他誌掲載論文抄録

（平成29年４月～平成30年３月）

Ribavirin inhibits Zika virus (ZIKV) replication in vitro and suppresses viremia in ZIKV-infected STAT1-deficient mice.

Naganori Kamiyama N, Ryusuke Soma, Shinya Hidano, Kei Watanabe,Hiroshi Umekita, Chiaki Fukuda, Kaori Noguchi, Yoshiko Gendo, Takashi Ozaki, Akira Sonoda, Nozomi Sachi, Lucky Ronald Runtuwene, Yumako Miura, Etsuro Matsubara, Shigeru Tajima, Tomohiko Takasaki, Yuki Eshita, Takashi Kobayashi, Antiviral Research. 146:1-11 (2017)

フランス領ポリネシアからのチクングニア熱輸入症例の患者は現地に居住していて帰国し，2015年１月に関節痛，発熱，筋肉痛をきたしチクングニア熱と診断された．詳しく聴取するとフランス領ポリネシアでジカウイルス病が流行していた１年前の１月にも比較的軽症のよく似た症状があったとのことで，血清学的に診断したところ，ジカウイルス特異的IgM抗体が判定保留（陰性領域），ジカウイルス中和抗体陽性であり，ジカウイルスに感染していたことが確認された症例に関して報告した．

Detection of Virus-Antibody Immune Complexes in Secondary Dengue Virus Infection.

Moi ML, Takasaki T, Kurane I, Methods Mol Biol.1604:331-337(2018)

デング熱の重症化に関与する「抗体依存性感染増強効果（ADE）」を測定するための方法について詳述した成書である．BHK細胞にFcγレセプター遺伝子を組み込んだFcγ-BHK細胞とオリジナルなBHK細胞を用いてプラーク減少法により中和抗体価を測定し，その抗体価の差によりADEを引き起こす能力の検査方法を示した．

Development of a Japanese encephalitis virus-like particle vaccine in silkworms using codon-optimised prM and envelope genes.

Sayaka Matsuda, Reiko Nerome, Kenichi Maegawa, Akira Kotaki, Shigeo Sugita, Kazunori Kawasaki, Kazumichi Kuroda, Ryoji Yamaguchi, Tomohiko Takasaki, Kuniaki Nerome, Heliyon. 2017 Apr 11;3(4):e00286(2017)

日本脳炎ウイルスの構造遺伝子であるprMおよびE遺伝子をカイコの遺伝子に組み込み，カイコに自分の遺伝子であると誤認識させることで，そのカイコが産生したマユに含まれるウイルス遺伝子や内部構造を有しない非感染性の日本脳炎ウイルス様粒子を抽出・精製する方法を確立した．さらにマユから得られた日本脳炎ウイルス様粒子は，日本脳炎ウイルス同様の抗原性を有することを明らかにした．カイコは大量のマユを作ることから本法はワクチン製造に応用できることが期待される．

Utility of Japanese encephalitis virus subgenomic replicon-based single-round infectious particles as antigens in neutralization tests for Zika virus and three other flaviviruses.

Atsushi Yamanaka, Meng Ling Moi, Tomohiko Takasaki, Ichiro Kurane, Mami Matsuda, Ryosuke Suzuki, Eiji Konishi, J Virol Methods.243:164-171(2017)

日本脳炎ウイルスの構造遺伝子prM＋E領域を組み込んだプラスミドと構造遺伝子Cおよび非構造遺伝子NS1-NS5を組み込んだプラスミドを297T細胞に導入することで，一回感染性の粒子が形成される発現系（SRIP: single-round infectious particles）を確立した．このprM＋Eをジカウイルス，Sepik virus, Wesselsbron virus, and Usutu virusのprM＋E遺伝子に変えることによってプラーク減少法による中和抗体測定が安全に実施でき，それぞれの生ウイルスを用いたものと同等に結果が得られることが確認された．

Neutralizing and enhancing antibody responses to five genotypes of dengue virus type 1 (DENV-1) in DENV-1 patients.

Yamanaka A, Moi ML, Takasaki T, Kurane I, Konishi, E. J Gen Virol. 98(2):166-172(2017)

デングウイルス（DENV）は，４つの異なる血清型を有し，各血清型はさらに４～６の遺伝子型に分類される．そこでヒトにおけるDENV-1に対する中和抗体応答に対する遺伝子型の影響を調べた．DENV-1の初感染患者の

回復期血清を，５つのDENV-1遺伝子型（GI-GV）に対する中和抗体価を測定した．遺伝子I型（GI）および遺伝子IV型（GIV）に感染した患者の両方において，５つの遺伝子型に対するそれらの中和抗体価は，同種異型反応と比較して４倍以内と有意な差はなかった．５つの遺伝子型に対する感染増強抗体価も同様に有意な差はなかった．したがって，DENV-1の遺伝子型株は，これらの患者において遺伝子型の異なる抗原に対して有意な差を認めずGIまたはGIV由来のワクチン抗原が，すべてのDENV-1遺伝子型に対して同等のレベルの中和抗体を誘導することを示唆している．

Characterization of large and small-plaque variants in the Zika virus clinical isolate ZIKV/Hu/S36/Chiba/2016.

Kato F, Tajima S, Nakayama E, Kawai Y, Taniguchi S, Shibasaki K, Taira M, Maeki T, Lim CK, Takasaki T, Saijo M, Sci Rep. 7(1):16160 doi:10.1038/s41598-017-16475-2. 2017.

フィジーからの輸入症例から分離されたジカウイルスZIKV（ZIKV/Hu/S36/ Chiba/2016）は大小２種類のプラークを形成した．プラーククローニングしたそれぞれのゲノム解析は，小さなプラークを形成するクローンが一般に位置796（アミノ酸配列において230Gln）にアデニンヌクレオチドであるが，大きなプラークを形成するクローンはグアニンヌクレオチド（230Arg）でこの相違がプラークの大きさの違いと関連することを示唆している．大きなプラーククローンの増殖速度は，Vero細胞の小さなプラーククローンの増殖速度よりも速かった．G796A変異ミスセンスを有する組換えZIKV G796A / rZIKV-MR766は，ZIKV MR766株rZIKV-MR766 / pMW119-CMVPの感染性分子クローンにより作製した．G796AはVero細胞における増殖速度を低下させ，さらにIFNAR1ノックアウトマウスにおけるMR766株の病原性を弱めた．これらの結果は，Mタンパク質配列中に位置するウイルスポリタンパク質における位置230のアミノ酸変異が，ZIKVのマウスにおけるプラーク形態，成長特性およびビルレンスの分子決定因子であることを示している．

Marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for evaluation of candidate dengue vaccines: induction and maintenance of specific protective immunity against challenges with clinical isolates.

Moi ML, Ami Y, Muhammad Azami NA, Shirai K, Yoksan S, Suzaki Y, Kitaura K, Lim CK, Saijo M, Suzuki R, Takasaki T, Kurane I, J Gen Virol. 98(12):2955-2967(2017)

デングウイルス（DENV）に対するワクチン開発は急務である．我々はすでに初感染および再感染のデング熱研究のための動物モデルとしてのマーモセットの有用性を報告した．さらにDENV感染でヒトのデング熱類似のウイルス動態および抗体動態を示すマーモセットのワクチン効果評価のための有用性についてワクチン候補株を用いて検討した．マーモセットにワクチン候補弱毒ウイルスおよび親株を接種し，その後，臨床分離株を接種して評価した．マーモセットは弱毒ワクチン感染では，すべての個体でウイルス血症は低かった．臨床分離株接種後，ウイルス血症は検出されずIgM抗体応答は遅延したが，IgG抗体は急速に上昇し，再感染抗体応答パターンを示した．同型血清型に対してはより高い中和活性を示した．ウイルス血症検出および抗体応答は，ヒトのDENV感染およびワクチンの応答と一致したことから，ワクチン開発のための動物モデルとしてマーモセットの有用性明らかとなった．

Hirsutine, an Indole Alkaloid of Uncaria rhynchophylla, Inhibits Late step in Dengue Virus Lifecycle.

Takayuki Hishiki, Fumihiro Kato, Shigeru Tajima, Kazufumi Toume, Masahito Umezaki, Tomohiko Takasaki, Tomoyuki Miura, Front Microbiol. 30;8:1674.doi:10.3389/fmicb.2017.01674. eCollection (2017)

新規抗デングウイルス（DENV）剤を同定するために，生薬（漢方薬）由来の95化合物および120抽出物のライブラリーを分析した．一次スクリーニングでは，DENV-1を感染させたA549細胞を各化合物（最終濃度10μM化合物）および抽出物（最終濃度100μM）の存在下で培養し，DENVフォーカス形成の減少で評価した．次に，3-（4,5-ジメチルチアゾール-2-イル）-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロマイドアッセイを用いて細胞傷害性化合物および抽出物を除外した．その結果Uncaria rhynchophyllaのインドールアルカロイドであるヒルスチンは，高い有効性と低い細胞傷害性を示す強力な抗DENV化合物であると同定された．薬物添加時間および薬物排泄時間アッセイでは，ヒルスチンがウイルス粒子の集合，出芽，または放出ステップを阻害するが，ウイルスの翻訳および複製段階は阻害しないことが示された．ヒルスチンは，新規なDENV阻害剤である．

A summary of the imported cases of Chikungunya

fever in Japan from 2006 to June 2016.

Eri Nakayama, Tajima S, Kotaki A, Shibasaki KI, Itokawa K, Kato K, Yamashita A, Sekizuka T, Kuroda M, Tomita T, Saijo M, Takasaki T, J Travel Med. 25(1). doi: 10.1093/jtm/tax072 (2018)

2006年から2016年に国立感染症研究所でチクングニア熱輸入症例から分離したチクングニアウイルス（CHIKV）分離株の系統発生解析により，インドネシア，アンゴラ，キューバにおけるチクングニア熱流行の状況を推定することができた． 日本はまだCHIK熱の国内発生を経験していないが，特に媒介蚊活動期に，輸入症例に端を発して地域伝播によるCHIKVの将来の国内侵入の可能性を考慮するべきである．チクングニア熱輸入症例のモニタリングと報告は，世界的な流行の状況を把握し，チクングニア熱の認知を促進し，国内発生した場合のチクングニア熱を早期に探知するのに有用である．

Evaluation of Macaca radiata as a non-human primate model of Dengue virus infection.

Kato F, Ishida Y, Kawakami A, Takasaki T, Saijo M, Miura T, Hishiki T, Sci Rep. 8(1):3421 (2018)

ヒトに近い旧世界ザルのなかで有用なデングウイルス（DENV）感染モデルはまだない．旧世界ザルであるボンネットサル（Macaca radiata）のデングウイルス感染病態を検討した．この研究では，いくつかのDENV株の増幅量をボンネットサルの末梢血単核細胞を用いて評価した．その結果，2009年にインドから帰国した旅行者から隔離されたDENV-4/09-48株は，高度に複製可能なウイルスであった． そこでボンネットサル３個体に09-48株を感染させ，抗体反応を評価した．DENV非構造タンパク質NS1抗原が検出され，高いウイルス血症が観察された．これらの結果は，ボンネットサルおよび09-48株の組み合わせがデングウイルス霊長類モデルとして使用できることを示した．

Dengue Virus Infection in Aedes albopictus during the 2014 Autochthonous Dengue Outbreak in Tokyo Metropolis, Japan.

Kobayashi D, Murota K, Fujita R, Itokawa K, Kotaki A, Moi ML, Ejiri H, Maekawa Y, Ogawa K, Tsuda Y, Sasaki T, Kobayashi M, Takasaki T, Isawa H, Sawabe K, Am J Trop Med Hyg. 98(5):1460-1468 (2018)

2014年の国内デング熱流行に関連して，東京都で収集された蚊からデングウイルス（DENV）の分離株とエンベロープ遺伝子全体およびコード配列全体の両領域に基づく患者由来分離株を比較解析し系統発生関係を検討した．2014年に８月から10月に東京都でDENV感染疑いが疑われた６ヵ所で，2,298頭の雌および956頭の雄の蚊を集め，ウイルスゲノムの検出およびDENV分離のためにそれぞれ124プールおよび35プールに分けた．DENV遺伝子は，49の雌プールからのPCRを用いて検出した．C6/36およびVero細胞を用いて16の分離株を得た．最低感染率（11.2～66.7）の高値は９月中旬まで持続した．すべてのDENV分離株は血清型１（DENV-1）の遺伝子型Iに属し，その配列は2014年に東京都近郊の患者から単離されたDENVの配列と99％以上の相同性を示した．ヒトスジシマカは主要なDENV媒介蚊であり，2014年一種類のDENV-1株が流行した．2015年４月には2014年の雄性蚊および野生の幼虫からデングウイルスは検出されなかった．したがって，DENVの垂直伝達と越冬の可能性は低いことが明らかになった．

Genotype-specific and cross-reactive neutralizing antibodies induced by dengue virus infection: detection of antibodies with different levels of neutralizing activities against homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 2 in common marmosets (*Callithrix jacchus*).

Azami NAM, Moi ML, Ami Y, Suzaki Y, Lim CK, Taniguchi S, Saijo M, Takasaki T, Kurane I, Virology Journal 15(1):51. doi: 10.1186/s12985-018-0967-x (2018)

初感染でデングウイルス２型（DENV-2）コスモポリタン遺伝子型を接種されたマーモセットでは，中和抗体が３つの遺伝子型を中和し，アジアⅠ遺伝子型に対する力価は同種のコスモポリタン遺伝子型より有意に高かった．DENV-2感染後の異種遺伝子型による再感染では，アジア/アメリカ遺伝子型に対する中和抗体力価は，コスモポリタン系およびアジア系の遺伝子型よりも有意に高かった．DENV-2アジアⅠおよびコスモポリタン遺伝子型に続くDENV-1による３次感染後，アジア/アメリカ遺伝子型に対する中和抗体力価も，コスモポリタンおよびアジアⅠ遺伝子型に対する中和抗体力価よりも有意に高かった．初感染，二次および三次感染後に様々なレベルの中和抗体が可変DENV-2遺伝子型に対して誘導され，異種遺伝子型に対する中和抗体価は血清型内の相同遺伝子型よりも高かった．これらの結果は，感染遺伝子型の異種および同種であることによって，感染後に誘導される中和抗体価および交差反応性に影響することを示唆する．すなわちワクチン株選定において特定の遺伝子型がその有効性に関して有利であることを示唆した．

試験管内でセレクションされたニューキノロン耐性 *Mycoplasma pneumoniae*

大屋日登美，古川一郎，相川勝弘（神奈川衛研），大石智洋（川崎医科大学），堀野敦子，見理剛（国立感染症研究所），小田洋一郎（茅ヶ崎市立病院），成田光生（札幌徳洲会病院），黒木俊郎（神奈川衛研），日本マイコプラズマ学会雑誌，44，45-48（2017）

フルオロキノロン系（FQs）薬剤に対する*Mycoplasma pneumoniae*の耐性化を調べるため，FQsは３薬剤，５濃度で，標準株３株と臨床分離株100株を用いて耐性菌のセレクション試験を実施した．検出された耐性菌は，FQ耐性に関与するジャイレースおよびトポイソメラーゼ領域のアミノ酸配列の変異を調べた．

その結果,103株中60株由来67株のFQ耐性菌がセレクションされた．LVFXは103株中60株（58.3%），SPFXでは103株中６株（5.8%），GFLXでは103株中１株（1%）と，LVFXでセレクションされた耐性株が最も多く，次いでSPFX，GFLXであった．これらの耐性株は，いずれも感受性株に比較してMIC値が上昇していたが低濃度であった．また，転培を繰り返すことによって，MIC値が高くなる傾向があった．

FQ耐性株について，*gyrA*，*parC*領域のアミノ酸配列の変異を確認した．この結果，*gyrA*変異株が３株，*parC*変異株が５株，*gyrA*，*parC*両方に変異がある株が２株確認できた．*gyrB*の変異株が1株確認でき，*gyrB*変異株は*parC*にも変異がみられた．なお，*parE*の変異はみられなかった．

器具・容器包装における蒸発残留物試験の試験室間共同試験（第１報）

大野浩之（名古屋市衛研），六鹿元雄（国立衛研），阿部智之（日食衛協），阿部裕（国立衛研），天野保希（長野県環境研），石原絹代（日食分セ），大坂郁恵（埼玉衛研），大野春香（愛知衛研），大野雄一郎（千葉県薬検査セ），尾崎麻子（大阪健安基研），柿原芳輝（日穀検），小林尚（食分開セ），櫻木大志（名古屋市衛研），柴田博（顕微鏡院），城野克広（産技総研），関戸晴子（神奈川衛研），高坂典子（食薬安セ），竹中佑（日分安試），但馬吉保（食環検），田中葵（日海検），田中秀幸（産技総研），外岡大幸（さいたま市衛研），中西徹（日食分セ），野村千枝（大阪健安基研），羽石菜穂子（東京都健安研），早川雅人（化研評機），三浦俊彦（日食検），山口未来（国立衛研），渡辺一成（化研評機），佐藤恭子（国立衛研），食品衛生学雑誌，59，55-63（2018）

蒸発残留物は器具・容器包装からの食品疑似溶媒への不揮発性物質の総溶出量を求める試験であり，合成樹脂製器具・容器包装の個別規格，ゴム製器具・容器包装及び金属缶で規格が設定されている．これまでに試験室間共同試験は実施されておらず，真度や精度などの性能評価は行われていない．そこで，油性食品以外の代替として規定されている水，4%酢酸及び20%エタノールの３種類の浸出用液について室間共同試験を行い公定法と公定法変法の結果を比較するとともに性能を評価した．

器具・容器包装における蒸発残留物試験の試験室間共同試験（第２報）

大野浩之（名古屋市衛研），六鹿元雄（国立衛研），阿部智之（日食衛協），阿部裕（国立衛研），天野保希（長野県環境研），石原絹代（日食分セ），大坂郁恵（埼玉衛研），大野春香（愛知衛研），大野雄一郎（千葉県薬検査セ），尾崎麻子（大阪健安基研），柿原芳輝（日穀検），小林尚（食分開セ），櫻木大志（名古屋市衛研），柴田博（顕微鏡院），城野克広（産技総研），関戸晴子（神奈川衛研），高坂典子（食薬安セ），竹中佑（日分安試），但馬吉保（食環検），田中葵（日海検），田中秀幸（産技総研），外岡大幸（さいたま市衛研），中西徹（日食分セ），野村千枝（大阪健安基研），羽石菜穂子（東京都健安研），早川雅人（化研評機），三浦俊彦（日食検），山口未来（国立衛研），渡辺一成（化研評機），佐藤恭子（国立衛研），食品衛生学雑誌，59，64-71（2018）

蒸発残留物は器具・容器包装からの食品疑似溶媒への不揮発性物質の総溶出量を求める試験であり，合成樹脂製器具・容器包装の個別規格，ゴム製器具・容器包装及び金属缶で規格が設定されている．これまでに試験室間共同試験は実施されておらず，真度や精度などの性能評価は行われていない．そこで，油性食品の代替として規定されているヘプタンについて室間共同試験を行い公定法と公定法変法の結果を比較するとともにそれぞれの性能を評価した．さらに，欧米で油性食品の疑似溶媒として用いられる95%エタノール及びイソオクタンを浸出用液とした場合の性能を確認し，規格試験としての適用性を検証した．

Modern sediment records of stanol to sterol ratios in Lake Suigetsu, Japan: An indicator of variable lacustrine redox conditions.

Masatoshi Nakakuni, Junichi Kitano（創価大学），Hitoshi Uemura（神奈川衛研），Shuichi Yamamoto（創価大学），Organic Geochemistry, 119, 59-71（2018）

海洋堆積物中における酸化還元イベントの復元に対する，TMAH-熱分解GC/MS法を用いて得られる5α(H)-stanol/Δ5-sterol比の有用性を水月湖の堆積物コアを用いて検証した.

水月湖はかつては淡水湖であったが，17世紀の水路掘削により現在は汽水湖となっている．これまでの酸化還元指標の研究では，湖が強い嫌気環境となると24-nordehydrocholestanol/24-nordehydrocholesterol比やdiatomstanol/diatomsterol比，22-dehydrocholestanol/22-dehydrocholesterol比が上がることが示されている．本研究では，TMAH法で測定した5α(H)-stanol/Δ5-sterol比が湖沼環境の酸化還元指標となることを初めて示した．汽水・淡水いずれでも高濃度で検出されるdiatomsterol比は非常に有用な酸化還元指標である可能性がある．一方，cholestanol/cholesterol比やcampestanol/campesterol比，sitostanol/sitosterol比は増加傾向を示さず，陸起源物質の流入・分解の影響示している.