

## 8. 免疫部

部長 小林 和夫

## 概 要

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

免疫部では、ウイルス、細菌、原虫・寄生虫やプリオンなど、多種多様な病原体感染症に関する研究、免疫機能に関する研究、さらに、骨髄造血機構に関する研究を実施した。また、品質管理に関する業務、国際協力関係業務、研修業務や共同利用機器管理にも寄与した。今年度の特筆事項として、平成 21（2009）年 4 月に発生したインフルエンザ 2009 A/H1N1pdm 対策があるが、免疫部は 1）検査業務協力や 2）2009 A/H1N1pdm 特異的迅速免疫診断キットの研究・開発に寄与した。

免疫部で実施された研究・業務の概要は以下のとおりである。

## 調査・研究

## I. ウイルス感染症

1. ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の増殖制御と病態に関する研究
2. インフルエンザに関する研究
3. C 型肝炎ウイルス（HCV）感染に関する研究
4. A 型肝炎ウイルス特異的モノクローナル抗体を用いた ELISA 検出系最適化と特異抗体産生 B 細胞動態の検討
5. 腸管上皮における MHV レセプターの解析

## 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. 原虫・寄生虫感染症

1. マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

## IV. プリオン病

1. 異常プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播機構の研究

## V. 免疫機能に関する研究

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

## 6. TIFA 関連タンパク質 TIFAB の機能解析

## VI. 骨髄造血機構に関する研究

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

人事では、平成 21 年 6 月 30 日に免疫部 大原 直也 第四室長が退官し、7 月 01 日に岡山大学大学院医歯薬総合研究科口腔微生物学 教授として異動した。平成 22 年 3 月 31 日に葛西 正孝 主任研究官が定年退官した。

## 業 績

## 調査・研究

## I. ウイルス感染症

## 1. ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の増殖制御と病態に関する研究

## (1) HIV-1 増殖制御のためのレンチベクターの開発

これまでに HIV 増殖抑制性レンチウイルスが慢性 HIV 感染者の Gag 特異的 CD4+T 細胞の増殖能を回復させることを明らかにした。更にレンチウイルスの感染効率を高めるため、VSV-G の代わりに HIV-1 env gp120 の CD4 結合部位や ProteinA の Fc 結合領域(ZZ domain)をバキュロウイルスの gp64 と融合させてレンチウイルスを作製した。ZZ domain-gp64 融合 env は CD4 抗体と混合することにより、CD4 特異的なレンチウイルス導入が可能であることが示唆された。また、麻疹ウイルス env 利用レンチウイルスも準備開始した。[渋沢謙太郎（エイズ予防財団リサーチレジデント）、土屋貴嗣（東大医科研修士課程、研究生）、松浦善治・谷 英樹（大阪大学微生物病研究所）、柳 雄介（九州大学医学研究院）、渡辺俊樹（東京大学医科学研究所）、小林和夫、横田恭子]

## (2) CCR5 を補助受容体とする HIV-1 の選択的増殖機構の解析

HIV-1 初期感染における R5 型 HIV-1 の選択的増殖機構を明らかにするため、ウイルス粒子との膜融合アッセイ系を用いて X4 型と R5 型 HIV-1 の細胞侵入効率を比較した。X4 型 HIV-1 の膜融合は未刺激 CD4+T 細胞で高く、活性化によりむしろ低下した。一方、R5 型 HIV-1 は CCR5 発現細胞の多いメモリー分画では高頻度で、ナイーブ分画ではごくわずかであり、膜融合過程は補助受容体の発現頻度とほぼ合致した。更に、CD4+T 細胞を CCR5 陽性細胞に純化して解析した結果、X4 型 HIV-1 も R5 型 HIV-1 も侵入効率は同等で、感染 40 時間後の逆転写から integration までの過程にも大きな違いはないことが明らかとなった。[横田恭子、寺原和孝、光木裕也（東京医歯大博士課程、研究生）、田中勇悦（琉球大学医学部）、小林和夫]

## (3) CD4 陽性 T 細胞の分化段階におけるマイクロ RNA 発現パターンの解析

マイクロ RNA(miRNA)は核内前駆体からプロセスされ

## 免疫部

てできる約 22 塩基の小分子 RNA で、PTGS (Post-transcriptional gene silencing)に関与するが、その詳細な機能については不明なものが多い。昨年の CD8+T 細胞同様 CD4+T 細胞の分化段階の違いによる miRNA 発現パターンを解析し、それぞれの分化段階に特徴的な発現パターンを示す miRNA を明らかにした。このうち特にナイーブやセントラルメモリー分画の CD4+T に強く発現する miRNA について更に解析を進めている。[光木裕也 (東京医歯大博士課程、研究生)、山本拓也 (アメリカ合衆国国立アレルギー感染症研究所ワクチン研究センター、協力研究員)、土屋貴嗣 (東大医科研修士課程、研究生)、渡辺俊樹 (東京大学医科学研究所)、横田恭子]

### (4) HIV-1 感染による麻疹ウイルス感染増悪機構の解析

HIV-1 感染小児で麻疹感染(MV)が重篤化することが知られるがその機構は不明である。そこで DsRed 発現 HIV-1 を PBMC に感染させ、5 日後に GFP 発現野生株あるいはワクチン株 MV を感染させて両ウイルスの相互作用を解析した。興味深いことに、野生型 MV のみにおいて、HIV との重複感染により単独よりも MV 感染細胞が増加した。HIV-1 感染 5 日後の MV 受容体 SLAM の発現は非感染 PBMC と比較して増強しており、HIV-1 感染により SLAM 発現が誘導される機構の存在が示唆された。[光木裕也 (東京医歯大博士課程、研究生)、柳 雄介 (九州大学医学研究院)、竹田 誠・駒瀬勝啓 (ウイルス第三部)、寺原和孝、小林和夫、横田恭子]

### (5) HIV-Nef 発現による免疫不全発症の解明

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

[藤猪英樹 (協力研究員)、阿戸 学、高橋宜聖、竹森利忠 (理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター)]

### (6) ヒト化マウスを用いた HIV 感染小型動物モデルの確立、ならびに in vivo における HIV 感染機構の解析

重度免疫不全マウス (NOD/SCID/Jak3 KO) の肝臓にヒト臍帯血由来造血幹細胞を移植してヒト化マウスを作製した。移植後 16 週目前後からセントラルメモリーCD4+ T 細胞の急激な増加が認められ、同時に高い活性化レベルを伴っていた。また、ヒト末梢血 CD4+ T 細胞と比較して CXCR4 の発現は低レベルであり、その傾向は特にメモリーサブセットで顕著であった。一方、CCR5 の発現は主としてエフェクターメモリーに認められるものの、一部のナイーブ、セントラルメモリーにも認められた。ヒト化マウスに EGFP 発現 X4 型 HIV-1 あるいは DsRed 発現 R5 型

HIV-1 をチャレンジした結果、両ウイルス共に感染が成立することを確認した。現在、生体内における X4 型および R5 型ウイルスの感染・複製様式、全身分布の違いについて解析を進めている。[寺原和孝、石毛真行 (熊本大学エイズ学研究センター博士課程)、光木裕也 (東京医歯大博士課程、研究生)、渋沢謙太郎 (エイズ予防財団リサーチレジデント)、土屋貴嗣 (東大医科研、実習生)、小林和夫、岡田誠治 (熊本大学エイズ学研究センター)、横田恭子]

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

アデノウイルスベクターを用いて Nef を単球由来マクロファージ(MDMf)で強制的に発現させ、マイクロアレイ解析を行った結果、Nef 発現に伴って発現低下する TLR5 と IL-10R $\beta$  について詳細に解析した。TLR5 と IL-10R $\beta$  ともに MDMf でのタンパク発現は本来低レベルであったが、flagellin で刺激時の IL-6 産生は Nef 発現アデノウイルス感染 MDDC で有意に低下することを確認した。[横田恭子、水越文徳 (獨協大学医学部微生物)、光木裕也 (東京医歯大博士課程、研究生)、小林和夫、寺原和孝]

### (8) 腸管粘膜における HIV-1 特異的 CTL の誘導機構に関する解析

腸管粘膜における HIV-1 抗原特異的 CTL の誘導について、パイエル板の重要性を明らかにすることを目的としている。パイエル板への侵入性の異なる *Salmonella typhimurium* に HIV-1 Gag を発現させ、マウスに経口投与して腸管ならびに全身系の免疫応答について解析を進めている。[寺原和孝、石毛真行 (熊本大学エイズ学研究センター博士課程)、小林和夫、横田恭子]

### (9) サルエイズワクチンモデルにおけるヘルパーT細胞機能の解析

新たなエイズ予防ワクチンとして注目を浴びているセンドライウイルス (SeV) ベクターを用いた CTL 誘導型ワクチンの多機能性ヘルパーT細胞誘導効果について解析を進めている。これまで、SIV Gag 導入 B lymphoblastoid cell line を用いた抗原刺激法、また、フローサイトメトリーによる MIP-1 $\beta$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CD107 a の同時発現解析系を確立した。本解析系により、ウイルス非コントロール群に比して、ウイルスコントロール群で多機能性ヘルパーT細胞が誘導されていることが確認された。[寺原和孝、俣野哲朗 (東京大学医科学研究所)、横田恭子]

## 2. インフルエンザに関する研究

### (1) H5N1 高病原性トリインフルエンザ高感度検出系の確立

H5N1 型インフルエンザのワクチン品質管理あるいは診断に応用するためのマウスモノクローナル抗体を作製し、H5HA に特異的なサンドイッチエライザ法を確立したが、不活化ウイルス粒子 20 ng/ml 程度が検出限界であった。そこで共同研究として東洋紡 (株) が独自の技術で開発した化学発光による抗原検出簡易装置に免疫部で確立したモノクローナル抗体を用い、その感度と特異性を検討した。その結果、我々のエライザや市販の簡易キットよりも高感度で特異性の高い H5HA 検出キットの作製に成功した。[横田恭子、大西和夫、三澤修平 (東洋紡敦賀研究所) 小林和夫、影山 努・板村繁之 (インフルエンザセンター)]

### (2) 新型インフルエンザワクチンに対するヒト液性記憶応答に関する研究

新型インフルエンザワクチン接種による液性免疫の誘導機構を明らかにするため、ヒト末梢血リンパ球を移入し

## 免疫部

たヒト化マウスを作製した。このマウスに新型インフルエンザワクチンを接種すると、血清学的にナイーブなドナー由来のリンパ球にも関わらず、67%の割合で中和抗体が産生誘導されることを見いだした。この結果から、新型インフルエンザワクチンに対するヒト中和抗体産生応答をこのヒト化マウスのシステムで再現できることが明らかとなった。[高橋宜聖、小林明日香(実習生)、小野寺大志、阿戸学、田代真人(インフルエンザウイルス研究センター)、小林和夫]

### (3) インフルエンザウイルスの感染防御に寄与する肺記憶 B 細胞に関する研究

インフルエンザウイルス経鼻投与後の肺において、記憶 B 細胞が長期に渡り維持され、感染防御に寄与することを見いだした。記憶 B 細胞の発現遺伝子を網羅的に解析した結果、脾臓記憶 B 細胞と類似した遺伝子発現パターンを示す一方で、発現量の大きく異なる分子の存在が明らかとなった。感染防御における機能的役割の解析を行うため、遺伝子欠損マウス用のターゲティングベクターを作製した。[高橋宜聖、小野寺大志、横井勇祐(実習生)、小林和夫]

### (4) インフルエンザウイルス RNA による液性免疫記憶の活性化機構に関する研究

インフルエンザ不活化全粒子ワクチンに含まれる RNA は、抗体産生賦活作用を有すると考えられているが、その作用メカニズムの詳細は不明である。ウイルス RNA が記憶 B 細胞応答に果たす役割を検証するため、宿主レセプターである Toll-like receptor (TLR) からのシグナルを欠如したマウスを用いて記憶 B 細胞応答の変化を解析した。その結果、T 細胞非存在下で起こる迅速な記憶 B 細胞応答において、TLR シグナルが必須の役割を果たすことが判明した。[小野寺大志、相澤竜太郎(実習生)、高橋宜聖、小林和夫]

### (5) 新型インフルエンザウイルスを特異的に認識するマウスモノクローナル抗体の作製とこれを利用した免疫クロマトグラフィーキットの開発

新型インフルエンザウイルス(2009 A/H1N1pdm)に特異的に結合する 29 種類の新規マウスモノクローナル抗体を作製した。得られた抗体の中から、検出感度の最も高い抗体の組み合わせを選択し、体外診断薬メーカー(デンカ生研株式会社)と国立感染症研究所の共同で新型インフルエンザウイルスを特異的に検出する迅速・簡便免疫クロマトグラフィー診断キット(検査所要時間:約 10 分)を開発した。[高橋宜聖、阿戸学、松村隆之、小野寺大志、平山中己、葛西正孝、大島正道、岡部真裕子、寺原和孝、大西和夫、横田恭子、田代真人(インフルエンザウイルス研究センター)、小林和夫]

### (5) ウイルス感染に対する宿主抵抗因子に関する研究

インフルエンザウイルス感染に際し肺胞上皮由来人細胞株 A549 は感受性であり感染ウイルスを排除できずに死滅する。しかし気管上皮由来細胞株 NCI-H292 は 24 時間で感染ウイルスを排除し回復する。ウイルス感染により interferon(IFN)をはじめ宿主側抵抗遺伝子が誘導される状況を網羅的に解析した。細胞によるウイルス感染に対する反応性の違いを宿主抵抗因子の観点から検討している。[大島正道、戸高玲子(非常勤職員)、清水一史(日大医学部ゲノムセンター、客員研究員)]

### (6) インフルエンザ誘導性の劇症肺炎の好中球機能に

### よる発症メカニズムの解明

インフルエンザウイルス感染症による致死率の高い劇症呼吸器障害は、感染時において好中球の急激かつ大量の肺への浸潤によって引き起こされる。これまでの研究成果から、劇症肺炎の発症には、好中球の主要因子であるミエロペルオキシターゼ(MPO)が関わっていることが示唆される。そこで感染肺における好中球および MPO 活性に着目して肺炎発症メカニズムの解明を目指している。[菅又龍一(千葉大医学部、協力研究員)、長尾朋和(千葉大医学部、協力研究員)、富澤一夫(国立国際医療センター、協力研究員)、戸高玲子(非常勤職員)、鈴木和男(千葉大医学部、客員研究員)、大島正道]

### (7) Ventilator-induced lung injury モデルマウス作製

強毒型鳥インフルエンザは特に低年齢層に多くの重症患者が集中しサイトカインストームを通じ急激な呼吸状態の増悪を引き起こし ARDS(急性呼吸窮迫症候群)にいたり死亡する症例が多い。この ARDS のメカニズムを解析し治療につなげるために ARDS モデル(機械的肺損傷モデル)を作成した。[前原康宏(国立国際医療センター、協力研究員)、河内正治(国立国際医療センター、客員研究員)、鈴木和男(千葉大医学部、客員研究員)、長尾朋和(千葉大医学部、協力研究員)、戸高玲子(非常勤職員)、大島正道]

### 3. C 型肝炎ウイルス(HCV)感染に関する研究

C 型肝炎患者血液中及び肝組織内に HCV ウイルス short RNA が存在しその量比がウイルスの感染性、活動性と逆相関することを明らかにし発表した(J Viral Hepatitis 13(11):746-55,2006)。この short RNA 産生維持機構の解析を通してウイルス複製のメカニズムを解析し、効率よいウイルス細胞培養系を確立する。C 型肝炎治療におけるインターフェロン(IFN)の治療効果判定に short RNA が有用か調べた。short RNA の量比はウイルスの感染性、活動性と逆相関し IFN 治療効果判定の有用な基準となることが明らかとなった。今後 short RNA の産生メカニズムについて検討する。[大島正道、戸高玲子(非常勤職員)、清水洋子(日本大学医学部、協力研究員)、土方美奈子(国立国際医療センター)、吉倉 廣(CODEX)]

### 4. A 型肝炎ウイルス特異的新規モノクローナル抗体を用いた ELISA 検出系最適化と特異抗体産生 B 細胞動態の検討

A 型肝炎は B 型、C 型肝炎と異なりキャリア化・慢性化しないことから、A 型肝炎ウイルス(HAV)感染後に惹起される免疫応答によるウイルス排除が効果的におこり免疫記憶も長期に保持されることが知られているが、その本態については不明な点が多い。この免疫反応過程を解析する上で必要な技術として、HAV 特異的モノクローナル抗体を用いた ELISA 系の最適化とフローサイトメトリーを用いた HAV 抗体産生 B 細胞動態解析法の検討を行った。不活化 HAV 粒子をマウスに免疫して定法により多数のハイブリドーマを確立した。HAV 抗体検出 ELISA について抗原濃度、抗体濃度、抗体の組み合わせ、抗体標識法、サンドイッチ法、競合法などの諸条件を検討して最適化を行った結果、十分な感度・特異性・再現性を持つ ELISA 系を確立することができた。また、HAV 抗体産生 B 細胞の動態解析を行った結果、B220 陽性 CD5 陰性 HAV 結合 B 細胞が HAV 免疫後有意に増加しており、抗原特異的 B 細胞を検出できることが示された。しかし、HAV を免疫していない CD5 陽性脾細胞にも低レベルのシグナルが検出された。この結合が、HAV 受容体と報告された huHAVcr-1

## 免疫部

様 TIM-1 分子に由来するものか検討中である。[望月康子実習生、清原知子・石井孝司(ウイルス第二部)、小林和夫、大西和夫]

### 5. 腸管上皮における MHV レセプターの解析

MHV は腸管上皮に発現する CEACAM1a を介して感染する。CEACAM1a は選択的スプライシングにより 4 種類の受容体型構造をとるアイソフォームが知られているが、RT-PCR の結果、マウス小腸上皮層において新たに 3 種類の選択的スプライシングバリエーション(CEACAM1a-2: GenBank# AB236330、CEACAM1a-2C1: GenBank# AB236331、CEACAM1a-4C1: GenBank# AB236332)の発現を認め、そのいずれとも分泌型構造を有することが推測された。さらにタンパクレベルでの解析から腸管分泌液中に CEACAM1a-4C1 が認められ、MHV との結合能および感染中和能を有していた。[Biochem Biophys Res Commun, 383:340-346, 2009.] [寺原和孝、横田恭子、山本拓也(東大医科研博士課程、研究生)、田口文広(ウイルス第三部)、吉田理人・五十嵐脩・野地智法・後藤義幸・清野 宏(東京大学医科学研究所)、Beauchemin, N. (McGill 大学、カナダ)]

## II. 細菌感染症

### 1. 抗酸菌感染症に関する研究

#### (1) 抗酸菌におけるチミジル酸合成酵素の役割

チミン誘導体合成系は生物に必須の代謝経路であり、チミジル酸合成酵素(thymidylate synthetase, TS)による dUMP から dTMP への過程を含む。抗酸菌は TS として ThyA と ThyX を持つ。これまでの研究で、BCG の *thyX* 遺伝子欠損株はカタラーゼを含有しない 7H10-ADS 培地では増殖が顕著に抑えられることを明らかにした。この結果をもとに *thyX* 遺伝子産物による増殖の回復を指標とした抗酸菌の宿主-ベクターシステムの作製を試みた。*thyX* 遺伝子欠損株を宿主、*thyX* 遺伝子を発現する大腸菌-抗酸菌シャトルプラスミドをベクターとしたところ、約 1 割の擬陽性が生じた。陽性クローンを選択し、7H10-ADS 培地で継代したところ、長期にわたりプラスミドを安定に保持していることが示された。このことから、*thyX* 欠損株-*thyX* 発現プラスミドが新たな抗酸菌の宿主-ベクター系として機能する可能性が示された。[岡部真裕子、小林和夫、吉村満美子(大阪市立大学大学院医学研究科)、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科)、中山浩次(長崎大学大学院医歯薬総合研究科)]

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

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

現在解析を進めている。[岡部真裕子、小林和夫、大原直也(岡山大学大学院医歯薬総合研究科)、瀧井猛将(名古屋市立大学大学院薬学研究所)、山本三郎(日本 BCG 研究所)]

#### (3) 潜在性結核菌感染症

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

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

休眠期抗酸菌関連蛋白質を抗原として、潜在性結核菌感染の血清診断を試みた。血清抗 MDP1-IgG 抗体価は潜在性(治癒後)結核患者で活動性結核に比し、有意に高値を示した。潜在性結核菌感染症の血清診断で MDP1 抗原は有用と考えられる。[小林和夫、岡 真優子・吉村満美子・松本壮吉(大阪市立大学大学院医学研究科)、北田清悟・前倉亮治(独立行政法人国立病院機構刀根山病院)]

#### (4) *Mycobacterium avium* complex (MAC) 感染症の迅速血清診断：アメリカ合衆国における有用性

MAC 感染症は「臨床所見(画像、経過)および微生物学的検査」を総合的に考慮し診断される。このため、確定診断に長期間(2 ヶ月以上)を要することが多い。MAC 特異的抗原を用いた MAC 感染症の血清診断の有用性は既に報告した。MAC 肺感染症は地域や民族により、異なることが指摘されている。国立ユダヤ医療研究センター(アメリカ合衆国コロラド州デンバー市)で迅速血清診断キットの感度や特異度を検証した。その結果、感度:77%、特異度:94%であることが判明し、迅速・簡便血清診断(所要時間:約 3 時間)として有用であった。[小林和夫、北田清悟・前倉亮治(独立行政法人国立病院機構刀根山病院)、Charles Daley 呼吸器内科部長(国立ユダヤ医療研究センター)]

#### (6) 遅発育性抗酸菌における sliding 能の検討

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

## 2. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症に関する研究

### (1) 劇症型溶連菌感染症における宿主好中球機能修飾

## 免疫部

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、いったん発病すると急速に進行し、ショック症状、多臓器不全などを伴う、致死率の高い重篤な感染症である。主たる劇症型感染起因菌である *Streptococcus pyogenes* について、劇症感染患者分離株および非劇症感染患者分離株を収集し、ヒトの急性細菌感染防御機構の中心的役割を担う細胞群である好中球の防御能を解析した。その結果、劇症型感染患者分離株のみに認められる、遺伝子発現調節因子をコードする *csrS* 遺伝子の変異によって、病原因子である溶血毒素ストレプトリシン O(SLO)や IL-8 を分解するセリンプロテイナーゼ ScpC の発現が増強し、好中球への直接傷害を増強することと感染局所への好中球走化を抑制することが明らかになった。一方、劇症型感染患者分離株のみに認められる、別の遺伝子発現調節因子をコードする *rgg* 遺伝子の変異によっては、SLOの上昇は認められるが、ScpC の発現上昇は認められず、好中球傷害は起こるが、遊走は抑制しないことが明らかになった。マウスモデルを用いて病理学的に解析した結果、*csrS* 変異株の感染によって、感染部位での炎症細胞の欠如と菌の蓄積が認められる一方、*rgg* 変異株の感染組織では、好中球を主とする炎症細胞の浸潤と菌の蓄積が共に認められた。以上より、劇症型レンサ球菌感染症起因菌の遺伝子変化によって、病原因子発現パターンが異なり、感染局所での好中球防御能を様々に障害する結果、感染部位での特異な病態を伴う劇症型感染を惹起する可能性が示唆された。

[阿戸 学、松村隆之、池辺忠義 (細菌第一部)、長谷川秀樹・佐多徹太郎 (感染病理部)、渡邊治雄 (細菌第一部)、小林和夫]

### (2) 劇症型溶連菌感染症における好中球傷害の分子機構

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

[阿戸 学、松村隆之、池辺忠義・渡邊治雄 (細菌第一部)、小林和夫]

### 3. 類鼻疽の宿主防御に関する研究

(1) 類鼻疽における糖尿病患者由来好中球防御機能異常

類鼻疽は *Burkholderia pseudomallei* によって起こる重篤で治療困難な感染症である。発症の主要な危険因子は糖尿病であるが、その発症機序に関する免疫学的検索はなされていない。本研究では、タイ人糖尿病患者および健康人より精製した好中球の *B. pseudomallei* に対する *in vitro* 防御機構を解析した。その結果、*B. pseudomallei* は他のグラム陰性菌であるサルモネラ菌や大腸菌に比べて好中球の食

食に対して抵抗性を示し、好中球の殺菌に対しても他の菌と比べて抵抗性を示すことが判明した。さらに、糖尿病患者由来好中球は、健康人由来好中球に比べて *B. pseudomallei* 貪食能の低下と、IL-8 に対する遊走能の低下が認められた。殺菌能に関しては、糖尿病患者と健康人の間で差が認められなかった。以上より、類鼻疽で糖尿病が発症危険因子である理由として、糖尿病患者における好中球機能障害が原因である可能性が示唆された。現在、*B. pseudomallei* と糖尿病患者好中球、あるいは健康人好中球の相互作用時のトランスクリプトーム解析を行い、類鼻疽発症に関わる分子の同定とその機序の解明を行っている。[阿戸 学、Sujin Chanchamroen、Donporn Riyapa、Chidchamai Kewcharoenwong、Ganjana Lertmengkolchai (Khon Kaen 大学、タイ王国) ]

### 4. 細菌べん毛の輸送装置に関する分子機序

細菌の運動器官であるべん毛は独自の輸送装置により構築される。細胞膜内在性の輸送装置構成タンパク質 FlhA および FlhB は、細胞質性構成タンパク質 FliH、FliI、および FliJ の結合プラットフォームを形成する。温度感受性 flhA(G368C)変異の効果を調べたところ、輸送基質タンパク質の輸送ゲートへの挿入が阻害されること、FlhA の C 末端側細胞質ドメイン (FlhA<sub>C</sub>) が少なくとも 3 つのサブドメインからなること、flhA(G368C)株から単離された偽復帰変異株の抑制変異がこれらのサブドメイン内のみが存在することが判明し、FlhA<sub>C</sub> がべん毛タンパク質の輸送に直接関与することが示唆された。[岡部真裕子、南野徹・島田賢史・濱野(西條)由見子・今田勝巳・難波啓一 (大阪大学大学院生命機能研究科)、May Kihara (Yale University、アメリカ合衆国) ]

## III. 原虫・寄生虫感染症

### 1. マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

#### (1) マンソン住血吸虫感染防御に関する研究

ヒトのマンソン住血吸虫 (*Schistosoma mansoni*: S.m.) 感染モデルとして、マウス S.m.感染系を用いて、これまでの実験で弱毒化幼虫感作による比較的強い感染防御効果が得られている。弱毒化幼虫は、セルカリアの *in vitro* 培養系に弱毒化試薬として DNA 合成阻害剤を加えて作成している。引き続き行われたアジュヴァント併用による防御効果実験では、より強い感染防御効果と長期間の防御効果が示された。この感作方法を用いて、再感染に対する防御効果の実験が行われた。実験は非感作マウスと感作マウスに 7 週間隔で 2 度感染を行い、この 2 度の感染に対する防御効果が調べられた。この実験背景には、ヒト・家畜の住血吸虫症が、再感染を繰り返す疾患で、結果として致死性の慢性感染症を引き起こすことが知られている。実験結果は、非感作マウスでは再感染後 8 週までに 60% が死亡した。一方、感作マウスでは死亡が全くなかった。また、感染虫数も感作マウスの方が少なく、強い感染致死予防効果が見られた。[平山中己、朝日博子 (寄生動物部)、吉成正裕 (横浜市立大学大学院医学研究科)、金澤 保 (産業医科大学) ]

#### (2) マンソン住血吸虫感染マウスに対する治療的ワクチン効果に関する研究

マンソン住血吸虫(S.m.) 感染に対するワクチン効果として、感作予防効果に関しては、我々の感作方法 {弱毒化シストソミューラー(S.m.幼虫)と或るアジュヴァントの組み合わせ} が、より強い防御効果を誘導することが判明している。一方で、ワクチン効果の 1 つとして、疾病の治療効果に関しては、有効なワクチン報告は見られない。そこ

## 免疫部

で、我々の感作方法による疾病治療効果を調べる実験が行われた。実験は S.m マウスで、慢性疾患の原因となる S.m. 虫卵の排泄が見られる次期にワクチン感作を行い、その後の疾病状況を調べる方法が行われた。2 群マウスにセルカリア感染を行い、7-8 週後、糞便中の虫卵排泄を確認し、この時期に 1 群のマウスにワクチン感作を行い、非ワクチン感作マウス群との間での感染虫数、その他の比較を行った。マウスは感作後 8 週目に剖検を行い、感染虫数、虫卵結節のある肝臓の重量、脾腫の認められる脾臓の重量が調べられた。結果は、感染虫数（すべてが生合成虫）、肝臓重量、脾臓重量、いずれも 2 群間で統計的有意差がなかった。結論として、我々のワクチン感作には、感染成虫を排除する治療効果は認められないことが判明した。その後、感作虫(S.m. 幼虫) 数を増やしたワクチン感作による治療効果の実験が継続して行われている。[平山中己、吉成正裕（横浜市立大学大学院医学研究科）]

## IV. プリオン病

### 1. 異常型プリオン蛋白質の免疫系における増殖・伝播機構の研究

プリオン病は、異常型プリオン蛋白質が病原分子となり、異常な蛋白質立体構造が伝播して疾病を引き起こす、いわゆる「コンフォメーション病」の典型例である。BSE 牛由来危険部位を摂食することにより体内に侵入し、長期潜伏期間を経て海綿状脳症を引き起こす。この過程には神経系と共に免疫系細胞が異常型プリオン蛋白質の伝播に関与することが知られている。これまでのプリオン発現細胞を用いた研究で、免疫系と神経系に発現する表面電荷に富む蛋白質分子 S100B が異常型プリオンの N 末端と相互作用する可能性を明らかにした。この相互作用は *in vitro* 実験系による証明が困難であったことから、*in silico* の解析すなわちホモロジーモデリングと分子動力学的手法を用いたシミュレーションにより解析を行っている。昨年度までの短時間（2 ナノ秒）の計算結果から、両ドメインが静電的に相互作用する可能性が示唆されたが、本年度はさらに 10 ナノ秒までシミュレーションを進め、S100B 蛋白質と正常型プリオン蛋白質の立体構造変化を追った。作業仮説は、S100B 蛋白質分子表面に存在する陰性荷電コアと陽性荷電コアがプリオン蛋白質の特異領域と相互作用して立体構造の異常を引き起こすとするものであり、今後、シミュレーションの条件を変えてさらに検討を続ける。コンフォメーション病の病因理解を目指す。[大西和夫・山口沙由里（非常勤職員）]

## V. 免疫機能に関する研究

### 1. プレ B 細胞受容体の機能に関する研究

抗体は生体防御の要となる免疫因子であり、その抗原認識多様性は  $10^8$  以上であると計算されている。この抗原認識多様性が発生する過程で重要な因子として働くプレ B 細胞受容体の機能を解析している。プレ B 細胞受容体を構成する代替鎖は非免疫グロブリン領域(Non-Ig 領域)と呼ばれる特徴的なドメインを持ち、この構造が受容体の活性化に重要な働きを担うことを明らかにした [Nature Immunology 4, 849-856, 2003]。我々は、突然変異を導入したプレ B 細胞受容体の再構築実験から、代替鎖の機能に関するいくつかの重要な予測を行っているが、Non-Ig 領域は結晶解析法による立体構造証明が困難であるため、ホモロジーモデリングおよび分子動力学法による *in silico* 解析を行っている。本研究は、抗体の抗原認識多様性を飛躍的に高める技術の基礎となり、感染症に対するワクチン開発の理論的枠組みの形成に寄与することを目的に行っている。[大西和夫、傳 舟一（筑波大学大学院生命環境

科学)、Lill Martensson (Babraham Institute、英国)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国)、藤本浩文 (放射能管理室)、野口 保 (産業技術総合研究所) ]

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

カドヘリン分子ファミリーはカルシウムイオン依存的に働く細胞接着因子であり、形態形成や神経系の構築に重要な働きを担うことが知られている。BILL カドヘリン (Cdh-17) は、我々が発見したリンパ球カドヘリンで、免疫系で働くカドヘリンとしては唯一既知の分子である。BILL カドヘリンは抗体産生 B 細胞分化の過程で Spatiotemporal な発現制御を受けており、この分子の遺伝子欠損マウスでは記憶 B 細胞の形成・機能が低下することを既に明らかにしている (論文投稿中)。また、DNA マイクロアレイの結果から記憶 B 細胞にこの分子の mRNA が強く発現していることが示されており、多パラメータ・フローサイトメトリーによる解析から、Lin<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>IgG<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>PNA<sup>-</sup> で免疫抗原を認識する記憶 B 細胞表面に BILL カドヘリン蛋白質が再帰的に発現することも証明した。我々は、この分子が記憶 B 細胞の形成・貯蔵ニッチに関与すると考えて研究を進めており、ワクチン技術に記憶 B 細胞形成促進効果を付与することを目標としている。[傳 舟一 (筑波大学大学院生命環境科学)、清水健之 (札幌医科大学)、村田英崇 (日本歯科大学、研究生)、春原正隆 (日本歯科大学、協力研究員)、沼田 治 (筑波大学大学院生命環境科学)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国)、小林和夫、大西和夫]

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

BILL カドヘリンは抗体産生 B 細胞分化の過程で Spatiotemporal な制御を受けて発現する細胞接着因子であり、腸管上皮細胞などの粘膜免疫組織にも発現する。粘膜免疫系における BILL カドヘリンの機能を知る目的で、腸管、肺などの粘膜免疫組織における発現パターンを詳細に検討した。その結果、腸管上皮細胞の頂側膜並びに側底膜に非常に強く局在していることが明らかになった。この結果は、腸管内腔の抗原取り込みや腸内細菌との相互作用にこの分子が関与している可能性を示唆する。腸管は主要な病原体侵入部位の一つであり、腸管上皮には細菌・ウイルスの侵入標的分子が多数局在する。例えば E カドヘリンが、重篤な食中毒を引き起こすリステリア菌の細胞侵入標的分子であることはよく知られる。我々は、腸管上皮頂部の BILL カドヘリンを侵入標的とする病原体をスクリーニングする *in vitro* 実験系を構築することに成功し、これを用いて腸内病原体侵入機構への関与について Crohn 病を含む炎症性腸疾患 (IBD) との関連が指摘されている抗酸菌との関連を中心に検討を進めている。[傳 舟一・沼田治 (筑波大学大学院生命環境科学)、大西 真 (細菌第一部)、Fritz Melchers (Max Planck Institute for Infection Biology、ドイツ連邦共和国)、小林和夫、大西和夫]

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

病原体などの異物侵入門戸である、粘膜上皮 M 細胞の分化・形成に対する腸管内環境ストレスの影響について解析した。マウスに cholera toxin、dextran sulfate sodium、あるいは indomethacin を投与した結果、いずれも場合でもマウス小腸 M 細胞のマーカー糖鎖 α(1,2)fucose の発現上昇が



## 免疫部

小腸上皮層全体で認められた。しかしながら、誘導型  $\alpha(1,2)$ fucose 陽性細胞は形態・機能ともに M 細胞と区別すべき細胞集団であり、また、fucosyltransferase I (FUT1) がマウスパイエル板 M 細胞の新規マーカーとなり得ることが示唆された。従って、少なくとも一過性の腸管内環境ストレスでは M 細胞の過形成による抗原侵入は起こらず、腸管内ホメオスタシスは維持されているものと推測された(論文投稿中)。

[寺原和孝、横田恭子、小林和夫、清野 宏(東京大学医学科学研究所)]

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

生体は病原体の感染を受けると、マクロファージや樹状細胞などの貪食細胞に発現する Toll 様受容体(TLR)ファミリーを介して多様な病原体成分を認識し、炎症性サイトカイン(TNF- $\alpha$ 、IL-6)や抗炎症性サイトカイン(IL-10)の産生などの宿主応答を行う。本研究では TLR4 シグナルにおけるチロシンリン酸化ネットワークの全体像を解明し、宿主応答の分子機構の理解を深め、その知見を応用した感染応答の制御を目指す。前年度にプロテオミクス技術 SILAC (Stable isotope labeling by amino acids in cell culture) を用いて同定された因子は、TNF- $\alpha$  の産生には影響しないが、IL-6 および IL-10 の産生を負に制御する因子であることが明らかとなった。今回、本因子の関わるシグナル伝達経路を探索した結果、Syk-PI3K-PLC $\gamma$ 2 経路を介した転写因子 NF-KB の持続的活性化を抑制する分子であることが示唆された。本研究により、マクロファージにおいて IL-6 および IL-10 の産生を負に制御する新たな因子が同定され、サイトカイン産生調節における新規分子機構が明らかとなった。[松村隆之、石川公輔・井上貴史・仙波憲太郎(早稲田大学理工学術院)、尾山大明・秦 裕子・井上純一郎(東京大学医学科学研究所)]

### 6. TIFA 関連タンパク質 TIFAB の機能解析

Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-interacting protein with a forkhead-associated domain (TIFA) は TRAF6 を活性化し、細胞の増殖や成熟化に関わる転写因子 NF-KB の活性化を誘導する。TIFA 関連タンパク質 TIFAB は TIFA による NF-KB の活性化を阻害するが、TIFAB を発現する細胞の種類やその細胞での機能はほとんど知られていなかった。本研究では、①TIFAB が T 細胞よりも B 細胞に発現し、さらに B 細胞よりも樹状細胞やマクロファージにおいて高発現していること、②TIFAB の発現は TRAF6 が誘導する B 細胞の細胞増殖シグナルあるいは樹状細胞およびマクロファージの成熟化シグナルによって負に制御されていること、③TIFAB は細胞周期の S 期移行を阻害することが明らかとなった。以上の結果から TIFAB は、TRAF6 が誘導する B 細胞の増殖およびマクロファージや樹状細胞の成熟化における負の制御因子であると考えられた(J. Biochem. 146: 375-381, 2009)。[松村隆之、仙波憲太郎(早稲田大学理工学術院)、都竹順子・山本 雅・井上純一郎(東京大学医学科学研究所)]

## VI. 骨髄造血機構に関する研究

### 1. 間葉系幹細胞分化と造血制御に関する研究

骨髄不全症を呈する *Translin* 遺伝子欠損 (TSN-KO) マウスの骨髄では、好中球などの顆粒球のみならず B 細胞や $\gamma\delta$ T 細胞の成熟停止が観察された。我々は、この現象が骨髄微小環境(ニッチ)に依存していることを骨髄移植実験で明らかにした。さらに、海綿骨と骨芽細胞の異所的な

形成や血管新生と褐色脂肪細胞の蓄積が骨髄内で認められたことは、骨髄ニッチを形成する間葉系幹細胞が TSN 遺伝子によって影響を受けていることを示唆している。そこで、ニッチの形成に係わる間葉系幹細胞を TSN の標的細胞と想定して、間葉系幹細胞へ TSN siRNA を移入して変動する遺伝子の解析を行った。その結果、中胚葉形成に不可欠な Twist-2 遺伝子の発現が高まることを発見した。この結果は、TSN が Twist-2 遺伝子の発現を抑制的に制御していることを示唆している。今後、間葉系幹細胞の分化関連遺伝子のプロモーター領域に結合する転写抑制因子の探索によって、血液難病の原因が解明され、臨床応用に発展することが期待される。[石田礼子(協力研究員)、齋藤祐美・浅野茂隆(早稲田大学理工学術院)、中原一彦(大学評価・学位授与機構)、葛西正孝]

## 品質管理に関する業務

### I. 急性 A 型ウイルス (HAV) 肝炎診断薬承認前審査業務

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

## 研修業務

### I. 医師卒後臨床研修

医師卒後臨床研修として「結核など抗酸菌感染症」に関し、2009年12月14日、講義した。[小林和夫]

### II. 高校生を対象としたシンポジウム：エイズ

国立国際医療センター研究所、国立健康・栄養研究所、東京女子医科大学、早稲田大学と共にアウトリーチ活動を行い、その一環として国立感染症研究所において高校生を対象としたシンポジウム：2009年度第2回箱根山周辺の身近な医療先端科学「世界の感染症」を2009年11月14日、主催した。[大島正道]

## 共同利用機器管理

機器の使用に関する予約と使用記録を管理・保存した。その結果、平成 21 年度細胞自動解析装置の使用は、822回、1,783 時間であった。また、機器使用者が円滑に実験を遂行できるよう、機器の定期的な点検を行い、故障等のトラブルには早急に対処した。新規解析装置の導入に際し、機器操作に関する講習会を開催した。さらに不慣れた使用者や、特殊な操作法を希望する使用者に関しては、個別に技術指導を行った。[渡辺恵理(非常勤職員)、高橋宜聖、小林和夫]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

## 免疫部

### 1. 欧文発表

- 1) Ikebe, T., M. Ato, T. Matsumura, H. Hasegawa, T. Sata, K. Kobayashi, and H. Watanabe. 2010. Highly frequent mutations in negative regulators of multiple virulence genes in group A streptococcal toxic shock syndrome isolates. *PLoS Pathog.* 6: e1000832.
- 2) Tomizawa K, T. Nagao, R. Kusunoki, K. Saiga, M. Oshima, K. Kobayashi, T. Nakayama, M. Tanokura, K. Suzuki K. 2010. Reduction of MPO-ANCA epitopes in SCG/Kj mice by 15-deoxyspergualin treatment restricted by IgG2b associated with crescentic glomerulonephritis. *Rheumatology (Oxford)*. 49: 1245-1256.
- 3) Kishishita, N., T. Matsuno, Y. Takahashi, H. Takaba, H. Nishizumi, F. Nagawa. 2010. Regulation of antigen-receptor gene assembly in hagfish. *EMBO. Rep.* 11: 126-132.
- 4) Man, R.Y., T. Onodera, E. Komatsu, T. Tsubata, 2010. Augmented B lymphocyte response to antigen in the absence of antigen-induced B lymphocyte signaling in an IgG-transgenic mouse line. *PLoS One* 5: e8815.
- 5) Minamino T., M. Shimada, M. Okabe, Y. Saijo-Hamano, K. Imada, M. Kihara, K. Namba. 2010. Role of the C-terminal cytoplasmic domain of FlhA in bacterial flagellar type III protein export. *J. Bacteriol.* 192: 1929-1936.
- 6) Yamamoto, T., Y. Tsunetsugu-Yokota, Y-Y. Mitsuki, F. Mizukoshi, K. Terahara, Y. Inagaki, N. Yamamoto, K. Kobayashi, and J-L.Inoue. 2009. Selective transmission of R5 HIV-1 over X4 HIV-1 at the dendritic cell-T cell infectious synapse is determined by the T cell activation state. *PLoS Pathog.* 5: e1000279.
- 7) Ishii, K., H. Hasegawa, N. Nagata, Y. Fukushi, F. Taguchi, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2009. Neutralizing antibody against SARS-CoV spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. *Microbiol. Immunol.* 53: 75-82.
- 8) Mizukoshi, F., T. Yamamoto, Y-Y. Mitsuki, K. Terahara, A. Kawana-Tachikawa, K. Kobayashi, A. Iwamoto, Y. Morikawa, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2009. Activation of HIV-1 Gag-specific CD8+ T cells by yeast-derived VLP-pulsed dendritic cells is influenced by the level of mannose on the VLP antigen. *Microbes Infect.* 11: 191-197.
- 9) Yamamoto, T., N. Iwamoto, H. Yamamoto, T. Tsukamoto, T. Kuwano, A. Takeda, M. Kawada, Y. Tsunetsugu-Yokota, T. Matano. 2009. Polyfunctional T-cell induction in neutralizing antibody-triggered simian immunodeficiency virus control. *J. Virol.* 83: 5514-5524.
- 10) Terahara, K., M. Yoshida, F. Taguchi, O. Igarashi, T. Nochi, Y. Gotoh, T. Yamamoto, Y. Tsunetsugu-Yokota, N. Beauchemin, H. Kiyono. 2009. Expression of newly identified secretory CEACAM1 isoforms in the intestinal epithelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 383: 340-346.
- 11) Konno, H., T. Yamamoto, K. Yamazaki, J. Gohda, T. Akiyama, K. Semba, H. Goto, A. Kato, T. Yujiri, T. Imai, Y. Kawaguchi, B. Su, O. Takeuchi, S. Akira, Y. Tsunetsugu-Yokota, J-I. Inoue. 2009. TRAF6 established innate immune responses by activating NF- $\kappa$ B and IRF7 upon sensing cytosolic viral RNA and DNA. *PLoS One* 4: e5674.
- 12) Yamamoto, T., A. Samri, Y-Y. Mitsuki, B. Autran, Y. Tsunetsugu-Yokota. 2009. siRNA inhibiting HIV-1 reactivation restores function of HIV-specific CD4<sup>+</sup> T cells in chronically HIV-infected individuals. *AIDS* 23: 2265-2275.
- 13) Matsumura, T., J. Kawamura-Tsuzuku, T. Yamamoto, K. Semba, and J. Inoue. 2009. TRAF-interacting protein with a forkhead-associated domain B (TIFAB) is a negative regulator of the TRAF6-induced cellular functions. *J. Biochem.* 146: 375-381.
- 14) Takahashi, Y., H. Hasegawa, Y. Hara, M. Ato, A. Ninomiya, H. Takagi, T. Odagiri, T. Sata, M. Tashiro, and K. Kobayashi. 2009. Protective immunity afforded by inactivated H5N1 (NIBRG-14) vaccine requires antibodies against both hemagglutinin and neuraminidase in mice. *J. Infect. Dis.* 199: 1629-1637.
- 15) Yokoyama S, Y. Ito, H. Ueno-Kudoh, H. Shimizu, K. Uchibe, K. Mitsuoka, S. Miyaki, M. Kiso, A. Nagai, N. Fukuda, L. Puri, M. Kasai, Y. Hayashizaki, H. Okado, M. Hashimoto, H. Asahara. 2009. Systems approach reveals myogenesis genome network anchored by transcription repressor Rp58. *Dev. Cell* 17: 1-13.
- 16) Okado H, C. Ohtaka-Maruyama, Y. Sugitani, Y. Fukuda, R. Ishida, S. Hirai, A. Miwa, A. Takahashi, K. Aoki, K. Mochida, O. Suzuki, T. Honda, K. Nakajima, M. Ogawa, T. Terashima, J. Matsuda, H. Kawano, M. Kasai. 2009. The transcriptional repressor RP58 is crucial for cell-division patterning and neuronal survival in the developing cortex. *Dev. Biol.* 331: 140-151.
- 17) Tateishi, Y., Y. Hirayama, Y. Ozeki, Y. Nishiuchi, M. Yoshimura, J. Kang, A. Shibata, K. Hirata, S. Kitada, R. Maekura, H. Ogura, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2009. Virulence of *Mycobacterium avium* complex strains isolated from immunocompetent patients. *Microb. Pathog.* 46: 6-12.
- 18) Hirayama, Y., M. Yoshimura, Y. Ozeki, I. Sugawara, T. Udagawa, S. Mizuno, N. Itano, K. Kimata, A. Tamaru, H. Ogura, K. Kobayashi, and S. Matsumoto. 2009. Mycobacteria exploit host hyaluronan for efficient extracellular replication. *PLoS Pathog.* 5: e1000643.

### 2. 和文発表

- 1) 横田 (恒次) 恭子. 2009. レトロウイルス進化における AIDS、病原体の進化 N I による疾病、特集：生活習慣病 H A 進化病である、成人病と生活習慣病、東京医学社、12:1301-1305.
- 2) 池辺忠義、阿戸 学、小林和夫、渡辺治雄. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序—菌の免疫回避機構と菌の特性—, 感染症誌, 83: 485-489.
- 3) 池辺忠義、阿戸 学、小林和夫、渡邊治雄. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発症機序—菌の特徴と免疫回避機構—. *BIO Clinica* 23 : 1321-1326.
- 4) 小林和夫. 2009. マイコバクテリウム属 (抗酸菌). 標準微生物学 第 10 版 (平松啓一、中込 治 編) 東京：医学書院. 286-298. ISBN: 978-4-260-00638-5
- 5) 大原直也、小林和夫. 2009. 抗酸菌 (マイコバクテリウム) 感染症. コンパクト内科学 (井上修二、上原晋志夫、金澤真雄、川口 実、代田常道 編) 京都：金芳堂. 418-420. ISBN: 978-4-7653-1382-7

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Matsumura, T., T. Ikebe, H. Watanabe, K. Kobayashi, and M. Ato. 2009. Involvement of IFN- $\gamma$  and IL-6 in severe invasive group A *Streptococcus* infection. 17<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages (金沢、7月).
- 2) Kasai M. 2009. Translin is indispensable for normal differentiation of mesenchymal niche and stem cell control in mice. Gordon Research Conferences, Stem Cells & Cancer, Les Diablerets (スイス連邦、9月)
- 3) Ato, M. 2010. Incompetence of neutrophils in invasive infections. Symposium on Infection and Immunity and Translational Medicine.(タイ王国、1月)

### 2. 国内学会



## 免疫部

- 1) 高橋宜聖、小野寺大志、小林和夫. 2009. ヒト血清抗体・細胞移入マウスを用いた防御免疫評価系の構築. 日本食品免疫学会 2009 年度大会 (東京、5 月).
- 2) 大山堯人、細野 朗、柳橋 努、津田真人、八村敏志、高橋宜聖、伊藤喜久治、平山和宏、高橋恭子、上野川修一. 2009. マウス腸内共生菌が誘導する腸管 IgA 産生の特徴. 日本食品免疫学会 2009 年度大会 (東京、5 月).
- 3) 小川晋平、梅田幸子、高橋宜聖、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志. 腸管特有の細胞群 CD3-IL-2R+細胞の機能解析. 日本食品免疫学会 2009 年度大会 (東京、5 月).
- 4) 高橋宜聖、小野寺大志、阿戸 学、小田切孝人、田代真人、小林和夫. 2009. ヒト血清移入マウスを用いたインフルエンザ感染防御能の解析. 第 13 回日本ワクチン学会総会 (札幌、9 月).
- 5) 阿戸 学. 2009. 劇症型レンサ球菌感染症の重篤化に関わる宿主要因の解明. 第 58 回日本感染症学会東日本地方会第 56 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会 (東京、10 月).
- 6) 光木裕也、水越文徳、渋沢謙太郎、寺原和孝、竹田 誠、柳 雄介、森川裕子、山岡昇司、横田 (恒次) 恭子. 2009. HIV-1 感染と麻疹ウイルス感染が相互の及ぼす影響およびその機構の解析. 第 57 回ウイルス学会学術集会 (東京、10 月).
- 7) 岩田奈織子、永田典代、辻 隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子、水谷哲也、西條政幸、森川 茂、佐多徹太郎. 2009. SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の免疫効果と副反応について. 第 57 回ウイルス学会学術集会 (東京、10 月).
- 8) 森 一泰、杉本知恵、横田恭子、鈴木康夫、山本直樹、永井美之. 2009. 糖鎖修飾による組織・細胞指向性はエイズウイルスの病原性・感染防御免疫誘導を決定する. 第 57 回ウイルス学会学術集会 (東京、10 月).
- 9) 清原知子、石井孝司、小林和夫、大西和夫. 2009. HAV 特異的モノクローナル抗体を用いた ELISA 検出系の最適化と HAV 抗体産生 B 細胞動態解析法の検討. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会 (東京、10 月).
- 10) 小林和夫. 2009. 感染症の現状と制圧戦略 (特別講演). 第 56 回昭和医学会総会 (東京、11 月).
- 11) 渋沢謙太郎、光木裕也、寺原和孝、柳 雄介、小林和夫、横田 (恒次) 恭子. 2009. 樹状細胞を標的とした HIV-1 増殖抑制 shRNA 発現レンチウイルスの開発. 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 12) 阿戸 学、松村隆之、小林和夫. 2009. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離株の分泌毒素による接触依存性好中球傷害. 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 13) 満 栄勇、小野寺大志、鏑田武志. 2009. Ligand-independent high tonic signaling through IgG-BCR induces B-cell receptor signaling defect and enhances B cell response. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 14) 小川晋平、梅田幸子、倉岡雅征、高橋宜聖、紅露 拓、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志. 2009. 腸管特有の細胞群 CD3-IL-2R+細胞の表現型および機能解析. 第 39 回日本免疫学会総会 (大阪、12 月).
- 15) 加地友弘、杉本晶子、疋田正喜、饗場祐一、高橋宜聖、黒崎知博、竹森利忠. 2009. Non-mutated memory B cells develop under T-cell help without germinal center reaction, followed by the functional maturation as immune response progresses. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 16) 小野寺大志、相澤竜太郎、細野 朗、上野川修一、小林和夫、高橋宜聖. 2009. T cell-independent activation of memory B cells with B-2 phenotype by whole virus particles. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 17) 松村隆之、小林和夫、阿戸 学. 2009. Monocytes are the major producers of IFN- $\gamma$  in severe invasive group A streptococcal infections. 第 39 回 日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 18) FU, S., M. KUBOTA, K. KOBAYASHI, K. OHNISHI. 2009. Localization and Functional Analysis of BILL-cadherin (Cadherin-17) Expressed in the Mouse Intestine. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 19) Tomizawa, K., T. Nagao, R. Sugamata, Y. Aratani, K. Kobayashi, S. Kawachi, T. Nakayama, and K. Suzuki. 2009. Role of neutrophils and myeloperoxidase in lung injury induced by influenza A/H1N1 (PR-8) infection in mice (1-G-W12-4-O/P). 日本免疫学会・学術集会記録、39 : 67, 2009. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 (大阪、12 月).
- 20) 土屋貴嗣、光木裕也、寺原和孝、渋沢謙太郎、小林和夫、渡邊俊樹、横田 (恒次) 恭子. 2009. CD4 標的レンチウイルスベクターの開発. 第 32 回日本分子生物学会年会 (横浜、12 月).
- 21) 阿戸 学、松村隆之、池辺忠義、渡邊治雄、小林和夫. 2010. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症における遺伝子発現調節因子の変異と好中球傷害. 第 8 回 感染症沖縄フォーラム (沖縄、2 月).
- 22) 松村隆之、池辺忠義、渡邊治雄、小林和夫、阿戸 学. 2010. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症におけるインターフェロン  $\gamma$  産生細胞の解析. 第 8 回 感染症沖縄フォーラム (沖縄、2 月).
- 23) 大山堯人、細野 朗、鈴木あみ、柳橋 努、津田真人、八村敏志、高橋宜聖、伊藤喜久治、平山和宏、高橋恭子、上野川修一. 2010. *Bacteroides* の刺激を受けたパリエル板細胞における IgA 誘導の特徴. 日本農芸化学会 2010 年度大会 (東京、3 月).
- 24) 小川晋平、梅田幸子、倉岡雅征、高橋宜聖、紅露 拓、高津聖志、上野川修一、佐藤隆一郎、八村敏志. 2010. IL-5 を高産生する腸管 NK 様細胞の同定. 日本農芸化学会 2010 年度大会 (東京、3 月).
- 25) 平山幸雄、吉村満美子、尾関百合子、小倉 壽、小林和夫. 2010. 結核菌の宿主ヒアルロン酸を利用した細胞外増殖. 日本細菌学会雑誌、65 : 125, 2010. 第 83 回日本細菌学会総会 (横浜、3 月).
- 26) 大原直也、岡部真裕子、阿戸 学、吉村満美子、井上哲圭、中山浩次、小林和夫. 2010. チミジル酸合成酵素遺伝子を利用した BCG 宿主-ベクター系. 日本細菌学会雑誌、65 : 155, 2010. 第 83 回日本細菌学会総会 (横浜、3 月).
- 27) 尾関百合子、菅原 勇、岡 真優子、小林和夫、松本壮吉. 2010. 結核菌感染における制御性 T 細胞の関与. 日本細菌学会雑誌、65 : 189, 2010. 第 83 回日本細菌学会総会 (横浜、3 月).
- 28) 岡 真優子、平山幸雄、立石善隆、小林和夫、松本壮吉. 2010. 潜在性結核の診断法の確立に向けた臨床への橋渡し研究 : 第 1 報. 日本細菌学会雑誌、65 : 198, 2010. 第 83 回日本細菌学会総会 (横浜、3 月).