

13. 血液・安全性研究部

部長 濱口 功

概要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定・検査および標準品の整備、またこれらの業務に関連した科学的調査・研究を行っている。

検定業務においては、新たな生物学的製剤の需要が高まり、国家検定に関する業務も増大している。このような状況の中、試験の実施、試験の改良・開発、試験の見直し、検定のあり方についての検討を積極的に行った。平成28年度は乾燥濃縮人プロトンビン複合体の承認前検査を製剤担当部として行うとともに、品質の均一性を確認するための試験の実施体制を整えた。また、ヒスタミン加入免疫グロブリン製剤の新規ヒスタミン含量試験法として、液体クロマトグラフ法により定量する新たな試験法の確立を進め、試験精度の向上を図っている。試験体制の効率化については、肺炎球菌ワクチンの国家検定からの異常毒性否定試験の省略、インフルエンザ HA ワクチンの国家検定からの異常毒性否定試験の省略、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンの国家検定からの異常毒性否定試験の省略の検討を終了した。これまでの試験結果と現在の品質管理状況を多角的に鑑み、一定ロットの試験実施後の書略は可能との判断に至った。さらに今後の検定のあり方として、ワクチンにおいて既に導入が図られているSLP(サマリーロットプロトコール)審査を、血液製剤においても導入を検討する時期に来ていると思われる。国際調和の観点からも、早期にロットリリースにおける製剤の製造工程のレビューを行う体制を整えたい。一方当部で実施されている検定において、ウマ抗毒素のたん白窒素含量試験、ヒスタミン確認試験、含湿度試験の判定に関し齟齬の可能性が指摘された。調査の結果、検定に関する疑義は認められなかった。試験に関与する者は疑問点や問題点の解決のための手順を理解するとともに、自らが解決に向けて積極的に行動する意識が必要である。今後、試験の改善、改良について議論する機会をこれまで以上に増やし、部をあげて対策を講ずる。

体外診断用医薬品においては、B型肝炎ウイルス表

面抗原キット及びC型肝炎ウイルス抗体キットの承認前検査を担当した。合わせて体外診断用医薬品の承認前検査の効率的な進め方についての検討を行った。

国際協力業務については、多くの部員が JICA 等の研修事業において講師をつとめた。また、生物学的製剤の標準化に関する WHO の専門家会議に出席し、WHO 国際標準品制定に携わった。関連する WHO 国際共同研究としては A 型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための共同測定に参加した。加えて、国際標準品を基に血液凝固第Ⅷ因子の力価の評価、HCV-RNA の力価の再評価を実施し、国内標準品の整備を行った。今後も品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備にも積極的に取り組み、試験の精度および信頼性の向上に努める。血液製剤や輸血血液の安全性に関する国際的な課題については、WHO の Blood Regulators Network のメンバーとして、課題解決に向け定期的な審議に参加している。

研究業務においては、「感染症」「ワクチン」「血液」の大きな3つのテーマでプロジェクトを進めている。「感染症」においては、血液製剤安全性確保のためのジカウイルス高感度核酸検査法の開発、日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究を行っている。この他にも、HTLV-1 感染症の疫学、診断、感染予防、ATL の発症予防に関する研究を重点的に推進している。また「ワクチン」においては、アジュバント含有ワクチンの安全評価法の開発等、ワクチンの品質向上を目指した試験法の開発・改良等を行っている。こうした当部の研究業務は、日本医療研究開発機構、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費等の補助のもと行われている。

人事の面では、平成28年4月に大分大から池辺詠美先生と東北大から平館裕希先生が研究員として赴任した。平成29年3月に水澤左衛子主任研究官及び非常勤職員の荒木久美子さんが退官、退職された。ともに長期に亘り血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。同じく協力研究員の松橋一彦先生が臨床(昭和大)に戻られた。また、非常勤職員の青葉利枝さんが退職され、萩野尚美さんが採用された。

業績

調査・研究

I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1. 病原体検出法に関する研究

1) 感染症安全対策体制整備事業

平成 26 年に約 70 年ぶりにデング熱が国内発生し、チクングニア熱、ウエストナイル熱等の世界の一部の地域に発生する新たな感染症の日本国内への移入が益々懸念されるようになった。新たな病原体が移入した場合に迅速に対応できるように備えるため、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社と連携し、血液製剤の感染症リスク管理体制の構築を行うとともに、新たなリスクの早期把握と評価を行っている。本年度は、関東地域の平成 28 年夏季の献血検体のうち、肝機能検査等で検査落ちとなった血漿の 20 プール検体（合計 2,000 人分）について、デングウイルス及びチクングニアウイルスの核酸検査を実施した。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、荒木久美子、濱口功]

2) 血液製剤安全性確保のためのジカウイルス高感度核酸検査法の開発

血液製剤の安全性確保のため、様々な病原体に対して高感度なスクリーニング検査が実施されており、本邦における血液製剤のこれらの病原体に対する安全性は極めて高く管理されている。しかしながら、近年、本邦において海外からの新たな病原体の輸入例が増加してきており、万一国内に定着した場合の血液製剤の安全性確保のため、優れた特異性および感度を有する核酸検査法を事前に準備しておく必要がある。本年度は、ブラジルやアメリカで流行したジカウイルスに対する高感度核酸検査系の構築を目指した。Taqman RT-qPCR 法用のオリゴPrimer と Probe をスクリーニングし、有効なオリゴセットを複数同定した。本研究で開発した手法は、既存の検査法と比較して、感度・特異性は同等以上であることを確認した。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、田島茂（ウイルス 1 部）、林昌宏（ウイルス 1 部）、濱口功]

3) HTLV-1 検査法の標準化

施設毎の HTLV-1 核酸検査の測定結果には乖離があることが知られているが、ATL 由来 HTLV-1 感染細胞株の TL-0m1 細胞を用いて HTLV-1 核酸検査の標準品候補

を作製し、それを用いて標準化することが可能となった。また HTLV-1 感染診断の確認検査である Western Blot 法には判定保留が多いため、抗体検査 1 次検査陽性者に対して、Western Blot 法と核酸検査法を同時に実施し、核酸検査の有効性について多施設共同研究にて確認した。本核酸検査は、妊婦の Western Blot 法判定保留例に対する検査として保険収載された。推奨検査手順フローに核酸検査法を組込んだ「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針(案)」も作成した。[倉光球、大隈和、濱口功]

4) 国内で使用されている HTLV-1 抗体検査キットに関する性能調査

HTLV-1 感染の診断のための抗体スクリーニング検査において、確認検査における判定保留例が多いことが問題になっている。そこで、HTLV-1 抗体検査キットの性能やウエスタンブロット(WB)法の代替法を検討するために、現在国内で使用されている(又は開発中の)、確認検査用を含む抗体検査キットに関して性能調査を行った。1 次検査用の HTLV-1 抗体検査キットには性能差が認められたため、判定には注意を要し確認検査の必要性が再認識された。またラインイムノアッセイ(LIA)法が確認試験として有用であることが示され、WB 法の代替法として用いることで、これまでの判定保留の軽減に大きく繋がること示唆された。そこで、本結果を今後「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針」(改訂版)に反映させ、関係学会と検討を重ね推奨法として公表を目指す予定である。

[大隈和、倉光球、池辺詠美、協力検査キットメーカー各社、松本千恵子(日本赤十字社)、蕎麦田理英子(日本赤十字社)、相良康子(日本赤十字社)、板橋家頭夫(昭和大)、佐竹正博(日本赤十字社)、三浦清徳(長崎大)、増崎英明(長崎大)、濱口功]

5) 輸血血液における HTLV-2 の検出法開発に関する研究

HTLV-1 近縁株の HTLV-2 の国内感染の報告はこれまでほとんどなく、HTLV-2 の感染対策は充実していない。しかしながら海外では HTLV-1 だけでなく HTLV-2 の感染が問題となっている。また近年国内で使用される抗体検査キットが HTLV-1 および HTLV-2 の両方を検出できるようになったことから、HTLV-2 陽性時の確定のための評価系が必要である。そこで本研究では、HTLV-2 を検出できる qPCR primer 及び probe セットを新規に大規模スクリーニングし、高感度 HTLV-2 核酸検査法を確立した。

[大隈和、倉光球、相良康子(日本赤十字社)、濱口功、倉根一郎(所長)]

6) 国内で使用されているHBVマーカー検査キットに関する性能調査の検討

これまで、日本赤十字社の協力のもと、国内で製造承認後販売されているHBVマーカー検査キットの性能調査を実施し、キット間での比較検討を行ってきた。現在、次期性能調査実施に向けて、検討をより詳細に行うための、HBV genotype 既知の献血由来検体等を用いた新たな評価検体を整備している。

[大隈和、百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功、溝上雅史(国立国際医療研究センター)]

7) 血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)のコントロールサーベイ事業

平成25～26年に血液製剤のNATが新しいマルチプレックス試験法に更新され、NATガイドラインと輸血用血液のNAT感度の改正が行われた。本年度は新試験法において改訂後の感度とガイドラインに従って、B型肝炎ウイルスのNATの特異性の把握を目的として、B型肝炎ウイルスの遺伝子型パネル(A-G型)を用いて第8回NATコントロールサーベイを実施した。対象とした全施設(分画製剤製造所等5、輸血用血液スクリーニング施設8)においてA-G型のB型肝炎ウイルスの遺伝子を正しく検出・同定出来た。

[水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

8) C型肝炎ウイルス用体外診断薬の評価

平成27年度に実施したC型肝炎ウイルス用体外診断薬の評価では、各キットの測定値に良い相関が見られたが、一部検体でコア抗原が有意に低値となった。要因としてアミノ酸点変異の可能性が報告されているため、評価検体にて配列解析を行ったところ、コア抗原低値乖離例でアミノ酸多型が確認された。また、各検体におけるHCV抗体の性状解析ではNS5抗体にバリエーションが見られたが、第2、第3世代の抗体キット間で判定乖離はなく、NS5抗体の有無はスクリーニング目的での抗体検査薬の結果に影響を与えないことが確認された。

[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、松岡佐保子、池辺詠美、濱口功]

2. 国際・国内標準品整備に関する研究

1) 血液凝固第Ⅷ因子の第3次国内標準品制定のための力価測定共同研究

現行の第2次血液凝固第Ⅷ因子国内標準品(13.3 IU/ml)の更新のため、NIBSCの血液凝固第Ⅷ因子国際標準品(7.9 IU/ampoule)を用いて、候補品の力価測定のための共同研究を行った(参加5施設:感染研、JB千歳工場、JB京都工場、化血研、バクスアルタ)。各施設の測定値の幾何平均から、第3次血液凝固第Ⅷ因子国内標準品(M-03)の力価は、16.3 IU/mlと値付けし制定した。[倉光球、大隈和、落合雅樹(品質保証・管理部)、濱口功]

2) A型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のためのWHO国際共同研究への参加

イギリスのNIBSCが組織する国際共同研究に我々も含めて10か国13研究室が参加した。参加者の大半は日常使用している市販のreal-time PCR法キットを用いた定量法あるいは定性法で測定した。第2次国際標準品を基に第3次国際標準品候補品の力価を相対定量した。共同研究の結果は2017年のECBSに報告され、第3次HAV-NAT国際標準品が制定される予定である。[水澤左衛子、松岡佐保子、濱口功]

3) HCV-RNA国内標準品の力価の再評価

血液製剤のHCV核酸検査の国内標準品が製造されて10年以上経つ。現在の定量法を用いて国内標準品の力価を再評価した。共同研究に国内8施設が参加し、測定結果9組が報告され、国立感染症研究所が解析した。コバスTaqMan HCV「オート」v2.0、アキュジーンm-HCV、In-house TaqMan PCR法が測定に使用された。第5次WHO国際標準品に対する国内標準品の相対力価は260,000 IU/mL(95%信頼区間211,000～313,000 IU/mL)と算出され、エンドポイント法で決定した現行の力価の約2.6倍であったが、定量法により信頼性の高い力価が得られた。研究結果は薬事・食品衛生審議会血液事業部会安全技術調査会に報告され、正式な力価が策定される。

[松岡佐保子、水澤左衛子、百瀬暖佳、池辺詠美、落合雅樹(品質保証・管理部)、山口照英(日本薬大)、濱口功]

4) ウイルスに関する体外診断薬の国際標準品等の動向

2016年度のWHO ECBSにおいて、第4次HBV-DNA国際標準品、抗EBV0抗体国際標準品が制定された。2017年には抗Zika抗体、EBOV-RNA、HIV p24国際参照パネル等が、2018年にはWNV-RNA等がECBSに提議される予定。第3次B19-DNA国際標準品については、国際共同研究で使用さ

れた市販の検査薬のプライマー/プローブとミスマッチがあり、改良版で測定して再評価した結果、値に大きな変動はなかったため力価は修正なしとなった。抗体検査薬については判定や測定値の乖離に関する議論が引き続き行われた。 [百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功]

5) 体外診断薬の二次標準品整備に関わるWHOガイドライン

WHO国際標準品を基にした二次/三次標準品の整備を促すため、NIBSC、PEI、WHOにより二次標準品整備のためのマニュアル作成が進められた。WHO ECBSに先立つSoGATワーキンググループにおいて、測定法の明確化、解析法(平行線定量)の妥当性、安定性(in-useとrealtimeの区別)、共同研究の必要性の有無等が議論された。また、今回のマニュアルからは抗体を除いて抗原、および核酸の標準品に限ることが提言され、WHO ECBSに諮られた。 [百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功]

3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1) 日本における血液製剤の副作用サーベイランス制の確立に関する研究

2007年に開始した輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムに、今年度までに全国の半数以上の大学病院と300床以下の5病院が参加し、全国網羅のシステムの構築に向けての基盤作りを進めている。さらに血液製剤の製造から医療機関での使用・廃棄するまでを追跡・確認できるトレーサビリティシステムの実施に向け、本年度は日本赤十字社と2医療施設にて3ヶ月間にわたるパイロットスタディを実施した。また、海外における輸血監視システムの評価と日本の位置付けに関する研究、洗浄血小板製剤使用による副作用発生軽減効果の検討などのヘモビジランス研究も進めている。

[松岡佐保子、池辺詠美、濱口功]

2) Cohnの血漿分画法における実ウイルスを用いた除去不活化効果の検討

培養可能となったHCV-JFH1株を用い血液製剤の製造工程をスケールダウンした実験室レベルのCohnエタノール分画法を用いてHCVの感染性の移行を評価した。クリオ分画→8%→25%→20%エタノール処理までは感染性が残存するが、17%エタノール処理後のグロブリン分画には感染性は認められず、感染性は廃棄画分へ移行した。メカニズムを検討するため、17%エタノール分画前後の検体のシヨ糖密度勾配遠

心により分画したところ、グロブリン分画には低密度側、廃棄画分には高密度側にウイルス核酸が分画された。これは日本特有の分画工程である17%エタノール処理が感染性の低減化に重要である可能性が示された。

[野島清子、下池貴志(ウイルス2部)、濱口功、岡田義昭(埼玉医大)]

3) B型肝炎ウイルスX蛋白質(HBx)による細胞死制御機構の解明に向けた構造生物学的研究

HBxはアミノ酸154残基からなる蛋白質で、Bcl-x_L(抗アポトーシス蛋白質)と相互作用し、細胞死を誘導することが知られている。本研究では、この分子間相互作用を詳細に解析するため、HBx BH3様モチーフとBcl-x_Lをリンカーで繋いだHBx/Bcl-x_L融合蛋白質発現系を作成し、その特徴を物理化学的手法で解析した。その結果、この融合蛋白質は1:1の複合体として安定であり、ネーティブ状態の複合体構造を保持していることが示唆された。 [楠英樹、濱口功]

4) HTLV-1抗体検査ウエスタンブロット判定保留例のHTLV-1プロウイルスの解析

HTLV-1抗体検査の確認検査で実施されるウエスタンブロット検査(WB)において、しばしば判定保留例が発生することが問題となっている。HTLV-1 WB判定保留例のHTLV-1プロウイルスの核酸定量を測定したところ、HTLV-1核酸検査陽性例の末梢血のプロウイルス量は、HTLV-1 WB陽性例に比べて約100倍低値であることが明らかになった。またHTLV-1核酸陽性例のHTLV-1プロウイルスの完全長ゲノムを決定したところ、判定保留例のHTLV-1ゲノムにはPol, Env, Tax, p12, p30などにナンセンス変異が存在する可能性があることが明らかになった。またHTLV-1判定保留例のHTLV-1ゲノムのSNPsは、GからAへの塩基置換が多く、特にGGからAGへの塩基置換が最も多かったことから、これらはAPOBEC3Gによるものと考えられた。これらのことから、HTLV-1抗体検査WBで判定保留になる原因として、ウイルス量が極めて低値であることと、HTLV-1ゲノムの変異の結果により抗原量が少なく生体の免疫が誘導されにくくなっている可能性が考えられた。 [倉光球、大隈和、濱口功]

5) 組換えタンパク質を用いたHTLV-1感染症に対する新規治療法の開発

HTLV-1感染を制御する治療法がないため、プロウイルスを保持する感染細胞を標的化し殺傷する組換えタ

ンパク質を用いた治療法の開発に取り組んでいる。組換えタンパク質 TARC-PE38 は、感染細胞株を効率良く殺傷し、ヒト化マウス感染モデルにおいても感染を顕著に抑制し、薬剤候補としての有効性を示した。現在、より効果的で安全な薬剤の開発を目指した改良を進めている。 [大隈和、濱口功]

6) 組換えVSVを用いたHTLV-1感染制御法の開発

HTLV-1 関連疾患の発症予防及び感染制御を目的として、組換え水疱性口内炎ウイルス (VSV) を用いた新規ウイルス療法の実現に取り組んでいる。VSV 粒子表面上に HTLV-1 のレセプター分子 (GLUT1, NRP1, SDC1) を発現させることで、エンベロープタンパク質を発現する HTLV-1 感染細胞を標的化し、VSV 感染の作用により特異的に排除することを試みている。これまで、各レセプター分子の単独発現、または複数の分子を発現する組換え VSV の作製に成功し、実際に HTLV-1 感染細胞を選択的に殺傷することを確認した。また、HTLV-1 感染ヒト化マウスへ組換え VSV を接種することで、生存率の有意な改善を含む、顕著な抗 HTLV-1 効果を個体レベルで示すことに成功した。これらのウイルス療法は新たな HTLV-1 感染制御法として期待される。 [手塚健太、大隈和、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、濱口功]

7) HIV 治療薬を用いた HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発

HTLV-1 関連疾患である成人 T 細胞白血病 (ATL) は、一旦発症すると既存の化学療法には強い抵抗性を示す難治性の白血病・リンパ腫であるが、未だ有効な発症予防法は確立されていない。近年、HIV の逆転写阻害剤であるアバカビルが抗 ATL 効果を示したことを受け、HIV 治療薬の一つであるインテグラーゼ阻害剤の ATL 発症予防薬としての有効性について検討している。いくつかのインテグラーゼ阻害剤は、HTLV-1 感染細胞で増殖抑制効果を示し、増殖抑制作用には、細胞周期の停止及びカスパーゼ活性化の関与が示唆された。現在マイクロアレイを用いてその作用機序の解明に取り組んでいる。さらに HTLV-1 感染細胞移植マウスを用いた *in vivo* での抗 HTLV-1 効果を検討している。 [池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、大隈和、濱口功]

8) HTLV-1 水平感染の疫学的検討

HTLV-1 の主たる感染ルートである母乳感染は妊婦

検診での HTLV-1 抗体検査等の対策が取られるようになったが、HTLV-1 の水平感染については研究が進んでいない。日本赤十字社の献血検査を用いた疫学的検討により、全国で推計で年間 3000~4000 人の新規 HTLV-1 水平感染者が発生していることが明らかになった。そこで HTLV-1 水平感染者の病態の進行等のリスク評価を実施する目的で、献血時検査で陽転化した HTLV-1 水平感染者を追跡調査する体制基盤 (HTLV-1 水平感染者登録システム) を倫理指針に準拠し構築した。平成 26 年 12 月から福岡県の HTLV-1 水平感染献血者を対象に、日本赤十字社九州ブロック血液センターよりシステムに関する案内の送付を開始し、本年度からは東京都でも同様のシステムを稼働した。

[松岡佐保子、大隈和、内丸薫 (東京大医科研)、佐竹正博 (日本赤十字社)、岩永正子 (長崎大)、相良康子 (日本赤十字社)、濱口功]

9) HTLV-1 アクセサリータンパク質の構造生物学的研究

HTLV-1 アクセサリータンパク質による感染制御機構を構造生物学的視点から解析を行うため、HTLV-1 アクセサリータンパク質の大量発現系構築検討を行った。これまでの検討から、プレバチルス分泌発現系を用いることで Rex 変異体の大量発現が可能であることが分かったが、質量分析の結果、発現タンパク質の N 末端部位が特定の位置で切断されていることが判明した。切断回避を目指した変異体発現検討を行なったが、適切な変異体を見出すことが出来なかったため、発現タンパク質は N 末端欠失体のまま扱うことにした。一方、Rex 変異体はある条件下で可逆的な凝集をすることが示唆されたため、今後、可逆性の再現性確認と、凝集状態が Rex の多量体形成に関与しているかどうかの検証を行う。 [谷生道一、濱口功]

10) HTLV-1 Env 蛋白質と受容体相互作用の構造生物学的研究

HTLV-1 Env 蛋白質とそのレセプターの 1 つである Neuropilin-1 (Nrp1) の分子間相互作用を解明するため、HTLV-1 Env 由来ペプチドと Nrp1 b1 ドメインの結合様式を NMR 法で解析した。その結果、HTLV-1 Env 由来ペプチドは Nrp1 b1 ドメインの VEGF-A 結合領域に結合していることを明らかにした。また、Nrp1 b1 ドメインの変異体を作成し、HTLV-1 Env 由来ペプチドとの相互作用を調べた。その結果、Nrp1 b1 ドメインの Y297、D320、S346、T349、K351、Y353 は HTLV-1 Env 由来ペ

ブチドとの結合に関与していることが示唆された。

[楠英樹、濱口功]

11) HTLV-1 感染における細胞間 Nanotube の機能解明

近年、細胞間を直接連結する Nanotube という構造を介して細胞間の情報伝達が行われることが明らかにされた。この Nanotube は、特にマクロファージや樹状細胞において特異的に発現する M-Sec によって形成が促進されることがわかっている。これまでに我々は、HIV-1 は Nanotube の機能を逆にとり、Nanotube 形成を促進して Nanotube を介して細胞間感染を広げることを明らかにしてきた。現在、他の感染症における M-Sec 誘導 Nanotube の関与についても解析を進めている。その一環として、HTLV-1 における M-Sec 誘導 Nanotube の役割を解析した。その結果、本来は M-Sec が発現しない T 細胞において、HTLV-1 感染によって M-Sec が発現することがわかった。さらに、HTLV-1 感染 T 細胞には Nanotube 様の構造が観察され、そこには HTLV-1 エンベロープタンパク質 (gp46) および Gag タンパク質 (p24) が存在することがわかった。現在、HTLV-1 感染 T 細胞でみられる Nanotube が HTLV-1 感染にどのように関与するのか詳細な解析を行っている。[日吉真照、木村俊介 (北海道大)、相良康子 (日本赤十字社)、大野博司 (理化学研究所)、鈴伸也 (熊本大)、濱口功]

12) HTLV-1 感染ヒト化マウスモデルの開発

HTLV-1 感染細胞の生体内での動態解明及び治療薬候補の検討のため、小動物感染モデルの開発を進めている。これまでに、重度免疫不全マウスに対してヒト造血幹細胞を移植することで、ヒト血球系をマウス個体内で再現したヒト化マウスの確立に成功している。同ヒト化マウスに HTLV-1 を感染させることで、これまで困難であった感染細胞の生体内での挙動を実験的に明らかにすることが可能となった。また、このモデルを用いて抗 HTLV-1 効果を示すいくつかの治療薬候補も検討している。さらに、トランスジェニックマウスと掛け合わせることで、ヒト型免疫応答を再現する新たなヒト化マウスの確立に着手している。

[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、高井麻海子、濱口功]

13) ヒト化マウスモデルを用いたエストロジェンの HTLV-1 の感染動態に与える影響について

HTLV1 キャリアのうち 50 代女性での抗体陽転化率が男性と比較して高い傾向があることが報告されている。

この年代は閉経年齢に該当することから、性ホルモン分泌の低下との関連を検討することとなった。ヒト化マウスに感染細胞の移植により HTLV1 を感染させたモデルに対し estradiol-17 β 徐放剤を埋没し、経時的な PVL、および CD3、CD45 などのマーカー陽性細胞数の推移を検証している。感染細胞の増殖に対する estradiol-17 β の効果を明らかにする計画である。

[平舘裕希、水上拓郎、手塚健太、佐々木永太、野島清子、濱口功]

14) ニホンザル STLV-1 の生殖器官における感染動態の解明

ニホンザルは HTLV1 と近縁種のレトロウイルスである STLV1-1 への感染率が高いことが知られており、HTLV1 の感染動態を知る上で有用な動物モデルの一つである。そこで京大霊長研で管理飼育されている高齢キャリア雌ニホンザルの解剖を行い、卵巣、膣、子宮をはじめとする生殖器官の PVL を測定し、ウイルス感染細胞の動態を検討した。それぞれ STLV-1 ウイルスゲノムが検出されたことから、生殖器官においても感染細胞が存在する可能性を明らかにした。

[平舘裕希、水上拓郎、手塚健太、佐々木永太、野島清子、安永純一郎 (京都大ウイルス研)、松岡雅雄 (熊本大)、蔵田潔 (弘前大)、大隈和、明里宏文 (京都大霊長研)、濱口功]

15) 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンを用いた革新的感染予防法の開発と安全性評価

HTLV-1 感染予防薬の開発を目指し、抗 HTLV-1 抗体陽性の献血由来血漿を用いた高力価抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤 (HTLV-IG) を開発している。抗体検査陽性検体を用いて *in vitro* 感染抑制効果を指標としてスクリーニングした結果、末梢血液中の Proviral load 4% 以上の検体は強く HTLV-1 感染を阻止することを確認した。コーンのエタノール血漿分画によりイムノグロブリンを精製し、この HTLV-IG を用いて、HTLV-1 感染抑制能を、ヒト化マウスを用いて検討した結果、HTLV-IG に高い感染防御効果がある事が明らかとなった。本製剤は、HTLV-1 陽性の方の血液より製剤化されることから、その安全性の担保は非常に重要である。そこで、これらの HTLV-IG にウイルスが混入していないこと、感染性がないことを核酸検査及び、*in vitro* の細胞培養系で確認した。また hu-PBL (短期評価) 及び造血幹細胞の新生児肝臓移植モデルヒト化マウス (長期評価) を用い、ウイルス感染性がないことを明らかに

した。

[野島清子・水上拓郎：栗林和華子、倉光球、蕎麦田理英子（日本赤十字社）、松本千恵子（日本赤十字社）、佐竹正博（日本赤十字社）、大隈和、松岡佐保子、内丸薫（東京大医科研）、明里宏文（京都大霊長研）、山口一成、瀧口功]

16) STLV-1 をモデルとした抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンの有効性の検討

HTLV-1 感染予防薬の開発を目指し、抗 HTLV-1 抗体陽性の献血由来血漿を用いた高力価抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤 (HTLV-IG) を開発している。ヒト化マウスの感染抑制実験より、HTLV-IG に高い感染防御効果がある事が明らかとなった。そこで、ヒトに近い霊長類での有効性の検討と実現する第 1 段階として、HTLV-1 と類縁の STLV-1 においても HTLV-IG が有効かについて STLV-1 感染細胞を用いて検討した。その結果、HTLV-IG は STLV-1 感染を *in vitro* で完全に防御することが明らかとなった。さらに京都大学霊長類研究所における STLV-1 感染状態を調べた結果、母子感染、水平感染が起こっていることが推測された。さらにモニターを進め、HTLV-IG を用いた母子感染予防の前臨床試験プロトコルの作成を検討している。

[野島清子・明里宏文（京都大霊長研）・水上拓郎：栗林和華子、倉光球、松本千恵子（日本赤十字社）、佐竹正博（日本赤十字社）、大隈和、松岡佐保子、内丸薫（東京大医科研）、明里宏文（京都大霊長研）、山口一成、瀧口功]

II. 品質管理に関する業務、研究

1. 生物学的製剤

1) 国内標準品の力価のモニタリング

血液製剤の力価を国際規格で管理するために、血液凝固第Ⅷ因子、第Ⅸ因子、アンチトロンビンⅢについては国内標準品が制定され、感染研で管理されている。これらの標準品の力価について WHO 国際標準品 (NIBSC) を指標にし、定期的に力価を測定して確認している。それぞれの国内標準品を独立 3 回測定し、制定時の力価が安定して保たれていることを確認した。

[倉光球、大隈和、瀧口功]

2) 免疫グロブリン G 重合体否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションについての研究

グロブリン重合体は非特異的に補体系を活性化しエナフィラキシーショック等の副反応を生じる可能性が

ある。本試験は重合体含量が 1.0% 以下であることを確認する試験であるが、製剤中には補体活性化能を示す三量体が含まれることが分かったため、当該試験の試験法標準化を進めている。H28 年度は、血液製剤メーカーとの共同研究により試験法標準化後の静注用および皮下注射用グロブリン製剤における新規格値を決定し、生物基改正案をまとめた。現在の分析技術に見合った分析方法で品質管理を実施することにより製剤の安全性の確保に貢献できると考えられる。

[野島清子、大隈和、瀧口功]

3) 血液製剤へのサマリーロットプロトコール (SLP) 審査制度の導入に向けた検討

血液製剤への SLP 審査制度導入により我が国のロットリリースにおいて、国家検定に加えて製剤が承認書通りに製造されているかについても確認するシステムが構築され、血液製剤の安全性や有効性の向上に貢献出来ることが期待される。平成 28 年度は、血漿分画製剤メーカーと所内ワーキンググループとで複数回の会合を持ち、血液製剤への SLP 審査制度導入に向けて準備を開始した。110 品目以上ある血液製剤毎に SLP 様式を作成する前に、血液製剤特有の連産状況を考慮して、共通する様式の雛形を作成した。

[野島清子、大隈和、松岡佐保子、水上拓郎、斉藤益満、佐々木永太、落合雅樹（品質保証・管理部）、内藤誠之郎（品質保証・管理部）、藤田賢太郎（品質保証・管理部）、近田俊文（品質保証・管理部）、加藤篤（品質保証・管理部）、瀧口功]

4) ヒスタミン加入免疫グロブリン（乾燥）製剤の新規ヒスタミン含量試験法の確立に関する研究

ヒスタミン加入免疫グロブリン（乾燥）製剤中のヒスタミン量を液体クロマトグラフ法 (HPLC/UPLC) により定量する新たな試験法の確立を目指し、メーカーが確立した測定条件を元に、感染研所有の装置への最適化を行い、分析法バリデーションを行うための分析能パラメータ（真度、精度、特異性、直線性、範囲）の取得および実試料分析を実施した。その結果、確立した試験法は、設定したヒスタミン濃度範囲において、十分信頼性のある真度および精度の定量結果を示す試験法であることを確認した。今後、分析法バリデーション報告書の作成と共に、検討中に確認された問題点の改善・改良、および本試験法で元も煩雑なヒスタミン抽出法の改良を検討する。

[谷生道一、楠英樹、瀧口功]

5) 乾燥濃縮人プロトロンビン複合体 (CSL ベーリング) に対する承認前検査

(1) 力価試験等

当該製剤について、血液凝固第II・VII・IX・X因子力価試験、プロテインC力価試験、アンチトロンビンIII力価試験、活性化凝固因子試験、プロテインS含量試験を実施した。またヘパリン濃度試験、純度試験(SDS-PAGE)を書類審査した。

[大隈和、倉光球、野島清子、石井美枝子、濱口功]

(2) 物理化学試験

当該製剤について、たん白窒素含量試験、含湿度試験、pH試験を実施した。[日吉真照、楠英樹、濱口功]

(3) 発熱試験・異常毒性否定試験

承認前試験としての当該製剤の発熱試験及び異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。

[前山順一、佐々木永太、水上拓郎、古畑啓子、高井麻海子、濱口功]

2. 体外診断薬用医薬品

1) B型肝炎ウイルス表面抗原キットの承認前試験

当該体外診断用医薬品3キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功]

2) C型肝炎ウイルス抗体キットの承認前試験

当該体外診断用医薬品2キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功]

III. ワクチン開発および評価法開発に関する研究

1. ワクチン開発に関する研究

1) カニクイザルでのワクチン接種や結核菌感染実験系の構築

カニクイザルへのワクチン接種、レントゲン撮影、採血等の技術を習得し、ブースターワクチンの効果検証の予備実験を行った。今回は、予備実験としてカニクイザル3匹を用いた。そのうち2匹にBCGII接種後6週間目から3週間おきに3回ブースター免疫(MDP1+G9.1各20 μ g)を行った後、結核菌の噴霧感染を行った。その3ヶ月後、X線撮影および剖検を行い、肺と脾臓の肉眼的観察、病理組織学的解析および還元培養による残存菌数の測定を行った。その結果、

肺X線像、残存菌数等各指標において免疫群での改善が認められた。

[前山順一、山崎利雄(バイオセーフティ管理室)、林大介、山本十糸子、山本三郎;網康至(動物管理室)]

2) マウスを用いた結核ブースターワクチンの免疫条件の検討

マウスでの免疫および感染条件を検討している。C57BL/6マウスを用い、初回免疫としてBCG-IIを皮内投与し、6週間から3週間おきに3回経鼻または皮内投与でブースターを行い、その3週間後噴霧感染を行った。しかしながら、DTHでの結果と乖離があり、ブースター効果が認められなかった。また同様な条件で、DBA/2、C3H/HeJマウスを用いて、免疫・噴霧感染を行ったが、ブースター効果が認められなかった。BCGの投与量によって、C57BL/6およびDBA/2マウスにおいて、無処置群とBCG投与群の間に有意差が認められたので、これを指標に今後これらのマウスを用いて免疫条件の検討を行うこととなった。

[前山順一;山崎利雄(バイオセーフティ管理室)、林大介、山本十糸子、山本三郎;網康至(動物管理室)]

3) 粘膜免疫誘導型インフルエンザワクチンに用いる経鼻アジュバント(G9.1)の有効性と安全性に関する研究

新規アジュバントCpG-ODN G9.1の有効性と安全性を評価するために、まずG9.1の安定性、抗原タンパク質との相互作用およびin vivoでの毒性を検討した。G9.1の活性は、血清タンパク質存在下での安定化および抗原タンパク質存在下での増強の可能性が認められた。タンパク質との相互作用の検討が必要であると考えられる。一方、マウスを用いた腹腔内または静脈投与での致死毒性は、約25mg/kgまで認められなかった。

[前山順一;浅沼秀樹(インフルエンザウイルス研究センター)]

2. ワクチンの評価法開発に関する研究

1) インフルエンザワクチンのin vitro安全性評価法構築へ向けた試み

ワクチンの安全性評価法は、ワクチン接種動物に見られる生体変化を指標としている事が多い。一方で、動物愛護の観点から動物試験に代わる試験法の構築も求められている。インフルエンザワクチンの安全性評価におけるin vitro試験の構築をめざし、これまで検討してきたラット肺初代培養細胞に加えて複数の肺由

来細胞株を用い、更なる検討を行った。その結果、*in vivo*系と比較して反応性の高い細胞が見いだされ、*in vitro*評価系に有用である可能性が示唆された。

[百瀬暖佳、佐々木永太、平館祐希、水上拓郎、濱口功]

2) 網羅的遺伝子発現解析による革新的アジュバント安全評価法の開発

ワクチン開発において、免疫原性やワクチンデリバリー能を高める目的で添加されるアジュバントの研究・開発の重要性が増している。これまでにアジュバントに関し、その安全性の指標となるバイオマーカーを網羅的に収集する目的で、平成24年度よりアジュバントデータベースの作成を行っている。平成28年度は我々の同定したマーカー遺伝子を用いたアジュバントの安全性評価システムの構築を行った。水酸化アルミニウム、CpG K3、Poly I:Cをモデルアジュバントとして評価したところ、ヒトで副反応を示すPoly I:Cにおいて顕著なバイオマーカーの発現が認められた。さらに、バイオマーカーによる評価は経鼻投与や筋肉内投与であった。さらに得られたデータを順序ロジスティック回帰分析に適用し、マーカー遺伝子発現量からアジュバントの安全性を評価するためのシステムを構築した。現在、より多くのアジュバントを用い評価系のさらなる精度向上・改良を目指し検討を行っている。

[佐々木永太、百瀬暖佳、平館裕希、水上拓郎、濱口功]

3) インフルエンザワクチン接種時に認められる白血球減少とそれを予測するマーカー遺伝子の同定

白血球減少試験は、国家検定として、ワクチンの安全性試験の一環として実施されている試験である。また、インフルエンザワクチンの安全性指標となるバイオマーカーを網羅的に収集する目的で、平成24年度より独立行政法人 医薬基盤研究所・大阪大学と協力し、アジュバントデータベースの作成を行ってきた。このプロジェクトで用いられているマーカー遺伝子の一部は1型IFN関連遺伝子が含まれており、さらに1型IFNは白血球減少との関連が報告されている。そこで、マーカー遺伝子によって白血球減少活性を解析することを試みた。種々の濃度の全粒子不活化ワクチンをマウスに接種し、末梢血中の白血球数とマーカー遺伝子の発現量を解析した。ステップワイズ-重回帰分析法により、白血球減少と関連のある遺伝子を抽出した。その結果、抽出された遺伝子セットは、個体ごとの白血球数を高精度で予測することが示された。

[佐々木永太、栗林和華子、水上拓郎、濱口功]

4) 末梢血ヒト化マウスならびにPBMC培養系を用いたワクチン安全性評価の検討

これまでに、インフルエンザワクチンの安全性指標となるマーカー遺伝子を同定し、ラットやマウスを用いた検討において、有用な評価系であることが示されている。そこで、マーカー遺伝子による評価がヒトに外挿可能か検討するため、PBMCやヒト化マウスを用いた検討を実施した。平成28年度では主に*in vitro* PBMC培養細胞を用いた解析を実施した。*In vitro* PBMC培養細胞にインフルエンザワクチンを添加したところ、一部のマーカー遺伝子の発現上昇が認められた。また、別ドナーのPBMCを用いて、マーカー遺伝子発現解析を同様にして実施し比較したところ、マーカー遺伝子の発現パターンは両者で類似していた。さらに、マーカー遺伝子発現量と相関した培養上清中の炎症性サイトカインやケモカインの分泌が認められた。これらの結果から、PBMCを用いたワクチン安全性評価試験への可能性が示唆された。

[佐々木永太、栗林和華子、水上拓郎、濱口功]

5) バイオマーカーを用いたアジュバントスクリーニングによる安全性評価の試み

アジュバントの安全性評価には動物を用いた試験が適応されるが、体重や体温などのパラメーターではアジュバント作用や活性の違い等を評価することが難しい。そこで我々は、インフルエンザワクチンの安全性評価のために同定してきたバイオマーカーを用い、アジュバント活性が評価可能か検討した。対象として、Alum, Pam₃csk₄, DMXAA, NanoSiO₂を用い、インフルエンザHAワクチンに混和してマウスに経鼻接種した。その結果、体重、白血球などの表現系には大きな変化は認められなかったが、バイオマーカーでは違いが明らかになった。特にDMXAA (300ug)では多くのバイオマーカーが有意に発現上昇していた。そこで詳細に調べると、血液毒性が認められ、肺中の各リンパ球サブセットの減少が認められた。また、Pam₃csk₄ (60ug)に関しても、詳細に調べると好中球の増加がフローサイトトリーで認められた。以上の結果より、バイオマーカーを用いることでより簡便に高感度にアジュバントの活性・安全性を評価することが可能であると考えられた。

[平館裕希、佐々木永太、百瀬暖佳、古畑啓子、水上拓郎、濱口功]

IV. 血液に関する研究

1) ATL モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の解明とニッチを標的とした治療薬の開発

我々はATL様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax-Tg) の脾腫中に存在するATL癌幹細胞を同定することに成功した。そこで、ATL癌幹細胞を基軸としたATL病態変化を明らかにする目的で、各種ストローマ細胞や微小環境の変化をFACS及び組織学的に検討した。その結果、脾臓では血管内皮が、骨髄ではFibroblastic reticular cellsや血管内皮細胞の顕著な増加が認められた。また骨髄では破骨細胞の異常な増加と活性化が認められた。そこで、破骨細胞の阻害剤を用いた場合、ATL癌幹細胞の定着に変化があるか検討した。その結果、骨髄での定着及びその後のATL細胞の増殖が抑制されていることが明らかとなった。一方、脾臓への定着は阻止できなかった。現在、脾臓における標的の探索を進めている。

[水上拓郎、栗林和華子、長谷川秀樹 (感染病理部)、William Hall (University College Dublin)、濱口功]

2) ATL モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL 癌幹細胞の同定

我々はATL様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax-Tg) の脾腫中に存在するATL癌幹細胞を同定することに成功した。近年、京都大学の松岡らによって作出されたHTLV-1 HBZ 遺伝子組換えマウス (HBZ-Tg)においても、ATL様の病態が発生する事が報告された。そこで、HBZ-Tg由来の腫瘍において癌幹細胞特性を有する細胞が存在するかを検討した。その結果、薬剤排出能の高いSP細胞がHBZ-Tg由来の腫瘍中に低頻度で存在し、更にSP細胞中にはc-kit陽性細胞が濃縮して存在していた。これらの細胞(ATLSCs)のみがin vitroで高い増殖活性を持ち、in vivoの移植モデルでATL病態を再現できたことから、ATL癌幹細胞であると考えられた。さらに表面に発現しているc-kitのリガンド阻害をすると、ATLの病態進展が阻止できたことから、SCF-c-kitシグナリングがマウスモデルにおいて重要な働きを示していることが明らかとなった。

[栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄 (熊本大)、濱口功]

V. 国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前検査等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験：90ロット

(血液凝固第Ⅷ因子力価試験：47、アンチトロンビンⅢ力価試験：21、ハプトグロビン力価試験：5、抗HBs人免疫

グロブリン力価試験：1、乾燥抗HBs人免疫グロブリン力価試験：2、ポリエチレングリコール抗HBs人免疫グロブリン力価試験：1、乾燥抗D人免疫グロブリン力価試験：2)

免疫グロブリンG重合体否定試験：139ロット

抗補体性否定試験：31ロット

含湿度試験：117ロット

ホルムアルデヒド含量試験：38ロット

たん白質含量試験 (ローリー法)：96ロット

たん白窒素含量試験：8ロット

凝固性たん白質含量及び純度試験：5ロット

アルミニウム含量試験 (スチルバズ)：4ロット

アルミニウム含量試験 (ICP)：14ロット

フェノール含量試験：6ロット

ヘモグロビン含量試験：5ロット

クエン酸ナトリウム含量試験：6ロット

異常毒性否定試験：198ロット

発熱試験：26ロット

2. 収去試験

抗A血液型判定用抗体：3ロット

抗B血液型判定用抗体：3ロット

抗D血液型判定用抗体：5ロット

抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2ロット

3. 抜き取り検査

血液凝固第IX因子力価試験：5ロット

活性化凝固因子否定試験：5ロット

たん白窒素含量試験：3ロット

含湿度試験：2ロット

pH試験：2ロット

ヒスタミン含量試験：2ロット

4. 依頼検査

たん白質含量試験 (ローリー法)：2ロット

チメロサル含量試験：2ロット

5. 承認前検査

血液凝固第II因子力価試験：6ロット

血液凝固第VII因子力価試験：6ロット

血液凝固第IX因子力価試験：6ロット

血液凝固第X因子力価試験：6ロット

プロテインC力価試験：6ロット

アンチトロンビンIII力価試験：6ロット

活性化凝固因子試験：6ロット

プロテイン S 含量試験：6 ロット
ヘパリン濃度試験（書類審査）：6 ロット
純度試験(SDS-PAGE)（書類審査）：6 ロット
pH 試験：6 ロット
たん白窒素含量試験：6 ロット
含湿度試験：6 ロット
異常毒性否定試験：6 ロット
発熱試験：6 ロット

6. 行政検査

異常毒性否定試験：2 ロット

7. 総合判定

（国家検定項目）

乾燥人フィブリノゲン：5 ロット
乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：47 ロット
乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：21 ロット
人ハプトグロビン：5 ロット
筋注用人免疫グロブリン：3 ロット
乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：3 ロット
乾燥スルホ化人免疫グロブリン：31 ロット
pH 4 処理酸性人免疫グロブリン：36 ロット
乾燥 pH 4 処理人免疫グロブリン：7 ロット
PEG 処理人免疫グロブリン：30 ロット
乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン：54 ロット
pH 4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）：7 ロット
乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：1 ロット
抗 HBs 人免疫グロブリン：1 ロット
乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン：2 ロット
ポリエチレングリコール抗 HBs 人免疫グロブリン：1
ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：2 ロット
人血清アルブミン：218 ロット
加熱人血漿たん白：7 ロット

（抜き取り検査項目）

血液凝固第 IX 因子製剤（複合体を含む）：5 ロット
ヒスタミン加人免疫グロブリン：2 ロット

（収去試験項目）

抗 A 血液型判定用抗体：3 ロット
抗 B 血液型判定用抗体：3 ロット
抗 D 血液型判定用抗体：5 ロット

抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

8. 体外診断用医薬品の承認前検査

- 1) B型肝炎ウイルス表面抗原キット：3キット(9ロット)
- 2) C型肝炎ウイルス抗体キット：2キット(6ロット)

国際協力関係業務・研修業務

- 1) 2016年6月1日：新規者向け検定・検査教育講習会において、「血液製剤の検定」の講義を行った。
[大隈和]
- 2) 2016年6月21日：知の市場前期講義において、「ヒトT細胞白血病ウイルス1型（HTLV-1）」の講義を行った。
[大隈和]
- 3) 2017年10月3日：継続者向け検定・検査教育講習会「ECBS2017勉強会」において、講義を行った。
[濱口功]
- 4) 2017年1月10日：タイ国立ワクチン研究所代表団に対し「ワクチンの安全性研究」の講義を行った。
[濱口功]
- 5) 2017年1月31日：JICA研修「安全な輸血確保による感染症予防」コースで、「ヘモビリランス」の講義を担当した。
[松岡佐保子]
- 6) 2017年1月31日：JICA研修「安全な輸血確保による感染症予防」コースで、「HTLV-1」の講義を担当した。
[濱口功]
- 7) 2017年2月2日：JICA研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」コースで、「物理化学試験」の講義を担当した。
[楠英樹]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Tezuka K, Kuramitsu M, Okuma K, Nojima K, Araki K, Shinohara N, Matsumoto C, Satake M, Takasaki T, Saijo M, Kurane I, Hamaguchi I. Development of a novel dengue virus serotype-specific multiplex real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for blood screening. *Transfusion*. 2016; 56: 3094-3100.
- 2) Luis TC, Luc S, Mizukami T, Boukarabila H, Thongjuea S, Woll PS, Azzoni E, Giustacchini A, Lutteropp M, Bouriez-Jones T, Vaidya H, Mead AJ, Atkinson D, Böiers C, Carrelha J, Macaulay IC, Patient R, Geissmann F, Nerlov C, Sandberg R, de Bruijn MFTR, Blackburn CC, Godin I, Jacobsen SEW. Initial seeding of the embryonic thymus by immune-restricted lympho-myeloid progenitors. *Nat Immunol*. 2016; 17: 1424-1435.
- 3) Masumi A, Mochida K, Takizawa K, Mizukami T, Kuramitsu M, Tsuruhara M, Mori S, Shibayama K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Mycobacterium avium infection induces the resistance of the interferon- γ response in mouse spleen cells at late stages of infection. *Inflammation and Regeneration*, 2016; 36: 21.
- 4) Kuribayashi W, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Momose H, Sasaki E, Hiradate Y, Furuhashi K, Asada Y, Iwama A, Matsuoka M, Mizukami T, Hamaguchi I. Impact of the SCF signaling pathway on leukemia stem cell-mediated ATL initiation and progression in an HBZ transgenic mouse model. *Oncotarget*, 2016; 7: 51027-51043.
- 5) Ohsaka A, Kato H, Kino S, Kawabata K, Kitazawa J, Sugimoto T, Takeshita A, Baba K, Hamaguchi M, Fuji Y, Horiuchi K, Yonemura Y, Hamaguchi I, Handa M, on behalf of the Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy Working Party on Safety Management of Blood Transfusions: Recommendations for the electronic pre-transfusion check for blood administration at the bedside. *Blood Transfusion*, 2016; 14: 419-24.
- 6) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Red cell reduced glutathione is a novel biomarker of Diamond-Blackfan Anemia. *Blood Cell Mol Dis*, 2016; 59:31-6.
- 7) Matsushita N, Suzuki M, Ikebe E, Nagashima S, Inatome R, Asano K, Tanaka M, Matsushita M, Kondo E, Iha H, Yanagi S. Regulation of B cell differentiation by the ubiquitin-binding protein TAX1BP1. *Sci Rep*, 2016; 6: 31266.
- 8) Satake M, Iwanaga M, Sagara Y, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I. Incidence of human T-lymphotropic virus 1 infection in adolescent and adult blood donors in Japan: a nationwide retrospective cohort analysis. *Lancet Infect Dis*, 2016; 16: 1246-1254.
- 9) Sasaki E, Kuramitsu M, Momose H, Kobiyama K, Aoshi T, Yamada H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. A novel vaccinological evaluation of intranasal vaccine and adjuvant safety for preclinical tests. *Vaccine*. 2017; 35: 821-830.
- 10) Isaka M, Tatsuno I, Maeyama J, Matsui H, Zhang Y, Hasegawa T. The YvqE two-component system controls biofilm formation and acid production in *Streptococcus pyogenes*. *APMIS*, 2016; 124: 574-85.
- 11) Lee S, Hiradate Y, Hoshino Y, Ko YG, Tanemura K, Sato E. Localization and quantitative analysis of Cx43 in porcine oocytes during in vitro maturation. *Zygote*, 2016; 24: 364-70.
- 12) Nojima K, Okuma K, Ochiai M, Kuramitsu M, Tezuka K, Ishii M, Ueda S, Miyamoto T, Kamimura K, Kou E, Uchida S, Watanabe Y, Okada Y, Hamaguchi I. Establishment of a reference material for standardization of the anti-complementary activity test in intravenous immunoglobulin products used in Japan: A collaborative study. *Biologicals*, 2017; 46: 68-73.
- 13) Umezu K, Hiradate Y, Oikawa T, Ishiguro H, Numabe T, Hara K, Tanemura K. Exogenous neurotensin modulates sperm function in Japanese Black cattle. *J Reprod Dev*. 2016; 62: 409-14.
- 14) Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Kimura H, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I. Expression, purification and characterization of hepatitis B virus X protein BH3-like motif-linker-Bcl-x_L fusion protein for structural studies. *Biochem Biophys Rep*, 2017; 9: 159-165.
- 15) Nishimura, K, Tanio, M, Tuzi, S. Structure and dynamics of membrane-bound proteins In: *Modern Magnetic Resonance*, 2016: pp1-13.
- 16) Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhashi K, Takai M, Kamachi K, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Evaluation of marker gene expression as a potential predictive marker of leukopenic toxicity for inactivated

influenza vaccines, *Biologicals*, *In press*

17) Nakatsu N, Igarashi Y, Aoshi T, Hamaguchi I, Saito M, Mizukami T, Momose H, Ishii KJ, Yamada H. Isoflurane is a suitable alternative to ether for anesthetizing rats prior to euthanasia for gene expression analysis. *J Toxicol Sci*, *In press*

18) Mead AJ, Neo WH, Barkas N, Matsuoka S, Giustacchini A, Facchini R, Thongjuea S, Jamieson L, Booth CAG, Fordham N, Di Genua C, Atkinson D, Chowdhury O, Repapi E, Gray N, Kharazi S, Clark SA, Bouriez T, Woll P, Suda T, Nerlov C, Jacobsen SEW. Niche-mediated depletion of the normal hematopoietic stem cell reservoir by Flt3-ITD-induced myeloproliferation. *J Exp Med*, *In press*

19) Umezu K, Hiradate Y, Numabe T, Hara K, Tanemura K. Effects on glycoalyx structures of frozen-thawed bovine sperm induced by flow cytometry and artificial capacitation. *J Reprod Dev*, *In press*

20) Okuma K, Fukagawa K, Kohma T, Takahama Y, Hamaguchi Y, Ito M, Tanaka Y, Buonocore L, Rose JK, Hamaguchi I. A recombinant vesicular stomatitis virus encoding CCR5-tropic HIV-1 receptors targets HIV-1-infected cells and controls HIV-1 infection. *Microbes and Infection*. *In press*

21) Kuramitsu M, Sekizuka T, Yamochi T, Firouzi S, Sato T, Umeki K, Sasaki D, Hasegawa H, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Momose H, Araki K, Saito M, Nosaka K, Utsunomiya A, Koh Ki-R, Ogata M, Uchimar K, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Okayama A, Miura K, Satake M, Saito S, Itabashi K, Yamaguchi K, Kuroda M, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I. Proviral features of human T cell leukemia virus type 1 in carriers with indeterminate western blot results. *J. Clin. Microbiol*, *In press*

2. 和文発表

1) 濱口功 輸血と感染症、小児科、2016; 57: 146-150.
 2) 藤井康彦、田中朝志、小高千加子、加藤栄史、米村雄士、藤島直仁、佐々木さき子、奈良崎正俊、大澤俊也、田崎哲典、吉場史朗、岩尾憲明、越知則子、小林洋子、橋本誠、児玉るみ、川野洋之、竹ノ内博之、金光靖、野間口由利子、紀野修一、五十嵐滋、石井博之、大谷慎一、大隈和、岡崎仁、北澤淳一、日野学、百瀬俊也、濱口功、診療科別輸血製剤副作用発生率の調査、日本輸血細胞治療学会誌、2016; 62: 451-458.

3) 相良康子、井上由紀子、守田麻衣子、後藤信代、矢持忠徳、渡邊俊樹、岩永正子、濱口功、迫田岩根、入田和男、清川博之. HTLV-1キャリアにおける末梢血中のプロウイルス量と保有するHLAとの関連. 日本輸血細胞治療学会誌、2016; 62: 532-532.

4) 濱口功. ワクチン開発をめぐるレギュレーションの最新動向について. 薬剤学 2016; 76: 51-54.

5) 水上拓郎, 野島清子, 濱口功. HTLV-1 感染予防法の開発, 血液内科 2017; 74: 356-362.

6) 佐々木永太, 水上拓郎, 濱口功. 次世代アジュバント開発のためのメカニズム解明と安全性評価. シーエムシー出版, 2017, p349-354.

II. 学会発表

1. 国際学会

1) Mizukami T, Nojima K, Kuribayashi W, Sasaki E, Kuramitsu M, Ohkuma K, Matsuoka S, Furuhata K, Sobata R, Matsumoto C, Satake M, Tadokoro K, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Safety and efficacy of HTLV-1 hyperimmune globulin against htlv-1 infection in a humanized mouse model. 23rd EHA congress, デンマーク, コペンハーゲン, 2016年6月

2) Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Kimura H, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I. Interaction of BH3-like motif of hepatitis B virus X protein with anti-apoptotic protein Bcl-x_L. The XXVIIth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, 京都, 2016年8月

3) Sasaki E, Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Ishi KJ, Hamaguchi I. A system vaccinological approach to vaccine and adjuvant safety: establishment of a novel safety evaluating system for adjuvant. 2016 ISV Annual Vaccine Congress, 米国, ポストン, 2016年10月

4) Sasaki E, Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Ishi KJ, Hamaguchi I. A system vaccinological approach to vaccine and adjuvant safety: establishment of a novel safety evaluating system. Keystone symposia Translational vaccinology for global health, 英国, ロンドン, 2016年10月

5) Kuramitsu M, Sekizuka T, Matsumoto C, Sobata R, Sagara Y, Kuroda M, Satake M, Itabashi K, Okuma K, Hamaguchi I. Genomic feature of HTLV-1 in Western blot indeterminate. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月

- 6) Tezuka K, Okuma K, Kuramitsu M, Tanaka Y, Tanaka R, Hamaguchi I. Targeting and Eliminating HTLV-1-infected Cells with Cytolytic Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Encoding HTLV-1 Primary Receptor. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月
- 7) Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Biragyn A, Hamaguchi I. Establishment of a Novel HTLV-1-specific CCR4-targeting Therapy Using a CCL17-bound Oligonucleotide Delivery System. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月
- 8) Ikebe E, Shimosaki S, Ohkubo S, Hasegawa H, Fujisawa J-I, Iha H, Morishita K. A highly selective HSP90 α / β inhibitor, TAS-116, demonstrates its potent growth suppressive activity to adult T-cell leukemia in preclinical models. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月
- 9) Mizukami T, Nojima K, Kuribayashi W, Sasaki E, Hiradate Y, Kuramitsu M, Furuhata K, Matsuoka S, Okuma K, Sobata R, Matsumoto C, Satake M, Tadokoro K, Hamaguchi I. Efficacy and Safety Evaluation of HTLV-1 Hyperimmune Globulins Against HTLV-1 Infection in a Humanized Mouse Model. HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月
- 10) Hamaguchi I. Present condition of HTLV-1 infection in Japan and the policy of measures. 18th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, 東京, 2017年3月
- ## 2. 国内学会
- 1) 野島清子, 水上拓郎, 松本千恵子, 蕎麦田理英子, 佐竹正博, 大隈和, 手塚健太, 倉光球, 荒木久美子, 山口一成, 濱口功. HTLV-1感染防止を目指した血漿由来抗HTLV-1ヒト免疫グロブリン製剤の開発. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月
- 2) 濱口功. 血液製剤のトレーサビリティ導入を目的としたパイロットスタディ. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月
- 3) 濱口功. HTLV-1の現状と感染対策の方針. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月
- 4) 手塚健太, 倉光球, 大隈和, 野島清子, 荒木久美子, 篠原直也, 松本千恵子, 佐竹正博, 濱口功. Multiplex RT-qPCRによるデングウイルス4血清型の高感度同時検出法の開発. 第64回日本輸血・細胞治療学会、京都、2016年4月
- 5) 水澤左衛子, 山口照英, 濱口功. HBV-DNA 国内標準品の力価の再評価のための共同研究. 第64回日本輸血・細胞治療学会総会、京都、2016年4月
- 6) 平舘裕希. マウスおよびウシ精子に対するニューロテンシンの影響解析. 第47回精子研究会、秋田、2016年6月
- 7) Kuribayashi W, Mizukami T, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Nojima K, Momose H, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. The c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells development and differentiation in ATL model mice. RIKEN IMS Summer Program (RISP)、横浜、2016年6月
- 8) 佐々木永太, 水上拓郎, 百瀬暖佳, 蒲地一成, 山田弘, 石井健, 濱口功. 末梢血ヒト化マウスを用いたインフルエンザワクチン・アジュバントの安全性評価法開発の試み. 第43回日本毒性学会 学術年会、名古屋、2016年6月
- 9) 水上拓郎, 佐々木永太, 百瀬暖佳, 倉光球, 高井麻海子, 古畑啓子, 蒲地一成, 山田弘, 石井健, 濱口功. トキシコゲノミクスを応用した次世代経鼻粘膜投与インフルエンザワクチンおよびアジュバントの安全性評価法の開発. 第43回日本毒性学会、名古屋、2016年6月
- 10) Kuribayashi W, Mizukami T, Takizawa K, Sugata K, Kuramitsu M, Nojima K, Momose H, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. The essential role of c-kit-SCF signaling in the leukemic stem cells mediated ATL cell propagation and drug resistance. The 5th JCA-AACR Special Joint Conference、東京、2016年7月
- 11) 倉光球, 大隈和, 松本千恵子, 蕎麦田理英子, 相良康子, 板橋家頭夫, 佐竹正博, 濱口功. HTLV-1 Western blot 判定保留例の HTLV-1 遺伝子変異. 第3回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016年8月
- 12) 大隈和, 手塚健太, 倉光球, 濱口功. CCL17 結合オリゴヌクレオチド導入システムを用いた HTLV-1 特異的新規 CCR4 分子標的療法の開発. 第3回日本 HTLV-1、学会学術集会、鹿児島、2016年8月
- 13) 池辺詠美, 下崎俊介, 緒方正男, ファイブ=ニコール, 松本昂, 堀光雄, 長谷川寛雄, 森下和広, 伊波英克. 免疫調節薬 Lenalidomide の抗 ATL 効果と作用機序の検討. 第3回日本 HTLV-1 学会学術集会、鹿児島、2016年8月
- 14) 谷生道一, 日吉真照, 濱口功, HTLV-1 アクセサ

リータンパク質の立体構造解析を目指した大量発現系構築の試み、第3回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016年8月

15) 水上拓郎、野島清子、松本千恵子、栗林和華子、蕎麦田理英子、佐々木永太、平舘裕希、倉光球、古畑啓子、村田めぐみ、松岡佐保子、大隈和、佐竹正博、明里宏文、内丸薫、瀧口功。臨床応用を目指した抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる HTLV-1 感染予防法の開発と安全性に関する研究、第3回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016年8月

16) 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、岩間厚志、松岡雄雅、瀧口功。HBZ-Tg マウスモデルにおける ATL 癌幹細胞の発生機序解明を目指した分子基盤の解明とその機能解析。第3回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016年8月

17) 梅木一美、橋倉悠輝、山田明輝、山本成郎、梅北邦彦、瀧口功、岡山昭彦。HTLV-1 抗体ウエスタンブロット判定保留検体における核酸検査の有用性、第3回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016年8月

18) 高起良、片山貴子、岩永正子、相良康子、日野雅之、内丸薫、瀧口功、宇都宮典、渡邊俊樹。関西地区での HTLV-1 水平感染者コホート (JSPFAD) における HTLV-1 水平感染キャリアーの解析。第3回日本 HTLV-1 学会、鹿児島、2016年8月

19) 水上拓郎、栗林和華子、滝澤和也、倉光球、佐々木永太、平舘裕希、浅田善久、岩間厚志、松岡雄雅、瀧口功。成人 T 細胞白血病 (ATL) モデルマウスにおける ATL 癌幹細胞の発生維持機構における c-kit-SCF シグナルの重要性の解明。第158回日本獣医学会、藤沢、2016年9月

20) Kazu Okuma、Kenta Tezuka、Madoka Kuramitsu、Isao Hamaguchi。Cytolytic recombinant vesicular stomatitis viruses encoding HTLV-1 primary receptor target and eliminate HTLV-1-infected cells. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月

21) 佐々木永太、水上拓郎、百瀬暖佳、蒲地一成、石井健、瀧口功。バイオマーカーとロジスティック回帰分析を統合した次世代アジュバント添加型インフルエンザワクチンの新規安全性評価システム構築。第20回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016年10月

22) Emi Ikebe、Takuro Fukumoto、Masao Ogata、Kazuhiro Kohno、Madoka Kuramitsu、Takashi Matsumoto、Masanori Ikeda、Shuichi Kusano、Akihiko Okayama、Akira Nishizono、Masumichi Saito and Hidekatsu Iha。Complete Sequences of the HTLV-1 Proviral Genomes from Newly

Established ATL cell-lines in Oita Prefecture, Japan. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月

23) 加藤孝宣、山田典栄、百瀬暖佳、村山麻子、松岡佐保子、大隈和、豊田九朗、瀧口功、脇田隆宇。HBV 検体パネルを用いた HBV DNA および HBs 抗原検出体外診断薬の評価。第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月

24) Saeko Mizusawa、Masako Ochiai、Shigeru Kusagawa、Eriko Uchida、Birei Furuta、Eriko Kawamura、Yoshiaki Okada、Teruhide Yamaguchi、Isao Hamaguchi。A National Collaborative Study to Re-evaluate the Potency of the 1st National Standard for HIV-RNA. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月

25) Haruka Momose、Takanobu Kato、Sahoko Matsuoka、Kazu Okuma、Norie Yamada、Asako Murayama、Kuro Toyoda、Takaji Wakita、Isao Hamaguchi。Evaluation of In Vitro Diagnostics for Hepatitis C Virus by Using Domestic Reference Panels. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月

26) 浅沼秀樹、藤橋浩太郎、立石恒一郎、佐藤佳代子、山本典生、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、小田切孝人、CpG-ODN G9.1 の新規粘膜アジュバントとしての経鼻インフルエンザワクチンへの応用。第20回日本ワクチン学会、東京、2016年10月

27) 山本典生、立石恒一郎、長谷川秀樹、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎、浅沼秀樹。CpG-ODN G9.1 併用経鼻インフルエンザ VLP ワクチンの有効性に関する検討。第20回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016年10月

28) 鈴木史子、岩崎博道、前山順一、松本壮吉、山本三郎、伊保澄子。形質細胞様樹状細胞を標的とする TLR9 リガンドのアジュバントとしての作用メカニズム。第20回日本ワクチン学会学術集会、東京、2016年10月

29) Mizukami T、Nojima K、Kuribayashi W、Sasaki E、Hiradate Y、Kuramitsu M、Ohkuma K、Sobata R、Matsumoto C、Uchimaru K、Akari H、Satake M、Hamaguchi I。Safety and efficacy of HTLV-1 hyperimmune globulins against HTLV-1 infection in a humanized mouse model. 第78回日本血液学会、English Session 44 Viral Infection、横浜、2016年10月

30) 楠英樹、田中俊之、河野俊之、木村博一、細田和男、若松馨、瀧口功。B型肝炎X蛋白質 (HBx) BH3様モチーフと Bcl-x_L の NMR 相互作用解析。第55回 NMR 討論会、広島、2016年11月

- 31) Hideki Asanuma, Koichiro Tateishi, Hideki Hasegawa, Norio Yamamoto, Jun-ichi Maeyama, Sumiko Iho, Saburo Yamamoto, Kohtaro Fujihashi, Effectiveness of A Novel Nasal Influenza Vaccine Consist of HA VLP and CpG-ODN G9.1. 第 45 回日本免疫学会、沖縄、2016 年 12 月
- 32) 浅沼秀樹、立石恒一郎、長谷川秀樹、佐藤佳代子、前山順一、伊保澄子、山本三郎、藤橋浩太郎. 経鼻インフルエンザワクチンに用いる新規 CpG アジュバント (G9.1) の有用性. 第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月
- 33) 濱口功. アジュバント含有ワクチンの新しい安全性評価法の開発. 第 10 回次世代アジュバント研究会、大阪、2017 年 1 月
- 34) 濱口功. 日本における HTLV-1 感染の現状と対策の方針. 第 31 回 Transfusion Medicine Conference、葉山、2017 年 1 月
- 35) 前山順一、山崎利雄、林大介、山本十糸子、尾関百合子、鈴木史子、山口雄大、松本壮吉、伊保澄子、山本三郎. 遅延型過敏反応から検討した MDP1 および G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の免疫条件. 第 90 回日本細菌学会総会、仙台、2017 年 3 月