

長崎大学グローバルCOEプログラム

熱帯病・新興感染症の 地球規模統合制御戦略

平成21年度 研究成果報告書



長崎大学
NAGASAKI UNIVERSITY



2009 Research Report of

The Global COE Program, Nagasaki University

-Integrated Global Control Strategy for the Tropical and Emerging Infectious Diseases-

Contents

学長あいさつ	01
リーダーあいさつ	02
概要	03
事業推進担当者	04
活動報告	06
研究成果報告	11
基礎研究班	
● 分子疫学的手法に基づくウイルス性胃腸炎の実態解明とその制御戦略への展開(中込治)	12
● マラリア原虫の宿主細胞への侵入機構とその制御(金子修)	14
● サルモネラ・エンテロキシンの多型と下痢原性発現機構(平山壽哉)	16
● プリオンの感染増殖機構およびプリオン病の病態解明(西田教行)	18
● マラリア感染における宿主 T 細胞サイトカイン産生機構の解析(由井克之)	20
● 赤痢アメーバおよびリーシュマニアに対する感染防御機構の解明(濱野真二郎)	22
フィールド研究班	
● 熱帯地域の新興ウイルスの調査と迅速検出法の開発(森田公一)	24
● 熱帯地域のアルボウイルスの疫学的調査と病原性の解明(森田公一)	26
● ヒト型抗体を用いた新出現ウイルスに対する治療用薬剤の開発に関する研究(山城哲)	28
● スパ・コホートを利用したマラリア媒介蚊と感染の制御研究(皆川昇)	30
● 地域住民参加によるマラリアの実態把握と予防に関する社会技術開発研究(金子聡)	32
● 生態学的感染症研究:時間軸・空間軸のなかでの感染症理解(山本太郎)	34
● 北タイ HIV 感染者およびその配偶者コホートを基盤とする総合的エイズ研究(有吉紅也)	36
● シャーガス病の心疾患、腸疾患発症に関与する遺伝子の特定とその機能解析(平山謙二)	38
● メラネシア島嶼におけるマラリア排除:疫学・生態学・進化的アプローチ(金子明)	40
創薬研究班	
● GPI アンカータンパクを標的としたマラリアワクチン開発(平山謙二)	42
● エイズ及びプリオン病の検査法と治療薬の開発(甲斐雅亮)	44
● 新規抗ウイルス剤の探索(小林信之)	46
● インフルエンザ肺炎における重症化因子の迅速検出法の開発(河野茂)	48
● HIV 感染・再活性化を助長する細菌の制御薬物開発のための基礎研究(中山浩次)	50
● 自己組織化型感染症ワクチンベクターの開発(佐々木均)	52
業績一覧	54
学位取得者一覧	62
RiPS セミナー開催状況	64
報道資料	65



片 峰 茂

長崎大学 学長

学長あいさつ

平成20年度に開始された長崎大学グローバル COE プログラム「熱帯病・新興感染症の地球規模統合制御戦略」は、早いもので2年が経過し、3年目を迎えています。本プログラムの研究面でのミッションは、途上国をふくむ世界の感染症のコントロールに向けて、基礎研究やフィールド研究で得られた成果を診断・治療薬やワクチンなどの開発につなげ、さらにはこれら医薬品を途上国流行地の人々に効果的に届けるための社会開発研究を推進することにあります。そして、さらに重要な使命は、本学が誇る卓越した感染症研究基盤をベースに、感染症制御のために世界の最先端で貢献する次世代研究人材を数多く育成することにあるのです。過去2年間、ほぼ順調にプロジェクトは推移してきたものと思います。残る3年間で更なる飛躍をとげ、大きな成果をあげることを期待しています。

我々が直面する感染症の脅威は生半可なものではありません。エイズ、SARS、BSE（狂牛病）、高病原性インフルエンザなど新しい感染症（新興感染症）の多くは動物の世界で維持されていた病原体が、ヒトの世界に侵入してきたものです。交通手段の発達により、ヒトやモノが国境をこえて超高速で往来する世が到来し、世界の何処かで発生した感染症が瞬時に世界中に伝播してしまいます。

これら新しい病原体はヒトの体内で極めて凶暴にふるまう場合が多く、患者の致死率が高いものが多いのです。今後も次々と新しい病原体が出現しつづけることが予想されます。近未来に、ヒトに対する感染力が極めて強く凶暴な病原体が我々の前に現れ、人類の存続すら危うくする事態を想定することは、あながち小説や映画の世界

だけの話ではないのかもしれませんが。私たちはそれに対する備えを講じておく必要があります。ワクチンや診断・治療薬を開発するための研究体制の整備は最も重要な備えのひとつであり、長崎大学のグローバル COE 拠点はまさにその目的のために存在しているのです。

ところで、病原体はその危険度（バイオセーフティーレベル；BSL）に応じて4つに分類されます。エボラウイルスなど最も危険度の高いものはBSL4に分類されます。このBSL分類に応じて、その病原体を取り扱う研究施設の構造が決められています。BSL4の病原体は極めて厳重な封じ込め構造を持つBSL4研究施設でしか取り扱えません。ところが、日本ではBSL4研究施設は一ヶ所も稼動していません。先進国のほぼ全ての国や南アフリカ、インド、台湾にBSL4研究施設があり、中国でも建設が進んでいます。このままでは、日本の感染症研究は世界に遅れをとり、BSL4の感染症が侵入した場合の国家の危機管理の観点からも由々しき問題です。

いま、長崎大学はこの長崎の地にBSL4研究施設を設置する可能性について考え始めています。BSL4研究施設の管理・運営には、病原体を適切に取り扱う知識と熟達した技術が必要です。豊富な感染症研究の蓄積と研究者陣容を誇る長崎大学は、それを担う資格を有する数少ない研究機関です。そして、長崎大学グローバル COE 拠点のさらなる発展にもBSL4研究施設は必要であると思います。BSL4研究施設設置の可能性について、長崎大学の教職員、行政当局、そして長崎市民の皆さんとともに考えてみたいと思っているのです。



平山 謙二

長崎大学熱帯医学研究所 所長

拠点リーダーあいさつ

グローバルCOEも早や2年目が終わり、いよいよ残すところ2年半となりました。21世紀COEから数えると7年近くの間、COEという看板を背負って走り続けています。マラソンでいえば30キロ地点ぐらいの感じでしょうか。20キロの折り返しで半分ぐらいの数になりましたが、グローバルという名前のために、看板はさらに重くなり、所帯も大きくなって体は益々重く感じ、ゴールはまだまだ見えません。道路わきの応援客が旗を振って見守ってくれているのが唯一の救いですが、ときどき仕分け作業と書いた車が脇を走り、準備しておいた特製ドリンクを取り去っていくのが少し気になります。

このアニュアルレポートでもわかりますが、我々のCOEは非常に多数で多様な研究者によって出来上がっています。主たる研究者20名というのはスポーツでいえばアメリカンフットボールのチームぐらいでしょうか。もちろんこのような大所帯が何の秩序もなくチームプレイをすることはできません。アメフトではフォーメーションプレイなどと言うようですが、何らかのフォー

メーションを作らなければ試合にはなりません。

我がCOEチームのフォーメーションはどんなものでしょうか。それは非常に未熟で不安定で何の練習もしていないぶっつけ本番のものだと言わざるを得ません。もともと日本の大学院の教育はアメリカと同様で、個人的な徒弟制度を基盤としていました。何らかのテーマを与えられた学生がもがき苦しみながら、周りの先輩や教授に助けられて何とか論文作成にたどり着くという風なものでした。我々のCOEでは、この古き良き制度を基盤に、これをさらに強化するために、二つの恐ろしく手間のかかるシステムを導入しました。ひとつはコースワークの充実、もうひとつは集団指導体制です。特に後者はCOEがなければとても実現できなかったのではないかと思います。GCOE-RIPSというセミナーはこの新しいシステムを代表するものです。大学院生を一丸となって育てるという理想に向かってグローバルCOEはひた走っています。

区 概 要

近年、病原体の進化、新たなウイルスの出現、地球温暖化、交通手段の高速化や国際貿易の発展などで、一定の地域で起きた感染症があつという間に世界中に広がってしまいます。長崎大学は日本唯一の感染症教育研究拠点として、国際社会の脅威となっている主要感染症を制御し克服することを目的としています。この目的を達成するためにあらゆる感染症の中から、特に、子どもたちの犠牲が大きい①エイズ ②マラリア ③下痢症 ④見捨てられた感染症 ⑤新出現ウイルス ⑥プリオン病という6つの感染症群を対象に「基礎研究」、「医薬品開発」、「社会技術」という3つの研究領域から取り組んでいます。(図①) 6つの感染症群は子どもたちの犠牲が大きいものばかりです。(図②) ③下痢症は先進国では解決していても、世界では依然蔓延しています。④見捨てられた感染症では発生源が貧しい開発途上国であったためにかえりみられることのなかった Dengue 熱や住血吸虫症などに焦点をあてたことが大きな特徴です。

こうした感染症を制御し克服するためには周到な計画、実行できる人材、適切な技術が必要です。そのため教育にも力を入れ、ケニアやベトナムには海外拠点も設け、地道な現地での調査・研究、臨床研究および若手研究者の育成を行いながら、感染症の制御・克服へ向けて日々、研究を行っています。



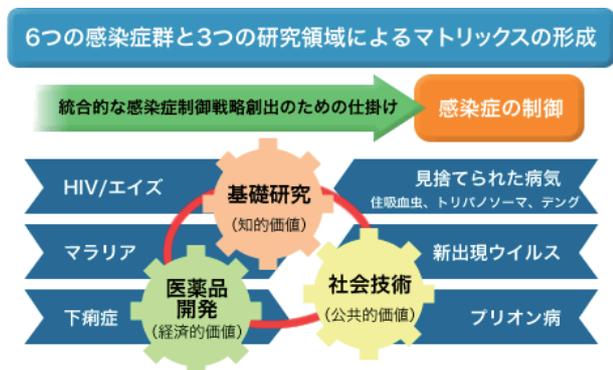
▲スバ地区コホート ▲KEMRI P3施設▶
ケニア・ナイロビ市 ケニア中央医学研究所(KEMRI)内



▲共同で疫学調査▲



▲NIHE ▲臨床教育
ベトナム・ハノイ市 国立衛生疫学研究所(NIHE)内



図①



図②

事業推進担当者（25名）

		所 属	研究領域	研究テーマ	助教 / ポスドク	技術補助員
基礎研究	中込 治	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	感染分子疫学	下痢症		
	金子 修	熱帯医学研究所・教授	原虫学	マラリア	坂口美亜子	市丸 優子
	平山 壽哉	熱帯医学研究所・教授	病原細菌学	下痢症	中野 政之	藤井 麻美
	西田 教行	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	微生物学	プリオン病	佐野 和憲	山川 歩
	由井 克之	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	免疫学	マラリア	田村 隆彦	大和 由佳
	松山 俊文	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	免疫学	HIV / エイズ	馬 玉華 (中国)	
	濱野真二郎	熱帯医学研究所・教授	寄生虫学	見捨てられた病気		
フィールド	森田 公一	熱帯医学研究所・教授	ウイルス学	アルボ / 新出現ウイルス	早坂 大輔	千葉多賀子
	山城 哲	熱帯医学研究所・教授	微生物学	ベトナム拠点		
	皆川 昇	熱帯医学研究所・教授	衛生動物学	媒介昆虫 / マラリア		胡 錦萍
	金子 聰	熱帯医学研究所・教授	公衆衛生学	ケニア海外拠点・社会技術	五十棲理恵	
	山本 太郎	熱帯医学研究所・教授	国際保健学	社会技術	江口 克之	
	有吉 紅也	熱帯医学研究所・教授	感染症学	HIV / エイズ	土屋 菜歩	
	森内 浩幸	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	小児科学	HIV / エイズ		貞方 槇子
	平山 謙二	熱帯医学研究所・教授	免疫遺伝学	見捨てられた病気 / 医薬品開発	Mohammed Nasir (ナイジェリア)	亀井 香里
	金子 明	熱帯医学研究所・客員教授	マラリア学	マラリア		
創薬研究	伊藤 敬	医歯薬学総合研究科(医療科学専攻)・教授	生化学	医薬品開発		
	池田 正行	医歯薬学総合研究科(生命薬科学専攻)・教授	創薬科学	医薬品開発		吉田 実幸
	甲斐 雅亮	医歯薬学総合研究科(生命薬科学専攻)・教授	機能性分子化学	医薬品開発	張 寰 (中国)	
	小林 信之	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	感染病学	基礎研究(HIV / エイズ)	河野 広朗	宮崎 伸子
	河野 茂	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	感染症学	医薬品開発	宮崎 泰可	山内 俊輔
	中山 浩次	医歯薬学総合研究科 (新興感染症病態制御学系専攻)・教授	微生物学	医薬品開発	筑波 知子	
	佐々木 均	長崎大学病院(薬剤部)・教授	薬剤学	医薬品開発		宮村惣一郎
	山本 直樹	熱帯医学研究所・客員教授	ウイルス学	医薬品開発		
	丹羽 正美	医歯薬学総合研究科(医療科学専攻)・教授	神経薬理学	医薬品開発		
教育担当					佐藤 光	
					阿部 朋子	

(平成22年3月現在)

大 学 院 生							
Punita Gauchan (ネパール)	Tran Thi Nguyen Hoa (ベトナム)	Doan Hai Yen (ベトナム)					
ALEXANDRE JEAN SEME FILS (ハイチ)	佐倉 孝哉	井上 愛美	Zhu Xiaotong (中国)	Xangsayalath Phonepadith (ラオス)	Kaewthamasorn Morakot (タイ)		
祖母井香織	須藤 結香	中垣 岳大					
亀井 里加							
蔡 君柔 (シンガポール)							
Mya Myat Ngwe Tun (ミャンマー)	MUHAREVA RAEKIANSYAH (インドネシア)	MURAO LYRE ANNI ESPADA (フィリピン)	岡本 健太	NGUYEN DONG TU (ベトナム)	DINH TUAN DUC (ベトナム)	DINH TUAN DUC (ベトナム)	Posadas Herrera Guillermo(メキシコ)
Endang Pujiyati (インドネシア)	都築 中						
大木 美香	Islam Manirul (バングラデシュ)	Ubydul Haque (バングラデシュ)	猪飼 桂	Kounnavong Sengchanh(ラオス)			
島川 祐輔	山下 嘉郎	森 正彦	Vu Thi Huong (ベトナム)				
伊達木澄人							
Lam Quoc Bao (ベトナム)	Mahamoud Sama Cherif (ギニア)	Ramona Florencia (パラグアイ)	Daniel Boamah (ガーナ)	Tran Thi Ngoc Ha(ベトナム)	HELEGER GIDEON KOFI (ガーナ)	Omar Ahamed Din(ケニア)	
AZAM MD GOLAM (バングラディッシュ)	唐 辰紅 (中国)	YASMIN HASINA (バングラディッシュ)	HOSSAIN MD TOWHID (バングラディッシュ)	喻 志強 (中国)	山筋 睦美		
清水 哲平	一ノ瀬 亨	郭 朝万 (中国)	劉 格 (中国)				
田中 章貴	永吉 洋介	三原 智	高園 貴弘	西條 知見	小佐井康介		
成田 由香							

活動報告

アジア西太平洋地域の倫理審査委員会フォーラム (FERCAP) の議長に平山謙二リーダーが選出されました

Forum for Ethical Review Committees in the Asian and Western Pacific Region

2008年11月に行われたアジア西太平洋地域の倫理審査委員会フォーラム (FERCAP) の総会で、平山謙二リーダーが議長に選出されました。任期は2009年より5年間です。

FERCUP は医学研究の倫理審査レベルの向上と審査委員会のより良い運営を促進する目的で、医学専門家と生命倫理学者により2000年にバンコクで設立が協議されました。

その後発足した FERCUP は、医学研究に参加する人たちの人権を守るため、アジア西太平洋の45の国と地域の倫理審査委員会のメンバーにより組織されています。毎年11月に年次総会を開催して、2日間にわたり最新の倫理問題に関する専門家の講演やワークショップを行い、会員の知識の向上や地域間の情報交換を行っています。また、メンバーの倫理委員会の質的な向上維持をめざして、Fercap Recognition Program という認定制度を運用しています。すでに域内 (タイ、韓国、台湾など) で50以上の施設が厳しい査定を受けて認定されています。残念ながら日本の施設からの申請はまだありません。



長崎大学グローバル COE セミナー「地球と人間の健康安全保障 世界トップレベル拠点を目指して」



2009年4月18日(土)、東京都江東区の東京国際交流館プラザ平成において、長崎大学グローバル COE セミナー「地球と人間の健康安全保障世界トップレベル拠点を目指して」を開催しました。これは、長崎大学の2つのグローバル COE 拠点である

「熱帯病・新興感染症の地球規模統合制御戦略」と「放射線健康リスク制御国際戦略拠点」の紹介を通じて、一地方大学である長崎大学が21世紀における世界の平和と人類の福祉 (安全・安心) へ貢献しようとしているかき、より多くの若手研究者、一般市民の方に知っていただき、今後の高等教育の在り方について提言することを目的としたものです。

セミナーでは、片峰茂長崎大学長の挨拶に続いて、文部科学省高等教育局大学振興課の義本博司課長に御挨拶をいただき、引き続き「熱帯病・新興感染症の地球規模統合制御戦略」と「放射線健康リスク制御国際戦略拠点」の拠点リーダーである平山謙二熱帯医学研究所所長、山下俊一原爆後障害医療研究所所長から両拠点についての紹介が行われました。

さらに特別講演として、前 WHO 西太平洋事務局長で、自治医科大学教授である尾身茂先生が、「健康と文明 - 長崎大学に期待するもの - 」と題して特別講演を行いました。

最後に質疑応答となり、両拠点に対しての活発な質疑応答が行われました。



Environmental and Health Challenges - Academie Des Sciences - JSPS Workshop

平山 謙二 (グローバルCOE 拠点リーダー)



2009年5月
28日と29日の
二日間フラン
ス科学アカデ
ミーにおいて
日仏合同で先
端学術交流の
ワークショップ

が開かれました。今回は感染症のみにとどまらず、環境と健康について多方面から専門家を招いての開催でした。長崎大学からは拠点リーダーの平山謙二が Co-Chair をつとめました。発表者としては皆川昇博士が感染症に対する環境の影響について講演しました。また、中込治博士と、山本太郎博士が座長をそれぞれつとめ、会を盛り上げました。ワークショップの最後に F. Gros 博士より、次回は脳科学をテーマにしてはどうかとの提案などもあり、学術的・文化的に親睦を深め盛会の内に幕を閉じました。

プログラム

- 28May2009 -

• Welcome address

J-F. Bach-(Permanent secretary Académie des Sciences)

J-L. Binet-(Permanent secretary of Nat. Acad. Medicine)

G. Laval-(Foreign secretary Académie des Sciences)

Y. Nakatani-(Head of JSPS Strasbourg office)

K. Hirayama-(Dean, Institute of Tropical Medicine,
Nagasaki University)

• Global Environmental Issue (Climatic changes-global impact on environment)

M. Petit-(General Council of computers technologies-
member of the Committee on environment)

• Environmental Impacts on Infectious Diseases-Vector Ecology

M. Schwartz-(Former director general of Pasteur Institute)

N. Minakawa-(Nagasaki Univ.)

M. Kobayashi-(Nat. Inst. of infectious Diseases)

F. Rodhain-(Pasteur Institute)

• Environment and Neglected Disease

A. Capron-(Former director of Pasteur Institute-Lille)

• Urbanization-Water Hygiene and Sanitation

G. de Marsily-(P. and M. Curie Univ and Ecole des
Mines Lab. of applied geology-CNRS)

D. Sano-(Hokkaido Univ)

• Air Pollution and Respiratory and Cardiovascular Diseases

K. Ueda-(National Institute for Environmental Studies)

M. Aubier-(Head of pneumology Dept. -Hôpital Bichat)

F. Moisan-(Science director of ADEME)

- 29May2009 -

• Environment-Cancers-Chronic Diseases

N. Yamaguchi-(Tokyo Women's Medical College)

G. Lenoir-(Research director, IGR, Institut G. Roussy)

• Epidemiology

A-J. Valleron-(Pierre and Marie Curie Univ.)

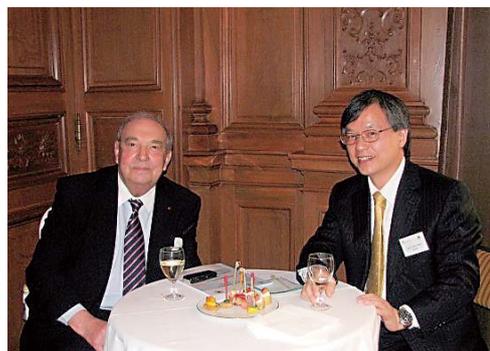
• Genes and Environment

J-F. Bach (Secrét. Perpétuel Académie des Sciences)

• Concluding Remarks

Y. Nakatani-K. Hirayama-M. Schwartz- J.L. Binet-

G. Laval- F. Gros



前パスツール研究所所長 Dr.Andre Capron とともに

アフリカロンドン長崎奨学金の ホームページ開設を記念して ロゴの贈呈式

Inauguration of Africa/London/Nagasaki Scholarship Establish by London School of Hygiene and Tropical Medicine and institute of Tropical Medicine (NEKKEN).

ロンドン熱帯医学校教授である Brian Greenwood 教授の希望によって設立されたアフリカロンドン長崎奨学金のホームページ開設を記念して、2009年11月26日(木)に長崎でロゴの贈呈式を行いました。Greenwood 教授は2008年10月アフリカで第1回野口アフリカ賞を受賞し、その賞金をイギリスと日本の協力のもとに、熱帯医学の研究を行っているアフリカの若手研究者の育成に役立てたいと考えました。奨学金の対象者は熱帯医学に携わる修士課程の学生としており、日本で唯一熱帯医学研究の修士課程教育を行っている長崎大学熱帯医学研究所が、共に若手の育成に携わっていくこととなりました。そこで NEKKEN の O.B. で、書家の出口恵山先生がそのロゴをデザインされました。この日、来崎された Brian Greenwood 教授に出口恵山先生から直接、額が手渡されました。

ALN ホームページ : <http://www.alnscholarshipfund.org/>



ALN のホームページを紹介する有吉教授



出口恵山先生より Greenwood 教授へ額を贈呈

長崎大学 GCOE 国際シンポジウム (JSPS セミナー共同開催)

“ The 4 th Nagasaki Symposium on Tropical and Emerging Infectious Diseases ”

日 時 : 2009年11月26日(木) ~ 28日(土)

会 場 : 長崎大学医学部



良順会館2階 ボードイン
ホール (GCOE Program)
ポンペ会館1階 (JSPS Seminar)

今回のシンポジウムは、本プログラムの基礎研究分野に焦点をあてたプログラムとしました。

1日目の午前にキーノートスピーカー3名にご講演いただきました。野口英世アフリカ賞を受賞されたロンドン大学の Brian Greenwood 博士、南アフリカでウイルス学の第一人者として活躍されている国立感染症研究所の Janusz Pawaeska 博士、長崎大学の海外拠点があるベトナム国立衛生疫学研究所の

Dang Duc Anh 副所長です。Greenwood 博士はアフリカにおける熱帯病研究の実際を紹介する一方で、サハラ以南の髄膜炎ベルト地帯(西はセネガルから東はエチオピアおよびエリトリアまでの地域)における髄膜炎の流行状況を概説されました。髄膜炎菌の中ではA型による流行が同地域では最も多く、2001年から始められたA型髄膜炎菌をター



ゲットにしたワクチン開発に成功したので、いよいよ2010年からマスワクチンキャンペーンがブルキナファソ、マリ、ニジェールの3カ国を対象に始まるそうです。フィールドにおける基礎研究から疾病コントロールまで

幅広い活動内容は熱帯医学に関心を持つ聴衆にとって大いなる刺激となりました。Paweska 博士はマールブルグウイルスの reservoir 発見に至るフィールド研究の実際を多数の写真を交えて臨場感豊かにご紹介下さり、聴衆はフィロウイルスのフィールド研究から P4 施設を用いた研究までを疑似体験することが出来ました。Anh 博士はベトナムで行った肺炎球菌感染症に関する疫学研究の結果を紹介されました。肺炎球菌は髄膜炎の起炎菌としても非常に重要なので、前述の Greenwood 博士も交えてアジアとアフリカの現況などに関して活発な議論が交わされました。

1日目の午後からと2日目にかけてはウイルス・プリオンから細菌・原虫に至るまで多様な病原体と宿主の相互作用に関する研究が紹介され、活発な質疑応答が交わされました。フィールドにおける疫学研究に基盤をおいたキーノートスピーチとラボにおける基礎的研究の対比が面白く、感染症に対する多彩なアプローチの重要性を再確認する良い機会でした。

このシンポジウムが今後の人的ネットワークの形成に寄与し、新興・再興感染症の研究を尚一層推し進める一助になることを祈念します。

参加者数：約150名

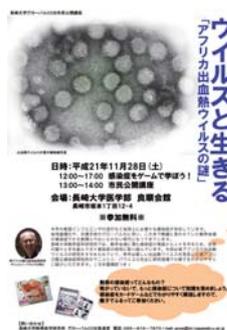
(うち外国人参加者：中国3名、タイ3名、イギリス2名、シンガポール1名、南アフリカ1名、アメリカ1名、ドイツ1名、スウェーデン1名、スイス1名、ベトナム26名)

キーノートスピーカー

Brian Greenwood	London School of Hygiene & Tropical Medicine, UK
Janusz Paweska	National Institute for Communicable Diseases of the National Health Laboratory Service, South Africa
Nguyen Tran Hien	National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam
招待講演者	
Sandra Cheesman	University of Edinburgh, UK
Qijun Chen	Karolinska Institutet, Sweden
Kesine Chotivanich	Mahidol University, Thailand
Liwang Cui	The Pennsylvania State University, USA

Radostin Danev	Okazaki Institute for Integrative Bioscience, Aichi
Nicholas Day	Mahidol University, Thailand
Tim-Wolf Gilberger	Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Germany
Tetsuya Hayashi	University of Miyazaki, Miyazaki
Masaaki Miyazawa	Kinki University, Osaka
Kishore Sakharkar	The University of Aizu, Fukushima
Jetsumon Sattabongkot	Armed Forces Research Institute of Medical Sciences, Thailand
Kunitada Shimotohno	Chiba Institute of Technology, Chiba
Till Voss	Swiss Tropical Institute, Switzerland
Naoki Yamamoto	National Institute of Infectious Diseases, Tokyo
Shinji Yamasaki	Osaka Prefecture University, Osaka
Yusuke Yanagi	Kyushu University, Fukuoka
Hiroki Yoshida	Saga University, Saga
Nobuhiro Yuki	Niigata National Hospital, Niigata

長崎大学 GCOE 市民公開講座 「ウイルスと生きる - アフリカ出血熱ウイルスの謎」



日時：2009年11月28日(土)

13:00～

会場：長崎大学医学部
良順会館

参加費：無料

昨今の新型インフルエンザの流行など地球上には様々な感染症が存在しています。地球温暖化や、交通手段のグローバル化に伴い、これまで無縁とされていた熱帯地域の感染症でさえ無関心ではいられ



ない時代になってきています。長崎大学熱帯医学研究所では、熱帯地域に潜む感染症の脅威から人々を守るため、世界の国々と手を結んで日々感染症の研究に取り組んでいます。そこで、今回市民公開講座を開催し、南アフリカで出血熱ウイルスの研究をすすめられていて、2008年に新しい出血熱ウイルスを発見された南アフリカ国立感染症研究所のヤニユシュ・パウエスカ先生に研究現場での様子をわかりやすくご紹介いただきました。

当日はおよそ50人の市民の皆さんが参加され、アフリカの美しい自然との中で蔓延する感染症の現状、さらにはそうした感染症と戦っているパウエスカ先生の活動について熱心に聞き入っていました。

また、会場には子ども達にも感染症について楽しく学んでもらおうと、カードゲームや人生ゲームのコーナーを設けました。

今後こうした市民講座を開催し、感染症研究に対する興味と理解を深めてもらえればと考えています。

JICA九州20周年シンポジウムで 平山謙二リーダーが講演しました



2010年1月17日(日)にアクロス福岡においてJICA九州20周年シンポジウム「かけがえの無い命を守るため～感染症対策から見る国際保健医療協力」が開催されました。これは、新型インフルエンザなど近年非常に大きな問題となっている感染症を

切り口に、これまでの日本の国際保健医療協力を振り返り、今後の同協力の必要性と方向性を考えていこうと行われたものです。シンポジウムで平山謙二リーダーは、感染症には国境はなく、日本国内での感染症蔓延を抑制

する方法の一つとして国際保健医療協力の必要性と、熱帯医学研究所で行なっている国際協力や感染症克服についての活動を紹介しました。

後日、アンケートの集計により、このシンポジウムが途上国の現状、感染症の現状、日本の国際保健医療協力について参加者に十分理解してもらえたことができたことや、シンポジウムを通して国際協力に参加する意志を強めた参加者が多かったことがわかりました。今後の国際保健医療協力の活動とネットワークの拡大に大きく貢献できたものと思われま

プログラム

【日 時】：2010年1月17日(日) 14:00～17:30

【場 所】：アクロス福岡 国際会議場

【対象者】：一般200名程度

【言 語】：日本語、英語(同時通訳あり)

【参加費】：無料(事前予約不要)

基調講演

「新型インフルエンザへの取り組み」

田代真人 国立感染症研究所 インフルエンザ研究センター長

「カンボジア医療の現状と課題」

Prof. SANN Chan Soeung カンボジア副保健総局長
パネルディスカッション

「どうする明日の国際保健医療協力」

コーディネーター：喜多悦子 日本赤十字九州国際看護大学 学長

パネリスト：

- ①青山温子 名古屋大学医学系研究科 教授
- ②浦部大策 特定非営利活動法人ISAPH 理事/聖マリア病院 国際事業部 部長
- ③北林春美 JICA 国際協力専門員
- ④平山謙二 長崎大学熱帯医学研究所 所長



研究成果報告

分子疫学的手法に基づくウイルス性胃腸炎の実態解明とその制御戦略への展開

医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 分子疫学
中込 治

背景

ウイルス性胃腸炎は誰もが経験するもっともコモンな感染症である。急性胃腸炎を起こすことが確立しているウイルスには、ロタウイルス rotavirus、ノロウイルス norovirus、アデノウイルス adenovirus (40、41型)、サポウイルス sapovirus、アストロウイルス astrovirus の5種類のウイルスがある。これら5つのウイルス中で医学的にもっとも重要性が高いのは、ロタウイルスとノロウイルスである。

ロタウイルス下痢症は、わが国をはじめとする温帯地方では、毎年冬から春先にかけて乳幼児を中心に流行し、熱帯地方では通年性に存在する。主症状は嘔吐、発熱、下痢であり、ほとんどの乳幼児が年に何度か罹患する感染性胃腸炎として臨床的に一括される疾患の1つである。軽症に経過する症例がほとんどであるが、感染例の2~3%に強い脱水症状があらわれ、適切な医療が施されなければ生命にかかわることがある。また、入院加療が必要な胃腸炎の原因を見てみると、約40%はロタウイルスが原因である。このロタウイルス下痢症は、発展途上国では5歳未満の小児死亡の大きな原因であり、ワクチンの開発が進められてきた。

最近、安全で有効性の高い Rotarix (グラクソスミスクライン社) および RotaTeq (メルク社) という2つのロタウイルスワクチンが開発され、世界の100カ国以上でそのいずれか一方の使用が承認されている。また、アメリカ合衆国、中南米(ブラジル、メキシコ、ニカラグアなど)、ヨーロッパ(ベルギー、ルクセンブルグ、

オーストリアなど)、オーストラリアなど世界20カ国以上で乳幼児の定期予防接種に導入されている。

私たちの研究グループでは、胃腸炎ウイルスの実態を解明することこそ制御戦略上重要であると考えている。このような認識から、分子疫学的手法を駆使して、ロタウイルスやノロウイルスによる感染症を克服する手段を追求している。

われわれの研究グループの アプローチ

ロタウイルス感染症の制御戦略を追求するにあたり、3つのアプローチを取っている。基礎研究とは、科学的な謎を解明することによるアプローチであり、私たちの研究グループでは、「ロタウイルスの進化的変異」という観点から研究に取り組んでいる。第二は、医薬品であるワクチンの開発にかかわるものである。残念ながら、わが国ではロタウイルスワクチンが使われていないので、この目的のために海外の拠点を利用し、海外の研究者との共同研究により、ワクチン株の血清型と非常に多様なロタウイルスの野外株の多様性との関係、すなわちワクチンの異型株に対する発病予防免疫に関する疫学研究を行っている。

ウイルスの生物学的な性質が解明され、有効なワクチンが開発されても、それだけで社会から病気が根絶されるわけではない。医学的に有効な予防や治療の手段を実際の社会の中で実現していく社会技術の開発が必要である。このような方面からのアプローチ、すなわち、ロタウイルスワクチンを実際の社会に応用する場合に障壁となる問題を明らかにし、これを取り除く方策に関する研究にも力を入れている。

単価ロタウイルスワクチンが
ワクチン株とは異なる野生株にも
効果があることを確認！

単価ロタウイルスワクチンである Rotarix が定期接種

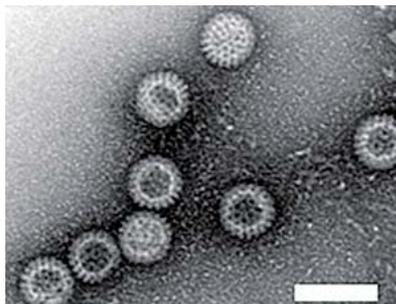


図1：ロタウイルスの電子顕微鏡写真(バーは100nm)

に導入されたときのインパクトを見るために、ブラジル東北部の最大都市レシフェの小児病院でロタウイルス下痢症患者の発生動向を調べた。下痢症患者におけるロタウイルスの検出率について、定期接種導入直後の3ヶ月間と導入一年後の3ヶ月間を比較したところ、27%から5%に激減していたが、同時に Rotarix とは血清型が異なる G2 ウイルス株が1年後には100%になっていた。そこで、Rotarix の G2 ウイルス株に対する有効性を調べたところ、G1P[8] 単価ワクチンであるにもかかわらず、G2 ウイルス株に起因する重症下痢症に対して77%、入院の予防には83-85%の有効性であった。すなわち、ワクチンが血清型の壁を超えて異型免疫を誘導するという強い証拠を得た。

院内感染がロタウイルスによる入院患者の約3割の原因であり、また、院内感染による急性胃腸炎の3割がロタウイルスによることを確認！

リバプールにある Alder Hey 小児病院（約350床）は西ヨーロッパ最大の小児病院である。ここで、ロタウイルスの隠れた問題である院内感染調査に参画する機会があった。この病院では2006～2008年の2年間に220例のロタウイルス胃腸炎があったが、150例（68%）が市中感染、70例（32%）が院内感染によるものであった。また、院内感染による急性胃腸炎は225例あったが、こ

発表論文

論文の最後に 印のあるものは GCOE の明記があるもの、* は corresponding author.

- 1 . Nakagomi T, Chang BR, Nakagomi O*. Rotavirus hospitalization and molecular epidemiology in Northern Japan, 1987-1996. *Vaccine* 27 (suppl 5): F93-F96, 2009
- 2 . Sherchand JB, Nakagomi O*, Dove W, Nakagomi T, Yokoo M, Pandey BD, Cuevas L, Hart CA, Cunliffe NA. Molecular Epidemiology of Rotavirus Diarrhea among Children Aged<5 Years in Nepal: Predominance of Emergent G12 Strains during 2 Years. *J Infect Dis* 200 (Suppl): 182-197, 2009
- 3 . Nakagomi T, Nakagomi O*. A critical review on a globally-licensed, live, orally-administrable, monovalent human rotavirus vaccine: Rotarix. *Expert Opin Biol Ther.* 9: 1073-86, 2009
- 4 . Correia JB, Patel MM, Nakagomi O, Montenegro FM, Germano EM, Correia NB, Cuevas LE, Parashar UD, Cunliffe NA, Nakagomi T*. Effectiveness of monovalent rotavirus vaccine (Rotarix) against severe diarrhea caused by serotypically unrelated G2P[4] strains in Brazil. *J Infect Dis.* 201: 363-369, 2010
- 5 . Cunliffe NA, Ngwira BM, Dove W, Nakagomi O, Nakagomi T, Perez A, Hart CA, Kazembe PN, Mwansambo CC. Serotype G12 rotaviruses, Lilongwe, Malawi. *Emerg Infect Dis* 15: 87-90, 2009
- 6 . Castello AA, Nakagomi T, Nakagomi O, Jiang B, Kang JO, Glass RI, Glikmann G, Gentsch JR. Characterization of genotype P[9]G12 rotavirus strains from Argentina: high similarity with Japanese and Korean G12 strains. *J Med Virol* 81: 371-381, 2009
- 7 . Cunliffe NA, Booth JA, Elliot C, Lowe SJ, Sopwith W, Kitchin N, Nakagomi O, Nakagomi T, Hart CA, Regan M. Healthcare-associated viral gastroenteritis among children in a large pediatric hospital, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 16: 55-62, 2010

のうち70例（31%）がロタウイルスに起因するものであり、最大の原因であった。院内感染は重症例を集中的に管理治療する病棟により高率に発生していた（図2）。

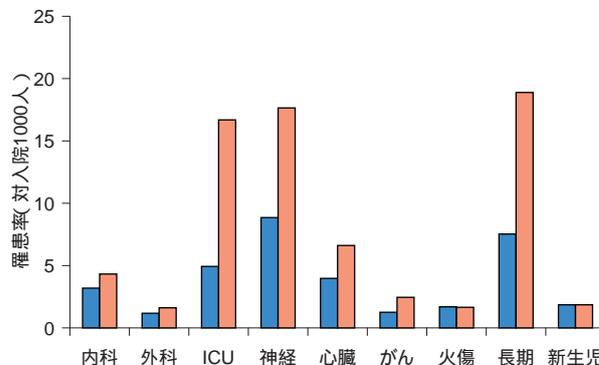


図2：ロタウイルスおよびすべての胃腸炎ウイルスによる院内感染の発生状況（英国 AlderHey 小児病院）。青がロタウイルス、茶色はすべての胃腸炎ウイルス

グローバル COE と人材育成

長崎大学のグローバル COE の目指すところは、高い学術的な価値をもつ知的情報を生産し、論文の形でこれを公表することによって科学の進歩に貢献することができる。しかし、同時に、この過程を通して、将来この領域を支える新しく有為な人材の育成も目指している。われわれの研究グループでは3人の博士課程の大学院生が活躍しているが、長崎大学と学术交流協定を締結しているリバプール大学やブラジルのフィゲイラ教授記念総合医学研究所の研究者や大学院生も研究に関与している。

マラリア原虫の宿主細胞への侵入機構とその制御

熱帯医学研究所 原虫学

金子 修

背景

マラリアは世界で年間3 - 5億人の感染者、100万人以上の死者を出す重大な原虫感染症である。ヒト体内では、メロゾイトと呼ばれる細胞侵入型原虫が赤血球へ侵入し、2 - 3日毎に分裂して形成された8 ~ 24のメロゾイトが感染赤血球を破壊して血流中に出現し、新たな赤血球に再侵入することにより増殖する。メロゾイトは赤血球に侵入する際に、マイクロネームやロプトリーといった細胞内小器官から赤血球認識リガンドなどを含む内容物を放出する。感染成立には、原虫リガンドが赤血球受容体を認識することが必要であるため、原虫リガンドは増殖阻害ワクチンの標的と考えられ、また、原虫リガンドを活性化したり、侵入後に赤血球受容体と結合した原虫リガンドを切断したりするための種々の原虫酵素は創薬の標的となる。本研究課題では、マラリア原虫の赤血球認識リガンドについて、個々の原虫における機能分子としての役割を明らかにし、また、マラリア流行地でヒト免疫にさらされながら進化してきた抗原分子としての役割（多型による免疫回避など）を集団遺伝学的に解析することで、マラリア感染成立のメカニズムの一端を明らかにすることを目的とする。

ネズミマラリア原虫の赤血球からの放出・赤血球への侵入のタイムラプス解析

細胞の機能分子の解析には分子細胞生物学的アプローチが用いられてきたが、最近では、種々の蛍光プローブの開発と顕微鏡・画像解析技術の著しい発展により、光学的アプローチによる機能解析が新しい知見をもたらしつつある。マラリア研究においても、赤血球から放出され、

次の赤血球に侵入する数十秒という非常に短い時間におこる生物学的事象に原虫分子がどのように関与するのか、といった基礎生物学的解析のみならず、どの段階で増殖阻害抗体や薬剤が効果を示すのか、といった応用科学研究面でも光学的アプローチによってしか明らかにできないことは多い。そのため、本研究班では、マラリア原虫の増殖過程、特に赤血球へ侵入する状態を生きたまま観察できるタイムラプス解析の準備を整えてきた。マラリア原虫の赤血球侵入のタイムラプス解析は、1975年に米国のDvorakらがサルマラリア原虫 *Plasmodium knowlesi* を用いて行い、侵入には①原虫先端部の赤血球への接着、②赤血球の変形、③赤血球膜の陥入と原虫の侵入というステップがあることを見出したことに始まる。その後、2009年になり、オーストラリアのグループがヒトに感染し *in vitro* での培養系が確立されている熱帯熱マラリア原虫の赤血球侵入のビデオ撮影に成功し、侵入の過程を①原虫の赤血球への接着から侵入開始までの期間を前侵入期、②侵入開始から、赤血球が棘状赤血球様に変形を開始するまでの期間を侵入期、③侵入後に赤血球が変形する棘状赤血球様期の3過程に分けることを提唱した。我々も熱帯熱マラリア原虫を用いて同様の系を確立したと共に、原虫分子のタイムラプス解析に向けて、蛍光プローブを付与した原虫分子を発現する組換え熱帯熱マラリア原虫の作成を開始した。一方、熱帯熱マラリア原虫の遺伝子組換えは1 - 6ヶ月という長期間を要する等の制約があるため、2 - 4週間で遺伝子改変原虫が得られ、また *in vivo* での実験も可能である等の利点を持つネズミマラリア原虫 *P. yoelii* に着目し、世界で初めて赤血球侵入動態の撮影と解析に成功した^[1]。その結果、ネズミマラリア原虫の赤血球への侵入過程はサルマラリア原虫や熱帯熱マラリア原虫と同じく前侵入期、侵入期、棘状赤血球様期の3過程に分けることがで

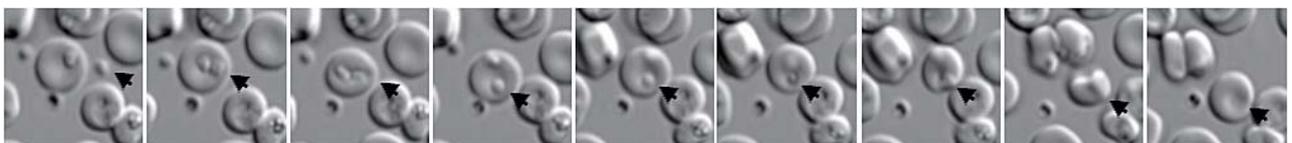


図1：ネズミマラリア原虫 *Plasmodium yoelii* が赤血球に侵入している様子

きた。また、前侵入期はマラリア原虫種間で時間差はないが、ネズミマラリア原虫は熱帯熱マラリア原虫よりも感染赤血球から放出されてから新規赤血球に接着するまでの時間が1分以上長くかかる一方、棘状赤血球様期は5分以上短いことが観察された。興味深いことに、ネズミマラリア原虫では侵入型原虫の形態が放出直後から数十秒の間にロッド状から球状に変化し、球状の原虫のみが赤血球に侵入していた。このような現象はサルマラリア原虫でも熱帯熱マラリア原虫でも観察されておらず、培養の影響であるのかどうかを含めて、さらなる検討を要するが、マラリア原虫は血流に放出されてから赤血球への再侵入に向けて形態を変化させ、赤血球侵入型に成熟する必要がある可能性が示唆される。

三日熱マラリア原虫 PvSTP はシュフナー斑点と共局在する

熱帯熱マラリア原虫の感染赤血球は PfEMP 1 と呼ばれる多重遺伝子族にコードされる原虫リガンドを用いて、脳の末梢血管内壁に接着したり、未感染の正常赤血球に接着する（ロゼット形成）ことで昏睡などの重篤な症状を引き起こす。一方、三日熱マラリア原虫感染赤血球もロゼット形成を起こし生物学的に重要な機能を担っていると考えられているが、そのゲノム上には PfEMP 1 相同体は存在しない。かわりに、熱帯熱マラリア原虫の感染赤血球表面と赤血球侵入型原虫表面に発現している SURFIN と呼ばれる分子の相同体 PvSTP などがゲノム上に見出される。原虫種を越えて保存されている分子は、原虫の生存にとって共通する重要な役割を担っている可能性（この場合はロゼット形成への関与）が高いと考え、PvSTP についての解析を開始した。

三日熱マラリア原虫 PvSTP には PvSTP 1 と PvSTP 2 の二種類が存在するため、両者について転写解析を行ったところ、PvSTP 2 は PvSTP 1 に比べて数倍 - 数百倍多く転写されていることが分かった。両者に対して特異的ペプチド抗体を作成したところ、ELISA にて両者ともペプチドに対する抗体価が128,000以上のウサギ

抗血清を得ることが出来た。ウェスタン解析では、両者ともに予想分子量周囲に反応が見られたが、明瞭なバンドが検出できる PvSTP 2 に対して、PvSTP 1 のバンドは非常に薄かった。反応性に問題がないとすれば、転写解析の結果と良く合致する。間接蛍光抗体法により局在を観察すると、原虫感染赤血球膜上の多数の小さな点として反応が見られたが、このようなパターンは、三日熱マラリア原虫感染赤血球をギムザ染色した際に見られるシュフナー斑点に似るため、蛍光抗体反応後にさらにギムザ染色を行い、PvSTP 2 の局在をシュフナー斑点の局在と比較したところ、両者の局在は良く一致した。シュフナー斑点は、電子顕微鏡では赤血球表面から内側に陥凹したポケット状構造物として観察され、熱帯熱マラリア原虫でギムザ染色ではモラー斑点として見られるモラー・クレフトと相同の構造物と考えられる。SURFIN や PfEMP 1 はモラー・クレフトに原虫から輸送された後に、赤血球表面に発現すると考えられているため、PvSTP 2 とシュフナー斑点との共局在は、三日熱マラリア原虫にも熱帯熱マラリア原虫と似た赤血球分子輸送機構が存在し、PvSTP 2 もシュフナー斑点を經由して感染赤血球表面に輸送される可能性を示唆する。このようなユニークな輸送機構は生物学的にも興味深いと共に、創薬の標的となりうるのではないかと考えている。

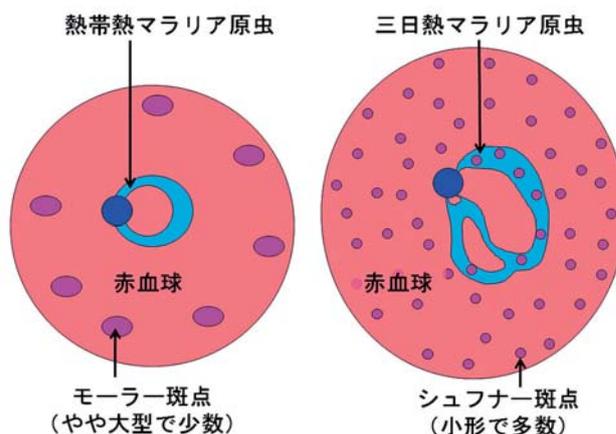


図2：マラリア原虫をギムザ染色し、顕微鏡下で観察すると感染赤血球膜にモラー斑点やシュフナー斑点が見られる。SURFIN や PvSTP はこれらの斑点と共局在を示す。

この研究の発表

学会発表

- 1) Yahata K, Treeck M, Culleton R, Inoue M, Gilberger T-W, Kaneko O. 2010. "Time-lapse imaging of red blood cell invasion by rodent malaria parasites." The 6th annual BioMalPar conference, Heidelberg, Germany.
- 2) Zhu XT, Sungkapong T, Kaewthamasorn M, Culleton R, Tachibana M, Tsuboi T, Torii M, Yahata K, Cao YM, Chotivanch K, Kaneko O. 2009. "Plasmodium vivax subtelomeric transmembrane protein 1 (PvSTP1), a homolog of *P. falciparum* SURFIN; polymorphism and human sera reactivity." Vivax Malaria Research III: 2009 and beyond, Panama City, Panama.

サルモネラ・エンテロトキシンの多型と下痢原性発現機構

熱帯医学研究所 細菌学
平山壽哉

背景

サルモネラによる腸管感染症は世界中で増加傾向にあり、熱帯地域を含む発展途上国のみならず先進国においても、胃腸炎（食中毒）やチフスなどのサルモネラ症による死者は世界中で年間50万人にも上っている。これまでの研究によりサルモネラ属菌の病原因子については、感染宿主細胞への侵襲性やマクロファージなどの貪食細胞内での生存に關与する責任遺伝子群が明らかになっている。しかしながら、これらの因子の下痢原性への關与については不明な点が多いのが現状である。

一方、1994年に *S. Typhimurium* の染色体 DNA に、コレラ毒素や毒素原性大腸菌の易熱性エンテロトキシンの A サブユニットと相同性のある遺伝子 (*stn*) が報告された。しかし、*Stn* のサルモネラ症、とくに本菌が引き起こす下痢症における役割については全く解明されていない。我々はこれまでに *S. Enteritidis* の培養液から調製した *Stn* を含む粗毒素画分に細胞毒性を認め、*Stn* のアミノ酸配列をもとに作製した抗体がこの毒性を中和する知見を得た。更に、*stn* 遺伝子の分布についてサルモネラを含めた腸管病原菌を用いて調べたところ、他の病原菌ではその存在が認められなかったが、サルモネラ属において極めて特異的に存在していること、加えて *stn* 遺伝子には多型性があることを明らかにした。

そこで、本研究では *Stn* を迅速且つ大量に精製する方法を確立し、その下痢原性を明らかにするとともに、*Stn* の構造と下痢原性の構造相関を解明することを目的とした。加えて本年度は *stn* 遺伝子破壊サルモネラ菌を作製し、サルモネラ菌体内における *Stn* の機能と宿主細胞への影響について検討を行ってきた。

Stn タンパク質精製法の確立

はじめに、サルモネラ (*S. Enteritidis*) 野生株からの

Stn の精製を試みた。液体培地にてサルモネラを培養し、遠心分離にて集めた菌体を超音波により破碎した。破碎後の菌体より遠心分離にて不溶性画分を除去した後、上清より各種カラムクロマトグラフィーを用いて段階的に *Stn* タンパク質の精製を行った。得られた最終精製標品には培養細胞に対する細胞毒性を有していることが認められ、さらには抗 *Stn* 抗体によって細胞毒性が中和されたが、図 (Fig. 1、A、B) に示すように抗 *Stn* 抗体とは反応しない蛋白の存在があり、現在のところ完全単一な精製度の高い標品を得るに至っていない。その原因として、*Stn* がサルモネラ菌体内で他のタンパク質との複合体を形成する可能性を考えた。

そこで、この問題を解決するために大腸菌を用いた組換え *Stn* タンパク質の作製を行い、その精製を試みた。その結果、大腸菌内で発現した組換え *Stn* の大部分が非変性下で inclusion body を形成することが認められた。組換え *Stn* を可溶化した状態を得ることは今後の生物活性の解析 (特に *Stn* の機能面における性状解析) には必須であるので、非変性下における組換え *Stn* タンパク質の可溶化条件の検討を行ったが、これまで試みたいずれの条件においても十分な組換え *Stn* の可溶化には至っていない。現在は、他の発現システムを用いることにより組換え *Stn* の非変性下での可溶化の検討を行っている。

Stn の *Salmonella* 菌体内における役割

既知の報告や我々のこれまでの解析より *Stn* は培養細胞に対して細胞毒性を示すことが明らかになっている (Fig. 1、C)。しかしながら、*Stn* の機能については未だ不明な点が多く、*Stn* の機能をより正確に把握するには多くの検証が必要である。特に、サルモネラ菌体内における本来の機能については全く検討が行われておらず、

知見がない。そこで、*stn* 遺伝子を標的とした遺伝子破壊サルモネラ株 (*stn* 株) を作製し、野生型と比較することによりサルモネラ菌体内における Stn の機能を検討した。

はじめに様々な培養条件における野生株と Δstn 株の増殖性の違いについて検討したが、その違いは認められなかった。そこで、次に両菌株が産生するタンパク質のプロファイリングを行ったところ、 Δstn 株では膜画分にある約31kDaのタンパク質が明らかに欠損していた (Fig. 2)。この結果より、Stn タンパク質はサルモネラ菌体内において膜タンパク質の産生に関与することが示唆された。

現在、この欠損した膜タンパク質の同定を行っており、以後は Stn の本菌及び宿主細胞への作用と機能発現メカニズムの解析を進めている。とくに、Stn の他のタンパク質発現への影響は膜タンパク質にとどまらず、並行して二次元電気泳動法を用いるなどして網羅的に解析している。

まとめ

上記に示したように、Stn は培養細胞に対する細胞毒性効果を有することからサルモネラの病原性に関与することが示唆される。しかしながら、その作用機序については全く不明であり、今後の検討課題である。したがって、今後は Stn のサルモネラの病原性への関与の検討を行う予定であり、そのためにも Stn の精製法を早期

に確立する。また、今回作製した Δstn 株を用いることで、Stn の病原性への関与を明らかにするため培養細胞や実験動物を用いた解析を行う。

遺伝子破壊株を使用したタンパク質のプロファイリングより得られた解析結果は、これまでの報告では全く認められない新規な成績であり、今後得られる知見にも興味深い。このことから Stn の機能 (特にサルモネラ菌体内における役割) について新たな展開を示すことができるものと考えている。

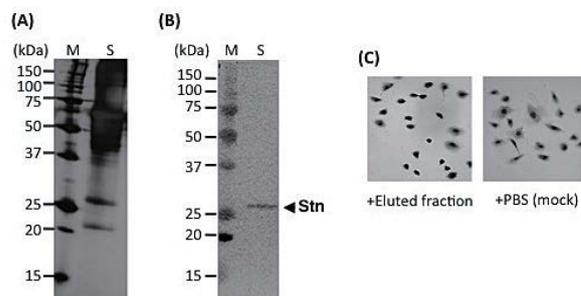


Fig. 1. 野生型サルモネラ菌からの Stn タンパクの精製
(A)最終標品の電気泳動図
(B)抗 Stn 抗体による Stn タンパク質の検出 (矢印)
(C)最終標品の培養細胞に対する細胞毒性試験

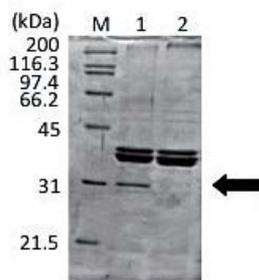


Fig. 2. 膜タンパク質の電気泳動図
Lane 1 は野生株由来、lane 2 は Δstn 株由来の膜タンパク質画分を表す。

この研究の発表

学会発表

Yamasaki E, Nakano M, Hoshi H, Seto Y, Chongsanguan M, Chaicumpa W, Nail GB, Makino S, Hirayama T, Kurazono H.: Diversity in the expression of *Salmonella* enterotoxin that has a cytotoxic effect on cultured cells by various *Salmonella* species. 3rd ASM conference on *Salmonella*: biology, pathogenesis & prevention. October 5-9, 2009, France.

共同研究者

倉園久生教授、山崎栄樹助教 (帯広畜産大学)
Wanpen Chaicumpa 教授 (マヒドール大学医学部、タイ)
Manas Chongsa-nguan 准教授 (マヒドール大学熱帯医学部、タイ)
G. B. Nair 所長 (国立コレラ及び関連下痢症研究所、インド)

プリオンの感染増殖機構およびプリオン病の病態解明

医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 感染分子解析学
西田教行

背景

プリオン病は人、羊、ウシ、鹿などに見られる致死性の神経変性疾患であり、かつ伝達性の疾患である。その病原体はプリオンと呼ばれるおそらくタンパク質のみで構成される感染性粒子と考えられている。1980年代に英国で発生したBSE（ウシ海綿状脳症）のアウトブレイク、1996年に認知されBSE由来と思われる変異型クロイツフェルトヤコブ病（vCJD）の世界各国での発生が社会問題とされてきた。ほかにヒト由来の生物製剤のひとつであった保存硬膜を使用したことによる医原性CJDは圧倒的に本国において多くの犠牲者を出した。

本研究ではプリオンの実体解明、その細胞への感染機序、細胞内での増殖メカニズム、そして神経細胞死を引き起こす病態の解明を目標としている。その本質的問題の解明が新たな治療法開発、早期診断法開発につながっていくと考えている。

蛋白単独犯仮説は証明しうるか

プリオン病では、正常型プリオン蛋白（PrP^c）の構造変換によって生じる異常型プリオン蛋白（PrP^{Sc}）の脳内蓄積が、病態の発症の要因として考えられているが、そのメカニズムは明らかとなっていない。

昨年度、我々は試験管内において、リコンビナント PrP（recPrP）とごく少量のマウスプリオン株感染脳乳剤を混和後、攪拌条件下でインキュベート（40℃）すると、recPrP アミロイドが形成されることに成功した。そこで、作製した recPrP アミロイドの二次構造と感染性の有無を確認した。Chandler、22L 株感染マウス脳乳剤より形成された recPrP アミロイドは、株特異的に二次構造が異なっており、PrP^{Sc} と類似した二次構造を持つことが明らかとなった（図1）。

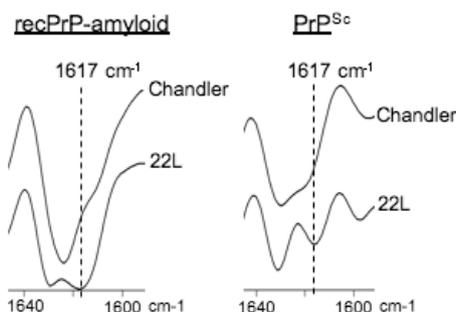


図1：フーリエ変換型赤外分光計（FTIR）による recPrP アミロイドの二次構造解析。Chandler、22L 株より作製された recPrP アミロイド（左図）と感染マウス脳乳剤から精製した PrP^{Sc}（右図）の二次構造を FTIR で解析した。

さらに、これらの recPrP アミロイドをマウスに脳内接種し、プリオン病発症までの潜伏期間を検討した結果、recPrP アミロイドは対照群と比べて有為な潜伏期間を

短縮し、感染価を高めることが明らかとなった。これらの結果は、recPrP アミロイドが、新たに感染性を獲得したことを意味し、プリオンの本体が異常型 PrP のタンパク質単独である可能性を支持するものであった。今後は、感染脳乳剤を用いず、様々な条件下で作製した recPrP アミロイドの感染性を確認する事で、蛋白単独犯仮説を検証して行く。

プリオンの生物学的多様性と細胞指向性

プリオンには、ウイルスや細菌等で見られる株が存在し、感受性動物への感染実験によって現れる固有の表現型で定義されている。株の表現型の1つに感染マウス脳内における異常型 PrP の蓄積部位が異なる細胞指向性が知られているが、その分子機構については不明である。

昨年度、我々は種々の神経由来培養細胞を用いてプリオン株における細胞選択性を比較すると、株によって細胞への感受性が異なる細胞指向性を見出した。特徴的な2つの細胞において、各プリオン株の感受性を詳細に比較すると、マウス視床由来の GT1-7 細胞は、感染させた3つの株（22L 株、FK 1 株、BSE 株）すべてにおいて感受性を示すのに対して、N2a58細胞（neuroblastoma 由来）は22L 株のみが感受性であった。そこで、この細胞指向性の分子機構を明らかにするために、プリオン感染の初期過程である細胞への異常型 PrP の結合性を株間で比較した（図2）。

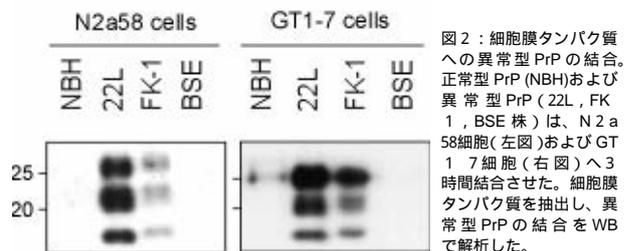


図2：細胞膜タンパク質への異常型 PrP の結合。正常型 PrP（NBH）および異常型 PrP（22L、FK 1、BSE 株）は、N2a58細胞（左図）および GT1-7 細胞（右図）へ3時間結合させた。細胞膜タンパク質を抽出し、異常型 PrP の結合を WB で解析した。

細胞膜タンパク質への異常型 PrP の結合は、22L 株が最も強く、FK 1 が低い結合性で検出されたのに対して、BSE 株はほとんど結合しなかった。この結果は、各株における N2a58細胞への感受性とよく相関する事から、細胞指向性が細胞への結合性によって規定されている可能性が示唆された。さらに面白いことに、感受性の高い GT1-7 細胞で同様の実験を行うと N2a58細胞と同等であった。これら結果から株間の細胞指向性は、感染の初期過程である細胞への結合性によって規定されるだけでなく、後期過程である細胞内での増殖にも左右

される2つの機構が働いていると示唆された。特に株による細胞への結合性の違いは、株に特異的な受容体が存在する可能性を示唆しており、今までのプリオン研究では知られていない新しい知見として、今後のプリオンの感染機構を解明する手がかりになると考えられる。

正常型プリオン蛋白の機能と神経細胞死

PrPは、プリオン病の病態発症に関わる因子として見出された宿主由来のタンパク質であるが、本来の正常機能に関しては、多くの点が明らかにされていない。

これまで我々は、正常型PrPが代謝型グルタミン酸受容体I型(mGluR1)と結合していることを、FRET assay及び免疫沈降法を用いた実験において見出した(図3)。

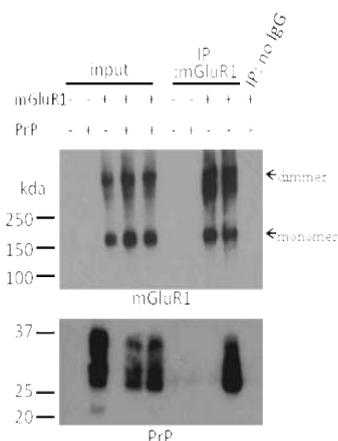


図3: mGluR1とPrPの結合。マウス神経線維芽腫細胞にmGluR1とPrPを発現させ、抗mGluR1抗体を用いて免疫沈降を行い、mGluR1(上部)およびPrP(下部)の結合を解析した。

さらにはこのmGluR1はリガンドとの結合によって活性化し、細胞内のカルシウム濃度を上昇させることが知られているが、正常型プリオンタンパク質の過剰発現

下では、細胞内カルシウムイオンの濃度上昇が抑えられることが明らかとなった。mGluR1は小脳プルキンエ細胞に豊富に発現していること、またPrPノックアウトマウスではプルキンエ細胞が脱落していることから、プルキンエ細胞ではPrPとmGluR1の結合によって細胞内カルシウムイオンが調節されていることが考えられた。今後、より詳細な正常型プリオンタンパク質の機能を明らかにすることが、中枢神経細胞におけるシグナル伝達に新たな側面を与えると同時に、プリオン病の治療法開発の手掛かりとなることを期待している。

異常プリオン蛋白の分解過程解明

蛋白質の分解はプロテアソームを介した選択的蛋白分解のユビキチン-プロテアソーム系とリソソームを介した非選択的bulk分解のオートファジー系に分かれるとされている。プリオン病の発症過程で蓄積するPrP^{Sc}は、これらの代謝過程を免れている可能性が示唆されているが、詳細は不明なままである。我々はその代謝のメカニズムを解明することがプリオン病の診断、治療薬開発の発展に繋がると考えている。そこで株の異なるPrP^{Sc}を用いてPrP^{Sc}の分解過程を検討したところ著明な変化は見られなかったのに対して、オートファジー阻害剤は、FK1のPrP^{Sc}の代謝を阻害した。また、その代謝はオートファジーの刺激誘導により促進された。さらにオートファジー関連シグナルカスケードについても検討し、FK1のPrP^{Sc}代謝がオートファジーで代謝を受けることを確認した。さらに、他の株についても詳細に解明することで、プリオン感染後のPrP^{Sc}の増殖および分解機構について解明できると考えている。

研究発表

論文

- (1) Fujihara A, Atarashi R, Fuse T, Ubagai K, Nakagaki T, Yamaguchi N, Ishibashi D, Katamine S, Nishida N. Hyperefficient PrP Sc amplification of mouse-adapted BSE and scrapie strain by protein misfolding cyclic amplification technique. FEBS J. 2009; 276 (10): 2841-8.
- (2) Smirnovas V, Kim J, Lu X, Atarashi R, Caughey B, Surewicz WK. Distinct structures of scrapie prion protein (PrPSc)-seeded versus spontaneous recombinant prion protein fibrils revealed by hydrogen/deuterium exchange. J Biol Chem 2009; 284 (36): 24233-41.
- (3) Atarashi R. Recent advances in cell-free PrPSc amplification technique. Protein Peptide Lett 2009; 16 (3): 256-9.
- (4) Matsui Y, Satoh K, Mutsukura K, Watanabe T, Nishida N, Matsuda H, Sugino M, Shirabe S, Eguchi K, Kataoka Y. Development of an Ultra-Rapid Diagnostic Method Based on Heart-Type Fatty Acid Binding Protein Levels in the CSF of CJD Patients. Cell Mol Neurobiol. 2010, 25.
- (5) Kim J, Cali I, Surewicz K, Kong Q, Raymond GJ, Atarashi R, Race B, Qing L, Gambetti P, Caughey B, Surewicz WK. Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. J Biol Chem 2010; 285 (19): 14083-7.

シンポジウム講演・学会発表

- (1) 布施隆行、西田教行、第57回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009年
- (2) 藤原愛子、新竜一郎、他7人、第46回日本ウイルス学会九州支部総会、佐賀、2009年
- (3) 新竜一郎、佐藤克也、他13人、文部科学省 人獣共通感染症研究クラスター支援事業 プリオンシンポジウム、宮城、2009年
- (4) 石橋大輔、布施隆行、他6人、文部科学省 人獣共通感染症研究クラスター支援事業 プリオンシンポジウム、宮城、2009年
- (5) 佐野和憲、新竜一郎、他4人、文部科学省 人獣共通感染症研究クラスター支援事業 プリオンシンポジウム、宮城、2009年
- (6) 佐野和憲、新竜一郎、他4人、第82回日本生化学会大会、神戸、2009年
- (7) 石橋大輔、第2回長崎プリオン研究会、長崎、2009年
- (8) 松原岳大、日本分子生物学会、横浜、2009年
- (9) 布施隆行、中垣岳大、西田教行、長崎感染症研究会、長崎、2010年

マラリア感染における宿主T細胞 サイトカイン産生機構の解析

医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 免疫機能制御学
由井克之

背景

マラリアは、ハマダラカ（図1）に媒介され、年間患者数2～3億人、死者100～200万人といわれ、世界的に最も重要な感染症のひとつである。



図1：マラリアを媒介するハマダラカ

薬剤耐性マラリア原虫の出現などにより、究極の予防薬としてのワクチンに対する期待は高い。しかしながら、未だに実効性のあるワクチンは開発されておらず、目標に至る明確な見通しは立っていない。感染症は、人類と微生物の地球上での長い歴史の中で、双方の生存戦略のせめぎ合いの中で成立しており、現時点では感染症のその一断面を見ることになる。微生物は、宿主の免疫アタックを巧みに逃れて生存し続けるために種々のエスケープ機構を獲得しているし、一方宿主サイドは微生物の体内増殖を抑制し排除する免疫系という高度な仕組みを獲得している。マラリア感染においては、感染微生物と宿主免疫応答とのこのようなせめぎ合いの結果、特徴的な感染病態を示す。例えば自然界における防御免疫能獲得には長期における感染暴露が必要であり、これは急性感染症をおこす多くのウイルス疾患などとは大いに異なっている。しかしながら、その仕組みは十分に理解されていない。従って、マラリアワクチン開発という究極の目標

達成のためには、マラリア感染に伴う宿主免疫応答の特徴を十分に理解し、宿主とマラリア原虫とのせめぎ合いの仕組みを解明することが重要である。

本研究ではマウスマラリアの実験系を用い、マラリア感染に伴う宿主免疫応答の修飾について解析を行った。解析にあたっては、前年度の課題において開発したモデル抗原卵白アルブミン（OVA）発現マラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA 株（OVA-PbA）を用いた。マラリア感染動物のT細胞機能の研究においては、T細胞がマラリア特異的であるのか、感染により非特異的に活性化されたのかを区別することは重要である。抗原エピトープが解明されていればMHCテトラマーなどを用いて特異的T細胞の解析が可能であるが、赤内型マラリア感染ではマラリア抗原に関する解析が十分に進んでいないこともあり、テトラマーのような道具は入手できない。この問題を解決するため、我々はモデル抗原として免疫学研究で頻りに用いられるOVAをマラリア原虫 *Plasmodium berghei* ANKA 株に強制発現させた組換えマラリア原虫 OVA-PbA を開発した。OVA-PbA に加えてOVAを認識するT細胞受容体（TCR）トランスジェニックマウスを用いることにより、マラリア感染における抗原特異的T細胞の動態をモニターすることが可能になった。

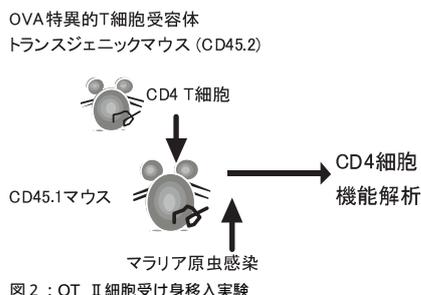
マラリア感染動物の 免疫系は修飾される。

マラリア感染 C57BL/6 マウスとコントロールの非感染マウスから各々 CD4⁺T細胞を精製し、*in vitro* でTCRに刺激を加え、サイトカイン産生を調べたところ、感染マウス CD4⁺T細胞ではIL-2産生が著名に低下していたが、一方でIFN γ 、IL-4、IL-10などのエフェクターサイトカイン産生は著名に上昇していた。また、こ

これらのサイトカインを産生するのは主に CD62L^{hi}CD44^{hi} の記憶・エフェクター細胞であった。

感染動物の CD4⁺T 細胞は、 抗原非特異的に IFN- γ を産生する。

感染マウスで IFN γ を産生する CD4⁺T 細胞が原虫特異的 T 細胞であるのか否かを調べるために、OVA-PbA を用いた (図 2) OVA 特異的トランスジェニックマウス OT II の CD4⁺T 細胞を受け身移入したマウスに OVA-PbA 或いは野性型 PbA を感染させ、原虫血症上昇後 CD4⁺T 細胞の OVA に対する IFN γ 産生反応を調べた。



予想されたように、感染マウス CD4⁺T 細胞は OVA 刺激に対して高レベルの IFN γ 産生を示した。しかしながら驚いたことに、野性型 PbA 感染マウスの CD4⁺T 細胞も OVA に対して高 IFN γ 産生を示した。さらに細胞内サイトカイン染色により、IFN γ 産生を示す細胞は移入した OT II 細胞自身ではなく、宿主 CD4⁺T 細胞であることが明らかになった。また、OT II 移入感染マウスから OT II 細胞と宿主 CD4⁺T 細胞をソーティングにより精製分離した細胞を用いて OVA で刺激する実験を行った結果、IFN γ 産生には感染マウス CD4⁺T 細胞と OT II 細胞の共同作業が必要であることが明らかになった。

感染動物の CD4⁺T 細胞は、 IL 2 に反応して IFN- γ を産生する。

上記の CD4⁺T 細胞と OT II 細胞の共同作業による IFN γ 産生において、直接接触による細胞間相互作用が必要か否かについてトランスウェルプレートを用いて調

べた結果、細胞同士の直接接触は必要ではないことがわかった。そこで、OT II 細胞の産生するサイトカインが感染マウス CD4⁺T 細胞に働き IFN γ 産生を誘導すると考えられたので、樹状細胞や T 細胞の産生するサイトカインを調べたところ、IL 2 が感染マウス CD4⁺T 細胞の IFN γ 産生を誘導することが明らかになった。

非感染マウスから採取した CD4⁺T 細胞の中にも IL 2 受容体 (CD25) 発現細胞はあるが、これは主として foxp3 陽性の制御性 T 細胞である。これらの細胞は、IL 2 刺激に対して IFN γ 産生を示さなかった。一方、感染マウス CD4⁺T 細胞では、foxp3⁻CD4⁺T 細胞の約 10% に CD25 陽性細胞があり、TCR を介しての直接刺激がなくとも IL 2 刺激に対して IFN γ 、IL 4、IL 10 産生を示す。これらの結果は、抗 IL 2 受容体 (CD25) 抗体を用いたブロッキング実験でも確認された。即ち、感染マウス CD4⁺T 細胞、OT II 細胞・樹状細胞の共同による OVA 刺激に対する IFN γ 産生は、抗 CD25 抗体の添加により完全に阻止された。

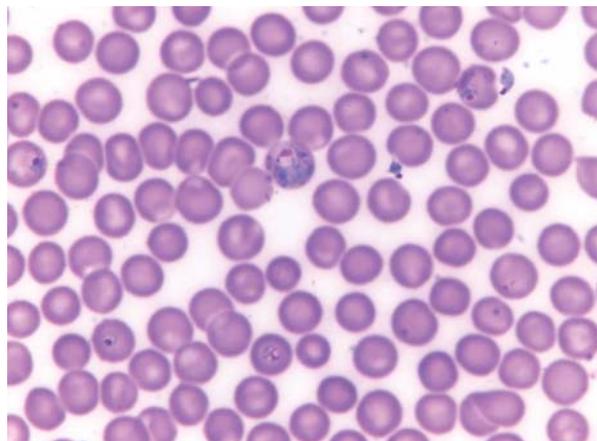


図 3 : 赤内型マラリア原虫感染

結 語

マウスマラリアの実験モデルを用いて、CD4⁺T 細胞が IL 2 依存的に IFN γ 産生することを明らかにした。マラリア感染地域では、多くの感染症が蔓延しており重複感染も多い。重複感染で活性化した T 細胞が産生する IL 2 の効果により、CD4⁺T 細胞が非特異的に IFN γ 産生し、マラリア感染病態を修飾する可能性が示された。

赤痢アメーバおよびリーシュマニアに対する感染防御機構の解明

熱帯医学研究所 寄生虫学
濱野真二郎

背景

感染症は今なお人類共通の大きな脅威であり、とくに貧困に喘ぐ熱帯地域ではその自然・社会環境と相俟って猛威を振り続けている。寄生虫疾患の特徴は、長きにわたって人々の健康を損ない、その死亡率からは窺い知れないほど甚大な社会的な損失を生み出すことにある。赤痢アメーバ症は発展途上国における小児下痢症の主要原因の1つであり、世界中の感染者人口およそ500万人、同症で毎年10万人の命が失われている。またリーシュマニア症はサシチョウバエによって媒介される原虫性疾患であり、毎年1200万人が罹患し、皮膚型、皮膚粘膜型から内蔵型リーシュマニア症（カラ・アザール）まで多様な病態を呈し多くの人々が苦しんでいる。両疾患は発展途上国の貧しい人々が罹患する風土病であり、21世紀の Neglected Diseases とも呼ばれる。ワクチンの開発や効果的な対策には、上記原虫による感染成立のメカニズムならびに同原虫に対する感染防御機構を明らかにすることが重要である。

赤痢アメーバは MyD88 依存性に炎症性サイトカインの産生を誘導することが判明！

我々は赤痢アメーバの感染モデル系を確立し同原虫の感染成立、病原性発現機構ならびに同原虫に対する感染防御機構の研究を展開している。これまでの研究から、CBA/J や C3H/HeJ、C3H/HeN など一部の系統では過半数以上のマウスで感染が成立しヒト同様の病理像が認められる一方で、C57BL/6 や BALB/c マウスなど、その他多くの系統のマウスでは原虫が腸管に定着できず感染が成立しないことを見出してきた。また両系統間の差異は主として腸管上皮細胞やムチン・腸内細菌叢などの非骨髓細胞分画の違いに起因することを明らかにして

おり、これらの知見はヒトで認められる疾患感受性の違いを解明する糸口になると考えられる。

本研究では炎症性サイトカインの産生誘導能と病原性の関連を示した。すなわち、病原性 *Entamoeba histolytica* では IL-6、TNF- α といった炎症性サイトカインの産生が誘導されたが、非病原性アメーバ *E. dispar* では誘導されなかった。一方、*E. moshkovskii* でも炎症性サイトカインの産生が誘導され、同原虫にも PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns) が存在することが示唆された。*E. moshkovskii* 認識時の炎症性サイトカインの産生パターンは、IL-6 の産生が極端に低く TNF- α 優位のサイトカイン産生が認められるなど、*E. histolytica* 認識時とは異なり、*E. moshkovskii* における PAMPs の組成が *E. histolytica* とは明らかに異なることが示唆された。次いで *E. histolytica*、*E. moshkovskii* 認識のシグナルが MyD88 依存性に伝達されることが明らかとなった（図1、未発表データ）。

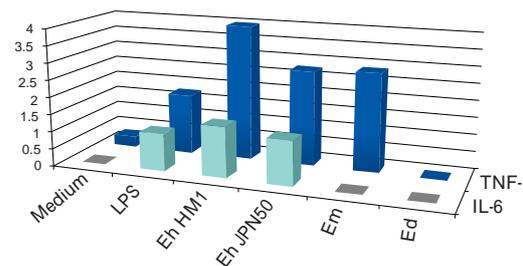


図1 各アメーバによる炎症性サイトカインの誘導

アメーバによる炎症性サイトカインの産生誘導能と腸管定着の間に関連性が認められた。

上述の3種のアメーバの腸管定着能を調べたところ、非病原性アメーバ *E. dispar* はマウス腸管内に定着できなかったが、病原性 *E. histolytica* および *E. moshkovskii* が、CBA/J マウス腸管に一定期間定着・感染し、消化

管症状を引き起こした。つまりアメーバによる炎症性サイトカインの産生誘導能と腸管定着の間に関連性が認められた。なお、*E. moshkovskii* がマウス腸管に定着し病原性を発現したという知見は世界で初めて見出されたものである（図2、未発表データ）。

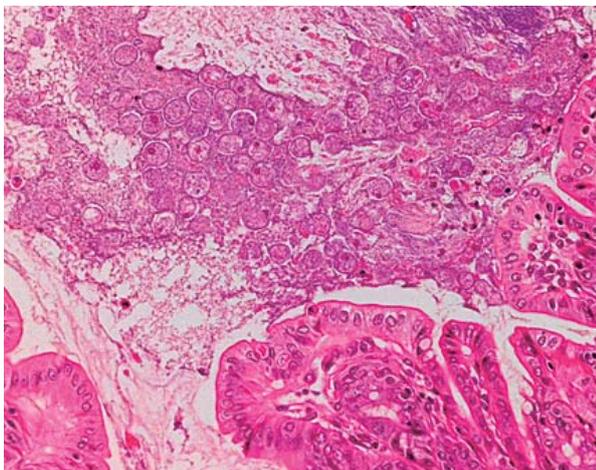


図2 *E. moshkovskii* のマウス腸管定着像

赤痢アメーバの膜型キナーゼファミリーが単一細胞あたり複数発現することを確認

赤痢アメーバに対する感染防御機構を理解するには赤痢アメーバのことを良く知ることも重要である。

ゲノム解析から赤痢アメーバには80以上の膜型キナーゼ (TMKs) ファミリー遺伝子が存在することが推定されている。我々はその発現様式を調べる目的で赤痢アメーバ1細胞を Laser Capture Microdissection (Leica Microsystems) に法より分離し(図3A 参照) PicoPure™ RNA Isolation Kit を用いて RNA を抽出し、Ovation™ Pico System (NuGEN) を用いて cDNA の作成と増幅を行い、マイクロアレイ解析を行った。その結果、赤痢アメーバ細胞1個あたり複数の TMKs が発現すること

などが示された(参考文献1)。

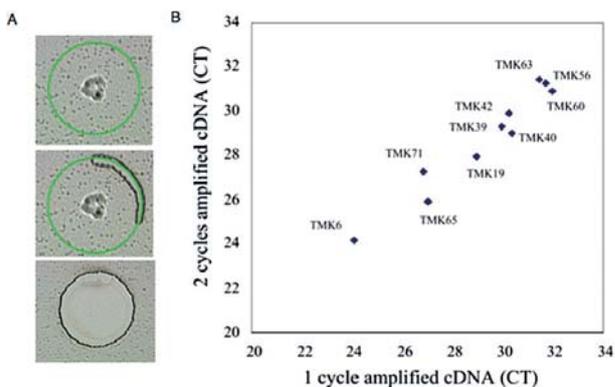


図3 赤痢アメーバ1細胞の単離と遺伝子発現確認

TMKs ファミリーの中で TMK39と TMK54に対する抗体を作成し、その発現と局在をタンパクレベルで比較した。すると図4に示すようにお互いに明瞭に異なる発現様式を示すことが明らかとなった。本研究は、赤痢アメーバ (TMKs) 分子の病原性発現に果たす役割を研究する上での端緒を掴んだものである(参考文献1)。

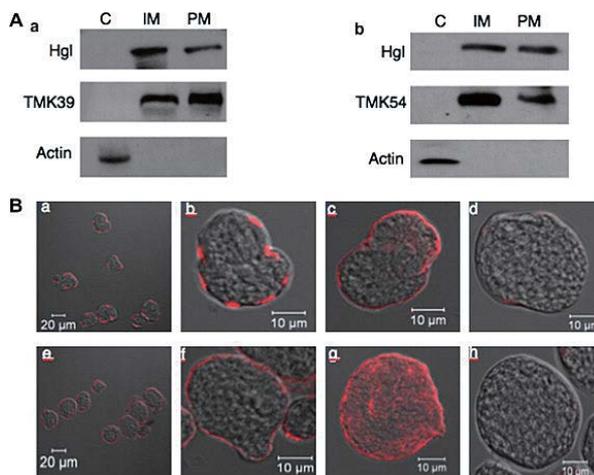


図4 赤痢アメーバにおける TMK39と54の発現

リーシュマニア症に関する研究

基礎研究、フィールド研究共にまだまとまった結果を出すに至っていない。

この研究の発表

論文 は GCOE の明記があるもの

1) Buss, S.N., Hamano, S., Vidrich, A., Evans, C., Zhang, Y., Crasta, O.R., Sobral, B.W., Gilchrist, C.A., Petri, W.A. Jr.: Members of the *Entamoeba histolytica* transmembrane kinase family play non-redundant roles in growth and phagocytosis. *Int J Parasitol.* 2010; 40 (7): 833-843.

熱帯地域の新興ウイルスの調査と迅速検出法の開発

熱帯医学研究所 ウイルス学
森田公一

背景

近年、新しく出現したウイルスによる突発的な流行が発生し世界的なレベルで健康、経済活動に大きな影響を与えている。2009年にブタ由来のインフルエンザウイルスのパンデミックが発生したことは記憶に新しいところである。熱帯地域の開発が加速し、ヒトや物の大量、広範囲な移動が拡大している今日、病原体となりうる微生物を事前に調査してヒト社会への感染リスクを評価したり、迅速で高感度な診断方法を開発しておくことは重要である。この研究ではアジアやアフリカで野生のコウモリや鳥、蚊などに生息しているウイルスを調査するとともに網羅的な検出技術や高感度な特異的検出技術を開発することを目的としている。

ベトナムのコウモリにおけるニパウイルス、SARS ウイルスの抗体保有状況の調査

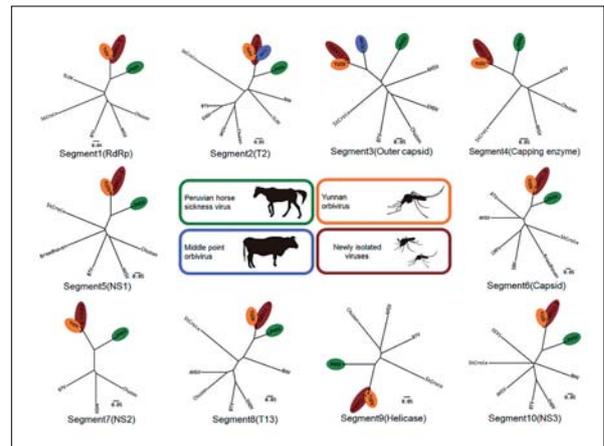
コウモリは多くのウイルスの保有動物として知られており、本研究では初年度から熱帯雨林に生息するコウモリの調査を実施している。2008年度に引き続き2009年度にも長崎大学ベトナム拠点において収集した種々のコウモリから血液を採取して一部のコウモリの血清中にニパウイルス、SARS ウイルスに対する抗体が存在することを明らかにした。さらに本年は陽性コウモリ生息地域のヒトの調査も実施した。患者は出ていないものの抗体陽性者がいることが明らかになり、現在ウイルス分離と遺伝子検出を実施している。

蚊と共生する新規病原ウイルス調査

これまでに、フィリピン、ベトナムにおける蚊からは大変希少なウイルスや未知のウイルスを分離した。平成20年度にはベトナムでバンナウイルスの初めての分離を報告したが、本年はフィリピンで初めて我々が分離したコンナンウイルスの遺伝子解析を実施した(図1)。こ

のウイルスは稀なウイルスで中国の雲南省で蚊から分離されて以来、分離の報告はない。このウイルスはレオウイルス科オルビウイルス属に分類され10個の遺伝子節節を持つ。この解析によりフィリピンで分離されたウイルスは中国で分離されたものと極めて近い関係にあることが明らかになった。このウイルスは、ヒトへの病原性や自然界での宿主など不明のことが多く今後アジアにおける詳細な分布を調査する一方で、ヒトの病原体としての重要度を調査する予定である。また、コンナンウイルスの迅速な血清診断法、遺伝子検出系も合わせて開発した。

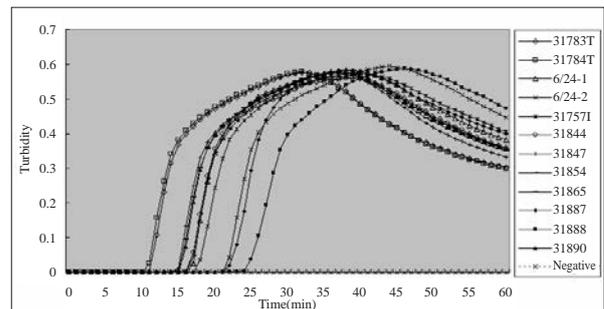
図1：コンナンウイルスの系統樹解析。赤がフィリピンで分離されたもので、オレンジが中国の株。緑と紫はコンナンウイルスに近縁な牛や馬のオルビウイルス。



LAMP 法を利用した特異的で高感度な迅速病原体検出法の開発

LAMP 法は我が国で開発された迅速、簡便な遺伝子

図2：平成21年にメキシコから発生したブタ由来新型インフルエンザ A(H1N1) 遺伝子を迅速に検出する RT-LAMP 法の開発により素早い診断が可能となった。10コピーまで検出できる。(業績3)



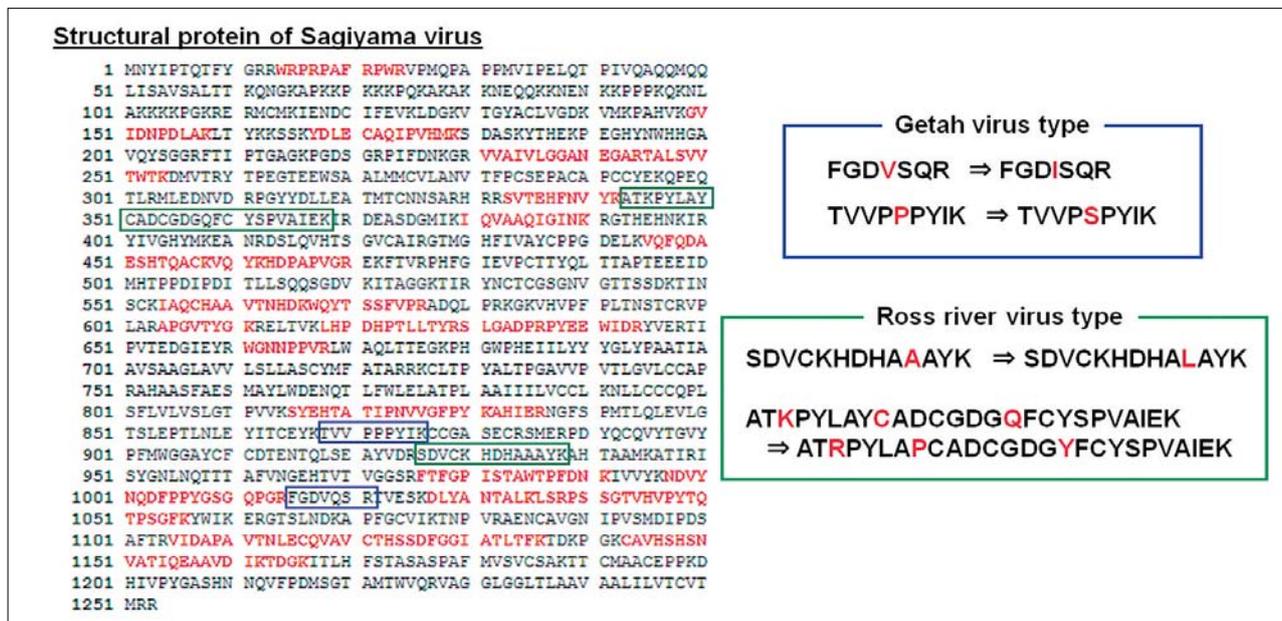
増幅技術である。本研究ではこの手法による種々の新興感染症を迅速に検出する技術も合わせて開発している（文献1、3）。特に平成21年度は40年ぶりの新型インフルエンザのパンデミックが発生し、いち早くこの病原体に対するLAMP法を開発した。（図2）

プロテオーム解析を応用した 網羅的・迅速病原体解析法の開発

熱帯の自然動物のなかには何千、何万という種類の病原体となりうる微生物が生息している。本研究においてもすでに自然界の動物から多数の同定困難なウイルスが分離されているが同定が困難であった。これは1つ1つの分離ウイルスに対して1つ1つの候補ウイルスの検査

をしてゆく作業が必要だからに他ならない。また従来の1つ1つ同定する特異的検査作業は多くの時間と労力を必要とするのみならず、稀な微生物については同定できないことしばしば経験された。この問題を解決するため、本研究ではnCL/MSを用いた質量分析によるプロテオーム解析手法を応用した網羅的な同定手法の確立をめざしている。平成20年度に開発した方法により、アルボウイルスを網羅的に同定する手法を確立し報告した。（業績4）図3のようにnLC/MSを用いて、アルファウイルス属に分類されるサギヤマウイルスも感染細胞培養液をそのまま解析して、1日以内にウイルスの同定が可能となった。また従来法と比較してウイルス特異的な試薬は一切必要なくランニングコストが極めて安価であるのも本手法の特徴である。

図3：nLC/MS解析によりアルボウイルスの1つであるサギヤマウイルスも1日で同定できる。左赤字部分が同定されたウイルスペプチド（業績4）



この研究の発表

論文

1. Le Roux CA, Kubo T, Grobelaar AA, van Vuren PJ, Weyer J, Nel LH, Swanepoel R, Morita K, Paweska JT. Development and evaluation of a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Rift Valley fever virus in clinical specimens. J Clin Microbiol. Mar; 47(3): 645-51. 2009.
2. Dong Tu Nguyen, Tuan Cuong Ngo, Huy Hoang Tran, Thi Phuong Lan Nguyen, Binh Minh Nguyen, Kouichi Morita and Masahiko Ehara. Two different mechanisms of ampicillin resistance operating in strains of Vibrio cholerae O1 independent of resistance genes. FEMS Microbiology Letters. Vol.298: 37-43, 2009.
3. Kubo T, Agoh M, Mai le Q, Fukushima K, Nishimura H, Yamaguchi A, Hirano M, Yoshikawa A, Hasebe F, Kohno S, Morita K. Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for detection of pandemic (H1N1)2009 virus as a novel molecular method for diagnosis of pandemic influenza in resource-limited settings. J Clin Microbiol. Vol.48(3): 728-35. 2010
4. Kenta Okamotoa, Yushirou Endoa, Shingo Inouea, Takeshi Nabeshimaa, Phan Thi Ngab, Posadas H. Guillermoa, Fuxun Yua, Do Phuong Loanb, Bui Minh Trangb, Filipinas F. Natividadc, Futoshi Hasebea, Kouichi Morita. Development of a rapid and comprehensive proteomics-based arboviruses detection system. J. Virological Methods, 2010 in Press.

熱帯地域のアルボウイルスの疫学的調査と病原性の解明

熱帯医学研究所 ウイルス学
森田公一

背景

熱帯地域では蚊などの昆虫で媒介されるウイルス（アルボウイルス）による感染症が猛威をふるっており、日本人も旅行者や現地に赴任した人々が被害にあっている。また、近年進行している地球温暖化により日本を含む温帯地域にも熱帯の蚊が侵入して流行地域の拡大が危惧されている。さらに本研究で昨年明らかにしたように、一部のアルボウイルスは自然界において頻りに長距離を移動していることが明らかになってきており、アルボウイルス感染症は熱帯地域のみならず他の温帯地域でも保健衛生上の問題として重要な課題となっている。この研究においては熱帯地域で重要なアルボウイルスの分子疫学を主とした疫学調査を実施するとともにウイルスの病原性に係る分子基盤を解明することを目的としている。

日本脳炎ウイルスの移動

WHOの推計によると東南アジアでは毎年2万人をこえる日本脳炎患者が発生しており、最重要のウイルス性脳炎とされている。わが国では1960年代まで毎年数千名の患者発生を見たが、最近ではワクチンの普及や媒介蚊の減少により年間10名以下の患者発生にとどまっている。しかし毎年、夏になると関東以南の地域ではコガタアカイエカからウイルスが分離され、また増幅動物であるブタにも感染していることが抗体調査で分かっており、日本でも依然として感染リスクは存在すると思われる。日本で毎年夏に出現する日本脳炎ウイルスは冬には完全に姿を消すので、その起源については従来から飛來說、と土着説（あるいは越冬説）とが唱えられてきた。すなわち、毎年初夏にウイルスの常在地である東南アジアからウイルスが何らかのルートで日本本土に運ばれるとする説が飛來說、冬の間ウイルスが自然界のどこかに越冬し初夏に再び出現するとするのが土着説である。平成20年

度に本研究グループはベトナムや日本で日本脳炎ウイルスを分離し、中国で分離されたウイルスを加えて遺伝子の塩基配列を解析したところ、一部は日本国内において土着しているものの、最近アジアで分離された遺伝子型1型の多くが頻りに中国を經由して日本に飛来していることが明らかになった（業績1）。言い換えれば東南アジアで患者を発生させている日本脳炎ウイルスが日本に飛来しているのである。平成21年度の研究ではさらに解析を東南アジア全域に広げて1型ウイルスの解析を実施

図1：日本脳炎ウイルス遺伝子1型は1 Aと1 Bのグループにわかれており、1 Aグループが西から東へ継続的に移動している。（業績6より）

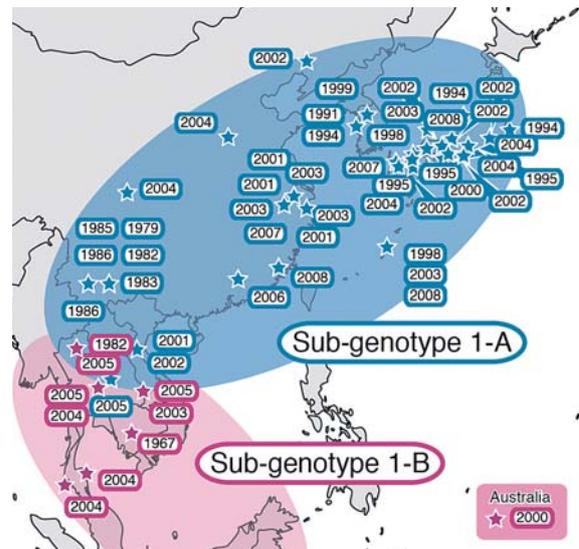
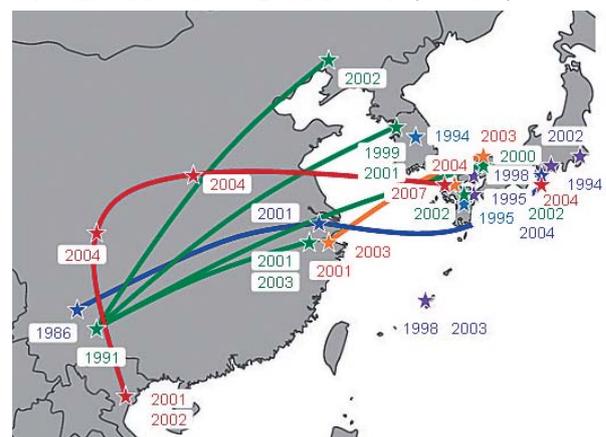


図2：日本脳炎ウイルスの長距離移動：遺伝子型1 A型のウイルスの一部は頻りにかつ高速に西から東へと1方向性の移動をしている。（業績1より）

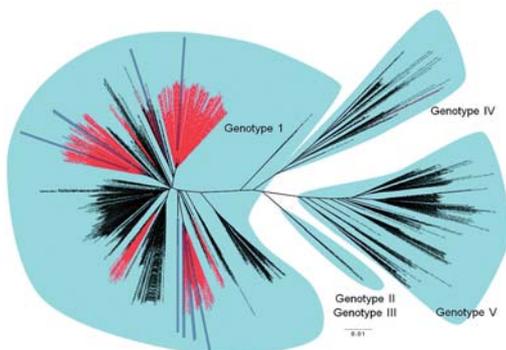


した。その結果、1型ウイルスは大きく2つのグループ（1Aと1B）に分かれることが明確になった。さらに興味深いことに西から東へ移動しているのは今のところ1Aのグループのみである。東南アジアでは両者は混在しているのになぜ1A型のみが長距離を移動しているのか？現在、調査研究を継続している。

デングウイルスの分子疫学

デングウイルス感染症はWHOの推計によると年間、2000万人を超える感染者が発生しているとされ、アルボウイルス感染では最大の被害を発生させている。このウイルスは交通の発達や都市化によりウイルスの変化や移動がはなはだしい。病原性の変化や分子解析のため研究初年度からアジア各国で患者からウイルスの分離を実施して遺伝子レベルでの解析をおこなっている。現在までにたとえばベトナムにおいて流行しているデングウイルス1型は遺伝子型1型の5グループによる流行が繰り返

図3：ベトナムで分離されたデングウイルス1型の系統樹解析結果



NJ tree of Dengue virus 1(E region), 1743 strains

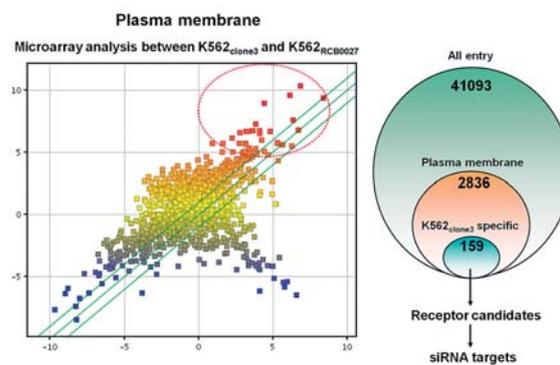
返されていることが分かり、流行状況や病原性との関連を調査している。

デングウイルス受容体の解析

デングウイルス感染では比較的軽症のデング熱と重症のデング出血熱が発症するがその原因として、1)免疫学的機序、2)ウイルス因子、3)ヒトの遺伝的素因が挙げられる。本研究ではデングウイルスの多様性に着目し分離したウイルスの性状を解析している。昨年報告したB細胞系に感染するデングウイルスが利用する細胞表面のウイルス受容体については新規の糖蛋白が受容体であることをつきとめた。(現在投稿準備中)デングウイルスが感染するヒト細胞の多様性とその種類が明らかにされることで、出血熱の発症メカニズムを理解する一助となると考え研究を進めている。

図4：マイクロアレイを用いた細胞側の受容体の探索

Microarray analysis between unsusceptible K562_{rcb0027} and susceptible K562_{clone3}



この研究の発表

論文

1. Takeshi Nabeshima, Hyunh Thi Kim Loan, Shingo Inoue, Makoto Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta, Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huong, Maria del Carmen Parquet, Futoshi Hasebe, and Kouichi Morita. Evidence of frequent introductions of Japanese encephalitis virus from south-east Asia and continental east Asia to Japan. *J Gen Virol*. Vol.90: 827-832. 2009
2. Kinoshita H, Mathenge EG, Hung NT, Huong VT, Kumatori A, Yu F, Parquet MC, Inoue S, Matias RR, Natividad FF, Morita K, Hasebe F. Isolation and characterization of two phenotypically distinct dengue type-2 virus isolates from the same dengue hemorrhagic Fever patient. *Jpn J Infect Dis*. Vol.62(5): 343-50. 2009.
3. Morita K. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis in East Asia. *Vaccine*. Vol.27: 7131-7132, 2009.
4. Inoue S., Alonzo M., Kurosawa Y., Reyes J. Dimaano E., Alera M., Saito M., Oishi K., Hasebe F., Matias R., Natividad F. and Morita K. Evaluation of a dengue IgG-indirect ELISA and a Japanese encephalitis IgG-indirect ELISA for diagnosis of secondary dengue virus infection. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* Vol.10(2): 143-150, Mar 2010.
5. Nabeshima T. and Morita K. Phylogeographic analysis of the migration of Japanese encephalitis virus in Asia. *Future Virology* Vol.5 (3): 343-355, 2010.

ヒト型抗体を用いた新出現ウイルスに対する治療用製剤の開発に関する研究

熱帯医学研究所 病原体解析部門

山城 哲

背景

日本国内における新型インフルエンザ (A/H1N1) 患者の最初の症例が報告されて1年が経過した。我が国ではH22年第10週までの推定患者は2,000万人を超え、インフルエンザの流行では過去20年で最大規模のものとなった。詳細な疫学研究が待たれるものの、学校閉鎖、個人レベルの対策 (咳エチケット、手洗い等)、抗ウイルス薬の早期投与による2次感染の低減など複合的な対策は、患者数の急激で大規模な増加の抑制・緩和にある一定の効果があったとされる (新型インフルエンザ (A/H1N1) 対策総括会議、厚労省HP)。我が国におけるH22年3月末時点での新型インフルエンザ (A/H1N1) による死亡率 (人口10万対) は約0.15で主要先進国中最も低い物であった (新型インフルエンザ (A/H1N1) 対策総括会議、厚労省HP)。一方、アジアやアフリカの一部の国には高病原性鳥インフルエンザウイルスH5N1の家禽における流行がみられ、ヒトへの感染も散発的に報告される中、ヒト間での流行株の出現を注視する必要がある。ベトナムでは2003年の最初の報告から2010年5月までに119名のH5N1感染症確定患者があり、そのうち59人が死亡の転機をとっている。一般的なインフルエンザ治療薬として塩酸アマンタジン (シンメトレル)、リン酸オセルタミビル (タミフル)、ザナミビル (リレンザ) があり、またインフルエンザH5N1ワクチンは国内でも承認を受けている (平成19年現在)。抗体医薬研究は近年盛んであり疾患特異的に効果を発揮しまた副作用が少ない点が期待されている。我々の研究班は新出現ウイルス感染症、特にヒトにおけるインフルエンザH5N1感染症に予防または治療効果を示し将来的に臨床応用可能な抗体製剤の開発を目指している。

ベトナムにおいて インフルエンザウイルス H5N1株の変化が見られる

同じH5N1亜型に属していてもHAの塩基配列により更に細分される。2003年から2007年までにベトナム国内で報告されたヒトにおけるH5N1感染症患者からはクレード1型に属する株が分離されたが、2007年後半以降の患者からはクレード2型 (2.3.4) が分離されるようになった。我々のデータではクレード2型のH5N1株に感染した患者血清はクレード1型のH5N1株による赤血球凝集を阻止できない事が分かった。これはつまりH5N1クレード1型用に作成した中和抗体は、H5N1クレード2型には中和活性を示さないかもしくは著しく低下する可能性がある。平成20年度に我々は倫理委員会の承認を得た後説明と同意のもとにH5N1クレード2型感染生還者ボランティアから末梢血リンパ球の提供を受けヒトFabライブラリー (H5N1ヒトFabライブラリー) を構築した。ライブラリーにはH5N1中和抗体発現遺伝子が豊富に含まれると推定された。また我々はH5N1クレード2型粒子を精製しそこからHAを豊富に含む画分を抽出した。HAは中和抗体の誘導に関与するとされるウイルスタンパクである。

H5N1クレード2型に対し 中和活性をもつヒトFab産生 クローンを分離した。

ファージディスプレイ法で抽出HA画分に結合するヒトFab抗体を発現するファージ濃縮した後、ELISA法で10クローン選別した。10クローンのうち5クローンについて大腸菌を用いて大量にヒトFabを発現させた後、カラムを用いてFabを精製した。5種類の精製Fab抗体を米国CDCが推奨する中和活性測定法 (in vitro)

を用いて、H5N1クレード2型に対する中和活性を測定した。

5種類の精製ヒト Fab のうち3種がH5N1クレード2型に対する中和活性を示した。残りの2種の Fab 抗体、および本研究とは関連性の無い精製ヒト Fab 抗体は同ウイルスに対して中和活性は示さなかった。現在詳細な検討を行っている。H5N1クレード2型株に対して中和活性を有するヒト Fab を発現する遺伝子の塩基配列を検討した処、中和を示す3つのクローンとも長鎖部分、短鎖部分はそれぞれ同じグループに属する事が示された。一方H5N1クレード2型株を中和しない2種のヒト Fab の同部分の塩基配列は上記とは大きく異なるものであった。

今後の研究計画

H5N1クレード2型株ビリオンに強く結合する精製出来た5種のヒト Fab のうち、3種が同ウイルス株を *in vitro* で中和する事が示された。その Fab は長鎖、短鎖部分の塩基配列が同じグループに属する事が示された。今後の計画として、1) 残りの5種の未精製ヒト Fab クローンによる検討を同様に行う事、2) H5N1クレード2型株中和活性を動物モデルを用いて感染予防、治療効果の両面から検討する事、3) 中和 Fab を完全型 IgG に変換し同様に H5N1 に対する中和活性を検討する事、4) H5N1 の他のクレード型ウイルスに対する中和活性を検討する事、5) 新たな中和抗体の選別を行う事、等があげられる。

図の説明

図1：大量培養後精製したH5N1クレード2型ウイルス VN / 31244株
 図2：H5N1クレード2型株に対し中和活性を有するヒト Fab 抗体の精製過程。大腸菌培養液 1L から約 1mg の精製 Fab 抗体が取れる。
 図3：H5N1クレード2型株に対し中和活性を示すヒト Fab 抗体。レーン1、陰性コントロール(ウサギ前血清)；レーン2、陽性コントロール(hyper immune rabbit serum)；レーン3、中和活性を有するヒト Fab 抗体。ウイルスが増殖するとその抗原が黄色く染色される。ウイルスが中和され増殖出来ないと透明なウエルのまとなる。

この研究の発表

論文

- 1) Takakuwa H, Yamashiro T, Le MQ, Phuong LS, Ozaki H, Tsunekuni R, Usui T, Ito H, Yamaguchi T, Ito T, Murase T, Ono E, Otsuki K. Possible circulation of H5N1 avian influenza viruses in healthy ducks on farms in northern Vietnam. *Microbiol. Immunol.* 54: 58-62, 2009.

図1

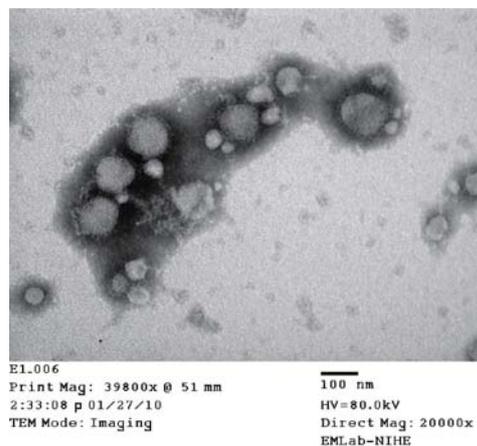


図2

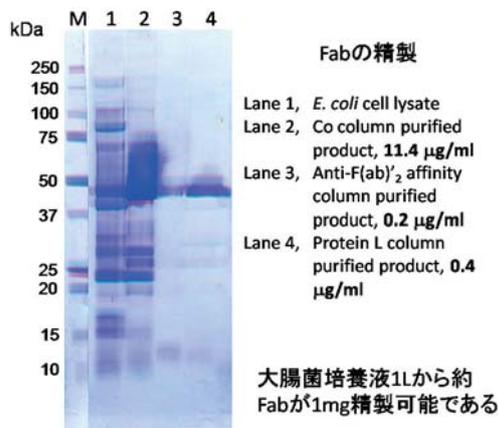
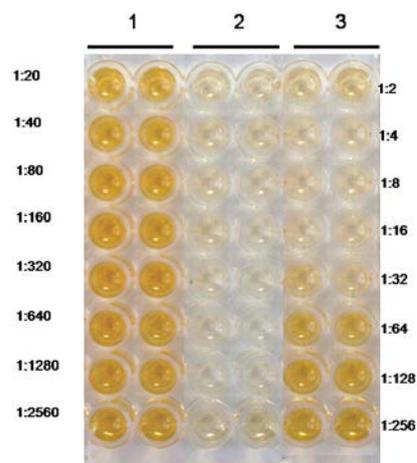


図3



スバ・コホートを利用したマラリア媒介蚊と感染の制御研究

長崎大学熱帯医学研究所 病害動物学
皆川 昇

背景

マラリア対策として殺虫剤付きの蚊帳の配布が進み、その効果が報告され始めたが、媒介蚊による殺虫剤抵抗性も報告されており、蚊帳だけでマラリアをなくすことは困難である。また、治療薬としてアーテスネートを含んだ合剤の普及も進んでいるが、組織的にかつ広範囲に治療を行わなければその効果も一過性である。

媒介蚊の移動は繁殖地近辺に限られているため、移動の激しい人間の体内の原虫を制御の対象にするよりも蚊を対象にする方が効率がよいという説もある。さらに、蚊は成虫になり拡散するので、人間から感染させられる前の幼虫の段階で対処した方が効率よいことはモデルにより示されている。しかし、アフリカのマラリア媒介蚊の繁殖地は多様で、種によっては小さな水たまりに繁殖することから数も多く、一つ一つの繁殖地に対応するのは難しいなど問題もある。よって、原虫、ホスト、媒介者の全てを対策の対象に含めた包括的な方法も提唱されている。

本研究では、これらの背景を考慮して、マラリア媒介蚊を制御するにはどのような方法が適切かを追求する。それには、現在、広く普及している蚊帳等の方法を検証するとともに、まだ、不明な点が多いアフリカのマラリア媒介蚊の生態や行動の理解をさらに深め、防除に応用することを目的とする。

調査地と方法

調査地域は、西ケニア、ビクトリア湖岸沿いあり、人の死亡や移動をモニターする人口動態システムを展開している。これにより広域にわたるコホート研究と制御法の評価が可能である。基礎データの収集のため蚊の繁殖地と家屋内の蚊の密度、蚊と幼児の感染調査を定期的に行っている。また、蚊帳の普及・使用状況などの情報も随時収集し分析を行っている。

前年度の成果

ビクトリア湖の水位低下により湖岸沿いにラグーン状の細長い水たまりが多数出現し、それらに近い村で幼児感染率が高いことを発見した。また、その地域では屋内での蚊の密度が高く、特に主要媒介蚊であるフネスタス (*Anopheles funestus*) が他の地域に比べて多く出現する。媒介蚊の保虫率 (7 - 8%) も他の地域より高い。蚊帳の普及率や経済状況は他の地域と違いがないため、ラグーンが蚊の発生源と示唆された。

調査地域での蚊帳の普及は進んでおり、多くの家が蚊帳を2 - 3張り所有している。使用状況を調べてみると、蚊帳をシーツとして使用、暑いためにあっても使用しない、客用にとっておくなどの例が多くみられた。また、漁村では、漁網や小魚を干す道具として頻繁に使用されていた。

ビクトリア湖に移入されたホテイアオイはマラリア媒介蚊の繁殖地になるか？

近年、ビクトリア湖では、外来種のホテイアオイが繁殖し、漁船の航行を妨げたりして周辺住民の生活に大きな影響を及ぼしている。また、ホテイアオイがマラリア媒介蚊の繁殖地になり、流行につながるのではないかと懸念が長い間指摘されていたが、検証はされていなかった。

我々の調査の結果、多くの場合マラリア媒介蚊は湖内のホテイアオイで繁殖はしないことが分かった。しかし、湖岸に生えている背丈の高い湿生植物や木によって波から守られているホテイアオイの集団にはフネスタスが繁殖していることが確認できた。また、マイナーな媒介蚊2種も繁殖していることが確認できた。よって、蚊を制御する上で、湖内の繁殖地としては、湿生植物や木によって波から保護されているホテイアオイに注視すればよい

ことが分かった。

蚊帳の普及でマラリア媒介蚊の種構成に変化？

蚊帳が普及することにより、アフリカの主要マラリア媒介蚊の種構成が変わるといふ仮説が提唱されている。ガンビエ (*An. gambiae*) の成虫は、人嗜好性が強く、家屋内に主に生息している。一方、近縁種のアラビエンシス (*An. arabiensis*) は、比較的動物嗜好性が強い。よって、蚊帳の普及によって、ガンビエが減り、相対的にアラビエンシスの割合が高まるということである。さらに、感染場所は、屋内よりも屋外が重要になる可能性が高い。

我々の調査地で10年前のデータと比較したところ、多くの地域でガンビエの割合が急激に減少していることが明らかになった。しかし、一部、ビクトリア湖内の島では、いまだにガンビエの比率が高いところがあることも明らかになった。また、蚊の密度は全体的に10年前と比べ減っていることも分かった。

子供の蚊帳の使用が低いのはなぜか？

蚊帳の使用状況に関する調査も前年度から継続しており、蚊帳の使用は、5 - 15歳の子供が、大人や幼児に比べて非常に低いことが明らかになった。同様の現象が他の研究でも報告されているが、その要因として、蚊帳は幼児と妊婦に優先的に配られているため子供の使用率が低いとされていた。しかし、我々の調査地では、蚊帳が十分に普及しており、蚊帳が足りないために子供の使用率が低いという説明はなりたたなかった。

詳しい調査の結果、子供の多くは居間の床で寝ており、蚊帳の使用率が低いこと、また、ベットで寝ている子供とベットがなくとも寝室で寝ている子供の使用率は

高いことが分かった。これらのことから、居間は蚊帳が吊るしにくい、また、朝に蚊帳を取り外さなければならぬため、その煩雑さが蚊帳の使用率を下げていることが示唆された。

今後の計画

ホテアオイに繁殖しているフネスタスが実際に近隣村落のマラリア感染リスクを高めているかを検証する。検証には、定期的なモニタリングから得られ蚊の密度、保虫率、幼児感染率のデータをホテアオイがみられない地域と比較しながら分析を行う。

マラリア媒介蚊の種構成変化が、蚊帳の普及によるのか、また、気候変化などの他の要因なのかを探る。また、この現象が他の地域でも起きているのかを確かめるため、ケニア各地から採集された蚊の分析を進める。

前年度に発見されたビクトリア湖岸のラグーンが実際にマラリア媒介蚊の主要な繁殖地になっているか、それが、近隣の村の住人のマラリア感染リスクを高めているかを検証するとともに、メカニズムを明らかにする。

図1：湖内に植えられた木に囲まれたホテアオイ。アフリカの主要媒介蚊であるフネスタスの繁殖が確認された。木は、カバが湖から畑へ侵入するのを防ぐために植えられている。



この研究からの成果

ポスター発表

- 1) Minakawa N, Sonye G, Dida G and Futami K. Breeding habitats for malaria vectors associated with a lake. The 58th Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2009. Washington DC, USA.
- 2) Dida G, Sonye G, Futami K, and Minakawa N. Bed net coverage and usage in fishing villages in Suba district, Western Kenya. The 58th Annual Meeting of American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2009. Washington DC, USA.

地域住民参加によるマラリアの実態把握と予防に関する社会技術開発研究

熱帯医学研究所 生態疫学

金子 聰

背景

疾病を集団もしくは地域として捉え、予防対策を実施・評価してゆくためには、その集団・地域の特性を正確に捉え、時間を追ってその変遷ならびに疾病罹患の変化を把握・監視する必要がある。疾病予防の社会技術開発研究を推進するためには、地域に住む“人々の暮らし”、“疾病状況の把握”を可能とする仕組みを整えることが第一歩となる。長崎大学ケニア研究教育拠点では、西ケニアのビクトリア湖畔にある Mbita 県において、人口、出生、死亡、移動を把握する仕組みを構築し、地域に居住する約5万人の住民すべてを登録、その動向を定期的に更新している。その仕組みを Health and Demographic Surveillance System (HDSS) と呼ぶ。社会技術開発研究のみならず、地域を対象としたあらゆる健康・保健・医療に関する研究の基盤（プラットフォーム）となる仕組みである。

我が国で初めて 世界に認められた HDSS

2009年10月、我々の HDSS が世界的な HDSS の集まりである INDEPTH 協議会 (The International Network for the continuous Demographic Evaluation of Populations and Their Health in developing countries) への正式加入が認められた。INDEPTH 協議会は、個別に独立して運用されている HDSS が一つのグループとして世界的な地域保健研究を推進する事を目的に設立された団体で、アフリカ、アジア、オセアニアの19カ国、37地域の HDSS がこの協議会に参加している¹。ビル&メリング・ゲーツ財団、英国国際開発相 (DFID)、ロックフェラー財団、ヒューレット財団、スウェーデン国際開発協力庁、ウェルカム・トラスト、世界保健機関 (WHO)

¹ HDSS を運用している“地域”として登録される。長崎大学ケニア研究教育拠点で運用している HDSS は、Mbita HDSS として、INDEPTH に加入している。

がその運営や世界中の HDSS を連携させて行う地域保健研究プロジェクトの支援を行っている。

加入条件は、ある一定以上の地域人口（3万人以上）を把握すること、人口情報を定期的に情報を更新すること、死亡原因の特定調査も行っていること（聞き取り調査からの死亡診断）、データの品質管理、基礎データ（出生率、年齢階級別の死亡率、5歳未満死亡、1歳未満死亡、死亡原因別死亡率等）の基礎統計データの中央事務局への提供等となっている。これまで我が国の研究機関・団体が主催する HDSS で INDEPTH 協議会に加入したものはなく、我が国で初めて世界的に認められた“国産”の HDSS であると言える。

HDSS を基盤とした 研究と実践の展開

地域を対象とした研究を長期にわたり継続する場合、研究活動を行っているだけでは、研究の維持が困難になる。そこには住民からの協力と理解が必要である。協力と理解を得るためには、住民が何らかの“意義”を理解する、もしくは、何らかの“還元”が無いと協力を得ることが出来ない。さらに、研究を展開するに当たり、HDSS だけでは収集できない健康関連情報の“情報ソース”づくり、すなわち、保健医療機関における“診療情報”管理の仕組みの整備が重要である。これらの観点から、国際協力事業団 (JICA) と長崎大学により地域への草の根支援と保健医療施設の強化を目指した取り組みを始めた。草の根技術協力事業がそれである。本事業は、2009年1月より開始され、地域の保健医療活動の支援を目的としている。これまでに、HDSS 地域の5つの保健センターの整備を行い、それまで電気の無かった医療施設に、太陽発電パネルを設置し、それに伴い、夜間診療活動も開始された。電気が整備されたことにより、この保健センターを活用し、地域に根ざした研究活動の展開がさらに容易になった。あわせて、情報機能の強化を目指し、保健医療情報網の整備を行う事を計画してい

る。一方、医療施設の整備が進んだとしても、地域住民が医療施設を受診するためにはある程度の経済的余裕が必要である。このような観点から、JICA 草の根事業では、地域の複数の NGO に対して、無担保ローンの貸し付けプログラムを行っている。マイクロファイナンスに近い形の運用であり、資金援助を得た NGO が、その基金を元手に収入を上げ、貸し付け分を返還するという仕組みである。この仕組みから、地域への健康教育プログラムに必要な資金を生み出す仕組みの研究も行っている。このように、HDSS とその基盤に載せる研究、さらには地域への支援実践プログラムを同時に展開し、お互いが相補的な関係を保ちつつ、地域の発展と保健指標改善の研究を大規模に行っている。

さらに、長崎大学ケニア研究教育拠点のこのような活動が評価され、在ケニア日本大使館の草の根・人間の安全保障基金無償資金協力による Mbita 県立病院の臨床検査室整備計画も採択された。2010年度に同病院の検査室整備を行う予定である。

また、地域の行政関係者との協力関係も強化している。Mbita 県保健医療担当者とも定期的な会合を持ちつつ、行政と共に新しい研究の展開を目指している。このように、地域全体を社会技術開発研究のための巨大な実験装置となぞらえると、今後、実験を実施・展開して行くための基盤が整いつつあると言える。

マラリア対策の実践と実験室との連携

マラリアの高流行地の住民は、遺伝子の異なる多種類の熱帯熱マラリア原虫に感染していることが報告されており、また、そのことにより重篤なマラリアを発症しにくいことも報告されている。つまり、多重に熱帯熱マラリアに観戦することにより完全にマラリア原虫を排除するわけでもなく、症状を呈するわけでもない「半感染・半免疫状態」に保たれ、重篤マラリアへの移行を防ぐとともに、マラリアの感染の鎖が断ち切れないような状態を保っている。現在、マラリア対策の一環として、妊産婦、5歳未満児のいる家庭に殺虫剤浸透済みの蚊帳が配布されている。しかし、HDSS の調査結果からは、5歳以降20歳までの人口の蚊帳使用率が低いことが明らかになった。この世代が無症状の「半感染・半免疫状態」である場合、マラリア感染の鎖を断ち切れなくする役割を果たし、対策の阻害をしている可能性が高い。この世

代のマラリアの保有率についても、今後調査する必要がある。また、妊婦に対して行われる「マラリアに対する間欠予防治療 (intermittent preventive treatment for pregnant women: IPT) で用いられる Sulphadoxine Pyrimethamine (SP) 剤の薬剤有効性にも注目している。

巨大な実験室である “フィールド” の有効活用

このように、情報の宝庫であるはずの巨大な実験室である “フィールド” を有効に生かすための接着剤的活動を行いつつ、その中での社会学的・疫学的研究と遺伝子レベルで実態の把握を目指す研究の連携強化をフィールド研究班 (ケニア) では、推進している。

図の説明

図1：長崎大学ケニア研究教育拠点 Mbita HDSS におけるの性別5歳階級別人口ピラミッド (2009年)：HDSS システムデータより集計。

図2：同地域における性別年齢階級別死亡率 (2009年)。乳児の死亡率が高いことがわかる。

図1

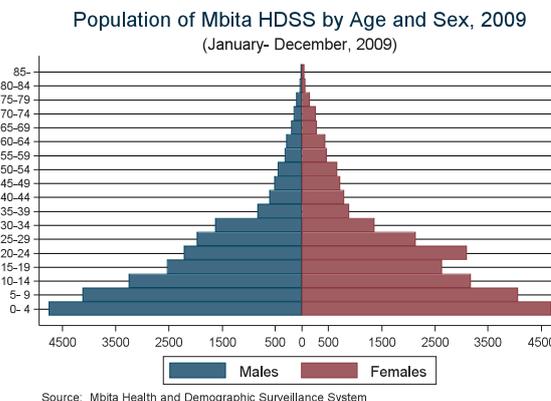
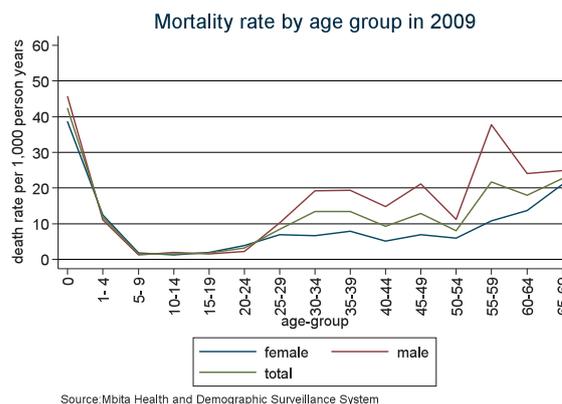


図2



生態学的感染症研究: 時間軸・空間軸のなかでの感染症理解

熱帯医学研究所 国際保健学

山本太郎

背景

フィールドを背景とした感染症研究を以下の視点で行い、感染症の自然史、時間軸、空間軸のなかでの感染症を再構築し、その自然史の理解を深めることを目的とした研究を行う。具体的には、以下の4つのユニットで行っている。

- 1) 「時間軸のなかでの感染症」を再構築し研究するユニット
- 2) 「環境や気候変動と感染症」の関係を研究するユニット
- 3) 「生態系と感染症」の関係を研究するユニット
- 4) エイズ流行の「社会的要因」に関する研究ユニット
こうした研究ユニットを貫く共通概念を、「空間軸」と「時間軸」に置く。空間的広がりや時間的広がりのなかで、感染症流行の様相を比較し、その多様性を理解する。あるいは、そうした広がりのなかにおける、微生物の遺伝的多様性を、適応・進化といった側面から理解することを目指す。感染症は、生物（微生物）と生物（宿主）の相互作用がもたらす生物学的現象の一つである。相互作用は宿主としてのヒトの文化や社会制度を含む社会構造にも大きく影響される。そうした相互作用をひとつずつ紐解いていくような研究と言い換えることもできる。

東アジアにおける HTLV 1 の 系統分化に関する知見を得た (時間軸のなかでの感染症)

HTLV 1 は塩基配列に基づき、いくつかの遺伝子型・亜群に細分されており、東アジアからはそのうち大陸横断亜群 (TC) と日本亜群 (JPN) が知られている。沖縄、台湾および北海道、樺太の HTLV 1 集積地では TC が高頻度で見られるのに対し、本土の集積地では JPN が優勢であることが散発的に報告されてきた。前年度に引き続き、九州から琉球列島、及び本土の海岸部に散在する集積地から得られたウイルス株の系統解析を進めてきた。新規データ量を追加し、解析手法を改善した結果、系統分化のパターンがより明瞭に示された。従来の RFLP に基づく分類では JPN と同定されるウイルス株は、共通祖先から多岐的に分かれるパターンを示した。つまり比較的短時間のうちに多様化したようである。一方、TC は非常に明瞭な単系統群として認められ、さらにその内部にも4つの明瞭な地域クラスターを形成することがわかった。また、解析途中ではあるが、TC

内部の平均樹長と JPN 内部の平均樹長を比べると、前者のほうが明らかに長い。これらのことは、日本に共存する2つの遺伝子型が異なる歴史的背景を持つことを示唆しており、今後、分岐年代推定などの解析手法を用いながら、HTLV 1 の進化に迫りたい。

サルT細胞白血病ウイルス1型 (STLV 1) の感染自然史に 関する知見を得た (時間軸のなかでの感染症)

HTLV 1 はサルを自然宿主とするサルT細胞白血病ウイルス1型 (STLV 1) がヒトに偶発的に感染する過程で進化してきたことが分子系統学的研究によって明らかになってきた。本研究では、野生由来のニホンザルの集団を対象に STLV 1 の感染経路、感染力、病原性を確認し、あわせて宿主の社会行動を分析することで、STLV 1 の感染自然史の解明を目指す。STLV 1 は旧世界真猿類の間で広く蔓延しており、そこから新たな HTLV 1 系統が出現し、ヒト社会に蔓延する可能性もある。本研究から得られる知見は、霊長類などの哺乳類を自然宿主とするウイルスがヒトへ宿主転換するプロセスの理解を助け、将来的には新興感染症の制御にも役立つと考えられる。2009年度より、京都大学霊長類研究所との共同研究として、野外放飼上にて飼育されている野生由来の群を対象に、分子疫学的調査を開始した。放飼前の検疫下にある「M群」に属するメス58個体の STLV 1 感染状況を調べたところ、繁殖年齢になる頃から陽性率が高まり、成体では陽性率が100%に達することが明らかとなった。この結果は、HTLV 1 とは異なり、STLV 1 の主要な感染経路が性的接触を介した水平感染であることを強く示唆している。

バングラデシュにおける気象と 下痢感染症との関係について 知見を得た (環境や気候変動と感染症)

地球温暖化は人間の健康に大きな影響を与えると考えられる。特に開発途上国において、気温や降雨量の変化はコレラなど水系感染症が増加することが危惧されている。下痢症は現在でも開発途上国における子供の死因として最も重要である。しかし、温暖化がコレラなど下痢症に対して及ぼす影響については十分な科学的評価がこ

れまでなされていなかった。

バングラデシュ国際下痢研究所 (ICDDR,B) との共同研究で、過去20年間の気象データと首都ダッカのコレラやその他の下痢症患者数のデータベースを構築し、降雨量および気温と患者数の関連を明らかにするため時系列統計解析を行った。その結果、平均降雨量および平均気温の増加によりコレラ患者数が増加することが明らかとなった。また例年雨季の前後に見られるコレラ患者数の2峰性のピークは雨季前の少雨により1峰目の患者数が増加し、雨季の雨量が多いと2峰目の患者数が増加することが明らかとなった。

これらの研究成果は、開発途上地域における地球温暖化の影響予測の精度を向上させ、世界保健機関の提唱する気象データを利用した感染症流行早期警報システム開発のための重要な基礎的データとなる点で学術的に価値があり、また社会的要請に応えるものでもある。

蚊媒介性感染症の シミュレーションモデルから 導かれる最適なコントロール方法 (生態系と感染症)

感染症の中には吸血性の節足動物が感染を媒介するものがある。マラリアやデング熱はその代表例で、それぞれ特定のグループ(属)の蚊が媒介する。これらの病気の動態は人だけでなく蚊の生態によっても大きく影響されるので、環境条件の地理的な違いや気象条件の時間的な変化に複雑な影響を受ける。このような蚊媒介性感染症の複雑な動態を理解し制御するためにはコンピュータによるシミュレーションが有用である。本プロジェクトでは蚊媒介性感染症の時間的動態と空間的変動について、それぞれデング熱とマラリアを題材に数理モデルを用いた研究を行っている。

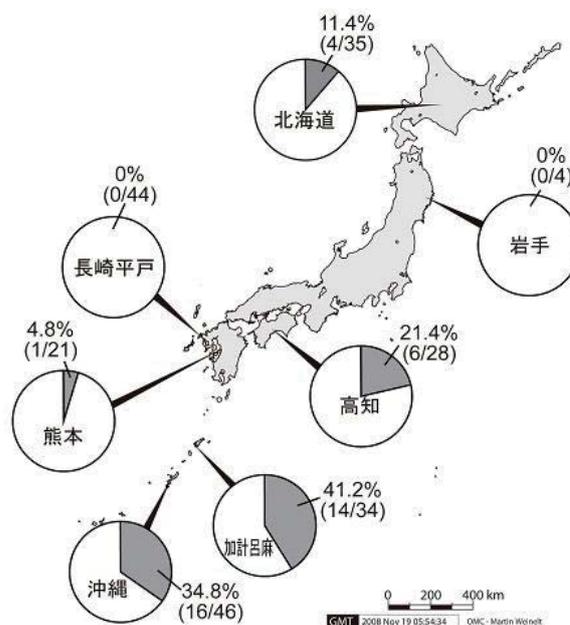
これらの研究ではまず、実際に観察された症例数の時間変化や空間分布をうまくシミュレーションで再現するような蚊の個体群の属性(発生源の数やその分布)を探る。現実をうまく再現するモデルが出来上がると、今度はシミュレーション上でそこに介入を加えて病気の発生がどのように変化するかを調べる。このようなアプローチによって、経済的コストや環境負荷を抑えながら最も

効率の高い蚊の防除方法を探っている。具体的にはデング熱発生数を減らすのに最適な殺虫剤の散布時期、マラリアを減少させるのに最適な殺虫剤処理蚊帳の配布方法について検討中である。

中国の医学生への 血液媒介感染予防のための 教育的介入の試み (エイズ流行の社会的要因)

HIVをはじめとする血液媒介性の感染症は医療現場においても感染リスクが高く効果的な予防策が望まれている。中国における医学生337人を対象に質問票を用いて感染リスクの知識調査を行い、また無作為化試験によって短期間の教育的介入が彼らの知識レベルを高めるかどうかを調べた。医学生の感染リスクおよび予防措置についての知識は概ね良好だったが、HIVの感染経路や外傷の対処方法など一部正答率の低い問題もあった。1回の講習によって有意な知識レベルの上昇は見られず、より長期的な教育的介入の必要性が示唆された。

図1: 日本各地におけるTC(灰色)とJPN(白)の比率



この研究の発表

論文 は GCOE の明記があるもの

- 1) Eguchi K, Fujii H, Otani M, Oshima K, Matsuo T, Yamamoto T. Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) Genetic Typing in Kakeroma Island, an Island at the Crossroads of the Ryukyans and Wajin in Japan, Providing Further Insights into the Origin of the Virus in Japan. *Journal of Medical Virology* 2009; 81: 1450-1456.
- 2) Oshima K, Fujii H, Eguchi K, Otani M, Matsuo T, Kondo S, Yoshiura K, Yamamoto T. A Further Insight into the Origin of Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1) in Japan, Based on the Genotyping of ABCC 11. *Tropical Medicine and Health* 2009; 37(3): 121-123.
- 3) Hashizume M, Faruque ASG, Wagatsuma Y, Hayashi T, Armstrong B. Climatic components of seasonal variation: cholera incidence in Dhaka, Bangladesh. *Epidemiology* (in press)
- 4) Zhang Z, Yamamoto T, Wu X, Moji K, Cai X, Kuroiwa C. Educational intervention for preventing blood-borne infection among medical students in China. *Journal of Hospital Infection* 2010 (in press).

北タイ HIV 感染者およびその配偶者コホートを基盤とする総合的エイズ研究

熱帯医学研究所 臨床医学
有吉紅也

熱帯地の患者と最先端科学を結ぶコホート

現在、世界には3千3百40万人の HIV 感染者があり、毎年約2百万人（大多数が生産人口、うち28万人は15歳以下の子供）の命が失われる。その8割以上がサハラ砂漠以南のアフリカや南・東南アジアの熱帯地に居住しており、これらの諸国において HIV 感染・エイズは、国家の社会経済発展をも脅かす最重要課題である。

アジアで最も早くから最も広くエイズが拡大したのは北タイである。アジアには CRF01_AE サブタイプが流行しているが、アジア流行株における臨床疫学研究は限られている。そこで、本研究は、タイ国保健省国立衛生研究所を共同研究機関とし、北タイに臨床研究ネットワークを構築し、臨床疫学から基礎科学研究に至る総合的エイズ研究の基盤となる「HIV 感染者およびその配偶者コホート」を運営し、HIV・エイズに対するワクチン開発および新たな治療手段の開発に役立てることを目的とした。本研究の要は、北タイで得られた臨床疫学データと日本の基礎医学研究とを連携させた学際的研究を展開することにある。

抗 HIV 薬普及効果の全貌が明らかに

我々がまず北タイ臨床研究ネットワークの拠点として位置づけたランパン病院において、デイケアセンター（エイズ外来）が設立された1995年から2008年までの13年間に受診したすべての患者（3,478名）の生存調査を実施し、2,863（82.3%）の患者追跡情報を得た。その結果、当初年間約50%あった死亡率が1997年にタイ政府が母子感染予防プログラムを開始し、外来を受診する無症候期の女性患者比が増加したのに比して30%へと緩やかな死亡率の低下が認められ、さらに抗 HIV ジェネリック薬 GPOvir[®] が普及した2003年ごろより劇的に死亡率が低下し約3%となったことが明らかになった（図1）。さらに抗 HIV 薬普及前の患者704名と抗 HIV 薬普及後に治療を開始した409名の臨床経過を約2年間詳細に追跡調査した結果、最も頻度の高い日和見感染症である結核、ニューモシスチス肺炎（PCP）、クリプトコッカス髄膜炎の罹患率が抗 HIV 薬普及後にそれぞれ70%、

97%、80%減少しており、PCP に比べ結核、クリプトコッカス髄膜炎が治療開始後も発症していることが判明した。これらの情報は北タイにおける抗 HIV 薬治療開始後の早期診断・早期治療の重要性を示す結果となった。

加えてフィールドで得られた抗 HIV 薬治療後患者追跡情報と連携して患者を適正に選択し薬剤耐性検査を国立名古屋医療センター杉浦互部長の協力を得て実施した結果、CRF01_AE に特徴的な複数の薬剤耐性変異パターンが判明した。

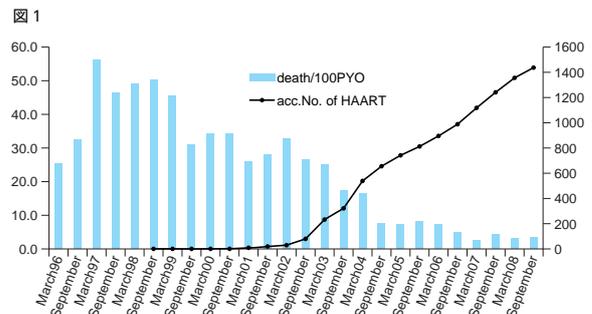


図1 1995年10月から2008年10月にランパン病院 HIV 外来を受診した2,863名の患者における半期ごとの死亡率（Death/100PYO）および抗 HIV 薬治療開始累積患者数（折れ線）を示した（Pathipvanich 投稿中）

アジア型 HIV を抑制する有効な免疫とは？

細胞障害性 T リンパ細胞（CTL）は HIV ウイルスの体内増殖を抑える最も重要な免疫反応であり、より効率的な CTL の動きを分子レベルで解明することはワクチン開発に有用な情報を提供する。CTL 免疫は宿主のもつ HLA 遺伝子によって制御されるが、HLA 分布は民族間で大きく異なる。また、CTL 免疫の効率はターゲットとなるウイルスタンパクのアミノ酸配列によって影響される。しかし、アジア人に流行した CRF01_AE における CTL 免疫と臨床経過との関係を調べた研究はほとんどない。

我々は、抗 HIV 薬普及前の144名の HIV 感染者における Gag タンパクのアミノ酸配列と HLA タイプとの相関を解析し56組のアミノ酸変異と HLA タイプを同定した。このうち62%はこれまでに報告のなかった相関である。さらに、Gag タンパクのうち最も配列が保存されている p24 コアタンパク領域の変異の数とウイルス量・CD

4 値との間に相関関係があることが判明した。特に HLA B58 による免疫圧を受けた p24 コアタンパク領域の T242 N 変異と低ウイルス量との相関が CRF01_AE でも明らかになった (図 2)。また、対象患者から感染した 65 名の配偶者において伝搬後のアミノ酸変異を調べ、異なる HLA 環境において Gag タンパクがどのように変容するかについてのデータが得られた。以上のように本研究は、アジア型 HIV である CRF01_AE の増殖制御に最も有効な CTL 免疫を分子レベルで解明する成果をあげた。

Retroviruses. 2007; Wichukchinda N, J Acquir Immune Defic Syndr. 2008)

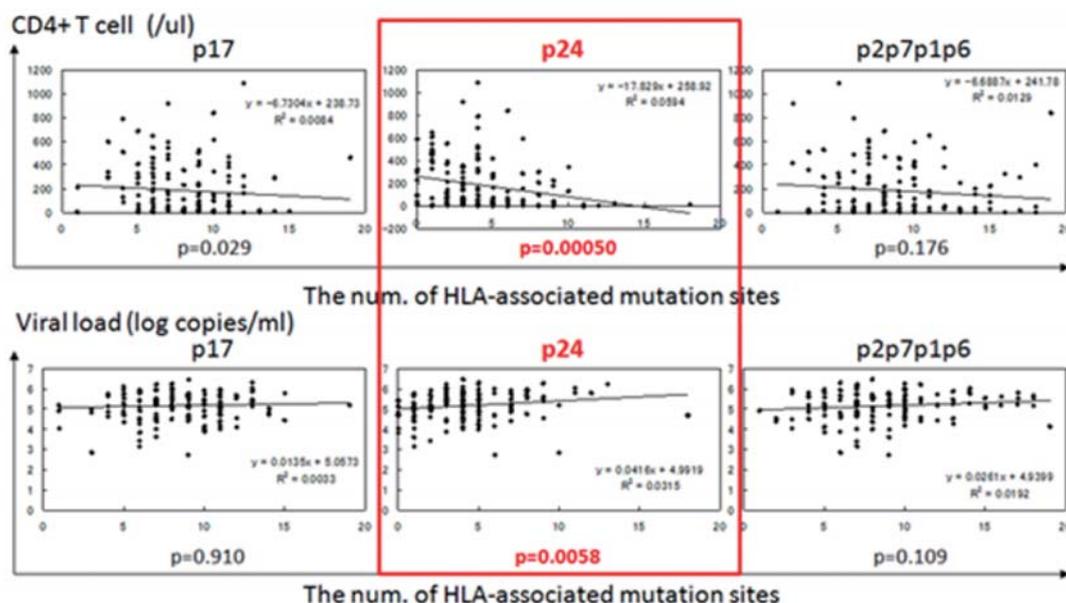
本年度は、東京医科歯科大学木村彰方教授らとの共同研究により、細胞表面タンパクとして Th 1 /Th 2 免疫反応の制御に関わる T cell immunoglobulin and mucin 1 (TIM 1) 遺伝子の多型をエクソン 4 領域のシーケンス解析から、TIM 1 の低発現と関連する D3 A ハプロタイプをもつ HIV 感染者が、CD 4 値、臨床所見、生存率において、より良好な自然経過を迎えることが判明した (Wichukchinda N, AIDS in press)

エイズ進行を遅らせる 遺伝子多型を探索

我々はこれまで本コホート研究を基盤として、大阪大学塩田達雄教授ら、また東京大学岩本愛吉教授らと共同研究を実施し、HIV の長期生存と相関する宿主遺伝子多型として IL 4 589T, RANTES28G を報告してきた (Wichukchinda N, AIDS . 2006)。さらに夫のもつ HIV に何度も暴露されたが感染に抵抗性を示す妻に特異的な DC-SIGNR および CCR 5 /CCR 2 遺伝子の多型があることを報告した。(Wichukchinda N, AIDS Res Hum

付記：ここで紹介した研究成果は、文中で紹介した共同研究者に加えて、タイ国立衛生研究所 Dr. Pathom Sawanpanyalert, Dr. Nuanjun Wichukchinda, Dr. Archawin Rojanawiat, Dr. Siriphan Saeng-Aroon ら、ランパン病院 Dr. Panita Pathipvanich ら、マヒドン大学 Dr. Arunee Thitithanyanont ら、熱帯医学研究所臨床医学分野の土屋菜歩ポスドク、森正彦院長らの多大な協力によるものである。また、医歯薬学の森内浩幸教授は、本研究の推進担当として GBV 等の共感染による HIV 感染抵抗性・HIV 感染自然経過への影響を調べている。

図 2



各感染者における HLA と相関する p24 領域アミノ酸変異が最も強くウイルス量・CD 4 値と相関する (Gesprasert G 投稿中)

論文

Saeng-Aroon S, Tsuchiya N, Auwanit W, Ayuthaya PI, Pathipvanich P, Sawanpanyalert P, Rojanawiat A, Kannagi M, Ariyoshi K, Sugiura W. Drug-resistant mutation patterns in CRF 01_AE cases that failed d4T+3TC+nevirapine fixed-dosed, combination treatment: Follow-up study from the Lampang cohort. Antiviral Res. 2010 (in press)

Wichukchinda N, Nakajima T, Saipradit N, Nakayama E, Ohtani H, Rojanawiat A, Pathipvanich P, Ariyoshi K, Sawanpanyalert S, Shioda T, Kimura A. TIM 1 haplotypes control the disease progression to AIDS in a HIV-1-infected female cohort in Thailand. AIDS 2010 (in press)

シャーガス病の心疾患、腸疾患発症に關与する遺伝子の特定とその機能解析

熱帯医学研究所 免疫遺伝学
平山謙二

要約

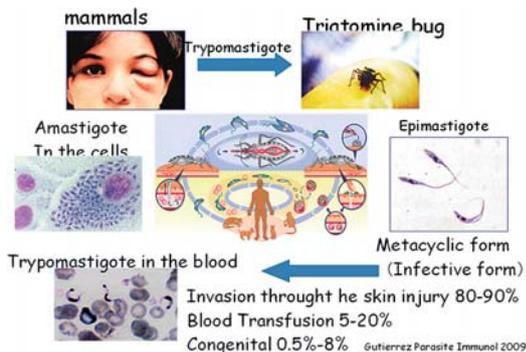
ボリビアサンタクルースの熱帯病研究所、日本病院および西沢外科との共同研究によるシャーガス病の無症候、心臓病、消化管障害の3つの病型における宿主および原虫の遺伝解析。病型と原虫の系統あるいは亜系統との關連については全く認められず、この地域の主要な系統であるⅡd系統の感染者の中に均等3つの病型が含まれることを明らかにした。

背景

シャーガス病はラテンアメリカに広く分布する細胞内寄生原虫クルーストリパノソーマ感染症である。2009年の報告でも年間30万人が新たに感染している。小児の急性期患者以外有効な薬剤はまだ開発されていないので、ほとんどが慢性に移行し、生涯原虫を保有して生活する。慢性期の患者は大きく3つの病型に分類され、無症候群、心疾患群、巨大食道結腸症群と呼ばれる。合併症を伴う患者では突然死や急性腹痛などが多発するが、慢性患者の3割程度が発症すると考えられている。



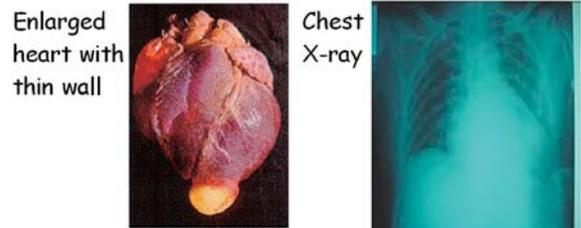
75 million are at risk
13 million are infected
300,000 new cases per year
Gutierrez et al. Parasite Immunol 2009



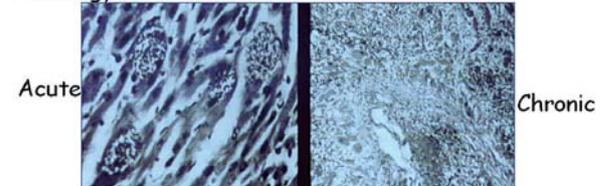
トリパノソーマ原虫は患者あるいは感染動物の血液を吸血したサシガメの糞の中で分化した感染型の原虫の経皮あるいは経粘膜感染により侵入し、すぐにマクロファージに取り込まれそこで増殖する。血液中を移動し体内の細胞に慢性感染を繰り返す。

心疾患と巨大結腸症を 発症する人は限られている。

慢性期の患者のうち、以下に示す2つの合併症がボリビアでも頻繁に観察される。下図に示すのが心筋や伝導系の障害を特徴とする心臓シャーガス病の典型的な病像である。

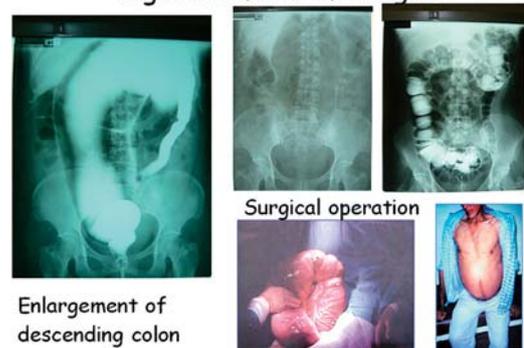


Pathology of the heart muscle



ボリビアやブラジルなど南部のラテンアメリカでは巨大結腸症の患者も多くみられる。下図に示すように消化管の神経叢が破壊され、自律神経の緊張が消失し、特に下部結腸が巨大化し便秘や腸ねん転などを引き起こす。

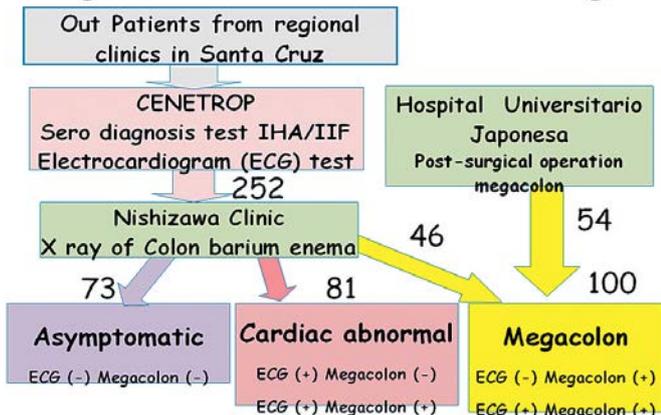
Digestive form of Chagas



客観的な診断に基づく3つの典型的な臨床型の判別

慢性患者は血清検査で抗体陽性となるので、コレラの患者を心電図や結腸の造影検査すれば、臨床型を決定することができる。以下に本研究で行った診断プロトコールと実際に集まった患者数を示した。

Diagnostic Protocol of Chronic Chagas



Clinical groups of Chronic Chagas

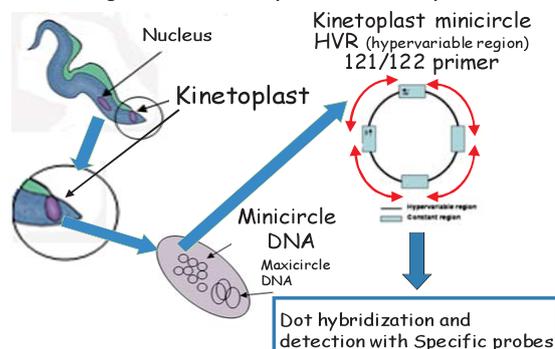
ECG	Mega colon	No. of Patients	Male	Female	Mean age ± SD	121/122 PCR (+)
-	-	73	34	39	42.3 ± 8.5	57.5
-	NE	41	16	25	42.9 ± 9.6	61.0
+	NE	21	10	11	40.6 ± 10.4	52.4
+	-	43	22	21	38.5 ± 9.8	72.1
+	+	17	6	11	47.9 ± 14.1	52.9
-	+	36	17	19	47.1 ± 12.0	55.6
NE	+	47	27	20	55.6 ± 17.0	80.9
NE	-	28	12	16	42.5 ± 7.4	71.4
Total		306	144	162	44.7 ± 12.4	64.1

上記の3つの病型の患者の血液からすでに確立されたPCR検査法により原虫のDNAを分離することができた64%の患者の解析を行うことで、これらの患者の感染した原虫の系統を明らかにし、病型との関係を調べた。下図に示すようなこの原虫に特有のキネトプラスト中のミニサークルという環状DNAの多型により、DTUの1型と2d型が主要な系統であることがわかったが、2d型にさらに3つの亜系が存在することも確かめられた。

しかし下図に示すように、心疾患や巨大結腸症患者の感染した原虫が特別な系統であることは否定され、同じ系統の原虫が多様な合併症を形成することが明らかと

なった。この研究により、合併症の発症には原虫よりも宿主側の要素が決定的に影響することが間接的に示された。

DTU lineages detection by PCR-SSOP hybridization



No association between clinical manifestations and DTU lineages of *T. cruzi*.

Patients Group	No. of Samples	DTU lineage	
		I (%)	IIId(%)
ECG (+)	35	6 (17.6)	31 (91.4)
ECG (-)	69	12 (17.4)	68 (98.6)
Megacolon (+)	49	12 (24.5)	42 (85.7)
Megacolon (-)	67	16 (23.9)	62 (92.5)
ECG (+) and/or Megacolon (+)	78	18 (22.8)	68 (87.2)
ECG (-) and Megacolon (-)	33	8 (24.2)	32 (97.6)
Patients Group	No. of Samples	DTU IIId subgroup	
		Mn (%)	TPK (%)
ECG (+)	31	17 (54.8)	13 (41.9)
ECG (-)	68	31 (45.6)	36 (52.9)
Megacolon (+)	42	18 (42.9)	22 (52.4)
Megacolon (-)	62	37 (59.7)	25 (40.3)
ECG (+) and/or Megacolon (+)	68	32 (47.5)	34 (50.0)
ECG (-) and Megacolon (-)	32	17 (53.1)	15 (46.9)

Contributors

Florencia del Puerto, Michio Yasunami	Dept. Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University
Mihoko Kikuchi, Norihiro Komiya, Koji Maemura	Center for International Collaboration Research, NU Department of Cardiovascular Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Science,
Juan Elki Nishizawa	Clinica Sirani, Santa Cruz, Bolivia
Naomi Iihoshi, Yelin Roca, Cinthia Avilas, Alberto Gianella, Javier Lora	Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, CENETROP, Santa Cruz, Bolivia
Freddy Udalrico G Velarde	Hospital Universitario Japonés, Santa Cruz, Bolivia
Luis Alberto Renjel	Centro de Enfermedades Cardiovasculares (BIOCCOR), Santa Cruz, Bolivia
Sachio Miura	Department of Tropical Medicine and Parasitology, School of Medicine, Keio University
Hiroo Higo	Department of Parasitology, Graduate school of Medical Sciences, Kyushu University

この研究の発表

論文 は GCOE の明記があるもの

- 1) del Puerto R, Nishizawa JE, Kikuchi M, Iihoshi N, Roca Y, Avilas C, Gianella A, Lora J, Velarde FU, Renjel LA, Miura S, Higo H, Komiya N, Maemura K, Hirayama K. Lineage analysis of circulating *Trypanosoma cruzi* parasites and their association with clinical forms of Chagas disease in Bolivia. PLoS Negl Trop Dis. 2010 May 18;4(5):e 687.

メラネシア島嶼におけるマラリア排除： 疫学・生態学・進化学的アプローチ

熱帯医学研究所
金子 明

背景

2008年9月15日ニューヨークにおける国連ミレニアム開発計画マラリアサミットで採択された世界マラリア行動計画においては、究極的にマラリアを根絶するという野心的な目標がうたわれている。マラリアの歴史は、既に達成されたものが維持されていくには継続的な努力が必須であることを示す。マラリア対策における一つの要点は宿主、原虫、媒介蚊の生態・疫学に関連するマラリアの複雑さ、多様性である。マラリアによる死亡の80%がアフリカの小児に集中する一方で、すべてのマラリア罹患の半分以上はアフリカの外で起きている。熱帯熱マラリアに重点が置かれるのは当然だとしても、三日熱マラリアがもたらす弊害を見過ごすべきでなく、それは世界人口の40%に及ぶものである。我々は集団が持つ遺伝学的な特徴および対立遺伝子の分布が地域特異的にマラリアの複雑性を規定していると仮定し、それに呼応した脈絡特異的な対策戦略が必要であると考え。メラネシア島嶼は、マラリア感染・疾病が有する複雑な生物学的プロセスに対して自然の実験場を提供する。

島嶼マラリア撲滅10年後の 小児における三日熱マラリア再燃は 成人における免疫持続を示唆する

南西太平洋ヴァヌアツのアネイチウム島においては、1991年に熱帯熱マラリア (*Plasmodium falciparum*, Pf) が、1996年以降は三日熱マラリア (*P. vivax*, Pv) も根絶され、2002年に Pv 再燃が報告されるまで維持された。この再燃について年齢特異的な原虫感染分布を血清疫学および原虫多型の観点から検討した。全ア島住民を対象とした2回の調査により見出された Pv 感染28例 (28/1570) のうち26例は1991年の根絶開始以降に生まれた小児であった。Pf および Pv 両種の赤内型原虫粗抗原お

よび環スポロゾイトリコンビナント蛋白 (CSP) に対する血清 IgG 抗体価陽性率は、1991年根絶活動開始以降生まれた集団において1972年以前生まれの集団よりも有意に低かった (赤内型 1% vs 70%, CSP 0% vs 15%)。シークエンスにより得られた *Pvmsp1* および *Pvcsp* 多型はア島でヴァヌアツ他島との比較において極めて制限されていた。また島嶼全体において抗原 SNP は長期安定していた。これらの結果はア島における Pv 再燃は最近移入された原虫に起因することを示唆する。根絶以前頻回の感染暴露のあった年齢集団における Pv に対する抗体産生の持続、島嶼における制限された原虫遺伝子多型が、再燃における原虫分布を根絶活動開始以降生まれた集団に限定したと考えられた。

住民主導戦略による島嶼マラリア 撲滅維持：短期間の集団治療と 薬剤処理蚊帳の集約と 強固なサーベイランス

アジア太平洋の不安定な低マラリア流行地域では現存する対策手段により撲滅を達成することが可能と考えられる。ヴァヌアツ、アネイチウム島においては1991年に集団治療、薬剤処理蚊帳によるマラリア撲滅パッケージが強固な住民参加のもとに導入された後、輸入例をのぞいて、熱帯熱マラリア感染は消滅し、三日熱マラリアも1996年以降は地元島嶼民において見られなくなった。その後、住民主導のサーベイランスおよび媒介蚊対策が維持されてきた。アネイチウム島における経験を総括することにより、マラリア撲滅における住民の役割を検証した。撲滅プログラムが成功するためには、対策活動の主体を外的ドナーから住民に移すことが重要である。住民の役割を単純な参加から計画立案から関与する社会的な参加に引き上げることが、マラリア制圧から撲滅へのプログラム方向性の転換において必要となる。

ランダム、トップダウンあるいはボトムアップな原虫の共存：多重感染におけるマラリア原虫集団の動態

蚊帳やワクチンによるマラリア対策の疫学モデルにおいては、マラリア生物学の現実的な要素を取り入れることの重要性が増している。これらのモデルは益々複雑になってきており、生態学的過程の抽出や、病原体間干渉、生来（ボトムアップ）あるいは獲得（トップダウン）免疫の集団動態への制御的役割に関して疑問を呈するのを困難にしている。我々は理論的なフレームワークを使い、マラリア原虫の集団動態制御における集団レベルの免疫および原虫共存の重要性に関する仮説を検証した。定性的ループ解析を用い熱帯熱マラリア原虫と三日熱マラリア原虫間の集団レベルにおける干渉を調べ、この宿主内原虫制御の意義について考察した。ヴァヌアツサント島における（1983-1987）月別マラリア症例数は熱帯熱マラリアの動態は三日熱マラリアに影響されないが、後者は前者に呼応して増加することを示した。これらの結果は宿主内における区別される資源利用、宿主と免疫システム間の資源消費間干渉、および原虫の宿主内制御を示唆する。これらの結果は対策戦略策定に先立つ原虫集団制御因子把握の重要性を示唆する。

アフリカにおける熱帯熱マラリア原虫多剤耐性蛋白1 (PfMRP1) とアルテミシニンを基盤とする併用療法

アルテミシニンを基盤とする併用療法 (ACT) の熱

帯熱マラリア原虫に対する作用機序は解明されていない。MRP様 ATP 接着カセット (ABC) トランスポーターが多くの細胞において多剤耐性に関連することが知られ、我々は PfMRP1 のシーケンス変異が原虫 ACT 感受性減少をもたらすと仮定した。広範な地域から得られた熱帯熱マラリア感染103例の pfmrp1 シーケンスにより、27の SNP が見出され、内21は非同義、6は同義であった。現地患者における臨床投薬研究において artemether-lumefantrine 治療が PfMRP1 I876V を特異的に選択することがみだされ、さらに silico 解析は876位置のアミノ酸変異が PfMRP1 の ATP 水酸化サイクルを通して蛋白機能に影響することが示唆した。ACT の in vivo における抗熱帯熱マラリア原虫効果に PfMRP1 が関与することを示す最初の報告である。

図の説明
ヴァヌアツ・アネイチウム島におけるマラリア撲滅をめざした集団治療



この研究の発表

論文 は GCOE の明記があるもの

- 1) Dahlström S, Ferreira PE, Veiga MI, Sedighi N, Wiklund L, Mårtensson A, Färnert A, Sisowath C, Osório L, Darban H, Andersson B, Kaneko A, Conseil G, Björkman A, Gil JP. *Plasmodium falciparum* Multidrug Resistance Protein 1 (pfMRP1) and artemisinin-based combination therapy in Africa. *J Infect Dis* 2009; 200: 1456-1464.
- 2) Chaves L F, Kaneko A, Pascual M. Random, top-down or bottom-up co-existence of parasites: malaria population dynamics in multi-parasitic settings. *Ecology* 2009; 90: 2414-2425.
- 3) Kaneko A. A community-directed strategy for sustainable malaria elimination on islands: short-term MDA integrated with ITNs and robust surveillance. *Acta Trop* 2010; 114: 177-183.
- 4) Kaneko A, Chaves LF, Taleo G, Wickremasinghe R, Perlmann H, Eto H, Tachibana S-I, Takeo S, Tsuboi T, Bjorkman A, Drakeley C, Tanabe K, Troye-Blomberg M. *Plasmodium vivax* resurgence in children suggests persistent immunity in adults a decade after malaria elimination on islands. Submitted.

GPI アンカータンパクを標的としたマラリアワクチン開発

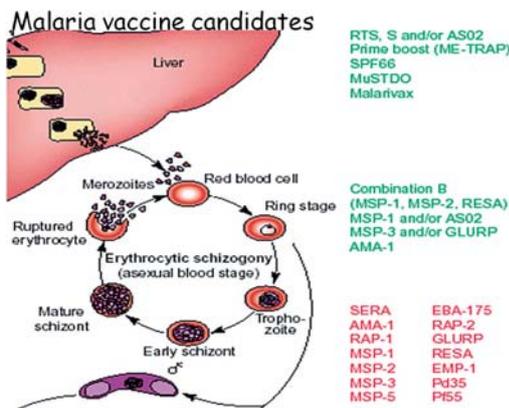
熱帯医学研究所 免疫遺伝学
平山謙二

要約

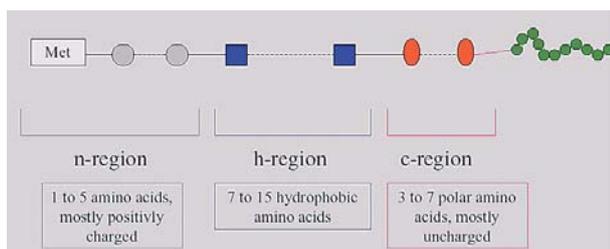
マラリアワクチンの前臨床試験として、新たなワクチン候補分子をマウスマラリアを用いて探索した。標的としたのは GPI アンカータンパクで、バイオインフォマティクスを用いて候補遺伝子を選択後、DNA ワクチンとして調整し、マウスに免疫後防御効果を観察し、トランスアミナーゼ様分子が DNA ワクチンおよび組み換えタンパクワクチンにより防御能を示すことを見出した。

背景

マラリアワクチンは依然としてアフリカなど高度流行地や医療過疎地域における非常に有力な制御戦略である。現在下図に示すようなワクチン候補分子が開発段階に入っており、すでに第2相まで進行しているものも見られる。しかし、新たな候補分子の開発は重要な課題であり、新たなゲノム情報を基盤とした新しい戦略が求められている。

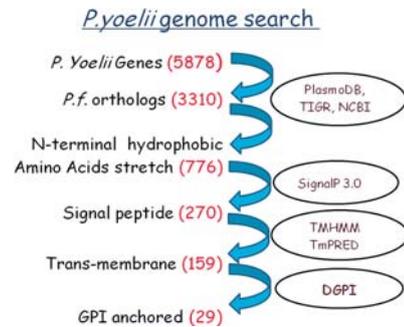


GPI アンカー細胞表面タンパクに焦点

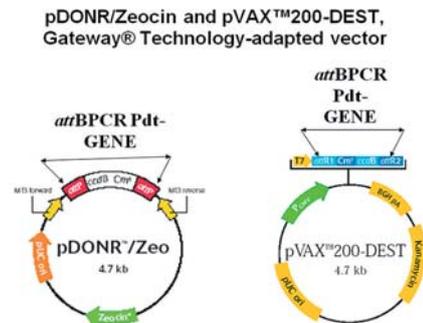


マラリアの赤内期の増殖を抑えるワクチンとしてすでに MSP タンパクなどが報告されているが、これらは

GPI アンカータンパクである。ゲノムの情報をもとにすでに報告された探索ソフトを用いることで、GPI アンカーモチーフを持ち、細胞表面への ER トラフィッキングへの導入に不可欠なシグナル配列を持った遺伝子をパソコン上で探索した。その結果下図に示すように29の遺伝子を選別した。



上記の遺伝子情報をもとに P.yoelii の赤内型原虫から cDNA をクローニングし、以下に示すベクターを用いて最終的に10種の DNA ワクチンを調製した。



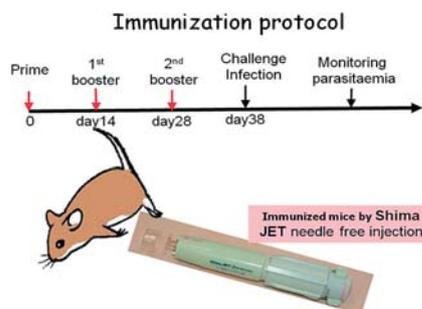
pVAX 200 insert of the selected genes and their features

Gene	Name	HN-t	SP	Tm	GPI	Pf
PY03470	GPI8p trans-amidase related	+	+	+	+	+
PY05000	Hypothetical protein	+	+	+	+	+
PY05748*	MSP1-42kd c-terminal seq	+	+	+	+	+
PY01490	Hypothetical protein	+	+	+	+	+
PY02738	Pf s38	+	+	+	+	+
PY02420	Hypothetical protein	+	+	+	+	+
PY07076	Hypothetical protein	+	+	+	+	+
PY01100	Hypothetical protein	+	+	+	+	+
PY01364	Rhomboid family, putative	+	+	+	+	+
PY02118	Hypothetical protein	+	+	+	+	+

G1 (トランスアミナーゼ様分子遺伝子 TAM) の DNA ワクチンが防御効果

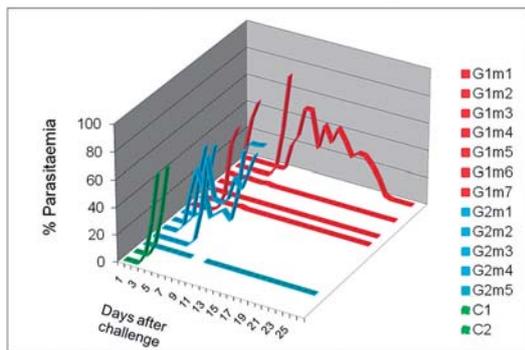
調製した DNA ワクチンを無針で霧状に皮下に噴霧で

きるシマジェットにより2週間おきに3回免疫し、最後の免疫から10日後に感染赤血球を腹腔に注射しチャレンジ感染を行った。

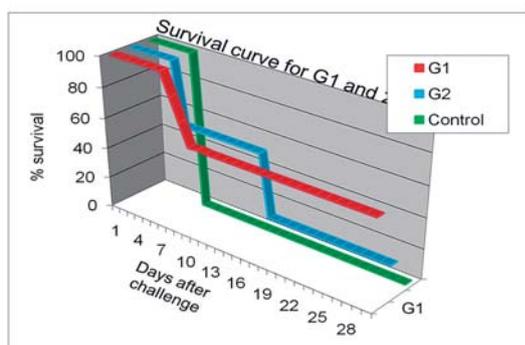


その結果、下図に示すように G1 DNA ワクチン（赤色で示す）で原虫血症を抑制し生存率を有意に上昇させることを2回の実験で確認した。図にはそのうちの一回の結果を示している。

G1 DNA vaccine confirmed to be effective



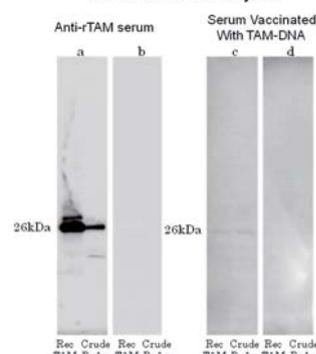
Survival Curve for G1, G2 and Control DNA



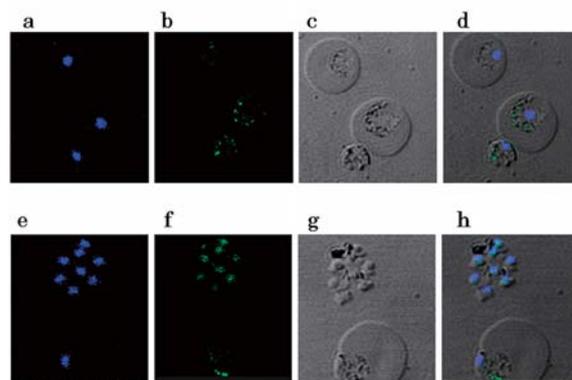
そこでこの遺伝子を大腸菌の発現系により組み換えタンパクを発現させ、このたんぱくを用いてさらに実験を行った。このタンパクに対するマウス抗血清を用いると下図に示すように、予想された26キロダルトンのバンドが原虫由来の可溶性タンパクの中に見出され、確かにこの分子が発現していることが確認された。またこの抗血

清で染色すると、感染原虫の細胞質内に顆粒状の染色パターンを観察できることから、この分子が細胞質内の膜タンパクであることが示唆された。

Western Blot Analysis

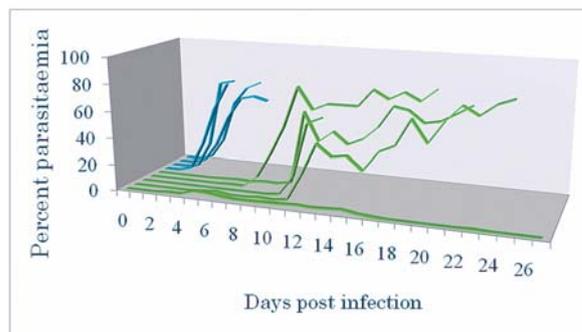


Anti rTAM staining pattern showed cytosolic



組み換え TAM を GERBU というアジュバントと共に皮下に3回免疫すると、以下に示すように原虫血症の遅延が起こることがわかった。

recombinantTAM-GERBU(green) vs GERBU control (Blue)



DNA ワクチンによる防御効果と組み換えタンパクによるワクチン効果に何らかの質的な相違がみられたことから、これらの相違がどのような免疫機構に基づくものかについてさらに解析する必要がある。

この研究の発表

論文 は GCOE の明記があるもの

現在投稿中

Shuaibu N, Kikuchi M, Cherif MS, Helegbe GK, Yanagi T, Hirayama K. Selection and identification of malaria vaccine target molecule using bioinformatics and DNA vaccination. Submitted.

エイズ及びプリオン病の検査法と治療薬の開発

医歯薬総合研究科 環境薬科学講座 機能性分子化学
甲斐雅亮

背景

本研究では、後天性免疫不全症候群（AIDS）とプリオン病に焦点を当て、これらの検査法および治療薬を新規に開発することを研究目標にしている。

AIDSは、結核、マラリアとともに三大感染症に数えられており、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者数は世界中で4000万5000万人、日本国内では一万人を越えることが推定されている。HIVゲノムは変異を起しやすく、薬剤耐性をもつ変異株が容易に出現するため、HIVのサブタイプを同定する手法は、効果的なAIDS治療を行う上で非常に重要である。我々は、HIVプロテアーゼの基質特異性に基づいたHIVサブタイプの同定法を開発し、昨年報告書に報告した。今回、この測定法がHIVおよびC型肝炎ウイルス（HCV）の簡便な同時識別検査法として適用可能であるかを検討した。また併せて、HIVプロテアーゼをコードするmRNA上で、変異が起こらない領域を標的としたRNA干渉法（RNAi）を行い、HIVプロテアーゼの発現を阻害できる可能性を見出したので概説する。

プリオン病は、正常なプリオンタンパク質（PrP^C）が、異常型プリオンタンパク質（PrP^{Sc}）へと構造的に変化することで引き起こされる一連の神経疾患である。PrP^CとPrP^{Sc}のアミノ酸配列は同じであり、これらの識別は困難であるため、現在のところプリオン病に対する効果的な治療法は開発されていない。従って、正常型と異常型を識別できる分子の発見は、プリオン病治療薬の開発において重要な意味を持つ。今回、アプタマーを用いて、マウスプリオンタンパク質（mPrP）の特異的な検出を行なったので報告する。

基質特異性の違いを利用して HIV と HCV プロテアーゼを同時に識別する

多剤併用療法により、従来の日和見感染症などのAIDS関連死亡が減少している一方で、慢性C型肝炎から肝癌へ進行するHCV関連死亡が相対的に増加している。また、HIV感染者の約20%がHCVとの重複感染であり、さらに、血液製剤によってHIVに感染した例では、90%以上が重複感染であると報告されている。そ

のため、HIVとHCV感染を同時に調べる方法は、早期診断・治療において重要なものである。

これまでに我々は、野生型および変異型HIVプロテアーゼの基質切断パターンを解析する、簡便かつ迅速なHIV変異株の同定法を開発している。この方法は、様々なペプチドを基質として使用できるため、HCVプロテアーゼにも応用できると考えた。そこで、HCVプロテアーゼの基質となるペプチドを合成し、HIVプロテアーゼの基質と併用することで、HIVおよびHCVプロテアーゼが、一度に識別できるか調べた。

3種のHIVプロテアーゼ基質と1種のHCVプロテアーゼ基質を混合し、HIVプロテアーゼ単独、または、HIVプロテアーゼとHCVプロテアーゼ混合物と反応させた。次いで、我々が開発したペプチドに高選択的な蛍光誘導体化反応を行ない、酵素消化ペプチドをHPLCによって蛍光検出した（図1）。その結果、HCVプロテアーゼを含むサンプルでは、図1の矢印で示した新たなピークが観察され、このピーク高さは、HCVプロテアーゼの添加量に比例していた。このことから、この新たなピークは、HCVプロテアーゼの基質から酵素反応によって生成されたペプチドであることが分かった。また、この蛍光ピークは、HIVプロテアーゼによって生成されるペプチド類のピークとも十分に分離できた。このように本法は、複数の基質ペプチドを使用できるので、HIVとHCVのプロテアーゼ活性を同時に、かつ容易に識別でき、これらを含めたウイルス感染症の診断に応用可能と考えられる。

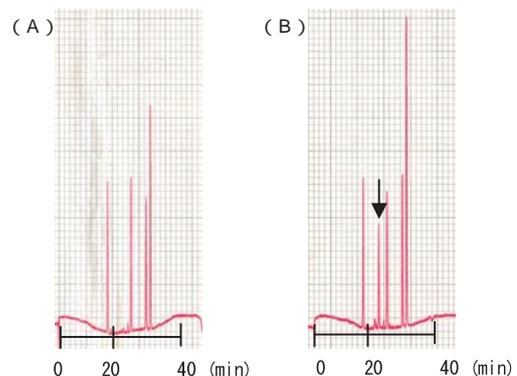


図1 HIVプロテアーゼとHCVプロテアーゼの同時識別
(A) HIVプロテアーゼ単独、(B) HIVプロテアーゼ+HCVプロテアーゼを用いた場合の基質消化パターン

HIV プロテアーゼを発現する mRNA を直接分解する

HIV プロテアーゼは、その活性中心にアスパラギン酸 スレオニン グリシンという特有のモチーフを持つ。HIV の変異において、活性中心モチーフの配列は変異株間で完全に保持されており、さらにその近辺の配列は変異が起こりにくいことが分かっている。従来の HIV プロテアーゼ阻害剤はタンパク質の変異に完全に対応できないが、この mRNA の不変領域を標的として mRNA の機能を阻害できれば、変異に左右されない理想的な HIV プロテアーゼ阻害剤になると考えられる。

そこで、短い2本鎖 RNA (siRNA)によって特定 mRNA を分解できる RNAi に着目し、HIV プロテアーゼ mRNA の不変領域をカバーする siRNA を設計した。RNAi の評価は、緑色蛍光タンパク質 (GFP) と HIV プロテアーゼの融合タンパク質を発現する HEK293細胞を用いて行った。この細胞に siRNA を導入して GFP 発現の経時変化を観察したところ、siRNA を加えずに培養した細胞と比較して、明確な GFP の発現阻害が観察された。これは、設計した siRNA が、HIV プロテアーゼ mRNA の不変領域を分解できる可能性を示すものである。

一方、核酸分子を生体に投与すると、生体内に存在するヌクレアーゼによって速やかに分解される。そこで、siRNA のヌクレアーゼ耐性を向上させるために、修飾塩基を導入した人工 siRNA を合成した。その結果、人工 siRNA は、天然型 siRNA と比較して優れたヌクレアーゼ耐性を持ち、GFP の発現に対する抑制効果は天然型より強いことが分かった。現在、HIV プロテアーゼを標的とした人工 siRNA を合成しており、HIV の変異に影響されない HIV 阻害剤の開発研究へ展開している。

アプタマーを用いて プリオンタンパク質を 特異的に検出する

特定の分子を認識する核酸分子 (DNA または RNA) であるアプタマーは、大量合成が可能、安定で、かつ化学修飾も比較的容易であるため、抗体に代わるものとして期待されている。また、現在のところ、PrP^C と PrP^{Sc} を識別できる抗体がないことから、我々は、化学合成できるアプタマーを用いた PrP^C と PrP^{Sc} の識別法の開発を行なっている。今回、既報のアプタマーおよび我々が開発した化学発光試薬 (TMPG) を用いて、mPrP の検出を行なった。TMPG は、核酸中のグアニンと特異的に反応して化学発光するため、mPrP と結合したアプタマーを直接検出できるという利点を有する。mPrP を PVDF 膜に固定化後、アプタマーとの結合反応を行なった。その後、TMPG 化学発光反応を行なったところ、膜上の mPrP (5 20 μ g / spot) を検出することができた。このとき、同時に膜に固定化したウシ血清アルブミンやカゼイン (20 μ g / spot)などは検出されなかった (図 2)。これらの結果は、アプタマーを用いることで、PrP を特異的に検出できることを示している。また、TMPG 反応において、5'末端を FITC 標識した DNA を用いることで、約 5 10倍の化学発光強度が増大した。そこで、FITC 標識アプタマーを用いて同様に mPrP を検出したところ、非標識アプタマーと比較して、約 2.5倍化学発光強度が増大した。

今後、mPrP^{Res} に対するアプタマーの探索や、検出条件の検討を行ない、異常プリオンタンパク質検出法の開発を行なう予定である。



図 2 アプタマーを用いた mPrP の検出(A)検出画像(B)スポットしたサンプル; 1 = H₂O、2 = 塩酸グアニジン水溶液、3 = mPrP、4 = マルトース結合タンパク質、5 = ウシ血清アルブミン、6 = カゼイン、7 = カタラーゼ、8 = ヘモグロビン

この研究の発表

論文 は GCOE の明記があるもの

1. Z. Yu, T. Kabashima, C. Tang, T. Shibata, K. Kitazato, N. Kobayashi, M.K. Lee, M. Kai: Selective and facile assay of human immunodeficiency virus protease activity by a novel fluorogenic reaction; *Anal. Biochem.*, 397, 197-201 (2010).
2. H. Zhang, T. Shibata, T. Krawczyk, T. Kabashima, J. Lu, M.K. Lee, M. Kai: Facile detection of proteins on a solid-phase membrane by direct binding of dextran-based luminol-biotin chemiluminescent polymer; *Talanta*, 79, 700-705 (2009).
3. X. Yan, Z. Cao, M. Kai, J. Lu: Label-free aptamer-based chemiluminescence detection of adenosine; *Talanta*, 79, 383-387 (2009).
4. S. Chaivat, M. Yamasuji, T. Sagawa, T. Shibata, T. Kabashima, D. Yuan, K. Fujita, M. Kai: Diimine ligand as a novel chemiluminescence enhancer of luminol-containing compounds; *Talanta*, 77, 1761-1766 (2009).
5. A. Fan, Z. Cao, H. Li, M. Kai, J. Lu: Chemiluminescence platforms in immunoassay and DNA analyses; *Anal. Sci.*, 25, 587-97 (2009).

新規抗ウイルス剤の探索

医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 感染分子薬学
小林信之

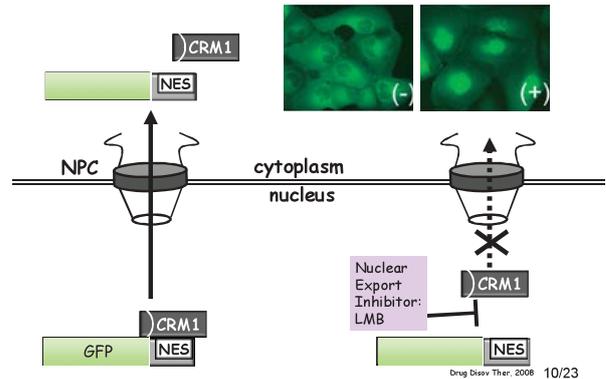
背景

ウイルス性感染症に対する治療薬の開発は AIDS を除いて大きな進歩がないのが現状である。その最大の理由は抗ウイルス剤の効果的なスクリーニング系の開発が進んでいないためである。他方、今日 SARS やトリ高病原性インフルエンザウイルス、新型インフルエンザウイルス等次々と新たな脅威を迎えており、新規抗ウイルス剤の開発がきわめて重要な課題となってきた。我々は新規抗ウイルス剤の開発に向けて、効果的な抗ウイルス剤のスクリーニング系の確立を基盤とした新規抗ウイルス剤の開発を進めていく。またエイズ、インフルエンザウイルスで明らかになってきたように、薬剤耐性ウイルスの出現も大きな問題となってきた。そこで我々は薬剤耐性に出にくい新規抗ウイルス剤の開発も合わせて進めていく。

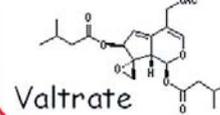
インフルエンザウイルス核外輸送系を標的とした新規抗インフルエンザ剤の探索

これまでに開発され、上市された抗ウイルス剤に関しては M2 阻害剤であるアマンタジンおよび NA 阻害剤であるタミフルおよびリレンザのみである。しかしながら既にアマンタジン耐性インフルエンザウイルスは広く広がっており、2009年の季節性インフルエンザウイルスも既にほぼ100%タミフル耐性となっている。そこで我々はインフルエンザウイルス感染細胞ないインフルエンザウイルスの複製が核内で行われることに注目し、インフルエンザウイルスゲノム・ウイルス蛋白複合体 vRNP の核外輸送機構阻害剤の探索を進めている。このために既に我々はその評価系である GES# 5 細胞を樹立している (Watanabe K et al. Drug Discover Ther 2008)。この細胞では図に示すように GFP 蛋白質に核外移行シグナルを付加しており、核外輸送阻害剤により核内での GFP 蛋白質の蓄積が簡便に判定できる。

Screening system using GFP-NES expressing cell line (GES#5 cells)



吉草根
Valerianae Radix



大高良姜
Alpinia galanga

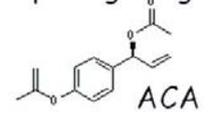
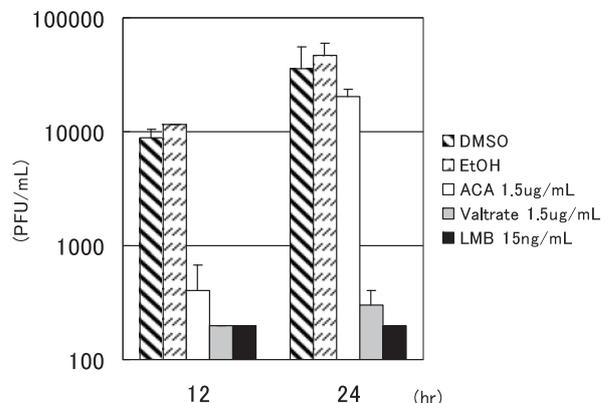


TABLE 1. Selectivity of nuclear export inhibitors

Compound	CO50 (uM)	IC50 (uM)	Selective Index
ACA (12hr)	5.5	2.0	2.8
Valtrate (12hr)	36	0.19	180
Leptomycin B (12hr)	> 1.9	0.00012	> 16000



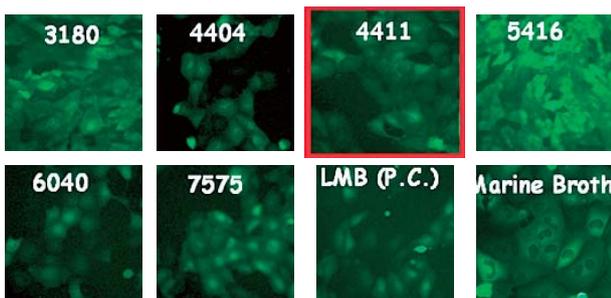
この系を利用して今回我々は天然資源由来の Valtrate および ACA の抗インフルエンザ活性を評価した。

その結果、ACA、Valtrate とともに効率よく核外輸送を阻害し、インフルエンザウイルスの産生を効率よく阻害

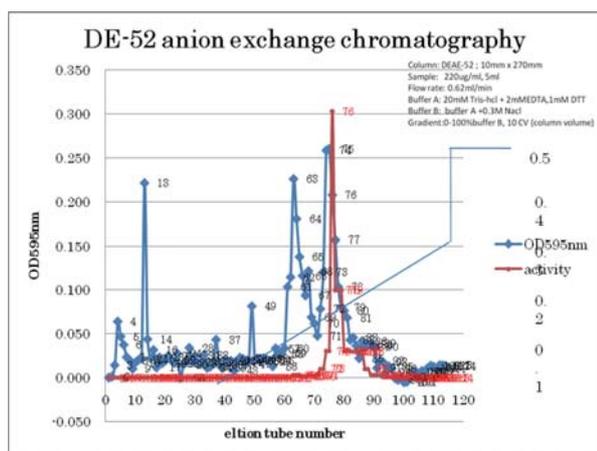
することが明らかとなった。ACA、Valtrate はともに極めて短期間でその効果を表す事から、抗インフルエンザ薬としての可能性が十分に考えられる。この結果については現在論文投稿準備中である。

一方我々はこれまでにおよそ100種の天然物由来物質と約5000株の海洋微生物から核外輸送系の阻害剤を探索した。その結果7種の海洋微生物に核外輸送阻害活性を見出している。

Strain No.	genus	Heart treatment(30min)			protease treatment activity
		60C	80C	100C	
79	unidentified	x	x	x	unclear +
1851	unidentified	x	x	x	inactivated +
3180	Aeromonas	x	x	x	inactivated ++
4404	Aeromonas	x	x	x	inactivated +++
4411	Aeromonas	x	x	x	inactivated +++
4650	unidentified	x	x	x	inactivated +
5416	Vibrio	x	x	x	inactivated +
5710	Vibrio	x	x	x	unclear +
6040	Pseudoalteromonas	○	x	x	inactivated ++
7575	Aeromonas	x	x	x	inactivated +++
8339	unidentified	x	x	x	inactivated +



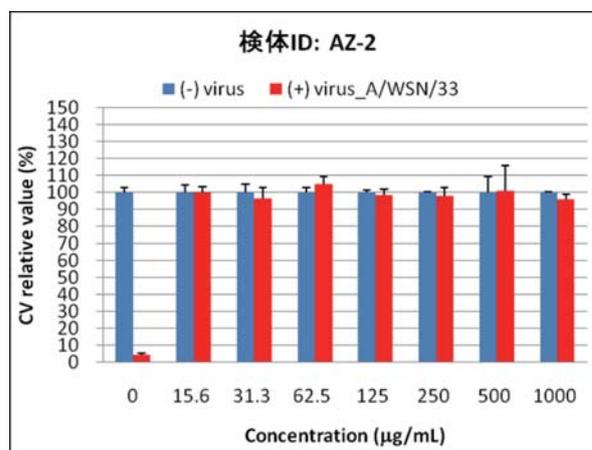
そこでこの中で最も活性が強い4411株の成分の精製を進めている。



現在までのところ、その精製は完了していないが、TOF/TOF 解析の結果エアロオリシンである可能性が高いと考えている。22年度に引き続き精製を進めその詳細を明らかにしていく計画である。

MDCK 細胞を利用した抗インフルエンザウイルスの探索

我々はこれまでに収集した約5万株の海洋微生物ライブラリーおよび種々の天然物資源より、MDCK 細胞を利用した抗インフルエンザ活性のスクリーニングを進めており、今年度は約5000株の海洋微生物ライブラリーおよび約100種の天然物資源を探索した。残念ながら海洋微生物ライブラリーには強い抗インフルエンザウイルス活性は見いだせなかったが、天然物資源の中に複数の高い活性を見出すことに成功した。その1例を以下に示す。



この活性は極めて強く、細胞毒性もほとんど見られない事から、抗ウイルス剤としての可能性が十分に考えられる。現時点では本物質はまだ不純物を含んでおり、22年度にその精製を進めていく計画である。

研究の発表

論文 はGOEの明記があるもの

1. Takizawa N., Morita M., Adachi K., Watanabe K and Kobayashi N: Induction of immune responses to a human immunodeficiency virus type 1 epitope by novel chimeric influenza virus. Drug Discover Ther 3,252-259 (2009)
2. Yu Z., Kabashima T., Tang C., Shibata T., Kitazato K., Kobayashi N., Lee MK and Kai M: Selective and facile assay of human immunodeficiency virus protease activity by a novel fluorogenic reaction. Analytical Biochemistry 397,197-201 (2010)
3. Jin L., Zhang C., Lu C., Xiong S., Zhang MY., Ge F., He QY., Kitazato K., Kobayashi N and Wang YF.: Nm23-H1 regulate the proliferation and differentiation of human myeloid leukemia K 562 cell line : A functional proteomics study. Life Science 84,458-467 (2009)

インフルエンザ肺炎における重症化因子の迅速検出法の開発

医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 先進感染制御学
河野 茂

背景

新型インフルエンザの大流行（パンデミック）が現実となり、インフルエンザウイルス感染症への注目はますます高まっている。我々はこれまでも一貫してウイルス感染に伴う、特に呼吸器領域での感染免疫に関して研究を行ってきた。肺炎球菌との重複感染による致死肺炎マウスモデルにおいては、サイトカイン・ケモカイン、Toll-like Receptor、好中球機能などの解析により、その重症化に個体側の免疫学的要因が大きく関与している可能性を突き止めていた。

本プログラムにおいて、長崎大学は地球規模での熱帯病・新興感染症統合制御を目標としているが、個々の患者において、インフルエンザの発症のみならず、その重症化を予測し、病態を制御することはきわめて重要な研究テーマと考えられる。

われわれは前述したマウスモデルの解析から、重症化に関連する免疫分子を同定し、これを阻害することができれば、重症化防止に大いに役立つであろうと考え、昨年はプロテオミクス（タンパク）的手法を用いた解析とその結果確認された好中球関連の酵素活性に関して報告した。

今回は、併行して進めたジェノミクス（遺伝子）的解析の結果から得られた知見に関して特に解説する。

DNA マイクロアレイを用いて、病態に関与する分子群を発見！

DNA マイクロアレイでは、細胞内の遺伝子発現量を測定するために、あらかじめ塩基配列の明らかな1本鎖のDNAが多種、基板上に配置されている。これに各々の検体を反応させ、蛍光や電流によって検出し、その程度を各々の検体間で比較検討することで、それぞれの検体において最も発現する分子群を同定することが可能となる。

我々はこのシステムを用いて、以前から解析を行っているインフルエンザウイルスと肺炎球菌の重複感染による重症肺炎マウスモデル肺ホモジネートにおいて、各々

の単独感染による比較的軽症の肺炎マウス肺ホモジネートと比較し、その重症肺炎において特に発現が高まっている一定の分子群を同定した（表1）。

PCR や Western Blotting などにて、PAF および関連する酵素の発現と活性の上昇を確認！

この中で最も注目されたのが、Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH)である。PAFは炎症の惹起に重要な分子であると同時に、肺炎球菌の気道上皮への接着の際のAnchorとして働くことが以前から報告されており、インフルエンザウイルス感染後の肺炎球菌性肺炎の重症化にきわめて重要な役割を果たしていることが元々示唆されていた。

今回、PAFと生体内で複合体を形成するPAF-AHが比較的特異的に重複感染時の重症肺炎で発現することが判明し、これまでの仮説を裏付けることとなった。

PAF-AHの活性上昇とPAF receptorの発現上昇も重複感染マウスにて単独感染マウスより有意なことが確認され（図1）、ますます重複感染時のPAFおよび関連する分子の肺炎重症化への関与の可能性が高まった。

DNA マイクロアレイは比較的臨床応用も進んでおり、今後これらの成果が実際にインフルエンザ患者の肺炎への進展、重症化の予測に応用され、かつPAF関連分子を標的とした創薬が進めば、迅速な診断と治療が可能となることが期待される。

現在、我々の教室が開発に大いに寄与した「ペラミビル（商品名ラピアクタ）」など新規抗インフルエンザウイルス薬の上市も進んでおり、今回の成果とも併せて、重症インフルエンザへの対応およびその治療は、さらに大きく進展するものと思われる。

図の説明

表1：DNA マイクロアレイで検出された重症の重複感染肺で特に強い発現を示した分子群。ウイルス（カッコ内：右）または細菌感染単独群（カッコ外：左）との発現の差も示す。

図1：重症の重複感染肺におけるPAF関連分子の関与。PAF-AH酵素活性の上昇（上図）やPAF-Rの発現上昇（下図）が観察される。

Gene name	Gen Bank accession no.	Fold differences*
TATA-box binding protein	U63933	6.1 (2.3)
G protein coupled receptor	NM010336	5.8 (3.3)
Platelet-activating factor acetyl hydrolase (PAF-AH)	U577747	5.3 (4.3)
Conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase	U12473	5.0 (2.0)
Cyclin-dependent kinase 2 (CDK2)	U63337	3.5 (2.5)
CD19 antigen	NM009844	3.4 (4.2)
Transforming growth factor beta (TGF-β) induced transcriptase	NM009365	3.3 (1.1)
Ubiquitin activating enzyme (E1C)	AF077330	3.2 (1.2)
UDP-glucuronosyltransferase I family member I	U16816	3.2 (none)
Angiotensinogen	AF045887	2.8 (none)
Proline-serine-threonine phosphatase interacting protein	U87814	2.8 (none)
E2F binding protein I	AF015948	2.5 (1.2)
Nucleotide binding protein I	NM011955	2.4 (none)
Coagulation factor VII	U44795	2.1 (1.1)

*Fold differences indicated ratio of the genes expression in co-infected lungs, compared with those in single (bacteria or virus only) infected lungs. Left, bacteria only, and right (), virus only infection.

表 1

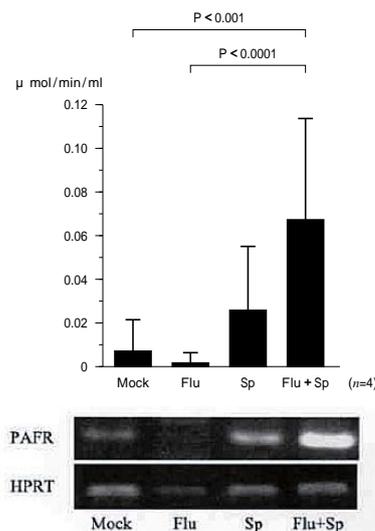


図 1

この研究の発表

論文

- 1) Seki M, Kosai K, Hara A, Imamura Y, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Tashiro T, and Kohno S. Expression and analysis of Platelet activating factor (PAF) related molecule in severe pneumonia in mice due to influenza virus and bacterial co-infection using by DNA microarray *Jpn J Infect Dis.* 2009, 62: 6-10.
- 2) Seki M, Kohno S, Newstead M, Zeng X, Bhan U, Lukacs N, Kunkel S, and Standiford T. Critical role of IRAK-M in regulating chemokine-dependent deleterious inflammation in murine influenza pneumonia. *J Immunol* 2010, 184; 1410-8
- 3) 河野 茂, 関 雅文 新型抗ウイルス薬 ペラミビル *Virus Report* 6, 130-134, 2009
- 4) 河野 茂, 関 雅文 新型インフルエンザの出現と対策 *呼吸器科* 2010, 17, 1-5
- 5) 関 雅文, 山本善裕, 河野 茂, 非経口ノイラミニダーゼ阻害薬 *治療学* 43, 1242-1244, 2009
- 6) 関 雅文, 河野 茂 インフルエンザと合併する肺炎の重症化機序 *分子呼吸病学* 2010, 1: 46-49.
- 7) 関 雅文, 河野 茂 新型インフルエンザの病態の特徴~季節性インフルエンザと比較して *呼吸器科* 2010, 17, 24-28.

学会発表

- 1) Kohno S, Kida H, Mizuguchi M, Shimada J. 2009 A Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Intravenous Peramivir in Acute Influenza Patients 49th ICCAC. September 12-15, San Francisco, USA
- 2) Seki M, Kosai K, Tanaka A, Hara A, Yanagihara K, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Mukae H, Tashiro T, and Kohno S. 2009. Two-dimensional gel electrophoresis analysis in simultaneous influenza pneumonia and bacterial infection in mice. 26th International Conference of Chemotherapy, June 18-20. Toronto, Canada.
- 3) Seki M, Tanaka A, Kosai K, Hara A, Ishimatsu Y, Yanagihara K, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, and Kohno S. 2009, Severity of pneumonia in mice due to influenza virus and bacterial co-infection. 49th Japanese Respiratory Society General Meeting, July 12-July 14, Tokyo, Japan.
- 4) Seki M, and Kohno S. 2009. Proteomic analysis of severe influenza pneumonia due to bacterial co-infection. 2nd World Summit of Antivirals. July 18-20. Beijing, China.
- 5) Seki M, Standiford T. and Kohno S. 2009 Critical role of IRAK-M in regulating chemokine-dependent deleterious inflammation in murine influenza pneumonia. 49th ICCAC. September 12-15, San Francisco, USA.
- 6) Seki M, Tanaka A, Kosai K, Hara A, Ishimatsu Y, Yanagihara K, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, and Kohno S. 2009, Expression and analysis of Platelet activating factor (PAF) related molecule in severe pneumonia in mice due to influenza virus and bacterial co-infection using by DNA microarray. 47th Infectious Disease Society of America General Meeting, October 28-November 1, Philadelphia, USA.
- 7) 小佐井康介, 関 雅文, 田中章貴, 原 敦子, 栗原慎太郎, 泉川公一, 掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 迎 寛, 田代隆良, 河野 茂 2009 インフルエンザウイルス感染を合併した重症肺炎マウスでのアポトーシスの関与に関する検討 第83回日本感染症学会総会 4月17日 東京
- 8) 小佐井康介, 関 雅文, 田中章貴, 原 敦子, 石松祐二, 栗原慎太郎, 泉川公一, 掛屋 弘, 山本善裕, 柳原克紀, 田代隆良, 河野 茂 2009 プロテアーゼ阻害剤による重症インフルエンザウイルス肺炎の制御に関する検討 第56回日本化学療法学会西日本地方会総会 11月26日 名古屋
- 9) 関 雅文, 河野 茂 2010 最新の抗インフルエンザ薬とガイドラインに沿った呼吸器感染症診療 第25回環境感染学会, 2月4-2月6日, 東京

受賞

関 雅文 日本感染症学会 北里柴三郎記念学術奨励賞

取材

- 1) 河野 茂 ペラミビル *日経メディカル* 2010年1月号
- 2) 関 雅文 サイトカインストーム *日経メディカル* 2010年1月号

HIV 感染・再活性化を助長する細菌の 制御薬物開発のための基礎研究

医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座 口腔病原微生物学
中山浩次

背景

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の口腔汚染から全身感染を引き起こすことが HIV 陽性の母親をもつ母乳栄養の子において報告されている。実験的にも口腔粘膜上皮への HIV 1 の感染によって口腔組織の初感染に引き続いて全身への HIV の播種がみられている。口腔上皮細胞には通常、HIV のコレセプターである CCR5 は発現しておらず、初感染時に重要な R5 tropic HIV の感染がどのように生じるかについては不明であったが、歯周病細菌 *Porphyromonas gingivalis* の感染により CCR5 がケラチノサイトに発現することが実験的に証明された (J. Immunol. 2007, 179, 2542-2550)。また、*P. gingivalis* の代謝産物である酪酸によって生体細胞内に潜伏している HIV 1 の再活性化が生じることが実験的に証明されている (J. Immunol. 2009, 182, 3688-3695)。このように *P. gingivalis* の感染により HIV の口腔からの感染や再活性化を引き起こす可能性がますます報告されている。本研究は HIV 感染・再活性化を助長する *P. gingivalis* の増殖をコントロールする薬物を開発するため、本菌の最重要病原因子である分泌性タンパク分解酵素 gingipain の分泌機構を解明することにある。

グラム陰性細菌の新しい タンパク分泌機構 (Por 分泌機構) の発見!

Porphyromonas gingivalis は口腔、とくに歯周病患者の歯周局所から分離されるグラム陰性嫌気性細菌である。本菌はヘミン存在下で旺盛な増殖を示し、血液寒天培地上で発育すると菌体表面でのヘム誘導体の蓄積により特徴的な黒色集落を形成する。赤血球凝集能および血小板凝集能をもつ。本菌はエネルギー源として炭水化物を利用できず、もっぱら菌体表面および菌体外プロテアーゼでタンパクを分解し、ペプチドを摂取してエネルギー

源とする。必然的に強力なプロテアーゼを産生・分泌するが、その大部分を占めるプロテアーゼがジンジパインである。ジンジパインはいろいろな生体タンパクを分解し、多彩な生物活性を誘導する。ジンジパインには Arg-gingipain (Rgp) と Lys-gingipain (Kgp) の 2 種類があり、Rgp は *rgpA*、と *rgpB* の 2 つの遺伝子、Kgp は *kgp* 遺伝子にコードされる。*rgpA* と *kgp* 遺伝子は 3' 側にアドヘジンドメインをコードしており、本菌の赤血球凝集能および血小板凝集能に寄与する。このようにジンジパイン遺伝子群のコードするタンパクの機能については多くの知見が得られている一方、これらのタンパクの菌体外への分泌機構はほとんど解明されていない。

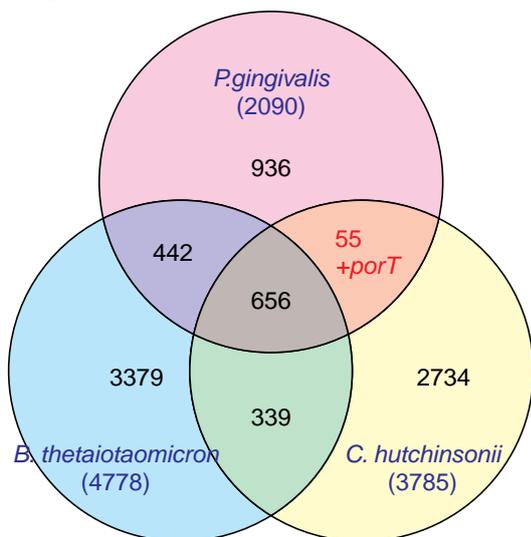
私たちはジンジパインの菌体外への分泌機構に異常を示す変異株を分離し、その変異遺伝子 *porT* を同定した。*P. gingivalis* の遺伝子のもっとも類似性のある homolog は近縁種である *Bacteroides* 属菌に多く見つかるが、*porT* 遺伝子については *Bacteroides* には存在せず、Phylum *Bacteroidetes* 中の少し離れた菌種である *Cytophaga hutchinsonii* や *Flavobacterium johnsoniae* に見つかる。そこで *P. gingivalis* の遺伝子で *C. hutchinsonii* には homolog が存在するが、*Bacteroides thetaotaomicron* にはないもの、55 遺伝子 (*porT* を含まない) を同定し (図 1)、その内の 46 遺伝子の変異株を作製したところ、10 遺伝子の変異株 (*porK*、*porL*、*porM*、*porP*、*porU*、*porQ*、*porW*、*porX*、*porY*、*sov*) がジンジパインの輸送・分泌機構に異常を示した。そのなかに *C. hutchinsonii* や *F. johnsoniae* の滑走運動に関わる遺伝子群の homolog が含まれていた。*F. johnsoniae* の *porT* homolog (*sprT*) の変異株を作製したところ、その変異株は滑走運動に異常を示した (図 2)。*F. johnsoniae* の滑走運動関連遺伝子変異株ではキチン利用能に障害があることが報告されている。そこで *F. johnsoniae* の *sprT* 変異株について菌体および培養上清中のキチン分解活性を合成基質を用いて調べたところ、野生株の培養上清中にはキチン分解活性が検出されたが、変異株では

まったく検出されなかった。また、培養上清中には野生株では Fjoh_4555タンパク質（推定上のキチナーゼ）のタンパク質バンドがみられたが、変異株ではなかった。これらの結果は *F. johnsoniae* においてはある種のタンパク質の分泌と滑走運動とが密接な関係にあることを示唆した。前述の2つのタンパク質（PorX, PorY）は二成分制御系のタンパク質のモチーフを有していた。Real-time RT-PCR 解析の結果、*porK*、*porL*、*porM*、*porN*、*porP*、*porT*、*sov* 遺伝子の発現は *P. gingivalis porX* および *porY* 変異株では減少していた（図3）。*P. gingivalis* において同定されたジンジパイン分泌機構に関するタンパクはいままでに報告のある分泌機構の構成タンパクとは類似性がなく、新規のタンパク分泌機構（Por secretion system）を構成するものと思われる。

同様な分泌機構は他の歯周病細菌の *Tannerella forsythia* や *Prevotella intermedia* にも存在することがゲノム情報から明らかであり、*P. gingivalis* を始めこれらの歯周病細菌の制圧にこの新規のタンパク分泌機構を標的とする制御薬物開発が考えられる。

図の説明
 図1：ベン図解析
 図2：*F. johnsoniae sprT* 変異株の集落性状（滑走運動を行う野生株および相補株では集落の周囲が明瞭でない）
 図3：*P. gingivalis porX* および *porY* 変異株での Por 分泌機構関連タンパク質遺伝子の発現減少

図1



この研究の発表

論文

Sato K, Naito M, Yukitake H, Hirakawa H, Shoji M, McBride MJ, Rhodes RG, and Nakayama K: A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107:276-281, 2010.

図2

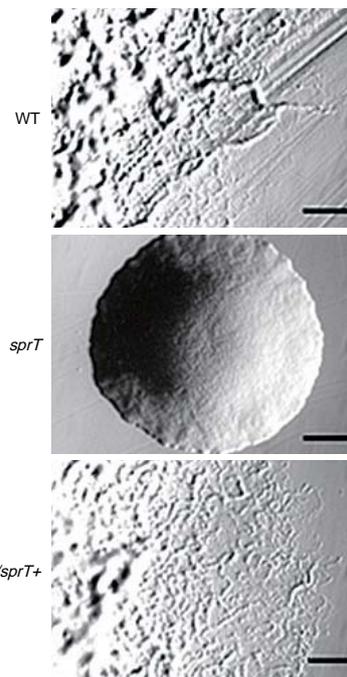
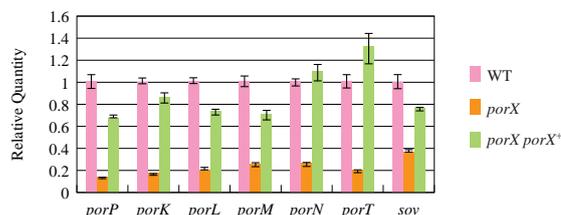
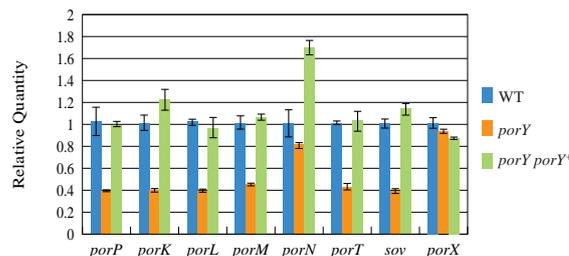


図3

A



B



自己組織化型感染症ワクチンベクターの開発

長崎大学病院 薬剤部

佐々木均

背景

これまでに、様々な感染症に対し、不活化ワクチンや弱毒性ワクチンが開発され、高い予防効果が得られている。さらに、近年開発されている DNA ワクチンやペプチドワクチンも期待される薬剤である。特に、DNA ワクチンは DNA の合成のみでワクチンが生産できるために、安価で均一なワクチンを短期間に大量生産することが可能であり、パンデミックにも対応が可能な次世代型ワクチンとしての実用化が期待されている。しかしながら、DNA ワクチンは抗原提示細胞への取り込みに乏しく、十分な免疫誘導効果が得られていないために、臨床応用に至っていない。

このため、DNA ワクチンを抗原提示細胞へ効率的に取り込ませる新規 DNA ワクチンベクターの開発が望まれている。

脾臓に選択的に 遺伝子を発現する 遺伝子ベクターを開発!!

脾臓は免疫誘導に極めて重要な役割を果たすことで知られており、抗原提示細胞が非常に豊富な臓器である。このため、脾臓の抗原提示細胞に効率的に DNA ワクチンを送達する事が出来れば、高い免疫誘導効果が得られると考えられる。そこで、我々は脾臓に効率的に遺伝子を導入する新規 DNA ワクチンベクターの開発を行った。

市販の遺伝子ベクターは強い正電荷を帯びており、負電荷を帯びた DNA と強く結合し、細胞内へ効率的に取り込まれる。一方で、これらの正電荷化合物は細胞障害性が高く、生体内に投与した際に、生体成分と相互作用し、凝集による塞栓症や炎症などの重篤な副作用の原因となることが知られている。

そこで、我々はまず、生体に投与できる安全な遺伝子ベクターの開発に着手した。市販の遺伝子ベクター polyethylenimine (PEI)を用いて作製した DNA/PEI 複合体は

非常に高い遺伝子導入効果を示すものの、毒性が強いことから臨床応用が難しいとされている。そこで、PEI の毒性を改善するために、DNA/PEI 複合体と様々な負電荷高分子を静電的に自己組織化した新規遺伝子ベクターの開発を行った。この結果、ほとんどの負電荷高分子は、DNA/PEI 複合体の細胞障害性や赤血球凝集を大きく軽減したものの、遺伝子導入効果が大幅に減少した。しかし、驚くべき事に γ -ポリグルタミン酸 (γ -PGA) を用いて自己組織化した遺伝子ベクター (DNA/PEI/ γ -PGA 複合体) は細胞障害性や凝集が著しく低いにも関わらず、非常に高い遺伝子導入効果を示した。

また、この DNA/PEI/ γ -PGA 複合体を実験動物に投与したところ、DNA/PEI 複合体が示す急性毒性や肝障害を示すことなく、非常に高い安全性が認められた。さらに、DNA/PEI/ γ -PGA 複合体を実験動物の静脈内に投与した結果、全身を循環した後に脾臓の辺縁体に選択的に蓄積し、高い遺伝子発現を示すことが明らかになった。

辺縁体は脾臓において血液中の抗原と抗原提示細胞が初めて接触する部位であり、脾臓の中でも抗原提示細胞として知られる樹状細胞やマクロファージが特に豊富な部分である。この結果は、DNA/PEI/ γ -PGA 複合体が DNA を抗原提示細胞に効率的に送達し、高い免疫誘導効果を惹起する可能性を示しており、安全かつ効果的な DNA ワクチンベクターとしての実用化が期待できる。

DNA/PEI/ γ -PGA 複合体によって マラリアの感染の抑制に成功!!

そこで、我々は平山教授との共同研究で、マラリアの DNA ワクチンにこの DNA/PEI/ γ -PGA 複合体を応用した。マラリア抗原である MSP-1c をコードした DNA を用いて DNA/PEI/ γ -PGA 複合体を作製し、実験動物に投与した結果、マラリアに対する特異的な抗体の産生が認められた。さらに、DNA/PEI/ γ -PGA 複合体を用いて免疫した実験動物にマラリア原虫を感染させた結果、感染を大幅に抑制し、生存率を大きく向上することに成功

した。

また、この DNA ワクチンベクターは、性質の異なる様々な DNA ワクチンに応用することが可能なことから、多くの疾患の新たなワクチン療法の開発に有用であると考えられる。さらに、この遺伝子ベクターの構成成分は大量生産が可能な安価な化合物であり、我々は既にベクターの凍結乾燥品の作製にも成功している。このように、我々が開発した新規 DNA ワクチンベクター (DNA/PEI/ γ -PGA 複合体) は、安価で、速やかな大量生産と安定した供給が可能であることから、パンデミックへの対応のみならず、発展途上国における治療法の開発が見捨てられた希少な感染症や疾患に関しても十分に貢献できる。

以上、様々な疾患に応用が可能な自己組織化型 DNA ワクチンベクターの開発に成功した。

図の説明

図 1 : DNA/PEI/ γ -PGA 複合体の脾臓での遺伝子発現

(A)脾臓における赤色蛍光タンパク質の発現

(B)脾臓の HE 染色図

赤脾髄と白脾髄の境界部分である辺縁部に、赤色蛍光タンパク質が選択的に発現している。

図 2 : DNA ワクチン投与によるマラリア感染抑制効果

DNA のみを投与したグループは Control グループと大きな差は認められなかったが、DNA/PEI/ γ -PGA 複合体を投与したグループでは生存率が大幅に向上した。

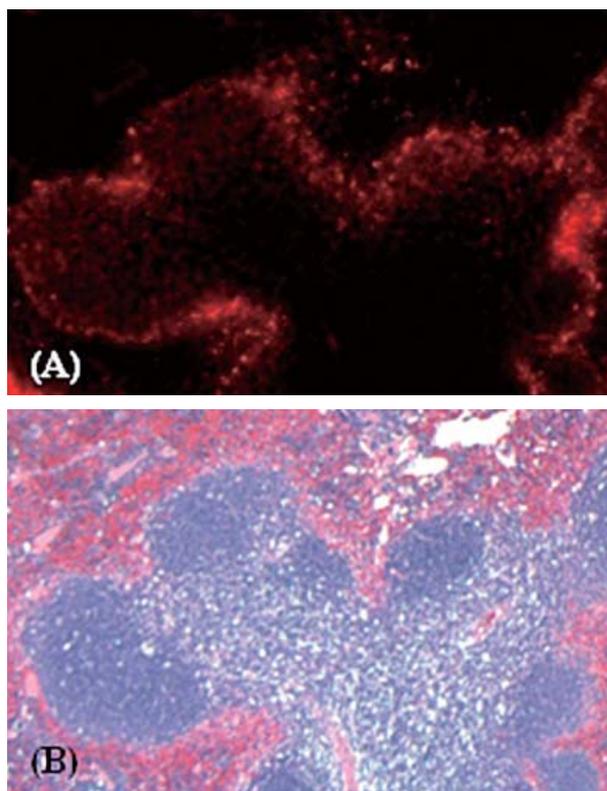


図 1 : DNA/PEI/ γ -PGA 複合体の脾臓での遺伝子発現

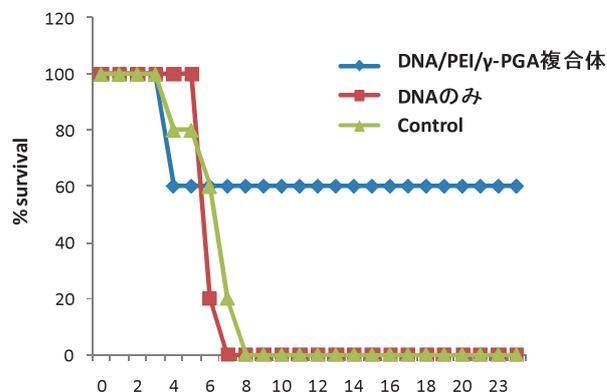


図 2 : DNA ワクチン投与によるマラリア感染抑制効果

この研究の発表

論文

- 1) Kurosaki T, Kitahara T, Fumoto S, Nishida K, Nakamura J, Niidome T, Kodama Y, Nakagawa H, To H, Sasaki H, Ternary complexes of pDNA, polyethylenimine, and gamma-polyglutamic acid for gene delivery systems, *Biomaterials*, 30, 2846-53 (2009).
- 2) Kurosaki T, Kitahara T, Kawakami S, Nishida K, Nakamura J, Teshima M, Nakagawa H, Kodama Y, To H, Sasaki H, The development of a gene vector electrostatically assembled with a polysaccharide capsule, *Biomaterials*, 30, 4427-34 (2009).

特許

- 1) 佐々木均、黒崎友亮、藤秀人、北原隆志、「薬物送達複合体」、特願2008 224118

2010年

- 1 Inoue S., Alonzo M., Kurosawa Y., Reyes J. Dimaano E., Alera M., Saito M., Oishi K., Hasebe F., Matias R., Natividad F. and Morita K. Evaluation of a dengue IgG-indirect ELISA and a Japanese encephalitis IgG-indirect ELISA for diagnosis of secondary dengue
- 2 Okara RM, Sinka ME, Minakawa N, Mbogo CM, Hay SI and Snow RW. Distribution of the main malaria vectors in Kenya. *Malar J.* 2010 Mar 4; 9: 69.
- 3 Zhou G, Githeko AK, Minakawa N and Yan G. Community-wide benefits of targeted indoor residual spray for malaria control in the Western Kenya Highland. *Malar J.* 2010 Mar 3; 9: 67.
- 4 Cunliffe NA, Booth JA, Elliot C, Lowe SJ, Sopwith W, Kitchin N, Nakagomi O, Nakagomi T, Hart CA, Regan M. Healthcare-associated viral gastroenteritis among children in a large pediatric hospital, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 16: 55-62, 2010.
- 5 Nakamura T, Teshima M, Kitahara T, Sasaki H, Uematsu M, Kitaoka T, Nakashima M, Nishida K, Nakamura J, Higuchi S. Sensitive and real-time method for evaluating corneal barrier considering tear flow. *Biol Pharm Bull.* 2010 Jan; 33(1): 107-10.
- 6 Kusano M, Uematsu M, Kumagami T, Sasaki H, Kitaoka T. Evaluation of acute corneal barrier change induced by topically applied preservatives using corneal transepithelial electric resistance in vivo. *Cornea.* 2010 Jan; 29(1): 80-5.

2009年

- 1 Seki M, Kohno S, Newstead M, Zeng X, Bhan U, Lukacs N, Kunkel S, Standiford T. Critical role of IRAK-M in regulating chemokine-dependent deleterious inflammation in murine influenza pneumonia. *J Immunol.* 2010 Feb 1; 184(3): 1410-8. Epub 2009 Dec 30.
- 2 Nakazawa S, Marchand RP, Nguyen QT, Culleton R, Nguyen MD, Maeno Y. Anopheles dirus co-infection with human and monkey malaria parasites in Vietnam. *Int J Parasitol.* 2009 Dec; 39(14): 1533-7.
- 3 Kajiyama S, Tsurumoto T, Osaki M, Yanagihara K, Shindo H. Quantitative analysis of Staphylococcus epidermidis biofilm on the surface of biomaterial. *J Orthop Sci.* 2009 Nov; 14(6): 769-75. Epub 2009 Dec 8.
- 4 Sato K, Naito M, Yukitake H, Hirakawa H, Shoji M, McBride MJ, Rhodes RG, and Nakayama K. A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Jan 5; 107(1): 276-81. Epub 2009 Dec 4.
- 5 Kurosaki T, Kitahara T, Kawakami S, Higuchi Y, Yamaguchi A, Nakagawa H, Kodama Y, Hamamoto T, Hashida M, Sasaki H. Gamma-polyglutamic acid-coated vectors for effective and safe gene therapy. *J Control Release.* 2010 Mar 19; 142(3): 404-10. Epub 2009 Nov 18.
- 6 Nhlen NT, Huy NT, Naito M, Oida T, Uyen DT, Huang M, Kikuchi M, Harada S, Nakayama K, Hirayama K, Kamei K. Neutralization of Toxic Heme by Porphyromonas gingivalis Hemoglobin Receptor. *J Biochem.* 2010 Mar; 147(3): 317-25. Epub 2009 Oct 27.
- 7 Yu Z., Kabashima T., Tang C., Shibata T., Kitazato K., Kobayashi N., Lee MK and Kai M. Selective and facile assay of human immunodeficiency virus protease activity by a npel fluorogenic reaction. *Anal Biochem.* 2010 Feb 15; 397(2): 197-201. Epub 2009 Oct 21.
- 8 Kouichi Morita. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis in East Asia. *Vaccine.* 2009 Nov 23; 27(50): 7131-2. Epub 2009 Sep 30.
- 9 Pham Thi Le Hoa, Nguyen Tien Huy, Le The Thu, Cao Ngoc Nga, Kazuhiko Nakao, Katsumi Eguchi, Nguyen Huu Chi, Bui Huu Hoang and Kenji Hirayama. Randomized controlled study investigating viral suppression and serological response following pre-S 1/pre-S 2/S vaccine therapy combined with lamivudine treatment in HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Dec; 53(12): 5134-40. Epub 2009 Sep 21.
- 10 Morinaga Y, Yanagihara K, Miyashita N, Yamamoto K, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, H. Mukae, Yamada Y, Kohno S, Kamihira S. Azithromycin, clarithromycin and telithromycin inhibit MUC 5 AC induction by Chlamydomonas pneumoniae in airway epithelial cells. *Pulm Pharmacol Ther.* 2009 Dec; 22(6): 580-6. Epub 2009 Aug 28.

- 11 Saijo T, Miyazaki T, Izumikawa K, Mihara T, Takazono T, Kosai K, Imamura Y, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Skin 7 p Is Involved in Oxidative Stress Response and Virulence of *Candida glabrata*. *Mycopathologia*. 2010 Feb; 169(2): 81-90. Epub 2009 Aug 20.
- 12 Onozuka D, Hashizume M, Hagihara A. Effects of weather variability on infectious gastroenteritis. *Epidemiol. Infect.* 2010 Feb; 138(2): 236-43. Epub 2009 Aug 14.
- 13 Dong Tu Nguyen, Tuan Cuong Ngo, Huy Hoang Tran, Thi Phuong Lan Nguyen, Binh Minh Nguyen, Kouichi Morita and Masahiko Ehara. Two different mechanisms of ampicillin resistance operating in strains of *Vibrio cholerae* O1 independent of resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*. 2009 Sep; 298(1): 37-43. Epub 2009 Jun 22.
- 14 Nakamura S, Yanagihara K, Izumikawa K, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Senjyu H, Saito A, Kohno S. The Clinical Efficacy of Fluoroquinolone and Macrolide Combination therapy compared with single agent therapy against community-acquired pneumonia caused by *Legionella pneumophila*. *J Infect.* 2009 Sep; 59(3): 222-4. Epub 2009 Jun 21.
- 15 Takazono T, Izumikawa K, Mihara T, Kosai K, Saijo T, Imamura Y, Miyazaki T, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Efficacy of combination antifungal therapy with intraperitoneally administered micafungin and aerosolized liposomal amphotericin B against murine invasive pulmonary aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Aug; 53(8): 3508-10. Epub 2009 Jun 15.
- 16 Huan Zhang, Takayuki Shibata, Tomasz Krawczyk, Tsutomu Kabashima, Jianzhong Lu, Myung K. Leec, and Masaaki Kai. Facile detection of proteins on a solid-phase membrane by direct binding of dextran-based luminol-biotin chemiluminescent polymer. *Talanta*. 2009 Aug 15; 79(3): 700-5. Epub 2009 May 3.
- 17 Kurosaki T, Kitahara T, Kawakami S, Nishida K, Nakamura J, Teshima M, Nakagawa H, Kodama Y, To H, Sasaki H. The development of a gene vector electrostatically assembled with a polysaccharide capsule. *Biomaterials*. 2009 Sep; 30(26): 4427-34. Epub 2009 May 26.
- 18 Yamamoto K, Yanagihara K, Sugahara K, Imamura Y, Seki M, Izumikawa K, Takeya H, Yamamoto Y, Hirakata Y, Kamihira S, Kohno S. In vitro activity of garenoxacin against *Streptococcus pneumoniae* mutants with characterized resistance mechanisms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Aug; 53(8): 3572-5. Epub 2009 May 18.
- 19 Yamashita M, Takahashi K, Sato M, Otsu K, Hirayama T, Katagata Y.: Comparison of keratin expression in cultured human adenocarcinoma cell lines. *J Dermatol Sci.* 2009 Jul; 55(1): 59-61. Epub 2009 Apr 18.
- 20 Pattaradilokrat S, Culleton RL, Cheesman SJ, Carter R. Gene encoding Erythrocyte Binding Ligand linked to blood stage multiplication rate phenotype in *Plasmodium yoelii yoelii*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Apr 28; 106(17): 7161-6. Epub 2009 Apr 9.
- 21 Xiluan Yan, Zhijuan Cao, Masaaki Kai, Jianzhong Lu. Label-free aptamer-based chemiluminescence detection of adenosine. *Talanta*. 2009 Jul 15; 79(2): 383-7. Epub 2009 Apr 5.
- 22 Takeshi Nabeshima, Hyunh Thi Kim Loan, Shingo Inoue, Makoto Sumiyoshi, Yasuhiro Haruta, Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huong, Maria del Carmen Parquet, Futoshi Hasebe, and Kouichi Morita. Evidence of frequent introductions of Japanese encephalitis virus from south-east Asia and continental east Asia to Japan. *J Gen Virol.* 2009 Apr; 90(Pt 4): 827-32. Epub 2009 Mar 4.
- 23 Otsuki H, Kaneko O, Thongkukiattkul A, Tachibana M, Iriko H, Takeo S, Tsuboi T, Torii M. Single amino acid substitution in *Plasmodium yoelii* erythrocyte ligand determines its localization and controls parasite virulence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Apr 28; 106(17): 7167-72. Epub 2009 Apr 3.
- 24 Iriko H, Jin L, Kaneko O, Takeo S, Han T-T, Tachibana M, Otsuki H, Torii M, Tsuboi T. A small-scale systematic analysis of alternative splicing in *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Int.* 2009 Jun; 58(2): 196-9. Epub 2009 Mar 5.
- 25 Izumikawa K, Akamatsu S, Kageyama A, Okada K, Kazuyama Y, Takayanagi N, Nakamura S, Inoue Y, Higashiyama Y, Fukushima K, Ishida T, Sawai T, Yoshimura K, Nakahama C, Ohmichi M, Kakugawa T, Nishioka Y, Aoki N, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Kohno S. Evaluation of a rapid immunochromatographic ODK 0501 assay for detecting *Streptococcus pneumoniae* antigen in sputum samples from patients with lower respiratory tract infection. *Clin Vaccine Immunol.* 2009 May; 16(5): 672-8. Epub 2009 Mar 4.
- 26 Nakamura S, Yanagihara K, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Takeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. Multiplex real-time PCR for rapid detection of beta-lactamase-negative, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009 May; 64(1): 64-9. Epub 2009 Feb 20.
- 27 Kurosaki T, Kishikawa R, Matsumoto M, Kodama Y, Hamamoto T, To H, Niidome T, Takayama K, Kitahara T,

- Sasaki H. Pulmonary gene delivery of hybrid vector, lipopolyplex containing N-lauroylsarcosine, via the systemic route. *J Control Release*. 2009 Jun 19; 136(3): 213-9. Epub 2009 Feb 20.
- 28 Kurosaki T, Kitahara T, Fumoto S, Nishida K, Nakamura J, Niidome T, Kodama Y, Nakagawa H, To H, Sasaki H. Ternary complexes of pDNA, polyethylenimine, and γ -polyglutamic acid for gene delivery systems. *Biomaterials*. 2009 May; 30(14): 2846-53. Epub 2009 Feb 20.
 - 29 Tippawangkosol P, Duangchanda T, Ubalee R, Ruengweerayut R, Hirayama K, Na-Bangchang K. Identification of HLA-A 24 restricted pre-erythrocytic stage specific T-cell epitopes using *Plasmodium falciparum* synthetic peptides: a preliminary study. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*.40(1): 10-7. Jan 2009.
 - 30 N Tsuchiya, P Pathipvanich, T Yasuda, Y Mukoyama, A Rojanawiwat, T Matsubayashi, S Saeng-aroon, W Auwanit, A Matsuyama, P Sawanpanyalert, K Ariyoshi. Demographic, socio-economic, behavioral and clinical factors predicting virologic failure with generic fixed-dose combination antiretroviral therapy before universal health insurance coverage in northern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 40(1): 71-82. Jan 2009.
 - 31 Hashizume M, Wagatsuma Y, Hayashi T, Saha SK, Streatfield K, Yunus M. The effect of temperature on mortality in rural Bangladesh: a population based time-series study. *Int J of Epidemiol*. 2009 Dec; 38(6): 1689-97. Epub 2009 Jan 30.
 - 32 Takeshima E, Tomimori K, Teruya H, Ishikawa C, Senba M, D'Ambrosio D, Kinjo F, Mimuro H, Sasakawa C, Hirayama T, Fujita J, Mori N.: *Helicobacter pylori*-Induced Interleukin-12 p 40 Expression. *Infect. Immun*. 2009 Apr; 77(4): 1337-48. Epub 2009 Jan 29.
 - 33 Hashizume M, Terao T and Minakawa N*. 2009. The Indian Ocean Dipole and malaria risk in the highlands of western Kenya. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb 10; 106(6): 1857-62. Epub 2009 Jan 27.
 - 34 Nakamura S, Yanagihara K, Morinaga Y, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Kamihira S, Kohno S. Comparative mutant prevention concentration and mutant selection window of sitafloxacin versus other quinolones using strains of *H. influenzae* with decreasing susceptibility to levofloxacin. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 May; 33(5): 489-90. Epub 2009 Jan 15.
 - 35 Seki M, Higashiyama Y, Imamura Y, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Tashiro T, Kohno S. A clinical comparative study of piperacillin and sulbactam/ampicillin in patients with community-acquired bacterial pneumonia. *Intern Med*. 2009; 48(1): 49-55. Epub 2009 Jan 1.
 - 36 Gurgel R, Bohland A, Vieira S, Oliveira D, Fontes P, Barros V, Ramos M, Dove W, Nakagomi T, Nakagomi O, Correia J, Cunliffe N, Cuevas L. Incidence of rotavirus and all-cause diarrhea in Northeast Brazil following the Introduction of a national vaccination program. *Gastroenterology*.137: 1970-1975, 2009
 - 37 Pandey BD, Pandey K, Kaneko O, Yanagi T, Hirayama K. Relapse of Visceral Leishmaniasis Following Miltefosine Treatment in a Nepalese Patient. *Am J Trop Med Hyg*. 2009.
 - 38 Lee, C.-G., Kang, K.-H., So, J.-S., Kwon, H.-K., Son, J.-S., Song, M.-K., Sahoo, A., Yi, H.-J., Hwang, K.-C., Matsuyama, T., Yui, K., Im, S.-H., A distal cis-regulatory element, CNS-9, controls NFAT 1 and IRF 4-mediated IL-10 gene activation in T helper cells. *Mol. Immunol.*, 46; 613-621. 2009.
 - 39 Le Roux CA, Kubo T, Grobbelaar AA, van Vuren PJ, Weyer J, Nel LH, Swanepoel R, Morita K, Paweska JT. Development and evaluation of a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Rift Valley fever virus in clinical specimens. *J Clin Microbiol*. Mar; 47(3): 645-51. 2009.
 - 40 Tomioka, Y, Morimatsu, M, Amagai, K, Kuramochi, M, Watanabe, Y, Kouda, S, Wada, T, Kuboki, N and Ono. E Fusion protein consisting of the first immunoglobulin-like domain of porcine nectin-1 and Fc portion of human IgG 1 provides a marked resistance against pseudorabies virus infection to transgenic mice. *Microbiology and Immunology* 538-15. 2009
 - 41 Hashizume M, Terao T and Minakawa N*. The Indian Ocean Dipole and malaria risk in the highlands of western Kenya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.106: 1857-1862. 2009.
 - 42 Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S, Furue M. Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans: a 40-year follow-up study of Yusho patients. *Am J Epidemiol*. 169(1): 86-95. 2009.
 - 43 K Eguchi, H Fujii, M Otani, K Oshima, T Matsuo and T Yamamoto. Human T-Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-Genetic Typing in Kakeroma Island, an Island at the Crossroads of the Ryukyus and Wajin in Japan, Providing Further Insights into the Origin of the Virus in Japan. *J Med Virol.*; 81(8): 1450-6. Aug 2009.
 - 44 Guoxi CAI, Jun KANG, Ling SHEN, Xiangdong MIN, Zhunyou WU, Keming ROU, Taro YAMAMOTO, Kazuhiko MOJI. Assessment of a questionnaire used for an AIDS-related KABP survey among physicians in

China. Information SCIE. 2009.

- 45 Hashizume M, Terao T, Minakawa N. Indian Ocean Dipole and malaria risk in the highlands of western Kenya. *Proc Natl Acad Sci U S A*.106: 1857-62. 2009.
- 46 Hashizume M, Wagatsuma Y, Hayashi T, Saha SK, Streatfield K, Yunus M. The effect of temperature on mortality in rural Bangladesh: a population based time-series study. *Int J Epidemiol*. 38(6): 1689-97. Epub Jan 30. 2009.
- 47 Tomoko Abe, Sumihisa Honda, Shusuke Nakazawa, Trinh Dinh Tuong, Nguyen Quang Thieu, Le Xuan Hung, Le Khanh Thuan, Kazuhiko Moji, Masahiro Takagi and Taro Yamamoto. Risk Factors for Malaria Infection among Ethnic Minorities in Binh Phuoc, Vietnam. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 40: 18-29. 2009.
- 48 Abe M, Muhoho ND, Sunahara T, Moji K, Yamamoto T, Aoki Y. Effect of communal piped water supply on water use pattern and the transmission of schistosomiasis haematobia in an endemic area of Kenya. *Tropical Medicine and Health*. 37(2): 43-53. 2009.
- 49 Rojanawiwat A, Ariyoshi K, Pathipvanich P, Tsuchiya N, Auwanit W, Sawanpanylaert P. Substantially Exposed but HIV-Negative Individuals Are Accumulated in HIV-Serology-Discordant Couples Diagnosed in a Referral Hospital in Thailand. *Jpn J Infect Dis*. 62(1): 32-6. Jan 2009.
- 50 Helegbe GK, Nguyen TH, Yanagi T, Shuaibu MN, Yamazaki A, Kikuchi M, Yasunami M, Hirayama K. Rate of red blood cell destruction varies in different strains of mice infected with *Plasmodium berghei*-ANKA after chronic exposure. *Malaria Journal*. 8: 91 doi: 10. 1186/1475-2875-8-9. 2009.
- 51 Ekhlas H A-H, Kikuchi M, Watanabe K, Ito T, Yu C, Chen H, Nara T, Arakawa T, Aoki Y, Hirayama K. Proteome approach for identification of schistosomiasis japonica vaccine candidate antigen. *Parasitology International* 58: 36-44. 2009.
- 52 Seki M, Kosai K, Hara A, Imamura Y, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Mukae H, Tashiro T, and Kohno S. Expression and analysis of Platelet activating factor (PAF) related molecule in severe pneumonia in mice due to influenza virus and bacterial co-infection using by DNA microarray. *Jpn J Infect Dis*. 62: 6-10. 2009.
- 53 Sato K, Kido N, Murakami Y, Hoover CI, Nakayama K, and Yoshimura F. Lipopolysaccharide biosynthesis-related genes are required for colonial pigmentation of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology-SGM*. 2009.
- 54 Kikuchi Y, Ohara N, Ueda O, Hirai K, Shibata Y, Nakayama K, and Fujimura S. *Porphyromonas gingivalis* mutant defective in a putative ECF sigma factor shows a mutator phenotype. *Oral Microbiol. Immunol*. 2009.

2008年

- 1 Mita T, Tanabe K, Takahashi N, Culleton RL, Ndounga M, Dzodzomenyo M, Akhwale WS, Kaneko A, Kobayakawa T. Indigenous evolution of *Plasmodium falciparum* pyrimethamine resistance multiple times in Africa. *J Antimicrob Chemother* 63(2): 2009 Feb; 63(2): 252-5. Epub 2008 Nov 25.
- 2 Yoshida A, Isomoto H, Hisatsune J, Nakayama M, Nakashima Y, Matsushima K, Mizuta Y, Hayashi T, Yamaoka Y, Azuma T, Moss J, Hirayama T, Kohno S.: Enhanced expression of CCL 20 in human *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Clin Immunol*. 2009 Mar; 130(3): 290-7. Epub 2008 Nov 8.
- 3 Nakayama M, Hisatsune J, Yamasaki E, Isomoto H, Kurazono H, Hatakeyama M, Azuma T, Yamaoka Y, Yahiro K, Moss J, Hirayama T.: *Helicobacter pylori* VacA-induced inhibition of GSK 3 through the PI 3 K/Akt signaling pathway. *J Biol Chem*. 2009 Jan 16; 284(3): 1612-9. Epub 2008 Nov 7.
- 4 Ishimoto H, Mukae H, Sakamoto N, Amenomori M, Kitazaki T, Imamura Y, Fujita H, Ishii H, Nakayama S, Yanagihara K, and Kohno S. Different effects of telithromycin on MUC 5 AC production induced by human neutrophil peptide-1 or lipopolysaccharide in NCI-H 292 cells compared with azithromycin and clarithromycin. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Jan; 63(1): 109-14. Epub 2008 Oct 18.
- 5 Nakamura S, Izumikawa K, Seki M, Kakeya H, Yamamoto Y, Yanagihara K, Miyazaki Y, Kohno S. Pulmonary cryptococcosis in late pregnancy and review of published literature. *Mycopathologia*. 2009 Mar; 167(3):125-31 . Epub 2008 Oct 18.
- 6 Smanmoo C, Yamasuji M, Sagawa T, Shibata T, Kabashima T, Yuan DQ, Fujita K, Kai M. Diimine ligand as a novel chemiluminescence enhancer of luminol-containing compounds. *Talanta*. 2009 Mar 15; 77(5): 1761-6. Epub 2008 Oct 17.
- 7 Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A, Tachibana M, Otsuki H, Gao Q, Tsuboi T, Torii M. Rhopty neck protein

- RON 2 forms a complex with microneme protein AMA 1 in *Plasmodium falciparum* merozoites. *Parasitol Int.* 2009 Mar; 58(1): 29-35. Epub 2008 Oct 7.
- 8 Mouillet-Richard S, Nishida N, Pradines E, Laude H, Schneider B, Féraudet C, Grassi J, Launay JM, Lehmann S, Kellermann O. Prions impair bioaminergic functions through serotonin-or catecholamine-derived neurotoxins in neuronal cells. *J Biol Chem.* 283(35): 23782-90. Aug 29 2008.
 - 9 Naghipour M, Nakagomi T, Nakagomi O: Issues with reducing the rotavirus-associated mortality by vaccination in developing countries. *Vaccine* 26: 3236-3241. 2008.
 - 10 Gurgel RQ, Cunliffe NA, Nakagomi O, Cuevas LE: Rotavirus genotypes circulating in Brazil before national rotavirus vaccination: A review. *J Clin Virol* 43: 1-8. 2008.
 - 11 Nakagomi T, Cuevas LE, Gurgel RG, Elrokhsi SH, Belkhir YA, Abugalia M, Dove W, Montenegro FM, Correia JB, Nakagomi O, Cunliffe NA, Hart CA: Apparent extinction of non-G 2 rotavirus strains from circulation in Recife, Brazil, after the introduction of rotavirus vaccine. *Arch Virol* 153: 591-593. 2008.
 - 12 Kheyami AM, Nakagomi T, Nakagomi O, Dove W, Hart CA, Cunliffe NA: Molecular epidemiology of rotavirus diarrhea among children in Saudi Arabia: first detection of G 9 and G 12 Strains. *J Clin Microbiol* 46: 1185-1191. 2008.
 - 13 Nakagomi T, Correia JB, Nakagomi O, Montenegro FM, Cuevas LE, Cunliffe NA, Hart CA. Norovirus infection among children with acute gastroenteritis in Recife, Brazil: disease severity is comparable to rotavirus gastroenteritis. *Arch Virol* 153: 957-960, 2008.
 - 14 Bozdayi G, Dogan B, Dalgic B, Bostanci I, Sari S, Battaloglu NO, Rota S, Dallar Y, Nishizono A, Nakagomi O, Ahmed K. Diversity of human rotavirus G 9 among children in Turkey. *J Med Virol* 80: 733-740, 2008.
 - 15 Al-Mashhadani MN, Nakagomi O, Dove W, Ahmed H, Nakagomi T, Hart CA, Cunliffe NA. Norovirus gastroenteritis among children in Iraqi Kurdistan. *J Med Virol* 80: 506-509, 2008.
 - 16 Tsuboi T, Takeo S, Iriko H, Jin L, Tsuchimochi M, Matsuda S, Han E-T, Otsuki H, Kaneko O, Sattabongkot J, Udomsangpetch R, Sawasaki T, Torii M, Endo Y: The wheat germ cell-free system-based production of malaria proteins for discovery of novel vaccine candidates. *Infect Immun* 76(4): 1702-1708, 2008
 - 17 Pandey K, Pant S, Kanbara H, Shuaibu MN, Mallik AK, Pandey BD, Kaneko O, Yanagi T: Molecular detection of *Leishmania* parasites from whole bodies of sandflies collected in Nepal. *Parasitol Res* 103(2): 293-297, 2008
 - 18 Mphande FA, Ribacke U, Kaneko O, Kironde F, Winter G, Wahlgren M: SURFIN 4. 1, a schizont-merozoite associated protein in the SURFIN family of *Plasmodium falciparum*. *Malaria J* 7: 116, 2008
 - 19 Udomsangpetch R, Kaneko O, Chotivanich K, Sattabongkot J: Cultivation of *Plasmodium vivax*. *Trends Parasitol*, 24(2): 85-88. 2008.
 - 20 Katagata Y, Hirayama T.: Unexpected expression of Hsp 47, Q 1 a replacement of one amino acid (Val 7 Leu) in the amino terminal region, in cultured human tumorigenic cell lines. *J Dermatol. Sci.* 49: 33-38. 2008.
 - 21 Hisatsune J, Nakayama M, Isomoto H, Kurazono H, Mukaida N, Mukhopadhyay AK, Azuma T, Yamaoka Y, Sap J, Yamasaki E, Yahiro K, Moss J, Hirayama T. Molecular characterization of *Helicobacter pylori* VacA-induction of IL-8 in U 937 cells reveals a prominent role for p 38 MAP kinase in ATF-2, CREB and NF- κ B activation. *J. Immunol.* 180: 5017-5027. 2008.
 - 22 Mashima H, Suzuki J, Hirayama T, Yoshikumi Y, Ohno H, Ohnishi H, Yasuda H, Fujita T, Omata M. Involvement of VAMP 7 in human gastric epithelial cell vacuolation induced by *Helicobacter pylori*-produced VacA. *Infect. Immun* 76: 2296-2303. 2008.
 - 23 Atarashi R, Wilham JM, Christensen L, Hughson AG, Moore RA, Johnson LM, Onwubiko HA, Priola SA, Caughey B: Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking. *Nature Methods.* 5(3): 211-212. 2008.
 - 24 Yoshikawa D, Yamaguchi N, Ishibashi D, Yamanaka H, Okimura N, Yamaguchi Y, Mori T, Miyata H, Shigemats K, Katamine S, Sakaguchi S: Dominant-negative effects of the N-terminal half of prion protein on neurotoxicity of prion protein-like protein/Doppel in mice. *J Biol Chem* 283(35): 24202-24211. 2008.
 - 25 Takakura Y, Yamaguchi N, Nakagaki T, Satoh K, Kira J, Nishida N: Bone marrow stroma cells are susceptible to prion infection. *Biochem Biophys Res Commun* 377(3): 957-961. 2008.
 - 26 Hojo M, Sudo Y, Ando Y, Minami K, Takada M, Matsubara T, Kanaide M, Taniyama K, Sumikawa K, Uezono Y: μ -Opioid receptor forms a functional heterodimer with cannabinoid CB 1 receptor Electrophysiological and FRET assay analysis. *J Pharmacol Sci* 108(3): 308-319. 2008.
 - 27 Maruta T, Yanagita T, Matsuo K, Uezono Y, Satoh S, Yoshikawa N, Nemoto T, Kobayashi H, Takasaki M, Wada A: Lysophosphatidic acid-LPA 1 receptor-Rho-Rho kinase-induced up-regulation of NaV 1.7 sodium

- channel mRNA and protein in adrenal chromaffin cells: enhancement of 22 Na^+ influx, 45 Ca^{2+} influx and catecholamine secretion. *J Neurochem* 105(2): 401-412. 2008.
- 28 Susumu, S., Nagata, Y., Ito, S., Matsuo, M., Valmori, D., Yui, K., Uono, H., Kanematsu, T. Cross-presentation of NY-ESO-1 cytotoxic T lymphocyte epitope fused to human heat shock cognate protein 70 by dendritic cells. *Cancer Science*. 99(1): 107-112. 2008.
 - 29 Mizukami, S., Kajiwara, C., Ishikawa, H., Katayama, I., Yui, K., Uono, H. Both CD 4+ and CD 8+ T cell epitopes fused to heat shock cognate protein 70 (hsc 70) can function to eradicate tumors. *Cancer Science*. 99(5): 1008-1015. 2008.
 - 30 Miyakoda, M., Kimura, D., Yuda, M., Chinzei, Y., Shibata, Y., Honma, K., Yui, K. Malaria-specific and non-specific activation of CD 8+ T-cells during infection with *Plasmodium berghei*. *J. Immunol.*, 181(2): 1420-1428. 2008.
 - 31 Yamano, T., Sugahara, H., Mizukami, S., Murata, S., Chiba, T., Tanaka, K., Yui, K., Uono, H. Allele-selective effect of PA 28 in MHC class I antigen processing, *J. Immunol.*, 181: 1655-1664. 2008.
 - 32 Honma, K., Kimura, D., Tominaga, N., Miyakoda, M., Matsuyama, T., Yui, K. Interferon regulatory factor-4 differentially regulates the production of Th 2 cytokine in naive vs. effector/memory CD 4+ T-cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105: 15890-15895. 2008.
 - 33 Tetsutani, K., Ishiwata, K., Torii, M., Hamano, S., Hisaeda, H., Himeno, K.: Concurrent Infection with *Heligmosomoides polygyrus* Modulates Murine Host Response against *Plasmodium berghei* ANKA Infection. *Am J Trop Med Hyg*. 79: 819-822. 2008.
 - 34 Sugiyama, N., Nakashima, H., Yoshimura, T., Sadanaga, A., Shimizu, S., Masutani, K., Igawa, T., Akahoshi, M., Miyake, K., Takeda, A., Yoshimura, A., Hamano, S., Yoshida, H.: Amelioration of human lupus-like phenotypes in MRL/lpr mice by overexpression of interleukin 27 receptor {alpha} (WSX-1). *Ann. Rheum. Dis*. 67: 1461-1467. 2008.
 - 35 Hamano, S., Becker, S., Asgharpour, A., Ocasio, Y.P.R., Stroup, S.E., McDuffie, M., Houpt, E.: Gender and genetic control of resistance to intestinal amebiasis in inbred mice. *Genes Immun*. 9: 452-61. 2008.
 - 36 Furuno, K., Ikeda, K., Hamano, S., Fukuyama, K., Sonoda, M., Hara, T., Sasazuki, T., Yamamoto, K.: One cut transcription factor OC 2 is a direct target of T-bet in type-1 T-helper cells. *Genes Immun*. 9: 302-308. 2008.
 - 37 Hisaeda, H., Tetsutani, K., Imai, T., Moriya, C., Tu, L., Hamano, S., Duan, X., Chou, B., Ishida, H., Aramaki, A., Shen, J., Ishii, K.J., Coban, C., Akira, S., Takeda, K., Yasutomo, K., Torii, M., Himeno, K.: Malaria Parasites Require TLR 9 Signaling for Immune Evasion by Activating Regulatory T Cells. *J. Immunol*. 180: 2496-2503. 2008.
 - 38 Hamano, S. and William A. Petri Jr.: Amoebiasis in " International Encyclopedia of Public Health" Academic Press, San Diego, Vol.5. 335-341. 2008.
 - 39 Basu Dev Pandey, Kouichi Morita, Santa Raj Khanal, Tomohiko Takasaki, Isao Miyazaki, Tetsuro Ogawa, Shingo Inoue, Ichiro Kurane. Dengue virus, Nepal. *Emerging Infectious Diseases* Vol.14(3), 514-515. 2008
 - 40 Manmohan Parida, Santhosh Sannarangaiah, Paban Kumar Dash, P. V. L. Rao and Kouichi Morita: Loop mediated isothermal amplification (LAMP): a new generation of innovative gene amplification technique; perspectives in clinical diagnosis of infectious diseases. *Reviews in Medical Virology* Vol.18: 407-422. 2008
 - 41 Kazuya Hidari, Naonori Takahashi, Masataka Arihara, Masato Nagaoka, Kouichi Morita, Takashi Suzuki.: Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga, *Biochemical and Biophysical Research Communications* Vol.376, 91-95. 2008
 - 42 Nguyen Thi Phuong Lan, Mihoko Kikuchi, Vu Thi Que Huong, Do Quang Ha, Tran Thi Thuy, Vo Dinh Tham, Ha Manh Tuan, Vo Van Tuong, Cao Thi Phi Nga, Tran Van Dat, Toshifumi Oyama, Kouichi Morita, Michio Yasunami, Kenji Hirayama. Protective and Enhancing HLA Alleles, HLA-DRB 1*0901 and HLA-A*24, for Severe Forms of Dengue Virus Infection, Dengue Hemorrhagic Fever and Dengue Shock Syndrome. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. Vol.2. e 304. 2008
 - 43 Liu J, Liu B, Cao Z, Inoue S, Morita K, Tian K, Zhu Q, Gao GF. Characterization and application of monoclonal antibodies specific to West Nile virus envelope protein. *J Virol Methods*. Vol.154(1-2): 20-6. 2008
 - 44 Takeshi Nabeshima, Phan Thi Nga, Posadas Guillermo, Maria del Carmen Parquet, Fuxun Yu, Nguyen Thanh Thuy, Bui Minh Trang, Nguyen Tran Hien, Vu Sinh Nam, Shingo Inoue, Futoshi Hasebe, and Kouichi Morita. Isolation and Molecular Characterization of Banna Virus from Mosquitoes, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases* Vol.14(8), 1276-1279. 2008.
 - 45 Yasui F, Kai C, Kitabatake M, Inoue S, Yoneda M, Yokochi S, Kase R, Sekiguchi S, Morita K, Hishima T,

- Suzuki H, Karamatsu K, Yasutomi Y, Shida H, Kidokoro M, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J Immunol.* Vol.181(9): 6337-48. 2008.
- 46 Shibuya T, Yamashiro T, Masaike Y, Ohuchi M, Uechi G, Nishizono A. Identification of a human monoclonal Fab with neutralizing activity against H 3 N 2 influenza A strain from a newly constructed human Fab library. *Microbiol Immunol.* 52: 162-70.2008.
 - 47 Tomioka Y, Miyazaki T, Taharaguchi S, Yoshino S, Morimatsu M, Uede T, Ono E and Watanabe M. Cerebellar pathology in transgenic mice expressing the pseudorabies virus immediate-early protein IE 180. *European Journal of Neuroscience* 27(8), 2115-2132. 2008.
 - 48 Yoshida K, Tomioka Y, Kase S, Morimatsu M, Shinya K, Ohno S, Amagai K, Watanabe Y, Kuramochi M, Kouda S and Ono. E Microphthalmia and lack of vitreous body in transgenic mice expressing the first immunoglobulin-like domain of nectin-1. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 246, 543-549. 2008.
 - 49 Minakawa N, Sonye G, Dida GO, Futami K, Kaneko S. Recent reduction in the water level of Lake Victoria has created more habitats for *Anopheles funestus*. *Malar J* 2008; 7(1): 119.
 - 50 Minakawa N, Dida GO, Sonye GO, Futami K, Kaneko S. Unforeseen misuses of bed nets in fishing villages along Lake Victoria. *Malar J.* 7: 165. 2008.
 - 51 Hashizume M, Wagatsuma Y, Faruque ASG, Hayashi T, Paul R. Hunter, Armstrong B, Sack DA. Factors determining vulnerability to diarrhoea during and after severe floods in Bangladesh. *Journal of Water and Health.* 6: 323-32. 2008.
 - 52 Hashizume M, Armstrong B, Hajat S, Wagatsuma Y, Faruque ASG, Hayashi T, Sack DA. The effect of rainfall on the incidence of cholera in Bangladesh. *Epidemiology.* 19: 103-10. 2008.
 - 53 Eguchi K. A revision of Northern Vietnamese species of the ant genus *Pheidole* (Insecta: Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). *Zootaxa* 1902: 1-118. 2008.
 - 54 Katsuyuki EGUCHI, Tuan Viet BUI & Seiki YAMANE. Vietnamese species of the genus *Acanthomyrmex* EMERY, 1893-A. *humilis* sp.n. and *A. glabfemorialis* ZHOU & ZHENG, 1997 (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). *Myrmecological News* 11: 231-241. 2008.
 - 55 Nguyen TPL, Kikuchi M, Vu TQH, Vu TTN, Hoang ND, Do QH, Tran TT, Vo T, Cao N, Tran D, Oyama T, Morita K, Yasunami M, Hirayama K. Protective and Enhancing HLA-alleles, HLA-DRB 1*0901 and HLA-A*24, for Severe Forms of Dengue Fever, Dengue Hemorrhagic Fever and Dengue Shock Syndrome. *PLoS Negl Trop Dis.* 2(10): e 304. 2008.
 - 56 Uyen DT, Huy NT, Trang DT, Nhien NT, Oida T, Hirayama K, Harada S, Kamei K. Effects of amino acids on malarial heme crystallization. *Biol Pharm Bull.* (8): 1483-8. Aug; 31 2008.
 - 57 Shuaibu MN, Wuyep PT, Yanagi T, Hirayama K, Ichinose A, Tanaka T, Kouno I. Trypanocidal activity of extracts and compounds from the stem bark of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennoides*. *Parasitol Res.* 102(4): 697-703. 2008.
 - 58 Moses N. Wainaina, Takayuki Shibata, Chaivat. Smanmoo, Tsutomu Kabashima, Masaaki Kai: Fluorescence detection of amino acids in the postcleavage conversions for manual sequencing of a peptide. *Anal. Biochem.* 374(2): 423-425. 2008.
 - 59 Tsutomu Kabashima, Zhiqiang Yu, Chenhong Tang, Yoshiki Nakagawa, Kyosuke Okumura, Takayuki Shibata, Jianzhong Lu, Masaaki Kai: A selective fluorescence reaction for peptides and chromatographic analysis. *Peptides*, 29(3): 356-363. 2008.
 - 60 Keiko Tonooka, Tsutomu Kabashima, Takayuki Shibata, Chenhong Tang, Zhiqiang Yu, Masaaki Kai: Facile Assay of Telomerase Activity Utilizing a DNA-detectable Chemiluminogenic Reagent. *Anal. Sci.*, 24(4): 471-475. 2008.
 - 61 Chun Mei Jin, Yoo Jung Yang, Hai Shan Huang, Sung Cil Lim, Masaaki Kai and Myung Koo Lee: Induction of dopamine biosynthesis by L-DOPA in PC 12 cells: Implications of L-DOPA influx and cyclic AMP. *Eur. J. Pharmacol.* 591: 88-95. 2008.
 - 62 K. Adachi, T. Ichinose, K. Watanabe, K. Kitazato, N. Kobayashi Potential for the replication of the betanodavirus redspotted grouper nervous necrosis virus in human cell lines *Arch. Virol* 153. 15-24. 2008.
 - 63 K. Watanabe., S. Noda and N. Kobayashi Establishment of a new cell line for performing sensitive screening of nuclear export inhibitors. *Drug Discover Ther* 2. 7-9. 2008.
 - 64 N. Takizawa, K. Adachi and N. Kobayashi Establishment of reverse genetics system of betanodavirus for the

- efficient recovery of infectious particles *J. Virol. Meth* 151: 271-276. 2008.
- 65 R. Z., Zhang M. Ying, K. Kitazato, N. Kobayashi, Zhu Qin-Chang, Zhang Pei-Zhuo, Yang Zhi-Rong and Wang Yi-Fei. Effect of siRNA on HSV-1 plaque formation and relative expression levels of UL 39 mRNA. *Arch. Virol.* 153:1401-1406. 2008.
- 66 K. Watanabe, N. Takizawa, S. Noda, F. Tsukahara, Y. Maru and N. Kobayashi. Hsc 70 regulates the nuclear export but not the import of influenza viral RNP: A possible target for the development of anti-influenza virus drugs. *Drug Discover Ther* 2: 77-84. 2008.
- 67 N. Takizawa, K. Adachi, T. Ichinose and N. Kobayashi. Efficient propagation of betanodavirus in a murine astrocytoma cell line. *Virus Res.* 136, 206-210. 2008.
- 68 A. Ishikawa, N. Kobayashi and Y. Kitamura. Ascorbic Acid Induces Furanocoumarin Production in Organ Cultures of *Glechhina Littoralis*. *Planta Medica.* 74: 1517-1519. 2008
- 69 Seki M, Suyama N, Hashiguchi K, Hara A, Kosai K, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Mukae H, Tashiro T, and Kohno S. A patient with fulminant influenza-related bacterial pneumonia due to *Streptococcus pneumoniae* followed by *Mycobacterium tuberculosis* infection *Intern Med.* 47: 2043-2047. 2008.
- 70 Kosai K, Seki M, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, and Kohno S. Two-dimensional gel electrophoresis analysis in simultaneous influenza pneumonia and bacterial infection in mice. *Clin Exp Immunol.* 152: 364-371. 2008.
- 71 Kosai K, Seki M, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, and Kohno S. Elevated levels of high mobility group box chromosomal protein-1(HMGB-1) in sera from patients with severe bacterial pneumonia coinfecting with influenza virus. *Scand J Infect Dis.* 28: 338-342. 2008.
- 72 Kosai K, Seki M, Yanagihara K, Nakamura S, Kurihara S, Imamura Y, Izumikawa K, Kakeya H, Yamamoto Y, Tashiro T, and Kohno S. Gabexate mesilate suppresses influenza pneumonia in mice through inhibition of cytokines. *J Int Med Res.* 36: 322-328. 2008.
- 73 Ishida Y., Hu J-P, Sakai E., Kadowaki T., Yamamoto K., Tsukuba T., Nakayama K. and Okamoto K.: Functional expression of lysine-specific cysteine proteinase (Lys-gingipain) by a *Porphyromonas gingivalis* plasmid system. *Arch. Oral Biol.* 53(6): 538-544. 2008.
- 74 Uehara A., Naito M., Imamura T., Potempa J., Travis J., Nakayama K., and Takada H.: Dual regulation of IL-8 production in human oral epithelial cells upon stimulation with gingipains from *Porphyromonas gingivalis*. *J. Med. Microbiol.* Apr;57(Pt 4): 500-507. 2008.
- 75 Yoshimura M., Ohara N., Kondo Y., Shoji M., Okano S., Nakano Y., Abiko Y., and Nakayama K. Proteome analysis of *Porphyromonas gingivalis* cells placed in a subcutaneous chamber of mice. *Oral Microbiol. Immunol.* 23(5): 413-418. 2008.
- 76 Naito M, Hirakawa H, Yamashita A, Ohara N, Shoji M, Yukitake H, Nakayama K, Toh H, Yoshimura F, Kuhara S, Hattori M, Hayashi T, and Nakayama K. Determination of the genome sequence of *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 and genomic comparison with strain W 83 revealed extensive genome rearrangements in *P. gingivalis*. *DNA Res.*, 15(4): 215-225. 2008.
- 77 Chen H, Minakawa N and Yan G. Conspecific sharing of breeding sites by anopheline female mosquitoes (Diptera: Culicidae) inferred from microsatellite markers. *Journal of Insect Behavior.* 21: 24-33. 2008.
- 78 Futami K, Sonye G, Akweywa P, Kaneko S and Minakawa N*. Diving Behavior in *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Avoidance of a predacious wolf spider (Araneae: Lycosidae) in relation to life stage and water depth. *Journal of Medical Entomology.* 45: 1050-1056. 2008.
- 79 Minakawa N, Dida O. G, Sonye G, Futami K and Kaneko S. Unforeseen misuses of bed nets in fishing villages along Lake Victoria. *Malaria Journal.* 7: 165. 2008.
- 80 Minakawa N, Sonye G, Dida O. G, Futami K and Kaneko S. Recent reduction in the water level of Lake Victoria has created more habitats for *Anopheles funestus*. *Malaria Journal.* 7: 119. 2008.

Ⅲ 事業推進担当者が指導した学位取得者

平成20年度学位取得者名簿 22名(うち外国人5名)

()内は学位取得年月日

中込 治

Sher Bahadur Pun 「ネパールにおけるG12型ヒトロタウイルスの検出」(2008/9/19)

松山 俊文

馬 玉華 「トリコスタチンAと組み合わせた自殺遺伝子治療に於ける、導入遺伝子の効果的な発現のためのベクター遺伝子構成」(2009/3/11)

有吉 紅也

與座 嘉康 「慢性閉塞性肺疾患患者のための日常生活活動スケールの開発：日常生活活動息切れスケール (the Activity of Daily Living Dyspnea scale:ADL-D スケール)」(2008/12/3)

鋤崎 利貴 「プロカテロール単回吸入は慢性閉塞性肺疾患(COPD)患者の運動耐容能に対して持続効果がある」(2008/12/3)

土屋 菜歩 「国民健康保険導入前の北タイにおいて、ジェネリック抗HIV薬による多剤併用療法のウイルス学的失敗に影響を与えた社会経済的、行動的、臨床的因子の研究」(2009/2/4)

古本 朗嗣 「慢性呼吸器疾患患者の急性増悪に対する肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの相加的効果」(2008/11/30)

森内 浩幸

長沼 成子 「健康邦人乳幼児の唾液におけるTTウイルス保持率、ウイルス量、遺伝子型について」(2009/3/19)

平山 謙二

Ekhlas Hamed Abdel-Hafeez Abdou 「プロテオーム解析による日本住血吸虫症感染防御ワクチン候補分子の探索」(2008/12/3)

Nguyen Thi Phuong Lan 「 Dengueウイルス感染症の重症化(Dengue出血熱、Dengueショック症候群)に対してHLA-DRB1*0901は抵抗性、HLA-A*24は感受性を示した」(2009/3/19)

甲斐 雅亮

張 襄 「Dextran-Based Polymeric Chemiluminescent Compounds for the Sensitive Optical Imaging of Proteins on a Solid-Phase Membrane」(2008/9/19)

河野 茂

池田 真帆 「TNBS腸炎マウスとオキサゾロン腸炎マウスに対するシンバスタチンの抗炎症作用についての検討」(2008/4/9)

古賀 聖士 「閉塞型睡眠時無呼吸症候群の男性患者におけるglobal left ventricular myocardial performanceへの経鼻的持続陽圧呼吸療法の影響」(2008/4/9)

廣瀬 裕子 「ダニにアトピーがある成人にRSVおよびダニ刺激を行った場合の末梢血単核細胞のサイトカン産生について」(2008/4/9)

高森 謙一 「機能性ディスペプシア患者における血漿グレリンレベル、胃排出能および心理学的状態の関連」(2008/6/4)

新里 健暁 「エリスロポイエチン抵抗性貧血を認める日本人の維持血液透析患者における血清pro-hepcidin値および鉄ホメオスターシスの検討」(2008/8/6)

山口 直之 「炎症性腸疾患患者における血漿中・デフェンシン濃度」(2009/2/4)

中村 茂樹 「融解温度曲線分析法によるインフルエンザ菌トポイソメラーゼ遺伝子変異迅速診断法の確立」Z(2009/3/11)

三嶋 志穂 「自己免疫性肝炎経過中における抗ミトコンドリア抗体出現の意義」(2009/3/19)

吉田 亮 「H.pylori関連胃炎においてCCL20の発現は上昇している」(2009/3/19)

佐々木 均

福地 弘充「日本人患者における血中アミオダロン濃度への肥満の影響：トラフ濃度による母集団薬物動態解析」(2009/2/4)

丹羽 正美

衣川 英和「脳卒中易発症高血圧自然発症ラットはマイルドな虚血で海馬神経細胞死が生じる」(2008/10/1)

高谷 義博「ヘテロな表現型を有する大腸癌細胞株におけるサブポピュレーションの新規分離法」(2009/2/4)

中川 慎介「初代培養ラット脳毛細血管内皮細胞、ペリサイトおよびアストロサイトをを用いた新規血液脳関門再構成系の構築」(2009/2/24)

平成21年度学位取得者名簿 13名(うち外国人1名)

()内は学位取得年月日

森田 公一

木下 一美「同一デング出血熱患者から分離された性状の異なる2つのデングウイルス株の解析」(2009/9/2)

森内 浩幸

國場 英雄「Kabuki 症候群の分子遺伝学的原因検索 先天奇形症候群における遺伝学的背景」(2009/9/18)

伊達木 澄人「OTX2 ヘテロ接合性変異は、様々な下垂体表現型に關与する」

甲斐 雅亮

Wainaina Moses Njoroge

「Fluorescent derivatization of amino acids with 4-(1'-cyanoisindolyl)aniline or 4-(1'-cyanoisindolyl) phenylisothiocyanate for sequence analyses of peptides and phosphorylated peptides」(2009/9/18)

河野 茂

井手 美桜子「特発性間質性肺炎患者における血清 TSP-1 高値について」(2009/8/5)

江原 尚美「成人呼吸器感染症における嗜痰肺炎球菌抗原の迅速検出の検討」(2009/8/5)

土井 誠志「ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬 FR901228は小細胞肺癌株においてミトコンドリア経路を通じてカスパーゼ依存性のアポトーシスを誘導する」(2009/10/7)

西條 知見「Candida glabrata において、Skn 7p は酸化ストレス応答および病原性に關与する」(2009/12/2)

久富 恵子「特発性器質化肺炎患者におけるテネイシンC高値について」(2010/2/3)

赤澤 祐子「DR5 の Internalization が肝細胞癌のアポトーシス誘導に寄与している」(2010/3/10)

神津 玲「アジア人特発性肺線維症ならびに慢性閉塞性肺疾患患者における6分間歩行距離から推定した最高運動仕事量」(2010/3/10)

小佐井 康介「インフルエンザウイルス感染後の2次性細菌性肺炎における重症化因子の同定」(2010/3/19)

雨森 美里「肺線維芽細胞における HSP47は線維型非特異的間質性肺炎の予後推測因子となり得る」(2010/3/19)

有吉 紅也

本田 章子「デングウイルス二次感染症患者血小板のヒトマクロファージによる貪食亢進」(2009/6/30)

Archawin Rojanawiwat「Substantially Exposed but HIV-Negative Individuals Are Accumulated in HIV-Serology-Discordant Couples Diagnosed in a Referral Hospital in Thailand」(2010/3/31)

黒木 麗喜「バイオフィルム産生 Bacillus cereus と Bacillus thuringiensis による院内発症の菌血症」(2010/3/31)

RiPS セミナー開催状況

Workshop and Research in Progress Seminar
Usually every 3rd Tuesday of each month, 18:00PM-19:30PM
(official language: English)

Date	Section (Section Head)	Speaker
Sep/16/2008@NEKKEN	GCOE-WS (@NEKKEN)	closed only for GCOE participants 09:00-19:00
Oct/14/2008@Ryojun	DMMI, Mol Pharm Infect Agents (Kobayashi N) DMMI, Microbiol Oral Infect (Nakayama K) NEKKEN, Protozool (Kaneko O)	>Ken WATANABE >Mikio SHOJI >Kazuhide YAHATA
Nov/18/2008@Ryojun	NEKKEN, Global Health Dev. Pol. Sci. (Mizota S) DMMI, Med Virol (Moriuchi H) NEKKEN, Immunogenet (Hirayama K)	>VU Thiem Dinh >Masako NAGANUMA >NGUYEN Tien Huy
Dec	not scheduled	
Jan/20/2009@Ryojun	DMMI, Immunol (Yui K) NEKKEN, Vector Eco Environ (Takagi M) DMMI, Mol Clin Micribiol (Kohno S)	>Mana MIYAKODA >Kohei TAKANO >Kazuko YAMAMOTO
Feb/23/2009 (Mon) @Ryojun	NEKKEN, Virol (Morita K) DMMI, Cytokine Signaling (Matsuyama T) NEKKEN, Clin Med (Ariyoshi K)	>Kenta OKAMOTO >Kiyoshi YASUI >Huong Thi Thu Vu
Mar/31/2009@NEKKEN	GCOE-WS	closed only for GCOE participants 09:00-19:00
Apr/21/2009@Ryojun	DMMI, Epidemiol (Nakagomi O) NEKKEN, Int Health (Yamamoto T) DMMI, Cell Mol Biol (Nishida N)	>Masatake ASANO >Katsuyuki EGUCHI >Ryuichiro ATARASHI
May/19/2009@Ryojun	NEKKEN, Bacteriol (Hirayama T) NEKKEN, Pathol (Senba M) DMMI, Microbiol Oral Infect (Nakayama K)	>Masayuki NAKANO >Masachika SENBA >Mariko NAITO
Jun/23/2009@NEKKEN	Nagasaki Univ Hosp, Dept Hosp Pharm (Sasaki H) NEKKEN, Parasitol (Hamano S)	>Hitoshi SASAKI >Shinjiro HAMANO
Jul/21/2009@Ryojun	NEKKEN, Protozool (Kaneko O) DMMI, Mol Pharm Infect Agents (Kobayashi N) NEKKEN, Global Health Dev. Pol. Sci. (Mizota S)	>Richard CULLETON >Naoki TAKIZAWA >Takeshi YODA
Aug/18/2009@Ryojun	DMMI, Med Virol (Moriuchi H) NEKKEN, Immunogenet (Hirayama K) DMMI, Immunol (Yui K)	>Masami MIYAKAWA >Akiko YAMAZAKI >Daisuke KIMURA
Sep/15/2009 postponed	GCOE-WS (@NEKKEN)	closed only for GCOE participants 09:00-19:00
Oct/20/2009@Ryojun	DMMI, Mol Clin Micribiol (Kohno S) DMMI, Epidemiol (Nakagomi O) NEKKEN, Clin Med (Ariyoshi K)	>Masafumi SEKI >Toyoko NAKAGOMI >Masahiko HORI
Nov/17/2009@Ryojun	NEKKEN, Vector Eco Environ (Minakawa N) DMMI, Cytokine Signaling (Matsuyama T) NEKKEN, Virol (Morita K)	>Noboru Minakawa >Yuhua Ma >Daisuke Hayasaka
Dec	not scheduled	
Jan/19/2010@Ryojun	NEKKEN, Int Health (Yamamoto T) DMMI, Cell Mol Biol (Katamine S) NEKKEN, Bacteriol (Hirayama T)	>Mika Oki >Hitoki Yamanaka >Masayuki Nakano
Feb/23/2010@Ryojun	NEKKEN, Parasitol (Hamano) DMMI, Microbiol Oral Infect (Nakayama K)	>Yoshinori Mitsui >Keiko Sato
Mar/9/2010@NEKKEN	GCOE-WS	closed only for GCOE participants 09:00-19:00

NEKKEN = Institute of Tropical Medicine

DMMI = Dept Mol Microbiol & Immun, Grad Sch Biomed Sci, Nagasaki Univ

2008年

医学で意見交換

長崎のミッション
シンガポール訪問

長崎シンガポール・マレーシア協会（松本晃会長）は、このほど、「長崎シンガポール経済・文化・医学交流ミッション」を同国に派遣。同国外務省訪問や国立シンガポール大と医学に関する意見交換会を実施した。

松本会長は、「ヨー外相は長崎とシンガポールの交流を医学分野だけでなく、文化、経済面まで広げたいと話した。両大が取り組む感染症研究は社会に貢献できる生きた国際交流。長崎との関係を深めたい」と話した。

長崎新聞
(4月10日)

感染者現状に理解を

長崎大で国際シンポジウム

「人と健康のための国際シンポジウム」が二十六日、長崎市文教町の長崎大中部講堂であり、アフリカなどで感染症対策に取り組む団体の関係者が講演した。

同大主催。エイズ、結核、マラリアなどの感染症対策に携わる人を招き、現状や国際協力の在り方を考えてもらおうと聞き、県内の高校生や大学生らが耳を傾けた。

「世界エイズ・結核・マラリア対策基金」（本部スイス・ジュネーブ）のアリス・モハメド・アサード氏（左）、同基金を支援する団体のルイ・ダガマ氏（五）やチオマ・ンワチュク氏（三）がそれぞれ、同基金を活用した感染症対策などを発表。アフリカでのマラリア予防のために蚊帳を住民に配り、感染率が低下したことや、マダガスカルでは医療機関が少なく、患者は半日かけて医療機関に行き、診察を受けるにも長時間待たなければならぬ現状などを紹介。チオマ・ンワチュク氏は「何ができるかというアイデアを出し、協力

長崎新聞
(5月28日)

研修生15人が入所

長崎大熱帯医学研究所 熱帯研

長崎大熱帯医学研究所（平山謙二所長）で熱帯医学を三カ月間学ぶ研修生十五人の入所式が二日、長崎市坂本一丁目の同研究所であった。

今年度は全国から二十八人の応募があり、海外での医療活動などを志す医師や看護師、薬剤師ら十五人が選ばれた。ウイルス学、病原細菌学、寄生虫学などの専門

してほしい。感染症対策に
取り組むにはパートナーシ
ップが必要と呼び掛けた。訪
問した。

シンポジウムに先立ち、
三人は県庁と長崎市役所を
訪問した。

長崎新聞
(6月4日)

長崎近郊

本社報道本部(095・844・2114)
西彼中央支局(095・882・7681)



本年度の活動内容などを承認した長崎シンガポール・マレーシア協会総会

長崎シンガポール・マレーシア協会(松本晃会役員改選などを承認し、長は二十日、長崎市内)のホテルで総会を開き、十月十七、十一日に長崎

長崎シンガポール・マレーシア協会総会
—長崎市、ホテルセントヒル長崎

本年度の活動内容などを承認した長崎シンガポール・マレーシア協会総会

同協会は二〇〇五年に長崎シンガポール協会と長崎マレーシア協会が合併、本県と両国の経済、文化、学術交流推進や留学生の支援に力を入れている。

長崎シンガポール・マレーシア協会
10月のシンポ支援
総会で承認

長崎大学の「熱帯病・新興感染症の地球規模統制御戦略」が採択された。同大は〇七年度にも「放射線健康リスク制御国際戦略拠点」で、同じグローバルCOEプログラムの採択を果たしており、これが二件目となる。

プログラムは、国際競争力のある大学を推進するとともに、世界に伍(こ)する教育研究を展開するのが狙いだ。オンラインの研究活動を発信できるかどうかも考慮の対象となる。

研究対象は、医学系、数

学・物理学・地球科学、機械・土木・建築・社会科学、学際・複合・新領域の五分野。採択される二件で年間五千五百五十万円の補助金が五年間交付される。

医学系分野で採択された

十件、東北大学七件、京都大学六件、九州大学、熊本大学各二件などに続いて、長崎大学が採択された。国立大が全体の八割を占め、私立大は慶応、早稲田、立命館の三件、公立大の採択はなかった。

長崎大学の「熱帯病・新興感染症の地球規模統制御戦略」は、世界で毎年一千万人以上が死し、今や人類最大の脅威といわれる感染症対策の開発と人材育成がテーマだ。

同大では〇三年度に「熱帯病・新興感染症の地球規模統制御戦略」を採択し、基礎研究、医薬品開発、

模制御戦略拠点」が、文科省の「21世紀COEプログラム」に採択された。このプログラムでは、ケニアとベトナムに海外感染症研究拠点を設けたほか、国際機関と連携して国際感染症ネットワークをつくるなど、実績を重ねてきた。

人材育成をめざす。プログラムの中核となるのは熱帯医学研究所だ。医学部創立百五十周年の昨秋、平山謙三所長は本紙にこう書いている。「熱帯医学研究所は研究のスコープを国内から世界に求め、人が行きたがらないアフリカやアジアにまん延する感染症のフィールド研究へと広げること、感染症研究を継続発展させた」

地道な努力が実を結びつつある。今回のグローバルCOEプログラムの採択は、ひとり長崎大学だけでなく、県内の各大学などにもいい刺激となる。総合大学の利点を生かしてさらに大きな成果を挙げてほしい。(峠 憲治)

長崎新聞(6月21日)

論 説

(2008-6-22)

長崎大学が元氣だ。高度な研究分野で内外に存在感を高めている。

文部科学省が、世界トップレベルの大学の教育研究拠点づくりを支援する二〇〇八年度の「グローバルCOEプログラム」に、長崎大学の「熱帯病・新興感染症の地球規模統制御戦略」が採択された。

同大は〇七年度にも「放射線健康リスク制御国際戦略拠点」で、同じグローバルCOEプログラムの採択を果たしており、これが二件目となる。

プログラムは、国際競争力のある大学を推進するとともに、世界に伍(こ)する教育研究を展開するのが狙いだ。オンラインの研究

長崎大学

日本の西端で存在感示す

〇八年度は全国の百三十三大学が合わせて三百十五件を申請、同COEプログラム委員会(委員長・野依良治独立行政法人理化学研究所理事長)で審査の結果、二十九大学の六十八件を採択した。

国立大は最多の東京大学

長崎大学の「熱帯病・新興感染症の地球規模統制御戦略」は、世界で毎年一千万人以上が死し、今や人類最大の脅威といわれる感染症対策の開発と人材育成がテーマだ。

同大では〇三年度に「熱帯病・新興感染症の地球規模統制御戦略」を採択し、基礎研究、医薬品開発、

模制御戦略拠点」が、文科省の「21世紀COEプログラム」に採択された。このプログラムでは、ケニアとベトナムに海外感染症研究拠点を設けたほか、国際機関と連携して国際感染症ネットワークをつくるなど、実績を重ねてきた。

人材育成をめざす。プログラムの中核となるのは熱帯医学研究所だ。医学部創立百五十周年の昨秋、平山謙三所長は本紙にこう書いている。「熱帯医学研究所は研究のスコープを国内から世界に求め、人が行きたがらないアフリカやアジアにまん延する感染症のフィールド研究へと広げること、感染症研究を継続発展させた」

地道な努力が実を結びつつある。今回のグローバルCOEプログラムの採択は、ひとり長崎大学だけでなく、県内の各大学などにもいい刺激となる。総合大学の利点を生かしてさらに大きな成果を挙げてほしい。(峠 憲治)

長崎新聞(6月22日)

聞く 先端医療

長崎大医歯薬学研究所から

近年、ライフスタイルや環境の変化に伴い、新興・再興感染症の地球規模での流行が懸念されています。二〇二〇年からは、三〇年前半に比べて超えたSARS新型肺炎の流行は記憶に新しく、新型インフルエンザ発生への警鐘も鳴らされています。

熱研ベトナム拠点



山城 哲彦 山崎 哲彦教授

現地で感染症制圧目指す

熱研を中心として、日本が熱帯医学や感染症の分野で貢献することが求められており、熱帯医学に特化した日本唯一の公的研究・教育機関である長崎大熱帯医学研究所(熱研)への期待は大きくなっています。

そうして、日本が熱帯医学や感染症の分野で貢献することが求められており、熱帯医学に特化した日本唯一の公的研究・教育機関である長崎大熱帯医学研究所(熱研)への期待は大きくなっています。

熱研を中心として、日本が熱帯医学や感染症の分野で貢献することが求められており、熱帯医学に特化した日本唯一の公的研究・教育機関である長崎大熱帯医学研究所(熱研)への期待は大きくなっています。

熱研を中心として、日本が熱帯医学や感染症の分野で貢献することが求められており、熱帯医学に特化した日本唯一の公的研究・教育機関である長崎大熱帯医学研究所(熱研)への期待は大きくなっています。

熱研を中心として、日本が熱帯医学や感染症の分野で貢献することが求められており、熱帯医学に特化した日本唯一の公的研究・教育機関である長崎大熱帯医学研究所(熱研)への期待は大きくなっています。

長崎大熱帯医学研究所(熱研)は、感染症の予防・診断・治療に関する研究を推進しています。ベトナムに設置した熱研ベトナム拠点では、現地で感染症の流行を抑え、公衆衛生の向上を図っています。



熱研ベトナム拠点では、現地で感染症の流行を抑え、公衆衛生の向上を図っています。また、ベトナムの医療従事者を養成し、感染症対策の強化に貢献しています。

長崎新聞(9月1日)

国際保健の即戦力養成

長崎大

発展途上で、エイズ、マラリアなどの感染症対策や母子の健康改善などに取り組む国際保健の専門家を育てる国内初の「国際健康開発研究所」が、長崎大学大学院に今春誕生した。

文化人類学など幅広い分野の研究者が教育に参加する。国際金融から環境、運営管理まで講義は多彩。国境なき医師団で活躍する東崎伸子医師(51)も「緊急医療援助」を担当する。



本田純久准教授(手前)を囲んで、疫学の自主勉強会を開く学生たち

「横断的な知識を身につけ、現地で自ら学び、考える即戦力となる人材を育てたい」と、青木克己研究科長(65)は意気込み。第一期生は、女性10人、男性1人。医師や看護師、社会福祉士など、多岐にわたるバックグラウンドを持つ学生が、海外で活動した経験がある。

「科学的な考え方を身につけて、国際的な民間活動団体(NGO)などで働きたい」と話す。学生は、1年目に3週間、2年目に8か月の途上で、研修が義務付けられる。今年8月からは、パンクラティオを訪れ、NGOなどで、感染症対策や地域保健医療の実務を学ぶ。

松岡裕子(51)は、ケニアでエイズ対策に取り組んだが、「科学的な考え方を身につけて、国際的な民間活動団体(NGO)などで働きたい」と話す。学生は、1年目に3週間、2年目に8か月の途上で、研修が義務付けられる。

読売新聞(7月2日)

「新型インフルエンザ出現も」



参加者が熱心に説明に聞き入ったシンポジウム。長崎市、長崎大医学部良期会館

感染症基礎知識学ぶ

長崎で研究者4人の講演も

感染症の基礎知識などをテーマにしたシンポジウムが二十一日、長崎市坂本一丁目目の長崎大医学部良期会館であった。同大熱帯医学研究所、順天堂大、大阪大、北海道大などが主催し、北海道大、東京に次いで四方所の開催。約百人が聴講した。

感染症などの研究者四人が「めぐる、感染症そして研究の今をテーマ」に講演。長崎で初発したと感染センターの大槻公一セン

長崎新聞(12月22日)

長崎新聞（3月8日）

感染症研究など紹介

東京で
長崎大展 下村さんコーナーも



熱帯感染症研究など長崎大の学術成果を紹介している展示会

【東京支社】長崎大の学術活動を広く知ってもらう活動として、展示会「熱帯感染症と『たたかう』長崎大学」が七日、東京都台東区の国立科学博物館で開幕した。休館日の九日を除く十五日まで。

全国大学の先端研究を順次紹介する同館の企画展の一環。同大の熱帯病、新興感染症の統合制御戦略は本年度、文部科学省が重点支援する「グローバルCOE」学部出身で、ベル化学賞を受けた下村脩さんの研究を紹介するコーナーなども設けられている。

展示会開幕に合わせて、在京の同大出身者が学部を超えて集う「全学同窓会」も同館ラウンジで開かれ、約二百人が親交を深めた。

海外で発生した豚インフルエンザの人への大量感染が、国内でも不安感を広げている。長崎大熱帯医学研究所副所長の森田公一教授（ウイルス病学）に、今後の感染拡大の可能性や防御策などを聞いた。

「豚インフルエンザについて、豚から人、人から人への感染は間違いないだろうが、人が全免疫を持っていないのかどうか、免疫がないのなら、パンデミック（新型インフルエンザ）の世界的流行となる可能性は

インタビュー

長崎大熱帯医学研究所 副所長 森田 公一 教授



森田 公一 教授

ワクチン開発は可能

豚インフルエンザ感染拡大

ほとんどが飛沫（ひまつ）感染。SARS（新型肺炎）は、重症化してから人に感染するタイプだったため、症状が出た人に対し隔離などの対応をすれば、感

「今後の被害拡大は、タミフルなどが効くというところなので、実際に有効なものは少し安心できる。ワクチンを開発、製造するのも技術的に可能。パニックになる必要はない。また、一般的にはインフルエンザは夏場は下火になる。しかし、冬場に温度が

あるが、まだ分らない。通常のインフルエンザ感染拡大をある程度封じ込めが多い。例えば鳥インフルエンザは病原性が強かった。今回は、メキシコで力だという証拠はまだない。感染の封じ込めについては難しいかもしれない。

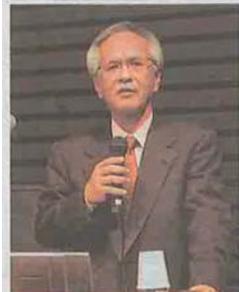
「個人別の防御策は、豚インフルエンザや新型インフルエンザが日本に入ってきているわけではないので、冷静に考えてほしい。手洗い、うがい、マスクをすることで、かなりの感染予防ができる。通常のインフルエンザ対策を習慣化することが大事。外国から帰国して発熱など症状があれば、すぐに医療機関や保健所に相談してほしい。」

（聞き手は報道部・山田貴己）

手洗いなど習慣化を

下がって乾燥し、ウイルスが伝播（でんぱ）しやすい環境になってくると、流行するかもしれない。このまま消えていくというシナリオも考えられる。

長崎新聞（4月28日）



都内で開かれたセミナーで長崎大の歴史や特徴を説明する片峰茂学長

長崎大が初セミナー
感染症や放射線
先端研究をPR

都 内

長崎大学は十八日、感染症や放射線医療研究など、国内でも珍しい分野での取り組みを紹介する初めてのセミナーを、都指す首都圏の学生や研究者らに大学の特色を知ってもらい、将来の人材確保につなげるのが狙い。

国は、世界最先端レベルの研究をしている大学を重点支援する「グローバルCOE」事業に百三十一カ所を指定。長崎大はマラリア対策などの「熱帯医学、感染症研究」と「原爆医療」の二分野の歴史を紹介した。

片峰茂学長は「長崎の歴史と密接に関係し、ノウハウが蓄積されてきた研究分野で、世界に貢献していきたい」とあいさつした。

西日本新聞（4月19日）

世界的に感染者が報告されている新型インフルエンザと今後の国際協力について、感染症の専門家、長崎大熱帯医学研究所教授の山本太郎さんに解説してもらった。



山本太郎 長崎大熱帯医学研究所教授

新型インフルエンザ

世界保健機関(WHO) 最も多い。世界最悪の状況は四月二十七日、新型インフルエンザの流行に関する警戒水準を「3」から「4」に引き上げた。「新型インフルエンザ」の宣言であった。もったために起こったと。その場合、流行状況の過小評価ということになるが、あるいは医療制度や人々の栄養・健康状態といえ、ウイルスが弱毒性ということもあり、被害状況はそれほど深刻なものとはなっていない。良い知らせである。死者数はメキシコで

寄稿

因で、先進国より高い致死率を示しているとする。今後、新型インフルエンザがアフリカやアジアの国々に広がったとき、被害は大きなものとなる可能性がある。特にエイズや結核、マラリアといった感染症によって既に多大な影響を受けている国々で新型インフルエンザの流行が重なった場合、被害は予想を超える範囲に拡大し、深刻化するかもしれない。そうした状況に対し、国際社会の足並みは必ずしも揃っていないと言えない。五月二十二日開幕したWHO総会でも、抗インフルエンザ薬やワクチンの分配をめぐる開発途上国側か異議申し立てが相次いだ。医療資源の先進国偏在への不満と、それによってもたらされるかもしれない被害規模の格差への抗議がある。今後こうした「南北問題」は国際社会で論点となるだろう。

国際的な共同戦線を



新型インフルエンザの流行を受け、マスクを受け取るメキシコ市民 (A P=共同)

予想される「南北格差」

被害は大きなものとなる可能性がある。特にエイズや結核、マラリアといった感染症によって既に多大な影響を受けている国々で新型インフルエンザの流行が重なった場合、被害は予想を超える範囲に拡大し、深刻化するかもしれない。そうした状況に対し、国際社会の足並みは必ずしも揃っていないと言えない。五月二十二日開幕したWHO総会でも、抗インフルエンザ薬やワクチンの分配をめぐる開発途上国側か異議申し立てが相次いだ。医療資源の先進国偏在への不満と、それによってもたらされるかもしれない被害規模の格差への抗議がある。今後こうした「南北問題」は国際社会で論点となるだろう。

二年という時間で必ず終息するとみられる。感染し回復した人々が免疫を獲得するからだ。

そして、新型インフルエンザが実際に終息したとき、私たちは被害の状況を検証することになる。発生期の対策が適切だったか、という評価も行われるだろう。そのとき、国際交渉の舞台裏などでは、日本があるいは先進国がどのような海外協力を実施したかが問われることになる。

感染被害があつたという間に国境を超えるグローバルシフトが相次いだ。医療資源の先進国偏在への不満と、それによってもたらされるかもしれない被害規模の格差への抗議がある。今後こうした「南北問題」は国際社会で論点となるだろう。

最終的な被害の推定は難しいが、重要な疫学的視点として、新型インフルエンザは一年あるいは二年という時間で必ず終息するとみられる。感染し回復した人々が免疫を獲得するからだ。

そして、新型インフルエンザが実際に終息したとき、私たちは被害の状況を検証することになる。発生期の対策が適切だったか、という評価も行われるだろう。そのとき、国際交渉の舞台裏などでは、日本があるいは先進国がどのような海外協力を実施したかが問われることになる。

長崎新聞 (5月4日)

新型インフル確定診断迅速に

現行法では4時間

「LAMP法」活用し
1時間程度で結果

長崎大熱研 久保特任助教開発

長崎大熱帯医学研究所の久保特任助教(感染症学)は、新型インフルエンザの確定診断を迅速に行う方法を開発した。遺伝子増幅法「LAMP法」を活用し、検査準備を含め1時間から1時間15分で結果が出るという。



久保 亨特任助教

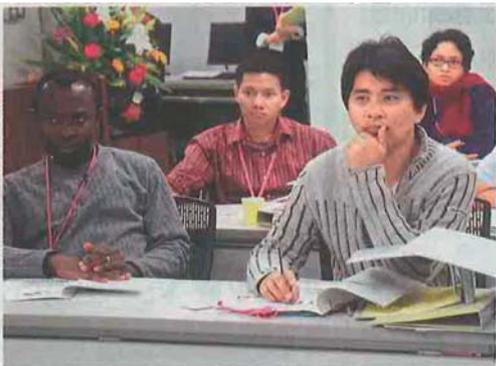
現在、確定診断のために行われている遺伝子増幅法「PCR法」では4時間近くかかっており、大幅な時間短縮になる。久保特任助教は「機械や試薬もPCR法に比べ安価。商品化されれば、医療現場での迅速な処置に役立つ」としている。

医学雑誌で論文発表へ

このプライマーを入れた検査キットで調べると、新型インフルエンザウイルスが存在しているかは増幅され、試薬が白濁してくるという。研究費は近々、米国の医学雑誌で論文発表する。

長崎新聞 (10月7日)

感染症について学ぶ受講生ら



途上国向けワクチン講座

長崎市の長崎大熱帯医学研究所(平山謙三所長)で26日、途上国で流行する感染症を防ぐワクチンの研究開発について学ぶ「世界保健フォーラム」が、11月17日まで、製薬会社の研究員や大学教授から感染症に対する最先端の取り組みなどについて学ぶ。

平山所長は「適切なワクチンがあれば、十分な医療施設がなくても子供たちを助けられる。受講生は途上国でリーダーシップをとれるようになってほしい」と話している。

読売新聞 (10月27日)

2010年

熱研の市民講座開講

6回シリーズ「感染症」テーマ

長崎大

長崎大学熱帯医学研究所(熱研)の市民公開講座「感染症」の第1回が、この日は平山所長は「できるだけ分かりやすく説明したい」と前

置きし、地図や表、写真やビデオを使い、熱研の歴史や総合目標などを紹介した。そして「近年は地球規模での感染症の研究を加速させている」とし、ベトナムとケニアを拠点にした活動を報告した。

第2回以降の日程は次の通り。時間はいずれも午後4時5分。受講無料。

第2回(30日) リン・ブタインフルエ

第3回(2月13日) 新興ウイルス感染症とは

第4回(同27日) 熱帯医学ミュージアム見学など

問い合わせは長崎大学総務課(095・819・2154)へ。【阿部義正】

長崎大学熱帯医学研究所で開かれた市民公開講座



毎日新聞 (1月19日)

感染症テーマ 市民公開講座

長崎大熱帯医学研究所(平山謙三所長)主催の市民公開講座「感染症」の第1回が16日、長崎市坂本1丁目の同研究所であった。市民らが熱心に耳を傾けた。

新型インフルエンザなど、地球上には多くの感染症があり、地球温暖化や交通手段のグローバル化で



「感染症のたかいま」に説明する市民公開講座

無縁とも思われていた熱帯地域の感染症でさえ油断できない状況にある。

この日、講師を務めた平山所長によると、地球規模の三大感染症は、エイズ、結核、マラリア。感染症ははかにも多数あるが、「世界各地域で何がはやっているかは共有されていない」と指摘し、昨年流行した新型インフルエンザについては「ワクチンの製造は素早く上がったと思う。ただ、量が足りなかったのは、研究の余地がある」と話した。

講座は全6回で、次回は30日、同研究所の森田公一教授が「リン・ブタインフルエンザ」をテーマに話す。

長崎新聞 (1月18日)

「思が舌くミルクもあまり飲まないです」。母親(30歳)は、生後7か月の息子の症状を細く声で説明した。長崎大熱帯医学研究所助教授の吉田レイシトさん(45歳)は、赤ちゃんの胸に聴診器を当てて呼吸を指さすと熱れた。熱は37度5分下がっている。回復の兆しだ。

ベトナム南部カンホア省の町ニャチャン。白いビーチが広がり、近年はリゾート地として観光を治しているが、住民の多くは常規的農薬を営む。吉田さんが携わっているのは、世界の子供の死因1位の肺炎について、原因や予防策を探るプロジェクトだ。

「グッドボーイ」。吉田さんはほほ笑んだ。赤ちゃんは目をくくりさしている。母親のやられた表情が少しだけ緩んだ。往来からは、バイクの音や、ひっきりなしに診察室に響いてくる。

彼の母親は「ミンマ」だ。最大都市ヤンゴンの行政官の家に、4人兄妹の第2子として生まれ、育った。1日6、7時間、勉強したという。超難関の医学部に合格、「命を救う」ことが、一人の役に立つことと信じた。

医師として働き始めて、4年目のことだ。夜間診療所に1歳の男の子が運ばれてきた。意識がな。顔も真っ青。普段から「治療費が払えなくも来てたさいね」と声をかけていた女の子だ。母親は週間入院だといふ。手を洗って飲ませただけだった。手の消毒しかなかった。やがて、息を引き取った。「もっと早く来てくれたら助けられたら……」

ひびく。やきもたせな。職場を別の研究所に受けて、それは胸に刺さった。軍事政権下、政府の補助金や設備は不十分。治療も研究も、思

ミャンマーから帰化 長崎大の医師



ニャチャン郊外の診療所。早朝から多くの患者が診察を待っていた

い描いたものとは違っていた。転機は、99年12月にやって来る。当時の国際協力事業団(JICA)の研修生として2か月半、日本に派遣されたのだ。東京の国立感染症研究所で、最新設備と綿密な

子らの命 国越え救う



「高度な研究を日本でもやろう」。1年の半分はベトナムに身を住む。生活習慣や食べ物には「ミャンマー」と大差ない。カインホア省保健局のレフウ・トウさん(45歳)は、同じ東南アジア人だからこそ、仕事仲間や患者の気持ちも理解してくる」と信頼を寄せる。年々増え、吉田さんは初めて母国に帰った。10年ぶりにピルを飲みながら、互いの仕事を語り合う。「ミャンマーでもそんな大きなプロジェクトを引くべきではないか。友人たちは、やまじやうに言った。(文と写真)寺垣はるか

長崎大熱帯医学研究所は94年、教36が常駐し、ほか吉長崎医科大付属東田風土田レイシト助教授ら4人の病研究所として設立された。熱帯地域で流行する感染症の診断や予防を研究しており、熱帯医学を専門とする。熱帯の病研究(熱帯の病研究) 職未済の5内唯一の公 職未済の5内唯一の公 職未済の5内唯一の公



第50回 アジア座

きょう市民向け講座

長崎大熱帯医学研究所(平山謙二所長)は13日午後4時55時、同大坂本キャンパス(長崎市坂本1丁目)内の同研究所で、一般市民向けの公開講座「感染症とのたたかい 新興ウイルス感染症の現状とその重要性」を開く。入場無料。

熱帯地域に潜む感染症について世界の機関と連携しながら研究に取り組んでいる同研究所の活動や、国境を越えた人々の移動でどういった感染症が熱帯地域だけの問題ではないという現状を知ってもらおうのが狙い。

今回は、同研究所の森田公一教授が、今後、国際的に問題となる可能性のある新興ウイルス感染症について、一般市民にも分かりやすく話す。

本 坂
キャンパス

長崎新聞 (3月13日)



新興ウイルス感染症をテーマに講演する森田公一教授。長崎大熱帯医学研究所助教授。森田教授は、2001年

新興感染症をテーマに講演

13日、「新興ウイルス感染症の出現と拡大」をテーマに市民を対象に講演した。森田教授によると、1998年にマレーシアでニパウイルス感染症が発生。翌99年までに265人が入院し、うち4割の105人が死亡した。人が足を踏み入れていない熱帯雨林が開発され、そこに生息するオオコウモリがウイルスを保有しており、養豚を通じて人に感染したという。森田教授は、今年1月から開いている公開講座全6回の5回目。

以降、パンデミックとイノンドでもたびたび流行している。人から人に感染したと想定されるケースも1例あり、02、03年に世界各地で大流行した。第2のSARS(新型肺炎)になる可能性があると指摘。日本の新興感染症研究の課題として、熱帯地域への恒常的研究基地の設置や専門家の育成などを挙げた。森田教授の講演は熱研が今年1月から開いている公開講座全6回の5回目。

長崎新聞 (3月16日)



長崎大学熱帯医学研究所 グローバル COE 推進室

〒852 8523 長崎市坂本 1 丁目12番 4 号

TEL.095 819 7870 / FAX.095 819 7805

e-mail gcoe@tm.nagasaki-u.ac.jp

<http://www.tm.nagasaki-u.ac.jp>