

liters of each serum was subjected to serial 2-fold dilution with sterile PBS from 1:10 to 1:2,560. For assay of IgM, IgG was removed by absorption with protein A before serum dilution. Twenty microliters of diluted serum was transferred onto each respective well of the antigen-coated slide and incubated in a moist chamber for 30 min at 37°C. Subsequently, the slides were rinsed with PBS before being soaked for 10 min in PBS solution that was kept in gentle motion by a magnetic stirrer. The slides were allowed to air-dry over a warm plate and probed with 20 µl of 1:40 diluted fluorescein-conjugated respective rabbit anti-human IgM or IgG (Dako, Glostrup, Denmark). The slides were then incubated for another 30 min at 37°C in a moist chamber. The same process of washing and drying was carried before the slides were mounted with a commercially supplied mounting fluid, and the specific reactivity/labeling was read under a UV fluorescence microscope (BX50; Olympus, Tokyo, Japan) at ×400 magnification.

For the virus neutralization test of PuV or MeIV, serial 2-fold dilutions of control and test sera were prepared in duplicate starting at 1:10. An equal volume of either MeIV or PuV working stock containing 150 TCID₅₀ was added to the diluted sera and incubated for 30 min. The preincubated virus/serum mix was added to confluent Vero cell monolayers and incubated for 1 h. The inoculum was removed, monolayers were washed three times with PBS, and cell media were replaced. All incubations were performed at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator. Vero cell monolayers were observed for CPE 3 days later. The ability of sera to neutralize virus was determined by scoring the extent of CPE observed in duplicate wells.

For the virus neutralization test of MRV, MA104 cell monolayers were prepared in 96-well tissue culture plates seeded with 20,000 cells per well and incubated overnight at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator. MRV types 1, 2, and 3 were diluted in cell media to give 4 × 10⁴ TCID₅₀/ml, and 100 µl of virus was added to wells in a 96-well incubation plate. Serial 10-fold dilution of test sera were prepared starting from 1:10, and 100-µl aliquots were added to virus wells. The sera/virus mixture was incubated for 60 min at 37°C. The medium was discarded from the cell monolayers, and four 50-µl replicates of the preincubated virus/sera mix were transferred from the incubation plate to appropriate wells in the test plate. At the same time, 12 virus control wells were prepared by adding 10³ TCID₅₀ per well from the above diluted virus solution, and the plates were

incubated for 30 min at 37°C. The inoculum was discarded and the cells were washed three times with 200 µl of cold PBS, followed by the addition of 100 µl of fresh media. After incubation at 37°C for 20 h, the medium was discarded, the cells were fixed in 100% ice-cold methanol for 15 min and air-dried, and the wells were blocked with 200 µl of 1% BSA/PBS. The neutralization of MRV was monitored by immunofluorescent microscopy with rabbit anti-MRV antibodies and goat anti-rabbit conjugated with Alexa Fluor 488 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Fluorescence was observed by using an Olympus fluorescent microscope as described above.

Sequence and Phylogenetic Analysis. Extraction and purification of dsRNA and synthesis of randomly primed cDNA were carried out as described (23, 37). Primers (primer sequences will be supplied upon request) designed by using PuV and NBV small genome segment sequences were used for PCR amplification and sequencing of the MeIV small genome segments. Genome segment terminal sequences were obtained by using a two-step PCR amplification procedure, first by the single primer amplification technique (SPAT) (37), then by a seminested PCR using the combination of MeIV genome segment-specific primers and the adaptor-specific primer used in the single primer amplification technique. Phylogenetic trees were constructed by using the neighbor-joining algorithm with bootstrap values determined by 1,000 replicates in the MEGA3 software package (38).

Serological Survey. The panel of human sera collected during an investigation of the potential risk of bat-to-human transmission of NiV (25) was used in this study. The original panel consisted of 153 serum samples collected from adult residents (mean age 38 ± 15 years) of Tioman Island, which represented 8% of the total adult population on the island. Due to the supply shortage and poor quality of some serum samples, only 109 sera were tested in this study. The sera were heat-inactivated by incubation at 56°C for 30 min before being tested for MeIV- or PuV-specific antibodies by using the virus-neutralization test described above.

We thank C. T. Tan, V. H. T. Chong, K. T. Wong, and K. J. Goh for their permission to use the panel of human sera collected from Tioman Island; G. Smith for providing the MRV prototype viruses; K. McPhie for providing MRV sera; K. Selleck for technical assistance; and T. Pye and E. Hansson for help with DNA sequencing.

- Peiris JSM, Guan Y, Yuen KY (2004) *Nat Med* 10:588–597.
- van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, Weverling-van Dillen PM, Kaandorp J, Spaargaren J, Berkhout B, et al. (2004) *Nat Med* 28:444–445.
- Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, Wong BH, Poon RW, Cai JJ, Luk WK, et al. (2005) *J Virol* 79:884–895.
- Nibert ML, Schiff LA (2001) in *Fields Virology*, eds Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia), pp 1679–1728.
- Mertens PPC, Duncan R, Attoui H, Dermody TS (2005) in *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, eds Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (Elsevier Academic, San Diego), pp 447–454.
- Duncan R (1999) *Virology* 260:316–328.
- Chappell JD, Duncan R, Mertens PPC, Dermody TS (2005) in *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, eds Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA (Elsevier Academic, San Diego), pp 455–465.
- Tyler KL (2001) in *Fields Virology*, eds Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia), pp 1729–1745.
- Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T (2006) *Clin Microbiol Rev* 19:531–545.
- Murray K, Selleck P, Hooper P, Hyatt A, Gould A, Gleeson L, Westbury H, Hiley L, Selvey L, Rodwell B, et al. (1995) *Science* 268:94–97.
- Eaton BT, Broder CC, Middleton D, Wang L-F (2006) *Nat Rev Microbiol* 4:23–35.
- Chua KB, Bellini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, Ksiazek TG, Rollin PE, Zaki SR, Shieh W, Goldsmith CS, et al. (2000) *Science* 288:1432–1435.
- Philbey AW, Kirkland PD, Ross AD, Davis RJ, Gleeson AB, Love RJ, Daniels PW, Gould AR, Hyatt AD (1998) *Emerg Infect Dis* 4:269–271.
- Chan K, Chan R, Smith M, Dwyer DE, Kirkland P (1998) *Emerg Infect Dis* 4:273–275.
- Chua KB, Wang L-F, Lam SK, Cramer G, Yu M, Wise T, Boyle D, Hyatt AD, Eaton BT (2001) *Virology* 283:215–229.
- Speare R, Skerratt L, Foster R, Berger L, Hooper P, Lunt R, Blair D, Hansman D, Goulet M, Cooper S (1997) *Commun Dis Intell* 21:117–120.
- Li W, Shi Z, Yu M, Ren W, Smith C, Epstein JH, Wang H, Cramer G, Hu Z, Zhang H, et al. (2005) *Science* 310:676–679.
- Lau SK, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi HW, Wong BH, Wong SS, Leung SY, Chan KH, Yuen KY (2005) *Proc Natl Acad Sci USA* 102:14040–14045.
- Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P, Delac A, Paweska JT, Gonzalez JP, Swanepoel R (2005) *Nature* 438:575–576.
- Gard GP, Marshall ID (1973) *Arch Virol* 43:34–42.
- Gard GP, Compans RW (1970) *J Virol* 6:100–106.
- Chua KB (2003) *Microbes Infect* 5:487–490.
- Pritchard LI, Chua KB, Cummins D, Hyatt AD, Cramer G, Eaton BT, Wang L-F (2006) *Arch Virol* 151:229–239.
- Duncan R, Corcoran J, Shou J, Stoltz D (2004) *Virology* 319:131–140.
- Chong HT, Tan CT, Goh KJ, Lam SK, Chua KB (2003) *Neuro J Southeast Asia* 8:31–34.
- Cleaveland S, Laurensen MK, Taylor LH (2001) *Philos Trans R Soc London B* 356:991–999.
- Chua KB, Chua BH, Wang CW (2002) *Malays J Pathol* 24:15–21.
- Childs JE (2004) *Arch Virol Suppl* 18:1–11.
- Woolhouse MEJ, Gowtage-Sequeria S (2005) *Emerg Infect Dis* 11:1842–1847.
- Negrete OA, Levroney EL, Aguilar HC, Bertolotti-Ciarlet A, Nazarian R, Tajjar S, Lee B (2005) *Nature* 436:401–405.
- Bonaparte MI, Dimitrov AS, Bossart KN, Cramer G, Mungall BA, Bishop KA, Choudhry V, Dimitrov DS, Wang L-F, Eaton BT, Broder CC (2005) *Proc Natl Acad Sci USA* 102:10652–10657.
- Drescher U (2002) *Curr Opin Genet Dev* 12:397–402.
- Li W, Moore MJ, Vasiliou N, Sui J, Wong SK, Berne MA, Somasundaram M, Sullivan JL, Luzziaga K, Greenough TC, et al. (2003) *Nature* 426:450–454.
- Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ (2000) *J Biol Chem* 275:33238–33243.
- Wang L-F, Shi Z, Zhang S, Field H, Daszak P, Eaton BT (2006) *Emerg Infect Dis* 12:1834–1840.
- King DA, Peddham C, Waage JK, Brownie J, Woolhouse MEJ (2006) *Science* 313:1392–1393.
- Attoui H, Billoir F, Cantaloube JF, Biagini P, de Micco P, de Lamballerie X (2000) *J Virol Methods* 89:147–158.
- Kumar S, Tamura K, Nei M (2004) *Brief Bioinform* 5:150–163.

医薬品 研究報告 調査報告書

識別番号・報告回数		報告日	第一報入手日 2007. 7. 6	新医薬品等の区分 該当なし	機構処理欄
一般的名称	(製造承認書に記載なし)		研究報告の公表状況	ProMED 20070702-2108, 2007 Jul 2. 情報源: Martin Bel, Chairman of the Yap State EpiNet Team, Yap State Department of Health Services, Federated States of Micronesia.	公表国 ミクロネシア
販売名(企業名)	合成血「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血「日赤」(日本赤十字社) 合成血-LR「日赤」(日本赤十字社) 照射合成血-LR「日赤」(日本赤十字社)		研究報告の公表状況	ProMED 20070702-2108, 2007 Jul 2. 情報源: Martin Bel, Chairman of the Yap State EpiNet Team, Yap State Department of Health Services, Federated States of Micronesia.	公表国 ミクロネシア
研究報告の概要	<p>○ジカウイルスのアウトブレイク—ミクロネシア(ヤップ島)確定 2007年6月22日、ヤップ州保健省が収集した血液検体を米国CDC(疾病対策予防センター)の研究所で検査した結果、ヤップ島の感染症はジカウイルスによるものと考えられた。ヤップのアウトブレイクは2007年4月に始まり、5月の後半にピークを迎えたものと見られる。新規症例の発生は続いている。症状は、時に掻痒感を伴う斑点状丘疹、結膜炎、関節痛など軽症で、発症期間は通常4~7日間である。 6月29日までにPCRとIgM検査でジカウイルス感染が確認された症例は42例になった。さらに、上記の症状のうち少なくとも2つを発症した65例の可能性例が、ヤップ記念病院及びWa'abの保健所を受診した。入院、死亡した患者はいない。症状が軽いため、受診していない患者も多いと考えられる。この地域における初期の分析では、相当数の人が感染していることが示された。ヤップ島全土で症例が発生している。ジカウイルス感染患者は、ヤップで使用されているデングの迅速検査(PanBio及びPentax)で偽陽性反応を示す。伝統的にジカウイルスによる疾患は「ジカ熱」と呼ばれてきたが、今回のアウトブレイクでは発熱は見られない。ヤップのアウトブレイクで見られた他の症状は、眼窩後部痛、筋肉痛、下肢の浮腫、リンパ節症、下痢である。ヤップでは蚊の産卵場所を削減するためのキャンペーンを強化している。ヤップ州政府は、長袖の服や防虫剤の使用などで蚊に刺されないよう呼びかけている。同保健省は、ミクロネシア連邦政府、WHO、パスツール研究所、米国CDCと協力して、疾患の臨床症状、アウトブレイクの規模、伝播様式を特定し、最良の予防法を決定するためにさらなる調査を行っている。</p>				使用上の注意記載状況・ その他参考事項等 合成血「日赤」 照射合成血「日赤」 合成血-LR「日赤」 照射合成血-LR「日赤」 血液を介するウイルス、 細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク
	報告企業の意見 ミクロネシア連邦ヤップ島で流行した感染症がジカウイルスによるものと考えられたとの報告である。	今後の対応 日本赤十字社では、輸血感染症対策として問診時に海外渡航歴の有無を確認し、帰国後4週間は献血不適としている。今後も引き続き、新興・再興感染症の発生状況等に関する情報の収集に努める。			

113

15

about ISID | membership | programs | publications | resources | 13th ICID | site map



Navigation

Home

Subscribe/Unsubscribe

Search Archives

Announcements

Recalls/Alerts

Calendar of Events

Maps of Outbreaks

Submit Info

FAQs

Who's Who

Alerts

Citing ProMED-mail

Links

Donations

About ProMED-mail

Back

Archive Number 20070702.2108

Published Date 02-JUL-2007

Subject PRO/AH/EDR> Zika virus outbreak - Micronesia (Yap) (02): confirmed

ZIKA VIRUS OUTBREAK - MICRONESIA (YAP) (02): CONFIRMED

A ProMED-mail post

<<http://www.promedmail.org>>

ProMED-mail is a program of the

International Society for Infectious Diseases

<<http://www.isid.org>>

[1] Micronesia (Yap)

[2] Africa

[1] Micronesia (Yap)

Date: Fri 29 Jun 2007

Source: Martin Bel, Chairman of the Yap State EpiNet Team, Yap State Department of Health Services, Federated States of Micronesia

<mbel@fsmhealth.fm>

On 22 Jun 2007, blood specimens collected by the Yap Department of Health Services and tested at CDC (Centers for Disease Control) labs showed that the recent illness in Yap is likely caused by the Zika virus.

The Yap outbreak appears to have started in April 2007 and to have peaked in late May [2007]; however, cases continue to present. In this outbreak the symptoms are mild and generally last for 4-7 days, consisting of:

- * a maculopapular rash involving the trunk and extremities that is sometimes pruritic;
- * conjunctivitis; and
- * joint pain that can affect both large joint and the smaller joints of the hands and feet.

As of Thu 29 Jun [2007], there have been 42 cases confirmed to be Zika by PCR [polymerase chain reaction] and IgM analysis. An additional 65 probable cases with at least 2 of these symptoms have presented to the outpatient department of the Yap Memorial Hospital and at the Wa'ab Community Health Center. No patients have been admitted to the hospital and there have been no deaths. Because the disease is mild, many more infections are thought to have occurred in the community that did not seek medical attention. An initial assessment in the community indicates that a significant proportion of the population has been affected. Geographically, cases have occurred all over the island of Yap.

Rapid tests used in Yap for dengue have given false positive results on patients with Zika virus (PanBio and Pentax).

Traditionally, illness caused by Zika was termed "Zika Fever." However fever has been an inconsistent feature of this Zika outbreak. Other symptoms that have been noted in the Yap outbreak include retro-orbital eye pain, myalgias, lower extremity edema, lymphadenopathy, and diarrhea.

An enhanced environmental campaign to reduce mosquito-breeding areas in Yap is ongoing. The Yap community has been asked to avoid mosquito bites by wearing long clothing, staying within screened areas and using mosquito repellents and coils, especially when ill.

The Yap Department of Health Services is conducting further investigations to better characterize the clinical presentation of the illness, the magnitude of the outbreak, and the mode of transmission in order to determine the best control measures. They will be continuing to work with FSM [Federated States of Micronesia] Department of Health, Education, and Social Services, the WHO, Institut Pasteur, and the CDC.

--

Communicated by:

Dr. Steve Berger <mberger@post.tau.ac.il>

Dr. Charles H Calisher <calisher@cybercell.net>

[The Zika virus etiology in this epidemic appears to be clear, given the PCR results, although this report does not mention isolation of the virus. ProMED-mail awaits with interest further results of the investigations that the Yap Department of Health Services plans to carry out.

A map of Micronesia can be accessed at

<http://www.lib.utexas.edu/maps/islands_oceans_poles/micronesia_pol99.jpg>.

- Mod.TY]

[2] Africa

Date: Fri 29 Jun 2007

From: Bernard Mondet <bernard.mondet@ifpindia.org>

The Institut Pasteur / IRD (Institute for Research and Development) database on viruses in Africa mentions 23 species of mosquitoes harboring Zika virus from West Africa countries and provides several references. Please, look at:
<<http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/virus/v010180.htm>> (in French)

--

Bernard Mondet
Institut Francais de Pondicherry
CP 33 11, Saint-Louis Street
Pondicherry, 605-001, India
<bernard.mondet@ifpindia.org>

[ProMED-mail thanks Dr. Mondet for these references, citing the isolation of Zika virus from mosquitoes in Senegal, Cote d' Ivoire, the Central African Republic, and Burkina Faso. Most of the isolates are from various Aedes spp, Eremapodites spp., and Mansonia uniformis.

This site also lists several references that cover field and experimental work (articles mainly in French). - Mod.TY]

[see also:

Zika virus outbreak - Micronesia (Yap): susp, RFI [20070627.2065](https://www.promedmail.org/20070627.2065)]

.....sh/lm/ty/mj/lm

ProMED-mail makes every effort to verify the reports that are posted, but the accuracy and completeness of the information, and of any statements or opinions based thereon, are not guaranteed. The reader assumes all risks in using information posted or archived by ProMED-mail. ISID and its associated service providers shall not be held responsible for errors or omissions or held liable for any damages incurred as a result of use or reliance upon posted or archived material.

Become a ProMED-mail Premium Subscriber at
<<http://www.isid.org/ProMEDMailPremium.shtml>>

Visit ProMED-mail's web site at <<http://www.promedmail.org>>.
Send all items for posting to: promed@promedmail.org
(NOT to an individual moderator). If you do not give your full name and affiliation, it may not be posted. Send commands to subscribe/unsubscribe, get archives, help,

etc. to: majordomo@promedmail.org. For assistance from a human being send mail to: owner-promed@promedmail.org.

#####

[about ISID](#) | [membership](#) | [programs](#) | [publications](#) | [resources](#)
[13th ICID](#) | [site map](#) | [ISID home](#)

©2001,2007 International Society for Infectious Diseases
All Rights Reserved.

Read our [privacy guidelines](#).

Use of this web site and related services is governed by the [Terms of Service](#).

U

U

医薬品
医薬部外品 研究報告 調査報告書
化粧品

識別番号・報告回数		報告日		第一報入手日 2007年7月27日	新医薬品等の区分	厚生労働省処理欄
一般的名称	①②ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン ③人免疫グロブリン		研究報告の 公表状況	The New York Times/July 26, 2007	公表国 アメリカ	
販売名 (企業名)	①献血ヴェノグロブリン-IH ヨシトミ (ベネシス) ②ヴェノグロブリン-IH (ベネシス) ③グロブリン-Wf (ベネシス)					
研究報告の概要	<p>米国における WNV 症例の数は 1 年前の数のおよそ 4 倍であり、大きな流行が控えている可能性があることを意味していると、政府研究者が報告している。</p> <p>昨年、米国で 4,269 の症例が報告され、この中には 1,495 の脳症が含まれ、177 人が亡くなっている。</p> <p>今年はいくまで 122 症例が報告され、カリフォルニア州と南北ダコタ州で最も多かった。今年には既に、42 の脳症と 3 件の死亡があった。一方、昨年この時期は、報告はわずか 33 症例であった。</p> <p>過去の症例では、このウイルスは、輸血及び臓器移植によって伝播したが、今は血液供給を保護するために検査が実施されている。今年には、この検査によって、感染している可能性のある 23 の血液ドナーが明らかになった。</p>					<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p> <p>代表として献血ヴェノグロブリン-IH ヨシトミの記載を示す。</p> <p>2. 重要な基本的注意</p> <p>(1) 本剤の原材料となる献血者の血液については、HBs 抗原、抗 HCV 抗体、抗 HIV-1 抗体、抗 HIV-2 抗体、抗 HTLV-1 抗体陰性で、かつ ALT (GPT) 値でスクリーニングを実施している。更に、プールした試験血漿については、HIV-1、HBV 及び HCV について核酸増幅検査 (NAT) を実施し、適合した血漿を本剤の製造に使用しているが、当該 NAT の検出限界以下のウイルスが混入している可能性が常に存在する。本剤は、以上の検査に適合した血漿を原料として、Cohn の低温エタノール分画で得た画分からポリエチレングリコール 4000 処理、DEAE セファデックス処理等により人免疫グロブリンを濃縮・精製した製剤であり、ウイルス不活化・除去を目的として、製造工程において 60℃、10 時間の液状加熱処理及び濾過膜処理 (ナノフィルトレーション) 及び pH 3.9 ~ 4.4 の条件下での液状インキュベーション処理を施しているが、投与に際しては、次の点に十分注意すること。</p>
	報告企業の意見				今後の対応	
<p>今年の WNV 感染者数が昨年同時期に比べておよそ 4 倍であり、大きな流行になる可能性があるとの報告である。FDA は、2005 年 6 月の業界向けガイダンス改訂版において、「FDA は全ての血漿分画製剤について現在行われているウイルス低減工程を再調査した。現在行われている方法は、WNV と分類上関連しているフラビウイルスを不活化することがバリデーションされている。」と評価し、CPMP もまたポジションステートメントにおいて、血漿分画製剤の製造工程で WNV は不活化・除去されると評価している。万一、原料血漿に WNV が混入しても、BVD をモデルウイルスとしたウイルスバリデーション試験成績から、本剤の製造工程において十分に不活化・除去されると考えている。</p>				<p>本報告は本剤の安全性に影響を与えないと考えるので、特段の措置はとらない。</p>		

119



July 26, 2007

Rise in Cases of West Nile May Portend an Epidemic

By DENISE GRADY

The number of West Nile virus cases in the United States is nearly four times what it was a year ago, meaning that a large epidemic may be in store, government researchers are reporting.

"It's certainly a warning sign that we need to be extremely vigilant," Dr. Lyle Petersen, the director of the division of vector-borne infections at the Centers for Disease Control and Prevention, said yesterday. "The worst is yet to come."

The virus, carried by mosquitoes, causes a mild, flu-like illness in 20 percent of those infected, and no symptoms in about 80 percent. In about 1 percent of cases, the illness progresses to a brain infection that can be fatal.

Last year, 4,269 cases were reported in the United States, including 1,495 brain infections, and 177 people died. The risk of severe illnesses increases with age.

So far this year, 122 cases have been reported, with the most in California and the Dakotas. At this time last year, there had been only 33.

The reported cases are just the tip of the iceberg, researchers say. Many infections are never diagnosed because they were mild and the patient did not see a doctor, or was not tested for the virus.

This year, there have already been 42 brain infections and 3 deaths. This is early in the season, since 90 percent of the cases usually occur in August and early September. It is impossible to predict whether the trend will continue, Dr. Petersen said, adding that it may be related to "a lot of weird weather events," including both the heat waves in the West and unusual storm patterns in the Midwest.

If people keep getting infected at the current rate, he said, "we could see the largest epidemic ever."

The first known case of the disease in the United States occurred in New York City in 1999, and since then the virus has spread to every state.

In cases in the past, the virus was transmitted by transfusions and organ transplants, but tests are now done to protect the blood supply. This year, the tests have found 23 potential blood donors who were infected.

医薬品 研究報告 調査報告書

<p>識別番号・報告回数</p>		<p>報告日</p>	<p>第一報入手日 2007. 8. 31</p>	<p>新医薬品等の区分 該当なし</p>	<p>機構処理欄</p>
<p>一般的名称</p>	<p>新鮮凍結人血漿</p>	<p>研究報告の公表状況</p>	<p>金平克史, 白藤浩明, 神尾次彦, 第144回日本獣医学会学術集会 (抄録集); 2007 Sep 2-4; 江別市.</p>	<p>公表国 日本</p>	
<p>販売名(企業名)</p>	<p>新鮮凍結血漿「日赤」(日本赤十字社) 新鮮凍結血漿-LR「日赤」(日本赤十字社)</p>				
<p>研究報告の概要</p>	<p>○日本産蚊のウエストナイルウイルス増殖・媒介能 ウエストナイルウイルス(WNV)は野鳥から蚊によって人や馬に伝播しウエストナイル熱や脳炎を引き起こす。WNV 感染症はヨーロッパ諸国、極東地域をふくむロシアでは散発的に発生があり、近年、北米への感染域拡大がおこった。近い将来、日本にも侵入する可能性があるため、日本産蚊の室内継代株を用いて本ウイルスの感受性を検討した。アカイエカ、ヒトスジシマカ2系統、オオクロヤブカの雌にWNV NY99株を10⁶ PFU/蚊となるように腹部に注入した(注入群)。また、アカイエカ、ヒトスジシマカに感染ジュウシマツを吸血させた(吸血群)。これらの蚊を湿度70~80%、室温25℃で維持し、7日目および14日目に各群の蚊10匹を用いてウイルス力価を測定した。加えて14日目に各群10匹の蚊あたり1匹のマウスを吸血させ媒介試験を行った。媒介試験は各群3回行った。注入群、吸血群ともに全種類の蚊においてウイルスの増殖が観察された。全ての蚊が7日目で10⁴ PFU/蚊以上、14日目で10⁶ PFU/蚊以上のウイルス力価を示した。媒介試験では、アカイエカ注入、吸血両群、ヒトスジシマカ2系統の注入群、1系統の吸血群では供試したすべてのマウスが8日以内に立毛や後軀麻痺の症状を示し、12日以内に死亡した。死亡したマウスからはWNV が検出された。ヒトスジシマカ1系統の吸血群とオオクロヤブカ注入群では2匹のマウスが同様の経過を示した。感染ジュウシマツを吸血したアカイエカとヒトスジシマカがマウスにウイルスを媒介したことから、野外においてこれら日本産蚊が鳥類から哺乳類への媒介を担う可能性が示された。</p>				<p>使用上の注意記載状況・ その他参考事項等</p> <p>新鮮凍結血漿「日赤」 新鮮凍結血漿-LR「日赤」</p> <p>血液を介するウイルス、 細菌、原虫等の感染 vCJD等の伝播のリスク</p>
	<p>報告企業の意見</p> <p>感染実験により、日本産蚊が鳥類から哺乳類へウエストナイルウイルスの媒介を担う可能性が示されたとの報告である。</p>	<p>今後の対応</p> <p>輸血によるWNV感染リスクを防止するため、国の指示(平成16年7月13日付薬食発第0713008号「ウエストナイルウイルス等の輸入感染症対策に係る採血禁止期間の変更について」)により帰国(入国)後4週間の献血を禁止している。また、WNV感染の発生に備え、平成17年10月25日付血液対策課発事務連絡に基づき、緊急対応の準備を進めている。</p>			

123

18

DV-49 豚コレラウイルス感染細胞内における自然免疫関連因子 Interferon Promoter Stimulator-1 (IPS-1) の動態

○野村拓志¹、迫田義博¹、松野啓太^{1,2}、喜田宏^{1,2} ('北海道大学・獣医学部微生物学教室、²北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンター)

【目的】豚コレラウイルス(CSFV)感染細胞ではウイルス非構造蛋白質 N^{pro} がプロテアソーム系を介してインターフェロン(IFN)産生調節因子-3(IRF-3)の発現量を減少させ、自然免疫に関与する1型IFN産生を抑制している(Hiltonら、2006)。一方、同じフラビウイルス科に属するC型肝炎ウイルス(HCV)の感染ではウイルス非構造蛋白質が細胞のミトコンドリア膜上蛋白質であるInterferon Promoter Stimulator-1(IPS-1)を分解不活化し、1型IFN産生を抑制することが示唆されている(Johnsonら、2007)。本研究はCSFV感染細胞における1型IFN産生にIPS-1がどのように関与するかを明らかにするために企図された。【材料と方法】ウシ、ヒト、マウス由来のIPS-1遺伝子の塩基配列よりプライマーを作製し、豚腎体化細胞(CPK細胞)からブタIPS-1の遺伝子をクローニングした。大腸菌でブタIPS-1を組換え蛋白として調製し、これに対する特異抗体を作出した。本抗体を用いてウイルス感染細胞中のIPS-1の発現量と局在をウェスタンブロット法および蛍光抗体法により解析した。【結果】強毒株であるALD/A76感染細胞ではIPS-1の発現量が経時的に増加した。一方弱毒生ワクチン株であるGPE感染細胞でもIPS-1発現量が経時的に増加し、その発現量はALD/A76株のそれよりも高かった。CSFV感染細胞と非感染細胞でIPS-1の細胞内局在に相違は認められなかった。【総括】以上の結果からCSFV感染細胞ではIPS-1発現量が増加し、その程度はウイルス株により異なることが明らかとなった。また、CSFVの感染によってIPS-1が分解されないことが明らかとなった。また、この知見はHCV感染で観察された結果と異なるものである。現在これらの現象の分子基盤を解析している。

DV-50 牛ウイルス性下痢ウイルス持続感染牛におけるウイルスRNA蓄積レベルと先天性免疫誘導の関係

○山根大典¹、加藤健太郎¹、遠矢幸伸¹、明石博臣¹ ('東京大学・獣医微生物学研究室')

【背景と目的】牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)は非細胞病原性(ncp)株が胎子に経胎盤感染し、免疫寛容となった子牛に持続感染することで下痢や消瘦の他、免疫抑制に伴う病態を示し、やがて細胞病原性(cp)株の重感染により致死的な粘膜炎を発症すると考えられている。我々はこれまでBVDV感染時に誘導される宿主因子の解析を*in vitro*で行ってきたが、その知見を元に持続感染(PI)牛の病態形成に関与する宿主免疫応答を探索した。

【方法と材料】我々はcp株感染培養細胞において2本鎖RNA依存性プロテインキナーゼ(PKR)、オリゴアデニレートシンターゼi(OAS-1)、TNFalpha、iNOSがウイルスRNAの蓄積により誘導されることが細胞病原性発現に関与していることを報告した(第53回日本ウイルス学会)。この*in vitro*での成績を元に、今回PI牛と非感染牛の臓器中の宿主因子の転写量及びウイルスRNA量をリアルタイムPCRにより定量解析した。また、アポトーシス誘導をカスパーゼ活性の定量、DNAラダーの検出により解析し、それぞれの誘導レベルとウイルスRNA量との相関を回帰分析により評価した。

【結果と考察】PI牛ではPKR、OAS-1、Mx1とTNFalphaの転写、及びアポトーシスの誘導が有意に認められた。また、回帰分析によりウイルスRNA量とOAS-1、Mx1の転写量やアポトーシス誘導レベルとの間に有意な正の相関が見られた。更に、下痢や発育不良などの症状が認められなかったPI牛は先天性免疫反応の誘導がみられず、ウイルスRNA量も低レベルであったことから、ウイルスRNA量の蓄積に伴う先天性免疫誘導がPI牛における病態に関与している可能性が示唆された。

DV-51 日本産蚊のウエストナイルウイルス増殖・媒介能

○金平克史¹、白藤浩明¹、神尾次彦¹ ('動物衛生研究所・人獣感染症研究チーム')

ウエストナイルウイルス(WNV)は野鳥から蚊によって人や馬に伝播しウエストナイル熱や脳炎を引き起こす。WNV感染症はヨーロッパ諸国、極東地域をふくむロシアでは散発的に発生があり、近年、北米への感染域拡大がおこった。近い将来、日本にも侵入する可能性があるため、日本産蚊の室内継代株を用いて本ウイルスの感受性を検討した。アカイエカ、ヒトスジシマカ2系統、オオクロヤブカの雌にWNV NY99株を10⁶ PFU/蚊となるように腹部に注入した(注入群)。また、アカイエカ、ヒトスジシマカに感染ジュウシマツを吸血させた(吸血群)。これらの蚊を湿度70~80%、室温25℃で維持し、7日目および14日目に各群の蚊10匹を用いてウイルス力価を測定した。加えて14日目に各群10匹の蚊あたり1匹のマウスを吸血させ媒介試験を行った。媒介試験は各群3回行った。

注入群、吸血群ともに全種類の蚊においてウイルスの増殖が観察された。全ての蚊が7日目で10⁶ PFU/蚊以上、14日目で10⁶ PFU/蚊以上のウイルス力価を示した。媒介試験では、アカイエカ注入、吸血両群、ヒトスジシマカ2系統の注入群、1系統の吸血群では供試したすべてのマウスが8日以内に立毛や後肢麻痺の症状を示し、12日以内に死亡した。死亡したマウスからはWNVが検出された。ヒトスジシマカ1系統の吸血群とオオクロヤブカ注入群では2匹のマウスが同様の経過を示した。感染ジュウシマツを吸血したアカイエカとヒトスジシマカがマウスにウイルスを媒介したことから、野外においてこれら日本産蚊が鳥類から哺乳類への媒介を担う可能性が示された。

DV-52 中空ウイルス粒子を用いたウエストナイルウイルスと日本脳炎ウイルスに対する感染血清の鑑別

○前田潤子¹、高木弘隆¹、倉根一郎¹、高島部夫¹、前田秋彦¹ ('北大・獣医 プリオン病学講座、²感染研・バイオセーフティー管理室、³感染研・ウイルス第一部、⁴北大・獣医 公衆衛生')

【背景・目的】日本脳炎ウイルス(JEV)とウエストナイルウイルス(WNV)は同じ血清型群に属するため、両ウイルスの感染を血清学的に区別することは困難である。しかし、WNVの国内侵入をモニタリングするためには、両ウイルスに対する感染歴を把握する必要がある。そこで、本研究ではJEVとWNVの感染により産生される抗体の鑑別法を確立することを目的とした。【材料と方法】WNVのNY株とEg101株、JEVのJaGAr01株とBeijin株をVero E6細胞で増殖させ、培養上清からウイルス粒子を精製した。各ウイルスの中空ウイルス粒子(SvPs)を発現するベクターを293T細胞に導入し、培養上清中に放出されるSvPsを精製した。ウイルス粒子、SvPs、感染Vero E6細胞および遺伝子導入293T細胞を抗原として用いた。また、WNVとJEVの不活化ウイルスをマウスに2回免疫し、最後にウイルスを感染して得られたhyper immune serum (HIS)を抗体として用い、両ウイルスの鑑別の可能性を比較検討した。【結果と考察】ウイルス粒子とSvPs間で、WNVとJEVに対するHISへの反応性に差異は認められず、SvPsをウイルス粒子の代替として使用できると考えられた。ELISA法やIFA法、ウェスタンブロット(WB)法ではWNVとJEVに対するHIS間で交差反応は認められたが、両者を区別することは可能であった。特にWB法では、他の方法に比べ、より特異的に両ウイルスに対するHISを区別することが出来た。以上のことから、JEVあるいはWNVの感染により産生される抗体についても、検査鑑別が可能であると期待できる。

