

他誌掲載論文抄録

(平成30年4月～平成31年3月)

High-throughput neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles using dengue virus type 1 reporter replicon.

Matsuda M, Yamanaka A, Yato K, Yoshii K, Watashi K, Aizaki H, Konishi E, Takasaki T, Kato T, Muramatsu M, Wakita T, Suzuki R. *Sci Rep.* 8(1):16624. doi: 10.1038/s41598-018-34865-y. 2018

デングウイルス、ジカウイルスなどのフラビウイルス属のウイルスの中には、重篤な病気を引き起こすあるいは世界的に大きな流行を引き起こすウイルスがある。フラビウイルス属のウイルスは血清学的に交差反応をきたしやすく、IgM抗体、IgG抗体ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) により鑑別するのは困難である。そのため1回感染性粒子 (SRIP: single-round infectious particles) を使ってレポーターによる中和試験法を開発した。SRIPはルシフェラーゼ遺伝子とデングウイルスのC領域を組み込んだデングウイルス1型レプリコンにデングウイルス2, 3, 4型, ジカウイルス, 日本脳炎ウイルス, ウエストナイルウイルス, 黄熱ウイルス, ウツスウイルス, ダニ媒介性脳炎ウイルスの構造遺伝子prMおよびE領域を組み込みヒト胎児腎臓由来細胞293Tに導入増殖し作製した。それぞれのSRIPを感染させた細胞のルシフェラーゼ活性は感染細胞数とよく相関し、対応するフラビウイルス抗原で免疫したマウスからの血清によって特異的に中和された。各種フラビウイルスに対するハイスループットレポーターSRIPを用いた中和抗体価測定は、フラビウイルス属感染症の病因をスクリーニングするために、従来のプラーク減少中和試験よりも速く、より安全で労力のかからない診断方法である。

Comparison of Neutralizing Antibody Titers against Japanese Encephalitis Virus Genotype V Strain with Those against Genotype I and III Strains in the Sera of Japanese Encephalitis Patients in Japan in 2016.

Maeki T, Tajima S, Kyaw AK, Matsumoto F, Miura K, Yamashita A, Yoshikawa A, Negishi K, Noguchi Y, Tadokoro K, Abe K, Taruya J, Koh J,

Ito H, Ikegaya A, Abe F, Wada M, Nishigata T, Ikeda M, Kato F, Taniguchi S, Nakayama E, Takasaki T, Morita K, Lim CK, Saijo M. *Jpn J Infect Dis.* 21;71(5):360-364. 2018

日本脳炎ウイルス (JEV) は単一血清型のウイルスであるが、遺伝子型ではI～V型に分類される。近年、中国や韓国でV型ウイルスの検出が頻回に報告されている。現在、日本で活動しているウイルスは遺伝子I型であり、V型は日本国内に侵淫した形跡はない。2016年に対馬で4人の日本脳炎 (JE) 患者が発生したこともあり、JEV遺伝子型V株が2016年に日本で何らかのJE症例を引き起こしたかどうかを決定することを試みた。血清および脳脊髄液サンプルは、2016年に日本で報告された10人のJE患者から収集した。すべてのサンプルからウイルス遺伝子を検出できなかった。そこで、遺伝子型ではあるが原因となるJEVが遺伝子型V型であった場合に、日本のJE患者の血清中のJEV遺伝子V型株に対する中和抗体価は、遺伝子型IおよびIII株に対する中和抗体価よりも高い可能性を考慮し、それぞれの遺伝子型に対して中和抗体価を測定した。遺伝子V型株に対する中和抗体価は、いずれの血清試料においても遺伝子型IまたはIII株に対する中和抗体価よりも高くなかった。したがって、JEV遺伝子V型が2016年に日本で何らかのJE症例を引き起こしたという確証は得られなかった。

Persistent viruses in mosquito cultured cell line suppress multiplication of flaviviruses.

Fujita R, Kato F, Kobayashi D, Murota K, Takasaki T, Tajima S, Lim CK, Saijo M, Isawa H, Sawabe K. *Heliyon.* 23;4(8):e00736. 2018

日本研究バイオリソースコレクション (JCRB) 細胞バンクおよび欧州認証培養細胞コレクション (ECACC) から得たヒトスジマカ由来の C6 / 36細胞株におけるフラビウイルスの増殖動態解析において、これら2つの細胞株はジカウイルス (ZIKV), デングウイルス (DENV), および日本脳炎ウイルス (JEV) に対して異なる感受性を示した。次世代シーケンシング解析は、JCRBのC6/36株がいかなる細胞変性効果も示さずに持続的に2つのウイルスに感染していたことを明らかにした。

1つのウイルスはヒトスジマカから発見されたMenghaiラブドウイルス (MERV) であり, 他方はシノピテトラウイルス (SHTV) と命名された新規ウイルスであった. JCRBのC6/36株に持続感染しているこれらのウイルスをクローニングして, それぞれECACCのC6/36株に感染させたところ持続感染が成立した. C6/36細胞におけるジカウイルスの増殖はSHTVやMERVの持続感染で抑えられることが明らかになった. ラブドウイルスまたはパームテトラウイルスによる持続感染が蚊細胞におけるフラビウイルス複製を抑制することを初めて明らかにした.

Human monoclonal antibodies against West Nile virus from Japanese encephalitis-vaccinated volunteers.

Ozawa T, Masaki H, Takasaki T, Aoyama I, Yumisashi T, Yamanaka A, Konishi E, Ohnuki Y, Muraguchi A, Kishi H. *Antiviral Res.*154:58-65. 2018

ウエストナイルウイルス (WNV) はフラビウイルス科フラビウイルス属の日本脳炎血清型群に分類される蚊媒介性RNAウイルスである. ウエストナイル脳炎の多くは不顕性感染であるが依然として死亡率は4~14%と重篤な疾患である. 日本脳炎ウイルスに近縁なWNVに対するヒト中和抗体治療薬の開発が強く期待されているが, WNVは, その高い安全レベルの要件のために, BSL2で開発することは出来ない. そこで日本脳炎不活化ワクチン接種者の末梢血単核球からヒトWNVモノクローナル中和抗体を作出した. これらの抗体はインビトロおよびインビボの両方でWNV中和能を示した. この結果は, WNVおよび他の日本脳炎血清型群ウイルスに対する免疫学的治療薬を開発するための抗体交差反応性を用いた新しい戦略を示した.

医療機関の給水設備におけるレジオネラ属菌の汚染実態

大屋日登美, 鈴木美雪, 政岡智佳, 中嶋直樹, 古川一郎 (神奈川衛研), 前川純子, 倉文明, 泉山信司(国立感染症研究所), 黒木俊郎 (神奈川衛研) *感染症学雑誌*,92,678-685 (2018)

院内感染のレジオネラ症が世界で報告されており, 給水設備が感染症に関与していることが知られている. しかし, 我が国における医療機関の給水設備のレジオネラ属菌による汚染実態はあまり明らかにされていない. 本調査では, 神奈川県内の3医療機関を対象に給水設備のレジオネラ属菌による汚染を遺伝子の検出と培養により調査した. 医療機関内の蛇口水及びシャワー水と蛇口及びシャワーヘッドのスワブを検体とし, 3医療機関での

レジオネラDNAの検出は水試料では6.7~93.8%, スワブ試料では0~7.1%であり, 培養によるレジオネラ属菌の検出は水試料では26.7~66.7%, スワブ試料では0~14.3%であった. 検出されたレジオネラ属菌は, *Legionella pneumophila* SG1, SG5, SG6, *Legionella feeleii* SG1及び*Legionella* sp. L-29であった. 水試料の温度, pH, 遊離残留塩素濃度, 従属栄養細菌数を計測し, レジオネラDNA及びレジオネラ属菌の検出との関連をロジスティック回帰分析により解析したところ, 遊離残留塩素濃度との間に負の関連がみられた. 医療機関の給水設備において高率にレジオネラ汚染が発生しており, 汚染防止対策が強く求められる結果となった.

Comparative evaluation of the Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay and the HIV-1 and HIV-2 Western blots in the Japanese population.

近藤真規子, 佐野貴子 (神奈川衛研), 須藤弘二 (慶應義塾大学医学部), 川畑拓也, 小島洋子, 森治代 (大阪健康安全基盤研究所), 井戸田一郎 (しらかば診療所), 岩室紳也 (厚木市立病院), 吉村幸浩, 立川夏夫 (横浜市立市民病院), 藤原宏, 長谷川直樹, 加藤真吾 (慶應義塾大学医学部), *PLoS ONE* 13(10): e0198924, (2018)

HIVの抗体確認検査としてこれまで長期にわたりウエスタンブロット法 (WB) が使用されてきたが, WBはスクリーニング検査に比べ感度が悪い, HIV-1抗体とHIV-2抗体の交差反応性等の問題があり, 信頼性の高い確認検査法やHIV-1/2の鑑別法の開発が必要とされていた. 最近WBの改良法としてGeeniusが開発され, アメリカCDCのガイドラインにおいては既にGeeniusの使用が承認されている. 我々は日本のHIV検査ガイドラインにGeeniusを導入することを目的として, 抗体確認検査及びHIV-1/2鑑別能力について評価した. その結果GeeniusはWBより早い時期から陽性を確認でき, かつHIV-1/2の鑑別能も優れており, HIVの早期診断に有効な検査法であることが明らかとなり, 今後, 早期に日本のHIV診断システムに導入すべきと考えられた.

Quantitative analysis of Clenbuterol in pig liver by LC-MS/MS/MS. (LC-MS/MS/MSによる豚肝臓中のクレンプテロール分析法)

林 孝子, 藤巻照久, 宮澤真紀 (神奈川衛研) *Chromatography*, 39, 131-137 (2018)

豚の肝臓を対象としたクレンプテロール迅速分析法において, LC-MS/MS/MS測定による定量分析法を検討

した。LC-MS/MSによるSRMモード測定では、試料から目的成分の保持時間近辺に妨害ピークが確認されたが、LC-MS/MS/MS測定では妨害ピークが除かれ、特異性の高いクロマトグラムが得られた。LC-MS/MS/MS測定による定量分析法の妥当性評価の結果、真度は102%、併行精度は5.5%および室内精度は5.1%となり、良好な結果が得られた。また、サロゲートとして用いたクレンプテロール-d9の回収率も73.0%となり、選択性、定量限界においても妥当性が確認された。LC-MS/MS/MS測定は、SRMモード測定でマトリックスによる影響により定量が困難な場合、妨害ピークの影響を回避する選択性の高い定量分析法の一つとして有用であると考えられる。

石英繊維フィルターの粒子捕集効率とフタル酸エステル類の粒径分布

齋藤 育江, 大貫 文 (東京都健安研), 香川 (田中) 聡子 (横浜薬大), 千葉 真弘 (北海道衛研), 上村 仁 (神奈川県衛研), 神野 透人 (名城大), 酒井 信夫 (国立衛研), 小西 浩之, 守安 貴子 (東京都健安研), 東京都健康安全研究センター研究年報, 69, 205-211, (2018)

室内空気中のフタル酸エステル類測定用のサンプラーに、粒子捕集効率の異なる3種の石英繊維フィルターを用い、フタル酸エステル類の捕集状況を比較した。DEHP及びBBPはいずれのフィルターでもほぼ100%捕集されていたが、DEP, DiBP及びDnBPは粒子捕集効率の大きいフィルターの方が捕集割合が高かった。特にDEPで捕集割合が低かった。3種の石英繊維フィルターの粒子捕集効率を実測したところ、各フィルターは平均粒径0.039 μ mの粒子を88%以上捕集可能であることが分かった。また、室内空気中フタル酸エステル類の粒径分布を測定した結果、DEHP及びBBPの粒径分布が明らかになり、最頻粒子径はDEHPが0.5 μ m~0.8 μ m、BBPが6.31 μ mで、2物質とも平均粒径0.039 μ m以上に大部分が分布することが判明した。

甘茶が原因と考えられる食中毒について

小島尚 (帝京科学大学), 甲斐茂美, 岸弘子, 上村仁, 宮澤真紀 (神奈川県衛生研究所), 佐竹元吉 (昭和薬科大学), 日本調理科学会誌 (J. Cookery Sci. Jpn.), 51 (2), 133-134 (2018)

アマチャが原因と考えられる健康被害について、食中毒扱いとなった神奈川県内の事例について報告する。花まつりに参加していた児童ら多数が、悪心、嘔吐等の食中毒様症状を呈した。患者が飲用した甘茶残液等について、マウス生体反応、化学分析、アマチャ原木の鑑定を行い事故原因の究明を行った。更に、味覚認識装置を用い、甘茶による健康被害の原因を検討した。本事例は、農薬や重金属等の混入やアジサイ等の植物との取り違いではなく、甘茶中の苦味成分が高濃度であったことが原因であることが示唆された。

Densification of cyanobacteria from a lake leading to production of β -cyclocitral and related volatile organic compounds and species change (湖で発生するラン藻類の高密度化によっておこる β -シクロシトラールや関連する揮発性有機化合物の生成と種の変遷)

有井鈴江 (名城大学), 辻 清美 (神奈川県衛研), 富田浩嗣, 長谷川真照 (愛知衛研), 山下竜司, Beata Bober, 原田健一 (名城大学), Phycological Research, 66, 161-166 (2018)

湖等で発生するラン藻類の溶藻機構の解明のため、実験室内でモデル実験を行った。ラン藻類を濃縮するために、ガス小胞の浮力を利用した濃縮法(メスシリンダー法)を用いた。湖から採取したラン藻のスカムは主に *Dolichospermum* spp. と *Microcystis* を含み、分散したラン藻類は数時間後に表層に濃縮された。濃縮したラン藻類は徐々に溶藻し、 β -シクロシトラールおよび β -イオノンと共にその酸化生成物が検出された。 β -シクロシトラールは対応するカルボン酸に容易に酸化され、メスシリンダー中の水のpHは低下した。pHの低下とともにフィコシアニンが溶出し、青色化を伴う溶藻が確認できた。