

## 8. 免疫部

部長 小林和夫

### 概要

免疫部は感染症、すなわち、病原体—宿主関係を宿主応答の視点から感染症の制圧研究を推進している。「研究室で得られた研究成果を医療や社会に還元すること、すなわち、translational research (橋渡し研究) を推進し、健康増進や感染症による健康被害の減少」を究極の目標として、部員一同、邁進している。また、国立感染症研究所において、免疫部は感染免疫の学問領域から所内横断的協力体制に、加えて、人材育成や国際化に対応するため、研修や国際協力にも参加している。

免疫部では、ウイルス、細菌、原虫・寄生虫やプリオンなど、多種多様な病原体感染症に関する研究、免疫機能に関する研究、さらに、骨髄造血機構に関する研究を実施した。また、品質管理に関する業務、国際協力関係業務、研修業務や共同利用機器管理にも寄与した。

免疫部で実施された研究・業務の概要は以下のとおりである。

調査・研究

#### I. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の増殖制御と病態に関する研究
2. インフルエンザに関する研究
3. C型肝炎ウイルス (HCV) 感染に関する研究
4. マウス肝炎ウイルス (MHV) 受容体に関する研究

#### II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究
2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究
3. 類鼻疽の宿主防御に関する研究
4. 細菌の運動性に関する分子機序

#### III. 原虫・寄生虫感染症

1. 内蔵リゅうシュマニア症の防御免疫に関する研究
2. マラリア原虫感染防御に関する研究
3. マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

#### IV. プリオン病

1. 異常プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播機構の研究

#### V. 免疫機能に関する研究

1. プレB細胞受容体の機能に関する研究
2. 抗体産生B細胞分化におけるBILLカドヘリンの機能に関する研究
3. 腸管上皮細胞に発現するカドヘリン・ファミリー分子と病原体細胞侵入機構に関する研究
4. 粘膜ワクチンデリバリーシステムへの応用を見据えたM細胞の免疫生物学的解析
5. マクロファージによる感染初期応答を制御する新規チロシンリン酸化タンパク質の機能解析
6. TIFA関連タンパク質 TIFAB の機能解析

#### VI. 骨髄造血機構に関する研究

1. 骨髄不全症と造血ニッチに関する研究
  2. 間葉系幹細胞分化と造血制御に関する研究
- 品質管理に関する業務  
国際協力関係業務  
研修業務  
共同利用機器管理

人事では、平成 20 (2008) 年 4 月に国立感染症研究所免疫部 阿戸 学 主任研究官が第二室長に昇任し、東京医科歯科大学難治疾患研究所免疫疾患分野から小野寺大志が免疫部第三室研究員、また、8月に早稲田大学先端科学・健康医療融合研究機構から松村隆之が第二室研究員として採用された。

### 業績 調査・研究

#### I. ウイルス感染症

##### 1. ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の増殖制御と病態に関する研究

###### (1) RNA 干渉による HIV-1 増殖制御

HIV 増殖抑制性 siRNA 発現レンチウイルスを用い、フランスの慢性 HIV 感染者で障害されている Gag 特異的 CD4<sup>+</sup>T 細胞、特にエフェクターメモリーへの分化移行段階にある細胞の増殖能を回復させることを明らかにした。しかしながら、レンチウイルス感染により培養液中のウイルス量は増大し、抗ウイルス剤でもこれを抑制できなかった。従って、頻度の少ない Gag 特異的潜伏感染 T 細胞の一部に導入された RNAi 効果により HIV 再活性化が阻害されることが CD4<sup>+</sup>T 細胞の増殖能回復に重要であると考えられた (AIDS, in press)。[山本拓也 (東大医科研博士課程・研究生)、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、Brigitte Autran (パリ大学 Pitie Salpetriere Hospital、フランス共和国)、小林和夫、井上純一郎 (東京大学医科学研究所)、横田恭子]

###### (2) CD8<sup>+</sup>T 細胞の分化段階におけるマイクロ RNA 発現パターンの解析

マイクロ RNA (miRNA) は細胞核内で作られた前駆体からプロセスされた約 22 塩基の小分子 RNA で、多くの RNA および蛋白発現を調節するが、個々の miRNA の詳細な機能は不明なものが多い。慢性 HIV-1 感染者の HIV 特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞は最終段階への分化が阻害されていることが知られている。そこで、フランスとの共同で CD8<sup>+</sup>T 細胞の分化段階の違いによる miRNA 発現パターンを解析し、それぞれの分化段階に特徴的な発現パターンを示す miRNA が存在することを明らかにした (論文投稿中)。[山本拓也 (東大医科研博士課程・研究生)、Victor Appay, Brigitte Autran (パリ大学 Pitie

Salpetriere Hospital、フランス共和国)、横田恭子]

**(3) CCR5 を補助受容体とする HIV-1 の選択的増殖性機構の解析**

HIV-1 の感染初期には多くの場合 CCR5 を補助受容体とする R5 型 HIV-1 が CXCR4 を利用する X4 型 HIV-1 に比較して優位に増殖する。昨年度作製した EGFP あるいは DsRed を発現する X4 型および R5 型組換え HIV-1 を用い、樹状細胞から CD4 陽性 T 細胞へのウイルス伝播・感染拡大の系では R5 型が優位に増殖し、これは R5 型 HIV-1 と X4 型 HIV-1 の DC への感染効率の違いによるものではなく、R5 型は X4 型と比較して T 細胞の活性化が低いレベルでも増殖可能なウイルスであることを示した (PLoS Pathog. 5: e1000279, 2009)。[山本拓也 (東大医科博士課程・研究生)、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、寺原和孝、稲垣好雄 (東京医歯大)、井上純一郎 (東大医科研)、山本直樹 (エイズ研究センター)、小林和夫、横田恭子]

**(4) HIV-1 Nef によるマクロファージ自然免疫機能の攪乱とエイズ病態**

HIV-1 感染マクロファージにおける Nef の機能を明らかにするため、アデノウイルスベクターを用いて Nef をマクロファージで強制的に発現させ、マイクロアレイ解析を行った。その結果、Nef 発現に伴って発現増加するいくつかの自然免疫関連 mRNA を同定し、そのうち特に負の制御を受ける TLR5 について解析した。初期培養マクロファージを TLR5 のリガンドである flagellin で刺激した時の IL-6 産生が Nef 発現により低下する傾向があることが示唆された。[寺原和孝、山本拓也 (東大医科博士課程・研究生)、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、小林和夫、横田恭子]

**(5) HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明**

HIVNef 発現による T 細胞免疫への影響を明らかにするため、OVA 特異的 T 細胞抗原受容体トランスジェニックマウス (TGM) と、コクサッキー・アデノウイルス受容体 TGM をかけあわせた double TGM を作成した。このマウスより精製した CD4+T 細胞に Nef 発現アデノウイルス、CD4 の発現抑制を起ささない Nef 変異体発現ウイルス (nef $\Delta$ CD4) を感染させ、fluorescence activated cell sorter (FACS) を用いて Nef 発現、nef $\Delta$ CD4 発現、および Nef 非発現 T 細胞を分離後個体に移入し、T 細胞機能を検討した。その結果、Nef 発現細胞は、非発現細胞と比べ抗原刺激に対する活性化が低下し、T 細胞遊走活性障害、また、所属リンパ節への移動も抑制された。しかし、活性化によるアポトーシス (AICD) に関しては nef 発現による影響は認められなかった。さらに、Nef 発現により、二次応答における CD4+T 細胞のヘルパー機能が低下することが示された。しかしこれらの T 細胞の異常は Nef による CD4 発現抑制とは無関係であった。これらの結果から、Nef 発現により CD4+T 細胞の抗原刺激に対する活性化が低下し免疫不全の要因の一つとなる可能性が示唆された。[藤猪英樹 (慶応大学医学部・協力研究員)、阿戸 学、高橋宜聖、竹森

利忠 (理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター) ]

**(6) ヒト化マウスを用いた HIV 感染小型動物モデルの確立**

生後 1 日目の重度免疫不全マウス (NOD/SCID/Jak3 KO) の肝臓にヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植してヒト化マウスを作製した。ヒト由来 CD4 陽性 T 細胞の分化が認められたヒト化マウスに、緑色蛍光蛋白質 (EGFP) 発現 X4 型 HIV-1 (NL-E) あるいは DsRed 発現 R5 型 HIV-1 (AD8-D) を iv でチャレンジし、ヒト化マウスにおける HIV-1 感染成立を確認した。現在、生体内における X4 型および R5 型ウイルスの感染・複製様式、全身分布の違いについて解析している。[寺原和孝、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、山本拓也 (東大医科研・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、土屋貴嗣 (東大医科研・実習生)、小林和夫、岡田誠治 (熊本大学エイズ学研究センター)、横田恭子]

**(7) ワクチンに関する基礎的研究：酵母由来 HIV-1 Gag 粒子の樹状細胞による Cross-presentation と糖鎖の関係**

ヒト単球由来樹状細胞は酵母由来 HIV-1 Gag ウイルス様粒子 (VLP) をとりこみ、cross-presentation を介して Gag 特異的 CTL を活性化する。とりこみに関しては DC-SIGN やマクロファージ mannose receptor の様な既知のレクチンレセプターは関与していなかった。また、マンノース付加酵素欠損酵母 (mnn9) 由来 VLP (LmVLP) は野生型 VLP (HmVLP) と比較してマンノース量が 4 分の 1 程度低い一方、CTL 誘導能が高い。これは LmVLP が IL-12 優位のサイトカインを誘導しやすいのに対し、高度にマンノース付加された HmVLP は IL-10 を誘導しやすく Th1 型の反応を抑制するためであることが示唆された (Microbes Infect. 11:191-197, 2009)。[水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、立川 愛・岩本愛吉 (東大医科研先端医療研究センター)、森川裕子 (北里大学北里生命科学研究所)、小林和夫、横田恭子]

**2. インフルエンザに関する研究**

**(1) 高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) 研究に有用なモノクローナル抗体の作製**

H5N1 型インフルエンザのワクチン品質管理あるいは診断に応用するためのマウスモノクローナル抗体を作製し、H5HA に特異的なサンドイッチ酵素抗体法を確立した。モノクローナル抗体は H5HA のクレード 1 に特に強く反応するものとクレードに関わらず H5HA に幅広く反応するものとあり、H5 以外の (H1~H15) には全く反応しなかった。モノクローナル抗体を組合わせて不活化ウイルス粒子を酵素抗体法による定量した場合、20 ng/mL が測定限界であった。今後、感度に関する検討が必要である。[横田恭子、大西和夫、高橋宜聖、平山中己、阿戸 学、大島正道、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、山本拓也 (東大医科博士課程・研究生)、小林和夫、板村繁之 (ウイルス第三部) ]

**(2) 鳥インフルエンザ (H5N1) プレパネミックワクチンが惹起する中和抗体の認識分子に関する研究**

プレパネミックワクチン (NIBRG-14) を接種したマウスでは、血清抗ヘマグルチニン (HA) 抗体、あるいは抗ノイラミニダーゼ (NA) 抗体が主要な感染防御因子であることを昨年度までに明らかにした。本年度の研究では、NIBRG-14 ワクチンを接種したマウス血清抗 HA 抗体と抗 NA 抗体濃度を定量した結果、季節性 H1N1 ワクチンに比べ、より高濃度の抗 NA 抗体が誘導されることを見いだした。[高橋宜聖、阿戸 学、小田切孝人・田代真人 (ウイルス第三部)、小林和夫]

**(3) インフルエンザワクチンが惹起する中和抗体の感染防御評価系に関する研究**

NIBRG-14 プレパネミックワクチンが誘導する感染防御抗体は、赤血球凝集阻害 (HI) 活性や中和活性が低く、感染防御能の正確な評価が困難となる。本研究では、ヒト血清を移入したマウスを作製し、インフルエンザウイルスに対する感染防御能の評価がマウス生体内で可能かどうかまずは H1N1 ウイルスを用いて検証した。その結果、HI 抗体価や中和抗体価の高いヒト血清を移入したマウスでは、H1N1 ウイルス感染に対し、体重減少と生存率の有意な改善が認められ、血清移入評価系を用いることによって各ドナーのインフルエンザウイルスに対するヒトの感染防御能をマウス生体内で判定できる可能性が示唆された。[高橋宜聖、佐竹弘人 (実習生)、小野寺大志、小田切孝人・田代真人 (ウイルス第三部)、小林和夫]

**(4) インフルエンザウイルス経鼻感染に対する記憶 B 細胞応答の解析**

最近我々は、インフルエンザウイルス感染後の肺において、記憶 B 細胞が長期に渡り維持されることを見いだした。脾臓に存在する従来型の記憶 B 細胞との相違点を明確にする目的で、肺記憶 B 細胞が使用する抗体遺伝子可変領域の塩基配列を解析した結果、肺記憶 B 細胞は脾臓記憶 B 細胞と同じ前駆細胞から発達した可能性が示唆された。さらに、肺記憶 B 細胞の発現遺伝子を網羅的に解析した結果、脾臓記憶 B 細胞と類似した遺伝子発現パターンを示す一方で、発現量の大きく異なる遺伝子の存在が明らかとなった。[小野寺大志、泉山枝理子 (実習生)、高橋宜聖、小林和夫]

**(5) ウイルス感染に対する宿主抵抗因子に関する研究**

インフルエンザウイルス感染に際しヒト肺胞上皮由来細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし気管上皮由来細胞株 NCI-H292 は 24 時間で感染ウイルスを排除し回復する。ウイルス感染により interferon (IFN) をはじめ宿主側抵抗遺伝子が誘導される状況を網羅的に解析した。細胞によるウイルス感染に対する反応性の違いを宿主抵抗因子の観点から検討している。[大島正道]

**(6) ウイルス感染に有効なワクチン効果を賦与**

**する生理活性物質の応用**

昨年度までの研究で食品として安全に摂取できる物質としてオリゴ乳酸による免疫応答制御の可能性が示唆された。次の段階として、構造的に異なるオリゴ乳酸を一定期間、不活化インフルエンザ (H1N1、PR8) ワクチンを経鼻接種し、最終的にインフルエンザウイルスの攻撃感染に対し、オリゴ乳酸投与によりワクチンの感染防御効果増強が可能かどうかを検討している。

[寺原和孝、高橋宜聖、光木裕也 (東京医歯大博士課程・研究生)、山本拓也 (東大医科研博士課程・研究生)、水越文徳 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、高橋宜聖、小林和夫、村上正裕 (大阪大谷大学)、横田恭子]

**3. C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染に関する研究**

C 型肝炎患者血液中及び肝組織内に HCV ウイルス short RNA が存在し、その量比がウイルスの感染性や活動性と逆相関することを明らかにした (J. Viral Hepat. 13: 746-55,2006)。この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、効率良いウイルス細胞培養系を確立する。C 型肝炎治療におけるインターフェロン (IFN) の治療効果判定に short RNA が有用か調べた。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。現在、short RNA の産生メカニズムについて検討中である。[大島正道、清水洋子 (日本大学医学部・協力研究員)、土方美奈子 (国立国際医療センター)、吉倉 廣 (CODEX) ]

**4. マウス肝炎ウイルス (MHV) 受容体に関する研究**

MHV は腸管上皮に発現する carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1<sup>a</sup>) を介して感染する。CEACAM1<sup>a</sup> は選択的スプライシングにより 4 種類の受容体型構造をとるアイソフォームが知られているが、RT-PCR の結果、マウス小腸上皮層において新たに 3 種類の選択的スプライシングバリエント (CEACAM1<sup>a</sup>-2: GenBank# AB236330、CEACAM1<sup>a</sup>-2C1: GenBank# AB236331、CEACAM1<sup>a</sup>-4C1: GenBank# AB236332) の発現を認め、そのいずれとも分泌型構造をとっていた。さらにタンパクレベルでの解析から腸管分泌液中に CEACAM1<sup>a</sup>-4C1 が認められ、MHV との結合能および感染中和能を有していた (論文投稿中)。[寺原和孝、横田恭子、山本拓也 (東大医科研博士課程・研究生)、田口文広 (ウイルス第三部)、吉田理人・五十嵐脩・野地智法・後藤義幸・清野 宏 (東大医科研)、Beauchemin, N. (McGill 大学、カナダ) ]

**II. 細菌感染症**

**1. 抗酸菌感染症に関する研究**

**(1) 抗酸菌におけるチミジル酸合成酵素の役割**

チミン誘導体合成系は生物に必須の代謝経路であり、チミジル酸合成酵素 (thymidylate synthetase, TS) による dUMP から dTMP への過程を含む。抗酸菌は TS として ThyA と ThyX を持つ。これまでの研究で、BCG の thyX 遺伝子欠損株はカタラーゼを含有しない 7H10-ADS 培地では増殖が顕著に抑

## 免疫部

えられることを明らかにした。この結果をもとに *thyX* 遺伝子産物による増殖の回復を指標とした抗酸菌の宿主-ベクターシステムの作製を試みた。*thyX* 遺伝子欠損株を宿主、*thyX* 遺伝子を発現する大腸菌-抗酸菌シャトルプラスミドをベクターとしたところ、約 1 割の疑陽性が生じた。陽性クローンを選択し、7H10-ADS 培地で継代したところ、長期にわたりプラスミドを安定に保持していることが示された。このことから、*thyX* 欠損株-*thyX* 発現プラスミドが新たな抗酸菌の宿主-ベクター系として機能する可能性が示された。[大原直也、岡部真裕子、小林和夫、吉村満美子（大阪市立大学大学院医学研究科）、中山浩次（長崎大学大学院医歯薬総合研究科）]

### （2）日本株 BCG Tokyo 172-1 I 型と II 型の遺伝学的検討

BCG は結核ワクチンとして世界中で広く使用されてきた。最近になり日本で使用されている BCG Tokyo 172-1 に 2 つのタイプ I 型と II 型が混在することが示された。両者の遺伝学的差異を明らかにするため、DNA マイクロアレイ解析を行った。I 型のみ高い発現が認められる領域は細胞壁糖脂質 phthiocerol dimycocerosate (PDIM) の合成酵素 phenolphthiocerol synthesis type-I polyketide synthase と DIM の輸送に関わるトランスポーター daunorubicin-DIM-transport integral membrane protein ABC transporter をコードしている遺伝子群を含む領域であった。また機能未知であるが、BCG 3475c - BCG 3478 も I 型のみ高い発現が認められた。II 型で発現量が多くなっている遺伝子としては低酸素状態で働く 2 成分制御系 DevRS (DosRS) に支配されている遺伝子群が多く認められた。これらの遺伝子群が BCG のワクチン効果に影響を与えていることが示唆された。これらの遺伝子産物の役割について現在解析を進めている。[大原直也、岡部真裕子、小林和夫、瀧井猛将（名古屋市立大学大学院薬学研究科）、山本三郎（日本 BCG 研究所）]

### （3）トランスポゾンを用いた抗酸菌由来新規免疫誘導遺伝子の同定

生菌による免疫誘導は、死菌や菌構成成分の投与と比較して強力であり、かつ長期にわたるが、未だその分子機構は不明である。本研究は、挿入配列として既知のマウス T 細胞特異的抗原ペプチドをコードするトランスポゾン挿入した非結核抗酸菌 *Mycobacterium fortuitum* 変異株をスクリーニングし、最終的には宿主免疫応答を促進するのに必要な結核菌遺伝子を同定することを目的とする。マウス CD8 陽性 T 細胞特異的抗原ペプチド群のデータベースを作成し、ペプチドを *M. fortuitum* のコドン読み枠に変換した DNA を含むトランスポゾン配列を精製した。さらに、*M. fortuitum* にトランスポゾン配列を導入し、細菌ゲノムの異なる部位にトランスポゾン配列が挿入されたことを確認した。現在、*M. fortuitum* で発現するペプチドの T 細胞免疫誘導能を確認中である。変異株のライブラリーを作成後、これらをマウスに感染させ、宿主免疫誘導に障害を持つ変異株のトランスポゾン挿入部位を同定することによって、宿主免疫を修飾する

新規抗酸菌遺伝子を同定する予定である。[阿戸学、大西 真・渡邊治雄（細菌第一部）、竹森利忠（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター）]

### （4）潜在性結核菌感染

多くの活動性成人結核は潜在性結核菌感染に起因する。潜在性結核菌感染者は全世界人口の約 30% であり、結核対策に重要である。潜在性結核菌感染における休眠菌の制御系を分子生物学的に解析した。

休眠期結核菌は抗酸菌 DNA 結合蛋白質 1 (MDP1)、alpha crystalline-like protein (Acr)、heat-stress-induced ribosome binding protein A (HrpA、Acr2) や heparin binding hemagglutinin (HBHA) を発現した。他方、分裂増殖期結核菌は early secreted antigen target 6 kDa (ESAT-6) や culture-filtrate protein 10 kDa (CFP-10) を発現した。これらの遺伝子をクローニングし、DNA 配列を確認後、大腸菌 BL21 株に各プラスミドを導入し、各蛋白質が発現することを確認した。

休眠期抗酸菌に大量に発現しているヒストン様 DNA 結合蛋白質 (MDP1) について、その有無による増殖期と休眠期の蛋白質発現の変化をマイクロアレイにて観察した。その結果、細菌の基礎代謝を担う酵素群の発現が、MDP1 の欠失により休眠時に顕著に抑制されることが判明した。また、休眠時において MDP1 の欠失による薬剤感受性の低下が認められた。これらの結果から、MDP1 が休眠時において薬剤標的菌の生存維持に必要な代謝活動を維持し、菌の長期生存を保証している分子であることが判明した。[小林和夫、岡真優子・吉村満美子・松本壮吉（大阪市立大学大学院医学研究科）]

### （5）*Mycobacterium avium complex* (MAC) 感染症の迅速血清診断

非結核性抗酸菌感染症において最頻原因菌の MAC は環境菌であるため、MAC 感染症は「臨床所見（画像、経過）および微生物学的検査」を総合的に考慮し診断される。このため、確定診断に長期間（3 ヶ月以上）を要することが多い。MAC 特異的細胞壁糖脂質蛋白質抗原 (GPL) に対し、宿主が血清抗体産生を示し、酵素抗体法による迅速血清診断（所要時間：約 3 時間）が有用であることを示した。さらに、血清抗 GPL 抗体価は MAC 感染症の画像診断で評価された疾患活動性（病変の拡がり、結節陰影数など）を反映し、活動性の指標となることが多施設共同研究結果から判明した。感度：84.3%、特異度：100% であり、血清抗 GPL 抗体価の測定は 1) MAC 感染症の診断、加えて、2) 疾患活動性の評価に有用である。現在、MAC 感染症の酵素抗体法による迅速血清診断は厚生労働省に製造承認申請中である。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治（独立行政法人国立病院機構刀根山病院）]

### （6）MAC 特異的細胞壁糖脂質蛋白質 (GPL) 合成系の解明

GPL は MAC の 28 血清型を規定している細胞壁成分であるが、その合成系は未解明な点が多い。

*M. intracellulare* 血清型 12 由来の GPL は MAC 共通なコア部分 (fatty acyl-D-Phe-D-allo-Thr-D-Ala-L-alaninol) とオリゴ糖鎖部分から構成されていた。血清型は糖鎖部分に依存しているが、この糖鎖配列を決定する 2 酵素遺伝子 (methyltransferase) の存在を解明した。

*M. intracellulare* 血清型 16 由来の GPL 糖鎖は「hexose-rhamnose-rhamnose-rhamnose-talose」であることを解明し、糖鎖合成を規定する血清型 16 特異的 3 糖鎖転移遺伝子群を同定した。

GPL 抗原に対し、感染宿主は抗体産生など、液性免疫応答を示すことから、MAC 病原性における GPL の役割、また、薬剤標的候補の可能性を探索する予定である。[小林和夫、藤原永年 (大阪市立大学大学院医学研究科)、中田 登 (ハンセン病研究センター)、前田伸司 (結核研究所)]

### (7) 遅発育性抗酸菌における sliding 能の検討

結核菌など抗酸菌の特徴の一つとして、菌体表面を覆う厚い脂質層がある。これらの糖脂質は宿主に対する抗原性や薬剤標的として有用である一方、抗酸菌に sliding という性質を与えている。Sliding は菌増殖に伴って表面上を広がる性質であり、拡散する上で有効であると考えられる。これまで主に迅速発育抗酸菌にて sliding 能が報告されていたが、我々は抗結核ワクチン株の BCG も sliding することを確認した。このことから結核菌群においても sliding 能を有すると予想され、感染における関与の可能性も考えられる。現在日本で用いられている BCG Tokyo 172 株には遺伝学的に異なる二種の亜型が混在しており、亜型間で比較したところ BCG においてもコロニー性状と sliding 能が関連することが分かった。[岡部真裕子、大原直也、山本三郎 (日本 BCG 研究所)、小林和夫]

## 2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究

### (1) 劇症型溶連菌感染症における宿主好中球機能修飾

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、いったん発病すると急速に進行し、ショック症状、多臓器不全などを伴う、致死率の高い重篤な感染症である。本邦において、2000 年以降、劇症型感染起因菌として増加している *emm49* 型の *S. pyogenes* について、劇症感染患者分離株および非劇症感染患者分離株を収集し、それらに対するヒトの細菌感染防御機構の中心的役割を担う細胞群である好中球の防御能を解析した。その結果、劇症型分離株と非劇症型分離株に対する好中球貪食能に差異はなかったが、非劇症型分離株に比べて、劇症型分離株は好中球の殺菌に抵抗性を示すことが判明した。この機序として、劇症型分離株において高発現しているストレプトリシン O が、好中球にネクローシスを誘導することが原因と考えられた。好中球の直接障害に加えて、劇症株では、好中球の主要な走化因子インターロイキン 8 を分解するセリンプロテイナーゼである *ScpC* の発現が増強し、非劇症株と比べて、好中球遊走を抑制することが判明した。さらに、これらの病原性因子の発現増強は、劇症型感染分離株のみに認められる遺伝子発現調節因子 *csrS* の変異によって生じていることが判明した。以上の結果から、劇症型 *S. pyogenes* 感染症では *csrS*

の変異によって、病原因子ストレプトリシン O や *ScpC* の発現が増強し、感染局所への好中球走化抑制と好中球直接傷害により、感染部位に好中球浸潤を伴わない特異な病態による宿主防御機構の破綻を招来し、劇症型感染を惹起する可能性が示唆された。[阿戸 学、池辺忠義・渡邊治雄 (細菌第一部)、竹森利忠 (理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター)、小林和夫]

### (2) 劇症型溶連菌感染症における好中球傷害の分子機構

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症の機序として、劇症型感染分離株において高発現しているストレプトリシン O (SLO) が、好中球ネクローシスを誘導することが、その一因であることが判明した。劇症型と非劇症型分離株の間で SLO の産生量を比較したところ、劇症型分離株において有意な増加が認められた。しかし、培養上清中の SLO の産生量は、好中球障害を引き起こす閾値濃度より低いことが判明した。また、劇症型分離株の培養液のみを好中球と培養しても、好中球のネクローシスは誘導されなかった。このことから、劇症型分離株の SLO を介する好中球障害は、接触依存性に生じることが強く示唆された。この相互作用に係る分子を菌と好中球の共培養系で検索した結果、活性化型 CD11b に対する抗体の添加によって、ネクローシスが阻害され、ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) の添加によってほぼ完全に抑制された。以上より、劇症型分離株は、カルシウム依存的に好中球表面の  $\beta$  インテグリンに結合し、接触面で分泌する SLO により効果的に好中球傷害をもたらすことが示唆された。[阿戸 学、松村隆之、池辺忠義・渡邊治雄 (細菌第一部)、小林和夫]

## 3. 類鼻疽の宿主防御に関する研究

類鼻疽は *Burkholderia pseudomallei* によって起こる重篤で治療困難な感染症である。発症の主要な危険因子は糖尿病であるが、その発症機序に関する免疫学的検索はなされていない。本研究では、タイ人糖尿病患者および健康人より精製した好中球の *B. pseudomallei* に対する *in vitro* 防御機構を解析した。その結果、*B. pseudomallei* は他のグラム陰性菌であるサルモネラ菌や大腸菌に比べて好中球の貪食に対して抵抗性を示し、好中球内で 24 時間以上生存することから、好中球の殺菌に対しても他の菌と比べて抵抗性を示すことが判明した。さらに、糖尿病患者由来好中球は、健康人由来好中球に比べて *B. pseudomallei* 貪食能の低下と、IL-8 に対する遊走能の低下が認められた。殺菌能に関しては、糖尿病患者と健康人の間で差が認められなかった。以上より、類鼻疽で糖尿病が発症危険因子である理由として、糖尿病患者における好中球機能障害が原因である可能性が示唆された。[阿戸 学、Sujin Chanchamroen、Ganjana Lertmemongkolchai (Khon Kaen 大学、タイ王国)]

## 4. 細菌の運動性に関する分子機序

多くの細菌はべん毛と呼ばれる運動器官を持つ。べん毛基部には輸送装置が存在し、べん毛を特異的に輸送する。べん毛輸送装置に含まれる FliI

ATPaseは細胞質内でその調節因子であるFliHと複合体を形成し、膜タンパク質で構成される輸送ゲートにドッキングする際は六量体を形成する。FliIのN末領域はFliHとの相互作用だけではなく、オリゴマー化にも関与しているが、オリゴマー化の調節機構は謎のままであった。我々はFliIのN末領域について10残基欠損体を作成し、N末領域のはじめの20残基がFliHとの結合に必要とされること、N末領域の正確な立体構造がべん毛の輸送機能を発揮する上で重要な役割を担っていることを実証した。[岡部真裕子、南野 徹・今田勝巳・難波啓一（大阪大学大学院生命機能研究科）、May Kihara（Yale大学、アメリカ合衆国）]

### III. 原虫・寄生虫感染症

#### 1. 内蔵リ्यूシマニア症における防御免疫成立機構の解析

内蔵リ्यूシマニア症は致死的原虫感染症である。ヒトの病態を良く反映する感染マウスモデルを用いて、感染免疫の成立機構を解析した。その結果、感染初期に、大部分の原虫は脾臓周辺帯（MZ）マクロファージに貪食されるが、樹状細胞（DC）には貪食されない。しかし、DCはIL-12を産生し感染特異的T細胞免疫を誘導する。これより、感染初期には、原虫を貪食したマクロファージが、脾臓MZにおいて一部の樹状細胞に抗原および活性刺激を伝達していることが想定される。*L. donovani*感染初期における、マクロファージから樹状細胞への抗原情報の伝達機構を明らかにするため、マウスマクロファージに*L. donovani*をin vitroで感染させた後、非感染マウスに移入した。その結果、脾臓DCからIL-12産生が起り、マクロファージからDCへ抗原が伝達されることを明らかにした。現在、DC抗原の輸送がいかなる機構によるかを解析中である。[阿戸 学、Paul Kaye（York大学、英国）]

#### 2. マラリア原虫感染防御に関する研究

マラリア感染防御に必須な免疫因子を同定することを目的とし、マウスマラリア *Plasmodium chabaudi* 感染モデルを用いて、紫外線（UV）照射による抗マラリア免疫応答の抑制機構を解析した。その結果、UVによるマラリア原虫感染感受性の亢進は、抑制性サイトカインIL-10非依存性であることが、IL-10 KOマウスを用いた実験から確定された。今年度は、IL-10と同様に抑制性サイトカインとして知られている transforming growth factor (TGF)-betaについて検索した結果、抗TGF-beta抗体を投与しても、死亡率は改善せず、また延命効果も見られなかったことから、UV照射によるマラリア感染性亢進に関与する因子は、これら2つのサイトカイン以外の因子であることが考えられる。現在、UV照射による抑制性T細胞活性化とマラリア原虫感染感受性について検討を行っている。[山本紀一（協力研究員）、高橋宜聖、阿戸 学、竹森利忠（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター）]

#### 3. マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

##### (1) マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

ヒトのマンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*;

*S.m.*) 感染動物実験モデルとして、マウス *S.m.* 感染系を用いて、これまでの実験で弱毒化幼虫感作による比較的強い感染防御効果が得られている。弱毒化幼虫は、セルカリアの in vitro 培養系に弱毒化試薬としてDNA合成阻害剤を加えて作成している。今回は、引き続き、2つの目的の実験が行われた。1つは、アジュバント併用による防御効果の実験で、あと1つは、マウスへの感作後、どの程度の期間防御効果が持続するかの有効期間の実験である。前実験では、アジュバントにBCG、PPD、FK565、AlumやQuilAが用いられ、その効果では、QuilAを除き、いずれも単一では免疫増強は見られなかった。後の実験では、最終感作後、5週目に感染させたグループと33週目に感染させたグループで、感作をさせなかったグループとの間での平均防御効果の比較で、5週目が71%防御、33週目が56%防御であった。結論として、この感作では、半年以上は防御効果が持続することが認められた。現在、再感染に対する防御効果実験が検討されている。[平山中己、朝日博子（寄生動物部）、吉成正裕・南 陸彦（横浜市立大学大学院医学研究科）、金澤保（産業医科大学）]

##### (2) マンソン住血吸虫幼虫に対する抗体測定に関する研究

マンソン住血吸虫 (*S.m.*) 感染に対するワクチン作成に関するマウスモデル実験で、より強い防御効果の誘導に、弱毒化シストソミューラー (*S.m.* 幼虫) と或るアジュバントの組み合わせでの感作が良いことが判明した。この実験マウスの血清抗体価測定方法に関して、感作抗原 (弱毒化 *S.m.* 幼虫) に対する特異的抗体価の測定方法として、新たな方法を確立した。*S.m.* 幼虫に対する抗体価測定では、既に、幼虫可溶性抗原を用いた酵素抗体法 (ELISA) が報告されているが、この方法は、多量の *S.m.* 幼虫の準備で、手間と経費が掛る。より少ない *S.m.* 幼虫での特異的抗体価測定方法を確立する目的で、*S.m.* 幼虫の免疫染色方法を試みた。初めに、弱毒化 *S.m.* 幼虫感作マウス血清を用いて、フルオレセインイソシアネート (FITC) 結合二次抗体による免疫染色を行った。結果は、不鮮明であった。次に、文献に基づき、アラキドン酸処理後の弱毒化 *S.m.* 幼虫を固定し、同様の免疫染色を行った。結果は、鮮明な免疫染色であった。そこで、マウス血清を段階希釈し、*S.m.* 幼虫に対する血清抗体価を測定したところ、報告されている ELISA よりも感度良く力価測定が可能であることが判明した。[平山中己、吉成正裕・南 陸彦（横浜市立大学大学院医学研究科）]

### IV. プリオン病

#### 1. 異常プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播機構の研究

いわゆる「コンフォーメーション病」の典型的な原因分子である異常型プリオン蛋白質は、牛海綿状脳症 (BSE) 由来危険部位を摂取することにより体内に侵入し、長期潜伏期間を経て海綿状脳症を引き起こす。この過程には神経系と共に免疫系細胞が異常型プリオン蛋白質の伝播に関与することが知られている。これまでの研究で、免疫系と神経系に発現する表面電荷に富む蛋白質分子

S100B が異常型プリオンの N 末端と相互作用する可能性が示唆されているが、マウス神経芽細胞 (ScN2a) を用いた異常型プリオン蛋白質形成 *in vitro* 実験系等を用いての証明は困難であった。S100B 蛋白質の立体構造と正常型プリオン蛋白質の N 末端の、特に静電的な相互作用を解析するために、分子動力学的手法を用いたシミュレーションを行った。短時間 (2 ナノ秒) の計算結果から、両ドメインが静電的に相互作用する可能性が示唆されたが、さらに計算を進め解析を続けている。この相互作用が、プリオン立体構造の正常型から異常型への変換に関与するという作業仮説を検討することによりコンフォーメーション病の病因理解を目指す。[大西 和夫、山口 沙由里 (非常勤職員) ]

## V. 免疫機能に関する研究

### 1. プレ B 細胞受容体の機能に関する研究

抗体産生 B 細胞は骨髄内で細胞分化を進め、この過程で抗体遺伝子の再編成を行い、抗原認識多様性を発生させる。ここで生み出される膨大な数の抗原認識特異性を管理する上で中心的な役割を果たす要素の一つがプレ B 細胞受容体であり、効率的な免疫系を構築する上で不可欠な役割を果たす。この抗原認識特異性管理の分子機構を解明することは免疫系の基本的理解を進めるとともに、ワクチン開発、抗体医薬品作製の新しい技術基盤を与える。プレ B 細胞受容体は抗体 H 鎖と代替 L 鎖からなり、我々はこの受容体のうち非免疫グロブリン (non-Ig) 領域が受容体活性化に重要な働きを担うことを明らかにしてきた。突然変異を導入したプレ B 細胞受容体の再構築実験から、代替 L 鎖の機能に関するいくつかの重要な予測を得ているが、それらの分子レベルの裏付けを得るためにホモロジーモデリングおよび分子動力学法による解析を続けている。抗体の抗原認識特異性を飛躍的に高める技術基盤の開発を目指している。[大西和夫、傳 舟一 (筑波大学大学院生命環境科学)、Lill Martensson (Babraham Institute、英国)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国)、藤本浩文 (放射能管理室)、野口 保 (産業技術総合研究所) ]

### 2. 抗体産生 B 細胞分化における BILL カドヘリンの機能に関する研究

革新的なワクチン技術の一つの標的は免疫記憶を増強する技術であり、本研究の目的は、抗体産生 B 細胞の記憶形成に関与する分子機構を解析し、記憶 B 細胞制御技術を開発することにある。BILL カドヘリン (cadherin-17) は抗体産生 B 細胞分化の過程で spatiotemporal な発現制御を受けており、この分子の遺伝子欠損マウスでは記憶 B 細胞の形成・機能が低下することが示唆されている。また、DNA マイクロアレイの結果から記憶 B 細胞にこの分子の mRNA が強く発現していることが示されている。BILL カドヘリンが  $Ca^{2+}$  依存性細胞接着因子であることから、この分子が記憶 B 細胞の形成・貯蔵ニッチに関与すると考えて研究を進め、ワクチン技術に記憶 B 細胞形成促進効果を付与することを目標としている。[傳 舟一・沼田 治 (筑波大学大学院生命環境科学)、清水健之 (札幌医科大

学)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国)、小林和夫、大西和夫]

### 3. 腸管上皮細胞に発現するカドヘリン・ファミリー分子と病原体細胞侵入機構に関する研究

腸管は主要な病原体侵入部位の一つであり、腸管上皮には細菌・ウイルスの侵入標的分子が多数局在する。例えば E カドヘリンが、重篤な食中毒を引き起こすリステリア菌の細胞侵入標的分子であることはよく知られる。我々がクローニングした BILL カドヘリンは E カドヘリン同様腸管上皮細胞頂部に高度に発現することから、病原細菌を含む腸内細菌叢と相互作用している可能性が高い。家畜の Johne 病を引き起こす抗酸菌 (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*) は腸管全面の上皮細胞に接着して細胞内に侵入し、Crohn 病を含む炎症性腸疾患 (IBD) との関連が指摘されているが、この菌の腸管上皮細胞への侵入機構ならびに腸管免疫機能との相互作用については不明な点が多い。腸管上皮頂部の BILL カドヘリンを侵入標的とする病原体をスクリーニングする *in vitro* 実験系を既に構築しており、これを用いて腸内病原体侵入機構への関与について Crohn 病との関連を中心に検討している。[傳 舟一・沼田 治 (筑波大学大学院生命環境科学)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国)、小林和夫、大西和夫]

### 4. 粘膜ワクチンデリバリーシステムへの応用を見据えた M 細胞の免疫生物学的解析

腸管などの粘膜上皮層には抗原取り込み能を有する M 細胞が存在する。パイエル板 M 細胞はその発生・分化が胎生期でプログラムされているのに対し、吸収上皮細胞も腸内環境変化により M 細胞様に分化することを見出した。パイエル板 M 細胞・M 細胞様細胞・吸収上皮細胞の 3 群について DNA マイクロアレイ・*in situ* ハイブリダイゼーション・免疫組織染色による mRNA と蛋白発現解析の結果、glycoprotein 2 (GP2) および MARCKS-like protein がパイエル板 M 細胞に特異的に発現することが明らかとなった。特に、GP2 はパイエル板 M 細胞の管腔面にも局在することから、ワクチンデリバリーの際の新たな標的分子になりうる (J. Immunol. 108: 7840-7846, 2008)。[寺原和孝、吉田理人・五十嵐脩・野地智法・Pontes, G.S・後藤義幸・黒河志保・目島未央・高山直子・幸 義和・清野宏 (東大医科研)、長谷耕二・大野博司 (理化学研究所)、Lowe, A.W. (Stanford 大学、アメリカ合衆国) ]

### 5. マクロファージによる感染初期応答を制御する新規チロシンリン酸化タンパク質の機能解析

生体は病原体の感染を受けると、マクロファージや樹状細胞などの食細胞に発現する Toll 様受容体 (TLR) ファミリーを介して多様な病原体成分を認識し、炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ , IL-6) の産生などの宿主応答を行う。本研究では TLR4 シグナルにおけるチロシンリン酸化ネットワークの全体像を解明し、宿主応答の分子機構の理解を深め、その知見を応用した感染応答の制御を目指す。今回我々は、プロテオミクス技術 SILAC (Stable



## 免疫部

isotope labeling by amino acids in cell culture) を用いて、RAW264.7 マクロファージ細胞株の TLR4 シグナルにおけるチロシンリン酸化タンパク質の経時的かつ網羅的な同定と、そのリン酸化変動の定量解析を行った。その結果、p38、ERK、SHIP、Fes、Pyk2、PLC- $\gamma$ 2 など既知のタンパク質や、38 個の新規タンパク質候補を含む合計 61 個のタンパク質の同定に成功した。また、同定されたチロシンリン酸化タンパク質について RNAi を用いた機能解析を行い、TNF- $\alpha$  の産生には影響しないが、IL-6 および抗炎症性サイトカイン IL-10 の産生を調節する新規因子を見出した。現在、新規因子が制御するシグナル伝達経路の詳細な解析を進めている。[松村隆之、石川公輔・井上貴史・仙波憲太郎（早稲田大学理工学術院）、尾山大明・秦 裕子・井上純一郎（東大医科研）]

### 6. TIFA 関連タンパク質 TIFAB の機能解析

Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-interacting protein with a forkhead-associated domain (TIFA) は TRAF6 を活性化し、細胞の増殖や成熟化に関わる転写因子 NF- $\kappa$ B の活性化を誘導する。TIFA 関連タンパク質 TIFAB は TIFA による NF- $\kappa$ B の活性化を阻害するが、TIFAB を発現する細胞の種類やその細胞での機能はほとんど知られていなかった。今回我々は、①TIFAB が T 細胞よりも B 細胞に発現し、さらに B 細胞よりも樹状細胞やマクロファージにおいて高発現していること、②TIFAB の発現は TRAF6 が誘導する細胞増殖シグナルあるいは成熟化シグナルによって負に制御されていること、③TIFAB は細胞周期の S 期移行を阻害することを明らかにした。以上の結果から TIFAB は、TRAF6 が誘導する B 細胞の増殖およびマクロファージや樹状細胞の成熟化における負の制御因子であると考えられた（論文投稿中）。[松村隆之、仙波憲太郎（早稲田大学理工学術院）、都竹順子・山本 雅・井上純一郎（東大医科研）]

## VI. 骨髄造血機構に関する研究

### 1. 骨髄不全症と造血ニッチに関する研究

再生不良性貧血 (aplastic anemia)、骨髄線維症 (myelofibrosis)、骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome、MDS) などの血液難病で観察されるリンパ球減少症 (lymphocytopenia) と骨髄不全症 (bone marrow failure) は、薬物 (抗がん剤や免疫抑制剤)、放射線療法、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) による感染等の外因性要因 (続発性免疫不全) と造血細胞の内因的欠損 (先天性免疫不全) によって分類される。しかし、それぞれの病因と発症機構の詳細は不明な点が多く、疾患モデル動物実験を基盤にした研究の必要性が高まっている。骨髄不全症を呈する *Translin* 遺伝子欠損 (TSN-KO) マウスでは、好中球などの顆粒球のみならず B 細胞や  $\gamma\delta$ T 細胞の成熟停止も観察される。さらに造血幹細胞の増加も骨髄で認められることから、造血幹細胞の複製と各血球細胞への分化振り分け異常が骨髄不全症の原因であると考えられる。また、以上の現象は正常マウスの骨髄を TSN-KO マウスに移植した場合にも観察された。すなわち、TSN-KO マウスの骨髄不全症は、造血幹細胞

(Lin<sup>-</sup>, Sca1<sup>+</sup>, c-Kit<sup>+</sup>) によるものではなく、造血幹細胞を取り囲む支持細胞であるニッチの異常に起因していることを示唆している。[石田礼子・福田裕子 (非常勤職員)、齋藤祐美・浅野茂隆 (早稲田大学理工学術院)、中原一彦 (大学評価・学位授与機構)、葛西正孝]

### 2. 間葉系幹細胞分化と造血制御に関する研究

骨髄ニッチの異常が、造血幹細胞の自己複製と骨髄系前駆細胞への分化振り分けを攪乱して骨髄不全症を誘発するという結論に基づき、TSN-KO マウスの骨髄ニッチを含むストローマで大きく変動する遺伝子を cDNA microarray と miRNA microarray によって解析した。その結果、cDNA microarray で明らかになった遺伝子は、血管内皮細胞と白血球の浸潤等、炎症反応に關係する CD99 であった。また、抗 CD99 抗体を用いた酵素抗体法によって、TSN-KO マウス骨髄に顕著な血管新生が観察されることを明らかにした。さらに、骨髄内に褐色脂肪細胞が蓄積していることを褐色脂肪細胞特異抗体、UCP-1 で同定した。既に報告したように、TSN-KO マウスの骨髄においては、海綿骨や骨芽細胞数の異所的な形成が認められる。加えて、血管新生と褐色脂肪細胞の蓄積が認められたことは、骨芽細胞、血管内皮などの骨髄ニッチを形成する間葉系幹細胞が TSN 遺伝子の標的であることを示唆している。今後、間葉系幹細胞に焦点を当てた研究が、血液難病の効果的な治療法に発展するものと期待される。[石田礼子・福田裕子 (非常勤職員)、齋藤祐美・浅野茂隆 (早稲田大学理工学術院)、中原一彦 (大学評価・学位授与機構)、葛西正孝]

## 品質管理に関する業務

### I. 急性 A 型ウイルス (HAV) 肝炎診断薬承認前審査業務

A 型肝炎ウイルス (HAV) 抗体体外診断薬の承認前検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を進めている。これまでに HAV 集団感染に際して収集した IgM 型 HAV 抗体陽性血清パネルに加え、日本赤十字社の協力を得て IgG 型抗 HAV 抗体陽性国内血清を収集し、高品質の検体パネルを作製することができた。急性 A 型肝炎の発生報告数は年々減少傾向にあり、HAV 抗体陽性血清の確保が困難になってきている。今後さらに HAV 抗体陽性血清をインフォームドコンセントに基づき、患者から提供を受け、その品質を管理して HAV 抗体国内血清パネルの整備を続ける。この整備事業は、「医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業：ウイルス感染症の体外診断薬の再評価に関する基盤整備に関する研究」(研究代表者：山口一成 血液・安全性研究部長) の支援により進めている。[大西和夫、山口沙由里 (非常勤職員)、小林和夫]

## 国際協力関係業務

### I. タイ王国の感染症拠点における国際交流

タイ王国感染症拠点の研究者と病原細菌ゲノム情報の共有、および研究者の相互交流を目的として、国際協力室と共同で、国立感染症研究所の細菌研究



者間に横断的研究ネットワークを形成し、マヒドン大学シリラート病院微生物学研究室の研究者との直接交流を通じて、国際研究協力プロジェクトの端緒を形成した。

[阿戸 学、山根一和・堀野敦子（細菌第二部）、大原直也、川端寛樹・大西 真（細菌第一部）、黒田 誠（病原体ゲノム解析研究センター）、堀田明豊・井上 智（獣医学部）、安藤秀二（ウイルス第一部）、中嶋建介（国際協力室）、Patarachai Kiratisin（マヒドン大学シリラート病院微生物学研究室、タイ王国）]

## 研修業務

### I. 石川県立田鶴浜高等学校研修

医学、獣医学や生物学領域に進学を考えている高校生に、2008年7月28日、講義や施設見学を実施した。[小林和夫]

### II. 医師卒後臨床研修

医師卒後臨床研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、2008年12月18日、講義した。[小林和夫]

### III. 高校生を対象としたシンポジウム：エイズ

国立国際医療センター研究所、国立健康・栄養研究所、東京女子医科大学、早稲田大学と共にアウトリーチ活動を行い、その一環として国立感染症研究所において高校生を対象としたシンポジウム：2008年度第2回箱根山周辺の身近な医療先端科学「エイズ」を2008年11月8日、主催した。[大島正道]

## 共同利用機器管理

機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。その結果、平成20年度細胞自動解析装置の使用は、566回、1,234時間であった。また、機器使用者が円滑に実験を遂行できるよう、機器の定期的な点検を行い、故障等のトラブルには早急に対処した。新規解析装置の導入に際し、機器操作に関する講習会を開催した。さらに不慣れな使用者や、特殊な操作法を希望する使用者に関しては、個別に技術指導を行った。[渡辺恵理（非常勤職員）、高橋宜聖、小林和夫]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Chanchamroenl S, C. Kewcharoenwongl, W. Susaengrat, M. Ato, G. Lertmemongkolchai. 2009. Human polymorphonuclear neutrophil responses to *Burkholderia pseudomallei* in healthy and diabetic subjects. *Infect. Immun.* 77: 456-463.
- 2) Yokoyama S, Y. Ito, H. Ueno-Kudoh, H. Shimizu, K. Uchibe, K. Mitsuoka, S. Miyaki, M. Kiso, A. Nagai, N. Fukuda, L. Puri, M. Kasai, Y. Hayashizaki, H. Okado, M. Hashimoto, H. Asahara. 2009. Systems approach reveals myogenesis genome network anchored by transcription repressor Rp58. *Dev. Cell* In press.
- 3) Okado H, C. Ohtaka-Maruyama, Y. Sugitani, Y. Fukuda, R. Ishida, S. Hirai, A. Miwa, A. Takahashi, K. Aoki, K. Mochida, O. Suzuki, T. Honda, K. Nakajima, M. Ogawa, T. Terashima, J. Matsuda, H.

- Kawano, M. Kasai. 2009. The transcriptional repressor RP58 is crucial for cell-division patterning and neuronal survival in the developing cortex. *Dev. Biol.* 331:140-151.
- 4) Okabe, M., T. Minamino, K. Imada, K. Namba, and M. Kihara. 2009. Role of the N-terminal domain of FliI ATPase in bacterial flagellar protein export. *FEBS Lett.* 583: 743-748.
- 5) Mitsuki YY, K. Ohnishi, H. Takagi, M. Oshima, T. Yamamoto, F. Mizukoshi, K. Terahara, K. Kobayashi, N. Yamamoto, S. Yamaoka, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. A single amino acid substitution in the S1 and S2 spike protein domains determines the neutralization escape phenotype of SARS-CoV. *Microbes Infect.* 10: 908-915.
- 6) Ato M, T. Ikebe, H. Kawabata, T. Takemori, H. Watanabe. 2008. Incompetence of neutrophils to severe invasive group A *streptococcus* isolates is attributed to enhancing expression of plural virulence factors by null-function of a regulatory gene. *PLoS ONE* 3: e3455.
- 7) Onodera, T, J. C. Poe, T. F. Tedder, and T. Tsubata. 2008. CD22 regulates time course of both B cell division and antibody response. *J. Immunol.* 180: 907-913.
- 8) Naito, M., H. Hirakawa, A. Yamashita, N. Ohara, M. Shoji, H. Yukitake, K. Nakayama, H. Toh, F. Yoshimura, S. Kuhara, M. Hattori, T. Hayashi, and K. Nakayama. 2008. Determination of the genome sequence of *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 and genomic comparison with strain W83 revealed extensive genome rearrangements in *P. gingivalis*. *DNA Res.* 15: 215-225.
- 9) Yoshimura, M., N. Ohara, Y. Kondo, M. Shoji, S. Okano, Y. Nakano, Y. Abiko, and K. Nakayama. 2008. Proteome analysis of *Porphyromonas gingivalis* cells placed in a subcutaneous chamber of mice. *Oral Microbiol. Immunol.* 23: 413-418.
- 10) Ohnishi, K. 2008. Establishment and characterization of monoclonal antibodies against SARS-CoV. SARS and Other Coronaviruses. *Strategies and Protocols* (ed. David Cavanagh). The Humana Press Inc., 191-204.
- 11) Fujiwara, N., and K. Kobayashi. 2008. Chapter IV. Mycobacterial glycolipids and host responses. *Glycolipids: New Research*. Sasaki, D., editor. Nova Science Publishers: New York/USA. 99-116. ISBN: 978-60456-216-3
- 12) Kitada, S., K. Kobayashi, S. Ichiyama, S. Takakura, M. Sakatani, K. Suzuki, T. Takashima, T. Nagai, I. Sakurabayashi, M. Ito, and R. Maekura. 2008. Serodiagnosis of *Mycobacterium avium*-complex pulmonary disease using an enzyme immunoassay kit. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177: 793-797.
- 13) Nakata, N., N. Fujiwara, T. Naka, I. Yano, K. Kobayashi, and S. Maeda. 2008. Identification and characterization of two novel methyltransferase genes that determine the serotype 12-specific structure on glycopeptidolipids of *Mycobacterium intracellulare*. *J. Bacteriol.* 190: 1064-1071.
- 14) Fujiwara, N., N. Nakata, T. Naka, I. Yano, M. Doe, D. Chatterjee, M. McNeil, P. J. Brennan, K. Kobayashi, M. Makino, S. Matsumoto, H. Ogura, and S. Maeda. 2008. Structural analysis and biosynthesis gene cluster of an antigenic glycopeptidolipid from *Mycobacterium intracellulare*. *J. Bacteriol.* 190: 3613-3621.

2. 和文発表

- 1) 池辺忠義、阿戸 学、小林和夫、渡辺治雄. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序-菌の特徴と免疫回避機構-. BIO Clinica 北隆館 23: 1321-1326.
- 2) 鏑田武志、小野寺大志. 2008. シグレックによるB細胞のシグナル制御、蛋白質 核酸 酵素 (9月増刊号: 糖鎖情報の独自性と普遍性: 古川綱一・遠藤玉夫・岡 昌吾・本家孝一・加藤晃一 編) 53 : 1636-1640.
- 3) 大原直也. 2008. ハンセン病. 微生物の事典 (渡邊 信、西村和子、内山裕夫 編) 東京: 朝倉書店. 470-471. ISBN: 978-4-254-17136-5.
- 4) 大原直也、小林和夫. 2008. 結核菌. バイオセーフティの辞典. 病原微生物とハザード対策の実際 (バイオメディカルサイエンス研究会 編) 東京: みみずく舎. 194-197. ISBN: 978-4-87211-903-9.
- 5) 小林和夫、菅原 勇. 2008. ミニシンポジウム I. ワクチン研究の現在と将来. 結核 83 : 635-640.
- 6) 松本壮吉、小林和夫. 2008. 結核ワクチン研究の現状と展望. 臨床検査 52 : 1149-1153.
- 7) 小林和夫. 2008. 再興した感染症「結核」の診断・治療・予防法. Biophilia 4 : 30-34.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Gotoh, Y., Obata, T., O. Igarashi, K. Terahara, T. Nochi, J. Kunisawa, S. Satoh, M. Sakamoto, T. Matsuki, Y. Umetsaki, Y. Benno, and H. Kiyono. 2008. Influence of commensal bacteria on the induction of UEA-1<sup>+</sup> NKM-16-2-4<sup>+</sup> cells in small intestine. The 95th Annual Meeting of the American Association of Immunologist (San Diego, CA, USA, 4月).
- 2) Ohara, N., M. Okabe, M. Yoshimura, K. Nakayama, and K. Kobayashi. 2008. Contribution of NADPH oxidative activity of thymidylate synthase ThyX to growth of BCG. US-Japan Cooperative Medical Science Program. Forty-third Annual Tuberculosis and Leprosy Conference. (Baltimore, MD, USA, 5月).
- 3) Ami, Y., K. Ishii, Y. Tsunetsugu-Yokota, N. Nagata, H. Hasegawa, and F. Taguchi. 2008. Fatal exacerbated pneumonia of mice induced by co-infection of respiratory bacterium and SARS-CoV. XIth International Symposium on Nidoviruses (Oxford, UK, 6月).
- 4) Ishii, K., H. Hasegawa, N. Nagata, Y. Ami, S. Fukushi, F. Taguchi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. SARS-CoV Spike-reactive neutralizing antibody is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. XIth International Symposium on Nidoviruses (Oxford, UK, 6月).
- 5) Kasai M, R. Ishida, Y. Fukuda. 2008. Increased Symmetric Division of Hematopoietic Stem Cells is associated with Cell Cycle Delay in the S/G2/M Phase. The Mount Desert Island Stem Cell Symposium (Salisbury Cove, ME, USA, 8月).
- 6) Yamamoto, T., N. Iwamoto, H. Yamamoto, T. Tsukamoto, T. Kuwano, A. Takeda, M. Kawada, Y.

Tsunetsugu-Yokota, and T. Matano. 2008. SIV-specific functional T-cell induction after passive neutralizing antibody immunization postinfection. The 8<sup>th</sup> Awaji International Forum of Infection and Immunity (淡路島、9月).

- 7) Terahara, K., F. Mizukoshi, T. Yamamoto, Y-Y. Mitsuki, T. Tsuchiya, K. Kobayashi, and Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. HIV-1 Nef dysregulates the innate immune function of macrophages, The 8<sup>th</sup> Awaji International Forum of Infection and Immunity (淡路島、9月).
- 8) Ikebe, T., M. Ato, K. Kobayashi, H. Watanabe. 2008. Impairment of global regulatory network of *Streptococcus pyogenes* virulence genes provokes neutrophil incompetence and subsequent streptococcal toxic shock-like syndrome. Forum of the network of research centers on infectious diseases (Hanoi, Socialist Republic of Viet Nam, 10月).
- 9) Ato, M. 2008. Escape mechanisms of severe invasive group A *streptococcus* from killing by neutrophils. 4th International Infection Control of Theodor Bilharz Research Institute (Giza, Arab Republic of Egypt, 11月).

2. 国内学会

- 1) 大原直也、吉村満美子、岡部真裕子、中山浩次、小林和夫. 2008. *thyX* 遺伝子欠損株の作製による抗酸菌チミジル酸合成酵素の解析. 第78回実験結核研究会 (東京、4月).
- 2) 小林和夫、菅原 勇. 2008. ワクチン研究の現状と将来 (ミニシンポジウム). 第83回日本結核病学会総会 (東京、4月).
- 3) 松本壮吉、藤原永年、吉村満美子、尾関百合子、西内由紀子、小林和夫. 2008. Mycobacterial DNA-binding protein 1 (MDP1) による増殖と細胞壁合成の同調メカニズム. 第83回日本結核病学会総会 (東京、4月).
- 4) 平山幸雄、吉村満美子、尾関百合子、菅原 勇、青木俊明、西内由紀子、小林和夫. 2008. ヒアルロン酸の結核病巣における産生と局在. 第83回日本結核病学会総会 (東京、4月).
- 5) 仁木 誠、松本壮吉、和田崇之、小林和夫. 2008. 抗酸菌の薬剤感受性における MDP1 の調節機構の解析. 第83回日本結核病学会総会 (東京、4月).
- 6) Yamamoto, T., N. Iwamoto, H. Yamamoto, T. Tsukamoto, T. Kuwano, A. Takeda, M. Kawada, Y. Tsunetsugu-Yokota, and T. Matano. 2008. SIV-specific functional T-cell induction after passive neutralizing antibody immunization postinfection. 9th AIDS Seminar in KUMAMOTO (熊本、9月).
- 7) Mitsuki, Y-Y, T. Yamamoto, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2008. Selective transmission of R5 HIV-1 over X4 HIV-1 at the dendritic cell? T cell infectious synapse is determined by the T cell activation state. 9th AIDS Seminar in KUMAMOTO (熊本、9月).
- 8) 菊池有一郎、大原直也、上田青海、平井 要、柴田幸永、中山浩次、藤村節夫. 2008. *Porphyromonas gingivalis* ECF シグマ因子 PG0162 変異株の性状解析. 第50回歯科基礎医学学会学術大会・総会 (東京、9月).
- 9) 山本拓也、光木裕也、水越文徳、寺原和孝、

## 免疫部

- 稲垣好雄、山本直樹、横田(恒次)恭子. 2008. 樹状細胞の抗原提示に伴う感染シナプスを介した R5 型 HIV-1 選択的伝播機構の解析. 第 56 回ウイルス学会学術集会(岡山, 10月).
- 10) 岩本 南、山本拓也、山本浩之、塚本徹雄、桑野哲矢、川田真幹、横田(恒次)恭子、俣野哲朗. 2008. 感染急性期の中和抗体受動免疫による細胞性免疫誘導および長期の SIV 複製抑制効果. 第 56 回ウイルス学会学術集会(岡山, 10月).
- 11) 高橋宜聖、阿戸 学、二宮 愛、長谷川秀樹、小田切孝人、佐多徹太郎、田代真人、小林和夫. 2008. H5N1 (NIBRG-14) ワクチンの感染防御効果には、抗ヘマグルチニン抗体と抗ノイラミニダーゼ抗体の両者が関与する. 第 12 回日本ワクチン学会学術集会(熊本, 11月).
- 12) 水越文徳、山本拓也、光木裕也、寺原和孝、小林和夫、横田(恒次)恭子. 2008. Nef 蛋白質発現に伴うマクロファージの自然免疫機能異常に関する解析. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会(大阪, 11月).
- 13) 吉田理人、寺原和孝、野地智法、GS. Pontes、長谷耕二、大野博司、幸 義和、清野 宏. 2008. 抗原取り込み M 細胞における網羅的遺伝子発現解析-パイエル板 M 細胞における GP2、MLP 遺伝子の特異的発現. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 14) Pontes, G.S.、吉田理人、野地智法、長谷耕二、大野博司、寺原和孝、幸 義和、清野 宏. 2008. Glycoprotein 2 はパイエル板 M 細胞の管腔膜に特異的に発現しているが、絨毛 M 細胞には発現していない. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 15) 阿戸 学、小林和夫. 2008. 劇症型溶血性レンサ球菌の好中球障害機構. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 16) 満栄 勇、小野寺大志、鏑田武志. 2008. Increased Tonic B cell Antigen Receptor Signaling but Reduced Antigen-induced B cell Response in Transgenic B cells Expressing IgG. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 17) Tan, C., H. Yamada, K. Shibata, H. Muta, N. Ohara, W. Wajjwalku, E.R. Podack, and Y. Yoshikai. 2008. CD30L/CD30 signaling by T-T cell interaction augments Th1 responses. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 18) Shuichi Fu, M. Kubota, Y. Takahashi, O. Numata, K. Kobayashi, F. Melchers, K. Ohnishi. 2008. Expression pattern of BILL-cadherin/cadherin-17 on B lymphocytes and immune organs: Search for the linkage between homing ability and B cell function. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 19) 柳橋 努、細野 朗、津田真人、八村敏志、高橋宜聖、伊藤喜久治、高橋恭子、上野川修一. 2008. バクテロイデスは胚中心の形成を促すことで大腸 IgA 産生を強く誘導する. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 20) 小川晋平、倉岡雅征、梅田幸子、高橋宜聖、紅露 拓、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志. 2008. パイエル板 CD3-IL-2R+ 細胞によるクラススイッチの誘導および IgA 分泌の促進. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 21) 高橋宜聖、小野寺大志、加地友弘、北村 浩、竹森利忠、小林和夫. 2008. IgA+ memory B cells persist in the lung after an intranasal infection with influenza virus. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 22) Tomizawa, K., T. Nagao, M. Oshima, K. Kobayashi, and K. Suzuki. 2008. MPO-ANCA specific IgG2b subclass disease by treatment with 15-deoxyspergualin in SCG/Kj mice. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 23) 鄒 軍、前原康宏、長尾朋和、戸高玲子、大島正道、小林和夫、志賀由紀、河内正治、中山俊憲、鈴木和男. 2008. The pathological findings of lung involved in cytokine storm from animal model of acute respiratory distress syndrome (ARDS). 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都, 12月).
- 24) 北里海雄、高塚昌孝、熊 盛、布施隆行、郭朝万、劉 格、大原直也. 2008. MIP-T3 の C 末端は微小管結合と蛋白質の安定性制御に重要である. BMB2008: 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会(神戸, 12月).
- 25) 藤本浩文、傳舟一、泰地真弘人、作 道隆、高田直子、土田耕三、大西和夫. 2008. 分子動力学法を用いたブレ B 細胞レセプター non-Ig 領域の相互作用の解析. BMB2008: 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会(神戸, 12月).
- 26) 松村隆之、池辺忠義、渡邊治雄、小林和夫、阿戸 学. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株によるヒト好中球ネクロシス誘導機構の解析. 第 7 回感染症沖縄フォーラム(沖縄, 2月).
- 27) 大原直也、岡部真裕子、吉村満美子、中山浩次、小林和夫. 2009. BCG におけるチミジル酸合成酵素 ThyX の研究. 第 7 回感染症沖縄フォーラム(沖縄, 2月).
- 28) 横田恭子. 2009. ウイルス感染に対する生体防御機能とワクチン. 第 27 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会・スポンサードレクチャー(千葉, 2月).
- 29) 阿戸 学、池辺忠義、渡邊治雄、小林和夫. 2009. 劇症型感染分離溶血性レンサ球菌株はストレプトリシン O および接触依存的にヒト好中球を障害する. 第 82 回日本細菌学会総会(名古屋, 3月).
- 30) 池辺忠義、阿戸 学、川端寛樹、小林和夫、渡邊治雄. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症臨床分離株における *csrS* 変異の解析. 第 82 回日本細菌学会総会(名古屋, 3月).
- 31) 大西 真、阿戸 学、志牟田健、渡邊治雄. 2009. 腸管外病原性大腸菌の好中球の食菌作用抵抗性. 第 82 回日本細菌学会総会(名古屋, 3月).
- 32) 松本壮吉、小林和夫. 2009. Tuberculosis, from biology to development of control strategies (シンポジウム). From the functions of a protein to

- molecular pathogenesis of mycobacteria (国際シンポジウム). 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
- 33) 立石善隆、平山幸雄、尾関百合子、西内由紀子、吉村満美子、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗酸菌感染症研究における新たな視点 (ワークショップ 15). 急速な臨床経過に合致した高病原性 *Mycobacterium avium-intracellulare* complex 菌株の同定. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 34) 平山幸雄、吉村満美子、尾関百合子、菅原 勇、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗酸菌感染症研究における新たな視点 (ワークショップ 15). 結核菌の増殖に対するヒアルロン酸の作用. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 35) 大原直也、岡部真裕子、吉村満美子、中山浩次、小林和夫. 2009. 抗酸菌感染症研究における新たな視点 (ワークショップ 15). BCG におけるチミジル酸合成酵素 ThyX の意義. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 36) 岡部真裕子、大原直也、山本三郎、小林和夫. 2009. BCG Tokyo 172-I 型および-II 型株における sliding 能の差異. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 37) 岡真優子、小林和夫、松本壮吉. 2009. 結核菌感染マクロファージにおける hypoxia-inducible factor-1alpha の作用機構. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 38) 仁木 誠、吉村満美子、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗酸菌の薬剤感受性における MDP1 の調節機構の解析. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 39) 尾関百合子、原田 誠、西内由紀子、山本三郎、小林和夫、松本壮吉. 2009. 抗結核薬スクリーニング系の確立と実践. 第 82 回日本細菌学会総会 (名古屋、3 月).
  - 40) 高橋宜聖、小野寺大志、小林和夫. 2008. インフルエンザウイルスの感染防御に寄与するメモリーB 細胞の同定. 日本農芸化学会 2009 年度大会 (福岡、3 月).

### III. 特許 (公開)

- 1) Tsubata, T, T. Onodera. "Methods for promoting immune response comprising inhibiting CD22 function in B cells", 公開日 2008 年 7 月 3 日. 国際特許公開番号: (WO/2008/078673).