

### 3. ウイルス第三部

部長 竹田 誠

#### 概要

当部は、村山庁舎に配置され、第1室(麻疹)、第2室(風疹)、第3室(ムンプス)、第4室(インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン)で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務及び国際協力である。

当部は、麻疹、風疹、おたふくかぜ(ムンプス)の各ワクチン、γ-グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定の SOP や標準品等の整備を行い、試験法の標準化と精度管理に努めている。また、平成24年10月1日に導入された薬事法施行規則の一部を改正する省令等に従い、国家検定における各種品質管理の試験の実施に加えて、ワクチン製剤の国家検定に製造・記録等要約書の審査(SLP)を実施している。国際協調の観点からも、国際的にも通用する品質管理体制を取っている。感染症対策やワクチン政策に対する社会的要求が一層高まる中で、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保と National Control Laboratory としての責任を果たすために、限られた人員と予算の中で、国民や社会の要望に応えるために努力を続けている。

サーベイランス活動では、麻疹・風疹に関しては、全国の地方衛生研究所と協力しながら全国的、ならびに世界保健機関(WHO)と連携して国際的実験室診断ネットワーク体制の構築ならびに推進に関する研究を進めている。その活動を通じて、より正確で実用的な実験室診断技術の開発研究を推進し、日本で流行する麻疹ウイルスの詳細な調査、解析を行っている。感染症疫学センターや厚労省と協力して、2015年3月に認定を受けた麻疹排除状況がその後も継続していることを示すために貢献している。また、研究においては、麻疹ウイルス、風疹ウイルスを効率よく分離できる細胞の確立、麻疹ワクチンウ

イルス株の増殖に関する研究、麻疹ウイルスの抗原性に関する研究、麻疹ウイルスの複製に関与する宿主因子の探索に関する研究などを進めている。また、先端技術の応用として、麻疹ウイルスの再生医療用ベクターとしての応用研究、麻疹ウイルスワクチン株を利用した新たなワクチン開発に関する研究等を行っている。麻疹ウイルスの近縁ウイルスである各種モルビリウイルスの進化や宿主域についての研究を実施している。風疹に関しては、風疹の病原診断に関する開発研究、流行株の変遷に関する研究、弱毒生ワクチンの性質決定の分子基盤を明らかにするための研究を行っている。さらに風疹ウイルス受容体や、風疹ウイルスの増殖を助ける宿主因子の探索などを通じて、風疹ウイルス増殖の詳細な細胞内分子機構の解析研究を実施している。また、風疹ならびに先天性風疹症候群の病原性を解析できるような動物モデルの構築を試みている。ムンプス(おたふく風邪)に関しては、ムンプスウイルスの遺伝子操作手法の開発や改良に関する研究、神経病原性の分子メカニズムに関する研究、ムンプスウイルスの増殖に関与する宿主因子に関する研究、新規ワクチン開発に関する研究を実施している。また、重要なテーマとして、ムンプスワクチンの効果や安全性を評価するための動物モデルの開発研究や、国内、海外の流行株の解析などを通じた流行実態の解明のための研究を実施している。インターフェロン・サイトカインに関しては、宿主側の新たな制御機構を研究するとともに、ウイルス側による阻害機構を明らかにするための研究を行い、感染症を包括的に理解し、また、新しい生命現象の解明を通じて広く人類に貢献することを目指している。また、免疫機構の解析を通じて、より効果的な新たなワクチンの開発を目指している。急性呼吸器ウイルスに関して、中東呼吸器症候群(MERS)コロナウイルスの診断法の開発、ならびにその標準化や普及のための活動を実施し、実際の実験室診断に役立てている。また、MERS コロナウイルスや、その他のヒトコロナウイ

ルスの抗原性や増殖機構に関する研究を行っている。コロナウイルスの他にも、RSウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルスの増殖機構や病態解明に関する研究を行い、その知見をもとにした抗ウイルス剤開発を目指している。特に、呼吸器感染症ウイルスの活性化に関与する宿主プロテアーゼの解明を通じた、新たな抗ウイルス剤の開発のための研究を実施している。

国際協力では、WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワーク (Global Measles and Rubella Laboratory Network) の Global Specialized Laboratory (GSL)として、麻疹ならびに風疹の診断や流行調査に資するための研究を遂行し、また、ムンプスウイルスなどに関しても周辺諸国の診断技術の向上のための研究協力を実施している。また、JICA の依頼に応じてアジア、アフリカ、中国等からの研修生に麻疹や風疹の診断に関する実習や講義、研修等を実施している。

## 業績

### 調査・研究

#### 1. 麻疹ウイルスに関する研究

##### 1. 麻疹検査診断ネットワークの構築に関する研究

WHO 等が中心となり進めている麻疹排除計画では、検査診断に基づいた麻疹サーベイランス体制の確立を求めている。これに従い、日本では、「麻疹に関する特定感染症予防指針」を改訂し、原則、すべての麻疹疑い例に対して、ウイルス遺伝子検査と麻疹 IgM 検査の両方を実施することとしている。ウイルス遺伝子検査は、2007 年以降、感染研、レファレンスセンター、地方衛生研究所 (地衛研) が共同で整備を進めてきた麻疹検査診断ネットワークの中において、主に全国の地衛研により実施され、IgM 検査は保険を利用して民間検査センター (検査センター) により実施されている。本研究は WHO の評価に資する検査診断ネットワークを構築することを目的としている。2015 年 3 月に日本は、WHO 西太平洋地域地域麻疹排除認証委員会により麻疹排除状態であると認定された。2016 年においては 165 例の麻疹症例が報告され、うち 139 症例から麻疹ウイルスの遺伝子型決定部位の遺伝子が検出さ

れ、塩基配列、遺伝子型が決定された。ウイルスの塩基配列、発症時期、発生場所、渡航履歴等の解析から、2016 年においても、伝播を 1 年間以上、続けた麻疹ウイルスは存在せず、流行株の再興は認められず、麻疹の排除状態は維持されていると考えられた。なお、2016 年においては 1865 症例が、2017 年においては 1516 症例が地衛研において検査されている。一方、検査センターの協力を得て、IgM ELISA 検査結果、実態を随時、把握した。さらに検査センターに対して、麻疹 IgM 抗体、風疹 IgM 抗体に対する外部精度管理を実施し、検査施設としての適合性を示した。今後も地方衛生研究所や検査センターと協力し、より精度の高い麻疹検査診断体制を維持、改善していく。[關文緒、染谷健二、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、竹田誠、麻疹・風疹レファレンスセンター、地方衛生研究所]

#### 2. 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C をベースとした組換えワクチンの開発に関する研究

麻疹ワクチンをベースとした組換えワクチンは、感染症予防ワクチンのみならず、癌治療にも応用されている。本研究では、麻疹ワクチンとして長期の使用実績をもつ AIK-C 株をベースとした組換えワクチンの作製とその免疫原性の解析を進めている。これまでに作製した GFP 発現 AIK-C は、麻疹ウイルスレセプター発現マウスの樹状細胞 (immature DC)、末梢リンパ球、脾臓細胞へ感染に感染し、GFP 特異的細胞性免疫応答を誘導することが確認できた。今後は、外来性抗原挿入部位の違いによる抗原発現量の差と免疫応答の強弱についてオボアルブミン (OVA) 発現 AIK-C を用いて解析を進め、結核、HIV などの難治性感染症ワクチン開発の基礎データを収集する予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、山田裕加里、竹田誠]

#### 3. 麻疹および風疹ウイルス分離に有用な細胞株の開発

現在、麻疹ウイルス分離用細胞として Vero/SLAM 細胞を WHO が推奨している。本細胞は風疹ウイルス分離においても有用であり、麻疹および風疹ウイルスの解析に役立っている。一方で、Vero 細胞はアフリカミドリザル由来であり、ワシントン条約加盟国では規制の対象となる。輸出入における手続きが煩雑で海外への配布が難しい。このため、Vero/SLAM 細胞

の代わりとなるウイルス分離用細胞の開発を目的として、サル由来以外の細胞株から麻疹ウイルスおよび風疹ウイルスに十分な感受性を持つ細胞を探索した。風疹ウイルス感受性の高い細胞としてヒト妊娠性絨毛嚢由来細胞株 JEG3 細胞を選択し、麻疹ウイルス受容体である SLAM を発現させた JEG3/SLAM 細胞を作製した。JEG3/SLAM 細胞と Vero/SLAM 細胞における麻疹ウイルスの感染について比較したところ、JEG3/SLAM 細胞では多核巨細胞の広がり小さく、CPE が不明瞭であった。次に JEG3/SLAM 細胞の細胞形態を変化させることで麻疹ウイルス CPE に違いがでるか検討を行うため snail 遺伝子を導入したが、明らかな変化は認められなかった。CPE の不明瞭さ等から本細胞を Vero/SLAM 細胞の代替細胞に使用する利点は少ないと考えられた。[關文緒、中津祐一郎、坂田真史、森嘉生、竹田誠]

#### 4. 麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態の解析

麻疹ウイルスは宿主細胞内に侵入した後、細胞質内でウイルスゲノム RNA および構造タンパク質の新規合成を行う。それらのウイルス粒子構成要素と宿主のタンパク質が協調的に働くことにより、麻疹ウイルスの複製が起こると考えられるが、その詳細な機序は明らかになっていない。麻疹ウイルスの細胞内動態をより詳細に解析するために、感染細胞内でウイルスタンパク質と相互作用する宿主因子を共精製し、麻疹ウイルスの複製に関与する新規宿主因子の同定を試みた。感染細胞内から宿主因子を共精製するために、RNP 複合体と相互作用することが知られている C タンパク質に親和性タグを導入し、精製に利用した。精製産物を、タンパク質量分析法により解析したところ、これまでは麻疹ウイルスとの相互作用が未知の新規宿主因子が複数同定できた。また、siRNA を利用した各宿主因子候補のノックダウン細胞を用いた解析により、いくつかの因子は麻疹ウイルスの効率良い増殖に必要であることが明らかとなった。今後、それらの宿主因子が麻疹ウイルスの感染サイクルのどの段階において、どのような役割を担っているのかを詳細に解析していく予定である。[中津祐一郎、加藤大志、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠]

#### 5. iPS細胞作製用麻疹ウイルスベクターの開発

麻疹ウイルス野生株の RNA ゲノムを分節化し、遺伝子改変

することにより、広域な細胞に導入可能な非伝播型多遺伝子搭載可能な新規ウイルスベクターを開発した。本麻疹ウイルスベクターに 5 遺伝子 (GFP、OCT3/4、SOX2、KLF4、L-MYC) を搭載することにより、ヒト線維芽細胞および IL-2 存在下 CD3 刺激 T 細胞、または非刺激 T 細胞より iPS 細胞を誘導した。樹立した iPS 細胞はヒト ES 細胞様の形態を示し、NANOG 等の未分化マーカーの発現が確認できた。また、染色体の変異も認められず、in vitro、および in vivo において三胚葉系組織への分化能が確認できた。また麻疹ウイルスベクターを用いた場合、センダイウイルスベクターでは再現できない、ヒト細胞から基底状態 iPS 様細胞を樹立することができた。この細胞は 2i(GSK3 $\beta$  と MEK の阻害剤)とヒト LIF 存在下、マウス ES 細胞に似たドーム型コロニーを形成し、NANOG および Tra-1-60 発現が確認できた。また単細胞解離を行い Rock inhibitor を用いずに維持培養することが可能であり、培養条件を変えることでヒト ES 細胞様コロニーへ誘導できた(特許出願済 PCT/JP2015/081145)。商品化に向けてタカラバイオと共同研究を開始した。[田原舞乃、平本貴史\*、谷憲三朗\*、竹田誠、\*九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学]

#### 6. モルビリウイルスと哺乳動物共進化に関する研究

地球上に現存することが分かっている 8 種のモルビリウイルス(MoV)の宿主特異性は、受容体 SLAM の利用能に大きな影響を受けている。SLAM 遺伝子の変異により特定の MoV 感染から免れるように進化した個体は、次第に集団の中で優勢になったと予想され、すでに SLAM 進化と MoV 進化との関連(共進化)が示唆されている(*Ohishi et al. 2010 Comp Immunol Microbiol Infect Dis*)。本研究では、MoV と SLAM に関して、これまでの遺伝子解析、ウイルス学研究のみでは十分には解明できなかったタンパク質の機能的側面や計算確率的側面、地球環境生態学的側面を補完し、ウイルスと哺乳動物共進化の明確な一例を示すことで、ネオウイルス学の創出に貢献することを目的に研究を進めている。H29 年度は MoV4 種(MV, CDV, PPRV, RPV)のエンベロープタンパク質 H,F と動物 22 種の SLAM の発現ベクターを用いて、各ウイルスにおける SLAM 利用能を解析した。その結果、MVHF ではヒト SLAM 等に限定して高い利用能を認めたが、CDVHF, PPRVHF, RPVHF においては宿主動物以外の広い動物種 SLAM においても高い利用

能を示した。したがって、CDV, PPRV, RPV は既知の動物種より広い動物種に感染できる可能性が示唆された。[關文緒、竹田誠、松尾直也\*、中野祥吾\*\*、伊藤創平\*\*、常盤広明\*、\*立教大学大学院 理学研究科 化学専攻理論創薬・分子設計、\*\*静岡県立大学・食品栄養科学部食品生命科学科食品蛋白質工学研究室]

#### 7. ヒトSLAMとサルSLAMの犬ジステンパーウイルスへの感受性の違いを決める受容体上のアミノ酸置換の解析

犬ジステンパーウイルス(CDV)の受容体SLAMは宿主決定因子の一つである。イヌSLAMとヒトSLAMのアミノ酸相同性は低く、ヒトSLAMとサルSLAMのアミノ酸相同性は高いことから、これまで、CDVはイヌSLAMを効率よく利用できるが、ヒトSLAMは利用できないため、サルSLAMも効率よく利用できないと考えられていた。一方、我々は、CDVによるカニクイザルの致死感染を報告し、CDVはイヌSLAMと同様にサルSLAMも効率よく利用できること、ヒトSLAMは利用できないことを明らかにした。これまで、ヒトSLAMとサルSLAMのCDV利用能の差を明らかにするためにサルSLAM、それぞれのV領域とC2領域をヒトSLAMと入れ替えたキメラ変異体、ヒトSLAMのV領域にサルSLAM配列を変異導入した点変異体を作製し、受容体としての機能について、プラスミドを用いたfusion assayにより解析した。V領域がヒトSLAM由来ではCDV H蛋白質の受容体として機能しなかったが、V領域がサルSLAM由来では受容体として機能し、このことは、SLAMのV領域がH蛋白質との結合を担うというこれまでの知見と一致した。ヒトSLAMとサルSLAMのV領域の配列比較では、28番目と49番目の2つのアミノ酸置換があり、この違いがCDV H蛋白質に対するヒトSLAMとサルSLAMの機能的な違いの原因と考えられた。ヒトSLAMへの変異導入解析により、両方の変異を同時に導入した変異体でのみCDV H蛋白質の受容体として機能した。更に、GFP発現組換えCDV(Prof. Dr. Veronika von Messlingより分与頂いた)を用いた機能解析では、バックグラウンドがやや高いが、プラスミドの実験とほぼ同様の結果が得られた。以上より、この2つのアミノ酸の違いが、ヒトとサルのCDVへの感受性の違いを決めていると考えられた。[酒井宏治、古村みゆき\*、竹原一明\*、網康至\*\*:\*東京農工大、\*\*動物管理室]

## II. 風疹ウイルスに関する研究

### 1. 風疹ウイルス流行株の分子疫学的検討

2013年に成人男性を中心として発生した風疹の流行が終息し、2014~2016年には風疹患者数が減少した。風疹の排除を達成し、証明するためには、土着性の流行が途切れていることを明らかにしなくてはならない。これまでに2012-2013年の流行において、少なくとも3タイプのウイルス株が12ヶ月以上継続して検出されたことから、これらが新たに日本の流行株となったと考えられることを明らかにした。そのうち、2系統は遺伝子型2B、1系統は遺伝子型1Eで、いずれも東南アジア近辺でよく検出されるウイルスと近縁であった。そこで今年度は2017年までに日本の病原体サーベイランスを通じて検出された風疹ウイルスについて系統樹解析を行い、2012-2013年の流行株が継続的に伝播しているかを検討した。2017年に検出された8株について遺伝子配列を解析したところ、3株が遺伝子型2Bであり、5株が遺伝子型1Eであった。しかし、いずれも2012-2013年の流行株とは明確に異なることから、2012-2013年の流行株はすでに認められなくなったことが示唆される。一方で2015年から検出される遺伝子型2Bウイルスの一系統は2017年までに断続的に検出されており、継続した伝播が起きているのか検討していく必要がある。[森嘉生、坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、全国地方衛生研究所、感染症疫学センター]

### 2. 風疹ウイルス遺伝子解析用RT-PCRの改良に関する研究

病原体サーベイランスにおける風疹ウイルス遺伝子解析のためには、WHOが推奨するE1遺伝子の遺伝子型窓領域739塩基の配列を増幅し、配列を決定する必要がある。現行の病原体検出マニュアル掲載法では、領域を2断片に分けて増幅するのだが、全国地方衛生研究所へ実態調査を行ったところ、どちらか一断片しか解析できない例があり、問題となっている。そのため、新規プライマーセットならびに試薬変更により、本法の改良を試みた。検討の結果、従来法より感度が良く、非特異反応が軽減される、2断片増幅を同一温度で反応できる、2断片の遺伝子配列のオーバーラップ部分の解析が容易になるなど、改善が認められた。今後、実際の検体を用いて改良法の評価を行う予定である。[森嘉生、岡本貴世子、

大槻紀之、坂田真史、竹田誠]

### 3. 風疹ウイルス受容体の探索

風疹ウイルスの細胞への感染及び赤血球凝集活性には細胞・赤血球上のスフィンゴミエリン(SM)が重要な役割を果たし、細胞への感染時にはその初期にSMが役割を果たすこと、風疹ウイルスはSMとコレステロール(Chol)とが形成する脂質ラフト様構造に接着することを明らかとしてきた。本年度はさらにSM/Chol膜への接着が細胞で生じる現象であるかを検討した。この結果SM/Chol膜へのウイルス粒子の結合は多くの細胞で確認され、この結合はカルシウムイオン依存的に生じることを明らかとした。一方で細胞の種類によってはSM/Chol膜以外の因子を介してもウイルスが結合することが示され、この因子が未だ同定されていない風疹ウイルスの感染受容体である事が示唆された。[大槻紀之、齊藤恭子\*、坂田真史、花田賢太郎\*、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生：\*細胞化学部]

### 4. 各種化合物による風疹ウイルスの増殖阻害効果の検討

細胞内での脂質合成系を阻害する化合物を中心にして数種の化合物による風疹ウイルスの感染・増殖抑制効果を検討した。この結果スフィンゴミエリン合成系を阻害する化合物ではウイルスの感染を強く抑制していた。その他数種の化合物では、風疹ウイルスの細胞での増殖をある程度抑制することを明らかとした。今後、これらの化合物の効果を詳細に検討する予定としている。[大槻紀之、坂田真史、花田賢太郎\*、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生：\*細胞化学部]

### 5. 風疹ウイルス感染におけるHeat shock protein 90の役割

これまでにシャペロンタンパク質であるHeat shock protein 90(Hsp90)が風疹ウイルスの非構造タンパク質(p150領域)と相互作用してゲノム複製に関与する可能性を見出した。本年度はHsp90がp150領域に作用する分子メカニズムについてHsp90の特異的阻害剤である17-AAGを用いて解析を行った。風疹ウイルスの2つの非構造タンパク質(p150とp90)は前駆体ポリプロテインp200がp150領域に位置するプロテアーゼにより切断されて生成する。不活型プロテアーゼをコードするp200(p200<sup>C1152G</sup>)、p150、p90をそれぞれ発現させた細胞を17-AAGで処理すると、p150の発現量だけが17-AAGの濃度

依存的に低下した。p200発現細胞を17-AAGで処理すると、p200の発現量は濃度依存的に増加し、反対にp150とp90の発現量は低下した。更にp200の切断効率並びにp150の安定性をパルスチェイス実験により検討したところ、17-AAGの処理によりp200の切断効率とp150の安定性が低下した。以上の結果からHsp90がp150領域と相互作用して、p200がp150とp90へ効率的に切断されるために機能すること、更に切断後のp150の安定性に寄与することが明らかとなった。[坂田真史、加藤広志、大槻紀之、岡本貴世子、竹田誠、森嘉生]

### 6. 風疹ウイルス感染マウスモデルに関する研究

昨年度の検討で風疹ウイルスの鼻腔内接種によりIgGの上昇を示したインターフェロン系ノックアウトマウス(IFN-KOマウス)の風疹ウイルスに対する感受性をさらに検討した。ウイルス接種後28日まで主に肺でウイルスRNAが検出されたが、ウイルス抗原は検出できずviremiaは確認できなかった。一方で脾臓、胸腺から検出限界レベルのウイルスRNAが検出された。IFN-KOマウスにおける風疹ウイルスの感染増殖は非常に低レベルであり、感染部位である肺にほぼ局限している可能性が示唆された。[岡本貴世子、黒須剛\*、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生、\*ウイルス第一部]

### 7. 先天性風疹症候群マウスモデルに関する研究

先天性風疹症候群の発症機構を解析するため、動物モデルの開発を試みた。胎盤形成前(E2.5)、形成直前(E6.5)、形成後(E10.5)と考えられる妊娠IFN-KOマウスに高ウイルス価の風疹ウイルスを尾静脈接種し、出産直前(E12.5)の胎盤および胎仔のウイルス感染の有無を検討した。E2.5およびE6.5に感染させたマウスのうち一部の個体の胎盤から微量のウイルスRNAが検出されたが、胎仔からは検出されなかった。E10.5に感染させたマウスでは胎盤および胎仔ともにウイルスRNAは検出されなかった。[岡本貴世子、黒須剛\*、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生、\*ウイルス第一部]

### III. ムンプスウイルスに関する研究

#### 1. 上皮細胞特異的miRNAの相補配列を導入した新規ムン

## プスワクチンの開発

新規おたふくかぜ(ムンプス)ワクチンの候補として、上衣細胞において高発現する microRNA (miR449)の相補配列をゲノムに有する組換えムンプスウイルス(rOdate/miR449)を遺伝子操作系によって作出し、副反応として重要な無菌性髄膜炎を軽減する新規ワクチンとしての有用性を検討してきた。これまでの霊長類(マーモセットおよびカニクイザル)を用いた実験で、rOdate/miR449 は親株と同等な抗体誘導を示し、相補配列の組み込みによる免疫原性への影響は少ないと考えられた。一方安全性については、ラットの脳内接種実験では rOdate/miR449 の神経病原性の減弱を示すことができたが、マーモセットの脊髄内接種実験では親株と同様の髄膜炎症状および脳内でのウイルス増殖が認められた。miRNA の相補配列をゲノムに組み込む手法については一定の成果を挙げることができたが、Odate 株と miR449 との組み合わせでは課題も残された。現在、上衣細胞において高発現する別の miRNA である miR204 について検討すると共に、株の選定も合わせて進めている。[加藤大志、網康至\*、永田典代\*\*、須崎百合子\*、岩田奈織子\*\*、竹田誠、木所稔:\*動物管理室、\*\*感染病理部]

## 2. ムンプスウイルス感染における R2TP complex の役割

ムンプスウイルスの L タンパク質はウイルス RNA の合成およびその修飾を担う多機能タンパク質である。これまでにムンプスウイルスの L タンパク質と相互作用する宿主因子として、Hsp90 のコシャペロンとして知られている R2TP complex を見出ししてきた。ムンプスウイルス感染における R2TP の役割を明らかにするために、R2TP complex を構成する RPAP3 をノックダウンすると、感染後期のウイルス産生が抑制されることがわかった。感染細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、RPAP3 ノックダウン細胞において自然免疫関連遺伝子の発現亢進が認められ、この自然免疫の活性化がウイルス増殖抑制につながったと考えられた。さらに、ウイルス RNA についても検討を行ったところ、RPAP3 ノックダウン細胞ではウイルス mRNA の発現増加および転写プロファイルの変化が観察された。以上の結果より、R2TP complex によるウイルス RNA 合成の調節が、過剰な宿主免疫応答を抑制し、効率のよいウイルス増殖に重要であると考えられた。[加藤大志、関塚剛史\*、

坂田真史、中津祐一郎、木所稔、竹田誠:\*病原体ゲノム解析研究センター]

3. マーモセットによる VZV 感染モデルの確立に関する研究  
3頭のマーモセットに VZV 臨床分離株 RM 株の浮遊液を経鼻、および点眼接種によって、 $10^3$ .8PFU/頭の用量で接種した。その内2頭では接種後5日目から皮膚の赤変や、扁桃の肥大と変色を認め、接種後2週間後での発熱も観察した。ウイルス血症と咽頭スワブへのウイルスの排出は全頭で認め、抗gB抗体も全頭で上昇し、VZV の感染が成立したことが確認された。霊長類において、細胞フリーのウイルス浮遊液のみによる経鼻接種で VZV 感染が成立したのはこれが最初の報告となる。[木所稔、加藤大志、村野けい子、網康至\*、須崎百合子\*、永田典代\*\*、岩田奈織子\*\*:\*動物管理室、\*\*感染病理部]

## 4. 新規 LAMP 法の確立

ムンプスの確定診断にはウイルス遺伝子検出が重要である。臨床の現場では、簡便、迅速で特異性と感度の高い診断法が求められている。そこで昨年度は、異なる遺伝子型間で保存性の高い P 遺伝子領域を標的とするプライマーと、蛍光プローブによる検出法を用いた新規の RT-LAMP 法(Q-probe 法)を確立した。今年度は、4種類の遺伝子型(A, B, F, G)由来 cDNA から合成した RNA を鋳型として、従来のインターカレーター法とプローブ法とで遺伝子型の違いによる検出感度への影響について検討を行った。その結果、プローブ法では遺伝子型 B の検出感度が最も高く(50 コピー)、次いで遺伝子型 F および G で(500 コピー)、遺伝子型 A が最も感度が低かった(5,000 コピー)。国内で検出された遺伝子型については、申し分の無い感度が得られた。インターカレーター法では遺伝子型 B ではプローブ法と同等であったが、他の遺伝子型では10倍ほど感度が低かった。[木所稔、村野けい子、加藤大志、仙波 晶平\*:\*栄研化学株式会社]

5. マーモセットモデルによる次世代ムンプスワクチンの評価  
組換え AIK-C (rAIKC) をベースに、麻疹ウイルスの H および F 蛋白質の細胞外ドメイン(ED)を MuV の HN および F 蛋白質の ED で置換した新たな組換え体(rAIKC/MuHNFed)を、3

頭のマーモセットに $10^{5.0}$  TCID<sub>50</sub>/頭で、8週間隔で2回皮下接種した。2回目の接種から9週後、MuV 強毒株(大館株)で攻撃感染することで有効性評価を行った。その結果、2回の皮下接種後、攻撃接種時まで抗麻疹 PA 抗体、および抗ムンプス中和抗体はいずれも検出されず、攻撃接種に対しても全頭で感染が成立し、感染防御は成立しなかった。抗麻疹 PA 抗体が検出されなかったことから、rAIKC/MuHNFed はマーモセットで感染が成立しなかったと考えられる。[木所稔、加藤大志、村野けい子、須崎百合子\*、網康至\*、永田典代\*\*、岩田奈織子\*\*、中山哲夫\*\*\*: \*動物管理室、\*\*感染病理部、\*\*\*北里大学生命科学研究所]

#### 6. 全国的なサーベイランス網の構築と国内流行株の解析

ムンプスワクチンの定期接種化が強く求められている現在、国内におけるムンプスサーベイランス網の整備と国内で流行するムンプスウイルスの分子疫学データの集積は喫緊の課題である。我々はその雛形となるネットワークを構築すべく、全国の地方衛生研究所に協力を求め、各地衛研で検出されているムンプスウイルスの情報の集約と解析を継続している。

平成29年度はムンプスの流行が下火になったため前年度より大幅に報告数が減少した。しかし、12施設から、75例ものムンプスウイルス検体情報が寄せられた。その内、72例(96.0%)は従来型の遺伝子型 Gw と Ge(それぞれ、69例、および3例)が占めた。その一方で、昨年に引き続き遺伝子型 H が1例奈良県から報告され、昨年三重県で検出された新たな G 亜型(Gneo)が2例、茨城県から検出された。この2例はインドネシアからの輸入例と考えられた。[木所稔、村野けい子、加藤大志、竹田誠、各地方衛生研究所の研究協力者\*、浜端宏英\*\*、新妻 隆広\*\*\*、菅秀\*\*\*\*、\*\*\*\*\*、:\*秋田県健康環境センター、茨城県衛生研究所、千葉市環境保健研究所、神奈川県衛生研究所、静岡市環境保健研究所、新潟県保健環境科学研究所、石川県保健環境センター、滋賀県衛生科学センター、大阪府立公衆衛生研究所、奈良県保健研究センター、北九州市環境局環境科学研究所、熊本県保健環境科学研究所、\*\*\*アワセ第一医院、\*\*\*\*順天堂大学浦安病院、\*\*\*\*国立病院機構三重病院、]

#### 7. ムンプスのラボ診断用新規アッセイ系の評価

ムンプスワクチン定期接種導入後のワクチン効果を評価するためには迅速で精度の高いラボ診断技術が必須となる。現在国内のムンプスのラボ診断は RT-PCR 法が主流となっている。RT-PCR 法は感度が高く、MuV のゲノム配列情報が得られる等の利点がある一方で、交差汚染のリスクが高い点が問題となっている。そこで、交差汚染リスクが低く、迅速診断可能な One-Step RT Real-time PCR 法を確立した。プライマー、プローブは、遺伝子型間の変異が少ない P 遺伝子領域を標的に新たにデザインし直した。併せて、プローブにはバックグラウンドを低減するためにダブルクエンチャープローブを採用した。新たなプライマー、プローブセットを用いたアッセイ法について9箇所の地方衛生研究所に依頼して評価を行った。その結果、いずれの施設においても、検出感度、定量性、再現性において、使用に耐えうる結果が得られた。[木所稔、村野けい子、各地方衛生研究所の研究協力者\*、\*秋田県健康環境センター、茨城県衛生研究所、神奈川県衛生研究所、石川県保健環境センター、愛知県衛生研究所、奈良県保健研究センター、北九州市環境局環境科学研究所、広島市衛生研究所、沖縄衛生環境研究所]

#### IV. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

##### 1. 中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)検出のための RT-LAMP 法の評価

2012年に発生した中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)による重症肺炎は現在も中東を中心として流行が続いている。2018年6月4日現在、27か国において2,207名の確定患者と787名の死者が報告されている。我々は過去に RT-LAMP 法による MERS-CoV の検出法(Virol J. 2014. 11:139)を開発しているが、N タンパク質領域を対象とする1種のプライマーセットのみであり、本法のみで確定検査を行うためにはもう1種類のプライマーセットが必要であった。またこれまでの検査法は濁度を指標に増幅を検出していたが、このシステムでは非特異反応の可能性がゼロにできないこと、非特異反応が起きた時にシグナルの由来を明らかにできないという問題があった。そこでこれらの問題を解消するために、N タンパク質領域および ORF1a 領域を対象とした2種のプライマー

セットを設計し、蛍光消光プローブを用いた QProbe RT-LAMP 法による検出系を開発してきた。検出感度、特異性、プライマーミスマッチへの対応等の検証を行い、実用に耐える性能を担保できたため、実際の臨床検体を用いて評価を行うべく、大阪大学微生物病研究所の神谷亘特任准教授、キングアブドラアズィーズ大学キングファハドメディカルセンターの Esam Azhar 博士らと共同研究を行い、サウジアラビアジェッダで発生した患者検体を用いた評価を現地にて行った。リアルタイム RT-PCR で陽性となった 7 件の検体 RNA を用いて QProbe RT-LAMP を行ったところ、N、ORF1a セットともに検出することができた。したがって、本法は実際の臨床検体でも実施可能であることが示された。[白戸憲也、松山州徳、神谷亘\*、Sherif A.El-Kafrawy\*\*, Esam Ibraheem Azhar\*\*, \*大阪大学微生物病研究所、\*\*キングアブドラアズィーズ大学キングファハドメディカルセンター]

2. ベータヒトコロナウイルス(OC43、HKU1)の臨床分離株はエンドゾーム内カテプシンよりも細胞表面の TMPRSS2 を用いて細胞侵入する

ヒトコロナウイルス(HCoV)は細胞侵入に 2 つの異なる経路を用いることが分かっている。1 つはエンドゾーム経路でカテプシン群の酵素を用いて S タンパク質を活性化させて細胞侵入する経路で、もう 1 つは膜型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 を用いて細胞表面あるいは初期エンドゾームから細胞侵入する経路である。これまでの HCoV-229E を用いた研究で、長い間培養細胞で継代されてきた実験室株はカテプシン L を用いてエンドゾーム経路で細胞侵入する一方、臨床分離株は主に TMPRSS2 を用いた経路によって細胞侵入することが分かっている。今回、ヒトプライマリ呼吸器細胞を Air-liquid interface 培養によって分化させたものを用い、4 株の HCoV-OC43、2 株の HCoV-HKU-1 を分離した。これらを用いて細胞侵入経路の解析を行った。結果として、細胞順化株である OC43 の ATCC 株はカテプシン群を用いたエンドゾームからの細胞侵入経路を用い、OC43、HKU1 とともに臨床分離株は TMPRSS2 を用いた細胞表面からの細胞侵入経路を好んで用いていることが示され、アルファヒトコロナウイルスである 229E で見られた現象は、ベータヒトコロナウイルスにも通用することが明らかとなった。[白戸憲也、松山州徳]

3. RS ウイルスのグローバルサーベイランスに備えた遺伝子診断法の評価

世界保健機関(WHO)は、すでにある Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS)の枠組みを利用して、RS ウイルス(RSV)のグローバルサーベイランス活動を積極的に推進しようとしている。背景には現在第Ⅲ相試験である Novavax 社の nanoparticle ワクチンが近年中に FDA に承認される見通しであることがある。国際協力、国際協調の観点から、日本もその活動に対応していく必要がある。現在 WHO では、代表 13 か国によるテストサーベイランスを行っているが、検査法としてはリアルタイム RT-PCR 法による核酸検出を用いることが決まっており、日本でよく用いられているイムノクロマトキッドは採用されていない。リアルタイム RT-PCR 法としては米国 CDC 法あるいは同等と評価される方法を用いるとされ、ほとんどの国では米国 CDC 法が選択されている。したがって、我が国の RS ウイルスのグローバルサーベイランスへの参加を踏まえ、国内でも米国 CDC 法が運用可能か否かを検討する必要がある。今回はまず担当部署である感染研ウイルス 3 部内で CDC 法を行うためのセットアップを行った。米国 CDC 法はサブタイプ AB 共通プローブを用いた検出を行ったのち、F タンパク質領域のシーケンス解析によりサブタイピングを行うとされる。RT-PCR の部分については、試薬の組み合わせによっては非特異反応が見られるが、Thermo 社の Ag-Path-ID を用い、アニーリング温度を 58 度とすることで非特異反応の改善が見られた。仙台医療センターで保管されていた過去のヒト臨床検体を用いて評価を行ったところ、他の既報のリアルタイム RT-PCR プローブセット(サブタイプ A,B でそれぞれ別セット)と比べて同等の検出率を示し、実際の臨床検体でも適用可能と考えられた。一方、シーケンス解析によるサブタイピングの成功率は低く、さらなるシーケンス解析用プライマーの最適化が必要と考えられた。地衛研等での実施については地衛研代表者による評価が行なわれている。[白戸憲也、直亨則、松山州徳、西村秀一\*、竹田誠]\*仙台医療センターウイルスセンター

4. ニューモウイルスの感染・増殖に必要な宿主因子の同定

ヒトメタニューモウイルス(hMPV)及びヒト RS ウイルスは共にニ



ニューモウイルス科に分類され、ほぼ全ての小児が幼少期に罹患するウイルスである。これらのウイルスに対する免疫応答は再感染を予防することができず、発症を繰り返す。また、特に乳児及び高齢者において重篤な下気道感染を引き起こすことが知られている。しかし、これらのウイルス感染症に対する有効なワクチンや抗ウイルス薬は現在存在しない。そこで我々は近年開発されたゲノム編集技術(CRISPR/CAS9システム)により作成されたゲノムワイド遺伝子発現ノックアウト細胞ライブラリーを用いて、ウイルスの感染・増殖に必要な宿主因子の網羅的解析を行っている。現在 RS ウイルスに関してスクリーニングを繰り返し、250 程度の候補宿主因子を見出しており、さらに MAGeCK プログラムでデータ比較及び検定を行うことで、RS ウイルスの感染・増殖に必要な候補宿主因子を 67 に絞り込んでいる。この 67 個の候補宿主因子について Gene ontology 解析を行うと、RS ウイルスの細胞侵入に寄与するヘパラン硫酸の生合成に関与する遺伝子が含まれており、重要な宿主因子が検出されていることが示されている。今後は hMPV についても同様の解析を行い、ニューモウイルスの感染・増殖に共通して必要な宿主因子を見出すことを試みる。[直亨則、山地俊之\*、関塚剛史\*\*、白戸憲也、松山州徳、竹田誠：\*細胞化学部、\*\*病原体ゲノム解析研究センター]

#### 5. ヒトメタニューモウイルスの G 遺伝子の進化

hMPV の G 蛋白はウイルスの細胞への吸着や、宿主の免疫応答抑制に関与していることが示唆されているが、その機能には不明な点が多い。近年、G 遺伝子に 180 塩基及び 111 塩基の重複配列を有する hMPV 株(A2b 株)が横浜市で複数検出されており、横浜市衛生研究所の七種美和子博士らとともに報告している。また、同様の株はスペインでも報告されている。近縁の RS ウイルスでも近年 G 遺伝子に 72 塩基及び 60 塩基の重複配列を持つ株が検出されており、G 遺伝子の重複配列の機能的意義は不明な点が多いものの、G 遺伝子に重複配列を持つ RS ウイルス株は現在主要な流行株の一つとなっている。そこで、我々は G 遺伝子に重複配列を有する hMPV 株が横浜市以外でもすでに広がっているのではないかと考え、仙台医医療センターの西村秀一博士の協力の下、2014 年以降に仙台市で検出された hMPV 株の塩基配列を解析し、近年仙台市で検出された A2b 株のおよそ半数が G 遺伝

子に 180 塩基の重複配列を有することを明らかにした。これまでに検出された G 遺伝子に重複配列を有する hMPV 株はウイルスが分離されておらず、遺伝子情報のみであったが、今回解析した仙台市で検出された hMPV 株は感染性のウイルスが分離されている。そこで、これらの分離ウイルスを用いて、ウイルスの全ゲノム配列の決定、及び複数の培養細胞株への感染性の比較を行った。その結果、G 遺伝子の 180 塩基の重複配列はウイルス分離及び継代を経てもウイルスゲノム中に維持されていること、及び重複配列はウイルスの培養細胞への感染性に大きな違いを生じないということが判明した。現在分離ウイルス株を元にリバースジェネティクス法で組み換えウイルスを作成している。今後は組み換えウイルスを用いてより詳細に、G 遺伝子の重複塩基配列の発生メカニズムや機能的意義を解明する予定である。[直亨則、七種美和子\*、山岸潤\*\*、也西村秀一\*\*\*、竹田誠：\*横浜市衛生研究所、\*\*北海道大学、\*\*\*仙台医医療センター]

#### 6. II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、マウスパラインフルエンザウイルスの病原性決定因子のひとつである

パラミクソウイルス科のウイルス増殖や病原性の発現への TMPRSS2 の関与の有無を、マウスを宿主とするマウスパラインフルエンザウイルス(以下、センダイウイルス(SeV))、TMPRSS2 遺伝子欠損マウス、TMPRSS2 遺伝子を発現している通常の野生型マウスを用いて解析した。実施した感染条件では、野生型マウスへの攻撃後、一過性の体重減少、致死が認められたが、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスでは致死や顕著な体重減少は認められなかった。野生型マウスと異なり、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスの感染肺のウイルス力価において、継続的な効率的ウイルス増殖は認められなかった。以上より、インフルエンザ A ウイルスと同様に、TMPRSS2 は用いた全ての複数の SeV 株のマウス体内での病原性発現に大きく関与していることが示された。[酒井宏治、網康至\*:\*動物管理室]

#### 7. 不顕性感染するマウスパラインフルエンザウイルスの性状解析

マウスパラインフルエンザウイルス(以下、センダイウイルス(SeV))は、生体内への侵入後、強い免疫抑制より、病原性を発揮することが知られている。ATCC により購入した Cantell 株

ストックウイルスにおいて、限界希釈法より、IFN $\beta$ 誘導因子である copyback 型 DI ゲノムを産生しない Cantell cC 株とこれを恒常的に産生する cCdi 株を選抜した。ウイルスゲノムの全長比較から、既報の C や V 蛋白質でなく、N 蛋白質に IFN $\beta$ 誘導を決定する変異を同定した。培養細胞においても、cC 株と cCdi 株に IFN $\beta$ 誘導能に有意な差が認められたため、cC 株と cCdi 株のマウスでの病原性検証を試みた。cC 株では致死的 (MLD50=  $10^3$  pfu/head)であったが、cCdi 株では体重変動や症状、致死性は全く認められなかった (MLD50=  $<10^5$  pfu/head)。培養細胞と同様に、マウス生体内でも IFN $\beta$ 誘導能が cC 株と cCdi 株で有意に異なり、それが病原性発現に関与していた。Cantell 株中での cCdi 株の存在意義は不明であるが、ウイルスの遺伝的多様性として大変興味深く、N 蛋白質に起因する不顕性感染機序は、初めての報告である。[酒井宏治、入江崇\*、網康至\*\*:\*広島大、\*\*動物管理室]

### 8. A 型インフルエンザウイルスと肺炎球菌による二次性感染型肺炎感染モデルの作成と重症化機序の検索

A 型インフルエンザウイルス (IAV) 感染後の肺炎には、ウイルスそのものによる原発性ウイルス性肺炎と細菌感染が関与する二次性感染型肺炎に分けられる。これまで、我々は、季節性 IAV による原発性ウイルス性肺炎には、ウイルスを活性化 (HA タンパク質の開裂を促進) させる宿主セリンプロテアーゼ TMPRSS2 が必須の酵素であることを証明した。一方、死亡例の大部分を占める二次性感染型肺炎は、ウイルスと細菌の相乗作用の関与が示唆され、その重症化機序の全容解明は行われていない。我々は原発性ウイルス性肺炎の延長として、(細菌性)プロテアーゼによるウイルス活性化 (HA の開裂促進) という視点で、解明を試みた。IAV は、野生型マウスで致死的であるが、TMPRSS2 遺伝子欠損マウスでは非病原性のマウス馴化株を用いた。肺炎球菌はマウスで馴化したものを用いた。野生型マウスを用いた場合、①IAV 単独感染群及び②肺炎球菌単独感染群では、有意な体重変動あるいは致死的な体重減少を示さないが、③混合感染群でのみ、致死的な経過を示した。興味深いことに、ある条件の肺炎球菌感染マウス肺洗浄液を菌液として用いた場合、肺炎球菌感染肺洗浄液をフィルター濾過したろ液 (菌体なし)、そのろ液にプロテアーゼインヒビターを添加したもの、どちらにおいても、③混合感染群と

同様な致死的な経過を示した。また、この感染条件において、Tmprss2 遺伝子欠損マウスを用いて、同様に感染実験を実施したが、野生型マウスのように、③混合感染群でのみ、重症化や感染肺でのウイルス複製効率の増加、HA 開裂の促進は認められなかった。以上より、本研究で用いた IAV と肺炎球菌の混合感染による重症化は、細菌性プロテアーゼに起因しないことが考えられた。今後は、重症化の起因となった、ろ液成分の解析を試みる。[酒井宏治]

### 9. 家禽でのトリインフルエンザウイルス増殖に必要な宿主因子の検索

トリインフルエンザウイルス (AIV) が感染性を発揮するには、ウイルス膜蛋白質の HA がプロテアーゼにより蛋白質分解性の修飾 (HA の開裂) を受け、膜融合活性を発現する必要がある。AIV は自身でプロテアーゼ遺伝子を持たないため、HA を開裂できるプロテアーゼを宿主から借用する必要があり、AIV 増殖場所はそのプロテアーゼが存在する組織に限定される。これまで、季節性インフルエンザの哺乳類 (マウス) での病原性発現には、呼吸器に発現しているセリンプロテアーゼ TMPRSS2 のみが必須の宿主因子であることを明らかにした。一方、AIV の自然宿主の野生水禽生体内で HA を開裂する宿主プロテアーゼは不明であり、野生マガモ TMPRSS2 の AIV の HA 蛋白質の開裂能について検証を試みた。野生マガモ TMPRSS2 の遺伝子クローニングを行い、アミノ酸配列を決定した。プラスミドを用いた野生マガモ TMPRSS2 の蛋白質機能解析では、AIV の HA 開裂が認められた。今後、野生マガモの TMPRSS2 の生体内発現分布の解析を試みる。[酒井宏治]

## サーベイランス業務

1. 平成 29 年度感染症流行予測調査における風疹感受性調査のため、標準血清 (HI 抗体陽性血清並びに陰性血清) を用意し、感染症疫学センターを通じて配布した。試験誤差の有無を検討するための事前確認検査用検体を整備・配布し、各施設で測定してもらい、その結果を集計した。[大槻紀之、感染症疫学センター、森嘉生]

## 品質管理に関する業務

## ウイルス第三部

1. 麻しんワクチン中間段階 5 ロット、風しんワクチン中間段階 2 ロット、おたふくかぜワクチン中間段階 1 ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品 4 ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品 5 ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン 38 ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品 17 ロットの検定を行った[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生、久保田耐、木所稔、加藤大志、竹田誠]
2. 人免疫グロブリン製剤 170 ロットの検定(麻疹抗体測定試験)を行った。[關文緒、酒井宏治、染谷健二、竹田誠]
3. インターフェロン製剤 2 ロット(rec  $\beta$ -1b 1 ロット、天然型  $\beta$  1 ロット)の収去検査を行った。[白戸憲也、松山州徳]
4. 感染症検体パネル整備事業に基づき、抗風疹抗体パネルの整備を行った。次期パネル候補血清陽性 17 検体、陰性 2 検体を取得した。[岡本貴世子、永井美智、竹田誠、森嘉生]

### レファレンス業務

1. 麻疹の行政検査 2 件を実施した。[關文緒、山田裕加里、竹田誠]
2. 麻疹遺伝子検査に用いるリアルタイムPCR用参照 RNA を 8 ヶ所の地方衛生研究所に配布した。また、RT-PCR 用参照 RNA を 8 カ所の地方衛生研究所に、サイズマーカーを 3 ヶ所の地方衛生研究所に配布した。[關文緒、山田裕加里、竹田誠]
3. 風疹ウイルス検出ならびに遺伝子型解析の外部精度管理を 47 の地方衛生研究所に対して実施した。[森嘉生、村田祥子\*、調恒明\*、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、\* 山口県環境保健センター]
4. 病原体検出マニュアル風疹を一部改定した(第 3.2 版) [森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠]。
5. 第 38 回衛生微生物技術協議会においてレファレンスセンター関連会議を行い、レファレンスセンター等報告を行った。[森嘉生、關文緒]2017 年 6 月 27-28 日
6. 風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照 RNA を 17

カ所の地方衛生研究所等に配布した。[森嘉生、永井美智]

7. ムンプスの行政検査を 1 件実施した。[木所稔]
8. 9 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス用新規 One-step RT Real-time PCR 用のプライマーセット、グローブ、陽性コントロールウイルス RNA 及びプロトコールを送付し、評価を行った。[木所稔、村野けい子]
9. 1 ヶ所の地方衛生研究所にムンプスウイルス検出用にプライマーセットを送付した。[木所稔、村野けい子]
10. MERS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 11 件
11. SARS コロナウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件
12. RS ウイルス遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 3 件
13. hMPV 遺伝子検査用陽性コントロール RNA 配布 国内 1 件

### 国際協力業務

1. 15th WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting(2017 年 6 月 27-29 日、スイス、ジュネーブ市)に参加し、Global Specialized Laboratory としてのウイルス第三部の活動について報告するとともに、一部のセッションの Chair を務めた。[竹田誠]
2. 26th Meeting of the Technical Advisory Group (TAG) on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in the Western Pacific Region(2017 年 6 月 13-16 日、フィリピン、マニラ市)に参加して、麻疹、風疹を含むワクチン予防可能疾患の対策について議論を行った。[竹田誠]
3. 7th Meeting on Vaccine-Preventable Diseases Laboratory Network in the Western Pacific Region (2017 年 9 月 28 日~29 日、フィリピン、マニラ市)に参加し、日本の活動内容、ならびに麻疹、風疹の状況を報告し、また、ネットワーク機能の向上に関する議論を行った[森嘉生、中津祐一郎、竹田誠]。本会議の議長(Chair)を務めた。[竹田誠]
4. Technical Consultation of the WHO Global Measles Rubella Laboratory Network(2018 年 1 月 22-26 日、米

国、アトランタ市)に参加してグローバル麻疹風疹実験室ネットワークの活動について話し合った。[竹田誠]

5. ベトナムハノイの NIHE を訪問し、麻疹の検査診断法について協議した (2017 年 7 月 18 日～7 月 21 日) [田原舞乃]
6. WHO meeting of Mid-term Review of the RSV Surveillance Pilot based on the Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS), 18-20 December 2017 PAHO, Washington DC, USA に参加 [白戸憲也]

### 研修業務

1. JICA 研修「ポリオ及び麻疹風疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」において、アジア、アフリカ、中東等の研修生 7 名に麻疹 IgM 抗体測定法、real-time RT-PCR 法、RT-PCR 法等の実習を行った。[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、山田裕加里] 2018 年 1-2 月
2. JICA 研修「ポリオ及び麻疹風疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」において、アジア、中東、アフリカ諸国の研修生 7 名に、風疹の実験室検査に関する講義を行うとともに、風疹ウイルスリアルタイム RT-PCR、コンベンショナル RT-PCR の実習を行った。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生]2018 年 1-2 月
3. JICA 集団研修「ワクチン品質・安全性確保のための国家検定機関強化」研修において、麻疹風疹混合ワクチンの国家検定に関する講義を行った (2018 年 1 月 19 日)[森嘉生]
4. 平成 29 年度希少感染症診断技術研修会において、風疹検査に関する講義を行なった、[森 嘉生](2018 年 2 月 27 日)
5. 11ヶ所の地方衛生研究所に風疹ウイルス遺伝子検出法の研修を実施した。[岡本貴世子、坂田真史、大槻規之、永井美智、森嘉生、木村博一(感染症疫学センター、群馬パース大学)](2018 年 2 月 13 日～2 月 15 日)

### 発表業績一覧

#### I. 誌上発表

##### 欧文発表

1. Mori Y, Miyoshi M, Kikuchi M, Sekine M, Umezawa M, Saikusa M, Matsushima Y, Itamochi M, Yasui Y, Kanbayashi D, Miyoshi T, Akiyoshi K, Tatsumi C, Zaitu S, Kadoguchi M, Otsuki N, Okamoto K, Sakata M, Komase K, Takeda M. (2017) Molecular epidemiology of rubella virus strains detected around the time of the 2012-2013 epidemic in Japan. *Front Microbiol* 8:1513.
2. Otsuki N, Sakata M, Mori Y, Okamoto K, Takeda M. (2018) Analysis of the effect of Sphingomyelinase on rubella virus infectivity in two cell lines. *Bio Protoc* (in press)
3. Otsuki N, Sakata M, Saito K, Okamoto K, Mori Y, Hanada K, Takeda M. (2018) Both sphingomyelin and cholesterol in the host cell membrane are essential for rubella virus entry. *J Virol* 92:e01130-17
4. Sakata M, Tani H, Anraku M, Kataoka M, Nagata N, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y. (2017) Analysis of VSV pseudotype virus infection mediated by rubella virus envelope proteins. *Sci Rep* 7:11607.
5. Katoh H, Kubota T, Nakatsu Y, Tahara M, Kidokoro M, Takeda M. (2017) Heat shock protein 90 ensures efficient mumps virus replication by assisting with viral polymerase complex formation. *J Virol* 91:e02220-16
6. Matsuyama S, Shirato K, Kawase M, Terada Y, Kawachi K, Fukushi S, Kamitani W. Middle East respiratory syndrome coronavirus spike protein is not activated directly by cellular furin during viral entry into target cells. *J Virol*. 2018 Jul 18. pii: JVI.00683-18.
7. Shirato K, Kanou K, Kawase M, Matsuyama S. Clinical Isolates of Human Coronavirus 229E Bypass the Endosome for Cell Entry. *J Virol*. 2017;91(1):e01387-16.

8. Shirato K, Kawase M, Matsuyama S. Wild-type human coronaviruses prefer cell-surface TMPRSS2 to endosomal cathepsins for cell entry. *Virology*. 2018 Apr;517:9-15.
9. Shirato K, Semba S, El-Kafrawy SA, Hassan AM, Tolah AM, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, Kamitani W, Matsuyama S, Azhar EI. Development of fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) using quenching probes for the detection of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Virol Methods*. 2018 Aug;258:41-48.
10. Hachiya M, Miyano S, Mori Y, Vynnycky E, Keungsaneth P, Vongphrachanh P, Xeuatvongsa A, Sisouk T, Som-Oulay V, Khamphongphane B, Sengkeopaseuth B, Pathammavong C, Phounphenghak K, Kitamura T, Takeda M, Komase K. (2018) Evaluation of nationwide supplementary immunization in Lao People's Democratic Republic: population-based seroprevalence survey of anti-measles and anti-rubella IgG in children and adults, mathematical modelling and a stability testing of the vaccine. *PLoS One* 13:e0194931
11. Matsushima Y, Shimizu T, Doi I, Mizukoshi F, Nagasawa K, Ryo A, Shimizu H, Kobayashi M, Funatogawa K, Nagata N, Ishikawa M, Komane A, Okabe N, Mori Y, Takeda M, Kimura H. (2017) A detection method for the rash and fever illness-associated viruses using multiplex RT-PCR. *Microbiol Immunol* 61:337-44.
12. Pratakipiriya W, Teh APP, Radtanakantikanon A, Pirarat N, Thi LN, Takeda M, Techangamsuwan S, Yamaguchi R. (2017) Expression of canine distemper virus receptor nectin-4 in the central nervous system of dogs. *Sci Rep* 7:349.
13. Saikusa M, Nao N, Kawakami C, Usuku S, Sasao T, Toyozawa T, Takeda M, Okubo I. (2017) A novel 111-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus. *Microbiol Immunol* 61:507-12.
14. Saikusa M, Kawakami C, Nao N, Takeda M, Usuku S, Sasao T, Nishimoto K, Toyozawa T. (2017) 180-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus A2b subgroup strains circulating in Yokohama city, Japan, since 2014. *Front Microbiol*. 8:402.
15. Saito K, Otsuki N, Takeda M, Hanada K. (2018) Liposome floatation assay for studying interaction between rubella virus particles and lipid membranes. *Bio Protoc* 8:e2983
16. Watanabe A, Kobayashi Y, Shimada T, Yahata Y, Kobayashi A, Kanai M, Hachisu Y, Fukusumi M, Kamiya H, Takahashi T, Arima Y, Kinoshita H, Kanou K, Saitoh T, Arai S, Satoh H, Okuno H, Morino S, Matsui T, Sunagawa K, Tanaka-Taya K, Takeda M, Komase K, Oishi K. (2017) Exposure of travellers and a ground crew member to H1 genotype measles virus at a large international airport in Japan on 31 July. *Western Pac Surveill Response J* 8:37-9.
17. Yoshida A, Kawabata R, Honda T, Sakai K, Ami Y, Sakaguchi T, Irie T. (2018) A single amino acid substitution within the Paramyxovirus Sendai virus nucleoprotein is a critical determinant for production of IFN-beta-inducing copyback-type defective interfering genomes. *J Virol*. 92(5). pii: e02094-17.
18. Sangsriratanakul N, Toyofuku C, Suzuki M, Komura M, Yamada M, Alam MS, Ruenphet S, Shoham D, Sakai K, Takehara T. (2018) Virucidal Efficacy of Food Additive Grade Calcium Hydroxide against Surrogate of Human Norovirus. *J Virol. Methods*. 251:83-87.
19. Kitamura T, Bouakhasith V, Phounphenghack K, Pathammavong C, Xeuatvongsa A, Norizuki M, Okabayashi H, Mori Y, Machida M, Hachiya M. (2018) Assessment of temperatures in the vaccine cold chain in two provinces in Lao People's Democratic Republic: a cross-sectional pilot study. *BMC Res Notes* 11:261.
20. Kuba Y, Kyan H, Arakaki E, Takara T, Kato T, Okano S, Oshiro Y, Kudaka J, Kidokoro M. Molecular Epidemiological Study of Mumps Epidemics of 2015 in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2017,70(3), 329-32.

21. Niizuma T, Obinata K, Kinoshita K, Kidokoro M, Shimizu T. Detection of mumps virus vaccine strain in breast milk after postpartum vaccination. *Juntendo Medical Journal*. 2017, 63, 370-2.
22. Li TC, Yoshizaki S, Zhou X, Sentsui H, Shirato K, Matsuyama S, Melaku SK, Bazartseren B, Takeda N, Wakita T. Serological evidence of hepatitis E virus infection in dromedary camels in Ethiopia. *J Virol Methods*. 2017 Aug;246:34-37.
23. Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. *J Virol Methods*. 2018 Jan;251:22-29.
24. Nakao R, Matsuno K, Qiu Y, Maruyama J, Eguchi N, Nao N, Kajihara M, Yoshii K, Sawa H, Takada A, Sugimoto C. Putative RNA viral sequences detected in an Ixodes scapularis-derived cell line. *Ticks Tick Borne Dis*. 2017 Jan;8(1):103-111
25. Kondoh T, Manzoor R, Nao N, Maruyama J, Furuyama W, Miyamoto H, Shigeno A, Kuroda M, Matsuno K, Fujikura D, Kajihara M, Yoshida R, Igarashi M, Takada A. Putative endogenous filovirus VP35-like protein potentially functions as an IFN antagonist but not a polymerase cofactor. *PLoS One*. 2017 Oct 17;12(10):
26. Ogawa H, Kajihara M, Nao N, Shigeno A, Fujikura D, Hang'ombe BM, Mweene AS, Mutemwa A, Squarre D, Yamada M, Higashi H, Sawa H, Takada A. Characterization of a Novel Bat Adenovirus Isolated from Straw-Colored Fruit Bat (*Eidolon helvum*). *Viruses*. 2017 Dec 4;9(12).
27. Matsuno K, Kajihara M, Nakao R, Nao N, Mori-Kajihara A, Muramatsu M, Qiu Y, Torii S, Igarashi M, Kasajima N, Mizuma K, Yoshii K, Sawa H, Sugimoto C, Takada A, Ebihara H. The Unique Phylogenetic Position of a Novel Tick-Borne Phlebovirus Ensures an Ixodid Origin of the Genus Phlebovirus. *mSphere*. 2018 Jun 13;3(3).
- 和文発表
1. 染谷健二、竹田誠、(2018) 海外の麻疹の状況、病原微生物検出情報 39:62-64
  2. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 (2017) 世界の麻疹ウイルスの流行状況、2016年、病原体検出情報 38: 14-15.
  3. 酒井宏治 (2018) 『宿主プロテアーゼTMPRSS2とインフルエンザウイルス』、*獣医畜産新報* 71(6)414-424
  4. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、麻疹の検査法、病原微生物検出情報 39:35-36, 2018
  5. 木所稔、(2017) 慢性炎症と疾患、感染症・ワクチンと慢性炎症、*ムンプス*、別冊Bio Clinica, 6(2):41-46
  6. 木所稔、(2017) ワクチンのメリットとデメリット、II各論、2. ウイルスワクチン、おたふくかぜワクチン、化学療法の領域、33(S-1):125-133
  7. 木所稔、感染症の流行を追う、我が国の流行性耳下腺炎(おたふくかぜ)の流行状況について、*Vaccine Digest*, 2017, 13, 3-4.
  8. 木所稔、(2017) ムンプス髄膜炎、臨床とウイルス、45(5): 318-325
  9. 松山州徳、ヒトコブラクダに蔓延している中東呼吸器症候群コロナウイルス、*呼吸器内科*, 31(1):1-6 (2017)
  10. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)、*日本内科学会雑誌*, 106(3):409-414 (2017)
  11. 松山州徳、中東呼吸器症候群 (MERS)、*小児科臨床* 70(増刊号): 2303-2307, (2017)
  12. 駒瀬勝啓、染谷健二、中津祐一郎、竹田誠 (2017) 麻疹の検査診断法 (real-time PCR 法を中心に)、病原体検出情報 38:11-12.
  13. 駒瀬勝啓、小林祐介、砂川富正、大石和徳、關文緒、染谷健二、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、竹田誠、(2018) 麻疹ウイルスの遺伝子解析による 2016 年における日本の麻疹排除状態の解析、病原微生物検出情報 39:60-61
  14. 多屋馨子、佐藤弘、大石和徳、竹田誠、(2018) 麻疹の抗体保有状況—平成 29(2017)年度感染症流行予測調

査(暫定結果)、病原微生物検出情報 39:61-62

15. 金井瑞恵、砂川富正、神谷元、奥野英雄、多屋馨子、大石和徳、森嘉生、竹田誠、倉田貴子、上林大起、加瀬哲男、駒野淳、北島博之、2012-2014 年に出征した先天性風疹症候群 45 例のフォローアップ調査結果報告、病原微生物検出情報 39:33-34, 2018
16. 佐藤弘、多屋馨子、大石和徳、森嘉生、竹田誠、2017年度風疹予防接種状況および抗体保有状況—2017年度感染症流行予測調査(暫定結果)、2017年度風疹感受性調査実施都道府県、病原微生物検出情報 39:40-41, 2018

## II. 学会発表

### 国際学会

1. Tahara M, Sato M, Nakatsu Y, Tani K, Takeda M. (2018 June 17-22. Verona, Italy) A new optically controllable measles virus vector. The 17th Negative Strand Virus Meeting (NSV2018)
2. Tahara M, Hiramoto T, Miura Y, Kurita R, Hamana H, Inoue K, Kohara H, Liao J, Karasawa N, Okano S, Yamaguchi Y, Oda Y, Ichianagi K, Sasaki H, Kishi H, Muraguchi A, Tani K, Takeda M (2017 June 23-24. Rochester, Minnesota) Establishment of primed and naïve-like human iPS cells using a new measles virus-modified vector. The 5th Measles Virus Minisymposium.
3. Otsuki N, Sakata M, Saito K, Okamoto K, Mori Y, Hanada K, Takeda M. (2017 July 17-21. Singapore) Cellular Sphingomyelin plays an essential role in infection of rubella virus. 17th International Union of Microbiological Societies (IUMS) International Congress of Virology.
4. Shirato K, Kanou K, Kawase M, Matsuyama S. Wild type human coronaviruses prefer cell surface TMPRSS2 to endosomal cathepsins for cell entry. (2017). The XIVth Nidovirus International Symposium. Kansas City, MO, USA. June 4-9. Oral
5. Nao N, Sato K, Seki F, Yamagishi J, Nishimura H, Takeda M. (2018 June 17-22. Verona, Italy) The

characteristics of recent clinical isolates of human metapneumovirus in Japan. The 17th Negative Strand Virus Meeting (NSV2018)

6. Nao N, Sato K, Saikusa M, Nishimura H, Takeda M. (2018 Jan 8-11. Shenzhen, China) The evolution of human metapneumovirus. 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim.
7. Liao J, Kohara H, Hiramoto T, Tahara M, Sugawara A, Miura Y, Hirose L, Takashima Y, Miyamoto S, Takeda M, Tani K. (2018 May 16-19. Chicago, Illinois, USA) Evaluation of non-integrating RNA measles virus vectors for reprogramming of human hematopoietic subsets. The 21st American Society of Gene & Cell Therapy (ASGCT) Annual Meeting
8. Saikusa M, Kawakami C, Nao N, Takeda M, Usuku S, Sasao T, Nishimoto K, Toyozawa T. (2017 July 17-21. Singapore) 180-nucleotide duplication in the G gene of human metapneumovirus A2b subgroup strains circulating in Yokohama city, Japan, since 2014. 17th International Union of Microbiological Societies (IUMS) International Congress of Virology.
9. Matsuo N, Nakano S, Ito S, Seki F, Takeda M, Tokiwa H. (2017 September 5-8. Awaji Island, Hyogo, Japan) Elucidating coevolution mechanism of morbillivirus with mammals using the fourth revolutionary method based on a novel protein multiple sequence method. The 16th Awaji International Forum on Infection and Immunity (AIFII).
10. Yusuke Matsui, Hajime Kamiya, Akira Kamenosono, Tamano Matsui, Kazunori Oishi, Minoru Kidokoro, Tomimasa Sunagawa, (2017, Oct 4-8. San Diego, CA) First mumps outbreak in decade: measuring impact of mumps among naïve population - Tokunoshima Island, Japan. IDWeek.

### 国内学会

### ウイルス第三部

1. 竹田誠、關文緒、ヒト SLAM 遺伝子のモルビリウイルスからの感染回避進化と麻疹ウイルス H 遺伝子のヒト SLAM への特化進化、7th Negative strand virus-Japan symposium、沖縄、糸満市、2018 年 1 月 15-17 日
2. 竹田誠、麻疹ウイルス H タンパクの5つの主要な抗原エピトープ、6th Negative Strand Virus-Japan、宜野湾、沖縄、2017 年 1 月 16-18 日
3. 竹田誠、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 とインフルエンザウイルス、第 31 回 インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム、静岡、2017 年 6 月 8-10 日
4. 竹田誠、大槻紀之、坂田真史、齊藤恭子、岡本貴世子、森嘉生、花田賢太郎、麻疹ウイルスの感染メカニズムと細胞膜脂質の役割、第 49 回日本小児感染症学会、金沢、2017 年 10 月 21-22 日
5. 竹田誠、關文緒、直亨則、ヒトメタニューモウイルス株の感染性に関する解析、第 121 回日本小児科学会、福岡、2018 年 4 月 20-22 日
6. 田原舞乃、佐藤守俊、谷憲三朗、竹田誠、光制御性麻疹ウイルスと狂犬病ウイルスの作製、7th Negative strand virus-Japan symposium、沖縄、糸満市、2018 年 1 月 15-17 日
7. 田原舞乃、佐藤守俊、宮本将平、中津祐一郎、谷憲三朗、竹田誠、光制御麻疹ウイルスベクターの開発、第 17 回日本再生医療学会、横浜、2018 年 3 月 21-23 日
8. Tahara M、Sato M、Nakatsu Y、Tani K、Takeda M. Development of optically controllable measles virus vector. (光制御性麻疹ウイルスベクターの開発、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
9. Sakai K、Takayama I、Ami Y、Suzaki Y、Komase K、Takehara K、Takeda M、Odagiri T. Pathogenicity of A/H3N2v in mice. (変異型インフルエンザウイルス A/H3N2v のマウスでの病原性)、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
10. 酒井宏治、宿主プロテアーゼ TMPRSS2 とインフルエンザウイルス、第 160 回日本獣医学会学術集会 微生物分科会シンポジウム「最先端微生物学研究に基づいた疾病対策の試み」、鹿児島、2017 年 9 月
11. 酒井宏治、センダイウイルスのマウスでの病原性、7th Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2018 年 1 月
12. Mori Y、Otsuki N、Sakata M、Okamoto K、Takeda M. Rubella virus attaches to cells in at least two different ways. (風疹ウイルスは異なる 2 種類の方法で細胞へ吸着する)、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
13. 大槻紀之、坂田真史、齊藤恭子、森嘉生、岡本貴世子、花田賢太郎、竹田誠、細胞膜上のスフィンゴミエリンは風疹ウイルスの感染に不可欠である、第 59 回日本脂質生化学会学術集会、京都、2017 年 6 月 15-16 日
14. Sakata M、Katho H、Otsuki N、Okamoto K、Takeda M、Mori Y. Heat shock protein 90 is required for efficient replication of rubella virus. (熱ショック性蛋白 90 は、風疹ウイルスの効率的な増殖に必要である)、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
15. Anraku M、Matsunaga S、Sakata M、Matsushima Y、Miyakawa K、Takeda M、Mori Y、Ryo A. Screening for small molecules targeting Rubella virus E1 protein. (風疹ウイルス E1 タンパク質を標的とした低分子化合物の探索と同定)、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
16. 木所稔、浜端宏英、ムンプス検体の遠隔地輸送における FTA カードの有用性、第 58 回日本臨床ウイルス学会学術集会、2017 年 5 月 27 日-28 日、長崎市。
17. 木所稔、成相絵里、菅秀、竹田誠、庵原俊昭、次世代シーケンサを用いたムンプスウイルスの網羅的全ゲノム配列決定に基づく分子系統学的解析、第 58 回日本臨床ウイルス学会学術集会、2017 年 5 月 27 日-28 日、長崎市。
18. Kidokoro M、Murano K、Nao N、Negoro M、Takeda M、Suga S. Molecular phylogenetic analyses of mumps virus on the basis of full-genome sequences by using next-generation sequencer. (次世代シーケンサ解析による全ゲノム配列をもとにしたムンプスウイルスの分子系統解析)、第 65 回日本ウイルス学会、大阪、2017 年 10 月 24-26 日
19. Katoh H、Sakata M、Nakatsu Y、Nakagawa R、Kidokoro



- M, Takeda M. Involvement of the R2TP complex in biogenesis of mumps virus L protein. (ムンプスウイルスのLタンパク質合成におけるR2TP complexの関与)、第65回日本ウイルス学会、大阪、2017年10月24-26日
20. 加藤大志、ムンプスウイルス感染におけるR2TP complexの役割、7<sup>th</sup> Negative Strand Virus-Japan、沖縄、2018年1月15-17日
21. 松山州徳、Four years have passed since Middle East respiratory syndrome coronavirus was identified in Saudi Arabia, 日本ウイルス学会シンポジウム、2016年10月23日(北海道)口演
22. 松山州徳、中東呼吸器症候群(MERS)、日本内科学会「内科学の展望」にて講演、2016年11月27日(広島)口演
23. 松山州徳、コロナウイルスの細胞侵入について、大阪大学セミナー2017年2月17日(大阪)口演
24. 白戸憲也、Development of Fluorescent Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) using Quenching probes for the detection of the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Shirato K, Semba S, Takayama I, Kageyama T, Notomi T, and Matsuyama S. 第65回日本ウイルス学会学術集会 2017年10月(大阪)ポスター
25. Nao N, Sato K, Saikusa M, Takeda M, Nishimura H. Human metapneumovirus with 180 nucleotide-duplication in the G gene detected in Sendai city, Japan. (仙台市で検出されたG遺伝子に180塩基の重複挿入がみられたヒトメタニューモウイルス)、第65回日本ウイルス学会、大阪、2017年10月24-26日
26. 宮本優介、福原秀雄、鈴木佑佳、佐藤亮、中津祐一郎、竹田誠、前仲勝実、TPRSS2の阻害クリーニング第12回日本ケミカルバイオロジー学会、札幌、2017年6月7-9日
27. 松尾直也、中野祥吾、伊藤創平、關文緒、竹田誠、常盤広明、第四次革新的手法に基づく宿主動物およびウイルスの共進化メカニズムの解明、第61回日本薬学会関東支部大会、東京、2017年9月16日
28. 松尾直也、中野祥吾、伊藤創平、關文緒、竹田誠、常盤広明、第四次革新的手法を用いたウイルスおよび宿主動物の共進化メカニズムの解明、第40回日本分子生物学会、神戸、2017年12月6-9日
29. Matsuo N, Higuchi R, Nakano S, Ito S, Seki F, Takeda M, Tokiwa H. Rational designs of artificial viral proteins using a novel multiple sequence analysis. (第四次革新的手法を用いた人工ウイルスタンパク質の創成)、第65回日本ウイルス学会、大阪、2017年10月24-26日
30. 樋口玲爾、關文緒、中野祥吾、伊藤創平、丸山正、大石和恵、竹田誠、常盤広明、第四次革新的手法を用いたモルビリウイルスと感染哺乳動物との共進化に関する理論的研究、第62回日本薬学会関東支部大会、2018年9月15日
31. 七種美和子、川上千春、宇宿秀三、笹尾忠由、豊澤隆弘、直亨則、竹田誠、横浜市において検出された human metapneumovirus の遺伝子解析:G 遺伝子に111塩基の重複配列をもつ株の流行について、第49回日本小児感染症学会、金沢、2017年10月21-22日
32. 佐藤弘、多屋馨子、森嘉生、竹田誠、大石和徳、成人男性における風疹に対する感受性者の現況(感染症流行予測調査より)、第21回日本ワクチン学会、福岡、2017年12月2-3日
33. 廖紀元、小原洋志、平本貴史、田原舞乃、小川由恵、唐澤伸明、坂本千香、滝島佑人、宮本将平、竹田誠、谷憲三朗、Reprogramming efficiency of human hematopoietic subsets by measles virus vectors、第17回日本再生医療学会、横浜、2018年3月21-23日
34. 中田恵子、西村公志、弓指孝博、久米田裕子、木所稔。2015年から2017年にかけて大阪府で患者数が増加した流行性耳下腺炎患者の疫学的特徴と検出されたウイルスの分子系統樹解析、第49回日本小児感染症学会総会・学術集会、金沢、2017年10月21-22日

### III. その他

1. 竹田誠、小児科医から麻疹ウイルス研究者になったわけ、第60回東京六稜総会、2017年6月17日、東京

## ウイルス第三部

2. 竹田誠、麻しん風しんQアンドA、国立感染症研究所 村山庁舎一般公開、サイエンスカフェ、2017年7月29日
3. 竹田誠、市民公開講座「ウイルスと生きる」麻しん・風しん、2017年10月22日、大阪
4. 竹田誠、麻しん・風しんの流行や検査についての最近の話題、リブラ会総会講演会、2017年9月24日、東京
5. 竹田誠、麻疹ウイルスのウイルス学、麻疹ウイルス感染制御の up to date、第266回ICD講習会、2017年10月26日、大阪
6. 竹田誠、麻疹ウイルスの病原性発現ならびに流行に関する分子基盤の解析、川野小児医学奨学財団、小児医学川野賞受賞講演、2018年3月10日
7. 酒井宏治、インフルエンザウイルスと宿主プロテアーゼTMPRSS2、第8回SENRIの会、大阪、2018年1月
8. 森嘉生、風疹排除に向けて -検査の役割-、感染症意見交換会、国立感染症研究所、東京、2018年3月26日
9. 白戸憲也、竹田誠 衛生微生物技術協議会第38回研究会シンポジウムⅢ「RSウイルスのグローバルサーベイランス」にて講演 2017年6月28日(船堀)
10. 白戸憲也、RSウイルスのグローバルサーベイランスの検査手法、平成29年度希少感染症診断技術研修会 2017年2月27日(感染研)