

201431001A

厚生労働科学研究委託費

地球規模保健課題推進研究事業

(国際医学協力研究事業)

アジア地域にまん延している疾病に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 岩本愛吉

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の「平成26年度厚生労働科学研究委託事業(地球規模保健課題推進研究事業(国際医学協力研究事業))」による委託業務として、国立大学法人東京大学が実施した平成26年度「アジア地域にまん延している疾病に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

- アジア地域にまん延している疾病に関する研究 ----- 1
東京大学医科学研究所 教授 岩本 愛吉

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. ウイルス性疾患の研究・米側との専門協議 ----- 8
北海道大学大学院医学研究科 教授（ウイルス性疾患部会長）有川 二郎
2. ウイルス肝炎の研究・米側との専門協議 ----- 22
東京大学大学院医学系研究科消化器内科学 教授（肝炎部会長）小池 和彦
3. 急性呼吸器感染症の研究・米側との専門協議 ----- 31
国立感染症研究所細菌第二部 部長（急性呼吸器感染症部会長）柴山 恵吾
4. エイズの研究・米側との専門協議 ----- 53
東京大学医科学研究所附属病院委嘱教授
国立感染症研究所エイズ研究センター長（エイズ部会長） 俣野 哲朗
5. コレラ・細菌性腸管感染症の研究・米側との専門協議 ----- 57
京都大学東南アジア研究所 教授（コレラ・細菌性腸管感染症部会長）西渕 光昭
6. 結核・ハンセン病の研究・米側との専門協議 ----- 66
北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター教授（結核・ハンセン病）鈴木 定彦
7. 寄生虫疾患の研究・米側との専門協議 ----- 82
長崎大学熱帯医学研究所教授（寄生虫部会長）平山 謙二
8. 環境ゲノミクス・疾患の研究 ----- 86
国立がん研究センター研究所 所長（環境ゲノミクス・疾患部会長）中釜 斉
9. 栄養・代謝疾患の研究 ----- 94
京都大学大学院医学研究科糖尿病・内分泌・栄養内科学教授（栄養・代謝部会長）
稲垣 暢也
- III. 学会等発表実績 ----- 97
- IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 123

厚生労働科学研究委託費 地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）
委託業務成果報告（総括）

アジア地域にまん延している疾病に関する研究
業務主任者 岩本 愛吉 東京大学医科学研究所教授

研究要旨：

日米両国の予算状況の厳しさから、米側 NIH では NIEHS（環境・ゲノミクス部会に対応）、NIDDS（栄養・代謝部会に対応）の予算、日本側では外務省予算（日米医学協力委員会経費）が削減され、過去数年は日米医学協力計画の中で特に相互理解の厳しい時期だった。米国 NIAID も予算削減により、毎年の日米合同部会開催が難しくなり、2010年ハミルトンにおける委員会以降、EID 国際会議を全体会議 (General Meeting) とし、日米合同部会を EID と連動した個別トピックの会議とする方式が定着してきた。本年度は第 17 回 EID 国際会議を、台湾中央研究院をホストとして台北で開催し、ウイルス性感染症を中心に同時期に専門部会を成功裏に開催した。日米のみならず、台湾の研究者、若手も多数参加し、感染症に関する新たな科学的情報を共有し、アジアの研究人材育成にも貢献した。研究代表と厚労省担当者が、2014 年 9 月にワシントン／ベセスダを訪問し、NIAID 執行部と来年度に予定する日米医学協力 50 周年を米国で開催すること、日米医学協力計画の重要性、継続性を再確認した。日米両担当部署の相互理解と台北における委員会／部会長会議等を通じて、来年度の 50 周年の節目に、日米両国政府に本計画の成果と重要性、新たな展望を提案する準備が進められた。

担当責任者	有川二郎	北海道大学	教授
担当責任者	小池和彦	東京大学	教授
担当責任者	俣野哲朗	東京大学	教授
担当責任者	柴山恵吾	国立感染症研究所	部長
担当責任者	西瀧光昭	京都大学	教授
担当責任者	鈴木定彦	北海道大学	教授
担当責任者	平山謙二	長崎大学	教授
担当責任者	稲垣暢也	京都大学	教授
担当責任者	中釜 斉	国立がん研究センター	一所长

し、その分野の研究発展のみならず、次世代を担う若手医学研究者の育成にも貢献してきた。

また、20 世紀終盤から 1990 年代から新たな感染症（新興感染症）が多数出現し、一旦制圧されたかに見えた感染症（再興感染症）もグローバルな規模で増加した。日米両国は、1996 年から汎太平洋新興感染症国際会議（EID 国際会議）を立ち上げ、当初 10 回は日本側が、それ以降は米側の費用で運用されているが、日本側委員会や専門部会は積極的に EID 国際会議に参加し、アジアの疾病対策に寄与してきた。

委託業務は、日米の医学研究者が会し、専門分野の交流を推進し、2015 年には 50 周年を迎える本研究事業の全体像をとりまとめ、アジアの疾病に焦点を当てた今後の日米医学協力の発展の道筋を明確に日米両政府に示すことを目的とする。

A. 研究目的

佐藤栄作総理とリンドン・ジョンソン大統領が昭和40（1965）年1月13日に発表した日米共同声明、同年6月1日の閣議了解をもとに、日米両国が共同してアジアに蔓延する疾病を対象とする日米医学協力研究事業が開始された。本研究事業においては、第一線の医学研究者がその専門性に基づいて疾病を選択し、研究や対策に関する計画を立案すること、共同研究の成果を日米両政府に報告し、勧告を行うこと等を目的に、日米医学協力委員会が設置された。

重要な対象疾患・領域として、これまでにコレラ、結核・ハンセン病、急性呼吸器感染症、ウイルス感染症、肝炎、エイズ、寄生虫症、栄養・代謝疾患、環境ゲノミクス・疾病の9つの専門部会（結成順不同）が厚生労働省の所管のもとに結成され、各専門分野において、米国側の研究者との相互討論、国際会議などを通じて研究が推進されてきた。各専門分野において、アジアの研究者・専門家、若手研究者等を招聘

B. 研究方法

日米両国における日米医学協力計画によりアジアで開催され、今年度も開催を予定されている汎太平洋新興感染症国際会議（EID国際会議）について米国側と十分な情報交換や協議を行い、EID会議のテーマに応じた専門部会を中心に、アジアの研究者、若手を巻き込みつつ参加する。来年（2015年）の日米医学協力50周年に向けて、日本側各部会のこれまでの活動や現状等を精査し、米国側との討議を経て、日米医学協力委員会として日米両国政府に新たな日米医学協力のあり方を提言するための準備を行う。栄養・代謝、環境ゲノミクス・疾病、エ

イズ、肝炎、寄生虫疾患、ウイルス性疾患、結核・ハンセン病、急性呼吸感染症、コレラ・細菌性腸管感染症の専門部会が、分野ごとに米国の研究者と協力して各分野における基礎的、疫学的、臨床医学的な問題点を明らかにする。必要に応じて、専門部会が米国の研究者を招聘する。

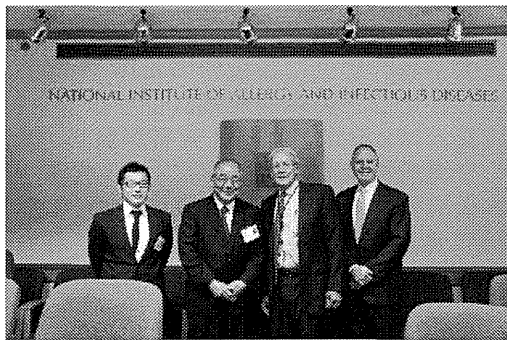
(倫理面への配慮)

ヒトゲノム研究・遺伝子解析研究に相当するものは、その倫理指針に準拠して行う。遺伝子組換え生物等を用いる実験については、研究内容に応じて実施機関または文部科学大臣承認を得る。動物実験については実施機関の動物実験委員会の承認を得る。臨床材料を用いる検体については、臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等に従い、実施機関の倫理審査委員会の承認を得て、説明と文書による同意に基づいて行う。海外における共同研究を伴うものは、相手機関あるいは相手国の承認を得る。また、国内実施機関の承認を得る。

C. 研究結果

(1) 米国側との討議

岩本愛吉と角野敬行は、2014年9月8日米国メリーランド州ベセスダの NIH 本部ビルディング31でNIAIDのHugh Auchincloss 副所長、Gray Handley 国際関係副部長と討議した(写真1)。



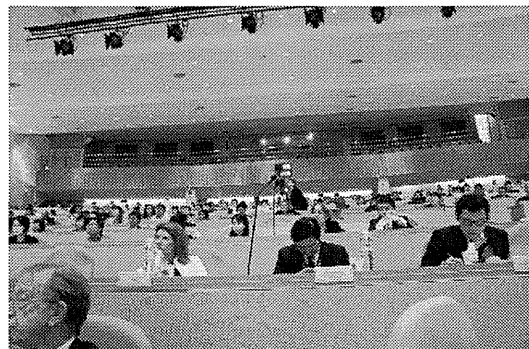
まず2014年2月にダッカで細菌や寄生虫感染症を中心に第16回EID国際会議を成功裏に開催したこと、ウイルス感染症を中心に台湾やアジア地域の研究者も招聘して第17回EID国際会議を2015年1月26-27日に台北で開催すること、その際日米合同専門部会を同時期開催することなどを説明した。Auchincloss 副所長は、日米相互の協力で日米医学協力計画が順調に進んでいることに謝意を述べた。角野からは、NIHのこれまでの支援、協力に対して日本政府からの謝意を述べた後、2015年4月以降は、新規独立法人(Japan Agency for Medical Research and Development: AMED)に予算が委任されるが、今後も厚労省が積極的にこのプロ

グラムを支援していく決意であることを説明した。Handley 副部長と岩本は、2016年1月を目途にベセスダで日米医学協力計画50周年事業を開催する方向で議論が進んでいることを説明した。Auchincloss 副所長から謝辞が述べられ、米国NIH/NIAIDとして日米医学協力計画を強力に支援すると明言した。

岩本と角野はその後Patrick Brennan教授をコロラド州フォートコリンズに訪問し、岩本がセミナーを行い、その後日米医学協力計画について意見交換した。

第17回EID国際会議は、2015年1月26-27日台北の台湾中央研究院(Academia Sinica)で開催された。事前には、2014年7月2日、8月27日、10月10日にNIH、日本側(高島委員、俣野部会長、岩本等)、台湾中央研究院を結んだ電話会議を行い、第17回EID国際会議、日米合同を同時期開催した。プログラムは、Diane Griffin、有川部会長が中心となり、ウイルス性感染症を軸に構成された。

第17回EID国際会議は、ホストである台湾中央研究院は、広大なキャンパスの中のすばらしい会議センターメインホールで開催された(写真2)。



ホストである台湾は強力な支援を行い、Chi-Huey Wong 中央研究院院長、Chien-Jen Chen 副院長、Steve Kou 台湾CDC所長などが参加した(写真3)。



開会にあたり、日米医学医協力が多大な貢献をし、直前に90歳で逝去されたRichard Krause元NIAID所長への追悼が行われた。次いで、台湾における日米の外交部門を代表し、米国在台湾

協会 (American Institute in Taiwan) 代用及び (財) 交流協会台北事務所・沼田幹夫所長の代理として浜田隆総務部長が挨拶した。第 17 回 EID 国際会議では、エボラ、エンテロウイルス、MERS、SFTV、デング、ロタ、HIV、肝炎、RSV など幅広いウイルス疾患について、日米、台湾、ヨーロッパなどの研究者が最先端、最新の研究成果を発表した。

日米の予算年度開始時期の差、2014 年の旧正月日程等から 1 月末という時期設定しかなかったため、全体を通して参加できない研究者もあったが、ウイルス疾患関連部会、肝炎部会、エイズ部会、急性呼吸器部会 (ウイルス) などウイルス感染症の関連部会が参加し、日米合同専門部会を開催した。

台北においても米側と今後の日米医学協力について意見交換した。1 月 27 日、米側 (Patrick Brennan、Gray Handley、Carol Heilman、Gayle Bernabe、Ann Chao (NCI アジア担当部門長)) 日本側 (角野、岩本) で宿泊先において朝食時に討議し、以下の確認を行った。(1) 50 周年行事と会議を一つの区切りとして、日米とアジア等の参加者で盛り上げる、(2) NIH/NIAID はその後もサポートを続ける、米側の委員会、部会メンバーを大幅に改変する、(3) 米側の委員会は、アカデミア、NIH 職員、政府関係者数名 (6 名程度) で構成する、(4) 日本側は、AMED の立ち上げに伴う変化を組み入れ、委員会構成を米側に報告する、(5) 日本側の部会構成に対して米国側は柔軟に対応できる、(6) 病原体専門部会とともに免疫部門 (Immunology Board) の様な横断的 (Cross sectional な) 交流は重要、(7) NIAID は、歴史的経過を含めて「We are US-Japan」と考えている。新しい日米連携の枠組みが生じる場合には、現在まで NIAID 予算から支出してきた部分からではなく、新たな予算的措置 (日米双方) がなされるべきである。

2015 年 1 月 29 日午後、台湾中央研究院において日米医学協力委員・部会長合同会議を開催した。参加者は米側 7 名 (Patrick Brennan 委員長、Gray Handley、Gayle Bernabe、Tom Hope エイズ部会長、Trinh Ly、他 NIAID2 名)、日本側 10 名 (岩本愛吉委員長、角野敬行厚労省主査、高島郁夫委員、光山正雄委員、清野宏委員 (免疫部会長)、有川二郎ウイルス性疾患部会長、俣野哲朗エイズ部会長、柴山恵吾急性呼吸器疾患部会長、稲垣暢也栄養代謝部会長+原田範雄助教、アクバル肝炎部会長代理)。会議では、まず Brennan 米側委員長が、これまでの日米医学協力計画の概略を端的に説明した。(1) 日米医学会議は毎年日本或いは米国において開催された。2010 年ハミルトンで開催された委員会でも新規システムが合意された。即ち、EID

国際会議を全体会議 (General Meeting) とし、日米合同部会を EID と連動した個別トピックの会議とする、(2) 米側は NIEHS と NIDDK がサポートしなくなり、NIAID が単独で日米医学協力敬作をサポートしている、(3) 50 周年記念を成功させ、その先の協力を展望すべきである。岩本日本側委員長が挨拶した後、Gray Handley 国際副部長が Anthony Fauci NIAID 所長からの謝辞と強力な支援のメッセージを伝えた。その後、参加者の間で活発な討議が行われた。

第 17 回 EID 国際会議には、ウイルス性疾患、肝炎、急性呼吸器、エイズ各部会が参加し、肝炎は 2015 年 1 月 25 日、その他は 1 月 28-29 日に専門部会を開始指した。最近・寄生虫関連部会は、一部部会長を除き台北の会議には参加せず、専門性を活かした研究を施行した。

以下各専門部会の研究結果である。

【ウイルス性疾患部会】

Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS): 重症熱性血小板減少症候群) と近縁な Bhanja ウイルス血清群とを識別できる血清診断法を開発した。日本では、重症ロタウイルス下痢症の大半が 6~35 か月児に発生していることを明らかにした。腎症候出血熱ウイルスと SFTSV についてシュードタイプウイルスを作製し、安全な中和試験を確立した。狂犬病ウイルスの G 蛋白質の第 194 位に N 型糖鎖を付加すると狂犬病ウイルス G 蛋白質の免疫原性が高まることが明らかとなった。デングウイルスの自然免疫回避機構を分子レベルで明らかにした。アフリカ起源のチクングニアウイルスがミャンマーで流行したことを確認した。

【肝炎部会】

B 型肝炎マウスモデルの確立、B 型慢性肝炎の免疫治療、HBV 感染におけるエピトープ解析、miRNA による HBV 複製制御の機構解析、HBV エントリー阻害薬の開発、バングラデシュにおける B 型肝炎対策、肝発癌制御の試み等を継続して行なった。

【エイズ部会】

HIV 感染者およびサルエイズモデルにおけるウイルスの塩基配列を解析し、ウイルスの CTL 逃避変異情報を蓄積した。アジアにおけるウイルス流行状況、HIV 中和抗体、ウイルス複製抑制因子等に関する最新情報が得られた。また、治療薬の投与量の軽減や治療に向けた取り組みに関しての最新情報が得られた。

【コレラ・細菌性腸管感染症部会】

腸炎ビブリオ感染症 (魚介類の喫食) および腸管出血性大腸菌感染症 (牛肉の喫食) を予防するために必要な食材 (魚介類・牛肉) の検査法を開発した。2015 年 1 月 14 日 (水) ~16 日 (金) 米国フロリダ大学で日米合同

コレラ部会を開催した。

【急性呼吸器感染症部会】

第17回EID国際会議および日米合同部会において、日本側はインフルエンザに関して粘膜ワクチンの開発、アジュバント開発、製造に培養細胞を用いるワクチンの開発、粘膜ワクチンの免疫効果の解析、インフルエンザの流行型の数理モデル予測などについて、米国側は、H1N1 インフルエンザに対する最適なワクチン抗原のコンピュータ解析による決定、流行型に影響されないユニバーサルワクチンの開発、アジュバントなどに関して発表した。

【結核・ハンセン病部会】

結核菌の薬剤耐性や細胞性免疫に関して、新たな知見を得た。ベトナムの医療従事者やケニアにおける潜在性結核菌感染の背景をヒトゲノム、血液マーカーの観点から調査研究した。ハンセン病の診断、多剤耐性療法について新たな知見を得た。

【寄生虫部会】

マラリア、住血吸虫症、赤痢アメーバ症、エキノコックス症を対象に、流行地の研究者および関連する米国の研究者と協力して、予防治療に寄与する研究を行った。

【栄養・代謝部会】

ベトナムでは栄養士制度がなく、病院内での食事提供もないため、栄養治療が必要な患者に対する介入や指導が十分でないことが判明した。そこで玄米からの発芽玄米の作成方法を指導し、介入研究を行ったところ、発芽玄米は食事導入前と比較して体重や血圧、脂質、血糖値を有意に低下させた。このように栄養介入は、ベトナムにおける生活習慣病改善に大きく貢献できる可能性が示唆された。

【環境ゲノミクス・疾病部会】

中国の食道がん多発地域の検体を用いて、adductome解析と主成分解析を組み合わせて候補を絞り込み、独自に構築したDNA付加体データベースから候補物質を特定した。喫がんリスクと生活習慣、食事との関連及び遺伝的要因を解析し、葉酸摂取量と負の相関を認めた。胆管の正常上皮由来3次元培養細胞に遺伝的再構成を用いて、FGFR2融合遺伝子がドライバーがん遺伝子であることを確認し、*in vitro*胆管発がんモデルを確立した。

D. 考察

日米両国において予算が厳しくなる中、日米医学協力計画に関係する予算も例外ではなかった。米側ではNIEHS、NIDDKの予算が中断され、日本側も外務省予算がカットされた。このような経過の中で、過去数年間は特に日米両国の医学協力計画関係者にとって

最も厳しい時期だったと思われる。平成24年度(2013年開催)の第15回(シンガポール)、平成25年度(2014年開催)の第16回(ダッカ)、平成26年度(2015年開催)の第17回(台北)と、EID国際ミーティングを全体会議とし、隔年にウイルス感染症と細菌・寄生虫感染症の専門討議(部会)とする方式が、定着すると共に次第に充実してきた。また、ダッカのicDDR、b、台北の中央研究院と宿主国の強力な研究機関を共催者、会場とすることによって、日米以外のアジアの研究者の関与も強くなってきたといえる。

第17回EID開催に当たっては、NIH/NIAID、日本側、台湾側との電話会議で準備を進め、共同のプログラム委員会を結成して、運営強化を図ってきたが、まだまだ改善の余地はある。2016年に予定する50周年記念会議(第18回EID)に向かっては、より早期のより一層のすり合わせ(日米およびEIDと部会など)が必要だろう。

今や米国NIH唯一の予算支出機関で事務局を担当するとNIAIDと日本側の相互理解を推進するために、2014年9月に研究代表者と厚労省担当者がNIHを訪問した。また、EIDの開催機関にも朝食会や夕食会を通じて相互交流した。限られた予算内ではあるが、このような政府および政府機関相互の交流もプログラムの円滑な推進に必要である。

日米医学協力計画の中でも「感染症・免疫」が計画の中心で有り、歴史の選択を受けてきた歴史がある。一方、20世紀の新興感染症を振り返っても、2003年中国南部から起こったSARSの類似疾患が中東からMERSとして出現したり、やはり中国南部を機転とすることが多いと考えられてきたパンデミックインフルエンザも2009年突然北アメリカ南部(メキシコ)から出現した。2014年の西アフリカのエボラ熱の大流行も、WHOやグローバル社会にとって全く予想外のものであった。要するに新興感染症の予測を立てることは未だにほぼ不可能なのである。日米医学協力計画で形成されてきた専門部会は、多岐にわたり広い範囲をカバーするが、新興感染症・再興感染症対策には、そのような広範囲の専門家を今後も必要とするだろう。アジアから出現する可能性も高く、日米が共同してアジアの疾患を討議する本計画の重要性はますます高くなっていると信じる。

来年度に予定する日米医学協力計画50周年に向けて、日米医学協力の新しいあり方を両国政府に提言する準備を進めていくべきである。

E. 結論

米国 NIH/NIAID との信頼関係が強化され、来年度に予定する日米医学協力 50 周年、第 18 回 EID 国際会議や合同部会を通じて日米両国政府に今後の展望を切り開く新たな提言を行う準備が着実に進んでいる。

F. 健康危険情報
該当無し

G. 研究発表

【研究代表者：岩本愛吉】

1. 論文発表（研究代表者）

- (1) O Han C, Kawana-Tachikawa A, Shimizu A, Zhu D, Nakamura H, Adachi E, Kikuchi T, Koga M, Koibuchi T, Gao GF, Sato Y, Yamagata A, Martin E, Fukai S, Brumme ZL, and Iwamoto A. Switching and emergence of CTL epitopes in HIV-1 infection. *Retrovirology* 11:38, 2014. doi:10.1186/1742-4690-11-38, 2014.
- (2) O Nakayama-Hosoya K, Ishida T, Youngblood B, Nakamura H, Hosoya N, Koga M, Koibuchi T, Iwamoto A, and Kawana-Tachikawa A. Epigenetic repression of interleukin-2 expression in senescent CD4+ T cells during chronic human immunodeficiency virus type-1 infection. *J Infect Dis.* 2014 Jul 7. pii: jiu376.
- (3) O Gu L, Kawana-Tachikawa A, Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, and Hosoya N. Development and customization of a color-coded microbeads-based assay for drug resistance in HIV-1 reverse transcriptase. *PLoS ONE* 9(10): e109823. doi:10.1371/journal.pone.

【分担研究者】

各分担研究者の分担研究報告書に記載。

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
該当無し
2. 実用新案登録
該当無し
3. その他
該当無し

Emerging viral diseases: Recovery and Control

Venue: The Activity Center, Academia Sinica, Taipei

January 26-27, 2015

AGENDA

Monday, January 26

	Topic	Speaker
08:30-09:00	Registration	
09:00-09:15	Welcome and Opening Remarks	Local host: Chien-Jen Chen US-Japan CMSP: Patrick Brennan, Aikichi Iwamoto US NIAID:
9:15-9:45	Keynote address: Influenza	Chi-Huey Wong (Taiwan)
Session I: Epidemiology and transmission		
Moderators:		
9:45-10:10	H7N9	George Gao (PRC)
10:10-10:35	Enterovirus evolution	Raul Andino (US)
10:35-11:00	Break	
11:00-11:25	EV71 pathogenesis	Luan-Yin Chang (Taiwan)
11:25-11:50	MERS Coronavirus	Vincent Muster (US)
11:50-12:15	Ebola	John Edmunds (UK)
12:15-12:40	Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome	Shigeru Morikawa (Japan)
12:40-13:40	Lunch and Poster viewing	
Session II: Innate immunity		
Moderators:		
13:40-14:05	Dengue	Yi-Ling Lin (Taiwan)
14:05-14:30	Rotavirus	Mamta Chawla-Sarkar (India)
14:30-14:55	HAV and HCV	Chris Walker (US)
14:55-15:15	Break	
15:15-15:40	HIV	Daniel Duoek (US)
15:40-16:20	Short talks selected from poster abstracts	TBD
Session III: Antibody and protection		
Moderators:		
16:20-16:45	Influenza	James Crowe (US)
16:45-17:10	Respiratory Syncytial Virus	Yen-Hung Chou (Taiwan)

17:10-18:00	Poster session
18:00	Gala Dinner

17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim

Emerging viral diseases: Recovery and Control

Venue: The Activity Center, Academia Sinica, Taipei

January 26-27, 2015

AGENDA (continued)

Tuesday, January 27

	Topic	Speaker
Session III: Antibody and protection (continued)		
Moderators:		
09:00-09:25	HCV	Mansun Law (US)
09:25-9:50	Dengue	Shee-Mei Lok (Singapore)
Session IV: Persistence and Latency		
Moderators:		
9:50-10:15	Measles	Diane Griffin (US)
10:15-10:40	Break	
10:40-11:05	Alphavirus arthritis	Andreas Suhrbier (Australia)
11:05-11:30	HIV	Daniel Barouch (US)
11:30-11:55	HBV – cccDNA	Chia-Ho Shih (Taiwan)
11:55-12:25	Short talks selected from poster abstracts	TBD
12:25-14:00	Lunch/Poster session	
Session V: Vaccines and Treatment		
Moderators:		
14:00-14:25	HCV – will treatment be enough?	Andrea Cox (US)
14:25-14:50	HBV – immunotherapy	Jia-Horng Kao (Taiwan)
14:50-15:15	HIV - broadly neutralizing antibodies	Shuzo Matsushita (Japan)
15:15-15:45	Break	
15:45-16:10	EV71 vaccine	Feng-cai Zhu (PRC)
16:10-16:35	Dengue vaccine	Rose Capeding (Philippines)
16:35-17:00	Field trials of therapeutic HBV vaccination in Bangladesh	SK. MD. Fazle Akbar (Japan)
17:00-17:15	Closing Remarks	

ウイルス性疾患の研究・米側との専門協議

担当責任者 有川 二郎 (北海道大学大学院医学研究科微生物学講座・教授)

研究分担者 中込 治 (長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座・教授)

研究協力者 西園 晃 (大分大学 医学部 微生物学講座・教授)

研究協力者 森川 茂 (国立感染症研究所 獣医科学部・部長)

研究協力者 森田 公一 (長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野・教授)

研究要旨

本研究の目的とするところは、新興ウイルス感染症、ウイルス性下痢症、ウイルス性出血熱、狂犬病およびアルボウイルス感染症などのアジアにおいて問題となるウイルス性感染症について、国際的な視点から戦略的防疫体制の確立に寄与することである。また、同時に、若手研究者の育成を推進することである。本年度は、ウイルス疾患関連部会が中心となり、EID 国際会議のプログラムを共同企画し、若手研究者を中心に多くの発表を行った。また引き続き開催された日米合同ウイルス性疾患専門部会においても日米研究者間で活発な発表と意見交換を行った。新興ウイルス感染症である SFTS (severe fever with thrombocytopenia syndrome; 重症熱性血小板減少症候群) 研究においては、SFTSV と比較的近縁な Bhanja ウイルス血清群とを識別できる血清診断法を開発した。ウイルス性下痢症分野においては、日本におけるロタウイルス重症下痢症による入院率とその年変動を、10 年間に置ける 5 歳未満の急性胃腸炎による入院例を解析した。ロタウイルス重症下痢症による入院の大半が 6~35 か月児に発生していることに鑑み、ワクチンによる制御に大きな期待がもたれることを明らかにした。ウイルス性出血熱分野においては、腎症候出血熱ウイルスと SFTSV の粒子形成を解明するためにウイルス構成蛋白の挙動について解析を進めた。その結果、両ウイルスについてシュードタイプウイルスの作成を行い、安全な中和試験の確立のための準備を整えた。狂犬病 狂犬病ウイルスの G 蛋白質の第 194 位への N 型糖鎖の追加は狂犬病ウイルス G 蛋白質の免疫原性を高めることが明らかとなった。この成果はワクチンの効率化に役立つ基礎的知見を提供するものと考えられる。アルボウイルス感染症分野においては、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・デングウイルス・チクングニアウイルス)の分子疫学解析および病原性に関する因子を解明することを目的とし、デングウイルスの自然免疫回避機構の分子レベルでの解析、および ミャンマー国で初めてアフリカ起源のチクングニアウイルスの流行が確認され、このタイプのウイルスがアジア全域に侵入している可能性について明らかにした。

A. 研究目的

本研究の目的は、1965年より開始された日米医学協力研究事業に基づき、「ウイルス性疾患部会」として、アジア諸国で問題となっている、新興ウイルス感染症、ウイルス性下痢症、ウイルス性出血熱、狂犬病およびアルボウイルス感染症について、対策やそれに関する研究を米側との専門協議を通じて推進し、さらに若手研究者の育成も進めることである。

この目的達成のため、平成26年度は、第17回汎太平洋新興感染症国際会議 (EID国際会議) において、日本側より関連研究の発表につとめると共に、多数の若手研究者に発表の機会を設け、若手研究者の育成を進める。また、EID国際会議終了後、日米合同ウイルス性疾患専門部会において、日米研究者との情報交換、共同研究を通じて、アジアにおけるこれらの重要疾患のコントロールならびに若手研究者の育成を推進する。

平成26年度のそれぞれの研究協力者による研究目的は以下の如くである。

1) 新興ウイルス感染症 (森川茂)

SFTSウイルスは2011年に中国で分離同定された新規ブニヤウイルスである。これまでに中国、日本、韓国でSFTS患者が確認されている。SFTSはマダニ媒介性の新興ウイルス感染症である。中国では反芻獣産業動物が、日本では野生動物等との間でウイルスの感染環が形成されていると考えられる。患者からの二次感染も報告されている。遺伝的に非常に近縁なウイルスが北米、オーストラリア、インドから分離されており、やや近縁で血清学的に交差すると報告されているBhanja virus血清群などが知られている(図1)。ウイルスの分布を調査するためには、Bhanja virus血清群と鑑別する必要がある。そこで、血清学的に鑑別可能な血清診断法を開発することを目的とする。

2) ウイルス性下痢症 (中込治)

ロタウイルス下痢症は罹患率が高く、また、重症になることが多い重要な疾患である。そのため、世界保健機関(WHO)は、ロタウイルスワクチンを定期接種に導入するよう勧奨してきた。ロタウイルスワクチンの目的は、重症下痢症による疾病負担の減少である。そこで、わが国におけるロタウイルス重症下痢症による入院率とその年変動を評価することを目的とした。

3) ウイルス性出血熱 (有川二郎)

ハンタウイルスはげっ歯類媒介性の腎症候性出血熱およびハンタウイルス肺症候群の原因ウイルスである。新規に見いだされたSFTSウイルスとともにブニヤウイルス科に属するウイルスであり、血小板減少を伴う熱性疾患である点が共通している。この二つのブニヤウイルス感染症の診断および病原性解析のための基礎的なデータの収集を目的として、ウイルス構成蛋白の細胞内での挙動と分布について解析を進めた。特にエンベロップ蛋白GnとGcの解析および、シュードタイプウイルスの作成を試みた。

4) 狂犬病 (西園晃)

狂犬病は狂犬病ウイルスにより引き起こされ、重篤な神経症状を伴いほぼ100%死亡する人獣共通感染症の一つである。狂犬病は主な媒介動物であるイヌに対して、ワクチンによる免疫を賦与することで流行を制御することが可能

にもかかわらず、経済的な理由により先進国以外では進んでいない。そのため、現在もアジア・アフリカを中心に世界では毎年少なくとも約55,000人が死亡し、また約1,000万人が曝露後発病予防治療を受けており、依然、公衆衛生上重大な問題である。

我々は狂犬病ウイルス街上毒(1088株)とその変異株を用いた研究で、街上毒G蛋白質第194位にN型糖鎖が追加されると、培養細胞における増殖性が著しく亢進すること、感染マウスにおける中和抗体の誘導も著しく亢進し弱毒性状を示すことを明らかにした。通常、街上毒株のG蛋白質にはN型糖鎖付加部位が1~2つ(第319位もしくは第37位および第319位)しかないが、ワクチン株を含む固定毒株(実験室内馴化株)では第37位と第319位に加えてN型糖鎖が1~2つ付加されている(第158位、第204位もしくは第247位)。しかしながら、第37位、第146位もしくは第247位に追加のN型糖鎖付加を有する変異株は、親株と比較して感染マウスにおいて中和抗体を顕著に誘導しないことも明らかとなっている。中和抗体の標的であるG蛋白質の免疫原性を高めることは、効果的な狂犬病ワクチンの開発、すなわちワクチンの低コスト化に資するものである。今回、G蛋白質の免疫原性を特に亢進させるN型糖鎖付加部位が有るのではないかと推測し、プラスミドDNA免疫法によりその探索を行った。

5) アルボウイルス感染症 (森田公一)

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、チクングニアウイルスなど)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により、診断、予防、治療に資する情報を得ることを目的とする。本年度は、デングウイルスの自然免疫回避機構の分子レベルでの解析と、ミャンマー国のチクングニアウイルスの流行状況を明らかにすることを目的として研究を実施した。

B. 研究方法

1) EID国際会議ならびに日米合同ウイルス性疾患専門部会参加

平成27年1月26日から27日まで、台湾国立中央研究院において第17回EID国際会議が開催され、口頭発表ならびにポスター発表を行った。また、1月28日から29日に開催された第48回日米合同ウイルス性疾患専門部

会において口頭発表を行った。

2) 新興ウイルス感染症 (森川茂)

(1) ウイルス：Bhanjaウイルス血清型の Forecariahウイルス (国立感染症研究所ではBSL2) をVero細胞で増殖した。ウイルス力価は、感染Vero細胞を用いて測定した。

(2) 間接蛍光抗体法 (IF) 抗原：感染Vero細胞をトリプシン処理し、PBSに懸濁してIFスライドグラスにスポットしUV照射下で風乾後にアセトン固定してIF抗原とした。

(3) ELISA抗原：感染細胞及び非感染細胞を1%NP40で可溶化し、12,000rpm, 10min遠心上清をELISA抗原とした。

(4) ウサギ感染実験：日本白色種SPFウサギにForecariahウイルスを 1×10^6 TCID₅₀静脈内接種した。感染後、1週毎に採血し6週間観察した。

3) ウイルス性下痢症 (中込治)

秋田県由利本荘市にある地域の基幹病院を調査定点として、2001年9月から2011年8月までの10年間における入院記録と検査記録に基づく後方視的横断研究。

4) ウイルス性出血熱 (有川二郎)

(1) ウイルス：SFTSウイルスYG1株およびHantaanウイルス76118株を用いた。感染Vero細胞を用いて測定した。

(2) 発現ベクター：それぞれのウイルス蛋白GP, N, NSのORFをpCAGGSのプラスミド発現ベクターにクローニングした。

(3) IFA：感染Vero細胞をトリプシン処理し、IFA用スライドグラスにスポットし一昼夜培養後、アセトン固定して抗原とした。発現ベクターをVero細胞にトランスフェクションし、感染細胞と同様にIF抗原とした。

(4) 抗体：ER, ERゴルジを検出する抗体、ゴルジ装置を検出するレクチンWGA、ハンタウイルス感染マウス血清、ハンタウイルスNおよびGPモノクローナル抗体、SFTSV感染マウス血清を使用した。感染マウス血清はウイルスをマウスに接種して5週後に得られた血清を用いた。ウサギ抗SFTSVペプチド(N,

Gc, Gn由来)血清は市販のものを使用した。(5) VSV pseudotypeウイルスを作成した。レポーター遺伝子としてVSVGのORFにGFPとluciferaseがタンデムにコードされているVSVを使用した。このため、蛍光顕微鏡での観察と定量の両方が可能となる。

5) 狂犬病 (西園晃)

(1) N型糖鎖付加改変狂犬病ウイルスG蛋白発現プラスミドの構築とその発現確認

1088株G蛋白発現プラスミド(WT)およびそのN型糖鎖修飾変異体(L38R, D146N, K158N, R196S, S204N, D247N およびN319Q)については以前に構築したものを用いた。また今回、点変異導入法によりK158N/D247N変異体およびR196S/D247N変異体についても構築した。さらに今回、第247位に追加のN型糖鎖が認められるワクチン株ERA株G蛋白(WT)、およびそのN型糖鎖修飾変異体(R196S, N247D およびN247D/R196S)の発現プラスミドについても真核生物用発現ベクターpCI vector(プロメガ社)を用いて同様に構築した。各プラスミドでの発現確認は、マウス神経芽細胞種由来NA細胞への遺伝子導入およびその細胞ライセートのウェスタンブロット解析により行った。

(2) マウスへのDNA免疫による免疫原性の評価

DNA免疫用のプラスミドはエンドキシンプリーグレードで精製し、27G二段針もしくはツイングェクターEZII(日本ケミカルリサーチ社)を用いて、Balb/cマウス(1群5匹、6週齢、雌)の大腿筋に各プラスミド50μgを接種した。接種は2週間隔で数回行い、接種後1週間後に部分採血または心臓採血を行い、得られた血清を非働化後、迅速蛍光フォーカス形成阻止試験により中和抗体価を測定した。

全ての実験は大分大学遺伝子組換え実験安全委員会(承認番号22-16)と大分大学動物実験委員会(承認番号N010002)の承認を得て行われた。

6) アルボウイルス感染症

(1) デングウイルスの自然免疫回避機構

デングウイルス(DENV)の感染実験は、DENV1 Hawaii株、DENV2 16681株、DENV3 SLMC50株、およびJEV JaOArS982株を用い対象として日本脳炎ウイルス(JEV) JaOH0566株を用いた。細胞感染実験にはヒト培養細胞(HeLa)を用いた。感染細胞は抗フラビウイルスエンベロープ蛋白(E)抗

体を用いたフォーカスを免疫染色により可視化して観察した。

ウイルス RNA および IFN- β mRNA の定量は、NS5 領域の共通配列を基にした定量 RT-PCR 法 (RT-qPCR) を用いた。

dsRNA の IFN- β 誘導能評価は感染細胞よりフェノール・クロロホルム法によりウイルス由来 dsRNA を含む全 RNA を抽出し、HeLa 細胞にトランスフェクション後、IFN- β mRNA を定量した。また、IFN- β 誘導の責任分子が dsRNA であることを確認するため、ssRNA を特異的に分解する RNaseR および、dsRNA を特異的に分解する RNaseIII で抽出 RNA を処理し、同様の実験を行った。さらに、DENV 感染細胞における積極的な I 型 IFN 誘導経路に対する阻害を評価するため、抽出した dsRNA を DENV 感染細胞にトランスフェクションし、ウイルス感染による IFN- β 誘導抑制能を評価した。

細胞内 dsRNA の局在解析はウイルス感染細胞を二種類の異なる界面活性剤 (1% NP-40 および 0.5mM Digitonin) により選択的に細胞膜を透過処理し、抗 dsRNA 抗体を用いた免疫蛍光染色法により感染細胞の観察を行った。

(2) ミャンマーのチクングニアウイルスの分子疫学解析

2010 年にミャンマー国で発生した急性熱性疾患のアウトブレイクにおいて分離された 4 株のチクングニアウイルスについて、その感染細胞の培養上清から、ウイルス RNA を抽出し、ランダムヘキサマーをプライマーとして cDNA を合成し、解析領域を PCR 法にて増幅したのち、ABI キャピラリーシークエンサーでウイルス E1 蛋白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。ベイズ法により系統樹を作成した。

(倫理面からの配慮について)

新興ウイルス感染症：ウイルスは国立感染症研究所バイオリスク管理委員会に取扱レベルの審議を申請し BSL2 とされた。動物実験は、国立感染症研究所の動物実験委員会の承認を得て ABSL2 で行われた。

ウイルス性出血熱：ハンタウイルスおよび SFTSV 使用実験は北海道大学病原体等安全管理規定に基づき承認された。動物実験は、北海道大学動物実験委員会の承認を得て行

れた。

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) EID 国際会議ならびに日米合同ウイルス性疾患専門部会参加

(1) EID 国際会議

我が国における SFTSV 流行の疫学的、ウイルス学的研究成果を口頭発表した (森川茂)。

(2) ポスター発表

全 43 題のポスター発表が行われた。そのなかで、日本側から発表のあった 16 題全てが、ウイルス疾患部会からの経費支出に基づく参加者による演題発表であった。

その内訳は、ウイルス性下痢症 12 題 (PhD 学生 2 題、助教および若手研究者 6 題、senior researcher 以上 4 題)、ウイルス性出血熱 2 題 (PhD 学生 1 題、Master course 学生 1 題)、狂犬病 2 題 (PhD 学生 1 題、助教 1 題) である。

(3) 日米合同ウイルス性疾患専門部会

合計 23 題の口頭発表が行われた。内訳は、日本 (12 題)、米国 (4 題)、台湾 (5 題)、中国 (1 題) およびインド (1 題) である。なお、日本側 12 題の内訳は、新興ウイルス感染症 (2 題)、ウイルス性下痢症 (4 題)、ウイルス性出血熱 (2 題)、狂犬病 (2 題)、アルボウイルス感染症 (2 題) である。

2) 新興ウイルス感染症 (森川茂)

(1) ウイルス：Forecariah ウイルスは、SFTSV ウイルスと異なり感染細胞に細胞変性効果をもたらした。力価測定は、感染細胞を感染 4 日目に pH 5.4 で 60 秒処理して細胞融合を誘導すると強い細胞融合が誘導されることを利用した。種々の細胞でウイルスは増殖したが Vero 細胞での力価が 1×10^7 TCID₅₀/mL と高かった。

(2) ウサギ感染実験：SPF ウサギ (6 週齢) に Forecariah ウイルスを 1×10^6 TCID₅₀ 静脈内接種して経過を観察した結果、ウサギは症状を呈さずに不顕性感染した。そこで、感染 5 週目に再度同量のウイルスを静脈内接種したが、症状に変化は認められなかった。

(3) SFTSV ウイルスとの血清学的鑑別：ELISA 及び IF により Forecariah ウイルスに対する抗体を測定した結果、感染 1 週目で弱い抗

体応答がELISAで認められ、2週間からは確実に検出できた。5週目に追加感染させた結果、6週目には顕著な抗体価の上昇が認められた。ELISAとIFを比較すると前者が後者の40から80倍感度が高かった。SFTSウイルスの血清学的交差反応性をELSIA及びIFで解析した結果、Forecariahウイルス感染ウサギ血清は、感染6週目の血清がSFTSウイルス抗原に対してELISAで非常に弱い交差反応を示したが、IFでは全く交差が認められなかった。また、感染4週目までの血清ではSFTSウイルスとの交差は認められなかった。一方、SFTSウイルス免疫血清はForecariahウイルスとは全く交差しなかった(表1、2)。

3) ウイルス性下痢症 (中込治)

10年間における5歳未満の急性胃腸炎による入院1,596例のうち、834例についてロタウイルス抗原検索がなされ、387例が検査陽性であった。地域の5歳未満の平均人口を4,400人とすると、ロタウイルス重症下痢症による粗入院率は、8.8/1,000 人・年であり、調整入院率は、13.7/1,000 人・年であった。また、これらの入院の70%が6~23か月児に、80%が6~35か月児に発生していた。

4) ウイルス性出血熱 (有川二郎)

(1) SFTSV GPをVero細胞に発現させた場合、ERGICやゴルジ装置には局在が認められたが、ERへの局在は認められなかった。Nはどちらとも同一の分布を示さなかった。この結果はハンタウイルスと同様であった。

(2) SFTSV GPあるいはハンタウイルスGPを発現させた細胞にシュードタイプVSVを感染させることでSFTSV GPを外殻したシュードタイプウイルスを作出した。ウイルス感染価をレポーターのGFP陽性細胞として計測し比較したところ、コントロールとして作成したVSV Gを外殻したシュードタイプが最も高く、次いでハンタウイルスシュードタイプが1/10であり、SFTSVシュードタイプはハンタウイルスシュードタイプと比較して1/10から1/100低い感染価であった。ルシフェラーゼ活性を指標とした結果も同様であった。

5) 狂犬病 (西園晃)

各組み換えプラスミド発現蛋白のNA細胞でのG蛋白質のN型糖鎖の付加状況は、図1の通りで予想通りであった。1088株G蛋白質ではWTと比べて、L38R、D146N、K158N、R196S

およびD247N変異体では1つのN型糖鎖の追加が、K158N/D247NおよびR196S/D247N変異体では2つのN型糖鎖の追加が、N319Q変異体では1つのN型糖鎖の欠失が確認され、S204N変異体では過去の報告(Wunner, 1985; Yamada, 2013)と同様に、この変異による第204位への効率的なN型糖鎖の追加は認められなかった。ERA株G蛋白質ではWTと比べ、N247D変異体では1つのN型糖鎖の欠失、R196S変異体では1つのN型糖鎖の追加、N247D/R196S変異体のN型糖鎖数は変化無かった。ツニカマイシン処理ではアミノ酸配列によるG蛋白質の移動度に変化は無かった。

1088株G蛋白質およびそのN型糖鎖付加変異体の免疫原性については、3回目免疫後においてはWTに比べてN型糖鎖追加変異体で高い中和抗体誘導能が認められ(図2)、特にR196S変異体で顕著であった。4回目免疫後においては、K158N変異体およびR196S変異体でWTと比べて有意な中和抗体誘導能の上昇が認められた。また、N319Q変異体は中和抗体をほとんど誘導できなかった。

1088株G蛋白質第194位へのN型糖鎖追加(R196S変異)が特に免疫原性を亢進させたため、ERA株G蛋白質にも適用可能か検討を行ったところR196S変異体では著しく増加していた(図3)。4回目免疫後、R196S変異体は高い中和抗体誘導が認められたが、WTと比べて有意ではなかった。また、ERA株G蛋白質では第247位におけるN型糖鎖の存在下で第194位にN型糖鎖を追加した場合には中和抗体誘導能を顕著に亢進させたが、第247位の代わりに第194位単独でN型糖鎖を付加した場合の変化は無かった。

5) アルボウイルス感染症 (森田公一)

(1) デングウイルスの自然免疫回避機構

DENVは感染4日後に肉眼観察可能なフォーカス(ウイルス感染細胞の集団)を形成し、6日目までその大きさを拡大した(アルボウイルス-図1)。一方、JEVは感染2日後にフォーカスを形成し、4日後まで拡大したものの、6日後にはほとんどのフォーカスが消失した。

DENVおよびJEV感染細胞にヒト組み換えIFN- β を投与し、フォーカス形成および培養上清中ウイルスRNA量を調べた結果ではDENV、JEVともに50 U/mlの組み換えIFN- β 適用で、フォーカス形成阻害および上清中RNA量の有意な低下が認められた。また、ウイルス感染により誘導される

I型IFNを抗IFN- α/β 抗体でブロックした結果、DENV感染細胞では変化が見られなかったが、JEV感染細胞においてはフォーカスサイズの増大と上清中ウイルスRNAの増加が確認された。

DENV、JEV感染細胞における細胞内ウイルスRNA量および、IFN- β mRNA量をRT-qPCR法により定量したその結果、DENVでは感染48時間後、細胞内ウイルスRNA量が増加(1.66x10⁸ copies/1 μ g of total RNA)したが、IFN- β はほとんど誘導されなかった一方、JEVでは感染24時間後までウイルスRNAは増加し(5.01x10⁸copies)、高いIFN- β 誘導が見られた(アルボウイルス図2)。

2種類の細胞透過処理薬を用いて、DENV、JEV感染細胞における細胞内でのdsRNAの局在を検証した結果では、1%NP-40処理では、DENV感染細胞、JEV感染細胞ともに感染36時間後、約80%の細胞でdsRNAが確認された(アルボウイルス図3)。一方、0.5 mM Digitonin処理した細胞では、DENV感染細胞では感染72時間後まで、ほとんどdsRNAを持つ細胞が確認されなかったのに対し、JEV感染細胞では感染24時間以降、時間とともにdsRNAが染色される細胞数が増加していった(アルボウイルス図3)。

(2)ミャンマーのチクングニアウイルスの分子疫学解析

2010年にミャンマーで有熱患者から分離された4株のE1蛋白遺伝子の全長延期配列を解析し、樹状解析した結果をアルボウイルス図4に示す。解析した全てのチクングニアウイルスはかつてミャンマーで流行していたアジア型のウイルスではなく、East Central South African genotype (ECSA型)であることが初めて、明になった。

D. 考察

1) EID国際会議ならびに日米合同ウイルス性疾患専門部会参加

いずれの会議等にも、日本側より積極的に参加、発表を行い、日米研究者やアジアの参加研究者との情報交換を行った。また、若手研究者の育成を目的として、EID国際会議においてPhD学生4題、修士課程学生2題、若手助教7題のポスター発表を行った。これは全16題の日本側からの発表中13題にのぼ

った。若手研究者の育成およびアジア研究者との交流において、一定の成果があったものと判断している。

しかし、会期中における限られた経験と交流のみであり、今後は、開催国の大学等の訪問を含むさらなる交流や共同研究の開始等を検討すべきと考えている。

2) 新興ウイルス感染症 (森川茂)

Bhanjaウイルス血清型は、遺伝的にSFTSウイルス群と併せてUukuniemi群を形成し、HI試験でBhanjaウイルス、SFTS/Heartlandウイルスが交差すると報告されている(Matsuno, et al., JVI 2013, 87(7):3719-28)。これまでのウイルス分離や血清疫学的解析からSFTSウイルス群がアジア、オセアニア、北米と広範囲に分布すると考えられている。これらのウイルスはマダニと動物間で感染環を形成するため、ウイルスの分布を推定するためには動物の血清疫学的解析が有用である。本研究で、Bhanjaウイルス血清型とSFTSウイルス群は、ELISAでは非常に弱い交差が認められる事があるが、IFにより血清学的に鑑別できることが示された。なお、遺伝的に距離があるリフトバレー熱ウイルスとは血清学的に交差しないことを既に確認していることから、本研究によりPhlebovirus属のウイルスを血清学的に鑑別できる様になった。

3) ウイルス性下痢症 (中込治)

本研究により得られた、ロタウイルス重症下痢症による粗入院率および調整入院率は、1980年代後半から2000年代初めにかけて同一地域で行われた調査とほぼ同等の高い数値であり、ワクチンが使用されない状況下では、ロタウイルス重症下痢症のコントロールがほとんど不能であることが推察される。また、10年間の調査期間中に得られた年変動の最小値は最大値の3分の1であり、このような大きな変動はかつての調査と同様であった。その原因は不明であるが、ワクチンの効果を生態学的研究手法により評価する場合、注意が必要である。

4) ウイルス性出血熱 (有川二郎)

ハンタウイルスとSFTSVのGP、NはER、ERGIC、Golgiとの局在については類似した挙動を示した。一方で、GPについてはシュードタイプ作出の効率がSFTSVの方が著しく低いことが明らかとなった。VSVは細胞膜で出芽する

ういるすであるので、細胞膜への発現が十分出ない可能性がある。効率の問題はあるものの、両ウイルスのシュードタイプウイルスが作出できた。

5) 狂犬病 (西園晃)

Gタンパク質の第319位へのN型糖鎖付加は、狂犬病ウイルスG蛋白質の免疫原性にとって非常に重要であることが確認された。これは、第319位のN型糖鎖はG蛋白質の正しい立体構造の形成に重要であるためことによる(Yamada, 2013)。1088株G蛋白質とは異なり、ERA株G蛋白質においては第247位のN型糖鎖は免疫原性に重要であることが示されたが、これはERA株が継代により樹立される過程でいつ第247位にN型糖鎖付加されたかは不明であるが、それが付加された後に蓄積したアミノ酸変異が第247位N型糖鎖依存的な免疫原性に関与しているのかもしれない。一方、第194位へのN型糖鎖の追加は1088株およびERA株のG蛋白質の免疫原性を亢進させることを明らかにしたが、そのメカニズムまでは解明できていない。第194位は抗原領域II(アミノ酸領域34-42および198-200で形成される構造エピトープ)の近傍であるため、このエピトープに対する免疫原性を亢進させているのかもしれない。今後、認識エピトープの判明した各種モノクローナル抗体を用いた競合法により、第194位へのN型糖鎖の追加により産生が亢進される中和抗体のエピトープを明らかにする予定である。またERA株と起源を同じとするVnukovo 32株を保有するベトナム国立疫学衛生研究所の研究者とともに、Vnukovo 32株に新たな糖鎖を付加することで、より免疫原性の高い強力なワクチンを作成し、ベトナム自国での狂犬病ワクチン生産をサポートすることも近未来的な視野に入れて、アジアにおけるワクチン開発の基盤研究を進めたい。

6) アルボウイルス感染症 (森田公一)

DENVはI型IFNをあまり誘導しない為、持続的なフォーカスの拡大が見られる一方、JEVでは感染早期にI型IFNを誘導することで、フォーカスの縮小、消失が起きたと考えられた。また、DENVでは高い多重感染度(Multiplicity of infection: MOI)で感染させた場合においてJEVと同等のウイルスRNA増幅が起こるものの、IFN- β の誘導はほとんど起こらないと推測される。DENV感染細胞ではdsRNAは産生されるものの

ほとんどが細胞質に出現せず、JEV感染細胞では時間とともに徐々に細胞質に露出してくることが示唆された。これにより、デングウイルスはヒト細胞でのPRRsによる検出系を効果的に回避してインターフェロンの誘導を遅らせることで高い増殖性を獲得していると考えられる。

ミャンマーで初めてアフリカ起源のチングニアウイルスの流行が確認されたことにより、このECSAタイプのウイルスはアジア全域に侵入していることが示唆された。

E. 結論

1) EID国際会議ならびに日米合同ウイルス性疾患専門部会参加

いずれの会議等にも、日本側若手研究者や学生を含め多数が参加・発表を行い、若手研究者の育成に努めるとともに、日米研究者やアジアの参加研究者との情報交換を行った。

2) 新興ウイルス感染症 (森川茂)

遺伝的に近縁なBhanjaウイルス血清型とSFTSウイルス群を血清学的に鑑別できる体制が確立した。本法は、血清疫学的解析に有用である。

3) ウイルス性下痢症 (中込治)

本研究により、わが国には高いロタウイルス重症下痢症による入院率があり、その大半が6~35か月児に発生しているのことに鑑み、ワクチンによる制御に大きな期待がもたれる。

4) ウイルス性出血熱 (有川二郎)

ハンタウイルスおよびSFTSVのシュードタイプウイルスが作出できたことから、安全な中和試験の確立に向けての準備ができた。

5) 狂犬病 (西園晃)

今回、第194位へのN型糖鎖の追加は狂犬病ウイルスG蛋白質の免疫原性を高めることが明らかとなった。この成果は特に途上国にとって大きな経済的負担である狂犬病ワクチンを、少量の接種でより効率的なワクチンとして提供し得る基礎的知見を提供し、より低コストで効果的な狂犬病ワクチンの開発に役立つものと考えられる。

6) アルボウイルス感染症 (森田公一)

デングウイルスの自然免疫回避機構の一つとしてウイルスdsRNAの検出系をすりぬけるこ

とでインターフェロンの発現を遅らせる機序が明らかになり、今後、抗ウイルス薬開発にあたっては、この機序を標的にした薬剤開発も考慮する必要があると思われる。

アフリカ起源のチクングニアウイルス (ECSA 型) がミャンマーに侵入してチクングニア熱の流行を起こしていることが明らかになった。今後、日本においてもこの型の国内侵入の可能性に留意する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kinoshita S, Noguchi A, Miura S, Nakagomi T, **Nakagomi O**, Takahashi T. A retrospective, hospital-based study to determine the incidence of rotavirus hospitalizations among children less than 5 years of age over a 10-year period (2001-2011) in Akita prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis* 2014;67(6):464-468.

2) Do LP, Nakagomi T, Doan YH, Kitahori Y, **Nakagomi O**. Molecular evolution of the VP7 gene of Japanese G2 rotaviruses before vaccine introduction. *Arch Virol*. 2014;159(2):315-319.

3) Do LP, Nakagomi T, **Nakagomi O**. A rare G1P[6] super-short human rotavirus strain carrying an H2 genotype on the genetic background of a porcine rotavirus. *Infect Genet Evol* 2014;21:334-350.

4) Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, Ito H, Doan YH, Takahashi T, Ozaki T, Katayama K, **Nakagomi O**. Spread and predominance in Japan of novel G1P[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like genotype constellation typical of G2P[4] strains. *Infect Genet Evol* 2014;28:426-433.

5) Yoshimatsu K. & **Arikawa J**. Antigenic properties of N protein of hantavirus. *Viruses* 2014, 6: 3097-3109.

6) Yasuda SP, Gamage CD, Koizumi N, Nishio S, Isozumi R, Shimizu K, Koma T, Amada T, Suzuki H, Yoshimatsu K, **Arikawa J**. Distinct genetic characteristics of Sri Lankan *Rattus* and *Bandicota* (Murinae, Rodentia) inferred from mitochondrial and nuclear markers. *Genes Genet Syst* 2014, 89: 71-80

7) Yamada K, Noguchi K, **Nishizono A**. Characterization of street rabies virus variants with an additional N-glycan at position 247 in glycoprotein. *Arch Virol*. 2014 Feb; 159(2): 207-217.

8) 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*. 2014 Jan 22; 179: 169-176.

9) Karunanayake D, Matsumoto T, Wimalaratne O, Nanayakkara S, Perera D, **Nishizono A**, Ahmed K. Twelve years of rabies surveillance in Sri Lanka, 1999-2010. *PLoS Negl Trop Dis*. Oct 9; 8(10), e3205, 2014.

10) **Nishizono A**. 2014. Demonstration of Viral Antibodies by an Immunochromatographic Strip Test: Current Laboratory Techniques in Rabies Diagnosis, Research, and Prevention, Vol. 1, p127-131. *In* Charles Rupprecht and Thirumeni Nagarajan (eds.) Academic Press, Elsevier

11) Ngwe Tun MM, Thant KZ, Inoue S, Nabeshima T, Aoki K, Kyaw AK, Myint T, Tar T, Maung KTT, Hayasaka D, **Morita K**. Emergence of East Central South African Genotype of Chikungunya Virus in Myanmar, 2010. *Emerg Infect Dis*. 20:1378-1381, 2014

12) Aoki K, Shimada S, Simantini DS, Ngwe Tun MM, Buerano CC, **Morita K**, Hayasaka D. Type-I interferon response affects an inoculation dose-independent mortality in mice following Japanese encephalitis virus infection. *Virology*. 11; 105, 2014

13) 森田公一、デング熱:日本にも忍び寄る熱帯感染症、感染症道場、Vol.3, p41-44, 2014

14) 高松由基、森田公一:デング熱ワクチン、臨床と微生物、Vol.41:763-770, 2014

15) Leo Uchida, Lyre Anni Espada-Murao, Yuki Takamatsu, Kenta Okamoto, Daisuke Hayasaka, Fuxun Yu, Takeshi Nabeshima, Corazon C. Buerano, and **Kouichi Morita**. The Dengue virus conceals double-stranded RNA in the intracellular membrane to escape from an interferon response. *Scientific Reports*. 4:7395.

2. 学会発表

1) 森川茂、木村昌伸、堀田明豊、加来義浩、朴ウンシル、鈴木道雄、野口章、井上智、今岡浩一、前田健。「野生のシカにおける SFTS ウイルス抗体調査」第157回日本獣医学学会学術集会、北海道、2014年9月9日-12日

2) 森川茂、朴ウンシル、今岡浩一、前田健、宇田晶彦。「SFTS ウイルスの生活環における野生のシカの役割」第62回日本ウイルス学会学術集会、神奈川、2014年11月10-12日

3) **Shigeru Morikawa**, Masanobu Kimura, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani Tomoyuki Yoshikawa, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in domestic and wild animals in Japan.

XVIth International Congress of Virology, Montreal (Canada), 27July- 1Aug 2014

4) **Shigeru Morikawa**, Akihiko Uda, Masanobu Kimura, Kawabata, Hiroki, Shuetsu Fukushi, Aiko Fukuma, Yoshihiro Kaku, Unsil Paku, Hideki Tani, Tomoyuki Yoshikawa, Aya Niikura, Shuji Ando, Sawabe Kyoko, Hiromi Fujita, Koichi Imaoka, Masayuki Shimojima, Masayuki Saijo, Ken Maeda. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in animals and ticks in Japan. The 10th China-Japan International Conference of Virology, Changchun, China, Aug25-28 2014.

5) **Shigeru Morikawa**. Severe fever with thrombocytopenia syndrome in animals and ticks in Japan. 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases, Taipei, Taiwan, Jan25-29, 2015.

6) Doan, Y.H., Nakagomi, T., Agbemabiese, C.A., **Nakagomi, O**. Molecular evolution of G2P[4] rotavirus strains at the whole genome level. The 11th International Rotavirus Symposium, New Delhi, India, 3-5 September, 2014

7) 中込とよ子、中込治、団海燕 ロタウイルスの分子疫学:マラウイにおけるG12P[6]株の突発出現の背景 第62回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014.11.10-12

8) 金子美穂、中込とよ子、中込治 自己対照症例系列(SCCS)法によるロタウイルスワクチンの腸重積発症リスクの評価 第18回日本ワクチン学会学術集会 福岡 2014.12.6-7

9) Ito R, Tsuda Y, Nishio S, Shimizu K, Yoshimatsu K, and **Arikawa J** : Analysis of intracellular localization of virus proteins of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. US-Japan Cooperative Medical Science

Program, 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim Jan 25-29, 2015, Taipei, Taiwan

10) Obana S, Shimizu K, Yoshimatsu K, Hasebe F, Hotta K, Isozumi R, Hoa Thuy Nguyen, Mai Quynh Le, Yamashiro T,

Arikawa J: Epidemiological study of rat hepatitis E virus infection in wild rodents in Vietnam, US-Japan Cooperative Medical

Science Program, 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim Jan 25-29, 2015, Taipei, Taiwan

11) Yamada K, Noguchi K, **Nishizono A**. Effect of *N*-glycosylation on immunogenicity of the rabies virus glycoprotein. 48th Viral Diseases Panel Meeting, The Japan-US Cooperative Medical Science Program. Taipei, Taiwan (2015.1)

12) 井上真吾, Allan ole Kwallah, Salame Ashur, Mulati Omuyundo, Missiani Ochwoto, Samson Muuo, Lucy Okubi, Matilu Mwau, **森田公一**:ケニアインド洋沿岸におけるデング熱の発生報告, 第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 山口, 2014 年 5 月 16 日~5 月 17 日

13) 内田玲麻, Espada-Murao Lyre Anni, 早坂大輔, **森田公一**:Double stranded-RNA concealing によるデングウイルスの I 型 IFN 誘導回避機構, 第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会, 山口, 2014 年 5 月 16 日~5 月 17 日

14) **森田公一**:わが国へ侵入が危惧されるフラビウイルス感染症, 第 14 回ヒトと動物の共通感染症研究会学術集会, 東京, 国立感染症研究所, 2014 年 11 月 8 日

15) **森田公一**:デングウイルス感染の自然免

疫系制御機構の解明, 第 46 回九州微生物研究会, 福岡, 2014 年 12 月 22 日

16) **Kouichi Morita**, The function of Japanese encephalitis virus NS1' protein on pathogenicity in avian hosts. 49th US-Japan Medica Science Cooperation Program, Viral Diseases Panel Meeting, Taipei, Taiwan, 2015, January 28, 2015.

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