

8. 免疫部

部長 阿戸 学

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。「Translational medical research(橋渡し医学研究)を推進することにより、研究室で得られた研究成果を医療や社会に還元し、健康増進や感染症によるヒトの健康被害の減少」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、細菌など、多種多様な病原体感染症に関する研究、生物毒生物毒素および抗毒素治療に関する研究や、免疫機能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. ノロウイルスに関する研究
4. ワクチンに関する基礎的研究
5. respiratory syncytial virus(RSV)感染症における免疫応答に関する研究

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

III. 免疫機能に関する研究

1. 有用抗体を遺伝子合成して発現する技術の開発
2. 免疫寛容破綻機構の解明に向けた基盤技術の開発に関する研究

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケクモ抗毒素の力価試験の開発

品質管理に関する業務

I. 国家検定

II. 標準品交付

III. 体外診断薬委員会業務

国際協力関係業務

研修業務

共同利用機器管理

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)ヒト化マウスを用いた in vivo における HIV 感染機構

の解析

HIV 感染に伴う CD4 陽性 T 細胞の細胞死は感染後期で顕著であるものの、感染急性期で誘導される細胞死の特徴については不明な点が多い。近年、ウイルス産生に至らない abortive infection がプログラム細胞死の一つであるパイロトーシスを誘導することが報告され、p24 産生の有無に基づく従来の bystander CD4 陽性 T 細胞死の実態がパイロトーシスである可能性が示唆されるようになった。そこで本研究では、HIV-1 感染急性期に誘導される CD4 陽性 T 細胞死の実態について、ヒト化マウスモデルでの解析を開始した。CCR5 指向性(R5)あるいは CXCR4 指向性(X4)HIV-1 を接種したヒト化マウスの脾臓細胞を解析した結果、R5 HIV-1 接種では接種後 1 週目、X4 HIV-1 接種では接種後 2 週目に productive infection が顕在化した。両ウイルス接種群ともに接種後 3 日目で既に CD4 陽性 T 細胞の細胞死誘導が認められた。さらに、細胞表面 CD4 分子の発現低下が abortive infection の指標として有用であるか検討したところ、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞集団において、CD4 発現低下細胞頻度と死細胞頻度との間に有意な正の相関が認められた。現在、abortive infection と CD4 発現低下との関連性について解析を進めている。

[寺原和孝、岩淵龍太郎(早稲田大学、研究生)、竹山春子(早稲田大学先進理工学部生命医科学科、阿戸学、横田恭子(客員研究員)]

(2)HIV が潜伏感染するナイーブ CD4⁺ T 細胞のウイルス制御機構の解析

GFP 発現 HIV を感染させた後、恒常性サイトカイン(IL-7 と IL-15)によりナイーブ CD4⁺ T 細胞を維持培養(HSP 培養)すると、プロウイルスを持ちながら GFP 蛋白発現陰性の静止期ナイーブ T 細胞集団が比較的長期間維持される。この細胞集団は T 細胞受容体(TCR)刺激(TCR 培養)後に一度静止化して GFP 陰性となった記憶 T 細胞と比較して、既存の再活性化刺激に抵抗性であることを明らかにし、論文発表した(Frontiers in Microbiology, 2016)。このようなナイーブ T 細胞と TCR 刺激を受けた記憶 T 細胞の感染制御機構の違いを明らかにする目的で、スペインの共同研究者と共に両細胞の RNAseq 解析を実施した。HSP 培養した CD4⁺ T 細胞で特に発現が高い遺伝子群を幾つか選択して解析を始めている。また、恒常性サイトカインの刺激伝達系分子 STAT5 の低分子型(truncated form)が HIV-1 感染者に多く発現してウイルスの潜伏化に関与していることを示唆する報告に基づき、HSP 培養細胞の STAT5 シグナル分子の性状解析を行った。

[横田恭子(客員研究員)、小林(石原)美栄、寺原和孝、Javier P. Martinez (Pompeu Fabra 大学、スペイン)、Andreas Meyerhans (Pompeu Fabra 大学、スペイン)]

(3) HIV 由来アンチセンス鎖 RNA の潜伏感染における機能解析

近年、HIV プロウイルスのセンス鎖に加え、アンチセンス鎖からも RNA(asRNA) が転写され、センス鎖 RNA(sRNA)の転写を抑制していることがわかってきた。そこで我々は、一細胞レベルで HIV の sRNA 及び asRNA の発現を解析した。本解析のため、それぞれの RNA 発現を異なる蛍光タンパク質によりモニターできるモデル HIV を作製し、T 細胞株に感染させた。この結果、感染細胞は①sRNA のみを発現する細胞群、②asRNA のみを発現する細胞群、③どちらも発現しない細胞群に分画された。②と③間の潜伏感染ステータスにおける違いを比較するため、両者の感染細胞をそれぞれシングルクローン化した。さらにそれらに PMA+Ionomycin 及び SAHA で再活性化刺激を与え、sRNA の発現応答性を調べたところ、②の asRNA を発現している潜伏化細胞は③の asRNA を発現していない潜伏化細胞に比べ再活性化応答性が有意に低いことが示された。このことから、asRNA は HIV の潜伏感染維持に貢献していることが示唆された。

[小林(石原)美栄、寺原和孝、阿戸 学、横田恭子(客員研究員)]

2. インフルエンザに関する研究

(1) 免疫原性を改善した H7N9 ワクチンの開発

2013 年に鳥インフルエンザ A(H7N9)による人感染症例が初めて報告されて以来、1500 例以上の症例数を数え、致死率も高い(29%)ウイルス感染症である。この予防を目的として季節性ワクチンと同じ剤形で H7N9 ワクチンが開発されたものの、臨床試験では抗体惹起能が低く、免疫原性の改善が必要とされている。免疫原性改善のため、バイオインフォマティクスの手法を導入し、抗体誘導に適すと思われる H7 アミノ酸一次配列をデザインした。この配列をもとに、変異型 H7 ヘマグルチニンタンパクを作製したところ、ヒト化マウスにおいて免疫原性の改善効果が確認され、より高濃度の抗ヘマグルチニン抗体が惹起された。さらに、マウスを用いた解析から、季節性ウイルスに対する既存の免疫が H7N9 ワクチンの免疫原性に影響を与える可能性が示唆された。

[和田倭(研究生)、Arnone Nithichanon 信澤枝里(インフルエンザウイルス研究センター)、竹山春子(早稲田大学)、Anne De Groot(EpiVax)、阿戸学、高橋宜聖]

(2) インフルエンザウイルスへの交叉防御抗体を誘導する新しいワクチン剤形の開発に関する研究

インフルエンザウイルス経鼻感染後の肺において、交叉防御能に優れた B 細胞が胚中心において産生されることをこれまでに見いだした。肺の交叉性 B 細胞の大多数は、複数のヘマグルチニンで共通の抗原領域であるステム部分の α ヘリックスを認識することを見いだした。ステム部分の α ヘリックスは、通常のヘマグルチニン構造では露出していないため、感染時の肺ではヘマグルチニン構造が変化していると考えられた。そこで α ヘリックスを露出することが知られるヘマグルチニンの膜融合型に着目しワクチンを作製したところ、より高濃度の交叉抗体が惹起された。さらに、惹起された交叉抗体は変異型ウイルス感染に対する交叉防

御効果を示したことから、新しいワクチン剤型になることが期待された。

[安達悠、阿戸 学、高橋宜聖]

3. ノロウイルスに関する研究

(1) ノロウイルス VLP ワクチンの免疫原性・有効性に関する研究

ノロウイルス感染症は非細菌性急性感染性胃腸炎の約 90% を占め、ワクチンにより予防が望まれる感染症の 1 つである。本研究では現在開発が進められているヒトノロウイルス VLP ワクチンの有効性をヒト免疫系を移植したヒト化マウスを用いて評価した。その結果、ノロウイルス VLP ワクチンによって IgA 型、IgG 型の両方の液性免疫応答が誘導可能であること、更にこれらの抗体がノロウイルスに対して HBGA 結合阻害活性を有することを明らかにした。これらのことから、ノロウイルス VLP ワクチンにより感染予防に有効な液性免疫を付与することが可能であることが示唆された。

[小野寺大志、三木元博(ウイルス第二部)、片山和彦(ウイルス第二部)、三好龍也(堺市衛生研究所)、小林和夫(堺市衛生研究所、客員研究員)、阿戸 学、高橋宜聖]

(2) ノロウイルス次世代ワクチンの開発に向けた交差防御抗体に関する研究

ヒトノロウイルスは GI, GII, GIV の遺伝子型から成り、それらは更に数十に上るサブタイプのウイルスに分類される。次世代型ワクチンとして、これら多岐にわたるウイルスサブタイプに跨った交差防御免疫を誘導可能なワクチンの開発が望まれている。本研究ではノロウイルスに対するヒト交差防御免疫の解析、及びノロウイルス交差防御エピトープの同定を目的としフローサイトメトリーによる交差反応性記憶 B 細胞の検出技術の開発を行った。またこれらの細胞から交差反応性ヒトモノクローナル抗体を作成しその性状解析を行った。その結果、健康人末梢血中において GI.1 型、GII.4 型の両方に交差反応性を有する記憶 B 細胞が IgA 型、IgG 型共に株特異的の反応性を有するものと同等に存在することを明らかにした。更にマウスノロウイルスを用いた中和試験、感染防御試験においてこれらの交差反応性抗体が感染防御効果を有する事を明らかにした。これらのことから交差反応性抗体をワクチンにより誘導することの有効性が示唆された。

[小野寺大志、三木元博(ウイルス第二部)、片山和彦(ウイルス第二部)、阿戸 学、高橋宜聖]

4. ワクチンに関する基礎的研究

(1) サルエイズワクチンモデルにおける腸管 T 細胞反応の解析

新規エイズワクチンの実用化に向け、サルエイズワクチンモデルにおける腸管感染防御効果の検証を進めている。腸管感染免疫動態を解析するにあたり、生検サンプルでの解析が必須とされるが、これまで確立した 6 種類の機能マーカー(IFN- γ , MIP-1 β , TNF- α , IL-2, CD107a, IL-17A)の発現能に基づく T 細胞反応解析が生検サンプルに適用可能か検討した。その結果、生検由来 T 細胞の機能プロファイルは剖検由来 T 細胞のそれと同等であることが確認され、生検サンプルでの解析が可能であることが示唆された。

[寺原和孝、石井 洋(エイズ研究センター)、俣野哲朗(

エイズ研究センター)]

(2) インフルエンザ・ワクチン免疫に応答する抗体レパートリーの網羅的解析

これまでの研究で、抗体応答を抗体遺伝子レパートリーの発現パターンとして検出するために次世代遺伝子シーケンサーを用いて網羅的解析手法の開発を行い、鶏卵馴化によって変異したワクチン株で製造されたワクチンに対する抗体応答の違いを抗体レパートリーの使用パターンの違いとして見出すことができています。この技術を用いて全粒子ワクチンとスプリットワクチンの剤型の違いによる抗体応答について抗体遺伝子のレパートリーの使用パターンと、誘導される抗体とウイルスへの結合親和性との関係について調べ、ワクチンの有効性に関連する抗体レパートリーの発現様式を同定し、これまでに無い考え方に基づくワクチンの品質管理試験の開発を行った。本方法を用いて、ワクチンやワクチン製造株の特性に応じた性能を評価する品質管理試験を確立すれば、ワクチンが一定の品質で供給され国民の健康や医療費の抑制などに貢献できる。[大西和夫、孫琳、河野直子(インフルエンザウイルス研究センター)、板村繁之(インフルエンザウイルス研究センター)]

5. Respiratory syncytial virus (RSV) 感染症における免疫応答に関する研究

(1) ホルマリン固定 RSV(formalin-inactivated RSV: FI-RSV) ワクチン接種に伴う病態増悪 (vaccine enhanced-disease: VED) モデルの作製

現在 RSV ワクチンは存在しない。1969 年に臨床試験が行われたが、FI-RSV ワクチンを接種した乳幼児がその後 RSV に自然感染すると、かえって病態を悪化させた。それ以来安全かつ効果的なワクチンの開発には至っていない。そこで、この病態悪化機構を解明するために、FI-RSV VED マウスモデルの作製を試みた。FI-RSV をアラムと共に皮下投与することで免疫し、その後 RSV を感染させた。感染 4 日、8 日後に免疫学的解析を行ったところ、気道抵抗性(AHR)の亢進、2 型ヘルパー T(Th2)サイトカインである interleukin(IL)-4、IL-5、IL-13 産生の促進が認められた。またそれに伴う血中 IgE 濃度の上昇や好酸球浸潤の増大、粘液産生細胞増生といったアレルギー性気道炎症の症状がみられ、FI-RSV VED モデルの作製に成功したことが確認された。

[柴田岳彦、阿戸 学]

(2) Growth arrest-specific gene 6(Gas6)/Axl シグナルの FI-RSV VED への関与

これまでに我々は、アポトーシス細胞の貪食や細胞増殖に関与する Gas6/Axl シグナルが、免疫応答の制御においても重要な役割を果たすことを示した。その新規役割の一つとして、Gas6/Axl シグナルは Th2 免疫応答を増強し、真菌誘導アレルギー性気道炎症を促進することを明らかにした。すなわち、Gas6/Axl シグナルが FI-RSV VED の誘導にも関与することが予想された。実際、FI-RSV VED モデルのマウス肺では未処理マウスと比較して高濃度の Gas6 が検出された。さらに、FI-RSV により免疫されたマウスからリンパ節細胞を調製し、RSV により

再刺激したところ、多量の Gas6 が産生された。Gas6 は樹状細胞に RSV を感染させたとき、あるいは FI-RSV 処理でも同様に産生が誘導された。以上の結果より、樹状細胞の Gas6/Axl シグナルが FI-RSV VED の誘導に関与する可能性が示唆された。

[柴田岳彦、阿戸 学]

(3) 抗 Axl 抗体投与による FI-RSV VED への影響

Gas6/Axl シグナルが FI-RSV VED の誘導に関与するか検証するため、FI-RSV 免疫時に抗 Axl 抗体を投与し、そのシグナルを阻害したときの応答を解析した。結果、抗 Axl 抗体投与により FI-RSV VED モデルにおける AHR や Th2 サイトカイン産生の亢進、粘液細胞過形成が対照群と比較して有意に抑制された。一方、抗 Axl 抗体投与は、interferon- γ 産生を促進し、RSV fusion タンパク質特異的 IgG2a 産生を促進した。なお、FI-RSV 処理した樹状細胞は、Th0 細胞を Th1 細胞に分化させる IL-12 の産生を誘導しなかったが、抗 Axl 抗体処理した樹状細胞を FI-RSV で処理すると、IL-12 産生が誘導された。この結果は、抗 Axl 抗体投与による Th2 から Th1 免疫へのシフト機構を説明する一つとなる。以上の結果より、Gas6/Axl は RSV 感染に伴う免疫応答制御機構において非常に重要な役割を担い、それを標的としたさらなる研究は RSV ワクチンの開発へとつながることが期待される。

[柴田岳彦、阿戸 学]

(4) RSV による Gas6 産生誘導機構と Th1 免疫応答抑制機構の解明

RSV の glycoprotein(G protein)により Th2 免疫応答が誘導されることはよく知られているが、これまでその機構は不明であった。我々は、リコンビナント RSV G protein の添加により、樹状細胞から Gas6 が産生されることを発見した。一方、RSV の fusion(F)protein は toll-like receptor 4 からのシグナルを惹起することが知られているが、樹状細胞へのその添加は、ナイーブ T 細胞から Th1 細胞に分化させる IL-12 の産生を誘導することを見出した。一方、F protein により誘導された IL-12 は、G protein の添加により有意に抑制された。また、RSV や FI-RSV 処理ではほとんど IL-12 産生が誘導されなかったが、あらかじめ樹状細胞を抗 Axl 抗体で処理すると、IL-12 産生の増大がみられた。すなわち、RSV G protein により Gas6 が誘導され、Gas6 は Axl を介して F protein により誘導される IL-12 産生を抑制し、免疫応答を Th1 から Th2 にシフトさせることが示唆された。以上の結果より、FI-RSV VED における Th2 免疫応答誘導機構の一部が解明され、現在世界的に進められている G protein を除いた F protein ワクチン開発にさらに意味をもたせることとなった。

[柴田岳彦、阿戸 学]

(5) RSV 感染に伴う二次性細菌感染の免疫学的機構の解明

RSV と細菌の重複感染は、乳児や高齢者において肺炎など重症化をしばしば引き起こす。我々は RSV 感染が誘導する免疫応答に注目し、重症化をもたらす免疫

学的機構のひとつを解明した。肺炎球菌感染 1 日後の肺では、RSV との重複感染群の気道への細胞浸潤、炎症性サイトカイン産生、肺炎球菌のクリアランスが肺炎球菌単独感染と比較して抑制された。一方、肺炎球菌感染 6 日後の肺炎球菌単独感染群では炎症応答が終息したのに対して、RSV との重複感染群では強い感染とそれに伴う炎症応答がみられた。重複感染モデルにおいて Gas6 KO マウスや Axl に対する抗体または阻害剤の投与は、肺炎球菌感染後の初期炎症応答の抑制とそれに続く感染の増大、そして体重や生存率の低下を解消した。すなわち、RSV 感染により肺胞マクロファージから産生される Gas6 が Axl を介して二次性細菌感染を容易にし、病態の悪化を招いていることが示唆された。さらにこの Gas6/Axl シグナルは、肺炎球菌感染に伴うマクロファージの IL-18 産生など感染初期の免疫応答を抑制し、結果として NK 細胞の IFN- γ 産生など肺炎球菌のクリアランスに重要な応答を阻害することにより強い感染を誘導することが明らかになった。この結果は、Gas6/Axl を標的とした新たな二次性細菌性肺炎などの予防・治療法の開発につながる事が期待される。

[柴田岳彦、阿戸 学]

II. 細菌感染症

1. 抗酸菌感染症に関する研究

(1) 非結核性抗酸菌に特異的な糖脂質 GPL の役割

抗酸菌は菌体表面に厚い脂質の層を持ち、増殖に伴って表面を広がる sliding 能を示す。作成した sliding 能欠損変異株では細胞における菌の取り込みが減少し、変異株の一つでは非結核性抗酸菌に特異的な糖脂質の GPL が欠落していた。これまで GPL は環境中での生存に重要であると言われていたが、同様に感染の際には細胞へのアプローチに貢献していると推察される。

[岡部真裕子、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、藤原永年・中 崇(大阪市立大学大学院医学研究科)、阿戸 学、小林和夫(堺市衛生研究所、客員研究員)]

(2) 菌体外構造物の電子顕微鏡による観察

電子顕微鏡を用いて抗酸菌 *M. smegmatis* の観察を行ったところ、菌体表面に繊維状の構造物が発現しているのが観察された。これらは栄養過多な培養条件において多数確認され、形態から pili と推察される。結核菌では細胞への接着に関与する pili の報告があるが、pili 様構造物は GPL 欠損株では見られなかったことから、sliding や細胞との相互作用に関与している可能性がある。

[岡部真裕子、川本晃大・難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科、客員研究員)、小林和夫(堺市衛生研究所、客員研究員)、阿戸 学]

(3) 非結核性抗酸菌症罹患率調査

非結核性抗酸菌症の罹患率の増加が懸念されており、平成 26 年度に我々が行った臨床機関へのアンケート調査により、非結核性抗酸菌症の罹患率は推定 14.7 人/10 万人と同時期に報告された結核よりも多いということが明らか

になった。平成 27 年度は、主要検査センター3 社にデータセットの抽出を依頼し、抗酸菌症診断例の性年齢分布、地域差、菌種分布および感受性検査データを直接解析した。期間有病率は 9.01/10 万と、死亡統計からの推定値と比較して低値であった。この原因として、院内検査室を持たない小規模医療機関が本調査の主な対象となり、大規模専門病院でのデータが含まれないバイアスが考えられた。菌の地域別構成や性・年齢分布はアンケートによる調査とほぼ一致し、全国の本疾患状況が別の視点からも確認できた。

[阿戸 学、森本耕三、倉島篤行(複十字病院)、南宮 湖、長谷川直樹(慶應大学呼吸器内科)、星野仁彦(ハンセン病研究センター)、御手洗聡(結核研究所)]

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新規未熟骨髄系細胞の役割

A群レンサ球菌(Group A *Streptococcus*: GAS)は、通常、上気道粘膜もしくは皮膚表面で局所感染を引き起こすが、劇症型溶血性レンサ球菌感染症では急激なショックと菌血症を伴う致死性の全身感染となる。劇症型感染臨床分離株において遺伝子発現パターンに変化が認められる一方、発症には宿主要因の関与が示唆されている。しかし、劇症型溶血性レンサ球菌感染症発症と病態に対する炎症メディエーターの関与は不明な点が多い。我々は劇症型レンサ球菌感染マウスモデルにおいて、宿主防御的に働く新規の未熟骨髄系細胞(Immature myeloid cells: IMCs)を発見した。さらに、野生型マウスと比較してGAS感受性が高いIL-6欠損マウスにおいてもIMCsを同定した。野生型IMCsを養子細胞移植したマウスにおいては劇症型感染に抵抗性を示したが、IL-6欠損IMCsを養子細胞移植したマウスにおいては劇症型感染に抵抗性を示さなかった。また、野生型IMCsと比べ、IL-6欠損IMCsはGAS応答性の炎症性サイトカインの産生が減少し、抑制性サイトカインであるIL-10の産生が増加していることが示された。IL-10投与マウスでは劇症型感染に感受性が上昇し、IL-10中和抗体投与マウスでは劇症型感染に抵抗性を示したことから、IL-6欠損IMCsによるIL-10の産生増加が、IL-6欠損マウスにおけるGAS感受性上昇の一つの原因であると考えられた。[松村隆之、池辺忠義・大西真(細菌第一部)、阿戸 学]

3. 類鼻疽感染症に対するワクチン開発に向けた基盤研究

類鼻疽は類鼻疽菌 *Burkholderia pseudomallei* の細胞内寄生によって起こる重篤で治療困難な感染症(感染症法 4 類感染症)である。有効なワクチンや治療法が存在しない本感染症に対し、ワクチン開発に有効な防御抗原の特定を試みた。類鼻疽に免疫のあるドナー由来細胞を移植したヒト化マウスを用い、類鼻疽菌由来のタンパク質(FliC, OmpA, N-PilO2)について、抗体誘導能を評価した。その結果、いずれのタンパク質を接種した場合でも IgG 抗体が誘導された。また、誘導された IgG 抗体は、免疫細胞の抗菌活性に必要な貪食活性や活性酸素生成反応系を活性化することが判明した。以上の結果から、これらタンパク質は、類鼻疽菌に対する防御免疫を賦活化するのに適すると考えられ、新しいワクチン抗原候補となることが示された。

[Arnong Nithichanon、高橋宜聖、Ganjana Lertmemongkolchai(Khon Kaen 大学医療学部、タイ王

国)、阿戸 学]

III. 免疫機能に関する研究

1. 有用抗体を遺伝子合成して発現する技術の開発

我々が開発した次世代シークエンサーを用いて抗原応答抗体の H 鎖(IgH) 遺伝子配列を予測する新規手法において、有用抗体をその遺伝子配列から人工合成するシステムを開発している。このために、IgH 鎖の抗原特異性に影響せず幅広い IgH 鎖レパートリーと結合できる、汎用(ユニバーサル)IgL 鎖の作製を進めている。抗体産生 B 細胞の分化初期に発現する代替 L 鎖は理論的に任意の IgH 鎖と結合することができる。この性質を利用していわゆる「ユニバーサル IgL 鎖」の分子モデルを複数作製して性能評価を行っている。有用な抗体の人工合成技術が確立すれば、感染症に対する免疫応答に重要な役割を持つ抗体の利用に新しい方法論を与えることになる。

[大西和夫、孫琳、薛漢兵、野口保(東京薬科大学)、藤本浩文(品質管理保証室)、藤博幸(産業技術総合研究所)、傅舟一(筑波大学大学院生命環境科学)、Lill Martensson(バブラハム研究所、英国)、Fritz Melchers(マックス・プランク感染生物学研究所、ドイツ連邦共和国)]

2. 免疫寛容破綻機構の解明に向けた基盤技術の開発に関する研究

自己反応性 B 細胞の免疫寛容の破綻が自己免疫疾患発症の起因の1つとして関与していることが明らかになっているが、この破綻機構の詳細に関してはほとんど明らかになっていない。本研究ではこの破綻機構を解明する上で基盤となる自己反応性 B 細胞の検出技術を確立し、SLE モデルマウスにおける自己反応性 B 細胞の動態と疾患発症との相関関係を解析した。その結果、胚中心型の自己反応性 B 細胞数は野生型、及び SLE モデルマウスではほぼ同等に存在していたのに対し、記憶型(IgG 型)の自己反応性 B 細胞数はむしろ野生型マウスにおいて優位であった。一方、血清中の自己抗原反応性 IgG 抗体価は野生型マウスでは検出限界以下であったのに対し、SLE モデルマウスにおいて著増している事が明らかとなった。これらの結果は記憶型(IgG 型)自己反応性 B 細胞の蓄積は疾患発症と相関は無く、むしろ記憶型(IgG 型)自己反応性 B 細胞が免疫寛容を維持できずに抗体産生細胞に分化してしまうことが疾患発症につながる事を示している。これらのことから記憶型自己反応性 B 細胞から抗体産生細胞への分化段階に免疫寛容のチェックポイントが存在し、この破綻が SLE 発症に関与している事が示唆された。

[小野寺大志、鏑田武志(東京医科歯科大学)、阿戸 学、高橋宜聖]

IV. 生物毒素および抗毒素治療に関する研究

1. セアカゴケグモ抗毒素の力価試験、品質管理試験

セアカゴケグモ咬傷は、咬傷部の疼痛が主な症状であるが、その後の疼痛増強や全身に多彩な症状が認められることがある。治療は、対症療法とウマ抗毒素の投与であるが、我が国では抗毒素が薬事承認されていないので、製造元であるオーストラリア CSL 社から医師の個人輸入により、

抗毒素の保管・投与が行われているのが実情である。しかし、国内への抗毒素輸入が必ずしも確実でないことから、昨年度、国内初のセアカゴケグモ抗毒素が製造された。今年度はその保存安定性試験を行い、昨年製造した国産抗毒素の力価がほぼ変化していないことを確認した。また今後も継続的に抗毒素の力価試験を行うために、セアカゴケグモ毒素の新ロットの性状試験とLD₅₀試験を行い、旧ロットと比較して毒素の主成分である α -ラトロトキシンの量はほぼ変わらず、LD₅₀もほぼ同程度であることを確認した。[松村隆之、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、沢辺京子(昆虫医学部)、阿戸 学]

品質管理に関する業務

I. 国家検定

乾燥まむしウマ抗毒素 1 ロットの書類審査を行った。[松村隆之、阿戸 学]

II. 標準品交付

標準はぶ抗毒素(抗致死、抗出血 I 及び抗出血 II)、はぶ試験毒素(出血 I)、はぶ試験毒素(出血 II)、はぶ試験毒素(致死)、まむし抗毒素(抗致死、抗出血)、まむし試験毒素(出血)、まむし試験毒素(致死)を配布した。[岡部真裕子、松村隆之、阿戸 学]

III. 体外診断薬委員会業務

承認前検査担当項目として、承認申請のあった A 型肝炎ウイルス(HAV)抗体測定用キットについて感度、特異性及び再現性試験を行うことになっている。また、この検査に必要な HAV 抗体国内血清パネルの整備を行う。また体外診断薬委員会に提出された各種体外診断薬の承認前検査申請について審査を行った。

[高橋宜聖、阿戸 学]

1. A 型肝炎ウイルス(HAV)検体パネルの整備

HAV 感染予防対策の基礎となる感染診断法のうち最も多用されるのは HAV 抗体検出キットで、A 型肝炎診断補助検査全体の 95%以上を占める。この HAV 抗体検出キットは数年ごとに感度・特異性の向上したバージョンが開発されるため、新しい HAV 抗体検出キットの継続的な性能評価が必要とされている。免疫部ではその性能評価の基礎となる感染症検体パネル(IgM、IgG 型 HAV 抗体パネル)の整備を進めており、昨年度までに IgG 型 HAV 検体パネルの整備を完了した。平成 28 年度では、IgM 型 HAV 抗体パネルの整備を進めるため、国立病院機構の肝炎研究班に属する医療機関と、国内の肝疾患診療連携拠点病院に協力を依頼し、国内急性 A 型肝炎の発生時に IgM 抗体陽性検体を収集するシステムを整備した。

[高橋宜聖、是永匡紹(国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター)、八橋 弘(国立病院機構長崎医療センター)、阿戸 学]

国際協力関係業務

I. 台湾 CDC-抗酸菌部との共同研究で、台湾の HIV 陽性患者血清を用いた MAC 感染症の補助診断薬抗 MAC-GPL-IgA ELISA キットの性能評価を行い、HIV 感染による免疫不全患者においても本診断法が有用であること

が示された。[阿戸 学、周 如文(台湾行政院衛生署疾病管制局)、北田清悟・前倉亮治(国立病院機構刀根山病院)]

II. Khon Kaen 大学(タイ王国)と細菌感染症(特に、類鼻疽)の免疫応答について共同研究を推進し、Khon Kaen 大学の博士課程(後期)大学院生 1 名を研究生として受け入れ、実験手技と共同研究の指導にあたった。[高橋宜聖、阿戸 学]

III. まむし毒素国際標準品候補品の評価試験

Dr. Hokyung Oh (Blood Product Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, South Korea)より、まむし毒素国際標準品候補品を評価するための試験を依頼され、候補品の LD₅₀ および最小出血毒量と、候補品に対するまむし抗毒素の抗致死価および抗出血価を決定した。[松村隆之、山本明彦(バイオセーフティ管理室)、阿戸 学]

研修業務

I. 医師卒後臨床研修

医師卒後研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、10月26日、講義した[阿戸 学]

II. 大学など教育機関における講義や研修

新潟大学医学部(5月18日)、慶応大学医学部(5月21日)、岡山大学大学院医歯薬総合研究科(5月31日)、大阪市立大学医学部(6月1日)、知の市場:感染症総合管理1d、9月13日)、東京大学大学院農学研究科(12月9日)などで招請講義した。[阿戸 学]

早稲田大学先進理工学部(5月25日、6月1日、7月6日)で講義を行った。新潟大学医学部の医学研究実習(1-2月)を担当した。[寺原和孝]

東邦大学大学院理学研究科(11月7日、14日)で講義を行った。[柴田岳彦]

早稲田大学理工学術院生命医科学科で免疫学講義を行なった(5月11日、18日、6月15日)[高橋宜聖]

筑波大学生命環境学群(5月10日、17日ほか)で講義を行った。筑波大学大学院生命科学研究科(11月5日ほか)で講義を行った。慶應義塾大学法学部(4月15日、22日ほか)で講義を行った。[大西和夫]

共同利用機器管理

所内・所外の利用者による機器の利用を円滑にするため、機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。さらに、機器の定期的な保守、点検を行い、故障等のトラブルには早急に対処した。とくに新規使用者や、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。平成28年度の使用実績は、804回、2217時間であった。

[泉山枝里子(非常勤職員)、高橋宜聖、阿戸 学]

広報委員会(広報運営委員会)において、所の広報活動全般(見学研修、Info 対応、所内行事記録、「知の市場」の連絡・会場設営、一般公開等)の企画・運営に参

画した。[大西和夫]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Yamamoto K, Iwagami M, Seki T, Kano S, Ota N, Ato M. Dual antiplasmodial activity of vitamin D3 and its analog, 22-oxacalcitriol, by direct and indirect mechanisms. *Parasitol Int*. 2017 Apr;66(2):89-99. doi: 10.1016/j.parint.2016.11.015. Epub 2016 Dec 2.
- 2) Morimoto K, Hasegawa N, Izumi K, Namkoong H, Uchimura K, Yoshiyama T, Hoshino Y, Kurashima A, Sokunaga J, Shibuya S, Shimojima M, Ato M, Mitarai S. A Laboratory-Based Analysis of Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease in Japan from 2012 to 2013. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 Jan;14(1):49-56. doi: 10.1513/AnnalsATS.201607-573OC
- 3) Oh H, Shin J, Ato M, Ma X, Williams D, Han K, Kim JY, Kang H, Jung K, Hanada K, Ochiai M, Van Hung PV, Parka S, Ahna C. The First Meeting of the National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific in 2016. *Osong Public Health Res Perspect* 2017;8(1):91-103. doi.org/10.24171/j.phrp.2017.8.1.13
- 4) Kewcharoenwong C, Rinchai D, Nithichanon A, Bancroft G, Ato M, Lertmemongkolchai G*. Glibenclamide impairs responses of neutrophils against *Burkholderia pseudomallei* by reduction of intracellular glutathione. *Sci Rep*. 2016 Oct 7;6:34794. doi: 10.1038/srep34794.
- 5) Yamagishi T, Arai S, Hifumi T, Sawabe K, Yamamoto A, Shibayama K, Ato M, Ginnaga A, Taki H, Goka K, Oishi K. Expanding distributions of red back spiders and bites in Japan from 2011 to 2013. *Med Entomol Zool*. 2016 ;67(4), 219-221.
- 6) Ikebe T, Matsumura T, Nihonmatsu H, Ohya H, Okuno R, Mitsui C, Kawahara R, Kameyama M, Sasaki M, Shimada N, Ato M, Ohnishi M. Spontaneous mutations in *Streptococcus pyogenes* isolates from streptococcal toxic shock syndrome patients play roles in virulence. *Sci Rep*. 2016 Jun;27 (6), 28761. doi:10.1038/srep28761.
- 7) Namkoong H, Kurashima A, Morimoto K, Hoshino Y, Hasegawa N, Ato M, Mitarai S. Nationwide survey on the epidemiology of pulmonary nontuberculous mycobacterial disease in Japan(1). *Emerg Infect Dis*. 2016 Jun;22(6):1116-7. doi:10.3201/eid2206.151086.
- 8) Tsunetsugu-Yokota Y, Kobayashi-Ishihara M, Wada

- Y. Terahara K., Takeyama H., Kawana-Tachikawa A., Tokunaga K., M. amagishi Y, Martinez J.P., Meyerhans A.. Homeostatically maintained resting naïve CD4⁺ T cells resist latent HIV reactivation. *Front Microbiol.* 7, 1944, 2016.
- 9) Onodera, T., Hosono, A., Odagiri, T., Tashiro, M., Kaminogawa, S., Kurosaki, T., Ato, M., Kobayashi, K., Takahashi, Y. Whole-virion influenza vaccine recalls an early burst of high-affinity memory B cell response through Toll-like receptor signalings. *J. Immunol.* 196:4172-4184, 2016 doi: 10.4049/jimmunol.1600046
- 10) Shinnakasu, R., Inoue, T., Kometani, K., Moriyama, S., Adachi, Y., Nakayama, M., Takahashi, Y., Fukuyama, H., Okada, T., Kurosaki, T. Regulated selection of germinal center B cells into the memory compartment. *Nat. Immunol.* 17:861-869, 2016 doi:10.1038/ni.3460
- 11) Miyauchi, K., Sugimoto-Ishige, A., Harada, Y., Adachi, Y., Usami, Y., Kaji, T., Hasegawa, H., Watanabe, T., Hijikata, A., Fukuyama, S., Maemura, T., Ohara, O., Kawaoka, Y., Takahashi, Y., Takemori, T., Kubo, M. Protective neutralizing influenza antibody response in the absence of T follicular helper cells. *Nat. Immunol.* 17:1447-1458, 2016 doi: 10.1038/ni.3563
- 12) Nithichanon, A., Gourlay, L.J., Bancroft, G.J., Ato, M., Takahashi, Y., Lertmemongkolchai, G. Boosting of post-exposure human T and B cell recall responses in vivo by *Burkholderia pseudomallei* related proteins. *Immunology*, 151:98-109, 2017 doi: 10.1111/imm.12709
2. 和文発表
- 1) 阿戸学 寄生虫感染におけるマクロファージ「松島綱治 企画 マクロファージのすべて」医学のあゆみ 259(5) 555-559 2016.
- 2) 阿戸学 池辺忠義 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症メカニズムと検査 検査と技術 44(1) 40-46 2016.
- 3) 阿戸学 池辺忠義 A 群溶血性連鎖球菌感染症の細菌学的特徴 Up-to-date 子供の感染症 3(2) 12-16 2016.
- 4) 高橋宜聖 感染免疫における胚中心依存的な B 細胞記憶応答 臨床免疫・アレルギー科 66, 283-288, 2016.
- 5) 高橋宜聖 インフルエンザウイルスの免疫回避術と B 細胞免疫の適応戦略 感染炎症免疫 46 巻、2016
- 2) Ato M., Lot release testing on antivenom in NIID. The 1st Western Pacific lab-Net Workshop. 2016 (Seoul, 韓国、9月)
- 3) Nomura T., Yamamoto H., Terahara K., Seki S., Matano T. Analysis of proviral genome sequences in multiple cell subsets in SIV-infected rhesus macaques. 34th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. 平成 28 年 10 月、米国
- 4) Nomura T., Yamamoto H., Terahara K., Seki S., Matano T. Analysis of proviral genome sequences in lymph nodes in SIV-infected rhesus macaques. 2nd Kumamoto IRCMS International Symposium and 17th Kumamoto AIDS Seminar. 平成 28 年 10-11 月、熊本
- 5) Ato M. Immunological aspects of bacterial pathogenesis. Learning from each other: Updating the clinical management and prevention of melioidosis and tuberculosis in the UK and Thailand (Hua Hin タイ王国、2月) 2017.
2. 国内学会
- 1) 阿戸学 溶連菌の病原性と劇症型レンサ球菌感染症への関与 第 90 回日本感染症学会総会 平成 28 年 4 月、仙台
- 2) Shibata T. and Ato M. 2016. Gas6/Axl signal causes the failure of RSV vaccine development in mice. The 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society (東京、6月).
- 3) 沢辺京子、益子玲於奈、前川芳秀、糸川健太郎、佐藤智美、伊澤晴彦、松村隆之、阿戸学、山本明彦、一二三亭. 2016. セアカゴケグモ毒素の採取と粗精製、毒素の性状について. 第 38 回日本中毒学会総会学術集会(新潟、7月)
- 4) 寺原和孝、岩渕龍太郎、小林—石原美栄、横田—恒次恭子. 2016. HIV-1 感染初期における CD4 陽性 T 細胞の細胞死誘導と caspase 分子群の関連について:ヒト化マウスモデルでの解析. 第 89 回日本生化学会大会(仙台 9月)
- 5) Kobayashi-Ishihara, M., Terahara, K., Ato, M., Tsunetsugu-Yokota Y. Maintenance of HIV latency by HIV-1 encoded antisense RNAs. 2016. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(札幌 10月)
- 6) Nomura T., Yamamoto H., Terahara K., Seki S., Matano T. 2016. Proviral genome sequences in lymph nodes and bone marrows in SIV-infected rhesus macaques. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会(札幌 10月)
- 7) Kobayashi-Ishihara, M., Martinez, J., Terahara, K., Meyerhans, A., Tsunetsugu-Yokota Y. Exploring a mechanism of HIV latency in homeostatically maintained CD4⁺ T cells. 2016. 第 45 回日本免疫学会総会(沖縄 12月)
- 8) 松村隆之、阿戸学. 2016. IL-6-deficient immature myeloid cells do not contribute to an effective host defense during severe invasive group A streptococcal infections. 第 45 回日本免疫学会総会・学術集会

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Adachi Y., Ato M., Takahashi Y.: Distinct germinal center selection at local sites shapes cross-protective memory B cell response to viral escape. 第 16 回国際免疫学会議(オーストラリア/メルボルン、8月)

(沖縄、12月)

- 9) 松村隆之, 池辺忠義, 大西 真, 阿戸学. 2017. IL-6-deficient immature myeloid cells have no protective function against *Streptococcus* infection. 第90回細菌学会総会(仙台、3月)
- 10) Shibata T. and Ato M. 2016. Gas6/Axl signal plays critical roles in allergic responses and insufficient protection by formalin-inactivated RSV vaccine in mice. 第45回日本免疫学会総会 (沖縄、12月).
- 11) ONODERA Taishi, ATO Manabu, TAKAHASHI Yoshimasa: Broadly cross-reactive human memory B cells against norovirus express dual B cell antigen receptors. 第45回日本免疫学会総会(沖縄、12月)
- 12) Adachi Y, Ato M, Takahashi Y: Different accessibility of strain-specific versus cross-reactive BCRs to virus particles regulates site-specific germinal center selection. 第45回日本免疫学会総会(沖縄、12月)
- 13) Nakahara M, Takatsuka S, Ueno K, Onodera T, Takahashi Y, Kawakami K, Kubo M, Kinjo Y. Follicular helper NKT cells induce protective effect of a protein-based pneumococcal vaccine through stimulation of IgG production by B cells. 第45回日本免疫学会総会(沖縄、12月)
- 14) SUN Lin, OHNISHI Kazuo "Next Generation Sequencer Analysis of B cell Repertoires in λ 5-deficient mice" 第45回日本免疫学会総会(沖縄、12月)
- 15) XUE Hanbing, SUN Lin, OHNISHI Kazuo, "Designing of 'Universal Light-Chain' that might be able to associate with a wide spectrum of heavy-chains maintaining their antigen-binding specificity" 第45回日本免疫学会総会(沖縄、12月)
- 16) Miyaki, R., Toh H., Ohnishi, K. Generation of Amino Acid Indices to Distinguish Two Peptide Groups CBI学会2016年大会 タワーホール船堀(東京都)
- 17) 藤 博幸, 大西和夫 代替 L 鎖の分子系統解析第16回日本蛋白質科学会年会 福岡国際会議場(福岡市)

知的財産権の出願・登録状況

PCT/US2016/027935

平成28年4月15日出願