

## 【他誌発表論文(所員が First Author)】

### 愛媛県における地域流行から検出された新規キメラウイルス GII.P21-GII.1 について

愛媛県立衛生環境研究所

山下育孝, 溝田文美, 山下まゆみ

越智晶絵, 四宮博人

国立感染症研究所ウイルス第二部

Doan Hai Yen, 片山和彦

国立感染症研究所感染症疫学センター 木村博一

感染性胃腸炎の主な原因であるノロウイルス(NoV)は、遺伝子変異やゲノム組換えによる新しい変異株の出現を繰り返し、地域流行や世界的な流行を起こしている。特に、近年、ORF1 と ORF2 の junction 領域で遺伝子組換えを起こした変異株の流行が報告されている。愛媛県では、2000 年以降報告数の少なかった NoV GII.1 が 2008/2009 シーズンに多数検出されたことから、検出された GII.1 について分子疫学的解析を行った。

2008 年 10 月～2009 年 9 月に、感染症発生動向調査の小児科定点医療機関等で採取された感染性胃腸炎患者糞便 337 検体を用いて検査を実施したところ、NoV が 102 例と最も多く検出され、そのうち GII が 96 例と大部分を占めていた。さらに 2008 年 11 月～2009 年 2 月の間で 71 例と多く検出されており、このうち GII.4 が 31 例、GII.1 が 24 例であった。GII.1 のこのような多数の検出は、1999/2000 シーズン以降の 10 年間で認められず、2008/09 シーズンに特異な地域流行と考えられた。

GII.1 に分類された 24 株について ORF2 の N/S 領域の塩基配列をダイレクトシーケンシング法により決定して系統樹解析したところ、すべて同一クラスターを形成し、塩基配列の相同性は 98.9～100% で近縁であった。次にこのうちの 18 株について ORF1 のポリメラーゼ領域から ORF2 の N/S 領域を増幅して塩基配列を決定し、遺伝子型別を行った結果、18 株すべてでポリメラーゼ領域が GII.P21、N/S 領域が GII.1 のキメラウイルスであることが明らかにされた。さらに、これらの株についてポリメラーゼ領域の遺伝子解析を行うと、塩基配列の相同性は 99.4%～100% で、N/S 領域と同様に非常に近縁であった。

更にこのうちの 1 株(EH-42/2009 株)について次世代シーケンサー(イルミナ社 MiSeq)(NGS)を用いてウイルスの全長解析を行った結果、ORF1 が Norovirus GII/Hu/JP/2007/II.21\_GII21/Kawasaki/YO284(KJ196284)と塩

基配列において高い相同性(94.5%)を示し、GII.P21 ともっとも近縁であった一方、ORF2 及び ORF3 は、遺伝子型 GII.P1-GII.1 の代表株である Hawaii/71/US (U07611) の ORF2、ORF3 と近縁であった。これらの結果により、EH-42/2009 株は新規キメラ NoV GII.P21-GII.1 と考えられた。

この新規キメラウイルスの出現が地域流行に関与していたと考えられた。今回の結果は、従来行われてきた ORF2 N/S 領域の塩基配列に基づく遺伝子型別だけでなく、ORF1 ポリメラーゼ領域を含む広範囲のゲノム解析が重要であることを示している。

病原微生物検出情報 Vol.38.1,9-10(2017)

### 愛媛県における臨床検体からの重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス遺伝子の検出

愛媛県立衛生環境研究所

菅 美樹, 山下育孝, 大倉敏裕, 四宮博人

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は、2009 年ごろに中国で初めて確認された新たなダニ媒介性感染症である。今回、2013 年 3 月～2015 年 3 月の期間中に、SFTS を疑い当所に搬入された 52 例について、SFTS ウイルス遺伝子検査の 2 種類のプライマーセットの検出感度について検討を行った。その結果、17 例が陽性、1 例が判定保留であった。陽性 17 例中 16 例が、発症から 6 日目までに採取された検体であったことから、遺伝子検査を行う際、発症後おおむね 6 日以内に採取することが重要であると考えられた。NP 領域を特異的に検出するプライマーセット別の検出率は、プライマーセット 1 が 77.8% (14 例/18 例)、プライマーセット 2 が 94.4% (17 例/18 例) であり、プライマーセット 2 の検出率が高かった。プライマーセット 2 のみで検出された 3 例について、プライマーセット 1 の NP-1F プライマー結合部位の塩基配列を解析したところ、1 例で 3' 末端から 6 番目の位置 (A→G) に 1 塩基ミスマッチが確認された。このため、プライマーと鋳型 DNA のミスマッチによる増幅効率の低下と検体中の標的 DNA が少なかった相互作用により検出率が低下した可能性が考えられた。NP 領域(420bp)の系統樹解析を行った結果、愛媛県内で検出された株は、日本国内で検出された株と同じクラスターに属し、中国株とは別のクラスターを形成したことから、日本には土着の SFTS ウイルスが存在し、独立的に進化していることが示唆された。

医学検査 Vol.65: 275-281(2016)

## 最近増加している梅毒

### ～感染症発生動向調査による最近の動向～

愛媛県立衛生環境研究所

菅 美樹, 大塚有加, 木村俊也  
井上 智, 四宮博人

梅毒は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(以下、感染症法)」において五類感染症全数把握疾患に定められている。近年、全国的に梅毒の届出が急増していることから、愛媛県における発生動向の解析を行い全国の状況と比較したので報告する。調査対象は、2006年1月1日～2016年10月16日の間に、全国で届出のあった14265人(男性10588人,女性3677人)、愛媛県で届出のあった58人(男性48人,女性10人)である。全国の状況は、東京都、大阪府、愛知県、神奈川県、福岡県からの報告が多く、全体の60%(8609人/14265人)を占めた。届出時の病型と年齢を比較すると、男性では20歳代以上の全年齢層での早期顕症梅毒Ⅰ期、Ⅱ期、無症候が増加し、女性では20歳代の早期顕症梅毒Ⅱ期、無症候の増加が顕著であった。愛媛県の状況は、2016年累計報告数が18人となり、2015年6人の3倍となっている。届出される病型と年齢を比較すると、男性では早期顕症梅毒Ⅱ期で届出される20歳代から50歳代、女性では早期顕症梅毒Ⅱ期で届出される20歳代の割合が多かった。愛媛県において、2016年10月16日までの年間累計報告者数は、全国と同様、感染症法が施行された1999年以降最多となっている。愛媛県における届出時の病型は、早期顕症梅毒Ⅱ期が大多数であったことから、感染から症状が出る数か月間に、気付かないうちにパートナーなどを感染させていることが、報告数増加の要因の一つと考えられた。そのため、感染予防対策を中心とした広域的な啓発活動が急務であると考えられる。

四国公衆衛生学会雑誌 62: 123-126(2017)

Revision of *Cyclocaccus* Sharp (Coleoptera: Nitidulidae: Nitidulinae)

Sadatomo Hisamatsu, Victoria M. Bayless & Christopher E. Carlton

*Cyclocaccus* Sharp is a Neotropical genus comprising

three previously described species from Central America. We recognize three species-groups within the genus, redescribe previously described species, and describe 12 new species, bringing the total to 15 species as follow: the *Cyclocaccus laeticulus* species group includes *C. clinei* Hisamatsu, *C. laeticulus* Sharp, 1891, *C. speciosus* Hisamatsu, *C. monticola* Sharp, 1891, *C. costaricensis* Hisamatsu, *C. maculatus* Hisamatsu, and *C. epakros* Hisamatsu; the *Cyclocaccus brevicollis* species-group includes *C. brevicollis* Sharp, 1891, *C. oenorubens* Hisamatsu, and *C. pantherinus* Hisamatsu; and the *Cyclocaccus morulus* species group includes *C. lescheni* Hisamatsu, *C. stonyx* Hisamatsu, *C. morulus* Hisamatsu, *C. smileyeyes* Hisamatsu, and *C. intermediatus* Hisamatsu. All species are described or redescribed. Dorsal habitus images, illustrations of male and female genitalia, and other important diagnostic characters are provided for all species. A key for identification of species groups and species is included.

The Coleopterists Bulletin, 70(4): 825-870 (2016)

### カミナリハムシによるミズスギナの食害事例

愛媛県立衛生環境研究所 久松定智, 村上 裕  
愛媛県総合科学博物館 小林真吾  
岡山県倉敷市 末長晴輝

カミナリハムシは、本州以南の日本各地の他、韓国、中国、台湾など、東洋区やオーストラリア区にも広く分布するヒゲナガハムシ亜科のハムシである。本種の食草は、アカバナ科のチョウジタデ、ミズユキノシタ、マツヨイグサおよび、ミソハギ科のキカシグサが知られている(小林, 1950; 木元・滝沢, 1994; Reid & Beatson, 2015)。著者らのうち村上と小林は、このたび本種によるミズスギナ(ミソハギ科)への食害を愛媛県内で確認したので、新たな食草の記録として報告する。ミズスギナは本州(関東以西)、四国、九州に分布する日本固有種の水生植物で(小林, 2002; 高等植物分科会, 2014)、環境省レッドデータブック絶滅危惧Ⅱ類(VU)(環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室, 2015)、愛媛県レッドデータブック絶滅危惧ⅠA類(CR)(高等植物分科会, 2014)にランクされ、愛媛県では特定希少野生動植物として条例で保護されている。

SAYABANE, New Series, (24):56(2016)

## 日本のケシキスイ科(コウチュウ目)その2

愛媛県立衛生環境研究所

久松定智

日本に産するケシキスイ科(コウチュウ目)の解説を全6回の連載で行う。今回は連載2回目として、ヒラタケシキスイ亜科のうち、ヒラタケシキスイ属トゲヅメヒラタケシキスイ亜属、デメヒラタケシキスイ亜属、チビケシキスイ亜属の解説を行う。

昆虫と自然, 51(5):26-28(2016)

## 日本のケシキスイ科(コウチュウ目)その3

愛媛県立衛生環境研究所

久松定智

日本に産するケシキスイ科(コウチュウ目)の解説を全6回の連載で行う。今回は連載3回目として、デオケシキスイ亜科と、コゲチャセマルケシキスイ亜科の解説を行う。

昆虫と自然, 51(12):24-26(2016)

## 日本のケシキスイ科(コウチュウ目)その4

愛媛県立衛生環境研究所

久松定智

日本に産するケシキスイ科(コウチュウ目)の解説を全6回の連載で行う。今回は連載4回目として、キバケシキスイ亜科と、チビケシキスイ亜科の解説を行う。

昆虫と自然, 52(1):25-27(2016)

## 日本のケシキスイ科(コウチュウ目)その5

愛媛県立衛生環境研究所

久松定智

日本に産するケシキスイ科(コウチュウ目)の解説を全6回の連載で行う。今回は連載5回目として、ケシキスイ亜科の解説を行う。

昆虫と自然, 52(4):23-26(2017)

## 「あきつ賞」受賞サイト(17)ウェブサイト「愛媛県のトンボ」の紹介

愛媛県立衛生環境研究所

久松定智

2015年度日本昆虫学会あきつ賞を頂いた「愛媛県のトンボ」は、愛媛県レッドデータブック改定に伴い、トンボ目の分布情報の収集と公開・教育普及を目的として、2010年から公開を始めたウェブサイトである。本ウェブサイトは、愛媛県レッドデータブック改定にあたり、筆者がトンボ目の調査・執筆担当になったことがきっかけとなり作成された。本ウェブサイトでは、現在までに県内から記録されている90種のトンボ目全種のリスト、県内での各種分布図及び発消長図を掲載している。分布図及び発消長図は、2011年6月27日までに、1) 私自身で行った県内各地でのフィールド調査(成虫・幼虫及び羽化殻の調査)、2) 過去100年に渡る文献調査による記録の収集、3) 地元トンボ目研究者より提供頂いた分布情報、そして4) 県内各地の研究施設に収蔵されている標本調査に基づくデータ24977件を基にデータベースを構築し、GISソフト(INSBASE:昆虫情報処理研究会)を用いて作図した。また、本ウェブサイトでは掲示板を設置して、県内のトンボ目の分布状況に関する情報提供を呼びかけた。本ウェブサイトは、レッドデータブック改定に関する情報の収集だけでなく“トンボ標本の作り方”や“トンボの体”といった、教育普及を目的としたページを設けたことも特色の一つである。また、web図鑑作成を掲げ、掲示板で目撃・採集データだけでなく生態写真も同時に募集した。現在までに愛媛から記録されている90種中87種の生態写真が寄せられている。

Japanese Journal of Entomology (New Series), 19(2):  
63-65(2016)

## (著書)

日本における感染症サーベイランスの現状と課題「地方衛生研究所の立場から」

愛媛県立衛生環境研究所

四宮博人

公衆衛生情報 Vol.46 (No.9), 10-11 (2016)

(著書につき抄録なし)

## 愛媛県におけるマダニの分布とマダニ媒介性感染症

愛媛県立衛生環境研究所

四宮博人

果樹園芸 Vol.69 (No.7), 4-8(2016)

(著書につき抄録なし)

## 【他誌発表論文(所員が First Author 以外)】

Unusual presentation of a severely ill patient having severe fever with thrombocytopenia syndrome: a case report.

Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Asou K, Shinomiya H, Suzuki T, Hasegawa H, Shimojima M, Saijo M.

Severe fever with thrombocytopenia syndrome is an emerging infectious disease caused by a novel phlebovirus belonging to the family Bunyaviridae. Emergence of encephalitis/encephalopathy during severe fever with thrombocytopenia syndrome progression has been identified as a major risk factor associated with a poor prognosis. A 56-year-old Japanese man presented with fever and diarrhea, followed by dysarthria. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging demonstrated high signal intensity in the splenium of the corpus callosum. The severe fever with thrombocytopenia syndrome virus genome was detected in our patient's serum, and the clinical course was characterized by convulsion, stupor, and hemorrhagic manifestations, with disseminated intravascular coagulation and hemophagocytic lymphohistiocytosis. Supportive therapy not including administration of corticosteroids led to gradual improvement of the clinical and laboratory findings, and magnetic resonance imaging demonstrated resolution of the splenic lesion. The serum severe fever with thrombocytopenia syndrome viral copy number, which was determined with the quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction, rapidly decreased despite the severe clinical course. Our patient's overall condition improved, allowing him to be eventually discharged. Patients with encephalitis/encephalopathy due to severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection may have a favorable outcome, even if they exhibit splenic lesions and a severe clinical course; monitoring the serum viral load may be of value for prediction of outcome and potentially enables the avoidance of corticosteroids to intentionally cause opportunistic infection.

J Med Case Rep. 11(1):27(2017)

Molecular evolution of the capsid gene in human norovirus genogroup II.

Kobayashi M, Matsushima Y, Motoya T, Sakon N, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Nishimura K, Yamashita Y, Kuroda M, Saruki N, Ryo A, Saraya T, Morita Y, Shirabe K, Ishikawa M, Takahashi T, Shinomiya H, Okabe N, Nagasawa K, Suzuki Y, Katayama K, Kimura H.

Capsid protein of norovirus genogroup II (GII) plays crucial roles in host infection. Although studies on capsid gene evolution have been conducted for a few genotypes of norovirus, the molecular evolution of norovirus GII is not well understood. Here we report the molecular evolution of all GII genotypes, using various bioinformatics techniques. The time-scaled phylogenetic tree showed that the present GII strains diverged from GIV around 1630CE at a high evolutionary rate (around  $10^{-3}$  substitutions/site/year), resulting in three lineages. The GII capsid gene had large pairwise distances (maximum  $>0.39$ ). The effective population sizes of the present GII strains were large ( $>10^2$ ) for about 400 years. Positive (20) and negative (over 450) selection sites were estimated. Moreover, some linear and conformational B-cell epitopes were found in the deduced GII capsid protein. These results suggested that norovirus GII strains rapidly evolved with high divergence and adaptation to humans.

Sci Rep. 6:29400(2016)

Predicting genotype compositions in norovirus seasons in Japan.

Suzuki Y, Doan YH, Kimura H, Shinomiya H, Shirabe K, Katayama K.

Noroviruses cause acute gastroenteritis. Since multiple genotypes of norovirus co-circulate in humans, changing the genotype composition and eluding host immunity, development of a polyvalent vaccine against norovirus in which the genotypes of vaccine strains match the major strains in circulation in the target season is desirable. However, this would require prediction of changes in the genotype composition of circulating strains. A fitness model

that predicts the proportion of a strain in the next season from that in the current season has been developed for influenza A virus. Here, such a fitness model that takes into account the fitness effect of herd immunity was used to predict genotype compositions in norovirus seasons in Japan. In the current study, a model that assumes a decline in the magnitude of cross immunity between norovirus strains according to an increase in the divergence of the major antigenic protein VP1 was found to be appropriate for predicting genotype composition. Although it is difficult to predict the proportions of genotypes accurately, the model is effective in predicting the direction of change in the proportions of genotypes. The model predicted that GII.3 and GII.4 may contract, whereas GII.17 may expand and predominate in the 2015-2016 season. The procedure of predicting genotype compositions in norovirus seasons described in the present study has been implemented in the norovirus forecasting system (NOROCAST).

Microbiol Immunol. 60(6):418-26(2016)

Genetic analysis of human rotavirus C: The appearance of Indian–Bangladeshi strain in Far East Asian countries.

Doan YH, Haga K, Fujimoto A, Fujii Y, Takai-Todaka R, Oka T, Kimura H, Yoshizumi S, Shigemoto N, Okamoto-Nakagawa R, Shirabe K, Shinomiya H, Sakon N, Katayama K.

Rotaviruses C (RVCs) circulate worldwide as an enteric pathogen in both humans and animals. Most studies of their genetic diversity focus on the VP7 and VP4 genes, but the complete genomes of 18 human RVCs have been described in independent studies. The genetic background of the Far East Asian RVCs is different than other human RVCs that were found in India and Bangladesh. Recently, a RVC detected in 2010 in South Korea had genetic background similar to the Indian-Bangladeshi RVCs. This study was undertaken to determine the whole genome of eight Japanese RVCs detected in 2005-2012, and to compare them with other human and animal global RVCs to better understand the genetic background of contemporary Far East Asian RVC. By phylogenetic analysis, the human

RVCs appeared to be distinct from animal RVCs. Among human RVCs, three lineage constellations had prolonged circulation. The genetic background of the Far East Asian RVC was distinguished from Indian-Bangladeshi RVC as reported earlier. However, we found one Japanese RVC in 2012 that carried the genetic background of Indian-Bangladeshi RVC, whereas the remaining seven Japanese RVCs carried the typical genetic background of Far East Asian RVC. This is the first report of the Indian-Bangladeshi RVC in Japan. With that observation and the reassortment event of human RVCs in Hungary, our study indicates that the RVCs are spreading from one region to another.

Infect Genet Evol. 41:160-173( 2016)

Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Antigen Detection Using Monoclonal Antibodies to the Nucleocapsid Protein.

Fukuma A, Fukushi S, Yoshikawa T, Tani H, Taniguchi S, Kurosu T, Egawa K, Suda Y, Singh H, Nomachi T, Gokuden M, Ando K, Kida K, Kan M, Kato N, Yoshikawa A, Kitamoto H, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Morikawa S, Shimojima M, Saijo M.

BACKGROUND: Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is a tick-borne infectious disease with a high case fatality rate, and is caused by the SFTS virus (SFTSV). SFTS is endemic to China, South Korea, and Japan. The viral RNA level in sera of patients with SFTS is known to be strongly associated with outcomes. Virological SFTS diagnosis with high sensitivity and specificity are required in disease endemic areas.

METHODOLOGY/PRINCIPAL FINDINGS: We generated novel monoclonal antibodies (MAbs) against the SFTSV nucleocapsid (N) protein and developed a sandwich antigen (Ag)-capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of N protein of SFTSV using MAb and polyclonal antibody as capture and detection antibodies, respectively. The Ag-capture system was capable of detecting at least 350-1220 TCID<sub>50</sub>/100 µl/well from the culture supernatants of various SFTSV strains. The efficacy of the Ag-capture ELISA in SFTS diagnosis was

evaluated using serum samples collected from patients suspected of having SFTS in Japan. All 24 serum samples (100%) containing high copy numbers of viral RNA ( $>10^5$  copies/ml) showed a positive reaction in the Ag-capture ELISA, whereas 12 out of 15 serum samples (80%) containing low copy numbers of viral RNA ( $<10^5$  copies/ml) showed a negative reaction in the Ag-capture ELISA. Among these Ag-capture ELISA-negative 12 samples, 9 (75%) were positive for IgG antibodies against SFTSV.

**CONCLUSIONS:** The newly developed Ag-capture ELISA is useful for SFTS diagnosis in acute phase patients with high levels of viremia. SFTS is a tick-borne acute infectious disease caused by the SFTSV. SFTS has been reported in China, South Korea, and Japan as a novel Bunyavirus. Although several molecular epidemiology and phylogenetic studies have been performed, the information obtained was limited, because the analyses included no or only a small number of SFTSV strains from Japan. The nucleotide sequences of 75 SFTSV samples in Japan were newly determined directly from the patients' serum samples. In addition, the sequences of 7 strains isolated in vitro were determined and compared with those in the patients' serum samples. More than 90 strains that were identified in China, 1 strain in South Korea, and 50 strains in Japan were phylogenetically analyzed. The viruses were clustered into 2 clades, which were consistent with the geographic distribution. Three strains identified in Japan were clustered in the Chinese clade, and 4 strains identified in China and 26 in South Korea were clustered in the Japanese clade. Two clades of SFTSV may have evolved separately over time. On rare occasions, the viruses were transmitted overseas to the region in which viruses of the other clade were prevalent.

PLoS Negl Trop Dis. 5;10(4): e0004595(2016)

## 【学会発表(所員が First Author)】

### 愛媛県における SFTS への取り組み～特に抗体調査について

愛媛県立衛生環境研究所

○四宮博人, 木村俊也, 山下育孝, 溝田文美  
山下まゆみ, 大塚有加, 菅 美樹

2013年1月に国内(山口県)で初めて確認された SFTS 事例を踏まえて, 症例定義に基づく後方視的調査が実施され, 2月13日に愛媛県と宮崎県の成人男子2人も SFTS により2012年に死亡していたことが明らかにされた. 現時点で(2016年5月25日), 計21名の患者(20名は県内在住者)が愛媛県から報告されている. 後方視的調査で3名, 前方視的に17名(2013年6名, 2014年10名, 2015年1名)が診断され, 患者発生数では宮崎県について2番目に多い.

20名の患者の平均年齢は73.7歳, 男女比は9対11である. 20名中7名が死亡している. 患者の居住区(保健所管内)については, 15名(八幡浜9名, 宇和島6名)が南予と呼ばれる県南部の, 5名(松山市3名, 中予2名)が松山市・中予在住の患者であった. 北東部では発生の報告がなく地域性が認められる. 刺し口が認められたのは11名で半数近くは確認されていない. 12名(60%)の患者がペット(イヌ, ネコ)を飼っていた.

SFTS ウイルスの感染実態を明らかにするため, 2015年に患者発生地域を中心に農業・林業に従事者する50歳以上のハイリスクグループ694名から採血し, 国立感染症研究所ウイルス第一部と共同でこれらの対象者における SFTS ウイルス抗体陽性率を調べた. 間接蛍光抗体法で抗体陽性者が2名(抗体陽性率0.29%)確認され, これらは八幡浜保健所管内在住の60歳代男性と70歳代女性で, とともに柑橘栽培・畑作業に従事していた. うち1名は全く SFTS の症状を自覚しておらず, 軽い症状を呈しただけか不顕性感染であったと思われる. この結果から, 患者発生地域においても健康人の SFTS ウイルス抗体陽性率は非常に低いことが明らかにされた.

これまで SFTS 対策として, ①医療従事者, 感染症対策担当者を対象とする研修会, ②地域住民の教育, 啓蒙, ③マダニや野生動物の対策の3点を主に実施してきた. さらに, 抗体調査による地域住民への注意喚起効果も感じられた. これらが総合的に奏功して, 2015年には患者発生が1名に減少したのではないかと推察される.

衛生微生物協議会第37回研究会  
(2016.7. 広島)