

201447007A

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス
感染症に対する総合的対策の確立に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 高 崎 智 彦
(国立感染症研究所ウイルス第一部 室長)

平成27 (2015) 年 3 月

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス
感染症に対する総合的対策の確立に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 高 崎 智 彦
(国立感染症研究所ウイルス第一部 室長)

平成27 (2015) 年 3 月

目 次

I. 委託業務成果報告 (総括)	
国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス感染症に対する総合的対策の確立に関する研究 -----	1
高崎 智彦	
II. 委託業務成果報告 (業務項目)	
1. 黄熱ウイルス野生株 (南米株対応、アフリカ株対応) 検出用リアルタイムPCR法の開発 -----	15
高崎 智彦	
2. デングウイルス・リフトバレー熱ウイルスの病原体迅速検査法の確立に関わる技術開発 -----	20
森田 公一	
3. フラビウイルス抗体測定に有用な1回感染性ウイルス様粒子の開発と応用 -----	27
小西 英二	
4. 抗デングウイルス活性測定と化合物スクリーニングに関わる研究開発 -----	37
日紫喜 隆行	
5. デングウイルスに対する抗ウイルス剤の開発 -----	42
高橋 和郎	
6. 媒介昆虫の垂直伝播に関する研究 -----	44
澤邊 京子	
7. 昆虫媒介性ウイルス感染症の有効な情報提供法の開発に関する研究 -----	48
濱田 篤郎	
8. マーモセットを用いた再感染デング熱動物モデルの構築 -----	57
モイメンリン	
9. マーモセットにおけるデング感染 (再感染) モデルの病理学的解析 -----	62
鈴木 隆二	
10. ロスリバーウイルスに対する日本産蚊の感受性と媒介能 -----	66
江下 優樹	
11. チクングニアウイルスレプリコンの設計および抗チクングニア剤評価のための霊長類モデルに関する検討 -----	74
倉根 一郎	
III. 学会等発表実績 -----	79

I. 委託業務成果報告（総括）

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
委託業務成果報告（総括）

（委託業務題目）
国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス感染症に対する
総合的対策の確立に関する研究

業務主任者 高 崎 智 彦
（国立感染症研究所ウイルス第一部 室長）

研究要旨：

デングウイルス(DV)はフラビウイルス科、チクングニアウイルス(CHIKV)はトガウイルス科アルファウイルスに属する RNA ウイルスである。どちらもネッタシマカあるいはヒトスジシマカなどの蚊を媒介としてヒトに感染する。DV はデング熱(DF)やデング出血熱(DHF)という異なる病態を惹起する。世界的に年間数千万～1 億人が DF、数十万人が DHF を発症している。地球温暖化と流行地の都市化現象が要因となり流行地域拡大が最も危惧されている感染症である。我が国の輸入症例も年々増加し、2010 年以後は震災後の海外旅行者が減少した 2011 年を除いて、毎年 200 例以上のデング熱輸入症例が報告されていた。2013 年 8 月に日本国内を旅行したドイツ人旅行者が、直行便でドイツに帰国後デング熱を発症した日本からのデング熱輸出症例の疑い症例が報告され、患者検体をドイツから取り寄せて確認検査を実施した結果、デングウイルス 2 型感染であることを確認した。2013 年の夏に日本国内で小流行があった可能性が高いことを考えて、診療ガイドライン、媒介蚊対策マニュアルなどを本研究班で準備していたところ、2014 年 8 月に代々木公園で感染したと考えられる海外渡航歴のないデング熱症例が確認された。この症例を端緒として総数 162 例の国内デング熱症例が確認された。また、デング熱と類似の症状を来す Zika 熱が 2007 年のミクロネシアでの流行以後、太平洋島嶼国、東南アジアで流行が散発している。2013 年 12 月にフランス領ポリネシア BoraBora 島から我が国への初めての Zika 熱輸入症例 2 例を病原体検査および中和抗体測定により確認したが、2014 年 6 月にはタイからの Zika 熱輸入症例を、先の Zika 熱 2 症例の血清を用いて確立した IgM 抗体検査により実験室診断し確定した。日本脳炎ウイルスレプリコンを用いた 1 回感染性フラビウイルス粒子産生系を用いて Zika virus の 1 回感染性粒子を作製した。

また、チクングニアウイルスに近縁であるロスリバーウイルスによりオーストラリアで流行しているロスリバー熱の初輸入症例を 2013 年 5 月に確認したが、このロスリバーウイルスに日本産蚊が感染可能かどうかを検討し他結果、ヒトスジシマカ、ヤマダシマカおよびリバースシマカに感受性があることを確認した。

また日本脳炎ウイルスレプリコンを用いた 1 回感染性フラビウイルス粒子産生系をデングウイルス 1 型の 5 つの遺伝子型に適用し、患者検体（22 検体）を用いて中和抗体能を評価したところデングウイルス 1 型ワクチンに関しては、5 つの遺伝子型に関して同等の

中和能を示した。実験室検査法開発においては、デングウイルス NS1 抗原検出イムノクロマトキットを開発し良好な感度、特異性が得られた。またデングウイルス粒子抗原検出イムノクロマト法も開発に着手し、ウイルス抗原を昆虫細胞発現ベクターにより増殖させた。

デングワクチン、抗ウイルス剤評価のための動物モデルに関しては、デングワクチン開発で障害となっている再感染に関するマーマセットモデルを開発、評価した。マーマセットの再感染に関して、ウイルス学的、免疫学的小および病理学的に解析し、マーマセットがデングウイルス感染動物モデルとしての有用性を明らかにした。

デング熱国内流行に関して：2014年8月に発生したデング熱流行に際しては、デング熱診療ガイドライン（診療マニュアルを改訂し第一版）とし9月16日に公開した。また自治体向けにデング熱対策マニュアルも同時に公開した。この国内流行では東京都内の公園を中心に国内に広く生息するヒトスジシマカによるデングウイルス媒介が引き起こした流行で162人の国内感染デング熱症例が確認、報告された。都内公園におけるヒトスジシマカの生息数は相当な多さであり、感染蚊の数も捕獲した蚊からウイルス遺伝子が容易に検出され、ウイルス分離も可能であったことから、感染蚊の密度も高かったと推測される。こういった状況下では、卵の状態越冬する媒介昆虫の経卵伝播に関する知見を早急に検討する必要があった。そこで、大型で生理生化学的な解析データの蓄積のあるオオクロヤブカにより、デングウイルスの経卵伝播を解析した結果、デングウイルスはオオクロヤブカでも増殖可能であり、経卵伝播が起こることを確認した。現在ヒトスジシマカでも確認中である。

2011年2月から、感染症法において4類感染症全数把握疾患に規定されたチクングニアウイルスは、2005年に西インド洋諸国で流行が拡大した後、インド、スリランカに拡大し、2007年にはインドからの輸入症例によりイタリアで国内流行が発生した。2011年にはフィリピンミンダナオ島で国内流行が確認され、2012年にはメトロマニラをはじめ各地に拡大した。2013年にはカリブ海諸国にも流行が波及し、2014年7月には米国フロリダ州に侵入した。現在も中米、南米のカリブ海沿岸諸国に拡大している。簡便な抗チクングニアウイルス剤スクリーニング法を開発するために、チクングニアウイルスレプリコンを設計するとともに、抗チクングニアウイルス作用の評価のためにマーマセットモデルの開発を行った。その結果、肝臓においてウイルス特異的抗原が認められ、AST、ALT、LDHの上昇が確認され、肝機能がマーカーできる可能性が示唆された。

国内流行に対するデング熱診療ガイドライン、対策マニュアルの策定・公開以外に「一般国民」と「シンガポール在留邦人」を対象に、デング熱に関する知識の調査を行った。昨年度作製した動画DVD「デング熱の予防対策」の拡充を図るべく素材を取集した。

担当責任者： 日紫喜隆行（京都大学ウイルス研究所助教）
森田公一（長崎大学熱帯医学研究所教授） 高橋和郎（大阪府公衆衛生研究所副所長）
小西英二（大阪大学微生物病研究所教授）

澤辺京子（国立感染症研究所昆虫医科学部
部長）

鈴木隆二（相模原病院臨床研究センター室
長）

江下優樹（大分大学医学部・感染分子病態
制御学講座准教授）

モイメンリン（国立感染症研究所ウイル

A. 研究目的

現在流行が拡大しているデング熱は、毎年約1億人がデング熱を、数十万人がデング出血熱を発症している。我が国の輸入症例も増加し、2013年は249例を超えて感染症法施行後最高の症例数となった。そして2014年8月にかねて危惧されていたデング熱国内流行が発生し、162名の国内感染デング熱患者が報告された。

また、チクングニアウイルス（CHIKV）が引き起こすチクングニア熱（CHIKF）は、2005年に西インド洋島嶼国で大流行が確認されて以降、南アジア、東南アジアに流行が拡大し、2013年にはカリブ海諸国侵入した。2014年7月にはついに米国フロリダ州に流行は拡大した。媒介蚊はDVと同じヒトスジシマカである、チクングニア熱の国内発生も危惧される場所である。このような事態を防ぐためには、迅速な診断、治療が不可欠である。難航しているデングワクチン開発のために必要不可欠な霊長類モデルを開発する。また、ワクチンの評価に欠かせない中和抗体測定などの機能的検査法のための1回感染性フラビウイルス粒子産生系システムの実用範囲を広げる。

CHIKFは、未だ治療薬やワクチンがない深刻な感染症で、急性症状が治まっても関節炎が持続し、時に慢性関節リウマチ様になり、リハビリが必要となることも多くそ

ス第一部研究官／長崎大学熱帯
医学研究所）

濱田篤郎（東京医科大学渡航者医療センタ
ー教授）

倉根一郎（国立感染症研究所副所長）

の病態解明が待たれている。2013年に初輸入症例を確認した類似の感染症であるロスリバー熱やジカ熱（Zika fever）も同様である。また、ヨーロッパ等で時に流行しているチョウバエが媒介するサンドフライ熱に関しても、サチチョウバエが我が国に生息することから、実験室診断法を確立しする。本研究の目的は昆虫媒介性ウイルス感染症の迅速診断法の開発およびその普及および病態形成機構を解明し、効果的な治療・予防法を確立である。デングウイルスやチクングニアウイルスに対する抗ウイルス作用の簡便なスクリーニング法を確立し、抗ウイルス作用を有する化合物を検索する。輸入症例からのウイルスやデングウイルス国内分離株を用いて、サルへの病原性解析および蚊の感受性実験も実施する。対策マニュアル、ガイドライン、ビデオ等海外渡航者への情報提供法を構築し、その効果を検証し修正、医療関係者や自治体、一般市民に周知を図り、これらの感染症、媒介蚊に対する意識の向上を図る。日本近隣諸国の流行状況は初年度から研究代表者、分担研究者のチャンネルにより把握し、日本の輸入症例から得られる情報は本研究班を通じて海外に提供し、その情報交換のシステムを図る。

B. 研究方法

1. 診断法の開発・評価

黄熱ウイルス野生株（南米株対応、アフリカ株対応）検出用リアルタイム PCR 法

GenBank に登録された黄熱ウイルスの塩基配列を収集し、アフリカ株、南米株用のリアルタイム PCR のプライマーおよびプローブセットを設計し、それらをアフリカ株に由来する黄熱ワクチン株（17D）で評価した。

イムノクロマト法を用いたイムノクロマト

法による NS1 抗原検出系の作製

デングウイルスの非構造蛋白質の NS1 蛋白遺伝子を大腸菌発現ベクターのクローニングサイトに挿入して His-tag を付加した状態で大腸菌に発現させ、溶菌処理後、精製した。抗 NS1 単クローン抗体を作り、ニトロセルロースメンブレンに抗 NS1 モノクローナル抗体をコーティングし、より安価な NS1 抗原検出キットを作製した。

1 回感染性フラビウイルス粒子（SRIP）による抗体測定法の評価

1) ZIKV-SRIP の作製 ; ZIKV

(MR766-NIID 株) の表面蛋白遺伝子を哺乳動物細胞発現ベクター pcDNA3 に組み込み、表面蛋白発現プラスミド pcZIKME を作製した。

2) D1-SRIP の作製と抗体試験 :

GenBank に登録された配列から、デングウイルス 1 型 (血清型) の 5 種類の遺伝子型 (GI-GV) について作製した。それらを国立感染症研究所診断したヒト血清デング輸入症例血清を急性期・回復期のペアで合計 44 検体を用いて中和抗体、感染増強抗体を評価した。

2. 抗ウイルス活性剤の開発・探索

抗デングウイルス活性測定法の開発

デングウイルス 1 型の分子クローン (02-20/pMW119) をもとに作製した一過性発現型のサブゲノムレプリコンを恒常発現型にするために、プロモーターの変更、および薬剤耐性遺伝子の挿入を行なった。また、ルシフェラーゼ遺伝子と薬剤耐性遺伝子の挿入位置の検討の為に、3 種類のプラスミドを

構築した。さらに、*in vitro* 合成した RNA を培養細胞 (ヒト肝癌由来細胞 : Huh7 細胞) にトランスフェクション法によって導入後、薬剤選抜を行なった。

デングウイルス増殖阻害活性測定

市販の漢方薬 20 種類についてデングウイルス増殖の阻害活性をフォーカス形成減少法により評価した。

3. 媒介昆虫の垂直伝播に関する研究

デングウイルス経卵巣伝播の研究

オオクロヤブカにデングウイルス 1 型、デングウイルス 2 型を感染させた。10⁸ コピー/ml のウイルスを人工膜吸血法により経口的に蚊に摂取させ、その後、産卵させ幼虫、蛹とし、羽化させて成虫を得た後、ブラークアッセイ法で感染性デングウイルスを定量した。

4. 情報提供法の開発

デング熱予防に必要な情報内容の調査

インターネット調査会社のコンピュータ・プランニング・リサーチ社に委託し、同社のモニター 1500 人 (デング熱を知っている者) を対象に行った。また、シンガポール日本人会診療所で 2014 年 12 月中旬～2015 年 1 月中旬に受診した日本人にアンケート調査を実施した。質問内容はデング熱の認識度、対策状況、知識レベルなどである。

5. 動物モデルの開発、病態解析

マーモセットを用いたデングウイルス再感染モデルの構築

デングウイルス 2 型既感染マーモセット 9 個体に、デングウイルス 1 型の感染実験を行った。さらに、2 型既感染 2 個体に、DENV3 の接種を行った。DENV 接種前および接種後 2、4、7、10、14 日目に採血を行った。RT-PCR にてウイルス血症の定量を行い、BHK 細胞、FcγR 発現細胞により感染性ウイルスの定量を行った

デングウイルス再感染マーモセットモデルのサイトカイン動態および病理学的解析

再感染接種後に 2 週間後の臓器を採取して病理組織学的検討を行った。また、この

間に血液を経時的に採血して、Real-time PCR によるサイトカイン等の発現解析を行い、各臓器における病理学的解析を実施した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、各関連施設における実験動物委員会のガイドラインにしたがって実施した。

6. ロスリバーウイルス、チクングニアウイルスに対する日本産蚊の感受性と媒介能

両ウイルスを胸部接種法および経口感染法によりヒトスジシマカ、ヤマダシマカ、リバーズシマカおよびネッタシマカに感染させ 28°C で 14 日間飼育を行い、PCR 法により蚊からウイルス遺伝子を検出した。

(倫理面への配慮)

蚊のウイルス感染実験を行う際は、BSL3

実験室で実施した。実施に際しては、大分大学動物実験委員会から承認を得て開始した。

7. 抗チクングニアウイルス活性評価系の開発

レプリコンの設計：CHIKV レプリコンを設計するためにするために GenBank 等から各株の遺伝子配列を解析した。

抗チクングニア剤評価のための霊長類モデルに関する検討

チクングニアウイルスを感染させたマーマセツトを病理学的かつ血液生化学的に解析した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、各関連施設における実験動物委員会のガイドラインにしたがって実施した。

C. 研究結果

1. 診断法の開発・評価

黄熱ウイルス野生株（南米株対応、アフリカ株対応）検出用リアルタイム PCR 法

アフリカ株、南米株用のリアルタイム PCR のプライマーおよびプローブセットは黄熱ウイルス 17D 株をアフリカ株用のみで陽性となった。

イムノクロマト法を用いたイムノクロマト法による NS1 抗原検出系の作製

大腸菌発現による Dengue ウイルス NS1 タンパク質高発現系を確立し抗 NS1 単クローン抗体を樹立してイムノクロマト法による Dengue NS1 抗原検出キットを試作した。本キットは Dengue ウイルス NS1 抗原に反応し、日本脳炎ウイルス NS1 抗原には反応しなかった。

1 回感染性フラビウイルス粒子 (SRIP) による抗体測定法の評価

Dengue ウイルス 1 型に関して作製した Dengue ウイルス 1 型 (血清型) の 5 種類の遺伝子型 (GI-GV) SRIP により中和抗体能を

評価したところ Dengue ウイルス 1 型ワクチンに関しては、5 つの遺伝子型に関して同等の中和能を示した。また、作製した ZIKA-SRIP は十分な放出感染性粒子が得られた。

2. 抗ウイルス活性剤の開発・探索

抗 Dengue ウイルス活性測定法の開発

ルシフェラーゼ遺伝子と薬剤耐性遺伝子の挿入位置が異なる計 3 種類のコンストラクトを *in vitro* RNA 合成し培養細胞に導入後、培養上清中のルシフェラーゼ活性を測定したところ、導入 3 日後には 20 万以上の値を示していたが、経時的に値が低下し、導入 12 日後にはほぼ検出限界値になった。また、導入 21 日後には全ての細胞が死滅し、生存細胞を選抜することは出来なかった。

Dengue ウイルス増殖阻害活性測定

市販の漢方薬 20 種類の抗 Dengue ウイルス活性を評価したが、増殖を抑制する有効な薬剤は認められなかった。

3. 媒介昆虫の垂直伝播に関する研究：デングウイルス経卵巣伝播の研究

デングウイルス感染オオクロヤブカの第1および第2世代の雌雄成虫からデングウイルスを検出し、デングウイルス感染後の第2世代(F2)の雄成虫5頭のうち2頭から3,000 PFU/mosquito以上のウイルス量を検出した。

4. 情報提供法の開発：デング熱予防に必要な情報内容の調査

「一般国民」と「シンガポール在留邦人」を対象に、デング熱の対策や知識についての調査を行った。いずれの集団でもデング熱への関心は高いものの、予防対策については知識が不十分な面もあった。「東南アジアに渡航経験がある集団」別に集計すると、「渡航経験がない集団」に比べて、デング熱への関心が高く、蚊の対策についても「昆虫忌避剤の使用」や「蚊を増やさない対策」が比較的高率に実践されていた。「シンガポール在留邦人」の調査では、デング熱を心配する者が8割近くにのぼった。

5. 動物モデルの開発、病態解析：デングウイルス再感染マーマセツトモデルの構築

再感染の個体において、接種0日目～4日目においては、初感染のウイルス血清型(DENV2)に対する中和抗体価が $>1:10$ であった。さらに、接種14日目には、すべての血清型(DENV1-4)に対する中和抗体が検出された。さらに、BHK細胞にて測定された中和抗体価は、Fc γ R発現細胞より高価であることが明らかとなった。IgM/IgG抗体の比も再感染のパターンを示した。

再感染に伴う炎症性サイトカインの変化は再感染2日後にIL-2、IL-5の優位な増加が確認され、7日後までに感染前のレベルに低下した。IFN γ は4日後に優位な増加が

確認され、その増加は14日まで継続した。IL-10は感染4日目から減少し10日目まで経時的に低下し14日目でもその低下は継続していた。病理学的検討では、肝・脾の細胞への感染を伴い、炎症性反応、肝細胞の腫大、肝実質への炎症性細胞浸潤が認められた。特に126～92週後に再感染した群で炎症性細胞浸潤が高度であった。脾臓の変化は、ウイルス感染により生じた反応性変化である白脾髄の拡大、胚中心の出現、赤脾髄へのリンパ球の出現程度の増加があった。腎臓には、びまん性で区域差の無い間質性腎炎が観察された。皮膚に関しては皮下血腫と血栓を伴った静脈の像が確認された症例があった。その他、肺、消化管、脳、心臓には明らかな変化は観察されなかった。

6. ヒトスジシマカおよびヤマダシマカはロスリバーウイルスに対して十分な感受性を有することが確認された。

7. 抗チクングニアウイルス活性評価系の開発

接種3日後より元気消沈、食欲減退を呈する個体が観察された。しかしながら発熱、体重減少は認められなかった。血液生化学検査ではALT、AST、LDHの上昇が観察された。病理解析を行った結果、肝臓において、細胞浸潤、肝のシングルセルネクロシスが認められ、肝細胞、肝管上皮細胞およびkupper細胞に特異的抗原が観察された。

D. 考 察

診断法の開発としては、黄熱ウイルス野生株(南米株対応、アフリカ株対応)検出用リアルタイムPCR法を開発したが、野生株の入手が難しく評価は来年度に持ち越した。今後はケニアやガーナの文科省感染症

研究拠点や米国 CDC の協力等を得て評価したい。昨年のデング熱国内流行で有用であった非構造タンパク NS1 抗原検出法を、より安価に量産できるようにデングウイルス NS1 イムノクロマト法による迅速抗体検出法の開発・改良を行った。また、プラスミドトランスフェクションによる 1 回感染性 JEV 粒子産生系 (SRIP) は、中和試験などの機能性アッセイが可能であるが、デングウイルス 1 型 (血清型) の 5 つの遺伝子型を構築し、患者血清により中和抗体を測定したところ、遺伝子型の違いで中和能に違いが出ることはなかった。これはワクチン株選定に際して少なくともデングウイルス 1 型に関しては遺伝子型を考慮する必要がないと考えられる。ジカウイルス ZIKA-SRIP も構築しウイルス粒子の産生を確認したが、今後患者血清を用いて評価する予定である。

抗ウイルス剤の探索・開発では、一過性発現型のレプリコンの系を改良し、分泌型ルシフェラーゼを有する恒常発現型のレプリコン細胞の樹立をめざしたが、完成にはいたっていない。しかし、完成すれば中和試験法を用いる評価よりはるかに効率的で有用なツールになると考えられる。

動物モデルの開発では、デングウイルス再感染マーモセットモデルを構築した。DENV 再感染におけるウイルス血症、抗体上昇パターン、感染性ウイルス-抗体複合体の検出は、デング熱再感染患者の兆候にかなり近いものであった。また、炎症性サイトカイン、病理学的観察では、かなりヒトのデング熱モデルに近い病態が観察され、ワクチン開発、抗ウイルス剤開発のための霊長類動物モデルとして有用である。

媒介蚊ウイルスに関しては、ロスリバーウイルスが日本国内のヒトスジシマカやヤマダシマカが十分な感受性があることが確認された。また、デングウイルスが経卵伝播する実験結果からは、昨年の代々木公園のように多くの感染蚊がいた状況では、可能性は低いと考えられている経卵越冬の可能性も考慮して、幼虫および成虫に関して今春には十分なウイルス遺伝子チェックが必要であると考えられる。

ヒトスジシマカはチクングニアウイルスの媒介蚊であることから、輸入症例に端を発して国内流行を起こす可能性は十分にあり、マーモセットはチクングニアウイルス (CHIKV) 感染動物モデルとして有用であり、今後はデングウイルス同様のレプリコンを開発し、抗ウイルス活性化化合物の探索を開始する。

デング熱、チクングニア熱の情報提供としては、本年度の成果であるデング熱診療ガイドライン、自治体向けにデング熱対策マニュアルにチクングニア熱に関する取り入れた形で改訂する。

E. 結 論

- 抗デングウイルス剤スクリーニングを簡便化するための分泌型ルシフェラーゼを有するレプリコンを開発した。
- デングウイルス NS1 抗原検出キットを安価に量産できる方法を開発した。
- デングウイルス再感染動物モデルとしてマーモセットが有用であることを示した。人におけるデング熱の病態に近い病理所見を認めた。
- 日本のヒトスジシマカがオーストラリアの蚊媒介性ウイルスであるロスリバ

- ーウイルスに感受性があることを確認した。
- デングウイルスの蚊における経卵伝播が起こることを確認した。
 - デング熱診療ガイドラインを作成した。
 - デング熱対策マニュアルを作成した。
 - 抗チングニアウイルス剤のスクリーニング法の基盤整備を行った。
- F. 健康危険管理情報
- チングニア熱が、カリブ海島嶼国にとどまらず、米国や中南米に拡大している。デングウイルスの経卵伝播をオオクロヤブカにより確認した。
- G. 研究発表
1. 論文発表
 - 1) Moi ML, Takasaki T, Omatsu T, Nakamura S, Katakai Y, Ami Y, Suzaki Y, Saijo M, Akari H, Kurane I. Demonstration of marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for secondary dengue virus infection: high levels of viraemia and serotype cross-reactive antibody responses consistent with secondary infection of humans. *Journal of General Virology*, 95(Pt 3):591-600, 2014.
 - 2) Moi ML, Takasaki T, Saijo M, Kurane I. Determination of antibody concentration as main parameter in a dengue virus antibody-dependent enhancement assay using FcγR-expressing BHK cells. *Archives of Virology*, 159(1):103-16, 2014.
 - 3) Tajima S, Kotaki A, Yagasaki K, Taniwaki T, Moi ML, Nakayama E, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Identification and amplification of Japanese encephalitis virus and Getah virus propagated from a single porcine serum sample: A case of coinfection. *Archives of Virology*. 159(11): 2969-75, 2014.
 - 4) Kutsuna S, Kato Y, Takasaki T, Moi ML, Kotaki A, Uemura H, Matono T, Fujiya Y, Mawatari M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N. Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. *Euro Surveillance*, 19(4). pii: 20683, 2014
 - 5) 朽谷健太郎、清水恒弘、篠原 浩、土戸康弘、モイ メンリン、高崎智彦. オーストラリア渡航中に発症したロスリバーウイルス感染症の本邦発報告. *感染症学雑誌*. 88(2):155-159 (2014)
 - 6) Muhareva Raekiansyah, Lyre Anni Espada-Murao, Kenta Okamoto, Toru Kubo, Kouichi Morita . Dengue virus neither directly mediates hyperpermeability nor enhances TNF-α-induced permeability in vitro. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, Vol.67:86-94, 2014
 - 7) Tomoko Abe, Ayumi Sando, Fumiteru Teraoka, Tadamune Otsubo, Kouichi Morita, Hiroaki Tokiwa , Kiyoshi Ikeda , Takashi Suzuki , Kazuya I.P.J. Hidari. Computational design of a sulfoglucuronide derivative fitting into a hydrophobic pocket of dengue virus E protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Vol449:32-37, 2014
 - 8) 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
 - 9) 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
 - 10) 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. doi: 10.1038/srep07395. 2014
 - 11) Runtuwene LR, Konishi E, Yamanaka A, Makino Y, Suzuki Y, Takasaki T, Kurane I, Kobayashi T, Eshita Y. Dengue transmission model by means of viremic adult immuno-competent mouse. *Parasit Vectors*. 7(1):143, 2014.
 - 12) Tomohiro Ishikawa, Atsushi Yamanaka and Eiji Konishi: A review of successful flavivirus vaccines and the problems with those flaviviruses for which vaccines are not yet available. *Vaccine*. 32(12):1326-37,

- 2014.
- 13) Tomohiro Kotaki, Atsushi Yamanaka, Kris Cahyo Mulyatno, Amaliah Labiqah, Teguh Hari Sucipto, Siti Churrotin, Soegeng Soegijanto, Eiji Konishi, Masanori Kameoka: Phylogenetic Analysis of Dengue Virus Type 3 Strains Primarily Isolated in 2013 from Surabaya, Indonesia. *Jpn J Infect Dis.* 67(3), 227-229, 2014.
 - 14) Yamanaka A, Suzuki R, Konishi E. Evaluation of single-round infectious, chimeric dengue type 1 virus as an antigen for dengue functional antibody assays. *Vaccine.* 32(34):4289-95, 2014.
 - 15) Tomohiro Ishikawa and Eiji Konishi: Japanese encephalitis: epidemiology, prevention, and current status of antiviral drug development. *Expert Opinion on Orphan Drugs* 2(9), 1-14, 2014.
 - 16) Kotaki T, Yamanaka A, Mulyatno KC, Churrotin S, Labiqah A, Sucipto TH, Soegijanto S, Kameoka M, Konishi E. Continuous dengue type 1 virus genotype shifts followed by co-circulation, clade shifts and subsequent disappearance in Surabaya, Indonesia, 2008-2013. *Infect Genet Evol.* 28C:48-54, 2014.
 - 17) Kato F., Kobayashi T., Tajima S., Takasaki T., Miura T., Igarashi T., and Hishiki T. Development of a novel dengue-1 virus replicon system expressing secretory Gaussia luciferase for analysis of viral replication and discovery of antiviral drugs. *Jpn. J. Infect. Dis.* 67, 209-212, 2014.
 - 18) Hishiki T., Han Q., Arimoto K., Shimotohno K., Igarashi T., Vasudevan S., Suzuki Y., and Yamamoto N. Interferon-mediated ISG15 conjugation restricts dengue virus 2 replication. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 448, 95-100, 2014.
 - 19) Sasaki T, Higa Y, Bertuso AG, Isawa H, Takasaki T, Minakawa N, and Sawabe K. Susceptibility of indigenous and transplanted mosquito spp. in Japan to dengue virus. *Jpn. J. Infect. Dis. in press.*
 - 20) 濱田篤郎：渡航医学（トラベルメディスン）の概要. 診断と治療 102 : 486-489. 2014
 - 21) Shirai K, Hayasaka D, Kitaoura K, Takasaki T, Morita K, Suzuki R, Kurane I. Qualitative differences in brain-infiltrating T cells are associated with a fatal outcome in mice infected with Japanese encephalitis virus. *Arch Virol.* 2015 Jan 22. [Epub ahead of print] PMID: 25604524
 - 22) Lucky Ronald Runtuwene, Eiji Konishi, Atsushi Yamanaka, Yoshihiro Makino, Yutaka Suzuki, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Takashi Kobayashi and Yuki Eshita (2014): Dengue transmission model by means of viremic adult immuno-competent mouse *Parasit Vectors*, 7:143. doi:10.1186/1756-3305-7-143
 - 23) Lucky Ronald Runtuwene, Kaori Noguchi, Akinori Tokunaga, Takashi Kobayashi, Kenta Nakai and Yuki Eshita (2014): Vector competence of *Aedes aegypti* to dengue virus. *Urban Pest Management* 4(1) : 1-14.
 - 24) Junya Yamagishi, Anna Natori, Mohammed E.M. Tolba, Arthur E. Mongan, Chihiro Sugimoto, Toshiaki Katayama, Shuichi Kawashima, Wojciech Makalowski, Ryuichiro Maeda, Yuki Eshita, Josef Tuda and Yutaka Suzuki: Interactive transcriptome analysis of malaria patients and infecting *Plasmodium falciparum*. *Genome Res.*, 24: 1433-1444, 2014
 - 25) Jąkalski, Marcin; Wakaguri, Hiroyuki; Kischka, Tabea; Nishikawa, Yoshifumi; Kawazu, Shin-ichiro; Matsubayashi, Makoto; Kawahara, Fumiya; Tsuji, Naotoshi; Cao, Shinuo; Sunaga, Fujiko; Xuan, Xuenan; Okubo, Kazuhiro; Igarashi, Ikuo; Tuda, Josef; Mongan, Arthur; Eshita, Yuki; Maeda, Ryuichiro; Makalowski, Wojciech; Suzuki, Yutaka; Yamagishi, Junya (2014) :

DB-AT: a 2015 update to the Full-parasites database brings a multitude of new transcriptomic data for apicomplexan parasites. NAR-02635-Data-E-2014.R1 Nucleic Acid Res., 42(1):D123-131.

2. 学会発表

国際学会

- 1) Tomohiko Takasaki. Re emerging dengue in Japan 2014. The 8th Korea-Japan-China for communicable disease control and prevention. Nov.26, 2014. (The Lotte Hotel, Jeju, Korea)
- 2) Tomohiko Takasaki. Re-emerging dengue in Japan: Where do we stand today? 17th International Conference on Emerging Infectious Diseases (Taipei, Taiwan, 27–29 Jun 2015)
- 3) Moi ML, Rattanamahaphoom J, Lim CK, Sirivichayakul C, Saijo M, Sabchareon A, Takasaki T, Kurane I. Neutralizing antibody titers as a surrogate for protection against dengue: a revisit of neutralizing antibody titers of dengue virus using FcγR-expressing cells. Joint International Tropical Meeting (JITMM) (Bangkok), December, 2014.
- 4) Moi ML, Shirai K, Ami Y, Lim CK, Suzaki Y, Kitaura K, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I. Development of a non-human primate model for primary and secondary dengue virus infection using marmosets (*Callithrix jacchus*). The 63rd Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (New Orleans, Louisiana, USA) November, 2014
- 5) 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.
- 6) Ryohei Saga, Akira Fujimoto, Noriyuki Watanabe, Mami Matsuda, Ryosuke Suzuki, Makoto Hasegawa, Koichi Watashi, Hideki Aizaki, Noriko Nakamura, Eiji Konishi, Takanobu Kato, Haruko Takeyama, Takaji Wakita: Japanese encephalitis

virus-subviral particles harboring HCV neutralization epitopes induce neutralizing antibodies against HCV. 21st International Symposium on Hepatitis C and Related Viruses. Banff Canada, September 7-11, 2014.

- 7) Atsushi Yamanaka and Eiji Konishi: Dengue type 1 virus monoclonal antibody cocktails for analyzing neutralizing and enhancing antibody responses in human sera. 8th Vaccine & ISV Congress, Philadelphia, PA, USA, October 27, 2014 Atsushi Yamanaka, Duangjai Oddgun, Nantarat Chantawat, Tamaki Okabayashi, Pongrama Ramasoota, Siti Churrotin, Tomohiro Kotaki, Masanori Kameoka, Soegeng Soegijanto, Eiji Konishi: Dengue virus infection-neutralizing and enhancing antibody responses in central Thai populations against Indonesian and Thai strains. Joint International Tropical Medicine Meeting (JITMM 2014) and the 8th Seminar on Food- and Water-borne Parasitic Zoonoses (FBPZ8), Bangkok Thailand December 2, 2014.

国内学会

- 1) 高崎智彦. 黄熱ワクチンとデングワクチン. 第 25 回トラベラーズワクチンフォーラム研修会. 平成 26 年 2 月 22 日 (東京都)
- 2) 高崎智彦. 黄熱ワクチンとデング熱ワクチン. 第 11 回渡航医学実用セミナー「海外赴任前健康ガイダンス」平成 26 年 6 月 30 日 (東京)
- 3) 高崎智彦. デング熱 国内感染の流行をどう受け止めるか. 日本記者クラブ. 平成 26 年 9 月 12 日 (東京都, 日本プレスセンタービル)
- 4) 高崎智彦. 海外で流行する昆虫媒介性ウイルス感染症とデング熱国内流行 (特別講演). 平成 26 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会
- 5) 高崎智彦. デング熱国内発生への対応ーデング熱の基礎と疫学ー. 第 46 回日本小児感染症学会. 平成 26 年 10 月 18–19 日 (東京)

- 6) 高崎智彦. 緊急企画：70年を経ての再来～デング熱国内流行2014. 第57回日本感染症学会中日本地方会学術集会. 平成26年10月23-25日(岡山市)
- 7) 高崎智彦. 緊急報告「デング熱ー今年の国内流行」. 第62回日本ウイルス学会学術集会. 平成26年11月10-12日(横浜市)
- 8) MoiMeng Ling, 白井顕治、網康至、宮田幸長、林昌宏、須崎百合子、北浦一孝、西條政幸、鈴木隆二、倉根一郎、高崎智彦. Demonstration of common marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for dengue vaccine development. 第62回日本ウイルス学会学術集会. 平成26年11月10-12日(横浜市)
- 9) 山中敦史、Moi Meng Ling、高崎智彦、倉根一郎、鈴木亮介、小西英二. デング1型ウイルスの遺伝子型がヒトにおける中和・増強抗体応答に及ぼす影響. 第62回日本ウイルス学会学術集会. 平成26年11月10-12日(横浜市)
- 10) 齋藤悠香、Moi Meng Ling、竹下望、林昌宏、司馬肇、細野邦昭、西條政幸、倉根一郎、高崎智彦. FcγR発現細胞を用いた新規中和アッセイにて日本脳炎ワクチン接種者におけるデングウイルスに対する中和・感染増強能の検討. 第62回日本ウイルス学会学術集会. 平成26年11月10-12日(横浜市)
- 11) 高崎智彦. 「デング熱から身を守るために～忍び寄る地球温暖化～」川崎市地球温暖化防止活動推進センター主催. 平成26年11月16日(東京都多摩市)
- 12) 高崎智彦. ー市民公開講座ーデング熱これからどうなる？. 日本獣医学会 公衆衛生分科会主催. 平成26年12月1日(東京、日本獣医生命科学大学)
- 13) 高崎智彦. 「デング熱国内感染と海外の対応」日本旅行医学会 第8回看護部会セミナー. 平成26年12月13日(東京 東医健保会館)
- 14) 高崎智彦. デング熱国内流行 ～70年の時を経て～(特別講演). 第21回リケッチャ研究会. 平成26年12月20-21日(東京 国立感染症研究所)
- 15) 高崎智彦. デング熱・チクングニア熱など蚊媒介性ウイルス感染症. 平成26年度阪神地区感染症懇話会 平成27年1月26日(大阪市 大阪府病院年金会館)
- 16) 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
- 17) 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
- 18) 高松由基, 岡本健太, Dinh Tuan Duc, 余福勲, 早坂大輔, 内田玲麻, 鍋島武, Corazon C Buerano, 森田公一: NS1タンパク質はトリ細胞で日本脳炎ウイルスの増殖及び適応に機能する, 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
- 19) 鍋島武, 二見恭子, 今西望, 吉川亮, 松本文昭, 高松由基, 内田玲麻, 森田公一: 長崎県対馬と五島列島における蚊の採集とJEVの分離, 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
- 20) 森田公一: デング熱の基礎と臨床、4学会緊急セミナー「エボラ出血熱、デング熱への対応」、東京、ベルサール汐留、2014年10月13日
- 21) 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
- 22) 内田玲麻、浦田秀造、高松由基、森田公一、早坂大輔: 脂質合成阻害薬によるヒト培養細胞におけるデングウイルス感染抑制、第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月10日～11月12日
- 23) 余福勲、Adungo Ferdinand、早坂大輔、森田公一: Development of monoclonal antibodies against SFTS virus nucleocapsid protein and application in sero-diagnosis, 第62回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014年11月10日～11月12日
- 24) 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、平成25年12月22日

- 山中敦史、小西英二：デング 1 型ウイルスに対するマウスモノクローナル抗体を用いたヒト中和・増強抗体の解析。第 55 回日本熱帯医学会。2014 年 11 月 2 日。
- 25) 小瀧将裕, Siti Churrotin, Nur Laila Fitriati Ahwanah, Soegeng Soegijanto, 小西英二, Orapim Puiprom, 岡林環樹, 生田和良, 亀岡正典：インドネシアのデング患者血を用いた抗デングウイルスヒト型モノクローナル抗体の樹立。第 21 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会。2014 年 11 月 9 日。
- 26) 正木秀幸、小澤龍彦、高崎智彦、青山幾子、弓指孝博、小西英二、岸 裕幸、村口 篤：ISAAC 法による日本脳炎ワクチン被接種者末梢血単核球からのヒト抗ウエストナイルウイルス中和モノクローナル抗体の樹立。第 21 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会。2014 年 11 月 9 日。
- 27) 嵯峨涼平、藤本陽、渡邊則幸、松田麻未、長谷川慎、渡士幸一、相崎英樹、中村紀子、小西英二、加藤孝宣、竹山春子、脇田隆宇、鈴木亮介：日本脳炎ウイルスおよび C 型肝炎ウイルス 2 価ワクチン抗原の発現と中和抗体の誘導。第 62 回日本ウイルス学会学術集会。2014 年 11 月 12 日。
- 28) 山中敦史、モイメンリン、高崎智彦、倉根一郎、鈴木亮介、小西英二：デング 1 型ウイルスの遺伝子型がヒトにおける中和・増強抗体応答に及ぼす影響。第 62 回日本ウイルス学会学術集会。2014 年 11 月 12 日。日紫喜隆行、加藤文博、三浦智行、五十嵐樹彦：抗デングウイルス活性を有する生薬由来成分の探索と性状解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）、2014 年 11 月
- 29) 加藤文博、石田裕樹、大石真也、藤井信孝、三浦智行、五十嵐樹彦、日紫喜隆行：bromocriptine による抗デングウイルス活性機構の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）、2014 年 11 月
- 30) 加藤文博、三浦智行、五十嵐樹彦、日紫喜隆行：非ヒト霊長類 PBMC におけるデングウイルス増殖能の比較、第 21 回トガ・フラビ・ペスチウイルス研究会（横浜）、2014 年 11 月
- 31) 加藤文博、日紫喜隆行、大石真也、藤井信孝、三浦智行、五十嵐樹彦：抗デングウイルス化合物のスクリーニングと作用機序の解析、第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会（山口）、2014 年 5 月
- 32) 日紫喜隆行、加藤文博、田島茂、高崎智彦、三浦智行、五十嵐樹彦：分泌型ルシフェラーゼを有するデングウイルス 1 型レプリコンの構築、第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会（山口）、2014 年 5 月濱田篤郎：「旅人と感染症の三千年史～旅人が運ぶ感染症への対策」第 18 回日本渡航医学会学術集会 2014 年 7 月 20 日 名古屋
- 33) 濱田篤郎：「海外遠征時にみられる感染症とその対策」第 25 回日本臨床スポーツ医学会学術集会 2014 年 11 月 9 日 東京
- 34) 濱田篤郎：「海外勤務者の感染症対策」第 62 回日本職業・災害医学会学術大会 2014 年 11 月 16 日 神戸
- 35) 濱田篤郎：「アジアから学ぶ～デング熱の国内感染症例の発生を受けて」平成 26 年度アジア感染症対策プロジェクト共同調査研究会議 2014 年 11 月 19 日 東京
- 36) モイメンリン. デングワクチンの実用化への展望. 石橋記念講演 (東京) 2014 年 11 月
- 37) 江下優樹, 福田昌子, Lucky Runtuwene, 大塚 靖, 野口香緒里, 川上絵理, 徳永暁憲, 小林隆志, 服部正策, Raweewan Srisawat, Narumon Komalamisra, 牛島廣治, 倉根一郎, 高崎智彦 (2014): 本邦産 *Aedes (Stegomyia) scutellaris* グループ蚊 2 種のチクングニアウイルス感受性(2)。第 66 回日本衛生動物学会大会、2014 年 3 月 21 日(金)・22(土)・23(日)、岐阜大学地域科学部、岐阜県岐阜市。Med. Entomol. Zool., 65 (大会特集号):45, 2014
- 38) Lucky R. Runtuwene, Shuichi Kawashima, Kaori Noguchi, Eri Kawakami, Akinori Tokunaga, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Kenta Nakai, Ryuichiro Maeda, Chihiro Sugimoto, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Takashi Kobayashi and Yuki Eshita (2014): Utilization of CCL-125 for analyzing innate immunity in *Aedes aegypti*. 第 66 回日本衛生動物学会大会、2014 年 3 月 21 日(金)・22(土)・23(日)、岐阜大学地域科学部、岐阜県岐阜市。Med. Entomol. Zool., 65 (大会特集号):46,

- 2014
- 39) 三井マルセロ孝弘、藤田直子、宇佐川佑子、田村寛子、岩田敦子、岸 健志、江下優樹、小林隆志、西園晃、門田淳一(2014) : 病初期のIgM迅速検査で陰性であったデング熱の1例。第62回日本化学療法学会西日本支部総会、第57回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第84回日本感染症学会西日本司法界学術集会合同開催。2014年10月23日(木)~25日(土)、岡山コンベンションセンター、岡山市。合同開催プログラム・抄録集 2014: 378. (抄録番号234)
- 40) 江下優樹, Lucky R. Runtuwene, 小西英二, 山中敦史, 牧野芳大, 野口香緒里, 川上絵理, 福田昌子, 小林隆志, Rawewan Srisawat, Narumon Komalamisra, 成田弘成, 牛島廣治, Arthur E. Mongan, 今田美穂子, 山岸潤也, 鈴木 穰, 中井謙太, 前田龍一郎, 杉本千尋, 倉根一郎, 高崎智彦(2014): 一過性的にデングウイルス血症をマウスに起こして、定量的感染蚊を大量に作る新規の方法。第35回都市有害生物管理学会大会・総会、2014年6月27(金)・28(土)、日本大学生産工学部、千葉県習志野市。
- 41) Lucky R. Runtuwene, Shuichi Kawashima, Kaori Noguchi, Yutaka Suzuki, Sumio Sugano, Kenta Nakai, Ryuichiro Maeda, Junya Yamagishi, Chihiro Sugimoto, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Yuki Eshita and Takashi Kobayashi (2014): Potential novel anti-dengue virus in *Aedes aegypti* mosquito. The 37th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan, Pacifico Yokohama, Kanagawa Prefecture, November 25-27, 2014, MBSJ 2014
- 42) 岩中 愛、松原祥恵、福田昌子、Thipruethai Phanitchat、Rawewan Srisawat、Lucky R. Runtuwene、野口香緒里、Arthur E. Mongan、鈴木 穰、Narumon Komalamisra、成田弘成、森田公一、倉根一郎、高崎智彦、林田京子、杉本千尋、小林隆志、江下優樹(2014): RT-LAMP法の改良によるアルボウイルス症診断の検討。第26回日本環境動物昆虫学会年次大会、長崎大学大学教育学部、長崎市、11月29日(土)、30日(日)
- 43) 山口幸恵、林昌宏、伊藤(高山)睦代、

垣内五月、堀谷まどか、田島茂、高崎智彦、倉根一郎、渡邊治雄、西條政幸。日本脳炎ウイルスの神経侵襲性決定に関与する炎症性サイトカインの解析。第62回日本ウイルス学会学術集会。横浜、2014年11月10-12日

H. 知的財産の出願・登録状況
なし

II. 委託業務成果報告（業務項目）

厚生労働科学研究委託費
新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業
委託業務成果報告（業務項目）

（委託業務題目）
国内侵入・流行が危惧される昆虫媒介性ウイルス感染症に対する
総合的対策の確立に関する研究

担当責任者研究報告書

黄熱ウイルス野生株（南米株対応、アフリカ株対応）検出用リアルタイム PCR 法の開発

担当責任者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部）
研究協力者 中山絵里（国立感染症研究所ウイルス第一部）
小滝 徹（国立感染症研究所ウイルス第一部）

研究要旨：黄熱ウイルスのリアルタイム RT-PCR (TaqMan) 法はすでに感染症研究所において確立しているが、あくまでワクチン株（17D）により評価しているに過ぎない。17D 株はアフリカの黄熱患者から分離された Asibi 株を弱毒化したものである。しかし、近年は経済的にも政治的にも重要であるアフリカ大陸および2013年サッカーワールドカップおよび2014年のオリンピックが開催される南アメリカ大陸野生株に対応した系およびアフリカ大陸野生株対応の遺伝子検出系を確立し、まず 17D 株で評価した結果、南米株対応型では検出できず、アフリカ株対応型でのみ検出できた。

A. 研究目的

現在、日本で使われている黄熱ウイルス遺伝子検出リアルタイム RT-PCR 法は、ワクチン株（17D 株）を用いて評価されているのみである。特に 2013 年サッカーワールドカップおよび 2014 年のオリンピックがリオデジャネイロといった行事が続く南米への渡航者が今後増加する状況で、

B. 研究方法

GenBank に登録された黄熱ウイルスの塩基配列を収集し、アライメントした後、アフリカ株用、南米株用のリアルタイム逆転写 PCR (TaqMan 法) のプライマーおよびプローブセットを塩基配列部位 8280-

8354、4769-4862 に設計し、南米株用のセットは、9393-9453 に設計した。それらをまずはアフリカ株に由来する黄熱ワクチン株（17D）により検出可能かどうかをリアルタイム PCR により評価した。

C. 研究結果

保有する黄熱ウイルス 17D 株は、アフリカ株であり、アフリカ株用 2 セット 8280/8308FAM/8354c と 4769/4804FAM/4862c で 0.08pfu/tube まで検出可能であった。しかし、南米株用の 9393/9415FAM/9453c では検出されなかった（表 1）。

D. 考 察

黄熱ウイルスのリアルタイム RT-PCR (TaqMan) 法により、南米株対応、アフリカ株対応セットを作ることが、可能であることが確認された。評価のためには、南米野生株およびアフリカ野生株のウイルス遺伝子 (RNA) を入手する必要がある。

E. 結 論

黄熱ウイルスアフリカ株および南アフリカ株に対応するリアルタイム RT-PCR (TaqMan 法) のプライマー、プローブを設計した。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Moi ML, Takasaki T, Omatsu T, Nakamura S, Katakai Y, Ami Y, Suzaki Y, Saijo M, Akari H, Kurane I. Demonstration of marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for secondary dengue virus infection: high levels of viraemia and serotype cross-reactive antibody responses consistent with secondary infection of humans. *Journal of General Virology*, 95(Pt 3):591-600, 2014.
2. Moi ML, Takasaki T, Saijo M, Kurane I. Determination of antibody concentration as main parameter in a dengue virus antibody-dependent

enhancement assay using

FcyR-expressing BHK cells. *Archives of Virology*, 159(1):103-16, 2014.

3. Tajima S, Kotaki A, Yagasaki K, Taniwaki T, Moi ML, Nakayama E, Saijo M, Kurane I, Takasaki T. Identification and amplification of Japanese encephalitis virus and Getah virus propagated from a single porcine serum sample: A case of coinfection. *Archives of Virology*. 159(11): 2969-75, 2014.
4. Kutsuna S, Kato Y, Takasaki T, Moi ML, Kotaki A, Uemura H, Matono T, Fujiya Y, Mawatari M, Takeshita N, Hayakawa K, Kanagawa S, Ohmagari N. Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. *Euro Surveillance*, 19(4). pii: 20683, 2014
5. 朽谷健太郎、清水恒弘、篠原 浩、土戸康弘、モイ メンリン、高崎智彦. オーストラリア渡航中に発症したロスリバーウイルス感染症の本邦発報告. 感染症学雑誌. 88(2):155-159 (2014)

2. 学会発表

国際学会

1. Tomohiko Takasaki. Re emerging dengue in Japan 2014. The 8th Korea-Japan-China for communicable disease control and prevention. Nov.26, 2014. (The Lotte Hotel, Jeju, Korea)
2. Tomohiko Takasaki. Re-emerging dengue in Japan: Where do we stand today? 17th International