

7. 感 染 病 理 部

部長 長谷川秀樹

概 要

1. 人事等

感染病理部の職員数は現在 13 名で、内訳は、部長 1 名、室長 3 名、主任研究官 8 名、研究員 1 名である。戸山庁舎に 10 名の職員と再任用職員 1 名、村山庁舎に 3 名の職員が在籍している。4 月 1 日より長谷川秀樹が部長に着任した。小島朝人は平成 23 年度も引き続き時間給再任用職員として部の業務等に貢献した。インフルエンザウイルス研究センター研究員の相内章は引き続き感染病理部に併任している。また非常勤職員として、戸山庁舎の電子顕微鏡室に齋藤典子、金子（田中）恵子が、村山庁舎の電子顕微鏡室に片岡紀代と藤野美穂子が所全体の業務に対応した。戸山では奥田薫、茂住あゆみが業務補助を行った。

2. 感染病理部の研究業務

感染病理部で行われた研究・業務の概要は次のとおりである。

調査・研究

I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるレファレンスとしてのウイルス等の感染症に関する研究
2. ウイルス感染症の診断に関する研究
3. ヘルペスウイルス感染症に関する研究
4. インフルエンザ感染症に関する研究
5. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究
6. 腸管出血性大腸菌感染症に関する研究

II. ウイルス感染の発生機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究
2. ATL (HTLV-1) に関する研究
3. インフルエンザウイルスに関する研究
4. SARS コロナウイルスに関する研究
5. 海外からの侵入が危惧される野生鳥獣媒介性感染症の疫学、診断・予防法に関する研究
6. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究
7. 新規カルジオウイルスの病理学的診断法に関する

研究

8. HIV に関する研究
 9. 狂犬病に関する研究
 10. 風疹ウイルスに関する研究
- #### III. ワクチンに関する研究
1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
 2. フラビウイルスワクチンの開発
 3. HIV-1 ワクチンの開発
 4. SARS-CoV のワクチンに関する研究
- #### IV. プリオンに関する研究
1. BSE 由来プリオンの感染性を評価する新規トランスジェニックマウスの開発
 2. ヒトプリオン病の早期診断系の開発
- #### V. 厚生労働省共同利用機器の運用
1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用
- #### VI. 機器管理運営委員会機器の運用
1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡
 2. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

品質管理に関する業務

1. 検定検査
2. 行政検査

国際協力関係業務

業 績

調査・研究

I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるレファレンスとしてのウイルス等の感染症に関する研究
国内外の医療ならびに医学教育施設との共同研究として生検、手術、剖検組織材料におけるウイルス等の感染症について病理学的に検索している。2011 年度、人体由来検体数は 85 症例であった。検索の結果、JC ウイルス感染 4 例、インフルエンザウイルス感染 2 例、ヘルペスウイルス 1 型感染 2 例他 EB ウイルス、肝炎ウイルスやクロイツフェルト・ヤコブ病においても分子生物学的、免疫組織化学的に検索し、共同研究レファレンスとして結果を依頼者に報告した。(佐藤由子、片野晴隆、中島典

子、飛梅 実、長谷川秀樹)

2. ウイルス感染症の診断に関する研究

(1) 血清・臓器中のメルケル細胞ポリオーマウイルスおよびヒトポリオーマウイルス 6,7 DNA の検出

メルケル細胞ポリオーマウイルス (MCPyV) と近年皮膚から発見されたヒトポリオーマウイルス 6 と 7 (HPyV6, -7) について、HIV 陽性血清、および、各種疾患臓器中の DNA 陽性率をリアルタイム PCR 法で検討した。MCPyV は HIV 陽性血清 349 例の 9 割に検出され、一方、HIV 陰性血清 111 例では 9% の陽性率であった。この結果から、MCPyV の複製は宿主の免疫能と関連している可能性が示唆された。HPyV6 と HPyV7 の検出はまれであった。(福本 瞳[協力研究員]、佐藤由子、長谷川秀樹、片野晴隆)

(2) 進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy, PML) の病理組織解析

PML 確定例 10 例を用いた免疫組織化学の結果、VP1, VP2, Agno のそれぞれの抗体が異なる染色パターンを採ることが明らかになった。VP1 の局在は感染細胞の核内であったが病変の中心部付近では感染細胞が明瞭に染色されない傾向があった。一方、VP2 の局在は感染細胞の核内のみで、病変中心部でも明瞭な陽性所見を示した。また、Agno は、VP1 と同様に病変中心部では感染細胞にほとんど陽性とならなかった。脳生検検体をもちいた JCV 感染の確定診断にはウイルス感染細胞の同定が不可欠であるが、VP1、VP2、Agno の 3 つのウイルスタンパク質に対する抗体を用いることにより、確度の高い診断ができることが考えられた。(鈴木忠樹、片野晴隆、佐藤由子、澤 洋文[北海道大学]、長谷川秀樹)

3. ヘルペスウイルス感染症に関する研究

(1) KSHV 関連疾患におけるウイルス miRNA の発現

カポジ肉腫などの臨床サンプルで次世代シーケンサーを用い、KSHV の miRNA を検出した。カポジ肉腫では全 miRNA 中の 0.6-9.2% を KSHV の miRNA が占めていた。統計学的な解析から、カポジ肉腫では miRK12-3 が高発現すること、miRK12-8 の発現が抑制されることが示され、KSHV 関連疾患における miRNA の発現プロファイルが明らかになった。(片野晴隆、坂本康太[研究生]、吉岡妙子[協力研究員]、関塚剛[病原体ゲノム解析研究センター]、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター])

(2) EBV 関連腫瘍における EBV がコードする miRNA の発現

エイズ関連リンパ腫を含む Epstein-Barr virus (EBV) 関連腫瘍での EBV miRNA の発現とその制御について検討した。DLBCL はホジキンリンパ腫、胃癌とは異なる EBV miRNA の発現プロファイルを示した。エイズ関連 DLBCL では健常者 DLBCL と比較し、EBV miRNA の発現レベルが亢進し、EBV miRNA の発現がアトランダムであった。これらの結果から、EBV miRNA の発現は腫瘍のタイプや免疫状態の影響を受けることが分かった。(坂本康太[研究生]、吉岡妙子[協力研究員]、比島恒和[がん・感染症センター都立駒込病院病理科]、長谷川秀樹、片野晴隆)

(3) 日本人 MSM における KSHV/HHV-8 抗体保有率

カポジ肉腫はエイズの代表的な合併症であり、男性同性愛者 (MSM) のみに発症するという、疫学的に大きな特徴がある。無料匿名 HIV 検査会に来場した MSM を対象にカポジ肉腫の原因ウイルスである KSHV に対する抗体を調査した。KSHV の陽性率は 12% で、コントロール (5%) と比べ有意に高率であり、日本でも KSHV は MSM の間で広く感染していることが予想された。(片野晴隆、横幕能行[名古屋医療センター]、菅野隆行、福本 瞳[協力研究員]、中山智之[名古屋医療センター]、新ヶ江章友[名古屋市立大学]、杉浦 互[名古屋医療センター]、市川 誠一[名古屋市立大学]、安岡 彰[長崎大学])

4. インフルエンザ感染症に関する研究

(1) 2009H1N1 新型インフルエンザウイルス感染症の病理に関する研究

昨年度から引き続き、15 医療機関から依頼された A(H1N1)pdm09 感染剖検組織 20 例の病理学的検索を行い論文にまとめた。ウイルス性肺炎で亡くなった一例で、気管と肺泡領域から回収された HA (hemagglutinin) 遺伝子領域の塩基配列をダイレクトシーケンス法で解析した結果、HA 領域の 222 番目のアミノ酸が異なる 2 種類のクローンが気管からも肺泡領域からも回収された。気管ではヒト型レセプター (α 2,6Gal-シアル酸) に親和性が強いクローンが、肺泡領域では、鳥型レセプター (α 2,3Gal-シアル酸) に親和性が強いアミノ酸変異 (D222G) を有したクローンが major であった。本症例の体内ではレセプター親和性が異なるクローンが同時に存在しており、アミノ酸変異 (D222G) を有した A(H1N1)pdm09 クローンが肺泡上皮細胞に感染し、重症肺炎を引き起こしたと考えられた。(中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷

川秀樹)

(2) 鳥インフルエンザウイルス (H5N1) 感染症の病理学的解析

ベトナムハノイ国立小児病院 (NHP) との共同研究により、5 例の H5N1 感染症のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織についてさらに解析した。肺局所での H5N1-RNA 量と炎症性サイトカイン・ケモカイン mRNA 量をリアルタイム定量 RT-PCR 法で定量し、ウイルス量とサイトカイン・ケモカインの発現量が相関していることを明らかにした。病日 8 日目の症例では二重蛍光免疫組織化学により TNF- α 、IL-6、IL-8、IP-10 は肺胞マクロファージのみならず、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞 (IL-6) でも陽性だった。H5N1 の肺胞上皮細胞への直接傷害と H5N1 感染によって誘導されたサイトカイン・ケモカインの作用により致死率 60%にも及ぶ劇症型の ARDS が引き起こされると考えられた。(中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹)

5. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

(1) 台湾アボリジニにおける HCV ゲノタイプ分布の特徴

アジアにおける HBV の起源を探索する目的で、台湾の先住民族 (アボリジニ) における HCV のゲノタイプ同定を行った。方法は、血中 HCV 抗体陽性 18 人から得られた血清を用いて、PCR 法にて HCV NS5B 領域を増幅し、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した、HCV sequence database (http://hcv.lanl.gov/content/sequence/BASIC_BLAST/basic_blast.html) にアクセスして、ゲノタイプを同定した。結果は、18 例中サブゲノタイプ 1b が 14 例 (78%) と最も多く、次いでサブゲノタイプ 2b が 3 例 (17%)、3a が 1 例 (5%) であった。この成績は、東アジアにおける HCV ゲノタイプ分布とほぼ一致するものであった。今回台湾アボリジニから分離された HCV の遺伝子情報は、共有の財産とするために遺伝子銀行 (アクセス番号 AB555523~AB555540) に登録し、即公開とした。(阿部賢治、Ming-Lung Yu、Chia-Yen Dai [高雄医大消化器内科：台湾])

(2) 中国東北部に発生した胆管癌の病理と発生要因に関する研究

最近、HBV が肝細胞癌以外に胆管癌の発生にも関与を示唆する研究報告がある。そこで、HBV 浸淫国の一つである中国における胆管癌と HBV の関係について、中国・

ハルビン医科大学病理学教室と共同で検索した。対象としたのは、中国東北部黒龍省近辺に住む中国人に発生した胆管癌症例 66 例 (肝内胆管癌 23 例+肝外胆管癌 43 例) である。またコントロールとして、非肝疾患患者 52 例も併せて比較検討した。血中 HBsAg 陽性例は、胆管癌 66 例中 18 例 (27.3%) であったのに対し、非肝疾患群では 52 例中 2 例 (3.9%) と胆管癌群で有意 ($P < 0.05$) に高値を示した。さらに PCR 法にて癌組織内 HBV DNA (HBx gene) を検索した結果、肝内胆管癌の 8 例 (34.8%) で陽性を示したのに対し、肝外胆管癌群と非肝疾患群の肝組織では全例陰性であった。また肝内 HBV DNA 陽性を示した 8 例は、免疫染色にて 7 例で肝内 HBsAg 陽性が確認できた。肝内 HBV DNA 陽性を示した 8 例の組織病理学的所見は、非癌部において 4 例では非癌部の門脈域にリンパ球浸潤、2 例では肝硬変、2 例では脂肪変性が観察された。肝内胆管癌の組織分類は、高分化型 (1 例)、中等度分化型 (5 例)、低分化型 (2 例) であった。胆管癌患者の HBV 感染と非感染例において、両者に臨床的所見の差異は認められなかった。以上の所見から、肝内胆管癌の発生要因の一つとして、HBV の関与が示唆された。今後更に両者の因果関係について、発生機序も含めた詳しい研究が必要である。(Yiqi Wu、Tianzhen Wang、Xiaoming Jin [ハルビン医大病理学：中国]、阿部賢治)

(3) 東南アジアに流行する HBV/HCV バリエーションに関する分子疫学と病態解明に関する研究

ベトナム南部地域を中心として、HBV/HCV の分離とその分子疫学、臨床、感染病理学的特徴を継続して検討した。今年度は、90 例の HCV 持続感染患者から、NS5B 領域の HCV ゲノムを分離して、その特徴を解析した。ゲノタイプ 6 感染患者の病態と治療効果、宿主要因としての IL28B SNP genotype との関連について、現在長期追跡調査を行っている。(阿部賢治、Pham Hung Van [ホーチミン医薬大医学部バイオメディカルラボ：ベトナム]、Banh Vu Dien [チョーライ病院肝炎治療科]、Pham Thi Le Hoa [国立熱帯病病院肝臓病科]、Xuan Lien [パスツール研究所ホーチミン]、Ling Lu [カンサス大医学部腫瘍ウイルスセンター：米国])

(4) 東南アジアにおける各種感染症の実態と病理に関する研究

東南アジアにおけるエマージング感染症を含む各種感染症および病理の特徴解明を目的に、ベトナムとタイの大学・医療機関との間で、共同調査研究を継続的に実施した。各種ウイルス肝炎、巨細胞性新生児肝炎、先天的

胆道閉鎖による重症胆汁うっ滞症、肝腫瘍、Wilson 病、慢性胃炎、風疹、リンパ節炎、結核、ホジキン・非ホジキンリンパ腫、成因不明脳炎、デング熱、人獣共通感染症などの症例を、臨床・病理・ウイルスの観点から検討した。(阿部賢治、佐藤由子、Pham Hung Van[ホーチミン医科薬科大学医学部バイオメディカルラボ:ベトナム]、Banh Vu Dien、Ho Tan Phat[チョーライ病院肝臓病科]、Pham Thi Le Hoa [国立熱帯病病院肝臓病科]、Tung Thanh Tran [ホーチミン第一小児病院病理科]、Phuc Le Hoang[同消化器科]、Pham Thi Ngoc Tuyet [ホーチミン第二小児病院消化器科]、Yong Poovorawan [チュラロンコン大学医学部臨床ウイルス研究センター:タイ]、Roongroje Thanawongnuwech[チュラロンコン大学獣医学部病理学])

6. 腸管出血性大腸菌感染症に関する研究

腸管出血性大腸菌は腸管上皮細胞に付着後増殖し、ベロ毒素を産生する。ベロ毒素はそのレセプターGb3を表达する腸管、腎臓および脳の血管内皮細胞に結合し細胞内に取り込まれ、細胞のタンパク合成を障害する。腸管出血性大腸菌感染症の重症例では、腹痛、下痢、嘔吐、血便に加え、溶血性尿毒症症候群 (HUS) や急性脳症を併発し、救命されても腎不全、脳神経障害など重症の後遺症が残る場合がある。腸管出血性大腸菌 O-157 感染で死亡したホルマリン固定パラフィン包埋剖検組織中にベロ毒素を検出できるかウサギ抗ベロ毒素ポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学で検討した結果、より特異性の高いモノクローナル抗体の作成が必要であることがわかった。(中島典子、佐藤由子、長谷川秀樹、佐多徹太郎[富山県衛生研究所]、倉園久生[帯広畜産大学]、吉田恭太郎、山下憲一[公立学校共済組合近畿中央病院]、田中智之[堺市衛生研究所])

II. ウイルス感染の発生機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究

(1) 大腸菌内ウイルスゲノム改変系を利用した HSV ウイルス制御因子の解析

我々は、BAC system を利用し、感染性 HSV full genome の大腸菌保持に世界で初めて成功し、この大腸菌をもとに、様々な大腸菌内での巨大 HSV genome の改変を試みてきた。現在、あらゆる組換えをかなり効率よく導入できる組換え法の確立も樹立中である。この手法を用いて様々な HSV 病原性因子の解析を行っている。これまでの *in vitro* の実験に加え、マウス動物実験にも解析の幅を広げ病理学的解析も行い、更に幅広い研究成績の達成に心が

けている。(田中道子、川口 寧 [客員研究員]、長谷川秀樹)

(2) KSHV の cell-associated virus infection 実験系の開発
KSHV キャリアの血液中ウイルス価が上昇しないことから、reservoir である潜伏感染 B 細胞からカポジ肉腫発生源母地である血管内皮細胞への cell-associated virus infection の存在が想定されている。そのメカニズム解明のため、KSHV 感染細胞と HeLa 細胞の共培養による実験系を構築した。Cell-free の virion による感染実験との比較検討では感染阻害物質の影響が異なる傾向が見いだされた。(菅野隆行、片野晴隆、長谷川秀樹)

2. ATL (HTLV-1)に関する研究

(1) 質量分析計を用いたマウス ATL 幹細胞特異的分子の同定

HTLV-1 感染により引き起こされる成人 T 細胞白血病 (ATL) のモデルマウスである Tax トランスジェニックマウスで起こる白血病の腫瘍細胞 (mATL 細胞) にはがん幹細胞が存在する。がん幹細胞を標的とした新規 ATL 治療法の基礎を確立するため、マウスモデルの mATL ががん幹細胞に特異的に発現する治療標的候補分子となる細胞膜タンパク質を質量分析計による定量的解析法により同定した。そこで、抗体を用いてこの膜タンパク質発現細胞除去による *In vivo* 白血病形成能の検討を行った所、処理群において血中異型リンパ球数が低下する傾向が見られたが、有意な差が見られなかった。今後、特異的なモノクローナル抗体を作製し、持続投与による治療実験を試みる必要があると考えられた。(鈴木忠樹、梁 明秀 [横浜市立大学]、岡山明子 [横浜市立大学]、平野 久 [横浜市立大学]、長谷川秀樹)

3. インフルエンザウイルスに関する研究

(1) 気管支喘息モデル動物における新型インフルエンザウイルス感染の病態解析

インフルエンザウイルス H1N1pdm09 の病原性及び重症化要因の解析に関する基礎研究の一環として、アレルギー素因を有する近交系マウスを用いて新型インフルエンザウイルス感染により喘息発作が悪化するという病態モデルの作製を試みた。OVA-Alum 腹腔内接種により感作した NC/Nga マウス(気管支喘息モデル)に H1N1pdm09 ウイルスを感染させ、感染後に OVA を気道内に負荷し喘息発作を誘発し、その病態を病理組織学的、免疫学的に検討した。喘息発作誘発後の病理組織では、H1N1pdm09 感染群において喘息発作誘発による病態の

悪化が認められた。これらの結果は、気管支喘息発作と H1N1pdm09 感染が相乗的に働き病態を悪化させることを示唆しており、この病態モデルは、気管支喘息に関連する H1N1pdm09 重症化例の感染病態を反映していると考えられた。(鈴木忠樹、川口 晶[インフルエンザウイルス研究センター]、佐藤由子、長谷川秀樹)

(2) 蛍光タンパク質再構成法を用いたインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ形成機構の解析

インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス薬は実用化されているが、容易に耐性ウイルスが出現することが問題となっている。これらの抗ウイルス薬はウイルスの細胞内侵入と放出過程を標的としており、ウイルス増殖の別の過程を標的とした新たな薬剤が望まれている。ウイルス RNA ポリメラーゼはウイルス増殖過程で、ウイルスゲノム複製と転写に関わる重要な分子であり、この分子の機能発現機構を理解する事は、インフルエンザウイルスの増殖サイクルを標的とした治療薬開発に直接的につながる可能性が考えられる。そこで本研究では蛍光タンパク質再構成 (BiFC) 法を用いてインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ形成をきた細胞内で可視化するバイオプローブを作成し、ポリメラーゼ形成過程をリアルタイムでモニタリングするシステムを構築した。このシステムは特異性の高いポリメラーゼの機能阻害薬のスクリーニングや、ポリメラーゼ三量体形成に関わる新たな宿主因子の探索に有用であると考えられる。(鈴木忠樹、相内 章、永田典代、澤 洋文[北海道大学]、長谷川秀樹)

4. SARS コロナウイルスに関する研究

(1) SARS 発症マウスモデルにおける IFN- γ の投与効果

SARS-CoV のマウス馴化株の経鼻感染によって、半年齢 BALB/c は SARS 様症状を示し、び慢性肺胞傷害と重度な肺水腫を発症する。このモデルにおける IFN- γ の投与効果について検討した。SARS-CoV の経鼻感染 3, 6 時間までの IFN- γ 投与によって、3 日目以降の症状が改善され、SARS 発症による致死は 100% 阻止された。IFN- γ 投与群では対照群に比べて肺内に CD4 および CD8+ 細胞が多く誘導され、炎症性サイトカイン・ケモカインの発現が抑制された。さらに、IL-10 発現 CD11b 細胞が誘導されることが明らかとなった。(永田典代、岩田奈織子、佐藤由子、佐多徹太郎、長谷川秀樹、森川 茂 [ウイルス第一部])

5. 海外からの侵入が危惧される野生鳥獣媒介性感染症

の疫学、診断・予防法に関する研究

ハンタウイルスとフラビウイルスの病原性に関する共同研究を行っている。今年度は、Hantaan ウイルス感染症の動物モデル開発を目的として、Hantaan ウイルス実験的感染マウスの病理学的検討を行った。Hantaan ウイルス AA57 株の皮下接種後の発症個体の半数では胸水の貯留、肺血管周囲の中等度の水腫、好中球、単核系細胞浸潤を認めた。また、病変部の血管内皮細胞にウイルス抗原陽性細胞が存在した。これらの所見から、ウイルス感染、増殖によって血管内皮細胞が傷害され、肺水腫と胸水貯留が引き起こされたと示唆された。臨床症状と病理所見から、本感染実験系はハンタウイルス肺症候群の動物モデルとして有用であると考えられた。(永田典代、岩田奈織子、原嶋綾子 [臨時職員]、佐藤由子、長谷川秀樹、荻和宏明[北海道大学大学院])

6. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

オルソポックスウイルス感染症における劇症化の機序を解明する目的で、サル痘ウイルス感染後のカニクイザルの病態解析を行った。Liberia 株を皮下接種後に発痘し回復した 2 例と 10 日目に瀕死となった 1 例の血中サイトカインの動態を比較したところ、劇症例では瀕死期に TNF- α , IFN- α , IFN- γ , IL-13, IL-6 の上昇が見られた。病理学的検索の結果、劇症例ではリンパ節のマクロファージ、皮膚の上皮細胞に加えて、肺胞、肝細胞などの全身組織におけるウイルス感染と増殖が、免疫組織化学的あるいは電子顕微鏡学的に証明された。さらに、リンパ系組織ではリンパ球の強い壊死、脱落が存在し、免疫不全状態であることが組織学的に明らかとなった。宿主側の免疫応答の低下と全身性の強い炎症性サイトカインの反応がサル痘劇症化の一因となっていると考えられた。(永田典代、佐藤由子、岩田奈織子、鈴木忠樹、佐多徹太郎、長谷川秀樹、西條政幸 [ウイルス第一部]、森川 茂 [ウイルス第一部])

7. 新規カルジオウイルスの病理学的診断法に関する研究

2007 年に報告されたヒト由来の新規の *Cardiovirus* 属 (1981 年、発熱した新生児の便から分離) である *Saffold virus* (SAFV) 臨床分離株の細胞、動物における感受性の検討と検出・評価系の構築を行っている。日本で分離された髄膜炎患者由来株を乳飲みマウスと成マウスに接種し、パラフィン切片参照標本作製すると同時に病原性を評価した。乳飲みマウスに脳内接種すると小脳性の

運動失調を特徴とした臨床所見が一過性にみられ、その後、回復することを確認した。また、脳（特に小脳）のウイルス抗原陽性細胞を同定した。一方、成マウスでは腹腔内、静脈内、および脳内接種後に中和抗体価の上昇が確認され、感染の成立が示唆された。（永田典代、小谷治[研究生]、鈴木忠樹、岩田奈織子、佐藤由子、長谷川秀樹、清水博之[ウイルス第二部]）

8. HIV に関する研究

(1) HIV-1 Vpu の抗 BST-2 機能を制御する補助因子の探索

Vpu の抗 BST-2 活性の約半分は β TrCP に依存しているが、残り半分には未知の宿主因子が関与していると考えられる。今回まず β TrCP 結合不全変異型及び CT 欠失変異型 Vpu レンチバクターウイルスを作製し、それらを用いて HeLa 細胞を transduce することにより安定発現細胞を樹立、その細胞の大量培養後の免疫沈降反応により、Vpu と相互作用する蛋白を大量に回収した。Cy3/Cy5 ラベリングによる二次元電気泳動を行い、 β TrCP 結合不全変異型 Vpu で特異的に検出される 67 種類のスポットを候補蛋白と見なしてゲルから切り出した。現在、ハイスループット MS 解析システムによる候補蛋白の同定が進行中である。（Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三）

(2) HIV-2 Vpx に不活化される抗ウイルス宿主因子の探索

樹状細胞の HIV-1 に対する低感受性は HIV-2/SIV アクセサリー蛋白 Vpx 発現により高感受性へと変わることから、樹状細胞における宿主抗ウイルス蛋白の存在が示唆されてきた。今回我々は Vpx 発現樹状細胞において特異的に分解される蛋白のスクリーニングを行い、プロテオーム解析により 8 種類の候補蛋白を同定した。これら候補蛋白の cDNA から発現ベクターを作製して蛋白発現を確認、HIV-2 Vpx との共発現により全ての蛋白が Vpx により分解を受けることが分かった。更に Vpx との免疫沈降反応を行なった結果、候補のうちの 6 つまでが Vpx との結合能を有していることを明らかにした。（Juan F. Arias [協力研究員]、徳永研三）

(3) インテグレース阻害剤存在下での HIV-1 DNA の宿主 DNA2 本鎖切断部位への挿入

染色体 DNA 2 本鎖切断 (DSB) 部位にアデノ随伴ウイルスや B 型肝炎ウイルスの DNA が挿入されることが知られている。今回、我々は HIV-1 DNA が人為的に導入した宿主 DSB 部位に挿入するか否かを検討した。まず染色

体中に存在しない制限酵素サイト I-SceI を導入したヒト単球細胞株 THP-1 細胞に I-SceI 酵素発現アデノウイルスベクターを感染させ PMA で分化させた。その細胞にインテグレース酵素活性が欠如した変異型 HIV-1 を感染させたところ、ウイルス DNA が DSB 部位に挿入されることが判った。その結果に矛盾せず、インテグレース阻害剤ラルテガビルの存在下でも野生型 HIV-1 は DSB 部位に挿入された。これらより HIV-1 はインテグレース活性非依存的かつ DSB 部位特異的な挿入が可能であることが判った。この知見はインテグレース阻害剤を用いた抗 HIV 療法において注意を喚起するものである。（小山貴芳[国立国際医療セ]、徳永研三、石坂幸人[国立国際医療セ]）

(4) 膜蛋白 MARCH8 によるトランスフェリン受容体のユビキチン化とダウンレギュレーションの分子機構

トランスフェリン受容体 (TfR) は細胞内に鉄を取り込むために細胞膜・エンドソーム間を活発にリサイクルしている。先頃、膜結合型ユビキチンリガーゼであり HIV-1 の複製制御にも関与すると言われる MARCH ファミリー蛋白質による TfR のダウンレギュレーションが報告されたが、今回その分子機構について検討した。FACS 解析により MARCH1 及び MARCH8 の過剰発現で実際に TfR が細胞表面からダウンレギュレーションされること、抗ユビキチン抗体を用いた免疫沈降により MARCH8 の過剰発現はユビキチン化された TfR の増加を引き起していること、MARCH8 の RING-CH モチーフ及び C 末側細胞質領域が TfR のダウンレギュレーションに必要なドメインを有する事が判った。また MARCH8 は TfR の膜貫通領域を認識してユビキチン化・ダウンレギュレーションすることが示唆された。（藤田英明[九大院・薬・細胞生物]、徳永研三、田中嘉孝[九大院・薬・細胞生物]）

9. 狂犬病に関する研究

固定毒狂犬病ウイルス及び街上毒狂犬病ウイルスの生体内感染細胞中での抗原局在について解析した。街上毒狂犬病ウイルス感染細胞では、抗原は細胞質中で小さなドット状に分布するが固定毒狂犬病ウイルス感染細胞では細胞質中全域に存在する事が分かった。これは、街上毒狂犬病ウイルス N 抗原により誘導されることが明らかとなった。固定毒狂犬病ウイルスを用いたマウスへの感染実験では街上毒感染での病態を再現する事は出来ない。現在、街上毒狂犬病ウイルス N 抗原の感染動物モデルの病態に与える影響について解析を継続している。（飛梅実、佐藤由子）

10. 風疹ウイルスに関する研究

(1) 風疹ウイルス感受性動物の検討

先天性風疹症候群 (CRS) の動物モデルは未だ開発されていないため、その発生機序が明らかとなっていない。そこで機序解明のため動物モデルの開発を目的とし、感受性動物の検討を行った。5 週齢 BALB/c マウスと F344 ラットに風疹ウイルス (RV) を経鼻接種した。各動物ともに臨床症状はなく、諸臓器の病理学的変化も見られなかった。また肺の RV の real-time-PCR で、ウイルス RNA はほとんど検出されなかった。若齢マウスとラットでは RV の感受性が低いことが推測された。そこで、半年齢以上の BALB/c マウスを用いて同様の接種を行ったところ、体重減少が見られ、肺局所にも病変が見られた。RV は成マウスで感受性が高いことが示された。(岩田奈織子、永田典代、岡本希代子[ウイルス 3 部]、佐藤由子)

III. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発

ヒトでの経鼻ワクチンの有効性について検討してきた。成人ボランティア 50 名に季節性インフルエンザウイルス (A/Victoria/210/2009 (H3N2)) の全粒子不活化ワクチンを 2 回経鼻接種し継時的に採血と鼻腔洗浄液の回収を行い、ワクチン株に対する中和抗体価及び HI 価を測定し評価した。(国立感染症研究ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認済み。) 季節性インフルエンザ不活化全粒子ワクチンの成人への経鼻接種により、ウイルス株特異的な中和抗体が血清だけではなく鼻腔洗浄液中に誘導される事が示され HI 価は血清でも鼻腔洗浄液でも中和抗体価に相関した。中和反応を担う抗体のサブタイプは鼻腔洗浄液及び血清の分画により鼻腔洗浄液では IgA 抗体、血中では IgG 抗体である事が明らかとなった。(相内章 (併任)、鈴木忠樹、田村慎一 (客員研究員)、伊藤良 (研究生)、長谷川秀樹)

2. フラビウイルスワクチンの開発

フラビウイルスのうち、警戒が必要なウエストナイルウイルス (WNV)、日本脳炎ウイルス (JEV)、輸入症例が急激に増加しているデングウイルス (DENV) について、ウイルス様粒子 (VLP) ワクチン開発研究を実施した。その結果、1) DENV 中和エピトープを含むフラビウイルスキメラ prM/E VLP 発現ベクターを 5 種作成し、ウエスタンブロットによって発現を確認した。2) DENV 1~4 のウイルスストックを調製した。3) DENV 認識単クローン抗体 ELISA を作成することができた。(高橋秀

宗、小島朝人 [再任用職員]、鈴木忠樹、飛梅 実、五味康行 [阪大微研]、金子恵子[臨時職員])

3. HIV-1 ワクチンの開発

免疫抗原として gag 及び env 発現ベクター由来ウイルス様粒子の脂質膜を除いて Core-env 抗原を作成した。トランスジェニックラットへ免疫し、抗血清を得た。異なるサブタイプ env を有する、HIV-1 シュードウイルスを使用し中和試験を行った。サブタイプ A, B, D, AG env シュードウイルスに対し、希釈倍率 100 倍以上で ID50 (50% inhibitory dose) 以上の阻害を示す血清を見出した。Core-env 抗原のラットへの免疫でも、マウス同様、異なるサブタイプに対する有効性が確認できた。(高橋秀宗、飛梅 実、金子恵子[臨時職員]、巽 正志 [エイズ研究センター]、志田壽利 [北海道大学遺伝子病制御研究所])

4. SARS-CoV のワクチンに関する研究

(1) UV 不活化 SARS-CoV(UV-V)の副反応機序の研究

UV-V 免疫で産生された抗体がウイルスチャレンジ後、肺局所での好酸球浸潤に関与するか調べた。UV-V 免疫マウス血清および SARS-CoV 感染マウス血清をウイルスチャレンジ数時間前にナイーブマウスに腹腔内投与した。また UV-V 免疫したマウスには SARS-CoV 感染マウス血清を同様に投与した。ウイルス感染 3, 10 日後に肺の病理を調べた結果、UV-V 免疫マウス血清を投与したマウスの肺に好酸球浸潤は見られなかった。また SARS-CoV 感染マウス血清を投与した UV-V 免疫マウスの肺には好酸球の浸潤が見られ、浸潤抑制は起こっていなかった。UV-V 免疫により産生された抗体がウイルス感染後の好酸球誘導に関与する可能性は低いと考えられるが、血清の投与量を検討し、再実験を行う必要がある。(岩田奈織子、永田典代、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子[免疫部]、宇田晶彦[獣医科学部]、西條政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[ウイルス第一部])

IV. プリオンに関する研究

1. BSE 由来プリオンの感染性を評価する新規トランスジェニックマウスの開発

プリオンが持続感染可能な神経芽細胞腫由来細胞株 N2a から再クローニングにより樹立されたプリオン高感受性細胞 N2a-5 と低感受性の N2a-1 の比較 2 次元電気泳動法から、プリオン感染成立に関与すると考えられる生体側因子 peripherin を同定した。この分子を過剰発現するトランスジェニックマウスでは BSE 由来プリオン (和歌山株をマウスで 3 代経代したもの) 感染脳乳剤 0.02%、

20ul を脳内接種したところ、健常マウスに比べ優位なプリオン病発症期間の短縮がみとめられた。さらに低濃度の脳乳剤を接種した場合、コントロールマウスと比べ顕著な発症時間の短縮を認めた。この結果より微量なプリオンの病原性評価系尾として peripherin トランスジェニックマウスが有効であることを示した。(飛梅 実、佐藤由子、松田潤一郎[基盤研])

2. ヒトプリオン病の早期診断系の開発

クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) に代表されるプリオン病の診断は、脳組織中よりの異常型プリオンの検出により確定されるが、生検は患者への負担が大きい。CJD ではプリオン感染に伴い神経細胞中に存在する 14-3-3 蛋白質が髄液中に特異的に放出されることが報告されている。我々はウエスタンブロット法を用いた定量的髄液中 14-3-3 蛋白質濃度測定法を開発し、各病院からの検査依頼に応じている。また、各種プリオン病において 14-3-3 濃度測定系が有効であるか否かについて、サルを用いたプリオン病感染モデル系での 14-3-3 濃度測定を行っている。この結果、BSE 由来プリオンの感染により引き起こされるヒトプリオン病 (vCJD) のモデルである BSE 接種サルの経時的な髄液検査から BSE 感染サルモデルにおいても病態の進行に付随し髄液中 14-3-3 蛋白質濃度の上昇が認められることを明らかにしている。(飛梅実、佐藤由子)

V. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用

平成 23 年度も順調に運用された。前半は東日本大震災や節電の影響で、出される検体は少なかったが、後半は通常の依頼があった。

本年度中に処理した検体数は 227 検体で、その内訳は感染研内部 58 検体、共同研究 161 検体、外部のみ 8 検体であった。

また、見学者の対応は 9 回、57 名であった。公務員が 10 名、学生ら 12 名、一般 35 名であった。一般は一般公開の折の電顕ツアー (3 回) 対応である。

(齋藤典子[臨時職員])

VI. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡

総依頼数 3 件、樹脂包埋検体数 8 検体 (90 ブロック)、ネガティブ染色数 6 検体であった。依頼者は、免疫部・ウイルス第一部・細菌第一部であった。(金子恵子[臨時職員])

2. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の総依頼件数は 26 件であり、透過電子顕微鏡利用は 22 件、走査電子顕微鏡は 4 件であった。うち 1 件は行政依頼であった。また、本年度より Robert Koch 研究所主催の電子顕微鏡学的ウイルス診断の外部評価 (External Quality Assurance Scheme in EM Virus Diagnosis EQA-EMV) に参加し、これを検査実施者の教育訓練の一環とすることとした。依頼者は感染病理部の他、ウイルス第一部、ウイルス第二部、インフルエンザウイルス研究センター、病原体ゲノム解析研究センター、バイオセーフティ管理室、細菌第二部であった。(片岡紀代 [臨時職員]、藤野美穂子 [臨時職員]、鈴木忠樹、永田典代、長谷川秀樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

経口生ポリオワクチン (2 型) の神経毒力試験 (病理試験) を 1 件実施した。(鈴木忠樹、岩田奈織子、永田典代、藤野美穂子 [臨時職員]、片岡紀代 [臨時職員]、原嶋綾子 [臨時職員]、長谷川秀樹)

国際協力関係業務

- (1) 中島典子：ベトナムハノイ小児病院、熱帯感染症研究所附属病院におけるインフルエンザ診断に関する研究・技術指導を行った。
- (2) 阿部賢治：ベトナム、タイ、中国の大学および医療機関における病理、血清、ウイルス、遺伝子診断に関する研究・技術指導、現地セミナーを実施した。
- (3) 鈴木忠樹、岩田奈織子、永田典代：インドネシア保健省 NQCL より依頼のあった次の内容の研修を行った。「Training Program on analyzing of histopathology for Monovalent Polio bulk ポリオ単価ワクチンバルク生産における病理組織学的検査の教育訓練プログラム」(平成 23 年 11 月 14 日-19 日、対象 2 名)。本研修の実施はおよそ 15 年ぶりであったので、国際研修における教育訓練プログラムと資料の大幅な改善を行った。
- (4) 永田典代：JICA 研修「Laboratory diagnosis techniques for the control of vaccine preventable diseases, including poliomyelitis and measles ポリオ及び麻疹を含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」。ワクチン品質評価における動物実験の内容を紹介した。
- (5) 飛梅 実：ベトナム NIHE 研究所、ベトナム地方衛生

担当官向けの狂犬病診断技術講習会講師

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Yanagita H, Yamamoto N, Fuji H, Liu X, Ogata M, Yokota M, Takaku H, Hasegawa H, Odagiri T, Tashiro M, Hoshino T. Mechanism of drug resistance of hemagglutinin of influenza virus and potent scaffolds inhibiting its function. *ACS Chem Biol.* 2012 Mar 16;7(3):552-62.
- 2) Ainai A, Tamura S, Suzuki T, Ito R, Asanuma H, Tanimoto T, Gomi Y, Manabe S, Ishikawa T, Okuno Y, Odagiri T, Tashiro M, Sata T, Kurata T, Hasegawa H. Characterization of neutralizing antibodies in adults after intranasal vaccination with an inactivated influenza vaccine. *J Med Virol.* 2012 Feb;84(2):336-44.
- 3) Nakao R, Hasegawa H, Ochiai K, Takashiba S, Ainai A, Ohnishi M, Watanabe H, Senpuku H. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* elicit a mucosal immune response. *PLoS One.* 2011;6(10):e26163.
- 4) Kato A, Liu Z, Minowa A, Imai T, Tanaka M, Sugimoto K, Nishiyama Y, Arii J, Kawaguchi Y. Herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 and major tegument protein UL47 reciprocally regulate their subcellular localization in infected cells. *J Virol.* 2011 Sep;85(18):9599-613.
- 5) Yamamoto K, Ishikawa C, Katano H, Yasumoto T, Mori N. Fucoxanthin and its deacetylated product, fucoxanthinol, induce apoptosis of primary effusion lymphomas. *Cancer Lett.* 2011 Jan 28;300(2):225-34.
- 6) Nakai H, Sugata K, Usui C, Asano Y, Yamakita T, Matsunaga K, Mizokuchi Y, Katano H, Iwatsuki K, Yoshikawa T. A case of erythema multiforme associated with primary Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Dermatol.* 2011 Jan-Feb;28(1):23-5.
- 7) Katano H, Kano M, Nakamura T, Kanno T, Asanuma H, Sata T. A novel real-time PCR system for simultaneous detection of human viruses in clinical samples from patients with uncertain diagnoses. *J Med Virol.* 2011 Feb;83(2):322-30.
- 8) Kaibuchi-Noda K, Yokota K, Matsumoto T, Sawada M, Sakakibara A, Kono M, Tomita Y, Watanabe D, Fukumoto H, Katano H, Akiyama M. Detection of Merkel cell polyomavirus in cutaneous squamous cell carcinoma before occurrence of Merkel cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol.* 2011 Nov;65(5):e152-4.
- 9) Hatano B, Goto M, Fukumoto H, Obara T, Maki T, Suzuki G, Yamamoto T, Hagsawa K, Matsushita Y, Fujii T, Imakiire T, Kikuchi Y, Takahashi R, Kanai M, Tamura K, Izumi T, Takahashi Y, Iwamoto Y, Mimura S, Mukai Y, Takita K, Takeo H, Kitamura R, Shimizu E, Fukushima K, Hakozaki Y, Uehata A, Sakai M, Ohshima S, Shirotani T, Oba K, Hasegawa H, Sata T, Katano H. Mobile and accurate detection system for infection by the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus with a pocket-warmer reverse-transcriptase loop-mediated isothermal amplification. *J Med Virol.* 2011 Apr;83(4):568-73.
- 10) Fukumoto H, Kanno T, Hasegawa H, Katano H. Pathology of Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection. *Front Microbiol.* 2011;2:175.
- 11) Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iizuka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasegawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. *Mod Pathol.* 2012 Jan;25(1):1-13. (Epub 2011 Aug 26.)
- 12) Sugamata R, Dobashi H, Nagao T, Yamamoto K, Nakajima N, Sato Y, Aratani Y, Oshima M, Sata T, Kobayashi K, Kawachi S, Nakayama T, Suzuki K. Contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in the early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. *Microbiol Immunol.* 2012 Mar;56(3):171-82. (Epub 2011 Dec 30.)
- 13) Sasaki M, Hasebe R, Makino Y, Suzuki T, Fukushi H, Okamoto M, Matsuda K, Taniyama H, Sawa H, Kimura T. Equine major histocompatibility complex class I molecules act as entry receptors that bind to equine herpesvirus-1 glycoprotein D. *Genes Cells.* 2011 Apr;16(4):343-57.
- 14) Suzuki T, Ainai A, Nagata N, Sata T, Sawa H, Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Nov 4;414(4):719-26.
- 15) Pham VH, Nguyen HD, Ho PT, Banh DV, Pham HL, Pham PH, Lu L, Abe K. Very high prevalence of

- hepatitis C virus genotype 6 variants in southern Vietnam: large-scale survey based on sequence determination. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(6):537-9.
- 16) Chao DT, Abe K, Nguyen MH. Systematic review: epidemiology of hepatitis C genotype 6 and its management. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Aug;34(3):286-96.
 - 17) Wu Y, Wang T, Ye S, Zhao R, Bai X, Wu Y, Abe K, Jin X. Detection of hepatitis B virus DNA in paraffin-embedded intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma tissue in the northern Chinese population. *Hum Pathol.* 2012 Jan;43(1):56-61.
 - 18) Theamboonlers A, Abe K, Thongmee C, Poovorawan Y. Complete coding sequence and molecular analysis of hepatitis A virus from a chimpanzee with fulminant hepatitis. *J Med Primatol.* 2012 Feb;41(1):11-7.
 - 19) Fu Y, Qin W, Cao H, Xu R, Tan Y, Lu T, Wang H, Tong W, Rong X, Li G, Yuan M, Li C, Abe K, Lu L, Chen G. HCV 6a prevalence in Guangdong province had the origin from Vietnam and recent dissemination to other regions of China: phylogeographic analyses. *PLoS One.* 2012;7(1):e28006.
 - 20) Sanada T, Kariwa H, Nagata N, Tanikawa Y, Seto T, Yoshimatsu K, Arikawa J, Yoshii K, Takashima I. Puumala virus infection in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) resembling hantavirus infection in natural rodent hosts. *Virus Res.* 2011 Sep;160(1-2):108-19.
 - 21) Kitaura K, Fujii Y, Hayasaka D, Matsutani T, Shirai K, Nagata N, Lim CK, Suzuki S, Takasaki T, Suzuki R, Kurane I. High clonality of virus-specific T lymphocytes defined by TCR usage in the brains of mice infected with West Nile virus. *J Immunol.* 2011 Oct 15;187(8):3919-30.
 - 22) Isawa H, Kuwata R, Hoshino K, Tsuda Y, Sakai K, Watanabe S, Nishimura M, Satho T, Kataoka M, Nagata N, Hasegawa H, Bando H, Yano K, Sasaki T, Kobayashi M, Mizutani T, Sawabe K. Identification and molecular characterization of a new nonsegmented double-stranded RNA virus isolated from *Culex* mosquitoes in Japan. *Virus Res.* 2011 Jan;155(1):147-55.
 - 23) Taneichi D, Iijima K, Doi A, Koyama T, Minemoto Y, Tokunaga K, Shimura M, Kano S, Ishizaka Y. Identification of SNF2h, a chromatin-remodeling factor, as a novel binding protein of Vpr of human immunodeficiency virus type 1. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2011 Jun;6(2):177-87.
 - 24) Sapsutthipas S, Kitagawa Y, Tokunaga K, Ikuta K, Kameoka M. Viral factors involved in adapter-related protein complex 2 alpha 1 subunit-mediated regulation of human immunodeficiency virus type 1 replication. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2011 Mar;42(2):311-9.
 - 25) Ikeda T, Abd El Galil KH, Tokunaga K, Maeda K, Sata T, Sakaguchi N, Heidmann T, Koito A. Intrinsic restriction activity by apolipoprotein B mRNA editing enzyme APOBEC1 against the mobility of autonomous retrotransposons. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jul;39(13):5538-54.
 - 26) Shimura M, Toyoda Y, Iijima K, Kinomoto M, Tokunaga K, Yoda K, Yanagida M, Sata T, Ishizaka Y. Epigenetic displacement of HP1 from heterochromatin by HIV-1 Vpr causes premature sister chromatid separation. *J Cell Biol.* 2011 Sep 5;194(5):721-35.
 - 27) Arias JF, Iwabu Y, Tokunaga K. Structural Basis for the Antiviral Activity of BST-2/Tetherin and Its Viral Antagonism. *Front Microbiol.* 2011;2:250.
 - 28) Ohtaki N, Takahashi H, Kaneko K, Gomi Y, Ishikawa T, Higashi Y, Todokoro M, Kurata T, Sata T, Kojima A. Purification and concentration of non-infectious West Nile virus-like particles and infectious virions using a pseudo-affinity Cellufine Sulfate column. *J Virol Methods.* 2011 Jun;174(1-2):131-5.
 - 29) Ono F, Terao K, Tase N, Hiyaoka A, Ohshima A, Tezuka Y, Wada N, Kurosawa A, Sato Y, Tobiume M, Hagiwara K, Yamakawa Y, Sata T. Experimental transmission of bovine spongiform encephalopathy (BSE) to cynomolgus macaques, a non-human primate. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(1):50-4.
 - 30) Ono F, Tase N, Kurosawa A, Hiyaoka A, Ohshima A, Tezuka Y, Wada N, Sato Y, Tobiume M, Hagiwara K, Yamakawa Y, Terao K, Sata T. Atypical L-type bovine spongiform encephalopathy (L-BSE) transmission to cynomolgus macaques, a non-human primate. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(1):81-4.
2. 和文発表
 - 1) 片野晴隆、佐多徹太郎: Kaposi 肉腫。浅田秀夫編 ウイルス性皮膚疾患ハンドブック、中山書店 (大阪) 145-149, 2011.
 - 2) 片野晴隆、佐多徹太郎: Kaposi 肉腫以外の HHV-8

- 関連疾患。浅田秀夫編 ウイルス性皮膚疾患ハンドブック 中山書店（大阪）150-151, 2011.
- 3) 片野晴隆：伝染性単核球症。桂 義元、河本 宏、小安重夫、山本一彦編 免疫の事典 朝倉書店（京都）312, 2011.
 - 4) 片野晴隆：カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV, HHV-8)とカポジ肉腫。臨床と微生物 38: 233-240, 2011.
 - 5) 長谷川宏美、片野晴隆、佐多徹太郎、長谷川秀樹：特集／皮膚科医のための感染症最新マニュアル ウイルス感染と発癌 Monthly Book Derma 183: 12-18, 2011.
 - 6) 土松純子、山中新也、神谷秀喜、北島康雄、松永研吾、佐多徹太郎、片野晴隆、菅野隆行：皮膚に生じた Kaposi 肉腫を契機に AIDS の診断に至った 1 例皮膚科の臨床 53:1818-1822, 2011.
 - 7) 中島典子、佐多徹太郎：鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染とその病態。鶏病研究会会報 47:71-77, 2011.
 - 8) 永田典代、長谷川秀樹、佐多徹太郎：田代真人、牛島廣治編 第 11 章電子顕微鏡/病理組織学的検査、ウイルス感染症の検査・診断スタンダード、pp410-439、羊土社, 2011
 - 9) 永田典代、長谷川秀樹：田代真人、牛島廣治編 第 2 章ウイルス分離培養 第 3 項 実験動物、等。ウイルス感染症の検査・診断スタンダード、pp257-268、羊土社, 2011
 - 10) 徳永研三、足立昭夫、高折晃史、中山英美、岩部幸枝、岩谷靖雄：HIV-1 感染阻害因子(HIV-1 Restriction Factors)。日本エイズ学会誌 The Journal of AIDS Research. 13: 56-62, 2011.
 - 11) 天野富美夫、齋藤典子、工藤(原)由紀子、熊谷進：サルモネラの調理器具材への付着および洗剤による洗浄効果の評価法に関する研究。Bacterial Adherence & Biofilm 24: 93-98, 2010.
 - 12) 天野富美夫、北村香南子、藤森 功、齋藤典子：サルモネラ (*Salmonella* Weltevreden) の培養で見出された凝集・付着性の特徴。Bacterial Adherence & Biofilm 25: 47-52, 2011.
- ## II. 学 会 発 表
1. 国際学会
 - 1) Tadaki Suzuki, Akiko Okayama, Takahiro Tsuji, Akihito Ryo, Hisashi Hirano, Tetsutaro Sata, William W. Hall, Hideki Hasegawa: Comparative proteomic analysis of cancer stem cells in a Tax-transgenic (Tax-Tg) mouse model of adult T-cell leukemia/lymphoma. The 15th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Retroviruses, June 2011, Belgium.
 - 2) Abe K: Invited lecture: Hepatitis B and C in Asia. National Conference of Vietnamese Association for Hepatology, August 2011, Dalat, Vietnam.
 - 3) Sasaki J, Ueno T, Katano H, Sata T, Ogawa-Goto K: Analysis for cell-to-cell spread of HCMV in epithelial cells by using the PML assay. The IUMS2011 Congress, XV, International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 4) Akira Ainai, Ryo Ito, Hideki Asanuma, Tadaki Suzuki, Takeshi Tanimoto, Takato Odagiri, Shin-ichi Tamura, Tetsutaro Sata, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: Intranasal administration of 2009/10 annual influenza vaccine induce the cross-protection against 2009 pandemic influenza virus infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 5) Elly van Riet, Akira Ainai, Ryo Ito, Tadaki Suzuki, Shin-Ichi Tamura, Masato Tashiro, Hideki Hasegawa: INFLUENZA SPECIFIC IGA PRODUCING SERUM MEMORY B CELLS CORRELATE TO PROTECTIVE ANTIBODIES IN THE SERUM AS WELL AS LOCAL IGA RESPONSES. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 6) Ryo Ito, Akira Ainai, Hideki Asanuma, Tadaki Suzuki, Joe Chiba, Shin-ichi Tamura, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa: Analysis of the immune responses after intranasal booster influenza vaccine with heterologous virus priming. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 7) Hideki Hasegawa, Akira Ainai, Elly van Riet, Tadaki Suzuki, Ryo Ito, Takeshi Tanimoto, Takato Odagiri, Masato Tashiro, Tetsutaro Sata, Takeshi Kurata, Shin-Ichi Tamura: INTRANASAL ADMINISTRATION OF AN INACTIVATED WHOLE-VIRION INFLUENZA VACCINE EFFECTIVELY INDUCES THE NEUTRALIZING ANTIBODIES BOTH IN THE

- SERUM AND THE NASAL WASH IN HUMAN. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
- 8) Hideki Asanuma, Mina Nakauchi, Kayoko Sato, Eri Nobusawa, Akira Ainai, Norio Yamamoto, Nami Konomi, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro: COMPARISON OF INFLUENZA A/H1N1 PDM09 VACCINE PRODUCTIONS IN EGGS VERSUS CELL CULTURES AND THE PROTECTIVE IMMUNE RESPONSES INDUCE IN MICE. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 9) Tadaki Suzuki, Akira Ainai, Noriyo Nagata, Tetsutaro Sata, Hideki Hasegawa: Role of the N-Terminal Region of the PA Subunit in Nuclear Import and Assembly of Influenza A Virus RNA Polymerase. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 10) Tatsuya Yamazaki, Yasutomo Teshima, Daisuke Ninomiya, Maria Nagashima, Yuka Arai, Akira Fujimoto, Akira Ainai, Hideki Hasegawa, Joe Chiba: PASSIVE IMMUNOTHERAPY AGAINST INFLUENZA VIRUS INFECTION USING THE EXPRESSION OF NEUTRALIZING ANTI-HEMAGGLUTININ MONOCLONAL ANTIBODIES FROM PLASMIDS BY HYDRODYNAMICS-BASED PROCEDURE. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 11) Hidekatsu Iha, Emi Ikebe, Akira Kawaguchi, Shinya Taguchi, Akira Nishizono, Yuetsu Tanaka, Hirofumi Sawa, Masao Ogata, Mitsuo Hori, Jun-Ichi Fujisawa, Hideki Hasegawa. MOLECULAR CHAPERON INHIBITOR-BASED TREATMENT AGAINST ATL:ITS IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION. XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 12) Masayuki Saijo, Yasushi Ami, Yuriko Suzaki, Noriyo Nagata, Naoko Yoshikawa (Iwata), Hideki Hasegawa, Momoko Ogata, Shuetsu Fukushi, Tetsuya Mizutani, Tetsutaro Sata, Ichiro Kurane, Shigeru Morikawa: Immune response against EEV and IMV in non-human primates vaccinated with a highly attenuated smallpox vaccine LC16m8 and protection from lethal monkeypox. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 13) Kobayashi S, Suzuki T, Igarashi M, Ohtake N, Nakagawa K, Niikura K, Kimura T, Kasamatsu H, Sawa H: Cys80 of JC virus capsid protein, VP1 is essential for pentamer formation. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 14) Yuichiro Nakatsu, Xuemin Ma, Fumio Seki, Tadaki Suzuki, Masaharu Iwasaki, Yusuke Yanagi, Katsuhiro Komase, Makoto Takeda: Intracellular trafficking of the measles virus L protein occurs independently of the viral M protein and is related to microtubule network and recycling endosome. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, September 2011, Sapporo.
 - 15) Seto T, Nagata N, Yoshikawa K, Ichii O, Sanada T, Saasa N, Kon Y, Yoshii K, Kariwa H: Development of the lethal animal model of human hantavirus infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 16) Noriyo Nagata, Naoko Iwata, Hideki Hasegawa, Yuko Sato, Shigeru Morikawa, Tetsutaro Sata: Interferon gamma protects adult BALB/c mice from lethal respiratory illness after mouseadapted SARS-CoV infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 17) Kotani O, Shirato K, Nagata N, Miyazaki A, Ikeda H, Taguchi F, Takahashi K: Neuropathogenesis of mouse-adapted porcine epidemic virus infection in suckling mouse. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 18) Sakai K, Nishio Y, Nagata N, Ami Y, Komase K, Shimojima M, Maeda K, Takeda M, Saijo M, Morikawa S: Characterization of canine distemper virus isolated from cynomolgus monkeys during 2008 Epizootic in japan. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 19) Takeuchi K, Kato S, Nagata N, Suzuki T, Ami Y, Mori K, Tsunetsugu-Yokota Y, Nagata K: Infection of cynomolgus monkeys with recombinant wild-type

- measles virus bearing vaccine H protein. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
- 20) Sato K, Asanuma H, Kataoka M, Nagata N, Tashiro M, Itamura S: Morphological characterization of a/h1n1pdm09 viruses isolated in egg from clinical specimens. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 21) Nii-Trebi N, Kinomoto M, Brandful J, Barnor J, Tatsumi M, Sata T, Ampofo W, Osei-Kwasi M, Tokunaga K: Infectivity of HIV-1 Subtypes Isolated from Ghanaian Patients. WSU Joint International Conference. September 2011, East London, South Africa.
 - 22) Takayoshi Koyama, Kenzo Tokunaga, Tetsutaro Sata, Yukihiro Ishizaka: HIV-1 DNA integration into host chromosomal double-strand break sites is not attenuated by raltegravir, an integrase inhibitor. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, September 2011, Sapporo.
 - 23) Yukie Iwabu, Juan F. Arias, Masaru Yokoyama, Hironori Sato, Tetsutaro Sata and Kenzo Tokunaga: Homodimerization of APOBEC3G is required for inhibition of Alu retrotransposition. Frontiers of Retrovirology Conference 2011. October 2011, Amsterdam, The Netherlands.
2. 国内学会
- 1) 長谷川秀樹：成人 T 細胞性白血病(ATL)モデルマウスを用いた新規治療法の試み。第 100 回日本病理学会総会（横浜）2011 年 4 月
 - 2) 片野晴隆：KSHV 関連疾患の病理とウイルスがコードする miRNA。第 100 回日本病理学会総会（横浜）2011 年 4 月
 - 3) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹、熊坂利夫、羽田悟、田中伸哉、笠井孝彦、鄭子文、飯塚利彦、仲里巖、樋野陽子、濱松晶彦、堀内尚、田中智之、長谷川章雄、尾矢剛志、佐多徹太郎：2009H1N1 パンデミックインフルエンザウイルス感染症 20 剖検例の臨床病理学的解析。第 100 回日本病理学会総会（横浜）2011 年 4 月
 - 4) 松永達也、新倉謙一、鈴木忠樹、永川桂大、小林進太郎、澤 洋文、居城邦治：金ナノ粒子を用いたウイルスワクチン作製と免疫付与能に及ぼすサイズ・形状効果。第 60 回高分子学会年次大会（大阪）2011 年 5 月
 - 5) 永川桂大、新倉謙一、鈴木忠樹、松尾保孝、澤 洋文、居城邦治：ウイルス粒子の再集合における金属ナノ粒子内包条件の検討。ナノ学会第 9 回大会（札幌）2011 年 6 月
 - 6) 鈴木忠樹、相内 章、永田典代、澤 洋文、佐多徹太郎、長谷川秀樹：蛍光タンパク質再構成法を用いたインフルエンザ RNA ポリメラーゼの 3 量体形成機構の解析。第 25 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム（富山）2011 年 6 月
 - 7) 佐々木純、上野智規、片野晴隆、佐多徹太郎、後藤希代子：PML 法を用いた上皮細胞間における HCMV 臨床分離株の感染経路の検討。第 26 回ヘルペスウイルス研究会（大阪）2011 年 6 月
 - 8) 長谷川秀樹、中島典子、佐多徹太郎：インフルエンザウイルス A/H1N1pdm 感染症の病理学的解析。衛生微生物技術協議会第 32 回研究会（東京）2011 年 6 月
 - 9) 片野晴隆、坂本康太、関塚剛史、黒田 誠：KSHV がコードしている 16 base の unusual small RNA の発現。第 8 回 EB ウイルス研究会（大阪）2011 年 7 月
 - 10) 永川桂大、新倉謙一、野村尚生、鈴木忠樹、松尾保孝、澤 洋文、居城邦治：糖鎖認識を利用した金属ナノ粒子の集合化によるウイルス検出。第 21 回バイオ・高分子シンポジウム（吹田）2011 年 7 月
 - 11) 松永達也、新倉謙一、鈴木忠樹、永川桂大、小林進太郎、山口宏樹、澤 洋文、居城邦治：様々な形状の金ナノ粒子ワクチンの作製とワクチン活性の形状依存性。2011 年度北海道高分子若手研究会（牡警町）2011 年 8 月
 - 12) 松永達也、新倉謙一、鈴木忠樹、永川桂大、小林進太郎、山口宏樹、澤 洋文、居城邦治：様々な形状の金ナノ粒子をコアとした擬似ウイルス粒子の作製とワクチン活性の評価。第 5 回バイオ関連化学シンポジウム（筑波）2011 年 9 月
 - 13) 新倉謙一、永川桂大、武蔵裕介、鈴木忠樹、澤 洋文、居城邦治：ウイルスタンパクの自己集合を利用したナノ材料の創製。第 60 回高分子討論会（岡山）2011 年 9 月
 - 14) 藤田英明、岩部幸枝、佐多徹太郎、徳永研三、田中嘉孝：膜結合型ユビキチンリガーゼ MARCH8 によるトランスフェリン受容体のユビキチン化およびダウンレギュレーションの分子機構。第 84 回日本生化学会大会（京都）2011 年 9 月
 - 15) 長谷川秀樹、中島典子：パンデミックインフルエンザウイルス H1N1/09 感染症の病理学的解析。第 43 回日本小児感染症学会総会・学術集会（岡山）2011

年 10 月

- 16) 片野晴隆、横幕能行、菅野隆行、福本 瞳、中山智之、新ヶ江章友、杉浦 互、市川誠一、安岡 彰：日本人 MSM におけるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV/HHV-8)抗体保有率について。第 25 回 日本エイズ学会学術集会総会（東京）2011 年 11 月
- 17) 長谷川秀樹：感染防御に効くインフルエンザワクチンを目指して。第 15 回日本ワクチン学会学術集会（東京）2011 年 12 月
- 18) 相内 章、浅沼秀樹、谷本武史、小田切孝人、田村慎一、田代真人、長谷川秀樹：2009/10 季節性インフルエンザワクチンの経鼻投与による A/H1N1pdm09 ウイルスの感染防御。第 15 回日本ワクチン学会学術集会（東京）2011 年 12 月
- 19) Takayoshi Koyama, Kenzo Tokunaga, Yukihiro Ishizaka: HIV-1 integration into host DNA double-strand break sites is the majority event in integrase inhibitor-treated cells. 第 34 回日本分子生物学会（横浜）2011 年 12 月

III. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得（出願）

特許第 4817625 号 粘膜免疫誘導アジュバントを含む新規ワクチン 登録日平成 23 年 9 月 9 日