

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 4 名、主任研究官 7 名、研究員 1 名である。戸山庁舎に 11 名の職員と再任用職員 1 名、村山庁舎に 2 名の職員が在籍している。インフルエンザウイルス研究センター第六室、室長の浅沼 秀樹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と片岡 紀代が、村山庁舎の電子顕微鏡室で片岡 紀代が所全体の業務に対応した。戸山では奥田 薫と小林和泉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. 感染症の診断に関する研究
3. インフルエンザ感染症に関する研究
4. 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
5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究
6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究
7. 先天性ジカウイルス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. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

3. 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
4. ピコルナウイルスに関する研究
5. HIV に関する研究
6. 狂犬病に関する研究
7. インフルエンザ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. HTLV-1 ワクチンの開発
4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究
5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発
6. Vero 細胞の内因性レトロウイルスに関する研究

IV. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

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
2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

VI. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 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

I. 誌上発表

1. 欧文発表
2. 和文発表

II. 学会発表

1. 国際学会
2. 国内学会

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。2016 年度人体由来検体数は 102 症例であった。検索の結果インフルエンザウイルス感染 13 例、JC ウイルス感染 6 例、アデノウイルス感染 3 例、ヘルペスウイルス感染 5 例他にトレポネーマや、ヒストプラズマなど細菌や真菌によるウイルス以外の病原体における感染症例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、高橋 健太、長谷川 秀樹)

2. 感染症の診断に関する研究

病理切片上での in situ 核酸検出法の検討

組織切片上で病原体を検出する方法には病原体の蛋白抗原を検出する免疫組織化学と遺伝子核酸を検出する in situ hybridization(ISH)法がある。免疫組織化学は安定した検出系となるが、あらたに特異的な抗体を作製しなければならない場合は時間を要し緊急対応は難しい。外来病原体遺伝子を次世代シーケンス法等により同定できるようになった近年、塩基配列情報に基づいて ISH 法用のオリゴヌクレオチドプローブを作成するのは容易である。これまでに我々は、独自に開発した高感度で特異性の高い in situ hybridization-AT tailing(ISH-AT)法を中心に市販の

RNA ISH Kit も利用しながら様々な RNA ウイルス拡散の検出を行ってきた。今回我々は RNA のみでなく DNA にも視野を広げ DNA ウイルス拡散の検出が可能な ISH-AT 法の確立を試みた。現在は、アデノウイルスの核酸検出系を立ち上げることに成功しグループ判別のみでなく血清型の特定制も可能な系の確立を目指して、臨床的に重要と思われる血清型をターゲットにしプローブの作製等を行っている。(田中 道子、中島 典子、佐藤 由子、長谷川 秀樹、花岡 希[感染症疫学センター4 室]、藤本 嗣人[感染症疫学センター4 室])

3. インフルエンザ感染症に関する研究

パンデミックシーズン終息後の A/H1N1pdm09 インフルエンザウイルス感染症の行政解剖例の病理学的・分子生物学的解析

A/H1N1pdm09 ウイルス感染症は、2009 年 3 月にメキシコで報告されたのち 2010 年 8 月にパンデミックが終息するまで世界中で流行した。現在では季節性インフルエンザウイルスとして流行しているが、流行年には重症化例や病院外での死亡例が多くみられる。パンデミック終息後の時期に、A/H1N1pdm09 感染により死亡し、東京都監察医務院で、行政解剖を施行した症例について、病理組織学的及び分子生物学的解析を施行し、重症化の発症機序について考察した。対象となった 34 例(平均 46 歳、男性 23 例、女性 11 例)中、BMI が 30 を超える例が 38%、基礎疾患として精神・神経疾患を有する例が 41%と多く認められた。病理組織像では、ARDS を示唆するびまん性肺胞傷害(DAD)が多く、13 例(38%)で見られ、10 例で肺胞上皮細胞にウイルス抗原が陽性であった。A/H1N1pdm09 の重症化の要因をウイルス因子宿主因子の側面から解析し、また重症化し死亡した宿主の自然免疫応答の特徴についても解明していく必要があると考えられた。(中島 典子、佐藤 由子、林 紀乃、濱松 明彦[東京都監察医務院])

4. 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)ベトナムバクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体検索

鳥インフルエンザ“早期確定診断”のためにインフルエンザウイルス研究センター第二室影山らが開発した高病原性鳥インフルエンザウイルスを含む呼吸器感染症を引き起こすウイルスを迅速かつ簡便に同定可能なマルチプレックス RT-LAMP 法と市販の呼吸器感染症を引き起こすウイルスおよび細菌を同定可能なマルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法(FTD33)をベトナムの国立バクマイ病院に導入し、呼吸器感染症を引き起こす病原体のスクリーニングシステムを構築した。2015年6月より2016年3月まで集中治療室(ICU)、呼吸器科、感染症科にインフルエンザ様症状で入院した120名の患者より採取した検体を用いて、病原体の解析を行った。また、RT-LAMP 法はマルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法と同程度の検出感度を有しており、臨床現場においては迅速で高感度で特異性の高い検査法になり得る事が明らかとなった。(中島 典子、影山 努 [インフルエンザウイルス研究センター第二室]、高山 郁代 [インフルエンザウイルス研究センター第二室]、Vu Thi Tuong Van[バクマイ病院、ベトナム])

(2)ハノイ国立小児病院における鳥インフルエンザとその死因である急性呼吸速迫症候群(ARDS)の病態の解析

鳥インフルエンザウイルスヒト感染症の重要な死因の一つである重症 ARDS の病態解明のために、ベトナム国立小児病院・小児集中治療室(PICU)に入院した“肺炎に併発した重症 ARDS”患者 57 例の臨床情報、入院時の血液、気管洗浄液中の病原体ゲノムを分子生物学的手法と培養法で検出するとともに、PICU 入院時の血清中のサイトカイン・ケモカイン濃度を測定したところ、PICU 入院時の血清インターフェロン γ 濃度が“肺炎に併発した重症 ARDS”の独立した生命予後因子の候補となることが示された。また ARDS の病因病原体の種類による生命予後に有意差はみられなかった。この結果により“肺炎に併発した重症 ARDS”の治療には宿主の炎症反応のコントロールが重要であることが示唆された。(中島 典子、鈴木 忠樹、Phung TTB、Phan PH[ハノイ国立小児病院])

5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

重症熱性血小板減少症候群剖検症例の病理学的解析

ヒト症例の病理学的解析が必要不可欠であり、我々は全国の医療機関と協力して SFTS の病理像を明らかにすべく解析を進めている。一方、2009年に米国で SFTSV に近縁の新しいダニ媒介レボウイルスである Heartland ウイルス(HRTLTV)による類似疾患の報告があり、SFTS 病態との類似性について注目されている(N Engl J Med 2012)。CDC の Infectious Diseases Pathology Branch(IDPB)は、感染症の病理学を専門とする研究室であり、稀有な疾患であるダニ媒介性レボウイルス感染症についても全米から症例が集まっており、HRTLTV 感染症の剖検症例のパラフィンブロック検体が保管されている。そこで、CDC の保管する HRTLTV の 7 件の剖検症例の 100 ブロック検体を review し、組織学的な変化とウイルス感染の評価を行った。その結果、HRTLTV 感染症では、SFTSV 感染症に比べ、血球貪食像が少ないことが明らかになった。以上より血球貪食は宿主のサイトカイン応答により惹起されることから、SFTSV と HRTLTV 感染により誘導されるサイトカイン応答の差異を検討する必要があると考えられた。(鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、中島 典子、永田 典代、長谷川 秀樹)

6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究

進行性多巣性白質脳症の病理組織検体の解析

進行性多巣性白質脳症(PML)の確定診断(definite PML)のためには、生検脳あるいは剖検脳からの組織の病理学的検索が有用である。国立感染症研究所感染病理部では、全国の大学および医療機関から依頼される PML の病理組織検体の検査を行っている。解析では HE 染色と免疫組織化学による形態学的検索に加え JC ウイルス(JCV)ゲノムの遺伝子検索を併用して確度の高い病理組織検査を行い、平成 3 年から平成 28 年 12 月末までに 54 例の PML を検査した。平成 28 年は 16 例の検索依頼があり、9 例で PML とされた。平成 28 年の 9 例の PML 確定時の年齢は平均 60.3 歳で、基礎疾患として自己免疫性疾患 3 例、後天性免疫不全症候群と血液系悪性腫瘍がそれぞれ 2 例に認められた。なお、脳の組織学的検索にて PML とされた症例の中には、脳組織採取前の脳脊髄液からの検索において、JCV ゲノムが検出限界以下であったものも含まれて

いた。(高橋 健太、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

ジカウイルスは主にヤブ蚊によって媒介されるフラビウイルスであり、デングウイルス、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルス、黄熱ウイルスなどと近縁である。2015 年秋のブラジルからの報告までジカウイルスを含め、これら近縁のフラビウイルスによる感染症はヒトにおいて先天性異常を引き起こすことは知られておらず、ジカウイルス感染と小頭症との関連性を指摘する報告は世界中から大きな注目を集める事となった。そこで、新しい感染症である先天性ジカウイルス感染症の病理を明らかにするために病理組織でのジカウイルス感染の診断の為に *in situ hybridization* のプローブを設計し作製、感染細胞を用いてウイルス核酸の検出を確認した。また、ジカウイルス特異的抗体を用いた免疫組織化学を構築し、実験動物感染モデルにて感染細胞を検出可能であることを確認した。さらに、病理組織中のウイルス量を定量する病原体遺伝子検査系を構築し、米国 CDC との共同研究として妊娠期間中にジカウイルス感染があった妊婦の胎盤組織中や小頭症児の脳組織内にジカウイルスが持続感染することを見出した。(鈴木 忠樹、飛梅実、佐藤 由子、中島 典子、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

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)新規 primary effusion lymphoma 細胞株の樹立と KSHV の全長ゲノムの決定

40 歳代の男性エイズ患者の貯留胸水から新規 primary effusion lymphoma (PEL) 細胞株の樹立に成功し、SPEL 細胞と名付けた。SPEL 細胞は CD38, CD138 陽性、CD20 陰性であり、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) 陽性、Epstein-Barr ウイルス陰性であった。細胞を免疫不全マウスの皮下に移植すると 1 ヶ月後に腫瘍形成が認められた。HDAC 阻害剤などにより KSHV の溶解感染が誘導された。ウイルス粒子を精製し、抽出した DNA から次世代シーケンサーにより KSHV の全配列を決定し GenBank に登録した。これはアジアでは初めての KSHV の全塩基配列である。

(大澤 麻登里、峰 宗太郎、太田 真一郎[防衛医大]、加藤 健吾[病原体ゲノム解析研究センター]、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片岡 紀代、福本 瞳、佐藤 由子、菅野 隆行、長谷川 秀樹、上田 啓次[大阪大学]、深山 正久[東京大学]、前田 卓哉[防衛医大]、叶 宗一郎[防衛医大]、川名 明彦[防衛医大]、藤倉 雄二[防衛医大]、片野 晴隆)

(2)ガンマヘルペスウイルス感染細胞から産生されるエクソソームにおける miRNA のプロファイルの解明

エクソソームは細胞から分泌される小胞体であり、そこに含まれる miRNA は、細胞間コミュニケーションなどの機能がある。今回、KSHV または Epstein-Barr ウイルスに感染したリンパ腫細胞株の細胞内とエクソソーム中に含まれる miRNA を次世代シーケンサーで解析した。KSHV 感染細胞ではウイルス由来の miRNA がエクソソーム中の全 miRNA の 48% を占めた。KSHV miRNA では miR-K3 が、ヒト miRNA では mir-10b-5p と mir-143-3p がエクソソームに多い miRNA として同定された。また、miRNA をエクソソームに選択的に移行させる特定の配列モチーフが同定された。(保科 しほ、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、片岡 紀代、長谷川 秀樹、濱田 洋通[東京女子医大]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

(3)KSHV の 細胞間感染メカニズムについての研究

GFP 組換え KSHV 感染 B 細胞株を用いた細胞間感染 (cell-to-cell infection) あるいは cell-associated virus infection) 実験で、培養液中のウシ胎仔血清濃度による影響について検討したところ感染効率にほとんど影響は認められなかった。ウイルス粒子による感染 (cell-free virus infection) ではウシ胎仔血清濃度が上昇すると感染効率は低下する。細胞間感染が生体内における抗体分子などの血清成分による感染阻害効果を回避する合目的な感染様式であることを示唆していると考えられる。(菅野 隆行、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

2. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

MERS-CoV レセプター導入マウスの MERS-CoV 感受性についての検討

中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)の病原性と病態の解明、治療法の検討を最終目的として、昨年度 MERS-CoV のレセプターであるヒト Dipeptidyl peptidase 4 を導入した遺伝子改変マウスを作製し、若齢マウスについて MERS-CoV の感受性を検討した。今年度は半年齢動物の MERS-CoV に対する感受性を検討した。その結果、若齢マウスの病態と同じく、気管支上皮細胞や肺胞上皮細胞でウイルスが感染増殖し急性肺炎を起こした。しかし、重症化は見られなかった。(岩田 奈織子、岡村 匡史[協力研究員]、関向 華子[研究生]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、永田 典代)

3. 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の重症化の宿主側要因を明らかにすることを目的として、サル痘ウイルスのマウス感染モデルを作出した。この感染系を利用し、抗 Ly6G 抗体投与による好中球枯渇マウスに対する感染実験を行った。一部の個体では脾の腫大が認められ、副腎にウイルス感染を伴う壊死を示すものもあった。このモデルにおいて好中球の枯渇処理は、ウイルス増殖と病変形成を亢進させた。(永田 典代、佐藤 由子、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、福士 秀悦[ウイルス第一部]、西條 政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[獣医科学部])

4. ピコルナウイルスに関する研究

(1) Saffold ウイルスの病原性に関する動物モデルを用いた研究

Saffold virus の神経病原性について引き続き、マウスモデルを用いて病理学的解析を行った。今年度は、上気道炎患者由来株脳内接種後のマウスにおける脱髄病変形成機序について経時間的に解析した。その結果、マウス脳脊髄におけるウイルス感染局在と病変形成の関係が病理組織学的に明らかとなった。(萩原 圭[実習生]、永田 典代、

岩田 奈織子、長谷川 秀樹、小谷 治[病原体ゲノム解析研究センター]、清水 博之[ウイルス第二部])

(2) コクサッキーウイルス B2 の病原性に関する動物モデルを用いた研究

出生後早期のコクサッキーウイルス B 群感染症の発症病理には不明な点が多い。最近の臨床分離株のマウスにおける感染性と病原性を検討し、経粘膜感染モデルの作出を試みた。その結果、経鼻感染後のウイルスはマウスの嗅上皮に感染後、神経向性に嗅球の大型の神経細胞に感染伝播することが判明した。(永田 典代、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、清水 博之[ウイルス第二部])

5. HIV に関する研究

(1) 新規宿主因子 GBP5 の抗ウイルス機能の検証

我々が昨年度に報告した新規抗ウイルス宿主因子(Nat. Med. 21:1502-1507, 2015)とほぼ同様の機能を有する宿主因子 GBP5(Cell Host Microbe. 19:504-14, 2016)が報告されたことを受け、その抗ウイルス機能の検証を試みた。GBP5 は論文に記されている通り interferon により発現誘導されるタンパク質であったが、その過剰発現によって HIV-1 の感染性を低下させることはなく Env のウイルス粒子への取込みにも影響しなかった。しかしながら明らかに Env との相互作用および共局在を示すことから、ウイルスの複製を制御する因子として機能している可能性が示唆された。(Yao Weitong[研究生]、張 延昭[研究生]、藤田 英明[長崎国際大]、山岡 昇司[東京医科歯科大]、徳永 研三)

(2) 抗 HIV-1 機能における MARCH8 と他の MARCH ファミリータンパク質との比較検討

前述の新規抗ウイルス宿主因子 MARCH8 は全 11 種類ある MARCH ファミリーメンバーの一つであるが、MARCH8 以外の MARCH タンパク質が抗ウイルス機能を有するか否かについては不明である。これら MARCH ファミリータンパク質の発現プラスミドを作製し、発現が認められた MARCH1、MARCH2、MARCH3、MARCH5、MARCH6、および MARCH7 のうち MARCH2 のみが抗ウイルス活性を有しており、Env のウイルス粒子への取込みを阻害している

ことが明らかになった。現在、MARCH1 の major variant および、発現が確認できなかった MARCH4 と MARCH9 についても検討している。(Yao Weitong[研究生]、張 延昭[協力研究員]、山岡 昇司[東京医科歯科大]、藤田 英明[長崎国際大]、徳永 研三)

6. 狂犬病に関する研究

狂犬病研究の多くは固定毒と呼ばれる実験室継代株を用いて行われる。臨床分離株である kyoto 株と固定毒である cvs,HEP-Furely,SED 株の感染細胞でのウイルス抗原の分布ならびにウイルス流出放出部位について検討した。間接蛍光抗体法では、固定毒である CVS・hep-Frely,SED 株では糖鎖タンパクである G 抗原は細胞膜上に存在したが、街上毒である Kyoto 株では細胞質に局在した。電子顕微鏡での観察では、固定毒感染細胞の細胞膜から豊富なウイルス粒子放出が観察されるのに対して、街上毒では樹状突起のみからの放出であった。街上毒感染では発症まで免疫が誘導されないことが示されており、特定部位からのウイルス放出はこれに関与している可能性が示唆された。(飛梅 実、佐藤 由子、片岡 紀代[期間業務職員])

7. インフルエンザウイルスに関する研究

インフルエンザウイルス性肺炎病理における喘息発作の影響

呼吸器ウイルス感染症は気管支喘息の重大な増悪因子になると考えられており、喘息はインフルエンザの重症化因子である可能性が指摘されている。しかし、インフルエンザウイルス性肺炎病理に与える喘息発作の影響については不明な点が多い。本研究は喘息モデル動物を用いて喘息発作とインフルエンザウイルス性肺炎病理との関係性を明らかにすることを目的とした。その結果、感染後の喘息発作誘導により肺炎病理の増悪が認められた。一方、感染前の喘息発作を誘導することにより、ウイルス感染は抑制され肺炎病理は軽快した。これらの結果から喘息発作とウイルス感染の時間的關係性がインフルエンザウイルス肺炎病理像に重要であることが明らかになった。(川口 晶、鈴木 忠樹、大原 有樹[研究生]、高橋 健太、相内 章、佐藤

由子、永田 典代、田代 真人[インフルエンザウイルス研究センター]、長谷川 秀樹)

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

(1)経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチン接種により誘導される抗体応答の評価

2013/14 シーズンの経鼻インフルエンザワクチン臨床研究(ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会承認済み)における鼻腔洗浄液中の中和抗体応答を評価した。本研究における被験者は、3 価全粒子不活化ワクチン(ウイルス株毎に接種あたり 45 µg HA、現行ワクチンの 3 倍量)をカルボキシビニルポリマー(CVP)存在下で、3 週間隔で 2 回の経鼻接種を受けている。また、ワクチン接種直前の鼻腔洗浄操作が抗体応答の誘導に必須か否かを明らかにするため、鼻腔洗浄液をワクチン接種直前あるいは前日に行った二群に分け、誘導される抗体応答を比較した。接種あたり各 45 µg HA の経鼻接種により、血清 HI ならびに中和抗体応答と同様に、鼻腔洗浄液中の中和抗体も十分に誘導できる事を明らかにした。また、鼻腔洗浄のタイミングの異なる 2 群間において、誘導される抗体価に優位な差が認められなかった。抗体応答の誘導に直前の鼻腔洗浄は必ずしも必須ではないことが示唆された。(相内 章、寺内 芳彦[協力研究員]、鈴木 忠樹、齊藤 慎二[研究生]、田村 慎一、小田切 孝人*、田代 真人*、長谷川 秀樹、*;インフルエンザウイルス研究センター]

(2)インフルエンザウイルスに対する組換え分泌型多量体 IgA 抗体の性状解析

我々は、経鼻インフルエンザワクチンを接種した健康人ボランティアの鼻腔粘膜上に誘導された分泌型多量体 IgA(ps-IgA)抗体の解析から、ps-IgA 抗体には二量体以外にも四量体等のより大きな多量体が存在することを明らかにしている。ps-IgA 抗体は、単量体 IgA 抗体に比べ中和活性が高いことから、多量体化に生物学的な意味が有ることが考えられる。より詳細な解析を行うため、モノクローナル多量体 IgA 抗体の作製法を検討し、多量体の性状に関してより詳細な解析を行った。同一可変領域を持つ IgA1 あ

るいは IgA2 の H 鎖の発現ベクターを L 鎖、J 鎖、分泌因子(SC)の発現ベクターと共に Expi293F 細胞へ共導入することで、モノクローナル多量体 IgA 抗体を作製可能であることを見出した。また、作製した四量体抗体の分子量は、MALDI-TOF MS による解析より、IgA1 及び IgA2 抗体共に 700 kDa 程度であり、ほぼ同様の構造を持つことが示唆された。インフルエンザウイルスに対する中和活性は、IgA1 ならびに IgA2 共に多量体化により増強された。(佐野 芳[研究生]、齊藤 慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、鈴木 忠樹、上野 智規*、多賀 祐喜*、Elly van Riet、相内 章、大原 有樹[研究生]、田畑耕史郎[実習生]、藤井 信[実習生]、高橋 宜聖[免疫部]、後藤 希代子*、長谷川 秀樹、*;株式会社ニッピ)

(3)経鼻インフルエンザワクチンにおける細菌由来の外膜小胞(Outer membrane vesicle, OMV)の粘膜アジュバント活性の評価

プロバイオティクスとして海外で使用実績がある E. coli Nissle 1917 株由来の OMV を粘膜アジュバントとしたインフルエンザウイルス A/California/1/09 (H1N1) pdm09 由来のスプリットワクチンを 6-8 週齢の BALB/c マウスに 3 週間隔で 2 回接種した。2 回目のワクチン接種から 2 週間後にワクチンと抗原性が相同であるマウス馴化 A/Narita/1/09 (H1N1)pdm09 の経鼻感染を行い、感染三日後の鼻腔洗浄液中ウイルス価と HA 特異的血清 IgG 抗体応答を評価した。OMV に含まれる同量の精製 LPS を粘膜アジュバントとして添加した際には、HA 特異的血清 IgG 応答は認められないのに対し、OMV を粘膜アジュバントとした際には既に粘膜アジュバント活性が知られている合成二本鎖 RNA と同程度の抗体応答を誘導し、鼻腔洗浄液中のウイルス増殖が抑えられる傾向にあった。OMV は経鼻インフルエンザワクチンにおける粘膜アジュバントになりうる可能性が示唆された。(相内 章、田畑 耕史郎[実習生]、平山 悟[細菌一部]、中尾 龍馬[細菌一部]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

(4)金ナノ粒子を用いて粒子化した新規経鼻インフルエンザワクチンの開発

金ナノ粒子はそれ自身に対する抗体産生が無いため、ワクチン抗原のキャリアとなりうる可能性があり、サイズ・形状依存的な免疫応答が近年報告されている。抗原を粒子化させることで免疫原性が上昇し、高い免疫応答を誘導することができたという報告がある。そこで、本研究では金ナノ粒子を用いて組換え PR8-HA タンパク質を粒子化させたワクチン抗原の免疫原性に関して検討した。大小それぞれ同程度の表面積を有する球状、三角状、ロッド状の形状の金ナノ粒子にインフルエンザウイルスの膜タンパク質である HA を付加させ、ワクチン抗原として用いた。上気道に 3 週間隔で 2 回ワクチン接種し、その 2 週後に PR8 を上気道感染させ、感染 3 日後に鼻腔洗浄液と血清を回収し、鼻腔洗浄液中のウイルス価ならびに鼻腔洗浄液ならびに血清の PR8-HA 特異的抗体応答を評価した。球状の金ナノ粒子(大小共に)に HA を付加したワクチン接種群では陰性対照群と比較してウイルス力価が有意に低く、また抗体価は IgA, IgG 共に有意に高かった。また、大きいロッド状の金ナノ粒子を用いた場合、陰性対照群と比較してウイルス力価が有意に低く、また IgG 抗体価は有意に高かった。経鼻インフルエンザワクチンにおいて、金ナノ粒子を用いて粒子化させることで免疫原性が上昇する傾向があると考えられた。(田畑 耕史郎[実習生]、佐野 芳[研究生]、相内 章、南原 克行*、新倉 謙一*、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、*;北海道大学)

2. フラビウイルスワクチンの開発

デングウイルス(DENV)のエンベロープ膜タンパク質を持つウイルス様粒子の作製と性状解析

DENV の膜タンパク質を有するウイルス様粒子(Virus-Like Particle/VLP)をワクチン抗原とすることを目標とし、1-4 型の全ての血清型の DENV の VLP 発現用のプラスミドを構築した。哺乳類培養細胞を用いた一過性発現系にて発現、分泌を調べた結果、DENV の全ての血清型について発現・分泌されるコンストラクトを得た。更に、発現・分泌を向上させるべくコンストラクトの至適化を進めた。次に至適化した VLP を安定的に発現する CHO 細胞株を樹立し、安定発現細胞株で作製した 1 型 VLP を抗原とするワクチンをマウスに接種したところ、血清中に DENV1 型に対す

る中和抗体が誘導されることを確認した。また、安定発現細胞から作製した 3 型 VLP の免疫原性をマウスで評価し、ワクチン抗原に対する血清抗体が誘導されることを確認した。(藤井 信[実習生]、佐高 明子[臨時研究補助員]、小島朝人[客員研究員]、相内 章、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

3. HTLV-1 ワクチンの開発

バキュロウイルス発現系を用いたワクチン抗原としての組換え HTLV-1 Env タンパク質作製の検討

HTLV-1 感染症のコントロールのために、HTLV-1 感染予防ワクチンの開発が求められている。そこで、本研究では、最も有力な感染防御抗原候補である Env タンパク質を抗原とした不活化ワクチン開発を目指し、実用的なワクチン抗原製造系として実績のある昆虫細胞タンパク質合成系を用いて Env タンパク質合成を試みた。既に Env タンパク質全長の発現において、不溶画分から Env タンパク質の発現量を最も多くする培養時間と可溶化効率の最も高い抽出条件を決定している。さらに、この抽出条件で可溶化された Env タンパク質は、三量体構造を保持している可能性が示唆されている。今年度は、高純度で組換え Env タンパク質を精製するために、数種類のカラム精製を組み合わせて精製条件を検討した。その結果、強陽イオン交換レジンとレクチンカラムの併用により精製が可能であることを見いだした。(鈴木 忠樹、相内 章、長谷川 秀樹)

4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究

マーモセットモデル系を用いたムンプスワクチンの安全性評価に必要な病理学的評価法の確立をおこなっている。ムンプスウイルス野外株を経鼻接種 14 日目のマーモセットを用いて、パラフィン包埋組織切片を作製した。この脳組織を用いて RNA in situ hybridization 法(RNA Scope, Advanced Cell Diagnostics, Inc)を行ったところ、免疫組織化学法によるウイルス抗原検出部位と一致してゲノムが検出された。(永田 典代、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、高橋 健太、長谷川 秀樹、木所 稔[ウイルス第三部])

5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

重症肺炎を引き起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)と MERS-CoV に対する感染防御を目的として、新規ワクチンの開発を行っている。昨年度、抗原となる SARS-CoV および MERS-CoV のスパイクタンパク質を作製し、これらのタンパク質をマウスに免疫したが、中和抗体の誘導能が芳しくなかったため、目的タンパク質の精製度に問題があったと考えられた。そこで今年度、精製度の高い目的タンパク質の作製を目指した。現在、新たな SARS-CoV のスパイクタンパク質が作製できたため、今後、このタンパク質をマウスに免疫し、抗体誘導能を調べる予定である。(岩田 奈織子、関向 華子[研究生]、福士 秀悦[ウイルス第一部]、鈴木 忠樹、新倉 謙一[北海道大学]、長谷川 秀樹、永田 典代)

6. Vero 細胞の内因性レトロウイルスに関する研究

近年、Vero 細胞から同定されたサル内因性レトロウイルス(SERVagm-Vero)について、ヒトにおける感染を明らかにするために調査を行った。病理臨床検体、および、血液検体 783 検体と 13 種類のヒト細胞株、製造過程でベロ細胞が使用されているワクチン 5 種類を含む 13 種類の市販ワクチンにおいて SERVagm-Vero 遺伝子は検出されなかった。ELISA を用いた血清学的検討では、日本人健常者の 0.8%が SERVagm-Vero 血清抗体陽性であった。今日市販されているワクチンには SERVagm-Vero の遺伝子の混入はなく、日本人においてサル内因性レトロウイルスの感染は稀であることが示された。(福本 瞳、比島 恒和[駒込病院]、長谷川 秀樹、佐伯 秀久[日本医大]、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

IV. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究

定型 BSE 罹患牛の発生頻度は世界的に収束傾向にある。しかしながら、その生化学的特徴が定型 BSE とは異なる非定型 BSE が報告されている。本邦においても 2 頭の L-type に分類される非定型 BSE 罹患牛が摘発されている。定型および L-type 非定型 BSE をカニクイサルに接種し、

中枢神経系の感染病理学的な解析を行った。その結果、定型 BSE 接種サル の病理像は、ヒトでの vCJD と同様の組織像を示し、サルがヒト vCJD モデルとなること が示唆された。また、L-type BSE 由来プリオン接種サルでは、ヒトの sCJD と同様の組織像を示し、従来の c-BSE にみられる特徴的な所見は無く、孤発性 CJD に類似した。輸血ならびに経口摂取によるリスクを調べるため、サルでの継代実験を進めている。また、ウシで増幅された H-Type BSE のヒトへの感染性および病原性を調べるため、サルへの接種を行った。(飛梅 実、佐藤 由子)

2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

生物由来原料を用いる医薬品等については、最終製品の安全性を確保するため、薬事法に基づき、当該生物由来原料に対して細菌やウイルス安全性に係る基準(平成 15 年 5 月 20 日厚生労働省告示第 210 号 生物由来原料基準)を定めている。特に、細胞培養技術等を活用して製造される医薬品等については、培地等にウシ血清をはじめとする反芻動物由来原料が用いられていることから、伝達性海綿状脳症(TSE)の発生リスクに応じて、原料として使用可能な部位、原産国を定めて規制している。本研究では、現在使用不可となっているウシ由来諸臓器のリスクについて再度検討し、規制の妥当性について検討を行っている。また、プリオンの新たな検出法として、従来の PMCA 法を改良し、薬剤原料から効率的に検出できる条件検討を行っている。(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 28 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 228 検体で、その内訳は感染研内部 177 検体、共同研究 39 検体、外部のみ 12 検体であった。

また、見学者の対応は 17 回、114 名であった。公務員が 58 名、学生ら 35 名、一般 12 名、外国人 9 名であった。今年度は一般公開の見学ツアーが無かったため、一般見学者が少なかった。(齋藤 典子[期間業務職員])

2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

本年度中の依頼数は 52 件で、樹脂包埋検体数 82 検体、ネガティブ染色数 148 検体であった。(片岡 紀代[期間業務職員])

VI. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の透過型電子顕微鏡利用は 13 件(樹脂包埋検体 9、ネガティブ染色数 159)、走査電子顕微鏡は 1 件(検体数 2)であった。また、本年度も 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した。依頼者は感染病理部の他、ウイルス第二部、ウイルス第三部、血液・安全性研究部、インフルエンザウイルス研究センター、細菌第二部であった。(片岡 紀代[期間業務職員]、岩田 奈織子、永田 典代、長谷川 秀樹)

品質管理に関する業務

1. 検定検査

なし

2. 行政検査

伝達性海綿状脳症(TSE)スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーパー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。(飛梅 実、長谷川 秀樹、萩原 健一、中村 優子、花田 賢太郎 [細胞化学部])

国際協力関係業務

1. 永田 典代

JICA 国際研修「ポリオ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」および「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において、それ

ぞれ動物を用いたワクチンの品質管理の内容を紹介した。

(平成 29 年 1 月 26 日、28 日。於:村山庁舎)

2. 中島 典子

ベトナムハノイ国立小児病院、バクマイ病院においてインフルエンザ診断および病理学的解析に関する連携研究・技術指導を行った。

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Gallo RC, Willems L, Hasegawa H. Global Virus Network's Task Force on HTLV-1. Screening transplant donors for HTLV-1 and -2. *Blood*. 128(26):3029-3031. 2016.
- 2) Miyauchi K, Sugimoto-Ishige A, Harada Y, Adachi Y, Usami Y, Kaji T, Inoue K, Hasegawa H, Watanabe T, Hijikata A, Fukuyama S, Maemura T, Okada-Hatakeyama M, 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(12):1447-1458. 2016.
- 3) Nakajima S, Watashi K, Ohashi H, Kamisuki S, Izaguirre-Carbonell J, Kwon AT, Suzuki H, Kataoka M, Tsukuda S, Okada M, Moi ML, Takeuchi T, Arita M, Suzuki R, Aizaki H, Kato T, Suzuki T, Hasegawa H, Takasaki T, Sugawara F, Wakita T. Fungus-Derived Neoechinulin B as a Novel Antagonist of Liver X Receptor, Identified by Chemical Genetics Using a Hepatitis C Virus Cell Culture System. *J Virol*. 90(20):9058-9074. 2016.
- 4) Nakao R, Hasegawa H, Dongying B, Ohnishi M, Senpuku H. Assessment of outer membrane vesicles of periodontopathic bacterium *Porphyromonas gingivalis* as possible mucosal immunogen. *Vaccine*. 34(38):4626-4634. 2016.
- 5) Tamura S, Ainai A, Suzuki T, Kurata T, Hasegawa H. Intranasal Inactivated Influenza Vaccines: a Reasonable Approach to Improve the Efficacy of Influenza Vaccine? *Jpn J Infect Dis*. 69(3):165-179. 2016.
- 6) Fukuma A, Fukushi S, Yoshikawa T, Tani H, Taniguchi S, Kurosu T, Egawa K, Suda Y, Singh H, Nomachi T, Gokuden M, Ando K, Kida K, Kan M, Kato N, Yoshikawa A, Kitamoto H, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Morikawa S, Shimojima M, Saijo M. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Antigen Detection Using Monoclonal Antibodies to the Nucleocapsid Protein. *PLoS Negl Trop Dis*. 10(4):e0004595. 2016.
- 7) Moriyama M, Chen IY, Kawaguchi A, Koshihara T, Nagata K, Takeyama H, Hasegawa H, Ichinohe T. The RNA- and TRIM25-Binding Domains of Influenza Virus NS1 Protein Are Essential for Suppression of NLRP3 Inflammasome-Mediated Interleukin-1 β Secretion. *J Virol*. 90(8):4105-4114. 2016.
- 8) Saito S, Ainai A, Suzuki T, Harada N, Ami Y, Yuki Y, Takeyama H, Kiyono H, Tsukada H, Hasegawa H. The effect of mucoadhesive excipient on the nasal retention time of and the antibody responses induced by an intranasal influenza vaccine. *Vaccine*. 34(9):1201-1207. 2016.
- 9) Fukumoto H, Hishima T, Hasegawa H, Saeki H, Kuroda M, Katano H. Evaluation of Vero-cell-derived simian endogenous retrovirus infection in humans by detection of viral genome in clinicopathological samples and commercialized vaccines and by serology of Japanese general population. *Vaccine*. 34(24): 2700-2706. 2016.
- 10) Goto H, Kariya R, Matsuda K, Kudo E, Katano H, Okada S. A potential role of the NOD genetic background in mouse peritoneal macrophages for the development of primary effusion lymphoma. *Leuk Res*. 42: 37-42. 2016.
- 11) Hamada H, Sekizuka T, Oba K, Katano H, Kinumaki A, Terai M, Mizutani T, Kuroda M. Comprehensive pathogen detection associated with four recurrent

- episodes of Kawasaki disease in a patient during a single year using next-generation sequencing. *JMM Case Rep.* 3: e005019. 2016.
- 12) Hashida Y, Nakajima K, Nakajima H, Shiga T, Tanaka M, Murakami M, Matsuzaki S, Naganuma S, Kuroda N, Seki Y, Katano H, Sano S, Daibata M. High load of Merkel cell polyomavirus DNA detected in the normal skin of Japanese patients with Merkel cell carcinoma. *J Clin Virol.* 82: 101-107. 2016.
- 13) Hoshina S, Sekizuka T, Kataoka M, Hasegawa H, Hamada H, Kuroda M, Katano H. Profile of Exosomal and Intracellular microRNA in Gamma-Herpesvirus-Infected Lymphoma Cell Lines. *PLoS One.* 11(9): e0162574. 2016.
- 14) Ikumi K, Ando T, Katano H, Katsuno M, Sakai Y, Yoshida M, Saida T, Kimura H, Sobue G. HSV-2-related hemophagocytic lymphohistiocytosis in a fingolimod-treated patient with MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 3: e247. 2016.
- 15) Itoh K, Iwamoto K, Satoh Y, Fujita T, Takahashi K, Katano H, Hasegawa H, Takasaki T, Tando S, Fushiki S. Knowledge Obtained from an Elderly Case of Japanese Encephalitis. *Intern Med.* 55(17): 2487-2490. 2016.
- 16) Koizumi Y, Uehira T, Ota Y, Ogawa Y, Yajima K, Tanuma J, Yotsumoto M, Hagiwara S, Ikegaya S, Watanabe D, Minamiguchi H, Hodohara K, Murotani K, Mikamo H, Wada H, Ajisawa A, Shirasaka T, Nagai H, Kodama Y, Hishima T, Mochizuki M, Katano H, Okada S. Clinical and pathological aspects of human immunodeficiency virus-associated plasmablastic lymphoma: analysis of 24 cases. *Int J Hematol.* 104: 669-681. 2016.
- 17) Osawa M, Mine S, Ota S, Kato K, Sekizuka T, Kuroda M, Kataoka M, Fukumoto H, Sato Y, Kanno T, Hasegawa H, Ueda K, Fukayama M, Maeda T, Kanoh S, Kawana A, Fujikura Y, Katano H. Establishing and characterizing a new primary effusion lymphoma cell line harboring Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Infect Agent Cancer.* 11: 37. 2016.
- 18) Sato M, Kuroda M, Kasai M, Matsui H, Fukuyama T, Katano H, Tanaka-Taya K. Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLB1 infection detected by next generation sequencing. *J Clin Virol.* 78: 66-70. 2016.
- 19) Tadokoro T, Keshino E, Makiyama A, Sasaguri T, Ohshima K, Katano H, Mohri M. Acute Lymphocytic Myocarditis With Anti-PD-1 Antibody Nivolumab. *Circ Heart Fail.* 9: e003514. 2016.
- 20) Yamada S, Katano H, Sato Y, Fukuchi S, Hashimoto K, Inoue N. An Ex vivo culture model for placental cytomegalovirus infection using slices of Guinea pig placental tissue. *Placenta.* 37: 85-88. 2016.
- 21) Furihata S, Matsumura T, Hirata M, Mizutani T, Nagata N, Kataoka M, Katayama Y, Omatsu T, Matsumoto H, Hayakawa Y. Characterization of Venom and Oviduct Components of Parasitoid Wasp *Asobara japonica*. *PLoS One.* 11(7):e0160210. 2016.
- 22) Koike S, Nagata N. A Transgenic Mouse Model of Poliomyelitis. *Methods Mol Biol.* 1387:129-44. 2016.
- 23) Tani H, Fukuma A, Fukushi S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Suzuki T, Nagata N, Hasegawa H, Kawai Y, Uda A, Morikawa S, Shimojima M, Watanabe H, Saijo M. Efficacy of T-705 (Favipiravir) in the Treatment of Infections with Lethal Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus. *mSphere.* 1(1). 2016.
- 24) Kotani O, Naeem A, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Sato Y, Nakajima N, Hosomi T, Tsukagoshi H, Kozawa K, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Neuropathogenicity of Two Saffold Virus Type 3 Isolates in Mouse Models. *PLoS One.* 11(2):e0148184. 2016.
- 25) Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of lymph-node antigens with

- lower Gag-specific central-memory and higher Env-specific effector-memory CD8(+) T-cell frequencies in a macaque AIDS model. *Sci Rep.* 6:30153. 2016.
- 26) Iwata-Yoshikawa N, Fukushi S, Fukuma A, Suzuki T, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Non Susceptibility of Neonatal and Adult Rats against the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *Jpn J Infect Dis.* 69(6):510-516. 2016.
- 27) Hai le T, Thach HN, Tuan TA, Nam DH, Dien TM, Sato Y, Kumasaka T, Suzuki T, Hanaoka N, Fujimoto T, Katano H, Hasegawa H, Kawachi S, Nakajima N. Adenovirus Type 7 Pneumonia in Children Who Died from Measles-Associated Pneumonia, Hanoi, Vietnam, 2014. *Emerg Infect Dis.* 22(4):687-90. 2016.
- 28) Sakai K, Ami Y, Nakajima N, Nakajima K, Kitazawa M, Anraku M, Takayama I, Sangsriratanakul N, Komura M, Sato Y, Asanuma H, Takashita E, Komase K, Takehara K, Tashiro M, Hasegawa H, Odagiri T, Takeda M. TMRSS2 Independency for Haemagglutinin Cleavage In Vivo Differentiates Influenza B Virus from Influenza A Virus. *Sci Rep.* 6:29430. 2016.
- 29) Arafá AS, Yamada S, Imai M, Watanabe T, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Sakai-Tagawa Y, Ito M, Imamura T, Nakajima N, Takahashi K, Zhao D, Oishi K, Yasuhara A, Macken CA, Zhong G, Hanson AP, Fan S, Ping J, Hatta M, Lopes TJ, Suzuki Y, El-Husseiny M, Selim A, Hagag N, Soliman M, Neumann G, Hasegawa H, Kawaoka Y. Risk assessment of recent Egyptian H5N1 influenza viruses. *Sci Rep.* 6:38388. 2016.
- 30) Yuan T, Yao W, Tokunaga K, Yang R, Sun B. An HIV-1 capsid binding protein TRIM11 accelerates viral uncoating. *Retrovirology.* 13:72, 2016.
- 31) Tsunetsugu-Yokota Y, Kobayashi-Ishihara M, Wada Y, Terahara K, Takeyama H, Kawana-Tachikawa A, Tokunaga K, Yamagishi M, Martinez JP, Meyerhans A. Homeostatically maintained resting naïve CD4+ T cells resist latent HIV reactivation. *Front. Microbiol.* 7:1944, 2016.
- 32) Li TC, Yoshizaki S, Yang T, Kataoka M, Nakamura T, Ami Y, Yuriko S, Takeda N, Wakita T. Production of infectious ferret hepatitis E virus in a human hepatocarcinoma cell line PLC/PRF/5. *Virus Res.* 213:283-288. 2016.
- 33) Zhang W, Sano N, Kataoka M, Ami Y, Suzuki Y, Wakita T, Ikeda H, Li TC. Virus-like particles of porcine bocavirus generated by recombinant baculoviruses can be applied to sero-epidemic studies. *Virus Res.* 217:85-9. 2016.
- 34) Martines RB, Bhatnagar J, de Oliveira Ramos AM, Davi HP, Iglezias SD, Kanamura CT, Keating MK, Hale G, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Ritter J, Gary J, Rollin D, Goldsmith CS, Reagan-Steiner S, Ermias Y, Suzuki T, Luz KG, de Oliveira WK, Lanciotti R, Lambert A, Shieh WJ, Zaki SR. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. *Lancet.* 388(10047):898-904. 2016.
- 35) Uehara N, Yano T, Ishihara A, Saijou M, Suzuki T. Fatal Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome: An Autopsy Case Report. *Intern Med.* 55(7):831-8. 2016.
- 36) Kobayashi S, Suzuki T, Kawaguchi A, Phongphaew W, Yoshii K, Iwano T, Harada A, Kariwa H, Orba Y, Sawa H. Rab8b Regulates Transport of West Nile Virus Particles from Recycling Endosomes. *J Biol Chem.* 291(12):6559-68. 2016.
2. 和文発表
- 1) 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹. 経鼻粘膜インフルエンザワクチンによる粘膜免疫と感染防御実験医学. 34(13): 2151-2156. 2016.
- 2) 田村 慎一, 長谷川 秀樹. 粘膜ワクチンの研究の歴史. 実験医学 . 34(13):2116-2121. 2016.
- 3) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチン. 臨床化学. 45(2):184-185. 2016.
- 4) 長谷川 秀樹. 【感染症ワクチンの現状と将来】経鼻インフルエンザワクチンの開発. 化学療法の領

- 域. 32(6):1190-1195. 2016.
- 5) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体 臨床とウイルス. 臨床とウイルス . 44(4): 169-173. 2016.
- 6) 長谷川 秀樹. インフルエンザワクチン開発の現況と展望. 呼吸器内科. 29(5):384-388. 2016.
- 7) 遠藤 嵩大, 尾崎 由美, 葉山 惟大, 天貝 純郁, 鈴木 啓之, 照井 正, 片野 晴隆. 粉瘤との鑑別を要した耳垂の Merkel 細胞ポリオーマウイルス陽性 Merkel 細胞癌の 1 例. 臨床皮膚科. 70(6):427-430. 2016.
- 8) 秋田 貴之, 尾坂 真, 大森 嘉彦, 菅間 博, 大倉 康男, 松本 吉史, 高山 信之, 河合 伸, 片野 晴隆, 望月 眞. Human immunodeficiency virus リンパ節炎と Human immunodeficiency virus 顎下腺炎を伴った顎下腺原発 Diffuse large B-cell lymphoma の 1 例. 診断病理. 33(1):111-115. 2016.
- 9) 多田 卓哉, 徳永 研三. 新規宿主因子 MARCH8 による HIV-1 エンベロープ糖蛋白質のダウンレギュレーション Downregulation of HIV-1 envelope glycoprotein by a novel host factor MARCH8. 臨床免疫・アレルギー科. 66: 82-87. 2016.
- 10) 鈴木 忠樹, 相内 章, 長谷川 秀樹. 粘膜感染症に対する注射型ワクチンの限界と粘膜ワクチン開発. バムサジャーナル. 28(4):6-12. 2016.
- 11) 鈴木 忠樹. 今, そこにある問題を解決するための研究—CDC への留学— Centers for Disease Control and Prevention(CDC). 実験医学. 34(9):1481-1483. 2016.
- into virions. The 11th China-Japan International Conference of Virology. (Japan) 2016.7.
- 3) Vu TT, Nguyen GB, Le TN, Pham TP, Dao XC, Phuong TT, Vuong BM, Dung LT, Cuong DD, Phan TP, Thanh DV, Nguyen DT, Kageyama T, Takasaki J, Takayama I, Saito S, Odagiri T, Nakajima N. Etiology of influenza-like illness admitted to Bach Mai Hospital in Hanoi, Vietnam Options IX for the control of influenza. (USA) 2016.8.
- 4) Nagata N, Ushioda W, Nakamura T, Agoh M, Iizuka S, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Shimizu H, Hasegawa H. Virulence of recent coxsackievirus B2 isolates in a neonatal mouse model. 19th International Picornavirus meeting. (Switzerland) 2016.9.
- 5) Kotani O, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Hasegawa H, Shimizu H, Sato H, Nagata N. Saffold virus in vivo passages drive the structural evolution of the capsid protein for enhancing replication fitness in neural cells. 19th International Picornavirus Meeting. (Switzerland) 2016.9.
- 6) Fujii K, Sudaka Y, Imura A, Takashino A, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike S. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in SCARB2-dependent infection. 19th International Picornavirus Meeting. (Switzerland) 2016.9.
- 7) Tokunaga K (invited speaker). The novel restriction factor MARCH8 inhibits HIV-1 infection. The 3rd China–Russia International Conference on Microbiology, Immunology and Infectious Diseases. (China) 2016.9.
- 8) Tokunaga K (invited speaker). Restriction of HIV-1 infection by host transmembrane proteins. The retrovirus seminar at Wuhan University. (China) 2016.9.
- 9) Tokunaga K (invited speaker). MARCH8 is a novel restriction factor that inhibits HIV-1 infection. 17th Kumamoto AIDS Seminar. (Japan) 2016.11.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Hasegawa H. Development of Inactivated Intranasal Influenza Vaccine. The 18th Shanghai International Forum on Biotechnology & Pharmaceutical Industry. (China) 2016.6.
- 2) Tada T, Zhang Y, Koyama T, Tobiume M, Tsunetsugu-Yokota Y, Yamaoka S, Fujita H, Tokunaga, K (presenter). MARCH8 is a novel antiviral factor that inhibits HIV-1 infection by blocking Env incorporation

- 10) Nakajima N, Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Kawachi S, Furuya H, Do HT, Kageyama T, Anh Ta TA, Dao NH, Tran DM, Le HT. Pathogen Screening and the Evaluation of the Inflammatory Responses in Children with Severe Acute Respiratory Distress Syndrome of Pulmonary Origin and Respiratory Virus Infection. The 22nd National Scientific Congress of Pediatrics. (Vietnam) 2016.11.
- 11) Aina A, Suzuki T, Hasegawa H. Preparation of HTLV-1 Env Protein as Vaccine Antigen in Baculoviral Expression System. 18th International Conference on Human Retrovirology. (Japan) 2017.3.
2. 国内学会
- 1) 鈴木 忠樹, 片野 晴隆, 高橋 健太, 佐藤 由子, 中島 典子, 長谷川 秀樹. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)の病理解析. 第 105 回日本病理学会総会. (仙台) 2016.5.
- 2) 峰 宗太郎, 福本 瞳, 佐藤 由子, 菅野 隆行, 菅沼 明彦, 比島 恒和, 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹, 片野 晴隆. Plasmablastic lymphoma 細胞株の樹立. 第 105 回日本病理学会総会. (仙台) 2016.5.
- 3) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと多量体分泌型 IgA 抗体の効果. 第 64 回日本化学療法学会総会. (神戸) 2016.6.
- 4) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 57 回日本臨床ウイルス学会. (郡山) 2016.6.
- 5) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 30 回インフルエンザ研究者交流会シンポジウム. (山形) 2016.6.
- 6) 丹藤 創, 伊藤 恭子, 岩本 一秀, 高橋 健太, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹, 高崎 智彦, 伏木 信次. 脳生検組織の網羅的ウイルス検索で確定診断に至ったウイルス脳炎の一例. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会. (弘前) 2016.6.
- 7) 峰 宗太郎, 福本 瞳, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 比島 恒和, 深山 正久, 片野 晴隆. EBV 陽性 plasmablastic lymphoma 細胞株の IL6 依存性の解析. 第 30 回ヘルペスウイルス研究会. (東京) 2016.6.
- 8) 福本 瞳, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 佐伯 秀久, 片野 晴隆. 病理検体から細菌と真菌を網羅的に検出する real-time PCR 法の開発. 第 115 回日本皮膚科学会総会. (京都) 2016.6.
- 9) 長谷川 秀樹. 小児心筋炎をめぐる基礎と臨床のクロストーク --Cross-talk between basic sciences and clinical researches in pediatric myocarditis-. 第 52 回日本小児循環器学会総会・学術集会. (東京) 2016.7.
- 10) 長谷川 秀樹. 重症インフルエンザの病理. 第 38 回日本呼吸療法医学会学術集会. (名古屋) 2016.7.
- 11) 片野 晴隆, 大澤 麻登里, 峰 宗太郎, 太田 真一郎, 加藤 健吾, 関塚 剛史, 黒田 誠, 片岡 紀代, 福本 瞳, 佐藤 由子, 菅野 隆行, 長谷川 秀樹, 上田 啓次, 深山 正久, 前田 卓哉, 叶 宗一郎, 川名 明彦, 藤倉 雄二. 新規 primary effusion lymphoma 細胞株の樹立と KSHV の全長ゲノムの決定. 第 13 回 EB ウイルス研究会. (東京) 2016.7.
- 12) 峰 宗太郎, 福本 瞳, 佐藤 由子, 菅野 隆行, 菅沼 明彦, 比島 恒和, 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹, 片野 晴隆. EBV 陽性 plasmablastic lymphoma 細胞株の IL6 依存性の解析. 第 13 回 EB ウイルス研究会. (東京) 2016.7.
- 13) 長谷川 秀樹. 新興・再興感染症診断の国際比較. 第 159 回日本獣医学会学術集会 (藤沢) 2016.9.
- 14) 岩附 研子, 中島 典子, 長谷川 秀樹, 河岡 義裕. 近年のヒト分離 H3N2 インフルエンザウイルスに対するハムスターの感受性. 第 159 回日本獣医学会学術集会. (藤沢) 2016.9.
- 15) 鈴木 忠樹. 先天性ジカウイルス感染症の病理. 第 72 回日本病理学会関東支部学術集会. (東京) 2016.9.
- 16) 長谷川 秀樹. 経鼻インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2016.10.
- 17) 鈴木 忠樹. 粘膜ワクチンで誘導される分泌型 IgA 抗体の多量体構造と機能の解析. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2016.10.

- 18) 福本 瞳, 比島 恒和, 長谷川 秀樹, 佐伯 秀久, 黒田 誠, 片野 晴隆. ベロ細胞由来サル内因性レトロウイルスの血清疫学とヒト臨床病理検体における検討. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会. (東京) 2016.10.
- 19) Hasegawa H. Mucosal vaccine and application of secretory IgA antibody for Influenza virus infection. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 20) Ichimiya T, Okamatsu M, Sakoda Y, Hasegawa H, Kida H, Nishihara S, Takase-Yoden S. Do human H1 influenza viruses recognize sulfated glycan motif as a receptor? 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 21) Nakamura M, Suzuki T, Ainai A, Hasegawa H, Ishii H, Matano T. In vivo kinetics of HTLV tax-transgenic mice-derived ATL cells after inoculated into allogeneic mice. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 22) Moriyama M, Hasegawa H, Ichinohe T. Evasion of host innate antiviral responses by the nonstructural protein of SFTS virus. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 23) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosal route. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 24) Matsunaga S, Kudoh A, Miyakawa K, Hasegawa H, Ryo A. Development of in vitro enzymatic activity assay for HTLV-1 protease. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 25) Saito S, Sano K, Suzuki T, Van Riet E, Ainai A, Ohara Y, Tabata K, Fujii M, Takahashi Y, Takeyama H, Hasegawa H. Characterization of the recombinant polymeric secretory IgA (ps-IgA) antibody against influenza virus. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 札幌 2016.10.
- 26) Ainai A, Terauchi Y, Suzuki T, Saito S, Sano K, Tabata K, Fujii M, Tamura S, Odagiri T, Tashiro M, Hasegawa H. Influence of nasal washing upon the induction of neutralization antibody responses by intranasal vaccination against influenza. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 (札幌) 2016.10.
- 27) Nakajima N, Hamamatsu A, Hayashi K, Sato Y, Kumasaka T, Tobiume M, Hasegawa H. Severe lung injury associated with A/H1N1 pdm09 infection in the post-pandemic season. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 28) Tobiume M, Sato Y, Hagiwara K, Shibata H, Ono F, Hasegawa H. Pathological analysis of C and L BSE derived prion in Macaques. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 29) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosa route. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.
- 30) 関向 華子, 岩田(吉河) 奈織子, 福間 藍子, 福士 秀悦, 谷 英樹, 長谷川 秀樹, 永田 典代. 重症肺炎を引き起こすヒトコロナウイルスのスパイクタンパク質の作製とその有用性について. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.
- 31) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Iizuka S, Agoh M, Shimizu H, Hasegawa H. Pathogenicity of recent Coxsackievirus B2 isolates in adult mice inoculated via the mucosal route. 経粘膜接種後の成マウスにおける最近のコクサッキーウイルス B2 分離株の病原性について. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.
- 32) Fujii K, Sudaka Y, Kataoka C, Suzuki T, Iwata-Yoshikawa N, Kotani O, Ami Y, Shimizu H, Nagata N, Koike S. The VP1 amino acid residue 145 of EV71 is a virulence determinant in cynomolgus monkey. 第 64 回日本ウイルス学会. (札幌) 2016.10.
- 33) Kishida N, Imai M, Ainai A, Saito R, Nakamura K, Kuwahara T, Fujisaki S, Takashita E, Shirakura M, Kashiwagi Y, Tashiro M, Odagiri T, Watanabe S. Evaluation of efficacy of an inactivated whole-virus A/Victoria/361/2011 (IVR-165) (H3N2) influenza

- vaccine in ferret. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 34) Kageyama T, Vu Thi Tuong Van, Nguyen Gia Binh, Phuong Truong Thai, Pham Thi Phuong Thuy, Thanh Do Van, Dao Xuan Co, Phuong Phan Thu, Do Duy Cuong, Le Thi Ngan, Bui Minh Vuong, Le Trung Dung, Pham The Thac, Takasaki J, Takayama I, Saito S, Odagiri T, Nakajima N. Etiology of influenza-like illness admitted to Bach Mai Hospital in Hanoi, Vietnam. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会. (札幌) 2016.10.
- 35) Tada T, Yao W, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K (presenter). MARCH2 is another antiviral MARCH family member that inhibits HIV-1 infectivity. 第 64 回日本ウイルス学会総会. (札幌) 2016.10.
- 36) Yao W, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K. Guanylate Binding Protein 5 does not mediate inhibition of HIV-1 infectivity. 第 64 回日本ウイルス学会総会. (札幌) 2016.10.
- 37) 石井 淳子, 川本 未知, 藤原 悟, 船津 堯之, 今井 幸弘, 奴久妻 聡一, 高橋 健太, 中道 一生, 幸原 伸夫. 全身性エリテマトーデス加療中に頭部 MRI で散在性点状 T2 高信号病変を呈し進行が見られていない進行性多巣性白質脳症の一例. 第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会. (金沢) 2016.10.
- 38) 高橋 礼典, 飛梅 実, 横塚 真由美, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 長尾 俊孝. 正常プリオン蛋白の老人斑への特異的結合. 第 62 回日本病理学会秋期特別総会. (金沢) 2016.11.
- 39) 片野 晴隆. HIV 感染者の加齢と癌 カポジ肉腫とリンパ腫. 第 30 回日本エイズ学会学術集会. (鹿児島) 2016.11.
- 40) 徳永 研三. 新規抗ウイルス宿主因子 MARCH8. 第 30 回日本エイズ学会シンポジウム. (鹿児島) 2016.11.
- 41) 高橋 紫蓉, 濱 美月, 藤井 佑樹, Menezes J.C.J.M.D.S., 高橋 宏隆, 竹田 浩之, 澤崎 達也, 本川 智紀, 徳永 研三, 藤田 英明. 膜結合型ユビキチンリガーゼ RNF152 は後期エンドソームにおいてチロシン
- ナーゼと相互作用・共局在する. 第 27 回日本色素細胞学会. (岐阜) 2016.11.
- 42) Yamazaki T, Ainai A, Akashi-Takamura S. Antibody-based immunotherapy with plasmid vector for influenza virus infection. 第 45 回日本免疫学会学術集会. (沖縄) 2016.12.
- 43) 長谷川 秀樹. 次世代インフルエンザワクチンの開発. 第 32 回日本環境感染学会. (神戸) 2017.2.