

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：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に関する研究
2. 研究開発代表者：高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部）
3. 研究開発の成果
 - (1) 合成したアフリカ株、南米株黄熱ウイルス RNA を用いて、黄熱ウイルスのアフリカ株、南米株判別リアルタイム遺伝子検出法を開発した。
 - (2) デングウイルス遺伝子配列を、次世代遺伝子解析装置を用いて効率よく決定できる方法を確立し、デングウイルスデータベース活用のために「ウイルス起源・移動見える化ツール（ソフト）」を開発した。
 - (3) ジカウイルス中和試験用抗原を、一回感染性フラビウイルス粒子から作製し、患者血清により評価した。
 - (4) デング熱輸入症例（2013～2015年）からの111株に関してデングウイルス全領域遺伝子配列を決定した。
 - (5) シンガポール、台湾などデング熱輸入症例の多い国の機関を招聘し輸入症例からの情報収集を迅速に情報交換するネットワークシステムづくりを実施した。
 - (6) レポーターレプリコン細胞（分泌型ルシフェラーゼ遺伝子を有し、細胞内で恒常的にデングウイルスが自立複製する細胞）を樹立するため薬剤耐性細胞を単離し、ルシフェラーゼ活性が高いクローンの選抜し増殖させ、ウイルスタンパク質（NS3、NS5）が発現しているクローンの単離に成功した。
 - (7) 培養細胞を用いて、薬剤候補物質のデングウイルスおよびチクングニアウイルスに対する抗ウイルス効果を測定する系を作製し、抗デングウイルス活性を示す漢方薬を1種類確認した。
 - (8) チクングニアウイルスの自律増殖型 RNA レプリコンを作製するために、国内輸入症例分離株（SL11131株）のゲノム RNA から非構造遺伝子領域（nsP1～nsP4）を RT-PCR 法により増幅し、プラスミド DNA にクローニング、レプリコンを作製し、培養細胞に導入したところ複製が確認された。
 - (9) デングウイルス感染マーマセツ病理組織中のウイルス抗原高感度検出法を確立した。
 - (10) 国内に生息するヒトスジシマカのジカウイルス感受性を経口接種法で検討し、媒介能を有することを確認した。国内に生息するヒトスジシマカ、ヤマダシマカおよびリバーズシマカのチクングニアウイルス感受性を検討し、いずれもウイルス媒介能を有することを確認したが、リバーズシマカはやや媒介能が低かった。
 - (11) PCR 法によるサシチョウバエ熱ウイルスゲノム RNA の検出系を確立し、ヒトスジシマカ（代々木系統）におけるデングウイルス（代々木株）のウイルス増殖性を感染実験にて検討した。
 - (17) 日本製デングウイルス NS1 抗原検出イムノクロマトキットを試作した。
 - (18) デングウイルス国内流行株のマーマセツへの感染病態を解析し、十分なウイルス血症をきたし、発疹なども認められることを確認したが、ヒトの病態ほど激しくはなかった。
 - (20) 旅行会社職員の感染症への意識とデング熱の知識レベルについてインターネットによるアンケート調査を行いデング熱の知識レベルは一般国民に比べて低いことが判明した。シンガポールに滞在する日本人学童を対象にデング熱予防のための教育活動と、保護者を対象とした意識調査を行った。デング熱・チクングニア熱診療ガイドラインをすばやく理解するため「診療の流れ図」ポスターを作製した。研究班で作成したホームページ「海外旅行と病気」を用いてデング熱、ジカ熱など海外感染症情報を国民に提供した。
4. その他

ジカウイルスDNA組み換え大臣申請が未承認であったため、契約項目には入れてなかったが、2015年11月に大臣承認が得られ、その頃からブラジルで妊婦がジカウイルスに感染すると小頭児が生まれる可能性が示唆されたため、承認後ジカウイルス感染性クローンを作製した。