

7. 感染病理部

部長 佐多 徹太郎

概要

1. 人事等

平成 16 年 4 月 1 日に東大医科研人癌病因遺伝子から菅野隆行を第一室研究官に採用した。第二室の永田典代、第三室の中島典子は主任研究官に昇任した。非常勤職員の秋山ひと美は 11 月に退職した。感染病理部の現定員は 16 名である。

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。

I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるウイルス感染症に関する研究
2. primary effusion lymphoma (PEL) の発症機構に関する研究
3. HHV-8 のコードするヒト Interferon regulatory factor (IRF) のホモログに関する研究
4. 病理検体における起因ウイルスの分子生物学的検索
5. ヘルペスウイルス 1 型および 2 型の検出と型別
6. Immuno-AT tailing 法を用いたプリオン蛋白の検出法の開発
7. ピコルナウイルスに関する研究
8. GBV-B 感染タマリンの病理学的検索
9. ウイルス肝炎に関する研究
10. ヘリコバクターピロリに関する研究

II. ウイルス感染の発症機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究
2. 成人 T 細胞白血病 (ATL) モデル動物の作製
3. インフルエンザウイルスに関する研究
4. HIV/SIV に関する研究
5. HIV-1 Nef のウイルス感染性増強能に関する解析

III. ワクチンに関する研究

1. インフルエンザウイルスワクチンに関する研究
2. 痘瘡ワクチンに関する研究
3. ウエストナイルウイルスワクチンの開発
4. おたふくかぜワクチンに関する研究
5. ポリオワクチンに関する研究

IV. プリオンに関する研究

1. プリオン検出法
2. BSE モデル動物を用いた病理学的解析
3. プリオン蛋白質の細胞内局在
4. プリオン発現培養細胞のプリオンタンパク存在様式についての病理学的解析

V. 厚生労働省共同利用機器

1. 高分解能走査電子顕微鏡 S-5200 の運用

VI. 機器管理運営委員会機器

1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡の運用
2. 村山分室透過及び走査電子顕微鏡の運用

VII. 国際協力への参加状況

VIII. 協力研究員等の受入状況

IX. 検査業務等への参加状況

1. 検定検査
2. 行政検査

業績

調査・研究

・感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるウイルス感染症に関する研究
国内外の医療並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感染症について病理学的に検討した。2004 年の人体由来の検体数は 286 例であった。検索の結果、水痘帯状疱疹ウイルス 3 例、パラインフルエンザウイルス 1 例、ヒトヘルペスウイルス 8 型 1 例、アデノウイルス 1 例、EBV 4 例、その他ヘリコバクターピロリ菌、ヒトパピローマウイルス、トキソプラズマ等を免疫組織学的に解析した。

(佐藤由子、尾崎泰子、片野晴隆、佐多徹太郎)

2. primary effusion lymphoma (PEL) の発症機構に関する研究

PEL はエイズ患者に発症する稀なリンパ腫で HHV-8 感染と関連することが知られている。われわれは PEL 細胞株を免疫不全マウスの腹腔に移植することにより液性および固形リンパ腫の動物モデルを作成した。この動物モデルにおける両リンパ腫を DNA array とプロテオミクスで比較することにより、固形、液性腫瘍に特異的に発現する分子を同定した。

(片野晴隆、佐藤由子、尾崎泰子、菅野隆行、加納基史 [実習生]、佐多徹太郎、柳澤由香 [東京医歯大]、渡邊慎哉 [東京医歯大]、山河芳夫 [細胞化学部]、大内史子 [細胞化学部])

3. HHV-8 のコードするヒト Interferon regulatory factor (IRF) のホモログに関する研究

HHV-8 はヒトサイトカイン関連遺伝子のホモログを多数コードすることが特徴のひとつである。中でも IRF ホモログのクラスターが存在し、病原性との関わりが推察される。これらの中で機能のわかっていない K10, K11 について cDNA ライブラリのスクリーニングを行い、新規転写産物のクローニング、数種類存在する翻訳産物の局在の検討、標的蛋白質の検索を行った。K10 については翻訳調節、mRNA の安定性との関与が示唆された。

(菅野隆行、秋山ひとみ [非常勤職員]、佐藤由子、樋口好美 [非常勤職員]、片野晴隆、佐多徹太郎)

4. 病理検体における起因ウイルスの分子生物学的検索

ウイルス感染が疑われた様々な症例の患者病理検体から迅速かつ簡便に病原体ウイルスの核酸を検索する目的で、Real-time PCR によりウイルスゲノムを定量的に検出するシステムを作成した。本年度対象としたウイルスは、DNA ウイルス 11 種類 (HSV-1、HSV-2、VZV、EBV、CMV、HHV-6、HHV-7、HHV-8、Parvo B19、HBV、TTV)、RNA ウイルス 5 種類 (Enterovirus、HAV、HCV、JEV、WNV) とした。14 検体検索した。今後、必要に応じてウイルスの種類を増やす予定である。

(尾崎泰子、片野晴隆、佐多徹太郎)

5. ヘルペスウイルス 1 型および 2 型の検出と型別

HSV の血清型診断は、分離培養により検出後、制限酵素切断パターンや MAb を用いた蛍光抗体法で型別を行ってきたが、検出・定量・型別をより迅速に行い、検出率の向上をめざし、Real-time PCR による診断システムを作成した。検体からの DNA 抽出には FujiFilm の QuickGene-800 を用いた。まず、性器ヘルペス感染症が疑われる婦人科検体 10 検体を Real-time PCR 法により調べた結果、分離培養および MAb を用いた型別、制限酵素切断パターンによる型別の成績と完全に一致した。現在、ウイルス検体数を増やして解析を行っており、分離培養の感度との比較や特異性の確認もおこない有用な診断方法として確立させたい。

(尾崎泰子、川名 尚 [帝京大溝の口病院]、佐多徹太郎)

6. Immuno-AT tailing 法を用いたプリオン蛋白の検出法の開発

Immuno-AT tailing 法を免疫組織化学に応用して、高感度の抗原検出法を開発した。Oligo(dA-dT) 標識した 1 次抗体あるいは 2 次抗体を用いた Immuno-AT 直接法、Immuno-AT 間接法、Immuno-(AT)₂ 法を用いてウシ海綿状脳症 (BSE) のホルマリン固定ギ酸処理パラフィン包埋脳組織切片から異常型プリオン蛋白質の検出を試みた。現行法 (Envision, DAKO 社) で陽性であった標本はすべて陽性所見を示した。なかでも Immuno-(AT)₂ 法は Envision 法と比較して検出感度および特異性が顕著に増強することがわかった。

(中島典子、樋口好美 [非常勤職員]、佐藤由子、花木賢一 [東大・疾患生命工学センター研究基盤部門]、佐多徹太郎)

7. ピコルナウイルスに関する研究

(1) ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス (TgPVR21) の粘膜感染モデル

TgPVR21 は 1 型ポリオウイルス強毒株を経鼻接種すると感染が成立し、ポリオ様弛緩性麻痺を発症する。2000 年の Hispaniola でのアウトブレイク際に分離された DOR00-013 株、HAI00-003 株、また、フィリピンでの 2001 年のアウトブレイクで分離された

Mindanao-01-1 株と、患者接触者から分離された Luzon-01-2c 株を TgPVR21 に経鼻接種後、麻痺発症率は脳内接種後の神経毒力と相関する傾向がみられ、本試験の有用性が示された。

(永田典代、佐藤由子、原嶋綾子、岩崎琢也 [長崎大・熱帯医学研]、佐多徹太郎)

(2) SARS-CoV 感染動物モデルにおけるウイルスの動態と免疫応答の解析

SARS-CoV のカニクイザル感染モデルを用いてウイルス感染後の抗体応答、ウイルス感染および抗原の分布などを解析し、適切な診断材料、材料採取時期について検討した結果、経鼻、気管内接種あるいは静脈内接種後に直腸拭い液からウイルスが一定期間検出され、臨床診断に用いる検体として直腸拭い液や糞便材料が有用であることを示した。

(永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎、森川 茂 [ウイルス第一部]、西條政幸 [ウイルス第一部]、板村繁之 [ウイルス第三部]、西藤岳彦 [ウイルス第三部]、網 康至 [動物管理室])

8. GBV-B 感染タマリンの病理学的検索

C 型肝炎のモデルとして GBV-B 感染動物モデルの病理学的検討を行った。GBV-B 感染タマリンの血清を接種したタマリンのうち血清ウイルス RNA 価が高かった 3 頭の病理解剖を行った。肝細胞の空胞化、中心静脈あるいは小胆管周囲にリンパ球集簇がみられた。しかし抗 GBV-B ポリクローナル抗体を用いた免疫染色では全て陰性だった。肝臓の電顕検索でウイルス粒子様の構造は確認できなかった。今回、GBV-B によりタマリンが肝炎を起こしたかは今回、確認できなかった。

(岩田奈織子、田中恵子、佐多徹太郎、石井孝司 [ウイルス 2 部]、八木慎太郎 [先端生命科学研]、吉崎 佐矢香 [ウイルス 2 部]、町田早苗 [ウイルス 2 部]、鈴木哲朗 [ウイルス 2 部]、宮村達男 [ウイルス 2 部]、明里宏文 [筑波医学実験用霊長類センター])

9. ウイルス肝炎に関する研究

(1) ベトナムにおける HBV 変異株と肝疾患の関連

ベトナムにおける肝疾患患者 115 例(急性肝炎 39 例、

慢性肝炎 76 例)から分離された HBV の分子ウイルス学的特徴を解析し、臨床所見との関連を検討した。今回は特に病態との関連が論じられている core promoter(CP)/precore(PC)変異に焦点を当てた。結果は、急性肝炎群では、CP/PC 変異が 38.4%(ゲノタイプ B)、25.6%(ゲノタイプ C)で出現した。特にゲノタイプ B では、PC ストップコドン変異 (A1896) が 74.3%に起こっていた。一方慢性肝炎群では、CP/PC 変異が 61.7%(ゲノタイプ B)、32.8%(ゲノタイプ C)で出現した。CP 変異 (特に T1762/A1764 double mutation) の 81% はゲノタイプ C で観察され、しかも肝硬変、肝癌との強い関連性を示した。

(Huy Tran [協力研究員]、中島 旭 [協力研究員]、阿部賢治)

(2) HBV ガーナ株の分子ウイルス学的特徴

まだ不明な点が多い HBV ガーナ株の分子ウイルス学的解析を行った。全長遺伝子 5 株と部分遺伝子 (small S gene) 7 株を分離し、database に登録した。分子系統樹解析で全例ゲノタイプ E と判明した。また S gene におけるアミノ酸配列から、全例 subtype ayw4 (Arg¹²², Lys¹⁶⁰ and Leu¹²⁷ / Ile¹²⁷) であった。アミノ酸番号 114, 122, 131, 140, 143, 159, 161, 168 は全ガーナ株で保存されていた。しかし 1 例で、160 番目のアミノ酸が Lysine Asparagine に置換しており、escape mutant を示した。

(Huy Tran [協力研究員]、中島 旭 [協力研究員]、石川晃一 [エイズセンター]、William Ampofo [ガーナ大・野口研]、佐多徹太郎、阿部賢治)

(3) HBV ポリビア株の分子ウイルス学的特徴

ポリビア・サンタクルスに在住する HBV 持続感染患者 6 例から HBV を分離 (全長遺伝子 2 株、pre-S gene 4 株) し、database に登録した。分子系統樹解析により全例ゲノタイプ F に属した。興味あることに、ゲノタイプ F は、4 つのサブグループ (F1 ~ F4) を形成し、ポリビア株はアルゼンチン株と一緒に F4 に属した。F4 に属す HBV は、S gene において Leu45 と Ile110 を示し、さらに precore 領域で T1858 にリンクしていた。

(Huy Tran [協力研究員]、中島 旭 [協力研究員]、Carlos

La Fuente Zerain[Japanese Hospital:ポリピア、阿部賢治)

(4) ミャンマーにおける非 B 非 C 型肝炎の成因に関する研究

臨床的に非 B 非 C 型肝炎と診断された慢性肝疾患患者 55 例中 22 例 (40%) で血中 HBV DNA が PCR 法にて検出された。これらの PCR 陽性患者は、全例 HBsAg 陰性であることから、occult B と診断された。今後このメカニズムを解明したい。

(Naomi Hlaing[協力研究員]、Huy Tran[協力研究員]、中島 旭[協力研究員]、阿部賢治)

10. ヘリコバクターピロリに関する研究

アジア各国由来胃癌組織におけるヘリコバクターピロリの検出率

日本を含む 5 カ国 (韓国:延世大学医学部、中国:ハルピン医科大学、ベトナム:ホーチミン医科薬科大学、ミャンマー:ヤンゴン総合病院) から収集した胃癌組織 (ホルマリン固定パラフィン包埋組織) を用いて、ヘリコバクターピロリ (*H. pylori*) 遺伝子の検出を試みた。方法は薄切片から核酸を抽出し、*H. pylori* の 16S rRNA gene からデザインしたプライマーを用いた nested PCR 法にて検出した。*H. pylori* DNA の検出率は、日本 48/54 (89%)、韓国 36/53 (68%)、中国 3/57 (5.3%)、ベトナム 10/13 (77%)、ミャンマー 20/24 (83.3%) であった。中国を除いたアジア各国では、胃癌発生と *H. pylori* 感染の深い関連が示唆された。

(阿部賢治、佐藤由子、佐多徹太郎、斉藤 澄[国立国際医療セ・病理])

・ ウイルス感染の発症機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究

(1) HCMV の感染初期過程に関する研究

我々はこれまでに HCMV の感染初期過程ではカプシドの核膜移行が微小管に依存する事を報告した。一方、HCMV カプシドの主要テグメント蛋白と特異的に結合する宿主因子である p180 蛋白質は、ウイルス粒子の細胞内輸送に関わると予想されたがその詳細は不明であった。HCMV カプシドの核膜への移行期の小胞体膜 p180

蛋白質の機能を探るため、p180 ノックダウンによる影響を検討した。その結果、siRNA 処理群ではウイルス抗原 IE1 の発現が低下することが判明した。これらより HCMV 感染初期過程における p180 の重要性が示唆される。

(後藤希代子[協力研究員]、佐多徹太郎)

(2) より簡便で迅速な大腸菌内での組換え単純ヘルペスウイルス (HSV-1) ゲノム作製法の開発

単純ヘルペスウイルス (HSV-1) は、最近では遺伝子治療ベクターとしても注目され、簡便な HSV-1 遺伝子の改変法が望まれている。我々は HSV-BAC vector の持ついくつかの問題点を克服し、より簡単に作製でき、応用範囲の広い HSV-BAC vector を作製することを試みた。感染性 HSV-1 クローンを保持した大腸菌の作製に成功し、現在これをもとに大腸菌内での様々な HSV-1 ゲノム改変法の開発を試みると同時にいくつかの遺伝子をターゲットに実際に組換えウイルスの作製を行っている。さらにこの系を利用し、ウイルス感染初期の持ち込みのウイルスタンパクの可視化も試みている。

(田中道子、川口 寧[名大・ウイルス]、佐多徹太郎)

2. 成人 T 細胞白血病 (ATL) モデル動物の作製

成人 T 細胞性白血病 (ATL) 発症モデルマウスの作成を目的として HTLV-1 の tax 遺伝子を T 細胞に発現するトランスジェニックマウスを作成した。独立した 3 系統で T 細胞性白血病、リンパ腫の発症がみられた。その特徴はヒトの ATL と多くの類似性があり ATL の病態解明及び発症予防、治療法の開発に有用であることが期待される。

(長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、澤 洋文[北大・病理]、長嶋和郎[北大・病理]、山本美江[獣医科学部]、松田潤一郎[獣医科学部]、倉田 毅、佐多徹太郎)

3. インフルエンザウイルスに関する研究

(1) *in vivo* における抗体依存性のインフルエンザウイルス感染、増殖の増強

インフルエンザウイルスはシアル糖鎖をレセプターとして細胞に吸着し感染することが知られているが、*in vitro* では Fc レセプターを発現した細胞への、HA・NA

表面抗原に対する特異抗体を介した感染の増強 (antibody dependent enhancement) が報告されている。この現象が *in vivo* のインフルエンザ経鼻感染モデルでも観察されるかを検討した。抗 A/PR/8/34 HA モノクローナル抗体を 1 µg/マウスで腹腔内接種した 1 日後に A/PR/8/34 ウイルスを 10PFU/マウスで経鼻感染させて、感染 3 日後の鼻腔洗浄液中のウイルス量を測定した。その結果、抗体未接種対照群では鼻腔洗浄液からウイルスが検出されなかったが、抗体接種群では 102.5PFU/ml のウイルスが回収された。

(吉河智城[協力研究員]、田村慎一[客員研究員]、尾崎泰子、佐多徹太郎)

4. HIV/SIV に関する研究

(1) サル胎児 BPCs 培養系を用いた SIV 脳症の解析

HIV 脳症のモデルである SIV 脳症の病態を解析するために、サル胎児 BPCs を用いた培養系で、神経・グリア細胞における SIV の感染動態を解析した。神経向性な SIV17E-Fr はこの培養系で増殖し、感染性の子孫ウイルスを産生することがわかった。ミクログリアやマクロファージでの感染性に関してはマクロファージ向性な SIVmac239/316E の方が、SIV17E-Fr と比べはるかに高いが、神経・グリアへの感染性は低かった。SIV17E-Fr の感染は AZT で抑制され、RANTES (CCR5 のリガンド) で減少することがわかった。

(中島典子、岩田奈織子、岡田昌子[実習生])

(2) サル胎児脳由来 progenitor 細胞を用いた *in vitro* culture system の開発

神経向性ウイルスの中枢神経系における感染動態を解析するための *in vitro* culture system として、サル胎児脳由来 progenitor 細胞 (以下、BPCs) を用いた培養系の確立を試みた。9~11 週のカニクイザル胎児脳からニューロスフィア法で BPCs を分離培養した。回収した細胞は自己増殖能を持ち、多くがネスチン陽性で GFAP や Tuj にも陽性を示した。成長因子をのぞいた 1%血清添加培地で分化誘導すると、ネスチン陽性細胞は減少し、GFAP あるいは Tuj にのみ陽性を示す細胞が増加した。分化誘導前後の細胞にミクログリアは混在していなかった。これらの特徴は他種で同定されている brain

progenitor 細胞と一致している。

(岩田奈織子、吉田洋明[実習生]、中島典子)

(3) 中枢神経系への感染性に関する SIV の env 塩基配列の解析

マクロファージ向性の SIVmac239/316E と神経向性の SIV17E-Fr の env 領域の 5 側 (SU 部分) と 3 側を組みかえた 6 種類のウイルスを作製し、感染性を比較した。組換えウイルスを CEM×174 細胞に接種し経時的に培養上清中の SIVp27 抗原量の変化を比較したところ、env の 5 側前半が SIVmac239/316E 型の SIV の方が SIV17E-Fr 型より感染増殖することがわかった。LuSIV 細胞を用いた感染性の評価でも同様の結果が得られた。神経グリア細胞への感染性を感染細胞中の SIV nef-DNA を定量して評価したが、5 側前半が SIV17E-Fr 型の SIV を接種した場合の方がより多くの SIV nef-DNA が検出された。神経系細胞への感染はエンターで制限され、env の SU 部分が重要であることが示唆された。

(岩田奈織子、岡田昌子[実習生]、中島典子)

(4) HIV-1 ゲノム RNA の安定性を制御する宿主因子の解析

Tristetraprolin (TTP) はサイトカイン等の mRNA を短命化する転写後発現制御因子であり、mRNA の非翻訳領域にある AU シークエンスを認識して結合する。HIV-1 のゲノム RNA も AU に富むことが知られているが、TTP は HIV-1 ゲノム RNA の AU に富む領域を認識して結合することが判明した。さらにスプラシングを受けていない HIV-1 RNA の安定性を低下させ、結果的に粒子形成を阻害し、スプラシングを亢進させ Nef など多重にスプラシング RNA による産物を増加させた。本研究の結果は、ウイルスが免疫系による監視から逃れる機構の解明につながると考えられた。

(高橋秀宗、前田才恵[慶応大]、飛梅 実)

(5) HIV-1 のゲノム RNA 核外輸送機構の解析

HIV-1 のゲノム RNA 核外輸送機構の解明することを目的とした。蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 観察技術により、HIV-1 Rev と宿主 Crm1 の結合を可視化する

ことに成功した。Rev と Crm1 の結合による FRET は細胞の核内、核膜で起きていること、レプトマイシン B により阻害できることが判明した。この Rev-Crm1 の結合は、蛍光顕微鏡のみならず、フローサイトメトリーでも検出可能になった。また活性型 Ran を強制発現させることでより強い FRET を得ることができ、Rev と Crm1 の結合を阻害する分子、薬剤のスクリーニングに用いることが可能であると考えられた。

(飛梅 実、松田道行[阪大・微研]、前田才恵[慶応大]、高橋秀宗)

(6) HIV の細胞侵入機構の解析

HIV 侵入の分子機構は未だ不明である。そこで、HIV(Nef+/-)の CD4 細胞侵入を FRET 法で解析したところ、 β -lactamase 導入 HIV は Nef+/- = 感染性強/弱を維持し、 β -lactamase-HIV 吸着後 1~4 時間内に緑 青への蛍光シフトを生じ、吸着・膜融合過程に Nef+/- の差は無く、侵入過程をバイパスする VSV-G/HIV の逆転写以降は Nef+/- で同等だった。以上の事から、吸着/融合後・逆転写前の脱殻過程に侵入拘束因子の介在が示唆された。(飛梅 実、Chris Aiken[Vanderbilt 大学, USA]、小島朝人、佐多徹太郎、)

(7) HIV-1 逆転写酵素を阻害する抗体の遺伝子を使った治療法の開発

HIV-1 逆転写酵素 (RT) の p66 サブユニット発現プラスミドを DNA 免疫して樹立したモノクローナル抗体の特異性・RT 阻害活性を解析した。その結果、酵素活性を阻害する複数のクローンが存在し、これらの中には RT 阻害モノクローナル抗体 7C4 と RT 結合で競合するクローン、及び、7C4 と異なるエピトープを認識するクローンの存在が判明した。RT 阻害抗体遺伝子による HIV-1 治療法を開発するため、これらハイブリドーマから抗体遺伝子のクローニングを進めている。(大場浩美[協力研究員]、千葉 丈[東京理科大]、佐多徹太郎、小島朝人)

(8) HGV のエイズ発症遅延機構の解明に関する研究

G 型肝炎ウイルス (HGV/GBV-C) に感染している

HIV/AIDS 患者における AIDS 発症遅延の原因を探るため、*in vitro*での GBV-C 感染実験系の確立を目指して、昨年度、GBV-C 遺伝子の全長クローニングを行った。今年度はその改良型を構築し、GBV-C の産生増強を試みた。またこの 5' UTR 及び他の臨床分離株由来 5' UTR の IRES 活性と HCV のそれとを、新たに樹立した Dual luc reporter IRES assay を用いて比較検討した。その結果、GBV-C IRES 活性が本質的に低レベルであることが明らかになった。この低 IRES 活性を補うために、あらかじめ転写量を増加させた結果、代償的にウイルス RNA 産生を高めることに成功した。この系を利用して現在 HIV-1 複製への関与を検討中である。

(徳永研三、木ノ本正信[研究生]、阿部賢治、佐多徹太郎)

(9) HIV-1 感染者の末梢血リンパ球における早期娘染色体分離

HIV-1 アクセサリー遺伝子 *vpr* は 96 アミノ酸からなる核蛋白質をコードし、その産物は HIV-1 複製および産生、G2/M、hyperploidy での細胞集積を誘導する。今回我々が HIV-1 感染患者症例を調べたところ、末梢血リンパ球の染色体で高頻度の早期娘染色体分離 (PCS) を認めた。また、健康人末梢血リンパ球に野生型 *Vpr* を含むウイルスを感染させると PCS が高頻度に認められ、*Vpr* 欠損ウイルスでは非感染コントロールと同様に低値を示したことから、PCS は *Vpr* に依存して誘導される可能性が示唆された。

(志村まり[国立国際医療セ]、徳永研三、古西 満[奈良医大]、佐藤裕子[国立国際医療セ]、佐多徹太郎、石坂幸人[国立国際医療セ])

(10) Live cell imaging による HIV-1 粒子の細胞内動態解析

HIV-1 が宿主染色体にインテグレーションする過程をリアルタイムにモニタリングするため、非常に低分子である 4 x cysteine を含んだ tetracysteine (TC) 配列をインテグレースに付加した TC-tagged HIV-1 を作製し、HIV-1 粒子の細胞内挙動を明らかにすることを試みた。異なる挙動を示すことが予想される対照ウイルスとしてインテグレース変異ウイルスも作製した。ウイルス感染

後に TC 染色して鏡検した結果、変異によるウイルス粒子の挙動の差異をクリアに示すことができた。今後、種々の変異型 HIV-1 の細胞内動態解析における TC-tagged ウイルスの有用性が期待できる。

(木ノ本正信[研究生]、志村まり[国立国際医療セ]、石坂幸人[国立国際医療セ]、佐多徹太郎、徳永研三)

・ ワクチンに関する研究

1. インフルエンザウイルスワクチンに関する研究

(1) 新型 H5N1 インフルエンザウイルスワクチンの経鼻免疫による感染防御効果

昨年度までに、新型インフルエンザ H5N1 の不活化ワクチンを様々なアジュバントと共にマウスに経鼻投与し、免疫誘導と防御に有効であることを確認した。本年度は、有効性の高かったアジュバント poly(I:C) + CMP のアジュバント効果のメカニズムについて検討を加えた。アジュバントの経鼻投与により NALT と脾臓における TLR3、TLR7 の mRNA 発現量が増加と、脾臓における IL-6、IFN- γ の mRNA 発現量の増加、および IgA、IgG、IgM の AFC が有意に高産生されることが観察された。

(尾崎泰子、長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、佐多徹太郎)

(2) 経鼻不活化全粒子ワクチンの有効性の検討

ヒトでの実用化に向けた経鼻不活化ワクチンの有効な候補として、現行のスプリットワクチンにアジュバントを併用することと、アジュバント不要の不活化全粒子ワクチンがあげられている。そこで発育鶏卵で増殖したウイルスを様々な処理条件にて不活化した全粒子ワクチンを作成し、アジュバント併用 Split ワクチンとの免疫原性の比較検討をおこなっている。その結果、0.2%ホルマリン固定と 56 $^{\circ}$ C 加熱を組み合わせた不活化処理方法がコレラトキシンをアジュバントとしたスプリットワクチンに準ずる免疫効果を示すことがわかった。今後、免疫誘導のメカニズムの検討や接種濃度の条件検討を加える予定である。

(田村慎一[客員研究員]、尾崎泰子、長谷川秀樹、佐多徹太郎)

(3) 合成二本鎖 RNA[poly(I:C)]をアジュバントに用いた

経鼻インフルエンザワクチンの開発

Toll like receptor (TLR) のリガンドである合成二重鎖 RNA をアジュバントとして用いたインフルエンザワクチン経鼻免疫することにより気道粘膜に交叉反応性の高い分泌型 IgA 抗体を誘導できることが明らかとなった。接種後に鼻咽頭関連リンパ装置 (NALT) での TLR3 の誘導が見られ、また IFN- γ 及び IL-4、-6、-12 の発現がみられ免疫力を増強している事が示唆された。ヒトでの実用化を念頭に置いた粘膜ワクチンのアジュバントに成りえる可能性がある。

(長谷川秀樹、一戸猛志[研究生]、伊藤智史[研究生]、千葉 丈[東京理科大]、田村慎一[阪大・微研]、倉田 毅、佐多徹太郎)

(4) キチン微粒子 (CMP) をアジュバントに用いた経鼻インフルエンザワクチンによる感染予防の研究

経鼻接種により抗アレルギー作用のあるキチン微粒子 (CMP) とワクチンを経鼻接種することにより交叉防御能を有する分泌型 IgA の誘導が可能であり致死感染に対し防御可能であった。CMP は天然物由来であり安全な物質であるのでヒトでの実用化を念頭において粘膜ワクチンの候補となる可能性がある。

(長谷川秀樹、Peter Strong[英国オックスフォード大]、森山雅美[慶応大・医]、一戸猛志[研究生]、伊藤智史[研究生]、田村慎一[阪大・微研]、千葉 丈[東京理科大]、倉田 毅、佐多徹太郎)

2. 痘瘡ワクチンに関する研究

組織培養弱毒痘瘡ワクチンの有効性に関する検討

我国組織培養痘瘡ワクチン LC16m8 株(m8)の免疫原性・感染防御効果を、m8 の親株である弱毒 LC16mO 株 (mO) 及び元株である WHO 痘瘡根絶計画採用 Lister 株 (LO) と、マウスを用いて比較検討した。その結果、いずれのワクチン株 (接種量 10^5 又は 10^7 PFU) で免疫しても、抗-ワクシニアウイルス或いは抗-B5R エンペロープ抗体は低い又は検出レベル以下であったが、致死量の 10 倍の強毒 WR 株経鼻感染後には両者とも高い抗体価を示し、マウスは臨床症状も示さず全匹生存した。

(小島朝人、長谷川秀樹、尾崎泰子、佐多徹太郎、倉田毅、森川 茂、西条政幸[ウイルス 1 部])

3. ウエストナイルウイルスワクチンの開発

我国侵入の恐れがあるウエストナイルウイルス(WNV)のワクチン開発を、日本脳炎次世代新ワクチン開発の経験を基盤に、緊急に開始した。WNVゲノムRNAからRT-PCRで構造蛋白領域のcDNAを合成・クローニングした。次に、prM-EをコードするcDNAの発現ベクターを構築し、トランスフェクションによるWNV蛋白の発現・細胞外放出を検討した。その結果、産生された大量のWNV E蛋白が培地中に放出され、超遠心沈降画分に回収され、絶対産生量は細胞によって異なることを見出した。

(小島朝人、田中道子、高橋秀宗、倉田 毅、佐多徹太郎、高崎智彦[ウイルス1部])

4. おたふくかぜワクチンに関する研究

乾燥弱毒生おたふくかぜワクチンの神経毒力試験における問題点

旧千葉血清と阪大微研が行ったマーモセットのムンプス感染モデルの病理標本について検索した。野外株脊髄内接種後のマーモセットの脈絡膜上皮細胞や脳室上衣細胞でムンプスウイルスの抗原が検出され、それに伴う髄膜炎像が認められた。また、ワクチン株では病変の程度は野外株に比べて弱かった。

(永田典代、佐藤由子、原嶋綾子、佐多徹太郎、加藤 篤[ウイルス3部]、田代真人[ウイルス3部]、斉加志津子[ウイルス3部協力研究員]、村木優子[(財)阪大微研])

5. ポリオワクチンに関する研究

ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス(TgPVR21)を用いたSabin株由来不活化ポリオワクチンの免疫効果に関する研究

昨年度実施した、不活化弱毒生ポリオワクチン(IPV)Sabin1株の皮下免疫TgPVR21の組織標本を用いて局所の免疫反応について検討を行った結果、CTBアジュバンド添加Sabin1株由来IPVによる経鼻免疫によって、粘膜組織にIgAが強誘導されることが組織学的に明らかとなった。本ワクチンを工夫して使用することによって粘膜免疫の誘導も可能である。

(永田典代、波多野焯持[非常勤職員]、原嶋綾子、佐藤

・プリオンに関する研究

1. プリオン検出法

マイクロウェーブ装置を使用し、検体が到着したその日のうちに結果を出す迅速法を開発した。この方法は現在のところ世界で最も早く結果の得られるBSE病理・免疫組織化学検査となった。多くの例でその有用性を確認する予定である(佐藤由子、樋口好美[非常勤職員]、佐多徹太郎)

2. BSEモデル動物を用いた病理学的解析

ウシプリオン発現マウスプリオンノックアウトマウスを用いてBSE由来サンプルの病原性を迅速にバイオアッセイできる系を開発し、さらにBSE病態病理を解析することを目的とした。マウスプリオンノックアウトマウスから神経幹細胞を分離培養しプリオンを培養系で増幅させた後、生体内で分化、生着させることにより病原性の確認を高速化することを期待して実験を進めた。その結果、ノックアウトマウスから神経幹細胞を分離培養することに成功した。スクレイピープリオンと神経幹細胞の培養後、蛋白分解酵素耐性蛋白を調べたところ、スクレイピープリオンは減少したが発現させたプリオン蛋白は増加したため、プリオンが増幅されたと判断した。

(飛梅 実、高橋秀宗、前田才恵[慶応大]、佐多徹太郎)

3. プリオン蛋白質の細胞内局在

BSE等を引き起こす異常型プリオン蛋白質の供給源となる正常型プリオンの細胞内局在について検討した。蛍光分子をアミノ酸23番目に組み込んだ全長のプリオンタンパク質は細胞膜への発現が認められた。このGPIアンカーを欠いた変異体では、細胞膜への発現は認められず、細胞質での貯留が減少していた。GSSの原因であるアミノ酸145番目までの変異体は細胞膜への発現は認められなかったが、ライソソームと考えられる部位に貯留していることが明らかとなった。

(飛梅 実、佐多徹太郎)

4. プリオン発現培養細胞のプリオンタンパク存在様式についての病理学的解析

感染病理部

異常型プリオン発現細胞における異常型プリオン蛋白の局在について免疫組織学的解析を行った。和歌山で平成 15 年に発生した牛海綿状脳症の牛由来の脳乳剤上清を添加し、培養したヒトグリオーマ細胞 (T98g 細胞) を用いて、蛍光抗体法を実施した。抗体は 5 種用いたが、3F4 モノクローナル抗体のみが有用であり、細胞質に顆粒状に抗原が検出された。

(永田典代、原嶋綾子、佐藤由子、長谷川秀樹、佐多徹太郎、岡田義昭[血液・安全性研究部])

・厚生労働省共同利用機器

1. 高分解能走査電子顕微鏡 S-5200 の運用

昨年入れ替えた S-5200 の操作にも慣れたが、PC-SEM の欠点であるパソコンの不調による動作不良が起こった。しかし、平成 16 年度も順調に運用された。

本年度中に処理した検体数は 268 検体で、その内訳は感染研内部 152 検体、外部との共同研究 53 検体、外部のみ 63 検体であった。そのほとんどは菌やウイルスの形態観察である。生化学的性状などで同定できないらせん菌で、電顕観察による鞭毛の数や着きかたにより同定可能となったものもある。また、細菌学会教育用に良好な菌の画像を提供することも依頼されている。

今回 70 検体の元素分析を行っているが、そのうち歯科

材料でフッ化ジアミン銀の塗布が今までの 10 分の 1 量でも、う蝕予防効果があることが分った。今後医療面での応用が期待される。(齋藤典子[臨時職員])

・機器管理運営委員会機器

1. 戸山庁舎透過型電子顕微鏡の運用

総受付件数は 30 件で、ネガティブ染色サンプルは 66 で、Epon 包埋検体は 42、ブロック数は 247、Lowicryl 包埋検体は 12 でブロック数は 36 となった。ネガティブ染色サンプルとしては主に HCV 粒子、HPV - VLP であった。Nipah 脳炎の脳の免疫電顕 (Post-embedding) を行い、ほぼ良好な結果が得られた。(田中恵子[非常勤職員]、佐多徹太郎)

2. 村山分室透過及び走査電子顕微鏡の運用

本年度の総依頼件数は 18 件であり、透過電子顕微鏡利用は 17 件、走査電子顕微鏡は 3 件であった(2 件重複)。依頼者は感染病理部の他、細菌第二部、ウイルス第二部、ウイルス第三部、エイズセンター、感染症情報センターであり、昨年度と件数はほぼ変わらないが利用者は増加した。電子顕微鏡写真の利用率(投稿論文、写真提供など)も増加した。(波多野焜持[非常勤職員]、永田典代、佐多徹太郎)

・国際協力への参加状況

参加者	種別	項目	期間
佐多徹太郎	WHO	神経毒力試験について(WHO)	2005.2
	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
片野晴隆	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
高橋秀宗	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
長谷川秀樹	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
	研修	平成 15 年度ポリオ根絶計画ウイルス検査技術コース研修講師 (国立感染研、JICA、WHO 西太平洋事務局)	2005.3
永田典代	研修	平成 15 年度ポリオ根絶計画ウイルス検査技術コース研修講師 (国立感染研、JICA、WHO 西太平洋事務局)	2005.3
中島典子	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
田中道子	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
徳永研三	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
飛梅 実	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
菅野隆行	研修	第 11 回エイズ国際研修講師(国立感染研・JICA)	2005.2
阿部賢治	研修生	ベトナムからの研修生(Huy TT Tran 医師)受け入れ	2004.4 - 2005.3
	研修生	ミャンマーからの研修生(Naomi KT Hlaing 医師)受け入れ	2004.11 - 2005.8

・ 協力研究員等の受入状況

受入者	種 別	氏 名	研 究 課 題
佐多徹太郎	協力研究員	後藤希代子	ヒトヘルペスウイルスの研究
	流動研究員	田中恵子	ウイルス感染の電子顕微鏡による解析
	協力研究員	熊坂利夫	呼吸器領域のウイルス病理学に関する研究
	協力研究員	加藤敏彦	ヒトパピローマウイルスの病理学的研究
	協力研究員	小池 智	ピコルナウイルス感染の発症病理についての研究
	協力研究員	安藤靖恭	眼科領域のウイルス感染に関する研究
	協力研究員	関九美子	口腔内腫瘍のウイルス発がんについての研究
	協力研究員	澤田 靖	BSE 確認検査技術向上のため
	協力研究員	加藤啓子	BSE 確認検査技術向上のため
	協力研究員	岩本百合子	BSE 確認検査技術向上のため (2004.9 まで)
	協力研究員	服部俊治	プリオン病診断に関する研究
	協力研究員	牛木祐子	プリオン病診断に関する研究
	協力研究員	山本卓司	プリオン病診断に関する研究
実習生	笠井恵美	ヒト感染症の病理学的検討	
片野晴隆	実習生	加納基史	ウイルス感染症の診断に関する研究
小島朝人	協力研究員	安田幹司	Gag VLP によるエイズワクチン開発に関する研究
	協力研究員	千川就可	組換えワクチン抗原の電子顕微鏡解析に関する研究
	協力研究員	大場浩美	抗-RT 単鎖抗体を用いた細胞内免疫法に関する研究
	協力研究員	勇 史行	ウイルス遺伝子機能解析に関する研究
	実習生	小島周一	ウイルス感染の分子生物学的解析技術と知識の習得
高橋秀宗	協力研究員	前田才恵	HIV-1 ゲノム RNA の安定性を制御する宿主因子の解析
中島典子	実習生	吉田洋明	サル由来プロジェニター細胞の研究
	実習生	岡田昌子	SIV の中枢神経感染に関する研究
長谷川秀樹	研究生	一戸猛志	インフルエンザ DNA ワクチンの開発に関する研究
	研究生	伊藤智史	インフルエンザ DNA ワクチンの開発に関する研究
	研究生	川口 晶	インフルエンザ粘膜ワクチンの開発に関する研究
徳永研三	研究生	木ノ本正信	高いシンシチウム形成能を規定する Env 領域の同定
阿部賢治	流動研究員	丁 欣	肝炎ウイルスと肝癌発生に関する地理病理、分子病理学的研究
	協力研究員	Huy TT Tran	HBV 変異株の分子疫学的研究
	協力研究員	早川依里子	小児科領域で重要な感染症に関する研究
	協力研究員	中島 旭	感染症領域における新しい遺伝子診断法の開発と応用
尾崎泰子	協力研究員	浅沼秀樹	老齢マウスのワクチンに対する免疫応答
	協力研究員	伊藤玲子	小児ウイルス感染症の感染病理学的研究
	協力研究員	吉河智城	粘膜アレルギーの抑制に関する研究
	協力研究員	呉 培星	インフルエンザウイルス感染阻害剤の開発 (2004.6 まで)

・ 検査業務等への参加状況

1. 検定検査

神経毒力試験

弱毒生麻しんワクチン中間段階における迷入ウイルス否定試験の乳のみマウス接種試験における異常動物の病理検索を 1 件依頼された。
(永田典代、長谷川秀樹、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎)

免疫組織化学による確定診断をおこなった。その結果、3 例の BSE 陽性牛を摘発した。また神奈川食肉衛生検査所の 協力で 1 例で全身の諸臓器の検索をおこなうことができた。

(樋口好美[非常勤職員]、佐藤由子、長谷川秀樹、岩田奈緒子、田中道子、中島典子、飛梅 実、高橋秀宗、片野晴隆、永田典代、佐多徹太郎)

2. 行政検査

2004 年度には 27 例の BSE 疑陽性例について病理、

発表業績一覽

. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Katano H, Pesnicak L, Cohen JI: Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:4960-4965, 2004.
- 2) Katano H, Ali MA, Patera AC, Catalfamo M, Jaffe ES, Kimura H, Dale JK, Straus SE, Cohen JI: Chronic active Epstein-Barr virus infection associated with mutations in perforin that impair its maturation. *Blood* 103:1244-1252, 2004.
- 3) Song J, Yoshida A, Yamamoto Y, Katano H, Hagihara K, Oka S, Kimura S, Yoshizaki K: Viral Load of Human Herpesvirus 8 (HHV-8) in the Circulatory Blood Cells Correlates with Clinical Progression in a Patient with HHV-8-associated Solid Lymphoma with AIDS-associated Kaposi's Sarcoma. *Leuk Lymphoma* 45:2343-2347, 2004.
- 4) Tanaka M, Kodaira H, Nishiyama Y, Sata T, and Kawaguchi Y: Construction of recombinant herpes simplex virus type I expressing green fluorescent protein without loss of any viral genes. *Microbes and Infection* 6:485-493, 2004.
- 5) Liang Li, Tanaka M, Kawaguchi Y, Baines JD: Cell lines that support replication of a novel herpes simplex virus 1 UL31 deletion mutant can properly target UL34 protein to the nuclear rim in the absence of UL31. *Virology* 329: 68-76, 2004.
- 6) Yokomaku Y, Miura H, Tomiyama H, Kawana-Tachikawa A, Takiguchi M, Kojima A, Nagai Y, Iwamoto A, Matsuda Z, Ariyoshi K: Impaired processing and presentation of cytotoxic T-lymphocyte (CTL) epitopes are major escape mechanisms from CTL immune pressure in human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 78: 1324-1332, 2004.
- 7) Harada T, Tatsumi M, Takahashi H, Sata T, Kurata T, Kojima A: Specific reactions between purified HIV-1 particles and CD4+ cell membrane fragments in a cell-free system of virus fusion or entry. *Microbes Infect* 6: 421-428, 2004.
- 8) Mutoh E, Ishikawa T, Takamizawa A, Kurata T, Sata T, Kojima A: Japanese encephalitis subunit vaccine composed of virus-like envelope antigen particles purified from serum-free medium of a high-producer J12#26 cell clone. *Vaccine* 22: 2599-2608, 2004.
- 9) Ueno T, Tokunaga K, Sawa H, Maeda M, Chiba J, Kojima A, Hasegawa H, Shoya Y, Sata T, Kurata T, Takahashi H: Nucleolin and the packaging signal, ψ promote the budding of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). *Microbiol Immunol* 48: 111-118, 2004.
- 10) Takahashi H, Sawa H, Hasegawa H, Nagashima K, Sata T, Kurata T: Topoisomerase I dissociates human Immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1) reverse transcriptase from genomic RNAs. *Biochem Biophys Res Commun* 313: 1073-1078, 2004.
- 11) Hasegawa H, Katano H, Tanno M, Masuo S, Ae T, Sato Y, Takahashi H, Iwasaki T, Kurata T, Sata T. BCL-6-positive Human Herpesvirus 8-associated Solid Lymphoma Arising from Liver and Spleen as Multiple Nodular Lesions. *Leuk Lymphoma* 45:2169-2172, 2004.
- 12) Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzaki Y, Sato Y, Hasegawa H, Sata T, Miyamura T, Shimizu H: Differential localization of neurons susceptible to enterovirus 71 and poliovirus type 1 in the central nervous system of cynomolgus monkeys after intravenous inoculation. *J Gen Virol*. 85: 2981-2989, 2004.
- 13) Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Sato Y, Hatano I, Harashima A, Suzaki Y, Yoshii T, Hashikawa T, Sata T, Horiuchi Y, Koike S, Kurata T, Nomoto A: A poliomyelitis model through mucosal infection in transgenic mice bearing human poliovirus receptor, TgPVR21. *Virology* 321: 87-100, 2004.
- 14) Zheng YH, Irwin D, Kurosu T, Tokunaga K, Sata T, Peterlin BM: Human APOBEC3F is another host factor that blocks human immunodeficiency virus type 1 replication. *J Virol* 78: 6073-6076, 2004.
- 15) Lu Richard, Nakajima N, Hofmann W, Benkirane M, The-Jeang K, Sodroski J, Engelman A: Simian virus 40-based replication of catalytically inactive human immunodeficiency virus type I integrase mutants in nonpermissive T cells and monocyte-derived macrophages. *J Virol* 78: 658-668, 2004.

- 16) Chon PY, Chui P, Ling AE, Franks TJ, TaiDY, Leo YS, Kaw GJ, Wansaicheong G, Chan KP, Ean Oon LL, Teo ES, Tan KB, Nakajima N, Sata T, Travis WD: Analysis of deaths during the severe acute respiratory syndrome (SARS) epidemic in Singapore: challenges in determining a SARS diagnosis. *Ach Pathol Lab Med* 128: 195-204, 2004.
- 17) Wada K, Nakajima A, Takahashi H, Yoneda M, Fujisawa N, Ohsawa E, Kadowaki T, Kubota N, Terauchi Y, Matsuhashi N, Saubermann LJ, Nakajima N, Blumberg RS: Protective effect of endogenous PPARgamma against acute gastric mucosal lesions associated with ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 287: G452-458, 2004.
- 18) Yoneda M, Wada K, Katayama K, Nakajima N, Iwasaki T, Osawa E, Mukasa K, Yamada Y, Blumberg RS, Sekihara H, Nakajima A: A novel therapy for acute hepatitis utilizing dehydroepiandrosterone in the murine model of hepatitis. *Biochem Pharmacol* 68: 2283-2289, 2004.
- 19) Yoshikawa T, Matsuo K, Matsuo K, Suzuki Y, Nomoto A, Tamura S, Kurata T, Sata T: Total viral genome copies and virus-Ig complexes after infection with influenza virus in the nasal secretions of immunized mice. *J Gen Virol* 85: 2339-2346, 2004.
- 20) Asahi-Ozaki Y, Yoshikawa T, Iwakura Y, Suzuki Y, Tamura S, Kurata T, Sata T: Secretory IgA antibodies provide cross-protection against infection with different strains of influenza B virus. *J Med Virol* 74: 328-335, 2004.
- 21) Iwasaki T, Inoue S, Tanaka K, Sato Y, Morikawa S, Hayasaka D, Moriyama M, Ono T, Kanai S, Yamada A, Kurata T: Characterization of Oita virus 296/1972 of Rhabdoviridae isolated from a horseshoe bat bearing characteristics of both lyssavirus and vesiculovirus. *Arch Virol* 149: 1139-1154, 2004.
- 22) Abe K, Hayakawa E, Sminov AV, Rossina AL, Ding X, Huy TT, Sata T, Uchaikin VF: Molecular epidemiology of hepatitis B, C, D and E viruses among children in Moscow, Russia. *J Clin Virol* 30: 57-61, 2004.
- 23) Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Win KM, Luengrojanakul P, Kikuchi K, Sata T, Abe K: Genotype C of hepatitis B virus can be classified into at least two subgroups. *J Gen Virol* 85: 283-292, 2004.
- 24) Huy TT, Abe K: Review: Molecular epidemiology of hepatitis B and C virus infections in Asia. *Pediatric Int* 46: 223-230, 2004.
- 25) Huy TT, Ushijima H, Quang VX, Ngoc TT, Hayashi S, Sata T, Abe K: Characteristics of core promoter and precore stop codon mutants of hepatitis B virus in Vietnam. *J Med Virol* 74: 228-236, 2004.
- 26) Izu K, Yamamoto O, Yasumoto S, Hashimoto T, Sata T, Tokura Y.: Herpes zoster occurring as a solitary nodule on the index finger. *Br J Dermatol*.150:365-366, 2004.
- 27) Sugiura S, Goshima F, Takakuwa H, Sata T, Nakashima T, Nishiyama Y.: Treatment of solid sarcomas in immunocompetent mice with novel, oncolytic herpes simplex viruses. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 130: 470-478, 2004.
- 28) Lun WH, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Mori K, Sata T, Nagai Y, Matano T.: Loss of virus-specific CD4+ T cells with increases in viral loads in the chronic phase after vaccine-based partial control of primary simian immunodeficiency virus replication in macaques. *J Gen Virol* 85, 1955-1963, 2004.
- 29) Dewan MZ, Watanabe M, Terashima K, Aoki M, Sata T, Honda M, Ito M, Yamaoka S, Watanabe T, Horie R, Yamamoto N.: Prompt tumor formation and maintenance of constitutive NF-kappaB activity of multiple myeloma cells in NOD/SCID/gamma c(null) mice. *Cancer Sci*. 95:564-8, 2004.
- 30) Hara H, Honda A, Suzuki H, Sata T, Matsukura T.: Detection of human papillomavirus type 58 in polydactylous Bowen's disease on the fingers and toes of a woman - concurrent occurrence of invasive vulval and cervical carcinomas. *Dermatology* 209:218-22, 2004.
- 31) Jongwutiwes S, Putaporntip C, Iwasaki T, Sata T, Kanbara H.: Naturally acquired Plasmodium knowlesi malaria in human, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 10: 2211-3, 2004.

2. 和文発表

- 1) 高橋秀宗、佐多徹太郎：Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群と亜型。日本臨床 62: Suppl 1, 266-270, 2004。

感染病理部

- 2) 中島典子、佐多徹太郎：SARS の肺病変 . 医学のあゆみ 209: 978-979, 2004.
 - 3) 中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎：HIV . 病理診断における分子生物学、病理と臨床 . 臨時増刊 22: 305-311, 2004 .
 - 4) 片野晴隆、佐藤由子、佐多徹太郎：ヒトヘルペスウイルス 8 human herpesvirus 8 (HHV-8). からだの科学. 131-135, 2004.
 - 5) 熊坂利夫、中島典子、佐多徹太郎：SARS の病理。侵襲と免疫 . 13: 11-16, 2004
 - 6) 阿部賢治、Huy TT Tran：肝炎ウイルス（下） - 最新の研究動向 - PCR 法による HBV 遺伝子型分類とゲノタイプ の地理分布 . 日本臨床 62: 8; 153-159, 2004 .
 - 7) 川口 寧、田中道子：BAC システム、大腸菌遺伝学とウイルス学が融合した新しいヘルペスウイルスの遺伝子改変法 . ウイルス 54(2): 255-264, 2004 .
 - 8) 佐多徹太郎：院内感染が問題となる人獣共通感染症 エボラ出血熱とサーズ(SARS) 。薬の知識. 55: 81-84, 2004.
 - 9) 佐多徹太郎：牛海綿状脳症とその感染発病メカニズム。食品衛生研究 54:17-22, 2004.
 - 10) 角田孝彦、小泉裕子、原田 晋、佐多徹太郎：帯状疱疹後の多形滲出性紅斑の 2 例。臨床皮膚科。58: 460-462, 2004.
 - 11) 柏瀬光寿、山内康行、佐多徹太郎、永田洋一、薄井紀夫、望月 学、藤野雄次郎、岩崎琢也、佐藤由子、倉田 毅、臼井正彦：サイトメガロウイルス網膜炎の病理組織学的検討。日本眼科学会雑誌 108: 415-422, 2004.
 - 12) 山中新也、小田真喜子、清島真理子、小杉浩史、尾崎泰子、佐多徹太郎：Kaposi 肉腫。皮膚科診療 26:1391-1394,2004.
 - 13) 佐多徹太郎：エボラ出血熱。感染症の診断・治療ガイドライン 2004。日本医師会編、 pp60-61, 2004.
 - 14) 佐多徹太郎：ラッサ熱。感染症の診断・治療ガイドライン 2004。日本医師会編、 pp80-81, 2004.
- lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas. 29th International Herpesvirus Workshop, Reno, Nevada, USA, July, 2004.
- 2) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kurata T, Ikuta K, Sata T, and Tokunaga K: Amino acid 36 in HIV-1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: Implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor. 1st Dominique Dormont International Conference on "Host pathogen interactions in chronic infections" - Viral and host determinants of HCV, HCMV, HIV infections. Paris, France, December 2004.
 - 3) Tokunaga K, Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, and Sata T: Low-level susceptibility to protease inhibitors in drug-naive Ghanaian HIV-1 proteases classifiable as subtype CRF02A/G. The 40th Anniversary of U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, The 17th Joint Meeting of the AIDS Panels, Kyoto, December, 2004.
 - 4) Abe K: Molecular epidemiology of hepatitis B and C viruses in Asia. National Meeting of Vietnamese Association for the Study of Liver Diseases, Ho Chi Minh City, Vietnam, September 2004.

学会発表

1. 国際学会

- 1) Katano H, Pesnicak L, Cohen JI: Simvastatin induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed

2. 国内学会等

- 1) 片野晴隆、伊藤金次、渋谷和俊、佐地 勉、佐藤由子、佐多徹太郎：原発性肺高血圧症とヒトヘルペスウイルス 8 感染 . 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.
- 2) 酒田昭彦、遠藤泰彦、佐多徹太郎、片野晴隆：消化管カポジ肉腫から HIV 感染症および HHV-8 感染症が発見された一例 . 第 93 回日本病理学会総会（札幌）2004.6.
- 3) 菅野隆行、秋山ひと美、佐藤由子、樋口好美、佐多徹太郎、片野晴隆：ヒトヘルペスウイルス 8 (HHV-8) がコードする Interferon regulatory factor (IRF) のホモログ K10, K11 の発現様式とその意義 . 第 52 回日本ウイルス学会学術集会（横浜）2004.11.
- 4) 上野智規、後藤希代子、片野晴隆、倉田 毅、佐多徹太郎、入江伸吉：GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV 感染細胞の新規検出法 . 第 19 回ヘルペスウイルス研究会（愛知）2004.6.
- 5) 上野智規、後藤希代子、片野晴隆、倉田 毅、佐多

- 徹太郎、入江伸吉：GFP-PML 発現細胞株を用いた HCMV 感染細胞の新規検出法、臨床分離株の薬剤感受性試験への応用．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 6) 後藤希代子、上野智規、片野晴隆、佐多徹太郎、入江伸吉：ヒトサイトメガロウイルス感染初期過程における小胞体膜 p180 蛋白質ノックダウンによる感染効率の低下．第 19 回ヘルペスウイルス研究会(愛知) 2004.6.
- 7) 後藤希代子、上野智規、倉田 毅、入江伸吉、佐多徹太郎：ヒトサイトメガロウイルス感染細胞の細胞骨格変化に関わる p180 蛋白質の微小管束形成作用．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 8) 森川 茂、長谷川秀樹、西条政幸、前田秋彦、倉根一郎、尾崎泰子、佐多徹太郎、倉田 毅、小島朝人：ワクチニアウイルス LC16m8 株の有効性と遺伝子構造の解析．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 9) 高橋秀宗、飛梅 実、樋口好美、長谷川秀樹、佐多徹太郎：免疫染色において特異な反応を示したクロイツフェルト・ヤコブ病を疑わせる症例．第 93 回日本病理学会総会(札幌) 2004.6.
- 10) 高橋秀宗、前田才恵、佐多徹太郎：活性化細胞における mRNA 分解促進を利用した HIV-1 の免疫回避機構．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 11) 前田才恵、高橋秀宗、佐多徹太郎：Tristetraprolin (TTP) の Rev/RRE/Crm1 系拮抗による HIV-1 産生の抑制．第 27 回日本分子生物学会総会(神戸) 2004.12.
- 12) 飛梅 実、樋口好美、高橋秀宗、佐多徹太郎：Nef による HIV-1 感染性増強能と膜融合部位の関係についての解析．第 52 回日本ウイルス学会総会(横浜) 2004.11.
- 13) 野口もえ子、吉田光宏、古川 裕、岩佐和夫、浜口毅、沖野惣一、柳瀬大亮、石田千穂、飛梅 実、山田正仁：弧発性 Creutzfeld-Jacob 病に対するペントサンポリ硫酸治療．第 23 回日本痴呆学会(東京) 2004.9.
- 14) 高橋秀宗、飛梅 実、長谷川秀樹、中川智子、澤 洋文、佐多徹太郎：免疫染色およびウエスタンブロットにおいて特異的な反応を示したクロイツトフェルトヤコブ病を疑わせる症例．第 93 回日本病理学会総会(札幌) 2004.6.
- 15) 飛梅 実、高橋秀宗、倉田 毅、佐多徹太郎：長期未発症者における HIV-1 Nef の機能．長崎大学熱帯医学研究所平成 16 年度研究集会(長崎) 2004.2.
- 16) 長谷川秀樹、佐多徹太郎：SARS の病理と病態．第 93 回日本病理学会(札幌) 2004.6.
- 17) 一戸猛志、渡邊 泉、伊藤智史、千葉 丈、森山雅美、田村慎一、倉田 毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：合成二重鎖 RNA Poly(I:C) をアジュバントとして用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発．第 8 回日本ワクチン学会(札幌) 2004.1.
- 18) 長谷川秀樹、一戸猛志、渡邊 泉、伊藤智史、千葉丈、田村慎一、倉田 毅、佐多徹太郎：天然物由来微粒子の粘膜ワクチンアジュバント効果の検討．第 8 回日本ワクチン学会(札幌) 2004.1.
- 19) 一戸猛志、渡邊 泉、伊藤智史、森山雅美、田村慎一、千葉 丈、倉田 毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹：合成二重鎖 RNA Poly(I:C) をアジュバントに用いた経鼻インフルエンザワクチンの開発．第 52 回日本ウイルス学会(横浜) 2004.11.
- 20) 永田典代、岩田奈緒子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條正幸、森川 茂、佐藤由子、佐多徹太郎：マウスとラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 21) 石井孝司、横田恭子、竹森利忠、長谷川秀樹、水谷哲也、森川 茂、田口文広、田代真人、吉崎佐矢香、鈴木哲朗、宮村達男：高度弱毒化ワクチニアウイルス株 DI5 の SARS 生ワクチンとしての応用．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 22) 長谷川秀樹、澤 洋文、一戸猛志、大場靖子、片野晴隆、佐多徹太郎、倉田 毅、長嶋和郎、William W Hall：成人 T 細胞白血病(ATL) 発症モデルマウスの作成．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.
- 23) 有田峰太郎、清水博之、永田典代、網 康志、須崎百合子、佐多徹太郎、岩崎琢也、宮村達男：エンテロウイルス 71 温度感受性変異株の神経毒性に関する解析．第 52 回日本ウイルス学会、横浜、11 月
- 24) 西條政幸、網 康至、永田典代、須崎百合子、緒方もも子、福士秀悦、水谷哲哉、長谷川秀樹、岩田奈緒子、佐多徹太郎、倉根一郎、倉田 毅、森川 茂：LC16m8 株痘そうワクチンによるカニクイザルにおけるサル痘発症予防効果．第 52 回日本ウイルス学会学術集会(横浜) 2004.11.

- 25) Tokunaga K, Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, and Sata T: Low-level susceptibility to protease inhibitors in drug-naive Ghanaian HIV-1 proteases classifiable as subtype CRF02A/G. 第5回熊本エイズセミナー(熊本)2004.9.
- 26) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kurata T, Ikuta K, Sata T, and Tokunaga K: Mutation of amino acid 36 in HIV-1 gp41 ectodomain drastically alters fusogenic activity: Implications for the molecular dynamism of six-helical bundle formation.第5回熊本エイズセミナー(熊本)2004.9.
- 27) 徳永研三: HIV-1 西アフリカ分離株のサブタイプおよび薬剤感受性の検索. 長崎大熱帯医学研究所研究集会・HIVの分子病態と治療戦略の新展開(長崎)2004.2.
- 28) 徳永研三、木ノ本正信、横山 勝、佐藤裕徳、倉田毅、佐多徹太郎: サブタイプ A/G 組換え型 HIV-1 ガーナ分離株のプロテアーゼ阻害剤に対する低感受性. 第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 29) 木ノ本正信、横山 勝、佐藤裕徳、生田和良、倉田毅、佐多徹太郎、徳永研三: 高融合活性を規定する Env 領域のアミノ酸の同定および機能・構造解析. 第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 30) 木ノ本正信、徳永研三、坂本優子、生田和良、倉田毅、佐多徹太郎、巽 正志: Ghana 由来 HIV-1 感染性分子クローンの樹立と解析. 第52回日本ウイルス学会総会(横浜)2004.11.
- 31) 横山 勝、木ノ本正信、徳永研三、佐多徹太郎、長縄 聡、北村勝彦、蜂谷敦子、岡 慎一、服部知秀、田中真理、横幕能行、有吉紅也、星野忠次、仲宗根正、佐藤裕徳: 計算科学の HIV-1 研究への適用に関する基礎研究. 第18回日本エイズ学会総会(静岡)2004.12.
- 32) 木ノ本正信、徳永研三、坂本優子、生田和良、倉田毅、佐多徹太郎、巽 正志: HIV Trapping System による Ghana で流行する HIV-1 感染性分子クローンの樹立. 第18回日本エイズ学会総会(静岡)2004.12.
- 33) 志村まり、古西満、佐藤裕子、徳永研三、木村圭志、花岡文雄、石坂幸人: HIV-1 VPR によるヒストン H3-K9 の恒常的アセチル化と早期娘染色体分離. 第27回日本分子生物学会(神戸)2004.12.
- 34) 徳永研三、木ノ本正信、横山 勝、佐藤裕徳、倉田毅、佐多徹太郎: 西アフリカ未治療患者由来 HIV-1 株のプロテアーゼ阻害剤に対する低感受性. 第27回日本分子生物学会(神戸)2004.12.
- 35) 中島典子、永田典代、長谷川秀樹、熊坂利夫、佐多徹太郎: SARS 剖検肺組織標本における SARS コロナウイルス感染細胞の同定. 第93回日本病理学会総会(札幌)2004.6.
- 36) 中島典子、岩田奈織子、佐多徹太郎: サル神経幹細胞培養系におけるサル免疫不全ウイルス(SIV)の感染動態の解析. 第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 37) 尾崎泰子、吉河智城、岩倉洋一郎、鈴木雄次郎、田村慎一、倉田 毅、佐多徹太郎: 系統の異なる B 型インフルエンザウイルスの交叉防御における分泌型 IgA 抗体の役割. 第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 38) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、佐多徹太郎: SARS コロナウイルス感染動物モデルの作製. 第93回日本病理学会総会(札幌)2004.6.
- 39) 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、福士秀悦、西條政幸、森川 茂、原嶋綾子、佐藤由子、佐多徹太郎: マウス、ラットを用いた SARS-CoV 感染モデルの作製. 第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 40) 岩田奈織子、中島典子、高橋秀宗、佐多徹太郎: サル神経幹細胞を用いた脳・神経固有細胞における SIV 感染動態の解析. 第93回日本病理学会(札幌)2004.6.
- 41) 岩田奈織子、中島典子、佐多徹太郎: 中枢神経系への感染性に関するサル免疫不全ウイルス(SIV)の env 塩基配列の解析. 第52回日本ウイルス学会総会(横浜)2004.11.
- 42) 飯島沙幸、石井孝司、李 永仲、岩田奈織子、八木慎太郎、山口健次郎、榎 昇、吉崎佐矢香、町田早苗、木村展之、鈴木哲朗、佐多徹太郎、宮村達男、明里宏文: C 型肝炎のサル病態モデルの開発. 第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 43) Tran T-T Huy, Ushijima H, Kikuchi K, Sata T, Abe K: Genotype C of HBV can be classified into at least two subgroups. 第40回日本肝臓学会総会(千葉)2004.6.

感染病理部

- 44) Tran T-T Huy, Ushijima H, Miyoshi C, Sata T, Abe K: Genomic characterization of HBV isolated in Bolivia: proof of clusters of genotypes F in South America. 第40回日本肝臓学会総会(千葉)2004.6.
- 45) Tran T-T Huy, Ushijima H, Sata T, Abe K: HBV pre-S mutant and its relationship with genotypes and chronicity. 第93回日本病理学会総会(札幌)2004.6.
- 46) 早川依里子、丁 欣、Huy T-T Tran、佐藤由子、佐多徹太郎、斉藤 澄、阿部賢治:麻疹母児感染を呈した症例の胎盤と中枢神経組織からの麻疹ウイルス分離とゲノムの特徴.第93回日本病理学会総会(札幌)2004.6.
- 47) 伊藤玲子、寺澤総介、丁 欣、阿部賢治:小児期のE型肝炎ウイルス抗体の保有状況と臨床的特徴.第107回日本小児科学会(岡山)2004.4.
- 48) 大隈義道、関野佳久、入江 弘、阿部賢治:帯状疱疹ウイルスが肝細胞死に関与した劇症肝炎の1剖検例.第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 49) 田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧:大腸菌内組み換え技術を駆使したウイルスプロテインキナーゼUL13変異HSV-1の作製.第19回ヘルペスウイルス研究会(愛知)2004.6.
- 50) 山本真悠子、田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧:HSV-1プロテインキナーゼUs3の動態解析を目指した組み換えウイルスの作製.第19回ヘルペスウイルス研究会(愛知)2004.6.
- 51) 野沢直樹、川口 寧、田中道子、加藤 藍、木村 宏、西山幸廣:HSV-1 UL51遺伝子産物は一次エンベロープ獲得後のウイルス粒子成熟過程に働く.第19回ヘルペスウイルス研究会(愛知)2004.6.
- 52) 田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧:単純ヘルペスウイルス1型UL13のプロテインキナーゼとしての役割.第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 53) 野沢直樹、川口 寧、田中道子、加藤 藍、木村 宏、西山幸廣:HSV-1 UL51遺伝子産物のウイルス粒子成熟過程における役割.第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 54) 山本真悠子、田中道子、佐多徹太郎、西山幸廣、川口 寧:生細胞における単純ヘルペスウイルス1型プロテインキナーゼUs3の動態解析.第52回日本ウイルス学会学術集会(横浜)2004.11.
- 55) 川口 寧、田中道子:BACシステム、ヘルペスウイルスの医学的利用を加速しうる新しいウイルスゲノム改変法.第27回日本分子生物学会(神戸)2004.12.
- 56) 佐多徹太郎:新興・再興感染症と血液安全性確保。日本赤十字血液シンポジウム。盛岡、東京、名古屋、広島。2004.2.
- 57) 佐多徹太郎:プリオン病の病理。旭中央病院第92回CPC。2004.3.
- 58) 木村陽一、三石 剛、菊地伊豆実、川名誠司、倉根修二、佐多徹太郎:AIDS-カポジ肉腫の2例。第103回日本皮膚科学会総会。京都。2004.3.
- 59) 佐多徹太郎:新興・再興感染症。金沢輸血懇話会(石川県血液センター)。金沢。2004.5.
- 60) 佐多徹太郎:新興・再興感染症 SARSを中心にー。WHO健康フォーラム2004。神戸。2004.5.
- 61) 金井朋子、土屋耕太郎、山河芳夫、佐多徹太郎、小野寺節、上田 進:牛プリオンタンパク質に対する新規抗体の作製と有用性の検討。第138回日本獣医学会。札幌。2004.9.
- 62) 河野慎一、駱 ゆう虹、五島 典、小野佳成、佐多徹太郎、西山幸弘:弱毒化HSV-1 HF-10を用いた膀胱癌に対するOncolytic virotherapy。第52回日本ウイルス学会、横浜、2004.11.
- 63) 土屋耕太郎、山河芳夫、佐多徹太郎、小野寺 節、上田 進:牛プリオンタンパク質に対する新規抗体の作成と性状の解析。第52回日本ウイルス学会、横浜、2004.11.
- 64) 村上恭子、石井孝司、吉崎佐弥香、相崎英樹、田中恵子、勝二郁夫、佐多徹太郎、鈴木哲朗、宮村達男:三次元肝細胞培養システムによるC型肝炎ウイルス(HCV)粒子形成。第52回日本ウイルス学会、横浜、2004.11.