Morita Y, Noda M, Katayama K, Kimura H. A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan. *Microbiol Immunol.* doi: 10.1111/1348-0421.12176. 58(9): 536-9. Sep, 2014.
 8. Nagai M, Aoki H, Sakoda Y, Kozasa T, Tominaga-Teshima K, Mine J, Abe Y, Tamura T, Kobayashi T, Nishine K, Tateishi K, Suzuki Y, Fukuhara M, Ohmori K, Todaka R, Katayama K, Mizutani T, Nakamura S, Kida H, Shirai J. Molecular, biological, and antigenic characterization of a Border disease virus isolated from a pig during classical swine fever surveillance in Japan. *J Vet Diagn Invest.* 26(4): 547-552. [Epub ahead of print] Jul 15, 2014.
 9. Dennis FE, Fujii Y, Haga K, Damanka S, Lartey B, Agbemabiese CA, Ohta N, Armah GE, Katayama K. Identification of novel Ghanaian G8P[6] human-bovine reassortant rotavirus strain by next generation sequencing. *PLoS One.* 2014 Jun 27; 9 (6): e100699. doi: 10.1371/journal.pone.0100699. eCollection 2014.
 10. Masuda T, Nagai M, Yamasato H, Tsuchiaka S, Okazaki S, Katayama Y, Oba M, Nishiura N, Sassa Y, Omatsu T, Furuya T, Koyama S, Shirai J, Taniguchi K, Fujii Y, Todaka R, Katayama K, Mizutani T. Identification of novel bovine group A rotavirus G15P[14] strain from epizootic diarrhea of adult cows by de novo sequencing using a next-generation sequencer. *Vet Microbiol.* 2014 Jun 25; 171(1-2):66-73. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.03.009. Epub Mar 18, 2014.
 11. Katayama K, Murakami K, Sharp TM, Guix S, Oka T, Takai-Todaka R, Nakanishi A, Crawford SE, Atmar RL, Estes MK. Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Sep 23 ; 111 (38) ; E4043-52, Epub Sep 5, 2014.
 12. Komoto S, Pongsuwanna Y, Ide T, Wakuda M, Guntapong R, Dennis FE, Haga K, Fujii Y, Katayama K, Taniguti K. Whole genomic analysis of porcine G10P[5] rotavirus strain P343 provides evidence for bovine-to-porcine interspecies transmission. *Veterinary Microbiology* 174, 577-583, 2014.
 13. Fang-TzyWu, Hsieh-Cheng Chen,

- Catherine Yen, Ching-Yi Wu, Kazuhiko Katayama, Jason C. Huang, Ho-Sheng Wu. *Epidemiology and Molecular Characteristics of Norovirus GII.4 Sydney 2012 Gastroenteritis Outbreaks in Taiwan, January 2012-December 2013*. *Arch Virol*. In press.
14. Sato G, Ido H, Kiuchi M, Kataoka M, Katayama K and Tohya Y. Characterization of St-Valerien-Like Virus Genome Detected in Japan. *Doi: 10.1292/jvms.13-0468; J. Vet. Med. Sci.* 76(7):1045-1050, 2014.
 15. 大平文人, 勢戸和子, 笹井康典: 保育所における細菌性赤痢集団発生事例. *小児科* 2014, 77:1027-1035.
 16. 片山和彦 ロタウイルス概要 IASR ロタウイルス特集号 vol. 35 No. 3 Mar. 2014.
 17. 片山和彦 ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 2014 年版 IASR ノロウイルス特集号 vol. 35 No. 7 July 2014.
 18. 片山和彦 ノロウイルス感染症とその対策 救命救急 vol. 17 No. 1 12-15, 2014.
 19. 片山和彦 質疑応答臨床一般 夏場にノロウイルスによる胃腸炎や食中毒が発生する可能性 *日本医事新報* No. 4723, 59-60, 2014.
 20. 片山和彦 特集 ノロウイルス感染症 ノロウイルスとは 調剤と情報 vol. 20 No. 12, 10-12, 2014
 21. 片山和彦 特集 ノロウイルス感染症 ノロウイルスの感染拡大を防ぐには 調剤と情報 vol. 20 No. 12, 14-19, 2014
 22. 片山和彦 備えて立ち向かう感染性胃腸炎 ノロウイルス・ロタウイルス ノロウイルス感染症とは-ウイルスの特徴・流行変遷・臨床病態 感染症対策 ICT ジャーナル vol. 9 No. 4 2014.
 23. 片山和彦 少年写真新聞社 中学保健ニュース ノロウイルスの感染予防 Dec. 18, 2014.
 24. 片山和彦 少年写真新聞社 高校保健ニュース ノロウイルスの感染予防 Dec. 18, 2014.
 25. 片山和彦 ウイルス性胃腸炎 SRL 社宝函 vol. 35, No. 4, p23-34, 2015.
 26. 片山和彦 Luncheon Seminar Report No. 1 ノロウイルス -感染制御を目指した研究の歩みと最新の成果- デンカ生研, p1-4, リーフレット, 2015/02/24
 27. 片山和彦 ヒトに感染するノロウイルスの感染様式の研究 黎明 vol. 23, pi-ii, 2014.
- 2) 学会発表
1. Katayama K, Park YB, Takai-Todaka R, Haga K. Investigation of Human Norovirus evolution in human body. Japan-Taiwan joint meeting. Taipei, Taiwan. Sep 11, 2014.
 2. Katayama K and Park YB. A plasmid based human norovirus reverse genetics system. International meeting of the federation of Korean microbiological societies (MSK) symposium Oct 29-31, 2014.
 3. Miki M, Park YB, Haga K, Doan HY, Suzuki Y and Katayama K.,

- Investigation of human norovirus shedding and genome evolution in a single infection cycle in infant. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases. Taipei Taiwan., Jan 29, 2015.
4. Yoshida K., Zhou Y., Takai-Todaka R, Katayama K and Nakanishi A. Functional complementation of VP2 in murine norovirus. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases. Taipei Taiwan., Jan 29, 2015.
 5. Katayama K. Takai-Todaka R, Nakanishi A, Murakami K, Oka t. Guix S, Sharp TM., Atmer RL., Crawford SE and Estes MK. Reverse genetics system of Human and Murine Norovirus. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases. Taipei Taiwan., Jan 29, 2015.
 6. 鈴木匡弘、山田和弘、松本昌門ら 国内分離された *Acinetobacter baumannii* international clone II の全ゲノムによる系統解析 第 88 回日本感染症学会学術講演会 平成 26 年 6 月 18 日～20 日、福岡市
 7. 山田和弘、鈴木匡弘、松本昌門ら 腸管出血性大腸菌 multiplex PCR typing 法 (EHEC_mPT 法) の開発 第 35 回日本食品微生物学会学術総会 平成 26 年 9 月 18 日～19 日 堺市
 8. 原田哲也, 勢戸和子, 田口真澄: すべての VT サブタイプを検出するためのリアルタイム PCR 法の確立と食品検査への応用, 第 35 回日本食品微生物学会 (2014 年 9 月, 大阪)
 9. 片山和彦 衛生微生物技術協議会 ノロウイルスレファレンスセンター報告 平成 26 年 6 月 26-27 日 船堀
 10. 戸高玲子、村上耕介、岡智一郎、朴英斌、中西章、脇田隆宇、片山和彦 レポーター遺伝子を内包したノロウイルス感染性粒子作製の試み 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 平成 26 年 11 月 11 日
 11. 下池貴志、朴英斌、戸高玲子、脇田隆宇、片山和彦 ノロウイルス RNA 依存の RNA ポリメラーゼの in vitro 転写活性 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 平成 26 年 11 月 11 日
- 3). その他
(講演会・シンポジウムなど)
1. 片山和彦 平成 26 年 6 月 13 日 戸山学習館研修 ノロウイルスなんてこわくない! 感染研戸山庁舎
 2. 片山和彦、藤井克樹 平成 26 年 6 月 19 日 ロタウイルス感染症とロタウイルスワクチン 講義 対象: 横浜市立大学医学部社会予防医学教室 感染研村山庁舎
 3. 片山和彦 平成 26 年 6 月 24 日 ノロウイルスなんて怖くない 知の広場・シラバス 感染研戸山庁舎
 4. 片山和彦 平成 26 年 6 月 26 日 衛生微生物技術協議会 第 35 回研究会 ノロウイルス・ロタウイルス レファレンスセンター会議、報告
 5. 片山和彦 平成 26 年 7 月 12 日 日本ウイルス学会北海道支部 第 48 回夏季シンポジウム “ウイルス研究の基礎